

博士論文

セイタカアワダチソウの  
二次代謝産物に関する天然物化学的研究  
(Natural Product Chemistry Studies on  
Secondary Metabolites from *Solidago altissima* L.)

2023年3月

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

西殿 悠人

立命館大学審査博士論文

セイタカアワダチソウの  
二次代謝産物に関する天然物化学的研究  
(Natural Product Chemistry Studies on  
Secondary Metabolites from *Solidago altissima* L.)

2023年3月

March 2023

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

Doctoral Program in Pharmacy

Graduate School of Pharmacy

Ritsumeikan University

西殿 悠人

NISHIDONO Yuto

研究指導教員：田中 謙教授

Supervisor : Professor TANAKA Ken

# 目次

序論.....	1
本論.....	3
第一章 クレロダンジテルペン.....	3
第一節 背景.....	3
第二節 含有成分の抽出・単離.....	6
第三節 新化合物の構造決定および既知化合物の構造改訂.....	7
第四節 $^{13}\text{C}$ NMR ケミカルシフト値に基づくクレロダン骨格の相対立体配 置の決定.....	19
第五節 小括.....	28
第二章 ポリアセチレン.....	29
第一節 背景.....	29
第二節 含有成分の抽出・単離.....	30
第三節 新化合物の構造決定.....	31
第四節 生合成経路と化学分類学的意義.....	36
第五節 小括.....	39
第三章 アレロパシー活性.....	40
第一節 背景.....	40
第二節 網羅的成分分析および定量分析.....	42
第三節 植物成長阻害活性.....	45
第四節 小括.....	50
結論.....	51
謝辞.....	53
論文目録.....	54
実験の部.....	57
引用文献.....	67

## 略語一覽

COSY: Correlation spectroscopy

DEPT: Distortionless enhancement by polarization transfer

EI-MS: Electron ionization-mass spectrometry

EtOAc: Ethyl acetate

EtOH: Ethanol

Fr.: Fraction

HMBC: Heteronuclear multiple bond correlation

HMQC: Heteronuclear multiple quantum correlation

HPLC: High performance liquid chromatography

HR-ESI-MS: High resolution-electrospray ionization-mass spectrometry

IR: Infrared absorption spectrometry

*J*: Coupling constant

MeOH: Methanol

MPLC: Medium pressure liquid chromatography

NMR: Nuclear magnetic resonance

NOESY: Nuclear Overhauser effect spectroscopy

ODS: Octadecylsilyl

PDA: Photodiode array detector

TIC: Total ion current

TLC: Thin layer chromatography

UV: Ultraviolet

XIC: Extracted ion current

## 序論

セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima* L.) は、キク科アキノキリンソウ属の多年生草本であり (Fig. 1)、<sup>1)</sup> 次のような形態的特徴を示す。地下茎は地中 (地表面から深さ約 10 センチメートルまで) を横走し、茎は 0.5~2.5 メートル。茎全体に短毛があり、花序を除いて分岐しない。基部にはやや光沢があり、上半分はしばしば赤みを帯びる。葉は茎に沿って作られ、生育に伴い下から上に向かい枯れていき、茎の中央から上部の葉が最も大きく、花序に向かうにつれて小さくなる。葉質は厚くて短毛があり、鋸歯はわずかである。花序は円錐形で数十センチメートル、花枝は広く開き、しばしば反り返り、三角形状に見える。花期は 10 月から 11 月であり、主に上半分に多数の黄色の頭花をつけ、成熟すると灰白色の冠毛をつけた種子ができる。<sup>2,3)</sup>

本植物は、北アメリカ原産のいわゆる帰化植物として、戦後、急速に分布を広げ、現在では、日本全国の河川敷、土手、空地など、様々な場所で群生している。<sup>4,5)</sup> セイタカアワダチソウの拡散が成功したのは、高い種子生産性および地下茎による強い繁殖性に加え、アレロパシー効果によって周囲の植物の成長を抑制し、生育場を占有するためと考えられている。<sup>6-8)</sup> このようなセイタカアワダチソウの高い繁殖力は、在来植物の植生に悪影響を及ぼす恐れがあるため、我が国では、特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律において、要注意外来生物に選定されていた。現在は、生態系被害防止外来種に名称が変更され、重点対策外来種に選定されている。

一方、セイタカアワダチソウは、多様な二次代謝産物を含むため、天然物化学の観点からは、魅力的な植物である。セイタカアワダチソウの植物化学的研究は 20 世紀後半に活発に行われ、ポリアセチレン、<sup>9-12)</sup> ジテルペン、<sup>13-19)</sup> トリテルペン、<sup>20-22)</sup> フラボノイド配糖体、<sup>23,24)</sup> フェノール性化合物<sup>25)</sup> の単離、モノテルペンおよびセスキテルペンの存在が報告されている。<sup>7,26,27)</sup> また、このうちのいくつかの化合物およびその混合物は、生物間の相互作用に関わることが示唆されている。例えば、昆虫-植物間相互作用において、Morimoto は、セイタカアワダチソウに含まれるクレロダンジテルペンの kolavenic acid が、ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura* F.、ヤガ科) によるサツマイモ葉 (*Ipomoea batata*、ヒルガオ科) への食害を抑制することを明らかにした。<sup>28)</sup> Bosio らは、イラクサギンウ

ワバ幼虫 (*Trichoplusia ni*、ヤガ科) の生存率を著しく低下させる化合物が、セイタカアワダチソウ葉部由来の MeOH および *n*-hexane 抽出物に含まれることを明らかにした。<sup>29)</sup> 植物間相互作用においては、Shiojiri らは、セイタカアワダチソウ葉部由来の揮発性成分をダイズ (*Glycine max*、マメ科) に曝露すると、ハスモンヨトウによる食害が減少すること、種子におけるイソフラボン類の蓄積が高まることを明らかにした。<sup>30)</sup> また、セイタカアワダチソウ葉部由来の揮発性成分を曝露することにより、種子中のダイズサポニン類の含有量も増加することを明らかにした。<sup>31)</sup> さらに、その他の植物間相互作用の例として、セイタカアワダチソウに含まれるポリアセチレン化合物の *dehydromatricaria lactone* および *cis-dehydromatricaria ester* のヒエ (*barnyard millet*、イネ科) やレタス (*Lactuca sativa*、キク科) の幼苗に対する成長阻害活性が報告されている。<sup>10,21)</sup>

著者は、このようなセイタカアワダチソウの生物間相互作用に着目し、その詳細を化学的に解明する (活性成分を同定する) こと、また、著者の専門分野である生薬学の研究に応用することを志向している。その前段階として、本研究では、セイタカアワダチソウに含まれる二次代謝産物の構造を明らかにすることを試みた。特に、本研究では、セイタカアワダチソウ地下部に含まれる二次代謝産物のうち、天然物化学の観点から魅力的な構造のクレロダンジテルペン類およびポリアセチレン化合物を網羅的に単離し、それらの構造を各種スペクトルデータおよび物理化学的性質に基づき、確立した。



Fig. 1. *S. altissima* L. in the field photo by Nishidono Yuto

# 本論

## 第一章 クレロダンジテルペン

### 第一節 背景

クレロダンジテルペンは、数百種類以上の植物に含まれる二次代謝産物の一種であり、<sup>32,33)</sup> その中には、摂食阻害活性、オピオイド受容体アゴニスト、細胞毒性、抗寄生虫活性、抗真菌活性、抗菌活性、抗腫瘍活性など、魅力的な生物学的・薬理的活性を示すものがある。<sup>32,33)</sup>

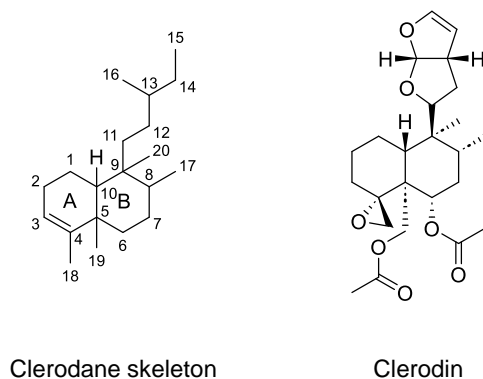
クレロダンジテルペンは、デカリン部分 (C1-C10) および9位の側鎖部分 (C-11-C16) からなる化合物であり、残りの4つの炭素 (C-17-C-20) は、デカリン上の4位、5位、8位、9位に結合している (Fig. 2)。<sup>32)</sup> また、クレロダンジテルペンの立体構造は、A/B環結合部の立体配置および、8位と9位のメチル基の関係によって分類される。つまり、H<sub>3</sub>-19/H-10—H<sub>3</sub>-17/H<sub>3</sub>-20の配置に基づき、*trans-cis* (TC)、*trans-trans* (TT)、*cis-cis* (CC)、*cis-trans* (CT) の4種のクレロダンジテルペンが定義される (Fig. 3)。<sup>32)</sup> さらに、CC型とCT型では、*cis*-A/B環の立体配座によって、2つのコンフォメーション (ステロイド性および非ステロイド性) が存在する可能性がある。しかしながら、これまでのX線結晶構造解析の結果から、*cis*-A/B環のコンフォメーションは、CC型ではステロイド性、CT型では非ステロイド性であることが示されている (Fig. 4)。<sup>14,34-36)</sup>

また、1979年にRogersらによって訂正されるまで、グループ名の由来となった *clerodin* に逆の絶対立体配置が与えられていたため、クレロダンジテルペンの絶対立体配置には、混乱が生じていた (Fig. 2)。<sup>37)</sup> そこで、現在では、混乱を防ぐため、*clerodin* と同じ絶対立体配置を持つ化合物を *neo-clerodane* (以前の *ent-clerodane*)、*clerodin* と逆の絶対立体配置の化合物を *ent-neo-clerodane* (以前の *clerodane*) と区別する方法がとられている (Fig. 3)。<sup>37)</sup>

これまでに単離されたクレロダンジテルペンのうち、約75%が *trans*-A/B環を

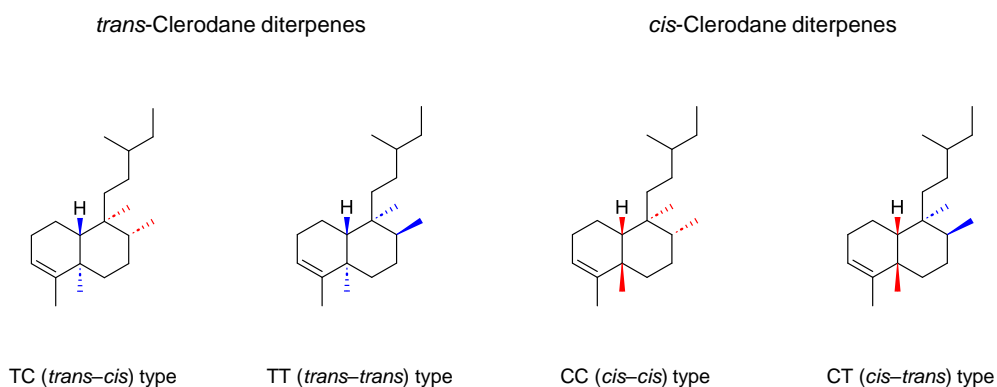
有し、<sup>32)</sup> ほとんどの場合、8位のメチル基 (C-17) と9位のメチル基 (C-20) の関係は、*cis* であることが確認されている。<sup>38)</sup> また、絶対立体配置について、*neo*-クレロダンでは *ent-neo*-クレロダンよりも数的に優勢である。<sup>38)</sup> これらの結果は、CT型の *ent-neo*-クレロダンが、クレロダンジテルペン類において、非常に稀な立体構造であることを示唆している。

キク科の *Solidago* 属は、クレロダンジテルペン類の豊富な供給源として確立されており、<sup>39,40)</sup> セイタカアワダチソウからは、20世紀後半に、いくつかのCT型の *ent-neo*-クレロダンジテルペン類が単離されている。<sup>14,19)</sup> 著者は、以降、クレロダンジテルペン類に着目したセイタカアワダチソウの詳細な成分研究が実施されていないことを踏まえ、本植物の植物化学的特性を再調査した。

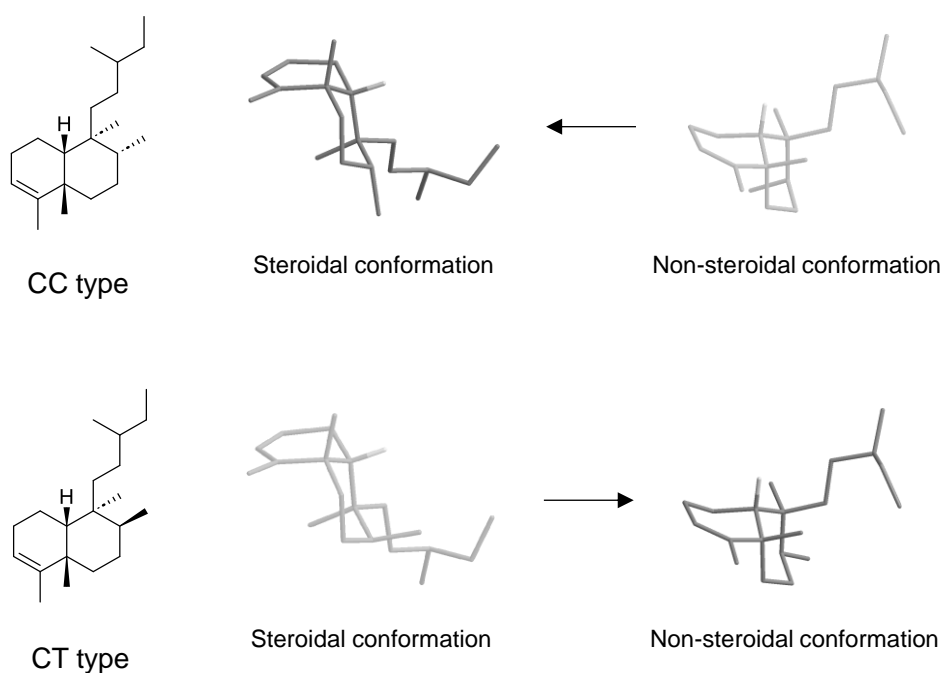


**Fig. 2.** Structure of clerodane diterpene





**Fig. 3.** Stereochemical configuration of the four types of clerodane skeletons  
 The *neo*-clerodane (*ent*-clerodane) diterpenes are shown. For the *ent-neo*-clerodane  
 (clerodane) diterpenes, the configuration is reversed at all positions.



**Fig. 4.** The *cis*-A/B ring conformation of *cis*-clerodane diterpenes

## 第二節 含有成分の抽出・単離

セイタカアワダチソウの地下部を風乾したもの (534 g) を、*n*-hexane で抽出し、*n*-hexane 抽出物 13.5 g を得た。このうち、10.9 g を順相、逆相クロマトグラフィーおよび分取 HPLC に付し、分離、精製することにより、5 種の新化合物 **1–5** を含む 15 種のクレロダンジテルペン類を単離・構造決定した (Fig. 5)。また、2 種の既知化合物 **6** および **7** の立体構造を改訂するとともに、各種スペクトルデータを文献のものと比較することにより、8 種の既知化合物を、solidagolactone III (**8**)、<sup>17,19)</sup> solidagolactone II (**9**)、<sup>17,19)</sup> solidagolactone VIII (**10**)、<sup>14,19)</sup> solidagolactone VII (**11**)、<sup>14,19)</sup> solidagolactone (**12**)、<sup>17,41)</sup> solidagonic acid (**13**)、<sup>42)</sup> kolavenic acid (**14**)、<sup>42)</sup> 2-oxo-solidagolactone (**15**)<sup>43)</sup> と同定した。

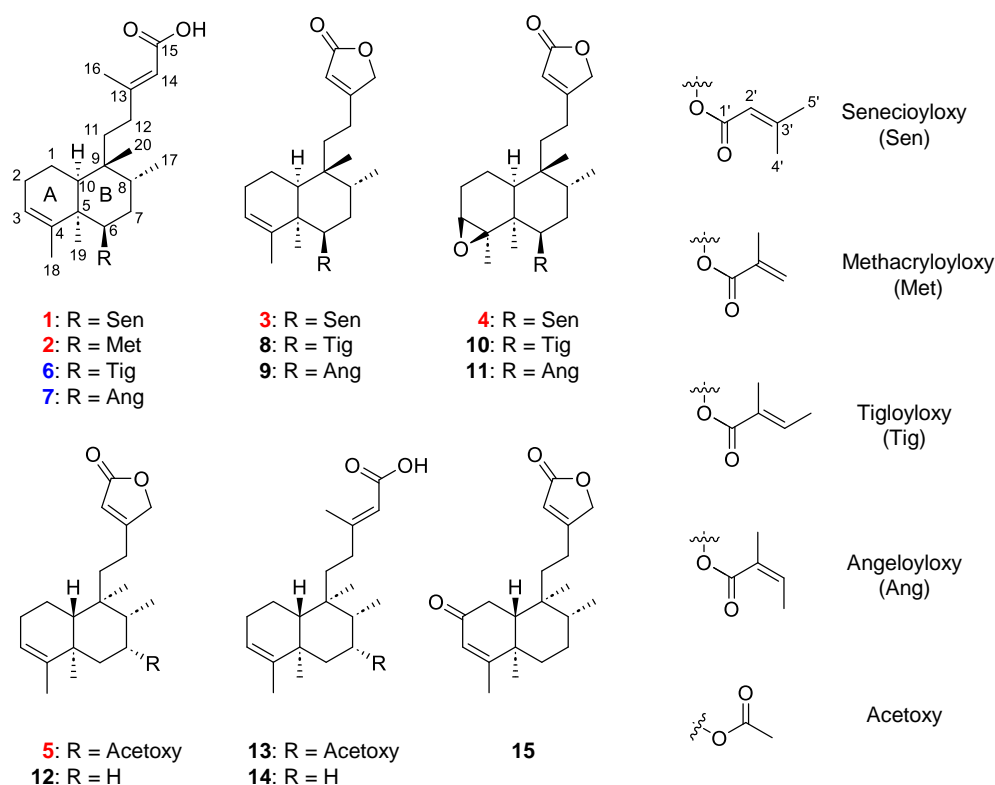


Fig. 5. Structures of isolated clerodane diterpenes 1–15

### 第三節 新化合物の構造決定および既知化合物の構造改訂

化合物 **1** は正の旋光性 ( $[\alpha]_D^{25} + 60.8$  in EtOH) を示す無色の油状物質として得られた。HR-ESI-MS スペクトルにおいて、擬似分子イオンピーク  $[M-H]^-$  が  $m/z$  401.2682 (calcd for  $C_{25}H_{37}O_4$ , 401.2697) に観測されたことから、その分子式を  $C_{25}H_{38}O_4$  と決定した。 $^1H$  NMR スペクトルより、7つのメチル基 [ $\delta_H$  0.84 (d,  $J=7.5$  Hz)、1.03 (s)、1.24 (s)、1.56 (brs)、1.88 (s)、2.15 (s)、2.19 (d,  $J=1.1$  Hz)]、1つの酸素化メチンプロトン [ $\delta_H$  4.96 (dd,  $J=2.9, 2.9$  Hz)]、3つのオレフィン性プロトン [ $\delta_H$  5.49 (brd,  $J=5.7$  Hz)、5.58 (brs)、5.70 (br)] の存在が明らかになった (Table 1)。このうち、 $\delta_H$  2.15 (H-4') および 1.88 (H-5') の2つのプロトンシグナルおよび  $\delta_H$  5.58 (H-2') のオレフィン性プロトンシグナルは、seneciolyoxy 基の存在を示唆した。<sup>44)</sup> 次に、化合物 **1** の  $^{13}C$  NMR スペクトルは 25 のカーボンシグナルを示し、そのうち、5つは seneciolyoxy 基 [ $\delta_C$  165.9 (C-1'), 156.0 (C-3'), 116.7 (C-2'), 27.4 (C-4'), 20.1 (C-5')] に割り当てられた。<sup>44)</sup> 残りの 20 のカーボンシグナルは、DEPT および HMQC スペクトルの解析結果とあわせ、カルボキシル炭素 1つ、四級炭素 4つ (オレフィン性 2つを含む)、メチレン炭素 5つ、メチン炭素 5つ (オレフィン性 2つを含む)、メチル基 5つと帰属した。本化合物の不飽和度は 7 であり、seneciolyoxy 基、4つのオレフィン性炭素、1つのカルボキシル炭素は 5つの不飽和度を占めるため、残りの 2つの不飽和度は、2つの環構造の存在を示唆した。

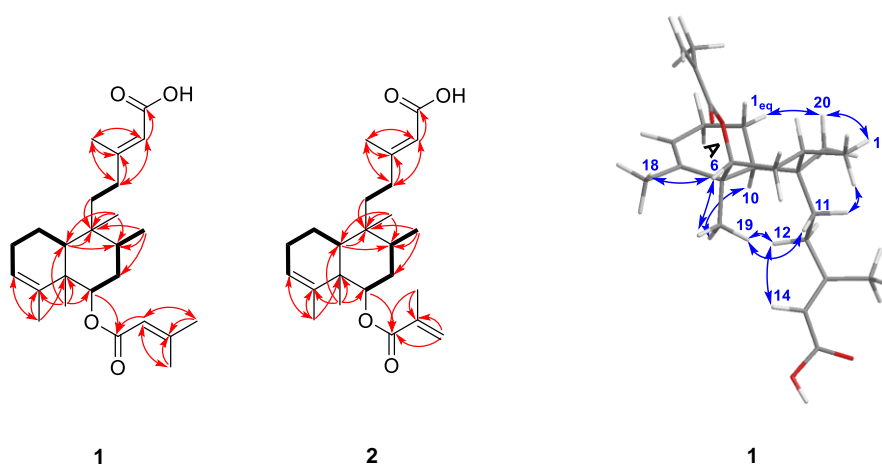
次に、これらの NMR スペクトルデータに加え、2次元 NMR スペクトルデータの解析を行ったところ、化合物 **1** は、4つのメチル基 (C-17-C-20) が結合した 6/6 縮合 A/B 環 (C-1-C-10) および C-11-C-16 からなる側鎖を含むクレロダンジテルペンであることが明らかになった。4位、5位、8位、9位にメチル基が結合した 6/6 縮合 A/B 環の存在は、H-10/H<sub>2</sub>-1/H<sub>2</sub>-2/H-3 間および H-6/H<sub>2</sub>-7/H-8/H<sub>3</sub>-17 間の COSY 相関、H-10 から C-8 および C-9、4位のメチル基 (H<sub>3</sub>-18) から C-3-C-5、5位のメチル基 (H<sub>3</sub>-19) から C-4-C-6 および C-10、8位のメチル基 (H<sub>3</sub>-17) から C-7-C-9、9位のメチル基 (H<sub>3</sub>-20) から C-8-C-10 への HMBC (Fig. 6) に基づき、確立された。特に、H<sub>3</sub>-19/C-10 の HMBC は、化合物 **1** がクレロダン骨格を有することを特徴づけた。<sup>45)</sup> また、側鎖部分の構造 (C-11-C-16) は、H<sub>2</sub>-12 から C-13/C-14/C-16、H<sub>3</sub>-16 から C-12/C-13/C-14、H-14 から C-12/C-15/C-16 への

HMBC と、H<sub>2</sub>-11 および H<sub>2</sub>-12 間の COSY 相関により確立された (Fig. 6)。最後に、H-11 から C-9、H-6 から C-1' への HMBC は、それぞれ C-9 と C-6 に側鎖部位と seneciolyloxy 基が結合していることを示した。

化合物 **1** の相対立体配置は、NOESY スペクトルおよびカップリング定数の解釈によって推論した (Fig. 6)。A/B 環結合部の相対立体配置は、H-10 と 5 位のメチル基 (H<sub>3</sub>-19) の NOESY 相関から *cis* 配置と決定し、そのコンフォメーションは、H-10 の分裂様式が *dd* であり、そのカップリング定数が 12.9 Hz (H-1<sub>ax</sub> との axial-axial カップリング) および 2.6 Hz (H-1<sub>eq</sub> との axial-equatorial カップリング) であることから非ステロイド性と決定した。なお、*cis*-A/B 環がステロイド性コンフォメーションの場合、H-10 は H-1<sub>ax</sub> および H-1<sub>eq</sub> と約 60° の二面角を有し、*J* 値が約 4.5 Hz になることが報告されている。<sup>46)</sup> 5 位のメチル基 (H<sub>3</sub>-19) と H-10、H-11、H-12 の NOESY 相関は、5 位のメチル基 (C-19)、H-10、側鎖 (C-11–C-16) が B 環の同一面にあり、側鎖 (C-11–C-16) が axial 位、9 位のメチル基 (C-20) が equatorial 位であることを示唆した。また、8 位のメチル基 (C-17) の equatorial 配置は、H<sub>3</sub>-17/H<sub>3</sub>-20 および H<sub>3</sub>-17/H-11 の NOESY 相関によって確立し、6 位の seneciolyloxy 基は、H-6 プロトンの分裂様式が *dd* であり、そのカップリング定数が 2.9 Hz (H-7<sub>ax</sub> との equatorial-axial カップリング) および 2.9 Hz (H-7<sub>eq</sub> との equatorial-equatorial カップリング) であることから、axial 配置と決定した。最後に、H-14/H<sub>2</sub>-12 の NOESY 相関から C-13、C-14 間の二重結合は *E* 配置と割り当てた (Fig. 6)。これらの結果より、化合物 **1** は Fig. 5 に示したような立体配置であり、旋光度を類似構造を有する既知の *ent-neo*-クレロダンジテルペン [solidagolactone II (**9**)、[α]<sub>D</sub><sup>17</sup>+69.5] と比較することにより、<sup>17,47,48)</sup> その絶対配置を 5*R*、6*R*、8*R*、9*R*、10*S* と決定した。よって、化合物 **1** の構造を (+)-(5*R*, 6*R*, 8*R*, 9*R*, 10*S*)-6-seneciolyloxy-*ent-neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid と確立した。

