

博士論文

補骨脂および吳茱萸のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌

に対する作用物質に関する研究

平成 29 年 3 月

崔 艷梅

岡山大学大学院
医歯薬学総合研究科
博士課程
病態制御科学専攻

目次

略語表	3
総論の部	4
緒言	5
第1章 補骨脂の成分およびそれらのMRSAに対する作用	7
1-1 補骨脂の成分について	7
1-1-1 補骨脂から成分の単離	7
1-1-2 既知化合物の同定	9
1-1-3 新規化合物の構造	13
1-2 補骨脂の抗MRSA活性についての検討	24
1-2-1 MRSA菌株の性質	24
1-2-2 補骨脂のMRSAに対する抗菌効果の検討	25
1-3 EtOAcエキスに含まれる主要な成分の定量分析	32
1-4 補骨脂の成分の構造上の特徴	34
第2章 吳茱萸の成分およびそれらのMRSAに対する作用	36
2-1 吳茱萸の成分について	36
2-1-1 吳茱萸からの成分の単離	36
2-1-2 既知化合物の同定	38
2-1-3 新規化合物の構造決定	49
2-2 吳茱萸の抗MRSA活性についての検討	82

2-2-1 MRSA 菌株の性質.....	82
2-2-2 呉茱萸の MRSA に対する抗菌効果の検討.....	82
2-3 呉茱萸の含有成分の構造上の特徴	86
総括および展望	88
実験の部	92
第 1 章に関する実験.....	97
第 2 章に関する実験.....	118
謝辞	140
参考文献	141
参考論文および学会発表	147
化合物番号	148

略語表

略記	完全表記
CC.	Column chromatography
CD	Circular dichroism
COSY	Correlation spectroscopy
<i>E. ruticarpa</i>	<i>Euodia ruticarpa</i>
EtOAc	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol
Ext.	Extract
Fig.	Figure
Fr.	Fraction
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	High performance liquid chromatography
L	Lower unit
M	Middle unit
MeOH	Methanol
MIC	Minimum inhibitory concentration
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
NMR	Nuclear magnetic resonance
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
<i>P. corylifolia</i>	<i>Psoralea corylifolia</i>
PBP	Penicillin binding protein
Prep	Preparative
ROESY	Rotating-frame nuclear overhauser effect correlation spectroscopy
Temp.	Temperature
TLC	Thin-layer chromatography
U	Upper unit
UV	Ultraviolet

総論の部

緒言

アジア伝統医学、特に中医学や漢方医学で使用されてきた生薬は、長期的な臨床経験の積み重ねがあり、有用性だけでなく、その多くで、少なくとも急性毒性が低いことについては期待できるとみなされる。生薬の成分は様々な生理活性を持っており、特に、特定の生薬について、これまでに研究が行われてきた成分以外に、未知成分にも活性を有する可能性がある。本研究においては、繁用生薬の代表となる補骨脂および呉茱萸の成分について詳細な検討を行った。

補骨脂はマメ科の植物 *Psoralea corylifolia* の乾燥果実であり、中国を中心に臨床において婦人の出血、白斑、乾癬、早漏、遺尿、腰痛、頻尿などに用いられており、補骨脂が配合された主な漢方処方としては補骨脂丸、青娥丸、四神丸などがある。成分としては、bakuchiol (1) を始めとするメロテルペノイド類、psoralen (23) が代表となるクマリン類、また、様々なフラボノイドが報告されている。これらの成分の中で、補骨脂の主成分であるbakuchiol (1) には抗菌活性⁽¹⁾、抗腫瘍活性⁽²⁾、骨量低下抑制作用⁽³⁾ などが報告されており、フラボノイドの一つであるneobavaisoflavone (8) には骨形成促進作用⁽⁴⁾ や抗菌活性⁽⁵⁾ が報告された。また、psoralen (23) は、その光感作促進作用が白斑病、乾癬の治療に応用されている。

呉茱萸はミカン科の植物 *Euodia rutaecarpa* の未熟果実であり、鎮痛、止瀉、健胃、利尿などの目的で使用される。漢方では温經湯、呉茱萸湯、当帰四逆加呉茱萸生姜湯などの処方に配合される。呉茱萸の含有成分のうち、アルカロイドがよく知られており、中には evodiamine (43) に代表されるインドールアルカロイド、evocarpine (37) を始めとするキノロンアルカロイドが報告されている。また、ミカン科の植物が共通に含有するリモノイド（トリテルペノイド苦味質）も存在している。これまでに呉茱萸のアルカロイド成分の活性についてが主に研究されており、例として、キノロンアルカロイドの evocarpine (37) などに抗菌活性^(6, 7) が認められ、インドールアルカロイドの evodiamine (43) に抗腫瘍活性⁽⁸⁾ や抗菌活性⁽⁹⁾ が報告されている。

補骨脂および呉茱萸の含有成分には、いずれも抗菌活性を有するものがあり、中でも、補骨脂の主成分であるメロテルペノイドの bakuchiol (1) および呉茱萸のキノロンアルカロイド成分としての evocarpine (37) が多剤耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) に対し、強い抗菌作用を示している^(7, 10)。

主成分として知られるこれら以外の抗 MRSA 成分については、詳細な検討がされていない。そこで、本研究では MRSA に対する抗菌活性を指標として、補骨脂および吳茱萸の成分について詳細な研究を行うこととした。補骨脂の成分のうち、bakuchiol (**1**) と部分的に類似した構造を持つ化合物が多数含有しており、それらにも抗 MRSA 活性を示す可能性が高いと考えられる。また、吳茱萸に関して、今までに低極性成分の探索が進んでいる一方、ポリフェノール性のような高極性の成分に関する研究が十分ではない。本研究において、吳茱萸の粗分画について抗 MRSA 活性を調べた結果、酢酸エチルエキスに抗菌活性を認めた。このことから、本研究ではポリフェノールを中心に酢酸エチルエキスの成分の探索を進めた。

第1章 補骨脂の成分およびそれらの MRSA に対する作用

補骨脂については、クマリン、フラボノイド、メロテルペンなど多くの化合物がこの植物より単離されている。これらの成分のうち、主成分のメロテルペン **bakuchiol (1)** には、抗 MRSA 活性を有することが報告され⁽¹⁰⁾、予備的検討により、補骨脂には **bakuchiol (1)** 以外にも他の活性成分の存在が示唆されたことから、本研究では、補骨脂の成分およびそれらの MRSA に対する作用について検討を進めた。その結果、以下に示すような知見が得られた。

1-1 補骨脂の成分について

1-1-1 補骨脂から成分の単離

中国市場で得られた生薬の補骨脂を粉碎し粉末としたのち、*n*-hexane, EtOAc, MeOH で順次、冷浸を行って、各溶媒の極性にしたがった抽出を行い、*n*-hexane エキス、EtOAc エキス、MeOH エキスをそれぞれ得た。得られた各エキスについて、Chart 1 に示すように各種カラムクロマトグラフィーおよび分取 HPLC を行い 33 種の化合物 (**1–33**) を単離した。

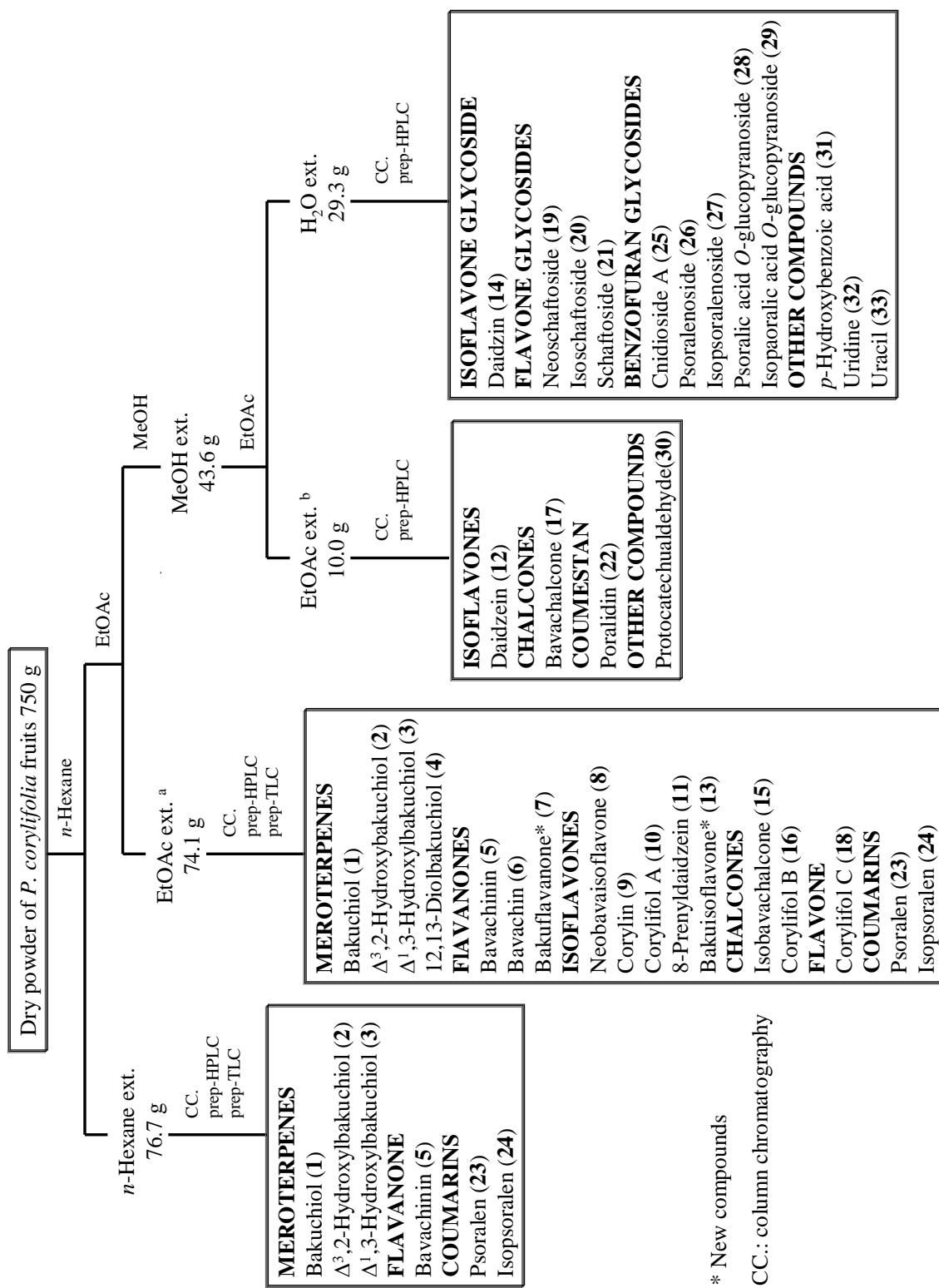
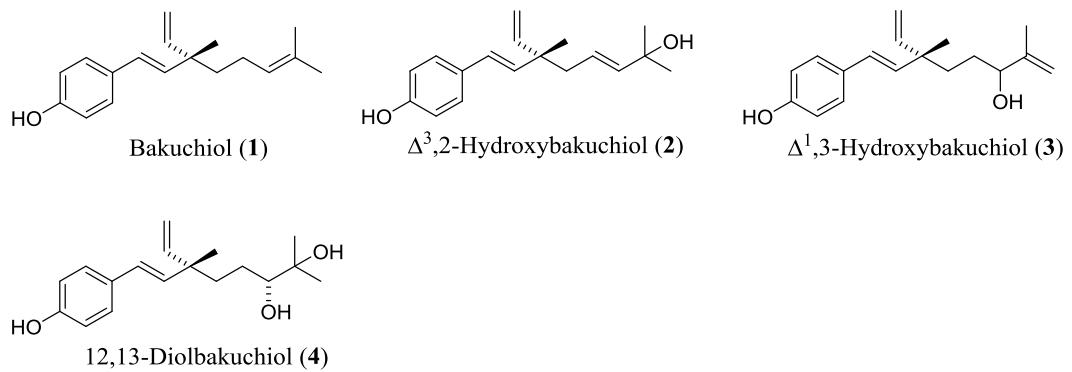


Chart 1 Isolation of compounds from *P. corylifolia* fruits.

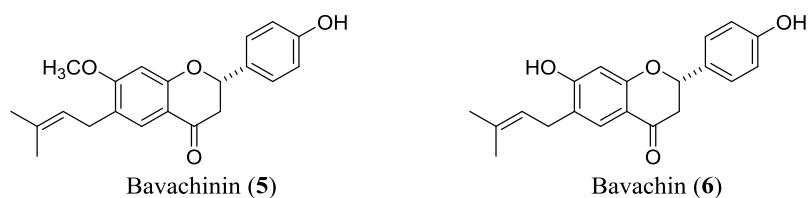
1-1-2 既知化合物の同定

補骨脂から単離した化合物 **1–33** のうち 31 種は既知化合物であり、HPLC による標品との直接比較および NMR データの文献記載のデータとの比較により、それぞれ bakuchiol (**1**)⁽¹¹⁾, Δ^3 ,2-hydroxybakuchiol (**2**)⁽¹¹⁾, Δ^1 ,3-hydroxybakuchiol (**3**)⁽¹¹⁾, 12,13-diolbakuchiol (**4**)⁽¹²⁾, bavachinin (**5**)⁽¹³⁾, bavachin (**6**)⁽¹⁴⁾, neobavaisoflavone (**8**)⁽¹³⁾, corylin (**9**)⁽¹⁵⁾, corylifol A (**10**)⁽¹⁶⁾, 8-prenyldaidzein (**11**)⁽¹⁷⁾, daidzein (**12**)⁽¹⁸⁾, daidzin (**14**)⁽¹⁸⁾, isobavachalcone (**15**)⁽¹⁵⁾, corylifol B (**16**)⁽¹⁶⁾, bavachalcone (**17**)⁽¹⁹⁾, corylifol C (**18**)⁽¹⁶⁾, neoschaftoside (**19**)⁽²⁰⁾, schaftoside (**20**)^(20, 21), isoschaftoside (**21**)^(20, 22), psoralidin (**22**)⁽¹⁴⁾, psoralen (**23**)⁽²³⁾, isopsoralen (**24**)⁽²⁴⁾, cnidioside A (**25**)⁽²⁵⁾, psoralenoside (**26**)⁽²⁶⁾, isopsoralenoside (**27**)⁽²⁶⁾, psoralic acid *O*-glucopyranoside (**28**)⁽²⁷⁾, isopsoralic acid *O*-glucopyranoside (**29**)⁽²⁷⁾, protocatechualdehyde (**30**) (HPLC), *p*-hydroxybenzoic acid (**31**)⁽²⁸⁾, uridine (**32**)⁽²⁹⁾, uracil (**33**)⁽³⁰⁾ と同定した。これらのうち、化合物 **1–4** はメロテルペノン、化合物 **5, 6** はフラバノン、化合物 **8–12, 14** はイソフラボン、化合物 **15–17** はカルコン、**18–21** はフラボン、化合物 **22** はクメスタン、化合物 **23, 24** はクマリン、化合物 **25–29** はベンゾフラン配糖体、化合物 **30** は単純フェノールアルデヒド、化合物 **31** は単純フェノールカルボン酸、化合物 **32, 33** はそれぞれヌクレオシドおよび核酸塩基であった。それらの構造は Fig. 1 に示した通りである。以上のように、補骨脂には多様な成分が含まれることを、実際に単離することによって確かめることができた。

Meroterpenes



Flavanones



Isoflavones

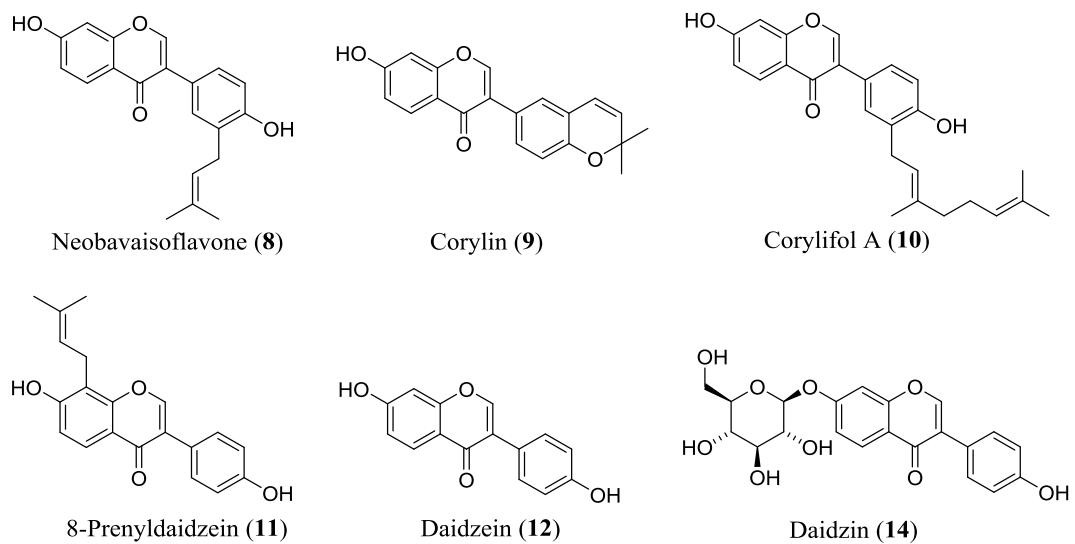
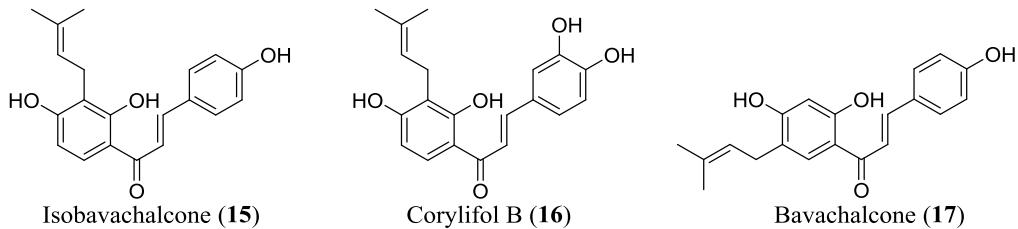
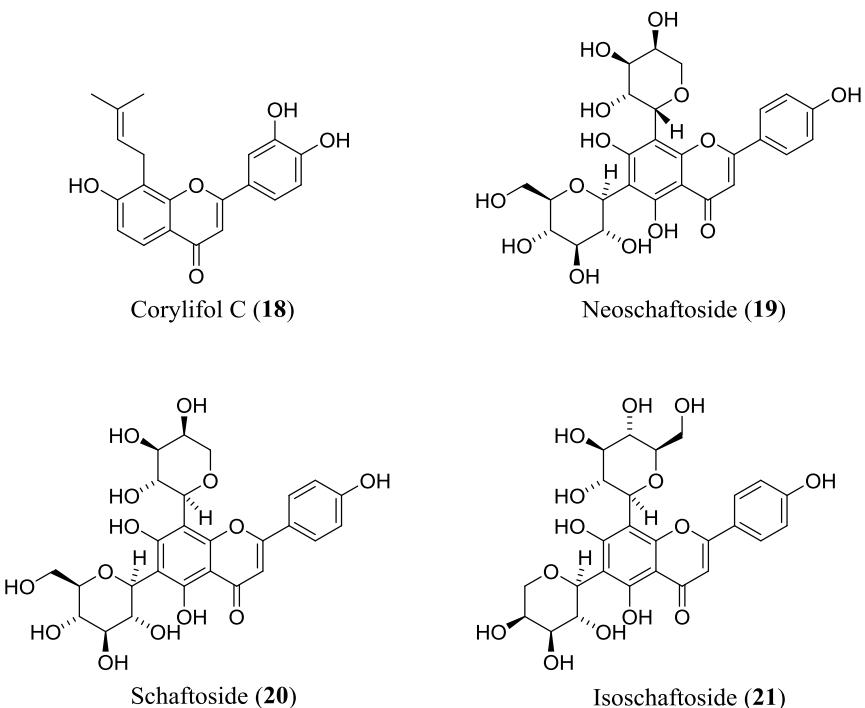


Fig. 1 Structures of known compounds isolated from fruits of *P. corylifolia* fruits.

Chalcones



Flavones



Coumestan and coumarins

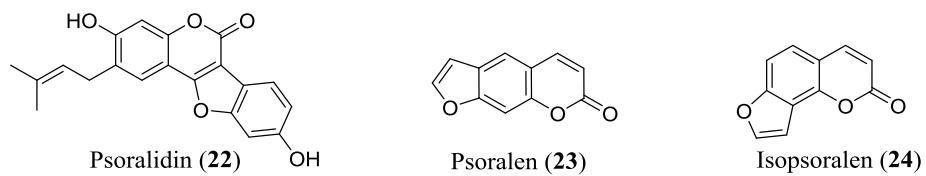
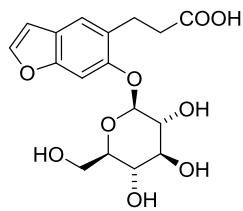
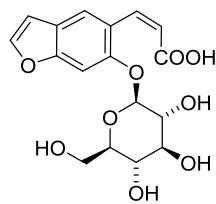


Fig. 1 Structures of known compounds isolated from *P. corylifolia* fruits (continued).

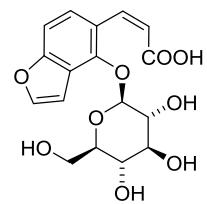
Benzofuran glycosides



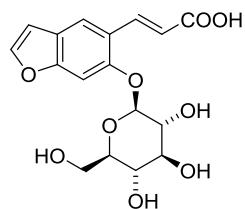
Cnidioside A (**25**)



Psoralenoside (**26**)



Isopsoralenoside (**27**)

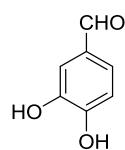


Psoralic acid *O*-glucopyranoside (**28**)

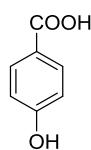


Isopsoralic acid *O*-glucopyranoside (**29**)

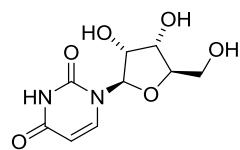
Other compounds



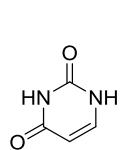
Protocatechualdehyde (**30**)



p-Hydroxybenzoic acid (**31**)



Uridine (**32**)



Uracil (**33**)

Fig. 1 Structures of known compounds isolated from *P. corylifolia* fruits (continued).

1-1-3 新規化合物の構造

新規化合物 2 種について以下のように構造の検討を進め、それぞれフラバノン (7) およびイソフラボン (13) の構造を確立した。

1-1-3-1 Bakuflavanone (7) の構造について

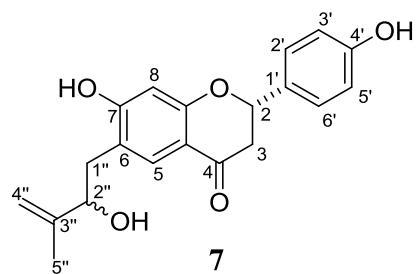


Fig. 2 Structure of compound 7.

化合物 7 は淡黄色粉末として得た。高分解能 FABMS により、分子式は $C_{20}H_{20}O_5$ であることが示された。UV スペクトルの吸収パターン [215 ($\log \epsilon$ 4.28), 235 ($\log \epsilon$ 4.20), 274 ($\log \epsilon$ 4.03), 310 ($\log \epsilon$ 3.68) nm] は、フラバノン骨格を持つ bavachin (6) と類似しており (Fig. 3)，化合物 7 も同様のフラバノン骨格を有すると推定した。

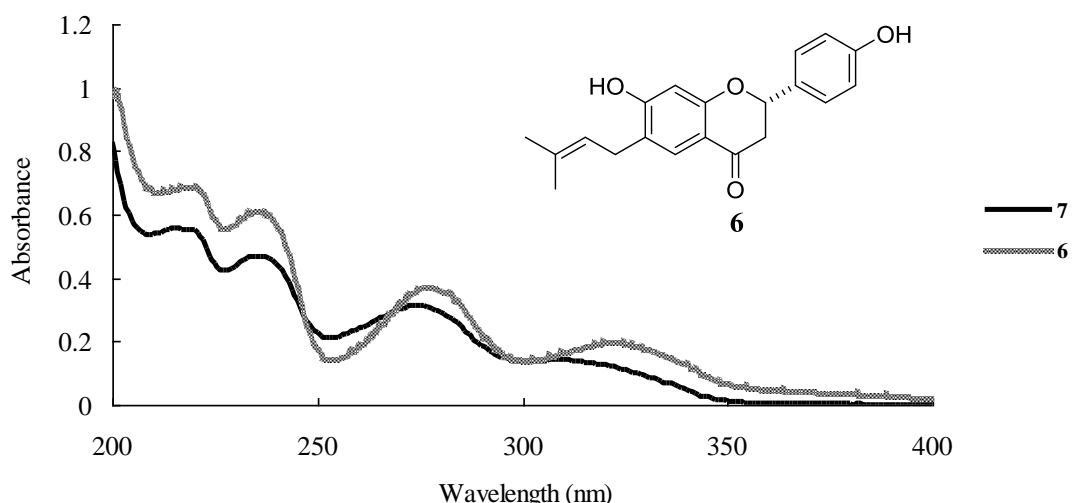


Fig. 3 UV spectra of compounds 6 and 7.

¹H-NMR スペクトル (Fig. 4) では、芳香族プロトン領域にフラバノンの B 環に帰属されるパラ二置換ベンゼン上の A₂B₂ タイプの計 4 個分のプロトンのシグナル、および A 環上のプロトンに帰属されるシングレットシグナルが Fig. 4 に示すように現れた。さらに、脂肪族プロトン領域には、フラバノン骨格の C 環 2 位および 3 位の炭素上のプロトンに帰属される、計 3 個の互いにカップリングしたメチレンおよびメチンプロトンのシグナルが現れた。また分子内の C5 単位に由来するメチレンプロトン (C-1"-H), メチンプロトン (C-2"-H), メチルプロトン (C-5"-H) とともに、C-4"位のエキソメチレンプロトンに帰属される 2 個のプロトンのシグナルが 5 ppm 付近に現れ、C5 単位は 2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl 構造として存在することが示された。これらから、化合物 7 は、フラバノン骨格の A 環上にこの C5 単位が結合した構造を有すると推定した。このフラバノン骨格の 2 位の不斉炭素の立体については、CD スペクトルにおいて (Fig. 5), 306 nm に負のコットンが現れたことから、S 配置であることが明らかになった。

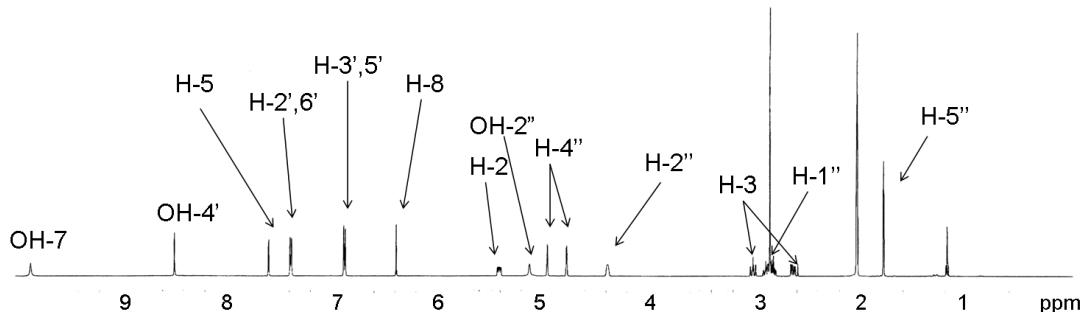


Fig. 4 ¹H-NMR spectrum of 7 (600 MHz, acetone-*d*₆).

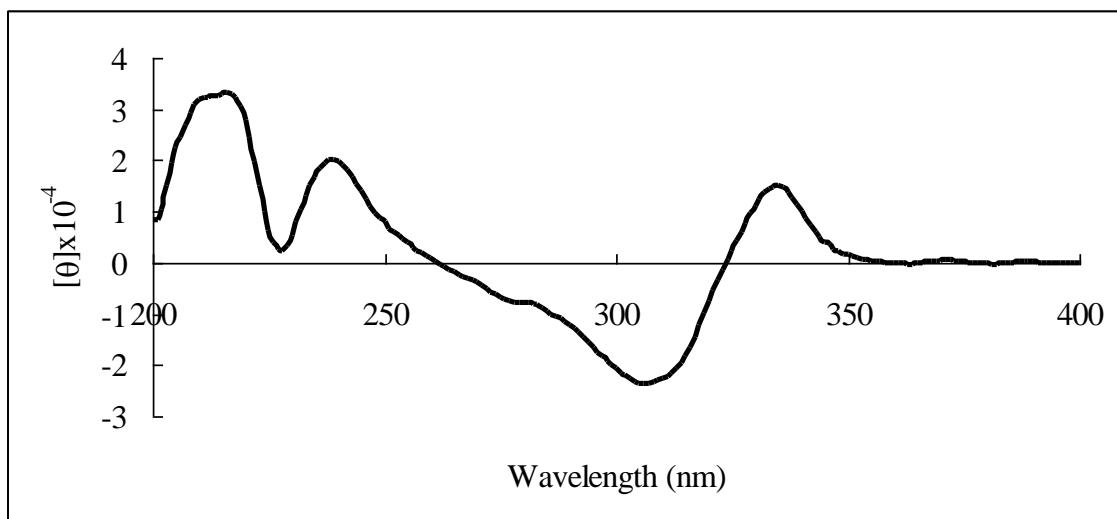


Fig. 5 CD spectrum of **7**.

化合物 **7** の ^{13}C -NMR の各シグナルは Fig. 6 のように帰属された。フラバノン骨格部分の ^{13}C -NMR の各シグナルは、既知化合物である bavachin (**6**) の ^{13}C -NMR データと比較すると (Table 1, C-2–10, C-1'-6') 良い一致が認められ、このフラバノン構造の妥当性が支持された。また、化合物 **7** の C5 単位部分が 2-hydroxy-3-methyl-3-butetyl の構造をとっていることにつ

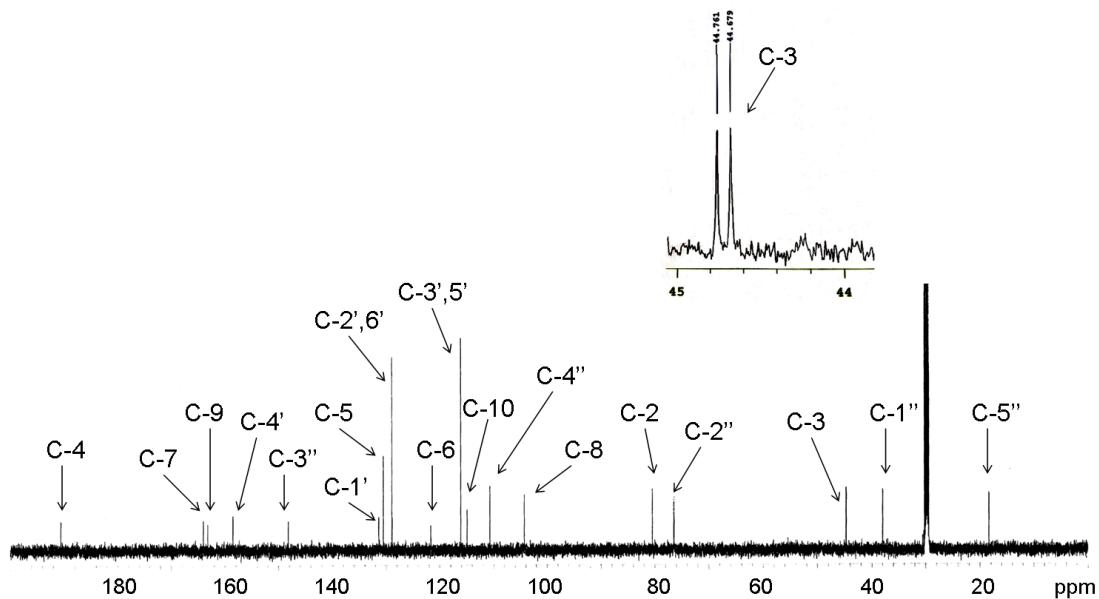


Fig. 6 ^{13}C -NMR spectrum of **7** (151 MHz, acetone- d_6).

いては、¹³C-NMRスペクトル上のこの部分の各シグナルを文献記載の 5,7,4'-trihydroxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)-isoflavone (Fig. 7)⁽³¹⁾ の¹³C-NMRスペクトルデータの対応するシグナルと比較したところ (Table 1, C-1"-5") 良い一致が見られ、化合物 7 がこの構造を持つことが確かめられた。また、本化合物の各炭素のシグナルは、Table 1 および Fig. 6 に示すように、二本ずつ約 1:1 の対になって現れており、これは二級ヒドロキシ基が結合している不斉中心 (C-2") についてジアステレオマーの両方が約 1:1 で存在していることを反映したものとして説明される。

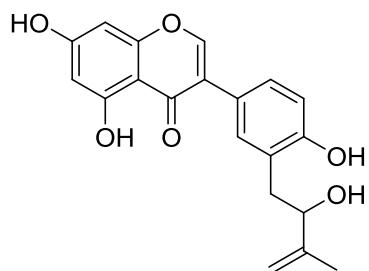


Fig. 7 Structure of 5,7,4'-trihydroxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl)-isoflavone⁽³¹⁾.

さらに化合物 7 の HMBC スペクトルを測定したところ、Fig. 8, 9 に示す各相関が見られた。これらのうち、2-hydroxy-3-methyl-3-butyl 基部分の H-1" と A 環の C-5 および C-7 位の炭素シグナルとの間の相関により、2-hydroxy-3-methyl-3-butyl 基は C-6 位に結合していることが確かめられた。以上から、化合物 7 の構造を (2S)-4',7-dihydroxy-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-butyl) flavanone と決定し、bakufavanone と名付けた。

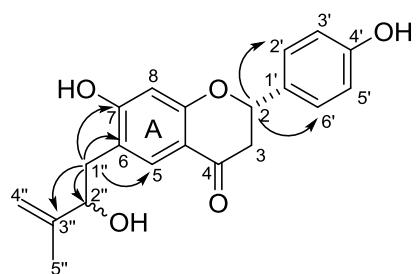


Fig. 8 Key HMBC correlations observed for 7 (600 MHz, acetone-*d*₆).

Table 1 ^{13}C -NMR Spectroscopic data for **7**, bavachin (**6**) and literature compound

Position	7	bavachin (6)	Literature compound ^c
	δ_{C} ^a	δ_{C} ^a	δ_{C} ^b
C-2	80.46, 80.42	80.5	154.3
C-3	44.77, 44.69	44.7	124.1
C-4	190.56	190.6	181.7
C-5	131.40	128.2	164.0
C-6	121.69, 121.63	132.9	100.0
C-7	164.02	162.8	165.0
C-8	104.25, 104.28	103.2	94.5
C-9	163.20	162.7	159.1
C-10	114.90	114.9	106.2
C-1'	131.40	131.4	123.1
C-2'	128.90	128.2	132.9
C-3'	116.10	116.0	126.8
C-4'	158.51, 158.52	158.5	157.1
C-5'	116.10	116.1	116.8
C-6'	128.90	128.9	131.2
C-1"	37.95, 37.80	28.2	38.9
C-2"	76.39, 76.47	123.8	77.1
C-3"	148.19, 148.23	123.2	148.5
C-4"	110.66, 110.70	17.8	110.7
C-5"	18.33, 18.37	25.9	18.3

^a 151 MHz, Acetone-*d*₆; ^b 125 MHz, Acetone-*d*₆; ^c see Fig. 7

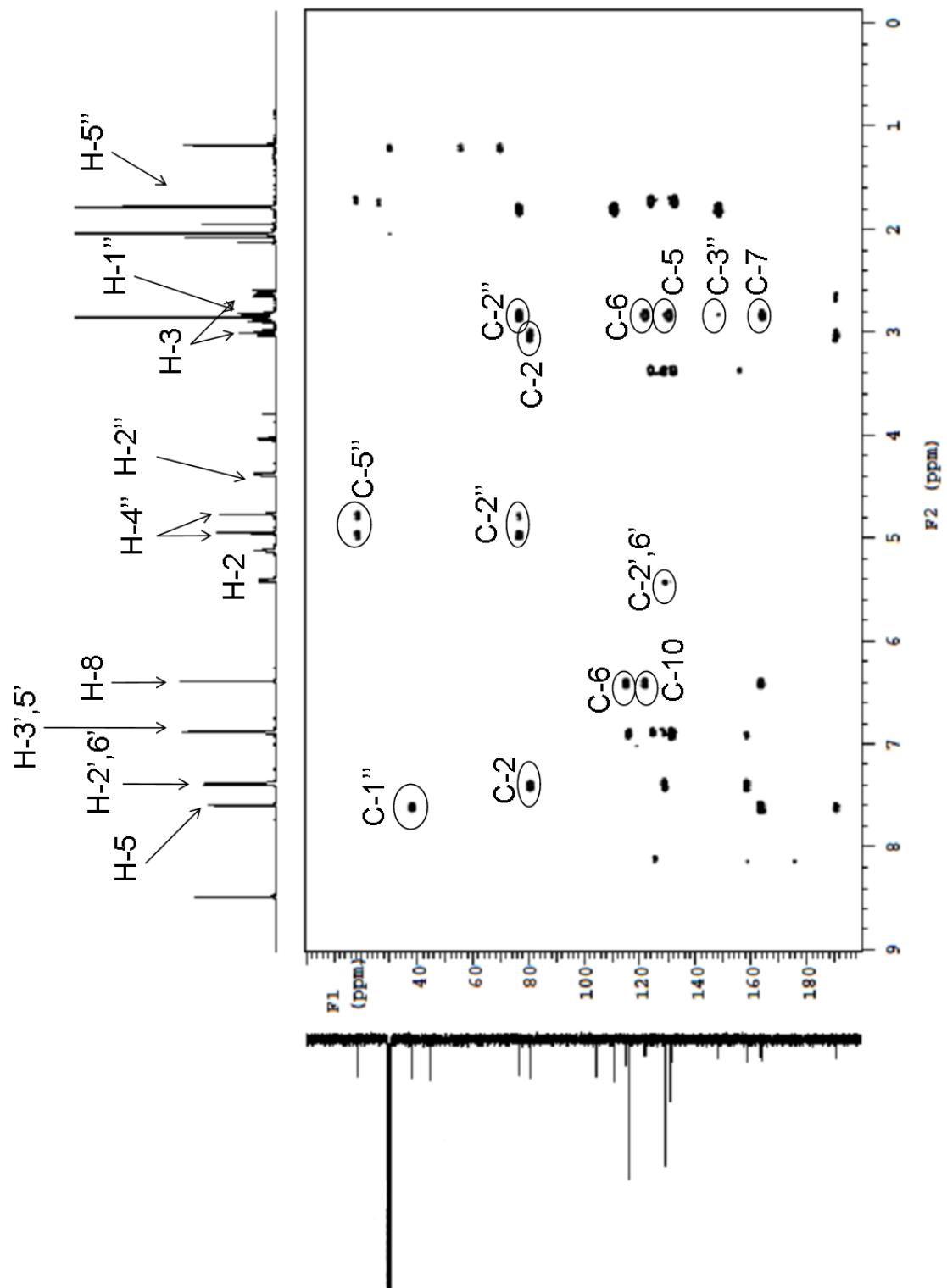


Fig. 9 HMBC spectrum of **7** (600 MHz, acetone-*d*₆).

1-1-3-2 Bakuisoflavone (13) の構造について

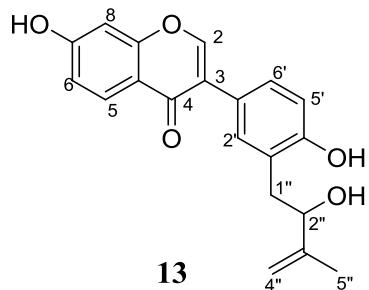


Fig. 10 Structure of compound 13.

化合物 **13** は淡黄色粉末として得た。本化合物は高分解能 FABMS により、分子式が $C_{20}H_{18}O_5$ であることが示された。また、UV スペクトル上の吸収パターン (Fig. 11) [λ_{max} ($\log \epsilon$) 248 (4.36), 310 (3.93) nm]から、本化合物は neobavaisoflavone (**8**) と同様のイソフラボン骨格を有することが示された。 1H -NMR スペクトル (Fig. 12) では、2 つの 1,3,4 位置換ベンゼン環上の計 6 個分のプロトンのシグナルが 7 - 8 ppm 付近に現れ、また、8 ppm 付近にイソフラボンの 2 位のプロトンに帰属される特徴的なシングレットシグナルが観察された。さらに、分子内の C5 単位に由来するメチレンプロトン (C-1"-H), メチンプロトン (C-2"-H), メチルプロトン (C-5"-H) とともに、C-4"位のエキソメチレンプロトンに帰属される 2 個のプロトンシグナルが 5 ppm 付近に現れ、C5 単位は 2-hydroxy-3-methyl-3-butene-2,4-dienyl 構造として存在することが示された。

以上から、イソフラボン骨格のいずれかにフェノール性ヒドロキシ基 2 個およびこの C5 単位が結合した構造が推定された。C5 単位の 2" 位には不斉炭素が存在しているが、旋光度がゼロであることから、この化合物はエナンチオマーの等量混合物すなわちラセミ体であると考えられた。

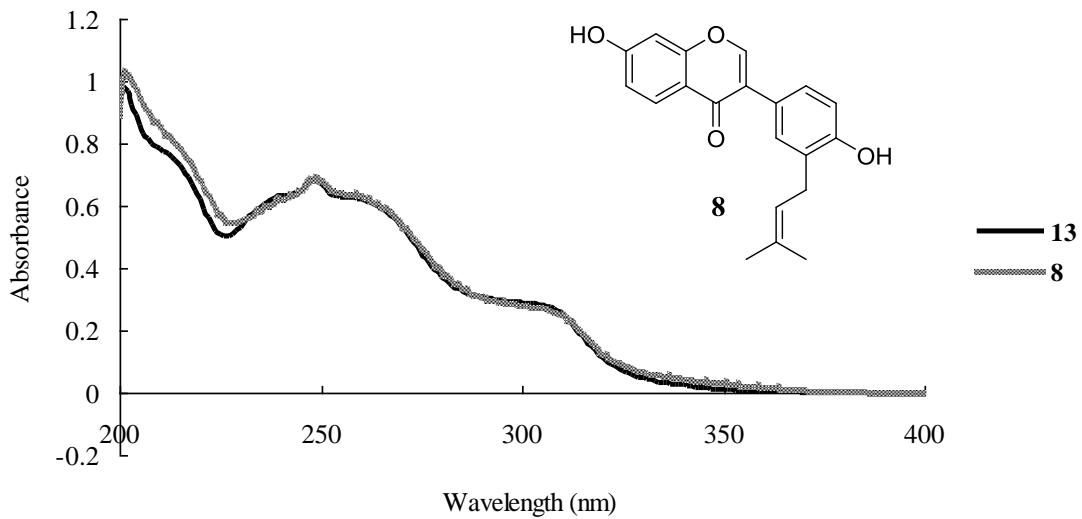


Fig. 11 UV spectra of compounds **8** and **13**.

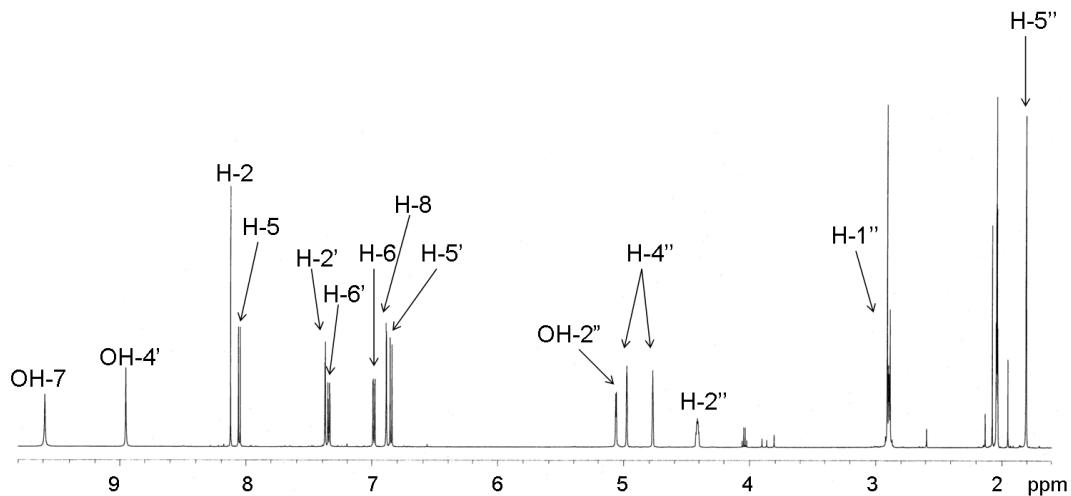


Fig. 12 ^1H -NMR spectrum of **13** (600 MHz, acetone- d_6).

化合物 **13** の ^{13}C -NMR は Fig. 13 のように帰属できた。その **13** のイソプラボン部分の各炭素シグナルのケミカルシフトを既知化合物の neobavaisoflavone (**8**) のイソフラボン骨格の部分のデータと比較すると (Table 2), 良い一致が見られ, 化合物 **13** は, neobavaisoflavone (**8**) の C5 単位部分のみがプレニル基から置き換わった構造を持つと考えられた。また, 化合物 **13** の 2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl の部分の構造については, その ^{13}C -NMR スペクトルデータを新規化合物 **7** と比較すると Table 2 に示すようにほぼ一致しており, 化合物 **13** も同様にこの部分構造を持つことが確かめられた。

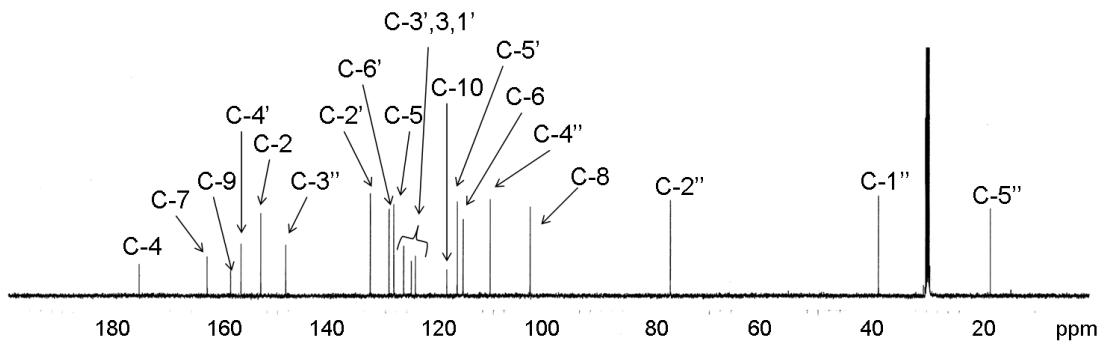


Fig. 13 ^{13}C -NMR spectrum of **13** (151 MHz, acetone- d_6).

