

Title	イオノフォア活性試験法の開発とテルペノイド系イオノフォア活性物質の合成
Author(s)	大橋, 一慶
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/36405
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

イオノフォア活性試験法の開発と

テルペノイド系イオノフォア活性物質の合成

1989年

大橋一慶

目次

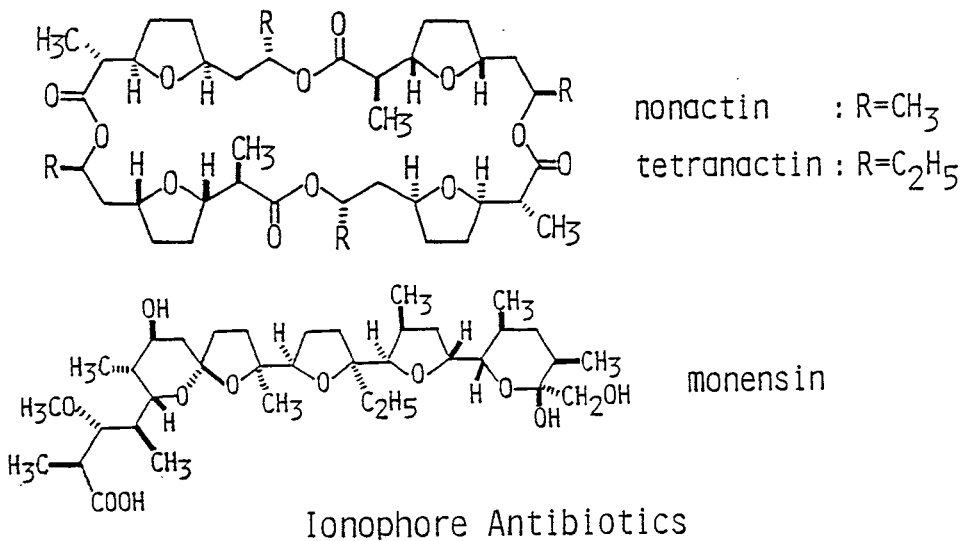
緒論	-----	1
本論	-----	6
第1章 イオノフォア活性試験法の開発	-----	6
第1節 人工透析膜装置	-----	7
第2節 ヒト赤血球膜法	-----	12
第2章 イオノフォア活性天然物の探索	-----	17
第1節 オリゴペプチドラクトン theonellapeptolide	-----	17
第2節 樹脂配糖体 merremoside および mammoside	-----	19
第3章 テルペノイドを素材としたイオノフォア活性物質の合成	-----	34
第1節 Geraniolから18員環ラクトンエポキシドの合成	-----	34
第2節 E,E-Farnesolから13および26員環ラクトンエポキシドの合成	-----	37
第4章 テルペノイド系大環状ラクトンエポキシドのイオノフォア活性	-----	40
第1節 人工透析膜を用いた活性試験	-----	40
第2節 ヒト赤血球膜法による活性試験	-----	44
第3節 考察	-----	46
結論	-----	48
謝辞	-----	49

実験の部	-----	50
第1章	-----	51
第1節	-----	51
第2節	-----	52
第2章	-----	55
第1節	-----	55
第2節	-----	58
第3章	-----	80
第1節	-----	80
第2節	-----	85
第4章	-----	92
第1節	-----	92
第2節	-----	103
引用文献	-----	107

緒 論

生体膜のイオン透過に直接関与する物質として、イオノフォア (Ionophore) と呼ばれる一群の化合物がある。¹⁾ 1951年にX-537A (lasalocide A), X-206, X-464 (nigericin)が単離されて以来、²⁾ 数多くのイオノフォア抗生物質が発見されているが、その初期の段階では、これらの化合物が比較的大きな分子量を有しかつ複雑な挙動を示すため、当時の分解反応を中心とした化学手段ではこれらの化学構造を決定するにはいたらなかった。しかし、これらの化合物の生物活性、特に膜のイオン輸送に関与することが次第に明らかにされ、また、1967年にmonensinの構造が銀塩のX線結晶解析³⁾で決定されて以来、生体膜のイオン輸送機構の解明という点からも、イオノフォアは大いに注目される様になった。

イオノフォアは、いずれも分子内に多数の酸素原子を有し、それが金属イオンを捕捉できるようなコンホメーションをとることが可能で、その金属錯体分子の外側が疎水性基でおおわれ脂溶性となり、脂質生体膜を容易に透過できるという性質を持っている。



また、イオノフォア抗生物質は、グラム陽性菌に強い抗菌活性を示すほか、tetranactinは殺虫剤として、また monensin, lasaloside A, salinomycin⁴⁾などは、鶏の抗コクシジウム剤として実用化されているが、特に、抗生物質において常に問題となっている耐性菌を産生しにくい薬物としても注目されている。

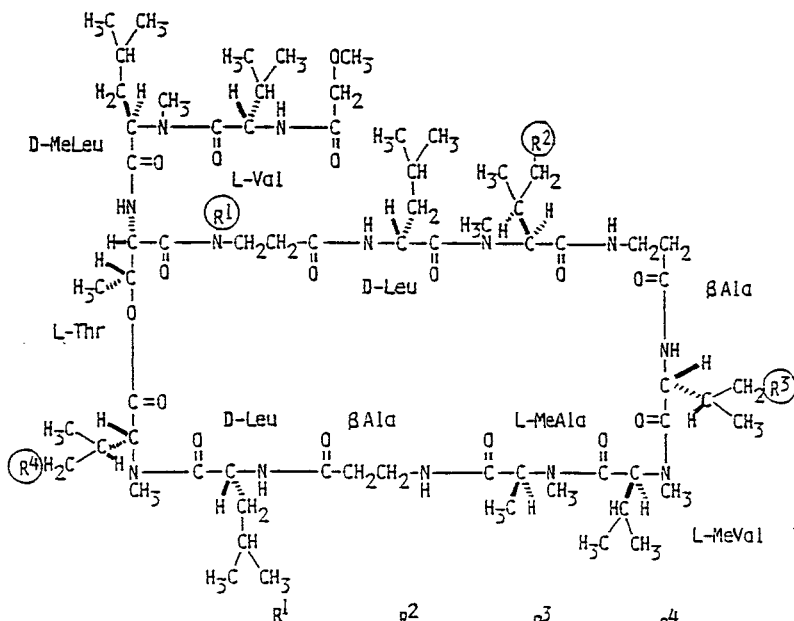
一方、人工的に合成されたイオノフォアとしては、1967年Pedersen⁵⁾によって、予期しない反応副生成物として得られた大環状ポリエーテル化合物(クラウンエーテル)が最初である。それ以後、大環状化合物に関する研究が広範囲に展開され、ホスト-ゲストの化学という一大分野を形成し、今なおその研究は盛んに行われている。また、ポリエーテルカルボン酸抗生物質である monensin, nigericin, lasaloside A など、非環状でありながらイオノフォアとしてカチオンの選択的輸送能を持つ一連の化合物の合成研究も盛んに行われている。

そして、現在これらのイオノフォアは、医学・生物学への応用ばかりでなく、液膜系でのカチオンの選択分離・濃縮や溶媒抽出、さらにはイオン選択電極用キャリアーとして分析化学への応用、など種々の分野への応用が期待されている。

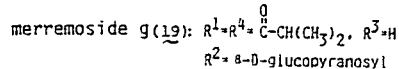
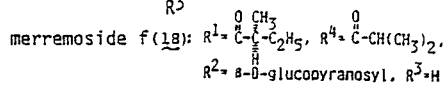
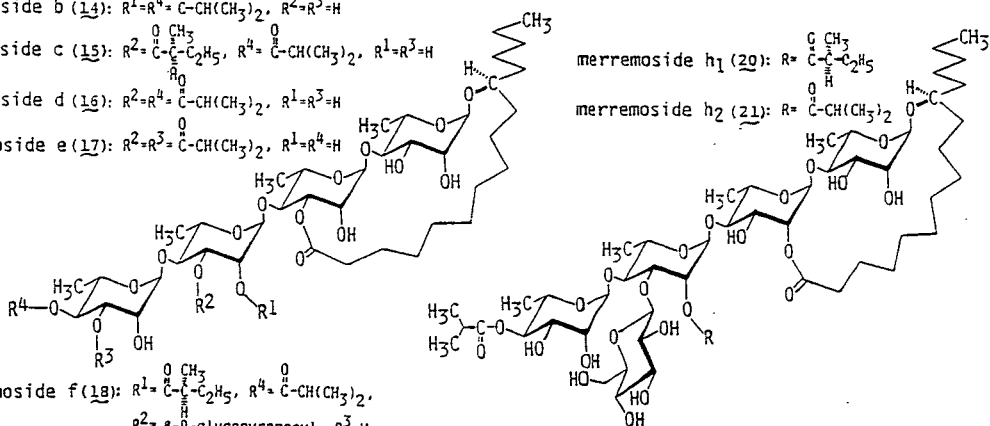
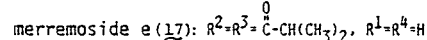
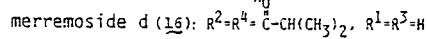
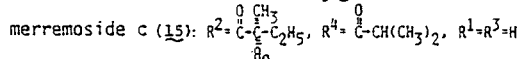
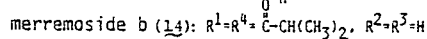
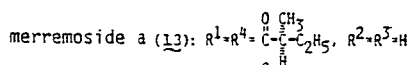
この様な背景のもと、著者は、われわれの研究室における生物活性物質の探索研究⁶⁾の一環として、まず、人工透析膜およびヒト赤血球膜を用いた2種の新しいイオノフォア活性試験法の開発を行い、その実用性を標準物質(すでにイオン捕捉能の知られているbenzo-15-crown-5-やdibenzo-18-crown-6などのクラウンエーテルおよびK-221D(Merck)と呼ばれるクリプタンド、またvalinomycin, monensin, A-23187などのイオノフォア抗生物質)を用いて確かめた。

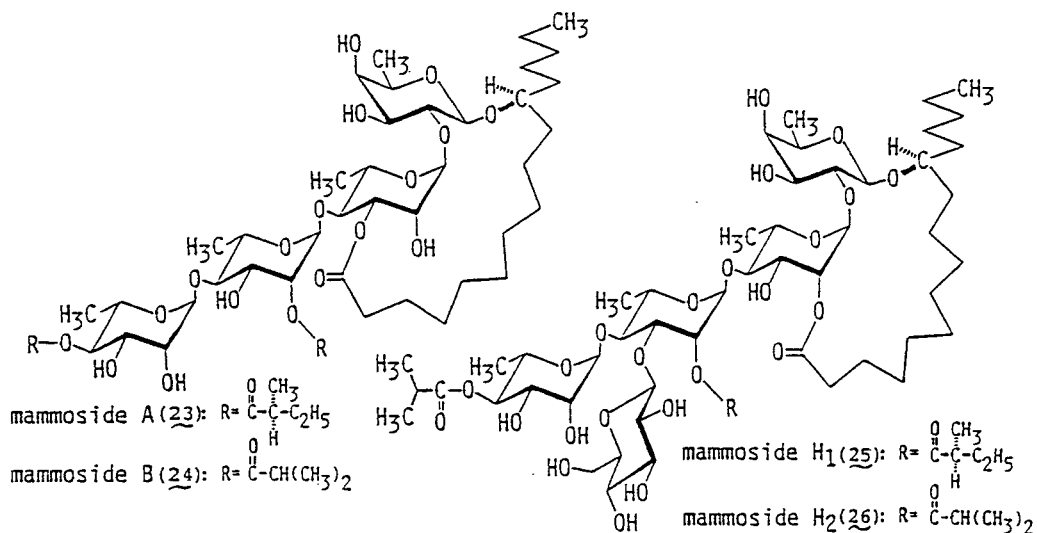
次に、この2種のイオノフォア活性試験法を、われわれの研究室で単離構造決定された種々の天然物質に適用し、Theonella属海綿の産生成分であるオリゴペプチドラクトン類^{6a)} theonellapeptolide Ia(7), Ib(8), Ic(9), Id(10), Ie(11)、およびインドネシア薬用植物 Merremia mammosa Chois. の含有成分mer-

remoside類(13~21)や、今回、著者が新たに単離したmammoside類(23~26)がイオノフォア活性を示すことを明かにした。

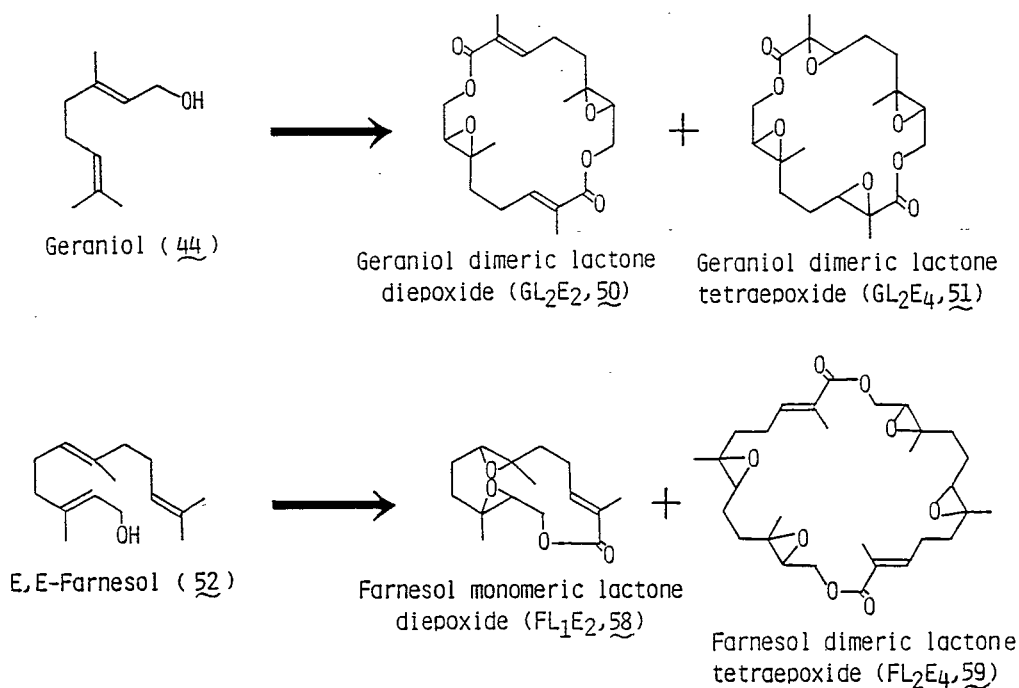


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
theonellapeptolide Ia (7) :	H	CH ₃	H	D-Val
Ib (8) :	H	H	L-MeVal	CH ₃
Ic (9) :	H	CH ₃	CH ₃	H
Id (10) :	H	βAla	CH ₃	D-MeVal
Ie (11) :	CH ₃	MeAla	CH ₃	CH ₃



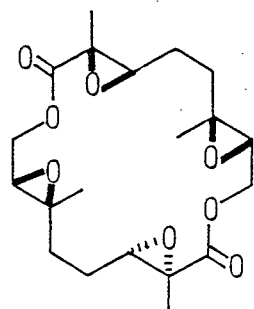


さらに、容易に入手可能な鎖状テルペノイドgeraniol及びE,E-farnesolを出発原料としたイオノフォア活性物質の合成研究を行い、途中、NaHを用いた簡便な新しいラクトン化法を鍵反応として、4種の大環状ラクトンエポキシド (GL₂E₂, GL₂E₄, FL₁E₂, FL₂E₄)を合成した。

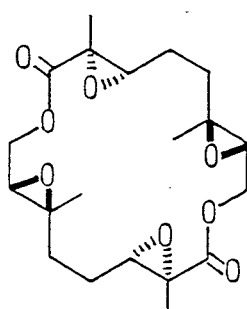


次に、得られた4種の化合物に対してイオノフォア活性試験を行ったところ、人工透析膜装置W-07では、GL₂E₄(51)にCa²⁺輸送能、FL₂E₄(59)にK⁺輸送能が観測され、ヒト赤血球を用いた活性試験では、GL₂E₄(51)にK⁺、Ca²⁺輸送能が、またFL₂E₄(59)にはK⁺輸送能のあることが明かとなった。しかし、これらのラクトンエポキシドはジアステレオマー混合物であるので、HPLCを用いてジアステレオマー分離を行い、それぞれ6種類ずつのジアステレオマーを得ることができた。そして得られた合計12種類の化合物について、さらにイオノフォア活性試験を行ったところ、それぞれのジアステレオマーによりイオノフォア活性の異なることが明かとなった。

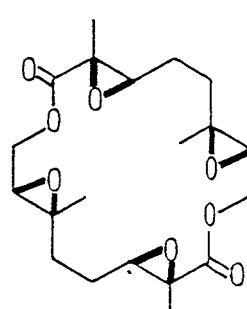
また、分離に成功した、6種のGL₂E₄ジアステレオマー(GL₂E₄-1-1~GL₂E₄-2-3)については、X線結晶解析および¹H NMRなどの解析によりその立体配置(64~69)も判明した。



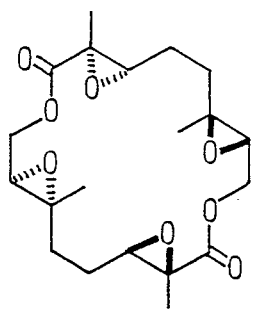
GL₂E₄-1-1 (64)



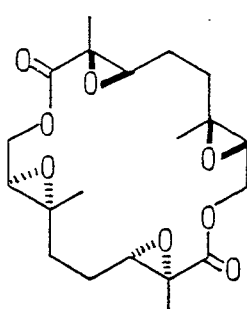
GL₂E₄-1-2 (65)



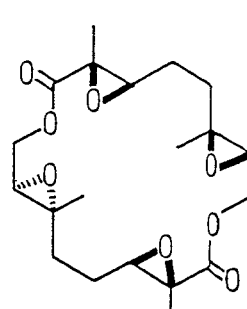
GL₂E₄-1-3 (66)



GL₂E₄-2-1 (67)



GL₂E₄-2-2 (68)



GL₂E₄-2-3 (69)

本 論

第1章 イオノフォア活性試験法の開発

生体における無機イオンの重要性が明かとなりイオノフォアへの興味が高まって以来、化合物のイオン輸送能を観測する方法として種々の試験法が考案されている。

生体膜の代わりに人工的な膜を用いた試験法としては、ホスホリピドやスフィンゴリピドなどを用いた人工的な脂質二重膜を通してのイオン輸送を、膜の電位、抵抗、電気容量の変化を測定することにより観測する試験法や⁷⁾液膜を生体膜に見立てて原子吸光法や放射性同位元素を用いてイオン輸送を観測する試験法⁸⁾もよく用いられている。

また実際に生体膜を用いた試験法としては、ミトコンドリア⁹⁾、リボソーム¹⁰⁾や赤血球¹¹⁾などの細胞膜がよく用いられ、イオン電極、光散乱による細胞の形態変化、酸素電極を使った基質の呼吸速度の変化などの観測により、細胞内外のイオン分布状態の変化を調べている。

イオノフォアは様々な分野への応用が期待されているが、著者は、特にイオノフォア活性物質がもつ生物活性に着目し、生物活性物質探索のための新しい指標となるイオン輸送能測定装置の開発と、生体膜作用物質の探索のための活性試験法の開発を検討した。ここで、輸送を観測するイオンとしては、細胞内外の濃度差が顕著であるために、イオンバランスの微細な変化が生体に何らかの影響を与えることが予想される Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} を選び、それらのイオン輸送を測定することとした。

第1節 人工透析膜装置

山辺らは、^{8a)}人工透析膜を用いた液膜を持つ試験装置によって、dibenzo-18-crown-6による K^+ と Na^+ の分離を行っている。この装置を参考にして次のような装置(W-01)を試作した。(Fig. 1)

左右2個の亚克力製のセル(46mm x 75mm x 60mm :肉厚 5 mm)と、Visking社製人工透析膜(膜厚: 0.09 mm, 孔径: 24 Å)およびViton製O-リング(内径: 45 mm, 厚さ: 3.1 ± 0.1 mm)からなる装置で、左右のセルにはクロロホルム飽和のイオン水および脱イオン水をいれ、2枚の人工透析膜にはさまれたO-リング内には検体化合物のクロロホルム(水飽和)溶液を注入し、経時ごとに脱イオン水側のイオン濃度を測定することにより、検体化合物のイオンの輸送能を測定するものである。

実際、輸送能試験を行ってみると、液体膜に用いるクロロホルムに対して亚克力は溶けるのでセルが変形して液漏れが起こった。またセルの素材を塩化ビニルに変えて活性試験を行ったが同じ結果であった。さらにリング部分についても改良を行ったが、Viton製O-リング自体がクロロホルムにより膨潤して変形するため液漏れの原因となり、その上、リング内への検体溶液の注入・回収が非常に困難であった。

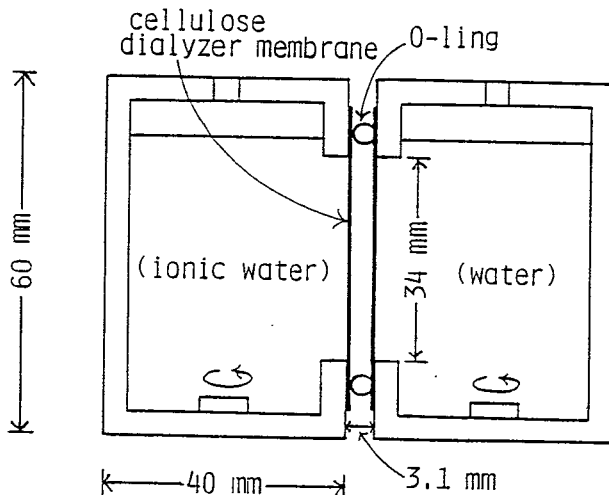


Fig. 1: Apparatus (W-01) for Measurement of Ion Transport Activity

そこで、セルの素材としてPyrexガラスを用いることとし、またセルとセルの間には、テフロン製リングを用いた活性試験装置の試作を行った。これにより、液体膜に用いるクロロホルムによるセルへの影響はなくなり、さらに、検体溶液の注入・回収も極めて容易になった。

しかし、活性試験を行ってみると検体溶液の減少が起こるなど種々の問題があり、さらに、検討・改良を重ねた結果、イオノフォア活性試験装置W-07を開発するに至った。

(1) 人工透析膜活性試験装置 (W-07)

左右2個のPyrexガラス製セル (内容積: 350 ml) による水相と、テフロン製リング内に2枚の人工透析膜 (Visking社製, 膜厚: 0.09 mm, 孔径: 24 Å) で隔てられた有機相 (液膜の厚さ: 4 mm, 容積: 2.0 ml) の3相からなる。セルはテフロンリングにはめ込み式になっており、セルのテフロンリングと接する面は、透明ずりになっている。さらにテフロンリングには、ねじ込み式の栓の付いた有機相 (検体溶液) 注入口がある。

セルの栓には、両側のセル内の気圧が等しくなるように、また、栓をする際に内部に圧力がかからないように空気抜き穴があいている。

スターラーからの熱による影響をさけるためセルとの間に断熱板を敷いた。

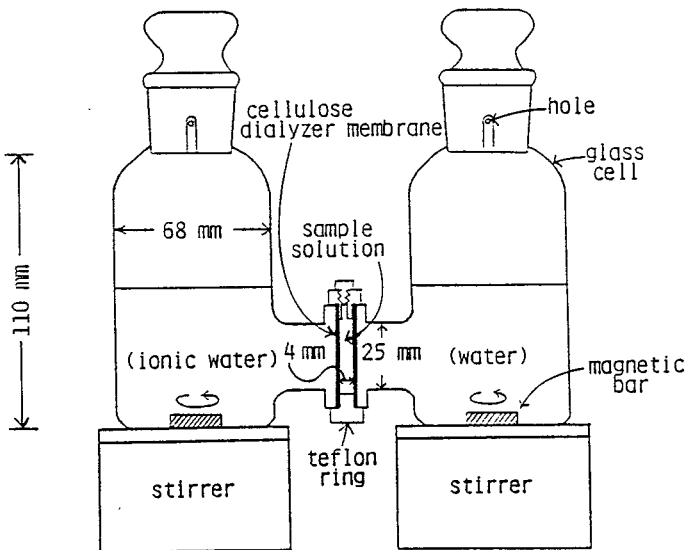


Fig. 2: Apparatus (W-07) for Measurement of Ion Transport Activity

操作法

1) ガラス器具はすべて1N HCl中に一晩つけた後、精製水（逆浸透膜を通したのち1回蒸留）で15回洗い、さらに超純水製造機（Milli-Q Labo; Millipore社製）の水で3回すすいだものを乾燥させて用いる。

2) イオン水の調製(1 mol/l)

Na⁺水溶液 : NaCl (特級) 29.22 gを超純水に溶かし500 mlとしたものを、クロロホルムで飽和させ一晩放置したものを用いる。

K⁺水溶液 : KCl (特級) 37.28 gを超純水に溶かし500 mlとしたものを、クロロホルムで飽和させ一晩放置したものを用いる。

Ca²⁺水溶液 : CaCO₃ (特級) 50.04 gを、35% aq. HCl (精密分析用) で中和しながら超純水を加え500 mlとしたものを、クロロホルムで飽和させ一晩放置したものを用いる。

3) 透析膜 (Visking社製、膜厚 ; 0.09 mm、孔径 ; 24 Å) を超純水に一昼夜以上浸したものを用いる。

4) 検体溶液 (有機層) には、検体を水飽和クロロホルムに溶かしたものを用いる。

5) 活性試験装置(W-07)の組立

超純水に膨潤させた透析膜を、セルに張り付け膜が乾かないようにすばやく器具を組み、膜の間に検体溶液を注入する。漏れのないことを確認した後、左側のセルに超純水 (クロロホルム飽和) を、右側のセルにイオン水を各々200 ml量り入れる。

6) イオン輸送能の測定

25°C (室温、± 2 °C) で両水相を攪拌しながら、測定開始直後から1時間毎に純水側から5 mlずつ採取し、同量の超純水 (クロロホルム飽和) を補っておく。そして原子吸光法を用いて、採取したサンプルの金属イオン濃度を測定する。

7) データ処理

次式にしたがって、各サンプリング時の純水側のモルイオン濃度(C_n^*)を求め、その値から単位時間当りの各金属イオンのモル輸送量(m)を算出した。

$$C_n^* = \frac{C_n V + \sum_{k=1}^{n-1} (C_k - C_0) V}{V}$$

C_n : n 回目の純水側イオン濃度の実測値 [mol/l]

C_0 : 使用した水のイオン濃度 [mol/l]

V : 純水側の水体积 [ml]

V : サンプル量 [ml]

(2) イオノイフォア活性の測定 (標準物質を用いた活性試験)

活性試験法の標準サンプルとして、benzo-15-crown-5 (1), dibenzo-18-crown-6 (2) および Kriptofix 221D (3)¹²⁾ を選び、それらの0.03 mol/l濃度における Na^+ , K^+ , Ca^{2+} に対するイオン輸送能を測定した。その結果、 Na^+ の捕捉剤として知られている benzo-15-crown-5 (1) は、 Na^+ ($m_{Na} = 9.91 \times 10^{-8}$ mol/hr) および K^+ ($m_K = 1.15 \times 10^{-8}$ mol/hr) の輸送能を有するが、 Ca^{2+} を輸送しないことが判明した。また、 K^+ の捕捉剤である dibenzo-18-crown-6 (2) は、 Na^+ , K^+ に対してbenzo-15-crown-5 (1)より高い輸送能 ($m_{Na} = 2.26 \times 10^{-7}$ mol/hr, $m_K = 7.33 \times 10^{-7}$ mol/hr) を示すが、 Ca^{2+} を輸送しない。一方、クリプタンD化合物のKriptofix 221D(3)は、3種のイオンに対して高い輸送能 ($m_{Na} = 5.72 \times 10^{-6}$ mol/hr, $m_K = 3.71 \times 10^{-5}$ mol/hr, $m_{Ca} = 4.08 \times 10^{-6}$ mol/hr) を示した。

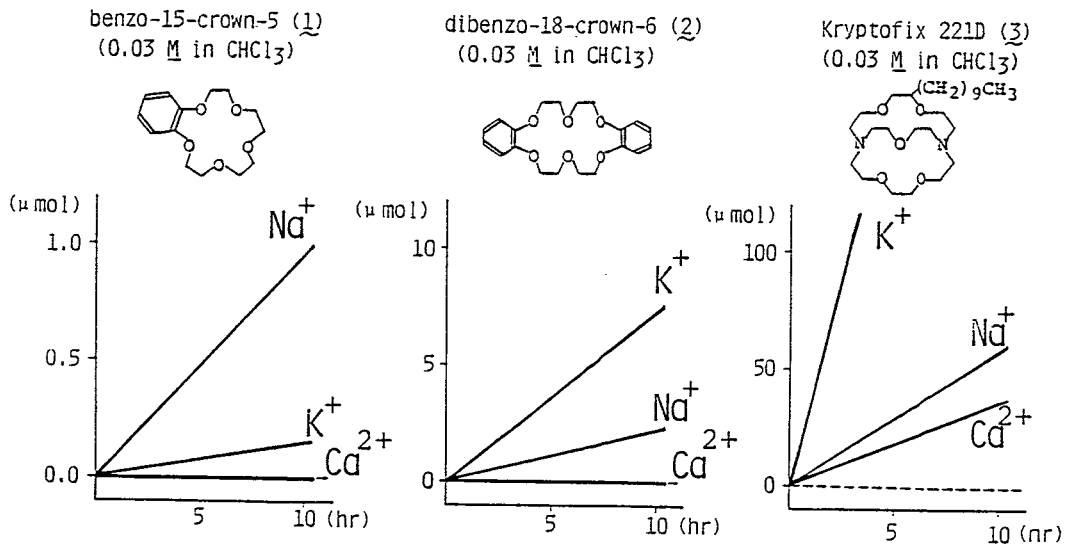


Fig. 3: Ion Transport Activity of Standard Samples in Artificial Membrane Method

次に、dibenzo-18-crown-6 (2) を用いて、サンプル濃度とイオン輸送能との関係について検討したところ、濃度を 0.03 mol/l から $0.03 \times 1/2$ mol/l および $0.03 \times 1/4$ mol/l に変化させていくと、 K^+ 輸送能 (m_K) もそれぞれ 3.13×10^{-7} mol/hr および 1.92×10^{-7} mol/hr と低下していくことが判った。

