

**NMR メタボローム法の確立と応用：**  
**芍薬と骨碎補の品質標準化を目指した成分分析**

**2023 年度**

**Institute of Natural Medicine**

**University of Toyama**

**董昱卓**

## 目次

略語表.....	1
序論.....	2
本論.....	5
第 1 章 NMR メタボローム法の確立：芍薬の成分プロファイリングと多変量解析 .....	5
1.1 材料と方法.....	7
1.2 結果と考察.....	15
1.2.1 芍薬の成分プロファイリング .....	15
1.2.2 qHNMR と HPLC 法を用いた芍薬の主要成分の定量 .....	18
1.2.3 芍薬の加工・調製法と sucrose 含量の関係 .....	24
1.2.4 多変量解析及びデータマトリックスの作成方法の検討.....	27
1.3 小括 .....	39
第 2 章 NMR メタボローム法の応用：骨碎補の成分プロファイリングと多変量解析 ..	41
2.1 材料と方法.....	43
2.2 結果と考察.....	50
2.2.1 骨碎補の主要成分の単離・精製.....	50
2.2.2 骨碎補の成分プロファイリング.....	59
2.2.3 qHNMR と HPLC 法を用いた骨碎補の主要成分の定量.....	62
2.2.4 多変量解析.....	69
2.3 小括.....	74
総括.....	76
実験の部.....	78
参考文献.....	80
付録.....	89
雑誌論文のリスト.....	160
謝辞.....	161

## 略語表

本論文では、以下の略語を使用した。

DMSO- $d_6$  : deuterated dimethyl sulfoxide

CD<sub>3</sub>OD : deuterated methanol

DSS- $d_6$  : sodium 3-(trimethylsilyl)-1-propane-1,1,2,2,3,3- $d_6$ -sulfonate

MeOH : methanol

EtOH : ethanol

EtOAc : ethyl acetate

CH<sub>3</sub>CN : acetonitrile

<sup>1</sup>H NMR : proton nuclear magnetic resonance

<sup>13</sup>C NMR : carbon-13 nuclear magnetic resonance

qHNMR : quantitative <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance

δ : NMR chemical shift (ppm)

*J* : coupling constant

s : singlet

d : doublet

dd : double doublet

ddd : double double doublet

dt : double triplet

t : triplet

m : multiplet

br s : broad singlet

HMBC : heteronuclear multiple bond coherence

HPLC : high performance liquid chromatography

MPLC : medium pressure liquid chromatography

ODS : octadecylsilyl

LC-MS : liquid chromatography-mass spectrometry

HRFABMS : high resolution fast atom bombardment mass spectrometry

IT-TOF : ion trap time-of-flight

Fr. : fraction

## 序論

生薬は中国や日本などの東アジアの国々で古くから使用されてきた薬物であり、その歴史は数千年を超える[1]。生薬の種類は多岐にわたり、現在まで、中国薬典 2020 版[2]には 616 種類の生薬が収録され、第十八改正日本薬局方[3]には 157 種類の生薬が収録されている。日本薬局方によると、生薬は「動植物の薬用とする部分、細胞内容物、分泌物、抽出物又は鉱物などである」と定義されており[3]、そのもとになる原料は自然界から得られる天然物である。従って、生薬の品質を一定に保つことは化学合成薬と比べて非常に困難である。生薬の品質に影響を及ぼす主要な要因として、以下があげられる。

### 1) 同名異物や基原混乱[4]

伝統医学には様々な学派・流派が存在し、異なった基原植物であっても同じ生薬名で用いられている場合がある。その使用習慣の違いは現在も続いており、現代の同名異物という問題を引き起こしている。そのため、流通している生薬の中には基原が混乱しているものがある。一方、同名異物は生薬を分類する方法、すなわち同じ効果をもつ生薬を同じ名称で使用方法とみなすこともできる。従って、同名異物にあたる基原植物の効能の同等性を評価することが必要である。

### 2) 産地、栽培法、成長環境の多様性[5]

現在、生薬の原料は栽培品と野生品の両方が用いられている。それらの産地は多様であるため、生薬の品質は、その産地の地理的要因、土壌的要因、及び気象的要因などの生育環境の違いにより大きく異なる。原料生薬の栽培方法も経験と地域の気候によって異なるため、この違いも生薬の品質に大きく影響する。さらに、個体差間の有効成分の含量の違いも生薬の品質に影響を与えることが考えられる。

### 3) 収穫後の加工・調製法の多様性

原料生薬の多くは、収穫後直接使用せず、洗浄、乾燥、及び修治などの処理が施される。修治とは、毒性・副作用の緩和と必要な作用の増強・改変を目的として、様々な方法により動植物、鉱物などの原料を処理することである[6]。修治の方法には加熱（炒、炙、煨、蒸煮）によるものが多く[7]、各生薬の成分にも影響を与えることが考えられる。

上述の種々の要因は原料生薬の品質に対して影響を与えると考えられることから、生薬品質評価には、生薬の性状鑑定（外観や色、臭い、味などの特徴から品質を評価）と指標成分の定量を組み合わせた方法が伝統的に用いられてきた[2, 3]。しかし、従来の評価方法は、性状鑑定の標準が明確ではなく、経験に依存しており、かつ、多くの場合は、単一成分を定量するのみである。生薬は多成分系薬物であるため、その品質を 1 つの方法で完全に評価することはできない。そのため、現代にあった生薬の品質評価法の開発

と改良が重要な課題となっている。

近年、分析方法の発展とともに様々な機器分析データ（HPLC、LC-MS 及び  $^1\text{H}$  NMR 法）と多変量解析を組み合わせた生薬のメタボローム解析が盛んに行われるようになってきている。この方法は、抽出エキスの生薬成分を網羅的に解析することが可能であり、グループ間の化学成分の差異などの情報を基に品質評価の基礎となるデータを得ることができる[8]。しかし、これまでの HPLC 法や LC-MS 法は測定対象の化合物を限定したターゲット分析法である。そのため、それらの分析データと多変量解析を組み合わせたメタボローム解析によって複数の要因による生薬成分の変動を網羅的に捉えることは困難なことがある。さらに、この方法は、分析に要する時間が長い、有機溶媒の使用量が多い等の欠点がある。一方、新手法である  $^1\text{H}$  NMR 法はノンターゲット分析法であり、従来法の HPLC や LC-MS 法と比較して、有機溶媒の使用量が少ない、分析時間が大幅に短縮される、及び水素をもつ化合物を網羅的に検出できるなどの利点を持っている。さらに、ケミカルシフト値、スピン結合定数、ピーク形状などに基づいて成分の化学構造に関する情報を得ることができる。[9]

しかし、これまでの報告では、NMR メタボローム法における差異を視覚化することを担う多変量解析においては、NMR 測定法とデータの前処理法に関して不明な点も存在している。通常、多変量解析の手順は、各サンプルのスペクトルをバケット積分すること、データマトリックスの作成、データの前処理、そして多変量解析という流れが一般的である[10]。そのうち、データマトリックスのもととなる NMR スペクトルの測定にあたっては、通常の  $^1\text{H}$  NMR を用いた方法[11–13]、定量  $^1\text{H}$  NMR (qHNMR) スペクトルデータを用いた方法[14–16]の 2 つが報告されている。qHNMR は、構造解析を目的とした  $^1\text{H}$  NMR よりもシグナルが定量的に検出できるように検出の正確度を向上させた方法である。また、データの規格化に関する既存の計算方法として、積分値の総和を一定値に換算する方法と[11, 15, 17]、内標準物質のシグナルの積分値をもとに各シグナルのバケット積分値を変換する方法[14, 16, 18]が報告されている。上記の様々な条件による処理で得られたデータマトリックスは多変量解析の結果に影響を与えることが推測される。しかし、これらの方法のうち、どの方法が多変量解析により適しているかについての詳細な検討はなされていない。とくに生薬のメタボローム解析において、NMR データの前処理法が多変量解析の結果に及ぼす影響を検討した例は皆無である。従って、NMR によるメタボローム法は十分には確立されていないとすることができる。

以上の背景を踏まえ、本研究では、NMR メタボローム法の確立と応用を目的として、当研究室において遺伝子で基原同定した芍薬と骨砕補の NMR メタボローム解析を行った。本研究は生薬の適正使用を最終目的とした。

第一章では、NMR メタボローム法の確立を目的として、当研究室において遺伝子で基

原を同定し、従来法である HPLC と LC-MS を用いて成分組成が明らかにされた芍薬[19–21]をモデル生薬として、成分プロファイリングと多変量解析を行った。二次代謝産物だけではなく、従来法では定量が困難であった一次代謝産物についても  $^1\text{H}$  NMR 法を用いて解析し、その結果と従来法の HPLC 法による結果を比較して  $^1\text{H}$  NMR 法の有用性を検証した。さらに、異なる NMR 測定方法 ( $^1\text{H}$  NMR と qHNMR) 及び異なるデータの前処理法を用いてモデルをそれぞれに作成し、その多変量解析結果を比較することで、芍薬の NMR メタボローム法を確立した。[22]

第二章では、前章で確立した NMR メタボローム法の応用を目的として、将来的に使用の拡大が見込まれる骨碎補の成分プロファイリングと多変量解析を行った。第一章において確立した手法を用いて基原、産地及び加工・調製法が異なる骨碎補を解析し、従来の HPLC 法と組み合わせて主要成分と微量成分を網羅的に分析した。[23]

以下にその詳細を記す。

# 本論

## 第 1 章 NMR メタボローム法の確立:芍薬の成分プロファイリングと多変量解析

日本において、芍薬は鎮痙・鎮痛薬として最も重要な生薬の一つであり[24]、一般用漢方処方約 3 分の 1 の処方に配合されている[25]。『第十八改正日本薬局方』において、芍薬はボタン科 (*Paeoniaceae*) のシャクヤク (*Paeonia lactiflora* Pallas) の根を乾燥したものであり、指標化合物である paeoniflorin を 2.0%以上含むと規定されている[3]。日本における芍薬の年間使用量は約 1712 t (令和 2 年度) であるが、日本産芍薬の使用量はそのうちのわずか 40 t であり、残りは中国産芍薬である[26]。すなわち、日本において消費されている芍薬の大部分は中国からの輸入に頼っていることになる。現在の中国では、白芍は鎮痙・鎮痛薬として使用され、柔肝止痛、平肝斂陰などの効果があり、赤芍は活血涼血、祛瘀止痛の薬効を持っている[27]。『中華人民共和国薬典 2020 年版』においては、白芍は *P. lactiflora* を基原とし、湯通しした後に皮を除去し、または皮去り後に湯通ししたものとされており、赤芍は *P. lactiflora* あるいは *P. veitchii* の乾燥した根であると規定されている[2]。白芍は主に安徽省と浙江省などで栽培されている。*P. lactiflora* を基原とする赤芍は内蒙古自治区及び東北地方、*P. veitchii* を基原とする赤芍は四川省及び西北地方における野生品である。一方、日本では特に白芍と赤芍を区別していない[28]。現在、日本の市場においては、日本産芍薬と中国産芍薬が流通している。この日本市場品芍薬は、中国産であっても、日本の基準に従って加工されるため、前述の中国産の白芍や赤芍とは区別される。従って、日本で流通している市場品の芍薬 (日本産芍薬と中国産芍薬) は、中国市場で流通している白芍や赤芍と区別する必要がある。日本市場品の芍薬は、加工・調製法によってさらに真芍、生干芍薬、皮付き芍薬の 3 種類に分けられる。真芍は皮去り後に湯通ししたものである (加工・調製法が白芍と同じ)。生干芍薬とは皮去り後に生干したものである。皮付き芍薬の加工・調製法は皮付きのまま生干したものであり、市場では赤芍という生薬名で表示されていることもある。日本産芍薬は主に大和地方 (奈良県、和歌山県)、長野県、北海道などで栽培されている。大和地方の気候風土が芍薬の栽培、加工に適しており、市場では「大和芍薬」と呼ばれ、品質的に高く評価されている[28]。芍薬の各種類の市場品を Table 1-1 にまとめた。

以上のことから、芍薬は基原植物、産地、栽培と野生の別及び収穫後の加工・調製法が多様で非常に複雑であることがわかる。従って、芍薬の薬効に重要な役割を担っている有効成分を客観的に評価することが必要である。芍薬には主要成分である pinane 構造をもつ monoterpenes に加えて、ほかの terpenoids や flavonoids、phenols が含まれてお

り、これらの成分は抗炎症、抗糖尿病、抗酸化、抗アレルギー、抗凝固、鎮静及び鎮痛などの作用をもつことが報告されている[29–35]。当研究室は、同じ *P. lactiflora* を基原とする白芍と赤芍が、遺伝子配列が異なるだけでなく、化学成分組成にも違いがあること、及び *P. veitchii* 由来の赤芍とも違うことを明らかにしてきた[19]。さらに、15通りの加工・調製を行った *P. lactiflora* の根について主要な 8 成分を定量し、品質への影響を明らかにしてきた[20]。加えて、LCMS を用いた市場品及び *P. lactiflora* の栽培品、野生品種の解析を行い、日本産芍薬、中国産の白芍と赤芍、*P. lactiflora* の野生品と栽培品の違いなども明らかにしてきた[21]。本章では、当研究室において遺伝子解析で基原を同定した市場品芍薬群の一次代謝産物と二次代謝産物を <sup>1</sup>H NMR メタボローム法を用いて解析した。その際には、得られた解析結果を従来法の結果と比較し、手法の妥当性を検証し、方法の最適化を図った[22]。

**Table 1-1** Peony root used in China and Japan

Chinese market products			Handling process			Japanese market products		
Producing area	Botanical origin	Type	Peeling	Boiling	Drying	Type	Botanical origin	Producing area
China	<i>P. lactiflora</i>	White peony root (WPR, 白芍)	○	○	○	Shinshaku (真芍)	<i>P. lactiflora</i>	Japan or China
		-	○		○	Kiboshi-shakuyaku (生干し芍薬)		
		Red prony root (RPR, 赤芍)			○	Kawatsuki-shakuyaku (皮付き芍薬)		
	<i>P. veitchii</i>	Red prony root (RPR, 赤芍)			○	-	-	



## 1.1 材料と方法

### 1.1.1 生薬と植物材料

中国で収集した基原植物が *P. lactiflora* である白芍 10 検体、日本市場品 14 検体（生干芍薬：日本産芍薬 9 検体、中国産芍薬 5 検体）、赤芍 7 検体の合計 31 検体、基原植物が *P. veitchii* である赤芍 5 検体を用いた。本研究では、中国市場品の白芍を WPR (White peony root)、赤芍を RPR (Red peony root) とし、日本市場品の芍薬を PR (Peony root) と称呼する。当研究室ではこれらの芍薬の遺伝子タイプを nrDNA ITS シーケンス解析で明確にし、既に同定している (Table 1-2) [19]。

芍薬の加工・調製法の違いによる sucrose の含量の違いを調べるために、各加工・調製法ごとに 3 検体を用意し、合計 12 検体の植物材料を用いた (Table 1-3)。これらは富山県薬用植物指導センターで栽培された *P. lactiflora* を基原とする 4 年生のシャクヤク「梵天」の根であり、2013 年 10 月に収穫された。各検体間のばらつきを最小限に抑えるために、太さの類似したもの（直径 1.5-2.0 cm）を選び、材料とした[20]。

全ての生薬標本は富山大学和漢医薬学総合研究所民族薬物資料館 (TMPW) に保存されている。

### 1.1.2 標準化合物

<sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて、芍薬に含まれる成分を同定するために、18 種類の monoterpene と市販の標準試薬を使用した。化合物 paeoniflorol (1) [34]、4'-hydroxypaeoniflorigenone (2) [34]、4-*epi*-albiflorin (3) [34]、paeonivayin (5) [36]、4-*O*-methyl-paeoniflorin (7) [37]、salicylpaeoniflorin (8) [38]、benzoylpaeoniflorin (9) [39]、mudanpioside C (10) [40]、galloylpaeoniflorin (11) [41]、mudanpioside J (12) [42]、oxypaeoniflorin (13) [43]、benzoyloxypaeoniflorin (14) [40]、paeonidanin E (15) [29]、lactiflorin (16) [44]、及び mudanpioside E (17) [45]は当研究室において赤芍の D12N (TMPW No.27967) と *P. lactiflora* の品種 S78N から単離した。化合物 albiflorin (4) [46]、paeoniflorin (6) [46]、catechin (19) [47]、paeonol (20) [43]、methyl gallate (23) [43]、quercetin (24) [48]、及び D-glucose (27) [49]は和光純薬株式会社から購入し、1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-β-D-glucose (PGG, 18) [50]、benzoic acid (21) [51]、gallic acid (22) [43]、及び sucrose (26) [52]はナカライテスク株式会社から購入した。化合物 sulfonated paeoniflorin (25) [53]は市販の化合物 6 から誘導した。各化合物の構造式を Fig. 1-1 に示す。

**Table 1-2** Crude drug samples in this study

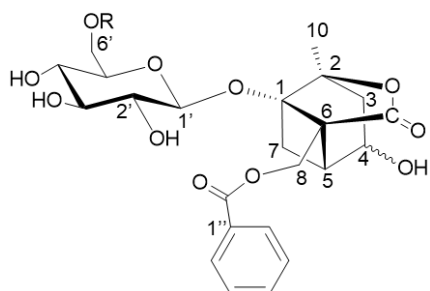
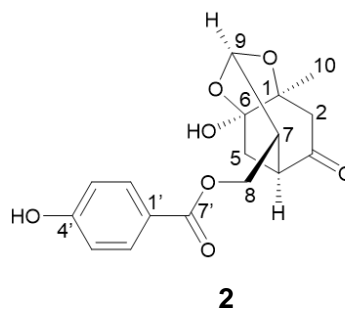
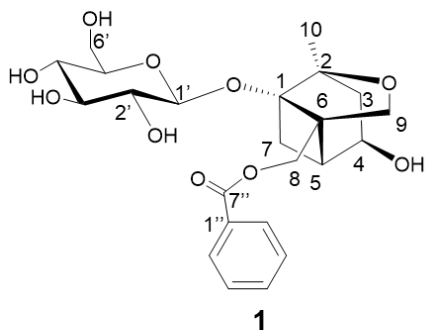
	Original plant	Drug name	Code no.	TMPW no.	Producing area	Obtained from	Identity*	Handling Process	Collection date
WPR produced in China	<i>P. lactiflora</i>	WPR	D1	25071	Bozhou, Anhui, China	Bozhou, Anhui, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2006-05-02
		WPR	D2	25072	Bozhou, Anhui, China	Bozhou, Anhui, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying	2006-05-02
		WPR	D3	25244	Bozhou, Anhui, China	Bozhou, Anhui, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2006-10-17
		WPR	D4	25820	Zhongjiang, Sichuan, China	Ji Huang, Zhongjiang, Sichuan, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying	2002-09-23
		WPR	D17	25073	Bozhou, Anhui, China	Bozhou, Anhui, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2006-05-02
		WPR	D18	25973	Zhejiang, China	Cenxi, Guangxi, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2008-09-06
		WPR	D22	26974	Hangzhou, Zhejiang, China	Hohhot, Inner Mongolia, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2010-10-13
		WPR	D23	26975	Anhui, China	Hohhot, Inner Mongolia, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2010-10-14
		WPR	D24	26976	Jiangsu, China	Hohhot, Inner Mongolia, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying (sulfur fumigation)	2010-10-16
		WPR	D29	26620	Pan'an, Zhejiang, China	Pan'an, Zhejiang, China	WPR-PL	Peeling, boiling & drying	2009-08-05
PR produced in Japan	<i>P. lactiflora</i>	PR	D6	26400	Niigata, Japan	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-10-07
		PR (Yamato shakuyaku)	D7	25818	Nara, Japan	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-02-14
		PR (Yamato shakuyaku)	D8	25819	Hokkaido and Nagano, Japan	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-02-14
		PR (Yamato shakuyaku)	D10	26398	Nara, Japan	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-10-31
		PR (Bonten)	D50	25834	Toyama, Japan	Nara, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-02-15
		PR (Bonten)	D51	25835	Toyama, Japan	Nara, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-02-15
		PR (Bonten)	D52	25836	Toyama, Japan	Nara, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2008-02-15
		PR (Yamato shakuyaku)	D9	26107	Nara, Japan	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	RPR-PL	Peeling & drying	2008-10-31
		PR (Yamato shakuyaku)	D49	27891	Japan	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo, Japan	RPR-PL	Peeling & drying	2012-09-04
PR produced in China	<i>P. lactiflora</i>	PR	D45	27887	Zhejiang, China	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2012-09-04
		PR	D46	27888	Sichuan, China	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2012-09-04
		PR (kawatsuki shakuyaku)	D47	27889	Anhui, China	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	WPR-PL	Drying without peeling	2012-09-04
		PR	D48	27890	Anhui, China	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2012-09-04
		PR	D53	27892	China	Matsuura Co., Ltd., Nagoya, Japan	WPR-PL	Peeling & drying	2012-10-04
RPR produced in China	<i>P. lactiflora</i>	RPR	D12N	27967	Inner Mongolia, China	Chifeng, Inner Mongolia, China	RPR-PL	Drying without peeling	2013-10-30
		RPR	D12	21565	Inner Mongolia, China	Chifeng, Inner Mongolia, China	RPR-PL	Drying without peeling	2002-09-14
		RPR	D13	25047	Inner Mongolia, China	Bozhou, Anhui, China	RPR-PL	Drying without peeling	2006-05-01
		RPR	D14	26401	China	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo, Japan	RPR-PL	Drying without peeling	2008-10-07
		RPR	D15	26406	Inner Mongolia, China	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka, Japan	RPR-PL	Drying without peeling	2008-10-16
		RPR	D54	27893	China	Matsuura Co., Ltd., Nagoya, Japan	RPR-PL	Drying without peeling	2012-10-04
		RPR	D16	25974	Sichuan, China	Cenxi, Guangxi, China	WPR-PL	Drying without peeling (sulfur fumigation)	2008-09-06
	<i>P. veitchii</i>	RPR	D11	17304	Ganzi, Sichuan, China	Ganzi, Sichuan, China	RPR-PV	Drying without peeling	1996-07-11
		RPR	DS-1	16306	Sichuan, China	Hehuachi, Sichuan, China	RPR-PV	Drying without peeling	1995-09-17
		RPR	DS-5	28405	Aba, Sichuan, China	Chengdu, Sichuan, China	RPR-PV	Drying without peeling	2014-09-22
		RPR	DS-6	28396	Lixian, Sichuan, China	Lixian, Sichuan, China	RPR-PV	Drying without peeling	2014-09-22
		RPR	DS-7	28397	Maerkang, Sichuan, China	Lixian, Sichuan, China	RPR-PV	Drying without peeling	2014-09-22

\*: botanical origin of each sample was identified by ITS sequence. WPR-PL indicates WPR-type of *P. lactiflora*, RPR-PL indicates RPR-type of *P. lactiflora*, and RPR-PV represents *P. veitchii*.

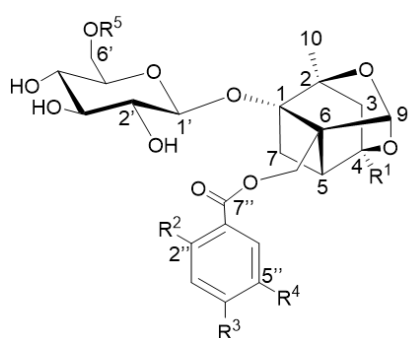
**Table 1-3** Plant samples and post-harvest processing

Plant	Code	Handling Process
<i>P. lactiflora</i> (Bonten*)	A	<ul style="list-style-type: none"><li>· Washing and peeling</li><li>· Indoor drying</li></ul>
	B	<ul style="list-style-type: none"><li>· Washing, boiling, and peeling</li><li>· Indoor drying</li></ul>
	C	<ul style="list-style-type: none"><li>· Keeping the sample at 4°C for 37 days</li><li>· Washing and peeling</li><li>· Indoor drying</li></ul>
	D	<ul style="list-style-type: none"><li>· Keeping the sample at 4°C for 37 days</li><li>· Washing, boiling, and peeling</li><li>· Indoor drying</li></ul>

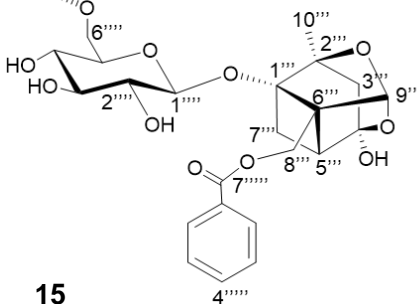
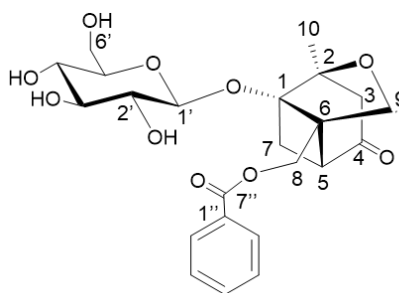
\*: one of the Japanese cultivars with medical use.

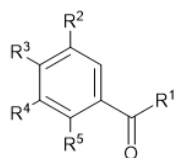
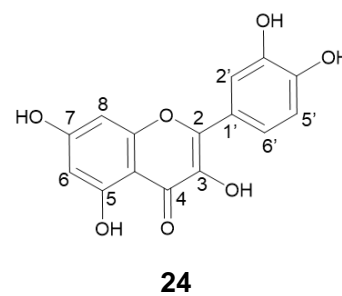
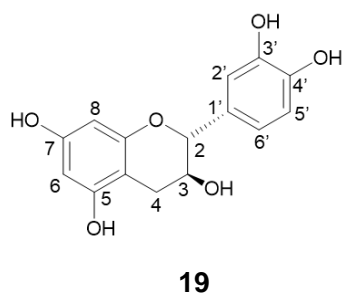
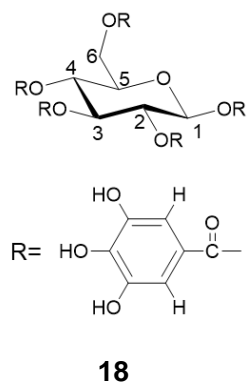


- 3** 4 $\beta$ -OH R=H  
**4** 4 $\alpha$ -OH R=H  
**5** 4 $\alpha$ -OH R=benzoyl

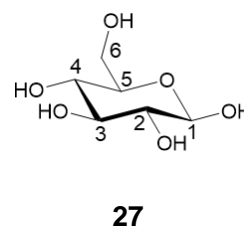
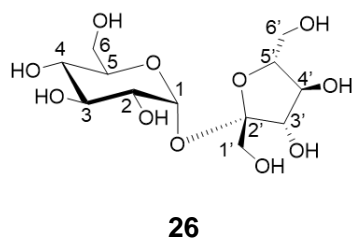


	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
<b>6</b>	OH	H	H	H	H
<b>7</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H
<b>8</b>	OH	OH	H	H	H
<b>9</b>	OH	H	H	H	benzoyl
<b>10</b>	OH	H	H	H	4-hydroxybenzoyl
<b>11</b>	OH	H	H	H	galloyl
<b>12</b>	OH	H	H	H	vanillyl
<b>13</b>	OH	H	OH	H	H
<b>14</b>	OH	H	OH	H	benzoyl
<b>17</b>	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H
<b>25</b>	SO <sub>3</sub> H	H	H	H	H





	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
<b>20</b>	CH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	OH
<b>21</b>	OH	H	H	H	H
<b>22</b>	OH	OH	OH	OH	H
<b>23</b>	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	OH	H



**Fig. 1-1** Structures of reference standard compounds

### 1.1.3 化合物同定に用いた sulfonated paeoniflorin (25) 標準品の調製

文献に報告された方法に従って[54]、2.9 mg の化合物 **6** を秤量し、4 mL の Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 溶液 (10 mg/mL) を加え、48 時間反応させた。その後、反応物を凍結乾燥し、EtOH に懸濁して、沈殿した Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> を沈殿させ、遠心分離にて得た上清を溶媒留去後、乾燥した (Scheme S1-1)。反応混合物をシリカゲルカラム (EtOAc / MeOH 8:2) により分画し (Scheme S1-2)、化合物 **25** (1.9 mg) を得た。<sup>1</sup>H NMR (Table S1-1) と HR-ESI-MS (m/z 543.1186、calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>O<sub>13</sub>S 543.1178 [M-H]<sup>-</sup>、Δ + 0.8 mmu) データを文献値 [53]と比較し、構造を確認した。

### 1.1.4 NMR 測定に用いた芍薬 75% EtOH エキスの調製

生薬を粉碎後、300 μm の篩にかけた粉末生薬 100 mg を秤量し、5 mL の 75% EtOH を加え、超音波で 30 min 抽出する操作を 2 回繰り返した。2 回抽出した液体は、それぞれ 4,000 rpm 10 分の条件で遠心分離を行った。その後、得られた上清を合わせて溶媒留去し、乾燥した。一つの試料につきエキスは 3 回作成した。

### 1.1.5 NMR 測定に用いた試料溶液の調製

内標準物質として DSS-d<sub>6</sub> を使用した。49.70 mg の DSS-d<sub>6</sub> を精密に秤量し、DMSO-d<sub>6</sub> を加え 200 mL にメスアップし (DSS-d<sub>6</sub> 濃度 : 0.25 mg/mL)、内標準液とした。乾燥した各芍薬のエキスに事前調製した内標準液 0.7 mL を加え、超音波処理し、溶解させた後、上清 0.65 mL を取って試料溶液とした。測定条件は「実験の部」に示す。

### 1.1.6 qHNMR による主要成分の定量

化合物 **4** のシグナル δ<sub>H</sub> 1.38 ppm (H-10)、**6** のシグナル δ<sub>H</sub> 5.31 ppm (H-9)、**18** のシグナル δ<sub>H</sub> 6.75 ppm (H-2" and 6")、**25** のシグナル δ<sub>H</sub> 5.41 ppm (H-9)、及び **26** のシグナル δ<sub>H</sub> 5.17 ppm (H-1) を用いて芍薬に含まれるこれら化合物の含量を定量した。これらのシグナルに由来する積分値とプロトン数、内標準物質である DSS-d<sub>6</sub> の 3 つのメチル基のプロトン (δ<sub>H</sub> -0.04 ppm, 9H) に由来するシグナル積分値、分子量、濃度等を式 (1) に代入し、各化合物の含量を計算した :

$$\text{Content (mg/g)} = \frac{I_X}{I_{\text{DSS}}} \times \frac{H_{\text{DSS}}}{H_X} \times \frac{M_X}{M_{\text{DSS}}} \times \frac{C_{\text{DSS}}}{C_{\text{Ex}}} \times \frac{W_{\text{Ex}}}{W_{\text{Sp}}} \times P_{\text{DSS}} \times 1000 \quad (1)$$

I=積分値 H=プロトン数 M=分子量 C=濃度 (mg/mL) X=化合物 DSS= DSS-d<sub>6</sub>

W<sub>Ex</sub>=エキスの重さ (mg) W<sub>Sp</sub>=粉末試料量 (mg) P<sub>DSS</sub>=DSS-d<sub>6</sub>の純度

また、論文に報告された方法を参考に[12]、**6** の分子量を用いて pinane 構造をもつ monoterpene 類の化合物の全含量を計算した。

### 1.1.7 多変量解析

各 NMR データのバケット積分値は市販のソフトウェア (ALICE2 for Metabolome) を用いて取得した。積分範囲は 19.00 から -1.00 ppm まで、バケット積分の積分幅は 0.02 ppm と設定した。DMSO- $d_6$  ( $\delta_H$  2.49 ppm, quint)、DSS- $d_6$  ( $\delta_H$  -0.04 ppm, s)、HOD ( $\delta_H$  3.16 ppm, s)、及び ethanol ( $\delta_H$  1.04 ppm, t,  $J=6.9$  Hz) に由来するシグナルは除外した。また、二次代謝産物に着目して解析するために、**26** のシグナル ( $\delta_H$  5.17 ppm, d,  $J=3.8$  Hz,  $\delta_H$  3.91–3.07 ppm) の除外を検討した。得られたバケット積分は、エクセルにインポートした後、2 通りの方法で規格化を行い、データマトリックスを作成した。その後、統計解析ソフトウェア (SIMCA-P 14.1) を用いて多変量解析を行った。

### 1.1.8 HPLC 条件

分析には島津 HPLC システムを使用した : Shimazu HPLC システム (CBM-20A system controller, LC-20AD binary pump, DGA-20A degasser, SIL-20AC auto-sampler, CTO-20AC column oven, SPD-M20A PDA detector)。カラムは YMC Pack ODS-AQ column (3  $\mu$ m, 2.0 mm  $\times$  150 mm) を用いた。移動相は、H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid (A, v/v)、Acetonitrile (B, 0.1% formic acid, v/v) の混合溶媒とし、グラジエントは以下を用いた : 0–2 min, 7% B; 6 min, 11% B; 15 min, 16% B; 32 min, 17% B; 35 min, 50% B; 36 min, 100% B。カラム温度は 40°C、流速は 1.0 mL/min、注入量は 1 検体あたり 3  $\mu$ L、検出波長の範囲は 190–400 nm とした。

### 1.1.9 HPLC 測定に用いた標準化合物とサンプルの試料溶液の調製

qHNMR 法を用いて標準化合物 **4**、**6**、**18**、**21**、**22** の純度を決定した。各化合物 2–6 mg を精密に秤量し、内標準液 0.8 mL (DSS- $d_6$  / DMSO- $d_6$  0.25 mg/mL) を入れ、超音波処理し、溶解させた後、上清 0.6 mL を取って qHNMR を測定した。下記の式 (2) を用い、各化合物の純度を計算した :

$$P (\%) = \frac{I_R}{I_{DSS}} \times \frac{H_{DSS}}{H_R} \times \frac{M_R}{M_{DSS}} \times \frac{C_{DSS}}{C_R} \times P_{DSS} \times 100 \quad (2)$$

I=積分値 H=プロトン数 M=分子量 C=濃度 (mg/mL)

R=標準化合物 DSS= DSS- $d_6$  P<sub>DSS</sub>=DSS- $d_6$ の純度

上記により純度を算出した標準化合物 1 mg を精密に秤量し、1 mL の 75% EtOH を入れ、溶解させた。その後、各種濃度の希釈溶液を作成し、その濃度とピーク曲線下面積を用いて検量線を求めた。

NMR 測定に用いた各エキスの試料溶液を回収し、凍結乾燥した。そのエキスを 75% EtOH を加え 10 mL にメスアップした。その後、0.2  $\mu$ m のフィルターを用いてろ過し、

HPLC 測定に用いた試料溶液とした。

#### **1.1.10 HPLC メソッドのバリデーション**

6 つの異なる濃度の試料溶液を用いて検量線を作成し、その直線性を評価した。検出限界 (LOD) と定量限界 (LOQ) はそれぞれに SN 比 3:1 と 10:1 となる濃度として決定した。メソッドの妥当性は、白芍 D18 と標準化合物の試料溶液を 1 日 3 回、3 日間連続して分析することで評価した。添加回収試験については、白芍 D18 の粉末試料に各濃度既知の各成分を添加し、HPLC にて分析することで行った。



## 1.2 結果と考察

### 1.2.1 芍薬の成分プロファイリング

各検体の 75% EtOH エキスの  $^1\text{H}$  NMR スペクトル (付録 : Figs. S3-1–S3-36) と標準化合物のスペクトルデータとの比較を行った。各エキスにおいて検出されたそれぞれの化合物及びそれらのケミカルシフト値を Table S1-2、各種類の芍薬の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを Fig. 1-2 に示す。

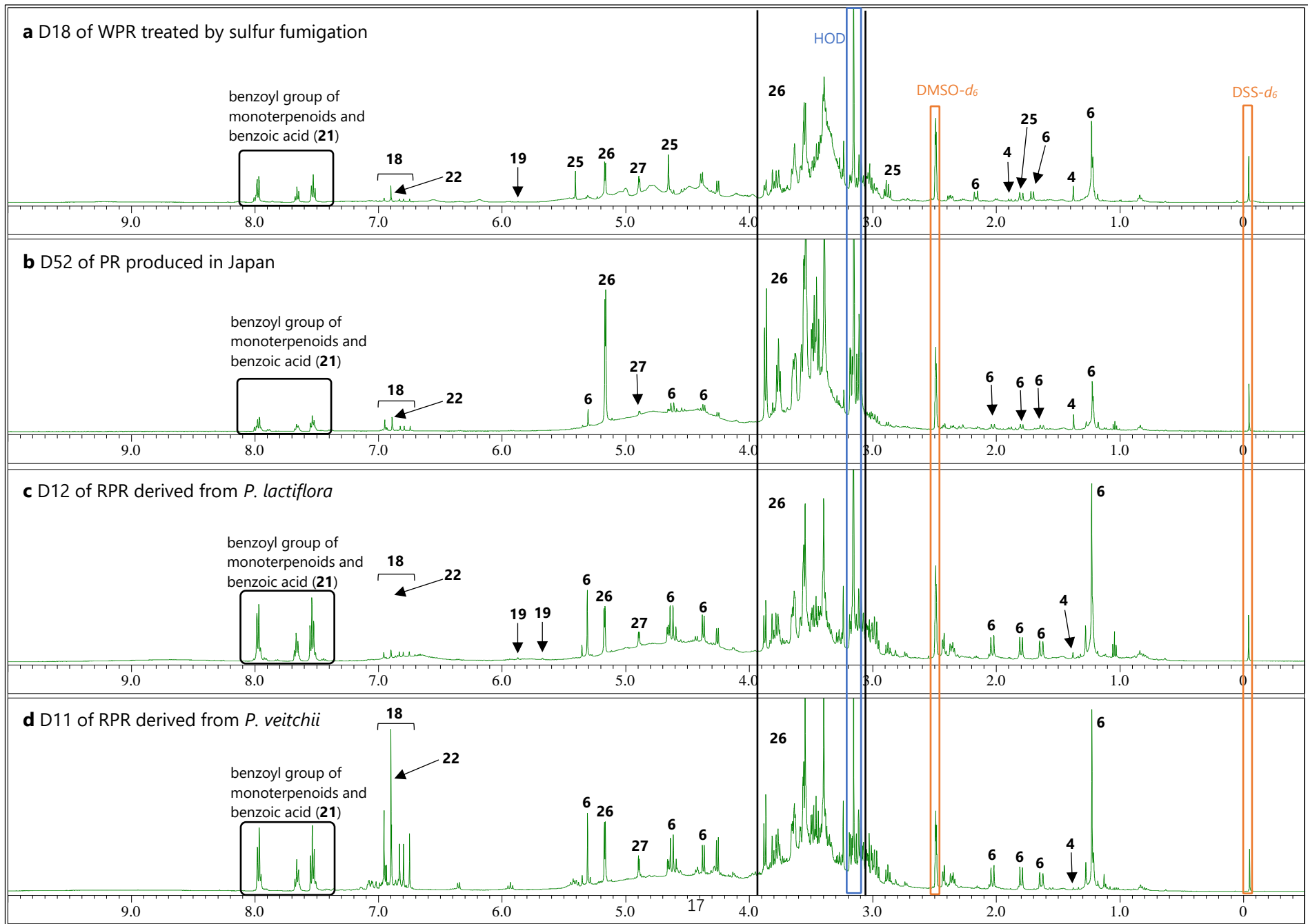
以下に芍薬エキス中で検出できた化合物についてまとめる。Monoterpene 類の化合物では、**4**、**6**、**9**、**11**、**13** に由来するシグナルが検出できた。文献によると、指標化合物である paeoniflorin (**6**) の含量はほかの monoterpene の数十倍である[19, 21]。Monoterpene 類は共通する pinane 骨格構造を持っており (Fig. 1-1)、この共通部分構造に由来するシグナル ( $\delta_{\text{H}}$  5.5–5.0 ppm, 2.5–1.1 ppm) が重なって観測されることから (Fig. 1-2, Table S1-2)、pinane 骨格構造由来のシグナルを化合物の同定に用いることは難しい。ほかの主要成分については、化合物 **18**、**19**、**21**、**22**、**26**、及び **27** が検出された。赤芍の特徴的な成分である化合物 **20** [19]のシグナルは今回の実験では全てのサンプルにおいて観測されなかった。化合物 **20** は揮発性が高いことから、エキスを凍結乾燥機で乾燥している間に揮発した可能性があるかと推測した。

硫黄燻蒸という加工・調製法は色の褐変を防止すると同時に、害虫や、微生物の発生を抑え、抗酸化などの効果がある[55]。しかし、その方法は生薬の保存には役立つが、安全性に問題がある点や薬物動態の変化を引き起こすことが報告されている[56, 57]。Hayes らは硫黄燻蒸した芍薬から **25** を単離している[58]。市販の **6** から誘導した **25** の  $^1\text{H}$  NMR を測定し、H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  2.16 ppm)、H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  2.89 ppm)、H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  1.71 ppm)、H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  5.41 ppm) のシグナルを指標に各エキスを比較した。その結果、硫黄燻蒸した白芍 (D2、D4、D29 を除くサンプル) と赤芍 D16 からこの化合物を検出することができた (Fig. 1-2, Table S1-2)。この結果から、 $^1\text{H}$  NMR を用いた成分プロファイリング法は、硫黄燻蒸された白芍を簡便に識別する方法として有用であると考えられた。

また **13** は、*P. veitchii* を基原とする赤芍のスペクトルには検出されなかった。当研究室では、これまでに HPLC 法を用いることで *P. veitchii* を基原とする市場品においては **13** の含量が低いことを明らかにしており、今回の結果はこれと矛盾しない。一方で、*P. lactiflora* を基原とする白芍では **13** が検出されなかった。これは、硫黄燻蒸により **13** が sulfonated oxypaeoniflorin に変化し、その含量が低下すること[59]が原因であると推測される。当研究室では、これまでに、*P. lactiflora* を基原とする芍薬は **13** の含量が高いことを特徴の一つとして有することを報告しており[21]、今回の結果は先行研究の結果と矛盾しない。Ueno らは、**13** と **19** をマーカー成分として日本産芍薬から検出したことを報

告した[60]。一方、当研究室は中国産と日本産芍薬に含まれる **13** の含量には明らかな差異が観察されなかったことを報告している[21]。今回の実験では、奈良県産大和芍薬の D7、富山県産梵天の D50、D51、D52 には **19** が検出されず、中国産の D53 にも **19** が検出されなかった。これらの結果は、当研究室が報告した結果と一致したが、Uenoらの結論とは一致しなかった[60]。これらの異なる結果は、栽培品種、栽培条件、個体差による変動による影響と考えられた。

以上のことから、<sup>1</sup>H NMR 法を用いた芍薬の成分プロファイリングの有用性を示すことができた。



**Fig. 1-2** Representative  $^1\text{H}$  NMR spectra of peony root samples. **a:** D18 of WPR treated by sulfur fumigation; **b:** D52 of PR produced in Japan; **c:** D12 of RPR derived from *P. lactiflora*; and **d:** D11 of RPR derived from *P. veitchii*.

### 1.2.2 qHNMR と HPLC 法を用いた芍薬の主要成分の定量

qHNMR 法を用いて pinane 構造をもっている monoterpene 類の総含量と **4**、**6**、**18**、**25**、及び **26** を定量した。

Monoterpene 類の化合物の benzoyl 基に由来する 3 つのシグナルは  $^1\text{H}$  NMR スペクトルの低磁場側に検出され、これらのシグナルも化合物 **21** のシグナルと重なっていた (Fig. 1-2)。Camila らは、主要な化合物の分子量を用いて類似構造の化合物の総含量を定量する方法を報告している[12]。本研究では、その方法を応用し、**6** の分子量を用いて pinane 構造をもつ monoterpene 類の総含量を定量した。定量の結果を Table 1-4 と Fig. 1-3a に示す。 $\delta_{\text{H}}$  7.76–7.59 ppm に由来するシグナルの定量値は  $\delta_{\text{H}}$  8.10–7.76 ppm と  $\delta_{\text{H}}$  7.59–7.40 ppm に由来するシグナルを用いて定量した結果よりも低かった。各 monoterpene 類の化合物の benzoyl 基に由来するシグナルのケミカルシフト値を Table 1-5 に示す。 $\delta_{\text{H}}$  7.76–7.59 ppm の範囲では、**2**、**8**、**13**、及び **17** に由来するシグナルが観察されず、 $\delta_{\text{H}}$  8.10–7.76 ppm においては **17** に由来するシグナルが観察されなかった。 $\delta_{\text{H}}$  7.76–7.59 ppm の範囲には **2** と **13** に由来するシグナルも観察されなかった。以上を踏まえ、 $\delta_{\text{H}}$  8.10–7.76 ppm または  $\delta_{\text{H}}$  7.59–7.40 ppm に由来するシグナルは monoterpene 類の化合物の総含量の定量に適していると考えられた。

化合物 **4** のメチル基 ( $\text{H}_3$ -10) に由来するシグナル  $\delta_{\text{H}}$  1.38 ppm (s)、**6** の H-9 に由来するシグナル  $\delta_{\text{H}}$  5.31 ppm (s)、及び **25** の H-9 に由来するシグナル  $\delta_{\text{H}}$  5.40 ppm (s) を用いてこれらの化合物を定量した。定量の結果と monoterpene 類の総含量をそれぞれ Table 1-4 と Fig. 1-3a に示す。*P. lactiflora* を基原とする赤芍に含まれる化合物 **6** の含量は高い値を示し、白芍と芍薬に含まれる **4** の含量は高い値を示した。Pinane 構造をもつ monoterpene 類の化合物の中で、**6** は主成分として総含量の約 50% を占めたが、硫黄燻蒸したサンプルでは、**6** から転化した **25** が高い含量を示した。中国産芍薬の D47 (皮付き芍薬) に含まれる **4** は最高値を示した。その原因として、芍薬の根の表皮に **4** が多く含まれていることが考えられた[61, 62]。*P. veitchii* を基原とする赤芍は、**6** と monoterpene 類の総含量が高かった。そのうち、D11 には含まれる monoterpene 類の総含量が最高値を示した。その原因として、D11 には化合物 **6** だけでなく、化合物 **8** と **11** も含まれていることが推測された[21]。一方、*P. veitchii* を基原とする赤芍は *P. lactiflora* を基原とする赤芍とは成長環境が異なるため、*P. veitchii* を基原とする赤芍にはより高い **18** が含まれる (Table 1-4 と Fig. 1-3b) と推測された。

**Table 1-4** Extracts yield and contents of main components in different types of peony root samples

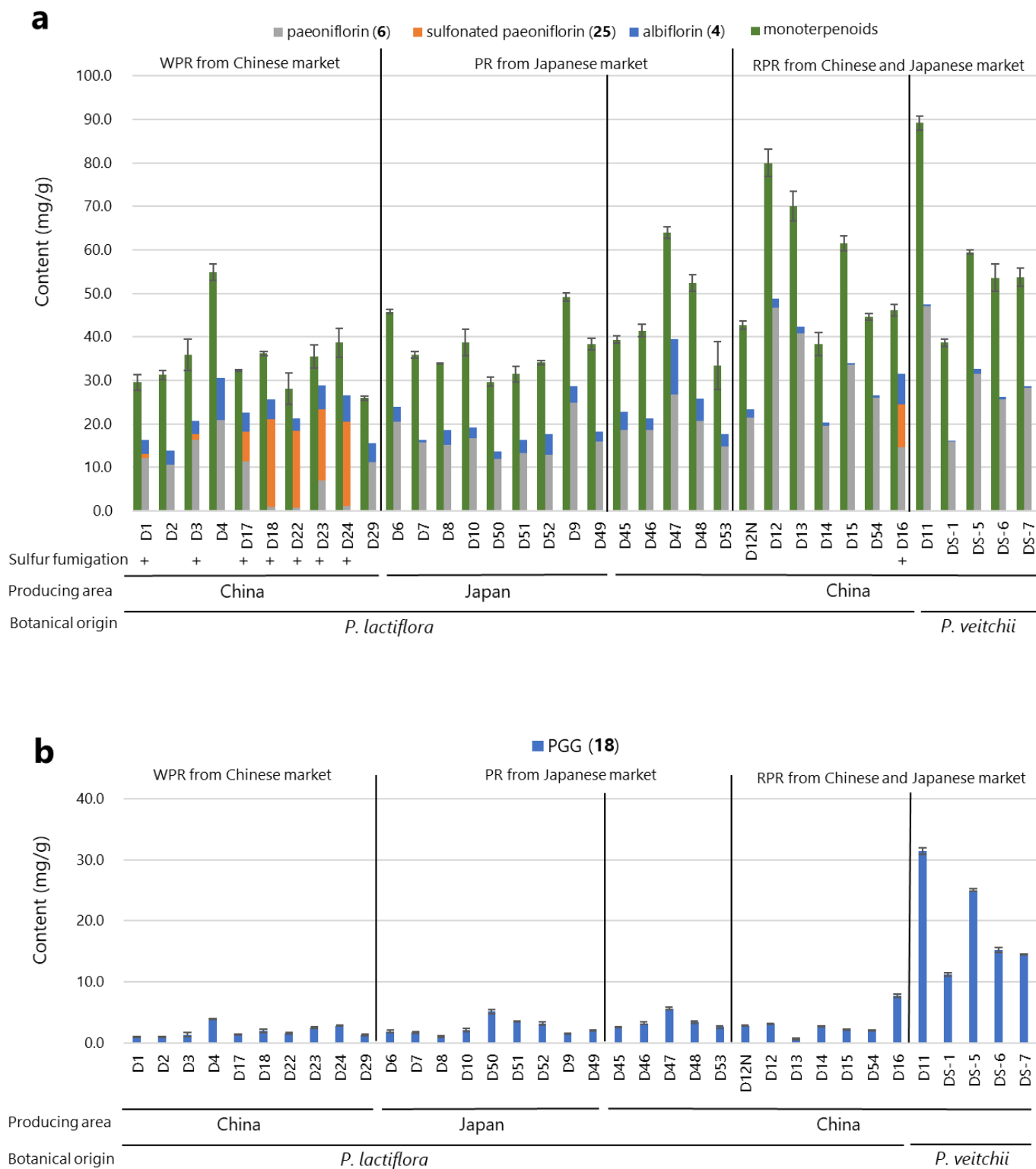
	Code no.	Botanical origin	75% Ethanol extract yield (mg/g)	sucrose (26)		albiflorin (4)		paeoniflorin (6)		sulfonated paeoniflorin (25)
				qHNMR (mg/g)		qHNMR (mg/g)	HPLC (mg/g)	qHNMR (mg/g)	HPLC (mg/g)	qHNMR (mg/g)
WPR produced in China	D1	<i>P. lactiflora</i>	121 ± 3	24.55 ± 0.30	3.20 ± 0.21	3.51 ± 0.10	12.08 ± 0.23	16.62 ± 0.40	0.99 ± 0.02	
	D2		155 ± 5	5.11 ± 0.06	3.17 ± 0.08	3.21 ± 0.17	10.67 ± 0.12	11.18 ± 0.65	-	
	D3		204 ± 7	84.47 ± 5.28	3.03 ± 0.18	3.22 ± 0.29	16.37 ± 1.01	20.52 ± 2.34	1.31 ± 0.05	
	D4		465 ± 35	244.64 ± 7.00	9.73 ± 0.51	9.89 ± 0.41	20.82 ± 0.94	26.30 ± 1.33	-	
	D17		232 ± 12	73.51 ± 1.31	4.33 ± 0.11	5.50 ± 0.10	11.46 ± 0.37	15.66 ± 0.19	6.74 ± 0.18	
	D18		229 ± 7	31.52 ± 2.72	4.40 ± 0.54	4.81 ± 0.12	1.02 ± 0.05	0.90 ± 0.23	20.15 ± 2.54	
	D22		164 ± 14	4.05 ± 0.18	2.80 ± 0.09	2.97 ± 0.18	0.71 ± 0.08	0.60 ± 0.04	17.74 ± 0.10	
	D23		163 ± 3	39.45 ± 2.12	5.45 ± 0.34	5.76 ± 0.11	7.05 ± 0.39	6.92 ± 0.07	16.36 ± 1.20	
	D24		183 ± 4	19.29 ± 1.63	6.01 ± 0.03	5.95 ± 0.06	1.13 ± 0.09	0.83 ± 0.01	19.45 ± 0.02	
D29		111 ± 2	17.38 ± 0.55	4.49 ± 0.20	4.89 ± 0.14	11.16 ± 0.41	13.01 ± 0.32	-		
PR produced in Japan	D6	<i>P. lactiflora</i>	377 ± 12	178.94 ± 2.11	3.43 ± 0.05	3.57 ± 0.06	20.51 ± 0.23	23.68 ± 0.45	-	
	D7		324 ± 5	132.78 ± 1.22	0.54 ± 0.01	0.22 ± 0.01	15.82 ± 0.23	18.84 ± 0.28	-	
	D8		284 ± 7	114.90 ± 2.44	3.42 ± 0.08	3.46 ± 0.01	15.28 ± 0.44	18.54 ± 0.19	-	
	D10		325 ± 3	155.28 ± 0.15	2.38 ± 0.02	2.38 ± 0.17	16.79 ± 1.14	21.53 ± 1.63	-	
	D50		412 ± 12	216.91 ± 1.38	1.59 ± 0.02	1.56 ± 0.03	12.05 ± 0.13	15.59 ± 0.07	-	
	D51		425 ± 15	211.93 ± 4.15	3.06 ± 0.04	3.38 ± 0.20	13.22 ± 0.95	14.89 ± 0.75	-	
	D52		374 ± 20	179.54 ± 6.59	4.81 ± 0.06	5.00 ± 0.01	12.84 ± 0.21	15.12 ± 0.40	-	
	D9		394 ± 7	143.85 ± 14.31	3.82 ± 0.02	4.56 ± 0.05	24.79 ± 0.22	28.71 ± 0.43	-	
	D49		415 ± 9	215.32 ± 8.80	2.27 ± 0.03	2.28 ± 0.04	16.05 ± 0.53	20.18 ± 0.19	-	
PR produced in China	D45	<i>P. lactiflora</i>	208 ± 3	71.54 ± 0.73	4.12 ± 0.04	3.80 ± 0.10	18.64 ± 0.33	20.28 ± 0.52	-	
	D46		395 ± 2	202.90 ± 5.19	2.65 ± 0.10	2.56 ± 0.08	18.55 ± 0.43	23.75 ± 0.64	-	
	D47		467 ± 3	130.93 ± 3.05	12.81 ± 0.15	13.31 ± 0.04	26.75 ± 0.32	30.47 ± 0.12	-	
	D48		422 ± 8	223.48 ± 9.03	5.18 ± 0.07	5.33 ± 0.13	20.64 ± 0.14	26.43 ± 0.89	-	
	D53		397 ± 14	141.48 ± 5.85	2.83 ± 0.41	3.18 ± 0.13	14.80 ± 2.52	19.66 ± 1.11	-	
RPR produced in China	D12N	<i>P. lactiflora</i>	407 ± 13	172.17 ± 2.62	1.98 ± 0.11	1.96 ± 0.21	21.47 ± 0.32	25.21 ± 0.61	-	
	D12		340 ± 3	54.73 ± 0.41	2.03 ± 0.04	2.71 ± 0.06	46.76 ± 0.67	54.96 ± 0.98	-	
	D13		324 ± 13	22.87 ± 0.61	1.53 ± 0.05	1.70 ± 0.04	40.89 ± 1.51	52.26 ± 0.97	-	
	D14		399 ± 23	144.92 ± 23.70	0.80 ± 0.03	0.86 ± 0.61	19.59 ± 3.44	31.42 ± 3.91	-	
	D15		345 ± 6	99.07 ± 2.73	0.45 ± 0.01	0.61 ± 0.02	33.58 ± 0.57	43.91 ± 0.39	-	
	D54		380 ± 11	130.93 ± 4.08	0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.03	26.09 ± 0.67	31.10 ± 0.52	-	
	D16		465 ± 11	127.74 ± 2.84	7.02 ± 0.10	7.22 ± 0.17	14.69 ± 0.51	16.17 ± 0.36	9.88 ± 0.44	
	D11	<i>P. veitchii</i>	454 ± 8	72.64 ± 0.43	0.44 ± 0.02	0.66 ± 0.03	47.12 ± 0.74	57.37 ± 0.73	-	
	DS-1		322 ± 9	77.28 ± 0.67	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.02	16.00 ± 0.24	17.37 ± 0.70	-	
	DS-5		590 ± 22	201.26 ± 5.43	1.24 ± 0.02	1.28 ± 0.04	31.50 ± 0.73	37.01 ± 0.89	-	
	DS-6		447 ± 19	143.85 ± 8.20	0.52 ± 0.01	0.61 ± 0.01	25.67 ± 1.24	28.71 ± 0.35	-	
DS-7		470 ± 2	142.35 ± 2.15	0.39 ± 0.02	0.42 ± 0.02	28.38 ± 0.91	33.82 ± 1.13	-		

**Table 1-4 (Continued)**

	Code no.	Botanical origin	benzoyl group*	benzoyl group*	benzoyl group*	benzoic acid (21)	PGG (18)		gallic acid (22)
			( $\delta_H$ 8.10–7.76 ppm)	( $\delta_H$ 7.76–7.59 ppm)	( $\delta_H$ 7.59–7.40 ppm)		qHNMR (mg/g)	HPLC (mg/g)	
			qHNMR (mg/g)	qHNMR (mg/g)	qHNMR (mg/g)	HPLC (mg/g)	qHNMR (mg/g)	HPLC (mg/g)	HPLC (mg/g)
WPR produced in China	D1	<i>P. lactiflora</i>	27.76 ± 1.47	25.69 ± 1.96	29.25 ± 1.78	0.24 ± 0.03	1.02 ± 0.04	2.03 ± 0.04	1.10 ± 0.02
	D2		30.44 ± 1.17	25.14 ± 1.06	30.93 ± 1.11	0.93 ± 0.03	1.07 ± 0.03	1.78 ± 0.03	0.70 ± 0.01
	D3		32.02 ± 1.33	30.95 ± 2.68	35.56 ± 3.60	0.36 ± 0.03	1.39 ± 0.30	2.48 ± 0.06	1.59 ± 0.20
	D4		49.63 ± 1.42	44.58 ± 1.13	54.43 ± 1.86	0.56 ± 0.03	3.97 ± 0.05	6.64 ± 0.15	2.25 ± 0.13
	D17		32.00 ± 0.52	32.00 ± 0.87	31.94 ± 0.25	0.23 ± 0.01	1.40 ± 0.03	2.66 ± 0.01	1.53 ± 0.01
	D18		37.21 ± 3.76	33.10 ± 1.37	35.85 ± 0.48	0.12 ± 0.01	1.98 ± 0.24	2.19 ± 0.02	1.38 ± 0.02
	D22		29.72 ± 3.14	26.10 ± 4.61	27.74 ± 3.57	0.07 ± 0.01	1.61 ± 0.08	1.72 ± 0.02	1.19 ± 0.01
	D23		35.82 ± 0.96	33.33 ± 1.70	35.16 ± 2.70	0.10 ± 0.01	2.55 ± 0.19	2.97 ± 0.02	1.47 ± 0.03
	D24		38.94 ± 2.23	38.06 ± 3.17	38.32 ± 3.26	0.14 ± 0.02	2.86 ± 0.03	2.97 ± 0.01	2.12 ± 0.02
	D29		24.83 ± 0.97	21.97 ± 0.63	25.66 ± 0.43	0.26 ± 0.01	1.29 ± 0.12	2.41 ± 0.02	0.81 ± 0.01
PR produced in Japan	D6	<i>P. lactiflora</i>	40.03 ± 2.29	35.63 ± 1.23	45.49 ± 0.39	0.68 ± 0.03	1.88 ± 0.20	3.14 ± 0.01	1.27 ± 0.01
	D7		30.59 ± 0.84	25.86 ± 0.27	35.56 ± 0.73	0.75 ± 0.02	1.79 ± 0.14	3.82 ± 0.03	1.67 ± 0.01
	D8		31.67 ± 0.74	27.47 ± 0.47	33.57 ± 0.18	0.66 ± 0.04	1.03 ± 0.13	1.98 ± 0.02	0.77 ± 0.01
	D10		35.59 ± 1.70	31.01 ± 1.79	38.37 ± 2.98	0.85 ± 0.09	2.14 ± 0.24	4.31 ± 0.05	1.59 ± 0.14
	D50		27.18 ± 1.41	23.40 ± 0.86	29.35 ± 1.00	0.60 ± 0.03	5.17 ± 0.37	7.33 ± 0.14	3.14 ± 0.01
	D51		29.98 ± 2.18	26.58 ± 1.85	31.17 ± 1.78	0.45 ± 0.03	3.65 ± 0.01	5.93 ± 0.12	2.74 ± 0.04
	D52		33.28 ± 0.14	28.24 ± 0.93	33.76 ± 0.40	0.65 ± 0.02	3.19 ± 0.30	5.17 ± 0.05	2.15 ± 0.01
	D9		50.08 ± 0.80	44.91 ± 0.66	48.80 ± 1.02	0.85 ± 0.02	1.60 ± 0.06	2.70 ± 0.04	1.17 ± 0.01
	D49		36.95 ± 0.57	30.81 ± 1.32	37.98 ± 1.38	0.69 ± 0.02	2.10 ± 0.06	4.14 ± 0.02	1.69 ± 0.01
PR produced in China	D45	<i>P. lactiflora</i>	36.28 ± 0.72	33.64 ± 0.31	39.03 ± 0.91	0.34 ± 0.02	2.62 ± 0.05	3.75 ± 0.03	1.84 ± 0.03
	D46		37.83 ± 0.98	34.31 ± 0.98	41.11 ± 1.37	0.74 ± 0.04	3.26 ± 0.20	5.51 ± 0.01	1.55 ± 0.01
	D47		62.42 ± 2.38	58.87 ± 2.32	63.49 ± 1.33	0.43 ± 0.02	5.65 ± 0.20	7.63 ± 0.02	2.61 ± 0.05
	D48		47.03 ± 1.09	42.98 ± 0.80	52.03 ± 1.96	0.66 ± 0.07	3.42 ± 0.22	5.44 ± 0.02	1.80 ± 0.03
	D53		32.71 ± 5.50	27.30 ± 3.30	33.08 ± 5.51	0.61 ± 0.05	2.64 ± 0.19	4.97 ± 0.08	1.99 ± 0.08
RPR produced in China	D12N	<i>P. lactiflora</i>	41.86 ± 1.85	36.38 ± 1.03	42.44 ± 0.94	0.53 ± 0.01	2.87 ± 0.03	4.57 ± 0.14	1.15 ± 0.07
	D12		79.42 ± 1.37	72.56 ± 2.13	79.53 ± 3.12	0.65 ± 0.01	3.19 ± 0.02	4.47 ± 0.01	0.94 ± 0.01
	D13		72.19 ± 3.37	65.98 ± 2.45	69.66 ± 3.36	0.57 ± 0.02	0.68 ± 0.17	1.92 ± 0.04	0.70 ± 0.02
	D14		36.44 ± 3.48	33.82 ± 4.28	38.08 ± 2.64	0.61 ± 0.05	2.72 ± 0.09	5.46 ± 0.49	1.46 ± 0.09
	D15		59.83 ± 3.22	56.60 ± 1.99	61.13 ± 1.77	1.03 ± 0.04	2.23 ± 0.06	4.06 ± 0.09	1.01 ± 0.02
	D54		44.56 ± 1.47	40.91 ± 1.52	44.26 ± 0.76	0.66 ± 0.02	2.17 ± 0.03	3.67 ± 0.01	1.02 ± 0.01
	D16		49.05 ± 1.51	44.35 ± 1.01	45.74 ± 1.28	0.25 ± 0.01	7.76 ± 0.25	7.91 ± 0.14	3.40 ± 0.08
	D11	<i>P. veitchii</i>	88.95 ± 0.44	85.82 ± 2.16	88.75 ± 1.61	0.30 ± 0.01	31.46 ± 0.54	35.92 ± 0.63	14.87 ± 0.13
	DS-1		36.80 ± 1.13	27.75 ± 1.07	38.37 ± 0.84	1.30 ± 0.06	11.23 ± 0.25	18.19 ± 0.71	10.56 ± 0.47
	DS-5		57.73 ± 1.81	52.99 ± 2.06	59.12 ± 0.41	0.45 ± 0.01	25.07 ± 0.23	32.27 ± 0.66	8.19 ± 0.22
	DS-6		51.01 ± 3.45	44.53 ± 2.71	53.20 ± 3.13	1.37 ± 0.05	15.27 ± 0.43	18.16 ± 0.23	7.39 ± 0.14
	DS-7		51.12 ± 2.85	46.10 ± 2.18	53.38 ± 2.12	0.92 ± 0.03	14.60 ± 0.04	19.37 ± 0.56	8.10 ± 0.04

**Table 1-5** Chemical shifts of benzoyl group from monoterpenoids with pinane skeleton and benzoic acid (21)

No.	Compound	Position	Integration range (8.10–7.76 ppm)	Position	Integration range (7.76–7.59 ppm)	Position	Integration range (7.59–7.40 ppm)
1	paeoniflorol	H-2", 6"	7.94 dd (8.4, 5.1)	H-4"	7.65 m	H-3", 5"	7.52 m
2	4'-hydroxypaeoniflorigenone	H-2', 6'	7.79 m				
3	4- <i>epi</i> -albiflorin	H-2", 6"	7.98 m	H-4"	7.67 m	H-3", 5"	7.54 t (7.6)
4	albiflorin	H-2", 6"	8.00 d (7.06)	H-4"	7.66 m	H-3", 5"	7.53 m
5	paeonivayin	H-2", 6"	7.97 dd (3.1, 1.5)	H-4"	7.66 dd (7.6, 1.5)	H-3", 5"	7.52 m
		H-2"', 6'''	7.98 d (3.1)	H-4'''	7.66 dd (7.6, 1.5)	H-3''', 5'''	7.52 m
6	paeoniflorin	H-2", 6"	7.98 d (7.6)	H-4"	7.67 t (7.6)	H-3", 5"	7.54 t (7.6)
7	4-O-methyl-paeoniflorin	H-2", 6"	7.94 dd (23.7, 7.6)	H-4"	7.66 m	H-3", 5"	7.54 t (7.6)
8	salicylpaeoniflorin	H-6"	7.79 dd (7.6, 1.5)			H-4"	7.52 m
9	benzoylpaeoniflorin	H-2", 6"	7.94 m	H-4"	7.64 m	H-3", 5"	7.51 m
		H-2''', 6'''	7.94 m	H-4'''	7.64 m	H-3''', 5'''	7.51 m
10	mudanpioside C	H-2", 6"	7.96 d (8.4)	H-4"	7.66 t (7.6)	H-3", 5"	7.53 t (7.6)
		H-2''', 6'''	7.80 d (8.4)				
11	galloylpaeoniflorin	H-2", 6"	7.98 m	H-4"	7.67 m	H-3", 5"	7.53 m
12	mudanpioside J	H-2", 6"	7.95 m	H-4"	7.65 m	H-3", 5"	7.53 t (7.6)
						H-2'''	7.46 m
						H-6'''	7.42 m
13	oxypaeoniflorin	H-2", 6"	7.82 m				
14	benzoyloxypaeoniflorin	H-2", 6"	7.80 m				
		H-2''', 6'''	7.95 m	H-4'''	7.65 t (7.6)	H-3''', 5'''	7.51 t (7.6)
15	paeonidanin E	H-2", 6"	7.97 t (7.6)	H-4"	7.64 m	H-3", 5"	7.52 dd (13.8, 7.6)
		H-2''', 6'''	7.97 t (7.6)	H-4''''	7.64 m	H-3''', 5''''	7.52 dd (13.8, 7.6)
16	lactiflorin	H-2", 6"	7.98 d (7.6)	H-4"	7.69 m	H-3", 5"	7.55 m
17	mudanpioside E					H-2"	7.48 dd (8.4, 1.5)
						H-6"	7.45 dd (1.5)
21	benzoic acid	H-2, 6	7.94 dd (8.4, 1.5)	H-4	7.61 m	H-3, 5	7.49 t (7.6)
25	sulfonated paeoniflorin	H-2", 6"	7.98 dd (8.4, 1.5)	H-4"	7.66 m	H-3", 5"	7.53 m



**Fig. 1-3** The contents of main compounds in different types of peony root samples quantified using qHNMR. **a**: contents of paeoniflorin (**6**), sulfonated paeoniflorin (**25**), and albiflorin (**4**), and total content of monoterpenoids (signals:  $\delta_H$  7.59 to 7.40 ppm); and **b**: content of PGG (**18**). Vertical bars indicate standard deviation ( $n=3$ ).



HPLC 分析で定量に用いた **4**、**6**、**18**、**21**、及び **22** の純度を Table S1-3、各化合物の検量線とメソッドのバリデーションの結果を Table S1-4 と Table S1-5 にそれぞれ示す。また、各種類の芍薬の HPLC クロマトグラムを Fig. S1-1、その定量の結果を Table 1-4 に示す。今回の HPLC の定量結果は先行研究の結果と一致したが[19, 21]、qHNMR の定量値より高かった。未知の成分のため、NMR スペクトルのベースラインがブロードニングを起こす可能性があると考えられた。そこで、定量の際にベースラインより上のピークを使用し、その定量値が HPLC の値より低いことを確認した。

qHNMR と HPLC の結果の相関を確認するため、PLS（部分最小二乗：partial least squares）回帰と Heatmap を用いて相関を調べた。

まずは qHNMR と HPLC 法の定量値を用いて PLS を行った。化合物 **4**、**6**、及び **18** の含量を用いてモデルを作成し、qHNMR と HPLC による値をそれぞれ X 変数及び Y 変数として選択した。その結果を Scores Scatter Plot (Fig. S1-2) に示す。回帰式は  $y = x + 2.132 \times 10^{-8}$ 、 $R^2=0.9849$  で、両者には強い正の相関が見られた。

さらに、qHNMR における各成分のシグナルの積分値と、HPLC で定量した **4**、**6**、及び **18** の含量との間で相関係数を求め、ヒートマップを作成した (Fig. S1-3)。qHNMR におけるシグナルは、**4** の含量については 1.38 ppm ( $r = 1.00$ )、**6** の含量については 5.31 ppm ( $r = 0.99$ )、**18** の含量については 6.75 ppm ( $r = 0.99$ ) に強い正の相関が見られた。また、benzoyl 基に由来するシグナルの積分値も **6** と強い相関を示した ( $r = 0.86, 0.76, 0.87$ )。

以上の結果から、qHNMR の結果は、HPLC の結果と一致することが示され、qHNMR 法は効率的な定量法と考えられた。

### 1.2.3 芍薬の加工・調製法と sucrose 含量の関係

各検体の抽出後の 75% EtOH エキス含量と sucrose (26) の含量を Table 1-4 と Fig. 1-4a にそれぞれ示す。回帰分析の結果、両者は高い相関性 ( $r = 0.788$ ) を持っていることがわかった。また、白芍のエキス含量と 26 の含量はほかの種類芍薬より低いことがわかった。白芍の加工・調製法として、水洗後、皮をむき、湯通しする方法があり、この加工・調製法がエキス含量の低下に影響することが推測された。この可能性を検証するために、異なる修治加工が施された *P. lactiflora* シャクヤクの薬用品種である「梵天」を用意し (Table 1-3)、qHNMR 法を用いて、加工・調製法の違いによる 26 の含量の違いを調べた。75% EtOH エキス含量と 26 の含量を Table S1-6 と Fig. 1-4b にそれぞれ示す。その結果、両結果の相関係数 ( $r = 0.997$ ) は、生薬材料の各検体と比べて非常に高いことがわかった。各加工・調製法を行った植物材料に含まれる 26 の含量を比較したところ、A と B は低く、C と D は高い値を示した。特に、湯通しした B の 26 の含量が最も低かった (Table S1-6 と Fig. 1-4b)。一方、低温処理した植物材料において、湯通ししなかった C と湯通しした D には明らかな違いが観察されなかった。

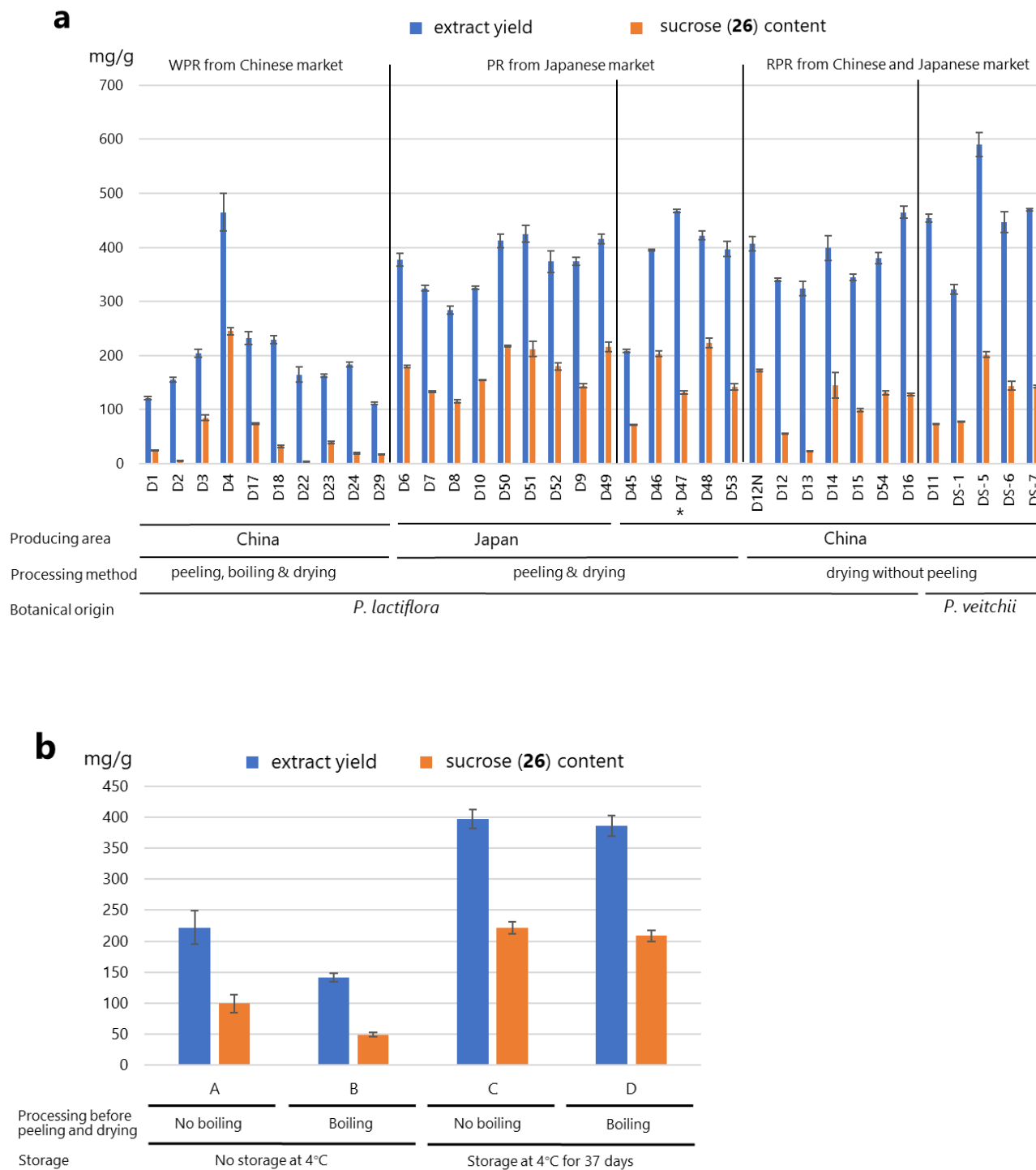
姉帯らは低温処理による芍薬の 26 及び希エタノールエキス含量の経時変化を測定し、両含量間に正の相関があり、低温処理によって 26 が増加することに伴って希エタノールエキス含量も増加することを報告している[63]。ほかの生薬においても、川芎が収穫後の低温貯蔵によって 26 の含量が増加することが報告されていた[64]。スクロースリン酸合成酵素 (SPS, EC.2.4.1.14) とスクロース合成酵素 (SPP, EC.3.1.3.24) は 26 の生合成に関わる植物酵素であり、SPS はキーエンザイムとして UDP-グルコースとフルクトース 6-リン酸をスクロース 6-リン酸に変換し、SPP がそのスクロース 6-リン酸を脱リン酸化して 26 を生成する[65, 66]。これらの結果から、エキスと 26 の含量は、SPS と SPP、またはアイソザイム活性の変化によって変動する可能性が示唆された。低温処理を行ったシャクヤクの根の方が酵素によって多くの 26 が合成され、エキス含量が増加すると考えられるが、根の湯通し品は加熱されることによって酵素が失活し、26 の生成が阻害されるため、エキス含量が低くなることが推測された。

A の検体は収穫後、水で洗浄し、皮をむき、乾燥したものである。上記の観点で考察すると、乾燥が完了するまでの間は酵素が作用するため、26 の含量は増加したが、乾燥後は水分が失われて酵素が失活するため、26 が生成されなくなったと考えられる。その結果、A のエキス含量は B の検体より高いが、約一か月間低温処理を行った C と D の検体と比較した場合では、低いエキス含量を示したものと考えられる。B の検体は湯通しされたものであることから、加熱によって酵素が失活し、26 が生成されなくなったため、B のエキス含量が一番低かったと考えられる。C の検体は洗浄する前に約一か月間低温 (4°C) 貯蔵していたため、この間は酵素が 26 への変換を継続し、結果として、エキス

含量が高くなったと考察できる。D の検体は低温貯蔵した後、湯通ししたため、C と同様、低温保存中に **26** の含量が増加し、保存後に湯通しを行い酵素が失活しても **26** の含量はそのまま維持されたと考察する。湯通ししていない A と湯通しした B を比較すると、湯通しにより、物理化学的な作用（例、水中で加熱することにより、検体から **26** やほかの成分が水中に溶出する）によりエキス含量や **26** の含量が減少した可能性を否定できない。しかし C と D を比較すると、湯通しの有無でエキス含量や **26** の含量の違いはほとんど認められない。以上の考察から、本現象は、物理化学的な要因ではなく、酵素活性の変動が関係しているものと推測される。

上記の点を考慮して考察すると、低いエキス含量を示した白芍は収穫した後、直ぐに皮を去り、湯通しし、乾燥加工されたものと推定される。高いエキス含量を示した白芍の D4 はこれらとは異なり、収穫直後に皮去り、及び湯通しの加工が施されず、一定期間の低温保存がなされた後に皮去り、及び湯通しの加工が行われたと推測される。以上のことから、qHNMR 法を用いて芍薬のエキス含量と **26** の含量は相関することを見出した。

中国薬典において、白芍のエキス含量（熱水抽出物）を 22.0%以上含むと規定されている[2]。今回の結果により、約一か月間低温貯蔵すると、**26** とエキスの含量が増加するが、これらの含量はその後の湯通しによる影響を受けないことがわかった。本研究では 75% EtOH を使用したが、熱水抽出物でも同様の結果が得られると推測される。したがって、白芍の品質評価における熱水抽出物の含量基準を設定する必要性を確認するために、熱水抽出物の含量と **26** の含量の相関関係を検討することが必要と考えられた。



**Fig. 1-4** 75% Ethanol extract yields and sucrose (26) contents quantified using qHNMR. **a**: extract yields and sucrose (26) contents in peony root samples (\*: sample without peeling); and **b**: those in plant samples treated with 4 different post-harvest processing methods, described in Table 1-3. Vertical bars indicate standard deviation (n=3).

