

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 1 年 12 月 26 日 (2019.12.26)

【公表番号】特表 2018-531973 (P2018-531973A)

【公表日】平成 30 年 11 月 1 日 (2018.11.1)

【年通号数】公開・登録公報 2018-042

【出願番号】特願 2018-521949 (P2018-521949)

【国際特許分類】

C 07H 15/256 (2006.01)

A 23L 27/00 (2016.01)

A 23L 2/60 (2006.01)

A 23F 3/16 (2006.01)

A 23F 5/24 (2006.01)

A 23L 2/38 (2006.01)

A 61K 47/26 (2006.01)

A 61K 47/38 (2006.01)

A 61K 47/36 (2006.01)

A 61K 47/42 (2017.01)

A 61K 9/14 (2006.01)

A 61K 9/10 (2006.01)

A 61K 47/10 (2006.01)

A 61K 47/14 (2006.01)

C 12P 17/06 (2006.01)

C 12P 19/44 (2006.01)

【FI】

C 07H 15/256 C S P

A 23L 27/00 1 0 1 A

A 23L 27/00 1 0 1 Z

A 23L 27/00 1 0 1 B

A 23L 27/00 E

A 23L 2/00 C

A 23F 3/16

A 23F 5/24

A 23L 2/38 P

A 61K 47/26

A 61K 47/38

A 61K 47/36

A 61K 47/42

A 61K 9/14

A 61K 9/10

A 61K 47/10

A 61K 47/14

C 12P 17/06

C 12P 19/44

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 11 月 15 日 (2019.11.15)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 1 0 3

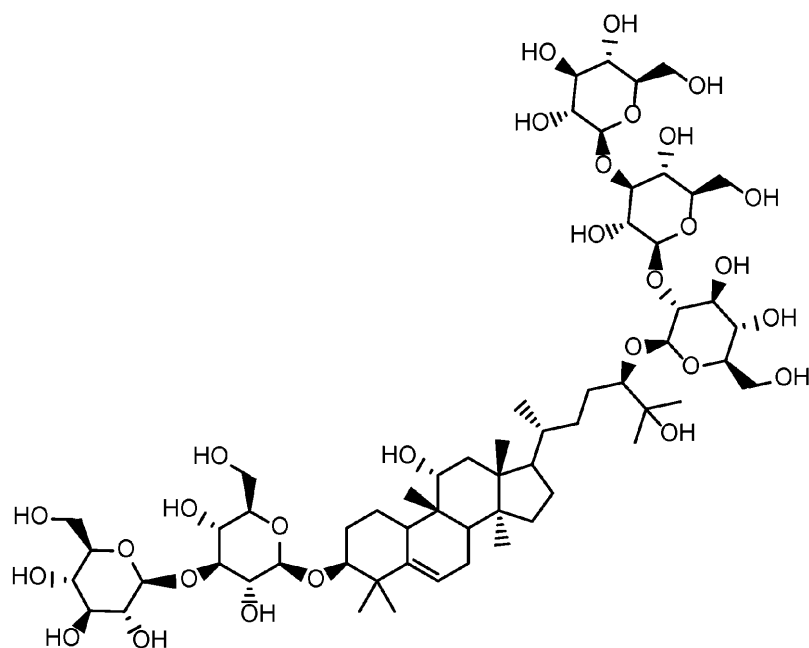
【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 1 0 3 】

上述の化合物、組成物、製品、方法または濃縮物のいくつかの実施形態では、化合物は、以下の構造：

【化 6 1】



を有するか、またはその塩である。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 1 0 4

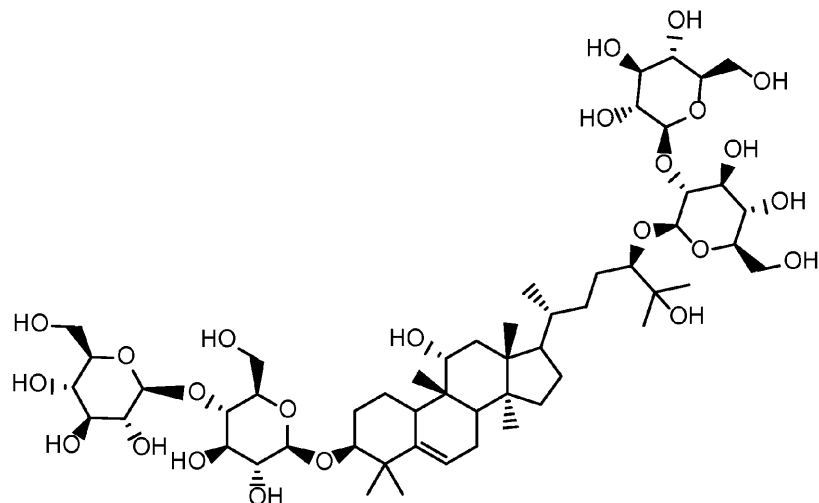
【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 1 0 4 】

上述の化合物、組成物、製品、方法または濃縮物のいくつかの実施形態では、化合物は、以下の構造：

【化 6 2】



を有するか、またはその塩である。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 0 5

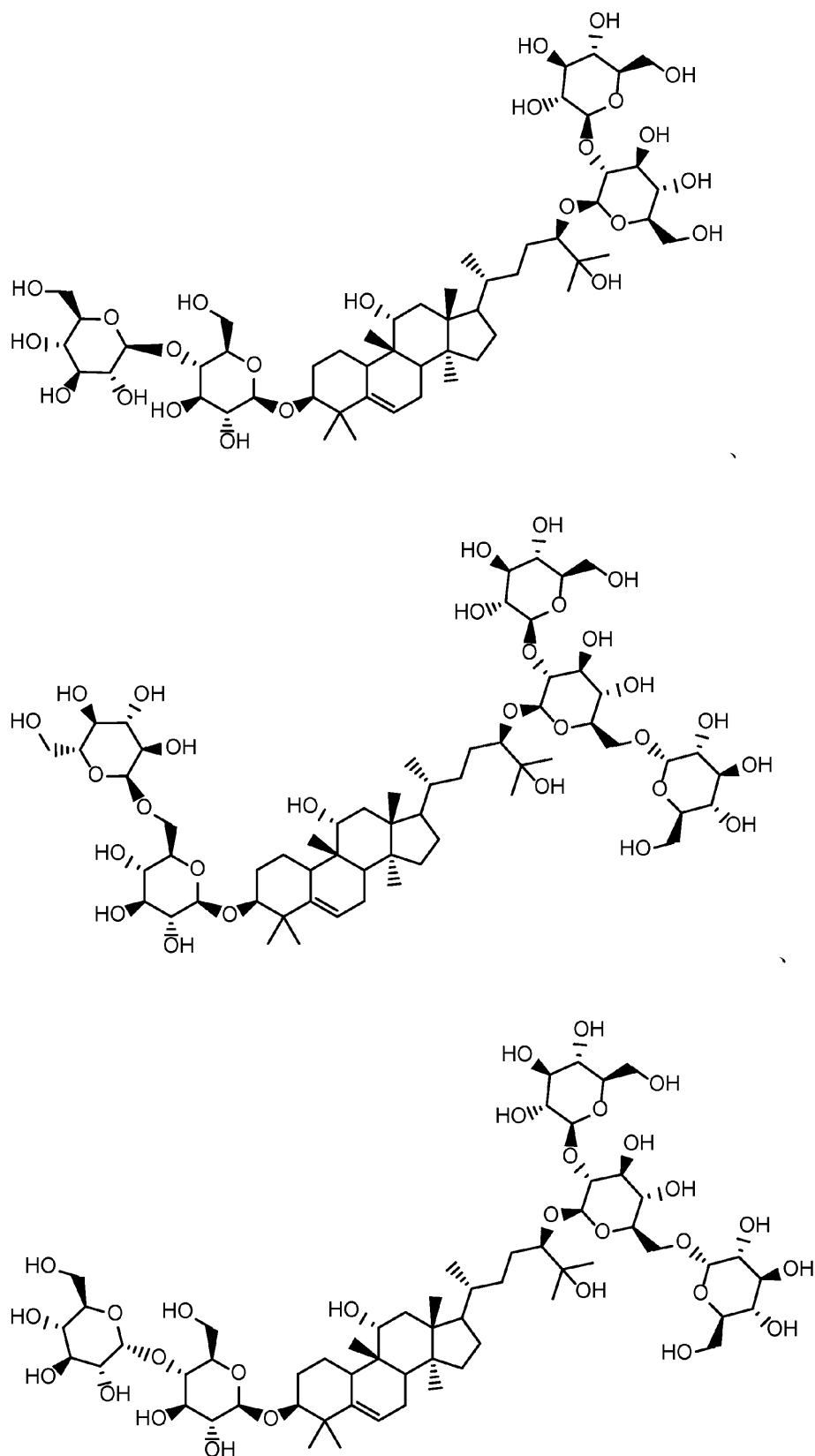
【補正方法】変更

【補正の内容】

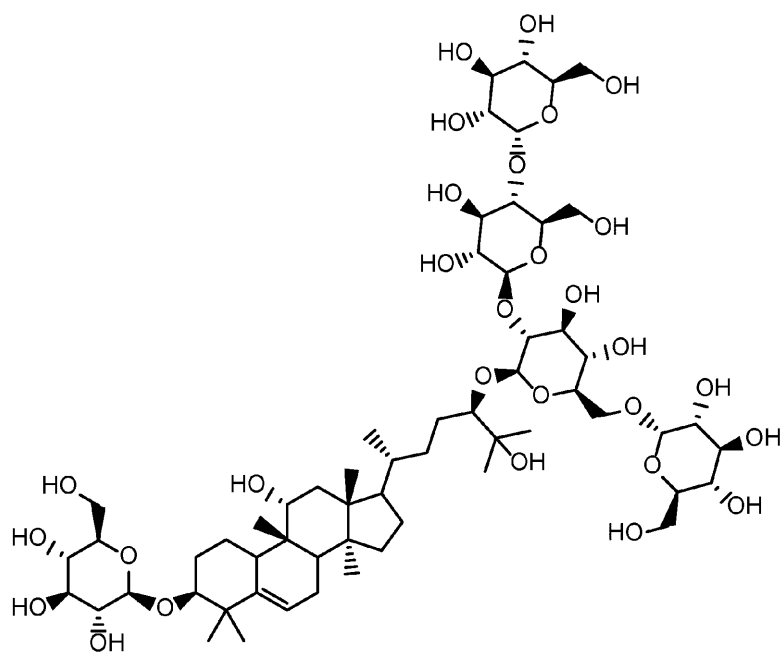
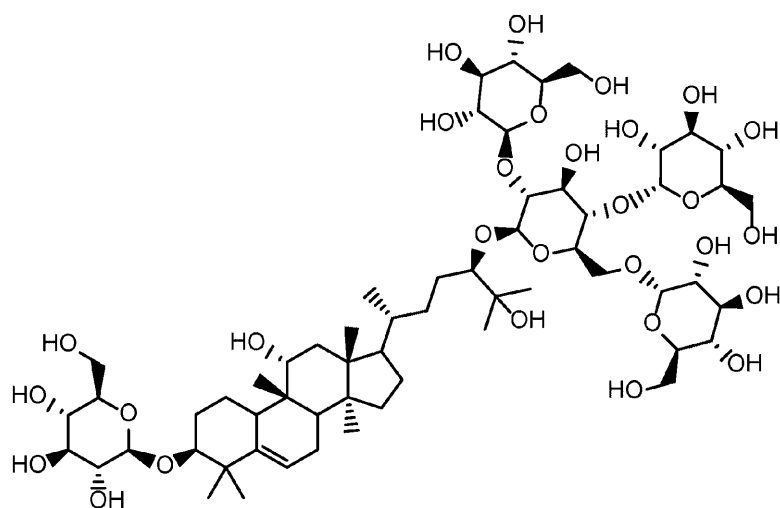
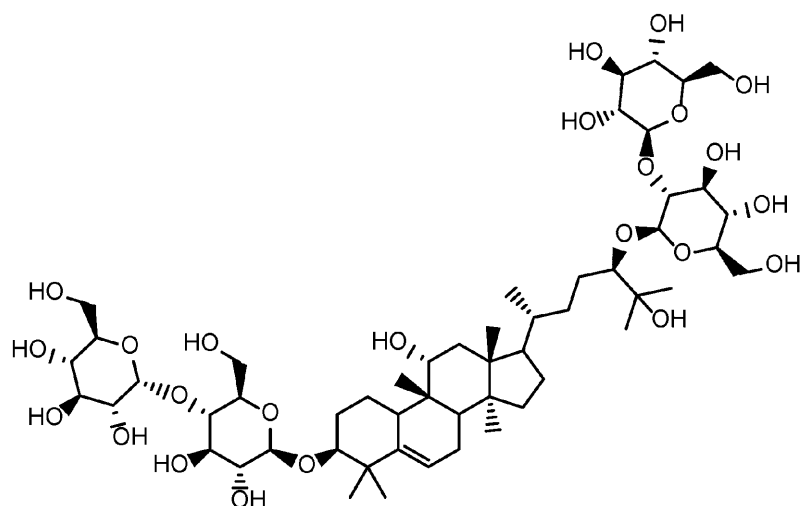
【0 1 0 5】

上述の化合物、組成物、製品、方法または濃縮物のいくつかの実施形態では、化合物は、以下の構造：

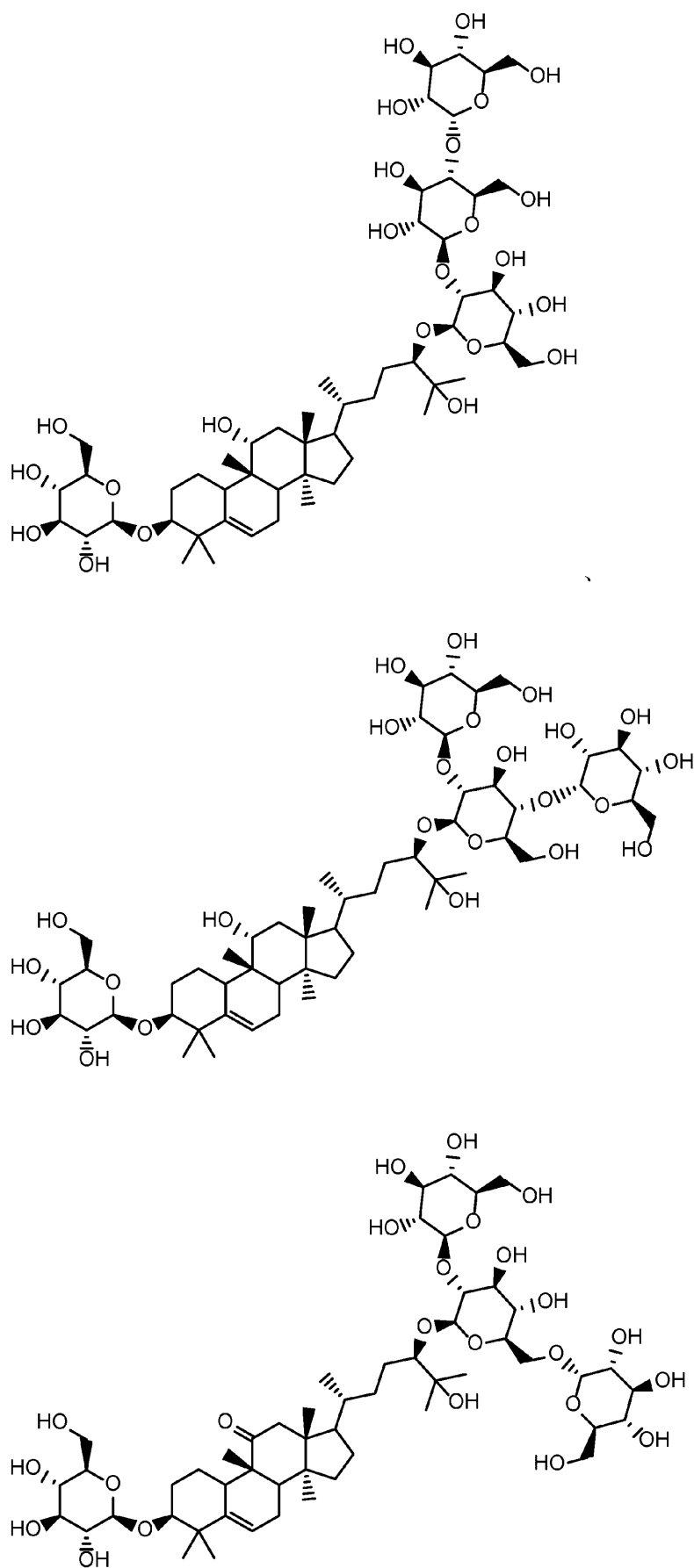
【化 6 3】



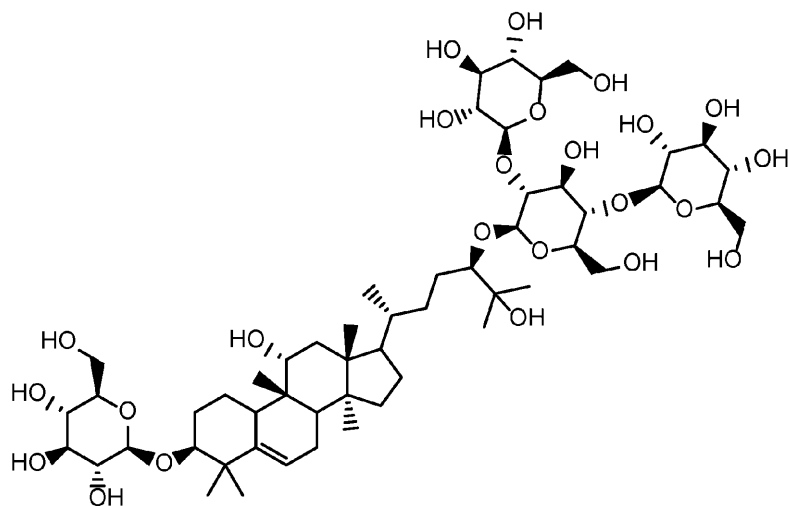
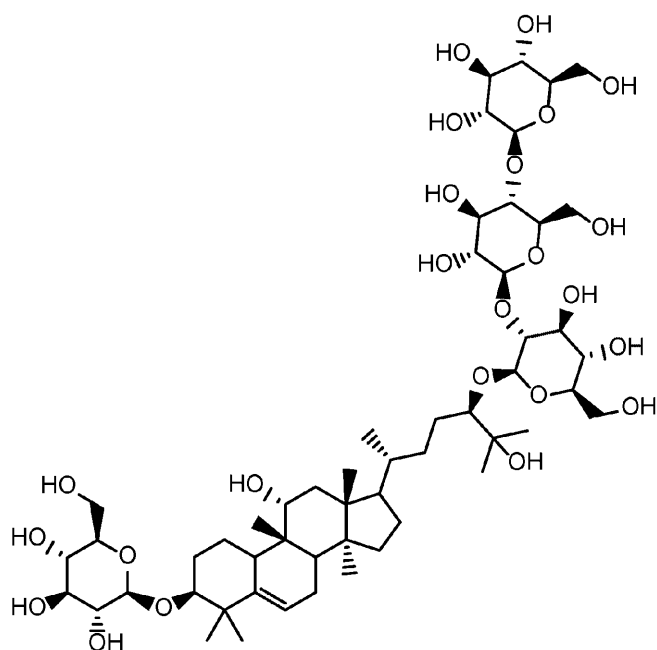
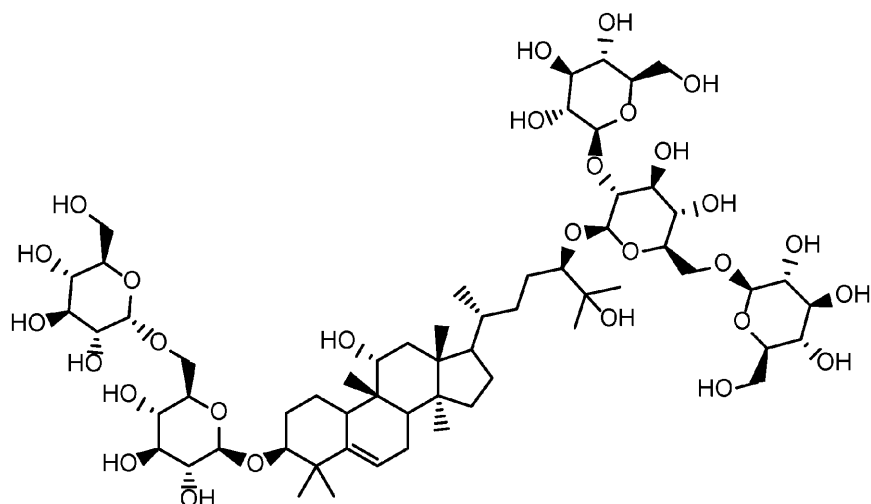
【化 6 4】



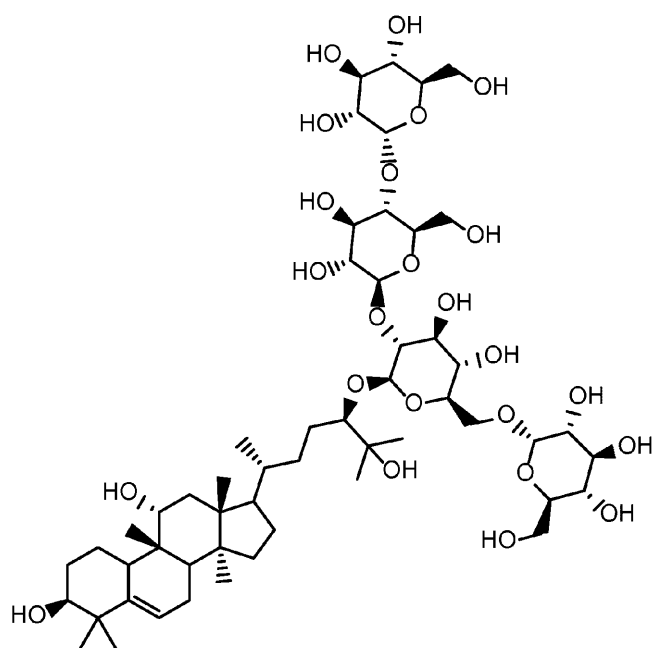
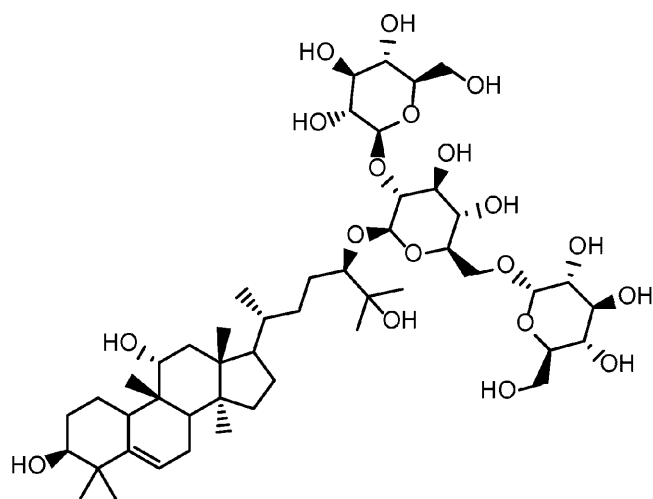
【化 6 5】



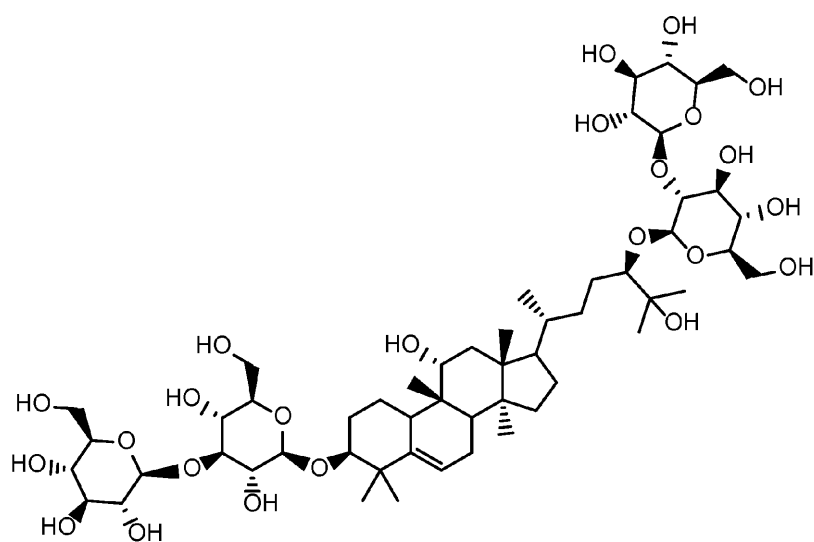
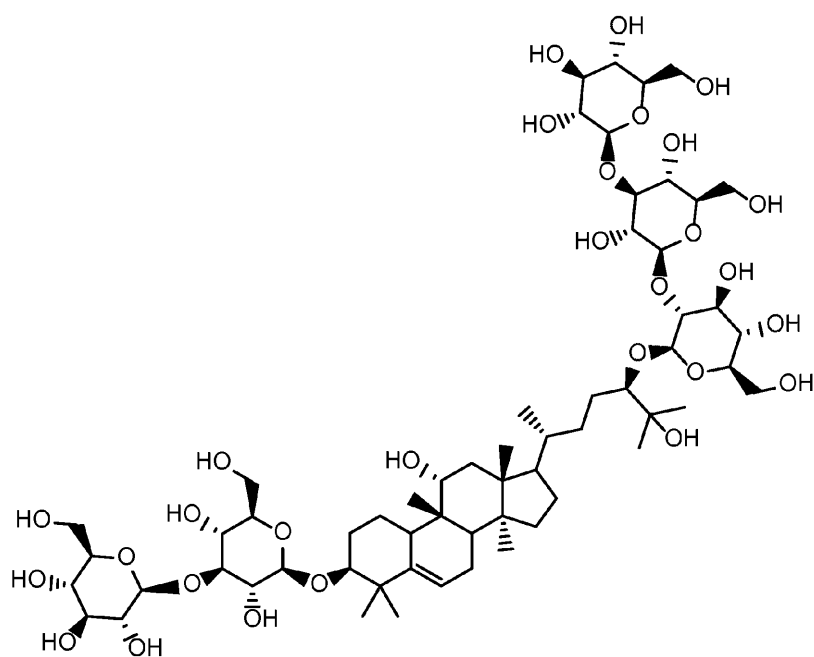
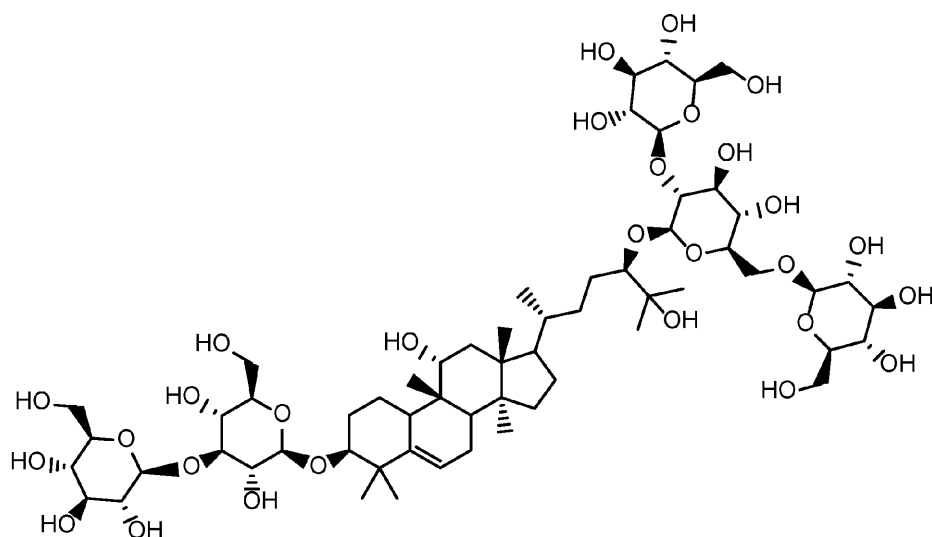
【化 6 6】