化合物 **2** は無色の油状物質として得られ、HR-ESI-MS スペクトルにおいて、*m/z* 387.2518 (calcd for C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>O<sub>4</sub>, 387.2541) に疑似分子イオンピーク [M–H]<sup>–</sup>を示したことから、分子式を C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> と決定した。化合物 **2** の 1 次元 NMR スペクトルは、異なるアシルオキシ基が存在することを除いて、化合物 **1** のものと類似していた (Table 1)。HR-ESI-MS および 2 次元 NMR スペクトルの解析結果から、化合物 **2** には、seneciolyloxy 基に代えて、methacryloyloxy 基が存在していることが明らかになった。Methacryloyloxy 基は、4 つのカーボンシグナル [δ<sub>C</sub>

166.8 (C-1'), 136.9 (C-2'), 125.2 (C-3'), 18.5 (C-4')] に加え、<sup>44)</sup>  $\delta_{\text{H}}$  1.91 (3H, brs, H-4') のビニルメチルプロトンシグナル、 $\delta_{\text{H}}$  6.03 (1H, brs, H-3'a) および 5.50 (1H, brs, H-3'b) のオレフィン性プロトンシグナルの存在により同定した。<sup>44)</sup> また、このアシルオキシ基は、H-6 から C-1' への HMBC によって、6 位に結合していることが明らかになった (Fig. 6)。また、NOESY 相関、カップリング定数、旋光度を解析した結果、化合物 **2** の立体化学は化合物 **1** と同じであることが確認された。したがって、化合物 **2** の構造を (+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-methacryloyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid と確立した。



**Fig. 6.** Key <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY correlations (bold dark lines), HMBCs (red arrows), and NOESY correlations (blue arrows) of compounds **1** and **2**

**Table 1.**  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) spectroscopic data of compounds **1** and **2** in  $\text{CDCl}_3$ 

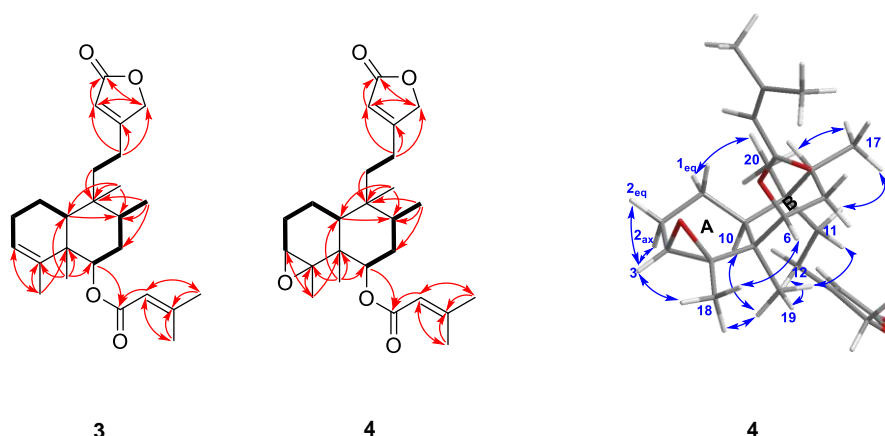
Position	<b>1</b>		<b>2</b>	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult ( <i>J</i> in Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult ( <i>J</i> in Hz)
1	21.9	1.91 overlap <sup>a</sup> 1.64 m	21.8	1.84 m 1.67 m
2	26.6	1.93 overlap <sup>a</sup> 1.84 m	26.4	2.01 overlap <sup>a</sup> 1.95 overlap <sup>a</sup>
3	124.6	5.49 brd (5.7)	124.4	5.49 brd (5.7)
4	138.1		138.0	
5	42.9		42.9	
6	73.4	4.96 dd (2.9, 2.9)	74.8	4.98 dd (2.6, 2.6)
7	31.6	1.78 m 1.55 overlap <sup>a</sup>	31.4	1.80 m 1.61 ddd (14.9, 3.0, 3.0)
8	32.0	1.96 overlap <sup>a</sup>	31.9	1.92 overlap <sup>a</sup>
9	38.5		38.5	
10	44.7	1.51 dd (12.9, 2.4)	44.4	1.55 overlap <sup>a</sup>
11	34.3	1.37 ddd (13.1, 13.1, 3.5) 1.99 overlap <sup>a</sup>	34.1	1.38 ddd (13.7, 13.3, 3.8) 1.99 overlap <sup>a</sup>
12	35.6	2.26 ddd (13.2, 13.2, 4.6) 2.07 ddd (13.2, 13.2, 3.4)	35.6	2.27 ddd (13.1, 13.1, 4.4) 2.08 ddd (13.1, 13.1, 3.4)
13	164.6		164.3	
14	114.7	5.70 brs	114.9	5.70 brs
15	171.2		171.8	
16	19.5	2.19 d (1.1)	19.5	2.20 d (1.1)
17	15.3	0.84 d (7.5)	15.4	0.85 d (6.8)
18	18.3	1.56 brs	18.3	1.54 brs
19	24.8	1.24 s	24.6	1.25 s
20	28.5	1.03 s	28.6	1.04 s
1'	165.9		166.8	
2'	116.8	5.58 brs	136.9	
3'	156.0		125.2	6.03 brs 5.50 brs
4'	20.1	2.15 s	18.5	1.91 brs
5'	27.4	1.88 s		

<sup>a</sup> Signals are overlapped, and the multiplicities could not be discerned.

化合物 **3** は無色の油状物質として得られた。HR-ESI-MS スペクトルにおける  $m/z$  423.2513  $[M + Na]^+$  (calcd for  $C_{25}H_{36}O_4Na$ , 423.2506) の疑似分子イオンピークから分子式を  $C_{25}H_{36}O_4$  と決定した。化合物 **3** と化合物 **1** の  $^1H$  および  $^{13}C$  NMR スペクトルの比較から、化合物 **3** には、seneciolyoxy 基および 4 つのメチル基が結合した 6/6 縮合 A/B 環が存在するとともに、側鎖部分の構造が化合物 **1** とは異なることが示唆された (Tables 1 および 2)。カーボンシグナル [ $\delta_C$  174.0 (C-15)、171.1 (C-13)、115.2 (C-14)、73.1 (C-16)] およびプロトンシグナル [ $\delta_H$  5.85 (1H, brs, H-14)、4.76 (2H, d,  $J=1.7$  Hz, H-16)] に加え、2次元 NMR スペクトルデータに基づき、化合物 **3** の側鎖部分の構造として、 $\alpha, \beta$ -不飽和ラクトンを確立した。<sup>49)</sup> また、UV 吸収極大 (213 nm) および IR 吸収帯 ( $1749\text{ cm}^{-1}$ ) は、 $\alpha, \beta$ -不飽和ラクトンの存在を支持した。<sup>50,51)</sup> このラクトンユニットは、HMBC ( $H_2-12/C-13$  および  $H_2-11/C-9$ ) と  $^1H-^1H$  COSY 相関 ( $H_2-11/H_2-12$ ) から、C-11 と C-12 からなるエチレンブリッジを介して C-9 とつながっていることが明らかになった (Fig. 7)。本化合物の相対立体配置は、NOESY 相関およびカップリング定数によって確立し、その立体は化合物 **1** と同じであった。さらに、化合物 **3** の絶対立体配置は、その旋光度 ( $[\alpha]_D^{25} +44.8$ ) を、類似構造を有する既知の *ent-neo*-クレロダンジテルペン [solidagolactone II (**9**)、 $[\alpha]_D^{17} +69.5$ ] と比較し、5*R*, 6*R*, 8*R*, 9*R*, 10*S* と決定した。<sup>17,47,48)</sup> よって、化合物 **3** の構造を (+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-seneciolyoxy-*ent-neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olide と確立した。

化合物 **4** は無色の油状物質として得られた。HR-ESI-MS スペクトルにおいて、 $m/z$  439.2447  $[M + Na]^+$  (calcd for  $C_{25}H_{36}O_5Na$ , 439.2455) の疑似分子イオンピークが検出されたことから、分子式を  $C_{25}H_{36}O_5$  と確定した。化合物 **4** の NMR スペクトルデータは、3 位および 4 位のケミカルシフト値を除いて、おおよそ新化合物 **3** と一致した (Table 2)。化合物 **3** におけるオレフィン性メチン [ $\delta_C$  124.6 (C-3)] およびオレフィン性四級炭素 [ $\delta_C$  137.9 (C-4)] が、化合物 **4** では、オキシメチン [ $\delta_C$  57.5 (C-3)] および四級炭素 [ $\delta_C$  61.7 (C-4)] であり、この結果および分子式は、C-3-C-4 エポキシ基の存在を示唆した。本化合物の相対配置に関して、5 位、6 位、8 位、9 位、10 位の立体配置は化合物 **3** と同じであることが NOESY スペクトルより明らかになった。また、H-3 の分裂様式は brs であり、小さい  $J$  値 (H-2<sub>ax</sub> との equatorial-axial カップリングおよび H-2<sub>eq</sub> との equatorial-equatorial カップリング) を示したことから、3,4-エポキシ環は、 $\beta$ -配置と決定した。なお、

$\alpha$ -エポキシ基の場合、H-3 の  $J$  値は約 5 Hz であることが示されている。<sup>19)</sup> さらに、H-3/H<sub>2</sub>-2 と H<sub>3</sub>-18/H<sub>3</sub>-19 の NOESY 相関から、3, 4-エポキシ環が  $\beta$  配向で存在することが裏付けられた (Fig. 7)。最後に、本化合物の旋光度 ( $[\alpha]_D^{25} -21.0$ ) を X 線結晶構造解析により絶対立体配置が決定されており、類似構造を有する *ent-neo*-クレロダンジテルペン [solidagolactone VIII (**10**)、 $[\alpha]_D^{25} -27.4$ ] と比較することにより、絶対立体配置を 3*S*, 4*R*, 5*S*, 6*R*, 8*R*, 9*R*, 10*S* と決定した。<sup>14,19)</sup> したがって、化合物 **4** の構造を (-)-(3*S*,4*R*,5*S*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-3,4-epoxy-6-seneciyoxy-*ent-neo*-clerod-13-en-15,16-olide と確立した。

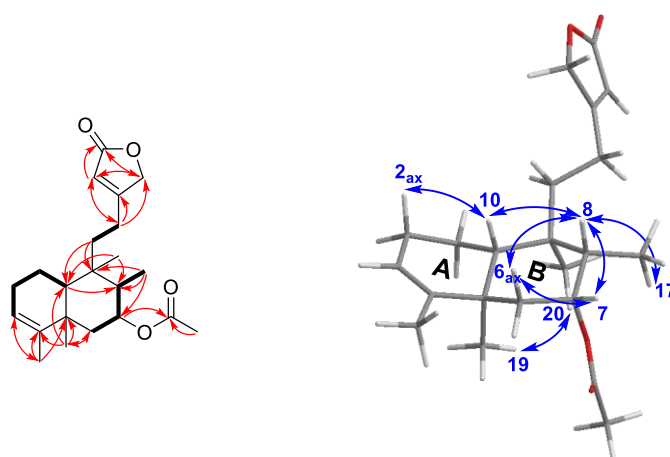


**Fig. 7.** Key <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY correlations (bold dark lines), HMBCs (red arrows), and NOESY correlations (blue arrows) of compounds **3** and **4**

化合物 **5** は無色の油状物質として得られ、HR-ESI-MS スペクトルの  $m/z$  383.2191 [ $M + Na$ ]<sup>+</sup> (calcd for C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>Na, 383.2193) の疑似分子イオンピークからその分子式を C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub> と決定した。<sup>1</sup>H NMR スペクトルにおける  $\delta_H$  2.07 (s, H<sub>3</sub>-2')、<sup>13</sup>C NMR スペクトルにおける  $\delta_C$  170.7 (C-1') および 21.5 (C-2') の典型的なシグナルから、acetoxy 基の存在を確立した (Table 3)。残りの 20 のカーボンシグナルは、化合物 **1-4** のものとの比較により、 $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和ラクトン (C-13-C-16)、エチレンブリッジ (C-11 および C-12)、4 つのメチル基が結合した 6/6 縮合 A/B 環 (C-1-C-10 と C-17-C-20) と推測した。2 次元 NMR スペクトルの解析



結果は、この推論を支持し、H-11 から C-9 および H-7 から C-1'への HMBC は、側鎖部分 (C-11-C-16) と acetoxy 基がそれぞれ C-9 と C-7 に結合していることを示唆した (Fig. 8)。さらに、NOESY 相関とカップリング定数から、化合物 **5** と化合物 **1-4** では、クレロダン骨格の立体配置が異なることが明らかになった (Fig. 8)。H-10 の axial 位は、分裂様式が dd であり、その  $J$  値が 12.2 Hz (H-1<sub>ax</sub> との axial-axial カップリング) および 2.1 Hz (H-1<sub>eq</sub> との axial-equatorial カップリング) であることから決定した。H-10 と H-2<sub>ax</sub>/H-8、H-8 と H-6<sub>ax</sub>/H-7 の NOESY 相関は、これら 5 つのプロトンが A/B 環において、同一面上に存在していることを示唆し、5 位のメチル基 (H<sub>3</sub>-19) と 9 位のメチル基 (H<sub>3</sub>-20) の相関は、これらの 2 つのメチル基が分子の反対面にあることを示唆した。よって、7 位に結合している acetoxy 基は axial 位、A/B 環結合部は *trans* 配置、equatorial 位の H<sub>3</sub>-17 (8 位のメチル基) と axial 位の H<sub>3</sub>-20 (9 位のメチル基) は *cis* 配置の関係であることが明らかになった。また、カップリング定数は、この相対立体配置を支持した。最後に、化合物 **5** の絶対立体配置は、その旋光度 ( $[\alpha]_D^{25} -60.7$ ) を、既知の類似構造を有する *neo*-クレロダンジテルペン [solidagonic acid methyl ester、 $[\alpha]_D^{13} -83.4$ ] と比較することにより、5*R*、7*R*、8*S*、9*R*、10*R* と決定した。<sup>52)</sup> したがって、化合物 **5** の構造を (-)-(5*R*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*)-7-acetoxy-*neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olide と確立した。



**Fig. 8.** Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY correlations (bold dark lines), HMBCs (red arrows), and NOESY correlations (blue arrows) of compound **5**

**Table 2.** <sup>1</sup>H NMR (500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (125 MHz) spectroscopic data of compounds **3** and **4** in CDCl<sub>3</sub>

Position	<b>3</b>		<b>4</b>	
	$\delta_C$	$\delta_H$ , mult ( <i>J</i> in Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ , mult ( <i>J</i> in Hz)
1	21.8	1.92 m 1.63 m	18.9	1.76 overlap <sup>a</sup> 1.40 m
2	26.6	2.04 m 1.87 overlap <sup>a</sup>	27.2	2.10 m 1.62 m
3	124.6	5.50 brd (5.7)	57.5	2.75 brs
4	137.9		61.7	
5	42.8		40.3	
6	73.0	4.97 dd (2.9, 2.9)	71.9	5.35 dd (4.6, 2.9)
7	31.6	1.77 m 1.60 overlap <sup>a</sup>	32.4	1.72 overlap <sup>a</sup> 1.53 overlap <sup>a</sup>
8	31.8	1.97 m	32.8	2.01 m
9	38.4		38.2	
10	44.8	1.52 overlap <sup>a</sup>	45.3	1.21 overlap <sup>a</sup>
11	33.7	2.08 m 1.51 overlap <sup>a</sup>	34.6	1.98 m 1.49 m
12	23.2	2.50 ddd (16.3, 12.5, 4.4) 2.34 ddd (16.3, 12.1, 4.3)	23.4	2.42 ddd (16.3, 12.3, 4.5) 2.28 ddd (16.3, 12.6, 4.0)
13	171.1		170.7	
14	115.2	5.85 brs	115.3	5.85 brs
15	174.0		173.9	
16	73.1	4.76 d (1.7)	73.0	4.75 d (1.7)
17	15.3	0.86 d (6.9)	15.7	0.88 d (6.9)
18	18.3	1.56 brs	21.8	1.31 brs
19	24.8	1.20 s	26.6	1.20 s
20	28.3	1.05 s	27.8	1.03 s
1'	166.8		166.1	
2'	116.5	5.58 brs	117.1	5.74 brs
3'	156.3		156.0	
4'	20.2	2.15 s	20.2	2.20 s
5'	27.4	1.88 s	27.5	1.91 s

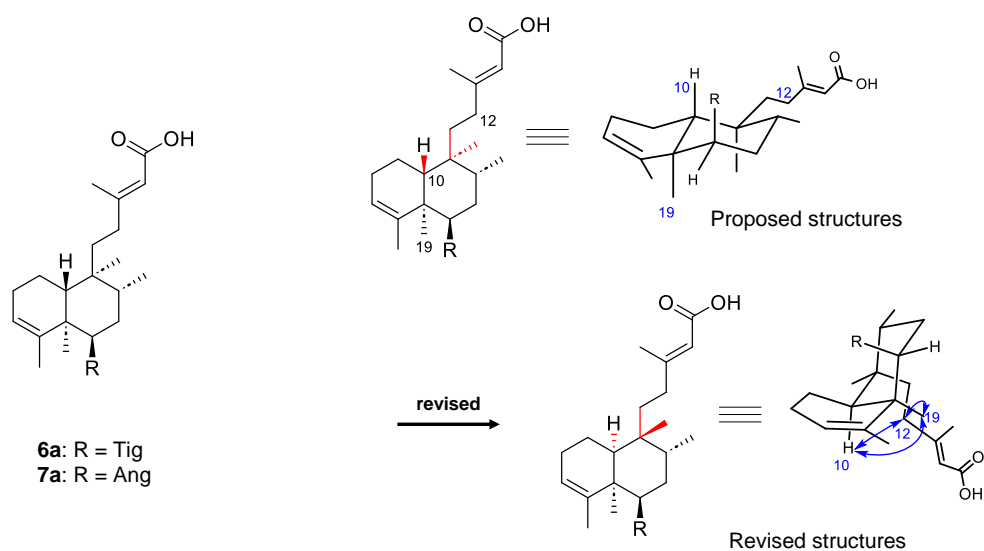
<sup>a</sup> Signals are overlapped, and the multiplicities could not be discerned.

**Table 3.**  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz) spectroscopic data of compound **5** in  $\text{CDCl}_3$

Position	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult ( $J$ in Hz)
1	17.9	1.58 overlap <sup>a</sup> (2H)
2	26.6	2.11 m 2.00 m
3	120.0	5.16 brs
4	144.4	
5	37.3	
6	39.8	2.15 dd (14.7, 2.6) 1.40 dd (14.7, 3.6)
7	74.8	5.14 ddd (3.4, 3.4, 3.4)
8	38.1	1.65 m
9	38.3	
10	46.3	1.43 dd (12.2, 2.1)
11	36.2	1.71 m 1.55 m
12	22.4	2.23 m (2H)
13	170.5	
14	115.2	5.85 brs
15	174.0	
16	73.0	4.74 d (1.7)
17	12.1	0.92 d (6.9)
18	18.0	1.59 brs
19	21.3	1.20 s
20	19.5	1.04 s
1'	170.7	
2'	21.5	2.07 s

<sup>a</sup> Signals are overlapped, and the multiplicities could not be discerned.

化合物 **6** および **7** は、無色の油状物質として単離された。NMR スペクトルや旋光度は、既知の 6 $\beta$ -tigloyloxy kolavenic acid (**6a**) および 6 $\beta$ -angeloyloxy kolavenic acid (**7a**) によく一致し (Tables 4 および 5)、<sup>18,41</sup> 化合物 **6** および **7** がそれぞれ **6a** および **7a** と同じ化合物であることを示唆した。しかしながら、化合物の NOESY スペクトルは、報告されている構造 (**6a** および **7a**) の相対立体配置と矛盾しており、このことは、Kurisawa らによっても報告されていた。<sup>42</sup> そこで、NOESY スペクトルデータを再度詳細に解析した結果、H-10/H<sub>3</sub>-19/H<sub>2</sub>-12 の NOESY 相関が明らかになった。なお、これらの相関は、シグナルの重なりを避けるため、化合物をメタノール-*d*<sub>4</sub> 中で測定することによって得られた。H-10/H<sub>3</sub>-19/H<sub>2</sub>-12 の NOESY 相関は、H-10、H<sub>3</sub>-19 および側鎖 (C-11-C-16) が B 環の同一平面に存在すること、クレロダン骨格が非ステロイド性の *cis* 型であることを示唆するものであった (Fig. 9)。加えて、NOESY スペクトル、旋光度、カップリング定数より、化合物 **6** および **7** の絶対立体配置は、化合物 **1** と同じであることが明らかになった。よって、**6a** および **7a** の構造は、(+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-tigloyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**6**) および (+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-angeloyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**7**) にそれぞれ改訂された。



**Fig. 9.** Stereochemical revisions of **6a** and **7a** to CT type from TC type  
Key NOESY correlations are indicated by the blue arrows.

**Table 4.** Comparison of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts between isolated compound **6** and known compound **6a**

Position	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$ , mult ( $J$ in Hz)	
	<b>6</b>	<b>6a</b>	<b>6</b>	<b>6a</b>
1	21.9	21.8		
2	26.6	26.5		
3	124.3	124.2	5.49 brd ( $J = 5.2$ )	5.39 br
4	138.3	138.2		
5	43.0	42.9		
6	74.5	74.4	4.98 brs	4.87 brs
7	31.6	31.5		
8	32.0	31.9		
9	38.6	38.5		
10	44.5	44.4		
11	34.3	34.6		
12	35.7	35.5		
13	164.4	162.9		
14	114.9	116.2	5.70 brs	5.54 brs
15	171.5	172.2		
16	19.6	19.4	2.19 d ( $J = 1.1$ )	2.14 d ( $J = 1.5$ )
17	15.4	15.3	0.84 d ( $J = 6.8$ )	0.85 d ( $J = 6$ )
18	18.4	18.2	1.54 brs	1.51 s
19	24.8	24.7	1.25 s	1.25 s
20	28.6	28.5	1.04 s	1.03 s
1'	167.7	167.5		
2'	129.2	129.1		
3'	136.8	136.7	6.78 qq ( $J = 6.8, 1.2$ )	6.62 d ( $J = 6$ )
4'	14.5	14.3	1.77 d ( $J = 6.8$ )	1.75 ( $J = 6$ )
5'	12.3	12.1	1.79 d ( $J = 1.2$ )	1.72 brs

**Table 5.** Comparison of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts between isolated compound **7** and known compound **7a**

Position	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$ , mult ( $J$ in Hz)	
	<b>7</b>	<b>7a</b>	<b>7</b>	<b>7a</b>
1	21.7	21.6		
2	26.5	26.5		
3	124.5	124.5	5.48 d ( $J = 5.7$ )	5.40 br
4	138.1	138.0		
5	42.9	42.9		
6	74.0	74.0	5.02 brs	4.92 brs
7	31.7	31.6		
8	31.9	31.9		
9	38.5	38.4		
10	44.4	44.3		
11	34.2	34.2		
12	35.6	35.5		
13	164.4	162.9		
14	114.8	115.6	5.70 brs	5.55 brs
15	171.3	172.1		
16	19.5	19.4	2.19 d ( $J = 1.2$ )	2.14 d ( $J = 1.5$ )
17	15.5	15.5	0.85 d ( $J = 6.9$ )	0.85 d ( $J = 6$ )
18	18.3	18.3	1.56 brs	1.54 brs
19	24.7	24.7	1.25 s	1.26 s
20	28.6	28.5	1.03 s	1.03 s
1'	167.1	167.0		
2'	128.3	128.3		
3'	137.6	137.5	5.99 qq ( $J = 7.2, 1.7$ )	5.90 d ( $J = 6$ )
4'	15.4	15.3	1.98 d ( $J = 7.2$ )	1.82 d ( $J = 6$ )
5'	20.7	20.7	1.82 brs	1.78 brs

## 第四節 $^{13}\text{C}$ NMR ケミカルシフト値に基づくクレロダン

### 骨格の相対立体配置の決定

クレロダン骨格由来のプロトンシグナルは、 $^1\text{H}$  NMR スペクトル上において重なることが多い。このことは、個々のシグナルのカップリング定数を算出することができないことや、NOESY スペクトルにおける相関を判別できないことにつながるため、結果として、クレロダン骨格の相対立体配置を NMR スペクトルデータの解析に基づき、決定するのは、困難な場合が多い。このような状況を反映し、クレロダンジテルペン類の立体構造の割り当ての間違いがしばしば報告されており、本研究においても、2つの既知のクレロダンジテルペンの立体構造の改訂を行った。正確に立体構造を決定する方法の1つとして、単結晶 X 線構造解析があげられるが、本手法は、良質な単結晶を得る必要があるため、汎用性の高い解析法であるとは言い難い。そこで、次に、本研究では、NOESY スペクトルデータの解析や単結晶 X 線構造解析を行わず、クレロダン骨格の相対立体配置を決定するための方法を確立した。具体的には、単離したクレロダンジテルペン類と既知の代表的なクレロダンジテルペン類の  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルデータを解析することにより (Figs. 10 および 11)、4 種類のクレロダンジテルペン類 (Fig. 3) を区別する  $^{13}\text{C}$  NMR ケミカルシフト値のパターンを確立した。

