# トリプトファンの酸素酸化反応についての研究

ーホルミルキヌレニン、キヌレニン、ピロリドンカルボン酸 誘導体への変換—

1982年2月

賀 登 志 朗

# トリプトファンの酸素酸化反応についての研究

ホルミルキヌレニン、キヌレニン、ピロリドンカルホン酸誘導体への変換

質登志朗

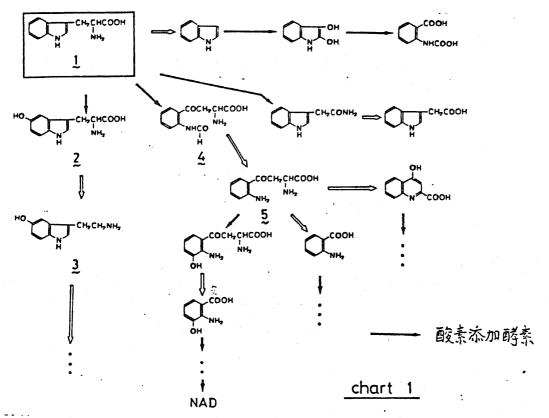
### <u>目 次</u>

序	論		1
第	- 章		Iryplophan の水溶液中における
			光增 感 酸 素 化 反 充 ·
	第-	節	3a-Hydrexypyrroloindoleの生成11
	第二	村	3a-Hydroperoxypyrroloindoleの単純と精製
	第三	節	50°C付近での tryptophan の
		•	光增感:酸素 化反応 23
	第四	鞆	3a- Hydroperoxypyrrolaindole の反応性
			(Formyikynurenine 人の变换)
	箸	- 項	種々の条件下における分解反応 25
	第	二項	種々の緩衝液中における分配反応・ 29
	第	三項	3a - Hydroperoxypyrroleindeli v. is
			formyckynurenine 生成の反応機構
			に対する考察33
	茅	四項	3a-Hydroperoxypyrroloindoleの酸による
			分解反応36
第	二章		Tryptophanの種々の緩衝液中における
			光增感酸素化反応、
	第-	節	Jryptophan から formylhynurenisce への直接
			变换法 (Iryptiphan 2.3-dioxyqunasi o
			モテル 反応 )38

		第二	節	種々	o p	Hにおり	する酸化	七生成名	物の角	早折
							Phoopha			
							9性水			
			三項							
	爭	三章				れの光は	曾感酸	素化反	応の	
							条			50
	第	四章	<u> </u>				kynuren			
		第-								
		第二	節							
	第	五章				_	5 0 - am	_		
						acid	への変			
							mation	)		
		第一	笋			-				- 69
		第二					-			
	結	語								82
中		その部								
<u>*</u>				<b>+</b> 2	中的	·				
					実験中へ					
					実験中胚			•		
					実験					114
					実験					
	书	五早	[ N	する	笑员	·				126
射		辞				<del>-</del>				13 2
冬	考	文献	_							133

#### 序。論

動物にとって必須アミノ酸である tryptophan 1 はタンパク質合成に利用される他に chart1で示した様な5-hydroxy tryptophan 2を経て serotonin 3を生成する経路とformylkynurenine 5、kynurenine 5を経てNADに至る経路が主要な代謝経路である。



後者のtryptophan 2からformylkynurenine えが生する反応にこ原子酸素添加酵素の1つであるtryptophan 2,3-dioxygenase(tryptophan pyrrololase)により触媒される事が知られている。この酸化反応は古くから生化学者のみならず有機化学者違にも注目され为くの研究が行なわれている。歴史的には1931年古武がtryptophan11の代謝産物として初めてなynurenineを単離し、その代謝中間体としてoxytryptophan を考え、chart 2に示す様な代謝経路を提案した。(後にkynurenineの構造が訂正された。)

chart 2

1944年 tryptophan 1のオゾン酸化によってformylkynuresine 4 か合成され4 1949 年 Heidelberger らけ formylkynurchine 生か の代謝における中間体である事を提案しい Knoxらによって確かめられた。一方Julian らは3-置換 exindole は3位 で空気酸化を容易に受け dioxindole体になる事を明らかに し、これらの事からchart3に示す様な、tryptophanしから dioxytryptophan こを終る経路を提案した?

しかし早石ら®, Masonら®, Knoxらいいによる研究で、 oxytryptoplan & は kynumine えへ代謝されない事が明らかに され、この経路が否定された。

1957年早石らは tryptoplan 2.3- dioxygenase 触媒による: の反応を1802 及び H2"Oを用いて検討した結果. formylkynurenine 生へ取り込まれた酸素原子は分子状酸素に由来 しているものである事を確かめた。 この酸化反応における基質の変化の機構はWitkop らの

tetrahydrocarbazole & の空気酸化の実験事実 (chart 4)に

$$\begin{array}{c}
O_{2} \\
\downarrow \\
\downarrow \\
O_{2}
\end{array}$$

$$0_{3} + H^{+}$$

$$0_{4} + H^{+}$$

$$0_{5} + H^{+}$$

$$0_{7} + H^{+}$$

$$0_{8} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{2} + H^{+}$$

$$0_{3} + H^{+}$$

$$0_{4} + H^{+}$$

$$0_{5} + H^{+}$$

$$0_{7} + H^{+}$$

$$0_{8} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{2} + H^{+}$$

$$0_{3} + H^{+}$$

$$0_{4} + H^{+}$$

$$0_{5} + H^{+}$$

$$0_{7} + H^{+}$$

$$0_{8} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{2} + H^{+}$$

$$0_{3} + H^{+}$$

$$0_{4} + H^{+}$$

$$0_{5} + H^{+}$$

$$0_{7} + H^{+}$$

$$0_{8} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{2} + H^{+}$$

$$0_{3} + H^{+}$$

$$0_{4} + H^{+}$$

$$0_{5} + H^{+}$$

$$0_{7} + H^{+}$$

$$0_{8} + H^{+}$$

$$0_{1} + H^{+}$$

$$0_{2} + H^{+}$$

$$0_{3} + H^{+}$$

$$0_{4} + H^{+}$$

$$0_{5} + H^{+}$$

$$0_{7} + H^{+}$$

る類推から chart 5 に示す 3-hydroxy indolenine えから dioxetane 10 を経て formylkynurenine 生が生成する様な経路が広く受け入れられている。しかし tryptophan しの酸素酸化, あ

3-hydroperoxy indolerine 2に H20が付加し、hydrate 中位のするはよりには Baeyer-Villiger Villiger であるはまたは Baeyer-Villiger が付加したまたは Baeyer-Villiger が Dormylkynurenine 4になる機構を Dormylkynurenine 4になる機構を Dormylkynurenine 4になる機構を Dormylkynurenine 4になる Witkop になる Mitkop になる Mitkop になる Mitkop になる Mitkop になる Mitkop には Mitkop には Mitkop には Mitkop に Mit

Tryptophan 1の光増整酸素化反応は1950年頃より勾くの研究者によって研究されており、それを要約する次以下の様になる。1951年Weilらはtryptophan しの水溶液での様になる。1951年Weilらはtryptophan しの水溶液である。1951年Weilらはtryptophan しの光照射をするとの吸収及びCO2,NH3の発生が見られ、この後を建度のoptimal pHが8.5である事を報告している。その後を助いまなない。その時間を検討し、Weilらの結果と同様pHが高くなると酸の影響を検討し、Weilらの結果と同様pHが高くなると酸

化速度が速くなる事を確かめた。1954年吉田らはMethylene Blueを用いしたtryptophan 1の増感酸化を行ない kynurenine 5, 3-hydroxykynurenine 12が生成している事をUVスペクトル, ペーパークロマトプラフィー, ninhydrin 呈色反応などか

5曜認していることでは Lumichrome を増感削として開京になるい anthranilic acid 3, alamine 14 を単記にて AC 1962年 Sluyterman は Proflavine 光増感酸化に で BC 1962年 Sluyterman は Proflavine 光増感酸化に で BC 1962年 Sluyterman は Proflavine 光増感酸化に で BC 1964年 Augusti ら BC 1966年 Augusti ら 1966年 Augusti ら 1971年 と 1966年 Augusti ら 1971年 と 1971年

て反応すると formylkynumining が得られるが、稀アンモニア水まには重炭酸アンモニウムでPH8~9にして光照射すると、少量の formylkynumining と10~15%の fumazoline 16 が生成する事を確認した 2030 (chart 6)。今まで述べに様な水溶液中の反応はかりではなく、最近では酢酸、ギ酸等の非水溶媒中での trypteplanの酸化反応も報告されている。(chart 7)・

以上の様に Ingetophan の増感酸化においてはこの酸化に及ぼす叶, 増感削の影響等が研究され、また酸化成績体においても研究者によりされぞれ異なった生成物を低収率で得ているのみである。更にそれらの構造決定も主してリマスペクトル, 呈色反応、ペーパークロを推定しているにすぎない。また反応機構の検

. sens. +  $hv \longrightarrow {}^{3}$ sens."

$$3 \operatorname{sen} s.^* + \underbrace{\Box_{N} \Box_{NH_2}^{CO_2H}}_{HH_2} + O_2 \longrightarrow \underbrace{\Box_{N} \Box_{NH_2}^{CO_2H}}_{NH_2} + \underbrace{\Box_{N} \Box_{NH_2}^{CO_2H}}_{NH_2} + \underbrace{\Box_{N} \Box_{NH_2}^{CO_2H}}_{NH_2} \longrightarrow \underbrace{\Box_{N} \Box_{NH_2}^{CO_2H}}_{NH_2}$$
chart 8

より励起し、これが Tryptophanから水素を引き抜いて Tryptophan radical が生じる。その tryptophan radical と酸素 との反応できるhydroperory indolenine えが生成する機構であ

近年色素増慰設化反応の研究が盛んになり、その機構も chart 8 の様な励起増感削による水素引き抜き (Type I)による反応にけてなく、色素から酸素へのエネルギー移動によって生成する一重項酸素 ('02)による機構 (Type II) が明らかにされてきにふまた '02 と enamine との反応機構も次第に解明され、窒素上に水素をもつ enamine では ene 反応が起こり hydroper exide が生成するのに対し、三

sens. 
$$\xrightarrow{hv}$$
  $\xrightarrow{3}$  sens.  $\xrightarrow{O_2}$  sens.  $+ \overset{1}{O_2}$ 
 $+ \overset{1}{O_2}$   $\xrightarrow{NH}$  "ene reaction"

 $N = \overset{1}{O_2}$   $\xrightarrow{NH}$   $\xrightarrow{NH}$   $N = \overset{1}{O_2}$   $\xrightarrow{NH}$   $\xrightarrow{NH}$ 

級 enamineでは、1.2-cycloaddition により dioxetane が生成し、これが開裂して fetonic まには aldehydeと amidic が生成する事が明らかになった24) (chart 9).
1972年 Kearns らは tryptophan (10-4 M)の Methylene Blue (2×10-3 mM) 共存下による光増感酸素化反応では溶媒を H20-MeOH (1:1) からD20-CD30D (1:1), H20 からD20に代えると反応速度が増加する事、及びこの反応が Singlet oxygen quencher (Nā, tetramethylctlylene)によっても阻害さんな事なともこの程度の濃度では実際の反応が O2 である事を証明した。しかしながら高濃度でが、102 である事を証明した。しかには102 が反応でためがでしる可能性もある。 い機構260 が単 整になって反応が TypeI, TypeI のどら Tryptophan の増感酸化において反応が TypeI, TypeII のどち

らで進行するにせよ酵素反応の中間体として推定されている 3- hydroperoxy indolenum えが先ず生成する事が予想される。このえは dioxetane 10を経由して formylkynurenine 生に変換するルートの他にこの側鎖の窒素の関与で閉環して 3a - hydroperoxy pyrroloindsにこの生成が考えられる (chart 10)。 dioxetaniの成より容易に起こる事が考えられる (chart 10)。

9 1<u>7</u> Co.H

nart 10 tophan のモデルな 合物としてtryptamine,

tuyptop/an 誘導体 18,23,30,32 を用い、種々の条件下で 光増感酸素化反応を検討し、<u>chart 11</u>に示しに様な結果を 得ている。

いづれの化合物においても低温(<0°C)ではfringleynurenine 誘導体 28, 37はほとんと得られず、3-hydroperoxy indolenine

#### ► Tryptamine 誘導体の増感謎化

#### ■ Tryptophan 関連化合物の地型監化

誘導体 19. 24. 31. 33 から予想の側鎖了ミ)基の関与による3a-hydroperoxypyrroloindole 20. 25. 34 が主生成物としては得られている。 なお indole の 2位に t-Butyl 基をも別になる。ないは 3-hydroperoxy indolunine 別に 2位に t-Butyl 基をも別に 2位に t-Butyl 基をも別に 3a-hydroperoxy indolunine 別に 3a-hydroperoxy pyrrolaindole 誘導体 20. 25, 34 はいづれたり 単龍されたり、 3a-hydroperoxy pyrrolaindole 誘導体 20. 25, 34 はいづれたり 20では 不安定であり、20では 容易に 分子内酸化 還元 が 21、34では 5i02、加熱等種々の条件下で 27+28+29、 25、34では 5i02、加熱等種々の条件下で 27+28+29、 本の 37は formylkynurenine 誘導体で 37・38に変換する。 28、 37には formylkynurenine 誘導体で あれていない Nb- formylkynurenine 誘導体と言う事ができる.

この様に3a-hydroperoxypyrrolaindole 誘導体から formylkynurenine 誘導体と同時にNb-formylkynurenine誘導体も生成する事から、この変換経路として chart 12 に示す様な

$$25,34 - \bigcirc_{N \to N-R}^{\circ} - \bigcirc_{CO_{2}CH_{3}}^{\circ} - \bigcirc_{N \to N-R}^{\circ} - \bigcirc_{N \to N}^{\circ} - \bigcirc_{N \to N}^{$$

経路を提案した<sup>?le)</sup>

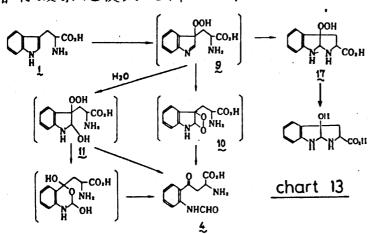
一方 3a-hydroperoxy pyrrolaindole 誘導体は酸によって容易に Baeyer-Villiger 型の転位を起こし、1.4-benzoxazine 誘導体26,35 に変化する。

この様に Tryptamine, tryptoplan 誘導体と 102 との反応で

対応する三環性の hydroperexide を単離した事から、

3-hydroperexy indofining が第一の中間体である事が間接的に証明され、またこの様な低温 (<0°C)では diexetane 形成よりも側鎖の窒素が関与して5 買環を形成する方が容易である事が明らかにされた。またこの三環性のhydroperexide 25,34 が hymerenine 誘導体に変換する新しい経路のある事が示された・

以上のモデル実験の結果から考察すると tayptiplan 自体の水溶液中における増感酸化においても従来から推定されていた dioxetane pathway はかりでなく、3a-hydroperoxy-pyrroloindole にを経由する formylkynurenine 生生成の可能性もあると思われる。更に Hamilton 説による formylkynurenine 生生成の可能性もある。そこで著者は研究室での今までの鬼果の上に立って最終目標である Dayptoplan 1.目体の光増 酸素化反応を詳細に検討することにした (chart 13)。



ま性に得かけらが、る系 たのをられてytryptoplan たのをられてytryptoplan をられてytryptoplan のxytryptoplan のxytryptoplan のxytryptoplan のxy-

tryptamine 40 は indole alkaloid の全合成の有用な出発物質としてよく用いられているが、これはfuct base としては下安定であるとされてきに、その理由としては20が容易に 0-aminophenyl pyrrolidene 41 に変換する為ではないかと推定されている280そこで20の反応性を検討したところ

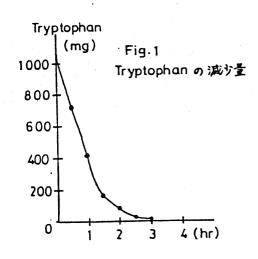
40 は塩基性条件下で空気酸比を受けて Lynux namine 42 に ひる事が判った?? そこで oxytryptophan & についての酸素酸化及び oxytryptamine 40 の酸素酸化について詳細な検討を行なう事にした。また & りょり pyrrolidone 41.43 に変換する条件も併せて検討した (chart 14)。

## 第一章 <u>Tryptoplan の水溶液中における</u> 光増感酸素化反応

第一節 3a-Hydroxypy roloindale の生成

DL-
$$CO_{H}$$
  $CO_{H}$   $CO_{H}$ 

先ず我々の研究室で既に検討された TrypTophan 誘導体の光増感酸素化反応の条件を参考にして TrypTophan の水溶液中における増感酸化を行なった。即ち DL- TrypTophan 15 ml)、増感削として Rose Bengal (以下 R.B. と略す。 90 mg … 1/50 モル当量)を加えて 0~5°C で酸素を通じながら液体 filter (CuCl<sub>2</sub>·CaCl<sub>2</sub>, 490nm (人 610 nm)を透して halogen lamp (500W)