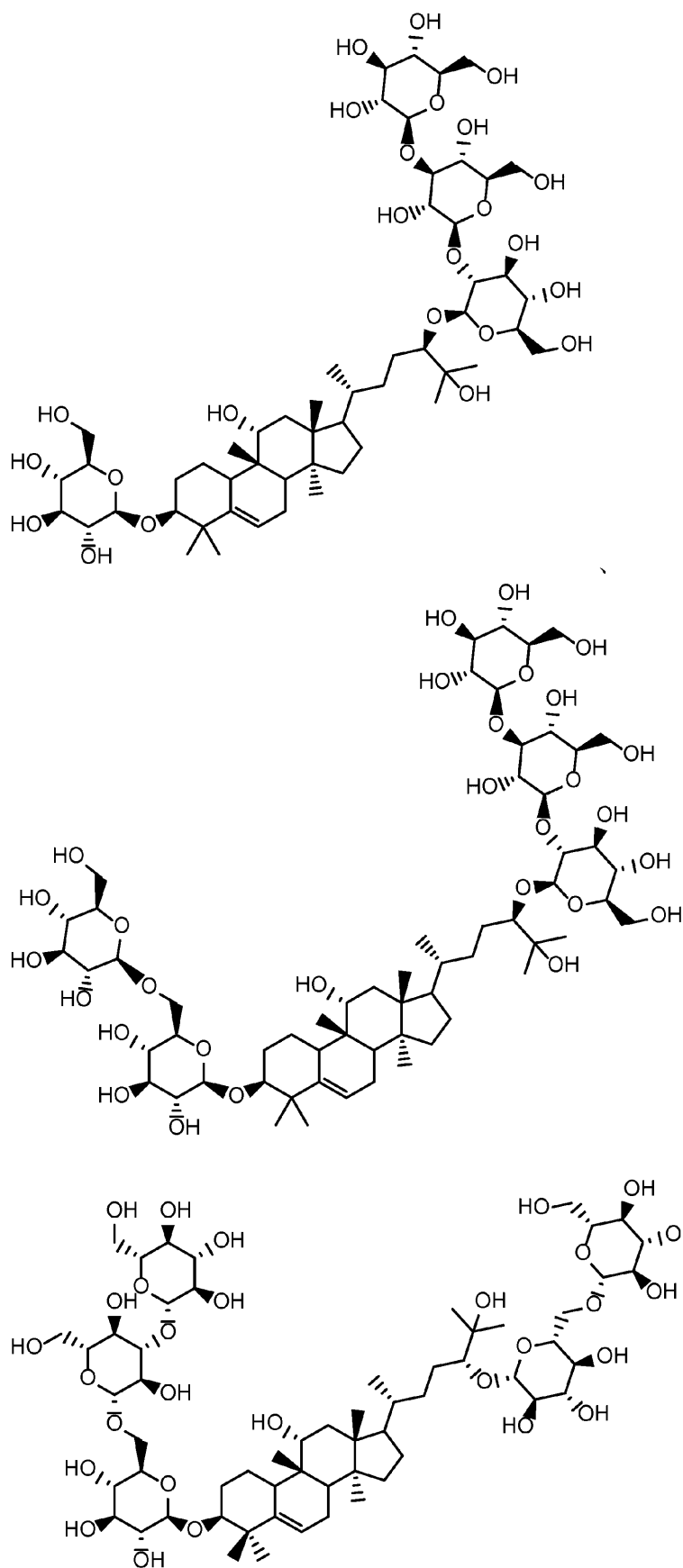
【化 6 7】



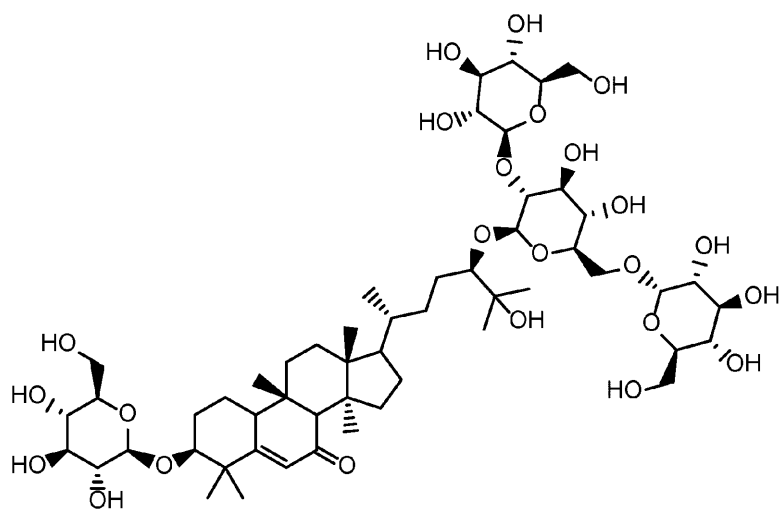
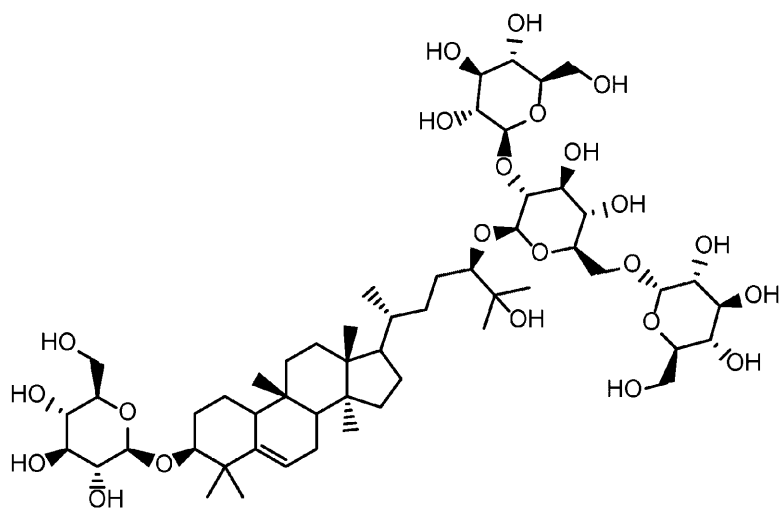
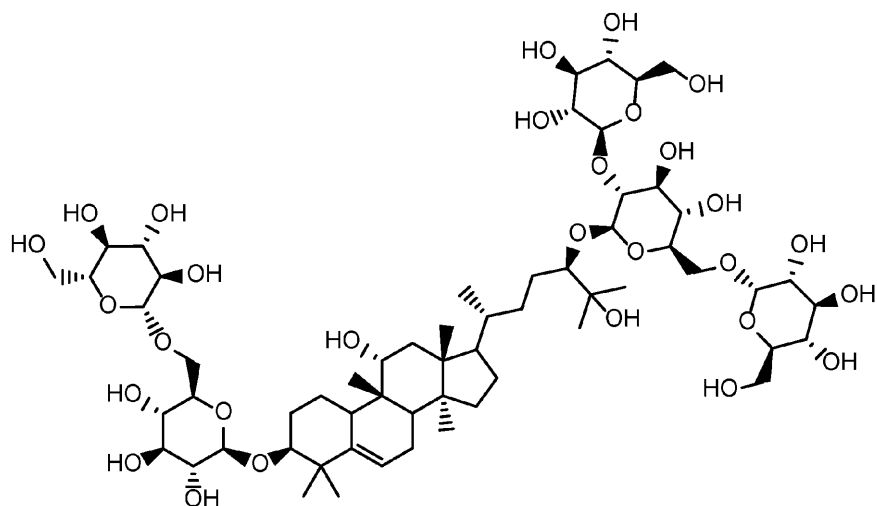
【化 6 8】



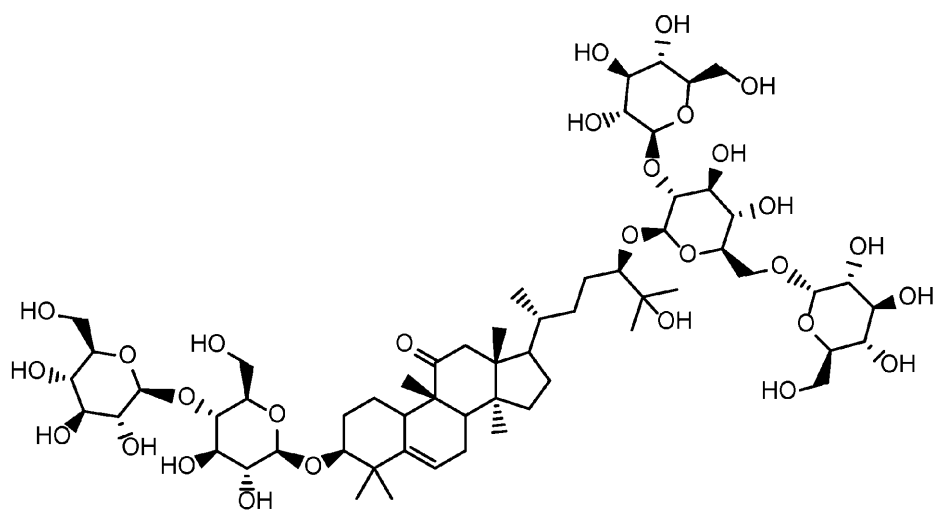
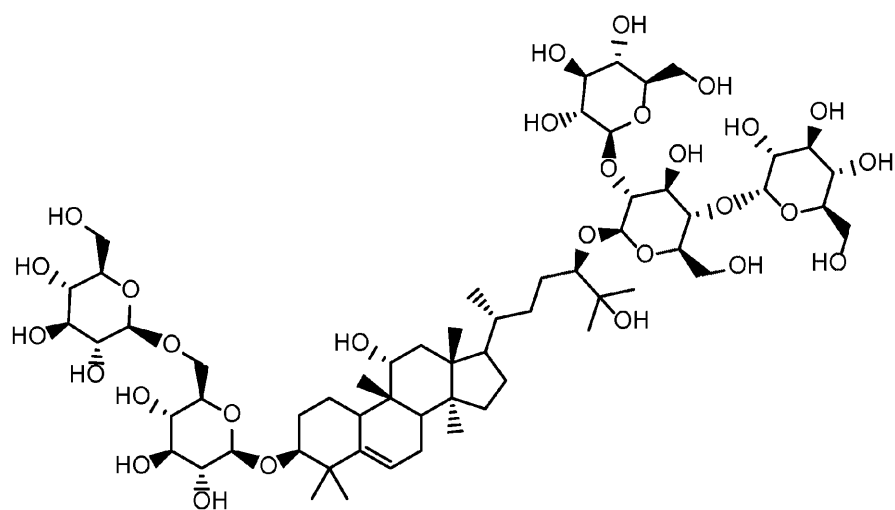
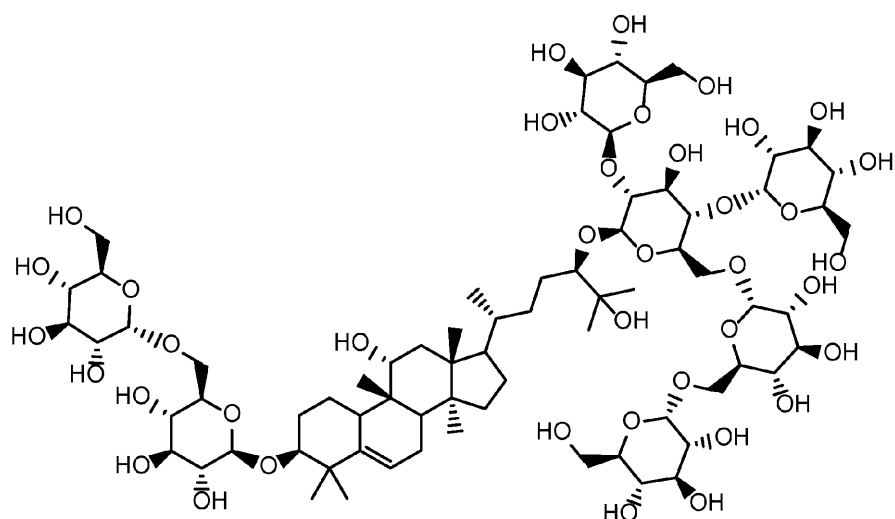
【化 6 9】



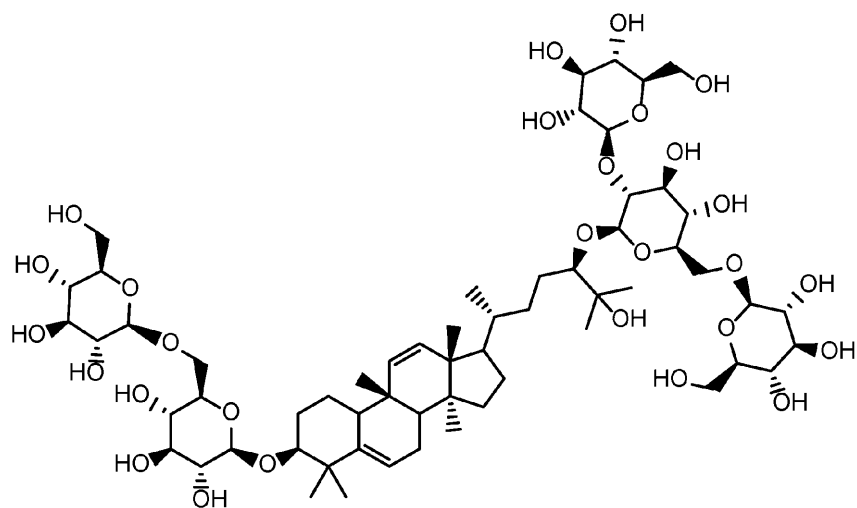
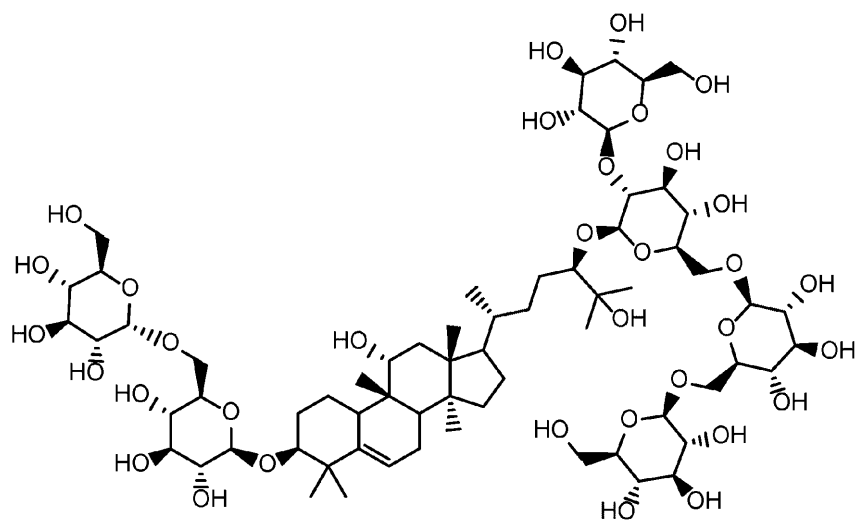
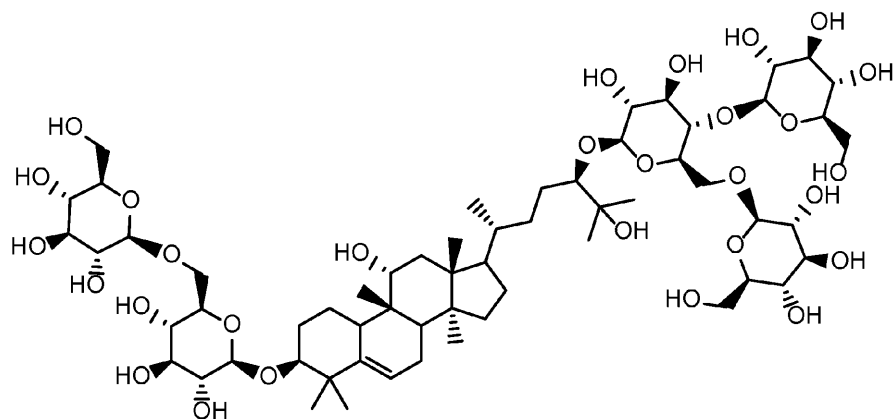
【化 7 0】



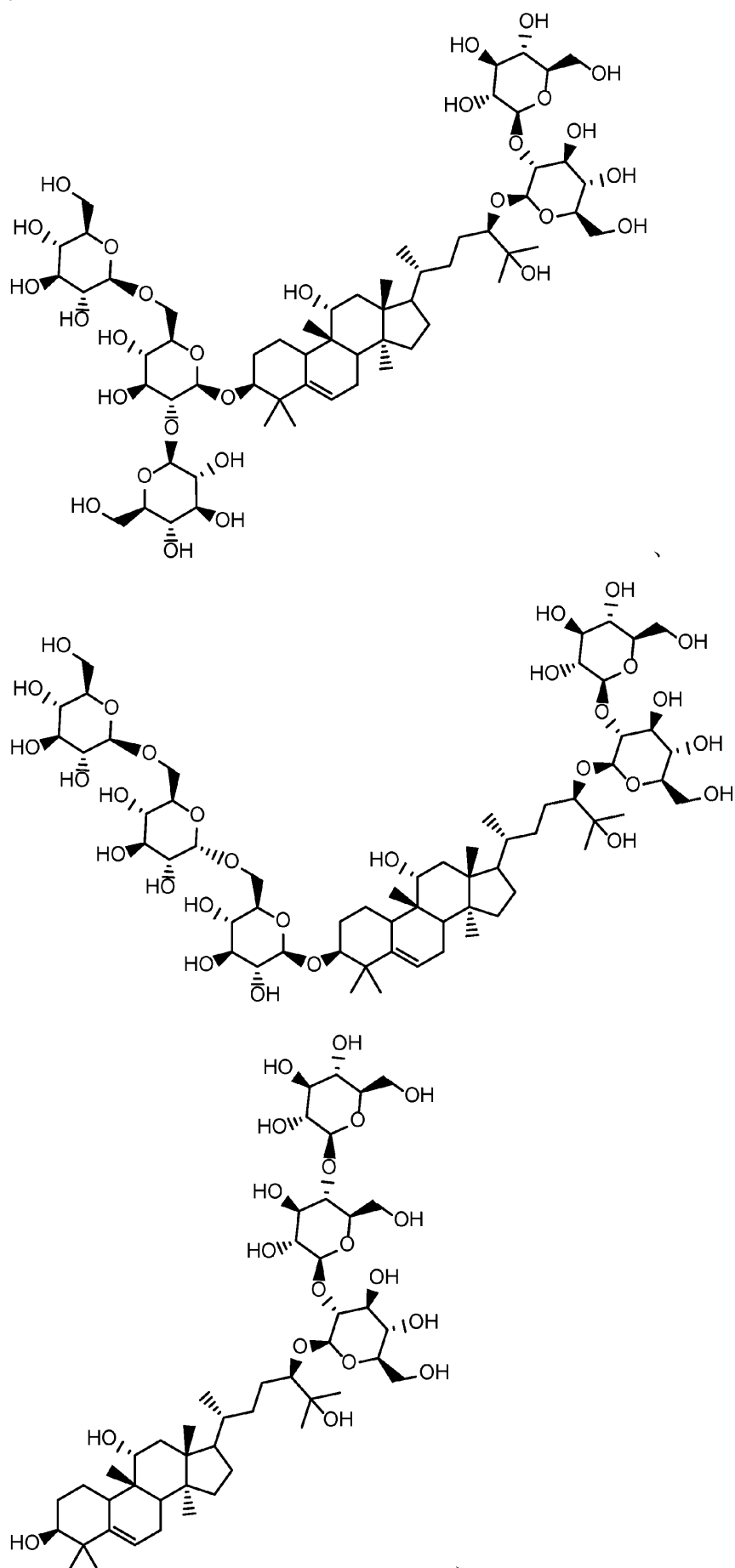
【化 7 1】



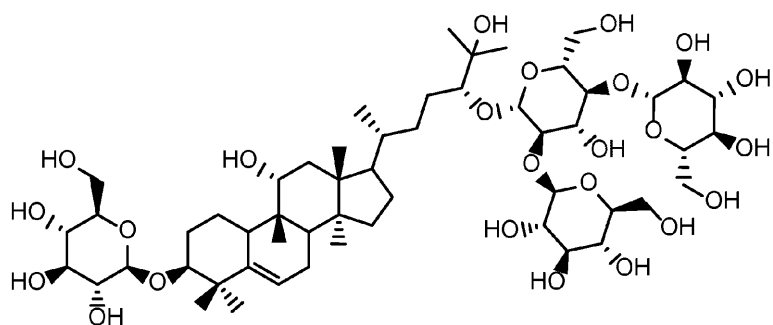
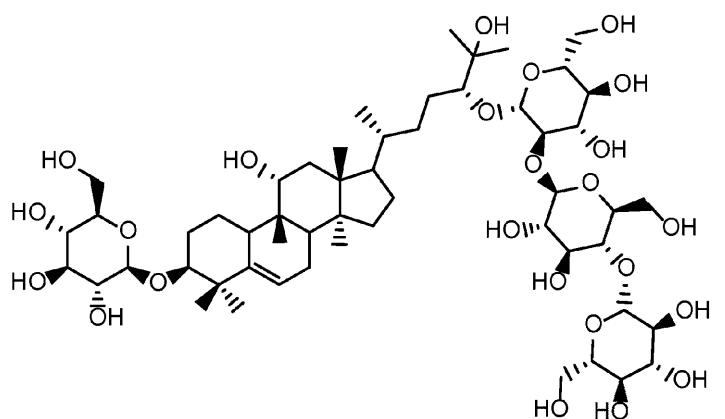
【化 7 2】



【化 7 3】

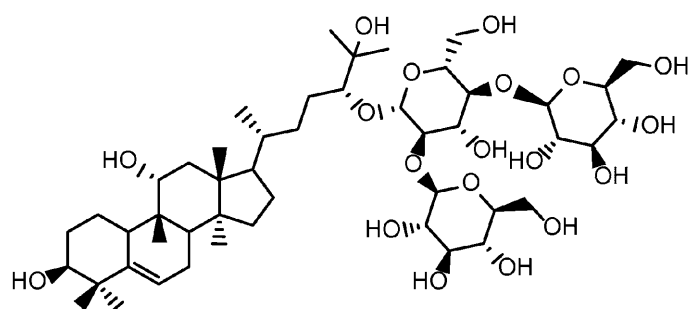


【化 7 4】



および

【化 7 5】



を有するか、またはその塩である。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0106

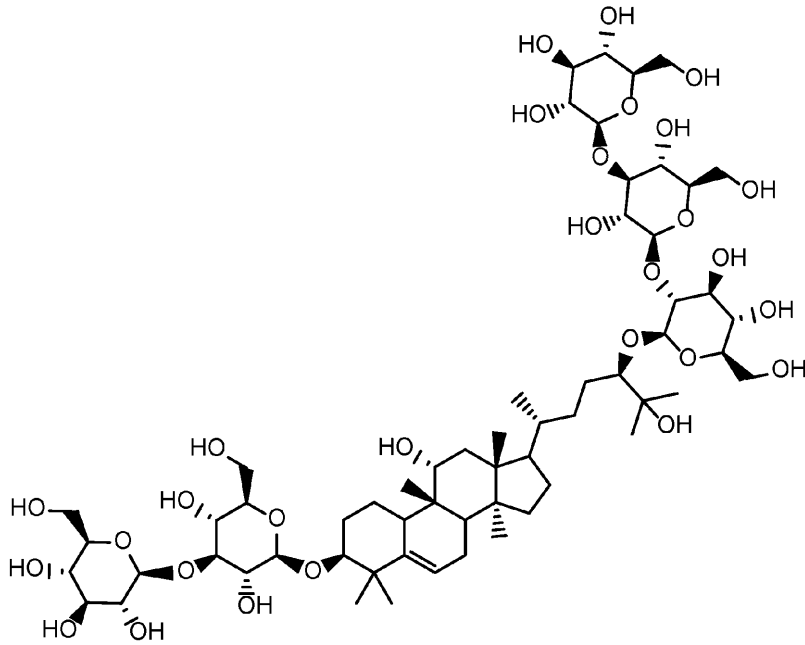
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0106】

いくつかの実施形態は、以下の構造：

【化 7 6】



を有する化合物を製造する方法であって、モグロシド I II E をグルコーストランスフェラーゼ酵素 UGT 7 6 G 1 で処理することを含む方法を提供する。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 0 7

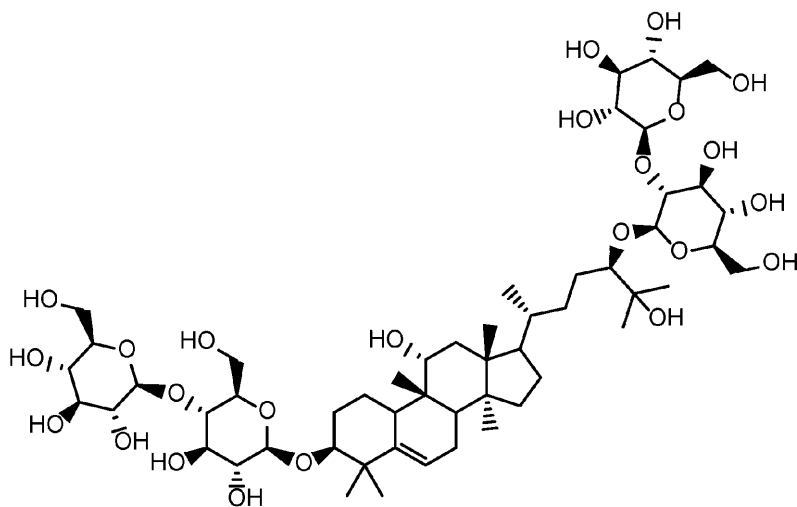
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 0 7】

いくつかの実施形態は、化合物 1：

【化 7 7】



(1)

の構造を有する化合物を製造する方法であって、*Siraitia grosvenorii* の抽出物を HPLC カラムで分画することと、化合物 1 を含む溶出画分を回収することを含む、方法を提供する。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 5 5