また、以上のブランク（液膜に検体を加えず、水飽和クロロホルムのみ用いた）試験ではまったくイオン輸送はみられなかった。

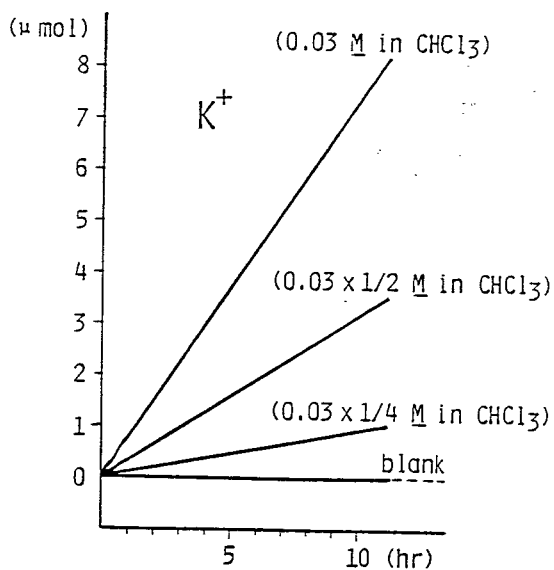


Fig. 4: Ion Transport Activity of Dibenzo-18-crown-6 (2) at Different Concentration

第2節 ヒト赤血球膜法

前節の人工透析膜を用いたイオノフォア活性試験法と比較するため、次に著者は、大阪成人病センター研究所の協力を得て、核など小器官が無く、大量に均一な細胞が得られるという利点のあるヒト赤血球を用いた、新しいイオノフォア活性試験法を考案した。

この活性試験法は、微量で検出でき、かつ他のイオンとの干渉がみられない放射性同位元素を用いて、ヒト赤血球内外のイオン濃度の変化を測定するものである。

まず、生体と等張の媒液でヒト赤血球を洗浄し、ヒト赤血球の浮遊液を調製する。次に、37℃に保ちながら放射性同位元素のイオン水溶液を加え、一定時間後、検体溶液を加える。そして、経時ごとにサンプリングし、ヒト赤血球内外への放射性同位元素の流入および流出状態を、同時に行うブランク実験と比較しながら調べる。

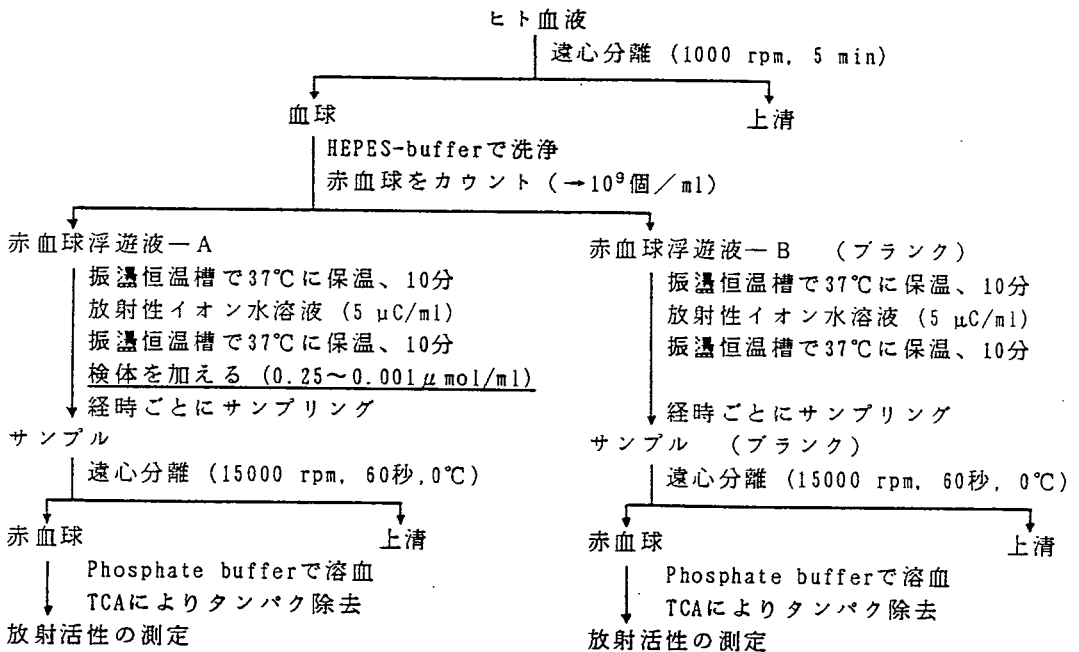


Chart 1

1) 媒液の調製

ヒト赤血球を体内にあるときとできるだけ同様の状態に保ち、また赤血球と等張かつ赤血球内のATPなどの働きも失われない様な媒液の成分を検討した。

まず最初に、これまでヒト赤血球を使用した実験に用いられている媒液¹¹⁾を参考にして調製したところ、赤血球を入れても溶血は起こらなかったが、走差顕微鏡を用いて血球の様子を観察すると、変形してコンペイトウ型になっていることが判った。

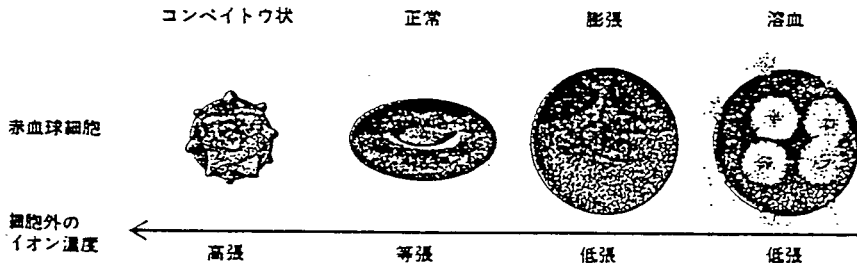


Fig. 5

赤血球などの生体細胞を用いて行う実験において、その形状が実際にどの様になっているか確認していない場合があるように思われるが、生体内の状態に近い実験条件が必要な場合、赤血球の形状の確認は非常に重要な要素と考えられる。

そこで顕微鏡による赤血球の形状変化も指標にして、種々のイオン組成を検討した結果、Table Iに示すような媒液を用いることとした。また、媒液の中和には、 $^{22}\text{Na}^+$ を測定するときはKOH、 $^{42}\text{K}^+$ 、 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ を測定するときにはNaOHを用いた。

	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	Choline chloride	glucose	HEPES
$^{22}\text{Na}^+$	1 mM	2 mM	1 mM	1 mM	136 mM	5 mM	10 mM
$^{42}\text{K}^+$	136 mM	1 mM	1 mM	1 mM	1 mM	5 mM	10 mM
$^{45}\text{Ca}^{2+}$	137 mM	2 mM	1 mM	1 mM	-----	5 mM	10 mM

Table I

2) 赤血球浮遊液の調製

採血したヒト赤血球を直ちに血液凝固阻止剤（ヘパリンナトリウム注射液）と混ぜ合わせた後、遠心分離（1000 rpm, 5 min）することによって血清及び白血球を除去した。得られた沈澱を、先に調製した赤血球と等張な媒液（以下HEPES-bufferと略す）により3回洗浄し、赤血球以外の微粒子やアルブミンなどの血清蛋白などが除かれたヒト赤血球のみが単離された。

血球計算盤を用いて、顕微鏡下赤血球の単位体積当りの正確な赤血球(RBC)数を数え、HEPES-bufferで 10^9 RBC/mlになるように調製した。

3) 検体のイオノフォア活性測定

2)で調製したヒト赤血球浮遊液を振盪恒温槽中 37°C でincubateした後、放射性同位元素イオン水(1.0×10^{-1} mCi/ml)を 10^9 個の赤血球あたり $5 \mu\text{Ci}$ になるように加え2分間 37°C で振盪させた後、3 mlずつ検体測定用とブランク用の赤血球浮遊液に分け、さらに 37°C で10分間incubateした。次に検体のエタノールまたはDMSO溶液を、 10^9 個の赤血球あたり検体が $0.005 \mu\text{mol} \sim 0.25 \mu\text{mol}$ になるように加える。ここで加える検体のmol数に差があるのは、検体により溶血性に差があるためで、最大濃度を $0.25 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$ として、溶血性の強い化合物に対しては溶血による血球数の減少がみられなくなるまで濃度を下げて活性試験を行っている。

検体を加えた時をtime 0とし、経時毎に $200 \mu\text{l}$ ずつサンプリングを行う。そのサンプルにdi-n-butyl phthalateを加え、 0°C で遠心分離（15,000 rpm, 1 min）した。Di-n-butyl phthalateは比重が1.04であるので血球と媒液の間に層を形成し、血球と媒液を完全に分離することができる。

遠心分離後、媒液およびdi-n-butyl phthalate層を完全に除去し、得られた赤血球の沈澱に低張なBuffer(Na_2HPO_4 1.89 mM, NaH_2PO_4 3.11 mM)を $200 \mu\text{l}$ 加えて赤血球をパンクさせ、さらに10% trifluoroacetic acid を $100 \mu\text{l}$ 加え、

赤血球内に存在したヘモグロビンなどのタンパク質を凝固させた後、遠心分離 (15,000, 5 min)することによってタンパク質の除去を行った。

得られた上清 200 μ lをシンチレーター4 mlの入ったバイアルに入れ、液体シンチレーションカウンター（アロカ製；LSC-950）により放射活性を測定することにより検体のイオン輸送能を計算した。

なおブランク実験として、検体を加えたときに用いた溶媒と同じ溶媒を同量赤血球浮遊液に加えた実験を同時に行い、比較している。

イオノフォア活性の測定（標準物質を用いた活性試験）

本試験法のNa⁺に対する標準サンプルとして、monensin (4), benzo-15-crown-5 (1)を、K⁺に対して valinomycin (5)¹³⁾, dibenzo-18-crown-6 (2)を、そしてCa²⁺に対して A 23187 (6), Kriptofix 221D (3)を選び、それぞれに対して、上記のイオノフォア活性試験法を適用した。

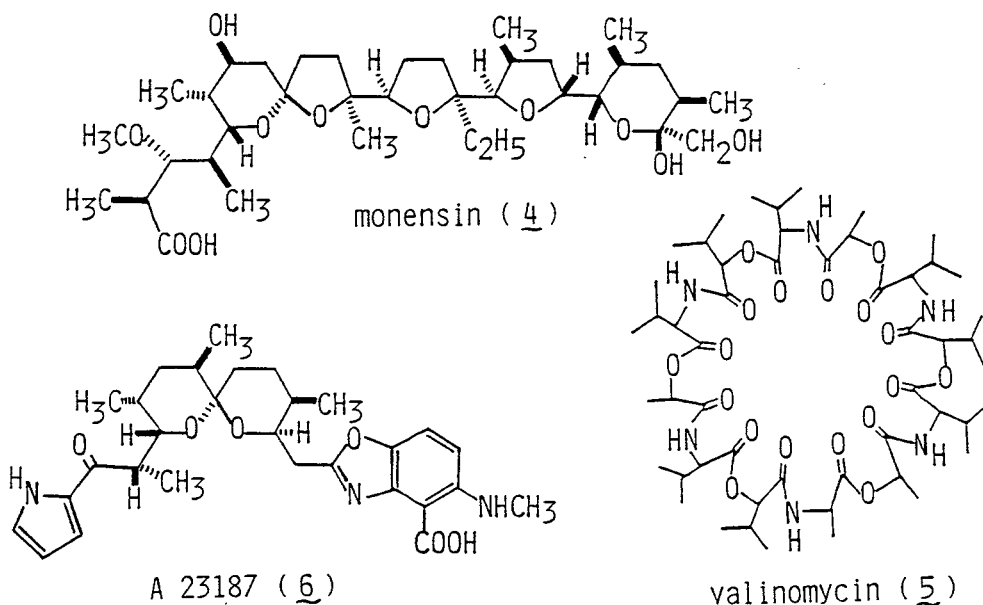


Fig. 6

それぞれの測定結果を Fig. 7に示したが、そのうち monensin (4), valinomycin (5)およびKriptofix 221D (3)には溶血性が観られ、なかでもKriptofix 221D (3)は、検体濃度を赤血球 10^9 個に対して $0.001 \mu\text{mol}$ まで下げないと、溶血による血球数の減少がみられた。これは、Kriptofix 221D (3)がイオン選択性に欠け、いろいろなイオンを赤血球内へ輸送するため、起こるのではないかと考えられる。

また、 K^+ に対する valinomycin (5), dibenzo-18-crown-6 (2)や、 Ca^{2+} に対する Kriptofix 221D(3)などでは、一旦細胞内へイオンを輸送した後イオンの逆輸送がみられる。これは、何等かの形でイオノフォアが失活した後、赤血球内にあるイオン濃度調節機構によって、イオン状態を定常状態へ戻すためと考えられる。

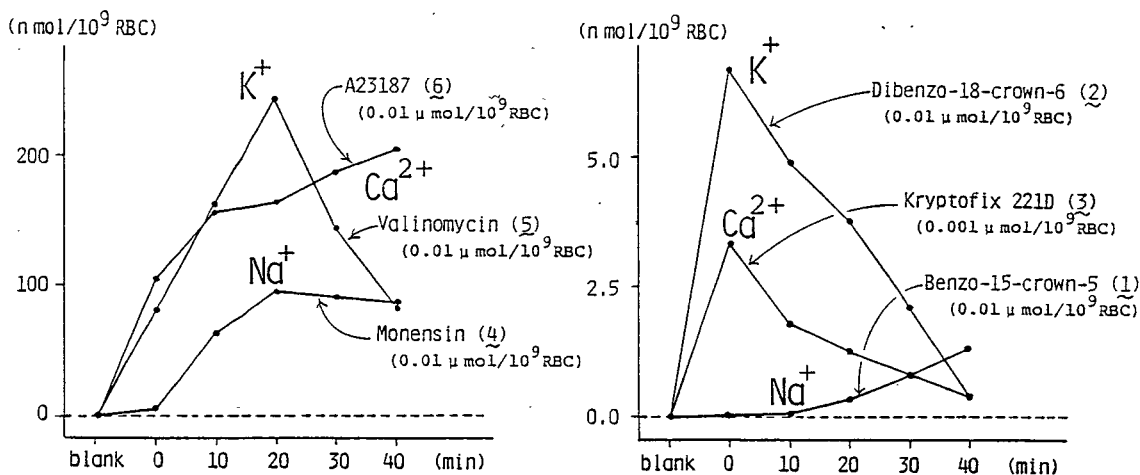


Fig. 7 : Ion Transport Activity of Standard Samples in Human Erythrocyte Membrane Method

第2章 イオノフォア活性天然物質の検索

前章で新しく開発した2種のイオノフォア活性試験法を、われわれの研究室において、これまでに単離構造決定された種々の天然物質に適用した。その結果、オリゴペプチドラクトンや樹脂配糖体にイオノフォア活性のあることが判明した。

第1節 オリゴペプチドラクトン Theonellapeptolide

沖縄県慶良間列島の座間味島で採集されたTheonella属海綿(種名不明)の産生成分オリゴペプチドラクトン^(6a) theonellapeptolide Ia(7), Ib(8), Ic(9), Id(10), Ie(11)のうち、主成分のtheonellapeptolide Id(10)について、人工透析膜法(W-07装置)による活性試験を行ったところ、10はNa⁺, K⁺, Ca²⁺に対してイオン輸送能($m_{Na} = 2.28 \times 10^{-7}$ mol/hr, $m_K = 3.74 \times 10^{-7}$ mol/hr, $m_{Ca} = 2.08 \times 10^{-7}$ mol/hr)を有することが明かとなった。

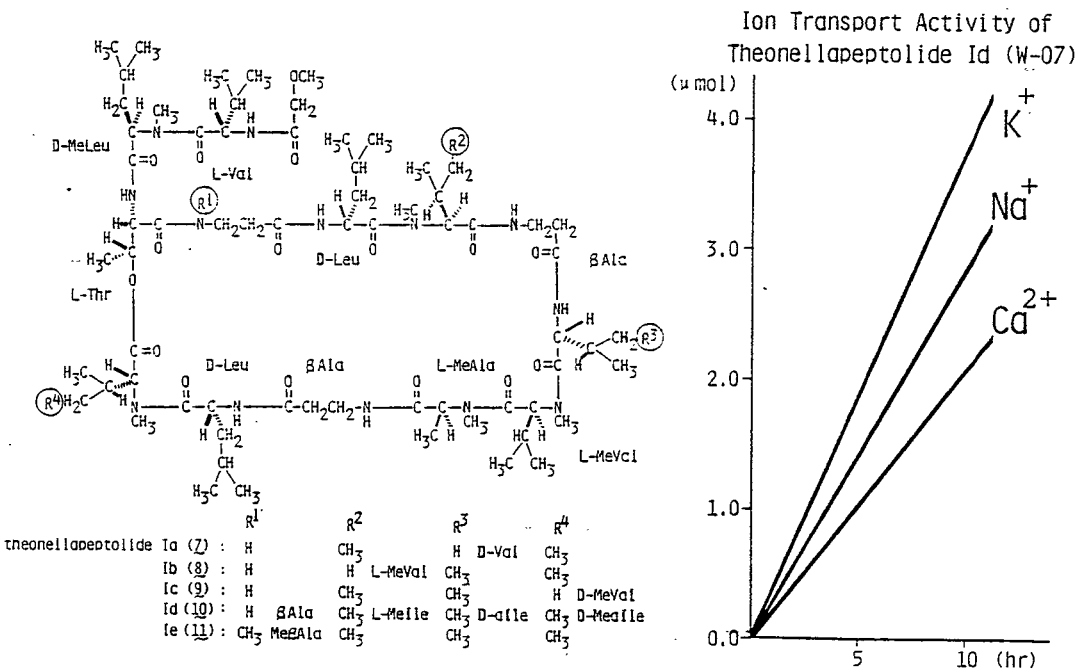


Fig. 8

また、5種類のオリゴペプチドラクトンtheonellapeptolide Ia(7), Ib(8), Ic(9), Id(10), Ie(11)を検体として、ヒト赤血球膜を用いたイオノフォア活性試験(検体濃度はいずれも $0.01 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)を行ったところ、いずれの化合物も、3種の金属イオン(Na^+ , K^+ , Ca^{2+})に対してイオン輸送能を有することが判明した。

しかし、theonellapeptolide Id(10)をNaOMe-MeOHで処理して得られるセコ酸型(ラクトンが開環した)化合物theonellapeptolide Id-NaOMe(12)は、金属イオンの輸送能を示さなかった。このことは、theonellapeptolide類のイオノフォア活性発現には、大環状ラクトン構造が必須であることを示している。

大泉らは、theonellapeptolide Id(10)にNa, K-ATPase阻害活性($7 \times 10^{-6}\text{M}$)の有ることを報告¹⁴⁾しているが、ヒト赤血球膜を用いたイオノフォア活性試験の結果では、theonellapeptolide Id(10)は、 Na^+ , K^+ -ATPase阻害(赤血球内の Na^+ 濃度を赤血球膜外対して低く、 K^+ は高く保つATPの酵素阻害)よりイオノフォアとしての活性(Na^+ , K^+ 両イオンを赤血球内へ輸送)をより強く示すことが判った。

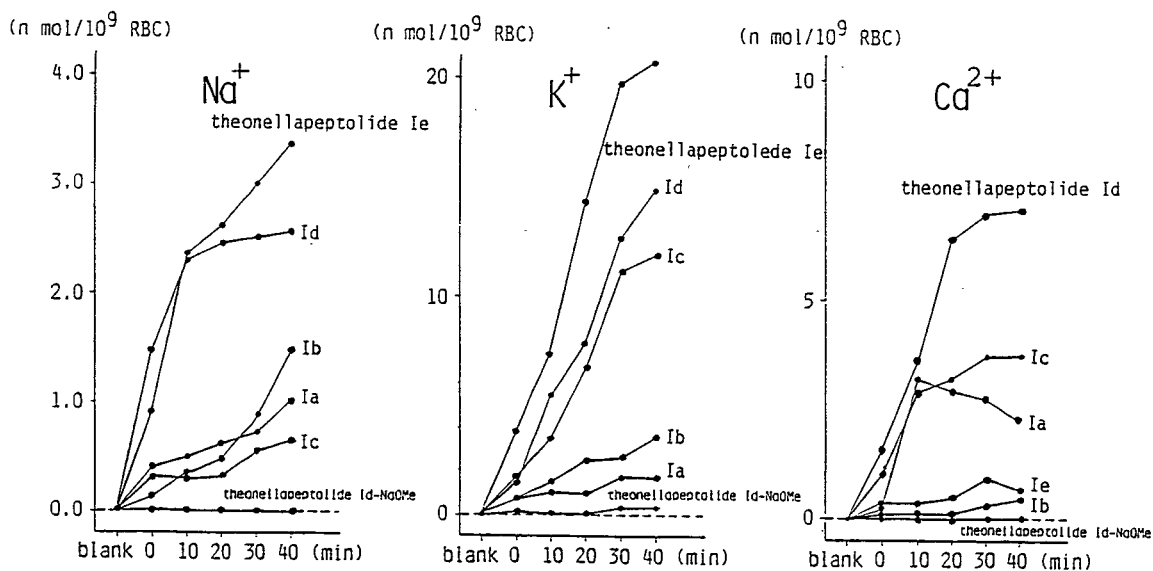


Fig. 9 : Ion Transport Activity of Theonellapeptolides in Human Erythrocyte Membrane Method

第2節 樹脂配糖体MerremosideおよびMammoside

1) Merremoside類のイオノフォア活性

インドネシア、ジャワ島中部のジョグジャカルタで入手したインドネシア伝統的薬物ジャムウ生薬の一つで、百日咳、気管支炎などの呼吸器の疾患、糖尿病、浮腫等の治療に用いられている“Bidara upas” [Merremia mammosa Chois. (Convolvulaceae)] の塊根の含有成分である8種の樹脂配糖体 merremoside a(13), b(14), c(15), d(16), f(18), g(19), h₁(20), h₂(21)は大環状ラクトンオリゴ配糖体構造^{6b)}なので、それらのイオノフォア活性を調べた。

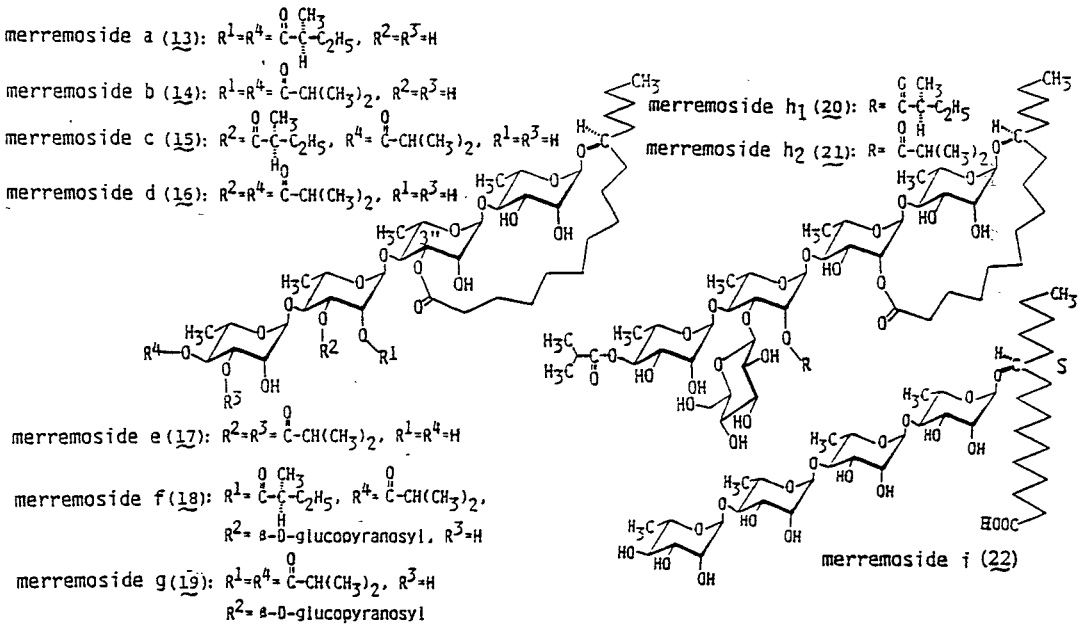


Fig. 10

まず、merremoside a (13) および merremoside h₁ (20) について、人工透析膜法 (W-07装置) による活性試験を行ったところ、Na⁺, K⁺, Ca²⁺ に対して a(13), h₁(20) とともにイオン輸送能 (13: m_{Na} = 0.78 x 10⁻⁷ mol/hr, m_K = 0.51 x 10⁻⁷ mol/hr, m_{Ca} = 0.98 x 10⁻⁷ mol/hr, 20: m_{Na} = 1.07 x 10⁻⁷ mol/hr, m_K = 0.96 x 10⁻⁷ mol/hr) を有することが明かとなった。

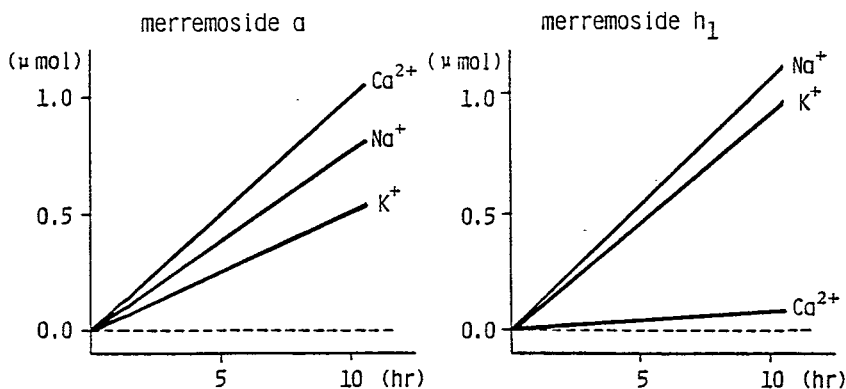


Fig. 11: Ion Transport Activity of Merremosides a and h₁ (W-07)

一方、8種類のmerremoside類について、ヒト赤血球膜法による活性試験を行ったところ、いずれもイオン輸送活性を示したが、3''位にグルコシル基が分枝しているmerremoside類(f, g, h₁, h₂)は、他のmerremoside類(a, b, c, d)に比べて3種のイオン(Na⁺, K⁺, Ca²⁺)に対するイオン輸送活性の強いことが判明した。

また、merremoside a(13), b(14), c(15), およびd(16)をNaOMe-MeOH処理して得られるセコ酸型(大環状ラク톤の開環した)化合物 merremoside i(22)は、イオン輸送能を示さなかった。このことは、先のtheonellapeptolide類の場合と同様、merremoside類においても、イオノフォア活性の発現には大環状ラクトン構造が必須であることを示している。しかし、merremoside類の化学構造は、ラクトン環内に金属イオンを捕捉するのに十分なcavityを持っているとは考えにくく、ラクトン環によりmerremoside類が金属イオンを捕捉し得る有意なコンフォメーションをとり易くなっているためと考えられる。

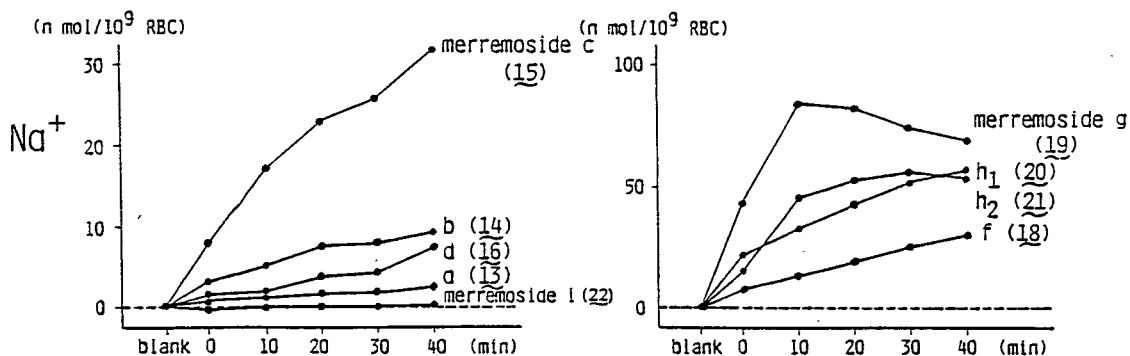


Fig. 12: Na Ion Transport Activity of Merremosides in Human Erythrocyte Membrane Method

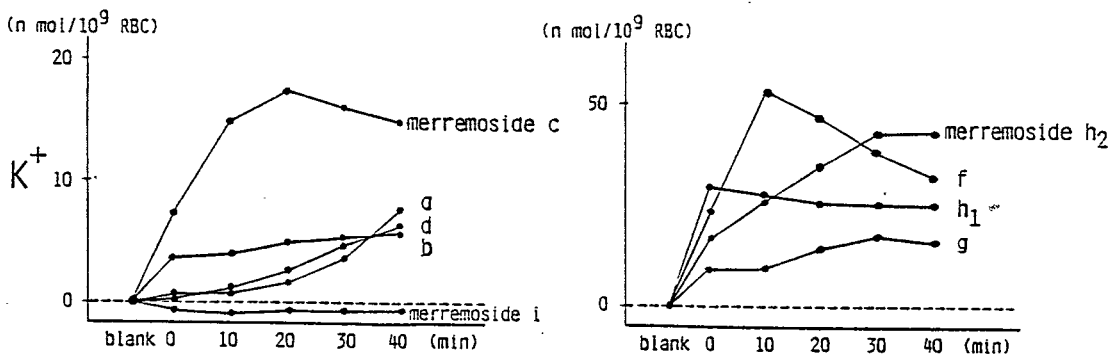


Fig. 13: K Ion Transport Activity of Merremosides in Human Erythrocyte Membrane Method

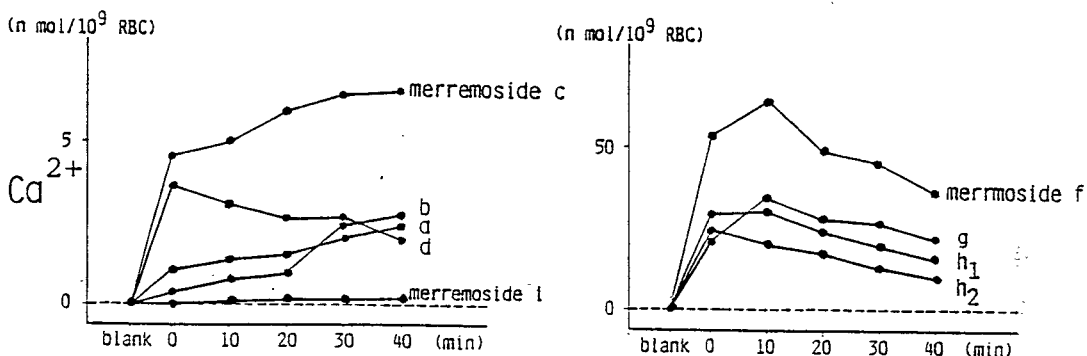


Fig. 14: Ca Ion Transport Activity of Merremosides in Human Erythrocyte Membrane Method