さらに、化合物 **13**について HMBC スペクトルを測定したところ、Fig. 14, 15 に示される各相関が見られた。これらのうち、2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl 基の H-1'' と B 環の C-2' および C-4' の間に相関が観察されたことから、2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl 基はイソフラボン骨格の C-3' 位に結合していることが確かめられた。以上から、化合物 **13** の構造は 4',7-dihydroxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl) isoflavone と決定し、bakuisoflavone と命名した。

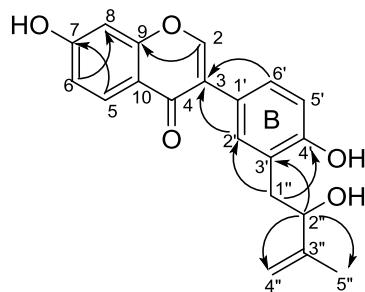


Fig. 14 Key HMBC correlations observed for **13**.

(600 MHz, acetone- d_6)

Table 2 ^{13}C -NMR Spectroscopic data for **13**, neobavaisoflavone (**8**) and **7**

Position	13	neobavaisoflavone (8)	7
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
C-2	153.1	153.2	80.46, 80.42
C-3	125.2	125.5	44.77, 44.69
C-4	175.7	175.8	190.56
C-5	128.5	128.4	131.4
C-6	115.6	115.6	121.69, 121.63
C-7	163.1	163.2	164.02
C-8	103.1	103.2	104.25, 104.28
C-9	158.7	158.8	163.2
C-10	118.6	118.6	114.9
C-1'	124.1	125.5	131.4
C-2'	132.9	131.2	128.9
C-3'	126.6	124.4	116.1
C-4'	156.8	155.7	158.51, 158.52
C-5'	116.7	115.5	116.1
C-6'	129.3	128.4	128.9
C-1"	38.9	29.5	37.95, 37.80
C-2"	77.1	123.7	76.39, 76.47
C-3"	148.5	132.3	148.19, 148.23
C-4"	110.6	17.9	110.66, 110.70
C-5"	18.3	25.9	18.33, 18.37

^a 151 MHz, Acetone-*d*₆

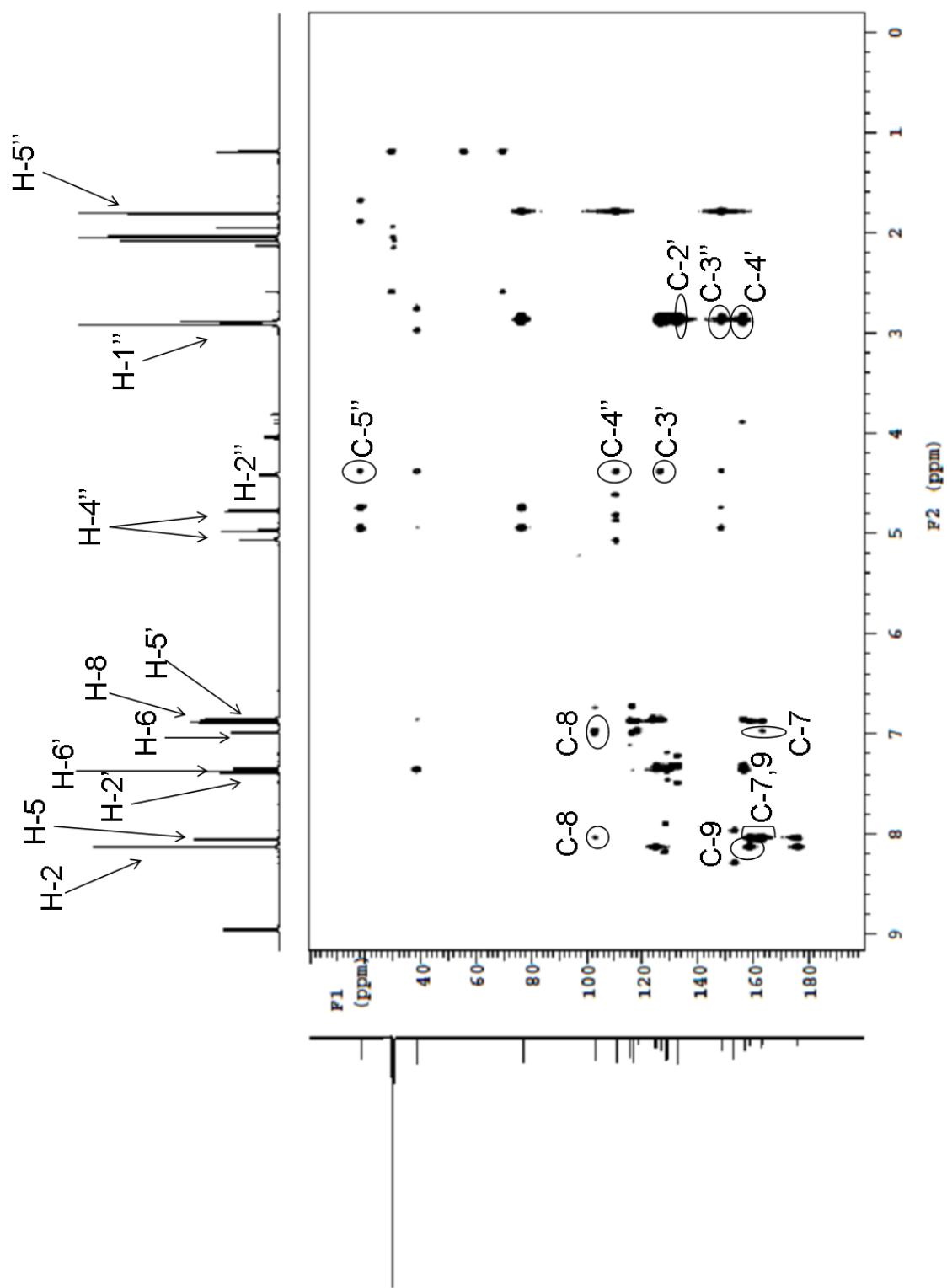


Fig. 15 HMBC spectrum of **13** (600 MHz, acetone-*d*₆).

1-2 補骨脂の抗 MRSA 活性についての検討

1-2-1 MRSA 菌株の性質

本研究での抗菌活性の検討には岡山大学病院臨床分離株である MRSA OM481 株および OM584 株を使用した。これらのうち, OM481 株は β -ラクタマーゼ非産生株であり, β -ラクタム剤低親和性の細胞壁合成酵素であるペニシリン結合タンパク (penicillin binding protein: PBP) PBP-2a を構成型として産生する。一方, OM584 株は β -ラクタマーゼ産生株で, PBP-2a は β -ラクタム剤の誘導によって産生する株である。また, これら MRSA の 2 株のコアグラーゼタイプはいずれも II 型に属する。これらの菌株は arbekacin および vancomycin を除いた様々な抗生物質に対して耐性を獲得している (Table 3)。

Table 3 Effects of antibiotics against MRSA strains

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
	OM481	OM584
Oxacillin	256	256
Penicillin G	32	16
Ampicillin	128	128
Cefimetazole	64	64
Imipenem	32	16
Streptomycin	8	4
Ofloxacin	8	4
Tetracyclin	4	64
Erythromycin	>128	>128
Vancomycin	1	2
Arbekacin	0.5	1

1-2-2 補骨脂の MRSA に対する抗菌効果の検討

補骨脂から Chart 1 に示すようにして得た *n*-hexane エキス, EtOAc エキスおよび MeOH エキスについてまず, MRSA OM584 株に対する抗菌活性を調べた結果は Table 4 に示すとおりであった。これらのうち *n*-hexane エキスおよび EtOAc エキスは, MRSA OM584 株に対する MIC がいずれも 16 μg/mL で、エキスとしては強い抗菌活性が見られた。この二つのエキスを順相 HPLC で分析すると、補骨脂の主成分である bakuchiol (**1**) は *n*-hexane エキスのほとんどを占めており、EtOAc エキスにおいては、bakuchiol (**1**) 以外にその他の成分も比較的多く含まれていた (Fig. 16)。

先にも述べたように bakuchiol (**1**) については抗 MRSA 作用を有することが報告されており⁽¹⁰⁾, *n*-hexane エキスの抗菌活性には主に bakuchiol (**1**) が寄与していると考えられる。これに対し、EtOAc エキスには bakuchiol (**1**) 以外にも多くの成分に由来する HPLC ピークが認められ、bakuchiol (**1**) の含有割合は明らかに *n*-hexane エキスにより低いことから、他の成分の中に抗 MRSA 活性を有する化合物が見いだされる可能性が高いと考えられる。

そこで、本研究では、EtOAc エキスから単離した 17 種の化合物、化合物 **1–11, 13, 15, 16, 18, 23, 24** について、微量液体希釈法を用いて抗 MRSA 活性を評価した。これらの化合物の構造は Fig. 17 に示した。

Table 4 Antibacterial effects of crude extract from *P. corylifolia* fruits against MRSA

Sample	MIC (μg/mL)
	MRSA OM584
<i>n</i> -Hexane ext.	16
EtOAc ext.	16
MeOH ext.	512
Oxacillin	256
Vancomycin	2 ^a

^a Data from ref. (32)

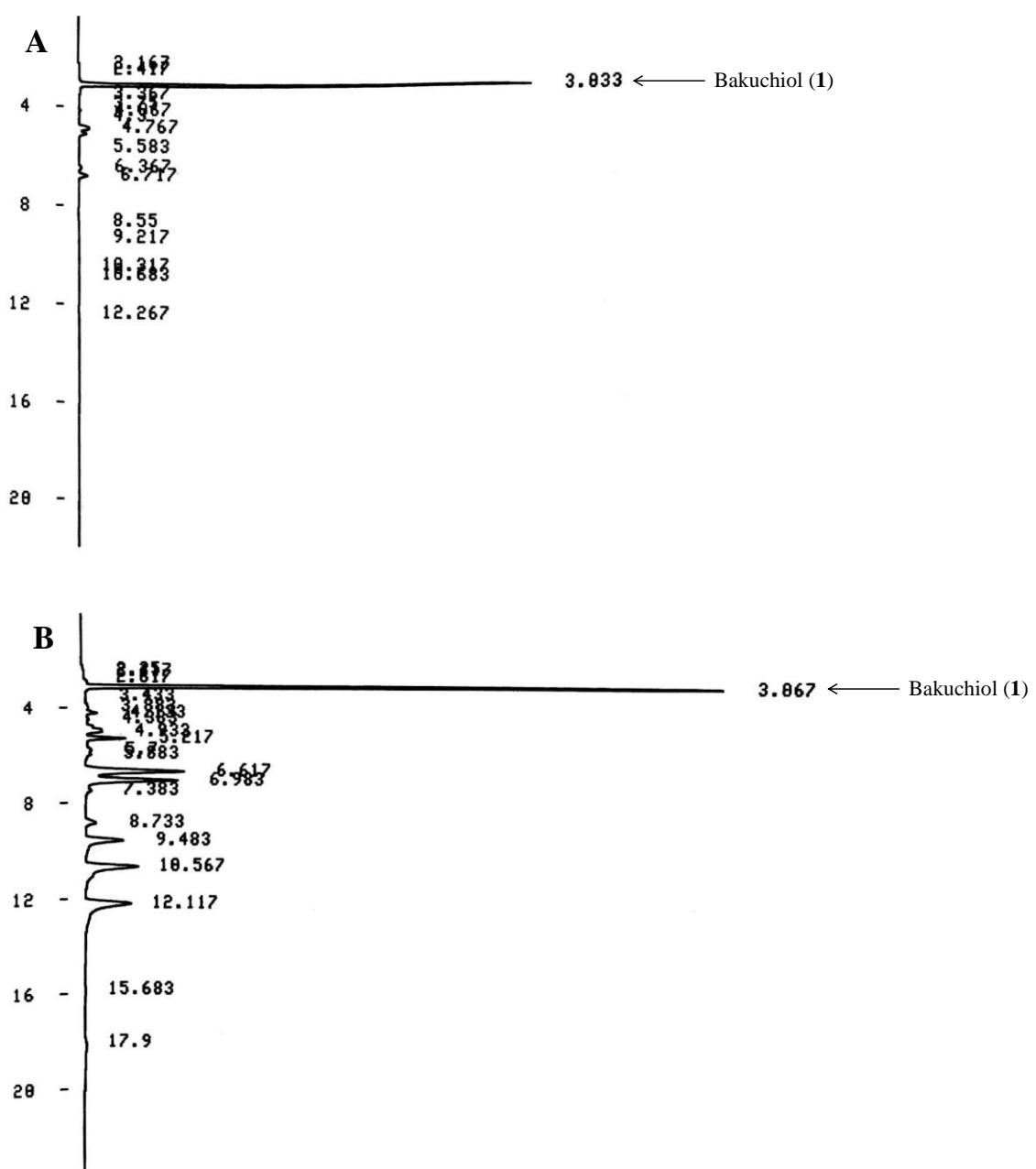


Fig. 16 HPLC chromatograms of *n*-hexane and EtOAc ext. (A: *n*-hexane ext.; B: EtOAc ext.).

Column: YMC-PACK SIL-A 003 (250 × 4.6 mm I.D); mobile phase: *n*-hexane : EtOAc = 3:1;
flow rate: 1.5 mL/min; detector: 280 nm.

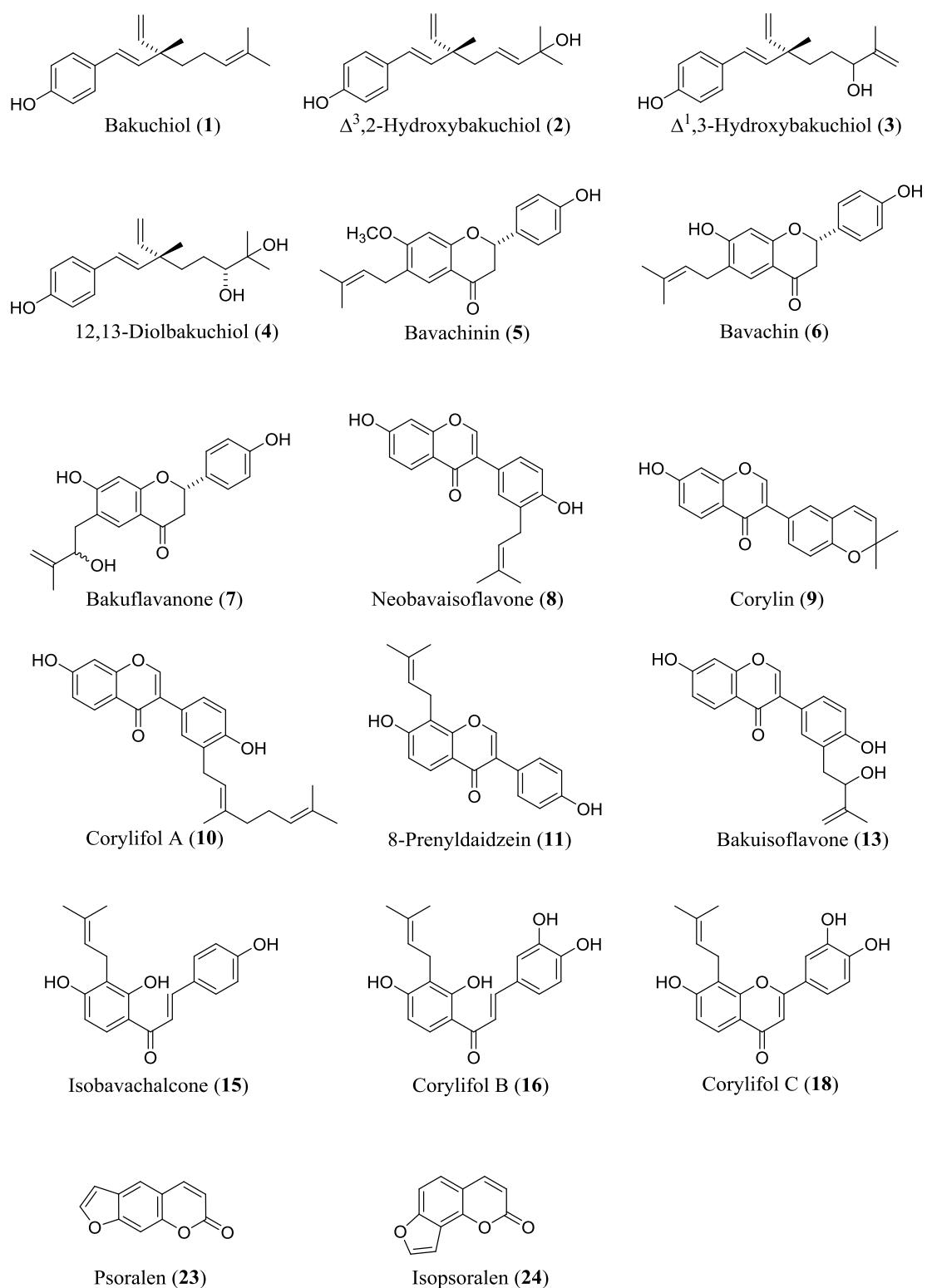


Fig. 17 Structures of compounds tested anti-MRSA effects.

これらの化合物の抗菌活性の結果を Table 5 に示した。

Table 5 Antibacterial effects of compounds against MRSA

Compounds	MICs ($\mu\text{g/mL}$)	
	MRSA OM481	MRSA OM584
Meroterpenes		
Bakuchiol (1)	8	8
Δ^3 ,2-Hydroxybakuchiol (2)	>32	>32
Δ^1 ,3-Hydroxybakuchiol (3)	>32	>32
12,13-diolbakuchiol (4)	>32	>32
Flavanones		
Bavachinin (5)	>32	32
Bavachin (6)	32	32
Bakuflavanone (7)	>32	>32
Isoflavones		
Neobavaisoflavone (8)	16	16
Corylin (9)	>32	>32
Corylifol A (10)	>32	>32
8-Prenyldaidzein (11)	>32	>32
Bakuisoflavone (13)	>32	>32
Chalcones		
Isobavachalcone (15)	8	8
Corylifol B (16)	16	8
Flavone		
Corylifol C (18)	16	16
Coumarins		
Psoralen (23)	>32	>32
Isopsoralen (24)	>32	>32
Oxacillin	256	256
Vancomycin	1 ^a	2 ^a

^a Data from ref. ⁽³²⁾

補骨脂から単離した化合物の MRSA に対する抗菌作用については、以下に示すような化学構造と抗菌活性の強弱の関係が認められた。

- (1) メロテルペソ類 : Bakuchiol (**1**) は補骨脂の主成分であり、本研究においても MRSA の OM481 および OM584 の両菌株に対して抗菌活性が認められ、その MIC は $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。これに対して、 $\Delta^3,2\text{-hydroxybakuchiol}$ (**2**)、 $\Delta^1,3\text{-hydroxybakuchiol}$ (**3**)、12,13-diolbakuchiol (**4**) は $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で抗 MRSA 活性を示さなかった。この三種類の化合物はいずれも、bakuchiol (**1**) の末端プレニル基が酸化された構造を持つ。したがってこれらメロテルペソ類においては、末端プレニル基を含むアルキル基部分が抗菌活性にとって重要と考えられる。
- (2) フラバノン類 : 検討した 3 種のうち、bavachin (**6**) のみが MRSA OM481 および OM584 に対して、MIC $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ で抗菌活性を示した。Bavachin (**6**) および bakuflavanone (**7**) の構造を比較すると、bavachin (**6**) のプレニル基が酸化されてできた bakuflavanone (**7**) の抗菌活性が失われ、プレニル基の重要性が示された。また、bavachinin (**5**) および bavachin (**6**) はいずれもプレニル基を有するが、bavachin (**6**) の A 環の 7 位のヒドロキシ基がメチル化されてできた bavachinin (**5**) では抗 MRSA 活性が低下した。このことからフラバノン骨格上のフェノール性ヒドロキシ基も重要な役割を果たしていると考えられる。
- (3) イソフラボン類 : 検討した 5 種のイソフラボン類のうち、neobavaisoflavone (**8**) のみに抗 MRSA 活性 (MIC $16 \mu\text{g}/\text{mL}$) が認められた。Corylin (**9**)、corylifol A (**10**)、8-prenyldaidzein (**11**)、bakuisoflavone (**13**) はプレニル基から誘導された置換基 (環化されたもの、二量体になったもの、酸化されたもの) を有しているが、これらは抗菌活性が認められなかった。特に、化合物 **8** および **11** を比較すると、イソフラボン骨格に結合したプレニル基の位置も大きな影響を与えると考えられる。また、corylifol A (**10**) がゲラニル基 (プレニル基の二量体) を有しており、MRSA に対する MIC が低く、その原因は本研究の結果だけで考察が難しいが、今後、さらなる検討が必要になると考えられる。
- (4) カルコン類 : Isobavachalcone (**15**) は MRSA OM481 および OM584 株に対して、MIC $8 \mu\text{g}/\text{mL}$ であり、今回検討したものの中では強い抗菌活性を示した。また、もう一つのカルコン corylifol B (**16**) も同じ程度の強い抗 MRSA 活性 (MIC $8\text{--}16 \mu\text{g}/\text{mL}$) を示

した。これらはいずれも分子内にプレニル基を有している。

- (5) フラボン類: 本研究では corylifol C (**18**) のみを検討したが、本化合物は比較的強い抗菌活性を示した。
- (6) クマリン類: Psoralen (**23**) および isopsoralen (**24**) の 2 種について検討したところ、これらはいずれも抗 MRSA 活性を示さなかった。

以上に示したように、抗 MRSA 活性を調べた 17 種の化合物のうち、MRSA OM481 株および OM584 株に対し、bakuchiol (**1**) 以外にも、これと同等の強さの抗菌活性を示す化合物（化合物 **6, 8, 15, 16, 18**; MIC 8–32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Fig. 18）が 5 種見出された。これらの化合物の抗 MRSA 活性には、プレニル基の存在とその位置およびヒドロキシ基の存在が重要であり、また、化合物の骨格も抗菌活性に影響を与えることが明らかになった。本研究から得られた化合物の MRSA に対する構造—活性の関連性は先行研究で報告された甘草のプレニルフラボノイド⁽³³⁾の結果と良い一致が見られた。

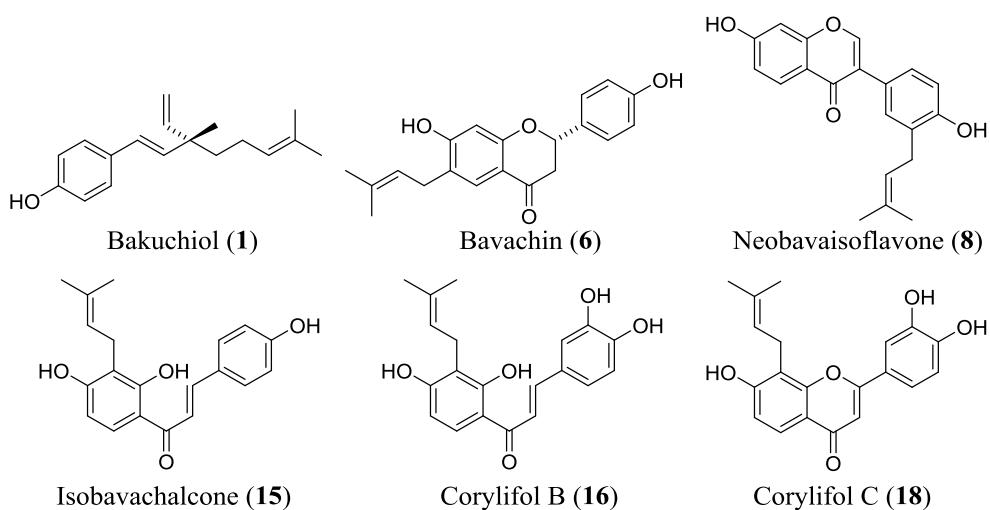


Fig. 18 Compounds which showed anti-MRSA effects isolated from fruits of *P. corylifolia*.

先に、茶葉の主カテキン成分の epigallocatechin gallate や山椒のプロシアニジンポリマーのようなポリフェノール性の植物成分について、その MRSA に対する作用機構の検討が行われており、低浸透圧および高塩濃度条件下での実験により、MRSA の細胞膜に直接障害を与えることが示されている^(34, 35)。他方、甘草のプレニルフラボノイドの抗 MRSA 作用の検

討などにより、ペニシリン結合タンパク PBPs の代替タンパク PBP-2a の産生には影響を与えないことも示されている⁽³³⁾。これらおよび本研究によって示された抗 MRSA 作用と化学構造との関係についての検討結果を併せて考えると、補骨脂成分の MRSA に対する作用については、疎水性のプレニル基による細胞膜への親和性と、フェノール性ヒドロキシ基による細菌細胞膜障害とが、抗菌作用について少なくともその一部に関与していると考えられる。

1-3 EtOAc エキスに含まれる主要な成分の定量分析

本研究において、補骨脂の EtOAc エキスから数種の抗 MRSA 活性を有する化合物が見出されたことから、補骨脂から抗 MRSA 活性を有するシードとなる化合物の開発が期待される。本生薬の利用価値を評価するために、抗菌活性を示している化合物 bakuchiol (**1**), bavachin (**6**), neobavaisoflavone (**8**), isobavachalcone (**15**), corylifol B (**16**) と共に HPLC で明瞭に観察できる化合物 bavachinin (**5**), corylifol A (**10**), psoralen (**23**), isopsoralen (**24**) 計 9 種の化合物について、Fig.19 に示す HPLC による一斉分析条件を確立し、この条件を用いて、絶対検量線法により含有量を求めた。その結果を Table 6 にまとめた。

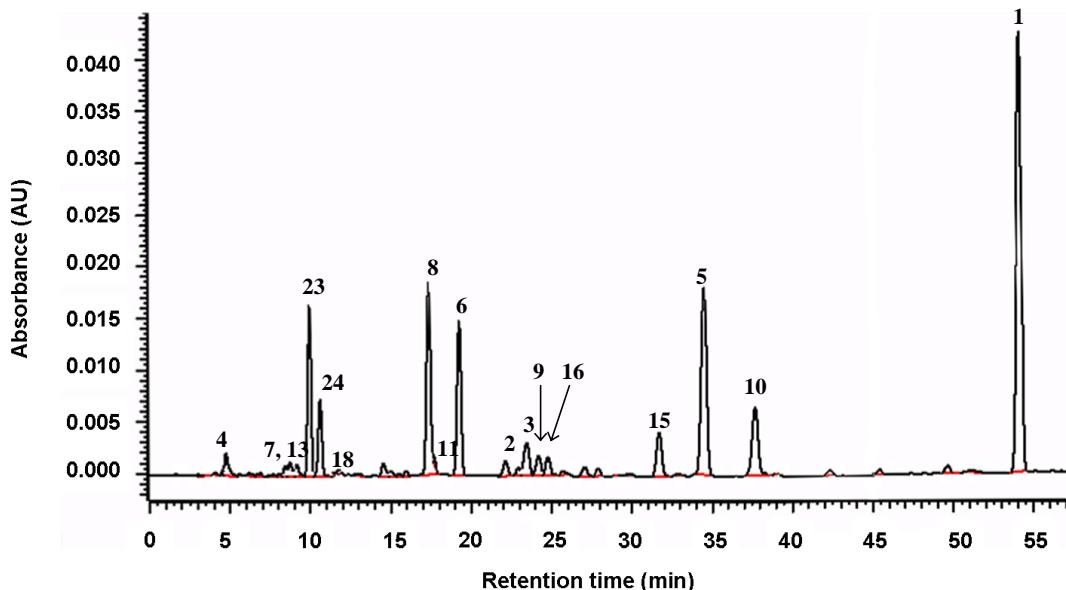


Fig. 19 HPLC-UV chromatogram of EtOAc extract from *P. corylifolia* at 280 nm.

Column: YMC-PACK Pro-C18 (6.0 mm i.d. x 150); mobile phase (gradient elution): A, water-acetonitrile-formic acid (60:40:1), B, water-acetonitrile-formic acid (20:80:1); flow rate, 1.0 mL/min; oven temperature, 40°C; The numbers of representative compounds were displayed in Fig. 17.

Table 6 Contents of major constituents in EtOAc extract of *P. corylifolia*.

Compounds	Content (% w/w) ^a
Bakuchiol (1)	16.49 ± 0.455
Bavachinin (5)	5.03 ± 0.100
Bavachin (6)	1.80 ± 0.059
Neobavaisoflavone (8)	2.33 ± 0.054
Corylifol A (10)	1.86 ± 0.046
Isobavachalcone (15)	3.14 ± 0.111
Corylifol B (16)	1.81 ± 0.121
Psoralen (23)	1.76 ± 0.052
Isopsoralen (24)	1.26 ± 0.071

^a The value was given as the mean ± standard deviation (SD) based on the triplicate experiment.

これらの化合物のうち, bakuchiol (**1**) および isobavachalcone (**15**) に最も強い抗 MRSA 活性が認められた。Bakuchiol (**1**) の含有量は最も多く, isobavachalcone (**15**) も比較的多く含まれている。抗菌活性を示した bavachin (**6**) の含有量はその誘導体で抗菌活性を示さなかった bavachinin (**5**) より少ないが, 定量の結果から, 今回得た 74.1 g の EtOAc エキスの中でもおよそ 1.3 g は bavachin (**6**) であることになる。また, 同様に強い抗 MRSA 活性を示したカルコン類である corylifol B (**16**) およびイソフラボン類の neobavaisoflavone (**8**) も多く含有していることが認められた。

以上のように, 補骨脂に含まれている強い抗 MRSA 活性を示す化合物の含有量も多く, このことは補骨脂の抗 MRSA 薬開発の資源として利用される可能性を示している。

1-4 補骨脂の成分の構造上の特徴

本研究で補骨脂から単離した成分の構造上の特徴については、以下のようにまとめられる。

補骨脂には、メロテルペソ類、フラボノイド類（フラバノン、イソフラボン、カルコン、フラボン）、クメスタン類、クマリン類、ベンゾフラン類といった様々な骨格の化合物が含有されており、これらの化合物の中に、bakuchiol (**1**) と同様にプレニル基を有するものが多い。本研究において、新規フラバノンとして bakuflavanone (**7**)、新規イソフラボンとして bakuisoflavone (**13**) をそれぞれ見出すことができた。この二つの新規化合物に、いずれも酸化されたプレニル基、すなわち 2-hydroxy-3-methyl-3-but enyl 基を有することが特徴的である。

Neoschaftoside (**19**)、schaftoside (**20**)、isoschaftoside (**21**) はいずれもアピゲニンの C-配糖体であり、これまでに補骨脂からの単離報告がなかった。本研究では、このようなフラボノイドの C-配糖体が補骨脂に存在していることが明らかになった。

また、ベンゾフランの psoralenoside (**26**) および isopsoralenoside (**27**) については補骨脂からの単離報告があるが、これらのトランス異性体としての psoralic acid *O*-glucopyranoside (**28**) および isopsoralic acid *O*-glucopyranoside (**29**) の補骨脂からの単離報告はまだなく、これらは psoralenoside (**26**) および isopsoralenoside (**27**) の側鎖にあるシス二重結合のトランス化によって生成された可能性が考えられる。Cnidioside A (**25**) は psoralenoside (**26**) または psoralic acid *O*-glucopyranoside (**28**) の側鎖の二重結合が還元されたもの (Fig. 20) に相当し、補骨脂からの単離報告は初めてである。

こうした分析条件の確立により、補骨脂のロットによる成分の差異についての検討が可能となった。この場合、同じ種の産地や季節による変動があったとしても、少なくとも補骨脂の基原植物にこれらの生産能を有することが示されたことになり、それらの生合成過程の抑制や促進の要因を解明する手段に繋がる可能性が考えられる。

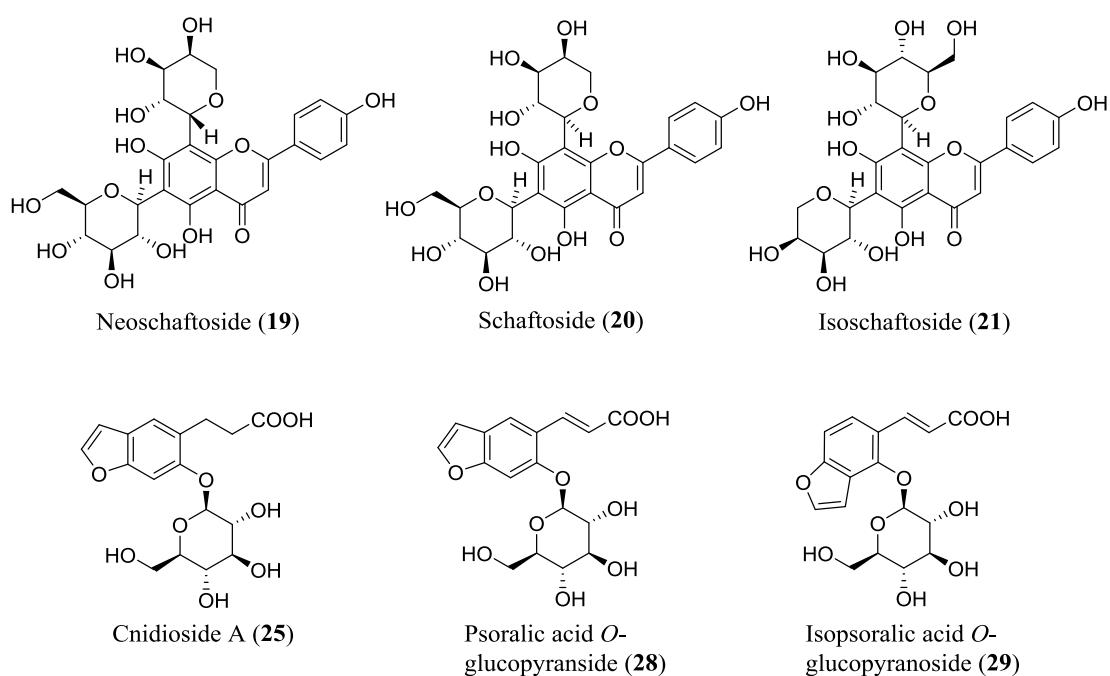


Fig. 20 Structures of known compounds first time isolated from *P. corylifolia*.

第2章 呉茱萸の成分およびそれらの MRSA に対する作用

吳茱萸の成分については、先にも述べたように、evodiamine, rutaecarpine のようなインドール型アルカロイド、evocarpine を代表とするキノロンアルカロイドや evodol を始めとしたトリテルペノイド苦味質などが報告されており、また、精油も知られる。これらの化合物に関する生理活性については、evodiamine の抗がん作用⁽⁸⁾、キノロンアルカロイドの抗菌活性^{(6), (7), (36)} などが報告されている。本研究では、これまでに研究が少ない、より高極性の成分を中心とし検討を進めた。本章ではこの吳茱萸の成分の検討の結果、および単離した成分の抗 MRSA に対する作用の検討結果について述べる。

2-1 吳茱萸の成分について

2-1-1 吴茱萸からの成分の単離

日本国内市場で入手した吳茱萸について、粉碎後、*n*-hexane で冷浸抽出し、*n*-hexane エキスを得た。その残渣をさらに 70% acetone 中でホモジナイズし、濾過、濃縮し、濃縮中に生じた不溶物を分離後、水溶液を EtOAc で抽出し、EtOAc エキスを得た。EtOAc 抽出後の水層をアンモニア水で pH 10 に調整し、CHCl₃ でさらに抽出して CHCl₃ エキスおよび水エキスをそれぞれ得た。こうして得た各エキスについて、各種カラムクロマトグラフィーおよび分取 HPLC をを行い、38 種の化合物を単離した。(Chart 2)

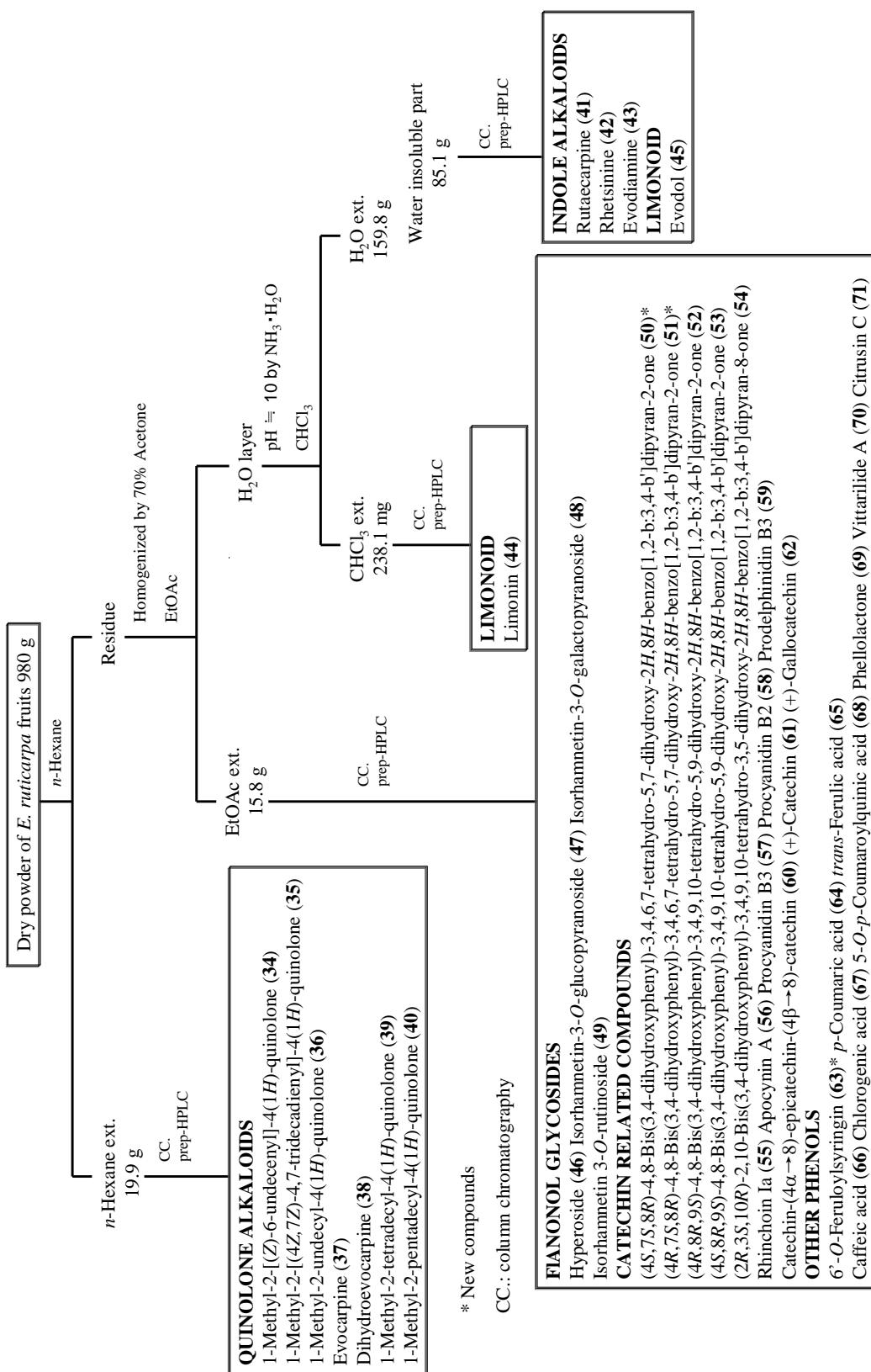


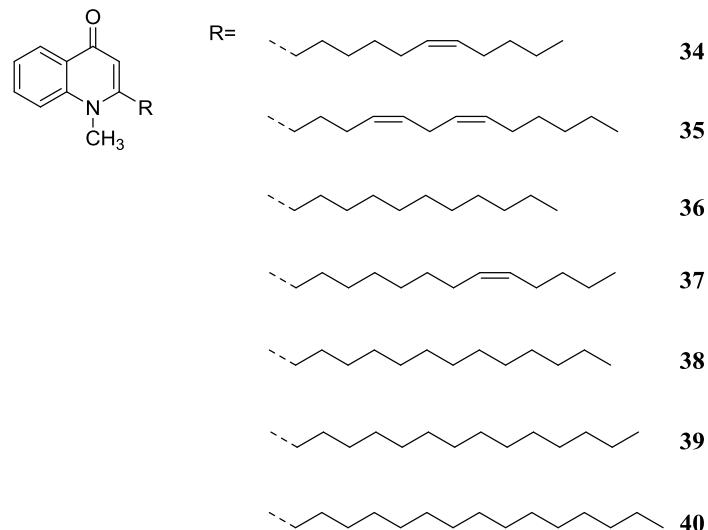
Chart 2 Isolation of compounds from *Euodia* fruits.

2-1-2 既知化合物の同定

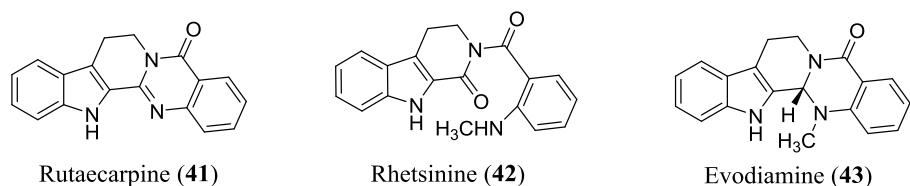
本研究によって吳茱萸から単離した 38 種の化合物のうち 35 種は既知化合物で、HPLC による標品との直接比較および NMR データの文献記載のデータとの比較により、それぞれ 1-methyl-2-[(*Z*)-6-undecenyl]-4(1*H*)-quinolone (**34**)⁽³⁷⁾, 1-methyl-2-[(4*Z*,7*Z*)-4,7-tridecadienyl]-4(1*H*)-quinolone (**35**)⁽³⁷⁾, 1-methyl-2-undecyl-4(1*H*)-quinolone (**36**)⁽³⁸⁾, evocarpine (**37**)⁽³⁷⁾, dihydroevocarpine (**38**)⁽³⁷⁾, 1-methyl-2-tetradecyl-4(1*H*)-quinolone (**39**)⁽³⁷⁾, 1-methyl-2-pentadecyl-4(1*H*)-quinolone (**40**)⁽³⁷⁾, rutaecarpine (**41**)⁽³⁹⁾, rhetsinine (**42**)⁽⁴⁰⁾, evodiamine (**43**) (HPLC), limonin (**44**)⁽⁴¹⁾, evodol (**45**)⁽⁴²⁾, hyperoside (**46**)⁽⁴³⁾, isorhamnetin-3-*O*-glucopyranoside (**47**)⁽⁴⁴⁾, isorhamnetin-3-*O*-galactopyranoside (**48**)⁽⁴⁵⁾, isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (**49**)⁽⁴⁶⁾, (4*R*,8*R*,9*S*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b*']dipyran-2-one (**52**)⁽⁴⁷⁾, (4*S*,8*R*,9*S*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b*']dipyran-2-one (**53**)⁽⁴⁷⁾, (2*R*,3*S*,10*R*)-2,10-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-3,5-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b*']dipyran-8-one (**54**)⁽⁴⁸⁾, rhinchoin Ia (**55**)^(48,49), apocynin A (**56**)⁽⁵⁰⁾, procyanidin B3 (**57**)⁽⁵¹⁾, procyanidin B2 (**58**)⁽⁵²⁾, prodelphinidin B3 (**59**)⁽⁵³⁾, catechin-(4*α*→8)-epicatechin-(4*β*→8)-catechin (**60**), (+)-catechin (**61**) (HPLC), (+)-gallocatechin (**62**) (HPLC), *p*-coumaric acid (**64**) (HPLC), *trans*-ferulic acid (**65**)⁽⁵⁴⁾, caffeic acid (**66**) (HPLC), chlorogenic acid (**67**) (HPLC), 5-*O*-*p*-coumaroylquinic acid (**68**)⁽⁵⁵⁾, phellolactone (**69**)⁽⁵⁶⁾, vittarilide A (**70**)⁽⁵⁷⁾, citrusin C (**71**)⁽⁵⁸⁾ と同定した。それらの構造式を Fig. 21 に示す。

これらの化合物のうち、catechin-(4*α*→8)-epicatechin-(4*β*→8)-catechin (**60**) は既知化合物であったが、詳細なスペクトルデータが報告されていないので、これについて以下に述べるように検討を加えた。

Quinolone alkaloids



Indole alkaloids



Limonoids

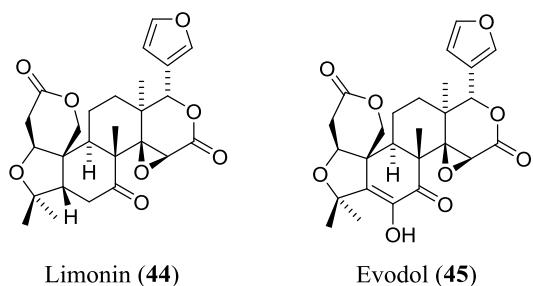
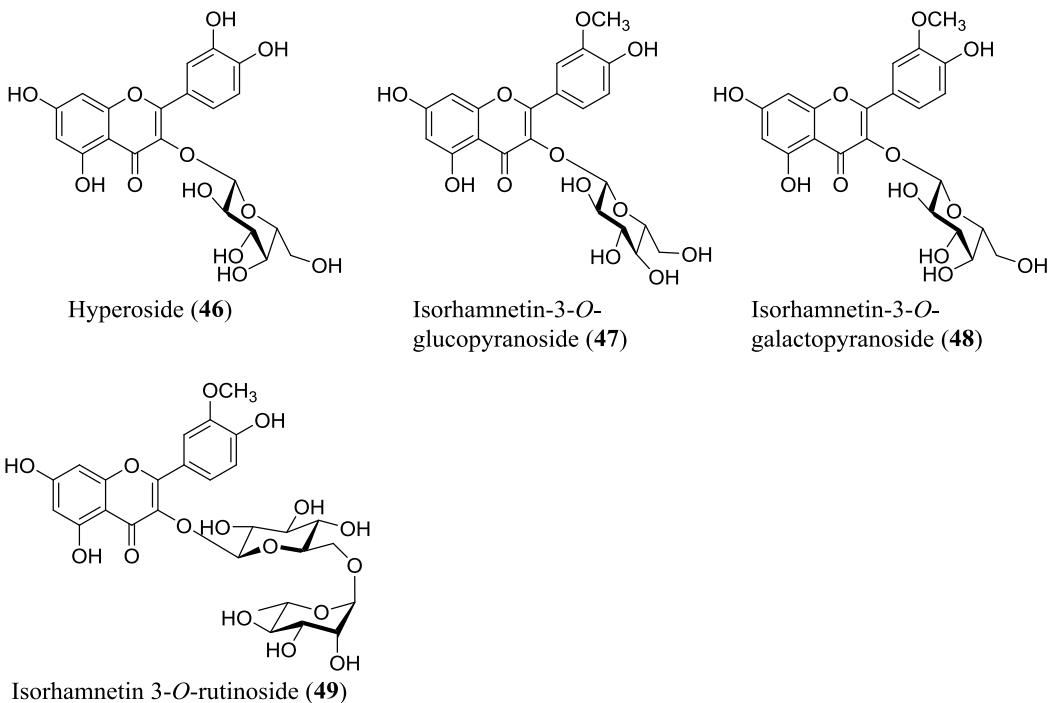


Fig. 21 Structures of known compounds isolated from *Euodia* fruits.