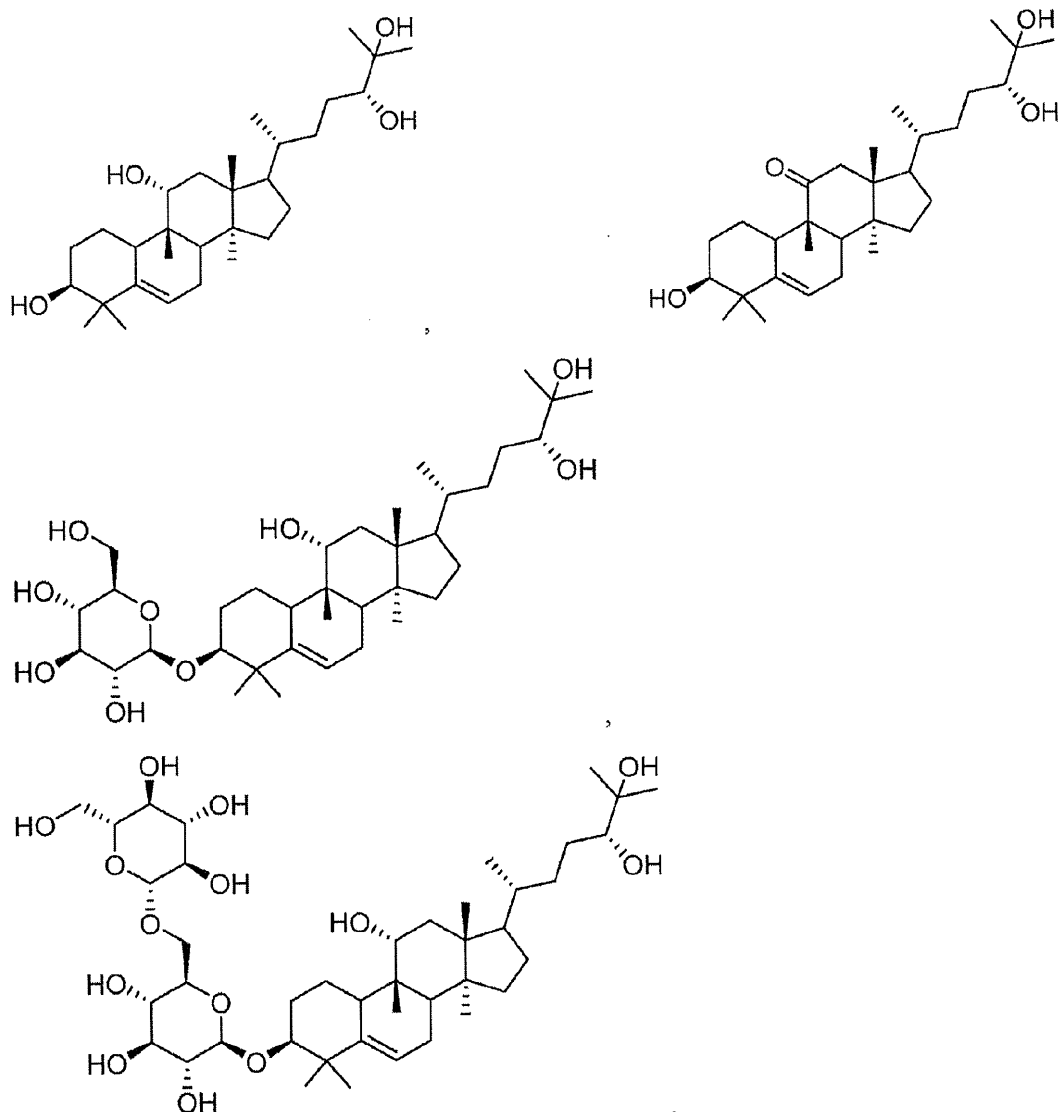
【補正方法】変更

【補正の内容】

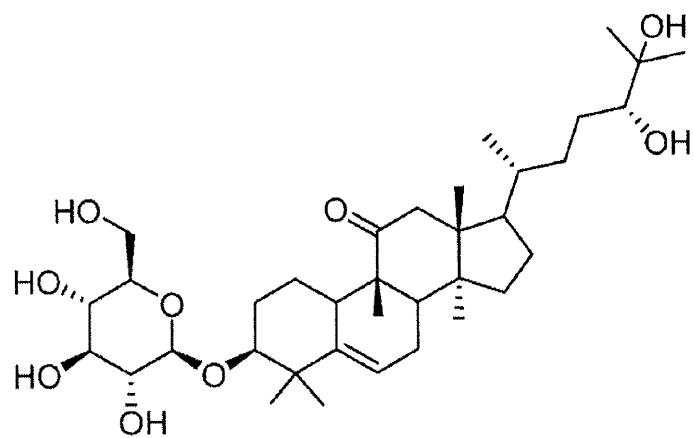
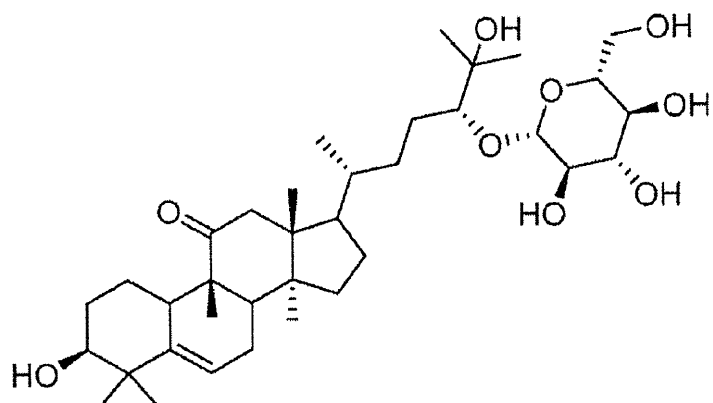
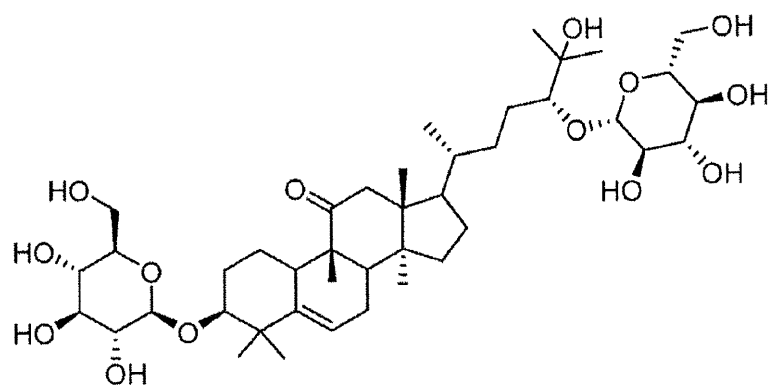
【0155】

いくつかの実施形態は、比較的高い含有量の本明細書に記載の1つ以上の化合物（例えば、化合物1～35などの式（I）の化合物）を含む組成物を提供する。例えば、本明細書に記載の製造方法を用いて本明細書に記載の化合物を製造する場合、所望の化合物を豊富に含むが、他の化合物も含む組成物が生成してもよい。種々の実施形態では、上述の組成物は、50重量%、55重量%、60重量%、65重量%、70重量%、75重量%、80重量%、85重量%、90重量%、95重量%、98重量%または99重量%より多い所望の化合物を含む。いくつかの実施形態では、上述の組成物は、式（I）の1つ以上のさらなる化合物を含む。いくつかの実施形態では、上述の組成物は、

【化116】



【化 1 1 7】

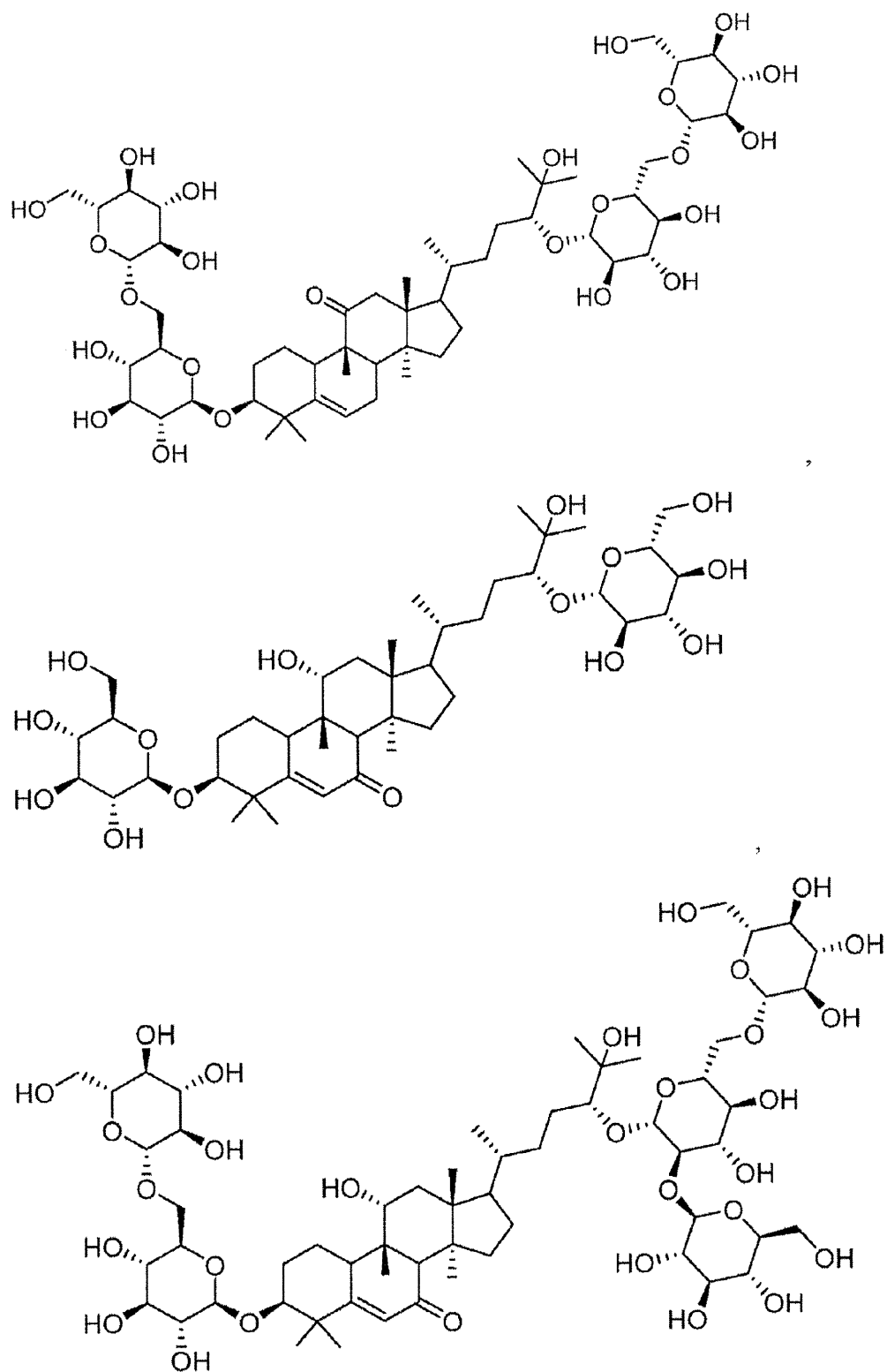


Chemical structures of two steroid glycosides, labeled 1 and 2, are shown. Both structures consist of a steroid nucleus (four fused rings: three six-membered and one five-membered) with various functional groups and sugar moieties attached.

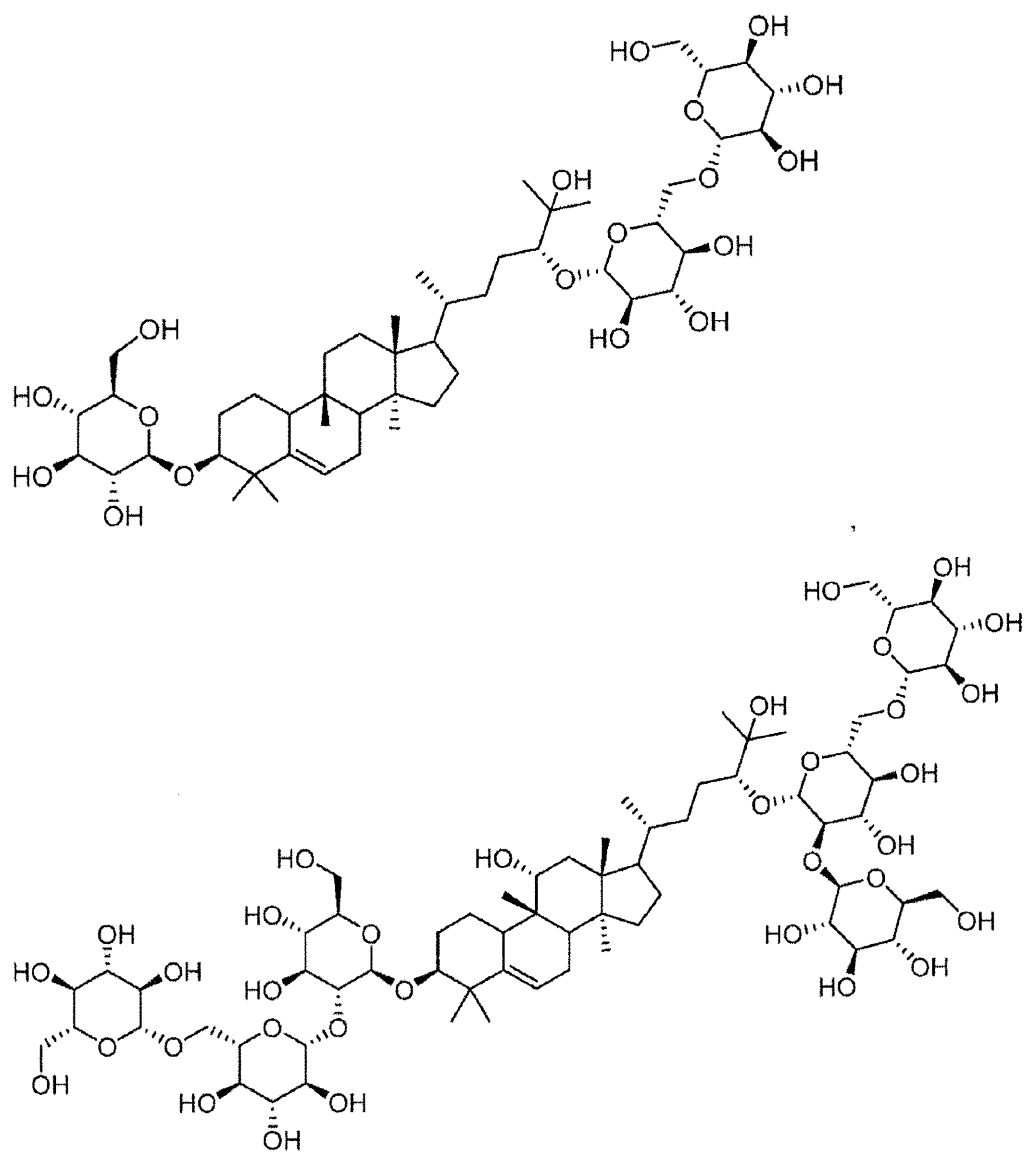
Structure 1 (top) features a steroid nucleus with a hydroxyl group at C3, a ketone at C6, and a side chain at C17. The side chain includes a quaternary carbon with a hydroxyl group and a methyl group, and a terminal sugar moiety (a pyranose ring) linked via an oxygen atom. The sugar moiety has hydroxyl groups at C2, C3, and C4.

Structure 2 (bottom) features a steroid nucleus with a hydroxyl group at C3, a ketone at C6, and a side chain at C17. The side chain includes a quaternary carbon with a hydroxyl group and a methyl group, and a terminal sugar moiety (a pyranose ring) linked via an oxygen atom. The sugar moiety has hydroxyl groups at C2, C3, and C4.

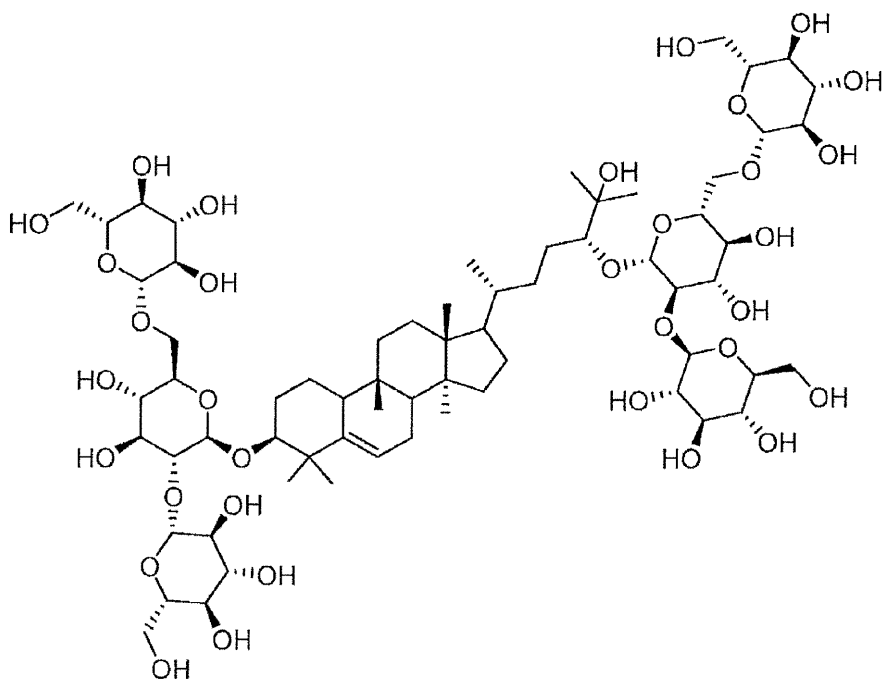
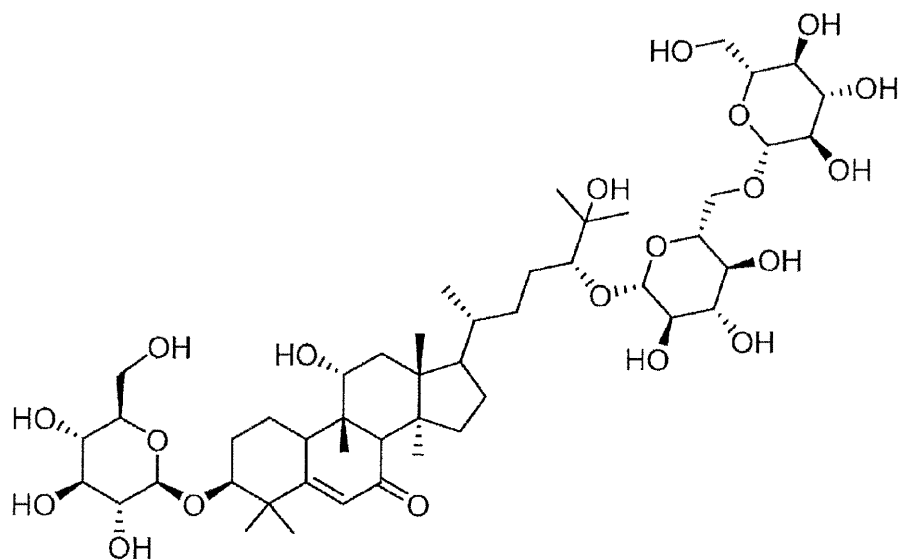
【化 1 1 9】



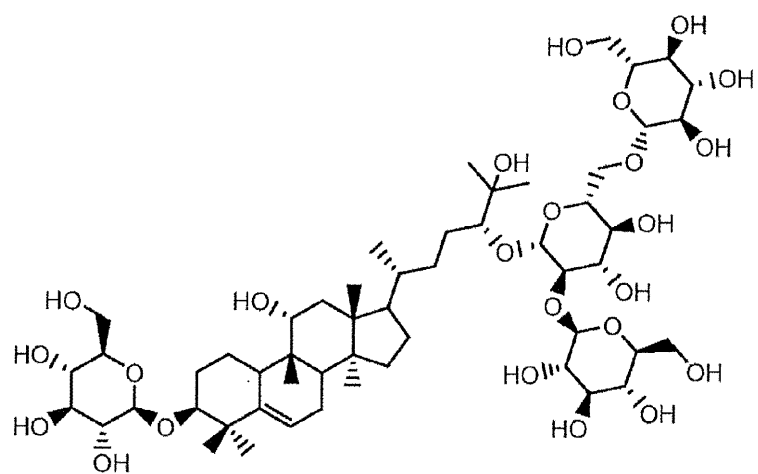
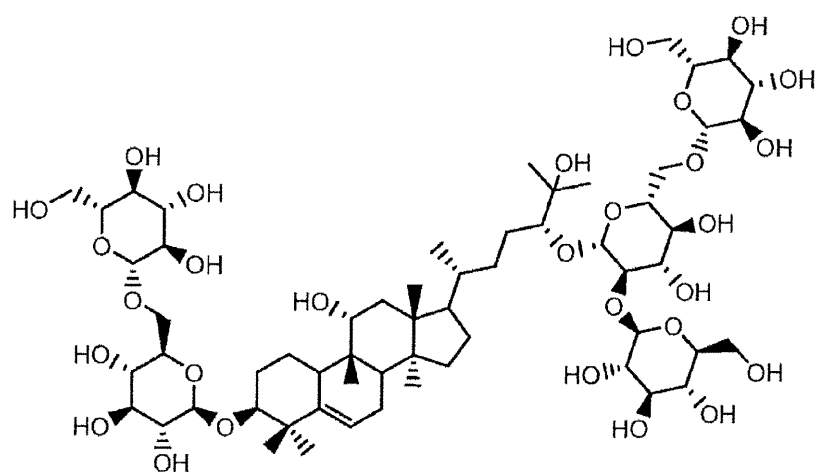
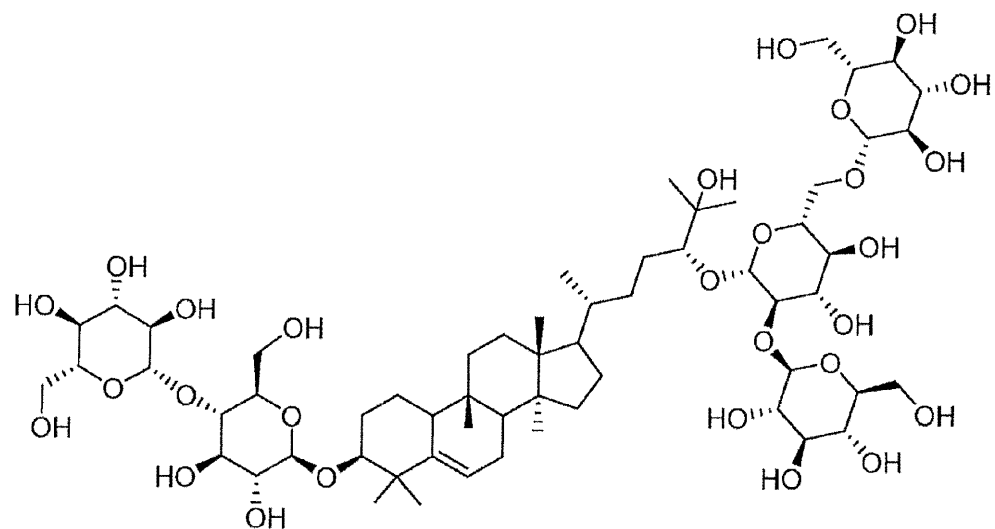
【化 1 2 0】



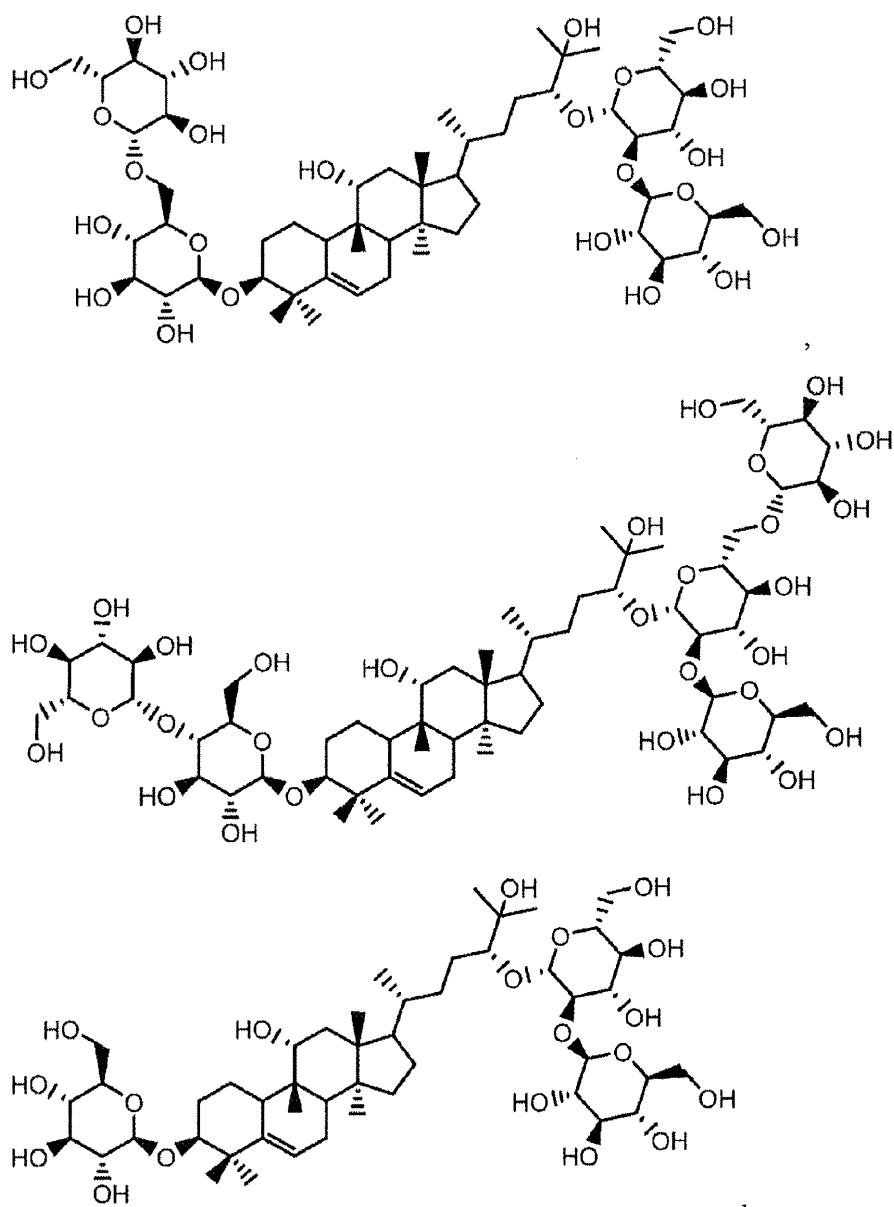
【化 1 2 1】



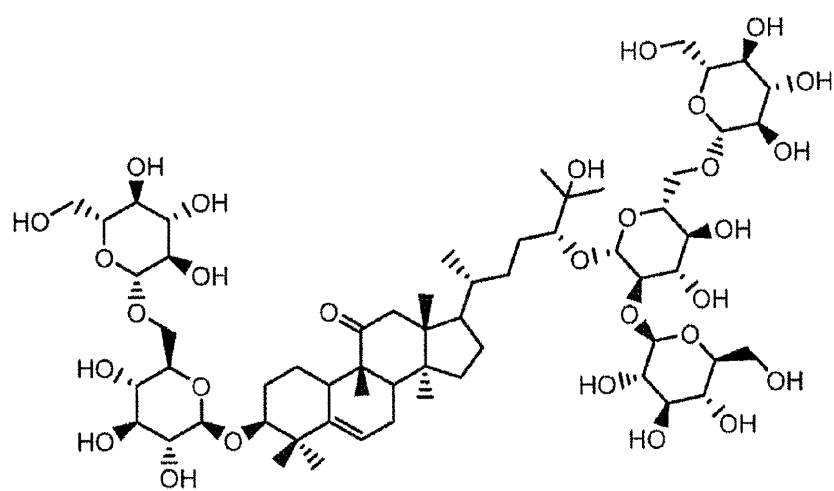
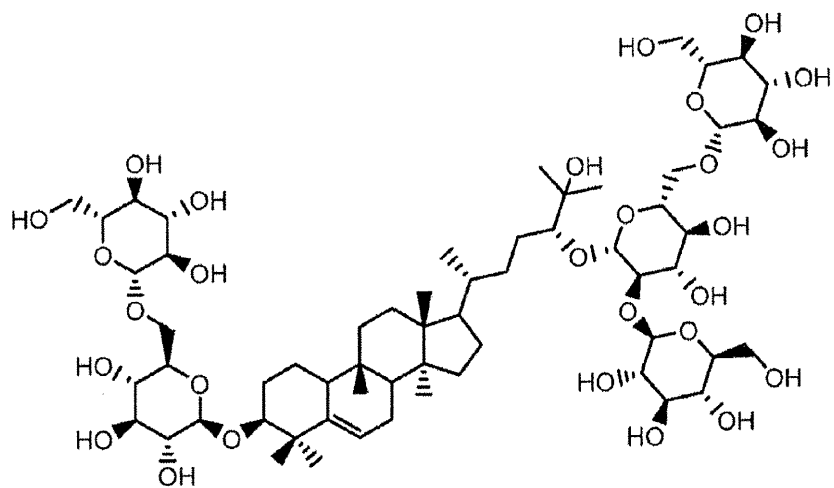
【化 1 2 2】