2) Mammoside類の化学構造解析

Bidara upasのMeOHエキスを、水およびクロロホルムで分配して得られるクロロホルム可溶部には、前項のmerremoside類以外にさらに数種のmerremoside類縁化合物の存在が予想されたので、著者は次に、新しいイオノフォア活性樹脂配糖体を期待して、クロロホルム可溶部を精査した。そして、4種の新規樹脂配糖体 mammoside A(23), B(24), H₁(25)および H₂(26)を単離した。(Chart 2)

i) Mammoside B(24)

Mammoside B(24)は無色微細結晶で、そのIR(KBr)において、水酸基およびエステルの吸収が認められる。その¹³C NMRおよび¹H NMRのデータの考察から、24は、merremoside類と類似の樹脂配糖体と推定された。

Bidara upas [*Merremia mammosa* Choisy.
(Convolvulaceae)] fresh tuber (1986)

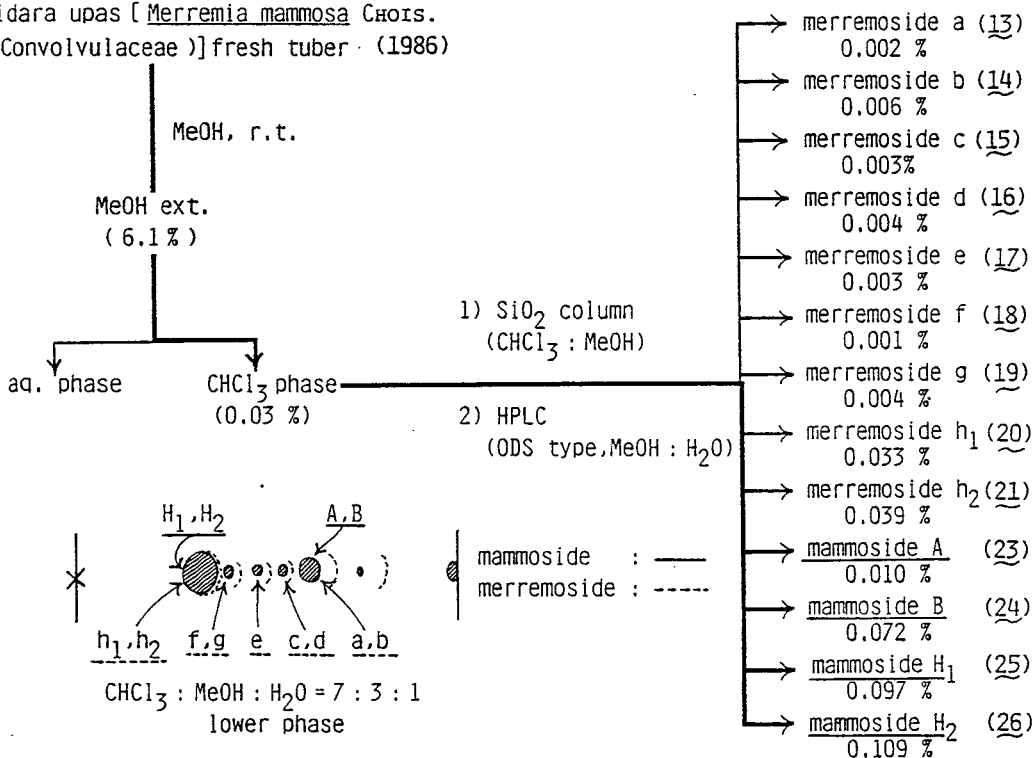


Chart 2

Mammoside B (24) を 5% aq. KOH で加水分解すると配糖酸として mammoside I (27) が得られるほか、isobutyric acid が検出、同定された。また、24 を 5% NaOMe-MeOH で処理すると、mammoside I methyl ester (28) が得られた。28 を 9% HCl-MeOH でメタノリシスすると、methyl jalapinolate (29)¹⁵⁾ が得られるとともに、methyl rhamnoside と methyl fucoside が 3:1 の比率で検出された。そして、これらのメチルグリコシドを、1N HCl によって加水分解して得られた糖の比旋光度から、それぞれ L-rhamnose [+8.0° (H₂O)]、D-fucose [+74° (H₂O)] を確認した。

28 の Secondary Ion Mass Spectrum (SIMS) において、擬似分子イオン m/z 893 (M+Na)⁺ および m/z 909 (M+K)⁺ が観測され、糖部由来のフラグメントイオンとして i (m/z 147), ii (m/z 293), iii (m/z 439) および iv (m/z 585) が観測され、28 は methyl jalapinolate (29) に 1 個の D-fucose と 3 個の L-rhamnose の結合している配糖体と推定された。

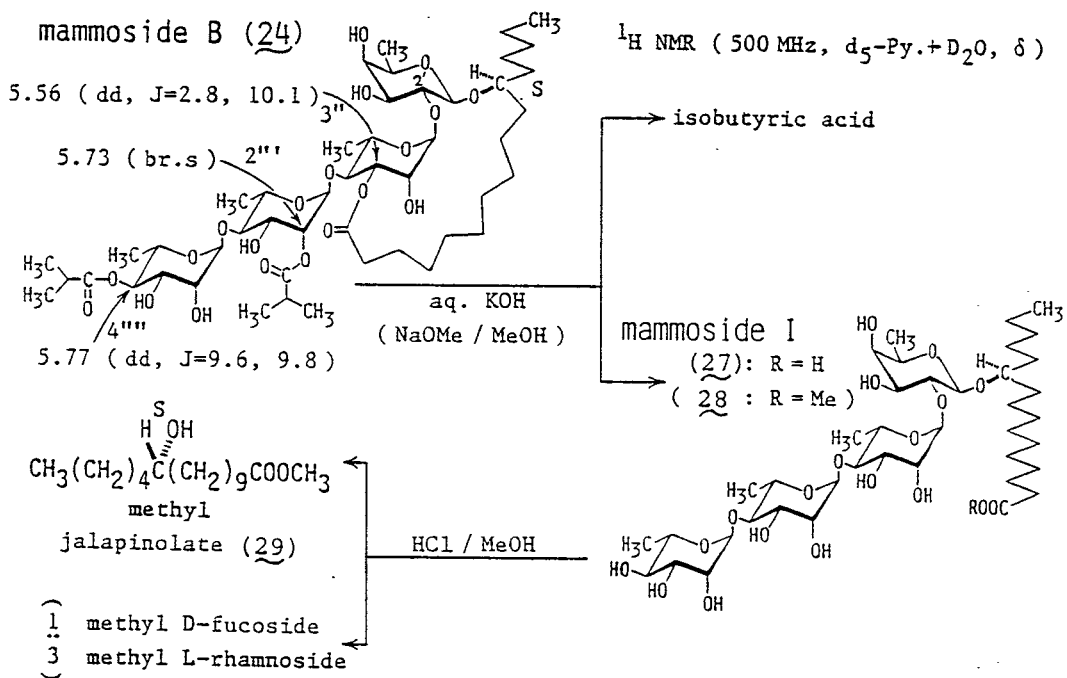
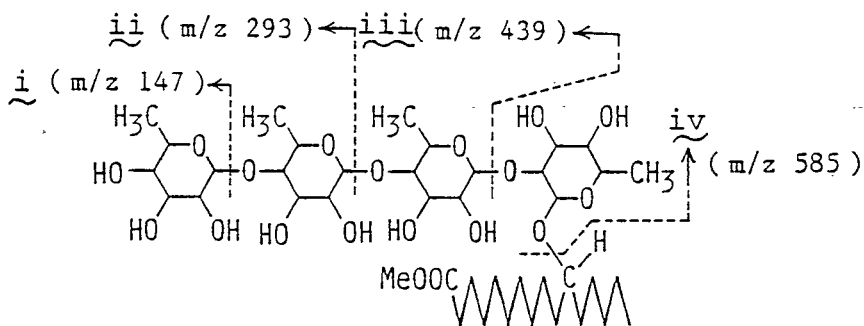


Chart 3

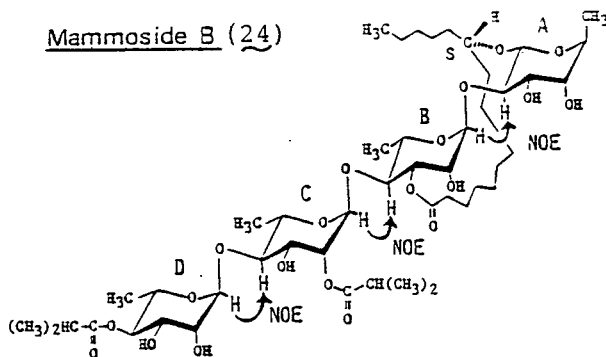
SIMS : m/z 893 ($M+Na$)⁺, m/z 909 ($M+K$)⁺



Mass Spec. of 28

Fig. 15

Mammoside B (24)



Homonuclear Hartmann-Hahn Spectroscopy (HOHAHA)

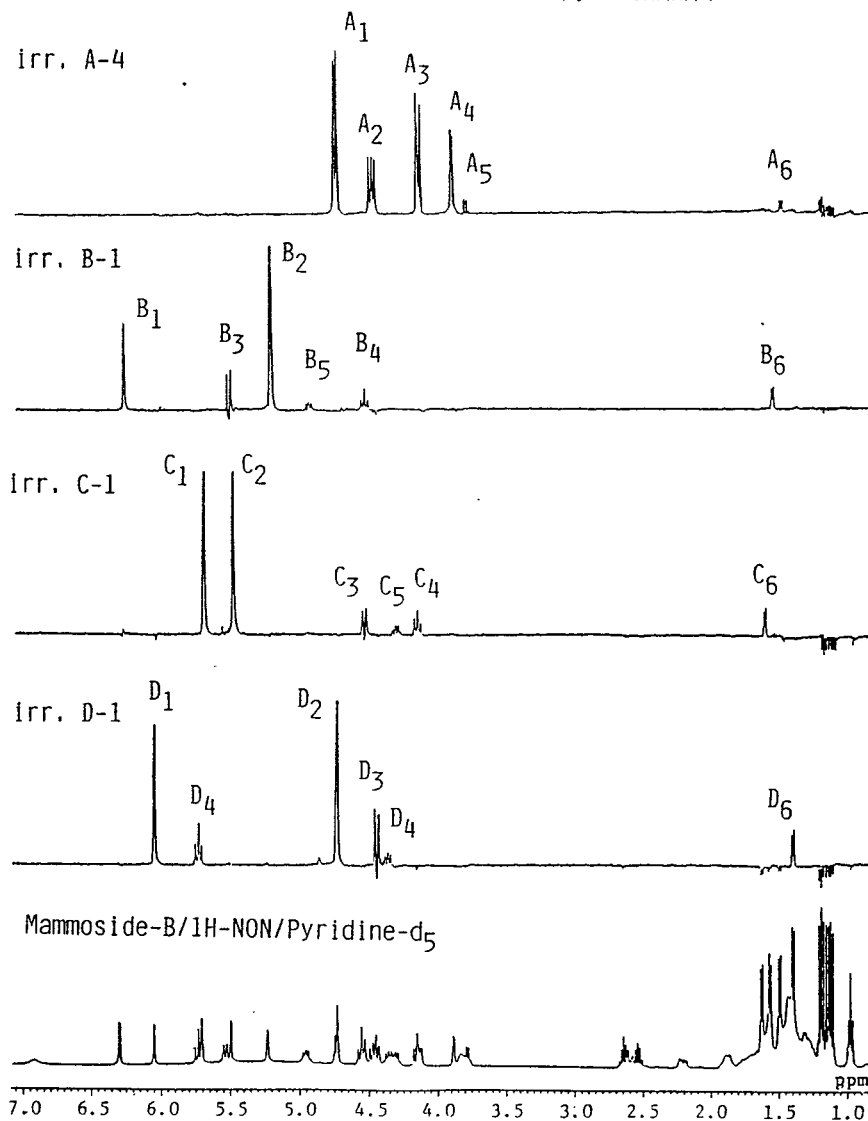


Fig. 16

28の ^1H NMR(500MHz, d_5 -pyridine+ D_2O)では、D-fucoseのアノメリックプロトンは δ 4.76(d, $J=7.6$)に観測されており、D-fucoseが β -結合をしていることを示している。 ^{13}C NMR(d_5 -pyridine)において、D-fucoseのアノメリックカーボン1個(δ 。101.4)が観測されると共に、L-rhamnoseの3個のアノメリックカーボン(δ 。101.4, 101.4, 102.8)が、その $J_{\text{C-H}}$ 値169.9, 171.0, 171.6 Hzで観測されることから、L-rhamnoseは、すべて α 結合¹⁶⁾していることが明かとなった。

また、24, 28について ^1H - ^1H および ^1H - ^{13}C two-dimensional shift correlated NMR(COSY, 500MHz)解析や、24の Homonuclear Hartmann-Hahn Spectroscopy¹⁷⁾(HOHAHA, 400MHz)を用いた構造解析(Fig. 16)の結果、全てのプロトンシグナルを帰属することができた。さらに、各構成糖のアノメリックプロトンの ^1H -Differential nuclear Overhauser enhancement or nuclear Overhauser effect(DIFNOE, 400MHz)を測定することによって、糖鎖構造が明かとなった。

28の糖鎖構造を確認する目的で、次のような合成実験を行った。

まず1, 2, 3, 4-tetra-O-acetyl-D-fucopyranoseを、DMF中 hydrazine acetate ($\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{AcOH}$)¹⁸⁾で処理することにより、アノメリック位のみを脱アシル化して30とした後、trichloroacetonitrile処理($\text{CCl}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{K}_2\text{CO}_3$)¹⁹⁾によりimidate体(31)よび(32)へと導いた。

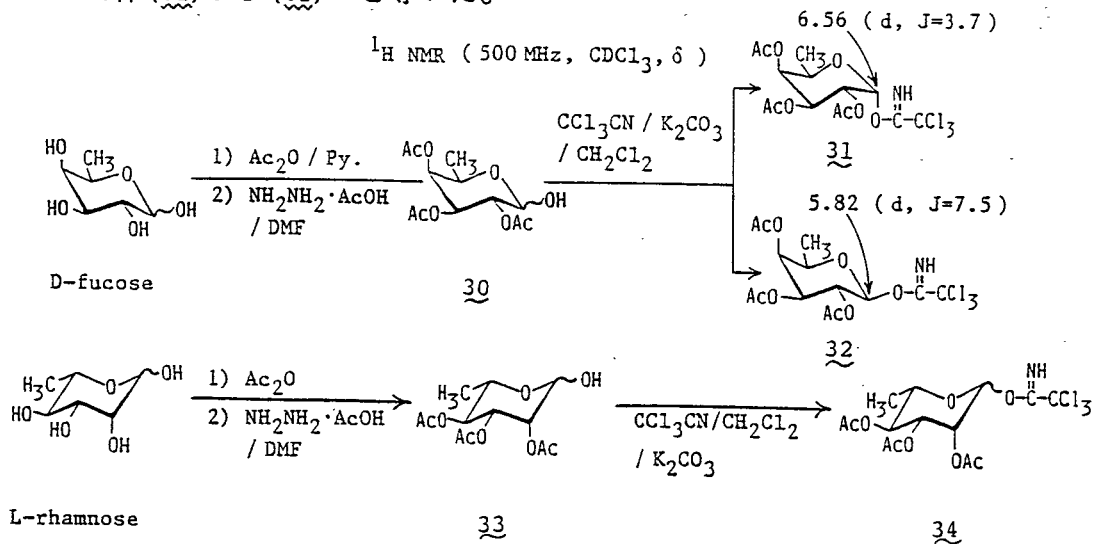


Chart 4

次に、methyl jalapinate (29)を、 CH_2Cl_2 中 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ およびモレキュラーシーブス (MS 4A) 存在下 31でグリコシル化¹⁹⁾、ついで 1% NaOMe-MeOHで脱アシル化することにより主生成物として35を得た。35の¹H NMR(CDCl_3)において、アノメリックプロトンが δ 4.61(d, $J=8.2\text{Hz}$)に観測されることなどから、35のD-fucopyranoseは β 結合していることが明かとなった。

35をDMF中 2,2-dimethoxypropane(DMP), d-10-camphorsulfonic acid(CSA)によりイソプロピリデン化し、36に誘導した後、L-rhamnoseから31合成と同様な経路で誘導した imidate体34と、 CH_2Cl_2 中 MS 4A、 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ 存在下反応し、1% NaOMe-MeOHにより脱アセチル化することによって、D-fucoseの2位水酸基にL-rhamnoseが α 結合した37を得ることができた。37の化学構造は、 $J_{\text{C-H}}$ ¹⁶⁾を含む各種physical dataおよびKlyne則²⁰⁾の適用によって明かとなった。37をイソプロピリデン化後、34によるグリコシル化およびアルカリ加水分解を繰り返した後、3% HCl-MeOHにより脱イソプロピリデン化して28を得ることができた。

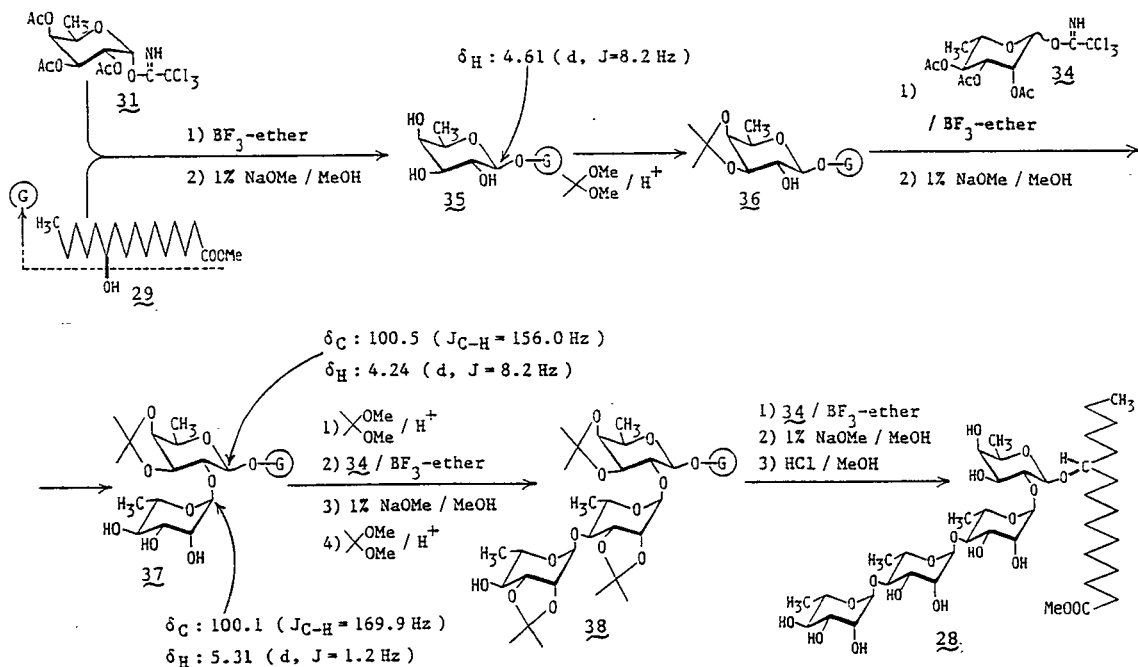
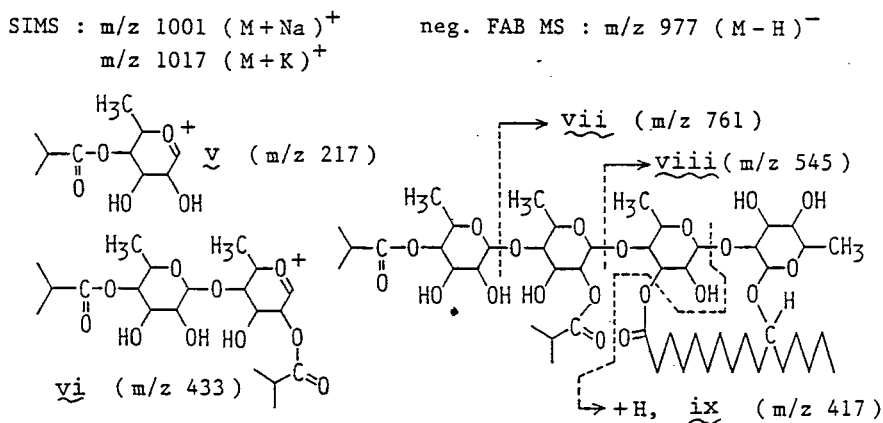


Chart 5

28は、mammoside B(24)より誘導された標品と、TLC[CHCl₃-MeOH-H₂O=7:3:1 (下層)], IR(KBr), m. p., [α]_D²⁵(MeOH), ¹H NMR(500MHz, d₅-pyridine)および ¹³C NMR(125MHz, d₅-pyridine)により同定し、28の化学構造が確認された。

Mammoside B(24)のSIMSにおいて、擬似分子イオンm/z 1001(M+Na)⁺および m/z 1017(M+K)⁺が観測され、negative Fast Atom Bombardment Mass Spectrum (neg. FAB Mass)において、擬似分子イオンm/z 977(M-H)⁻が観測され、24は2個の isobutyric acidが糖部水酸基とエステル結合し、jalapinic acidのカルボキシル基が糖部水酸基とラクトン環を形成している構造と予想された。また、SIMSにおいてフラグメントイオンv(m/z 217), vi(m/z 433), およびneg. FAB Massにおいてフラグメントイオンvii(m/z 761), viii(m/z 545), ix(m/z 417)のシグナルが観測された。これらのMSデータおよび¹H NMR(Table II)を考え合わせることによって、24の2個の isobutyric acidは2''および4'''位水酸基に結合しており、ラクトン環が3''位水酸基と形成していることが判明し、mammoside B(24)の化学構造が明かとなった。



Mass Spec. of mammoside B (24)

Fig. 17

Table II ^{13}C and ^1H NMR Data for Mammoside A (23) and Mammoside B (24)

	Mammoside A (23)		Mammoside B (24)	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
C-2	33.6	2.22 (ddd, J=2.4, 7.0, 14.0) 2.61 (t-like)	34.1	2.22 (ddd, J=3.1, 7.0, 14.4) 2.61 (t-like)
C-11	78.8	3.83 (m)	79.2	3.85 (m)
C-1'	100.9	4.74 (d, J=7.9)	101.4	4.75 (d, J=7.9)
2'	72.5	4.47 (dd, J=7.9, 9.5)	73.0	4.47 (dd, J=7.9, 9.3)
3'	76.0	4.14 (dd, J=3.4, 9.5)	76.5	4.13 (dd, J=3.4, 9.3)
4'	72.8	3.89 (d, J=3.4)	73.2	3.89 (d, J=3.4)
5'	70.6	3.79 (m)	71.0	3.79 (m)
6'	17.4	1.50 (d, J=6.4)	17.7	1.50 (d, J=6.4)
C-1''	99.5	6.31 (br.s)	100.0	6.30 (br.s)
2''	69.0	5.24 (br.s)	69.4	5.23 (br.s)
3''	77.1	5.54 (dd, J=2.8, 9.8)	77.7	5.54 (dd, J=3.0, 9.8)
4''	78.6	4.58 (dd, J=9.8, 9.8)	78.8	4.56 (dd, J=9.8, 9.8)
5''	67.2	4.96 (m)	67.6	4.96 (m)
6''	18.0	1.57 (d, J=6.1)	18.3	1.57 (d, J=6.4)
C-1'''	100.0	5.53 (br.s)	100.4	5.50 (br.s)
2'''	73.5	5.72 (br.s)	73.9	5.70 (br.s)
3'''	70.1	4.54 (d-like)	70.6	4.45 (dd, J=3.4, 9.5)
4'''	80.8	4.16 (dd, J=9.2; 9.2)	81.0	4.16 (dd, J=9.5, 9.5)
5'''	67.9	4.32 (m)	68.3	4.31 (m)
6'''	18.3	1.64 (d, J=6.1)	18.7	1.63 (d, J=6.1)
C-1''''	103.1	6.04 (br.s)	103.5	6.05 (br.s)
2''''	71.6	4.72 (br.s)	72.1	4.73 (br.s)
3''''	69.7	4.43 (dd, J=3.4, 9.5)	70.1	4.44 (dd, J=3.4, 9.8)
4''''	74.6	5.74 (dd, J=9.5, 9.5)	75.1	5.73 (dd, J=9.8, 9.8)
5''''	67.4	4.37 (m)	67.8	4.36 (m)
6''''	16.6	1.42 (d, J=6.4)	16.9	1.40 (d, J=6.4)
-C-	176.0		176.6	
	175.6		176.2	
O	174.3		174.5	

ii) Mammoside A(23)

Mammoside A(23)は無色微細結晶で、そのIR(KBr)において水酸基およびエステル吸収が認められ、 ^{13}C NMRおよび ^1H NMRのデータの考察から、23はmammoside B(24)と類似の樹脂配糖体と推定された。

Mammoside A(23)を5% aq.KOHで加水分解すると、配糖酸として mammoside I (27)が得られるほか、methylbutyric acidが検出・同定され、その phenacyl ester体の比旋光度よりmethylbutyric acidの2位絶対配置はSであることが明らかとなった。

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $d_5\text{-Py.} + \text{D}_2\text{O}$, δ)

mammoside A (23)

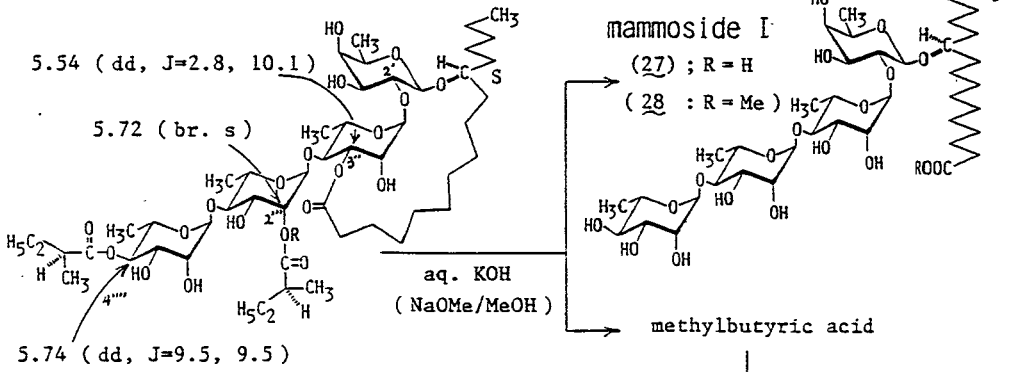
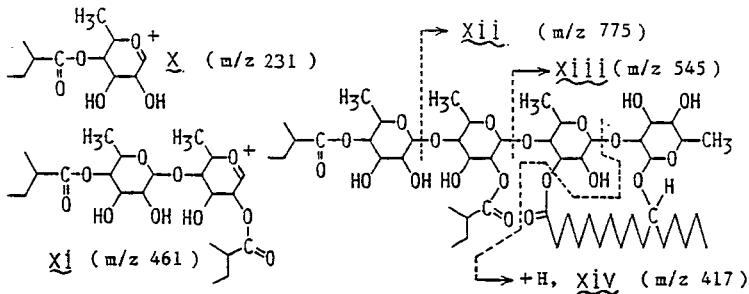


Chart 6

Mammoside A (23) の SIMS において、擬似分子イオン m/z 1029 ($M+\text{Na}$) $^+$ が観測され、neg. FAB Mass において、擬似分子イオン m/z 1005 ($M-\text{H}$) $^-$ が観測されるので、24 において 2 個の methylbutyric acid が糖部水酸基とエステル結合し、jalap-inolic acid のカルボキシル基が糖部水酸基とラクトン環を形成していることが予想された。そして、SIMS および neg. FAB Mass におけるフラグメントイオンの考察及び $^1\text{H NMR}$ を考え合わせることによって、mammoside A (23) の化学構造が明らかとなった。

SIMS : m/z 1029 ($M+\text{Na}$) $^+$
 m/z 1045 ($M+\text{K}$) $^+$

neg. FAB MS : m/z 1005 ($M-\text{H}$) $^-$



Mass Spec. of mammoside A (23)

Fig. 18

iii) Mammoside H₂ (26)

Mammoside H₂ (26)は無色微細結晶で、そのIR(KBr)において水酸基およびエステルの吸収が認められ、¹³C NMRおよび¹H NMRのデータの考察から、26もやはり樹脂配糖体と推定された。

Mammoside H₂ (26)を5% aq. KOHで加水分解すると、配糖酸として 40が得られるほか、isobutyric acidが検出・同定された。また、26を5% NaOMe-MeOH処理すると、40のmethyl ester体(41)が得られた。

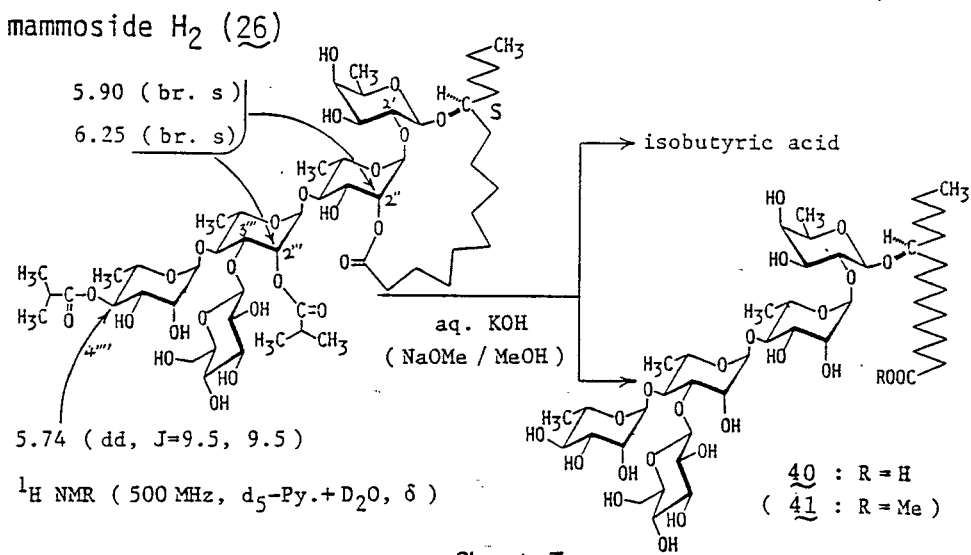
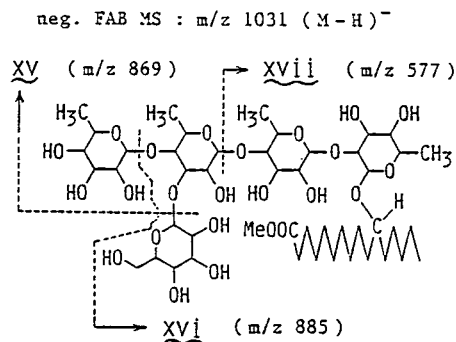