でトマト TLC Tayptophan に No A D C Tuyptophan に ない D S Tuyptophan に いっかっから ない D S Tuyptophan で B T

starch test 陰性を確かめた後 EtOH及び過剰のMezSを留去する。次に R.B.を除去する為に反応液に少量の酢酸を加えて弱酸性にした後 CH2Cl2 抽出し、得られた水層を凍結乾

<sup>\*</sup> 序論と本論以降の化合物番号は異なる。 a: L体, b: D体, c: DL 体

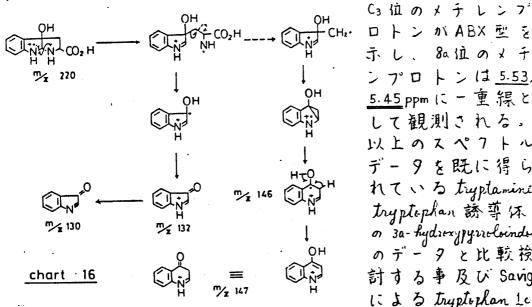
燥によって濃縮する。これを弱酸性陽イオン交換樹脂Amberlite CG-50 (COOH form)のカラムフロマトクラフィーで分離すると、3a-hydioxypyziniscindolic 25が2つの立体異性体(cisと trans)の混合物として約85%の収率で淡褐色powderとして得られる。しかしformychynwichum 3cの立体目はレスペクトル、TLC 及びHPLCにおいて認められなかった(chart 15)、立体異性体の混合物である淡褐色powder はH20-EtOHから分別再結晶により2つの立体異性体の異性できた。即ち難溶性で低極性(SiO2-m-Pro)H20=1%)の異性体で高極性(SiO2-m-Pro)H20=1%)の異性体 trans-2cがmp. 223~224°C(dec.)を示す無色鱗片状晶として得られたこれらのスペクトルデータはTable 1に示す。

Table 1 2cのスペクトルデータ

lable 1		
cis - 2c	5 4 011 3 3 6 7 1 2 CO,11	trans-2c
less polar isomer	TLC	more polar isomer
251 ~ 252 °C (dec.)	mΡ.	223 ~ 224°C (dec.)
237 . 294	UV: Amax nm	237. 293
3340,2965,2730,1610,1585, 1490,1405,1340,1275,1200	1R: V KBr cin-1	3350, 3140, 1605, 1595, 1483, 1410, 1390, 1318
220 (M+,94) ,177 (23),175 (38) ,158 ( 42),148 (27),147 (81),146 (85),133 ( 28),132 (100),130 (81),120 (31)	Mass: "/z (%)	220 (H <sup>4</sup> , 94), 177 (27), 175 (32), 158 (28), 148 (20), 147 (62), 146 (60), 133 (30), 132 (100), 136 (42), 120 (26)
2.73 (1H, t, J=12.12 Hz) 2.99 (1H, g, J=12.7 Hz) 4.27 (1H, g, J=12.7 Hz) 5.53 (1H, S)	NMR: 65% CF3 CO2H- C3-H (ABX) C3-H (ABX) C2-H (ABX) C2-H (ABX)	2.94 (2H, d, J-6Hz) 4.72 (1H, t, J=6Hz) 5.45 (1H, s)
6.87 (IH, d,J=8Hz) 7.00 (IH, t,J=8Hz) 7.35 (IH, t,J=8Hz) 7.42 (IH, d,J=8Hz)	Cy or C4 - H C5 or C6 - H C6 or C5 - H C4 or C7-H	6.82 (IH, d, J=8Hz) 6.96 (IH, t, J=8Hz) 7.32 (IH, t, J=8Hz) 7.40 (IH, d, J=8Hz)

<sup>\* 2</sup>a, 2b, 2c はそれぞれし, D, DLの 3a-hydroxypysroloindoli の cis, trans の立体 異性体の mixture を示す。立体異性体を明示する時は cis-2c, trans-2cの様に示す。 \*\* TLC(担体-展開溶媒) \*\*\* ainglet, doublet, triplet, quartet, muitiplet, double-doublet を記している。 \*\* TLC(担体-展開溶媒) \*\*\*\* ainglet, doublet, triplet,

ZeのUVスペフトルは典型的なPh-N-C-N型の吸収を示し IRスペクトルは 3340, 3350 cm-1 に NH, OHに基づく吸収 1610,1605 cm-1にCOZの吸収が見られる。Massスペクト ルから 型 220 に分子イオン peak が見え、更に\_chart 16 に 示した様な fragmentation から 1/2 147.146,132,130 のfragment peak が見え、この事より 3a位に OH 基の存在する事が明 らかとなる。 NMRスペフトルは C2位のメチンプロトンと



C3 位のメチレンプ ンプロトンは5.53. <u>5.45 ppmに-重線と</u> して観測される。 以上のスペフトル データを既に得ら no o tryptamine, tryptoplan 誘導体 の 3a-hydroxypyrroloindole のテータと比較検 討する事及び Savige i & & tryptophan Le

の過酢酸酸化によって得られたZcのそれぞれの異性体の スペクトルデータとの比較からZcの構造を確認した。 Savige はそれぞれの異性体の立体化学を決定していない のでこれら化合物の立体化学を決定する為、既にX線回 析によって3a位の OH 基とCz位の COOCH3基の関係がtrans であると判明している27e) trans-4cをアルカリ加水分解する Emp. 223 ~ 224°C (dec.) on 3a-hydroxypyrroloisedole (trans-2c) ni 得られ、これは先に得られたtrans-2cと混融,スペクト ルデータにより同定した。またもう一方の異性体 cis-紅 からは高触点の cis-2c か生成し、先に得られた cis-2c と 混融,スペクトルデータで同定した。なおなのどちらの 異性体もこのアルカリ加水分解の条件ではepinurizationか 始んと起こらない事から難溶性の異性体はcis , 易溶性の 異性体はtransと決定した (chart 17)。 L-Jryptophan la 及び D-tryptophan lb の同様な増感酸化

結晶を行なう事により難溶性、易溶性の異性体に分離でき、ZaのそれぞれのスペクトルデータをTable 2に示す(chart 18)。

Table 2 2aのスペクトルデータ

cis- 24 (易溶性)		trans·2a (難溶性)
less polar isomer	TLC (SiO2-1-Pres) 7/	more polar isomer
229.5 ~ 230 °C (dec.)	mp.	231.5 ~ 232°C (dec.)
tr = 6.5 min	HPLC Fig.2)	t <sub>R</sub> = 4.5 min
237 (6500). 294 (2000)	UV Fig. 3): 2 Hzo (E)	235.5 (6590), 294 (2140)
3530, 3300, 1620, 1480.	Fig. 4) 5) IR: V   KBr cm <sup>-1</sup>	3450, 3270, 3140, 1615,
1405, 1370, 1340	III V max siii	1470, 1380, 1318
220 (M+,75), 177 (27), 175 (24),		220(H*, 100), 177 (32), 175 (32),
148 (20), 147 (71), 146 (70),	Mass: " (%)	158(27), 148(20), 147(71), 146
133 (27), 132 (100), 130 (56), 120 (56)		(67), 133 (29), 132 (98), 136 (36), 120 (30)
	NMR Fig. 6)7)	
	S bbin 2 2xc12cmH-D30	
2.73 (IH, t, J=12.12 Hz)	C3-H (ABX)	7 202 (21) 1 7 711 >
3.00 (IH, &, J=12,7H≥)	C3-H (ABX)	] 2.92 (2H, d, J=THz)
4.26 (IH, &, J=12,7Hz)	Cz - H (ABX)	4.69 (IH. t.J=7Hz)
5.51 ( IH, s )	C8a - H	5.39 (IH, S)
6.86 (IH, d.J=8Hz)	C7 or C4 - H	6.86 (IH, d, J=8Hz)
7.01 (IH, t, J=8Hz)	Cs or C6-H	6.98 (IH, t, J=8Hz)
7.35 (IH, t, J=8Hz)	C6 or C5-H	7.30 (IH, t,J=8Hz)
7.46 (IH, d, J=8Hz)	C4 or C7 - H	7.40 (IH, d.J=8Hz)

なおこれら異性体の立体化学については2cのNMR スペクトルとの比較から2aの立体異性体の内で8a位のメチンプロトンが高磁場shift 、C2位のメチンプロトンが高磁場shift しているものをcis、もう一方の異性体をtransとした。またTLCも2c同様transがcisよりも高い極性を示す。2のcis、trans はTLCのみならず HPLC によっても分離電認でき、反応混合物のcis、transの比率は約3:2である。が判った (Fig.2)。 2a,bのcis、transのそれごれのCD スペクトルはFig.8 (P.16)に示すとおりであり、cis-2a、trans-2bは295、238 nmで真の、trans-2a、cis-2bは296、239 nmで正のcotton 効果を示す。

Fig. 2 2an HPLC

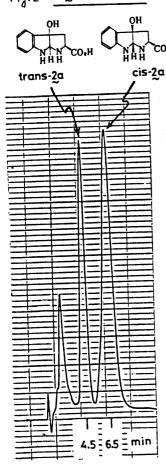
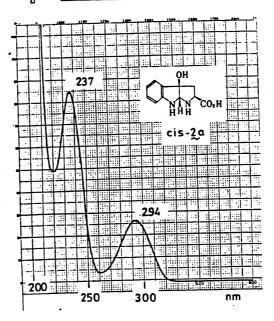


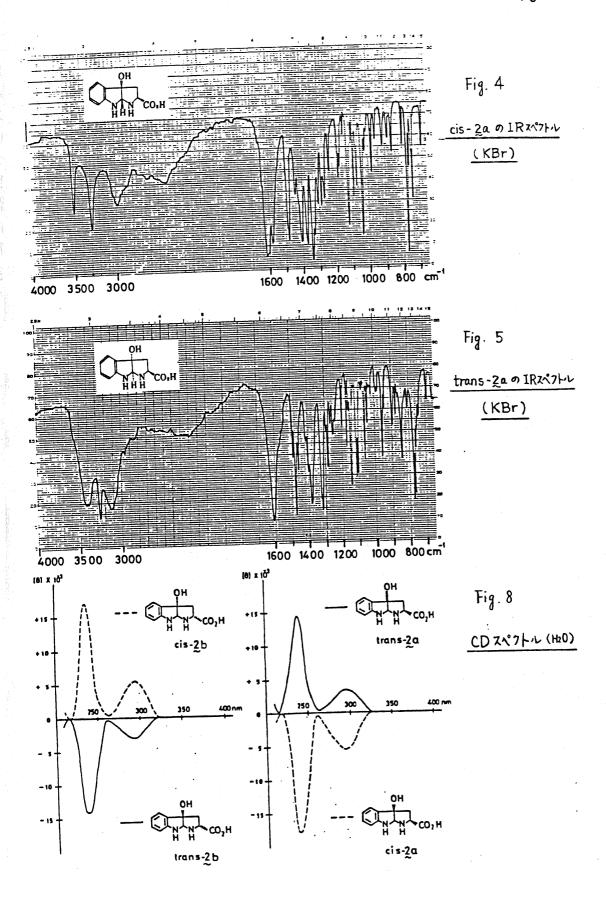
Fig. 3 cis- 2a o UV 2 ~7 +1 (H20)



Packing Material: 3011-C Eluent: 0.5MKH2PO4

Press: 20~30 kg/cm2

Temp.: 60°C



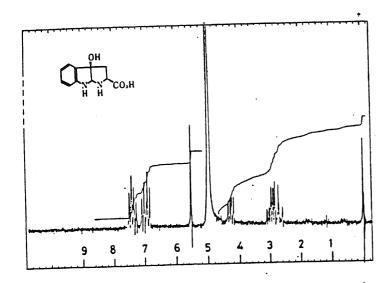


Fig. 6

cis-2a a NMR2~71-1

(5%CF3 CO2H-D20)

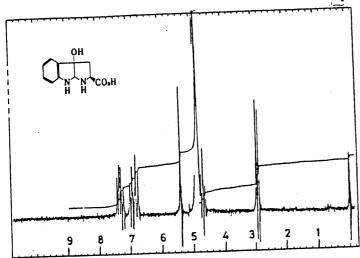


Fig. 7

trans- 2a o NMR237111

(5%CF3CO2H- D2O)

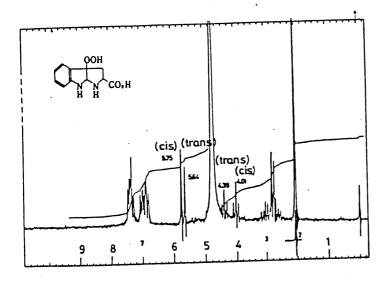


Fig. 10 5a の NMRスペクトル (D20)

前述した typtofian Loの増整酸化において増整剤の R.B. NL-trypicphan laに対してとれたけ必要かを調べる為に答 モル当量からYocoモル当量へと次第に減少させて反応し た結果にTable3に示す。20の収率はイオン交換樹脂で分 開出して得た3a-hydroxypyrroloindole Za の fraction (cis, transの記 合物)をUV定量する事によって求めた。

Table 3 種でのR.B.量でのL-tryptoplian to 1.02g (5mM)の増展設に

mg (mM) モル当量	反応時間(hr)	2a (%)	recovery (%)	その結果物も
100 (0.1) 1/50	3.5	8 O	_	ル当量から/300
50 (0.05) 1/100	,	8 1		モル当量では
25 (0.025) 1/200	2	80	-	反応にほとん
15 (0.015) 1/300	3	83 (83),	-	ど差はない。
5 (0.005) 1/1000	5.0	81		1/1000 モル当量
0	3.5	_	99	でも反応'は進

a) HPLCにより求めた 収率 (P.42以降参照) 行するが反応

時間が長くなり5時間を要する。しかしR.B.を用いない と反応は進行せずtyptophantaを定量的に回収する。以上 の事より tryptophan la の増感酸化において R.B. はtryptophan に対して1/300 モル当量で十分である事が判った。

更に R.B.以外の増感剤として種々の色素を用いて増感酸 化を検討し、<u>Table 4</u> の結果を得た。

Table 4 種々の色素を用いたL-tryptophan La の増感酸化

sensitizer	mg (mH) モル当量	反応時間(hr)	2a (%)	recovery (%)
Methylene Blue	18 (0.05) 1/100	1.5	65 (71)	_
۵۱ م	6 (0.015) 1/300	1-6	83	_
Eosin Y b)	15 (0.2) 1/70	3.0	64	_
Proflavine ()	12 (0.05) 1/50	3.5	23	54
D-Rose Bengala)	11 8	8.0	16	86

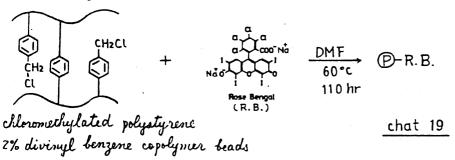
a) \_1:1.02g(5mM)使用 c) 以:520mg(2.5mM)使用

EosinYo友応ではZcの収率低下、また Proflavine の反応で は反応の進行が遅くなる結果を得たくこの点に関連した 事は P. 41 参照 ). 一方 Methylene Blue (以下 M. B. と略す。) を Y300 モル当量用いた反応では反応はスムースに進行し.

b) Lc: 306 mg (1.5 mM) 使用

取率もR.B. の場合とほぼ同じ結果が得られた。更にこの条件で 3a-fydixypyroloindolcを合成すると、短時間で収率良く反応が進行するだけでなく、CH2 Cl2 抽出によるR.B. の除去という操作に比べて、M.B. はイオン交換樹脂 るAmberlite CG-50)に付着される為生成物を分離する所に B. を 2043 (10 m M) 用いた場合(P. 20 参照)及び M.B. を 2043 (10 m M) 用いた場合(P. 20 参照)及び M.B. を 2004 (10 m M) 用いた場合には 3a-fydixypyroloindolc 2a の収率低下が見られる。 また CH2 Cl2 抽出では M.B. を 除去が 見が 困難であり、イオン交換樹脂が使えない 反応には R.B. を使用する方が良い。

最近 R.B. を polymer に付着させた polymer suport R.B. (以下 P-R.B.で示す。)を使った増感酸化が報告されている? P-R.B. は1)色素が退色しない。2)分離操作が非常に容易である。3)何度でも使用できる。等の利点をもっている。そこで P-R.B. を文献既知の方法で合成31c) (chart 19) し、2.3 - diphenyl-1.4 - diexene<sup>32)</sup>を用いた増感酸化によってこの



PRB.の活性を確認した後 PR.B.を用いてL-tryptoplan Laの増感酸化を検討した、しかし反応は非常に遅く、8時間後においてもZaは16%生成するのみでLaを86%回収した・最近Schaapらは hydrophilic polymer を合成し、そのpolymerとR.B.との反応で合成した増感削(HP-R.B.と表示する・chart 20)を用い水溶液中での増感酸化を行なっ

CH= CH<sub>2</sub>

$$CH_2 = C (CH_3) CO_2 CH_2 CH_2 OH$$

$$CH_2 = C (CH_3) CO_2 CH_2 \rightarrow DMF, 60°C$$

$$CH_2 = C (CH_3) CO_2 CH_2 \rightarrow 3 day$$

$$CH_2 = C (CH_3) CO_2 CH_2 \rightarrow 3 day$$

chart 20

ている。更に彼らはこの田R.B.は、hydrophilic nature,の為nonpolar な溶媒中では使えないとも報告している。この事より田R.B.を用いた水溶液中の反応がスムースに進行しない理由はこの、hydrophilic nature, をこの田R.B.がもたない為であろうと思われる。

次にM.B. (1/300 モル当量)を用いて50% EtOH-H20 溶媒中の反応及ひ5% EtOH-H20中で tryptoplan 1を2倍の濃度にした場合の増感酸化を検討した(Table 5)。 Table 4のM.B. (1/300 モル当量)による結果と比べてM.B. の反応はいづれもその収率が低下した。しかしR.B. を用いると tryptoplan 濃度を2倍にしても反応時間が長くなるだけで収率良く2aが得られる事が判った。

Table 5 Jryptophan の種々の条件下における増惠酸化

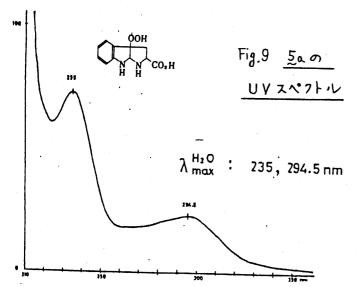
Tryptophan	sensitizer (火多00モ)	ρŊ	溶媒(300ml)	反応時間	2 (%)
<u></u>	M.B.	> 300 nm	50% EtoH-Ң0	100 min	54 (2a)
1c, 2.04g(10mM)	"	"	5% Et 0H-H20	2.5 hr	55 (2c)
1a, 1	R.B.	490<<>< 610 nm	4	7.0 hr	77 (20)

以上の結果から TrypTophan 1.1.02g (5mM), 溶媒として5% EtOH-H2O (300ml), 増感削として R.B. (15mg, 1/300モル当量)を用いた場合の反応が最も 3a-hydroxypyrroloindole 2の収率が良く、また後処理も比較的容易であるのでこの条件での増感酸化反応を標準の反応として以下の実験を行なった。

#### 第二節 <u>3a-Hydroperoxypyrroloindoleの単離と精製 27h)30)</u>

前節で述べた様に tryptophan 2の水溶液中における増感酸化,続く Mezs還元で収率良く 3a-hydroxypyrroloindsに 2か得られたので次に中間体の 3a-hydroperoxypyrroloindoic 5aの単離を検討した (chart 21).