Flavonol glycosides



Catechins and their derivatives

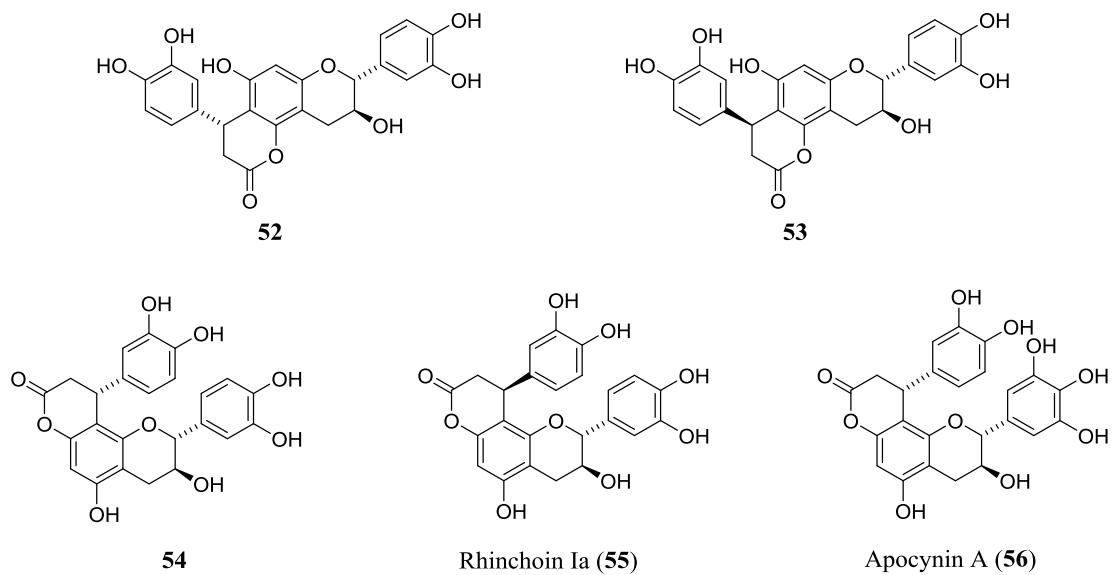


Fig. 21 Structures of known compounds isolated from *Euodia* fruits (continued).

Catechins and their derivatives

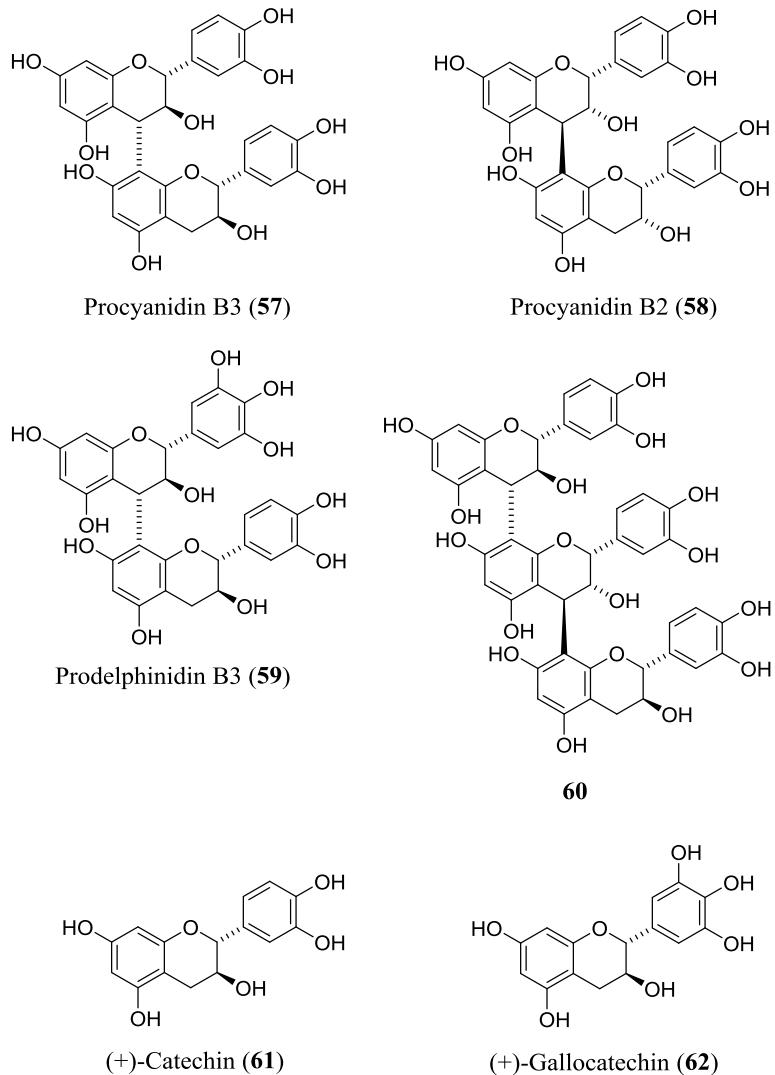
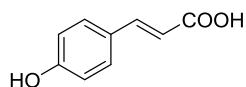
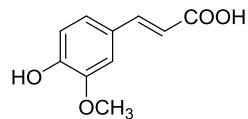


Fig. 21 Structures of known compounds isolated from *Euodia* fruits (continued).

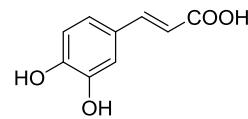
Other phenols



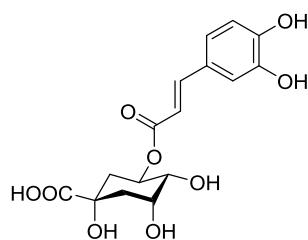
p-Coumaric acid (**64**)



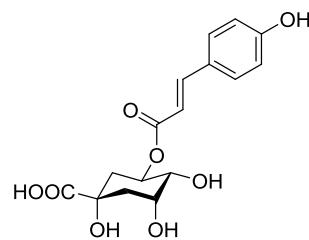
trans-Ferulic acid (**65**)



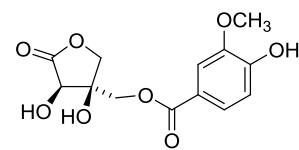
Caffeic acid (**66**)



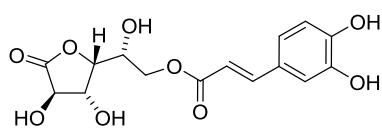
Chlorogenic acid (**67**)



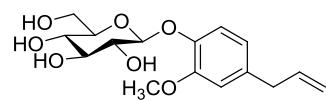
5-*O*-*p*-Coumaroylquinic acid (**68**)



Phellolactone (**69**)



Vittarilide A (**70**)



Citrusin C (**71**)

Fig. 21 Structures of known compounds isolated from *Euodia* fruits (continued).

2-1-2-1 Catechin-(4 α →8)-epicatechin-(4 β →8)-catechin (**60**)について

本化合物 (Fig. 22) は類白色粉末として得た。ESI-MS スペクトルでは m/z 865 に [M-H]⁻ 偽分子イオンピークが現れ、分子式は $C_{45}H_{38}O_{18}$ とみなされる。以下の NMR データと併せて考えると、この化合物は flavan-3-ol の三量体であると考えられた。¹H-NMR スペクトル (Fig. 23) の芳香族プロトン領域においては、 δ 6.58–7.20 に三組の ABX 系に帰属される計 9 個分のプロトンのシグナルが観察され、さらに δ 6.00 付近には、互いに接近して現れた 2 組の

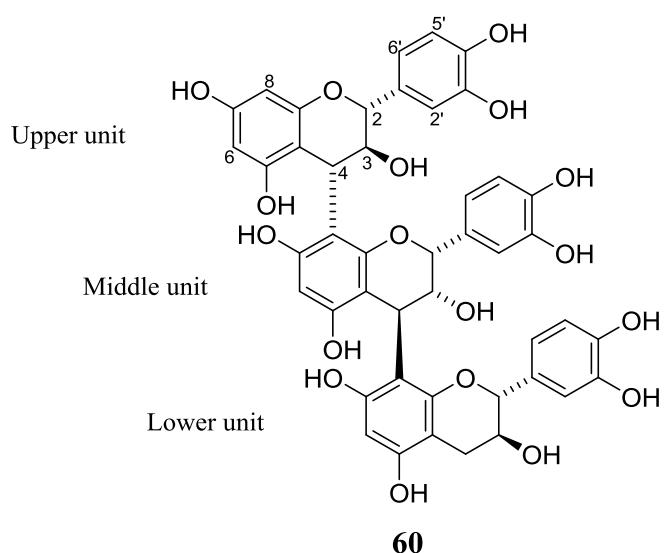


Fig. 22 Structure of compound **60**.

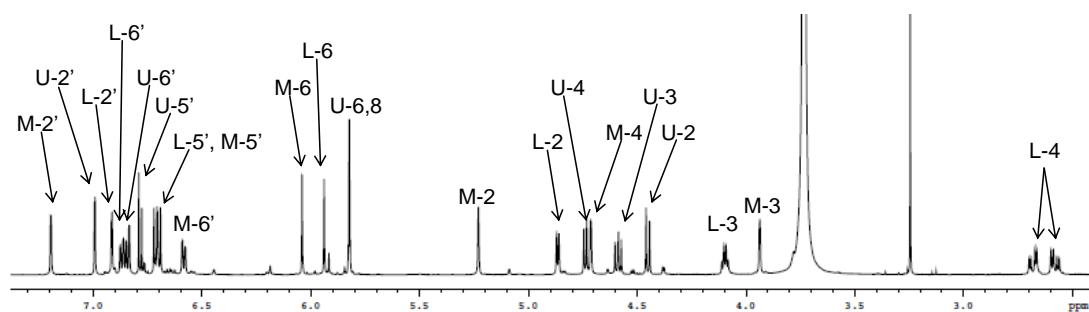


Fig. 23 ¹H-NMR spectrum of **60** (600 MHz, acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v).

U: Upper unit; M: Middle unit; L: Lower unit

ダブレット ($J = 2.4$ Hz) の計 4 個分のプロトンシグナル、およびシングレット 2 個のシグナルからなる計 6 個分のプロトンのシグナルが観察された。また、脂肪族プロトン領域においては、各 flavan-3-ol 単位の C 環のプロトンに帰属される計 10 個分のシグナルが以下のように現れた。上部（延長）ユニット（upper unit または middle unit）の catechin の C 環部分の 2 - 4 位の各プロトンに帰属されるメチンプロトンシグナル (δ 4.45, d, $J = 9.6$ Hz; δ 4.59, dd, $J = 8.4, 9.6$ Hz; δ 4.45, $J = 8.4$ Hz)，同じく上部ユニットの epicatechin の C 環プロトンのシグナルに帰属される各シグナル (δ 5.23, br s; δ 3.94, br s; δ 4.72, d, $J = 1.2$ Hz)，さらに末端ユニットの catechin の C 環に帰属される各シグナル (δ 4.87, d, $J = 6.6$ Hz; δ 4.10, dd, $J = 5.4, 6.6$ Hz; δ 2.68, dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz; δ 2.58, dd, $J = 6.6, 16.2$ Hz) が現れ、これらから、catechin-epicatechin-catechin 構造または epicatechin-catechin-catechin 構造の三量体のいずれかであることが示された。

^{13}C -NMR スペクトルにおいても、このいずれかの構造のプロシアニジン三量体に由来する計 45 本の炭素のシグナルが確認された (Fig. 24)。これらのシグナルのうち、各フラバンユニットの 2 位のシグナルについて見ると、2,3-trans に対応する 80 ppm より低磁場の catechin 構造に対応したシグナルが 2 個、より高磁場の 2,3-cis に対応するシグナルが 1 個現れており、この三量体が 2 個の catechin および 1 個の epicatechin から構成されていることを良く反映している。

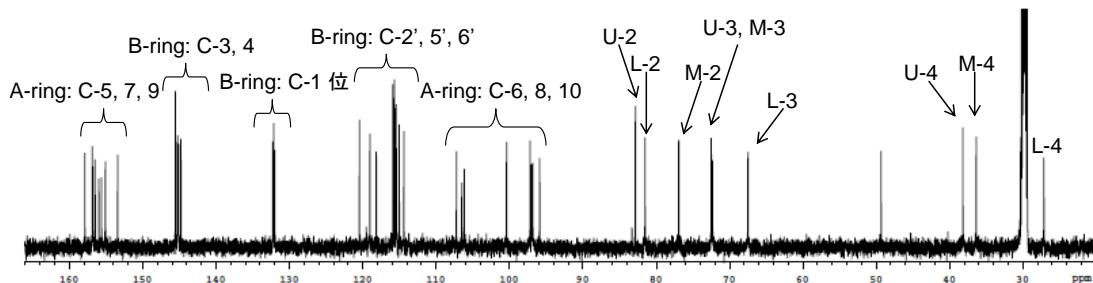


Fig. 24 ^{13}C -NMR spectrum of **60** (151 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v).

U: Upper unit; M: Middle unit; L: Lower unit

本化合物 (Fig. 22) の HMBC を測定したところ、Fig. 25 に示す各相関が見られ、epicatechin ユニットの 4 位のプロトンシグナルと末端の catechin ユニットの 9 位の炭素シグナルとの間に相関が観察されたことから、middle unit が epicatechin であり、epicatechin の 4 位が末端の

catechin の 8 位に結合していることが明らかになった。従って最上部のユニットが catechin であることになる。

さらに ROESY を測定した結果, upper unit の catechin 4 位のプロトンと middle unit の epicatechin の B 環の 2 位のプロトンとの相関 (Fig. 25) が観察されたことから, upper unit と middle unit の間が 4→8 結合であることが示された。また, middle unit の epicatechin 4 位のプロトンと lower unit の catechin の B 環上の 2' および 6' のプロトン両者と相関が見られたことから, middle unit と lower unit の間が 4→8 結合であることが示された。さらに, CD スペクトル (Fig. 26) を測定したところ, 200–220 nm に負のカップレットコットンおよび 284 nm に負のコットン効果が示された。このうち 280 nm 付近の負のコットンから, 2 位のフェニル基はいずれも α 配置であり, 構成単位が (+)-catechin および (-)-epicatechin であることが確かめられた。他方, 短波長部分のカップレットコットンはフェニル–フェニル間相互作用を反映したものであり⁽⁵⁹⁾, その符号および振幅は, 二つのフラバン間結合の少なくともいずれか一方が α 配置であることを示した。Upper unit の (+)-catechin 部分の C 環上のカップリングコンスタントは C-2-H–C-3-H が trans, C-3-H–C-4-H も trans であるとして説明され, このとき C 環 上 の 各 置 換 基 は quasi-equatorial-phenyl (C-2)–quasi-equatorial-OH (C-3)–quasi-equatorial-phenyl (C-4) にある。これに対し, middle unit の (-)-epicatechin 部分の C 環は quasi-equatorial-phenyl (C-2)–quasi-axial-OH (C-3)–quasi-equatorial-phenyl (C-4) の関係にあり, このとき C-2-H–C-3-H が cis, C-3-H–C-4-H が trans であるとして, これらのカップリングコンスタントを説明できる。したがって, 本化合物は catechin-(4 α →8)-epicatechin-(4 β →8)-catechin (**60**) であることが確かめられた。本化合物の ¹H- および ¹³C-NMR データは Table 7 と Table 8 にまとめた。

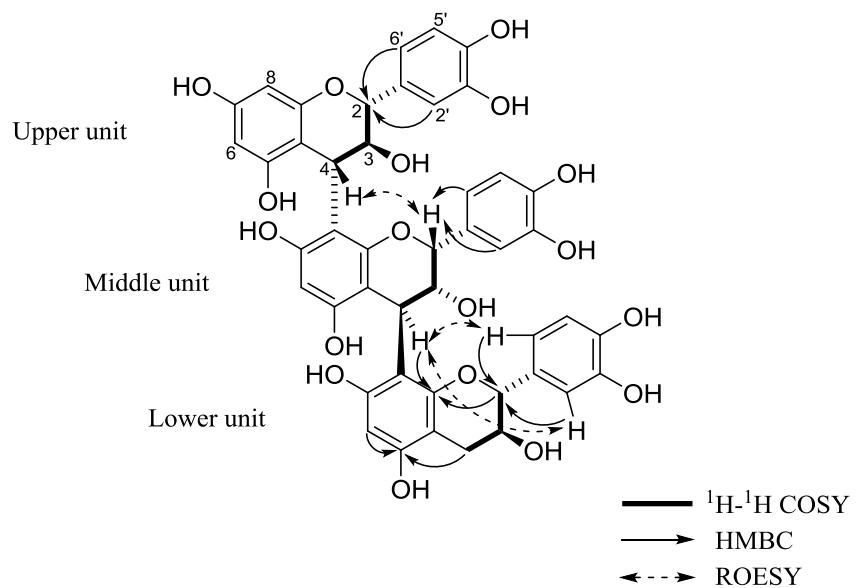


Fig. 25 Selected ^1H - ^1H COSY, HMBC and ROE correlations observed for compound **60**.

(600 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v)

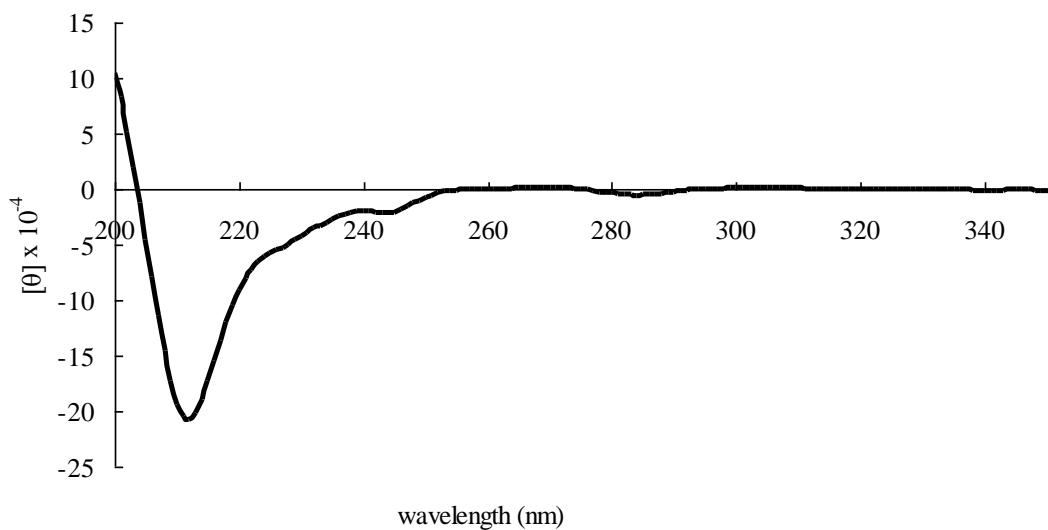


Fig. 26 CD spectrum of compound **60**.

Table 7 ^1H -NMR Spectroscopic data for **60**

Position	δ_{H} (600 MHz, Acetone- d_6 - D ₂ O 9/1 v/v)		
	Upper unit	Middle unit	Lower unit
H-2	4.45 (d, $J = 9.6$ Hz)	5.23 (brs)	4.87 (d, $J = 6.6$ Hz)
H-3	4.59 (dd, $J = 8.4, 9.6$ Hz)	3.94 (brs)	4.10 (dd, $J = 5.4, 6.6$ Hz)
H-4	4.74 (d, $J = 8.4$ Hz)	4.72 (d, $J = 1.2$ Hz)	2.68 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.58 (dd, $J = 6.6, 16.2$ Hz)
H-6	5.83 (d $J = 2.4$ Hz)	6.04 (brs)	5.94 (brs)
H-8	5.82 (d, $J = 2.4$ Hz)		
H-2'	7.00 (d, $J = 1.8$ Hz)	7.20 (d, $J = 1.8$ Hz)	6.91 (d, $J = 1.8$ Hz)
H-5'	6.78 (d, $J = 7.8$ Hz)	6.70 (d, $J = 8.4$ Hz)	6.71 (d, $J = 7.8$ Hz)
H-6'	6.84 (dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz)	6.58 (dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz)	6.87 (dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz)

Table 8 ^{13}C -NMR Spectroscopic data for **60**

Position	δ_{C} (151 MHz, Acetone- d_6 - D ₂ O 9/1 v/v)		
	Upper unit	Middle unit	Lower unit
C-2	82.8	76.9	81.5
C-3	72.5	72.3	67.5
C-4	38.2	36.4	27.1
C-5	157.9	156.5	155.1
C-6	97.2	97.0	96.8
C-7	156.9*	156.0	155.1
C-8	95.9	106.5	107.2
C-9	156.8*	155.6	153.4
C-10	106.2	100.4	100.4
C-1'	132.1	132.3	132.0
C-2'	115.9	115.0	114.4
C-3'	145.6	145.2	145.2
C-4'	145.3	144.8	145.1
C-5'	115.5	115.4	115.7
C-6'	120.5	118.2	119.0

*: signals were exchangeable

2-1-3 新規化合物の構造決定

2-1-3-1 Rutaenin A (50) の構造について

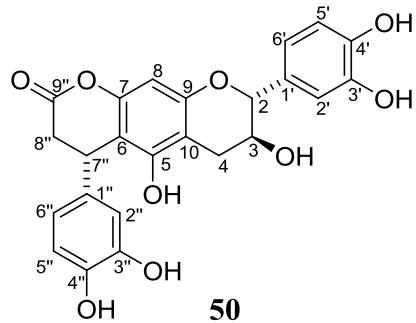


Fig. 27 Structure of compound **50**.

化合物 **50** は類白色粉末として得た。高分解能 ESIMS スペクトルの $[M-H]^-$ 偽分子イオンピークから、分子式は $C_{24}H_{20}O_9$ であることが示された。 1H -NMR スペクトル (Fig. 28) は、 δ 6.14 に A 環の H-6 または H-8 に帰属されるシングレット, δ 6.86 (d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), δ 6.77 (d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), および δ 6.70 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz, H-6') に B 環上の ABX 系を構成する各プロトンのシグナル, δ 4.63 (d, $J = 7.8$ Hz), δ 4.05 (dt, $J = 4.8, 7.8$ Hz), δ 2.92 (dd, $J = 4.8, 16.2$ Hz), δ 2.60 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz) に C 環の H-2, 3, 4a, 4b にそれぞれに帰属される、互いにカッティングした各プロトンのシグナルを示し、これらから 8 位または 6 位が置換された catechin が分子内に存在することが示された。6.37–6.67 ppm にはもう一組の ABX 系を構成

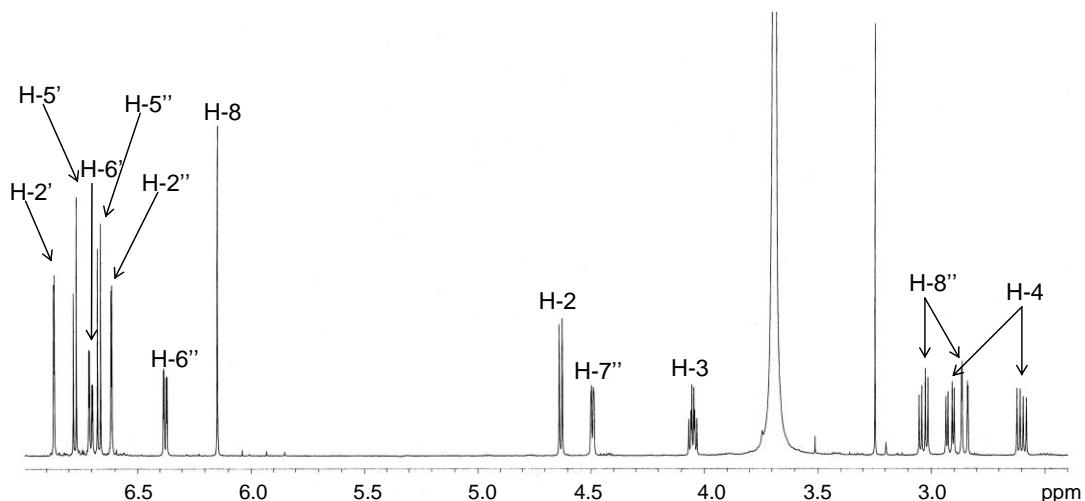


Fig. 28 1H -NMR spectrum of **50** (600 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v).

する 3 プロトン分のシグナルが観察された。また δ 4.49 にメチンプロトン, δ 3.03–2.85 にメチレンプロトンのシグナルが観察され、これらはカップリングパターンおよび ^1H - ^1H COSY から互いに隣接する炭素上のプロトンであることが示された。

^{13}C -NMR スペクトル (Fig. 29) においては、以上のような catechin 部分による炭素シグナル、1,3,4-三置換ベンゼンおよびメチン、メチレンの各炭素シグナルとともに、 δ 168.7 にエステルカルボニルまたはカルボキシリル基に由来するシグナルが観察された。化合物 **50** の ^1H - ^1H COSY および HMBC スペクトル (Fig. 30, 31) により、catechin 部分に由来するシグナル以外はフェニルプロパノイドを構成することが示された。また HMBCにおいて、H-2-C-9-H-8 の相関が見られたことから、catechin 部分の A 環上の 8 位にはプロトンが存在し、6 位が置換されていることが明らかになった。さらに HMBC 上で H-4-C-5, H-7"-C-7 の各相関が観察された。これらにより、catechin 部分の C-6 および O-7 位にフェニルプロパノイド構造が結合していることが示され、また、C-5, 7, 9 の各炭素のシグナルを明確に区別することができた。

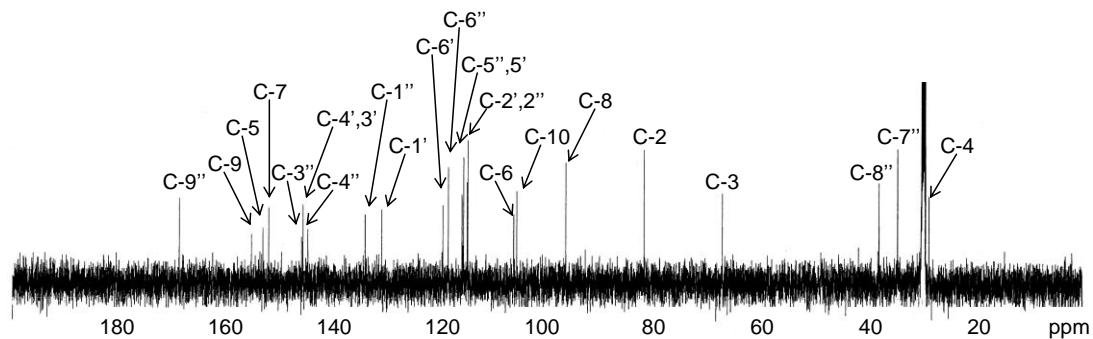


Fig. 29 ^{13}C -NMR spectrum of **50** (151 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v).

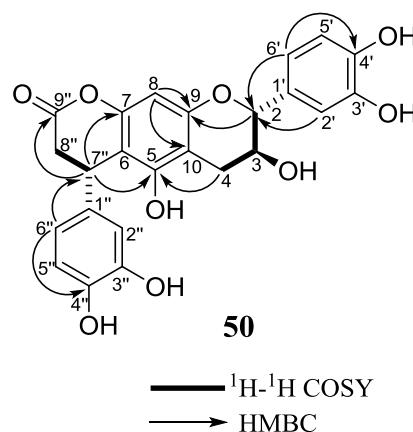


Fig. 30 Selected HMBC and ^1H - ^1H COSY correlations for compound **50**.

(600 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v)

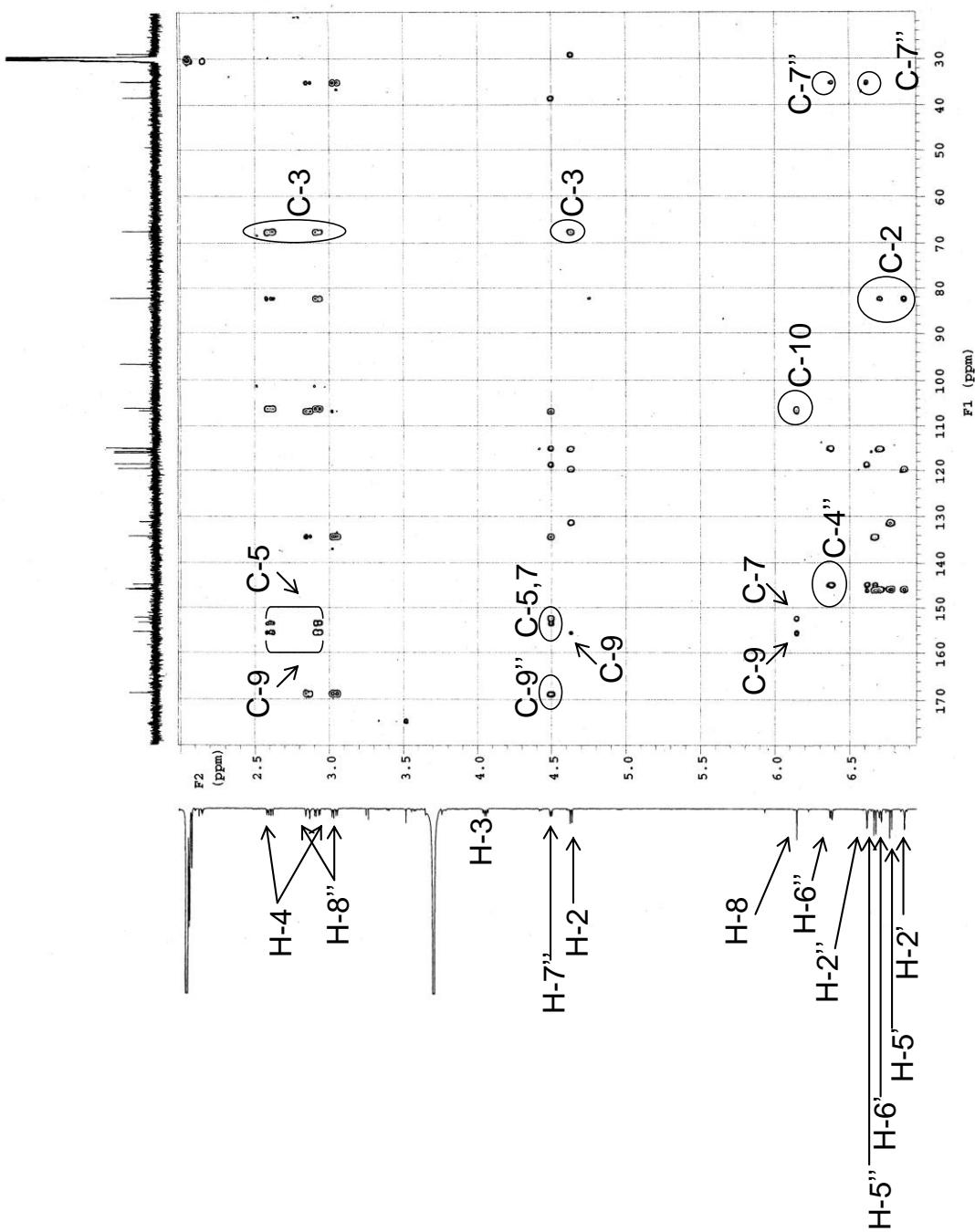


Fig. 31 HMBC spectrum of **50** (600 MHz, acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v).

以上に述べたデータを既知化合物である (*4R,8R,9S*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b'*]dipyran-2-one (**52**) と比較すること (Table 9) により、化合物 **50** が既知化合物 **52** の関連化合物すなわちフェニルプロパノイド置換型のカテキン誘導体であると考えられた。これらの ¹³C-NMR スペクトルを比較すると、化合物 **50** では **52** と比べ、C-5 のシグナルが低磁場シフトしており、これに対し、C-7 は高磁場シフトしており、このことから、化合物 **50** のフェニルプロパノイド部分のラクトンが形成される際、C-7 のヒドロキシ基を利用していることが支持された。さらに、この構造を裏付けるために、¹³C-NMR スペクトルにおいて、カテキン A 環のヒドロキシ基の付け根の炭素の重水素同位体による化学シフトの変化^(60, 61) を観察した。

その結果は Fig. 32 の A [acetone-*d*₆ - D₂O (9:1, v/v) 中で測定] および B [acetone-*d*₆ - H₂O (9:1, v/v)] に示す通りで、それらの C-5, 7, 9 のシグナルを比較すると、C-5 の化学シフトのみに大きな差が見られた。このことから、5 位のヒドロキシ基がフリーであることが確認でき、7 位のヒドロキシ基がラクトンの形成に関与していることが明らかになった。化合物 **50** の絶対配置については、後で述べる。

Table 9 ^{13}C -NMR ^a Spectroscopic data for **50** and **52**

Position	50	52
	δ_{C}	δ_{C}
C-2	82.2	82.4
C-3	67.4	67.3
C-4	28.7	28.0
<u>C-5</u>	<u>153.3</u>	<u>151.3</u>
C-6	106.5	106.4
<u>C-7</u>	<u>152.1</u>	<u>154.0</u>
C-8	96.6	99.1
C-9	155.4	155.2
C-10	105.9	101.1
C-1'	131.1	131.2
C-2'	115.0	114.8
C-3'	145.5	145.5
C-4'	145.7	145.6
C-5'	115.7	115.7
C-6'	119.5	119.6
C-1"	134.2	134.4
C-2"	114.9	114.8
C-3"	145.8	145.8
C-4"	144.6	144.5
C-5"	116.0	115.9
C-6"	118.5	118.5
C-7"	34.8	34.4
C-8"	38.2	37.7
C-9"	168.7	168.7

^a 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

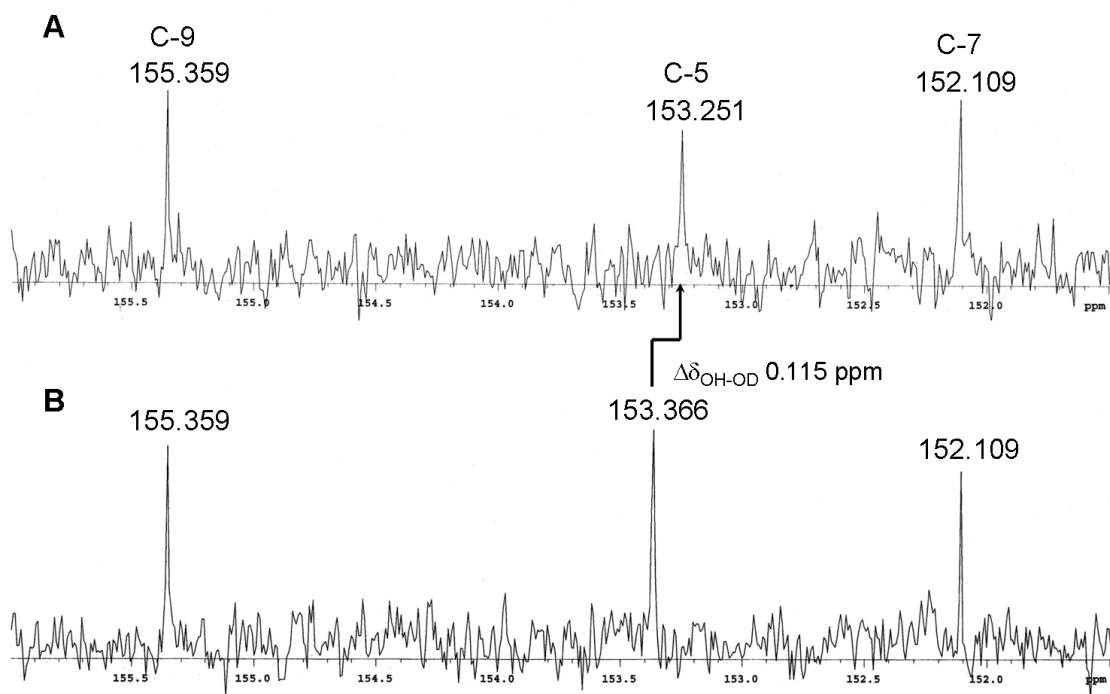


Fig. 32 Deuterium induced differential isotope chemical shift of the A-ring carbons of compound **50** (151 MHz).

A, in acetone-*d*₆-D₂O (9/1, v/v); B, in acetone-*d*₆-H₂O (9/1, v/v).

2-1-3-2 Ruraenin B (51) の構造について

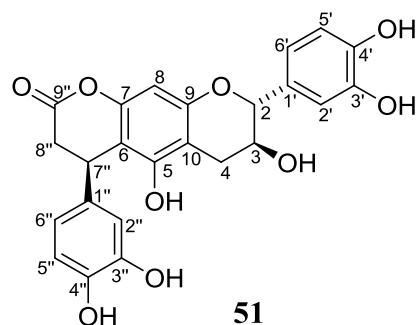


Fig. 33 Structure of compound **51**.

化合物 **51** は類白色粉末として得た。高分解能 ESIMS スペクトルの $[M-H]^-$ 偽分子イオンピークから、分子式は化合物 **50** と同じく $C_{24}H_{20}O_9$ であることが明らかになった。 1H -NMR スペクトル (Fig. 34) は、化合物 **50** のスペクトルと非常に類似しており、 δ 6.14 に A 環の 6 位または 8 位に帰属されるシングレットプロトン, δ 6.86 (d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), δ 6.77 (d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), δ 6.70 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6') に B 環の各プロトンに帰属される ABX 系を構成するプロトン, δ 4.59 (d, $J = 7.8$ Hz), δ 4.03 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz), δ 2.92 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz), δ 2.62 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz) に C 環の H-2, 3, 4a, 4b にそれぞれ帰属されるプロトンのシグナルをそれぞれ示した。さらに、 δ 6.37–6.67 にはもう一組の ABX 系を構成する 3 個のプロトンのシグナルが現れた他、 δ 4.50 および δ 3.04–2.85 にはメチンおよびメチレンプロトンのシグナルがそれぞれ現れ、このメチンプロトンおよびメチレンプロトンは隣接する炭素上に存在することがそれらのカップリングおよび 1H - 1H COSY (Fig. 36) によって示された。

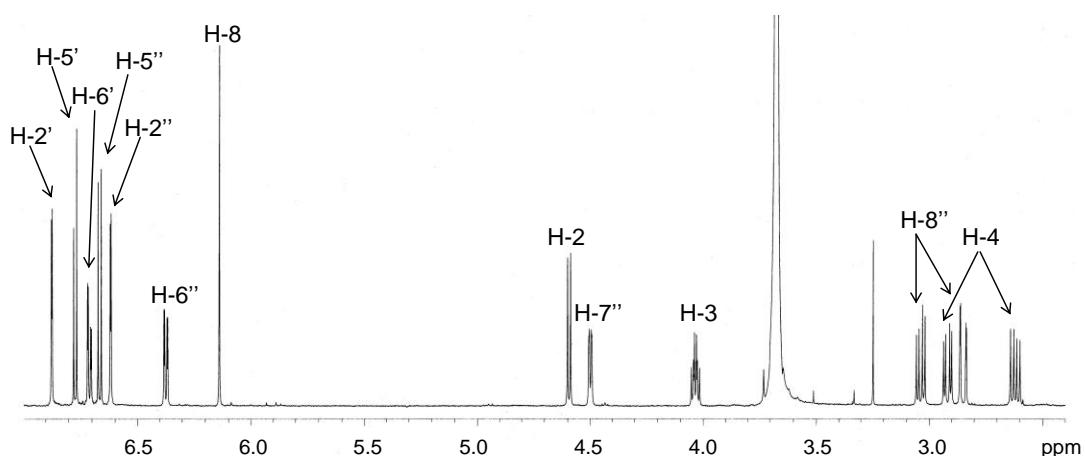


Fig. 34 1H -NMR spectrum of **51** (600 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v).

¹³C-NMR スペクトル (Fig. 35) は, catechin 部分の各シグナルとともに, フェニルプロパノイド部分に由来する各シグナルが現れ, 両者の構造を分子内に持つことが確かめられた。化合物 **51** の HMBC スペクトル (Fig. 36, 37) により, catechin の 8 位のプロトンは置換されておらず, 化合物 **50** の場合と同様, catechin の 6 位の炭素にフェニルプロパノイドの 7' 位の炭素が結合していることが確かめられた。

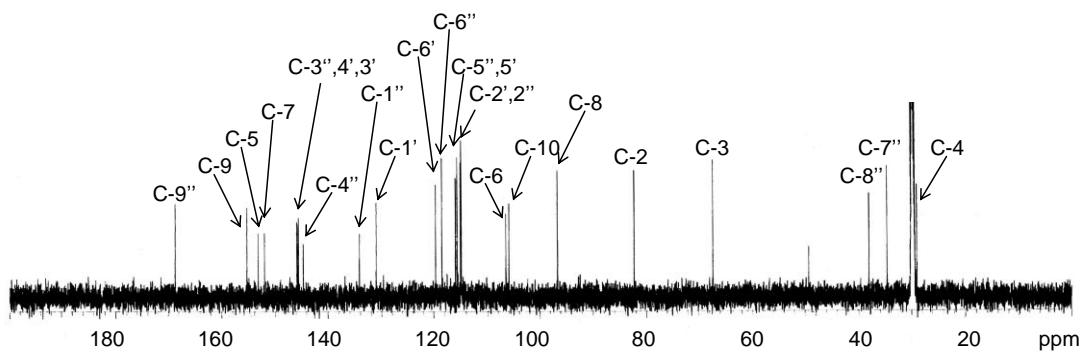


Fig. 35 ¹³C-NMR spectrum of **51** (151 MHz, acetone-*d*₆ - D₂O 9/1 v/v).

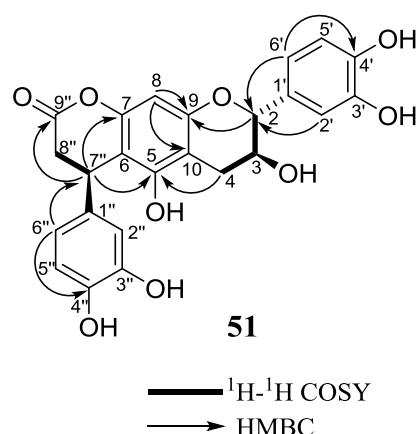


Fig. 36 Selected HMBC and ¹H-¹H COSY correlations for compound **51**.

(600 MHz, acetone-*d*₆ - D₂O 9/1 v/v)

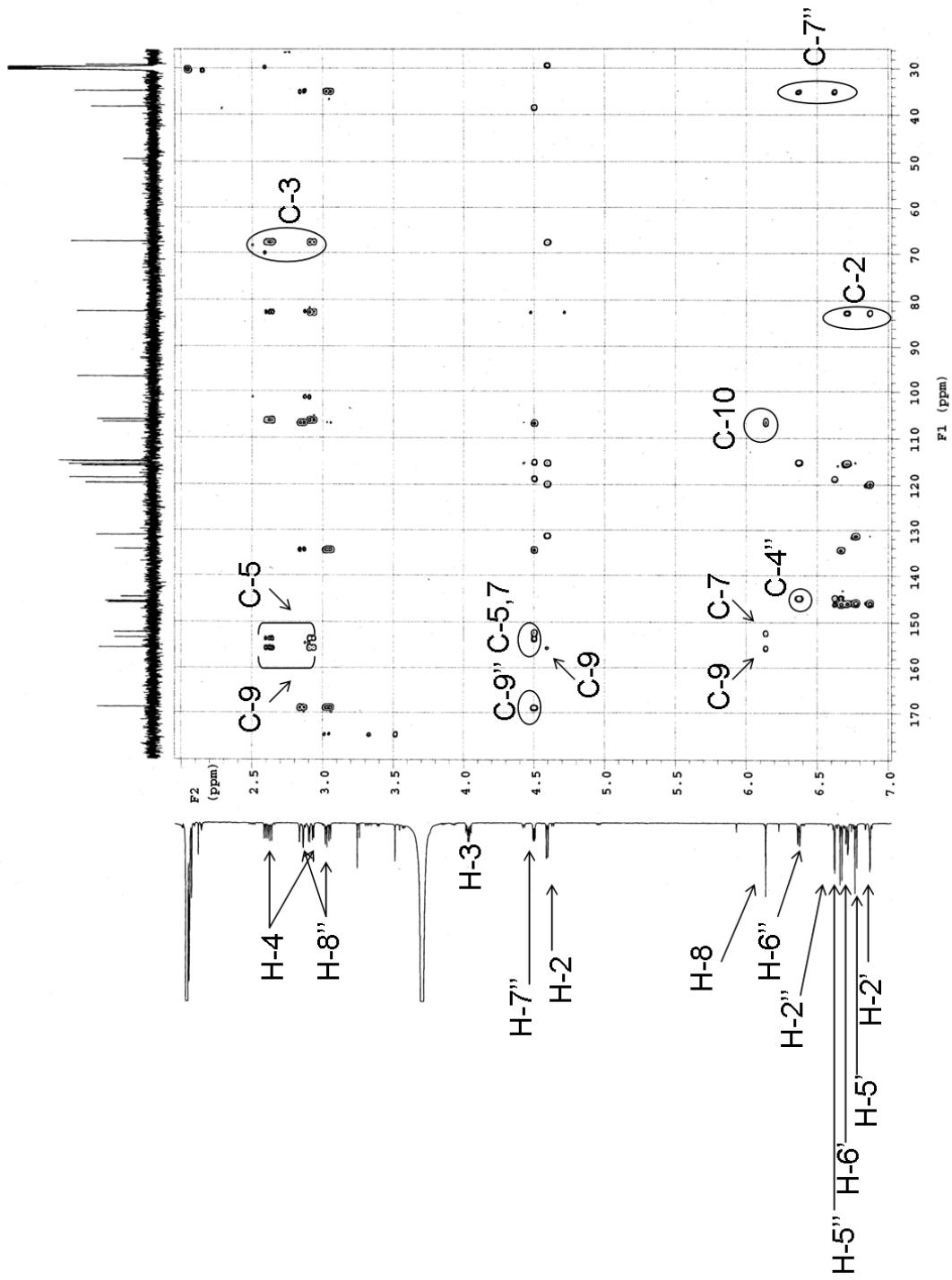


Fig. 37 HMBC spectrum of **51** (600 MHz, acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v).