Chart 7



Mass Spec. of 41

Fig. 19

SIMS : m/z 1163 ($M+Na$)⁺

neg. FAB MS : m/z 1139 ($M-H$)⁻

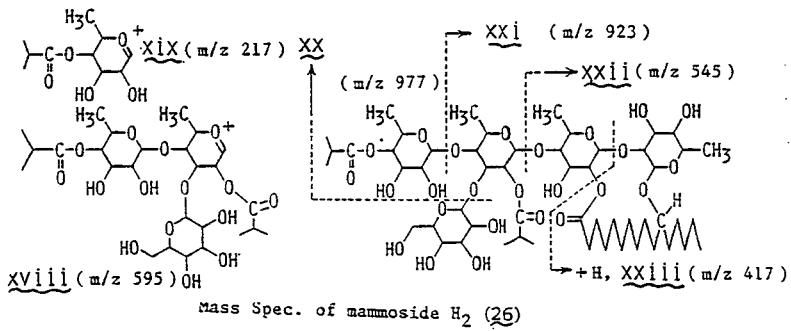
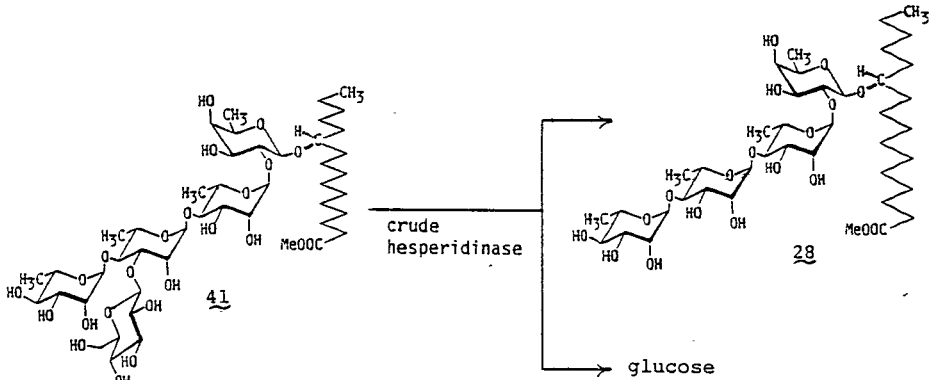
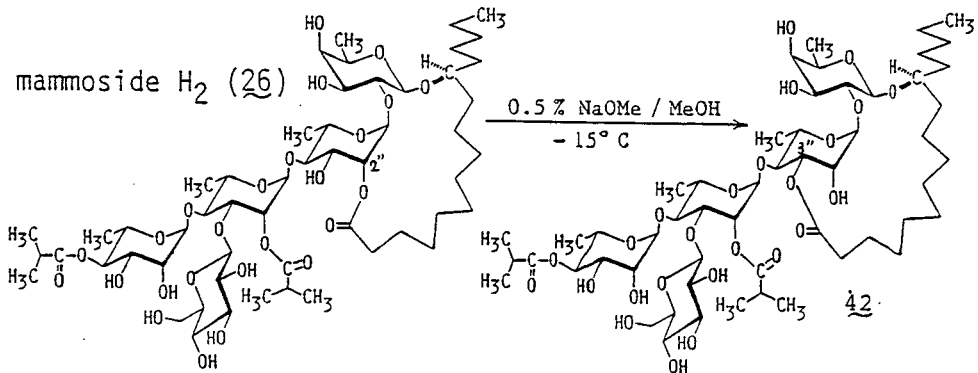


Fig. 20

41を粗hesperidinaseで酵素加水分解すると、D-glucoseが検出されると共に28(23頁)が得られた。さらに、41のneg.FAB Mass、26のSIMS, neg.FAB MassおよびNMRの解析によって、mammoside H₂(26)の化学構造が明かとなった。



一方、mammoside H₂(26)を緩やかな条件でアルカリ処理すると、ラク톤の結合位置が2'位から3'位へ移ることが確認された。



iv) Mammoside H₁ (25)

Mammoside H₁ (25)は無色微細結晶で、そのIR(KBr)において水酸基およびエステルの吸収が認められ、¹³C NMRおよび¹H NMRのデータの考察から、25は、mammoside H₂ (26)と類似の樹脂配糖体と推定された。

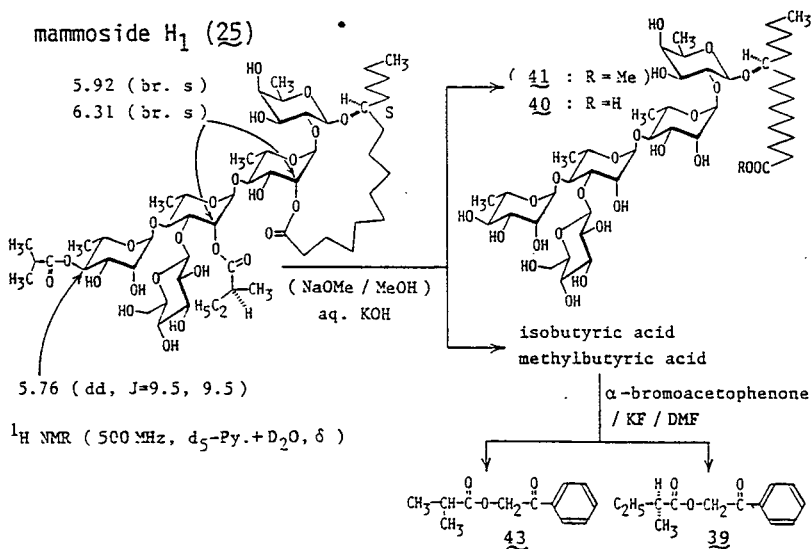


Chart 10

Mammoside H₁ (25)を5% aq. KOHで加水分解すると、配糖酸として26の場合と同様、40が得られるほか、isobutyric acidと2S-methylbutyric acidが検出・同定された。そして、種々のphysical dataの解析により、mammoside H₁ (25)の化学構造も明かとなった。

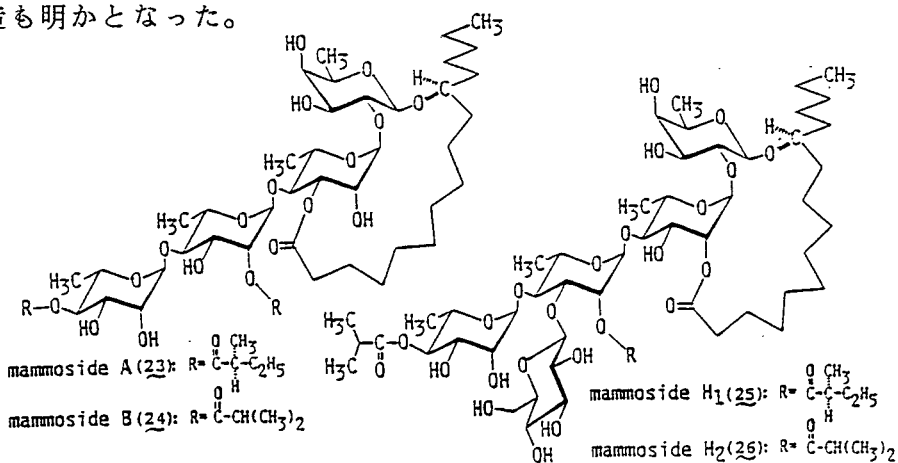


Fig. 21

以上のように構造決定した4種類のmammoside (23, 24, 25, 26)について、ヒト赤血球膜法による活性試験を行ったところ、mammoside類にもイオン輸送能のあることが明らかになった。そして、merremoside類の場合と同様(20頁)、3''位水酸基にグルコシル基が結合した mammoside H₁(25), H₂(26)は、3''位にグルコシル基を持たない mammoside A(23), B(24)に比べて、3種のイオン(Na⁺, K⁺, Ca²⁺)に対するイオン輸送能の大きいことが判った。Merremoside類の場合と同様、ここでも3''位のグルコシル基は、イオン輸送能に対して、赤血球膜と検体との相互作用に何らかの影響を及ぼしていると考えられる。

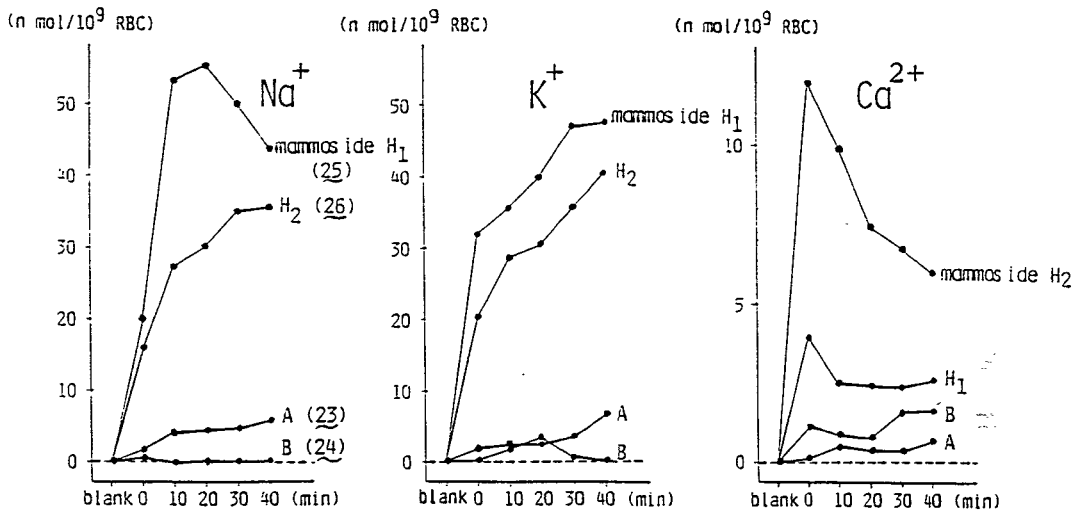


Fig. 22: Ion Transport Activity of Mammosides in Human Erythrocyte Membrane Method

第3章 テルペノイドを素材としたイオノフォア活性物質の合成

イオノフォア活性試験法が開発されたので、次に著者は、われわれの研究室における生物活性物質の合成研究²¹⁾の一環として、容易に入手可能な鎖状テルペノイド geraniol および E, E-farnesol を出発物質に用い、イオノフォア活性の発現を期待してラクトンエポキシドの合成を検討した。

第1節 Geraniolから18員環ラクトンエポキシドの合成

ラクトン化反応の基質、hydroxy methyl ester (48) を、geraniol (44) から合成するため、44の ω 位の位置および立体選択的酸化により、methoxycarbonyl基に変換することにした。

まず、geraniol (44) を $\text{Ac}_2\text{O-Py}$ によりアセチル化して定量的に geranyl acetate とした後、95% EtOH 中、室温(26°C)で1.4当量の SeO_2 を加えて2時間加熱還流してE- ω 位酸化し、E, ω -hydroxygeranyl acetate (45) を33%、E, ω -oxo-geranyl acetate (46) を41%の収率で得た。ここで、E配置の酸化生成物が得られたことは、 SeO_2 酸化の反応機構²²⁾の考察からも支持される。酸化生成物のうち、45を n-hexane- CHCl_3 (10:1)混合溶媒中、室温(26°C)で、活性 MnO_2 酸化により、46に定量的に導くことができる。

次に、46を dry MeOH 中活性 MnO_2 -NaCN-AcOH²³⁾で酸化し、methyl ester acetate (47) を収率56%で得た。

Chanら²⁴⁾は、E(trans)およびZ(cis)の 2-methyl-2-pentenyl alcohol (t- CH_2OH , c- CH_2OH) と、それぞれのaldehyde体(t-CHO, c-CHO)および methyl ester 体(t-COOMe, c-COOMe)について、それらの¹H NMRの各プロトンシグナルのケミカルシフトを比較検討している(Table III)。それらのデータと、今回得られた E, ω -oxo-geranyl acetate (46) のformyl protonのシグナル(δ 9.39)、および methyl ester acetate (47) のolefinic protonのシグナル(δ 6.71)を比較する

Table III²⁴⁾

	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \\ \text{H}_3\text{C} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{t-CH}_2\text{OH}; \\ \text{R}=\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{t-CHO}; \\ \text{R}=\text{CHO} \\ \text{t-COOMe}; \\ \text{R}=\text{COOMe} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \\ \text{H}_3\text{C} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{c-CH}_2\text{OH}; \\ \text{R}=\text{CH}_2\text{OH} \\ \text{c-CHO}; \\ \text{R}=\text{CHO} \\ \text{t-COOMe}; \\ \text{R}=\text{COOMe} \end{array}$	
	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-$	$-\text{HC}=\text{C}$	$=\text{C} \begin{array}{l} \text{R} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$-\text{CHO}$
t-CH ₂ OH	0.95	2.04	5.35	1.63	----
c-CH ₂ OH	0.95	2.07	5.25	1.78	----
t-CHO	1.11	2.38	6.45	1.73	9.38
c-CHO	1.10	2.55	6.46	1.72	10.11
t-COOMe	1.04	2.18	6.72	1.82	----
c-COOMe	1.01	2.45	5.90	1.88	----

ことにより、E- ω 位が位置および立体選択的に酸化されたことが明かになった。

Methyl ester acetate(47)をdry MeOH中、5% KOH-MeOHで処理して、hydroxy methyl ester(48)へ定量的に導いた。

48は分子式C₁₁H₁₈O₃の無色油状物質で、IR(film)では水酸基の吸収(3600~3100 cm⁻¹)と α , β -不飽和エステル(1704, 1645 cm⁻¹)の吸収が観測され、¹H NMR (CDCl₃)において、アリルアルコール部のmethylene proton[δ 4.17 (2H, d, J= 7 Hz)], olefinic proton[δ 5.44 (1H, m); δ 6.74 (1H, t, J= 6 Hz)]および methyl ester proton[δ 3.74 (3H, s)]のシグナルが観測され、その構造が確認された。

これまでに、Corey²⁵⁾, Masamune²⁶⁾, Yamaguchi²⁷⁾らによって種々の大環状ラクトン化法が報告されている。しかし、これらの方法による hydroxy methyl ester (48)のラクトン化では、満足のいく収率が得られなかった。そこで、種々の反応条件を検討した結果、5当量のNaH存在下、THF中加熱還流により、好収率(85%)で二量化ラクトン(49)の得られることが判明した。

49は分子式 $C_{28}H_{28}O_4$ で、IR($CHCl_3$)から α, β -不飽和ラクトンカルボニル基 (1687 cm^{-1})の存在が判り、 $^1H\text{ NMR}(CDCl_3)$ において、2本の vinyl methyl基 [$\delta\ 1.70, 1.84$ (3H each, s)], ラクトン水酸基の付け根の methylene proton [$\delta\ 4.34$ (2H, d, $J = 8\text{ Hz}$)]および olefinic proton [$\delta\ 5.37, 6.69$ (2H each, t, $J = 8, 6\text{ Hz}$)]のシグナルが観測されることから、dimeric lactone(GL_2 , 49)であることが明かとなった。

次いで、イオノフォア活性の発現に必要と考えられる酸素官能基を導入するため、49を $CHCl_3$ 中 m-chloroperbenzoic acid(MCPBA)と加熱還流して酸化し、dimeric lactone diepoxide (GL_2E_2 , 50)およびdimeric lactone tetraepoxide (GL_2E_4 , 51)を合成した。^{*a}

2種のラクトンエポキシド GL_2E_2 (50)および GL_2E_4 (51)は、それぞれの physical dataの解析からそれらの構造は確認されたが、 GL_2E_2 (50), GL_2E_4 (51)ともに、ジアステレオマー混合物である。

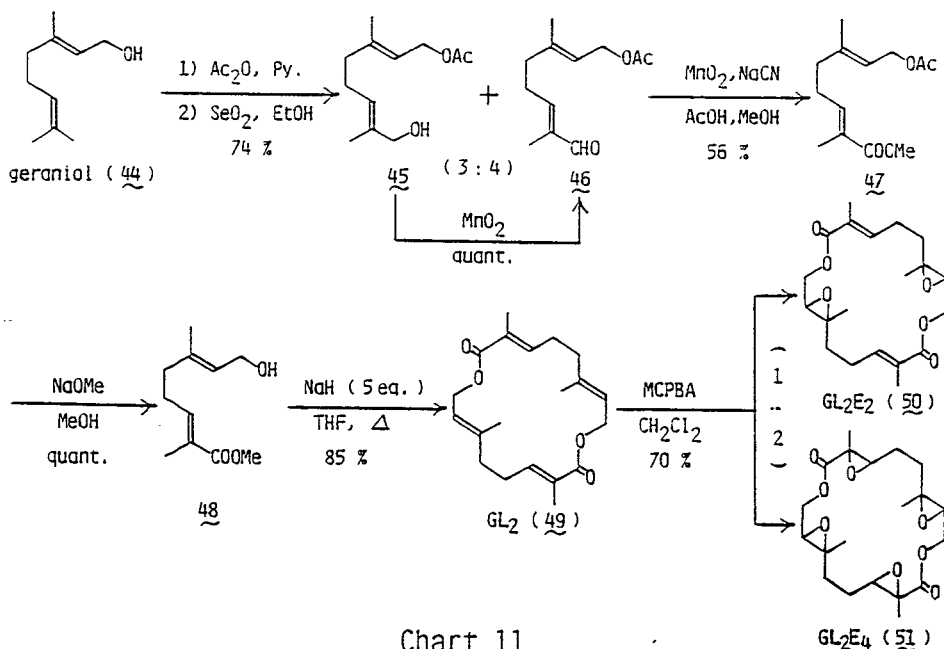


Chart 11

*a Geraniol(GL)の二量化体という意味で GL_2 、エポキシ環が2,4個存在するという意味で E_2, E_4 と略号を付した。

第2節 E,E-Farnesolから13および26員環ラクトンエポキシドの合成

ラクトン化反応の基質、hydroxy methyl ester (55)を、E,E-farnesol(52)から合成するため、52の ω 位を位置および立体選択的に酸化して、methoxycarbonyl基に変換することにした。

まず、E,E-farnesol (52)をアセチル化の後、95% EtOH中、60°C加温下、1.0当量の SeO_2 により酸化し、E, ω -hydroxy体(53)を39%の収率(原料回収30%)で得た。

ここで、E- ω 位が位置および立体選択的に酸化されたことは、前節の SeO_2 酸化の場合と同様に、 SeO_2 の反応機構の考察、およびChanらのデータ(Table III)²⁴⁾と、次の酸化で得られる aldehyde体の formyl protonのシグナル(δ 9.35)、および methyl ester acetate (54)の olefinic protonのシグナル(δ 6.74)の比較により明かになった。

化合物53をn-hexane- CHCl_3 (10:1)混合溶媒中、室温(26°C)下、活性 MnO_2 酸化し、定量的に aldehyde体とした後、精製することなく dry MeOH中、活性 MnO_2 - NaCN-AcOH ²³⁾により酸化し、methyl ester acetate(54)を、53より59%の収率で得た。さらに54を、dry MeOH中 室温(27°C)下、5% KOH-MeOHで処理して、hydroxy methyl ester(55)へ定量的に導いた。

55は分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_3$ の無色油状物質で、IR(film)では水酸基の吸収(3600~3100 cm^{-1})と α , β -不飽和エステルの吸収(1705, 1645 cm^{-1})が観測され、 ^1H NMR(CDCl_3)においてもアリルアルコール部の methylene proton[δ 4.16 (2H, d, $J=7$ Hz)], olefinic proton[δ 5.14 (1H, m); δ 5.41 (1H, m); δ 6.75, 1H, t, $J=7$ Hz)]およびmethyl ester proton[δ 3.74 (3H, s)]のシグナルが観測され、その構造が確認された。

55のラクトン化反応においても、前節48の場合と同様、従来のラクトン化法では満足のいく収率でラクトン体を得ることができなかつたので、種々の条件を検討した結果、NaHによるラクトン化を、benzene中加熱還流の条件で行うと、好収率で2種のラクトン体(56, 57)の得られることが判明した。また、反応溶液の濃度および溶媒の種類によって、2種類のラクトンの生成比率を制御できることも明かとなった(Table IV)。

56および57は無色結晶性化合物で、IR(CHCl₃)において α , β -不飽和ラクトンカルボニル(56: 1689, 1651 cm⁻¹, 57: 1704, 1646 cm⁻¹)の吸収がみられ、¹H NMR(CDCl₃)において、methyl ester protonのシグナルが消失していることから、56および57はラクトン体であることが明かとなった。そして、Low MassおよびHigh Massにおいて、56が分子式C₁₅H₂₂O₂の monomeric lactone (FL₁), 57が分子式C₃₀H₄₄O₄の dimeric lactone (FL₂)であることが判明した。

Table IV

Lactonization of Hydroxy Methyl Ester (55) by Use of NaH

solvent	concentration (mol/l)	yield(%) of*	
		FL ₁ (56)	FL ₂ (57)
THF	1 x 10 ⁻²	8	72
THF	1 x 10 ⁻³	46	36
benzene	1 x 10 ⁻²	14	61
benzene	1 x 10 ⁻³	55	33
toluene	1 x 10 ⁻²	48	41
toluene	1 x 10 ⁻³	72	24

*Calculated from the isolated products.

次に、 FL_1 (56) および FL_2 (57) をそれぞれ $CHCl_3$ 中室温で MCPBA 酸化し、56 から monomeric lactone diepoxide (FL_1E_2 , 58) を、57 から dimeric lactone tetraepoxide (FL_2E_4 , 59) を得た。両化合物とも、その physical data から孤立二重結合のみがエポキシ化された化合物であることが明かとなった。なお、 FL_1E_2 (58) および FL_2E_4 (59) は、エポキシド部分のジアステレオマー混合物である。^{*b}

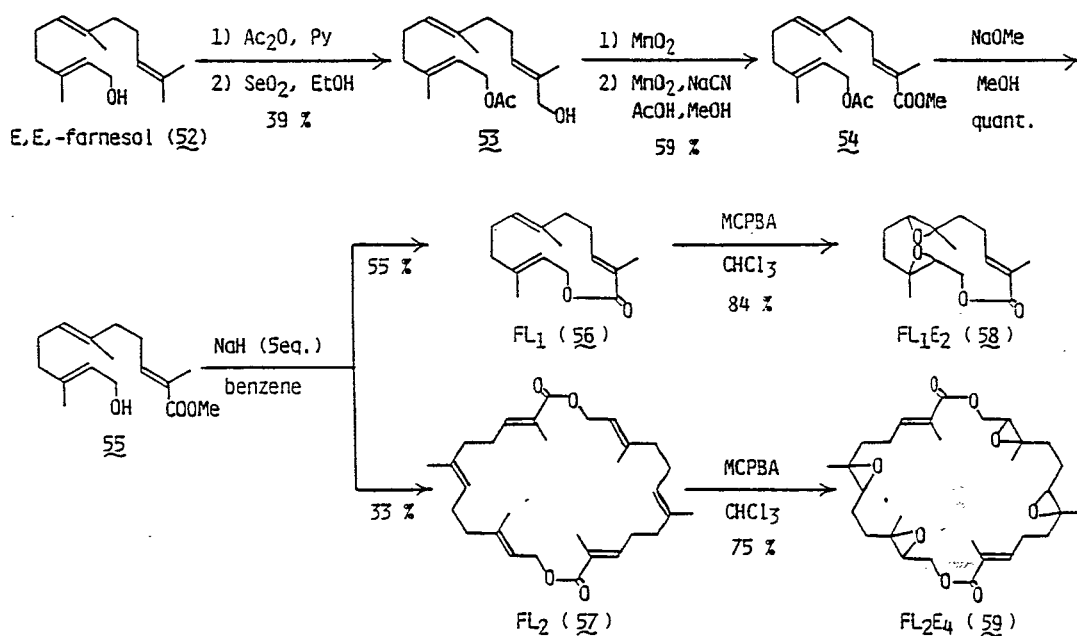


Chart 12

*b ここでも、第1節の geraniol の場合と同様 farnesol (FL) から誘導された monomeric lactone (FL_1), dimeric lactone (FL_2)、それらのジエポキシド (FL_1E_2)、テトラエポキシド (FL_2E_4) などと略号を付した。

第4章 テルペノイド系大環状ラクトンエポキシドのイオノフォア活性

第1節 人工透析膜装置を用いた活性試験

第3章で合成した4種のラクトンエポキシド GL_2E_2 (50), GL_2E_4 (51), FL_1E_2 (58), および FL_2E_4 (59) について、人工透析膜法 (W-07装置) による Na^+ , K^+ および Ca^{2+} に対するイオン輸送能の測定を行った。その結果、 GL_2E_2 (50) および FL_1E_2 (58) は、いずれのイオンに対しても輸送能を示さなかったが、 GL_2E_4 (51) は Ca^{2+} を、 FL_2E_4 (59) は K^+ を選択的に輸送することが明かになった。(Fig. 23)

次に、人工透析膜法でイオン輸送能を示した GL_2E_4 (51) および FL_2E_4 (59) のジアステレマー分離を行い、各ジアステレオマーのイオン輸送能を検討した。

GL_2E_4 (51) のジアステレオマー分離をするため、 GL_2E_2 (50) が2種のジアステレオマー混合物であるので、まず GL_2E_4 (50) を HPLC (YMC 043-10, n-hexane: AcOEt=8:1) により分離して、 GL_2E_2-1 (60), GL_2E_2-2 (61) ($60:61=7:4$) を得た。

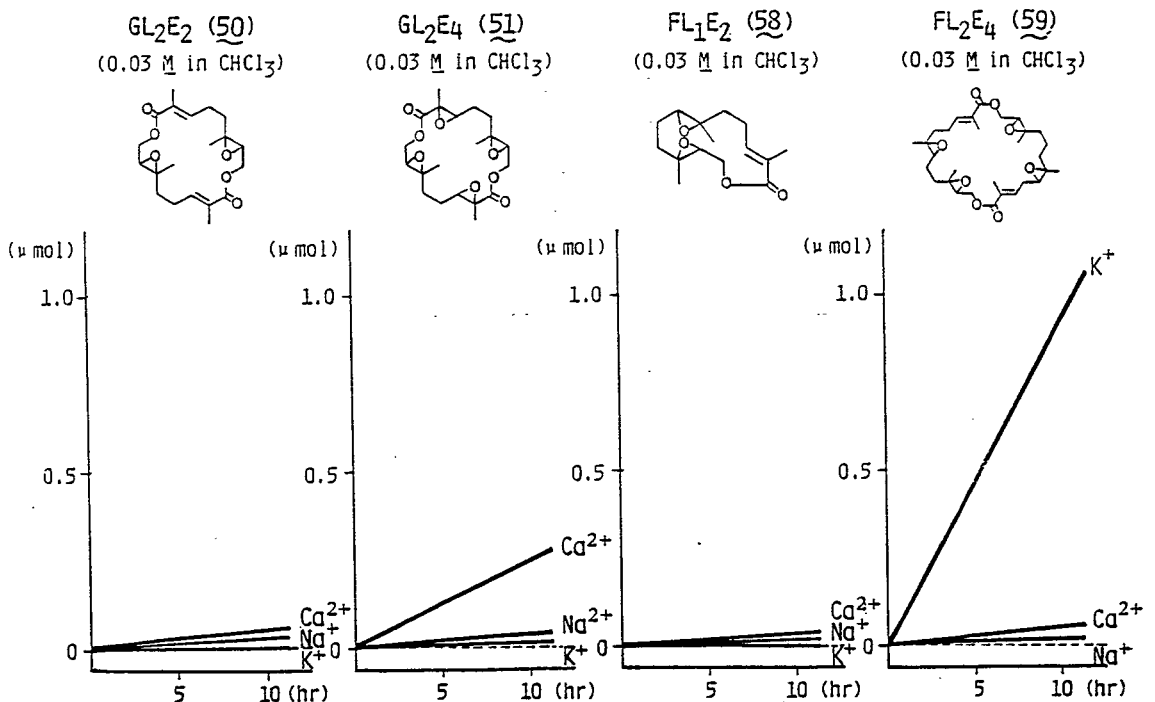
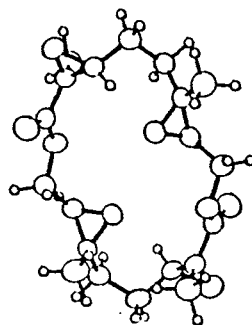
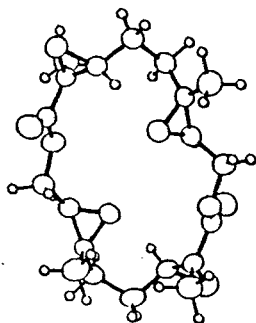
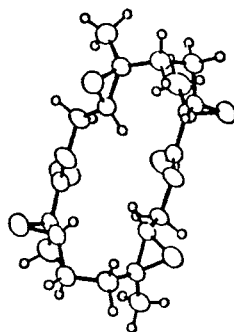
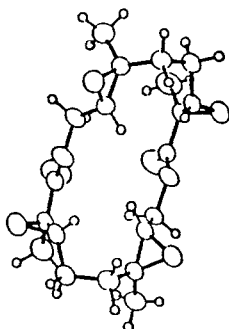


Fig. 23: Ion Transport Activity of Lactone Epoxides in Artificial Membrane Method-I

GL₂E₄-1-1 (64)



GL₂E₄-1-3 (66)



GL₂E₄-2-1 (67)

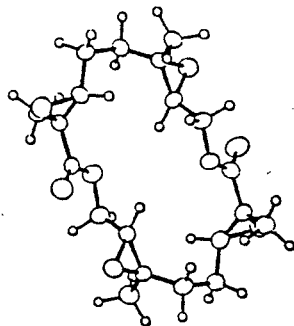
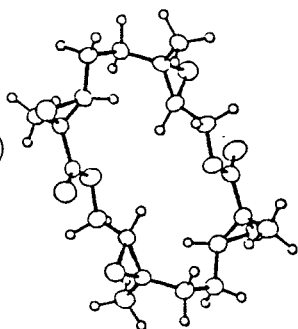


Fig. 24

次いで、それぞれをMCPBA酸化して、テトラエポキシド GL₂E₄-1 (62), GL₂E₄-2 (63)に導いた後、HPLC(62; YMC 043-10, n-hexane:AcOEt=2:1, 63; Zorbax SIL 5SL, n-hexane:AcOEt=2:1)によりジアステレオマーに分離し、計6種のゲラニオール二量化ラクトンエポキシド [GL₂E₄-1-1(64): GL₂E₄-1-2(65):GL₂E₄-1-3(66)=8:2:3, GL₂E₄-2-1(67):GL₂E₄-2-2(68):GL₂E₄-2-3(69)=7:5:8]を得ることができた。