#### 1.2.4 多変量解析及びデータマトリックスの作成方法の検討

前節では、*P. lactiflora* を基原とする白芍 10 検体、日本産芍薬 9 検体、中国産芍薬 5 検体、赤芍 7 検体の合計 31 検体と、*P. veitchii* を基原とする赤芍 5 検体を対象として、75% EtOH エキスの成分プロファイリングと定量を行い、特徴的な成分に基づいた基原や加工・調製法の違いによる成分組成の変化を考察した。本節では、NMR メタボローム解析に基づくこれら芍薬の 75% EtOH エキス成分の網羅的差異について述べる。解析にあたっては NMR のスペクトルの違いを可視化するため、多変量解析を行った。

通常の手順は以下の通りに行った：①全検体の NMR スペクトルを測定し、そのデータを位相補正、ケミカルシフト補正、ベースライン補正などを行った後、②一定のケミカルシフト値の幅で細かく区切り、それぞれの領域における積分値を算出し（バケット積分）、③積分値を規格化し、データマトリックスを作成した。一方、多変量解析の結果は NMR スペクトルの前処理方法の違いに影響されることが予想されるため、方法の最適化を検討する必要があると判断し、本研究では以下の観点から条件の比較検討を行った：

##### A. スペクトル測定

$^1\text{H}$  NMR は化合物の構造解析を目的とした方法であり、短時間の測定で感度良くシグナルを検出するように測定条件が最適化されているが、シグナルの定量性は一部損なわれる。これに対して、qHNMR では、測定時間は長くなるが、シグナルが定量的に検出されるように測定条件が最適化されている。そこで、両測定法の違いが多変量解析結果に及ぼす影響を検討することとした。NMR 測定法の違いについては Table 1-6 に示した。

**Table 1-6** The difference between  $^1\text{H}$  NMR and qHNMR parameters

Parameters	$^1\text{H}$ NMR	qHNMR
Pulse angle	45°	90°
Relaxation delay	5 sec	60 sec
Digital resolution	0.5 Hz	0.25 Hz
Spin	ON	OFF
$^{13}\text{C}$ decoupling	OFF	ON

##### B. 除外するスペクトル領域

NMR 測定の際、重水素化溶媒を用いて測定を行うが、微量に混在している軽水素溶媒（例：重メタノール  $\text{CD}_3\text{OD}$  中の軽水素化メタノール  $\text{CH}_3\text{OH}$ ）によるシグナルが観測される。また、試料中に混入している水の水素の一つが重水素化された HOD も大きなシグナルとして観測される。これらは試料由来のシグナルではないため、解析にあたっては

これらを除去して解析した。

また、「1.2.3 芍薬の加工・調製法と sucrose 含量の関係」の検討で、芍薬の 75% EtOH エキス中には **26** が多く含まれることがわかっている。芍薬の薬理活性成分は **6** などの二次代謝産物と考えられているが、一次代謝産物である **26** の含量と比較すると、非常に少ない。本研究では、二次代謝産物に着目して解析するため、**26** のシグナルの除外を検討した。バケット積分の条件及び除外するシグナル領域については Table 1-7 に示した。

**Table 1-7** Remove region for data matrix of PCA and OPLS-DA

Spectra	DMSO	DSS- <i>d</i> <sub>6</sub>	Sucrose ( <b>26</b> )	HOD	Ethanol
<sup>1</sup> H NMR	2.5504–2.4495	-0.0098 to 0.0900	5.1900–5.1304 3.9107–3.0701	3.1694–3.1296	1.0693–1.0097
qHNMR	2.5500–2.4498	-0.0100 to 0.0899	5.1899–5.1302 3.9100–3.0699	3.1698–3.1302	1.0701–1.0100

### C. バケット積分値の規格化

NMR スペクトルより得られたバケット積分値の取り扱い（規格化）には

1) 全試料に濃度既知の内標準物質を添加し、内標準物質の積分値に応じて各バケット積分値を換算する方法（内標準法）

2) 各試料のスペクトルから得られた積分値の総和を一定（100 など）にする方法  
の 2 つの方法が一般的に知られている。

1) の方法では、各試料中のシグナル強度に各成分の含量を反映することができると考えられるが、2) の方法はデータ処理が簡便である一方で、成分由来シグナルの強度、すなわち含量を反映させた解析に問題があると考えられる。そこで、汎用されている両者の違いが多変量解析結果に及ぼす影響を検討することとした。

データのバケット積分値は市販のソフトウェア（Alice2 for Metabolome）を用いて取得し、エクセルにインポートした後、上記の規格化の計算をそれぞれ行うことで、データマトリックスを作成した。得られた各データマトリックスに対して、統計解析ソフトウェア（SIMCA-P 14.1）を用いて多変量解析を行った。

多変量解析は、PCA（主成分分析：principal component analysis）、OPLS-DA（直行部分的最小二乗回帰判別分析：orthogonal partial least squares-discriminant analysis）を用いた。PCA はデータマトリックスの情報のみ（グループの情報なし）で分析を行うものであり、全データの分散が最大となるように各検体が配置される。これにより、データの全体象及び特徴を捉えることができ、それぞれを特徴づけるシグナルを見つけ出すことができる。OPLS-DA はデータマトリックス情報に加えて各検体のグループ情報を合わせて解析するもので、グループを最大限に区別するためのモデルを作成し、両者の違いに寄与するシグナルを見つけ出すことができる。

*P. lactiflora* を基原とする白芍 10 検体、日本産芍薬 9 検体、中国産芍薬 5 検体、赤芍 7 検体の合計 31 検体について PCA を行った。

*P. lactiflora* を基原とする赤芍 6 検体と、*P. veitchii* を基原とする赤芍 5 検体については PCA 及び OPLS-DA を行った。

### (1) *P. lactiflora* を基原とする芍薬の PCA 結果

白芍 (WPR)、芍薬 (PR)、及び赤芍 (RPR) に特徴的な成分を探索すること、及びデータマトリックスの作成方法を検討するために、*P. lactiflora* を基原とする芍薬 (白芍、芍薬、及び赤芍) の 31 検体について、それぞれに異なる条件 (Table 1-8) でデータマトリックスを作成し、PCA を行った。その結果を Fig. 1-5 と S1-4 に示す。

**Table 1-8** Data matrix creation conditions and model reliability of Figs. 1-5 and S1-4

PCA	Spectra	Normalization	Sucrose (26) signals*	R <sup>2</sup> X	Q <sup>2</sup>
31 <i>P. lactiflora</i> samples					
Fig. 1-5a & b	<sup>1</sup> H NMR	Peak area of internal standard	+	0.908	0.869
Fig. 1-5c & d	<sup>1</sup> H NMR	Peak area of internal standard	-	0.949	0.910
Fig. 1-5e & f	qHNMR	Peak area of internal standard	+	0.954	0.911
Fig. 1-5g & h	qHNMR	Peak area of internal standard	-	0.923	0.807
Fig. S1-4a & b	<sup>1</sup> H NMR	Total intensity	+	0.877	0.767
Fig. S1-4c & d	<sup>1</sup> H NMR	Total intensity	-	0.945	0.800
Fig. S1-4e & f	qHNMR	Total intensity	+	0.904	0.796
Fig. S1-4g & h	qHNMR	Total intensity	-	0.811	0.709

\*: + and - indicate including and excluding sucrose (26) signals, respectively.

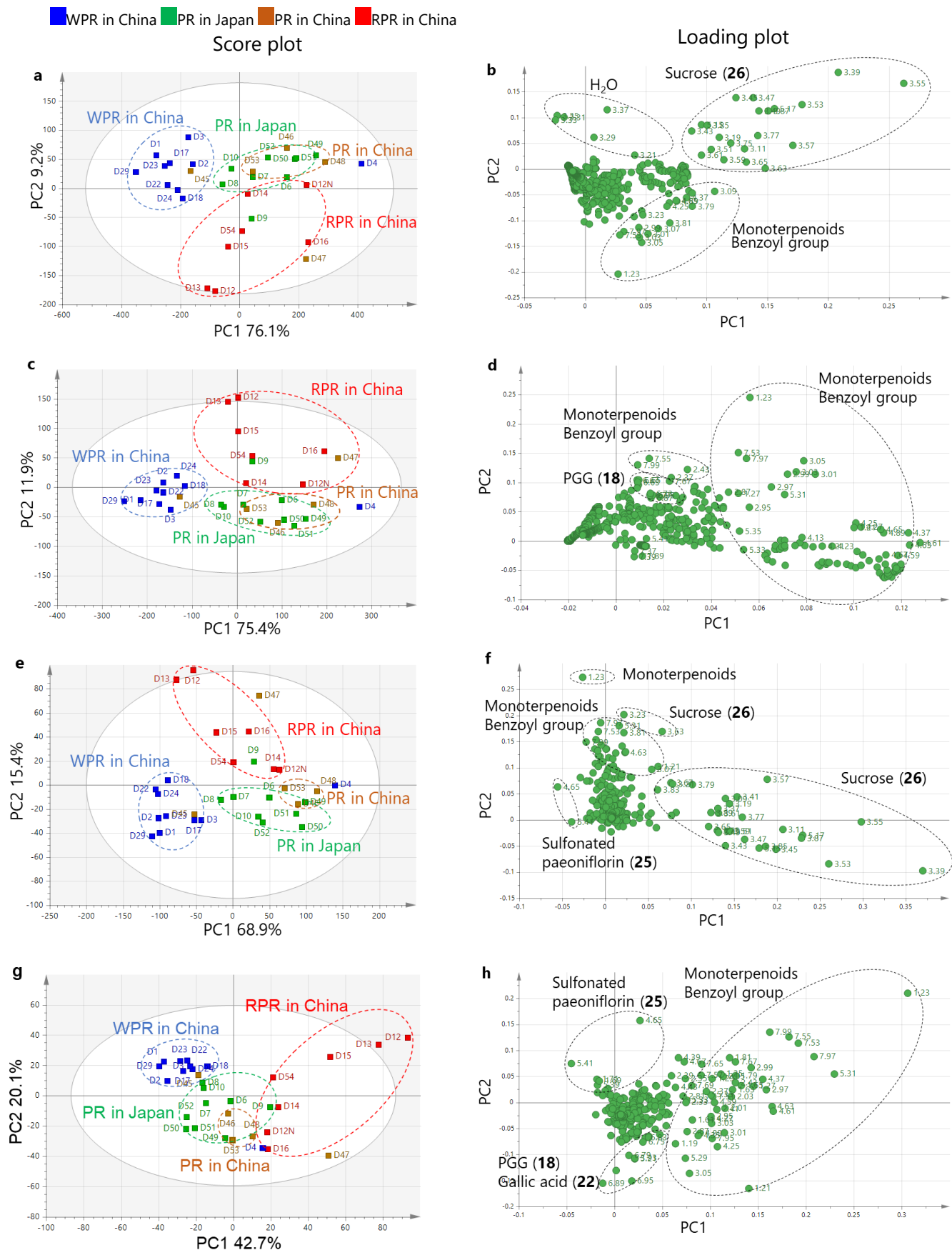
R<sup>2</sup>X: model interpretation rate

Q<sup>2</sup>: model predictive ability

内標準法で積分値を規格化したデータマトリックスを用いて解析した PCA の結果を Fig. 1-5 に示す。Fig. 1-5a と b は <sup>1</sup>H NMR から得られたデータマトリックスを使用し、Fig. 1-5e と f は qHNMR から得られたデータマトリックスを使用した。これらの 2 つのデータマトリックスは 26 のシグナルを除外することなく解析に用いた。Fig. 1-5c と d、及び Fig. 1-5g と h に用いたデータマトリックスは 26 のシグナルを除外し、両結果はそれぞれ <sup>1</sup>H NMR と qHNMR により得られたデータマトリックスを用いて作成した。Score plot の Fig. 1-5a と e において、白芍、芍薬、赤芍は大きく 3 グループに区別された。さらに Fig. 1-5e において芍薬は産地によって日本産芍薬と中国産芍薬に分けられた。この 2 つの score plot も類似の分類結果を示した。Loading plot の Fig. 1-5b によると、赤芍への寄与成分は 6 などに代表される monoterpene 及びベンズイル基を有する化合物のシグナルに由来すると考えられる。中国産芍薬と日本産芍薬への寄与成分は、26 に由来するシグナルであることがわかる ( $\delta_{\text{H}}$  3 - 4 ppm 及び 5.1 ppm 付近のシグナル)。白芍への寄与成分として H<sub>2</sub>O のシグナルが示されているが、これは相対的に 26 が少なくなったため、同じ領域で検出される H<sub>2</sub>O のシグナルが相対的に強く検出されたためと推測される。Loading plot の Fig. 1-5f においては、白芍への寄与成分は 25 に由来するシグナル ( $\delta_{\text{H}}$  5.41 ppm) であったが、このシグナルは Fig. 1-5b においては白芍の区別へ寄与しなかった。前述のように、中国産白芍 (D2、D4、D29 を除く) は硫黄燻蒸の加工がされており、特徴的な化合物である 25 が含まれることがわかっている。また、score plot の Fig.



1-5a と e において、いくつかの検体は正しく区別されなかった。白芍 D4 はほかの白芍と比べて、エキス含量と 26 の含量が高いものであったため、芍薬のグループに区別され、中国産芍薬 D45 はほかの芍薬と比べ 26 の含量が低いものであったため、白芍のグループに区別されたと考えられる。赤芍と同様に皮付きである中国産芍薬 D47 と遺伝子タイプが赤芍と同じであることがわかっている奈良県産芍薬 D9 は赤芍のグループに区別されており、加工方法（修治）や遺伝子タイプによる成分組成の違いを PCA 解析はうまくとらえたものと思われた。化合物 26 のシグナルを除去したデータマトリックスを用いて解析した PCA (Fig. 1-5c と d, Fig. 1-5g と h) はそれぞれのグループが同様に区別された。<sup>1</sup>H NMR データを用いた Fig. 1-5c と d において、6 などに代表される monoterpene 及びベンゾイル基を有する化合物と 18 は赤芍の区別に寄与したが、赤芍に含まれる 18 の含量とその化合物に対応するシグナル強度は、中国産芍薬と日本産芍薬においては大きな違いが認められなかった。qHNMR データを用いた Fig. 1-5g と h において、25 は白芍の区別に、18 と 22 は芍薬の区別に、6 などに代表される monoterpene 及びベンゾイル基を有する化合物は赤芍の区別に寄与した。これらの結果は qHNMR を用いた定量的結果と矛盾しなかったが、<sup>1</sup>H NMR データを用いた Fig. 1-5c と d の結果とは異なっていた。これらの結果から、PCA の結果はスペクトル測定法 (<sup>1</sup>H NMR や qHNMR) に影響される可能性があることがわかった。<sup>1</sup>H NMR スペクトルと比較すると、qHNMR スペクトルにおける積分値は、検体中に含まれる化合物の量をより正確に反映している。従って、<sup>1</sup>H NMR スペクトルデータよりも、qHNMR スペクトルデータから得られたデータマトリックスを用いて PCA を行う方が芍薬の解析に適していると考えられた。



**Fig. 1-5** PCA results using data matrix converted from  $^1\text{H}$  NMR and qHNMR spectra of 31 peony root samples derived from *P. lactiflora* (normalized to internal standard). The creation conditions of each data matrix were summarized in Table 1-8. Score plot: the numbers indicate code no. of samples shown in Table 1-2. Loading plot: the numerals indicate chemical shift ( $\delta_{\text{H}}$  in ppm).

以下に、積分値の総和を 100 として規格化を行った PCA の結果を示す (Fig. S1-4)。各グラフに用いたデータマトリックスの作成条件を Table 1-7 と 1-8 にまとめた。

Score plot の Fig. S1-4a、c、e、g において、白芍、芍薬、赤芍はおおまかに 3 つのグループに区別されたが、各グループの一部は重なり合っていた。また、中国産芍薬のグループと日本産芍薬のグループは重なり合っており、これらは比較的密集して分布していた。一方で、白芍は、ほかと比較して各検体が分散して分布していた。化合物 26 のシグナルを除去しなかった解析結果の loading plot によると (Fig. S1-4b と f)、白芍への寄与成分は H<sub>2</sub>O のシグナル、芍薬 (中国産及び日本産) への寄与成分は 26 に由来するシグナル ( $\delta_{\text{H}}$  3 - 4 ppm 及び 5.1 ppm 付近のシグナル)、赤芍への寄与成分は 6 などの monoterpene 類及びベンゾイル基に由来するシグナルであったことがわかった。これらの結果は内標準法を用いた結果と一致した (Fig. 1-5a、b、e、f)。硫黄燻蒸の特徴的な成分である 25 は白芍の区別に寄与したが、誤った各グループの区別の結果は Fig. S1-4e と f に観察された。Fig. S1-4e の第 3 象限においては、白芍及び赤芍サンプルの一部 (白芍の D1、D29、赤芍の D12、D13) が重なり合っており、その寄与成分は 6 などに代表される monoterpene 及びベンゾイル基を有する化合物であった。これらの結果は qHNMR と HPLC を用いた定量結果と一致しなかった。化合物 26 のシグナルを除去した解析結果の loading plot によると (Fig. S1-4d と h)、白芍への主な寄与成分は monoterpene 類に由来するシグナルであった。芍薬や赤芍への寄与成分は monoterpene 類とベンゾイル基のシグナルに由来すると考えられた。これらの結果は qHNMR と HPLC を用いた定量結果と一致しなかった。以上の結果から、積分値の総和を一定 (100) にする規格化方法は、芍薬の区別を目的とした PCA には適していないことが示唆された。

## (2) *P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の PCA 結果及び考察

基原植物が異なる赤芍の成分的差異を解析することを目的に、*P. lactiflora* を基原とする赤芍 6 検体と *P. veitchii* を基原とする赤芍 5 検体を対象として、PCA を行った。まず、データマトリックスの作成方法を検討する目的で、それぞれ異なる条件 (Table 1-7 と S1-7) で作成したデータマトリックスに対して PCA を行った。その結果を Fig. S1-5 と Fig. S1-6 に示す。

異なる条件のデータマトリックスを用いて作成した PCA の score plot における各グループの区別の結果、基原植物の違いによって大まかに 2 つグループ (*P. lactiflora* を基原とする赤芍と *P. veitchii* を基原とする赤芍) に区別された。両者の区別は、積分値の総和を 100 として規格化を行った PCA の結果 (Fig. S1-6) よりも明確であった。また、loading plot において、区別に寄与する成分の明確な違いは観測されなかった。化合物 26 は両者を区別する寄与成分ではなく、一部の検体の区別に寄与していた。*P. lactiflora* を基原とする赤芍の区別には 6 などの monoterpene 類が、*P. veitchii* を基原とする赤芍には 18 と 22 が寄与する傾向があることがわかった。以上の結果は qHNMR と HPLC を用いた定量の結果と一致したが、PCA では十分に区別されなかった。

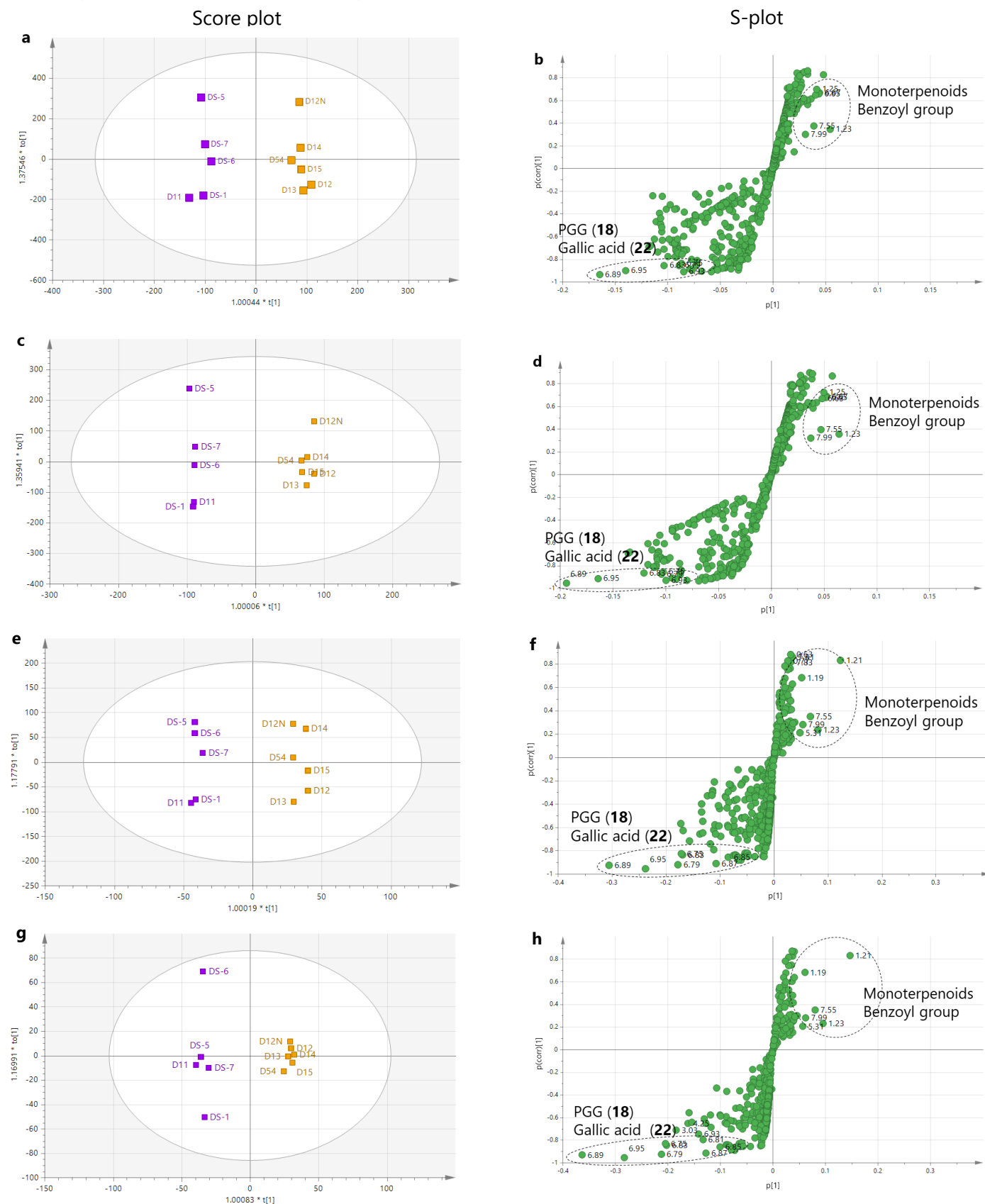
今回の解析では、検体数が少なかったことから、グループ内での個体差の違いが大きく反映され、異なる条件で作成されたデータマトリックスを用いて解析を行った際に、グループの区別が変動したと考えられる。

## (3) *P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の OPLS-DA 結果及び考察

「(2) *P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の PCA 結果及び考察」で示した結果によると、赤芍は基原植物の違いによって大まかに 2 つのグループに区別された。次に、両者をより明確に区別し、違いに寄与する成分を見出すことを目的として異なる条件で作成したデータマトリックスに対して OPLS-DA を行った。

「(2) *P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の PCA 結果及び考察」のデータマトリックスを用いて OPLS-DA を行った結果を Fig. 1-6 と S1-7 に示す。データマトリックスの作成条件は Table 1-7 と S1-8 に示した。その結果、各 Score plot を見ると、各々に違いはなく、データマトリックスの作成法の違いに関係なく *P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍は明確に区別された。各 s-plot によると、6 などの monoterpene 類は *P. lactiflora* を基原とする赤芍の区別に寄与し、18 と 22 は *P. veitchii* を基原とする赤芍の区別に寄与していた。

■ RPR samples derived from *P. lactiflora* ■ RPR samples derived from *P. veitchii*



**Fig. 1-6** OPLS-DA results using data matrix converted from  $^1\text{H}$  NMR spectra of 11 RPR samples derived from *P. lactiflora* and *P. veitchii* (normalized to internal standard). The creation conditions of each data matrix were summarized in Table S1-8. Score plot: the numbers indicate code no. of samples shown in Table 1-2. S-plot: the numerals indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm).

#### (4) データマトリックスの作成法に関する考察

NMR データを用いた PCA を行うにあたって、NMR 測定法の違い ( $^1\text{H}$  NMR と qHNMR)、前処理法 (sucrose シグナル除外の有無、規格化方法) の違いを組み合わせ、データマトリックスを作成した。次いで、これらを用いて得た PCA を比較検討した。その結果、データマトリックスの作成条件によって、各グループの区別とそれに寄与する成分の違いがみられた。

##### 化合物 26 のシグナルの有無：

芍薬における薬理活性成分は、6 などの二次代謝産物と考えられる。しかし、定量的結果、6 の含量は、芍薬中に含まれている一次代謝産物である 26 等の含量と比較すると、微量であることがわかった (Fig. 1-3, Table 1-4)。 $^1\text{H}$  NMR スペクトルを確認したところ、芍薬には 26 が多く含まれるものがあった。そこで、26 のシグナルの有無によってグループの区別に寄与する二次代謝産物に違いが出るかを検討した。*P. lactiflora* を基原とする芍薬の PCA の結果では、26 は、中国産及び日本産芍薬のグループに寄与する主要成分として解析された。一方で、26 のシグナルを除外した PCA においては、より多くの二次代謝産物が寄与成分として解析された (Fig. 1-5c, d, g, h)。*P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の PCA の結果では、26 は 2 つのグループの区別に寄与するものではなく、一部の検体の区別に寄与していた。化合物 26 のシグナル除外の有無は、赤芍の OPLS-DA 結果に影響しないことが示唆された。以上のことから、二次代謝産物の差異を明らかにするためには、26 のシグナルを除去する方が良いと考えられた。HPLC 法では 26 などの一次代謝産物と 6 などの二次代謝産物を同時に分析することができず、それぞれの化合物に適した分析条件を用いて分析する必要がある。一方で、NMR 法では、今回用いた  $\text{DMSO-}d_6$  を NMR 溶媒として用いることで、一次代謝産物と二次代謝産物を同時に測定することが可能である。NMR 法を用いることで、一次代謝産物と二次代謝産物とを合わせて多変量解析することが可能である。さらに除外したい一次代謝産物の標準品やケミカルシフトに関する情報があれば、そのシグナルを NMR 測定後に除外することが可能であるため、目的に応じて使い分けることができる。これは、NMR スペクトルを用いた多変量解析の利点の一つであると考えられる。

##### バケット積分値の規格化：

今回の解析では、バケット積分値の規格化法として、内標準法 (全試料に濃度既知の内標準物質を添加し、内標準物質の積分値を基に各バケット積分値を換算する方法) と、各試料のスペクトルから得られた積分値の総和を一定 (100 など) にする方法の 2 つを行った。積分値の総和を一定 (100 など) にする方法を用いた解析では、各検体は加工・調製法及び産地によってグループに区別することができたが、積分値の総和を一定にする規格化法を用いた解析では、一部の検体のグループ分けは不明確であった (Fig.

S1-4)。内標準法は、元の積分値をスケールリングせずに、内標準物質の積分値に応じて各バケット積分値を換算する。

*P. lactiflora* を基原とする芍薬の PCA 結果に基づくと (Fig. 1-5、S1-4)、白芍はほかと比較してエキス含量が低く (111-232 mg/g、D4 を除く)、その NMR スペクトルの全領域のシグナルの積分値が小さい。一方、芍薬と赤芍はエキス含量が高く (208-467 mg/g)、NMR スペクトルの積分値が大きい。そのため、内標準法で規格化を行った PCA の結果 (Fig. 1-5) の score plot では、白芍のプロットの分布は比較的集約傾向にあるが、芍薬と赤芍のプロットの分布は分散傾向にある。積分値の総和を一定にする方法では、検体ごとの積分値の総和を同一に規格化する (Fig. S1-4)。これにより、エキス含量が少なく、バケット積分値の総和が小さい場合は、規格化により各バケット積分値が大きく変換され、逆に、バケット積分値の総和が大きい場合は、各バケット積分値は小さく変換される。前述のように白芍のエキス含量は低いいため、その NMR スペクトルの全領域のバケット積分値は小さいが、芍薬と赤芍はエキス含量が高いため、全領域のバケット積分値は大きい。従って、Fig. S1-4 の score plot においては、白芍の成分プロファイルの違いは拡大され、一方で、芍薬と赤芍の違いは縮小されることから、白芍のプロットの分布は比較的分散傾向となり、芍薬と赤芍のプロットの分布は比較的集約傾向になった。従って、この規格化方法は、エキスに含有される化合物の割合を基に解析していることになる。

*P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の PCA (Fig. S1-5、S1-6) と OPLS-DA (Fig. 1-6、S1-7) の結果では、基原植物の違いによって大まかに 2 グループ (*P. lactiflora* を基原とする赤芍と *P. veitchii* を基原とする赤芍) に区別された。前述の *P. lactiflora* を基原とする検体 (白芍、芍薬、赤芍) の解析と異なり、解析に用いた *P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の全検体のエキス含量は 322 – 590 mg/g であり、*P. lactiflora* を基原とする検体 (白芍、芍薬、及び赤芍 : 111 – 467 mg/g) 間のばらつきと比較すると、小さかった。従って、赤芍の NMR スペクトルの全領域のシグナルの積分値の各総和の検体ごとの差異は、*P. lactiflora* を基原とする白芍、芍薬、赤芍間のもものと比較して相対的に小さくなった。そのため、規格化法の違いによる PCA と OPLS-DA の結果にあまり違いが出なかったものと考えられた。

以上の観点に対して、内標準法は各検体に含まれる化合物の含量を正しく反映できたと考えられ、エキス含量の変動が多変量解析結果に与える影響を最小限にするためには、内標準法を用いた方が良いと考えられる。

#### NMR 測定法の違い :

測定法の違いによる影響は *P. lactiflora* を基原とする芍薬の PCA 結果において観察された (Fig. 1-5)。白芍の一部は硫黄燻蒸されたものであり、その特徴的な成分として **25** が

ある。<sup>1</sup>H NMR スペクトルデータを用いた PCA の loading plot においては (Fig. 1-5b と d)、**25** のケミカルシフト値はグループの区別に寄与する成分として観測されなかった。一方、このケミカルシフト値は qHNMR スペクトルデータを用いた PCA の loading plot において観測された (Fig. 1-5f と h)。また、<sup>1</sup>H NMR スペクトルを用いた loading plot において (Fig. 1-5d)、赤芍の寄与成分として **18** が示された。qHNMR と HPLC の定量の結果を確認したところ、赤芍に含まれる **18** の含量は、中国産芍薬や日本産芍薬のものとは比べて、大きな違いが認められなかったことから、誤った結果であると考えられた。qHNMR スペクトルにおける積分値は、<sup>1</sup>H NMR スペクトルのものよりも検体中に含まれる化合物の量を正確に反映している。従って、<sup>1</sup>H NMR スペクトルよりも qHNMR スペクトルを用いて得られたデータマトリックスのほうが PCA に適していると考えられた。

*P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする赤芍の PCA (Fig. S1-5、S1-6) と OPLS-DA (Fig. 1-6、S1-7) の結果において、異なる条件で作成したデータマトリックスを用いた各グラフ間には、各グループの区別及びそれに寄与する成分の明確な違いを確認できなかったことから、NMR 測定法の違いは、赤芍の PCA と OPLS-DA の結果に影響を受けないと考えられた。

以上の考察により、芍薬の解析は、qHNMR のスペクトルを測定し、内標準法を用いて規格化したデータマトリックスを使用して多変量解析を行う方法が最も適した方法であることが示唆された。Sucrose (**26**) のシグナルの有無は、目的に応じて使い分ける方が良いと考えられた。



### 1.3 小括

本章では、*P. lactiflora* を基原とする白芍、赤芍、中国産及び日本産の芍薬計 31 検体、及び *P. veitchii* を基原とする赤芍 5 検体を対象として、<sup>1</sup>H NMR スペクトルデータを用いて成分プロファイリングと多変量解析を行い、基原植物、産地、加工・調製法の違いと成分の関係を解析した。また、従来法の結果と比較することで、NMR メタボローム法の最適化を検討し、その方法を確立した。

まず初めに、各芍薬エキスの <sup>1</sup>H NMR スペクトルを測定し、標準化合物のスペクトルとの比較を行った。その結果、albiflorin (4)、paeoniflorin (6)、benzoylpaeoniflorin (9)、galloylpaeoniflorin (11)、oxypaeoniflorin (13)、PGG (18)、catechin (19)、benzoic acid (21)、gallic acid (22)、sucrose (26)、D-glucose (27) のシグナルが観測され、これらの化合物が芍薬エキスに含まれていることを確認した。また、化合物 6 を減少させる原因となる sulfonated paeoniflorin (25) は硫黄燻蒸した白芍 (D2、D4、D29 を除く白芍) 及び赤芍 D16 の検体から検出された。本化合物の特徴的な <sup>1</sup>H NMR スペクトルのシグナルは芍薬エキスで検出されるほかの化合物のものとは重ならなかったことから、<sup>1</sup>H NMR を用いた成分プロファイリング法は、硫黄燻蒸した芍薬の効率的な識別方法となりうると考えられた。

芍薬には、ほかにも paeoniflorin (6) と類似する monoterpene 類が含まれているが、これらは共通して pinane 骨格、ベンズイル基の骨格構造を持っている。この骨格構造に由来する <sup>1</sup>H NMR のシグナルのケミカルシフトはほぼ同じ値を示すため、<sup>1</sup>H NMR データでこれら化合物を同定することは難しかった。この点は NMR 法による成分プロファイリングの欠点である。しかし、類似する骨格構造をもつ化合物を区別することはできないが、これらを一挙に検出できるため、monoterpene 類の総含量を簡便に見積もることができると考えられた。また、qHNMR 法を用いて、化合物 4、6、18、及び pinane 骨格を持っている総 monoterpene 含量を定量し、各種類芍薬の特徴的な成分を明らかにした。その際にも、従来法の HPLC の定量結果と比較し、qHNMR 方法の妥当性を検証した。

一方、一次代謝産物の 26 は HPLC や LC-MS での検出が困難であったことから、以前の研究では見過ごされていた。本章では、すでに加工・調製済の *P. lactiflora* を基原とする薬用品種である「梵天」を用いて、加工・調製法（洗浄前の低温保存の有無、洗浄後の湯通しの有無）の違いによる 26 の含量の違いを検討した。上記の植物材料の 75% EtOH エキスについて、qHNMR 法で 26 を定量したところ、エキスと 26 の含量には正の相関 ( $r = 0.997$ ) があることがわかった。低温処理を行わず、根を収穫後、湯通し処理を行うと 26 の含量が低くなることがわかり、白芍のエキスと 26 の含量が低い原因が推測された。また 1 ヶ月間の低温処理は 26 の含量を増やすことがわかった。以上の結果から、従来法である HPLC 法と同様に、<sup>1</sup>H NMR での成分プロファイリング法は、基原や

加工・調製法の違いによる成分組成の違いを解析可能であることがわかり、本手法の有用性を示すことができた。

多変量解析を行うにあたって、測定法の違い ( $^1\text{H NMR}$  と  $q\text{HNMR}$ ) と前処理法 (26のシグナル除外の有無、規格化方法) の違いを比較検討することで、多変量解析に用いるスペクトルデータの最適な取扱法を確立した。最適化した条件で得られたデータマトリックスを用いて多変量解析することで、*P. lactiflora* を基原とする芍薬では、硫黄燻蒸加工の施された白芍の区別にはその特徴的な化合物である **25** が寄与すること、日本産及び中国産芍薬には **18** と **22** が寄与し、赤芍には **6** などの *monoterpene* 類が寄与することがわかった。*P. lactiflora* 及び *P. veitchii* を基原とする 2 種の赤芍については、**6** などの *monoterpene* 類は *P. lactiflora* を基原とする赤芍の区別に寄与し、**18** や **22** は *P. veitchii* を基原とする赤芍に寄与することがわかった。また、本研究は初めて生薬の多変量解析における  $\text{NMR}$  データの前処理方法の影響を報告した。

## 第 2 章 NMR メタボローム法の応用:骨碎補の成分プロファイリングと多変量解析

骨碎補は、伝統的な中医学において、接骨、止痛、消炎、腰や膝の強壯薬として使用されており、現在の中国では骨や関節の痛み改善に応用されている[28]。骨碎補は『中華人民共和国薬典 2020』においてウラボシ科のハカマウラボシ *Drynaria fortunei* (Kunze ex Mett) J. Smith の根を乾燥したものであり、指標化合物である naringin を 0.5%以上含むと規定されている[2]。なお、「植物和名-学名インデックス YList」によると[67]、ハカマウラボシ *D. fortunei* は、*D. roosii nakaike* のシノニムとされており、本論文ではハカマウラボシの学名として、*D. roosii* を使用した[68]。*D. roosii* に由来する骨碎補に含まれる主要成分である naringin、neoeriocitrin、及びほかの低極性成分には抗骨粗鬆症作用が報告されている[69–71]。また、本植物の根には、フラボノイド、フェニルプロパノイド、フェノール酸、プロアントシアニジンなどが含まれることが報告されている[72–74]。一方、当研究所神経機能分野の東田らは、骨碎補の水エキスにはアミロイド  $\beta$  誘発脳神経細胞軸索萎縮における軸索再伸展作用、及びアルツハイマーモデルマウス (5XFAD mice) における物体認知記憶改善作用があり、naringenin-7/4'-O-glucuronide が脳内に移行する活性成分であることを報告しており[75, 76]、骨碎補はアルツハイマー病の治療薬の候補として期待されているに至っている。このような背景から、高齢化社会の到来とともに、今後、骨碎補の使用が拡大することが見込まれ、*D. roosii* を基原とする骨碎補は、日本薬局方外生薬規格 2022 (局外生規 2022) に収載された。

しかし、現在の市場に流通している骨碎補は基原植物が多様で非常に複雑である。具体的には、現在、骨碎補として *D. roosii* の根茎だけでなく、中国の陝西省や甘肅省では同属の *D. sinica* Diels、中国の南部では *D. quercifolia* (L.) J. Sm.、*D. bonii* Christ、及びシノブ科のタカサゴシノブ *Araiostegia divaricata* Blume var. *formosana* (Hayata) M. Kato (= *Davallia formosana* Hayata [67, 77]) などの根茎が骨碎補として流通している (Table 2-1)[28, 78]。*Araiostegia divaricata* var. *formosana* を基原とする骨碎補の主要化合物は(-)-epicatechin-3-O- $\beta$ -D-allopyranoside であること、及びその水エキスや 95% EtOH エキスは抗骨粗鬆症作用をもつことが報告されている[79]。一方、*Araiostegia divaricata* var. *formosana* については、抗アルツハイマー病に関連する研究は報告されていない。そのため、*Araiostegia divaricata* var. *formosana* と *D. roosii* に由来する骨碎補の同等性は不明である。

骨碎補は基原植物を収穫後に乾燥して用いられるものもあるが、熱い砂と一緒に炒める砂炒が修治加工として施されているものもある。骨碎補は一般的に毛状の鱗片に覆われていることから、土などの汚れを落とすことが難しい形態をしている。また、根茎は硬いため粉碎の際に手間がかかる。砂炒は、これらの形態上・性質上の問題点を改善す

るために行われる。修治後は鱗片が除去され、脆い性状と変化するため、粉碎が容易になる。しかし、鱗片の形状は種により特徴があり、これらの形態の違いを基原植物の同定に応用することも可能[80]とされているが、砂炒の修治が施されると、鱗片が失われ基原の同定は困難となる。また、砂炒が成分に及ぼす影響についても十分に明らかにされていない。

以上の背景から、骨碎補を適正に使用するためには、成分による基原同定法の開発と各種の骨碎補の成分全体を比較して解析することが必要である。これまで、*D. roosii* と *Araiostegia divaricata* var. *formosana* の成分の差異[72, 73, 78, 79]や、*D. roosii* に含まれる naringin と neoeriocitrin の含量に対する修治の影響が報告されている[81]。しかし、骨碎補のメタボローム分析に関する研究は、ほとんどが HPLC 法を用いたものであり、*D. roosii* に含まれる主要な 4 化合物に着目し解析されている[80, 82–85]。しかし、これらの研究では、主要成分以外のものは同定されておらず、それら成分のプロファイリングは報告されていない。

本章では、骨碎補の品質標準化の指標を定めること、及び成分による骨碎補の基原同定法を開発することを目的として、種類の異なる様々な骨碎補の基原、産地、加工・調製法などの差異を明らかにした。これらの成分プロファイリング、定量、及び多変量解析、前章において最適化した NMR メタボローム法と従来の HPLC 法に組み合わせることで行った。各種類の特徴的な成分を明らかにし、成分定量の標準物質とするため、*D. roosii* と *Araiostegia divaricata* var. *formosana* からいくつかの化合物を単離・同定した。なお、本研究は初めて NMR メタボローム法を用いて骨碎補の成分を解析した報告である[23]。

**Table 2-1** Different types of *Drynariae* Rhizoma

Crude drug Name	Producing area in China	Botanical origin	Synonym
骨碎補 毛姜 猴姜	Guangxi, Hunan, Zhejiang, Jiangxi	<i>Drynaria roosii</i> Nakaike	<i>D. fortunei</i> (Kunze ex Mett.) J. Smith
	Gansu, Qinghai	<i>D. sinica</i> Diels	<i>D. baronii</i> Diels
	Guangxi	<i>D. bonii</i> Christ	<i>D. meeboldii</i> Rosenst
	Hainan	<i>D. quercifolia</i> (L.) J. Sm	<i>Polypodium quercifolium</i> L.
大葉骨碎補	Guangdong, Guangxi	<i>Araiostegia divaricata</i> Blume var. <i>formosana</i> (Hayata) M. Kato	<i>Davallia formosana</i> Hayata
碎補	Yunnan	<i>Araiostegiella perdurans</i> (Christ) M. Kato & Tsutsumi	<i>Da. perdurans</i> Christ

## 2.1 材料と方法

### 2.1.1 生薬と植物材料

*D. roosii*、*A. divaricata* var. *formosana*、及び *Araiostegiella perdurans* などの基原に由来する中国と日本市場品 39 検体（生薬材料、Table 2-2）、*D. roosii* に由来する中国産植物材料 4 検体（Table 2-3）、合計 43 検体を用いた。一部の市場品は修治品として購入されたものである。詳しい情報を Table 2-2 に示す。各検体の基原植物は、当研究室において、葉緑体の *trnH-psbA* IGS 領域を解析することで正確に同定された[86]。全ての標本は富山大学和漢医薬学総合研究所民族薬物資料館（TMPW）に保存されている。

### 2.1.2 標準化合物

骨碎補に含まれる成分を同定するために、13 個の標準化合物を準備した。そのうち、naringin (28) [76]は LKT Laboratories 社、protocatechuic acid (32) [76]と D-glucose (27) [49]は和光純薬株式会社、sucrose (26) [52]はナカライテスク株式会社、5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (5-HMF, 38) [87]はシグマアルドリッチから購入した。Neoeriocitrin (29) [76]、5,7-dihydroxymethyl-7-O-neohesperidoside (30) [76]、caffeic acid 4-O-β-D-glucoside (31) [76]、trans-*p*-coumaric acid 4-O-β-D-glucoside (33) [88, 89]、ferulic acid 4-O-β-D-glucopyranoside (34) [90]、kaempferol 3-O-α-L-rhamnoside 7-O-β-D-glucoside (35) [91]、cinnamtannin D-1 (36) [92, 93]、及び(-)-epicatechin 3-O-β-D-allopyranoside (37) [79]は当研究室で単離した。各化合物の構造式を Fig. 2-1 に示す。

**Table 2-2** Crude drug samples used in this study

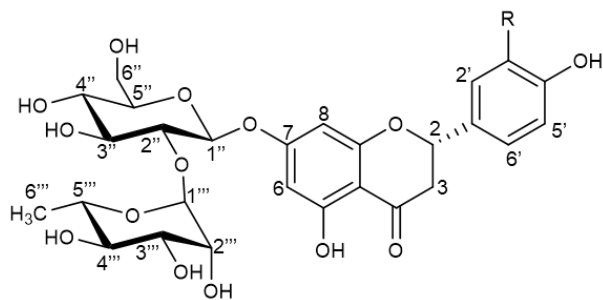
Code no.	Name	Producing area	Obtained from (market)	Botanical original	TMPW No. <sup>#</sup>	Collection date
CnM01	Gusuibu	Dazhou, Sichuan	Chengdu, Sichuan	<i>Drynaria roosii</i>	28621	2015-09-22
CnM02	Gusuibu	Guizhou	Chengdu, Sichuan	<i>D. roosii</i>	28622	2015-09-22
CnM03	Gusuibu	Xichang, Sichuan	Chengdu, Sichuan	Mixture of <i>Araiostegiella perdurans</i> and <i>Selliguea</i> sp.	28629	2015-09-22
CnM04*	Gusuibu	Yunnan	Hunan	<i>D. roosii</i>	28630	2015-09-25
CnM05	Maojiang	Chenzhou, Hunan	Hunan	<i>D. roosii</i>	28633	2015-09-25
CnM06*	Maojiang	Zhangjiajie, Hunan	Hunan	<i>D. roosii</i>	28634	2015-09-25
CnM07	Gusuibu	Jiangxi	Xiaogan, Hubei	<i>D. roosii</i>	28662	2015-10-16
CnM09*	Maojiang	Guangxi	Changsha, Hunan	<i>D. roosii</i>	28788	2016-07-19
CnM10*	Shachaogusuibu	Hubei	Chenzhou, Hunan	<i>D. roosii</i>	28790	2016-07-19
CnM11*	Gusuibu	Guangdong	Chenzhou, Hunan	<i>D. roosii</i>	28792	2016-07-19
CnM12*	Gusuibu	Hunan	Jianghua, Hunan	<i>D. roosii</i>	28795	2016-07-23
CnM13*	Gusuibu	Guangxi	Xing'an, Guangxi	<i>D. roosii</i>	28806	2016-07-23
CnM14	Gusuibu	–	Xing'an, Guangxi	<i>D. roosii</i>	28807	2016-07-23
CnM15*	Gusuibu	Guangxi	Guilin, Guangxi	<i>D. roosii</i>	28808	2016-07-25
CnM16	Gusuibu	Guangxi	Guilin, Guangxi	<i>D. roosii</i>	28809	2016-07-25
CnM17	Gusuibu	Guangxi	Hezhou, Guangxi	<i>D. roosii</i>	28811	2016-07-26
CnM18*	Gusuibu (Chao)	Jiangxi	Zhangshu, Jiangxi	<i>D. roosii</i>	28980	2016-11-01
CnM19	Gusuibu	Guangxi	Zhangshu, Jiangxi	<i>D. roosii</i>	28982	2016-11-01
CnM21	Gusuibu	–	Yilong, Sichuan	<i>D. roosii</i>	28987	2016-09-12
CnM22*	Gusuibu	–	Mianning, Sichuan	<i>D. roosii</i>	28988	2016-08-19
CnM23	Gusuibu	Mianning, Sichuan	Lugu, Mianning, Sichuan	<i>Araiostegiella perdurans</i>	28989	2016-08-20
CnM24	Xianmaojiang	Jianghua, Hunan	Jianghua, Hunan	<i>D. roosii</i>	28990	2016-07-21
TwM01	Gusuibu	Taiwan	Nantou, Taiwan	<i>Araiostegia divaricata</i> var. <i>formosana</i>	28744	2015-04-25
TwM02	Gusuibu	–	Taipei, Taiwan	<i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	28750	2015-04-25
TwM03	Gusuibu	Taiwan	Taipei, Taiwan	<i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	28751	2015-04-25
JpM01	Gusuibu	Baise, Guangxi	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	Mixture of <i>D. roosii</i> and <i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	28664	2014-10-14
JpM02	Gusuibu	Guangxi	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	28666	2015-11-17
JpM03	Gusuibu	Guangdong	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	28667	2015-11-17
JpM04	Gusuibu	Guizhou	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	28668	2015-11-27
JpM05	Gusuibu	Anhui	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	28669	2015-12-02
JpM06	Gusuibu	Zhejiang	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	28815	2015-07-01
JpM08	Gusuibu	Zhejiang	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	29049	2017-09-21
JpM09	Gusuibu	Zhejiang	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	29050	2017-09-21
JpM10	Gusuibu	Hunan	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>D. roosii</i>	29051	2017-09-21
JpM11	Gusuibu	Guangxi	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	29052	2017-09-21
JpM16	Gusuibu	Guangxi	Tochimoto Tenkaido Co., Ltd., Osaka	<i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	29057	2017-09-21
JpM17	Kotsusaiho	–	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo	<i>Drynaria</i> sp.	29058	2017-10-11
JpM18	Kotsusaiho	–	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo	<i>Drynaria</i> sp.	29059	2017-10-11
JpM19	Kotsusaiho	–	Uchida Wakanyaku Co., Ltd., Tokyo	<i>Drynaria</i> sp.	29060	2017-10-11

\*, Stir-fried samples; –, samples produced in Chinese mainland, and details unknown.

<sup>#</sup>, TMPW No. indicates deposition numbers of voucher specimens at the Museum of Materia Medica, Institute of Natural Medicine, University of Toyama.

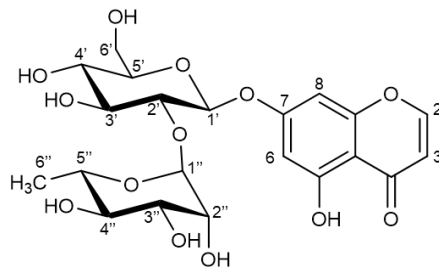
**Table 2-3** *D. roosii* specimens used in this study

Code no.	Producing area	Collection date
CnP01	Jianghua, Hunan	2016-07-22
CnP02	Xing'an, Guangxi	2016-07-23
CnP03	Guangxi	2016-07-24
CnP04	Guangxi	2016-07-25

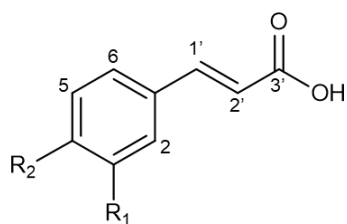


**28** R = H

**29** R = OH



**30**



**31** R<sub>1</sub> = OH

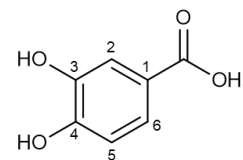
R<sub>2</sub> = O-glucose

**33** R<sub>1</sub> = H

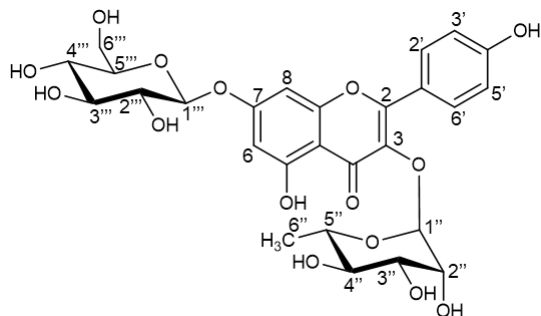
R<sub>2</sub> = O-glucose

**34** R<sub>1</sub> = OCH<sub>3</sub>

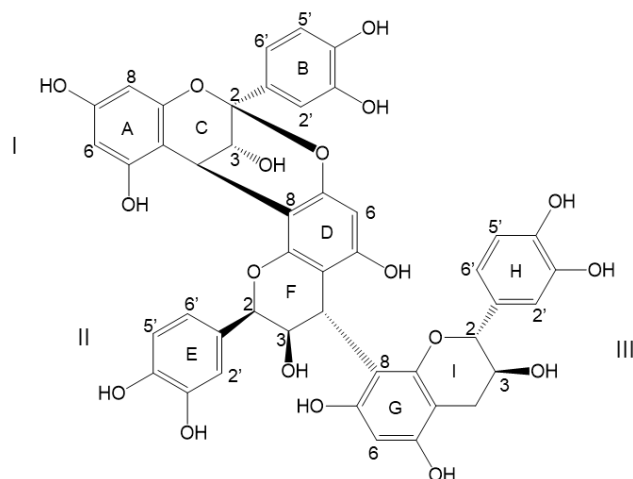
R<sub>2</sub> = O-glucose



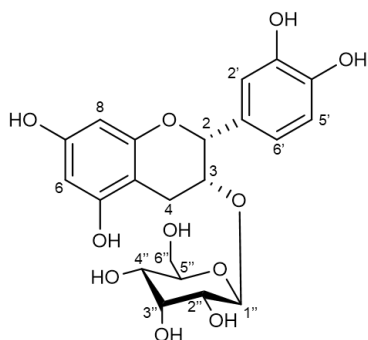
**32**



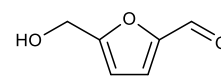
**35**



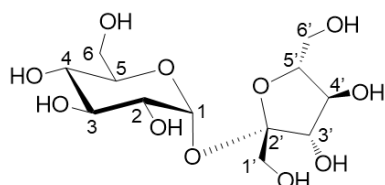
**36**



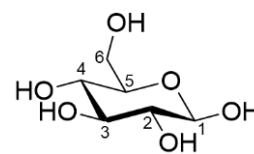
**37**



**38**



**26**



**27**

**Fig. 2-1** Chemical structures of reference compounds

### 2.1.3 標準化合物の単離・精製

#### (1) 化合物 29、30、31、33、35 の単離

化合物 29、30、31、33、35 は *D. roosii* に由来する日本市場品 JpM06 (TMPW No.28815) より単離した。まず、刻み生薬 (400 g) を粉碎した。得られた粉末に、MeOH 2.5 L を加え、約 1 時間加熱還流にて 4 回抽出した。その後、上清を合わせて溶媒留去し、MeOH エキス (40 g) を得た。これを DIAION HP-21 カラム (400 g, 50 × 360 mm) に付し、MeOH/H<sub>2</sub>O (1:4 to 1:0, v/v) で溶出し、5 つの画分 (Frs. 1A–1E) を得た。Fr. 1A の一部 (10 g、20% MeOH フラクション) を ODS MPLC カラムクロマトグラフィー (カラム : SNAP Ultra C18、120 g) に付し、MeOH/H<sub>2</sub>O (10:90 to 100:0, v/v) で溶出し、3 つの画分 (Frs. 2A–2C) を得た。Fr. 2B の一部 (285.6 mg) を分取 HPLC により分画し、それぞれメソッド A と B を使用して化合物 31 (169 mg) と 33 (17.3 mg) を得た。メソッド A と B は「実験の部」に記載した。Fr. 1B の一部 (160.3 mg、20% MeOH フラクション) を ODS MPLC カラムクロマトグラフィー (カラム : SNAP Ultra C18、120 g) に付し、MeOH/H<sub>2</sub>O (5:95 to 100:0, v/v) で溶出し、4 つの画分 (Frs. 3A–3D) を得た。Fr. 1C の一部 (2451.4 mg、50% MeOH フラクション) を ODS MPLC カラムクロマトグラフィー (カラム : SNAP Ultra C18、120 g、MeOH/H<sub>2</sub>O, 10:90 to 100:0, v/v) により分画し、8 つの画分 (Frs. 4A–4H) を得た。Frs. 3C、4B、及び 4C を混合し、その混合物を分取 HPLC により分画し (メソッド A)、30 (15.3 mg) を得た。Frs. 4G (466.4 mg) と 4E (139.7 mg) をそれぞれ分取 HPLC により分画し (メソッド A)、化合物 29 (87.2 mg) と 35 (12.6 mg) を得た。単離のプロセスを Scheme S2-1 に示す。

#### (2) 化合物 34 と 36 の単離

化合物 34 と 36 は *D. roosii* に由来する日本市場品 TMPW No.31171 から単離した。その産地は中国湖南省であり、栃本天海堂より 2021 年 12 月 16 日に購入した。まず、刻み生薬 (435.3 g) を粉碎し、MeOH 2.5 L を入れ、約 1 時間加熱還流にて 4 回抽出した。その上清をろ過後、溶媒を留去し、約 60 g のエキスを得た。これを、DIAION HP20 カラム (400 g, 50×360 mm) を用い、MeOH/H<sub>2</sub>O (20:80 to 100:0, v/v) で溶出し、4 つの画分 (Frs. A–D) を得た。さらに目標化合物を含有する画分 (Fr. B、5 g、50% MeOH フラクション) を ODS カラム (SNAP Ultra C18、120 g) に付し、MPLC を用いて分画し (MeOH/H<sub>2</sub>O, 30:70 to 100:0, v/v)、3 つの画分 (Frs. B1–B3) を得た。Fr. B1 の一部 (約 300 mg、20% MeOH フラクション) を分取 HPLC により分画し (メソッド C、「実験の部」に記載)、34 (6.3 mg) を得た。化合物 36 を含有するフラクションは Fr. B1 から画分され、その一部 (8.0 mg) を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (MeOH) にてさらに精製し、36 (3.4 mg) を得た。単離のプロセスを Scheme S2-2 に示す。



### (3) 化合物 37 の単離

化合物 37 は、*A. divaricata* var. *formosana* を基原とする市場品 TwM01 (TMPW No.28744) より単離した。乾燥した刻み生薬 (400 g) を粉碎し、前述と同様に加熱還流により抽出し、MeOH エキス (110 g) を得た。その後、DIAION HP21 カラム (1100 g, 90×370 mm) を用い、MeOH/H<sub>2</sub>O (1:4 to 1:0, v/v) で溶出し、4 つの画分 (Frs. F-I) を得た。Fr. H (4111.3 mg、20% MeOH フラクション) を ODS カラム (SNAP Ultra C18, 120 g) に付し、MPLC を用いて分画し (MeOH/H<sub>2</sub>O, 10:90 to 100:0, v/v)、3 つの画分 (Frs. H1-H3) を得た。化合物 37 を含有する Fr. H2 を前述と同様の MPLC 条件を用いて精製し、37 (55.4 mg) を得た。単離のプロセスを Scheme S2-3 に示す。

#### 2.1.4 NMR 測定に用いた骨碎補のエキスの調製

粉末生薬 100.0 mg を秤量し、5 mL の 50% MeOH を入れ、70°C で 40min 加熱抽出した。遠心分離 (4000 rpm 20 min) を行い、得られた上清を合わせて溶媒留去し、乾燥した。一つの試料につきエキスは 3 回作成した。

#### 2.1.5 NMR 測定に用いた試料溶液の調製

DSS-*d*<sub>6</sub> を内標準物質として使用した。完全に乾燥したエキスに 0.9 mL の内標準溶液 (DSS-*d*<sub>6</sub> / CD<sub>3</sub>OD : 0.04 mg/mL) を加え、超音波処理し、遠心分離を行い、上清 0.6 mL を取って試料溶液とした。NMR 測定条件は「実験の部」に示した。

#### 2.1.6 qHNMR による主要成分の定量

骨碎補に含まれる 4 成分、naringin (28)、neoeriocitrin (29)、sucrose (26)、及び D-glucose (27) は qHNMR 法を用いて定量した。化合物 28 は δ<sub>H</sub> 7.31 ppm (H-2', 6'), 化合物 29 は δ<sub>H</sub> 6.91 ppm (H-9)、化合物 26 は δ<sub>H</sub> 5.38 ppm (H-1)、及び化合物 27 は δ<sub>H</sub> 5.09 ppm (H-1 of α-glucose) と 4.46 ppm (H-1 of β-glucose) のシグナルを選択して定量した。これらのシグナルに由来する積分値とプロトン数、内標準物質である DSS-*d*<sub>6</sub> の 3 つのメチル基のプロトン (δ<sub>H</sub> -0.04 ppm, 9H) に由来するシグナル積分値、分子量、濃度等を式 (1) に代入し、各化合物の含量を計算した :

$$\text{Content (mg/g)} = \frac{I_X}{I_{\text{DSS}}} \times \frac{H_{\text{DSS}}}{H_X} \times \frac{M_X}{M_{\text{DSS}}} \times \frac{C_{\text{DSS}}}{W_{\text{Sp}}} \times P_{\text{DSS}} \times V \times 1000 \quad (1)$$

I=積分値    H=プロトン数    M=分子量    C=濃度 (mg/mL)    X=化合物    DSS= DSS-*d*<sub>6</sub>  
W<sub>Ex</sub>=エキスの重さ (mg)    W<sub>Sp</sub>=粉末試料量 (mg)    P<sub>DSS</sub>=DSS-*d*<sub>6</sub>の純度    V =内標準溶液の体積

### 2.1.7 HPLC 測定に用いた標準化合物とサンプルの試料溶液の調製

qHNMR 法を用いて標準化合物 **28**、**29**、**31**、**32**、及び **37** の純度を計算した。各化合物 1–6 mg を精密に秤量し、内標準液 0.8 mL (DSS- $d_6$  / CD<sub>3</sub>OD 0.04 mg/mL) を加え、超音波処理し、溶解させた後、上清 0.60 mL を取って qHNMR を測定した。下記の式 (2) に代入し、各化合物の純度を計算した：

$$P_S (\%) = \frac{I_S}{I_{DSS}} \times \frac{H_{DSS}}{H_S} \times \frac{M_S}{M_{DSS}} \times \frac{C_{DSS}}{C_S} \times P_{DSS} \times 100 \quad (2)$$

I=積分値    H=プロトン数    M=分子量    C=濃度 (mg/mL)

P=純度    S=標準化合物    DSS= DSS- $d_6$

HPLC 定量の検量線を作成するため、上記の既知純度の標準化合物 10 mg を精密に秤量し、10 mL の 50% MeOH を加え、溶解させた。その後、各種濃度の希釈溶液を作成し、その濃度とピーク曲線下面積を用いて検量線を作成した。各化合物の検量線を以下に示す。

$$\mathbf{28} : y = 3190625.64x + 21542.61 (R^2 = 0.9996)、$$

$$\mathbf{29} : y = 3008546.14x + 12248.85 (R^2 = 0.9999)、$$

$$\mathbf{30} : y = 15460619.12x + 51895.48 (R^2 = 0.9997)、$$

$$\mathbf{31} : y = 8931990.61x - 3937.15 (R^2 = 1.0000)、$$

$$\mathbf{32} : y = 29530737.25x - 213916.84 (R^2 = 0.9998)、$$

$$\mathbf{33} : y = 6179282.19x + 6344.08 (R^2 = 0.9999)、$$

$$\mathbf{35} : y = 13058952.10x + 5191.47 (R^2 = 1.0000)、$$

$$\mathbf{37} : y = 946288.14x + 3529.25 (R^2 = 0.9999)。$$

NMR に用いた各エキスの試料溶液を回収し、凍結乾燥した。そのエキスに 50% MeOH を加え 5 mL にメスアップした。その後、0.2 μm のフィルターを用いてろ過し、HPLC 測定に用いる試料溶液とした。

### 2.1.8 HPLC 条件

分析は島津 HPLC システムを用いて行った：Shimazu HPLC システム (CBM-20A system controller, LC-20AD binary pump, DGA-20A degasser, SIL-20AC auto-sampler, CTO-20AC column oven, SPD-M20A PDA detector)。カラムは YMC Pack Pro C18 column (5 μm, 4.6 mm × 250 mm) を用いた。移動相は、H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid (A, v/v)、Acetonitrile (B, 0.1% formic acid, v/v) の混合溶媒とし、グラジエントは以下を用いた：0 min, 12% B; 4 min, 16% B; 15 min, 23% B; 22 min, 36% B; 30 min, 60% B。カラム温度は 40°C、流速は 1.0 mL/min、注入量は 1 検体あたり 10 μL、検出波長の範囲は 200–600 nm とした。

### 2.1.9 多変量解析

各 NMR データのバケット積分値は市販のソフトウェア (ALICE2 for Metabolom) を用いて取得した。積分範囲は 18.00 から -2 ppm まで、バケット積分の積分幅は 0.02 ppm を設定した。DSS- $d_6$  (0.00 ppm)、 $CD_3OD$  (3.30 と 3.34 ppm)、及び  $H_2O$  (4.84 ppm) に由来するシグナルを除外した。また、二次代謝産物に着目して解析するために、化合物 **26** のシグナル (5.38 ppm、3.90–3.00 ppm) と **27** のシグナル (5.09 ppm, H-1 $\alpha$  と 4.46 ppm, H-1 $\beta$ , 3.90–3.00 ppm) の除外を検討した。得られたバケット積分のデータは、Excel にインポートし、前章において検討した最適な方法である内標準法 (内標準物質 DSS- $d_6$  の積分値を用いて規格化する方法) [22] を使用して規格化された。その後、作成したデータマトリックスを統計解析ソフトウェア (SIMCA-P 14.1) にインポートし、多変量解析を行った。

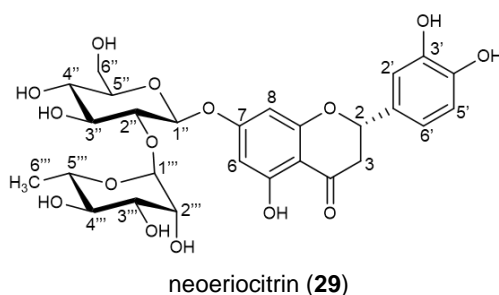
HPLC データについては、定量した化合物 **28–33**、**35**、及び **37** のピーク面積を用いてデータマトリックスを作成した。各化合物のピーク面積は、Z-score 法を用いて規格化された [94, 95]。その後、NMR データと同様に SIMCA-P を用いて多変量解析を行った。

## 2.2 結果と考察

### 2.2.1 骨碎補の主要成分の単離・精製

#### (1) 化合物 **29** の構造解析

化合物 **29** は淡黄色の粉末として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  595.1701 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>O<sub>15</sub> 595.1668、 $\Delta$  + 3.3 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルから分子式 C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>O<sub>15</sub> と推定した。次いで、**29** の <sup>1</sup>H NMR スペクトルの文献値[76]との比較 (Table 2-4) により、本化合物を neoeriocitrin と同定した。

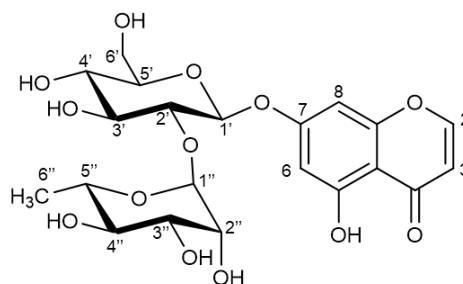


**Table 2-4** NMR spectroscopic data of **29**

Position	neoeriocitrin	
	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 400 MHz[76]
1	-	-
2	5.32 m	5.31 dd (12.4, 3.2)
3	3.11 dd (17.2, 13.0) 2.75 dt (17.2, 3.1)	3.11 dd (17.4, 12.4) 2.75 dd (17.4, 3.2)
4	-	-
5	-	-
6	6.14 d (2.3)	6.14 d (2.3)
7	-	-
8	6.17 d (2.3)	6.17 d (2.3)
9	-	-
10	-	-
1'	-	-
2'	6.91 s	6.91 s
3'	-	-
4'	-	-
5'	6.78 d (2.3)	6.77 m
6'	6.78 d (2.3)	6.75 m
Glucose		
1''	5.10 d (7.6)	5.09 d (7.8)
2''	3.65 m	3.62 dd (7.8, 3.8)
3''	3.57 m	3.58 dd (10.0, 3.8)
4''	3.38 m	3.38 dd (10.0, 9.0)
5''	3.44 m	3.42 dd (9.0, 6.2)
6''	3.87 m	3.85 m
	3.65 m	3.68 m
Rhamnose		
1'''	5.24 dd (4.6, 1.5)	5.23 d (1.8)
2'''	3.92 m	3.92 dd (3.6, 1.8)
3'''	3.57 m	3.58 dd (10.0, 3.6)
4'''	3.38 m	3.38 dd (10.0, 10.0)
5'''	3.87 m	3.88 dq (10.0, 5.9)
6'''	1.28 d (6.1)	1.28 d (6.4)

(2) 化合物 **30** の構造決定

化合物 **30** は淡黄色の粉末として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  485.1297 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>O<sub>13</sub> 485.1301、 $\Delta$  - 0.4 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR スペクトルから分子式 C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub> と推定した。次いで、**30** の <sup>1</sup>H NMR スペクトルの文献値[76]との比較 (Table 2-5) により、本化合物を 5,7-dihydroxychromone 7-O-neohesperidoside と同定した。



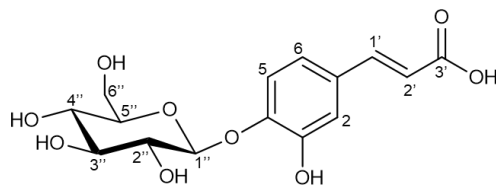
5, 7-dihydroxychromone-7-O-neohesperidoside (**30**)

**Table 2-5** NMR spectroscopic data of **30**

Position	5, 7-dihydroxychromone-7-O-neohesperidoside	
	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 400 MHz[76]
1	-	-
2	8.04 d (6.1)	8.04 d (6.0)
3	6.25 d (6.1)	6.25 d (6.0)
4	-	-
5	-	-
6	6.47 d (2.3)	6.46 d (2.4)
7	-	-
8	6.65 d (2.3)	6.65 d (2.4)
9	-	-
10	-	-
Glucose		
1'	5.17 d (7.6)	5.17 d (7.2)
2'	3.71-3.55	3.67 dd (9.6, 7.2)
3'	3.71-3.55	3.59 t (9.6)
4'	3.38 m	3.40 dd (9.6, 1.2)
5'	3.50 ddd (9.9, 5.4, 2.3)	3.50 dddd (10.0, 5.6, 2.0)
6'	3.87 d (2.3)	3.88 m
	3.71-3.55	3.63 m
Rhamnose		
1''	5.26 d (2.3)	5.26 d (2.0)
2''	3.93 m	3.93 dd (3.2, 2.0)
3''	3.71-3.55	3.58 m
4''	3.38 m	3.36 dd (10.0, 8.0)
5''	3.89 dd (6.1, 3.8)	3.89 m
6''	1.29 d (6.1)	1.30 d (5.6)

### (3) 化合物 **31** の構造決定

化合物 **31** は白色の針状物質として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  341.0868 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>9</sub> 341.0878、 $\Delta$  - 1.0 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR スペクトルから分子式 C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub> と推定した。次いで、**31** の <sup>1</sup>H NMR スペクトルの文献値[76]との比較 (Table 2-6) により、本化合物を caffeic acid-4-O- $\beta$ -D-glucoside と同定した。また、酸加水分解実験 (「実験の部」に記載されている) により **31** の糖部を D-glucose と決定した。



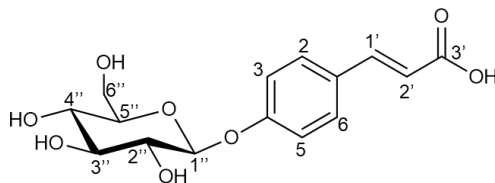
caffeic acid-4-O- $\beta$ -D-glucoside (**4**)

**Table 2-6** NMR spectroscopic data of **31**

Position	caffeic acid-4-O- $\beta$ -D-glucoside	
	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 400 MHz[76]
1	-	-
2	7.09 d (2.3)	7.07 d (1.8)
3	-	-
4	-	-
5	7.19 d (8.4)	7.18 d (8.0)
6	7.03 dd (8.4, 2.3)	7.01 dd (8.0, 1.8)
1'	7.54 d (16.0)	7.46 d (16.0)
2'	6.31 d (16.0)	6.32 d (16.0)
3'	-	-
Glucose		
1''	overlap	4.83 d (7.2)
2''	3.54-3.37	3.50 t (7.2)
3''	3.54-3.37	3.47 t (7.2)
4''	3.54-3.37	3.40 t (8.0)
5''	3.54-3.37	3.45 m
6''	3.90 dd (12.2, 2.3)	3.90 dd (12.0, 2.2)
	3.71 dd (12.2, 5.4)	3.71 dd (12.0, 2.2)

(4) 化合物 **33** の構造決定

化合物 **33** は白色の針状物質として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  325.0934 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>8</sub> 325.0929、 $\Delta$  + 0.5 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルから分子式 C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> と推定した。次いで、**33** の <sup>1</sup>H NMR 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルの文献値[88, 89]との比較 (Table 2-7) により、本化合物を *p*-coumaric acid 4-*O*- $\beta$ -D-glucoside と同定した。



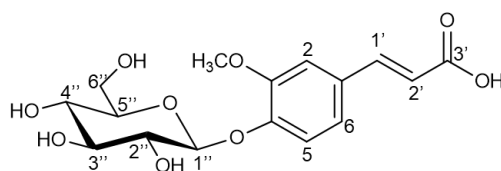
*p*-coumaric acid 4-*O*-glucoside (**33**)

**Table 2-7** NMR spectroscopic data of **33**

Position	<i>p</i> -coumaric acid 4- <i>O</i> -glucoside			
	compound		reference data	
	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_C$ in DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> 125 MHz	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 400 MHz[88]	$\delta_C$ in DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> 125 MHz[89]
1	-	128.0	-	128.4
2	7.54 d (8.4)	129.7	7.55 d (8.5)	131.7
3	7.11 d (9.2)	116.5	7.12 d (8.5)	118.7
4	-	158.9	-	157.9
5	7.11 d (9.2)	116.5	7.12 d (8.5)	118.7
6	7.54 d (8.4)	129.7	7.55 d (8.5)	131.7
1'	6.36 d (16.0)	117.3	6.36 d (16.0)	116.6
2'	7.59 d (16.0)	143.4	7.62 d (16.0)	142.7
3'	-	167.9	-	167.5
<b>Glucose</b>				
1''	4.96 d (7.6)	100.0	4.96 d (7.5)	100.0
2''	3.50-3.35	73.2	3.70 dd (7.5, 7.0)	73.2
3''	3.50-3.35	77.1		77.0
4''	3.50-3.35	69.7	3.40 dd (9.0, 7.0)	69.7
5''	3.50-3.35	76.6	3.46 ddd (9.0, 5.2, 2.1)	76.6
6''	3.89 dd (12.2, 2.3) 3.69 dd (12.2, 6.1)	60.7	3.90 dd (12.1, 2.1)	60.6