初めに、A/B 環結合部の相対立体配置について、Manabe らは、*cis*-クレロダンジテルペン類の 5 位のメチル基 (C-19) は  $\delta_{\text{C}}$  20 ppm より高い領域、特に  $\delta_{\text{C}}$  25 ppm 付近に検出されるのに対し、*trans*-クレロダンジテルペン類では、 $\delta_{\text{C}}$  11-19 ppm で検出されると報告した。<sup>19)</sup> 本研究では、既知のクレロダンジテルペン類の  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルを詳細に解析した結果、5 位のメチル基 (C-19) が  $\delta_{\text{C}}$  25 ppm 付近に検出されるのは、*cis*-クレロダンジテルペン類のうち CT 型のみであり、CC 型では、5 位のメチル基 (C-19) は、 $\delta_{\text{C}}$  30-35 ppm に現れることが明らかになった。また、*trans*-クレロダンジテルペン類では、C-17 と C-20 の相対立体配置にかかわらず、5 位のメチル基 (C-19) は 20 ppm 付近に現れた (Table 6)。

次に、8 位および 9 位のメチル基 (C-17 および C-20) の関係について、Nogueira らは、C-17 と C-20 間の  $^{13}\text{C}$  NMR ケミカルシフト値の差 ( $\Delta\delta_{\text{C}20-\text{C}17}$ ) が、C-17 と C-20 が *trans* 配置の場合では、CT 型と TT 型でそれぞれ約 11 ppm と 6 ppm であ

ること、C-17 と C-20 が *cis* 配置の場合 (TC 型および CC 型) では、A/B 環結合部の相対立体配置に関わらず、2 ppm 以下であることを報告した。<sup>53)</sup> 本研究では、調査する化合物数を増やして解析を行った結果、8 位のメチル基 (C-17) と 9 位のメチル基 (C-20) の関係が *cis* の場合 (TC 型および CC 型)、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  は、A/B 環結合部の立体配置に関わらず、約 3 ppm 以下になることが明らかになった (Table 6)。また、この結果は、ほとんどのクレロダンジテルペン類に適用可能であるが、8 位のメチル基 (C-17) と *cis* の関係にある置換基を 7 位に有する TC 型化合物では、C-17 のケミカルシフト値が高磁場シフトすることにより、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  が約 8 ppm になり、確立したパターンと一致しない結果が得られた (Table 6)。

<sup>13</sup>C NMR ケミカルシフトは、 $\delta$  位までの置換基の影響を受け、特に、 $\gamma$  炭素の存在による <sup>13</sup>C NMR ケミカルシフト値の高磁場シフトは、 $\gamma$ -ゴース相互作用による立体圧縮効果に起因するとされている。<sup>54)</sup> TC 型および TT 型 (*trans*-A/B 環)、CT 型 (*non-steroidal cis*-A/B 環)、CC 型 (*steroidal cis*-A/B 環) では、A/B 環のコンフォメーションが異なり、5 位のメチル基 (C-19) と  $\gamma$ -ゴース相互作用を示す炭素数に違いがあるため、C-19 の <sup>13</sup>C NMR ケミカルシフト値は異なる値 (TC 型および TT 型は約 20 ppm、CT 型は約 25 ppm、CC 型は 30 ppm 以上) を示したと考えられる。<sup>19)</sup> 加えて、8 位のメチル基 (C-17) と *cis* の関係にある置換基を 7 位に有する TC 型化合物の C-17 のケミカルシフト値の高磁場シフトも、 $\gamma$ -ゴース相互作用によるものと考えられる。また、C-17 と C-20 の配置は、TC 型および CC 型では equatorial-axial 配置、TT 型では axial-axial 配置、CT 型では equatorial-equatorial 配置であり、これらの立体に依存して  $\Delta\delta_{C20-C17}$  は異なる値 (TC 型および CC 型は 3 ppm 以下、TT 型は約 6 ppm、CT 型は 10 ppm 以上) を示したと考えられる。

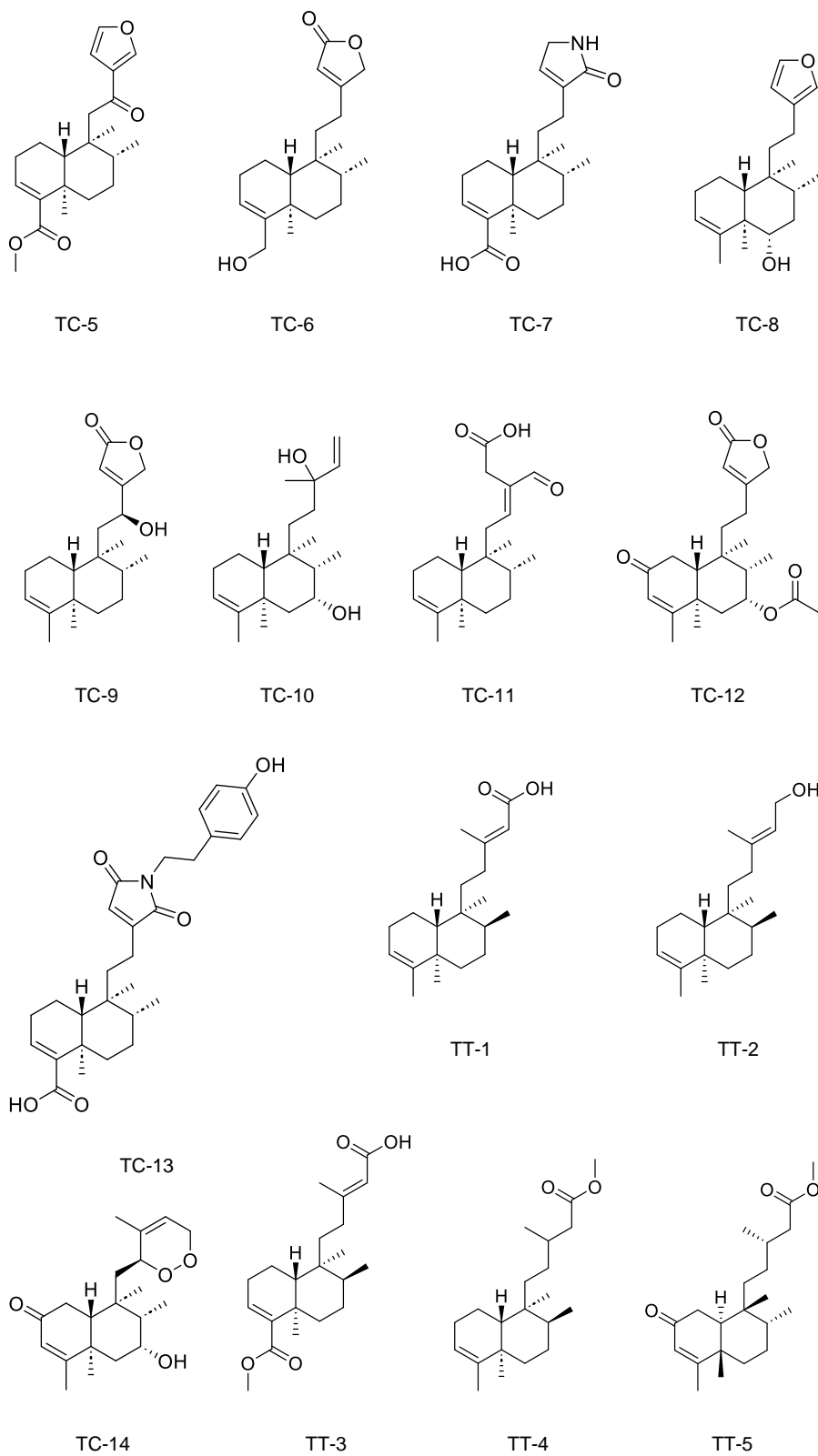
さらに、<sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて、*cis-ent-neo*-クレロダンジテルペン類の 9 位のメチル基 (H<sub>3</sub>-20) は、*cis-neo*-クレロダンジテルペン類の対応するメチル基 ( $\delta_H$  0.84) から低磁場シフトしたケミカルシフト値 ( $\delta_H$  1.08) を示すという研究もある。<sup>55)</sup> しかしながら、NMR スペクトルのケミカルシフト値は化合物の絶対立体配置に依存しないため、この研究報告は受け入れがたい。この点に関して、Table 7 は、*cis*-クレロダンジテルペン類の絶対配置が *ent-neo* または *neo* のいずれであっても、9 位のメチル基 (H<sub>3</sub>-20) のプロトンシグナルが CC 型では  $\delta_H$  1.0 ppm 以下、CT 型では  $\delta_H$  1.0 ppm 以上で検出されたことを示している。



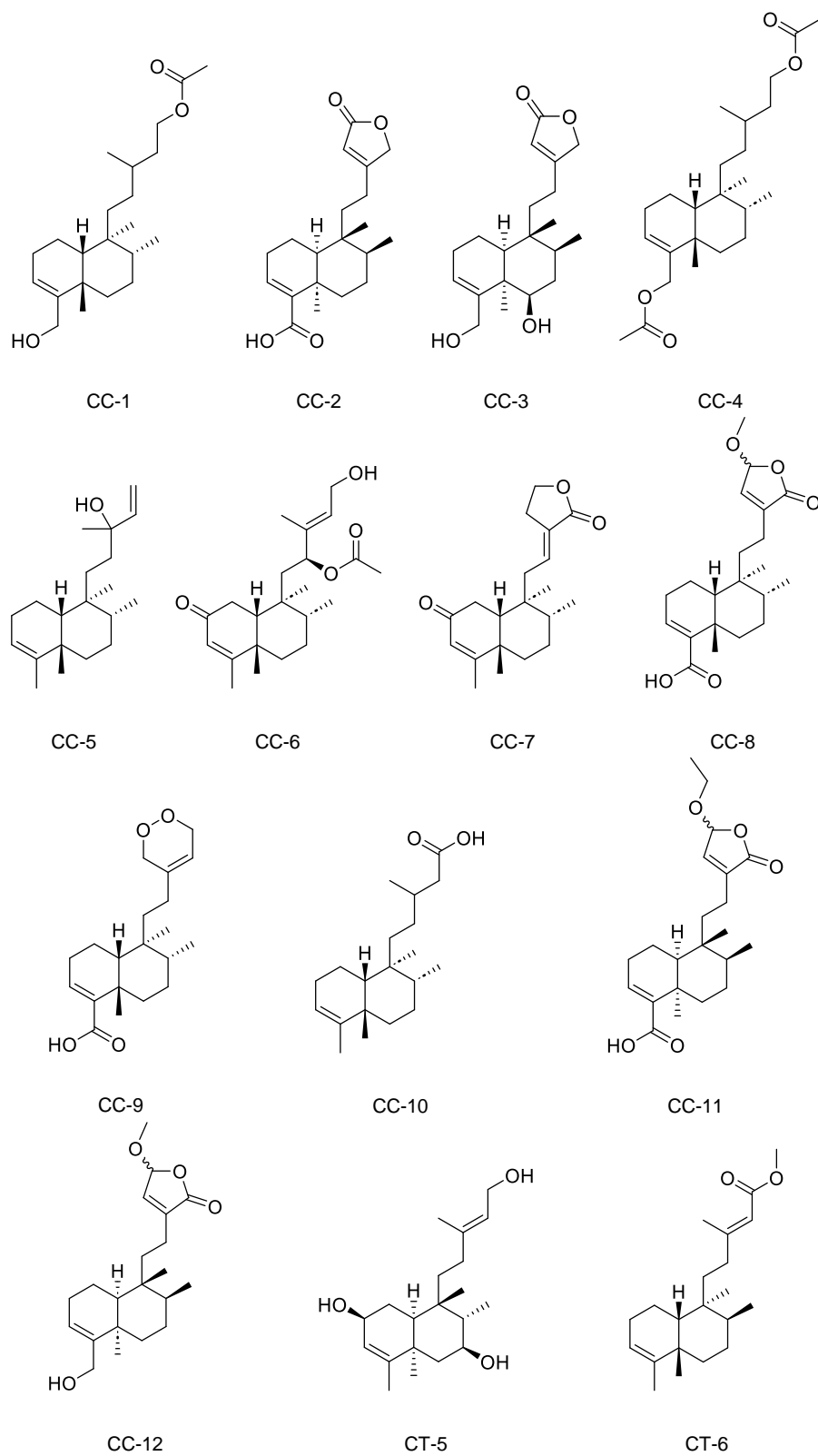
**Table 6.**  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopic data for the methyl groups of representative clerodanes

Type-label	Compounds	$\delta_{\text{C}}$ in ppm ( $\text{CDCl}_3$ )			
		C-17	C-19	C-20	$\Delta\delta_{\text{C}20-\text{C}17}$
TC-1	Solidagolactone ( <b>12</b> )	16.0	<b>19.9</b>	18.2	<b>2.2</b>
TC-2	Solidagonic acid ( <b>13</b> )	12.2	<b>21.5</b>	19.7	7.5 <sup>a</sup>
TC-3	Kolavenic acid ( <b>14</b> )	16.1	<b>20.0</b>	18.4	<b>2.3</b>
TC-4	2-Oxo-solidagolactone ( <b>15</b> )	15.8	<b>18.3</b>	17.8	<b>2.0</b>
TC-5	Crotodictyo H <sup>56)</sup>	16.9	<b>20.8</b>	17.9	<b>1.0</b>
TC-6	16,18-Dihydroxykolavenic acid lactone <sup>57)</sup>	15.0	<b>20.3</b>	18.0	<b>3.0</b>
TC-7	Echinophyllin C <sup>b, 58)</sup>	17.2	<b>22.1</b>	19.5	<b>2.3</b>
TC-8	6 $\alpha$ -Hydroxyannonene <sup>59)</sup>	15.6	<b>22.3</b>	17.7	<b>2.1</b>
TC-9	12( <i>S</i> )-Hydroxycleroda-3,13-dien-16,15-olide <sup>60)</sup>	16.1	<b>20.2</b>	17.8	<b>1.7</b>
TC-10	7 $\alpha$ -Hydroxy kolavelool <sup>61)</sup>	12.4	<b>21.8</b>	20.2	7.8 <sup>a</sup>
TC-11	3,12 <i>E</i> -Kolavadien-15-oic acid-16-al <sup>62)</sup>	16.2	<b>19.7</b>	17.9	<b>1.7</b>
TC-12	Lasianthin <sup>63)</sup>	12.0	<b>19.0</b>	18.1	6.1 <sup>a</sup>
TC-13	15-Oxo-echinophyllin A <sup>c, 64)</sup>	16.4	<b>21.3</b>	18.7	<b>2.3</b>
TC-14	Stachysperoxide <sup>65)</sup>	12.5	<b>20.3</b>	19.4	6.9 <sup>a</sup>
TT-1	(5 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> )-Cleroda-3,13 <i>E</i> -dien-15 oic acid <sup>53)</sup>	14.8	<b>20.6</b>	20.4	<b>5.6</b>
TT-2	8 <i>S</i> -Kolavenol <sup>66)</sup>	14.9	<b>18.1</b>	20.4	<b>5.5</b>
TT-3	8 <i>S</i> -Kolavic acid 18-methyl ester <sup>67)</sup>	15.1	<b>20.7</b>	21.8	<b>6.7</b>
TT-4	Methyl (5 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> )-clerod-3-en-15-oate <sup>68)</sup>	14.8	<b>20.6</b>	20.4	<b>5.6</b>
TT-5	(5 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>R</i> ,10 <i>S</i> ,13 <i>S</i> )-Methyl-2-oxo-3-cleroden-15-oate <sup>69)</sup>	14.3	<b>18.7</b>	20.0	<b>5.7</b>
CC-1	15-Acetoxy-3-ene- <i>cis</i> -clerodan-18-ol <sup>70)</sup>	15.9	<b>35.0</b>	17.4	<b>1.5</b>
CC-2	Amphiacric acid A <sup>71)</sup>	16.1	<b>33.5</b>	18.1	<b>2.0</b>
CC-3	Amphiacrolide G <sup>71)</sup>	15.7	<b>31.3</b>	17.9	<b>2.2</b>
CC-4	15,18-Diacetoxy-3-ene- <i>cis</i> -clerodane <sup>70)</sup>	15.9	<b>34.6</b>	17.4	<b>1.5</b>
CC-5	13-Hydroxy- <i>cis-ent</i> -cleroda-3,14-diene <sup>55)</sup>	15.8	<b>33.0</b>	17.3	<b>1.5</b>
CC-6	Linarenone A <sup>72)</sup>	16.1	<b>31.8</b>	18.2	<b>2.1</b>
CC-7	Linarenone E <sup>72)</sup>	16.5	<b>31.9</b>	18.6	<b>2.1</b>
CC-8	15-Methoxyfloridolide A <sup>73)</sup>	15.8	<b>33.2</b>	18.0	<b>2.2</b>
CC-9	15(16)-Peroxy-3, 13-clerodadien-18-oic acid <sup>74)</sup>	15.9	<b>33.4</b>	18.0	<b>2.1</b>
CC-10	<i>epi</i> -Populifolic acid <sup>75)</sup>	16.0	<b>33.0</b>	17.4	<b>1.4</b>
CC-11	Scapanacin C <sup>76)</sup>	15.9	<b>33.4</b>	17.9	<b>2.0</b>
CC-12	Schizopleurolide A <sup>77)</sup>	16.5	<b>35.6</b>	17.8	<b>1.3</b>
CT-1	Solidagolactone III ( <b>8</b> )	15.3	<b>24.7</b>	28.4	<b>13.1</b>
CT-2	Solidagolactone II ( <b>9</b> )	15.3	<b>24.7</b>	28.3	<b>13.0</b>
CT-3	Solidagolactone VIII ( <b>10</b> )	15.7	<b>26.5</b>	27.6	<b>11.9</b>
CT-4	Solidagolactone VII ( <b>11</b> )	15.8	<b>26.6</b>	27.6	<b>11.8</b>
CT-5	Macranthin H <sup>b, 78)</sup>	11.0	<b>25.8</b>	30.0	<b>19.0</b>
CT-6	Methyl (5 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> )-cleroda-3,13 <i>E</i> -dien-15 oate <sup>53)</sup>	15.4	<b>27.7</b>	26.4	<b>11.0</b>

<sup>a</sup> The compounds have a substituent at the C-7.<sup>b</sup> Recorded in methanol- $d_4$ <sup>c</sup> Recorded in pyridine- $d_5$



**Fig. 10.** Structures of representative known *trans*-clerodanes



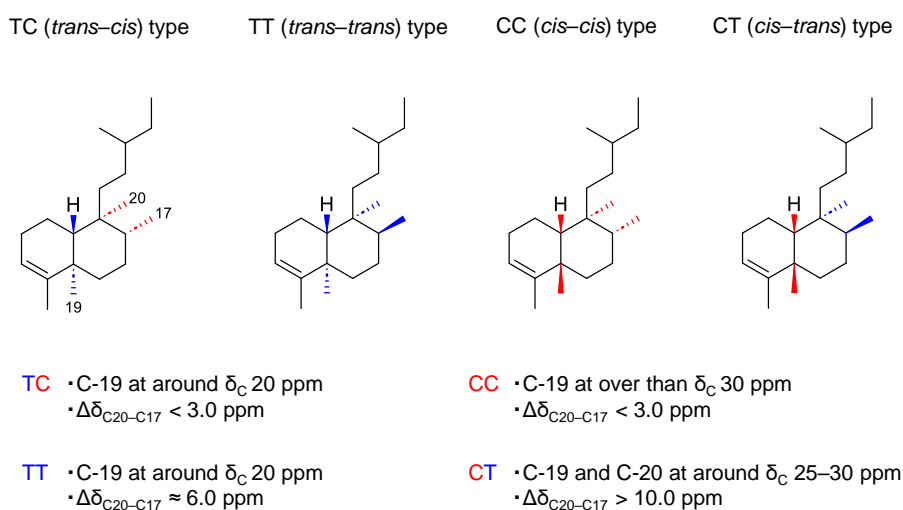
**Fig. 11.** Structures of representative known *cis*-clerodanes

**Table 7.**  $^1\text{H}$  NMR spectroscopic data ( $\delta$  in ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) for the methyl group ( $\text{H}_3$ -20) of the *cis*-clerodane skeletons

Types		Compounds	$\delta_{\text{H}}$
CC-1	<i>neo</i>	15-Acetoxy-3-ene- <i>cis</i> -clerodan-18-ol <sup>70)</sup>	0.72
CC-2	<i>ent-neo</i>	Amphiacric acid A <sup>71)</sup>	0.83
CC-3	<i>ent-neo</i>	Amphiacrolide G <sup>71)</sup>	0.82
CC-4	<i>neo</i>	15,18-Diacetoxy-3-ene- <i>cis</i> -clerodane <sup>70)</sup>	0.72
CC-5	<i>neo</i>	13-Hydroxy- <i>cis-ent</i> -cleroda-3,14-diene <sup>55)</sup>	0.77
CC-6	<i>neo</i>	Linarenone A <sup>72)</sup>	0.56
CC-7	<i>neo</i>	Linarenone E <sup>72)</sup>	0.66
CC-8	<i>neo</i>	15-Methoxyfloridolide A <sup>73)</sup>	0.80
CC-9	<i>neo</i>	15(16)-Peroxy-3, 13-clerodadien-18-oic acid <sup>74)</sup>	0.77
CC-10	<i>neo</i>	<i>epi</i> -Populifolic acid <sup>75)</sup>	0.81
CC-11	<i>ent-neo</i>	Scapanacin C <sup>76)</sup>	0.79
CC-12	<i>ent-neo</i>	Schizopleurolide A <sup>77)</sup>	0.80
CT-1	<i>ent-neo</i>	Solidagolactone III ( <b>8</b> )	1.06
CT-2	<i>ent-neo</i>	Solidagolactone II ( <b>9</b> )	1.05
CT-3	<i>ent-neo</i>	Solidagolactone VIII ( <b>10</b> )	1.04
CT-4	<i>ent-neo</i>	Solidagolactone VII ( <b>11</b> )	1.02
CT-5	<i>ent-neo</i>	Macranthin H <sup>a, 78)</sup>	1.07
CT-6	<i>neo</i>	Methyl (5 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> )-cleroda-3,13 <i>E</i> -dien-15 oate <sup>53)</sup>	1.03

<sup>a</sup> Recorded in methanol-*d*<sub>4</sub>.

