國立台東大學生命科學系

碩士論文

指導教授:郭曜豪教授

,01)

青剛櫟生物活性成分之探討 Studies on the Bioactive Constituents of *Quercus glauca*

研究生:陳昭蓉 撰

中華民國 九十八年十二月

國立台東大學

學位論文考試委員審定書

系所别:生命科學系

本 班 陳昭蓉 君 ☑ 碩士學位論文 □ 博士學位論文 業經本委員會通過合於 條件 論文學位考試委員會: J to 學位考試委員會主席) 3月1日 第5 (指導教授) 論文學位考試日期: <u>98年 12月 10日</u> 國立台東大學 附註:1. 本表一式二份經學位考試委員會簽後,送交系所辦公室及註冊組成進

修部存查。

2.本表為日夜學制通用,請依個人學制分送教務處或進修部辦理。

本授	權書所授權之論文為本人在 國立臺東大學生命科學系(所)
	組_98_學年度第_1_學期取得碩_士學位之論文。
論文	名稱:
و دفرم ال	本人具有著作財產權之論文全文資料,授權予下列單位:
Ē	司意 不同意 單 位
	□ 図家圖書館
1	□ 本人畢業學校圖書館
	□ 與本人畢業學校圖書館簽訂合作協議之資料庫業者
徉	导不限地域、時間與次數以微縮、光碟或其他各種數位化方式重製後散布發行或上
	載網站,藉由網路傳輸,提供讀者基於個人非營利性質之線上檢索、閱覽、下載
	或列印。
	□同意 √不同意 本人畢業學校圖書館基於學術傳播之目的,在上述範圍內得再授
	<u> 確 </u>
	<u>催第三人進行資料車製。</u>
	<u> </u>
	雅
	雅
	羅 在 龍
	確 工年後公開 本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會)的附件之一,申 請文號為: ,請將全文資料延後半年再公開。 公開時程 立即公開 一年後公開 工年後公開 三年後公開 上述授權內容均無須訂立讓與及授權契約書。依本授權之發行權為非專屬性發行
	▲論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會)的附件之一,申 請文號為:,請將全文資料延後半年再公開。 公開時程 立即公開 一年後公開 二年後公開 上述授權內容均無須訂立讓與及授權契約書。依本授權之發行權為非專屬性發行 權利。依本授權所為之收錄、重製、發行及學術研發利用均為無償。上述同意與 不同意之欄位若未勾選,本人同意視同授權。
	雅 人建行管料重製。 雅 人建行管料重製。 本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會的附件之一,申 請文號為:
	 雅麗三人進行資料車製。 本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會的附件之一,申 請文號為:, 請將全文資料延後半年再公開。 公開時程 立即公開 一年後公開 二年後公開 三年後公開 三年後公開 上述授權內容均無須訂立讓與及授權契約書。依本授權之發行權為非專屬性發行 上述授權所為之收錄、重製、發行及學術研發利用均為無償。上述同意與 不同意之欄位若未勾選,本人同意視同授權。 教授姓名: ① (親筆簽名)
指研究	 雅麗三人進行資料車製。 本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會的附件之一,申 市文號為: , 請將全文資料延後半年再公開。 公開時程 立即公開 一年後公開 二年後公開 三年後公開 上述授權內容均無須訂立讓與及授權契約書。依本授權之發行權為非專屬性發行 上述授權所為之收錄、重製、發行及學術研發利用均為無償。上述同意與 不同意之欄位若未勾選,本人同意視同授權。 教授姓名: 近下 可能 近下 「就筆簽名」 (親筆簽名)
	 雅麗三人進行資料車製。 本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會的附件之一,申 請文號為:, 請將全文資料延後半年再公開。 公開時程 立即公開 一年後公開 二年後公開 三年後公開 三年(長公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年(長のの男) 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年(長のの男) 三年後公開 三年後初 三年後回 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後公開 三年後の 三年後の 三年後初 三年後の 三年後
指研學日本	 磁第三人進行資料車製・ 本論文為本人向經濟部智慧財產局申請專利(未申請者本條款請不予理會)的附件之一,申 請文號為:

時光飛逝,即將完成碩士階段的訓練。首先由衷感 謝恩師郭曜豪教授,對於學生在天然物研究上的啓發 和教誨,更感謝老師提供舒適的實驗和學習環境,讓 學生無後顧之憂在研究方面,學生在此至上最誠摯的 敬意與感謝。

此外,感謝口試委員國立中國醫藥研究所沈建昌博 士、國立台東大學生命科學所廖尉岑博士對此論文細 心審查,並提供寶貴的建議,使本論文更加完善。在 實驗方面,感謝本實驗是的張麗杰博士在純化分析上 的指導及幫助,以及感謝行政院農委會林業試驗所洪 昆源博士提供本論文材料的寶貴資訊。最後感謝台東 大學生科所李炎所長,對學生在外校作實驗的時間, 給予最大的方便與照顧。

在研究其間特別感謝國立中國醫藥研究所提供良好 的環境及實驗器材,使本實驗進行的如此順利。另外 也要感謝學長姐和實驗試夥伴在各方面的指導及照 顧,包含:楊麗明老師、肇麟、雅文、祐任、力川、 萍君、雨涵、惠玲、宏澤、裴鍇、志虎、品潔、琇 晴。另外還要感謝台東大學惠嵐以及我的同學們給我 的幫助。

最後,感謝在背後支持我的家人,謝謝你的們鼓勵。

中文摘要

青剛櫟(Quercus glauca)為殼斗科,櫟屬植物,生長在低海拔山 區,亦是台灣黑熊(Ursus thibetanus formosanus)的主要食物之一,在 傳統中國醫療上的應用,主要有治療痢疾、止血,收斂、產婦血崩等 功效,然而以生物活性為導向進行生物活性成分之分離,從青剛櫟 (Quercus glauca)乙酸乙酯層萃取物中,分離得到16個化合物,包括βsitosterol glucoside (1)和5個triterpenoids類化合物batrogenic acid (2) · trachelosperogenin A (5) · paradrymonoside (9) · 24-epi-pinfaensin (10)、rosamultin (11);2個flavonoids類化合物3-β-hydroxynaringenin (7)、naringenin-7-O-glucoside (4);2個aromatics類化合物ethyl gallate (6)、3,4-dihydroxybenzoic acid (8);6個木質酚(lignans)類化合物中有2 個 benzofuran type, dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (3)、dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4-β-D-xyloside (16);有4個 cyclolignolide type化合物(+)-lyoniresino-9'-O-α-L-rhamnoside (12)、5'methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (13) \sim 5-methoxy-(+)isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (14)、(+)-acviculin (15),其中13和 16為新化合物。生物活性方面,化合物6、8、14、15皆具有清除 DPPH自由基的能力,其ED50值分別為2.98、10.44、11.84、15.21 ug/ mL。在抑制腫瘤細胞(Daoy、HEp2)生長方面則無明顯效果。

關鍵字:青剛櫟、抗氧化、木質酚

Abstract

Quercus glauca, Fagaceae family, has been used in treating astringency, dysentery, detoxication, detumescence in traditional chinese medicine and is the main food of Formosan black bear (Ursus thibetanus formosanus). It is distributed at low-elevation forest throughout the island of Taiwan. In our continuing search for the bioactive constituents of the titled plant, two new lignans derivatives, designated as 5'-methoxy-(+)isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (13), dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4- β -D-xyloside (16) and 14 known compounds including aromatics: ethyl gallate (6), 3,4-dihydroxybenzoic acid (8), flavonoids: 3-βhydroxynaringenin (7), naringenin-7-O-glucoside (4), triterpenoids: batrogenic acid (2), trachelosperogenin A (5), paradrymonoside (9), 24-epipinfaensin (10), rosamultin (11), cyclolignolide type lignans: (+)lyoniresino-9'-O- α -L-rhamnoside (12), 5'-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'- $O-\alpha$ -L-rhamnoside (13), 5-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'- $O-\alpha$ -Lrhamnoside (14), (+)-acviculin (15), benzofuran type neolignans, dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (3) and β -sitosterol glucoside (1) were isolated. Structural elucidation of these isolates were based on spectroscopic analysis, especially 1D and 2D NMR techniques for the new compounds. Compounds 6, 8, 14 and 15 showed strong antioxidant activity by DPPH radical scavenging with ED_{50} at 2.98, 10.44, 11.84, 15.21 µg/mL, respectively.

Keywords : Quercus glauca, antioxidant, lignans

目錄

頁次

中文摘要	Ι
英文摘要	II
目錄	III
圖、表目錄	V
縮寫表	XII
第一章 緒論	1
第一節研究背景與目的	1
第二節 抗氧化之简介	3
第三節 青剛櫟之簡介	5
第四節 櫟屬植物之文獻回顧	7
\sim	
第二章 材料與方法	
第一節 實驗儀器與藥品	
第二節 青剛櫟化學成分之萃取與分離	
第三章 化合物結構證明	44
第一節 化合物 1 之結構解析	45
第二節 化合物 2 之結構解析	50
第三節 化合物 3 之結構解析	57
第四節 化合物 4 之結構解析	66
第五節 化合物 5 之結構解析	73
第六節 化合物 6之結構解析	79
第七節 化合物 7之結構解析	
第八節 化合物 8 之結構解析	
第九節 化合物 9 之結構解析	92

第四章 生物活性試驗	
第一節 清除自由基之抗氧化實驗	160
第二節 抑制腫瘤細胞生長分析實驗	
第五章 結論	
第六章 參考文獻	

圖目錄

頁次

Fig. 1-1. 櫟屬 (Quercus) 植物	勿化合物之化學結構	16
Fig. 2-1. Quercus glauca 之々	化學成分萃取與分離流程(一)	.40
Fig. 2-2. Quercus glauca 之々	化學成分萃取與分離流程(二)	.41
Fig. 2-3. Quercus glauca 分離	離出之化合物(一)	.42
Fig. 2-4. Quercus glauca 分報	離出之化合物(二)	.43
Fig. 3-1-1. Compound 1 <i>≠</i> ¹	H NMR 光譜	48
Fig. 3-1-2. Compound $1 \gtrsim 1$	³ C NMR 光譜	48
Fig. 3-1-3. Compound 1 之 I	R 圖譜	.49
Fig. 3-1-4. Compound 1 之 I	ESIMS 圖譜	.49
Fig. 3-2-1. Compound 2 <i>≠</i> ¹	HNMR 光譜	53
Fig. 3-2-2. Compound 2 \gtrsim ¹	³ CNMR 光譜	53
Fig. 3-2-3. Compound 2 <i>≠</i> 1	DEPT 圖譜	.54
Fig. 3-2-4. Compound 2 之 I	HMQC 圖譜	54
Fig. 3-2-5. Compound 2 之 I	HMBC 圖譜	55
Fig. 3-2-6. Compound 2 之 (COSY 圖譜	55
Fig. 3-2-7. Compound 2 之 I	R 圖 譜	.56
Fig. 3-2-8. Compound 2 之 H	ESIMS 圖譜	.56
Fig. 3-3-1. Compound 3 之 ¹	H NMR 光譜	61
Fig. 3-3-2. Compound 3 之 ¹	¹³ C NMR 光譜	61
Fig. 3-3-3. Compound 3 <i>≈</i> I	DEPT 光譜	62
Fig. 3-3-4. Compound 3 之 I	HMQC 光譜	62
Fig. 3-3-5. Compound 3 <i>≈</i> 1	HMBC 光譜	.63
Fig. 3-3-6. Compound 3 <i>≈</i> 1	NOEY 光譜	63
Fig. 3-3-7. Compound 3 之 U	UV 光譜	.64
Fig. 3-3-8. Compound 3 <i>≈</i> 1	IR 光譜	64
Fig. 3-3-9. Compound 3 之 H	ESIMS 圖譜	.65

Fig. 3-	-4-1. Compound 4 之	¹ H NMR 光譜	69
Fig. 3-	-4-2. Compound 4 之	¹³ C NMR 光譜	69
Fig. 3-	-4-3. Compound 4 之	DEPT 光譜	70
Fig. 3-	-4-4. Compound 4 之	HMQC 光譜	70
Fig. 3-	-4-5. Compound 4 之	HMBC 光譜	.71
Fig. 3-	-4-6. Compound 4 之	UV 光譜	71
Fig. 3-	-4-7. Compound 4 之	IR 光譜	72
Fig. 3-	-4-8. Compound 4 之	ESIMS 圖譜	.72
Fig. 3-	-5-1 Compound 5 之	HNMR 光譜	76
Fig. 3-	-5-2 Compound 5之 13	³ CNMR 光譜	76
Fig. 3-	-5-3. Compound 5 之	DEPT 圖譜	.77
Fig. 3-	-5-4. Compound 5 之	IR 光譜	77
Fig. 3-	-5-5. Compound 5 之	ESIMS 圖譜	.78
Fig. 3-	-6-1. Compound 6 之	¹ H NMR 光譜	80
Fig. 3-	-6-2. Compound 6 之	¹³ C NMR 光譜	81
Fig. 3-	-6-3. Compound 6 之	UV 光譜	81
Fig. 3-	-6-4. Compound 6 之	IR 光譜	82
Fig. 3-	-6-5. Compound 6 之	ESIMS 圖 譜	.82
Fig. 3-	-7-1. Compound 7 之	¹ H NMR 光譜	85
Fig. 3-	-7-2. Compound 7 之	¹³ C NMR 光譜	85
Fig. 3-	-7-3. Compound 7 之	UV 光譜	86
Fig. 3-	-7-4. Compound 7 之	IR 光譜	86
Fig. 3-	-7-5. Compound 7 之	ESIMS 圖譜	.87
Fig. 3-	-8-1. Compound 8 之	¹³ H NMR 光譜	.89
Fig. 3-	-8-2. Compound 8 之	¹³ C NMR 光譜	90
Fig. 3-	-8-3. Compound 8 之	UV 光譜	90
Fig. 3-	-8-4. Compound 8 之	IR 光譜	91
Fig. 3-	-8-5. Compound 8 之	ESIMS 圖譜	.91

Fig. 3-9-1. Compound 9 之 ¹ H NMR 光譜	95
Fig. 3-9-2. Compound 9 之 ¹³ C NMR 光譜	95
Fig. 3-9-3. Compound 9 之 DEPT 光譜	96
Fig. 3-9-4. Compound 9 之 HMQC 光譜	96
Fig. 3-9-5. Compound 9 之 HMBC 光譜	97
Fig. 3-9-6. Compound 9 之 COSY 光譜	97
Fig. 3-9-7. Compound 9 之 NOESY 光譜	98
Fig. 3-9-8. Compound 9 之 IR 光譜	98
Fig. 3-9-9. Compound 9 之 ESIMS 圖譜	99
Fig. 3-10-1. Compound 10 之 ¹³ H NMR 光譜	103
Fig. 3-10-2. Compound 10 之 ¹³ C NMR 光譜	103
Fig. 3-10-3. Compound 10 之 DEPT光譜	104
Fig. 3-10-4. Compound 10 之 IR 光譜	104
Fig. 3-10-5. Compound 10 之 ESIMS 圖譜	105
Fig. 3-11-1. Compound 11 之 ¹ H NMR 光譜	109
Fig. 3-11-2. Compound 11 之 ¹³ C NMR 光譜	109
Fig. 3-11-3. Compound 11 之 DEPT 光譜	110
Fig. 3-11-4. Compound 11 之 HMQC 光譜	110
Fig. 3-11-5. Compound 11 之 HMBC 光譜	111
Fig. 3-11-6. Compound 11 之 IR 光譜	111
Fig. 3-11-7. Compound 11 之 ESIMS 圖譜	112
Fig. 3-12-1. Compound 12之HMBC、COSY、NOESY關聯圖.	115
Fig. 3-12-2. Compound 12 之 ¹ H NMR 光譜	117
Fig. 3-12-3. Compound 12 之 ¹³ C NMR 光譜	117
Fig. 3-12-4. Compound 12 之 DEPT 光譜	118
Fig. 3-12-5. Compound 12 之 HMQC 光譜	118
Fig. 3-12-6. Compound 12 之 HMBC 光譜	119
Fig. 3-12-7. Compound 12 之 COSY 光譜	119

Fig. 3-12-8. Compound 12 之 NOESY 光譜	120
Fig. 3-12-9. Compound 12 之 CD、UV 光譜	120
Fig. 3-12-10. Compound 12 之 IR 光譜	121
Fig. 3-12-11. Compound 12 之 HRESIMS 圖譜	121
Fig. 3-13-1. Compound 13之HMBC、NOESY、COSY 關聯	圖124
Fig. 3-13-2. Compound 13 之 ¹ H NMR 光譜	127
Fig. 3-13-3. Compound 13 之 ¹³ C NMR 光譜	127
Fig. 3-13-4. Compound 13 之 DEPT 光譜	128
Fig. 3-13-5. Compound 13 之 HMQC 光譜	128
Fig. 3-13-6. Compound 13 之 HMBC 光譜	129
Fig. 3-13-7. Compound 13 之 COSY 光譜	129
Fig. 3-13-8. Compound 13 之 NOESY 光譜	130
Fig. 3-13-9. Compound 13 之 CD、UV 光譜	130
Fig. 3-13-10. Compound 13 之 IR 光譜	131
Fig. 3-13-11. Compound 13 之 HRESIMS 圖譜	131
Fig. 3-14-1. Compound 14 之 ¹ H NMR 光譜	136
Fig. 3-14-2. Compound 14 之 ¹³ C NMR 光譜	136
Fig. 3-14-3. Compound 14 之 DEPT 光譜	137
Fig. 3-14-4. Compound 14 之 HMQC 光譜	137
Fig. 3-14-5. Compound 14 之 HMBC 光譜	138
Fig. 3-14-6. Compound 14 之 COSY 光譜	138
Fig. 3-14-7. Compound 14 之 NOESY 光譜	139
Fig. 3-14-8. Compound 14 之 CD、UV 光譜	139
Fig. 3-14-9. Compound 14 之 IR 光譜	140
Fig. 3-14-10. Compound 14 之 ESIMS 圖譜	140
Fig. 3-15-1. Compound 15 之 ¹ H NMR 光譜	145
Fig. 3-15-2. Compound 15 之 ¹³ C NMR 光譜	145
Fig. 3-15-3. Compound 15 之 DEPT 光譜	146

Fig. 3-15-4. Compound 15 之 HMQC 光譜	146
Fig. 3-15-5. Compound 15 之 HMBC 光譜	147
Fig. 3-15-6. Compound 15 之 COSY 光譜	147
Fig. 3-15-7. Compound 15 之 NOESY 光譜	148
Fig. 3-15-8. Compound 15 之 CD、UV 光譜	148
Fig. 3-15-9. Compound 15 之 IR 光譜	149
Fig. 3-15-10. Compound 15 之 HRESIMS 圖譜	149
Fig. 3-16-1. Compound 16 之 HMBC、COSY 關聯圖	151
Fig. 3-16-2. Compound 16 之 NOESY 關聯圖	152
Fig. 3-16-3. Compound 16 之 ¹ H NMR 光譜	155
Fig. 3-16-4. Compound 16 之 ¹³ C NMR 光譜	155
Fig. 3-16-5. Compound 16 之 DEPT 光譜	156
Fig. 3-16-6. Compound 16 之 HMQC 光譜	156
Fig. 3-16-7. Compound 16 之 HMBC 光谱	157
Fig. 3-16-8. Compound 16 之 COSY 光譜	157
Fig. 3-16-9. Compound 16 之 NOESY 光譜	158
Fig. 3-16-10. Compound 16 之 CD、UV 光譜	158
Fig. 3-16-11. Compound 16 之 IR 光譜	159
Fig. 3-16-12. Compound 16 之 HRESIMS 圖譜	159
Fig. 4-1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)之化學結構	160
Fig. 4-2. Radical scavenging activity for Quercus glauca	extract
and positive control: α-tocoperol	163
Fig. 4-3. Radical scavenging activity for fraction 2 to	11 and
positive control: α-tocoperol	164
Fig. 4-4. Radical scavenging activity for compounds 1 to	16 and
positive control: α-tocoperol	165

表目錄

百	次
「	

Table 1-1. 櫟屬 (Quercus) 植物之化學成分文獻回顧	8
Table 3-1. 化合物 1 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	47
Table 3-2. 化合物 2 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	
Table 3-3. 化合物 3 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	60
Table 3-4. 化合物 4 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	68
Table 3-5. 化合物 5 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	75
Table 3-6. 化合物 6 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	80
Table 3-7. 化合物 7 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	
Table 3-8. 化合物 8 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	87
Table 3-9. 化合物 9 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	
Table 3-10. 化合物 10 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	102
Table 3-11. 化合物 11 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	
Table 3-12. 化合物 12 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	116
Table 3-13. 化合物 13 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	126
Table 3-14. 化合物 14 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	
Table 3-15. 化合物 15 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	144
Table 3-16. 化合物 16 之 ¹ H、 ¹³ C 光譜數據整理	154
Table 4-1. 化合物 4, 6-8, 12-14, 16 舆 α-tocopherol	之 ED50 比較
	163
Table 4-2. 抑制腫瘤細胞生長實驗結果	

縮寫表

δ	Chemical shift (ppm)
COSY	Correlation spectroscopy
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMSO	Dimethyl sulfoxide
ESI-MS	Electrospray ionization-mass spectrometry
ELISA	Enzyme-linked immunsosrbent assay
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
HPLC	High performance liquid chromatography
Hz	Hertz
IR	Infrared
UV	Ultraviolet
NMR	Nuclear magnetic resonance
MS	Mass spectrum
DPPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
MTT	3,4,5-Dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
PBS	Phosphate-buffered saline

第一章、序論

第一節 研究背景與目的

隨著時代進步,科技為人類帶來了生活上的便利,但隨著飲食及 生活環境的改變,現今文明病也越來越多,根據2008年行政院衛生署 公佈的十大死因中惡性腫瘤、心臟疾病、腦血管疾病一直是二十年來 蟬聯的前三名,但高療效、副作用小及不產生交叉耐藥性的藥物仍然 不多,且依目前的藥物在臨床上要達到根治的目標都還相差甚遠,所 以從天然物去尋找新穎、有效和副作用小的新藥仍是當務之急。

