

生物活性，特に向神経作用を指標
として真菌並びに生薬成分の探索と
化学的研究

奥山恵美

目 次

序 論	-----	1
第一編 菌代謝産物の化学と生物活性	-----	5
第一章 <u>Aspergillus fumigatus</u> IMF 4482		
抽出エキスより得られた代謝産物	-----	5
第一節 Tryptoquivaline類の分離	-----	6
第二節 Tryptoquivaline C, D, Mの 化学構造	-----	7
第三節 Tryptoquivaline I, Nの化学構造	----	17
第四節 Tryptoquivaline E, F, G, H, J, L の化学構造	-----	19
第五節 Tryptoquivaline類のエピ化	-----	25
第六節 Tryptoquivaline類の生合成仮説	-----	28
第七節 Sydowinin Aの同定	-----	30
第八節 <u>A. fumigatus</u> IFM 4482 代謝産物の生物活性	-----	32
第二章 <u>Penicillium paraherquei</u> IFO 6234		
抽出エキスより得られた代謝産物	-----	34
第一節 Paraherquamide 並びに Paraherquoninの分離	-----	35
第二節 Paraherquamideの化学構造	-----	36
第三節 Paraherquamideの生産性の検討	-----	44
第四節 Paraherquoninの化学構造	-----	47

第五節	Paraherquoninの生合成仮説 -----	54
第六節	<u>P. paraherquei</u> IFO 6234 代謝産物の生物活性 -----	56
第三章	<u>Tararomyces bacillosporus</u> NHL 2660 抽出エキスより得られた代謝産物 -----	57
第一節	Bacillosporin A, B, C (Fig. 2-4) 並びに Pinselin (Fig. 1) の分離 -----	57
第二節	Bacillosporin A, B, C の化学構造 ----	60
第三節	Bacillosporin 類の生合成仮説 -----	67
第四節	Pinselin の同定 -----	68
第五節	<u>T. bacillosporus</u> NHL 2660 代謝産物の生物活性 -----	69
第二編	生薬成分の化学と生物活性 -----	72
第四章	蕃杏 <u>Tetragoniae Herba</u> の 抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質 -----	74
第一節	抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質, の分離 -----	74
第二節	Sterylglucoside 混合物 (Compd A) の化学構造 -----	75
第三節	Cerebroside (Compd B ₁) の 化学構造 -----	81
第四節	蕃杏 <u>Tetragoniae Herba</u> 成分の 生物活性 -----	92

第五章	連銭草 <i>glechomae</i> Herba の 抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質	----- 96
第一節	抗拘束水浸ストレス潰瘍物質 の分離	----- 96
第二節	Ursolic Acid (Compound Gh ₁) の同定	----- 98
第三節	2 α -Hydroxyursolic Acid (Compound Gh ₂) の化学構造	----- 99
第四節	連銭草 <i>glechomae</i> Herba 成分の 生物活性	----- 100
結論	-----	102
実験の部	-----	107
第一章に関する実験	-----	108
第二章に関する実験	-----	125
第三章に関する実験	-----	128
第四章に関する実験	-----	139
第五章に関する実験	-----	152
謝辞	-----	154
掲載雑誌目録	-----	155
文献及び注	-----	158

序 論

医薬品素材の探索においては、大きく2つの方法がある。すなわち、合成による方法と天然に求める方法である。合成による場合は、非常に効率的であると思われる一面、その可能性を導くリード化合物となる物質が必要である。このリード化合物は、レセプター機構の解明等、生物活性機序の分子生物学的解明に関連した生化学、物理化学的知識に基づいて提供されることもあるだろうが、天然物化学の分野から提供できる場合も多いのではないだろうか。天然に医薬品素材を求めるということは、すなわち、生物活性を有する天然物の探索であり、その際、どのような生物活性を、どのような方法で検定するかが重要であろう。著者らは、生物活性の中でも特に神経機能に影響を与える物質、すなわち向神経作用物質に主眼を置き、リード化合物の探索をひとつの目標に定め、本研究を行なった。

菌類、生薬についての探索を行なった結果、真菌の毒性株3種 (Aspergillus fumigatus IFM 4482, Penicillium paraherquei IFO 6234, Talaromyces bacillosporus NHL 2660) 及び生薬2種 (蕃杏 Tetragoniae Herba, 連銭草 glechomae Herba) を興味ある素材として、それらより生物活性物質の分離、化学構造の解明を行なうこととした。真菌に関しては、上記3種は強い向神経作用を有する fumitremorgin A, B 等を生産する菌、あるいはその近縁菌の検索で、菌体抽出エキスがマウスに対し、強い致死毒性を示した菌株として取り上げられた。生物活性の指標としては、試

験物実投与後のマウスの行動観察を主に用いた。得られた化合物によっては、抗菌活性や変異原活性の有無を調べた。生薬に関しては、従来、有効成分の単離を目指した多くの研究がなされているが、作用の緩和なものが多く、どのような生物検定法を用い得るか難しい。著者らは、マウスに対する拘束水浸ストレス潰瘍の抑制性が、広い範囲の生物活性を高い感受性で捉えることができるうえに、特に向神経作用の検定に有用であるとの知見を得て、これを用いることにした。本研究で取り上げた蕃杏 (*Tetragoniae Herba*) 及び連銭草 (*Glechomae Herba*) は、この抗ストレス潰瘍活性を指標として行なった山崎らの検索により、66種の生薬の中から高い活性を有する生薬として選出されたものである。⁴⁵⁾

以下に、本研究において単離、化学構造の解明された化合物を列記した。

- 1) *Aspergillus fumigatus* IFM 4482
tryptoquivaline C (= tryptoquivaline³⁾), D (= nor-tryptoquivaline³⁾), E, F, G, H, I, J, L, M, N (= deoxynortryptoquivaline³⁾), sydowinin A
- 2) *Penicillium paraherzuei* IFO 6234
paraherquamide, paraherquonin
- 3) *Talaromyces bacillosporus* NHL 2660
bacillosporin A, B, C, pinselin
- 4) 蕃杏 (*Tetragoniae Herba*)
sterylglucoside 混合物 (compd A),
cerebroside (compd B_{1-a} 及び B_{1-b})

5) 連銭草 (glechomae Herba)

ursolic acid, 2 α -hydroxyursolic acid

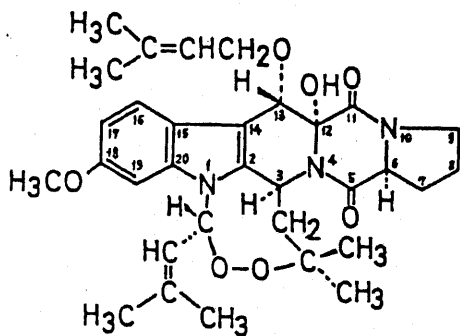
tryptoquinoline 類は, J. Clardy, G. Büchi らが 1974 年に Aspergillus clavatus より単離, 構造決定し, tremor (振せん) を引き起こすと報告した化合物²⁾を含む, 特異な構造を有する一連の化合物である。我々の知見では, 一部の tryptoquinoline 類の大量投与により致死毒性は観察されたが, tremor の発現は観察されず, その生物活性に関してはさらに検討が必要と思われる。paraherquamide は Penicillium paraherquei IFO 6234 の毒性本体と思われ, 強い向神経作用物質である可能性が有る。paraherquamide と共に得られた paraherquonin や, 著者らが Emericella dentata より得ている dehydroaustinol は, それ自体には致死毒性は認められなかったが, 生合成的に興味ある物質で, 生合成中間体を同じにすると考えられる austin や terretonin はマイコトキシンとして報告されている。^{21) 28a)} bacillosporin 類は抗菌活性の認められるものが有り, 又, 強いアンカプラー作用が見出され, 細胞毒性が示唆された。その構造及び反応性より核酸合成阻害, 抗腫瘍活性が期待されるため, さらに詳細な検討が望まれる。なお, A. fumigatus IFM 4482 と T. bacillosporus NHL 2660 より, それぞれ sydowinin A 及び pinselin の xanthone 類が単離された。これらは, それぞれの菌からの単離は初めての知見であるが, 既知化合物であり, 現在のところ特に際立った生物活性の知見は得られていない。

生葉より抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質として, steryl-glucoside 混合物や ursolic acid 誘導体が得られたことは, 医薬資源的見地から興味深いと思われる。又, 同活性物質として得られ, compd B₁ と仮称した化合物は, 脳⁽⁵⁾や神経組織⁽⁶⁾等の生体成分として広く分布している, いわゆる cerebroside の一種であった。cerebroside は gaucher 病のような lipidoses との関係から生化学的に調べられ,⁽⁷⁾ 又, 種特異性や臓器特異性等と関連して, 主に生化学分野において精力的に研究がなされてきた。⁽⁵⁻⁷⁾ しかし, 薬理活性に注目した報告はほとんどないと思われる。このような意味においても, 抗拘束水浸ストレス潰瘍活性を指標とした着者らの研究において, 一種の cerebroside が活性物質として得られたことは興味深い。

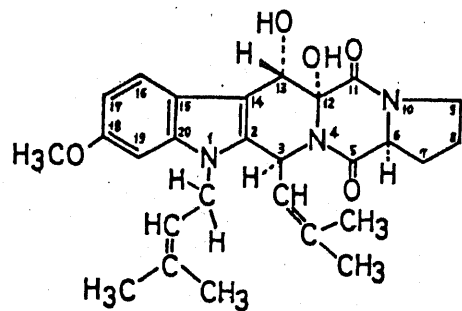
第一編 菌代謝産物の化学と生物活性

第一章 *Aspergillus fumigatus* IFM 4482 抽出エキスより得られた代謝産物

宮木, 山崎らは, 1968-1970年に行なった食品を汚染する有害カビの検索の際, 菌体の酢酸エチル抽出エキスが実験動物に座癱を与える *Aspergillus fumigatus* 数株を見出した。又, その菌体抽出エキスより, 強い向神経作用を有する fumitremorgin A, B (*A. fumigatus* toxin A, B より FTA, B と仮称) を単離し, 化学構造を明らかにした (Fig. 1)^{1b) 2)} この FTA, B 生産菌の一つである *A. fumigatus* IFM 4482 を滅菌精白米培地で培養後, 酢酸エチル抽出で得たエキスは, TLC上, FTA, B 以外に数多くのスポットが観察された。そこで, 本菌株は FTA, B 以外に, 向神経作用物質を生産する可能性があると考え, その単離並びに化学構造の決定を試みた。



Fumitremorgin A (FTA)



Fumitremorgin B (FTB)

Fig. 1

第一節 Tryptoquivaline類の分離

Aspergillus fumigatus IFM 4482 を滅菌精白米培地 (20kg) で 25°C, 14日間培養後, 酢酸エチル (2ℓ) で, 室温下, 3度抽出した。減圧下, 溶媒留去し, 抽出エキス (178g) を得た。このエキスを n-ヘキサンで脱脂し, シリカゲル・カラムクロマトグラフィーにより, 溶媒をベンゼンからベンゼン-アセトン (4:1) まで順次比率を変えて溶出させ, 分離を行なった。さらに, それぞれのフラクションについて, 繰返しシリカゲル・カラムクロマトグラフィーあるいは分取薄層クロマトグラフィー (prep. TLC) を行ない, FTA, B の他に一連の類似化合物を単離し, FTC, D, E, F, G, H, I, J, L, M, N と仮称した。これらは後に J. Clardy, G. Büchi らにより Aspergillus clavatus より単離された tryptoquivaline³⁾ と類似の化合物であることが判明したため, それぞれ tryptoquivaline C, D, E, F, G, H, I, J, L, M, N と命名した。なお, それぞれの収率は Chart 1 に示した。

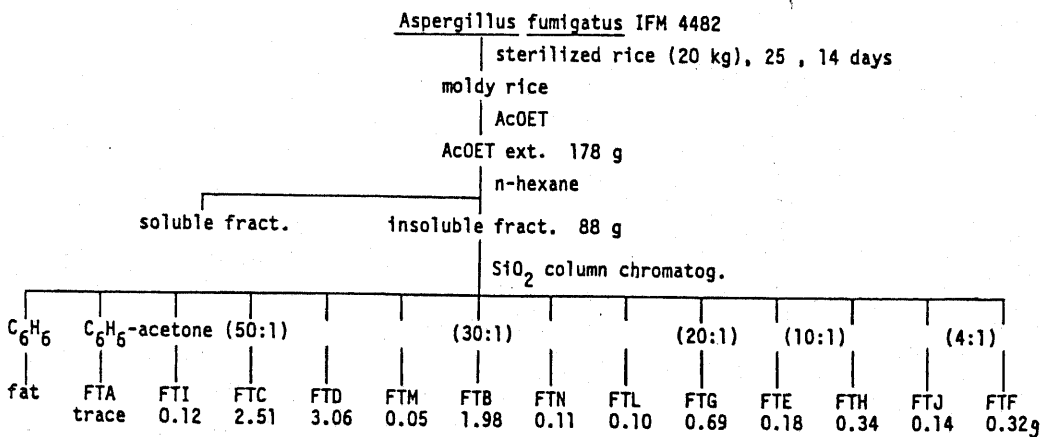


Chart 1

第二節 Tryptogivaline C, D, Mの化学構造

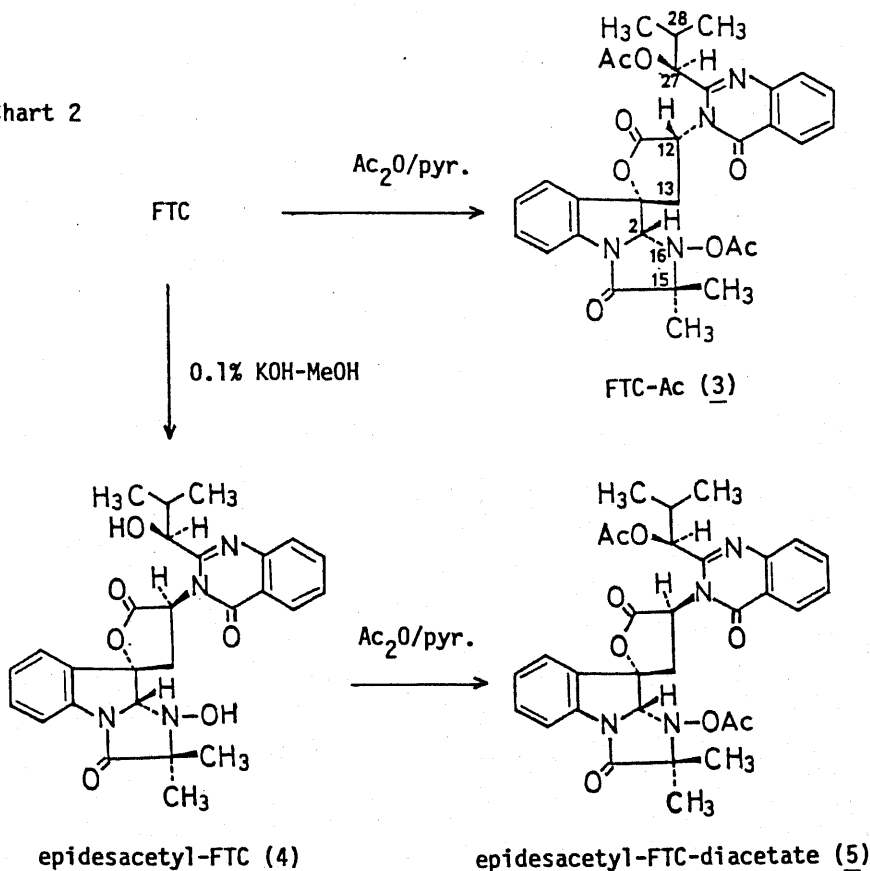
tryptogivaline C (FTC, 1) はメタールより無色針状晶, mp 215-217°C (dec.) として得られ, $[\alpha]_D +168^\circ$, $C_{29}H_{30}N_4O_7$ の分子式を示す。又, tryptogivaline D (FTD, 2) はメタールより無色針状晶, mp 224-225°C (dec.) として得られ, $[\alpha]_D +115^\circ$, $C_{28}H_{28}N_4O_7$ の分子式を与えた。

FTD は FTC より分子式で CH_2 少なく, 両者の物理化学的性質はよく類似していた。そこで, まず FTC の構造解明を行なった。

tryptophan- $3-^{14}C$ を培地に加えたところ, FTC に取り込まれたため, FTC の構造中に tryptophan 由来の部分構造を有することが示唆された。⁴⁾ 又, 紫外吸収 (UV) スペクトルにおける 280, 307, 320 nm 等の極大吸収より quinazalone 環の存在が推定された。⁵⁾ 赤外吸収 (IR) スペクトルでは, 3490 cm^{-1} の水酸基の他に, 1760 cm^{-1} の β -ラクトン, 1745 cm^{-1} のエステル, 1660 cm^{-1} のアミドの各カルボニルの吸収が観察された。FTC は 1N-HCl 溶液及び 1N-NaOH 溶液に溶解せず, Ehrlich, $FeCl_3$ の各呈色試験は陰性であった。 1H -核磁気共鳴 (1H -NMR) スペクトルにおいて, 1.01, 1.14 ppm の doublet メチルとそのつけ根のメチン水素, $[2.67\text{ ppm (1H, m)}]$ 及び隣接位メチン水素, $[5.59\text{ ppm (1H, d, } J=9)]$ より $(CH_3)_2CHCH-$ の存在が, 又, 3.03, 3.20 ppm (1H, dd, $J=14, 10$) の AB quartet 及びそれらとカップリングしている $5.67\text{ ppm (1H, t, } J=10)$ のメチン水素より $-CH_2-CH-$ の存在が示唆された。1.48, 1.50 ppm の2個の四級メチル, 4.99 ppm の1個の singlet メチン, 2.17 ppm

の1個のアセチルメチル, 7.33-7.93 ppm (7H, m) 及び 8.22 ppm (1H, d, J=8) の8個の芳香族水素, 7.08 ppmのNHあるいはOHの各シグナルが観察された。FTCは無水酢酸-ピロジンによるアセチル化で monoacetate (3) を与えた (chart 2)。FTCをアルカリで処理すると, 旋光度が負の desacetyl 体(4) を与え, このものはさらにアセチル化により acetate (5), mp 144-146°C, $C_{21}H_{32}N_4O_4$, $[\alpha]_D -199^\circ$ へ導かれた。3と5の各種スペクトルデータはよく類似しているが, 旋光度は逆を示した。旋光分散(ORD)スペクトルにおいても, 3と5は対照的なスペクトルを与えた。又, 1H -NMRにおいて,

Chart 2



$-\text{CH}_2-\dot{\text{C}}\text{H}-$ (ABX型)のメチレン水素のうち一方が, δ では γ に比較して約0.3 ppm 高磁場側へシフトしている。以上の事実から, γ と δ は立体異性体であり, FTCはアルカリ処理による脱アセチル化の過程においてエピ化したものと推定された。なお, tryptogvaline 類のエピ化に関しては, 本章第五節で詳細に述べる。

FTCの CrO_3 -酢酸による酸化では, 主な生成物として, compound A ($\underline{6}$), B ($\underline{7}$)を与えた。compound A ($\underline{6}$)は無色針状晶, mp 160-162°C, 分子式 $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$ であり, UVスペクトルにおける280, 307, 318 nmの極大吸収より, FTCのquinazolone環は $\underline{6}$ の構造中にも存在していると考えられた。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}\dot{\text{C}}\text{H}-$, $-\text{CH}_2-\dot{\text{C}}\text{H}-$, アセチル・メチル, 8個の芳香族水素の各シグナルはFTCと同様に観察された。しかし, FTCで観察された1.48, 1.50 ppmのメチル及び4.99 ppmのメチンシグナルや7.08 ppmのNHあるいはOHのシグナルは観察されず, 9.07 ppmのNHが新生した。IRスペクトルでは, 3440 cm^{-1} のNHの吸収の他, 1793, 1755 (sh), 1735, 1685 cm^{-1} にカルボニルの吸収が観察された。又, compound A ($\underline{6}$)はアセチル化を受け, monoacetate ($\underline{8}$)を与えた。以上のデータより, compound A ($\underline{6}$)の構造は, quinazolone⁵⁾とoxindole⁶⁾に $(\text{CH}_3)_2\text{CH}\dot{\text{C}}\text{H}-$, $-\text{CH}_2-\dot{\text{C}}\text{H}-$ 及びアセトキシル基が結合し, 1かもIRスペクトルで高波数に観察されるカルボニル基を含む $\underline{6a}$ 又は $\underline{6b}$ と推定した。なお, UVスペクトルにおいて, 390-420nmに ψ -indoxyl部分⁷⁾に相当する吸収が観察されないことから, oxindole部

分構造が妥当と考えられた (Fig. 2)。なお、compound A

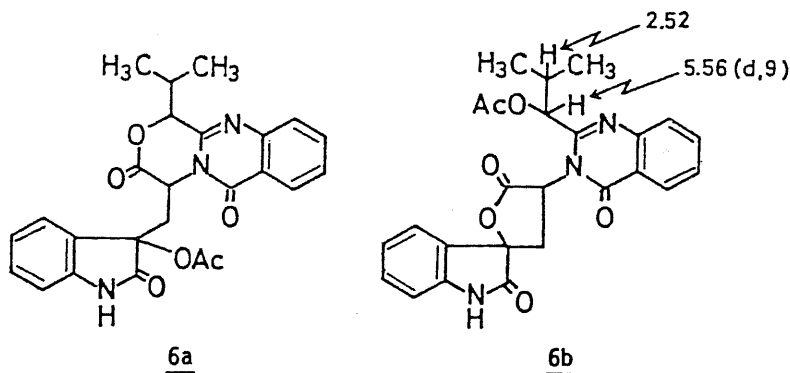
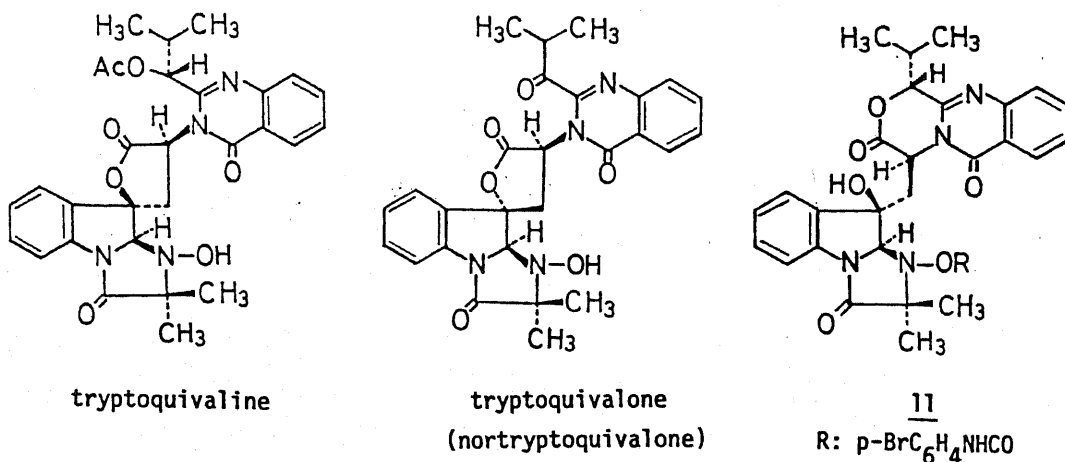


Fig.2 Structure of Compound A (6)

(6)と共に得られた compound B (7)に関しては精査しなかつた。

著者らの構造研究が進行中に、J. Clardy, G. Büchi らは *Aspergillus clavatus* より tryptoquivaline 及び tryptoquivalone を単離し、tryptoquivaline の p-bromophenylurethane



注) J. Clardy, G. Büchi らは相対構造として上記のように報告したが、以下、後述するFTDの絶対構造を基に、これらの鏡像体である 9 (Fig. 3), 10 (Fig. 4) の構造で記載する。

誘導体(11)について、X線構造解析を行ない、前ページのよう
 その相対構造を明らかにした。³⁾ tryptoquivalineの物理化学的性
 質はFTCとよく類似していたが、完全に同一ではなかつた
 (Table 1)。そこで、FTCはtryptoquivaline (9)のアセチル基

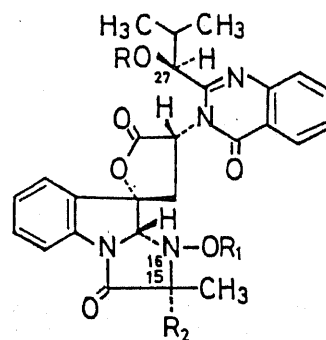
Table 1. Comparison of Physicochemical Properties of
 FTC and Tryptoquivaline

	FTC	Tryptoquivaline ³⁾
mp	215-217 (dec.) (MeOH) 231-232 (hexane-CH ₂ Cl ₂)	153-155 (hexane-CH ₂ Cl ₂)
[α] _D	+168 (CHCl ₃)	+142 (CHCl ₃)
¹ H-NMR in CDCl ₃	3.03(1H, dd, J=14,10), 3.20(1H, dd, J=14,10), 2.67(1H, m), 4.99(1H, s), 5.59(1H, d, J=9), 5.67(1H, t, J=10), 7.33-7.93(7H, m), 8.22(1H, d, J=8), 7.08(1H, s)	3.10(1H, d, J=10), 3.15(1H, d, J=10), 2.63 (1H, m), 5.00(1H, s), 5.61(1H, d, J=9), 5.70(1H, t, J=10), 7.12-7.90(7H, m), 8.22 (1H, d, J=8), 3.63(1H, br), 4.04(1H, br),

の位置異性体と考え、両者のacetateを直接比較したところ一
 致した。ゆえに、FTCの構造を1'のように推定した (Fig. 3)。

しかしながら、上の構造では comp-
 ound A (6) を与える際、6a, 6b
 のいずれの構造でもアセチル基
 の転移を伴うことになるため、疑問
 の余地が残された。

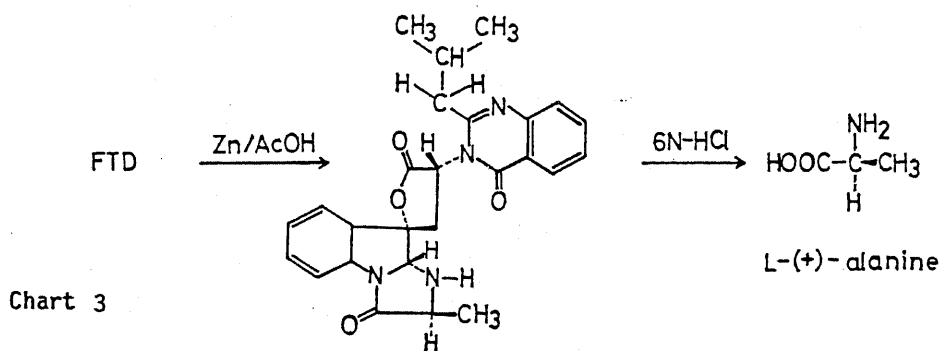
FTDは先に述べたように、各種ス
 ペクトルはFTCと類似しているが、
 FTCより分子式でCH₂少ない。¹H-
 NMRスペクトルにおいて、FTDは
 FTCで観察された、1.48, 1.50 ppm
 のsingletのメチル・シグナルの2個
 が観察されず、代わりに1.56 ppmの



- FTC (1): R=Ac, R₁=H, R₂=CH₃
 = tryptoquivaline (9)
 1' : R=H, R₁=Ac, R₂=CH₃
 FTD (2): R=Ac, R₁=H, R₂=H
 = nortryptoquivaline
 2' : R=H, R₁=Ac, R₂=H

Fig. 3

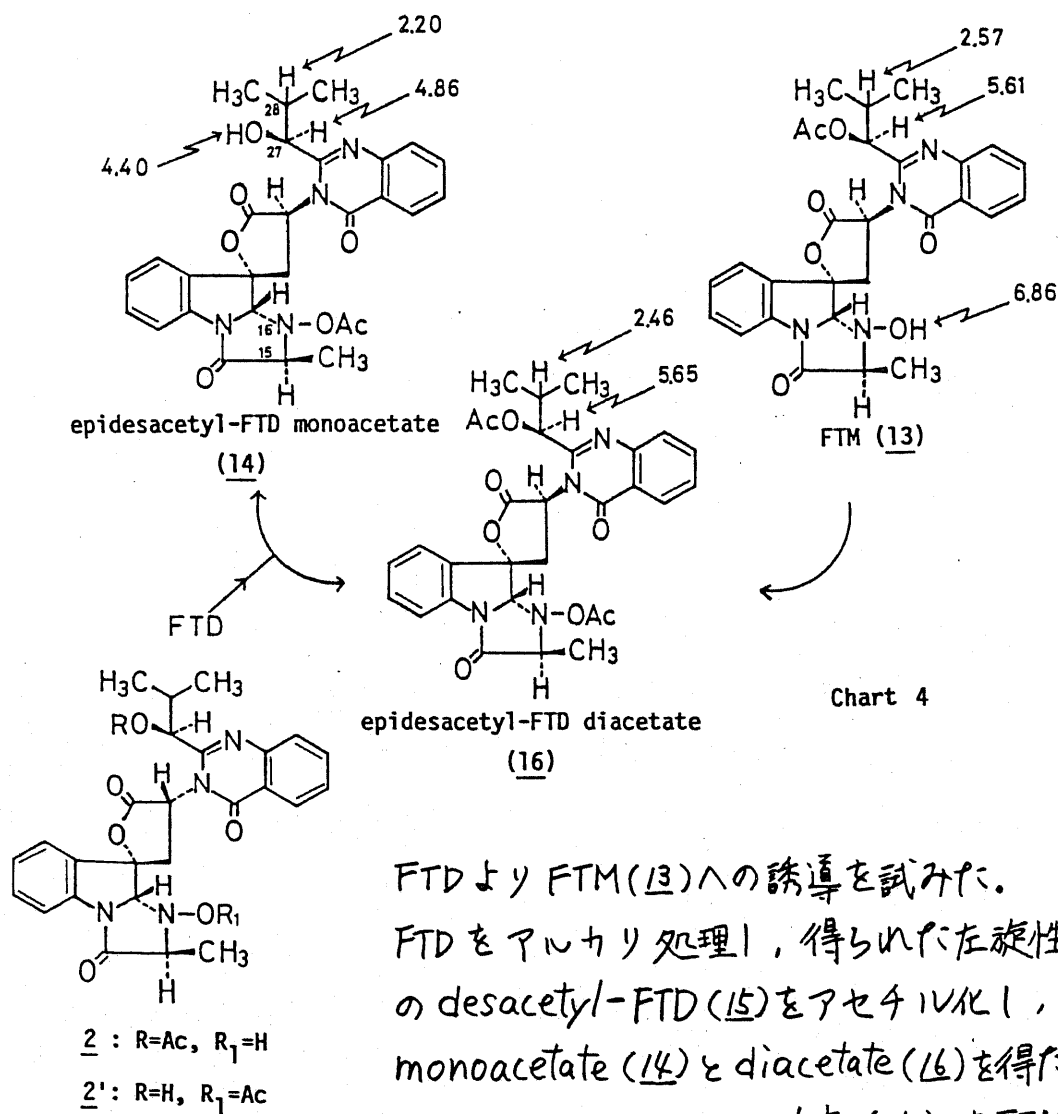
doublet × 4H 1個と、そのつけ根の水素、 δ 3.32 ppm ($1H, q, J=7$) が観察された。FTDは無水酢酸-ピロリジンではアセチル化を受けないが、無水酢酸-酢酸を用いることにより acetate (12) を与えた。又、FTDは CrO_3 -酢酸により酸化物を与え、このものは先に FTC から得られた compound A (6) と同一であった。よって、FTDの構造は C(15) 位に結合する置換基が mono-methyl 基である他は、立体を含めて FTC と同じであると推定し、2' の構造を提出した (Fig. 3)。なお、FTD の C(15) 位の立体化学に関しては、FTD を Zn-酢酸で還元後、加水分解し、得られたアミノ酸が L-(+)-alanine であったことから、S-配置と決定した (Chart 3)。



しかしながら、以下に述べるように、tryptogvaline M (FTM, 13) と epidesacetyl-FTD monoacetate (14) との比較により、FTC, D の構造として提出した 1, 2' はアセチル基の位置を訂正せざるを得ないことが判明した (Chart 4)。

tryptogvaline M (FTM, 13) はメタノール-水より無色板状晶として得られ、mp 157-164°C, $[\alpha]_D -154^\circ$, $C_{28}H_{28}N_4O_7$ を示す。FTM (13) は FTD と分子式が同一であり、各種スペク

トル・テータもよく類似しているが、旋光度が逆の値を示した。
 又、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて、 $-\text{CH}_2-\text{CH}-$ のABX型シグナル
 ナル、2.68, 3.65 ppm (each 1H, dd, $J=11, 10$) 及び 5.87 ppm
 (1H, t, $J=10$)はシグナルパターンに変化が認められた。FTCの
 アルカリ処理により、旋光度の逆転した立体異性体を与えるとい
 う知見も有るため、FTM (13)はFTDの立体異性体と推定し、



FTDよりFTM(13)への誘導を試みた。
 FTDをアルカリ処理し、得られた左旋性の
 desacetyl-FTD(15)をアセチル化し、
 monoacetate(14)とdiacetate(16)を得た。
 しかし、このmonoacetate(14)はFTM

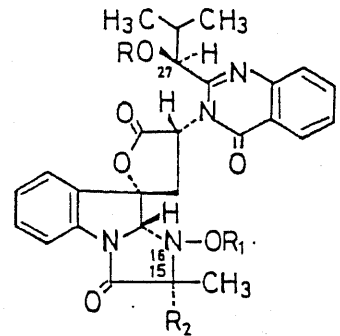
(13)と一致せず, diacetate (16)はFTM (13)より得たFTM-acetateと一致した。ゆえに, FTM (13)と14はアセチル基の位置異性体と推定された。

両者のアセチル基の位置に関しては, N(16)位及びC(27)位が考えられるが, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, 14はN(16)位にアセトキシル基を有することを推定した。すなわち, 14のC(27)-Hに帰属される δ 4.86 ppm (br d)のシグナルは2.20 ppmのC(28)-Hとカップリングしている他, δ 4.40 ppmのC(27)位水酸基とのカップリングも観察された。このことは, D_2O 添加により, 又, アセチル化により, δ 4.40 ppmの水酸基水素のシグナルが消失し, δ 4.86 ppmの幅広いシグナルがsharpeningしたことで支持される。ゆえに, 14のC(27)位の水酸基はfreeであり, N(16)位にアセトキシル基が結合していると推定された。一方, FTM (13)は14のアセチル基に関する位置異性体であることから, C(27)位にアセトキシル基を有していることになり, 先に提出したFTDの構造2'と, アセチル基の位置が異なっていることになる。ところで, C(27)-Hの化学シフトを比較すると, 通常観察されるように, C(27)位の水酸基がfreeである14では, C(27)位がアセトキシルのFTM (13)より約0.7 ppm高磁場に観察される(それぞれ4.86, 5.54 ppm) (Chart 4)。FTDのC(27)-Hは5.61 ppmに観察され, FTM (13)の化学シフトに近い値を示している。そこで, Table 2に示すように, FTD関連化合物のC(27)-Hの比較を行なった。FTD-acetate (12)やepidesacetyl-FTD diacetate (16)はC(27)位水酸基が確実にアセチル化されている化合物であり, そのC(27)-Hは

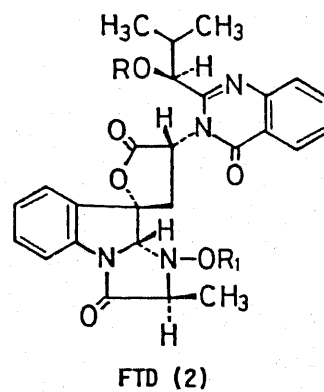
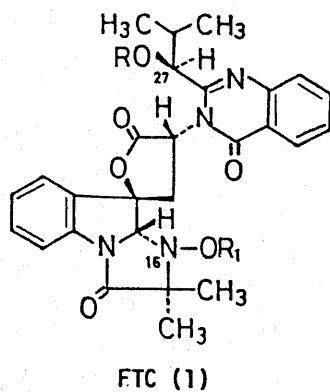
Table 2. $^1\text{H-NMR}$ Spectral Data for C(27)-H of FTD-related Compounds

	R	R ₁	R ₂	C(27)-H
FTD (2)	Ac	H	H	5.61(d, J=9)
FTD-acetate (12)	Ac	Ac	H	5.50(d, J=9)
Epidesacetyl-FTD monoacetate (14)	H	Ac	H	4.86(br d, J=4)
Epidesacetyl-FTD diacetate (16)	Ac	Ac	H	5.65(d, J=9)
FTM (13)	Ac	H	H	5.54(d, J=10)
FTM-acetate	Ac	Ac	H	5.65(d, J=9)
FTC (1) = tryptoquivaline (9)	Ac	H	CH ₃	5.59(d, J=9)
Epidesacetyl-FTC (4)	H	H	CH ₃	4.60(d, J=8)

5.50-5.65 ppm に観察される。一方、C(27)位水酸基が free である epidesacetyl-FTD monoacetate (14) 及び epidesacetyl-FTC (4) では、5 ppm 以上の、より高磁場に観察される。



以上の結果、FTDはC(27)位水酸基がアセチル化されているこの構造が妥当と結論づけた。同様に、FTCの構造を1に訂正した。先にCrO₃酸化で得られた compound A(6)の構造は、FTC, Dの訂正された構造1, 2が提出されたことから、6bの構造が妥当であり、この事実からも



1, 2の構造が支持された。

その後, C(15)位の立体化学が未定である他はFTDと同一構造を持つ nortryptoguviline が, G. Büchiらにより *A. clavatus* から単離されたため⁸⁾, 両者を直接比較したところ, TLC (Kieselgel 60F₂₅₄, 酢酸エチル-CHCl₃ 1:3, ベンゼン-アセトン 6:1, CH₂Cl₂-メタノール 20:1), IR 及び質量スペクトル (MS) で一致し, 混融により融点降下を示さなかった。又, J. P. Springer は, nortryptoguviline の直接法による X線構造解析を行ない, かつ, FTD の C(15)位が S 配置であるという著者らのデータから, その絶対構造も 2 のように決定した⁹⁾。

FTC の訂正された構造 1 は, G. Büchi らの tryptoguviline と同一であることになるため, 両者を直接比較したが, 完全に一致するまでには至らなかった。これは標品の tryptoguviline の純度が良くないためか, 結晶形が異なるためと思われる。MS 及び TLC (Kieselgel 60F₂₅₄, 酢酸エチル-CHCl₃ 1:3, ベンゼン-アセトン 6:1, CH₂Cl₂-メタノール 20:1) では一致した。

本章第五節で述べるように, FTD のアルカリ処理により, その C(12)位のみがエピ化することが明らかとなっている。又, 先に述べたように epidesacetyl-FTD diacetate (16) と FTM-acetate は一致している。FTD の構造が 2 に訂正されたことから, FTM は FTD (2) の C(12)位に関するエピマー (13) と決定された (chart 4)。

なお, G. Büchi らは, tryptoguviline の相対構造の記載を上鏡像体で報告したため, 著者らもそれと同様の構造で報告したが, 本論文では全て FTD の絶対構造 2 の立体配置に基づいて

記載した。

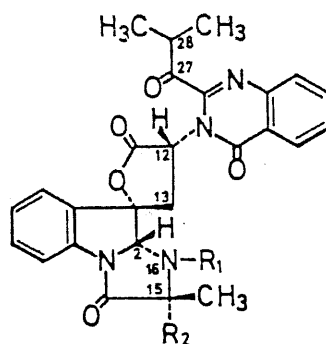
第三節 Tryptoguvaine I, N の化学構造

tryptoguvaine I (FTI, 17) は CH_2Cl_2 -メタノールより無色葉状晶として得られ, mp $232-235.5^\circ\text{C}$ (dec.), $[\alpha]_D +239^\circ$; 分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_6$ を有する。FTC (1), D (2) と各種スペクトル・データは類似しているが, UV スペクトル, $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 235 (31700), 250 (21400), 292 (9600), 321 (6100) は異なる。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, FTC (1) で観察された C (26) 位の側鎖由来のシグナル, すなわち 1.22, 1.28 ppm のメチル, 4.07 ppm のメチン水素のシグナルは観察されるが, アセトキシル・メチル及びそのつけ根の水素シグナルは観察されない。又, FTI (17) で 4.07 ppm に観察される, 側鎖の C (28) 位メチン水素は, FTC (1) の対応するシグナル (2.67 ppm) に比べ, 1.4 ppm 低磁場側へシフトしている。以上の事実より, C (27) 位はカルボニルであると推定した。J. Clardy, G. Büchi らは A. clavatus より C (27) 位がカルボニルの tryptoguvaine (10) (Fig. 4) を得ているが,³⁾ FTI (17) の UV スペクトルが, この 10 とよく類似していることから支持される。その他の部分構造は, FTC (1) と同様であり, C (15) 位は geminal dimethyl 基が結合し, N (16) 位は triphenyl tetrazolium chloride (TTC)-test 陽性であることから hydroxylamine 体であると思われた。³⁾¹⁰⁾ 又, FTI の立体化学に関しても, 旋光度は右旋性を示し, ORD スペクトルも FTC (1) と類似したスペ

クトルを示すことから, FTC (L) と同様であろうと推定された (Fig. 4).

Tryptoquivaline N (FTN, 18) は, メタノールより無色針状晶として得られ, mp 193-197°C, $[\alpha]_D +127^\circ$, 分子式 $C_{26}H_{24}N_4O_5$ を示す。その UV スペクトルは FTI (17) とよく類似していることから, 側鎖

の C(27) 位がカルボニルである tryptoquivaline 類と推定された。このことは, 1H -NMR スペクトルにおいて, C(26) 位に結合している側鎖由来のシグナルが δ 2.6, δ 3.0 ppm (3H, d, $J=7$) 及び δ 4.08 ppm (1H, m) に観察され, FTI (17) とよく類似していることから支持される。C(15) 位の置換基に関しては, FTI (17) で観察された geminal dimethyl 由来のシグナルは観察されず, 代わりに 1 個のメチル基及びそのつけ根の水素がそれぞれ δ 1.55 ppm (3H, d, $J=7$) 及び δ 4.12 ppm (1H, q, $J=7$) に観察された。そこで, C(15) 位の置換基は monomethyl 基と推定した。D₂O 添加により消失する δ 3.05 ppm (1H, br s) のシグナルは d-dimethylsulfoxide (d-DMSO) 中では δ 3.78 ppm に観察されるが, このシグナルの照射により, δ 5.45 ppm (1H, br d, $J=7$) の C(2) 位メチン水素のシグナルが sharpening する。ゆえに, D₂O 添加で消失するシグナルは N(16)-H 由来と推定された。又, FTN (18) の立体化学に関しては, FTN が右旋性であ



FTI (17): $R_1=OH, R_2=CH_3$
tryptoquivalone (10): $R_1=OH, R_2=H$
FTN (18): $R_1=H, R_2=H$
=deoxynortryptoquivaline (19)

Fig. 4

り、各種スペクトルも FTI (17) と類似していることから、Fig. 4 のように推定した。なお、G. Büchi らも A. clavatus から FTN (18) と同一の構造を有する deoxynortryptoquivaline (19) を単離しており、⁹⁾ 両者を直接比較したところ一致した。

FTI, N の ¹H-NMR スペクトルに関しては、Table 3 に、第四節に述べる C(26) 位に側鎖のない tryptoquivaline 類の ¹H-NMR スペクトルと共に記載した。

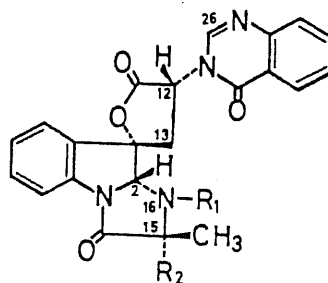
又、tryptoquivaline 類の命名法に関しては、山崎による命名法統一の提案により、C(15) 位 monomethyl 体を nor-, N(16) 位に水酸基のないものを deoxy- と命名することになったが（ゆえに G. Büchi らは、その後、tryptoquivalone を nor-tryptoquivalone と報告している）、後に C(26) 位に側鎖のないものが数多く得られ、著者らは tryptoquivaline C, D, E... の命名に変更した。しかし、この命名はまだ G. Büchi らに提案しておらず、混乱がみられるため、将来、何らかの形で統一されることを望ましい。

第四節 Tryptoquivaline E, F, G, H, J, L の化学構造

tryptoquivaline E, F, G, H, J, L (FTE, F, G, H, J, L) は FTC (1) や D (2) に類似のスペクトルを与えるが、¹H-NMR スペクトルにおいて、C(26) 位の側鎖に相当するシグナルが観察されず、C(26)-H が芳香族領域の低磁場側、 δ 4- δ 7 ppm に isolate した singlet として観察された (Table 3)。そこで、これらは全て、C(26) 位に側鎖を持たない tryptoquivaline 類

と判断した。なお, FTFのみは種々の有機溶媒に難溶のため, acetate として CDCl_3 中で測定したが, このものの $\text{C}(26)\text{-H}$ シグナル, δ 04 ppm は他の側鎖のない tryptogvaline 類よりも高磁場に観察された。これは, アセチル・カルボニルによる anisotropy のためと推定している。

tryptogvaline E (FTE, 20) はアセトンより無色羽状晶として得られ, $\text{mp} \sim 257^\circ\text{C}$ (dec.), $[\alpha]_D^{25} + 257^\circ$, 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5$ を与えた。TTC-test 陽性であることより, hydroxylamine の存在が示唆された。又, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, D_2O 添加やアセチル化により消失する 10.42 ppm (br s) のシグナルは N-OH に帰属された。このこと



- FTE (20) : $\text{R}_1=\text{OH}, \text{R}_2=\text{H}$
 FTE-Ac (21) : $\text{R}_1=\text{OAc}, \text{R}_2=\text{H}$
 FTG (22) : $\text{R}_1=\text{OH}, \text{R}_2=\text{CH}_3$
 FTG-Ac (23) : $\text{R}_1=\text{OAc}, \text{R}_2=\text{CH}_3$
 FTJ (24) : $\text{R}_1=\text{H}, \text{R}_2=\text{H}$
 FTJ-Ac (25) : $\text{R}_1=\text{Ac}, \text{R}_2=\text{H}$

Fig. 5

は, acetate (21) の TTC-test が陰性であることから支持された。1.63 ppm (3H, d, $J=7$) と 4.26 ppm (1H, q, $J=7$) に観察されるメチル基とそのつけ根の水素シグナルは $\text{C}(15)$ 位の置換基が monomethyl 基であることを示している。FTE (20) は右旋性であり, ORD スペクトルや $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおける 5 員環スピロ-ラクトン環の ABX 型由来のシグナルパターン等も FTC (1), D (2) と類似している。よって, FTE (20) の立体化学は FTC (1), D (2) と同様であると推定した (Fig. 5)。

tryptogvaline G (FTG, 22) はアセトンより無色クリス

4晶として得られ, mp 240-241.5°C (dec.), $[\alpha]_D +215^\circ$, 分子式 $C_{23}H_{20}N_4O_5$ を有する。FTG (22) は分子式で FTE (20) より CH_2 多く, UV, IR スペクトル等各種スペクトルデータは FTE (20) とよく類似している。しかし, 1H -NMR スペクトルにおいて, FTE (20) で観察された C(15) 位のメチル基及びそのつけ根の水素由来のシグナルのかわりに, FTG (22) では geminal dimethyl 基由来の δ 150, δ 162 ppm (each 3H, s) のシグナルが観察された。N(16) 位に関しては, FTE (20) と同様 10.64 ppm に N(16)-OH のシグナルが観察されたことより, hydroxylamine 体と推定した。FTG (22) は右旋性であり, ORD スペクトルや 1H -NMR スペクトルにおける5員環スピロラクトン部のシグナルパターン等も FTE (20) に類似していることから, 立体化学に関しても FTE (20) と同様であると推定した (Fig. 5)。

その後, tryptoquivaline G (22) 及びそのエピマーである後述する tryptoquivaline L (28) に関して, G. Büchi ら¹¹⁾, T. Ohnuma ら¹²⁾, M. Nakagawa ら¹³⁾ による全合成が報告され, 構造が確かめられている。

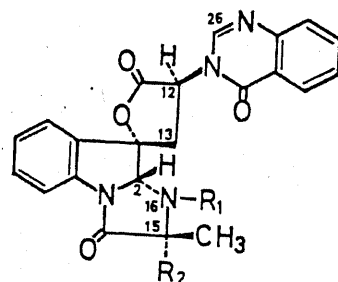
tryptoquivaline J (FTJ, 24) はメタノールより無色微細針状晶として得られ, mp 254-258°C (dec.), $[\alpha]_D +135^\circ$, 分子式 $C_{22}H_{18}N_4O_4$ を示す。各種スペクトルは FTE (20) と類似しており, 分子式で FTE (20) より酸素1分子少ない。しかし, FTJ (24) は FTE (20) と異なり, 10% HCl 溶液に溶解し, 又, TTC-test 陰性であった。 1H -NMR スペクトルにおいて, D_2O 添加により消失する δ 3.76 ppm のシグナルは二級アミンと推

定すれ、FTJの acetate (25)の IR スペクトルでは、 1660 cm^{-1} に新たにアミド・カルボニルの吸収が観察された。以上の事実より、FTJ (24)は N(16)-H と推定された。FTJ (24)は右旋性であり、ORD スペクトルも FTE (20)に類似していることから、同様の立体を有すると考え、Fig. 5 のように構造を推定した。

tryptogvaline H (FTH, 26) はメタノールより無色微細針状晶として得られ、 $\text{mp} \sim 274^\circ\text{C}$ (dec.); $[\alpha]_D -155^\circ$, 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5$ を示す。FTE (20) と同一の分子式を有し、各種性状やスペクトル・データも FTE (20) とよく類似しているが、旋光度及び ORD スペクトルは逆の負の値を示した。又、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおけるスピロ・ラクトン環の ABX 型シグナル・パターンも変化している; FTH (26), 2.96, 3.60 ppm (each 1H, dd, $J=13, 10$), 5.76 (1H, t, $J=10$); FTE (20), 3.38, 3.56 ppm (each 1H, dd, $J=13, 10$), 6.48 (1H, t, $J=10$)。以上の事実より FTH (26) は FTE (20) の立体異性体と推定された。

FTE (20) のアルカリ処理で FTH (26) が得られ、本章第五節で述べるように、C(12)位でのエピ化が起こったものと推定された。よって、FTH (26) は FTE (20) の C(12) 位に関するエピマーであり、Fig. 6 のように構造を推定した。

tryptogvaline L (FTL, 28) はアセトンより無色葉状晶として得られ、 $\text{mp} 265-268^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D -229^\circ$;



- FTH (26) : $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$
 FTH-Ac (27) : $R_1 = \text{OAc}$, $R_2 = \text{H}$
 FTL (28) : $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{CH}_3$
 FTF (29) : $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{H}$
 FTF-Ac (30) : $R_1 = \text{Ac}$, $R_2 = \text{H}$

Fig. 6

分子式 $C_{23}H_{20}N_4O_5$ を有する。FTL (28) の分子式は FTG (22) と同一であり、各種スペクトル・データは類似しているが、旋光度及び ORD スペクトルは逆の値を示す。 1H -NMR スペクトルにおけるスピロラクトン環の ABX 型シグナル・パターンは、測定溶媒中の水のシグナルのために、同一溶媒中では比較できなかった。しかし、FTE (20) と H (26) の場合と同様、FTG (22) のアルカリ処理で FTL (28) が得られたことから、FTL (28) は FTG (22) の C(12) 位に関するエピマーと推定された (Fig. 6).

tryptogvaline F (FTF, 29) はメタノールより無色微少針状晶として得られ、 $mp \sim 277^\circ C$ (dec.), $[\alpha]_D -109^\circ$, 分子式 $C_{22}H_{18}N_4O_4$ を示す。FTJ (24) と同一の分子式を有し、各種性状やスペクトル・データも FTJ (24) と類似しているが、旋光度及び ORD スペクトルは逆の値を示した。又、 1H -NMR スペクトルでは、FTF (29) が各種有機溶媒に難溶のため、acetate 同士で比較すると、スピロラクトン環の ABX 型シグナル・パターンが、FTF-Ac (30) と FTJ-Ac (25) では変化している; FTF-Ac (30), 3.19, 3.33 ppm (each 1H, dd, $J=13, 9$), 5.40 (1H, t, $J=9$); FTJ-Ac (25), 3.28, 3.74 (each 1H, dd, $J=12, 11$), 6.48 (1H, t, $J=11$). 以上の事実より、FTF (29) は FTJ (24) の立体異性体と推定された。FTJ (24) のアルカリ処理において FTF (29) が得られ、その際、本章第五節で述べるように、C(12) 位のみがエピ化すると考えられる。よって、FTF (29) は FTJ (24) の C(12) 位に関するエピマーと推定された (Fig. 6).