(5) 化合物 **34** の構造決定

化合物 **34** は白色の非晶質物質として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  355.1033 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>O<sub>9</sub> 355.1029、 $\Delta$  + 0.4 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルから分子式 C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub> と推定した。次いで、**34** の <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルの文献値[90]との比較 (Table 2-8) により、本化合物を ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside と同定した。



ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**34**)

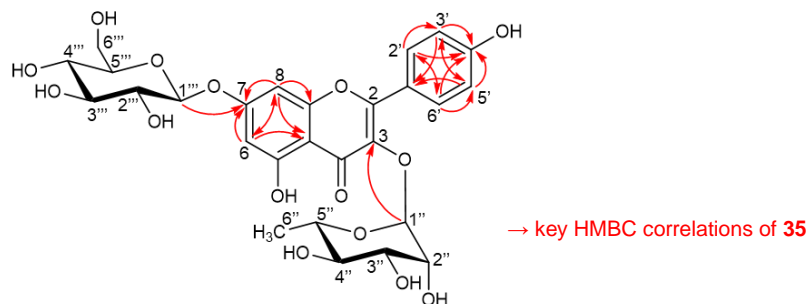
**Table 2-8** NMR spectroscopic data of **34**

Position	ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside			
	compound		reference data	
	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_C$ in CD <sub>3</sub> OD 125 MHz	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 250 MHz[90]	$\delta_C$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz[90]
1	-	130.7	-	131.1
2	7.24 d (1.5)	112.4	7.24 d (1.7)	112.2
3	-	151.0	-	151.1
4	-	150.0	-	149.7
5	7.17 d (8.4)	117.4	7.17 d (8.4)	117.6
6	7.14 dd (8.4, 1.5)	123.4	7.14 dd (8.4, 1.7)	123.2
1'	7.60 d (16.0)	146.0	7.56 d (15.9)	145.0
2'	6.38 d (16.0)	117.9	6.40 d (15.9)	119.5
3'	-	170.7	-	171.6
OCH <sub>3</sub>	3.89 s	56.8	3.90 s	56.7
<b>Glucose</b>				
1''	4.96 d (7.6)	102.2	4.96 d (7.5)	102.4
2''	3.50-3.35	74.8	3.50 t	74.8
3''	3.50-3.35	77.8	3.40-3.53	77.9
4''	3.50-3.35	71.3	3.40-3.53	71.2
5''	3.50-3.35	78.3	3.40-3.53	78.2
6''	3.88 dd (12.2, 2.3)	62.5	3.87 dd (12.1, 2.0)	62.4
	3.69 dd (12.2, 5.4)		3.70 dd (12.1, 5.5)	



(6) 化合物 **35** の構造決定

化合物 **35** は黄色の粉末として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  593.1514 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>O<sub>15</sub> 593.1512、 $\Delta$  + 0.2 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルから分子式 C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub> と推定した。次いで、**35** の <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルの文献値[91]との比較 (Table 2-9) により、アグリコンの部を kaempferol と同定した。HMBC の結果により、H-1''は C-3 と、H-1'''は C-7 と相関があり、glucose 及び rhamnose の位置は、それぞれ 7 位、3 位であることを確認した。以上より、本化合物を kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside と同定した。



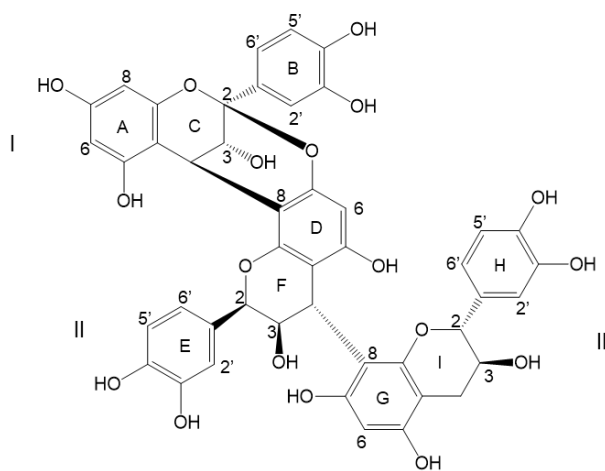
kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside (**35**)

**Table 2-9** NMR spectroscopic data of **35**

Position	kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside			reference data	
	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_C$ in CD <sub>3</sub> OD 125 MHz	HMBC (H→C)	$\delta_H$ in CD <sub>3</sub> OD 400 MHz[91]	$\delta_C$ in CD <sub>3</sub> OD 100 MHz[91]
1	-	-	-	-	-
2	-	160.0	-	-	159.7
3	-	136.4	-	-	136.4
4	-	179.8	-	-	179.7
5	-	162.9	-	-	162.7
6	6.49 d (2.1)	100.8	C-7, 8, 10	6.47 d (2.0)	100.8
7	-	164.7	-	-	164.6
8	6.76 d (2.1)	95.7	C-6, 7, 9, 10	6.72 d (2.0)	95.7
9	-	158.1	-	-	158.0
10	-	107.7	-	-	107.6
1'	-	122.1	-	-	122.3
2'	7.80 d (9.2)	132.0	C-3', 4', 6'	7.78 d (8.0)	132.0
3'	6.93 d (9.2)	116.7	C-1', 4', 5'	6.94 d (8.0)	116.5
4'	-	162.3	-	-	161.7
5'	6.93 d (9.2)	116.7	C-1', 3', 4'	6.94 d (8.0)	116.5
6'	7.80 d (9.2)	132.0	C-2', 4', 5'	7.78 d (8.0)	132.0
<b>Rhamnose</b>					
1''	5.39 d (1.5)	103.5	C-3	5.39 s	103.4
2''	4.21 m	71.3	-	4.23 br s	71.2
3''	3.56-3.31	72.1	-	3.94 m	72.1
4''	3.56-3.31	73.2	-	3.45 m	73.1
5''	3.56-3.31	71.9	-	3.50 m	71.8
6''	0.92 d (5.5)	17.7	-	0.92 d (6.2)	17.6
<b>Glucose</b>					
1'''	5.04 d (7.6)	100.9	C-7	5.06 d (7.2)	101.5
2'''	3.56-3.31	74.7	-	3.42 m	75.1
3'''	3.56-3.31	77.8	-	3.40 m	78.0
4'''	3.56-3.31	72.1	-	3.31 m	72.1
5'''	3.56-3.31	78.4	-	3.19 m	78.3
6'''	3.92 dd (11.5, 2.3) 3.70 m	62.5	-	3.51 m	62.4

(7) 化合物 **36** の構造決定

化合物 **36** は茶色の粉末として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  863.1802 [M-H]<sup>-</sup> (calcd for C<sub>45</sub>H<sub>35</sub>O<sub>18</sub> 863.1823、 $\Delta$  - 2.1 mmu) に分子イオンピークが観察され、<sup>1</sup>H NMR 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルから分子式 C<sub>45</sub>H<sub>36</sub>O<sub>18</sub> と推定した。次いで、**36** の <sup>1</sup>H 及び <sup>13</sup>C NMR スペクトルの文献値[92, 93]との比較 (Table 2-10) により、本化合物を cinnamtannin D-1 と同定した。



cinnamtannin D-1 (**36**)

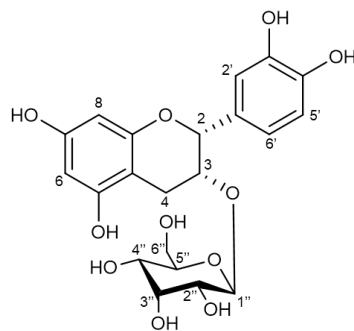
**Table 2-10** NMR spectroscopic data of **36**

Position		cinnamtannin D-1				
		compound		reference data		
		$\delta_{\text{H}}$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_{\text{C}}$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_{\text{H}}$ in CD <sub>3</sub> OD 400 MHz[92]	$\delta_{\text{H}}$ in CD <sub>3</sub> OD 600 MHz[93]	$\delta_{\text{C}}$ in CD <sub>3</sub> OD 600 MHz[93]
<b>Unit I</b>						
C	2	-	100.0	-	-	100.0
	3	3.45 d (3.1)	67.2	3.47 d (3.5)	3.45 d (3.5)	67.2
	4	3.99 d (3.1)	28.8	4.00 d (3.5)	4.00 d (3.5)	28.8
A	5	-	156.6	-	-	156.6
	6	5.93 d (2.3)	98.3	5.94 d (2.3)	5.93 d (2.2)	98.3
	7	-	157.8	-	-	157.8
	8	6.00 d (2.3)	96.5	6.01 d (2.3)	6.00 d (2.2)	96.5
	9	-	154.2	-	-	154.2
	10	-	105.0	-	-	105.0
B	1'	-	132.4	-	-	132.5
	2'	7.08 dd (6.8, 2.3)	115.8	7.09 d (2.1)	7.08 d (1.9)	115.8
	3'	-	145.5	-	-	145.5
	4'	-	146.6	-	-	146.7
	5'	6.84 dd (8.4, 3.1)	115.7	6.85 d (8.3)	6.85 d (8.2)	115.7
	6'	6.94 dd (8.4, 2.3)	120.0	6.94 dd (8.3, 2.1)	6.94 dd (8.2, 1.9)	120.0
<b>Unit II</b>						
F	2	5.50 br s	78.6	5.51 brs	5.50 brs	78.7
	3	4.05 s	72.4	4.06 brm	4.04 brm	72.5
	4	4.52 s	38.3	4.53 brs	4.52 brs	38.3
D	5	-	156.0	-	-	155.9
	6	5.83 s	96.0	5.84 s	5.83 s	96.0
	7	-	151.0	-	-	151.1
	8	-	106.2	-	-	106.2
	9	-	151.7	-	-	151.8
	10	-	106.5	-	-	106.5
E	1'	-	131.5	-	-	131.5
	2'	7.22 d (1.5)	116.5	7.23 d (2.0)	7.23 d (1.7)	116.5
	3'	-	146.0	-	-	146.0
	4'	-	146.3	-	-	146.3
	5'	6.84 dd (8.4, 3.1)	116.2	6.84 d (8.1)	7.08 d (8.3)*	116.2
	6'	7.07 dd (6.1, 1.5)	121.0	7.08 dd (8.1, 2.0)	7.08 dd (8.3, 1.7)	121.1
<b>Unit III</b>						
I	2	3.94 d (9.2)	83.3	3.95 d (9.1)	3.94 d (9.2)	83.3
	3	3.66 m	70.1	3.68 ddd (10.1, 9.1, 6.1)	3.66 ddd (10.1, 9.2, 6.0)	70.1
	4	3.04 dd (16.0, 6.1) 2.41 dd (16.0, 10.7)	30.7	3.05 dd (16.1, 6.1) 2.43 dd (16.1, 10.1)	3.04 dd (16.2, 6.0) 2.41 dd (16.2, 10.1)	30.7
G	5	-	155.4	-	-	155.4
	6	6.09 s	96.5	6.10 s	6.09 s	96.5
	7	-	155.8	-	-	155.6
	8	-	108.8	-	-	108.8
	9	-	155.6	-	-	155.5
	10	-	101.7	-	-	100.1
H	1'	-	132.7	-	-	132.7
	2'	6.74 d (2.3)	115.8	6.75 d (1.9)	6.74 d (1.6)	115.8
	3'	-	146.0	-	-	146.0
	4'	-	145.8	-	-	145.9
	5'	6.75 d (8.4)	116.2	6.76 d (8.1)	6.75 d (8.1)	116.2
	6'	6.65 dd (8.4, 1.5)	120.0	6.66 dd (8.1, 1.9)	6.66 dd (8.2, 1.6)	120.0

\*, The chemical shift value was considered incorrect.

(8) 化合物 **37** の構造決定

化合物 **37** は無色の針状物質として得られた。HRESIMS スペクトルにおいて  $m/z$  451.1252  $[M-H]^-$  (calcd for  $C_{21}H_{23}O_{11}$  451.1246、 $\Delta + 0.6$  mmu) に分子イオンピークが観察され、 $^1H$  NMR スペクトルから分子式  $C_{21}H_{24}O_{11}$  と推定した。次いで、**37** の  $^1H$  NMR スペクトルの文献値[79]との比較 (Table 2-11) により、本化合物を(-)-epicatechin 3-O- $\beta$ -D-allopyranoside と同定した。



(-)-epicatechin-3-O- $\beta$ -D-allopyranoside (**37**)

**Table 2-11** NMR spectroscopic data of **37**

Position	(-)-epicatechin-3-O- $\beta$ -D-allopyranoside	
	$\delta_H$ in DMSO- $d_6$ 500MHz	$\delta_H$ in DMSO- $d_6$ 400MHz[79]
1	-	-
2	5.13 d (3.1)	5.13 d (2.4)
3	4.21 m	4.21 m
4	2.68 dd (16.0, 5.4) 2.32 dd (16.0, 7.6)	2.68 dd (16.4, 4.4) 2.32 dd (16.4, 7.2)
5	-	-
6	5.87 d (2.3)	5.87 d (2.0)
7	-	-
8	5.73 d (2.3)	5.73 d (2.4)
9	-	-
10	-	-
1'	-	-
2'	6.86 d (2.3)	6.86 d (2.0)
3'	-	-
4'	-	-
5'	6.59 d (8.4)	6.59 d (8.4)
6'	6.67 dd (8.4, 1.5)	6.67 m
allose		
1''	4.57 d (8.4)	4.57 d (7.6)
2''	3.83-3.06	3.79-3.09 m
3''	3.83-3.06	3.79-3.09 m
4''	3.83-3.06	3.79-3.09 m
5''	3.83-3.06	3.79-3.09 m
6''	3.83-3.06	3.79-3.09 m

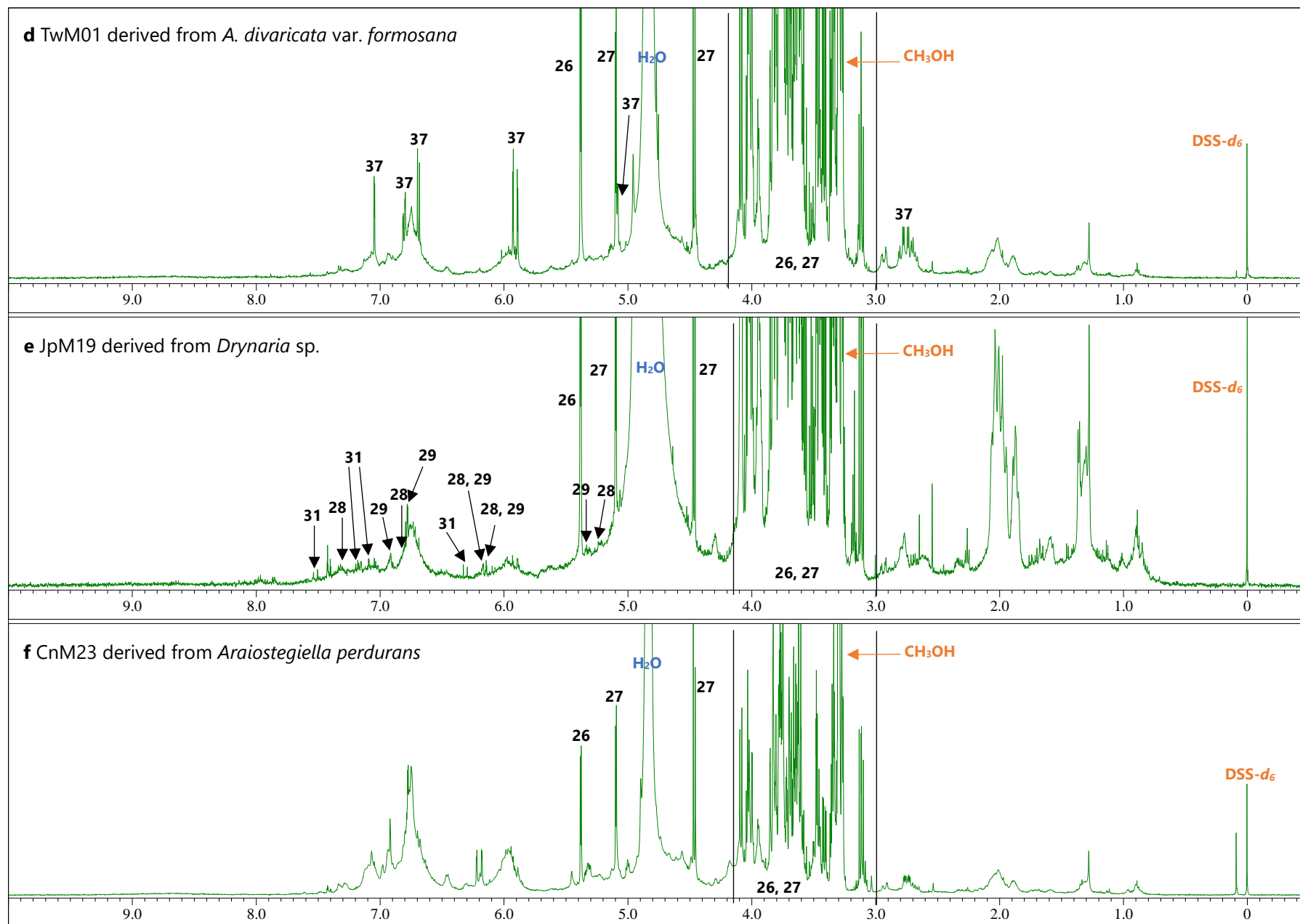
## 2.2.2 骨碎補の成分プロファイリング

標準化合物と各検体の 50% MeOH エキスの  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを比較して成分同定を行った。各検体の 50% MeOH エキスの NMR スペクトルを Fig. S4-1–S4-43 に示す。また、各エキスにおいて検出された化合物及びケミカルシフト値を Table S2-1、各種類の骨碎補の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを Fig. 2-2 にそれぞれ示す。

NMR スペクトルにおいて、フラボノイド類のシグナルは低磁場側 (8.5–5.0 ppm) に観察され、一次代謝産物のシグナルは中磁場側 (5.0–3.0 ppm) に観察された。*D. roosii* を基原とする骨碎補のスペクトルにおいては、化合物 **28**、**29**、**30**、**31**、**32**、**33**、**35**、**26**、及び **27** が検出された。化合物 **31** は CnM04、CnM10、CnM11、JpM19 のみに、化合物 **32** は CnM09、CnM15、JpM01、JpM02 のみに、化合物 **33** は CnM04、CnM06 のみに検出された。以上の結果を Table S2-1 に示す。骨碎補の修治品については、未修治品と成分が類似するものと成分パターンが異なるものがあった。そのうち、Type I (CnM04、CnM06、CnM10、CnM11、CnM12、CnM22) の検体においては、化合物 **28**、**29**、**30**、**31**、**32**、**33**、**35**、**26**、**27** のシグナルが検出され、未修治品と同様のスペクトルを示した。化合物 **28–31** は未修治品と成分パターンが異なる Type II (CnM09、CnM13、CnM15、CnM18) の検体においては検出されなかった (Table S2-1、Fig. 2-2 a–c)。化合物 **38** は加熱処理などにより、メイラード反応で生成する糖の分解産物であり [96]、CnM06 と CnM12 を除いた修治品から検出された。化合物 **38** は、HPLC を用いた解析により、*D. roosii* を基原とする修治品と未修治品の区別に寄与する特徴的な成分であることが報告されている [81]。一方、**38** は、高濃度の場合、抗酸化活性と細胞毒性をもつことが報告されている [97, 98]。各成分は、熱加工の時間の違いによって変動することが容易に推測され、長時間の加熱により **38** の含有量が増加すると考えられた。

化合物 **37** は、*A. divaricata* var. *formosana* を基原とする骨碎補に検出された (Table S2-1、Fig. 2-2 d)。*D. roosii* と *A. divaricata* var. *formosana* を基原とする骨碎補の混合物である JpM01 には、*D. roosii* の成分は検出されなかったが、*A. divaricata* var. *formosana* に特徴的な **37** が検出された。その原因は、混合物中の *D. roosii* を基原とする骨碎補の割合が低かったことに起因すると推測された。また、日本市場品の *Drynaria* sp. に由来する JpM17、JpM18、及び JpM19 からは、**28**、**29**、**31**、**26**、及び **27** が検出された (Table S2-1、Fig. 2-2 e)。*Araiostegiella perdurans* を基原とする骨碎補からは、**26** と **27** が検出されたが、そのほかの成分は検出されなかった (Table S2-1、Fig. 2-2 f)。





**Fig. 2-2** Representative  $^1\text{H}$  NMR spectra of Drynariae Rhizoma samples. (a) CnM05 derived from *D. roosii*; (b) CnM10 derived from stir-fried rhizome of *D. roosii* (Type I); (c) CnM09 derived from stir-fried rhizome of *D. roosii* (Type II); (d) TwM01 derived from *A. divaricata* var. *formosana*; (e) JpM19 derived from *Drynaria* sp.; and (f) CnM23 derived from *Araiostegiella perdurans*.

## 2.2.3 qHNMR と HPLC 法を用いた骨碎補の主要成分の定量

### (1) qHNMR 法を用いた骨碎補の主要成分の定量

各種類の骨碎補の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルにおいて、化合物 **26** ( $\delta_{\text{H}}$  5.38 ppm, H-1) と **27** ( $\delta_{\text{H}}$  5.09 ppm of  $\alpha$ -form, H-1、 $\delta_{\text{H}}$  4.46 ppm of  $\beta$ -form, H-1) のアノメリックプロトンに由来するシグナルが明確に観察された (Fig. 2-2)。そこで、これらのシグナルを用いて化合物 **26** と **27** を定量した。その結果を Table 2-12 と Fig. 2-3 a に示す。検討を行った検体の中で、*D. roosii* に由来する植物材料が最も高いエキス含量 (49–355 mg/g) と **26** の含量 (111.61–163.67 mg/g) を示した。*D. roosii* に由来する生薬材料と修治品の Type I のエキス含量 (50–243 mg/g) と **26** (0–85.33 mg/g) の含量は、明らかに変動することが観察された。一方、修治品の Type II はやや高い値のエキス含量 (276–316 mg/g) と **26** (39.56–81.66 mg/g) の含量を示した。

二次代謝産物の **28** と **29** は *D. roosii* に由来する生薬や植物材料において検出された。NMR スペクトルの低磁場側 (8.5–5.0 ppm) や高磁場側 (3.0–0 ppm) においては、化合物 **28** と **29** に由来するシグナルはほとんど重なっており、**28** の  $\delta_{\text{H}}$  7.31 ppm (H-2', 6') と **29** の  $\delta_{\text{H}}$  6.91 ppm (H-2') のみが良好な分離を示した (Fig. 2-2 a と b)。そこで、この  $\delta_{\text{H}}$  7.31 ppm (H-2', 6') と  $\delta_{\text{H}}$  6.91 ppm (H-2') のシグナルを用いて **28** と **29** をそれぞれ定量した。結果を Table 2-12 と Fig. 2-3 b に示す。植物材料の CnP02 に含まれる **28** の含量は最高値を示し、いくつかの生薬検体 (CnM01、CnM05、CnM19、JpM03、JpM06、及び JpM09) に含まれる **28** は、植物材料と同程度の含量を示した。本研究で用いた生薬材料の栽培に関する情報はないが、Sun らは、栽培品が **28** と **29** を野生品と同程度に蓄積するためには、8 年以上の栽培が必要であると報告している[99]。また、CnM05、CnM14、CnM19、CnM24、JpM05、JpM08、JpM10、及び CnP03 は、**29** を **28** と同等またはそれ以上含んでいた。Sun らも、8 年以上栽培された骨碎補では、栽培期間中に **29** の蓄積含量が徐々に増加し、**28** よりも高い含有量になることを報告している[99]。このことから、生薬材料に含まれる **28** (1.16–10.29mg/g) と **29** (0.89–7.75mg/g) の含量は栽培期間や産地によって影響を受けると推測された。Type I の修治品 (CnM04、CnM06、CnM10、CnM11、CnM12、CnM22) に含まれる **28** (1.13–4.08 mg/g) と **29** (0.91–6.06 mg/g) は含量が低く、Type II の修治品 (CnM09、CnM13、CnM15、CnM18) においては **28** と **29** は検出されなかった。Hu らは、修治 (砂炒り) 後の骨碎補においては **28** と **29** の含量が増加することを報告しているが[81]、その報告は今回の定量結果と一致しなかった。今回の結果から、過度の加熱処理により成分が減少する可能性が示唆された。*Drynaria* 属 (*Drynaria* sp.) 植物に由来する骨碎補 (JpM17、JpM18、JpM19) については、**28** に由来するシグナルの強度が低いため定量できなかったが、**29** は定量できた。化合物 **29** の含量は、ほかの *D. roosii* を基原とする骨碎補より低く、*Drynaria* 属植物に由来する骨碎補は *D. roosii* を基原とする骨碎補の代替品にはなり得ないこ



とが示唆された。化合物 **28** から代謝された naringenin や naringenin glucuronide は、5XFAD マウスの A $\beta$  による変性軸索を再伸長させること[75]、及び **29** は MC3T3-E1 細胞における骨形成分化に対して **28** よりも優れた活性を示すことが報告されている[69]。したがって、*D. roosii* に由来する骨碎補の評価には、これらの 2 つの化合物を同時に定量することが必要であると考えられた。また、**28** と **29** の含量の変動と、栽培期間、収穫時期、産地、栽培状況との関係を調べ、含量の安定化を図ることも必要と考えられた。

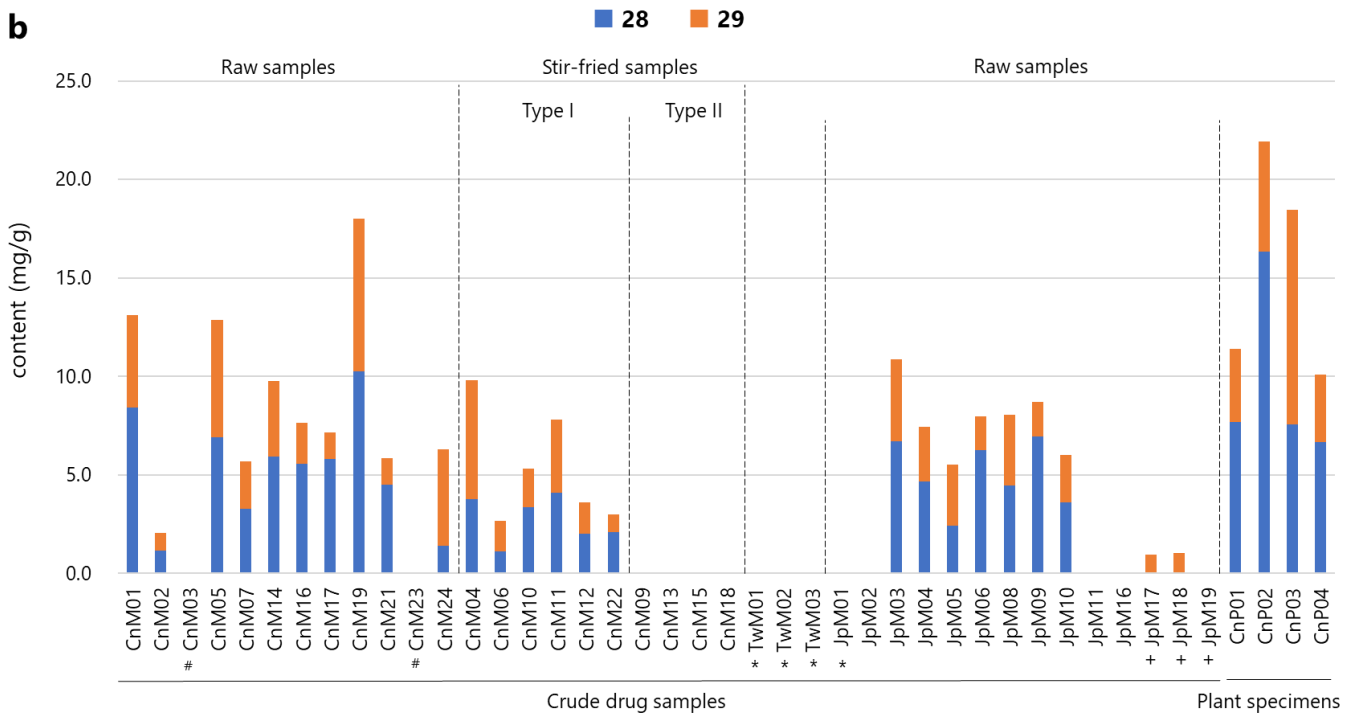
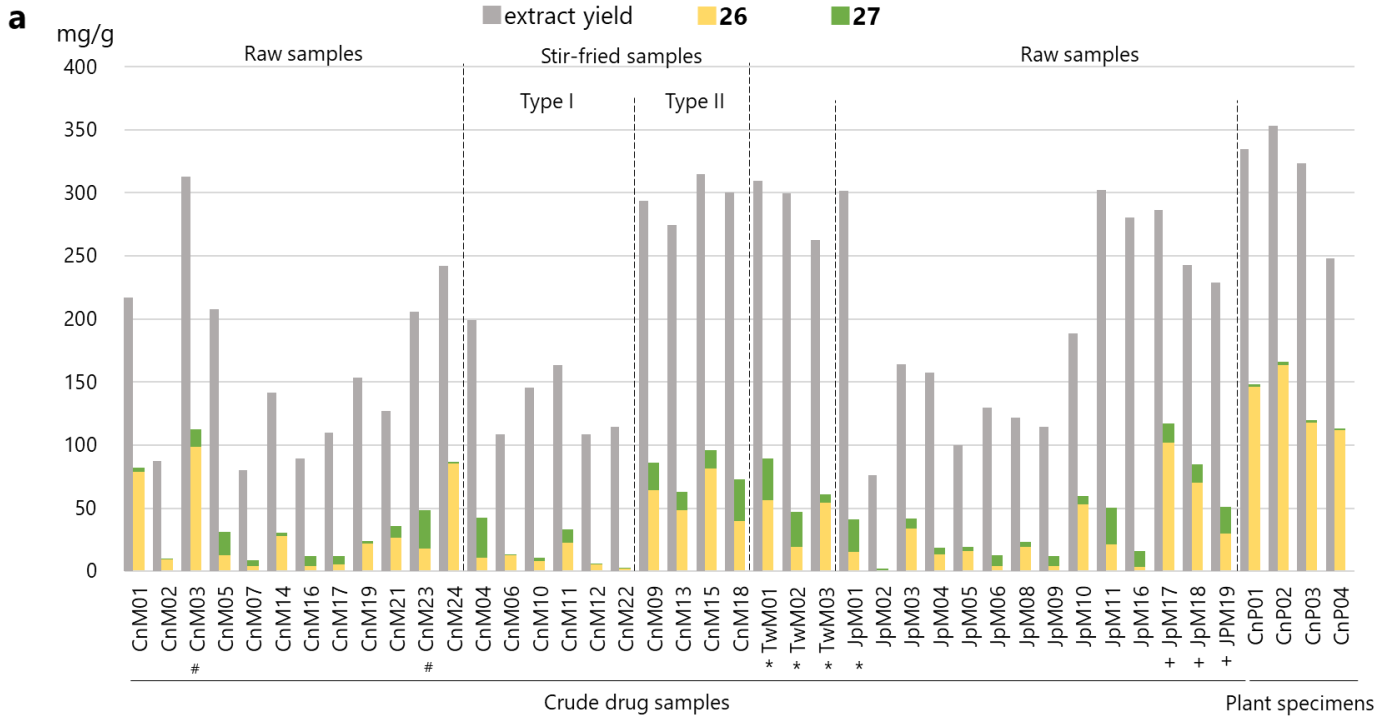
**Table 2-12** Extract yields and contents of identified compounds in crude drug samples and plant specimens

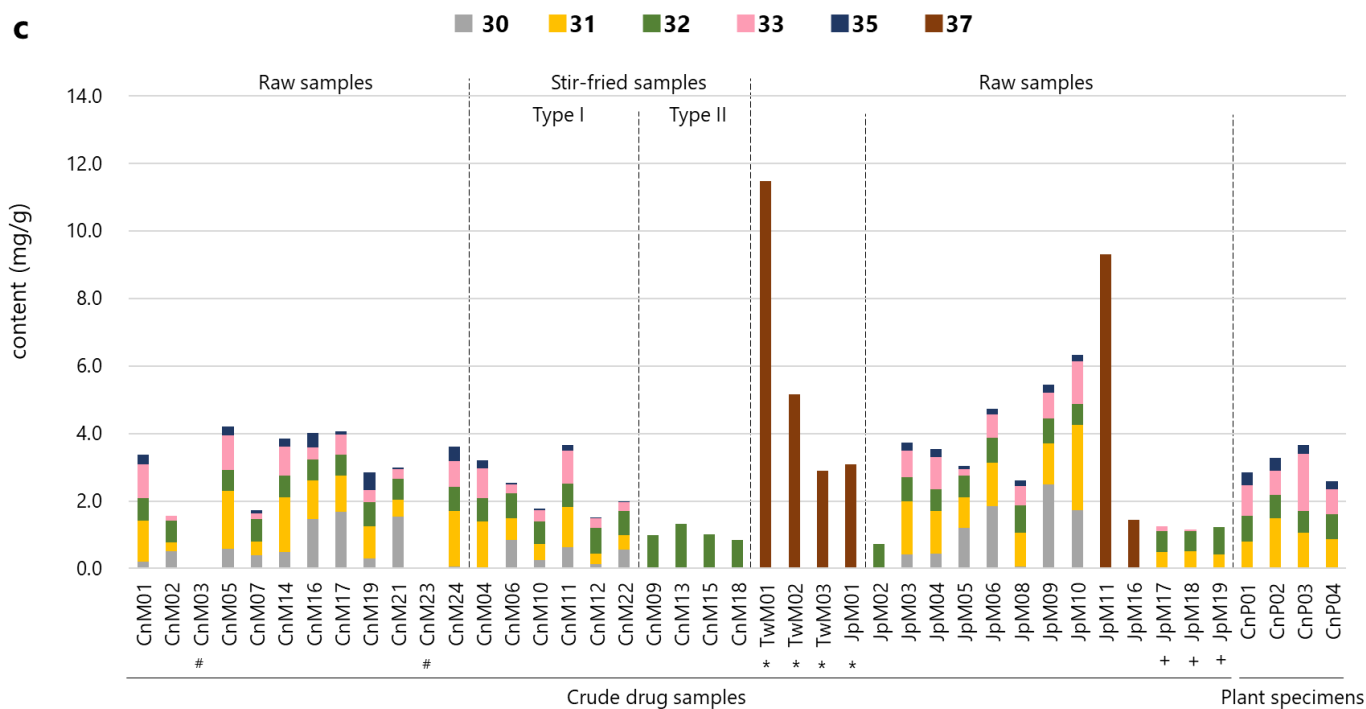
	Code no.	Extract yield (mg/g)	26 (mg/g)		27 (mg/g)		28 (mg/g)		29 (mg/g)	
			qHNMR	HPLC	qHNMR	HPLC	qHNMR	HPLC	qHNMR	HPLC
Crude drug samples	CnM01	218 ± 27	78.48 ± 4.67	3.42 ± 0.37	8.42 ± 1.05	8.83 ± 0.89	4.67 ± 0.85	4.73 ± 0.68		
	CnM02	88 ± 2	9.10 ± 0.23	0.83 ± 0.02	1.16 ± 0.15	0.93 ± 0.08	0.89 ± 0.06	0.74 ± 0.05		
	CnM03	314 ± 8	98.81 ± 2.29	13.79 ± 0.24	-	-	-	-		
	CnM04	200 ± 4	10.91 ± 0.29	31.20 ± 1.03	3.76 ± 0.15	3.75 ± 0.01	6.06 ± 0.60	5.41 ± 0.11		
	CnM05	208 ± 13	12.50 ± 0.88	18.60 ± 1.60	6.92 ± 1.01	8.24 ± 0.65	5.93 ± 0.71	5.45 ± 0.52		
	CnM06	109 ± 6	12.49 ± 0.53	0.57 ± 0.08	1.13 ± 0.19	0.81 ± 0.10	1.53 ± 0.17	1.42 ± 0.12		
	CnM07	80 ± 3	3.85 ± 0.24	4.59 ± 0.36	3.27 ± 0.22	3.16 ± 0.11	2.43 ± 0.16	1.96 ± 0.18		
	CnM09	295 ± 4	64.49 ± 1.86	21.31 ± 1.77	ND	ND	ND	ND		
	CnM10	146 ± 1	8.14 ± 1.39	2.32 ± 0.37	3.35 ± 0.30	3.21 ± 0.56	1.98 ± 0.10	2.02 ± 0.40		
	CnM11	164 ± 7	22.53 ± 1.45	10.61 ± 1.11	4.08 ± 0.48	3.85 ± 0.48	3.73 ± 0.15	3.98 ± 0.08		
	CnM12	109 ± 4	5.19 ± 1.45	0.72 ± 0.15	2.00 ± 0.21	1.82 ± 0.33	1.59 ± 0.35	1.15 ± 0.19		
	CnM13	276 ± 2	48.23 ± 0.84	14.45 ± 0.78	ND	ND	ND	ND		
	CnM14	142 ± 15	27.80 ± 4.59	2.56 ± 0.26	5.93 ± 0.79	5.81 ± 0.89	3.83 ± 0.51	4.71 ± 0.41		
	CnM15	316 ± 12	81.66 ± 2.61	14.39 ± 0.60	ND	ND	ND	ND		
	CnM16	90 ± 1	4.38 ± 0.50	7.49 ± 0.55	5.57 ± 0.89	4.83 ± 0.25	2.07 ± 0.40	2.32 ± 0.34		
	CnM17	110 ± 20	5.28 ± 0.38	6.73 ± 0.11	5.79 ± 1.04	5.21 ± 0.72	1.35 ± 0.52	1.03 ± 0.15		
	CnM18	302 ± 11	39.56 ± 0.82	33.14 ± 0.82	ND	ND	ND	ND		
	CnM19	154 ± 4	21.73 ± 2.47	2.46 ± 0.07	10.29 ± 1.77	9.86 ± 0.22	7.75 ± 1.95	7.59 ± 0.42		
	CnM21	128 ± 6	26.50 ± 1.85	9.19 ± 0.36	4.48 ± 0.33	4.70 ± 0.15	1.36 ± 0.07	1.42 ± 0.15		
	CnM22	115 ± 2	1.81 ± 0.38	0.66 ± 0.12	2.10 ± 0.36	1.75 ± 0.24	0.91 ± 0.17	0.74 ± 0.16		
	CnM23	206 ± 26	17.85 ± 1.28	30.81 ± 1.01	-	-	-	-		
	CnM24	243 ± 9	85.33 ± 8.44	1.63 ± 0.02	1.39 ± 0.15	1.05 ± 0.19	4.91 ± 0.55	4.35 ± 0.54		
	TwM01	311 ± 14	56.02 ± 1.59	33.36 ± 1.71	-	-	-	-		
	TwM02	301 ± 68	19.29 ± 0.96	27.95 ± 1.02	-	-	-	-		
TwM03	264 ± 13	54.04 ± 1.16	6.95 ± 0.38	-	-	-	-			
JpM01	303 ± 4	15.10 ± 0.56	25.84 ± 2.14	ND	ND	ND	ND			
JpM02	76 ± 3	1.08 ± 0.05	1.29 ± 0.08	ND	ND	ND	ND			
JpM03	165 ± 14	33.73 ± 0.19	7.87 ± 0.26	6.72 ± 0.24	6.76 ± 0.13	4.16 ± 0.14	4.35 ± 0.33			
JpM04	158 ± 10	13.45 ± 2.05	5.42 ± 0.39	4.66 ± 0.58	5.00 ± 0.67	2.78 ± 0.29	2.63 ± 0.33			
JpM05	100 ± 4	15.74 ± 0.85	3.51 ± 0.11	2.42 ± 0.18	2.73 ± 0.22	3.10 ± 0.22	3.48 ± 0.29			
JpM06	130 ± 8	4.20 ± 0.31	8.66 ± 0.45	6.24 ± 0.82	7.13 ± 0.42	1.71 ± 0.17	2.00 ± 0.42			
JpM08	122 ± 1	19.28 ± 1.02	3.78 ± 0.02	4.46 ± 0.20	4.58 ± 0.31	3.60 ± 0.09	3.79 ± 0.29			
JpM09	115 ± 5	3.80 ± 0.19	8.45 ± 0.01	6.95 ± 0.32	7.87 ± 0.05	1.76 ± 0.14	1.80 ± 0.07			
JpM10	189 ± 3	52.96 ± 2.23	6.79 ± 0.18	3.61 ± 0.27	4.33 ± 0.30	2.41 ± 0.05	2.83 ± 0.05			
JpM11	304 ± 7	21.08 ± 0.23	29.45 ± 0.32	-	-	-	-			
JpM16	282 ± 14	3.72 ± 0.41	12.21 ± 0.72	-	-	-	-			
JpM17	288 ± 3	101.71 ± 1.24	15.42 ± 0.54	Trace	0.05 ± 0.04	0.94 ± 0.05	0.79 ± 0.03			
JpM18	244 ± 23	70.35 ± 5.99	14.50 ± 1.30	Trace	Trace	1.05 ± 0.20	0.95 ± 0.13			
JpM19	130 ± 2	29.73 ± 1.95	21.15 ± 1.28	Trace	Trace	Trace	0.54 ± 0.06			
Plant specimens	CnP01	336 ± 3	146.01 ± 7.46	2.46 ± 0.21	7.69 ± 0.51	8.16 ± 0.53	3.70 ± 0.20	3.94 ± 0.14		
	CnP02	355 ± 2	163.67 ± 10.68	2.10 ± 0.29	16.32 ± 1.63	17.53 ± 1.70	5.59 ± 0.59	5.91 ± 0.42		
	CnP03	325 ± 51	118.02 ± 4.15	2.00 ± 0.13	7.56 ± 0.58	7.42 ± 0.30	10.88 ± 0.96	10.96 ± 0.31		
	CnP04	249 ± 28	111.61 ± 3.12	1.43 ± 0.22	6.68 ± 0.62	6.73 ± 0.37	3.40 ± 0.26	2.98 ± 0.12		

**Table 2-12 (Continued)**

	Code no.	30 (mg/g)	31 (mg/g)	32 (mg/g)	33 (mg/g)	35 (mg/g)	37 (mg/g)
		HPLC	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC
Crude drug samples	CnM01	0.21 ± 0.05	1.21 ± 0.10	0.66 ± 0.03	1.00 ± 0.11	0.30 ± 0.07	-
	CnM02	0.51 ± 0.04	0.27 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.08 ± 0.01	-
	CnM03	-	-	-	-	-	-
	CnM04	0.01 ± 0.004	1.39 ± 0.02	0.68 ± 0.002	0.89 ± 0.03	0.23 ± 0.001	-
	CnM05	0.58 ± 0.05	1.72 ± 0.16	0.62 ± 0.004	1.02 ± 0.10	0.26 ± 0.02	-
	CnM06	0.84 ± 0.09	0.65 ± 0.03	0.74 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.04 ± 0.005	-
	CnM07	0.40 ± 0.02	0.40 ± 0.03	0.67 ± 0.003	0.17 ± 0.01	0.08 ± 0.01	-
	CnM09	ND	ND	0.99 ± 0.02	ND	ND	-
	CnM10	0.24 ± 0.05	0.49 ± 0.06	0.67 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.05 ± 0.01	-
	CnM11	0.64 ± 0.07	1.18 ± 0.08	0.70 ± 0.003	0.97 ± 0.01	0.16 ± 0.01	-
	CnM12	0.12 ± 0.06	0.32 ± 0.04	0.76 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.01 ± 0.004	-
	CnM13	ND	ND	1.32 ± 0.06	ND	ND	-
	CnM14	0.49 ± 0.02	1.62 ± 0.25	0.63 ± 0.01	0.84 ± 0.10	0.25 ± 0.05	-
	CnM15	ND	ND	1.01 ± 0.03	ND	ND	-
	CnM16	1.46 ± 0.08	1.15 ± 0.12	0.61 ± 0.004	0.36 ± 0.05	0.43 ± 0.004	-
	CnM17	1.67 ± 0.22	1.08 ± 0.13	0.62 ± 0.004	0.59 ± 0.14	0.10 ± 0.02	-
	CnM18	ND	ND	0.84 ± 0.01	ND	ND	-
	CnM19	0.29 ± 0.12	0.95 ± 0.15	0.72 ± 0.01	0.36 ± 0.05	0.52 ± 0.02	-
	CnM21	1.53 ± 0.13	0.50 ± 0.03	0.62 ± 0.003	0.30 ± 0.03	0.04 ± 0.003	-
	CnM22	0.56 ± 0.08	0.43 ± 0.01	0.71 ± 0.01	0.27 ± 0.03	0.02 ± 0.004	-
	CnM23	-	-	-	-	-	-
	CnM24	0.06 ± 0.02	1.64 ± 0.13	0.71 ± 0.01	0.78 ± 0.11	0.41 ± 0.07	-
	TwM01	-	-	-	-	-	11.49 ± 0.31
	TwM02	-	-	-	-	-	5.15 ± 0.16
TwM03	-	-	-	-	-	2.90 ± 0.04	
JpM01	ND	ND	ND	ND	ND	3.08 ± 0.05	
JpM02	ND	ND	0.73 ± 0.004	ND	ND	-	
JpM03	0.42 ± 0.04	1.57 ± 0.08	0.72 ± 0.01	0.79 ± 0.03	0.22 ± 0.01	-	
JpM04	0.43 ± 0.05	1.27 ± 0.12	0.64 ± 0.01	0.96 ± 0.12	0.25 ± 0.02	-	
JpM05	1.20 ± 0.20	0.92 ± 0.06	0.63 ± 0.004	0.19 ± 0.01	0.10 ± 0.01	-	
JpM06	1.85 ± 0.13	1.29 ± 0.12	0.73 ± 0.02	0.69 ± 0.06	0.18 ± 0.02	-	
JpM08	0.05 ± 0.02	1.01 ± 0.06	0.81 ± 0.01	0.57 ± 0.03	0.18 ± 0.01	-	
JpM09	2.48 ± 0.16	1.23 ± 0.06	0.74 ± 0.01	0.77 ± 0.01	0.23 ± 0.01	-	
JpM10	1.74 ± 0.10	2.51 ± 0.04	0.63 ± 0.002	1.26 ± 0.02	0.18 ± 0.003	-	
JpM11	-	-	-	-	-	9.30 ± 0.11	
JpM16	-	-	-	-	-	1.44 ± 0.18	
JpM17	Trace	0.49 ± 0.03	0.61 ± 0.001	0.16 ± 0.002	ND	-	
JpM18	Trace	0.51 ± 0.03	0.60 ± 0.01	0.04 ± 0.01	ND	-	
JpM19	Trace	0.41 ± 0.02	0.81 ± 0.002	Trace	ND	-	
Plant specimens	CnP01	Trace	0.79 ± 0.01	0.77 ± 0.003	0.90 ± 0.02	0.39 ± 0.03	-
	CnP02	ND	1.48 ± 0.14	0.71 ± 0.02	0.70 ± 0.10	0.39 ± 0.50	-
	CnP03	ND	1.07 ± 0.16	0.63 ± 0.01	1.70 ± 0.10	0.26 ± 0.03	-
	CnP04	ND	0.88 ± 0.02	0.74 ± 0.01	0.73 ± 0.03	0.23 ± 0.004	-

Contents expressed as mean ± SD; ND, not detected; Trace, below the quantitation limit





**Fig. 2-3** 50% MeOH extract yields and contents of identified compounds in *Drynariae Rhizoma* samples derived from different origins or plants. Unmarked samples derived from *D. roosii*; #, samples derived from *Araiostegiella perdurans* or mixture containing *Araiostegiella perdurans*; \*, samples derived from *A. divaricata* var. *formosana* or mixture of *D. roosii* and *A. divaricata* var. *formosana*; +, samples derived from *Drynaria* sp. (a) 50% MeOH extract yield and contents of **26** and **27** quantified by qHNMR; (b) contents of **28** and **29** quantified by qHNMR; and (c) contents of compounds **30–33**, **35**, and **37** quantified by HPLC.

## (2) HPLC 法を用いた骨碎補の 8 種類の二次代謝産物の定量

各 HPLC クロマトグラムにおいて、**28–36** と **38** は *D. roosii* に由来する骨碎補から検出され、**37** は *A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補から検出された (Fig. S2-1、Table S2-2)。そのうち、**28–33** と **37** は HPLC 法を用いて定量した。定量に用いた **28**、**29**、**31**、**32**、及び **37** の純度を Table S2-3 に示す。単離した **34** と **36** は量が少なかったことから、これらについては定量しなかった。

定量の結果、**28** と **29** の定量値は qHNMR を用いた結果と一致した (Fig. S2-2)。ほかの微量成分 (**30–33** と **35**) の定量値は主要成分の **28** と **29** と比較して非常に低い値を示した (Table 2-12、Fig. 2-3 c)。*D. roosii* に由来する植物材料に含まれる **28** (6.73–17.53 mg/g)、**29** (2.98–10.96 mg/g)、及び **33** (0.70–1.70 mg/g) は生薬材料より高い値を示した。*D. roosii* に由来する生薬材料では、未修治品の **28** (0.93–9.86 mg/g)、**29** (0.74–7.59 mg/g)、**30** (0.05–2.48 mg/g)、**31** (0.27–2.51 mg/g)、**33** (0.14–1.26 mg/g)、及び **35** (0.04–0.52 mg/g) の含量は修治品より高かった。修治品の Type I (CnM04、CnM06、CnM10、CnM11、CnM12、CnM22) では **31** (0.32–1.39 mg/g) と **33** (0.27–0.97 mg/g) は未修治品と比較し低い含量を示し、Type II (CnM09、CnM13、CnM15、CnM18) の修治品ではこの 2 つの化合物は検出されなかった。炒めたナッツのフェノール酸化合物は、炒める温度が高いほど、あるいは加熱時間が長いほど含量が減少する傾向にあることが報告されている[100]。未修治品の **32** の含量 (0.61–0.81 mg/g) は修治品の Type II (0.84–1.32 mg/g) と Type I (0.67–0.76 mg/g) のものと比較するとやや高い値を示した。Monagas らは、ヘーゼルナッツに含まれる **32** の含量は、炒める処理によって大きな影響を受けないことを報告している[101]。以上の結果より、骨碎補に含まれる化合物の含量は、長時間の加熱処理によって影響を受ける可能性が示唆された。*D. roosii* の根茎に由来する修治品を骨碎補として使用するためには、修治方法の最適化が必要であると考えられる。

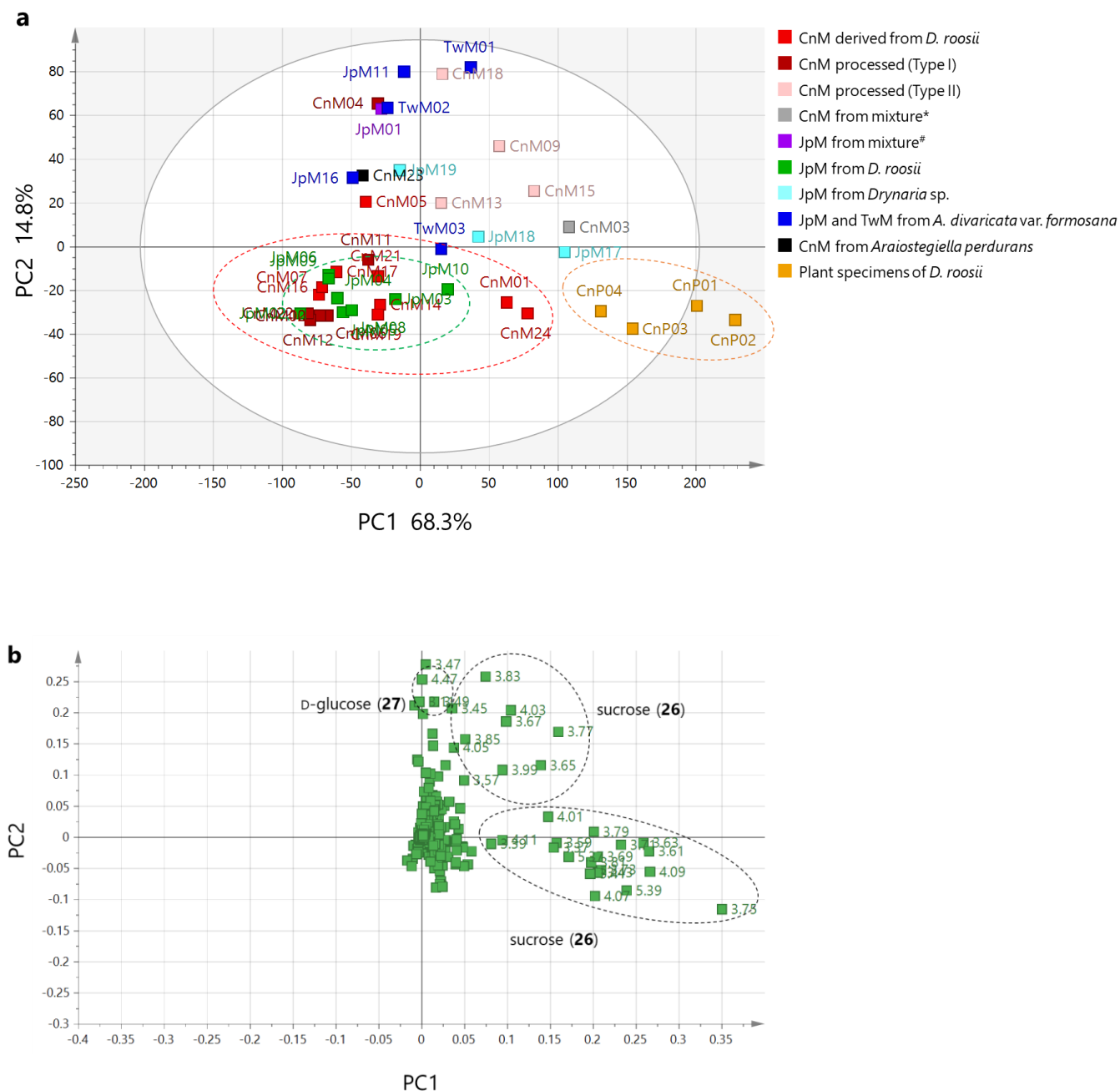
化合物 **37** は *A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補において検出され (Fig. S2-1、Table S2-2)、その含量 (1.44–11.49 mg/g) は大きく変動した。Wu らは、**37**、本種の水エキスや EtOH エキスが MC3T3-E1 細胞の増殖、分化、石灰化を促進すること、及び **37** は抗骨粗鬆症治療薬として使用できることを示し、中国の南部において使用される *A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補は骨粗鬆症の治療に有効であることを示唆した[79]。しかし、*A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補は、認知症に有用な成分を含んでいない。そのため、*A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補は、骨形成作用だけでなく、抗認知症作用も有する *D. roosii* に由来する骨碎補の代替品にはなり得ないと考えられた。

#### 2.2.4 多変量解析

生薬材料 39 検体と *D. roosii* に由来する植物材料 4 検体の qHNMR スペクトルを用い、**26** と **27** のシグナルを除去、または除去することなくデータマトリックスを作成し、PCA を行った。その際、前章において検討した内標準法を使用してデータマトリックスを規格化した。化合物 **26** と **27** のシグナルを除去していない結果を Fig. 2-4、**26** と **27** のシグナルを除去した結果を Fig. 2-5 に示す。

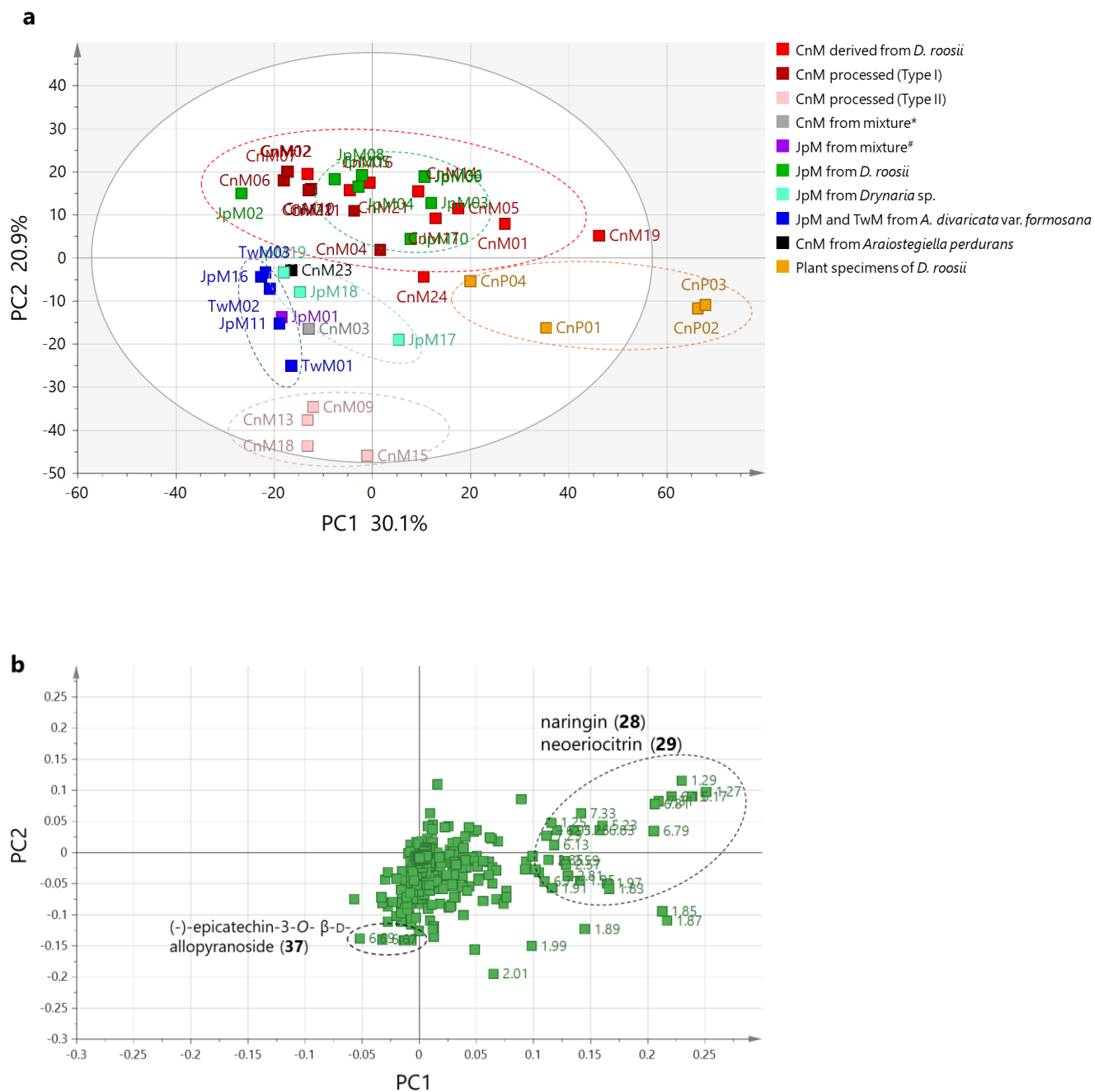
Fig. 2-4 に示すように、*D. roosii* に由来する生薬材料と植物材料は **26** の含量の違いによって 2 つのグループに分けられた。生薬材料と比べて、植物材料に含まれる **26** は高い含量を示し、**27** は低い含量を示した (qHNMR 定量結果 : Table 2-12 と Fig. 2-3a)。修治品の Type I (CnM04、CnM06、CnM10、CnM11、CnM12、CnM22) と未修治品の間には明らかな差異は観察されなかった。一方、score plot (Fig. 2-4 a) の第一象限の修治品の Type II (CnM09、CnM13、CnM15、CnM18) は未修治品や Type I と区別され、その寄与成分は **27** であった。Score plot (Fig. 2-4 a) の第一象限と第二象限における各種類の骨碎補 (Type II、*A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補、*Drynaria* sp. に由来する骨碎補) は正しく区別されていなかった。

二次代謝産物に着目して解析するために、**26** と **27** のシグナルを除去した。その PCA の結果を Fig. 2-5 に示す。本 PCA によっても、各グループは Fig. 2-4 と同様に区別された。*D. roosii* に由来する植物材料と生薬材料は区別され、**28** と **29** は植物材料と一部の生薬材料の区別に寄与した。修治品の Type II、*A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補、*Drynaria* sp. に由来する骨碎補は区別された。化合物 **37** は *A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補の区別に寄与した。



**Fig. 2-4** PCA result of 39 crude drug samples and four plant specimens using qHNMR spectra normalized by internal standard: **(a)** score plot, code no. of samples shown in Table 2-2; and **(b)** loading plot, the numerals indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm); \*, mixture of *Araiostegiella perdurans* and *Selliguea* sp.; #, mixture of *D. roosii* and *A. divaricata* var. *formosana*. ( $R^2X = 0.900$ ,  $Q^2 = 0.860$ )

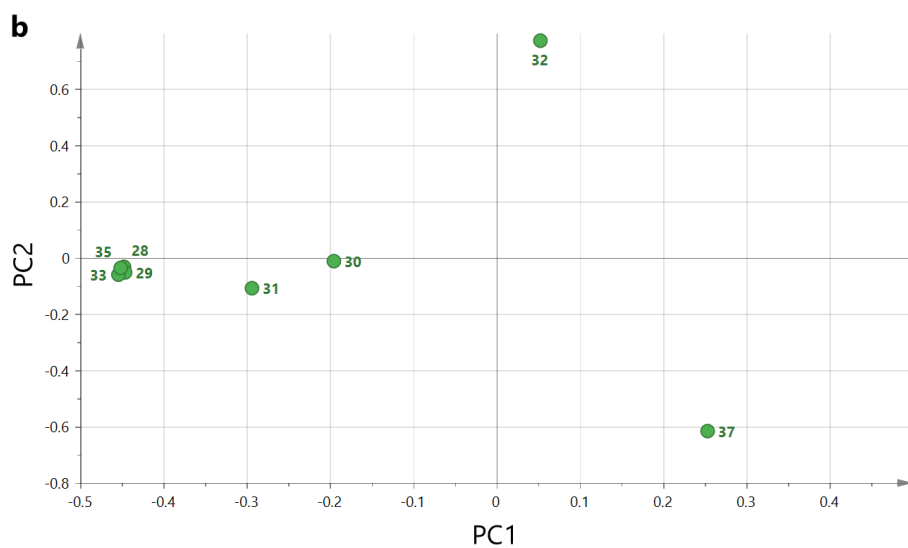
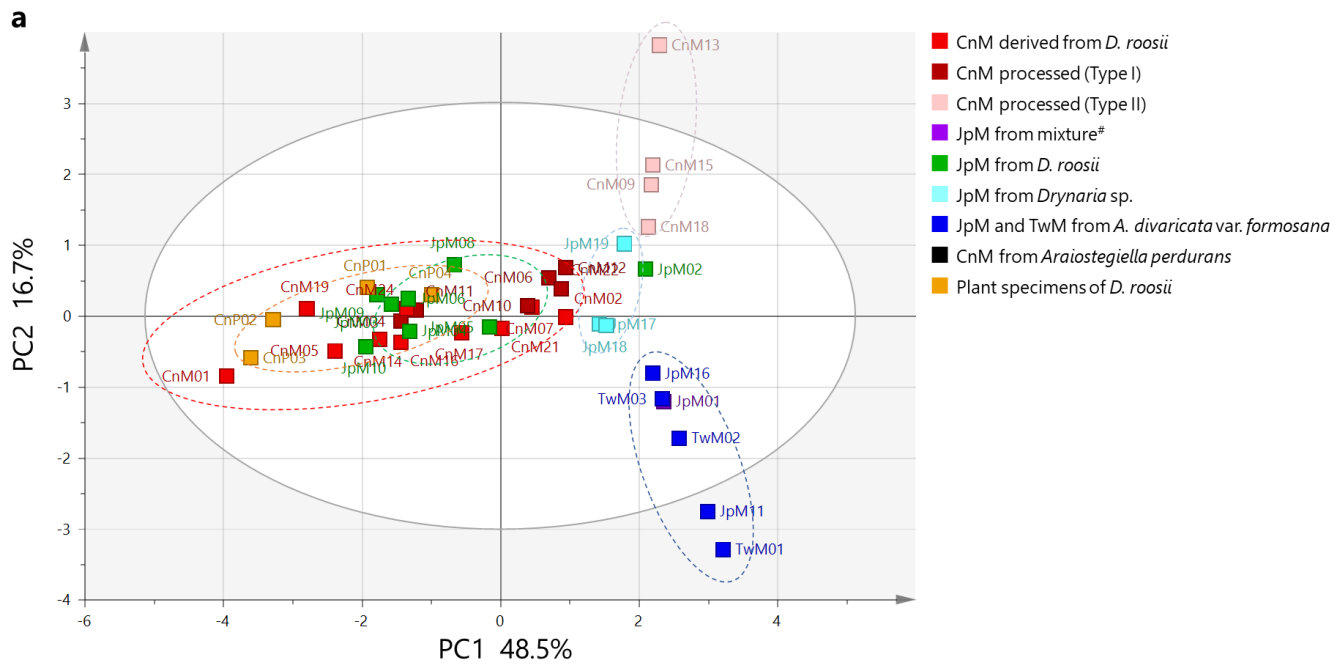




**Fig. 2-5** PCA result of 39 crude drug samples and four plant specimens using qHNMR spectra normalized by internal standard after the signals of **26** and **27** were removed: (a) score plot, code no. of samples shown in Table 2-2; and (b) loading plot, numerals indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm); \*, mixture of *Araiostegiella perdurans* and *Selliguea* sp.; #, mixture of *D. roosii* and *A. divaricata* var. *formosana*. ( $R^2X = 0.668$ ,  $Q^2 = 0.490$ )

さらに、HPLC のデータを用いて、*D. roosii*、*A. divaricata* var. *formosana*、*Drynaria* sp.に由来する各種類の骨碎補の差異を調べた (Fig. 2-6)。Score plotによると (Fig. 2-6 a)、各検体は基原と修治方法によって 4 つのグループに分けられた (*D. roosii* に由来する骨碎補及び植物材料、*A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補、*Drynaria* sp.に由来する骨碎補、修治品の Type II)。qHNMR スペクトルを用いた PCA の結果とは異なり、*D. roosii* に由来する植物材料は生薬材料と区別されなかった。*D. roosii* に由来する植物材料は **28**、**29**、**33**、及び **35** により区別され、**30**、**31** では区別されなかった。化合物 **32** は修治品の Type II を区別し、**37** は *A. divaricata* var. *formosana* に由来する骨碎補を区別した。

以上の PCA の結果より、*D. roosii*、*A. divaricata* var. *formosana*、*Drynaria* sp.に由来する各種類の骨碎補には成分の差異があることが示された。また、修治品の Type II は、成分の変化により *D. roosii* を基原とする骨碎補の未修治品と異なることがわかった。これらの結果は、qHNMR や HPLC を用いた定量結果と一致しており、qHNMR 法の正確性を検証した。



**Fig. 2-6** PCA result of samples derived from *D. roosii*, *A. divaricata* var. *formosana* and *Drynaria* sp. using HPLC data: (a) score plot, code no. of samples shown in Table 2-2; and (b) loading plot, numbers indicate compound; #, mixture of *D. roosii* and *A. divaricata* var. *formosana*. ( $R^2X = 0.652$ ,  $Q^2 = 0.316$ )

### 2.3 小括

本章では、*D. roosii*、*A. divaricata* var. *formosana*、及び *Araiostegiella perdurans* などの基原に由来する生薬材料 39 検体と *D. roosii* に由来する植物材料 4 検体に含まれる主要成分と微量成分を NMR メタボローム法と従来法の HPLC を用いて網羅的に解析することで得た結果について述べた。多変量解析の際には、前章において検討した最適的な方法を使用した。また、従来法の HPLC による定量結果と比較し、qHNMR 法の正確性を検証した。

標品化合物として使用するために、*D. roosii* を基原とする骨砕補からは、naringin (28)、neoneriocitrin (29)、5,7-dihydroxychromone-7-O-neohesperidoside (30)、caffeic acid 4-O-β-D-glucoside (31)、trans-*p*-coumaric acid 4-O-β-D-glucoside (33)、ferulic acid 4-O-β-D-glucopyranoside (34)、kaempferol 3-O-α-L-rhamnoside 7-O-β-D-glucoside (35)、及び cinnamtannin D-1 (36) を単離し、*A. divaricata* var. *formosana* を基原とする骨砕補からは、(-)-epicatechin 3-O-β-D-allopyranoside (10) を単離した。これらの中で、36 は *D. roosii* を基原とする骨砕補から初めて単離された。

その後、上記の化合物といくつかの市販化合物を用いて骨砕補の成分プロファイリングを行った。その結果、7 種類の二次代謝産物、28、29、30、31、32、33、35 は *D. roosii* に由来する骨砕補の <sup>1</sup>H NMR スペクトルにおいて検出された。化合物 37 は *A. divaricata* var. *formosana* を基原とする骨砕補において検出された。一次代謝産物の sucrose (26) と D-glucose (27) は各種類の骨砕補において検出された。また、修治の特徴的な成分である 5-HMF (38) はほとんどの修治品から検出された。このことから <sup>1</sup>H NMR を用いた成分プロファイリング法は、砂炒り骨砕補の効率的な識別方法となりうると考えられた。各種類の骨砕補から検出した化合物を Table 2-13 にまとめた。修治した骨砕補の一部は、明らかな成分変化が観察されたことから、骨砕補を適正使用するためには修治方法を標準化することが必要であることが示唆された。

前章と同様に HPLC や LC-MS での検出が困難であった 26 と 27 は NMR スペクトルにおいて検出可能であった。そこで、二次代謝産物の 28、29 と同時に、26 と 27 についても qHNMR 法を用いて定量を行った。qHNMR の正確性を検討することと微量成分を分析するために、従来法の HPLC を用いて化合物 28、29、30、31、32、33、35、37 を定量した。*D. roosii* に由来する植物材料に含まれる一次代謝産物と二次代謝産物は同種の生薬材料より高い値を示した。今後、その変動理由を明らかにすることが必要であることが示唆された。

さらに、前章において最適化した方法を使用して各種類の骨砕補の qHNMR スペクトルを得、これを用いて PCA を行った。より多くの特徴的な二次代謝産物を解析するために、各種類の骨砕補の HPLC データを用いて PCA を行った。その結果、*D. roosii* を基原

とする骨碎補の未修治品の区別には、**28、29、30、31、33**、及び **35** が寄与する一方で、同種の修治品の **Type II** は未修治品と区別され、その区別に **32** はが寄与した。**A. divaricata var. formosana** を基原とする骨碎補はほかの基原の検体と区別され、その寄与成分は **28、29** ではなく、**37** であった。以上の各グループの区別の結果は定量結果と一致した。

本章で解析した結果から、ほかの基原に由来する骨碎補と修治品の **Type II** は **D. roosii** を基原とする骨碎補の代替品として使用できないことが示唆された。今回の結果は、骨碎補の品質評価に関する基礎的な知見を提示することができたと考えられる。

また、本研究は初めて **NMR** メタボローム法を用いて各種類の骨碎補の品質評価を行い、**qHNMR** 法を用いて **naringin (28)** と **neotericitrin (29)** を定量した。さらに従来法である **HPLC** の定量結果と比較し、**qHNMR** 法の正確性を検証した。

**Table 2-13** Detected compounds in *Drynariae Rhizoma* samples

Botanical origin	Compound	
<i>D. roosii</i>	Raw samples	<b>28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 26, 27</b>
	Type I stir-fried samples	<b>28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 26, 27, 38</b>
	Type II stir-fried samples	<b>32, 26, 27, 38</b>
Mixture of <i>D. roosii</i> and <i>A. divaricata var. formosana</i>	Raw samples	<b>37, 26, 27</b>
<i>A. divaricata var. formosana</i>	Raw samples	<b>37, 26, 27</b>
<i>Drynaria</i> sp.	Raw samples	<b>28, 29, 31, 32, 33, 34, 36, 26, 27</b>
Mixture of <i>Araiostegiella perdurans</i> and <i>Selligoea</i> sp.	Raw samples	<b>26, 27</b>
<i>Araiostegiella perdurans</i>	Raw samples	<b>26, 27</b>

Compounds detected in plant specimens of *D. roosii* were **28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 34, 36, 26**, and **27**.