台灣位於北迴歸線上,其地理環境位置涵蓋熱帶、亞熱帶,島上 高山林立,孕育了熱、暖、溫、寒等各帶的生態體系,加上台灣四面 環海,使其成為冰河時期植物的避難所,雖然台灣陸地面積不大,卻 擁有極其豐富的植物種類。根據台灣植物誌第二版所述¹,目前台灣已 知維管束植物有四千零七十七種,其中特有種就高達一千零六十七 種,所以針對台灣豐富的植物又不破壞生態下,對其生物活性成分之 探討,應有開發潛能。

現代人因飲食、生活習慣、工作壓力及環境等影響,身體內的氧 化壓力逐漸增加,抗氧化機制逐漸衰退造成許多慢性病提前發生,影 響日後的生活品質。目前除了治療上的藥物外,對於預防老化觀念越 來越重視,所以對於可以抗氧化及預防心血管疾病的藥物或食品越來 越受重視,最近研究顯示,中草藥的成份中特別是酚類化合物,被認 為是對人體健康有利的生物活性成份²。酚類化合物普遍存在天然物 中,而且有廣泛的生物活性功能,包含抗氧化、抗老化³、抗微生物、 抗發炎及血管擴張作用^{4,5}。流行病學的調查指出,飲食形態在預防心 臟病、癌症、肥胖、阿茲海默症及帕金森氏症都有重要的相關性,這

些疾病的起因都與自由基的反應有關。然而,研究也證實攝取富含酚類的天然物,能夠大大的降低罹患機率。

本實驗室利用清除2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)自由基的 活性篩選數種植物後發現,青剛櫟(Quercus glauca)具有良好的抗氧化 能力。因此本實驗將以青剛櫟為題材,透過生物活性導向的方式分離 化合物,並以核磁共振光譜(Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy, NMR)及其他光譜解析鑑定其化合物之結構,並進行抗氧化及其他生 物活性之探討,期許能由青剛櫟獲致有效的生物活性成份,甚至新的 具活性化合物。



第二節 抗氧化之簡介

一、自由基 (Free radical)

自由基是指軌域上具有一個或多個不成對電子而獨立存在之原 子、離子、分子或任何包含奇數電子之化學物質⁶,這些都是不穩定而 且非常活躍的。例如:氧屬自由基(reactive oxygen species, ROS)的超 氧自由基(superoxide anion, \cdot O₂⁻)、氫氧自由基(hydroxyl radical, \cdot OH)、氫過氧基(hydrogen peroxide radical, HO₂ \cdot)、有機過氧物 (organic peroxide radical, RO₂ \cdot)等,而一氧化氮(nitric oxide, \cdot NO)和二 氧化氮(nitric dioxide, \cdot NO₂)屬於氮屬自由基(reactive nitrogen species, RNS)。氧屬自由基(ROS)及氮屬自由基(RNS)亦可以形成其他非自由 基的活躍族群,例如:過氧化氫(H₂O₂)、次氯酸(HOCI)、次溴酸 (HOBr)、過氧亞硝酸鹽(ONOO⁻)。此外,這些活性氮屬自由基(RNS) 和活性氧屬自由基(ROS)的產生,在人體或動物的病理和生理環境中 扮演重要角色⁷。

二、自由基的形成

氧參與了人體內氧自由基及氮自由基的形成⁸。例如人體內的水 和氧在酵素的催化下形成超氧自由基(·O₂⁻)、氫氧自由基(·OH)、過氧 化氫(H₂O₂);而超氧歧化酶(SOD)則將超氧自由基(·O₂⁻)轉變成過氧化 氫(H₂O₂);另外,精胺酸藉由一氧化氮合成酶形成一氧化氮,然而, 一氧化氮(NO)會和·O₂⁻或H₂O₂形成過氧亞硝酸鹽(ONOO⁻),是比·O₂⁻ 或H₂O₂還要強的氧化劑^{8,9}。另一個很強的氧化劑HOC1,則是利用 H₂O₂和Cl⁻藉由Myeloperoxidase催化而產生。脂質過氧自由基的形成, 是由脂質自由基(lipid radical)外加氧而形成。脂質過氧自由基進一步 從鄰近的不飽和脂肪酸得到一個氫原子,進行過氧化基鏈鎖反應。

三、自由基的清除

對抗自由基的防禦系統有SOD、GSH、GSH peroxidase、

glutathione reductase、catalase及抗氧化劑。例如:Vit.E可以轉移酚類 氫基到過氧化不飽和脂肪鏈(PUFA)的過氧化自由基,因而阻斷自由基 連鎖反應。雖然SOD的副產物是H2O2,但是H2O2可由catalase及GSH peroxidase催化成水。然而生物體內雖有一套完整的防禦系統可以降低 或消除氧化性傷害,但是過量的氧化物質會產生不可逆的氧化傷害, 因此攝取具有抗氧化或活化抗氧化酵素之物質,則可延緩老化或減少 氧化物質的發生。因此人們對於所謂的「抗氧化物質」產生極大的興 趣和盼望,積極尋找類似維生素C、維生素E、β-胡蘿蔔素、超氧歧化 酶(superoxide dismutase, SOD)等抗氧化物質。目前已知的天然抗氧化 劑有:類黃酮(flavonoids)、類胡蘿蔔素(carotenoids)

、生物鹼(alkaloids)、抗壞血酸(ascorbic acid)、維生素(vitamins)、酚類 衍生物(phenolic derivatives)、單寧類化合物(tannin)等都具有抗氧化能 力⁸。

第三節 青剛櫟之簡介

設斗科植物廣泛分佈於北半球的熱帶、亞熱帶、溫帶及南極圈(僅一屬),分為10屬,約為600種。而台灣共有6屬,約59種,一般國外學 者將櫟屬(Quercus)分櫟亞屬及青剛櫟亞屬¹⁰。青剛櫟(Quercus glauca Thunb.)是屬於殼斗科(又名為山毛櫸科,Fagaceae)中的櫟屬青剛櫟 亞屬。其別名有:白校櫕、校櫕、九櫕(台灣、福建)、青剛、青 櫟、青栲(浙江)、石櫸(湖南)、猴櫕子、細葉椆(湖北)等¹¹。 其他分類地位屬於¹²

植物界 Plante

被子植物門 Magnoliophyta

雙子葉植物綱 Magnoliophsida

殼斗目 Fagales

殼斗科 (又名山毛櫸科) Fagaceae

櫟屬 Quercus

青剛櫟亞屬 Cyclobalanopsis

青剛櫟 Quercus glauca

【分佈】11

青剛櫟主要產於中國大陸南部、印度、日本,韓國、台灣等地。 本種在台灣全境山麓至低海拔山區闊葉林內,是普遍可見之樹種。 【形態】11

常綠喬木;嫩枝被黃色毛茸;葉互生,柄長2-6 cm,葉片革質, 長橢圓至長橢圓狀披針形,長6-12 cm,寬2-5.5 cm,基部銳尖形,先 端漸尖或尾尖,上半部粗鋸齒緣,下部近全緣,背面粉白色,側脈 8-12對;葇荑花序,腋生,長5-6 cm,被毛;殼斗杯形,密生絹毛, 鱗片8-10輪;堅果橢圓,長約2 cm,下部被殼斗盛包住,頂端具圓錐 形突尖,花期春、夏間;果期秋、冬間。

【藥性】13味甘、苦、澀、性平。

【效用】13

果實: 溫腸止瀉、生津止渴; 主治瀉痢、痢疾、津傷口渴、傷 酒。《本草食遺》止泄痢, 破血, 食之不飢, 令健行, 能除惡血, 止 渴。

樹皮、樹葉:止血、斂瘡;主治產婦血崩、臁瘡。《本草食遺》 治產婦出血,皮、葉煮去汁飲之。《日用本草》治臁瘡,嫩葉貼患 處,一日三換。

台灣青剛櫟果實亦為台灣黑熊之主要食物。從青剛櫟中已經分離 到黃酮、有機酸、單寧、三萜等化合物,



Fig. 1-1. 青剛櫟 (Quercus glauca Thunb.) 植物形態外觀

第四節、櫟屬植物之化學成分文獻回顧

本實驗將探討青剛櫟之化學成分及其生物活性,為了瞭解櫟屬 (Quercus sp.)植物所分離出的化合物類型及結構,因此將其文獻報導 蒐集整理如下表(Table 1-1)所示,以作為往後結構解析及生物活性試 驗之參考。本屬植物已知的化合物,主要為: aromatics、catechines、flavonoids、steroids、tannins、triterpenoids等 不同類型骨架。



Compound 化合物名稱	Source 基源
Aromatics	
2-Hydroxybenzoic acid methyl ester (1)	Q. agrifolia ¹⁴
1-Allyl-3-methoxy-4-hydroxybenzene (2)	Q. agrifolia ¹⁴
cis- 3-Hexenyl benzoate (3)	Q. agrifolia ¹⁴
Catechins	
(3R)-Catechin (4)	Q. robur ¹⁵
(3 <i>S</i>)-Catechin (5)	Q. robur ¹⁵
(3 <i>R</i>)-3,5,7, 3',4',5'-Hexahydroxyflavane (6)	Q. robur ¹⁵
(-)- <i>cis</i> -3,5,7,3',4',5'-Hexahydroxyflavane 3- <i>O</i> -gallate (7)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
(-)-Catechin 3-O-gallate (8)	$Q. robur^{15}$
(+)-Catechin 3- <i>O</i> -gallate (9)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
(3 <i>S</i>)-3,5,7, 3',4',5'-Hexahydroxyflavane (10)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
Procyanidin B3 (11)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Procyanidin B1 (12)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Gallocatechin-(4α-8)-catechin (13)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Gallocatechin- $(4\alpha - 8)$ -gallocatechin (14)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
Epicatechin-(4β -8)-epigallocatechin 3'- O -gallate (15)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
(-)-Epigallocatechin-3- <i>O</i> -gallate-(4β-8)-(+)-catechin (16)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
(-)-epicatechin-3-O-gallate-(4β-8)-(-)-epigallocatechin-3-O-gallate (17)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
Procyanidin B3-3,3"-digallate (18)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
Proanthocyanidin D15 (19)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
Proanthocyanidin D14 (20)	<i>Q. robur</i> ¹⁵
Flavonoids	
Quercetin (21)	Q. iberica ¹⁸
Quercetin-3- <i>O</i> -α-L-arabinoside (22)	<i>Q. ilex</i> ¹⁹
Quercetin-3- <i>O</i> -α-L-rhamnoside (23)	Q . tintori a^{20}

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧

Compound 化合物名稱	Source 基源
Quercetin-3- O - α -L-arabinofuranoside (24)	Q . cerris L^{21}
Quercetin-3- O - β -D-glucoside (25)	Q. iberica ¹⁸
Quercetin-3- O - β -D-galactoside (26)	<i>Q. ilex</i> ¹⁹
Quercetin-3- <i>O</i> -(6"-galloyl)-β-D-glucoside (27)	<i>Q. ilex</i> ¹⁹
Quercetin-3- <i>O</i> -β-xylopyranosyl(1-2)-β-D-glucoside (28)	Q. pubescens ²²
Kaempferol (29)	Q. stenophylla ²³
Kaempferol-3- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -galloyl)-β-D-glucoside (30)	Q. canariensis ²⁴
Kaempferol 3- O - β -D-glucoside (31)	Q. glauca ¹⁷
Kaempferol-3- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -α-L-rhamnosyl)-β-D-glucoside (32)	Q. canariensis ²⁴
Kaempferol-3- <i>O</i> -(6"-coumaroyl)-β-D-glucoside (33)	<i>Q. ilex</i> ¹⁹
Kaempferol 3- <i>O</i> -(4"-acetyl-6"- <i>trans-p</i> -coumaroyl)- β-D-glucoside (34)	<i>Q. suber</i> ²⁵
Kaempferol-3- <i>O</i> -(3"-acetyl-6"- <i>trans-p</i> -coumaroyl)- β-D-glucoside (35)	Q. cerris ²⁶
Kaempferol 3- O -(2"- <i>trans</i> - p -coumaroyl)- β -D-glucoside (36)	<i>Q. suber</i> ²⁵
Kaempferol-3- <i>O</i> -(2"- <i>trans-p</i> -coumaroyl-6"-acetyl)- β-D-glucoside (37)	Q. bentata ²⁷
Kaempferol 3- <i>O</i> -(2",3"-diacetyl-4"- <i>cis-p</i> -coumaroyl -6"- <i>trans-p</i> -coumaroyl)-β-D-glucoside (38)	Q. glauca ¹⁷
Kaempferol 3- <i>O</i> -(2",6"- <i>trans-p</i> -dicoumaroyl-3",4"- diacetyl)-β-D-glucoside (39)	Q. glauca ¹⁷
Kaempferol 3- <i>O</i> -(2",6"- <i>trans-p</i> -dicoumaroyl)-β-D- glucoside (40)	Q. glauca ¹⁷
Kaempferol 3- <i>O</i> -(2"- <i>cis</i> - <i>p</i> -coumaroyl-6"- <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroyl)-β-D-glucoside (41)	<i>Q. suber</i> ²⁵
Kaempferol 3- O -(6"- <i>trans-p</i> -coumaroyl)- β -D-glucoside (42)	Q. glauca ¹⁷
Kaempferol 3- <i>O</i> -(2",4"-di- <i>trans-p</i> -coumaroyl)-β-D- glucoside (43)	<i>Q. ilex</i> ²⁸

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)

Compound 化合物名稱	Source 基源
5-Acetoxy-3,3',4',5'-tetramethoxyflavon (44)	Q. semicarpofolia ²⁹
Myricetin-3- O -(6"- O - α -L-rhamnosyl)- β -D-galactoside (45)	<i>Q. ilex</i> ³⁰
Isorhamnetin 3- O - β -D-glucoside (46)	Q. glauca ¹⁷
Isorhamnetin 3- <i>O</i> -(6"- <i>trans-p</i> -coumaroyl)-β-D- glucoside (47)	Q. cerris ²⁶
Isorhamnetin 3- <i>O</i> -(6"-galloy)-β-D-glucoside (48)	Q. cerris ²⁶
Taxifolin-3- O - β -D-glucoside (49)	Q. mongolica ³¹
Steroids	
β-Stigmasterol (50)	Q. glauca ³²
Dipterocarpol (51)	Q. robure ³³
Dammarendiol-II (52)	Q. robure ³³
β-Sitosterol (53)	Q. glauca ³⁴
β-Sitostenone (54)	<i>Q. suber</i> ³⁵
Cyclobalanone (55)	Q. glauca ³⁶
Sitostenone (56)	Q. glauca ³⁴
24-Methylene-cycloartanone (57)	Q. glauca ³⁶
24,24-Dimethyl-lanosta-9(11)-dien-3 β -yl acetate (58)	<i>Q. gilva</i> ³⁷
3β,20-dammnaren-24-diol (59)	Q. robur ¹⁵
Campesterol (60)	Q. suber ³⁵
Sitosteroline (61)	Q_{38} . <i>virginiana</i> Mill.
β -Sitosterol-3- <i>O</i> -β-D-glucoside (62)	<i>Q. cerris</i> L. ³⁹
Tannins	
Stenophyllanin B (63)	Q . phillyraeoides 16
Stenophyllanin A (64)	Q . phillyraeoides 16
Stenophyllanin C (65)	Q. stanophylla ⁴⁰
Stenophynin B (66)	Q. stanophylla ⁴¹
Stenophynin A (67)	<i>Q. stanophylla</i> ⁴¹

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)

Compound 化合物名稱	Source 基源
Acutissimin A (68)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Atenophyllinin A (69)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Pentagalloyl glucose (70)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Tellimagrandin II (71)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Ellagitannin (72)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Phillyraeoidin E (73)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Pedunculagin (74)	Q. phillyraeoides ¹⁶
2",3"-Digalloyl-4",6"-(<i>S</i>)- hexahydroxydiphenoylsalidroside (75)	Q. stanophylla ⁴²
2",3",4",6"-Tetragalloylsalidroside (76)	Q. stanophylla ⁴²
3"-Galloyl-4",6"-(<i>S</i>)- hexahydroxydiphenoylsalidroside (77)	Q. stanophylla ⁴²
1,2,3-Trigalloyl-β-D-glucose (78)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Strictinin (79)	Q. phillyraeoides ¹⁶
2-Galloyl-4,6-(<i>S</i>)-hexahydroxydiphenoyl-D-glucose (80)	Q. phillyraeoides ¹⁶
2,3-Hexahydroxydiphenoyl-6-galloyl-D-glucose (81)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Methyl gallate $3-O-\beta-D-(6'-galloyl)-glucoside (81)$	Q. phillyraeoides ¹⁶
<i>p</i> -Hydroxybenzoyl-6-galloyl-β-D-glucoside (83)	Q. phillyraeoides ¹⁶
2,3-(S)-Hexahydroxydiphenoyl-D-glucose (84)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Phillyraeoidin A (85)	Q. phillyraeoides ¹⁶
1,2,3,4,5-Pentagalloylprotoquercitol (86)	Q. stanophylla ⁴³
1,5-Digalloyl-3,4-(<i>S</i>)-hexahydroxydiphenoyl protoquercitol (87)	Q. stanophylla ⁴⁴
1,2,4,5-Tetragalloylprotoquercitol (88)	Q. stanophylla ⁴³
1,3,4,5-Tetragalloylprotoquercitol (89)	Q. stanophylla ⁴³
2,4,5-Trigalloylprotoquercitol (90)	Q. stanophylla ⁴³
1,2,3-Trigalloylprotoquercitol (91)	Q. stanophylla ⁴³
Esculin-6'-gallate (91)	Q. phillyraeoides ¹⁶

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)

Compound 化合物名稱	Source 基源
<i>p</i> -Hydroxyphenethylalcohol-6-galloyl-β-D-glucoside (93)	Q. phillyraeoides ¹⁶
1,3,5-Trigalloylprotoquercitol (94)	Q. stanophylla ⁴³
5-Galloyl-3,4-(S)- hexahydroxydiphenoylprotoquercitol (95)	Q. stanophylla ⁴⁴
1,4,5-Trigalloylprotoquercitol (96)	Q. stanophylla ⁴³
4,5-Digalloylprotoquercitol (97)	Q. stanophylla ⁴³
Castalagin (98)	Q. stanophylla ⁴⁰
Vescalagin (99)	Q. phillyraeoides ¹⁶
Castalin (100)	Q. stanophylla ⁴⁰
5-Desgalloylstachyurin (101)	Q. stanophylla ⁴⁰
Casuarinin (102)	Q. stanophylla ⁴⁰
Grandinin (103)	<i>Q. phillyraeoides</i> ¹⁶
Triterpenoids	
Fridcelan-3-one (104)	Q. glauca ¹⁷
3β -Hydroxyolean-12-ene (105)	Q. suber ³⁵
3-Hydroxyfriedel-3-en-2-one (106)	Q. suber ³⁵
Taraxerone (107)	Q. bambusaefolia ⁴⁵
Gilvenol (108)	Q. gilve ⁴⁶
2α-Acetoxyfriedel-3-one (109)	Q. suber ⁴⁷
Taraxer-14-en-3β,16α-diol (110)	Q. bambusaefolia ⁴⁵
3β -Hydroxyfriedelane (111)	Q. bambusaefolia ⁴⁵
3α-Hydroxyfriedelane (112)	<i>Q. glacua</i> ⁴⁸
19α-Hydroxy-3-oxo-24-norolean-12-en-28-oic acid (113)	<i>Q. aliena</i> Var. acuteserrata ⁵¹
2α,3β,19α-Trihydroxy-24-norolean-12-en-28-oic acid (114)	<i>Q. aliena</i> Var. acuteserrata ⁵¹
2α,19α-Dihydroxy-3-oxo-24-norolean-12-en-28-oic acid (115)	<i>Q. aliena</i> Var. acuteserrata ⁵¹
Taraxerol (116)	Q. bambusaefolia ⁴⁵

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)

Compound 化合物名稱	Source 基源
β-Amyrin (117)	Q. bambusaefolia ⁴⁵
Betulin (118)	Q. championi ⁴⁹
Lupeol (119)	Q. championi ⁴⁹
Hop-17(21)-en-3-one (120)	Q. championi ⁴⁹
β -Amyrin acetate (121)	Q. glauca ³⁶
β -Amyrenyl acetate (122)	Q. championi ⁵⁰
Olean-12-en-1,3-dione (123)	<i>Q. bambusaefolia</i> ⁴⁵
3-Methoxy-2,12-dien-1-one (124)	Q. bambusaefolia ⁴⁵
2-Hydroxyfriedecelan-3-one (125)	<i>Q. suber</i> ⁴⁹
2β-Acetoxyfriedel-3-one (126)	<i>Q. suber</i> ⁴⁹
3α-Friedelanol (127)	<i>Q. robur</i> ⁵²
Friedelan-2,3-dione (128)	Q. suber ⁵³
13β-Friedelan-3α-ol (129)	Q. glauca ⁵⁴
3β -Friedelan- 3β -ol (130)	Q. glauca ⁵⁴
Friedelin (131)	Q. Incana ⁵²
3α-Hydroxyglutin-5-ene (132)	<i>Q</i> . spp. ⁵⁵
3β-Acetoxy-14β-olean-12-ene (133)	Q. glauca ⁵⁴
Oleanolic acid (134)	Q. occidentalis ¹³
Betulinic acid (135)	<i>Q. suber</i> ⁴⁹
Cannophyllol (136)	<i>Q. suber</i> ⁴⁹
3α-Hydroxyfriedel-2-one (137)	<i>Q. suber</i> ⁴⁹
3β-Hydroxyglutin-5-ene (138)	Q. serrata ⁵⁶
13β-Friedelan-3β-ol (139)	Q. glauca ⁵⁴
3β-Hydroxy-hop-17-21-ene (140)	Q. championi ⁵⁰
3α-acetoxyfriedelane (141)	<i>Q. robur</i> ⁵⁷
Isoarborinylacetate (142)	Q. glacua ⁴⁸
Ursolsaeuremethylester (143)	Q. myrsinaefolia ⁴⁸
Alnusenone (144)	<i>Q. robur</i> ⁵⁷
Methyloleanolate (145)	Q. bambusaefolia ⁴⁵