Table 3 ¹H-NMR Spectra of Tryptoquivaline-related Compounds

	-CH ₃			-CH ₂ -				-CH-				Aromatic H				N-OH	N-H
	29 or 30	31 or 32	Ac	13	13	28	15	2	12	5,6,7,8,21,22,23	20	26	16	16	16		
(I) in CDCl ₃																	
FTF-Ac	1.68 (d,7)	2.15 (s)	3.19 (dd,13,9)	3.33		4.44 (q,7)	5.65 (s)	5.40 (t,9)	8.21 (d,7)	8.04 (s)							
FTI	1.22 (d,7)	1.28 (d,7)	1.49 (6H,s)	3.06 (dd,14,10)	4.07 (m)	4.99 (s)	5.47 (t,10)	7.00-7.94	8.24 (d,7)				7.01 (s)				
FTJ-Ac	1.71 (d,7)	2.22 (s)	3.28 (dd,12,11)	3.74		4.56 (q,7)	5.76 (s)	6.48 (t,11)	8.35 (d,8)	8.75 (s)							
FTN	1.26 (d,7)	1.30 (d,7)	1.55 (d,7)	3.03 (dd,13,10)	4.08 (m)	4.12 (q,7)	5.34 (s)	5.46 (t,10)	8.24 (d,8)				3.05 (br)				
(II) in d-pyridine																	
FTE	1.63 (d,7)		3.38 (dd,13,10)	3.56		4.26 (q,7)	5.42 (s)	6.48 (t,10)	8.17 (d,8)	8.59 (s)	10.42 (br s)						
FTG	1.50 (s)	1.62 (s)	3.43 (dd,14,10)	3.64		5.30 (s)	6.56 (t,10)	6.96-7.96	8.23 (d,8)	8.66 (s)	10.64 (br s)						
FTH	1.45 (d,8)		2.96 (dd,13,10)	3.60		3.98 (q,8)	5.25 (s)	5.76 (t,10)	8.11 (d,8)	8.38 (br s)	10.60 (br s)						
(III) in d-dimethylsulfoxide																	
FTE	1.43 (d,7)		a)			4.01 (q,7)	5.38 (s)	6.20 (t,10)	8.22 (d,8)	8.57 (br s)	8.52 (br s)						
FTG	1.30 (s)	1.35 (s)	a)			5.16 (s)	6.16 (t,10)	7.16-8.04	8.20 (d,7)	8.52 (br s)	8.41 (br s)						
FTH	1.48 (d,6)		a)			a)	5.46 (s)	5.62 (t,10)	8.22 (d,6)	8.49 (s)	8.75 (s)						
FTJ	1.41 (d,7)		3.08 (d-like,10)	3.10		3.87 (q,7)	5.41 (br d,6)	6.01 (t,10)	8.17 (d,8)	8.49 (s)	3.76 (br)						
FTL	1.26 (s)	1.36 (s)	3.03 (dd,13,10)	3.43		5.21 (s)	5.57 (s)	7.24-8.00	8.23 (d,8)	8.53 (s)	8.74 (s)						

a) Undefined because of the overlap with the signal of water in the solvent.

第五節 Tryptoquivaline類のエピ化

A. fumigatus より単離された tryptoquivaline C, D, E, F, G, H, I, J, L, M, N (FTC, D, E, F, G, H, I, J, L, M, N)のうち, FTC(L), D(2), E(20), G(22), I(17), J(24), N(19)は右旋性であり, FTF(29), H(26), L(28), M(13)は左旋性である。これらの構造研究の過程において, FTH(26), FTF(29), FTL(28)は FTE(20), FTJ(24), FTG(22)のそれぞれ立体異性体であり, 後者をアルカリ処理することにより, それぞれ前者に変換されることを見出した (Chart 5)。又, FTC(L), D(2)のアルカリ処理においては, 脱アセチル化をも伴うため, それぞれ epidesacetyl-FTC(4)及び epidesacetyl-FTD(15) (= desacetyl-FTM)へ変換され, 続いてアセチル化により

Chart 5

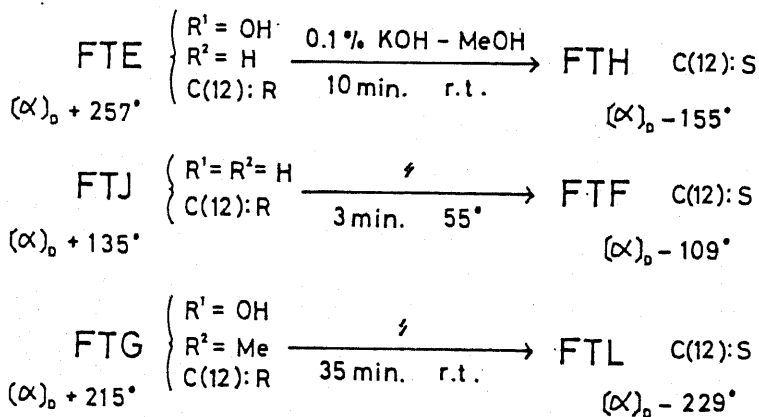
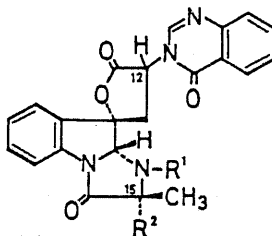
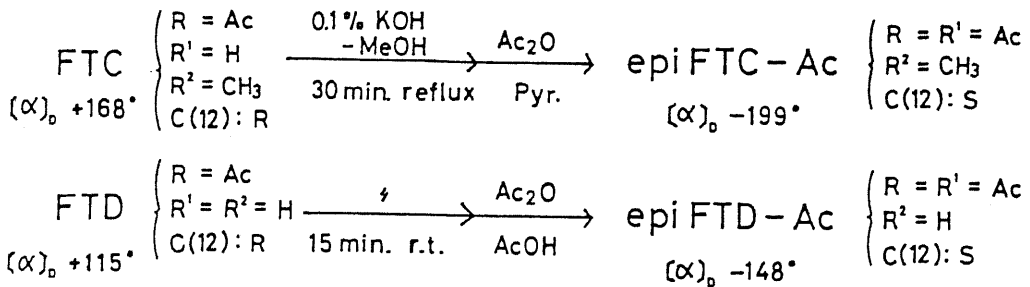
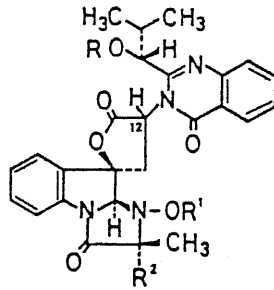


Chart 6



epi FTC-Ac (5), epi FTD-Ac (16) (=FTM-Ac)を与えた (Chart 6)。このような旋光度の逆転を伴う変化は、構造中の重要な不斉中心における立体配置の変化が起こったものと考えられた。すなわち、C(12)位での立体配置が変化した可能性が大きい¹⁴⁾が、各々の tryptogvaline の立体構造を決定する上で、C(12)位のみの変化であるかどうかを確実にする必要があったと思われる。

そこで、FTD(2)を0.1% KOH-CD₃ODで処理したところ、D置換された epidesacetyl-FTD が得られた。このものをさらにアセチル化し、diacetate (31)を得た。31は、先にFTDのアリカリ処理-アセチル化で得ている epi FTD-Ac(16)に比較し、MSで1質量単位多い m/z 575にM⁺を与えた。¹H-NMRスペクトルではC(12)-Hに相当するシグナルは完全に消失している他は変化が認められなかった。重水素NMR (²H-

NMR) スペクトルでは, 6.26ppmのC(12)-Dに相当する大きなシグナルのみが観察された(Fig. 7)。ゆえに, 右旋性の tryptogvaline 類のアルカリによる立体配置の変換はC(12)位のみにかかるものと結論づけられた。そこで, C(12)位の立体配置がRである FTC(1)及びFTD(2)に対し, epiFTC-Ac(5)及び epiFTD-Ac(16)やFTM(13)はC(12)位がS配置ということになる。同様に, 右旋性の FTE(20), G(22), J(24)はC(12)-S, 左旋性の FTH(26), L(28), F(29)はC(12)-Rであり, 前者と後者はC(12)位のみに関するエピマーであることが明らかにされた。又, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, それぞれのエピマー間でスピロラクトン環のABX型シグナル・パターンに変化が認められるが, この事実もC(12)位の立体配置が変化しただけと説明できる。

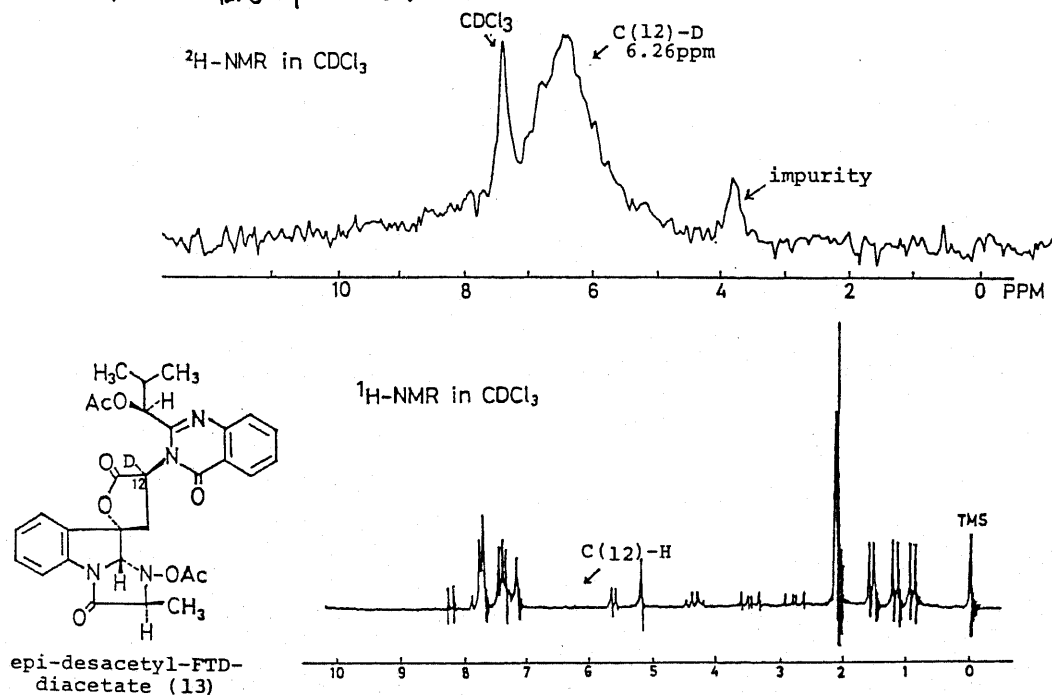


Fig. 7 $^1\text{H-}$ and $^2\text{H-NMR}$ Spectra of Epidesacetyl-FTD diacetate-D (31)

第六節 Tryptoquivaline 類の生合成仮説

tryptoquivaline 類はこれらの構造から、生合成上、4種のアミノ酸、すなわち, tryptophan, anthranilic acid, valine, alanine (又は methylalanine) から形成されると考えられる。これらのアミノ酸から、まず FTN (= deoxynortryptoquivalone²⁾、あるいは deoxytryptoquivalone (まだ単離されていない) が形成され、二級アミンの酸化により、hydroxylamine 体、すなわち nortryptoquivalone²⁾ 及び FTI にそれぞれ変換されるのではないかと思われる。もし、これらがさらに酸化等で C(26) 位側鎖を失ったならば、FTJ, E, K, G が形成される (FTK はまだ単離されていない)。一方、還元により、C(27) 位が水酸基になった、deoxynortryptoquivaline²⁾, FTD (= nortryptoquivaline²⁾、deoxytryptoquivaline²⁾, FTC (= tryptoquivaline³⁾ が出来ると思われる (Chart 7)。

C(15) 位の geminal dimethyl 基は、生合成の初期段階で、alanine のかわりに直接 methylalanine が取り込まれるか、あるいは FTI に C₁-unit が結合することにより形成されると考えられる。

右旋性の tryptoquivaline 類から、それぞれ対応する左旋性のエピマーへの変換は緩和な実験条件下で容易に起こることから、左旋性のエピマーは artifact の可能性も残されている。しかし、通常のエピ化の条件下では、FTD は脱アセチル化をも伴うため、FTD のエピマーである FTM は得られないことから、一

概に artifact と結論づけることはできないであろう。

右旋性の tryptoquinoline 類は C(12)位が R 配置と明らかにされたが、先に、 ^{14}C -ラベルの L-tryptophan が FTC に取り込まれたという知見がある。¹⁴⁾ ここで、菌体中に L-tryptophan が取り込まれ、tryptoquinoline 類の生合成過程において、D-体へ変換されるのではないかと考えられる。alanine 部分に関しては、FTD 等の C(15)位は S 配置であることから、L-alanine がそのまま取り込まれるのであろう。なお、 ^{14}C -L-alanine 及び methylalanine を用いた生合成実験において、methylalanine は取り込まれたが、 ^{14}C -L-alanine は生体内で pool されてしまうためか、あるいは未培地を用いたせいかわかり、取り込まれなかった。¹⁵⁾

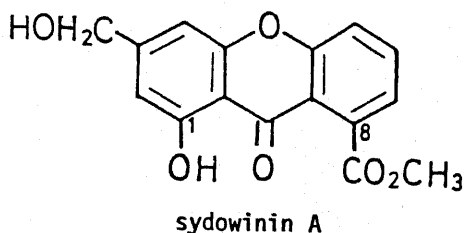
第七節 Sydowinin A の同定

tryptoquinoline 類の単離過程で、FTB と類似した TLC 上の挙動を示す代謝産物を単離した。このものは、メタノールより黄色微細板状晶として得られ、mp 218-221°C、分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ を示した。各種スペクトルデータは第二章第二節で述べる pinselin と類似していることから、同様の xanthone と考えられた。結合している置換基としては、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより、4.61 ppm の水酸基及び水素結合を形成している 12.22 ppm の xanthone カルボニルの peri 位の水酸基が観察された。又、3.88 ppm (3H, s) のメトキシル基の存在、及び IR スペクトルで、 1738 cm^{-1} にエステル・カルボニルの吸収が観察されたことか

ら, pinselinと同様, メトキシカルボニル基が存在すると考えられた。xanthone骨格とこれらの置換基を統合すると, 水酸基(4.61ppm)は, 分子式より hydroxymethylene基として存在していると推定され, このメチレン水素は $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて, 4.61ppm (2H, s-like) に観察された。

以上3種の置換基の位置に関しては, $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより, 4.61ppmのメチレンシグナルの照射で 6.71, 6.94ppm (each 1H, br s) の芳香族水素にメタ-カップリングが観察されたことから, hydroxymethylene基の両隣りにこれらの水素が存在していることが示唆された。その他に芳香族水素は3個観察されるが, そのうちの2個の水素, 7.26, 7.52ppm (each 1H, dd, $J=8, 1.5$) はオルト-及びメタ-カップリングしており, 残り1個の水素, 7.76ppm (1H, dd, $J=8, 7$) はそれぞれとオルト-カップリングしている。よって, 3個の芳香族水素が並んだ形をとると考えられる。又, xanthoneカルボニルにより deshield されている peri位水素のシグナルは観察されないため, xanthoneカルボニルの peri位には, 先に述べた水素結合している水酸基とメトキシカルボニル基が結合していると思われる。これらの事実より, 右記の構造, あるいはそのC(1)位とC(8)位の置換基が交換した構造が推定された。

ところで, 右記の構造を持つ化合物は, すでに T. Hamasaki らにより *Aspergillus sydowii* より sydownin A として得られている¹⁰。そこで, 両者を直接比較したところ一致した。



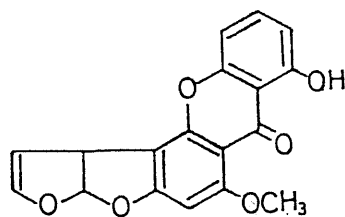
第八節 A. fumigatus IFM 4482 代謝産物の生物活性

tryptoquivaline 及び tryptoquivalone は G. Büchi 31 により A. clavatus の tremorigenic metabolite として報告された。¹⁷⁾ C.M. Christensen らは、この2種の化合物が 500 mg/kg、腹腔内投与により weanling rat に fine tremor と hypersensitivity を引き起こし、5日間その症状が続き、8日目に投与された動物は死亡したと報告している。¹⁸⁾

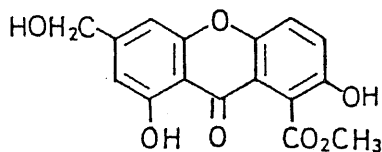
著者らの知見では、マウスに対し、tryptoquivaline C (= tryptoquivaline) 及び tryptoquivaline D (= nortryptoquivaline) の 0.3 mg/kg 静脈内投与及び 250 mg/kg 腹腔内投与では致死毒性は観察されず、明確な tremor (振せん) も観察されなかった。側鎖の C(27)位がカルボニルである tryptoquivaline I のマウスに対する 250 mg/kg 腹腔内投与においても、致死毒性、tremor は観察されなかった。C(26)位に側鎖のない tryptoquivaline G 及び L では、それぞれ 75 mg、50 mg/kg の静脈内投与において、マウス 6匹中5匹、4匹中1匹を1日以内に死に致らしめたが、tremor は観察されなかった。¹⁹⁾

これらの事実より、tryptoquivaline 類は何らかの毒性を有すると思われるが、先に A. fumigatus より得られている FTA 及び B (5 mg/マウス、腹腔内投与により、マウス 70% を 96 時間以内に死に致らしめる)¹⁶⁾ に比較し、それらの毒性は非常に低いと思われる。tryptoquivaline 類が tremor を誘起するか否か、又、構造活性相関等は今後さらに検討の余地がある。

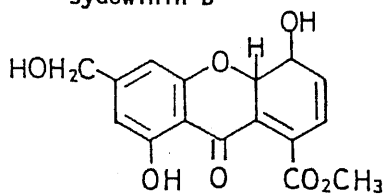
sydowinin A に関しては、同様の xanthone 骨格を有する sterigmatocystin が強い変異原活性を有することから¹⁹⁾ sydowinin A もこのような活性を有する可能性が考えられた。しかし、近崎らは A. sydowi より sydowinin A と共に得た類似物質である sydowinin B, sydowinol 等の変異原活性を調べ、特に強い活性は見出していない。²⁰⁾ 又、著者らも、sydowinin A と類似構造を有する pinselin (第三章第三節) に関し、変異原活性を調べたが、活性は認められなかった。従って、sydowinin A が変異原活性を有する可能性は低いと思われる。



sterigmatocystin



sydowinin B



sydowinol

第二章 Penicillium paraherquei IFO 623K 抽出エキスより得られた代謝産物

山崎らは、FTA, B 及びその他の向神経性物質を生産する菌並びにその近縁菌の検索において、(財)発酵研究所より入手した数種の菌の検索を行なった。その際、Aspergillus silvaticus IFO 8173 及び Penicillium paraherquei IFO 623K の酢酸エチル抽出エキスが、マウスに対し強い致死毒性を示すことが見出された (Table 4)。¹⁵⁾ A. silvaticus IFO 8173 に関しては、毒性本体として silvaticamide が単離され、報告された。²⁰⁾ そこで、P. paraherquei IFO 623K の毒性本体を検討すべく研究を行なった。

P. paraherquei は FTA, B 関連代謝産物である verruclogen を生産する菌として知られている。²²⁾ しか、IFO 623K 株の酢酸エチル抽出エキスは verruclogen を生産せず、しかも、500mg/kg 腹腔内投与において、1日以内にマウス 7匹中 7匹を死に致らした。その際、上行性と思われる麻痺が観察された。そこで、本菌の毒性本体を得るために、腹腔内投与での

Table 4

<u>Aspergillus asperescens</u>	IFO 5996	<u>Penicillium herquei</u>	IFO 7904
<u>Aspergillus caespitosus</u>	IFO 8086	<u>Penicillium lanosum</u>	IFO 5851
<u>Aspergillus janus</u>	IFO 7627	<u>Penicillium lanosum</u>	IFO 6099
<u>Aspergillus silvaticus</u>	IFO 8173**	<u>Penicillium olivino-viride</u>	IFO 8178*
<u>Aspergillus varians</u>	IFO 4114	<u>Penicillium palitans</u>	IFO 8801
<u>Penicillium crustosum</u>	IFO 6016*	<u>Penicillium paraherquei</u>	IFO 6234**
<u>Penicillium crustosum</u>	IFO 7782	<u>Penicillium paxilli</u>	IFO 7119
<u>Penicillium granulatum</u>	IFO 7725*	<u>Penicillium verruculosum</u>	IFO 9586

* toxic

** very toxic

マウスに対する致死毒性を指標として分離を行なった。

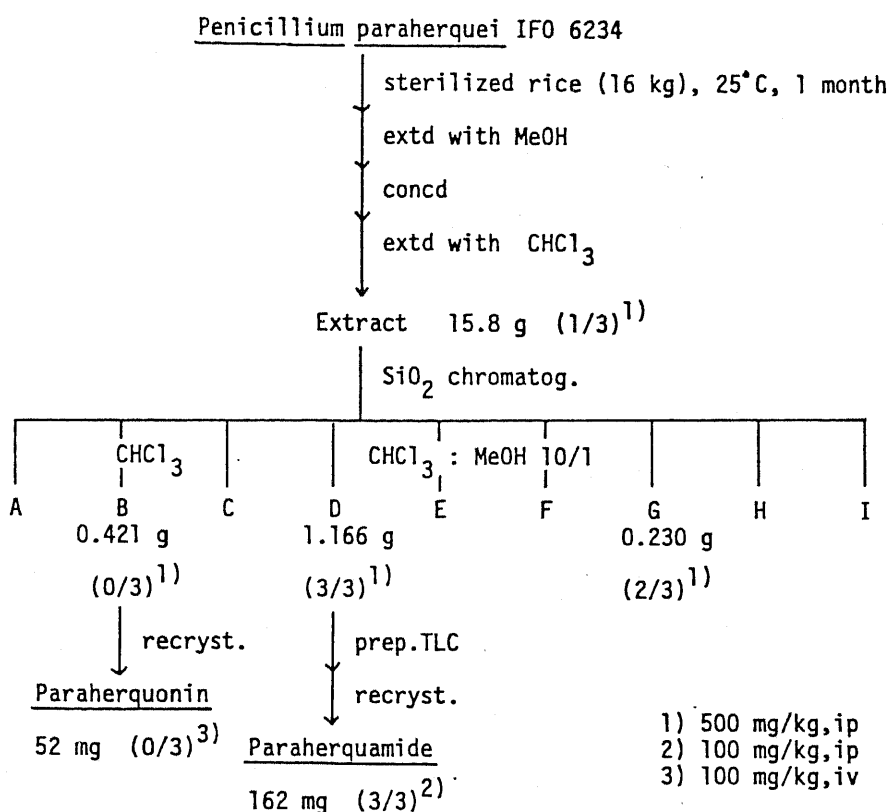
第一節 Paraherquamide 並びに Paraherquonine の分離

P. paraherquei IFO 6234 を滅菌精白米培地で30日間培養後、メタノール25ℓで2回抽出した。なお、後に毒性本体が酢酸エチルよりもメタノールに易溶であることが明らかになったため、大量培養の抽出にはメタノールを用いた。濃縮したエキスをさらに CHCl_3 (400ml, 3回)で抽出し、粗エキス(15.8g)を得た。粗エキスは500mg/kg投与で、マウス3匹中1匹を1日以内に死に致らしめた。(本菌株エキスの毒性活性は培養条件等に密接に関連しており、このことに関しては本章第三節に記述した。)

粗エキスをシリカゲル・カラムクロマトグラフーにより、溶離液を CHCl_3 から CHCl_3 -メタノール(1:1)まで順次変えて溶出させ、fr. A-Iを得た (Chart 8)。各フラクションのうち、主毒性はfr. Dにあると考えられた (fr. Dを500mg/kg投与により、マウス3匹中3匹、5分以内に死亡)。このfr. Dより、prep. TLC, あるいは再結晶により、毒性本体と思われる化合物を得、後に決定された構造より、paraherquamideと命名した。paraherquamideは100mg/kg投与において、マウス3匹中3匹を15分以内に死亡させた。

又、致死毒性を示さなかったfr. Bより、新代謝産物を得、各種スペクトル・データから、特異な構造を有すると推定された。そこで、paraherquoninと命名し、この構造決定も合わせて行なった。

Chart 8



第二節 Paraherquamide の化学構造

paraherquamide (32) は酢酸エチルより無色プリズム晶として得られ, mp 244-247°C (dec.), $[\alpha]_D^{25} -28^\circ$, 分子式 $C_{28}H_{35}N_3O_5$ ($M^+ m/z$ 493) を有する。呈色試験では, Dragendorff (陽性), Ehrlich (陰性), $FeCl_3$ (陰性) を示す。¹H-NMR スペクトルにおいて, 0.86, 1.10, 1.45 (x2), 1.65, 3.03 ppm に 61 個の singlet のメチル基, 2.58 ppm の OH, 8.33 ppm の NH, 4.87, 6.30 ppm (each 1H, d, J=8), 及び

6.64, 6.78 ppm (each 1H, d, $J=8$) の二組の cis-オレフィン, 1.85, 2.67 ppm (each 1H, d, $J=15$) 及び 2.55, 3.58 ppm (each 1H, d, $J=11$) の二組の AB quartet のシグナルの他, 1.77-2.40 ppm (5H), 2.93-3.25 ppm (2H) にメチレンあるいはメチン・シグナルが観察される。paraherquamide は Pd-C 触媒を用いた接触還元で dihydro 体 (33), mp 295-299°C (dec.), $C_{22}H_{37}N_3O_5$ を与えた。dihydro 体 (33) の 1H -NMR スペクトルでは paraherquamide (32) で観察された cis-オレフィンの水素のうち, 4.87, 6.30 ppm のシグナルが消失し, 2.10, 4.28 ppm (each 2H, dd, $J=6, 4$) のメチレン水素が新生したことにより, 1個の二重結合が還元されたことが示された。その際, 6.64, 6.78 ppm のオレフィン水素及び 1.45 ppm (x2) のメチル・シグナルの高磁場側へのシフトも観察された。又, paraherquamide (32) の 1H -NMR スペクトルより, OH 及び NH の存在が支障されたが, 無水酢酸-セリニンによるアセチル化を受けなかった。UV スペクトルでは λ_{max}^{EtOH} , 226 (ϵ 32400), 260 (sh, ϵ 6100), 290 (sh, ϵ 1600) nm を示し, aspidocarpine 等 (Fig. 8) の N-acetyl 6,7-O-substituted indoline 型に類似しているが, oxindole の可能性も考えられる [aspidocarpine, λ_{max}^{EtOH} nm (ϵ) = 226 (35100),

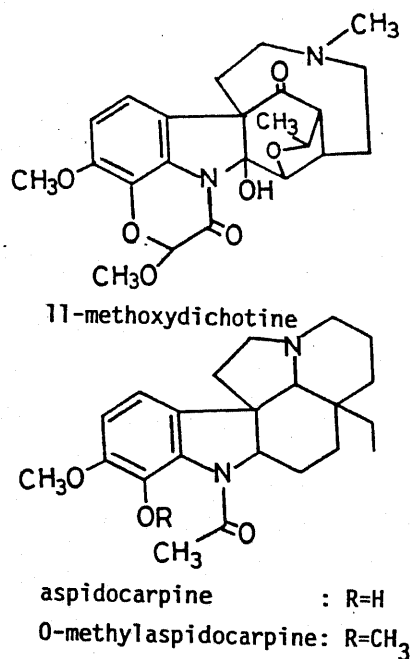


Fig. 8

262(7900), 297(1600); *O*-methylaspido carpine,
 $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (ϵ): 224(39800), 252(11700), 288(2750);
 11-methoxydichotine, 文献 23c 参照]²³⁾ IR スペクトルでは
 3510, 3430, 3245 cm^{-1} の NH, OH, 並びに 1714, 1650 cm^{-1} の
 カルボニルの吸収が観察された。このカルボニル炭素に相当す
 る ^{13}C -NMR スペクトルのシグナルは 171.5, 182.9 ppm に観察
 された。そこで, アミドの存在が考えられたため, 6N-HCl
 溶液で加水分解を行なった。加水分解物の TLC はいくつかの
 ninhydrin 陽性のスポットが観察されたが, 通常のアミノ酸と
 は一致しなかった。

本物質は各種スペクトル・データや化学反応からのみ構造を決定することは難しいと考え, X線構造解析を行なった。para-herquamide (32) の結晶データを Table 5 に示した。強度データは $\text{CuK}\alpha$ 線を用いて自動四軸型回折計により求め, 2538 個の独立した反射 ($|F_o| > 3\sigma |F_o|$, $2\theta \leq 140^\circ$) を得た。解析は直接法を用い, 最少二乗法により精密化を行なった。差フーリエ合成により OH 以外の全ての水素原子の位置を明らかにした。最終 R 値は 0.079 であった。なお, 計算は RASA-IF SAP system を用いた。得られた相対構造は tryptophan と 2-hydroxy-2-methyl proline

Table 5

Crystal Data

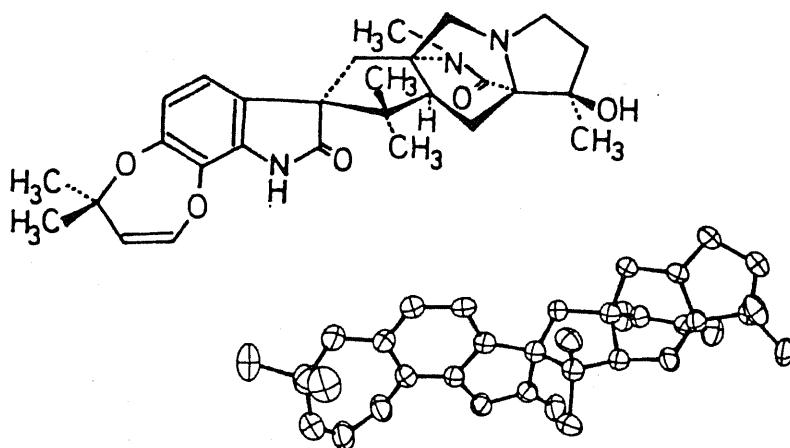
colorless prisms (AcOEt)

mp 244-247° (dec.)

 $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5$ (mw 493)monoclinic, space group $P2_1$ $a=10.252(2)$, $b=22.074(6)$, $c=6.417(1)$ Å $\beta=99.95(1)$, $V=1452.2$ Å³ $D_x=1.14$ g/cm³, $Z=2$ $\mu(\text{CuK}\alpha)=1.54180$ Å

R factor (final) 0.079

Fig. 9 Structure of Paraherquamide



unit から成る diketopiperazine 環の一方のカルボニル基が還元され、さらに2個の isoprene unit が結合した特異な構造を有していた (Fig. 9)。原子パラメーター、結合距離・角度はそれぞれ Table 6 及び 7 に示した。

その後、J. Polonsky は、*Penicillium roqueforti* より paraherquamide (32) と類似化合物である marcfortin A (34)、B (35)、C (36) を単離し、34、36 は X 線構造解析により相対構造を明らかにした (Fig. 10)²⁴⁾。しかし、これらの化合物の生物活性に関しては記載されていない。

Fig. 10

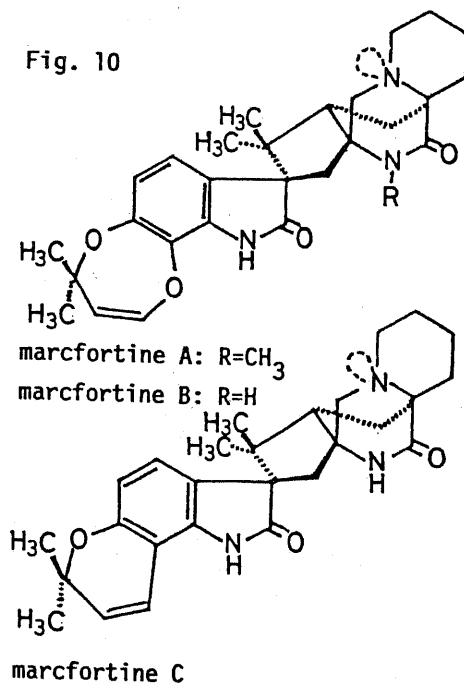


Table 6 Atomic Parameters

NO	ATOM	ISF	GI	X	Y	Z	BETA 11	BETA 22	BETA 33	BETA 12	BETA 13	BETA 23
1	C29	3	1.000000	0.761130	0.235527	0.923857	0.006947	0.001812	0.018944	0.000230	0.000434	0.000217
2	C7	3	1.000000	0.005905	0.581535	0.581535	0.005682	0.002805	0.017684	0.000141	0.001206	0.000655
3	N23	3	1.000000	0.609333	0.363180	1.075953	0.005319	0.002487	0.016223	0.000416	0.000174	0.001080
4	C8	3	1.000000	0.675989	0.412805	0.672253	0.007193	0.003366	0.015033	0.000336	0.000973	0.000587
5	C26	3	1.000000	0.564711	0.238041	0.560511	0.009730	0.002711	0.014137	0.000653	0.003034	0.000473
6	C11	3	1.000000	0.211550	0.437918	0.670489	0.005681	0.002070	0.020361	0.000160	0.001513	0.000841
7	C25	3	1.000000	0.546065	0.269032	0.739551	0.007347	0.002080	0.017373	0.000337	0.001980	0.000196
8	C28	3	1.000000	0.778665	0.204123	0.743435	0.007928	0.001921	0.021635	0.000475	0.004101	0.000755
9	C20	3	1.000000	0.405463	0.365019	0.635667	0.006364	0.002574	0.019267	0.000473	0.002126	0.001236
10	N6	3	1.000000	0.043248	0.373984	0.371306	0.007734	0.002124	0.013381	0.000222	0.000314	0.000226
11	C13	3	1.000000	0.187773	0.369289	0.381485	0.007269	0.002743	0.014892	0.000537	0.000786	0.000129
12	C14	3	1.000000	0.053618	0.327621	0.717158	0.005575	0.002038	0.021424	0.000111	0.000150	0.000706
13	C27	3	1.000000	0.683383	0.204683	0.565053	0.009659	0.002426	0.017736	0.000871	0.003114	0.000104
14	C22	3	1.000000	0.492837	0.332944	1.009282	0.006635	0.002369	0.016915	0.000196	0.000895	0.000234
15	O21	3	1.000000	0.443752	0.370992	1.108465	0.008377	0.002963	0.020933	0.001035	0.000533	0.002918
16	O33	1	1.000000	0.895306	0.174143	0.738187	0.009585	0.002144	0.026932	0.001046	0.005637	0.000493
17	O9	1	1.000000	0.025312	0.487173	0.727592	0.008495	0.002450	0.035925	0.000134	0.003255	0.003106
18	C35	3	1.000000	0.262684	0.230036	0.605452	0.010758	0.002028	0.017145	0.000065	0.000567	0.000970
19	C16	3	1.000000	0.607247	0.075576	0.811005	0.012499	0.002268	0.046297	0.000899	0.003239	0.001062
20	O30	1	1.000000	0.854433	0.239541	1.103928	0.008388	0.002444	0.024282	0.001137	0.001391	0.000949
21	O1	1	1.000000	0.290950	0.241724	0.990987	0.009370	0.002853	0.019357	0.000176	0.000897	0.002067
22	O17	1	1.000000	0.593560	0.332134	0.431147	0.007816	0.002289	0.030579	0.000666	0.004387	0.000281
23	C34	3	1.000000	0.521634	0.120591	0.872082	0.011414	0.001796	0.033977	0.000881	0.004986	0.000529
24	C2	3	1.000000	0.228619	0.410199	0.679549	0.004993	0.003624	0.030426	0.000191	0.002681	0.000552
25	C5	3	1.000000	0.022569	0.422269	0.231771	0.010075	0.003378	0.028090	0.002124	0.000788	0.002576
26	C32	3	1.000000	0.943415	0.137403	1.101191	0.010333	0.002767	0.028817	0.001387	0.001722	0.001678
27	C10	3	1.000000	0.300375	0.487492	0.737466	0.009172	0.002178	0.038966	0.001005	0.001154	0.001974
28	C31	3	1.000000	0.917354	0.187708	1.192799	0.008060	0.003191	0.028128	0.001596	0.000701	0.000361
29	C4	3	1.000000	0.152436	0.434991	0.332819	0.008624	0.002924	0.024147	0.001080	0.001053	0.001658
30	C36	3	1.000000	1.048862	0.093421	0.813175	0.010364	0.002924	0.046258	0.001923	0.004385	0.000564
31	C3	3	1.000000	0.145515	0.390639	0.598089	3.6659					
32	C12	3	1.000000	0.254636	0.377215	0.614484	3.0399					
33	C15	3	1.000000	0.204857	0.332827	0.769836	2.8601					
34	C18	3	1.000000	0.296594	0.276588	0.788414	3.1443					
35	C24	3	1.000000	0.645241	0.267233	0.919539	2.8533					
36	C19	3	1.000000	0.434458	0.389024	0.782946	3.0870					

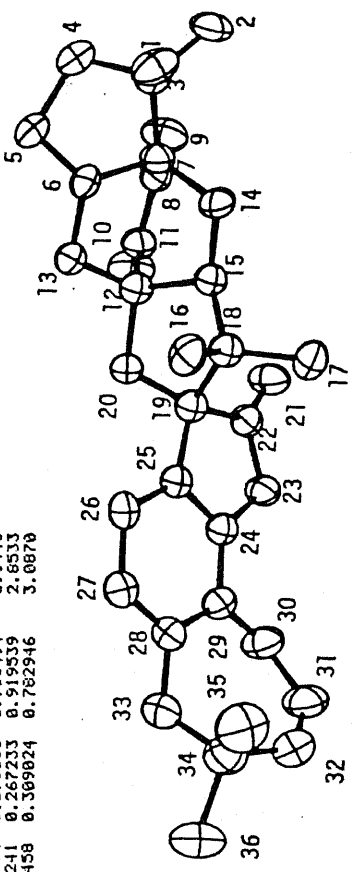


Table 7 Bond Angles and Distances (1)

ATOM 2	ATCH 1	SVM	ATOM 3	SVM	DISTANCE OR ANGLE	SIGMA	X	Y	Z	SIG X	SIG Y	SIG Z
C29	-C28	1			1.39587	0.01177	0.761130	0.235527	0.923857	0.000727	0.000392	0.001177
	-O30	1			1.37669	0.01291	0.770665	0.204123	0.743435	0.000778	0.000410	0.001237
	-C24	1			1.37503	0.01086	0.854423	0.239541	1.103928	0.000546	0.000294	0.000888
	-C28	1	-O30	1	124.671	0.7148	0.645241	0.267233	0.919539	0.000736	0.000354	0.001158
	-C28	1	-C24	1	118.130	0.8437						
	-O30	1	-C24	1	117.124	0.7091						
C7	-C8	1			1.55257	0.01220	0.005985	0.384096	0.581635	0.000684	0.000395	0.001121
	-N6	1			1.49294	0.01063	0.076989	0.442878	0.672255	0.000752	0.000411	0.001123
	-C14	1			1.55374	0.01202	0.043248	0.373984	0.371306	0.000595	0.000330	0.000892
	-C3	1			1.54980	0.01184	0.053610	0.327621	0.717158	0.000712	0.000398	0.001214
	-C8	1	-N6	1	106.960	0.6758	-0.145515	0.390639	0.508009	0.000792	0.000398	0.001277
	-C8	1	-C14	1	112.077	0.6797						
	-C8	1	-C3	1	114.708	0.7227						
	-N6	1	-C14	1	106.817	0.6562						
	-N6	1	-C3	1	97.759	0.8008						
	-C14	1	-C3	1	116.679	0.7422						
N23	-C22	1			1.36456	0.01116	0.609933	0.303805	1.075955	0.000597	0.000346	0.000940
	-C24	1			1.39063	0.01078	0.492037	0.332944	1.009282	0.000781	0.000426	0.001206
	-C22	1	-C24	1	111.650	0.7148	0.645241	0.267233	0.919539	0.000736	0.000354	0.001158
C8	-C7	1			1.55257	0.01220	0.076989	0.442878	0.672255	0.000752	0.000411	0.001123
	-N11	1			1.38192	0.01003	0.005905	0.384096	0.581635	0.000684	0.000395	0.001121
	-O9	1			1.19714	0.01110	0.211155	0.437918	0.670409	0.000607	0.000324	0.000991
	-C7	1	-N11	1	109.405	0.7305	0.025312	0.487173	0.727992	0.000573	0.000297	0.001047
	-C7	1	-O9	1	126.300	0.7031						
	-N11	1	-O9	1	124.069	0.7930						
C26	-C25	1			1.38684	0.01206	0.564711	0.238041	0.560511	0.000824	0.000457	0.001187
	-C27	1			1.41838	0.01271	0.546065	0.269032	0.739551	0.000760	0.000388	0.001212
	-C25	1	-C27	1	118.500	0.8516	0.683383	0.204583	0.566853	0.000841	0.000450	0.001238
N11	-C8	1			1.38192	0.01003	0.211155	0.437918	0.670409	0.000607	0.000324	0.000991
	-C10	1			1.44404	0.01212	0.076989	0.442878	0.672255	0.000752	0.000411	0.001123
	-C12	1			1.47677	0.01082	0.308375	0.487492	0.737466	0.000921	0.000458	0.001669
	-C8	1	-C10	1	121.143	0.7539	0.254636	0.377215	0.614484	0.000719	0.000373	0.001151
	-C8	1	-C12	1	114.642	0.6719						
C25	-C26	1			1.38684	0.01206	0.546065	0.269032	0.739551	0.000760	0.000388	0.001212
	-C24	1			1.40807	0.01410	0.564711	0.238041	0.560511	0.000824	0.000457	0.001187
	-C19	1			1.50943	0.01188	0.645241	0.267233	0.919539	0.000736	0.000354	0.001158
	-C26	1	-C24	1	119.541	0.7617	0.434458	0.309024	0.782946	0.000749	0.000373	0.001179
	-C26	1	-C19	1	131.471	0.8086						
	-C24	1	-C19	1	100.956	0.7148						
C28							0.778665	0.204123	0.743435	0.000778	0.000410	0.001237
	-C29	1			1.39587	0.01177	0.761130	0.235527	0.923857	0.000727	0.000392	0.001177
	-C27	1			1.37271	0.01434	0.683383	0.204583	0.566853	0.000841	0.000458	0.001238
	-O33	1			1.38125	0.01037	0.096306	0.174143	0.738187	0.000594	0.000282	0.000931
	-C29	1	-C27	1	121.321	0.7930						
	-C29	1	-O33	1	119.047	0.8281						
C20	-C27	1	-O33	1	110.764	0.8281						
	-C12	1			1.55145	0.01072	0.405463	0.365049	0.636667	0.000734	0.000432	0.001228
	-C19	1			1.55453	0.01201	0.254636	0.377215	0.614484	0.000719	0.000373	0.001151
N6	-C12	1	-C19	1	106.064	0.7695	0.434458	0.309024	0.782946	0.000749	0.000373	0.001179
	-C7	1			1.49294	0.01063	0.043248	0.373984	0.371306	0.000595	0.000330	0.000892
	-C13	1			1.47536	0.00985	0.187773	0.369289	0.381485	0.000752	0.000447	0.001157
	-C5	1			1.48190	0.01273	-0.022569	0.422269	0.231771	0.000893	0.000509	0.001346
	-C7	1	-C13	1	112.553	0.8086						
	-C7	1	-C5	1	106.646	0.6719						
C13	-C13	1	-C5	1	115.199	0.7734						
	-N6	1			1.47536	0.00985	0.187773	0.369289	0.381485	0.000752	0.000447	0.001157
	-C12	1			1.55454	0.01281	0.043248	0.373984	0.371306	0.000595	0.000330	0.000892
	-N6	1	-C12	1	107.851	0.8711	0.254636	0.377215	0.614484	0.000719	0.000373	0.001151