また、本化合物についても同様に、¹³C-NMRスペクトルにおける重水素同位体による化学シフトの違い^(60, 61)を測定した結果から、ラクトンの形成に関与するヒドロキシ基がcatechinのO-7であることを確認した(Fig. 38)。化合物**50**および**51**はHPLCクロマトグラム上(Fig. 39)の保持時間は区別されるが、両者の¹H-および¹³C-NMRスペクトルデータを比較してみると(Table 10)よく似ており、この二つの化合物はジアステレオマーの関係であると考えられた。

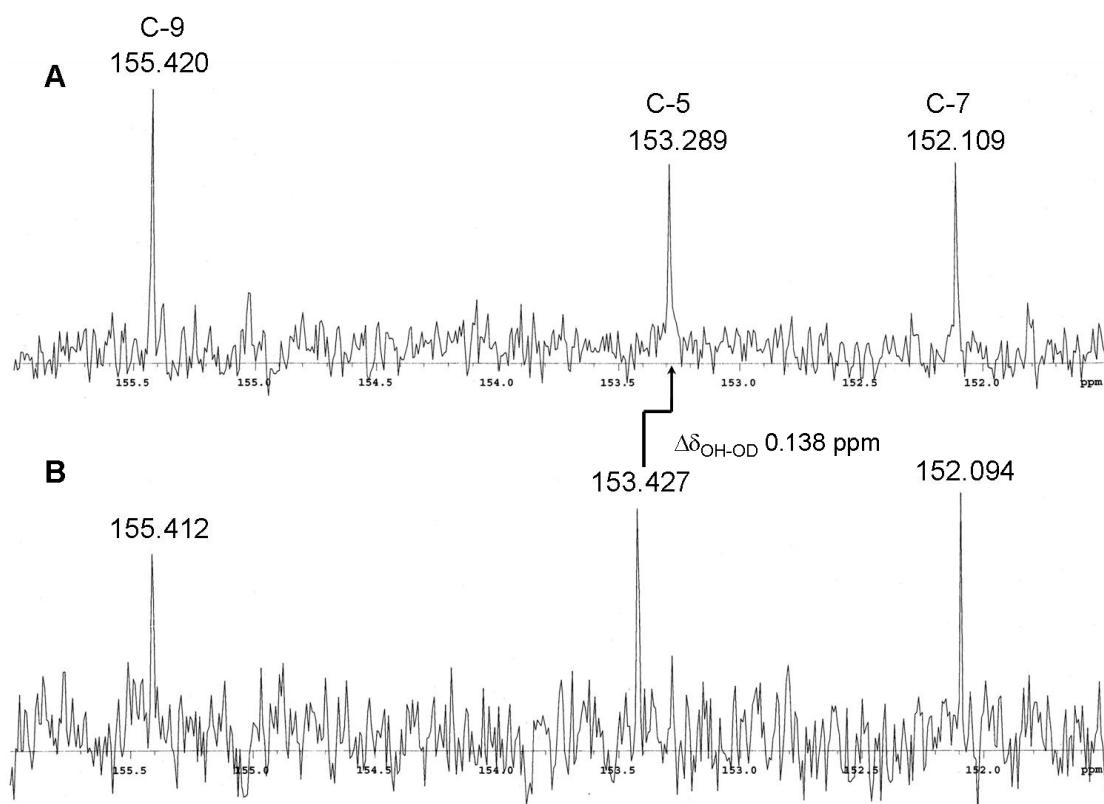


Fig. 38 Deuterium induced differential isotope chemical shift of the A-ring carbons of compound **51** (151 MHz).

A: in Acetone-*d*₆ - D₂O (9:1, v/v); B: in Acetone-*d*₆ - H₂O (9:1, v/v).

Table 10 NMR Spectroscopic data for **50** and **51**

Position	50		51	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
2	82.2	4.63 (d, $J = 7.8$ Hz)	82.4	4.59 (d, $J = 7.8$ Hz)
3	67.4	4.05 (dt, $J = 4.8, 7.8$ Hz)	67.4	4.03 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)
4	28.7	2.92 (dd, $J = 4.8, 16.2$ Hz) 2.60 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)	29.0	2.92 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.62 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)
5	153.3		153.3	
6	106.5		106.6	
7	152.1		152.1	
8	96.6	6.14 (s)	96.6	6.14 (s)
9	155.4		155.4	
10	105.9		106.0	
1'	131.1		131.1	
2'	115.0	6.86 (d, $J = 2.0$ Hz)	115.1	6.87 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	145.5		145.5	
4'	145.7		145.7	
5'	115.7	6.77 (d, $J = 7.8$ Hz)	115.7	6.77 (d, $J = 8.4$ Hz)
6'	119.5	6.70 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)	119.7	6.70 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
1''	134.2		134.2	
2''	114.9	6.61 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.9	6.62 (d, $J = 2.0$ Hz)
3''	145.8		145.8	
4''	144.6		144.6	
5''	116.0	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)	116.0	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)
6''	118.5	6.37 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.5	6.37 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
7''	34.8	4.49 (dd, $J = 1.8, 6.6$ Hz)	34.7	4.50 (dd, $J = 1.8, 7.2$ Hz)
8''	38.2	3.03 (dd, $J = 6.6, 16.2$ Hz) 2.85 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)	38.2	3.04 (dd, $J = 7.2, 16.2$ Hz) 2.85 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)
9''	168.7		168.7	

^a ^{13}C -NMR: 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v; ^b ^1H -NMR: 600 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

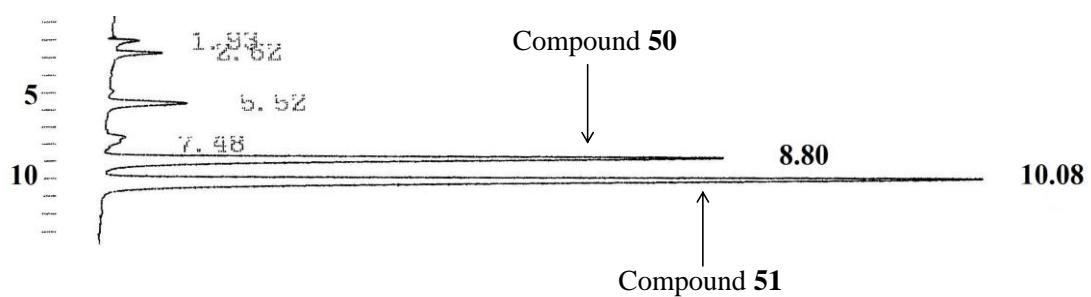


Fig. 39 HPLC chromatogram of compounds **50** and **51**.

Column: YMC-PACK ODS-A 302 (150 × 4.6 mm I.D); mobile phase: 0.01M H₃PO₄: 0.01M KH₂PO₄: MeOH = 35 : 35 : 30; flow rate: 1.0 mL/min; oven temperature: 40 °C; detector: 280 nm.

2-1-3-3 化合物 **50**, **51** および関連化合物の不斉炭素の絶対配置について

化合物 **50** および **51** それぞれの各不斉炭素の絶対配置を確認するために, *p*-TsOH を酸触媒とし, dioxane 中で (+)-catechin と caffeic acid を反応させた⁽⁴⁷⁾。その結果, 反応混合物から 5 種の化合物 (**50a**, **51a**, **53a**, **54a**, **55a**) の単離に至った (Chart 3)。これらはそれぞれ HPLC, NMR (Table 11–15), $[\alpha]_D$ (Table 16) および CD (Fig. 40) データの比較により, 化合物 **50**, **51**, **53**, **54**, **55** であることが確認できた。化合物 **52** についても, 単離には至らなかったが, HPLC によって, 天然から得たものと挙動が一致する生成物の反応混合物中での存在が確認された (Fig. 41)。

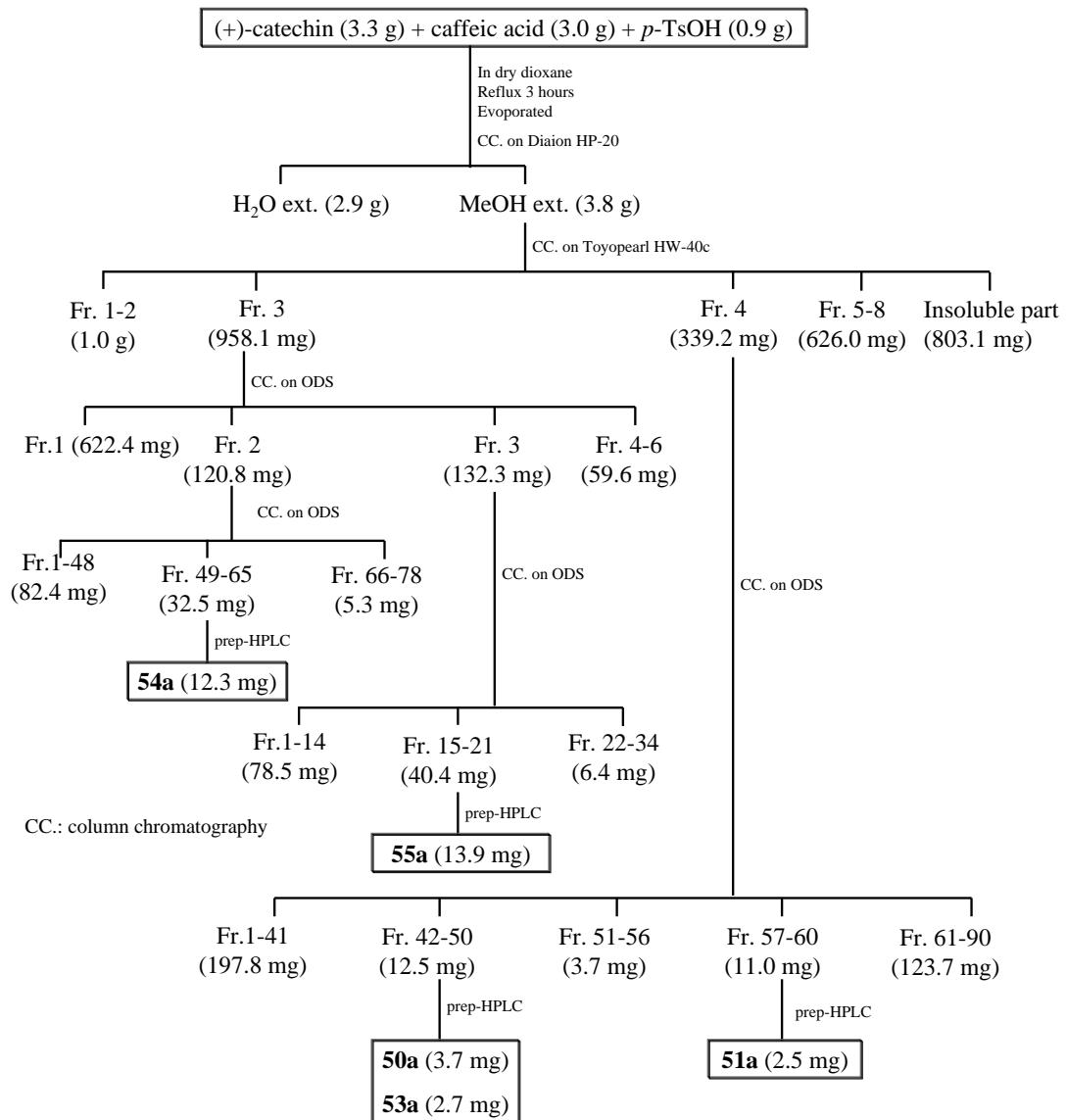


Chart 3 Isolation of synthesized phenylpropanoid-substituted catechins.

Table 11 Comparasion of NMR spectroscopic data for **50** and **50a**

Position	50		50a	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
2	82.2	4.63 (d, $J = 7.8$ Hz)	82.2	4.63 (d, $J = 7.8$ Hz)
3	67.4	4.05 (dt, $J = 4.8, 7.8$ Hz)	67.4	4.05 (dt, $J = 4.8, 7.8$ Hz)
4	28.7	2.92 (dd, $J = 4.8, 16.2$ Hz) 2.60 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)	28.7	2.92 (dd, $J = 4.8, 16.2$ Hz) 2.60 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)
5	153.3		153.3	
6	106.5		106.5	
7	152.1		152.1	
8	96.6	6.14 (s)	96.6	6.15 (s)
9	155.4		155.4	
10	105.9		105.9	
1'	131.1		131.1	
2'	115.0	6.86 (d, $J = 2.0$ Hz)	115.0	6.87 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	145.5		145.6	
4'	145.7		145.7	
5'	115.7	6.77 (d, $J = 7.8$ Hz)	115.7	6.77 (d, $J = 7.8$ Hz)
6'	119.5	6.70 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)	119.5	6.70 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)
1"	134.2		134.2	
2"	114.9	6.61 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.9	6.62 (d, $J = 2.0$ Hz)
3"	145.8		145.8	
4"	144.6		144.6	
5"	116.0	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)	116.0	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)
6"	118.5	6.37 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.5	6.38 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
7"	34.8	4.49 (dd, $J = 1.8, 6.6$ Hz)	34.8	4.49 (dd, $J = 1.8, 6.6$ Hz)
8"	38.2	3.03 (dd, $J = 6.6, 16.2$ Hz) 2.85 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)	38.2	3.03 (dd, $J = 6.6, 16.2$ Hz) 2.85 (dd, $J = 1.8, 16.2$ Hz)
9"	168.7		168.7	

^a ^{13}C -NMR: 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v; ^b ^1H -NMR: 600 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

Table 12 Comparasion of NMR spectroscopic data for **51** and **51a**

Position	51		51a	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
2	82.4	4.59 (d, $J = 7.8$ Hz)	82.4	4.59 (d, $J = 7.8$ Hz)
3	67.4	4.03 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)	67.4	4.03 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)
4	29.0	2.92 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.62 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)	29.0	2.92 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.62 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)
5	155.4		155.4	
6	96.6		96.7	
7	153.3		153.3	
8	106.6	6.14 (s)	106.6	6.14 (s)
9	152.1		152.1	
10	106.0		106.0	
1'	131.1		131.1	
2'	115.1	6.87 (d, $J = 2.0$ Hz)	115.1	6.87 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	145.5		145.5	
4'	145.7		145.7	
5'	115.7	6.77 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.7	6.77 (d, $J = 7.8$ Hz)
6'	119.7	6.70 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	119.7	6.71 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)
1''	134.2		134.2	
2''	114.9	6.62 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.9	6.62 (d, $J = 2.0$ Hz)
3''	145.8		145.8	
4''	144.6		144.6	
5''	116.0	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)	116.0	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)
6''	118.5	6.37 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.5	6.37 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
7''	34.7	4.50 (dd, $J = 1.8, 7.2$ Hz)	34.8	4.50 (dd, $J = 1.8, 7.2$ Hz)
8''	38.2	3.04 (dd, $J = 7.2, 15.6$ Hz) 2.85 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)	38.2	3.04 (dd, $J = 7.2, 16.2$ Hz) 2.85 (dd, $J = 1.8, 16.2$ Hz)
9''	168.7		168.7	

^a ^{13}C -NMR: 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v; ^b ^1H -NMR: 600 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

Table 13 Comparasion of NMR spectroscopic data for **53** and **53a**

Position	53		53a	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
2	82.6	4.61 (d, $J = 7.8$ Hz)	82.6	4.61 (d, $J = 7.8$ Hz)
3	67.2	4.04 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)	67.2	4.04 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)
4	28.1	2.97 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.57 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)	28.1	2.98 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.58 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)
5	151.3		151.3	
6	106.5		106.5	
7	154.1		154.1	
8	99.2	6.22 (s)	99.2	6.22 (s)
9	155.3		155.3	
10	101.2		101.2	
1'	131.2		131.3	
2'	115.1	6.86 (d, $J = 2.0$ Hz)	115.1	6.87 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	145.5		145.5	
4'	145.7		145.7	
5'	115.6	6.77 (d, $J = 7.8$ Hz)	115.6	6.77 (d, $J = 7.8$ Hz)
6'	119.6	6.70 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)	119.7	6.71 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)
1"	134.4		134.4	
2"	114.9	6.64 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.9	6.64 (d, $J = 2.0$ Hz)
3"	145.8		145.8	
4"	144.5		144.5	
5"	115.9	6.66 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.9	6.67 (d, $J = 8.4$ Hz)
6"	118.4	6.37 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.5	6.39 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
7"	34.5	4.41 (dd, $J = 1.6, 7.2$ Hz)	34.5	4.42 (dd, $J = 1.8, 7.2$ Hz)
8"	37.8	3.03 (dd, $J = 7.2, 16.2$ Hz) 2.86 (dd, $J = 1.8, 16.2$ Hz)	37.8	3.04 (dd, $J = 7.2, 16.2$ Hz) 2.87 (dd, $J = 1.8, 16.2$ Hz)
9"	168.7		168.7	

^a ^{13}C -NMR: 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v; ^b ^1H -NMR: 600 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

Table 14 Comparasion of NMR spectroscopic data for **54** and **54a**

Position	54		54a	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
2	82.1	4.63 (d, $J = 7.8$ Hz)	82.1	4.63 (d, $J = 7.8$ Hz)
3	67.4	4.01 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)	67.4	4.01 (dt, $J = 5.4, 7.8$ Hz)
4	28.1	2.87 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.58 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz)	28.1	2.86 (dd, $J = 5.4, 16.8$ Hz) 2.58 (dd, $J = 7.8, 16.8$ Hz)
5	156.1		156.1	
6	96.0	6.24 (s)	96.0	6.24 (s)
7	151.6		151.6	
8	105.2		105.1	
9	152.5		152.4	
10	105.4		105.4	
1'	131.4		131.3	
2'	114.6	6.84 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.6	6.84 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	145.5		145.5	
4'	145.5		145.5	
5'	115.7	6.74 (d, $J = 7.8$ Hz)	115.6	6.74 (d, $J = 7.8$ Hz)
6'	119.2	6.66 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)	119.2	6.66 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)
1"	134.3		134.3	
2"	114.7	6.56 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.7	6.56 (d, $J = 2.0$ Hz)
3"	145.7		145.7	
4"	144.5		144.5	
5"	115.9	6.62 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.9	6.62 (d, $J = 8.4$ Hz)
6"	118.4	6.35 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.4	6.35 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
7"	34.1	4.43 (brd, $J = 6.6$ Hz)	34.1	4.43 (brd, $J = 7.8$ Hz)
8"	37.8	3.02 (dd, $J = 6.6, 15.6$ Hz) 2.87 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)	37.8	3.03 (dd, $J = 7.8, 16.2$ Hz) 2.87 (dd, $J = 1.8, 16.2$ Hz)
9"	169.0		169.0	

^a ^{13}C -NMR: 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v; ^b ^1H -NMR: 600 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

Table 15 Comparasion of NMR spectroscopic data for **55** and **55a**

Position	55		55a	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{b}}$
2	82.1	4.71 (d, $J = 7.2$ Hz)	82.2	4.70 (d, $J = 7.2$ Hz)
3	67.3	3.98 (dt, $J = 5.4, 7.2$ Hz)	67.3	3.97 (dt, $J = 5.4, 7.2$ Hz)
4	27.7	2.78 (dd, $J = 5.4, 16.8$ Hz) 2.58 (dd, $J = 7.2, 16.8$ Hz)	27.8	2.78 (dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz) 2.58 (dd, $J = 7.2, 16.2$ Hz)
5	156.1		156.1	
6	95.9	6.25 (s)	95.9	6.24 (s)
7	151.5		151.5	
8	105.1		105.1	
9	152.4		152.4	
10	105.3		105.4	
1'	131.1		131.1	
2'	114.7	6.72 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.7	6.72 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	145.3		145.3	
4'	145.2		145.2	
5'	115.6	6.61 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.6	6.61 (d, $J = 8.4$ Hz)
6'	118.9	6.41 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.9	6.40 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)
1"	134.6		118.8	
2"	114.8	6.60 (d, $J = 2.0$ Hz)	114.8	6.60 (d, $J = 2.0$ Hz)
3"	145.7		145.7	
4"	144.5		144.5	
5"	115.9	6.69 (d, $J = 8.4$ Hz)	115.9	6.68 (d, $J = 7.8$ Hz)
6"	118.8	6.40 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz)	118.8	6.39 (dd, $J = 2.0, 7.8$ Hz)
7"	34.4	4.35 (brd, $J = 6.6$ Hz)	34.4	4.34 (brd, $J = 6.6$ Hz)
8"	37.8	3.01 (dd, $J = 6.6, 15.6$ Hz) 2.82 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)	37.9	3.01 (dd, $J = 6.6, 15.6$ Hz) 2.82 (dd, $J = 1.8, 15.6$ Hz)
9"	169.0		169.0	

^a ^{13}C -NMR: 151 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v; ^b ^1H -NMR: 600 MHz, Acetone- d_6 - D₂O 9/1 v/v

Table 16 Comparasion of $[\alpha]_D$ data for natural and synthesized phenylpropanoid-substituted catechins

Compounds	$[\alpha]_D$ (<i>c</i> 1.0, MeOH)
50	+ 95.0°
50a	+ 95.6°
51	- 55.1°
51a	- 56.4°
53	- 21.6°
53a	- 54.3°
54	- 194.0°
54a	- 201.9°
55	-12.2°
55a	-4.8°

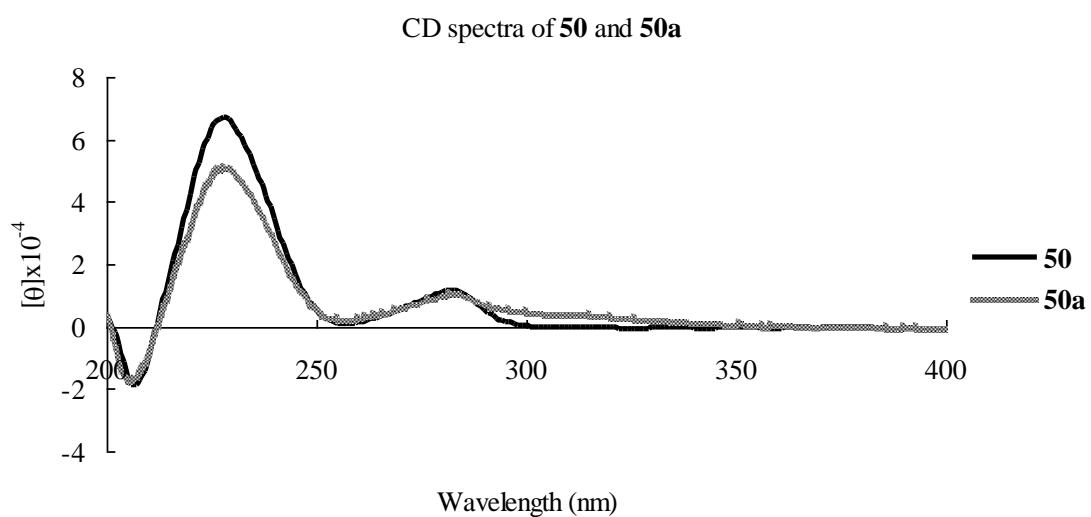


Fig. 40 Comparaison of CD spectra for natural and synthesized phenylpropanoid-substituted catechins.

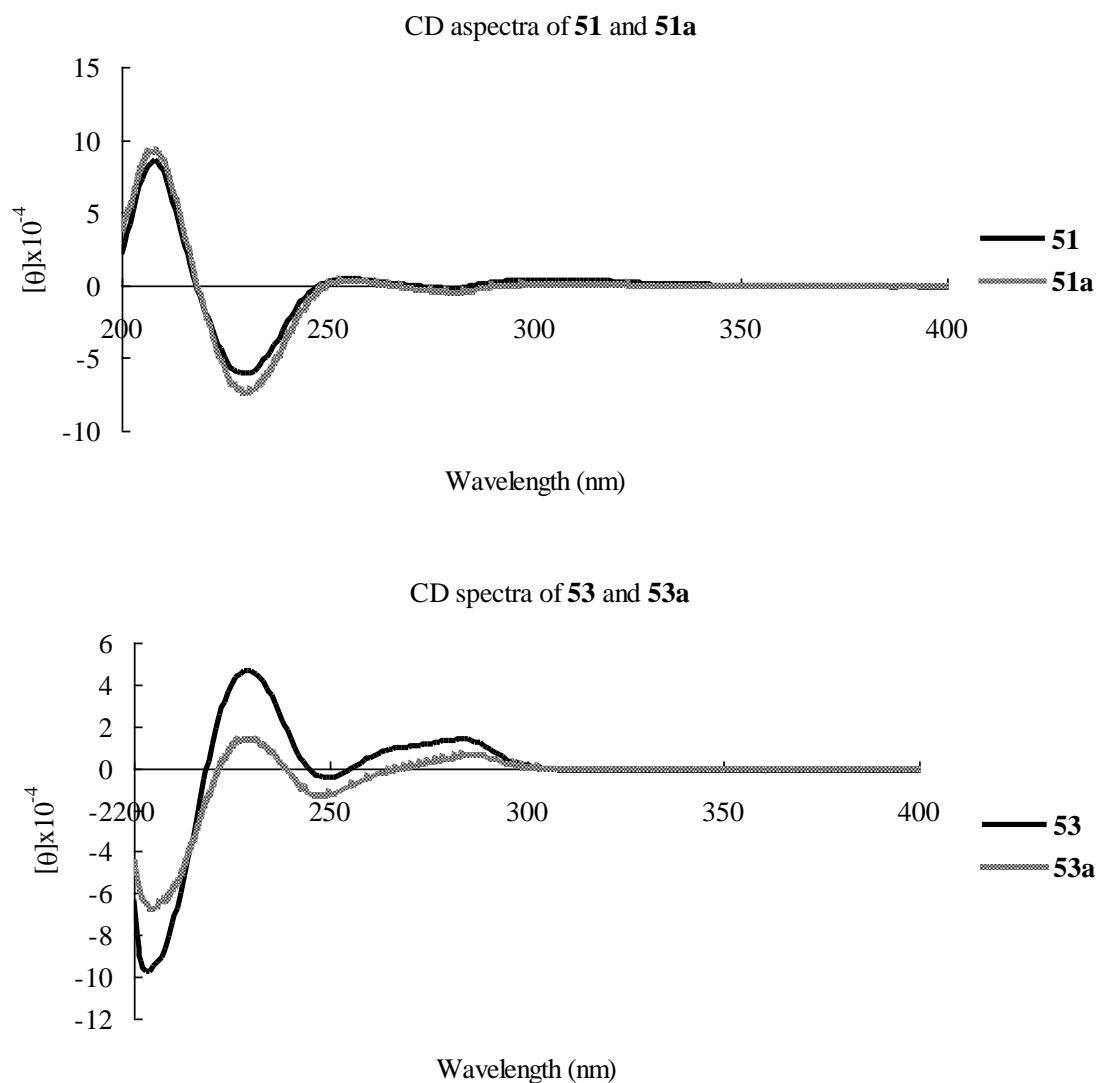


Fig. 40 Comparasion of CD spectra for natural and synthesized phenylpropanoid-substituted catechins (continued).

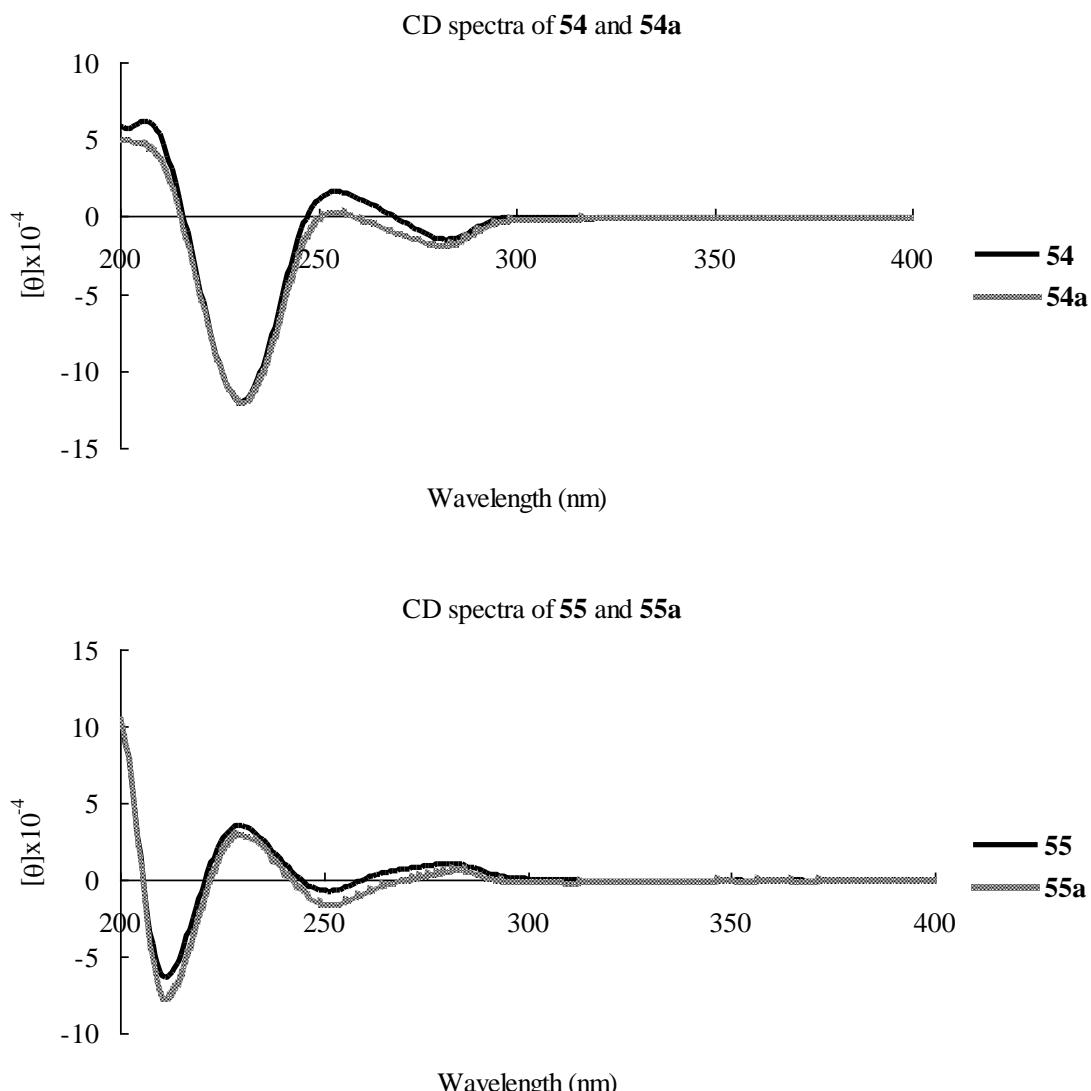


Fig. 40 Comparasion of CD spectra for natural and synthesized phenylpropanoid-substituted catechins (continued).

以上から、新規化合物 **50** および **51** の構造の flavan-3-ol 部分については (+)-catechin と同じく *2R, 3S* の絶対配置を持つことが明らかになった。この二つの化合物の円二色性スペクトル (CD) を比較したところ (Fig. 42), 化合物 **50** は短波長領域 (210–230 nm) に正のカプレットコットンを示したのに対し、化合物 **51** は同じ波長領域に逆の符号のカプレットコットンを示した。これらはフェニルプロパノイドのベンゼン環と (+)-catechin A 環の間の、両者のベンジル位に位置する不斉炭素 C-7" の周囲での相互作用によるものと考えられる。このようなフェニル-フェニル間の相互作用によるカプレットコットンは、既に報告されて

いるプロシアニジン二量体における C-4 に結合した二つのベンゼン環のフェニル（上部ユニットの A 環）-フェニル（下部ユニットの A 環）相互作用によるカプレットコットンと同様の関係にある⁽⁵⁹⁾。すなわち、プロシアニジン二量体の場合 (Fig. 43 上側), 上部ユニット A 環に対し, 下部ユニットのベンゼン環が C-4 の周囲で反時計まわりの位置 (この場合の相対配置が β) にある時, CD スペクトル上で短波長領域に正のカプレットコットンを示し, 時計まわりの位置 (この場合の相対配置が α) にある時は, 負のカップレットコットン効果を示すことが明らかになっている。同様に, 新規化合物 **50** および **51** のそれぞれの C-7" 位の周囲の立体は CD スペクトルから Fig. 43 (下側) のように示され, 従って, 化合物 **50** および **51** の 7" 位の絶対配置はそれぞれ *S* および *R* であることが明確になった。以上のことから, 新規化合物 **50** および **51** は絶対配置を含めて, Fig. 27, 33 に示す構造で表され, それぞれ(4*S*,7*S*,8*R*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,6,7-tetrahydro-5,7-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-b:5,4-b']dipyran-2-one および(4*R*,7*S*,8*R*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,6,7-tetrahydro-5,7-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-b:5,4-b']dipyran-2-one の構造を持つことが明らかになった。これらは, rutaenin A および rutaenin B と命名した。

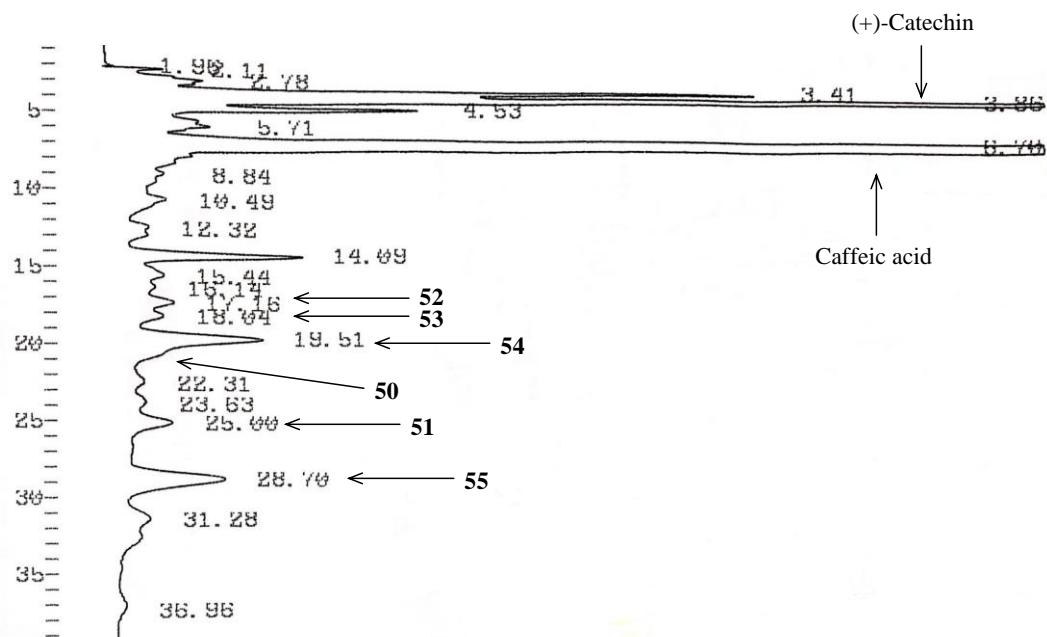


Fig. 41 HPLC chromatogram of reaction mixture.

Column: YMC-PACK ODS-A 302 (150 × 4.6 mm I.D); mobile phase: 0.01M H₃PO₄: 0.01M KH₂PO₄: MeOH = 37.5 : 37.5 : 25; flow rate: 1.0 mL/min; oven temperature: 40 °C; detector: 280 nm.

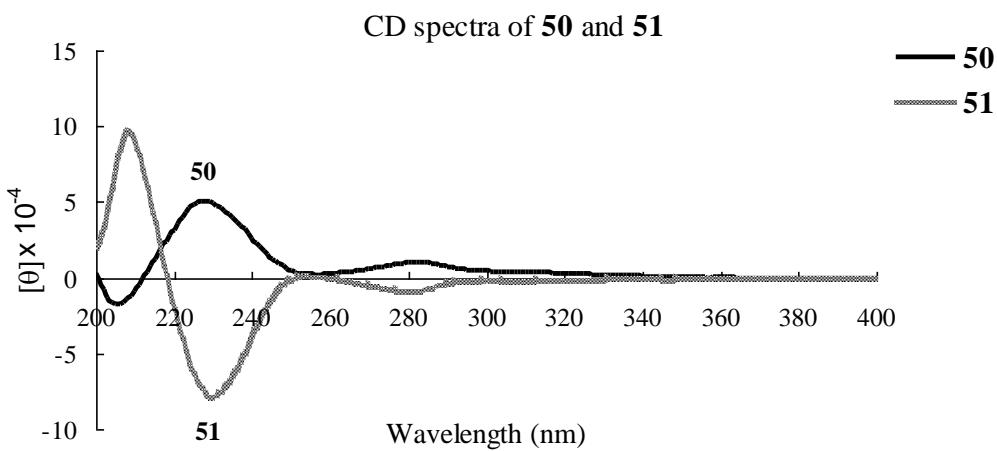


Fig. 42 CD spectra of compounds **50** and **51**.

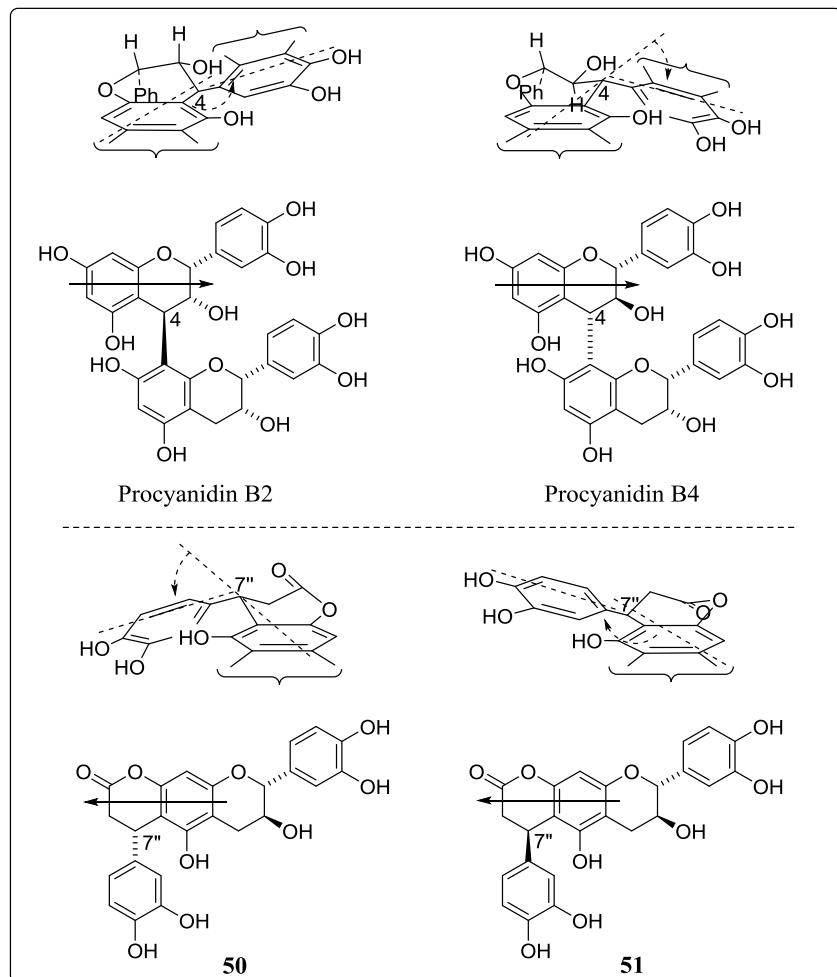


Fig. 43 Image diagrams of positional relation between two benzene rings around chiral center of procyanidins B2, B4 (C-4) and compounds **50**, **51** (C-7").

新規化合物 **50** および **51** 以外に、既知化合物 **53**, **54** および **55** もこの反応の過程で生成することを単離して確認した。したがって、これらの化合物の分子内の flavan-3-ol 部分は 2R,3S 構造を持つ (+)-catechin であることが確認できた。ところで化合物 **54** および **55** の構造については先に、関連化合物すなわちフェニルプロパノイド置換型カテキン（化合物 **52**, **53**）の絶対配置の議論⁽⁴⁸⁾ の中で、**54** および **55** の分子内の (+)-catechin 部分の B 環の H-2' と H-7" との間に NOE 相関があるか否かを基準に、相関がある場合は H-7" と (+)-catechin 部分の B 環が同じ側に存在し（フェニルプロパノイド部分のベンゼン環が β 配置）、相関がない場合は逆の方向（フェニルプロパノイド部分のベンゼン環が α 配置）に存在しているとし、更に CD スペクトルの比較により、化合物 **52** および **53** の絶対配置を決定できると論じている。しかし、本研究において、化合物 **54** および **55** の NOESY スペクトルを測定した結果、両者のいずれにおいても、H-7" および (+)-catechin B 環の H-2' の間に相関が見られたことから、この位置の NOE 相関は (+)-catechin の B 環とフェニルプロパノイド部分のベンゼン環の間の位置関係を証明するデータにはならないことが明らかになった。

また、既知化合物 **52**, **53**, **54**, **55**, **56** の CD スペクトルを **50** および **51** と比較したところ、**50** は **53** および **55** と、**51** は **52**, **54**、および **56** と互いに良く似ており（Fig. 42, Fig. 44），短波長領域（210–230 nm）に正のカプレットコットンおよび負のカプレットコットンをそれぞれ示した。このように、既知化合物 **52**, **53**, **54**, **55**, **56** にもプロシアニジン二量体の場合と類似した位置関係のフェニル-フェニル相互作用が存在しているとみなしうる。これらから、既知化合物 **52**–**55** は文献記載の構造⁽⁴⁸⁾ と C-7" について既報の構造とは逆の絶対配置を有している（Fig. 45）ことが明らかになった。

また、化合物 **55** については、これまでに NMR データとして報告されているもの^(48, 49) の間に不一致が見られたため、本研究において詳細に検討し、改めて帰属を行った。

化合物 **55** は呉茱萸の酢酸エチルエキスから、上述のようにして類白色粉末として得た。高分解能 ESIMS スペクトルの [M-H]⁻ 偽分子イオンピークから、分子式は C₂₄H₂₀O₉ であることが示された。¹H- および ¹³C-NMR スペクトル（Fig. 46, Fig. 47）から、本化合物もフェニルプロパノイド置換型カテキンであることが確認できた。Fig. 48 に示す HMBC 相関のうち、H-7" と C-9 の間に観察された相関から、化合物 **55** のフェニルプロパノイド部分は (+)-catechin の C-8 に結合し、フェニルプロパノイド部分は、(+)-catechin の C-7 のヒドロキシ基を利用してラクトンを形成したことが確認できた。化合物 **55** の ¹H- および ¹³C-NMR データは Table 15 にまとめた。

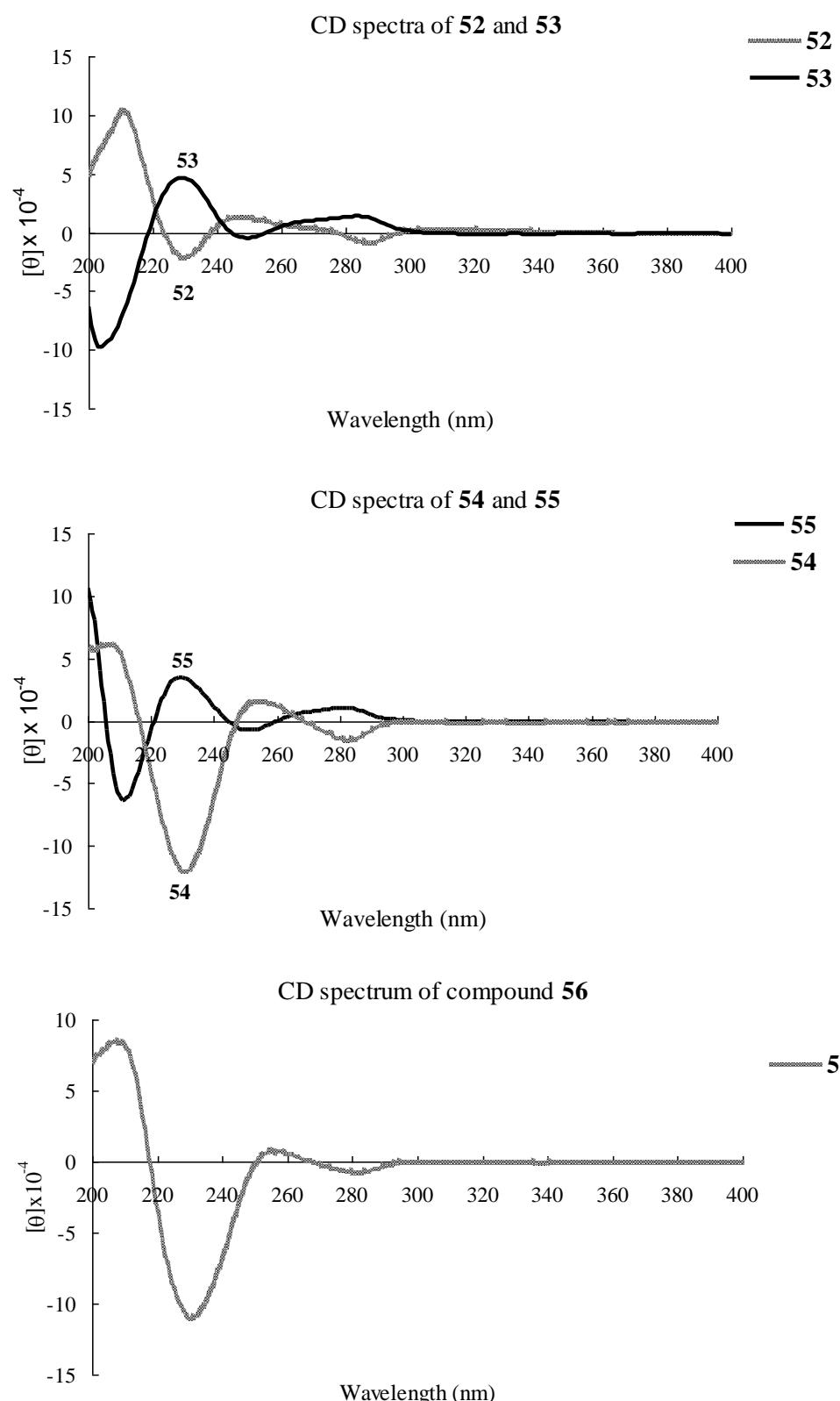


Fig. 44 CD spectra of compounds **52** - **56**.