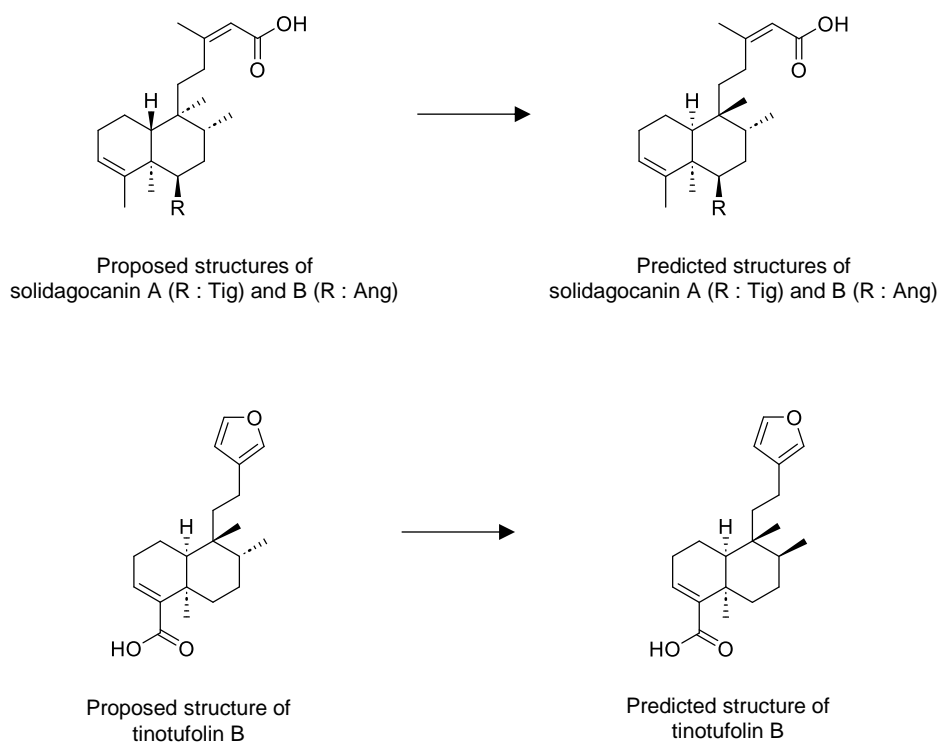
これらの結果に基づき、4種類のクレロダン骨格の相対立体配置を決定するための<sup>13</sup>C NMR ケミカルシフトパターンを次のように確立した (Fig. 12)。具体的に、*trans*-クレロダンジテルペン類の特徴的なケミカルシフトパターンとして、TC型は、20 ppm 付近に5位のメチル基 (C-19) が存在し、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  が 3.0 ppm 以下であること、TT型は、20 ppm 付近に5位のメチル基 (C-19) が存在し、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  が約 6 ppm であることを明らかにした。次に、*cis*-クレロダンジテルペン類の特徴的なケミカルシフトパターンとして、CC型は、5位のメチル基 (C-19) が  $\delta_C$  30 ppm 以上に確認でき、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  が 3.0 ppm 以下であること、CT型は、 $\delta_C$  25-30 ppm 付近に5位と9位のメチル基 (C-19 および C-20) が確認でき、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  が 10.0 ppm 以上であることを明らかにした。



**Fig. 12.** Empirical rules for distinguishing the four types of clerodane diterpenes

本研究において立体構造の改訂を行った化合物 **6** の5位のメチル基 (C-19) の<sup>13</sup>C NMR ケミカルシフト値は  $\delta_C$  24.8 ppm、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  は 13.2 ppm であり (Table 4)、化合物 **7** の5位のメチル基 (C-19) の<sup>13</sup>C NMR ケミカルシフト値は  $\delta_C$  24.7 ppm、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  は 13.1 ppm であった (Table 5)。これらの<sup>13</sup>C NMR ケミカルシフトパターンは、TC型よりもCT型の特徴に一致するため、本結果からも、既知化合物のTC型 (**6a** および **7a**) からCT型 (**6** および **7**) への立体構造の改訂は支持さ

れた。さらに、本ルールを既知のクレロダンジテルペン類に適用した結果、立体構造の改訂が必要と推測される化合物が多数見出された。例えば、solidagocanin A および B は TC 型のクレロダンジテルペンとして構造決定された。<sup>79)</sup> しかしながら、これらの化合物の 5 位のメチル基 (C-19) のケミカルシフト値は、約 25 ppm、 $\Delta\delta_{C20-C17}$  は、10 ppm 以上であり (Table 8)、このケミカルシフトパターンは、TC 型よりも CT 型に一致する。よって、solidagocanin A および B の立体構造は、TC 型でなく、CT 型である可能性がある (Fig. 13)。次に、tinotufolin B は、CT 型のクレロダンジテルペンとして報告されており、そのケミカルシフト値は、 $\delta_c$  16.0 (C-17)、33.4 (C-19)、18.0 (C-20) である。<sup>80)</sup> これらは、CT 型ではなく CC 型に相当する特徴である。また、tinotufolin B の CC 型異性体である 5-*epi*-hardwickiic acid のケミカルシフト値とほとんど一致することから (Table 8)、<sup>81)</sup> tinotufolin B の立体構造は、CT 型でなく CC 型である可能性が示唆された (Fig. 13)。なお、これらの示唆は、<sup>13</sup>C NMR のケミカルシフト値に基づく予測に過ぎないため、構造改訂を確証するためには、さらなる実験が必要と考えられる。



**Fig. 13.** Structures of some known clerodanes

**Table 8.**  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts of some known clerodanes

Position	Solidagocanin A	Solidagocanin B	Tinotufolin B	5- <i>epi</i> -Hardwickiic acid
1	34.2	34.2	16.9	16.8
2	26.5	26.5	24.5	24.0
3	124.2	124.5	142.4	138.3
4	138.2	138.0	137.8	138.6
5	42.9	42.9	40.3	36.2
6	74.4	74.0	36.8	36.9
7	31.5	31.6	28.7	28.5
8	31.9	31.9	37.9	37.7
9	38.5	38.4	36.3	40.2
10	44.4	44.3	45.5	45.3
11	21.8	21.6	38.5	38.3
12	35.6	35.6	18.1	18.0
13	164.3	164.2	125.7	125.6
14	115.0	115.0	111.0	110.9
15	172.3	172.0	138.4	138.8
16	19.5	19.5	142.7	142.6
17	15.4	15.4	16.0	15.9
18	18.3	18.3	173.7	168.5
19	24.7	24.7	33.4	33.5
20	28.6	28.6	18.0	17.9
1'	167.6	167.1		
2'	129.1	128.3		
3'	136.8	137.7		
4'	14.4	15.5		
5'	12.2	20.7		

## 第五節 小括

セイタカアワダチソウ地下部 *n*-hexane 抽出物より、5 種の新化合物を含む 15 種のクレロダンジテルペン類を単離、構造決定した。

このうち、新化合物 **1-4** は、非常に稀な立体構造である CT 型の *ent*-*neo*-クレロダンジテルペンと決定した。また、2 つの既知化合物の立体構造を各種 NMR スペクトルデータの解析および物理化学的性質に基づき、*neo*-TC 型から *ent*-*neo*-CT 型に改訂した。

4 種類のクレロダンジテルペンの相対立体配置を決定するための  $^{13}\text{C}$  NMR ケミカルシフトパターンを確立した。

確立したケミカルシフトパターンを既知のクレロダンジテルペン類に適用することで、立体構造の改訂が必要と推測される化合物を見出した。



## 第二章 ポリアセチレン

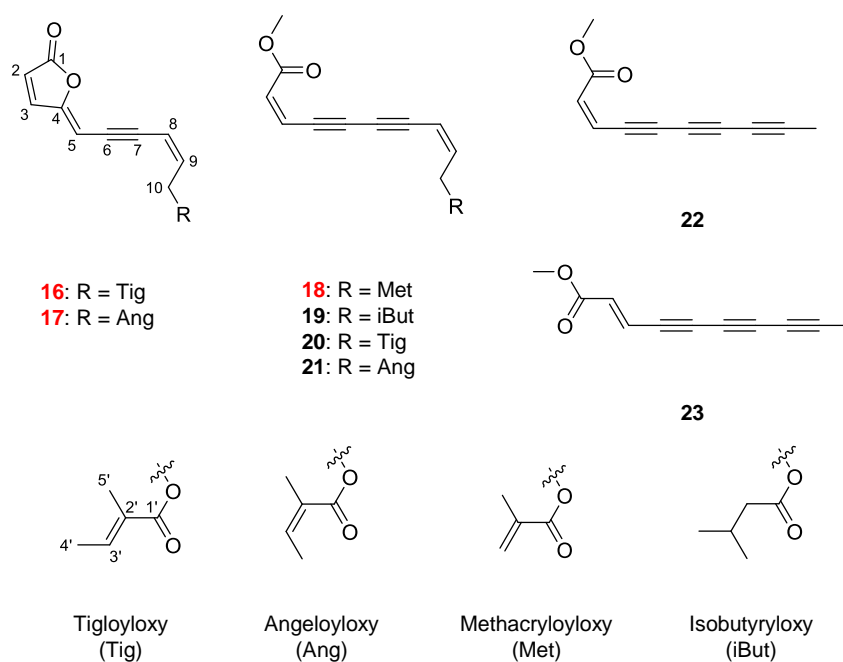
### 第一節 背景

天然アセチレン化合物は、炭素骨格に 1 つ以上の炭素-炭素三重結合またはアルキニル基を含む化合物のクラスである。<sup>82)</sup> ポリアセチレンという用語は、技術的に不正確であるが、複数の炭素-炭素三重結合を含むポリマーだけでなく、アセチレン結合を 1 つしか含まない多くの前駆体や代謝産物の場合においても、互換的に使用されている。<sup>82)</sup> ポリアセチレン化合物に関する研究は、それらの独特な化学構造と潜在的な生理学的機能によって、より広範なものになり、現代の薬理学的研究は、ポリアセチレン化合物が、抗腫瘍、免疫調節、神経保護、抗うつ、抗肥満、血糖降下、抗ウイルス、抗菌、抗真菌、肝保護、腎保護など、多様な生物活性を有していることを明らかにした。<sup>83)</sup> また、化学的研究によって、植物、コケ、地衣類、菌類、昆虫、カエル、尾索動物、海洋生物を含む広範囲の生物に 2,500 を超えるポリアセチレン化合物が含まれることが明らかになった。<sup>82,84)</sup> そのうち、2,000 を超えるポリアセチレン化合物は、セリ科、ウコギ科、キク科、他の 21 科の計 24 科の高等植物で同定されており、1,100 を超えるものは、キク科植物で発見されている。<sup>85)</sup>

いくつかのポリアセチレン化合物は、特定の連や属に限定的に分布しており、重要な化学分類学的マーカーとみなされている。<sup>85)</sup> 例えば、植物科間において、セリ科およびウコギ科植物は、 $C_{17}$  ポリアセチレン化合物を最も一般的に含有する一方、キク科植物では、*Anthemideae* 連、*Astereae* 連、*Heliantheae* 連を除いて、ほとんど  $C_{17}$  ポリアセチレン化合物が含まれないこと、そして、キク科植物には、多様なポリアセチレン化合物が含まれることが示されている。<sup>84)</sup> また、キク科の連間においては、チオフェンを含むポリアセチレン化合物は、*Heliantheae* 連の植物に典型的に見られ、*Anthemideae* 連および *Astereae* 連の植物には、基本的に含まれないことなどが示唆されている。<sup>85)</sup> 著者は、このようなポリアセチレン化合物の化学分類学的特性を踏まえ、セイタカアワダチソウに含まれるポリアセチレン化合物の構造を解明するとともに、それらの化学分類学的特徴を明らかにすることを試みた。

## 第二節 含有成分の抽出・単離

セイタカアワダチソウの地下部を風乾したもの (534 g) を、*n*-hexane で抽出し、*n*-hexane 抽出物 13.5 g を得た。このうち、10.9 g を順相、逆相クロマトグラフィーおよび分取 HPLC に付し、分離、精製することにより、3 種の新化合物 **16–18** を含む 8 種のポリアセチレン類を単離・構造決定した (Fig. 14)。5 種の既知化合物は、各種スペクトルデータを文献のものと比較することにより、(2*Z*,8*Z*)-10-isobutyryloxy matricaria ester (**19**)、<sup>86)</sup> (2*Z*,8*Z*)-10-tigloyloxy matricaria ester (**20**)、<sup>11)</sup> (2*Z*,8*Z*)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**)、<sup>11)</sup> *cis*-dehydromatricaria ester (**22**)、<sup>87)</sup> *trans*-dehydromatricaria ester (**23**)<sup>87)</sup> と同定した。

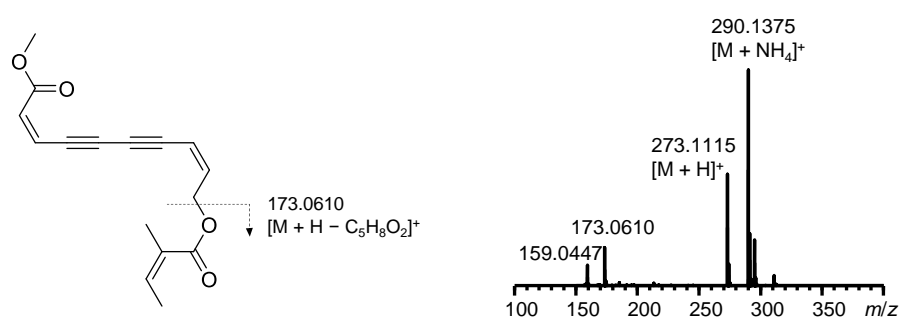


**Fig. 14.** Structures of isolated compounds **16–23**

### 第三節 新化合物の構造決定

本研究では、新化合物 **16–18** の構造を解明する際、MS スペクトルにおける既知化合物のフラグメントパターンを利用した。まず、既知化合物である (2Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**) を単離し、その HR-ESI-MS スペクトルにおけるフラグメントパターンを解析した (Fig. 15)。その結果、ポジティブイオンモードにおいて、 $m/z$  290.1375 のアンモニウム付加イオン  $[M + NH_4]^+$  および  $m/z$  273.1115 のプロトン化イオンピーク  $[M + H]^+$  がそれぞれ主要疑似分子イオンピークおよびマイナー疑似分子イオンピークとして同定された。また、特徴的なフラグメントイオンとして、 $m/z$  273.1115 のプロトン化分子イオンから angeloyloxy 基 (100 Da) が脱離したフラグメントイオン ( $m/z$  173.0610) の生成が確認された。 $m/z$  173.0610 は、基本骨格であるマトリカリアエステルに由来するものであった。これらの結果より、acyloxy matricaria esters のフラグメント様式として、アシルオキシ基が脱離することにより、ポリアセチレン骨格に由来するフラグメントイオンピークが生成することが明らかになった。

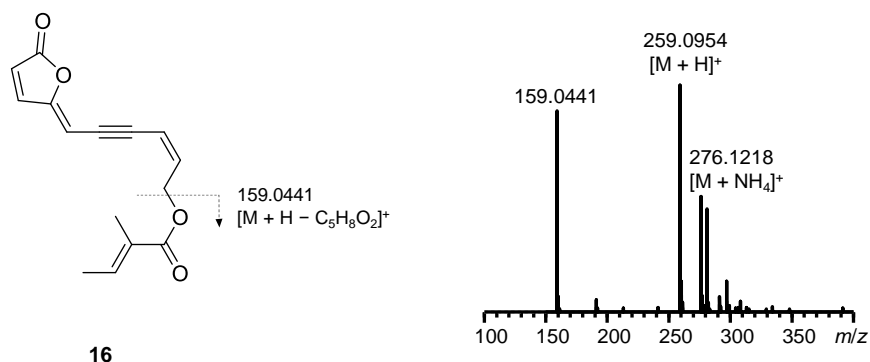
次に、上記の HR-ESI-MS 分析における解析結果および各種 NMR スペクトルデータの解析に基づき、新化合物 **16–18** の構造を確立した。



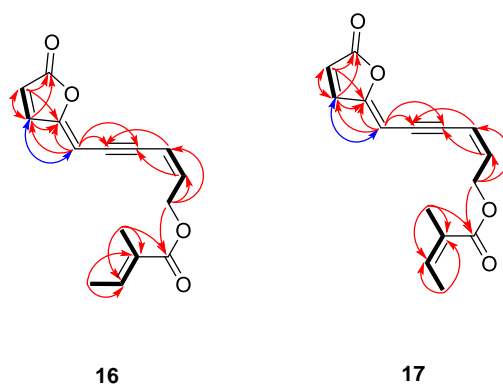
**Fig. 15.** Mass spectra and fragmentation pathways of (2Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**)

化合物 **16** は黄色の油状物質として得られ、HR-ESI-MS スペクトルにおいて、 $[\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4 + \text{H}]^+$  に対応する  $m/z$  259.0954 のプロトン化分子イオン  $[\text{M} + \text{H}]^+$  を示したことから、分子式を  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$  と決定した。また、 $m/z$  159.0441 のフラグメントイオンが観察され、 $m/z$  259.0954 からアシルオキシ基 (100 Da) が脱離したことが示唆された (Fig. 16)。 $m/z$  159.0441 のフラグメントイオンは既知化合物 **21** より、14 Da ( $\text{CH}_2$ ) 小さいことから、化合物 **16** の母骨格は、マトリカリアラクトンであることが示唆された。この推論は、NMR スペクトルデータにより検証され、<sup>88)</sup> その結果は、化合物 **16** の母骨格がマトリカリアラクトンであることを支持した (Fig. 17)。また、アシルオキシ基は、5 つのカーボンシグナル [ $\delta_{\text{C}}$  167.8 (C-1'), 128.3 (C-2'), 138.0 (C-3'), 14.4 (C-4'), 12.1 (C-5')] の存在から、tigloyloxy 基であると同一化した (Table 9)。<sup>44)</sup> <sup>1</sup>H NMR スペクトルにおける  $\delta_{\text{H}}$  1.80 (3H, dq, H-4') と 1.85 (3H, quin, H-5') の 2 つのビニルメチルプロトンシグナル、 $\delta_{\text{H}}$  6.91 (1H, qq, H-3') のオレフィン性プロトンは、tigloyloxy 基の存在を裏付けた。<sup>44)</sup> また、HMBC スペクトルにおける H-10 から C-1' への相関は、tigloyloxy 基が C-10 に結合していることを示した (Fig. 17)。最後に、H-3 と H-5 の NOESY 相関および H-8 と H-9 のカップリング定数 ( $J = 11.0$  Hz) から、マトリカリアラクトンの立体配置を 4Z および 8Z と決定した。よって、化合物 **16** の構造を (4Z,8Z)-10-tigloyloxy matricaria lactone と確立した。

化合物 **17** は黄色の油状物質として得られた。分子式および MS フラグメントパターンは化合物 **16** とほとんど一致し、1次元 NMR スペクトルは、異なる置換基の存在を除いて、化合物 **16** と類似していた。これらの結果は、化合物 **17** が tigloyloxy 基とは異なるアシルオキシ基を有するマトリカリアラクトンであることを示唆した。また、各種スペクトルデータの解析により、化合物 **17** は、tigloyloxy 基が angeloyloxy 基に置換した化合物であることが明らかになった。Angeloyloxy 基の構造は、5 つのカーボンシグナル [ $\delta_{\text{C}}$  167.7 (C-1'), 127.5 (C-2'), 138.7 (C-3'), 15.9 (C-4'), 20.6 (C-5')] および 3 つのプロトンシグナル [ $\delta_{\text{H}}$  2.00 (3H, dq, H-4'), 1.91 (3H, quin, H-5'), 6.10 (1H, qq, H-3')] を踏まえ (Table 9)、<sup>44)</sup> HMBC スペクトルの解析によって確立された (Fig. 17)。最後に、NOESY 相関とカップリング定数より、化合物 **17** のマトリカリアラクトン部分の立体配置は、化合物 **16** と同じであることが明らかになった (Fig. 17)。よって、化合物 **17** の構造を (4Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria lactone と確立した。



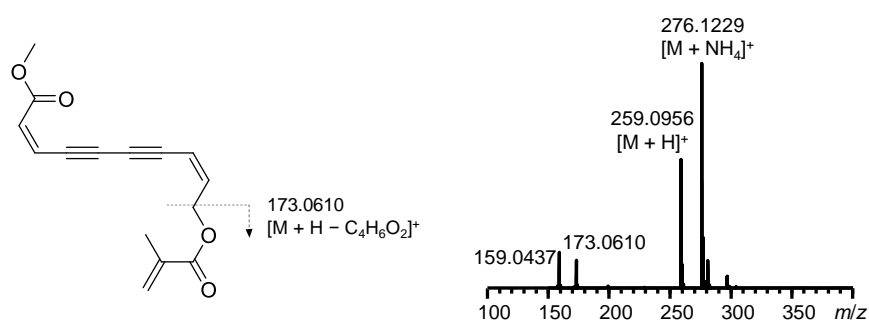
**Fig. 16.** Mass spectra and fragmentation pathways of a compound **16**



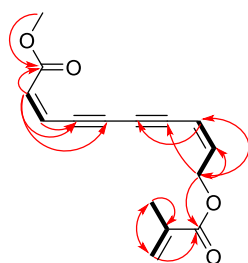
**Fig. 17.** Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY correlations (bold dark lines), HMBs (red arrows), and NOESY correlations (blue arrows) of compounds **16** and **17**

化合物 **18** は淡褐色の油状物質として得られ、その分子式は、HR-ESI-MS スペクトルにおいて、 $[\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4 + \text{H}]^+$  のプロトン化分子イオンピーク  $[\text{M} + \text{H}]^+$  が  $m/z$  259.0956 で検出されたことから決定した。加えて、 $m/z$  173.0610 のフラグメントイオンが観測され、プロトン化分子イオンからアシルオキシ基 (86 Da) が脱離したことが示唆された。 $m/z$  173.0610 のフラグメントイオンは既知化合物 **21** と一致したが、脱離したアシルオキシ基は既知化合物 **21** の angeloyloxy 基 (100 Da) よりも 14 Da ( $\text{CH}_2$ ) 小さいことが明らかになった (Fig. 18)。この結果

は、化合物 **18** が、methacryloyloxy、crotonyloxy、isocrotonyloxy などアシルオキシ基として含む、マトリカリアエステルであることを示唆した。アシルオキシ基の構造は、各種 NMR スペクトルデータにより、methacryloyloxy 基であると決定した。Methacryloyloxy 基は、 $\delta_c$  167.1 (C-1'), 135.9 (C-2'), 126.1 (C-3'), 18.3 (C-4') の存在によって確立し、<sup>44)</sup>  $\delta_H$  1.96 (3H、brs、H-4') のビニルメチルプロトンおよび2つのオレフィン性プロトン [ $\delta_H$  6.15 (1H、brs、H-3'a)、5.60 (1H、quin、H-3'b)] の存在によって裏付けられた (Table 10)。<sup>44,89)</sup> H-10 から C-1' への HMBC は、このアシルオキシ基が C-10 に結合していることを示した (Fig. 19)。最後に、C-2、C-3 間および C-8、C-9 間の二重結合の配置は、カップリング定数がそれぞれ 11.6 Hz と 11.0 Hz であることから、2Z、8Z と割り当てた。したがって、化合物 **18** の構造を (2Z,8Z)-10-methacryloyloxy matricaria ester と確立した。



**Fig. 18.** Mass spectra and fragmentation pathways of a compound **18**



**Fig. 19.** Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (bold dark lines) correlations and HMBCs (red arrows) of compound **18**

**Table 9.**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) spectroscopic data for compounds **16** and **17** in  $\text{CDCl}_3$

Position	<b>16</b>		<b>17</b>	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult ( $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult ( $J$ in Hz)
1	168.5		168.5	
2	121.0	6.29 dd ( $J = 5.4, 0.8$ )	121.0	6.29 dd ( $J = 5.4, 0.8$ )
3	142.4	7.41 d ( $J = 5.4$ )	142.4	7.41 d ( $J = 5.4$ )
4	156.5		156.5	
5	93.8	5.47 d ( $J = 2.6$ )	93.7	5.47 d ( $J = 2.6$ )
6	89.4		89.5	
7	96.9		96.8	
8	111.9	5.91 ddt ( $J = 11.0, 2.6, 1.5$ )	111.9	5.91 ddt ( $J = 11.0, 2.6, 1.5$ )
9	139.0	6.18 dt ( $J = 11.0, 6.5$ )	139.0	6.19 dt ( $J = 11.0, 6.5$ )
10	62.4	4.96 dd ( $J = 6.5, 1.5$ )	62.0	4.96 dd ( $J = 6.5, 1.5$ )
1'	167.8		167.7	
2'	128.3		127.5	
3'	138.0	6.91 qq ( $J = 7.1, 1.4$ )	138.7	6.10 qq ( $J = 7.3, 1.5$ )
4'	14.4	1.80 dq ( $J = 7.1, 1.1$ )	15.9	2.00 dq ( $J = 7.3, 1.5$ )
5'	12.1	1.85 quin ( $J = 1.1$ )	20.6	1.91 quin ( $J = 1.5$ )

**Table 10.**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz) spectroscopic data for compound **18** in  $\text{CDCl}_3$

Position	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult ( $J$ in Hz)
1	164.7	
2	121.8	6.27 ABq ( $J = 11.6$ )
3	131.4	6.24 ABqd ( $J = 11.6, 0.7$ )
4	78.9	
5	84.8	
6	79.7	
7	81.3	
8	111.3	5.81 dtd ( $J = 11.0, 1.5, 0.7$ )
9	141.0	6.25 dt ( $J = 11.0, 6.5$ )
10	62.6	4.93 dd ( $J = 6.5, 1.5$ )
1'	167.1	
2'	135.9	
3'	126.1	6.15 brs 5.60 quin ( $J = 1.1$ )
4'	18.3	1.96 brs
1-OCH <sub>3</sub>	51.8	3.79 s

## 第四節 生合成経路と化学分類学的意義

3 種の新化合物 **16–18** を含むポリアセチレン類の推定生合成経路を Fig. 20 に示す。キク科植物に含まれるポリアセチレン類は、一般に、オレイン酸やリノレン酸の  $\Delta^{12}$  位に最初のアセチレン結合を導入して生成されるクレペン酸から生合成される。<sup>82)</sup> クレペン酸は、さらに  $\Delta^{14}$  位で脱飽和し、デヒドロクレペン酸となり、これがアセチレン化されて対応するジアセチレン化合物になる。最近、セリ科植物である *Daucus carota* から  $\Delta^{12}$ -アセチレナーゼおよび  $\Delta^{14}$ -デサチュラーゼが単離され、その特徴が明らかになったが、<sup>90)</sup> デヒドロクレペン酸から  $C_{10}$  ポリアセチレンへの生合成の詳細は、未解明である。特に、 $C_{10}$  ポリアセチレン類は、 $C_{18}$  前駆体から鎖状構造の途中の結合を切断することによって生合成される可能性が高いが、これが通常の不飽和脂肪酸分解経路に続く 4 つの  $\beta$  酸化過程によるものなのか、9-リポキシゲナーゼ、デヒドロゲナーゼ、バイヤー・ビリガー酸化が連続的に起こることによる直接酸化なのか、明らかになっていない。<sup>82)</sup> この点に関して、Bohlmann と Burkhardt は、 $C_{18}$  前駆体から 8 位と 9 位の炭素原子を酸化的に切断することで、短鎖エステルが形成されると結論付けたが、<sup>91)</sup> Jente と Richter は、 $C_{10}$  ポリアセチレンの生合成が  $C_{18}$  前駆体のバイヤー・ビリガー酸化を経由することを支持しない結果を報告している。<sup>92)</sup> 最後に、水酸化に続くエステル化により、マトリカリアエステルおよびマトリカリアラクTONの 10 位にアシルオキシ基が導入されると考えられる。<sup>93)</sup> これまで、マトリカリアエステルの 10 位を水酸化、エステル化する生合成経路が存在することは示唆されていたが、同様の生合成経路がマトリカリアラクTONにおいても、存在するか不明であった。本研究において、10 位にアシルオキシ基を有するマトリカリアラクTON **16** および **17** を単離・構造決定した結果は、マトリカリアラクTONの 10 位を水酸化、エステル化する生合成経路が存在することを示唆した。

次に、これらのポリアセチレン化合物の化学分類学的意義について、Bohlmann らは、キク科植物の *Chrysothamnus parryi* から 7 つの 10-acyloxy matricaria esters を単離・構造決定し、これらの化合物が *Chrysothamnus* 属に特徴的である可能性があることを示唆するとともに、その詳細の確認のためには、さらなる調査が必要であると述べた。<sup>86)</sup> そこで、本研究では、これらの関連化合物を含むキク科植物を、化合物の分布に基づき、(2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters を含む植物



(Group I)、(2Z,8Z)-matricaria ester および (2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters の両方を含む植物 (Group II)、(2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters を含む植物 (Group III) の 3 つのグループに分類した (Table 11)。その結果、(2Z,8Z)-matricaria ester は 30 種以上のキク科植物に含まれている一方で、10 位にアシルオキシ基を有するマトリカリアエステルは、*Baccharis* 属、*Chrysothamnus* 属、*Solidago* 属の特定の数種のキク科植物にしか含まれないことが明らかになった。同時に、(2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters を含む植物は、*Chrysothamnus* 属に限らないことが明らかになった。また、ポリアセチレンの単離・構造決定が報告されている *Chrysothamnus* 属のすべての植物は、(2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters を含むことが明らかになった一方で、*Solidago* 属には *S. decurrens*、*S. odora*、*S. virgaurea* の (2Z,8Z)-matricaria ester を含む植物と、*S. altissima* と *S. canadensis* の (2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters を含む植物の両方が存在していることが明らかになった。これらの結果は、キク科植物におけるポリアセチレン類の化学分類学的意義を強調するものであり、ポリアセチレン類に着目した *Solidago* 属植物の成分研究によって、詳細な系統分類を明らかにできる可能性があることを示唆した。

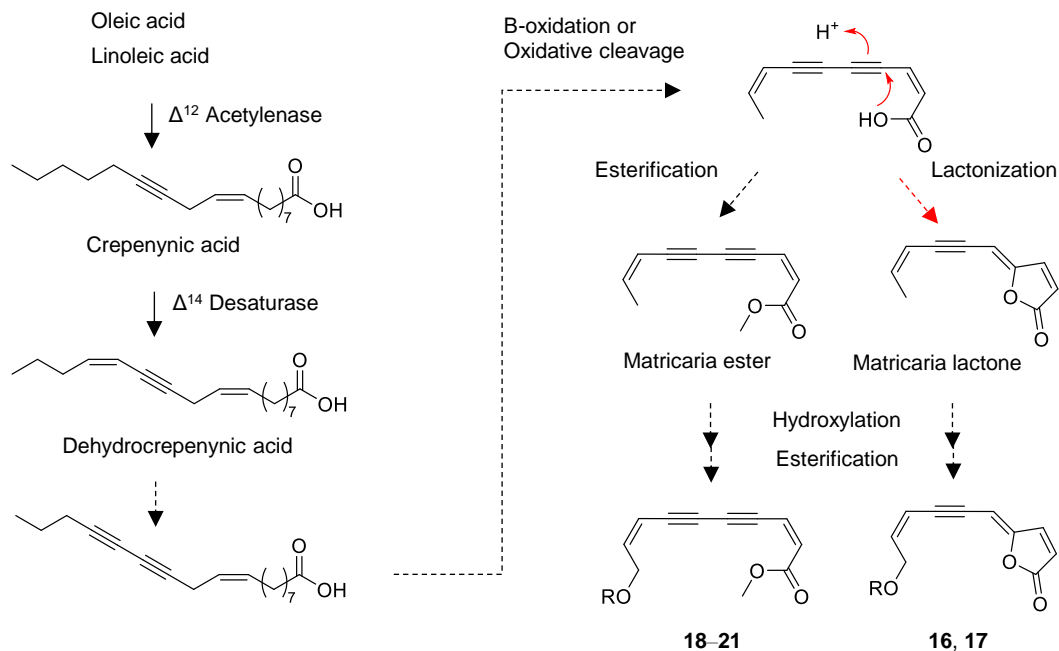


Fig. 20. Predictable biosynthesis pathway for some polyacetylenes from *S. altissima* L.