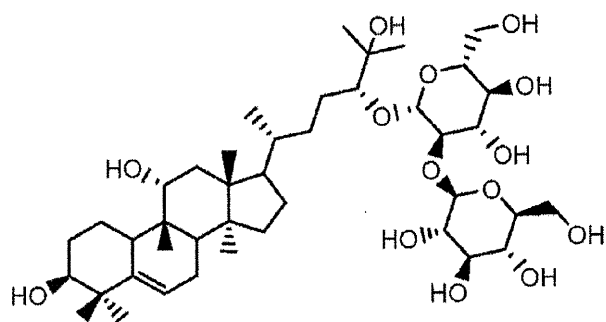
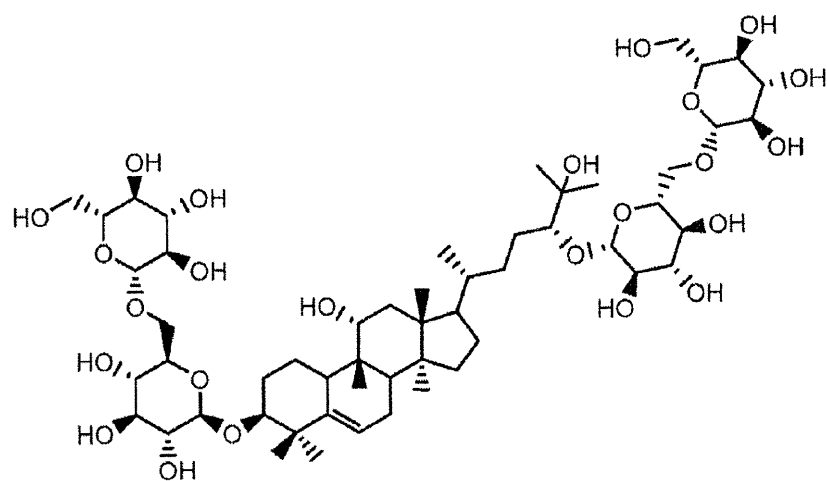
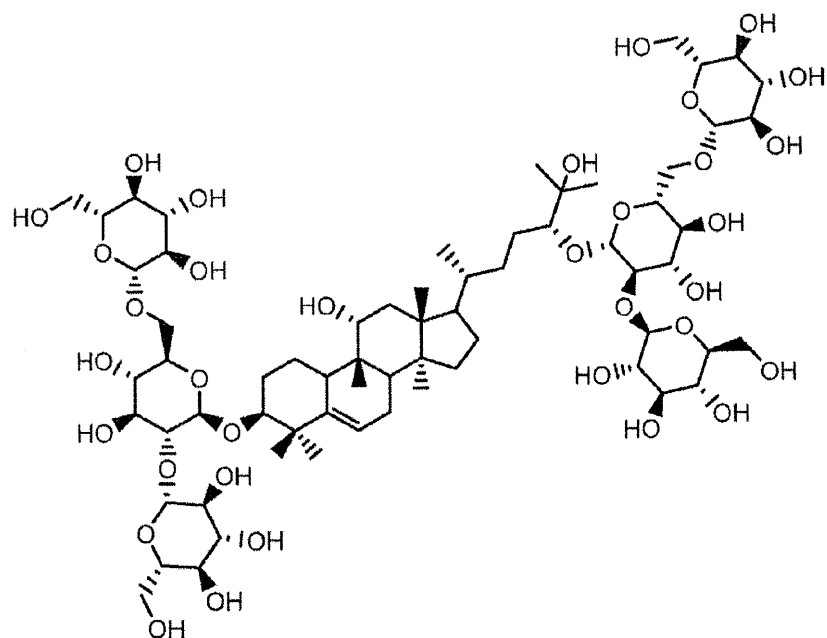
【化 1 2 3】



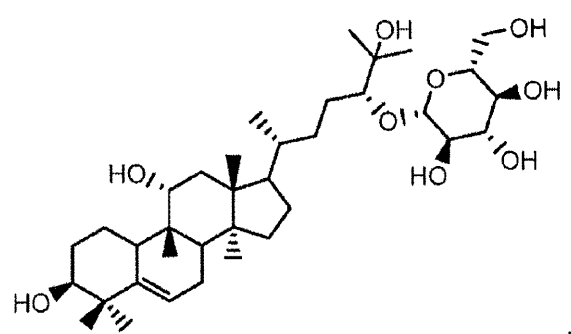
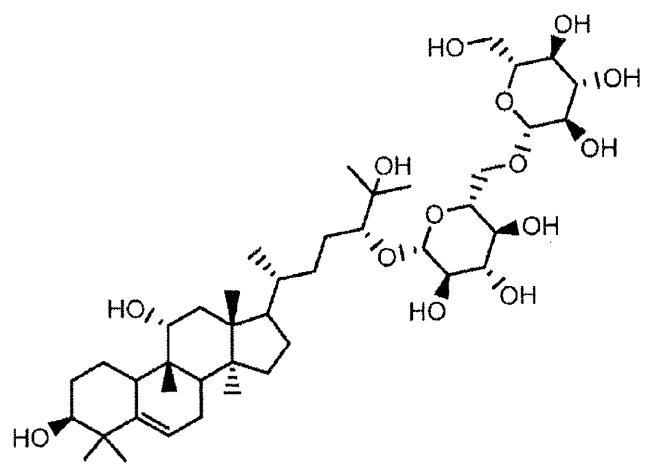
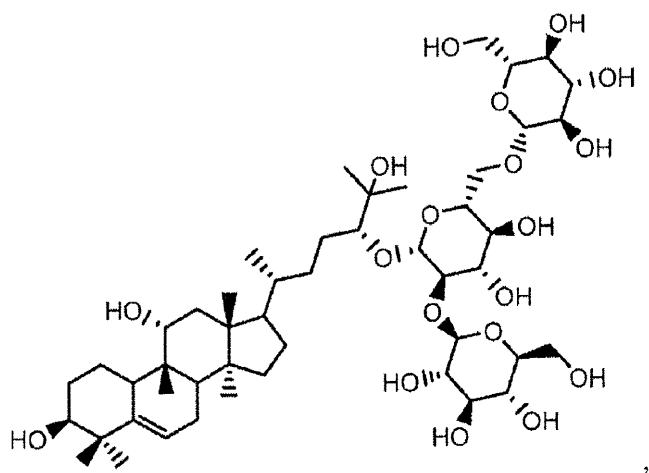
【化 1 2 4】



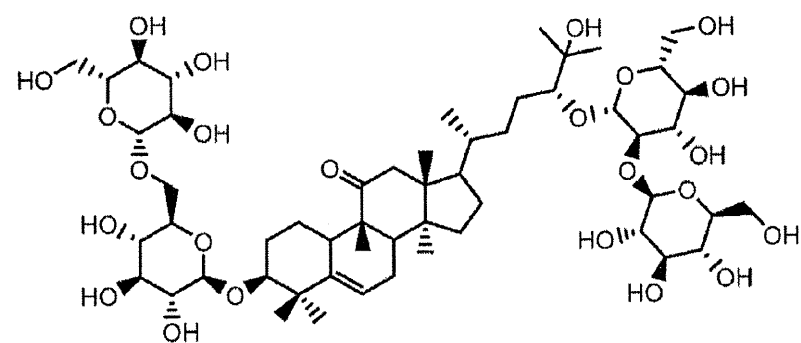
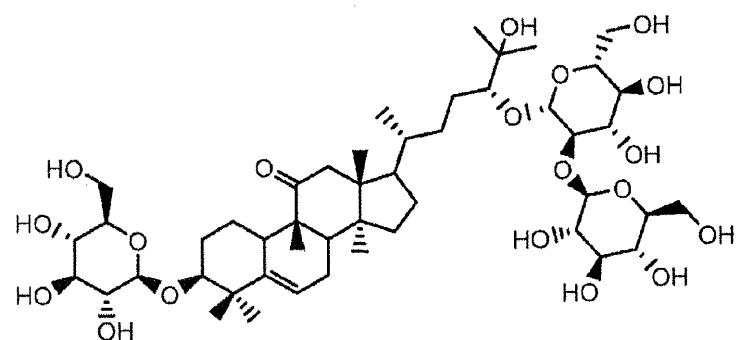
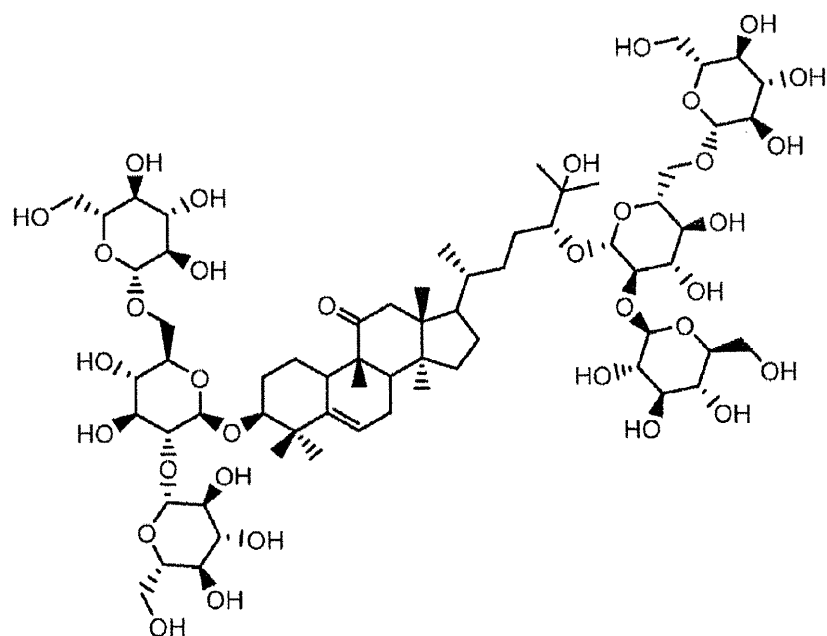
【化 1 2 5】



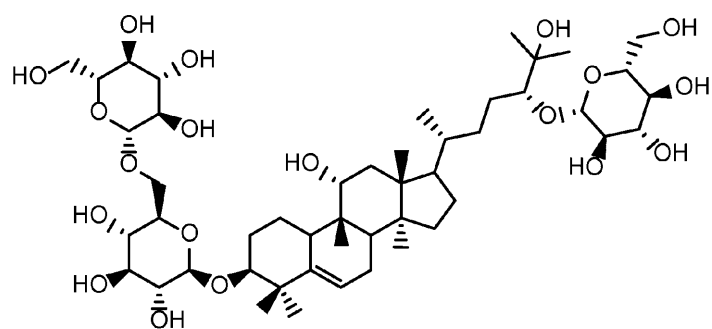
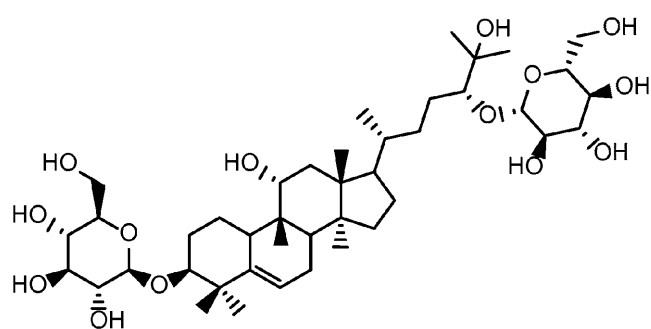
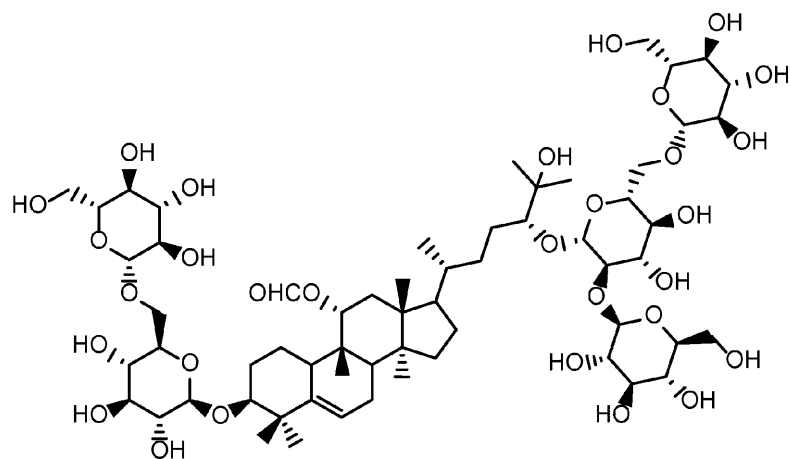
【化 1 2 6】



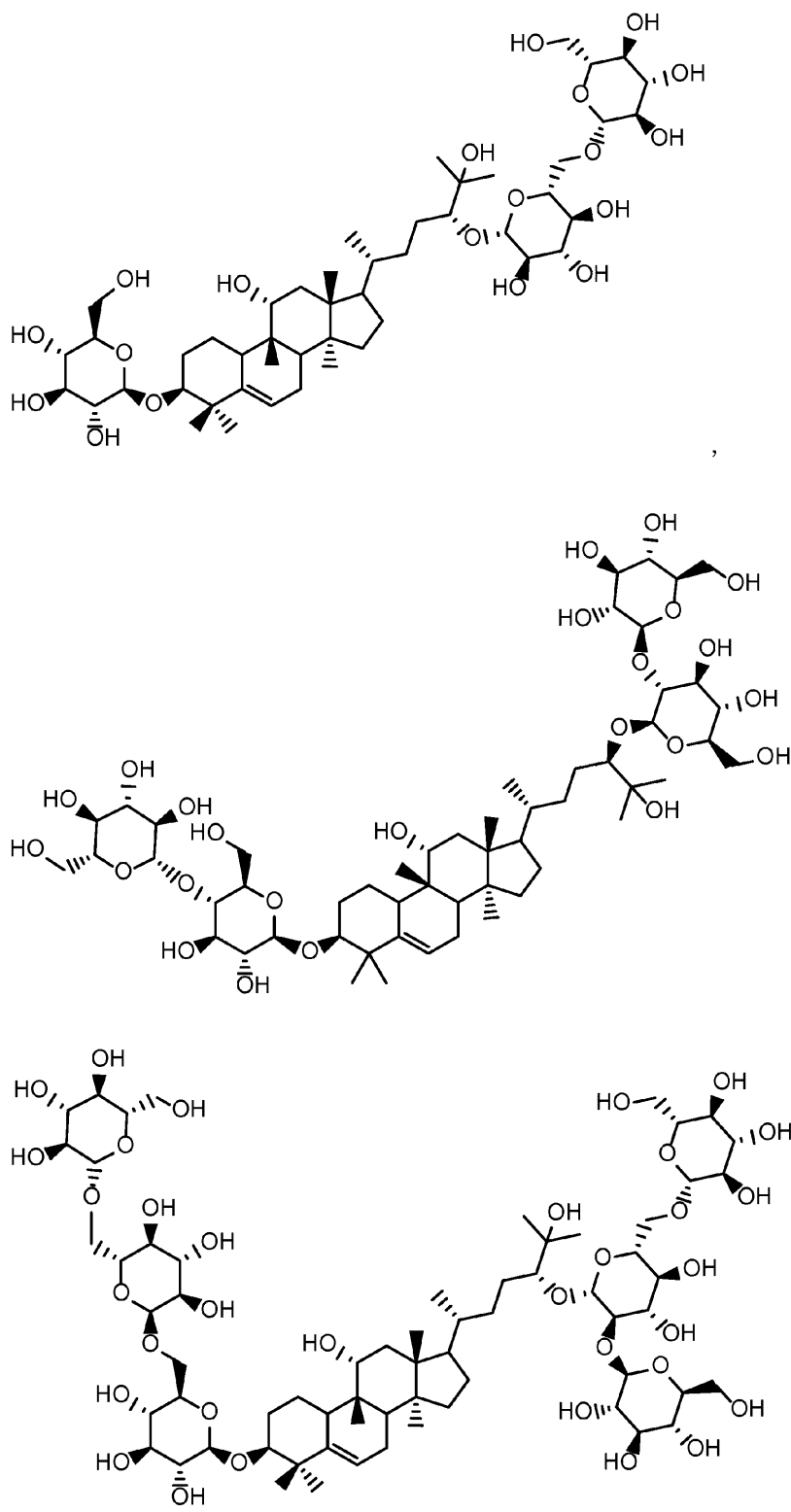
【化 1 2 7】



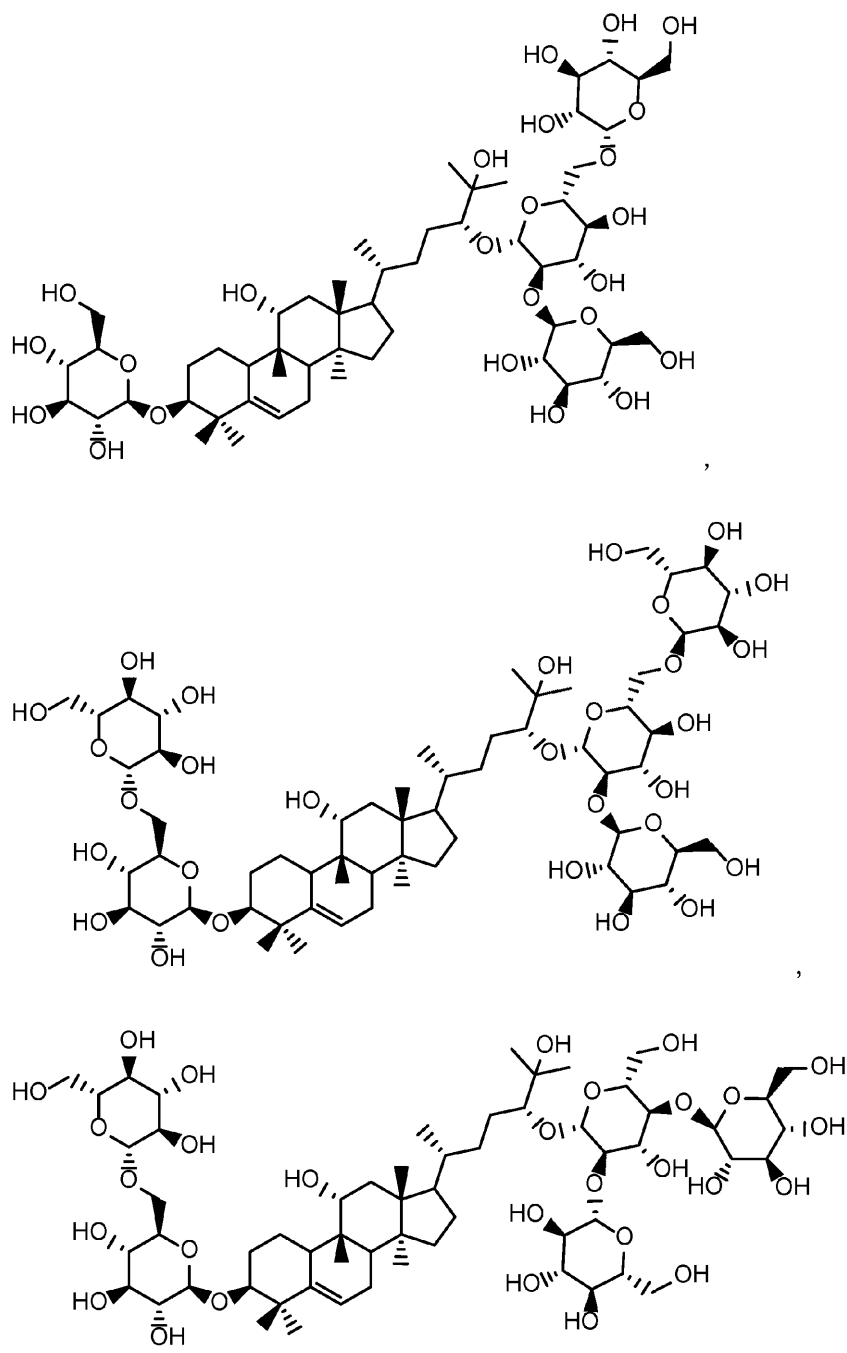
【化 1 2 8】



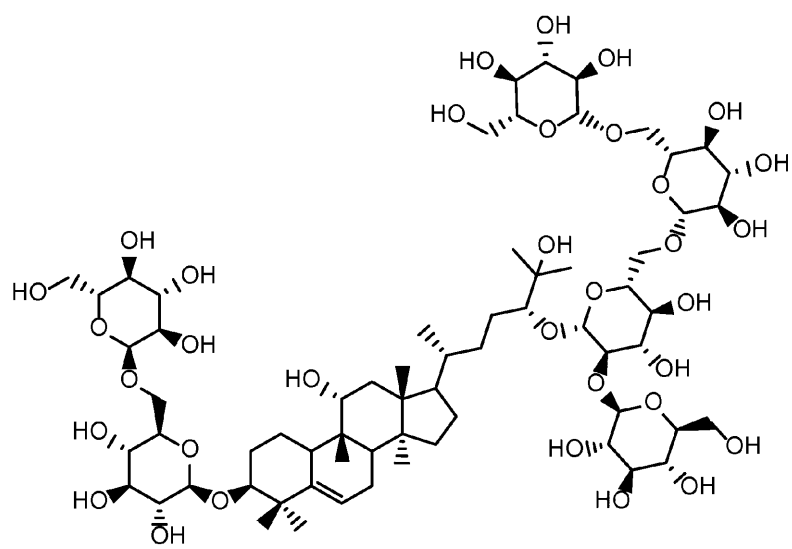
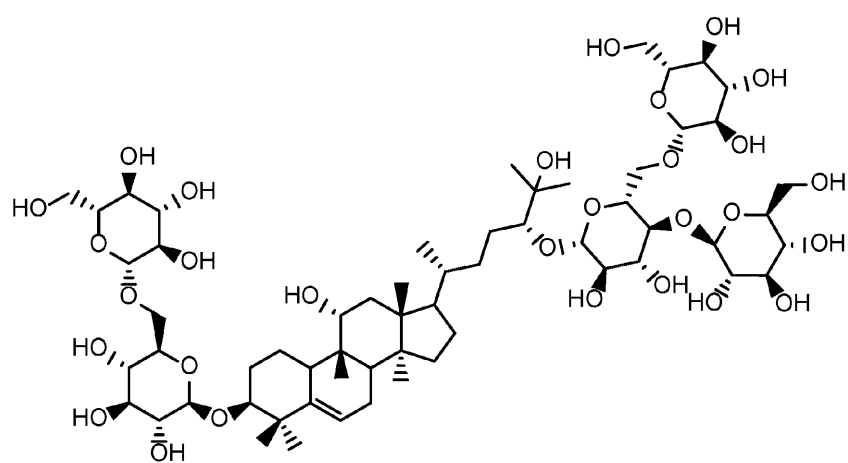
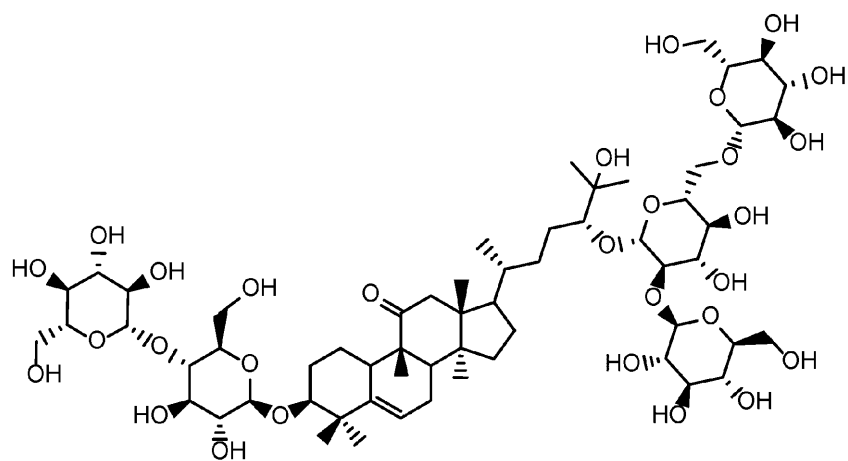
【化 1 2 9】