## 総括

本研究では、各種類の芍薬を用いて **NMR** メタボローム法を確立し、その方法を用いて初めて各種類の骨碎補を解析した。前述のように、その解析結果は芍薬と骨碎補の品質標準の根拠になり得ると考えられた。

**NMR** データによる成分プロファイリングは、芍薬と骨碎補に含まれる複合成分を網羅的に解析することができると考えられた。その重要成分は従来法の **HPLC** や当研究室で以前に報告した **LC-MS** 法の結果と同様に精密プロファイリングに資することが可能であった。また、**NMR** 法は、従来法と比べて、試料の調製が比較的簡便であり、かつ分析時間が大幅に短縮される利点を持っている。その利点により、 $^1\text{H}$  **NMR** を用いた成分プロファイリング法は、異なる種類の生薬の効率的な識別方法となり得ると考えられた。例えば、本方法を用いれば、硫黄燻蒸した白芍からは特徴的な成分である **sulfonated paeoniflorin (25)** を、砂炒り骨碎補からは熱加工に特徴的な成分である **5-HMF (38)** を検出することができ、成分の差異によって修治した生薬を同定することができる。また、成分の違いを比較することにより鱗片が脱落した砂炒り骨碎補の基原を同定することも可能であった。

生薬の一次代謝産物の含量とその品質に関しては、研究報告が少なく、また従来法の **HPLC** や **LC-MS** 法においては、これらの検出が困難である。本研究は **NMR** 法を用いて芍薬と骨碎補に含まれる主要な一次代謝産物である **sucrose (26)** と **D-glucose (27)** の同定、定量を行った。その結果、芍薬の **75% EtOH** エキス含量と **26** の含量には正の相関があり、根を収穫後、湯通し処理を行うことにより **26** の含量が低くなること、及び1ヶ月間の低温処理により **26** の含量が増加することを明らかにした。今回の結果においては、骨碎補のエキス含量と **26** の含量の関係について不明確であったが、**qHNMR** を用いて **26** と **27** を定量することができた。

一次代謝産物だけでなく、**qHNMR** を用いて芍薬と骨碎補に含まれる主要な二次代謝産物について定量を行った。その定量値の正確性を検証するために、従来法の **HPLC** を用いた定量を行った。その結果、芍薬の **NMR** スペクトルにおいてやや傾斜したベースラインが観察され、その定量値は **HPLC** による結果より低かった。骨碎補の定量結果については、両手法による定量結果の大きな違いを認めなかった。

各種類の芍薬を用いて、**NMR** 測定法、**sucrose (26)** に由来するシグナルの除外、及び規格化法について検討し、それぞれにデータマトリックスを作成し、その多変量解析の結果を比較して方法を最適化した。さらに、その最適化した方法を用いて各種類の骨碎補を解析した。その際、**qHNMR** や **HPLC** 法の定量結果と比較し、方法の正確性を検証した。

**NMR** メタボローム法は、化合物の構造情報を反映する **NMR** スペクトルを用いるため、

対象とする化合物が類似する骨格構造をもつ場合には、シグナルを区別できない場合や、ほかの化合物とシグナルが重なる場合があるなどの欠点がある。第 1 章の芍薬に含まれる pinane 構造を持っている monoterpene 類や、第 2 章の骨碎補に含まれる naringin (28) と neoeriocitrin (29) に由来するフラボノイド配糖体は、シグナルがほとんど重なっていた。その問題は多変量解析の際にも現れている。*P. lactiflora* を基原とする赤芍の寄与成分は paeoniflorin (6) などに代表される monoterpene 及びベンズイル基を有する化合物であるが、これらの成分に由来するシグナルは重なっている。*D. roosii* を基原とする骨碎補と本種の由来の植物材料の区別には、naringin (28) と neoeriocitrin (29) が寄与するが、この二つの化合物に由来するシグナルはほとんど重なっている。従って、NMR のみのメタボローム解析だけではなく、HPLC による定量法とメタボローム解析を組み合わせ、より多面的な観点から、生薬の成分を評価する必要があると考えられる。

以上を踏まえ、本手法により得られた生薬の包括的な成分プロファイリングの結果は、複合成分からなる生薬の標準化に有用であると考えられた。本研究で用いた手法は、芍薬と骨碎補だけではなく、ほかの生薬にも応用可能であり、生薬の品質評価・標準化研究への展開が期待される。

## 実験の部

### 一般的な実験手順

核磁気共鳴スペクトル ( $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$  NMR) は、JEOL ECA500IIDelta 分光計 (日本電子株式会社、東京、日本) を用いて測定した。 $^1\text{H}$  NMR の測定条件は以下を使用した: scans: 8、pulse angle:  $45^\circ$ 、relaxation delay: 5 s、temperature: 298 K。qHNMR の測定条件は以下を使用した: scans: 8、pulse angle:  $90^\circ$ 、relaxation delay: 60 s、temperature: 298 K。スペクトルのケミカルシフトの補正は NMR 用重溶媒の残留溶媒周波数を用いた [DMSO- $d_6$  ( $\delta_{\text{H}}$  2.49 ppm,  $\delta_{\text{C}}$  39.5 ppm),  $\text{CD}_3\text{OD}$  ( $\delta_{\text{H}}$  3.30 ppm,  $\delta_{\text{C}}$  49.0 ppm)]。ケミカルシフト値を ppm で、スピン結合定数 ( $J$ ) はヘルツ (Hz) で表した。 $^1\text{H}$  NMR における分裂様式は、一重線 s : singlet、二重線 d : doublet、三重線 t : triplet、二重の二重線 dd : double of doublets、多重線 m : multiplet、幅広信号 br : broad と記載した。スペクトルのデータ処理及び qHNMR 定量は市販のソフトウェア (JEOL Delta v5.3) を使用した。

カラムクロマトグラフィーは、順相シリカゲル (Wakogel®C-200、和光純薬工業株式会社、大阪、日本)、逆相 DIAION HP-20 (Sigma-Aldrich、アメリカ)、DIAION HP-21 (三菱化学株式会社、東京、日本)、及び Sephadex LH-20 (GE Healthcare Life Sciences、ウプサラ、スウェーデン) を使用して行った。中圧液体クロマトグラフィー (MPLC) は、Biotage®SNAPUltra C18、120g カラムを使用して、Isolera™ Spektra Systems を備えた BiotageIsolera™ One 装置 (Biotage、ウプサラ、スウェーデン) で実施した。分取 HPLC は、YMC-Pack R&D ODS-A カラム (250×20mm、S-5 $\mu\text{m}$ 、12 nm) を用い、 $\text{H}_2\text{O}$  + 0.1% ギ酸 (A)、 $\text{CH}_3\text{CN}$  + 0.1% ギ酸 (B) のグラジエント (メソッド A : 10–60% B、メソッド B : 10% B、メソッド C : 10–100% B)、流量 : 10.0 mL/min、Waters Delta600 ポンプと Waters2489 UV/可視検出器を備えた 254nm での UV 検出で行った。超純水は、超純水製造装置 Autopure WR 700 (ヤマト科学、東京) で製造したものをを用いた。

高分解能エレクトロスプレーイオン化質量分析 (HRESIMS) 及び LC-MS データは、ハイブリッドイオントラップ飛行時間型 (IT-TOF) 質量分析計 (島津製作所、京都、日本) で取得した。LC-MS 分析には、Waters Atlantis T3 カラム (150×2.1 mm、S-3 $\mu\text{m}$ ) を使用した。移動相は、 $\text{H}_2\text{O}$  + 0.1% ギ酸 (A)、 $\text{CH}_3\text{CN}$  + 0.1% ギ酸 (B) の混合溶媒とし、グラジエントは以下を用いた: 0–2 min, 20% B; 20 min, 25% B; 22–27 min, 100% B; flow rate 0.2 mL/min; column oven,  $40^\circ\text{C}$ 。

多変量解析の際、各 NMR データのバケット積分値データは、市販のソフトウェア (Alice2 for Metabolome、日本電子株式会社、東京、日本) を用いて取得した。データマトリックスはエクセルを用いて作成し、統計解析ソフトウェア (SIMCA-P 14.1、Umetrics、Umea、Sweden) を使用して多変量解析を行った。Heatmap は、Origin 2023 (Origin Lab、マサチューセッツ州、アメリカ) を用いて取得した。



### 化合物 31 の酸加水分解と糖の決定[102, 103]

化合物 31 (1.2 mg) を 0.5 mL の 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> に溶解し、その溶液を 100°C で 2 時間加熱した。反応混合物を EtOAc (1 mL、4 回) で分配して、水層を Amberlite IRA400 で中和し、凍結乾燥した。乾燥した残留物に pyridine (0.2 mL) と L-cysteine methyl ester hydrochloride (1 mg) を添加して、60°C で 1 時間反応させた。次に、*o*-tolylisothiocyanate (0.2 mL) を加え、混合物を 60°C でさらに 1 時間反応させた。反応混合物を LC-MS で分析した (Waters Atlantis T3 カラム、150 × 2.1 mm、S-3 μm)。移動相は、H<sub>2</sub>O + 0.1%ギ酸 (A)、CH<sub>3</sub>CN + 0.1%ギ酸 (B) の混合溶媒とし、グラジエントは以下を用いた : 0–2 min, 20% B; 20 min, 25% B; 22–27 min, 100% B; flow rate 0.2 mL/min; column oven, 40°C。化合物 31 から得られた糖の誘導体は、*t<sub>R</sub>* 22.4 分に *m/z* 447.1 [M + H]<sup>+</sup> のピークを与えた。標準品から合成した D-glucose 誘導体は、*t<sub>R</sub>* 22.4 分、L-glucose 誘導体は、*t<sub>R</sub>* 21.0 分に *m/z* 447.1 [M + H]<sup>+</sup> のピークを与えた。以上の結果により、化合物 31 の糖部を β-D-glucose と決定した。

## 参考文献

1. Komatsu K Museum of Materia Medica, Institute of Natural Medicine. <https://www.inm.u-toyama.ac.jp/mmmw/shoyaku.html>. Accessed 29 Apr 2023
2. Chinese Pharmacopoeia Commission (2020) Pharmacopoeia of the People's Republic of China
3. Japanese Pharmacopoeia Commission (2021) The Japanese Pharmacopoeia, Eighteenth Edition
4. Terabayashi S (2013) On the Botanical Origin of Crude Drugs, with Special Reference to Plant Parts for Medicinal Use and Scientific Names for Ooriginal Crude Drug Plants. *Kampo Med* 64:67–77
5. 日漢協版 GACP | 日本漢方生薬製剤協会 . <https://www.nikkankyo.org/create/create1.htm>. Accessed 15 May 2023
6. 真柳誠 (2007) 漢方修治の妙. *NHK 知るを楽しむ 歴史に好奇心* 3:140–143
7. Miura S (1966) On the curing of the Chinese crude drug and the Chinese medicinal alcoholic drinks. *J Jpn Soc Orient Med* 17:107–110. <https://doi.org/10.14868/kampomed1950.17.107>
8. Ward JL, Baker JM, Beale MH (2007) Recent applications of NMR spectroscopy in plant metabolomics. *FEBS J* 274:1126–1131. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05675.x>
9. Fan ML, Xing J, Li ZhY, Qin XM (2014) Comparison on chemical constituents between *Paeoniae Alba Radix* and *Paeoniae Rubra Radix* using NMR based metabolomic approach. *Chin Tradit Herb Drugs* 3230–3237
10. Craig A, Cloarec O, Holmes E, Nicholson JK, Lindon JC (2006) Scaling and normalization effects in NMR spectroscopic metabolomic data sets. *Anal Chem* 78:2262–2267. <https://doi.org/10.1021/ac0519312>
11. Simmler C, Anderson JR, Gauthier L, Lankin DC, Mcalpine JB, Chen S-N, Pauli GF (2015) Metabolite profiling and classification of DNA-authenticated licorice botanicals. *J Nat Prod* 78:2007–2022. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00342>
12. Souza Araújo C, Oliveira AP, Conceição Santos AD, Guimarães AL, Santos Silva ND, Queiroz MAÁ, Cruz Araújo EC, Silva Almeida JRG (2019) Total content of kaurene diterpenes in *Annona vepretorum* stems via  $^1\text{H}$  qNMR: A method for speeding the identification of bioactive extracts. *Phytochem Anal* 30:83–88. <https://doi.org/10.1002/pca.2792>
13. Li WZ, Zhao F, Pan JY, Qu HB (2020) Influence of ethanol concentration of extraction solvent on metabolite profiling for *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* extract by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Process Biochem* 97:158–167. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.06.008>

14. Um JA, Choi YG, Lee DK, Lee YS, Lim CJ, Youn YA, Lee HD, Cho HJ, Park JH, Seo YB, Kuo H-C, Lim J, Yang T-J, Kwon SW, Lee J (2013) Discrimination between genetically identical peony roots from different regions of origin based on <sup>1</sup>H-nuclear magnetic resonance spectroscopy-based metabolomics: determination of the geographical origins and estimation of the mixing proportions of blended samples. *Anal Bioanal Chem* 405:7523–7534. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7182-9>
15. Zou P, Song Y, Lei W, Li J, Tu P, Jiang Y (2017) Application of <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics for discrimination of different parts and development of a new processing workflow for *Cistanche deserticola*. *Acta Pharm Sin B* 7:647–656. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2017.07.003>
16. Ge YH, Sun MM, Salomé-Abarca LF, Wang M, Choi YH (2018) Investigation of species and environmental effects on rhubarb roots metabolome using <sup>1</sup>H NMR combined with high performance thin layer chromatography. *Metabolomics* 14:137. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1421-1>
17. Shirahata T, Ishikawa H, Kudo T, Takada Y, Hoshino A, Taga Y, Minakuchi Y, Hasegawa T, Horiguchi R, Hirayama T, Konishi T, Takemoto H, Sato N, Aragane M, Oikawa T, Odaguchi H, Hanawa T, Kodaira E, Fukuda T, Kobayashi Y (2021) Metabolic fingerprinting for discrimination of DNA-authenticated *Atractylodes* plants using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *J Nat Med* 75:475–488. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01471-0>
18. Kang KB, Ryu J, Cho Y, Choi S-Z, Son M, Sung SH (2017) Combined application of UHPLC-QTOF/MS, HPLC-ELSD and <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy for quality assessment of DA-9801, A standardised *Dioscorea* extract. *Phytochem Anal* 28:185–194. <https://doi.org/10.1002/pca.2659>
19. Zhu S, Yu XL, Wu YQ, Shiraishi F, Kawahara N, Komatsu K (2015) Genetic and chemical characterization of white and red peony root derived from *Paeonia lactiflora*. *J Nat Med* 69:35–45. <https://doi.org/10.1007/s11418-014-0857-5>
20. Zhu S, Shirakawa A, Shi YH, Yu X, Tamura T, Shibahara N, Yoshimatsu K, Komatsu K (2018) Impact of different post-harvest processing methods on the chemical compositions of peony root. *J Nat Med* 72:757–767. <https://doi.org/10.1007/s11418-018-1214-x>
21. Shi YH, Zhu S, Ge YW, Toume K, Wang ZT, Batkhuu J, Komatsu K (2016) Characterization and quantification of monoterpenoids in different types of peony root and the related *Paeonia* species by liquid chromatography coupled with ion trap and time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 129:581–592. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.07.031>
22. Dong YZ, Toume K, Zhu S, Shi YH, Tamura T, Yoshimatsu K, Komatsu K Metabolomics analysis of peony root using NMR spectroscopy and impact of the preprocessing method for NMR data in multivariate analysis. *J Nat Med*. <https://doi.org/10.1007/s11418-023-01721-x>
23. Dong YZ, Toume K, Kimijima S, Zhang HP, Zhu S, He YM, Cai SQ, Maruyama T, Komatsu K Metabolite profiling of *Drynariae Rhizoma* using <sup>1</sup>H NMR and HPLC coupled with multivariate statistical analysis. *J Nat Med*. <https://doi.org/10.1007/s11418-023-01726-6>

24. Sadakane C, Watanabe J, Fukutake M, Nisimura H, Maemura K, Kase Y, Kono T (2015) Pharmacokinetic profiles of active components after oral administration of a kampo medicine, shakuyakukanzoto, to healthy adult Japanese volunteers. *J Pharm Sci* 104:3952–3959. <https://doi.org/10.1002/jps.24596>
25. シャクヤク | 生薬一覧 | 日本漢方生薬製剤協会 . <https://www.nikkankyo.org/seihin/shouyaku/08.htm>. Accessed 15 May 2023
26. Yamamoto Y, Isozaki T, Kitamaki Y, Kurata K, Taira M, Takeda O, Yamaguchi Y, Sasaki H (2023) Survey on crude drug usage in Japan (3). *Shoyakugaku Zasshi* 77:24–41
27. 芍薬 (シャクヤク - 生薬の玉手箱 | 株式会社ウチダ和漢薬 . <https://www.uchidawakanyaku.co.jp/kampo/tamatebako/shoyaku.html?page=020>. Accessed 15 May 2023
28. Namba T (1980) *The encyclopedia of Wakan-Yaku (traditional Sino-Japanese medicines) with color pictures*. Hoikusha Publishing Co., Ltd., Osaka
29. Duan WJ, Yang JY, Chen LX, Zhang LJ, Jiang Z-H, Cai XD, Zhang X, Qiu F (2009) Monoterpenes from *Paeonia albiflora* and their inhibitory activity on nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated microglia. *J Nat Prod* 72:1579–1584. <https://doi.org/10.1021/np9001898>
30. Juan YC, Chang CC, Tsai WJ, Lin YL, Hsu YS, Liu HK (2011) Pharmacological evaluation of insulin mimetic novel suppressors of PEPCK gene transcription from *Paeoniae Rubra Radix*. *J Ethnopharmacol* 137:592–600. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.06.007>
31. He DY, Dai SM (2011) Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Paeonia Lactiflora* Pall., a traditional Chinese herbal medicine. *Front Pharmacol* 2:10
32. Chung MJ, Sohng JK, Choi DJ, Park YI (2013) Inhibitory effect of phloretin and biochanin A on IgE-mediated allergic responses in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells. *Life Sci* 93:401–408. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.07.019>
33. He CN, Peng Y, Zhang YC, Xu LJ, Gu J, Xiao PG (2010) Phytochemical and biological studies of paeoniaceae. *Chem Biodivers* 7:805–838. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200800341>
34. Shi YH, Zhu S, Ge YW, He YM, Kazuma K, Wang Z, Yoshimatsu K, Komatsu K (2016) Monoterpene derivatives with anti-allergic activity from red peony root, the root of *Paeonia lactiflora*. *Fitoterapia* 108:55–61. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.11.011>
35. Shi YH, Zhu S, Tamura T, Kadowaki M, Wang ZT, Yoshimatsu K, Komatsu K (2016) Chemical constituents with anti-allergic activity from the root of *Edulis Superba*, a horticultural cultivar of *Paeonia lactiflora*. *J Nat Med* 70:234–240. <https://doi.org/10.1007/s11418-016-0966-4>
36. Ma YB, Wu DG, Liu JK (1999) Paeonivayin, a new monoterpene glycoside from *Paeonia delavayi*. *Chin Chem Lett* 10:771–774

37. Braca A, Kiem PV, Yen PH, Nhiem NX, Quang TH, Cuong NX, Minh CV (2008) New monoterpene glycosides from *Paeonia lactiflora*. *Fitoterapia* 79:117–120. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.11.001>
38. Okasaka M, Kashiwada Y, Kodzhimatov OK, Ashurmetov O, Takaishi Y (2008) Monoterpene glycosides from *Paeonia hybrida*. *Phytochemistry* 69:1767–1772. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.016>
39. Cheng YS, Peng C, Zhang H, Liu XB (2010) Structural characterization of an artefact and simultaneous quantification of two monoterpenes and their artefacts of isolation in white-peony root. *Helv Chim Acta* 93:565–572. <https://doi.org/10.1002/hlca.200900263>
40. Ding LQ, Jiang Z hu, Liu Y, Chen L, Zhao Q, Yao XS, Zhao F, Qiu F (2012) Monoterpenoid inhibitors of NO production from *Paeonia suffruticosa*. *Fitoterapia* 83:1598–1603. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.09.008>
41. Kang SS, Shin KH, Chi H-J (1991) Galloylpaeoniflorin, a new acylated monoterpene glucoside from Paeony root. *Arch Pharm Res* 14:52–54. <https://doi.org/10.1007/bf02857815>
42. Ding HY, Lin HC, Teng CM, Wu YC (2000) Phytochemical and pharmacological studies on Chinese *Paeonia* species. *J Chin Chem Soc* 47:381–388. <https://doi.org/10.1002/jccs.200000051>
43. Lee SC, Kwon YS, Son KH, Kim HP, Heo MY (2005) Antioxidative constituents from *Paeonia lactiflora*. *Arch Pharm Res* 28:775–783. <https://doi.org/10.1007/bf02977342>
44. Lu P, Bach T (2012) Total synthesis of (+)-lactiflorin by an intramolecular [2+2] photocycloaddition. *Angew Chem Int Ed* 51:1261–1264. <https://doi.org/10.1002/anie.201106889>
45. Lin HC, Ding HY, Wu TS, Wu PL (1996) Monoterpene glycosides from *Paeonia suffruticosa*. *Phytochemistry* 41:237–242. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00526-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00526-9)
46. Yen PH, Van Kiem P, Nhiem NX, Tung NH, Quang TH, Van Minh C, Kim JW, Choi EM, Kim YH (2007) A new monoterpene glycoside from the roots of *Paeonia lactiflora* increases the differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Arch Pharm Res* 30:1179–1185. <https://doi.org/10.1007/bf02980258>
47. Hosny M, Zheng MS, Zhang HY, Chang HW, Woo MH, Son JK, Lee SKS (2014) (–)-Catechin glycosides from *Ulmus davidiana*. *Arch Pharm Res* 37:698–705. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0264-6>
48. Chang YC, Chang FR, Wu YC (2000) The constituents of *Lindera Glauca*. *J Chin Chem Soc* 47:373–380. <https://doi.org/10.1002/jccs.200000050>
49. Vinson N, Gou YZ, Becer CR, Haddleton DM, Gibson MI (2011) Optimised ‘click’ synthesis of glycopolymers with mono/di- and trisaccharides. *Polym Chem* 2:107–113. <https://doi.org/10.1039/c0py00260g>

50. Beretta G, Artali R, Caneva E, Maffei Facino R (2011) Conformation of the tridimensional structure of 1,2,3,4,6-pentagalloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (PGG) by  $^1\text{H}$  NMR, NOESY and theoretical study and membrane interaction in a simulated phospholipid bilayer: a first insight. *Magn Reson Chem* 49:132–136. <https://doi.org/10.1002/mrc.2718>
51. Youn UJ, Lee YJ, Jeon HR, Shin HJ, Son YM, Nam JW, Han AR, Seo EK (2010) A pyridyl alkaloid and benzoic acid derivatives from the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides*. *Nat Prod Sci* 16:203–206
52. Hernández-García E, García A, Avalos-Alanís FG, Rivas-Galindo VM, Delgadillo-Puga C, Camacho-Corona M del R (2019) Nuclear magnetic resonance spectroscopy data of isolated compounds from *Acacia farnesiana* (L) Willd fruits and two esterified derivatives. *Data Brief* 22:255–268. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.12.008>
53. Wang Q, Guo HZ, Huo CH, Shi QW, Ye M, Bi KS, Guo DA (2007) Chemical constituents in root of *Paeonia lactiflora*. *Chin Tradit Herb Drugs* 38:972–976
54. Song JF, Feng JQ, Zhu CX, Fang YC (2015) Effects of different treatments of sodium disulfite on  $\text{SO}_2$  residue and paeoniflorin content in white peony root. *Zhejiang Zhong Yi Za Zhi* 50:460–461
55. Jiang X, Huang LF, Zheng SH, Chen SL (2013) Sulfur fumigation, a better or worse choice in preservation of Traditional Chinese Medicine? *Phytomedicine* 20:97–105. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.09.030>
56. Kong M, Liu HH, Xu J, Wang CR, Lu M, Wang XN, Li YB, Li SL (2014) Quantitative evaluation of Radix Paeoniae Alba sulfur-fumigated with different durations and purchased from herbal markets: Simultaneous determination of twelve components belonging to three chemical types by improved high performance liquid chromatography–diode array detector. *J Pharm Biomed Anal* 98:424–433. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.06.027>
57. Kong M, Liu HH, Wu J, Shen MQ, Wang Z-G, Duan SM, Zhang YB, Zhu H, Li SL (2018) Effects of sulfur-fumigation on the pharmacokinetics, metabolites and analgesic activity of Radix Paeoniae Alba. *J Ethnopharmacol* 212:95–105. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.023>
58. Hayes PY, Lehmann R, Penman K, Kitching W, De Voss JJ (2005) Sodium paeoniflorin sulfonate, a process derived artefact from paeoniflorin. *Tetrahedron Lett* 46:2615–2618. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.02.082>
59. Li SL, Song JZ, Choi FFK, Qiao CF, Zhou Y, Han QB, Xu H-X (2009) Chemical profiling of Radix Paeoniae evaluated by ultra-performance liquid chromatography/photo-diode-array/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 49:253–266. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.11.007>
60. Ueno Y, Suzuki R, Kitamura M (2022)  $^1\text{H}$ -NMR-based metabolomics for the classification of the roots of *Paeonia lactiflora*, a constituent of kampo medicines. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 70:859–862. <https://doi.org/10.1248/cpb.c21-01037>
61. Jin L, Zhao WS, Guo QS, Zhang WS, Ye ZL (2015) Study on chemical components

- distribution in *Paeoniae Radix Alba* and its processing methods. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 40:1953–1959. <https://doi.org/10.4268/cjcmm20151021>
62. Li B, Bhandari DR, Römpf A, Spengler B (2016) High-resolution MALDI mass spectrometry imaging of Gallotannins and monoterpene glucosides in the root of *Paeonia lactiflora*. *Sci Rep* 6:36074. <https://doi.org/10.1038/srep36074>
  63. Anetai M, Sato M, Shibata T (2009) Changes of sugars and dilute ethanol-soluble extract contents upon cold treatment of fresh roots of *Paeonia lactiflora*, *Astragalus membranaceus* and *Saussurea lappa*. *Pharm Regul Sci* 40:497–504
  64. Anetai M, Hatakeyama Y (2001) Preparation and chemical evaluation of Cnidii Rhizoma (Part I) preparation conditions and variation of dilute ethanol-soluble extract and sucrose contents. *Rep Hokkaido Inst Public Health* 51:13–17
  65. Hashida Y, Hirose T, Okamura M, Hibara K, Ohsugi R, Aoki N (2016) A reduction of sucrose phosphate synthase (SPS) activity affects sucrose/starch ratio in leaves but does not inhibit normal plant growth in rice. *Plant Sci* 253:40–49. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.08.017>
  66. Xue JQ, Tang Y, Wang SL, Xue YQ, Liu XW, Zhang XX (2019) Evaluation of dry and wet storage on vase quality of cut peony based on the regulation of starch and sucrose metabolism. *Postharvest Biol Technol* 155:11–19. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.007>
  67. Yonekura K, Kajita T (2003) BG Plants: Japanese name-Scientific name Index (YList). <http://ylist.info>. Accessed 15 Mar 2023
  68. *Drynaria roosii* Nakaike. <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000748038#synonyms>. Accessed 15 Mar 2023
  69. Li LN, Zeng Z, Cai GP (2011) Comparison of neoeriocitrin and naringin on proliferation and osteogenic differentiation in MC3T3-E1. *Phytomedicine* 18:985–989. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.03.002>
  70. Wang XL, Wang NL, Zhang Y, Gao H, Pang WY, Wong MS, Zhang G, Qin L, Yao XS (2008) Effects of eleven flavonoids from the osteoprotective fraction of *Drynaria fortunei* (KUNZE) J. SM. on osteoblastic proliferation using an osteoblast-like cell line. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 56:46–51. <https://doi.org/10.1248/cpb.56.46>
  71. Wang XL, Zhen LZ, Zhang G, Wong MS, Qin L, Yao XS (2011) Osteogenic effects of flavonoid aglycones from an osteoprotective fraction of *Drynaria fortunei*—An *in vitro* efficacy study. *Phytomedicine* 18:868–872. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.01.022>
  72. Wang XL, Wang NL, Gao H, Zhang G, Qin L, Wong MS, Yao XS (2010) Phenylpropanoid and flavonoids from osteoprotective fraction of *Drynaria fortunei*. *Nat Prod Res* 24:1206–1213. <https://doi.org/10.1080/14786410902991860>
  73. Chang EJ, Lee WJ, Cho SH, Choi SW (2003) Proliferative effects of flavan-3-ols and

propelargonidins from rhizomes of *Drynaria fortunei* on MCF-7 and osteoblastic cells. Arch Pharm Res 26:620–630. <https://doi.org/10.1007/bf02976711>

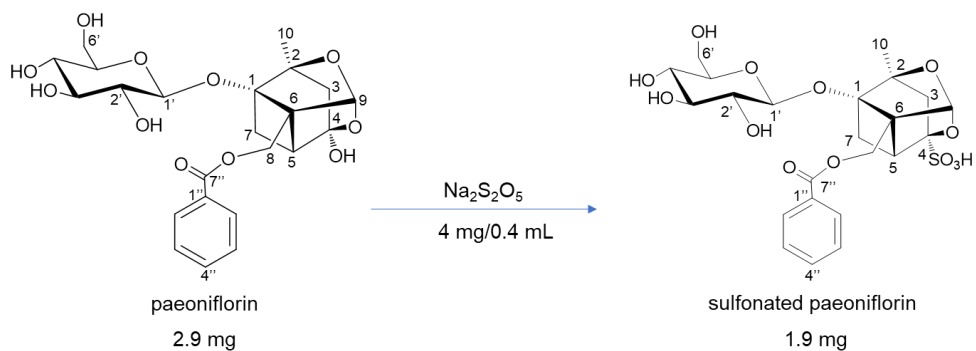
74. Qiao X, Lin XH, Liang YH, Dong J, Guo DA, Ye M (2014) Comprehensive chemical analysis of the rhizomes of *Drynaria fortunei* by orthogonal pre-separation and liquid chromatography mass spectrometry. Planta Med 80:330–336. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1360362>
75. Yang ZY, Kuboyama T, Tohda C (2017) A systematic strategy for discovering a therapeutic drug for Alzheimer's Disease and its target molecule. Front Pharmacol 8:340. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00340>
76. Yang ZY, Kuboyama T, Kazuma K, Konno K, Tohda C (2015) Active constituents from *Drynaria fortunei* Rhizomes on the attenuation of A $\beta_{25-35}$ -induced axonal atrophy. J Nat Prod 78:2297–2300. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00290>
77. *Araiostegia divaricata* var. *formosana* (Hayata) M.Kato. <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001231132>. Accessed 17 Mar 2023
78. Ko YJ, Wu JB, Ho HY, Lin WC (2012) Antiosteoporotic activity of *Davallia formosana*. J Ethnopharmacol 139:558–565. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.050>
79. Wu CF, Lin YS, Lee SC, Chen CY, Wu MC, Lin JS (2017) Effects of *Davallia formosana* Hayata water and alcohol extracts on osteoblastic MC3T3-E1 cells. Phytother Res 31:1349–1356. <https://doi.org/10.1002/ptr.5860>
80. Liu KD, Qiao X, Liang YH, Guo DA, Ye M (2011) HPLC fingerprint of *Drynariae Rhizoma*. Chin Tradit Herb Drugs 3:510–514
81. Hu J, Wang JL, Qin BB, Wang LZ, Li X (2021) Chemometric analyses for the characterization of raw and stir-frying processed *Drynariae Rhizoma* based on HPLC fingerprints. Evid Based Complement Alternat Med 2021:6651657. <https://doi.org/10.1155/2021/6651657>
82. Liu HP, Liu M, Li C, Li FM (2008) HPLC fingerprint of *Rhizoma Drynariae*. J Shenyang Pharm Univ 25:133–136. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-2858.2008.02.013>
83. Liu HT, Zou SS, Qi YD, Zhu YX, Li XB, Zhang BG (2012) Quantitative determination of four compounds and fingerprint analysis in the rhizomes of *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm. J Nat Med 66:413–419. <https://doi.org/10.1007/s11418-011-0595-x>
84. Li SX, Zhang ZG, Long M, Cai GX (2005) HPLC fingerprint of *Ultramicro Rhizoma Drynariae*. Chin Tradit Herb Drugs 36:1634–1637. <https://doi.org/10.3321/j.issn:0253-2670.2005.11.015>
85. Li XH, Xiong ZL, Yu MY, Lu XM, Yu X, Li FM (2009) High performance liquid chromatographic fingerprints of ethanol and cyclohexane extracts of *Rhizoma Drynariae* and quantitative analysis of index components based on principal component analysis. Chin J Chromatogr 27:453–457. <https://doi.org/10.3321/j.issn:1000-8713.2009.04.014>



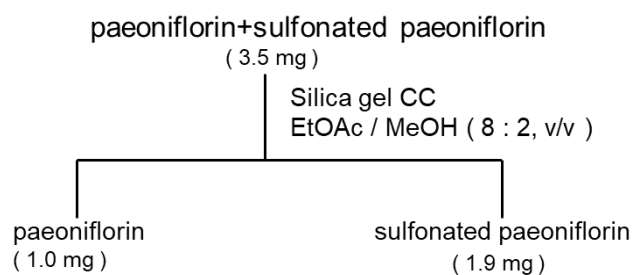
86. Zhang HP, Zhu S, He YM, Cai SQ, Hakamatsuka T, Maruyama T, Komatsu K (2017) Development of a method for authentication of *Drynariae Rhizoma* by genetic analysis. *Annu Meet Jpn Soc Pharmacogn Abstr Pap* 64th:303
87. Long JX, Zhao WF, Xu YF, Li H, Yang S (2018) Carbonate-catalyzed room-temperature selective reduction of biomass-derived 5-hydroxymethylfurfural into 2,5-bis(hydroxymethyl)furan. *Catalysts* 8:633. <https://doi.org/10.3390/catal8120633>
88. Cui CB, Tezuka Y, Kikuchi T, Nakano H, Tamaoki T, Park JH (1990) Constituents of a fern, *Davallia mariesii* MOORE. I. isolation and structures of davallialactone and a new flavanone glucuronide. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 38:3218–3225. <https://doi.org/10.1248/cpb.38.3218>
89. Li N, Li X, Yang SL (2006) Chemical constituents of organic acid part from *Camptosorus sibiricus* Rupr. *J Shenyang Pharm Univ* 23:427–429. <https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2006.07.005>
90. Johnsson P, Peerlkamp N, Kamal-Eldin A, Andersson RE, Andersson R, Lundgren LN, Åman P (2002) Polymeric fractions containing phenol glucosides in flaxseed. *Food Chem* 76:207–212. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00269-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00269-2)
91. Chen YH, Chang FR, Lin YJ, Wang L, Chen JF, Wu YC, Wu MJ (2007) Identification of phenolic antioxidants from Sword Brake fern (*Pteris ensiformis* Burm.). *Food Chem* 105:48–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.055>
92. Kamiya K, Ohno A, Horii Y, Hanani E, Mansur U, Satake T (2003) A-type Proanthocyanidins from the bark of *Parameria laevigata*. *Heterocycles* 60:1697–1708. <https://doi.org/10.3987/com-03-9793>
93. Killday KB, Davey MH, Glinski JA, Duan P, Veluri R, Proni G, Daugherty FJ, Tempesta MS (2011) Bioactive A-Type Proanthocyanidins from *Cinnamomum cassia*. *J Nat Prod* 74:1833–1841. <https://doi.org/10.1021/np1007944>
94. Batsukh Z, Toume K, Javzan B, Kazuma K, Cai SQ, Hayashi S, Atsumi T, Yoshitomi T, Uchiyama N, Maruyama T, Kawahara N, Komatsu K (2021) Characterization of metabolites in *Saposhnikovia divaricata* root from Mongolia. *J Nat Med* 75:11–27. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01430-9>
95. Zhao Y, Zhao YY, Du Y, Kang JS (2019) Characterization and classification of three common *Bambusoideae* species in Korea by an HPLC-based analytical platform coupled with multivariate statistical analysis. *Ind Crops Prod* 130:389–397. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.096>
96. Abraham K, Gürtler R, Berg K, Heinemeyer G, Lampen A, Appel KE (2011) Toxicology and risk assessment of 5-hydroxymethylfurfural in food. *Mol Nutr Food Res* 55:667–678. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000564>
97. Zhang JH, Di Y, Wu LY, He YL, Zhao T, Huang X, Ding XF, Wu KW, Fan M, Zhu LL (2015) 5-HMF prevents against oxidative injury via APE/Ref-1. *Free Radic Res* 49:86–94. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.981260>

98. Bauer-Marinovic M, Taugner F, Florian S, Glatt H (2012) Toxicity studies with 5-hydroxymethylfurfural and its metabolite 5-sulphoxymethylfurfural in wild-type mice and transgenic mice expressing human sulphotransferases 1A1 and 1A2. *Arch Toxicol* 86:701–711. <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0807-5>
99. Sun MY, Li JY, Li D, Huang FJ, Wang D, Li H, Xing Q, Zhu HB, Shi L (2018) Full-length transcriptome sequencing and modular organization analysis of the naringin/neoeriocitrin-related gene expression pattern in *Drynaria roosii*. *Plant Cell Physiol* 59:1398–1414. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy072>
100. Chang SK, Alasalvar C, Bolling BW, Shahidi F (2016) Nuts and their co-products: The impact of processing (roasting) on phenolics, bioavailability, and health benefits – A comprehensive review. *J Funct Foods* 26:88–122. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.029>
101. Monagas M, Garrido I, Lebrón-Aguilar R, Gómez-Cordovés MC, Rybarczyk A, Amarowicz R, Bartolomé B (2009) Comparative flavan-3-ol profile and antioxidant capacity of roasted Peanut, Hazelnut, and Almond Skins. *J Agric Food Chem* 57:10590–10599. <https://doi.org/10.1021/jf901391a>
102. Tanaka T, Nakashima T, Ueda T, Tomii K, Kouno I (2007) Facile discrimination of aldose enantiomers by reversed-phase HPLC. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 55:899–901. <https://doi.org/10.1248/cpb.55.899>
103. Hashim Y, Toume K, Mizukami S, Kitami T, Taniguchi M, Teklemichael AA, Tayama Y, Huy NT, Lami JN, Bodi JM, Hirayama K, Komatsu K (2022) Phenylpropanoid-conjugated iridoid glucosides from leaves of *Morinda morindoides*. *J Nat Med* 76:281–290. <https://doi.org/10.1007/s11418-021-01567-1>

# 付録



**Scheme S1-1** Conversion of paeoniflorin (**6**) to sulfonated paeoniflorin (**25**)



**Scheme S1-2** Isolation of sulfonated paeoniflorin (**25**)

**Table S1-1** NMR spectroscopic data of **25**

Position	Sulfonated paeoniflorin	
	$\delta_{\text{H}}$ in CD <sub>3</sub> OD 500 MHz	$\delta_{\text{H}}$ in CD <sub>3</sub> OD 300 MHz[53]
1	-	-
2	-	-
3	2.12 d (13.0) 2.41 d (13.0)	2.12 d (12.9) 2.43 d (12.9)
4	-	-
5	overlap	3.24 d (6.9)
6	-	-
7	1.97 d (11.5) 2.58 dd (11.5, 6.9)	1.98 d (11.1) 2.60 dd (11.1, 6.9)
8	overlap overlap	4.77 d (12.0) 4.82 d (12.0)
9	5.56 s	5.61 s
10	1.39 s	1.40 s
Glucose		
1'	4.54 d (7.6)	4.55 d (7.2)
2'	3.27-3.14	3.30 m
3'	3.27-3.14	3.20 m
4'	3.27-3.14	3.20 m
5'	3.27-3.14	3.30 m
6'	3.62 dd (11.9, 5.3) 3.82 dd (11.9, 2.3)	3.60 d (12.0) 3.83 d (12.0)
Benzoyl group		
1''	-	-
2''	8.06 dd (8.0, 1.5)	8.04 d (7.2)
3''	7.48 t-like (8.0)	7.48 t (7.2)
4''	7.59 t-like (8.0)	7.60 t (7.2)
5''	7.48 t-like (8.0)	7.48 t (7.2)
6''	8.06 dd (8.0, 1.5)	8.04 d (7.2)

**Table S1-2** <sup>1</sup>H NMR chemical shifts of assigned metabolites in peony root compared with reference standard compounds

Compounds	$\delta_H$	WPR produced in China										
		<i>P. lactiflora</i>										
		D1	D2	D3	D4	D17	D18	D22	D23	D24	D29	
Paeoniflorol (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4'-hydroxypaeoniflorigenone (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4- <i>epi</i> -albiflorin (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Albiflorin (4)	H-2'', 6''	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap
	H-4''	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3'', 5''	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap
	H-8	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	overlap	overlap	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	overlap	4.54 (d, 12.2)	overlap	4.54 (d, 12.2)
	H-4	4.11 (m)	4.11 (m)	overlap	overlap	4.11 (m)	4.11 (m)	4.10 (m) overlap	4.11 (m)	4.11 (m)	4.11 (m)	4.11 (m)
	H-5	2.76 (m) overlap	2.76 (m) overlap	2.76 (m) overlap	2.76 (m) overlap	2.76 (m) overlap	2.76 (m) overlap	2.76 (m) overlap	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)
	H-7	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)
	H-3	2.28 overlap	overlap	2.28 overlap	2.29 overlap	overlap	2.28 (m)	2.28 (m)	2.28 (dd, 15.3, 6.9)	2.28 (dd, 15.3, 6.9)	2.28 (dd, 15.3, 6.9)	overlap
	H-7	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)
	H-3	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 14.5)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3) overlap	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3) overlap	1.83 (d, 15.3)
H-10	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	
Paeonivayin (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Paeoniflorin (6)	H-2'', 6''	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)	7.98 (m)
	H-4''	7.67 (m)	7.67 (m)	7.67 (m)	7.67 (m)	7.67 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.67 (m)
	H-3'', 5''	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.53 (m)	7.53 (m)	7.53 (m)	7.53 (m)	7.53 (m)	7.54 (m)
	H-9	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.30 (s)	5.31 (s)	5.31 (s) overlap	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)
	H-8	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)
	H-1'	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6) overlap	4.37 (d, 7.6) overlap	4.37 (d, 7.6) overlap	4.38 (d, 7.6) overlap	4.39 (d, 7.6) overlap	overlap	overlap	overlap	4.37 (d, 7.6)
	H-5	2.43 (d, 7.6)	2.43 (d, 6.9)	2.43 (d, 7.6)	2.42 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.1)	2.43 (d, 5.4)	2.43 (d, 6.9)	2.43 (d, 7.6)	2.43 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.1)
	H-7	2.36 (m)	2.36 (m)	2.36 (m)	2.35 (m)	2.36 (m)	overlap	overlap	2.36 (m)	2.36 (m)	2.36 (m)	2.36 (m)
	H-3	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 10.7)	2.03 (d, 10.7)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)
	H-7	1.80 (d, 9.9)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 12.2)	1.80 (d, 13.0) overlap	1.80 (d, 12.2) overlap	1.80 (d, 12.2) overlap	1.80 (d, 12.2) overlap	1.80 (d, 10.7)
H-3	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.64 (d, 11.5)	1.63 (d, 12.2)	1.64 (d, 13.8)	1.64 (d, 13.0)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.64 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	
H-10	1.23 (s)	1.22 (s)	1.23 (s)	1.22 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	
4-O-methyl-paeoniflorin (7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Salicylpaeoniflorin (8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Benzoylpaeoniflorin (9)	H-2'', 6'', 2''', 6'''	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	-	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	-	-	-	-	-	7.98 (m) overlap
	H-4'', 4'''	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	-	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	-	-	-	-	-	7.67 (m) overlap
	H-3'', 5'', 3''', 5'''	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	-	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	-	-	-	-	-	7.54 (m) overlap
	H-10	1.11 (s)	1.12 (s)	-	1.11 (s)	1.11 (s)	-	-	-	-	-	1.12 (s)
Mudanpioside C (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Galloylpaeoniflorin (11)	H-2'', 6''	-	-	-	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	-	-	7.98 (m) overlap	-	-	-
	H-4''	-	-	-	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	-	-	7.67 (m) overlap	-	-	-
	H-3'', 5''	-	-	-	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	-	-	7.53 (m) overlap	-	-	-
	H-2''', 6'''	-	-	-	overlap	overlap	-	-	overlap	-	-	-
	H-3	-	-	-	overlap	overlap	-	-	overlap	-	-	-
H-10	-	-	-	1.13 (s) overlap	1.13 (s) overlap	-	-	1.13 (s) overlap	-	-	-	
Mudanpioside J (12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Oxypaeoniflorin (13)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Benzoyloxypaeoniflorin (14)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Paeonidanin E (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lactiflorin (16)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Mudanpioside E (17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

**Table S1-2 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	WPR produced in China									
		<i>P. lactiflora</i>									
		D1	D2	D3	D4	D17	D18	D22	D23	D24	D29
PGG (18)	H-2''''', 6'''''	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)
	H-2', 6'	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)
	H-2'', 6''	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.82 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)
	H-2''''', 6'''''	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.79 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)
	H-2''''', 6'''''	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.74 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)
	H-1	6.35 (d, 7.6)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 7.6)	6.36 (d, 7.6)	6.36 (d, 8.4)	6.36 (d, 7.6)	6.36 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)
	H-3	5.93 (t, 9.9)	5.94 (t, 9.9)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.94 (m)	5.94 (m)	5.94 (m)	5.93 (m)
	H-2	overlap	overlap	overlap	5.42 (m)	5.43 (m)	overlap	overlap	5.43 (m)	overlap	overlap
	H-4	overlap	5.39 (m) overlap	5.39 (d, 8.4) overlap	5.38 (d, 8.4)	5.39 (m)	overlap	overlap	5.39 overlap	overlap	overlap
(+) -Catechin (19)	H-2'	6.70 (d, 1.5)	6.70 (d, 3.1)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 1.5)	–	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 1.5)
	H-5'	6.67 (d, 7.6)	6.67 (d, 7.6)	6.67 (d, 7.6)	6.67 (d, 8.4)	6.67 (d, 7.6)	6.67 (d, 7.6)	–	6.67 (d, 8.4)	6.67 (d, 8.4)	6.67 (d, 8.4)
	H-6'	6.57 (dd, 8.4, 2.3)	6.57 (dd, 8.4, 2.3)	overlap	6.57 (dd, 7.6, 2.3)	6.58 (dd, 8.41, 2.3)	–	–	6.58 (dd, 8.4, 2.3)	overlap	6.58 (dd, 7.6, 2.3)
	H-8	5.87 (d, 2.3)	–	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)
	H-6	5.67 (d, 1.5)	–	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 1.5)
Paeonol (20)	H-6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Benzoic acid (21)	H-2, 6	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap
	H-4	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3, 5	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap
Gallic acid (22)	H-2, 6	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)
Methyl gallate (23)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Quercetin (24)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Sulfonated paeoniflorin (25)	H-2'', 6''	7.98 (m) overlap	–	7.98 (m) overlap	–	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	–
	H-4''	7.67 (m) overlap	–	7.67 (m) overlap	–	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	–
	H-3'', 5''	7.54 (m) overlap	–	7.54 (m) overlap	–	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	–
	H-9	5.40 (s)	–	5.40 (s)	–	5.40 (s)	5.41 (s)	5.41 (s)	5.41 (s)	5.41 (s)	–
	H-8	4.65 (s) overlap	–	4.65 (s) overlap	–	4.65 (s)	4.65 (s)	4.65 (s)	4.65 (s)	4.66 (s)	–
	H-5	overlap	–	overlap	–	overlap	overlap	2.89 (d, 6.9)	2.90 (d, 6.9)	overlap	–
	H-7	overlap	–	overlap	–	overlap	2.37 (m)	2.37 (m)	2.37 (m)	2.38 (m)	–
	H-3	overlap	–	overlap	–	2.16 (d, 13.8)	2.16 (d, 13)	2.16 (d, 13.0)	2.16 (d, 13.0)	2.16 (d, 13.0)	–
	overlap	–	overlap	–	overlap	1.80 (d, 12.2)	1.80 (d, 12.2)	1.80 (d, 12.3)	1.80 (d, 12.3)	1.80 (d, 12.2)	–
	H-7	1.71 (d, 11.5)	–	1.71 (d, 11.5) overlap	–	1.71 (d, 10.7)	1.71 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.71 (d, 10.7)	1.71 (d, 10.7)	–
H-10	1.23 (s)	–	1.23 (s)	–	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	–	
Sucrose (26)	H-1	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)
	H-3'	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)
	H-4'	3.77 (t, 7.6)	3.76 overlap	3.76 (m)	3.76 m	3.76 m	overlap	overlap	3.76 (t, 7.6)	overlap	3.77 (t, 7.6)
	H-5'	3.64 m	overlap	3.64 m	3.64 m	3.64 m	overlap	overlap	3.64 (m)	overlap	3.64 (m) overlap
	H-5	3.56 m	overlap	3.56 m	3.56 m	3.56 m	overlap	overlap	3.57 (m)	3.57 (m)	3.57 (m)
	H-6'	3.49 (d, 5.4)	overlap	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	overlap	overlap	3.49 (d, 4.6)	overlap	3.49 (d, 4.6)
	H-6	3.47 (d, 5.4)	overlap	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	overlap	overlap	3.47 (d, 5.4)	overlap	3.47 (d, 5.4)
	H-3	3.45 (d, 9.2)	overlap	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	overlap	overlap	3.45 (d, 9.2)	overlap	3.45 (d, 9.2)
	H-1'	3.40 s overlap	overlap	3.40 s overlap	3.39 (s)	3.40 (s)	3.40 (s) overlap	overlap	3.40 (s) overlap	3.40 (s) overlap	3.40 (s) overlap
	H-2	3.17 overlap	3.17 overlap	3.17 overlap	3.17 overlap	3.17 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.17 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap
	H-4	3.11 (t, 9.2)	overlap	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 m	overlap	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m) overlap	3.11 (m)
D-Glucose (27)	H-1	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)

**Table S1-2 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	PR produced in Japan									
		<i>P. lactiflora</i>									
		D6	D7	D8	D10	D50	D51	D52	D9	D49	
Paeoniflorol (1)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
4'-hydroxypaeoniflorigenone (2)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
4- <i>epi</i> -albiflorin (3)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Albiflorin (4)	H-2", 6"	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap
	H-4"	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3", 5"	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap
	H-8	overlap	4.54 (d, 13.0) overlap	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)
	H-4	4.10 (m)	overlap	4.11 (m)	4.10 (m)	4.10 (m)	4.10 (m)	4.10 (m)	4.10 (m)	4.11 (m)	4.10 (m)
	H-5	2.76 (m)	overlap	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m) overlap
	H-7	2.66 (m)	overlap	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m) overlap	2.66 (m) overlap
	H-3	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	2.28 (dd, 14.5, 6.1)	overlap	overlap	overlap
	H-7	1.89 (d, 10.7)	overlap	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 11.5) overlap	1.89 (d, 11.5) overlap	1.89 (d, 11.5)	1.89 (d, 11.5)	1.89 (d, 11.5)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 11.5)
	H-3	1.83 (d, 15.3)	overlap	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 14.5) overlap	1.83 (d, 14.5) overlap	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 16.0)	1.83 (d, 16.8)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 15.3)
	H-10	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)
Paeonivayin (5)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Paeoniflorin (6)	H-2", 6"	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)
	H-4"	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.67 (m)	7.66 (m)
	H-3", 5"	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)
	H-9	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.31 (s)	5.30 (s)
	H-8	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)
	H-1'	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)
	H-5	2.42 (d, 6.9)	2.43 (d, 7.6)	2.42 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.9)	2.42 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.9)	2.42 (d, 6.1)
	H-7	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.36 (m)	2.36 (m)	2.35 (m)
	H-3	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)
	H-7	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 9.9)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)
	H-3	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 11.5)	1.63 (d, 13.0)	1.63 (d, 13.0)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)
	H-10	1.22 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.22 (s)	1.22 (s)	1.22 (s)	1.22 (s)	1.22 (s)	1.23 (s)	1.22 (s)
4-O-methyl-paeoniflorin (7)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Salicylpaeoniflorin (8)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Benzoylpaeoniflorin (9)	H-2", 6", 2"', 6'''	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap
	H-4", 4'''	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3", 5", 3"', 5'''	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap
	H-10	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)
Mudanpioside C (10)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Galloylpaeoniflorin (11)	H-2", 6"	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap
	H-4"	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3", 5"	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap
	H-10	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)
Mudanpioside J (12)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Oxypaeoniflorin (13)	H-2", 6"	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 (m)	–	–	7.82 (m)	7.82 (m)
	H-3", 5"	6.85 (m) overlap	6.85 (m) overlap	6.85 (m) overlap	6.85 (m)	6.84 (m)	6.84 (m) overlap	–	–	6.86 (m)	6.84 (m) overlap
	H-9	5.27 (s) overlap	overlap	5.27 (s)	5.27 (s)	5.27 (s)	overlap	–	–	5.27 (s)	overlap
Benzoyloxypaeoniflorin (14)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Paeonidanin E (15)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Lactiflorin (16)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Mudanpioside E (17)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

**Table S1-2 (Continued)**

Compounds	$\delta_{\text{H}}$	PR produced in Japan								
		<i>P. lactiflora</i>								
		D6	D7	D8	D10	D50	D51	D52	D9	D49
PGG (18)	H-2''''', 6''''	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.96 (s)	6.98 (s)
	H-2', 6'	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)
	H-2'', 6''	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.83 (s)	6.82 (s)
	H-2''''', 6''''	6.79 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.80 (s)	6.79 (s)
	H-2''', 6'''	6.74 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.75 (s)	6.74 (s)
	H-1	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.34 (d, 8.4)	6.34 (d, 8.4)	6.35 (d, 7.6)	6.34 (d, 7.6)	6.35 (d, 8.4)	6.34 (d, 7.6)
	H-3	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)
	H-2	overlap	overlap	5.43 (m) overlap	5.42 (m)	5.42 (m)	5.43 (m)	5.43 (m)	5.43 (m)	5.42 (m)
	H-4	overlap	overlap	5.39 (d, 8.4) overlap	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.38 (m)
(+) -Catechin (19)	H-2'	6.70 (d, 1.5)	–	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	–	–	–	6.70 (d, 1.5)	6.70 (d, 2.3)
	H-5'	6.67 (d, 8.4)	–	6.67 (d, 8.4)	6.67 (d, 8.4)	–	–	–	6.67 (d, 8.4)	6.67 (d, 7.6)
	H-6'	6.57 (dd, 8.4, 2.3)	–	6.57 (dd, 7.6, 2.3)	6.57 (dd, 7.6, 2.3)	–	–	–	6.58 (dd, 8.4, 2.3)	6.57 (dd, 8.4, 2.3)
	H-8	5.87 (d, 2.3)	–	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	–	–	–	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)
	H-6	5.67 (d, 2.3)	–	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	–	–	–	5.67 (d, 1.5)	5.67 (d, 2.3)
Paeonol (20)	H-6	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Benzoic acid (21)	H-2, 6	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap
	H-4	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3, 5	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap
Gallic acid (22)	H-2, 6	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)
Methyl gallate (23)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Quercetin (24)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Sulfonated paeoniflorin (25)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Sucrose (26)	H-1	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.1)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)
	H-3'	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)
	H-4'	3.76 (t, 7.6)	3.76 (t, 7.6)	3.76 (t, 7.6)	3.76 (m)	3.76 (m)	3.76 (m)	3.76 (t, 7.6)	3.77 (t, 7.6)	3.76 (m)
	H-5'	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)
	H-5	3.56 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.57 (m)	3.56 (m)
	H-6'	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 5.4)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 5.4)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)
	H-6	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)
	H-3	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)
	H-1'	3.39 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.40 (s)	3.39 (s)
	H-2	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.17 overlap	3.18 overlap
H-4	3.11 (m)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)	3.11 (t, 9.2)	
D-Glucose (27)	H-1	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)



**Table S1-2 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	PR produced in China					RPR produced in China		
		<i>P. lactiflora</i>					<i>P. lactiflora</i>		
		D45	D46	D47	D48	D53	D12N	D12	D13
Paeoniflorol (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4'-hydroxypaeoniflorigenone (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4- <i>epi</i> -albiflorin (3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Albiflorin (4)	H-2", 6"	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 6.9) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap	8.00 (d, 7.6) overlap
	H-4"	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3", 5"	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap
	H-8	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 11.5)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2)	4.54 (d, 13.8)	4.54 (d, 12.2)
	H-4	4.11 (m)	4.10 (m)	4.11 (m)	4.10 (m)	4.10 (m)	4.10 (m)	overlap	overlap
	H-5	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	2.76 (m)	overlap	overlap	overlap
	H-7	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.66 (m)	2.65 (m)	overlap	2.66 m overlap
	H-7	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 11.5)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 10.7)	1.89 (d, 9.2)	overlap	overlap	1.89 (d, 11.5)
	H-3	1.83 (d, 16.0)	1.83 (d, 14.5)	1.83 (d, 15.3)	1.83 (d, 16.0)	1.83 (d, 15.3)	overlap	overlap	1.84 (d, 13.8)
	H-10	1.38 (s)	1.37 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38(s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)
Paeonivayin (5)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Paeoniflorin (6)	H-2", 6"	7.98 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.98 (m)	7.98 (m) overlap
	H-4"	7.67 (m)	7.67 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.67 (m)	7.67 (m) overlap
	H-3", 5"	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.53 (m) overlap
	H-9	5.31 (s)	5.31 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)
	H-8	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)
	H-1'	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 8.4)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 8.4)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)
	H-5	2.43 (d, 8.4)	2.42 (d, 6.9)	2.42 (d, 6.9)	2.42 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.1)	2.43 (d, 6.1)	2.43 (d, 6.9)
	H-7	2.36 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.36 (m)	2.36 m
	H-3	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 13.0)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)
	H-7	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)
	H-3	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 13.0)	1.63 (d, 13.0)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 12.2)	1.64 (d, 12.2)	1.64 (d, 12.2)
	H-10	1.23 (S)	1.22 (s)	1.23 (S)	1.22 (s)	1.22 (s)	1.22 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)
4-O-methyl-paeoniflorin (7)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicylpaeoniflorin (8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzoylpaeoniflorin (9)	H-2", 6", 2"', 6'''	-	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	-	7.98 (m) overlap
	H-4", 4'''	-	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	-	7.67 (m) overlap
	H-3", 5", 3"', 5'''	-	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	-	7.53 (m) overlap
	H-10	-	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	-	1.12 (s)
Mudanpioside C (10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galloypaeoniflorin (11)	H-2", 6"	-	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	-	7.98 (m) overlap
	H-4"	-	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	-	7.67 (m) overlap
	H-3", 5"	-	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	-	7.53 (m) overlap
	H-10	-	1.12 (s) overlap	1.13 (s) overlap	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s) overlap	-	1.13 (s) overlap
Mudanpioside J (12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxypaeoniflorin (13)	H-2", 6"	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 m	-	-	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 m
	H-3", 5"	overlap	overlap	overlap	-	-	6.84 (m) overlap	overlap	overlap
	H-9	overlap	overlap	overlap	-	-	overlap	5.27 (s)	5.27 (s)
Benzoyloxypaeoniflorin (14)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Paeonidanin E (15)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactiflorin (16)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mudanpioside E (17)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Table S1-2 (Continued)**

Compounds	$\delta_{\text{H}}$	PR produced in China					RPR produced in China		
		<i>P. lactiflora</i>					<i>P. lactiflora</i>		
		D45	D46	D47	D48	D53	D12N	D12	D13
<b>PGG (18)</b>	PGG	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.95 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)
	H-2', 6'	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.88 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)
	H-2'', 6''	6.83 (s)	6.82 (s)	6.83 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)
	H-2''', 6'''	6.80 (s)	6.79 (s)	6.80 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.79 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)
	H-2''', 6'''	6.75 (s)	6.74 (s)	6.75 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.74 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)
	H-1	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.34 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.36 (d, 8.4)	overlap
	H-3	5.93 (m)	5.94 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (t, 9.9)	5.93 (m)	5.94 (m)	5.94 (m)
	H-2	5.43 (m)	5.42 (m)	5.43 (m)	5.42 (m)	5.43 (m)	5.42 (m)	5.43 (m)	5.44 (m)
	H-4	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.38 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)
<b>(+)-Catechin (19)</b>	H-2'	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	–	–	6.71 (d, 2.3)	6.71 (d, 2.3)
	H-5'	6.67 (d, 7.6)	overlap	6.67 (d, 8.4)	6.67 (d, 8.4)	–	–	6.67 (d, 8.4)	6.66 (d, 7.6)
	H-6'	6.57 (dd, 9.2, 1.5)	overlap	6.58 (dd, 7.6, 2.3)	overlap	–	–	6.56 (dd, 8.4, 1.5)	overlap
	H-8	5.88 (d, 2.3)	overlap	overlap	overlap	–	–	5.88 (d, 2.3)	5.88 (d, 2.3)
	H-6	5.67 (d, 2.3)	overlap	5.67 (d, 2.3)	overlap	–	–	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)
<b>Paeonol (20)</b>	–	–	–	–	–	–	–	–	
<b>Benzoic acid (21)</b>	H-2, 6	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap
	H-4	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap
	H-3, 5	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap
<b>Gallic acid (22)</b>	H-2, 6	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.88 (s)	6.89 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)
<b>Methyl gallate (23)</b>	–	–	–	–	–	–	–	–	
<b>Quercetin (24)</b>	–	–	–	–	–	–	–	–	
<b>Sulfonated paeoniflorin (25)</b>	–	–	–	–	–	–	–	–	
<b>Sucrose (26)</b>	H-1	5.17 (d, 3.8)	5.16 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.1)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.1)	5.17 (d, 3.8)
	H-3'	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)
	H-4'	3.77 (m)	3.76 (t, 7.6)	3.77 (t, 7.6)	3.76 (m)	3.76 (m)	3.76 (t, 7.6)	3.77 (m)	overlap
	H-5'	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)
	H-5	3.56 (m)	3.56 (m)	3.57 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.57 (m)	3.57 (m) overlap
	H-6'	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.50 (d, 4.6)	overlap
	H-6	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	overlap
	H-3	3.45 (d, 9.2)	3.44 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	overlap
	H-1'	3.40 (s)	3.39 (s)	3.40 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.39 (s)	3.40 (s)	3.40 (s) overlap
H-2	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.17 (dd, 9.2, 3.8)	3.18 overlap	3.18 (dd, 9.2, 3.8)	
H-4	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)	3.11 (m)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)	3.11 (m)	3.11 (m)	
<b>D-Glucose (27)</b>	H-1	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)

Table S1-2 (Continued)

Compounds	$\delta_{\text{H}}$	RPR produced in China									
		<i>P. lactiflora</i>				<i>P. veitchii</i>					
		D14	D15	D54	D16	D11	DS-1	DS-5	DS-6	DS-7	
Paeoniflorol (1)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
4'-hydroxypaeoniflorigenone (2)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
4- <i>epi</i> -albiflorin (3)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Albiflorin (4)	H-2", 6"	8.00 (d, 6.9) overlap	8.00 (d, 6.9) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.00 (d, 8.4) overlap	8.01 overlap	8.00 overlap	8.01 overlap	8.01 overlap	8.00 overlap	
	H-4"	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	
	H-3", 5"	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	
	H-8	4.53 (d, 12.2)	4.54 (d, 12.2) overlap	4.54 (d, 12.2) overlap	4.54 (d, 12.2)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-4	4.10 (m) overlap	overlap	overlap	4.11 (m)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-5	2.76 (m) overlap	overlap	overlap	2.76 (m)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-7	overlap	overlap	overlap	2.66 (m)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-3	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-7	overlap	overlap	overlap	1.89 (d, 10.7)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-3	overlap	overlap	overlap	1.83 (d, 16.0)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-10	1.37 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	1.38 (s)	
Paeonivayin (5)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Paeoniflorin (6)	H-2", 6"	7.97 (m)	7.97 (m)	7.98 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.98 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	7.97 (m)	
	H-4"	7.66 (m)	7.67 (m)	7.67 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.67 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	7.66 (m)	
	H-3", 5"	7.54 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.53 (m)	7.54 (m)	7.54 (m)	7.53 (m)	7.53 (m)	7.53 (m)	
	H-9	5.30 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.31 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	5.30 (s)	
	H-8	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)	
	H-1'	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 8.4)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	4.37 (d, 7.6)	
	H-5	2.42 (d, 6.1)	2.43 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.9)	2.43 (d, 6.1)	2.43 (d, 6.1)	2.42 (d, 6.9)	2.42 (d, 6.9)	2.42 (d, 6.1)	
	H-7	2.35 (m)	2.36 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.36 (m)	2.36 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	2.35 (m)	
	H-3	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 13.0)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 13.0)	2.03 (d, 12.2)	2.03 (d, 12.2)	
	H-7	1.79 (d, 9.9)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 9.9)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	1.80 (d, 10.7)	
	H-3	1.63 (d, 12.2)	1.64 (d, 13.0)	1.63 (d, 12.2)	1.63 (d, 13.0)	1.64 (d, 12.2)	1.64 (d, 12.2)	1.64 (d, 11.5)	1.64 (d, 11.5)	1.63 (d, 11.5)	
	H-10	1.22 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.23 (s)	1.22 (s)	
4-O-methyl-paeoniflorin (7)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Salicylpaeoniflorin (8)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Benzoylpaeoniflorin (9)	H-2", 6", 2"', 6"	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap	–	–	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	
	H-4", 4'''	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	–	–	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	
	H-3", 5", 3"', 5"	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	–	–	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	
	H-10	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	–	–	1.11 (s)	1.11 (s)	1.11 (s)	
Mudanpioside C (10)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Galloylpaeoniflorin (11)	H-2", 6"	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	
	H-4"	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	
	H-3", 5"	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	
	H-3	1.55 (d, 12.2)	1.56 (d, 13.0)	overlap	1.56 (d, 12.2) overlap	1.56 (d, 13.0)	1.56 (d, 12.2)	1.56 (d, 12.2)	1.56 (d, 12.2)	1.55 (d, 12.2)	
	H-10	1.12 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s) overlap	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.13 (s)	1.12 (s)	
Mudanpioside J (12)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Oxypaeoniflorin (13)	H-2", 6"	7.82 (m)	7.82 (m)	7.82 (m)	–	–	–	–	–	–	
	H-3", 5"	6.85 (m)	6.85 (m)	6.84 (m)	–	–	–	–	–	–	
	H-9	overlap	5.27 (s)	5.27 (s)	–	–	–	–	–	–	
Benzoyloxypaeoniflorin (14)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Paeonidanin E (15)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Lactiflorin (16)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Mudanpioside E (17)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	

**Table S1-2 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	RPR produced in China								
		<i>P. lactiflora</i>				<i>P. veitchii</i>				
		D14	D15	D54	D16	D11	DS-1	DS-5	DS-6	DS-7
PGG (18)	H-2''''', 6''''	6.95 (s)	6.96 (s)	6.95 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)	6.95 (s)	6.96 (s)	6.96 (s)	6.95 (s)
	H-2', 6'	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)
	H-2'', 6''	6.82 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.82 (s)
	H-2''''', 6''''	6.79 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.80 (s)	6.79 (s)
	H-2''', 6'''	6.74 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.75 (s)	6.74 (s)
	H-1	6.35 (d, 7.6)	6.36 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 7.6)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)	6.35 (d, 8.4)
	H-3	5.93 (m)	5.94 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)	5.93 (m)
	H-2	5.42 (m)	5.43 (m)	5.43 (m)	overlap	5.43 (m)	5.43 (m)	5.43 (m)	5.43 (m)	5.42 (m)
	H-4	5.38 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	overlap	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)	5.39 (m)
(+) -Catechin (19)	H-2'	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	6.70 (d, 2.3)	overlap	-	-	-	-	-
	H-5'	6.67 (d, 7.6)	6.66 (d, 8.4)	6.67 (d, 7.6)	overlap	-	-	-	-	-
	H-6'	6.57 (dd, 8.4, 1.5)	6.58 (dd, 8.4, 2.3)	6.58 (dd, 7.6, 2.8)	overlap	-	-	-	-	-
	H-8	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	5.87 (d, 2.3)	-	-	-	-	-
	H-6	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	5.67 (d, 2.3)	-	-	-	-	-
Paeonol (20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Benzoic acid (21)	H-2, 6	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.98 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap	7.97 (m) overlap
	H-4	7.64 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.67 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap	7.66 (m) overlap
	H-3, 5	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.54 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap	7.53 (m) overlap
Gallic acid (22)	H-2, 6	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)	6.90 (s)	6.90 (s)	6.89 (s)
Methyl gallate (23)	H-2, 6	-	-	-	-	-	6.92 (s)	6.92 (s)	6.92 (s)	6.92 (s)
Quercetin (24)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfonated paeoniflorin (25)	H-2'', 6''	-	-	-	7.97 (m) overlap	-	-	-	-	-
	H-4''	-	-	-	7.66 (m) overlap	-	-	-	-	-
	H-3''', 5''	-	-	-	7.53 (m) overlap	-	-	-	-	-
	H-9	-	-	-	5.41 (s)	-	-	-	-	-
	H-8	-	-	-	4.65 (s)	-	-	-	-	-
	H-5	-	-	-	overlap	-	-	-	-	-
	H-7	-	-	-	2.37 (m)	-	-	-	-	-
	H-3	-	-	-	overlap	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	overlap	-	-	-	-	-
	H-7	-	-	-	1.71 (d, 10.7)	-	-	-	-	-
H-10	-	-	-	1.22 (s)	-	-	-	-	-	
Sucrose (26)	H-1	5.16 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.1)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.17 (d, 3.8)	5.16 (d, 3.1)
	H-3'	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 7.6)	3.87 (d, 8.4)
	H-4'	3.76 (m)	3.77 (t, 7.6)	3.76 (t, 7.6)	3.76 (m)	3.77 (t, 7.6)	3.77 (t, 7.6)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.76 (t, 7.6)
	H-5'	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)	3.64 (m)
	H-5	3.56 (m)	3.57 (m)	3.56 (m)	3.56 (m)	3.57 (m)	3.56 (m)	3.57 (m)	3.57 (m)	3.56 (m)
	H-6'	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.50 (d, 4.6)	3.50 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)	3.49 (d, 4.6)
	H-6	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 4.6)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 4.6)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)	3.47 (d, 5.4)
	H-3	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)	3.45 (d, 9.2)
	H-1'	3.39 (s) overlap	3.40 (s)	3.40 (s)	3.40 (s)	3.40 (s) overlap	3.40 (s)	3.40 (s)	3.40 (s)	3.39 (s)
	H-2	3.17 (dd, 9.2, 3.8)	3.18 (dd, 9.9, 3.8)	3.17 overlap	3.17 (dd, 9.9, 3.8)	3.18 (dd, 9.9, 3.8)	3.18 (dd, 9.2, 3.8) overlap	3.18 overlap	3.18 overlap	3.17 (dd, 9.9, 3.8)
	H-4	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)	3.11 (m)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)	3.11 (m)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (t, 9.2)	3.11 (m)
D-Glucose (27)	H-1	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.1)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)	4.89 (d, 3.8)

**Table S1-3** Purity of reference compounds using qHNMR in Chapter 1

Compound name	Molecular mass	Selected signal $\delta_H$	Purity (%)
gallic acid ( <b>22</b> )	170.12	6.90 (s)	90.30
albiflorin ( <b>4</b> )	480.46	1.38 (s)*	84.61
paeoniflorin ( <b>6</b> )	480.47	5.31 (s)*	78.08
benzoic acid ( <b>21</b> )	122.12	7.61 (t, $J=7.5$ Hz)	99.88
PGG ( <b>18</b> )	940.68	6.75 (s)*	87.01

\*, the signals were used to quantify these compounds in extracts.

**Table S1-4** Linear regression data of compounds in Chapter 1

Compound	LOD ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>a</sup>	LOQ ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>b</sup>	R <sup>2</sup>	Calibration curve equation	Linear range (mg/mL)	Recovery (%)	RSD (%)
gallic acid ( <b>22</b> )	0.34	1.12	1.0000	$y = 11619536.9744 x - 15738.1730$	0.0027-1.0756	97.18%	0.23%
albiflorin ( <b>4</b> )	0.11	0.36	1.0000	$y = 8666813.4091 x + 25560.7084$	0.0034-1.3776	96.91%	0.51%
paeoniflorin ( <b>6</b> )	0.08	0.28	1.0000	$y = 12583408.7735 x + 29627.3939$	0.0027-1.0820	106.81%	0.92%
benzoic acid ( <b>21</b> )	0.0005	0.0018	1.0000	$y = 39010105.1433 x - 143.5365$	0.0005-0.1742	101.55%	0.72%
PGG ( <b>18</b> )	0.31	1.04	0.9999	$y = 14115132.4028 x - 66528.4218$	0.0025-1.0018	102.29%	2.09%

a: Limit of detection (S/N=3)

b: Limit of quantification (S/N=10)

**Table S1-5** Intra- and inter-day precision in Chapter 1

Compound	Intra-day precision (RSD, %)		Inter-day precision (RSD, %)	
	Standard mixture solution	D18	Standard mixture solution	D18
gallic acid ( <b>22</b> )	0.16	0.14	0.13	0.11
albiflorin ( <b>4</b> )	0.38	0.11	0.26	0.21
paeoniflorin ( <b>6</b> )	0.44	0.13	0.16	0.12
benzoic acid ( <b>21</b> )	0.13	0.07	0.04	0.15
PGG ( <b>18</b> )	0.27	0.07	0.60	0.02

**Table S1-6** 75% Ethanol extract yields and sucrose (**26**) contents in plant samples (n=3)

No.	Extract content (mg/g) mean $\pm$ SD	Sucrose content (mg/g) mean $\pm$ SD
A	222 $\pm$ 27	99.2 $\pm$ 14.7
B	141 $\pm$ 7	49.1 $\pm$ 3.9
C	397 $\pm$ 15	221.3 $\pm$ 9.4
D	386 $\pm$ 17	208.7 $\pm$ 9.2

**Table S1-7** Data matrix creation conditions and model reliability of Figs. S1-5 and S1-6

PCA	Spectra	Normalization	Sucrose ( <b>26</b> ) signals*	$R^2X$	$Q^2$
RPR samples					
Fig. S1-5a & b	<sup>1</sup> H NMR	Peak area of internal standard	+	0.921	0.775
Fig. S1-5c & d	<sup>1</sup> H NMR	Peak area of internal standard	-	0.948	0.816
Fig. S1-5e & f	qHNMR	Peak area of internal standard	+	0.864	0.579
Fig. S1-5g & h	qHNMR	Peak area of internal standard	-	0.967	0.800
Fig. S1-6a & b	<sup>1</sup> H NMR	Total intensity	+	0.719	0.507
Fig. S1-6c & d	<sup>1</sup> H NMR	Total intensity	-	0.701	0.438
Fig. S1-6e & f	qHNMR	Total intensity	+	0.729	0.495
Fig. S1-6g & h	qHNMR	Total intensity	-	0.681	0.429

\*: + and - indicate including and excluding sucrose (**26**) signals, respectively.

$R^2X$ : model interpretation rate

$Q^2$ : model predictive ability

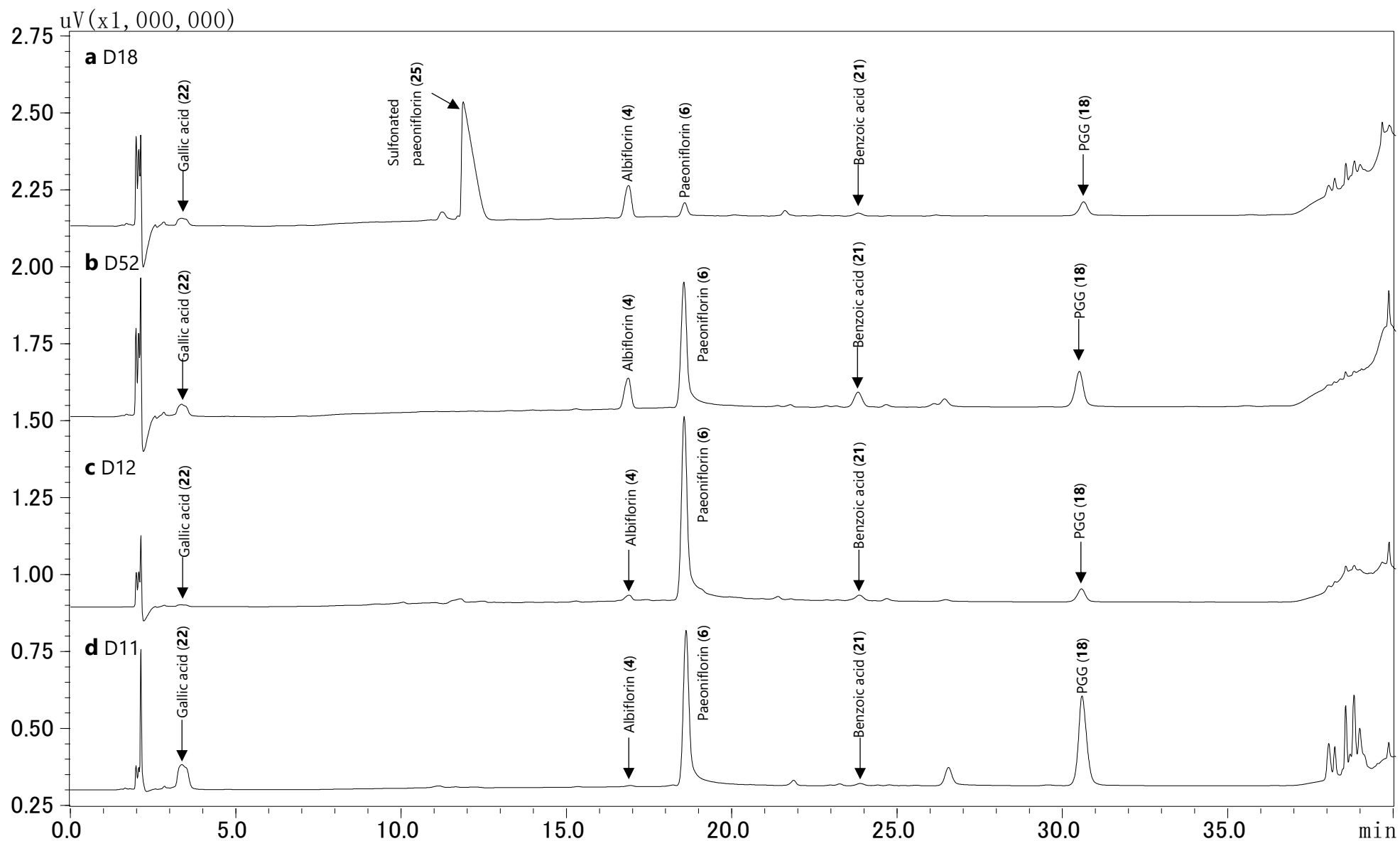
**Table S1-8** Data matrix creation conditions and model reliability of Figs. 1-6 and S1-7

OPLS-DA	Spectra	Normalization	Sucrose ( <b>26</b> ) signals*	$R^2X$	$R^2Y$	$Q^2$
RPR samples						
Fig. 1-6a & b	<sup>1</sup> H NMR	Peak area of internal standard	+	0.973	0.998	0.944
Fig. 1-6c & d	<sup>1</sup> H NMR	Peak area of internal standard	-	0.904	0.967	0.911
Fig. 1-6a & b	qHNMR	Peak area of internal standard	+	0.952	0.995	0.959
Fig. 1-6c & d	qHNMR	Peak area of internal standard	-	0.967	0.995	0.971
Fig. S1-7a & b	<sup>1</sup> H NMR	Total intensity	+	0.772	0.983	0.953
Fig. S1-7c & d	<sup>1</sup> H NMR	Total intensity	-	0.754	0.990	0.950
Fig. S1-7e & f	qHNMR	Total intensity	+	0.947	0.997	0.976
Fig. S1-7g & h	qHNMR	Total intensity	-	0.679	0.990	0.951

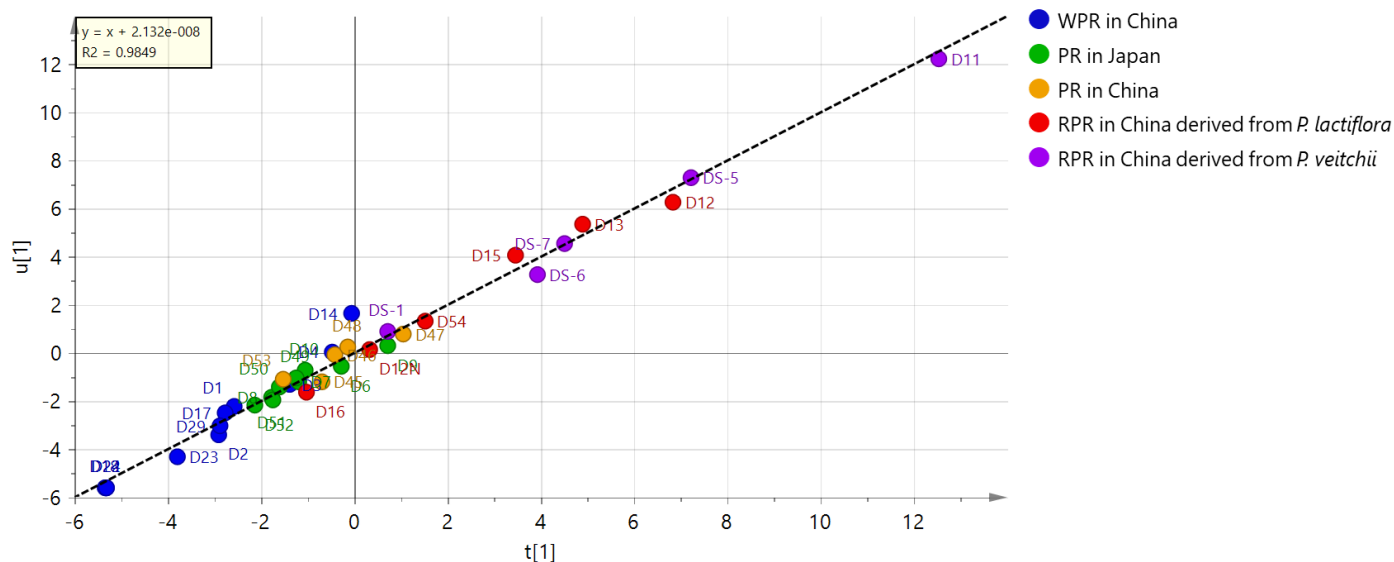
\*: + and - indicate including and excluding sucrose (**26**) signals, respectively.