L- Juptoplan La 1.02 g (5 m M) を 5% EtOH 溶液 (300 ml) 中で R.B. を 増感 割として 0~5°C で 増感酸化すると 3.5 時間で Juptoplan La は消失する (Jodonnetry より 99%の活性が認められる。)。 反 応液を酢酸酸性にした後 CH2 Cl2 抽出を行なって R.B. を 除き、得られた水層 (Jodonnetry より 92%の活性が認められる。)を凍結乾燥すると 5aが淡褐色の powder (Jodonnetry より約85%の活性が認められる。)として得られる。これを 更に精製する為に、Sephadex G-10カラムに通し、目的の fraction を凍結乾燥するとほぼ無色の powder (Jodonnetry より約85%の活性が認められる。)の 5aが得られる。 5aの UV



ス的(な Nas いられるに付の アカーN-C-236, 294 nm ) に Nas いられるいに似い ( 7 phox しスてがでれていてれていたれるよく ( 7 子 236 るま ( 1615 co 2 かられる に いに収り で 1 に 2 がられる に 2 がら

<sup>\*</sup> 他は peak が小さくて読みとれない。

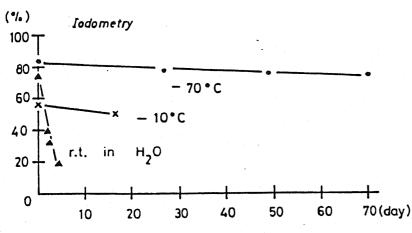
里水中のNMRスペクトルは&a, C₂位のメチンプロトンを \_. 除く芳香族プロトンや高磁場側のsignal N 3a-hydroxypy.violoindule 2の cis. trans混合物と類似している(Fig. 10.P.). Hydrexy体 Zaの cis. trans の NMR スペクトルより類推しに 5a の Cz 位のメチンプロトンは 4.01 (cis), 4.39 (trans) ppm にそれ ぞれ三重線として見られ、 cis, trans の8a位のメチンプロ トンは 2aより低磁場 shift して、 5.64 (trans), 5.75 (cis) ppm に 鋭い- 重線として観測される(Table 6)。 この 8a 位のメチ ンプロトンの積分比より

Table 6 50 ONMRZ 71/1 (D20)

2.50~ 3.25 (2H, m, C3-H) r4.01 (0.6H, t, J=8Hz, C2-H, cis) L4.39 (0.4H, t, J=8Hz, C2-H, trans) r5.64 (0.4H, S. Csa-H, trans) L5.75 (0.6H, S, (8a-H, cis) 6.70~7.15 (2H, m, Arom. H) 7.15 ~ 7.60 (2H, m, Aroni. H)

cis, trans の比率はほぼ 6:4 になっている。また cis, trans 13 TLC (SiO2 - P-P-OH) = %)で分離できる他 HPLC によっても分離でき、保 持時間 8分、12分にそれ ぞれ約6:4 の比率でpeak があらわれる.

5aの安定性 Fig. 11



この 5aは不安定で、室温下約1日放置すると黒変し、 H2Oに不溶なものとなる。 powder 5aの-10°C, -50~-70°C における安定性を iodonatry で追跡すると Fig.11 の様にな 1). -50~-70°C の deep freezer 中に保存すれば70日間後で もほとんど変化せず保存できる事が判った。またこの気a の水溶液を室温で放置すると分解は速く、 usdometry より 5日間で約20%に減少し、約7日後には KI starch test 陰 性になる。

## 第三節 <u>50°C 付近での TypToplan の光増</u>感酸素化反応

前述の様に tryptoplan の水溶液中での増感酸化を0~5°C で行なうと、もっぱら三環性の trydroperoxide えが生成する事が明らかとなったが、我々の研究室での tryptoplan 誘導体の増感酸化の知見では反応温度が高くなると formyl-tryptoplan の増感酸化を50°C 付近で行なった (chart 22).

即ち反応温度を約50°Cに保ち、前述と同様なスケールで Tryptophan La の増感酸化を2.5 時間行なうと、La は消失したが、反応液のKI starch test はなお陽性である。そこで反応液を室温に冷却後 MezSを加えて還元する。過剰のMezS, Et OH を留去後酢酸を加えて酸性にし、R.B. をCHzClz で抽出除去する。水層でCCF3CO2Hを加えて室温で撹拌し、formyl-kynurenine 3aを kynurenine 5aに加水分解する。強酸性陽イオン交換樹脂 Dowex50-X8によって分離すると6aが21%,3a-kydroxypyrroloindole 2a が48%得られた。

この様に0~5°Cにおける反応では全く検出されなかった formylkynuresume 3aが約50°Cでの反応ではkynuresume 5aとして21% 卓離でき、tryptophan 誘導体で得られている結果と同様な結果が得られた。

更に反応温度を80~90°Cに上げ同様の反応を3時間行なったが、この際 tryptophan La の残存がかなり見られる。反応混合物のTLCでは2aの生成は全く認められないが、formythynwrenineが予想しによりはかなりかないなから認められた。先と同様の後処理を行なったところ Eaが8%,及び未反応のtryptophan Laが12%得られた。更にこの反応においてはCH2Cl2 抽出により R.B. と共にCH2Cl2 層に移行する生成物がおい。しかしCH2Cl2可溶部はTLC上

<sup>\*</sup> Amberlite CG-50で直接分離する事も可能。

分数のapetが見られるので分離精製は行なっていない。

反応温度約50°Cの反応においては2.5 時間で原料は消失し、また80~90°Cの反応では3.5 時間後においてもTLCからかなりの tryptophan la が認められる。これは一旦生成した3-hydroperoxy indocening Za が熱によって原料のLaへ戻る経路がある為とも考えられる。

3- Nydroperoxy indolenine が加熱により脱酸素して indole 誘導体になる例としては&35a, 935b)の場合について当研究室でのデータがある (chart 23). その他 lophin hydroperoxide 36, でも知られている。

」かし80~90℃での反応では kynurenine 60, 10 の他に39 くの有機溶媒可溶部分が生成している事から 3-hydroperoxy indolenine 7a が1aに戻るだけでなく複雑な分解を起こしているものと思われる。

# 第四節 <u>3a-Hydroperoxypyrroloindole</u> n's formylkynuring

27h),30

### 第一項 種々の条件下における分解反応

既に 3a-hydroperoxypyrroloindole 5a の安定性のところで述べたが 5aは水溶液中室温で放置すると約7日で5aは完全に分解する。そこでこの分解生成物を確認する為反応液を Amberlite CG-50 (COOH form) で分離すると、 3a-hydroxy-pyrroloindole 2aが67%得られる他に formylhynuxcnine 3aがわずか5%ではあるが得られた (chart 24)。

そこで次に5aの水溶液の加熱による分解反応を検討し. その結果を<u>Table7</u>に示す・

Table 7 <u>3a-Hydroperoxypyrrolsindole</u> 5aの水溶液の加熱による分解

Method	Sa (mg)	H20 (ml)	反応時間 (min)	3a (%)	2a(%)
٧,	202	1000	6.0 9.5	2 8 2 1	2 l 4 0
Въ	506 214	200	21.5 15.0	1 6 1 8	39 53
	236	1.0	12.5	12	50

- a) 5aをり量の水に溶かし、沸騰水中へ加え、KI starch test 陰性になるまで加熱する。b) 5aの水溶液を予め120~130°Cに加熱してある油浴中でKI starch test 陰性になるまで加熱する。
- これらの結果から Eaの濃度,加熱の方法により 分りはらつきはあるものの frimylkeynurening Zaの 収率は たかだか12~28%であり、 Zaも 21~53%の 収率で生成している。しかし tryptophan 誘導体の 3a-hydropercrypyziolocindale を有機溶媒中で加熱分解した場合に得られた (序論参照)様な Nb-formyl 体の生成は認められなかった。なお生成した formylkynurenine Zaは tryptophan Laの O3酸化によって別途合成して得られたサンプルと TLC, UV スペクトル、融点,

呈色反応、IRスペクトル、HPLC によって比較同足した。

以上の様に 3a-hydroperoxide 5aから formythypurenine 3aかり 量ではあるが得られた事から、更に formythypurenine 3aの 収率向上を目的として種々検討を行びった・ 27035b038b0 先す tryptamin 誘導体の 5a-hydroperoxypyrroleinded の結果を 参考にし、銅,鉄イオンの添加による効果を検討した。 即ち5aの水溶液中へ金属イオンを加え、分解反応を追跡 し、生成物を分離した結果を Table 8 に示す・

Table 8 金属イオンによる 3a-hydroperoxypyrroloindole 2aの分解

Run	5a (mg)	H20 (ml)	Metal ion (モル当堂)	瓦东時間(hr)	<u>3</u> a (%)	2a (%)
	240	100	Fe <sup>3†</sup> ( 0.1 )	1-0	4	5 4
2	193	200	Fe <sup>3†</sup> (1.0)	24	1 25	17
- 1		100	$Fe^{2+}$ (0.1)	4.5	1	51
3	249	100	$Cu^{2+}$ (0.1)	68	9	59
4	225		Cu (0.1)	87	6	60
5	225	1	Cu (0.17			<u> </u>

a) KI starch test 陰性になるまでの時間 b) Leynuruning として定量

3a- Hydroperoxide 5aの水溶液に室温でFeCl3(0.1倍モル当量)を添加すると分解は速くなり、1時間で KI starch test 陰性となる。反応混合物を分離すると 3aが 4%, 2aが 54% 得られた(Run1)。 Fe³tを 0.1倍モル当量加えると、分解は0.1倍モル当量の場合よりも遅く、 2a, 3a とも収率は低い (Run2)。 Fe SO4(0.1倍モル当量)を添加した場合の分解は速く約4時間(icdometry による経時変化は Fig.12)で KI starch

12

test 陰性になり、 3aが 1%, 2aが 51%得 CuSO4, CuCl (01倍添り) CuCl (ののは添り) は 対 60%が得 5 2a に (Run 4,5, Fig. 13)。

20 hr

この様に Cut, Cut と比べ Fet, Fet による分解の促進は顕著に認められたが、いづれの場合も 3a-hydroxypyrroloindole 2a が王分解物であった・

序論で述べた様に tryptamino 誘導体の 3a-flydroperoxypyzrolo-indock の SiO2 触媒によるか解反な 検討された。 ためによるが解した。 検討された。 ためによるが ME SiO2 が T2 % 得を が まるが な SiO2 が が たいに Sio2 が たいに Sio2 が たいに Sio2 が たいに Sio2 が か か か か か な は ない に Sio2 が か か か ら な に は ない に の の か ら は は ない に の か ら は は ない に の ら に は ない に の ら に は ない に の ら に は ない に ら は ない に ら は ない に ら は ない い と 考 え ら れ る。

次に気の水溶液の光照射による分解を検討し、その結果を Table 9 に示した・

Table 9 光照射による 3a-hydroperoxypyrroloindole 5aの分解(0~5t)

hv (nm)	光泵	5a (mg)	H20 (ml)	反応:時間 (hr)	3a(%)	2a(%)	5a (%)
	Ten III belean lamp	281	350	5	5	38	53
> 300	500 W halogen lamp	225	120	5	12	38	27
	低压 Hg lamp (10W) 低压 Hg lamp (60W)	-	300	0.5	11	34	-

500W halogen lampによる照射では5時間後でも53%の気が残なし、分解は遅くるが5%、気aの分解によって生成した2aが38%得られた。これに対して低圧水銀lampによる照射では分解が促進されるが3aの収率は11~12%程度である。

3- Hydroperexy indolenisse 誘導体が aprotic 溶媒中塩基の存在下で分解すると化学発光が認められる事は1966年Mc Capra らずが見い出して以来数例の報告がある38a)当研究室においても 8 35a) 935b) の 3- hydroperoxy indolenism, 3a- hydroperoxy pyrroloindole を DMSO 中加熱すると化学発光が観測される

事を見い出しており、生成物の単離,同定を行なっている。更に松浦らは且の-78°Cでの増感酸化により dioxetance の生成を確認し、これを呈温に上げると化学発光が見られる事を報告している(chart 25)。

そこで 3a-hydroperexypyrroloindole Saの化学発光が見られるか どうかを検討した。 Ea約500mg に少量のDMSO を加え、 暗所において 170~200°C に一気に加熱すると、短時間( 約10秒)ではあるが肉眼で認められる淡青色の弱い発光 が見られた。この発光スペクトルの測定は北海道大学金 岡教授、畑中博士に依頼したが、強度が弱く測定できな かった。9,10-Dibromo anthracesse 及びアルカリを共存させ たが化学発光に変化は認められなかった。 また発光終了後の生成物の分離を検討したが. 生成物は 複雑な混合物であり、 Lynurenine Ea が確認できなかった だけでなく、単離精製できる化合物も得られなかった。 この様に加熱により気から弱いながら化学発光が見られ に事は dioxetane 13の分解による励起 formylkynurenine 3aが 生成している可能性も考えられる。しかし気の発光スペ クトルが測定できておらず、また&の発光スペフトルが ケトアミド体息の蛍光スペクトルと一致しない結果も得 られている35a)事からdioxetane 12生成の確かなる証拠とし ては不十分である.