【化 1 3 0】

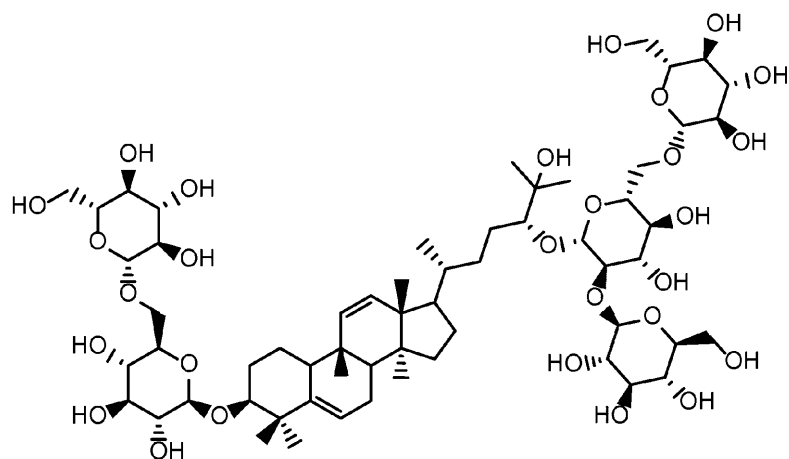


【化 1 3 1】



および

【化 1 3 2】



から選択される 1 つ以上の化合物を含む。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 4 1

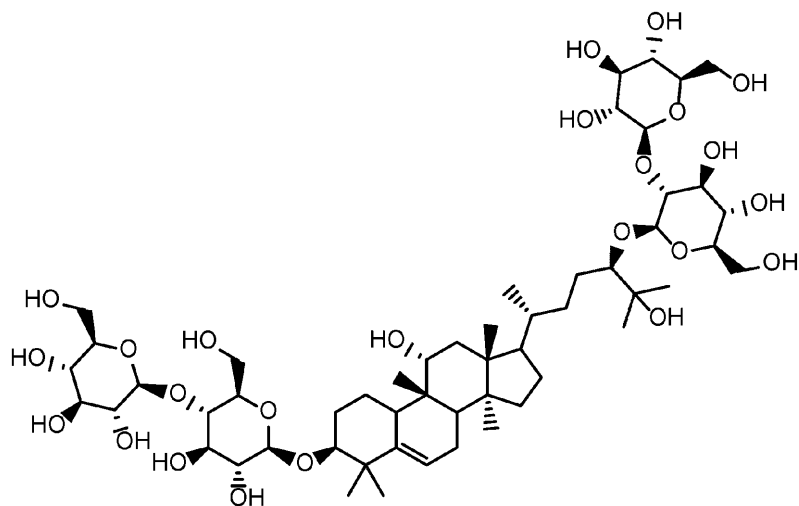
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 4 1】

いくつかの実施形態は、化合物 1：

【化 1 6 4】



(1)

を製造する方法であって、*Siraitia grosvenorii* の抽出物を HPLC カラムで分画することと、化合物 1 を含む溶出画分を回収することとを含む、方法を提供する。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 4 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 4 2】

いくつかの実施形態は、化合物 1 8

(18)

いくつかの実施形態は、化合物 3 の化合物

(3)

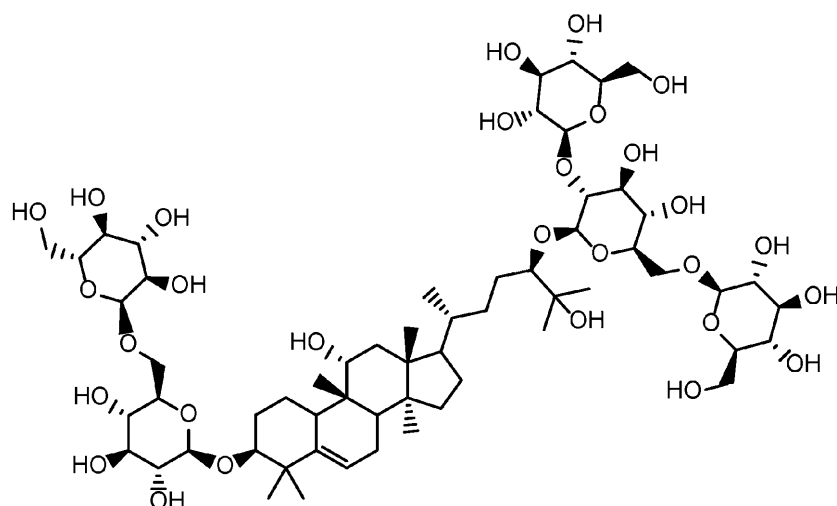
【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 3 4 4 】

いくつかの実施形態は、化合物 1 2 の化合物

【化 1 6 7 】



(1 2)

を製造する方法であって、モグロシド V I をパン酵母由来のインベルターゼで処理することを含む方法を提供する。

【手続補正 1 1 】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 3 4 5

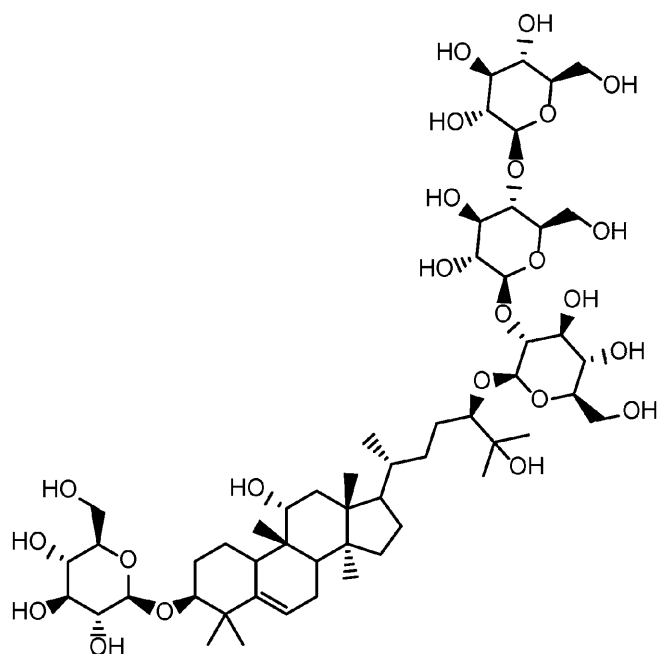
【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 3 4 5 】

いくつかの実施形態は、化合物 1 3 の化合物

【化 1 6 8 】



(1 3)

を製造する方法であって、 α -ラクトース存在下、モグロシド I I I _E をセルクラストで処理することを含む方法を提供する。

【手続補正 1 2 】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0346

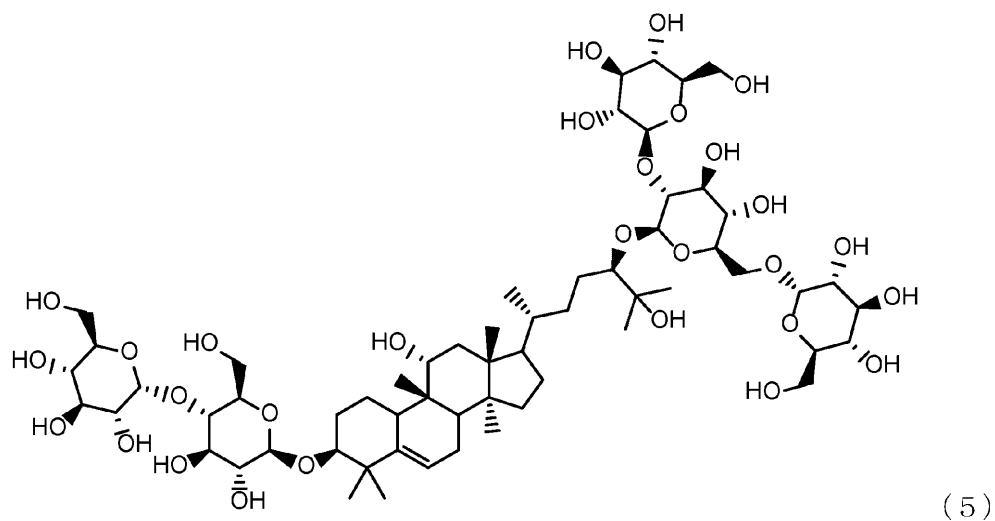
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0346】

いくつかの実施形態は、化合物5の化合物

【化169】



を製造する方法であって、デンプン存在下、モグロシドIIIEをシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼで処理することを含む方法を提供する。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0347

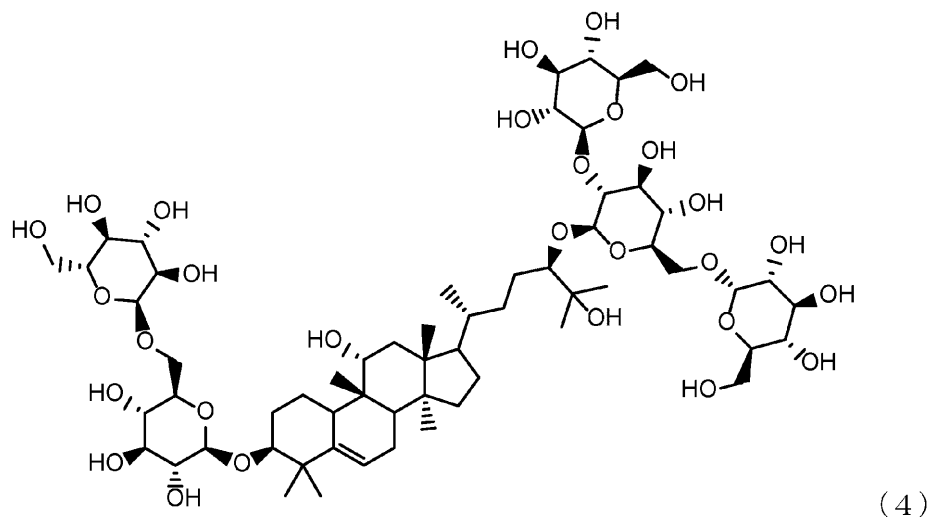
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0347】

いくつかの実施形態は、化合物4の化合物

【化170】



を製造する方法であって、デンプン存在下、モグロシドIIIEをシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼで処理することを含む方法を提供する。

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0348

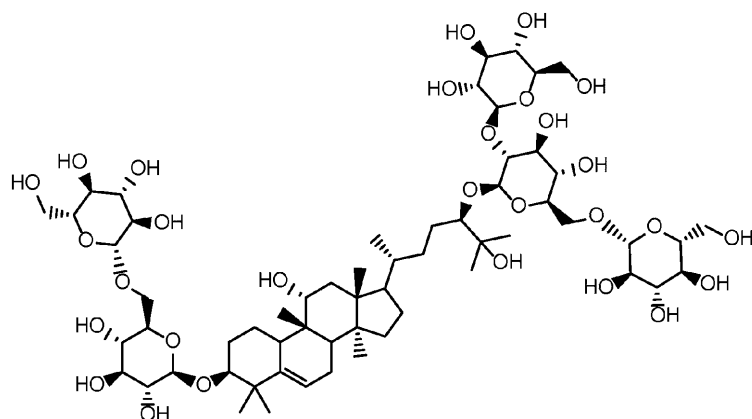
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0348】

(実施例1：モグロシドVの単離)

【化171】



【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0350

【補正方法】変更

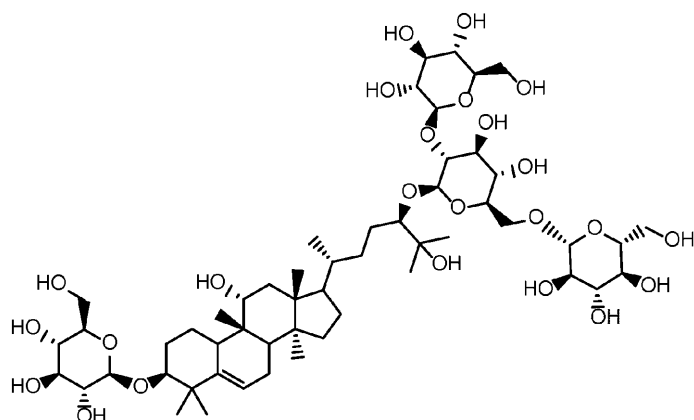
【補正の内容】

【0350】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル： 5.48 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, 6-H & G3-1-H), 5.19 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, G1-1H), 4.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, G2 & G4-1-H), 4.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, G5-1-H), 3.79 - 3.74 (m, 1H, 24-H), 3.69 (brs, 1H, 3-H), 1.53 (s, 3H, 29-Me), 1.46 (s, 3H, 27-Me), 1.34 (s, 6H, 26および28-Me), 1.09 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H, 21-Me), 1.07 (s, 3H, 19-Me), 0.92 (s, 6H, 18 & 30-Me)：ピリジン- d_5 サンプル中、 D_2O 交換によって同定される交換可能なプロトン。ESI MS 1285.86 (M-H) -。

(実施例2：シアメノシドIの単離と酵素による産生)

【化172】



【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 3 5 3

【補正方法】 変更

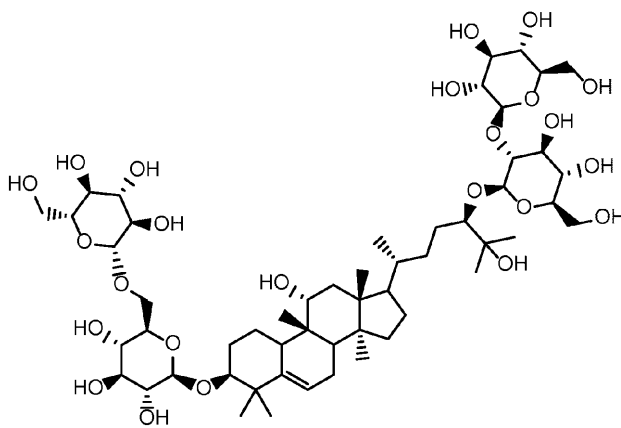
【補正の内容】

【 0 3 5 3 】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.48 (m, 2H, 6 & G3-1-H), 4.93 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 1H, G1-1-H), 4.89 (m, 2H, G2 & G4-1-H), 3.76 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 1H, 24-H), 3.66 (d, $J = 2.7\text{ Hz}$, 1H, 3-H), 1.56 (s, 3H, 29-Me), 1.46 (s, 3H, 27-Me), 1.34 (s, 6H, 26 & 28-Me), 1.12 (s, 3H, 19-Me), 1.07 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.92 (s, 6H, 18 & 30-Me); ESI-MS, 1123.83 (M-H)⁻; 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ 。

(実施例 3: モグロシド I V_E の単離と酵素による産生)

【化 1 7 3】



【手続補正 1 7】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 3 5 6

【補正方法】 変更

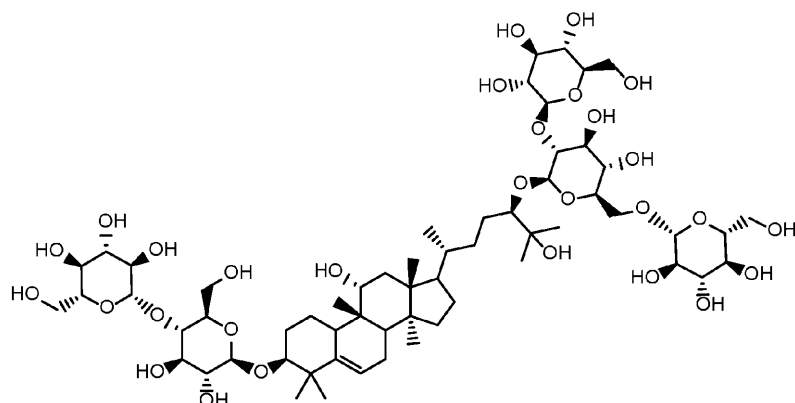
【補正の内容】

【 0 3 5 6 】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.42 (1H, HDOピークと合わさっている), 5.35 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 5.11 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 5.01 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 4.77 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 1H), 3.66 (s, 1H), 1.46 (s, 6H), 1.41 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.82 (s, 3H); ESI-MS 1147.6 (M+Na)⁺, 1123.80 (M-H)⁻; 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ 。

(実施例 4: イソ・モグロシド V の単離)

【化 1 7 4】



【手続補正 1 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 5 8

【補正方法】変更

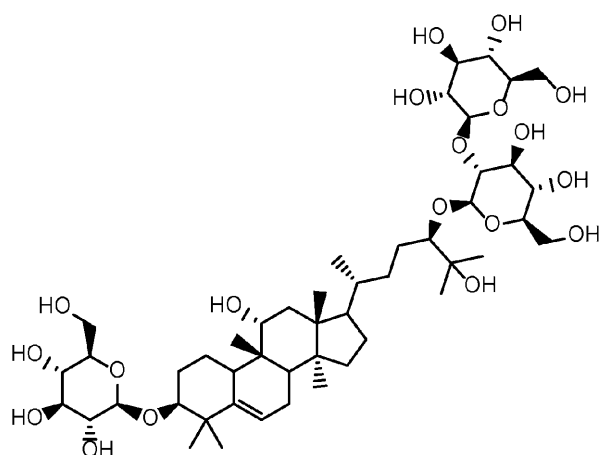
【補正の内容】

【0 3 5 8】

^1H NMR (400 MHz, メタノール- d_4)、選択されたシグナル: 5.49 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, 6-H), 4.78 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, G1-1H), 4.44 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, G2-1H), 4.41 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G3-1H), 4.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G4-1H), 4.28 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G5-1H), 1.19 (s, 3H, 29-Me), 1.15 (s, 3H, 27-Me), 1.11 (s, 6H, 26 & 19-Me), 1.08 (s, 3H, 28-Me), 0.98 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H, 21-Me), 0.92 (s, 3H, 30-Me), 0.89 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1285.67 (M-H) $^-$; 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29}$ 。

(実施例 5: モグロシド III_E の単離と酵素による産生)

【化 1 7 5】



【手続補正 1 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 6 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

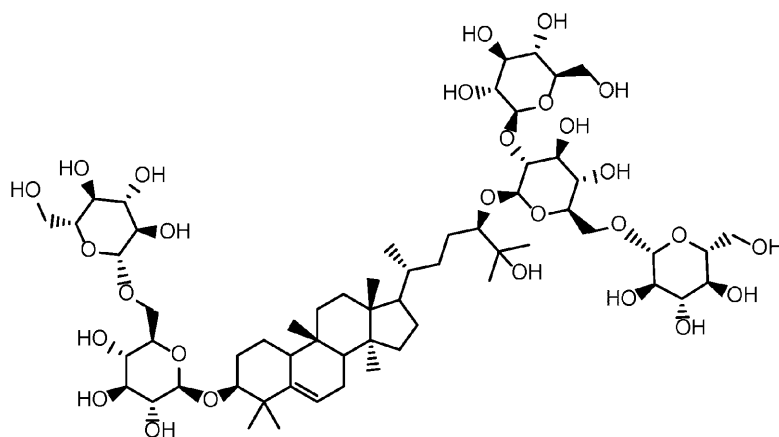
【0 3 6 1】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.48 (m, 1H, 6-H), 5.35 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, G2-1H), 5.10

(d, J = 7.7 Hz, 1H, G1 - 1H), 4.91 (d, J = 7.8 Hz, 1H, G3 - 1H), 3.93 (m, 1H, 24 - H), 3.68 (s, 1H, 3 - H), 1.57 (s, 1H, 26 - Me), 1.50 (s, 1H, 29 - Me), 1.46 (s, 3H, 27 - Me), 1.33 (s, 3H, 19 - Me), 1.14 (s, 3H, 28 - Me), 1.06 (d, J = 6.3 Hz, 3H, 21 - Me), 0.89 (s, 3H, 30 - Me), 0.88 (s, 3H, 18 - Me); ESI - MS 985.59 (M + Na)⁺, 961.71 (M - H)⁻; 分子式 C₄₈H₈₂O₁₉。

(実施例 6 : 11 - デオキシ - モグロシド V の単離)

【化 176】



【手続補正 20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0363

【補正方法】変更

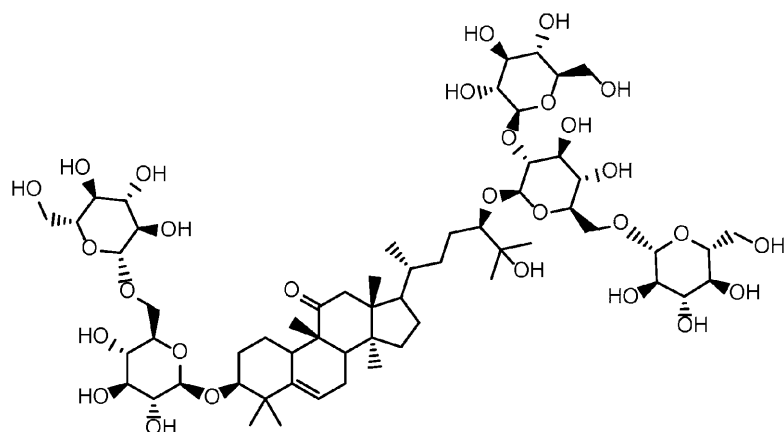
【補正の内容】

【0363】

¹H NMR (400 MHz, ピリジン - d₅)、選択されたシグナル: 5.49 (d, J = 7.7 Hz, 1H, G3 - 1 - H), 5.45 (m, 1H, 6 - H), 5.23 (d, J = 7.7 Hz, 1H, G5 - 1 - H), 4.94 (m, 1H, G1 - 1 - H), 4.89 (m, 1H, G2 - 1 - H), 4.84 (d, J = 7.8 Hz, 1H, G4 - 1 - H), 3.78 (m, 1H, H - 24), 3.70 (brs, 1H, H - 3), 1.52 (s, 3H, 27 - Me), 1.47 (s, 3H, 29 - Me), 1.36 (s, 3H, 26 - Me), 1.09 (d, J = 6.2 Hz, 3H, 21 - Me), 1.04 (s, 3H, 28 - Me), 0.89 (s, 3H, 19 - Me), 0.84 (s, 3H, 18 - Me), 0.80 (s, 3H, 30 - Me)。ESI - MS 1293.8 (M + Na)⁺, 1269.8 (M - H)⁻; 分子式 C₆₀H₁₀₂O₂₈。

(実施例 7 : 11 - オキシ - モグロシド V の単離)

【化 1 7 7】



【手続補正 2 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 6 5

【補正方法】変更

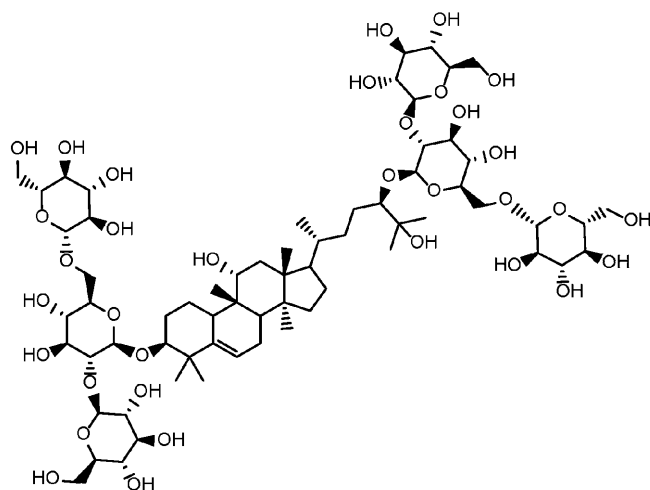
【補正の内容】

【0 3 6 5】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-6), 5.47 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, G3-1-H), 5.17 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G1-1-H), 4.88 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G5-1-H), 4.82 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G2-1-H), 3.76 (m, 1H, 24-H), 3.67 (s, 1H, 3-H), 1.52 (s, 3H, 26-Me), 1.46 (s, 3H, 29-Me), 1.35 (s, 3H, 27-Me), 1.18 (s, 3H, 28-Me), 1.03 (s, 3H, 19-Me), 1.02 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, 21-Me), 1.00 (s, 3H, 30-Me), 0.74 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1307.45 ($M + \text{Na}$) $^+$, 1283.81 ($M - \text{H}$) $^-$; 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{100}\text{O}_{29}$ 。

(実施例 8: モグロシド VI の単離)

【化 1 7 8】



【手続補正 2 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 6 7

【補正方法】変更

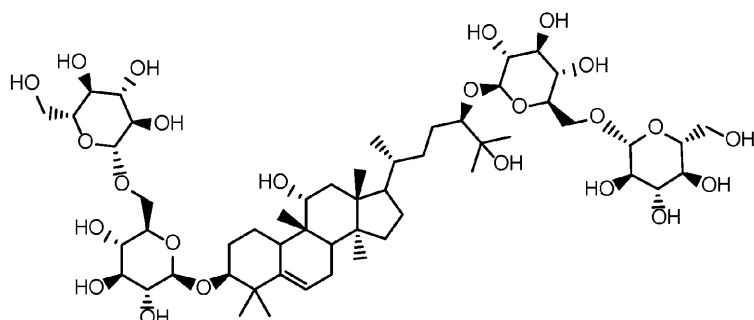
【補正の内容】

【 0 3 6 7 】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.5 (m, 1H, G3-1H, HDOピークと合わさっている), 5.42 (m, 1H, 6-H), 5.19 (m, 2H, G6 & G2-1H), 4.88 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G4-1H), 4.83 (m, 2H, G1-1H), 4.77 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G5-1H), 3.69 (d, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1H, 24-H), 1.48 (s, 3H, 29-Me), 1.42 (s, 3H, 27-Me), 1.28 (s, 3H, 26-Me), 1.25 (s, 3H, 19-Me), 1.09 (s, 3H, 28-Me), 1.02 (d, $J = 6.2\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.85 (s, 3H, 30-Me), 0.82 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1471.51 ($M + Na$)⁺, 1447.83 ($M - H$)⁻; 分子式 $C_{66}H_{112}O_{34}$ 。

(実施例 9: モグロシド I V_A の単離と酵素による産生)

【 化 1 7 9 】



【 手 続 補 正 2 3 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 3 7 0

【 補 正 方 法 】 変 更

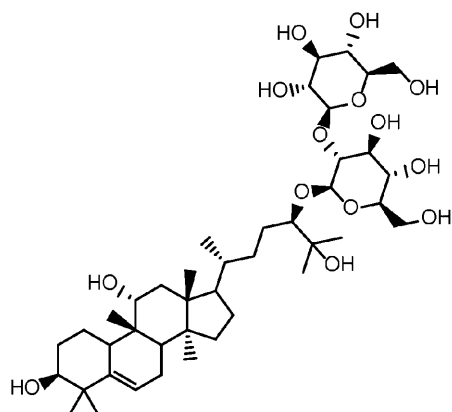
【 補 正 の 内 容 】

【 0 3 7 0 】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.49 (d, $J = 6.0\text{ Hz}$, 1H, 6-H), 5.19 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G4-1H), 4.93 (m, 1H, G1-1H), 4.87 (m, 2H, G2 & G3-1H), 3.78 (br d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1H, 24-H), 3.73 (s, 1H, 3-H), 1.54 (s, 3H, 29-Me), 1.46 (s, 3H, 26-Me), 1.33 (s, 6H, 19 & 27-Me), 1.12 (m, 3H, 28-Me), 0.94 (d, $J = 6.5\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.92 (s, 3H, 18-Me), 0.84 (s, 3H, 30-Me); ESI-MS 1147.32 ($M + Na$)⁺, 1123.66 ($M - H$)⁻; 分子式 $C_{54}H_{92}O_{24}$ 。

(実施例 10: セルクラストからのモグロシド I I_A の酵素による産生)