$R^2X$  and  $R^2Y$ : model interpretation rate

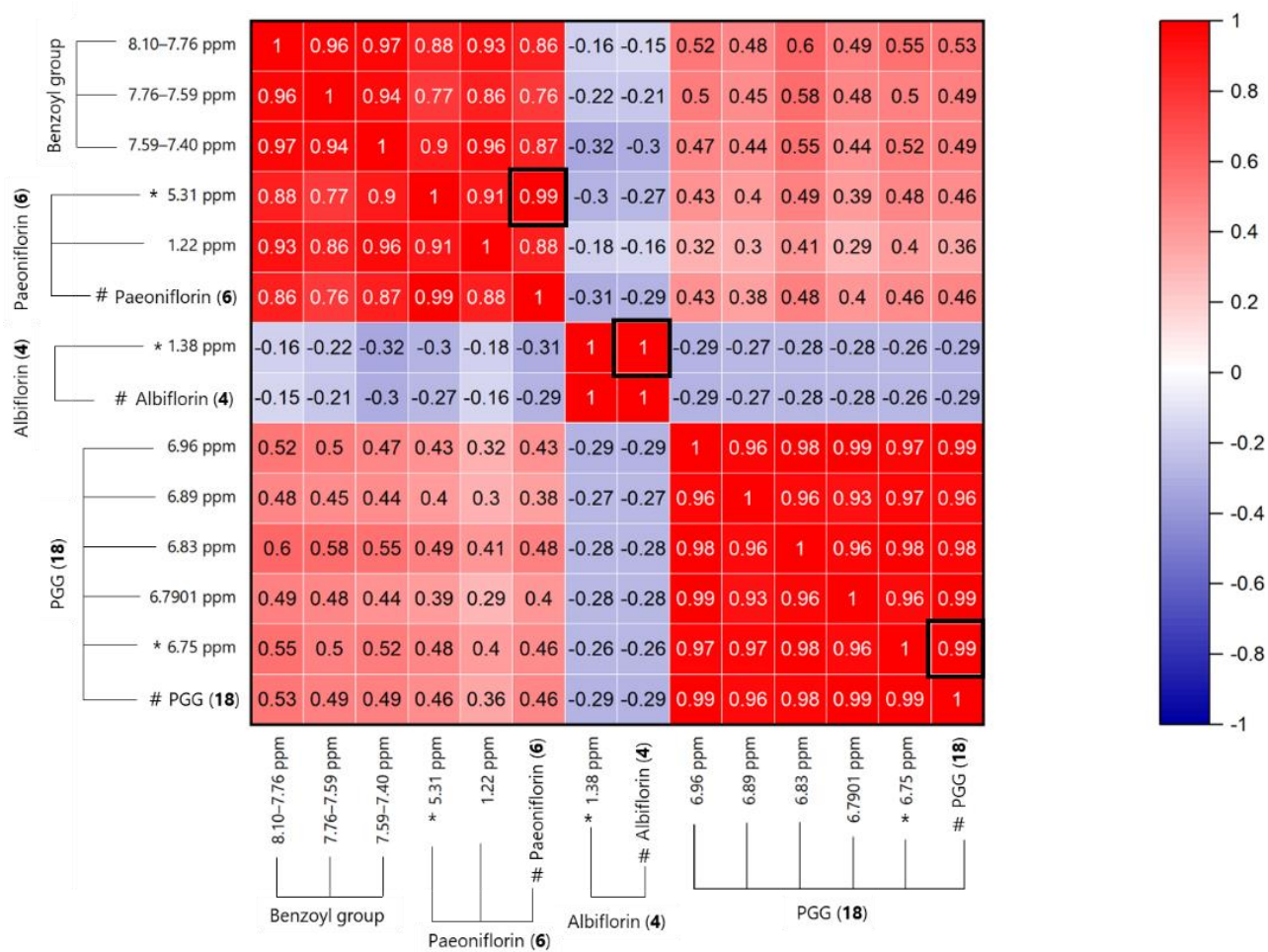
$Q^2$ : model predictive ability



**Fig. S1-1** Representative HPLC chromatograms of peony root samples. **a**: D18 of WPR treated by sulfur fumigation; **b**: D52 of PR produced in Japan; **c**: D12 of RPR derived from *P. lactiflora*; and **d**: D11 of RPR derived from *P. veitchii*.

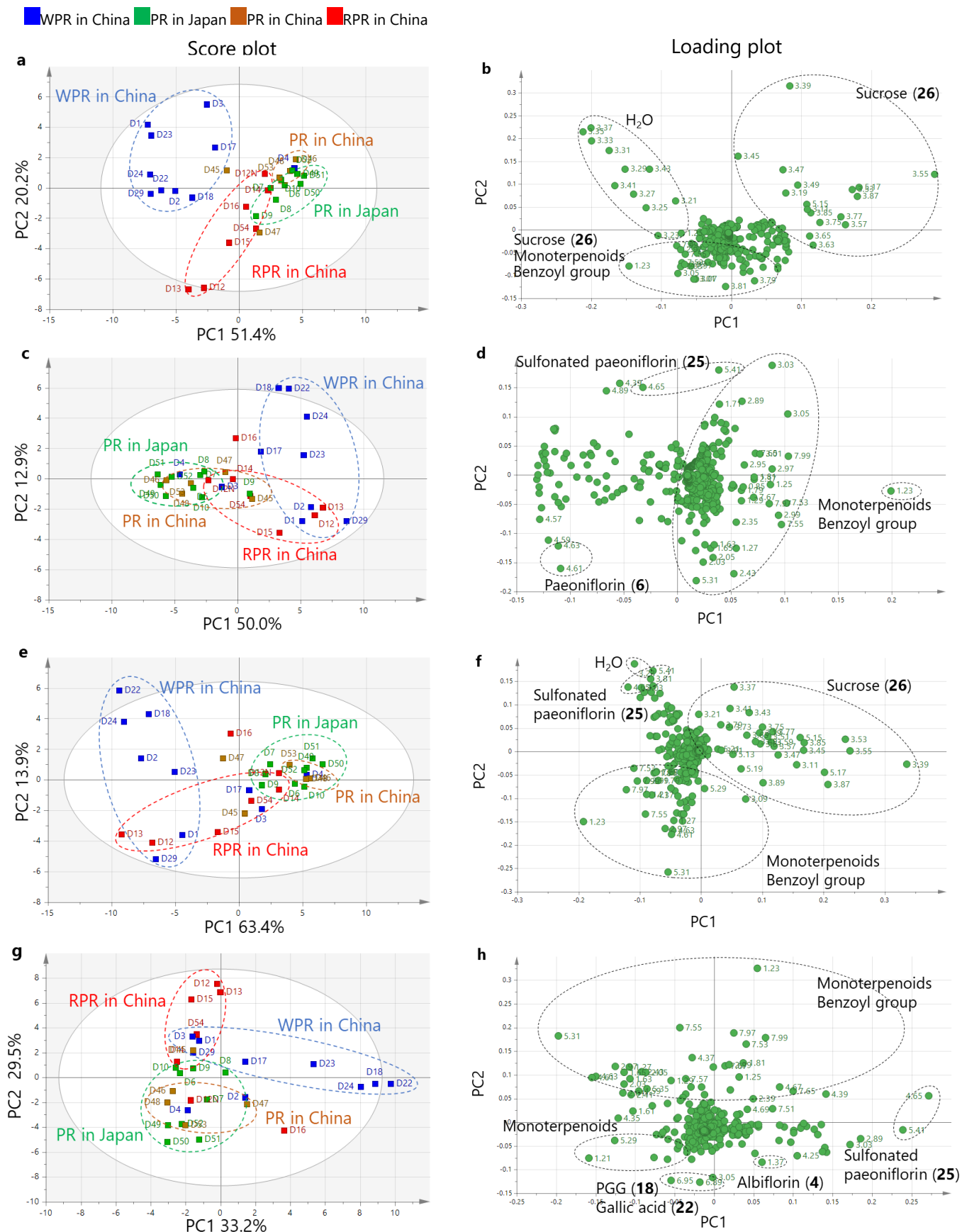


**Fig. S1-2** Scores Scatter Plot t1 vs u1 of PLS model using quantitative values quantified using qHNMR and HPLC.



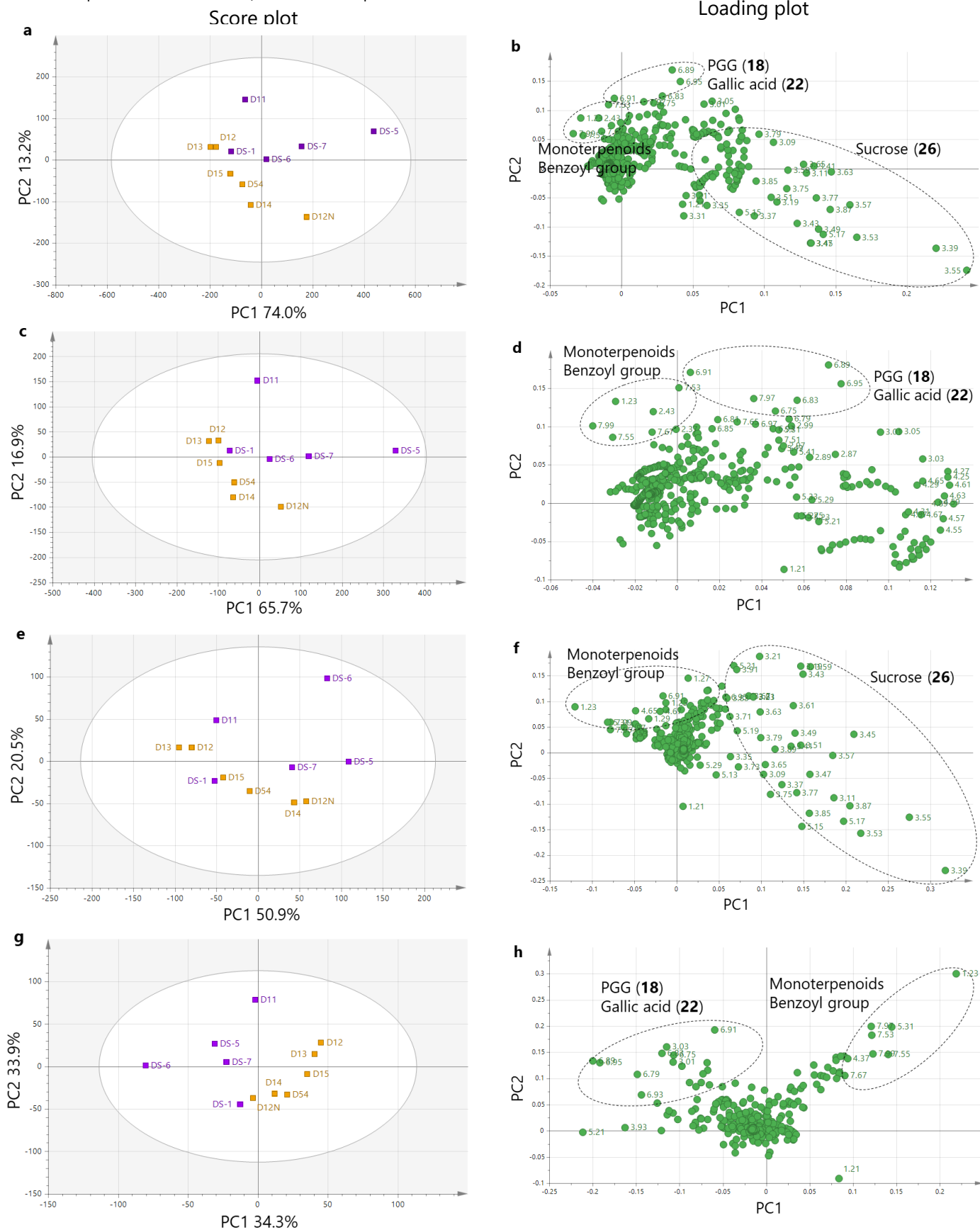
**Fig. S1-3** Heatmap of integral values of the signals used for qHNMR and contents quantified using HPLC. The numerals on the outside of graph indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm); \*, the signals used for qHNMR; and #, the contents quantified using HPLC.





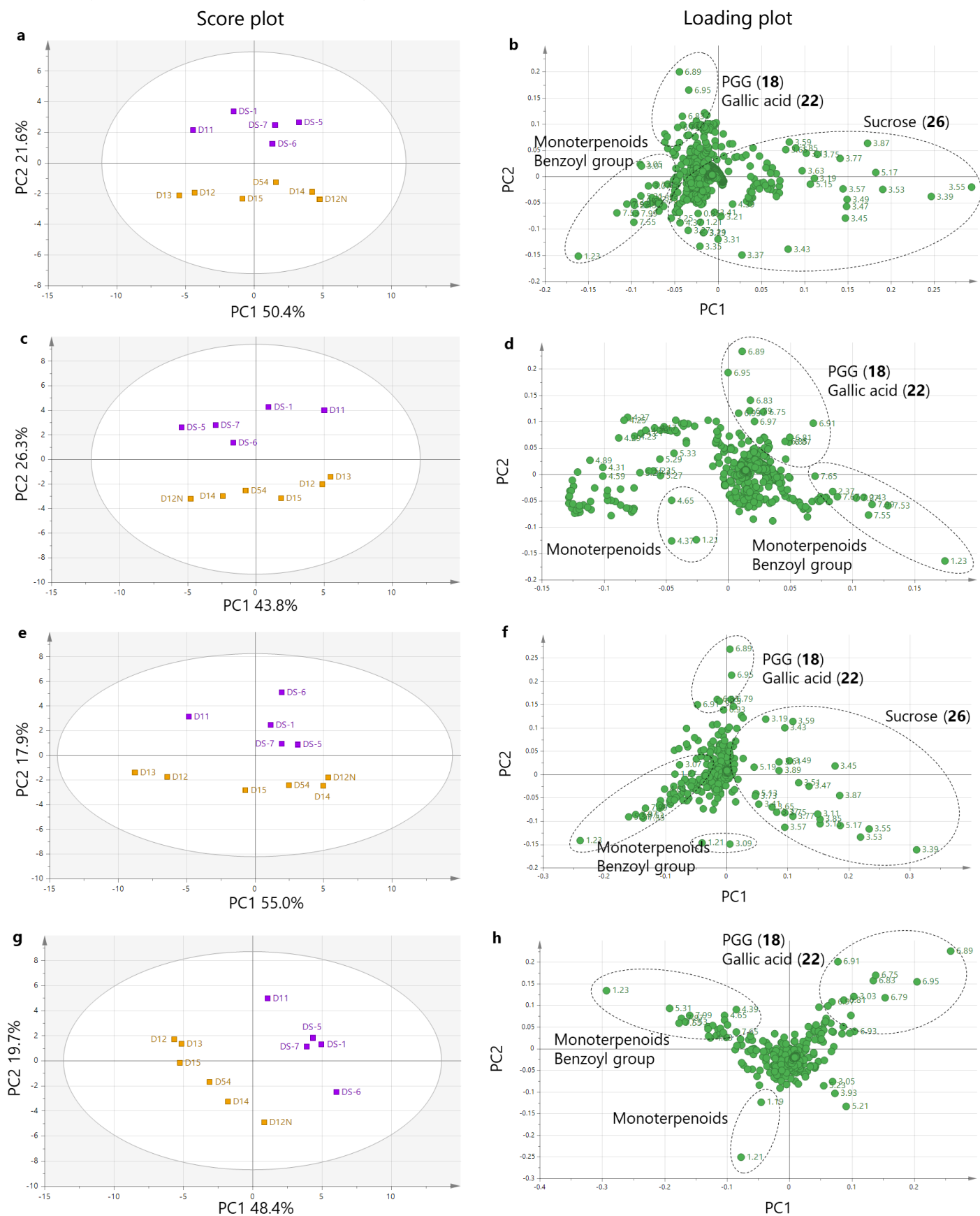
**Fig. S1-4** PCA results using data matrix converted from <sup>1</sup>H NMR and qHNMR spectra of 31 peony root samples derived from *P. lactiflora* (normalized to total intensity). The creation conditions of each data matrix were summarized in Table 1-8. Score plot: the numbers indicate code no. of samples shown in Table 1-2. Loading plot: the numerals indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm).

■ RPR samples derived from *P. lactiflora* ■ RPR samples derived from *P. veitchii*



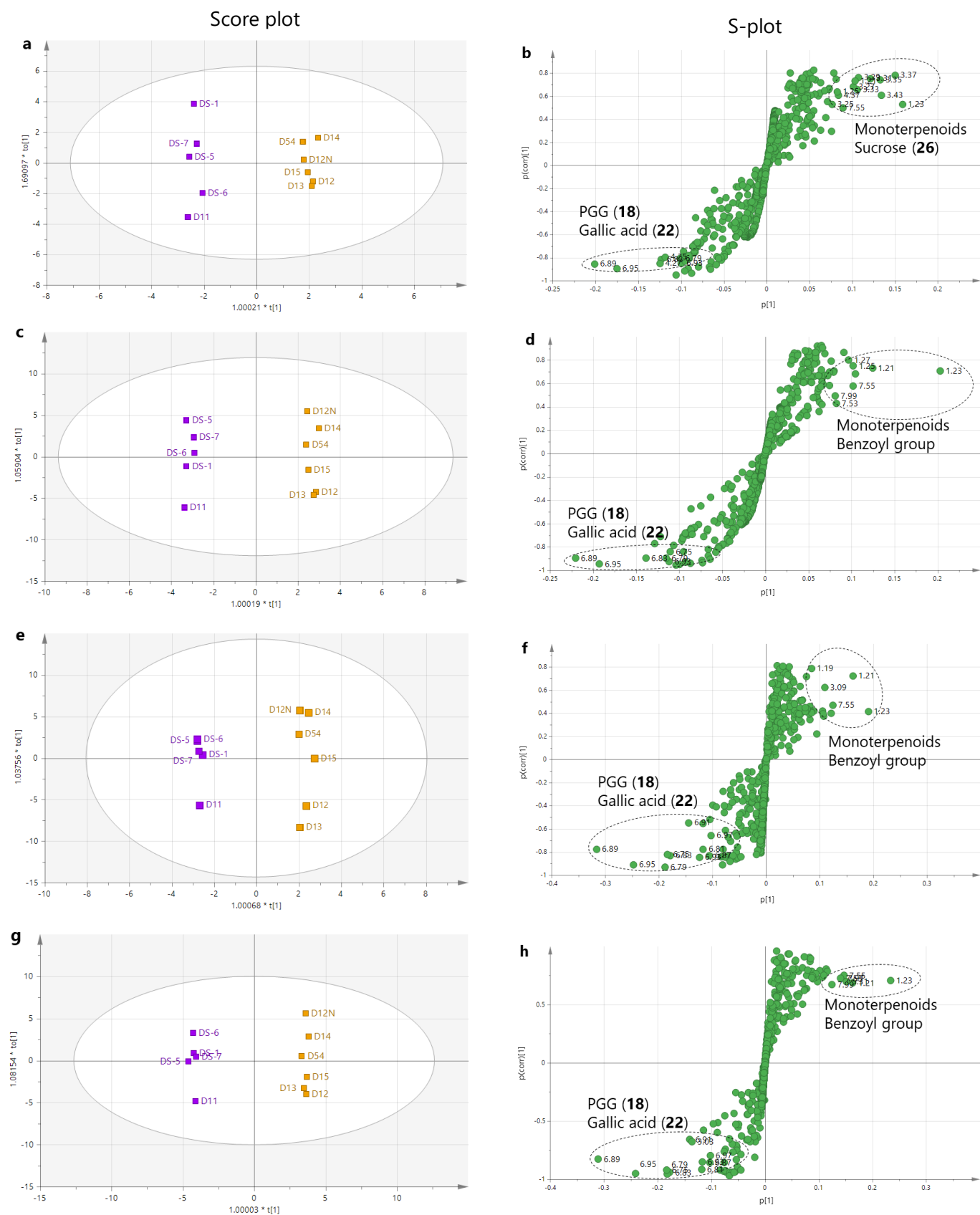
**Fig. S1-5** PCA results using data matrix converted from  $^1\text{H}$  NMR and qHNMR spectra of 11 RPR samples derived from *P. lactiflora* and *P. veitchii* (normalized to internal standard). The creation conditions of each data matrix were summarized in Table S1-7. Score plot: the numbers indicate code no. of samples shown in Table 1-2. Loading plot: the numerals indicate chemical shift ( $\delta_{\text{H}}$  in ppm).

■ RPR samples derived from *P. lactiflora* ■ RPR samples derived from *P. veitchii*

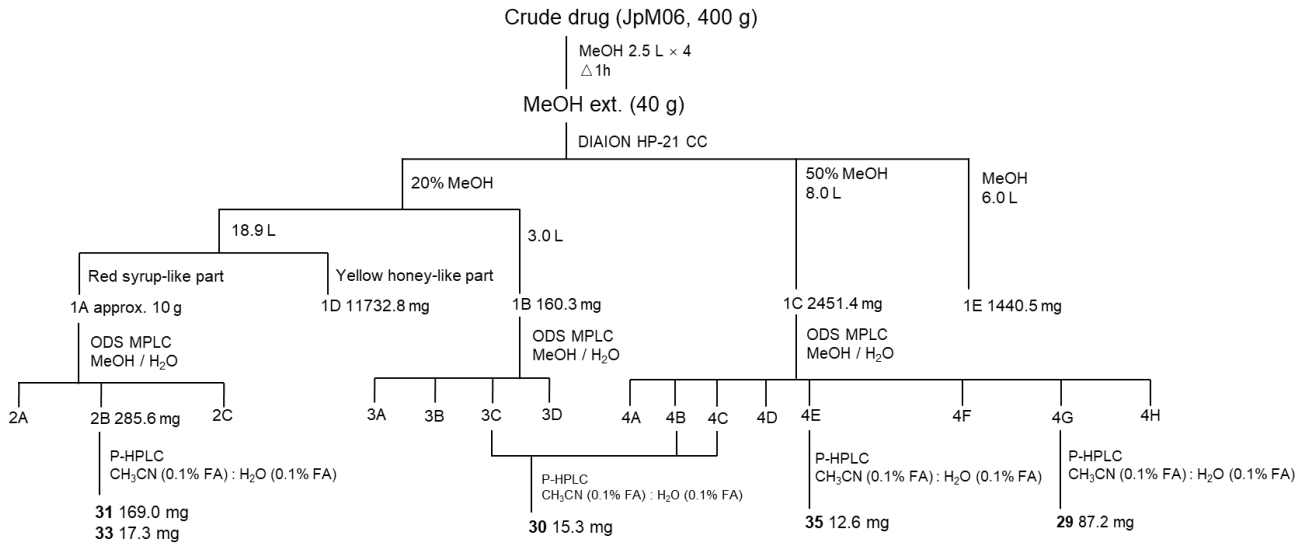


**Fig. S1-6** PCA results using data matrix converted from <sup>1</sup>H NMR and qHNMR spectra of 11 RPR samples derived from *P. lactiflora* and *P. veitchii* (normalized to total intensity). The creation conditions of each data matrix were summarized in Table S1-7. Score plot: the numbers indicate code no. of samples shown in Table 1-2. Loading plot: the numerals indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm).

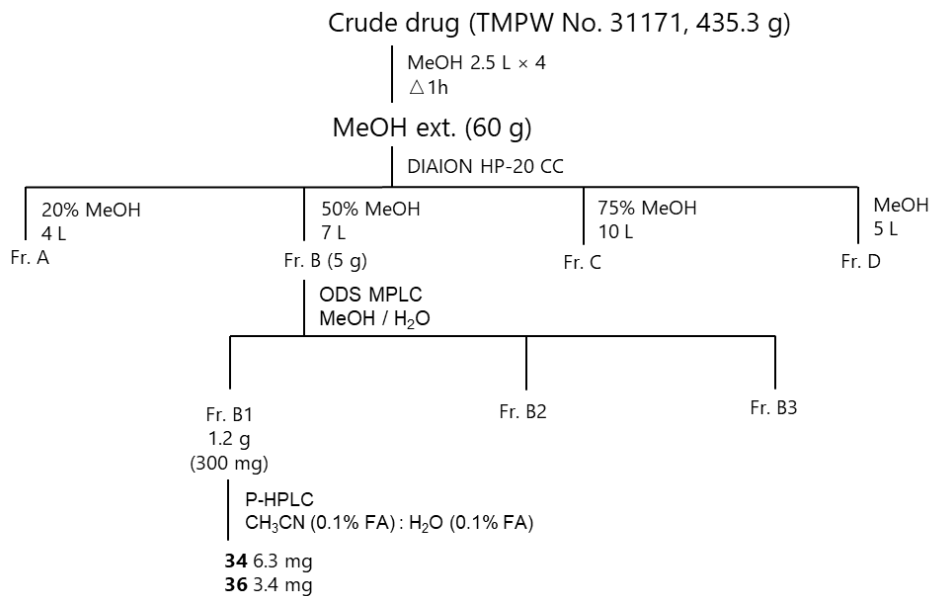
■ RPR samples derived from *P. lactiflora* ■ RPR samples derived from *P. veitchii*



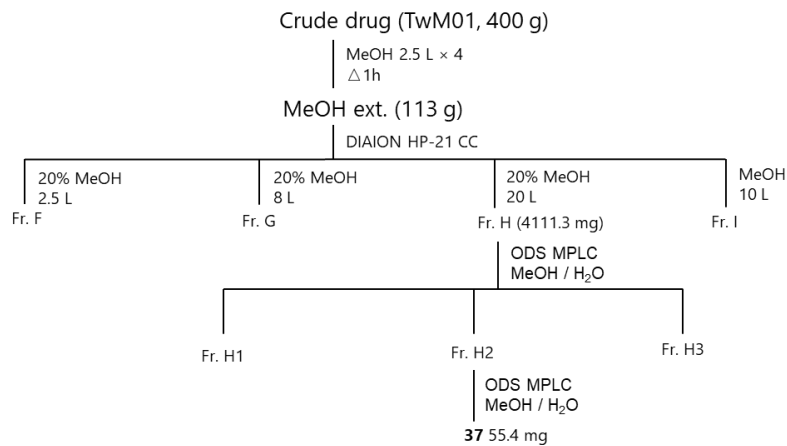
**Fig. S1-7** OPLS-DA results using data matrix converted from  $^1\text{H}$  NMR and qHNMR spectra of 11 RPR samples derived from *P. lactiflora* and *P. veitchii* (normalized to total intensity). The creation conditions of each data matrix were summarized in Table S1-8. Score plot: the numbers indicate code no. of samples shown in Table 1-2. S-plot: the numerals indicate chemical shift ( $\delta_H$  in ppm).



**Scheme S2-1 Isolation of 29, 30, 31, 33, and 35**



**Scheme S2-2 Isolation of 34 and 36**



**Scheme S2-3 Isolation of 37**

**Table S2-1** <sup>1</sup>H NMR chemical shifts of detected compounds of each sample

Compounds	δ <sub>H</sub>	CnM01	CnM02	CnM03	CnM04	CnM05	CnM06	CnM07	CnM09	CnM10	CnM11	CnM12
naringin (28)	H-2; 6'	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	–	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	–	7.31 (d, 7.6)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)
	H-3'; 5'	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	–	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	–	6.81 (d, 9.2)	6.81 (d, 9.2)	6.81 (d, 8.4)
	H-8	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	–	6.17 (d, 1.5) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	–	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap
	H-6	6.15 (d, 1.5) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	–	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	–	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap
	H-2	overlap	overlap	–	overlap	5.38 (m) overlap	overlap	overlap	–	5.38 (m) overlap	overlap	5.38 (m) overlap
	H-1'''	5.24 (dd, 5.4, 2.3) overlap	5.24 (m) overlap	–	5.24 (m) overlap	5.24 (m) overlap	5.24 (dd, 6.1, 1.5) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	–	5.27 (m)	5.24 (m) overlap	5.24 (m) overlap
	H-1''	5.10 (m) overlap	overlap	–	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	–	5.10 (dd, 8.4, 7.6)	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap
	H-2'''	3.92 (m)	3.92 (m)	–	overlap	3.92 (m)	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	–	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap
	H-5'''	3.88 (m)	3.88 (m)	–	overlap	3.88 (m)	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	–	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap
	H-6''	3.85 (m)	3.85 (m)	–	overlap	3.85 (m)	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	–	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap
	H-4'''	3.37 overlap	3.37 overlap	–	3.38 overlap	3.37 overlap	3.38 overlap	3.38 overlap	–	3.37 overlap	overlap	3.37 overlap
	H-3	3.17 overlap	overlap	–	overlap	3.16 overlap	3.16 overlap	3.16 overlap	–	3.16 (m)	overlap	overlap
	H-6'''	2.75 (m) overlap	overlap	–	2.76 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.76 (m) overlap	–	2.75 (m)	2.75 (m)	2.75 (m)
	H-6'''	1.28 (d, 6.1) overlap	overlap	–	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.27 (d, 5.4) overlap	–	1.28 (d, 4.6) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap
neoeriocitrin (29)	H-2'	6.91 (s)	6.91 (s)	–	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	–	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)
	H-5'	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)	–	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	–	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)
	H-6'	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)	–	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	–	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)
	H-8	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	–	6.17 (d, 1.5) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	–	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap
	H-6	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	–	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	–	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 1.5) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap
	H-2	5.32 (m)	5.32 (m) overlap	–	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	–	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)
	H-1'''	5.24 (dd, 5.4, 2.3) overlap	5.24 (m) overlap	–	5.24 (m) overlap	5.24 (m) overlap	5.24 (dd, 4.6, 1.5) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	–	5.24 (m) overlap	5.24 (m) overlap	5.24 (m) overlap
	H-1''	5.10 (m) overlap	overlap	–	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	–	5.10 (m) overlap	5.10 (t, 8.0) overlap	5.10 (m) overlap
	H-2'''	overlap	overlap	–	overlap	overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	–	3.92 (m) overlap	overlap	overlap
	H-6''	overlap	overlap	–	overlap	overlap	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	–	3.87 (m) overlap	overlap	overlap
	H-5'''	overlap	overlap	–	overlap	overlap	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	–	3.87 (m) overlap	overlap	overlap
	H-3	overlap	overlap	–	3.11 (m) overlap	overlap	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	–	overlap	overlap	3.12 (dd, 16.8, 12.2)
	H-6'''	2.75 (m) overlap	overlap	–	2.76 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.76 (m) overlap	–	overlap	overlap	2.75 (m) overlap
	H-6'''	1.28 (d, 6.1) overlap	overlap	–	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.27 (d, 5.4) overlap	–	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap
5,7-dihydroxychromone 7-O-neohesperidoside (30)	H-2	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 5.4)	–	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	–	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 5.4)	8.04 (d, 5.4)
	H-8	6.66 (d, 2.3) overlap	6.66 (d, 3.1)	–	overlap	6.66 (d, 2.3) overlap	6.66 (d, 3.1)	6.66 (d, 2.3)	–	6.66 (d, 2.3)	6.66 (d, 2.3)	6.66 (d, 2.3)
	H-6	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	–	overlap	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	–	6.47 (d, 2.3)	6.48 (d, 1.5)	6.47 (d, 2.3)
	H-1''	6.26 (d, 6.1)	6.26 (d, 6.1)	–	6.25 (d, 6.9)	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 5.4)	–	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)
	H-1'	overlap	5.26 (d, 1.5)	–	overlap	5.26 (d, 2.3)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 1.5)	–	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (m)
	H-6'''	overlap	5.17 (d, 7.6)	–	overlap	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	–	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)
caffeic acid 4-O-β-D- glucoside (31)	H-1'	–	–	–	7.51 (d, 16.0)	–	–	–	–	7.54 (d, 16.0)	7.52 (d, 16.0)	–
	H-5'	–	–	–	7.19 (d, 8.4)	–	–	–	–	7.18 (d, 8.4)	7.18 (d, 8.4)	–
	H-2	–	–	–	7.09 (d, 1.5)	–	–	–	–	7.08 (d, 2.3)	7.07 (d, 1.5)	–
	H-6	–	–	–	7.02 (dd, 8.4, 2.3)	–	–	–	–	7.01 (dd, 8.4, 2.3)	7.00 (dd, 8.4, 2.3)	–
	H-2'	–	–	–	6.31 (d, 16.0)	–	–	–	–	6.32 (d, 16.0)	6.33 (d, 16.0)	–
protocatechuic acid (32)	H-2	–	–	–	–	–	–	–	7.41 (dd, 9.9, 2.3)	–	–	–
	H-6	–	–	–	–	–	–	–	7.41 (dd, 9.9, 2.3)	–	–	–

**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	CnM01	CnM02	CnM03	CnM04	CnM05	CnM06	CnM07	CnM09	CnM10	CnM11	CnM12
<i>p</i> -coumaric acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>33</b> )	H-2'	-	-	-	7.58 (d, 16.0)	-	-	-	-	7.60 (d, 18.4)	-	-
	H-2, 6	-	-	-	7.53 (d, 8.4)	-	-	-	-	7.54 (d, 7.6)	-	-
	H-3, 5	-	-	-	7.11 (d, 8.4)	-	-	-	-	7.11 (d, 8.4)	-	-
	H-1'	-	-	-	6.36 (d, 16.0)	-	-	-	-	6.36 (d, 16.0)	-	-
ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>34</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>35</b> )	H-2', 6'	7.80 (d, 9.2)	-	-	7.80 (d, 9.2)	7.80 (d, 9.2)	-	-	-	-	7.80 (d, 9.2)	-
	H-8	-	-	-	6.76 (d, 2.3)	overlap	-	-	-	-	-	-
	H-6	-	-	-	6.49 (d, 2.3)	6.49 (d, 2.3)	-	-	-	-	6.49 (d, 2.3)	-
cinnamtannin D-1 ( <b>36</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(-)-epicatechin 3-O- $\beta$ -D-allopyranoside ( <b>37</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sucrose ( <b>26</b> )	H-1	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8) overlap
	H-3'	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.08 (d, 8.4)	4.08 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.08 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.08 (d, 8.4)
	H-4'	4.02 (t, 7.6)	4.01 (m)	4.02 (m)	overlap	4.02 overlap	4.01 (m)	4.01 overlap	4.02 (t, 8.4) overlap	4.02 (m) overlap	4.01 (m)	4.01 (m)
	H-5'	3.82 (m)	3.81 (m)	3.82 (m)	overlap	3.81 overlap	3.82 (m)	3.82 (m) overlap	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)
	H-5	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m) overlap	3.75 overlap	3.77 (m)	3.77 (m) overlap	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)
	H-6'	3.72 (d, 4.6)	3.72 (m)	3.70 (m)	3.72 (m) overlap	overlap	3.71 (m)	3.72 (m) overlap	3.72 (m)	3.71 (m)	3.72 (m)	3.71 (m)
	H-6	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 4.6)	3.67 (d, 4.6)	3.69 (m) overlap	overlap	3.69 (d, 5.4)	overlap	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 4.6)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 4.6)
	H-3	3.67 (d, 9.2)	3.66 (m)	3.67 (d, 8.4)	overlap	overlap	3.66 (m)	3.67 (d, 5.4)	3.67 (d, 7.6)	3.67 (d, 7.6)	3.67 (m)	3.67 (m)
	H-1'	3.62 (dd, 20.6, 12.2)	3.61 (dd, 20.6, 12.3)	3.61 (dd, 19.9, 12.2)	overlap	overlap	3.61 (dd, 20.6, 12.2)	3.61 (m) overlap	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	3.61 (dd, 20.6, 12.2)	3.62 (dd, 20.6, 12.2)	3.61 (dd, 21.4, 12.2)
	H-2	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	overlap	3.41 (dd, 9.2, 3.8)	3.41 (dd, 9.2, 3.8)	3.41 (m)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.2, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)
H-4	3.35 (m)	3.35 (m)	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	overlap	3.34 (m) overlap	overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.34 (m) overlap	
D-glucose ( <b>27</b> )	H-1( $\alpha$ )	-	-	5.10 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.1)	-	5.09 (d, 3.4) overlap	5.10 (d, 3.1) overlap	5.09 (d, 3.8) overlap	5.10 (d, 3.1) overlap	-
	H-1( $\beta$ )	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6)
	H-6	overlap	overlap	3.85 overlap	3.84 (dd, 12.2, 1.5)	3.84 (m) overlap	overlap	3.84 (m) overlap	overlap	overlap	3.85 overlap	overlap
		overlap	overlap	overlap	3.78 (m) overlap	3.78 (m) overlap	overlap	3.78 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-5	overlap	overlap	overlap	3.76 (m)	3.76 (m) overlap	overlap	3.76 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-3	overlap	overlap	overlap	3.70 - 3.62	3.71 - 3.61	overlap	3.70 - 3.62	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-4( $\beta$ )	-	-	overlap	3.34 overlap	3.34 overlap	-	overlap	overlap	overlap	overlap	-
	H-4( $\alpha$ )	overlap	overlap	overlap	3.27 (m)	3.27 (m)	overlap	3.27 (m)	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-2	3.12 (m)	3.11 (m)	3.11 (m)	3.12 (m)	3.15 (m)	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.12 (m)	3.11 (m)	3.11 (m)	3.11 (m)
5-HMF ( <b>38</b> )	H-1	-	-	-	9.52 (s)	-	-	-	9.52 (s)	9.53 (s)	9.52 (s)	-
	H-2	-	-	-	overlap	-	-	-	7.38 (d, 3.8)	7.37 (d, 3.8)	7.38 (d, 3.8)	-
	H-3	-	-	-	overlap	-	-	-	overlap	overlap	6.57 (d, 3.1)	-
	H-4	-	-	-	overlap	-	-	-	4.60 (s)	4.60 (s)	4.60 (s)	-

**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	CnM13	CnM14	CnM15	CnM16	CnM17	CnM18	CnM19	CnM21	CnM22	CnM23	CnM24
naringin ( <b>28</b> )	H-2', 6'	-	7.31 (d, 7.6)	-	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	-	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 7.6)	-	7.31 (d, 6.9)
	H-3', 5'	-	6.81 (d, 8.4)	-	6.81 (d, 9.2)	6.81 (d, 9.2)	-	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 9.2)	6.81 (d, 8.4)	-	6.81 (d, 8.4) overlap
	H-8	-	6.17 (d, 2.3) overlap	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	-	6.17 (d, 2.3) overlap
	H-6	-	6.15 (d, 2.3) overlap	-	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	-	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 1.5) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	-	6.15 (d, 2.3) overlap
	H-2	-	5.38 (m) overlap	-	5.38 (m) overlap	5.38 (m) overlap	-	5.38 (m) overlap	5.39 (m) overlap	5.38 (m) overlap	-	overlap
	H-1'''	-	5.24 (m)	-	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.24 (dd, 5.4, 2.3) overlap	-	5.24 (m) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.24 (m) overlap	-	5.23 (m) overlap
	H-1''	-	5.10 (m) overlap	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (t, 8.4) overlap	-	5.10 (m) overlap
	H-2'''	-	3.92 (m)	-	3.92 (m)	3.92 (m) overlap	-	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	-	3.92 (m) overlap
	H-5'''	-	3.88 (m)	-	3.88 (m)	3.88 (m) overlap	-	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	-	3.88 (m) overlap
	H-6''	-	3.85 (m)	-	3.85 (m)	3.85 (m) overlap	-	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	-	overlap
	H-4'''	-	3.38 overlap	-	3.38 overlap	3.38 overlap	-	3.38 overlap	3.38 overlap	3.38 overlap	-	3.37 overlap
	H-3	-	overlap	-	overlap	overlap	-	overlap	3.16 (m) overlap	3.16 (m) overlap	-	3.17 (m) overlap
	H-6'''	-	2.76 (m)	-	2.76 (m)	2.75 (m)	-	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	-	overlap
neoeriocitrin ( <b>29</b> )	H-2'	-	6.91 (s)	-	6.91 (s)	6.91 (s)	-	6.92 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	-	6.92 (s)
H-5'	-	6.78 (d, 2.3)	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	-	6.78 (d, 1.5)	
H-6'	-	6.78 (d, 2.3)	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	-	6.78 (d, 1.5)	
H-8	-	6.17 (d, 2.3) overlap	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	-	6.17 (d, 2.3) overlap	
H-6	-	6.14 (d, 2.3) overlap	-	6.14 (d, 1.5) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	-	6.14 (d, 1.5) overlap	6.14 (d, 1.5) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	-	6.14 (d, 2.3) overlap	
H-2	-	5.32 (m)	-	5.32 (m)	5.32 (m)	-	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	-	5.32 (m)	
H-1'''	-	5.24 (m) overlap	-	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.24 (dd, 5.4, 2.3) overlap	-	5.24 (m) overlap	5.23 (m) overlap	5.24 (m) overlap	-	5.23 (m) overlap	
H-1''	-	5.10 (m) overlap	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (t, 8.4) overlap	-	5.10 (m) overlap	
H-2'''	-	3.92 (m) overlap	-	overlap	overlap	-	overlap	overlap	overlap	-	overlap	
H-6''	-	3.87 (m) overlap	-	overlap	overlap	-	overlap	overlap	overlap	-	overlap	
H-5'''	-	3.87 (m) overlap	-	overlap	overlap	-	overlap	overlap	overlap	-	overlap	
H-3	-	3.12 (m) overlap	-	overlap	overlap	-	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	overlap	-	3.12 (m) overlap	
H-6'''	-	2.76 (m) overlap	-	overlap	overlap	-	overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	-	2.76 (m) overlap	
5,7-dihydroxychromone 7-O-neohesperidoside ( <b>30</b> )	H-2	-	8.04 (d, 6.1)	-	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	-	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 5.4)	8.04 (d, 5.4)	-	8.04 (d, 5.4)
H-8	-	overlap	-	overlap	6.66 (d, 2.3)	6.66 (d, 2.3)	-	6.66 (d, 2.3)	overlap	6.66 (d, 2.3) overlap	-	overlap
H-6	-	6.47 (d, 2.3)	-	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	-	6.47 (d, 1.5)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	-	6.47 (d, 2.3)	
H-1''	-	6.25 (d, 6.1)	-	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	-	6.25 (d, 6.1)	6.26 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	-	overlap	
H-1'	-	5.26 (m)	-	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 2.3)	-	5.26 (d, 2.3)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 1.5)	-	overlap	
H-6'''	-	5.17 (d, 7.6)	-	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	-	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 6.9)	5.17 (d, 7.6)	-	overlap	
caffeic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>31</b> )	H-1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H-2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
protocatechuic acid ( <b>32</b> )	H-2	-	-	7.41 (dd, 9.9, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-
H-6	-	-	-	7.41 (dd, 9.9, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-



**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	CnM13	CnM14	CnM15	CnM16	CnM17	CnM18	CnM19	CnM21	CnM22	CnM23	CnM24	
<i>p</i> -coumaric acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>33</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>34</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>35</b> )	H-2', 6'	-	7.80 (d, 9.2)	-	7.80 (d, 9.2)	-	-	7.80 (d, 9.2)	-	-	-	7.80 (d, 9.2)	
	H-8	-	-	-	-	-	-	overlap	-	-	-	overlap	
	H-6	-	6.49 (d, 2.3)	-	6.49 (d, 2.3)	-	-	6.49 (d, 2.3)	-	-	-	6.49 (d, 2.3)	
cinnamtannin D-1 ( <b>36</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(-)-epicatechin 3-O- $\beta$ -D-allopyranoside ( <b>37</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
sucrose ( <b>26</b> )	H-1	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8) overlap	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.1)	
	H-3'	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 7.6)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 7.6)	4.08 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.08 (d, 8.4)	4.09 (d, 7.6)	4.08 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	
	H-4'	4.02 (t, 7.6) overlap	4.01 (m)	4.01 (m)	4.01 overlap	overlap	4.02 overlap	4.01 (m)	4.01 (m)	4.01 (t, 7.6)	4.02 (m) overlap	4.01 (t, 7.6)	
	H-5'	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	overlap	3.82 (m) overlap	3.82 (m) overlap	3.82 (m) overlap	3.81 (m)	3.81 overlap	3.82 (m)	
	H-5	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m)	3.77 (m)	
	H-6'	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m) overlap	3.72 (m) overlap	3.72 (m) overlap	3.71 (m)	3.72 (m)	3.72 (m) overlap	3.72 (m) overlap	3.72 (m)	
	H-6	3.69 (d, 6.1)	3.69 (d, 4.6)	3.69 (d, 6.1)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (m) overlap	3.69 (m) overlap	3.69 (d, 6.1)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 6.9)	3.69 (d, 6.9)
	H-3	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m)	overlap	3.67 (m) overlap	overlap	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m) overlap	3.67 (m)	3.67 (m)
	H-1'	3.61 (m) overlap	3.61 (dd, 20.6, 12.2)	3.62 (m)	3.62 (m)	3.61 overlap	3.62 (dd, 20.6, 12.2)	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	3.62 (dd, 20.6, 12.2)	3.62 (dd, 20.6, 12.3) overlap	3.61 (m) overlap	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	
	H-2	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (m) overlap	3.41 (m) overlap	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.2, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	overlap	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	
H-4	3.35 (m)	3.35 (t, 9.2) overlap	3.35 (m)	overlap	overlap	overlap	3.34 (m) overlap	3.34 (m) overlap	overlap	3.37 overlap	3.35 (m)		
D-glucose ( <b>27</b> )	H-1( $\alpha$ )	5.10 (d, 3.1)	-	5.10 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.1) overlap	5.10 (d, 3.8)	-	5.11 (d, 3.8)	-	5.10 (d, 3.8)	-	
	H-1( $\beta$ )	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6) overlap	4.46 (d, 7.6) overlap	4.47 (d, 7.6)	
	H-6	overlap	overlap	3.85 overlap	3.85 overlap	overlap	3.85 overlap	overlap	3.84 (dd, 12.2, 1.5)	overlap	3.85 overlap	overlap	
		overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-5	overlap	overlap	overlap	3.77 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-3	overlap	overlap	overlap	3.71 - 3.61	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-4( $\beta$ )	overlap	-	overlap	overlap	overlap	-	-	overlap	-	overlap	-	
	H-4( $\alpha$ )	overlap	overlap	overlap	3.27 (m)	overlap	3.27 (m)	overlap	3.27 (m)	overlap	3.27 (m)	overlap	
H-2	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.11 (m)	overlap		
5-HMF ( <b>38</b> )	H-1	9.52 (s)	-	9.52 (s)	-	-	9.52 (s)	-	-	9.52 (s)	-	-	
	H-2	7.38 (d, 3.8)	-	overlap	-	-	7.38 (d, 3.1)	-	-	overlap	-	-	
	H-3	overlap	-	overlap	-	-	6.58 (d, 3.8)	-	-	overlap	-	-	
	H-4	4.60 (s)	-	overlap	-	-	4.60 (s)	-	-	overlap	-	-	

**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_{\text{H}}$	JpM01	JpM02	JpM03	JpM04	JpM05	JpM06	JpM08	JpM09	JpM10	JpM11	JpM16	JpM17	JpM18	JpM19	
naringin (28)	H-2', 6'	-	-	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 7.6)	7.31 (d, 7.6)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	-	-	7.33 (d, 8.4) overlap	7.33 (d, 9.2) overlap	7.33 (d, 8.4) overlap	
	H-3', 5'	-	-	6.81 (d, 9.2)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	-	-	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4) overlap	overlap	
	H-8	-	-	6.17 (d, 1.5) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	-	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	
	H-6	-	-	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	-	-	6.15 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	
	H-2	-	-	5.38 (m) overlap	5.38 (m) overlap	5.38 (m) overlap	5.38 (m) overlap	5.39 (m) overlap	5.38 (m) overlap	5.38 (m) overlap	-	-	5.39 (m) overlap	5.39 (m) overlap	5.38 (m) overlap	
	H-1'''	-	-	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (m) overlap	5.23 (m) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	-	-	overlap	5.23 (m) overlap	5.23 (m) overlap	
	H-1''	-	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	-	-	overlap	overlap	overlap	
	H-2'''	-	-	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-5'''	-	-	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-6''	-	-	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-4'''	-	-	3.38 overlap	3.38 (t, 9.2) overlap	3.37 overlap	3.38 (m)	3.38 overlap	3.38 overlap	3.38 overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-3	-	-	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
				2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	-	-	overlap	overlap	overlap	
				1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 4.6) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 5.4) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 5.4) overlap	-	-	1.28 (s) overlap	1.28 (s) overlap	1.28 (s) overlap	
neocieritrin (29)	H-2'	-	-	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	6.91 (s)	-	-	6.92 (s)	6.92 (s)	6.92 (s)	
	H-5'	-	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	-	-	6.79 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3) overlap	6.78 (d, 2.3) overlap	
	H-6'	-	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	-	-	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3)	6.78 (d, 2.3) overlap	
	H-8	-	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	-	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	
	H-6	-	-	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	-	-	6.15 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	
	H-2	-	-	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	-	-	5.33 (m) overlap	5.32 (m) overlap	5.32 (m) overlap
	H-1'''	-	-	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (m) overlap	5.23 (m) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	5.23 (dd, 5.4, 1.5)	-	-	overlap	5.23 (m) overlap	overlap	
	H-1''	-	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	-	-	overlap	overlap	overlap	
	H-2'''	-	-	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	3.92 (m) overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-6''	-	-	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-5'''	-	-	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
	H-3	-	-	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	-	-	overlap	overlap	overlap
				2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	-	-	overlap	overlap	overlap	
				1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 4.6) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.28 (d, 5.4) overlap	1.28 (d, 5.4) overlap	1.28 (d, 5.4) overlap	-	-	1.28 (s) overlap	1.28 (s) overlap	1.28 (s) overlap	
5,7-dihydroxychromone 7-O-neohesperidoside (30)	H-2	-	-	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 6.1)	8.04 (d, 5.4)	-	-	-	-	-	
	H-8	-	-	6.66 (d, 2.3) overlap	6.66 (d, 2.3) overlap	6.66 (d, 2.3)	6.66 (d, 1.5)	6.66 (d, 2.3)	6.66 (d, 2.3) overlap	6.66 (d, 2.3)	-	-	-	-	-	
	H-6	-	-	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	6.47 (d, 2.3)	-	-	-	-	-	
	H-1''	-	-	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	6.25 (d, 6.1)	6.26 (d, 6.1)	6.26 (d, 6.1)	-	-	-	-	-	
	H-1'	-	-	5.26 (d, 2.3)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 2.3)	5.26 (d, 1.5)	5.26 (d, 1.5)	-	-	-	-	-	
	H-6'''	-	-	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	5.17 (d, 7.6)	-	-	-	-	-	
caffeic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside (31)	H-1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.52 (d, 15.3)	
	H-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.19 (d, 8.4)	
	H-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.09 (d, 2.3)	
	H-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.03 (dd, 8.4, 2.3)	
	H-2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.31 (d, 16.0)	
protocatechuic acid (32)	H-2	7.42 (dd, 10.7, 2.3)	7.41 (dd, 8.4, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	H-6	7.42 (dd, 10.7, 2.3)	7.41 (dd, 8.4, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	JpM01	JpM02	JpM03	JpM04	JpM05	JpM06	JpM08	JpM09	JpM10	JpM11	JpM16	JpM17	JpM18	JpM19	
<i>p</i> -coumaric acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>33</b> )	H-2'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	H-2, 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	H-3, 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	H-1'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>34</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>35</b> )	H-2', 6'	-	-	7.80 (d, 9.2)	7.80 (d, 8.4)	-	7.80 (d, 8.4)	7.80 (d, 9.2)	7.80 (d, 9.2)	7.80 (d, 9.2)	-	-	-	-	-	
	H-3', 5'	-	-	overlap	overlap	-	overlap	overlap	6.92 (d, 9.2)	overlap	-	-	-	-	-	
	H-8	-	-	overlap	overlap	-	overlap	overlap	6.75 (d, 3.1)	overlap	-	-	-	-	-	
	H-6	-	-	6.49 (d, 2.3)	6.49 (d, 2.3)	-	overlap	overlap	overlap	overlap	-	-	-	-	-	
cinnamtannin D-1 ( <b>36</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(-)-epicatechin 3-O- $\beta$ -D-allopyranoside ( <b>37</b> )	H-2'	7.05 (d, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	7.05 (d, 2.3)	7.05 (d, 2.3)	-	-	-	
	H-6'	6.80 (dd, 8.4, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	6.81 (dd, 8.4, 2.3)	6.81 (dd, 8.4, 1.5)	-	-	-	
	H-5'	6.69 (d, 8.4)	-	-	-	-	-	-	-	-	6.69 (d, 8.4)	6.69 (d, 8.4)	-	-	-	
	H-6	5.93 (d, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	5.93 (d, 2.3)	5.93 (d, 2.3)	-	-	-	
	H-8	5.89 (d, 2.3)	-	-	-	-	-	-	-	-	5.89 (d, 2.3)	5.89 (d, 2.3)	-	-	-	
	H-2	5.08 (d, 2.3) overlap	-	-	-	-	-	-	-	-	5.08 (d, 2.3) overlap	5.08 (d, 2.3) overlap	-	-	-	
	H-1''	4.76 (d, 7.6)	-	-	-	-	-	-	-	-	4.76 (d, 7.6) overlap	4.76 (d, 7.6) overlap	-	-	-	
	H-3	overlap	-	-	-	-	-	-	-	-	4.45 (m) overlap	overlap	-	-	-	
	H-4	2.80 (m) overlap	-	-	-	-	-	-	-	-	2.79 (dd, 16.0, 4.59)	overlap	-	-	-	
	2.72 (m) overlap	-	-	-	-	-	-	-	-	2.72 (dd, 16.8, 5.4)	overlap	-	-	-		
sucrose ( <b>26</b> )	H-1	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	
	H-3'	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 7.6)	4.09 (d, 7.6)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 7.6)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	
	H-4'	4.02 overlap	overlap	4.01 (m)	4.02 (m) overlap	4.01 (t, 7.6)	overlap	overlap	overlap	4.01 (m)	4.02 (m) overlap	overlap	4.01 (m)	4.02 (m)	4.02 (m)	
	H-5'	overlap	3.82 (m) overlap	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	3.81 (m)	3.82 (m)	3.81 (m) overlap	overlap	3.82 (m)	3.82 (m)	3.83 (m)	
	H-5	3.77 (m) overlap	3.76 (m) overlap	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m) overlap	overlap	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	
	H-6'	3.72 (m) overlap	3.72 (m) overlap	3.72 (m)	3.72 (m) overlap	3.72 (m) overlap	3.72 (m) overlap	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m) overlap	3.72 (m)	3.72 (m) overlap	overlap	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m)
	H-6	overlap	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 4.6)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (m) overlap	overlap	3.69 (d, 6.1)	3.69 (d, 6.1)	3.69 (d, 6.9)	
	H-3	overlap	overlap	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m)	3.66 (m)	3.67 (m) overlap	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m) overlap	overlap	3.67 (m)	3.67 (m)	3.67 (m)
	H-1'	3.61 (m) overlap	3.61 (dd, 20.6, 12.2)	3.62 (dd, 20.6, 12.2)	3.61 (m) overlap	3.61 (dd, 21.4, 12.2)	3.62 (m) overlap	3.61 (m)	3.61 (m) overlap	3.62 (m)	3.61 (dd, 20.6, 12.2)	overlap	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	3.61 (dd, 20.6, 12.2)	3.62 (dd, 20.6, 12.2)	
	H-2	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.2, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)	3.41 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	
H-4	overlap	overlap	3.35 (m)	3.35 (m)	overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	overlap	3.35 (m)	3.35 (m)	3.35 (m) overlap	
D-glucose ( <b>27</b> )	H-1( $\alpha$ )	5.10 (d, 3.8)	5.09 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.1) overlap	5.09 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.8)	5.09 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.8)	5.09 (d, 3.1)	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.8)	
	H-1( $\beta$ )	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 7.6)	4.46 (d, 8.4)	4.46 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	
	H-6	3.85 overlap	3.85 overlap	overlap	3.84 (m) overlap	3.85 overlap	3.85 overlap	overlap	overlap	overlap	3.84 (dd, 12.2, 1.5)	3.84 (dd, 11.5, 1.5)	3.84 (m) overlap	3.84 (m) overlap	3.84 (m) overlap	
		3.78 (m) overlap	3.78 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-5	3.76 (m) overlap	3.76 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-3	3.70 - 3.62	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	
	H-4( $\beta$ )	3.34 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	3.35 (dd, 9.9, 3.8)	3.34 (m) overlap	overlap	overlap
	H-4( $\alpha$ )	3.27 (m)	overlap	3.27 (m) overlap	3.27 (m)	3.27 (m)	3.27 (m) overlap	3.27 (m) overlap	3.27 (m) overlap	3.27 (m) overlap	3.27 (m) overlap	3.27 (m)	3.27 (m)	3.27 (m)	3.27 (m)	
	H-2	3.11 (m)	3.11 (m)	3.12 (t, 8.4) overlap	3.12 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.11 (m) overlap	3.11 (m)	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m)	3.12 (m)	3.12 (m)	3.12 (m)	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5-HMF ( <b>38</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	TwM01	TwM02	TwM03	CnP01	CnP02	CnP03	CnP04
naringin ( <b>28</b> )	H-2', 6'	-	-	-	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)	7.31 (d, 8.4)
	H-3', 5'	-	-	-	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)	6.81 (d, 8.4)
	H-8	-	-	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 1.5) overlap
	H-6	-	-	-	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap	6.15 (d, 2.3) overlap
	H-2	-	-	-	5.39 (m) overlap	5.39 (m) overlap	5.39 (m) overlap	5.38 (m) overlap
	H-1'''	-	-	-	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.24 (dd, 3.8, 1.5) overlap	5.24 (m) overlap
	H-1''	-	-	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (t, 7.6) overlap	5.10 (m) overlap
	H-2'''	-	-	-	overlap	3.93 (m) overlap	3.93 (m) overlap	3.93 (m) overlap
	H-5'''	-	-	-	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap	3.88 (m) overlap
	H-6''	-	-	-	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap	3.85 (m) overlap
	H-4'''	-	-	-	3.38 overlap	3.38 overlap	3.38 overlap	3.38 overlap
	H-3	-	-	-	3.16 (m) overlap	3.16 (m)	3.16 (m) overlap	3.16 (m) overlap
	H-6'''	-	-	-	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap
	H-6'''	-	-	-	1.28 (d, 6.1) overlap	1.27 (d, 5.4) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.27 (d, 5.4) overlap
neoeriocitrin ( <b>29</b> )	H-2'	-	-	-	6.92 (s)	6.92 (s)	6.92 (s)	6.91 (s)
	H-5'	-	-	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)
	H-6'	-	-	-	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)	6.78 (d, 1.5)
	H-8	-	-	-	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 2.3) overlap	6.17 (d, 1.5) overlap
	H-6	-	-	-	6.14 (d, 1.5) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap	6.14 (d, 2.3) overlap
	H-2	-	-	-	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)	5.32 (m)
	H-1'''	-	-	-	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.23 (dd, 5.4, 1.5) overlap	5.24 (dd, 3.8, 1.5) overlap	5.24 (m) overlap
	H-1''	-	-	-	5.10 (m) overlap	5.10 (m) overlap	5.10 (t, 7.6) overlap	5.10 (m) overlap
	H-2'''	-	-	-	overlap	3.93 (m) overlap	3.93 (m) overlap	3.93 (m) overlap
	H-6''	-	-	-	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap	3.87 (m) overlap
	H-5'''	-	-	-	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-3	-	-	-	3.12 (m) overlap	3.12 (m) overlap	3.12 (m)	3.12 (m) overlap
	H-6'''	-	-	-	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap	2.75 (m) overlap
	H-6'''	-	-	-	1.28 (d, 6.1) overlap	1.27 (d, 5.4) overlap	1.28 (d, 6.1) overlap	1.27 (d, 5.4) overlap
5,7-dihydroxychromone 7-O-neohesperidoside ( <b>30</b> )	H-2	-	-	-	-	-	overlap	-
	H-8	-	-	-	-	-	6.66 (d, 2.3)	-
	H-6	-	-	-	-	-	6.47 (d, 2.3)	-
	H-1''	-	-	-	-	-	6.26 (d, 6.1)	-
	H-1'	-	-	-	-	-	overlap	-
	H-6'''	-	-	-	-	-	5.17 (d, 6.9)	-
caffeic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>31</b> )	H-1'	-	-	-	-	-	-	-
	H-5	-	-	-	-	-	-	-
	H-2	-	-	-	-	-	-	-
	H-6	-	-	-	-	-	-	-
	H-2'	-	-	-	-	-	-	-
protocatechuic acid ( <b>32</b> )	H-2	-	-	-	-	-	-	-
	H-6	-	-	-	-	-	-	-

**Table S2-1 (Continued)**

Compounds	$\delta_H$	TwM01	TwM02	TwM03	CnP01	CnP02	CnP03	CnP04
<i>p</i> -coumaric acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>33</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-
ferulic acid 4-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>34</b> )	-	-	-	-	-	-	-	-
kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside 7-O- $\beta$ -D-glucoside ( <b>35</b> )	H-2', 6'	-	-	-	7.80 (d, 8.4)	7.80 (d, 9.2)	7.80 (d, 9.2)	7.80 (d, 9.2)
	H-3', 5'	-	-	-	overlap	overlap	-	overlap
	H-8	-	-	-	overlap	overlap	6.75 (d, 2.3)	overlap
	H-6	-	-	-	6.50 (d, 1.5)	6.50 (d, 3.1)	overlap	overlap
cinnamtannin D-1 ( <b>36</b> )	-	-	-	-	-	-	-	
(-)-epicatechin 3-O- $\beta$ -D-allopyranoside ( <b>37</b> )	H-2'	7.04 (d, 2.3)	7.04 (d, 2.3)	7.05 (d, 1.5)	-	-	-	-
	H-6'	6.81 (dd, 8.4, 2.3)	6.81 (dd, 8.4, 2.3)	6.81 (dd, 8.4, 2.3)	-	-	-	-
	H-5'	6.69 (d, 7.6)	6.69 (d, 7.6)	6.69 (d, 7.6)	-	-	-	-
	H-6	5.93 (d, 2.3)	5.93 (d, 2.3)	5.93 (d, 2.3)	-	-	-	-
	H-8	5.89 (d, 2.3)	5.89 (d, 2.3)	5.89 (d, 2.3)	-	-	-	-
	H-2	5.08 (d, 2.3) overlap	5.08 (d, 2.3) overlap	5.08 (d, 2.3) overlap	-	-	-	-
	H-1''	4.76 (d, 7.6)	4.76 (d, 8.4)	4.76 (d, 7.6)	-	-	-	-
	H-3	4.45 (m) overlap	overlap	4.46 (m) overlap	-	-	-	-
	H-4	2.79 (m)	2.79 (dd, 16.8, 4.6)	2.79 (m)	-	-	-	-
		2.70 (m)	2.72 (dd, 16.8, 6.1)	2.74 overlap	-	-	-	-
sucrose ( <b>26</b> )	H-1	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)	5.38 (d, 3.8)
	H-3'	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)	4.09 (d, 8.4)
	H-4'	4.02 overlap	overlap	4.02 (m) overlap	4.01 (m)	4.01 (t, 7.6)	4.01 (m)	4.01 (m)
	H-5'	3.82 (m) overlap	3.82 (m) overlap	3.82 (m) overlap	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)	3.82 (m)
	H-5	3.76 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m) overlap	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)	3.77 (m)
	H-6'	3.72 (m) overlap	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m)	3.72 (m)
	H-6	3.69 (d, 6.9) overlap	3.68 (d, 6.1)	3.69 (d, 5.4)	3.69 (d, 6.9)	3.70 (d, 6.9)	3.70 (d, 6.9)	3.69 (d, 5.4)
	H-3	3.67 (m) overlap	3.67 (m) overlap	3.67 (m) overlap	3.67 (m)	3.66 (m)	3.67 (m)	3.67 (m)
	H-1'	3.62 (dd, 21.4, 12.2) overlap	3.61 (dd, 20.6, 12.2) overlap	3.62 (dd, 21.6, 12.2)	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	3.62 (dd, 21.4, 12.2)	3.62 (dd, 21.4, 12.2)
	H-2	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.2, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)	3.42 (dd, 9.9, 3.8)
	H-4	3.35 (m) overlap	3.35 (m) overlap	3.35 (m)	3.35 (m)	3.35 (m)	3.35 (m)	3.35 (m)
D-glucose ( <b>27</b> )	H-1( $\alpha$ )	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.8)	5.10 (d, 3.8)	-	-	-	-
	H-1( $\beta$ )	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)	4.47 (d, 7.6)
	H-6	3.84 (dd, 12.2, 1.5)	3.84 (m) overlap	3.84 (dd, 12.2, 1.5) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
		3.78 (m) overlap	3.78 (m) overlap	3.78 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-5	overlap	3.76 (m) overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-3	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
	H-4( $\beta$ )	overlap	overlap	overlap	-	-	-	-
	H-4( $\alpha$ )	3.27 (m)	3.27 (m)	overlap	overlap	overlap	overlap	overlap
H-2	3.12 (m)	3.12 (m)	3.12 (m)	overlap	overlap	overlap	overlap	
5-HMF ( <b>38</b> )	-	-	-	-	-	-	-	

**Table S2-2** Detected compounds of each sample in HPLC chromatograms

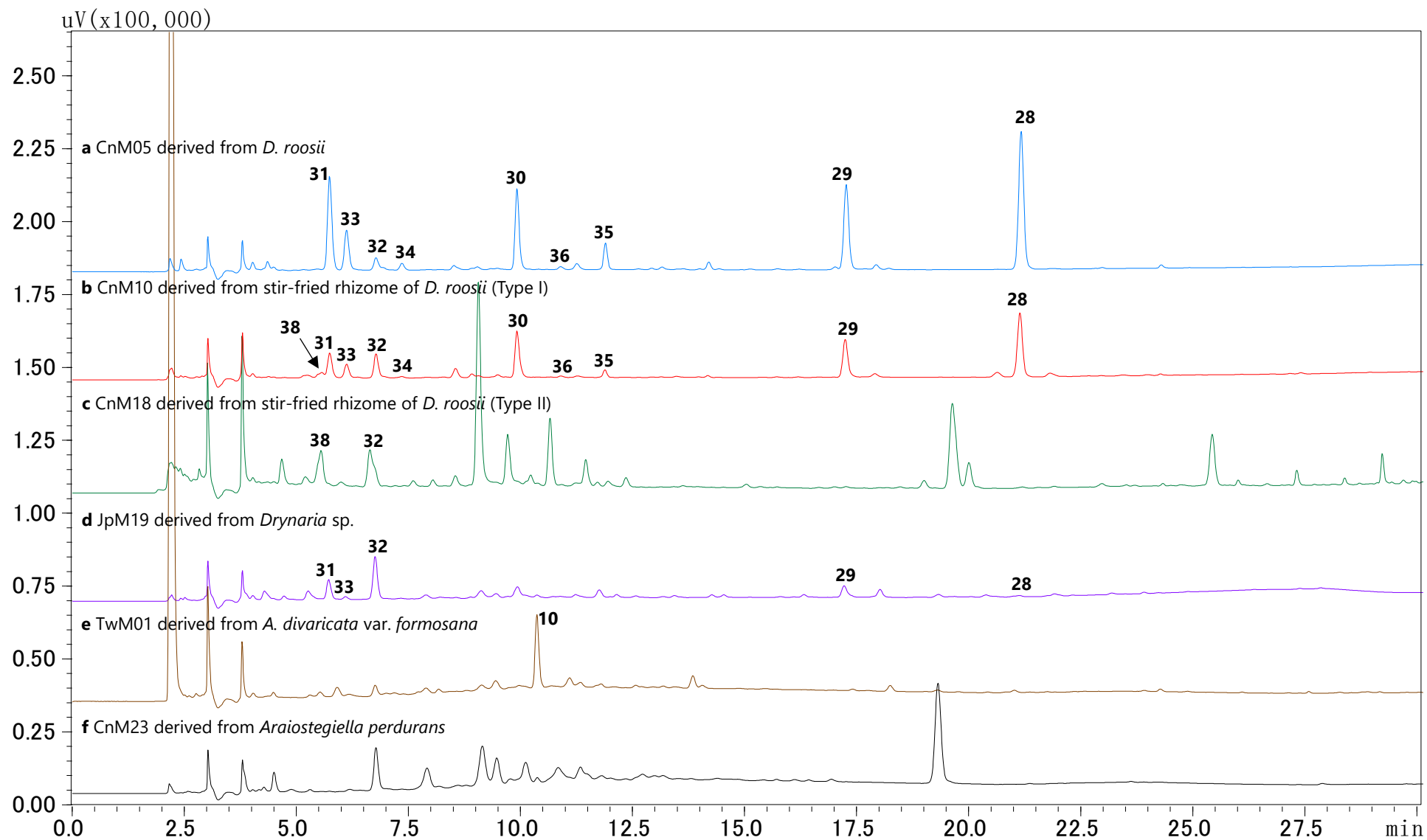
Botanical origin	Code No.	Compounds											
		28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	
<i>D. roosii</i>	Raw samples	CnM01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnM02	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
		CnM05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnM07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnM14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnM16	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
		CnM17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnM19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnM21	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
		CnM24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	JpM02	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
	JpM03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	JpM04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	JpM05	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
	JpM06	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	JpM08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	JpM09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	JpM10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
	Pant specimens	CnP01	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
		CnP02	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
		CnP03	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
		CnP04	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
	Type I stir-fried samples	CnM04	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
		CnM06	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
		CnM10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
		CnM11	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
		CnM12	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
		CnM22	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	Type II stir-fried samples	CnM09	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
		CnM13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
		CnM15	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
		CnM18	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
	Mixture of <i>D. roosii</i> and <i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	Raw samples	JpM01	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>A. divaricata</i> var. <i>formosana</i>	Raw samples	TwM01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		TwM02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		TwM03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		JpM11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		JpM16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Drynaria</i> sp.	Raw samples	JpM17	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
		JpM18	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
		JpM19	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
Mixture of <i>Araiostegiella perdurans</i> and <i>Selliguea</i> sp.	Raw samples	CnM03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Araiostegiella perdurans</i>	Raw samples	CnM23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

+, the compound was detected in this extract; -, the compound was not detected in this extract.

**Table S2-3** Purity of reference compounds using qHNMR in Chapter 2

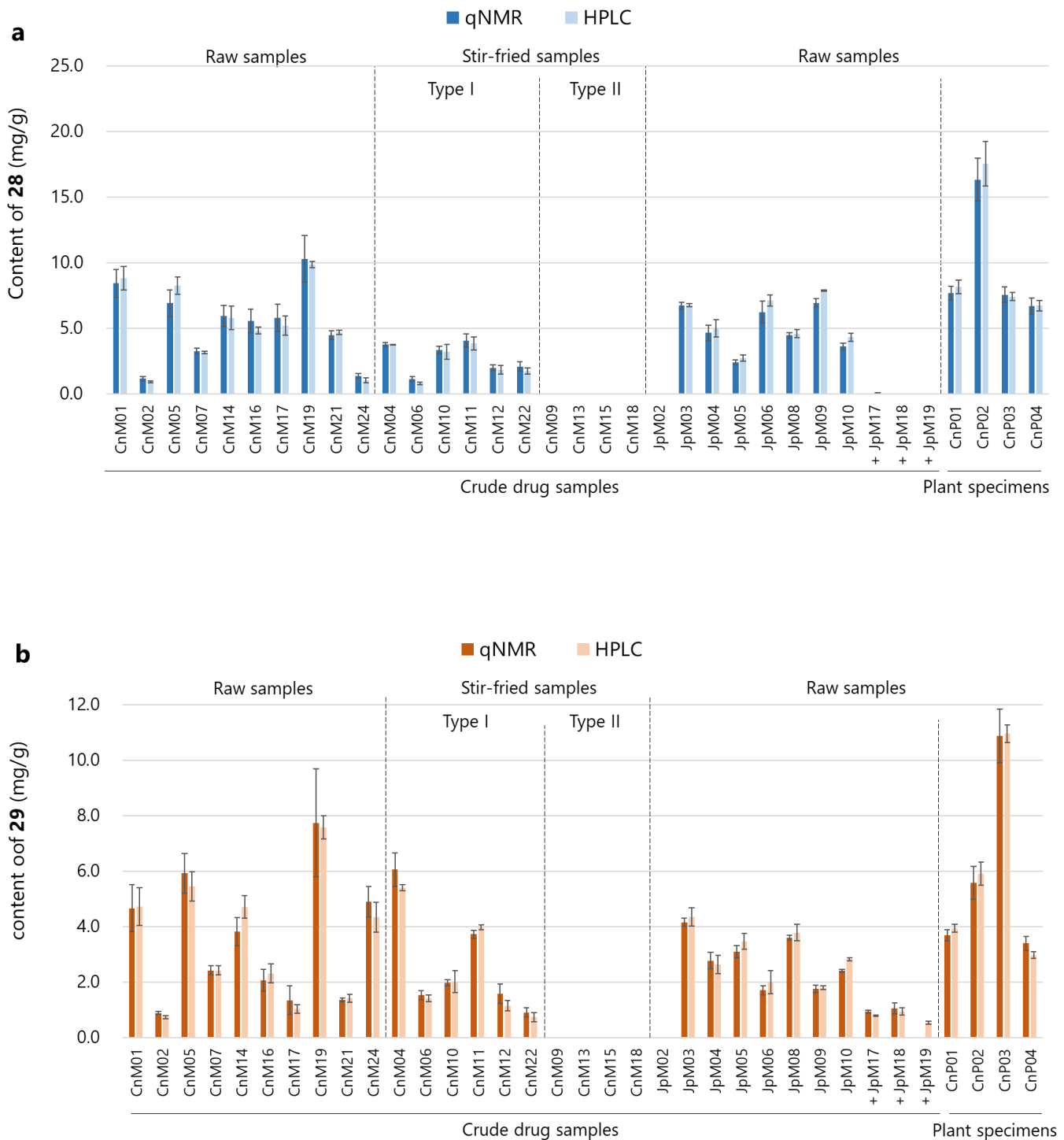
Compound No.	Molecular mass	Selected signal $\delta_{\text{H}}$	Purity (%)
<b>28</b>	580.54	7.31 (d, $J=8.4$ Hz)*	92.36
<b>29</b>	480.46	6.91 (s)*	85.58
<b>31</b>	480.47	7.54 (d, $J=16.0$ Hz)	95.54
<b>32</b>	122.12	6.79 (d, $J=7.6$ Hz)	94.58
<b>37</b>	940.68	7.04 (d, $J=2.3$ Hz)	94.81

\*, the signals were used to quantify these compounds in extracts.