分離した6種の GL_2E_4 ジアステロオマーのうち GL_2E_4-1-1 (64), GL_2E_4-1-3 (66) および GL_2E_4-2-1 (67) のX線結晶解析 (Fig. 24) の結果、 GL_2E_2 (50) のHPLC分離によって、まず、2個のエポキシドがsyn. (GL_2E_2-1 , 60) とanti. (GL_2E_2-2 , 61) に分かっていること、および GL_2E_4-1-2 (65) のエポキシ環の相対配置が、 GL_2E_4-1-1 (64) および GL_2E_4-1-3 (66) の相対配置との比較から明らかになった。また、 GL_2E_4-2-2 (68) および GL_2E_4-2-3 (69) の 1H NMRにおいて、methyl protonのシグナルがそれぞれ [68; δ 1.45, 1.32 (6H each)、69; δ 1.48, 1.46, 1.31, 1.27 (3H each)] に観測されることから、 GL_2E_4-2-2 (68) には対称性があり、 GL_2E_4-2-3 (69) は非対称であることが判り、これらのことから、6種の GL_2E_4 は、Fig. 25に示した様なエポキシ環の立体配置を有していることが明かとなった。

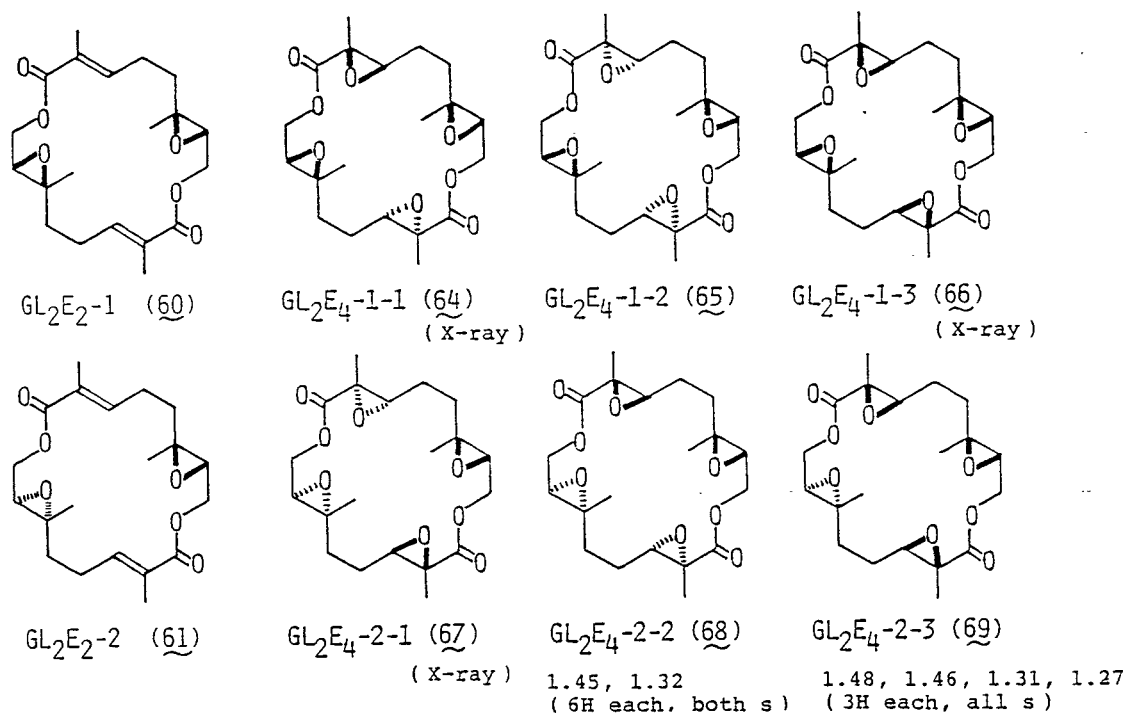


Fig. 25

一方、FL₂E₄(59)のジアステレオマーは、直接HPLC[Hibar RiChrosorb Si60, n-hexane:AcOEt=3:1]により、6種のラクトンエポキシド[FL₂E₄-1(70):FL₂E₄-2(71):FL₂E₄-3(72):FL₂E₄-4(73):FL₂E₄-5(74):FL₂E₄-6(75)=3:5:1:3:4:6]に分離することができた。^{＊c}

ジアステレオマー分離した各ラクトンエポキシドについて、まず、人工透析膜法(W-07装置)によってイオン輸送能を測定した。その結果、GL₂E₄(51)に関しては、Ca²⁺輸送能において、GL₂E₄-2-1(67) > -1-3(66) > -1-1(64) > GL₂E₄(51) (ジアステレオマー混合物) > GL₂E₄-2-3(69) > -2-2(68) > -1-2(65)の順に、また、FL₂E₄(59)については、K⁺輸送能において、FL₂E₄-3(72) > -1(70) > -5(74) > FL₂E₄(59) (ジアステレオマー混合物) > FL₂E₄-2(71) > -4(73) > -6(75)の順に、活性の強さに差のあることが判った。(Fig. 26)

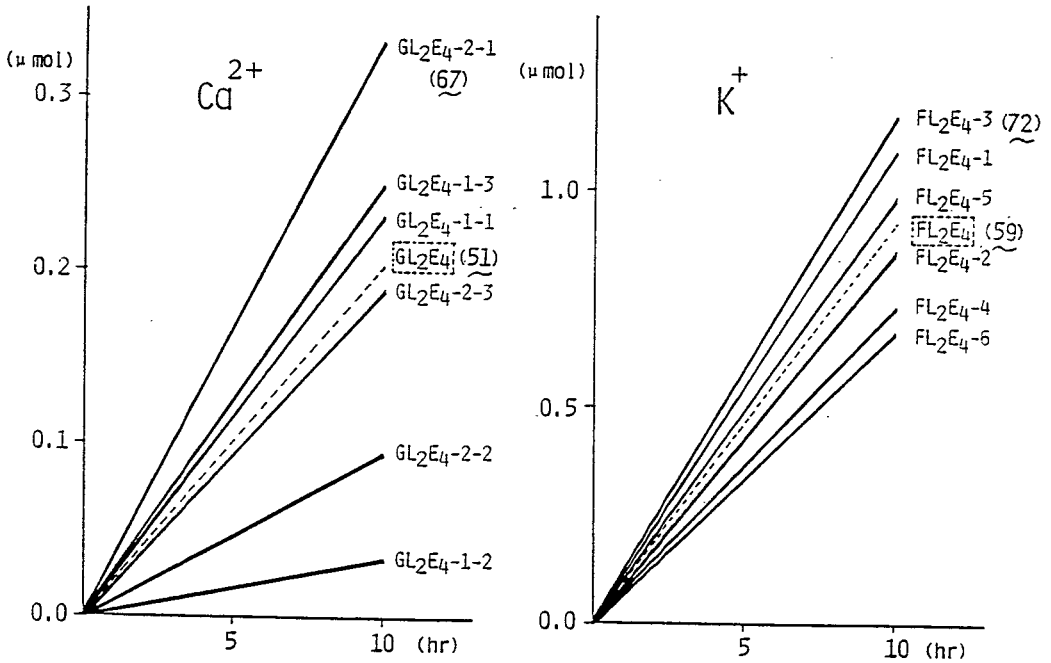


Fig. 26: Ion Transport Activity of Lactone Epoxides in Artificial Membrane Method-II

*c それぞれの立体配置を明らかにするには至っていない。

第2節 ヒト赤血球膜法による活性試験

4種のラクトンエポキシド（ジアステレオマー混合物） GL_2E_2 (50), GL_2E_4 (51), FL_1E_2 (58) および FL_2E_4 (59) について、ヒト赤血球膜を用いたイオノフォア活性試験を行うと、 Na^+ に対して、いずれのラクトンエポキシドもそれ程高い輸送能を示さず、特に、 FL_1E_2 (58) の場合、赤血球内から外へのイオン流出現象が見られた。一方、 K^+ に対して、 GL_2E_4 (51) および FL_2E_4 (59) は、赤血球外から内へのイオン輸送能を示した。さらに、 Ca^{2+} に対しては、 GL_2E_4 (51) が特徴的な赤血球内へのイオン輸送を行うことが判った。(Fig. 27)

次に、 K^+ , Ca^{2+} に対して活性を示した GL_2E_4 (51)、および K^+ に対して活性を示した FL_2E_4 (59) について、ジアステレオマー分離した後、ヒト赤血球膜法による活性試験を行ったところ、Fig. 28に示す結果が得られた。

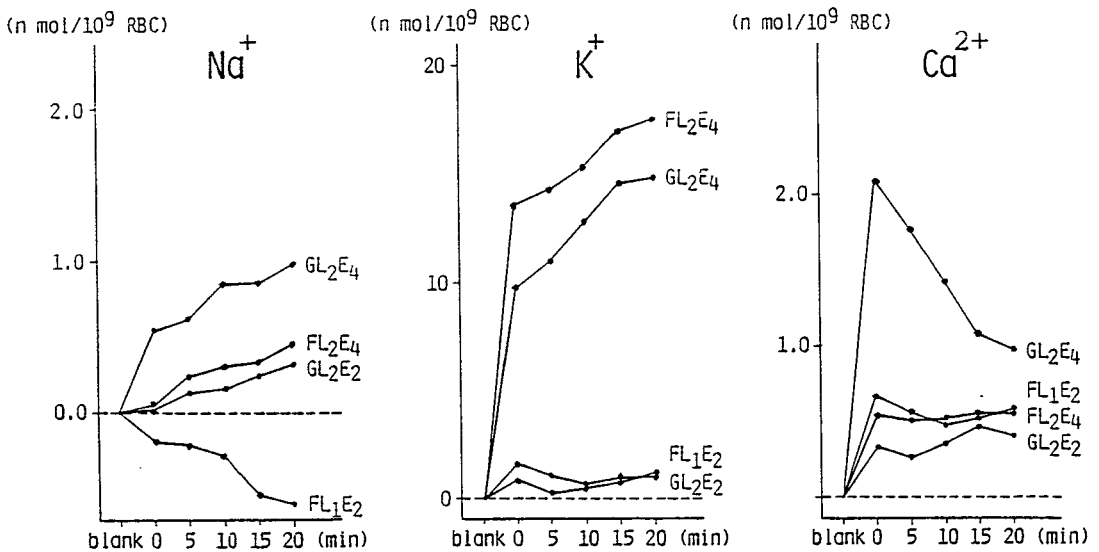


Fig. 27: Ion Transport Activity of Lactone Epoxides in Human Erythrocyte Membrane Method-I

すなわち、ジアステレオマー分離した各ラクトンエポキシドの、ヒト赤血球膜法によるイオン輸送能の強さの順位は以下の通りで [K⁺輸送能：FL₂E₄-6 (75) > FL₂E₄-3 (72) > FL₂E₄-2 (71) > FL₂E₄-4 (73) > FL₂E₄-5 (74) > FL₂E₄-1 (70) ; GL₂E₄-2-2 (68) > GL₂E₄-1-2 (65) > GL₂E₄-1-3 (66) > GL₂E₄-2-3 (69) > GL₂E₄-2-1 (67) > GL₂E₄-1-1 (64)、Ca²⁺輸送能：GL₂E₄-1-3 (66) > GL₂E₄-2-2 (68) > GL₂E₄-2-3 (69) > GL₂E₄-1-2 (65) > GL₂E₄-1-1 (64) > GL₂E₄-2-1 (67)]、人工透析膜法によって得られたイオン輸送能の強さの順位と異なっている。この結果は、両方法におけるイオノフォア活性発現のメカニズムの相違によるものと思われるが、その詳細については今後の検討を待たねばならない。

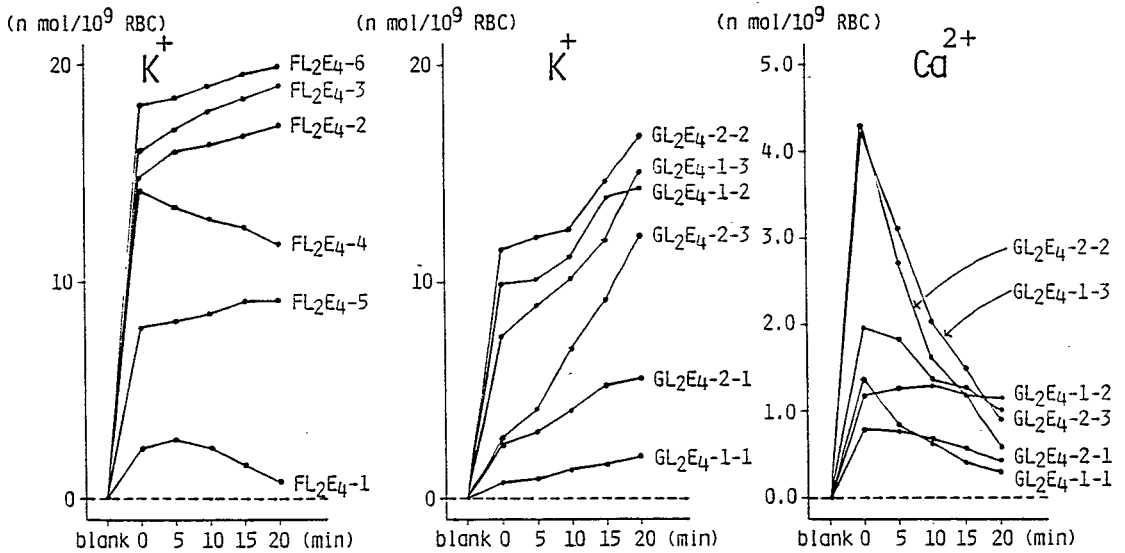


Fig. 28: Ion Transport Activity of Lactone Epoxides in Human Erythrocyte Membrane Method-II

第3節 考察

以上、鎖状テルペノイド geraniol (44) および E, E-farnesol (52) から合成した大環状ラクトンエポキシド類の人工透析膜法(W-07装置)およびヒト赤血球膜法によるイオノフォア活性の検討結果を述べた。その中で、最近特に注目を集めている Ca^{2+} に対する輸送活性がみられた GL_2E_4 (51) の6種のジアステレオマーの立体構造も明らかにした。

人工透析膜法による試験で最も強い活性を示した GL_2E_4 -2-1 (67) が、ヒト赤血球膜法では逆に最も活性が弱い。一方、 GL_2E_4 -1-3 (66) には、両方の活性試験で強いイオン輸送活性がみられた。この2種のラクトンエポキシドの立体構造と、そのイオン輸送能を考察すると、4個のエポキシ環が同一方向にある GL_2E_4 -1-3 (66) は、その分子内に Ca^{2+} を捕捉し、錯体を形成して Ca^{2+} を輸送すると考えられる (Fig. 29, A)。一方、 GL_2E_4 -2-1 (67) のイオン輸送活性の一つの可能性とし

W-07 GL_2E_4 -2-1 (67) > -1-3 (66) > -1-1 (64) > -2-3 (69) > -2-2 (68) > -1-2 (65)
 RBC GL_2E_4 -1-3 (66) > -2-2 (68) > -2-3 (69) > -1-2 (65) > -1-1 (64) > -2-1 (67)

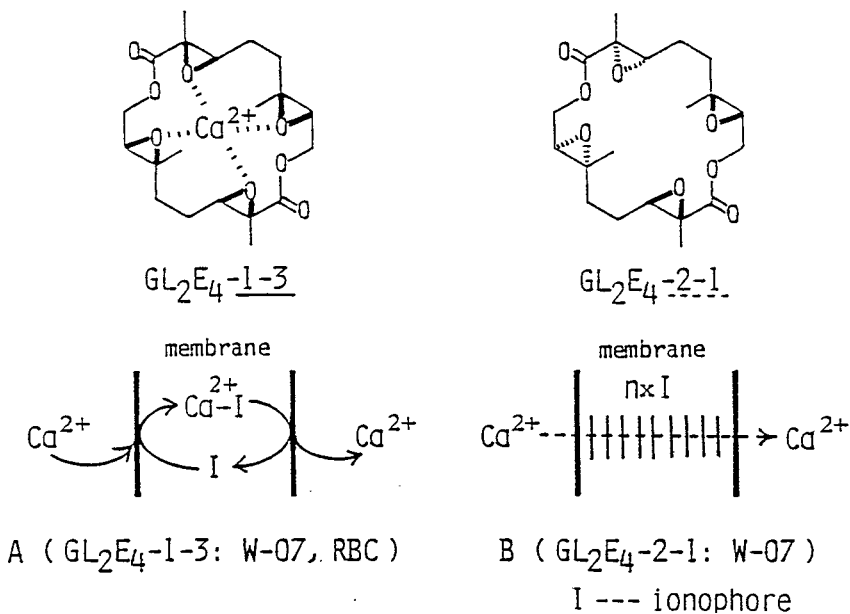


Fig. 29

て、W-07装置の液膜（水飽和クロロホルム溶液）中では、重なり合うように67の分子が並んで Ca^{2+} を通しうるチャンネルを形成してイオン輸送し（Fig. 29, B）、脂質二重層からなるヒト赤血球膜ではそのようにチャンネル形成は困難なので、イオン輸送活性が弱い、と考えられる。

ヒト赤血球膜を用いた活性試験における大環状ラクトンエポキシド GL_2E_4 (51)および FL_2E_4 (59)の K^+ の輸送は、いずれも赤血球膜内外の K^+ のイオン濃度勾配に逆らった現象である。従ってここでは、ATPの消費による細胞外から細胞内へ K^+ を流入するカリウムポンプの活性化作用が考えられる。 FL_1E_2 (58)の Na^+ の赤血球内から外への流出作用（Fig. 27）も、これと類似の現象と推察される。

この様に、著者が開発した人工透析膜およびヒト赤血球膜を用いる2種のイオノフォア活性試験の測定結果を比較検討することにより、種々の有益な知見を得ることができる。

結 論

- 1) 人工透析膜およびヒト赤血球膜を用いた2種の新しいイオノフォア活性試験法を開発し、種々の標準物質を用いてそれらの高い実用性を明らかにした。
- 2) 新たに開発した2種のイオノフォア活性試験法を種々の大環状天然物質に適用し、*Theonella*属海綿の産生成分オリゴペプチドラクトンtheonellapeptolide類、およびインドネシア薬用植物 *Merremia mammosa* Chois. に含有される樹脂配糖体merremoside類やmammoside類が、イオノフォア活性物質であることを明らかにした。
- 3) 容易に入手可能な鎖状テルペノイド geraniolおよび E, E-farnesolから、イオノフォア活性の発現を期待して種々のラクトンエポキシドを合成した。
- 4) 鎖状テルペノイドから合成した大環状ラクトンエポキシド類のイオノフォア活性を検討し、種々の有用な知見を得た。

謝 辞

本研究に際し、終始御指導を賜りました北川 勲 先生に心から感謝致します。

また、実験に際し、御助言、御討論下さいました本学薬学部生薬学教室の
渋谷博孝博士、吉川雅之博士、小林資正博士、大阪薬科大学薬剤学教室の西野
隆雄博士をはじめ、本学薬学部生薬学教室教室員の方々に感謝致します。

また、ヒト赤血球膜を用いたイオノフォア活性試験法の開発に協力して下さい
ました、大阪成人病センター研究所の明渡 均所長、新貝清子博士をはじめ、
腫瘍生化学研究室研究員の方々に感謝致します。

また、実験に協力して下さいました白 南仁修士、山本敏弘、小山和久子、
川西博之、下村美穂の諸氏に感謝致します。

また、元素分析をして頂きました本学薬学部元素分析室、ならびに質量分析
をして頂きました本学薬学部質量分析室、塩野義製薬株式会社研究所、近畿大
学薬学部質量分析室の方々に感謝致します。

また、X線結晶解析をして頂きました大阪薬科大学石田寿昌博士に感謝致し
ます。

実験の部

融点は、柳本微量融点測定装置を用いて測定しすべて未補正である。

旋光度は、日本分光 DIP-181 型デジタル旋光度計(1=0.5)を用いて測定した。

高分解能質量分析(High Resolution MS)は、日本電子 JMS-new D-300 または、日本電子 JMS-01-SG-2 質量分析装置を用いて分析し、質量分析は、日本電子 D-300 質量分析装置を用いて測定した。Secondary ion MS(SIMS)は日立質量分析計 M-80 型を用いて測定した。Negative ion FAB MS には日本電子質量分析計 JMS-DX300 型を使用した。

赤外線吸収スペクトル(IR)は、日立赤外分光光度計 260-30 型を用いて測定した。

紫外線吸収スペクトル(UV)は、日立紫外分光光度計 330 型を用いて測定した。

プロトン核磁気共鳴スペクトル(^1H NMR)は、日本電子 FX-90Q(90 MHz), FX-400(400 MHz), FX-500(500 MHz)を用いて測定し、 CDCl_3 (7.27 ppm), TMSを内部標準として用いた。

炭素13核磁気共鳴スペクトル(^{13}C NMR)は、日本電子 FX-500(125 MHz)を用いて測定し、 CDCl_3 (77.1 ppm), d_5 -pyridine(135.5 ppm)を内部標準とした。

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)には、島津 LC-5A 型、LC-6A 型(RI detector:RID-2A)、Waters C-201 型を用いた。

ガスクロマトグラフィー(GLC)には、日立 Gas Chromatograph Model 663-50 型(FID detector)、Shimadzu Gas Chromatograph Model GC-9A(FID)を用いた。

各種カラムクロマトグラフィーの吸着剤として、Silica gel(Merck, 60-230 mesh)reversed phase silica gel (Waters μ -Bondapak C_{18})を用いた。

薄層クロマトグラフィー(TLC)には、Pre-Coated TLC Plates(Silica gel 60F₂₅₄, 0.25 mm Merck)を用い、検出は、1% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ -10% aq. H_2SO_4 および5% vaniline- H_2SO_4 を噴霧し、加熱時の呈色によった。

第1章

第1節の実験

人工透析膜法(W-07装置)によるイオン輸送能の測定は、いずれも本論中に示した手順に従って行った。

Benzo-15-crown-5 (1)のイオン輸送能

Benzo-15-crown-5 (1, 80.4 mg, 0.3 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、10 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液(調製法は本論に記載)を用いてイオン輸送能の測定を行い、Na⁺に対するイオン輸送能(m_{Na})は 9.91×10^{-8} mol/hr、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は 1.15×10^{-8} mol/hrであった。しかし、Ca²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は、観測されなかった。

Dibenzo-18-crown-6 (2)のイオン輸送能

Dibenzo-18-crown-6 (2, 108.3 mg, 0.3 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、10 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液(調製法は本論に記載済み)を用いてイオン輸送能の測定を行い、Na⁺に対するイオン輸送能(m_{Na})は 2.26×10^{-7} mol/hr、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は 7.33×10^{-7} mol/hrであった。しかし、Ca²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は、観測されなかった。

Kriptofix 221D (3)のイオン輸送能

Kriptofix 221D (3, 162.6 mg, 0.3 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、10 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液(調製法は本論に記載済み)を用いてイオン輸送能の測定を行い、Na⁺に対するイオン輸送能(m_{Na})は 2.26×10^{-7} mol/hr、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は 7.33×10^{-7} mol/hrであった。しかし、Ca²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は、観測されなかった。

第2節の実験

ヒト赤血球膜法によるイオノフォア活性試験は、すべて本論で示した手順で行った。また、ここに示すデータは、同時にサンプリングした3検体の平均値を示している。

Monensin (4)のNa⁺に対するイオノフォア活性

Monensin (4)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球(RBC)10⁹個当たり0.01 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、monensin (4, 1.2 mg, 1.8 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して16.7 μl加え(0.01 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	4.63
10	63.7
20	95.9
30	92.4
40	86.9

Benzo-15-crown-5 (1)のNa⁺に対するイオノフォア活性

Benzo-15-crown-5 (1)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.01 μmolでは溶血による血球数の減少が観られないので、benzo-15-crown-5 (1, 0.48 mg, 1.8 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して16.7 μl加え(0.01 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.016
10	0.019
20	0.364

30	0.829
40	1.308

Valinomycin (5)のK⁺に対するイオノフォア活性

Valinomycin (5)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.01 \mu\text{mol}$ では溶血による血球数の減少が観られないので、valinomycin (5, 2.0 mg, $1.8 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $16.7 \mu\text{l}$ 加え($0.01 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間 (min)	K ⁺ 輸送量 (nmol/ 10^9RBC)
0	79.9
10	164.7
20	244.4
30	146.3
40	83.3

Dibenzo-18-crown-6 (2)のK⁺に対するイオノフォア活性

Dibenzo-18-crown-6 (2)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.01 \mu\text{mol}$ では溶血による血球数の減少が観られないので、benzo-15-crown-5 (1, 0.65 mg, $1.8 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $16.7 \mu\text{l}$ 加え($0.01 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間 (min)	K ⁺ 輸送量 (nmol/ 10^9RBC)
0	6.62
10	4.87
20	3.77
30	2.08
40	0.35

A 23187 (6)のCa²⁺に対するイオノフォア活性

A 23187 (6)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当り0.01 μmolでは溶血による血球数の減少が観られないので、A 23187 (6, 0.94 mg, 1.8 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して16.7 μl加え(0.01 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	105.9
10	156.2
20	164.3
30	191.7
40	205.3

Kriptofix 221D (3)のCa²⁺に対するイオノフォア活性

Kriptofix 221D (3)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当り0.001 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、A 23187 (3, 0.47 mg, 1.0 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して30 μl加え(0.001 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	3.30
10	1.78
20	1.21
30	0.85
40	0.36

第2章

第1節の実験

人工透析膜法(W-07装置)を用いたイオン輸送能の測定は、いずれも本論・第1章・第1節中に示した手順に従って行った。

Theonellapeptolide Id(10)のイオン輸送能

Theonellapeptolide Id (10, 126 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶媒(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液(調製法は本論に記載済み)を用いてイオン輸送能の測定を行い、Na⁺に対するイオン輸送能(m_{Na})は 2.87×10^{-7} mol/hr、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は 3.74×10^{-7} mol/hr、またCa²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は 2.08×10^{-7} mol/hrであった。

ヒト赤血球膜法によるイオノフォア活性試験はすべて、本論で示した手順で行った。また、ここに示すデータは、同時にサンプリングした3検体の平均値を示している。

Theonellapeptolide Ia(7)のイオノフォア活性

Theonellapeptolide Ia(7)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当たり $0.005 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、theonellapeptolide Ia(7, 0.97 mg, $0.70 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $21.4 \mu\text{l}$ 加え($0.005 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	0.403	0.684	0.172
10	0.506	1.080	3.195
20	0.624	0.936	2.912
30	0.741	1.763	2.763
40	1.101	1.691	2.298

Theonellapeptolide Ib(8)のイオノフォア活性

Theonellapeptolide 1b(8)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.005 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、theonellapeptolide 1b(8, 1.08 mg, $0.78 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $19.2 \mu\text{l}$ 加え($0.005 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	0.121	0.684	0.279
10	0.336	1.476	0.313
20	0.459	2.519	0.462
30	0.902	2.684	0.929
40	1.477	3.599	0.463

Theonellapeptolide 1c(9)のイオノフォア活性

Theonellapeptolide 1c(9)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.005 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、theonellapeptolide 1c(9, 1.40 mg, $1.01 \mu\text{mol}$)をEtOHで溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $14.9 \mu\text{l}$ 加え($0.005 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	0.317	1.689	0.987
10	0.296	3.738	2.884
20	0.290	6.787	3.321
30	0.568	11.148	3.801
40	0.643	11.967	3.848

Theonellapeptolide 1d(10)のイオノフォア活性

Theonellapeptolide 1d(10)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.005 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、theonellapeptolide 1d(10, 1.09 mg, $0.78 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $19.2 \mu\text{l}$ 加え($0.005 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	1.476	1.623	1.534
10	2.313	5.492	3.601
20	2.466	7.902	6.398
30	2.497	12.656	6.953
40	2.510	14.918	7.047

Theonellapeptolide 1e(11)のイオノフォア活性

Theonellapeptolide 1e(11)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.005 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、theonellapeptolide 1e(11, 2.25 mg, 1.59 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して9.4 μl加え(0.005 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.899	3.820	0.086
10	2.344	7.361	0.102
20	2.612	14.377	0.145
30	3.096	19.885	0.312
40	3.388	20.803	0.657

Theonellapeptolide 1d-NaOMe (12)のイオノフォア活性

Theonellapeptolide 1d-NaOMe(12, 2.07 mg, 1.44 μmol)をEtOHで溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して10.4 μl加え(0.005 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.071	0.262	0.015
10	0.056	0.030	0.069
20	0.041	0.115	0.050
30	0.003	0.410	0.000
40	0.022	0.393	0.013

第2節の実験

人工透析膜法(W-07)を用いたイオン輸送能の測定は、いずれも本論・第1章・第1節中に示した手順に従って行った。

Merremoside a (13)のイオン輸送能

merremoside a (13, 90.5 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶媒(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液を用いてイオン輸送能の測定を行い、Na⁺に対するイオン輸送能(m_{Na})は 0.78×10^{-7} mol/hr、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は 0.51×10^{-7} mol/hr、またCa²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は 0.98×10^{-7} mol/hrであった。

Merremoside h₁ (13)のイオン輸送能

merremoside h₁ (13, 104 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶媒(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液を用いてイオン輸送能の測定を行い、Na⁺に対するイオン輸送能(m_{Na})は 1.07×10^{-7} mol/hr、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は 0.96×10^{-7} mol/hrであった。

ヒト赤血球膜法によるイオノフォア活性試験は、すべて本論で示した手順で行った。また、ここに示すデータは、同時にサンプリングした3検体の平均値を示している。

Merremoside a(13)のイオノフォア活性

Merremoside a(13)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り 0.10μ molより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、merremoside a(13, 4.70 mg, 4.67μ mol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3mlのヒト赤血球浮遊液(10^9 RBC/ml)に対して 64.2μ l加え(0.10μ mol/ 10^9 RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.974	0.866	1.129
10	1.203	0.970	1.412
20	1.624	1.842	1.606
30	1.773	3.752	2.303
40	2.751	7.649	2.476

Merremoside b(14)のイオノフォア活性

Merremoside b(14)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり 0.10 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、merremoside b(14, 3.24 mg, 3.31 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して90.6 μl加え(0.10 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	3.080	3.993	0.524
10	5.193	4.199	0.805
20	7.662	5.148	0.944
30	7.935	5.378	2.391
40	9.443	5.556	2.718

Merremoside c(15)のイオノフォア活性

Merremoside c(15)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり 0.10 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られた。それで、merremoside c(15, 3.35 mg, 3.38 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して88.7 μl加え(0.10 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	7.834	7.577	4.593