Table 7 Bond Angles and Distances (2)

ATOM 2	ATOM 1	SYM	ATOM 3	SYM	DISTANCE OR ANGLE	SIGMA	X	Y	Z	SIG X	SIG Y	SIG Z
C14	-C7	1			1.55374	0.01202	0.053610	0.327621	0.717150	0.000712	0.000390	0.001214
	-C15	1			1.53331	0.01096	0.005905	0.304096	0.501635	0.000604	0.000395	0.001121
	-C7	1	-C15	1	105.040	0.7303	0.204057	0.332027	0.769036	0.000720	0.000365	0.001120
C27	-C26	1			1.41038	0.01271	0.603303	0.204503	0.566053	0.000841	0.000450	0.001238
	-C28	1			1.37271	0.01434	0.564711	0.230041	0.560511	0.000824	0.000457	0.001107
	-C26	1	-C28	1	120.553	0.0594	0.770665	0.204123	0.743435	0.000770	0.000410	0.001237
C22	-H23	1			1.36456	0.01116	0.492037	0.332944	1.009202	0.000781	0.000426	0.001206
	-O21	1			1.21742	0.01129	0.609933	0.303005	1.075955	0.000597	0.000346	0.000940
	-C19	1			1.57455	0.01237	0.443752	0.370992	1.100465	0.000537	0.000319	0.000058
	-H23	1	-O21	1	125.429	0.7266	0.434450	0.309024	0.702946	0.000749	0.000373	0.001179
	-H23	1	-C19	1	107.955	0.0633						
	-O21	1	-C19	1	126.614	0.7109						
021	-C22	1			1.21742	0.01129	0.443752	0.370992	1.100465	0.000537	0.000319	0.000058
033	-C20	1			1.30125	0.01037	0.096306	0.174143	0.730107	0.000594	0.000202	0.000931
	-C34	1			1.46210	0.01131	0.770665	0.204123	0.743435	0.000770	0.000410	0.001237
	-C20	1	-C34	1	116.054	0.7052	0.921634	0.120591	0.072002	0.000929	0.000423	0.001554
09	-C0	1			1.19714	0.01110	0.025312	0.407173	0.727992	0.000573	0.000297	0.001047
C16							0.262604	0.230036	0.605496	0.000071	0.000413	0.001247
	-C10	1			1.56007	0.01104	0.296594	0.276500	0.700414	0.000766	0.000369	0.001219
C35	-C34	1			1.53577	0.01460	0.007247	0.075576	0.811005	0.001067	0.000500	0.001916
030	-C29	1			1.37669	0.01291	0.054423	0.239541	1.103920	0.000546	0.000294	0.000000
	-C31	1			1.30046	0.01220	0.761130	0.235527	0.923057	0.000727	0.000392	0.001177
	-C29	1	-C31	1	120.177	0.7266	0.917354	0.107700	1.192799	0.000907	0.000494	0.001475
C17	-C10	1			1.53526	0.01220	0.290990	0.241224	0.990907	0.000660	0.000402	0.001306
							0.296594	0.276500	0.700414	0.000766	0.000369	0.001219
01	-C3	1			1.44000	0.01002	-0.193500	0.332134	0.431147	0.000540	0.000300	0.000943
C34							-0.145515	0.390639	0.500009	0.000792	0.000390	0.001277
	-O33	1			1.46210	0.01131	0.921634	0.120591	0.072002	0.000929	0.000423	0.001554
	-C35	1			1.53577	0.01460	0.096306	0.174143	0.730107	0.000594	0.000202	0.000931
	-C32	1			1.50704	0.01420	0.007247	0.075576	0.811005	0.001067	0.000500	0.001916
	-C36	1			1.54212	0.01521	0.943415	0.137403	1.101191	0.000934	0.000501	0.001563
	-O33	1	-C35	1	100.720	0.0477	1.040062	0.093421	0.813175	0.001020	0.000513	0.001912
	-O33	1	-C32	1	111.397	0.7695						
	-O33	1	-C36	1	103.036	0.0750						
	-C35	1	-C32	1	112.900	1.0234						
	-C35	1	-C36	1	109.003	0.0201						
	-C32	1	-C36	1	110.552	0.9640						
C2	-C3	1			1.53734	0.01406	-0.226619	0.410199	0.675549	0.000750	0.000516	0.001451
C5							-0.145515	0.390639	0.500009	0.000792	0.000390	0.001277
	-H6	1			1.40190	0.01273	-0.022569	0.422269	0.231771	0.000093	0.000509	0.001346
	-C4	1			1.57490	0.01407	0.043240	0.373904	0.371306	0.000595	0.000330	0.000092
-H6	1	-C4	1	102.914	0.7617	-0.152436	0.434991	0.323019	0.000060	0.000403	0.001377	
C32	-C34	1			1.50704	0.01420	0.943415	0.137403	1.101191	0.000934	0.000501	0.001563
	-C31	1			1.30700	0.01517	0.921634	0.120591	0.072002	0.000929	0.000423	0.001554
	-C34	1	-C31	1	130.377	0.9297	0.917354	0.107700	1.192799	0.000907	0.000494	0.001475
C10							0.300370	0.407492	0.737466	0.000921	0.000450	0.001669
	-H11	1			1.44404	0.01212	0.211155	0.437910	0.670409	0.000607	0.000324	0.000991
C31							0.917354	0.107700	1.192799	0.000907	0.000494	0.001475
	-O30	1			1.30046	0.01220	0.054423	0.239541	1.103920	0.000546	0.000294	0.000000
	-O30	1	-C32	1	120.946	0.0516	0.943415	0.137403	1.101191	0.000934	0.000501	0.001563
C4	-C5	1			1.57490	0.01407	-0.152436	0.434991	0.323019	0.000060	0.000403	0.001377
	-C3	1			1.53497	0.01204	-0.022569	0.422269	0.231771	0.000093	0.000509	0.001346
	-C5	1	-C3	1	104.563	0.0359	-0.145515	0.390639	0.500009	0.000792	0.000390	0.001277
C36						0.040062	0.093421	0.813175	0.001020	0.000513	0.001912	

Table 7 Bond Angles and Distances (3)

ATOM 2	ATCH 1	SYM	ATOM 3	SYM	DISTANCE OR ANGLE	SIGMA	X	Y	Z	SIG X	SIG Y	SIG Z
	-C34	1			1.54212	0.01521	0.921634	0.120591	0.872082	0.000929	0.000423	0.001254
C3												
	-C7	1			1.54980	0.01184	-0.145515	0.390639	0.508089	0.000792	0.000398	0.001277
	-O1	1			1.44080	0.01882	-0.085905	0.384096	0.581635	0.000684	0.000395	0.001121
	-C2	1			1.53734	0.01486	-0.193568	0.332134	0.431147	0.000548	0.000300	0.000943
	-C4	1			1.53497	0.01284	-0.226619	0.418199	0.673549	0.000758	0.000516	0.001451
	-C7	1	-O1	1	106.692	0.6992	-0.152436	0.434991	0.323819	0.000860	0.000483	0.001377
	-C7	1	-C2	1	116.488	0.7422						
	-C7	1	-C4	1	101.969	0.6398						
	-O1	1	-C2	1	107.533	0.7227						
	-O1	1	-C4	1	109.658	0.7870						
	-C2	1	-C4	1	114.230	0.7812						
C12												
	-N11	1			1.47677	0.01082	0.254636	0.377215	0.614484	0.000719	0.000373	0.001151
	-C20	1			1.55145	0.01872	0.211155	0.437918	0.670489	0.000607	0.000324	0.000991
	-C13	1			1.55454	0.01281	0.405463	0.365849	0.636667	0.000734	0.000432	0.001228
	-C15	1			1.55190	0.01194	0.187773	0.369289	0.381485	0.000752	0.000447	0.001157
	-N11	1	-C20	1	118.283	0.6682	0.284857	0.332827	0.769836	0.000720	0.000365	0.001128
	-N11	1	-C13	1	103.885	0.6328						
	-N11	1	-C15	1	105.495	0.6719						
	-C20	1	-C13	1	109.613	0.8867						
	-C20	1	-C15	1	105.357	0.7344						
	-C13	1	-C15	1	114.785	0.6367						
C15												
	-C14	1			1.53331	0.01096	0.284857	0.332827	0.769836	0.000720	0.000365	0.001128
	-C12	1			1.55190	0.01194	0.053610	0.327621	0.717158	0.000712	0.000398	0.001214
	-C18	1			1.54952	0.01117	0.254636	0.377215	0.614484	0.000719	0.000373	0.001151
	-C14	1	-C12	1	109.658	0.7227	0.296594	0.276588	0.788414	0.000766	0.000369	0.001219
	-C14	1	-C18	1	122.285	0.6719						
	-C12	1	-C18	1	107.836	0.6992						
C18												
	-C16	1			1.56867	0.01184	0.296594	0.276588	0.788414	0.000766	0.000369	0.001219
	-C17	1			1.53526	0.01220	0.262684	0.230036	0.685496	0.000871	0.000413	0.001247
	-C15	1			1.54952	0.01117	0.290990	0.241224	0.990987	0.000868	0.000482	0.001386
	-C19	1			1.59822	0.01121	0.284857	0.332827	0.769836	0.000720	0.000365	0.001128
	-C16	1	-C17	1	106.851	0.6914	0.434458	0.389824	0.782946	0.000749	0.000373	0.001179
	-C16	1	-C15	1	114.582	0.7383						
	-C16	1	-C19	1	111.220	0.8164						
	-C17	1	-C15	1	111.214	0.7930						
	-C17	1	-C19	1	114.359	0.8242						
	-C15	1	-C19	1	99.639	0.6894						
C24												
	-C29	1			1.37583	0.01886	0.645241	0.267233	0.919539	0.000736	0.000354	0.001158
	-N23	1			1.39863	0.01878	0.761138	0.235527	0.923857	0.000727	0.000392	0.001177
	-C25	1			1.48887	0.01418	0.689933	0.383885	1.875955	0.000597	0.000346	0.000940
	-C29	1	-N23	1	127.832	0.7852	0.546865	0.269832	0.739551	0.000760	0.000388	0.001212
	-C29	1	-C25	1	121.942	0.7969						
	-N23	1	-C25	1	118.128	0.6719						
C19												
							0.434458	0.389824	0.782946	0.000749	0.000373	0.001179

第三節 Paraherquamideの生産性の検討

P. paraherquei IFO 6234の毒性活性及びparaherquamideの生産性は滅菌精白米培地においても培養のたびに変化し、好ましくない結果を与えた。そこで、培養条件の検討、並びにP. paraherqueiの他の株におけるparaherquamide生産の有無を調べた。

P. paraherquei IFO 6234におけるparaherquamideの生産性はTable 9の液体培地及び滅菌精白米培地で検討した。液体培地においては、静置培養及び振とう培養を行なった。米培地ではシリコ粒群と綿粒群に分け、静置培養を行なった。振とう培養は1週間、静置培養は2~3週間、25°Cで行なった。菌体と培養液に分離し、菌体より CH_2Cl_2 で抽出した。両者に分離困難なものは、そのまま CH_2Cl_2 で抽出した。得られたエキスはTLC (Kieselgel GF₂₅₄, CHCl_3 -メタノール 10:1)を行ない、UV, 10% H_2SO_4 溶液-加熱, Dragendorff 試薬により検出し、標品のparaherquamideと比較検討した。さらに、一部に関してはマウスを用いた動物実験 (500mg/kg, 腹腔内投与)を行ない、毒性活性を調べた。

Table 9

a培地: modified Gapeck-Dox培地
(dextrose 25g, NaNO_3 3g, K_2HPO_4 1g,
KCl 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, FeSO_4 0.01g,
水 1ℓ)

- b 培地: a 培地 + yeast extract 0.5%
 c 培地: a 培地 + corn steep liquor 2%
 d 培地: sucrose 15%, yeast 2%
 e 培地: sucrose 5%, yeast 2%
 f 培地: Difco mycological broth 5%, yeast extract 1.6%, 小麦粉 10%
 g 培地: f 培地の 1/10 濃度
 h 培地: 滅菌精白米培地

{	h-1: シリコ栓
	h-2: 綿栓

結果として, paraherquamide の生産は, 振とう培養では全てのエキスに認められなかった。静置培養では, h-2 のエキスに生産が認められ, 動物実験においても, マウス 3 匹中 1 匹を 1 日以内に死に致らしめた。f, g 培地エキスにおいても paraherquamide と同じ Rf 値を持つ Dragendorf 陽性のスポットが若干観察された。動物実験においては, g 培地エキスに若干の致死毒性 (11 日目に 3 匹中 1 匹死亡) が認められたが, f 培地エキスには認められなかった。

以上の事実より, P. paraherquei IFO 6234 の paraherquamide 生産性は, 滅菌精白米培地で綿栓を用いた静置培養が最も良く, かつ致死毒性も強くみられた。しかし, 先に菌の検索の際行なった, 同条件下での培養に比較し, 菌の生育が悪く, エキスの致死毒性も弱いことから, 菌自体の問題もあるように思われる。液体培養においても, verruclogen 生産培地²⁵⁾に準じて f 培地を基に, さらに検討することにより, paraher-

guamide 生産の多い液体培地を得ることも可能かと思われる。

次に、P. paraherguei の IFO 6234 株以外の 16 菌株における paraherguamide 生産の有無を検討した。減菌精白米培地（綿栓）及び 0.5% peptone 含有 Cjapeck-Dox 培地²²⁾で、25°C、14 日間静置培養を行なった。抽出並びに分析は上記 IFO 6234 株の場合と同様に行なった。用いた菌株は P-61, P-65, P-74, P-85, P-90, P-105, P-109, P-111, P-119, P-134, P-150, P-155, P-187, P-203, No 312, NHL 6127 (液体培養のみ) の 16 株である。

結果として、米及び液体培地の両方とも、これら全ての菌株に paraherguamide の生産は認められなかった。なお、P. paraherguei は verruclogen 生産菌として知られていることから、verruclogen の生産性も同時に検討したが (TLC: Kieselgel GF₂₅₄, ベンゼン-アセトン 7:1, 5:1, 10% H₂SO₄ 溶液-加熱後のケイ光による確認), NHL 6127 (陽性), No 312 (凝陽性) の他は陰性であった。これら両菌株とも、すでに verruclogen 生産菌株として報告されている²²⁾ 米培養エキスに関しては、500mg/kg 腹腔内投与でのマウスに対する毒性試験を行なったが、全エキスに致死毒性は認められなかった。液体培養エキスでは NHL 6127, No 312, P-203 のみ動物試験を行ない、NHL 6127 エキスに致死毒性 (マウス 3 匹中 1 匹が 1 日以内に死亡) を認めた。又、その際、全匹に tremor が観察されたが、3 匹中 2 匹は 1 日以内に快復した。このような症状は verruclogen に起因すると考えられる。他の 2 菌株には、同様の作用は観察されなかった。

以上の事実より, P. paraherguei の中でも paraherguamide を生産する菌株は狭い範囲に限られている可能性が考えられた。

第四節 Paraherguonin の化学構造

P. paraherguei IFO 6234 エキスの毒性本体として paraherguamide を得, その構造決定を行なったが, その際, 致死毒性の認められなかったフラクションより, 一新化合物を得た。このものは, 各種スペクトル・データより特異な構造を有すると推定されたため, 構造研究を行なうこととした。

paraherguonin (37) はアセトンからの再結晶で, 無色ワリズム晶として得られ, mp 290-293°C, $[\alpha]_D +341^\circ$, 分子式 $C_{24}H_{28}O_7$ ($M^+ m/z$ 428) を有する。UV スペクトルでは, 211.5 (ϵ 11200), 265 (ϵ 9200) nm に極大吸収を示し, IR スペクトルでは 3445 (OH), 1770 (δ -ラクトン・カルボニル), 1692 (共役カルボニル) cm^{-1} の各吸収を示した。paraherguonin は無水酢酸-ピリジンによる通常のアセチル化を受けないことから, 含まれている水酸基は三級の可能性が示唆された。 1H -NMR スペクトルにおいて, 1.29, 1.32, 1.55, 1.67 ppm に singlet のメチル基, 1.31, 1.44 ppm に doublet のメチル基シグナルが観察され, doublet のメチル水素はそれぞれ 2.47, 4.52 ppm のメチン水素とカップリングしている。又, 2.75 ppm の水酸基のシグナル, 5.72 ppm の isolate 1 個のメチン・シグナルの他に, 1.42 ppm (2H), 2.19 ppm (1H) のメチレン及びメチン・シグナルが観察

された (Fig. 11). ^{13}C -NMR スペクトルにおいて, 一級炭素, 6個, 二級炭素, 1個, 三級炭素, 7個, 四級炭素, 10個が観察された (Fig. 12). 以上のデータより paraherquonin は高度に酸化された多環状の化合物と推定され, スペクトルデータや化学反応から構造を推定することは難しいと考えられた.

paraherquonine (37) はピリジン-水からの再結晶で適当な結晶が得られたことから, X線構造解析を行なった. その結晶データを Table 10 に示した. $\text{CuK}\alpha$ 線を用いた自動四軸型回折計により 1869 個の独立した反射が得られた ($|F_o| < 3\sigma |F_o|$, $2\theta \leq 135^\circ$). 構造は直接法により解析し, 最

Fig. 10 Structure of Paraherquonin

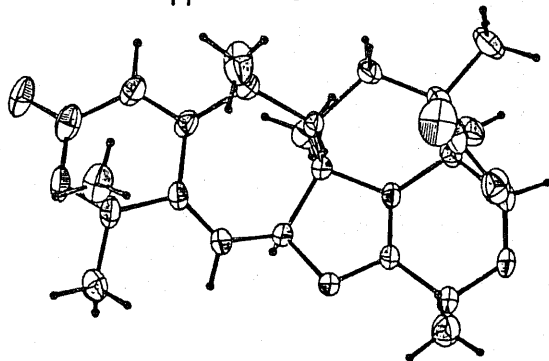
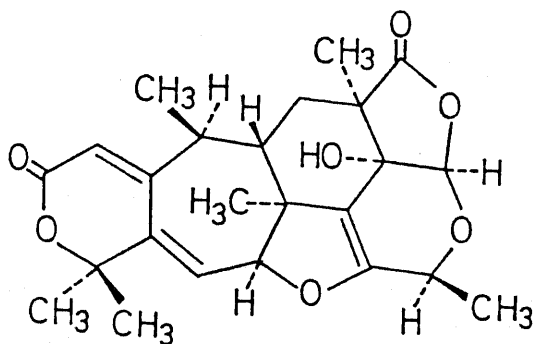


Table 10

Crystal Data

colorless prisms (pyridine- H_2O)

mp 292-294°C

$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_7$ (mw 428)

monoclinic, space group $\text{P}2_1$

$a=11.208(3)$, $b=11.185(3)$, $c=8.891(2)$ Å

$\beta=106.78(2)$, $V=1067.1$ Å³

$D_x=1.33$ g/cm³, $Z=2$

$\mu(\text{CuK}\alpha)=1.54180$ Å

R factor (final) 0.057

少二乗法により精密化を行なった。全ての水素原子は差フーリエ合成により求められた。最終R値は0.057であった。なお、計算はUNICS III program systemを用いた。得られた相対構造をFig. 10に示す。本構造において、 ^1H - (Fig. 11) 及び ^{13}C -NMR スペクトル (Fig. 12) は矛盾なく帰属された (^{13}C -NMR は厳密な帰属ではない)。又、原子パラメーター、結合距離、結合角はそれぞれ Table 11, 12, 13 に示した。

Fig. 11 ^1H -NMR Assignments for Paraherquonin

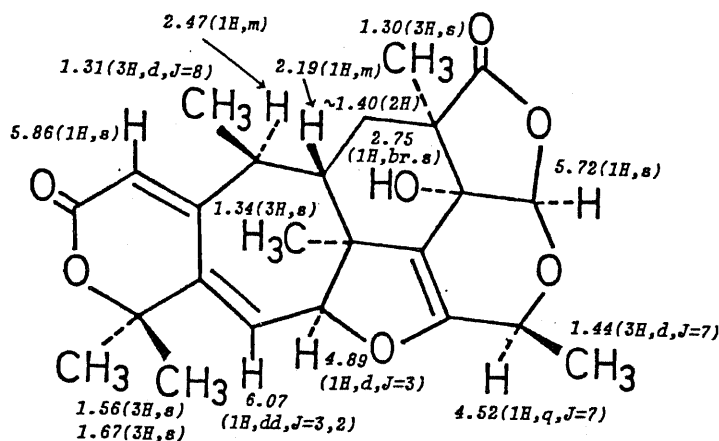


Fig. 12 ^{13}C -NMR Assignments for Paraherquonin

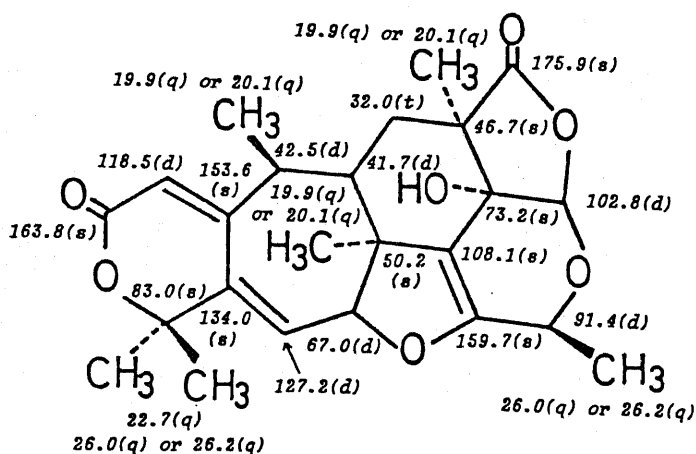


Table 11 Atomic Parameters

ATOM	X	Y	Z	BEQV
O(2)	13072(5)	1293(5)	8942(6)	3.6(0.2)
O(4)	13959(4)	2847(6)	7849(5)	3.1(0.1)
O(7)	11079(4)	3039(6)	4658(5)	2.9(0.1)
O(12)	5664(4)	3171(5)	2189(6)	3.1(0.1)
O(23)	11477(6)	178(6)	9079(9)	5.1(0.2)
O(27)	4360(5)	4125(6)	3182(7)	4.0(0.2)
O(30)	12394(5)	4355(5)	9729(6)	2.8(0.1)
C(1)	11941(8)	1113(8)	9185(9)	3.5(0.2)
C(3)	13398(6)	2567(8)	8996(8)	2.9(0.2)
C(5)	13228(6)	2721(8)	6233(8)	2.9(0.2)
C(6)	11914(6)	3086(7)	6108(7)	2.3(0.2)
C(8)	9927(6)	3590(7)	4845(8)	2.3(0.2)
C(9)	8869(6)	2940(8)	3692(8)	2.5(0.2)
C(10)	7746(6)	2690(7)	3816(8)	2.2(0.2)
C(11)	6688(6)	2253(8)	2400(9)	2.9(0.2)
C(13)	5338(6)	3581(8)	3425(10)	3.1(0.2)
C(14)	6177(6)	3345(8)	5006(9)	2.9(0.2)
C(15)	7326(6)	2901(7)	5237(8)	2.4(0.2)
C(16)	8063(6)	2472(8)	6841(8)	2.8(0.2)
C(17)	9499(6)	2467(7)	7226(7)	2.1(0.2)
C(18)	10069(6)	3586(7)	6645(7)	1.9(0.2)
C(19)	11471(6)	3424(6)	7249(7)	1.9(0.2)
C(20)	12171(6)	3241(7)	8931(7)	2.2(0.2)
C(21)	11466(7)	2295(7)	9640(8)	2.6(0.2)
C(22)	10041(6)	2388(8)	9042(8)	2.7(0.2)
C(24)	13347(8)	1462(9)	5601(10)	3.7(0.2)
C(25)	7006(7)	2294(10)	848(9)	3.8(0.2)
C(26)	6164(8)	1043(8)	2639(11)	3.7(0.2)
C(28)	7627(8)	1146(10)	7006(12)	5.1(0.3)
C(29)	9608(7)	4764(7)	7119(10)	3.0(0.2)
C(31)	11880(8)	2328(10)	11453(9)	4.2(0.3)

ATOM	X	Y	Z	B
H(C3)	1403(6)	276(7)	994(8)	2.4(1.5)
H(C5)	1356(7)	354(8)	563(9)	3.6(1.8)
H(C8)	996(6)	465(6)	446(7)	1.6(1.4)
H(C9)	903(6)	294(7)	273(7)	1.9(1.4)
H(C14)	591(8)	394(9)	598(10)	5.6(2.4)
H(C16)	785(6)	297(7)	753(8)	2.2(1.4)
H(C17)	984(8)	141(8)	682(10)	4.8(2.1)
H(C22)1	978(7)	128(7)	940(8)	3.4(1.8)
H(C22)2	978(8)	331(9)	960(10)	5.1(2.3)
H(C24)1	1409(8)	105(9)	573(11)	5.5(2.4)
H(C24)2	1289(7)	84(7)	606(8)	2.9(1.7)
H(C24)3	1291(8)	100(9)	451(10)	5.4(2.3)
H(C25)1	636(7)	189(8)	0(9)	3.9(1.9)
H(C25)2	729(9)	316(10)	45(11)	6.4(2.6)
H(C25)3	765(8)	124(9)	95(11)	6.1(2.5)
H(C26)1	551(7)	73(8)	170(9)	3.2(1.8)
H(C26)2	672(6)	54(7)	285(7)	1.9(1.4)
H(C26)3	603(9)	76(10)	355(11)	5.8(2.5)
H(C28)1	786(9)	71(10)	781(11)	5.7(2.5)
H(C28)2	776(7)	43(8)	598(9)	3.7(1.9)
H(C28)3	680(9)	88(10)	692(11)	6.4(2.6)
H(C29)1	992(5)	531(6)	680(7)	1.0(1.2)
H(C29)2	877(7)	495(7)	674(8)	2.9(1.7)
H(C29)3	977(7)	491(8)	816(9)	3.6(1.9)
H(O30)	1280(6)	451(7)	1051(8)	2.7(1.6)
H(C31)1	1170(7)	289(7)	1179(8)	2.8(1.6)
H(C31)2	1277(11)	152(12)	1190(14)	9.9(3.7)
H(C31)3	1142(9)	113(10)	1187(11)	6.8(2.7)

Table 12 Bond Distances

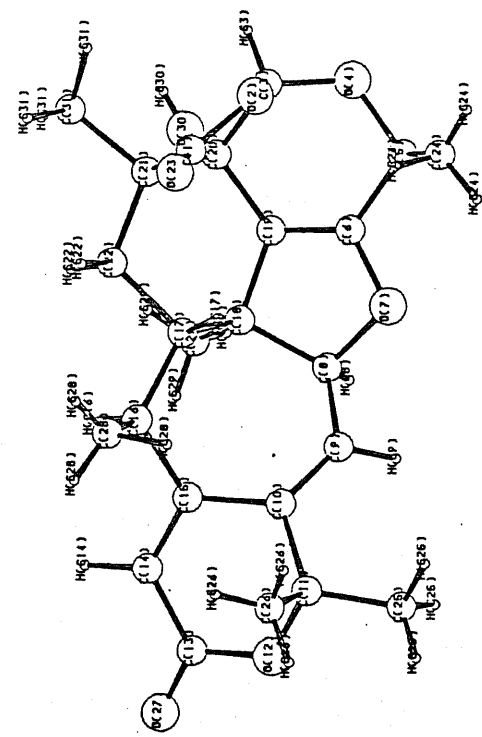
ATOM 1		ATOM 2		SYM		DIST		SIG		ATOM 1		ATOM 2		SYM		DIST		SIG		ATOM 1		ATOM 2		SYM		DIST		SIG	
O(2)	-C(11)	(1)	1.3607	0.0110	* O(2)	-C(3)	(1)	1.4689	0.0108	* O(4)	-C(3)	(1)	1.3800	0.0097															
O(4)	-C(5)	(1)	1.4404	0.0078	* O(7)	-C(6)	(1)	1.3583	0.0068	* O(7)	-C(14)	(1)	1.4829	0.0093															
O(12)	-C(11)	(1)	1.5109	0.0095	* O(12)	-C(13)	(1)	1.3353	0.0108	* O(23)	-C(18)	(1)	1.4890	0.0109															
O(27)	-C(13)	(1)	1.2178	0.0093	* O(30)	-C(20)	(1)	1.4198	0.0090	* O(30)	-H(C20)	(1)	1.5229	0.0120															
C(2)	-O(2)	(1)	1.3607	0.0110	* C(3)	-O(6)	(1)	1.1599	0.0112	* C(1)	-C(21)	(1)	0.7342	0.0644															
C(3)	-O(2)	(1)	1.4689	0.0108	* C(4)	-O(4)	(1)	1.3800	0.0097	* C(3)	-C(20)	(1)	1.5235	0.0124															
C(5)	-H(C3)	(1)	0.9501	0.0595	* C(5)	-O(4)	(1)	1.4404	0.0078	* C(5)	-C(6)	(1)	1.5547	0.0105															
C(5)	-C(24)	(1)	1.5371	0.0134	* C(6)	-H(C5)	(1)	1.1768	0.0888	* C(6)	-C(6)	(1)	1.5008	0.0098															
C(6)	-C(5)	(1)	1.5008	0.0098	* C(5)	-C(19)	(1)	1.3079	0.0103	* C(6)	-O(7)	(1)	1.3583	0.0068															
C(8)	-C(9)	(1)	1.5110	0.0092	* C(8)	-C(18)	(1)	1.5619	0.0099	* C(8)	-O(7)	(1)	1.4829	0.0093															
C(9)	-C(8)	(1)	1.5110	0.0092	* C(9)	-C(10)	(1)	1.3238	0.0101	* C(8)	-H(C8)	(1)	1.2338	0.0674															
C(10)	-C(9)	(1)	1.5238	0.0101	* C(10)	-C(11)	(1)	1.5391	0.0088	* C(9)	-H(C9)	(1)	0.9246	0.0702															
C(11)	-O(12)	(1)	1.5109	0.0095	* C(11)	-C(10)	(1)	1.5391	0.0088	* C(10)	-C(15)	(1)	1.4890	0.0109															
C(11)	-C(26)	(1)	1.5140	0.0124	* C(13)	-O(12)	(1)	1.3353	0.0108	* C(11)	-C(25)	(1)	1.5229	0.0120															
C(13)	-C(14)	(1)	1.4720	0.0102	* C(14)	-C(13)	(1)	1.4720	0.0109	* C(13)	-O(27)	(1)	1.2178	0.0093															
C(14)	-H(C14)	(1)	1.1931	0.1021	* C(15)	-C(10)	(1)	1.4890	0.0109	* C(14)	-C(15)	(1)	1.3397	0.0100															
C(15)	-C(16)	(1)	1.5053	0.0093	* C(15)	-C(11)	(1)	1.5053	0.0093	* C(15)	-C(14)	(1)	1.3397	0.0100															
C(15)	-C(28)	(1)	1.5820	0.0142	* C(16)	-H(C16)	(1)	0.9062	0.0771	* C(16)	-C(17)	(1)	1.5460	0.0091															
C(17)	-C(18)	(1)	1.5600	0.0105	* C(17)	-C(22)	(1)	1.5544	0.0089	* C(17)	-C(16)	(1)	1.3280	0.0954															
C(18)	-C(8)	(1)	1.5000	0.0105	* C(18)	-C(17)	(1)	1.5600	0.0105	* C(17)	-C(18)	(1)	1.5173	0.0085															
C(18)	-C(29)	(1)	1.5191	0.0112	* C(19)	-C(6)	(1)	1.4198	0.0090	* C(18)	-C(19)	(1)	1.547	0.0085															
C(19)	-C(20)	(1)	1.4886	0.0084	* C(19)	-C(20)	(1)	1.4198	0.0090	* C(19)	-C(17)	(1)	1.5173	0.0085															
C(20)	-C(19)	(1)	1.4886	0.0084	* C(20)	-O(30)	(1)	1.5581	0.0111	* C(20)	-C(3)	(1)	1.5547	0.0105															
C(21)	-C(20)	(1)	1.5581	0.0111	* C(21)	-C(21)	(1)	1.5581	0.0111	* C(21)	-C(31)	(1)	1.5235	0.0124															
C(22)	-C(17)	(1)	1.5544	0.0089	* C(22)	-C(22)	(1)	1.5335	0.0098	* C(21)	-C(31)	(1)	1.5440	0.0098															
C(22)	-H(C22)	(1)	1.2183	0.1022	* C(24)	-C(5)	(1)	1.5371	0.0134	* C(22)	-H(C22)	(1)	1.3296	0.0843															
C(24)	-H(C24)	(1)	1.0185	0.0841	* C(24)	-H(C24)	(1)	1.0803	0.0878	* C(24)	-H(C24)	(1)	0.9253	0.0967															
C(25)	-H(C25)	(1)	1.0185	0.0841	* C(24)	-H(C24)	(1)	1.061	0.1113	* C(25)	-C(11)	(1)	1.5229	0.0120															
C(26)	-C(11)	(1)	0.9896	0.0722	* C(25)	-H(C25)	(1)	1.0028	0.0680	* C(25)	-H(C25)	(1)	1.3775	0.1032															
C(26)	-C(11)	(1)	1.5140	0.0124	* C(26)	-H(C26)	(1)	1.0028	0.0680	* C(26)	-H(C26)	(1)	0.8206	0.0700															
C(28)	-H(C28)	(1)	0.9241	0.1055	* C(28)	-C(16)	(1)	0.9550	0.1042	* C(26)	-H(C28)	(1)	0.8367	0.0979															
C(28)	-H(C28)	(1)	1.2520	0.0882	* C(28)	-H(C28)	(1)	0.9257	0.0703	* C(28)	-H(C28)	(1)	1.5191	0.0112															
C(29)	-H(C29)	(1)	0.7954	0.0663	* C(29)	-H(C29)	(1)	0.9257	0.0703	* C(29)	-C(18)	(1)	1.5191	0.0112															
C(31)	-C(21)	(1)	1.5440	0.0098	* C(31)	-H(C31)	(1)	0.7442	0.0828	* C(31)	-H(C29)	(1)	0.9004	0.0791															
C(31)	-H(C31)	(1)	1.5172	0.1095	* H(C3)	-C(3)	(1)	0.9501	0.0595	* C(31)	-H(C31)	(1)	1.3208	0.1226															
H(C8)	-C(8)	(1)	1.2338	0.0674	* H(C9)	-C(9)	(1)	0.9246	0.0702	* H(C5)	-C(5)	(1)	1.1768	0.0888															
H(C16)	-C(16)	(1)	0.9062	0.0771	* H(C17)	-C(17)	(1)	0.9246	0.0702	* H(C14)	-C(14)	(1)	1.1931	0.1021															
H(C22)	-C(22)	(1)	1.2183	0.1022	* H(C24)	-C(24)	(1)	1.3280	0.0954	* H(C22)	-C(22)	(1)	1.3296	0.0843															
H(C24)	-H(C24)	(1)	1.2183	0.1022	* H(C24)	-C(24)	(1)	0.9253	0.0967	* H(C24)	-C(24)	(1)	1.0185	0.0841															
H(C25)	-C(25)	(1)	0.9896	0.0722	* H(C25)	-C(25)	(1)	1.0803	0.0878	* H(C24)	-H(C24)	(1)	1.3990	0.1241															
H(C26)	-C(26)	(1)	1.0028	0.0680	* H(C25)	-C(25)	(1)	1.061	0.1113	* H(C25)	-C(25)	(1)	1.3775	0.1032															
H(C28)	-H(C28)	(1)	0.9241	0.1055	* H(C26)	-C(26)	(1)	0.8206	0.0700	* H(C26)	-H(C26)	(1)	1.1549	0.1338															
H(C28)	-H(C28)	(1)	1.2520	0.0882	* H(C26)	-H(C26)	(1)	1.1549	0.1338	* H(C26)	-H(C26)	(1)	0.8367	0.0979															
H(C29)	-H(C29)	(1)	0.7954	0.0663	* H(C28)	-C(28)	(1)	1.2520	0.0882	* H(C28)	-C(28)	(1)	0.9550	0.1042															
H(C29)	-H(C29)	(1)	1.2352	0.1221	* H(C29)	-C(29)	(1)	0.7954	0.0663	* H(C29)	-H(C29)	(1)	1.3362	0.0983															
H(C29)	-H(C29)	(1)	1.3399	0.1064	* H(C29)	-C(29)	(1)	0.9257	0.0703	* H(C29)	-H(C29)	(1)	1.3362	0.0983															
H(C31)	-C(31)	(1)	0.9004	0.0791	* H(C29)	-H(C29)	(1)	1.3399	0.1064	* H(C30)	-O(30)	(1)	0.7342	0.0644															
H(C31)	-C(31)	(1)	0.7442	0.0828	* H(C31)	-C(31)	(1)	1.3208	0.1226	* H(C31)	-C(31)	(1)	1.5172	0.1095															

Table 13 Bond Angles (1)

ATOM 2 (SM)-ATOM 1	ATOM 3 (SM)	ANGLE	SIG(ANG)	ATOM 2 (SM)-ATOM 1	ATOM 3 (SM)	ANGLE	SIG(ANG)
C(11) (1)-O(2)	-C(3) (1)	111.87	0.65	C(3) (1)-O(4)	-C(5) (1)	117.76	0.52
C(6) (1)-O(7)	-C(18)	105.17	0.52	C(11) (1)-O(12)	-C(13) (1)	120.61	0.54
C(20) (1)-O(30)	-H(O30)	130.59	6.35	C(11) (1)-C(1)	-O(23) (1)	122.48	0.88
O(2) (1)-C(1)	-C(21)	109.10	0.71	O(23) (1)-C(1)	-C(21)	126.40	0.88
O(2) (1)-C(3)	-O(4)	110.99	0.66	O(2) (1)-C(3)	-C(20) (1)	105.07	0.57
O(2) (1)-C(3)	-H(C3)	111.21	4.58	O(6) (1)-C(3)	-C(20) (1)	116.70	0.62
O(4) (1)-C(3)	-H(C3)	102.82	4.73	C(20) (1)-C(3)	-H(C3)	110.19	4.66
O(4) (1)-C(5)	-C(6)	108.10	0.61	O(4) (1)-C(5)	-C(24) (1)	111.73	0.64
O(4) (1)-C(5)	-H(C5)	102.64	3.41	C(6) (1)-C(5)	-C(24) (1)	114.10	0.63
C(6) (1)-C(5)	-H(C5)	100.59	3.95	C(24) (1)-C(5)	-H(C5)	118.41	4.32
O(7) (1)-C(6)	-C(5)	116.90	0.61	O(7) (1)-C(6)	-C(19) (1)	115.82	0.57
C(5) (1)-C(6)	-C(19)	127.27	0.55	O(7) (1)-C(8)	-C(19) (1)	105.23	0.60
O(7) (1)-C(8)	-C(18)	106.18	0.48	O(7) (1)-C(8)	-H(C8)	105.71	3.24
C(18) (1)-C(8)	-H(C8)	106.67	0.65	C(8) (1)-C(8)	-H(C8)	110.49	2.51
C(8) (1)-C(9)	-H(C9)	107.71	3.96	C(8) (1)-C(9)	-C(10) (1)	128.56	0.69
C(9) (1)-C(10)	-C(11)	121.70	0.67	C(9) (1)-C(9)	-H(C9)	121.40	3.76
C(11) (1)-C(10)	-C(15)	112.73	0.59	C(9) (1)-C(10)	-C(15) (1)	125.31	0.58
O(12) (1)-C(11)	-C(25)	103.61	0.60	O(12) (1)-C(11)	-C(10) (1)	105.34	0.61
C(10) (1)-C(11)	-C(25)	113.86	0.63	C(10) (1)-C(11)	-C(26) (1)	108.27	0.60
C(25) (1)-C(11)	-C(26)	110.83	0.75	C(10) (1)-C(13)	-C(26) (1)	114.07	0.63
O(12) (1)-C(13)	-C(14)	118.27	0.65	O(27) (1)-C(13)	-C(14)	118.12	0.69
C(13) (1)-C(14)	-C(15)	122.24	0.78	C(13) (1)-C(13)	-C(14)	123.61	0.83
C(15) (1)-C(14)	-H(C14)	121.64	3.94	C(13) (1)-C(14)	-H(C14)	111.57	4.01
C(10) (1)-C(15)	-C(16)	122.15	0.61	C(14) (1)-C(15)	-C(14)	117.02	0.61
C(15) (1)-C(16)	-C(17)	117.50	0.64	C(14) (1)-C(15)	-C(16)	120.20	0.72
C(17) (1)-C(16)	-H(C16)	105.72	4.09	C(15) (1)-C(16)	-C(28)	106.69	0.60
C(16) (1)-C(17)	-H(C16)	107.95	4.05	C(15) (1)-C(16)	-H(C16)	107.78	0.65
C(18) (1)-C(17)	-C(18)	115.08	0.58	C(16) (1)-C(16)	-C(22)	111.21	5.00
C(18) (1)-C(17)	-H(C17)	116.57	4.22	C(16) (1)-C(17)	-C(22)	107.46	0.59
C(8) (1)-C(18)	-C(17)	114.27	0.56	C(16) (1)-C(17)	-H(C17)	99.93	3.45
C(8) (1)-C(18)	-C(29)	109.87	0.60	C(17) (1)-C(18)	-C(19)	98.78	0.55
C(17) (1)-C(18)	-C(29)	113.53	0.63	C(17) (1)-C(18)	-C(19)	105.57	0.53
C(6) (1)-C(19)	-C(20)	110.24	0.53	C(19) (1)-C(18)	-C(29)	113.92	0.56
C(18) (1)-C(19)	-C(20)	124.31	0.63	C(19) (1)-C(19)	-C(20)	122.09	0.59
O(30) (1)-C(20)	-C(19)	110.28	0.56	C(19) (1)-C(20)	-C(3)	112.34	0.54
C(3) (1)-C(20)	-C(21)	107.95	0.58	C(19) (1)-C(20)	-C(21)	115.49	0.60
C(19) (1)-C(20)	-C(21)	108.56	0.52	C(19) (1)-C(21)	-C(21)	101.69	0.59
C(1) (1)-C(21)	-C(22)	112.07	0.63	C(19) (1)-C(21)	-C(30)	102.98	0.65
C(20) (1)-C(21)	-C(31)	114.36	0.59	C(20) (1)-C(21)	-C(31)	105.95	0.66
C(22) (1)-C(21)	-C(31)	109.27	0.67	C(20) (1)-C(21)	-C(31)	111.78	0.63
C(17) (1)-C(22)	-H(C22)1	104.75	2.94	C(21) (1)-C(22)	-C(21)	114.83	0.62
C(21) (1)-C(22)	-H(C22)2	97.68	3.20	C(21) (1)-C(22)	-H(C22)2	107.89	3.98
H(C22)1 (1)-C(22)	-H(C22)2	126.29	6.11	C(21) (1)-C(22)	-H(C24)1	105.56	4.09
C(5) (1)-C(24)	-H(C24)2	111.77	4.74	C(5) (1)-C(24)	-H(C24)1	125.26	5.88
H(C24)1 (1)-C(24)	-H(C24)2	98.77	7.82	C(5) (1)-C(24)	-H(C24)3	134.23	5.14
				H(C24)1 (1)-C(24)	-H(C24)3	91.98	7.59

Table 13 Bond Angles (2)

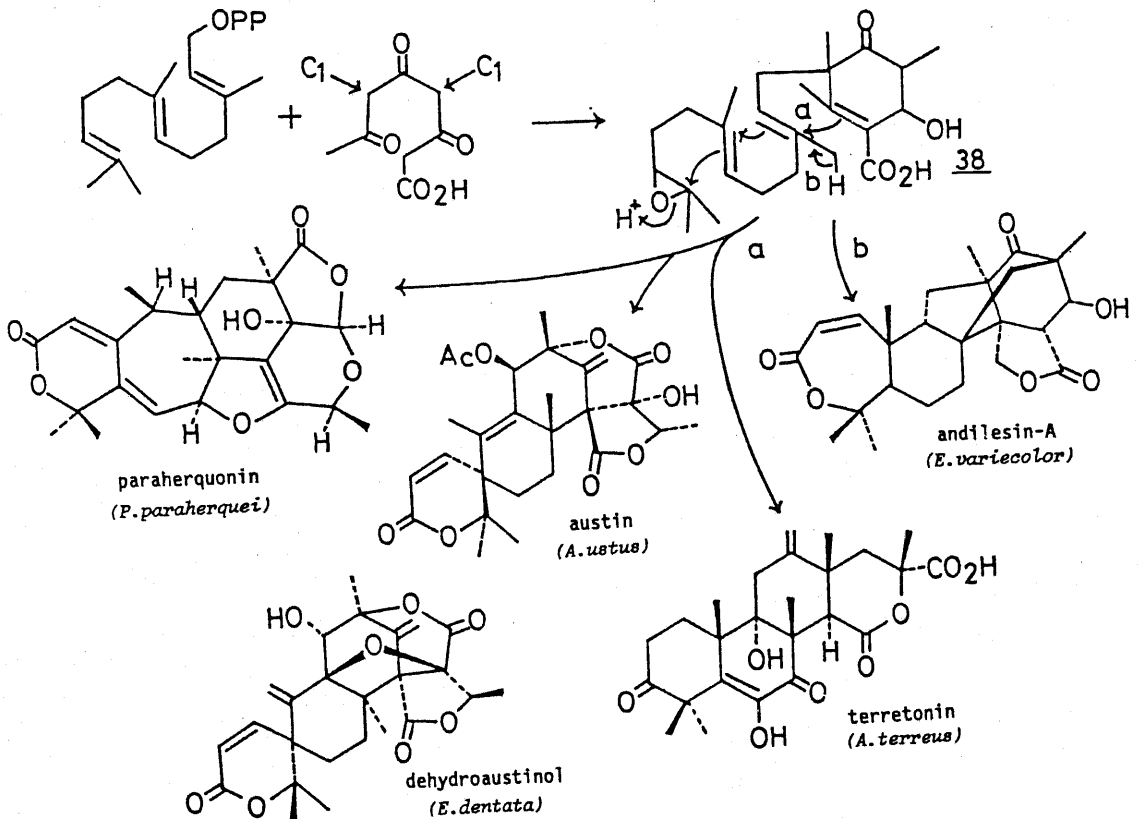
H(C24)2 (1)-C(24)	-H(C24)3 (1)	83.55	* C(11)	(1)-C(25)	-H(C25)1 (1)	111.34
C(11) (1)-C(25)	-H(C25)2 (1)	118.64	* C(11)	(1)-C(25)	-H(C25)3 (1)	100.03
H(C25)1 (1)-C(25)	-H(C25)2 (1)	111.35	* H(C25)1	(1)-C(25)	-H(C25)3 (1)	85.29
H(C25)2 (1)-C(25)	-H(C25)3 (1)	125.33	* C(11)	(1)-C(26)	-H(C26)1 (1)	114.65
C(11) (1)-C(26)	-H(C26)2 (1)	110.21	* C(11)	(1)-C(26)	-H(C26)3 (1)	126.98
H(C26)1 (1)-C(26)	-H(C26)2 (1)	105.33	* H(C26)1	(1)-C(26)	-H(C26)3 (1)	110.22
H(C26)2 (1)-C(26)	-H(C26)3 (1)	82.66	* C(16)	(1)-C(28)	-H(C28)1 (1)	126.36
C(16) (1)-C(28)	-H(C28)2 (1)	115.19	* C(16)	(1)-C(28)	-H(C28)3 (1)	126.83
H(C28)1 (1)-C(28)	-H(C28)2 (1)	100.46	* H(C28)1	(1)-C(28)	-H(C28)3 (1)	86.90
H(C28)2 (1)-C(28)	-H(C28)3 (1)	93.32	* C(18)	(1)-C(29)	-H(C29)1 (1)	110.31
C(18) (1)-C(29)	-H(C29)2 (1)	119.18	* C(18)	(1)-C(29)	-H(C29)3 (1)	116.80
H(C29)1 (1)-C(29)	-H(C29)2 (1)	101.59	* H(C29)1	(1)-C(29)	-H(C29)3 (1)	104.22
H(C29)2 (1)-C(29)	-H(C29)3 (1)	102.75	* C(21)	(1)-C(31)	-H(C31)1 (1)	113.91
C(21) (1)-C(31)	-H(C31)2 (1)	105.75	* C(21)	(1)-C(31)	-H(C31)3 (1)	102.33
H(C31)1 (1)-C(31)	-H(C31)2 (1)	136.26	* H(C31)1	(1)-C(31)	-H(C31)3 (1)	119.47
H(C31)2 (1)-C(31)	-H(C31)3 (1)	66.26	* C(24)	(1)-H(C24)2	-H(C24)3 (1)	50.11
C(24) (1)-H(C24)3	-H(C24)2 (1)	46.34	* C(26)	(1)-H(C26)2	-H(C26)3 (1)	52.53
C(26) (1)-H(C26)3	-H(C26)2 (1)	44.81	* C(28)	(1)-H(C28)1	-H(C28)3 (1)	50.54
C(28) (1)-H(C28)3	-H(C28)1 (1)	42.56	* C(29)	(1)-H(C29)1	-H(C29)2 (1)	42.74
C(29) (1)-H(C29)1	-H(C29)3 (1)	40.65	* H(C29)2	(1)-H(C29)1	-H(C29)3 (1)	64.43
C(29) (1)-H(C29)2	-H(C29)1 (1)	35.67	* C(29)	(1)-H(C29)3	-H(C29)1 (1)	35.13
						4.19
						5.23
						4.35
						6.15
						4.85
						6.44
						7.56
						6.85
						6.69
						9.05
						4.85
						5.26
						6.83
						5.27
						3.60
						7.68
						5.25
						6.46
						6.92
						4.40
						5.33
						4.19