**Fig. S2-1** Representative HPLC chromatograms of *Drynariae Rhizoma* samples. (a) CnM05 derived from *D. roosii*; (b) CnM10 derived from stir-fried rhizome of *D. roosii* (Type I); (c) CnM18 derived from stir-fried rhizome of *D. roosii* (Type II); (d) JpM19 derived from *Drynaria* sp.; (e) TwM01 derived from *A. divaricata* var. *formosana*; and (f) CnM23 derived from *Araiostegiella perdurans*.





**Fig. S2-2** Contents of naringin (**28**) and neoeriocitrin (**29**) in *Drynariae Rhizoma* samples. Unmarked samples derived from *D. roosii*; +, Samples derived from *Drynaria* sp. (a) Content of naringin (**28**) quantified by qHNMR and HPLC; and (b) content of neoeriocitrin (**29**) quantified by qHNMR and HPLC. Vertical bars indicate standard deviation (n=3).

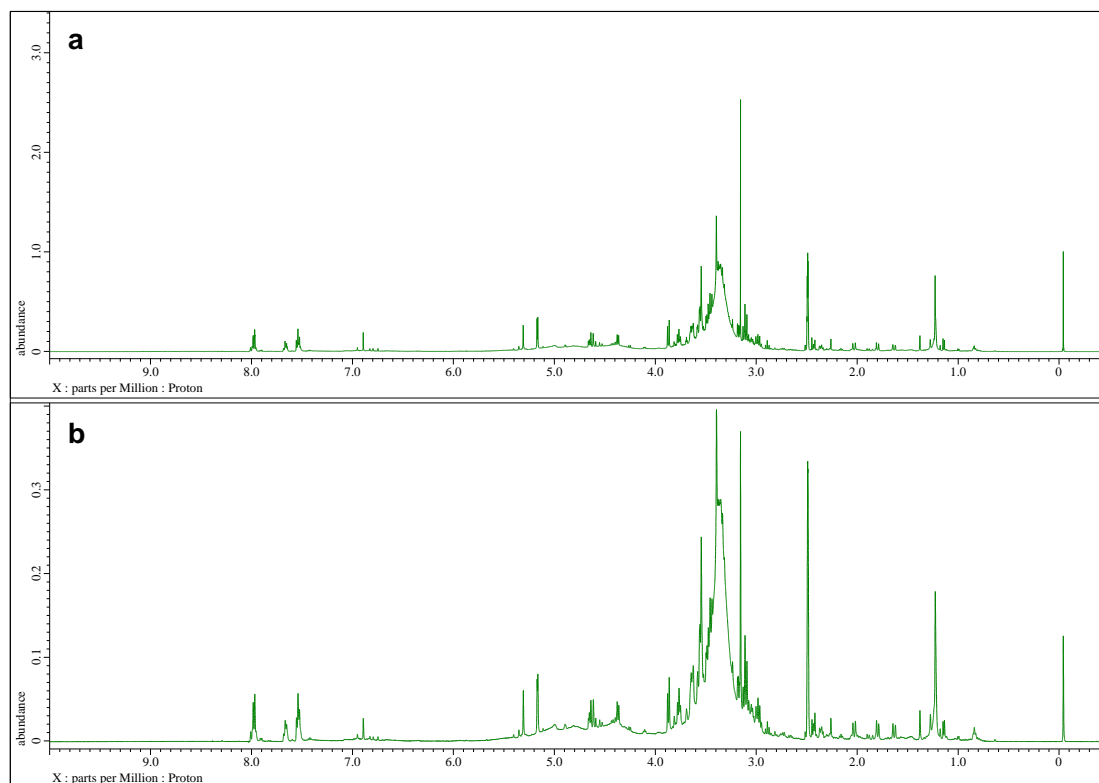


Fig. S3-1  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D1 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

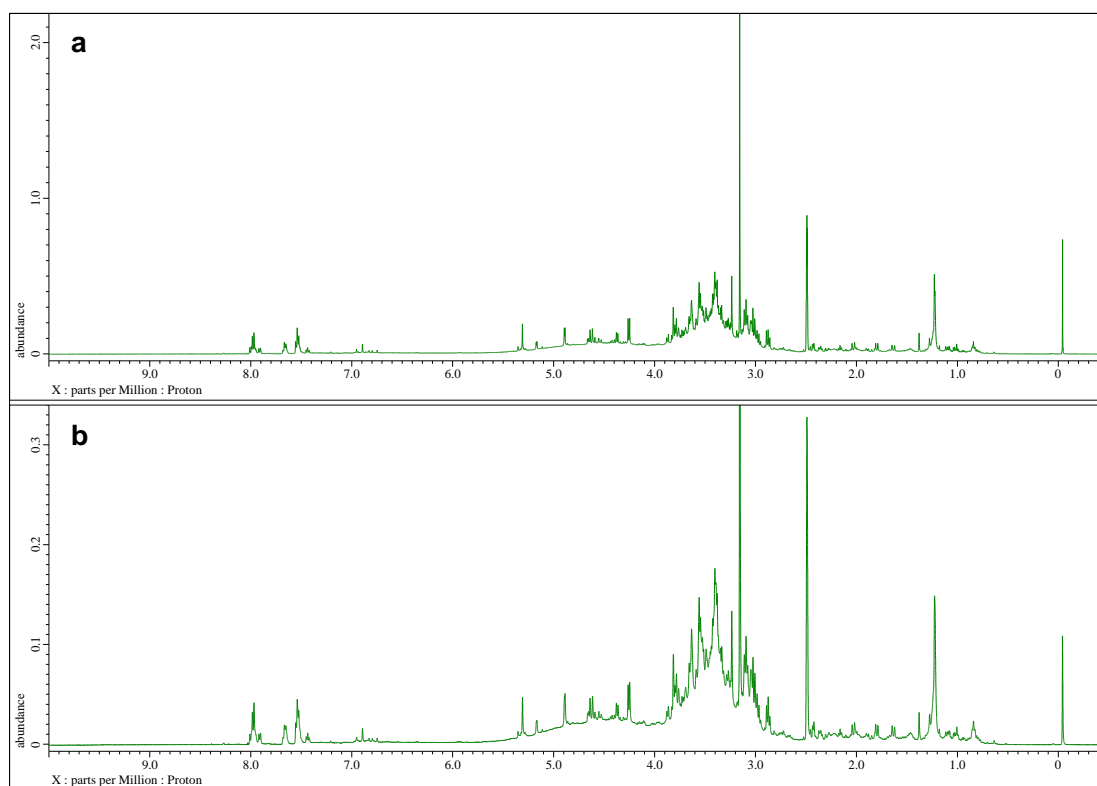


Fig. S3-2  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D2 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

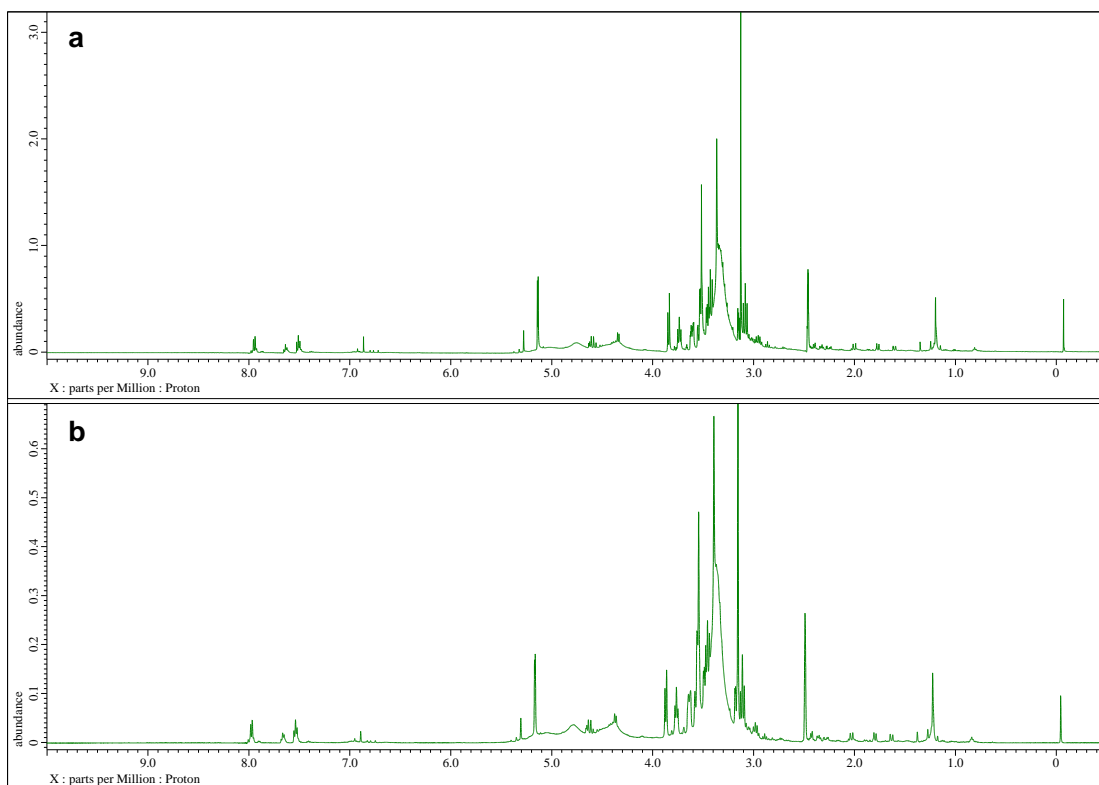


Fig. S3-3  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D3 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

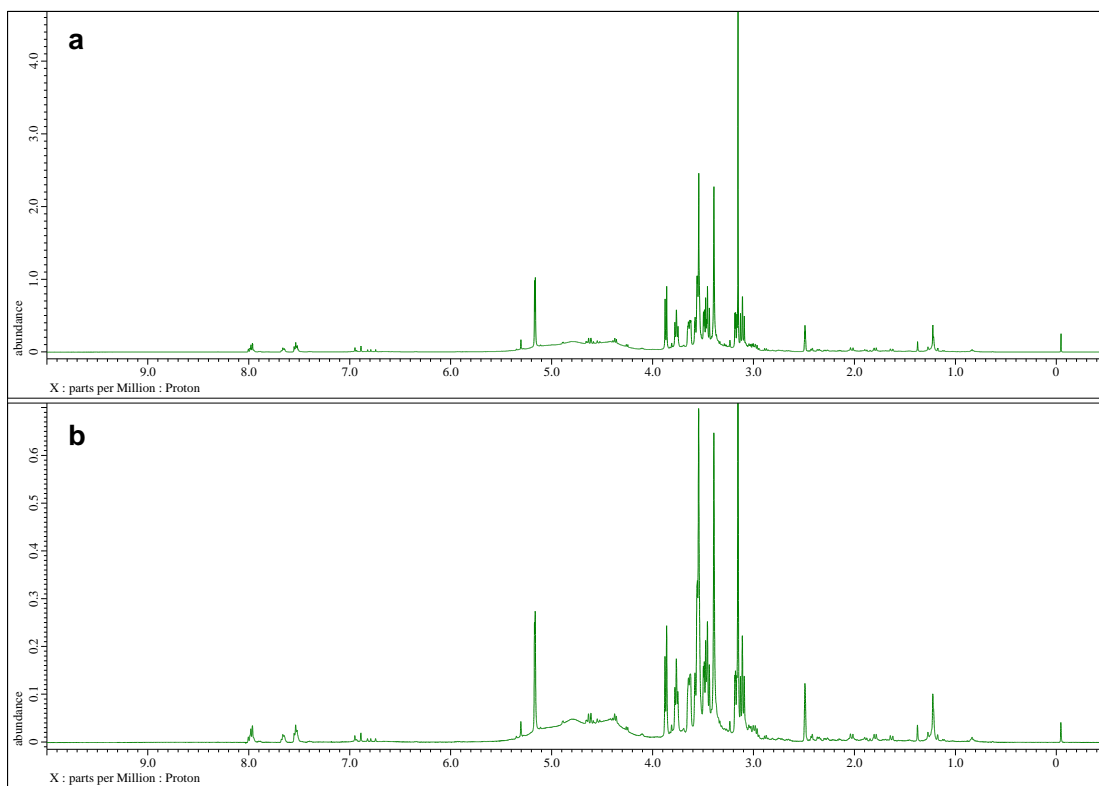


Fig. S3-4  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D4 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

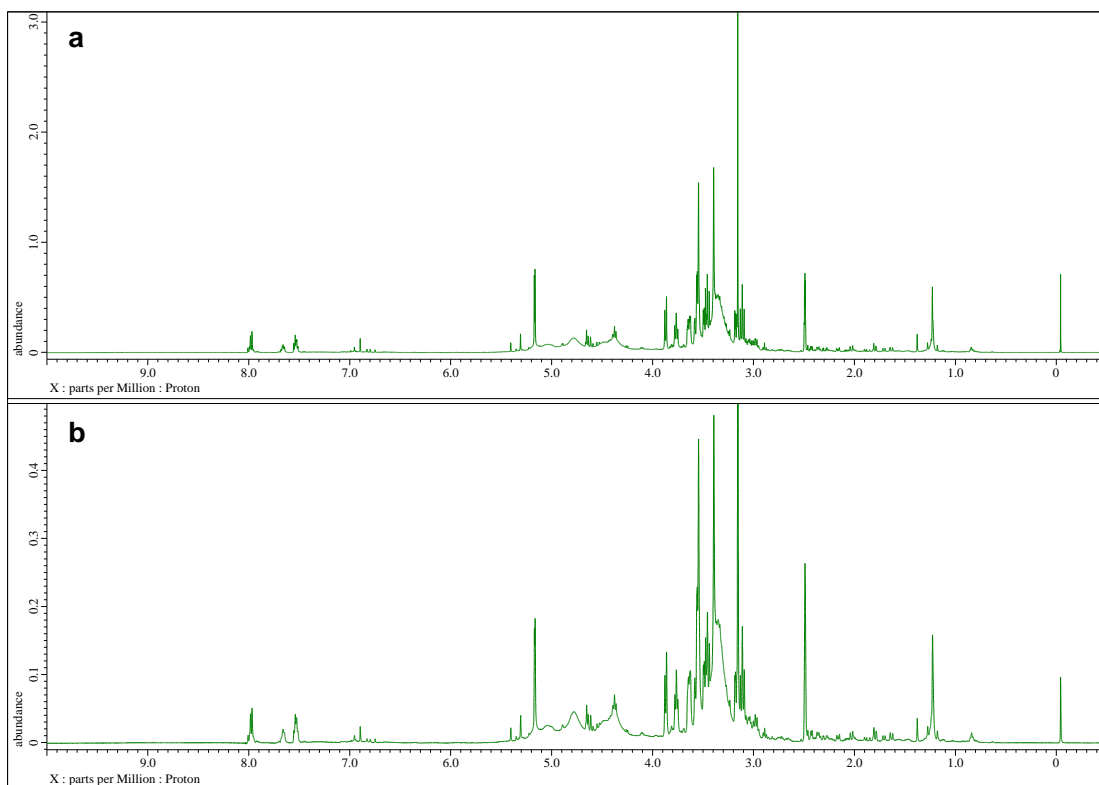


Fig. S3-5  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D17 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

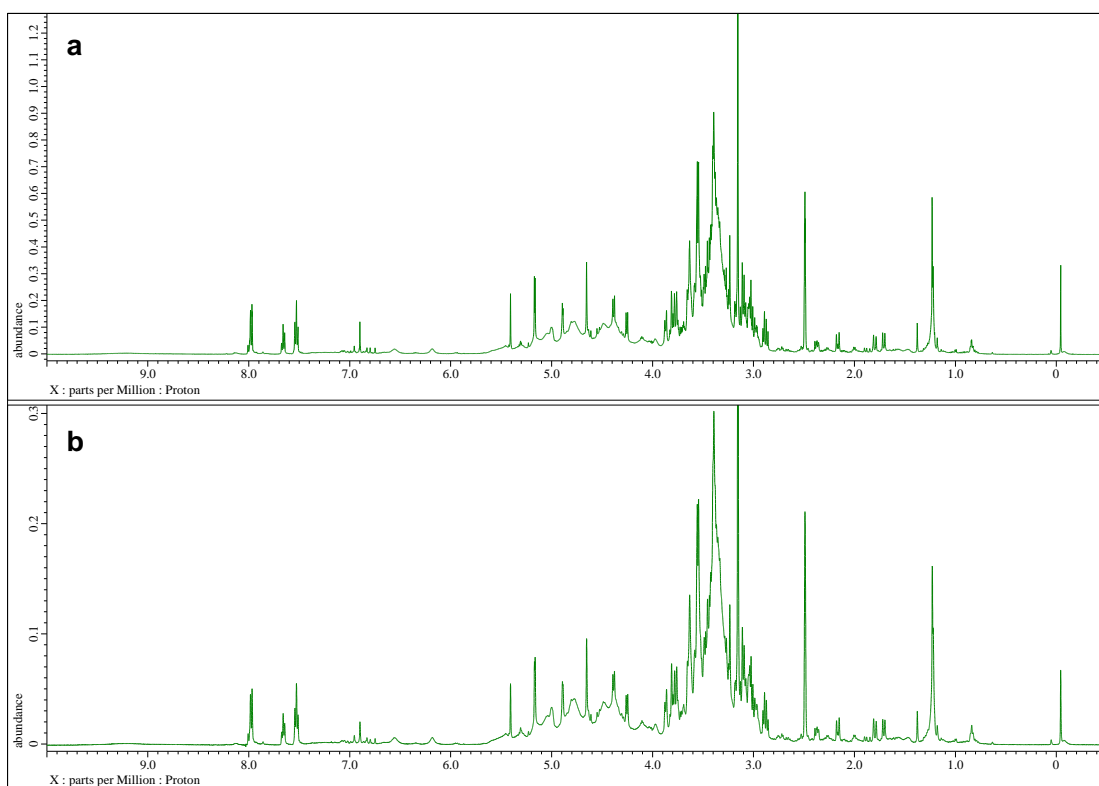


Fig. S3-6  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D18 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

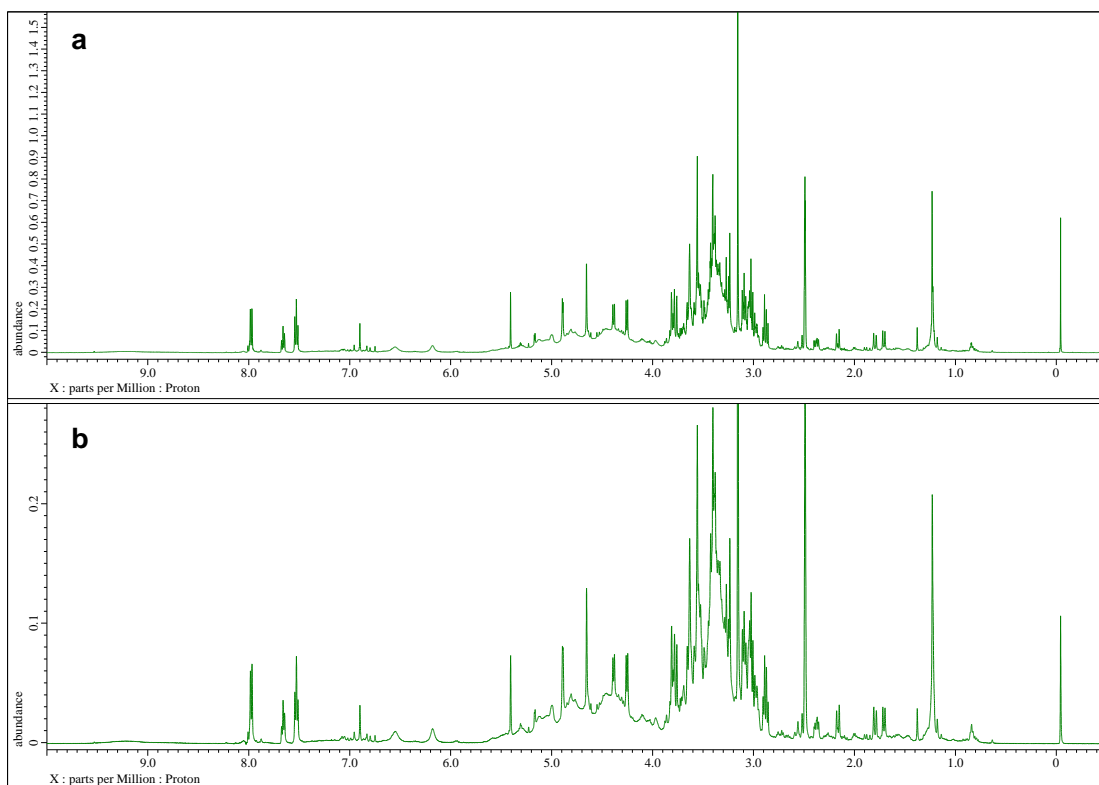


Fig. S3-7  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D22 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

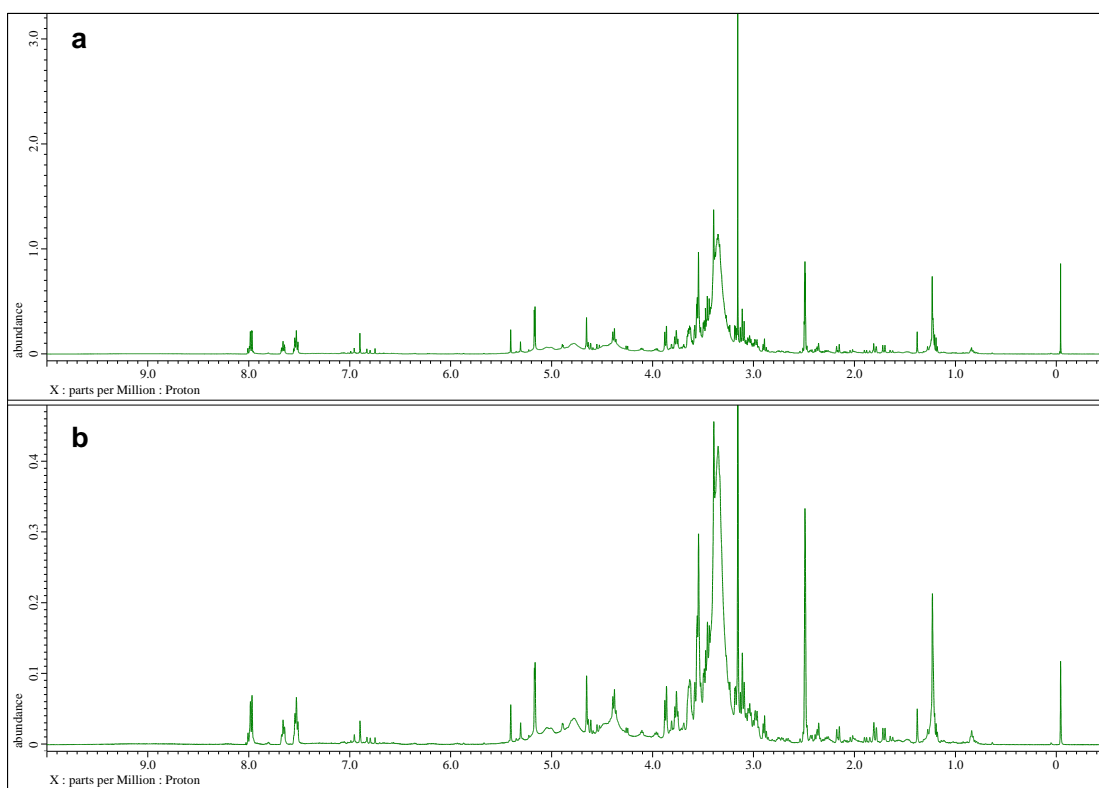


Fig. S3-8  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D23 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

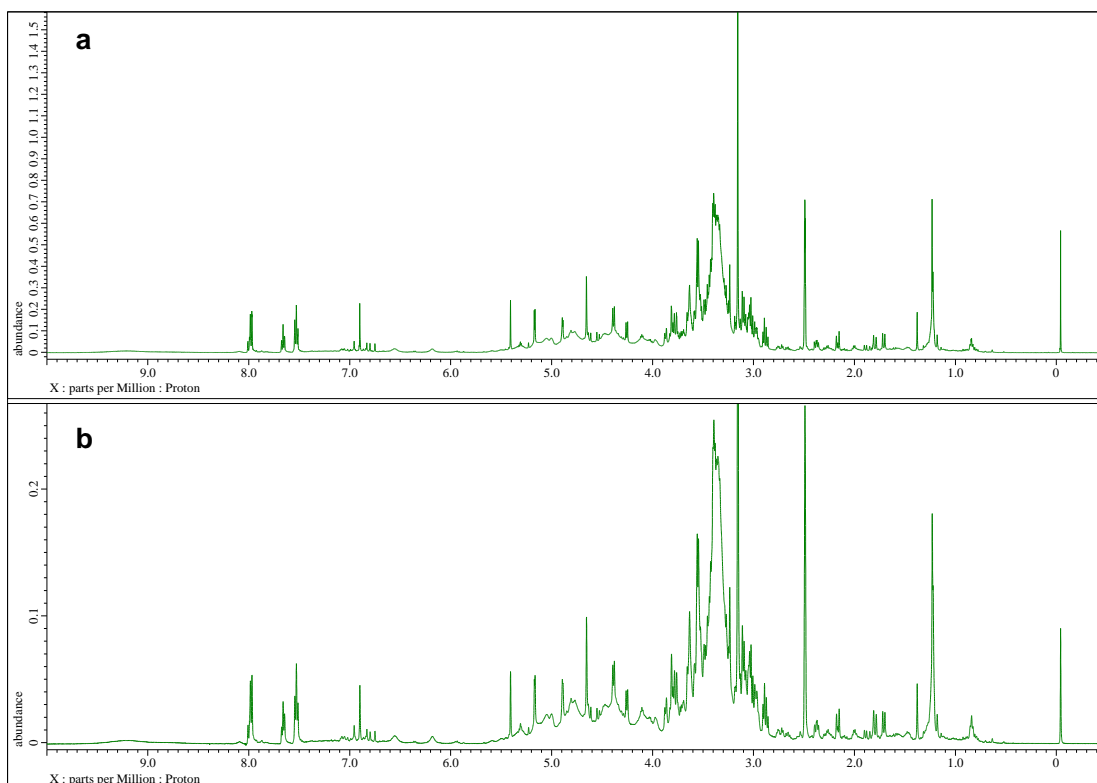


Fig. S3-9  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D24 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

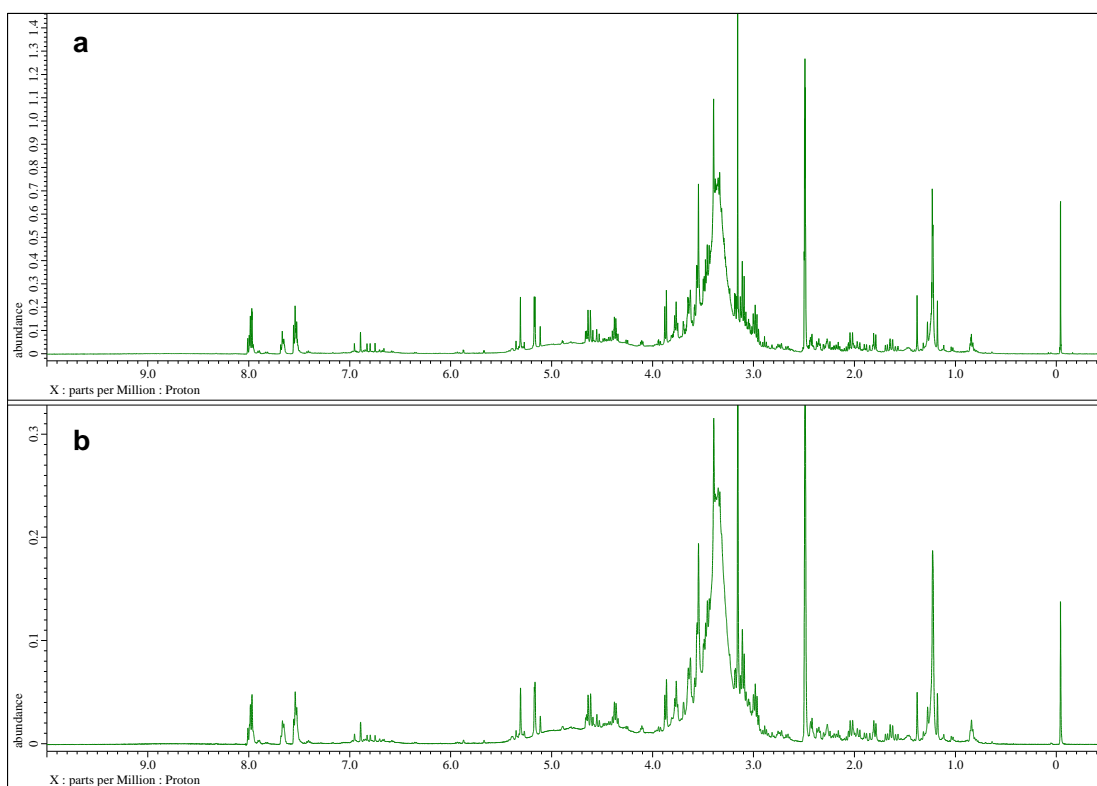


Fig. S3-10  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D29 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

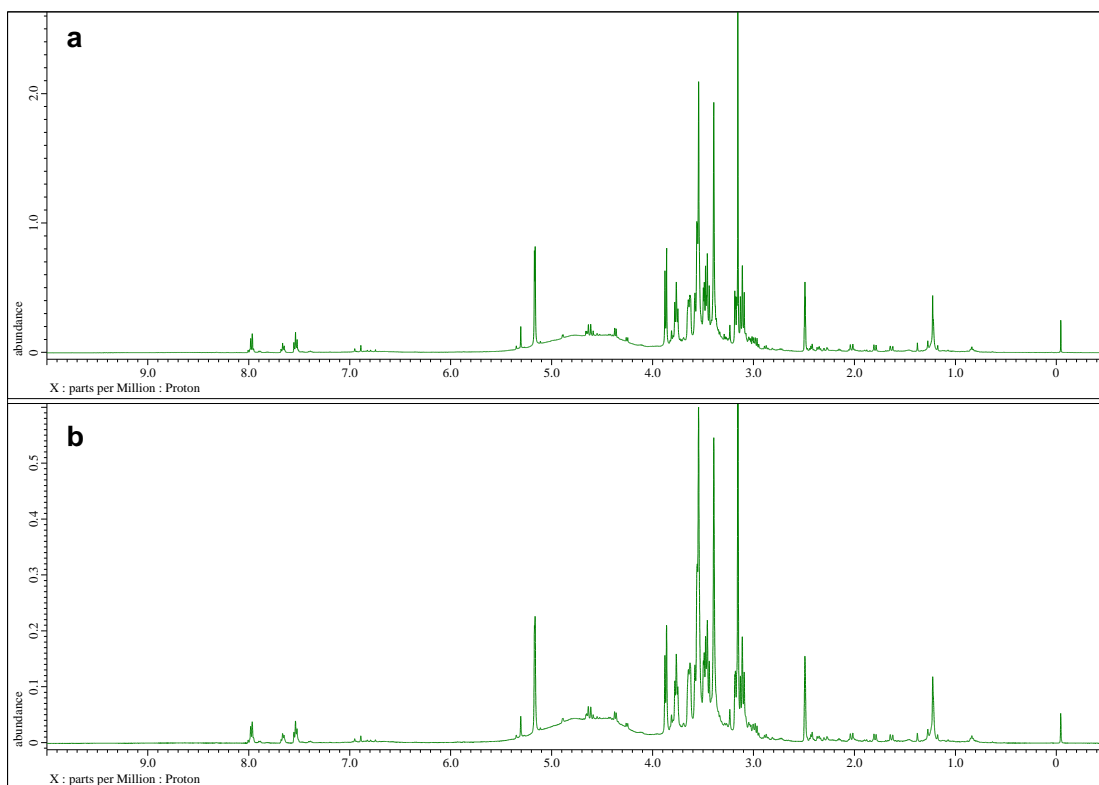


Fig. S3-11  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D6 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

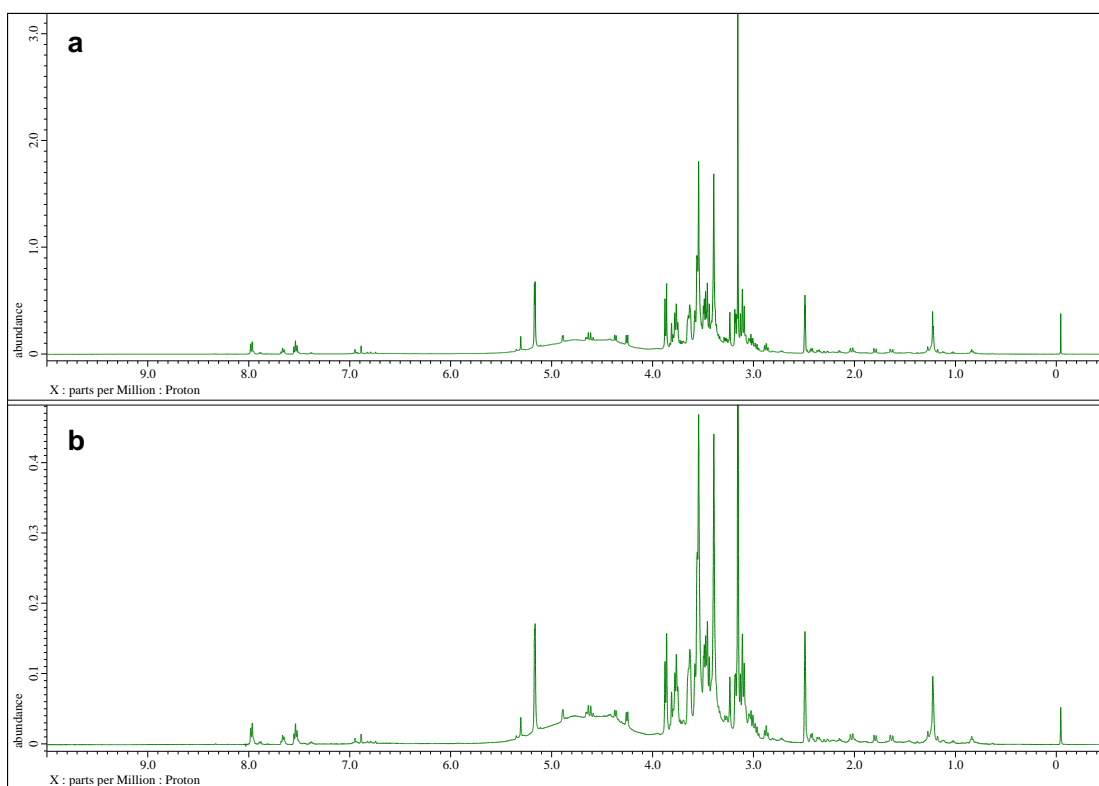


Fig. S3-12  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D7 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

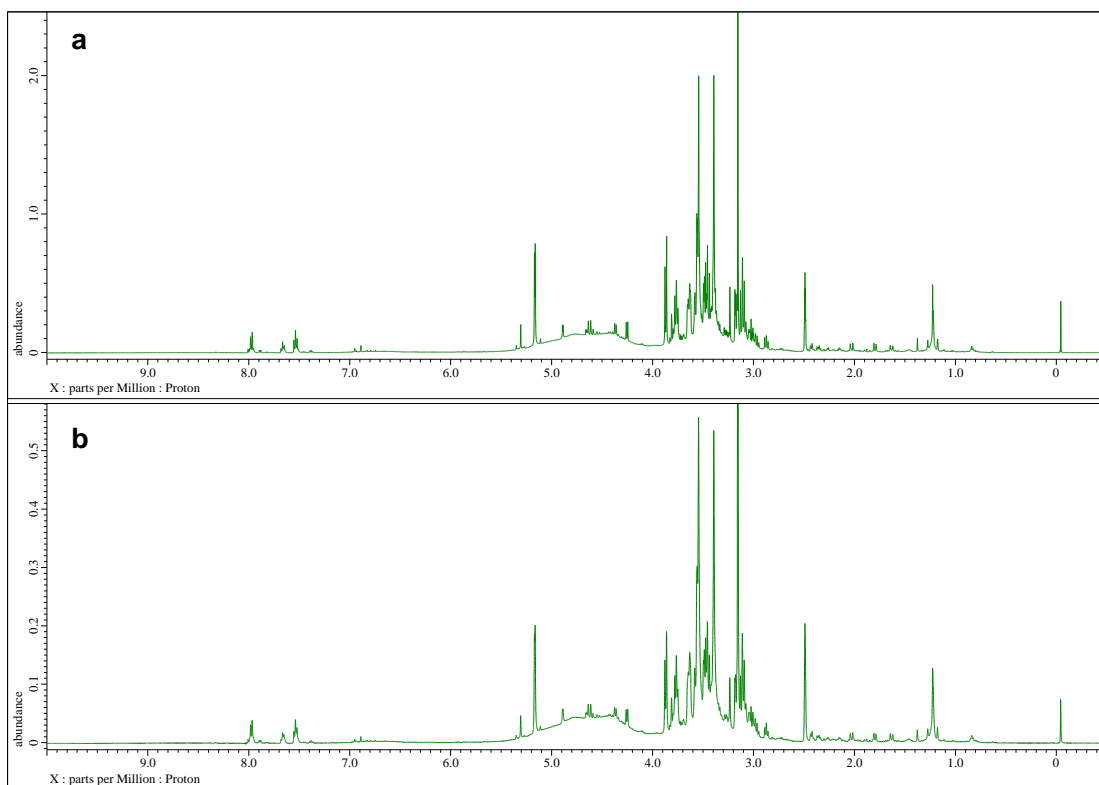


Fig. S3-13  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D8 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

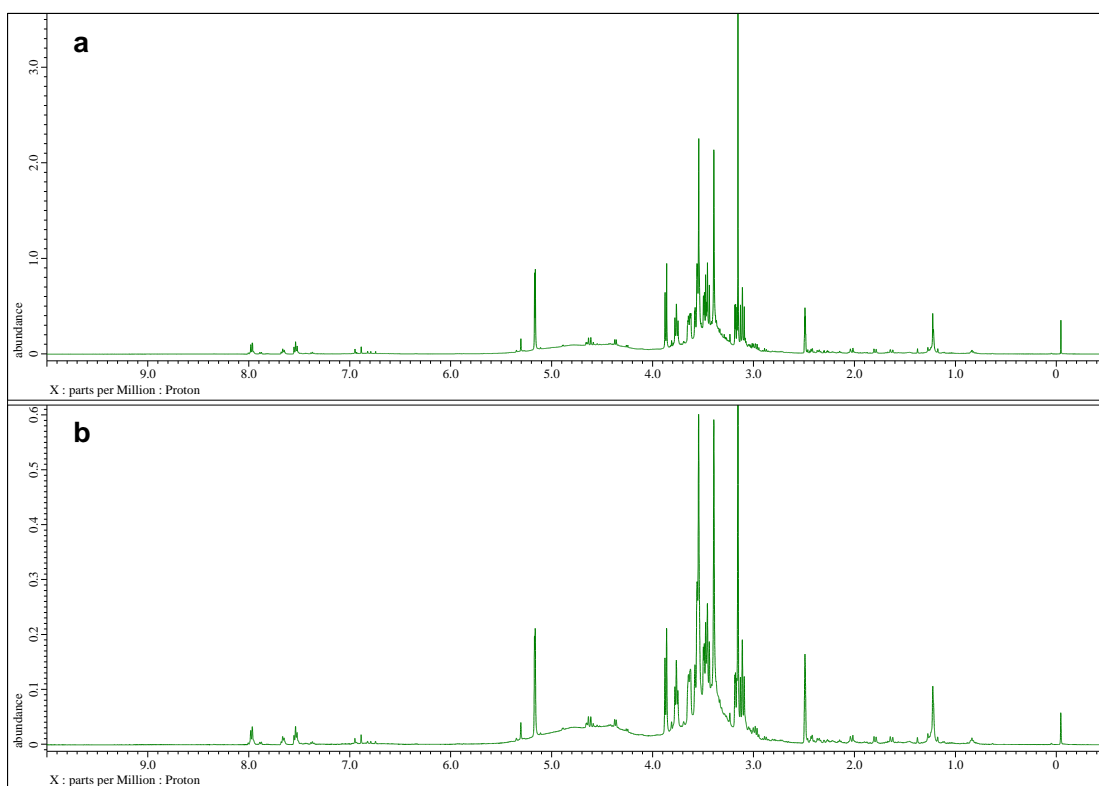


Fig. S3-14  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D10 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR



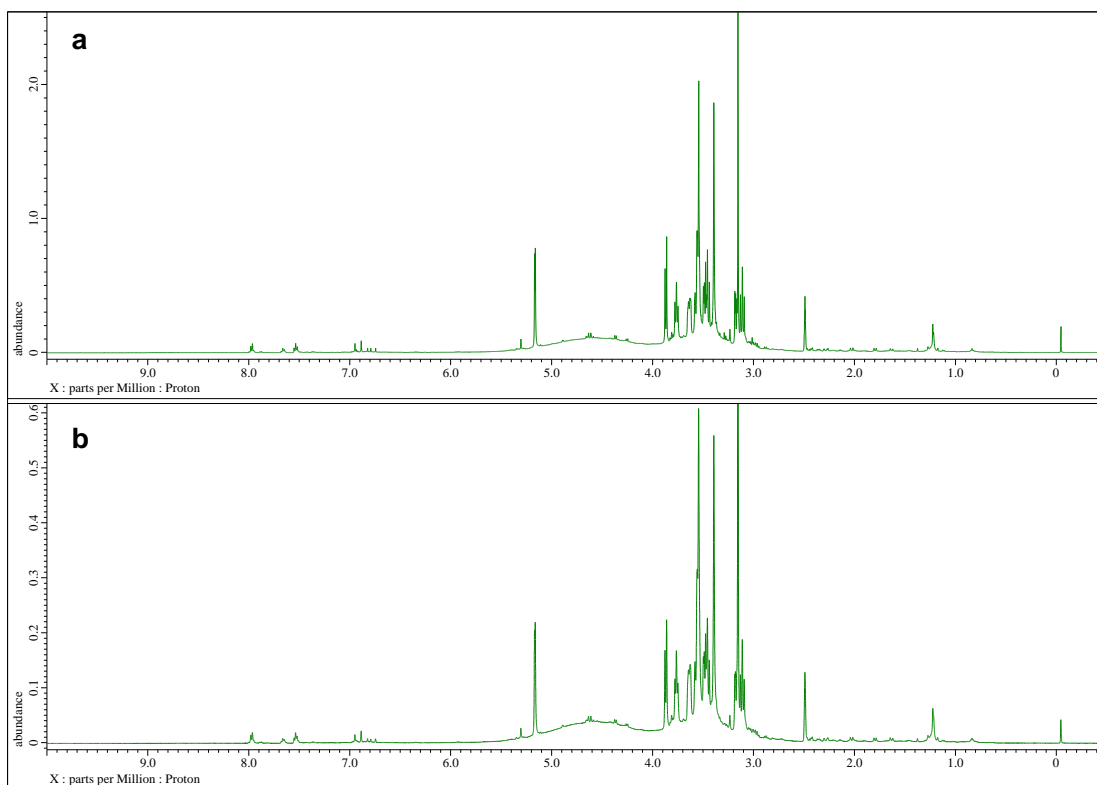


Fig. S3-15  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D50 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

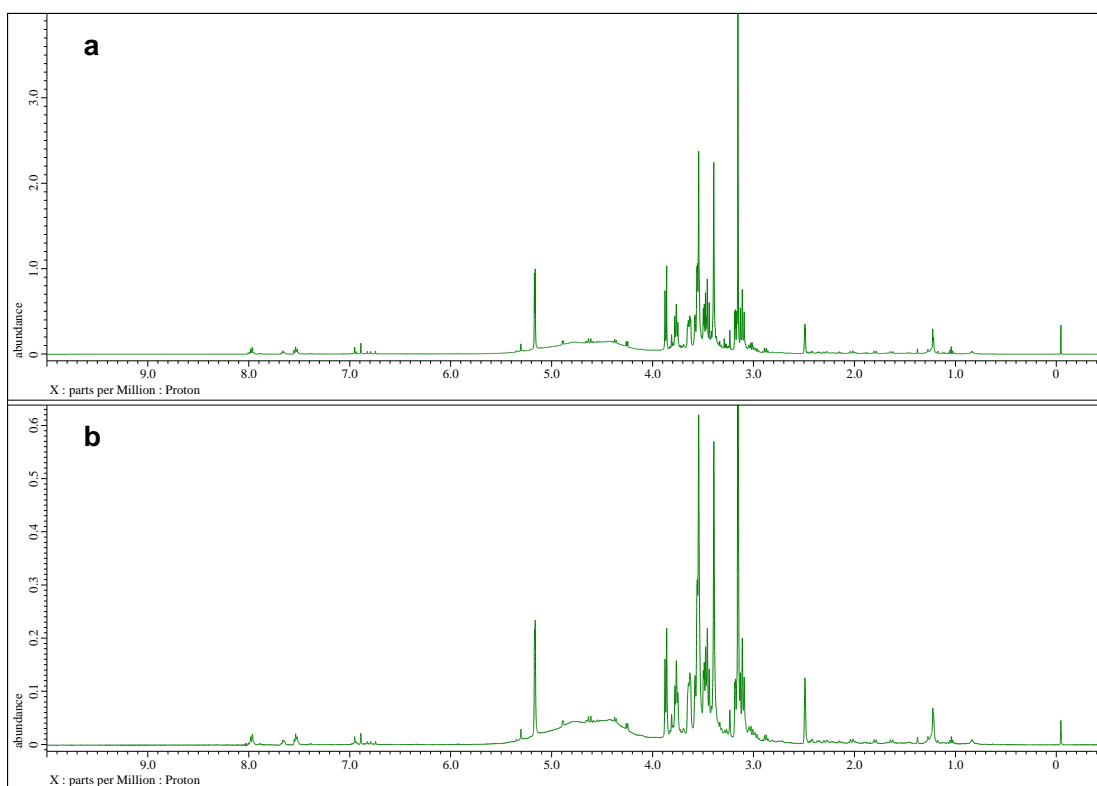


Fig. S3-16  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D51 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

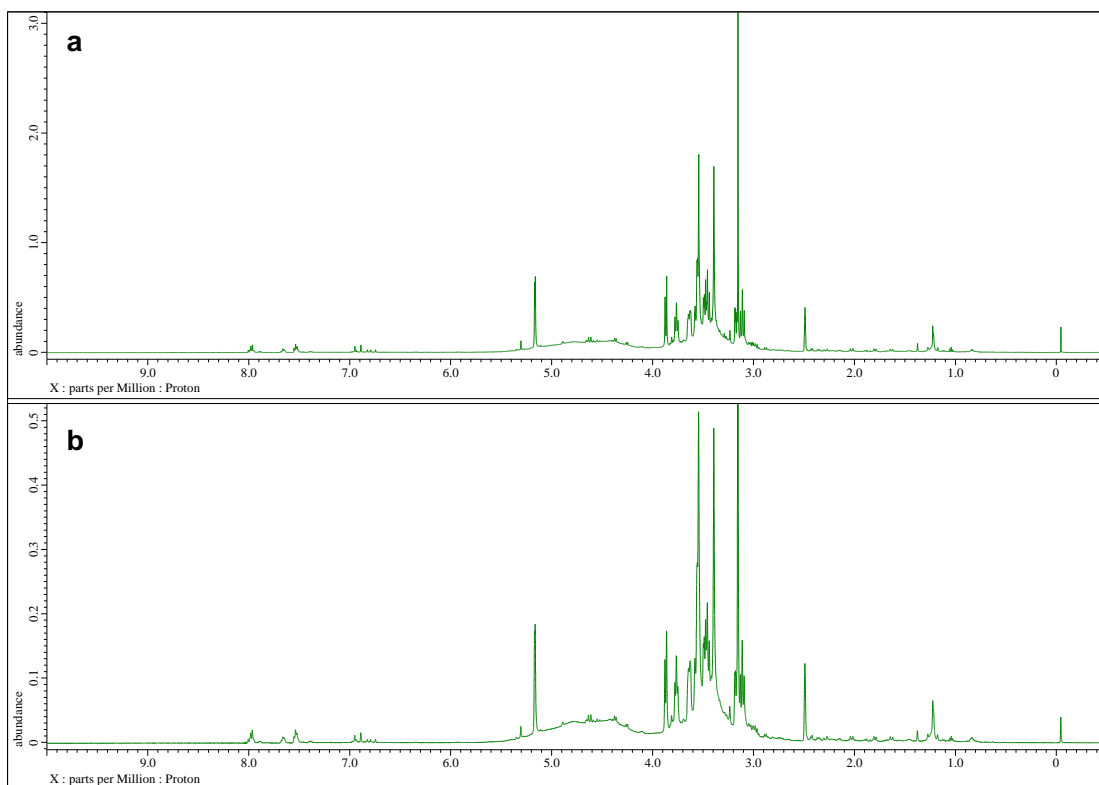


Fig. S3-17  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D52 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

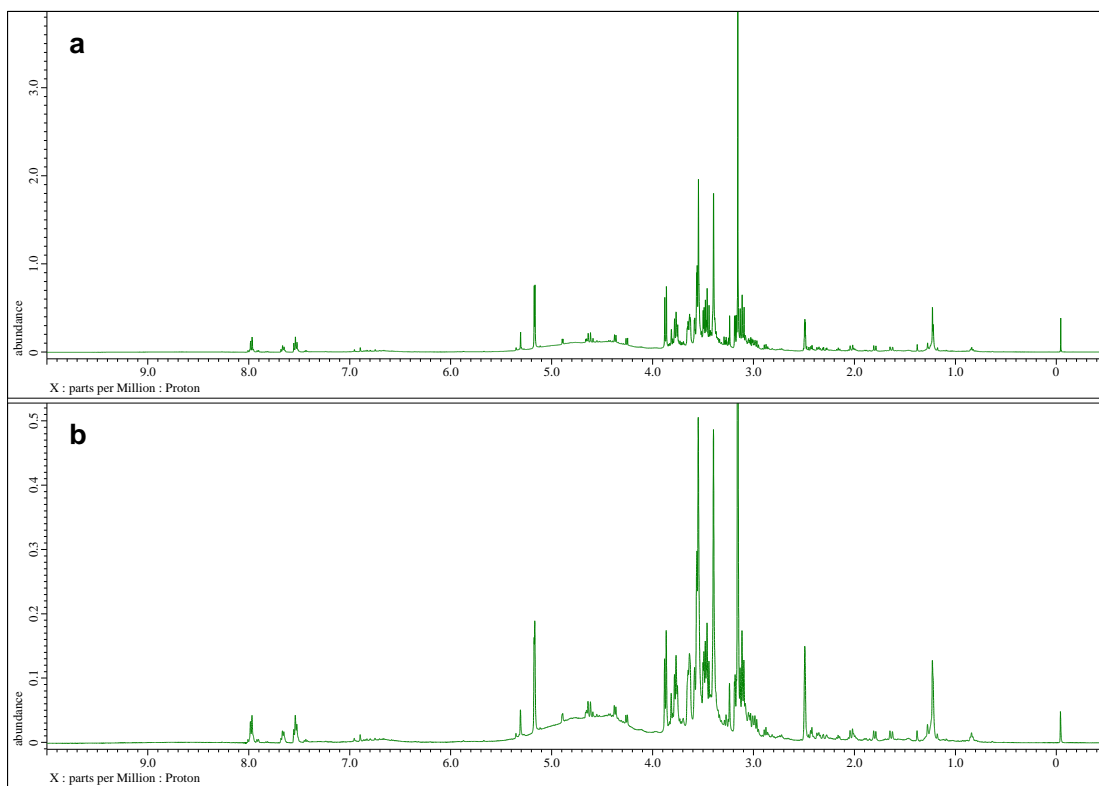


Fig. S3-18  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D9 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

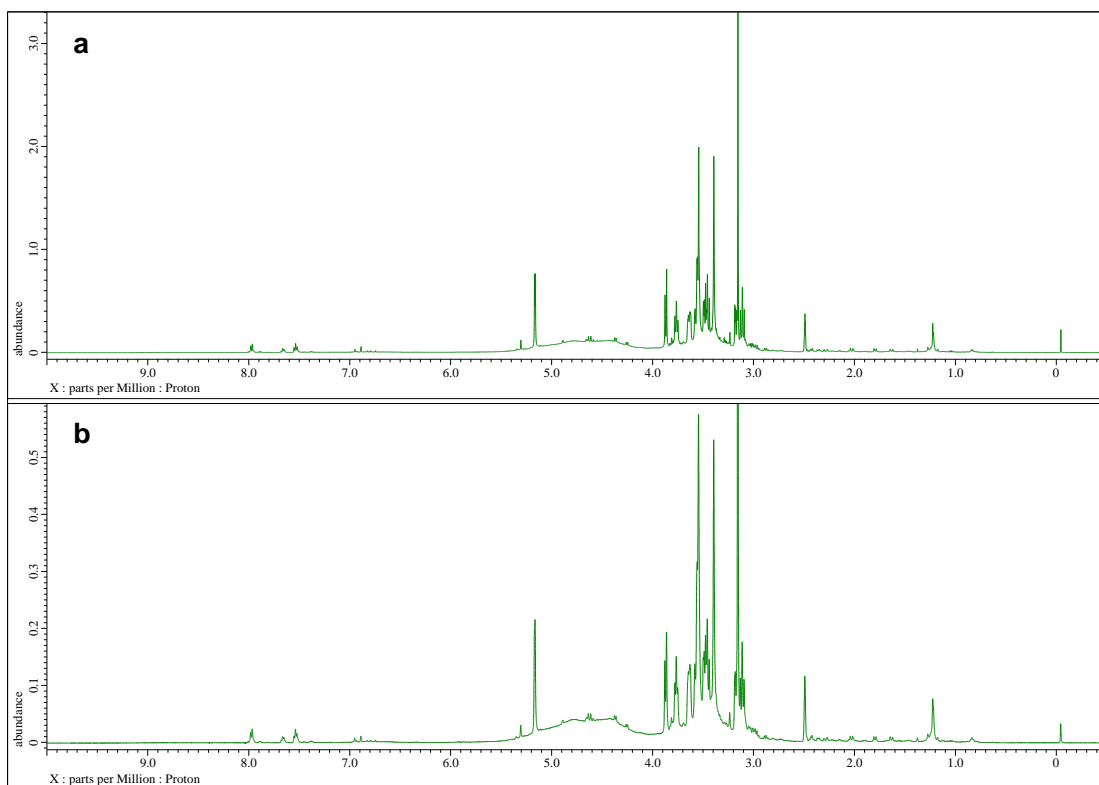


Fig. S3-19  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D49 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

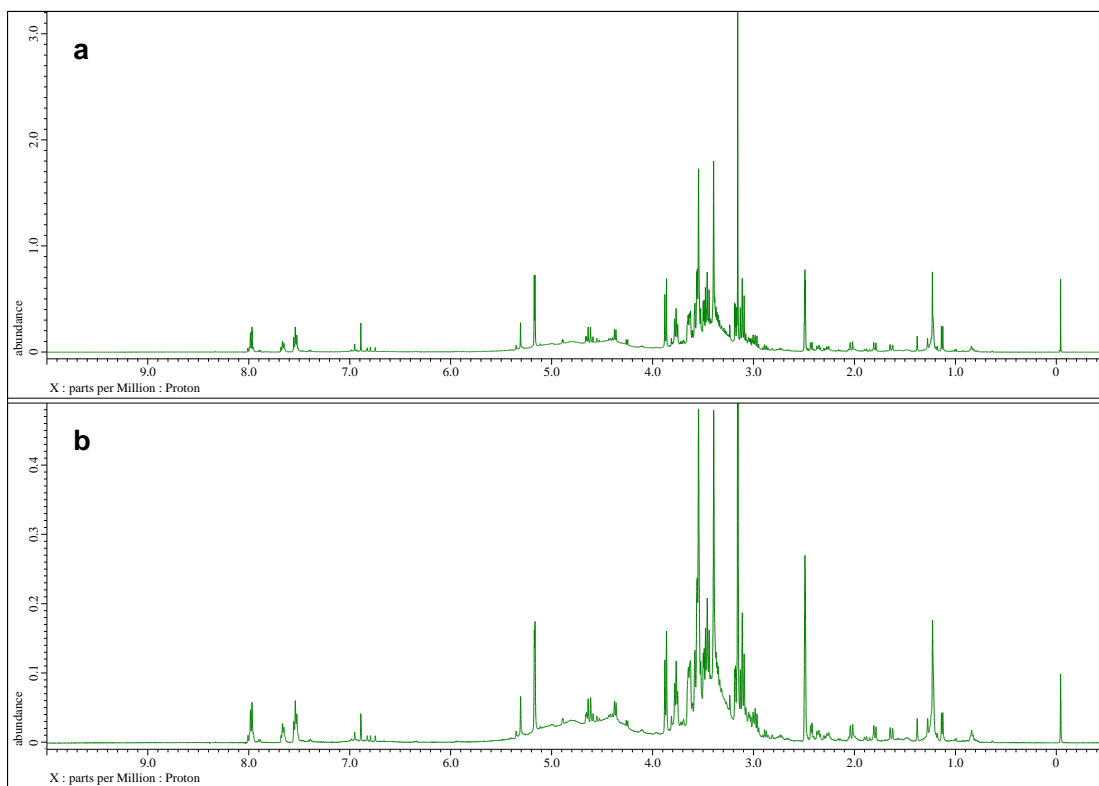


Fig. S3-20  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D45 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

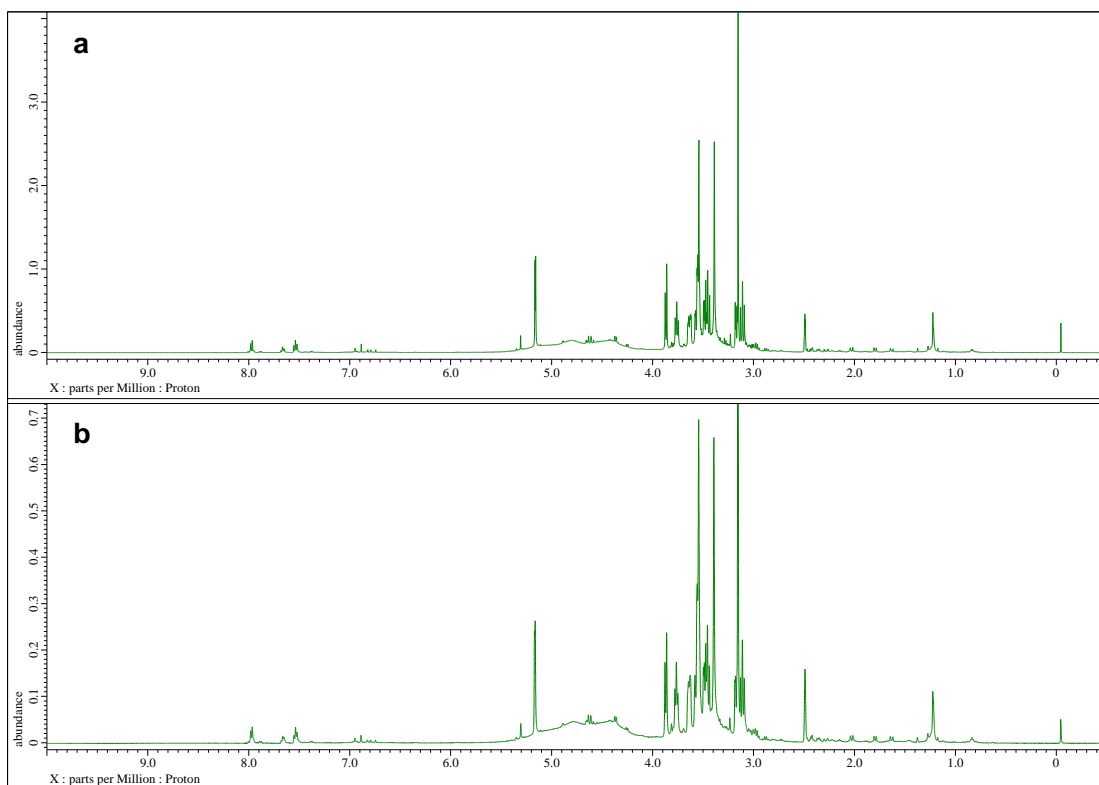


Fig. S3-21  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D46 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

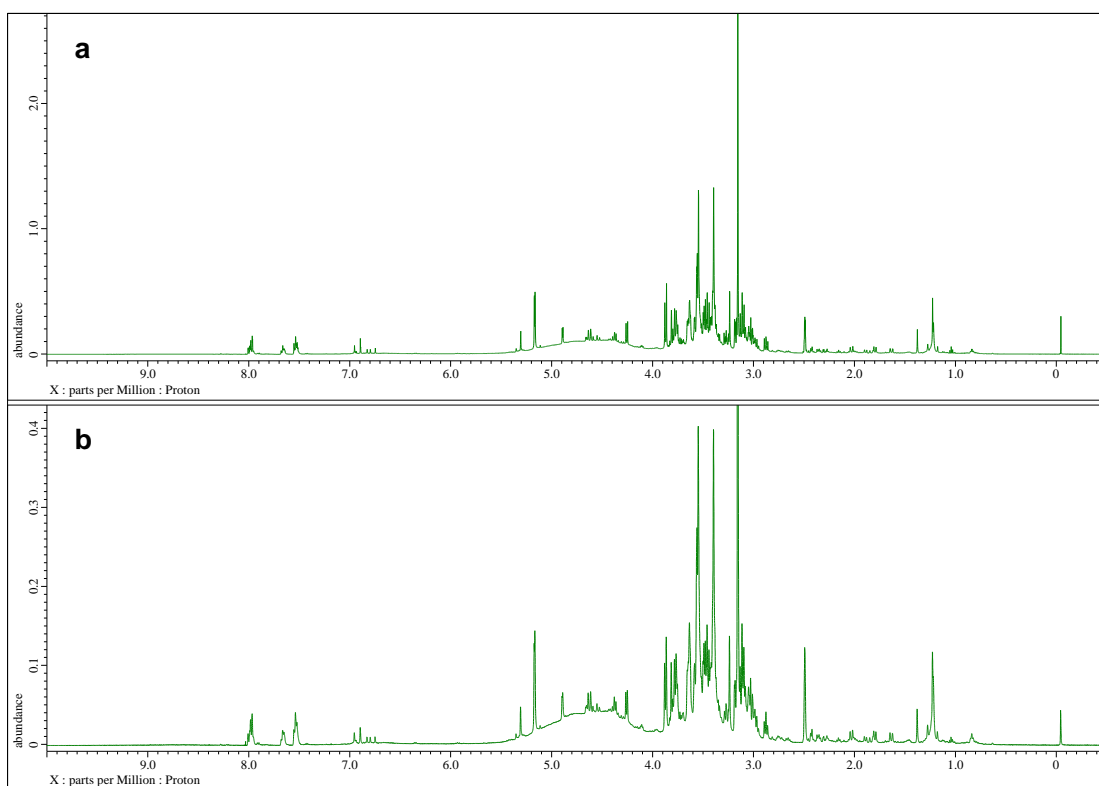


Fig. S3-22  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D47 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

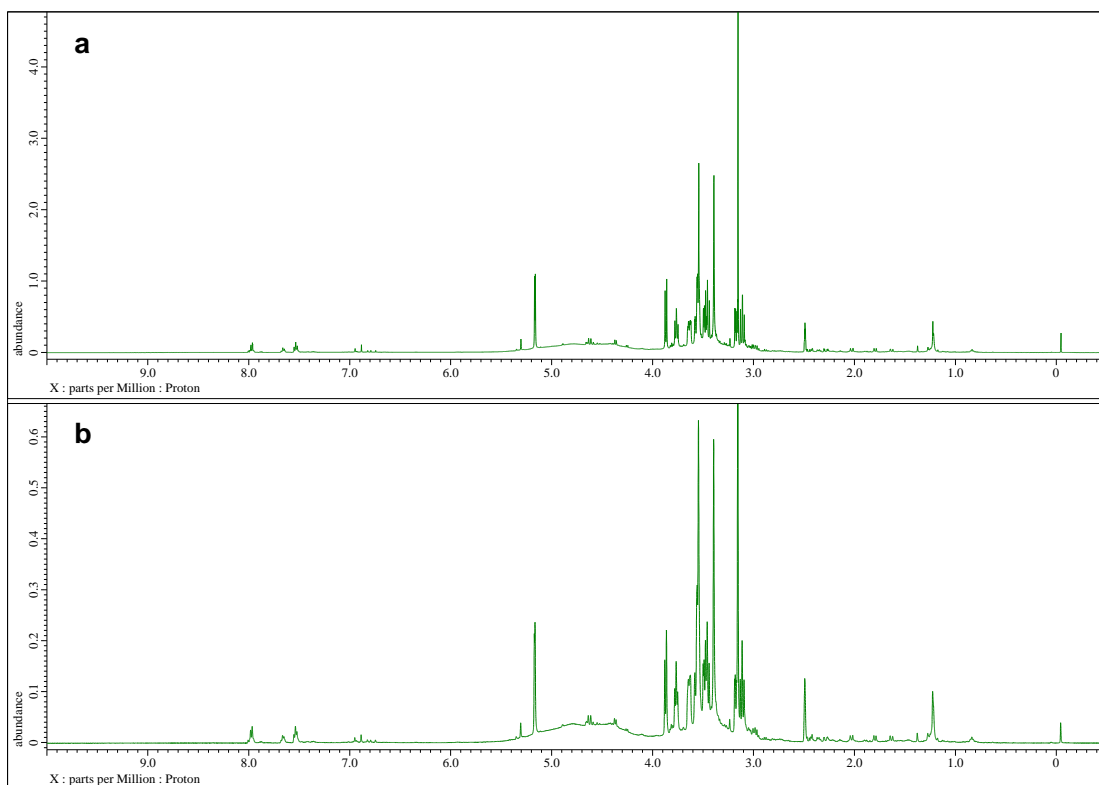


Fig. S3-23  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D48 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

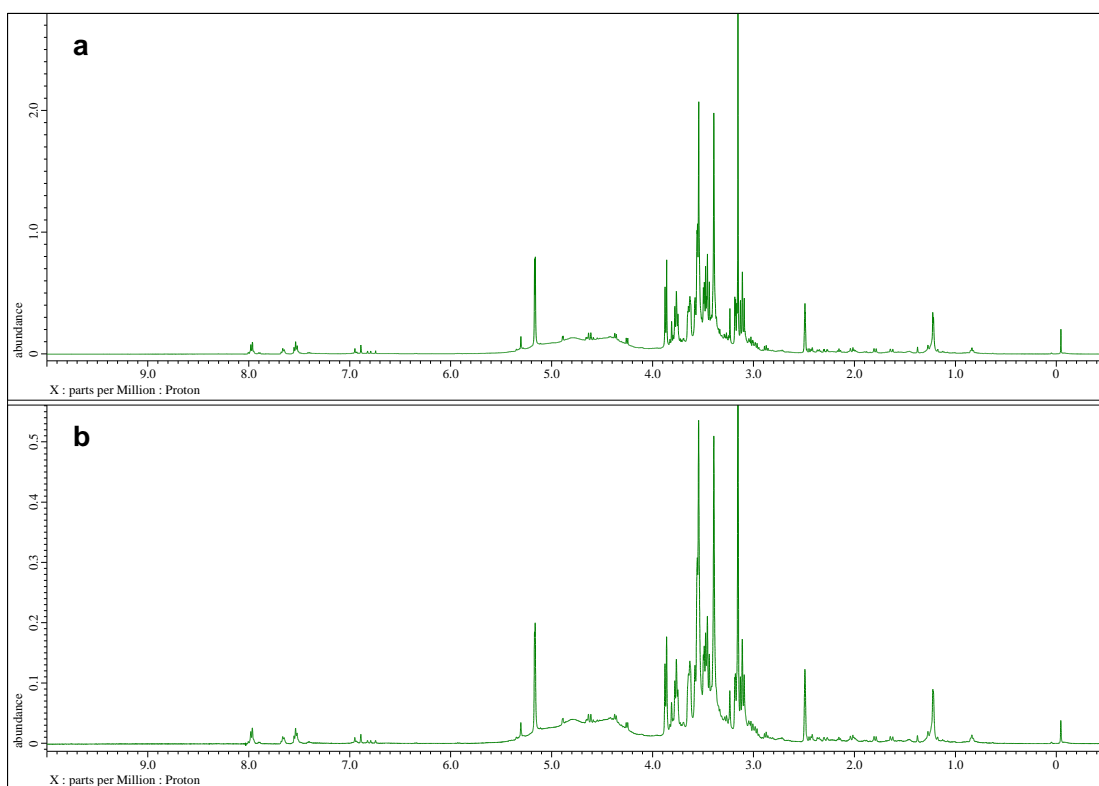


Fig. S3-24  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D53 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

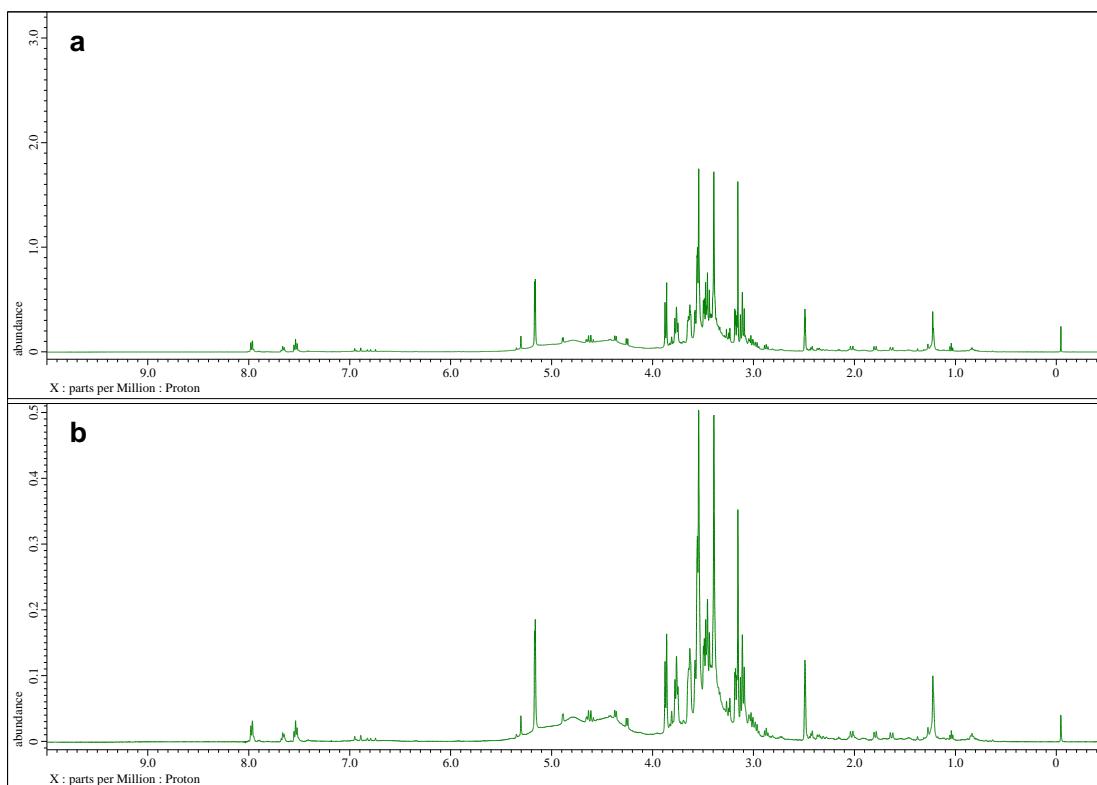


Fig. S3-25  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D12N in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

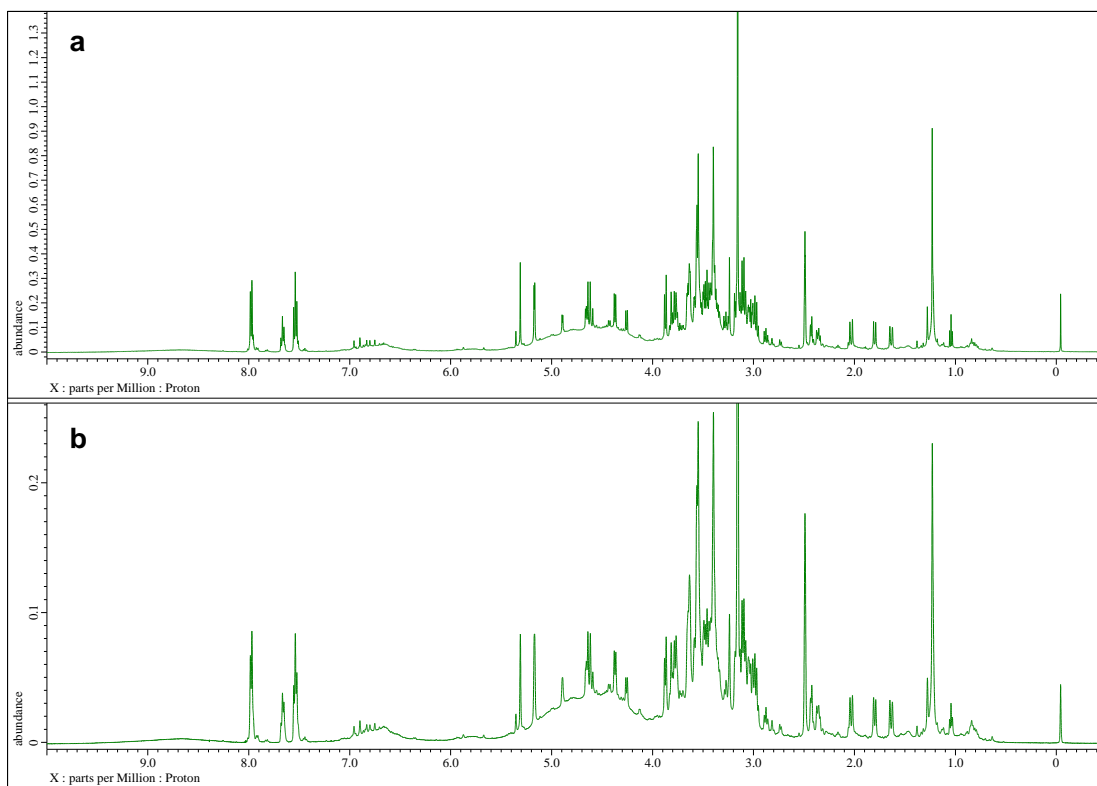


Fig. S3-26  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D12 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

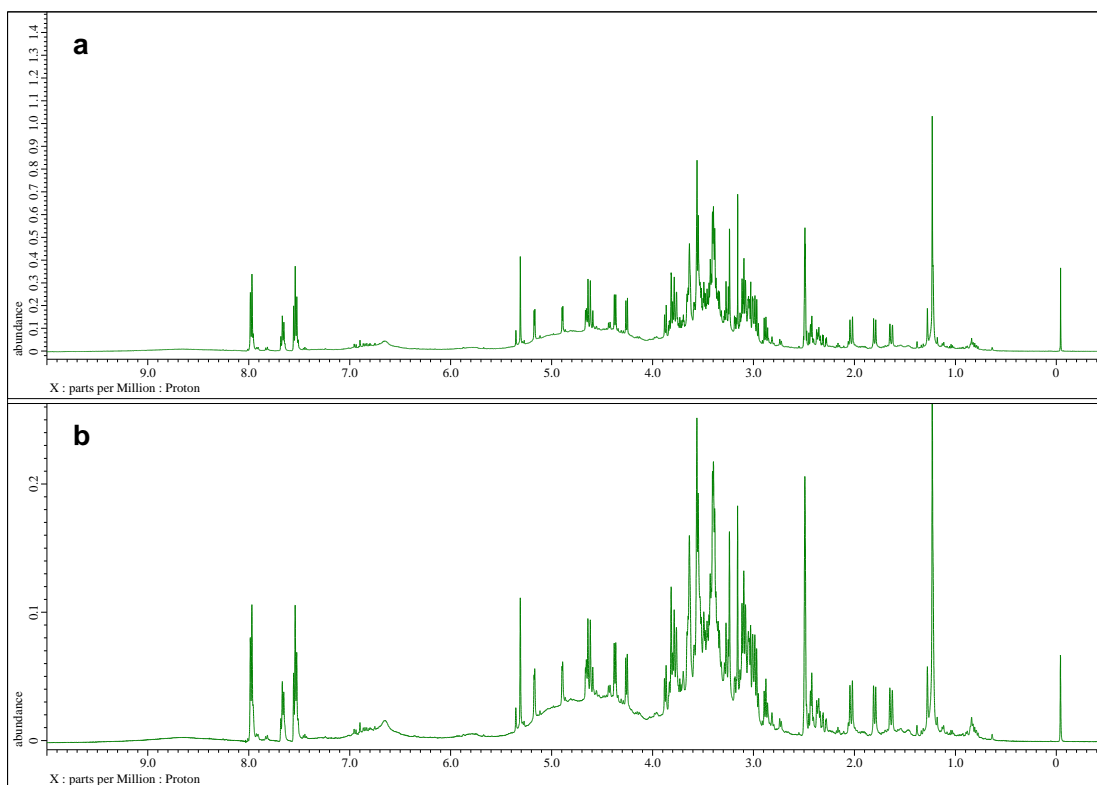


Fig. S3-27  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D13 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