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)

Compound 化合物名稱	Source 基源
Methylbetulinate (146)	Q. bambusaefolia ⁴⁵
3β-Acetoxy-hop-17-21-ene (147)	Q. championi ⁵⁰
$2\alpha, 3\beta, 19\alpha, 23$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid (148)	<i>Q. ilex</i> ⁵⁸
Bartogenic acid (149)	<i>Q. aliena</i> Var. acuteserrata ⁵¹
Ilexgenin A (150)	<i>Q. aliena</i> Var. acuteserrata ⁵¹
Querspicatin B (151)	Q. spicata ⁵⁹
Aophitolic acid (152)	<i>Q. aliena</i> Var. <i>acuteserrata</i> ⁵¹
Quercilicosid A (153)	<i>Q. robur</i> L. ⁶³
Nigaichigoside F1 (154)	Q. glauca ¹⁷
$3-O$ -Galloyl- 2α , 3β , 19α , 23 -tetrahydroxy-12- ursen-28- carbonsaeure- $28-\beta$ -D-glucopyranosyl ester (155)	Q. virginiana ³⁸
Sericoside (156)	<i>Q. ilex</i> L. ⁵⁸
Arjunglucoside II (157)	Q. laurifolia ⁶⁰
Qquerspicatin A (158)	Q. spicata ¹⁷
$2\alpha, 3\beta, 19\alpha$ -Trihydroxyolean-12-ene-24,28- dioicacid-28- β -D-glucoside ester (159)	Q. glauca ¹⁷
Trachelosperoside A1 (160)	Q. glauca ¹⁷
Others	
α -Terpineol (161)	Q. agrifolia ¹⁴
(-)-Torreyol (162)	Q. agrifolia ¹⁴
hexanoic acid (163)	Q. agrifolia ¹⁴
hexyl alcohol (164)	Q. agrifolia ¹⁴
nonylaldehyde (165)	Q. agrifolia ¹⁴
3,7-dimethyl-3-hydroxy-1,6-octadiene (166)	Q. agrifolia ¹⁴
trans-2-Hexenal (167)	Q. agrifolia ¹⁴

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)

Compound 化合物名稱	Source 基源
trans-2-Hexenyl alcohol (168)	Q. agrifolia ¹⁴
<i>cis</i> -3-Hexenol (169)	Q. agrifolia ¹⁴
trans-3-Hexenol (170)	Q. agrifolia ¹⁴
cis-3-Hexenyl acetate (171)	Q. agrifolia ¹⁴
Hexyl acetate (172)	Q. agrifolia ¹⁴
octylidenaceton (173)	Q. agrifolia ¹⁴
<i>E</i> -Hex-3-en-1-yl butyrate (174)	Q. agrifolia ¹⁴
2-Hexadecanone (175)	Q. agrifolia ¹⁴

Table 1-1. 櫟屬(Quercus)植物之化學成分文獻回顧(續)



Aromatics

HO







Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構



13



14













ŌН





Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)

Flavonoids





HO

OH

νOΗ

ОН



HO



23

24

Υ ¶ OH Ο

HO-







OH



28

ОН О

HO,

HO

29



Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構(續)











Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)













Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構(續)

Steroids

0











50







Η

Ĥ







Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構(續)
Tammins



Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構(續)















ŎН

OH

ö

ЬН

,OH

ОН

ŌН

Ь́Н

0

HO

O,

0

HO

HO

HO

HO



71



óн

HO OH

Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)









Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)









Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構(續)



Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)



Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)







Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)

Triterpenoids





















HO



















Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)

















125

Ĥ

Ĥ

0

Ĥ













129









131

132



Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)

НΟ















137













144

141

145

HQ

Ĥ

ò



Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構(續)





























Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)







Fig 1-1. 櫟屬(Quercus)植物化合物之化學結構 (續)

第二章、材料與方法

第一節 實驗儀器與藥品

1. 層析儀器 (Chromatography)

- (a) 管柱層析 (Column Chromatography)
 - 1. 管柱:不同口徑長度之玻璃管柱
 - 2. 填充物:GE Healthcare Sephadex[™] LH-20;

Merck silica gel 60 F₂₅₄, 0.063-0.2 mm

(70-230 mesh);

Merck silica gel 60 F₂₅₄, 0.040-0.063 mm

(230-400 mesh)

- (b) 薄層層析 (Column Chromatography)
 - 1. 分析型: Merck TLC silica gel 60 F254, pre-coated aluminium sheet, 200 µm;

Merck TLC silica gel RP-18 F_{254} , pre-coated aluminium sheet, 200 μ m

- 2. 製備型: Merck TLC silica gel 60 F₂₅₄, pre-coated glass plate, 1000 µm
- (c) 中壓液相層析 (Medium-pressure Liquid Chromatography)
 - 1. 幫浦 (Pump): Büchi 688 Chromatograph Pump
 - 2. 管柱 (Column): Büchi glass column C-690

(100×460 mm), packing silica gel

(0.063-0.2 mm);

Supelco column (40×150 mm), VersaPak[®]

C18 Cartridge (40-75 µm)

(d) 高效液相層析 (High Performance Liquid Chromatography)

- 1. 幫浦 (Pump): Shimadzu LC-6AD Liquid Chromatography Dynamax model SD-200 solvent delivery system
- 2. 管柱 (Column): Waters RP-18 (5 µm), 10×250 mm
- · 檢測器: Shimadzu SPD-6AV UV-VIS Spectrophotometric detector, Dynamax model UV-1 absorbance detector
- 2. 光譜分析儀器
 - (a) 紅外線光譜 (Infraed spectra IR): Nicolet Avatar 320 FT-IR
 - (b) 分光光度計 (Ultraviolet spectra UV): Hitachi U-3310 Spectrophotometer
 - (c) 旋光度計 (Optical rotation): Jasco DIP-370 Digital Polarimeter
 - (d) 圓二色光譜 (Circular Dichroism spectra): Jasco J-715 Spectropolarimeter
 - (e) 核磁共振光譜 (Nuclear Magnetic Resonance Spectra, NMR)
 - 1. Varian Gemini (200 MHz) FT-NMR
 - 2. Bruker AV-400 (400 MHz) FT-NMR
 - 3. Varian Unity Inova (500 MHz) FT-NMR
 - 4. Varian VNMRS (600 MHz) FT-NMR

信號表示:分別以s、d、t、m、dd及br,代表

singlet、doublet、triplet、multiplet、double doublet种broad。

- 3. 質譜儀器 (Mass Spectra)
 - (a) Joel JMS-HX 110 Mass Spectrophotometer (國立中國醫藥研究所)
 - (b) FINNIGAN MAT 95S Spectrophotometer (國立台灣大學貴儀中心)
- 4. 熔點測定 (Melting Point)

Yanaco micro melting point apparatus

- 5. TLC spots 之檢出
 - (a) UV(長波 365 nm, 短波 254 nm)
 - (b) 5%硫酸溶液, anisaldehyde-sulphuric acid(茴香醛)溶液
- 6. 濃縮機

Büchi B-720 Water bath

7. 溶劑

正己烷	<i>n</i> -Hexane	AR
二氯甲烷	Dichloromethane	AR
氯仿	Chloroform	AR
乙酸乙酯	Ethyl acetate	AR
丙酮	Acetone	AR
甲醇	Methanol	AR
乙醇	Ethanol 95%	

第二節 青剛櫟化學成分之萃取與分離

一、植物來源

農委會林業試驗所 洪昆源 助理研究員於台北縣採集並鑑定,其 樹莖乾重16.2 Kg。

二、青剛櫟萃取與分離流程

青剛櫟莖部乾重16.2 Kg,以95%酒精加熱萃取三次,經減壓濃縮 後得到510g的酒精粗萃物I (crude extract I);再以55%酒精加熱萃取, 經減壓濃縮後得到800g的酒精粗萃物II (crude extract II)。將粗萃物I及 II分別與水進行液-液分配萃取(partition),得到正己烷(*n*-Hexane)萃取 物88g、乙酸乙酯(Ethyl Acetate)萃取物220g和正丁醇(*n*-Butanol)萃取 物330g。

將乙酸乙酯層進行中壓管柱色層分析(Silica gel 0.063-0.2 mm, column 100×460 mm, 3 mL/min),利用氯仿-甲醇(CHCl₃/MeOH)以 100%氯仿至100%甲醇進行梯度沖提,經由TLC點片合併共分得12個 部分(Fr. 1~12)。Fr. 4經由Sephadex LH-20 (80×900 mm)管柱色層分析,以甲醇進行沖提,共分得4個部分(Fr. 4-1~4)。Fr. 4-1經由矽膠管 柱色層分析(Silica gel 0.040-0.063 mm, column 60×300 mm),以氯仿/甲 醇 (100/0至20/1)進行梯度沖提,得到化合物1 (899.2 mg)。

Fr. 4-2利用矽膠管柱色層分析(0.040-0.063 mm, 45×300 mm),以 氯仿/甲醇/乙酸(Chloroform/Methanol/Acetic acid) 20/1/0.03至2/1/0.03進 行梯度沖提,分得6個部分(Fr. 4-2-1~6), Fr. 4-2-4用Sephadex LH-20 (35×900 mm)管柱色層分析,甲醇進行沖提,再以矽膠管柱色層分析

(0.040-0.063 mm, 35×470 mm),以氯仿/甲醇(100/0至20/1)進行梯度沖 提,得到化合物2 (1098 mg)。在Fr. 4-2-4-3使用逆向高效液相層析儀 (HPLC, C-18, 10×250 mm, 2 mL/min, UV 254 nm, RI),35 %乙腈 (CH₃CN in H₂O)進行沖提,得到化合物3 (2.9 mg)。Fr. 4-2-4-6利用製 備型薄層色層分析板(PTLC),以氯仿/甲醇/乙酸(8/1/0.01)作為展開 液,得到化合物4 (1.2 mg)。Fr. 4-2-5用Sephadex LH-20 (35×900 mm)管 柱色層分析,甲醇進行沖提得到化合物5 (65.2 mg)。

Fr. 4-3利用矽膠管柱色層分析(0.063-0.2 mm, 40×380 mm),以氯 仿/甲醇(20/1至5/1)進行梯度沖提分得12個部分(Fr. 4-3-1~12), Fr. 4-3-6 用Sephadex LH-20 (40×90 mm)管柱色層分析,二氯甲烷/甲醇(1/4)進行 沖提,再使用逆向高效液相層析儀(HPLC, C-18, 10×250 mm, 2 mL/ min, UV 254 nm, RI), 22 %乙腈(CH₃CN in H₂O)進行沖提,得到化合 物6 (5.3 mg)和化合物7 (1.2 mg)。Fr. 4-3-9用Sephadex LH-20 (40×90 mm)管柱色層分析,二氯甲烷/甲醇(1/4)進行沖提,得到化合物8 (34.5 mg)。

Fr. 7經由Sephadex LH-20 (80×900 mm)管柱色層分析,以甲醇進行沖提,再用矽膠管柱色層分析(0.063-0.2 mm, 50×240 mm),以二氯 甲烷/甲醇(100/0至0/100)進行梯度沖提,反覆使用Sephadex LH-20 (40×900 mm)管柱色層分析,以甲醇進行沖提,共分得5個部分(Fr. 7-4-7-1~5); Fr. 7-4-7-2,利用逆向高效液相層析儀(HPLC, C-18, 10×250 mm, 2 mL/min, UV 254 nm, RI), 30 %乙腈(CH₃CN in H₂O)進行沖提,得到化合物9 (11.3 mg)、化合物10 (3.0 mg)和化合物11 (3.2 mg)。Fr. 7-4-7-4,使用逆向高效液相層析儀(HPLC, C-18, 10×250 mm, 2 mL/min, UV 254 nm, RI), 15 %乙腈(CH₃CN in H₂O)進行沖提,得到 化合物12 (7.3 mg)、化合物13 (1.3 mg)和化合物14 (4.0 mg)。

Fr. 7-4-7-3,利用逆向高效液相層析儀(HPLC, C-18, 10×250 mm, 2 mL/min, UV 254 nm, RI), 24%乙腈(CH₃CN in H₂O)進行沖提,得到化 合物15(12.6 mg)和化合物16(8.4 mg)。





Fig. 2-1. Quercus glauca之化學成份萃取與分離流程(一)







Fig. 2-3. Quercus glauca分離出之化合物 (一)



Fig. 2-4. Quercus glauca分離出之化合物(二)

第三章、化合物之結構證明

利用核磁共振儀(NMR)測定化合物,透過其氫譜(¹H NMR)、碳譜 (¹³C NMR)、DEPT及二維圖譜如:HMQC、HMBC、¹H-¹H COSY及 NOESY等,並使用低及高解析電灑式質譜(ESI-MS、HRESI-MS)測量 化合物的分子量並進而給出分子式,及其他物理參數和文獻比對,以 確定化合物之結構。

本實驗從青剛櫟(Quercus glauca)乙酸乙酯層萃取物中,分離得到 16個化合物,包括2個lignans類新化合物,分別為5'-methoxy-(+)isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside(13)、dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4- β -D-xyloside(16)以及14個已知化合物,包括2個aromatics類化 合物分別是ethyl gallate (6)、3,4-dihydroxybenzoic acid (8);2個 flavonoids類化合物分別是3- β -hydroxynaringenin (7)、naringenin-7-Oglucoside (4);5個triterpenoids類化合物分別是batrogenic acid (2)、trachelosperogenin A (5)、paradrymonoside (9)、24-*epi*-pinfaensin (10)、rosamultin (11);以及4個lignans類化合物分別是 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (3)、(+)-lyoniresino-9'-O- α -Lrhamnoside (12)、5-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (14)、(+)-acviculin (15)和 β -sitosterol glucoside (1)。 第一節、化合物1之結構解析



Compound 1為白色粉末固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-1-4) 分析顯示,其分子離子峰為*m/z* 599.4 [M + Na]⁺同時結合¹³C, ¹H data, 推算其分子式為C₃₅H₆₀O₆。紅外線光譜(Fig. 3-1-3) IR *v_{max}* 3374 cm⁻¹顯 示有OH的訊號。

核磁共振氫及碳光譜(pyridine-*ds*; Fig. 3-1-1, Fig. 3-1-2, Table 3-1) 發現sitosteryl的特徵吸收訊號; 6組methyl碳氫吸收訊號 δ_{C} 12.12 (C-18), δ_{H} 0.64 (3H, s, H-18)、 δ_{C} 19.17 (C-19), δ_{H} 0.85 (3H, s, H-19)、 δ_{C} 18.96 (C-21), δ_{H} 0.96 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-21)、 δ_{C} 19.36 (C-26), δ_{H} 0.90 (3H, d, J = 8.0 Hz, H-26)、 δ_{C} 19.92 (C-27), δ_{H} 0.84 (3H, d, J = 8.0 Hz, H-27)、 δ_{C} 11.92 (C-29), δ_{H} 0.87 (3H, t, J = 8.0 Hz, H-29); δ_{H} 3.94 ~ δ_{H} 5.05 有醣基的訊號, 且¹³C NMR圖譜顯示有29個母核碳訊 號及醣基的6個碳訊號因此推測為sitosteryl接糖的結構。

¹H NMR圖譜顯示 δ_{H} 5.05 (1H, d, J = 8.0 Hz, Glu-H-1)推知其為β-構型,碳譜顯示 δ_{C} 102.51、 δ_{C} 75.25、 δ_{C} 78.51、 δ_{C} 71.63、 δ_{C} 78.73、 δ_{C} 62.77推知其為六碳糖;經文獻⁶¹比對發現其¹H、¹³C光譜數據與β-D-glucose完全一致;另外¹³C NMR圖譜顯示,碳光譜訊號 δ_{C} 78.09

(C-3),推測為母核連氧之碳訊號為醣基連接位置。其¹H、¹³C光譜數 據,經由文獻⁶²比對,與β-sitosteryl glucoside完全一致。

综合以上光譜數據並參閱文獻^{61,62},確定此化合物為β-sitosteryl glucoside,是植物中廣泛存在的已知化合物。



Position	δ^{13} C ^a	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	37.43	
2	30.19	
3	78.09	4.28 m
4	39.29	2.46 t ($J = 11.6$)
		2.72 dd (J = 2.4, 12.8)
5	140.87	
6	121.85	5.32 br s
7	32.12	
8	32.01	
9	50.30	
10	36.87	
11	21.23	
12	39.9	
13	42.43	
14	56.78	
15	24.45	
16	28.48	
17	56.2	
18	12.12	0.64 s
19	19.17	0.85 s
20	36.33	
21	18.96	0.96 d (J = 6.4)
22	34.16	
23	26.35	
24	45.99	
25	29.42	
26	19.36	0.90 d (J = 8.0)
27	19.92	0.84 d (J = 8.0)
28	23.34	
29	11.92	0.87 t (J = 8.0)
Glu1	102.51	5.05 d (J = 8.0)
Glu2	75.25	4.03 m
Glu3	78.51	4.26 m
Glu4	/1.03	4.22 m
Glu5	/8./3 62.77	3.94 m
Glu0	02.//	4.41 uu (J = 5.2, 11.0)
		4.50 ad (J = 1.0, 11.0)

Table 3-1. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in pyridine- d_5 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **1**.

^a Spectrum recorded at 100 MHz in pyridine-*d*₅ ^b Spectrum recorded at 400 MHz in pyridine-*d*₅









Fig. 3-4. Compound 1之ESIMS圖譜

第二節、化合物 2 之結構解析



Compound 2為白色粉末固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-2-8) 分析顯示,其分子離子峰為*m*/z 541.6 [M + Na]⁺同時結合¹³C, ¹H data, 推算其分子式為C₃₀H₄₆O₇。紅外線光譜(Fig. 3-2-7) IR *v_{max}* 3402 cm⁻¹顯 示有OH的訊號, 1692 cm⁻¹為C=O 之訊號。

核磁共振氫光譜(pyridine- d_5 ; Fig. 3-2-1, Table 3-2)顯示6個methyl質 子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 1.72 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.04 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.15 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.60 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.16 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.06 (3H, s), 一個雙鍵質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 5.49 (1H, br s), 三個連氧次甲基訊號 $\delta_{\rm H}$ 4.71 (1H, m)、 $\delta_{\rm H}$ 3.35 (1H, d, J = 9.2Hz)、 $\delta_{\rm H}$ 3.56 (1H, o); 由¹³C NMR (Fig.3-2-2, Table 3-2)、DEPT (Fig. 3-2-3)光譜可觀察到6個CH₃訊號 $\delta_{\rm C}$ 24.97、 $\delta_{\rm C}$ 14.90、 $\delta_{\rm C}$ 17.12、 $\delta_{\rm C}$ 24.48、 $\delta_{\rm C}$ 28.63、 $\delta_{\rm C}$ 24.62;8個CH₂訊號 $\delta_{\rm C}$ 47.62、 $\delta_{\rm C}$ 20.88、 $\delta_{\rm C}$ 33.42、 $\delta_{\rm C}$ 24.25、 $\delta_{\rm C}$ 28.99、 $\delta_{\rm C}$ 29.05、 $\delta_{\rm C}$ 18.16、 $\delta_{\rm C}$ 33.46;3個CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 56.79、 $\delta_{\rm C}$ 47.73、 $\delta_{\rm C}$ 44.61, 1個 $\delta_{\rm C}$ 123.13雙鍵CH, 3個 $\delta_{\rm C}$ 68.33、 $\delta_{\rm C}$ 83.95、 $\delta_{\rm C}$ 80.93連氧CH;以及6個四級碳訊號 $\delta_{\rm C}$ 49.96、 $\delta_{\rm C}$ 39.81、 $\delta_{\rm C}$ 38.97、δc 42.14、δc 45.94、δc 35.58,1個δc 144.55 雙鍵四級碳,2個δc
 180.76羰基四級碳;推測此化合物屬於triterpene類型結構。

綜合以上 ^{1}H 、 ^{13}C 光譜數據,經由文獻 $^{63-65}$ 比對,確定compound 2 為bartogenic acid。



Position	δ^{13} C ^a	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	47.62	
2	68.33	4.71 m
3	83.95	3.35 d (J = 9.2)
4	49.96	
5	56.79	
6	20.88	
7	33.42	
8	39.81	
9	47.73	2.34 dd (J = 4.0, 12.0)
10	38.97	
11	24.25	
12	123.13	5.49 br s
13	144.55	
14	42.14	
15	28.99	
16	29.05	
17	45.94	
18	44.61	3.56 (o)
19	80.93	3.56 (0)
20	35.58	
21	18.16	
22	33.46	
23	24.97	1.72 s
24	180.76	
25	14.90	1.04 s
26	17.12	1.15 s
27	24.48	1.60 s
28	180.76	
29	28.63	1.16 s
30	24.62	1.06 s

Table 3-2. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in pyridin- d_5 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **2**.