**Table 11.** Distribution of (2Z,8Z)-matricaria ester and its 10-acylated products in Asteraceae plants

Group I <sup>a</sup>	Group II <sup>b</sup>	Group III <sup>c</sup>
<i>Baccharis</i>	<i>Chrysothamnus</i>	<i>Aster</i>
<i>B. eleagnoides</i> <sup>94)</sup>	<i>C. parryi</i> <sup>86)</sup>	<i>A. bellidiastrum</i> <sup>96)</sup>
		<i>A. ptarmicoides</i> <sup>97)</sup>
<i>Chrysothamnus</i>		
<i>C. nauseous</i> <sup>95)</sup>		<i>Baccharis</i>
		<i>B. pedunculata</i> <sup>98)</sup>
<i>Solidago</i>		<i>B. subdentata</i> <sup>99)</sup>
<i>S. altissima</i>		
<i>S. canadensis</i> <sup>41)</sup>		<i>Calotis</i>
		<i>C. erinacea</i> <sup>100)</sup>
		<i>Chrysoma</i>
		<i>C. pauciflosculosa</i> <sup>101)</sup>
		<i>Conyza</i>
		<i>C. canadensis</i> <sup>102)</sup>
		<i>C. pallidiflora</i> <sup>103)</sup>
		<i>Diplopappus</i>
		<i>D. fruticosus</i> <sup>104)</sup>
		<i>Erigeron</i>
		<i>E. acris</i> <sup>105)</sup>
		<i>E. annuus</i> <sup>105)</sup>
		<i>E. apiculatus</i> <sup>106)</sup>
		<i>E. breviscapus</i> <sup>107)</sup>
		<i>E. canadensis</i> <sup>108)</sup>
		<i>E. karwinskyanus</i> <sup>109)</sup>
		<i>E. multiradiatus</i> <sup>110)</sup>
		<i>E. naudini</i> <sup>111)</sup>
		<i>Matricaria</i>
		<i>M. decipiens</i> <sup>117)</sup>
		<i>M. oreades</i> <sup>118)</sup>
		<i>M. perforata</i> <sup>119)</sup>
		<i>M. songarica</i> <sup>120)</sup>
		<i>Printzia</i>
		<i>P. pyrifolia</i> <sup>121)</sup>
		<i>Stenactis</i>
		<i>S. annua</i> <sup>122)</sup>
		<i>Solidago</i>
		<i>S. decurrens</i> <sup>123)</sup>
		<i>S. odora</i> <sup>124)</sup>
		<i>S. virgaurea</i> <sup>125)</sup>
		<i>Tripleurospermum</i>
		<i>T. inodorum</i> <sup>126)</sup>

<sup>a</sup> Plants containing only 10-acyloxy (2Z,8Z)-matricaria esters.

<sup>b</sup> Plants containing 10-acyloxy (2Z,8Z)-matricaria esters and (2Z,8Z)-matricaria ester.

<sup>c</sup> Plants containing only (2Z,8Z)-matricaria ester.

## 第五節 小括

セイタカアワダチソウ地下部 *n*-hexane 抽出物より、3 種の新化合物を含む 8 種のポリアセチレン類を単離・構造決定した。

新化合物 **16** および **17** の構造を 10 位にアシルオキシ基を有するマトリカリアラクトンと決定した。このことは、マトリカリアラクトンの 10 位を水酸化、エステル化する生合成経路が存在することを示唆した。

単離したポリアセチレン類の化学分類学特徴として、(2Z,8Z)-matricaria ester は、30 種以上のキク科植物に含まれる一方で、その代謝物である 10-acyloxy (2Z,8Z)-matricaria esters は、*Baccharis* 属、*Chrysothamnus* 属、*Solidago* 属の数種のキク科植物にしか含まれないことを明らかにした。また、*Solidago* 属には、*S. altissima* と *S. canadensis* の (2Z,8Z)-10-acyloxy matricaria esters を含む植物と、*S. decurrens*、*S. odora*、*S. virgaurea* の (2Z,8Z)-matricaria ester を含む植物の両方が存在していることを明らかにした。

## 第三章 アレロパシー活性

### 第一節 背景

アレロパシーとは、ある植物から放出された二次代謝産物が他の生物に対して阻害的あるいは促進的な何らかの作用を及ぼす現象の総称であり、それらの相互作用を担う二次代謝産物は、アレロケミカルと呼ばれる。<sup>12)</sup> セイタカアワダチソウの侵襲が成功したのは、高い種子生産性および根茎による強い植物繁殖性に加え、このアレロパシー効果によって周囲の植物の成長を抑制し、生育場を占有するためと考えられている。<sup>6,7)</sup>

セイタカアワダチソウから単離された化合物のアレロパシー活性について、1978年、Ichiharaらは、(4Z)-dehydromatricaria lactone および *cis*-dehydromatricaria ester (**22**) がヒエの成長を 10 ppm の濃度で約 66%抑制することを明らかにした。また、これらの化合物と比較して、(2Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**) は植物体に高含有しており、阻害活性を示した 2 つの化合物よりも、セイタカアワダチソウのアレロパシーにとって重要なポリアセチレンである可能性があることを報告した。<sup>10)</sup> 1980年、Kobayashiらは、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) が 5~10 ppm の濃度で、*trans*-dehydromatricaria ester (**23**) が 10~15 ppm の濃度で、イネ (*Oryza sativa*、イネ科) の幼苗の成長を約 50%阻害すること、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) がセイタカアワダチソウの競合植物であるブタクサ (*Ambrosia artemisiifolia*、キク科) およびススキ (*Miscanthus sinensis*、イネ科) の発芽を強く抑制することを明らかにした。<sup>12)</sup> また、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) は土壤中に約 6 ppm の濃度で存在し、この値は、土壤に生育する植物の発芽や初期生育に影響を及ぼすのに十分な濃度であるため、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) をセイタカアワダチソウのアレロパシー活性の主要な原因物質 (アレロケミカル) として同定した。<sup>12)</sup> 加えて、Kobayashiらは、(2Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**) もイネの幼苗に対して、弱い成長阻害活性を示した結果から、セイタカアワダチソウは (2Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**) と *cis*-dehydromatricaria ester (**22**) の 2 種類のポリアセチレン化合物を生成し、他植物の生育を阻害することで、占有地を広げたと結論付けた。1999年には、Sawabeら

は、レタス幼苗の成長に対する dehydromatricaria lactones、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) の強い阻害活性と、solidagonic acid (**13**) および (2*Z*,8*Z*)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**) の弱い阻害活性を報告した。<sup>21)</sup>

このように、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) およびその関連化合物がセイタカアワダチソウのアレロパシー活性に大きく寄与するという研究がある一方、Ito らは、セイタカアワダチソウから放出された *cis*-dehydromatricaria ester (**22**) の土壌水中における濃度は非常に低く、生態系の土壌において、競争植物に対するセイタカアワダチソウの植物成長阻害活性は、実際にはほとんど起こらないと暫定的に結論付けた。<sup>128)</sup> また、Kobayashi らも、同様に結論付けており、<sup>129)</sup> セイタカアワダチソウおよびその活性成分としての *cis*-dehydromatricaria ester (**22**) のアレロパシー活性が、周囲の競争植物に与える影響について、詳細な結論は出ていない。

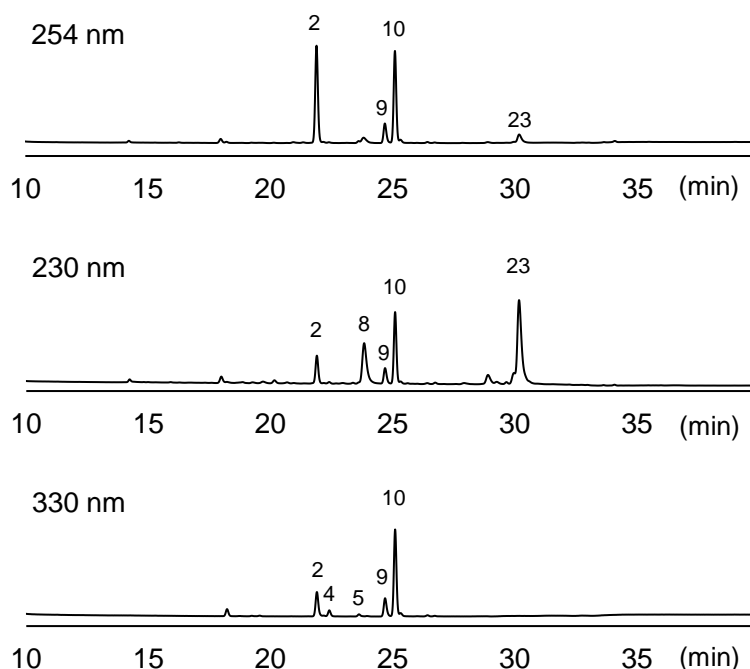
天然物から活性成分を同定する方法としては、高い比活性 (化合物の単位重量あたりの生物活性; *specific activity*) を示す化合物を探索する方法があり、本手法は、生物中の最も活性の高い化合物を発見することができる。また、特定の現象を引き起こす、高い全活性 (生物の単位重量あたりの生物活性; *total activity = concentration or content / specific activity*) を持つ化合物を単離する方法では、化合物の生物体内での活性と濃度によって全活性が決まり、その化合物が特定の現象に果たす役割や影響を説明することができる。<sup>130,131)</sup> これまで、アレロケミカルを探索する過程では、主に、高い比活性を有する化合物を探索する手法がとられてきたが、Hiradate らは、全活性も重要な指標の1つであり、実際、全活性に基づく精製により、ユキヤナギ (*Spiraea thunbergii* Sieb., バラ科) の主要な植物成長阻害成分として *cis*-cinnamoyl glucosides を同定することができたことを報告した。<sup>132)</sup>

このような背景のもと、著者は、セイタカアワダチソウのアレロパシーの理解のため、全活性の観点からの知見を得ること、つまり、セイタカアワダチソウに含まれる化合物の定量分析およびそれらの植物成長阻害活性を体系的に評価することで、高い全活性を持つ (植物の活性に対する寄与が大きい) 化合物を同定することを試みた。また、その結果に基づき、いくつかの考察を行った。

## 第二節 網羅的成分分析および定量分析

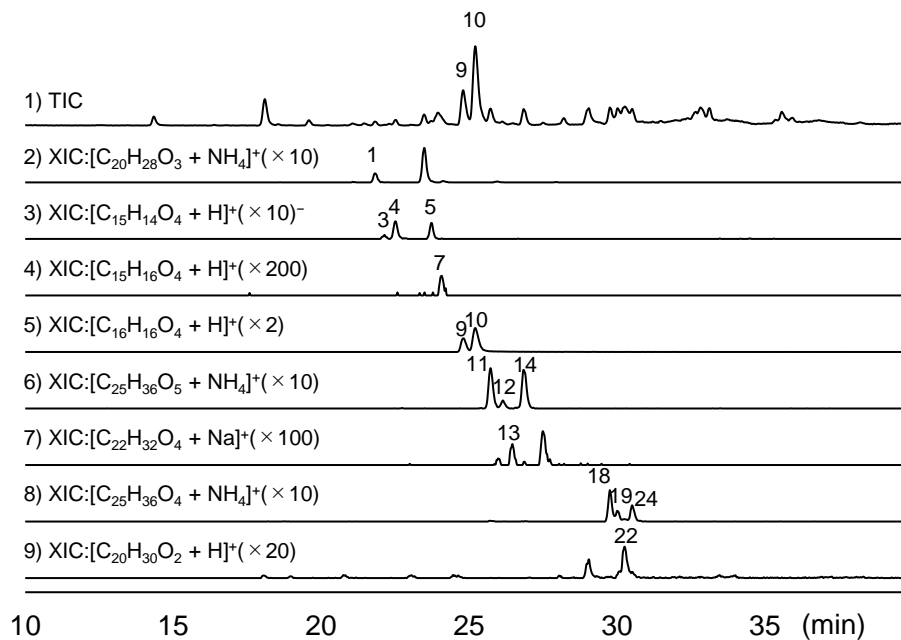
セイタカアワダチソウの地下部から得られた *n*-hexane 抽出物を HPLC および LC-MS 分析に供した (Figs. 21 および 22)。分析は、抽出物中の様々な二次代謝産物を同定するのに最適な条件で行った。<sup>133-135)</sup> この際、LC-MS の TIC では、*cis*-および *trans*-dehydromatricaria esters (**22** および **23**) は検出されず、このクラスの化合物の検出には多波長による UV 検出が有効であった。単離・構造決定した化合物に由来するピークを同定するとともに、標準品の MS スペクトルおよび保持時間に基づき、抽出物中の脂肪酸類の構造を決定した (Table 12)。

次に、これらのスペクトルにおける主要なピークについて、定量分析を行った (Table 13)。その結果、*trans*-クレロダンジテルペン類 (**13** および **14**) の含有量がそれぞれ約 10% および 30% であり、これまでに主要な成分として知られていたポリアセチレン類よりも植物体に高含有していることが明らかになった。

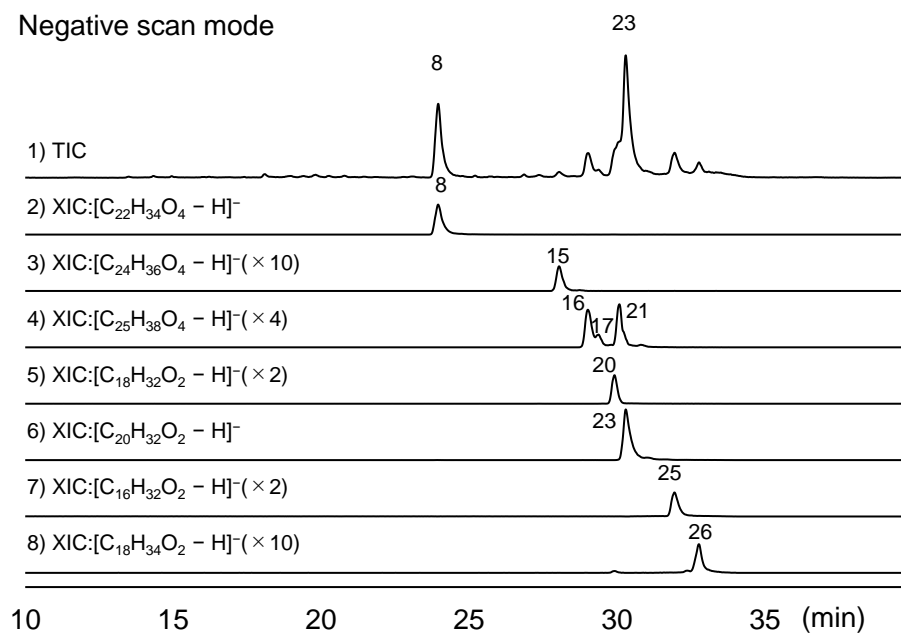


**Fig. 21.** HPLC chromatograms of the extract of the underground parts of *S. altissima* L. The peak numbers in the figure correspond to the compounds listed in Table 12.

Positive scan mode



Negative scan mode



**Fig. 22.** TIC and XIC chromatograms of the *n*-hexane extract of the underground parts of *S. altissima* L. operated in positive and negative scan modes  
The peak numbers in the figure correspond to the compounds listed in Table 12.

**Table 12.** Characterization of major compounds in the *n*-hexane extract of the underground parts of *S. altissima* L.

Peak No.	$t_R$ (min)	$m/z$	Abundant ions	Formula	Compounds	Remarks
1	21.9	334.2374	$[M + NH_4]^+$	$C_{20}H_{28}O_3$	Compound (15)	Isolated
2	22.0	Not detected			Compound (22)	Isolated
3	22.1	259.0954	$[M + H]^+$	$C_{15}H_{14}O_4$	Compound (16)	Isolated
4	22.4	259.0949	$[M + H]^+$	$C_{15}H_{14}O_4$	Compound (17)	Isolated
5	23.6	259.0956	$[M + H]^+$	$C_{15}H_{14}O_4$	Compound (18)	Isolated
6	23.7	Not detected			Compound (23)	Isolated
7	23.8	261.1131	$[M + H]^+$	$C_{15}H_{16}O_4$	Compound (19)	Isolated
8	23.9	361.2365	$[M - H]^-$	$C_{22}H_{34}O_4$	Compound (13)	Isolated
9	24.8	273.1114	$[M + H]^+$	$C_{16}H_{16}O_4$	Compound (20)	Isolated
10	25.2	273.1113	$[M + H]^+$	$C_{16}H_{16}O_4$	Compound (21)	Isolated
11	25.7	434.2904	$[M + NH_4]^+$	$C_{25}H_{36}O_5$	Compound (10)	Isolated
12	26.2	434.2914	$[M + NH_4]^+$	$C_{25}H_{36}O_5$	Compound (4)	Isolated
13	26.4	383.2191	$[M + Na]^+$	$C_{22}H_{32}O_4$	Compound (5)	Isolated
14	26.9	434.2912	$[M + NH_4]^+$	$C_{25}H_{36}O_5$	Compound (11)	Isolated
15	28.0	387.2517	$[M - H]^-$	$C_{24}H_{36}O_4$	Compound (2)	Isolated
16	28.9	401.2690	$[M - H]^-$	$C_{25}H_{38}O_4$	Compound (6)	Isolated
17	29.3	401.2694	$[M - H]^-$	$C_{25}H_{38}O_4$	Compound (1)	Isolated
18	29.6	418.2900	$[M + NH_4]^+$	$C_{25}H_{36}O_4$	Compound (8)	Isolated
19	29.8	418.2904	$[M + NH_4]^+$	$C_{25}H_{36}O_4$	Compound (3)	Isolated
20	29.9	279.2305	$[M - H]^-$	$C_{18}H_{32}O_2$	Linoleic acid	Identified
21	30.0	401.2697	$[M - H]^-$	$C_{25}H_{38}O_4$	Compound (7)	Isolated
22	30.1	303.2308	$[M + H]^+$	$C_{20}H_{30}O_2$	Compound (12)	Isolated
23	30.2	303.2311	$[M - H]^-$	$C_{20}H_{32}O_2$	Compound (14)	Isolated
24	30.4	418.2907	$[M + NH_4]^+$	$C_{25}H_{36}O_4$	Compound (9)	Isolated
25	31.9	255.2300	$[M - H]^-$	$C_{16}H_{32}O_2$	Palmitic acid	Identified
26	32.7	281.2460	$[M - H]^-$	$C_{18}H_{34}O_2$	Oleic acid	Identified

**Table 13.** The content of major constituents in the *n*-hexane extract and dry weight of the plant

Peak No.	Compounds	Wavelength (nm)	Content (% extract)	Content (% dry weight)
2	<i>cis</i> -Dehydromatricaria ester (22)	254	1.87	0.047
8	Solidagonic acid (13)	230	9.68	0.245
9	(2 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> )-10-Tigloyloxy matricaria ester (20)	254	1.01	0.025
10	(2 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> )-10-Angeloyloxy matricaria ester (21)	254	4.52	0.114
23	Kolavenic acid (14)	230	27.6	0.697



### 第三節 植物成長阻害活性

セイタカアワダチソウのアレロパシー活性 (植物成長阻害活性) は、レタスおよびイタリアンライグラス幼苗を用いて評価した。双子葉植物であるレタスと単子葉植物であるイタリアンライグラス (*Lolium multiflorum*、イネ科) は、一般的に植物成長阻害活性の測定に用いられている。<sup>136-140)</sup> Fig. 23 に示すように、セイタカアワダチソウ地下部由来の *n*-hexane 抽出物は、レタス幼苗の根およびシュートの成長を用量依存的に抑制した。最高濃度の抽出物では、根およびシュートの長さがそれぞれ 47% および 30% に減少した。次に、抽出物の植物成長阻害活性に寄与する化合物を特定するため、抽出物中の対応する濃度で主要な化合物の活性を評価した。例えば、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) の含有量は *n*-hexane 抽出物中 1.87% (約 2%) であったため、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) の植物成長阻害活性は、*n*-hexane 抽出物 40、80、160 mg/dish に含まれる 0.8、1.6、3.2 mg/dish の濃度で評価した。評価した化合物のうち、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) のみが、レタス幼苗の根およびシュートの伸長に対して用量依存的に阻害活性を示した (Fig. 23)。(2*Z*,8*Z*)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**) は試験した 3 つの濃度でレタス幼苗のシュートの成長をわずかに阻害し、最高濃度の solidagonic acid (**13**) は、シュートと根の長さを少し減少させた。一方、(2*Z*,8*Z*)-10-tigloyloxy matricaria ester (**20**) および kolavenic acid (**14**) は評価したいずれの濃度においても、根およびシュートの成長を阻害しなかった。これらの結果および *n*-hexane 抽出物と *cis*-dehydromatricaria ester (**22**) の阻害活性がほぼ一致した結果から、*n*-hexane 抽出物のレタス幼苗に対する植物成長阻害活性には、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) が大きく寄与していることが明らかになった。

Stevens は、(2*Z*,8*Z*)-matricaria ester がレタス根の成長を 10 ppm で、50% 阻害することを報告した。<sup>141)</sup> しかしながら、本研究においては、(2*Z*,8*Z*)-matricaria ester を基本骨格として含む化合物 (**20** および **21**) の阻害活性は、それと比較して、非常に弱かった。<sup>141)</sup> この結果は、10-acyloxy 基の存在が、レタス幼苗に対する生育阻害活性を低下させていることを示しており、他のポリアセチレン類 **16-19** がレタス幼苗の生育に対する抽出物の阻害活性に大きく寄与しないことを裏付けた。また、*trans*-dehydromatricaria ester (**23**) は、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) と同程度のイネ幼苗に対する阻害活性を示すことが報告されている。<sup>12)</sup> よって、