10	17.231	15.010	4.910
20	23.285	17.439	5.928
30	25.958	16.037	6.600
40	32.004	14.889	6.679

Merremoside d(16)のイオノフォア活性

Merremoside d(16)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、merremoside d(16, 3.34 mg, $3.46 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $86.7 \mu\text{l}$ 加え($0.10 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	1.412	0.311	3.682
10	1.856	1.052	3.116
20	3.746	2.667	2.641
30	4.362	4.843	2.608
40	7.704	6.118	2.364

Merremoside f(18)のイオノフォア活性

Merremoside f(18)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、merremoside f(18, 4.52 mg, $3.92 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $76.5 \mu\text{l}$ 加え($0.10 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	41.908	23.571	54.516
10	80.318	52.987	64.756
20	79.267	46.512	49.675
30	73.668	38.173	44.946

Merremoside g(19)のイオノフォア活性

Merremoside g(19)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、merremoside g(19, 4.27 mg, $3.75 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $80.0 \mu\text{l}$ 加え($0.10 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	9.064	9.504	29.393
10	14.572	9.220	27.322
20	19.761	14.914	25.924
30	24.260	17.455	25.354
40	27.943	15.642	25.276

Merremoside h₁(20)のイオノフォア活性

Merremoside h₁(20)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、merremoside h₁(20, 4.51 mg, $3.91 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $76.7 \mu\text{l}$ 加え($0.10 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9RBC)
0	21.041	29.394	24.636
10	32.531	27.322	20.491
20	40.999	25.924	17.851
30	50.702	25.354	13.300
40	54.026	25.276	12.031

Merremoside h₂(21)のイオノフォア活性

Merremoside h₂(21)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり 0.10 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、merremoside h₂(21, 4.19 mg, 3.68 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して81.5 μl加え(0.10 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	15.670	16.749	30.086
10	46.092	26.457	32.305
20	52.667	34.727	24.951
30	56.129	42.525	19.581
40	53.670	42.903	16.029

Merremoside i(22)のイオノフォア活性

Merremoside i(22)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり 0.10 μmolより濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、merremoside i(22, 3.23 mg, 3.77 μmol)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して79.6 μl加え(0.10 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/10 ⁹ RBC)
0	-0.880	-0.795	0.016
10	-0.181	-1.060	0.120
20	0.250	-0.606	0.191
30	0.025	-0.772	0.200
40	0.270	-0.530	0.242

Bidara upasより樹脂配糖体mammoside類の抽出・単離 (Chart 2, 22頁)

Bidara upas (新鮮塊根、1987年採取)をMeOHで加熱抽出し、得られるMeOH抽出液を減圧下留去して、MeOHエキス(2.44 Kg)を得た。MeOHエキスをCHCl₃-H₂O(1:1)で分配抽出し、有機層と水層に分離した。有機層を減圧下溶媒留去し、CHCl₃移行部エキス(412 g)を得た。CHCl₃移行部エキス(100 g)をシリカゲルカラムクロマトグラフィ- [SiO₂: 2 Kg, CHCl₃-MeOH i)15:1 ii)7:1]で分画した。i)の溶出分画(9.2 g)のうち、1.7 gをHPLC(Shimpak PREP-ODS, φ20 mm x 25 cm, MeOH-H₂O=11:2)に付し、mammoside A(23, 180 mg)、mammoside B(24, 1.30 g)を、ii)溶出分画(20.8 g)のうち、3 gを逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィ- (Bondapak C₁₈: 200 g, MeOH-H₂O=15:1)とHPLC(Shimpak PREP-ODS, φ20 mm x 25 cm, MeOH-H₂O=11:1)に付し、mammoside H₁(25, 1.36 g), mammoside H₂(26, 1.53 g)を得た。

Mammoside B(24)のphysical data

m. p. 125-126°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{25}$ -88.9° (c=1.2, MeOH)

Anal. Calcd for C₄₈H₈₂O₂₀ · H₂O : C, 57.82 % ; H, 8.49 %

Found : C, 57.43 % ; H, 8.42 %

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3348(br.), 2890, 1724

¹H and ¹³C NMR (d₅-pyridine, δ)はTable IIに記載。

SIMS, neg.FAB Massのデータも本論中に記載。

Mammoside B(24)のアルカリ加水分解

24(500 mg)のacetone(10 ml)溶液に5% aq.KOH(10 ml)を加え、1時間加熱還流した。室温にもどした後、反応液を酸性樹脂(Dowex 50W x 8, H⁺form)で中和し、樹脂を濾別した。濾液の一部をエーテル抽出し、得られた有機層のGLC [column: 15% FFAP on Chromosorb GAW DMLS(100/120) 3mm x 1m glass column]によりisobutyric acidを検出同定した。一方、濾液を減圧下溶媒留去し、粗生成物(480 mg)を得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィ- [SiO₂: 100 g, CHCl₃:MeOH:H₂O=7:3:1(下層)]により分離し、27(347 mg)を得た。

また、24(500 mg)のMeOH(30 ml)溶液に10% NaOMe-MeOH(3 ml)を加え、30分間加熱還流した。室温にもどした後、反応液を酸性樹脂(Dowex 50W x 8, H⁺form)

で中和し、樹脂を濾別後減圧下濾液の溶媒を留去して、粗生成物(401 mg)を得た。これを、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(SiO_2 :100 g, CHCl_3 : MeOH =3:1)で分離精製し、28(320 mg)を得た。

27のphysical data

m. p. 131-132°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{24}$ -87.2° (c=2.0, MeOH)

Anal. Calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{72}\text{O}_{19} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 54.91 % ; H, 8.52 %

Found : C, ~~54.89~~ % : H, 8.53 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3420(br.), 2930, 1710

^1H NMR(500 MHz, d_5 -pyridine + D_2O , δ)

0.92 (3H, t, $J=7.3$ Hz, 末端- CH_3), 1.50 (3H, d-like), 1.56 (3H, d-like), 1.58(3H x 2, d-like)(rhamnose 5- CH_3 x 4), 2.30(2H, t, $J=7.5$ Hz, 2- H_2), 3.92(1H, m, 11-H), 4.73(1H, d, $J=7.0$ Hz, 1'-H), 6.15, 6.23, 6.25(1H each, all br. s, rhamnose 1-H x 3)

28のphysical data

m. p. 115-116°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{24}$ -76° (c=1.8, MeOH)

Anal. Calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{74}\text{O}_{19} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 54.29 % ; H, 8.67 %

Found : C, 54.32 % : H, 8.65 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3418(br.), 2925, 1718

^1H NMR(500 MHz, d_5 -pyridine + D_2O , δ)

0.92 (3H, t, $J=7.3$ Hz, 末端- CH_3), 1.50 (3H, d-like), 1.56 (3H, d-like), 1.58(3H x 2, d-like)(rhamnose 5- CH_3 x 4), 2.30(2H, t, $J=7.5$ Hz, 2- H_2), 3.73(1H, m, 5'-H), 3.93(1H, m, 11-H), 3.90(1H, br. s, 4'-H), 4.09(1H, dd, $J=3.4, 9.5$ Hz, 3'-H), 4.21(1H, dd, $J=9.5, 9.5$ Hz, 4''-H), 4.27(1H, dd, $J=10.2, 10.2$, 4'''-H), 4.36(1H, dd, $J=9.2, 9.2$ Hz, 4''-H), 4.41(1H, dd, $J=3.4, 9.5$ Hz, 3'''-H), 4.44(1H, dd, $J=9.5, 9.5$ Hz, 2'-H), 4.51(1H, dd, $J=3.4, 9.2$, 3''-H), 4.57(1H, dd, $J=3.4, 10.2$ Hz, 3'''-H), 4.61(1H, br. s, 2'''-H), 4.72(1H, d, $J=6.9$ Hz, 1'-H), 4.74(1H, br. s, 2''-H), 4.79(1H, br. s, 2'''-H), 4.83(1H, m, 5'''-H), 6.15, 6.19,

6.23(1H each, all br. s, rhamnose 1-H x 3).
 ^{13}C NMR(125MHz, d_5 -pyridine, δ c)
101.4, 101.4, 102.8, 102.8 (anomeric carbon)
174 (carbonyl carbon)
SIMS m/z : 893(M+Na) $^+$, 585, 439, 293, 147

28のメタノリシス

28(300 mg)のMeOH(10 ml)溶液に9% HCl-MeOH(3 ml)を加え、1時間加熱還流した。反応液を炭酸銀で中和後、無機物を濾別した。濾液を減圧下 溶媒留去し、粗生成物(270 mg)を得た。その一部をTLC[CHCl₃:MeOH:H₂O=7:3:1(下層)]および、BSTMSによりTMS化し、GLC[column: SE-50]により、methyl L-rhamnosideと methyl D-fucoside(3:1)を検出同定した。

一方、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離精製を繰り返して、29(32 mg), methyl rhamnoside(63 mg)およびmethyl fucoside(16 mg)を得た。29は、TLC(n-hexane:AcOEt=5:1), IRおよび ^1H NMR(CDCl₃)によりmethyl jalapinololateの標品と同定した。両グリコシドは、1N aq. HClで1時間加熱還流した後常法処理し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl₃:MeOH=3:1)で分離精製することによりL-rhamnose [42 mg, $[\alpha]_D^{25} +8.0^\circ$ (C=1.2, H₂O)], D-fucose [9.4 mg, $[\alpha]_D^{25} +74^\circ$ (c=0.8, H₂O)]を得た。

D-fucoseから31, 32への誘導

D-fucose(1 g)をpyridine(2 ml)中Ac₂Oと3時間室温(23°C)で処理した後、反応液を常法処理することにより粗生成物(1.46 g)を得た。これを、DMF(5 ml)中50°Cで15分間攪拌した後、NH₂NH₂-AcOH(800 ml)を加え、50°Cで30分間攪拌した。反応液を氷水中にあげ、EtOAc抽出、有機層をsat. NaCl aq. で洗浄し、MgSO₄乾燥した。溶媒を減圧留去し粗生成物(2.2 g)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(SiO₂: 40 g, n-hexane:AcOEt=3:2)で分離精製し、生成物30(1.07 g)を得た。引続き、30をCH₂Cl₂(10 ml)中 K₂CO₃存在下、室温で20分間攪拌の後、CCl₃CN(1.2 ml)を加え、さらに30分間攪拌した。Celite-545を用いて反応液から無機物を濾別し、得られた濾液を減圧下溶媒留去して、粗生成物(1.18 g)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー

(SiO₂: 140g, n-hexane:AcOEt=4:1)で分離精製し 31(584 mg), 32(480 mg)を得た。

31のphysical data

white powder

$[\alpha]_D^{24} +110.6^\circ$ (c=1.7, CHCl₃)

Anal. Calcd for C₁₄H₁₈O₈NC₃ : C, 38.69 % ; H, 4.17 % ; N, 3.22 %

Found : C, 38.78 % ; H, 4.02 % ; N, 3.21 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3} \text{cm}^{-1}$: 3350, 1750, 1675

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, δ)

1.19	(3H, d, J= 6.8 Hz, 5-CH ₃)
2.20, 2.03, 2.03	(3H each, all s, -OCOCH ₃ x 3)
4.38	(1H, q, J= 6.8 Hz, 5-H)
5.25-5.45	(3H, m, 2, 3, 3-H)
6.56	(1H, d, J= 3.7 Hz, anomeric H)
8.62	(1H, s, -NH)

32のphysical data

white powder

$[\alpha]_D^{24} +29.9^\circ$ (c=1.1, CHCl₃)

Anal. Calcd for C₁₄H₁₈O₈NC₃ : C, 38.69 % ; H, 4.17 % ; N, 3.22 %

Found : C, 38.88 % ; H, 4.15 % ; N, 3.30 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3} \text{cm}^{-1}$: 3355, 1745, 1675

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, δ)

1.20	(3H, d, J= 6.4 Hz, 5-CH ₃)
2.24, 2.02, 2.01	(3H each, all s, -OCOCH ₃ x 3)
4.01	(1H, qd, J= 6.4, 0.9 Hz, 5-H)
5.12	(1H, dd, J= 10.4, 2.7 Hz, 3-H)
5.30	(1H, dd, J= 3.7, 0.9 Hz, 4-H)
5.48	(1H, dd, J= 8.2, 10.4 Hz, 2-H)
5.82	(1H, d, J= 8.5 Hz, anomeric H)
8.68	(1H, s, -NH)

L-rhamnoseから34への誘導

L-rhamnoseをD-fucoseの場合と同様の処理により、34へと導いた。

34のphysical data

white powder

$[\alpha]_D^{25}$ -53.5° ($c=1.2$, CHCl_3)

Anal. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_8\text{NCl}_3$: C, 38.69 % ; H, 4.17 % ; N, 3.22 %

Found : C, 38.77 % ; H, 4.10 % ; N, 3.31 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 3460, 1745, 1675

^1H NMR(500 MHz, CDCl_3 , δ)

1.28	(3H, d, $J=6.1$ Hz, 5- CH_3)
2.19, 2.08, 2.01	(3H each, all s, $-\text{OCOCH}_3 \times 3$)
4.10	(1H, qd, $J=6.1, 8.8$ Hz, 5-H)
5.18	(1H, dd, $J=8.8, 10.0$ Hz, 4-H)
5.37	(1H, dd, $J=3.7, 10.0$, 3-H)
5.47	(1H, dd, $J=1.8, 3.7$, 2-H)
6.21	(1H, d, $J=1.8$ Hz, anomeric H)
8.73	(1H, s, $-\text{NH}$)

Methyl jalapinolate (29)と31とのGlycosydation

Methyl jalapinolate (29, 45 mg, 0.16 mmol)と 31(100 mg, 0.23 mmol, 1.5 eq.)のdry CH_2Cl_2 (4 ml)溶液をモレキュラーシーブス (MS 4A)存在下、 -40°C まで冷却し、 $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ (2.94 μl , 0.023 mmol, 0.15 eq.)滴下後3時間攪拌した。反応液を水にあけ、 CH_2Cl_2 抽出した後、有機層を少量の H_2O で洗浄し、 MgSO_4 乾燥した。乾燥剤を濾別の後、溶媒を減圧留去して粗生成物(255 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO_2 : 10 g, n-hexane: AcOEt=4:1)により分離精製し、29と31がカップリングした化合物 (50 mg, これには未反応の31が混合している)を得た。さらに分離精製することなく 1% NaOMe-MeOH (5 ml)中、室温で30分間攪拌。その後、反応液を常法処理し、粗生成物 (46 mg)を得た。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO_2 : 4 g, n-hexane:AcOEt=1:3)により分離精製し、35 (25 mg, 0.058 mmol, -

8% from 29)

35の¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, δ)

0.89(3H, t, J= 7.0 Hz, 末端-CH₃), 1.35(3H, d, J=6.4 Hz, 5'-CH₃),
2.31(2H, t, J=7.5 Hz, 2-H₂), 3.51~3.74(4H, m, 2', 3', 4', 5'-H)
3.67(3H, s, -COOCH₃), 4.61(1H, d, J= 8.2 Hz, 1'-H)

35のイソプロピリデン化

35(175 mg, 0.41 mmol)のDMF(2 ml)溶液に、dimethoxypropane(200 μl, 4
aq.)およびD-camphor-10-sulfonic acid(CSA, 5 mg)を加え、室温(25°C)で3時
間攪拌した後、水にあけAcOEt抽出した。sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄乾燥し、
容媒を減圧留去し、粗生成物(250 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムク
コマトグラフィー(SiO₂: 5 g, n-hexane:AcOEt=2:1)により分離精製し、36
(190 mg, 0.41 mmol, quant)を得た。

36のphysical data

colorless oil

$[\alpha]_D^{25} +9.8^\circ$ (c=1.2, CHCl₃)

Anal. Calcd for C₂₆H₄₈O₇: C, 66.07 % ; H, 10.24 %

Found : C, 66.29 % ; H, 10.18 %

EI-Mass m/z(%): 457(M⁺-15), 441(M⁺-31)

IR $\nu_{max}^{CHCl_3}$ cm⁻¹: 3600, 2990, 2930, 2860, 1728

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, δ)

0.89(3H, t, J= 7.2 Hz, 末端-CH₃), 1.40(3H, d, J= 6.7 Hz, 5'-
CH₃), 1.59, 1.54(3H each, both s), 2.31(2H, t, J=7.5 Hz, -CH₂-
CO₂Me), 3.51(1H, dd, J= 8.2, 7.3 Hz, 2'-H), 3.61(1H, t-like,
11-H), 3.67(3H, s, -OCH₃), 3.84(1H, qd, J= 6.7, 2.1 Hz, 5'-H),
4.00(1H, dd, J= 5.5, 2.1 Hz, 4'-H), 4.04(1H, dd, J= 5.5, 7.3
Hz, 3'-H), 4.16(1H, d, J= 8.2 Hz, 1'-β-H)

¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃, δ_c)

14.1(末端-CH₃), 51.5(-COOCH₃), 69.2, 73.8, 76.5, 78.9, 79.9,
101.5, 109.8, 174.4

36から37への誘導

36(190 mg, 0.41 mmol)と 34(358 mg, 0.63 mmol, 1.5 eq.)のdry CH₂Cl₂ (15 ml)溶液をモレキュラーシーブス(MS 4A)存在下、-40°Cに冷却し、BF₃-Et₂O(5 μl, 0.041 mmol, 0.10 eq.)滴下後30分間攪拌した。反応液を水にあげ、CH₂Cl₂抽出した後、有機層を少量のH₂Oで洗浄し、MgSO₄乾燥した。乾燥剤を濾別の後、溶媒を減圧留去して粗生成物(550 mg)を得た。粗生成物を分離精製することなく5% NaOMe-MeOH(5 ml)中室温で20分間攪拌。その後、反応液を常法処理し、粗生成物(500 mg)を得た。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(SiO₂: 7 g, n-hexane:AcOEt=2:7)により分離精製し、37(213 mg, 0.345 mmol, 86% from 36)とともに、36(14 mg)を回収した。

37のphysical data

colorless oil

$[\alpha]_D^{25}$ -26.4° (c=1.4, CHCl₃)

Anal. Calcd for C₃₂H₅₈O₁₁ : C, 62.11 % ; H, 9.45 %

Found : C, 62.27 % ; H, 9.38 %

R $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 13 cm⁻¹: 3500~3400(br.), 2990, 2925, 2850, 1725

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃, δ)

0.89(3H, t, J= 7.2 Hz, -CH₃), 1.26(3H, d, J= 6.4 Hz, -CH₃),
1.34(3H, d, J= 6.7 Hz, -CH₃), 1.39(3H, d, J= 6.4 Hz, -CH₃),
1.58(3H, s, -CH₃), 2.31(2H, t, J= 7.5 Hz, -CH₂-CO₂Me), 3.43
(1H, dd, J= 7.3, 7.3 Hz, 2'-H), 3.60(1H, t-like, 11-H), 3.67
(3H, s, -OCH₃), 3.80(1H, qd, J= 6.7, 2.1 Hz, 5'-H), 3.96(1H,
dd, J= 5.4, 2.1 Hz, 4'-H), 4.10(1H, m, 5"-H), 4.13(1H, dd, J=
5.4, 7.1 Hz, 3'-H), 4.24(1H, d, J= 8.2 Hz, 1'-β-H), 5.31(1H,
d, J= 1.2 Hz, 1"-α-H)

¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃, δ_C)

51.1(-COOCH₃), 68.8, 69.3, 72.3, 72.5, 73.9, 75.8, 77.1, 79.8,
80.9, 100.1(1"-C, J_{C-H}= 169.9 Hz), 100.5(1'-C, J_{C-H}= 156.8 Hz),
109.6, 173.8

37から38への誘導

37 (280 mg, 0.45 mmol) の DMF (2 ml) 溶液に、dimethoxypropane (260 μ l, 5 eq.) および D-camphor-10-sulfonic acid (CSA, 5 mg) を加え、室温 (25°C) で 3 時間攪拌した後、水にあけ AcOEt 抽出した。sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ 乾燥し、溶媒を減圧留去して、粗生成物 (320 mg) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 10 g, n-hexane:AcOEt=3:1) により分離精製し、イソプロピリデン化体 (280 mg, 0.42 mmol) を得た。これを、34 (280 mg, 0.65 mmol, 1.5 eq.) とともに dry CH₂Cl₂ (30 ml) に溶解し、モレキュラーシーブス (MS 4A) 存在下、-40°C に冷却し、BF₃-Et₂O (11 μ l, 0.086 mmol, 0.20 eq.) 滴下後 1 時間攪拌した。反応液を水にあけ、CH₂Cl₂ 抽出した後、有機層を少量の H₂O で洗浄し、MgSO₄ 乾燥した。乾燥剤を濾別の後、溶媒を減圧留去して粗生成物 (650 mg) を得た。粗生成物を分離精製することなく 1% NaOMe-MeOH (5 ml) 中室温で 20 分間攪拌。その後、反応液を常法処理し、粗生成物 (500 mg) を得た。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 30 g, n-hexane:AcOEt=2:3) により分離精製し、37 の 2' 位に L-rhamnose が結合した化合物 (250 mg, 0.313 mmol) を得た。これを、DMF (4 ml) 中 dimethoxypropane (190 μ l, 5 eq.) および D-camphor-10-sulfonic acid (CSA, 3 mg) で処理した後、反応液を水にあけ、AcOEt 抽出した。有機層を sat. NaCl aq. で洗浄し、MgSO₄ 乾燥した。溶媒を減圧留去して、組成生物 (300) を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 30 g, n-hexane:AcOEt=3:1) により分離精製し、38 (163 mg, 0.25 mmol, 57% from 37) を得た。

38 の physical data

colorless oil

$[\alpha]_D^{25}$ -26.6° (c=0.96, CHCl₃)

Anal. Calcd for C₄₄H₇₆O₁₅ : C, 62.54 % ; H, 9.06 %

Found : C, 62.43 % ; H, 9.01 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3500, 2990, 2940, 2855, 1725, 1085

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ)

0.88 (3H, t, J = 6.7 Hz, -CH₃), 1.21 (3H, d, J = 6.1 Hz, -CH₃),
1.27 (3H, d, J = 6.1 Hz, -CH₃), 1.33 (6H, s), 1.35 (3H, s), 1.39
(3H, d, J = 6.7 Hz, -CH₃), 1.53 (3H, s), 1.55 (6H, s), 2.31 (2H,
t-like, -CH₂-CO₂Me), 3.67 (3H, s, -OCH₃), 4.22 (1H, d, J = 8.2

Hz, 1'- β -H), 5.51(1H, br. s, 1"-H or 1"'-H), 5.59(1H, br. s, 1"-H or 1"'-H)

38から28への誘導

38 (15 mg, 0.018 mmol)と 34 (16 mg, 0.036 mmol, 2 eq.)のdry CH₂Cl₂ (1 ml)溶液をモレキュラーシーブス (MS 4A)存在下、-40°Cに冷却し、BF₃-Et₂O (0.27 μ l, 0.15 eq.)滴下後4時間攪拌した。反応液を水にあげ、CH₂Cl₂抽出した後、有機層を少量のH₂Oで洗浄し、MgSO₄乾燥した。乾燥剤を濾別の後、溶媒を減圧留去して粗生成物 (30 mg)を得た。粗生成物を分離精製することなく5% NaOMe-MeOH (5 ml)中室温で20分間攪拌。その後、反応液を常法処理し、粗生成物 (500 mg)を得た。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィ- (SiO₂: 2 g, n-hexane:AcOEt=1:4)により分離精製し、38にさらにL-rhamnose 1個が結合した化合物 (12 mg)へと導いた。これを室温1% HCl-MeOH (1 ml)で2時間処理した後、反応液を常法処理し、シリカゲルカラムクロマトグラフィ-[SiO₂: 1 g, CHCl₃:MeOH:H₂O=7:3:1 (upper phase)]により精製し、mammoside I methyl ester (28)へと導いた。

Mammoside A (23)のphysical data

m. p. 122-123°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{24}$ -101° (c=1.0, MeOH)

Anal. Calcd for C₅₀H₈₆O₂₈ · 2H₂O : C, 57.56 % ; H, 8.69 %

Found : C, 57.47 % ; H, 8.79 %

IR ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3355 (br.), 2930, 1718

¹H and ¹³C NMR (d₅-pyridine, δ)はTable IIに記載。

SIMS, neg. FAB Massのデータも本論中に記載。

Mammoside A (23)のアルカリ加水分解

23 (40 mg)のacetone (2 ml)溶液に5% aq. KOH (1 ml)を加え、1時間加熱還流した。室温にもどした後、反応液を酸性樹脂 (Dowex 50W x 8, H⁺form)で中和し、樹脂を濾別した。濾液の一部をエーテル抽出し、得られた有機層からGLC [column: 15% FFAP on Chromosorb GAW DMLS (100/120) 3mm x 1m glass column]によ

り methylbutyric acid を検出同定した。一方、濾液を減圧下溶媒を留去し、粗生成物 (38 mg) を得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー [SiO_2 :100 g, CHCl_3 :MeOH:H₂O=7:3:1(下層)] により分離し、27 (21 mg) を得た。

Methylbutyric acid の絶対配置の決定

Mammoside A (23), B (24) の混合分画 (1 g) のアルカリ加水分解により得られた有機酸分画 (700 mg) を、DMF (6 ml) 中 KF (300 mg) および α -bromoacetophenone (400 mg) 処理することにより、phenyl methylbutylate (39, 117 mg) を得た。

39 は TLC (n-hexane:AcOEt=7:1), IR (CHCl_3), ¹H NMR (CDCl_3) により標品と同定し、比旋光度 $[[\alpha]_D +15.1^\circ (c=2.0, \text{CHCl}_3)]$ から 2S 体であると決定した。

Mammoside A (23) のメタノリシス

23 (150 mg) の MeOH (5 ml) 溶媒に 9% HCl-MeOH (1.5 ml) を加え、1 時間加熱還流した。反応液を炭酸銀で中和後、無機物を濾別した。減圧下溶媒を留去し、粗生成物 (135 mg) を得た。その一部を TLC [CHCl_3 :MeOH:H₂O=7:3:1(下層)] および、BSTMS により TMS 化し、GLC [column: SE-50] により検出、構成糖の存在比をもとめ、methyl L-rhamnoside と methyl D-fucoside が 3:1 で構成されていることを明らかにした。

一方、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離精製を繰り返して、29 (16 mg), methyl rhamnoside (31 mg) および methyl fucoside (8 mg) を得た。29 は、TLC (n-hexane:AcOEt=5:1), IR および ¹H NMR (CDCl_3) により methyl jalapinolate の標品と同定した。両グリコシドは、1N aq. HCl で 1 時間加熱還流した後常法処理した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 :MeOH=3:1) で分離精製し、rhamnose (42 mg) と fucose (9.4 mg) を得た。それぞれ、比旋光度により L-rhamnose $[[\alpha]_D +8.0^\circ (C=1.2, \text{H}_2\text{O})]$, D-fucose $[[\alpha]_D +74^\circ (c=0.8, \text{H}_2\text{O})]$ であることが判明した。

Mammoside H₂ (26) の physical data

m. p. 146-147°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{25} -21.1^\circ (c=1.6, \text{MeOH})$

Anal. Calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{25} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 55.09 % ; H, 8.22 %

Found : C, 55.29 % ; H, 8.16 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3356(br.), 2915, 1716

^1H NMR (500 MHz, d_5 -pyridine, δ):

0.88(3H, t, $J=6.7$ Hz, 末端- CH_3), 1.04(3H, d, $J=7.0$ Hz),
1.07(3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.19(3H, d, $J=6.7$ Hz), 1.21(3H, d,
 $J=6.7$ Hz), (isobutyroyl基 $\text{CH}_2 \times 4$), 1.40(3H, d, $J=6.1$ Hz),
1.50(3H, d, $J=6.1$ Hz), 1.64(3H, d, $J=6.4$ Hz), 1.65(3H, d,
 $J=6.4$ Hz) ($5', 5'', 5''', 5''''$ - CH_3), 2.26(1H, ddd, $J=3.0, 7.0,$
14.5 Hz, 2- H_a), 2.45(1H, ddd, $J=3.0, 7.0, 14.5$ Hz, 2- H_b), 2.53
(1H, m), 2.65(1H, m) (isobutyroyl基 methyne prpton $\times 2$), 3.81
(1H, m, 11-H), 4.70(1H, d, $J=7.6$, 1'-H), 5.02(1H, d, $J=7.6$, D-
glucose 1-H), 5.49(1H, br. s, rhamnose 1-H), 5.74(1H, dd, $J=$
9.5, 9.5, 4''-H), 5.82(1H, br. s, rhamnose 1-H), 5.90(1H, br. s,
2'' or 2'''-H), 6.18(1H, br. s, rhamnose 1-H), 6.25(1H, br. s, 2''
or 2'''-H)

^{13}C NMR (125 MHz, d_5 -pyridine, δ_c)

98.4, 100.0, 103.2, 104.2, 105.3 (anomeric carbon)

173.0, 176.2, 176.6, (carbonyl carbon)

SIMS, neg. FAB Massのデータは、本論中に記載。

Mammoside H₂(26)のアルカリ加水分解

26 (200 mg)の acetone (5 ml)溶液に5% aq. KOH (2 ml)を加え、1 間加熱還流した。室温にもどした後、反応液を酸性樹脂 (Dowex 50W \times 8, H⁺form)で中和し、樹脂を濾別した。濾液の一部をエーテル抽出し、得られた有機層からGLC [column: 15% FFAP on Chromosorb GAW DMLS (100/i20) 3mm \times 1m glass column)により isobutyric acid を検出同定した。一方、濾液を減圧下溶媒を留去し、粗生成物 (185 mg)を得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー [SiO₂:30 g, CHCl₃:MeOH:H₂O=65:35:1 (下層)]により分離精製し、40 (120 mg)を得た。

また、25の分画 (1 g)の MeOH (5 ml)溶液に10% NaOMe-MeOH (5 ml)を加え、室温 (26°C)で1 時間攪拌した。室温にもどした後、反応液を酸性樹脂 (Dowex 50W \times 8, H⁺form)で中和し、樹脂を濾別後減圧下濾液の溶媒を留去して、粗生成物 (720 mg)を得た。これを、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂:100 g, CHCl₃:MeOH=6:1)で分離精製し、41 (470 mg)を得た。

40 physical data

m.p. 182-183°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{27} -70.6^\circ$ (c=1.5, MeOH)

Anal. Calcd for $C_{46}H_{82}O_{24} \cdot H_2O$: C, 53.27 % ; H, 8.16 %

Found : C, 53.39 % ; H, 8.09 %

IR $\nu_{\max}^{KBr} \text{cm}^{-1}$: 3370(br.), 2912, 1710

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, d_5 -pyridine + D_2O , δ)

0.90(3H, t, J=7.2 Hz, 末端- CH_3), 1.50(3H, d, J= 6.4 Hz), 1.54
(3H, d, J= 6.1 Hz), 1.58(3H, d, J= 6.1 Hz), 1.59(3H, d, J= 6.1
Hz) (rhamnose 5- CH_3 x 4),
2.30(2H, m, 2- H_2), 4.76(1H, d, J= 7.5 Hz, 1'-H), 5.17(1H, d, J
= 7.6 Hz, glucose 1-H), 6.09(1H, br. s), 6.12(1H x 2, br. s)
(rhamnose 1-H x 3)

41 physical data

m.p. 176-177°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{20} -71.2^\circ$ (c=2.0, MeOH)

Anal. Calcd for $C_{47}H_{84}O_{24} \cdot 2H_2O$: C, 52.80 % ; H, 8.30 %

Found : C, 52.68 % ; H, 8.38 %

IR $\nu_{\max}^{KBr} \text{cm}^{-1}$: 3368(br.), 2917, 1717

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, d_5 -pyridine + D_2O , δ)

0.92(3H, t, J=7.0 Hz, 末端- CH_3), 1.51(3H, d, J= 6.4 Hz), 1.55
(3H, d, J= 6.1 Hz), 1.58(3H, d, J= 6.1 Hz), 1.59(3H, d, J= 6.1
Hz) (rhamnose 5- CH_3 x 4),
2.30(2H, m, 2- H_2), 3.64(3H, s, COOCH_3), 3.65(1H, m, 11-H),
4.81(1H, d, J= 7.5 Hz, 1'-H), 5.17(1H, d, J= 7.6 Hz, glucose
1-H), 5.82(1H, br. s), 6.13(1H, br. s), 6.15(1H, br. s) (rhamnose
1-H x 3).