第五節 Paraherquonin の生合成仮説

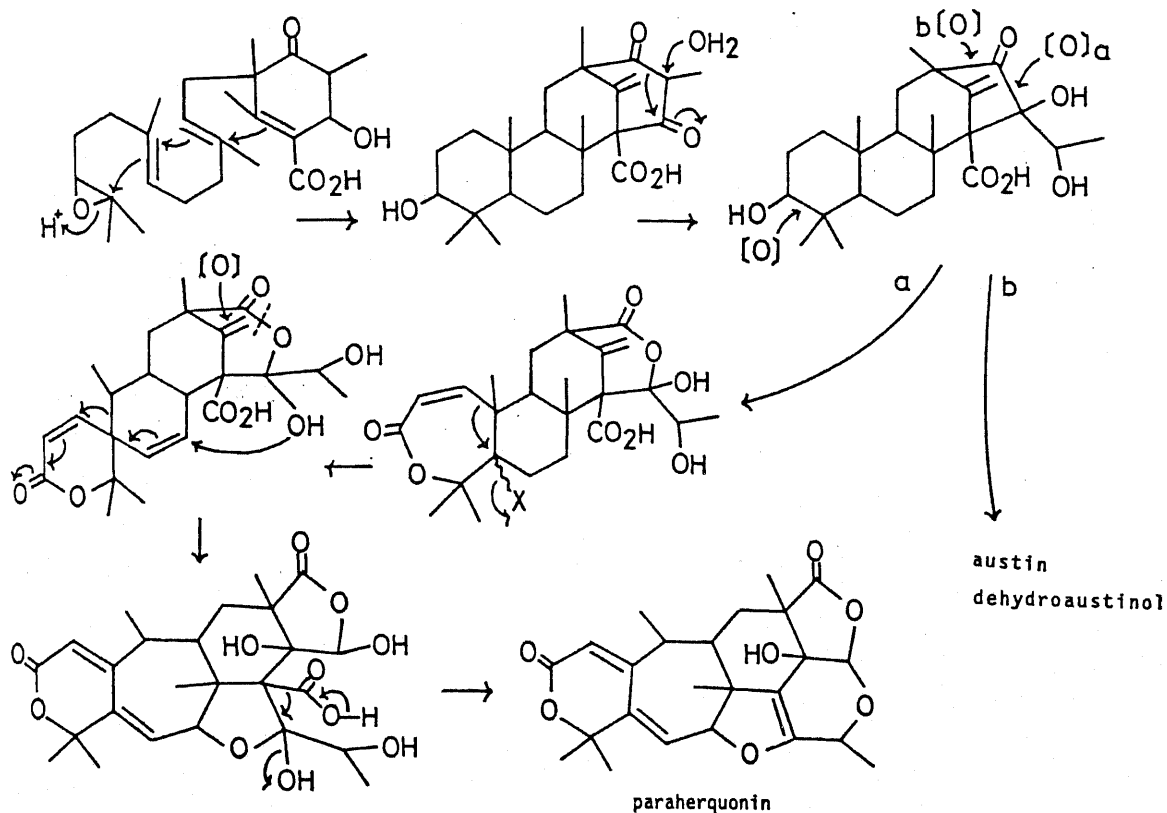
paraherquonin (37) は特異な構造を有するが、生合成的には farnesyl pyrophosphate と polyketide から成る meroterpenoid であると思われる。このような meroterpenoid としては他に、*Aspergillus varicolor* より単離された andilesin, andibenin 類,²⁶⁾ *Aspergillus terreus* より単離された terretinin,²⁷⁾ *Aspergillus ustus* より単離された austin と dehydroaustin,²⁸⁾ *Emericella dentata* より単離された austinol と dehydroaustinol²⁹⁾ 等が報告されている。これらのいくつかは、すでに T. J. Simpson らにより生合成研究も

Chart 9



行なわれ、同一の key intermediate (28) を経由して最終的に種々の修飾された化合物が形成されたと報告されている (Chart 9)^{28b) 30)} paraherquonin も、この同一 intermediate (28) を経由して生合成されたと推定した。すなわち、28 が閉環した化合物は austin 等とはカルボニル基に関し逆の位置で Baeyer-Villiger 型の酸化を受け、又、酸化拡大された A 環での転移反応によりスピロ体となり、さらに B 環の環拡大が起こると思われる。それに平行し、他の部位でも酸化が進み、新たに環が形成され、脱炭酸及び脱水を経由して paraherquonin が生合成されたと推定している (Chart 10)。

Chart 10



第六節 P. paraherquei IFO 6234 代謝産物の生物活性

本章第一節で述べたように, paraherquamide (32) が本菌抽出エキスの毒性本体と考えられ, マウスに投与後, 死に致るまでの症状も良く反映している。paraherquamide は 100 mg/kg 腹腔内投与において, マウス 3 匹中 3 匹を 15 分以内に死に致らしめ, 又, 25 mg/kg 投与においては, 1 時間以内に死に致らしめた。その際, 上行性と思われる下肢から上肢に致る麻痺が観察され, 眼球突出を伴って死に至る。LD₅₀ はまだ得られていないが, 強い向神経作用物質の可能性が有る。

paraherquonin はマウスに対し, 100 mg/kg 静脈内投与において, 致死毒性を示さなかった。しかし, 同一の中間体を経由すると考えられる meroterpenoid の austin や terretonin は雄のヒナドリに対して致死毒性のあることが報告されている。^{27) 28)} paraherquonin についても同様の毒性試験を試みる必要が有るように思われる。

第三章 Talaromyces bacillosporus NHL 2660 抽出エキスより得られた代謝産物

菌類は現在まで抗生物質の起源として、非常に多くの抗生物質を与えている。しかしながら、菌類はその他の生物活性物質、例えば向神経作用物質の起源にも成り得るのではないかと考え、FTA, B 生産菌及びその近縁菌を検索してきた。このような立場から、さらに検索の範囲を広げ、現在まで系統的に検討されていない Talaromyces, Emericella, Eupenicillium 属の検索を行なった。¹⁵⁾ その際、Talaromyces bacillosporus NHL 2660 の CHCl_3 抽出エキスは特徴的な緑色を示し、かつ、500 mg/kg 腹腔内投与において、マウス3匹中3匹を1日以内に死に致らしめた。そこで、本菌エキスより毒性本体の単離を行なうこととした。

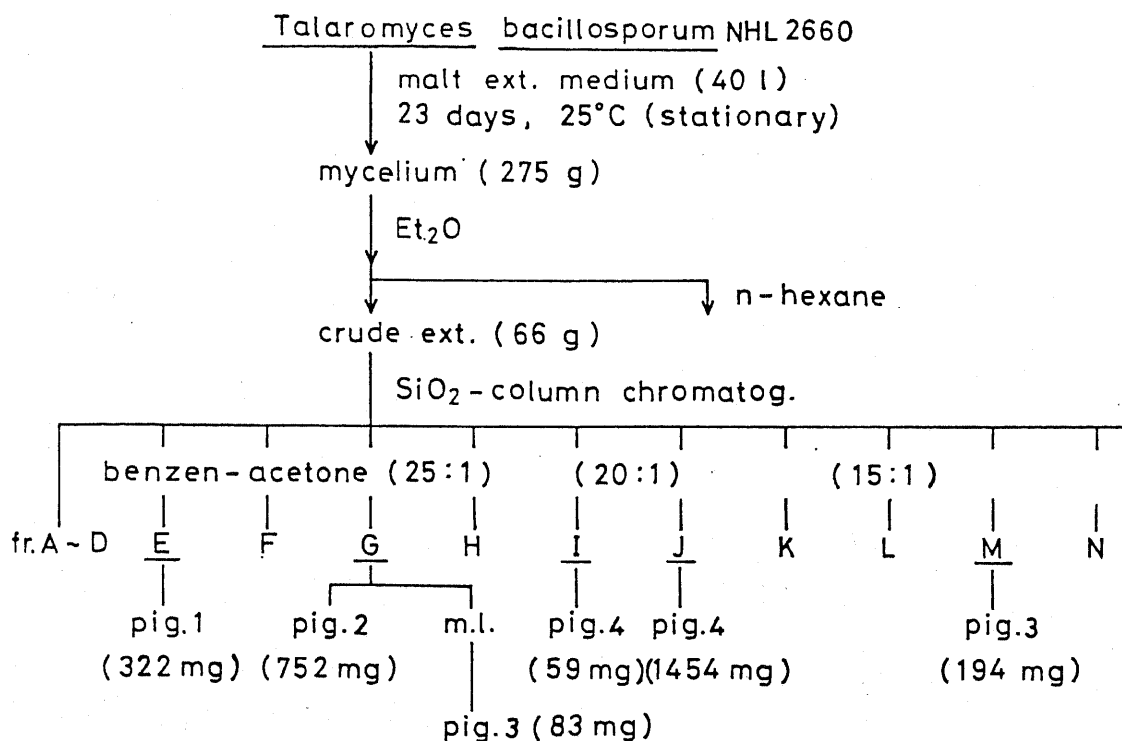
第一節 Bacillosporin A, B, C (Fig. 2-4) 並びに Pinselin (Fig. 1) の分離

Talaromyces bacillosporus NHL 2660 を malt extract を含む液体培地 40ℓ で、25℃、23日間静置培養し、乾燥菌体として 275g を得た。予備実験として、抽出溶媒を検討したところ、エーテル抽出により致死毒性は移行するが、緑色素は移行せず、この色素はさらに CHCl_3 で抽出することにより移行した。 CHCl_3 抽出の緑色エキスには致死毒性は認められなかった。そこで、乾燥菌体はエーテルで抽出し、粗エキス 66g

を得た。粗エキスの TLC では、特徴的ないくつかのスポットが認められたことから、まず、これらのスポットに相当する代謝産物の分離を試みた。

粗エキスを n-ヘキサンで脱脂した後、シリカゲル・カラムクロマトグラフィーにより、溶離液をベンゼンからベンゼン-アセトン(4:1)まで順次変えながら溶出させ、分画した。fr. A-N の各フラクションを得、fr. E, G, I 及び J, M よりそれぞれ pig. 1, 2, 4, 3 と仮称した4種の黄色色素を単離した (Chart 11)。

Chart 11



各色素の腹腔内投与でのマウスに対する致死毒性を調べたところ、pig. 1 は 500 mg/kg, pig. 2-4 は各 250 mg/kg で致死毒性を示す。むしろ、これらの母液に、250 mg/kg で致死毒性

が認められた。fr. Gより pig. 2, 3 を取り出した後の母液は、250 mg/kg 投与で、マウス 3 匹中 3 匹を 1 日以内に死に致らしめたが、TLC 上特徴的なスポットは観察されなかった。そこで、 CHCl_3 -メタノール (10:1) を展開溶媒として prep. TLC を行ない、プレートを四分画し抽出したそれぞれのフラクションの毒性を調べた。しかし、500 mg/kg 投与では、ほぼ全てのフラクションに致死毒性が見出され (1 日以内にマウス 3 匹中 3 匹死亡)、125 mg/kg 投与では 1 週間で死亡例がなかった。この prep. TLC 以前の母液自体では、125 mg/kg 投与において、1 日以内にマウス 3 匹中 2 匹を死に致らしめた。よって、毒性活性に寄与するいくつかのものが分散し、活性が弱められた可能性が考えられた。fr. E より pig. 1 を取り出した残りの母液に関して、fr. G の場合と同様の結果を与えた。そこで、さらに毒性活性を追うことは難しいと判断し、まず、得られた色素の構造研究を行ない、それらが毒性活性に関して何らかの知見を与える可能性が有るのではないかと考えた。これら 4 種の色素のうち、pig. 2-4 は新化合物であったため、それぞれ *bacillosporin A-C* (Bac. A-C) と命名した。Bac. A-C は各種 β -ラクトンより特異な構造を有すると推定され、又、*T. bacillosporus* NHL 2660 の菌体が特徴的な緑色であることにも、これらの色素が知見を与える可能性が有り、興味を持たれた。なお、現在のところ、この緑色色素の構造は明らかにされていない。

第二節 Bacillosporin A, B, C の化学構造

bacillosporin A-C (Bac. A-C) は全て 2N-NaOH 溶液に可溶であり, FeCl_3 反応陽性を示し, UV スペクトルにおいてアルカリ添加により深色効果を示すことから, phenol 性物質と考えられた。又, 各種スペクトルデータも類似しているため, 同種の化合物と推定された。

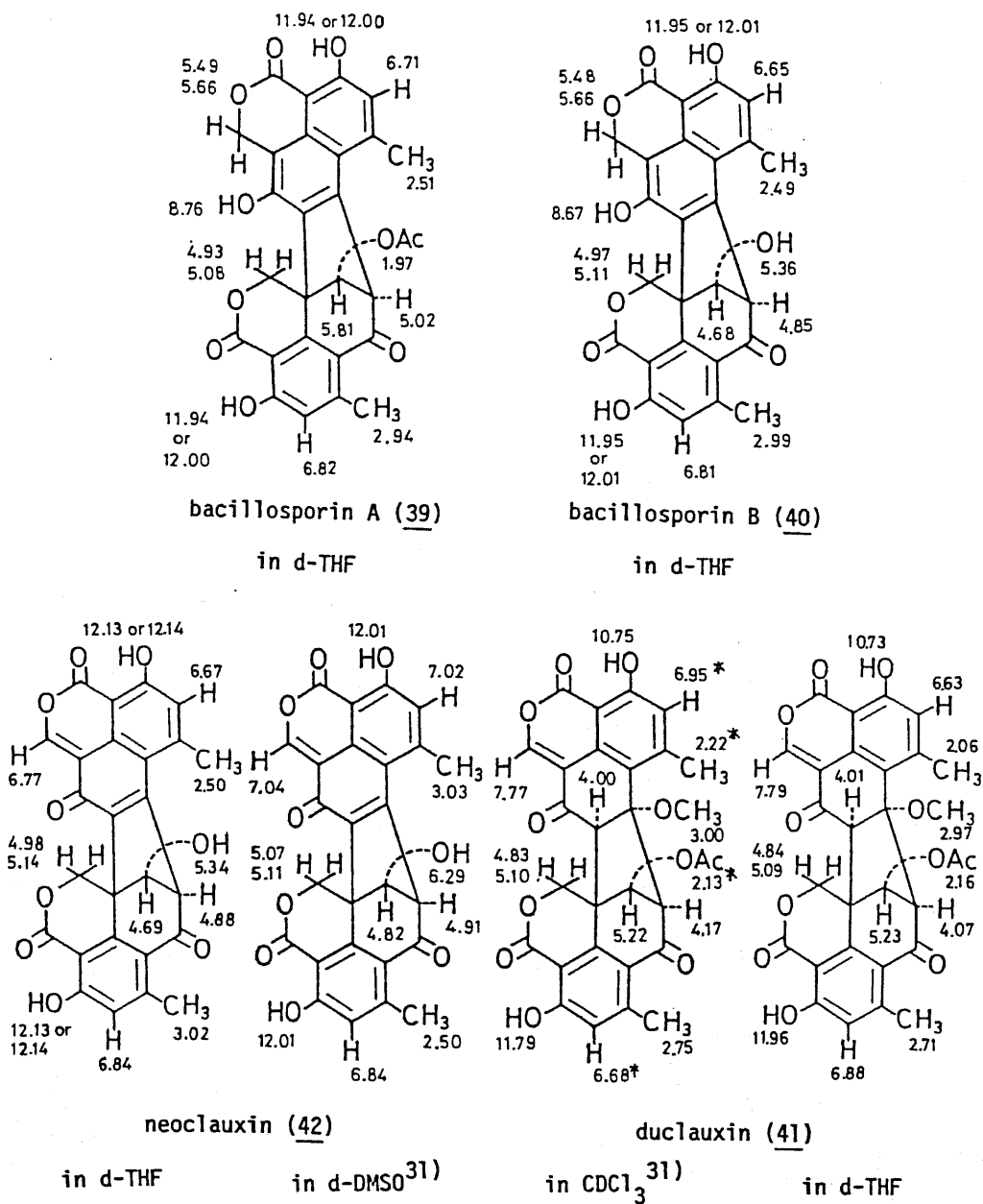
Bac. A (39) はアセトン- CHCl_3 より黄色粉末, mp $282-285^\circ\text{C}$ (dec.), とし得られ, $[\alpha]_D^{25} +48.4^\circ$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ の phenol 性物質である。IR スペクトルでは 3440cm^{-1} の水酸基, 1754 , 1672cm^{-1} のカルボニルの吸収が観察された。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは, 1.97ppm にアセチルメチル, 1.94 , 12.00 , 8.76ppm に phenol 性水酸基のシグナルが観察され, これら3個の水酸基のうち, 前者2個は水素結合を形成していると考えられた。又, 2個の芳香族メチル (2.51 , 2.94ppm) と2個の isolate した芳香族水素 (6.71 , 6.82ppm) が観察された。この 6.71ppm のシグナルは 2.51ppm のメチルシグナルの照射により sharpening し, 6.82ppm のシグナルは 2.94ppm の照射により sharpening した。このことは, メチル基のオルト位に水素を有する系が2ヶ所あることを示している。 4.93 , 5.08ppm (each 1H, d, $J=13$) 及び 5.49 , 5.66ppm (each 1H, d, $J=16$) に $-\text{CH}_2\text{O}-$ 由来の2組の AB quartet のシグナルが観察された。又, 5.81ppm に観察されるメチン水素 (br s) は脱アセチル化により約 1ppm 高磁場側へシフトすることから, アセトキシル基のつけ根の水素と考えられる。この水素と 5.02ppm (1H, br s) の水素はお互いの

照射により sharpening した。そこで、5.81, 5.02 ppm の両水素はお互いに 90° に近い角度で隣接している可能性が考えられた。 ^{13}C -NMR スペクトルでは、一級炭素 3 個、二級炭素 2 個、三級炭素 4 個、四級炭素 19 個が観察された。四級炭素のうち、49.5 ppm の炭素をのぞき、他は全て 90 ppm より低磁場側に観察された。そこで、Bac. A (39) は高度に酸化された芳香族多環系を有すると推定された。

Bac. A (39) は 10% NaOH 溶液で処理すると desacetyl 体を与えるが、このものは Bac. B (40), 黄色微細針状晶, mp 257–261°C (dec.), 分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_9$, $[\alpha]_D^{25} +51.2^\circ$ に一致した。ゆえに、Bac. A (39) は Bac. B (40) の acetate であることが確かめられた。

先に、柴田らにより Penicillium duclauxi から単離された duclauxin (41) は アルカリ加水分解で neoclauxin (42) を与えたが、³¹⁾ この neoclauxin (42) の ^1H -NMR スペクトルは Bac. B (40) とよく類似していた (Chart 12)。しかし、neoclauxin (42) で観察された 6.77 ppm (d-DMSO 中では 7.04 ppm) の芳香族水素シグナルは Bac. B (40) では観察されず、かわりに 5.48, 5.66 ppm の AB quartet のシグナルが観察された。又、両者の ORD, CD スペクトルも類似していることから、同様の立体構造と考えられ、Bac. B (40) 及び A (39) の構造を Chart 12 のように推定した。

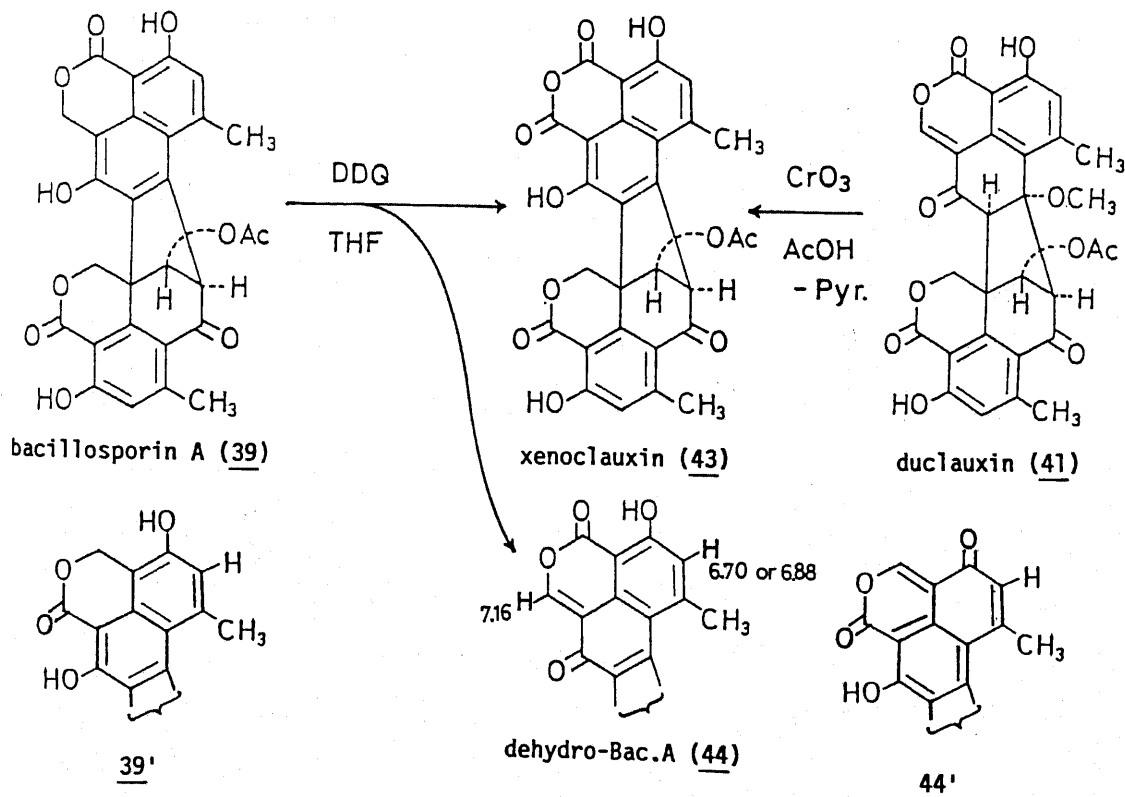
Bac. A 及び B の構造をさらに確実にするために、既知物質への誘導を試みた。先に、P. duclauxi より duclauxin (41) と共に得られた xenoclauxin (43) は、X線構造解析でその絶対構

Chart 12 Comparison of Chemical Shifts in $^1\text{H-NMR}$ of Related compounds

*) これらの帰属は訂正すべきであるという報告がある。^{41a)}

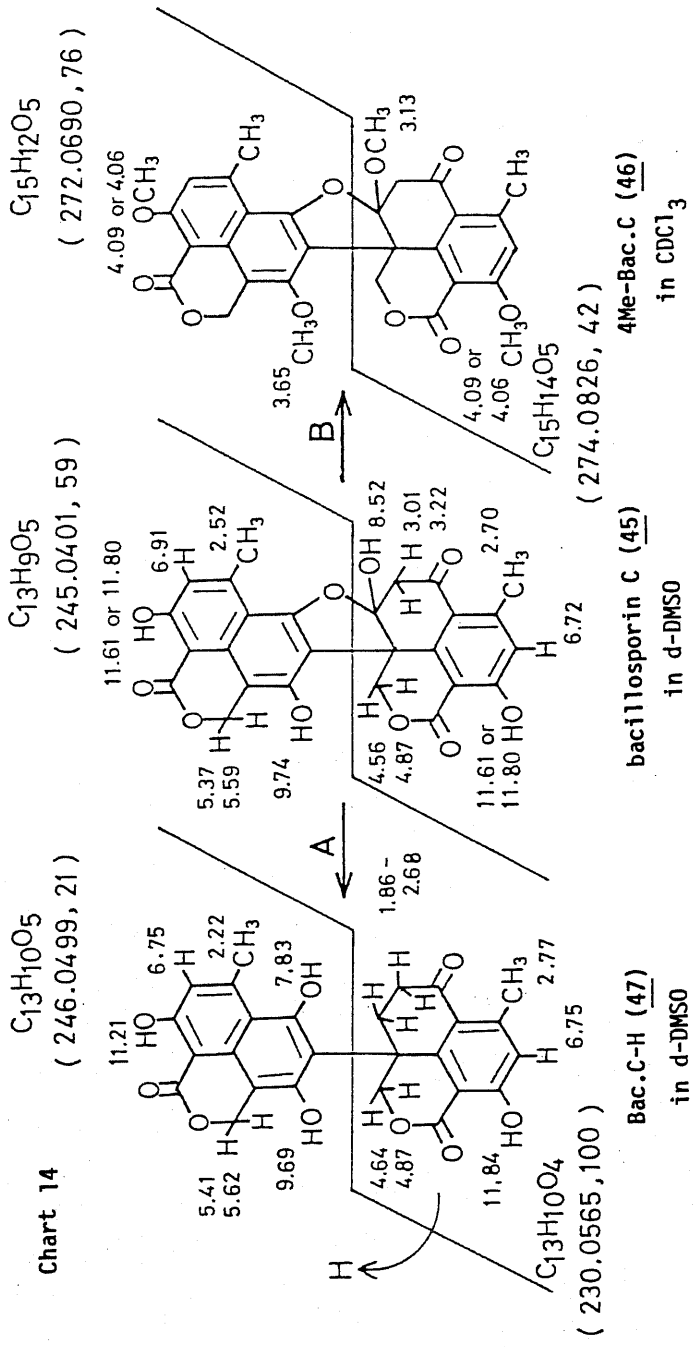
造が決定されている duclauxin (41) との関連で構造決定されている³¹⁾。そこで, Bac. A (39) を THF 中, 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ) を用いて酸化し, dehydro-Bac. A (44) と共に xenoclauxin (43) を得た。ゆえに, Bac. A (39), B (40) の構造が立体化学を含めて確かめられた (Chart 13)。なお, 以上のような xenoclauxin (43) への変換では, Bac. A, B の一方の monomer 部分が 39' の構造である可能性を否定できないが, Bac. A, B の CD における neoclauxin (42) との類似性や, DDQ 酸化で得られた dehydro-Bac. A の芳香族水素の化学シフト, 6.70, 6.88 ppm が 44' ではなく, 44 の構造を支持していること等から否定されると考えている。

Chart 13



Bac. C (45) はテトラヒドロフラン (THF) - メタノールより淡黄色粉末, $mp > 300^\circ\text{C}$ として得られ, $[\alpha]_D + 451^\circ$, 分子式 $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_{10}$ を有する Bac. A, B 類似化合物である。MS において $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (m/z 245.0401, 59%) の monomer 由来と考えられるフラグメントが観察される。又, Bac. C (45) の tetramethyl 誘導体 (4Me-Bac. C, 46) においても, 分子量の 1/2 のフラグメント, $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5$ (m/z 272.0690, 76%) が観察されることから (Chart 14), Bac. C (45) は monomer 部分に分離しやすい構造を有していると思われる。なお, Bac. A (39), B (40) に関しては, このようなフラグメントは観察されない。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは, Bac. B (40) で観察された 5.36 ppm の水酸基とそのつけ根のメチン水素 (4.68 ppm) 及び隣接位水素 (4.85 ppm) の系が観察されず, かわりに d-DMSO 中で 3.01, 3.22 ppm (each 1H, d, $J=15$) の AB quartet と 8.52 ppm に diazomethane によりメチル化を受けると水酸基のシグナルが観察された。(これらのシグナルは d-THF 中ではそれぞれ 2.92, 3.22, 7.71 ppm に観察された。)

Bac. C (45) は通常の中性の系での接触還元は受けないが, 酸性メタノール中 PtO_2 による接触還元で, 加水素分解生成物 (Bac. C-H, 47), mp 230-232 $^\circ\text{C}$, $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_9$ (M^+ m/z 476) を与えた。47 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは 1.86-2.68 ppm に 4 個の水素が新生し, Bac. C (45) で観察された 3.01, 3.22 ppm の geminal 水素は消失した。又, MS において, monomer 由来と思われる $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_4$ (m/z 230.0594, 100%), $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_5$ (m/z 246.0519, 21%) のフラグメントが観察された (Chart 14)。酸性アルコール中の Pt 触媒による接触還元で, ヘキサタールは



A ; PIO_2/H_2 in 0.5% HCl-MeOH, B ; CH_2N_2

(230.0565, 100)
 in d-DMSO
 Bac.C-H (47)
 (274.0826, 42)
 in d-DMSO
 bacillosporin C (45)
 in $CDCl_3$
 4Me-Bac.C (46)

C-OH結合の切断したエーテル体を与えるという知見がある。³²⁾ 約はこのようなエーテル体から、さらに還元が進んだものと考えられる。以上の事実より、Bac.C (45)の構造をChart 14のように推定した。なお、Bac.C (45)のヘミケタール部が潜在的なカルボニルであることを考慮し、hydrazineとの反応を試みたが、lactone部分のOとNが置換した化合物(右図)が得られたのみであった。Bac.C (45)のアミノニア処理においても、このような置換反応が起こり、 α -pyroneの性質に準ずるものと思われる。Bac.A (39)に関しても同様の反応が観察され、又、萩原らも duclauxin 等とアミノニアや一級アミンとの反応を報告している。^{31b)}

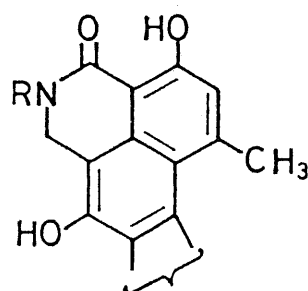
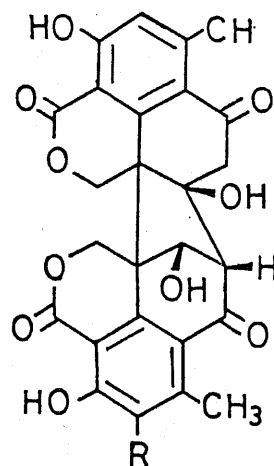


Fig. 13



gilmaniellin: R=Cl

dechlorogilmaniellin: R=H

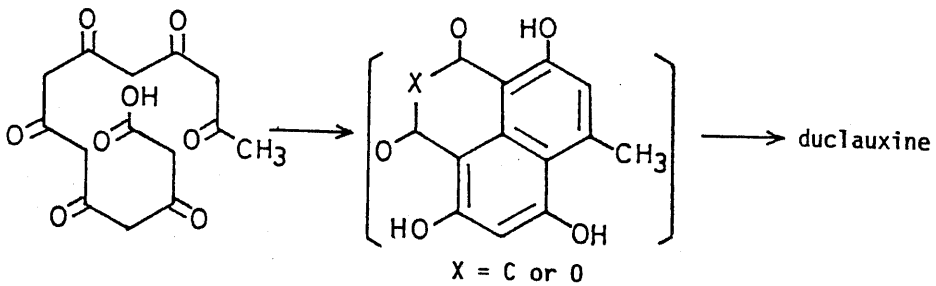
bacillosporin A-Cはdimeric oxaphenalenone骨格を有することが明らかとなったが、このようなdimeric oxaphenalenone類としては、P. duclauxiから単離された、前述のduclauxin (41), xenoclauxin及びcryptoclauxin³¹⁾や、gilmaniella huicolaよりK.K.Chexal, C.Tammらにより単離されたgilmaniellin, dechlorogilmaniellin³³⁾ (Fig. 13)が報告されている。

なお、ごく最近、G.Büchiより bacillosporin 類の合成に

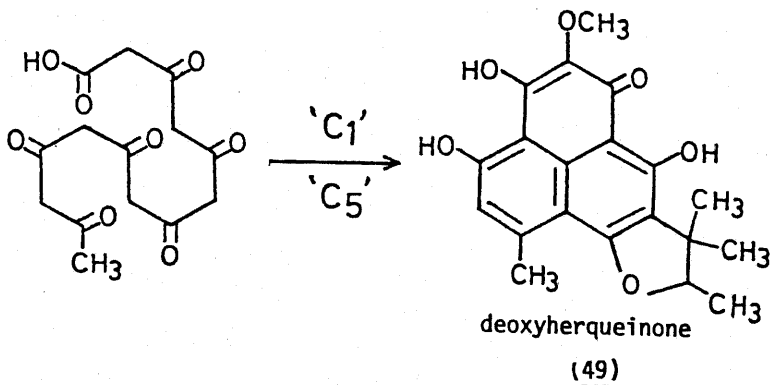
成功したという報告を受けている。^{3k)}

第三節 Bacillosporin 類の生合成仮説

bacillosporin 類と類似の dimeric oxaphenalenone である duclauxin (48) の生合成に関しては、すでに三川らにより報告されている。^{3j)} 彼らは ^{14}C -formate, $[1-^{14}\text{C}]$ -, $[2-^{14}\text{C}]$ -acetate を用いた生合成実験において、下記の経路が妥当としている。

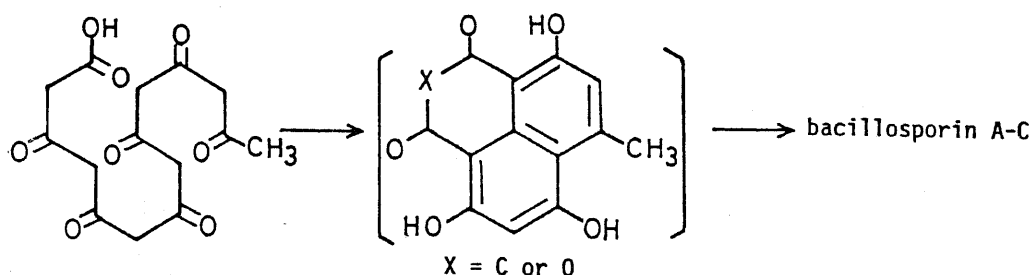


(しかし、その後、T.J. Simpson は Penicillium herquei から得られた deoxyherqueinone (49) 等の生合成実験において、 $[1-^{13}\text{C}]$ -, $[2-^{13}\text{C}]$ -, $[1,2-^{13}\text{C}]$ -acetate を用いて検討し、下記の経路を提出した。^{4o)}



bacillosporin 類も deoxyherguelinone (49) 等の生合成中間体の phenalenone が脱炭酸等で C_1 を脱離した後、分子内エステル結合により環化し、さらに還元を受けた monomer が二量化したものと考えられる (Chart 15)。

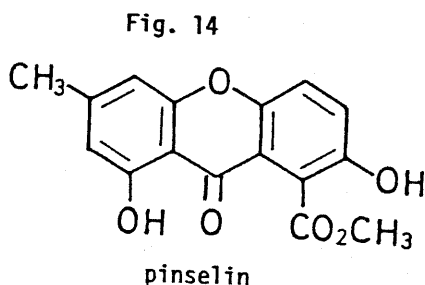
Chart 15



第四節 Pinselin の同定

Fig. 1 (48) は mp 231-233°C の黄色ポリスラム晶で、 $C_{16}H_{12}O_6$ ($M^+ m/z$ 300) の phenol 性物質 ($FeCl_3$ 陽性) である。IR スペクトルでは 3330 cm^{-1} の水酸基、1741 cm^{-1} のエステル・カルボニル、1648 cm^{-1} の共役カルボニルの吸収が観察される。 1H -NMR スペクトルにおいて、9.07, 12.12 ppm に2個の phenol 性水酸基、2.38 ppm の芳香族メチル、3.90 ppm のメトキシ・メチルの各シグナルが観察される。6.52, 6.71 ppm (each 1H, br s), 7.45 ppm (2H, s) の4個の芳香族水素のうち、前者2水素は 2.38 ppm のメチル・シグナルの照射によりメタ-カップリングが観察されるようになる。d-アセトン中では 2H 分の sharp な singlet であった 7.45 ppm のシグナルは、d-THF 中では

7.23, 7.35 ppm (each 1H, d, J=9) のオルト-カップリングを有するシグナルに分離した。MSでは, salicylate ester に特徴的な (M-32)⁺, (M-60)⁺ のフラグメントが観察される。³⁵⁾ IR, UVスペクトル等から xanthone 骨格が考えられ, 上記知見を合わせて構造を推定すると, 先に棟方により Penicillium amarum から単離された pinselin と同一であった (Fig. 14)。³⁶⁾ ここで, 両者を直接比較し, 同定した。



なお, 高等植物の Cassia occidentalis (はぶそく) より単離された cassiollin は pinselin と同一物質である。³⁷⁾ その後, K.K. Law らは pinselin の構造を合成により確かめている。³⁸⁾

第五節 T. bacillosporinus NHL 2660 代謝産物の生物活性

毒性活性としては, 本章第一節で述べたように, bacillosporin 類は 250 mg/kg, pinselin は 500 mg/kg 腹腔内投与により, マウスに対して致死毒性を示さなかった。

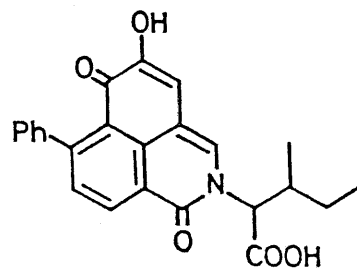
bacillosporin 類と類似構造を有する duclauxin は, Ehrlich 腹水ガン, 白血病 L1210 等の培養細胞に対し阻害活性を示し, Ehrlich 腹水ガンを接種されたマウスに対し延命効果が認められている。^{41) 42)} duclauxin は又, 若干の抗菌活性も認められるため, antitumor antibiotic として報告されている。⁴¹⁾

bacillosporin類及び pinselin について, Salmonella typhimurium TA-100, TA-98 に対する変異原活性を調べたところ, 陽性との結果は得られなかった(国立ガンセンター, 長尾美奈子博士に依頼)。Bac. A 及び C に関して, Bacillus subtilis, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Sarcina lutea, Aspergillus niger に対する抗菌活性を調べたところ, Bac. A は B. subtilis, S. lutea に対し, 若干の抗菌活性を示した。bacillosporin類は duclauxin 等と同様, 分子内の酸素原子が exogenous な窒素原子と置換し得ること, すなわち, 蛋白質との結合が可能であると思われることから, 核酸合成阻害が考えられる。又, 以下に述べるように細胞毒性が示唆されるため, 抗腫瘍活性が期待され, 現在検討中である。

duclauxin 類はミトコンドリアに対し, 強いアンカフラー作用の有ることが報告されている。⁴²⁾ bacillosporin A の同活性を検討したところ, duclauxin よりも強いアンカフラー作用 (ID_{50} 5 μ M) が見出され, 細胞毒性が示唆された(岐阜大学・河合清講師に依頼)。

又, duclauxin のような二量体は, 太陽光の波長において, 他の有機物の細胞を sensitize する photooxidative sensitizer であるという知見がある。⁴³⁾ このような化合物は無色の細胞に対する exogenous photosensitizer として働くことにより, 強い可視光下で, その細胞に傷害を与え, あるいは殺すと報告されている。bacillosporin 類もこのような特異な活性を有する可能性が有り, 検討の余地が有ると思われる。

なお、bacillosporin類の菌体の色への関与として、bacillosporin類のpyrone環部の酸素原子が exogenous な窒素原子と変わり得ることから、アミノ酸等を取り込んだ色素が、金属イオン等とキレートを形成し、発色する可能性が考えられる。実際に、phenalenone pigment として Lachnanthes tinctoria の花より、アミノ酸を取り込んだ右図の化合物が得られている。⁴³⁾ これらに関しては、さらに検討中である。



第二編 生薬成分の化学と生物活性

第一編において、著者らは、生物活性、特に向神経作用を有する物質を天然に求め、菌類における生物活性物質の検索を行なってきた。その結果、菌類は多くの特異な代謝産物を与え、それらのいくつかは、向神経作用等の薬理活性を有する可能性が有ることを明らかにした。従来、菌類は抗生物質の起源として重要視されてきたが、さらに向神経作用等の興味ある生物活性を有する天然物を与える可能性が有るということが出来るであろう。

一方、我国においては、漢方薬や民間薬等、すでに臨床と直接結びついた知識が蓄積されている起源が存在する。そこで、これまで菌類について行なってきた検索をさらに薬用植物-生薬にまで広げることとした。生薬においては、従来、有効成分を求めてさまざまな化学的検索が行なわれてきたが、その多くは作用が緩和であり、生物活性の検定は難しい。山崎らは、先に、生物活性、特に向神経作用を有する天然物の検索において、マウス拘束水浸ストレス潰瘍に対する抑制性を指標とする試験法が有効との知見を得た⁴⁰⁾。本法において検索された66種の生薬の中から、遠志、知母等、従来鎮静作用を有するとされている生薬を含む数種類の生薬に著効が認められた(Table 14)。このうち、蕃杏、連銭草、藁本、桔梗根は経口投与よりも腹腔内投与において著効が認められ、山豆根、苦参は腹腔内投与よりもむしろ経口投与で著効を示した。又、遠志、知母、タラ根皮は経口、腹腔内のいずれでも活性を示した。経口投与で活性を示

Table 14

Protection ratio of several crude drugs, matrine and oxymatrine administered by different route on stress ulcer in mice

Drug	Dose(mg/kg)		Protection(%)	
	p.o. ^{a)}	i.p.	p.o.	i.p.
Bankyo	1412	623	55	97
Rensenso	1698	1266	44	95
Kohon	1050	1050	29	83
Kikyokon	1966	467	20	74
Onji	1415	78	87	94
Chimo	1590	1590	62	95
Tarakonpi	1230	142	87	90
Sanzukon	938	938	93	60
Kujin	523	523	64	12
Matrine	50	50	94	69
Oxymatrine	50	50	91	51

a) indicated weight of extract after freeze dried (equivalent to 5g of crude drugs)

1) 山豆根、苦参については、その主成分である matrin, Oximatrin の詳細な研究が行なわれつつある。⁴⁵⁾ 桔梗根、藁本、遠志、知母、タラ根皮はサポニン含有の高い生薬であり、それらのサポニンが活性を担っている可能性が高いと考えられている。本編においては、腹腔内投与で特に強い活性を示した蓄杏及び連銭草を取り上げ、マウスに対する拘束水浸ストレスに対する抑制効果を指標として有効成分の検索を行なった。

第四章 蕃杏, *Tetragoniae Herba* の抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質

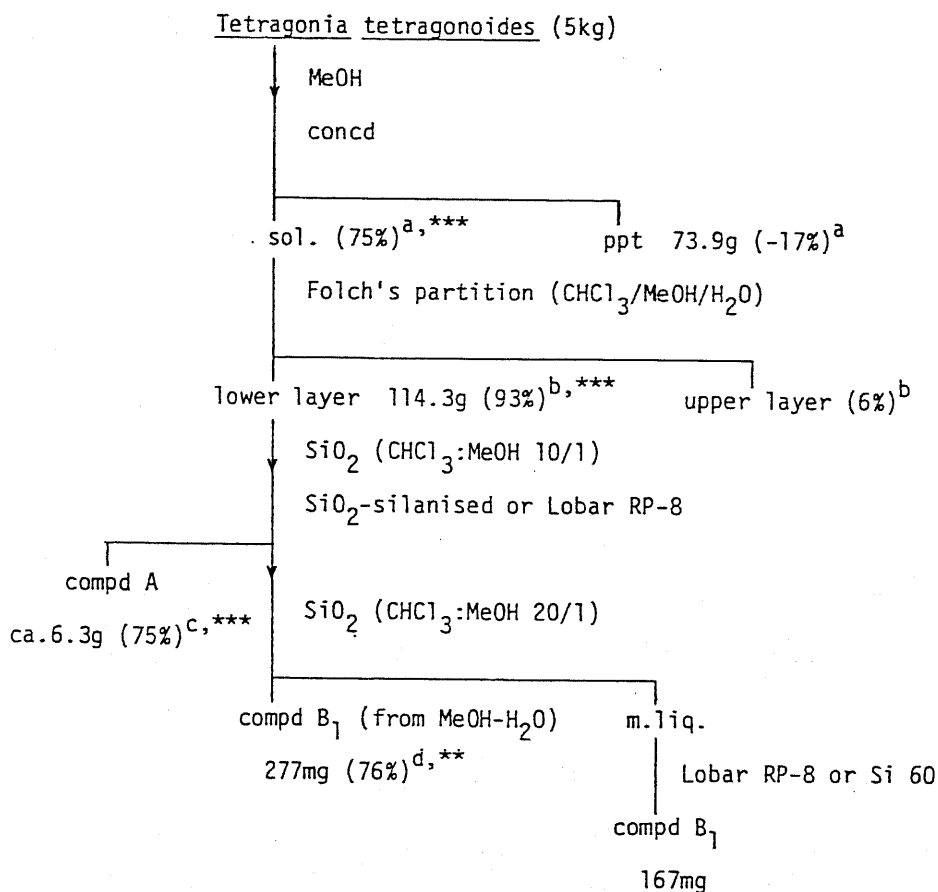
蕃杏, *Tetragoniae Herba* はワルナ科 (*Aizoaceae*) ワルナ (*Tetragonia Tetragonoides* Pall.) の花期の全草である。食用に用いられ, 薬用としては民間で胃癌に効があると伝わるが疑わしいとされている。⁴⁶⁾ 成分として flavanone⁴⁷⁾ や trans-及び cis-フェルラ酸, フィトール, 遊離脂肪酸及びそのメチルエステル⁴⁸⁾ 等が知られている。

第一節 抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質の分離

蕃杏, *Tetragoniae Herba* 5kg をメタノールで冷浸し, 得られたエキスを抗ストレス潰瘍活性を指標として分画した。種々の分離法を試みた結果, 脂質の分画が有効であることを認め, その分画法に従った。すなわち, エキスの濃縮によって析出した沈殿を除き, 抑制活性のあった母液を Folch の方法⁴⁹⁾ に準じて分配した。活性の移行した下層を溶媒除去後, 吸着系及び逆層分配系のカラムクロマトグラフィーを繰返し, 又, 再沈殿により, compd A (約 6.3g) 及び compd B₁ (444mg) の活性成分を得た。抗潰瘍活性は腹腔内投与により, それぞれ 75% ($P < 0.001$, 300mg/kg), 76% ($P < 0.01$, 100mg/kg) を示した (Chart 16)。なお, compd B₁ を含むフラクションより高極性部に活性の強い分画が認められたが, 重合した物質の可能性があり, 精査しなかった。本章では, 蕃杏の抗ストレス潰瘍活性