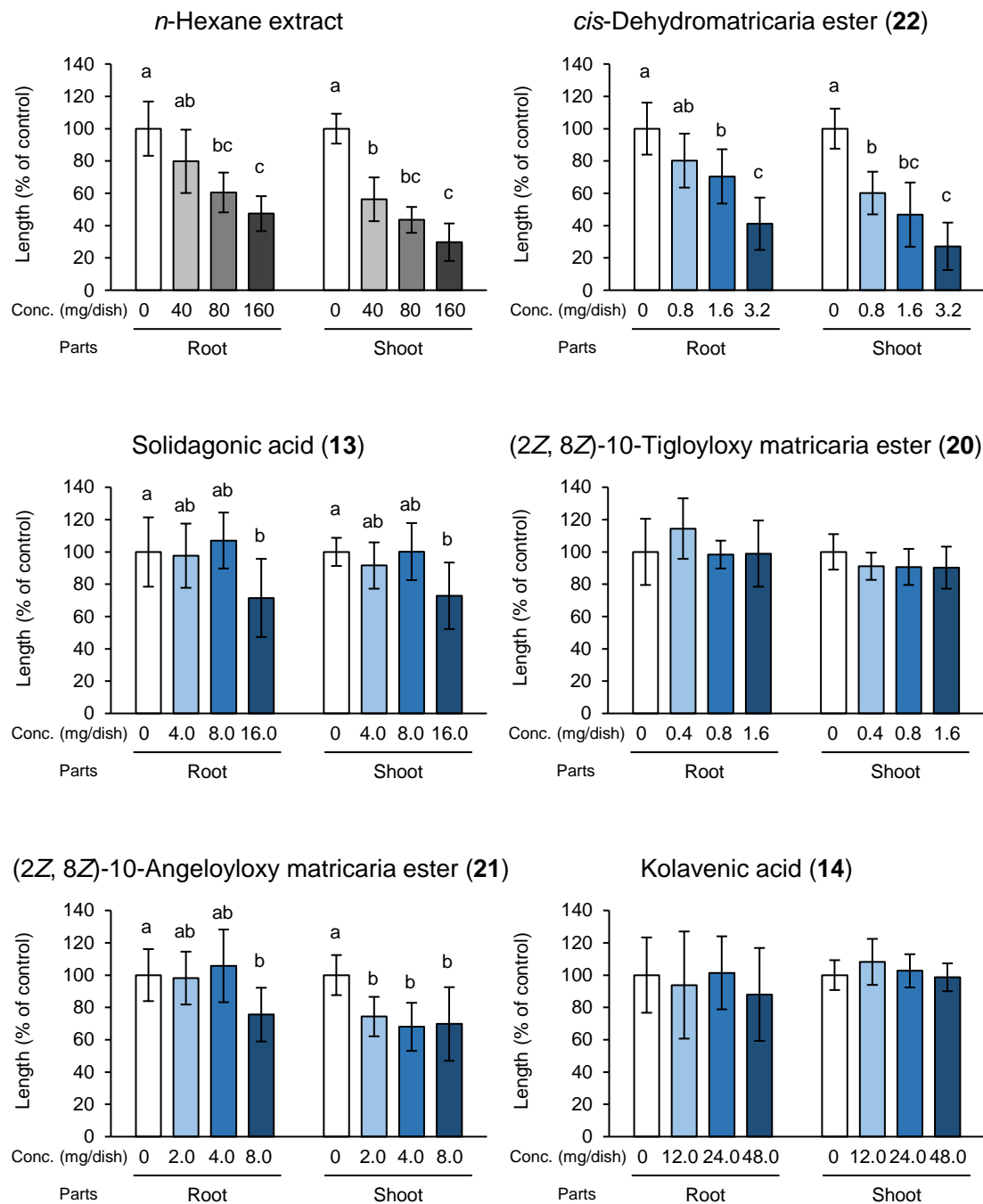
本研究においても、*trans*-dehydromatricaria ester (23) が、*cis*-dehydromatricaria ester (22) と同程度の阻害活性を示すことが推測されるが、*cis*-dehydromatricaria ester (22) が抽出物中の *trans*-dehydromatricaria ester (23) の含有量に相当する濃度では、成長阻害活性を示さない結果が得られたため、*n*-hexane 抽出物の植物成長阻害活性に対する *trans*-dehydromatricaria ester (23) の寄与は小さいと結論付けた。

次に、イタリアンライグラス幼苗に対する植物成長阻害活性を評価した (Fig. 24)。*n*-Hexane 抽出物は、イタリアンライグラス幼苗の根およびシュートの成長を用量依存的に阻害した。イタリアンライグラス幼苗は、レタス幼苗と比較して、本抽出物でより強く成長が阻害され、最高抽出濃度では根およびシュートの成長がそれぞれ通常の 17%および 42%に減少した。評価した化合物のうち、*cis*-dehydromatricaria ester (22) は、イタリアンライグラス幼苗のシュートの成長を用量依存的に阻害し、*cis*-dehydromatricaria ester (22) および solidagonic acid (13) は、根の成長を用量依存的に阻害した。(2*Z*,8*Z*)-Acyloxy matricaria esters (20 および 21) は、試験した 3 つの濃度すべてにおいて、イタリアンライグラスの根の成長をわずかに阻害した。逆に、kolavenic acid (14) は評価したすべての濃度において、有意な成長阻害活性を示さなかった。これらの結果および *cis*-dehydromatricaria ester (22) の成長阻害活性が *n*-hexane 抽出物のものとほぼ一致した結果から、*n*-hexane 抽出物のイタリアンライグラス幼苗に対する植物成長阻害活性には、*cis*-dehydromatricaria ester (22) が大きく寄与していることが明らかになった。

これらの結果は、*cis*-dehydromatricaria ester (22) が、高い比活性化合物であるとともに、高い全活性を有する化合物でもあり、セイタカアワダチソウの植物成長阻害活性に寄与することを示唆した。しかしながら、実際の土壌水中における *cis*-dehydromatricaria ester (22) の濃度は非常に低く、競争植物の成長が本化合物によって阻害されることは、ほとんどないことが報告されている。<sup>128)</sup> よって、*cis*-dehydromatricaria ester (22) を放出することにより、競争植物の成長を直接抑制するという機構の影響は、セイタカアワダチソウのアレロパシーにおいて、非常に限定的であると考えられた。

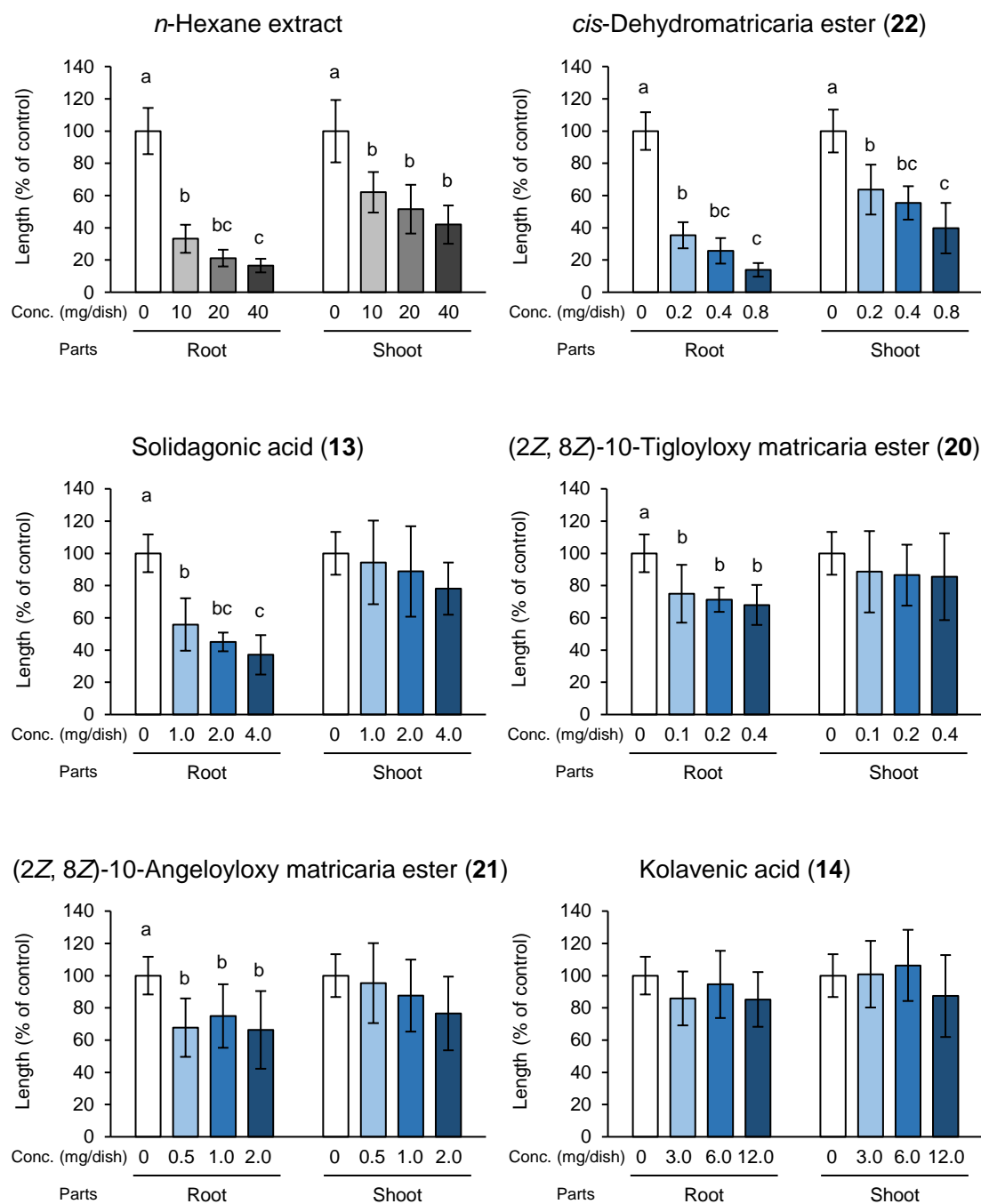
アレロパシーの作用機構として、植物は、雨による溶出、植物残渣の分解、根からの滲出、揮発を通じてアレロケミカルを放出することにより、他者に直接影響を与えることができることに加え、土壌生物相に影響を与えることで間接的に他者に影響を与えることができる。<sup>142)</sup> セイタカアワダチソウに含まれる主要

成分のうち、kolavenic acid (14) は抗真菌活性、<sup>45,143)</sup> (2Z,8Z)-10-angeloyloxy matricaria ester (21) は抗菌活性を示し、<sup>144)</sup> cis-dehydromatricaria ester (22) は土壤微生物に影響を及ぼすことが報告されている。<sup>128)</sup> また、セイタカアワダチソウと同様の二次代謝産物を含む *S. canadensis* L. は、<sup>41)</sup> セイタカアワダチソウと同様に北米原産で、ヨーロッパやアジアなど他の大陸に帰化した植物であり、<sup>145)</sup> アレロケミカルを介して、アーバスキュラー菌根菌集団の組成を変化させ、在来植物の菌根菌のコロニー形成を抑制すること、<sup>146)</sup> 土壤に生存する病原体の生育および病原活性を阻害すること<sup>147)</sup> が報告されている。これらの報告は、セイタカアワダチソウのアレロパシーにおいて、cis-dehydromatricaria ester (22) を含めた二次代謝産物は、競争植物に直接影響を与えるだけでなく、土壤の性質や土壤微生物にも影響を与えることにより、間接的に競争植物に影響を与える可能性があること、また、それによって自身の生存を有利にする可能性があることを示唆している。よって、今後、アレロケミカルの競争植物に対する直接的な影響に加えて、土壤生物相に対する影響を解明することが、セイタカアワダチソウのアレロパシーに関する理解につながると考えられた。



**Fig. 23.** Effects of the *n*-hexane extract and major constituents on the root and shoot lengths of lettuce seedlings

The values are expressed as means  $\pm$  standard deviation. Different letters represent significant differences between treatments ( $p < 0.05$ , one-way ANOVA via Tukey's multiple comparison test).



**Fig. 24.** Effects of the *n*-hexane extract and major constituents on the root and shoot lengths of Italian ryegrass seedlings

The values are expressed as means  $\pm$  standard deviation. Different letters represent significant differences between treatments ( $p < 0.05$ , one-way ANOVA via Tukey's multiple comparison test).

## 第四節 小括

セイタカアワダチソウ地下部 *n*-hexane 抽出物における主要成分として、solidagonic acid (**13**)、kolavenic acid (**14**)、(2*Z*,8*Z*)-10-tigloyloxy matricaria ester (**20**)、(2*Z*,8*Z*)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**)、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) を同定し、これらの含有量を明らかにした。

セイタカアワダチソウ地下部 *n*-hexane 抽出物は、レタスおよびライグラスの幼苗に対して、成長阻害活性を示すことを明らかにした。

主要成分の植物成長阻害活性を体系的に測定し、レタスおよびイタリアンライグラスに対するセイタカアワダチソウ地下部抽出物の植物成長阻害活性は、主に、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) に由来することを明らかにした。

本研究の結果および既知の報告から、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) が、生態系において、実際に、競争植物に及ぼす直接的な影響は限定的であることが示唆された。また、今後、主要成分の土壌生物相に対する影響を解明することが、セイタカアワダチソウのアレロパシーの理解につながると考えられた。

## 結論

著者は、本研究において、セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima* L.) を介する植物間相互作用や昆虫—植物間相互作用など、本植物の化学生態学的側面に着目した。今後、このような生物間相互作用を解明するため、また、生薬学の研究に応用するため、その前段階として、詳細な成分研究を行い、本植物に含まれる二次代謝産物の構造を明らかにすることを目的とした。

第一章では、セイタカアワダチソウ地下部から、15種の化合物**1–15**を単離し、化合物**1–4**を、非常に稀な立体構造である新しいCT型の *ent-neo*-クロロダンジテルペン、化合物**5**を、新しいTC型の *neo*-クロロダンジテルペンと決定した。また、化合物**6**および**7**の立体構造を各種NMRスペクトルデータおよび旋光度の解析に基づき、*neo*-TC型から *ent-neo*-CT型に改訂した。さらに、本研究で単離した化合物および既知の代表的なクロロダンジテルペン類の<sup>13</sup>C NMRケミカルシフト値を解析することにより、4種のクロロダンジテルペンの相対立体配置を決定するための<sup>13</sup>C NMRケミカルシフトパターンを確立した。そして、確立したケミカルシフトパターンを既知のクロロダンジテルペン類に適用し、立体構造の改訂が必要と推測される既知化合物を見出した。

第二章では、セイタカアワダチソウ地下部から、3種の新化合物**16–18**を含む8種のポリアセチレン類**16–23**を単離・構造決定した。このうち、10位にアシルオキシ基を有するマトリカリアラクトンの存在は、マトリカリアラクトンの10位を水酸化、エステル化する生合成経路が存在することを示唆した。また、(2*Z*,8*Z*)-*matricaria ester* は、30種以上のキク科植物に含まれる一方で、その代謝物である10-acyloxy (2*Z*,8*Z*)-*matricaria esters* は、*Baccharis* 属、*Chrysothamnus* 属、*Solidago* 属の数種のキク科植物にしか含まれないことを明らかにした。加えて、*Solidago* 属には、*S. altissima* と *S. canadensis* の (2*Z*,8*Z*)-10-acyloxy *matricaria esters* を含む植物と、*S. decurrens*、*S. odora*、*S. virgaurea* の (2*Z*,8*Z*)-*matricaria ester* を含む植物の両方が存在していることを明らかにした。今後、10-acyloxy (2*Z*,8*Z*)-*matricaria esters* に着目した *Solidago* 属植物の成分研究によって、詳細な系統分類を明らかにできる可能性がある。

第三章では、第一章および第二章で単離・構造決定した化合物を用いて、セイタカアワダチソウのアレロパシーに関する考察を得た。まず、同植物の網羅的成

分分析および定量分析を行い、セイタカアワダチソウ地下部 *n*-hexane 抽出物における主要成分として、solidagonic acid (**13**)、kolavenic acid (**14**)、(2*Z*,8*Z*)-10-tigloyloxy matricaria ester (**20**)、(2*Z*,8*Z*)-10-angeloyloxy matricaria ester (**21**)、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) を同定した。次に、これらの化合物および抽出物について、レタスおよびライグラスの幼苗に対する成長阻害活性を測定し、セイタカアワダチソウ抽出物の植物成長阻害活性は、主に、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) に由来することを明らかにした。そして、これらの結果および既知の報告をふまえ、*cis*-dehydromatricaria ester (**22**) が、生態系において、実際に、競争植物に及ぼす直接的な影響は限定的であること、主要成分の土壤生物相に対する影響を解明することがセイタカアワダチソウのアレロパシーの理解につながる可能性があることを示した。

全体を通じて、著者は、セイタカアワダチソウ地下部の詳細な成分研究を実施し、8 種の新化合物を含む 23 種の化合物を単離・構造決定するとともに、いくつかの成分の植物成長阻害活性を明らかにした。また、得られた化合物の情報に基づき、立体化学および化学分類学的観点から重要な知見を見出した。本研究で得られた結果は、セイタカアワダチソウを介する生物間相互作用の理解を促進するものである。なお、著者は現在、本研究で得られた結果を活用し、セイタカアワダチソウの生物間相互作用を利用した生薬学の研究を行っている。



## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始ご指導ご鞭撻を賜りました立命館大学大学院 薬学研究科 田中 謙 教授に心より感謝申し上げます。

研究に専念できる環境を整備するため、博士課程において、

- ・独立行政法人日本学術振興会特別研究員の採用に伴う研究奨励金
- ・独立行政法人日本学生支援機構の大学院第一種奨学金
- ・公益社団法人日本薬学会による長井記念薬学研究奨励支援事業の長井記念薬学研究奨励金
- ・公益財団法人安藤スポーツ・食文化振興財団による日清食品・安藤百福 Scholarship の給付奨学金
- ・立命館大学大学院の研究奨励奨学金

の経済的支援を賜りました。関係者各位に深く感謝致します。

なお、本研究は JSPS 科研費 21J10068 の助成を受けたものです。

## 論文目録

本学位論文は、以下の学術論文の内容に基づいて書かれたものである。

1. Nishidono Y, Tanaka K. Comprehensive characterization of polyacetylenes and diterpenes from the underground parts of *Solidago altissima* L. and their contribution to the overall allelopathic activity. *Phytochemistry*, 193, 112986, 2022.
2. Nishidono Y, Tanaka K. New clerodane diterpenoids from *Solidago altissima* and stereochemical elucidation via <sup>13</sup>C NMR chemical shift analysis. *Tetrahedron*, 110, 132691, 2022.

学士および博士課程において発表したその他の学術論文を次に示す。

1. Nishidono Y, Niwa K, Tanaka K. Effect of salt stress on the accumulation of triterpenoid saponins in aseptic cultured *Glycyrrhiza uralensis*. *Plant growth regulation*, DOI: 10.1007/s10725-022-00933-7
2. Nishidono Y, Iwama Y, Shirako S, Ishii T, Okuyama T, Nishizawa M, Tanaka K. Two new monoterpene esters from the pericarps of *Alpinia zerumbet*. *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2022.2101053
3. Nishidono Y, Tanaka K. Effect of drying and processing on diterpenes and other chemical constituents of ginger. *Journal of Natural Medicines*, 77(1), 118-127, 2023.
4. Nishidono Y, Yahata H, Niwa K, Kitajima A, Tezuka Y, Watanabe S, Tanaka K. Fluctuations in the chemical constituents of *Panax ginseng* subterranean tissues with cultivation duration. *Traditional & Kampo Medicine*, 9(1), 41-48, 2022.
5. Okada R, Abe H, Okuyama T, Nishidono Y, Ishii T, Sato T, Shirako S, Tanaka K, Ikeya Y, Nishizawa M. Comparison of the anti-inflammatory activities of

- furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica*. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 12(4), 287-300, 2021.
6. Nishidono Y, Niwa K, Kitajima A, Watanabe S, Tezuka Y, Arita M, Takabayashi J, Tanaka K.  $\alpha$ -Linolenic acid in *Papilio machaon* larvae regurgitant induces a defensive response in Apiaceae. *Phytochemistry*, 188, 112796, 2021.
  7. Sasaki K, Sasaki D, Sasaki K, Nishidono Y, Yamamori A, Tanaka K, Kondo A. Growth stimulation of *Bifidobacterium* from human colon using daikenchuto in an in vitro model of human intestinal microbiota. *Scientific Reports*, 11, 4580, 2021.
  8. Ningsih FN, Okuyama T, To S, Nishidono Y, Okumura T, Tanaka K, Ikeya Y, Nishizawa M. Comparative analysis of anti-inflammatory activity of the constituents of the rhizome of *Cnidium officinale* using rat hepatocytes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 43(12), 1867-1875, 2020.
  9. Nishidono Y, Chiyomatsu T, Saifudin A, Deevanhxay P, Tanaka K. Comparative study on the chemical constituents of *Curcuma* drugs. *Journal of the Asia-Japan Research Institute of Ritsumeikan University*, 2, 15-33, 2020.
  10. Nishidono Y, Saifudin A, Deevanhxay P, Tanaka K. Metabolite profiling of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) using GC-MS and multivariate statistical analysis. *Journal of the Asia-Japan Research Institute of Ritsumeikan University*, 2, 1-14, 2020.
  11. Chen Z, Watanabe S, Nishidono Y, Tanaka K. Boiogito extract alters fecal bile acid profile in mice: Possible roles in changes in fecal and liver lipid levels. *Traditional & Kampo Medicine*, 7(3), 138-145, 2020.
  12. Li F, Nishidono Y, Tanaka K, Watanabe S, Tezuka Y. A new monoterpenoid glucoindole alkaloids from *Dipsacus asper*. *Natural Product Communications*, 15(4), 1-6, 2020.

13. Nishidono Y, Okada R, Iwama Y, Okuyama T, Nishizawa M, Tanaka K. Anti-inflammatory kavalactones from *Alpinia zerumbet*. *Fitoterapia*, 140, 104444, 2020.
14. Nishidono Y, Ishii T, Okada R, Norimoto H, Murayama C, He D, Okuyama T, Nishizawa M, Tanaka K. Effect of heat processing on the chemical constituent and NO-suppressing activity of Bletilla Tuber. *Journal of Natural Medicines*, 74(1), 219-228, 2020.
15. Ishii T, Okuyama T, Noguchi N, Nishidono Y, Okumura T, Kaibori M, Tanaka K, Terabayashi S, Ikeya Y, Nishizawa M. Antiinflammatory constituents in *Atractylodes chinensis* rhizome improve glomerular lesions in immunoglobulin A nephropathy model mice. *Journal of Natural Medicines*, 74(1), 51-64, 2020.
16. Nishidono Y, Chiyomatsu T, Sanuki K, Tezuka Y, Tanaka K. Analysis of seasonal variations of the volatile constituents in *Artemisia princeps* (Japanese mugwort) leaves by metabolomic approach. *Natural Product Communications*, 14(8), 1-8, 2019.
17. Nishidono Y, Saifudin A, Nishizawa M, Fujita T, Nakamoto M, Tanaka K. Identification of the chemical constituents in ginger (*Zingiber officinale*) responsible for thermogenesis. *Natural Product Communications*, 13(7), 869-873, 2018.
18. Morino C, Morita Y, Minami K, Nishidono Y, Nakashima Y, Ozawa R, Takabayashi J, Ono N, Kanaya S, Tamura T, Tezuka Y, Tanaka K. Oviposition inhibitor in umbelliferous medicinal plants for the common yellow swallowtail (*Papilio machaon*). *Journal of Natural Medicines*, 72(1), 161-165, 2018.
19. Nishidono Y, Fujita T, Kawanami A, Nishizawa M, Tanaka K. Identification of PGC-1 $\alpha$  activating constituents in Zingiberaceous crude drugs. *Fitoterapia*, 122, 40-44, 2017.