#### 第二項 種々の緩衝液中における分解反応40)

次に単離した 3a-hydroperoxypyzzoloindol( Sa の緩衝液中における分解反応を検討した ( chart 26 )。その結果はTable 10に要約した。

Table 10 緩衝液中における 3a-hydroperoxypyroloindole 5aの分解

Run	5a (mg)	buffer solution	рН	ml	反応時間 <sup>b)</sup>	<u></u> 30 (%)	2a (%)
1	209	HEPES 4)	7.3	100	5.5 hr	9	68
2	205	130 MKH2 PO4 - 130 MNa2HPO4	7.2	40	23.0	43	38
3	229	1/5 M KH2PO4 - 1/5 M Na 2 HPO4	8.1	"	22.0	43	30
4	381	0.1MNa2HPO4 - 0.1MNaOH	11.6	"	5. 5	23	20
5	215	0.2MH3BO3 + 0.2MKCL - 0.2MNaOH	9.4	4	22.0	25	trace
6	223	1/20 M Na 2 CO3 - 0.1M NaH CO3	8.8	"	80 min	57	7_
. 7	204	,	10.3	1	110	48	9
8	200	0.2 M Na2 CO3	11.2	3	110	33	+
9	227	10% Na2 CO3 - 30% HCl	9.7	50	10	62	trace
10	225	10% Na2CO3 - CH3CO2H	9.3	40	10	72	6
11	261	,	10.3	50	10	56	20
12	226	1	7.0	40	10	57	_
13	239	H2 C03	3.9	50	60		101

a) HO CH2 CH2 N NCH2 CH2 SO3H

広く知られている zwitter ion 性緩衝液 HEPES を pH7.3 に調整し、 se を溶解して 室温で撹拌すると 5.5 時間で sa は消失する。 反応液を Amberlite CG-50 (cooH form)で分離すると formylkynurenine sa が 9%, 3a-hydroxypyrroloindele sa が 68%得られた (Run1)。次に pH7.2 に 調整したりン酸 buffer を 用いると HEPES buffer よりも分解は遅く、 23時間後に KI starch test 陰性になり分離すると 3aが 43%, 2aが 38%得られた (Run 2)。この様に緩衝液により分解の速さ及び生成物に差がある事、更にりン酸 buffer を用いた場合 3aが

b) KI starch test 陰性になるまでの時間

今までの最高の43%得られた事から気からみへの効率よ い条件を検討した。

先す PH 8.1 に調整したりン酸 buffer 中での気の分解は PH 7.2 の場合とほぼ同じ22時間を要し反応液から3aが30%, Zaが 43%得られた(Run3)。更に PH 11.6 のりン酸 buffer 中 では分解は促進するが、 3a,2aの収率は低下する(Run4)。 次に pH 9.4 のホウ 酸 buffer 中での分解を行なったが反応 速度の促進及び3aの収率向上は見られなかった(Run 5)。 しかし pH 8.8 の Naz CO3 - NaH CO3 buffer を用いると分解反 応は速くなり formythynurenine 3aの収率が57%に向上した (Run 6).そこでこの buffer を用いて更に検討した。

即ち PHを10.3 に上げた同様の buffer 中で反応を行なった ところ反応時間はむしろ長くなり、3a, 2aの収率は低 下した (Run7). また0.2N NazCO3(pH11.2)を用いてもほぼ同 様に 3a, 2a の収率が低下した(Run8)。この様に Run 6,7,8 の条件では満足すべき収率ではないが、formyCkyrurenine 3aが主生成物になる事が明らかとなった。 Formylkynurenine 3aの収率が低い原因としては3aがアルカり性水溶液中で 不安定であると考える事ができるので、この事を確認す る為 みの水溶液中における安定性を検討した。 その結果 が Table 11 に示されている.

Formylkynurenine 3a の安定性 Table 11

condition	РΗ	反応時間	recovery (Za) (%)
H <sub>2</sub> O (r.t.)	6.6	72 hr	84
H2O (reflux)	4	1	4 2
1/100 N NaOH	12.0	24	17
2N NaOH	7   2.0	10 min	trace
1/20 M Na 2 CO 2 - 1/10 M Na H CO 3	8.8	60	54
4	10.2	60	53
0.2N Na2CO3	11.3	60	47
10% Na2CO3 - CH3CO2H	9.3	10	67
15% Na2 CO3 - CH3 CO2H	7.2	10	81
	H2O (r.t.)  H2O (reflux)  100 N NaOH  2 N NaOH  2 N NaOH  100 M Na2CO2 - 100 M NaHCO3  0.2 N Na2CO3  101 Na2CO3 — CH3CO2H	H2O (r.t.) 6.6  H2O (reflux) %  100 N NaOH 12.0  2N NaOH 712.0  2N NaOH 712.0  10.2  0.2N Na2CO3 11.3  10% Na2CO3 - CH3CO2H 9.3	H2O (r.t.) 6.6 7 2 hr  H2O (reflux) 1  /100 N NaOH 12.0 24  2 N NaOH 712.0 10 min  /20 M Na2CO2 - 10 M NaHCO3 8.8 60  10.2 60  0.2 N Na2CO3 11.3 60  10% Na2CO3 - CH3CO2H 9.3 10

Formylkynurinine 30 E H2O に溶 かし室温で72 時間撹拌した 後分離すると 、30 か84%回 収された(Run 1)。しかしこ の水溶液を1 時間加熱する と. 回収率は 42%に低下す

ろ (Run 2). えa

を 100 N NaOH に溶解し室温で 24 時間撹拌すると 3.a を17% 回収されるのムで、他に TLC より为くの生成が認められ

る (Run 3)。 2N NaOH 中での 3aの分解は更に速く溶解後 10 分で起はほとんと残存しない(Run 4).次に Table 10 の Run 6.7で用いた buffer 中に3aを溶解すると 1 時間後3aの回 収率はそれぞれ54%,53%になった(Run 5,6)またRun **7 σ 0.2 N Na2 CO3 中においては1時間後3aの回収率は47%** に低下する。以上の様にアルカリ水溶液中30日不安定で ある為3aの収率を向上させるには短時間で3a-hydropcroxypyrroundui 5aが分解する条件を見い出す必要がある。 'BH 9.7に調整した10% Naz CO3-HCl 溶液を用いて3a-hydroperoxypyzzoloindole 5aの分解反応を行なうと短は約10分で消 ナし、分離するとZaが62%得られ、Zaは痕跡程度しか確 説できなかった(Table 10、Run 9)また 10% Naz CO3 - CH3 CO2H (PH 9.3)に変えても分解は速く、3aを72%という良い収 率で得た(Run 10).しかし PH 10.3 にすると塾の収率は低下 した(Run 11)。これら反応液中における20の安定性を検討 したところ、 pH 9.3 においては約10分後67%, pH 7.2 に おいては10分後81%しかるなを回収できない事が判った( Table 11, Run 8,9)。この結果はNaz CO3-HCL(またはCH3CO2H ) 溶液中においても急はアルカリ性よりも中性の方が安 定である事を示している。そこで PH70 に調整した Na2CO3 - CH3CO2H 溶液中に乏Qを溶解すると、アルカり性の時と 同様に50は約10分で完全に分解し、20か57%の収率で得 られた ( Table 10, Run 12). この Naz CO3 - HCl (または CH3CO2H) 溶液中 5aが効率良く知に変換する理由の一つに炭酸イオ ンの関与があると考えられたので、 CO2 で飽和させた炭 酸水 (PH 3.9)の中で気の分解を検討した。しかし反応は 全く起こらず1時間後気を還元を行ないるとしてほぼ定 量的に回収した (Run 13).この様に炭酸イオンのみの関与 で 5aから 3aへの変換が起こるのではない事が判ったが、 詳細な点は今のところ不明である。

以上の様に 3a-hydroperoxypyrroloindole 5aの熱, 金属イオン, 光, 緩衝液中での分解反応を検討した結果、 5aは
Naz CO3 - CH3 CO2H (HCL) 系の溶液中で formylkynurcnine 3a へ選択的かつ速かに変換する事が明らかになり、 tryptophan 1a → 3a-hydroperoxypyrroloindole 5a → formylkynurenine 3a の変換条件を確立する事ができた。

着者の合成した 3a-hydroperoxypyxolocindoli 5aの酵素系への取り込み実験は京都大学医学部早石修教授らによって検討されたが緩衝液中での5aの分解が速く、酵素系への取り込みが起こったという証拠は得られなかった。

# 第三項 <u>3a- Hydroperoxypyrrolaindai</u>から formylkymurenine が生成する反応機構に対する考察

L-Jryptiphan La の水溶液中における 0~5°C での増感酸化において、3a-hydroperoxyjyzzoleinslesse 5aがほぼ定量的に得られた。5aが単離できた事は 3-hydroperoxy indolening Zaを安定な形で単離しに事になり、従来より推定されていた中間体 Ia の存在が証明できた。またこの反応で formyl-hymurenine 3a の生成が認められなかった事実は chart 27において pats a がこの反応条件では起こらないばかりか、Taに H2O が付加した水和物はaを経由する path b も否定される。

前節で述べた様にこは加熱等種々の条件でえとえが生成するが、えの生成する機構としては chart 28 に示す path が考えられる。即ち tryptamine , tryptoplan 誘導体の 3a-fydreperoxypyrrods indole から formylkynures is ine is is indole から formylkynures is ine is is indole がら formylkynures is indole in in formylkynures is indole in indole の 2 位に to yelic tautomen を からこの path 以外外に 第二の path として cyclic tautomen こから の path 以外外に 第二の path として cyclic tautomen こから の path 以外外に おって path として cyclic tautomen こから dioxetane にを を こことの間に ring-chain の 互変 異性 が存在する事に なて ことの間に ring-chain の 互変 異性 が存在する事に こことの間に ring-chain の 互変 異性 が存在する事に かて は chart 29 に示す様に 3a-hydroxypyrroloindole で かいては chart 29 に示す様に 3a-hydroxypyrroloindole で からこことの indole の 2 位に t-Butyl 基をもっ tryptamine の path indole の 2 位に t-Butyl 基をもっ tryptamine

誘導体20の増感酸化によって得に3-hydroperoxy indolinine 2の 10 ロホルム中のNMRスペクトルにおいて閉環体である3a-hydroperoxy pyrroloindole 21との間に平衡が観測され、更に選元された3-hydroxy indolenine 22 も重クロホル中及ではまる事を確かのたれて30)。以上の様なモデル中のNMRスペクトルで23との間に平衡が存在する事を確かめた27h)35b) (chart 30)。以上の様なモデル化合物で得られた証拠より、 formylky nurenine 16が得られる。 Jryptoplan 1の場合にNb-formylky nurenine 16が得らないられるのpath よりも第二のpath の可能性が強いと考えられるが、3-hydroperoxy indolenine 2からformylky nurenine 2へは

dioxetane ほを経由するのか或いは水和物は経由かについては区別し難い・まにこれら以外のもからえへの path がある可能性も除外できない。

# 第四項 3a-Hydroperoxypyrroloindeleの酸による分解反応

序論で述べた様に tryptamine, tryptophen 誘導体の 3ahydroperexy fy vin and 24 を酸で処理すると酸触媒により Baeyer - Villiger 型転位反応を起こして 1.4-benyoxazine 35 か 単離できる事か既に報告されている(chart 31)。

1.4-Benzoxazine 25 は硫酸で処理すると 0-aminoplenol 26 が単離でき、これは25が加水分解して生成すると考えられている。

$$\begin{array}{c}
\downarrow OH \\
\downarrow N \\
\downarrow N$$

そこで3a-hydroperoxypyrroloindole 2の酸による反応を検討した。即ち L-tryptophan laの 0~5°C における増感酸化によって得られた反応液(3a-hydroperoxide 2aが主生成物である事を確認)に塩酸を加え、室温で17時間撹拌すると KI starch test が陰性になる。この反応液を後処理すると1.4-benjoxazine型の化合物は得られず、0-aminophenol 26が40%得られた他に3a-hydroxy体 2aが24%得られた。0-aminophenol 26は1日の融点、UVスペクトル、IRスペクトル、TLCとの比較により同定した。この結果は5aがtryptamine、tryptophan誘導体の場合と同様に塩酸によってBaeyer-Villiger型転位が起こり、先ず1.4-benjoxazine 27aが生成するが、この

27aは単離できす反応系中で直らに加水分解を受けて o-aminophenol 25 へ変換したものと考えられる (chart 32)。 同時に生成すると考えられる proling 誘導体28a の単離を 試みにが、成功しなかった。

この様にもから塩酸で容易に0-aminophenol 26が生成する事は、tryptophan えから0-aminophenol 26の生合成ルートとしてchart 33 に示すルートが現在知られているか、このルートの他にtryptophan えからもを経るルートの可能性もあると思われる。

# 第二章 <u>Juptophan の種々の総衝液中における</u> 光増感酸素化反応

第一節 <u>Tryptophan から formylikynuicinic への</u> 直接的変換法(<u>Tryptophan 2.3- dioxygenase</u> のモデル反応)

前述した様に 0~5°C での tryptophan Lの増感酸化ではformythynurenine えの生成は全く認められないが、約50°C での反応においては少量ながらえの生成か確認された。しかし収率は低く tryptophan 2,3- dioxygenase のモデル反応とはなりにくい。一方単離した 3a-hydroperoxypyrroloindole をは10% Na2CO3-HCL(またはCH3CO2H)溶液中ですばやく分解し、るが収率良く得られる事が明らかとなったのでこの溶液中における L-tryptophan La の増感酸にを検討した(chart 34)、その結果をTable 12 に示す。L-Juptophan La 510 mg (2.5 mM)を10% Na2CO3-HCL (285 ml:

Table 12 NazCO3-HCl (CH3CO2H)溶液中におけるL-tryptophan Laの増感酸化

Run	buffer solution	reaction temp.(c)	M.B.(机罐)	initial PH	<b></b> か(nm)	反応時間 (min)	3a (%)	2a(%)
1	10% Na2CO3 - HCL	7~20	0-1	9.4	>300	30	4 3	
2	/	0~5	4	6.9	3	4	40	_
3	<b>'</b>	4	0.02	1	\$	1	37	
4	7% Na2 CO3 - CH3 CO2 H	4	3	7.1	>550	90	5 2	
5	5% "	,	3	6.9	4	30	50	-
6	5% NaHPO4 - CH3 CO2H	3	9	7.0	3	120	trace	45
7	5% Na2 CO3 - CH3 CO2 H	3	,	"	9	30	54°	
8	2% %	;	7	',	٥.	25	376)	_

a) MezSで還元した場合:40% b) MezSで還元した場合: 29%

pH 9.4)- EtOH (25 ml) に溶解して、増感剤として M.B. (Yo ・ モル当量)を加え内温約20°Cで酸素を通じなからRyrex filter (>300 nm) を透して 500N halogen lamp を照行すると、 UVスペクトルより約30分で払は消失する。UVスペク トル、TLC (SiOz - n-ProHHzo = 7/3) からformationurening 30の生成 が認められたので直ちに Amberlite CG-50で分離すると、 3aのみが43%の収率で得ら礼に(Table 12, Run 1). 同様の反 ~ 応を 0~5°C、PH 6.5 で行なう(Run 2)か、 M.B.量を50モル 当量に減かさせた場合(Run3)にもほぼ同様の結果が得 られた。 - 方 pH 7.1 の 7% Naz CO3 - CH3 CO2H 溶液中で M.B.( 1/50 モル当量) を加えて Pyrex filter (>300 nm)ではなく液体 filter(K2Cr2O7,>550nm)を透した光を照射すると反応は かし長くなろが、formylkynuresusse 3aの収率が52%に向上 した (Run 4)。また Naz CO3の 変わりに NaH CO3を用いて反応 すると約30分で、1aは消失し、 起を50%得た(Run5). しか しNazCO3, NaHCO3の変わりにNaHPO4-NaOH (pH70)の緩衝液 を用いると反応速度は遅くなり、Zaは痕跡量しか認めら れす 3a-hydroxypyrroleindole Za の4が得られ、上述の溶液と は全く異なった結果となった(Run 6).この様にNazCos-CH3 CO2H (HCl) 中で tryptophan の増感酸化を行なうと、formyl-Lynureningが比較的収率良く直接得られる事が明らかとな 1). この条件での増配酸化がtryptophan 2,3 - dioxygenase の モデル反応として良い事が判った。

失し、反応液はKI starch test 陽性である。Jodometry より[A]の収率は約50%で、室温下放置すると約3.5 時間後にKI starch test 陰性となる。これを分離すると先と同様3aのみが37%得られる。それに対して直接還元すると3aは29%に減少する(Run8)。

この様にNaz CO3 - CH3 CO2H 溶液中における増感酸比では一 旦5が生成、これからえが生成するのではなく、え以外 の過酸化物[A]が生成し、Na2CO3-CH3CO2H溶液中で[A]は3 に変化すると考えられる。この構造未知化合物[A] は 7~10% NazCO3-CH3 CO2H溶液中では反応中にformythynuzenine 3に変化するものと考えられ、反応終了時には存在しな いが、 2~5% NazCO3-CH3CO2H 溶液中では反応終了時にも 残存し、KI starch test は陽性となる。この[A]は還元して も3や3a-hydroxypyrroloindole2に変にしない事、及び反応 終了時の反応液のPHMアルカリ性になっている事から[A] としてはも考えられるが、はであれは還元するとoxytryptophan \*\*\* 29 かまたは 3a-hydroxypyrroloundole るが単高はされ てもよいはすであり、[A]の構造は不明である。 なお対照実験として Laを 10% Na 2 CO3-CH3 CO2H 溶液に溶解 させ室温で90時間撹拌すると、10を82%回収する以外に 3aを7%得に.この様に Na2 CO3-CH3 CO2H 溶液中の反応で は増慰剤、酸素、光が欠けると速かなるしからえへの変 換が起こらない事は明らかである。

<sup>\*</sup> NazCO3-CH3CO2H 溶液中で酸素を通じながら増感酸化を行なうと.
CO2ガスが逃げる為か反応の進行と共にpHは高くなる。
(NazCO3-CH3CO2H 溶液中(pH6.9)に酸素を通じると. 15分後
(pH7.6), 30分後(pH7.7), 60分後 (pH8.1)の様にpHが上がる.)