成分, compd A及びB₁の構造研究を述べ, 又, それらの生物活性については本章第四節で述べる。

Chart 16



a 1000mg/kg, b 500mg/kg, c 300mg/kg, d 100mg/kg

*** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05⁽⁴⁹⁾

第二節 Sterylglucoside 混合物 (Compd A) の化学構造

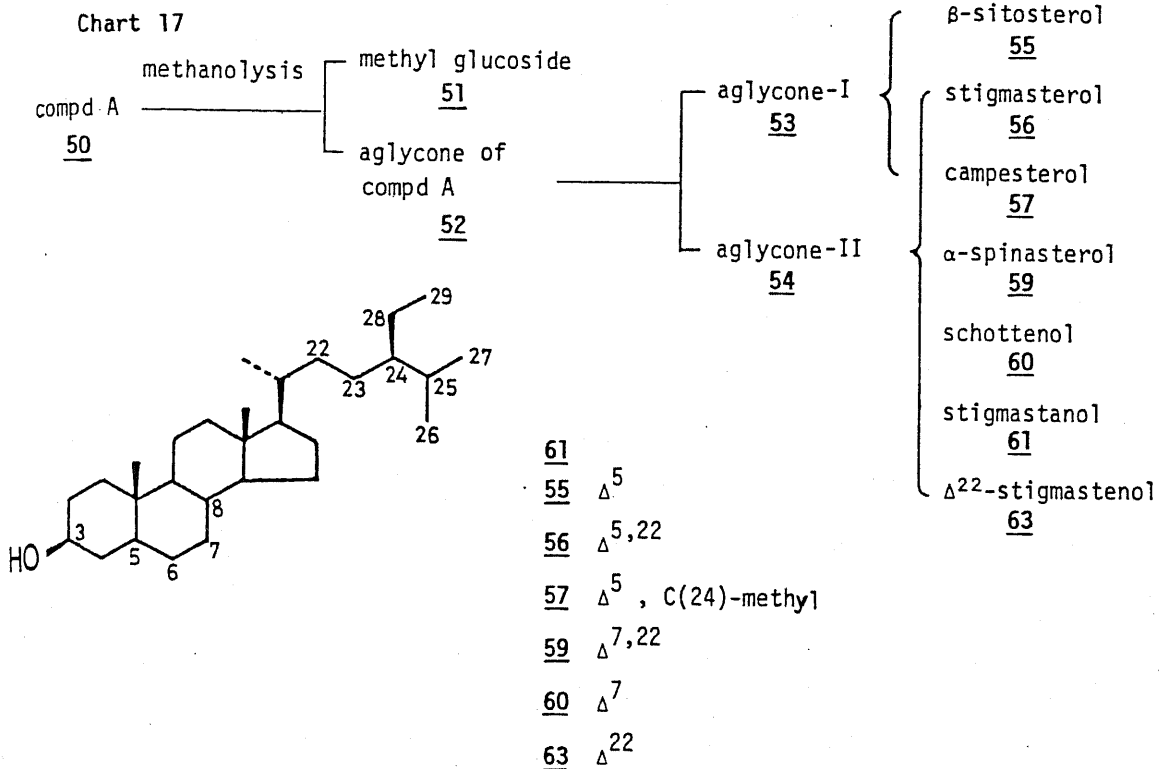
compd A (50) はメタノール-水より白色粉末として得られ, TLC上単一スポットを示した。Liebermann-Burchard,

modified Molish の各呈色反応は陽性を示すことより Steroid
あるいは triterpenoid の配糖体と推定された。しかし, compd A
の FD-MS において, m/z 576 (27%), 574 (100%) に M^+ と思われ
るピークが観察される他, それぞれ Na の付加した m/z 599
(31%), 597 (53%) のピークや 180 質量単位少ない m/z 396
(53%), 394 (16%) のフラグメントが観察された。以上の事実
より, compd A は類似した 2 種類以上の物質の混合物であると
予想された。

compd A のメタノリシスを行ない, 糖部 (51) と非糖部 (52)
を得た (Chart 17)。糖部 (51) は FD-MS で m/z 233 ($(M+K)^+$,
44%), 217 ($(M+Na)^+$, 100%) のピークを与え, ^{13}C -NMR スペクトル
における文献値との比較により, methyl α -D-glucopyra-
noside 及び methyl β -D-glucopyranoside の混合物である
ことが明らかとなった。⁵⁰⁾ 又, compd A の 1H -NMR スペクトル
において, 3.8-5.4 ppm に 9-10 個分の水素のシグナルが観察
されたこと, 4.97 ppm (1H, d, $J=7$) の anomeric 水素の結合
定数より, compd A は非糖部を異にする β -D-glucopyra-
noside の混合物と推定された。

非糖部 (52) は中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル) により
分離し, TLC 上単一スポットを与える aglycone-I (53) 及び
aglycone-II (54) を得, それぞれメタノール及びメタノール-
CHCl₃ より再結晶を行なった。aglycone-I (53) は MS や
 1H -, ^{13}C -NMR スペクトルより β -sitosterol (55) を主に含むと
推定された。しかし, その他 stigmasterol (56) や campeste-
rol (57) も副成分として存在している可能性が推定されたため,

ガスクロマトグラフ- (GLC)を行なったところ, β -sitosterol (55) 70%, stigmasterol (56) 20%, campesterol (57) 10%を
含むことが明らかとなった。



aglycone-II (54)はMSより m/z 416 (40%), 414 (100%), 412 (82%)に M^+ と思われるピークを与えた。aglycone-II (54)のアセチル化により得られたacetate (aglycone-II-Ac, 58)のMSにおいても, それぞれ42質量単位増加したピークが観察された。以上より, aglycone-II (54)は3種類以上の化合物の混合物と考えられた。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルでは 3.58 ppm (m) に水酸基のつけ根の水素のシグナルが観察され, 4.96, 5.07, 5.16 ppm にオレフィン水素シグナルが観察された。4.96と5.16

ppmの水素は $J=14\text{Hz}$ でカップリングしており, trans型二重結合を持つ化合物の存在を示唆している。又, ^{13}C -NMRスペクトルにおいて $117.5(\text{d}), 129.5(\text{d}), 138.2(\text{d}), 139.5(\text{s})$ ppmに4本のオレフィン炭素のシグナルが観察された。これらの値を C-29 sterol 類の ^{13}C -NMRスペクトルと比較したところ, $138.2, 129.5$ ppmのシグナルは Δ^{22} sterol類の $\text{C}(22), \text{C}(23)$ 位炭素と化学シフトが類似しており,⁵³⁾ $117.5, 139.5$ ppmは Δ^7 -sterol類の $\text{C}(7), \text{C}(8)$ 位炭素と類似していた。⁵³⁾ そこで, aglycone-II (58)は $\Delta^7,^{22}$ -sterol を含むことが予想され, 種々の植物から得られている α -spina-sterol (59)⁵⁴⁾ の可能性が考えられた。 α -spina-sterol (59) と $\text{C}(24)$ 位の立体配置のみを異にする chondrilla-sterol acetate の ^{13}C -NMRスペクトルが報告されているので,⁵³⁾ aglycone-II-Ac (58) と比較したところ, 58のシグナル中には chondrilla-sterol acetate のシグナル全てとそれぞれ一致するシグナルの存在が認められた。 chondrilla-sterol 及び α -spina-sterol (59) の分子量は412であり, aglycone-II (58) のMSでは m/z 412の他に414や416のピークが観察される。これらのピークは chondrilla-sterol 又は α -spina-sterol (59) の dihydro体及び tetrahydro体に相当すると考えられ, ^{13}C -NMRスペクトルにおいて, stigmasterol (61) と比較したところ, aglycone-II (58) 中には stigmasterol 由来のシグナル全てとそれぞれほぼ一致するシグナルが認められた。

次に aglycone-II (58) を GLC で検討し, 標品の α -spina-sterol (59), schottenol (Δ^7 -stigmasterol, 60), stigmasterol (61) と一致するピークが主として観察されたが, その他

微量成分として stigmasterol (56), campesterol (57) 及び未知化合物のピークが観察された。このことは, aglycone-II-Ac (58) の GLC についても同様であった。しかし, H_2/PtO_2 による aglycone-II-Ac (58) の Δ^{22} の還元体 62 の GLC では schottenol-Ac と一致するピーク (44%) は約 17% 増加したのみであり, stigmastanol-Ac と思われる 52% のピークが観察された (Table 15)。この事実と aglycone-II (54) の MS 及び 1H -, ^{13}C -NMR スペクトルにより, aglycone-II (54) 中に約 50% ほどの stigmastanol が含まれているわけではなく, Δ^7 体 (schottenol, 60) とほぼ同量の Δ^{22} 体 (Δ^{22} -stigmastanol, 63) が存在していると思われる。すなわち, aglycone-II-Ac (58) の還元により, α -spinasterol-Ac は schottenol-Ac に変換され, stigmasterol-Ac や Δ^{22} -stigmastanol-Ac は stigmastanol-Ac に変換されたと考えられる。なお, C(7), C(8) 位間二重結合は H_2/PtO_2 による還元抵抗し, 又, このような反応条件下

Table 15 GLC Data of Aglycone-II-acetate (58) and Its Reduced Product 62

aglycone-II-Ac (58)			reduced product of 58 (62)		
	RRT	%	RRT	%	
campesterol-Ac	1.69	1.9	1.70	3.8	
stigmasterol-Ac ($\Delta^{5,22}$)	1.84	5.2			
unknown	1.96	2.0			
α -spinasterol-Ac ($\Delta^{7,22}$)	2.17	63.3	2.12	52.0	stigmastanol-Ac
stigmastanol-Ac					
Δ^{22} -stigmastanol-Ac (Δ^{22})					
schottenol-Ac (Δ^7)	2.44	27.6	2.45	44.2	schottenol-Ac

RRT: relative retention time

Ac: acetate

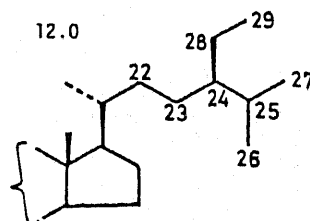
では、二重結合の移動は起こらないものと思われる。⁵⁴⁾

C(24)位のエチル基の立体配置に関しては、これまで述べてきたGLCや¹³C-NMRスペクトルでは、明確に決定することは困難である。J. L. C. Wrightらは、sterol類における側鎖のC(24)位の立体配置について、¹³C-NMRスペクトルで論じているが、C₂₉-sterolの場合はそれぞれのエピマー間の化学シフト差が小さいため、C(24)位の立体配置を決めることは難しいと述べている。⁵⁶⁾

しかし、C(24)-R体とC(24)-S体の化学シフト差が若干大きい、C(22), C(23)-dihydro体(62)ではC(24)-R体により近い値を示す(Table 16)。ゆえに、C(22), C(23)位間に二重結合の存在しているものでは、C(24)-S体となり、aglycone-II(54)は α -spinasterol(59), schottenol(Δ^7 -stigmastenol, 60), Δ^{22} -stigmastenol(63), stigmastanol(61)を主に含む

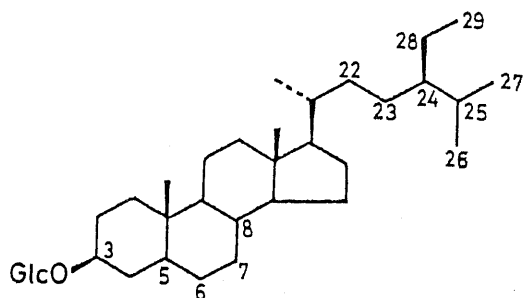
Table 16 Comparison of 62 with Some Standard Sterols in ¹³C-Chemical Shifts of Side Chain Carbons

C-	(24S)-24-ethyl-52) cholest-7-en-3-oAc	clionasterol 55) (24-S)	β -sitosterol 55) (24-R)	62
22	33.84	33.95	33.95	34.0
23	26.65	26.43	26.13	26.3
24	46.17	46.07	45.85	45.9
25	29.07	28.98	29.18	29.2
26	18.98	19.07	19.07	19.1
or 27	19.64	19.62	19.84	19.8
28	23.10	23.09	23.09	23.1
29	12.33	12.32	12.32	12.0



混合物と考えてよいものと思われる。

以上の結果より, compd A (50)は β -sitosterol (55), α -spinasterol (59), schottenol (Δ^7 -stigmastenol, 60), Δ^{22} -stigmastenol (63), stigmasterol (56), stigmastanol (61), campesterol (57)を非糖部とする β -D-glucopyranosideであることが明らかとなった。



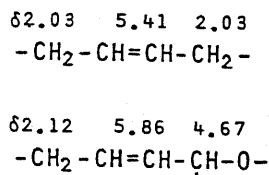
- Δ^5 : α -sitosterol (55)
- $\Delta^{5,22}$: stigmasterol (56)
- Δ^5 , C(24)-Me: campesterol (57)
- $\Delta^{7,22}$: β -spinasterol (59)
- Δ^7 : schottenol (60)
(= Δ^7 -stigmastanol)
- stigmastanol (61)
- Δ^{22} : Δ^{22} -stigmastenol (63)

第三節 Cerebroside (Compd B₁) の化学構造

蕃杏, *Tetragoniae Herba* より抗潰瘍活性物質である compd A 及び B₁ を得, compd A に関しては本章第二節で述べたように, いくつかの sterylglucoside の混合物であった。compd B₁ はより強い抑制活性を有し, その構造研究の過程で compd B₁-a と B₁-b の二種の幾何異性体の混合物であることが判明した。しかし, 途中の構造研究は混合物のまま支障がないため, 分離せずに行ない, 最終的に geometry を決定する段階でそれぞれの異性体に分離した。

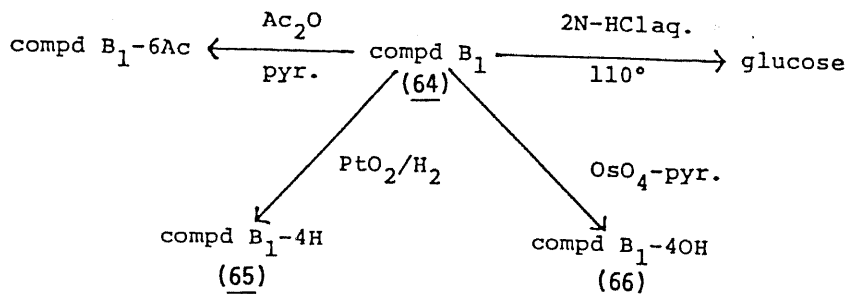
compd B₁ (64) はメタノール-水より白色沈殿として得られ、FD-MS² (M+Na)⁺が m/z 736 (100%) に観察された。本物質は吸湿性のため、hexaacetate (compd B₁-6Ac) の元素分析及びMSから得られた分子式、C₅₂H₈₇NO₁₅ から、compd B₁ の分子式は C₄₀H₇₅NO₉ と推定された。compd B₁ の呈色試験 (anthrone 及び modified Molisch 試験 陽性) より、分子内に糖の存在が示唆された。そこで、compd B₁ を 2N-HCl 溶液で加水分解したところ、TLC で glucose と一致するスポットが観察された (chart 18)。¹H-NMR スペクトルでは、4-5 ppm に 11-13 H 分のシグナルが観察され、4.82 ppm (1H, d, J=7) に anomeric 水素のシグナルが観察された。¹³C-NMR スペクトルにおいて、50-80 ppm に三級炭素 (7個)、二級炭素 (2個)、又、105.6 ppm に anomeric 炭素が観察された。その中で、105.6 (d), 75.0 (d), 78.4 (d), 71.5 (d), 78.4 (d), 62.6 (t) ppm の各シグナルは methyl-β-D-glucopyranoside の C(1)-C(6) 位の文献値⁵⁾とそれぞれ良く一致した。以上の事実より compd B₁ は 1 個の glucose が β 結合している構造を有すると推定された。¹H-NMR スペクトルで、1.25 ppm に singlet 様の大きなシグナルが観察され、IR スペクトルでは 2920-2850, 1468, 722 cm⁻¹ の吸収が観察されることから、脂肪族長鎖炭素の存在が示唆された。2 組のオレフィン水素が 5.41, 5.86 ppm (each 2H, m) に観察されるが、これらは約 2.03 及び 2.12 ppm のメチレン・シグナルの照射により sharpening する。5.86 ppm のオレフィン・シグナルは、又、4.67 ppm 付近

Fig. 15



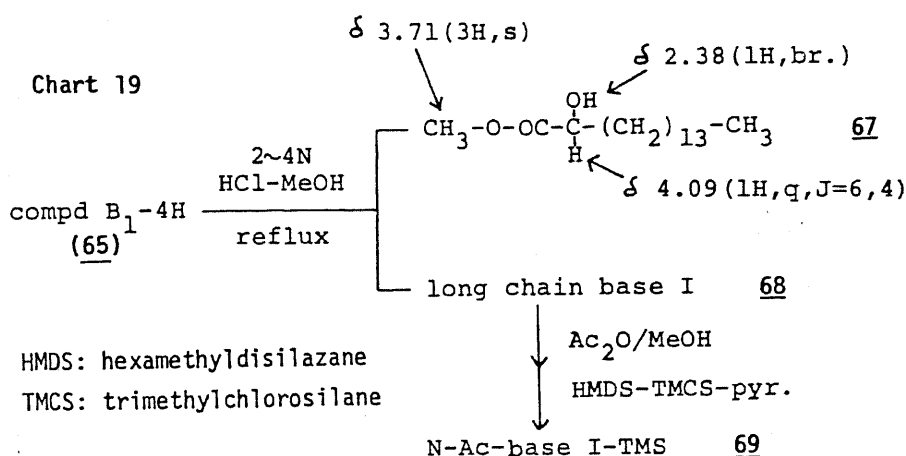
の照射により sharpening する。これらのデータより, Fig. 15に示した二重結合を含む2組の部分構造が考えられた。

Chart 18



compd B_1 (64)は PtO_2 触媒の接触還元で tetrahydro 体 (compd B_1-4H , 65) を与え, OsO_4 による酸化で tetrahydroxy 体 (compd B_1-4OH , 66) を与えた (Chart 18)。これらの知見は compd B_1 が2組の二重結合を有することを支持している。しかしながら, compd B_1 の ^{13}C -NMR スペクトルでは sp^2 -炭素シグナルは4本ではなく5本観察された。そこで, compd B_1 は二重結合に関する2種の幾何異性体の混合物である可能性が考えられた。

IR スペクトルで, 1640 cm^{-1} にアミド・カルボニルの吸収が観察され, ^{13}C -NMR スペクトルで 176.4 ppm のシグナルもアミドの存在を支持している。そこで, まず compd B_1-4H (65) の $2-4N\text{ HCl}$ -メタノールによるメタノリシスを行なったところ, 脂肪酸のメチルエステル (67) 及び long chain base I (68) が得られた (Chart 19)。67 の MS におけるフラグメント・パターンは C_{16} 直鎖脂肪酸エステルであることを示唆した。 1H -NMR スペクトルにおいて, 2.38 ppm に水酸基, 4.09 ppm ($1H, q, J=6.4$)

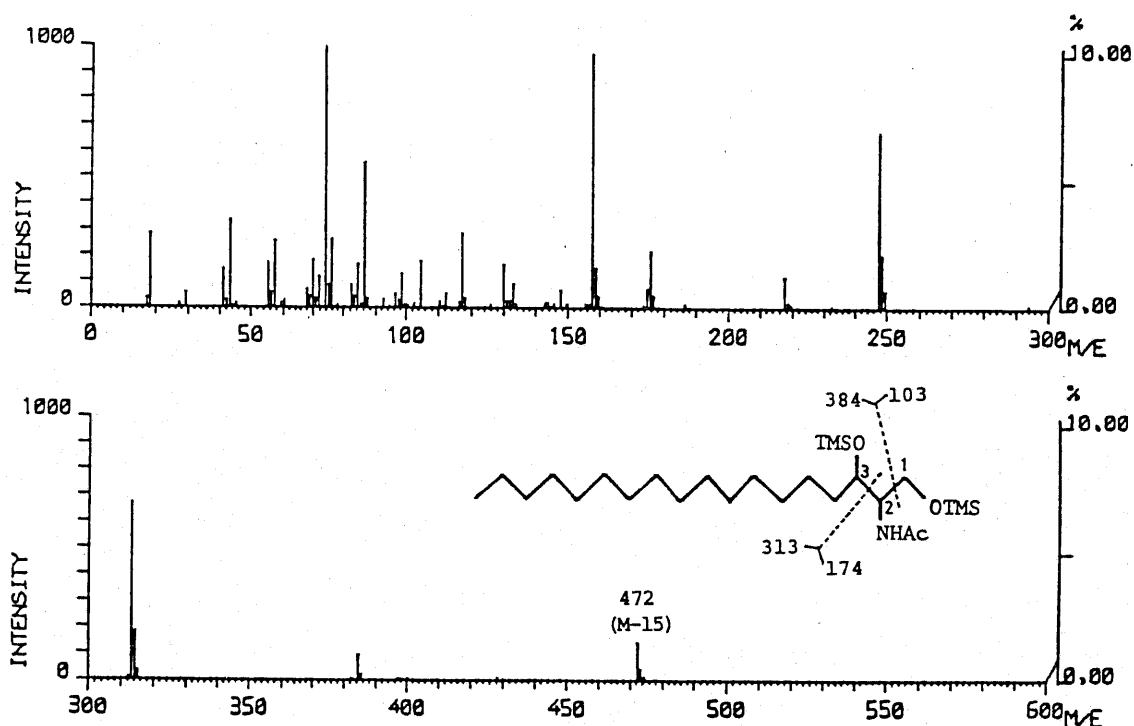


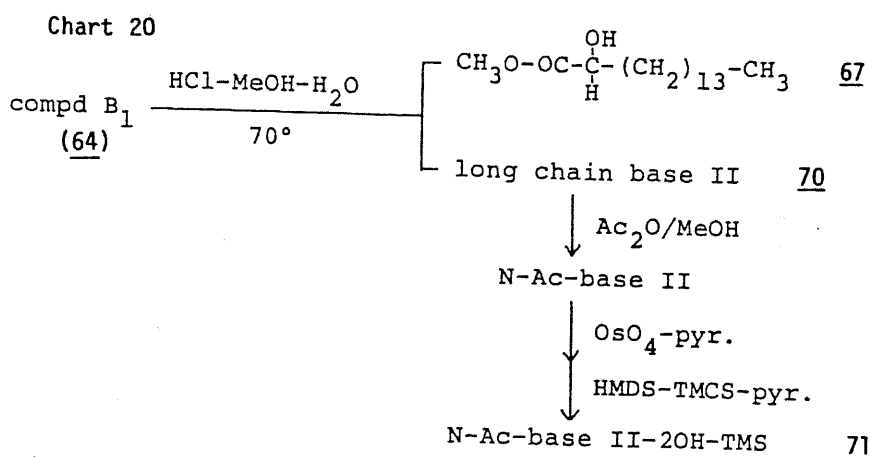
にそのつけ根のメチン水素シグナルが観察されることから、
 $-\text{CO}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-$ の存在が示され、かつ、カルボニルの隣
 接位メチレンに相当するシグナルは認められなかった。以上の
 事実より、エステル 67 を methyl 2-hydroxypalmitate と推
 定し、文献値の MS と比較することで同定した。⁵⁷⁾ long chain
 base I (68) は TLC において ninhydrin 陽性を示した。¹H-
 NMR スペクトルでは 0.88 ppm の triplet 様シグナル (3H, t-
 like, J=6), 1.28 ppm の singlet 様の大きなメチレンシグナ
 ルが観察された。これらのデータ、及び MS で特徴的な 14 質
 量単位で切れたフラグメントが認められることから、68 は直鎖
 状飽和炭化水素を有することを示唆した。compd B₁ はアセチ
 ル化により hexaacetate を与えたことから、glucose 部分を除
 いて、結合にあずかっていない水酸基は 2 個と考えられる。
 compd B₁-4H (65) においても同様であり、この 2 個の水酸基
 のうち、1 個はエステル 67 に存在することから、他の 1 個は
 long chain base I (68) に存在することになる。68 は、さら

に脂肪酸に結合するアミノ基と glucose 部分に結合する水酸基を持つと考えられる。これらの事実及び 68 の trimethylsilyl (TMS) 誘導体の MS は long chain base I (68) が sphinganine である可能性を示唆した。そこで、68 を市販の sphingosine より誘導した sphinganine と直接比較したところ、TLC において一致した。又、68 の N-acetyl-O-TMS 誘導体 69 は MS において 2-N-acetyl-1,3-di-O-TMS-sphinganine の文献値と一致した⁵⁸⁾ (Fig. 16)。以上の結果より、compd B₁-4H (65) は β -D-glucose, 2-hydroxypalmitic acid 及び sphinganine より成る、一種の cerebroside であることが推定された。

Fig. 16

N-acetyl-1,3-di-O-trimethylsilyl-sphinganine
(N-Ac-base I-TMS)

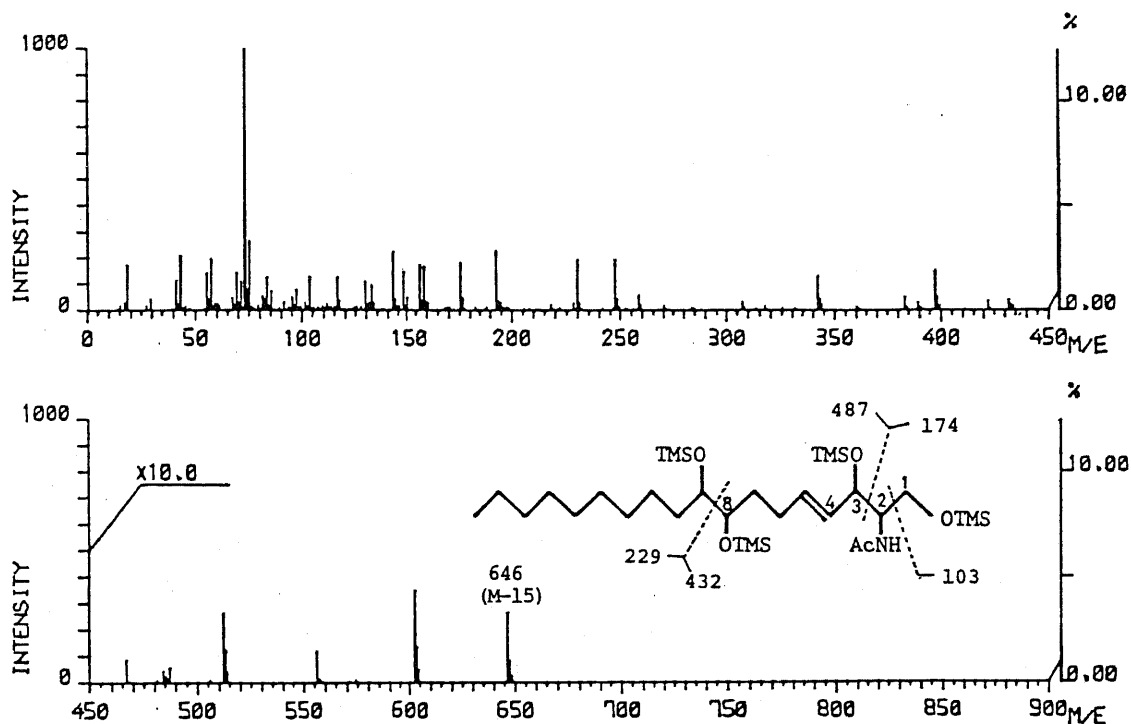




compd B₁ (64) の 1N HCl-メタノール-水⁵⁹⁾ によるメタリシスは methyl 2-hydroxypalmitate (67) と共に少量ながら long chain base II (70) を与えた (Chart 20)。compd B₁-4H (65) のメタリシスと同様にエステル 67 を与えたことから、compd B₁ (64) に存在する二重結合は、2 つとも long chain base II (70) に由来していると推定された。この二重結合の一方に関しては、Fig. 15 に示されたように、水酸基を有する炭素に隣接しているため、C(4)位に存在することになる。他方の二重結合の位置に関しては次のように決定した。long chain base II (70) を N-アセチル化後、等モルの OsO₄ により酸化し、N-acetyl-dihydroxy 誘導体を得た。このものの TMS 誘導体 (N-Ac-base II-2OH-TMS, 71) は、MS において C(8), C(9) 位間で切れた特徴的なフラグメントである m/z 229 (23%) 及び 432 (9%) を示した (Fig. 17)。ゆえに、long chain base II (70) の二重結合は C(4), C(5) 位及び C(8), C(9) 位間に存在すると推定された。OsO₄ 酸化において、C(8) 位の二重

Fig. 17

N-acetyl-8,9-dihydroxy-1,3,8,9-tetra-O-trimethylsilyl-sphingosine
(N-Ac-base II-2OH-TMS)



結合はC(4)位のそれよりも酸化を受けやすいと考えられ、妥当と思われる。従って、long chain base II (70) は sphinga-4,8-dienin であり、本物質はカキの glucolipid⁽⁶⁰⁾ やある種の植物の cerebroside⁽⁶¹⁾ より GC-MS で認められており、又、小麦粉の脂質より triacetyl 誘導体として単離されている。⁽⁶²⁾ 以上の結果、compd B₁ (64) は 1-O-β-D-glucopyranosyl-2-N-2'-hydroxypalmitoyl-sphinga-4,8-dienine の幾何異性体混合物であることが明らかとなった。さらに、compd B₁ (64) 及び compd B₁-4OH (65) の TMS 誘導体の MS データも提出された構造を支持している (Fig. 18, 19)。

Fig. 18

compd B₁-TMS

87

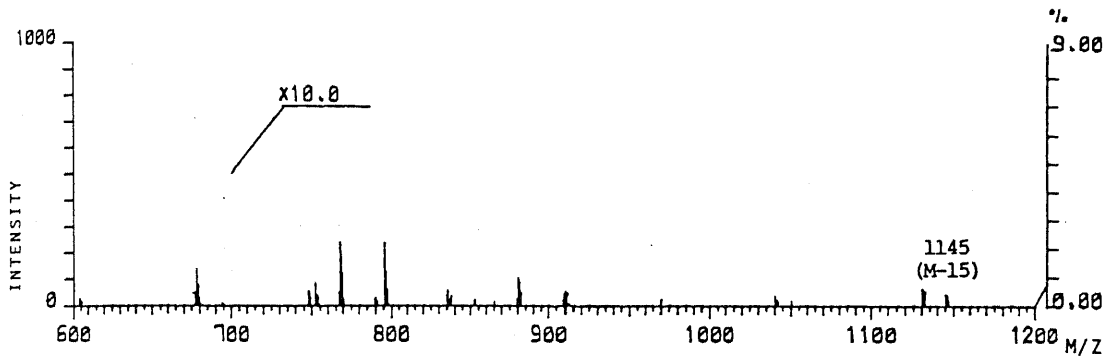
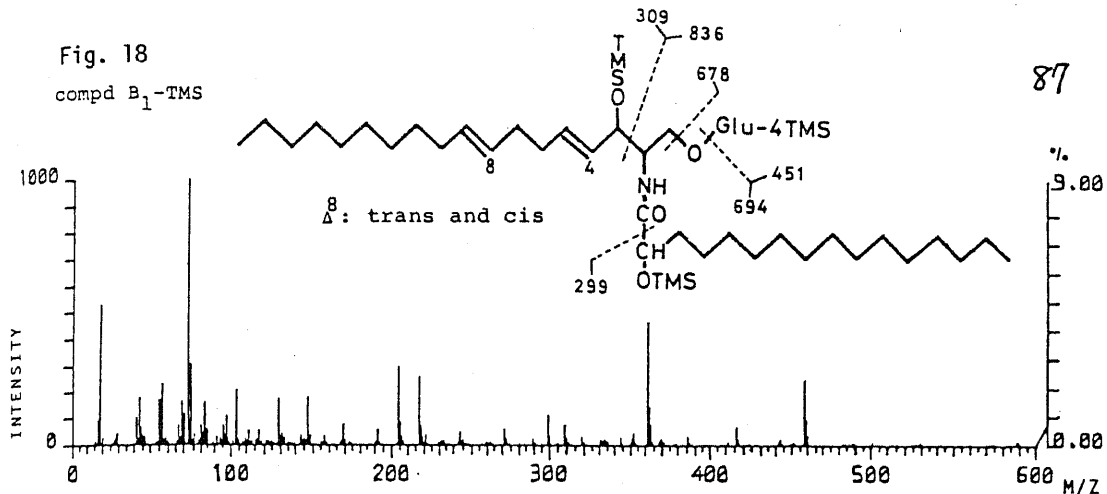
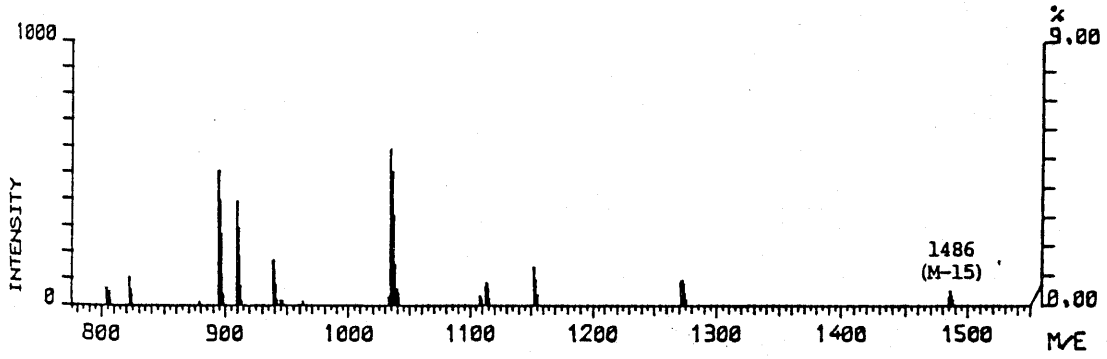
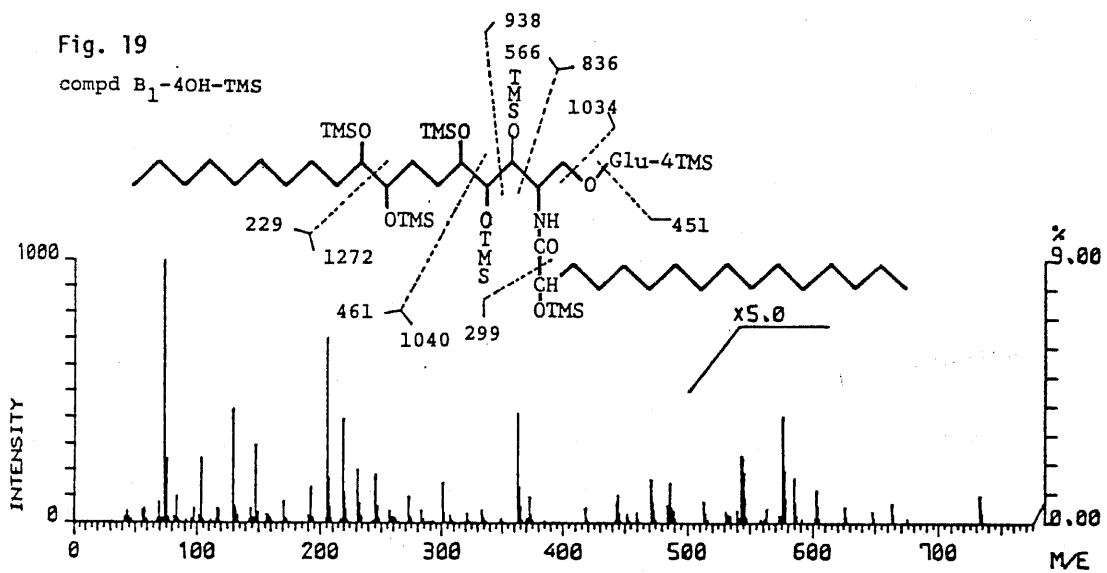


Fig. 19

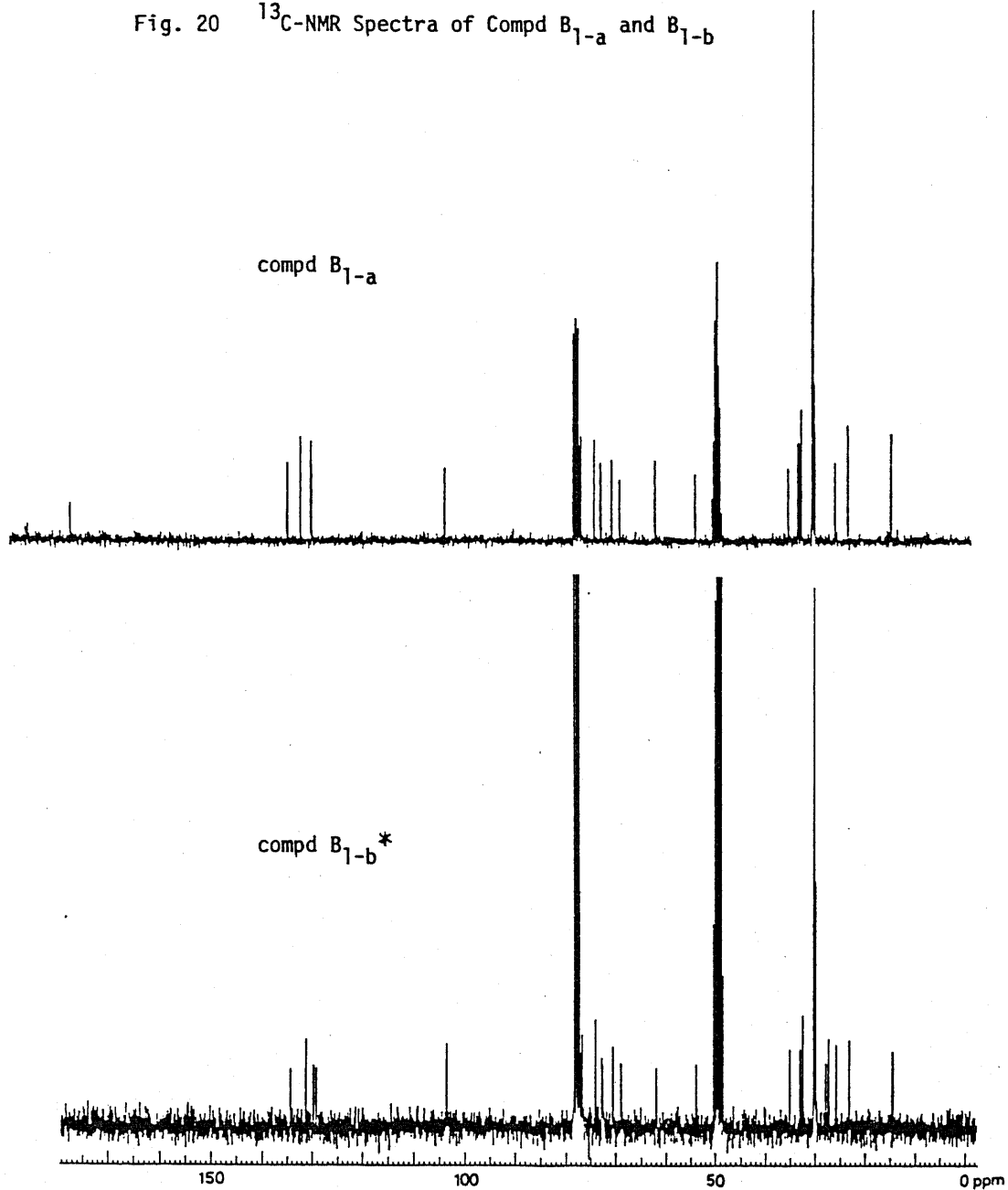
compd B₁-4OH-TMS



sphingosine 類における二重結合の geometry は, IR スペクトルにおける cis 及び trans 二重結合吸収帯やその強度比較で決められていることが多いが, この方法では確実でないと思われる。compd B₁ (64) の ¹H-NMR スペクトルにおいて, d-セロリン中で 5.86 ppm に 2H を観察された C(4), C(5) 位のオレフィン・シグナルは CDCl₃-CD₃OD 中で 5.38, 5.70 ppm (each 1H, m) に分離して観察された。2.06 ppm の照射により, これらのシグナルは doublet of doublets (J=16, 6) と doublet (J=16) にそれぞれ変化した。両水素の結合定数 J=16 Hz より, C(4) 位の二重結合は trans であることが明らかとなった。一方, C(8), C(9) 位水素間の結合定数は, これらのシグナルが完全に重なってしまうために観察されなかった。そこで, 2つの幾何異性体に分離することを試みた。

シリカゲル pre-packed column を用いた中圧カラムクロマトグラフィーにより, compd B₁ (64) を compd B_{1-a} (72, major) と B_{1-b} (73, minor) に分離した。これら両化合物の 67.8 MHz ¹³C-NMR スペクトルを Fig. 20 に示した。compd B_{1-b} のオレフィン炭素のうち 2本のシグナル (129.78, 134.32 ppm) は compd B_{1-a} (129.73, 134.39 ppm) とほぼ一致するが, 他の 2つのシグナル (129.20, 131.24 ppm) は compd B_{1-a} (129.58, 131.69 ppm) よりもそれぞれ若干高磁場に観察される。

compd B_{1-b} のメチレン炭素は, 27.34, 27.90 ppm の 2本のシグナルを除いて, compd B_{1-a} と類似の化学シフトを有する。又, compd B_{1-a} において, compd B_{1-b} と化学シフトが異なるメチレン・シグナルは, 32.76, 33.16 ppm に観察される。cis-

Fig. 20 ^{13}C -NMR Spectra of Compd B_{1-a} and B_{1-b}

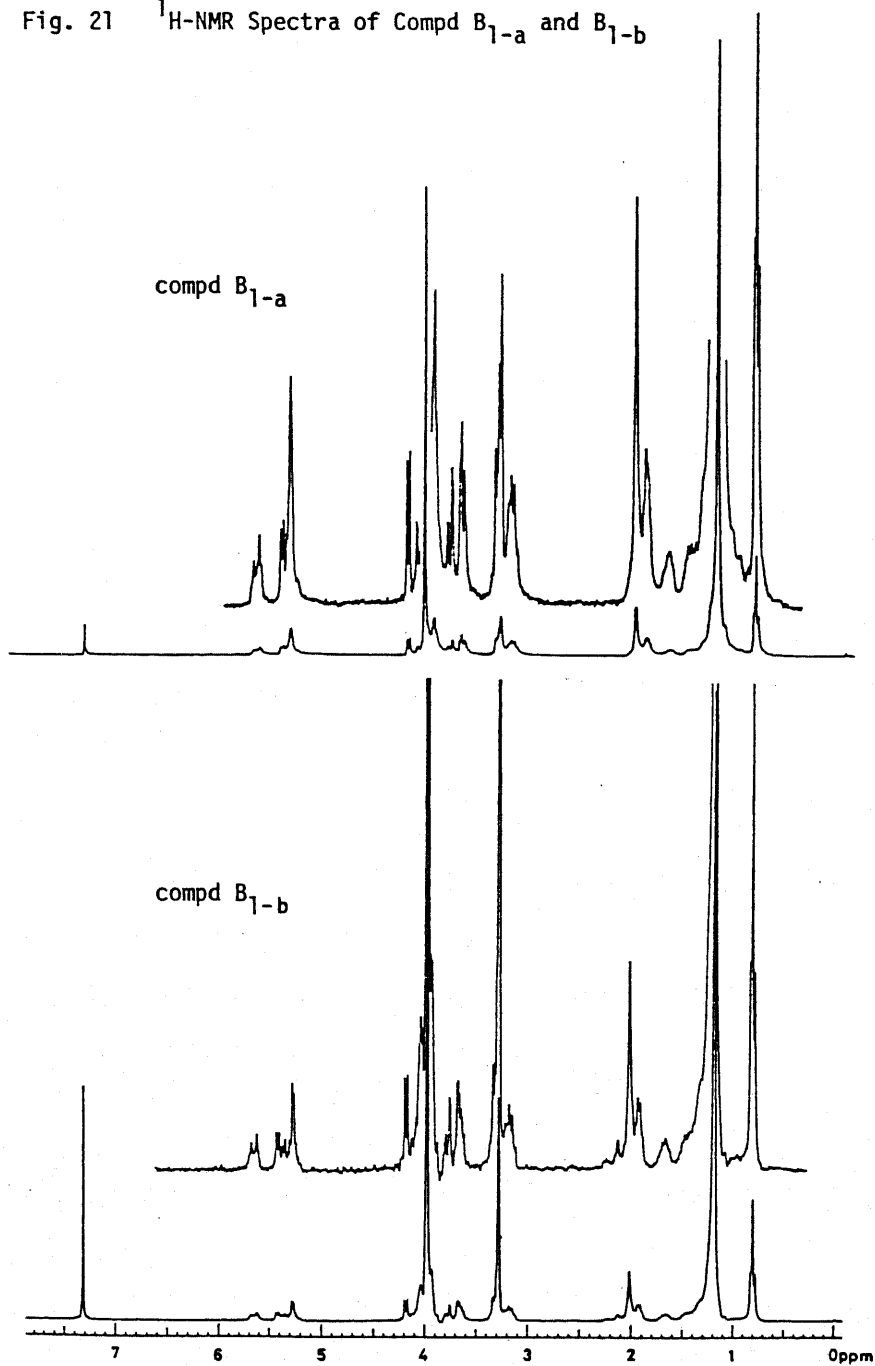
*: サンプルが少量のため、アミド・カルボニルのシグナルは観察されなかった。

オレフィン炭素は対応する trans 体と比較し、若干高磁場に観測され、その α 炭素では明らかに shielding (約 6 ppm) が観測されるという知見がある。⁶³⁾ compd B_{1-b} の α 炭素、シグナルと考えられる 27.34, 27.90 ppm の炭素は compd B_{1-a} の相当するシグナル、32.76, 33.16 ppm の炭素よりも明らかに shield されている。以上の事実から、compd B_{1-a} は α -trans- β -trans、compd B_{1-b} は α -trans- β -cis であることが示された。

Fig. 21 に compd B_{1-a} 及び B_{1-b} の 270 MHz ¹H-NMR スペクトルを提示した。なお、anomeric 部位の C-H geminal 結合定数、 $J = 159$ Hz (compd B_{1-a}) 及び 162 Hz (compd B_{1-b}) は、これらが β -anomer であることを支持している。

compd B_{1-a} 及び B_{1-b} の sphingenine 部分における C(2), C(3) 位の立体配置は、天然由来の sphingosine 類のほとんどが erythro 体であることから、⁶⁴⁾ D-erythro と考えている。

Fig. 21 $^1\text{H-NMR}$ Spectra of Compd B_{1-a} and B_{1-b}



第四節 蕃杏 *Tetragoniae Herba* 成分の生物活性

compd A はマウス拘束水浸ストレス潰瘍に対し 100 mg/kg 腹腔内投与では有意な活性を示さず, 300 mg/kg 投与により 75% ($P < 0.001$) の活性を示した。compd A の非糖部である aglycone I (53) は 100 mg/kg 腹腔内投与で 61% ($P < 0.05$) の活性を示した。そこで β -sitosterol, stigmasterol の活性を調べたところ, それぞれ 73% ($P < 0.01$, 100 mg/kg), 67% ($P < 0.05$, 100 mg/kg) を示し, 抗潰瘍活性はこのような steroid 一般に認められることが明らかとなった。なお, compd A は精製することで非常に難溶性になることから, compd A の活性には吸収の問題も関与しているように思われる。経口投与においては, compd A 300 mg/kg で有意な活性を示さなかった。

compd B₁ は一種の cerebroside であるが, cerebroside は脳⁶⁵⁾ や神経⁶⁶⁾, その他の器管⁶⁷⁾ の構成成分として, 又, ミルク⁶⁸⁾, サキ⁶⁹⁾, ある種の植物⁶⁹⁾ 等に含まれており, 天然に広く分布している。cerebroside は gaucher 病⁷⁰⁾ のような lipidoses や免疫活性⁷¹⁾ との関係から生化学的に調べられ, 又, その構成成分は種特異性や臓器特異性と関連して, 多くの分析がなされている。しかしながら, 薬理的な研究はほとんど行なわれていないように思われる。

compd B₁ が, 100 mg/kg 腹腔内投与において 76% ($P < 0.01$) と比較的高い抗拘束水浸ストレス潰瘍活性を有することが明らかになったため, 数種の植物由来の cerebroside

Table 17 Effect of Cerebrosides on Stress-induced Ulcer

Source	Protective ratio (%)	Statistical significance
Bankyoo (compd B ₁)	76	p<0.01
alfalfa	55	p<0.05
soybean	74	p<0.001
rice bran	33	N.S.
wheat bran	18	N.S.