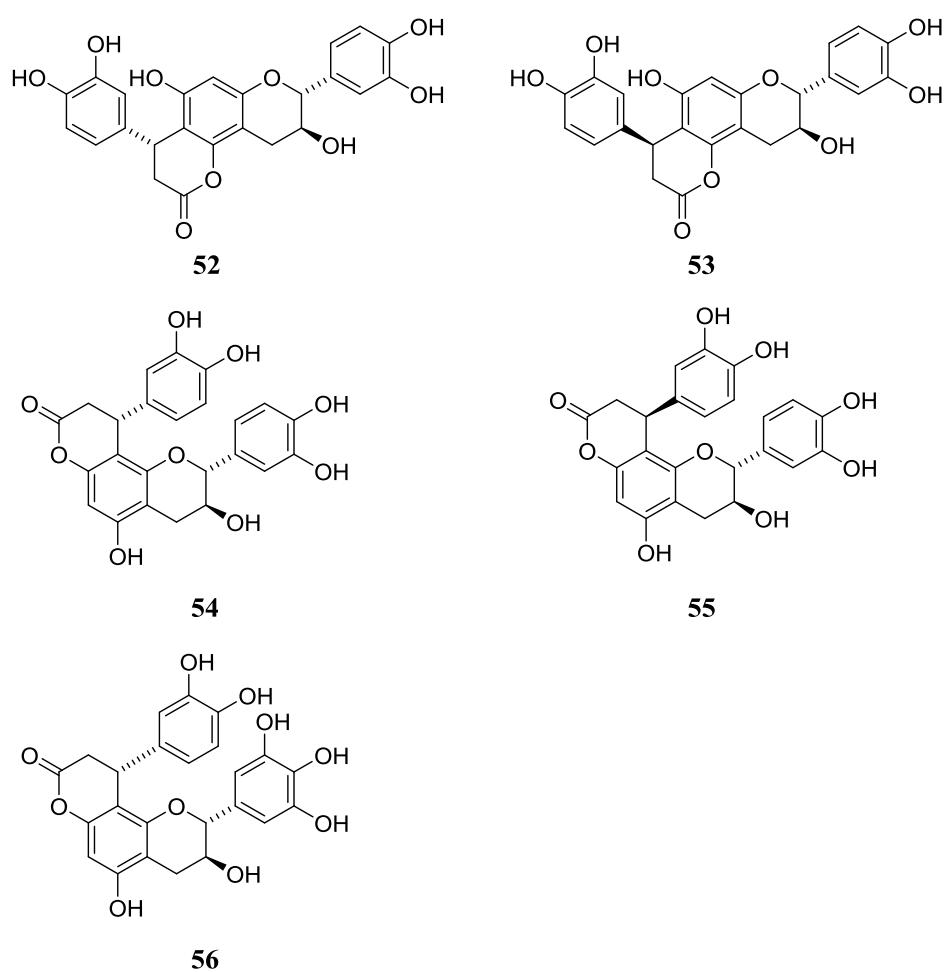


Fig. 45 Revised structures of compounds **52 - 56**.

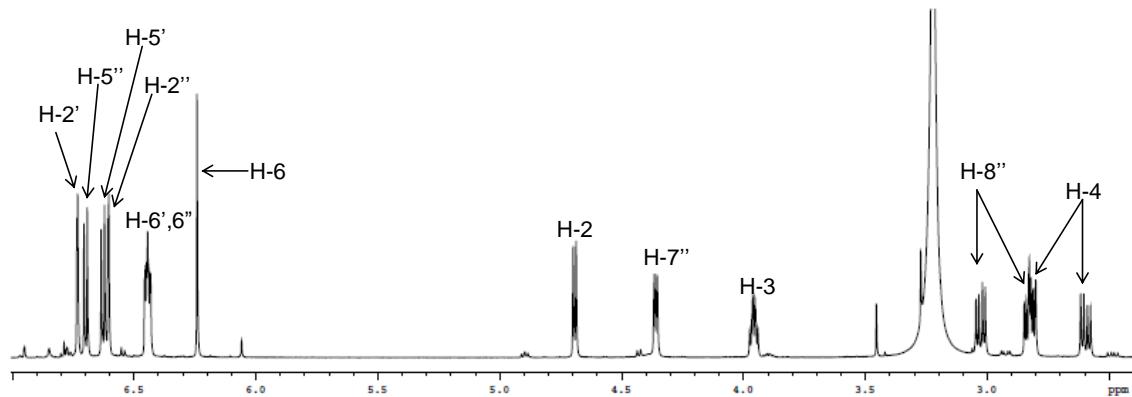


Fig. 46 ^1H -NMR spectrum of **55** (600 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v).

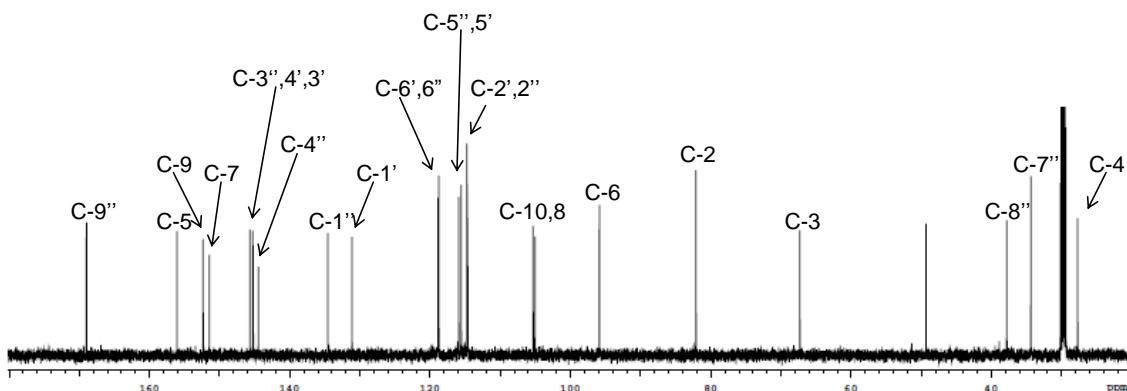


Fig. 47 ^{13}C -NMR spectrum of **55** (151 MHz, acetone- d_6 - D_2O 9/1 v/v).

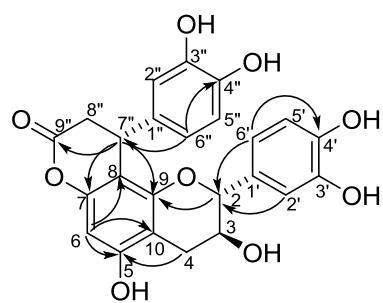


Fig. 48 Key HMBC correlations for compound **55**.

2-1-3-5. 6'-O-Feruloylsyringin (63)

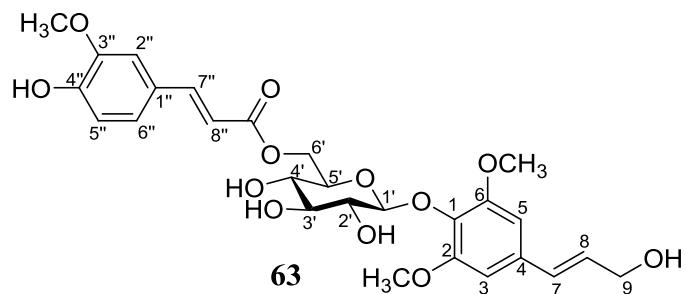


Fig. 49 Structure of compound **63**.

化合物 **63** は類白色無晶形粉末として得た。高分解能 ESIMS スペクトルにおける $[M+Na]^+$ イオンピークから、分子式は $C_{27}H_{32}O_{12}$ であることが確認された。 1H -NMR スペクトル (Fig. 50)においては、 δ 7.13 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), δ 7.00 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz), δ 6.45 (1H, d, $J = 8.4$ Hz) に ABX 系を構成する 3 プロトンのシグナルが観察され、また、 δ 7.50 (1H, d, $J = 15.6$ Hz) および δ 6.25 (1H, d, $J = 15.6$ Hz) にトランス二重結合に由来するシグナルが観察された。こ

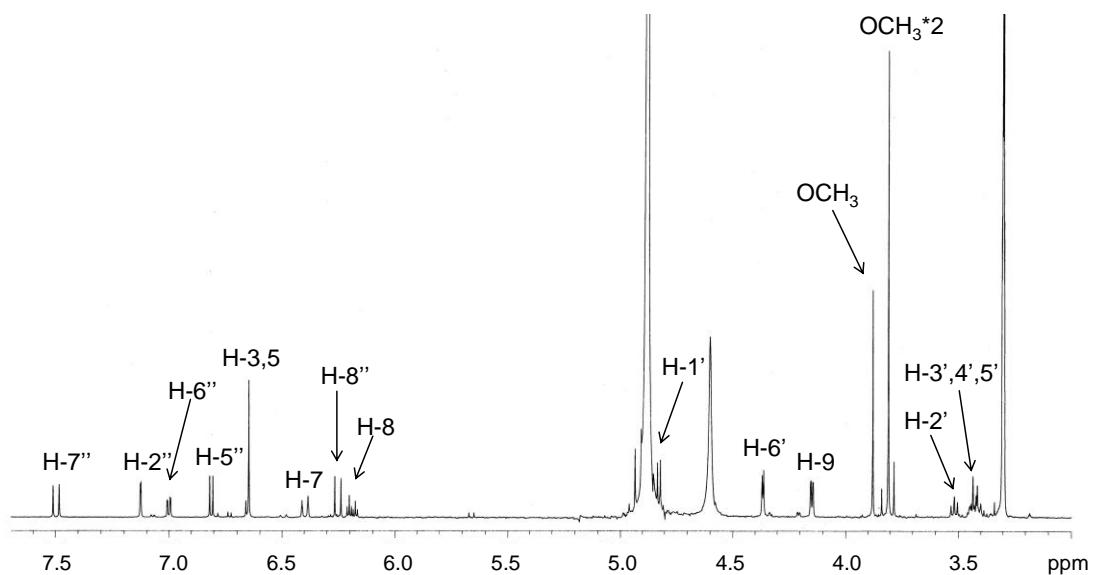


Fig. 50 1H -NMR spectrum of **63** (600 MHz, methanol- d_4).

これらのシグナルパターンから feruloyl 基の存在が推定された。また、 δ 6.65には芳香環上の 2H 分のシングレットが現れた他、計 4 個分のプロトンのシグナルが δ 6.40 (1H, dd, $J = 15.6$ Hz), δ 6.19 (1H, dt, $J = 5.4, 15.6$ Hz), δ 4.15 (2H, dd, $J = 1.2, 5.4$ Hz) に観察され、この 4 個分のプロ

トンは、 ^1H - ^1H COSYによって、トランス二重結合の炭素とそれに隣接した炭素の計3個の炭素上のプロトンに帰属された。これらは分子内に sinapyl alcohol が結合して存在していることを示唆した。さらに、糖部分のプロトンに帰属されるシグナルが δ 4.68 (1H, d, J = 8.4 Hz), δ 4.36 (2H, d, J = 4.2 Hz), δ 3.52 (1H, t, J = 8.4 Hz), δ 3.39–3.46 (3H, m)に観察され、グルコースの存在が示唆された。また、メトキシ基のシグナルが三つ観察され、これらは上述の feruloyl および sinapyl alcohol 部分のメトキシ基と考えられた。

^{13}C -NMR スペクトル (Fig. 51)においては、分子内の feruloyl, sinapyl alcohol, および glucose に帰属される各炭素シグナルが観察され、これらから **63** が構成されることが確かめられた (Table 17)。Sinapyl alcohol の glucose 配糖体は syringin であるから、以上のデータを ferulic acid および syringin の文献データと比較し (Table 17, 18)，その結果、本化合物は syringin の feruloyl エステルであることが明らかになった^(54, 62)。

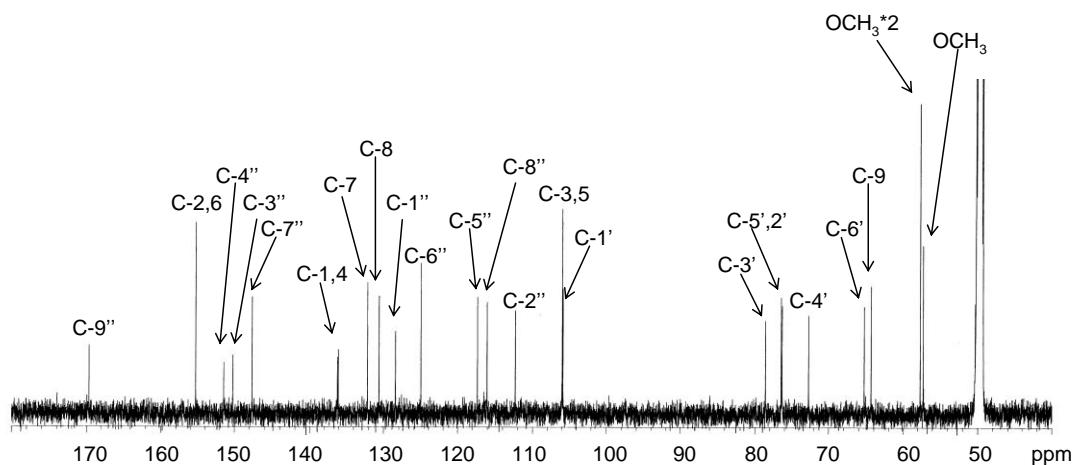


Fig. 51 ^{13}C -NMR spectrum of **63** (151 MHz, methanol- d_4).

Table 17 ^1H -NMR Spectroscopic data for **63**, ferulic acid and syringin

	63	Syringin ⁽⁶¹⁾	Ferulic acid ⁽⁵³⁾
Position	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
H-3,5	6.65 (2H, s)	6.77 (2H, s)	
H-7	6.40 (dd, $J = 15.6$ Hz)	6.54 (d, $J = 15.,8$ Hz)	
H-8	6.19 (dt, $J = 5.4, 15.6$ Hz)	6.37 (dt, $J = 5.5, 15.8$ Hz)	
H-9	4.15 (dd, $J = 1.2, 5.4$ Hz)	4.23 (dd, $J = 1.4, 5.5$ Hz)	
H-1'	4.68 (d, $J = 8.4$ Hz)	4.90 (d, $J = 7.8$ Hz)	
H-2'	3.52 (t, $J = 8.4$ Hz)	3.20-3.40 (m)	
H-3',4',5'	3.39-3.46 (m)		
H-6'	4.36 (2H, d, $J = 4.2$ Hz)	3.80 (dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz)	
		3.67 (dd, $J = 4.0, 12.0$ Hz)	
OCH ₃ ×2	3.81 (s)	3.88 (s)	
H-2"	7.13 (d, $J = 1.8$ Hz)		7.18 (d, $J = 1.93$ Hz)
H-5"	6.81 (d, $J = 8.4$ Hz)		6.82 (d, $J = 8.23$ Hz)
H-6"	7.00 (dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz)		7.07 (dd, $J = 1.93, 8.23$ Hz)
H-7"	7.50 (d, $J = 15.6$ Hz)		7.59 (d, $J = 15.88$ Hz)
H-8"	6.25 (d, $J = 15.6$ Hz)		6.31 (d, $J = 15.88$ Hz)
OCH ₃	3.88 (s)		3.89 (s)

Compound **63**: 600 MHz, methanol-*d*₄; ferulic acid: 400 MHz, methanol-*d*₄; syringin: 300 MHz, methanol-*d*₄

Table 18 ^{13}C -NMR Spectroscopic data for **63**, ferulic acid and syringin

	Compound 63	Ferulic acid ⁽⁵³⁾	Syringin ⁽⁶¹⁾
Position	δ ppm	δ ppm	δ ppm
C-1	136.2		136.0
C-2,6	155.4		154.5
C-3,5	106.0		105.5
C-4	136.1		135.3
C-7	132.1		131.3
C-8	130.6		130.2
C-9	64.4		63.7
OCH ₃ × 2	57.7		57.1
C-1'	105.9		105.6
C-2'	76.3		75.9
C-3'	78.6		78.5
C-4'	72.7		71.5
C-5'	76.5		78.0
C-6'	65.3		62.8
C-1"	128.5	127.8	
C-2"	112.4	111.6	
C-3"	150.2	149.9	
C-4"	151.5	151.5	
C-5"	117.3	116.5	
C-6"	125.1	124.0	
C-7"	147.7	147.0	
C-8"	116.1	115.9	
C-9"	169.7	171.9	
OCH ₃	57.3	56.5	

Compound **63**: 151 MHz, methanol-*d*₄; ferulic acid: 100 MHz, methanol-*d*₄; syringin: 75 MHz, methanol-*d*₄

さらに、化合物 **63** の HMBC スペクトルを測定したところ、Fig. 52, 53 に示す各相関が見られ、H-6' と C-9'' の間の相関が観察されたことから、化合物 **63** は ferulic acid が syringin の glucose の 6 位に結合した構造を持つことが明らかになった。このようにして、化合物 **63** は 6'-*O*-feruloylsyringin と決定した。

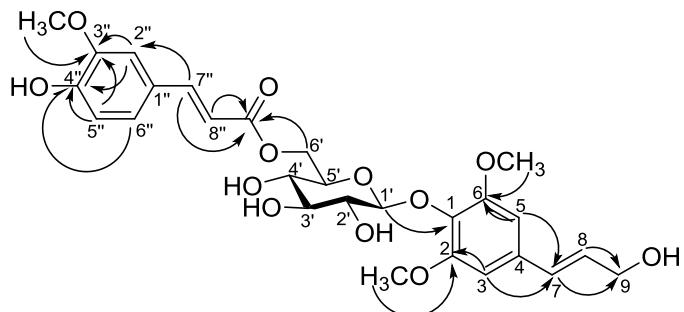


Fig. 52 Selected HMBC correlations for compound **63**.

(600 MHz, methanol-*d*₄)

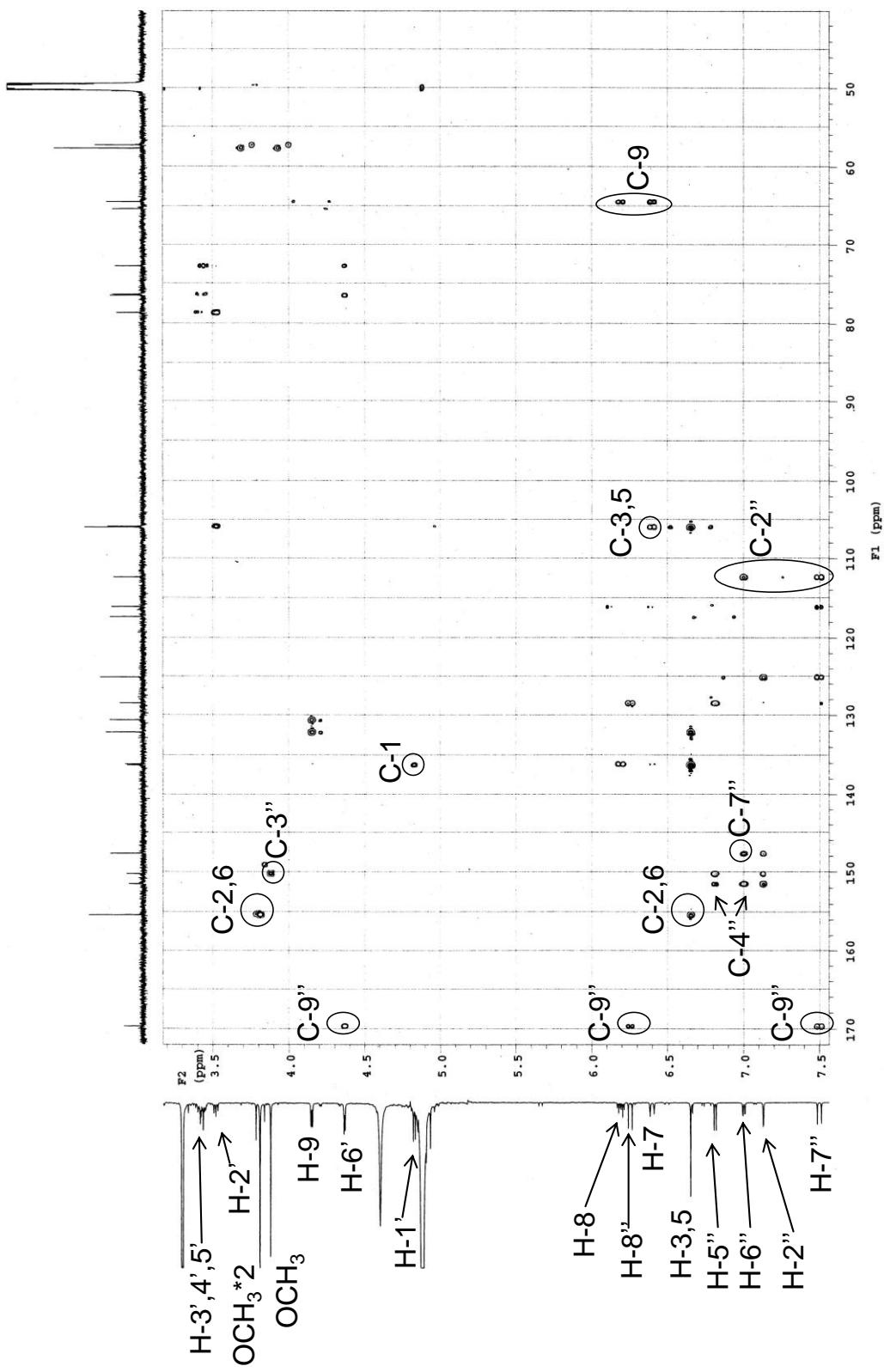


Fig. 53 HMBC spectrum of **63** (600 MHz, methanol-*d*₄).

2-2 吳茱萸の抗 MRSA 活性についての検討

2-2-1 MRSA 菌株の性質

菌の性質については、第一章と同じ菌株を用いた。

2-2-2 吳茱萸の MRSA に対する抗菌効果の検討

Chart 2 に示している吳茱萸からの粗分画としての *n*-hexane エキス, 70% acetone エキス, EtOAc エキス, CHCl₃ エキス, 水エキスおよび水不溶部について、MRSA 両菌株に対する抗菌活性を調べた。その結果、EtOAc エキスおよび水不溶部に他のエキスより比較的強い活性が見られた (Table 19)。水不溶物には主に低極性成分が含まれており、本研究においては、研究が少ないより極性の高い酢酸エチルエキスについて検討を行った。

Table 19 Antibacterial effects of crude extract from *E. ruticarpa* fruits against MRSA

Sample	MICs ($\mu\text{g/mL}$)	
	MRSA OM481	MRSA OM584
<i>n</i> -Hexane ext.	512	512
EtOAc ext.	128	256
CHCl ₃ ext.	> 512	> 512
H ₂ O ext.	256	256
Water insoluble ext.	128	128
Oxacillin	256	256
Vancomycin	1 ^a	2 ^a

^a Data from ref. (32)

2-1において示したように、吳茱萸の酢酸エチルエキスから Fig. 54 に示した新規化合物 **50** および **51** を含む、7種のフェニルプロパノイド置換型のカテキン誘導体類化合物を単離した。これらの化合物のうち、ブルベリーからも単離された **52**, **53**, **55** に強い抗酸化活性および α -グルコシダーゼ阻害作用が報告されている⁽⁶³⁾。しかし、これらの化合物の抗菌活性についての研究は見当たらない。そこでこれらの化合物について、MRSA に対する抗菌活性を調べ

た。

その結果は Table 20 に示したとおりであり、その多くに MRSA に対する中程度ないし弱い抗菌作用が認められた。構造と抗菌活性との関係について見ると、Fig. 54 に示すように、caffein acid が (+)-catechin の A 環に結合した構造を形成する場合、その結合位置および C-7" の絶対配置の違いにより、化合物 **50–55** のような 6 種の化合物が形成される。新規化合物 **50** および **51** は、ほぼ同じ抗菌活性を示し、他の化合物と比べて、活性がやや強いという結果が得られた。化合物 **52** および **53** については、C-7" の立体の違いによって、抗菌活性に差が見られた。化合物 **54** および **55** についても同様に、C-7" の立体の違いにより、活性に差が見られた。これらの化合物の抗菌活性はそれほど高くないが、少なくとも、このタイプの化合物の構造、特に立体が抗菌活性に影響を与えていることが明らかであると考えられる。

Table 20 Antibacterial effects of compounds **50 - 56** against MRSA strains.

Compounds	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	
	MRSA OM481	MRSA OM584
50	64	128
51	128	64
52	>256	>256
53	128	128
54	128	128
55	256	>256
56	128	128
Oxacillin	256	256
Vancomycin	1 ^a	2 ^a

^a Data from ref. (32)

第一章においても述べたように, epigallocatechin gallate (MRSA に対する MIC が 100 $\mu\text{g/mL}$) や山椒からのプロシアニジンポリマー画分 (MRSA に対する MIC が 128 $\mu\text{g/mL}$) といったポリフェノールは, MRSA の細胞膜への直接的な障害, または細胞壁 (ペプチドグリカンまたはそれの合成酵素) の機能に障害を与える可能性が示されている^(34, 35)。本研究で単離したポリフェノールに分類されるフェニルプロパノイド置換型カテキンについても, それらの抗 MRSA 活性に同様の機構の関与が考えられる。また, これらのフェニルプロパノイド置換型カテキン類化合物の立体が抗菌活性に影響を与えたが, これについては MRSA の細胞表面のタンパク質 (ペプチドグリカン合成酵素など) に対する結合能力の違いにより抗菌活性に差が見られた可能性も考えられる。これらの化合物の抗 MRSA 活性は, 補骨脂から単離されたプレニル化合物より弱いが, 前述の山椒からのプロシアニジンポリマー画分が濃度依存的に MRSA の β -ラクタマーゼの活性を抑制することで oxacillin に対する感受性を回復させる作用を示したことから, 本研究で単離されたフェニルプロパノイド置換型カテキンについても同様な活性が期待され, 今後, フェニルプロパノイド置換型カテキンと oxacillin および関連 β -ラクタム剤の併用効果を調べることが必要であると考えられる。

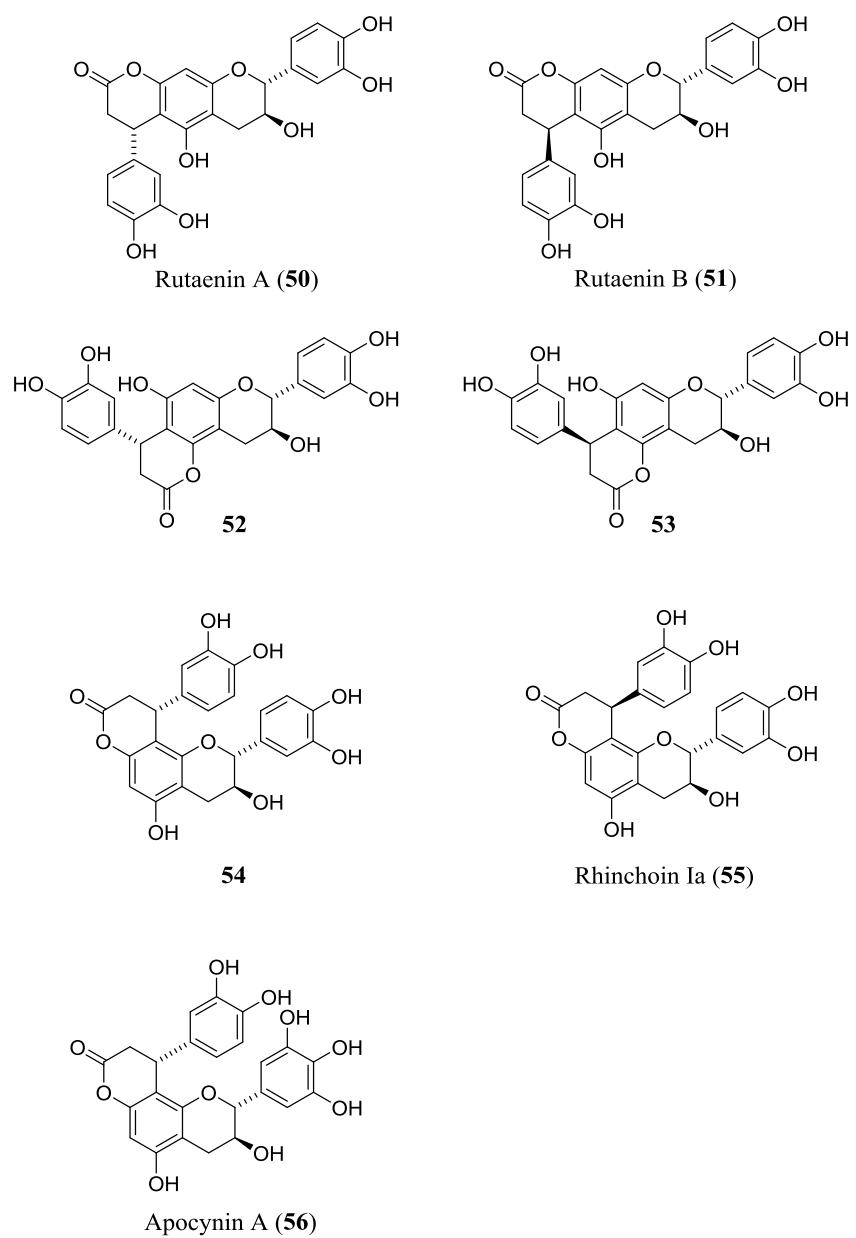


Fig. 54 Structures of phenylpropanoid-substituted catechins firstly isolated from the source plant belonging to the family Rutaceae.

2-3 吳茱萸の含有成分の構造上の特徴

本研究において吳茱萸から見出された既報の成分としては、キロノンアルカロイド、インドールアルカロイド、リモノイド、フラボノイド配糖体を単離することができた。これらのうち、アルカロイドの rutaecarpine (41), rhetsinine (42), evodiamine (43)、リモノイドの evodol (45) は吳茱萸の特徴的な成分である。また、hyperoside (46), isorhamnetin-3-O-glucopyranoside (47), isorhamnetin-3-O-galactopyranoside (48), isorhamnetin 3-O-rutinoside (49) はいずれもフラボノール配糖体であった。

以上に述べたような、既に吳茱萸からの単離報告がある化合物以外に、新規化合物 rutaenin A (50) および rutaenin B (51) を含む7種のフェニルプロパノイド置換型のカテキン誘導体が吳茱萸に存在していることを本研究で新たに見出すことができた。特に、apocynin A (56) は *Apocynum venetum* (キヨウチクトウ科)⁽⁵⁰⁾ から初めて単離されて以来、他の植物に含有されていることは報告されていない。また、カテキン関連化合物であるプロシアニジンとしての procyanidin B3 (57), procyanidin B2 (58), prodelphinidin B3 (59), catechin-(4 α →8)-epicatechin-(4 β →8)-catechin (60) も吳茱萸から見出したのは本研究が初めてであった。

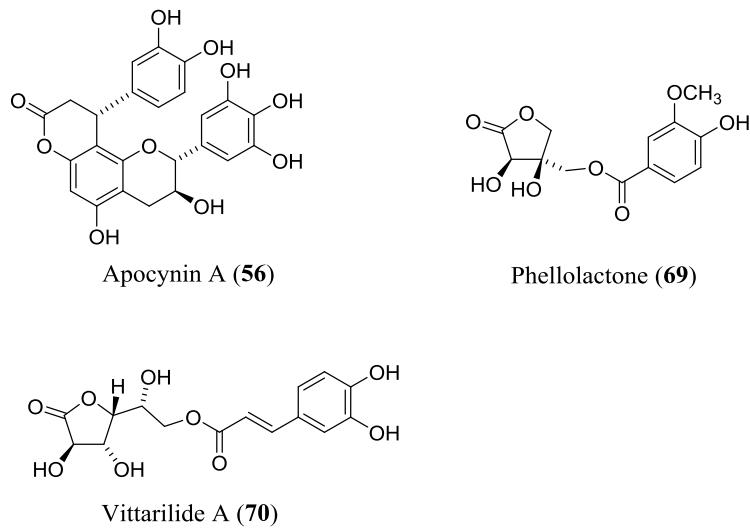


Fig. 55 Compounds of rare distribution in nature isolated from *E. ruticarpa*.

これら以外の化合物のうち, phellolactone (**69**) および vittarilide A (**70**) については, これま
で, それぞれ *Phellodendron chinense* (ミカン科)⁽⁵⁶⁾ および *Vittaria anguste-elongata* (イノモ
トソウ科)⁽⁵⁷⁾ のみから単離が報告されていたが, 本研究によって呉茱萸にも含まれている
ことを明らかにした。この二つの化合物はいずれも分子内に γ -lactone 構造を有しており,
それぞれ apiofuranose および glucofuranose の 1 位のヒドロキシ基が酸化されてケトンになっ
た構造を有する。

以上に述べた化合物のなかには, 構造上, natural artifact である可能性や, 生薬の調製過程
で他の成分の変化によって生じた可能性のあるものも存在するが, 今回使用した市販の生
薬からこれらが得られたことは, これらが生薬の薬効に関与している可能性を今後, 考慮
する必要がある。また, 他のロットの呉茱萸についても比較検討する必要もあると思われる
が, 少なくとも潜在的にはこの生薬の基原植物には, これら, あるいはその前駆体を生産す
る能力があることが示された。本研究によって得られた結果は, こうした成分の生成に関与
する遺伝子の発現, あるいはその抑制という観点からの将来的な検討の基礎的な知見とな
りうるものと考えられる。

総括および展望

中医学や漢方医学のような臨床経験の積み重ねのあるアジア伝統医学で使用されてきた生薬は、天然生物活性物質の資源として重要であり、その含有成分の検討は、医薬品のシードとなる化合物の開発という観点から重要であると考えられる。

本研究においては、生薬の活性成分の単離精製という観点から、MRSAに対する作用を指標にし、補骨脂および吳茱萸の成分について詳細な検討を進め、計 71 種の化合物を単離し、以下のようにまとめられる新しい知見を得ることができた。

第一章では補骨脂の成分の探索について説明した。補骨脂から得られた粗分画であるヘキサンエキス、酢酸エチルエキスおよびメタノールエキスについて、成分の単離を行い、幅広い極性の化合物の単離に成功した。それらには、初めて補骨脂から単離された化合物 6 種が含まれる (Fig. 56, 化合物 **19–21, 25, 28, 29**)。これらの既知化合物以外に、新規化合物を 2 種 (Fig. 56, 化合物 **7, 13**) 単離し、それらについて、各種スペクトルの解析に基づき、その構造を決定した。また、補骨脂の粗分画について、MRSAに対する抗菌活性を調べた結果、ヘキサンエキスおよび酢酸エチルエキスに同等の活性が見られたので、多様な成分を含むことが明らかになった酢酸エチルエキスから単離した 17 種の化合物について、抗 MRSA 活性を評価した。その結果、既に報告されている bakuchiol (**1**) 以外にも、比較的強い抗 MRSA 活性を有する化合物を 5 種 (Fig. 56, 化合物 **6, 8, 15, 16, 18**) 見出すことができた。これらの化合物の構造と活性の検討によって、分子内に有しているプレニル基、フェノール性ヒドロキシ基、およびその化合物の骨格との組み合わせ様式が抗菌活性に大きな影響を与えたことが明らかとなった。さらに、補骨脂の有用性を評価するために、その酢酸エチルエキスについて、逆相 HPLC による一斉分析の条件を確立し、主要な化合物の定量をも行った。その結果、抗 MRSA 活性の強い化合物の含有量も高く、補骨脂の抗菌作用物質資源としての重要性が明らかになった。

第二章においては吳茱萸について、その研究が不十分である極性画分を中心に、検討を進めた研究について示した。その結果、吳茱萸からは 3 種の新規化合物 (Fig. 57, 化合物 **50, 51, 63**) を見出すことができた。そのうち、新規化合物 **50** および **51** は新規フェニルプロパノイド置換型カテキンであり、各種スペクトルの解析および合成反応によりそれぞれの構造を明らかにした。この二つの新規化合物を含め、吳茱萸から初めてフェニルプロパノイド置換型カテキン類化合物 (Fig. 57, 化合物 **52–56**) を単離し、これらの化合物のミカン科の

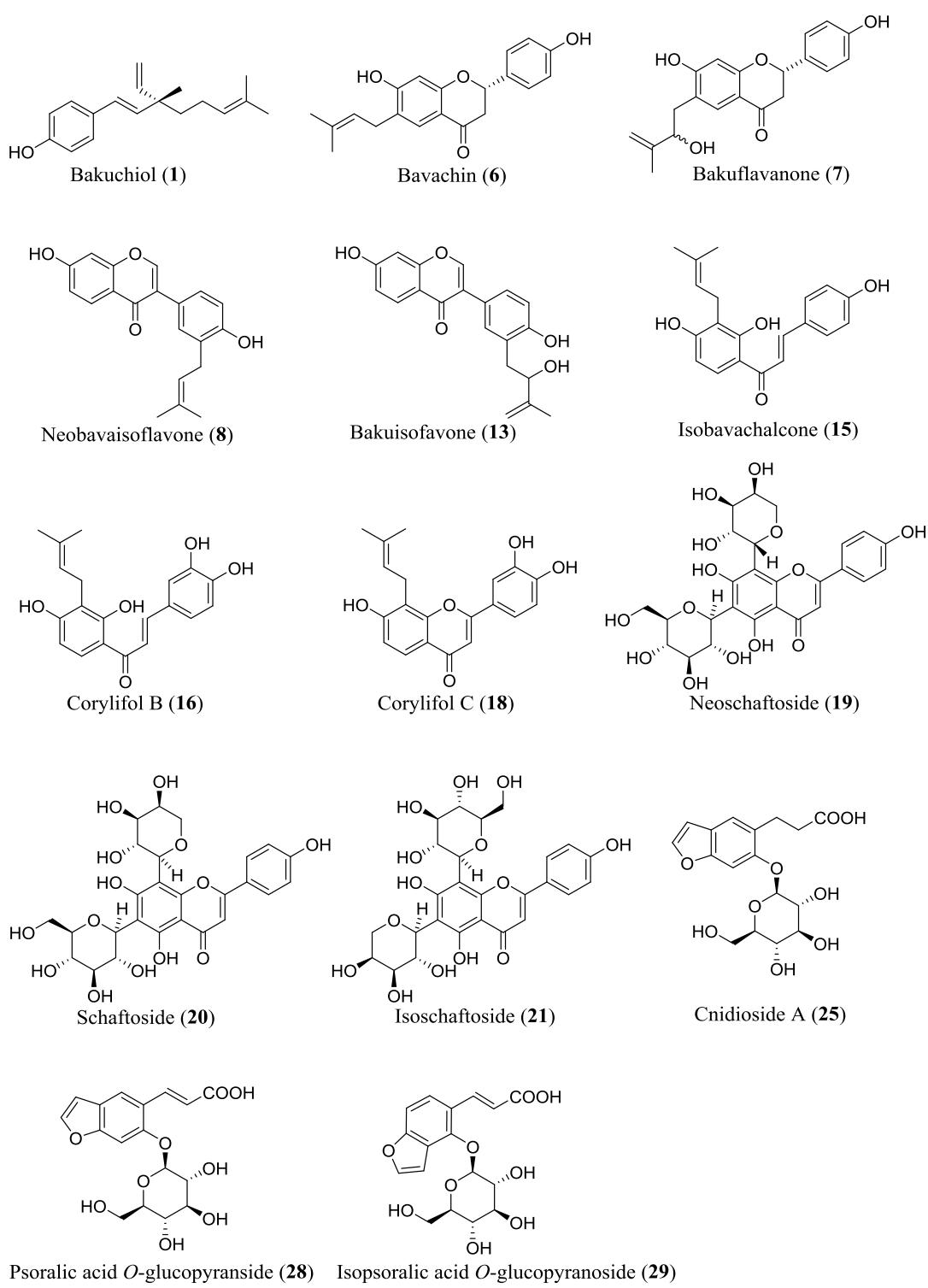


Fig. 56 Compounds isolated from *P. corylifolia* fruits.

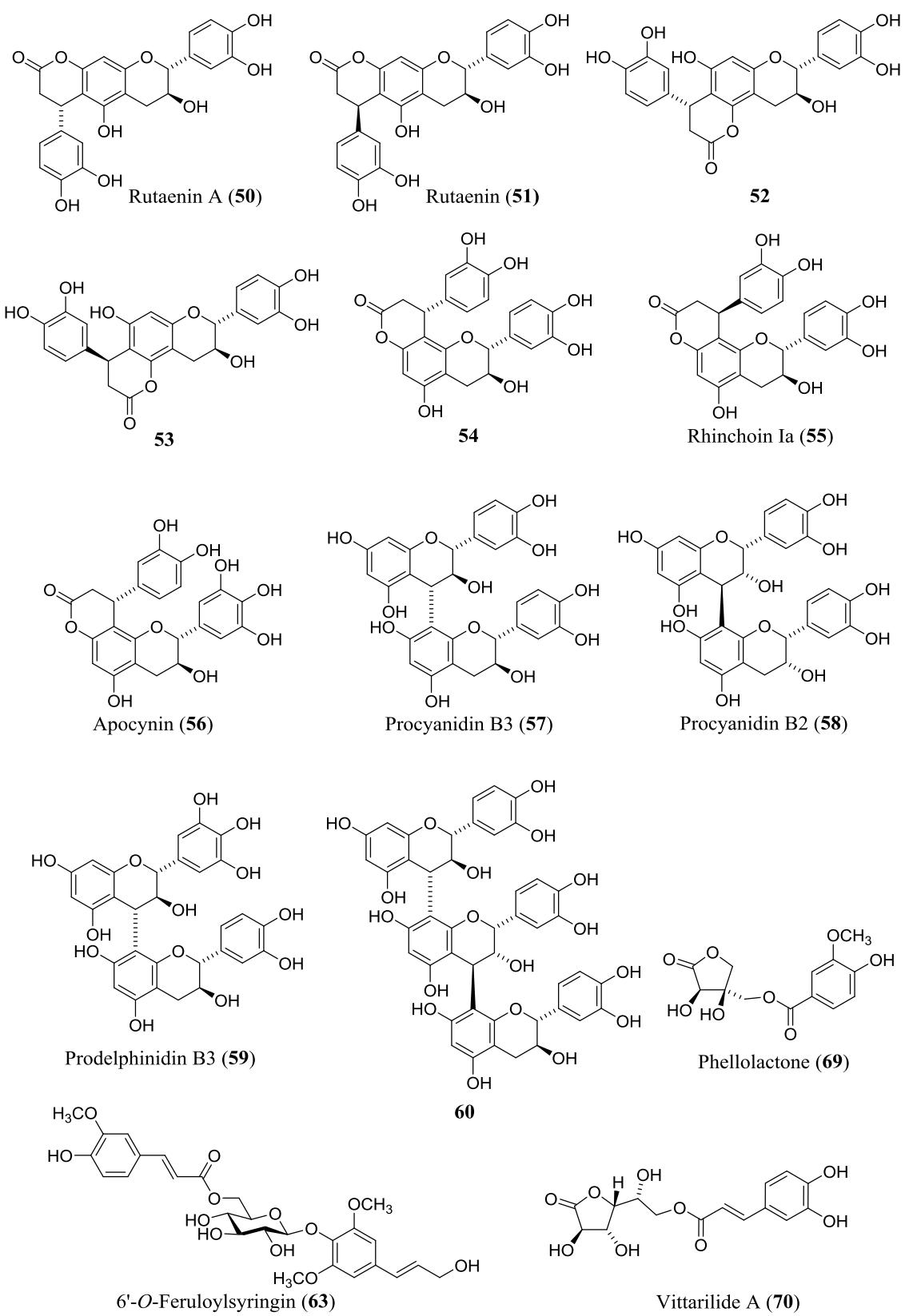


Fig. 57 Compounds isolated from *E. ruticarpa* fruits.

植物中の存在をも初めて明らかにすことができ、構造の再検討をも進めることができた。これら以外の化合物についても、化合物 **57**, **58**, **59**, **60**, **69**, **70** (Fig. 57) については、既知化合物ではあったが、吳茱萸からの単離報告は初めてであった。さらにもう一つの新規化合物 **63** については、6'-feruloylsyringin の構造を決定した。また、粗分画として抗 MRSA 活性が認められた吳茱萸の酢酸エチルエキスから単離されたフェニルプロパノイド置換型カテキン (Fig. 57, 化合物 **50–56**) について、MRSA に対する抗菌活性を評価した。その結果、五つの化合物 (Fig. 57, 化合物 **50**, **51**, **53**, **54**, **56**) に中程度の活性が認められた。これらの化合物の抗菌活性はそれほど高くないが、少なくとも、このタイプの化合物の構造、特に立体が抗菌活性に影響を与えている可能性が考えられる。こういった知見は、今後、ポリフェノール系の化合物の MRSA に対する抗菌作用や抗生物質耐性抑制作用などを検討するための基礎的データを与えるものと考えられる。

本研究において、多数の補骨脂および吳茱萸から初単離の化合物を見出した。これらの化合物がロットの異なる当該生薬にも存在するかについて、今回は調べていないが、今後の課題になると考えられる。少なくとも今回検討した生薬について、それらの成分が存在することを見いだしたことは、当該植物がそれらの生産能力を持つことを明らかにしたことになる。ロットの違いによる成分含量の差異については、今後の品質管理の観点からの研究の対象として考える必要があると考えられる。また当該成分がもし他のロットで現れない場合は、その生産能の抑制要因（遺伝子の発現抑制などによる）について検討することになるが、その場合はこれらの成分の単離同定がそうした研究の基礎になるものと思われる。

また、本研究から見出された強い抗 MRSA 活性を有する化合物については、今後、毒性実験や *in vivo* の実験が必要である。他方、歴史的に長期間使用経験がある生薬については、毒性の強いもの（附子や巴豆など）は明らかになっており、少なくとも急性毒性については、今回検討した補骨脂や吳茱萸は低いものと考えられる。本研究で見出された抗 MRSA 作用を示す成分の構造情報によって、新たな抗 MRSA 作用を有する医薬分子創出へ繋がることに期待したい。

実験の部

実験の部

NMR スペクトルは Varian INOVA AS600 (¹H-NMR: 600 MHz, ¹³C-NMR: 151 MHz) を用いた。溶媒シグナルをそれぞれ δ_{H} 2.04, δ_{C} 29.8 (acetone-*d*₆), δ_{H} 7.24, δ_{C} 77.00 (CDCl₃), δ_{H} 3.30, δ_{C} 49.8 (methanol-*d*₄), δ_{H} 2.49, δ_{C} 39.7 (DMSO) とし, ケミカルシフトを Tetramethylsilane (TMS) 基準のシフト値として δ 値 (ppm) で示した。

低分解能 MS スペクトルは, amaZon ETD-OF (ESI-MS) を用い, 溶媒として 50% MeOH + 0.1% HCOOH 或いは 50% CH₃CN + 0.1% HCOOH を用いた。高分解能 MS スペクトルは二種類を使用した。① JMS-700 MStation を用い, 測定モードは FAB⁺ であり, 校正物質は PEG-400 を用いた。② HPLC-CHIP/QTOF 質量分析装置を用い, 溶媒として 50% MeOH + 0.1% HCOOH 或いは 50% CH₃CN + 0.1% HCOOH を用いた。

旋光度 ([α]_D) は JASCO DIP-1000 型旋光度計で測定し, CD (circular dichroism) は JASCO J-720W 円二色性分光計で測定した。UV スペクトルは紫外可視分光光度計 UV-1800 で測定した。

HPLC は以下に示す条件で行った。

NP-HPLC

Column: YMC-PACK SIL A-003 (250×4.6 mm I.D.)