<sup>\*\*\*</sup> hydroxytryptophan, α-hydroxytryptophan, 2-hydroxy-tryptophan 60) 620) 63) β-oxindole-3-alanine, β-3-oxindolylalanine の様は種々の名称があるが著者はこの名称で統一する。

既にtryptophanの水溶液中での増感酸化において種々の増感削によって反応速度に差がある事を述べたが、Na2CO3-CH3CO2H溶液中における反応でも種々の増感削を用いて増感酸化を行ない、その結果をTable 13に示した。

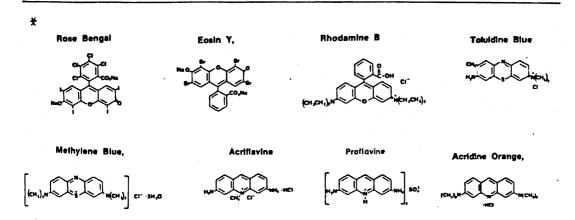
Table 13 種々の増感制における Naz CO3- CH3 CO2H中での Lyptophan La の増感酸化

sensitizer*	そん当を	hD (nm)	反応時間(hr)	<u>3</u> a (%)	recovery
Toluidine Blue (T.B.)	0.06	>400	2.0	37	_
Rose Bengal (R.B.)	0.02	>490	3 . 5	5 8	_
Rhodamine B (Rh.B)	1	4	4 . 5	18	71
Acriflavine (A.F.)	7	> 400	3.0	35	4 3
Proflavine (P.F.)	3	9	9	2 1	4.6
Acridine Orange (A.O.)	,	1	•	28	5 4

T.B.ではM.B.よりも反応は遅く、formylkeynuxining 2aの収率も低い・それに対してR.B.では反応は遅いが、比較的収率良く20を得る。しかしR.B.を用いた反応は反応液から色素を除去する事が困難である為、2の合成にはM.B.と比べ不利である。一方R.B.と同じXanthene系のRh.B.では反応は非常に遅く、4.5時間反応を行なってもtryptoplan 1aを71%回収する。

またAcridine系の色素はいづれも反応は遅く、3時間反応しても約50%のLaを回収する。

以上の様にNa2CO3-CH3CO2H 溶液中の反応も水溶液中の 反応とほぼ同様な結果を得た。



## 第二節 種々のPHにおける酸化生成物の解析 40)

#### 第一項 Acetate buffer, Phosphate puffer

Table 14 種々のPHにおけるL-tryptophan la の増感酸化

Ru	buffer	solu	tion	(ml)	рΗ	1a mg(mH)	M.B. (砂螺)	灰時 間(hr)		(%) HPLC	3 a (%)	31 a (%)	30 ~	recovery
1	1 CH3 CO2	H(10)-	% сњо	D2Na (320)	6.2	499(24)	1/00	1.0	47	46	_		trace	
2	"	(80) -	"	(320)	5.3	502 (2.5)	3	1.5	68	69	_	_	"	
3	"	(204)-	"	(196)	4.6	500(*)	3	4-0	62	69			_	
4	% CH₃ CO≥H	(204)-	"	(196)	4.7	502(*)	1,	1.5	54	61	_	-	-	27

5	፠፞፞፞፞፞፞ጜ	0, H (328)- h	%cH₃c	02Na (72)	4.0	204 (1-0)	1/50	3.5	54	63		_	_	
6	"	(370)-	"	(35)	3.5	205(%)	3	4	53	55	_		-	
7	3	( 🎓 )-	"	( ~ )	3.6	9 (9)	1/00	4	58	66	_	_	-	_
8	%kH≥PI	)4(10)-‰}	102HP	04 (320)	8.4	506 (25)	1/50	1.0	14	15	trace	17	trace	_
9	"	(50)-	′,	(400)	7.7	503(4)	1/100	4	18	15	1/2	21	3	
10	٠,	(150)-	,	(300)	7.1	505(*)	1	9	58	59	1,	trace	1	_
11	",	(400)-	"	(50)	5.9	509 (*)	4	2.0	56	74	1	"	"	1

pH 6-2 に調整した acetate buffer ( 1/10 CH3 CO2 Na - 1/10 CH3 CD2H: 285 mi - EtOH 15 ml)に Tryptephan La 499 mg (2.4 mM)(この量以上のLaを 用いると、fufferに溶解後pHが変動する。)を溶解し、酸 性からアルカリ性まで広く使用できる増展剤として M.B. (‰も儿当量)を加えて 0~5°C で酸素 気流下 500W halogen lampで光照射すると、約1時間で1aは消失する。 反応液 を分離すると 3a-hydroxypyrroloindole Za が 47% (UV定量, HPLC: 46%)得られるが formylhynurening 3a の生成は確認で きず、痕跡重の3-formylindole 30の生成を確かめた(Table 14, Run 1)・PH 5.3 で は反応の進行は少し遅くなるが、生 成物は Run1と 同様 2a (UV定量: 68%, HPLC: 69%)と 痕跡量の30 を得た(Run2)。PH 4.6 での反応はLaが消失す るのに4時間必要であるが、生成物としてはLaのみであ った(UV足量: 62%, HPLC: 69%)(Run 3).なお同様の反 応を1.5時間で中断すると、Laを27%回収する他にZaを約 60%得た(Run4)。この事から反応が長くなると5aの生成 と共に分解が起こっている事が明らかとなった。 PH 4.0, 3.5 の反応ではLa & acetate buffer 中に溶解した際. PH か変動しない様にLOの量を 204mg (1mM)に減らして反応し た.しかし反応はかなり遅く、Laが消失するのに3.5 時 間を要した。生成物は2aのみである(Run 5,6). なお M.B. の量が1/00 モル当量でも1/50モル当量でも生成物の収率は あまり変化しない(Run 7)。

以上の様に acetate buffer を用いた酸性側の反応では、生成物として 3a-hydroperoxypyrroloindole 5aを2aとして 50~70%の収率で得に。

次にLa 505 mg(2.5 mM)を phoophate buffer(%MKH2PO4-%MNa2HPO4:PH 8.4)に溶解し、M.B.(1/50モル当量)存在下

酸素を通じながら光照射すると (内温:0~5°C)約|時間 でLaが消失する・還元後分離するとみを15%得た他に、 痕跡量の私の生成が認められた。更にイオン交換樹脂に よる分離で見の前に溶出する未知化合物見のがあり、 を留去すると淡黄色 powder になり、今までの増悪設立で は得られなかった新しい生成物が得られた(Run8)。PH 77 の同様な反応(M.B.は Yoo モル当量に減らすらでは Run 8 と同じくしは1時間で消失し、生成物に関しても Zaを18%(UV定量、HPLC:15%)得る他に痕跡量の žaと 31aを330mg 得た(Run 9).更に PH7.1 にするとそaの収率が 向上し、約60%得られる他に微量の31mが得られた、Run10)。 しかしpH 5.9 に下けると反応は遅くなり、Laの消失に2 時間を要する。生成物はZaが得られる他にZaを得た。 かし到の生成は認められなかった (Run 11).なお prosphate tuffer 中のいづれの反応の場合にも処の生成をTLCから 認めた。

HO 5 61 0 CO2H NH2 NHCHO

Table 15 31aのスペクトルデータ

この未知化学物型aのスペクトルデータはTable 15 に示 すとおりであり、UVスペット ルは formylkynurenine型の吸収を 示し、アルカりを添加すると深 色移動(酸を加えると亢の吸収

2 H2O max	235, 261 <sup>sh</sup> , 340 nm
λ max OH-	243 , 285 <sup>sh</sup> , 357 nm
V KBr max	3200 br , 1635 br , 1510 cm-1
5% CF3 CO2H-	3.78 ~ 4.12 (2H, m, CH2)
1,	4.48 ~ 4.75 (JH, m, CH)
	7.25 (1H, dd, J=9,2Hz, C4-H)
	7.61 (IH, d, J= 2Hz, C6-H)
·	7.90 (IH, d, J=9Hz, C3-H)
PLC 4)	t <sub>R</sub> = 10.7 min
	HIO- OH-  Max  KBr max  5% CF3 CO1H-  Oppm D20

- a) Packing Material: Nucleosil 5 C-18 Eluent : H20 MeoH = 9/1 , Press : 110 kg/cm2 Temp.: r.t. cf.) La: tr=19.4 min, 3a: tR = 15.3 min
- b) CHO は観測されない。

formylkynurinine 之 自身 でなく、ベンセン部 位へ OH基が導入され ているのではないか と思われる。またNMR スペクトルから 7.25 ppm は4位のプロト ン, 7.61 ppm は 6 位の プロトン, 7.90 ppm は3位のプロトンで あると思われ、3位 のプロトンの低磁場 shift が観測される. これらのデータより31aの構造は

に戻る。) する事から

5-hydrexy-formyckynusenine であると推論した。 31aをCF3CO2H - D2O に溶解し、約1時間後に再びNMRスペクトルを測足すると31aとは異なる結果が得られた。これは31aから脱formyl 化して32aが生成したと思われる。32aのスペクトルデータをTable 16 に示す。 UVスペクトルは kynurening型を示し、アルカリを添加すると31aと同

H0561 NH2 4 32 NH2 を示し、アルカりを添加すると到aと同様深色移動する。 NMR スペクトルでは3位のプロトンが高磁場に Shift して7.51 ppm に観測される。次に到aの構造

Table 16 32aのスペクトルデータ

	λ H2O max	220, 255 <sup>sh</sup> , 319, 382 nm
υV	λ max	229.5, 409 nm
NMR	STOFE CH-	4.06 (2H,d,J=4Hz, CHz)
	17	4.70 (IH, t, J=5Hz, cH)
		7.31 (IH, dd, J=9,2Hz, C4-H)
		7.51 (IH, d, J=9Hz, C3-H)
		7.66 (IH, d, J=2Hz, C6-H)

を確実にする為に以下の

 $\begin{array}{c} 0 & \text{CO}_2\text{H} \\ \text{HO} & \text{NH}_2 \\ \text{NH} & \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H} \\ \text{3}_2\text{a} \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{CICO}_2\text{CH}_3\text{H}^{\dagger} \text{HO} \\ \text{OH}^{-} \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{O} & \text{CO}_2\text{H} \\ \text{NH} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \\ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{N}_2 & \text{HO} \\ \text{3}_2\text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{O} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \text{NH} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{O} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \text{NH} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \text{O} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \text{O} & \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{CO}_2\text{CH}_3 \\ \end{array} \begin{array}{c} \text{C$ 

性にCLCO2CH3でででいた。 シなでといいではは かな後でH2CL2抽 は る。 33a を 43a を 33a

の EtzO 溶液に CH2N2を加

えてメチル化をし、SiOzカラムで分離すると淡黄色caramelとして34aを得る。(メチル化を短時間で止めた為か35aは少量しか得られず、34aが主生成物となった。) (chart 36) 34aのスペクトルデータを Table 17 に示す。 UVスペクトルでフルカリ添加による深色的動が見られ、NMRスペクトルでベンゼン部位の chemical shift 及び coupling patternより5位にOH基がある事が推定される。 Massスペクトルで34aの分子量に対応する 1/2 354に分子イオン peak が認められる。以上の事より34aの構造は支持されるが、純品を得る

Table 17	34 a	Ø	Z	^•	7	۲	ル	亍"	- ;	9

1137	λ HzO λ max	236, 263, 366 nm
UV	λ H2O - OH - λ max	248, 277 <sup>sh</sup> , 408 nm
ıR	,) KBr	3340 br (NH), 1730 br (C=0)
11/	Vmax	1530 (NHCO)
Mass	"% (%)	354 (M+, 32), 194 (12), 162 (100)
Mass		HO " C= 0+
NMR	S ppm S ppm	$3.32 \sim 4.02 (2H, m, CH_2)$
	. • •	3.69 (3H, 5, CO2 CH3)
		3.76 (3H×2,S,2×C0×CH3)
	·	4.57~4.83 (IH, m, CH)
		(D20添加) 4.69 (IH, dd,J=4.4 Hz)
		5.92 (IH, br.d , NH co)
		7.05 (IH, dd, J= 9,3 Hz, C4-H)
		7.27 (IH, d, J=3Hz, C5-H)
		8.21 (1H, d, J=9Hz, C3-H)
		10.48 ( 1H, s, Ar-NH)

a) OH は観測されない。

には至っていない。 なお恐の構造はUV スペクトルでアルカ り添加による深色移 動が見られない事、 及び Mass スペクトル で 1/2 368 に 分子イオ ンpunk が認められる 事から推定した(実 験の部参照)。 31aの様に tryptophanの ベンゼン部立へOH基 が尊入された化合物 が tryptophan の増感酸 化で得られたという 報告は少なく、吉田 ら<sup>20d)</sup> 及び Benassi ら<sup>22a)</sup> の例のみである。

この様に ploophate

fuffer において酸性側では 3a-hydroperoxypyrroloindole 5aが主生成物であり、formylkynurenine 3aは痕跡量しか得られないが、アルカリ性側になると5aの収率が低下し、痕跡量の3aと5-hydroxyformylkynurenine 3aが約20%生成する事が明らかとなった

#### 第二項 酸性, アルカリ性水溶液

今まで述べに様に tryptophan の増感酸化を水溶液中、緩衝液中で行なうと生成物が異なる事が判った。 そこで更に酸性及びアルカリ性水溶液中での増感酸化の検討を行ない Table 18 の結果を得た。

Table 18 酸性,アルカリ性水溶液中でのL-tryptoplan la の増感酸化

Ru	solvent	рΗ	反応時間	瓦尔温度	2a	(%)	3ª2	recovery
n	Solvenc	Pii	(hr)	(°C)	υV	HPLC	(%)	(1a) (%)
1	5% HCL	< 1	4.0	0∼5	_			77
2	100 N HCL	2.5	5.0	7	81	98	-	2~3
3	10 N CH3 CO2H	3.0	4.5	9	67	75	-	trace
4	2~3% Na2CO3	8~9	2.0	30		_	29	
5	"	"	2.0	50		_	11	

a) CF3CO2Hで加水分解した後 Lynurenine 6a として定量

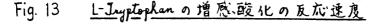
5% HCl(285 ml) - EtOH (15 ml) に Tayptoplan 1a 1.02g (5 mM) を溶解し、M.B. (300 モル当量) を増慰剤として0~5°C で4時間光照射したが、反応は全く進行せずひを77%回収した(Table 18, Run 1)。一方 160N HCl (pH2.5)中の反応では水溶液中の反応と比べ反応は遅いが、5 時間後にほぼねが消失する。Me2Sで還元して分離すると、2aを81% (UV定量, HPLC: 98%)の収率で得に (Run 2).まに 16N CH3CO2H (pH 3.0)中、1a 507 mg (2.5 m M), M.B. (9 mg, 100 モル当量)の条件で反応すると、4.5 時間後にほぼしは消失し、2aを67% (UV定量, HPLC: 75%)の収率で得に (Run 3)。

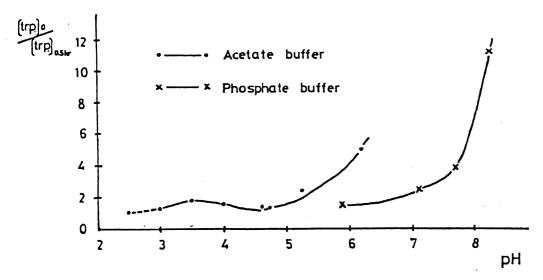
Na<sub>2</sub>CO<sub>2</sub> 水溶液中(pH8~9)内温約30°Cで反応を行なうと(la:102g) 2時間でlaは消失する。99くの生成物がTLCから認められるが、分離すると formylkynurenine 2a(CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Hで加水分解し kynurenine 2aとして定量)が約29%得られたしかしるの生成は認められなかった(Run 4)。内温を50°Cに上げて先と同様な反応を行なうと3aの収率低下が認められた(Run 5)。

以上の様にくPH1では増感酸化は進行しないが、PH2.5~3.0付近では反応は遅いがるのみ生成する。しかしアルカリ性水溶液中の反応は複雑になり、2aは得られないが、3aを少量得る事ができる。

#### 第三項 総括

前節で述べた % N CH3 CO2H, 100 N HCl, acetate tuffer, phosphate tuffer 中における増感酸化の反応速度を求めた。方法としては HPL C から得られる Tryptophan 1a の反応 30分後の減少率を求め、縦軸に1aの減少率、横軸に種々のPHをとりプロットすると Fig. 13 が得られる。この結果から、以前の研究者らによって報告された結果と同様 PH が高くなるを酸化速度も速くなる事が明らかとなった。



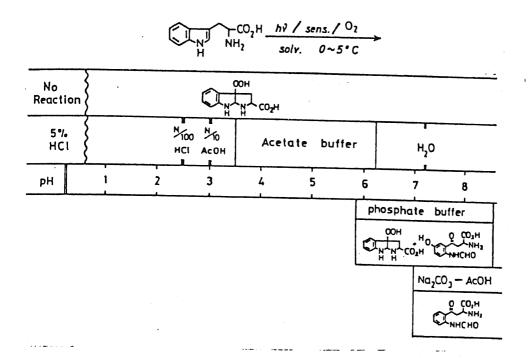


次にL-tryptophan Laの種々の溶媒中における増感酸化の生成物をまとめると Fig. 14 になる。pH 1 以下の5% HCL中では反応は進行しないが、YooN HCL (pH 2.5), YooN CH3CO2H (pH 3.0), acetate buffer (pH 3.6~6.2) の溶媒中及び水溶液での反応からは 3a-hydroperoxypyrroloindole 5aのみ生成するのに対して ploophate buffer (pH 5.9~8.4) 中の反応では5aの生成に加えて微量の formylkynurenine 3aが得られた。また ploophate bufferのアルカリ性側では5-hydroxyformylkynurenine 31a及び5aが得られる事が明らかとなった。一方 Na2 CO3 (またはNaH CO3) - CH3 CO2H (またはHCl) 中の反応では3aのみを得る。