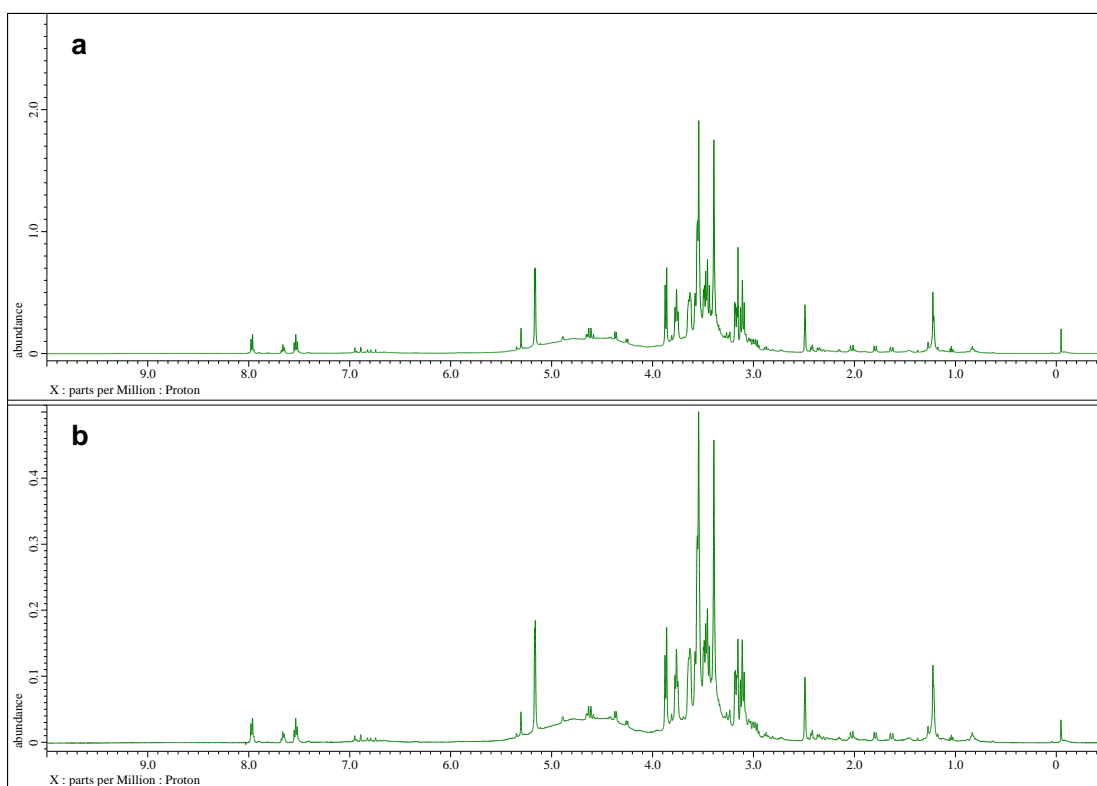


Fig. S3-28  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D14 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

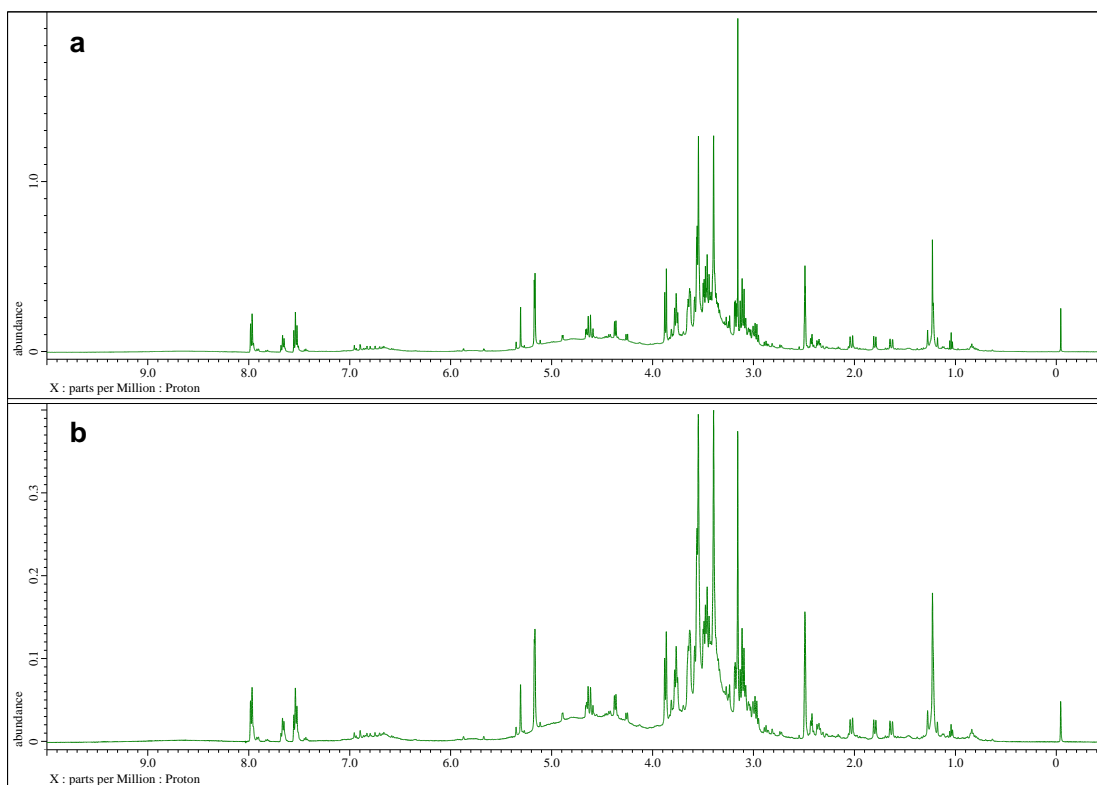


Fig. S3-29  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D15 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

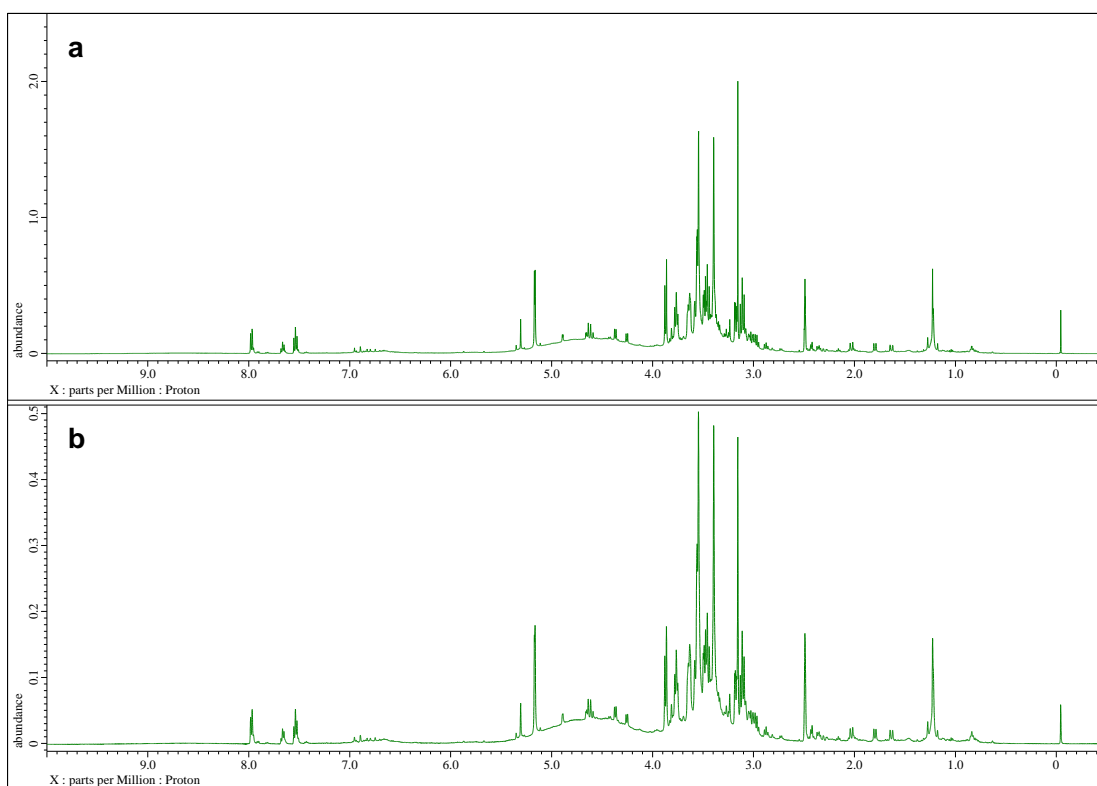


Fig. S3-30  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D54 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR



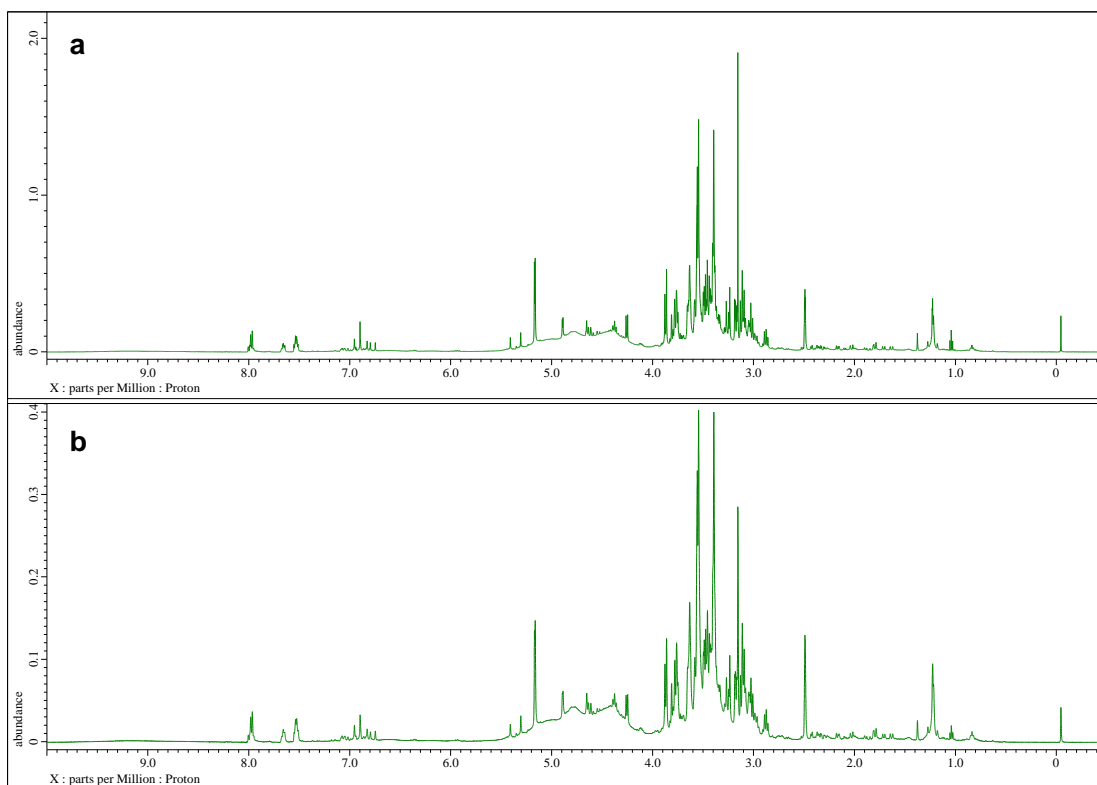


Fig. S3-31  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D16 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

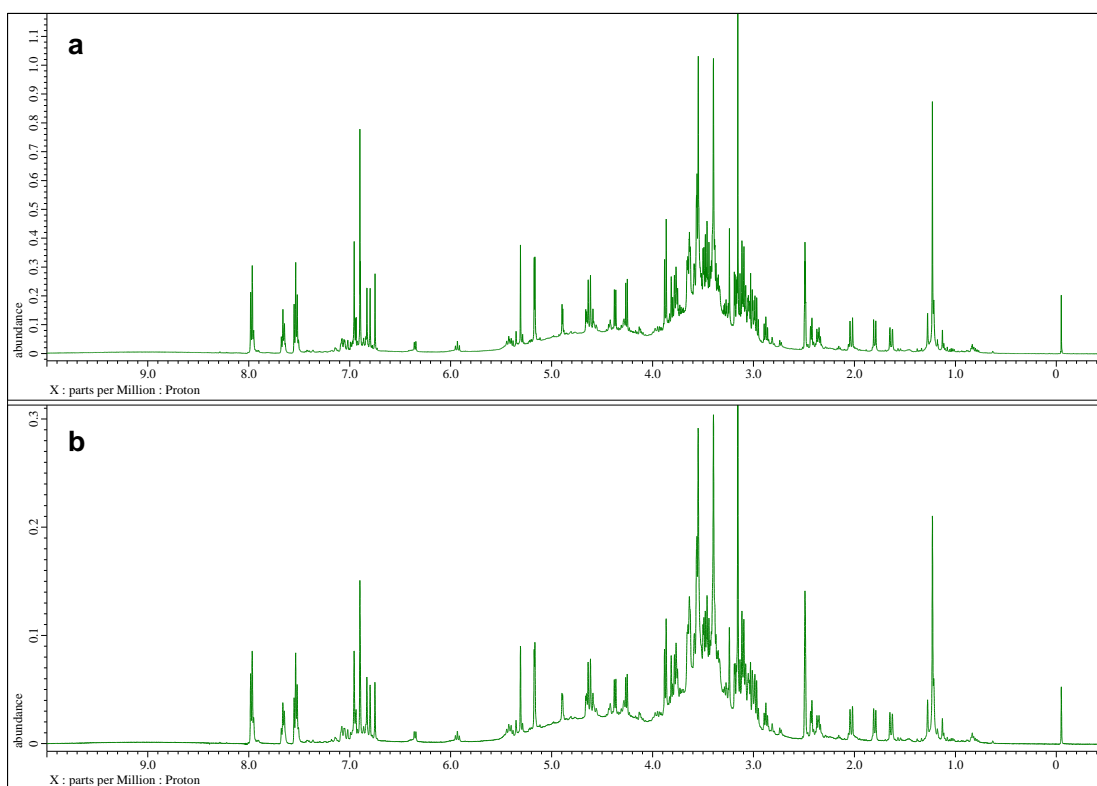


Fig. S3-32  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of D11 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

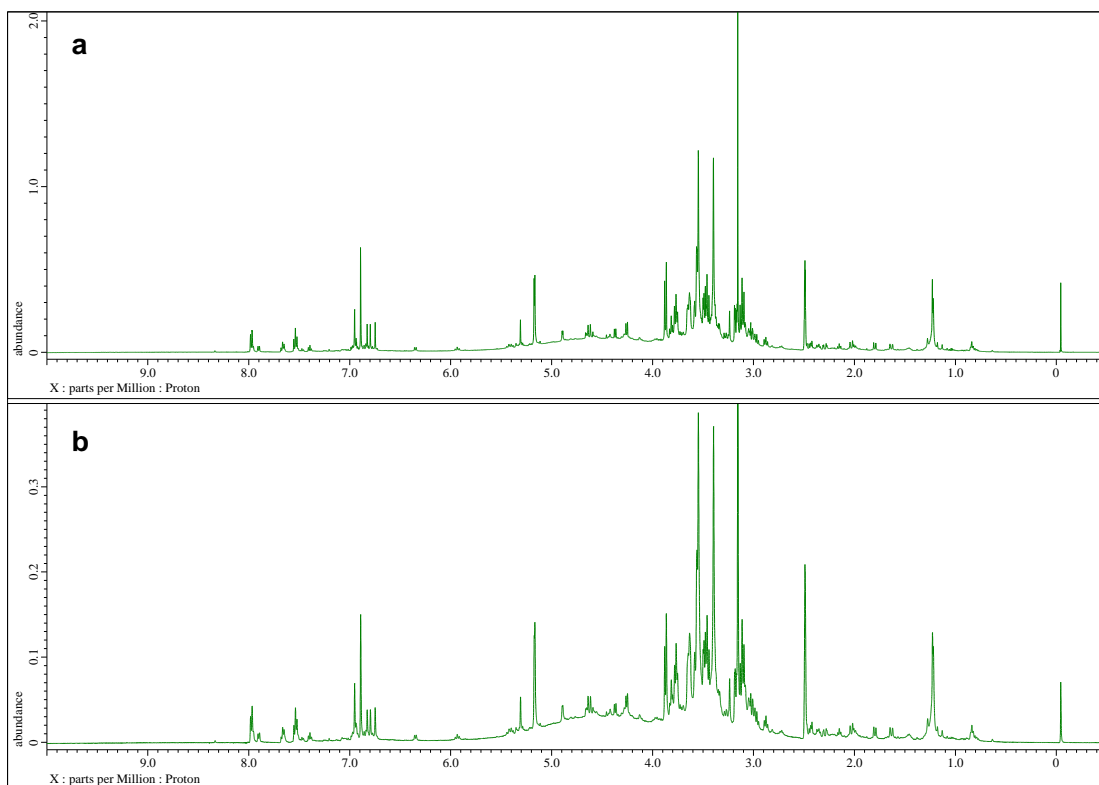


Fig. S3-33  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of DS-1 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

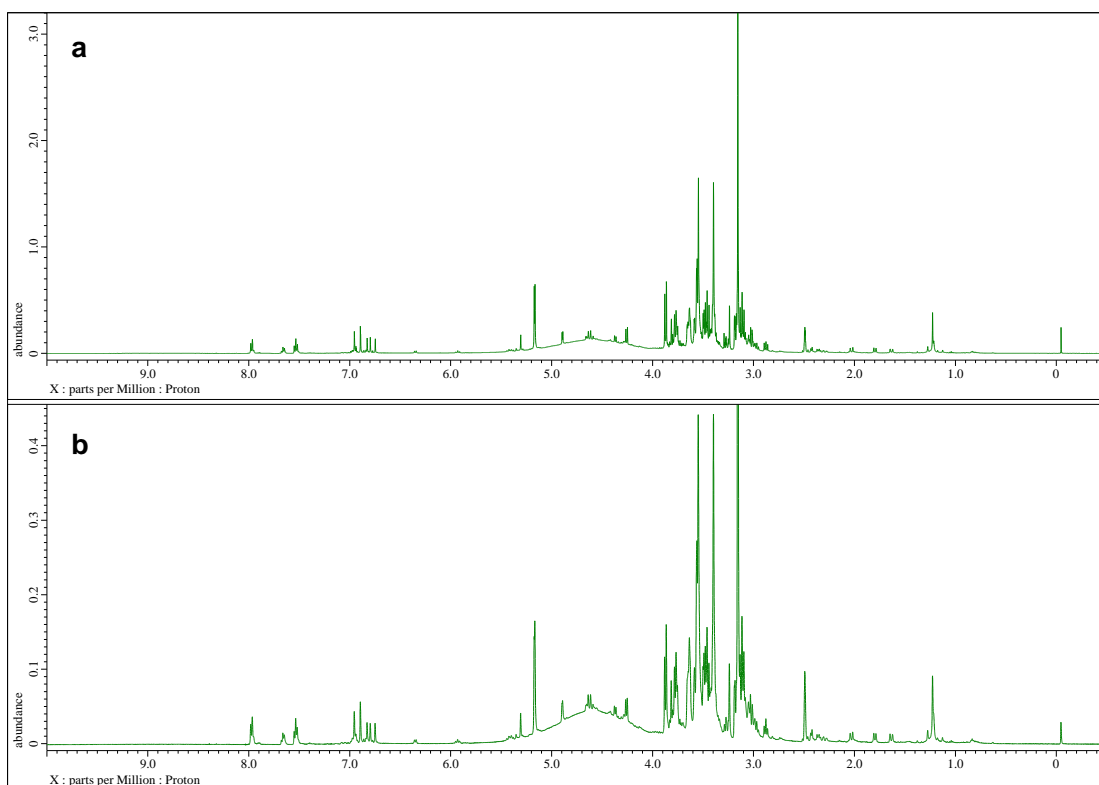


Fig. S3-34  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of DS-5 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

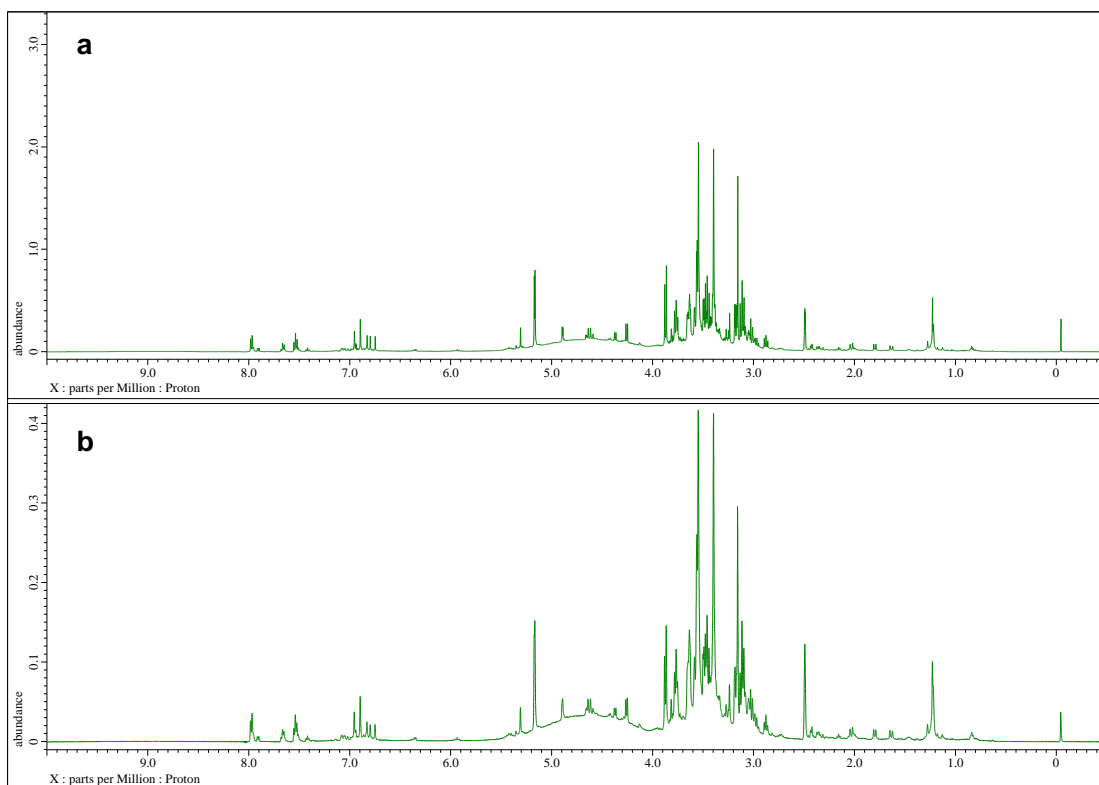


Fig. S3-35  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of DS-6 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

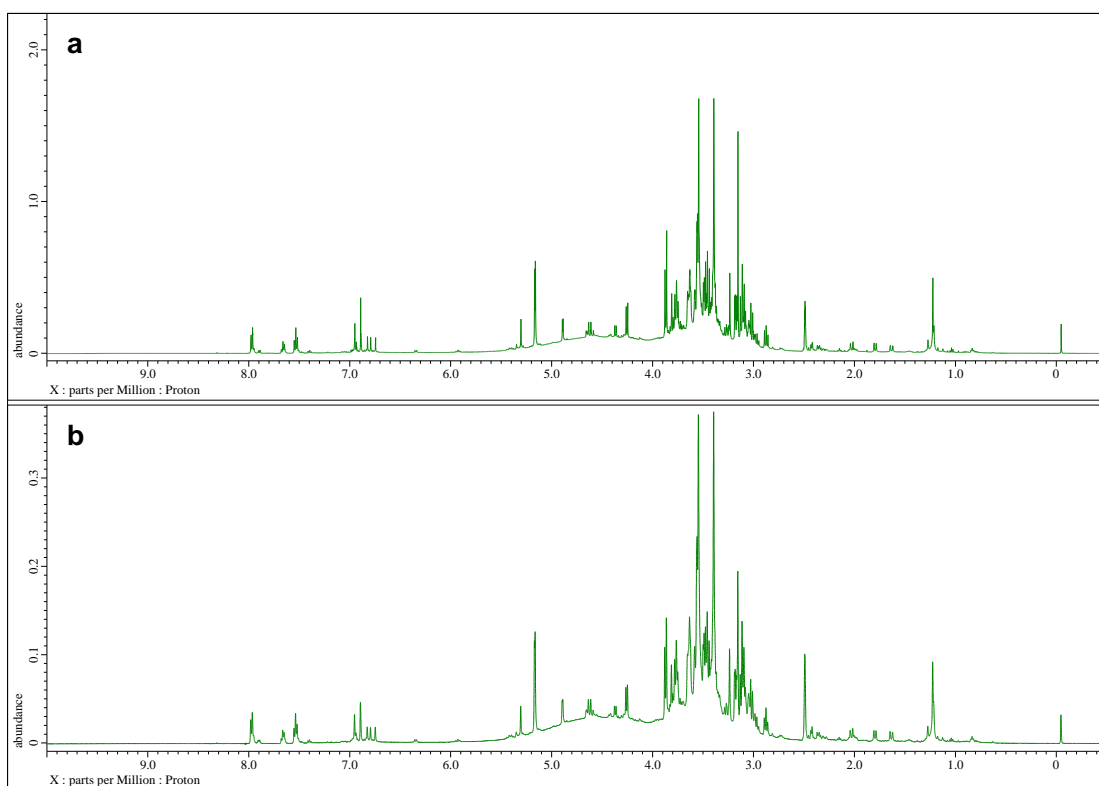


Fig. S3-36  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of DS-7 in  $\text{DMSO-}d_6$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR

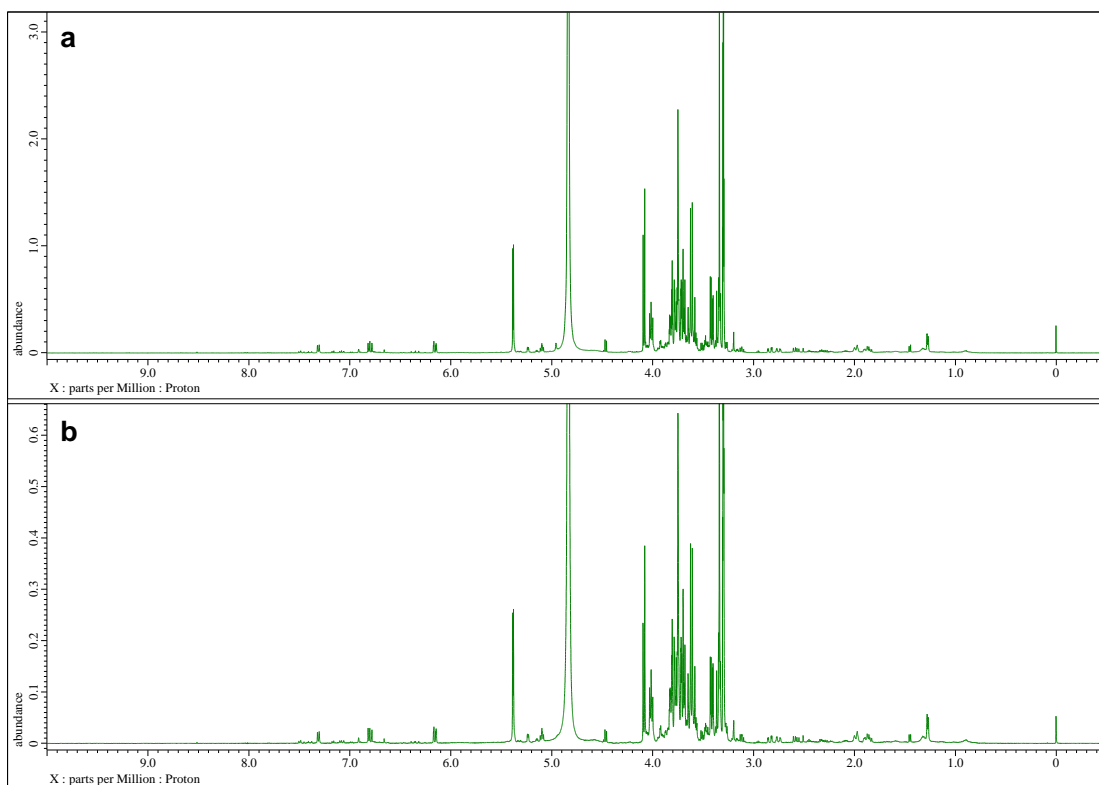


Fig. S4-1  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM01 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

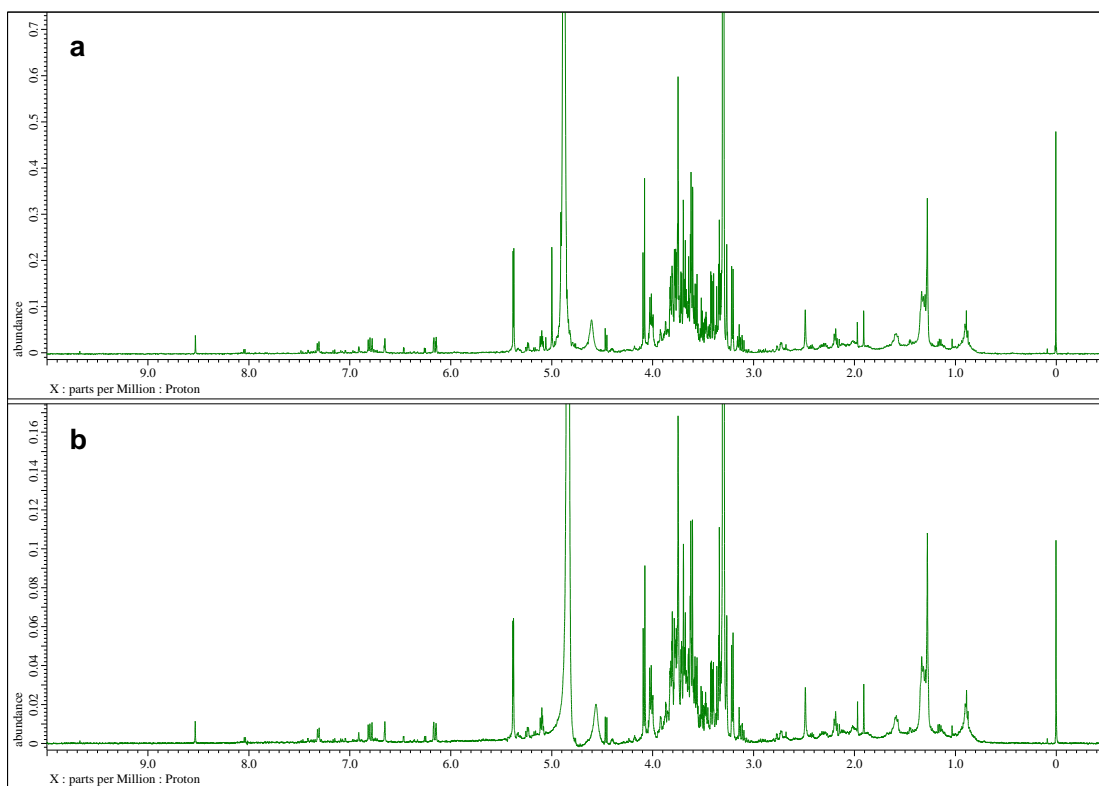


Fig. S4-2  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM02 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

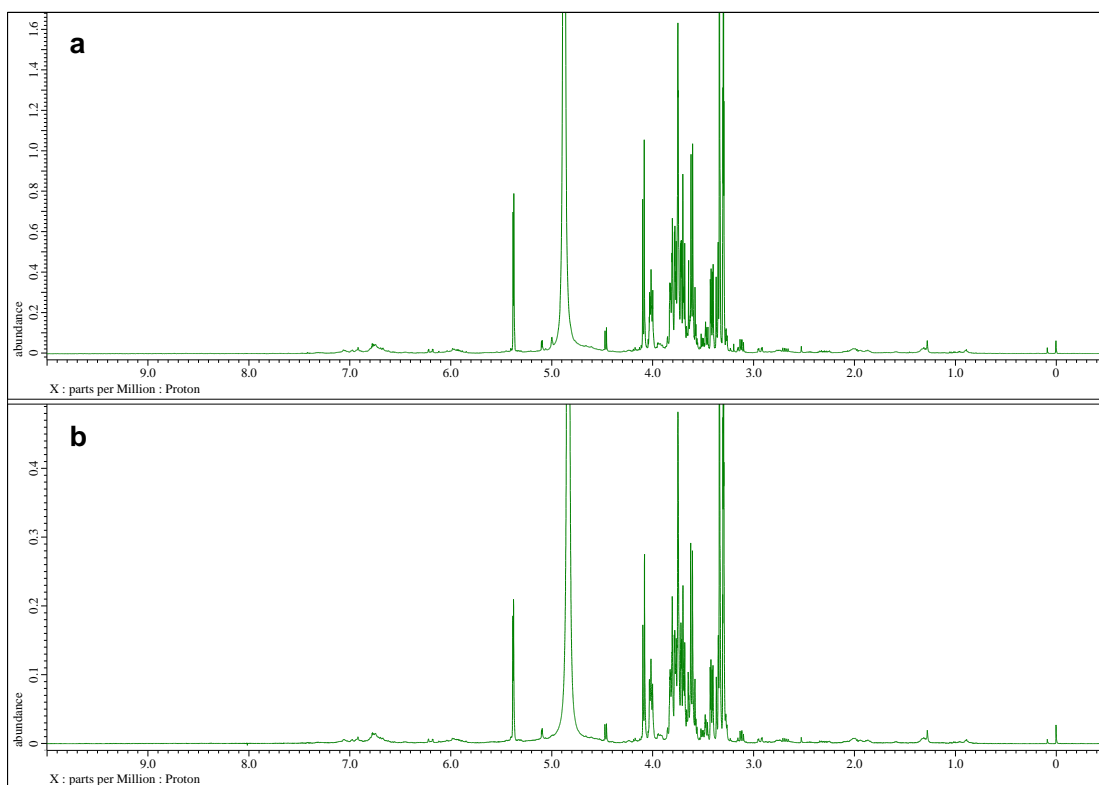


Fig. S4-3  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM03 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

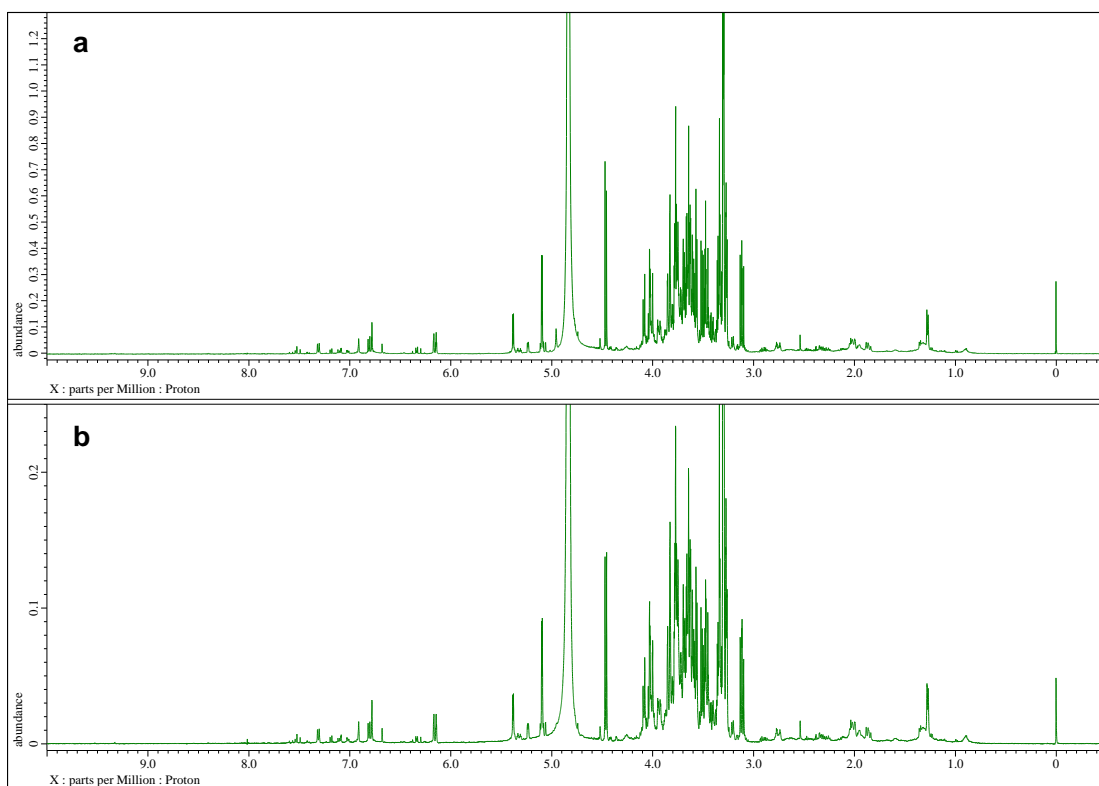


Fig. S4-4  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM04 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

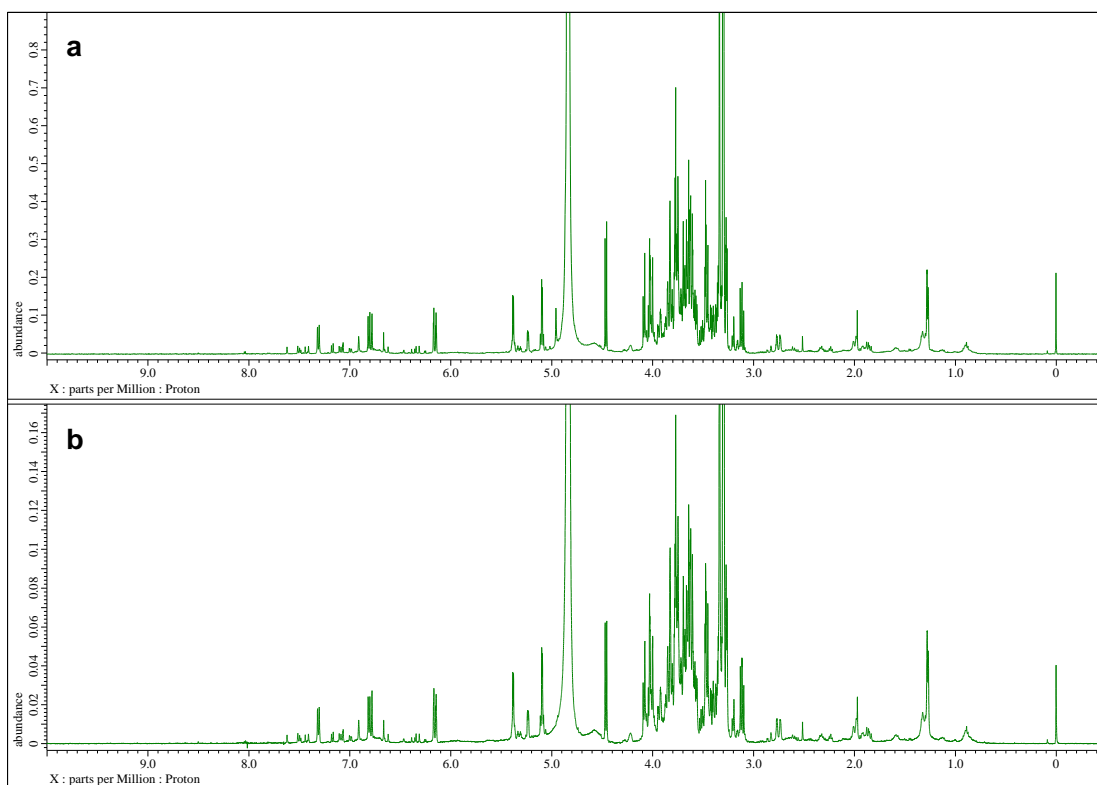


Fig. S4-5  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM05 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

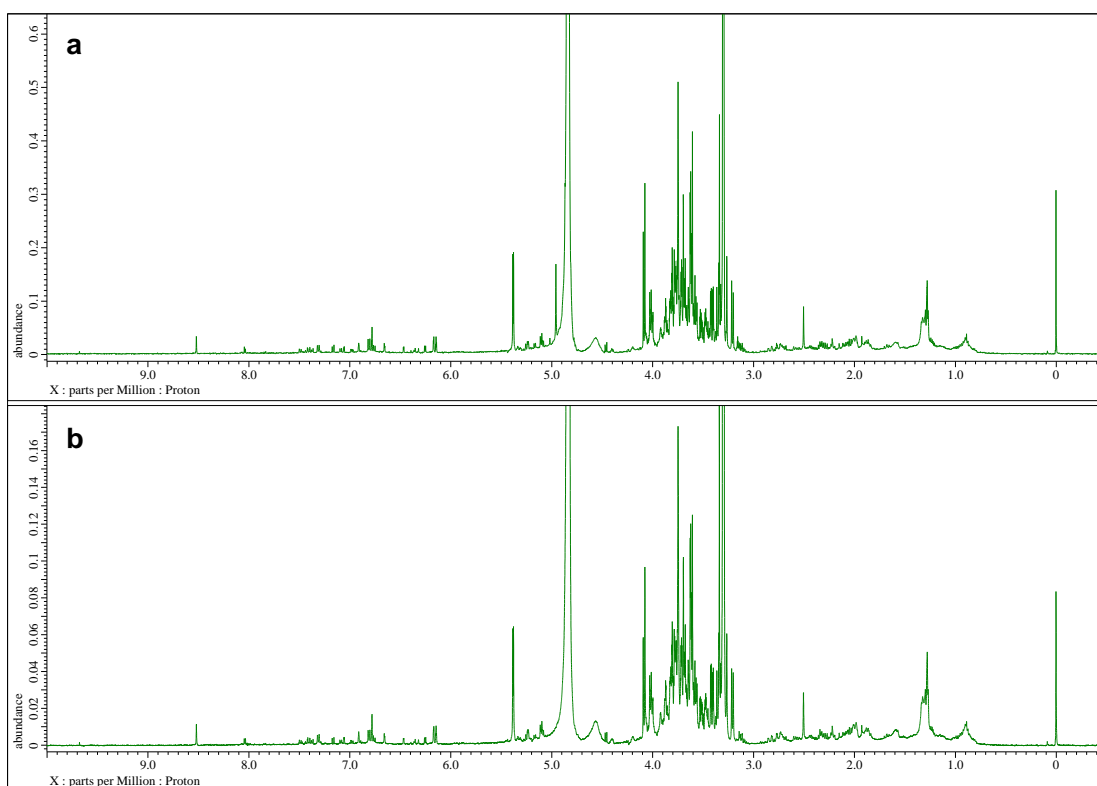


Fig. S4-6  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM06 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

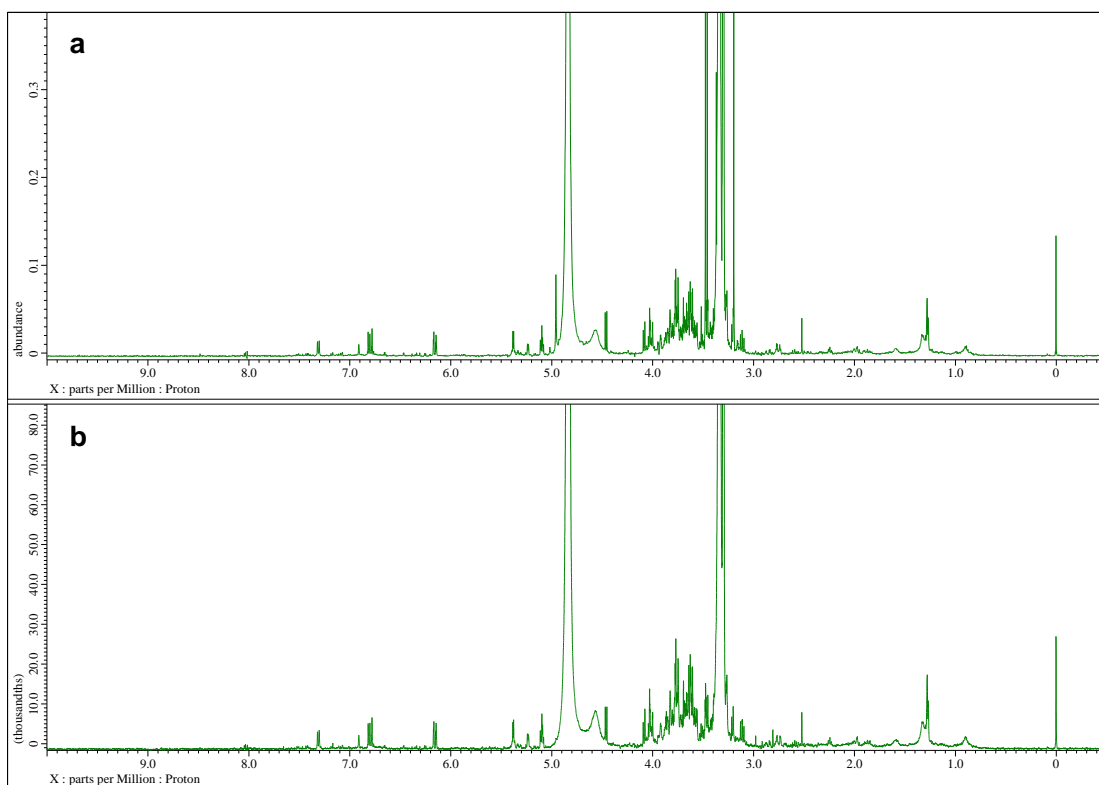


Fig. S4-7  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM7 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

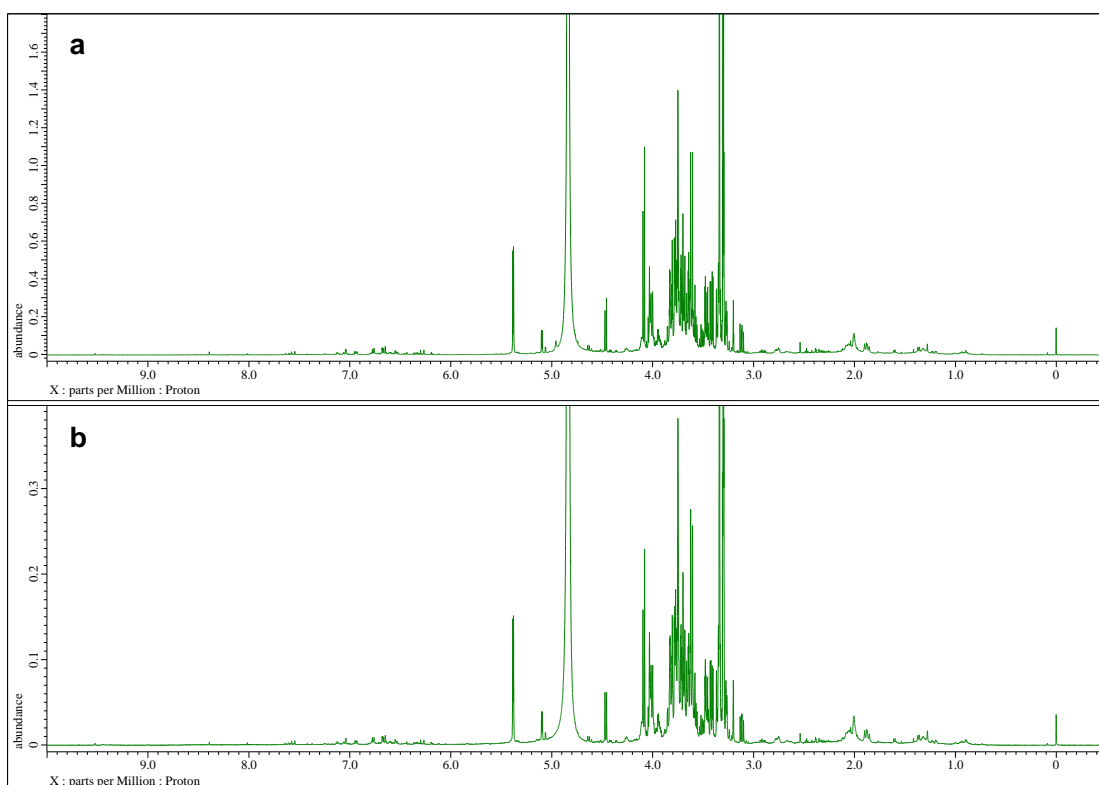


Fig. S4-8  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM9 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

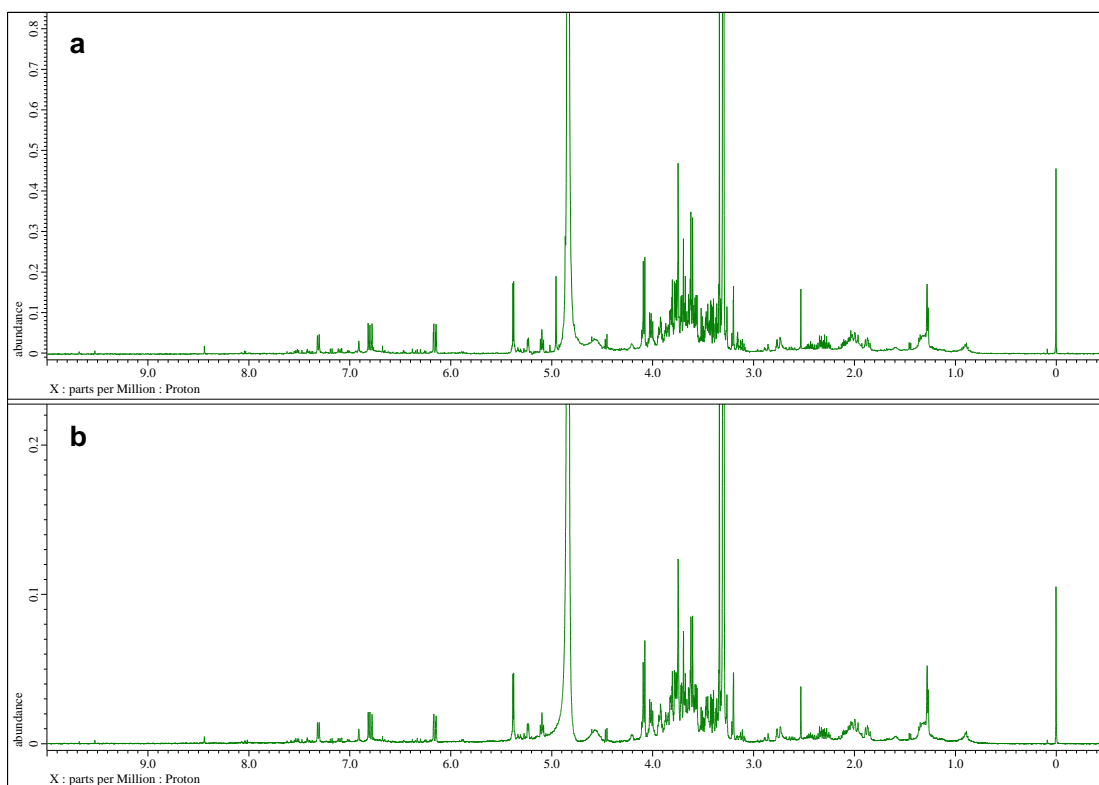


Fig. S4-9  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM10 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

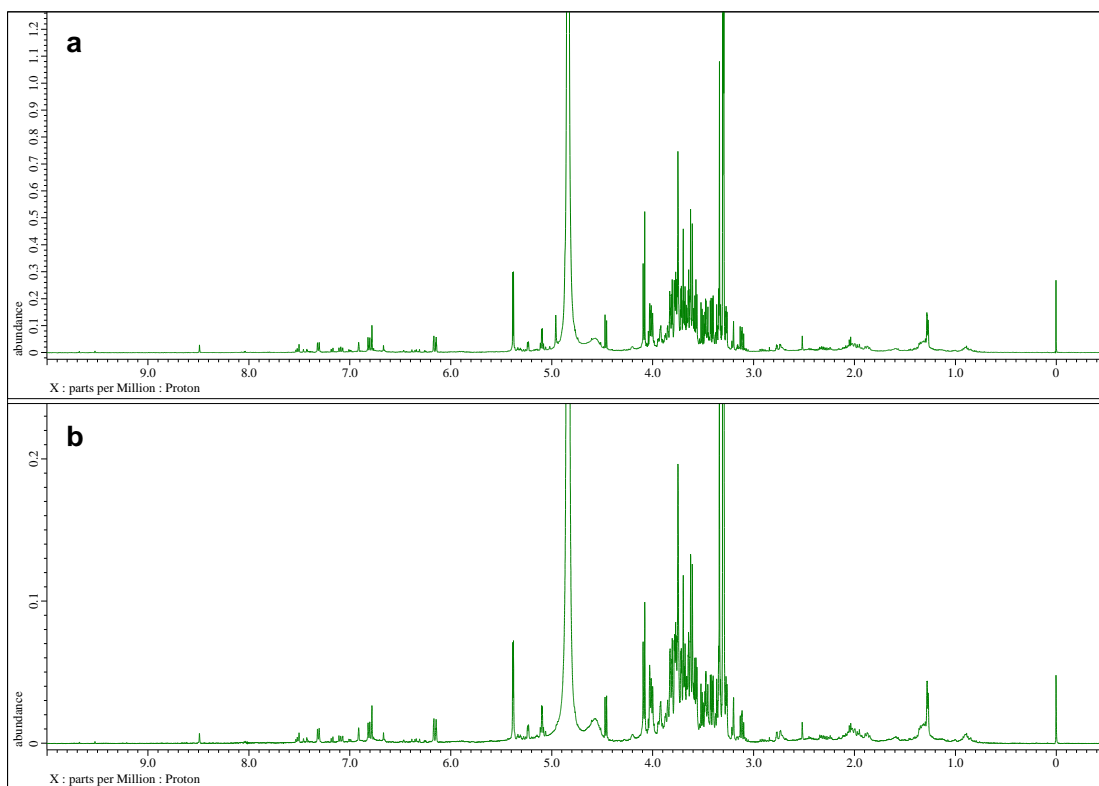


Fig. S4-10  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM11 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.



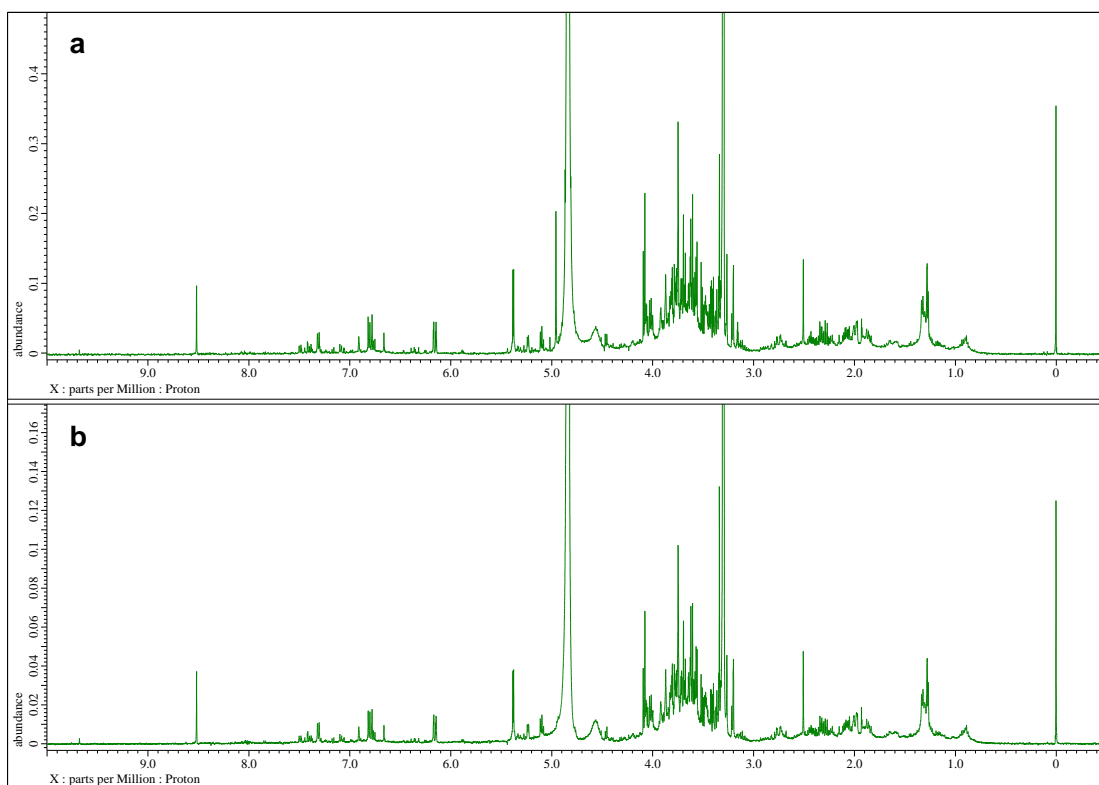


Fig. S4-11  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM12 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

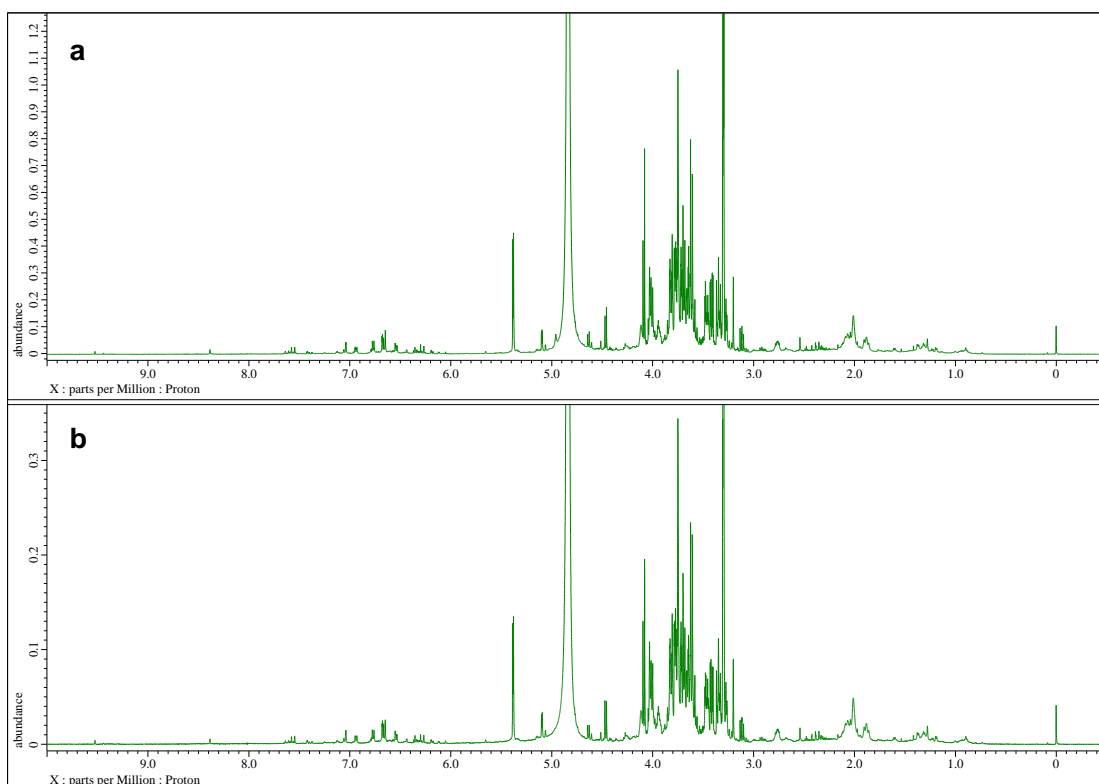


Fig. S4-12  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM13 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

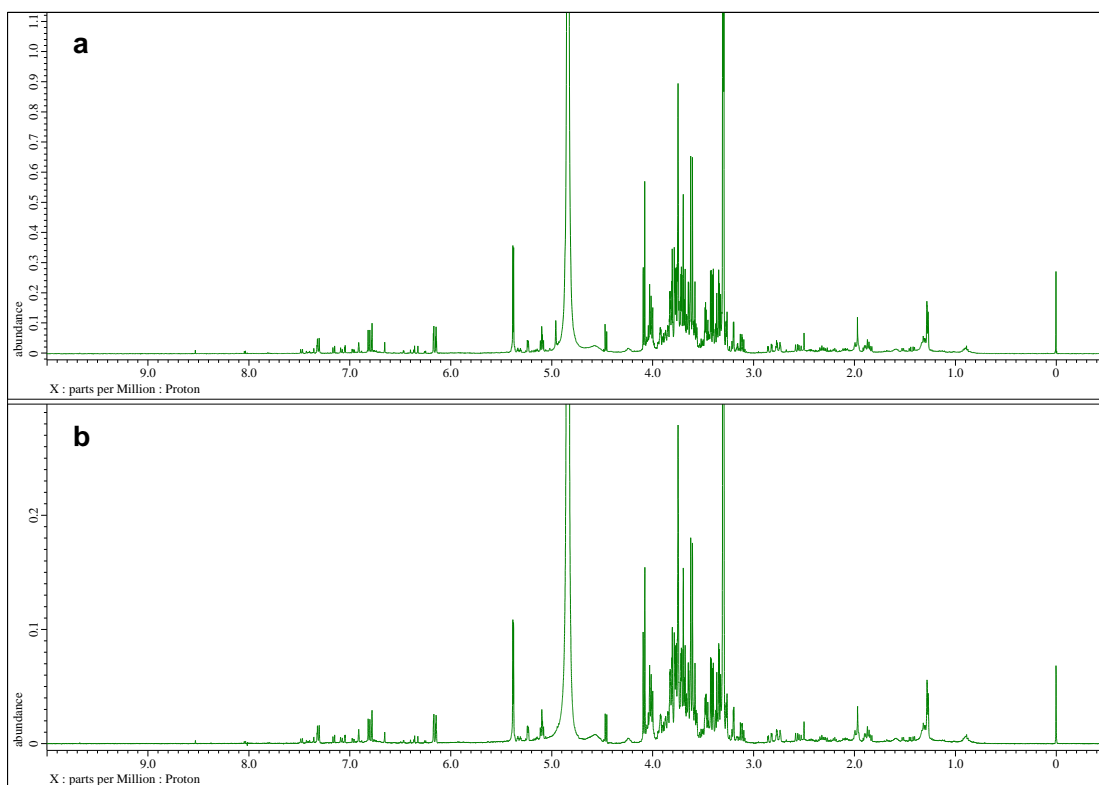


Fig. S4-13  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM14 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

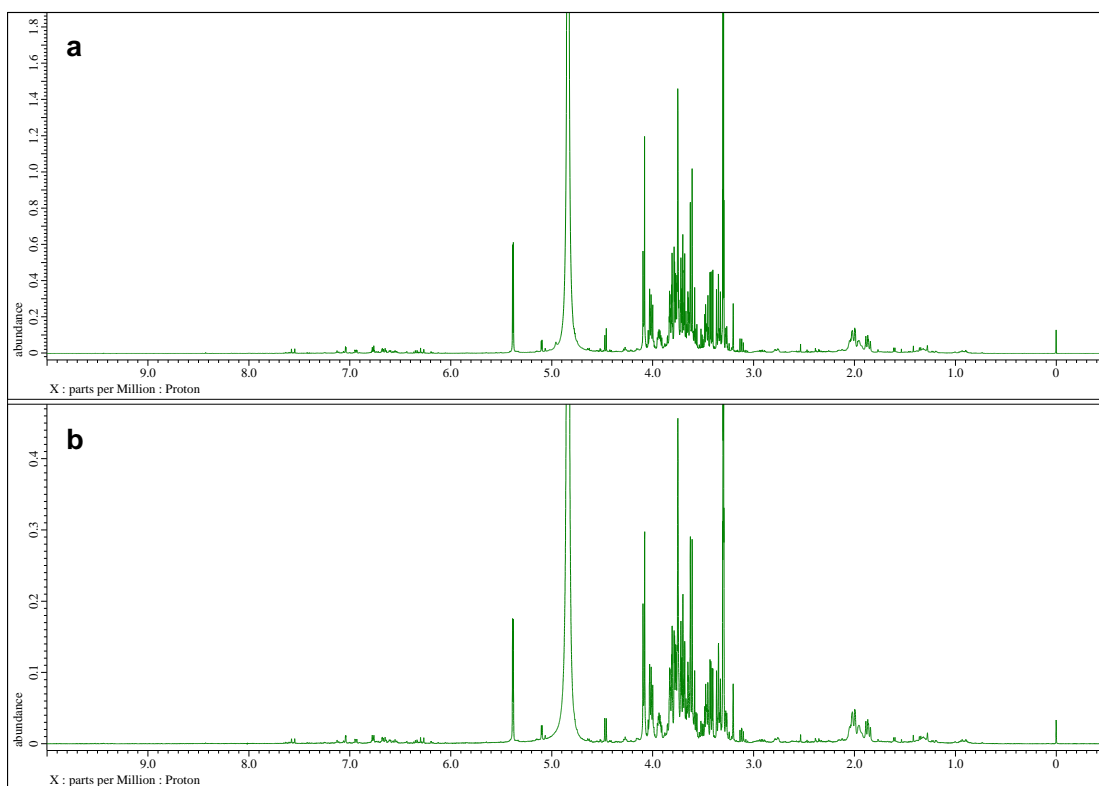


Fig. S4-14  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM15 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

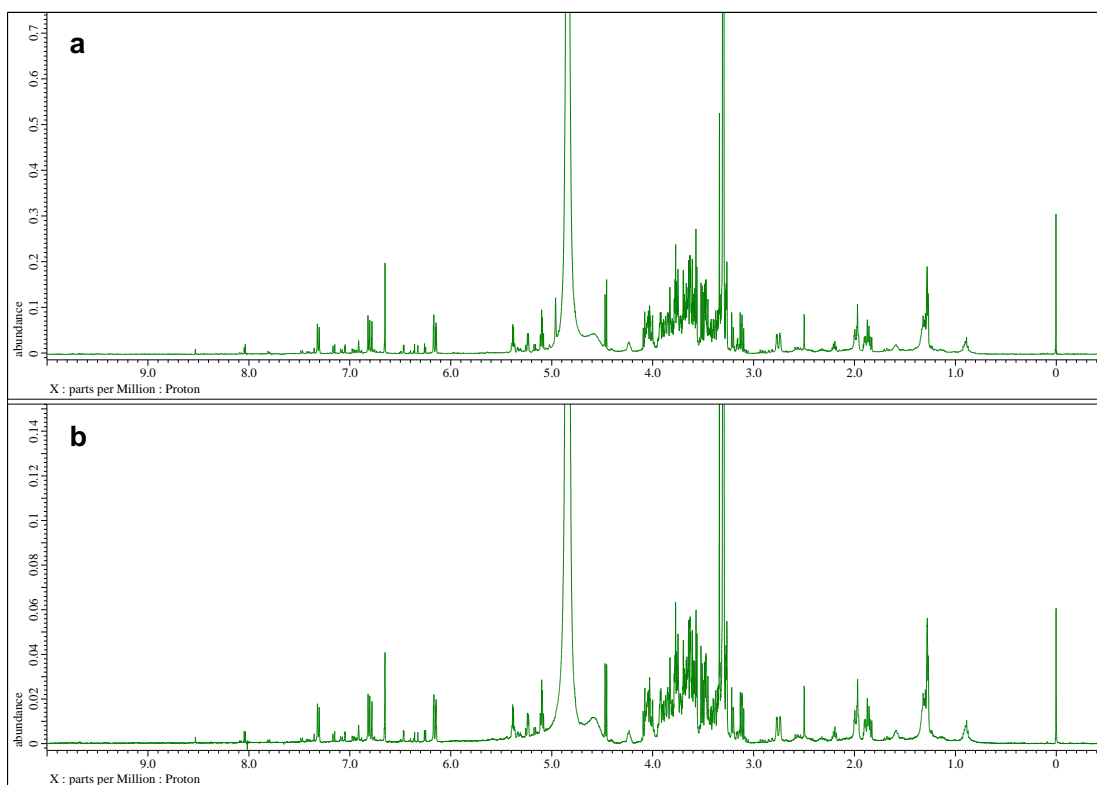


Fig. S4-15  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM16 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

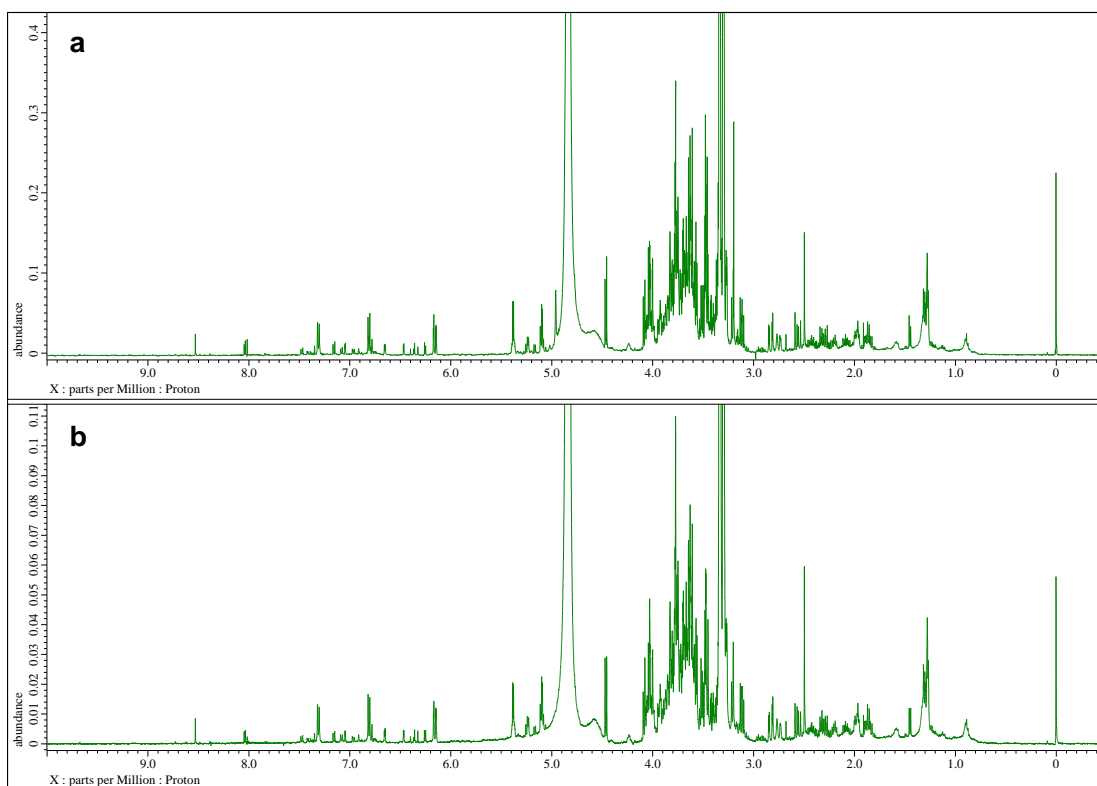


Fig. S4-16  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM17 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

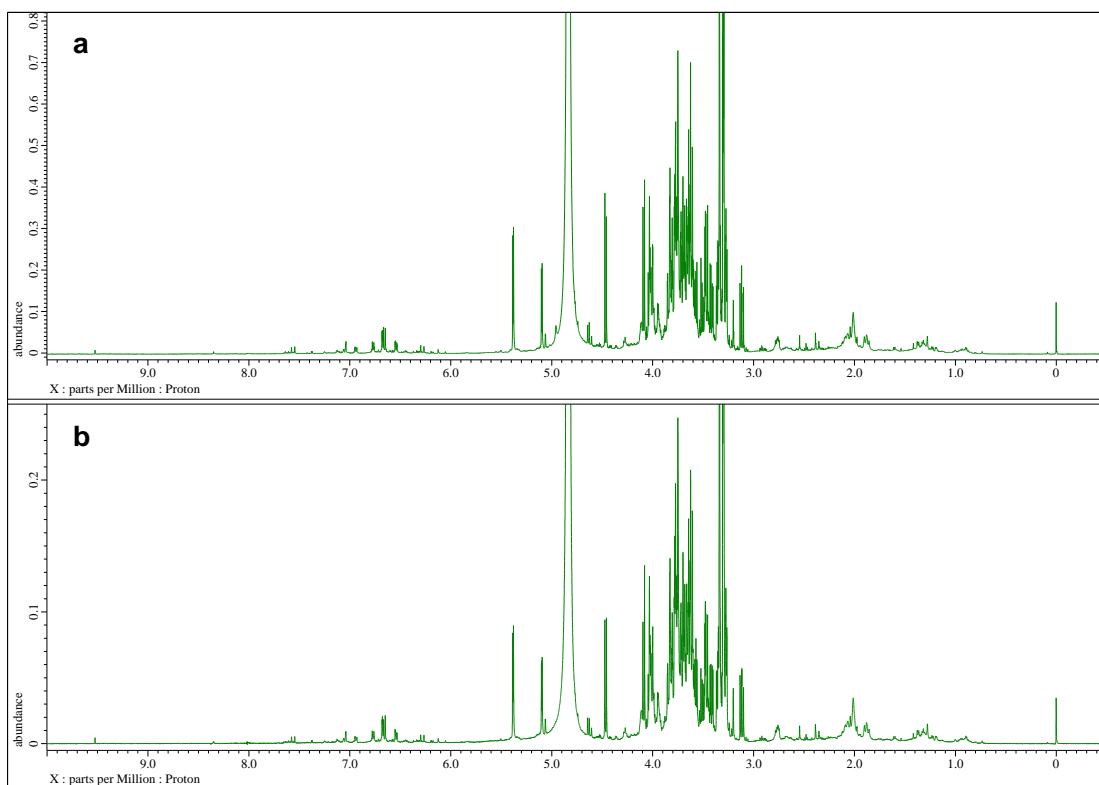


Fig. S4-17  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM18 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

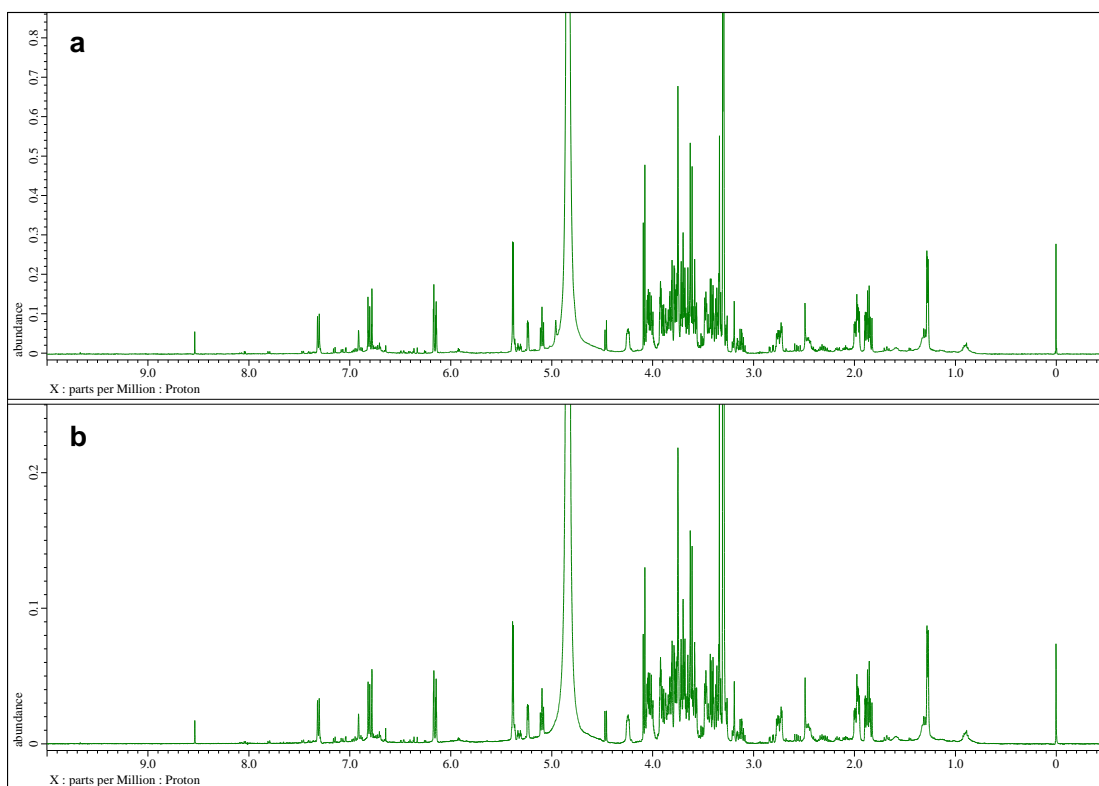


Fig. S4-18  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM19 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