Test compounds were administered intraperitoneally at the dose of 100 mg/kg. N.S.: no significance

について、抗潰瘍活性を調べた (Table 17)。その結果、蕃杏の他、大豆及びアルファルファから得た cerebroside は有意な活性を示した。しかし、製剤を変えることにより (0.4 W/V% 粗レシチン液 + 1 W/V% ブドウ糖液に懸濁)、大豆 71% (P<0.001)、米ぬか 79% (P<0.001)、フスマ 46% (P<0.05) において有意な活性が認められた。又、動物由来の cerebroside 及びいくつかの合成 glyceroglycolipid について活性を調べ、その結果を Table 18 に示した。gaucher 病患者から得られた gluco-cerebroside 79% (P<0.01) 及び入脳からの galacto-cerebroside 89% (P<0.001) に高い活性が認められた。なお、ブタ脊髄からの cerebroside は有意な活性を示さなかったが、製剤を変えることにより (0.4 W/V% 粗レシチン + 1 W/V% ブドウ糖液に懸濁)、65% (P<0.01) の有意な活性が認められた。これらの cerebroside における構造活性相関に関しては、さらに検討中である。

compd B₁は pentobarbital による催眠を延長し、又、
tremorine による Tremor 発現時間を遅らせる等の知見も得
られた。そこで、現在、原料供給との兼ねから、大豆 cerebro-
side 等を用いて、種々の興味ある薬理データが蓄積されつ
つある。⁽⁵⁾

第五章 連銭草 *glechomae* Herba の抗拘束水浸 ストレス潰瘍活性物質

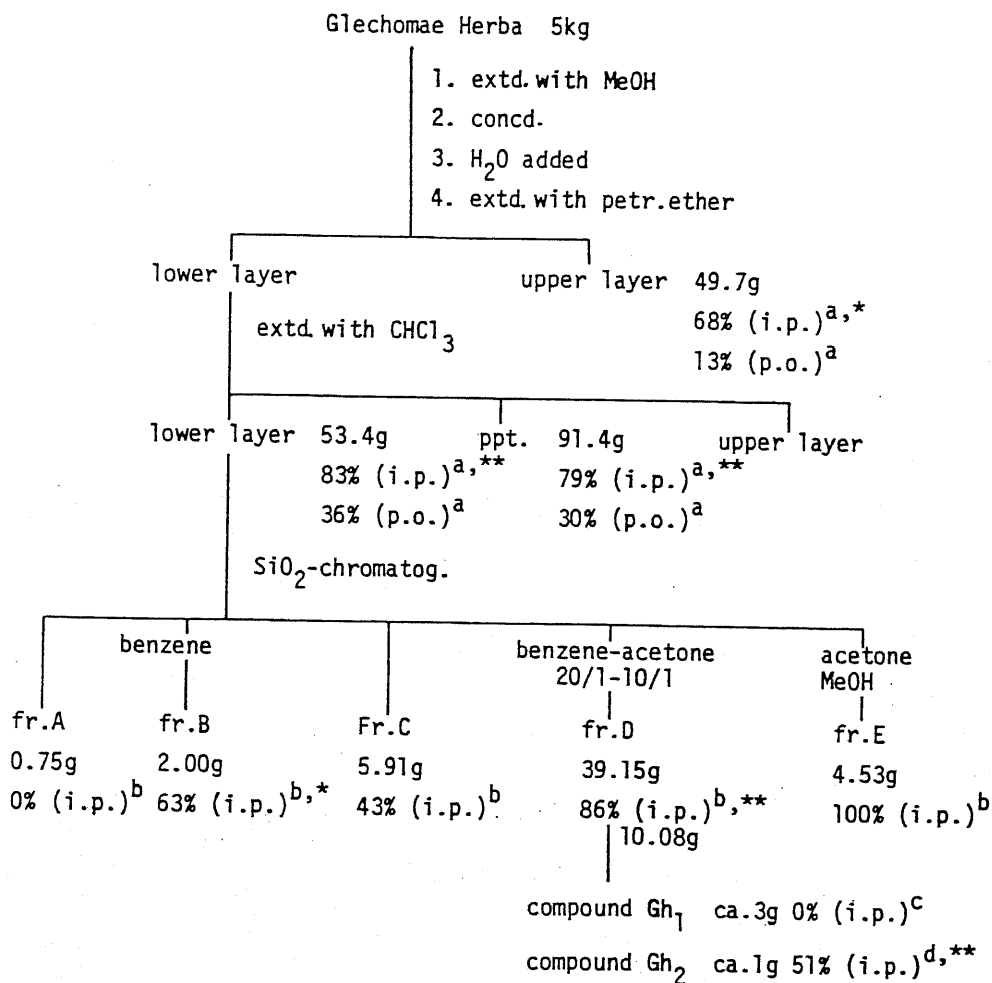
連銭草, *glechomae* Herba は シソ科 (Labiatae) カキトウシ (*glechoma hederacea* Linné subsp. *grandis* Hara) の花期の全草である。薬用として, 俗に小児の疳を治するに用いるとされ, 又, 欧州では強壯剤として民間に賞用される。⁴⁶⁾ 成分としては *l*-pinocamphone, *l*-menthone 等の精油成分, 各種アミノ酸, β -sitosterol, salvigenin, ursolic acid 及びその誘導体等が知られている。⁷²⁾⁷³⁾

第一節 抗拘束水浸ストレス潰瘍活性物質の分離

連銭草, *glechomae* Herba (5kg) をメタノールで冷浸し, 得られたエキスを, マウスに対する抗拘束水浸ストレス潰瘍活性を指標として, Chart 21 に示すように分離を行なった。メタノール・エキスは濃縮後, 水を加え, 石油エーテルで脱脂し, さらに CHCl_3 で抽出した。 CHCl_3 エキスはシリカゲル・カラムクロマトグラフィーで分画し, 得られた抗潰瘍活性の強い分画部を再度クロマトグラフィーを行ない, compound Gh_1 (約 3g), compound Gh_2 (約 1g) と仮称した化合物を得た。それぞれの活性は, 腹腔内投与で 0% (200mg/kg), 51% ($P < 0.01$, 100mg/kg) であり, compound Gh_2 が連銭草の抗潰瘍活性を担っていると考えられた。しかし, 両者の物理化学的性質が良く似ていたため, まず compound Gh_1 の構造を明らかにし

た。なお、分画の過程で活性の分散が認められたが、このことに関しは本章第四節で述べる。又、fr. Eに観察された強い活性は高極性の重合体によると思われたので精査しなかった。

Chart 21



a 1000mg/kg, b 750mg/kg, c 200mg/kg, d 100mg/kg

i.p.: intraperitoneal injection, p.o.: oral administration

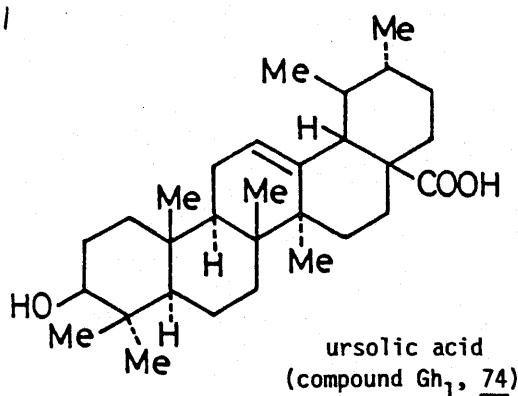
Asterisk indicates a significant difference from control

(* p<0.05, ** p<0.01) (49)

第二節 Ursolic Acid (Compound Gh₁)の同定

compound Gh₁ (74)はエタノールより mp 274.5-276°Cの無色針状晶として得られた。MSで m/z 456に M⁺を与え、Liebermann-Burchard 反応陽性であることより steroid 又は triterpenoid と推定された。IR スペクトルで水酸基 (3425 cm⁻¹), カルボキシ基 (1716, 1698 cm⁻¹) の存在が示唆された。¹H-NMR スペクトルにおいて, 0.96-1.24 ppm に7個のメチル基のシグナルが観察され, 又, 3.40 ppm (1H, dd, J=8.7), 5.40 (1H, m) にそれぞれ水酸基のつけ根の水素及びオレフィン水素のシグナルが観察された。以上のデータ及び MSで m/z 248 (100%), 203 (39%), 33 (26%) の特徴的なフラグメントが認められることから⁷²⁾ compound Gh₁ は C(17)位にカルボキシ基を有する Δ¹²-ursene 又は Δ¹²-oleanene と推定された。さらに, ¹H-NMR スペクトルで C(18)位のメチン水素が 2.58 ppm に doublet (J=11) で観察されたことから, compound Gh₁ は hydroxyurs-12-ene-28-oic acid と推定された。連鎖草からは先に精油成分を始めとして, いくつかの成分が得られているが⁷²⁾⁷³⁾ compound Gh₁

(74)はその中の ursolic acid に相当すると考えられたため, 標品と比較したところ, TLC (Kieselgel 60F₂₅₄; CHCl₃-メタノール 6=1, バンゼン-アセトン 5=1, HPTLC RP-8;

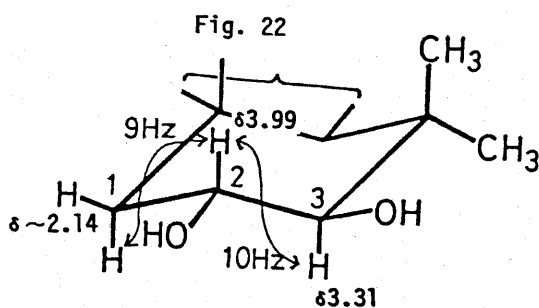


MeOH) で一致した。又、両者の acetate は TLC (ursolic acid の条件と同じ)、IR スペクトルで一致し、混融において融点降下を示さなかった。

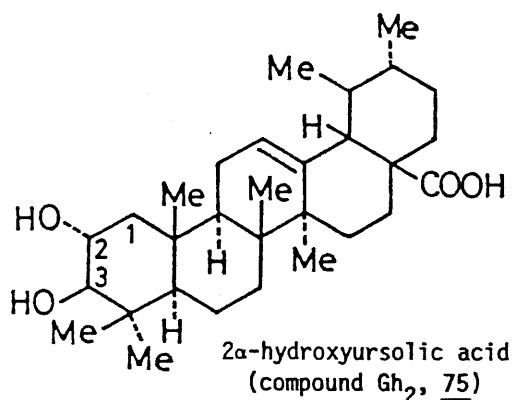
第三節 2 α -Hydroxyursolic Acid (Compound Gh₂) の化学構造

compound Gh₂ はアセトンより mp 250-251°C の白色粉末として得られた。各種スペクトルは compound Gh₁ (74) に類似しており、MS で compound Gh₁ より 16 質量単位多い m/z 472 に M⁺ を示すこと、アセチル化で diacetate が得られたことから、compound Gh₁ に 1 個の水酸基が結合した dihydroxy-urs-12-ene-28-oic acid と推定した。水酸基の結合位置及び立体配置は ¹H-NMR スペクトルから以下のように推定した。3.31 ppm (1H, d, J=10) に観察されるシグナルは C(3) 位水酸基のつけ根の水素と推定され、その水素とカップリングしている水素が 3.99 ppm (1H, m) に観察されることから、C(2) 位と C(3) 位に水酸基を有することが示される。又、これらの結合定数 J=10 Hz より、C(2) 位と C(3) 位の水素は diaxial の関係にあると推定された。

C(2)-H は 2.14 ppm 付近のシグナルの照射により、quartet (J=10, 9) に変化し、C(1) 位の 2 個の水素のうち一方と、やはり di-



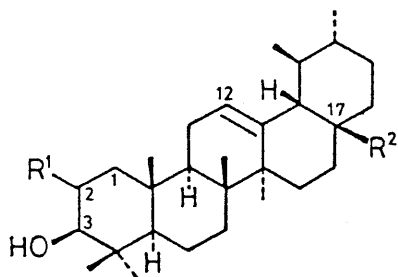
axialの関係にあると思われた (Fig. 22)。ゆえに, C(2)位水酸基は α 配置, C(3)位水酸基は β 配置となり, compound Gh₂ は 2 α -hydroxyursolic acid (75) と推定された。本物質は Chamaenerion angustifolium⁷⁵⁾, Doona sp.⁷⁶⁾ に含まれていることがすでに報告されている。



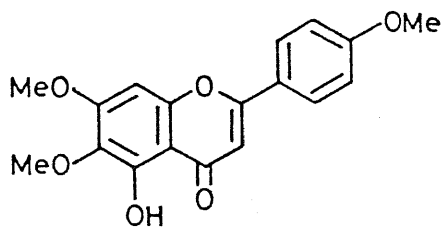
第四節 連銭草 *glechomae* Herba 成分の生物活性

2 α -hydroxyursolic acid (75) はマウスに対する抗拘束水浸ストレス活性として 5% ($P < 0.01$, 腹腔内投与) の抑制活性を示し, 連銭草の抗潰瘍活性を主に担っていると考えられた。しかし, 分離の過程において, 本物質の得られた fr. D 以外にも活性は若干分散して観察され (chart 21), TLC 上いくつかのスポットが認められた。連銭草の成分に関しては, すでに 2, 3 の報告があるので,^{72) 73)} これらのスポットについてはそれ以上の精査をせず, 東北大学・野副教授より頂いた標品との比較を行なったところ, fr. C 及び D に認められたスポットが 2 β -hydroxyursolic acid (76) 及び uvaol (77) と TLC 上一致した。そこで, 供与された標品を用いて抗潰瘍活性を調べた結果, 100 mg/kg 腹腔内投与において, 2 β -hydroxyursolic acid (76) は 36%, uvaol (77) は 59% ($P < 0.01$),

Fig. 23



R ¹	R ²	
H	CO ₂ H	ursolic acid (0%)
α-OH	CO ₂ H	2α-hydroxyursolic acid (51%)
β-OH	CO ₂ H	2β-hydroxyursolic acid (36%)
H	CH ₂ OH	uvaol (59%)



salvigenin (11%)



caffeic acid (-19%)

(): protective ratio against the ulcer formation

salvigenin (18) は 11% の抑制率を示し, caffeic acid (22) は -19% と悪化傾向を示した (Fig. 23)。ゆえに, 連銭草の抗潰瘍活性は, ursolic acid 自体にはないが, その関連化合物が担っているものと思われた。

連銭草は古来小児の疳押えに良いとされ, 鎮静効果を持つことも期待されている。今回認められた ursolic acid 関連化合物の抗ストレス潰瘍効果と期待される連銭草の薬効との関連については, さらに詳細な研究の結果を待つねはならないが, ursolic acid 関連化合物に抗ストレス潰瘍活性のごとき特異な活性が見出されたことは初めての知見であり, 医薬資源の見地から興味深いと思われる。

結 論

生物活性, 特に向神経作用を有する天然物を得ることを目的として, 真菌の毒性株3種 (Aspergillus fumigatus IFM 4482, Penicillium paraherquei IFO 6234, Talaromyces bacillosporus NHL 2660) 及び生薬2種 (蕃杏 Tetragoniae Herba, 連銭草 glechomae Herba) の成分研究を行なった。

真菌においては, マウスに対する毒性活性を指標として分離を行なった。Aspergillus fumigatus IFM 4482 の菌体抽出エキスより, tryptoguivaline C, D*, E*, F*, G*, H*, I*, J*, L*, M*, N* (*は新物質) 及び sydowinin A を分離した。このうち tryptoguivaline C, D に関してはスペクトル・データ及び酸化分解物を検討し, それらの構造を推定した後, 最終的には, X線構造解析で相対構造の決定された tryptoguivaline³⁾, nortryptoguivaline⁸⁾⁹⁾ (Aspergillus clavatus より分離) と直接同定した。著者らは tryptoguivaline D の分解反応で C(15)位の立体配置を決定していることから, tryptoguivaline D に関しては, 絶対構造が決定されたことになる。その他の tryptoguivaline 類の構造は tryptoguivaline C, D とのスペクトル・データ等の比較により推定した。なお, tryptoguivaline N は, A. clavatus から deoxynortryptoguivaline として同一構造の化合物が得られたので⁸⁾, このものと直接同定した。さらに, 重メタノール中でのエヒ化により, C(12)位のみが変化することを証明し, tryptoguivaline D と M, E と

H, JとF, GとLが互いにC(12)位に関するエピマーであるとの関連をつけた。sydowinin Aは既知化合物であり、標品と同定した。

Penicillium paraherquei IFO 6234より、特異な構造を有する paraherquamide 及び paraherquonin を得、X線構造解析によりこれらの相対構造を決定した。paraherquamide は本菌の毒性本体と思われ、又、強い向神経作用を有する可能性がある。そこで、IFO 6234株での生産性の検討や他の同種異株についての生産の有無を検討した。paraherquonin は一種の meroterpenoid であることから、他の meroterpenoid と生合成的に関連づけた。

Talaromyces bacillosporinus NHL 2660より新 modified phenalenone dimer である bacillosporin A, B, C 及び pinselin を得た。bacillosporin A, B に関しては、構造既知の neoclauxin とスペクトル・データを比較することによりこれらの構造を推定した。さらに、X線構造解析によりその絶対構造が決定されている duclauxin と関連づけることにより構造決定されている xenoclauxin \wedge bacillosporin A を導き、又、bacillosporin A を B に導くことで、これらの構造を確実にした。bacillosporin C は bacillosporin A, B とのスペクトル・データの比較や、反応物を含めた MS のデータにより、その構造を推定した。pinselin は既知化合物であり、標品と同定した。

これら真菌より得られた代謝産物の生物活性として、tryptoguinvalin 類にはマウスに対し致死毒性を有するものが有り、

又, tremorgenとの報告もなされている。paraherquamideはマウスに対し強い致死毒性を有し, 又, 強い向神経作用物質である可能性がある。paraherquoninはそれ自体には致死毒性は認められなかったが, 生合成的に興味ある化合物で, その生合成中間体を同じにすると考えられる austin, Terretinin等はマイコトキシンとして報告されている。²⁷⁾²⁸⁾ bacillosporin類は抗菌活性を持つものが有り, bacillosporin Aはミトコンドリアに対する強いアンカフラー作用が認められ, 細胞毒性を有することが示唆された。又, 抗腫瘍活性も期待されている。このような二量体は細胞に対して photosensitization の作用を有するという報告も有る。³³⁾

一方, 生物活性物質, 特に向神経作用物質の検索を菌類から生薬まで広げるために, 抗拘束水浸ストレス潰瘍活性を指標とする検定法が有用との知見を得, これを指標に用いて生薬の生物活性物質を検討した。生薬素材としては, 山崎らが行なった66種の生薬のスクリーニングにより, 高い活性を有した蕃杏 (Tetragoniae Herba) 及び連銭草 (Glechomae Herba) を取り上げた。⁴³⁾ 活性成分として, 前者より sterylglucoside 混合物 (compd A), cerebroside (compd B1-a, B1-b), 後者より 2 α -hydroxyursolic acid (compound Gh₂) を得た。

蕃杏より得た sterylglucoside 混合物 (compd A) はスベクトル・データ及び非糖部のガスクロマトグラフー等により, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, α -spina-sterol, schottenol (Δ^7 -stigmasterol), Δ^{22} -stigmasterol,

stigmastanol を非糖部とする β -D-glucoside の混合物であることを明らかにした。なお、抗潰瘍活性は非糖部の steroid にも見出された。cerebroside (compd B₁) は加水分解やメタノリシスにより得た、糖部、脂肪酸部、長鎖塩基部を明らかにすることで構造を推定し、誘導体の MS により確かめた。二重結合の位置に関しては、OsO₄ 酸化した後、その TMS 誘導体の MS により明らかにした。又、C(4), C(5) 位間の geometry に関しては、¹H-NMR スペクトルの結合定数より推定し、C(8), C(9) 位間の geometry に関しては、 Δ^8 -trans 体 (compd B_{1-a}) と Δ^8 -cis 体 (compd B_{1-b}) に分離後、¹³C-NMR スペクトルにより推定した。なお、生体成分として広く分布している cerebroside の一種に、抗潰瘍活性のような特異な薬理作用を認められたことから、起源を異にする十数種の cerebroside 等の活性も調べ、その中のいくつかに有意な活性を見出した。

連銭草より抗ストレス潰瘍活性の認められない ursolic acid (compound Gh₁) を得、これを標品と同定した後、このものとの比較により、活性の認められた 2 α -hydroxy-ursolic acid (compound Gh₂) の構造を推定した。すでに連銭草より得られている、いくつかの化合物の抗ストレス潰瘍活性を調べ、2 β -hydroxyursolic acid や uvaol に活性を認めた。これらの化合物は、TLC 上、活性を有するフラクションに認められた。ゆえに、連銭草の活性は ursolic acid 自体にはないが、その誘導体が担っているものと推定された。

以上、本研究は生物活性を指標として、医薬品素材の探索を

目的に実施されたものである。今回、3種の真菌及び2種の生薬より新化合物15種を含む23種の化合物を分離し、これらの化学構造を明らかにした。構造既知の化合物に関しても、それぞれの起源から得られたのは、ursolic acidを除いて初めての知見である。強い神経作用の可能性があり、特異な構造の paraherquamide 等を単離し、新しく、薬理活性物質として cerebroside や ursane 型化合物を見出したことは意義のあることと思われる。本研究が目的とする、医薬品素材及びそれらからのリード化合物の探索にいくぶんかの知見を加えることができたとするは幸いである。

実験の部

融点は柳本微量融点測定器で測定し、未補正である。IRスペクトルは日立EPI-G3型、UVスペクトルは日立323型、旋光度は柳本Or-50型、ORD/CDスペクトルは日本分光J-20型、GLCは日本電子JGC-20K型、アミノ酸分析計は日立034型を使用し、測定した。MSは日本電子JMS01SG-2型にて、電子衝撃法(MS)あるいはField Desorption法(FD-MS)により測定した。¹H及び¹³C-NMRスペクトルはそれぞれ日本電子JNMPS-100型、JNM PFT-100型で測定した。tetramethylsilaneを内部標準とし、化学シフトは δ 値(ppm)で示し、結合定数(J)はHzで表わした。略号: s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet, br=broad signal. TLCはMerck社, Kieselgel GF₂₅₄を用いて作製(0.25mm), あるいはpre-coated plateとして, Merck社, Kieselgel 60F₂₅₄, Kieselgel 60F₂₅₄ silanisiert, Cellulose F, 又, HPLCはMerck社HPTLC Kieselgel 60F₂₅₄, RP-8F₂₅₄を使用した。prep.TLCはMerck社, Kieselgel GF₂₅₄, HF₂₅₄を用いてplateを作製した。カラムクロマトグラフィーは和光純薬工業, Wakogel C-200 あるいはMallinkrodt社 Silicic acid (100 Mesh), Merck社 Kieselgel 60 silanisiert を使用し、低圧及び中圧カラムクロマトグラフィーはMerck社 Lobar Column (LiChroprep Si 60 及び RP-8), 草野科学CIGカラム(CPS-153 及び CPS-103)を使用した。イオン交換樹脂はローム・アト・ハース社, Amberlite CG-400(II), Dow社, Dowex 2X8を使用した。

第一章に関する実験

A. fumigatus IFM 4482 代謝産物の抽出・分離

A. fumigatus IFM 4482 を滅菌精白米培地 (20kg) にて, 25°C, 14日間静置培養した。得られたカビ米を酢酸エチル (24 l) で, 室温下3回抽出した。溶媒留去後, 抽出エキス 178g を得た。n-ヘキサンで脱脂後のエキス (88g) を, シリカゲル・カラムクロマトグラフィー (Wakogel C-200, 1kg) にて分離した。溶離液をベンゼンからベンゼン-アセトン (4:1) まで順次変えて溶出させた。それぞれのフラクションを, 更にシリカゲル・カラムクロマトグラフィー にて分離後, 再結晶により精製し, FTA, B, C, D, E, F, G, H, I, J, L, M, N 及び sydowinin A を得た (収量は Chart 1 参照)。なお, 下記性状中, F, E, G, H, I, J, L, N の ¹H-NMR データは Table 3 に記載した。

FTC (L) の性状: 無色針状晶 (MeOH), mp 215-217°C (dec.), $[\alpha]_D^{25} +168^\circ$ (c=0.23, CHCl₃). Anal. Calcd. C₂₉H₃₀N₄O₇: C, 63.72; H, 5.53; N, 10.25. Found: C, 63.82; H, 5.55; N, 10.19. MS m/z (%): 546 (100), 269 (35), 261 (35), 261 (49), 242 (42), 229 (93), 201 (52), 188 (24), 130 (37). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ε): 228 (39800), 233 (sh., 38000), 255 (sh., 21100), 280 (sh., 14200), 307 (sh., 4200), 320 (sh., 2700). ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3490, 1760, 1745 (sh.), 1665, 1660. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.04 (3H, d, J=6), 1.14 (3H, d, J=6), 1.48 (3H, s), 1.50 (3H, s), 2.17 (3H, s), 3.03 (1H, dd, J=14, 10), 3.20 (1H, dd, J=14, 10), 2.67 (1H, m), 4.99 (1H, s), 5.59 (1H, d, J=9), 5.67 (1H, t, J=10), 7.33-7.93

(7H, m), 8.22 (1H, d, $J=8$), 7.08 (1H, s, D_2O 添加で消失).

ORD ($c=0.0191$, DMSO) $[\alpha]^{22}$ (nm) = +136° (589), +178° (550), +236° (500), +314° (450), +435° (400), +785° (350), +1680° (max, 326), 0° (307).

FTD (2) の性状: 無色針状晶 (MeOH), mp 224–225°C (dec.), $[\alpha]_D^{28} +115^\circ$ ($c=0.23$, $CHCl_3$), Anal. Calcd. $C_{28}H_{28}N_4O_7$: C, 63.15; H, 5.30; N, 10.52. Found: C, 63.00; H, 5.40; N, 10.33. MS m/z (%): 532 (85), 261 (60), 255 (100), 215 (82), 201 (99), 183 (29), 174 (28), 146 (48), 130 (66), 102 (28). λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 227 (48100), 233 (sh., 45200), 257 (sh., 21500), 277 (sh., 14500), 305 (sh., 4800), 319 (sh., 3300). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3430, 1778, 1732, 1660, 1610. 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.97 (3H, d, $J=7$), 1.09 (3H, d, $J=7$), 1.56 (3H, d, $J=7$), 2.14 (3H, s), 2.93 (1H, dd, $J=14, 9$), 3.19 (1H, dd, $J=14, 9$), 2.57 (1H, m), 4.32 (1H, q, $J=7$), 5.10 (1H, s), 5.61 (1H, d, $J=8$), 5.74 (1H, t, $J=9$), 7.11–7.99 (7H, m), 8.24 (1H, d, $J=8$), 7.26 (1H, s, D_2O 添加により消失). ORD ($c=0.0193$) $[\alpha]^{23.5}$ (nm) = +207° (589), +228° (550), +290° (500), +404° (450), +596° (400), +953° (350), +1770° (max, 326), 0° (306).

FTE (20) の性状: 無色羽状晶 (アセトン), mp ~ 257°C (dec.), $[\alpha]_D^{11.5} +257^\circ$ ($c=0.009$, $CHCl_3$). Anal. Calcd. $C_{22}H_{18}N_4O_5$: C, 63.15; H, 4.34; N, 13.39. Found: C, 62.88; H, 4.28; N, 13.19. MS m/z (%): 418 (M^+ , 100), 402 (94), 356 (22), 254 (37), 215 (86), 205 (45), 200 (34), 186 (30), 174 (81), 158 (24), 146 (89), 130 (46), 103 (21). λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ):

225.5 (32300), 232 (sh., 29800), 254 (sh., 16000), 265.5 (sh., 11700), 275.5 (sh., 8400), 291 (sh., 3500), 303 (3000), 315 (2600). $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1} = 3430, 1780, 1740, 1734, 1677, 1658, 1614$.
 ORD ($c = 0.012$, DMSO) $[\alpha]_D^{21}(\text{nm}) = +242^\circ(589), +242(550), +258^\circ(500), +355^\circ(450), +548^\circ(400), +855^\circ(350), +1440^\circ(\text{max}, 320), +1150^\circ(\text{min}, 311), +1270^\circ(\text{max}, 308)$.

FTF (29) の性状: 無色微細針状晶 (MeOH), mp $\sim 277^\circ\text{C}$ (dec), $[\alpha]_D^{15.5} -109^\circ$ ($c = 0.006$, CHCl_3). $\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_4$ ($M^+ m/z$ 402.1303, Calcd. 402.1327). MS m/z (%) = 402 (M^+ , 60), 215 (25), 202 (29), 186 (22), 173 (100), 147 (51), 130 (20), 104 (24).
 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm} (\epsilon) : 226 (33400), 232 (\text{sh.}, 31200), 255 (\text{sh.}, 12400), 265 (\text{sh.}, 11100), 276 (\text{sh.}, 8100), 290 (\text{sh.}, 3100), 303 (2800), 315 (2200)$. $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1} = 3365, 1775, 1725, 1664, 1606$. ORD ($c = 0.012$, DMSO) $[\alpha]_D^{21}(\text{nm}) = -119^\circ(589), -119^\circ(550), -203^\circ(500), -305^\circ(450), -559^\circ(400), -1270^\circ(350), -3390^\circ(\text{min}, 321), -2200^\circ(\text{max}, 314), -2120^\circ(\text{min}, 312), -2540^\circ(\text{max}, 309), -1270^\circ(300)$.

FTG (22) の性状: 無色ワックス晶 (アセトン), mp $240-241.5^\circ\text{C}$ (dec.), $[\alpha]_D^{11} +215^\circ$ ($c = 0.011$, アセトン). $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$ ($M^+ m/z$ 432.1411, Calcd. 432.1433). MS m/z (%) = 432 (M^+ , 62), 242 (23), 229 (100), 188 (27), 147 (39), 130 (39).
 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm} (\epsilon) : 226 (34300), 232 (\text{sh.}, 31700), 253 (\text{sh.}, 17400), 265 (\text{sh.}, 11800), 275 (\text{sh.}, 8200), 291 (\text{sh.}, 3700), 302 (3000), 315 (2500)$. $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1} = 3470, 1778, 1738, 1662, 1610$. ORD ($c = 0.015$, DMSO) $[\alpha]_D^{22}(\text{nm}) = +203^\circ(589), +236^\circ(550),$

+270°(500), +372°(450), +473°(400), +642°(350), +1220°
(max, 321), +845°(min, 312), +946°(max, 308), +574°(300).

FTH (26) の性状: 無色微細針状晶 (MeOH), mp ~ 274°
(dec.), $[\alpha]_D^{25}$ -155° (c=0.021, アセトン). $C_{22}H_{18}N_4O_5$ ($M^+ m/z$
418.1272, Calcd. 418.1277). MS m/z (%): 418 (M^+ , 21), 402
(47), 356 (18), 254 (44), 215 (45), 205 (19), 200 (24), 186 (21),
173 (70), 158 (19), 146 (100), 130 (41), 104 (37). λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ):
226 (33100), 232 (sh., 30900), 255 (sh., 16600), 266 (sh., 11300),
276 (sh., 8500), 291 (3600), 303 (3100), 315 (2500). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} :
3430, 1780, 1742, 1734, 1667, 1609. ORD (c=0.018, DMSO)
 $[\alpha]_D^{22}$ (nm): -222°(589), -233°(550), -322°(500), -433°
(450), -711°(400), -1420°(350), -3940°(min, 321), -2780°
(max, 307), -2360°(300).

FTI (17) の性状: 無色葉状晶 (CH_2Cl_2 -MeOH), mp 232-
235.5°C (dec.), $[\alpha]_D^{16}$ +239° (c=0.16, $CHCl_3$). Anal. Calcd.
 $C_{27}H_{26}N_4O_6 \cdot H_2O$: C, 62.30; H, 5.42; N, 10.76. Found =
C, 62.22; H, 5.18; N, 10.86. MS m/z (%): 502 (M^+ , 28),
486 (19), 252 (20), 242 (32), 229 (100), 213 (36), 188 (46), 149
(40), 130 (54), 102 (26). λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 235 (31700), 250 (sh.,
21400), 292 (9600), 321 (sh., 6100). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3480, 1780,
1732, 1710, 1675, 1609. ORD (c=0.015, DMSO) $[\alpha]_D^{22}$ (nm):
+236°(589), +270°(550), +338°(500), +507°(450), +743°
(400), +2940°(350), +3950°(max, 337), 0°(307), -2060°
(300).

FTJ (24) の性状: 無色微細針状晶 (アセトン-MeOH),

mp 254–258°C (dec.), $[\alpha]_D^{24} + 135^\circ$ (C = 0.024, アセトン).

Anal. Calcd. $C_{22}H_{18}N_4O_4$: C, 65.66; H, 4.51; N, 13.92. Found: C, 65.54; H, 4.43; N, 13.85. MS m/z (%): 402 (M^+ , 53), 215 (26), 202 (25), 186 (17), 173 (100), 147 (54), 130 (25), 104 (32).

$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 225.5 (41100), 231 (sh., 38000), 253 (sh., 16200), 264 (sh., 12800), 275 (sh., 9700), 290 (sh., 4200), 302 (3900), 310 (3100). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3375, 1780, 1713, 1670, 1610. ORD (C = 0.04, DMSO) $[\alpha]^{21}$ (nm): +138° (589), +139° (550), +188° (500), +238° (450), +338° (400), +530 (350), +910° (max, 321), +720° (min, 315), +770° (max, 314), +910° (max, 308).

FTL (28) の性状: 無色葉状晶 (アセトン), mp 265–268°, $[\alpha]_D^{23} - 229^\circ$ (C = 0.03, DMSO). $C_{23}H_{20}N_4O_5$ (M^+ m/z 432.1457, Calcd. 432.1434). MS m/z (%): 432 (M^+ , 76), 242 (28), 229 (100), 188 (27), 147 (39), 130 (26). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 216 (sh., 33900), 226 (33000), 231 (sh., 30800), 252 (sh., 17400), 264 (sh., 12300), 274 (sh., 8400), 290 (sh., 3700), 302 (3000), 315 (2400). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3230, 1784, 1749, 1670, 1616, 1485, 1260, 1200. ORD (C = 0.028, DMSO) $[\alpha]^{33}$ (nm): -229° (589), -246° (550), -352° (500), -493° (450), -775° (400), -1410° (350), -4050° (min, 319), -2990° (max, 312), -3080° (min, 308), -2550° (max, 301).

FTM (13) の性状: 無色板状晶 (MeOH-H₂O), mp 157–164°C, $[\alpha]_D^{24} - 154^\circ$ (C = 0.50, CHCl₃). $C_{28}H_{28}N_4O_7$ (M^+ m/z 532.1932, Calcd. 532.1959). MS m/z (%): 532 (M^+ ,

100), 261(33), 255(23), 215(50), 214(22), 201(56), 130(19). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 228(32700), 232(30700), 255(15400), 278(9300), 305(2900), 317(2700). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3400, 1788, 1725, 1678, 1600, 1480, 1464, 1210. $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$
 δ : 0.92(3H, d, $J=6$), 1.04(3H, d, $J=6$), 1.55(3H, d, $J=7$), 2.16(3H, s), 2.68(1H, dd, $J=11, 10$), 2.74(1H, m), 3.65(1H, dd, $J=11, 10$), 4.15(1H, q, $J=7$), 5.22(1H, s), 5.54(1H, d, $J=10$), 5.87(1H, t, $J=10$), 6.86(1H, brs), 7.12-7.88(7H, m), 8.24(1H, d, $J=8$).

FTN(18)の性状: 無色針状晶 (MeOH), mp 193-197°C, $[\alpha]_D^{23} +127^\circ$ ($c=0.06$, DMSO), $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5$ (M^+ m/z 472.1770, Calcd. 472.1747). MS m/z (%): 472 (M^+ , 100), 444(22), 256(40), 228(48), 217(44), 186(20), 174(44), 158(24), 146(38), 130(35), 104(26). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 232(32300), 251(sh, 17900), 291(9000), 320(sh, 6100). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3360, 1780, 1722, 1705, 1680, 1607, 1481, 1250. ORD ($c=0.065$, DMSO) $[\alpha]^{23}$ (nm) = +269°(500), +577°(400), +1960°(350), +2900°(max, 335), 0°(302).

Sydowinin Aの性状: 黄色微細板状晶, mp 219-221°C, Anal. Calcd. $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$: C, 64.00; H, 4.03. Found: C, 63.75; H, 3.98. MS m/z (%): 300 (M^+ , 46), 268(100), 239(15), 223(13), 211(14), 184(18), 155(11), 128(15). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 229(sh, 24600), 234(26300), 253(sh, 26300), 258(27800), 283(sh, 9500), 293(11400), 303(12000), 365(4900). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3425, 1738, 1653, 1602, 1490, 1438, 1374, 1285,

1194, 1015, 825. $^1\text{H-NMR}$ ($d\text{-THF}$) δ : 3.88 (3H, s), 4.61 (2H, s), 4.61 (1H, D_2O 添加で消失), 6.71 (1H, br s), 6.94 (1H, br s), 7.26 (1H, dd, $J=7, 1.5$), 7.52 (1H, dd, $J=8, 1.5$), 7.76 (1H, dd, $J=8, 7$), 12.22 (1H, s, D_2O 添加により消失).

標品の sydownin A と TLC (Kieselgel 60F₂₅₄, バンゼン-アセトン 6:1, $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ 15:1) 及び IR, MS スペクトルで一致した。

Tryptoguivalin C (FTC, L) のアセチル化

FTC (L, 109mg) を Ac_2O (0.5ml), ピリジン (1.0ml) 中室温で 43 時間放置することにより FTC-acetate (3, 98mg) を得, $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-}$ バンゼンより結晶化させた。無色プリズム晶, mp 194-195°C, $[\alpha]_D^{28} +132^\circ$ ($C=0.23$). MS m/z (%): 588 (M^+ , 10), 528 (31), 500 (50), 469 (100), 269 (41), 241 (48), 213 (28), 201 (46). ORD ($C=0.017$, DMSO) $[\alpha]^{22}(\text{nm})$: +118° (589), +188° (550), +200° (500), +306° (450), 435° (400), +741° (350), +1490° (max, 326), 0° (307). 3 は tryptoguivaline acetate (標品) と TLC (Kieselgel GF₂₅₄, バンゼン-アセトン 10:1, バンゼン-EtOH 10:1), IR スペクトルで一致し, 混融において融点降下を示さなかった。

Tryptoguivaline C (FTC, L) のアルカリ処理-アセチル化

FTC (L, 200mg) を 0.1% KOH-MeOH (30ml) 中 30 分間 reflux する。反応液は, 水 130ml を加え, 10% HCl 溶液で中和した後, エーテルで抽出する。得られた反応物は TLC で単一のスポットを示し, 旋光度は右旋性を示した。このものを, Ac_2O (0.75ml), ピリジン (1.5ml) でアセチル化し, prep. TLC (Kie-

selgel HF₂₅₄, バンゼン-アセトン 4:1) で精製し, acetate 5
 80mg を得た。無色アモルファス, mp 144-146°C, $[\alpha]_D^{25}$
 -199° (c=0.18, CHCl₃). MS m/z (%): 588 (M⁺, 4), 528
 (15), 500 (13), 469 (100), 269 (18), 241 (36), 213 (35), 200 (28).
 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 228 (36800), 233 (sh, 35300), 268 (sh, 13600),
 279 (sh, 12100), 305 (sh, 4100), 318 (sh, 2900). ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹:
 1794, 1737 (sh), 1732, 1677, 1596. ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.96
 (3H, d, J=6), 1.16 (3H, d, J=6), 1.48 (3H, s), 1.54 (3H, s), 2.17
 (3H, s), 2.20 (3H, s), 2.46 (1H, m), 2.70 (1H, dd, J=12, 10), 3.37
 (1H, dd, J=12, 10), 5.25 (1H, s), 5.65 (1H, d, J=11), 5.88 (1H,
 br t, J=10), 7.30-7.87 (6H, m), 8.03 (1H, br d, J=7), 8.31
 (1H, br d, J=8). ORD (c=0.039, DMSO) $[\alpha]_D^{21}$ (nm): -205° (589),
 -333° (550), -359° (500), -513° (450), -872° (400), -1641° (350),
 -3949° (max, 323), -2820° (max, 315), -3030° (min, 310),
 -2150° (max, 301).

Tryptoquivaline C (FTC, L) の CrO₃ 酸化

CrO₃ 水溶液 (300mg / 5.0ml) を FTC (L, 300mg) - AcOH
 (90ml) 中に滴下し, さらに水 5ml を加えて, 氷冷下 30 分間攪拌
 する。反応液を水で希釈し, エーテルで抽出する。シリカゲル・カラ
 ムクロマトグラフィーにて精製し, バンゼンで溶出されたフラクション
 より compound B (7) を, 又, バンゼン-アセトン (30:1) で溶出
 されたフラクションより compound A (6) をそれぞれ 97mg,
 22mg 得た。compound B (7); 無色ポリスラム晶 (MeOH),
 mp 207-208.5°C, $[\alpha]_D^{25}$ +162° (c=0.14, CHCl₃). Anal.
 Calcd. C₂₉H₂₈N₄O₉: C, 60.41; H, 4.90; N, 9.72. Found: C,

60.13; H, 4.82; N, 9.61. $C_{29}H_{28}N_4O_9$ ($M^+ m/z$ 576.1857, Calcd. 576.1856). λ_{max}^{EtOH} nm (ϵ): 228 (44400), 235 (sh., 37600), 270 (10100), 280 (sh., 8500), 307.5 (3400), 320 (sh., 2600).

$\nu_{max}^{CCl_4}$ cm^{-1} : 1803 (sh), 1792, 1735 (sh), 1730, 1715, 1693, 1600.

Compound A (6); 無色針状晶 (MeOH), mp 160–162°C, $[\alpha]_D^{28} + 228^\circ$ ($c = 0.13$, $CHCl_3$), $C_{25}H_{23}N_3O_6$ ($M^+ m/z$ 461.1583, Calcd. 461.1587). MS m/z (%): 461 (M^+ , 6), 419 (8), 403 (100), 348 (30), 201 (11), 146 (8). λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 225.5

(44000), 260 (10700), 268 (11000), 280 (sh., 8400), 307 (sh., 4500), 318 (sh., 3400). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3440, 1793, 1755 (sh.),

1735, 1685, 1620, 1601. 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 1.07 (3H, d, $J = 7$), 1.19 (3H, d, $J = 7$), 2.15 (3H, s), 2.52 (1H, m), 2.67 (1H, dd, $J = 14, 9$), 3.51 (1H, dd, $J = 14, 9$), 5.56 (1H, d, $J = 9$), 5.79 (1H, br t, $J = 9$), 7.04–7.80 (7H, m), 8.32 (1H, br d, $J = 8$), 9.07 (1H, br s, D_2O 添加により消失).

Compound A (6) のアセチル化

Compound A (6, 22 mg) を Ac_2O (0.5 ml), ピリジン (1.0 ml) 中, 室温下, 一晚放置する。得られた粗 acetate 8 (19 mg) を prep. TLC (Kieselgel HF₂₅₄, バンゼン-アセトン 5=1) にて精製後, MeOH で結晶化した。無色ワリスム晶, mp 134–137°C. λ_{max}^{EtOH} nm (ϵ): 228 (50300), 235 (sh., 43600), 272 (10900), 281 (sh., 10100), 307 (5000), 319 (3800).

$\nu_{max}^{CHCl_3}$ cm^{-1} : 1800, 1790 (sh), 1725, 1690 (sh), 1685, 1600.

1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 1.01 (3H, d, $J = 7$), 1.13 (3H, d, $J = 7$), 2.07 (3H, s), 2.57 (1H, m), 2.65 (1H, dd, $J = 13, 10$), 2.68 (3H, s), 3.42

(1H, dd, $J=13, 10$), 5.47 (1H, d, $J=9$), 5.69 (1H, t, $J=10$),
7.18-7.76 (6H, m), 8.26 (1H, d, $J=8$), 8.32 (1H, d, $J=7$).

Tryptoguinoline D (FTD, 2) のアセチル化

FTD (2, 62mg) を Ac_2O (0.5 ml), AcOH (0.5 ml) 中, 室温
下, 一晩放置する。prep. TLC (Kieselgel HF₂₅₄, ベンゼン-
アセトン 5:1) にて精製後, MeOH より結晶化し, FTD acetate
(12, 27mg) を得た。無色プリズム晶, mp 192-195°C
(dec.). Anal. Calcd. $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_8 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$: C, 61.75; H,
5.35; N, 9.60. Found: C, 61.91; H, 5.26; N, 9.52.

$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 228 (36600), 233 (sh, 35500), 258 (sh, 15900),
268 (sh, 12300), 281 (sh, 10200), 306.5 (3600),
320 (sh, 2700). $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} : 1798, 1738 (sh), 1732,
1689, 1608, 1600. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.01 (3H, d, $J=7$),
1.15 (3H, d, $J=7$), 1.49 (3H, d, $J=7$), 2.15 (3H, s), 2.38 (3H, s),
2.53 (1H, m), 2.96 (1H, dd, $J=13, 10$), 3.23 (1H, dd, $J=13, 10$),
4.54 (1H, q, $J=7$), 5.33 (1H, s), 5.50 (1H, d, $J=9$), 5.69 (1H,
t, $J=10$), 7.08-7.85 (7H, m), 8.06 (1H, d, $J=8$).

Tryptoguinoline D (FTD, 2) の CrO_3 酸化

CrO_3 水溶液 (150mg/2.0ml) を FTD (2, 150mg) - AcOH
(27ml) 中に滴下し, 水 1ml を加える。FTC (1) の場合と同様
に反応させ, 精製して, compound A (27mg) を得た。
FTC の CrO_3 酸化で得られた生成物と $^1\text{H-NMR}$, IR スペクトル,
TLC (Kieselgel GF₂₅₄, ベンゼン-EtOH 10:1, ベンゼン-
アセトン 3:1, CHCl_3 -アセトン 15:1) で一致し, 混融法により
融点降下を示さなかった。

Tryptoguivaline D (FTD, 2) の還元及び加水分解

Zn 粉末 (6.0g) を FTD (2, 600mg) - AcOH (100ml) 中に加え、室温下、200分間攪拌する。濾過後、溶媒留去して得た残渣を CHCl_3 で抽出し、 CHCl_3 可溶部分の還元生成物を CHCl_3 -MeOH で再結晶し、精製した。無色プリズム晶, mp 233-236°C (dec.), $[\alpha]_D^{25} +124^\circ$ (c=0.11, CHCl_3). Anal. Calcd. $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 65.53; H, 5.92; N, 11.76. Found: C, 65.33; H, 5.55; N, 11.64. MS m/z (%): 458 (M^+ , 82), 243 (59), 215 (79), 203 (52), 187 (32), 174 (30), 160 (30), 146 (34). $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm (ϵ): 226.5 (43100), 231 (sh, 40000), 253 (sh, 15700), 264 (sh, 12300), 275 (sh, 9500), 294 (sh, 3500), 308 (3600), 320 (2900). $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3400, 1790, 1695, 1675, 1605. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.14 (6H, d, $J=6$), 1.58 (3H, d, $J=7$), 2.34 (1H, m), 2.84 (2H, d, $J=7$), 2.95 (1H, br, D_2O 添加により消失), 3.07 (2H, br d-like), 4.19 (1H, q, $J=7$), 5.33 (1H, t, $J=10$), 5.40 (1H, s), 7.11-7.87 (7H, m), 8.24 (1H, d, $J=8$).

還元生成物を 6N HCl 溶液 (20ml) 中 1 時間 reflux し、減圧下溶媒留去後、水溶性部分を Δ - Δ -クロマトグラフィ- (東洋口紙 No. 50, 40x40cm; n-BuOH-AcOH- H_2O 4:1:5 の上清) にて精製し、ninhydrin 陽性の生成物 (74mg) を得た。このものは標品の L-(+)-alanine と。TLC, Δ - Δ -クロマトグラフィ- (n-BuOH-AcOH- H_2O 4:1:5 の上清), アミノ酸分析計 [Hitachi Custom Ion-Exchange Resin 2612; クエン酸緩衝液; ホンフ $^\circ$ 圧 0.6 kg/cm^2 (緩衝液), 0.3 kg/cm^2

(ninhydrin 液); 58° ; 保持時間 14分], ORD π - π^* 一致した。ORD (生成物) ($c=2.02$, 6N HCl 溶液) $[\alpha]^{23.5}_{nm}$: $+6.7^\circ(589)$, $+7.2^\circ(550)$, $+9.7^\circ(500)$, $+12.9^\circ(450)$, $+19.3^\circ(400)$, $+31.2^\circ(350)$. ORD (L-(+)-alanine 標品) ($c=0.16$, 6N HCl) $[\alpha]^{23}$: $+13.9^\circ(589)$, $+20.3^\circ(550)$, $+31.6^\circ(500)$, $+35.4^\circ(450)$, $+45.6^\circ(400)$, $+75.9^\circ(350)$.