この様に酸性,中性,アルカリ性によって生成物が異

なるだけでなく、同じPHでも溶媒の種類により生成物が変わってくる事が判った。しかしかなりない範囲で3ahydroperoxypyrrolsindoleをが主生成物となり、formylleynurenine 3は特殊な溶媒中における反応の場合にのみ得られた。

Fig. 14 Products Analysis of Photooxygenation of Tryptophan



# 第三章 <u>Tryptoplan の光増感酸素化反応</u> の機構に対する考察

光増感酸素化反応の機構としては励起三重項増感制による水素引き抜き (Type I), - 重項酸素が反応種となる機構 (Type I) に加えて electron transfer による機構が知られている (chart 37)・

chart 37

Tryptophan I on K 溶液中における 増感酸化につい て、Weil<sup>20a)</sup>, 吉田 ら<sup>20d)</sup> は初期に Type I 様 の radical 機構を提案して いるが、近年に 12 7 Kearns 25) 11 TypeIn機構を 証明している。 既に満研究室の 吉川"は tryplamine 誘導体の増感酸 化の研究の一環 ELT radical

inhibitor として知られている 2.6-di-t-futyl phonol を加えて も反応に影響がない事から増感酸化がType I によるもの ではなく、'02 によるものと推論したない そこで着者の行なった実験条件で'02 が反応種であるか

どうかを検討する為次の2種の実験を行なった。

先が第一の実験としては102の消光剤として知られている trictly lendiamine (DABCO) を加えて水溶液中の増慰能化を行なったが、DABCOが存在しない場合と比べて少し反応が遅くなった以外はほとんど影響が見られなかった。第二の実験としては Kearns によって行なわれた方法、即ち102の反応であれば H2O-CH3OH 溶媒中の反応と比べてD2O-CD3OD 溶媒中の反応は10 倍速くなる事を利用して検

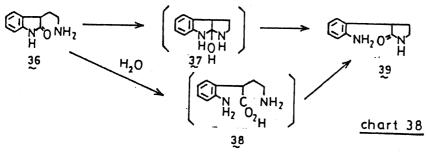
討した。 L-JaypLoplan La 1.02g(5mM)の水溶液(5%EtOH-H2O,300ml)に R.B. 15 mg(1/300モル当量)を加えた溶液と同じ濃度のD2O-CD3OD溶液を用い、内温 O~5°C で外部照射による増感酸化を行ない。 La の減少率を HPLC から求めプロットすると Fig. 15 の様になる。この結果から溶媒効果は挺はんで認められず、反応が 102 によるという積極的証拠は得られなかったが、これだけの実験では 102 経由の反応を否定できない。

(孤少率) (減少率) H20 (A) H<sub>2</sub>O (B) × D<sub>2</sub>O (C) x D20 (D) 1.0 0.8 0.8 0.6 0.6 0.4 0.4 0.2 0.2 0 0 10 15 20 25 30 min 5 10 15 (灰心時間) (反応時間)

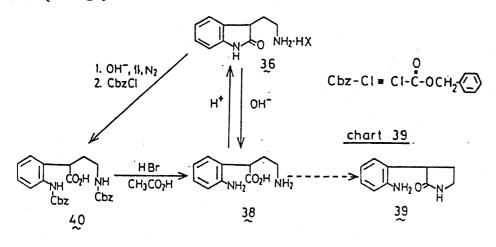
Fig. 15 D20中, H20中におけるL-tryptophan Laの減少率

# 第四章 Oxytryptophan or Rynurenine への酸化反応 第一節 Oxytryptamine

序論で述べた様に oxytryptamine\* 36 は free base の状態で は不安定であると考えられており、塩酸塩等の塩として 保存されている。この不安定な原因としては以前より N,N-acyl 転位を起こし 0-aminophenyl pyrrolidone 39 に変化する為であると考えられていた。2800この中間体としては 翌月には38が考えられるが、これらの中間体や反応機構 については明らかにされていない (chart 38).



1958年 Witkopらは chart 39 に示される様に oxytryptamine 35の塩酸塩を 2N NaOH と窒素 気流下で加熱還流すると oxindole 環が加水分解を受けて amino acid 3.8 になり. れをCbz-Cl で処理すると di-Cbz体40 が得られる事を見い 出している。



この処のCbz 基 を酢酸中HBr で除去すると38ではなく... 再閉環した oxiondale 3.6 を結晶性のHBr 塩として得ている。

<sup>\*</sup> d-hydroxytryptamine 28), 2.3- oxindolylethylamine 46).50) 等の名称があるか着着はこの名称で統一する。

えしてこの母液中に39と思われる化合物を電気泳動によって検出しているが、39を単離証明するには至っていない。

- 方 Wenkert らは1958 年 cyanomethyloxindele 誘導体生を接触還元すると対応する amine 42は単能できず、アミノ基の隣接基効果による N,N'-acyl 転位で生成したと考えられる pyriolidone 43 が生成する事を見い出した (chart 40).

また Islip 46), Hendrickson 47) van Tamelene 48) Thio 等によっても同様な acyl 転 位の例が報告されている(chart 41).

この様に oxindule 誘導体から対応する pyrrolidono に容易に変化している例が報告されているが、 oxytryptamine 36 自身については Witkop 以来この点に関する研究は行なわれていない。 そこで告者は先ず oxytryptamine 36 の安定性について検討した。

Oxytryptamine 35·HCl は Harley-Mason らの方法により. water 44を出発物質として5段階を経る方法によって合成した500 (chart 42)。

Dxytryptamine 36·HCl 808 mg に 20% NaOH 約30mlを加え、すばや 《CH2Cl2 抽出を行なって得られにfree face の oxytryptamine 36 218 mg を MeOH 30 ml に溶解し. 室温で1時間撹拌を行な った後、35が更に変化するのを防ぐ為に直ちにClCO2CH3 てacyl 化するとNb-methoxycarbonyl oxytryptamini 哲を解文 127~128°Cの結晶として 94%得た。 それに比べ 24時間後に Cl CO2 CH3 で反応させると45が63%に減少し、free tasse が 何らかの支化をしている様子がうかがわれた。しかし45 以外の生成物の分離確認はできなかった。そこで次に exytryptamine 36·HClのEtOH溶液中に10倍モル当量のNaOH を加えて室温で60分撹拌を行なうと、 反応液のUVスペ 7トルは36のoxindole 特有の250nm の吸収から複雑な吸 収へと変化していく。 CLCO2 CH3 で acyl 化を行なった後 SiOzカラムにて分離すると pyrnolidone 39 の生成は認めら れず原料36を45として43%回収した他にdioxytryptamine誘 尊体46 を主生成物として無色カラメル状で14%。 Lynuvenamine 誘導体47a+bを3%,それに構造未知の化合物48を 少量得た(Table 19, Run 1)(chart 43)。

近の構造はUVスペクトルが近と類似し(λ max 254,290 shm) Mass スペクトルでは45より酸素が1個为い % 250に分子イオンpeak が見られる事、及びCDCl3中のNMRスペクトルでは45で見られた3位のメチンプロトン(δ cDCl3 3.40) が消失し、4.90 ppm に OH 基のプロトン(D20 添加によって消失する。)が認められる事よりこの構造を推定した。 47aの構造は既にNb-nutloxy carbonyl tryptamine 49 の増発酸化によって得られた50をAl2O3によって脱formyl 化した標

品<sup>276)</sup>(chart 44)と混融し融点降下が起こらない事、更にTLC,

UVスペットル、IRスペットルとを比較する事で決定した。

構造示知化合物をは融点 202~203°Cを示し、IRスペットルでNb-methoxycarbonyl に基すく carbonyl の吸収か1728 cm<sup>-1</sup>, amide II band が 1555 cm<sup>-1</sup> に観測される他に 1692 cm<sup>-1</sup> に carbonyl の吸収が見られる。また CDCl3 中の NMRスペットルから重水添加によって消失するプロトンが2個(NH)及びEtO基の存在が判る。 Mass スペットルでは1-2thoxy benzoxazinone 後に対応する Mz 294 が分子イオン peak として観測され、UVスペットルは238,280 nm に極大吸収をもつ事からこの未知化合物の構造として1-2thoxy benzoxazine - 3-one 48 がでれる。これは更に元素分析及び経をEtOH中2NH2504と加熱環流すると kynurenamine 47aになる事から支持される。これは更に元素分析及び経をEtOH中2NH2504と加熱環流すると kynurenamine 47aになる事から支持されるころが 類似の反応例としては Houlihan らが1968年3-planyl-2-cumaranone 51をアルカッ性で DMF溶液中空気酸化すると、4-phenyl-1.3-benzodioxane - 4-ol-2-one 52が生成する事を報告している\*\*\*

以上の実験は oxytryptamine 36の free base が反応条件下で空気酸化を受けている事を示唆している。そこでこの点を明らかにすべく詳細な検討を行なった。

Table 19 oxytyptamineのアルカリ溶液中におけろ酸素酸化

R n	solvent	base	反応 時間		46 (%)	47 (%)	48 (%)	45 (%)
1	EtOH	NaoH	60 min	air	14	3	6	43
2	',	4	4	Ar.	_	4	2	71
3	3	1,	"	02		34	-	. —

4	EtOH	NaOH	15 min	02	-	15	28	
5	′,	NaOEt	60	3		21	20	
6	<b>'</b>	4	15	11	-	18	30	_
7	50% H2O - EtOH	NaOH	ý	4	-	22	17	
8 4)	EtOH	NaOEt	3	3	2	21	22	_
G <sub>P</sub> )	3	,	1/	5		24	11	
10	,	"	3 hr	٠.		37	22	-

- a) acyl 化の時間が長い。
- b 還元後 acyl 化を行なう。

先すこの反応を酸素のない状態即ち Argon 雰囲気下で60分行なうと微量の酸化成績体も得られるが、主としてをしてなり、Run 2)。そこで積極的に酸素を反応中に通じ同様の反応を60分行なうと、原料回収はを反応中に通じ同様の反応を60分行なうと、原料回収は15分にの反応を短時間(15分)行なうと、47は15%に減少するかわりに1.3-benzoxazinone 48を28%の収率で得た(Run 4)。この事は反応中に48が47へ変化する可能性のある事を示唆していると考えられる。

Oxytryptamine 36 から46,47,48が生成する機構は<u>chart 46</u>の様に推定される。

先す exytuyptamine 35 の 3 位のプロトンが baseにより引き抜かれ、carbanion 53 が生成し、これが酸素分子と反応して3-hydreperexide 55になり、これから disxetane 55を経て carbamate 56になり、これから disxetane 55を経て でarbamate 56になり、ただは carbonyce 基に反応して開環を生成し、一方脱炭酸すると灯が生成する。他方3-hydropioxid 25 が反応中のに過剰の H2O が存在する場合にどがが上る。また反応液中に過剰の H2O が存在 脱炭酸するとだが、100mino acid 51になり、脱炭酸するとだが、100mino acid 51になり、現場できない。類似の反応機構は Houlihan らによって 50の生成と関連して提案されている510 (chart 47)・

Carbamate 55 の生成の証拠としては45の水溶液またはEtOH溶液中にNaOHを加えUVスペクトルで経時化を連続的に追うと45の251nm の吸収が次第にcarbamate 55 の吸収と思われる keto amide 型の極大吸収262,342 nm へ変化していく様子が見られる (Fig. 16)・なおこの条件では kynurinamine 42a への変化は見られない。

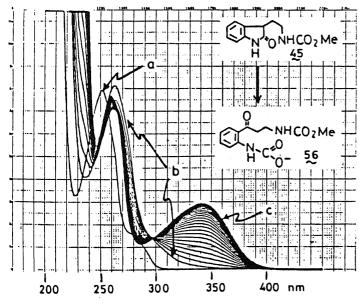


Fig.16 45の水溶液に NaOHを添加 した時の経時 変化・

a: 45 in H20 (EtOH)

b: + NaOH (直後)

C: 2時間後(5分年

に測定)

夏に oxytryptaminiの酸比反応の中間体として仮定した 3-hydrocinxide 54から46,47,48が生成する事を確実にする 為に54の別途合成を考えたが、前述のとおり35のfree base の xxytryptamine 55を用い、base 共存下光増感酸素化反 ごを行ない、目的とする 3-hydroperoxide 58を oil として得 に (chart 48)。この構造は KI starch test 陽性である事、MezS で還元すると diexytryptamine 誘導体色が生成する事、及び

UVスペクトル, NMRスペクトル, Massスペクトルによって推定されている。 50 を MeOH中 10% NaOH または NaOEt を加え水冷却下 60分撹拌後分離すると、50 が主生成物として 54%及び42%で得られ、更に46 (trace, 3%), 47a (9%, 9%) が少量得られ、先の機構が支持された。

た後、acyl 化の時間を長くした。またこれらの反応では 反応終了時の反応液が弱いながら KI starch test 陽性を示 す為. 酢酸に溶解した Me2Sを反応液に加えて還元するし Run 9) と48の収率は低下し、20の収率が僅かではあるが 向上する、更に Run 5 と同様の反応を60分から3時間と 長くすると全体に収率が向上し、47が主生成物となる( Run 10)。この結果から長時間反応すると1.3-bengoxezinnu 60から47が生成する可能性が認められる。 次にacyl 化及び反応中に一旦生成した⑩から kynuresumine 47人の変換が起こるかどうかを48を用いて検討した.即 548 103 mg の EtOH 溶液 5 ml に IN Na OH (8.8 倍モル当量)を 加え、酸素気流下室温で | 時間の撹拌及び48 89 mgのEtOH 溶液 15 ml 中に 10% NaOH (48倍モル当量) を加え、直ちに CLCO2 CH3 (93倍モル当量)で acyl 化(反応時間約30分)を 行な。たが48から42aへの変化は認められず、48を91%, 78%それぞれ回収した。この結果は前述の類推と矛盾す ろ様であるが、48は反応中に生成する@とは異なり、側 鎖の窒素がacyl化されている為と考えられ処からもの生

以上の様に oxytryptamine 36 の free base が不安定な理由はN,N-acyl 転位が起こる為ではなく、容易に空気酸化を受けて kynurenamine が生成する為と結論すけられる。 Oxindole 誘導体のアルカリ溶液中における空気酸化の報告例としては近50,6250,6350, oxytryptoplan 29 16e), 6450 について見られ、好を除きすべて対応する dioxindole 誘導体を得ている。 64は DMF-NaH/O2 という条件下の反応で 2-amino lenzoplenone 誘導体 65 を得ており、者者の結果と類似している(Chart 49)。

成を否定するものではない。

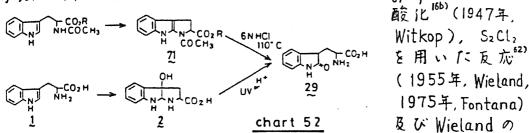
## 第二節 Oxytryptophan

Oxytryptamineの酸比反応の知見を基にしてこの反応を oxytryptophan 2ga へ応用した。既に Savige は空気中 oxytryptophan 29cのアルカリ性水溶液中における酸化でdioxytryptoplan 66 c が生成したと報告しているが「leer 他の生成物 を得たという記載はない。しかし前述の oxytryptamine の 結果から類推すると dioxytryptophan 65以外にも kynurenine 6 × 1,3 - benzoxazinone 67 が生成すると予想される (chart 50). なお 1.3- benjoxazinone 67 は既に Savige か tryptophanの過酢酸 による酸化で得たと報告している"(6e)

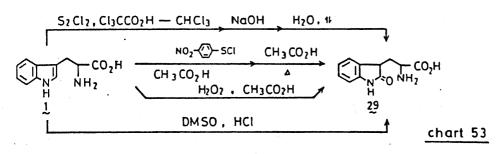
先す最初に原料である oxytryptoplan 29 の合成を検討した。 Oxytryptophan の合成は古くより为くの研究者によって行 なわれていて、その型として3つに分ける事ができる。 即ち1)核合成を経る方法, 2) indole または oxindole 誘導 体を原料として側鎖を導入する方法, 3) tryptophan を用 いる方法の3つの型である。なお第3の型はA. tryptoplan 誘導体からの合成法,B. tryptoplan 自体を用いる合成法 という2つに分ける事ができる。

5万法がある。
3-A) としては大野に
NNO によるでを加水分削
68 69 70 する方法<sup>60)</sup>, Savigeの
\* L-tryptoplan から得られるものを a, DL-tryptoplan から得られるものを Cとする。 3-A) としては大野ら によるひを加水分解

3a-hydroxypyrroloindole 2 の加水分解16e)及びUV照射61)という方法がある (chart 52). 3-B)としては TryptophanのH2O2



改良法<sup>63)</sup>(1968年, Veronese), それに DMSO 酸化<sup>64)</sup>(1976年, Savige, 1979年 Szabo-Pusztay)が ある(chart 53).