## 実験の部

### 一般的な実験手順

旋光度は、DIP-370 偏光計 (日本分光株式会社、東京、日本) を用いて測定した。UV スペクトルは UV-1800 分光器 (株式会社島津製作所、京都、日本) を用いて測定した。IR スペクトルは、IRAffinity-1S (株式会社島津製作所) を用いて、CHCl<sub>3</sub> 溶液中、0.20 mm (KBr) の固定厚セルで測定した。NMR スペクトルは、JNM-ECZ500R spectrometer または JNM-ECS400 NMR spectrometer (日本電子株式会社、東京、日本) で記録した。この際、CDCl<sub>3</sub> を溶媒として採用し、ケミカルシフト値は、内部標準としてテトラメチルシランに対する ppm ( $\delta$ ) で報告した。標準および分取 TLC は、TLC ガラスプレートシリカゲル 60 F<sub>254</sub> または TLC ガラスプレート RP-18 F<sub>254S</sub> (メルク株式会社、ダルムシュタット、ドイツ) を用いて実施した。TLC プレート上のスポットは、254 nm または 365 nm の UV によって検出し、sulfuric acid/*p*-anisaldehyde/ethanol (1:1:18, v/v/v) を噴霧後、加熱することにより可視化した。MPLC は、ユニバーサルプレミアムシリカゲルカラムまたはユニバーサル ODS-SM カラム (山善株式会社、大阪、日本) を使用し、Yamazen Pump 540 (山善株式会社) を用いて実施した。セミ分取 HPLC は、Cosmosil 5C<sub>18</sub> MS-II カラム (10 mm i.d. × 250 mm、5  $\mu$ m、ナカライテスク株式会社、京都、日本) を使用し、SPD-20A Prominence UV/Vis 検出器を備えた Shimadzu Prominence HPLC システム (株式会社島津製作所) により実施した。検出波長は、254 nm に設定した。

### 植物材料および試薬

セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima* L., キク科) は、2020 年 7 月に立命館大学薬用植物園 (GPS coordinates: 34°58'45.1"N, 135°57'51.8"E) およびその周辺の空き地や路地で採取した。レタス (*Lactuca sativa* L. Green-wave, キク科) およびイタリアンライグラス (*Lolium multiflorum* Lam. Wase-fudo, イネ科) の種子は、タキイ種苗株式会社 (京都、日本) から購入した。その他、特に明記しない試薬は、ナカライテスク株式会社 (京都、日本) または富士フイルム和光純薬株式会社 (大阪、日本) から購入した。

## 抽出および単離

セイタカアワダチソウ地下部を風乾したもの (534 g) を粉碎し、室温で *n*-hexane (1 L×3、各 1 日) に浸漬して抽出した。減圧下、溶媒を留去し、*n*-hexane 抽出物 13.5 g を得た。このうちの一部 (10.9 g) を、CHCl<sub>3</sub> を溶出液とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、9 つの分画 (Fr. 1–9) を得た。Fr. 2 (665.0 mg) を、*n*-hexane–EtOAc (5:1、v/v) の混合溶媒を溶出液として、シリカゲル順相 MPLC に供し、**22** (89.2 mg) および **23** (11.3 mg) を得た。Fr. 3 (652.5 mg) を *n*-hexane–EtOAc (5:1、v/v) の混合溶媒を溶出液として、シリカゲル順相 MPLC に供し、Fr. 3-1–3-5 を得た。Fr. 3-3 (327.5 mg) を、85% MeOH–H<sub>2</sub>O (v/v) を溶出液とする ODS 逆相 MPLC に供し、**21** (298.9 mg) を得た。また、同様の条件下で、Fr. 4 (296.0 mg) から 7 つの分画を得た (Fr. 4-1–4-7)。Fr. 4-2 (71.6 mg) をさらにセミ分取 HPLC (65% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製し、**18** (*t<sub>R</sub>* = 9.5 min、2.2 mg)、**19** (*t<sub>R</sub>* = 10.1 min、0.8 mg)、**20** (*t<sub>R</sub>* = 11.3 min、33.1 mg) を得た。Fr. 6 (1.24 g) を 85% MeOH–H<sub>2</sub>O (v/v) を溶出液とする ODS 逆相 MPLC に供し、6 つの分画を得、そのうち Fr. 6-1 (13.2 mg) をさらにセミ分取 HPLC (65% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製し、**17** (*t<sub>R</sub>* = 7.3 min、2.5 mg) を得た。Fr. 6-2 (38.4 mg) をセミ分取 HPLC (95% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製し、**12** (*t<sub>R</sub>* = 6.6 min、20.4 mg) を得た。Fr. 8 (3.16 g) を 95% MeOH–H<sub>2</sub>O (v/v) を溶出液とする ODS 逆相 MPLC に供し、6 つの分画を得た [Fr. 8-1–8-4、Fr. 8-5 (**14**、1.54 g)、Fr. 8-6]。Fr. 8-1 (46.8 mg) をさらにセミ分取 HPLC (65% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製し、**16** (*t<sub>R</sub>* = 7.1 min、0.6 mg) を得た。Fr. 8-2 (155.2 mg) を、85% MeOH–H<sub>2</sub>O (v/v) を溶出液として、ODS 逆相 MPLC によりさらに分離し、5 つの分画を得た (Fr. 8-2-1–8-2-5)。さらに、セミ分取 HPLC (85% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製することにより、Fr. 8-2-3 (34.7 mg) から **3** (*t<sub>R</sub>* = 9.7 min、4.9 mg) および **8** (*t<sub>R</sub>* = 9.1 min、8.6 mg)、Fr. 8-2-4 (53.9 mg) から **9** (*t<sub>R</sub>* = 10.6 min、4.2 mg) を得た。Fr. 9 (3.35 g) を 85% MeOH–H<sub>2</sub>O (v/v) を溶出液とする ODS 逆相 MPLC に付し、6 つの分画 [Fr. 9-1、Fr. 9-2 (**13**、0.81 g)、Fr. 9-3–Fr. 9-5] を得た。Fr. 9-1 (277.9 mg) を、ODS 逆相 MPLC [70% CH<sub>3</sub>CN–H<sub>2</sub>O (v/v)] により分画し、7 つの分画を得た (Fr. 9-1-1–Fr. 9-1-7)。Fr. 9-1-3 (66.4 mg) をさらにセミ分取 HPLC (70% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製し、**15** (*t<sub>R</sub>* = 5.7 min、2.1 mg) を得た。Fr. 9-1-6 (33.8 mg) をさらにセミ分取 HPLC (85% aq. CH<sub>3</sub>CN、5 mL/min) で精製し、**10** (*t<sub>R</sub>* = 5.3 min、13.8 mg)、**4** (*t<sub>R</sub>* = 5.5 min、3.3

mg)、**5** ( $t_R = 5.7$  min、6.2 mg)、**11** ( $t_R = 5.9$  min、13.7 mg) を得た。Fr. 9-3 (722.2 mg) を ODS カラム [CH<sub>3</sub>CN–H<sub>2</sub>O、85:15 (v/v)] を用いた MPLC に付し、5 つの分画を得た (Fr. 9-3-1–9-3-5)。さらに、セミ分取 HPLC (85% CH<sub>3</sub>CN in H<sub>2</sub>O) で精製することにより、Fr. 9-3-2 (49.0 mg) から **2** ( $t_R = 9.7$  min、19.6 mg) および **6** ( $t_R = 11.3$  min、19.5 mg)、Fr. 9-3-5 (67.0 mg) から **1** ( $t_R = 11.8$  min、5.5 mg) および **7** ( $t_R = 12.9$  min、44.7 mg) を得た。

(+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-Seneciolyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**1**)

Colorless oil;  $[\alpha]_D^{25} +60.8$  ( $c$  0.10, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 218 (4.5) nm; IR,  $\nu_{\max}$  2972, 1693, 1645, 1230, 1153, 1076 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 1; <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 1; HR-ESI-MS, Table 12.

(+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-Methacryloyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**2**)

Colorless oil;  $[\alpha]_D^{25} +26.1$  ( $c$  0.13, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 211 (4.2) nm; IR,  $\nu_{\max}$  2972, 1701, 1638, 1300, 1196, 1172 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 1; <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 1; HR-ESI-MS, Table 12.

(+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-Seneciolyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olide (**3**)

Colorless oil;  $[\alpha]_D^{25} +44.8$  ( $c$  0.10, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 213 (4.5) nm; IR,  $\nu_{\max}$  2972, 1782, 1749, 1699, 1653, 1231, 1153, 1076, 1036 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 2; <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 2; HR-ESI-MS, Table 12.

(-)-(3*S*,4*R*,5*S*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-3,4-Epoxy-6-seneciolyloxy-*ent*-*neo*-clerod-13-en-15,16-olide (**4**)

Colorless oil;  $[\alpha]_D^{25} -21.0$  ( $c$  0.10, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 213 (4.4) nm; IR,  $\nu_{\max}$  2965, 1782, 1749, 1699, 1637, 1221, 1152, 1080, 1036 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 2; <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), Table 2; HR-ESI-MS, Table 12.

(-)-(5*R*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*)-7-Acetoxy-*neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olide (**5**)

Colorless oil;  $[\alpha]_D^{25} -60.7$  ( $c$  0.10, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 208 (4.2) nm; IR,  $\nu_{\max}$  2947, 1782, 1749, 1732, 1638, 1250, 1165, 1026 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>),

Table 3;  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 3; HR-ESI-MS, Table 12.

(+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-Tigloyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**6**)

Colorless oil;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +35.9$  (*c* 0.12, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 218 (4.5) nm; IR,  $\nu_{\text{max}}$  2969, 1694, 1647, 1267, 1260, 1159, 1146, 1074  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 4;  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 4; HR-ESI-MS, Table 12.

(+)-(5*R*,6*R*,8*R*,9*R*,10*S*)-6-Angeloyloxy-*ent*-*neo*-cleroda-3,13*E*-dien-15-oic acid (**7**)

Colorless oil;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +30.6$  (*c* 0.12, EtOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 218 (4.4) nm; IR,  $\nu_{\text{max}}$  2978, 1728, 1701, 1643, 1238, 1163, 1044  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 5;  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 5; HR-ESI-MS, Table 12.

Solidagolactone III (**8**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{H}}$  1.90 (1H, m, H-1a), 1.61 (1H, H-1b), 2.05 (1H, m, H-2a), 1.88 (1H, m, H-2b), 5.50 (1H, brd,  $J = 5.3$  Hz, H-3), 4.98 (1H, dd,  $J = 2.9, 2.9$  Hz, H-6), 1.76 (1H, m, H-7a), 1.59 (1H, H-7b), 1.98 (1H, m, H-8), 1.51 (1H, H-10), 2.09 (1H, m, H-11a), 1.52 (1H, H-11b), 2.51 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.5, 4.4$  Hz, H-12a), 2.35 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.1, 4.3$  Hz, H-12b), 5.86 (1H, brs, H-14), 4.77 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-16), 0.86 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-17), 1.54 (3H, brs, H-18), 1.21 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, s, H-20), 6.78 (1H, qq,  $J = 6.8, 1.2$  Hz, H-3'), 1.77 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-4'), 1.79 (3H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{C}}$  21.8 (C-1), 26.4 (C-2), 124.3 (C-3), 138.0 (C-4), 42.9 (C-5), 74.1 (C-6), 31.5 (C-7), 31.8 (C-8), 38.5 (C-9), 44.6 (C-10), 33.6 (C-11), 23.2 (C-12), 171.0 (C-13), 115.2 (C-14), 174.0 (C-15), 73.1 (C-16), 15.3 (C-17), 18.3 (C-18), 24.7 (C-19), 28.4 (C-20), 167.5 (C-1'), 129 (C-2'), 136.9 (C-3'), 14.4 (C-4'), 12.1 (C-5'); HR-ESI-MS, Table 12.

Solidagolactone II (**9**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{H}}$  1.89 (1H, m, H-1a), 1.63 (1H, m, H-1b), 2.03 (1H, m, H-2a), 1.86 (1H, m, H-2b), 5.50 (1H, brd,  $J = 5.4$  Hz, H-3), 5.02 (1H, dd,  $J = 2.9, 2.9$  Hz, H-6), 1.79 (1H, m, H-7a), 1.59 (1H, H-7b), 1.94 (1H, m, H-8), 1.51 (1H, H-10), 2.11 (1H, m, H-11a), 1.53 (1H, H-11b), 2.5 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.5, 4.0$  Hz, H-12a), 2.34 (1H, ddd,



$J = 16.3, 12.1, 4.0$  Hz, H-12b), 5.85 (1H, brs, H-14), 4.76 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-16), 0.87 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-17), 1.56 (3H, brs, H-18), 1.22 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, s, H-20), 6.00 (1H, qq,  $J = 7.2, 1.7$  Hz, H-3'), 1.98 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-4'), 1.83 (3H, brs, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{C}}$  21.6 (C-1), 26.4 (C-2), 124.6 (C-3), 137.8 (C-4), 42.9 (C-5), 73.6 (C-6), 31.6 (C-7), 31.8 (C-8), 38.4 (C-9), 44.5 (C-10), 33.6 (C-11), 23.2 (C-12), 171.0 (C-13), 115.2 (C-14), 174.0 (C-15), 73.0 (C-16), 15.3 (C-17), 18.3 (C-18), 24.7 (C-19), 28.3 (C-20), 167.0 (C-1'), 128.1 (C-2'), 138.0 (C-3'), 15.6 (C-4'), 20.7 (C-5'); HR-ESI-MS, Table 12.

#### Solidagolactone VIII (**10**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{H}}$  1.79 (1H, m, H-1a), 1.40 (1H, m, H-1b), 2.08 (1H, m, H-2a), 1.63 (1H, m, H-2b), 2.76 (1H, brs, H-3), 5.41 (1H, dd,  $J = 2.9, 2.9$  Hz, H-6), 1.72 (1H, m, H-7a), 1.53 (1H, H-7b), 2.03 (1H, m, H-8), 1.20 (1H, H-10), 1.99 (1H, m, H-11a), 1.51 (1H, H-11b), 2.43 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.3, 4.5$  Hz, H-12a), 2.29 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.6, 4.0$  Hz, H-12b), 5.86 (1H, brs, H-14), 4.76 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-16), 0.88 (3H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-17), 1.30 (3H, brs, H-18), 1.21 (3H, s, H-19), 1.04 (3H, s, H-20), 6.91 (1H, qq,  $J = 6.9, 1.2$  Hz, H-3'), 1.82 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-4'), 1.90 (3H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{C}}$  19.1 (C-1), 27.9 (C-2), 57.4 (C-3), 61.8 (C-4), 40.3 (C-5), 73.0 (C-6), 32.3 (C-7), 32.7 (C-8), 38.2 (C-9), 45.0 (C-10), 34.5 (C-11), 23.4 (C-12), 170.7 (C-13), 115.3 (C-14), 173.9 (C-15), 73.1 (C-16), 15.7 (C-17), 21.6 (C-18), 26.5 (C-19), 27.6 (C-20), 167.6 (C-1'), 129.4 (C-2'), 137 (C-3'), 14.5 (C-4'), 12.2 (C-5'); HR-ESI-MS, Table 12.

#### Solidagolactone VII (**11**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{H}}$  1.79 (1H, H-1a), 1.40 (1H, m, H-1b), 2.08 (1H, H-2a), 1.62 (1H, m, H-2b), 2.76 (1H, brs, H-3), 5.45 (1H, dd,  $J = 2.9, 2.9$  Hz, H-6), 1.72 (1H, H-7a), 1.53 (1H, H-7b), 2.01 (1H, H-8), 1.21 (1H, H-10), 1.99 (1H, H-11a), 1.5 (1H, H-11b), 2.43 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.3, 4.5$  Hz, H-12a), 2.29 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.6, 4.0$  Hz, H-12b), 5.85 (1H, brs, H-14), 4.77 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-16), 0.89 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-17), 1.31 (3H, brs, H-18), 1.22 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, s, H-20), 6.08 (1H, qq,  $J = 7.2, 1.7$  Hz, H-3'), 2.05 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-4'), 1.97 (3H, brs, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),

$\delta_C$  19.0 (C-1), 27.8 (C-2), 57.3 (C-3), 61.7 (C-4), 40.4 (C-5), 75.6 (C-6), 32.6 (C-7), 32.9 (C-8), 38.3 (C-9), 45.2 (C-10), 34.5 (C-11), 23.4 (C-12), 170.6 (C-13), 115.3 (C-14), 173.7 (C-15), 73.0 (C-16), 15.8 (C-17), 21.7 (C-18), 26.6 (C-19), 27.6 (C-20), 167.0 (C-1'), 128.7 (C-2'), 137.7 (C-3'), 15.8 (C-4'), 20.7 (C-5'); HR-ESI-MS, Table 12.

#### Solidagolactone (**12**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_H$  1.55 (1H, m, H-1a), 1.52 (1H, H-1b), 2.09 (1H, m, H-2a), 1.97 (1H, m, H-2b), 5.19 (1H, brs, H-3), 1.74 (1H, m, H-6a), 1.18 (1H, m, H-6b), 1.49 (1H, H-7a), 1.43 (1H, H-7b), 1.45 (1H, H-8), 1.32 (1H, m, H-10), 1.67 (1H, m, H-11a), 1.51 (1H, H-11b), 2.30 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.3, 4.0$  Hz, H-12a), 2.20 (1H, ddd,  $J = 16.3, 12.3, 4.6$  Hz, H-12b), 5.83 (1H, brs, H-14), 4.74 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-16), 0.81 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-17), 1.59 (3H, brs, H-18), 1.01 (3H, s, H-19), 0.78 (3H, s, H-20);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_C$  18.3 (C-1), 26.8 (C-2), 120.2 (C-3), 144.4 (C-4), 38.2 (C-5), 36.7 (C-6), 27.3 (C-7), 36.3 (C-8), 38.7 (C-9), 46.5 (C-10), 22.3 (C-11), 35.3 (C-12), 171.2 (C-13), 115.0 (C-14), 174.1 (C-15), 73.1 (C-16), 16.0 (C-17), 18.0 (C-18), 19.9 (C-19), 18.2 (C-20); HR-ESI-MS, Table 12.

#### Solidagonic acid (**13**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_H$  1.60 (2H, H-1), 2.07 (1H, H-2a), 2.00 (1H, H-2b), 5.17 (1H, brs, H-3), 2.13 (1H, dd,  $J = 14.7, 2.7$  Hz, H-6a), 1.40 (1H, dd,  $J = 14.7, 3.4$  Hz, H-6b), 5.13 (1H, ddd,  $J = 3.4, 3.4, 3.4$  Hz, H-7), 1.67 (1H, m, H-8), 1.44 (1H, H-10), 1.54 (1H, m, H-11a), 1.42 (1H, H-11b), 1.97 (2H, H-12), 5.69 (1H, brs, H-14), 2.18 (3H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-16), 0.92 (3H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-17), 1.59 (3H, brs, H-18), 1.19 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, s, H-20), 2.07 (3H, s, H-2');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_C$  18.0 (C-1), 26.7 (C-2), 120.2 (C-3), 144.5 (C-4), 38.4 (C-5), 39.9 (C-6), 75.3 (C-7), 38.2 (C-8), 37.4 (C-9), 46.3 (C-10), 37.3 (C-11), 36.1 (C-12), 164.0 (C-13), 115.0 (C-14), 172.0 (C-15), 19.6 (C-16), 12.2 (C-17), 18.1 (C-18), 21.5 (C-19), 19.7 (C-20), 170.5 (C-1'), 21.3 (C-2'); HR-ESI-MS, Table 12.

#### Kolavenic acid (**14**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_H$  1.57 (1H, H-1a), 1.45 (1H, H-1b), 1.98 (2H, H-2), 5.2

(1H, brs, H-3), 1.71 (1H, m, H-6a), 1.18 (1H, m, H-6b), 1.43 (2H, H-7), 1.48 (1H, H-8), 1.32 (1H, dd,  $J = 12.0, 1.3$  Hz, H-10), 1.53 (1H, H-11a), 1.40 (1H, H-11b), 2.04 (1H, H-12a), 1.96 (1H, H-12b), 5.68 (1H, brs, H-14), 2.17 (3H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-16), 0.81 (3H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-17), 1.58 (3H, brs, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 0.73 (3H, s, H-20);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{C}}$  18.3 (C-1), 27.0 (C-2), 120.5 (C-3), 144.5 (C-4), 38.2 (C-5), 36.8 (C-6), 27.5 (C-7), 36.4 (C-8), 38.8 (C-9), 46.5 (C-10), 36.4 (C-11), 35.0 (C-12), 164.8 (C-13), 114.9 (C-14), 172.4 (C-15), 19.6 (C-16), 16.0 (C-17), 18.1 (C-18), 20.0 (C-19), 18.4 (C-20); HR-ESI-MS, Table 12.

#### 2-Oxo-solidagolactone (**15**)

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{H}}$  2.43 (1H, dd,  $J = 17.5, 14.0$  Hz, H-1a), 2.27 (1H, H-1b), 5.73 (1H, brs, H-3), 1.87 (1H, m, H-6a), 1.37 (1H, m, H-6b), 1.53 (2H, H-7), 1.49 (1H, H-8), 1.84 (1H, m, H-10), 1.63 (1H, m, H-11a), 1.58 (1H, H-11b), 2.31 (1H, H-12a), 2.13 (1H, H-12b), 5.83 (1H, brs, H-14), 4.72 (2H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-16), 0.85 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-17), 1.90 (3H, brs, H-18), 1.14 (3H, s, H-19), 0.87 (3H, s, H-20);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta_{\text{C}}$  34.6 (C-1), 199.7 (C-2), 125.5 (C-3), 172.4 (C-4), 39.9 (C-5), 35.5 (C-6), 26.8 (C-7), 36.1 (C-8), 38.7 (C-9), 45.8 (C-10), 35.0 (C-11), 21.9 (C-12), 170.0 (C-13), 115.3 (C-14), 173.8 (C-15), 73.0 (C-16), 15.8 (C-17), 19. (C-18), 18.3 (C-19), 17.8 (C-20); HR-ESI-MS, Table 12.

#### (4Z,8Z)-10-Tigloyloxy matricaria lactone (**16**)

Yellow oil;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 9;  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 9; HR-ESI-MS, Table 12.

#### (4Z,8Z)-10-Angeloyloxy matricaria lactone (**17**)

Yellow oil;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 9;  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 9; HR-ESI-MS, Table 12.

#### (2Z,8Z)-10-Methacryloyloxy matricaria ester (**18**)

Pale brown oil;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 10;  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), Table 10; HR-ESI-MS, Table 12.

(2Z,8Z)-10-Isobutyryloxy matricaria ester (**19**)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>H</sub> 6.26 (2H, ABq, H-2, 3), 5.80 (1H, dtd, *J* = 11.0, 1.6, 0.7 Hz, H-8), 6.20 (1H, dt, *J* = 11.0, 6.5 Hz, H-9), 4.85 (2H, dd, *J* = 6.5, 1.6 Hz, H-10), 2.58 (1H, sep, *J* = 7.0 Hz, H-2'), 1.19 (6H, d, *J* = 7.0 Hz, H-3', H-4'), 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>C</sub> 164.7 (C-1), 121.8 (C-2), 131.4 (C-3), 79.6 (C-4), 84.9 (C-5), 78.9 (C-6), 81.3 (C-7), 111.2 (C-8), 141.2 (C-9), 62.2 (C-10), 176.8 (C-1'), 33.9 (C-2'), 19.0 (C-3', C-4'), 51.8 (OCH<sub>3</sub>); HR-ESI-MS, Table 12.

(2Z,8Z)-10-Tigloyloxy matricaria ester (**20**)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>H</sub> 6.25 (2H, ABq, H-2, 3), 5.80 (1H, dtd, *J* = 11.0, 1.5, 0.6 Hz, H-8), 6.24 (1H, dt, *J* = 11.0, 6.5 Hz, H-9), 4.91 (2H, dd, *J* = 6.5, 1.5 Hz, H-10), 6.90 (1H, qq, *J* = 7.1, 1.4 Hz, H-3'), 1.80 (3H, dq, *J* = 7.1, 1.1 Hz, H-4'), 1.85 (3H, quin, *J* = 1.1 Hz, H-5'), 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>C</sub> 164.7 (C-1), 121.8 (C-2), 131.3 (C-3), 79.7 (C-4), 84.9 (C-5), 78.9 (C-6), 81.4 (C-7), 111.0 (C-8), 141.5 (C-9), 62.0 (C-10), 167.7 (C-1'), 128.2 (C-2'), 138.0 (C-3'), 14.4 (C-4'), 12.1 (C-5'), 51.8 (OCH<sub>3</sub>); HR-ESI-MS, Table 12.

(2Z,8Z)-10-Angeloyloxy matricaria ester (**21**)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>H</sub> 6.26 (2H, ABq, H-2, 3), 5.80 (1H, dtd, *J* = 11.0, 1.5, 0.6 Hz, H-8), 6.26 (1H, dt, *J* = 11.0, 6.5 Hz, H-9), 4.93 (2H, dd, *J* = 6.5, 1.5 Hz, H-10), 6.11 (1H, qq, *J* = 7.3, 1.5 Hz, H-3'), 2.00 (3H, dq, *J* = 7.3, 1.5 Hz, H-4'), 1.93 (3H, quin, *J* = 1.5 Hz, H-5'), 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>C</sub> 164.7 (C-1), 121.8 (C-2), 131.3 (C-3), 79.7 (C-4), 84.9 (C-5), 78.9 (C-6), 81.4 (C-7), 111.1 (C-8), 141.4 (C-9), 62.0 (C-10), 167.6 (C-1'), 127.4 (C-2'), 138.8 (C-3'), 15.9 (C-4'), 20.6 (C-5'), 51.8 (OCH<sub>3</sub>); HR-ESI-MS, Table 12.

*cis*-Dehydromatricaria ester (**22**)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>H</sub> 6.29 (1H, d, *J* = 11.4, H-2), 6.17 (1H, dd, *J* = 11.4, 0.6 Hz, H-3), 2.02 (3H, d, *J* = 0.6 Hz, H-10), 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>C</sub> 164.6 (C-1), 121.6 (C-2), 132.5 (C-3), 86.2 (C-4), 64.8 (C-5), 72.2 (C-6), 70.9

(C-7), 58.4 (C-8), 80.8 (C-9), 4.86 (C-10), 51.8 (OCH<sub>3</sub>); EI-MS: *m/z*; 172 [M]<sup>+</sup>.

#### *trans*-Dehydromatricaria ester (**23**)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>H</sub> 6.37 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-2), 6.75 (1H, dd, *J* = 15.9, 0.4, H-3), 2.02 (3H, d, *J* = 0.4 Hz, H-10), 3.78 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ<sub>C</sub> 166.7 (C-1), 1123.6 (C-2), 33.6 (C-3), 83.0 (C-4), 64.7 (C-5), 71.5 (C-6), 71.1 (C-7), 58.1 (C-8), 80.6 (C-9), 4.2 (C-10), 52.1 (OCH<sub>3</sub>); EI-MS: *m/z*; 172 [M]<sup>+</sup>.