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, d_5 -pyridine, δ_c)

100.4, 102.0, 102.5, 102.7, 104.5 (anomeric carbon)

173.4 (carbonyl carbon)

neg. FAB Mass m/z : 1031(M-H)⁻, 885, 869, 577

41の粗hesperidinaseによる酵素加水分解

41(40 mg)の水溶液(1 ml)に、粗hesperidinase(200 mg)を加え、37°Cで48時間攪拌した。反応液を濾別し、濾液を減圧留去することにより粗生成物(42 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー[SiO₂: 20 g, CHCl₃:MeOH:H₂O=7:3:1(下層)]で分離精製し28(22 mg)を得た。28は、TLC[CHCl₃:MeOH:H₂O=7:3:1(下層)]および¹H NMR(d₅-pyridine + D₂O)により標品(69頁)と同定した。

Mammoside H₂(26)のラクトン環の転位

26(20 mg)のMeOH(2 ml)溶液に、-15°Cで1%NaOMe-MeOH(2 ml)を加え、30分間攪拌した。反応液を酸性樹脂(Dowex 50W x 8, H⁺form)で中和し樹脂を濾別した。濾液を減圧留去後、得られた残さをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(SiO₂: 10 g, CHCl₃:MeOH=7:1)で分離精製し、42(15.2 mg)を得た。

42のphysical data

m. p. 146-147°C (colorless fine crystals from EtOH)

$[\alpha]_D^{24}$ -49.2° (c=1.2, MeOH)

Anal. Calcd for C₅₄H₉₂O₂₅ · 2H₂O : C, 55.09 % ; H, 8.22 %

Found : C, 55.29 % ; H, 8.07 %

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3358(br.), 2880, 1714

¹H NMR (500 MHz, d₅-pyridine, δ):

0.92(3H, t, J= 7.3 Hz, 末端-CH₃), 1.12(3H, d, J= 7.0 Hz),
1.15(3H, d, J= 7.0 Hz), 1.18(3H, d, J= 6.7 Hz) 1.19(3H, d,
J= 6.7 Hz)(isobutyroyl基 CH₃ x 4), 1.38(3H, d, J= 6.1 Hz),
1.50(3H, d, J= 6.4 Hz), 1.57(3H, d, J= 6.1 Hz), 1.60(3H, d,
J= 6.1 Hz)(5', 5'', 5''', 5'''' -CH₃), 2.22(1H, ddd, J= 3.0, 7.0,
14.5 Hz, 2-H_a), 2.60(1H, ddd, J= 3.0, 7.0, 14.5 Hz, 2-H_b),
2.62(1H, m), 2.65(1H, m)(isobutyroyl基、1H x 2), 3.82(1H, m,
11-H), 4.73(1H, d, J=7.6, 1'-H), 5.03(1H, d, J= 7.6, glucose
1-H), 5.54(1H, br. s, rhamnose 1-H), 5.63(1H, dd, J=2.8, 10.1
3''-H), 5.67(1H, dd, J= 9.2, 9.2, 4''''-H), 5.92(1H, br. s, 2'''-

H), 6.11(1H, br. s.), 6.28(1H, br. s, rhamnose 1-H)
 ^{13}C NMR (125 MHz, d_5 -pyridine, δ c)
 99.3, 100.0, 101.6, 103.4, 104.8 (anomeric carbon)
 174.4, 176.1, 176.6, (carbonyl carbon)
 SIMS m/z : 1163(M+Na) $^+$, 595, 217
 neg. FAB Mass m/z : 1139(M-H) $^-$, 977, 923, 545, 417

Mammoside H₁(25)のphysical data

m. p. 145-146°C (colorless fine crystals from EtOH)
 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -17.8° (c=1.2, MeOH)
 Anal. Calcd for $\text{C}_{55}\text{H}_{94}\text{O}_{25} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 55.49 % ; H, 8.29 %
 Found : C, 55.40 % ; H, 8.33 %
 IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3360(br.), 2915, 1718
 ^1H NMR (500 MHz, d_5 -pyridine, δ):
 0.87(3H, t, J= 7.3 Hz), 0.88(3H, t, J=6.9 Hz)(末端- CH_3 ,
 methylbutyroyl基 - CH_3),
 1.03(3H, d, J= 7.1 Hz), 1.19(3H, d, J= 6.7 Hz) 1.21(3H, d,
 J= 6.7 Hz)(isobutyroyl基 CH_3 x 2, methylbutyroyl基 - CH_3)
 1.40(3H, d, J= 6.4 Hz), 1.50(3H, d, J= 6.4 Hz), 1.64(3H, d,
 J= 6.1 Hz), 1.66(3H, d, J= 6.1 Hz)(5', 5'', 5''', 5'''' - CH_3)
 2.26(1H, ddd, J= 3.0, 7.0, 14.5, 2- H_a), 2.42(1H, ddd, J=
 3.0, 7.0, 14.5 Hz, 2- H_b), 2.66(1H, m, isobutyl基 or methyl-
 butyl基)
 3.82(1H, m, 11-H), 4.70(1H, d, J=7.6, 1'-H), 5.04(1H, d,
 J=7.6, D-glucose 1-H), 5.50(1H, br. s, rhamnose 1-H), 5.76
 (1H, dd, J= 9.5, 9.5, 4''-H), 5.84(1H, br. s, rhamnose 1-H),
 5.92(1H, br. s, 2'' or 2'''-H)), 6.20(1H, br. s, rhamnose 1-H),
 6.31(1H, br. s, 2'' or 2'''-H)
 ^{13}C NMR (125 MHz, d_5 -pyridine, δ c)
 98.4, 100.0, 103.2, 104.2, 105.3 (anomeric carbon)
 173.0, 176.2, 176.6, (carbonyl carbon)
 SIMS m/z : 1177(M+Na) $^+$, 609, 217
 nag. FAB Mass m/z : 1153(M-H) $^-$, 991, 937, 545, 417

Mammoside H₁ (25) のアルカリ加水分解

25 (100 mg) の acetone (4 ml) 溶液に 5% aq. KOH (2 ml) を加え、1 間加熱還流した。室温にもどした後、反応液を酸性樹脂 (Dowex 50W x 8, H⁺form) で中和し、樹脂を濾別した。濾液の一部をエーテル抽出し、得られた有機層から GLC [column: 15% FFAP on Chromosorb GAW DMLS (100/120) 3mm x 1m glass column] により isobutyric acid と methylbutyric acid を検出同定した。一方、濾液を減圧下溶媒を留去し、粗生成物 (92 mg) を得た。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー [SiO₂: 15 g, CHCl₃:MeOH:H₂O=65:35:1 (下層)] により分離精製し、40 (72 mg) を得た。40 は TLC (CHCl₃:MeOH:H₂O=6:4:1) および ¹H NMR (d₅-pyridine) により同定した。

また、25 (40 mg) の MeOH (2 ml) 溶液に 10% NaOMe-MeOH (1 ml) を加え、室温 (23°C) で 1 時間攪拌した。反応液を酸性樹脂 (Dowex 50W x 8, H⁺form) で中和し、樹脂を濾別後減圧下濾液の溶媒を留去して、粗生成物 (39 mg) を得た。これを、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 7 g, CHCl₃:MeOH=6:1) で分離精製し、41 (18 mg) を得た。41 は、TLC (CHCl₃:MeOH=3:1) および IR (KBr), ¹H NMR (d₅-pyridine + D₂O) により標品 (73頁) 同定した。

Methylbutyric acid の絶対配置の決定

Mammoside H₁ (25), H₂ (26) の混合分画 (500 mg) のアルカリ加水分解により得られた有機酸分画 (204 mg) を、DMF (3 ml) 中 KF (100 mg) および α -bromoacetophenone (200 mg) 処理することにより、phenyl methylbutyrate (39, 12 mg) を得た。

39 は TLC (n-hexane:AcOEt=7:1), IR (CHCl₃), ¹H NMR (CDCl₃) により標品で同定し、その比旋光度 $[\alpha]_D^{25} +15.1^\circ$ (c=2.0, CHCl₃) の比較から 2S 体であると決定した。

Mammoside A(23)のイオノフォア活性

Mammoside A(23)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、mammoside A(23, 4.09 mg, $4.07 \mu\text{mol}$)をEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $73.7 \mu\text{l}$ 加え($0.10 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9 RBC)
0	1.851	2.120	0.135
10	4.235	2.322	0.535
20	4.588	2.479	0.305
30	5.378	3.690	0.296
40	5.921	6.756	0.647

Mammoside B(24)のイオノフォア活性

Mammoside B(24)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、mammoside B(24, 3.94 mg, $4.03 \mu\text{mol}$)にEtOHに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10^9RBC/ml)に対して $74.4 \mu\text{l}$ 加え($0.10 \mu\text{mol}/10^9\text{RBC}$)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量(nmol/ 10^9 RBC)
0	0.621	0.379	1.175
10	0.308	2.006	0.852
20	0.444	3.539	0.757
30	0.115	0.946	1.626
40	0.259	0.303	1.632

Mammoside H₁(25)のイオノフォア活性

Mammoside H₁(25)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10^9 個当り $0.10 \mu\text{mol}$ より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、mammoside

H₁ (25, 3.80 mg, 3.29 μmol) を EtOH に溶かし 1 ml とした検体溶液を、3 ml のヒト赤血球浮遊液 (10⁹RBC/ml) に対して 91.2 μl 加え (0.10 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間 (min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)
0	19.973	31.886	4.009
10	53.553	35.665	2.534
20	55.111	40.523	2.498
30	50.165	47.037	2.204
40	44.015	48.836	2.663

Mammoside H₂ (26) のイオノフォア活性

Mammoside H₂ (26) の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球 10⁹ 個当たり 0.10 μmol より濃度を高くすると溶血による血球数の減少が観られたので、Mammoside H₂ (26, 4.02 mg, 4.11 μmol) を EtOH に溶かし 1 ml とした検体溶液を、3 ml のヒト赤血球浮遊液 (10⁹RBC/ml) に対して 73.0 μl 加え (0.10 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間 (min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)
0	15.395	20.477	12.164
10	27.403	28.827	9.949
20	30.315	30.518	7.472
30	36.284	36.024	6.890
40	37.088	40.739	6.090

第 3 章

第 1 節 の 実 験

Geranyl acetate の SeO₂ 酸化

Geranyl acetate (58.5 g, 0.30 mmol) を 95% EtOH (450 ml) に溶かし、室温 (26 °C) で激しく攪拌しながら 95% SeO₂ (49.1 g, 0.42 mol, 1.4eq.) を加え、その後 1.5 時間加熱還流した。氷水で反応容器を急冷し、反応液を氷水にあげ EtOAc で抽出した。抽出液を sat. NaHCO₃ aq., sat. NaCl aq. で洗浄した後、MgSO₄ で乾燥した。溶媒を減圧留去して、粗生成物 (60 g) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 2.5 Kg、n-hexane:AcOEt=7:1) で分離精製し、45 (21.2 g, 0.10 mol, 33%), 46 (25.9 g, 0.12 mol, 41%) を得た。

45 の physical data

colorless oil

Anal. Calcd. for C₁₂H₂₀O₃: C, 67.89 % ; H, 9.50 %

Found : C, 67.97 % ; H, 9.53 %

Mass m/z (%): 152 (M⁺-AcOH, 5.0), 43 (100)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4} \text{cm}^{-1}$: 3600~3100, 1740, 1665

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.70, 1.61 (3H each, both br. s, vinyl methyl x 2)

1.98 (3H, s, -OCOCH₃)

3.86 (2H, br. s, -CH₂-OH)

4.49 (2H, d, J=7 Hz, -CH₂-OCOCH₃)

5.2~5.5 (2H, m, olefinic proton)

46 の physical data

colorless oil

Anal. Calcd. for C₁₂H₁₈O₃: H, 8.63 % ; C, 68.54 %

Found : H, 8.73 % ; C, 68.54 %

Mass m/z (%): 150 (M⁺-AcOH, 46.6), 84 (100)

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{nm} (\epsilon)$: 229 (20,000)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{film}} \text{cm}^{-1}$: 1734, 1691, 1640

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ):

- 1.75 (6H, br. s, vinyl methyl x 2)
- 2.06 (3H, s, $-\text{OCOCH}_3$)
- 4.60 (2H, d, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{OH}$)
- 5.40 (1H, t, $J=7$ Hz, olefinic proton)
- 6.46 (1H, t, $J=7$ Hz, olefinic proton)
- 9.39 (1H, s, $-\text{CHO}$)

45 の活性 MnO_2 酸化及びメチルエステル化

45 (10.6 g, 0.050 mol) の n -hexane- CHCl_3 (10:1, 1100 ml) 溶液に、活性 MnO_2 (90 g, 1.04 mol, ca. 20 eq.) を加え、室温 (25 $^\circ\text{C}$) で5時間激しく攪拌した。反応の終了をTLCで確認の後、固形物を減圧濾過し、濾液の溶媒を減圧留去して、46 (10.5 g, 0.050 mol, quant.) を得た。46はさらに分離精製することなく dry MeOH (1000 ml) に溶かし、95% NaCN (5.93 g, 0.115 mol, 2.3 eq.), MnO_2 (130 g, 1.50 mol, 30 eq.), dist. AcOH (7.90 ml, 0.138 mol, 2.3 x 1.2 eq.) を順次加え、室温 (25 $^\circ\text{C}$) で24時間激しく攪拌した。反応の終了をTLCで確認の後、固形物を減圧濾過により取り除き、ろ液を氷水にあけAcOEtで抽出した。抽出液を sat. NaHCO_3 aq., sat. NaCl aq. で洗浄の後、 MgSO_4 乾燥し、溶媒を減圧留去して粗生成物 (9.2 g) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (SiO₂: 1 kg, n -hexane:AcOEt=7:1~2:1) で分離精製して 47 (5.88 g, 28.0 mmol, 56 %) を得た。

47 の physical data

colorless oil

Anal. Calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_4$: H 8.39 %, C 64.98 %

Found : H 8.55 %, C 64.99 %

Mass m/z (%): 180 (M^+-AcOH , 24), 43 (100)

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 217 (13,000), 296 (220)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ cm^{-1} : 1726 (br.), 1652

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ):

- 1.83, 1.72 (3H each, both br. s, vinyl methyl x 2)
- 2.05 (3H, s, $-\text{OCOCH}_3$)
- 3.73 (3H, s, $-\text{COOCH}_3$)
- 4.58 (2H, t, $J=7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{OCOCH}_3$)
- 5.37 (1H, t, $J=7$ Hz, olefinic proton)
- 6.71 (1H, t, $J=7$ Hz, olefinic proton)

47のアルカリ加水分解

47(3.41 g, 14.2 mmol) の dry MeOH(35 ml)溶液に、10% KOH-MeOH(35 ml)を加え、室温で30分間攪拌した。反応液を氷水にあげEtOAcで抽出した。抽出液をsat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄で乾燥した。溶媒を減圧留去して 48(2.56 g, 14.2 mmol, quant.)を得た。

48の physical data

colorless oil

Anal. Calcd. for C₁₁H₁₈O₃: H 9.15 %, C 66.64 %

Found : H 9.33 %, C 66.42 %

Mass m/z (%): 180(M⁺-H₂O, 21.5), 43(100)

UV λ_{max}^{MeOH}nm(ε): 217(17,000)

IR ν_{max}^{film}cm⁻¹: 3600~3100, 1704, 1645

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.84, 1.70	(3H each, both br. s, vinyl methyl x 2)
3.73	(3H, s, -COOCH ₃)
4.17	(2H, t, J= 7 Hz, -CH ₂ -OCOCH ₃)
5.44	(1H, t, J= 7 Hz, olefinic proton)
6.74	(1H, t, J= 7 Hz, olefinic proton)

48のラクトン化

48(1.80 g, 9.10 mmol) の dist. THF(910 ml) 溶液に 60% NaH(1.82 g, 45.5 mol, 5.0 eq.) を加え、2時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH₄Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物(2.1 g)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 100 g, n-hexane:AcOEt=10:1) で分離精製し、49(1.24 g, 3.86 mmol, 85 %)を得た。

49の physical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₄: 332.199

Found : 332.198

Mass m/z (%): 332(M⁺, 0.6), 82(100)

UV λ_{max}^{MeOH}nm(ε): 212(18,000)

IR ν_{max}^{CHCl₃}cm⁻¹: 1697

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ):

1.84, 1.70	(3H each, both br. s, vinyl methyl x 4)
4.34	(4H, d, $J = 8$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$)
5.37	(2H, t, $J = 8$ Hz, olefinic proton)
6.69	(2H, t, $J = 6$ Hz, olefinic proton)

49 のエポキシ化

49 (480 mg, 1.45 mmol) の CHCl_3 (100 ml) 溶液に、70% MCPBA (1.43 g, 5.79 mmol, 4.0 eq.) を加え、室温 (23 °C) で4時間攪拌した。反応液に sat. Na_2SO_3 aq. を加えて CHCl_3 抽出した。抽出層を sat. NaHCO_3 aq., sat. NaCl aq. で順次洗浄の後、 MgSO_4 乾燥した。溶媒を減圧留去して粗生成物 (580 mg) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO_2 : 30 g, n-hexane: $\text{AcOEt} = 4:1 \sim 3:2$) で分離精製して 50 (121 mg, 0.33 mmol, 23%), 51 (269 mg, 0.68 mmol, 47%) を得た。

50 の physical data

white powder

High Mass m/z : Anal. Calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_6$: 364.188

Found : 364.186

Mass m/z (%): 364 (M^+ , 2.3), 95 (100)

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 214 (3,700)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1709, 1645

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ):

1.41	(3H, s, methyl)
1.58 1.39	(3H, s, methyl)
1.85	(6H, br. s, vinyl methyl)
2.8~3.1	(2H, m, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-\text{CH}_2-$)
4.0~4.4	(4H, m, $-\text{CH}_2-\text{OH}$)
6.6~6.8	(2H, m, olefinic proton)

51 の physical data

white powder

High Mass m/z : Anal. Calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_8$: 396.178

Found : 396.179

Mass m/z (%): 396(M⁺, 0.7), 149(100)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1733(br.)

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.3~1.4 (6H, m, methyl x 4)

1.5~1.6 (6H, m, methyl x 4)

2.8~3.4 (4H, m, >C^O-CH- x 4)

3.9~4.5 (4H, m, -CH₂-OH x 2)

第 2 節 の 実 験

E,E-Farnesyl acetate の SeO₂ 酸化

E,E-Farnesyl acetate (15.0 g, 56.8 mmol)を95% EtOH (1000 ml)に溶かし、室温 (25 °C) で激しく攪拌しながら 95% SeO₂ (6.62 g, 56.8 mmol, 1.0eq.) を加えた。その後 60 °C に加温し、2 時間攪拌を続けた。氷水で反応容器を急冷し、反応液を氷水にあげEtOAcで抽出した。抽出液を sat. NaHCO₃ aq., sat. NaCl aq. で洗浄した後、MgSO₄ で乾燥した。溶媒を減圧留去して、粗生成物 (21.0 g) をえた。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂ : 1.0 Kg, n-hexane:AcOEt=5:1) で分離精製し、53 (6.2 g, 22.1 mmol, 39 %), E,E-farnesyl acetate (4.5 g, 17.0 mmol, 30 %, 原料回収) を得た。

53 の physical data

colorless oil

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₁₇H₂₈O₃: 280.204

Found : 280.206

Mass m/z (%): 280 (M⁺, 2.6), 220 (M⁺-AcOH, 13.7), 93 (100)

IR ν_{\max}^{film} cm⁻¹: 3600~3100 (br.), 1730, 1660

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.62, 1.68, 1.71	(3H each, all br. s, vinyl methyl x 3)
2.06	(3H, s, -OCOCH ₃)
4.00	(2H, br. s, -CH ₂ -OH)
4.59	(2H, d, J=7 Hz, -CH ₂ -OCOCH ₃)
5.00~5.20	(1H, m, olefinic proton)
5.20~5.50	(2H, m, olefinic proton)

53 の活性 MnO₂ 酸化及びメチルエステル化

53 (6.2 g, 22.1 mmol) の n-hexan-CHCl₃ (10:1, 550 ml) 溶液に、活性 MnO₂ (39 g, 0.449 mmol, c.a. 20 eq.) を加え、室温 (26 °C) で 5 時間激しく攪拌した。反応の終了を TLC で確認の後、固形物を減圧濾過し、濾液の溶媒を減圧留去して、アルデヒド体 (6.16 g, 22.1 mmol, quant.) を得た。これを分離精製することなく dry MeOH (500 ml) に溶かし、95% NaCN (2.49 g, 50.8 mmol, 2.3 eq.), MnO₂ (57.6 g, 0.663 mol, 30 eq.), dist. AcOH (3.50 ml, 61.0 mmol, 2.3x1.2 eq.) を順次加え、室温 (26 °C) で 36 時間激しく攪拌した。反応の終了を TLC で確認の後、固形物を吸引濾過により取り除き、ろ液

を氷水にあげEtOAcで抽出した。抽出液を sat. NaHCO₃ aq., sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ 乾燥し、溶媒を減圧留去して粗生成物 (8.0 g)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 500 g, n-hexane: AcOEt=10:1)で分離精製して 54(4.03 g, 13.1 mmol, 59 %)を得た。

アルデヒド体の physical data

colorless oil

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₁₇H₂₆O₃: 278.188

Found : 278.187

Mass m/z (%): 278(M⁺, 1.4), 218(M⁺-AcOH, 46.9), 93(100)

UV λ_{max}^{EtOH}nm(ε): 204(16,000), 228(15,000)

IR ν_{max}^{film}cm⁻¹: 1745, 1690, 1645

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.71, 1.67, 1.61	(3H each, all br. s, vinyl methyl x 3)
2.01	(3H, s, -OCOCH ₃)
4.55	(2H, d, J= 7 Hz, -CH ₂ -OH)
5.0~5.5	(2H, m, olefinic proton)
6.44	(1H, br. t, J= 6 Hz, olefinic proton)
9.35	(1H, s, -CHO)

54の physical data

colorless oil

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₁₈H₂₈O₄: 308.199

Found : 308.199

Mass m/z (%): 308(M⁺, 0.8), 248(M⁺-AcOH, 40.2), 93(100)

UV λ_{max}^{EtOH}nm(ε): 206(18,000), 216(sh.), 233(sh.)

IR ν_{max}^{film}cm⁻¹: 1732, 1710, 1645

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.84, 1.72, 1.62	(3H each, all br. s, vinyl methyl x 3)
2.06	(3H, s, -OCOCH ₃)
3.74	(3H, s, -COOCH ₃)
4.60	(3H, s, -CH ₂ -OCOCH ₃)
5.0~5.5	(2H, m, olefinic proton)
6.74	(1H, br. t, J= 6 Hz, olefinic proton)

54のアルカリ加水分解

54(1.84 g, 5.97 mmol) の dry MeOH (20 ml) 溶液に、10% KOH-MeOH (20 ml) を加え、室温で30分間攪拌した。反応液を氷水にあげEtOAcで抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ で乾燥した。溶媒を減圧留去して 55 (1.58 g, 5.97 mmol, quant.) を得た。

55の physical data

colorless oil

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₁₆H₂₆O₃: 266.372

Found : 266.373

Mass m/z (%): 266(M⁺, 1.7), 206(M⁺-AcOH, 41.5), 93(100)

UV ν_{\max}^{EtOH} nm(ϵ): 208(16,000), 217(sh.)

IR ν_{\max}^{film} cm⁻¹: 3600~3100, 1705, 1645

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.63, 1.69, 1.85	(3H each, all br. s, vinyl methyl x 3)
3.74	(3H, s, -COOCH ₃)
5.14, 5.41	(1H each, both m, olefinic proton)
6.75	(1H, br. t, J= 7 Hz, olefinic proton)

55ラクトン化

I) [solv. THF, conc. 1.0 x 10⁻² mol/l] の場合

55(15 mg, 5.04 x 10⁻² mmol) の dist. THF(5.64 ml) 溶液に 60% NaH(11.3 mg, 0.282 mmol, 5.0 eq.) を加え、2時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH₄Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出層を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物 (25 mg) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 5 g, n-hexane: AcOEt=20:1) で分離精製し、56(1.1 mg, 4.70 x 10⁻³ mmol, 8.3 %), 57(9.5 mg, 2.03 x 10⁻² mmol, 72 %) を得た。

II) [solv. THF, conc. 1.0 x 10⁻³ mol/l] の場合

55(15 mg, 5.04 x 10⁻² mmol) の dist. THF(56.4 ml) 溶液に 60% NaH(11.3 mg, 0.282 mmol, 5.0 eq.) を加え、3時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH₄Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物 (26 mg) を得た。

粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 5 g, n-hexane: AcOEt=20:1) で分離精製し、56(6.0 mg, 2.56×10^{-2} mmol, 46 %), 57(4.8 mg, 1.03×10^{-2} mmol, 36 %)を得た。

Ⅲ) [solv. benzene, conc. 1.0×10^{-2} mol/l] の場合

55(15 mg, 5.04×10^{-2} mmol) の dist. benzene(5.64 ml) 溶液に 60% NaH (11.3 mg, 0.282 mmol, 5.0 eq.) を加え、2時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH₄Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物(24 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 5 g, n-hexane: AcOEt=20:1) で分離精製し、56(1.8 mg, 7.69×10^{-3} mmol, 14 %), 57(8.0 mg, 1.71×10^{-2} mmol, 61 %)を得た。

Ⅳ) [solv. benzene, conc. 1.0×10^{-3} mol/l] の場合

55(15 mg, 5.04×10^{-2} mmol) の dist. benzene(56.4 ml) 溶液に 60% NaH (11.3 mg, 0.282 mmol, 5.0 eq.) を加え、3時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH₄Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物(24 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 5 g, n-hexane: AcOEt=20:1) で分離精製し、56(7.2 mg, 3.08×10^{-2} mmol, 55 %), 57(4.3 mg, 9.19×10^{-3} mmol, 33 %)を得た。

Ⅴ) [solv. toluene, conc. 1.0×10^{-2} mol/l] の場合

55(15 mg, 5.04×10^{-2} mmol) の dist. toluene(5.64 ml) 溶液に 60% NaH (11.3 mg, 0.282 mmol, 5.0 eq.) を加え、2時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH₄Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物(27 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 5 g, n-hexane: AcOEt=20:1) で分離精製し、56(6.2 mg, 2.70×10^{-2} mmol, 48 %), 57(5.4 mg, 1.15×10^{-2} mmol, 41 %)を得た。

VI) [solv. toluene, conc. 1.0×10^{-3} mol/l] の場合

55 (15 mg, 5.04×10^{-2} mmol) の dist. toluene (56.4 ml) 溶液に 60% NaH (11.3 mg, 0.282 mmol, 5.0 eq.) を加え、3 時間加熱還流した。その後、反応液を放冷し sat. NH_4Cl aq. を加え、AcOEt で抽出した。抽出液を sat. NaCl aq. で洗浄の後、 MgSO_4 で乾燥、溶媒を減圧留去して粗生成物 (26 mg) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO_2 : 5 g, n-hexane: AcOEt=20:1) で分離精製し、56 (9.5 mg, 4.06×10^{-2} mmol, 72 %), 57 (3.2 mg, 0.68×10^{-2} mmol, 24 %) を得た。

56 の physical data

fine crystals from petroleum ether

m. p. 49°C

High Mass m/z: Anal. Calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$: 234.162

Found : 234.162

Mass m/z (%): 234 (M^+ , 4.7), 82 (100)

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (ϵ): 205 (sh.), 218 (sh.), 237 (sh.)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1689, 1651

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ):

1.82, 1.64, 1.58	(3H each, all br. s, vinyl methyl x 3)
4.70	(2H, d, $J = 8$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$)
4.6~5.0	(1H, m, olefinic proton)
5.48	(1H, t, $J = 8$ Hz, olefinic proton)
6.51	(1H, t, $J = 6$ Hz, olefinic proton)

57 の physical data

fine crystals from petroleum ether

m. p. 45°C

High Mass m/z: Anal. Calcd. for $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_4$: 468.324

Found : 468.324

Mass m/z (%): 468 (M^+ , 5.8), 82 (100)

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (ϵ): 208 (sh.), 218 (sh.), 239 (sh.)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1704, 1646

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ):

1.80, 1.71, 1.59 (6H each, all br. s, vinyl methyl x 3)

4.63	(4H, d, J= 7 Hz, -CH ₂ -O-CO-)
4.9~5.2	(2H, m, olefinic proton)
5.33	(2H, t, J= 7 Hz, olefinic proton)
6.69	(2H, t, J= 6 Hz, olefinic proton)

56 のエポキシ化

56 (80 mg, 0.34 mmol) の CHCl₃ (20 ml) 溶液に 70% MCPBA (253 mg, 1.02 mmol, 3.0 eq.) を加え、室温 (26 °C) で 2.5 時間攪拌した。その後、反応液に sat. Na₂CO₃ aq. を加え CHCl₃ 抽出した。抽出液を sat. NaHCO₃ aq., sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ 乾燥した。溶媒を減圧留去して粗生成物 (200 mg) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 20 g, n-hexane:AcOEt=4:1) で分離精製して、58 (76 mg, 0.29 mmol, 84 %) を得た。