原料合成という目的から収率の良い事、工程数のかない 事、原料の入手が容易な事が必要となり、種々の合成法 の中から光学活性体を得やすい事も考慮してtryptophanの DMSO 酸化と3a-hydroxypyrroleindole えからの合成法をとり 上げた。しかし前者の文献は速報であり実験の部の記載 がないので先ず反応条件及び後処理について検討した。 L-Jryptophan la 1.02g(5mM), DMSO 3.13g(50倍モル当量), 36% HCl 10.51g(100倍モル当量)を室温で約15分撹拌する と、UVスペフトルより tryptophan la は消失し、oxytryptophan に特有の251 nm の吸収があらわれてくる。直 5に Nz 気流下で過剰のDMSO, HCL を滅圧留去で除いた ところ、得られた黒褐色状の残渣に目的とするoxytryptiplan 29aは認められず. 減圧留去の段階で29a が分解したもの と思われる。そこで DMSO, HCL 量を次第に滅りさせて検 討した結果 DMSO, HCl をそれぞれ 1.5 倍モル当量用い. 溶媒として CH3CO2H を使うと室温では反応は進行しない が、内温 70~90°C に加温すると約30分で laは消失し、29a の生成が認められる。なお溶媒として THF を用いると反

応は進行せず、またDMSO, HCl 量が 1.1 倍 モル当量では70~90°C で 1.5 時間反応を行なってもかなりの量の Tryptophan が残存する。

後処理の方法としては大野らの報告のした方法に従った。即ち反応液を Amberlite CG-400 (スド CHa CO2 form)のカラムにのせ、目的物29aを樹脂に付着させ、 H2O で溶出させると 29aの fraction が得られ、これを濃縮すると 29aが粉状物として析出してくる。この方法により tryptophan 1a 20.4g (0.1M)を使用した時に最高収率 92%で oxytryptophan 29aを得た。 ( Tryptophan の量が 1~60g の反応でも 80~90%の収率で 29a が得られる。)

一方第一章第一節で述べに様に tryptophan の増感酸化一還元により収率良く3a-hydroxypyrroloindole 2aを得ているのでこの加水分解による oxytryptophan 29aの合成法についてSavige の方法を検討改良した。即ち tryptophan 1aの増感酸化一還元で得られに2aを INHCl 中 N2気流下 80~90°Cで45分加熱し、Amberlite CG-400 にて分離すると tryptophan 1aからの収率76%で oxytryptophan 29a を得た。 Jryptophan 1からの収率76%で oxytryptophan 29a を得た。 Jryptophan 1からoxytryptophan 29 の生成機構としては前者については chart 54 の(1)(2)が考えられ、2の加水分解については(3)が考えられる。

chart 54

合成した exytryptophan 29a は触点 252~253°C (dec.)を示し、HPLC 」)保持時間が12.5分と13.6分にそれぞれのpeakをもつdiastereausonuxの混合物である事が判るが2つのpeakの分離はよくない。これらはNMRスペクトルにおいて側鎖のCz位のメナンプロトンがそれぞれ4.43 ppm と 4.52 ppmに観測され、この積分値からその存在比を求めると3:2~5:4の比率になる。単一のdiastereoisonuxの単離精製には成功せず混合物のまま以下使用した。

この様にして合成した oxytryptophan 29a の水溶液中における安定性について検討した。 Oxytryptophan 29a の水溶液 (128 mg/20 ml)を室温で145 時間撹拌後分離すると 29aが61%以上回収されるが他の酸化成績体として kynurenine 6a が2%, dioxytryptophan 66a が約2% 生成している事が判った (Table 20, Run 1) (chart 55)。

Table 20 Oxytryptophan 29a のアルカリ性水溶液中での酸素酸化

R u n	NaOH (モル当量)		溶媒	<b>瓦</b> 流温度	反応時間	a) 後加理	66a (%)	6a (%)	recovery (%)
1		air	H <sub>2</sub> O	r.t.	145 hr	В	~ 2	2	761
2	10	',	,	;	4	Α	46	35	
3	10	02	,	4	20 min	1	43	22	_
4	3	3	,	4	4 hr	3	27	52	
5	2	7	H2O-MeOH	4	4	9	30	47	
6	3	air	,	4	5	1	56	40	
7	,	"	3	"	4	В	19	49	1 - ,

8	10	Oz (15分) Nz (4時間)	H20	r.t.	4hr 15min	Α	24	54	
9	,	02 (30分) N2 (18 時間)	H20 - Me0H	4	18hr30min	В	29	54	
10	,	air	2	30°C	5 hr	"	25	57	
11	3	02	,	50~60°C	20min	4	trace	61	
12	,	",	2	1/	3 hr	4	trace	14	
13	5	air	1,	r.t.	1	3	~ 45	~ 33	
14	<u> </u>	,	H20	7	6	Α	55	22	
15	2	O <sub>2</sub>	H20-MeOH	50~60°C	3hr 30 min	В	24	39	trace
10		1			-د د د	2.2.34.3	·	1 32 22	<del></del>

a) A: 反応液(KI starch test 陽性)を還元後付ン交換樹脂で分離 B: 反応液(KI starch test 陽性 または陰性)を直接付ン交換樹脂で分離 次に oxytryptophan 29a (230 mg, 1 mM)の水溶液(30 ml)に 10 倍モル

次に oxytryptoplan 29a (230 mg, 1mM)の水溶液(30 ml)に 10 倍モル当量の NaOHを加え室温で撹拌しにところ、 HPLCから29a は約 4 時間で消失する。 生成物に関しては保持時間 7.0,77分にで2aの diastereowomer に対応すると思われる 2 つのpeak が先ず最初に観測され、これが次第に減少して保持時間 10.7分に73aと思われる peak が次第に増大する。 UV

スペクトルからは oxytryptophan 29aの 251 nm の吸収が次第に減 少して 73aに対応すると思われる 232, 259, 347 nm の吸収が 増大する。 反応液の KI starch

test が弱いながら陽性を示す為、CH3 CO2Hに溶解したMe2Sを反応液に添加し還元する(A法)。還元後のUVスペフトルは kynurenine baの吸収(1max 227, 258, 360 nm)を示し、HPLCでは dioxytryptophan bba の2つの diastereoisomer と kynurenine baに対応する保持時間70,7.8, 10.8分の3本のpeakが認められる。Amberlite CG-50 (cooH form, 溶出液: H20)で分離すると bba を diastereoisomer の混合物として46%, ba を 35%得た (Table 20, Run 2) Kynurenine ba の構造は tryptophan la をオゾン酸化して生成する formylkynurenine 3aを CF3 CO2H で加水分解して得に標品と融点, UV スペフトル, IRスペフトル, TLC, 呈色反応, HPLCとを比較する事により確認した (chart 56)。

Dioxytryptoplan 66aは diastereoisomer をH2O-EtOHから分別再結晶する事で分離し、それぞれのスペクトルデータ(Table 21)により構造を推定した。 これは Savige が得ている d-, B-dioxyindolyl-DL-alamine 66cのスペフトルデータと類似している。

この様に Savige の報告とは異なり、 oxytryptophan 29a のアルカリ性水溶液中での空気酸化によって diaxytryptophan 66a たけでなく hyminemine &a も生成する事が明らかとなった。そこで種々の条件下でこの反応を検討した (Table 20, Run 3~15)。

Table 21 L- Dioxytryptophan 66a 02 27 + 12 = 9

[up(c = = 0-1)-1								
難溶性異性 体	5 0H 2 CO2H	易溶性異性体						
229.5~230°C (dec.)	mp.	206.5 ~ 207.5°C (dec.)						
tr = 7.0 min	HPLC <sup>a)</sup>	tr = 8.0 min						
3180 br, 1715, 1625	IR: V KBr cm-1	3160 br . 1717 . 1622						
249 <sup>sh</sup> (4590), 255 (4770) 290 (1550)	UV: X max (E) nm	248 <sup>sh</sup> , 256, 291						
2.40 (1H, dd, J=9, 16Hz) 2.68 (1H, dd, J=16,4Hz) 4.64 (1H, dd, J=4,9Hz) 7.11 (1H, d, J=8Hz) 7.24 (1H, t, J=8Hz) 7.39 (1H, t, J=8Hz) 7.58 (1H, d, J=8Hz)	NMR: $G_{ppm}^{SX,CT_{SCD,H}}$ - $C_3 - H$ $ABX$ $C_3 - H$ $ABX$ $C_2 - H$ $ABX$ $C_7 - H$ $C_5 - H$ $C_6 - H$ $C_4 - H$	2.36 (IH, dd, J= 4,16Hz) 2.65 (IH, dd, J= 9,16 Hz) 4.73 (IH, dd, J= 4,9 Hz) 7.04 (IH, d, J= 8 Hz) 7.18 (IH, t, J= 8 Hz) 7.24 (IH, t, J= 8 Hz) 7.45 (IH, d, J= 8 Hz)						
C: 55.93, H: 5.12, N: 11.86	Calcd. for C11H12O3N2	hygroscopic						
C: 55.65, H: 5.24, N: 11.76	Found							

a) Packing Material: Nucleosil 5C-18, Eluent: H20/MeOH = 9/1, Press: 110 kg/cm², Dctect.: 254 nm, Temp.: r.t.)
TLCは再果性体ともRf値は同じである。(SiOz - n-PrOH/H2O = 7/3 - Rf 0.8,

SiO2 - n-BuOH: H20: CH3 CO2H = 4:1:1 - Rf 0.2)

先す酸素気流下で同様の反応を行なうと、空気中での反 たと比へ反応は速く約20分で oxytryptophan ila は消失し 、A法の後処理を行なうと dioxytryptophan 66a が43%, Lynurenine 5a か21%得られる (Run3). 一方この反応を4 時間行なうと diexytryptophan 66 a の収率は低下し、 kynurenine £aの収率は向上する(Run 4)。反応溶媒をH2OからH2O-MeOH に変えてみたが、反応の様子、生成物にはほとん で変化が認められなかった(Run 5,6)。後処理として MezSで還元する事なく反応終了後直ちに反応液をAmberlite CG-50で分離する(B法)とdioxytryptoplan 60aかかなり 滅かする (Run7)。しかしこの理由については今のところ 下明である。Run 3 の反応において原料消失後、overoxidation 防止の為N2気流下で72aから73aへの効率の良 い変換による hymerenine sa の収率向上を目的として29a の消失後更に 4 時間撹拌したが、 Run 4 の場合と大差の ない結果が得られた(Run8)。同様にN2気流下反応液の KI starch test が陽性から陰性になるまで長時間撹拌し たが、Run 4,8 と類似の結果になり、 kynuresuise ba の収 率は向上しなかった (Rung). 次に 反応温度を室温から約 30°Cへと少し上げて空気中 5 時間反応を行なったところ ・反応液の KI starch test が陰性を示す為直らに Amberlite CG-50 のカラムで分離した(B法).この際カラムの中で 脱炭酸している様子が認められる。分離の結果 dynurinusie 5aの収率が向上し、57%の収率で得られた(Run 10).更に 酸素気流下反応温度を 50~60°C に上けて約20分反応を行 なうと、dioxytryptoplan 66a はほとんと得られず、kynurenine Qaが61 %で得られた(Run 11)。 Run 11と同様の反応を長時 間行なうと Lynurenine Ea の収率 は低下し、反応も複雑に なる (Run 12). 次にアルカリ量の反応におよぼす影響を調 べたところ、5倍モル当量では10倍モル当量の時とほぼ 類似の結果を得た(Run 13)が、3倍モル当量では反応が 遅くなる(Run 14)。特に2倍モル当量では反応温度 50~ 60°Cで酸素気流下 3.5 時間反応を行なったにもかかわら す oxytryptoplan 29aが微量ながら認められた(Run 15)。 この oxytryptophan 29a のアルカリ性水溶液中での酸素酸化の経時変化をUVスペクトルで追跡するとFig. 17の様

になる。即ち29aの水溶液(UV濃度)中にNaOHを加えると、先と同様29aの入max 251 nm の吸収から次第にcarbamate 73aに対応すると思われる入max 258,342 nm へ変化する。

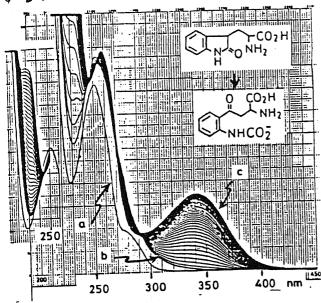


Fig. 17 <u>29a の水溶液 〒</u>
<u>に NaOH & 添加</u>
した時の経 時変化.

Q1 29a in H20b: + Na 0H (直流)

c: 2時間10分後(

5分毎に測定)

中ラフタム環の開製を起こし diamino acid 74a になるか. \*29aの含水MeOH名液中にNaOHを加えた場合も同様な結果が得られた。 7.4a が閉環して pyrzelidose carioxylic acid 誘導体 75a になるものと思われる

以上の結果から oxytryptophan 29から dioxytryptophan 66, fymurenene 色の生成機構を考察すると、chart 58に示す様に oxytryptamine 29と同様に先す 3-fydroperoxide 72、か生成し dioxitane 経由で carbamate 73になり、73は還元の際また

はイオン交換樹脂の中で脱炭酸を起こして kymuzumine & が生成すると考えられる。しかしたが加水分解を受けて diamino acid でになり、これから kymuzumine & が生成する可能性も否定できない。 だが反応系中または Me2Sで還元されると、 diaxytryptiphan 66 が生成し、この 66 から kymuzumine & への変換は起こらない。 なお exytryptamine 36 の反応の時得られた tenzexazimone型化合物でか exytryptophan 29 の反応の場合には全く得られなかったが、この理由としては 69 がこの条件では不安定である為ではないかと考えられる。

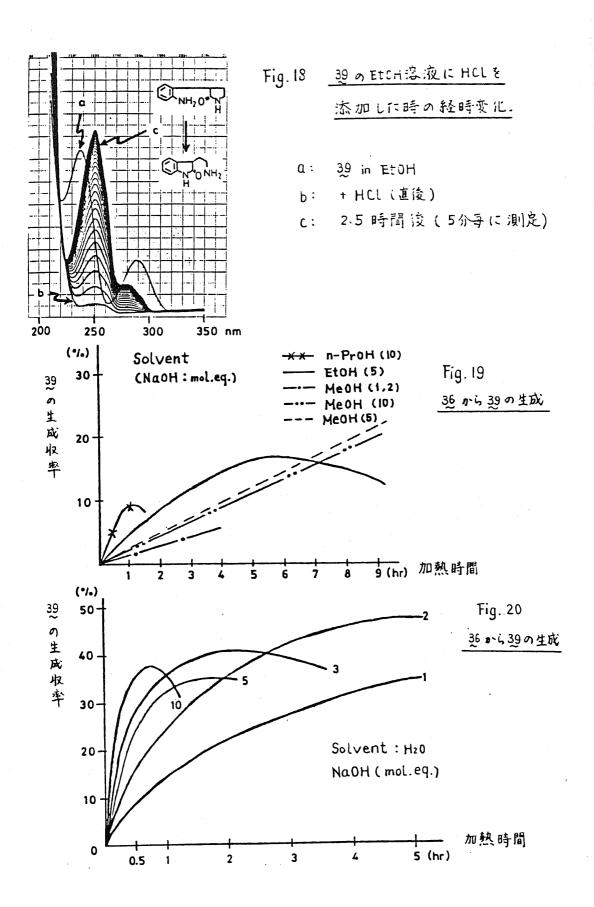
序論で述べた様に酵素系の実験では oxytryptophan 29 から Lynurenine 5への変換は起こっていないが、著者が行なった様な非酵系の実験においては容易に 29 から 6への変換が起こり、従来より知られていた tryptophan → formyskynurenine → Lynurenine 経路以外にも tryptophan → oxytryptophan → kynurenine の経路がある事を明らかにする事ができた。

## 第五章 Oxytryptophen から pyrrulidone carboxylic acid への変染 (ring transformation)

第一節 Oxytryptamine

前述の様に days include や は 塩基性条件下酸素の存在 て酵素酸化が起こり易く、N,N-acyc転位を起こした pyrrouidenc 39 は生成しない事が判ったので、次に oxytryptamine 36から対応するpynocidani39へ変換する条件を検討した。 Argon 雰囲気下 oxytryptamine 36·HCl & MeOHに懸濁させ、 この中に 10% NaOH (10 倍モル当量) を加え、室温では反 元が進行しない為加烈還流を9~10時間行なった後、反 応液を CH2 Cl2抽出すると目的とする pyrrolidone 3.9 のみが CH2Cl2層から融点 120.5~121.5°Cの結晶として 32%の収率で 得られた。この39の構造はUVスペクトルが0-toluiding型の吸収し入EtOH 236,288 nm)を示す事、IRスペクトル において carbonyl の吸収が36の1700 cm-1から1650 cm-1に変 わっている事、NMRスペクトルで anomatic プロトンが高 磁場へ shift している事 . 更に Mass スペクトルにおいて 分子イオン peak が % 176 に見え、fragmentation が 36 とほ ほ類似している事、及び元素分析により支持される( chart 59).