Detector: L-7405 HITACHA (280 nm)

Pump: LC-10AT SHIMADZU (1.5 mL/min)

Temp.: r.t.

Mobile phase:

[N1] *n*-Hexane : MeOH : THF : HCOOH = 55 : 33 : 11 : 1 + (COOH)₂ 450 mg/mL

[N2] *n*-Hexane : MeOH : THF : HCOOH = 60 : 30 : 10 : 1 + (COOH)₂ 450 mg/mL

[N3] *n*-Hexane : EtOAc = 2 : 1

[N4] *n*-Hexane : EtOAc = 3 : 1

RP-HPLC

Column: YMC-PACK ODS-A302 (150×4.6 mm I.D.)

Detector: L-7400 HITACHA (280 nm)

Pump: L-7100 HITACHI (1 mL/min)

Temp.: 40 °C

Mobile phase:

[R1] H₂O : MeOH = 2 : 8

[R2] H₂O : MeOH = 4 : 6 + 0.1% HCOOH

[R3] H₂O : MeOH = 5 : 5 + 0.1% HCOOH

[R4] H₂O : MeOH = 7 : 3 + 0.05% HCOOH

[R5] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 40 : 40 : 20

[R6] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 42.5 : 42.5 : 15

[R7] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 45 : 45 : 10

[R8] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 37.5 : 37.5 : 25

[R9] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 41.5 : 41.5 : 17

[R10] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : MeOH = 37.5 : 37.5 : 25

Prep NP-HPLC

Column: YMC-PACK SIL A 024 (300×10 mm I.D.)

Detector: L-7405 HITACHA (280 nm)

Pump: LC-10AT SHIMADZU (3.2 mL/min)

Temp.: r.t.

Mobile phase:

[PN1] *n*-Hexane : EtOAc = 3 : 1

[PN2] *n*-Hexane : EtOAc = 7 : 3

[PN3] *n*-Hexane : EtOAc = 3 : 2

[PN4] *n*-Hexane : EtOAc = 72.5 : 27.5

[PN5] *n*-Hexane : THF : MeOH : HCOOH = 60 : 30 : 10 : 1

Prep RP-HPLC

Column: YMC-PACK ODS-A324 (300×10 mm I.D.)

Detector: L-7400 HITACHA (280 nm)

Pump: L-7100 HITACHI (1.5 mL/min)

Temp.: 40 °C

Mobile phase:

[PR1] H₂O : MeOH = 9 : 1 + 0.1% HCOOH

[PR2] H₂O : MeOH = 8 : 2 + 0.1% HCOOH

[PR3] H₂O : MeOH = 75 : 25 + 0.1% HCOOH

[PR4] H₂O : MeOH = 7 : 3 + 0.1% HCOOH

[PR5] H₂O : MeOH = 4 : 6

[PR6] H₂O : MeOH = 3 : 7

[PR7] H₂O : CH₃CN = 9 : 1 + 0.1% HCOOH

[PR8] H₂O : CH₃CN = 82 : 18 + 0.1% HCOOH

[PR9] H₂O : CH₃CN = 85 : 15 + 0.1% HCOOH

[PR10] H₂O : CH₃CN = 87 : 13 + 0.1% HCOOH

[PR11] H₂O : CH₃CN = 77 : 23 + 0.1% HCOOH

[PR12] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 40 : 40 : 20

[PR13] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : CH₃CN = 35 : 35 : 30

[PR14] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : MeOH = 40 : 40 : 20

[PR15] H₂O : CH₃CN = 8 : 2 + 0.1% HCOOH

[PR16] 0.01M H₃PO₄ : 0.01M KH₂PO₄ : MeOH = 43.5 : 43.5 : 13

TLC は以下に示す条件で行った。

Plate: Silica gel 60 F254 (Aluminium Sheet)

Mobile phase:

[T1] *n*-Hexane 100%

[T2] *n*-Hexane : EtOAc = 9 : 1

[T3] *n*-Hexane : EtOAc = 3 : 1

[T4] *n*-Hexane : EtOAc = 5 : 5

[T5] *n*-Hexane : EtOAc = 7 : 3

[T6] CHCl₃ 100%

[T7] CHCl₃ : MeOH = 93 : 7

[T8] CHCl₃ : MeOH = 9 : 1

[T9] CHCl₃ : MeOH = 85 : 15

[T10] CHCl₃ : MeOH = 8 : 2

[T11] CHCl₃ : MeOH = 3 : 1

[T12] CHCl₃ : Acetone = 8 : 2

[T13] CHCl₃ : Acetone = 7 : 3

[T14] CHCl₃ : Acetone = 3 : 2

[T15] *n*-BuOH : AcOH : H₂O = 21 : 5 : 6

[T16] *n*-BuOH : AcOH : H₂O = 4 : 1 : 2

Coloring reagent: *p*-anisaldehyde – sulfuric acid (EtOH)

Plate: Silica gel RP-18 F254 (Aluminium Sheet)

Mobile phase:

[T17] H₂O : CH₃CN = 45 : 55

[T18] H₂O : CH₃CN = 2 : 3

Coloring reagent: *p*-anisaldehyde – sulfuric acid (EtOH)

Prep TLC

Plate: Silica gel 60 F254 (Glass Plate 20×20 cm)

Mobile phase:

[PT1] *n*-Hexane : EtOAc = 1 : 1

[PT2] *n*-Hexane : EtOAc = 1 : 2

Plate: Silica gel RP-18 F254 (Glass Plate 20×20 cm)

Mobile phase:

[PT3] CH₃CN : H₂O = 6 : 4

カラムクロマトグラフィーは Diaion HP-20, YMC-GEL SIL, MCI-gel CHP20P, Toyopearl HW-40C, Toyopearl HW-40F, Sephadex LH-20, ODS-A gel を充填剤として用いた。また、Sep-Pak C18 を試料の脱塩、精製に用いた。溶媒の濃縮はすべて 40 °C 以下でエバボレーターを用いた。

第1章に関する実験

1. 補骨脂の成分の単離

中国安国市振宇中薬飲片有限会社 (Lot No.: 110602) から購入した補骨脂 750 g を粉碎し, *n*-hexane (3 L 14 hr, 2 L 9 hr × 2, 1 L 9 hr), EtOAc (3 L 13 hr, 2 L 9 hr × 3), MeOH (3 L 12 hr, 2 L 12 hr, 2 L 9 hr, 1.5 L 12 hr) で冷浸を行い, *n*-hexane エキス 76.7 g, EtOAc エキス^a 74.1 g, MeOH エキス 43.6 g をそれぞれ得た。

(1) *n*-Hexane エキスの分画

n-Hexane エキス 9.0 g を Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 3.0 × 42 cm, SIL1) にかけ, 500 mL は一つフラクションとし, 100% *n*-hexane (1000 mL) → 2.5% EtOAc (1000 mL) → 5% EtOAc (1000 mL) → 7.5% EtOAc (1000 mL) → 10% EtOAc (1000 mL) → 12.5% EtOAc (1000 mL) → 15% EtOAc (1000 mL) → 17.5% EtOAc (1000 mL) → 20% EtOAc (1000 mL) → 25% EtOAc (1000 mL) → 30% EtOAc (500 mL) → 40% EtOAc (500 mL) → 50% EtOAc (500 mL) → 100% EtOAc (500 mL) (EtOAc / *n*-hexane) → 50% MeOH (500 mL) (MeOH / EtOAc) → 100% MeOH (500 mL) で順次溶出した。そのうち, 7.5% EtOAc 溶出部① (576.9 mg) は单一化合物 bakuchiol (**1**) であった。SIL1 の 15% EtOAc 溶出部①の MeOH 可溶部 (77.6 mg) を TLC (条件 PT1) で分取を行い, psoralen (**23**, 16.5 mg) を得た。SIL1 の 20% EtOAc 溶出部① (28.8 mg) について順相 HPLC により分取 (条件 PN1) を行い, $\Delta^3,2$ -hydroxybakuchiol (**2**, 4.7 mg) を得た。SIL1 の 15% EtOAc 溶出部② (100.0 mg) をさらに Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.5 × 25 cm, SIL2, *n*-hexane / EtOAc) に付して得た 20% EtOAc 溶出部 (50.7 mg) を *n*-hexane – EtOAc に溶かし, 遠心して可溶部を除いて得た沈殿は psoralen (**23**, 25.5 mg) であった。SIL1 の 12.5% EtOAc 溶出部① (200.0 mg) を再び Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.0 × 35 cm, SIL3, *n*-hexane / EtOAc) に付して得た 12.5% EtOAc 溶出部 (166.6 mg) を *n*-hexane – EtOAc に溶かし, 遠心し可溶部を除いて得た沈殿は isopsoralen (**24**, 57.1 mg) であった。SIL1 の 17.5% EtOAc 溶出部 (85.6 mg) を TLC 分取 (条件 PT2) で精製して得たフラクションのうち, fr. 2 (35.9 mg) をさらに順相 HPLC (条件 PN1) で分取を行い, bavachinin (**5**, 16.2 mg) および $\Delta^1,3$ -hydroxybakuchiol (**3**, 1.7 mg) を単離した。

(2) EtOAc エキス^aの分画

EtOAc エキス^a 22.0 g を Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 3.0 × 48 cm, SIL4) に付し, 500 mL を 1 フラクションとし, 2.5 % EtOAc (1500 mL) → 5% EtOAc (1500 mL) → 7.5% EtOAc (1500 mL) → 10% EtOAc (1500 mL) → 12.5% EtOAc (1500 mL) → 15% EtOAc (1500 mL) → 17.5% EtOAc (1500 mL) → 20% EtOAc (1500 mL) → 22.5% EtOAc (1500 mL) → 25% EtOAc (1500 mL) → 30% EtOAc (1500 mL) → 50% EtOAc (1000 mL) → 100% EtOAc (1000 mL) (EtOAc / *n*-hexane) → 50% MeOH (1000 mL) (MeOH / EtOAc) で順次溶出した。SIL4 の 5% EtOAc 溶出部② (1.3 g) は bakuchiol (**1**) であった。また, SIL4 の 10% EtOAc 溶出部② (270.1 mg) および 15% EtOAc 溶出部① (216.4 mg) をそれぞれ結晶化させ (*n*-hexane / EtOAc), psoralen (**23**, 16.5 mg) および isopsoralen (**24**, 7.1 mg) をそれぞれ得た。SIL4 の 15% EtOAc 溶出部③ (430.0 mg) について, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 37 cm, S1, 100% MeOH) を行い, その fr. 4 (67.0 mg) を分取 TLC (条件 PT1) により精製し, $\Delta^1,3$ -hydroxybakuchiol (**3**, 15.9 mg) を単離した。S1 の fr. 6 (137.5 mg) について, 再び Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, S2, 100% EtOH) を行い, その fr. 6.7 (46.3 mg) をさらに順相 HPLC による分取 (条件 PN1) で精製し, bavachinin (**5**, 36.9 mg) を単離した。SIL4 17.5% EtOAc 溶出部② (580.0 mg) について, silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 36 cm, SIL5, *n*-hexane / EtOAc) を行い, その fr. 401-440 (26.3 mg) を順相 HPLC による分取 (条件 PN1) で精製し, $\Delta^3,2$ -hydroxybakuchiol (**2**, 13.0 mg) を単離した。SIL4 の 20% EtOAc 溶出部③ (545.0 mg) をさらに Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 50 cm, SIL6, *n*-hexane / EtOAc) に付し, その 22.5% EtOAc 溶出部 (44.6 mg) を *n*-hexane – EtOAc に溶かし, 可溶部を遠心して除いて得た沈殿は corylin (**9**, 5.0 mg) であった。SIL4 の 30% EtOAc 溶出部① (435.0 mg) について, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 37 cm, S3, CHCl₃/MeOH 8:2) を行い, その fr. 6 (100.6 mg) を結晶化させ (CHCl₃/MeOH), corylifol A (**10**, 11.4 mg) を得た。SIL4 の 30% EtOAc 溶出部③ (533.0 mg) をさらに Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 35 cm, SIL7, CHCl₃ / MeOH) に付し, その 2.5% MeOH 溶出部 (419.7 mg) を *n*-hexane – EtOAc に溶かし, 遠心して上清を除き, 得た沈殿は neobavaisoflavone (**8**, 163.1 mg) であった。SIL6 の 25% EtOAc 溶出部 (280.0 mg) をさらに Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 41 cm, SIL8, *n*-hexane / EtOAc) に付し, その fr. 30-37 (125.0 mg) の一部 (24.2 mg) について, 順相 HPLC (条件 PN1) 分取を行い, isobavachalcone (**15**, 19.2 mg) を得た。SIL6 の 27.5% EtOAc 溶出部 (96.0 mg) について,

Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 22 cm, S4, 100% EtOH) を行い, その fr. 4 (42.4 mg) を順相 HPLC (条件 PN4) で分取し, bavachin (**6**, 21.7 mg) を単離した。SIL4 の 50% EtOAc 溶出部 (2.2 g) について, MCI-gel CHP20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 38 cm, MCI1, MeOH / H₂O) を行い, その fr. 100-130 (134.0 mg) を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, S5, 100% EtOH) に付し, corylifol B (**16**, 19.5 mg) を得た。S5 の fr. 9-11 (63.8 mg) を分取順相 HPLC (条件 PN2) により精製し, 8-prenyldaidzein (**11**, 22.8 mg) を得た。MCI1 の fr. 47-56 (50.0 mg) について分取 TLC (条件 PT3) を行い, 12,13-dihydro-12,13-hydroxybachiol (**4**, 27.6 mg) を単離した。MCI1 の fr. 57-72 (76.0 mg) について, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 40 cm, S6, 70% EtOH) を行い, その fr. 10 (9.1 mg) を逆相 HPLC によって分取 (条件 PR6) し, corylifol C (**18**, 5.7 mg) を得た。S6 の fr. 8 (18.9 mg) について, 順相 HPLC で分取を行い, bakuisoflavone (**13**, 9.2 mg) および bakuflavanone (**7**, 4.6 mg) を得た。

(3) MeOH エキスの分画

MeOH エキス 40.2 g をさらに蒸留水で懸濁し, EtOAc を用いて液—液分配を行い, EtOAc エキス^b 10.0 g, 水エキス 29.3 g を得た。

(a). 水エキスの分画

水エキス (29.0 g) について, MCI-gel CHP20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 55 cm, MCI2) を行い, 60% EtOH → 65% EtOH → 70% EtOH → 75% EtOH → 80% EtOH → 90% EtOH → 100% EtOH → 70% acetone で順次溶出した。MCI2 から得た 60% EtOH 溶出部 (22.3 g) を Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 5.2 × 50 cm, D1) に付し, H₂O → 20% MeOH → 40% MeOH → 60% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone で順次溶出した。D1 の 20% MeOH 溶出部 (1.55 g) について, MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 47 cm, MCI3, H₂O → 5% MeOH → 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, 0% MeOH 溶出部 (274.6 mg) をさらに ODS-A カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 38 cm, ODS1, 10% MeOH → 50% MeOH) に付したところ, その fr. 24-27 (131.8 mg) として psoralenoside (**26**) を得, また fr. 30-37 (66.1 mg) は isopsoralenoside (**27**) であった。D1 から得た 60% MeOH 溶出部 (708.8 mg) について, Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 58 cm, T1, 70% EtOH) を行った。T1 から得た fr. 41-43 (28.8 mg) を順相 HPLC (条件 PN5) によって分取し, さらに逆相分取

HPLC (条件 PR14) で精製し, daidzin (**14**, 4.6 mg) を得た。D1 の 40% MeOH 溶出部 (533.8 mg) を ODS-A カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 38 cm, ODS2, 5% MeOH → 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) に付し, その fr. 183-142 (40.0 mg) について逆相分取 HPLC を行い, psoralic acid *O*-glucopyranoside (**28**, 2.1 mg) を単離した。T1 の fr. 36-38 (249.5 mg) について, MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 31 cm, MCI4, H₂O → 2.5% MeOH → 5% MeOH → 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 30% MeOH → 35% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, その fr. 234-248 (16.7 mg) をさらに逆相分取 HPLC により精製し, neoschaftoside (**19**, 1.7 mg) および cnidioside A (**25**, 9.9 mg) を得た。MCI4 の 50% MeOH 溶出部 (28.5 mg) について, 逆相 HPLC による分取 (条件 PR11) を行い, isopsoralic acid *O*-glucopyranoside (**29**, 5.0 mg) を単離した。MCI4 の fr. 200-217 (25.0 mg) について, 逆相 HPLC による分取 (条件 PR8) を行い, schaftoside (**20**, 19.0 mg) を得た。ODS2 から得た fr. 376-402 (23.7 mg) について, さらに逆相 HPLC による分取 (条件 PR2) を行い, isoschaftoside (**21**, 10.4 mg) を得た。D1 から得た H₂O 溶出部 (19.0 mg) について, 再び水に懸濁させ, *n*-BuOH を用いて抽出し, 水層 (15.8 g) および *n*-BuOH 層 (1.2 g) を得た。この *n*-BuOH (1.1 g) について, ODS-A カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 38 cm, ODS3, H₂O → 5% MeOH → 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 100% MeOH) を行った。ODS3 の H₂O について, さらに MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 36 cm, MCI5, H₂O → 1% MeOH → 2% MeOH → 3% MeOH → 4% MeOH → 5% MeOH → 7% MeOH → 9% MeOH → 12% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 35% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行ったところ, fr. 156-167 (1.0 mg) は *p*-hydroxybenzoic acid (**31**) であった。MCI5 の fr. 3-4 (260.5 mg) について, Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 39 cm, T2, 70% EtOH) を行い, その fr. 6 (20.1 mg) をさらに逆相分取 HPLC (条件 PR1) で精製し, uracil (**33**, 8.3 mg) を単離した。MCI5 の fr. 6-8 (21.9 mg) について, さらに逆相 HPLC による分取 (条件 PR1) を行い, uridine (**32**, 8.1 mg) を得た。

(b) EtOAc エキス^b の分画

EtOAc エキス^b (10.0 g) について, Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 4.6 × 56 cm, SIL9) を行い, 100% *n*-Hexane → 5% EtOAc → 10% EtOAc → 15% EtOAc → 20% EtOAc → 25% EtOAc → 30% EtOAc → 40% EtOAc → 50% EtOAc → 100% EtOAc → 100% MeOH で順次溶出した。SIL9 から得た 25% EtOAc 溶出部 (411.6 mg) について, 再び Silica gel カラム

クロマトグラフィー (I.D. 2.0 × 40 cm, SIL10) を行い, 100% CHCl₃ → CHCl₃ / MeOH (100 : 1) → CHCl₃ / MeOH (100 : 2) → CHCl₃ / MeOH (100 : 3) → CHCl₃ / MeOH (100 : 4) → CHCl₃ / MeOH (100 : 5) → CHCl₃ / MeOH (100 : 6) → 100% MeOH で順次溶出した。SIL10 から得た CHCl₃ / MeOH (100 : 5) 溶出部 (21.9 mg) は psoralidin (**22**) であった。SIL9 から得た 40% EtOAc 溶出部 (290.0 mg) について, MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 40 cm, MCI6, 50% MeOH → 60% MeOH → 70% MeOH → 80% MeOH → 90% MeOH 100% MeOH) を行い, fr. 119-124 (5.7 mg) および fr. 125-131 (2.7 mg) について, 逆相 HPLC による分取 (条件 PR13) を行い, daidzein (**12**, 4.8 mg) を得た。MCI6 から得た fr. 18-20 (3.9 mg) をさらに逆相分取 HPLC (条件 PR12) で精製し, protocatechualdehyde (**30**, 2.5 mg) を単離した。SIL10 の 100% CHCl₃ 溶出部 (59.9 mg) について, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 40 cm, S7, 100% MeOH) を行い, fr. 8-9 (12.8 mg) をさらに順相分取 HPLC (条件 PN2) で精製し, bavachalcone (**17**, 1.4 mg) を得た。

2. 抗 MRSA 活性

(1) 菌株と培養条件

抗菌活性の評価には, メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は岡山大学病院臨床分離株の MRSA OM481 株, MRSA OM584 株を用いた。これらのうち, OM481 株は β -ラクタマーゼ非産生株であり, β -ラクタム剤低親和性の細胞壁合成酵素であるペニシリン結合タンパク (penicillin binding protein: PBP) PBP-2a を構成型として産生する。一方, OM584 株は β -ラクタマーゼ産生株で, PBP-2a は β -ラクタム剤の誘導によって産生する株である。また, これら MRSA の 2 株のコアグラーーゼタイプはいずれも II 型に属する。

菌株の培地として, Mueller-Hinton broth (DIFCO, Lot No.0325004) を使用した。培養は 37 °C で好気的に行った。

(2) 薬剤感受性試験

日本化学療法学会標準法の微量液体希釈法に従い, 最小発育阻止濃度 (MIC, minimum inhibitory concentration) を測定した⁽⁶⁴⁾。

(a) 感受性測定用培地

感受性測定用培地は, DIFCO の Mueller-Hinton Broth 培地 (蒸留水 100 mL に 2.1 g 溶かす) を用い, さらに CaCl₂, MgCl₂ をそれぞれ 50 μg/L と 25 μg/L 添加し, 灰菌して使用した (Cation Supplemented Mueller-Hinton Broth, CSMHB)。

(b) 菌のプレカルチャー

MRSA OM481 株およびOM584 株のグリセロールストックをエーゼでひとかき取り, 2 mL (試験管) の CSMHB 培地に入れ, 37°C で一晩振盪培養 (140 r.p.m.) した。

(c) プレートの準備

U 字型ウェルの 96 穴マイクロプレート (FALCON) を左端の列のウェルに 180 μ L, 他は 1 ウェルあたり CSMHB 培地 100 μ L を分注した。

(d) 試料, 抗菌薬の溶解および希釈法

サンプルは 50% DMSO あるいは 100% DMSO で溶かし, 20 μ L を 96 穴マイクロプレートの左端の列に各々入れ, 八連ピッペットマンで 2 倍希釈系列を作り, 右端はブランクコントロールとし, サンプルを入れなかつた。

(e) 接種用菌液の調製および接種

CSMHB 培地で一晩培養した MRSA OM481 株および MRSA OM584 株 50 μ L - 100 μ L を 5 mL の CSMHB 培地 (試験管) に加え, 濁度 (O.D.₆₆₀) は 0.6 - 0.7 になるまで振盪培養した (140 r. p.m.)。その菌体を 0.85% の滅菌生理食塩水で 1000 倍希釈して接種用菌液とする。96 穴マイクロプレートの各ウェルにこの希釈菌液を 5 μ L ずつ接種した。

(f) 培養温度および時間

培養温度は 37 °C, 培養時間は 24 時間とした (静置培養)。

(g) 判定

判定は菌の発育が肉眼的に認められない最も低い薬剤濃度を MIC とした。

3. EtOAc エキスに含まれる主要な成分の定量分析

(1) HPLC 条件

ポンプは HITACHI L-2130, 検出器は HITACHI L-2455, オーブンは Sugai U-620 を使用した。

逆相系のカラム YMC-PACK Pro-C18 (6.0 mm i.d. × 150, 40°C) を用い, 移動相はグラジエントモードを利用し, A 溶媒として water-acetonitrile-formic acid (60:40:1, v/v/v), B 溶媒として water-acetonitrile-formic acid (20:80:1, v/v/v) を用いた。グラジエントプログラムは : 0–25% B 0–15 min, 25%–50% B 15–35 min, 50%–75% B 35–45 min, 75%–100% B 45–60 min で実験を行った。ポンプの流速は 1.0 mL/min に設定し, 検出器は 280 nm で各化合物を検出した。

(2) 標品

補骨脂から単離した bakuchiol (**1**) (98%以上), bavachinin (**5**) (98%以上), bavachin (**6**) (97%以上), neobavaisoflavone (**8**) (99%以上), corylifol A (**10**) (99%以上), isobavachalcone (**15**) (98%以上), corylifol B (**16**) (98%以上), psoralen (**23**) (99%以上), isopsoralen (**24**) (99%以上) 計 9 種の化合物を定量用の標品とした。(各化合物の純度は HPLC 280 nm におけるピーク面積に基づいて求めた)

(3) 定量分析

絶対検量線法を用いて各化合物の定量を行った。EtOAc エキスを MeOH で 1 mg/mL の濃度に調整し, 2 μl ずつ 3 回 HPLC 分析を行った。各化合物は MeOH で濃度 0.01 - 1 mg/mL 調整され, 各濃度のサンプル 2 μl 3 回ずつ HPLC に注入した。得られた HPLC クロマトグラフィーの各ピークの面積 (y) と化合物溶液の濃度 (x) の間に良い直線性が得られ, 以下のようない回帰直線式が得られた。

Bakuchiol (**1**): $y = 0.91 \times 10^6 x + 0.64 \times 10^4$ (0.1 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9992$)

Bavachinin (**5**): $y = 1.00 \times 10^6 x + 1.11 \times 10^4$ (0.01 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9980$)

Bavachin (**6**): $y = 2.00 \times 10^6 x + 0.95 \times 10^4$ (0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9996$)

Neobavaisoflavone (**8**): $y = 2.00 \times 10^6 x - 0.85 \times 10^4$ (0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9992$)

Corylifol A (**10**): $y = 1.00 \times 10^6 x + 0.08 \times 10^4$ (0.01 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9999$)

Isobavachalcone (**15**): $y = 2.20 \times 10^6 x + 0.14 \times 10^4$ (0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9996$)

Corylifol B (**16**): $y = 0.49 \times 10^6 x + 0.09 \times 10^4$ (0.01 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9999$)

Psoralen (**23**): $y = 2.00 \times 10^6 x + 1.23 \times 10^4$ (0.1 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9985$)

Isopsoralen (**24**): $y = 1.00 \times 10^6 x + 0.30 \times 10^4$ (0.01 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1 mg/mL; $r^2 = 0.9999$)

Bakuchiol (1) 赤色油状物質

ESIMS: m/z 255 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): + 28.0°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 203 (4.40), 261 (4.27) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.25 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-11, 13), 6.77 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-10, 14), 6.27 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-8), 6.07 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-7), 5.90 (1H, dd, *J* = 10.8, 17.4 Hz, H-16), 5.12 (1H, m, H-3), 5.05 (1H, dd, *J* = 1.2, 10.8 Hz, H-17a), 5.00 (1H, dd, *J* = 1.2, 17.4 Hz, H-17b), 1.97 (2H, m, H-4), 1.68 (3H, brs, H-18), 1.59 (3H, brs, H-1), 1.50 (2H, m, H-5), 1.21(3H, s, H-15).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 17.6 (C-1), 131.0 (C-2), 124.8 (C-3), 23.4 (C-4), 41.3 (C-5), 42.5 (C-6), 135.9 (C-7), 126.5 (C-8), 131.3 (C-9), 115.4 (C-10, 14), 127.4 (C-11, 13), 154.6 (C-12), 23.2 (C-15), 146.0 (C-16), 111.9 (C-17), 25.7(C-18).

Δ³, 2-Hydroxybakuchiol (2) 白色粉末

ESIMS: m/z 271 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): + 6.3°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 262 (3.91) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.24 (2H, d, *J* = 9.6 Hz, H-11, 13), 6.76 (2H, d, *J* = 9.6 Hz, H-10, 14), 6.25 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-8), 6.05 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-7), 5.88 (1H, dd, *J* = 10.8, 17.4 Hz, H-16), 5.65 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-3), 5.61 (1H, ddd, *J* = 6.6, 16.2, 16.2 Hz, H-4), 5.05 (1H, dd, *J* = 1.2, 10.8 Hz, H-17a), 5.00 (1H, dd, *J* = 1.2, 17.4 Hz, H-17b), 2.22 (2H, d, *J* = 6.6 Hz, H-5), 1.30 (6H, s, H-1, 18), 1.16 (3H, s, H-15).

Δ¹, 3-Hydroxybakuchiol (3) 黄色油状物質

ESIMS: m/z 271 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): + 16.7°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 262 (4.14) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.25 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-11, 13), 6.77 (2H, d, *J* = 9.0 Hz,

H-10, 14), 6.27 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-8), 6.08 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-7), 5.89 (1H, dd, J = 10.2, 17.4 Hz, H-16), 5.01 (2H, m, H-17), 4.88 (1H, s, H-1a), 4.73 (1H, s, H-1b), 3.98 (1H, dd, J = 6.0, 10.8 Hz, H-3), 1.67 (3H, s, H-18), 1.61 (1H, m, H-5a), 1.52 (2H, m, H-4), 1.43 (1H, m, H-5b), 1.17 (3H, s, H-15).

12,13-Diolbakuchiol (4) 無色油状物質

ESIMS: m/z 289 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): + 25.9°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 262 (4.19) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.25 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-11, 13), 6.77 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-10, 14), 6.28 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-8), 6.10 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-7), 5.90 (1H, dd, J = 10.8, 17.4 Hz, H-16), 5.00 (2H, m, H-17), 3.23 (2H, d, J = 10.4 Hz, H-3), 1.90 (1H, m, H-4a), 1.58 (1H, m, H-5a), 1.45 (1H, m, H-5b), 1.28 (1H, m, H-4b), 1.18 (3H, brs, H-15), 1.10 (6H, s, H-1, 18).

Bavachinin (5) 白色粉末

ESIMS: m/z 337 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): - 20.6°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 219 (4.39), 234 (4.44), 274 (4.17), 321 (3.81) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.56 (1H, s, H-5), 7.39 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.52 (1H, s, H-8), 5.44 (1H, dd, J = 3.0, 13.2 Hz, H-2), 5.27 (1H, m, H-2''), 3.90 (3H, s, OCH₃), 3.23 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-1''), 3.03 (1H, dd, J = 13.2, 16.8 Hz, H-3a), 2.66 (1H, dd, J = 3.0, 16.8 Hz, H-3b), 1.72 (3H, s, H-5''), 1.69 (3H, s, H-4'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 80.2 (C-2), 44.1 (C-3), 190.2 (C-4), 126.8 (C-5), 124.4 (C-6), 164.1 (C-7), 99.3 (C-8), 158.1 (C-9), 114.4 (C-10), 130.8 (C-1'), 128.4 (C-2', 6'), 115.6 (C-3'), 5'), 162.7 (C-4'), 27.8 (C-1''), 122.5 (C-2''), 132.6 (C-3''), 25.4 (C-4''), 17.2 (C-5''), 55.8 (OCH₃).

Bavachin (6) 黃色粉末

ESIMS: m/z 323 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): - 28.9°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 219 (4.35), 235 (4.30), 277 (4.08), 322(3.80) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.57 (1H, s, H-5), 7.38 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, s, H-8), 5.40 (1H, dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, H-2), 5.32 (1H, m, H-2''), 3.27 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 3.01 (1H, dd, *J* = 13.2, 16.8 Hz, H-3a), 2.64 (1H, dd, *J* = 3.0, 16.8 Hz, H-3b), 1.72 (3H, s, H-5''), 1.70 (3H, s, H-4'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 80.5 (C-2), 44.7 (C-3), 190.6 (C-4), 128.2 (C-5), 132.9 (C-6), 162.8 (C-7), 103.2 (C-8), 162.7 (C-9), 114.9 (C-10), 131.4 (C-1'), 128.2 (C-2'), 116.0 (C-3'), 158.5 (C-4'), 116.1 (C-5'), 128.9 (C-6'), 28.2 (C-1''), 123.8 (C-2''), 123.2 (C-3''), 25.9 (C-4''), 17.8 (C-5'').

Bakuflavanone (7) 淡黃色粉末

$[\alpha]_D$ - 20.2° (*c* 1.0, MeOH)

HRFABMS m/z 341.1383 [M+H]⁺ (calcd for C₂₀H₂₁O₅, 341.1389)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 215 (4.28), 235 (4.20), 274 (4.03), 310 (3.68) nm

CD (MeOH) [θ] (nm) + 3.31 × 10⁴ (216), + 0.23 × 10⁴ (228), + 2.01 × 10⁴ (239), - 2.36 × 10⁴ (306), + 1.50 × 10⁴ (335) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.60 (1H, s, H-5), 7.39 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, s, H-8), 5.41 (1H, dd, *J* = 3.0, 13.2 Hz, H-2), 4.38 (1H, m, H-2''), 4.95 (1H, s, H-4'a), 4.77 (1H, s, H-4'b), 3.27 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 3.01 (1H, m, H-3a), 2.64 (1H, m, H-3b), 1.79 (3H, s, H-5''),

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 80.4 (C-2), 44.7 (C-3), 190.6 (C-4), 131.4 (C-5), 121.6 (C-6), 164.0 (C-7), 104.3 (C-8), 163.2 (C-9), 114.9 (C-10), 131.4 (C-1'), 128.9 (C-2'), 116.1 (C-3'), 158.5 (C-4'), 116.1 (C-5'), 128.9 (C-6'), 38.0 (C-1''), 76.4 (C-2''), 148.2 (C-3''), 110.7 (C-4''), 18.3 (C-5'').

Neobavaisoflavone (8) 白色粉末

ESIMS: m/z 321 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 249 (4.34) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 8.09 (1H, s, H-2), 8.05 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.35 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.27 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, H-6'), 6.98 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, H-6), , 6.88 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.86 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 5.37 (1H, m, H-2''), 3.35 (2H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1''), 1.72 (3H, s, H-4''), 1.70 (3H, s, H-5'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 153.2 (C-2), 125.5 (C-3), 175.8 (C-4), 128.4 (C-5), 115.6 (C-6), 163.2 (C-7), 103.2 (C-8), 158.8 (C-9), 118.6 (C-10), 125.5 (C-1'), 131.2 (C-2'), 124.4 (C-3'), 155.7 (C-4'), 115.5 (C-5'), 128.4 (C-6'), 29.5 (C-1''), 123.7 (C-2''), 132.3 (C-3''), 17.9 (C-4''), 25.9 (C-5'').

Corylin (9) 淡黃色粉末

ESIMS: m/z 319 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 248 (4.59), 305 (4.04) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 8.17 (1H, s, H-2), 8.05 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5), 7.36 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, H-6'), 7.31 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 6.99 (1H, dd, *J* = 2.4, 9.0 Hz, H-6), 6.89 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.76 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-10'), 5.75 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-9'), 1.42 (6H, s, H-11', 12').

Corylifol A (10) 白色粉末

ESIMS: m/z 389 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 249 (4.30) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 8.09 (1H, s, H-2), 8.05 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.36 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.27 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.98 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6), , 6.88 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.86 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 5.40 (1H, t-like, *J* = 7.2 Hz, H-2''), 5.10 (1H, t-like, *J* = 7.2 Hz, H-6''), 3.37 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 2.10 (2H, dd, *J* = 7.2, 14.4 Hz, H-5''), 2.04 (2H, m, H-4''), 1.73 (3H, s, H-10''), 1.59 (3H, s, H-9''), 1.55 (3H, s, H-8'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 153.1 (C-2), 125.5 (C-3), 175.7 (C-4), 128.4 (C-5), 115.6 (C-6), 163.1 (C-7), 103.2 (C-8), 158.7 (C-9), 118.6 (C-10), 124.5 (C-1'), 131.1 (C-2'), 128.4 (C-3'), 155.7 (C-4'), 115.5 (C-5'), 128.4 (C-6'), 28.9 (C-1''), 123.6 (C-2''), 136.3 (C-3''), 40.5 (C-4''), 27.3 (C-5''), 125.1 (C-6''), 131.7 (C-7''), 17.7 (C-8''), 25.8 (C-9''), 16.2 (C-10'').

8-Prenyldaidzein (11) 淡褐色粉末

ESIMS: *m/z* 321 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 252 (4.47), 306 (3.93) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 8.23 (1H, s, H-2), 7.91 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5), 7.48 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 7.03 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-6), 6.88 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 5.28 (1H, brt, *J* = 7.2 Hz, H-2''), 3.57 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 1.82 (3H, s, H-4''), 1.65 (3H, s, H-5'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 153.3 (C-2), 124.7 (C-3), 176.1 (C-4), 125.2 (C-5), 114.9 (C-6), 160.1 (C-7), 116.3 (C-8), 156.6 (C-9), 118.7 (C-10), 124.4 (C-1'), 131.0 (C-2', 6'), 115.8 (C-3', 5'), 158.1 (C-4'), 22.6 (C-1''), 122.5 (C-2''), 132.5 (C-3''), 17.9 (C-4''), 25.8 (C-5'').

Daidzein (12) 白色粉末

ESIMS: *m/z* 255 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 249 (4.21) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 8.12 (1H, s, H-2), 8.02 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5), 7.39 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.96 (1H, dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, H-6), 6.86 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.85 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5').

Bakuisoflavone (13) 淡黄色粉末

[α]_D 0° (*c* 1.0, MeOH)

HRFABMS: *m/z* 339.1219 [M+H]⁺ (calcd for C₂₀H₁₉O₅, 339.1232)

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 248 (4.36), 310 (3.93) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 8.13 (1H, s, H-2), 8.05 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.38 (1H,

d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.35 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, H-6), , 6.87 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 4.98 (1H,s, H-4''a), 4.77 (1H, s, H-4''b), 4.41 (1H, m, H-2''), 2.90 (2H, m, H-1''), 1.81 (3H, s, H-5'').

^{13}C -NMR (151 MHz, Acetone- d_6 , r.t.) δ : 153.1 (C-2), 125.2 (C-3), 175.7 (C-4), 128.5 (C-5), 115.6 (C-6), 163.1 (C-7), 103.1 (C-8), 158.7 (C-9), 118.6 (C-10), 124.1 (C-1'), 132.9 (C-2'), 126.6 (C-3'), 156.8 (C-4'), 116.7 (C-5'), 129.3 (C-6'), 38.9 (C-1''), 77.1 (C-2''), 148.5 (C-3''), 110.6 (C-4''), 18.3 (C-5'').

Daidzin (14) 白色粉末

ESIMS: m/z 337 [M+H]⁺.

$[\alpha]_D$ (c 1.0, MeOH): -86.6°

UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$) 259 (4.35) nm

^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6 +D₂O, r.t.) δ : 8.19 (1H, s, H-2), 8.08 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5), 7.38 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 7.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 7.18 (1H, dd, $J = 2.0, 9.0$ Hz, H-6), 6.84 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 5.15 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Glc-1), 3.88 (1H, dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz, Glc-6a), 3.68 (1H, dd, $J = 6.0, 12.0$ Hz, Glc-6b), 3.63 (1H, ddd, $J = 2.0, 6.0, 9.0$ Hz, Glc-5), 3.58 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, Glc-3), 3.52 (1H, dd, $J = 7.8, 9.0$ Hz, Glc-2), 3.43 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, Glc-4).

^{13}C -NMR (151 MHz, Acetone- d_6 +D₂O, r.t.) δ : 153.9 (C-2), 125.1 (C-3), 176.4 (C-4), 127.9 (C-5), 116.4 (C-6), 162.4 (C-7), 104.4 (C-8), 157.9 (C-9), 119.6 (C-10), 123.4 (C-1'), 130.8 (C-2', 6'), 115.7 (C-3', 5'), 158.1 (C-4'), 101.0 (Glc-1), 73.9 (Glc-2), 76.8 (Glc-3), 70.4 (Glc-4), 77.5 (Glc-5), 61.7 (Glc-6).

Isobavachalcone (15) 黄色粉末

ESIMS: m/z 323 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$) 367 (4.44) nm

^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6 , r.t.) δ : 7.95 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6), 7.82 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-β), 7.73 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-α), 7.72 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.52 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 5.27 (1H, t-like, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 3.37 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''),

1.77 (3H, s, H-4"), 1.63 (3H, s, H-5").

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 114.4 (C-1), 165.2 (C-2), 116.2 (C-3), 162.7 (C-4), 108.0 (C-5), 130.2 (C-6), 118.5 (C-α), 144.9 (C-β), 127.7 (C-1'), 131.7 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 160.9 (C-4'), 25.9 (C-1"), 131.5 (C-2"), 123.3 (C-3"), 22.3 (C-4"), 17.9 (C-5"), 193.0 (C = O).

Corylifol B (16) 橙色粉末

ESIMS: *m/z* 339 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 261 (3.90), 380 (4.37) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.97 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-6), 7.76 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, H-β), 7.68 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, H-α), 7.34 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.21 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.52 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-5), 5.27 (1H, t-like, *J* = 7.2 Hz, H-2"), 3.36 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1"), 1.77 (3H, s, H-4"), 1.63 (3H, s, H-5").

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 114.4 (C-1), 162.6 (C-2), 116.1 (C-3), 165.1 (C-4), 108.0 (C-5), 130.2 (C-6), 118.5 (C-α), 145.3 (C-β), 128.3 (C-1'), 116.0 (C-2'), 146.4 (C-3'), 149.1 (C-4'), 116.1 (C-5'), 123.4 (C-6'), 22.3 (C-1"), 123.3 (C-2"), 131.5 (C-3"), 17.9 (C-4"), 25.8 (C-5"), 193.0 (C = O).

Bavachalcone (17) 橙色粉末

ESIMS: *m/z* 323 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 374 (4.35) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.94 (1H, s, *J* = 9.0 Hz, H-6), 7.81 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-β), 7.73 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-α), 7.69 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, s, H-3), 5.27 (1H, t-like, *J* = 7.2 Hz, H-2"), 3.29 (2H, d, *J* = 6.6 Hz, H-1"), 1.73 (3H, s, H-4"), 1.71 (3H, s, H-5").

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 114.3 (C-1), 165.9 (C-2), 103.5 (C-3), 163.4 (C-4), 121.3 (C-5), 132.3 (C-6), 118.4 (C-α), 144.8 (C-β), 127.6 (C-1'), 131.7 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 160.9 (C-4'), 28.8 (C-1"), 132.2 (C-2"), 123.9 (C-3"), 25.8 (C-4"), 17.9 (C-5"), 192.7 (C = O).

Corylifol C (18) 褐色粉末

ESIMS: m/z 337 [M-H]⁻.

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 258 (3.97), 270 (3.96), 400 (4.44) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.59 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.43 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2), 7.40 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.94 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.80 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 6.61 (1H, s, H-3), 5.39 (1H, t-like, *J* = 7.2 Hz, H-2''), 3.55 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 1.86 (3H, s, H-4''), 1.67 (3H, s, H-5'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 147.4 (C-2), 123.1 (C-3), 182.9 (C-4), 118.8 (C-5), 123.4 (C-6), 163.8 (C-7), 112.9 (C-8), 166.7 (C-9), 114.9 (C-10), 125.5 (C-1'), 116.5 (C-2'), 146.3 (C-3'), 148.2 (C-4'), 111.9 (C-5'), 125.5 (C-6'), 22.6 (C-1''), 122.2 (C-2''), 132.8 (C-3''), 18.1 (C-4''), 25.8 (C-5'').

Neoschaftoside (19) 淡黃色粉末

ESIMS: m/z 565 [M+H]⁺.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -63.1°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 215 (4.48), 274 (4.16), 335 (4.20) nm

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.96 (2H, brd, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.67 (1H, s, H-3), 5.69 (1H, brs, Ara-1), 4.15 (1H, ddd, *J* = 3.0, 6.0, 10.8 Hz, Ara-4), 4.07 (1H, t, *J* = 3.0 Hz, Ara-3), 3.96 (1H, brd, *J* = 3.0 Hz, Ara-2), 3.92 (1H, dd, *J* = 6.0, 10.8 Hz, Ara-5a), 3.81 (1H, t, *J* = 10.8 Hz, Ara-5b), 4.87 (1H, overlapped, Glc-1), 4.35 (1H, brt, *J* = 9.6 Hz, Glc-2), 3.85 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.0 Hz, Glc-6a), 3.68 (1H, dd, *J* = 5.4, 12.0 Hz, Glc-6b), 3.44 (1H, m, Glc-3), 3.41 (1H, m, Glc-5), 3.37 (1H, m, Glc-4).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 37°C) δ: 7.99 (2H, brd, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.81 (1H, s, H-3), 5.53 (1H, brs, Ara-1), 4.00 (1H, m, Ara-4), 3.89 (1H, m, Ara-3), 3.79 (1H, m, Ara-2), 3.77 (1H, dd, *J* = 6.6, 10.8 Hz, Ara-5a), 3.63 (1H, t, *J* = 10.8 Hz, Ara-5b), 4.59 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, Glc-1), 4.09 (1H, brt, *J* = 9.6 Hz, Glc-2), 3.69 (1H, m, Glc-6a), 3.38 (1H, m, Glc-6b), 3.19 (1H, m, Glc-3), 3.15 (1H, m, Glc-5), 3.10 (1H, m, Glc-4).

Schaftoside (20) 黃色粉末

ESIMS: m/z 565 [M+H]⁺.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): +64.3°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 216 (4.47), 273 (4.18), 333 (4.22) nm

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 60°C) δ: 8.07 (2H, brs, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3',5'), 6.74 (1H, s, H-3), 4.79 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, Ara-1), 4.08 (1H, m, Ara-2), 3.91 (1H, m, Ara-5a), 3.83 (1H, m, Ara-4), 3.70 (1H, m, Ara-5b), 3.51 (1H, m, Ara-3), 4.73 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, Glc-1), 3.87 (1H, m, Glc-2), 3.70 (1H, m, Glc-6a), 3.53 (1H, m, Glc-6b), 3.27 (3H, m, Glc-3, 4, 5).