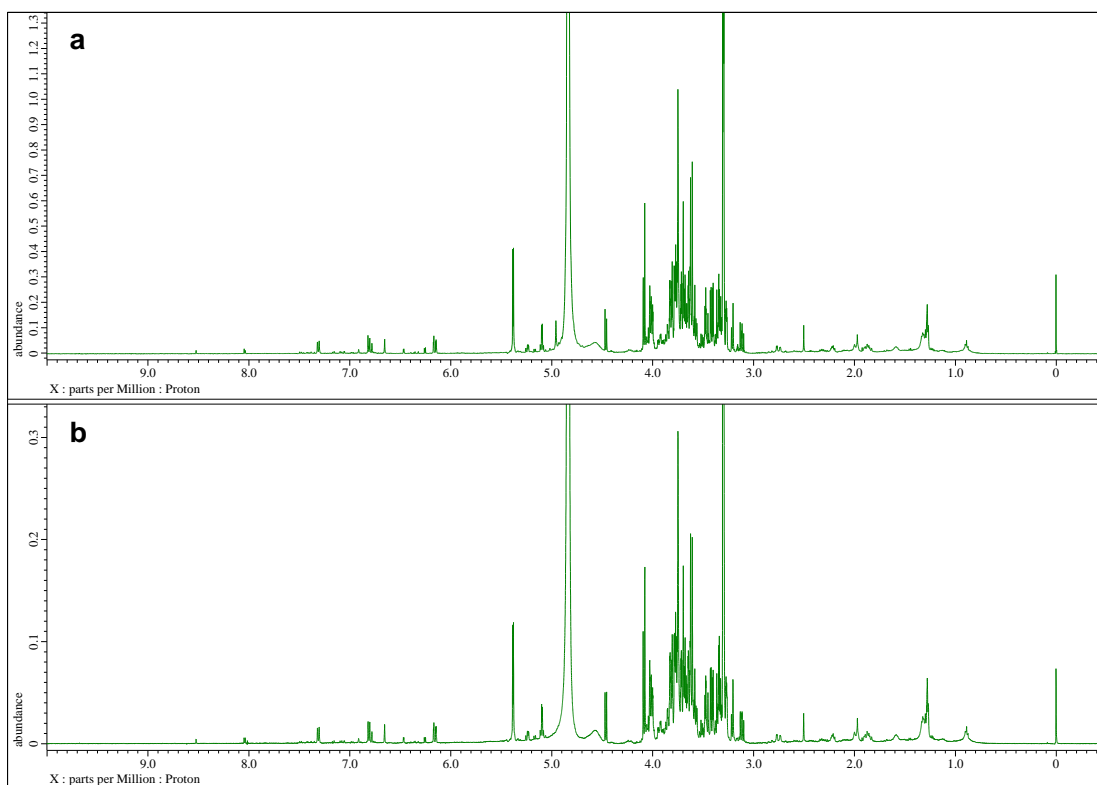


Fig. S4-19  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM21 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

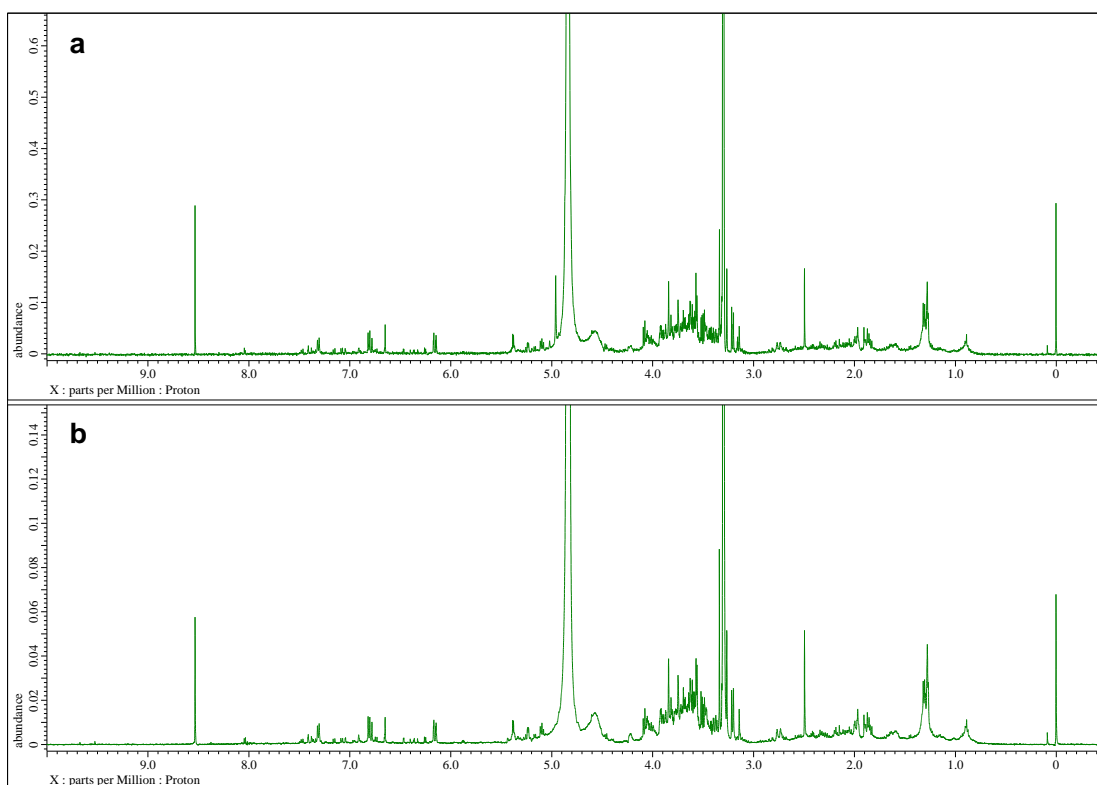


Fig. S4-20  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM22 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

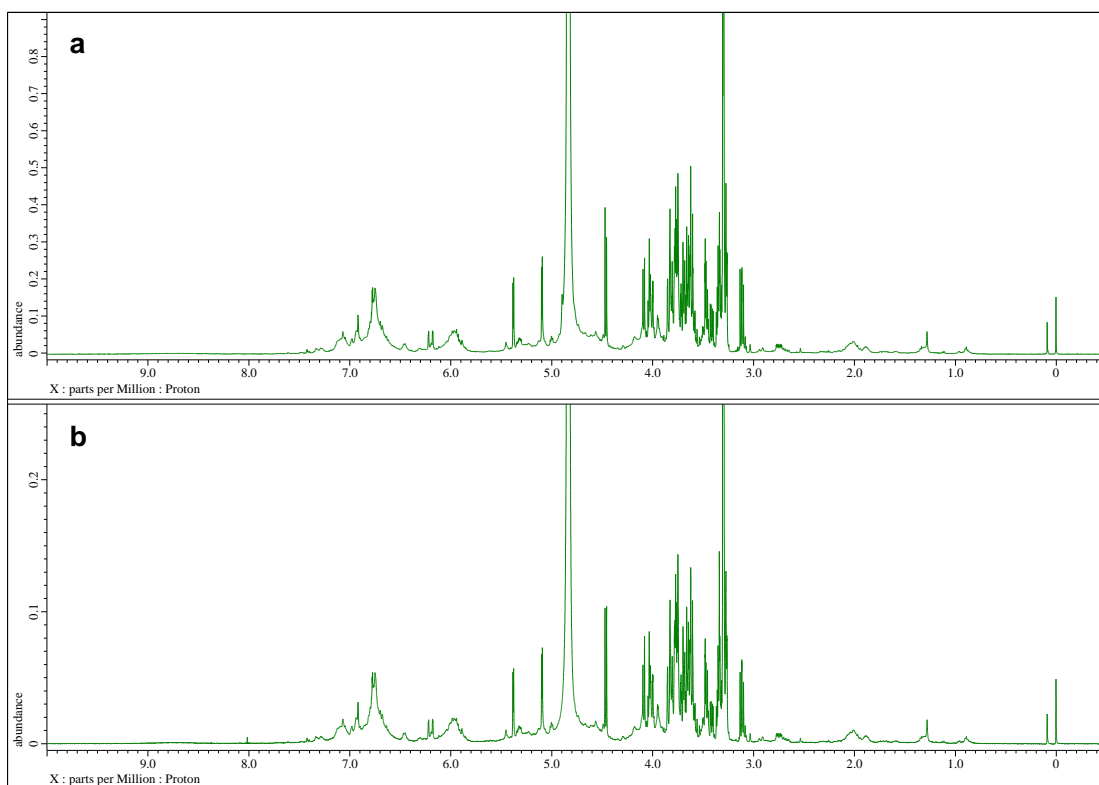


Fig. S4-21  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM23 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

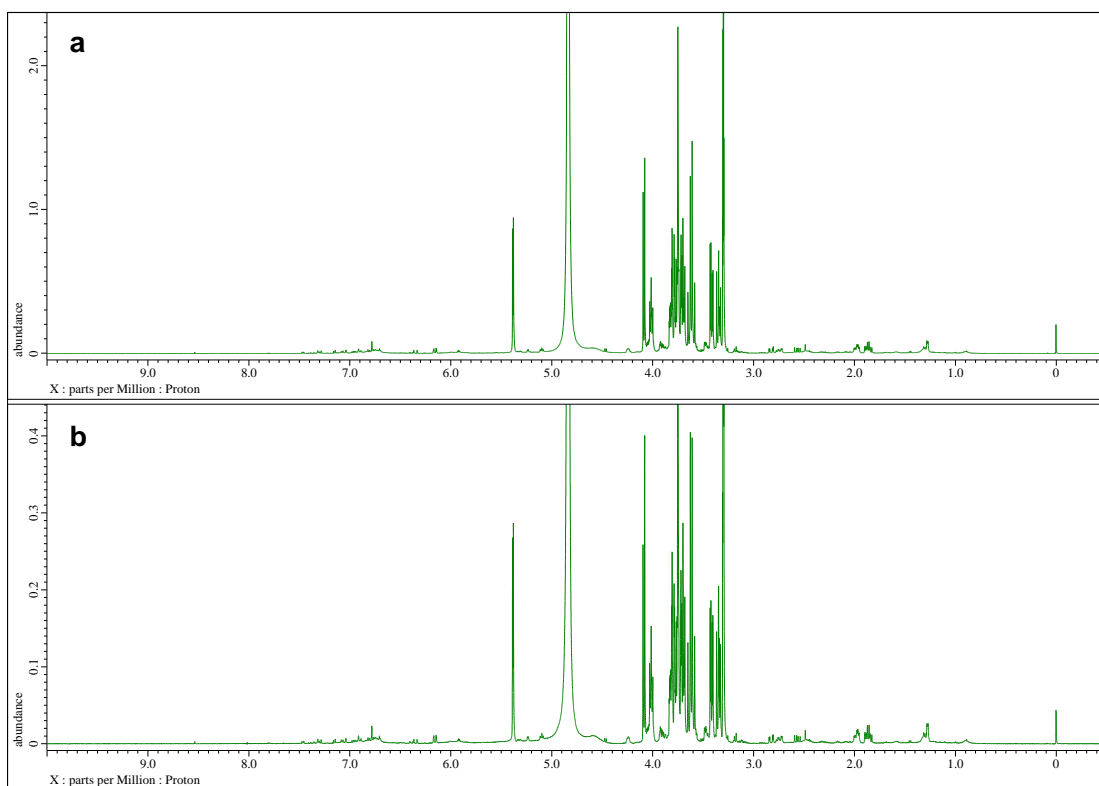


Fig. S4-22  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnM24 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

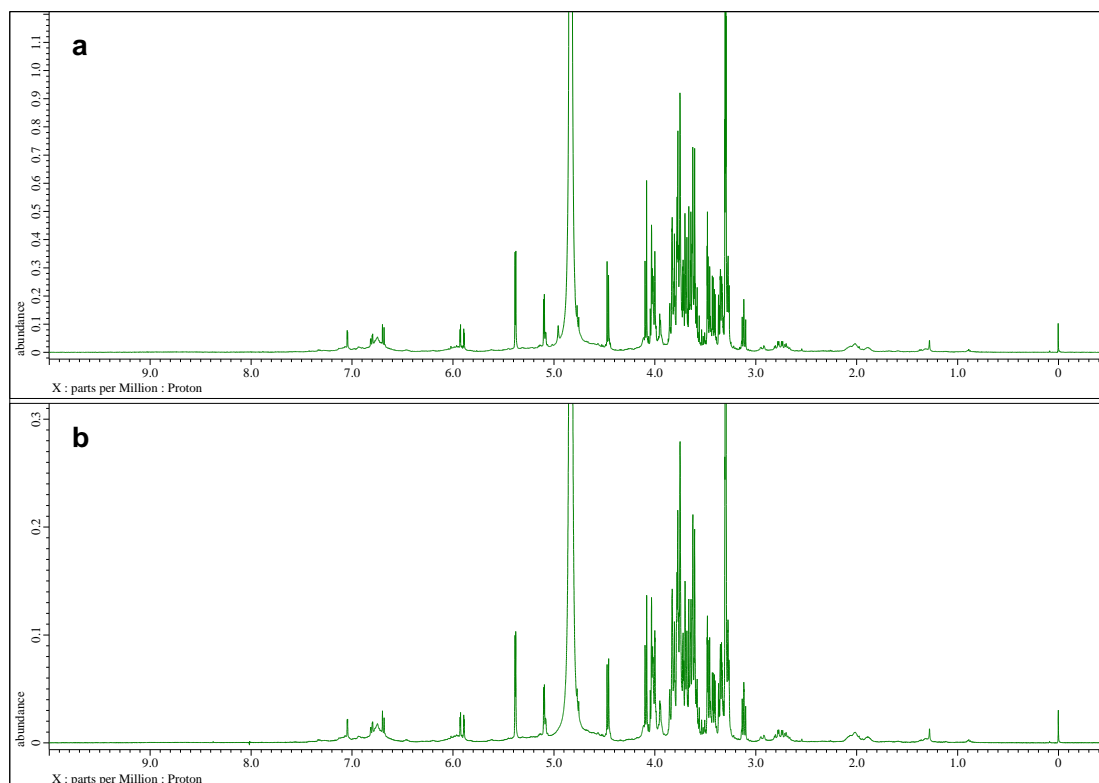


Fig. S4-23  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of TwM01 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

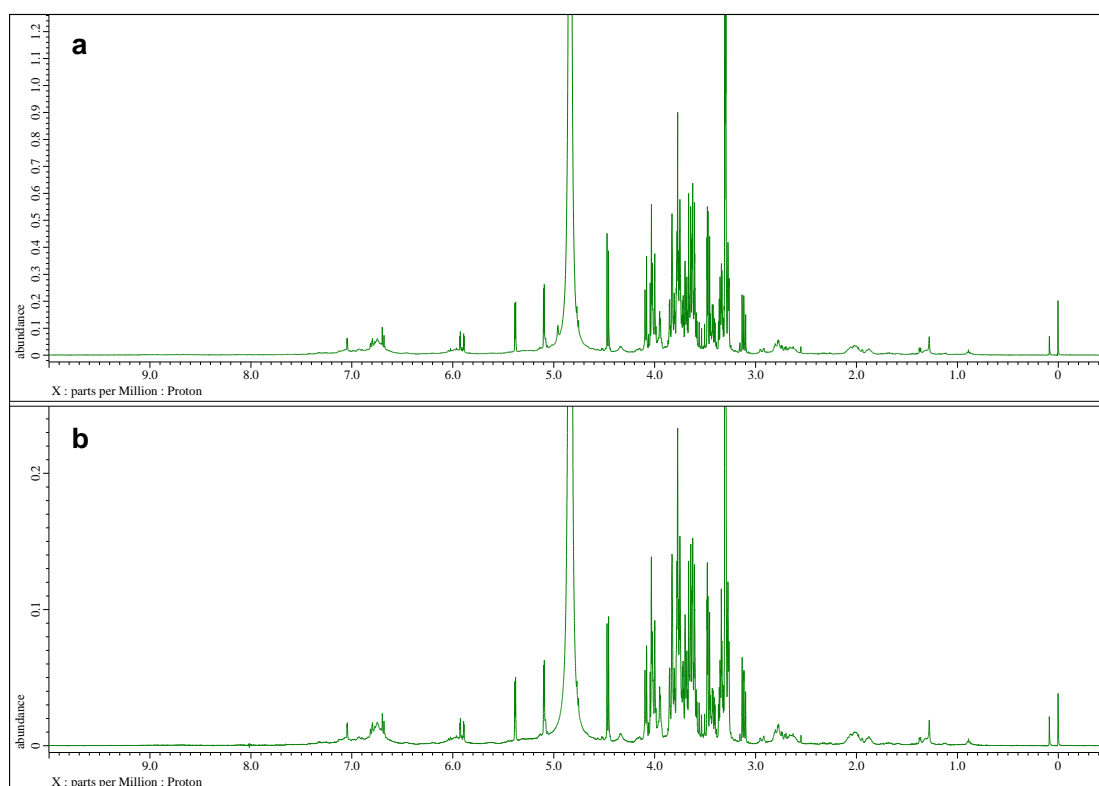


Fig. S4-24  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of TwM02 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

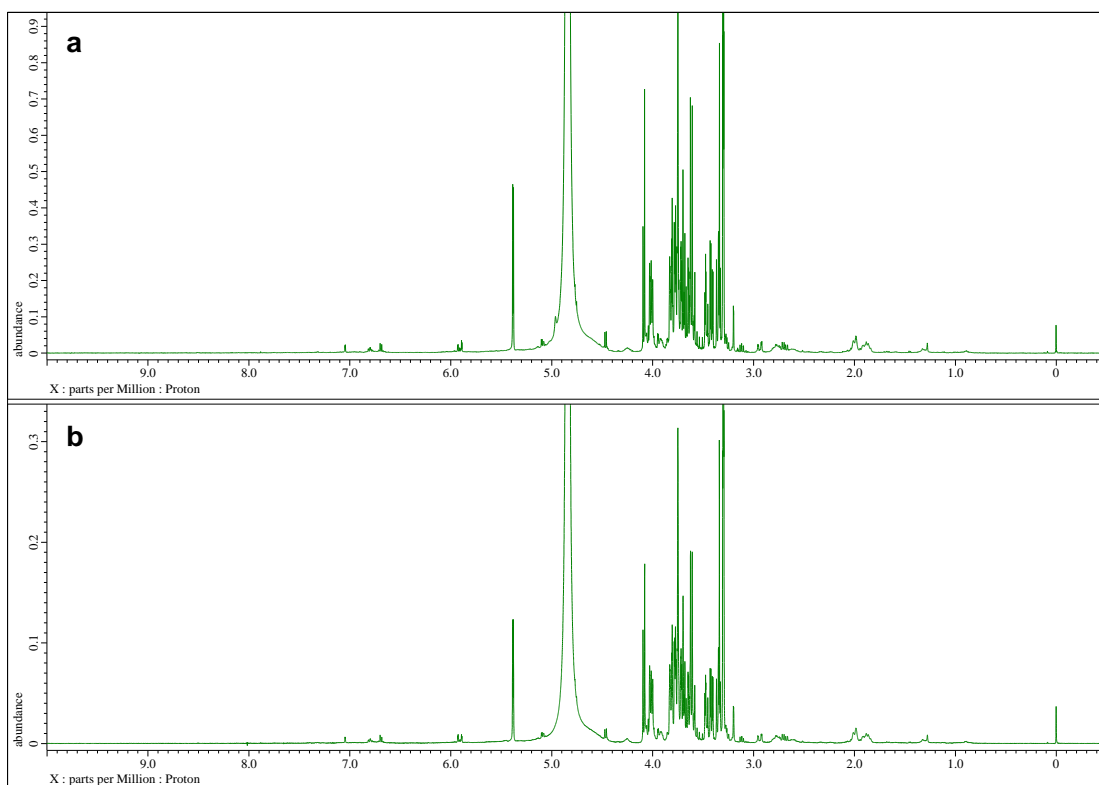


Fig. S4-25  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of TwM03 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.3

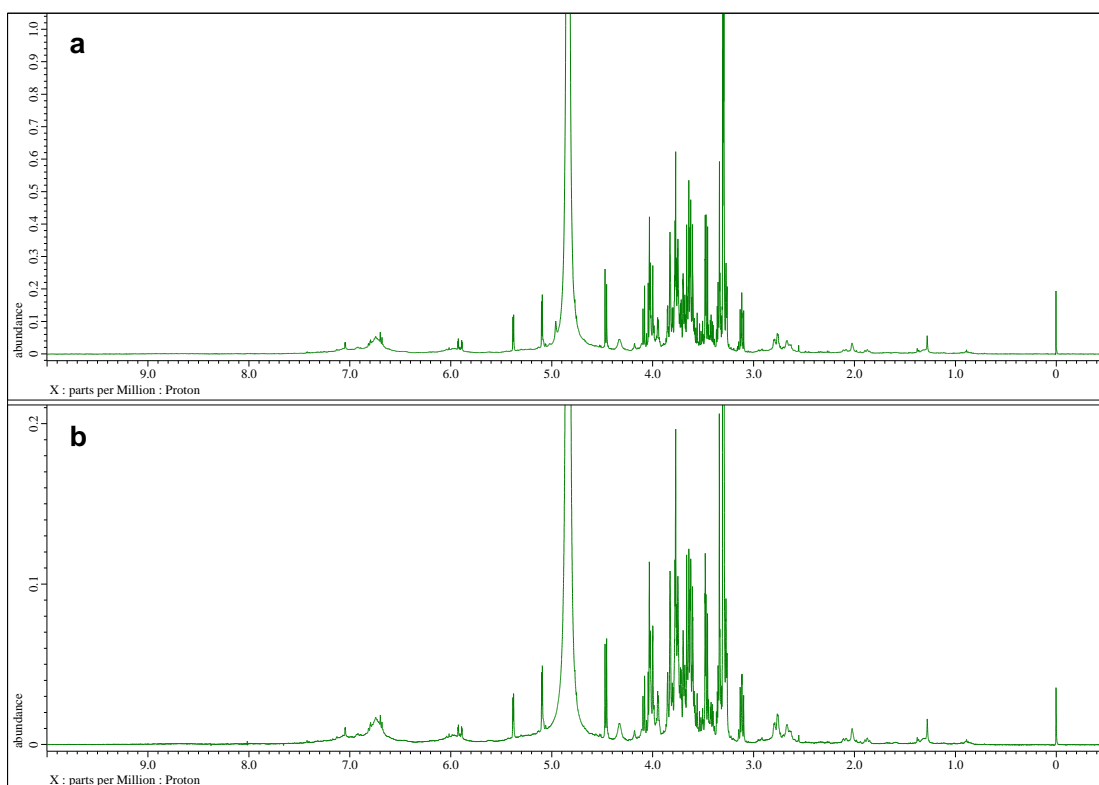


Fig. S4-26  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM01 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.



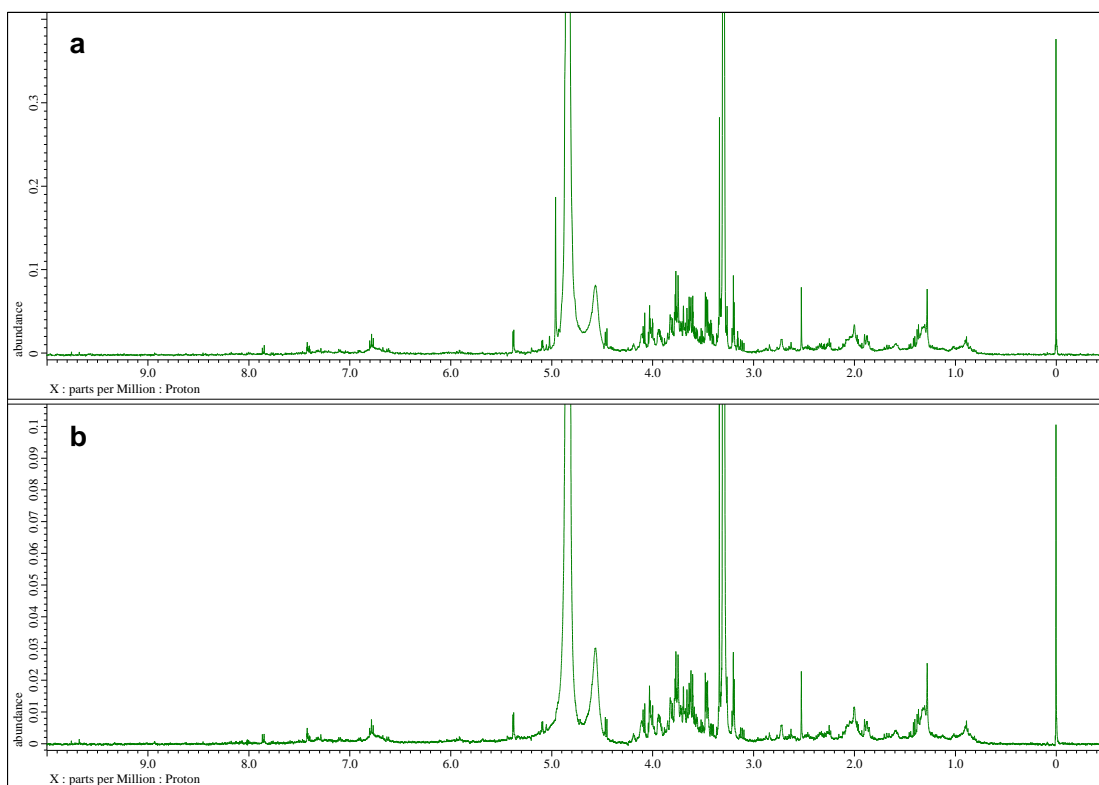


Fig. S4-27  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM02 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

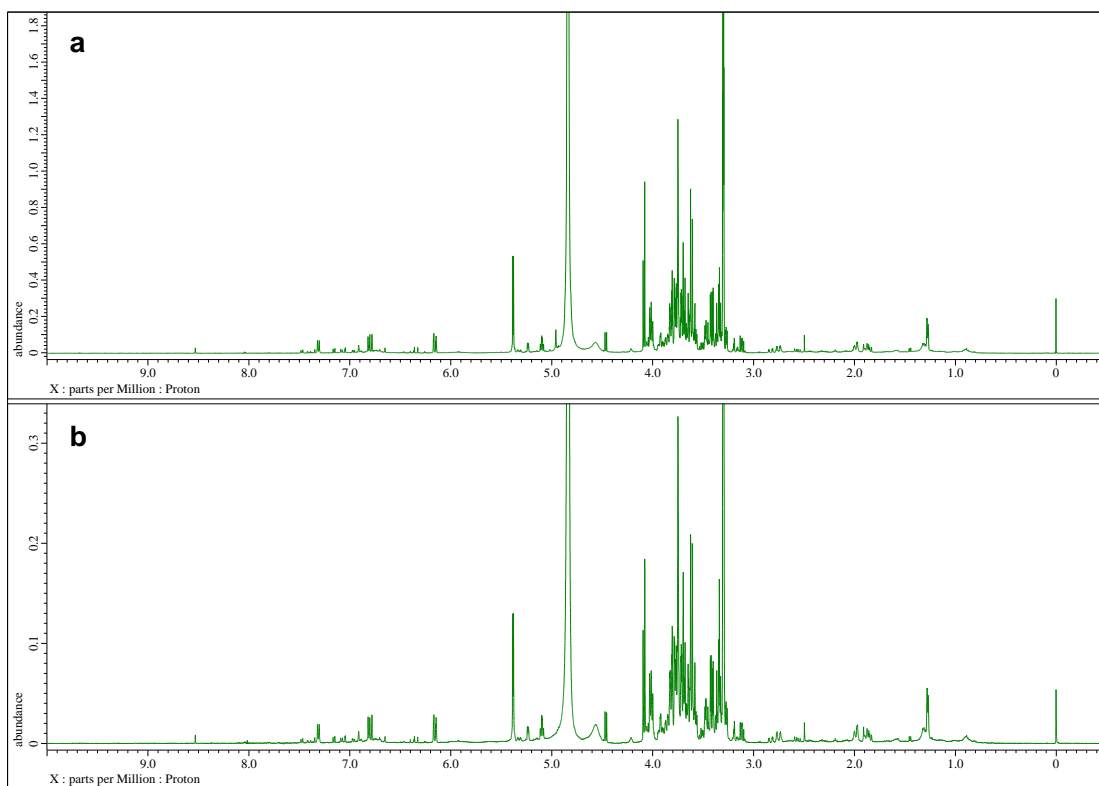


Fig. S4-28  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM03 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

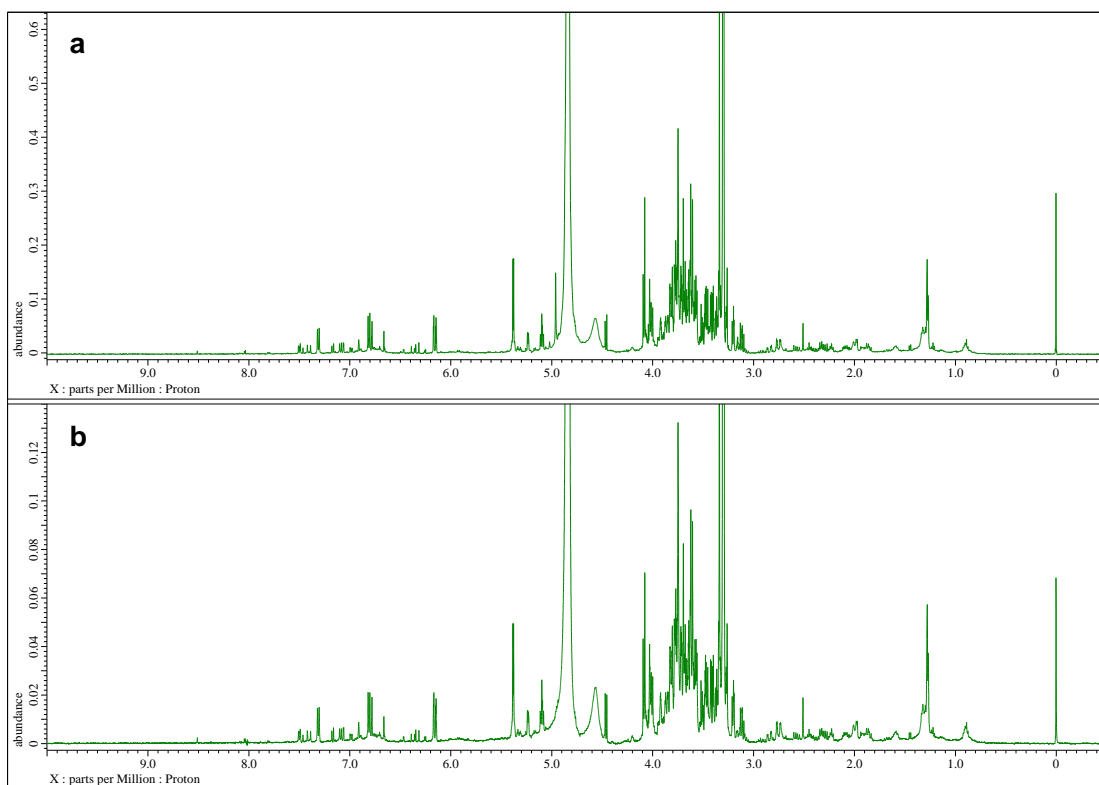


Fig. S4-29  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM04 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

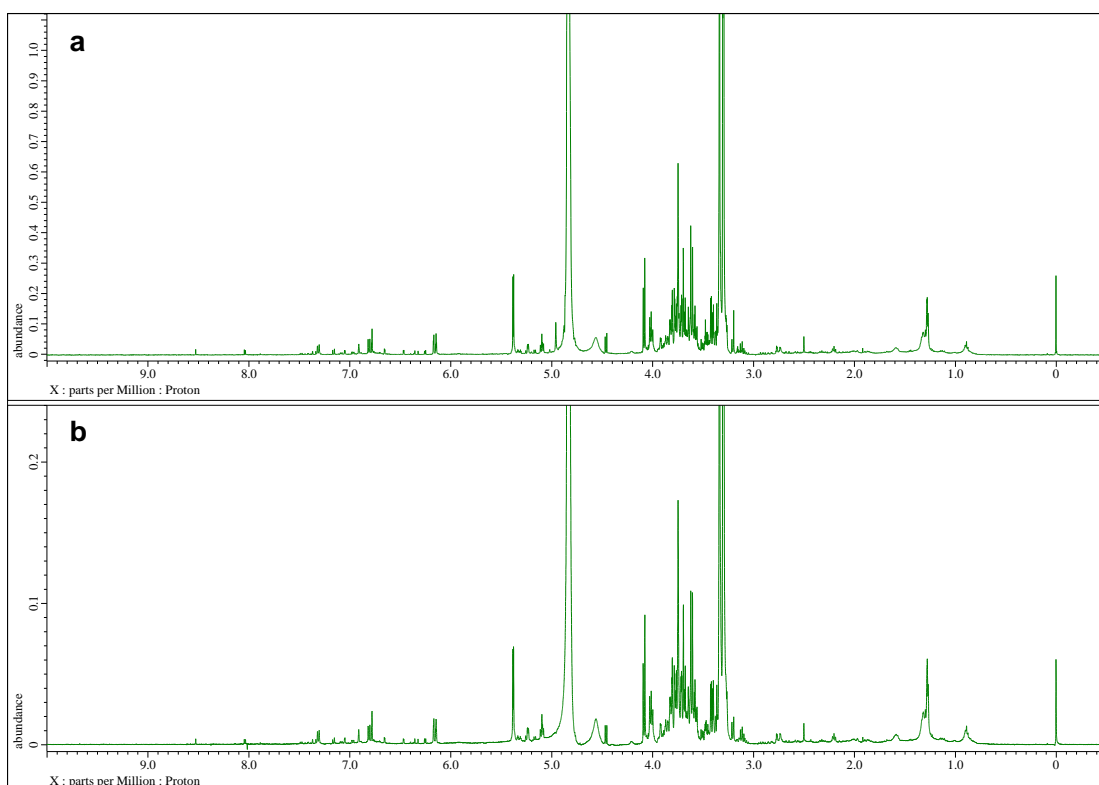


Fig. S4-30  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM05 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

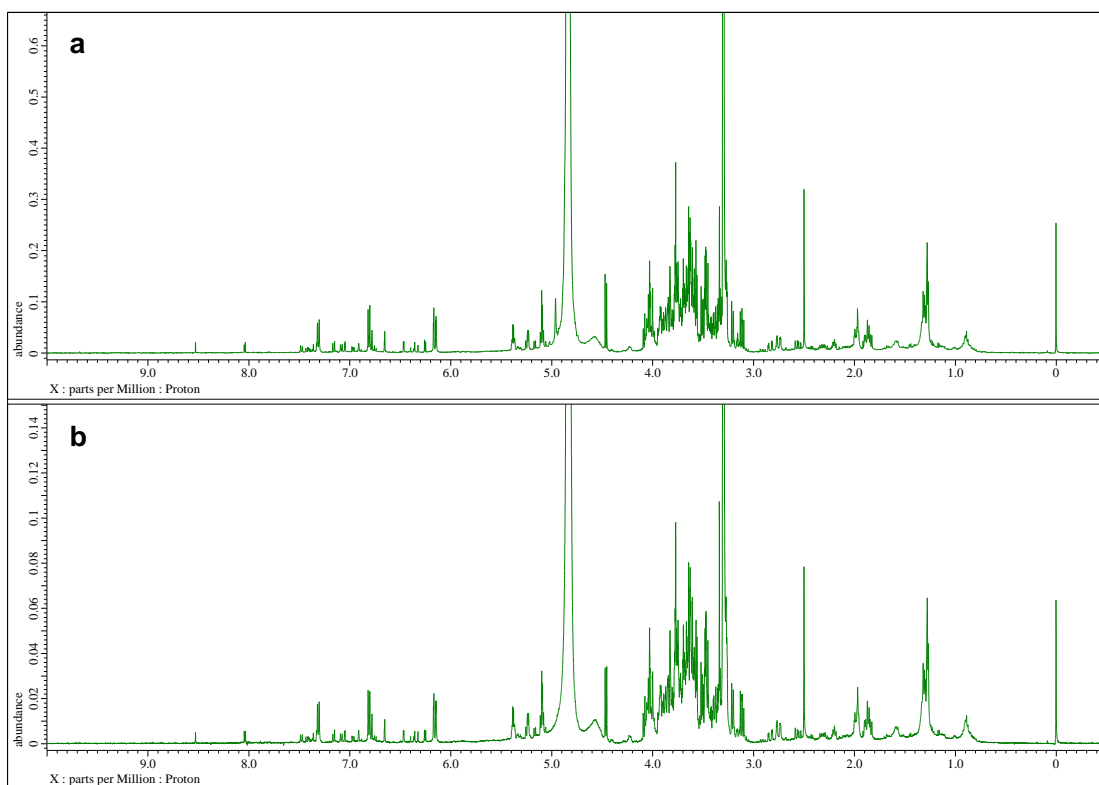


Fig. S4-31  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM06 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

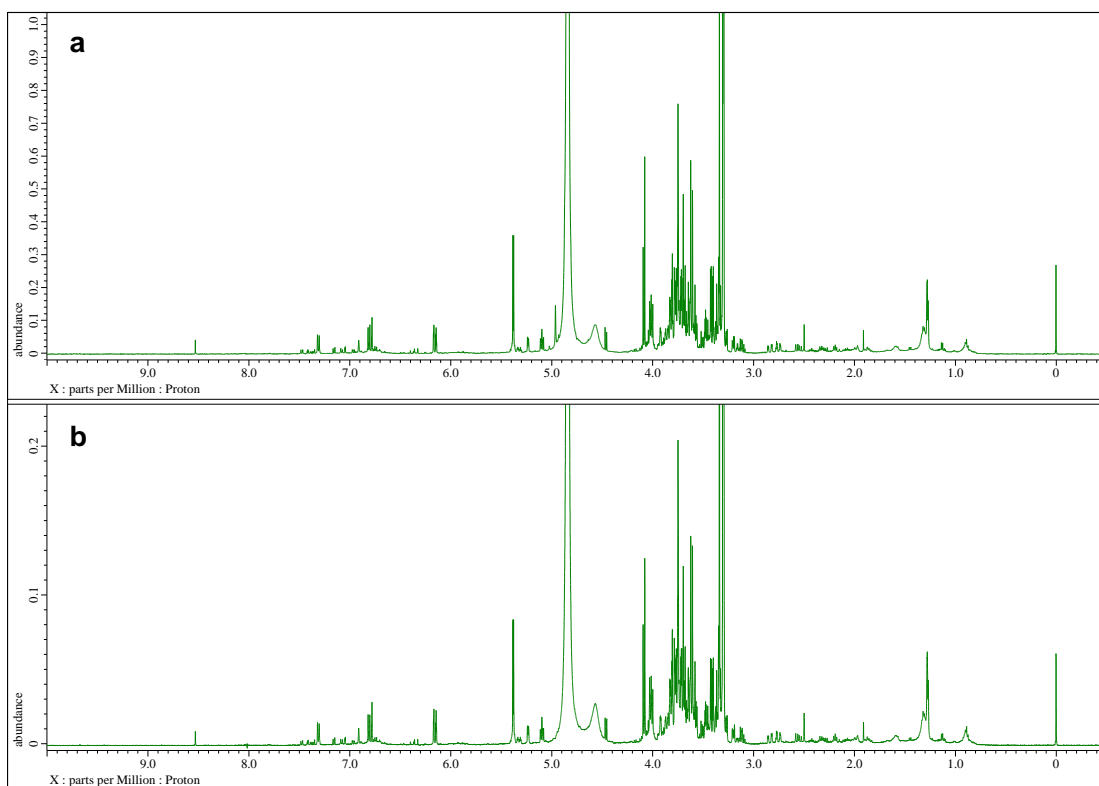


Fig. S4-32  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM08 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

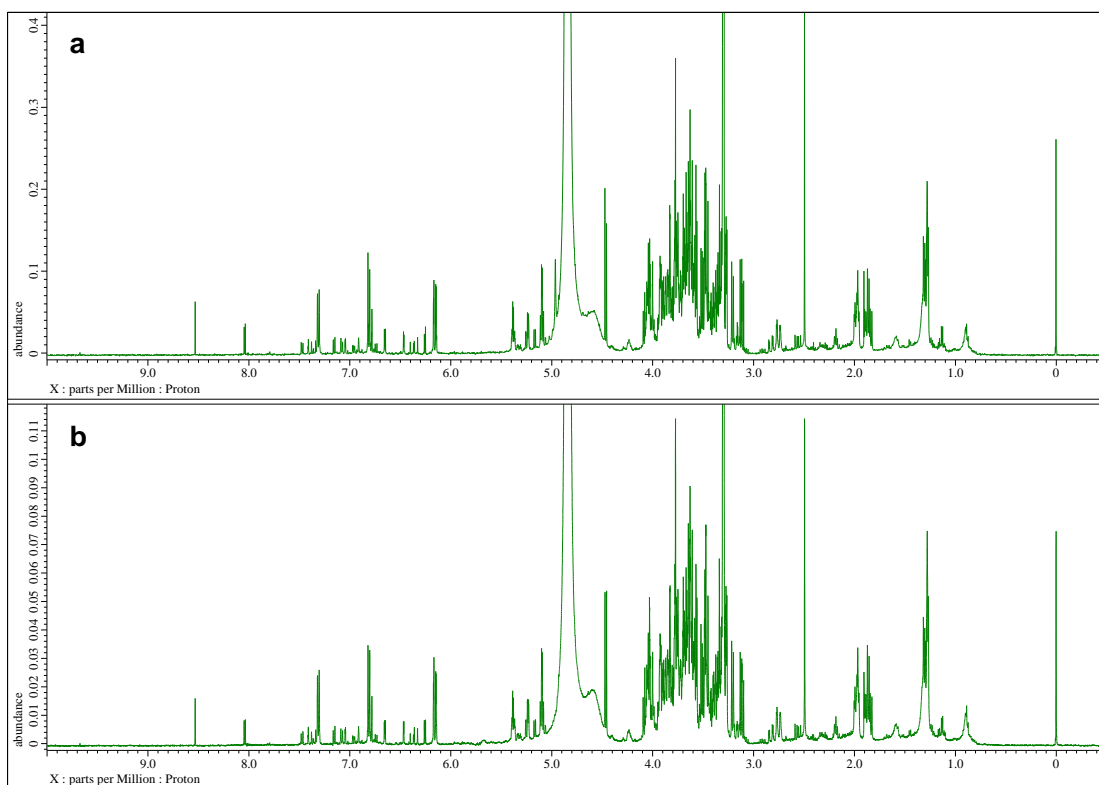


Fig. S4-33  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM09 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

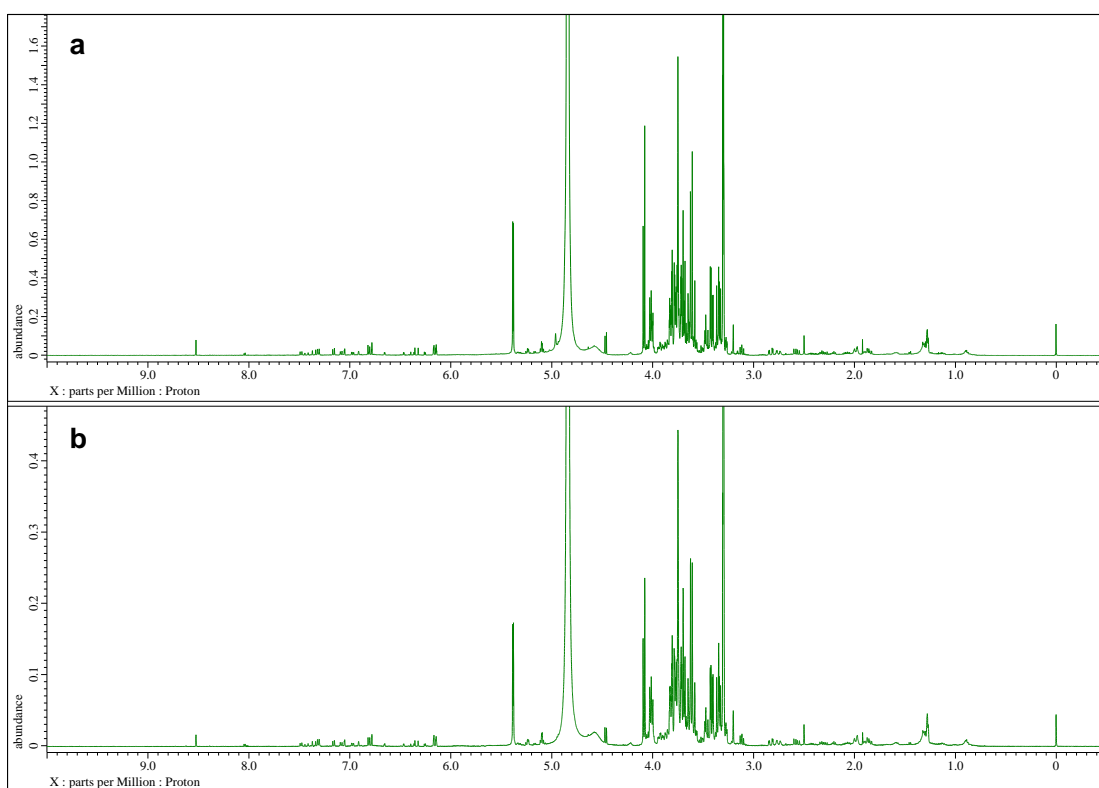


Fig. S4-34  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM10 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

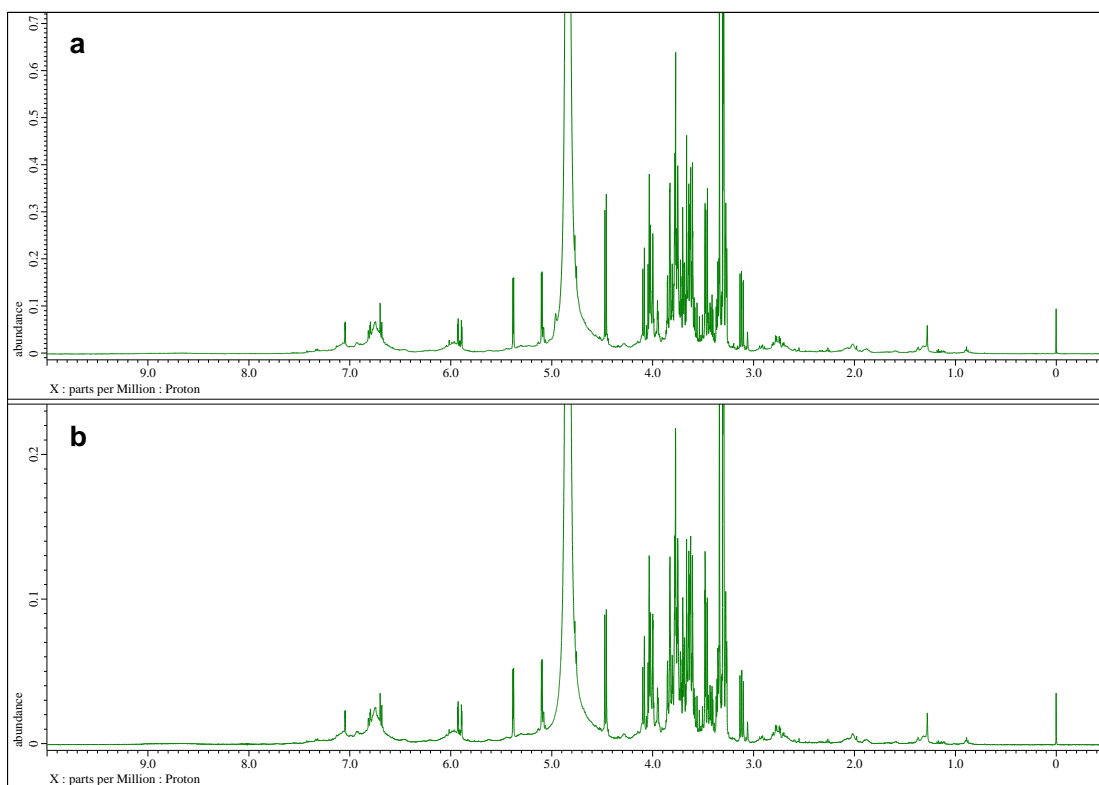


Fig. S4-35  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM11 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

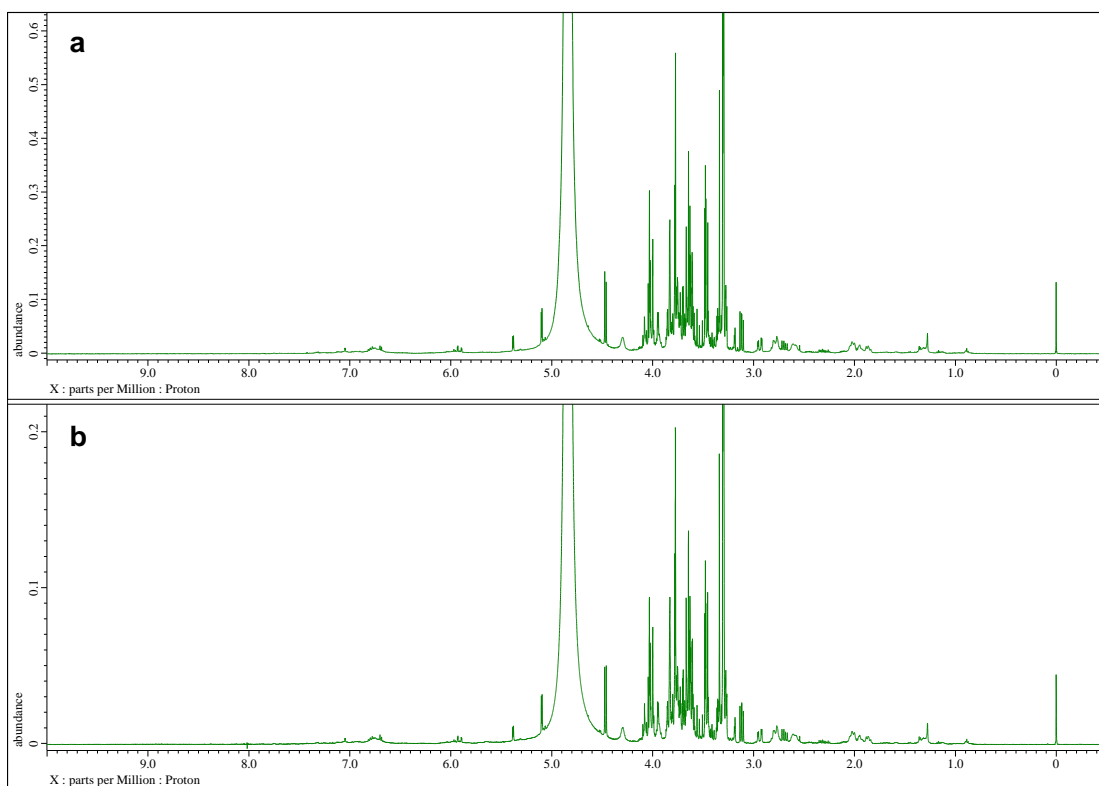


Fig. S4-36  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM16 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

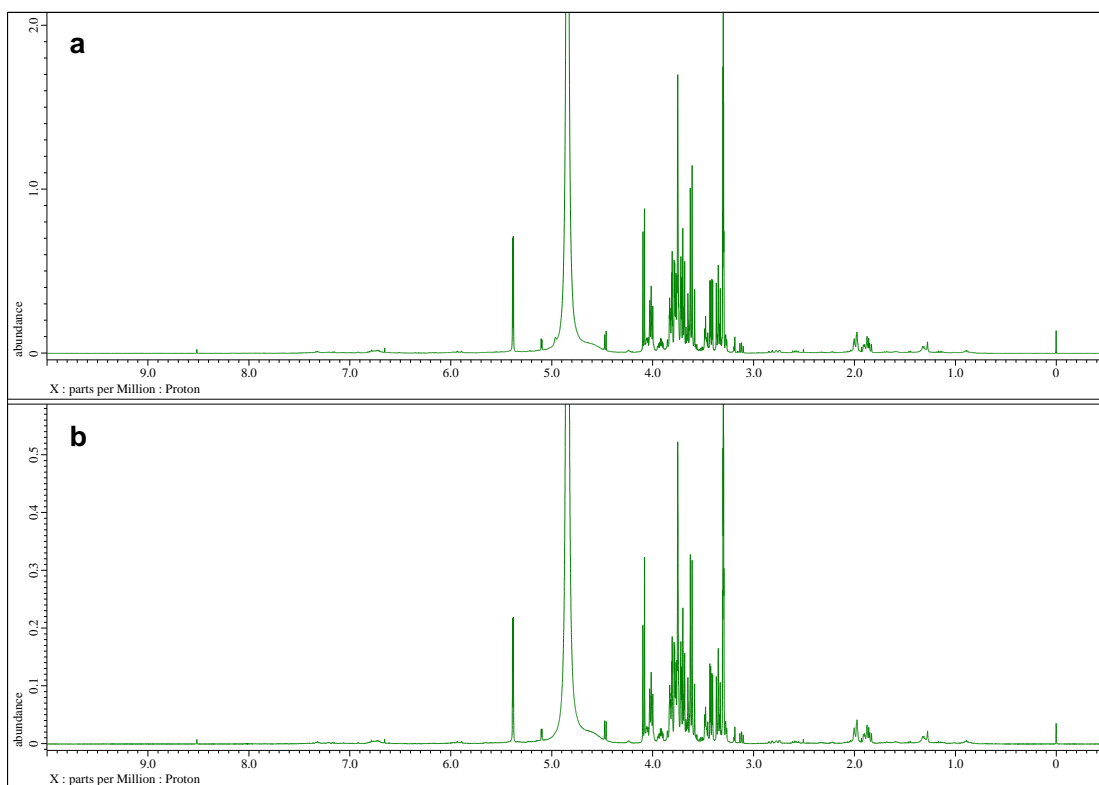


Fig. S4-37  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM17 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

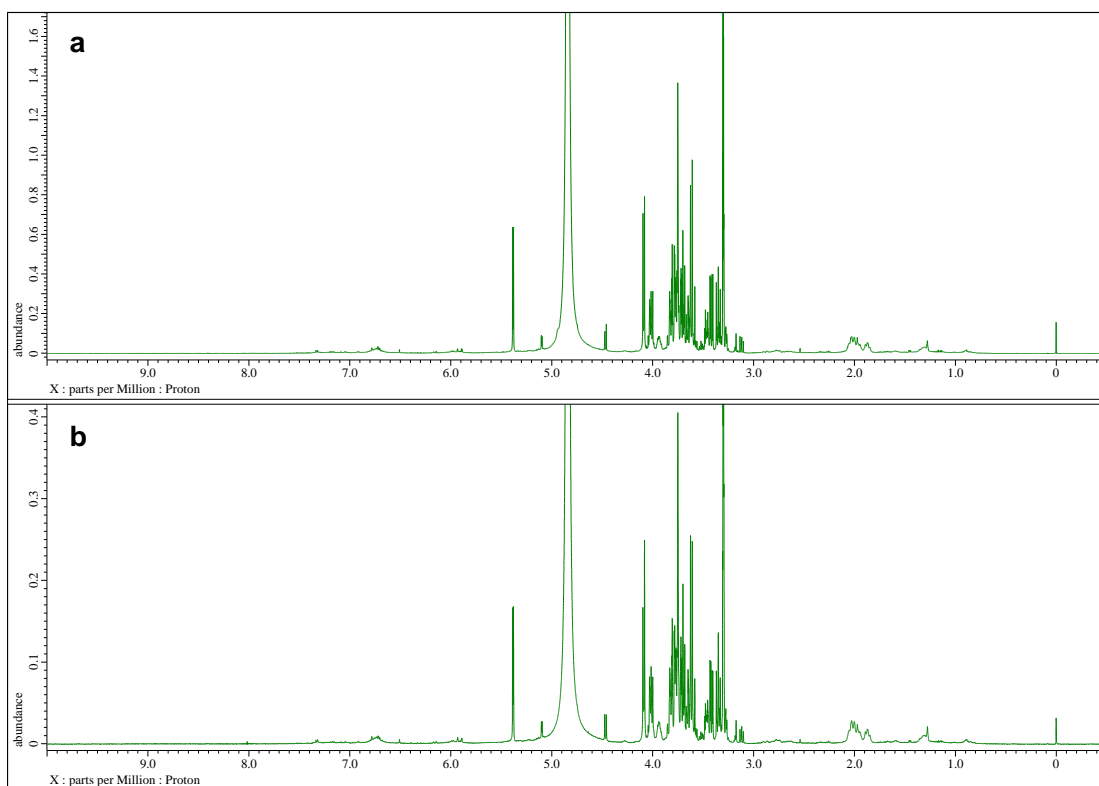


Fig. S4-38  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM18 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

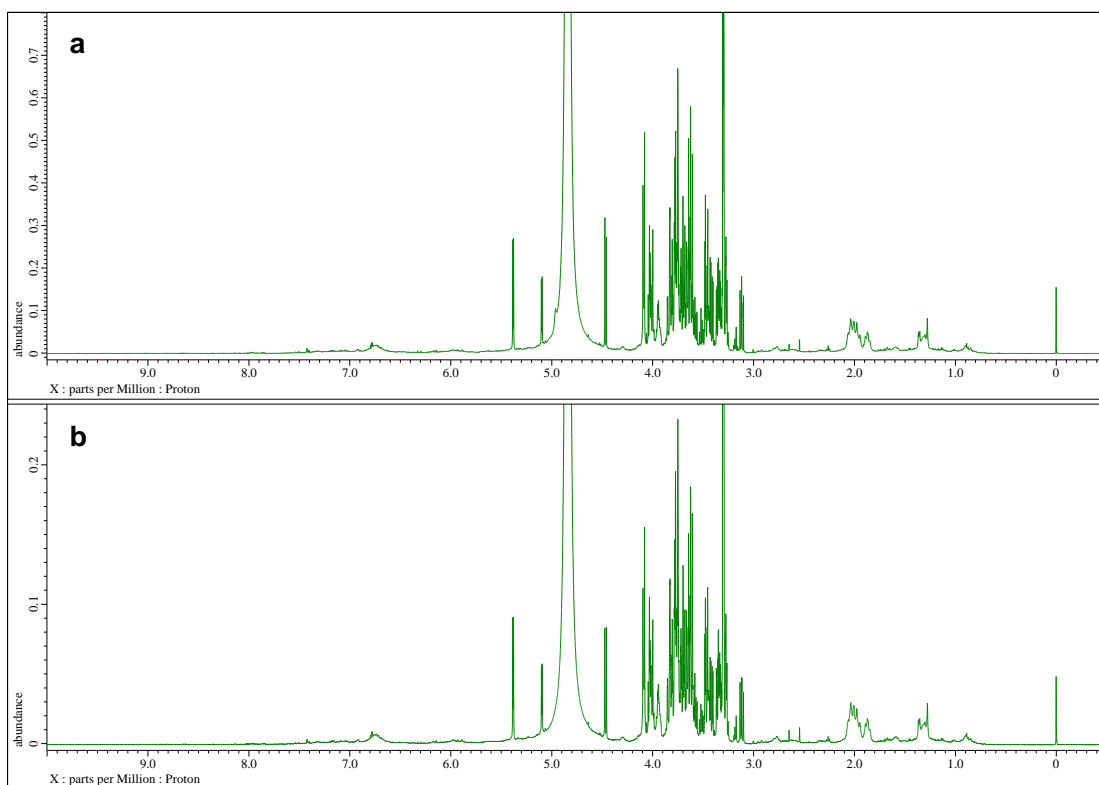


Fig. S4-39  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of JpM19 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

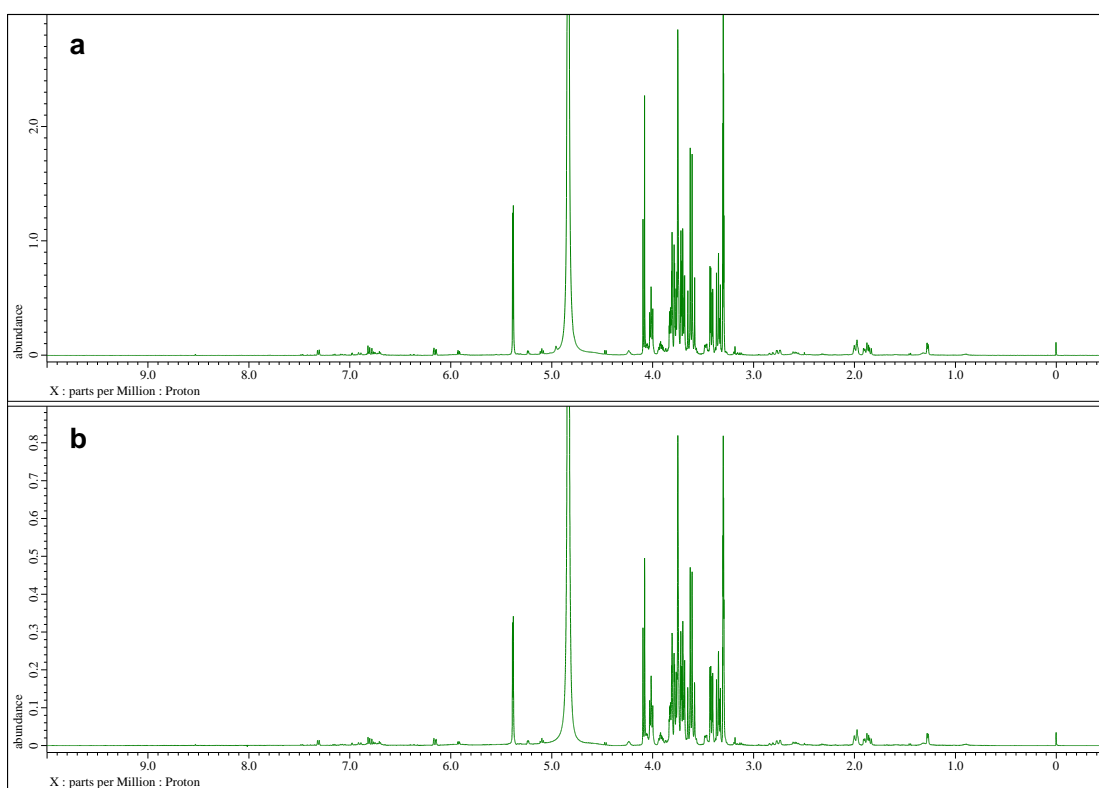


Fig. S4-40  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnP01 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

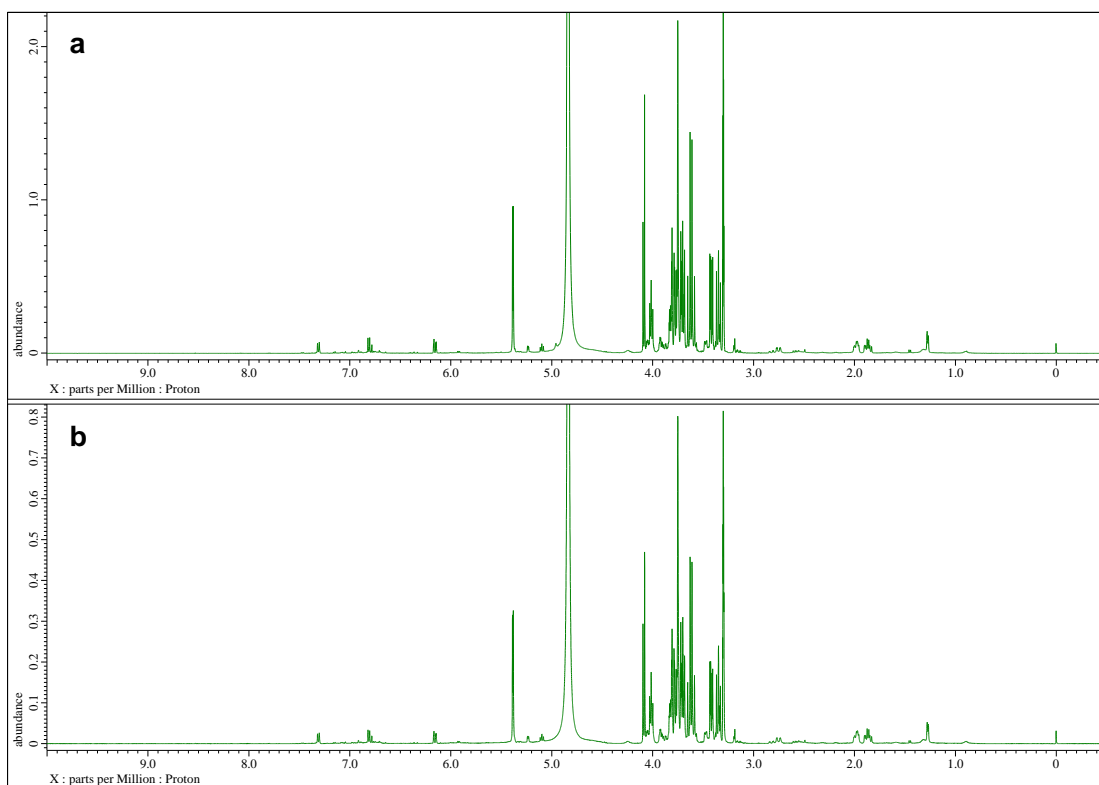


Fig. S4-41  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnP02 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

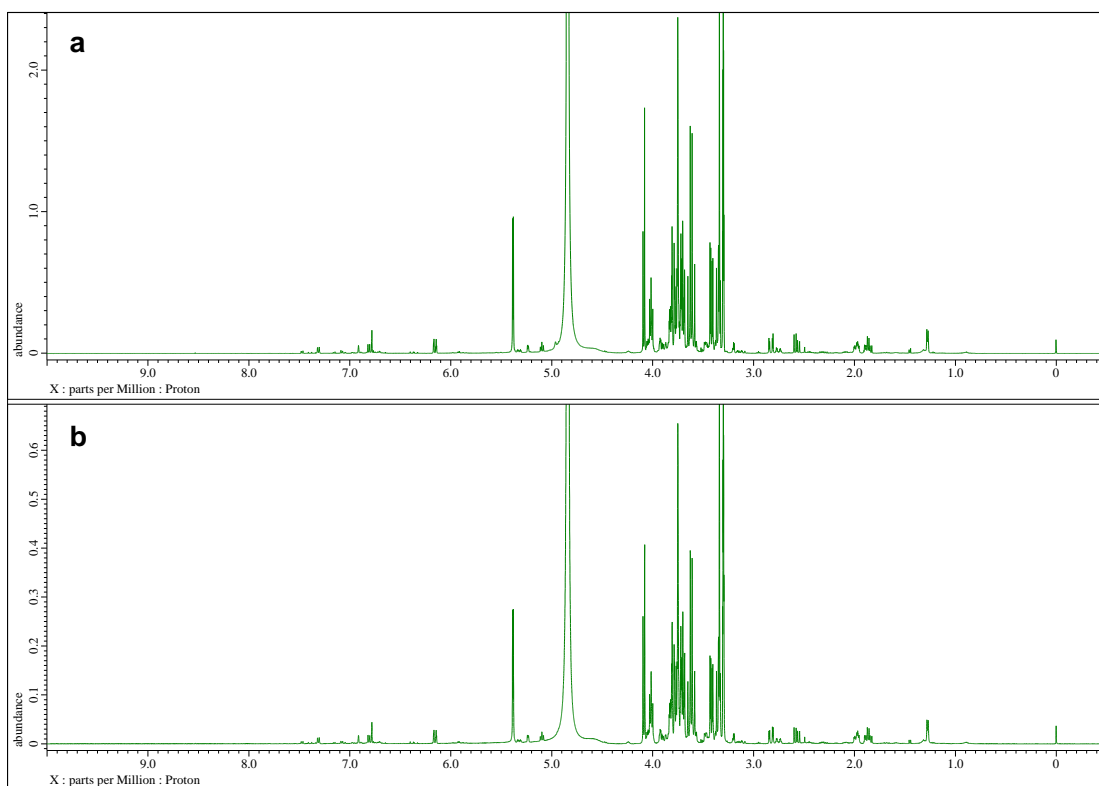


Fig. S4-42  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnP03 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.



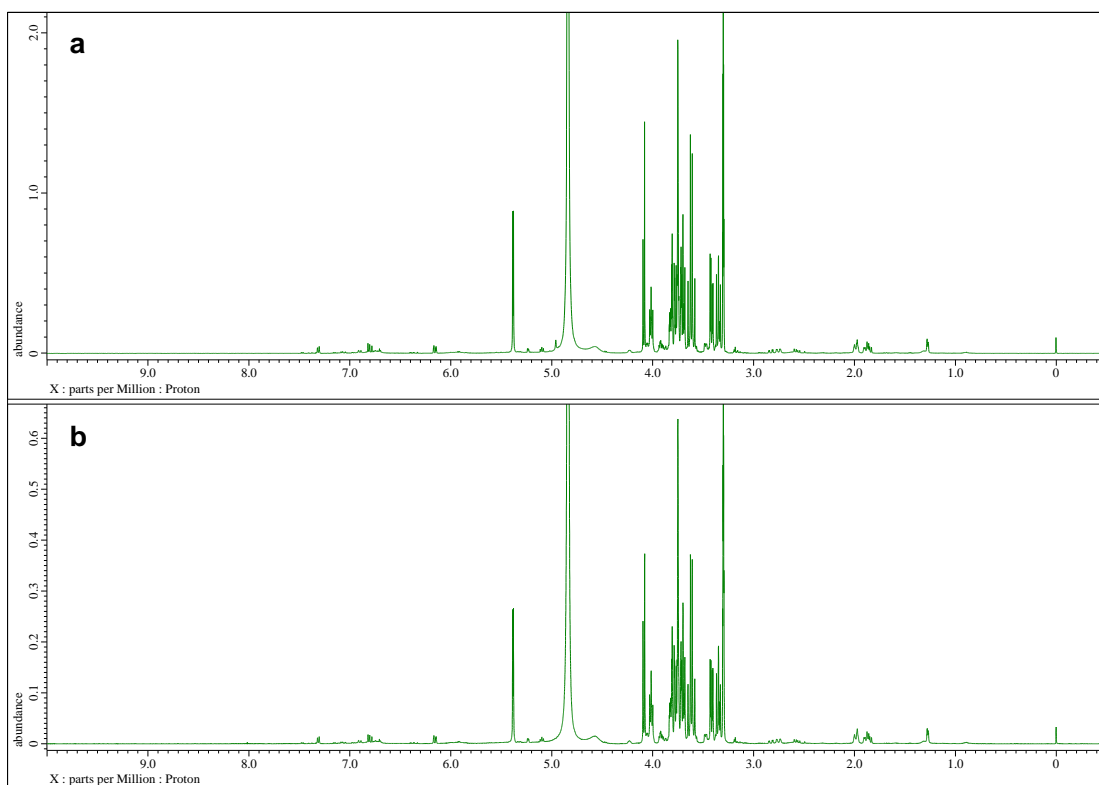


Fig. S4-43  $^1\text{H}$  NMR spectrum (500 MHz) of CnP04 in  $\text{CD}_3\text{OD}$ . a,  $^1\text{H}$  NMR; b, qHNMR.

## 雑誌論文のリスト

1. Dong YZ, Toume K, Zhu S, Shi YH, Tamura T, Yoshimatsu K, Komatsu K (2023) Metabolomics analysis of peony root using NMR spectroscopy and impact of the preprocessing method for NMR data in multivariate analysis. J Nat Med. <https://doi.org/10.1007/s11418-023-01721-x>
2. Dong YZ, Toume K, Kimijima S, Zhang HP, Zhu S, He YM, Cai SQ, Maruyama T, Komatsu K (2023) Metabolite profiling of *Drynariae Rhizoma* using  $^1\text{H}$  NMR and HPLC coupled with multivariate statistical analysis. J Nat Med. <https://doi.org/10.1007/s11418-023-01726-6>

## 謝 辞

富山大学で勉強、研究の機会をくださり、本研究の遂行及び本論文の作成にあたり、五年間、終始熱心なご支援、ご鞭撻、ご助言を賜り、いつも丁寧且つ貴重なご指導を頂きました元 富山大学和漢医薬総和研究所資源開発分野 資源科学領域 恩師の小松 かつ子 教授（現、名誉教授）に厚く感謝いたします。

本研究を直接指導し、研究に関する知識、理論、実験、科学的な考え方法から論文の書き方、日本語と英語の言語表現までいつも丁寧且つ貴重なご指導、ご鞭撻、ご助力、ご助言を賜り、研究室生活において常に温かく細かくご配慮、ご支援を頂きました元 富山大学 和漢医薬総和研究所 資源開発分野 資源科学領域（現、薬用資源管理部門）恩師の當銘 一文 准教授に心から感謝申し上げます。

実験材料及び薬用植物学に関する知識、理論など多岐にわたりご支援、ご指導、ご助力、ご助言を賜りました元 富山大学和漢医薬総和研究所資源開発分野 資源科学領域 朱 妹 助教（現、和歌山県立医科大学薬学部 准教授）に深く感謝いたします。

博士論文の審査を担当して頂き、富山大学和漢医薬学総合研究所 森田 洋行 教授、庄司 翼 教授、富山大学 薬学部 矢倉 隆之 教授に感謝いたします。

研究室の生活にあたり、幸 雅子 氏、福田 寛美 氏、浅沼 舞 氏、Zolboo BATSUKH 博士、喻 歆歆 博士、劉 群棟 博士、Yasinjan Hashim 博士、堀田 健一郎 氏、君島 伸 氏、高尾 汐織 修士、花澤 志帆 氏、山本 祥雅 修士、北見 駿典 修士、川崎 亮平 修士、小菅 智正 氏、木本 花音 氏、堀田 知里 氏の皆様に心から感謝いたします。

細胞実験に関する知識、理論、操作、実験材料など多岐にわたりご指導、ご支援を頂きました富山大学 和漢医薬総和研究所 神経機能学領域 東田 千尋 教授、楊 熙蒙 助教に深く感謝いたします。

富山大学と私の出身の瀋陽薬科大学の交流協定のおかげで、私は留学生として日本で勉強、研究することが実現しました。関係の先生方に心から感謝いたします。また、学部生時代の先生たちにも深く感謝いたします。

修士と博士の五年間、研究と生活は富山大学杉谷国際交流基金、文部科学省（学習奨励費）、公益財団法人 朝日国際教育財団（奨学金）、三谷育英会（奨学金）、とやま国際センター（国民健康保険加入助成金）、及び授業料免除制度により支援を受けました。多大なるご支援を頂き、誠にありがとうございました。

最後に、絶えず無償のサポートと励ましをいただきました両親に心から感謝いたします。

光陰矢の如し。高校を卒業してから 10 年、大学を卒業してから 5 年が経ち、ついに博士学位を取得しました。日本での留学生活は、私にとって現在の人生まで最も貴重な 5 年間となりました。この 5 年間は、知識と言語の学習だけでなく、問題解決の方法を学び、問題解決から生じる最高の精神的な充足感を味わうことができました。この 5 年間は、私の将来の人生の道における精神的な力の源となります。また、富山県の心を癒す美しい景色、広がる水田、そして日本で最も明るく輝かしい夏に感謝いたします。

学生時代の最後に、私の心情を詠んだ古詩を引用したいと思います：

軽舟已過万重山。

2023 年 7 月

富山大学 和漢医薬学総合研究所