^a Spectrum recorded at 100 MHz in pyridine-*d*₅

^b Spectrum recorded at 400 MHz in pyridine-*d*₅



Fig. 3-2-2. Compound 2之¹³CNMR光譜















Fig. 3-2-8. Compound 2之ESIMS圖譜

第三節、化合物 3 之結構解析



Compound 3為淡黃色粉末,比旋光度[α]²⁵D -26.3°(*c* 3.8, MeOH)。電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-3-9)分析顯示,其分子離子峰為 *m/z* 383.2 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data推算其分子式為C₂₀H₂₄O₆。 紅外線光譜(Fig. 3-3-8) IR *v_{max}* 3390 cm⁻¹顯示有OH的訊號,1606,1519, 1455 cm⁻¹為苯環上的C=C之訊號。紫外光吸收光譜(Fig. 3-3-7)顯示UV (MeOH) λ*max* 282,227 nm。

核磁共振氫及碳光譜(methanol- d_4 ; Fig. 3-3-1, 2, Table 3-3)發現芳 香族質子區有ABX系統的質子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 6.93 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2)、 $\delta_{\rm H}$ 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5)、 $\delta_{\rm H}$ 6.81 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6)其碳值分別為 $\delta_{\rm C}$ 110.48 (C-2)、 $\delta_{\rm C}$ 116.11 (C-5)、 $\delta_{\rm C}$ 119.69 (C-6), 由此推之A環為1, 3, 4三取代之苯環。另外兩個單峰質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 6.71 (2H, s, H-2', 6'),其碳光譜吸收訊號為 $\delta_{\rm C}$ 114.03 (C-2')、 $\delta_{\rm C}$ 117.90 (C-6') 推測B環為1, 3, 4, 5四取代之苯環;除此之外還有兩個甲氧基質子吸收 訊號 $\delta_{\rm H}$ 3.80 (3H, s, OCH₃-3)、 $\delta_{\rm H}$ 3.84 (3H, s, OCH₃-3'), ¹H, ¹³C NMR和 HMBC (Fig. 3-3-5)顯示有兩組C₃ units,其中一組-CH₂CH₂CH₂OH氢碳
訊號分別為 δ_{H} 2.61 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-7')、 δ_{C} 32.91 (C-7')、 δ_{H} 1.80 (2H, m, H-8')、 δ_{C} 35.84 (C-8')、 δ_{H} 3.55 (2H, t, J = 6.4 Hz, H-9')、 δ_{C} 62.22 (C-9')另一組為-CHCHCH₂OH氢碳訊號 δ_{H} 5.47 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-7)、 δ_{C} 88.98 (C-7)、 δ_{H} 3.45 (1H, m, H-8)、 δ_{C} 55.47 (C-8)、 δ_{H} 3.74 (1H, dd, J = 7.2, 11.2 Hz, H-9a)、 δ_{H} 3.86 (1H, m, H-9b)、 δ_{C} 64.98 (C-9) 由此推測此化合物為lignan⁶⁶。

HMBC圖譜(Fig. 3-3-5)顯示δ_H 2.61 (H-7')和δc 114.03 (C-2')、δc 117.90 (C-6')有³J的關連,所以1-propanol與phenyl的C-1'連接;δ_H 6.71 (H-2')和δc 147.51 (C-4')有³J的關連,δ_H 6.70 (H-6')和δc 129.86 (C-5')有²J 的關連; 且從碳譜化學位移δc 147.51 (C-4')得知與氧連接,另外從氫 碳訊號δ_H 5.47 (H-7)、δc 88.46 (C-7)得知其有氧連接,並且HMBC圖譜 上δ_H 5.47 (H-7)和δc 111.20 (C-2)、δc 119.24 (C-6)、δc 147.51 (C-4')、δc 129.58 (C-5')有³J的關連,由此推知C-4'-O-7與C-5'-8形成二氫呋喃環, 同時可知C-1與C-7連接;另外兩個甲氧基質子訊號δ_H 3.80、δ_H 3.84分 別與δc 56.33 (C-3)和δc 56.71 (C-3')有³J的關連,確定兩個甲氧基連接 位置為C-3和C-3';另一苯環上的質子訊號δ_H 7.02 (H-2)和δc 147.20 (C-4)有³J的關連,δ_H 7.05 (H-5)和δc 138.63 (C-1)有³J的關連,δ_H 6.91 (H-6)和δc 147.20 (C-4)有³J的關連,表明A環上,C-4有經基取代。可 推知該化合物為benzofuran type neolignan的骨架,平面結構與 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol-致⁶⁷。

此化合物的比旋光度[α]²⁵D - 26.3°(*c* 3.8, MeOH)。NOESY光譜 (Fig. 3-3-6)顯示, δ_H 5.47 (H-7)與δ_H 3.74 (H-9)有¹H-¹H相關; 而δ_H 3.45 (H-8)與δ_H 6.93 (H-2)也有¹H-¹H相關, 由此可知H-7、H-8為trans的構型。

58

綜合以上光譜數據,並透過文獻⁶⁶⁻⁶⁸比對,確定compound **3**為 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol,是一已知化合物。



Position	$\delta^{13} c^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	134.80	
2	110.48	6.93 d (<i>J</i> = 2.0)
3	149.08	
4	147.51	
5	116.11	6.74 d (<i>J</i> = 8.0)
6	119.69	6.81 dd (<i>J</i> = 2.0, 8.0)
7	88.98	5.47 d (<i>J</i> = 6.4)
8	55.47	3.45 m
9	64.98	3.74 dd (<i>J</i> = 7.2, 11.2) 3.86 m
1'	136.91	
2'	114.03	6.71 s
3'	145.01	
4'	147.51	
5'	129.86	
6'	117.90	6.71 s
7'	32.91	2.61 t (<i>J</i> = 7.2)
8'	35.84	1.80 m
9'	62.22	3.55 t (J = 6.4)
3-OMe	56.33	3.80 s
3'-OMe	56.71	3.84 s

Table 3-3. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **3**.

^a Spectrum recorded at 100 MHz in methanol-*d*₄
^b Spectrum recorded at 400 MHz in methanol-*d*₄





Fig. 3-3-4. Compound 3之HMQC光譜







Fig. 3-3-8. Compound 3之IR光譜



Fig. 3-3-9. Compound 3之ESIMS圖譜

第四節、化合物 4 之結構解析



Compound 4為褐色結晶固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-4-8) 分析顯示,其分子離子峰為m/z 433.2 [M - H]-,同時結合¹³C,¹H data 推算其分子式為C₂₁H₂₂O₁₀。紅外線光譜(Fig. 3-4-7) IR v_{max} 3342 cm⁻¹顯 示有OH的訊號,1637 cm⁻¹為C=O之訊號,1577,1518,1448 cm⁻¹為苯 環C=C之訊號。紫外光吸收光譜(Fig. 3-4-6)顯示UV (MeOH) λ_{max} 283, 323 nm。

核磁共振氫及碳光譜(acetone- d_6 ; Fig. 3-4-1, 3-4-2, Table 3-4)發現 一組methine碳氫吸收訊號 δ_{C} 80.06 (C-2)、 δ_{H} 5.49 (1H, dd, J = 2.8, 12.8 Hz, H-2); 一組methylene碳氫吸收訊號 δ_{C} 43.50 (C-3)、 δ_{H} 3.24 (1H, dd, J = 12.8, 17.2 Hz, H-3a)、 δ_{H} 2.78 (1H, dd, J = 2.8, 17.2 Hz, H-3b); 以及 一個與苯環共軛的C=O δ_{C} 197.94 (C-4), 此為dihydroflavnone的特徵訊 號; δ_{H} 3.49~ δ_{H} 5.08發現糖的特徵吸收訊號, 推知為dihydroflavnone glycoside的結構。藉由¹H NMR圖譜得知,芳香族質子區有一組A₂B₂ 型質子吸收訊號 δ_{H} 7.39 (2H, d, J = 8.4 Hz)、 δ_{H} 6.90 (2H, d, J = 8.4Hz), 推測為flavanone B環上之H-2', 6'與H-3', 5'之質子吸收訊號,其碳 值分別為 δ_{C} 129.07 (C-2', 6')、 δ_{C} 116.19 (C-3', 5')、 δ_{C} 158.80 (C-4')由此 推知flavanone B環為對位羥基取代之苯環。而 δ_{H} 6.14 (1H, s)、 δ_{H} 6.16 (1H, s)為H-6及H-8之質子吸收訊號,其碳光譜吸收訊號分別為 δ_{C} 97.61 (C-6)、 δ_{C} 96.44 (C-8);除此之外,核磁共振氫譜中顯示 δ_{H} 12.07 (1H, s),為典型5-OH與C-4位上的C=O形成分子內氫鍵所造成,近一步確 認A環為5,7二羥基取代。由此推之化合物3的flavanone屬於naringenin 的骨架;其¹H、¹³C光譜數據,經由文獻⁷²比對,完全一致。

醣基訊號峰由anomeric質子訊號 δ_{H} 5.08 (1H, d, J = 7.2 Hz, Glu-H-1) 推知其為β-構型,碳譜顯示 δ_{C} 101.02、 δ_{C} 74.45、 δ_{C} 77.86、 δ_{C} 71.08、 δ_{C} 77.74、 δ_{C} 62.47推知其為六碳糖;經文獻⁶⁹⁻⁷¹比對發現其 ¹H、¹³C光譜數據與β-D-glucose 完全一致;除此外藉由HMBC圖譜(Fig. 3-4-5)得知 δ_{H} 5.08 (Glu-H-1)與flavanone上 δ_{C} 164.70 (C-7)有³J的關連, 因此確認β-D-glucoside以C-1位置與flavanone之C-7相連;連接方式為 Glu-1-O-7。

綜合以上光譜數據,並透過文獻⁷²比對,確定compound 4為 naringenin-7-O-glucoside,是一已知化合物。

Position	$\delta^{13}C^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
2	80.06	5.49 dd (<i>J</i> = 2.8, 12.8)
3	43.50	2.78 dd (J = 2.8, 17.2) 3.24 dd (J = 12.8, 17.2)
4	197.94	
5	164.65	
6	97.61	6.14 s
7	164.70	
8	96.44	6.16 s
9	164.05	
10	104.47	
1'	130.53	
2'	129.08	7.39 d $(J = 8.4)$
3'	116.20	6.90 d (<i>J</i> = 8.4)
4'	158.80	
5'	116.20	6.90 d (<i>J</i> = 8.4)
6'	129.08	7.39 d (<i>J</i> = 8.4)
Glu1	101.02	5.08 d (<i>J</i> = 7.2)
Glu2	74.45	3.55 m
Glu3	77.86	3.59 m
Glu4	71.08	3.49 m
Glu5	77.74	3.50 m
Glu6	62.47	3.85 m 3.70 m
5-OH		12.07 s

Table 3-4. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in acetone- d_6 ; ¹H multiplicities and coupling constants for 4.

^a Spectrum recorded at 100 MHz in acetone-*d*₆ ^b Spectrum recorded at 400 MHz in acetone-*d*₆





230 220 210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm Fig. 3-4-3. Compound 4之DEPT光譜





Fig. 3-4-6. Compound 4之UV光譜







Fig. 3-4-8. Compound 4 之 ESIMS 圖譜

第五節、化合物 5 之結構解析



Compound 5為白色粉末固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-5-5) 分析顯示,其分子離子峰為*m/z* 541.5 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data 推算其分子式為C₃₀H₄₆O₇。紅外線光譜(Fig. 3-5-4) IR *vmax* 3374 cm⁻¹顯 示有OH的訊號。

核磁共振氫光譜(pyridine-*ds*; Fig. 3-5-1, Table 3-5)顯示6個methyl質 子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 1.73 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.16 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.09 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.69 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.40 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.06 (3H, s, *J*=6.8 Hz), 一個雙鍵質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 5.54 (1H, br s), 二個連氧次甲基訊號 $\delta_{\rm H}$ 4.71 (1H, m)、 $\delta_{\rm H}$ 3.36 (1H, d, *J* = 8.8 Hz); 由¹³C NMR (Fig.3-5-2, Table 3-5)、DEPT (Fig.3-5-3)光譜 可觀察到6個CH₃訊號 $\delta_{\rm C}$ 24.35、 $\delta_{\rm C}$ 15.06、 $\delta_{\rm C}$ 16.93、 $\delta_{\rm C}$ 24.92、 $\delta_{\rm C}$ 26.91、 $\delta_{\rm C}$ 16.61; 8個CH₂訊號 $\delta_{\rm C}$ 48.10、 $\delta_{\rm C}$ 20.81、 $\delta_{\rm C}$ 33.39、 $\delta_{\rm C}$ 24.08、 $\delta_{\rm C}$ 29.03、 $\delta_{\rm C}$ 26.72、 $\delta_{\rm C}$ 26.69、 $\delta_{\rm C}$ 38.35; 4個CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 56.71、 $\delta_{\rm C}$ 47.02、 $\delta_{\rm C}$ 54.44、 $\delta_{\rm C}$ 42.17, 1個雙鍵CH $\delta_{\rm C}$ 127.81, 2個連氧 CH $\delta_{\rm C}$ 68.30、 $\delta_{\rm C}$ 83.97; 以及5個四級碳訊號 $\delta_{\rm C}$ 49.85、 $\delta_{\rm C}$ 40.10、 $\delta_{\rm C}$ 38.73、 δ_{C} 42.06、 δ_{C} 48.18,1個雙鍵四級碳 δ_{C} 139.71,2個羰基四級碳 δ_{C} 180.51,1個連氧四級碳 δ_{C} 72.45;推測此化合物屬於triterpene類型結構。

該化合物¹H、¹³C光譜數據與compound 2非常類似,差別僅在於 化合物2中的一個siglet methyl,變為doublet methyl,同時一個連氧的 methine轉變為一個連氧四級碳。由此經數據比對合理推測化合物2之 29-CH₃位移至C-19,即為compound 5。

經與文獻^{63,64,73,74}比對,確定compound 5為trachelosperogenin A是 一已知化合物。



Position	$\delta^{13}c^a$	$\delta^1{}_{ m H}{}^{ m b}$
1	48.10	
2	68.30	4.71 br s
3	83.97	3.36 d (J = 8.8)
4	49.85	
5	56.71	
6	20.81	
7	33.39	
8	40.10	
9	47.02	
10	38.73	
11	24.08	
12	127.81	5.54 br s
13	139.71	
14	42.06	
15	29.03	
16	26.72	
17	48.18	
18	54.44	3.03 s
19	72.45	
20	42.17	
21	26.69	
22	38.35	
23	24.35	1.73 s
24	180.51	
25	15.06	1.16 s
26	16.93	1.09 s
27	24.92	1.69 s
28	180.51	
29	26.91	1.40 s
30	16.61	1.06 d (J = 6.8)

Table 3-5. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in pyridine- d_5 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **5**.

^a Spectrum recorded at 100 MHz in pyridine-*d*₅ ^b Spectrum recorded at 400 MHz in pyridine-*d*₅



Fig. 3-5-2 Compound 5之¹³CNMR 光譜



Fig. 3-5-4. Compound 5之IR光譜



Fig. 3-5-5. Compound 5 之 ESIMS 圖譜

第六節、化合物 6 之結構解析



Compound 6 為褐色結晶固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-6-5) 分析顯示,其分子離子峰為m/z 197.1 [M – H]⁻,同時結合¹³C,¹H data 推算其分子式為C₉H₁₀O₄。紅外線光譜(Fig. 3-6-4) IR v_{max} 3335 cm⁻¹顯 示有OH的訊號,1683 cm⁻¹為C=O之訊號,1616,1540,1447 cm⁻¹為苯 環上C=C之訊號。紫外光吸收光譜(Fig. 3-6-3)顯示UV (MeOH) λ_{max} 276 nm。

核磁共振氫光譜(methanol- d_4 ; Fig. 3-6-1, Table 3-6)顯示此化合物 苯環上有質子吸收訊號於 δ_H 7.04 (2H, s, H-2, H-6), 4.26 (2H, q, J = 7.2 Hz, H₂-8), 1.33 (3H, t, J = 7.2 Hz, 9-CH₃)。而¹³C NMR (Fig. 3-6-2)顯 示,於 δ_C 146.47、139.86有苯環上連氧碳之吸收訊號,推測其 C-3、C-4、C-5位上連有hydroxyl group; δ_C 168.56有C=O之吸收訊 號,推測為C-7位上的carboxyl group。

綜合以上論述,推測compound 6為ethyl gallate,其¹H、¹³C光譜數 據,經由文獻^{75,76}比對,完全一致,為已知化合物。

Position	$\delta^{13} c^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	121.76	
2	109.99	7.04 s
3	146.47	
4	139.68	
5	146.47	
6	109.99	7.04 s
7	168.56	
8	61.67	4.26 q (<i>J</i> = 7.2)
9	14.64	1.33 t (J = 7.2)

Table 3-6. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for 6.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in methanol- d_4 ^b Spectrum recorded at 600 MHz in methanol- d_4



Fig. 3-6-1. Compound 6 之¹H NMR 光譜



Fig. 3-6-3. Compound 6 之 UV 光譜







Fig. 3-6-5. Compound 6之 ESIMS 圖譜

第七節、化合物7之結構解析



Compound 7 為褐色結晶固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-7-5) 分析顯示,其分子離子峰為m/z 287.1 [M - H]⁻,同時結合¹³C,¹H data 推算其分子式為C15H12O6。紅外線光譜(Fig. 3-7-4) IR vmax 3382 cm⁻¹顯 示有OH的訊號,1637 cm⁻¹為C=O之訊號,1518,1458 cm⁻¹為苯環上 C=C之訊號。紫外光吸收光譜(Fig. 3-7-2)顯示UV (MeOH) λmax 291 nm。

核磁共振氫光譜(acetone- d_6 ; Fig. 3-7-1, Table 3-7)發現 dihydroflavonol的特徵吸收訊號有二組連氧methine碳氫吸收訊號 δ_c 84.94 (C-2)、 δ_H 4.97 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-2)、 δ_c 73.63 (C-3)、 δ_H 4.53 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-3);以及一個與苯環共軛的C=O δ_c 198.48 (C-4),推知為dihydroflavonol的結構。藉由¹H NMR圖譜得知,芳香族 質子區有一組A₂B₂型質子吸收訊號 δ_H 7.35 (2H, d, J = 8.4 Hz)、 δ_H 6.82 (2H, d, J = 8.4 Hz),推測為dihydroflavonol B環上之H-2', 6'與H-3', 5'之 質子吸收訊號,且其碳 (Fig. 3-7-2, Table 3-7)分別為 δ_c 130.37 (C-2', 6 ')、 δ_c 116.14 (C-3', 5')、 δ_c 159.23 (C-4'),由此推之dihydroflavonol B環 為對位經基取代之苯環。而 δ_H 5.87 (1H, d, J = 1.8 Hz)、 δ_H 5.91 (1H, br s)為H-6及H-8之質子吸收訊號,其碳光譜吸收訊號分別為 δ_c 165.33 (C-5)、δc 97.35 (C-6)、δc 168.88 (C-7)、δc 96.32 (C-8)近一步確認A環為5,7 二羟基取代,由此推之化合物7屬於dihydroflavonol的骨架。

综合以上光譜數據,並透過文獻^{81,95}比對確定compound 7為3-βhydroxynaringenin,是一已知化合物。

Position	$\delta^{13}c^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
2	84.94	4.97 d (<i>J</i> = 12.0)
3	73.63	4.53 d (<i>J</i> = 12.0)
4	198.48	
5	165.33	
6	97.35	5.87 d (<i>J</i> = 1.8)
7	168.88	
8	96.32	5.91 br s
9	164.56	
10	101.81	
1'	129.83	
2'	130.37	7.35 d (<i>J</i> = 8.4)
3'	116.14	6.82 d (<i>J</i> = 8.4)
4'	159.23	
5'	116.14	6.82 d (J = 8.4)
6'	130.37	7.35 d (<i>J</i> = 8.4)

Table 3-7. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for 7.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in methanol- d_4

^b Spectrum recorded at 600 MHz in methanol-*d*₄





Fig. 3-7-4. Compound 7 之 IR 光譜



Fig. 3-7-5. Compound 7 之 ESIMS 圖譜

第八節、化合物 8 之結構解析



Compound 8 為褐色結晶固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-8-5) 分析顯示,其分子離子峰為m/z 153.2 [M - H]⁻,同時結合¹³C,¹H data 推算其分子式為C₇H₆O₄。紅外線光譜(Fig. 3-8-4) IR v_{max} 3123 cm⁻¹顯示 有OH的訊號,1670 cm⁻¹為C=O 之訊號,1602,1522,1423 cm⁻¹為苯環 上C=C之訊號。紫外光吸收光譜(Fig. 3-8-3)顯示UV (MeOH) λ_{max} 295, 260 nm。

核磁共振氫光譜(methanol- d_4 ; Fig. 3-8-1, Table 3-8)顯示此化合物 有ABX苯環質子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 7.48 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2)、 $\delta_{\rm H}$ 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5)、 $\delta_{\rm H}$ 7.44 (1H, dd, J = 1.6, 8.4 Hz, H-6)。而¹³C NMR (Fig. 3-8-2)顯示, 於 $\delta_{\rm C}$ 151.20、 $\delta_{\rm C}$ 145.68有苯環上連氧碳之吸收訊號, 推測C-3、C-4位上連有hydroxyl group; $\delta_{\rm C}$ 170.57有C=O之吸收訊號, 推測為C-7位上的carboxyl group。

綜合以上光譜數據,並透過文獻⁷⁸比對,確定compound **8**為3,4dihydroxybenzoic acid,是一已知化合物。

Position	$\delta^{13} c^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	123.98	
2	117.68	7.48 d (<i>J</i> = 1.6)
3	145.68	
4	151.20	
5	115.77	6.82 d (J = 8.4)
6	123.06	7.44 dd (<i>J</i> = 1.6, 8.4)
7	170.57	

Table 3-8. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for 8.