58 の physical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₁₅H₂₂O₄: 266.152

Found : 266.150

Mass m/z (%): 266(M⁺, 0.1), 111(100)

UV λ_{max}^{EtOH} nm (ε): 216 (10,500)

IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 1708, 1644

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.20, 1.28	(3H each, s, methyl x 2)
1.83	(3H, br. s, vinyl methyl)
2.60	(1H, t, J= 4 Hz, >C ^O -CH-)
3.01	(1H, dd, J= 4 Hz, 8 Hz, >C ^O -CH-)
3.9~4.8	(2H, m, -CH ₂ -O-)
6.6~6.9	(1H, m, >C=CH-)

57 のエポキシ化

57 (200 mg, 0.43 mmol) の CHCl₃ (30 ml) 溶液に 70% MCPBA (461 mg, 2.14 mmol, 5.0 eq.) を加え、室温 (24 °C) で 4 時間攪拌した。その後、反応液に sat. Na₂CO₃ aq. を加え CHCl₃ 抽出した。抽出液を sat. NaHCO₃ aq., sat. NaCl aq. で洗浄の後、MgSO₄ 乾燥した。溶媒を減圧留去して粗生成物 (264

mg) を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (SiO₂: 30 g, n-hexane:AcOEt=4:1) で分離精製して、59 (170 mg, 0.32 mmol, 75%) を得た。

59 の physical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₃₀H₄₄O₈: 532.304

Found : 532.304

Mass m/z (%): 532(M⁺, 3.0), 111(100)

UV λ_{max}^{EtOH} nm(ε): 218(28,000)

IR ν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹: 1706, 1642

¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃, δ):

1.23, 1.31	(6H each, br. s, methyl x 4)
1.82	(6H, br. s, vinyl methyl x 2)
2.5~2.8	(2H, m, >C ^O -CH-)
2.9~3.1	(2H, m, >C ^O -CH-)
3.8~4.5	(4H, m, -CH ₂ -O-)
6.73	(2H, m, >C=CH-)

第4章

第1節の実験

人工透析膜法 (W-07装置) を用いたイオン輸送能の測定は、本論・第1章・第1節中に示した手順にしたがって行った。

ラクトンエポキシドGL₂E₂ (50)のイオン輸送能

GL₂E₂ (50, 32.8 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液を用いてイオン輸送能の測定を行ったところ、いずれのイオンの輸送も観測されなかった。

ラクトンエポキシドGL₂E₄ (51)のイオン輸送能

GL₂E₄ (51, 35.6 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液を用いてイオン輸送能の測定を行ったところ、Na⁺, K⁺に対するイオン輸送は観測されなかったが、Ca²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は、 2.03×10^{-8} mol/hrであった。

ラクトンエポキシドFL₂E₂ (58)のイオン輸送能

FL₂E₂ (58, 23.9 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液を用いてイオン輸送能の測定を行ったところ、いずれのイオンの輸送も観測されなかった。

ラクトンエポキシドFL₂E₄ (59)のイオン輸送能

FL₂E₄ (59, 47.9 mg, 0.09 mmol)を水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いた。Na⁺, K⁺, Ca²⁺それぞれのイオン水溶液を用いてイオン輸送能の測定を行ったところ、Na⁺, Ca²⁺に対するイオン輸送は観測されなかったが、K⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は、 9.38×10^{-8} mol/hrであった。

ラクトンエポキシドGL₂E₂ (50)のジアステレオマー分離

GL₂E₂ (50, 145 mg, 0.398 mmol)をHPLC(column: YMC 043-10, solvent: n-hexane:AcOEt=8:1)分離し、GL₂E₂-1 (60, 93 mg, 0.255 mmol), GL₂E₂-2 (61, 52 mg, 0.143 mmol)を得た。

GL₂E₂-1 (60)のエポキシ化

GL₂E₂-1 (60, 93 mg, 0.255 mmol)のCHCl₃(20 ml)溶液に、70% MCPBA(189 mg, 0.765 mmol, 3.0 eq.)を加え、加熱還流下5時間攪拌した。反応液にsat. Na₂SO₃aq.を加えてCHCl₃抽出した。抽出液をsat. NaHCO₃aq., sat. NaClaq.で順次洗浄の後、MgSO₄乾燥した。溶媒を減圧留去して粗生成物(152 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(SiO₂:15 g, n-hexane:AcOEt=3:2)で分離精製し、GL₂E₄-1 (62, 75 mg, 0.189 mmol, 74 %)を得た。

GL₂E₂-2 (61)のエポキシ化

GL₂E₂-2(61, 52 mg, 0.143 mmol)のCHCl₃(8 ml)溶液に、70% MCPBA(106 mg, 0.429 mmol, 3.0 eq.)を加え、加熱還流下5時間攪拌した。反応液にsat. Na₂SO₃aq.を加えてCHCl₃抽出した。抽出液をsat. NaHCO₃aq., sat. NaClaq.で順次洗浄の後、MgSO₄乾燥した。溶媒を減圧留去して粗生成物(86 mg)を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(SiO₂:10 g, n-hexane:AcOEt=3:2)で分離精製してGL₂E₄-2 (63, 42 mg, 0.106 mmol, 74 %)を得た。

ラクトンエポキシドGL₂E₄-1 (62)のジアステレオマー分離

GL₂E₄-1 (62, 75 mg, 0.189 mmol)をHPLC (column: YMC 043-10, solvent: n-hexane:AcOEt=2:1)分離し、GL₂E₄-1-1 (64, 46 mg, 0.116 mmol), GL₂E₄-1-2 (65, 12 mg, 0.029 mmol), GL₂E₄-1-3 (66, 17 mg, 0.044 mmol)を得た。

ラクトンエポキシドGL₂E₄-2 (63)のジアステレオマー分離

GL₂E₄-2 (63, 42 mg, 0.106 mmol)をHPLC (column: Zorbax SIL 5SL, solvent: n-hexane:AcOEt=2:1)分離し、GL₂E₄-2-1 (67, 15 mg, 0.037 mmol), GL₂E₄-2-2 (68, 10 mg, 0.025 mmol), GL₂E₄-2-3 (69, 17 mg, 0.044 mmol)を得た。

GL₂E₄-1-1 (64)のphysical data

m. p. 195~196°C (colorless fine crystals from AcOEt)

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 396.178

Found : 396.178

Mass m/z (%): 396(M⁺, 1.2), 109(100)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$: 1733

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.47, 1.46, 1.28, 1.25 (3H each, all s, methyl x4)

2.98 (1H, t, J= 4.8 Hz, >C^O-CH-)

3.07 (1H, t, J= 5.8 Hz, >C^O-CH-)

3.09 (1H, dd, J= 4.8, 5.7 Hz, >C^O-CH-)

3.23 (1H, t, J= 6.1 Hz, >C^O-CH-)

4.05 (1H, dd, J= 5.8, 11.9 Hz, -CH₂-O-)

4.12 (1H, dd, J= 4.8, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

4.21 (1H, dd, J= 5.7, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

4.31 (1H, dd, J= 5.8, 11.9 Hz, -CH₂-O-)

GL₂E₄-1-1(64)のX線結晶解析

X線回析データの収集に用いた結晶の大きさは0.5 x 0.4 x 0.3 mmであった。理学AFC-5型回析計を用いて、グラフィートモノクロムメーターで単色化したCu-K α 線で測定した。

結晶学的データは以下の通りである。

C₂₀H₂₈O₈, 斜方晶系(orthorhombic), 空間群 P2₁2₁2₁

a=6.372 Å, b=10.206 Å, c=31.085 Å, V=2021.54

Z=4, Dx=1.3026

結晶構造は、構造回析プログラム“MULTAN”を用いた直接法により解析し、D合成により水素を決定し、ブロック行列最小自乗法で精密化した。

R=0.0572, Rw=0.0705(3220反射)であった。

GL₂E₄-1-2 (65)のphysical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 396.178

Found : 396.179

Mass m/z (%): 396(M⁺, 0.15), 109(100)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1730

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.29, 1.28, 1.21, 1.20 (3H each, all s, methyl x4)

2.63 (1H, t, J= 6.1 Hz, >C^O-CH₂-)

2.71 (1H, t, J= 6.3 Hz, >C^O-CH₂-)

2.96 (1H, dd, J= 4.7, 6.6 Hz, >C^O-CH₂-)

3.04 (1H, dd, J= 4.9, 6.4 Hz, >C^O-CH₂-)

4.02 (1H, dd, J= 6.6, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

4.07 (1H, dd, J= 6.3, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

4.29 (1H, dd, J= 4.9, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

4.36 (1H, dd, J= 4.7, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

GL₂E₄-1-3 (66)のphysical data

m. p. 160~161°C (colorless fine crystals from AcOEt)

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₈H₂₈O₈: 396.178

Found : 396.176

Mass m/z (%): 396(M⁺, 0.21), 109(100)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1732

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.45, 1.30 (6H each, both s, methyl x4)

3.06 (2H, t, J= 6.1 Hz, >C^O-CH₂- x 2)

3.24 (2H, t, J= 5.8 Hz, >C^O-CH₂- x 2)

4.17 (2H, dd, J= 6.1, 11.9 Hz, -CH₂-O-)

4.25 (2H, dd, J= 6.1, 11.9 Hz, -CH₂-O-)

GL₂E₄-1-3(66)のX線結晶解析

X線回折データの収集に用いた結晶の大きさは0.5 x 0.4 x 0.3 mmであった。理学AFC-5型回折計を用いて、グラファイトモノクロムメーターで単色化したCu-K α 線にて測定した。

結晶学的データは以下の通りである。

$C_{20}H_{28}O_8$, 斜方晶系(orthorhombic), 空間群 Pbca

$a=8.669 \text{ \AA}$, $b=20.847 \text{ \AA}$, $c=21.746 \text{ \AA}$, $V=3929.76$

$Z=8$, $D_x=1.3402$

結晶構造は、構造回析プログラム“MULTAN”を用いた直接法により解析し、D合成により水素を決定し、ブロック行列最小自乗法で精密化した。

$R=0.0701$, $R_w=0.0951$ (3352反射)であった。

GL₂E₄-2-1 (67)のphysical data

m.p. 169~170°C (colorless fine crystals from AcOEt)

High Mass m/z: Anal. Calcd. for $C_{20}H_{28}O_8$: 396.178

Found : 396.178

Mass m/z (%): 396(M⁺, 0.14), 95(100)

IR $\nu_{\text{max}}^{CHCl_3} \text{ cm}^{-1}$: 1731

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.48, 1.29 (6H each, both s, methyl x4)

2.93 (2H, t, $J=5.2 \text{ Hz}$, $>\overset{O}{C}-\underline{CH}-x2$)

3.12 (2H, t, $J=6.1 \text{ Hz}$, $>\overset{O}{C}-\underline{CH}-x2$)

4.16 (2H, dd, $J=5.2, 11.9 \text{ Hz}$, $-\underline{CH}_2-0-$)

4.25 (2H, dd, $J=5.2, 11.9 \text{ Hz}$, $-\underline{CH}_2-0-$)

GL₂E₄-2-1(67)のX線結晶解析

X線回析データの収集に用いた結晶の大きさは0.5 x 0.4 x 0.3 mmであった。理学AFC-5型回析計を用いて、グラファイトモノクロメーターで単色化したCu-K α 線で測定した。

結晶学的データは以下の通りである。

$C_{20}H_{28}O_8$, 三斜晶系(triclinic), 空間群 P1

$a=10.649 \text{ \AA}$, $b=8.559 \text{ \AA}$, $c=5.734 \text{ \AA}$, $V=487.69$

$Z=1$, $D_x=1.3499$

結晶構造は、構造回析プログラム“MULTAN”を用いた直接法により解析し、D合成により水素を決定し、ブロック行列最小自乗法で精密化した。

$R=0.0697$, $R_w=0.0818$ (3360反射)であった。

GL₂E₄-2-2 (68)のphysical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₈H₂₈O₈: 396.178

Found : 396.180

Mass m/z (%): 396(M⁺, 0.14), 109(100)

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1735

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.45, 1.32 (6H each, both s, methyl x4)

3.07 (2H, dd, J= 4.8, 7.5 Hz, >C^O-CH- x 2)

3.18 (2H, dd, J= 4.8, 6.6 Hz, >C^O-CH- x 2)

4.16 (2H, dd, J= 6.6, 12.0 Hz, -CH₂-0-)

4.25 (2H, dd, J= 4.8, 12.0 Hz, -CH₂-0-)

GL₂E₄-2-3 (69)のphysical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₈H₂₈O₈: 396.178

Found : 396.177

Mass m/z (%): 396(M⁺, 1.2), 95(100)

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1733

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.48, 1.46, 1.31, 1.27 (3H each, all s, methyl x4)

2.89 (1H, dd, J= 4.2, 6.2 Hz, >C^O-CH-)

3.02 (1H, t, J= 5.9 Hz, >C^O-CH-)

3.13 (1H, t, J= 5.9 Hz, >C^O-CH-)

3.21 (1H, t, J= 6.2 Hz, >C^O-CH-)

4.10 (1H, dd, J= 6.2, 12.1 Hz, -CH₂-0-)

4.12 (2H, d, J= 5.9 Hz, -CH₂-0-)

4.21 (1H, dd, J= 4.2, 12.1 Hz, -CH₂-0-)

ラクトンエポキシドFL₂E₄ (59)のジアステレオマー分離

FL₂E₄ (59, 232 mg, 0.436 mmol)をHPLC (column: Hibar LiChrosorb Si60, solvent: n-hexane:AcOEt=3:1)分離し、FL₂E₄-1 (70, 32 mg, 0.060 mmol), FL₂E₄-2 (71, 53 mg, 0.100 mmol), FL₂E₄-3 (72, 11 mg, 0.021 mmol), FL₂E₄-4 (73, 31 mg, 0.058 mmol), FL₂E₄-5 (74, 42 mg, 0.079 mmol), FL₂E₄-6 (75, 63 mg, 0.118 mmol)を得た。

FL₂E₄-1 (70)のphysical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 532.303

Found : 532.301

Mass m/z (%): 532(M⁺, 2.2), 95(100)

UV ν_{\max}^{EtOH} nm (ϵ): 215(15,000)

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1705, 1643

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.28, 1.38(6H each, both s, methyl x 4)

1.86 (6H, br. s, methyl x 2)

2.77 (2H, t, J= 6.1 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$ x 2)

3.09 (2H, dd, J= 4.6, 6.4 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$ x 2)

4.12 (2H, dd, J= 6.4, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)

4.21 (1H, dd, J= 4.6, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)

6.77 (2H, t, J= 7.6 Hz, $>\text{C}=\text{CH}-$)

FL₂E₄-2 (71)のphysical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 532.303

Found : 532.303

Mass m/z (%): 532(M⁺, 2.0), 95(100)

UV ν_{\max}^{EtOH} nm (ϵ): 216(18,000)

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1710, 1645

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.26, 1.27, 1.35, 1.37 (3H each, all s, methyl x 4)

- 1.86 (6H, br. s, methyl x 2)
- 2.63 (1H, t, J= 6.1 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 3.71 (1H, t, J= 6.1 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 3.96 (1H, t, J= 5.7 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 3.23 (1H, t, J= 5.7 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 4.03 (1H, dd, J= 6.5, 12.1 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 4.08 (1H, dd, J= 6.4, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 4.29 (1H, dd, J= 4.9, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 4.31 (1H, dd, J= 4.6, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 6.69 (2H, t, J= 6.5 Hz, olefinic proton)

FL₂E₄-3 (72) physical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 532.303

Found : 532.303

Mass m/z (%): 532(M⁺, 1.6), 95(100)

UV $\nu_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm(ε): 217(23,000)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1708, 1644

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

- 1.26, 1.27, 1.35, 1.37 (3H each, all s, methyl x4)
- 1.86 (6H, br. s, methyl x 2)
- 2.71 (1H, t, J= 6.0 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 2.77 (1H, t, J= 4.9 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 3.04 (1H, t, J= 6.8 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 3.05 (1H, t, J= 4.5 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}-$)
- 4.10 (1H, dd, J= 6.1, 12.2 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 4.17 (1H, dd, J= 6.1, 12.1 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 4.35 (1H, dd, J= 4.9, 11.9 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 4.42 (1H, dd, J= 4.9, 12.1 Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}-$)
- 6.73~6.79 (2H, m, olefinic proton)

FL₂E₄-4 (73) の physical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 532.303

Found : 532.302

Mass m/z (%): 532(M⁺, 1.1), 95(100)

UV ν_{\max}^{EtOH} nm(ϵ): 216(21,000)

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1711, 1645

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.19, 1.20, 1.28, 1.29 (3H each, all s, methyl x4)

1.79 (6H, br. s, methyl)

2.64 (1H, t, J= 5.9 Hz, >C^O-CH-)

2.70 (1H, t, J= 6.2 Hz, >C^O-CH-)

2.96 (1H, t, J= 5.7 Hz, >C^O-CH-)

2.98 (1H, t, J= 5.2 Hz, >C^O-CH-)

4.03 (1H, dd, J= 6.1, 12.1 Hz, -CH₂-O-)

4.10 (1H, dd, J= 6.1, 12.1 Hz, -CH₂-O-)

4.28 (1H, dd, J= 4.9, 12.2 Hz, -CH₂-O-)

4.35 (1H, dd, J= 4.9, 12.1 Hz, -CH₂-O-)

6.66~6.72 (2H, m, olefinic proton)

FL₂E₄-5 (74) の physical data

white powder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₀H₂₈O₈: 532.303

Found : 532.305

Mass m/z (%): 532(M⁺, 2.0), 95(100)

UV ν_{\max}^{EtOH} nm(ϵ): 216(23,000)

IR $\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1708, 1646

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

1.21, 1.25 (6H each, all s, methyl x4)

1.80 (6H, br. s, methyl x 2)

2.68 (2H, t, J= 6.1 Hz, >C^O-CH- x 2)

- 3.02 (2H, dd, J= 3.1, 7.9 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\underline{\text{CH}}-$ x 2)
 4.16 (2H, dd, J= 6.6, 12.0 Hz, $-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-$)
 4.25 (2H, dd, J= 4.6, 12.0 Hz, $-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-$)
 6.62 (2H, t-like, olefinic proton)

FL₂E₄-6 (75)のphysical data

whitepowder

High Mass m/z: Anal. Calcd. for C₂₈H₂₈O₈: 532.303

Found : 532.304

Mass m/z (%): 532(M⁺, 2.2), 95(100)

UV $\nu_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm(ε): 216(13,000)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 1709, 1644

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, δ):

- 1.19, 1.21, 1.26, 1.28 (3H each, all s, methyl x4)
 1.79 (6H, br. s, methyl x 2)
 2.64 (1H, t, J= 5.8 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\underline{\text{CH}}-$)
 3.65 (1H, t, J= 6.4 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\underline{\text{CH}}-$)
 2.99 (2H, dd, J= 3.7, 7.0 Hz, $>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\underline{\text{CH}}-$ x 2)
 3.97 (1H, dd, J= 7.3, 15.9 Hz, $-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-$)
 4.01 (1H, dd, J= 7.3, 16.0 Hz, $-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-$)
 4.36~4.39 (2H, m, $-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-$)
 6.69 (2H, t-like, olefinic proton)

分離した6種のGL₂E₄ジアステレオマーのCa²⁺に対するイオン輸送能

分離した6種のGL₂E₄ジアステレオマー (64~69)をそれぞれ(35.6 mg, 0.09 mmol)水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いてCa²⁺輸送能の測定を行い、Ca²⁺に対するイオン輸送能(m_{Ca})は、

GL₂E₄-1-1 (64)に対して、2.48 x 10⁻⁸mol/hr,

GL₂E₄-1-2 (65)に対して、0.35 x 10⁻⁸mol/hr,

GL₂E₄-1-3 (66)に対して、2.30 x 10⁻⁸mol/hr,

GL₂E₄-2-1 (67)に対して、 3.32×10^{-8} mol/hr,
GL₂E₄-2-2 (68)に対して、 0.97×10^{-8} mol/hr,
GL₂E₄-2-3 (69)に対して、 1.89×10^{-8} mol/hrであった。

分離した6種のFL₂E₄ジアステレオマーのK⁺に対するイオン輸送能

分離した6種のFL₂E₄ジアステレオマー(70~75)をそれぞれ(47.9 mg, 0.09 mmol)水飽和クロロホルムに溶かし、3 mlとしたものを検体溶液(0.03 mol/l)として用いてK⁺輸送能の測定を行い、K⁺に対するイオン輸送能(m_K)は、

FL₂E₄-1 (70)に対して、 1.09×10^{-7} mol/hr,
FL₂E₄-2 (71)に対して、 0.86×10^{-7} mol/hr,
FL₂E₄-3 (72)に対して、 1.17×10^{-7} mol/hr,
FL₂E₄-4 (73)に対して、 0.73×10^{-7} mol/hr,
FL₂E₄-5 (74)に対して、 0.97×10^{-7} mol/hr,
FL₂E₄-6 (75)に対して、 0.68×10^{-7} mol/hrであった。

第2節の実験

ヒト赤血球膜法によるイオノフォア活性試験は、本論・第1章・第2節中に示した手順に従って行った。また、ここに示すデータは、同時にサンプリングした3検体の平均値を示している。

ラクトンエポキシドGL₂E₂ (50)のイオノフォア活性

GL₂E₂ (50)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当り0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったので、GL₂E₂ (50, 5.09 mg, 14.0 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して53.6 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.013	0.834	0.337
5	0.130	0.188	0.252
10	0.132	0.425	0.355
15	0.231	0.730	0.453
20	0.326	1.189	0.393

ラクトンエポキシドGL₂E₄ (51)のイオノフォア活性

GL₂E₄ (51)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当り0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったので、GL₂E₄ (51, 4.84 mg, 12.2 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して61.5 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.537	9.791	2.084
5	0.619	10.912	1.765
10	0.823	12.912	1.425
15	0.855	14.480	1.408
20	0.975	14.772	0.978

ラクトンエポキシドFL₁E₂ (58)のイオノフォア活性

FL₁E₂ (58)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったので、FL₁E₂ (58, 4.08 mg, 15.3 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して49.0 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)
0	-0.196	1.523	0.657
5	-0.215	0.982	0.552
10	-0.293	0.571	0.493
15	-0.560	0.885	0.519
20	-0.614	1.002	0.588

ラクトンエポキシドFL₂E₄ (59)のイオノフォア活性

FL₂E₄ (59)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったので、FL₂E₄ (59, 6.16 mg, 11.6 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して64.7 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	Na ⁺ 輸送量	K ⁺ 輸送量	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)
0	0.511	13.356	0.490
5	0.236	14.249	0.487
10	0.306	15.185	0.494
15	0.333	16.898	0.544
20	0.449	17.483	0.527

分離した6種のFL₂E₄ジアステレオマーのK⁺に対するイオノフォア活性

分離した6種のFL₂E₄ジアステレオマー (70~75)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったので、それぞれのFL₂E₄ (6.16 mg, 11.6 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して64.7 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、

活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	K ⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)					
	<u>70</u>	<u>71</u>	<u>72</u>	<u>73</u>	<u>74</u>	<u>75</u>
0	2.304	14.788	16.034	14.293	7.944	18.138
5	2.709	16.065	17.026	13.448	8.156	18.429
10	2.311	16.319	17.902	12.875	8.593	19.070
15	1.531	16.781	18.479	12.584	9.118	19.604
20	0.778	17.189	19.552	11.749	9.127	19.924

分離した6種のGL₂E₄ジアステレオマーのK⁺に対するイオノフォア活性

分離した6種のGL₂E₄ジアステレオマー (64~69)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったため、それぞれのGL₂E₄ (4.84 mg, 12.2 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して61.5 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間(min)	K ⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)					
	<u>64</u>	<u>65</u>	<u>66</u>	<u>67</u>	<u>68</u>	<u>69</u>
0	0.708	9.860	7.547	2.530	11.566	2.711
5	0.878	10.469	8.951	3.078	12.024	4.072
10	1.391	11.129	10.123	4.060	12.380	6.939
15	1.537	13.849	11.927	5.229	14.639	9.228
20	1.887	14.264	15.073	5.524	16.735	12.096

分離した6種のGL₂E₄ジアステレオマーのCa²⁺に対するイオノフォア活性

分離した6種のGL₂E₄ジアステレオマー (64~69)の溶血性を調べたところ、ヒト赤血球10⁹個当たり0.25 μmolにおいても溶血が観られなかったため、それぞれのGL₂E₄ (4.84 mg, 12.2 μmol)をDMSOに溶かし1 mlとした検体溶液を、3 mlのヒト赤血球浮遊液(10⁹RBC/ml)に対して61.5 μl加え(0.25 μmol/10⁹RBC)、活性試験を行った。

イオノフォア活性試験結果

時間 (min)	Ca ²⁺ 輸送量 (nmol/10 ⁹ RBC)					
	<u>64</u>	<u>65</u>	<u>66</u>	<u>67</u>	<u>68</u>	<u>69</u>
0	1.376	1.192	4.201	0.791	4.239	1.977
5	0.834	1.263	3.111	0.772	2.724	1.814
10	0.643	1.314	2.043	0.655	1.604	1.343
15	0.413	1.192	1.504	0.554	1.198	1.264
20	0.285	1.116	0.908	0.469	0.591	1.021

引用文献

- 1) a) B. C. Pressman, *Annu. Rev. Biochem.*, 45, 501 (1976);
b) E. Kimura, *Kagaku Zokan*, 74, 167 (1978);
c) 宮崎幸雄、*有合誌*、42, 900 (1984).
- 2) J. Berger, A. T. Rachlin, W. E. Scott, L. H. Sternbach, and M. W. Goldberg, *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 5292 (1951).
- 3) A. Artarap, J. W. Chamberlin, M. Pinkerton, and L. Steinrauf, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 5737 (1967).
- 4) Y. Miyazaki, M. Shibuya, H. Sugawara, O. Kawaguchi, C. Hirose, J. Nagatsu, and S. Esumi, *J. Antibiot.*, 27, 814 (1974).
- 5) C. T. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 2495. 7017 (1976).
- 6) a) I. Kitagawa, M. Kobayashi, N. K. Lee, H. Shibuya, Y. Kawata, and F. Sakiyama, *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 2664 (1986); I. Kitagawa, N. K. Lee, M. Kobayashi, and H. Shibuya, *ibid.*, 35, 2129 (1987);
b) I. Kitagawa, H. Shibuya, Y. Yokokawa, N. I. Baek, K. Ohashi, M. Yoshikawa, A. Nitta, and H. Wiriadinata, *ibid.*, 36, 1618 (1988); presented at the 30th Symposium on the Chemistry of Natural Products, (Fukuoka, Oct, 1988), *Symposium Papers*, p. 252.
- 7) H. Hirata, K. Ohno, N. Sone, Y. Kagawa, and T. Hamamoto, *J. Biol. Chem.*, 261, 9839 (1986).
- 8) a) M. Igawa, M. Tanaka, S. Izumi, Y. Kaneko, and T. Yamabe, *Nippon Kagaku Kaishi*, 1980, 135;
b) J. D. Jamb, J. J. Christensen, S. R. Izatt, K. Bedke, M. S. Astin, and R. M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 3399 (1980);
c) K. Hiratani, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 55, 1963 (1982);

- d) H. Sakamoto, K. Kimura, Y. Koseki, and T. Shono, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1987, 1181.
- 9) a) T. Ohnishi and S. Ebashi, *J. Biochem.*, 54, 506 (1963);
b) B. C. Pressmann, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 53, 1076 (1965).
- 10) Y. Muto and Y. Nozawa, *Biochim. Biophys. Acta*, 815, 410 (1985).
- 11) a) A. Ting, J. W. Lee, and G. A. Vidaver, *Biochim. Biophys. Acta*, 555, 239 (1979);
b) O. Scharff, B. Foder, and U. Skibsted, *Biochim. Biophys. Acta*, 730, 295 (1983).
- 12) a) M. Cinquini and F. Montanari, *Chem. Commun.*, 1975, 393;
b) D. Clement, F. Damm, and J. M. Lehn, *Heterocycles*, 5, 477 (1976).
- 13) K. Neupert-Laves and M. Dobler, *Helv. Chim. Acta*, 58, 432 (1975).
- 14) H. Nakamura, J. Kobayashi, Y. Nakamura, and Y. Ohizumi, *Tetrahedron Lett.*, 27, 4319 (1986).
- 15) a) Y. Asahina and T. Akasu, *J. Pharm. Soc. Jpn.*, 45, 779 (1925);
b) H. Shibuya, K. Kawashima, N. I. Baek, N. Narita, M. Yoshikawa, and I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 37, (1989), in the press.
- 16) 田中 治、*薬誌*、105, 323(1985).
- 17) D. G. Davis and A. Bax, *J. Am. Chim. Soc.*, 107, 2820(1985).
- 18) G. Excoffier, D. Gagnaire, and J. P. Utille, *Carbohydr. Res.*, 39, 368(1975).

- 19) H. Rathore, T. Hashimoto, K. Igarashi, H. Nukaga, and D. S. Fullerton, *Tetrahedron*, 41, 5427(1985).
- 20) W. Klyne, *Biochem. J.*, 47, xli(1950).
- 21) a) H. Shibuya, K. Ohashi, K. Kawashima, K. Hori, N. Murakami, and I. Kitagawa, *Chem. Lett.*, 85 (1986);
b) M. Yoshikawa, B. C. Cha, Y. Okaichi, Y. Takinami, Y. Yokokawa, and I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 4236 (1988).
- 22) R. B. Sharpless and R. F. Lauer, *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 7154(1972)
- 23) E. J. Corey, N. W. Gilman, and B. E. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 5616 (1968).
- 24) K. C. Chan, R. A. Jeeawell, W. H. Nutting, and H. Rapoport, *J. Org. Chem.*, 33, 3382(1968).
- 25) a) E. J. Corey and K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.*, 96, 5614 (1974);
b) E. J. Corey and D. J. Brunelle, *Tetrahedron Lett.*, 38, 3409 (1976).
- 26) a) S. Masamune, S. Kamata, and W. Schilling, *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 3515 (1975);
b) S. Masamune, S. Kamata, J Diakur, Y. Sugihara, and G. S. Bates, *Can. J. Chem.*, 53, 3693 (1975).
- 27) a) J. Inagaki, K. Hirata, T. Katsuki, and M. Yamaguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 52, 1989 (1979);
b) M. Honda, K. Hirata, H. Sueoka, T. Katsuki, and M. Yamaguchi, *Tetrahedron Lett.*, 22, 2679 (1981).