【化 1 8 0】



【手続補正 2 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 7 2

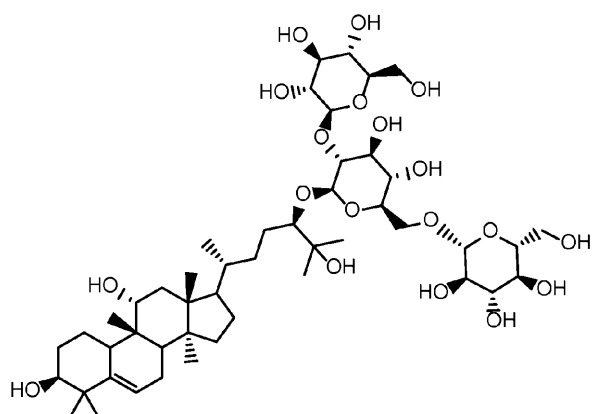
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 7 2】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5)、選択されたシグナル: 5.58 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, 6-H), 5.36 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, G2-1H), 5.00 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G1-1H), 3.88 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, 24-H), 3.69 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H, 3-H), 1.46 (s, 3H, 27-Me), 1.41 (s, 3H, 26-Me), 1.38 (s, 3H, 29-Me), 1.33 (s, 3H, 19-Me), 1.14 (s, 3H, 28-Me), 1.02 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, 21-Me), 0.89 (s, 3H, 30-Me), 0.84 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 823.56 ($M + Na$)⁺, 799.6 ($M - H$)⁻; 分子式 $C_{42}H_{72}O_{14}$ 。
(実施例 11: アロマーゼからのモグロシド I I I_{A1} の酵素による産生)

【化 1 8 1】



【手続補正 2 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 7 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

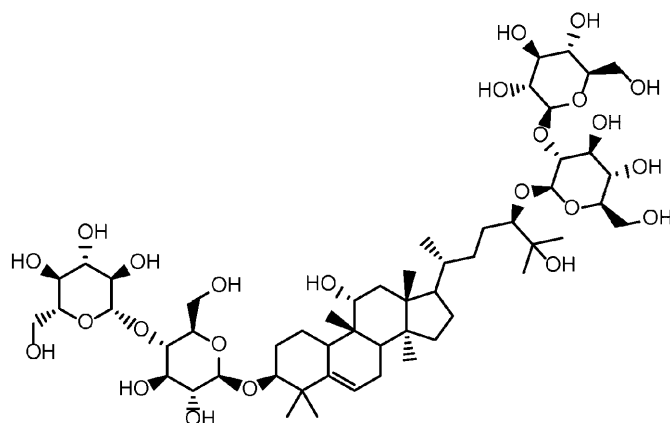
【0 3 7 4】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル 5.59 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, 6-H), 5.51 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H,

G 2 - 1 H) , 4 . 8 4 (m , 1 H , G 1 - 1 H) , 4 . 7 9 (d , J = 7 . 7 H z , 1 H , G 3 - 1 H) , 3 . 7 1 (d , J = 9 . 0 H z , 1 H , 2 4 - H) , 3 . 6 8 (d , J = 3 . 1 H z , 1 H , 3 - H) , 1 . 4 3 (s , 3 H , 2 6 - M e) , 1 . 3 8 (s , 3 H , 2 8 - M e) , 1 . 3 4 (s , 3 H , 1 9 - M e) , 1 . 2 9 (s , 3 H , 2 7 - M e) , 1 . 1 4 (s , 3 H , 2 9 - M e) , 1 . 0 4 (d , J = 6 . 4 H z , 3 H , 2 1 - M e) , 0 . 9 4 (s , 3 H , 3 0 - M e) および 0 . 8 7 (s , 3 H , 1 8 - M e) ; E S I - M S ; 9 6 1 . 3 4 (M - H) ⁻ ; 分子式 C₄₈H₈₂O₁₉。

(実施例 1 2 : 化合物 1 の単離)

【化 1 8 2】



【手続補正 2 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 7 6

【補正方法】変更

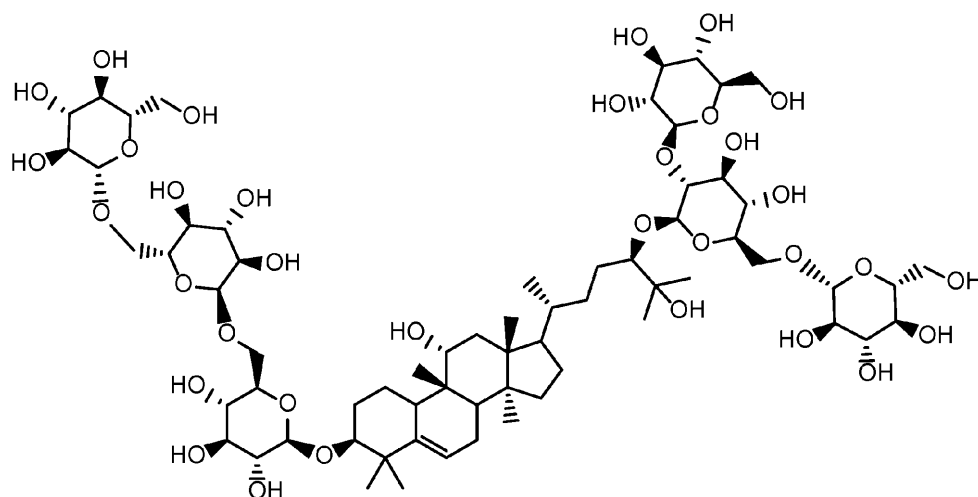
【補正の内容】

【0 3 7 6】

¹ H NMR (4 0 0 M H z , ピリジン - d₅ + D₂O) 、選択されたシグナル :
 5 . 3 7 (s , 1 H , 6 - H) , 5 . 3 5 (d , J = 7 . 8 H z , 1 H , G 2 - 1 - H) , 5 . 1 4 (d , J = 7 . 9 H z , 1 H , G 4 - 1 - H) , 5 . 0 0 (d , J = 7 . 7 H z , 1 H , G 1 - 1 - H) , 4 . 7 7 (d , J = 8 . 0 H z , 1 H , G 3 - 1 - H) , 3 . 5 7 (s , 1 H , 3 - H) , 1 . 4 9 (s , 3 H , 2 9 - M e) , 1 . 4 5 (s , 3 H , 2 7 - M e) , 1 . 4 1 (s , 3 H , 2 6 - M e) , 1 . 2 7 (s , 3 H , 1 9 - M e) , 1 . 1 0 (s , 3 H , 2 8 - M e) , 1 . 0 1 (d , J = 6 . 3 H z , 3 H , 2 1 - M e) , 0 . 8 4 (s , 3 H , 3 0 - M e) , 0 . 8 3 (s , 3 H , 1 8 - M e) ;
¹³ C NMR (1 0 1 M H z , ピリジン) 1 4 4 . 1 5 , 1 1 8 . 5 2 , 1 0 6 . 7 9 , 1 0 5 . 6 4 , 1 0 4 . 7 7 , 1 0 2 . 2 4 , 8 8 . 7 7 , 8 7 . 9 5 , 8 2 . 9 5 , 8 1 . 3 0 , 7 8 . 4 3 , 7 8 . 3 7 , 7 8 . 3 2 , 7 7 . 9 8 , 7 7 . 9 1 , 7 7 . 8 0 , 7 6 . 5 4 , 7 6 . 1 1 , 7 5 . 8 8 , 7 4 . 7 4 , 7 2 . 4 4 , 7 1 . 9 2 , 7 1 . 2 9 , 7 1 . 1 1 , 6 3 . 0 7 , 6 2 . 2 9 , 6 2 . 2 0 , 6 2 . 0 0 , 5 0 . 7 0 , 4 9 . 6 4 , 4 7 . 3 5 , 4 3 . 4 6 , 4 2 . 3 0 , 4 0 . 8 2 , 4 0 . 0 7 , 4 0 . 0 4 , 3 6 . 7 0 , 3 6 . 6 2 , 3 4 . 4 9 , 3 3 . 7 8 , 2 8 . 5 7 , 2 8 . 4 9 , 2 7 . 6 3 , 2 6 . 9 0 , 2 6 . 7 6 , 2 6 . 2 4 , 2 5 . 4 8 , 2 4 . 5 2 , 1 9 . 3 7 , 1 9 . 0 4 , 1 7 . 0 0 ; E S I - M S 1 1 4 7 . 7 4 (M + N a) ⁺ , 1 1 2 3 . 8 6 (M - H) ⁻ ; 分子式 C₅₄H₉₂O₂₄。

(実施例 1 3 : 化合物 2 の単離)

【化 1 8 3】



【手続補正 2 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 7 8

【補正方法】変更

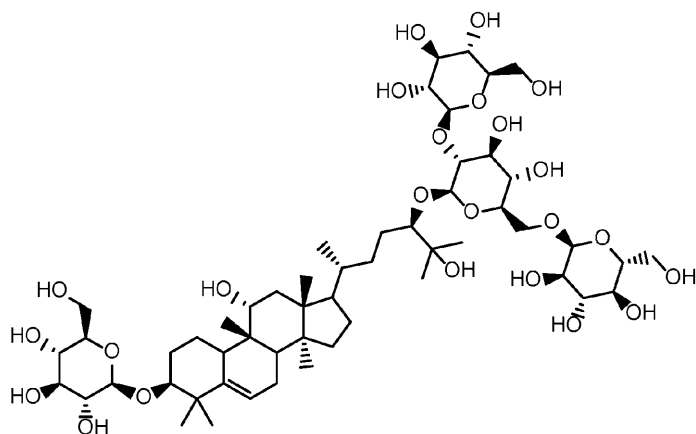
【補正の内容】

【0 3 7 8】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.51 (m, 1H, G3-1H), 5.45 (m, 1H, 6-H; HDOピークと合
 わさっている), 5.38 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, G5-1H), 5.10 (d, J
 $= 7.8$ Hz, 1H, G2またはG6-1H), 4.79 (m, 1H, G1-1H), 4.
 75 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G4-1H), 4.70 (m, 1H, G2またはG
 6-1H), 3.69 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 24-H), 3.63 (s, 1H,
 3-H), 1.46 (s, 3H, 29-Me), 1.42 (s, 3H, 26-Me), 1.
 28 (s, 6H, 27 & 19-Me), 1.06 (s, 3H, 28-Me), 1.03
 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, 21-Me), 0.88 (s, 3H, 30-Me) および
 0.84 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1471.96 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 1
 447.17 ($\text{M} - \text{H}$) $^-$; 分子式 $\text{C}_{66}\text{H}_{112}\text{O}_{34}$ 。

(実施例 14: 化合物 3 の単離と酵素による産生)

【化 1 8 4】



【手続補正 2 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 8 2

【補正方法】変更

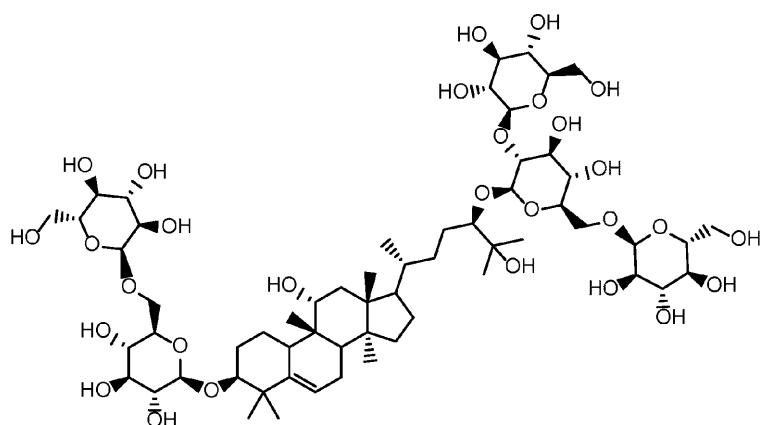
【補正の内容】

【0382】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.44 (m, 2H, 6-H & G2-1H, HDOピークと合わさっている), 5.37 (d, $J = 3.7\text{ Hz}$, 1H, G3-1H), 4.86 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G1-1H), 4.81 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G4-1H), 3.72 (m, 1H, 24-H), 3.61 (s, 1H, 3-H), 1.49 (s, 3H, 29-Me), 1.42 (s, 3H, 27-Me), 1.30 (s, 3H, 26-Me), 1.27 (s, 3H, 19-Me), 1.09 (s, 3H, 28-Me), 1.01 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.87 (s, 3H, 30-Me) および 0.84 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1125.94 (M-H)⁺, 1123.92 (M-H)⁻; 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ 。

(実施例15：化合物4の酵素による産生)

【化185】



【手続補正29】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0384

【補正方法】変更

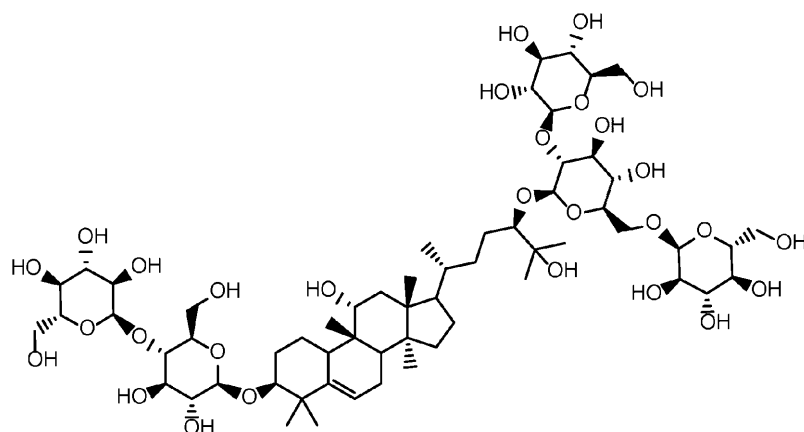
【補正の内容】

【0384】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.46 - 5.40 (m, 3H, H-6, G2-1H & G5-1H; HDOピークと合わさっている), 5.28 (d, $J = 3.7\text{ Hz}$, 1H, G3-1H), 4.84 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G1-1H), 4.82 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G4-1H), 3.71 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H, 24-H), 3.61 (s, 1H, 3-H), 1.49 (s, 3H, 28-Me), 1.41 (s, 3H, 26-Me), 1.29 (s, 3H, 27-Me), 1.28 (s, 3H, 19-Me), 1.10 (s, 3H, 29-Me), 1.01 (d, $J = 5.9\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.87 (s, 3H, 30-Me), 0.84 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1285.84 (M-H)⁻、分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29}$ 。

(実施例16：化合物5の酵素による産生)

【化 1 8 6】



【手続補正 3 0】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 8 6

【補正方法】変更

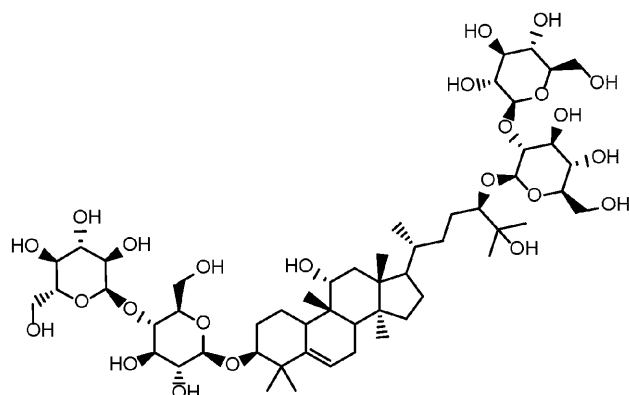
【補正の内容】

【0 3 8 6】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：, 5.90 (d, $J = 3.9\text{ Hz}$, 1H, G5 - 1H), 5.49 (m, 1H, G2 - 1H), 5.46 (m, 1H, 6 - H, HDOピークと重なっている), 5.34 (d, $J = 3.6\text{ Hz}$, 1H, G3 - 1H), 4.78 (m, 2H, G1 & G4 - 1H), 3.65 (m, 1H, 24 - H), 3.51 (brs, 1H, 3 - H), 1.45 (s, 3H, 28 - Me), 1.39 (s, 3H, 27 - Me), 1.27 (s, 3H, 19 - Me), 1.23 (s, 3H, 26 - Me), 1.19 (s, 3H, 29 - Me), 1.08 (d, $J = 6.2\text{ Hz}$, 3H, 21 - Me), 1.00 (s, 3H, 30 - Me) & 0.87 (s, 3H, 18 - Me); ESI-MS 1285.79 (M - H) $^-$; 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29}$ 。

(実施例 17：化合物 6 の酵素による産生)

【化 1 8 7】



【手続補正 3 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 8 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

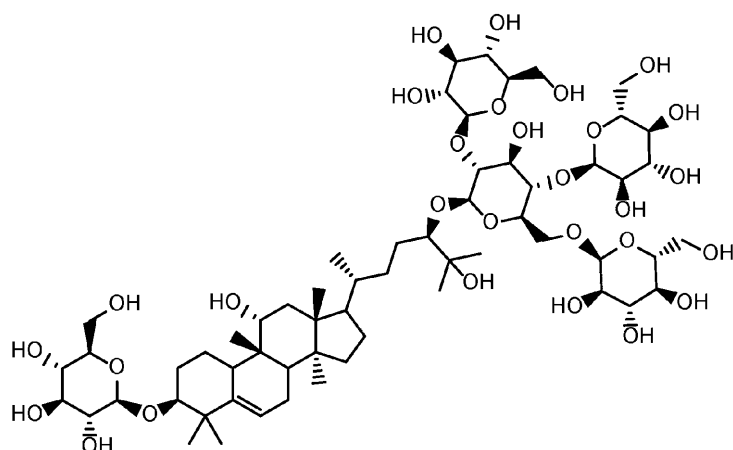
【0 3 8 8】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル： 5.94 (d, $J = 3.8\text{ Hz}$, 1H, G4 - 1H), 5.42 (m, 1H, 6 - H, H

D O ピークと合わさっている), 5.36 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G2 - 1H), 5.01 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G1 - 1H), 4.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G3 - 1H), 3.88 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 24 - H), 3.58 (s, 1H, 3 - H), 1.46 (m, 6H, 26 & 28 - Me), 1.41 (s, 3H, 27 - Me), 1.32 (s, 3H, 19 - Me), 1.09 (s, 3H, 29 - Me), 1.01 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, 21 - Me), 0.84 (br s, 6H, 18 & 30 - Me); ESI-MS 1123.63 (M - H)⁻; 分子式 C₅₄H₉₂O₂₄。

(実施例 18: 化合物 7 の酵素による産生)

【化 188】



【手続補正 32】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0390

【補正方法】変更

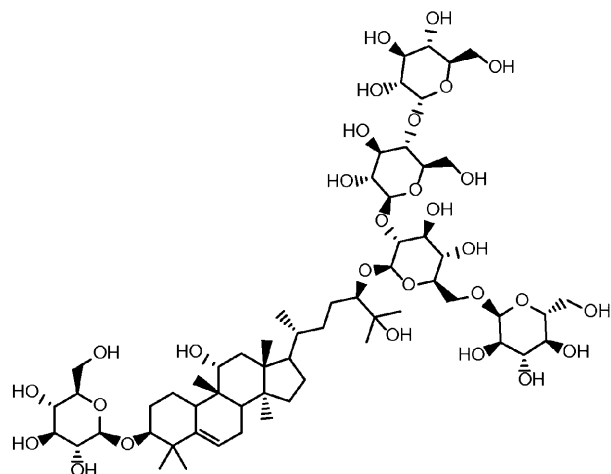
【補正の内容】

【0390】

¹H NMR (400 MHz, ピリジン - d₅ + D₂O)、選択されたシグナル: 5.82 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, G5 - 1H), 5.45 (m, 1H, G2 - 1H, HDO ピークと合わさっている), 5.43 (m, 1H, 6 - H, HDO ピークと合わさっている), 5.32 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, G4 - 1H), 4.86 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, G1 - 1H), 4.81 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G3 - 1H), 3.70 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, 24 - H), 3.60 (s, 1H, 3 - H), 1.48 (s, 3H, 28 - Me), 1.45 (s, 3H, 26 - Me), 1.32 (s, 3H, 27 - Me), 1.27 (s, 3H, 19 - Me), 1.09 (s, 3H, 29 - Me), 1.01 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, 21 - Me), 0.88 (s, 3H, 30 - Me), 0.84 (s, 2H, 18 - Me); ESI-MS 1287.76 (MH)⁺, 1285.96 (M - H)⁻, 分子式 C₆₀H₁₀₂O₂₉。

(実施例 19: 化合物 8 の酵素による産生)

【化 1 8 9】



【手続補正 3 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 9 2

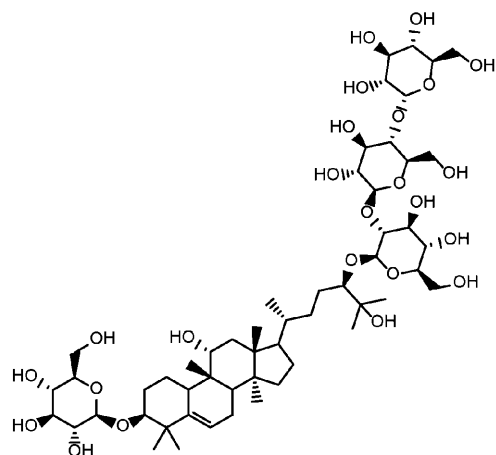
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 9 2】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.83 (d, $J = 3.9\text{ Hz}$, 1H, G5 - 1H), 5.45 (m, 1H, 6 - H, HDOピークと合わさっている), 5.43 (m, 1H, G2 - 1H, HDOピークと合わさっている), 5.37 (d, $J = 3.6\text{ Hz}$, 1H, G4 - 1H), 4.86 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G1 - 1H), 4.73 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G3 - 1H), 3.72 (m, 1H, 24 - H), 3.58 (s, 1H, 3 - H), 1.47 (s, 3H, 28 - Me), 1.41 (s, 3H, 26 - Me), 1.29 (s, 3H, 27 - Me), 1.26 (s, 3H, 19 - Me), 1.08 (s, 3H, 29 - Me), 1.01 (d, $J = 6.2\text{ Hz}$, 3H, 21 - Me), 0.86 (s, 3H, 30 - Me), 0.83 (s, 3H, 18 - Me)。ESI - MS 1287.94 (MH) $^+$, 1285.96 (M - H) $^-$, 分子式 $C_{60}H_{102}O_{29}$ 。
 (実施例 20：化合物 9 の酵素による産生)

【化 1 9 0】



【手続補正 3 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 9 4

【補正方法】変更

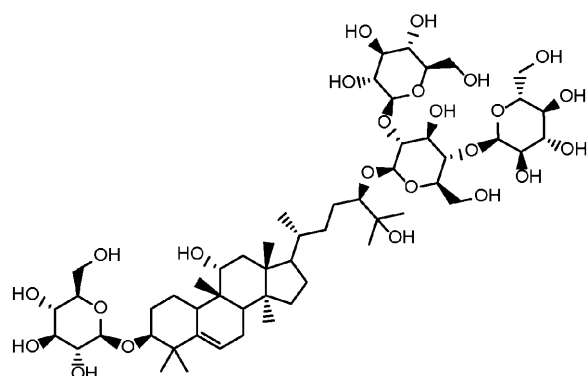
【補正の内容】

【0394】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + 30 μL の D_2O)、選択されたシグナル: 5.87 (d, $J = 3.9\text{ Hz}$, 1H, G4-1H), 5.44 (m, 1H, H-6, HDOピークと重なっている), 5.39 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 1H, G2-1H), 4.94 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G1-1H), 4.79 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G3-1H), 3.82 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 1H, 24-H), 3.55 (s, 1H, 3-H), 1.46 (s, 3H, 28-Me), 1.43 (s, 3H, 26-Me), 1.37 (s, 3H, 27-Me), 1.27 (s, 3H, 19-Me), 1.17 (s, 3H, 29-Me), 1.06 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.94 (s, 3H, 30-Me) および 0.85 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1123.66 (M-H) $^-$; 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ 。

(実施例 21: 化合物 10 の酵素による産生)

【化191】



【手続補正35】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0396

【補正方法】変更

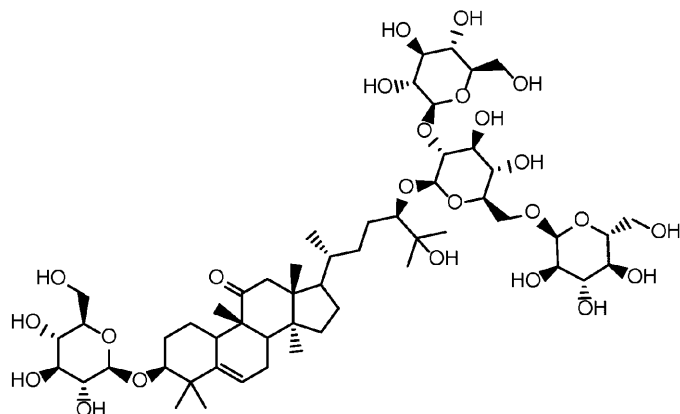
【補正の内容】

【0396】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + 30 μL の D_2O)、選択されたシグナル: 5.83 (d, $J = 3.9\text{ Hz}$, 1H, G4-1H), 5.44 (m, 1H, H-6, HDOピークと重なっている), 5.35 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G2-1H), 5.00 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, G1-1H), 4.74 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H, G3-1H), 3.69 (d, $J = 8.5\text{ Hz}$, 1H, 24-H), 3.59 (s, 1H, 3-H), 1.48 (s, 3H, 28-Me), 1.45 (s, 3H, 26-Me), 1.41 (s, 3H, 27-Me), 1.26 (s, 3H, 19-Me), 1.09 (s, 3H, 29-Me), 1.01 (d, $J = 6.3\text{ Hz}$, 3H, 21-Me), 0.83 (s, 3H, 30-Me) および 0.82 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1123.78 (M-H) $^-$; 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ 。

(実施例 22: 化合物 11 の酵素による産生)

【化 1 9 2】



【手続補正 3 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 9 8

【補正方法】変更

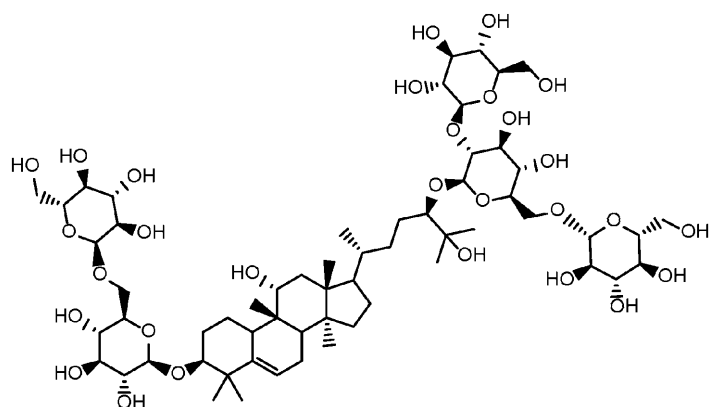
【補正の内容】

【0 3 9 8】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.44 (m, 2H, 6-H & G2-1H, H_2O と合わさっている), 5.37 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, G3-1H), 4.87 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, G1-1H), 4.80 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G4-1H), 3.72 (dd, $J = 8.9, 2.1$ Hz, 1H, 24-H), 3.58 (s, 1H, 3-H), 1.48 (s, 3H, 29-Me), 1.43 (s, 3H, 27-Me), 1.31 (s, 3H, 26-Me), 1.10 (s, 3H, 19-Me), 1.04 (s, 3H, 28-Me), 0.94 (d, $J = 5.9$ Hz, 6H, 30および21-Me), 0.67 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1123.65 (MH) $^+$, 1121.70 (M-H) $^-$; 分子式 $C_{54}H_{90}O_{24}$ 。

(実施例 23: 化合物 12 の酵素による産生)

【化 1 9 3】



【手続補正 3 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 0 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