^a Spectrum recorded at 100 MHz in methanol-*d*₄

^b Spectrum recorded at 400 MHz in methanol-d₄



Fig. 3-8-1. Compound 8 之 ¹³H NMR 光譜



Fig. 3-8-3. Compound 8 之 UV 光譜







Fig. 3-8-5. Compound 8之 ESIMS 圖譜

第九節、化合物9之結構解析



Compound 9 為白色粉末固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-9-9) 分析顯示,其分子離子峰為*m/z* 687.4 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data 推算其分子式為C₃₆H₅₆O₁₁。紅外線光譜(Fig. 3-9-8) IR *v_{max}* 3397 cm⁻¹顯 示有OH的訊號,1718 cm⁻¹為C=O之訊號。

核磁共振氫光譜(pyridine-*ds*; Fig. 3-9-1, Table 3-9)顯示6 個methyl 質子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 0.94 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 0.91 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.06 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.50 (3H, s) $\delta_{\rm H}$ 1.11 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.56 (3H, s), 一個雙鍵質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 5.44 (1H, d, *J* = 3.6 Hz), 三個連氧次甲基質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 4.57 (1H, dt, *J* = 3.6, 9.0 Hz)、 $\delta_{\rm H}$ 3.59 (1H, d, *J* = 9.0 Hz)、 $\delta_{\rm H}$ 3.54 (1H, d, *J* = 5.4 Hz), 一個醛基 質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 10.42 (1H, s); 由¹³C NMR (Fig.3-9-2, Table. 3-9)、DEPT (Fig. 3-9-3)光譜可觀察到6個CH₃訊號 $\delta_{\rm C}$ 24.48、 $\delta_{\rm C}$ 17.19、 $\delta_{\rm C}$ 17.36、 $\delta_{\rm C}$ 21.82、 $\delta_{\rm C}$ 28.60、 $\delta_{\rm C}$ 24.70; 8個 CH₂訊 號 $\delta_{\rm C}$ 46.70、 $\delta_{\rm C}$ 19.56、 $\delta_{\rm C}$ 32.85、 $\delta_{\rm C}$ 24.58、 $\delta_{\rm C}$ 28.81、 $\delta_{\rm C}$ 27.76、 $\delta_{\rm C}$ 28.60、 $\delta_{\rm C}$ 24.70; 3個CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 57.22、 $\delta_{\rm C}$ 47.00、 $\delta_{\rm C}$ 44.48, 1個醛基CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 207.18, 1個雙鍵CH 訊號 $\delta_{\rm C}$ 123.171, 3個連氧CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 68.29、 $\delta_{\rm C}$ 82.12、 $\delta_{\rm C}$ 80.85; 以及6 個四級碳訊號δ_C 49.96、δ_C 39.81、δ_C 38.97、δ_C 42.14、δ_C 45.94、δ_C 35.58,1個雙鍵四級碳訊號δ_C 144.24,1個羰基四級碳訊號δ_C 177.85。 推測此化合物屬於triterpene類型結構。

醣基訊號峰由anomeric質子訊號 δ_{H} 6.32 (1H, d, J = 8.4 Hz, Glu-H-1) 推知其為β-構型,碳譜顯示 δ_{C} 95.75、 δ_{C} 74.00、 δ_{C} 79.22、 δ_{C} 70.88、 δ_{C} 78.75、 δ_{C} 61.98推知其為六碳糖;經文獻⁷³比對發現其¹H、¹³C光譜數 據與β-D-glucose完全一致;除此外藉由HMBC圖譜得知 δ_{H} 6.32 (Glu-H-1)與triterpene上 δ_{C} 177.85 (C-28)有³J的關連,因此確認β-D-glucoside 以C-1位置與triterpene之C-28相連;連接方式為Glu-1-*O*-28。

綜合以上光譜數據,其¹H、¹³C光譜數據,經由文獻⁷³比對發現與 paradrymonoside一致,確定compound 9為是一已知化合物。


Position	δ^{13} C ^a	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	46.70	
2	68.29	4.57 dt (J = 3.6, 9.0)
3	82.12	3.59 d (J = 9.0)
4	55.00	
5	57.22	
6	19.56	
7	32.85	
8	39.90	
9	47.00	
10	38.50	
11	24.58	
12	123.71	5.44 d (J = 3.6)
13	144.24	
14	42.02	
15	28.81	
16	27.76	
17	46.30	
18	44.48	3.48 br s
19	80.85	3.54 d (J = 5.4)
20	35.39	
21	28.60	
22	32.85	
23	24.48	0.94 s
24	207.18	10.42 s
25	17.19	0.91 s
26	17.36	1.06 s
27	21.82	1.50 s
28	177.85	
29	28.60	l.ll s
30 Cl 1	24.70	1.56 s
GluI	95.75	6.32 d (J = 8.4)
Glu2	/4.00	4.18 m
Glu A	19.22 70.88	4.2/ III 4.2/ m
Glu -5	70.00	4.34 III 1 00 m
Glu -6	61 98	4.00 III
0140	01.70	4 37 m
Glu4 Glu5 Glu6	70.88 78.75 61.98	4.34 m 4.00 m 4.42 br d (<i>J</i> = 10.8) 4.37 m

Table 3-9. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in pyridine-*d*₅; ¹H multiplicities and coupling constants for **9**.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in pyridine-*d*₅

^b Spectrum recorded at 600 MHz in pyridine- d_5







Fig. 3-9-4. Compound 9 之 HMQC 光譜



Fig. 3-9-5. Compound 9 之 HMBC 光譜



Fig. 3-9-6. Compound 9 之 COSY 光譜



Fig. 3-9-7. Compound 9 之 NOESY 光譜



Fig. 3-9-8. Compound 9 之 IR 光譜



Fig. 3-9-9. Compound 9 之 ESIMS 圖譜

第十節、化合物 10 之結構解析



Compound 10 為白色粉末固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-10-5)分析顯示,其分子離子峰為m/z 687.4 [M + Na]⁺,同時結合¹³C, ¹H data推算其分子式為C₃₆H₅₆O₁₁。紅外線光譜(Fig. 3-10-4) IR *vmax* 3385 cm⁻¹顯示有OH的訊號,1707 cm⁻¹為C=O之訊號。

核磁共振氫光譜(pyridine-*ds*; Fig. 3-10-1, Table 3-10)顯示6個methyl 質子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 1.11 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 0.91 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.05 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.62 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.36 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.03 (3H, d, J = 6.4 Hz); 一個雙鍵質子訊 號 $\delta_{\rm H}$ 5.49 (1H, br s),二個連氧次甲基質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 4.58 (1H, dt, J = 3.2, 9.6 Hz)、 $\delta_{\rm H}$ 3.60 (1H, d, J = 9.6 Hz),一個醛基質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 10.43 (1H, s); 由¹³C NMR (Fig.3-10-2, Table 3-10)、DEPT (Fig.3-10-3)光譜可觀察 到6個CH₃訊號 $\delta_{\rm C}$ 21.89、 $\delta_{\rm C}$ 17.22、 $\delta_{\rm C}$ 17.45、 $\delta_{\rm C}$ 24.38、 $\delta_{\rm C}$ 26.86、 $\delta_{\rm C}$ 16.57; 8個CH₂訊號 $\delta_{\rm C}$ 47.16、 $\delta_{\rm C}$ 19.53、 $\delta_{\rm C}$ 33.19、 $\delta_{\rm C}$ 24.52、 $\delta_{\rm C}$ 29.01、 $\delta_{\rm C}$ 26.54、 $\delta_{\rm C}$ 25.91、 $\delta_{\rm C}$ 37.60; 4個CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 57.4、 $\delta_{\rm C}$ 46.41、 $\delta_{\rm C}$ 54.28、 $\delta_{\rm C}$ 42.03, 1個醛基CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 207.22, 1個雙鍵CH $\delta_{\rm C}$ 128.06,2個連氧CH δ c 68.35、 δ c 82.12;以及5個四級碳訊號 δ c 54.98、 δ c 40.25、 δ c 38.35、 δ c 42.03、 δ c 48.47,1個雙鍵四級碳 δ c 139.26,1個羰基四級碳 δ c 176.92,1個連氧四級碳 δ c 72.49;推測此化 合物屬於triterpene類型結構。

醣基訊號峰由anomeric質子訊號δ_H6.25 (1H, d, J = 8.4 Hz , Glu-H-1)推知其為β-構型,碳譜顯示δ_C 95.73、δ_C 73.92、δ_C 79.21、δ_C 70.81、δ_C 78.72、δ_C 62.14推知其為六碳糖;經文獻⁷³比對發現其 ¹H、¹³C光譜數據與β-D-glucose完全一致。

該化合物¹H、¹³C光譜數據與compound 9非常類似,差別僅在於 化合物9中的一個siglet methyl,變為doublet methyl,同時一個連氧的 methine轉變為一個連氧四級碳。由此經數據比對合理推測化合物9之 29-CH₃位移至C-19,即為compound 10。

綜合以上光譜數據,其¹H、¹³C光譜數據,經由文獻⁷³比對,確定 compound **10**為24-*epi*-pinfaensin,是一已知化合物。

Position	$\delta^{13}c^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	47.16	
2	68.35	4.58 dt $(J = 3.2, 9.6)$
3	82.12	3.60 d (J=9.6)
4	54.98	
5	57.24	
6	19.53	
7	33.19	
8	40.25	
9	46.41	
10	38.35	
11	24.52	
12	128.06	5.49 br s
13	139.26	
14	42.03	
15	29.01	
16	26.54	
17	48.47	
18	54.28	2.89 s
19	72.49	
20	42.03	
21	25.91	
22	37.60	
23	21.89	1.11 s
24	207.22	10.43 s
25	17.22	0.91 s
26	17.45	1.50 s
27	24.38	1.62 s
28	176.92	
29	26.86	1.36 s
30	16.57	1.03 d (J = 6.4)
Glu-1	95.73	6.25 d (J = 8.4)
Glu-2	73.92	4.22 dd (J = 7.8, 8.4)
Glu-3	79.21	4.29 m
Glu-4	70.81	4.34 m
Glu-5	/8./2	4.04 m
Glu-6	62.14	4.38 m
		4.46 br d ($J = 11.6$)

Table 3-10. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in pyridine- d_5 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **10**

^a Spectrum recorded at 100 MHz in pyridine-*d*₅ ^b Spectrum recorded at 400 MHz in pyridine-*d*₅





210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm Fig. 3-10-3. Compound 10 之 DEPT 光譜



Fig. 3-10-4. Compound 10 之 IR 光譜



Fig. 3-10-5. Compound 10 之 ESIMS 圖譜

第十一節、化合物 11 之結構解析



Compound 11 為白色粉末固體,由電灑式質譜(ESIMS) (Fig. 3-11-7)分析顯示,其分子離子峰為*m/z* 673.4 [M + Na]⁺,同時結合¹³C, ¹H data推算其分子式為C₃₆H₅₈O₁₀。紅外線光譜(Fig. 3-11-6) IR *v_{max}* 3347 cm⁻¹顯示有OH的訊號, 1717 cm⁻¹為C=O之訊號。

核磁共振氫光譜(pyridine-*ds*; Fig. 3-1-1, Table 3-11)顯示7個methyl 質子吸收訊號 $\delta_{\rm H}$ 1.05 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.21 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.05 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.01 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.17 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.63 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.36 (3H, s)、 $\delta_{\rm H}$ 1.03 (3H, d, *J* = 7.2 Hz); 一個雙鍵質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 5.50 (1H, br s),二個連氧次甲基 訊號 $\delta_{\rm H}$ 4.09 (1H, dt, *J* = 4.8, 9.6 Hz)、 $\delta_{\rm H}$ 3.36 (1H, d, *J* = 9.6 Hz); 由¹³C NMR (Fig.3-11-2, Table 3-11)、DEPT (Fig.3-11-3)光譜可觀察到7個CH₃ 訊號 $\delta_{\rm C}$ 29.22、 $\delta_{\rm C}$ 17.54、 $\delta_{\rm C}$ 16.85、 $\delta_{\rm C}$ 17.43、 $\delta_{\rm C}$ 24.45、 $\delta_{\rm C}$ 26.88、 $\delta_{\rm C}$ 16.57; 8個CH₂訊號 $\delta_{\rm C}$ 47.88、 $\delta_{\rm C}$ 18.91、 $\delta_{\rm C}$ 33.37、 $\delta_{\rm C}$ 24.04、 $\delta_{\rm C}$ 29.22、 $\delta_{\rm C}$ 26.54、 $\delta_{\rm C}$ 37.61、 $\delta_{\rm C}$ 25.97; 4個CH訊號 $\delta_{\rm C}$ 55.83、 $\delta_{\rm C}$ 47.73、 $\delta_{\rm C}$ 54.29、 $\delta_{\rm C}$ 42.01,1個雙鍵CH $\delta_{\rm C}$ 128.22,2個連氧CH $\delta_{\rm C}$ 68.45、 $\delta_{\rm C}$ 83.72;以及5個四級碳訊號 $\delta_{\rm C}$ 38.36、 $\delta_{\rm C}$ 47.73、 $\delta_{\rm C}$ 38.73、 $\delta_{\rm C}$ 42.01、 δ_{C} 48.52,1個 雙鍵四級碳 δ_{C} 139.16,1個 羰基四級碳 δ_{C} 176.95,1個連氧四級碳 δ_{C} 72.52;推測此化合物屬於triterpene類型結構。

醣基訊號峰由anomeric質子訊號 δ_{H} 6.27 (1H, d, J = 7.8 Hz, Glu-H-1) 推知其為β-構型,碳譜顯示 δ_{C} 95.73、 δ_{C} 73.92、 δ_{C} 79.61、 δ_{C} 70.10、 δ_{C} 78.87、 δ_{C} 62.20推知其為六碳糖;經文獻⁷⁹比對發現其¹H、¹³C光譜數 據與β-D-glucose完全一致;另外HMBC圖譜(Fig. 3-11-5)得知, δ_{H} 6.27 (Glu-H-1)與triterpene上 δ_{C} 176.95 (C-28)有³J的關連,因此確認β-Dglucoside以C-1位置與triterpene之C-28相連;連接方式為Glu-1-O-28。

該化合物¹H、¹³C光譜數據與compound **10**非常類似,差別僅在於 化合物**10**中的醛基,變為甲基取代。由此經數據比對合理推測化合物 **10**之24-CHO變成24-CH₃,即為compound **11**。

綜合以上光譜數據,其¹H、¹³C光譜數據,經由文獻⁷⁹比對,確定 compound **11**為rosamultin,是一已知化合物。

Position	$\delta^{13}C^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	47.88	
2	68.45	4.09 dt (J = 4.8, 9.6)
3	83.72	3.36 d (J = 9.6)
4	38.36	
5	55.83	
6	18.91	
7	33.37	
8	40.48	
9	47.73	
10	38.73	
11	24.04	
12	128.22	5.50 br s
13	139.16	
14	42.01	
15	29.22	
16	26.54	
17	48.52	
18	54.29	2.89 s
19	72.52	
20	42.01	
21	25.97	
22	37.61	
23	29.22	1.21 <i>s</i>
24	17.54	1.05 <i>s</i>
25	16.85	1.01 <i>s</i>
26	17.43	1.17 <i>s</i>
27	24.45	1.63 <i>s</i>
28	176.95	
29	26.88	1.36 s
30	16.57	1.03 d (J = 7.2)
Glc-1	95.73	6.27 d (J = 7.8)
Glc-2	73.92	4.22 m
Glc-3	79.16	4.30 m
Glc-4	71.10	4.32 m
Glc-5	/8.81	4.04 m
Glc-6	62.20	4.37 m
		4.46 br d ($J = 11.4$)

Table 3-11. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in pyridine- d_5 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **11**.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in pyridine-*d*₅ ^b Spectrum recorded at 600 MHz in pyridine-*d*₅





Fig. 3-11-4. Compound 11 之 HMQC 光譜



Fig. 3-11-5. Compound 11 之 HMBC 光譜



Fig. 3-11-6. Compound 11 之 IR 光譜



Fig. 3-11-7. Compound 11 之 ESIMS 圖譜

第十二節、化合物 12 之結構解析



Compound 12 為黃色膠狀物,熔點mp 148.5 °C。比旋光度[α]²⁵D +17.1°(c 7.5, MeOH)。高解析電灑式質譜(HRESIMS)(Fig. 3-12-11)分 析顯示,其分子離子峰為m/z 589.2260 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data推算其分子式為C₂₈H₃₈O₁₂。紅外線光譜(Fig. 3-12-10) IR v_{max} 3365 cm⁻¹顯示有OH的訊號,1611,1516,1458 cm⁻¹為苯環上C=C之訊號。紫 外光吸收光譜(Fig. 3-12-9)顯示UV (MeOH) λ_{max} 279 nm。圓二色光譜 (Circular Dichroism spectrum, Fig. 3-12-9)顯示CD (c 1.14×10⁻⁵ M, MeOH, 210-350 nm) $\Delta \epsilon$ (nm): - 5.08 (287)、+27.02 (273)、+10.62 (258)、+97.02 (243)。

核磁共振氫、碳光譜(methanol-*d*₄; Fig. 3-12-2, 3-12-3, Table 3-12) 的訊號顯示一個單峰芳香質子吸收訊號δ_H 6.59 (1H, s, H-2)、δ_C 107.77 (C-2)推測A環為1, 3, 4, 5, 6五取代的苯環;另一對單峰質子訊號、δ_H 6.33 (2H, s, H-2', 6')、δ_C 106.65 (C-2', 6')推測B環為1, 3, 4, 5四取代的苯 環;4個methoxylδ_H 3.85 (3H, s, MeO-3)、δ_H 3.25 (3H, s, MeO-5)、δ_H 3.73 (6H, s, MeO-3', 5');利用HMQC (Fig. 3-12-5)和COSY (Fig. 3-12-7)發現兩組C₃ units, -CH₂CHCH₂OH其氫碳訊號分別為 $\delta_{\rm H}$ 2.59 (1H, dd, J = 12.0, 15.6 Hz, H-7a)、 $\delta_{\rm H}$ 2.73 (1H, dd, J = 4.2, 15.6 Hz, H-7b)、 $\delta_{\rm C}$ 33.64 (C-7)、 $\delta_{\rm H}$ 1.63 (1H, m, H-8)、 $\delta_{\rm C}$ 41.01 (C-8)、 $\delta_{\rm H}$ 3.47 (1H, m, H-9a)、 $\delta_{\rm H}$ 3.61 (1H, m, H-9b)、 $\delta_{\rm C}$ 66.28 (C-9); \mathcal{B} -組為-CHCHCH₂O-其氫碳訊號分別為 $\delta_{\rm H}$ 4.31 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-7')、 $\delta_{\rm C}$ 42.95 (C-7')、 $\delta_{\rm H}$ 2.08 (1H, m, H-8')、 $\delta_{\rm C}$ 46.50 (C-8')、 $\delta_{\rm H}$ 3.32 (1H, m H-9'a)、 $\delta_{\rm H}$ 3.63 (1H, m, H-9'b)、 $\delta_{\rm C}$ 69.68 (C-9'); 且如圖(Fig. 3-12-1)所示H-8 和H-8'有COSY相關,得知C-8和C-8'有連接,推測其為8-8相連的lignan骨架。

HMBC圖譜(Fig. 3-12-6)顯示 δ_H 2.73、 δ_H 2.59 (H-7)和 δ_C 107.77 (C-2)、 δ_C 126.02 (C-6) f_3 J的 關連, δ_H 4.31 (1H, H-7')和 δ_C 130.12 (C-1)、 δ_C 147.52 (C-5)、 δ_C 106.65 (C-2', 6') f_3 J的 關連, 所以B環的 δ_C 139.16 (C-1')和 δ_C 42.95 (C-7') 連接, LC-7, 8, 7', 8'也和 A環C-1, 6形成 六圓環; 另外四個甲氧基質子訊號 δ_H 3.25 (3H, s)、 δ_H 3.73 (6H, s)、 δ_H 3.85 (3H, s)分別與 δ_C 147.25 (C-3)、 δ_C 149.05 (C-3', 5')、 δ_C 148.70 (C-5) f_3 J的 關連, 確定四個甲氧基連接位置為C-3,5和C-3', 5'。 δ_H 6.33 (H-2', 6')與 δ_C 134.1 (C-4'); δ_H 6.59 (H-2)與 δ_C 138.91 (C-4)皆 f_3 J的 關連; 得知 二個 羥基在C-4, 4'位上。由以上數據推知母核平面結構如圖(Fig. 3-12-1)所示,屬於 cyclolignolide type的骨架⁸⁰。

從¹H-¹H NOESY (Fig. 3-12-8)光譜了解到,H-8 (δ_H 1.63)與H-7' (δ_H 4.31)有強烈的¹H-¹H相關,H-8' (δ_H 2.08)與H-2',6' (δ_H 6.33),也有強烈的¹H-¹H相關;但是H-8'與H-7'卻只有微弱的¹H-¹H相關,由此推知此結構如圖(Fig. 3-12-1)所示H-7'、H-8'為trans構型,H-8'、H-8也為trans構型。且圓二色光譜數據顯示Δε (nm):- 5.08 (287)、+27.02 (273)、+10.62 (258)、+97.02 (243)。表明該化合物為8*R*,7'S,8'S構型⁸¹。綜合以上判斷,此化合物母核為(+)-lyoniresino,且¹H、¹³C 光譜數據與文 獻⁸⁰比對一致。 醣基訊號峰由anomeric質子訊號 δ_H 4.71 (1H, d, J = 1.2 Hz, Rha-H-1)推知其為α-構型,碳譜顯示 δ_C 101.99、 δ_C 72.42、 δ_C 72.57、 δ_C 73.92、 δ_C 70.10、 δ_C 17.92推知其為六碳糖; 經文獻⁸¹比對發現其 ¹H、¹³C光譜數據與α-L-rhamnose完全一致;除此外HMBC圖譜得知 δ_H 4.71 (Rha-H-1)與lignan上 δ_C 69.68 (C-9')有³J的關連,因此推測以C-1位 置與 (+)-lyoniresino之C-9'相連;連接方式為Rha-1-O-9'。

综合以上物理及光譜數據,並透過文獻⁸⁰⁻⁸²比對,確定compound **12**為(+)-lyoniresino-9'-*O*-α-L-rhamnoside,是一已知化合物。



Fig. 3-12-1. Compound 12之HMBC、COSY、NOESY關連圖

	212	21.1
Position	$\delta^{13}C^a$	$\delta^{1}H^{D}$
1	130.12	
2	107.77	6.59 s
3	148.70	
4	138.91	
5	147.52	
6	126.02	
7	33.64	2.59 dd (<i>J</i> = 12.0, 15.6) 2.73 dd (<i>J</i> = 4.2, 15.6)
8	41.01	1.63 m
9	66.28	3.47 m
	OU	3.61 m
1'	139.16	
2'	106.65	6.33 s
3'	149.05	
4'	134.61	
5'	149.05	
6'	106.65	6.33 s
7'	42.95	4.31 d (J = 6.0)
8'	46.50	2.08 m
9'	69.68	3.32 m
		3.63 m
MeO-3	56.59	3.85 s
MeO-5	60.15	3.25 s
MeO-3'	56.78	3.73 s
MeO-5'	56.78	3.73 s
Rha-1	101.99	4.71 d (<i>J</i> = 1.2)
Rha-2	72.42	3.88 dd (J = 1.2, 3.6)
Rha-3	72.57	3.68 dd (J = 3.6, 10.2)
Rha-4	73.92	3.36 m
Rha-5	70.10	3.54 m
Rha-6	17.92	1.19 d (J = 6.0)

Table 3-12. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **12**.