Tryptogvaline D (FTD, 2) のアルカリ処理-アセチル化

FTD (2, 100mg) を 0.1% KOH-MeOH (5ml) 中室温下 15 分間攪拌する。反応液は水に注ぎ, HCl 溶液で中和後, エーテルで抽出する。得られた反応生成物 (98mg) は精製せずに, Ac_2O , $AcOH$ によりアセチル化を行なった。prep. TLC (Kieselgel HF₂₅₄, ハンセン-アセトン 6:1) で精製し, mono- (14, 41mg) 及び diacetate (16, 38mg) を得た。Monoacetate (14): 無色結晶 (MeOH-H₂O), mp $135-139^\circ C$, $[\alpha]^{23}_D -161^\circ$ ($c=0.10$, MeOH). MS m/z (%): 532 (M^+ , 4), 472 (18), 454 (83), 411 (11), 367 (22), 254 (30), 236 (40), 201 (100), 197 (40), 169 (97), 130 (23), 128 (28). λ_{max}^{EtOH} nm (ϵ): 217 (sh., 40600), 227 (41700), 232 (sh., 39500), 255 (sh., 16800), 265 (sh., 13300), 276 (sh., 10800), 307 (3800), 319 (3000). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3450, 1785, 1730, 1678, 1609, 1596, 1475, 1203. 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.84 (3H, d, $J=6$), 1.21 (3H, d, $J=6$), 1.53 (3H, d, $J=7$), 2.15 (3H, s), 2.20 (1H, m), 2.77 (1H, dd, $J=12, 10$), 3.53 (1H, dd, $J=12, 10$), 4.24 (1H, q, $J=7$), 4.40 (1H, brs, D_2O 添加により消失), 4.86 (1H, brd, $J=4$, D_2O 添加により sharpening), 5.20 (1H, s), 5.89 (1H, t, $J=10$), 7.21-

7.86 (7H, m), 8.23 (1H, d, J=8). Diacetate (16): 無色アモルファス, $[\alpha]_D^{21} -150^\circ$ (C=0.28, CHCl₃). MS m/z (%): 574 (M⁺, 5), 532 (13), 514 (35), 470 (25), 455 (13), 261 (48), 254 (100), 210 (83), 201 (57), 182 (55), 176 (35), 169 (18), 149 (20), 141 (11), 130 (16). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 228 (30600), 233 (sh, 29100), 269 (8700), 278 (sh, 8100), 307 (3000), 319 (2400). ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 1785, 1738, 1680, 1608, 1597, 1474, 1207. ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.97 (3H, d, J=6), 1.18 (3H, d, J=6), 1.54 (3H, d, J=7), 2.13 (3H, s), 2.14 (3H, s), 2.46 (1H, m), 2.80 (1H, dd, J=13, 10), 3.46 (1H, dd, J=13, 10), 4.27 (1H, q, J=7), 5.24 (1H, s), 5.65 (1H, d, J=9), 6.29 (1H, t, J=10), 7.22-7.84 (7H, m), 8.21 (1H, d, J=8).

Tryptogvaline D (FTD, 2) の重メタノール中のアルカリ処理

FTD (2, 100mg) を 0.1% KOH-CD₃OD (5ml) 中, 室温下, 15分間攪拌する. FTDのアルカリ処理と同様に処理し, アセチル化を行なって, deuterio-FTD acetate (13mg) と共に epi-desacetyl-FTD diacetate (31, 32mg) を得た. 31: 無色アモルファス. MS m/z (%): 575 (M⁺, 1), 533 (4), 515 (12), 471 (11), 456 (7), 261 (33), 255 (100), 211 (75), 201 (41), 183 (48), 176 (21), 169 (23), 142 (12), 130 (14). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.95 (3H, d, J=7), 1.16 (3H, d, J=7), 1.53 (1H, d, J=7), 2.10 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.46 (1H, m), 2.74 (1H, d, J=13), 3.42 (1H, d, J=13), 4.23 (1H, q, J=7), 5.16 (1H, s), 5.59 (1H, d, J=10), 7.10-7.72 (7H, m), 8.14 (1H, d, J=8).

Tryptogvaline M (FTM, 13) のアセチル化

FTM (13, 30 mg) を Ac_2O (1 ml), AcOH (1 ml) 中, 室温下 26 時間放置する。FTD のアルカリ処理-アセチル化の場合と同様に処理し, 得られた acetate (32 mg) は 16 と TLC (Kieselgel 60F₂₅₄, ベンゼン-アセトン 5:1) 及び IR, ¹H-NMR スペクトルで一致した。

Tryptoquivaline E (FTE, 20) のアセチル化

FTE (20, 58 mg) を Ac_2O (0.5 ml) 中, 室温下 15 時間攪拌する。反応液を氷水中に注ぎ, 析出した沈殿を浮取り, MeOH 及びアセトンからの再結晶で精製した。acetate 21, 15 mg を得た。無色葉状晶 (アセトン), mp ~ 200 °C (dec.), $[\alpha]_D^{25} +140^\circ$ (c = 0.010, アセトン)。Anal. Calcd. $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$: C, 61.40; H, 4.51; N, 11.93. Found: C, 61.10; H, 4.62; N, 11.68. MS m/z (%): 460 (M⁺, 5), 418 (19), 400 (16), 254 (100), 210 (43), 183 (53), 169 (21), 146 (29), 130 (18). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ε): 217 (sh., 33300), 225.5 (34100), 232 (sh., 31300), 255 (sh., 15600), 265.5 (sh., 10900), 276 (sh., 8100), 290 (sh., 3600), 302 (2800), 314.5 (2300). $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1778, 1728, 1682, 1610. ¹H-NMR (d-DMSO) δ: 1.42 (3H, d, J=7), 2.30 (3H, s), 3.17 (2H, brd, J=10), 4.42 (1H, q, J=7), 5.80 (1H, s), 6.09 (1H, t, J=9), 7.26-8.01 (7H, m), 8.10 (1H, d, J=8), 8.43 (1H, s).

Tryptoquivaline F (FTF, 29) のアセチル化

FTF (29, 54 mg) を Ac_2O (0.5 ml), AcOH (0.5 ml) で, FTE と同様にアセチル化を行なった。47 mg の粗 acetate, 30 を得た。無色針状晶 (MeOH), mp 280-283 °C (dec.), $[\alpha]_D^{25} -116^\circ$ (c = 0.12, CHCl_3)。 $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$ (M⁺ m/z 444.1455, Calcd. 444.1432). MS

m/z (%): 444 (M^+ , 100), 257(54), 227(31), 216(40), 202(46), 186(76), 174(64), 147(56), 130(23). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 217 (sh., 38900), 226(37000), 232(35300), 241 (sh., 25200), 252 (sh., 22500), 265 (21200), 275.5 (sh., 19600), 303 (sh., 5900), 315 (sh., 3100).
 ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 1787, 1732, 1678 (sh.), 1673, 1608. $^1\text{H-NMR}$ (Table 3 参照).

Tryptoguvaine G (FTG, 22) のアセチル化

FTG (22, 53 mg) を Ac_2O (0.4 ml), Et_3N (0.8 ml) で, FTE と同様にアセチル化を行なった。51 mg の粗 acetate 23 を得た。無色ワックス状晶 (CH_2Cl_2 -MeOH), mp 231-234°C, $[\alpha]_D^{16.5} + 243^\circ$ ($c=0.0095$, アセトン). Anal. Calcd. $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6$: C, 63.28; H, 4.67; N, 11.81. Found: C, 62.98; H, 4.66; N, 11.75. MS m/z (%): 474 (M^+ , 27), 432(100), 414(76), 386(44), 242(47), 229(75), 199(50), 188(38), 147(48), 130(48), 102(33). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 218 (sh., 34400), 226(35800), 232 (sh., 34100), 255 (sh., 17300), 265 (sh., 12200), 276 (sh., 9200), 290 (sh., 4200), 303 (3300), 315 (2600). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 1786, 1729, 1682, 1616. $^1\text{H-NMR}$ (d-DMSO) δ : 1.37 (3H, s), 1.42 (3H, s), 2.29 (3H, s), 3.13 (2H, br d, $J=10$), 5.56 (1H, s), 6.02 (1H, t, $J=10$), 7.12-7.95 (7H, m), 8.05 (1H, d, $J=8$), 8.42 (1H, s).

Tryptoguvaine H (FTH, 26) のアセチル化

FTH (26, 49 mg) を Ac_2O (0.7 ml), AcOH (0.7 ml) で, FTE と同様にアセチル化を行なった。粗 acetate 27, 51 mg を得た。無色針状晶 (アセトン-MeOH), mp ~223°C (dec), $[\alpha]_D^{15.5} -143^\circ$ ($c=0.0098$, アセトン). $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ (M^+ m/z 460.1381, Calcd.

460.1381). MS m/z (%): 460 (M^+ , 28), 418 (60), 401 (34), 255 (100), 215 (42), 210 (11), 200 (37), 146 (48), 130 (24).

$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 217 (sh., 30600), 225.5 (32700), 231 (sh., 30900), 254 (sh., 11400), 265 (sh., 9400), 275 (sh., 7700), 290 (sh., 3100), 302 (2600), 315 (2100). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 1786, 1735, 1666, 1608.

$^1\text{H-NMR}$ (d -DMSO): 1.44 (3H, d, $J=8$), 2.23 (3H, s), 3.06 (1H, dd, $J=14, 10$), ~3.50 (1H, undefined), 4.33 (1H, q, $J=8$), 5.56 (1H, t, $J=9$), 5.92 (1H, s), 7.31-8.07 (7H, m), 8.27 (1H, d, $J=8$), 8.57 (1H, s).

Tryptoquivaline J (FTJ, 24) のアセチル化

FTJ (24, 15mg) を Ac_2O (0.4ml), AcOH (0.4ml) 2 π , FTE と同様にアセチル化を行なった。粗 acetate, 25 を 10mg 得た。無色針状晶 (MeOH), mp 254-261 $^\circ\text{C}$ (dec.), $[\alpha]_D^{20} +98^\circ$ ($c=0.12$, CHCl_3), $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5$ (M^+ m/z 444.1422, Calcd.

444.1431). MS m/z (%): 444 (M^+ , 100), 257 (29), 228 (19), 216 (22), 202 (25), 186 (48), 173 (39), 147 (39), 130 (15), 104 (13). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 225.5 (37200), 231 (sh., 34000), 253 (sh., 13900), 265 (10400), 275.5 (9000), 303.5 (3600), 315 (3000). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 1786, 1730, 1681, 1660, 1610. $^1\text{H-NMR}$ (Table 3 参照).

Tryptoquivaline E (FTE, 20) から H (FTH, 26) への変換

FTE (20, 30mg) を 0.1% KOH-MeOH (10ml) 中, 室温下 10 分間攪拌する。反応液を氷水中へ注ぎ, 析出した沈殿を浮取した。生成物 (17mg) は MeOH から再結晶により精製し, FTH と比較したところ, TLC (Kieselgel GF₂₅₄, CHCl_3 -アセトン 6:1, CHCl_3 -MeOH 6:1, ベンゼン-アセトン 3:1), IR, NMR スペクト

ルで一致した。なお、生成物は左旋性を示した。

Tryptoguivaline J (FTJ, 24) から F (FTF, 29) への変換

FTJ (24, 10mg) を 0.1% KOH-MeOH (1ml) 中, 55°C で 3 分間攪拌する。反応液を氷水中へ注ぎ, 析出した沈殿を浮取した。生成物 (6mg) は左旋性を示し, TLC (Kieselgel GF₂₅₄, CHCl₃-MeOH 6:1, ベンゼン-アセトン 5:2, AcOEt-EtOH 8:1) 及び IR スペクトルにおいて, FTF と一致した。

Tryptoguivaline G (FTG, 22) から L (FTL, 28) への変換

FTG (22, 50mg) を 0.1% KOH-MeOH 中, 室温下 35 分間攪拌する。得られた生成物 (33mg) は左旋性を示し, TLC (Kieselgel GF₂₅₄, CHCl₃-MeOH 10:1), IR, ¹H-NMR, ORD スペクトルにおいて, FTL と一致した。

生物試験

マウスを用いた毒性試験において, 腹腔内投与では STD-ddy 系雄性マウス (18-25g) を用い, 通常一群 3 匹とした。試験物質は dimethylsulfoxide (DMSO) に溶解し (FTC, D はオリーブ油に懸濁), 0.04-0.1ml/マウスを投与した。症状は 1 週間観察した。静脈内投与では, FTC, D は STD-ddy 系雄性マウス (約 25g) 一群 4 匹を用い, 試験物質を dimethylformamide + Ringer 液 + (propylene glycole) に溶解させ, 0.04ml/マウス投与した。又, FTG は同系マウス (26-32g) 一群 6 匹とし, FTL は同系マウス (24-29g) 一群 4 匹とし, 試験物質は DMSO に溶解し, 0.02ml/10g マウス投与した。

第二章に関する実験

P. paraherquei IFO 6234 代謝産物の抽出・分離

P. paraherquei IFO 6234 を滅菌精白米培地 (16 kg) で 25°C, 30 日間 静置培養した。得られたカビ米より, MeOH で 2 回抽出 (25 l), 濃縮後, CHCl₃ (400 ml) で 3 回抽出した。CHCl₃ 層は溶媒留去し, 粗エキス 15.8 g を得, シリカゲル・カラムクロマトガラスにて分離を行なった。溶離液を CHCl₃ から CHCl₃-MeOH (1=1) まで 順次変えて溶出させたが, このうち CHCl₃ で溶出したフラクションより paraherquonin (37, 52 mg) を, 又, CHCl₃-MeOH (10:1) で溶出したフラクションを prep. TLC (Kieselgel HF₂₅₄, CHCl₃-MeOH 10:1) で分離し, paraherquamide (32, 162 mg) を得た。

Paraherquonin (37) の性状: 無色ワリヌム晶 (アセトン), mp 290-293°C, $[\alpha]_D^{26} + 341^\circ$ (c=0.20, CHCl₃). Anal. Calcd. C₂₄H₂₈O₇: C, 67.27; H, 6.59. Found: C, 67.31; H, 6.60. MS m/z (%): 428 (M⁺, 69), 413 (7), 385 (6), 370 (100), 355 (23), 341 (6), 311 (6), 253 (5), 225 (5), 211 (5), 189 (10), 166 (11), 156 (11). $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (ε): 211.5 (11200), 265 (9200). ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3445, 2985-2840, 1770, 1692, 956. ¹H-NMR (CDCl₃, 270 MHz) δ: 1.29 (3H, s), 1.31 (3H, d, J=7), 1.32 (3H, s), 1.44 (3H, d, J=7), 1.55 (3H, s), 1.67 (3H, s), 1.42-1.72 (2H), 2.18 (1H, dd, J=11, 3), 2.22 (1H, s), 2.47 (1H, dq, J=10, 7), 4.54 (1H, q, J=7), 4.92 (1H, d, J=3), 5.74 (1H, s), 5.87 (1H, br s), 6.08 (1H, dd, J=3, 2). ¹³C-NMR (CDCl₃, 67.8 MHz) δ: 19.89 (q), 20.17 (q,

x2), 22.75(δ), 26.02(δ), 26.23(δ), 31.99(t), 41.65(d), 42.52(s), 50.17(s), 67.09(d), 73.32(s), 82.93(s), 91.40(d), 102.68(d), 108.00(s), 118.60(d), 127.04(d), 134.13(s), 153.96(s), 159.41(s), 163.62(s), 175.72(s).

Paraherquamide (32)の性状: 無色ワリスム晶(酢酸エチル), mp 244-247°C (dec.), $[\alpha]_D^{22}$ -28° (c=0.43, MeOH). Anal. Calcd. $C_{28}H_{35}N_3O_5$: C, 68.13; H, 7.15; N, 8.5. Found: C, 68.03; H, 7.19; N, 8.4. MS m/z (%): 493 (M^+ , 3), 434 (60), 419 (3), 218 (3), 204 (5), 194 (5), 165 (24), 163 (100), 151 (4), 133 (3), 107 (5). λ_{max}^{EtOH} nm (ϵ): 226 (32400), 260 (sh., 6100), 290 (sh., 1600). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3510, 3430, 3245, 2970-2830, 1714, 1650, 1190, 1048. 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.86 (3H, s), 1.10 (3H, s), 1.45 (6H, s), 1.65 (3H, s), 1.85 (1H, d, J=15), 1.77-2.40 (5H, m), 2.55 (1H, d, J=11), 2.58 (1H, s, D_2O 添加により消失), 2.67 (1H, d, J=15), 2.93-3.25 (2H, m), 3.03 (3H, s), 3.58 (1H, d, J=11), 4.87 (1H, d, J=8), 6.30 (1H, d, J=8), 6.64 (1H, d, J=8), 6.78 (1H, d, J=8), 8.33 (1H, s, D_2O 添加により消失). ORD (c=0.43, MeOH) $[\alpha]^{22}$ (nm): -28° (589), -31° (550), -40° (500), -53° (450), -75° (400), -129° (350), -869° (min, 302), -82° (max, 285), -646° (min, 274), 0° (270), +9270° (max, 248).

Paraherquamide (32)の接触還元

paraherquamide (32, 20mg)をEtOH (8ml)に溶解し, 10% Pd-C (20mg)を加え, H_2 気流下, 室温で1時間40分間攪拌する。経過, 溶媒留去後得られた生成物は, 酢酸エチル

より再結晶で精製し, dihydro 体 (33, 15mg) を得た。無色針状晶, mp 295-299°C (dec.). Anal. Calcd. $C_{28}H_{37}N_3O_5$: C, 67.59; H, 7.48; N, 8.38. Found: C, 67.86; H, 7.53; N, 8.48. MS m/z (%): 495 (M^+ , 3), 436 (41), 204 (3), 193 (5), 179 (3), 163 (100), 149 (11), 135 (3), 107 (5). λ_{max}^{EtOH} nm (ϵ): 223.5 (32300), 258 (sh., 4300), 270 (sh., 2700), 291 (1500). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3500, 3445, 3250, 2970-2835, 1710, 1650, 1053, 818. 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.86 (3H, s), 1.09 (3H, s), 1.36 (3H, s), 1.38 (3H, s), 1.64 (3H, s), 1.83 (1H, d, $J=15$), 2.10 (2H, q, $J=6, 4$), 1.76-2.40 (5H), 2.47 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 2.54 (1H, d, $J=12$), 2.67 (1H, d, $J=15$), 3.03 (3H, s), 2.93-3.23 (2H, m), 3.53 (1H, d, $J=12$), 4.28 (2H, q, $J=6, 4$), 6.52 (1H, d, $J=8$), 6.68 (1H, d, $J=8$), 8.16 (1H, br s, D_2O 添加により消失).

Paraherquamide の生産性の検討

静置培養では 800ml ルーフラスコを用い, 約 200ml ずつ培地を注入した。滅菌精白米培地においては, 菌の接種後, 1週間目に 1ルーフラスコあたり 10-20ml の滅菌水を加えた。振とう培養では坂口フラスコを用い, 約 150ml ずつ培地を注入した。各菌株につき, フラスコ 2本分ずつ培養した。用いた菌株, 培養条件, paraherquamide の検出等については, 本文中に記載した。

生物試験 (毒性試験)

第一章における生物試験と同様に行なった。paraherquonin の静脈内投与においては, STD-ddy 系雄性マウス (約 23g), 一群 4匹とし, 100 mg/kg / 2ml DMSO を投与した。

第三章に関する実験

I. bacillosporus NHL 2660 代謝産物の抽出・分離

I. bacillosporus NHL 2660 を malt extract 培地 (malt extract 2%, dextrose 2%, peptone 0.1%) 40ℓ で、25°C、23日間培養した。得られた乾燥菌体 275g より、エーテル中 reflux することにより抽出した (2ℓ × 4回)。抽出エキスの n-ヘキサン不溶部 (66g) をシリカゲル・カラムクロマトグラフィー (Wakogel C-200, 1kg) にて分離した。アセトン-ベンゼン (1:25) で溶出したフラクションより, pig. 1 (48, 322mg) 及び pig. 2 (39, 752mg) を、アセトン-ベンゼン (1:25-1:20) で溶出したフラクションより pig. 4 (45, 1513 mg) を得た。又、アセトン-ベンゼン (1:15) で溶出したフラクション及び pig. 2 が得られた後の母液より, pig. 3 (40, 277mg) を得た。

Pig. 1 (Pinselin, 48) の性状: 黄色ワリスム晶 (CH₂Cl₂-MeOH), mp 231-233°C, $[\alpha]_D^{25}$ 0° (C=0.10, アセトン). Anal. Calcd. C₁₆H₁₂O₆: C, 64.00; H, 4.03. Found: C, 63.98; H, 3.96. C₁₆H₁₂O₆ (M⁺ m/z 300.0716, Calcd. 300.0634). MS m/z (%): 300 (M⁺, 31), 268 (100), 240 (12). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ε): 238 (26900), 257 (sh, 28200), 265 (35200), 295 (9500), 387 (6300). ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3330, 3260, 3035-2935, 1741, 1648, 1608, 1589, 1500, 1282, 1226, 1204, 1018. ¹H-NMR (d-アセトン) δ: 2.38 (3H, s), 3.90 (3H, s), 6.52 (1H, s), 6.71 (1H, s), 7.45 (2H, s), 9.07 (1H, br s, D₂O 添加により消失), 12.12 (1H, s, D₂O 添加により消失). ¹H-NMR (d-THF) δ: 2.35 (3H, s), 3.89 (3H, s),

6.49 (1H, s), 6.62 (1H, s), 7.23 (1H, d, $J=9$), 7.35 (1H, d, $J=9$),
 8.90 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 12.26 (1H, s, D_2O 添
 加により消失). ^{13}C -NMR (d-ヒトリエン) δ : 22.2 (t), 52.5 (t),
 107.0 (s), 111.2 (d), 118.6 (s), 119.1 (s), 120.1 (d), 125.5 (d), 149.1
 (s), 152.2 (s), 156.1 (s), 161.7 (s), 167.3 (s), 168.1 (s), 181.2 (s).

Pig. 2 (Bacillosporin A, 31) の性状: 淡黄色粉末 (ア
 セトン- $CHCl_3$), mp 282-285°C (dec.), $[\alpha]_D^{25} + 484^\circ$ (c =
 0.583, アセトン). MS m/z (%): 516 (M^+ , 100), 474 (72),
 456 (10), 426 (10), 416 (10), 399 (9). λ_{max}^{MeOH} nm (ϵ): 233
 (40400), 242 (sh., 38700), 259 (sh., 30300), 278 (sh., 17700),
 322 (8900), 354 (sh., 6500), 376 (sh., 3500), 415 (1400).

ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3440, 1754, 1672, 1604, 1586, 1567, 1218, 1048.

1H -NMR (d-アセトン) δ : 2.04 (3H, s), 2.52 (3H, s), 2.98 (3H,
 s), 5.11 (1H, d, $J=12$), 5.12 (1H, s), 5.23 (1H, d, $J=12$), 5.63 (1H,
 d, $J=16$), 5.82 (1H, d, $J=16$), 5.86 (1H, s), 6.73 (1H, s), 6.81 (1H, s),
 8.58 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 11.81 (1H, s, D_2O 添加に
 より消失), 11.87 (1H, s, D_2O 添加により消失). 1H -NMR (d-
 THF) δ : 1.97 (3H, s), 2.51 (3H, s), 2.94 (3H, s), 4.93 (1H, d,
 $J=13$), 5.02 (1H, s), 5.08 (1H, d, $J=13$), 5.49 (1H, d, $J=16$), 5.66
 (1H, d, $J=16$), 5.81 (1H, s), 6.71 (1H, s), 6.82 (1H, s), 8.76 (1H,
 D_2O 添加により消失), 12.00 (1H, D_2O 添加により消失). ^{13}C -
 NMR (d-アセトン) δ : 20.7 (t), 23.7 (t), 25.1 (t), 49.5 (s), 62.7
 (d), 67.5 (t), 70.1 (t), 86.8 (d), 98.2 (s), 104.5 (s), 111.2 (s), 117.8
 (s), 120.3 (s), 120.7 (d), 121.1 (d), 132.6 (s), 134.5 (s), 137.7 (s),
 146.8 (s), 147.5 (s), 148.6 (s), 154.1 (s), 163.3 (s), 165.1 (s), 168.7

(s), 170.0(s), 170.7(s), 191.7(s). CD (C = 0.000368 mol/l, THF) $[\theta]^{22}(\text{nm})$: +2700°(sh, 385), +7500°(max, 368), +6800°(min, 362), +14600°(sh, 345), +22100°(max, 331), 0°(317), -51300°(min, 298), 0°(282), +14300°(sh, 275), +109000°(max, 259), +97800°(min, 255), +182000°(max, 239), 0°(230), -86900°(min, 222).

Pig. 3 (Bacillosporin B, 40)の性状: 黄色微細針状晶 (アセトン-MeOH), mp 257-261°C (dec.), $[\alpha]_D^{27} +512^\circ$ (C = 0.144, THF). Anal. Calcd. $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_9 \cdot 1/4 \text{H}_2\text{O}$: C, 65.21; H, 3.89. Found: C, 65.17; H, 4.11. $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_9$ ($M^+ m/z$ 474.0958, Calcd. 474.0951). MS m/z (%): 474 (M^+ , 100), 456(8), 444(11), 426(10), 416(17), 400(7). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 233 (43900), 242 (sh, 41100), 258 (sh, 33400), 275 (sh, 18300), 324 (9200), 353 (sh, 7200), 373 (sh, 4200), 410 (sh, 1200). $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3435, 1667, 1600, 1566, 1266, 1215. $^1\text{H-NMR}$ (d-THF) δ : 2.49 (3H, s), 2.99 (3H, s), 4.68 (1H, br s), 4.85 (1H, s), 4.97 (1H, d, J=12), 5.11 (1H, d, J=12), 5.36 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 5.48 (1H, d, J=15), 5.66 (1H, d, J=15), 6.65 (1H, s), 6.81 (1H, s), 8.67 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 11.95 (1H, s, D_2O 添加により消失), 12.01 (1H, br s, D_2O 添加により消失). CD (C = 0.000266 mol/l, THF) $[\theta]^{22}(\text{nm})$: +3800°(sh, 385), +13200°(max, 367), +13200°(min, 363), +31000°(sh, 346), +48900°(max, 328), 0°(315), -111000°(min, 296), 0°(280), +31000°(sh, 274), +222000°(sh, 257), +421000°(max, 240), 0°(229), -192000°(min, 222).

[Neoclauxin, CD ($c=0.000265$ mol/l, THF) $[\theta]^{21}$ (nm):
 0° (390), $+600^\circ$ (max, 385), 0° (382), -800° (min, 378), 0°
 (376), $+7600^\circ$ (max, 368), $+5100^\circ$ (min, 362), $+24700^\circ$ (sh.,
 347), $+50600^\circ$ (max, 326), 0° (314), -123000° (min, 297),
 0° (280), $+32100^\circ$ (sh., 275), $+20200^\circ$ (sh., 255), $+366000^\circ$
 (max, 241), 0° (230), -172000° (min, 220). なお, 用いた
 neoclauxin は標品の duclauxin より PIVカリ処理で導いた。³¹⁾

Pig. 4 (Bacillosporin C, 45) の性状: 淡黄色微細針
 状晶 (THF-MeOH), mp $>300^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{28} +451^\circ$ ($c=0.200$,
 アセトン). Anal. Calcd. $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$: C, 63.67; H, 3.70. Found:
 C, 63.68; H, 3.64. $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (M^+ m/z 490.0919, Calcd.
 490.0899), $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_5$ (m/z 245.0401, Calcd. 245.0448).
 MS m/z (%): 490 (M^+ , 100), 472 (5), 459 (14), 448 (79), 442
 (10), 430 (20), 418 (75), 402 (15), 388 (11), 258 (14), 256 (14),
 246 (46), 245 (59), 244 (42), 232 (24), 217 (12), 203 (21), 188
 (15), 176 (10), 160 (14). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ): 221 (sh., 42600),
 233 (sh., 48600), 241 (50100), 270 (sh., 30300), 275 (30800),
 317 (sh., 8400), 345 (6400), 361 (sh., 5700), 422 (sh., 900).
 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3450, 1667, 1619, 1572, 1457, 1361, 1304, 1170,
 1002. $^1\text{H-NMR}$ (d-THF) δ : 2.62 (3H, s), 2.80 (3H, s),
 2.97 (1H, d, $J=16$), 3.32 (1H, d, $J=16$), 4.69 (1H, d, $J=11$), 4.91
 (1H, d, $J=11$), 5.40 (1H, d, $J=14$), 5.63 (1H, d, $J=14$), 6.70 (1H,
 s), 6.88 (1H, s), 7.71 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 8.70
 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 11.76 (1H, s, D_2O 添加によ
 り消失), 11.89 (1H, s, D_2O 添加により消失). $^1\text{H-NMR}$ (d-

DMSO) δ : 2.52 (3H, s), 2.70 (3H, s), 3.01 (1H, d, $J=15$), 3.22 (1H, d, $J=15$), 4.56 (1H, d, $J=11$), 4.87 (1H, d, $J=11$), 5.37 (1H, d, $J=14$), 5.59 (1H, d, $J=14$), 6.72 (1H, s), 6.91 (1H, s), 8.52 (1H, s, D₂O 添加により消失), 9.74 (1H, br s, D₂O 添加により消失), 11.61 (1H, s, D₂O 添加により消失), 11.80 (1H, s, D₂O 添加により消失). ¹³C-NMR (d-THF) δ : 23.5 (q, x2), 49.6 (t), 49.9 (s), 67.3 (t), 74.5 (t), 97.5 (s), 102.9 (s), 109.9 (s), 110.3 (s), 112.4 (s), 114.5 (s), 118.2 (d), 120.7 (d), 122.0 (s), 133.2 (s), 145.2 (s), 146.5 (s), 150.0 (s), 150.8 (s), 156.3 (s), 164.4 (s), 164.8 (s), 170.2 (s), 170.4 (s), 193.4 (s). CD (c=0.000506 mol/l, THF) $[\theta]^{22}(\text{nm})$: +1500° (sh., 381), +8200° (max, 347), +7900° (min, 344), +13300° (max, 321), 0° (307), -9400° (min, 289), 0° (282), +33600° (sh., 275), +405000° (max, 239), 0° (226), -263000° (min, 219).

Bacillosporin A (fig. 2, 39) のメチル化

fig. 2 (39, 53mg) を CH₂N₂ 含有エーテル中, 室温下 40 分間攪拌する。溶媒除去後, 残渣を prep. TLC (Kieselgel GF₂₅₄ 及び HF₂₅₄, ベンゼン-アセトン 6:1) で分離し, monomethyl-Bac. A (41mg) 及び dimethyl-Bac. A (6mg) を得た。両者は更に CH₂Cl₂-MeOH にて再結晶を行ない, 精製した。

monomethyl-Bac. A; 無色針状晶, mp 198-201°C, $[\alpha]_D^{23} + 620^\circ$ (c=0.115, CHCl₃). Anal. Calcd. C₂₉H₂₂O₁₀ · ½ H₂O: C, 64.56; H, 4.30. Found: C, 64.62; H, 4.04.

MS m/z (%): 530 (M⁺, 100), 488 (100), 460 (10), 427 (11), 399 (12), 256 (11), 239 (11), 226 (12), 215 (10). $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (ϵ):

229 (35900), 247 (41600), 255 (sh., 39400), 280 (sh., 19600),
308 (11300), 317 (11300), 350 (sh., 5500), 371 (sh., 3900).

$\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3450, 1751, 1676, 1602, 1570, 1219, 1047. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.06 (3H, s), 2.59 (3H, s), 3.02 (3H, s),
3.81 (3H, s), 4.89 (1H, d, $J=12$), 5.05 (1H, s), 5.07 (1H, d,
 $J=12$), 5.51 (1H, d, $J=16$), 5.79 (1H, d, $J=15$), 5.79 (1H, s), 6.79
(1H, s), 7.00 (1H, s), 11.76 (2H, s, D_2O 添加により消失).

dimethyl-Bac. A; 無色針状晶, mp 202-208°C.

$\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ ($M^+ m/z$ 544.1352, Calcd. 544.1368). MS m/z

(%): 544 (M^+ , 100), 502 (80), 484 (58), 472 (18), 453 (11),

441 (11). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm} (\epsilon)$: 231 (sh., 37300), 246 (41900),

253 (sh., 38500), 278 (24400), 305 (sh., 11500), 316 (sh.,

10500), 360 (sh., 4600), 373 (sh., 4100). $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3425, 1730,

1676, 1589, 1550, 1220, 1026. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.05 (3H,

s), 2.65 (3H, s), 3.04 (3H, s), 3.82 (3H, s), 4.01 (3H, s), 4.78 (1H, d,

$J=12$), 4.94 (1H, d, $J=12$), 5.04 (1H, s), 5.61 (1H, d, $J=16$), 5.70 (1H, s),

5.79 (1H, d, $J=16$), 6.79 (1H, s), 7.02 (1H, s), 11.80 (1H, s, D_2O 添

加により消失).

Bacillosporin A (Fig. 2, 39) の脱アセチル化

Fig. 2 (39, 32mg) を 10% NaOH 溶液 (0.5ml) 中, 室温下,
1時間攪拌する. 反応液は中和し, エーテルで抽出した.

prep. TLC (Kieselgel GF₂₅₄, HF₂₅₄, CHCl_3 -MeOH 10:1) 及び
 CH_2Cl_2 -MeOH から再結晶により精製し, 得られた生成物は,

TLC (Kieselgel 60F₂₅₄, CHCl_3 -MeOH 10:1), MS, IR, NMR 又
 $^1\text{H-NMR}$ において, bacillosporin B (40) と一致した.

Bacillosporin A (pig. 2, 39) の DDQ 酸化

pig. 2 (39, 40mg) をほぼ無水の THF (1ml) に溶解し, DDQ (40mg) を加え, 室温下, 15分間攪拌する。反応液は prep.TLC (Kieselgel GF₂₅₄, HF₂₅₄, CHCl₃-MeOH 15:1) により分離し, 2種類, の生成物を得た。そのうち, 一方の生成物 (43, 15mg) は, CH₂Cl₂-MeOH より再結晶を行なって精製し, xenoclauxin と比較したところ, TLC (oxalic acid 処理 Kieselgel G, ベンゼン-アセトン 10:1, CH₂Cl₂-酢酸エチル 20:1, ベンゼン-酢酸エチル 30:1), MS, IR, ¹H-NMR と全く一致し, 混融においても融点降下を示さなかった。他方の生成物 (44, 19mg) は不安定のため, 完全に精製することはできなかった。淡黄色アモルファス, $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm (ϵ): 242, 280(sh.), 320, 413. ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3440, 1750, 1667, 1603, 1383, 1222, 1050. ¹H-NMR (d-DMSO) δ : 2.00 (3H, s), 2.44 (3H, s), 2.92 (3H, s), 4.66-5.20 (3H, br), 5.72 (1H, s), 6.70 (1H, s), 6.88 (1H, s), 7.16 (1H, s).

Bacillosporin C (pig. 4, 45) のメチル化

pig. 4 (45, 64mg) を THF (3ml) に溶解し, CH₂N₂ 含有エーテル (1.5ml) を加え, 16時間冷蔵庫内に放置する。溶媒除去後, prep.TLC (Kieselgel GF₂₅₄, ベンゼン-アセトン 6:1) にて分離し, MeOH より再結晶を行ない精製した。trimethyl-Bac.C (12mg) 及び tetramethyl-Bac.C (46, 9mg) が得られた。trimethyl-Bac.C; 淡黄色粒状晶, mp 293-295°C (dec.). C₂₉H₂₄O₁₀ (M⁺m/z 532.1369, Calcd. 532.1369). MS m/z (%): 532 (M⁺, 100), 517 (3), 502 (11), 487 (22), 471

(17), 455(13), 439(12), 274(9), 251(9), 203(10). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm}(\epsilon)$: 218 (sh, 33900), 238(43900), 267 (sh, 29300), 275 (33700), 312(7300), 360(4900). $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3500, 1743, 1668, 1588, 1292, 1031. $^1\text{H-NMR}$ (d-ヒトリゾン) δ : 2.76(6H, s), 3.06(3H, s), 3.54(2H, s), 3.61(3H, s), 3.95(3H, s), 4.76(1H, d, $J=11$), 4.89(1H, d, $J=11$), 5.43(1H, d, $J=15$), 5.63(1H, d, $J=15$), 6.92(1H, s), 7.08(1H, s). tetramethyl-Bac.C (46); 淡黄色粒状晶, mp 185-187°C. $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$ ($M^+ m/z$ 546.1518, Calcd. 546.1524), $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$ (m/z 274.0826, Calcd. 274.0841), $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_5$ (m/z 273.0767, Calcd. 273.0762), $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ (m/z 272.0690, Calcd. 272.0685). MS m/z (%): 546 (M^+ , 100), 532(30), 515(10), 501(14), 485(15), 469(12), 453(13), 274(42), 273(42), 272(76), 258(18), 243(28), 229(21), 215(12), 201(13). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm}(\epsilon)$: 227(41800), 240(45500), 270 (sh, 40400), 275(42100), 312(7600), 340(5000), 366(5600). $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3500, 1730, 1673, 1613, 1587, 1295, 1238, 1097, 1028. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.70(3H, s), 2.88(3H, s), 3.13(3H, s), 3.30(2H, s), 3.65(3H, s), 4.06(3H, s), 4.09(3H, s), 4.45(1H, d, $J=11$), 4.71(1H, d, $J=11$), 5.18(1H, d, $J=15$), 5.51(1H, d, $J=15$), 6.94(1H, s), 7.02(1H, s).

Bacillosponin C (pig. 4, 45) の加水分解

pig. 4 (45, 50mg) を 0.5% HCl-MeOH (4.5ml) に溶解し, PtO_2 (40mg) を加えて, 水素気流下, 室温で 80分間攪拌する。得られた生成物(47, 33mg) は prep. TLC (Kieselgel HF₂₅₄, CHCl_3 -MeOH 10=1) 及び EtOH から再結晶により精製した。

淡黄色針状晶, mp 230–232°C. $C_{26}H_{20}O_7$ (M^+ m/z 476, 1102, Calcd. 476.1107), $C_{13}H_{10}O_5$ (m/z 246.0519, Calcd. 246.0526), $C_{13}H_9O_5$ (m/z 245.0458, Calcd. 245.0451), $C_{13}H_8O_5$ (m/z 244.0340, Calcd. 244.0370), $C_{13}H_{10}O_4$ (m/z 230.0594, Calcd. 230.0579). FD-MS m/z (%): 476 (M^+ , 100). MS m/z (%): 476 (M^+ , 15), 445 (11), 246 (21), 245 (25), 244 (24), 231 (16), 230 (100), 229 (51), 218 (10), 216 (11), 201 (76). λ_{max}^{MeOH} nm(ϵ): 219 (46600), 254 (sh., 20300), 276 (17600), 327 (9200), 364 (sh., 5400). ν_{max}^{KBr} cm^{-1} : 3410, 1660, 1618, 1317, 1217. 1H -NMR (d-DMSO) δ : 1.86 (1H, m), 2.20 (3H, s), 2.32 (2H, m), 2.68 (1H, m), 2.77 (3H, s), 4.64 (1H, d, $J=12$), 4.87 (1H, d, $J=12$), 5.41 (1H, d, $J=15$), 5.62 (1H, d, $J=15$), 6.75 (2H, s), 7.83 (1H, s, D_2O 添加により消失), 9.69 (1H, s, D_2O 添加により消失), 11.21 (1H, s, D_2O 添加により消失), 11.84 (1H, s, D_2O 添加により消失).

Bacillosporin A (pig. 2, 39) の NH_2NH_2 処理

pig. 2 (39, 35mg) を MeOH (0.3ml) 及び 80% NH_2NH_2 -MeOH (0.5ml) 中, 室温下, 5時間攪拌する。反応終了後, 10%塩酸で弱塩基性にし, 酢酸エチルで抽出する。TLCでほぼ単一の黄赤色生成物を定量的に得た。 1H -NMR (d-DMSO) δ : 2.48 (3H, s), 2.90 (3H, s), 4.72 (1H, br, D_2O 添加により sharpening), 4.73 (1H, d, $J=15$), 4.84 (1H, s), 4.93 (1H, d, $J=15$), 4.96 (1H, d, $J=12$), 5.12 (1H, d, $J=12$), 5.23 (1H, br, D_2O 添加により消失), 6.17 (1~2H, br, D_2O 添加により消失), 6.74 (1H, s), 6.76 (1H, s), 9.47 (1H, br s, D_2O 添加により消失), 11.99.

(1H, br s, D₂O添加により消失), 13.53 (1H, s, D₂O添加により消失). 本物質は d-DMSO 中より回収し, d-アセトン中で ¹H-NMR スペクトルを測定したところ, メチル・メチレンがそれぞれ 2 本に分かれて観察され, TLC 上, 2 スポットに観察された。立体異性体と思われる, 加熱等により, お互いに変換する。以下に本混合物の性状を示した。黄赤色結晶 (EtOH), mp 296–298 °C (dec.). MS m/z (%): 488 (M⁺, 100), 474 (32), 453 (7), 442 (7), 426 (10), 413 (23), 397 (25), 383 (9), 368 (11), 278 (6), 223 (25), 211 (53), 205 (40). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (ε): 225 (42300), 235 (sh., 41100), 260 (sh., 20700), 273 (sh., 18100), 290 (sh., 12900), 300 (sh., 1200), 327 (10500), 381 (9020), 465 (8050), 540 (sh., 1300). ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3400, 1662, 1615, 1560, 1460, 1229, 1130. ¹H-NMR (d-アセトン) δ: 2.48, 2.50 (each s, total 3H), 2.94, 2.98 (each s, total 3H), 4.79 (1H, d, J=9), 4.83 (1H, s), 4.89 (1H, d, J=9), 5.05 (1H, br s, D₂O添加により sharpening), 5.13 (1H, d, J=12), 5.25 (1H, d, J=12), 6.69 (2H, s). なお, 本反応は脱アセチル化を伴う。

Bacillosporin C (pig. 4, 45) の NH₃ 処理

pig. 4 (45, 37mg) を 28% NH₃ 溶液中, 室温下, 5 分間 攪拌する。反応液を酸性にした後, 酢酸エチルで抽出する。抽出物は prep. TLC (Kieselgel HF₂₅₄, CHCl₃-MeOH 10:1) 及びアセトン-水からの再結晶により精製し, 生成物 (24mg) を得た。黄色針状晶, mp 272 °C (dec.). FD-MS m/z (%): 487 (M⁺, 100). MS m/z (%): 487 (M⁺, 5), 255 (16), 243 (100), 232 (53), 216 (17), 214 (15), 188 (17), 176 (16).

160(13). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(ϵ): 214(34700), 225(33600), 235(34200), 270(sh., 18200), 314(sh., 10600), 324(13000), 347(7210), 362(10300), 400(sh., 5750), 423(7170), 442(sh., 5880). ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} : 3425, 1667, 1637(sh.), 1561, 1449, 1253, 821. $^1\text{H-NMR}$ (d-DMSO) δ : 2.50(3H, s), 2.72(3H, s), ~3.2(2H, 水のシグナルとの重なりで不明瞭), 4.67(1H, d, $J=11$), 4.89(1H, d, $J=11$), 6.84(1H, s), 6.86(1H, s), 8.13(1H, s), 11.80(1H, br s, D_2O 添加により消失), 13.10(1H, br s, D_2O 添加により消失). なお, 本物質は O と N の置換以外に, dehydration を伴った, neoclauxin 型の化合物である.

生物試験

マウスに対する毒性試験は, 第一章における生物試験と同様に行なった.

抗菌活性に関しては, paper disk 法を用いた. paper disk (Toyo paper disk, 8mm 中, thin) を各物質, 1mg / 0.2ml アセトン中に浸し, 乾燥後, それぞれの菌を懸濁したカンテン平板上にのせる. 37°C , 一晩培養後, 阻止円を測定した. Bacillus subtilis, Candida albicans, Pseudomonase aeruginosa, Sarcina lutea, Aspergillus niger を用いた. bacillosporin A 及び C を検討したところ, bacillosporin A において, B. subtilis, S. lutea にそれぞれ 12.8mm, 12.1mm の阻止円が観察された.

第四章に関する実験

蕃杏 Tetragoniae Herba 成分の抽出・分離

蕃杏(市販細切, 5kg)に MeOH を加え, 10-20 日間冷浸した (3回, 180ℓ). 濃縮後析出した沈殿物(73.9g)を浮去し, その浮液に MeOH, CHCl₃, 水を加え, Folch の方法に準じて分配を行なった。下層を溶媒留去し, 得られた脂質フラクション (114.3g) をシリカゲル・カラムクロマトグラフィー (Wakogel C-200) で分離した。CHCl₃-MeOH (10:1) 溶出部を, Kieselgel 60 silanisiert を用いたカラムクロマトグラフィーで分離し, MeOH-H₂O (3:1) 溶出部より compd A 及び B₁ 含有フラクションを得, MeOH-H₂O (4:1-5:1) 及び MeOH 溶出部より compd A を主に含むフラクション (約 6.3g) を得た。compd B₁ を含有するフラクションは更にシリカゲル (Mallinckrodt) で分離後 MeOH-H₂O から白色粉末として compd B₁ (277mg) を得, その母液を Lobar Si 60 及び RP-8 を用いた低圧カラムクロマトグラフィーにて, compd B₁ (167mg) を分離した。なお, 分離の状態は HPTLC (Kieselgel 60F₂₅₄ 及び RP-8) でチェックした。

Compd A (50) の性状: 白色粉末, FD-MS m/z (%): 599 ((576+Na)⁺, 31), 597 ((574+Na)⁺, 24), 576 (27), 574 (100), 396 (53), 394 (16). MS m/z (%): 576 (2), 574 (6), 433 (6), 414 (9), 412 (7), 396 (100), 394 (39), 382 (18), 255 (30), 229 (9), 213 (12), 175 (8), 173 (8), 161 (20), 159 (17), 149 (15), 147 (27), 145 (22), 139 (15), 135 (18), 133 (17), 131 (10), 121 (19), 119 (16), 109 (22), 107 (24), 105 (19), 97 (17), 95 (33), 93 (21), 91 (19). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm: end absorption.

$\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3395, 2955-2865, 1460, 1443, 1378, 1365, 1161, 1077, 1027, 971. $^1\text{H-NMR}$ (d-ヒリジン) δ : 0.59 (s), 0.68 (s), 0.73 (s), 0.80-1.16 (m), 3.70-4.90 (m), 4.97 (d, $J=7$), 5.14 (m), 5.30 (m), 6.0-7.4 (br). $^{13}\text{C-NMR}$ (d-ヒリジン) δ : 12.1 (q), 13.1 (q), 18.4, 19.3 (q), 20.0 (q), 20.6, 21.4 (q), 23.4 (t), 24.6 (t), 25.7 (t), 26.6 (t), 28.6 (t), 29.1, 29.6 (d), 30.1 (t), 32.2 (d, t), 34.3 (s), 34.6 (s), 36.4 (d), 37.0 (s), 37.5 (t), 39.4 (d), 40.0 (d), 41.4, 42.6 (s), 43.6 (s), 46.1 (d), 49.6 (d), 50.5 (d), 51.4 (d), 55.3 (s), 56.3 (d), 56.9 (s), 63.0 (t), 71.8 (d), 75.4 (d), 77.2 (d), 78.5 (d), 102.3 (d), 102.7 (d), 117.9 (d), 121.9 (d), 129.7 (d), 138.7 (d), 139.5 (s), 141.0 (s).

Compd B₁ (64) の性状: 無色粉末 (MeOH-H₂O). mp ~ 185°C. FD-MS m/z (%): 736 ((M+Na)⁺, 100), 713 ((M+H)⁺, 8). $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm: end absorption. $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3360, 2920-2850, 1640, 1535, 1468, 1081, 967, 722. $^1\text{H-NMR}$ (d-ヒリジン) δ : 0.87 (6H, t-like, $J=5$), 1.25 (s-like), 1.73 (2H, m), 2.03 (4H, m), 2.12 (2H, m), 3.68-4.76 (m), 4.82 (1H, d, $J=7$), 5.41 (2H, m), 5.86 (2H, m), 6.36 (br, D₂O 添加により消失), 8.25 (1H, br d, $J=7$). $^1\text{H-NMR}$ (CD₃OD-CDCl₃ 1:2) δ : 0.88 (6H, t-like, $J=6$), 1.30 (s-like), 2.00 (4H, m), 2.06 (2H, m), 3.14-4.16 (m), 4.22 (1H, d, $J=7$), 5.33 (2H, m), 5.38 (1H, m), 5.70 (1H, m), 7.48 (1H, br d, $J=6$). $^{13}\text{C-NMR}$ (d-ヒリジン) δ : 14.3 (q), 22.9 (t), 25.8 (t), 27.3 (t), 27.5 (t), 29.6 (t), 30.0 (t), 32.2 (t), 32.9 (t), 35.6 (t), 54.6 (d), 62.6 (t), 70.2 (t), 71.5 (d), 72.4 (d), 75.0 (d), 78.4 (d), 105.6 (d), 129.4 (d), 129.8 (d), 130.9 (d), 131.4 (d), 134.1 (d), 176.4 (s).