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆, 60°C) δ: 164.0 (C-2), 102.4 (C-3), 182.2 (C-4), 161.1 (C-5), 108.4 (C-6), 159.5 (C-7), 104.3 (C-8), 154.4 (C-9), 103.5 (C-10), 121.3 (C-1'), 129.0 (C-2', 6'), 116.0 (C-3', 5'), 161.5 (C-4'), 74.5 (Ara-1), 68.8 (Ara-2), 75.0 (Ara-3), 69.1 (Ara-4), 70.7 (Ara-5), 73.5 (Glc-1), 70.7 (Glc-2), 78.7 (Glc-3), 70.2 (Glc-4), 81.3 (Glc-5), 60.9 (Glc-6).

Isoschaftoside (21) 黃色粉末

ESIMS: m/z 565 [M+H]⁺.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): +46.9°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 216 (4.47), 273 (4.18), 333 (4.22) nm

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 60°C) δ: 8.01 (2H, brd, *J* = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3',5'), 6.77 (1H, brs, H-3), 4.76 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, Glc-1), 3.89 (1H, m, Glc-2), 3.74 (1H, m, Glc-6a), 3.51 (1H, m, Glc-6b), 3.40 (1H, m, Glc-4), 3.30 (1H, m, Glc-3), 3.28 (1H, m, Glc-5), 4.70 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, Ara-1), 4.00 (1H, m, Ara-2), 3.83 (1H, m, Ara-5a), 3.81 (1H, m, Ara-4), 3.63 (1H, m, Ara-5b), 3.46 (1H, m, Ara-3).

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆, 60°C) δ: 164.1 (C-2), 102.7 (C-3), 182.3 (C-4), 161.3 (C-5), 108.1 (C-6), 163.5 (C-7), 105.2 (C-8), 155.2 (C-9), 103.7 (C-10), 121.6 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 74.3 (Ara-1), 69.7 (Ara-2), 73.9 (Ara-3), 68.5 (Ara-4), 70.2 (Ara-5), 73.4 (Glc-1), 71.0 (Glc-2), 79.0 (Glc-3), 70.7 (Glc-4), 82.0 (Glc-5), 61.4 (Glc-6).

Psoralidin (22) 白色粉末

ESIMS: m/z 337 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 243 (4.13), 346 (4.17) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.77 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-4'), 7.69 (1H, s, H-5), 7.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7'), 7.02 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-5'), 6.95 (1H, s, H-8), 5.43 (1H, m, H-2''), 3.44 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 1.78 (3H, brs, H-4''), 1.76 (3H, brs, H-5'').

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 158.5 (C-2), 105.7 (C-3), 160.7 (C-4), 122.2 (C-5), 127.5 (C-6), 159.5 (C-7), 103.5 (C-8), 154.3 (C-9), 116.7 (C-10), 157.9 (C-2'), 103.5 (C-3'), 121.8 (C-4'), 114.7 (C-5'), 157.3 (C-6'), 99.5 (C-7'), 28.5 (C-1''), 122.6 (C-2''), 133.8 (C-3''), 25.9 (C-4''), 17.9 (C-5'').

Psoralen (23) 白色粉末

ESIMS: m/z 187 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 201 (4.30), 246 (4.55), 290 (3.97), 328 (3.75) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.77 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.67 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.66 (1H, s, H-5), 7.44 (1H, brs, H-8), 6.81 (1H, dd, *J* = 2.0, 1.0 Hz, H-3'), 6.35 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 161.0 (C-2), 114.6 (C-3), 144.0 (C-4), 119.8 (C-5), 124.9 (C-6), 156.4 (C-7), 99.8 (C-8), 152.0 (C-9), 115.4 (C-10), 146.9 (C-2'), 106.3 (C-3').

Isopsoralen (24) 白色粉末

ESIMS: m/z 187 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 202 (4.32), 247 (4.29), 298 (3.87) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.77 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.66 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.38 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 7.33 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.08 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.35 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 160.7 (C-2), 114.0 (C-3), 144.4 (C-4), 123.7 (C-5), 108.7 (C-6), 157.2 (C-7), 116.8 (C-8), 148.3 (C-9), 113.4 (C-10), 145.8 (C-2'), 103.9 (C-3').

Cnidioside A (25) 白色粉末

ESIMS: m/z 367[M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -66.2°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 244 (3.88), 252 (3.86), 284 (3.52) nm

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.61 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-1'), 7.37 (1H, s, H-8), 7.35 (1H, s, H-5), 6.70 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 3.04 (2H, m, H-4), 2.64 (2H, m, H-3), 4.94 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Glc-1), 3.92 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.0 Hz, Glc-6a), 3.71 (1H, dd, *J* = 6.0, 12.0 Hz, Glc-6b), 3.52 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, Glc-2), 3.48 (2H, m, Glc-4, 5), 3.41 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, Glc-3).

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 178.4 (C-2), 36.6 (C-3), 28.2 (C-4), 100.6 (C-5), 124.0 (C-6), 156.6 (C-7), 123.0 (C-8), 155.8 (C-9), 128.2 (C-10), 146.8 (C-2'), 108.0 (C-3'), 103.9 (Glc-1), 75.8 (Glc-2), 79.0 (Glc-3), 72.2 (Glc-4), 79.0 (Glc-5), 63.3 (Glc-6).

Psoralenoside (26) 淡綠色粉末

ESIMS: m/z 365 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -69.3°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 236 (4.40), 302 (3.56) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 7.74 (1H, s, H-5), 7.63 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.26 (1H, s, H-8), 6.79 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-3'), 6.77 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, H-4), 6.04 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, H-3), 4.98 (1H, m, Glc-1), 3.80 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.0 Hz, Glc-6a), 3.68 (1H, dd, *J* = 4.2, 12.0 Hz, Glc-6b), 3.55 (2H, m, Glc-2, 3), 3.47 (2H, m, Glc-4, 5).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 174.9 (C-2), 128.0 (C-3), 128.8 (C-4), 122.4 (C-5), 122.4 (C-6), 155.4 (C-7), 99.2 (C-8), 153.4 (C-9), 123.7 (C-10), 145.7 (C-2'), 107.4 (C-3'), 102.0 (Glc-1), 73.8 (Glc-2), 76.7 (Glc-3), 70.2 (Glc-4), 77.1 (Glc-5), 61.5 (Glc-6).

Isopsoralenoside (27) 黃色粉末

ESIMS: m/z 365 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -8.9°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 237 (4.40) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 7.65 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.52 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.18 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 7.12 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.93 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, H-4), 6.03 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, H-3), 4.93 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, Glc-1), 3.75 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.6 Hz, Glc-6a), 3.66 (1H, dd, *J* = 5.4, 12.6 Hz, Glc-6b), 3.57 (1H, dd, *J* = 7.2, 9.0 Hz, Glc-2), 3.53 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, Glc-3), 3.46 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, Glc-4), 3.32 (1H, ddd, *J* = 2.0, 5.4, 9.0 Hz, Glc-5).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 174.8 (C-2), 127.3 (C-3), 129.3 (C-4), 126.8 (C-5), 107.6 (C-6), 156.6 (C-7), 120.4 (C-8), 148.6 (C-9), 123.9 (C-10), 145.4 (C-2'), 106.1 (C-3'), 104.5 (Glc-1), 74.4 (Glc-2), 76.8 (Glc-3), 70.3 (Glc-4), 77.2 (Glc-5), 61.6 (Glc-6).

Psoralic acid *O*-glucopyranoside (28) 白色粉末

ESIMS: *m/z* 365 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -87.2°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 244 (4.41), 284 (3.99), 325 (3.69) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 8.14 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-4), 7.94 (1H, s, H-5), 7.75 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.40 (1H, s, H-8), 6.84 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.54 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-3), 5.03 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Glc-1), 3.88 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.0 Hz, Glc-6a), 3.68 (1H, dd, *J* = 6.0, 12.0 Hz, Glc-6b), 3.60 (3H, m, Glc-2, 4, 5), 3.45 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, Glc-3).

Isopsoralic acid *O*-glucopyranoside (29) 淡黃色粉末

ESIMS: *m/z* 365 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -15.0°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 245 (4.44), 285 (4.15) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 8.37 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-4), 7.78 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.68 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.32 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 7.28 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.46 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-3), 4.99 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Glc-1), 3.81 (1H, dd, *J* = 2.0, 12.0 Hz, Glc-6a), 3.69 (1H, dd, *J* = 4.8, 12.0 Hz, Glc-6b), 3.64 (1H, overlapped, Glc-2), 3.52 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, Glc-3), 3.49 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, Glc-4), 3.39 (1H, ddd, *J* = 2.0, 4.8, 9.0 Hz, Glc-5).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 169.8 (C-2), 118.2 (C-3), 141.1 (C-4), 123.9 (C-5),

108.5 (C-6), 158.5 (C-7), 120.7 (C-8), 151.1 (C-9), 121.6 (C-10), 146.2 (C-2'), 106.4 (C-3'), 104.9 (Glc-1), 74.7 (Glc-2), 77.4 (Glc-3), 70.5 (Glc-4), 77.6 (Glc-5), 62.1 (Glc-6).

Protocatechualdehyde (**30**) 淡褐色粉末

ESIMS: m/z 139 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (4.17), 232 (4.05), 278 (3.91), 312 (3.86) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 9.69 (1H, s, CHO), 7.32 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.29 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-6), 6.95 (1H, d, *J* = 7.8 Hz).

p-Hydroxybenzoic acid (**31**) 白色粉末

ESIMS: m/z 137 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.86 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3, 5).

Uridine (**32**) 白色粉末

ESIMS: m/z 243 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 8.00 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 5.89 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, Rib-1), 5.69 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 4.17 (1H, t, *J* = 4.8 Hz, Rib-2), 4.14 (1H, t, *J* = 4.8 Hz, Rib-3), 3.99 (1H, ddd, *J* = 2.4, 4.8, 4.8 Hz, Rib-4), 3.83 (1H, dd, *J* = 2.4, 12.0 Hz, Rib-5a), 3.72 (1H, dd, *J* = 4.8, 12.0 Hz, Rib-5b).

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 153.3 (C-2), 167.0 (C-4), 103.4 (C-5), 143.5 (C-6), 91.5 (Rib-1), 76.5 (Rib-2), 72.1 (Rib-3), 87.2 (Rib-4), 63.1 (Rib-5).

Uracil (**33**) 白色粉末

ESIMS: m/z 111 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, r.t.) δ: 11.01 (1H, s, NH-3), 10.81 (1H, s, NH-1), 7.38 (1H, d, *J* =

7.8 Hz, H-6), 5.44 (1H, d, J = 7.8Hz, H-5).

^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆, r.t.) δ : 151.7 (C-2), 164.6 (C-4), 100.4 (C-5), 142.4 (C-6).

第2章に関する実験

1. 吳茱萸の成分の単離

購入した吳茱萸（日本薬局方ゴシュユ, Lot No.: 003814001, 栃木天海堂より購入）980.0 g を粉碎し, *n*-hexane (3L × 3, 8 hr × 3) で冷浸を行い, *n*-hexane エキス 19.9 g を得た。できた残渣をさらに 70% acetone (3.5 L × 3) でホモジナイズし, 濾過および濃縮後 (1.1 L まで, 濃縮途中で水不溶物を 85.1 g を得た), EtOAc (1.1 L × 5) を用いて液一液分配を行い, EtOAc エキスを 15.82 g および 水層を得た。この水層をアンモニア水で PH を 10 ぐらい調整し, CHCl₃ (1.1 L × 5) で液一液分配を行い, CHCl₃ エキス (238.1 mg) および水エキス (159.8 mg) をそれぞれ得た。

(1) *n*-Hexane エキスの分画

n-Hexane エキス (19.9 g) について, Silica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 3.0 × 47 cm, SIL11) を行い, 100% *n*-Hexane → 2.5% EtOAc → 5% EtOAc → 7.5% EtOAc → 10% EtOAc → 15% EtOAc → 20% EtOAc → 25% EtOAc → 50% EtOAc → 100% EtOAc → 100% MeOH で順次溶出した。SIL11 の 100% MeOH 溶出部 (1.8 g) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 35 cm, ODS4, 60% MeOH → 70% MeOH → 80% MeOH → 85% MeOH → 90% MeOH → 100% MeOH → 90% acetone) を行い, fr. 51-54, fr. 65-70, fr. 74-77, fr. 91-96, fr. 160-168, fr. 198-205, fr. 228-235 はそれぞれ 1-methyl-2-[(Z)-6-undecenyl]-4(1*H*)-quinolone (**34**, 38.3 mg), 1-methyl-2-[(4*Z*,7*Z*)-4,7-tridecadienyl]-4(1*H*)-quinolone (**35**, 31.5 mg), 1-methyl-2-undecyl-4(1*H*)-quinolone (**36**, 69.2 mg), evocarpine (**37**, 162.3 mg), dihydroevocarpine (**38**, 246.0 mg), 1-methyl-2-tetradecyl-4(1*H*)-quinolone (**39**, 4.5 mg), 1-methyl-2-pentadecyl-4(1*H*)-quinolone (**40**, 33.0 mg) であった。

(2) EtOAc エキスの分画

EtOAc エキス (15.2 g) について, Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 5.0 × 40 cm, T3, 70% EtOH → 70% acetone) を行い, フラクション六つおよび 70% acetone 溶出部 a, 70% acetone 溶出部 b を得た。T3 の fr. 2 (2.2 g) について, MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 34 cm, MCI7, H₂O → 10% MeOH → 20% MeOH → 30% MeOH → 40% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得た 50% MeOH 溶出部 (370.5 mg) をさらに MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 33 cm, MCI8, H₂O → 10% MeOH →

15% MeOH → 20% MeOH → 30% MeOH → 35% MeOH → 40% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) にかけた。MCI8 の fr. 151-182 (40.0 mg) について, Sep-Pak C18 (SP1, vac-6cc, 1g, H₂O → 20% MeOH → 40% MeOH → 60% MeOH → 100% MeOH) を行い, 40% MeOH 溶出部をさらに逆相分取 HPLC (条件 PR15) で精製し, citrusin C (**71**, 9.7 mg) を得た。MCI7 から得た 60% MeOH 溶出部 (374.5 mg) について, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 39 cm, S5, 40% MeOH) を行い, 得た fr. 9-11 (45.9 mg) をさらに逆相分取 HPLC (条件 PR10) で精製し, 新規化合物 6'-O-feruloylsringin (**63**, 1.6 mg) を単離した。T3 の fr. 3 (5.9 g) について, Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 3.0 × 40 cm, D2) にかけ, H₂O → 20% MeOH → 40% MeOH → 60% MeOH → 80% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone で順次溶出した。D2 から得た 40% MeOH (1.5 g) について, MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 24 cm, MCI9, H₂O → 5% MeOH → 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 30% MeOH → 40% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) を行い, 得た 40% MeOH 溶出部 (228.1 mg) を再び MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 32 cm, MCI10, 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 30% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) にかけ, 得た fr. 140-222 (43.2 mg) をさらに Sep-Pak C18 (SP2, vac-6cc, 1g, 10% MeOH → 20% MeOH → 30% MeOH → 100% MeOH) および逆相分取 HPLC (条件 PR7) で精製し, phellolactone (**69**, 7.3 mg) を単離した。D2 から得た 60% MeOH 溶出部 (1.9 g) について, MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 27 cm, MCI11, 40% MeOH → 50% MeOH → 60% MeOH → 80% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) を行った。MCI11 から得た 40% MeOH 溶出部 (482.0 mg) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 39 cm, ODS4, 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 30% MeOH → 40% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得た fr. 22-26 (28.5 mg) および fr. 39-51 (28.1 mg) について, それぞれ逆相分取 HPLC (条件 PR10, PR7) でさらに精製し, caffeic acid (**66**, 10.4 mg) および chlorogenic acid (**67**, 8.7 mg) をそれぞれ得た。また, ODS4 の fr. 66-67 (27.6 mg) をさらに逆相分取 HPLC (条件 PR10) で精製し, 5-O-p-coumaroylquinic acid (**68**, 4.7 mg), phellolactone (**69**, 4.1 mg) および vittarilide A (**70**, 3.0 mg) を単離した。MCI11 の 60% MeOH 溶出部 (560.6 mg) について MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, MCI12, 40% MeOH → 50% MeOH → 60% MeOH → 80% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) を行った。MCI12 から得た fr. 19-21 (18.7 mg) を逆相分取 HPLC (条件 PR10) で精製し, hyperoside (**46**, 5.1 mg) を得た。MCI12 から得た fr. 24-31 (111.2 mg) について,

Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 31 cm, S6, 20% MeOH → 30% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得た fr. 30-37 (10.1 mg) および fr. 59-62 (9.7 mg) をそれぞれさらに逆相分取 HPLC (条件 PR10) で精製し, isorhamnetin 3-O-rutinoside (**49**, 8.4 mg) および *p*-coumaric acid (**65**, 8.7 mg) をそれぞれ単離した。MCI12 の fr. 43-103 (164.1 mg) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 37 cm, ODS5, 20% MeOH → 30% MeOH → 40% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) を行い, 得た fr. 25-27 (26.6 mg) および fr. 56-67 (27.2 mg) をそれぞれ逆相分取 HPLC (条件 PR10, PR15) で精製し, *trans*-ferulic acid (**66**, 10.3 mg), isorhamnetin-3-O-galactopyranoside (**48**, 15.7 mg) および isorhamnetin-3-O-glucopyranoside (**47**, 3.1 mg) を得た。T3 から得た fr. 5 (731.0 mg) について, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 40 cm, S7, 50% MeOH → 60% MeOH → 70% MeOH → 70% acetone) を行った。S7 から得た fr. 20-31 (162.0 mg) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 30 cm, ODS6, 20% MeOH → 30% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得たフラクションのうち, fr. 9-10 および fr. 38-62 はそれぞれ apocynin A (**56**, 10.1 mg) および rhinchoin Ia (**55**, 50.7 mg) であった。また, ODS6 から得た fr. 26-32 (19.9 mg) について, さらに逆相分取 HPLC (条件 PR3) を行い, (4*S*,8*R*,9*S*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-b:3,4-b']dipyran-2-one (**53**, 1.5 mg) および (2*R*,3*S*,10*R*)-2,10-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-3,5-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-b:3,4-b']dipyran-8-one (**54**, 8.6 mg) を得た。S7 の fr 10-15 (207.6 mg) について, Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 37 cm, T4, 70% EtOH → 70% acetone) を行い, 得た fr. 5-8 (66.8 mg) および fr. 11-13 (21.5 mg) について, それぞれ逆相分取 HPLC (条件 PR16, PR7) で精製し, (+)-catechin (**61**, 8.1 mg) および (+)-allocatechin (**62**, 9.2 mg) を単離した。T3 fr. 6 (389.1 mg) について, Toyopearl HW-40F カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 38 cm, T5, 50% EtOH → 70% acetone) を行い, 得た fr. 13-16 (106.1 mg) を MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 25 cm, MCI13, 10% MeOH → 30% MeOH → 40% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) にかけ, 得た fr. 86-52 (26.9 mg) を逆相分取 HPLC (条件 PR15) で精製し, (4*R*,8*R*,9*S*)-4,8-bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-b:3,4-b']dipyran-2-one (**52**, 11.2 mg) および二つの化合物からなる混合物を得た。この混合物について, 再び逆相分取 HPLC (条件 PR4) で精製し, 新規化合物 rutaenin A (**50**, 1.7 mg) および rutaenin B (**51**, 2.5 mg) を得た。T3 から得た 70% acetone 溶出部 a (805.8 mg) について,

Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 39 cm, T6, 70% EtOH → 70% acetone) を行い、得た fr. 31-34 (148.9 mg) について、MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 29 cm, MCI14, H₂O → 1% MeOH → 5% MeOH → 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 100% MeOH) を行った。MCI14 から得た fr. 117-121 (5.1 mg) を逆相分取 HPLC (条件 PR7) でさらに精製し、procyanidin B2 (**58**, 3.0 mg) を得た。MCI14 から得た fr. 146-185 (28.5 mg) について、逆相 HPLC による分取 (条件 PR7) を行い、procyanidin B3 (**57**, 8.7 mg) を単離した。T3 から得た 70% acetone 溶出部 b (2.3 g) について、Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 40 cm, T7, 70% EtOH → 70% acetone) を行った。T7 から得た fr. 7 (199.0 mg) について、再び Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 40 cm, T8, 70% EtOH → 70% acetone) を行い、得られたフラクションのうち、fr. 22-28 (103.2 mg) をさらに ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 40 cm, ODS7, 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 100% MeOH) にかけ、得た fr. 22-25 (12.6 mg) を逆相分取 HPLC (条件 PR10) で精製し、catechin-(4α→8)-epicatechin-(4β→8)-catechin (**60**, 10.3 mg) を得た。T7 から得た fr. 5 (462.2 mg) を MCI-gel CHP 20P カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, MCI15, H₂O → 2.5% MeOH → 5% MeOH → 7.5% MeOH → 10% MeOH → 12.5% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 30% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH → 70% acetone) にかけ、得た fr. 68-102 (23.1 mg) をさらに逆相分取 HPLC (条件 PR7) で精製し、prodelphinidin B3 (**59**, 16.1 mg) を得た。

(3) CHCl₃ エキスの分画

CHCl₃ エキス (196.8 mg) を 70% EtOH に溶け、沈殿物ができた。この沈殿物は limonin (**44**, 17.1 mg) であった。

(4) 水不溶物の分画

水不溶物 (50.0 g) について、二つの分液ロートを用い、CHCl₃ : MeOH : 1-propanol : H₂O = 45 : 60 : 10 : 40 の溶媒で向流分配を行い、上層① (9.8 g), 上層② (2.0 g), 下層② (3.1 g), 下層① (23.3 g), 不溶物 (7.8 g) を得た。下層② (3.0 g) について、Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 39 cm, T9, 70% EtOH → 70% acetone) を行い、得た fr. 2 (637.8 mg) について、SILica gel カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.0 × 33 cm, SIL12) を行い、100% n-Hexane → 5% EtOAc → 10% EtOAc → 20% EtOAc → 30% EtOAc → 40% MeOH → 50% EtOAc → 60% MeOH → 70% MeOH → 80% MeOH → 100% EtOAc → 100% MeOH で順次溶

出し, 30% EtOAc 溶出部は rutaecarpine (**41**, 21.4 mg) であった。SIL12 の 40% EtOAc 溶出部 (58.4 mg) を 60% MeOH (in H₂O) に溶かし, 遠心にかけ, 得た沈殿物を MeOH で再び溶かし, 遠心にかけ, その沈殿物は evodiamine (**43**, 33.6 mg) であった。SIL12 から得た 60% EtOAc 溶出部 (69.7 mg) について, 逆相 HPLC による分取 (条件 PR5) を行い, evodol (**45**, 8.2 mg) を単離した。T9 の 70% acetone 溶出部 (24.3 mg) を 50% MeOH に溶かし, 遠心にかけ, 得た沈殿物を再び MeOH に溶かし, 遠心にかけ, 沈殿物は rhetsinine (**42**, 5.9 mg) であった。

(5) フェニルプロパノイド置換型カテキン関連化合物の合成および単離

ジオキサン 300 mL をモレキュラーシープ 50 g で 24 時間脱水し, 反応溶媒として用いる。(+)-Catechin 3.3 g, caffeic acid 3.0 g および *p*-TsOH (*p*-トルエンスルホン酸) 0.9 g を 150 mL のジオキサンに混ぜ, 還流しながら 3 時間反応させる。その後, 反応液を少しだけ残るまでエバポレーターで濃縮する。濃縮した反応液をそのまま Diaion HP-20 カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.0 × 30 cm, D3) にかけ, 水エキス (2.9 g) および MeOH エキス (3.8 g) をそれぞれ得た。MeOH エキス (3.7 g) について, Toyopearl HW-40C カラムクロマトグラフィー (I.D. 2.2 × 38 cm, T10, 70% EtOH → 70% acetone) を行った。T10 から得た fr. 3 (958.1 mg) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 39 cm, ODS8, 20% MeOH → 25% MeOH → 30% MeOH → 35% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得られた 25% MeOH 溶出部 (120.8 mg) を再び ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, ODS9, 20% MeOH → 30% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) にかけた。ODS9 から得た fr. 49-56 (12.3 mg) をさらに逆相 HPLC による分取し(条件 PR4), **54a** (12.3 mg) を単離した。ODS8 から得た 30% MeOH 溶出部 (132.3 mg) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, ODS10, 30% MeOH → 35% MeOH → 40% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得た fr. 15-21 (40.4 mg) をさらに逆相分取 HPLC で精製し, **55a** (13.9 mg) を単離できた。T10 から得られた fr. 4 (339.2 mg) について, ODS カラムクロマトグラフィー (I.D. 1.1 × 35 cm, ODS11, 10% MeOH → 15% MeOH → 20% MeOH → 25% MeOH → 30% MeOH → 35% MeOH → 50% MeOH → 100% MeOH) を行い, 得た fr. 42-50 (12.5 mg) および fr. 57-60 (11.0 mg) をそれぞれ逆相分取 HPLC で精製し, **53a** (2.7 mg), **50a** (3.7 mg) および **51a** (2.5 mg) を得た。

2. 抗 MRSA 活性

「第一章に関する実験—抗 MRSA 活性」参照

1-Methyl-2-[(Z)-6-undecenyl]-4(1H)-quinolone (34) 黃色粉末

ESI-MS: m/z 312 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 214 (4.33), 239 (4.38), 322 (4.05), 334 (4.06) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.40 (1H, dd, J = 1.8, 8.4 Hz, H-5), 7.62 (1H, dt, J = 1.8, 8.4 Hz, H-7), 7.47 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8), 7.34 (1H, dt, J = 0.6, 8.4 Hz, H-6), 6.19 (1H, s, H-3), 5.33 (2H, m, H-6', 7'), 3.70 (3H, s, N-CH₃), 2.67 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-1'), 2.01 (4H, m, H-5', 9'), 1.65 (2H, pent, J = 7.8 Hz, H-2'), 1.40 (4H, m, H-3', 8'), 1.28 (4H, m, H-4', 10'), 0.87 (3H, brt, J = 7.2 Hz, H-11').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.7 (C-2), 110.9 (C-3), 177.7 (C-4), 126.4 (C-4a), 126.5 (C-5), 123.2 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.8 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.6 (C-1'), 28.4 (C-2'), 28.8 (C-3'), 29.3 (C-4'), 26.9 (C-5'), 129.1 (C-6'), 130.3 (C-7'), 26.9 (C-8'), 31.8 (C-9'), 22.2 (C-10'), 13.9 (C-11').

1-Methyl-2-[(4Z,7Z)-4,7-tridecadienyl]-4(1H)-quinolone (35) 黃色油狀物質

ESI-MS: m/z 338 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 214 (4.47), 239 (4.53), 322 (4.13), 334 (4.14) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.42 (1H, dd, J = 1.2, 8.4 Hz H-5), 7.63 (1H, dt, J = 1.2, 8.4 Hz, H-7), 7.48 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8), 7.35 (1H, dt, J = 0.6, 8.4 Hz, H-6), 6.21 (1H, s, H-3), 5.45 (1H, m, H-5'), 5.38 (2H, m, H-4', 8'), 5.30 (1H, m, H-7'), 3.70 (3H, s, N-CH₃), 2.78 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-6'), 2.69 (2H, t, J = 8.4 Hz, H-1'), 2.21 (2H, q, J = 7.2 Hz, H-3'), 2.02 (2H, q, J = 7.2 Hz, H-9'), 1.74 (2H, pent, J = 7.2 Hz, H-2'), 1.33 (2H, m, H-10'), 1.27 (4H, m, H-11', 12'), 0.87 (3H, brt, J = 7.2 Hz, H-13').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.5 (C-2), 111.0 (C-3), 177.7 (C-4), 126.4 (C-4a), 126.5 (C-5), 123.3 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.8 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.1 (C-1'), 28.4 (C-2'), 26.6 (C-3'), 130.6 (C-4'), 127.2 (C-5'), 25.6 (C-6'), 128.0 (C-7'), 129.9 (C-8'), 27.2 (C-9'), 29.2 (C-10'), 31.4 (C-11'), 22.5 (C-12'), 14.0 (C-13').

1-Methyl-2-undecyl-4(1H)-quinolone (36) 淡黃色粉末

ESI-MS: m/z 314 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 214 (4.38), 239 (4.43), 321 (4.10), 334 (4.12) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.44 (1H, dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz, H-5), 7.65 (1H, dt, $J = 1.8, 7.8$ Hz, H-7), 7.50 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 7.36 (1H, dt, $J = 0.6, 7.8$ Hz, H-6), 6.23 (1H, s, H-3), 3.73 (3H, s, N-CH₃), 2.70 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 1.67 (2H, pent, $J = 7.2$ Hz, H-2'), 1.42 (2H, pent, $J = 7.2$ Hz, H-3'), 1.33 (2H, m, H-4'), 1.28 (8H, m, H-5', 6', 7', 8'), 0.87 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-9').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.8 (C-2), 111.1 (C-3), 177.8 (C-4), 126.5 (C-4a), 126.6 (C-5), 123.3 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.9 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.8 (C-1'), 28.5 (C-2'), 29.2 (C-3'), 29.3 (C-4'), 29.3 (C-5'), 29.4 (C-6'), 29.5 (C-7'), 29.5 (C-8'), 31.9 (C-9'), 22.6 (C-10'), 14.1 (C-11').

Evocarpine (37) 淡黃色粉末

ESI-MS: m/z 340 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 215 (4.46), 239 (4.51), 321 (4.17), 334 (4.19) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.41 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-5), 7.62 (1H, dt, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-7), 7.47 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-8), 7.34 (1H, dt, $J = 0.6, 8.4$ Hz, H-6), 6.19 (1H, s, H-3), 3.70 (3H, s, N-CH₃), 5.33 (2H, m, H-8', 9'), 2.66 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 2.00 (2H, q, $J = 6.6$ Hz, H-7', 10'), 1.64 (2H, pent, $J = 7.8$ Hz, H-2'), 1.41 (2H, pent, $J = 7.8$ Hz, H-3'), 1.30 (10H, m, H-4', 5', 6', 11', 12'), 0.87 (3H, m, H-13').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.7 (C-2), 111.0 (C-2), 177.7 (C-4), 126.4 (C-4a), 126.5 (C-5), 123.2 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.8 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.7 (C-1'), 28.4 (C-2'), 29.0 (C-3'), 29.1 (C-4'), 29.2 (C-5'), 29.6 (C-6'), 26.8 (C-7'), 129.6 (C-8'), 130.0 (C-9'), 27.0 (C-10'), 31.9 (C-11'), 22.3 (C-12'), 13.9 (C-13').

Dihydroevocarpine (38) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 342 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 214 (4.39), 239 (4.45), 321 (4.12), 334 (4.14) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.43 (1H, dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-5), 7.64 (1H, dt, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-7), 7.48 (1H, d, 7.8 Hz, H-8), 7.35 (1H, dt, *J* = 0.6, 7.8 Hz, H-6), 6.21 (1H, s, H-3), 3.72 (3H,s, N-CH₃), 2.68 (2H, t, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 1.66 (2H, pent, *J* = 7.8 Hz, H-2'), 1.41 (2H, pent, *J* = 7.8 Hz, H-3'), 1.33 (2H, m, H-4'), 1.25 (16 H, m, H-5' - 12'), 0.87 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, H-13').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.7 (C-2), 111.1 (C-3), 177.7 (C-4), 126.5 (C-4a), 126.6 (C-5), 123.2 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.9 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.7 (C-1'), 28.5 (C-2'), 29.2 (C-3'), 29.3 (C-4'), 29.3 (C-5'), 29.4 (C-6'), 29.5 (C-7'), 29.6 (C-8'), 29.6 (C-9'), 29.6 (C-10'), 31.9 (C-11'), 22.6 (C-12'), 14.1 (C-13').

1-Methyl-2-tetradecyl-4(1*H*)-quinolone (**39**) 淡黃色粉末

ESI-MS: *m/z* 356 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 214 (4.44), 239 (4.49), 321 (4.13), 334 (4.15) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.46 (1H, dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-5), 7.67 (1H, dt, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-7), 7.48 (1H, d, 7.8 Hz, H-8), 7.35 (1H, dt, *J* = 7.8 Hz, H-6), 6.26 (1H, s, H-3), 3.75 (3H,s, N-CH₃), 2.72 (2H, t, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 1.69 (2H, pent, *J* = 7.8 Hz, H-2'), 1.43 (2H, pent, *J* = 7.8 Hz, H-3'), 1.34 (2H, m, H-4'), 1.25 (18 H, m, H-5' - 13'), 0.88 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, H-14').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.7 (C-2), 111.2 (C-3), 177.8 (C-4), 126.7 (C-4a), 126.5 (C-5), 123.3 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.9 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.8 (C-1'), 28.6 (C-2'), 29.3 (C-3', 4', 5'), 29.5 (C-6'), 29.6 (C-7', 8', 9', 10'), 29.7 (C-11'), 31.9 (C-12'), 22.6 (C-13'), 14.1 (C-14').

1-Methyl-2-pentadecyl-4(1*H*)-quinolone (**40**) 淡綠色粉末

ESI-MS: *m/z* 370 [M+H]⁺.

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 215 (4.32), 239 (4.38), 322 (4.05), 334 (4.07) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.42 (1H, dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-5), 7.63 (1H, dt, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-7), 7.48 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-8), 7.35 (1H, dt, *J* = 0.6, 7.8 Hz, H-6), 6.21 (1H, s, H-3), 3.71 (3H,s, N-CH₃), 2.66 (2H, t, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 1.66 (2H, pent, *J* = 7.8 Hz, H-2'), 1.41 (2H, pent, *J* = 7.8 Hz, H-3'), 1.32 (2H, m, H-4'), 1.24 (20 H, m, H-5' - 14'), 0.87 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, H-15').

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 154.7 (C-2), 111.1 (C-3), 177.7 (C-4), 126.4 (C-4a), 126.6 (C-5), 123.2 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 141.9 (C-8a), 34.1 (N-CH₃), 34.7 (C-1'), 28.5 (C-2'), 29.2 (C-3'), 29.3 (C-4', 5'), 29.4 (C-6'), 29.5 (C-7'), 29.6 (C-8', 9', 10', 11', 12'), 31.9 (C-13'), 22.6 (C-14'), 14.1 (C-15').

Rutaecarpine (41) 淡黃色粉末

ESI-MS: *m/z* 288 [M+H]⁺, 286 [M-H]⁻.

UV (EtOH) λ_{max} (log ε) 213 (4.46), 233 (4.36), 331 (4.41), 345 (4.48), 362 (4.39) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.32 (1H, dd, *J* = 1.2, 7.8 Hz, H-4), 7.71 (1H, td, *J* = 1.2, 7.8 Hz, H-2), 7.68 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1), 7.63 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-9), 7.43 (1H, td, *J* = 1.2, 7.8 Hz, H-3), 7.39 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-12), 7.32 (1H, td, *J* = 1.2, 7.8 Hz, H-11), 7.18 (1H, td, *J* = 1.2, 7.8 Hz, H-10), 4.59 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-7), 3.24 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-8).

Rhetsninine (42) 黃色粉末

ESI-MS: *m/z* 318 [M-H]⁻.

UV (EtOH) λ_{max} (log ε) 225 (4.66), 233 (4.36), 314 (4.07), 385 (3.89) nm

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.64 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.44 (1H, dd, *J* = 1.2, 8.4 Hz, H-9), 7.37 (1H, dt, *J* = 1.2, 8.4 Hz, H-11), 7.30 (1H, dt, *J* = 1.2, 8.4 Hz, H-12), 7.19 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, CH₃N-H), 7.17 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-10), 7.14 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-1), 6.77 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2), 6.52 (1H, dt, *J* = 1.2, 8.4, Hz H-3), 4.20 (2H, t, *J* = 6.6 Hz, H-7), 3.22 (2H, t, *J* = 6.6. Hz, H-8), 2.95 (3H, d, *J* = 5.4 Hz, N-CH₃).

Evodiamine (43) 白色粉末

ESI-MS: *m/z* 302 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, CHCl₃): +289.3°

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 8.12 (1H, dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-4), 7.60 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-9), 7.49 (1H, dt, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-2), 7.42 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-12), 7.25 (1H, dt, *J* = 0.6, 8.4 Hz,

H-11), 7.22 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-3), 7.17 (1H, dt, J = 0.6, 8.4 Hz, H-10), 7.16 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1), 4.88 (1H, ddd, J = 1.8, 4.2, 12.6 Hz, H-7a), 3.28 (1H, ddd, J = 4.8, 12.6, 15.6 Hz, H-7b), 2.97 (2H, m, H-8), 2.52 (3H, s, NCH₃).

Limonin (44) 淡黃色粉末

ESI-MS: m/z 493 [M+Na]⁺.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -125.7°

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.41 (1H, s, H-21), 7.40 (1H, m, H-23), 6.33 (1H, m, H-22), 5.46 (1H, s, H-17), 4.76 (1H, d, J = 13.2 Hz, H-19a), 4.46 (1H, d, J = 13.2 Hz, H-19b), 4.03 (2H, m H-1, 15), 2.97 (1H, dd, J = 3.6, 16.2 Hz, H-2a), 2.68 (1H, dd, J = 1.2, 16.2 Hz, H-2b), 2.85 (1H, t, J = 15.0 Hz, H-6a), 2.46 (1H, dd, J = 3.0, 15.0 Hz, H-6b), 2.55 (1H, dd, J = 3.0, 12.2 Hz, H-9), 2.23 (1H, dd, J = 3.0, 15.0 Hz, H-5), 1.89 (1H, m, H-11a), 1.81 (1H, m, H-11b), 1.77 (1H, m, H-12a), 1.50 (1H, m, H-12b), 1.22 (3H, s, H-28), 1.19 (3H, s, H-29), 1.14 (3H, s, H-18), 1.11 (3H, s, H-30).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 79.1 (C-1), 35.6 (C-2), 169.2 (C-3), 80.3 (C-4), 60.5 (C-5), 36.4 (C-6), 206.1 (C-7), 51.3 (C-8), 48.1 (C-9), 45.9 (C-10), 18.9 (C-11), 30.8 (C-12), 37.9 (C-13), 65.6 (C-14), 53.8 (C-15), 166.7 (C-16), 77.8 (C-17), 20.7 (C-18), 65.3 (C-19), 119.9 (C-20), 141.1 (C-21), 109.6 (C-22), 143.2 (C-23), 30.1 (C-28), 21.3 (C-20), 17.6 (C-30).

Evodol (45) 淡黃色粉末

ESI-MS: m/z 507 [M+Na]⁺, 483 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -207.3°

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, r.t.) δ: 7.41 (1H, d, J = 0.8 Hz, H-21), 7.40 (1H, dd, J = 0.8, 1.2 Hz, H-23), 6.33 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-22), 6.26 (1H, s, OH), 5.44 (1H, s, H-17), 4.65 (1H, d, J = 12.6 Hz, H-19a), 4.62 (1H, d, J = 12.6 Hz, H-19b), 4.12 (1H, s, H-15), 4.08 (1H, m, H-1), 2.97 (1H, dd, J = 2.4, 18.0 Hz, H-2a), 2.85 (1H, dd, J = 4.8, 18.0 Hz, H-2b), 2.68 (1H, dd, J = 1.8, 13.2 Hz, H-9), 1.68-1.71 (1H, m, H-11a), 1.88-1.96 (1H, m, H-11b), 1.80-1.84 (1H, m, H-12a), 1.45-1.48 (1H, m, H-12b), 1.55 (3H, s, H-29), 1.50 (3H, s, H-28), 1.16 (3H, s, H-30), 1.05 (3H, s, H-18).

Hyperoside (46) 黄色粉末

ESI-MS: m/z 487 [M+Na]⁺, 463 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 6.24 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.49 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 8.00 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 7.56 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 5.16 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Gal-1) 3.84 (1H, dd, *J* = 7.8, 9.6 Hz, Gal-2), 3.60 (1H, dd, *J* = 3.0, 9.6 Hz, Gal-3), 3.91 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, Gal-3), 3.50 (1H, m, Gal-5), 3.64 (1H, dd, *J* = 6.0, 10.2 Hz, Gal-6a), 3.50 (1H, m, Gal-6b).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 158.0 (C-2), 135.2 (C-3), 178.8 (C-4), 162.1 (C-5), 99.5 (C-6), 165.5 (C-7), 94.5 (C-8), 157.7 (C-9), 104.9 (C-10), 122.1 (C-1'), 117.6 (C-2'), 145.2 (C-3'), 149.4 (C-4'), 115.7 (C-5'), 122.1 (C-6'), 104.9 (Gal-1), 72.5 (Gal-2), 74.4 (Gal-3), 68.8 (Gal-4), 76.3 (Gal-5), 61.0 (Gal-6).

Isorhamnetin-3-*O*-glucopyranoside (47) 褐色粉末

ESI-MS: m/z 477 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -73.0°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 254 (4.43), 355 (4.35) nm

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.92 (1H, br s H-2'), 7.58 (1H, brd, *J* = 8.0 Hz H-6'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.0 Hz H-5'), 6.40 (1H, br s H-8), 6.20 (1H, br s H-6), 5.41 (1H, d, *J* = 7.2 Hz Glc-1), 3.94 (3H, s OCH₃), 3.73 (1H, dd, *J* = 1.8, 12.0 Hz Glc-6a), 3.55 (1H, dd, *J* = 6.0, 12.0 Hz Glc-6b), 3.45 (2H, m Glc-2,3), 3.30 (overlapped with solvent, Glc-4), 3.23 (1H, m Glc-5).

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 159.3 (C-2), 136.1 (C-3), 180.2 (C-4), 163.9 (C-5), 100.6 (C-6), 166.8 (C-7), 95.5 (C-8), 159.5 (C-9), 106.6 (C-10), 123.9 (C-1'), 115.2 (C-2'), 151.6 (C-3'), 149.2 (C-4'), 116.8 (C-5'), 124.6 (C-6'), 104.4 (Glc-1), 76.7 (Glc-2), 79.3 (Glc-3), 72.3 (Glc-4), 78.9 (Glc-5), 63.3 (Glc-6), 57.6 (OCH₃).

Isorhamnetin-3-*O*-galactopyranoside (48) 黄色粉末

ESI-MS: m/z 477 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -25.3°

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 256 (4.30), 355 (4.26) nm

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ : 8.03 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 7.57 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 5.34 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Gal-1), 3.95 (3H, s, OCH₃), 3.83 (1H, brd, *J* = 3.6 Hz, Gal-4), 3.81 (1H, dd, *J* = 7.8, 9.6 Hz, Gal-2), 3.65 (1H, dd, *J* = 6.0, 10.8 Hz Gal-6a), 3.57 (1H, d, *J* = 6.0, 10.8 Hz, Gal-6b), 3.55 (1H, dd, *J* = 3.6, 9.6 Hz, Gal-3), 3.47 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, Gal-5).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ : 159.3 (C-2), 136.2 (C-3), 180.3 (C-4), 163.9 (C-5), 100.7 (C-6), 166.9 (C-7), 95.5 (C-8), 159.4 (C-9), 106.3 (C-10), 123.8 (C-1'), 115.3 (C-2'), 151.6 (C-3'), 149.2 (C-4'), 116.7 (C-5'), 124.4 (C-6'), 105.2 (Gal-1), 74.0 (Gal-2), 75.8 (Gal-3), 70.8 (Gal-4), 78.1 (Gal-5), 63.0 (Gal-6), 57.7 (OCH₃).

Isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (**49**) 黃色粉末

ESI-MS: *m/z* 647 [M+Na]⁺, 623 [M-H]⁻.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ : 7.94 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.23 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, Glc-1), 4.52 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, Rha-1), 3.94 (3H, s, OCH₃), 3.81 (1H, dd, *J* = 1.8, 11.4 Hz, Glc-6a), 3.60 (1H, dd, *J* = 1.8, 3.6 Hz, Rha-2), 3.48-3.35 (6H, m, Glc-2,3,5,6b; Rha-3,5), 3.26-3.22 (2H, m, Glc-4, Rha-4), 1.09 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, Rha-6).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ : 157.9 (C-2), 136.3 (C-3), 180.1 (C-4), 163.8 (C-5), 100.7 (C-6), 166.8 (C-7), 95.7 (C-8), 159.3 (C-9), 106.5 (C-10), 123.8 (C-1'), 115.4 (C-2'), 151.7 (C-3'), 149.1 (C-4'), 116.9 (C-5'), 124.8 (C-6'), 105.2 (Glc-1), 76.7 (Glc-2), 79.0 (Glc-3), 72.4 (Glc-4), 78.2 (Glc-5), 69.3 (Glc-6), 103.3 (Rha-1), 72.9 (Rha-2), 73.1 (Rha-3), 74.6 (Rha-4), 70.6 (Rha-5), 18.7 (Rha-6), 7.6 (OCH₃).

Rutaenin A (**50**) 類白色粉末

ESI-MS: *m/z* 475 [M+Na]⁺, 451 [M-H]⁻.

HR-ESI-MS: 451.1043 [M-H]⁻ (calculated for C₂₄H₁₉O₉, *m/z* 451.1023)

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): + 95.0°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 202 (4.85), 283 (3.83) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{205} -1.8 \times 10^4$, $[\theta]_{228} +5.1 \times 10^4$, $[\theta]_{283} +1.1 \times 10^4$

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 6.86 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.70 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-6'), 6.67 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 6.61 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.37 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6''), 6.14 (1H, s, H-8), 4.63 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2), 4.49 (1H, dd, *J* = 1.8, 6.6 Hz, H-7''), 4.05 (1H, dt, *J* = 4.8, 7.8 Hz, H-3), 3.03 (1H, dd, *J* = 6.6, 15.6 Hz, H-8'a), 2.85 (1H, dd, *J* = 1.8, 15.6 Hz, H-8'b), 2.92 (1H, dd, *J* = 4.8, 16.2 Hz, H-4a), 2.60 (1H, dd, *J* = 7.8, 16.2 Hz, H-4b).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 82.2 (C-2), 67.4 (C-3), 28.7 (C-4), 153.3 (C-5), 106.5 (C-6), 152.1 (C-7), 96.6 (C-8), 155.4 (C-9), 105.9 (C-10), 131.1 (C-1'), 115.0 (C-2'), 145.5 (C-3'), 145.7 (C-4'), 115.7 (C-5'), 119.5 (C-6'), 134.2 (C-1''), 114.9 (C-2''), 145.8(C-3''), 144.6 (C-4''), 116.0 (C-5''), 118.5 (C-6''), 34.8 (C-7''), 38.2 (C-8''), 168.7 (C-9'').

Rutaenin B (51) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 475 [M+Na]⁺, 451 [M-H]⁻.