^a Spectra recorded at 150 MHz in methanol-*d*₄
^b Spectra recorded at 600 MHz in methanol-*d*₄





Fig. 3-12-5. Compound 12 之 HMQC 光譜



Fig. 3-12-6. Compound 12 之 HMBC 光譜



Fig. 3-12-7. Compound 12 之 COSY 光譜







Fig. 3-12-9. Compound 12 之 CD、UV 光譜



Fig. 3-12-10. Compound 12 之 IR 光譜



Fig. 3-12-11. Compound 12 之 HRESIMS 圖譜

第十三節、化合物 13 之結構解析



Compound 13 為黃色膠狀物,熔點mp 146.0 °C。比旋光度[α]²⁵D +10.0°(c 1.0, MeOH)。高解析電灑式質譜(HRESIMS)(Fig. 3-13-11)分 析顯示,其分子離子峰為m/z 559.2141 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data推算其分子式為C₂₇H₃₆O₁₁。紅外線光譜(Fig. 3-13-10) IR v_{max} 3436 cm⁻¹顯示有OH的訊號,1615,1515,1449 cm⁻¹為苯環C=C之訊 號,1219,1115,1052 cm⁻¹為C-O之訊號。紫外光吸收光譜(Fig. 3-13-9) 顯示UV (MeOH) λ_{max} 282 nm。圓二色光譜(Circular Dichroism spectrum, Fig. 3-13-8)顯示CD (c 1.14×10⁻⁵ M, MeOH) $\Delta \varepsilon$ (nm): -7.91 (289)、+8.59 (275)、+0.26 (252)、+20.69 (240)。

核磁共振氫光譜(methanol-d₄; Fig. 3-13-1, Table 3-13)顯示二對單 峰芳香質子訊號其中一對質子吸收訊號δ_H 6.66 (1H, s, H-2)、δ_H 6.19 (1H, s, H-5)其對應碳值δ_C 112.46 (C-2)、δ_C 117.06 (C-5)推測A環為1, 3, 4,6四取代的苯環;另一對單峰質子訊號 $\delta_{H}6.39$ (2H, s, H-2', 6')其碳譜 吸收訊號 δ_{C} 107.25 (C-2', 6')推測B環為1, 3, 4,5四取代的苯環;此外尚 有3個methoxy δ_{H} 3.81 (3H, s, MeO-3)、 δ_{H} 3.78 (6H, s, MeO-3', 5') 和糖 的質子吸收訊號 δ_{H} 3.33~4.57和 δ_{H} 1.18。利用HMQC (Fig. 3-13-5)和 COSY(Fig. 3-13-7)發現兩組C₃ units, -CH₂CHCH₂OH其氫碳訊號分別 為 δ_{H} 2.83 (2H, d, J = 7.8 Hz, H-7)、 δ_{C} 33.60 (C-7)、 δ_{H} 2.02 (1H, m, H-8)、 δ_{C} 40.07 (C-8)、 δ_{H} 3.62 (1H, m, H-9a)、 δ_{H} 3.74 (1H, m, H-9b)、 δ_{C} 65.33 (C-9); 另一組為-CHCHCH₂O-其氫碳訊號分別為 δ_{H} 3.86 (1H, br s, H-7')、 δ_{C} 49.57 (C-7')、 δ_{H} 1.88 (1H, m, H-8')、 δ_{C} 45.41 (C-8')、 δ_{H} 3.11 (1H, dd, J = 3.6, 10.2 Hz, H-9'a)、 δ_{H} 3.82 (1H, m, H-9'b)、 δ_{C} 68.02 (C-9'); 且如圖(Fig. 3-13-1)所示H-8和H-8'有COSY 相關, 得知C-8和 C-8'有連接,推測其為8-8相連的lignan 骨架。

HMBC圖譜(Fig. 3-13-6)顯示 $\delta_H 2.83$ (H-7)和 $\delta_C 112.46$ (C-2)、 δ_C 133.84 (C-6)有³J的關連, $\delta_H 3.86$ (1H, H-7')和 $\delta_C 128.88$ (C-1)、 $\delta_C 117.06$ (C-5)、 $\delta_C 107.52$ (C-2', 6')有³J的關連,所以B環的 $\delta_C 137.24$ (C-1')和 δ_C 49.57 (C-7')連接, 且C-7, 8, 7', 8'也和A環C-1, 6形成六圓環;另外三個 甲氧基質子訊號 $\delta_H 3.81$ (3H, s)、 $\delta_H 3.85$ (6H, s)分別與 $\delta_C 147.34$ (C-3)、 $\delta_C 149.36$ (C-3', 5')有³J的關連,確定三個甲氧基連接位置為C-3 和 C-3', 5'。 $\delta_H 6.39$ (H-2', 6')與 $\delta_C 135.11$ (C-4'); $\delta_H 6.66$ (H-2)與 δ_C 145.28 (C-4)皆有³J的關連;得知二個羥基在C-4,4'位上。由以上數據 推知母核平面結構如圖(Fig. 3-13-1)所示,屬於cyclolignolide type的骨 架⁷⁸。另外藉由NOESY光譜 $\delta_H 3.81$ (MeO-3)和 $\delta_H 6.66$ (H-2)有¹H-¹H相 關訊號,藉此證明MeO-3連接在A環C-3位上。

此化合物的¹H-¹H NOESY (Fig. 3-13-7)光譜顯示, H-8 (δ_H 2.02)與 H-7' (δ_H 3.86)有強烈的關連, H-8' (δ_H 1.88)與H-2',6' (δ_H 6.39), 也有強 烈的關連;但是H-8'與H-7'卻只有微弱的關連,由此推知此結構如圖 (Fig. 3-13-1)所示H-7'、H-8'為trans構型,H-8'、H-8也為trans構型。且 圓二色光譜(Circular Dichroism spectrum)數據顯示Δε (nm):-7.91 (289)、+8.59 (275)、+0.26 (252)、+20.69 (240);表明該化合物為8*R*, 7'S,8'S構型。綜合以上判斷,此化合物母核為5-methoxy-(+)isolariciresinol,且¹H、¹³C光譜數據與文獻⁸²比對一致。



Fig. 3-13-1. Compound 13之HMBC、NOESY、COSY關連圖

醣基訊號峰由anomeric質子訊號 $\delta_H 4.57$ (1H, br s, Rha-H-1)推知其 為α-構型,碳譜顯示 $\delta_C 102.33 \times \delta_C 72.37 \times \delta_C 72.57 \times \delta_C 73.88 \times \delta_C$ 70.17、 $\delta_C 17.90$ 推知其為六碳糖;經文獻⁸¹比對發現其¹H、¹³C光譜數 據與α-L-rhamnose完全一致;除此外HMBC圖譜得知 $\delta_H 4.57$ (Rha-H-1) 與lignan上 $\delta_C 68.02$ (C-9')有³J的關連,因此推測以C-1位置與5methoxy-(+)-isolariciresinol之C-9'相連;連接方式為Rha-1-O-9'。 综合以上物理及光譜數據,確定Compound **13**為 5'-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-*O*-α-L-rhamnoside,為新發現之化合物。



Position	δc^a	$\delta_{\mathrm{H}}{}^{\mathrm{b}}$
1	128.88	
2	112.46	6.66 s
3	147.34	
4	145.28	
5	117.06	6.19 s
6	133.84	
7	33.60	2.83 d ($J = 7.8$)
8	40.07	2.02 m
9	65.33	3.74 m
	d	3.62 m
1'	137.24	
2'	107.52	6.39 s
3'	149.36	
4'	135.11	
5'	149.36	
6'	107.52	6.39 s
7'	49.57	3.86 o
8'	45.41	1.88 m
9'	68.02	3.82 m
		3.11 dd (J = 3.6, 10.2)
MeO-3	56.38	3.81 s
MeO-3'	56.78	3.78 s
MeO-5'	56.78	3.78 s
Rha-1	102.33	4.57 br s
Rha-2	72.37	3.87 m
Rha-3	72.57	3.64 m
Rha-4	73.88	3.33 m
Rha-5	70.17	3.52 m
Rha-6	17.90	1.18 d (J = 6.6)

Table 3-13. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **13**.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in methanol-*d*₄

^b Spectrum recorded at 600 MHz in methanol-*d*₄





Fig. 3-13-5. Compound 13 之 HMQC 光譜



Fig. 3-13-6. Compound 13 之 HMBC 光譜



Fig. 3-13-7. Compound 13 之 COSY 光譜






Fig. 3-13-9. Compound 13 之 CD、UV 光譜



Fig. 3-13-10. Compound 13 之 IR 光譜



Fig. 3-13-11. Compound 13 之 HRESIMS 圖譜

第十四節、化合物 14 之結構解析



Compound 14 為黃色膠狀物,熔點mp 126.0 °C。比旋光度[α]²⁵D +18.4°(*c* 3.8, MeOH)。電灑式質譜(ESIMS)(Fig. 3-14-10)分析顯示, 其分子離子峰為*m/z* 559.3 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data推算其分子 式為C₂₇H₃₆O₁₁。紅外線光譜(Fig. 3-14-9) IR *v_{max}* 3361 cm⁻¹顯示有OH的 訊號,1608,1508,1457 cm⁻¹為苯環上C=C之訊號。紫外光吸收光譜 (Fig. 3-14-8)顯示UV (MeOH) λ_{max} 282 nm。圓二色光譜(Circular Dichroism spectrum, Fig. 3-14-8)顯示CD (*c* 1.49×10⁻⁵ M, MeOH) Δε (nm): -5.73 (291)、+11.54 (275)、+2.80 (256)、+32.14 (241)。

核磁共振氫、碳光譜(methanol-*d*₄; Fig. 3-14-1, 3-14-2, Table 3-14) 發現芳香族質子區有一組ABX系統的質子吸收訊號δ_H 6.63 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2')、δ_H 6.66 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5')、δ_H 6.47 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz, H-6')其碳值分別為δ_C 113.13 (C-2')、δ_C 115.84 (C-5')、δ_C 121.71 (C-6'),由此推知B環為1,3,4三取代之苯環;尚有一個單一芳香質子訊號δ_H 6.58 (1H, s, H-2),碳值為δ_C 107.77 (C-2)推測A環為1,3,4,5,6五取代的苯環;除此之外還有三個methoxy δ_H 3.85 (3H, s, MeO-3)、δ_H 3.25 (3H, s, MeO-5)、δ_H 3.75 (3H, s, MeO-3'); 糖的特徵訊號δ_H 4.70~δ_H 3.35和δ_H 1.19。

透過HMQC (Fig. 3-14-3)和COSY (Fig. 3-14-6)發現兩組C₃ units , -CH₂CHCH₂OH其氫碳訊號分別為 $\delta_{\rm H}$ 2.73 (1H, dd, J = 4.2, 15.0 Hz, H-7a)、 $\delta_{\rm H}$ 2.57 (1H, dd, J = 11.4, 15.0 Hz, H-7b)、 $\delta_{\rm C}$ 33.73 (C-7)、 $\delta_{\rm H}$ 2.02 (1H, m, H-8)、 $\delta_{\rm C}$ 40.07 (C-8)、 $\delta_{\rm H}$ 3.46 (1H, dd, J = 7.2, 10.8 Hz, H-9a)、 $\delta_{\rm H}$ 3.61 (1H, dd, J = 4.2, 10.8 Hz, H-9b)、 $\delta_{\rm C}$ 65.33 (C-9); $\mathcal{B} - \mathfrak{A}$ 為-CHCHCH₂O-其氫碳訊號分別為 $\delta_{\rm H}$ 4.92 (1H, d, J = 6.6, Hz, H-7')、 $\delta_{\rm C}$ 42.62 (C-7')、 $\delta_{\rm H}$ 2.04 (1H, m, H-8')、 $\delta_{\rm C}$ 46.64 (C-8')、 $\delta_{\rm H}$ 3.30 (1H, m, H-9'a)、 $\delta_{\rm H}$ 3.63 (1H, dd, J = 6.0, 9.6 Hz, H-9'b)、 $\delta_{\rm C}$ 69.50 (C-9'); \mathfrak{L} H-8 和H-8'有 COSY 相 關, \mathcal{P} 和C-8和C-8'有連接, 推測其為8-8相連的 lignan骨架。

HMBC圖譜(Fig. 3-14-5)顯示δ_H 2.73 (H-7a)、δ_H 2.57 (H-7b)和δc 107.81 (C-2)、δc 126.62 (C-6)有³J的關連,δ_H 4.29 (H-7')和δc 130.06 (C-1)、δc 147.46 (C-5)、δc 113.13 (C-2')、δc 121.71 (C-6')有³J的關連, 所以B環的δc 139.96 (C-1')和δc 42.62 (C-7')連接, 且C-7, 8, 7', 8'也和A 環C-1,6形成六圓環;且圓二色光譜數據顯示 CD Δε (nm): -5.73 (291) 、+11.54 (275)、+2.80 (256)、+32.14 (241)。透過文獻⁸⁴發現與 cyclolignolide type的5-methoxy-(+)-isolariciresinol的碳、氫和圓二色光 譜數據吻合。 醣基訊號峰由anomeric質子訊號 $\delta_H 4.70$ (1H, br s, Rha-H-1)推知其 為α-構型,碳譜顯示 δ_C 101.99、 δ_C 72.41、 δ_C 72.56、 δ_C 73.93、 δ_C 70.10、 δ_C 17.92推知其為六碳糖;經文獻⁸⁵比對發現其¹H、¹³C光譜數 據與α-L-rhamnose完全一致;除此外HMBC圖譜得知 δ_H 4.70 (Rha-H-1) 與lignan上 δ_C 69.50 (C-9')有³J的關連,因此推測以C-1位置與5methoxy-(+)-isolariciresinol之C-9'相連;連接方式為Rha-1-O-9'。

综合以上物理及光譜數據,並透過文獻⁸⁴比對,確定compound 14 為5-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-O-α-L-rhamnoside,是一已知化合物。



Position	$\delta^{13}c^a$	$\delta^{1}{}_{H}{}^{b}$
1	130.06	
2	107.81	6.58 s
3	148.64	
4	138.92	
5	147.46	
6	126.62	
7	33.73	2.57 dd (<i>J</i> = 11.4, 15.0) 2.73 dd (<i>J</i> = 4.2, 15.0)
8	40.96	1.64 m
9	66.29	3.46 dd (J = 7.2, 10.8) 3.61 dd (J = 4.2, 10.8)
1'	139.96	
2'	113.13	6.63 d ($J = 1.8$)
3'	148.76	
4'	145.48	
5'	115.84	6.66 d $(J = 8.4)$
6'	121.71	6.47 dd (<i>J</i> = 1.8, 8.4)
7'	42.62	4.29 d (<i>J</i> = 6.6)
8'	46.64	2.04 m
9'	69.50	3.30 m
		$3.63 \mathrm{dd} (J = 6.0, 9.6)$
MeO-3	56.62	3.85 s
MeO-5	60.08	3.25 s
MeO-3'	56.40	3.75 s
Rha-1	101.99	4.70 br s
Rha-2	72.41	3.87 dd (J = 1.8, 3.6)
Rha-3	72.56	3.67 dd (J = 3.6, 9.6)
Rha-4	73.93	3.35 m
Rha-5	70.07	3.53 dd (J = 6.0, 9.0)
Rha-6	17.92	1.19 d (J = 6.0)

Table 3-14. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **14**.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in methanol-*d*₄ ^b Spectrum recorded at 600 MHz in methanol-*d*₄





Fig. 3-14-4. Compound 14 之 HMQC 光譜



Fig. 3-14-5. Compound 14 之 HMBC 光譜



Fig. 3-14-6. Compound 14 之 COSY 光譜



Fig. 3-14-8. Compound 14 之 CD、UV 光譜







Fig. 3-14-10. Compound 14 之 ESIMS 圖譜

第十五節、化合物 15 之結構解析



Compound 15 為黃色膠狀物,熔點mp 146.0 °C。比旋光度[α]²⁵D +3.5° (*c* 1.0, MeOH)。高解析電灑式質譜(HRESIMS) (Fig. 3-15-10)分析 顯示,其分子離子峰為*m*/*z* 529.2052 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹Hdata 推算其分子式為C₂₆H₃₄O₁₀。紅外線光譜(Fig. 3-15-9) IR *v_{max}* 3361 cm⁻¹ 顯示有OH的訊號,1610,1508,1455 cm⁻¹為苯環上C=C之訊號。紫外 光吸收光譜(Fig. 3-15-8)顯示UV (MeOH) λ_{max} 283 nm。圓二色光譜 (Circular Dichroism spectrum, Fig. 3-15-8)顯示CD (*c* 1.58×10⁻⁵ M, MeOH, 210-350 nm) $\Delta\epsilon$ (nm): – 3.92 (292) × +4.04 (276) × +0.81 (256) × +5.93 (238)。

核磁共振氫光譜(methanol- d_4 ; Fig. 3-15-1, Table 3-15)顯示一對單 峰芳香質子吸收訊號 $\delta_H 6.66$ (1H, s, H-2)、 $\delta_H 6.16$ (1H, s, H-5)其對應碳 值 δ_C 112.45 (C-2)、 δ_C 117.15 (C-5)推測A環為1, 3, 4, 6四取代的苯環; 另外有一組ABX系統的質子吸收訊號 δ_H 6.63 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2')、δ_H 6.75 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5')、δ_H 6.58 (1H, dd, J = 1.8, 7.8 Hz, H-6')其碳值為δ_C 113.52 (C-2')、δ_C 116.09 (C-5')、δ_C 123.18 (C-6'), 由此 推知B環為1, 3, 4三取代之苯環;此外尚有兩個methoxy的質子吸收訊 號δ_H 3.80 (3H, s, OCH₃-3)、δ_H 3.77 (3H, s, OCH₃-3')

; 有糖的特徵吸收訊號δ_H1.18~δ_H4.51。

藉由HMQC (Fig. 3-15-4)和COSY (Fig. 3-15-6)發現兩組C₃ units,-CH₂CHCH₂OH其氫碳訊號分別為 $\delta_{\rm H}$ 2.82 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-7)、 $\delta_{\rm C}$ 33.60 (C-7)、 $\delta_{\rm H}$ 2.02 (1H, m, H-8)、 $\delta_{\rm C}$ 40.08 (C-8)、 $\delta_{\rm H}$ 3.62 (1H, m, H-9a)、 $\delta_{\rm H}$ 3.73 (1H, dd, J = 2.4, 10.8 Hz, H-9b)、 $\delta_{\rm C}$ 65.37 (C-9); $\mathcal{B} - \mathfrak{A}$ 為-CHCHCH₂O-其氫碳訊號分別為 $\delta_{\rm H}$ 3.86 (1H, o, H-7')、 $\delta_{\rm C}$ 48.34 (C-7')、 $\delta_{\rm H}$ 1.86 (1H, m, H-8')、 $\delta_{\rm C}$ 45.49 (C-8')、 $\delta_{\rm H}$ 3.10 (1H, dd, J = 3.6, 10.2 Hz, H-9'a)、 $\delta_{\rm H}$ 3.82 (1H, m, H-9'b)、 $\delta_{\rm C}$ 68.00 (C-9'); 並且H-8和 H-8'有COSY相關,得知C-8和C-8'有連接,推測其為8-8相連的lignan 骨架。

HMBC圖譜(Fig. 3-15-5)發現δ_H 2.82 (H-7)和δ_C 112.45 (C-2)、δ_C 134.01 (C-6)有³J的關連,δ_H 3.86 (1H, H-7')和δ_C 128.91 (C-1)、δ_C 117.15 (C-5)、δ_C 113.52 (C-2')、δ_C 123.18 (C-6')有³J的關連,所以B環的δ_C 138.06 (C-1')和δ_C 48.34 (C-7')連接, 且C-7, 8, 7', 8'也和A環C-1, 6形成 六圓環;並且圓二色光譜數據顯示CD Δε (nm): – 3.92 (292)、+4.04 (276)、+0.81 (256)、+5.93 (238)。透過文獻⁸³發現母核與cyclolignolide type的(+)-isolariciresinol的碳、氫和圓二色光譜數據吻合。

糖的碳譜訊號δc 102.28、δc 72.33、δc 72.53、δc 73.86、δc 70.13、δc 17.91得知為六碳糖, 氫譜質子訊號 $\delta_{\rm H}$ 4.51 (1H, d, J = 1.8, Hz, Rha-H-1)推知為α-構型;比對文獻⁸¹後發現其¹H、¹³C數據,表現 與α-L-rhamnose一致;除此外HMBC圖譜得知 $\delta_{\rm H}$ 4.51 (Rha-H-1)與lignan

上δ_C 68.00 (C-9')有³J的關連,因此推測α-L-rhamnoside以C-1位置與 lignan之C-9'相連;連接方式為Rha-1-O-9'。

綜合以上物理及光譜數據,並透過文獻比對⁸³,確定compound 15 為(+)-acviculin,是一已知化合物。



Position	$\delta^{13}C^a$	δ ¹ H ^b , mult.,Hz		
1	128.91			
2	112.45	6.66 s		
3	147.26			
4	145.24			
5	117.15	6.16 s		
6	134.01			
7	33.60	2.82 d (J = 7.2)		
8	40.08	2.02 m		
9	65.37	3.73 dd (<i>J</i> = 2.4, 10.8)		
	101	3.62 m		
1'	138.06			
2'	113.52	6.63 d (J = 1.8)		
3'	149.17			
4'	146.11			
5'	116.09	6.75 d (<i>J</i> = 7.8)		
6'	123.18	6.58 dd (<i>J</i> = 1.8, 7.8) 3.86 o 1.86 m		
7'	48.34			
8'	45.49			
9'	68.00	3.82 m		
		3.10 dd (J = 3.6, 10.2)		
MeO-3	56.38	3.80 s		
MeO-3'	56.38	3.77 s		
Rha-1	102.28	4.51 d (J = 1.8)		
Rha-2	72.33	3.86 m		
Rha-3	72.53	3.64 m		
Rha-4	73.86	3.34 m		
Rha-5	70.13	3.51 dd (J = 6.0, 9.0)		
Rha-6	17.91	1.18 d (J = 6.0)		

Table 15. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for **15**.