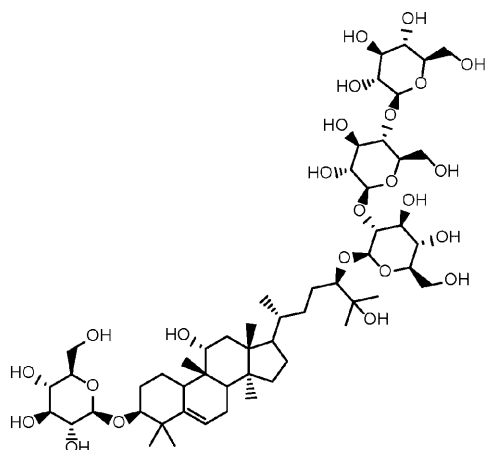
【0 4 0 0】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G3-1H), 5.45 (m, 1H, 6-H, H

D O ピークと合わさっている), 5.38 (d, J = 3.7 Hz, 1H, G5 - 1H), 4.81 (d, J = 5.7 Hz, 1H, G4 - 1H), 4.79 (d, J = 4.7 Hz, 1H, G1 - 1H), 4.70 (d, J = 7.7 Hz, 1H, G2 - 1H), 3.69 (d, J = 8.8 Hz, 1H, 24 - H), 3.60 (s, 1H, 3 - H), 1.49 (s, 3H, 28 - Me), 1.42 (s, 3H, 26 - Me), 1.28 (s, 6H, 19 & 27 - Me), 1.09 (s, 3H, 29 - Me), 1.02 (d, J = 6.3 Hz, 3H, 21 - Me), 0.88 (s, 3H, 30 - Me), 0.85 (s, 3H, 18 - Me); ESI - MS 1285.94 (M - H)⁻; 分子式 C₆₀H₁₀₂O₂₉。

(実施例 24: 化合物 13 の酵素による産生)

【化 194】



【手続補正 38】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0402

【補正方法】変更

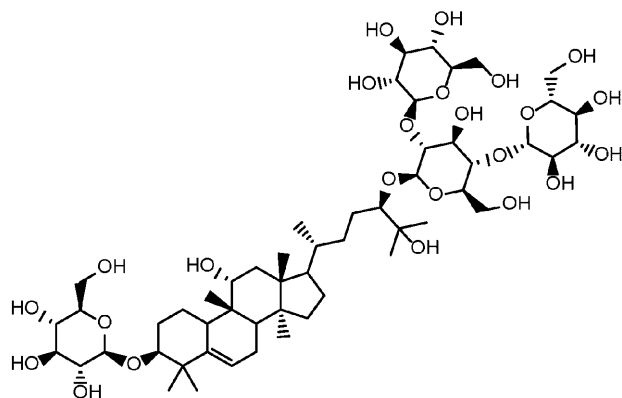
【補正の内容】

【0402】

¹H NMR (400 MHz, ピリジン - d₅ + D₂O)、選択されたシグナル: 5.45 (m, 1H, H - 6, H D O ピークと合わさっている), 5.36 (d, J = 7.8 Hz, 1H, G2 - 1H), 5.07 (d, J = 7.8 Hz, 1H, G4 - 1H), 5.00 (d, J = 7.8 Hz, 1H, G1 - 1H), 4.76 (d, J = 7.8 Hz, 1H, G3 - 1H), 3.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H, 24 - H), 3.56 (s, 1H, 3 - H), 1.48 (s, 3H, 29 - Me), 1.45 (s, 3H, 26 - Me), 1.41 (s, 3H, 27 - Me), 1.27 (s, 3H, 19 - Me), 1.09 (s, 3H, 28 - Me), 1.01 (d, J = 6.3 Hz, 3H, 21 - Me), 0.83 (s, 3H, 30 - Me), 0.82 (s, 3H, 18 - Me); ESI - MS 1123.85 (M - H)⁻; 分子式 C₅₄H₉₂O₂₄。

(実施例 25: 化合物 14 の酵素による産生)

【化 1 9 5】



【手続補正 3 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 0 4

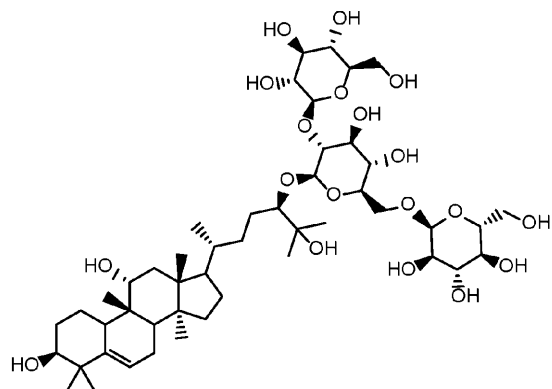
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 4 0 4】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.44 (m, 1H, H-6, HDOピークと重なっている), 5.38 d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G2-1H), 4.99 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, G3-1H), 4.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, G1-1H), 4.82 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G4-1H), 3.78 (m, 1H, 24-H), 3.62 (s, 1H, 3-H), 1.49 (s, 3H, 28-Me), 1.42 (s, 3H, 26-Me), 1.38 (s, 3H, 27-Me), 1.27 (s, 3H, 19-Me), 1.10 (s, 3H, 29-Me), 0.99 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, 21-Me), 0.85 (s, 3H, 30-Me), 0.82 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1147.57 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 1123.65 ($\text{M} - \text{H}$) $^-$; 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ 。
 (実施例 26: 化合物 15 の酵素による産生)

【化 1 9 6】



【手続補正 4 0】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 0 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

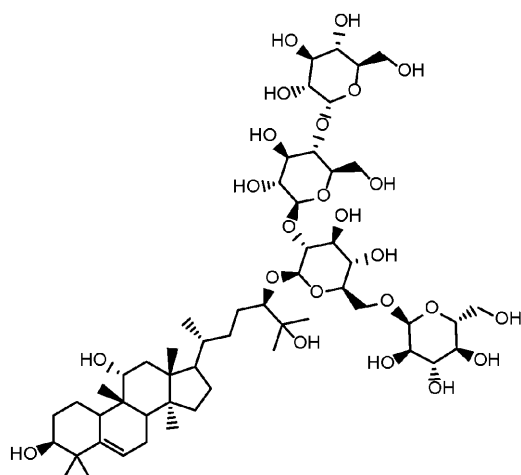
【0 4 0 6】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.58 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H, 6-H), 5.45 (m, 1H, G2-1H; HDOと重なっている), 5.37 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, G3-1H), 4.8

7 (d, J = 7.7 Hz, 1H, G1 - 1H), 3.72 (d, J = 8.6 Hz, 1H, 24 - H), 3.69 (s, 1H, 3 - H), 1.42 (s, 3H, 26 - Me), 1.37 (s, 3H, 28 - Me), 1.33 (s, 3H, 19 - Me), 1.30 (s, 3H, 27 - Me), 1.13 (s, 3H, 29 - Me), 1.02 (d, J = 6.4 Hz, 3H, 21 - Me), 0.92 (s, 3H, 30 - Me), 0.85 (s, 3H, 18 - Me); ESI-MS 963.94 (M + H)⁺, 961.69 (M - H)⁻; 分子式 C₄₈H₈₂O₁₉。

(実施例 27: 化合物 16 の酵素による産生)

【化 197】



【手続補正 41】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0408

【補正方法】変更

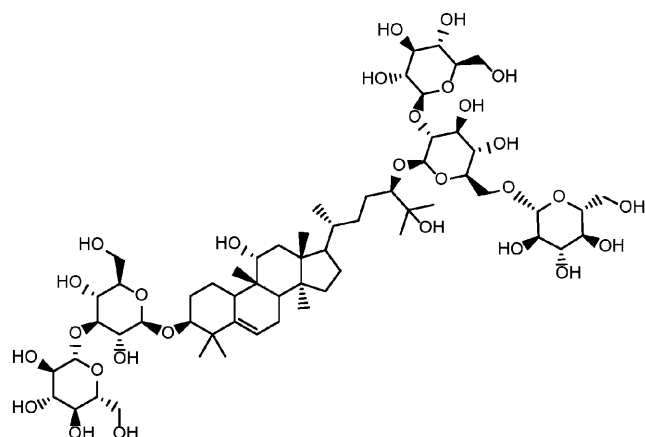
【補正の内容】

【0408】

¹H NMR (400 MHz, ピリジン - d₅ + D₂O)、選択されたシグナル: 5.82 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 5.58 (m, 1H), 5.40 (m, 1H, HDO ピークと合わさっている), 5.32 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 4.87 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 3.69 (m, 2H), 1.46 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.02 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.85 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, ピリジン - d₅ + D₂O) 144.16, 119.07, 105.05, 103.55, 103.17, 99.75, 91.88, 82.06, 81.62, 78.61, 78.38, 78.07, 77.90, 76.23, 75.70, 75.53, 75.13, 75.06, 74.50, 74.28, 73.36, 72.67, 72.43, 72.17, 71.63, 71.42, 67.93, 63.25, 62.56, 61.63, 50.70, 49.70, 47.41, 43.58, 42.26, 40.90, 40.16, 36.73, 36.50, 34.54, 33.51, 30.63, 28.97, 28.56, 27.26, 26.78, 26.72, 26.22, 25.89, 25.04, 24.62, 19.49, 19.10, 17.06; ESI-MS 1123.89 (M - H)⁻; 分子式 C₅₄H₉₂O₂₄。

(実施例 28: 化合物 17 の酵素による産生)

【化 1 9 8】



【手続補正 4 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 1 0

【補正方法】変更

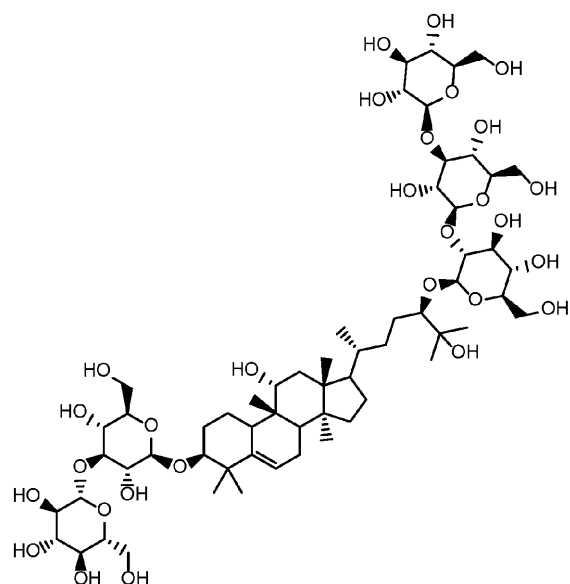
【補正の内容】

【0 4 1 0】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.51 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, G2 - 1H), 5.44 (m, 1H, 6 - H, HDOピークと合わさっている), 5.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G5 - 1H),
 4.85 (dd, $J = 7.5, 2.5$ Hz, 2H, G1 - 1H), 4.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, G3 - 1H), 4.77 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, G4 - 1H),
 3.71 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, 24 - H), 3.58 (s, 1H, 3 - H), 1.48 (s, 3H, 28 - Me), 1.42 (s, 3H, 26 - Me), 1.29 (s, 3H, 27 - Me), 1.27 (s, 3H, 19 - Me), 1.10 (s, 3H, 29 - Me), 1.03 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, 21 - Me), 0.89 (s, 3H, 30 - Me), 0.86 (s, 3H, 18 - Me); ESI-MS 1309.65 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 1285.72 ($\text{M} - \text{H}$) $^-$; 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29}$ 。

(実施例 29: 化合物 18 の酵素による産生)

【化 1 9 9】

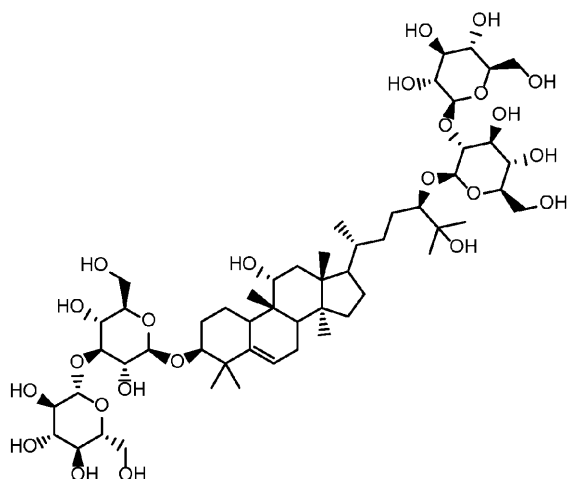


【手続補正 4 3】

【補正対象書類名】明細書

【 0 4 1 2 】

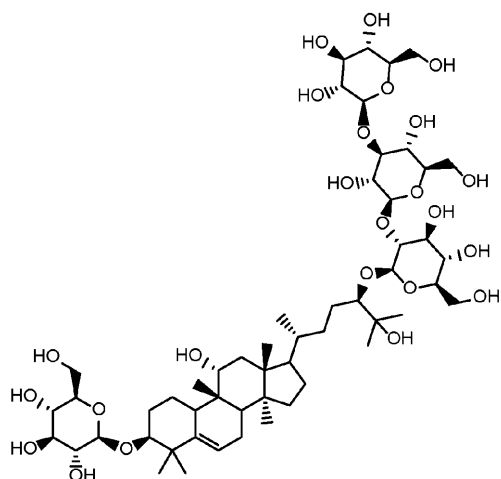
【化 2 0 0】



【 0 4 1 4 】

5 . 4 4 (m , 1 H , 6 - H , H D O ピークと合わさっている) , 5 . 3 6 (d , J = 7 . 8 H z , 1 H , G 2 - 1 H) , 5 . 3 1 (d , J = 7 . 9 H z , 1 H , G 4 - 1 H) , 5 . 0 0 (d , J = 7 . 7 H z , 1 H , G 1 - 1 H) , 4 . 7 8 (d , J = 7 . 8 H z , 1 H , G 3 - 1 H) , 3 . 8 7 (d , J = 7 . 9 H z , 1 H , 2 4 - H) , 3 . 5 9 (s , 1 H , 3 - H) , 1 . 4 8 (s , 3 H , 2 8 - M e) , 1 . 4 5 (s , 3 H , 2 6 - M e) , 1 . 4 1 (s , 3 H , 2 7 - M e) , 1 . 2 6 (s , 3 H , 1 9 - M e) , 1 . 1 0 (s , 3 H , 2 9 - M e) , 1 . 0 1 (d , J = 6 . 3 H z , 3 H , 2 1 - M e) , 0 . 8 3 (s , 3 H , 3 0 - M e) , 0 . 8 2 (s , 3 H , 1 8 - M e) ; E S I - M S 1 1 2 5 . 6 8 (M H) ⁺ , 1 1 2 3 . 7 4 (M - H) ⁻ ; 分子式 C₅₄ H₉₂ O₂₄ 。 (実施例 3 1 : 化合物 2 0 の酵素による産生)

【化 2 0 1】



【手続補正 4 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 1 6

【補正方法】変更

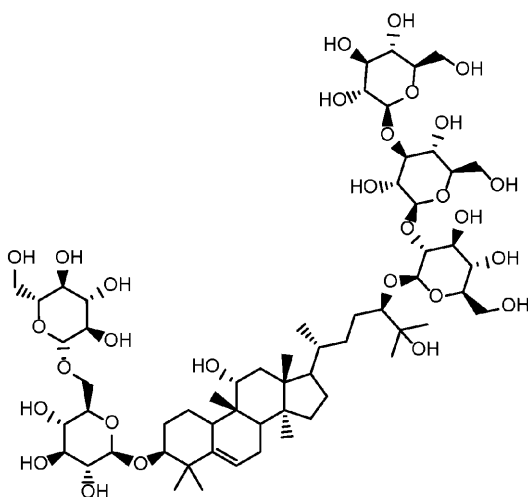
【補正の内容】

【0 4 1 6】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.56 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, G2 - 1H), 5.43 (m, 1H, 6 - H, H
 DOピークと合わせている), 5.29 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, G4 - 1H,)
 , 4.99 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, G1 - 1H), 4.83 (d, $J = 7.8$ Hz
 , 1H, G3 - 1H), 3.63 (s, 1H, 3 - H), 1.50 (s, 3H, 28 - M
 e), 1.44 (s, 3H, 26 - Me), 1.39 (s, 3H, 27 - Me), 1.2
 7 (s, 3H, 19 - Me), 1.09 (s, 3H, 29 - Me), 1.02 (d, $J =$
 6.3 Hz, 3H, 21 - Me), 0.83 (br s, 6H, 18 & 30 - Me); E S
 I - M S 1125.96 (MH) $^+$, 1123.91 (M - H) $^-$; 分子式 C_{54}H_9
 2O_{24} 。

(実施例 3 2 : 化合物 2 1 の酵素による産生)

【化 2 0 2】



【手続補正 4 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 2 0

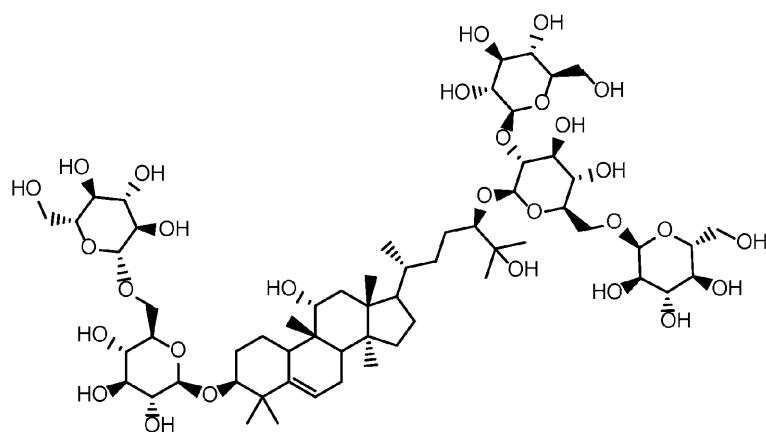
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0420】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.44 (m, 1H, 6-H, HDOピークと合わさっている), 5.19 (dd, $J = 7.8, 1.9$ Hz, 1H, G5-1H), 5.10 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G4-1H), 4.95 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, G2-1H), 4.82 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, G1-1H), 4.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, G3-1H), 3.70 (m, 2H, 24および3-H), 1.47 (s, 3H, 28-Me), 1.35 (s, 3H, 26-Me), 1.29 (s, 6H, 27および19-Me), 1.07 (s, 3H, 29-Me), 0.91 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, 21-Me), 0.85 (s, 3H, 30-Me), 0.77 (s, 3H, 18-Me); ESI-MS 1287.76 (MH)⁺, 1285.95 (M-H)⁻; 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29}$ 。
 (実施例34: 化合物23の単離と酵素による産生)

【化204】



【手続補正47】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0426

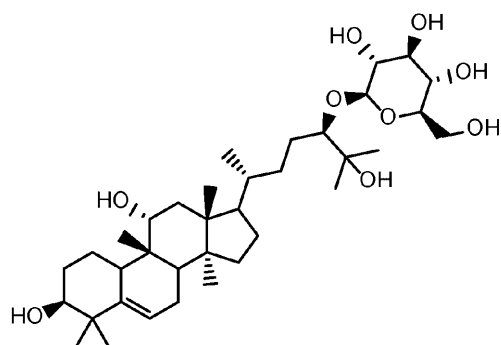
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0426】

モグロシドIIA2: ^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.45 (m, 1H, HDOピークと合わさっている), 5.10 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.75 (dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 1H), 3.67 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 1.52 (s, 3H), 1.49 (s, 2H), 1.47 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 0.98 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.81 (s, 3H); ESI-MS 801.64 (MH)⁺, 799.65 (M-H)⁻, 分子式 $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$ 。
 (実施例37: ViscozymeからのモグロシドIIAの酵素による産生)

【化 2 0 6】



【手続補正 4 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 2 8

【補正方法】変更

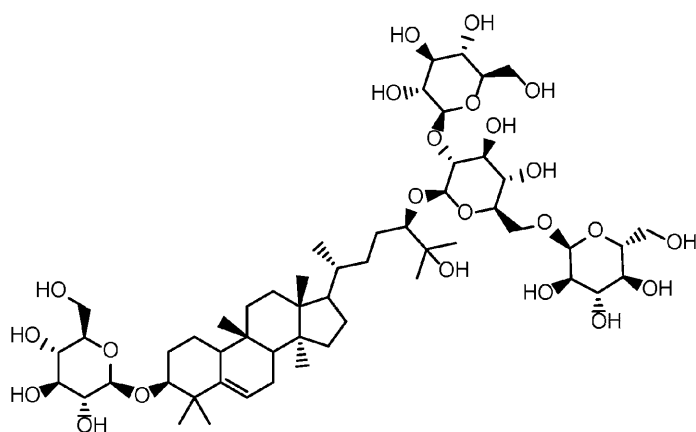
【補正の内容】

【0 4 2 8】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.61 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.86 (m, 1H), 3.73 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 1.42 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.16 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.85 (s, 3H); ESI-MS 639.39 (MH) $^+$, 637.58 (M-H) $^-$, 分子式 $C_{36}H_{62}O_9$ 。

(実施例 38：化合物 24 の酵素による産生)

【化 2 0 7】



【手続補正 4 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 3 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

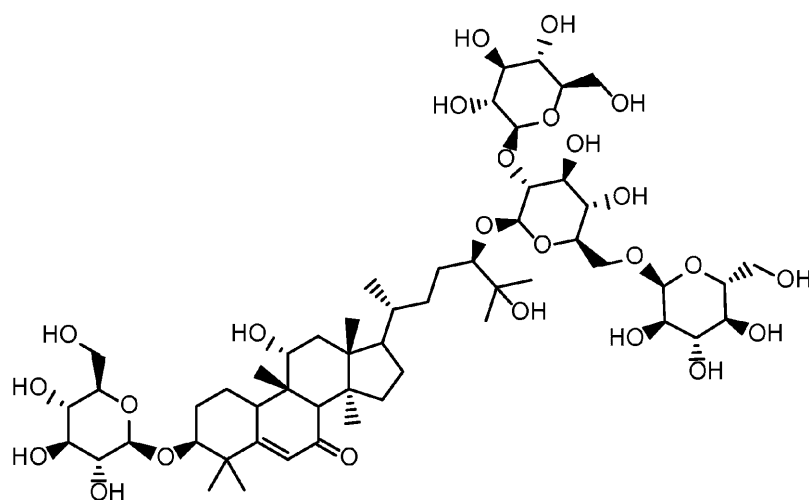
【0 4 3 0】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.52 (1H, m, HDOと合わさっている), 5.48 (m, 1H), 5.44 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.95 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.81 (m, 1H), 3.68 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 1.54 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.39 (s, 3H), 1.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 6H), 0.87 (s, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.81 (

s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 143.23, 118.86, 107.17, 105.20, 103.35, 99.81, 91.39, 87.71, 81.89, 78.50, 78.32, 78.07, 75.68, 75.31, 75.03, 74.13, 73.82, 72.73, 72.14, 72.05, 71.62, 71.45, 67.61, 63.24, 62.82, 62.58, 50.81, 49.37, 46.46, 46.44, 43.78, 41.77, 38.51, 36.50, 35.03, 34.60, 33.58, 32.58, 30.75, 29.00, 28.38, 28.24, 26.74, 25.92, 24.96, 24.55, 22.72, 19.22, 18.11, 15.68; ESI-MS 1109.77 (MH)⁺, 1107.73 (M-H)⁻, 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{23}$ 。

(実施例 39: 化合物 25 の酵素による産生)

【化 208】



【手続補正 50】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0432

【補正方法】変更

【補正の内容】

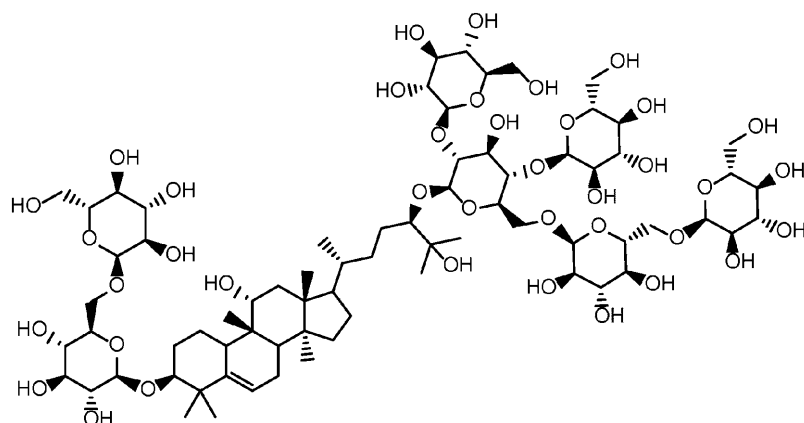
【0432】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル:
 6.24 (d, $J = 1.5\text{ Hz}$, 1H), 5.5 (m, 1H, HDOピークと合わさっている), 5.36 (d, $J = 3.7\text{ Hz}$, 1H), 4.86 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H), 4.80 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 3.70 (d, $J = 5.9\text{ Hz}$, 2H), 1.50 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.29 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.02 (d, $J = 6.2\text{ Hz}$, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 200.60, 170.03, 123.51, 105.47, 103.65, 102.12, 98.40, 90.39, 86.54, 77.13, 76.93, 76.64, 75.37, 74.33, 74.24, 73.78, 73.61, 72.72, 72.52, 72.41, 71.30, 70.73, 70.63, 70.06, 66.21, 61.78, 61.29, 61.15, 58.64, 49.13, 47.22, 45.65, 42.53, 39.20, 39.01, 37.82, 35.55, 33.10, 32.12, 27.96, 27.46, 27.19, 26.15, 25.73, 25.27, 25.21, 24.16, 23.45, 18.30, 17.60, 15.36; ESI-MS 1139.47 (MH)⁺, 1137.85 (M-H)⁻

，分子式 $C_{54}H_{90}O_{25}$ 。

(実施例 40：化合物 26 の酵素による産生)

【化 209】



【手続補正 51】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0434

【補正方法】変更

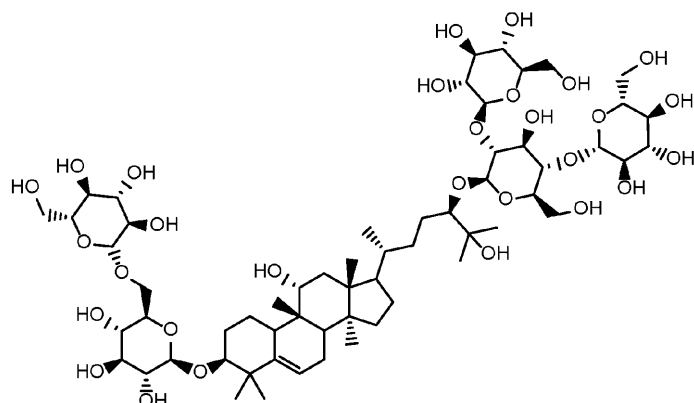
【補正の内容】

【0434】

1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.73 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 5.44 (m, 2H, HDOピークと合わさっている), 5.36 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 5.32 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 5.28 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.81 (m, 1H), 3.70 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.61 (s, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.28 (d, $J = 2.7$ Hz, 5H), 1.09 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 0.87 (s, 2H), 0.84 (s, 2H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 144.29, 118.50, 107.17, 105.18, 103.49, 101.95, 99.78, 99.73, 99.63, 91.69, 87.91, 85.40, 81.83, 78.54, 78.33, 78.09, 78.00, 77.87, 75.73, 75.43, 75.31, 74.29, 74.14, 73.57, 73.50, 72.71, 72.20, 71.95, 71.83, 71.68, 71.59, 71.45, 71.16, 67.51, 67.44, 67.37, 63.29, 62.77, 62.52, 62.03, 50.77, 49.68, 47.41, 43.52, 42.38, 40.89, 40.09, 36.74, 36.56, 34.55, 33.50, 29.50, 28.55, 27.68, 26.87, 26.73, 26.32, 24.92, 24.57, 19.47, 19.12, 17.06; ESI-MS 1612.44 (MH) $^+$, 1610.4 (M-H) $^-$, 分子式 $C_{72}H_{122}O_{39}$ 。