HR-ESI-MS: 451.1043 [M-H]⁻ (calculated for C₂₄H₁₉O₉, m/z 451.1023)

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -55.1°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 202 (4.91), 283 (3.88) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{208} +9.5 \times 10^4$, $[\theta]_{230} -7.9 \times 10^4$, $[\theta]_{254} +1.3 \times 10^3$, $[\theta]_{282} -0.9 \times 10^4$

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 6.87 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.70 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.67 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 6.62 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.37 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6''), 6.14 (1H, s, H-8), 4.59 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2), 4.50 (1H, dd, *J* = 1.8, 7.2 Hz, H-7''), 4.03 (1H, dt, *J* = 5.4, 7.8 Hz, H-3), 3.04 (1H, dd, *J* = 7.2, 16.2 Hz, H-8'a), 2.85 (1H, dd, *J* = 1.8, 15.6 Hz, H-8'b), 2.92 (1H, dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.62 (1H, dd, *J* = 7.8, 15.6 Hz, H-4b).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 82.4 (C-2), 67.4 (C-3), 29.0 (C-4), 153.3 (C-5), 106.6 (C-6), 152.1 (C-7), 96.6 (C-8), 155.4 (C-9), 106.0 (C-10), 131.1 (C-1'), 115.1 (C-2'), 145.5 (C-3'), 145.7 (C-4'), 115.7 (C-5'), 119.7 (C-6'), 134.2 (C-1''), 114.9 (C-2''), 145.8(C-3''), 144.6 (C-4''), 116.0 (C-5''), 118.5 (C-6''), 34.7 (C-7''), 38.2 (C-8''), 168.7 (C-9'').

(4R,8R,9S)-4,8-Bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2H,8H-benzo[1,2-b:3,4-b']dipyan-2-one (52) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 475 [M+Na]⁺, 451 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): +35.8°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 204 (4.96), 284 (4.04) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{211} +1.0 \times 10^5$, $[\theta]_{229} -2.1 \times 10^4$, $[\theta]_{248} +1.4 \times 10^4$, $[\theta]_{287} -8.5 \times 10^3$

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 6.87 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.71 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-6'), 6.67 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 6.64 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.40 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6''), 6.23 (1H, s, H-8), 4.64 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2), 4.42 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-7''), 4.04 (1H, dt, *J* = 5.4, 7.8 Hz, H-3), 3.02 (1H, dd, *J* = 7.2, 15.6 Hz, H-8'a), 2.89 (1H, dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.86 (1H, dd, *J* = 1.8, 15.6 Hz, H-8'b), 2.64 (1H, dd, *J* = 7.8, 16.2 Hz, H-4b).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 83.6 (C-2), 68.9 (C-3), 28.6 (C-4), 152.7 (C-5), 108.0 (C-6), 155.6 (C-7), 100.6 (C-8), 156.5 (C-9), 102.3 (C-10), 132.6 (C-1'), 115.8 (C-2'), 147.1 (C-3'), 147.1 (C-4'), 116.9 (C-5'), 120.5 (C-6'), 135.7 (C-1''), 115.9 (C-2''), 147.1 (C-3''), 145.9 (C-4''), 117.2 (C-5''), 120.0 (C-6''), 35.9 (C-7''), 39.1 (C-8''), 171.1 (C-9'').

(4S,8R,9S)-4,8-Bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2H,8H-benzo[1,2-b:3,4-b']dipyan-2-one (53) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 475 [M+Na]⁺, 451 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -21.6°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 204 (4.93), 285 (4.00) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{203} -9.8 \times 10^4$, $[\theta]_{229} +4.7 \times 10^4$, $[\theta]_{249} -4.8 \times 10^3$, $[\theta]_{284} +1.4 \times 10^4$

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 6.86 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.70 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-6'), 6.66 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 6.64 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.37 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6''), 6.22 (1H, s, H-8), 4.61 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2), 4.41 (1H, dd, *J* = 1.6, 7.2 Hz, H-7''), 4.04 (1H, dt, *J* = 5.4, 7.8 Hz, H-3), 3.03 (1H, dd, *J* = 7.2, 16.2 Hz, H-8'a), 2.97 (1H, dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.86 (1H, dd, *J* = 1.8, 16.2 Hz, H-8'b), 2.57 (1H, dd, *J* = 7.8, 16.2 Hz, H-4b).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 82.6 (C-2), 67.2 (C-3), 28.1 (C-4), 151.3 (C-5), 106.5 (C-6), 154.1 (C-7), 99.2 (C-8), 155.3 (C-9), 101.2 (C-10), 131.2 (C-1'), 115.1 (C-2'), 145.5 (C-3'), 145.7 (C-4'), 115.6 (C-5'), 119.6 (C-6'), 134.4 (C-1''), 114.9 (C-2''), 145.8 (C-3''), 144.5 (C-4''), 115.9 (C-5''), 118.4 (C-6''), 34.5 (C-7''), 37.8 (C-8''), 168.7 (C-9'').

(2*R*,3*S*,10*R*)-2,10-Bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-3,5-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-*b*:3,4-*b*']dipyran-8-one (54) 類白色粉末

ESI-MS: *m/z* 475 [M+Na]⁺, 451 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -194.0°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (4.95), 283 (3.91) nm

CD (MeOH) [θ]₂₀₇ +6.2 × 10⁴, [θ]₂₃₁ -1.2 × 10⁵, [θ]₂₅₆ +1.6 × 10⁴ [θ]₂₈₂ -1.5 × 10⁴

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 6.84 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.66 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-6'), 6.62 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 6.56 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.35 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6''), 6.24 (1H, s, H-6), 4.63 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2), 4.43 (1H, brd, *J* = 6.6 Hz, H-7''), 4.01 (1H, dt, *J* = 5.4, 7.8 Hz, H-3), 3.02 (1H, dd, *J* = 6.6, 15.6 Hz, H-8'a), 2.87 (1H, dd, *J* = 1.8, 15.6 Hz, H-8'b), 2.87 (1H, dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.58 (1H, dd, *J* = 7.8, 16.2 Hz, H-4b).

³C-NMR (151 MHz, Acetone-d₆+D₂O, r.t.) δ: 82.1 (C-2), 67.4 (C-3), 28.1 (C-4), 156.1 (C-5), 96.0 (C-6), 151.6 (C-7), 105.2 (C-8), 152.5 (C-9), 105.4 (C-10), 131.4 (C-1'), 114.6 (C-2'), 145.5 (C-3'), 145.5 (C-4'), 115.7 (C-5'), 119.2 (C-6'), 134.3 (C-1''), 114.7 (C-2''), 145.7 (C-3''), 144.5 (C-4''), 115.9 (C-5''), 118.4 (C-6''), 34.1 (C-7''), 37.8 (C-8''), 169.0 (C-9'').

Rhinchoin Ia (55) 類白色粉末

ESI-MS: *m/z* 475 [M+Na]⁺, 451 [M-H]⁻.

HR-ESI-MS: 451.1011 [M-H]⁻ (calculated for C₂₄H₁₉O₉, *m/z* 451.1023)

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -12.2°, [α]_D (*c* 1.0, Acetone-H₂O 1:1): -12.0°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (4.91), 282 (3.87) nm

CD (MeOH) [θ]₂₁₁ -6.3 × 10⁴, [θ]₂₂₉ +3.5 × 10⁴, [θ]₂₅₁ -7.5 × 10³ [θ]₂₈₁ +1.1 × 10⁴

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 6.72 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.61 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.41 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 6.60 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.69 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5''), 6.40 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6''), 6.25 (1H, s, H-6), 4.71 (1H, d, *J* = 7.2 Hz H-2), 4.35 (1H, brd, *J* = 6.6 Hz, H-7''), 3.98 (1H, dt, *J* = 5.4, 7.2 Hz, H-3), 3.01 (1H, dd, *J* = 6.6, 15.6 Hz, H-8''a), 2.82 (1H, dd, *J* = 1.8, 15.6 Hz, H-8''b), 2.78 (1H, dd, *J* = 5.4, 16.8 Hz, H-4a), 2.58 (1H, dd, *J* = 7.2, 16.8 Hz, H-4b).

¹³C-NMR (151 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: 82.1 (C-2), 67.3 (C-3), 27.7 (C-4), 156.1 (C-5), 95.9 (C-6), 151.5 (C-7), 105.1 (C-8), 152.4 (C-9), 105.3 (C-10), 131.1 (C-1'), 114.7 (C-2'), 145.3 (C-3'), 145.2 (C-4'), 115.6 (C-5'), 118.9 (C-6'), 134.6 (C-1''), 114.8 (C-2''), 145.7 (C-3''), 144.5 (C-4''), 115.9 (C-5''), 118.8 (C-6''), 34.4 (C-7''), 37.8 (C-8''), 169.0 (C-9'').

Apocynin A (56) 褐色粉末

ESI-MS: *m/z* 467 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -169.1°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (4.87), 280 (3.70) nm

CD (MeOH) [θ]₂₀₈ +8.4 × 10⁴, [θ]₂₃₀ -1.1 × 10⁴, [θ]₂₅₆ +7.5 × 10⁴ [θ]₂₈₂ -7.5 × 10³

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 6.60 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5''), 6.50 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2''), 6.41 (1H, dd, *J* = 2.4, 7.8 Hz, H-6''), 6.34 (2H, s, H-2',6'), 6.18 (1H, s, H-6), 4.64 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-2), 4.45 (1H, dd, *J* = 1.2, 6.6 Hz, H-7''), 4.03 (1H, dt, *J* = 5.4, 6.0 Hz, H-3), 3.06 (1H, dd, *J* = 6.6, 15.6 Hz, H-8''a), 2.86 (1H, dd, *J* = 1.2, 15.6 Hz, H-8''b), 2.79 (1H, dd, *J* = 5.4, 16.8 Hz, H-4a), 2.59 (1H, dd, *J* = 6.0, 16.8 Hz, H-4b).

³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 83.3 (C-2), 68.8 (C-3), 28.2 (C-4), 157.7 (C-5), 97.0 (C-6), 153.0 (C-7), 106.5 (C-8), 153.7 (C-9), 106.6 (C-10), 132.2 (C-1'), 107.5 (C-2'), 147.7 (C-3'), 134.8 (C-4'), 147.7 (C-5'), 107.5 (C-6'), 135.9 (C-1''), 115.9 (C-2''), 147.1 (C-3''), 145.9 (C-4''), 117.2 (C-5''), 120.0 (C-6''), 36.0 (C-7''), 39.3 (C-8''), 171.5 (C-9'').

Procyanidin B3 (57) 類白色粉末

ESI-MS: *m/z* 579 [M+H]⁺, 577 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -261.0°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 205 (5.02), 281 (3.88) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{212} -2.5 \times 10^5$, $[\theta]_{232} -8.3 \times 10^4$, $[\theta]_{254} +1.3 \times 10^3$, $[\theta]_{270} +2.2 \times 10^3$

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ:

Rotamer A

Upper unit, 4.22 (d, *J* = 9.0 Hz, H-2), 4.39 (m, H-3), 4.39 (m, H-4), 5.90 (d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 5.77 (d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.76 (d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.64 (d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.44 (dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz, H-6').

Lower unit, 4.59 (d, *J* = 7.2 Hz, H-2), 3.80 (dt, *J* = 5.4, 7.8 Hz, H-3), 2.68 (dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.48 (dd, *J* = 7.8, 16.2 Hz, H-4b), 6.14 (s, H-6), 6.63 (d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.66 (d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.20 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, H-6').

Rotamer B

Upper unit, 4.32 (d, *J* = 9.6 Hz, H-2), 4.51 (m, H-3), 4.51 (m, H-4), 5.81 (m, H-6), 5.81 (m, H-8), 6.94 (d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.77 (m, H-5'), 6.77 (m, H-6')

Lower unit, 4.65 (d, *J* = 7.2 Hz, H-2), 4.00 (dt, *J* = 5.4, 8.4 Hz, H-3), 2.86 (dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.55 (dd, *J* = 8.4, 16.2 Hz, H-4b), 6.02 (s, H-6), 7.00 (d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.74 (d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.82 (dd, *J* = 8.4, 1.8 Hz, H-6').

Procyanidin B2 (58) 褐色粉末

ESI-MS: *m/z* 579 [M+H]⁺, 577 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): +43.6°

UV (MeOH) λ_{\max} (log ε) 205 (5.09), 280 (3.97) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{204} -1.1 \times 10^5$, $[\theta]_{215} +9.5 \times 10^4$, $[\theta]_{233} +3.3 \times 10^4$, $[\theta]_{276} +4.4 \times 10^3$

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: Upper unit, 5.04 (br s, H-2), 3.91 (s, H-3), 4.60 (br s, H-4), 5.89-5.98 (H-6), 5.89-5.98 (H-8), 6.66-6.95 (H-2'), 6.66-6.95 (H-5'), 6.66-6.95 (H-6'); Lower unit, 4.80 (br s, H-2), 4.05 (m, H-3), 2.71 (brd, *J* = 13.8 Hz, H-4a), 2.54 (brd, *J* = 13.8 Hz, H-4b), 5.89-5.98 (H-6), 6.66-6.95 (H-2'), 6.66-6.95 (H-5'), 6.66-6.95 (H-6').

Prodelphinidin B3 (59) 淡褐色粉末

ESI-MS: m/z 593 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -276.5°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 205 (5.04), 280 (3.69) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{213}$ - 3.0×10^5 , $[\theta]_{238}$ - 7.1×10^4

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ:

Rotamer A

Upper unit, 4.42 (d, *J* = 8.4 Hz, H-2), 4.35 (dd, *J* = 8.4, 9.6 Hz, H-3), 4.22 (d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 5.89 (d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 5.74 (d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.35 (s, H-2', 6'); Lower unit, 4.65 (d, *J* = 7.2 Hz, H-2), 3.83 (dt, *J* = 5.4, 7.2 Hz, H-3), 2.67 (dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.49 (dd, *J* = 7.2, 16.2 Hz, H-4b), 6.52 (s, H-6), 6.51 (d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.60 (d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.10 (dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-6').

Rotamer B

Upper unit, 4.27 (d, *J* = 9.0 Hz H-2), 4.50 (dd, *J* = 7.8, 9.0 Hz H-3), 4.48 (d, *J* = 7.8 Hz, H-4), 5.83 (d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 5.80 (d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.06 (s, H-2', 6'); Lower unit, 4.73 (d, *J* = 7.2 Hz, H-2), 4.06 (dt, *J* = 5.4, 7.2 Hz, H-3), 2.81 (dd, *J* = 5.4, 16.2 Hz, H-4a), 2.57 (dd, *J* = 7.2, 16.2 Hz, H-4b), 5.93 (s, H-6), 6.95 (d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 6.75 (d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.82 (dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, H-6').

Catechin-(4α→8)-epicatechin-(4β→8)-catechin (60) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 889 [M+Na]⁺, 865 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, MeOH): -103.1°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 203 (5.20), 282 (4.09) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{212}$ - 2.1×10^5 , $[\theta]_{244}$ - 2.2×10^4 , $[\theta]_{284}$ - 5.4×10^3

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆+D₂O, r.t.) δ: Upper unit, 4.45 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-2), 4.59 (1H, dd, *J* = 8.4, 9.6 Hz, H-3), 4.74 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 5.83 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-6), 5.82 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 7.00 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.78 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.84 (1H, dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, H-6'); Middle unit, 5.23 (1H, br s, H-2), 3.94 (1H, br s, H-3), 4.72 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-4), 6.04 (1H, br s, H-6), 7.20 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.70 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.58 (1H,

dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-6'); Lower unit, 4.87 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-2), 4.10 (1H, dd, $J = 5.4, 6.6$ Hz, H-3), 2.68 (1H, dd, $J = 5.4, 16.2$ Hz, H-4a), 2.58 (1H, dd, $J = 6.6, 16.2$ Hz, H-4b), 5.94 (1H, br s, H-6), 6.91 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.71 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.87 (1H, dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz, H-6').

^{13}C -NMR (151 MHz, Acetone- d_6 +D₂O, r.t.) δ : Upper unit, 82.8 (C-2), 72.5 (C-3), 38.2 (C-4), 157.9 (C-5), 97.2 (C-6), 156.9 (C-7), 95.9 (C-8), 156.8 (C-9), 106.2 (C-10), 132.1 (C-1'), 115.9 (C-2'), 145.6 (C-3'), 145.3 (C-4'), 115.5 (C-5'), 120.5 (C-6'); Middle unit, 76.9 (C-2), 72.3 (C-3), 36.4 (C-4), 156.5 (C-5), 97.0 (C-6), 156.0 (C-7), 106.5 (C-8), 155.6 (C-9), 100.4 (C-10), 132.3 (C-1'), 115.0 (C-2'), 145.2 (C-3'), 144.8 (C-4'), 115.4 (C-5'), 118.2 (C-6'); Lower unit, 81.5 (C-2), 67.5 (C-3), 27.1 (C-4), 155.1 (C-5), 96.8 (C-6), 155.1 (C-7), 107.2 (C-8), 153.4 (C-9), 100.4 (C-10), 132.0 (C-1'), 114.4 (C-2'), 145.2 (C-3'), 145.1 (C-4'), 115.7 (C-5'), 119.0 (C-6').

(+)-Catechin (61) 白色粉末

ESI-MS: m/z 289 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, Acetone-H₂O 1:1): +11.1°

^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6 +D₂O, r.t.) δ : 6.85 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.75 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.69 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6'), 5.98 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.82 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 4.49 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2), 3.94 (1H, dt, $J = 5.4, 8.4$ Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, $J = 5.4, 15.6$ Hz, H-4a), 2.47 (1H, dd, $J = 8.4, 15.6$ Hz, H-4b).

(+)-Gallocatechin (62) 白色粉末

ESI-MS: m/z 305 [M-H]⁻.

$[\alpha]_D$ (*c* 1.0, Acetone-H₂O 1:1): +10.5°

^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6 +D₂O, r.t.) δ : 6.42 (2H, s, H-2', 6'), 5.97 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.81 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 4.42 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2), 3.93 (1H, dt, $J = 6.0, 9.0$ Hz, H-3), 2.83 (1H, dd, $J = 6.0, 16.2$ Hz, H-4a), 2.45 (1H, dd, $J = 9.0, 16.2$ Hz, H-4b).

6'-O-Feruloylsyringin (63) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 571 [M+Na]⁺, 547 [M-H]⁻.

HR-ESI-MS: m/z 571.1810 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₇H₃₂O₁₂Na, 571.1785)

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -46.3°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 220 (4.52), 270 (4.17), 325 (4.13) nm

CD (MeOH) $[\theta]_{209} +1.2 \times 10^4$, $[\theta]_{232} +3.6 \times 10^3$, $[\theta]_{264} +8.5 \times 10^3$, $[\theta]_{321} -9.0 \times 10^3$

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.50 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7"), 7.13 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2"), 7.00 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz, H-6"), 6.45 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5"), 6.65 (2H,s, H-3,5), 6.40 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 6.25 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8"), 6.19 (1H, dt, *J* = 5.4, 15.6 Hz, H-8), 4.68 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-1'), 4.36 (2H, d, *J* = 4.2 Hz, H-6'), 4.15 (2H, dd, *J* = 1.2, 5.4 Hz, H-9), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.81 (6H, s, OCH₃×2), 3.52 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-2'), 3.39-3.46 (3H, m, H-3', 4', 5').

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 136.2 (C-1), 155.4 (C-2,6), 106.0 (C-3,5), 136.1 (C-4), 132.1 (C-7), 130.6 (C-8), 64.4 (C-9), 105.9 (C-1'), 76.3 (C-2'), 78.6 (C-3'), 72.7 (C-4'), 76.5 (C-5'), 65.3 (C-6'), 128.5 (C-1''), 112.4 (C-2''), 150.2 (C-3''), 151.5 (C-4''), 117.3 (C-5''), 125.1 (C-6''), 147.7 (C-7''), 116.1 (C-8''), 169.7 (C-9''), 57.7 (OCH₃×2), 57.3 (OCH₃).

p-Coumaric acid (64) 白色粉末

ESI-MS: m/z 163 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) 7.59 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 7.44 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2,6), 6.80 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3,5), 6.27 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8).

trans-Ferulic acid (65) 白色粉末

ESI-MS: m/z 193 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.59 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-7), 7.17 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.05 (1H, dd, *J* = 2.0, 7.8 Hz, H-6), 6.80 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5), 6.30 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-8), 3.88 (3H, s, OCH₃).

Caffeic acid (66) 淡黃色粉末

ESI-MS: m/z 179 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.52 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 7.03 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 6.21 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8).

Chlorogenic acid (67) 類白色粉末

ESI-MS: m/z 179 [M-H]⁻.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.55 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-7'), 7.04 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 6.95 (1H, dd, *J* = 1.8, 8.4 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.25 (1H, d, *J* = 16.2 Hz, H-8'), 5.32 (1H, dt, *J* = 4.2, 8.4 Hz, H-5), 4.16 (1H, dt, *J* = 3.0, 5.4 Hz, H-3), 4.72 (1H, dd, *J* = 3.0, 8.4 Hz, H-4), 2.21 (1H, m, H-6a), 2.07 (1H, dd, *J* = 8.4, 12.6 Hz, H-6b), 2.17 (1H, dd, *J* = 3.0, 14.4 Hz, H-2a), 2.04 (1H, dd, *J* = 5.4, 14.4 Hz, H-2b).

5-O-p-Coumaroylquinic acid (68) 白色粉末

ESI-MS: m/z 337 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -44.1°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 210 (4.12), 226 (4.09), 312 (4.32) nm

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.62 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7'), 7.46 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.80 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.32 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8'), 5.33 (1H, m, H-5), 4.16 (1H, m, H-3), 3.71 (1H, dd, *J* = 3.0, 8.4 Hz, H-4), 1.98-2.20 (4H, m, H-2, 6).

Phellolactone (69) 白色粉末

ESI-MS: m/z 297 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): +4.0°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 201 (4.27), 220 (4.24), 264 (4.02), 294 (3.82) nm

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.60 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.4 Hz, H-6'), 7.58 (1H, d, *J* = 2.0

Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 4.54 (1H, s, H-2), 4.42 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-5a), 4.38 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-5b), 4.40 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-4a), 4.25 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-4b), 3.90 (3H, s, OCH₃).

Vittarilide A (70) 白色粉末

ESI-MS: m/z 339 [M-H]⁻.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): +44.3°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 217 (4.23), 244 (4.01), 300 (4.10), 328 (4.21) nm

¹H-NMR (600 MHz, Acetone-*d*₆, r.t.) δ: 7.58 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8'), 7.16 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 7.04 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.30 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8') , 4.61 (1H, dd, $J = 4.8, 6.6$ Hz, H-4), 4.48 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, H-3), 4.45 (1H, dd, $J = 3.0, 11.4$ Hz, H-6a), 4.32 (1H, dd, $J = 6.6, 11.4$ Hz, H-6b), 4.33 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-2), 4.29 (1H, dt, $J = 3.0, 6.6$ Hz, H-5).

Citrusin C (71) 白色粉末

ESI-MS: m/z 349 [M+Na]⁺.

[α]_D (*c* 1.0, MeOH): -55.5°

UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (4.58), 225 (3.87), 278 (3.36) nm

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 7.08 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-3), 6.72 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-5), 5.94 (1H, ddt, $J = 6.6, 9.6, 16.8$ Hz, H-8), 5.05 (1H, dd, $J = 1.8, 16.8$ Hz, H-9a), 5.03 (1H, dd, $J = 1.8, 9.6$ Hz, H-9b), 4.83 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, Glc-1), 3.86 (1H, dd, $J = 1.8, 12.0$ Hz, Glc-6a), 3.68 (1H, dd, $J = 4.8, 12.0$ Hz, Glc-6b), 3.43-3.49 (2H, m, Glc-2,3), 3.37-3.38 (2H, m, Glc-4,5), 3.32 (2H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7), 3.83 (3H, s, OCH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄, r.t.) δ: 137.2 (C-1), 114.9 (C-2), 151.6 (C-3), 147.1 (C-4), 119.1 (C-5), 122.9 (C-6), 41.6 (C-7), 139.8 (C-8), 116.7 (C-9), 103.9 (Glc-1), 75.7 (Glc-2), 78.6 (Glc-3), 72.1 (Glc-4), 79.0 (Glc-5), 63.3 (Glc-6), 57.5 (OCH₃).

謝辞

本研究を終えるにあたり、研究遂行にあたり丁寧なご指導、ご助言をいただきました岡山大学医歯薬学総合研究科・波多野 力教授に心より感謝いたします。折に触れ、的確なご助言をいただきました本学部・谷口 抄子准教授に深く感謝いたします。また、本学部附属薬用植物園・下津 祐樹助教に感謝いたします。

抗菌活性実験を行わせて頂くにあたり、ご指導、ご助言を賜りました広島大学大学院医歯薬保健学研究院・微生物医薬品開発学・黒田 照夫教授に深謝いたします。

また、本研究を進めるにあたり、多大な支援をいただきました本学救急薬学・名倉 弘哲教授に感謝いたします。

最後になりましたが、日夜共に本学部生薬学教室で過ごした諸先輩方、後輩の皆様、同輩の皆様に感謝いたします。

2017年3月

崔 艷梅

参考文献

- (1) H. Katsura, R. Tsukiyama, A. Suzuki, M. Kobayashi, In vitro antimicrobial activities of bakuchiol against oral microorganisms. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 3009–3013 (2001).
- (2) Z. Chen, K. Jin, L. Gao, G. Lou, Y. Jin, Y. Yu, Y. Lou, Anti-tumor effects of bakuchiol, an analogue of resveratrol, on human lung adenocarcinoma A549 cell line. *Eur. J. Pharmacol.*, **643**, 170–179 (2010).
- (3) S. H. Lim, T. Y. Ha, J. Ahn, S. Kim, Estrogenic activities of *Psoralea corylifolia* L. seed extracts and main constituents. *Phytomedicine*, **18**, 425–430 (2011).
- (4) M. Don, L. Lin, W. Chiou, Neobavaisoflavone stimulates osteogenesis via p38-mediated up-regulation of transcription factors and osteoid genes expression in MC3T3-E1 cells. *Phytomedicine*, **19**, 551–561 (2012).
- (5) A. T. Mbaveng, L. P. Sandjo, S. B. Tankeo, A. R. Ndifor, A. Pantaleon, B. T. Nagdji, V. Kuete1, Antibacterial activity of nineteen selected natural products against multi-drug resistant Gram-negative phenotypes. *Springer Plus*, **4**, 823–831 (2015).
- (6) T. C. Rho, E. A. Bae, D. H. Kim, W. K. Oh, B. Y. Kim, J. S. Ahn, H. S. Lee, Anti-*Helicobacter pylori* activity of quinolone alkaloids from *Evodiae fructus*. *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 1141–1143 (1999).
- (7) X. B. Pan, S. W. A. Bligh, E. Smith, Quinolone alkaloids from *Fructus Euodiae* show activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytother. Res.*, **28**, 305–307 (2014).
- (8) K. L. Wang, S. M. Hsia, J. Y. Yeh, S. C. Cheng, P. S. Wang, S. W. Wang, Anti-proliferative effects of evodiamine on human breast. *Plos One*, **8**, 1–8 (2013).
- (9) J. Wu, M. Chang, C. Chen, H. Lin, H. Tsai, C. Yang, C. Yang, C. Lin, Topoisomerase I inhibitor evodiamine acts as an antibacterial agent against drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Planta Med.*, **79**, 27–29 (2013).
- (10) B. Chopra, A. K. Dhingra, K. L. Dhar, Antimicrobial activity of *Psoralea corylifolia* Linn. (Baguchi) seeds extracts by organic solvents and supercritical fluids. *IJPCR*, **5**, 13–16 (2013).
- (11) C. Labbe, F. Faini, J. Coll, D. J. Connolly, Bakuchiol derivatives from the leaves of *Psoralea Glandulosa*. *Phytochemistry*, **42**, 1299–1303 (1996).

- (12) H. L. Chen, X. L. Du, W. Tang, Y. Zhou, J. P. Zuo, H. J. Feng, Y. C. Li, Synthesis and structure–immunosuppressive activity relationships of bakuchiol and its derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 2403–2411 (2008).
- (13) G. D. Xiao, G. W. Li, L. Chen, Z. J. Zhang, J. J. Yin, T. Wu, Z. H. Cheng, X. H. Wei, Z. T. Wang, Isolation of antioxidants from *Psoralea corylifolia* fruits using high-speed counter-current chromatography guided by thin layer chromatography–antioxidant autographic assay. *J. Chromatogr. A*, **1217**, 5470–5476 (2010).
- (14) K. Y. Oh, J. H. Lee, M. J. C. Long, J. K. Cho, J. Y. Kim, W. S. Lee, K. H. Park, Glycosidase inhibitory phenolic compounds from the seed of *Psoralea corylifolia*. *Food Chemistry*, **121**, 940–945 (2010).
- (15) L. H. Zhao, C. Y. Huang, Z. Shan, B. R. Xiang, L. H. Mei, Fingerprint analysis of *Psoralea corylifolia* L. by HPLC and LC–MS. *J. Chromatogr. B*, **821**, 67–74 (2005).
- (16) S. Yin, C. Q. Fan, Y. Wang, L. Dong, J.M. Yue, Antibacterial prenylflavone derivatives from *Psoralea corylifolia*, and their structure–activity relationship study. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 4387–4392 (2004).
- (17) T. Hakamatsuka, Y. Ebizuka, U. Sankawa, Induced isoflavonoids from copper chloride-treated stems of *Pueraria Lobata*. *Phytochemistry*, **30**, 1481–1482 (1991).
- (18) J. Kinjo, J. Furusawa, J. Baba, T. Takeshita, M. Yamasaki, T. Nohara, Studies on constituents of *Pueraria Lobata* 3: isoflavonoids and related compounds in the roots and voluble stems. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4846–4850 (1987).
- (19) M. H. Lee, J. Y. Kim, J. H. Ryu, Prenylflavones from *Psoralea corylifolia* inhibit nitric oxide synthase expression through the inhibition of I–κB–α degradation in activated microglial cells. *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 2253–2257 (2005).
- (20) C. Xie, N. C. Veitch, P. J. Houghton, M. S. J. Simmonds, Flavone C–glycosides from *Viola yedoensis* MAKINO. *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 1204–1207 (2003).
- (21) K. Yasukawa, T. Kaneko, S. Yamanouchi, M. Takido, Studies on the constituents in the water extracts of crude drugs 5: on the leaves of *Desmodium styracifolium* MERR. *Yakugaku Zasshi*, **106**, 517–519 (1986).
- (22) S. S. Du, H. M. Zhang, C. Q. Bai, C. F. Wang, Q. Z. Liu, Z. L. Liu, Y. Y. Wang, Z. W. Deng, Nematocidal flavone–C–glycosides against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

- from *Arisaema erubescens* tubers., *Molecules*, **16**, 5079–5086 (2011).
- (23) T. Masuda, M. Takasugi, M. Anetai, Psoralen and other linear furanocoumarins as phytoalexins in *Glehnia littoralis*. *Phytochemistry*, **47**, 13–16 (1998).
- (24) Y. J. Kim, H. Lee, E. Park, S. H. Shim, Inhibition of human 20S proteasome by compounds from seeds of *Psoralea corylifolia*. *Bull. Korean Chem.*, **30**, 1867–1869 (2009).
- (25) S. Yahara, C. Sugimura, T. Nohara, Y. Niiho, Y. Nakajima, H. Ito, Studies on the constituents of Cnidii Monnierii Fructus. *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 74–78 (1993).
- (26) C. F. Qiao, Q. B. Han, S. F. Mo, J. Z. Song, L. J. Xu, S. L. Chen, D. J. Yang, L. D. Kong, H. F. Kung, H. X. Xu, Psoralenoside and isopsoralenoside, two new benzofuran glycosides from *Psoralea corylifolia*., *Chem. Pharm. Bull.*, **54**, 714–716 (2006).
- (27) A. I. Hamed, I. V. Springuel, N. A. Ei-emary, Benzofuran glycosides from *Psoralea plicata* seeds., *Phytochemistry*, **50**, 887–890 (1999).
- (28) V. Rukachaisirikul, N. Khamthong, Y. Sukpondma, S. Phongpaichit, N. Hutailok-towatana, P. Graidist, J. Sakayaroj, K. Kirtikara, Cyclohexene, diketopiperazine, lactone and phenol derivatives from the sea fan-derived fungi *Nigrospora* sp. PSU-F11 and PSU-F12. *Arch Pharm Res*, **22**, 375–380 (2010).
- (29) H. X. Chen, C. A. Geng, T. W. Cao, X. M. Zhang, Y. B. Ma, X. Y. Huang, J. J. Chen, Chemical structure of capsicuaside A from fruits of *Capsicum annuum*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **38**, 1934–1937 (2013).
- (30) Z. G. Ding, J. Y. Zhao, P. W. Yang, M. G. Li, R. Huang, X. L. Cui, M. L. Wen, ^1H and ^{13}C NMR assignments of eight nitrogen containing compounds from *Nocardia alba* sp.nov (YIM 30243^T). *Magn. Reson. Chem.*, **47**, 366–370 (2009).
- (31) X. C. Li, A. S. Joshi, H. N. Elsohly, S. I. Khan, M. R. Jacob, Z. Z. Zhang, I. A. Khan, D. Ferreira, L. A. Walker, S. E. Broedel, R. E. Raulli, R. L. Cihlar, Fatty acid synthase inhibitors from plants: isolation, structure elucidation, *J. Nat. Prod.*, **65**, 1909–1914 (2002).
- (32) S. Okamura, E. Nishiyama, T. Yamazaki, N. Otsuka, S. Taniguchi, W. Ogawa, T. Hatano, T. Tsuchiya, T. Kuroda, Action mechanism of 6,6'-dihydroxythiobinupharidine from *Nuphar japonicum*, which showed anti-MRSA and anti-VRE activities. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1850**, 1245–1252 (2015).
- (33) T. Hatano, Y. Shintani, Y. Aga, S. Shiota, T. Tsuchiya, T. Yoshida, Phenolic constituents of

Licorice VIII. Structures of glicophenone and glicoisoflavanone, and effects of Licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1286–1292 (2000).

- (34) W. Zhao, Z. Hu, S. Okubo, Y. Hara, T. Shimamura, Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and β -lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 1737–1742 (2001).
- (35) M. Kusuda, K. Inada, T. Ogawa, T. Yoshida, S. Shiota, T. Tsuchiya, T. Hatano, Polyphenolic constituent structures of *Zanthoxylum piperitum* fruit and the antibacterial effects of its polymeric procyanidin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 1423–1431 (2006).
- (36) X. X. Wang, K. Zan, S. P. Shi, K. W. Zeng, Y. Jiang, Y. Guan, C. L. Xiao, H. Y. Gao, L. J. Wu, P. F. Tu, Quinolone alkaloids with antibacterial and cytotoxic activities from the fruits of *Evodia rutaecarpa*. *Fitoterapia*, **89**, 1–7 (2013).
- (37) T. Sugimoto, T. Miyase, M. Kuroyanagi, A. Ueno, Limonoids and quinolone alkaloids from *Evodia rutaecarpa* BENTHAM. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4453–4461 (1988).
- (38) M. W. Biavatt, P. C. Vieiraa, M. F. das G. F. da Silvaa, J. B. Fernandes, S. R. Victorb, F. C. Pagnoccab, S. Albuquerquec, I. Caracellia, J. Z. Schpector, Biological activity of quinoline alkaloids from *Raulinoa echinata* and X-ray structure of flindersiamine. *J. Braz. Chem. Soc.*, **13**, 66–70 (2002).
- (39) C. S. Lee, C. K. Liu, Y. L. Chiang, Y. Y. Cheng, One-pot reductive-cyclization as key step for the synthesis of rutaecarpine alkaloids. *Tetrahedron Lett.*, **49**, 481–484 (2008).
- (40) A. Nakayama, N. Kogure, M. Kitajima, H. Takayama, Straightforward asymmetric total synthesis of (+)-evodiamine, a major indole alkaloid in herbal medicine “Wu Zhu Yu”. *Heterocycles*, **76**, 861–865 (2008).
- (41) Y. D. Min, H. C. Kwon, M. C. Yang, K. H. Lee, S. U. Choi, K. R. Lee, Isolation of limonoids and alkaloids from phellodendron amurense and their multidrug resistance (MDR) reversal activity. *Arch Pharm Res*, **30**, 58–63 (2007).
- (42) L. E. de Carvalho, M. a da P. Lima, A. da C. Máximo, E. C. da S. Pereira, W. A. dos S. Moreira, Estudo em raiz e raquis foliar de spathelia excelsa: fitoquímica e atividade frente ao fungo moniliophthora perniciosa associado ao cupuacuzeiro (*Theobroma grandiflorum*). *Quim. Nova.*,

35, 2237–2240 (2012).

- (43) Z. Guvenalp, L. O. Demirezer, Flavonol glycosides from *Asperula arvensis* L.. *Turk. J. Chem.*, **29**, 163–169 (2005).
- (44) S. Yang, S. Park, D. Ahn, J. H. Yang, D. K. Kim, Antioxidative constituents of the aerial parts of *Galium spurium*. *Biomol Ther*, **19**, 336–341 (2011).
- (45) D. W. Kim, H. I. Cho, K. M. Kim, S. J. Kim, J. S. Choi, Y. S. Kim, S. M. Lee, Isorhamnetin-3-O-galactoside protects against CCl₄-induced hepatic injury in mice. *Biomol Ther*, **20**, 406–412 (2012).
- (46) D. Gutzeit, V. Wray, P. Winterhalter, G. Jerz, Preparative isolation and purification of flavonoids and protocatechuic acid from sea buckthorn juice concentrate (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) by high-speed counter-current chromatography. *Chromatographia*, **65**, 1–7 (2007).
- (47) G. Nonaka, I. Nishioka, Tannins and related compounds 7: phenylpropanoid - substituted epicatechins, cinchonains from *Cinchona succirubra*. *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4268–4276 (1982).
- (48) H. F. Chen, T. Tanaka, G. Nonaka, T. Fujioka, K. Mihashi, Phenylpropanoid–substituted catechins from *castanopsis hystrix* and structure revision of cinchonains. *Phytochemistry*, **33**, 183–187 (1993).
- (49) L. Y. Foo, Phenylpropanoid derivatives of catechin, epicatechin and phylloflavan from *Phyllocladus trichomanoides*. *Phytochemistry*, **26**, 2825–2830 (1987).
- (50) W. Fan, Y. Tezuka, Q. Xiong, M. Hattori, T. Namba, S. Kadota, Apocynins A–D: new phenylpropanoid - substituted flavan - 3 - ols isolated from leaves of *Apocynum venetum* (Luobuma-Ye). *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1049–1050 (1999).
- (51) T. Hatano, R. W. Hemingway, Conformational isomerism of phenolic procyanidins: preferred conformations in organic solvents and water. *J. C. S., Perkin Trans. 2*, 1035–1043 (1997).
- (52) R. S. Thompson, D. Jacques, E. Haslam, R. J. N. Tanner, Plant Proanthocyanidins. Part 1. introduction; the isolation, structure, and distribution in nature of plant procyanidins. *J. C. S., Perkin I*, 1387–1399 (1972).
- (53) W. Fujii, K. Toda, K. Kawaguchi, S. Kawahara, M. Katoh, Y. Hattori, H. Fujii, H. Makabe, Syntheses of prodelphinidin B3 and C2, and their antitumor activities through cell cycle arrest

and caspase-3 activation. *Tetrahedron*, **69**, 3543–3550 (2013).

- (54) S. Prachayasittikul, S. Suphapong, A. Worachartcheewan, R. Lawung, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. *Molecules*, **14**, 850–867 (2009).
- (55) C. M. Ma, M. Kully, J. K. Khan, M. Hattori, M. Daneshtalab, Synthesis of chlorogenic acid derivatives with promising antifungal activity. *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 6830–6833 (2007).
- (56) X. H. Li, W. J. Zhang, H. Y. Qi, Y. P. Shi, A new phenolic lactone from the bark of *Phellodenfron Chinese.*, *Chin. Chem. Lett.*, **20**, 958–960 (2009).
- (57) P. L. Wu, Y. L. Hsu, C. W. Zao, A. G. Damu, T. S. Wu, Constituents of *Vittaria anguste-elongata* and their biological activities. *J. Nat. Prod.*, **68**, 1180–1184 (2005).
- (58) R. W. Teng, D. Z. Wang, Y. S. Wu, Y. Lu, Q. T. Zheng, C. R. Yang, Spectral assignments and reference data. *Magn. Reson. Chem.*, **43**, 92–96 (2005).
- (59) M. W. Barrett, W. Klyne, P. M. Scopes, A. C. Fletcher, L. J. Porter, E. Haslam, Plant proanthocyanidins. Part 6. Chiroptical studies. Part 95. Circular dichroism of procyanidins. *J. C. S. Perkin I*, 2375–2377 (1979).
- (60) T. Okuda, T. Yoshida, T. Hatano, Constituents of *Geranium thunbergii* Sieb. et Zucc. Part 12: hydrated stereostructure and equilibration of geraniin. *J. Chem. Soc., Perkin I*, 9–14 (1982).
- (61) Y. L. Huang, Y. Matsuo, T. Tanaka, I. Kouno, D. P. Li, G. Nonaka, New phenylpropanoid-substituted flavan-3-ols from the leaves of *Castanopsis sclerophylla*. *Heterocycles*, **83**, 2321–2328 (2011).
- (62) P. V. Kiem, C. V. Minh, N. T. Dat, X. F. Cai, J. J. Lee, Y. H. Kim, Two new phenylpropanoid glycosides from the stem bark of *Acanthopanax trifoliatus*. *Arch. Pharm. Res.*, **26**, 1014–1017 (2003).
- (63) C. Wan, T. Yuan, A. L. Cirello, N. P. Seeram, Antioxidant and α -glucosidase inhibitory phenolics isolated from highbush blueberry flowers. *Food Chemistry*, **135**, 1929–1937 (2012).
- (64) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会 (1989 年) 微量液体希釈による MIC 測定法 (微量液体希釈法). *Chemotherapy*, **38**, 102–105 (1990).

参考論文および学会発表

1. 参考論文

Constituents of *Psoralea corylifolia* fruits and their effects on methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Yanmei Cui, Shoko Taniguchi, Teruo Kuroda, and Tsutomu Hatano. *Molecules*, **20**, 12500-12511, 2015 (IF 2.465).

2. その他の論文

Hatano T, Eerdunbayaer, Cui Y, Kuroda T, Shimozu Y. (2016) Licorice as a resource for pharmacologically active phenolic substances: Antioxidant and antimicrobial effects. “Research of Licorice in the Past, present and Future - Preparation of Various Bioactive Extracts as Alternative Medicines” (Ed by Sakagami H), In Tech, Rijeka, Croatia, in press.

3. 学会発表

1) 補骨脂の成分 (第1報)

崔 艷梅, 谷口 抄子, 波多野 力

日本薬学会第 134 年会 2014 年 3 月 (熊本)

2) 補骨脂成分の研究 (第2報)

崔 艷梅, 谷口 抄子, 黒田 照夫, 波多野 力

日本生薬学会第 61 年会 2014 年 9 月 (福岡)

3) 補骨脂成分の構造とメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対する抗菌作用

崔 艷梅, 谷口 抄子, 黒田 照夫, 波多野 力

第六回食薬シンポジウム 2015 年 10 月 (岡山)

4) 吳茱萸の成分研究 (第1報) ポリフェノール成分

崔 艷梅, 谷口 抄子, 黒田 照夫, 波多野 力

日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 (横浜)

化合物番号

- 1.** Bakuchiol
- 2.** Δ^3 ,2-Hydroxylbakuchiol
- 3.** Δ^1 ,3-Hydroxylbakuchiol
- 4.** 12,13-Diolbakuchiol
- 5.** Bavachinin
- 6.** Bavachin
- 7.** Bakuflavanone
- 8.** Neobavaisoflavone
- 9.** Corylin
- 10.** Corylifol A
- 11.** 8-Prenyldaidzein
- 12.** Daidzein
- 13.** Bakuisoflavone
- 14.** Daidzin
- 15.** Isobavachalcone
- 16.** Corylifol B
- 17.** Bavachalcone
- 18.** Corylifol C
- 19.** Neoschaftoside
- 20.** Isoschaftoside
- 21.** Schaftoside
- 22.** Poralidin
- 23.** Psoralen
- 24.** Isopsoralen
- 25.** Cnidioside A
- 26.** Psoralenoside

- 27.** Isopsoralenoside
- 28.** Psoralic acid *O*-glucopyranoside
- 29.** Isopaoralic acid *O*-glucopyranoside
- 30.** Isopaoralic acid *O*-glucopyranoside
- 31.** *p*-Hydroxybenzoic acid
- 32.** Uridine
- 33.** Uracil
- 34.** 1-Methyl-2-[(*Z*)-6-undecenyl]-4(*1H*)-quinolone
- 35.** 1-Methyl-2-[(4*Z*,7*Z*)-4,7-tridecadienyl]-4(*1H*)-quinolone
- 36.** 1-Methyl-2-undecyl-4(*1H*)-quinolone
- 37.** Evocarpine
- 38.** Dihydroevocarpine
- 39.** 1-Methyl-2-tetradecyl-4(*1H*)-quinolone
- 40.** 1-Methyl-2-pentadecyl-4(*1H*)-quinolone
- 41.** Rutaecarpine
- 42.** Rhetsinine
- 43.** Evodiamine
- 44.** Limonin
- 45.** Evodol
- 46.** Hyperoside
- 47.** Isorhamnetin-3-*O*-glucopyranoside
- 48.** Isorhamnetin-3-*O*-galactopyranoside
- 49.** Isorhamnetin 3-*O*-rutinoside
- 50.** Rutaenin A
- 51.** Rutaenin B
- 52.** (*4R,8R,9S*)-4,8-Bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-
b:3,4-*b'*]dipyran-2-one
- 53.** (*4S,8R,9S*)-4,8-Bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-5,9-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,2-
b:3,4-*b'*]dipyran-2-one
- 54.** (*2R,3S,10R*)-2,10-Bis(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4,9,10-tetrahydro-3,5-dihydroxy-2*H*,8*H*-benzo[1,

2-b:3,4-b']dipyran-8-one

- 55.** Rhinchoin Ia
- 56.** Apocynin A
- 57.** Procyanidin B3
- 58.** Procyanidin B2
- 59.** Prodelfphinidin B3
- 60.** Catechin-(4 α - \rightarrow 8)-epicatechin-(4 β - \rightarrow 8)-catechin
- 61.** (+)-Catechin
- 62.** (+)-Gallocatechin
- 63.** 6'-*O*-Feruloylsyringin
- 64.** *p*-Coumaric acid
- 65.** *trans*-Ferulic acid
- 66.** Caffeic acid
- 67.** Chlorogenic acid
- 68.** 5-*O*-*p*-Coumaroylquinic acid
- 69.** Phellolactone
- 70.** Vittarilide A
- 71.** Citrusin C