^a Spectra recorded at 150 MHz in methanol-*d*₄
^b Spectra recorded at 600 MHz in methanol-*d*₄





Fig. 3-113. Compound 15 之 HMQC 光譜



Fig. 3-114. Compound 15 之 HMBC 光譜



Fig. 3-115. Compound 15 之 COSY 光譜



Fig. 3-117. Compound 15 之 CD、UV 光譜



Fig. 3-118. Compound 15 之 IR 光譜



Fig. 3-119. Compound 15 之 HRESIMS 圖譜

第十六節、化合物 16 之結構解析



Compound 16 為黃色膠狀物,熔點mp 115.0 °C。比旋光度[α]²⁵D -42.3°(*c* 2.6, MeOH)。高解析電灑式質譜(HRESIMS) (Fig. 3-16-12)分 析顯示,其分子離子峰為 *m/z* 515.1894 [M + Na]⁺,同時結合¹³C,¹H data推算其分子式為C₂₅H₃₂O₁₀。紅外線光譜(Fig. 3-16-11) IR *v_{max}* 3360 cm⁻¹顯示有OH的訊號,1603,1513,1455 cm⁻¹為苯環C=C之訊號。紫外 光吸收光譜(Fig. 3-16-10)顯示UV (MeOH) λ_{max} 280 nm。圓二色光譜 (Circular Dichroism spectrum, Fig. 3-16-8)顯示CD (*c* 1.86×10⁻⁵ M, MeOH) Δε (nm): -4.43 (293)、+1.69 (262)、-29.63 (241)。

核磁共振氫及碳光譜(methanol- d_4 ; Fig. 3-16-3, 3-16-4, Table 3-16) 發現芳香族質子區有一組ABX系統的質子吸收訊號 δ_H 7.02 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2)、 δ_H 7.05 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5)、 δ_H 6.91 (1H, dd, J = 1.8, 9.0 Hz, H-6)其碳值分別為 δ_C 111.20 (C-2)、 δ_C 118.46 (C-5)、 δ_C 119.24 (C-6), 由此推知A環為1, 3, 4三取代之苯環; 另外兩個br s質子訊號 δ_H 6.72 (1H, br s, H-2')、 δ_H 6.70 (1H, br s, H-6'), 其碳光譜吸收訊號為 δ_C 114.15 (C-2')、 δ_C 117.92 (C-6')推測B環為1, 3, 4, 5四取代之苯環; 除此 之外還有兩個甲氧基質子吸收訊號 δ_H 3.81 (3H, s, OCH₃-3)、 δ_H 3.85 (3H, s, OCH₃-3'); δ_H 3.41 ~ δ_H 4.85 有糖的特徵吸收訊號。利用HMQC (Fig. 3-16-6)和COSY (Fig. 3-16-8)發現兩組C3 units, 其中一組- CH₂CH₂CH₂OH氫碳訊號分別為 δ_{H} 2.61 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-7')、 δ_{C} 32.88 (C-7')、 δ_{H} 1.80 (2H, m, H-8')、 δ_{C} 35.80 (C-8')、 δ_{H} 3.55 (2H, t, J = 6.6 Hz, H-9')、 δ_{C} 62.21 (C-9');另一組為-CHCHCH₂OH其氫碳訊號分 別為 δ_{H} 5.54 (1H, d, J = 5.4 Hz, H-7)、 δ_{C} 88.46 (C-7)、 δ_{H} 3.44 (1H, m, H-8)、 δ_{C} 55.66 (C-8)、 δ_{H} 3.74 (1H, dd, J = 7.8, 10.8 Hz, H-9a)、 δ_{H} 3.83 (1H, dd, J = 5.4, 10.8 Hz, H-9b)、 δ_{C} 65.03 (C-9)由此推測其為lignan的骨 架。



Fig. 3-16-1. Compound 16 之 HMBC、COSY 關連圖

HMBC圖譜(Fig. 3-16-7)顯示δ_H 2.61 (H-7')和δ_C 114.15 (C-2')、δ_C 117.92 (C-6')有³J的關連,所以1-propanol與phenyl C-1'連接;δ_H 6.72 (H-2')和δ_C 147.50 (C-4')有³J的關連, δ_H 6.70 (H-6')和δ_C 129.58 (C-5')有²J 的關連, 且從碳譜得知C-4'與氧連接; 另外從氫碳訊號δ_H 5.47 (H-7)、δ_C 88.46 (C-7)得知有氧連接,並且HMBC圖譜上δ_H 5.47 (H-7)和 δ_C 111.20 (C-2)、δ_C 119.24 (C-6)、δ_C 147.5 (C-4')、δ_C 129.58 (C-5')有³J 的關連, 由此推知C-4'-O-7與C-5'-8形成二氫呋喃環; 另外兩個甲氧基 質子訊號δ_H 3.81、 δ_{H} 3.85分別與 δ_{C} 151.26 (C-3)和 δ_{C} 145.24 (C-3')有³J的關連, 確定兩個甲氧基連接位置為C-3和C-3', 另一苯環上的質子訊號 δ_{H} 7.02 (H-2)和 δ_{C} 147.20 (C-4) 有³J的關連, δ_{H} 7.05 (H-5)和 δ_{C} 138.63

(C-1)有³J的關連, δ_{H} 6.91 (H-6)和 δ_{C} 147.20 (C-4)有³J的關連,可推知母 核平面結構如圖(Fig. 3-16-1)所示,屬於benzofuran type neolignan的骨 架⁹²。另外藉由NOESY光譜(Fig. 3-16-9)顯示 δ_{H} 3.85 (OCH₃-3')和 δ_{H} 6.72 (H-2')有¹H-¹H相關訊號,藉此證明OCH₃-3'連接在B環C-3位上。



Fig. 3-16-2. Compound 16 之 NOESY 關連圖

此化合物的NOESY光譜,H-7 (δ_H 5.47)與H-9 (δ_H 3.74)有¹H-¹H相 關;而H-8 (δ_H 3.45)與H-2 (δ_H 7.02)也有¹H-¹H相關,由此知H-7、H-8為 trans的構型如圖(Fig. 3-16-2)所示。且圓二光譜數據顯示Δε (nm) -4.4 (293)、+1.69 (262)、-29.63 (241);表明該化合物為7*R*, 8*S*構型⁸⁷。綜 合以上判斷,此化合物母核為dihydrodehydrodiconiferyl alcohol,且與 文獻比對一致^{78,66-68,87}。

醣基訊號峰由anomeric質子訊號 $\delta_H 4.85$ (1H, d, J = 7.2 Hz, Xyl-H-1) 推知其為β-構型,碳譜顯示 δ_C 103.44、 δ_C 74.61、 δ_C 77.39、 δ_C 70.99、 δ_C 66.84推知其為五碳糖;經文獻⁸⁶比對發現其¹H、¹³C光譜數 據與β-D-xylose完全一致;除此外HMBC圖譜得知 δ_H 4.85 (Xyl-H-1)與 lignan上 δ_C 147.20 (C-4)有³J的關連,因此推測β-D-xylose以C-1位置與 lignan之C-4相連;連接方式為Xyl-1-O-4。 綜合以上物理及光譜數據,確定 compound 16為 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4- β -D-xyloside,為新發現之化合物。



Position	$\delta_{C}{}^{a}$	$\delta_{\rm H}{}^{\rm b}$	
1	138.63		
2	111.20	7.02 d ($J = 1.8$)	
3	151.26		
4	147.20		
5	118.46	7.05 d ($J = 9.0$)	
6	119.24	6.91 dd (<i>J</i> = 1.8, 9.0)	
7	88.46	5.54 d (<i>J</i> = 5.4)	
8	55.66	3.44 m	
9	65.03	3.74 dd (<i>J</i> = 7.8, 10.8)	
	in loui	3.83 dd (J = 5.4, 10.8)	
1'	137.08		
2'	114.15	6.72 s	
3'	145.24		
4'	147.50		
5'	129.58		
6'	117.92	6.70 s	
7'	32.88	2.61 t (<i>J</i> = 7.8)	
8'	35.80	1.80 m	
9'	62.21	3.55 t (J = 6.6)	
OCH ₃ -3	56.62	3.81 s	
OCH ₃ -3'	56.76	3.85 s	
Xyl-1	103.44	4.85 d (<i>J</i> = 7.2)	
Xyl-2	74.61	3.47 dd (<i>J</i> = 8.4, 7.2)	
Xyl-3	77.39	3.41 m	
Xyl-4	70.99	3.56 m	
Xyl-5	66.84	3.29 dd (<i>J</i> = 1.8, 11.4) 3.88 dd (<i>J</i> = 5.4, 11.4)	

Table 3-16. ¹³C and ¹H NMR chemical shifts in methanol- d_4 ; ¹H multiplicities and coupling constants for 16.

^a Spectrum recorded at 150 MHz in methanol- d_4 ^b Spectrum recorded at 600 MHz in methanol- d_4





Fig. 3-16-6. Compound 16 之 HMQC 光譜



Fig. 3-16-7. Compound 16 之 HMBC 光譜



Fig. 3-16-8. Compound 16 之 COSY 光譜



Fig. 3-16-10. Compound 16 之 CD、UV 光譜



Fig. 3-16-11. Compound 16 之 IR 光譜



Fig. 3-16-12. Compound 16 之 HRESIMS 圖譜

第四章、生物活性試驗

第一節 清除DPPH自由基之抗氧化實驗

DPPH全名為2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Fig. 4-1),是一個含奇 數電子穩定型自由基,可溶於甲醇或乙醇,且於波長517 nm下有強烈 吸光值,當其被抗氧化劑還原時,吸光值會降低甚至消失,所以藉由 517 nm之吸光值來判斷化合物是否具有提供氫原子以捕捉 DPPH 自由 基之能力。



Fig. 4-1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)之化學結構

一、實驗材料方法

- 1. 以methanol避光配置DPPH溶液,濃度為0.75 mM
- 2. 將待測之樣品以methanol依序稀釋成下列不同濃度:

a.	200 µg/mL	d.	25 μg/mL
b.	$100 \ \mu g/mL$	e.	12.5 µg/mL
c.	50 μg/mL	f.	6.25 µg/mL

- 3. 取120 μL樣品,依序加入96-well plate,注入30 μL DPPH。
- 4. 於避光的狀況下,於shaker上搖晃反應30分鐘。
- 5. 以ELISA reader測量波長517 nm之吸光值,吸光值越低表示清除DPPH能力越強。

6.計算自由基清除率:

7. Scavenging effect % =
$$\left(1 - \frac{\text{Sample abs.}}{\text{Blank abs.}}\right) \times 100\%$$

二、實驗結果

青剛櫟的酒精萃取物(ehtanol extract)及其透過液相分配後獲得的 *n*-hexane、EtOAc和butanol layer等粗萃物,清除DPPH自由基的活性結 果如圖(Fig. 4-2.)所示,結果顯示*n*-hexane layer extract在200 μg/mL的 濃度下只有49.37 %輕微的清除自由基的能力;而同樣在200 μg/mL的 濃度下的其他粗萃物: ehtanol extract有98.11 %, EtOAc layer extract有 98.53 %和butanol layer extract有98.88 %,高度的清除自由基能力。

因此選擇EtOAc layer分離得到10 fractions測試清除DPPH自由基的活性,結果如圖(Fig. 4-3.)所示,除了Fr. 2和Fr. 5在200 µg/mL的濃度下只有75 %等清除自由基的能力之外;其餘fractions在200 µg/mL的濃度下皆有90%以上清除自由基的能力。

在選擇第四和第七部份純化後得到的16個化合物測試清除DPPH 自由基的活性,結果如圖(Fig. 4-4.)所示,發現純化後得到的βsitosterol glucoside (1)和5個triterpenoids類化合物batrogenic acid (2)、trachelosperogenin A (5)、paradrymonoside (9)、24-*epi*-pinfaensin (10)、rosamultin (11)在200 µg/mL的濃度下皆不到5 %幾乎沒有清除自 由基的能力;2個flavonoids類化合物3-β-hydroxynaringenin (7)、naringenin-7-*O*-glucoside (4)在200 µg/mL的濃度下也只有3 %和15 %同樣低弱的清除自由基的能力;而2個aromatics類化合物ethyl gallate (6)、3,4-dihydroxybenzoic acid (8);在相同的200 µg/mL濃度下有90 % 以上的清除自由基的能力;在6個lignans類化合物中有2個benzofuran type其中dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4-β-D-xyloside (16)為新化合物,另一個是dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (3),在200 µg/mL的濃度下有25 %和14 %些微的清除自由基的能力;而另一種cyclolignolide type有4個化合物 (+)-lyoniresino 9'-*O*-α-L-rhamnoside (12)、5'-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-*O*-α-L-rhamnoside (13)、5-methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-*O*-α-L-rhamnoside (14)、(+)-acviculin (15)其中(13)為新化合物,在200 µg/mL的濃度下達到85%以上清除自由基能力。

清除DPPH效果顯著的化合物6、8、12、13*、14、15進行ED₅₀值 的檢測(Table 4-1),化合物6之ED₅₀值2.98 μ g/mL,化合物8之ED₅₀值 10.44 μ g/mL,化合物12之ED₅₀值18.52 μ g/mL,化合物13*之ED₅₀值 42.18 μ g/mL,化合物14之ED₅₀值11.84 μ g/mL,化合物15之ED₅₀值 15.21 μ g/mL,其中化合物6、8、14、15的活性比α-tocopherol (ED₅₀ = 14.05 μ g/mL)還要好。

Compound	ED ₅₀ (µg/mL)
α-tocopherol	14.05
6	2.98
8	10.44
12	18.52
13	42.18
14	11.84
15	15.21

Table 4-1. 化合物6, 8, 12-15與α-tocopherol之ED50比較

1. Positive control : α -tocopherol

2.Compounds 濃度 200 µg/mL

- 3. Scavenging effect $\% = \left(1 \frac{\text{Sample abs.}}{\text{Blank abs}}\right) \times 100\%$
- 4. Methaol 溶解 DPPH 之吸光值為對照組
- 5. 對照組之吸光值須控制在1.00左右
- 6. DPPH 溶液須避光震盪20-30分鐘,使其完全溶解
- 7. 樣品吸光值須扣除以methaol取代DPPH時之樣品本身於波長517 nm 之吸光值












第二節 抑制腫瘤細胞生長分析實驗

一、抑制腫瘤細胞生長實驗原理

本實驗利用 colorimetric MTT assay之3-(4,5-dimethylthiazo-2diphenyl)-tetrazolium bromide (MTT)來檢測樣品對於抑制腫瘤細胞生長 的活性。活細胞中的粒腺體(mitochondria)含有各種脫氫酵素 (dehydrogenase),此時酵素與MTT反應,會將MTT之tetrazolium環切 斷形成formazan。此時,顏色由淡黃轉變為暗藍色。可利用酵素免疫 分析儀(ELISA reader)讀取波長550 nm之吸光值,並計算ED₅₀ (µg/ mL)。

由於死亡細胞內不含脫氫酵素,因此MTT並不會遭受破壞,而吸 光值也不會改變,本實驗即利用此原理,以ELISA reader 測定波長550 nm之吸光值,來判別樣品對於抑制腫瘤細胞生長之能力。

二、實驗材料

1. 培養基及試液

- (2) Fetal bovine serum (10 % FBS)
- (3) Minimum essential medium-eagle (MEM)
- (4) Dulbeccos's MEM (DMEM)
- (5) 3-(4,5-dimethlthiazo-2-diphenyl)-tetrazolium bromide (MTT)
- (6) Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- (7) Phosphate-buffer saline (PBS)
- 2. 腫瘤細胞種類及來源
 - (1) Human medulloblastoma(Daoy,神經管母細胞瘤)
 - (2) Human laryngeal carcinoma (Hep2, 喉鱗狀細胞瘤)
 - (3)使用之腫瘤細胞,皆購自財團法人食品工業發展研究 所。

三、實驗方法

1. 腫瘤細胞(Cell lines)之配置

將Doay、Hep2培養在10%胎牛血清(fetal calf serum)及含100 units/ mL penicillin和100 μg/mL streptomycin的MEM培養基,放置於5 % CO₂、37°C之恆溫箱中培養。

2. 測試樣品之濃度配置

秤取2.0 mg sample用100% DMSO調配濃度為20 g/L再以1×PBS做
序列稀釋成400、200、100、10 mg/L之稀釋樣品。

3. 實驗步驟

當腫瘤細胞生長至培養基單層長滿時,以trypsin處理並收集細胞,經染劑(Trypan blue solution 0.4 %)染色並置於血球計數盤上,利用顯微鏡計算細胞數目。每孔至 3×10³ cell、180 µL培養基之條件將細胞植至孔培養基上,4小時候添加樣品,於5 % CO₂、37 °C之恆溫箱中培養72小時。

72小時後,在每孔洞中加入MTT 20 μL (2 mg/mL),移入恆溫培養 箱中培養4小時後,洗去上清液。於每孔洞中加入200 μg/mL的 DMSO,溶解formazan結晶,再以酵素免疫分析儀(ELISA reader)讀取 波長550 nm下,測定吸光度(Optical density : O.D.),並計算樣品之 ED₅₀ (μg/mL)。

167

四、實驗結果

本實驗將青剛櫟的酒精萃取物(ethanol extract)及其透過液相分配 後獲得的*n*-hexane layer、EtOAc layer和butanol layer等粗萃物,對 Doay、HEp2腫瘤細胞株進行抑制生長能力的評估。

由Table 4-2的實驗結果發現, *n*-hexane layer對Doay、HEp2腫瘤細胞株僅有微弱的抑制生長能力。而其他的萃取物對這兩個腫瘤細胞株皆不具有抑制細胞生長之能力

 $ED_{50} > 80 \ \mu g/mL \circ$

Sample -	ED ₅₀ (µg/mL)	
	Daoy	HEp2
Ethanol extract	(-)	(-)
<i>n</i> -Hexane layer	59.60	29.18
EtOAc layer	(-)	(-)
Butanol layer	(-)	(-)

- I

Table 4-2. 抑制細胞生長實驗結果

1. Cell lines :

I. Daoy: Human medulloblastoma(神經管母細胞瘤)

II.HEp2:Human laryngeal carcinoma(喉鱗狀細胞瘤)

- 2. (-) : $ED_{50} > 80 \ \mu g/mL$
- 3. Standard Mitomycin C:
 - I. Daoy $ED_{50} = 0.15 \ \mu g/mL$

II. HEp2 ED₅₀ = $0.16 \, \mu g/mL$

4. ED₅₀ (Half maximal effdctive dose): 樣品抑制50% 癌細胞生長之濃度。

第五章、結論

- 青剛櫟(Quercus glauca)莖部的酒精萃取物,經液相分配萃取後, 1. 由其中乙酸乙酯層中分離得到2個新的化合物和14個已知化合 物,包括sitosterol類化合物、5個triterpenoids類化合物、2個 flavonoids類化合物、2個aromatics類化合物和6個lignans類化合 物;而lignans類化合物其中有2個化合物為benzofuran type、4個 化合物為cyclolignolide type。sitosterol频化合物為β-sitosterol glucoside (1); triterpenoids類化合物包括有batrogenic acid (2) \cdot trachelosperogenin A (5) \cdot paradrymonoside (9) \cdot 24-epipinfaensin (10)、rosamultin (11); flavonoids類化合物包括有3-βhydroxynaringenin (7)、naringenin-7-O-glucoside (4); aromatics類 化合物有ethyl gallate (6)、3,4-dihydroxybenzoic acid (8); lignans 化 合 物 有 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 類 (3)、dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4-β-D-xyloside (16, New)為 benzofuran type; (+)-lyoniresino-9'-O- α -L-rhamnoside (12) \cdot 5'methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (13, New) \cdot 5methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (14) \cdot (+)-acviculin (15)為cyclolignolide type。
- II. 將青剛櫟(Quercus glauca)樹莖所分離出來的化合物1~16,分別 進行抗氧化實驗,結果顯示β-sitosterol glucoside和triterpenoids類 化合物1、2、5、9、10、11在200 μg/mL濃度下皆不具有清除自 由 基 的 能 力 , 而 aromatics 和 lignans 類 化 合 物