(実施例 41：化合物 27 の単離)

【化 2 1 0】



【手続補正 5 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 3 6

【補正方法】変更

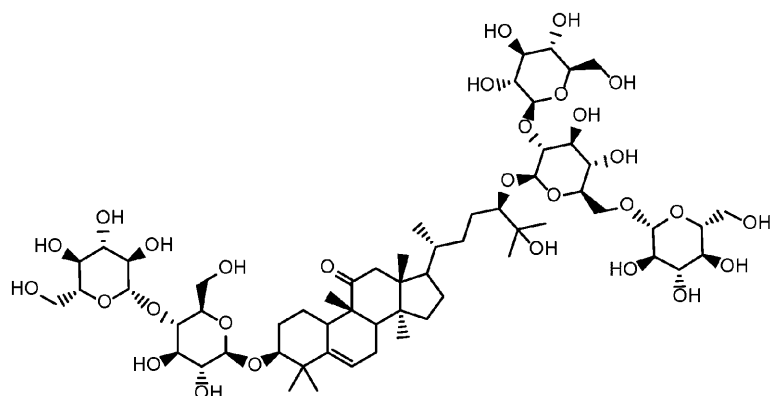
【補正の内容】

【0 4 3 6】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル: 5.48 (m, 1H, HDOピークと重なっている), 5.35 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 5.24 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.04 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.82 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.61 (s, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 0.82 (brs, 6H); ESI-MS 1287.94 (MH) $^+$, 1285.85 (M-H) $^-$, 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{O}_{29}$ 。

(実施例 4 2: 化合物 2 8 の単離)

【化 2 1 1】



【手続補正 5 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 3 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

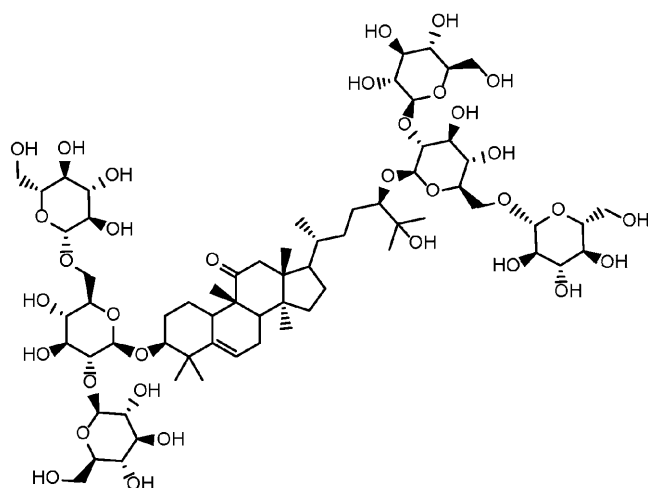
【0 4 3 8】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル: 5.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.45 (m, 1H), 5.14 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.85 (m, 2H), 4.79 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.53 (brs, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.10 (

s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.96 (brd, J = 6.5 Hz, 6H), 0.68 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン - d_5 + D_2O) 214.54, 141.08, 118.58, 106.69, 104.78, 104.65, 103.78, 92.48, 87.21, 81.31, 81.19, 78.57, 78.34, 78.29, 78.22, 78.07, 77.93, 77.69, 76.58, 76.35, 76.18, 75.72, 75.16, 74.76, 72.78, 72.17, 71.31, 71.21, 70.06, 63.17, 62.37, 62.23, 61.97, 49.74, 49.69, 48.99, 48.77, 43.93, 41.93, 36.15, 35.82, 34.52, 33.09, 28.97, 28.27, 26.92, 25.78, 24.54, 24.04, 22.05, 20.23, 18.73, 18.38, 17.04; ESI-MS 1285.9 (MH)⁺, 1283.78 (M-H)⁻, 分子式 $\text{C}_{60}\text{H}_{100}\text{O}_{29}$ 。

(実施例 43: 11-オキソ-モグロシドVIの単離)

【化 2 1 2】



【手続補正 5 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0440

【補正方法】変更

【補正の内容】

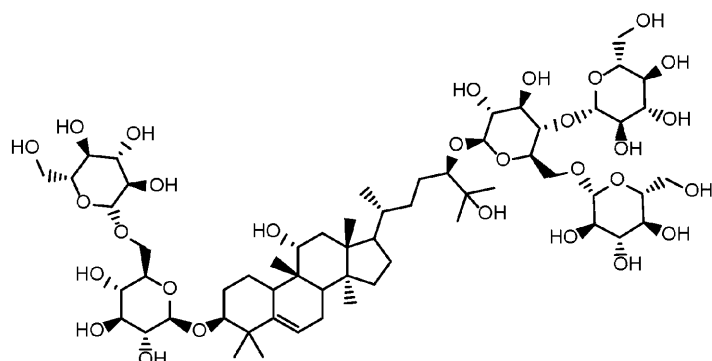
【0440】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン - d_5 + D_2O) 5.73 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.54 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.42 (m, 1H, HDO ピークと合わさっている), 5.27 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 5.07 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.78 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.63 (s, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.31 (d, J = 2.7 Hz, 3H), 1.23 (s, 3H), 0.97 (m, 9H), 0.68 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン) 214.64, 140.98, 118.93, 106.43, 105.29, 104.92, 104.74, 104.54, 103.82, 92.48, 85.70, 81.63, 81.31, 78.67, 78.45, 78.38, 78.27, 78.20, 77.78, 77.63, 77.09, 76.95, 76.42, 75.79, 75.25, 75.07, 72.82, 72.22, 71.61, 71.39, 71.34, 70.14, 63.26, 62.63, 62.61, 62.42, 49.76, 49.56, 49.26, 49.07, 43.98, 41.79, 40.71, 36.

04, 28.12, 27.01, 25.86, 24.61, 20.26, 18.83, 18.32, 17.12; ESI-MS, 1447.48 (MH)⁺, 1445.96 (M-H)⁻; 分子式 C₆₆H₁₁₀O₃₄。

(実施例44: 化合物29の単離)

【化213】



【手続補正55】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0442

【補正方法】変更

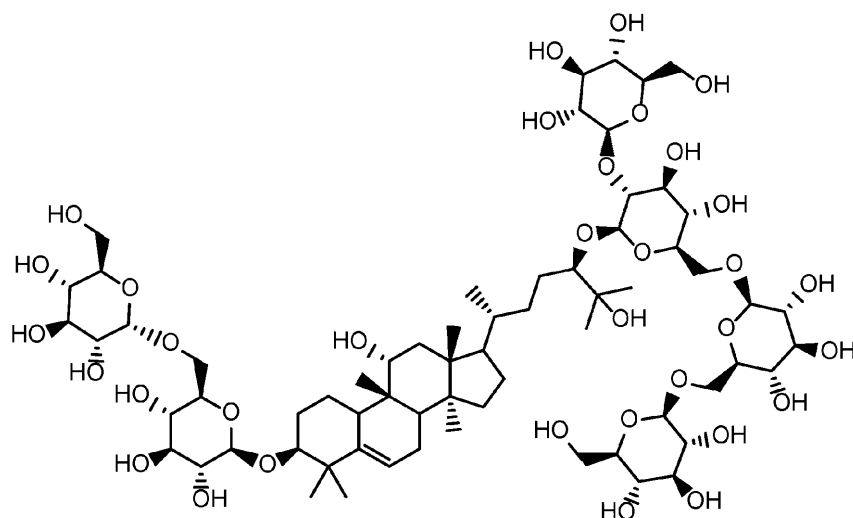
【補正の内容】

【0442】

¹H NMR (400 MHz, ピリジン-d₅ + D₂O)、選択されたシグナル:
 5.48 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 5.13 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.86 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.78 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 4.73 (m, 1H), 3.72 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 3.68 (s, 1H), 1.46 (d, J = 2.0 Hz, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.30 (s, 6H), 1.24 (s, 2H), 1.13 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 1.03 (s, 3H), 0.82 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, ピリジン-d₅ + D₂O) 142.99, 119.23, 106.84, 105.10, 104.99, 104.67, 103.73, 92.45, 87.25, 81.54, 78.50, 78.34, 78.31, 78.21, 78.08, 77.73, 77.29, 76.35, 75.68, 75.18, 75.01, 72.80, 72.25, 72.04, 71.54, 71.40, 71.32, 71.19, 69.99, 63.32, 62.58, 62.39, 51.45, 49.77, 45.73, 41.85, 41.82, 40.63, 39.89, 39.16, 36.56, 35.22, 33.40, 29.30, 28.39, 28.18, 26.96, 25.86, 24.70, 24.54, 23.93, 22.97, 19.15, 18.23, 18.08; ESI-MS 1287.84 (MH)⁺, 1285.89 (M-H)⁻, 分子式 C₆₀H₁₀₂O₂₉。

(実施例45: 化合物30の単離)

【化 2 1 4】



【手続補正 5 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 4 4

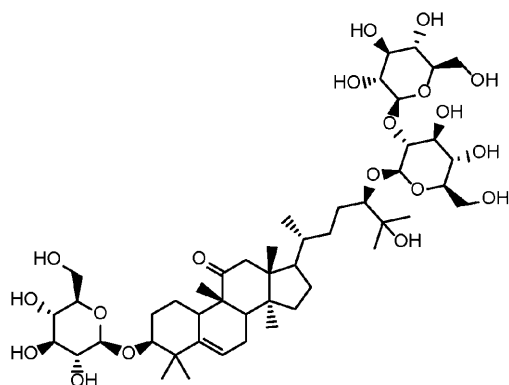
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 4 4 4】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.50 (m, 1H), 5.45 (m, 1H, H₂Oピークと重なっている), 5.41 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 4.98 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.84 (m, 2H), 4.79 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.74 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.70 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.61 (brs, 1H), 1.45 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.28 (s, 6H), 1.03 (d, $J = 8.5$ Hz, 6H), 0.86 (s, 3H), 0.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 144.38, 118.36, 106.80, 105.19, 104.87, 104.63, 103.75, 100.06, 92.49, 87.48, 81.36, 78.52, 78.25, 78.04, 77.86, 77.66, 76.97, 76.31, 76.12, 75.66, 75.14, 75.02, 74.74, 73.85, 73.71, 72.85, 72.76, 72.19, 71.75, 71.58, 71.29, 71.14, 70.03, 67.75, 63.26, 62.34, 50.80, 49.62, 47.37, 43.45, 42.26, 40.76, 40.07, 36.62, 36.31, 34.49, 33.26, 29.17, 28.52, 27.58, 26.94, 26.89, 26.24, 24.49, 19.40, 19.07, 17.02; ESI-MS, 1447.89 (M-H)⁻; 分子式 $C_{66}H_{112}O_{34}$ 。
 (実施例 46: 11-オキソ-MIII_Eの単離)

【化 2 1 5】



【手続補正 5 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 4 6

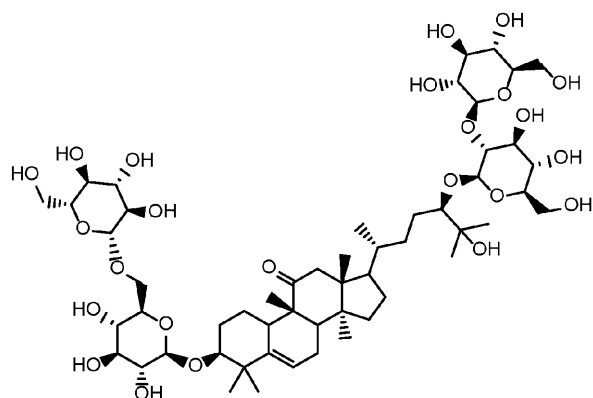
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 4 4 6】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.42 (m, 1H, HDOピークと合わさっている), 5.37 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 4.99 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 4.80 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 3.59 (brs, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.10 (s, 34H), 1.05 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.66 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン) 214.54, 141.22, 118.61, 107.16, 105.64, 102.35, 88.85, 87.22, 82.90, 78.50, 78.39, 78.14, 78.03, 75.96, 75.34, 75.22, 72.51, 71.96, 71.58, 71.34, 71.19, 63.05, 62.76, 62.38, 49.70, 49.62, 49.05, 47.40, 43.97, 42.40, 42.03, 36.45, 35.92, 34.56, 28.36, 27.00, 25.89, 25.61, 20.30, 18.77, 18.36, 17.04; ESI-MS 961.85 (MH) $^+$, 959.9 (M-H) $^-$, 分子式 $\text{C}_{48}\text{H}_{80}\text{O}_{19}$ 。
 (実施例 47: 11 - オキソ - MIV_E の単離)

【化 2 1 6】



【手続補正 5 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 4 8

【補正方法】変更

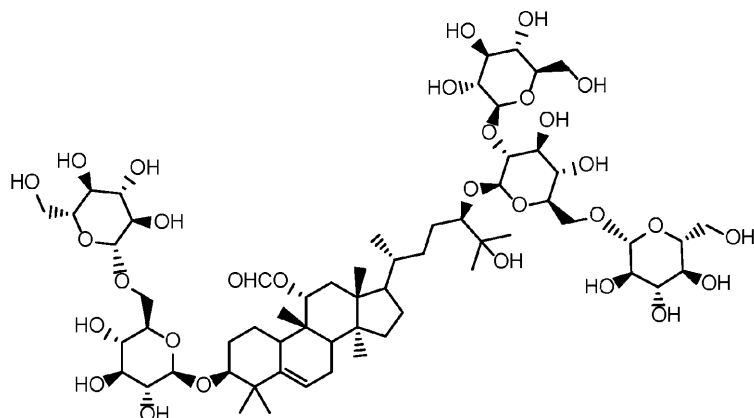
【補正の内容】

【0448】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 5.44 (m, 2H, HDOPeakと合わせている), 4.85 (m, 2H), 4.80 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 2H), 3.71 (m, 1H), 3.58 (d, $J = 2.6\text{ Hz}$, 1H), 1.49 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.96 (m, 6H), 0.68 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 214.51, 141.18, 118.54, 107.10, 104.83, 104.67, 103.79, 92.49, 87.17, 81.21, 78.58, 78.33, 78.24, 78.08, 77.70, 76.37, 75.74, 75.30, 75.18, 72.79, 72.18, 71.54, 71.30, 71.22, 70.08, 63.19, 62.71, 62.38, 49.74, 49.70, 49.50, 49.00, 48.78, 43.95, 41.98, 36.17, 35.86, 34.54, 28.31, 26.94, 25.84, 24.56, 20.27, 18.75, 18.39, 17.04; ESI-MS 1123.88 (MH) $^+$, 1121.89 (M-H) $^-$, 分子式 $\text{C}_{54}\text{H}_{90}\text{O}_{24}$ 。

(実施例48：モグロシドVギ酸エステルの単離)

【化217】



【手続補正59】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0450

【補正方法】変更

【補正の内容】

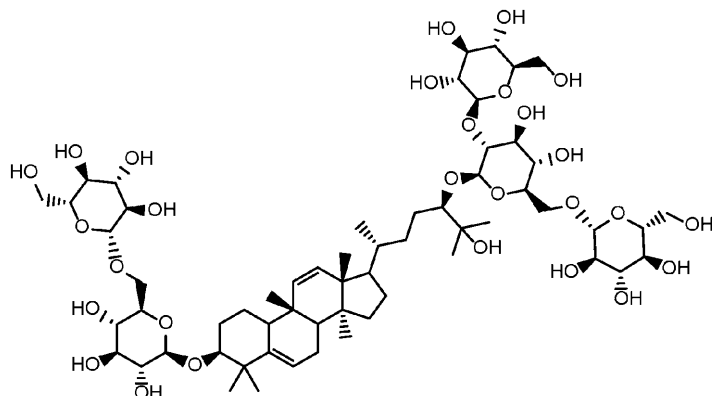
【0450】

^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル：
 8.50 (s, 1H), 5.48 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 5.39 (d, $J = 7.2\text{ Hz}$, 1H), 5.13 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 4.79 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 4.76 (d, $J = 8.9\text{ Hz}$, 1H), 3.71 (dd, $J = 7.1, 3.5\text{ Hz}$, 1H), 3.62 (d, $J = 2.8\text{ Hz}$, 1H), 1.45 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.6\text{ Hz}$, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.82 (s, 3H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 162.28, 143.30, 118.52, 106.76, 104.95, 104.92, 104.65, 103.73, 92.38, 87.49, 81.48, 80.46, 78.51, 78.33, 78.29, 78.24, 78.19, 78.08, 78.03, 77.68, 77.35, 76.34, 75.6

9, 75.20, 75.15, 74.98, 72.78, 72.17, 71.44, 71.39, 71.27, 71.16, 70.05, 69.86, 63.21, 62.52, 62.35, 50.59, 49.49, 49.37, 47.46, 43.28, 42.21, 40.61, 39.33, 36.81, 36.69, 35.96, 34.13, 33.01, 29.03, 28.36, 27.47, 26.92, 26.25, 26.09, 25.27, 24.52, 24.12, 19.26, 18.98, 16.71; ESI-MS 1315.94 (MH)⁺, 1313.81 (M-H)⁻; 分子式 C₆₁H₁₀₂O₃₀。

(実施例 49: 化合物 31 の単離)

【化 218】



【手続補正 60】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0457

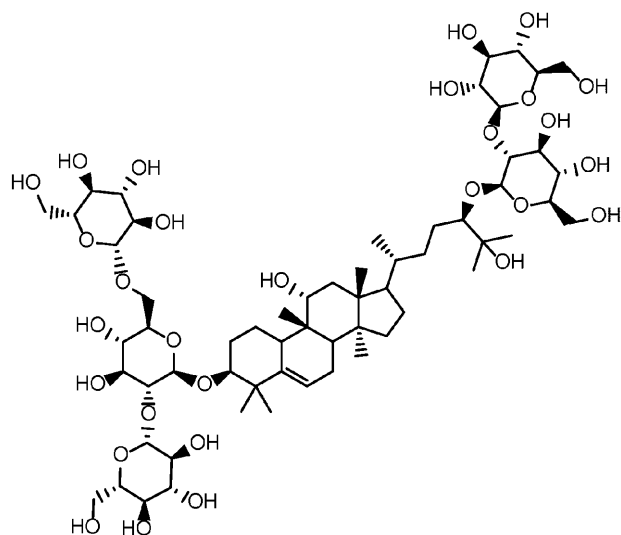
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0457】

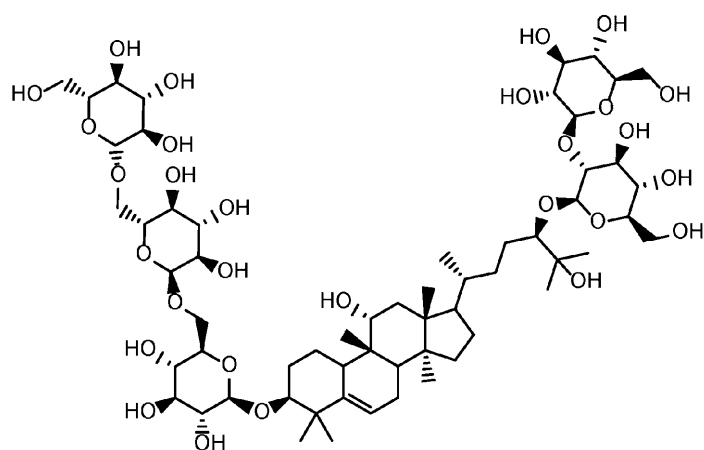
¹H NMR (400 MHz, ピリジン-d₅ + D₂O)、選択されたシグナル:
5.45 (m, 1H, HDOピークと合わさっている), 4.95 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.85 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 3.64 (brs, 1H), 1.50 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.78 (s, 3H); ¹³C NMR (101 MHz, ピリジン-d₅ + D₂O) 144.29, 118.53, 107.14, 105.61, 90.30, 87.82, 78.50, 78.30, 78.25, 77.98, 77.76, 75.29, 75.17, 72.22, 71.58, 71.51, 62.76, 62.47, 50.81, 49.66, 47.36, 43.48, 42.36, 40.85, 40.08, 36.77, 36.48, 34.53, 33.45, 29.51, 28.29, 27.67, 26.82, 26.77, 26.28, 26.25, 25.13, 24.54, 19.31, 18.85, 16.99; ESI-MS 801.73 (MH)⁺, 799.74 (M-H)⁻, 分子式 C₄₂H₇₂O₁₄。
(実施例 53 および 54: 化合物 32 および 33 の酵素による産生)

【化 2 2 1】



化合物 3 2

【化 2 2 2】



化合物 3 3

【手続補正 6 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 6 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

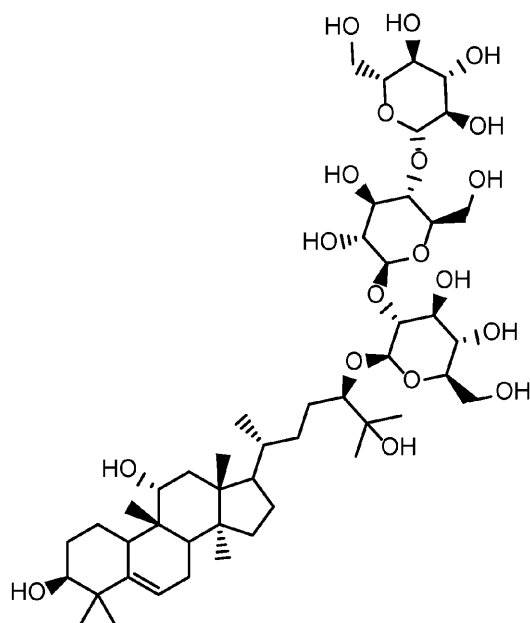
【0 4 6 0】

化合物 3 3 : ^1H NMR (400 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O)、選択されたシグナル: 5.45 (m, 2 H, H₂O ピークと合わさっている), 5.35 (m, 1 H), 5.00 (d, $J = 7.8$ Hz, 2 H), 4.76 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H), 3.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H), 3.63 (s, 1 H), 1.45 (s, 6 H), 1.41 (s, 3 H), 1.28 (s, 3 H), 1.05 (s, 3 H), 1.02 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H), 0.82 (s, 6 H); ^{13}C NMR (101 MHz, ピリジン- d_5 + D_2O) 144.42, 118.42, 106.85, 105.70, 105.25, 102.21, 100.12, 88.70, 87.47, 83.05, 78.44, 78.37, 78.31, 78.11, 78.04, 77.99, 77.86, 77.04, 76.17, 75.90,

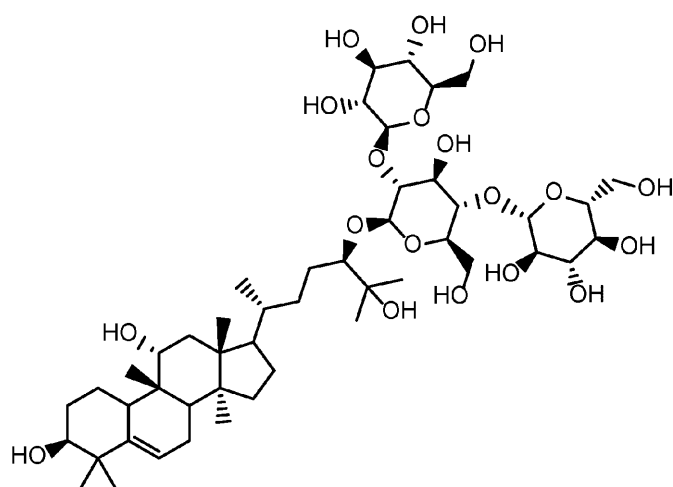
75.19, 75.07, 74.79, 73.90, 73.77, 72.46, 71.94, 71.82, 71.63, 71.41, 71.14, 70.18, 67.83, 63.09, 62.41, 62.32, 50.74, 49.67, 47.38, 43.48, 42.30, 40.77, 40.11, 36.68, 34.52, 33.82, 29.42, 28.62, 28.52, 27.63, 26.93, 26.25, 25.52, 24.54, 19.37, 19.08, 17.02; ESI-MS 1287.82 (MH)⁺, 1285.94 (M-H)⁻; 分子式 C₆₀H₁₀₂O₂₉。

(実施例 55 および 56: 化合物 34 および 35 の酵素による産生)

【化 2 2 3】



化合物 34



化合物 35

【手続補正 6 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0463

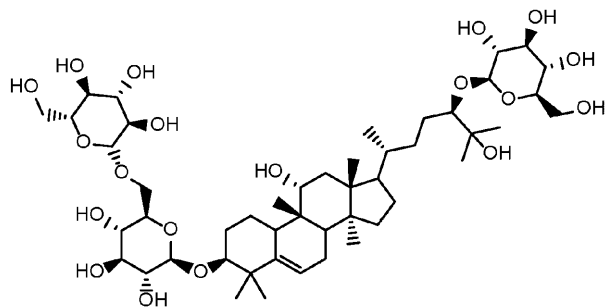
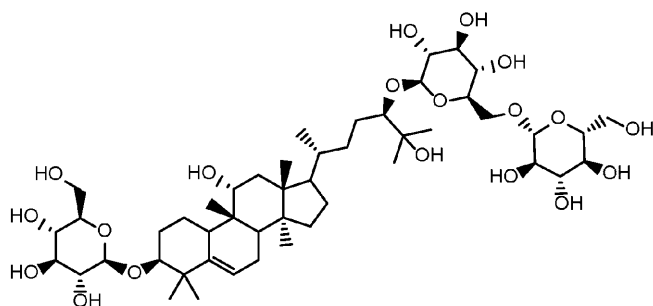
【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 4 6 3 】

化合物 35 : ^1H NMR (400 MHz , ピリジン - d_5 + D_2O) 、選択されたシグナル : 5 . 60 (d , $J = 6 . 3 \text{ Hz}$, 1 H) , 5 . 00 (d , $J = 7 . 9 \text{ Hz}$, 1 H) , 4 . 91 (d , $J = 7 . 7 \text{ Hz}$, 1 H) , 3 . 79 (dd , $J = 7 . 8$, 2 . 3 Hz , 2 H) , 3 . 70 (t , $J = 2 . 8 \text{ Hz}$, 2 H) , 1 . 43 (s , 3 H) , 1 . 39 (s , 6 H) , 1 . 34 (d , $J = 2 . 8 \text{ Hz}$, 3 H) , 1 . 15 (s , 3 H) , 1 . 0 (m , 3 H) , 0 . 91 (s , 3 H) , 0 . 83 (s , 3 H) ; ESI - MS , 963 . 81 (MH) $^+$, 961 . 92 (M - H) $^-$; 分子式 $\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{19}$ 。
(実施例 57 および 58 : モグロシド I I I A_2 および モグロシド I I I の酵素による産生)

【 化 2 2 4 】

モグロシド I I I A_2 

モグロシド I I I