Compd A (50) のメタリシス

compd A (50, 409mg) を 1N H₂SO₄-MeOH (250ml) 中, 50°C, 16 時間攪拌する。反応液をエーテルで抽出し, エーテル層をシリカゲル・カラムクロマトグラフィー (Mallinkrodt) により未反応部分 (回収 compd A, 76mg) 及び非糖部 52 (204mg) に分離した。非糖部 52 (165mg) を中圧カラム (C.I.G CPS-153) を用いて, 更に aglycone-I (53, 82mg), aglycone-II (54, 75mg) に分離した。エーテル抽出後の水層は, イオン交換樹脂 (Dowex 2x8) で処理し, 糖部分 51 (99mg) を得た。

糖部分 51 の性状; FD-MS m/z (%): 427 ((2M+K)⁺, 7), 411 ((2M+Na)⁺, 63), 233 ((M+K)⁺, 44), 217 ((M+Na)⁺, 100). ¹³C-NMR (d-ヒロリジン) δ: 55.0 (q), 56.8 (q), 62.9 (t), 71.6 (d), 72.2 (d), 73.9 (d), 74.1 (d), 75.1 (d), 75.5 (d), 78.5 (d), 101.4 (d), 105.7 (d).

Aglycone -II (53) の性状: 無色葉状晶 (MeOH), mp 141.5-142.5°C (dec.). MS m/z (%): 414 (100), 412 (18), 400 (14), 339 (16), 396 (30), 329 (21), 303 (24), 273 (19), 271 (10), 255 (23), 231 (14), 213 (19), 178 (13), 163 (15), 161 (18), 159 (21), 147 (17), 145 (25), 135 (16), 133 (21), 131 (14), 123 (11), 121 (18), 119 (20), 109 (17), 107 (29), 105 (27), 97 (14), 95 (31), 93 (22), 91 (18).
 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3425, 2965-2870, 1464, 1380, 1063, 1056, 1021, 959, 800. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.69 (s), 0.83 (d, J=7), 0.84 (d, J=7), 0.87 (t, J=6), 0.92 (d, J=7), 1.04 (s), 1.67 (s, D₂O 添加により消失), 1.0-2.1 (m), 2.27 (br d-like, J=7), 3.52 (m), 5.07 (シグナルの重なりのため, 結合様式は不明), 5.33 (br d,

$J=4$). $^{13}\text{C-NMR}$ (d-セリジン) δ : 12.1⁺⁺(g), 19.1⁺(g), 19.3⁺(g), 19.7⁺(g), 20.0⁺(g), 20.7, 21.4⁺(t), 23.4⁺(t), 24.6⁺(t), 25.7, 26.5⁺(t), 28.5⁺(t), 29.5⁺(d), 32.3⁺⁺(t, d), 32.6⁺(t), 34.2⁺(t), 36.4⁺(d), 36.9⁺(s), 37.9⁺(t), 40.0⁺(t), 40.8, 42.6⁺(s), 43.6⁺(t), 46.1⁺(d), 50.5⁺(d), 51.4, 56.3⁺(d), 57.0⁺(d), 71.2⁺(d), 121.2⁺(d), 129.5, 138.8, 142.0⁺(s), (+; β -sitosterol 由来).

Aglycone-II (54) の性状: 無色針状晶 (CHCl_3 -MeOH), mp 148-151°C (dec.). MS m/z (%): 416 (40), 414 (100), 412 (82), 399 (15), 397 (15), 369 (14), 300 (14), 273 (46), 271 (72), 255 (43), 246 (22), 233 (20), 231 (16), 229 (20), 215 (15), 213 (14), 161 (19), 159 (14), 149 (20), 147 (25), 145 (15), 135 (21), 133 (20), 131 (12), 123 (17), 121 (20), 119 (22), 109 (22), 107 (36), 105 (26), 97 (21), 95 (36), 91 (22). $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3400, 2965-2870, 1455, 1381, 1041, 970. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0.56 (s), 0.65 (s), 0.81 (d, $J=7$), 0.83 (s), 0.85 (t, $J=6$), 0.86 (d, $J=7$), 1.03 (d, $J=7$), 1.56 (s, D_2O 添加により消失), 1.1-2.1 (m), 3.58 (m), 4.96 4.96 (dd, $J=14, 7$), 5.07 (シグナルの重なりのため結合様式は不明), 5.16 (g, $J=14, 7$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 12.0⁺⁺(g), 13.1⁺(g), 19.1⁺(g), 19.8, 21.1⁺(g), 21.4⁺(g or t), 21.6⁺(g or t), 23.1⁺(t), 24.3, 25.4⁺(t), 26.2, 28.0, 28.5⁺(t), 28.8, 29.2, 29.7⁺(t), 31.5⁺(t), 31.9⁺(d), 34.0, 34.2⁺(s), 35.6, 36.2, 36.6, 37.1⁺(t), 38.0⁺(t), 39.6⁺(t), 40.3⁺(d), 40.8⁺(d), 42.6, 43.3⁺(s), 44.9, 45.9, 49.5⁺(d), 51.2⁺(d), 54.4, 55.1⁺(d), 55.9⁺(d), 56.5, 71.1⁺(d), 117.5⁺(d), 129.5⁺(d), 138.2⁺(d), 139.5⁺(s), (+; α -spinasterol 由来).

Compd A (50) のメタリシス

compd A (50, 396 mg) を 2N HCl - aq. MeOH (MeOH-H₂O 1:1) 200 ml 中, 2 時間 reflux する。反応液を濃縮し, 水を加え, エーテルで抽出する。水層はそのまま溶媒留去し, 糖部 51 (81 mg, wet) を得, エーテル抽出部 (341 mg) は CHCl₃-ベンゼンを加え, 不溶部 (未反応 compd A が主, 171 mg) と可溶部 (非糖部 52 が主, 164 mg) に分離する。この可溶部は中圧カラムクロマトグラフィ- (C. I. G CPS-153) により, aglycon-I (53, 40 mg), aglycone-II (54, 47 mg) 及びこれらの混合物 (50 mg) に分離した。

Aglycone-II (54) のアセチル化

aglycone-II (54, 47 mg) にヒロリジン (2 ml), Ac₂O (2.5 ml) を加え, 室温下, 16 時間放置する。反応液を氷水中に滴下し, 析出した白色沈殿 (58, 44 mg) を浮取した。FD-MS m/z (%): 456 (51), 454 (100). ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.54 (s), 0.65 (s), 0.80 (d, J=7), 0.82 (s), 0.83 (d, J=7), 0.83 (t, J=6), 1.01 (d, J=7), 1.1-2.0 (m), 2.01 (s), 4.64 (m), 4.94 (dd, J=15, 7), 5.10, 5.13 (dd, J=15, 7). ¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 12.1⁺ (?), 13.0⁺ (?), 19.1⁺ (?), 19.9, 21.1⁺ (?), 21.5⁺⁺ (t, ?), 23.1⁺ (t), 24.3, 25.5⁺ (t), 26.3, 27.5⁺ (t), 28.0, 28.5⁺ (t), 29.2, 29.6⁺ (t), 31.9⁺ (d), 34.0⁺ (t), 34.3⁺ (s), 35.6, 36.9⁺ (t), 39.6⁺ (t), 40.2⁺ (d), 40.9⁺ (d), 42.7, 43.3⁺ (s), 44.2, 44.8⁺ (t), 46.0⁺ (d), 49.4⁺ (d), 51.3⁺ (d), 53.6, 54.4, 55.1⁺ (d), 56.1⁺ (d), 56.5, 73.5⁺ (d), 117.3⁺ (d), 129.6⁺, 138.2⁺ (d), 139.5⁺ (s), 170.6⁺ (s), (+; α-spinasterol-Ac 由来)。

Aglycone-II-Ac (58) の還元

aglycone-II-Ac (58, 40 mg) を酢酸エタール (5 ml) 中, PtO₂

(42mg) を加え, 水素気流下, 3.5時間攪拌する。反応液は濾過, 溶媒留去し, 還元体 (62, 39mg) を得た。FD-MS m/z (%): 458 (11), 456 (100). ^{13}C -NMR (CDCl_3) δ : 12.0⁺⁺(g), 12.9⁺(g), 18.3, 18.9⁺(g), 19.1⁺(g), 19.8⁺(g), 21.2⁺(t), 21.4⁺(t), 23.1⁺⁺(t), 24.2, 25.8, 26.3⁺(t), 27.1, 27.5⁺(t), 28.0⁺(t), 28.3, 28.6, 28.8, 29.2⁺(d), 29.5⁺(t), 32.0, 33.9⁺(t), 34.0⁺(t), 34.2⁺(s), 34.8, 35.5, 36.2, 36.6⁺(d), 36.9⁺(t), 37.3, 39.6⁺(t), 40.1⁺(d), 42.7, 42.8, 43.4⁺(s), 44.2, 44.7, 45.9⁺(d), 49.3⁺(d), 55.0⁺(d), 56.1(d), 56.4, 56.9, 73.5⁺(d), 73.7(d), 117.3⁺(d), 139.5⁺(s), 170.6⁺(s), (+; schottenol-Ac 由来).

GLCによる同定

GLCは3%OV-17 (2 ϕ x 2m) を用い, carrier gas (N_2 gas) 1.6 kg/cm^2 , H_2 gas 0.9 kg/cm^2 , 270 $^\circ\text{C}$ で行なった。標品として用いたサンプルのうち, β -sitosterol は市販品 (半井化学薬品) を中圧カラムクロマトグラフィ- (C.I.G. CPS-153) 及び再結晶にて精製し, stigmasterol は市販品 (半井化学薬品) を数回再結晶にて精製して用いた。campesterol は市販の粗タリス・レシナンから得た sterylglucoside を加水分解して用いた。stigmastanol は β -sitosterol を H_2/PtO_2 にて還元して合成した。Kircher 教授より供与された α -spinasterol 及び schottenol, 又, 系川教授より供与された α -spinasterol と schottenol の混合物を標品として用いた。それぞれの acetate は Ac_2O -ピロリジンによるアセチル化で得た。相対保持時間 (cholesterol = 1.00): aglycone-I (53) { campesterol (1.28, 11.0%), stigmasterol (1.40, 19.9%), β -sito-

sterol (1.60, 69.1%)}, aglycone-II (54) { campesterol (1.50, 2.8%), α -spinasterol, Δ^2 -stigmasterol 及び stigmasterol (1.65, 63.8%), schottenol (1.86, 24.5%)}, aglycone-II-acetate (58) 及びその還元体 (62) は本文中 (Table 15) に記載した。

Compd B₁ (64) の加水分解

compd B₁ (64, 1mg) を 2N HCl 溶液 (1ml) 中, 110°C で 2-3 時間 攪拌する。溶媒留去後, 反応混合物中の糖は標品の D-glucose と TLC (Cellulose; 酢酸エチル-ヒロジン-水-EtOH 12:5:4:2, 酢酸エチル-ヒロジン-水-酢酸 5:5:3:1, 0.02N NaOAc 処理 Kieselgel G; アセトン-水 9:1) において一致した。

Compd B₁ (64) のアセチル化

compd B₁ (64, 32mg) を Ac₂O (0.25ml), ヒロジン (0.25ml) 中, 室温下一晩放置する。反応液は氷水中に注ぎ, 酢酸エチルで抽出後, prep. TLC (Kieselgel H, ヘンゼン-アセトン 6:1) 及び MeOH からの再結晶で精製し, hexaacetate (16mg) を得た。無色針状晶, mp 70-73°C, Anal. Calcd. C₅₂H₈₇NO₁₅: C, 64.64; H, 9.07; N, 1.45. Found: C, 64.72; H, 9.26; N, 1.46. FD-MS m/z (%): 966 ((M+1)⁺, 100). MS m/z (%): 965 (M⁺, 1), 905 (5), 846 (1), 798 (2), 739 (1), 709 (1), 686 (7), 634 (2), 618 (4), 604 (1), 558 (3), 390 (10), 331 (98), 271 (16), 262 (6), 229 (3), 211 (6), 169 (95), 127 (9), 109 (30), 43 (100). $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 3370, 2960-2850, 1747, 1678, 1532, 1372, 1230, 1036, 976. ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.88 (6H, t-like, J=5), 1.29 (s-like), 1.60-2.30 (m), 2.01 (3H, s), 2.04 (9H, s), 2.09 (3H, s), 2.17

(3H, s), 3.48-4.40 (1H, d, $J=7$), 4.80-5.88 (9H, m), 6.29 (1H, d, $J=8$).

Compd B₁ (64) の接解還元

compd B₁ (64, 34 mg) を MeOH (9 ml) 中, PtO₂ (10 mg) を加え, H₂ 気流下 135 分間攪拌する。反応液は冷却後, 溶媒留去し, CHCl₃-MeOH から再結晶を行ない, 精製した。tetrahydro-compd B₁ (65), 25 mg を得た。無色ガラス状晶, mp 201-203 °C. FD-MS m/z (%): 718 ((M+1)⁺, 100).
 ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3330, 2910-2845, 1648, 1538, 1466, 1074, 720.
¹H-NMR (d-ヒンジン) δ : 0.86 (6H, t-like, $J=6$), 1.31-1.81 (m), 2.06 (m), 3.74-4.74 (m), 4.80 (1H, d, $J=8$), 6.30 (br, D₂O 添加により消失), 7.06 (br, D₂O 添加により消失), 8.31 (1H, br d, $J=8$, D₂O 添加により消失).

compd B₁ (64) の OsO₄ 酸化

compd B₁ (64, 37 mg) を OsO₄-ヒンジン (50 mg / 10 ml) 中, 室温下 2 時間攪拌する。反応液に NaHSO₃-H₂O-ヒンジン (20 ml) [NaHSO₃ (1.8 g), ヒンジン (20 ml), 水 (30 ml) より作製] を加え, 15 分間攪拌した後, 水 (5 ml) を加え, CHCl₃-MeOH で抽出した。溶媒留去後得た残渣より, 再度 CHCl₃-MeOH で抽出し, 抽出物を MeOH からの再沈殿で精製した。tetrahydroxy-compd B₁ (66), 16 mg を得た。
 mp 210 °C, FD-MS m/z (%): 804 ((M+Na)⁺, 100).
 ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹: 3350, 2920-2845, 1632, 1524, 1467, 1080, 720.
¹H-NMR (d-ヒンジン) δ : 0.83 (6H, t-like, $J=5$), 1.23 (br s-like), 1.70 (m), 2.16 (m), 3.68-4.80 (m), 4.87 (1H, d, $J=7$),

5.30 (1H, br), 8.54 (1H, brd, $J=10$, D_2O 添加により消失). 66 の TMS 体の MS は Fig. 19 に記載した.

Tetrahydro-compd B₁ (65) のメタリシス

tetrahydro-compd B₁ (65, 28mg) を 2-4N HCl-MeOH (17.5ml) 中 9 時間 reflux する. 反応液は石油エーテルで抽出後, 石油エーテル抽出物は prep. TLC (Kieselgel H, ヘンゼン-アセトン 10:1) で精製して, methyl 2-hydroxypalmitate (67, 12mg) を得た. 石油エーテル抽出後の反応液は 10% NaOH 溶液で塩基性とし, エーテルで抽出した. このエーテル抽出物 (14mg) は酢酸エーテルで再沈殿を行なって精製し, long chain base I (68, 3mg) を得た. methyl 2-hydroxypalmitate (67): 白色粉末, mp 47-48°C. $C_{17}H_{34}O_3$ ($M^+ m/z$ 286.2489, Calcd. 286.2507). FD-MS m/z (%): 286 (M^+ , 100). MS m/z (%): 286 (M^+ , 85), 254 (9), 227 (100), 208 (19), 182 (5), 159 (6), 145 (14), 141 (4), 139 (10), 127 (13), 125 (19), 113 (9), 111 (34), 103 (14), 97 (55), 90 (43). $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3375, 2915-2850, 1752, 1740, 1466, 1280, 725. ^1H-NMR ($CDCl_3$) δ : 0.85 (3H, t-like, $J=6$), 1.22 (br s-like), 1.64 (br), 3.08 (br, D_2O 添加により消失), 3.71 (3H, s), 4.08 (1H, dd, $J=7.5$). long chain base I (68): 白色粉末, mp 72-92°C. FD-MS m/z (%): 302 ($(M+1)^+$, 100). $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3335, 2915-2845, 1600, 1509, 1462, 1060, 731, 720. 68 の TMS 誘導体: MS m/z (%): 430 ($(M-15)^+$, 1), 342 (29), 313 (24), 149 (3), 147 (7), 132 (100), 129 (6), 125 (2), 116 (10), 115 (4), 111 (4), 103 (7), 101 (1), 99 (2), 97 (8).

Long Chain Base I (68) の N-アセチル化及びトリメチルシリル (TMS) 化

long chain base I (68, 1mg) を Ac_2O (0.4 ml), MeOH (0.4 ml) 中, 室温下 17.5 時間放置する。反応液は氷水中に注ぎ, $CHCl_3$ 及びエーテルで抽出した。生成物は prep. TLC (Kieselgel G, $CHCl_3$ -MeOH-2N NH_3OH 40:10:1) で精製後, hexamethyldisilazane (0.2 ml), trimethylchlorosilane (0.1 ml), ピリジン (0.2 ml) でトリメチルシリル (TMS) 化した。
 69: MS m/z (%): 472 ($(M-15)^+$, 14), 384 (10), 313 (68), 247 (68), 217 (12), 175 (22), 157 (97), 129 (17), 116 (28), 103 (18), 97 (13), 83 (55), 73 (100).

Compd B₁ (64) のメタリシス

compd B₁ (64, 111 mg) を 1N HCl-MeOH- H_2O ⁵⁹ (40 ml) 中, 75°C, 15 分間攪拌する。イオン交換樹脂 (Amberlite CG-400) を用いたカラムクロマトグラフィーにて分離し, methyl 2-hydroxypalmitate (67, 21 mg) と塩基性フラクション (68 mg) を得た。塩基性フラクション (52 mg) は, 更に prep. TLC (Kieselgel H, $CHCl_3$ -MeOH-2N NH_3OH 40:10:1) で分離し, long chain base II (70, 7 mg) とその glucoside (30 mg) を得た。long chain base II glucoside: FD-MS m/z (%): 460 ($(M+1)^+$, 100). 1H -NMR (d-ピリジン) δ : 0.84 (3H, t-like, J=5), 1.24 (br s-like), 2.01 (4H, m), 2.05 (2H, m), 3.64-4.69 (m), 4.76 (1H, dd, J=6, 5), 4.85 (1H, d, J=8), 5.04 (1H, d, J=4), 5.37 (2H, m), 5.83 (2H, m). 1H -NMR ($CDCl_3$ - CD_3OD) δ : 0.85 (3H, t-like, J=5), 1.14 (br

s-like), 1.96 (4H, m), 2.05 (2H, m), 3.08-4.20 (m), 4.25 (1H, d, $J=7$), 4.64 (1H, d, $J=3$), 5.29 (2H, m), 5.34 (1H, m), 5.73 (1H, m).

Long Chain Base II (70) のアセチル化

long chain base II (70, 8mg) を MeOH (0.5ml), Ac₂O (1ml) 中, 室温下一晩放置する。反応液を氷水中に注ぎ, CHCl₃ 及びエーテルで抽出した。抽出物は prep. TLC (Kieselgel H, CHCl₃-MeOH-2N NH₃OH 40:10:1) で分離し, N-acetate (N-Ac-base II, 4mg) 及び N,O-diacetate (2mg) を得た。
 N-acetate: FD-MS m/z (%): 340 ((M+)⁺, 100). MS m/z (%): 339 (M⁺, 0.2), 321 (0.4), 308 (0.3), 102 (35), 85 (100), 82 (11), 70 (18), 67 (12), 60 (71).
 N,O-diacetate: MS m/z (%): 381 (M⁺, 0.5), 363 (0.1), 321 (3), 304 (0.3), 290 (0.2), 280 (0.2), 262 (4), 252 (1), 237 (0.3), 219 (0.7), 214 (1), 156 (2), 144 (10), 102 (67), 85 (100), 70 (40), 67 (18), 60 (80).

Long Chain Base II - N-Acetate (N-Ac-Base II) の

OsO₄ 酸化

long chain base II - N-acetate (N-Ac-base II, 4mg) を OsO₄-ヒンジン (3.5mg/0.7ml) 中, 室温下 2時間攪拌する。compd B₁ の OsO₄ 酸化と同様に後処理を行ない, 生成物 (2mg) を得, prep. TLC (Kieselgel H, CHCl₃-MeOH-2N NH₃OH 40:10:1) で精製した。得られた酸化物は N-Ac-base I と同様に TMS化を行なった後, MS を測定した (Fig 17).

D-Sphingosine の接触還元

市販の D-sphingosine (Sigma社) (3mg) を MeOH (2ml)

中, PtO_2 (3mg) を加え, H_2 気流下 140 分間攪拌する。反応液を濾過, 溶媒留去し, sphinganine (3mg) を得た。

Compd B_{1-a} (72) 及び B_{1-b} (73) の分離

compd B₁ (64, 54mg) を中圧カラムクロマトグラフィー (C.I.G. CPS-153, CHCl_3 -MeOH-ヘンゼン 25:1:1, ポンプ圧 $40\text{kg}/\text{cm}^2$) により分離し, compd B_{1-a} (72, 22mg), compd B_{1-b} 主フラクション (15mg) 及び混合物 (24mg, wet) を得た。

compd B_{1-b} 主フラクションは, 同様に再度クロマトグラフィーを行ない, compd B_{1-b} (73, 6mg), B_{1-a} (72, 4mg) 及び両者の混合物 (7mg) を得た。compd B_{1-a} (72): 白色顆粒状晶 (MeOH), mp $184-186^\circ\text{C}$. FD-MS m/z (%): 736 ((M+Na)⁺, 100), 714 ((M+1)⁺, 12). $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3350, 295-2850, 1643, 1466, 1080, 963, 720. ORD ($c=0.648$, MeOH- CHCl_3 1.5:1) $[\alpha]^{155}(\text{nm})$: +5.4° (589), +8.1° (500), +12.00 (400), +24.7° (300). compd B_{1-b} (73): FD-MS m/z (%) = 736 ((M+Na)⁺, 100), 714 ((M+1)⁺, 31). なお, 分離の状態は HPTLC (Kieselgel 60F₂₅₄, CHCl_3 -MeOH-水 40:10:1) でチェックした。

生物試験

試験動物及び試験物質

STD-ddy 系雌性マウス (20g-26g) を用いた。試験物質は 0.5-1% carboxymethyl cellulose (CMC) を含む生理食塩水に懸濁させた。gluco-cerebroside (gaucher 病患者), galacto-cerebroside (人脳) は東京大学・野島庄七教授より, kera-sin, CSE, GM₂ は東京大学・山川民夫教授, 広川大学・大塚英昭助教より頂いた。合成 glyceroglucolipid は理化学研究

所、小川智也博士より、又、植物 cerebroside は (株) 龍角散より頂いた。

実験ストレス潰瘍

一群 3-10匹のマウスを用い、Yano & Haradaの方法⁷⁴⁾に従った。試験物質投与30分後に金網ケージに拘束し、20℃の水中に剣状突起まで浸漬した。18時間後に動物を殺し、胃を摘出した。3%ホルマリン液で固定後、腺胃部に発生した出血巣の長径(mm)を求めて潰瘍係数 ulcer index とした。試験物質の潰瘍抑制率は次の式で求めた。

$$\text{潰瘍抑制率(\%)} = \frac{\text{潰瘍係数(試験群)}}{\text{潰瘍係数(対照群)}} \times 100$$

なお、得られた各値の実験群と対照群間の比較には、student の t 検定を行なった。

第五章に関する実験

連銭草 *glechomae* Herba 成分の抽出・分離

連銭草 *glechomae* Herba (市販細切, 5kg) を MeOH 42ℓ で6日間冷浸し, 抽出した。溶媒を濃縮後, 水を加え, 石油エーテルで抽出し, 石油エーテル層を除き, CHCl_3 を加えて分配した。下層を溶媒留去後, シリカゲル・カラムクロマトグラフィー (Wakogel C-200) にて分離した。ベンゼンから順次アセトンを加え, 最後に MeOH で溶出させて, fr. A-E を得た。そのうち, fr. D (39.15g) の一部 (10.08g) を用いて, 再度カラムクロマトグラフィーを行ない, compound Gh₁ (約3g), compound Gh₂ (約1g) を得た。

Compound Gh₁ (74) の性状: 無色針状晶 (EtOH), mp 274.5–276°C, $[\alpha]_D^{22} + 55.4^\circ$ (c=0.85, ヒロリジン)。MS m/z (%): 456 (M⁺, 6), 412 (3), 410 (5), 248 (100), 207 (26), 203 (39), 189 (14), 147 (10), 133 (26), 119 (15), 107 (11), 105 (11)。
 $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3425, 2925–2870, 1716, 1698, 1452, 1385, 1375, 1040, 998, 661。¹H-NMR (d-ヒロリジン) δ: 0.96 (3H, s), 1.00 (6H, d, J=4), 1.04 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.24 (6H, s), 1.10–2.40 (m), 2.58 (1H, d, J=11), 3.40 (1H, dd, J=8, 7), 5.40 (1H, m)。

Compound Gh₂ (75) の性状: 白色粉末 (アセトン), mp 250–251°C, $[\alpha]_D^{22} + 31.6^\circ$ (c=1.14, ヒロリジン)。MS m/z (%): 472 (M⁺, 4), 426 (5), 248 (100), 203 (34), 189 (8), 133 (24), 121 (7), 119 (11), 107 (8), 105 (9)。¹H-NMR (d-ヒロリジン) δ: 0.95–1.06 (CH₃ × 6), 1.26 (3H, s), 1.10–2.40 (m), 2.56

(1H, d, J=11), 3.31 (1H, d, J=9), 3.99 (1H, m), 5.36 (1H, m).

Compound Gh₁ (74) のアセチル化

compound Gh₁ (74, 53mg) をピロジン(3ml), Ac₂O (1ml) 中, 室温下, 16時間放置する。反応液を氷水中に滴下し, 析出した沈殿物(53mg)を浮取り, EtOHより再結晶を行ない精製した。compound Gh₁-acetate: 無色針状晶, mp 278.5-280.5°C. MS m/z(%): 498 (M⁺, 5), 452 (3), 438 (4), 248 (100), 219 (7), 203 (43), 190 (29), 175 (11), 147 (12), 133 (37), 121 (14), 119 (19), 107 (16), 105 (17). $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$: 2970-2870, 1737, 1698, 1452, 1368, 1242, 1025, 658. ¹H-NMR (d-ピロジン) δ : 0.85 (3H, s), 0.90 (3H, s), 0.92 (3H, s), 1.01 (6H, d, J=4), 1.05 (3H, s), 1.24 (3H, s), 1.1-2.3 (m), 2.04 (3H, s), 2.57 (1H, d, J=11), 4.59 (1H, dd, J=8, 7), 5.36 (1H, m).

Compound Gh₂ (75) のアセチル化

compound Gh₂ (75, 28mg), Ac₂O (1ml), ピロジン(1.5 ml)より, compound Gh₁と同様に行なった。反応液は氷水中に滴下し, エーテルで抽出後, prep. TLC (Kieselgel GF₂₅₄, CHCl₃-MeOH 2:1)で精製して, diacetate (19mg)を得た。¹H-NMR (d-ピロジン) δ : 0.94-1.07 (CH₃ × 7), 1.1-2.4 (m), 2.07 (3H, s), 2.15 (3H, s), 2.66 (1/2 H, d, J=11), 3.32 (<1/2 H, m), 5.06 (1H, d, J=10), 5.34 (1H, m), 5.46 (1H, m).

生物試験

第四章に関する実験の生物試験と同様に行なった。

謝 辞

本研究に際し、御指導、御鞭達を賜わりました千葉大学生物活性研究所・山崎幹夫教授に厚く御礼申し上げます。

本研究を進めるにあたり、種々御助言を預きました千葉大学生物活性研究所・藤本治宏助教授、前林行雄助手、鈴木重紀助手、堀江義一教務員に感謝いたします。

又、X線構造解析の労をとられた大阪大学蛋白質研究所・勝部幸輝教授、理化学研究所・桜井敏雄博士、小林公子氏、理学電機・堀俊彦氏、小林誠氏、井上弘直氏、元素分析、MS、NMRスペクトルを測定して下さった、千葉大学生物活性研究所・滝沢香代子氏、千葉大学分析センター・関宏子氏、中島純子氏、原律子氏、日本電子・松下和弘氏、²H-NMRスペクトルを測定して下さった国立ガンセンター・斎藤肇博士、変異原活性を調べて頂いた国立ガンセンター・長尾美奈子博士、アンブラー作用を調べて頂いた岐阜大学・河合清講師に感謝いたします。

さらに、実験の一部に御協力頂いた近藤和子氏、竹内鉄雄氏、武藤昌国氏、(株)龍角散・石井敬人氏に感謝いたします。

貴重なサンプルを御恵与頂いたマサチューセッツ工科大学・G. Büchi教授、明治薬科大学・柴田承二教授、東京大学・三川潮教授、野島庄七教授、山川民夫教授、大阪市立大学・萩原幸夫教授、東北大学・野副重男教授、草野源次郎助教授、広島大学・大塚英昭助教授、理化学研究所・小川智也博士、東京薬科大学・糸川秀治教授、鳥取大学・浜崎敬教授、アリソツナ大学・H. W. Kircher教授、(株)サッポロビール・棟方博久博士に感謝いたします。

掲載雑誌目録

本論文中、各章の内容は以下の雑誌に掲載されたものである。

第一章に関する論文

- (1) M.Yamazaki, H.Fujimoto, E.Okuyama, Tetrahedron Letters, 1976, 2861.
"Structure Determination of Six Tryptoquivaline-related Metabolites from Aspergillus fumigatus"
- (2) M.Yamazaki, H.Fujimoto, E.Okuyama, Chem.Pharm.Bull., 25, 2554 (1977).
"Structure of Tryptoquivaline C (FTC) and D (FTD). Novel Fungal Metabolites from Aspergillus fumigatus"
- (3) M.Yamazaki, H.Fujimoto, E.Okuyama, Chem.Pharm.Bull., 26, 111 (1978).
"Structure Determination of Six Fungal Metabolites, Tryptoquivaline E, F, G, H, I and J from Aspergillus fumigatus"
- (4) M.Yamazaki, E.Okuyama, Y.Maebayashi, Chem.Pharm.Bull., 27, 1611 (1979).
"Isolation of Some New Tryptoquivaline-related Metabolites from Aspergillus fumigatus"

第二章に関する論文

- (5) 山崎幹夫, 藤本治宏, 奥山恵美, 太田陽一, マイコトキシン研究会会報, 1980, 27.
"Penicillium paraherquei 及び Aspergillus silvaticus"

より得られた新毒性代謝産物の構造について”

- (6) M.Yamazaki, E.Okuyama, M.Kobayashi, H.Inoue, *Tetrahedron Letters*, 1981, 135.
 "The Structure of Paraherquamide, A Toxic Metabolite from Penicillium paraherquei"
- (7) E.Okuyama, M.Yamazaki, K.Kobayashi, T.Sakurai, *Tetrahedron Letters*, 24, 3113, (1983).
 "Paraherquonin, A New Meroterpenoid from Penicillium paraherquei"
- (8) Y.Maebayashi, E.Okuyama, M.Yamazaki, Y.Katsube, *Chem.Pharm.Bull.*, 30, 1911 (1982).
 "Structure of ED-1 Isolated from Emericella dentata"

第三章に関する論文

- (9) M.Yamazaki, E.Okuyama, *Chem.Pharm.Bull.*, 28, 3649 (1980).
 "Isolation and Structure of Oxaphenalenone Dimers from Talaromyces bacillosporus"

第四章に関する論文

- (10) 奥山恵美, 山崎幹夫, *薬学雑誌*, 103, 43 (1983).
 “蕃杏(ツリナ, Tetragonia tetragonoides の抗拘束水浸
 ストレス潰瘍活性成分の研究(第一報)活性成分と
 17の sterylglucosides (Compound A) の分離と同定”
- (11) E.Okuyama, M.Yamazaki, *Chem.Pharm.Bull.*, 31, 2209 (1983).
 "The Principles of Tetragonia tetragonoides Having Anti-ulcerogenic

Activity. II Isolation and Structure of Cerebrosides"

第五章に関する実験

(12) 奥山恵美, 山崎幹夫, 石井敬人, 生薬学雑誌, 37,
52 (1983).

“連銭草 *glechomae* Herba (*glechoma hederacea*) の
抗拘束水浸スライス潰瘍活性成分, *ursolic acid*
関連化合物の単離並びに同定”

文献及び注

- 1) a) 宮木高明, 山崎幹夫, 堀江義一, 宇田川俊一, 食衛誌, 11, 373 (1970);
b) M.Yamazaki, S.Suzuki, K.Miyaki, Chem.Pharm.Bull., 19, 1739 (1971).
- 2) M.Yamazaki, K.Sasago, K.Miyaki, J.C.S.Chem.Comm., 1974, 408;
M.Yamazaki, H.Fujimoto, T.Akiyama, U.Sankawa, Y.Iitaka, Tetra-
hedron Letters, 1975, 27; M.Yamazaki, H.Fujimoto, T.Kawasaki,
ibid., 1975, 1241; idem., Chem.Pharm.Bull., 28, 245 (1980);
M.Yamazaki, K.Suzuki, H.Fujimoto, T.Akiyama, U.Sankawa, Y.Iitaka,
Chem.Pharm.Bull., 28, 861 (1980).
- 3) J.Clardy, J.P.Springer, G.Büchi, K.Matsuo, R.Wightman, J.Am.Chem.
Soc., 97, 663 (1975).
- 4) 山崎幹夫, 笹子久美子, 宮木高明, 第17回日本薬学会
関東支部大会(東京, 1973)にて発表.
- 5) A.W.Sangster, K.L.Stuart, Chem.Rev., 65, 69 (1965).
- 6) S.Sakai, N.Aimi, K.Yamaguchi, H.Ohhira, K.Hari, H.Haginiwa, Tetra-
hedron Letters, 1975, 715; Lilly Research Laboratories, Physical
Data of Indole and Dihydroindol Alkaloids (1960, 1962, 1964).
- 7) B.Witkop, J.B.Parrick, J.Am.Chem.Soc., 73, 2188 (1951); N.Finch,
W.I.Taylor, P.R.Ulshafer, Experientia, 19, 296 (1963); A.J.Birch,
J.J.Wright, Tetrahedron, 26, 2329 (1970).
- 8) G.Büchi, K.C.Luk, B.Kobbe, J.M.Townsend, J.Org.Chem., 42, 244
(1977).
- 9) J.P.Springer, Tetrahedron Letters, 1979, 339.
- 10) G.A.Snow, J.Chem.Soc., 1954, 2588.
- 11) G.Büchi, P.R.DeShong, S.Katsumura, Y.Sugimura, J.Am.Chem.Soc.,
101, 5084 (1979).
- 12) T.Ohnuma, Y.Kimura, Y.Ban, Tetrahedron Letters, 22, 4969 (1981).
- 13) M.Nakagawa, M.Taniguchi, M.Sodeoka, M.Ito, K.Yamaguchi, T.Hino,
J.Am.Chem.Soc., 105, 3709 (1983).
- 14) G. Büchi らも, tryptoquivaline のアルカリ処理で C(12)-Et°

体を得たことを communication³⁾に報告している。

- 15) 山崎ら, 未発表データ.
- 16) T.Hamasaki, Y.Sato, Y.Hatsuda, *Agr.Biol.Chem.*, 39, 2341 (1975).
- 17) T.Glinsukon, S.S.Yuan, R.Wightman, Y.Kitaura, G.Buchi, R.C.Shank, G.N.Wogan, C.M.Christensen, *Plant Foods for Man*, 1, 113 (1974).
- 18) 日野, 山崎ら, 未発表データ.
- 19) S.Sekita, K.Yoshihira, S.Natori, *Chem.Pharm.Bull.*, 28, 2428 (1981)
- 20) T.Hamasaki, private communication.
- 21) M.Yamazaki, H.Fujimoto, Y.Ohta, Y.Iitaka, A.Itai, *Heterocycles*, 15, 889 (1981).
- 22) 芳沢 卓実, 諸岡信一, 宇田川俊一, マイコトキシン
研究会会報, 1976, 39.
- 23) a) A.W.Sangster, K.L.Stuart, *Chem.Rev.*, 65, 109 (1965); b) S.McLean, *Can.J.Chem.*, 38, 1547 (1960); c) N.C.Ling, C.Djerassi, *J.Am.Chem.Soc.*, 92, 6019 (1970).
- 24) J.Polonsky, M.-A.Merrien, J.Prange, C.Pascard, S.Moreau, *J.C.S.Chem.Comm.*, 1980, 601; T.Prange, M.-A.Billion, M.Vuilhorgne, C.Pascard, J.Polonsky, S.Moreau, *Tetrahedron Letters*, 22, 1977 (1981).
- 25) 浦本昌和, L.Cary, M.Tanabe, K.Hirotsu, J.Clardy, 日本農芸化学会関東支部大会(東京, 1977)講演要旨集 p30.
- 26) A.W.Dunn, R.A.W.Johnstone, B.Sklarz, T.J.King, *J.C.S.Chem.Comm.*, 1976, 270; A.W.Dunn, R.A.W.Johnstone, B.Sklarz, L.Lessinger, T.J.King, *J.C.S.Chem.Comm.*, 1978, 533; A.W.Dunn, R.A.W.Johnstone, T.J.King, L.Lessinger, B.Sklarz, *J.C.S.Perkin I*, 1979, 2113; T.J.Simpson, *J.C.S.Perkin I*, 1979, 2118; T.J.Simpson, M.D.Walkinshaw, *J.C.S.Chem.Comm.*, 1981, 914.
- 27) J.P.Springer, J.W.Dorner, R.J.Cole, R.H.Cox, *J.Org.Chem.*, 44, 4852 (1979).
- 28) a) K.K.Chexal, J.P.Springer, J.Clardy, R.J.Cole, B.J.Strawter, *J.Am.Chem.Soc.*, 98, 6748 (1976); b) T.J.Simpson, D.J.Stenzel,

- A.J.Bartlett, E.O'Brien, J.S.E.Holker, J.C.S.Perkin I, 1982, 2687.
- 29) K.Fukuyama, Y.Katsube, H.Ishido, M.Yamazaki, Y.Maebayashi, Chem. Pharm.Bull., 28, 2270 (1980); Y.Maebayashi, E.Okuyama, M.Yamazaki, Y.Katsube, Chem.Pharm.Bull., 30, 1911 (1982).
- 30) J.S.E.Holker, T.J.Simpson, J.C.S.Chem.Comm., 1978, 626; T.J.Simpson, D.J.Stenzel, J.C.S.Chem.Comm., 1981, 1042; C.R.McIntyre, T.J.Simpson, *ibid.*, 1981, 1043; T.J.Simpson, Tetrahedron Letters, 22, 3785 (1981).
- 31) a) S.Shibata, Y.Ogihara, N.Tokutake, O.Tanaka, Tetrahedron Letters, 1965, 1287; b) Y.Ogihara, O.Tanaka, S.Shibata, *ibid.*, 1966, 2867.
- 32) A.P.G.Kieboom, F.van Rantwijk, "Hydrogenation and Hydrogenolysis," Delft Univ. Press, 1977, p115.
- 33) K.K.Chexal, C.Tamm, K.Hirotsu, J.Clardy, Helv.Chim.Acta, 62, 1785 (1979).
- 34) G.Büchi, private communication.
- 35) F.W.McLafferty, R.S.Gohlke, Annal.Chem., 31, 2076 (1959); E.M.Emery, Annal.Chem., 32, 1495 (1960).
- 36) 棟方博久, 農化誌, 19, 343 (1943); H.Munekata, J.Biochem. (Japan), 40, 451 (1953).
- 37) B.S.Ginde, B.D.Hosangadi, N.A., Kudav, K.V.Nayak, A.B.Kulkarni, J.Chem.Soc.(C), 1970, 1285; C.E.Moppett, J.C.S.Chem.Comm., 1971, 423.
- 38) K.K.Law, T.L.Chan, S.W.Tam, J.Org.Chem., 44, 4452 (1979).
- 39) U.Sankawa, H.Taguchi, Y.Ogihara, S.Shibata, Tetrahedron Letters, 1966, 2883.
- 40) T.J.Simpson, J.C.S.Chem.Comm., 1976, 258; T.J.Simpson, J.C.S. Perkin.I, 1979, 1233.
- 41) a) I.Kuhr, J.Fuska, P.Sedmera, M.Podojil, J.Vokoun, Z.Vaněk, J.Antibiotics, 26, 535 (1973); b) J.Fuska, I.Kuhr, P.Nemec, A.Fusková, 27, 123 (1974).
- 42) a) 下中浩之, 岐阜医紀, 26, 96 (1978);

- b) K.Kawai, Y.Nozawa, T.Ito, N.Yamanaka, Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, 36, 429 (1982).
- 43) H.Wagner, P.Walff, "New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity," Springer-Verlay, 1977, p209.
- 44) A.C.Bazan, J.M.Edwards, Phytochemistry, 15, 1413 (1976).
- 45) 山崎幹夫, 代田寛, 生薬学雑誌, 35, 96 (1981).
- 46) 刈米達夫, 木村雄四郎, "最新和漢薬用植物," 広川書店, 1959年.
- 47) M.S.Kemp, R.S.Burden, C.Brown, Phytochemistry, 18, 1765 (1979).
- 48) 青木正, 高木宏爾, 管隆幸, 日本化学会第43春季年会(1981)講演要旨集 P720.
- 49) 得られた各値の実験群と対照群間の比較には Student の t 検定を行なった.
- 50) J.Folch, M.Lees, G.H.S.Stanley, J.Biol.Chem., 226, 497 (1957).
- 51) R.Kasai, M.Okihara, J.Asakawa, K.Mizutani, O.Tanaka, Tetrahedron, 35, 1427 (1979).
- 52) a) J.L.C.Wright, Can.J.Chem., 57, 2569 (1979); b) 比較のため, stigmasterol の ^{13}C -NMR を測定した.
- 53) J.L.C.Wright, Phytochemistry, 20, 2403 (1981).
- 54) B.Hamilton, W.O.Kermack, J.Chem.Soc., 1952, 5051; M.C.Hart, F.W.Heyl, J.Biol.Chem., 95, 311 (1932).
- 55) M.Fieser, R.N.Chakravorti, J.Am.Chem.Soc., 71, 2226 (1949).
- 56) J.L.C.Wright, A.G.McInnes, S.Shimizu, D.G.Smith, J.A.Walter, D.Idler, W.Khalil, Can.J.Chem., 56, 1898 (1978).
- 57) E.Stenhagen, S.Abrahamsson, F.W.McLafferty, "Registry of Mass Spectral Data" Vol 3, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1974.
- 58) R.C.Gaver, C.C.Sweeley, J.Am.Chem.Soc., 88, 3643 (1966).
- 59) R.C.Gaver, C.C.Sweeley, J.Am.Oil Chem.Soc., 42, 294 (1965).
- 60) H.Hayashi, T.Matsubara, Biochim.Biophys.Acta, 248, 306 (1971).
- 61) 大西正男, 伊藤精亮, 藤野安彦, 日本脂質生化学研究,

22, 379 (1980).

- 62) R.Lain, O.Renkonen, Biochem., 12, 1106 (1973).
- 63) J.B.Stothers, "Carbon-13 NMR Spectroscopy", Scademic Press, Inc., New York, 1972, p406.
- 64) A.M.O'Connell, I.Pascher, Acta Cryst. B, 25, 2553 (1969); K.Karlsson, Chem.Phys.Lipids, 5, 6 (1970); W.Stoffel, Annu.Rev. Biochem., 40, 57 (1971).
- 65) M.L.Cuzner, A.N.Davison, Biochem.J., 106, 29 (1968); L.Svennerholm, J.Neurochem., 11, 839 (1964); Y.Kishimoto, N.S.Radin, J.Lipid Research, 1, 72 (1959).
- 66) L.Svennerholm, A.Bruce, J.-E.Mansson, B.-M.Rynmark, M.-T.Venier, Biochem.Biophys.Acta, 280, 626 (1972).
- 67) A.Makita, T.Yamakawa, J.Biochem., 51, 124 (1962); A.Makita, J.Biochem., 55, 269 (1964); K.-A.Karlsson, B.E.Samuelsson, G.O.Steen, Biochim.Biophys.Acta, 316, 317 (1973).
- 68) W.R.Morrison, J.D.Hay, Biochim.Biophys.Acta, 212, 460 (1970).
- 69) H.E.Carter, R.A.Hedry, S.Nojima, N.Z.Stanacev, K.Ohno, J.Biol. Chem., 236, 1912 (1961); G.Rouser, G.Kritchevsky, G.Simon, G.J.Nelson, Lipids, 2, 37 (1967); S.Ito, Y.Fujino, Can.J.Biochem., 51, 957 (1973).
- 70) A.Rosenberg, E.Chargaff, J.Biol.Chem., 233, 1323 (1958).
- 71) M.M.Rapport, L.Graf, Progr.Allergy, 13, 273 (1969); 井上圭三, 野島庄七, 蛋白質, 核酸, 酵素, 16, 565 (1971).
- 72) 竹本常松, 草野源次郎, チキ)七口シ, 薬誌, 86, 1162 (1966).
- 73) 本田典子, 草野源次郎, 野副重男, 日本薬学会第99年会(札幌, 1979)講演要旨集 P 150.
- 74) H.Budzikiewicz, J.M.Wilson, C.Djerassi, J.Am.Chem.Soc., 85, 3688 (1963); M.A.Khan, Atta-ur-Rahman, Phytochemistry, 14, 789 (1975).
- 75) A.T.Glen, W.Lawrie, J.McLean, M.El-Garby Younes, Chem.Ind., 1965, 1908; idem., J.Chem.Soc.(C), 1967, 510.

- 76) W.M.Bandaranayake, S.P.Gunasekera, S.Karunanayake, S.Sotheeswaran,
M.U.S.Sultanbawa, *Phytochemistry*, 14, 2043 (1975).
- 77) S.Yano, M.Harada, *Japan.J.Pharmacol.*, 23, 57 (1973).

論文内容の要旨

千葉大学

総合薬品科学専攻	氏名	奥山 恵美
論文題目	生物活性, 特に向神経作用を指標とした 真菌並びに生薬成分の探索と化学的研究	
<p>生物活性, 特に向神経作用を有する天然物の探索を目的として本研究を行なった。菌類, 生薬についての検索の結果, 興味ある素材として, 真菌の毒性株3種 (<u>Aspergillus fumigatus</u> IFM 8482, <u>Penicillium paraherquei</u> IFO 6234, <u>Talaromyces bacillosporus</u> NHL 2660) 及び向神経作用の検定に有用と思われるマウス拘束水浸ストレス潰瘍に対する抑制性を指標として, 高い活性を示した生薬2種 (蕃杏 <u>Tetragoniae Herba</u>, 連銭草 <u>glechomae Herba</u>) を用い, それらからの生物活性物質の分離, 化学構造の解明を行なった。</p> <p><u>A. fumigatus</u> より tryptoquivaline C, D*, E*, F*, G*, H*, I*, J*, L*, M*, N*, 及び sydownin A を得, tryptoquivaline 類の一部はマウスに対し致死毒性を示した。 <u>P. paraherquei</u> より強い向神経作用を有すると思われる paraherquamide* 及び paraherquonin* を得た。 <u>T. bacillosporus</u> より bacillosporin A*, B*, C* 及び pinselin を得た。 bacillosporin 類にはミトコンドリアに対する強いアンカプラー作用の認められるものが有り, 又, 抗腫瘍活性も期待されている。抗拘束水浸ストレス活性を指標として, 蕃杏より sterylglucoside 混合物 (compd A), cerebroside (compd B1-a, B1-b) を得た。連銭草の同活性は ursolic acid には認められなかったが, その誘導体の 2α-hydroxyursolic acid 等に由来することを明らかにした。</p> <p>以上, 菌類3種, 生薬2種より新化合物15種 (上記*印) を含む23種の化合物を分離し, それらの化学構造を解明した。</p>		