6、8、12、13、14、15在200 μg/mL濃度下皆具有85 %以上清除 自 由 基 的 能 力 , 其 ED₅₀ 值 分 別 為 2.98、10.44、18.25、 42.18、11.84、15.21 μg/mL,其中化合物12-15清除自由基的能力 與Vit. E (ED₅₀ = 14.05 μg/mL)相似。化合物6和8為aromatics類化 合物,因為有帶羥基和芳環上雙鍵的共振,使其容易提供電子, 達到清除DPPH的效果。雖然lignans類化合物也有羥基可以和芳 環上雙鍵形成共振提供電子,但是aromatics類化合物芳環上的羥 基數量較多,因此推測較多的羥基數量可以提供更多的電子,達 到更有效率的清除DPPH效果。

在分離青剛櫟(Quercus glauca)化合物的文獻報導中,雖以黃酮類 III. 化合物居多且有較強的抗氧化作用,但是並非所有的黃酮類化合 物均有較強的清除自由基抗氧化能力;在文獻88中指出苯環上經 基數量越多其清除DPPH抗氧化能力越好,例如quercetin有5個經 基其清除DPPH能力為ED₅₀ = 5.13 μ g/mL、kaempferol有4個羥基 其清除DPPH能力ED₅₀ = 14.01 µg/mL而galangin有3個羥基其清除 $DPPH能力ED_{50} = 35.10 \mu g/mL$ 。在本實驗中分離出來的黃酮類化 合物3-β-hydroxynaringenin (7)、naringenin-7-O-glucoside (4)其苯 環上羥基數量僅有2-3個而DPPH清除力,在200 μg/mL的濃度下 只有3 %和15 %與文獻有相互符合。但是在動物實驗的文獻89報 導中,高脂肪飲食的大鼠身,naringenin能減少肝細胞脂質的堆 積,進而間接減少氧化傷害達到保護肝細胞的損傷。而且 naringenin具有類雌激素作用。雌激素可以刺激瘦素分泌,進而抑 制胃的運動減少食物的攝取。所以3-β-hydroxynaringenin (7)、naringenin-7-O-glucoside (4)未來也許可以探討其對肝功能保 護的關係。

Ⅳ. 在青剛櫟(Ouercus glauca)植物中首次分離得到的新化合物有5'methoxy-(+)-isolariciresinol-9'-O- α -L-rhamnoside (13) π dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 4-B-D-xyloside (16)而首次在本植 物中發現的已知化合物包括有dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (3) (+)-lyoniresino-9'-O- α -L-rhamnoside (12) (-5)-methoxy-(+)isolariciresinol-9'-O-α-L-rhamnoside (14)、(+)-acviculin (15),皆為 lignans類化合物。lignans類化合物的生物活性十分廣泛,例如有 抗腫瘤增生的鬼臼毒素(podophyllotoxin),其母核和本次發現到的 木質素一樣屬於cyclolignolide type。經文獻90報導得知,鬼臼毒 素雖抗癌活性強,對正常細胞毒性也強;但鬼臼毒素衍生物就有 抗癌活性强且毒性低的特性。例如Podophyllic acid piperidyl hydrazone nitroxide radical (GP1)能明顯抑制腫瘤細胞DNA、RNA 和蛋白質的合成。抗病毒活性的retroiusticidin B和phyllamyricin具 有抑制HIV-1的轉譯酶的作用91。心血管系統作用(+)-gomisin對血 小板活化因子(PAF)有拮抗作用其IC₅₀ = 3.0 μ mol/mL, 而 cyclolignolide type的衍生物也具有降脂作用,在大鼠實驗中,不 但可以降低血液中膽固醇而且可以提高高密度脂蛋白的量91。在 未來可以針對這類的母核做其衍生物的活性探討。

第六章、参考資料

- Chang, F.; Chaw M. S. and Wang J. C., In compositw: Flora of Taiwan. Volumn 2. The Requbic of Taiwan, 1994, 577.
- Deschner E. E.; Ruperto J.; Wong G.; Newmark H. L., 1991, Quercetin and rutin as inhibitors of azoxyemthanol-induced colonic neoplasia. *Carinogeneis*, 12, 1193-1196.
- 3. Ames B. N.; Saul R. L., **1986**, Oxidative DNA damageas related to cancer and aging. *Prog Clin Biol Res*, 209A, 11-26.
- Gilani A. H.; Aziz N.; Khan M. A; Shaheen F.; Jabeen Q.; Siddiqui B. S.; Herzig J. W., 2000, Ethnopharmacolgical evaluation of the anticonvulsant, sedaitve adn antispasmodic activities of Lavandula stoechas L. J. Ethopharmacol, 71, 161-167.
- Kahkone M. P.; Hopia A. I.; Heinonen M., 2001, Berry phenolics and their antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 49, 4076-82.
- Gilbert D. L., Fity years of radical ideas. Ann NY Acad Sci, 2000, 633-640.
- Evans P.; Halliwell B., Micronutrients: oxidant/antioxidant strtus. Br J Nutr , 2001, 67-74.
- 8. Fridovich I: Fundamentl aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? Ann N Y Acad Sci, **1999**, 893.
- Mc Cord JM: The evlution of gree radicals and oxidatove stress. Am J Med, 2000, 652-659.
- Lo H. C.; Huang T. M., 2005, Microsporogenesis in *Cycloblanopsis* glacua (Thunb.) Oerst. Jour. Exp. For. Nat. Taiwan Univ., 19, 55-68.

- Chiu K. H. et al. The illustrated medicinal plants of Taiwan (3), Smc publishing Inc., 1992, 36.
- 廖日京,臺灣殼斗科植物之學名訂正,臺灣商務印書館,1994,52。
- 13. 上海科學技術出版社編譯,中華草本(二),上海科學技術出版,1999,426-427。
- Palma-F. H. A.; Kepner R. E., 1983, Volatile components of california live oak, *Quercus agrifolia*. *Phytochemistry*, 22, 1503 1505.
- Kuliev, Z. A.; Vdovin, A. D.; Abdullaev, N. D.; Makhmatkulov, A. B.; Malikov, V. M., 1997, Study of the catechins and proanthocyanidins of *Quercus robur. Chemistry of Natural Compounds*, 33, 642-652.
- Yokozawa T.; Chen C. P.;Dong E.; Tanaka T.; Nonaka G. I.; Nishioka I., 1989, Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 37, 2030-2036.
- 17. Fontana, N.; Bisio, A.; Romussi, G., **1998**, Triterpene saponins and flavonoids from *Quercus glauca* Thun. *Pharmazie*, 53, 653-654.
- 18. Enukidze D. N.; Komissarenko N. F.; Éristavi L. L.,1972, Flavonoids of *Quercus iberica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 8, 116.
- Romussi, G.; Cafaggi, S.; Bignardi G., 1982, Polyphenolic constituents and biological activities of *Quercus* species. *Pharmazie*, 37, 738-739.
- Ice C. H.; Wender S. H., 1952, A new method for the isolation of pure quercitrin from lemon flavin. *Archives of biochemistry*, 38, 185.
- 21. Romussi, G.; Parodi, B.; Caviglioli, G., **1988**, Glycosides from *Quercus cerris* L. *Pharmazie*, 43, 294-295.

- 22. Romussi, G.; Lucchesini, F., **1993**, Quercetin-3-sambubioside from *Quercus pubescens* Willd., *Quercus canarienris* Willd. and *Quercus laurifolia* Michx. *Pharmazie*, 48, 227-228.
- 23. Kamano, Y.; Tachi, Y.; Otake, T.; Komatsu, M., **1968**, Constituents of *Quercus stenophylla*. *Yakugaku Zasshi*, 88, 1235-1240.
- Romussi, G.; Parodi, B.; Caviglioli, G., 1992, Flavonoid Glycosides from *Quercus canarienris* Willd., *Quercus cerris* L. *Pharmazie*, 47, 877.
- Romussi, G.; Bignardi G.; Pizza C.; De Tommasi N., 1991, New and Revised Structures of Acylated Flavonoids from *Quercus suber* L. *Pharmazie*, 324, 519-524.
- Romussi G.; Bignardi G.; Pizza C., 1988, Constituents of cupuliferae, XII. Minor acylated flavonoids from *Quercus cerris* L. *Liebigs Annalen der Chemie*; 989-991.
- 27. Zhou Y. J.; Xu S. X.; Che Q. M.; Sun. Q. S., 2001, Several Acylated Flavonoid Glycosides from *Quercus dentata* Thunb. *Indian Journal of Chemistry*, 40, 394-398.
- Romussi G.; Cafaggi S.; Ciarallo G., 1983, Inhaltsstoffe von cupuliferae, 5 ein neues acyliertes flavonoidglycosid aus *Quercus ilex* L. *Liebigs Annalen der Chemie*, 2, 334-335.
- 29. Chauhan S. M. S.; Singh M.; Kumar A., **2004**, Isolation and characterization of selected secondary metabolites from dry leaves of *Quercus semicarpifolia*. *Indian Journal of Chemistry*, 43, 223-226.
- Skaltsa H.; Verykokidou E.; Harvala C.; Karabourniotis G.; Manetas Y., 1994, UV-B protective potential and flavonoid content of leaf hairs of *Quercus ilex. Phytochemistry*, 37, 987-990.

- 31. Ishimaru K.; Ishimatsu M.; Nonaka G. I.; Mihashi K.; Iwase Y.; Nishioka I., **1988**, Tannins and related compounds. LXXI. : Isolation and characterization of mongolicins A and B, Novel flavonoellagitannins from *Quercus mongolica* var. grosseserrata. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 3312-3318.
- Talapatra, Sunil K; Das, Asok K; Chakrabarti, Syamal; Polley, Malabika; Paul, Pijus; et al., **1992**, Chemical constituents of medicinal plants III. *Indian Journal of Chemistry*, 31, 133-135.
- Monaco P.; Caputo R.; Palumbo G.; Mangoni L., 1973, Minor triterpene components from *Quercus robur* galls. *Phytochemistry*, 12, 946.
- 34. Suga T.; Kondo S., **1974**, Alkanes and triterpenoids of *Quercus glauca*. *Phytochemistry*; 13; 522-523.
- Moiteiro C.; Justino F.; Tavares R.; Marcelo-C. M. J.; Florencio M. H.; Nascimento M. S. J.; Pedro M.; Cerqueira F.; Pinto M. M. M., 2001, Synthetic secofriedelane and friedelane derivatives as inhibitors of human lymphocyte proliferation and growth of human cancer cell lines in Vitro. *Journal of Natural Products*, 64, 1273-1277.
- Kamano Y.; Tachi Y.; Sawada J., 1976, Studies on the constituents of *Quercus* spp. VI. Triterpenes of *Quercus glauca* Thunb., structure of cyclobalanone. *Yakugaku Zasshi*, 96, 1207-1211.
- Tachi Y.; Kamano Y.; Sawada J.; Tanaka I.; Itokawa H., **1976**, Studies on the constituents of *Quercus* spp. VII. Triterpenes of *Quercus gilva* Blume (author's transl). *Yakugaku Zasshi*, 96, 1213-1216.
- Fontana N.; Romussi G., 1997, Triterpenoids, steroids, and flavonoids from *Quercus virginiana*. *Pharmazie*, 52, 331-332.

- Romussi G.; Ciarallo G.; Parodi B., 1988, Glycosides from *Quercus cerris* L.", *Pharmazie*, 43, 294-295.
- 40. Nonaka G.; Nishimura H.; Nishioka I., **1985**, Isolation and structures of stenophyllanins A, B, and C, novel tannins from *Quercus stenophylla* Makino. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*, 163-172.
- 41. Nonaka G.; Nishimura H.; Nishioka I., **1986**, Tannins and related compounds. XLVI: Isolation and structures of stenophynins A and B, novel tannins from *Quercus stenophylla* Makino. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34, 3223-3227.
- 42. Nonaka G.; Nishimura H.; Nishioka I., 1984, A gallotannin and two ellagitannins containing a *p*-hydroxyphenethyl alcohol 1-*O*-β-D-glucoside (salidroside) core from *Quercus stenophylla* Makino. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 32, 1735-1740.
- Nonaka G.; Nishimura H.; Nishioka I., 1984, Eight new gallotannins containing a proto-quercitol core from *Quercus stenophylla* Makino. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 32, 1741-1749.
- 44. Nonaka G.; Nishimura H.; Nishioka I., **1984**, Two new ellagitannins containing a proto-quercitol core from *Quercus stenophylla* Makin. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 32, 1750-1753.
- 45. Chevalier P.; Schrader L., **1977**, Genotypic differences in nitrate absorption and partitioning of n among plant parts in maize. *Journal of the Chemical Society*, 17, 897-901.
- 46. Itokawa, H., **1978**, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 26, 331-333.
- 47. Patra A.; Chaudhuri S., **1988**, Friedelanes of *Quercus suber* Linn behavior of cerin, its acetate and other related triterpenoids towards

silica gel and alumina. Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 27, 1152-1153.

- Hui W.; Ho C. T.; Yee C. W., 1965, Constituents of two Quercus species of Hong Kong. Australian Journal of Chemistry, 18, 2043-2044.
- 49. Talapatra S. K.; Pradhan D.K.; Talapatra B., **1978**, He identified two new triterpenoids of the cork by establishing correlations with the friedelan-3-one and using several types of spectroscopies. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, 16, 361-365.
- 50. Arthur,H.R.; Hui W.; Lam C. N.; Szeto S. K., **1964**, An examination of *Quercus championi* of Hong Kong. *Australian Journal of Chemistry*, 17, 697-700.
- 51. Chen, H. D.; Yang S. P.; Liao S. G.; Zhang C. R.; Yue, J. M., 2006, Three new 24-noroleanane triterpenoids from *Quercus aliena* var. *acuteserrat. Helvetica Chimica Acta*, 89, 1971-1977.
- Kukla A. S.; Seshardi T. R.; Kalra, V.K., 1966, A Chemical Examination of *Quercus robur* and *Quercus incana*. *Current Scienc*, 35, 204-205.
- Kane V. V.; Stevenson R., 1960, Friedelin and related compounds. III. The isolation of friedelane-2,3-dione from cork smoker wash solids. *Journal of Organic Chemistry*, 25, 1394-1396.
- 54. Suga T.; Kondo S., **1974**, Alkanes and triterpenoids of *Quercus glauca*. Phytochemistry, 13, 522-523.
- Tachi Y.; Kamano Y.; Sawada J.; Tanaka I.; Itokawa H., **1978**, Studies on the constituents of *Quercus* spp. VII. Triterpenes of *Quercus gilva* Blume (author's transl). *Yakugaku Zasshi*, 98, 349-352.

- 56. Shiojima K.; Masuda K.; Ageta H., **1990**, Ozone-oxidation products of triterpenoid hydrocarbons belonging to the hopane and migrated hopane series. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38, 79-85.
- 57. Larson, R. A.; Miyajima, C., **1988**, Theantioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27, 969-978.
- 58. Romussi G.; Parodi B.; Falsone G., **1983**, *Pharmazie*, 38, 787-788.
- Talapatra S. K.; Shrestha K. M.; Pal M. K.; Basak A.; Talapatra B., 1989, Querspicatins A and B, two pentacyclic triterpenes from *Quercus spicata*. *Phytochemistry*, 28, 3437-3442.
- 60. Romussi G.; Caviglioli G.; Pizza C.; Tommasi N., **1993**, Triterpen saponins and flavanoids from *Quercus laurifolia*. Archiv der *Pharmazie*, 326, 525-528.
- 61. Ahmad V. U.; Ghazala; Uddin S., **1992**, A Triterpenoid Saponin from *Zygophyllum propinquum*. *Phytochemistry*, **31**, 1051-1054.
- 62. Kojima H.; Sato N.; Hatano A.; Ogura H., **1990**, Sterol Glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, **29**, 2351-2355.
- Romussi, G.; Brunella, P., 1994, Triterpensaponine und acylflavonoide aus *Quercus robur* var. *stenocarpa* Beck. *Crch. Pharm. (Weinheim)*, 327, 643-645.
- Wang, B. G.; Jia, Z. J., **1998**, Triterpenes and triterpene glycosyl ester from *Rubus pungens* Camb. var *oldhamii*. *Phytochemistry*, 49, 185-188.
- Zhang, Z.; Elsohly, H. N.; Li, X. C.; Khan, S. I.; Broedel, S. E.; Raulli, R. E.; Cihlar, R. L.; Walker, L. A., 2003, Flavanone Glycosides from *Miconia trailii*. 66, 39-41.
- 66. Chakravarty, A. K.; Das, B.; Masuda, K.; Ageta, H., **1996**, Glycoric acid Possessing a New 10-Noemegastigmane Skeleton from

Glycosmis arborea. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 45, 1421-1423.

- Yuasa, K.; Ide, T.; Otsuka, H.; Ogimi, C.; Hirata, E.; Takushi, A.; Takeda, Y., **1996**, Lignan and Neolignan Glycosides from Stems of *Alangium premnifolium. Phytochemistry*, 45, 611-615.
- Jiang, J. S.; Feng, Z. M.; Wang, Y. H.; Zhang, P. C., 2004, New Phenolics form the Roots of *Symplocos caudata* Wall. *Phytochemistry*, 53, 110-113.
- Fujinoto, H.; Suzuki, K.; Hagiwara, H.; Yamazaki, M., 1986, New Toxic Metabolites from a Mushroom, *Hebeloma vinosophyllum*. I. Structrue of Hebevinoside I, II, III, IV and V. *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 88-99.
- Saxena, V. K.; Jain, A. K., 1986, Properties of 5'-nucleotidase from nodules of pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Phytochemistry*, 25, 2267-2270.
- 71. Ram, S. N.; Roy, R.; Singh, B.; Singh, R. P.; Pandey, V. B., 1996, An Acylflavone Glucoside of *Echinops echinatus* Flowers. *Planta Med.*, 62, 187.
- 72. Turner A.; Chen, S. N.; Joike, M. K.; Pendland, S. L.; Pauli, G. F.; Farnsworth, N. R., 2005, Inhibition of Uropathogenic *Escherichia coli* by Cranberry Juice: A New Antiadherecne Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8940-8947.
- Terreaux C.; Mallard M. P.; Gupta M. P.; Hostettmann K., 1996, Triterpenes and triterpene glycosides from *Praadrymonia macrophylla*. *Phytochemistry*, 42, 495-499.

- Ohtani K.; Miyajima C.; Takahasi T.; Kasai R.; Tanaka O.; Hahn D. R., **1990**, A dimeric triterpene-glycoside from *Rubus coreanus*. *Phytochemistry*, 29, 3275-3280.
- 75. Beate B.; Peter W., 2001, Isolation and Characterization of Novel Benzoates, Cinnamates, Flavonoids and Lignans from Riesling Wine and Screening for Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2788–2798.
- 76. Yusuke S.; Jae-Hak M.; Kanzo S.; Naoharu W., 2005, Effects of Structure on Radical-Scavenging Abilities and Antioxidative Activities of Tea Polyphenols: NMR Analytical Approach Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3598–3604.
- Foo L. Y.; Karchesy J. J., 1989, Polyphenolic Glycosides from Douglas Fir Inner Bark. *Phytochemistry*, 28, 1273-1240.
- Zhang H. L.; Nagatsu A.; Okuyama H.; Mizukami H.; Sakakibara J., 1998, Sesquiterpene Glycosides from Cotton Oil Cake. *Phytochemistry*, 48, 665-668.
- Seto T.;Tanaka T.; Tanaka O.; Naruhashi N., 1984, β-Glucosyl Esters of 19α-Hydroxyursolic Acid Derivaives in Leanes of *Rubus* Species. *Phytochemistry*, 23, 2829-2834.
- Yuasa K.; Ide T.; Otsuka H.; Ogimi C.; Hirata E.; Takushi A., 1997, Lignan and neolignan glycosides from stems of *Alangium* premnifolium. Phytochemistry, 45, 661-1997.
- Fuchino H,; Satoh T.; Tanaka N., 1995, Chemical evaluation of *Betula* species in japan. I. constituents of *Betula ermanni*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 43, 1973-1942.

- Ohashi K.; Watanabe H.; Okumura Y.; Uji T., 1994, Indonesian medicinal plants. VII. four isomeric lignan-glucosides from the bark of *Aegle marmelos* (Rutaceae). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 42, 1924-1926.
- 83. Kim H. J.; Woo E. R..; Park H., **1994**, A novei lignan and flavonoids from *Polygonum aviculare*. *Journal of Natural Produts*, 57, 581-586.
- 84. He Y. H.; Dou D. Q.; Terashima K.; Takaya Y.; Niwa M., **2004**, Two lignan glycosides from *Vitis thunbergii*. *Heterocycles*, 63, 871-878.
- Yuasa K.; Ide T.; Otsuka H.; Ogimi C.; Hirata E.; Takushi A., 1997, Lignan and neolignan glycosides from stems of *Alangium* premnifolium. Phytochemistry, 45, 661-1997.
- Kouno I.; Yanagida Y.; Shimono S.; Shintomi M.; Ito Y.; Yang C. S., 1993, Neolignans and a phenylpropanoid glucoside from *Illicium difengpi*. *Phytochemistry*, 32, 1573-1577.
- Fukuyama Y.; Nakahara M.; Minami, H.; Kodama M., 1996, Two new benzofuran-type lignans from the wood of *Viburnum awabuki*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 44, 1418-1420.
- Yuan Y.; Chen C.; Yang B. Kusu F.; Kotan I., 2009, DPPH radical scavenging activities of 31 flavonoids and phenolic acids and 10 extracts of Chinese materia medica. *China Journal of Modem Medicine*, 34, 1695-1700.
- Wang H.; Kuo Z.; Liang J.; Lin M. L.; Li W.; Zheng T. Z., 2008, Empirical study of naringen in inhibition body weight of high fat diet obese rats. *China Journal of Modem Medicine*, 18, 2131-2136.
- 90. 范如英,馬力,1999,鬼臼酰哌腙氮自由基對人胃癌細胞 SGC-7901細胞週期的作用,蘇州醫學院報,25,1-3。
- 91. 徐任生, 2004, 天然產物化學(二), 科學出版社, 645-647。