#### 分析装置条件

HPLC 分析は、CBM-20A communication bus module、LC-20AD binary pump、DGU-20A3 degasser、SIL-20AC auto sampler、CTO-10A column oven、SPD-M20A PDA を備えた HPLC システム (株式会社島津製作所) を使用して実施した。クロマトグラフィー分離は、Waters Atlantis T3 カラム (i.d. 2.1 mm × 150 mm, 5 μm、ウォーターズ株式会社、ミルフォード、マサチューセッツ) を用いて、カラム温度: 40 °Cで行った。移動相は、(A) 5 mM 酢酸アンモニウム溶液と (B) アセトニトリルからなる混合溶媒で、0–30 min、linear gradient from 10% to 100% B、30–40 min、isocratic at 100% B とした。流速は 0.2 mL/min、PDA は 190-800 nm の範囲で設定した。HPLC システムに ESI を備えた IT-TOF-MS (株式会社島津製作所) を接続した。ESI パラメータは、ソース電圧: +4.5 kV (ポジティブイオンモード) または -3.5 kV (ネガティブイオンモード)、キャピラリー温度: 200 °C、ネブライザーガス流量: 1.5 L/min、乾燥ガス圧: 110 kPa、curved desolvation line および heat block 温度: 200 °Cに設定した。MS 分析はポジティブおよびネガティブイオンモードで、*m/z* 150 から 1500 までスキャンした。データ取得と処理には、LCMS solution version 3.80 software package を使用した。

#### 定量分析

*n*-Hexane 抽出物を正確に秤量し、MeOH に 0.1 mg/mL の濃度で溶解した。この溶液を 0.45 μm Millipore フィルターユニット (アドバンテック東洋株式会社、東京、日本) でろ過し、ろ液 1 μL を HPLC-PDA システムに注入した。単離した化合物を MeOH に溶解し、これを連続希釈して 0.05-50 μg/mL の範囲で校正用標準溶液を得た。直線回帰法により標準曲線を作成し、230 nm (化合物 **13** および

14) または 254 nm (化合物 20–22) のそれぞれのピーク面積を濃度に対してプロットした。各標準曲線は、少なくとも 5 種類の濃度から作製した。

#### 植物成長阻害活性

レタスおよびイタリアンライグラスの種子を、90 mm シャーレにおいて、希釈水 3 mL で湿らせたろ紙上で、それぞれ 24 時間および 48 時間、暗所で予備発芽させた。30 mm シャーレにおいて、ろ紙を MeOH または *n*-hexane に溶解した試料溶液 250  $\mu$ L で湿潤させ、乾燥後、500  $\mu$ L の蒸留水を注ぎ、発芽した種子 5 粒を、ろ紙上に載せた。培養プレートパラフィルムで密閉後、20  $^{\circ}$ C、暗所下で培養した。レタスは 4 日後、イタリアンライグラスは 2 日後、定規で幼名の根およびシュートの長さを測定し、測定した長さをコントロールとして水処理したものと比較することにより、植物成長阻害活性を評価した。同様の実験を独立して 3 回行った。

#### 統計解析

バイオアッセイの結果は、平均  $\pm$  標準偏差で表した。IBM SPSS Statistics (ver. 27.0) を用いて、各データに対して一元配置分散分析を行い、Tukey 法により多重比較した。 $p$  値が 0.05 以下のものを有意とみなした。

## 引用文献

- 1) Enomoto T., Nakagawa K., *J. Weed Sci. Technol.*, **22**, 202–208 (1977).
- 2) Weber E., *Flora*, **195**, 123–134 (2000).
- 3) Fukuda I., *Sci. reports Tokyo Woman's Christ. Univ.*, **32**, 675–690 (1982).
- 4) Eттerson J. R., Delf D. E., Craig T. P., Ando Y., Ohgushi T., *Botany*, **86**, 91–97 (2008).
- 5) Kato A., Ohbayashi N., *Entomol. Sci.*, **12**, 130–134 (2009).
- 6) Sakata Y., Itami J., Isagi Y., Ohgushi T., *J. Plant Res.*, **128**, 909–921 (2015).
- 7) Johnson R. H., Halitschke R., Kessler A., *Chemoecology*, **20**, 255–264 (2010).
- 8) Yukinaga H., Ide K., Ito K., Shimada M., *J. Weed Sci. Technol.*, **19**, 46–50 (1975).
- 9) Ichihara K., Kawai T., Kaji M., Noda M., *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 353–358 (1976).
- 10) Ichihara K., Kawai T., Noda M., *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 427–431 (1978).
- 11) Kobayashi A., Kouya S., Yamashita K., *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 2257–2260 (1976).
- 12) Kobayashi A., Morimoto S., Shibata Y., Yamashita K., Numata M., *J. Chem. Ecol.*, **6**, 119–131 (1980).
- 13) Bohlmann F., Singh P., Singh R. K., Joshi K. C., Jakupovic J., *Phytochemistry*, **24**, 1114–1115 (1985).
- 14) Nishino C., Manabe S., Kazui M., Matsuzaki T., *Tetrahedron Lett.*, **25**, 2809–2812 (1984).
- 15) Tori M., Katto A., Sono M., *Phytochemistry*, **52**, 487–493 (1999).
- 16) Yamamura S., Ito M., Niwa M., Hasegawa I., Ohba S., Saito Y., *Tetrahedron Lett.*, **22**, 739–740 (1981).
- 17) Okazaki T., Ohsuka A., Kotake M., *Nippon Kagaku Kaishi*, **1973**, 584–589 (1973).
- 18) Ohsuka A., Kusumoto S., Kotake M., *Nippon Kagaku Kaishi*, **1972**, 963–967 (1972).
- 19) Manabe S., Nishino C., *Tetrahedron*, **42**, 3461–3470 (1986).
- 20) Okano A., Nomura Y., Tezuka T., *J. Nat. Prod.*, **46**, 750–751 (1983).
- 21) Sawabe A., Minemoto K., Ouchi S., Okamoto T., *J. Japan Oil Chem. Soc.*, **48**, 139–142, 151 (1999).
- 22) Tsuji H., Tani Y., Ueda H., *Nippon Nōgeikagaku Kaishi*, **52**, 49–50 (1978).
- 23) Wu B., Takahashi T., Kashiwagi T., Tebayashi S., Kim C. S., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 815–816 (2007).
- 24) Jin H., Tanaka T., Kouno I., Ishimaru K., *J. Nat. Med.*, **61**, 351–354 (2007).
- 25) Jin H., Ogino K., Fujioka T., Yoshida M., Ishimaru K., *J. Nat. Med.*, **62**, 199–201

- (2008).
- 26) Nii H., Furukawa K., Iwakiri M., *Nippon Nōgeikagaku Kaishi*, **49**, 245–249 (1975).
  - 27) Lawson S. K., Sharp L. G., Powers C. N., McFeeters R. L., Satyal P., Setzer W. N., *Plants*, **9**, 126 (2020).
  - 28) Morimoto M., *Pest Manag. Sci.*, **75**, 2474–2481 (2019).
  - 29) Bosio C. F., McaCrea K. D., Nitao J. K., Abrahamson W. G., *Environ. Entomol.*, **19**, 465–468 (1990).
  - 30) Shiojiri K., Ozawa R., Yamashita K., Uefune M., Matsui K., Tsukamoto C., Tokumaru S., Takabayashi J., *Sci. Rep.*, **7**, 41508 (2017).
  - 31) Shiojiri K., Ozawa R., Yamashita K., Uefune M., Matsui K., Tsukamoto C., Takabayashi J., *Phytochem. Lett.*, **36**, 7–10 (2020).
  - 32) Li R., Morris-Natschke S. L., Lee K. H., *Nat. Prod. Rep.*, **33**, 1166–1226 (2016).
  - 33) Hagiwara H., *Nat. Prod. Commun.*, **14**, doi:10.1177/1934578X19843613 (2019).
  - 34) Kolocouris A., Mavromoustakos T., Demetzos C., Terzis A., Grdadolnik S. G., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 837–840 (2001).
  - 35) Guo D. X., Wang X. N., Zhu R. X., Liu N., Zhou J. C., Yu W. T., Lou H. X., *Phytochem. Lett.*, **5**, 535–540 (2012).
  - 36) Brito I., Bórquez J., Robledo D., Simirgiotis M. J., Cárdenas A., *J. Chil. Chem. Soc.*, **63**, 4086–4089 (2018).
  - 37) Rogers D., Ünal G. G., Williams D. J., Ley S. V., Sim G. A., Joshi B. S., Ravindranath K. R., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **3**, 97–99 (1979).
  - 38) Tokoroyama T., *Synthesis*, **5**, 611–633 (2000).
  - 39) Laurençon L., Sarrazin E., Chevalier M., Prêcheur I., Herbette G., Fernandez X., *Phytochemistry*, **86**, 103–111 (2013).
  - 40) Starks C. M., Williams R. B., Goering M. G., O’Neil-Johnson M., Norman V. L., Hu J. F., Garo E., Hough G. W., Rice S. M., Eldridge G. R., *Phytochemistry*, **71**, 104–109 (2010).
  - 41) Tiansheng L., Menelaou M. A., Vargas D., Fronczek F. R., Fischer N. H., *Phytochemistry*, **32**, 1483–1488 (1993).
  - 42) Kurisawa N., Yukawa M., Koshino H., Onodera T., Toda T., Kimura K., *Bioorganic Med. Chem.*, **28**, 115154 (2020).
  - 43) Bohlmann F., Zdero C., King R. M., Robinson H., *Phytochemistry*, **20**, 1657–1663 (1981).
  - 44) Xue P. H., Zhang N., Liu D., Zhang Q. R., Duan J. S., Yu Y. Q., Li J. Y., Cao S. J., Zhao F., Kang N., Qiu F., *J. Nat. Prod.*, **84**, 247–258 (2021).
  - 45) Nguyen M. V., Han J. W., Dang Q. L., Ryu S. M., Lee D., Kim H., Choi G. J., *J.*



- Agric. Food Chem.*, **69**, 10527–10535 (2021).
- 46) Du K., De Mieri M., Neuburger M., Zietsman P. C., Marston A., Van Vuuren S. F., Ferreira D., Hamburger M., Van Der Westhuizen J. H., *J. Nat. Prod.*, **78**, 2494–2504 (2015).
  - 47) Niwa M., Yamamura S., *Tetrahedron Lett.*, **22**, 2789–2792 (1981).
  - 48) Manabe S., Enoki N., Nishino C., *Tetrahedron Lett.*, **26**, 2213–2216 (1985).
  - 49) Dong B., Yang X., Liu W., An L., Zhang X., Tuerhong M., Du Q., Wang C., Abudukeremu M., Xu J., Lee D., Shuai L., Lall N., Guo Y., *J. Nat. Prod.*, **83**, 894–904 (2020).
  - 50) Phainuphong P., Rukachaisirikul V., Tadpetch K., Sukpondma Y., Saithong S., Phongpaichit S., Preedanon S., Sakayaroj J., *Phytochemistry*, **137**, 165–173 (2017).
  - 51) Sumioka H., Harinantenaina L., Matsunami K., Otsuka H., Kawahata M., Yamaguchi K., *Phytochemistry*, **72**, 2165–2171 (2011).
  - 52) Kato M., Kosugi H., Ichiyanagi T., Hagiwara H., Kodaira A., Kusakari T., Suzuki T., Ando M., Lee J., Drechsel P., Vogler B., *Tetrahedron*, **57**, 8243–8256 (2001).
  - 53) Nogueira R. T., Shepherd G. J., Laverde A., Marsaioli A. J., Imamura P. M., *Phytochemistry*, **58**, 1153–1157 (2001).
  - 54) Cagašová K., Ghavami M., Yao Z. K., Carlier P. R., *Org. Biomol. Chem.*, **17**, 6687–6698 (2019).
  - 55) Bläs B., Zapp J., Becker H., *Phytochemistry*, **65**, 127–137 (2004).
  - 56) Munissi J. J. E., Isyaka S. M., Mas-Claret E., Brabner M., Langat M. K., Nyandoro S. S., Mulholland D. A., *Phytochemistry*, **179**, 112487 (2020).
  - 57) Cao S., Hou Y., Brodie P., Miller J. S., Randrianaivo R., Rakotobe E., Rasamison V. E., Kingston D. G. I., *Chem. Biodivers.*, **8**, 643–650 (2011).
  - 58) Kobayashi J., Sekiguchi M., Shimamoto S., Shigemori H., Ohsaki A., *J. Nat. Prod.*, **63**, 1576–1579 (2000).
  - 59) Silveira E. R., McChesney J. D., *Phytochemistry*, **36**, 1457–1463 (1994).
  - 60) Jones W. P., Lobo-Echeverri T., Mi Q., Chai H. B., Soejarto D. D., Cordell G. A., Swanson S. M., Kinghorn A. D., *J. Nat. Prod.*, **70**, 372–377 (2007).
  - 61) Tang W., Harada K., Kubo M., Hioki H., Fukuyama Y., *Nat. Prod. Commun.*, **6**, 327–332 (2011).
  - 62) Kijjoa A., Pinto M. M. M., Pinho P. M. M., Herz W., *Phytochemistry*, **34**, 457–460 (1993).
  - 63) Sánchez A. A., Esquivel B., Pera A., Cárdenas J., Soriano-García M., Toscano A., Rodríguez-Hahn L., *Phytochemistry*, **26**, 479–482 (1987).
  - 64) Wang W., Ali Z., Li X. C., Smillie T. A., Guo D. A., Khan I. A., *Fitoterapia*, **80**,

- 404–407 (2009).
- 65) Mohamed A. E. H. H., Mohamed N. S., *Nat. Prod. Res.*, **28**, 30–34 (2014).
  - 66) Freiburghaus F., Steck A., Pfander H., Brun R., *J. Ethnopharmacol.*, **61**, 179–183 (1998).
  - 67) Tchinda A. T., Fuendjiep V., Mekonnen Y., Ngo B. B., Dagne E., *Nat. Prod. Commun.*, **2**, 9–12 (2007).
  - 68) Nogueira R. T., Giacomini R. A., Shepherd G. J., Imamura P. M., *J. Braz. Chem. Soc*, **13**, 389–391 (2002).
  - 69) Urones J. G., Basabe P., Marcos I. S., Martín D. D., Jiménez V., Sexmero M. J., Gómez B., Slawin A. M. Z., Williams D. J., *Phytochemistry*, **30**, 3471–3473 (1991).
  - 70) Kalpoutzakis E., Aligiannis N., Skaltsounis A. L., Mitakou S., *J. Nat. Prod.*, **66**, 316–319 (2003).
  - 71) Harraz F. M., Pcolinski M. J., Doskotch R. W., *J. Nat. Prod.*, **59**, 5–14 (1996).
  - 72) Widyowati R., Sugimoto S., Yamano Y., Sukardiman, Otsuka H., Matsunami K., *Phytochem. Lett.*, **14**, 56–62 (2015).
  - 73) Puebla P., Correa S. X., Guerrero M., Carron R., San Feliciano A., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 328–329 (2005).
  - 74) Wu C. L., Jong J. R., *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **3**, 241–246 (2001).
  - 75) Leitão G. G., Kaplan M. A. C., Galeffi C., *Phytochemistry*, **31**, 3277–3279 (1992).
  - 76) Qiao Y., Zheng H., Li L., Zhang J., Li Y., Li S., Zhu R., Zhou J., Zhao S., Jiang Y., Lou H., *Bioorg. Med. Chem.*, **26**, 4320–4328 (2018).
  - 77) Ng S. Y., Kamada T., Suleiman M., Vairappan C. S., *Nat. Prod. Res.*, **32**, 1832–1837 (2018).
  - 78) Zhao Y., Huang Z., Sun J., Pang D., Chen X., Yao H., Zhu Z., Zheng J., Tu P., Li J., *Chinese Chem. Lett.*, **30**, 47–50 (2019).
  - 79) Zeng Z. X., Ma W. H., Li Y. Le, Han T., Zheng C. J., Qin L. P., *Helv. Chim. Acta*, **95**, 1121–1125 (2012).
  - 80) Fukuda N., Nakamura M., Yonemitsu M., Kimura T., Isobe R., Komori T., *Liebigs Ann.*, **3**, 325–327 (1993).
  - 81) Zdero C., Bohlmann F., King R. M., *Phytochemistry*, **30**, 2991–3000 (1991).
  - 82) Minto R. E., Blacklock B. J., *Prog. Lipid Res.*, **47**, 233–306 (2008).
  - 83) Xie Q., Wang C., *Phytochemistry*, **201**, 113288 (2022).
  - 84) Christensen L. P., *Molecules*, **25**, 2568 (2020).
  - 85) Konovalov D. A., *Pharm. Chem. J.*, **48**, 613–631 (2014).
  - 86) Bohlmann F., Zdero C., Robinson H., King R. M., *Phytochemistry*, **18**, 1519–1521 (1979).

- 87) Zhang Z., Guo S. S., Zhang W. J., Geng Z. F., Liang J. Y., Du S. S., Wang C. F., Deng Z. W., *Ind. Crops Prod.*, **100**, 132–137 (2017).
- 88) Csupor-Löffler B., Hajdú Z., Zupkó I., Molnár J., Forgo P., Vasas A., Kele Z., Hohmann J., *Planta Med.*, **77**, 1183–1188 (2011).
- 89) Du Y., Pearce K. C., Dai Y., Krai P., Dalal S., Cassera M. B., Goetz M., Crawford T. D., Kingston D. G. I., *J. Nat. Prod.*, **80**, 1639–1647 (2017).
- 90) Busta L., Yim W. C., Labrant E. W., Wang P., Grimes L., Malyszka K., Cushman J. C., Santos P., Kosma D. K., Cahoon E. B., *Plant Physiol.*, **178**, 1507–1521 (2018).
- 91) Bohlmann F., Burkhardt T., *Chem. Ber.*, **105**, 521–528 (1972).
- 92) Jente R., Richter E., *Phytochemistry*, **15**, 1673–1679 (1976).
- 93) Christensen L. P., Lam J., *Phytochemistry*, **30**, 2453–2476 (1991).
- 94) Rehder V. L. G., Leitão Filho H. F., Marsaioli A. J., *J. Nat. Prod.*, **53**, 692–695 (2004).
- 95) Rose A. F., Butt B. A., Jermy T., *Phytochemistry*, **19**, 563–566 (1980).
- 96) Bohlmann F., Zdero C., *Chem. Ber.*, **102**, 1034–1036 (1969).
- 97) Bohlmann F., Zdero C., Kapteyn H., *Chem. Ber.*, **102**, 1682–1690 (1969).
- 98) Bohlmann F., Knauf W., King R. M., Robinson H., *Phytochemistry*, **18**, 1011–1014 (1979).
- 99) Bohlmann F., Kramp W., Grenz M., Robinson H., King R. M., *Phytochemistry*, **20**, 1907–1913 (1981).
- 100) Zdero C., Bohlmann F., King R. M., Robinson H., *Phytochemistry*, **27**, 1105–1107 (1988).
- 101) Menelaou M. A., Foroozesh M., Williamson G. B., Fronczek F. R., Fischer H. D., Fischer N. H., *Phytochemistry*, **31**, 3769–3771 (1992).
- 102) Queiroz S. C. N., Cantrell C. L., Duke S. O., Wedge D. E., Nandula V. K., Moraes R. M., Cerdeira A. L., *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 5893–5898 (2012).
- 103) Zdero C., Ahmed A. A., Bohlmann F., Mungai G. M., *Phytochemistry*, **29**, 3167–3172 (1990).
- 104) Bohlmann F., Zdero C., *Chem. Ber.*, **102**, 1679–1681 (1969).
- 105) Nazaruk J., Kalemba D., *Molecules*, **14**, 2458–2465 (2009).
- 106) Vidari G., Abdo S., Gilardoni G., Ciapessoni A., Gusmeroli M., Zanoni G., *Fitoterapia*, **77**, 318–320 (2006).
- 107) Luo L. H., Kim H. J., Nguyen D. H., Lee H. B., Lee N. H., Kim E. K., *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 1091–1094 (2009).
- 108) Góra J., Lis A., Kula J., Staniszevska M., Wołoszyn A., *Flavour Fragr. J.*, **17**,

- 445–451 (2002).
- 109) Pieribattesti J. C., Mondon J. M., Gaydou E. M., Vincent E. J., *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 599–600 (1988).
  - 110) Pandey S. C., Dhama D. S., Jha A., Shah G. C., Kumar A., Samant M., *ACS Omega*, **4**, 14640–14649 (2019).
  - 111) Pieribattesti J. C., Conan J. Y., Buil P., Garnero J., Joulain D., *Phytochemistry*, **20**, 507–508 (1981).
  - 112) Jakupovic I., Chau-Thi T. N., Fischer N. H., *Phytochemistry*, **25**, 1223–1224 (1986).
  - 113) Meepagala K. M., Sturtz G., Wise D., Wedge D. E., *Pest Manag. Sci.*, **58**, 1043–1047 (2002).
  - 114) Bohlmann F., Zdero C., *Phytochemistry*, **15**, 1318–1319 (1976).
  - 115) Bohlmann F., Ahmed M., Borthakur N., Wallmeyer M., Jakupovic J., King R. M., Robinson H., *Phytochemistry*, **21**, 167–172 (1982).
  - 116) Bohlmann F., Kleine K. -M, Bornowski H., *Chem. Ber.*, **98**, 369–371 (1965).
  - 117) Javidnia K., Shafiee A., *Flavour Fragr. J.*, **14**, 153–155 (1999).
  - 118) Bohlmann F., Kleine K. M., *Chem. Ber.*, **97**, 1193–1196 (1964).
  - 119) Bär B., Schultze W., *Planta Med.*, **62**, 332–335 (1996).
  - 120) Su J. Y., Zhu L., Tian Y. J., *Int. J. Agric. Biol.*, **14**, 107–110 (2012).
  - 121) Bohlmann F., Zdero C., *Phytochemistry*, **17**, 487–489 (1978).
  - 122) Proksa B., Uhrín D., Fuska J., *Chem. Pap.*, **45**, 837–844 (1991).
  - 123) Bohlmann F., Chen Z. L., Schuster A., *Phytochemistry*, **20**, 2601–2602 (1981).
  - 124) Bohlmann F., Fritz U., King R. M., Robinson H., *Phytochemistry*, **19**, 2655–2661 (1980).
  - 125) Móricz Á. M., Ott P. G., Häbe T. T., Darcsi A., Böszörményi A., Alberti Á., Krüzelyi D., Csontos P., Béni S., Morlock G. E., *Anal. Chem.*, **88**, 8202–8209 (2016).
  - 126) Suleimen Y., Van Hecke K., Ibatayev Z. A., Iskakova Z. B., Akatan K., Martins C. H. G., Silva T. S., *J. Struct. Chem.*, **59**, 988–991 (2018).
  - 127) da Silva B. P., Nepomuceno M. P., Varela R. M., Torres A., Molinillo J. M. G., Alves P. L. C. A., Macías F. A., *J. Agric. Food Chem.*, **65**, 5161–5172 (2017).
  - 128) Ito I., Kobayashi K., Yoneyama T., *Ann. Bot.*, **82**, 625–630 (1998).
  - 129) Kobayashi K., Koyama H., Shim I. S., *Plant Soil*, **259**, 97–102 (2004).
  - 130) Hiradate S., *Nat. Prod. Pest Manag.*, **927**, 113–126 (2006).
  - 131) Sakuno E., Kamo T., Takemura T., Sugie H., Hiradate S., Fujii Y., *Weed Biol. Manag.*, **10**, 202–207 (2010).

- 132) Hiradate S., Morita S., Sugie H., Fujii Y., Harada J., *Phytochemistry*, **65**, 731–739 (2004).
- 133) Nishidono Y., Yahata H., Niwa K., Kitajima A., Tezuka Y., Watanabe S., Tanaka K., *Tradit. Kampo Med.*, **9**, 41–48 (2022).
- 134) Nishidono Y., Okada R., Iwama Y., Okuyama T., Nishizawa M., Tanaka K., *Fitoterapia*, **140**, 104444 (2020).
- 135) Nishidono Y., Saifudin A., Nishizawa M., Fujita T., Nakamoto M., Tanaka K., *Nat. Prod. Commun.*, **13**, 869–873 (2018).
- 136) Kato-Noguchi H., Kosemura S., Yamamura S., *Phytochemistry*, **48**, 433–435 (1998).
- 137) Ochi R., Nishiwaki H., Yamauchi S., *J. Agric. Food Chem.*, **67**, 12558–12564 (2019).
- 138) Okada S., Iwasaki A., Kataoka I., Suenaga K., Kato-Noguchi H., *Sci. Hortic.*, **250**, 243–248 (2019).
- 139) Ren X., He X., Zhang Z., Yan Z., Jin H., Li X., Qin B., *J. Agric. Food Chem.*, **63**, 8975–8980 (2015).
- 140) Silva M. P., Piazza L. A., López D., López Rivilli M. J., Turco M. D., Cantero J. J., Tourn M. G., Scopel A. L., *Phytochemistry*, **77**, 140–148 (2012).
- 141) Stevens K. L., *J. Chem. Ecol.*, **12**, 1205–1211 (1986).
- 142) Zhang Z., Liu Y., Yuan L., Weber E., van Kleunen M., *Ecol. Lett.*, **24**, 348–362 (2021).
- 143) Salah M. A., Bedir E., Toyang N. J., Khan I. A., Dewayne Harries M., Wedge D. E., *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7607–7610 (2003).
- 144) Tsuji H., Tani Y., Ueda H., *Nippon Nōgeikagaku Kaishi*, **51**, 609–615 (1977).
- 145) Kato-Noguchi H., Kato M., *Plants*, **11**, 3235 (2022).
- 146) Zhang Q., Yao L. J., Yang R. Y., Yang X. Y., Tang J. J., Chen X., *Allelopath. J.*, **20**, 71–78 (2007).
- 147) Zhang S., Jin Y., Tang J., Chen X., *Appl. Soil Ecol.*, **41**, 215–222 (2009).