こて得られた翌のEtOH溶液(UV濃度)に酸を加え、39のEtOH溶液(UV濃度)に酸を加え、39のCtoH溶液(UV濃度)に酸と、39のCtoHreを連続的に過去な吸收を250nmに極大吸收を250nmに極大吸收を39のなりとが認められる(Fig.18)。アルカリをNaOHからNaOEtに代えて同様の反応に行ったが39の収率が39%と若干にのみであり(NaOH)量で39の収率合として反応をはいアルカリ(NaOH)量で定産する事によって反応を追跡した(詳細によりの部参照)。Fig. 19, 20にこれらの結果をまとめた。



窓媒をアルコール系から H2O に変え、 NaOH量が10 倍モル 当量で反応を行なうと反応は非常に速く、39の収率は15 分後30%,45分後37%になる。しかしこれ以上反応を長 くすると収率は低下し、2時間後の収率は30%になる。 なおこの場合3.5 を4.5 として約20%回収する。 NaOH量を5 倍モル当量にすると10倍モル当量の場合より反応は少し 遅くなるが、ほぼ同様な傾向を示し、39の最高収率は1.5 時間後の34%である。NaOH量を3倍モル当量に減少させ ると反応2時間後までは39の収率向上が認められるか。 次第に減少していく。しかし2倍モル当量まで減らすと 反応はかなり遅くなるが、時間毎に収率向上が見られ! 時間後に39は最高収率49%になり、原料の36を45として 約20%回収する・1倍モル当量のNaOHを加えた場合即ち oxytyptamine 36 の free base においても2倍モル当量の反 応よりも収率は低下するが反応は進行し、9時間後39の 収率が34%になり、更に36を45の形で約30%回収する( Fig. 20).

以上検討しに種々の条件の中で3.9の収率が最も良かった条件、即ら溶媒はH2O, NaOHは2倍モル当量を用い.5時間加熱還流を行なった後3.9以外の原料及び他の生成物を単離する為に反応液をClCO2CH3でacyl 化し、SiO2カラムで分離すると、45か15%得られる他にpyprolidmu 3.9の

アミノ基がacyl 化された況を融点 144.5~146°C の結晶として40%得た。それに加えて酸化成績体紀a が 2%得られ、更に39生成の中間体と考えられるxinduz 環が加水分解を受けた78 t caramel 状として 6%得られた (chart 60)。

刊のスペクトルデータは Table 22 に示す・この構造はジアソ test が陰性を示し、NMRスペクトルから anuline の NHが39と比べ低磁場に Shift し、C3-Hが低磁場 Shift している事、C02 CH3 基が 3.75 ppm に観測される事、IRスペクトルでラクタム環の carbonyl 基(1683 cm<sup>-1</sup>)以外に 1735 cm<sup>-1</sup>に carbonyl の吸収及び amide II band (1530 cm<sup>-1</sup>)が認めら

Table 22 4 312 NHO N 5 77 0 2 7 1 1 7 - 9

IR: N KBr cm-1	3210 (NH), 1735, 1683 (CO), 1530 (NHCO)		
UV: LELOH (E) nin	232 (7550), 267 <sup>sh</sup> (401)		
NMR : 5 CDCL3	2.47 (2H, g, J=7Hz, C4-H)		
	3.32~3.62 (2H, m, C5-H)		
	3.75 (3H.S. COOCH3)		
	3.88 (IH, t, C <sub>3</sub> -H)		
	6.76 ~ 7.44 (4H, m, C4;5;6'-H, NH)		
	7.66 ( IH, d, J= 8Hz, C3'-H)		
	8.78 (   H. S. Ar-NH )		
Ness: M/ (W)	235(M+1,17),234(M,63),205(39)		
Mass: 🎇 (%)	204(36), 202(100), 159(33), 146(45)		
Calcd for CizHuO3N2	C: 61.52 , H: 6.02 , N: 11.96		
Found	C: 61.54 , H: 5.97 , N: 11.86		
	,		

れる。またUVスペ 7 + N TI 13 0- Toluidine 型の吸収から232 nm の極大吸収へと変化 し、Mass スペクトル ではなに対応する% 234 が分子イオン peakになる事, 更に 元素分析によって確 認した.28は純品を 得るには至っていな いが、ジアゾtest が 陰性, TLC (Al203 plate) では原点にとどまる 事、UVスペクトル では77と類似の 231nm

に極大吸収が見られ、NMR スペクトルから2個の COOCHEが観測され及びMass スペクトルからでに対応する № 310が認められる事から構造を推定した。

この78は1958年Witkopらが単離した40と類似の化合物である。

以上の様に収率はそれほど良くないが、30をアルカリ性水溶液中酸素のない条件で加熱還流するとN/N'-azylを転位を起こしたpyrolidone 39が生成する事が判った。

## 第二節 <u>Oxytryptaphan</u>

Oxytryptamine はアルカリ共存下 Argon 中で環流するとN,N'- acyl 転位が起こる事が明らかとなった為、次にLoxytryptophan 29aを用いて同様の反応の検討を行なった。既にCornforth らは1951年DL-oxytryptophan 29c 110mgにNaOH 1.5 mlを加え、6分間環流した後無水解設でacetyl 化を行なうと、融点230℃を示す79cを低収率ながら得たと報告している560が構造証明は下分でな

取台しているが供近証明は「かじる」 NHOLN CO2H く、また以下に述べる音者の実験結果 から考察すると7gcの構造に疑問がもた れる。

そこで先す L- oxytuyptophan 29a 886 mg (4mM) のH20/MeoH( Y, 160 ml) 溶液に 10倍モル当量のNaOHを加え Argon 雰囲気下加熱還流すると、HPLC から oxytryptophan 29a が次第に減少し、保持時間1.4分の新しい plak が増大する。ジアソ test が陽性である事、更に U V スペクトルにおいて 251 nm の極大吸収から 0-toluiding 型 (231, 284 nm) の吸収へ変化する事から目的とする pyroolidone carboxyáic acid 80a の生成あるいは oxytryptophan 29a の oxindole 環が加水分解を受けに diamino acid 81a の生成が推定される (chart 61)。

chart 61

3.5 時間後29aがほぼ完全に消失した為反応液の脱Naかよび精製を目的として Amberlite CG-50 のショートカラムに通したところ、20a または21aの fractionは全く得られず設定分原料の oxytryptophan 29aに戻った。そこで反応液に酸すると、0-tolucdine型の吸収からゆっくり oxytryptophan 29a の吸収へと変化していく様子が判った (Fig. 21)・20a, 20aは弱酸性である Amberlite CG-50 のショートカラムによって容易に oxytryptophan 29aに戻る事が判ったので後処理

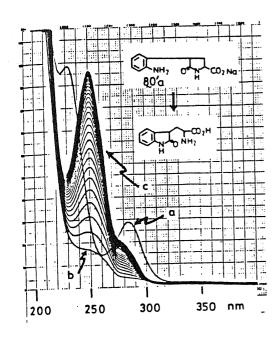


Fig. 21 <u>80áの水溶液に</u> HCl を添加した時の 経時変化。

a: 80á in H20

b: + HCL (直後)

C: 2時間 20分後 (5分毎に

測定)

5'6'1' 3 4 4'3'2'N 0 N CO7Na 80a

Table 23 80áのスペフトルデータ

lable 23 _0	A 47 × 17 1 7
UV: A HZO nm	232 , 286
IR: D KBr cm	1600 br
NMR: 5 ppm	1.8 ~ 2.8 ( 2H, ml, C4-H)
- rr	3.4~4.1 (2H, m, C3,5-H)
	6.7~7.05,705~7.5 (4H.m, C3,4,5,6-H)
Mass: "/z	220 (M <sup>†</sup> )
HPLC a)	tr = 2.6. 3.3 min
Diazo colcur test	<b>7</b> 号 十生

8.5 時間を要する。この反応で得られた淡黄色 powder の Sephadex G-10 による精製および結晶化 を検討したが、純

を検討したが、純 品を得るのには成 功していない。こ のスペクトルデータ は <u>Table 23</u>に示す。

a) Packing Material: 3053, Eluent: MeOH, Press: 85 kg/cm², Detect: 254nm Temp: r.t. この構造は Mass スペットルから freeのかれる 酸 &Cáに対応する とこれ が認められる事、 NMR スペットルにおいて C4-h. こ5-Hの分裂 pattern が原料の 29aの側鎖の ABX のプロトンの分裂 pattern よりも複雑になっている事から &Daよりも環構造を有する &Oaの Na 塩 ( &Oá) が考えられる。 うこで &Cの構造を確実にする為、 aniline 部位の acyciに, カルボン 腋のエステルへの変換を検討した ( chart 62 ).

chart 62

82a: R<sub>1</sub>=CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=Na 83a: R<sub>1</sub>=CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=H 84a: R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>Ph, R<sub>2</sub>=H

即ち oxytryptophan 29aの氷溶液に1倍モル当量のNaOHを加え · Argon 雰囲気下 9.5 時間加熱還流し. 反応終了後直ろ にCLCO2 CH3 - NaOH を加えると約20分でジアゾ test が陰性 になり、かつUVスペフトルが0-toluidine型の殴収から 231nm の極大吸収へと変化する。この様なUVスペフト ルの変化は pyrrolidone 39 (入 EtoH 236,288 nm)の acyl にによって77 (入 EtoH 233,280 sh nm) が生成する時にも見られる。また Wenkert らが半高性した pyrrolidone 43 のUVスペクトル し λ ECOH 240~250 nm であり、これらの事から80aから82a へacyl化が起こった事は明らかである。しかし反応液を 酸性にし CH2CL2 抽出を行なったが、CH2CL2層に目的とする &a が抽出されてこず、 &a がかなり水に 溶けやすい事 が判った。そこで acyl 化を行なった後反応液を酸性にせ す、そのまま強塩基性イオン交換樹脂 Amberlite CG-400 ( ンドOH⁻ form)に付着させ、溶出液として H2O,10~70% CH3 CO2H を順に流す。 50% CH3 CO2H 溶出部を 凍結乾燥して得られ る caramel (I CH2CL2 に可溶となり、目的の影なと思われ る。これを精製する事なく MeOH-Et2O 中で CH2Ncを用いて &a を &5aにした (chart 63)後 SiOzカラムで分離すると、 & の立体異性体の内 less polar isomer (TLC; SiO2/CH2Cl2: autone = 3:1)が無色 caramel 状物として oxytryptophan 29aから

$$\begin{array}{c|c} & & CH_2N_2 \\ \hline NH & O & N \\ \hline CO_2R_1 \end{array} \xrightarrow{CH_2N_2} \begin{array}{c} CH_2N_2 \\ \hline A & A \end{array} \xrightarrow{S' \xrightarrow{6'} 1'} \begin{array}{c} H \\ \hline A & A \\ \hline A & A \end{array} \xrightarrow{S' \xrightarrow{6'} 1'} \begin{array}{c} H \\ \hline A & A \\ \hline CO_2R_1 \end{array} \xrightarrow{S} \begin{array}{c} CO_2Me \\ \hline CO_2R_1 \end{array}$$

83a,84a

chart 63

 $85a : R_1 = CH_3$  $86a : R_1 = CH_2Ph$ 

40%の収率で、また more polar isomur が融点 124~126°C の結晶として42%の収率で得られた。これらのスペクトルデータは Table 2d に示す。これらの構造については Mass スペク

Table 24 85a のスペクトルデータ

more polar isomer	TLC a)	less polar isomer
124 ~ 126°C	mp.	caramel
231-5 , 272 <sup>sh</sup>	UV: X ELCH 11m	231.5 , 273 sh ,
3230, 1755, 1728, 1690, 1539, 1530	IR: V max cm-1	3260, 1710 br, 1525
$t_R = 9.4 \text{ min}$	HPLC b)	tr = 9.0 min
292 (M <sup>+</sup> , 24), 201 (100)	Mass : m/z (%)	292 (H+, 22), 260 (100), 201 (100)
	NMR: Sppm	
2.37~ 3.10 (2H, m)	C4 - H	$2.39 \sim 3.06 (2H, m)$
3.74, 3.76 (6H, 2×S)	2 × CO2 CH3	3.72, 3.77 (6H, 2×S)
3.99 (IH, t, J=7Hz)	C3 - H	4.03 (IH, t, J=7Hz)
4.32 (IH. t. J=7Hz)	Cs-H	4.37 (IH, t, J=7Hz)
6.86 (1H, br. S)	NH	6.94 ( IH, br. S )
7.03~ 7.42 (3H, m)	C4', C5', C6'-H	6.98 ~ 7.44 (3H, m)
7.60 (IH, d, J=8Hz)	C3'-H	7.61 (IH. d.J=8Hz)
8.36 (IH, br. S)	Ar-NH	8.46 (IH, br. S)

a) (SiO2 - CH2CL2/acetone = 3/1) b) Packing Material: Nucleosil 5C-18, Eluent: H20/HeOH=1/1, Press: 110 kg/cm², Detect: 254 nm, Temp.: r-t.

トルより 85a に対応する 1/2 292 に分子 イオン peak が認められ、NMRスペクトルからは 2 個の CO2 CH3 が観測でき、他は exytryptamine 3.6 から得られた pyvolidone 77 の NMRスペクトルと類似している事、IRスペクトルで amide I band が認められる事、UVスペクトルは77のUVスペクトルと類似している事などから推定した。結晶性の異

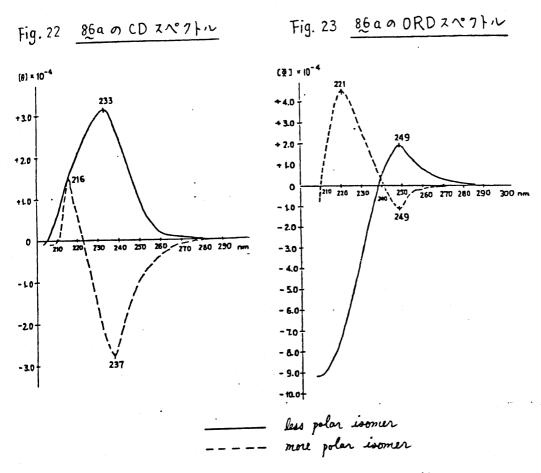
性体は非常に吸湿性であった為、元素分析ができなかったので、acyl 化剤としてClCO2 CHs の代わりに Cbz-Cl を用いて先と同様な反応を行なうと 86a が立体異性体の混解物として84%の収率で得られた (chart 63)。この立体異性体を分離すると融点 136.5~137°Cの異性体と融点 161~162°C の異性体のでき、それぞれ元素分析可能となった。これぞのスペフトルデータは Table 25 にまめた。またそれぞれの CD, ORD スペフトルは Fig. 22, 23 に、またもりであり、86a の more polar isomer は 237 nm で負、216 nm で正 (CD), 249 nm で負、221 nm で正 (ORD)の cotton

Table 25 86a のスペクトルデータ

more polar isonuer	TLC a)	less polar isomer	
tR = 3.3 min .	HPLC b)	tr = 3.3 min	
161 ~ 162°C	mp.	136.5 ~ 137°C	
229 <sup>sh</sup> (8060), 263 <sup>sh</sup> (564). 268 <sup>sh</sup> (493)	UV: Zmax (E) nm	230 <sup>sh</sup> (8140),263 <sup>sh</sup> ( 596),268 <sup>sh</sup> (528)	
3210 pr (NH), 1754, 1725, 1685 (CD), 1527, 1218 pr	IR: V Max cmi	3300 (NH), 1738,1710, 1688 (CO),1520, 1223	
368 (M <sup>+</sup> .12), 260 (20), 236 (25), 201 (22), 173 (20), 91 (100)	Mass: "/2 (%)	368 (M <sup>+</sup> ,11), 260 (20), 236 ( 17), 201 (19), 173 (12), 91 (100)	
	NMR: Schcla		
2.31~ 2.98 (2H, m)	C4-H	2.35 ~ 3.00 (2H, m)	
3.73 (3H,5)	CO2 CH3	3.76 (3H.S)	
3.95 (1H, t, J= 9Hz)	C3-H	3.99 (IH, dd, J=7.7Hz)	
4.22 (1H, t, J: 7Hz)	Cs-H	4.33 ( H, dd, J=6,8Hz)	
5.16 (2H, S)	Ar-CH2	5-18 (2H, S)	
6.72 (IH, br. S)	NHCO	6.85 (IH, br. S)	
7.02~7.49 (8H, m)	Arom H	7.05~ 7.54 (8H, m)	
7.62 (IH, d, J=7Hz)	C3' - H	7.67 (1H, d, J=7Hz)	
8.42 ( IH, br.S )	Ar - NH	8.52 (IH, br. S)	
	Calcd. for		
C: 65.21 , H: 5.47 , N: 7.61	_ C20H20N2O3	C: 65.21, H: 5.47, N: 7.61	
C: 65.08, H: 5.51, N: 7.42	Found	C: 65. 21, H: 5. 48, N: 7.58	

a) (Si0, - cH3CO2Et/CH2Cl2 = 3/1) b) Packing Material: Nucleosil 5c-18, Eluent: H20/HeOH = 1/9, Press 110 kg/cm2, Detect.: 254 nm, Temp: r.t.

効果を示す。また less polar isomer (は 233 nm で正 (CD), 249 nm で 正 (ORD) の cotton 効果を示す。



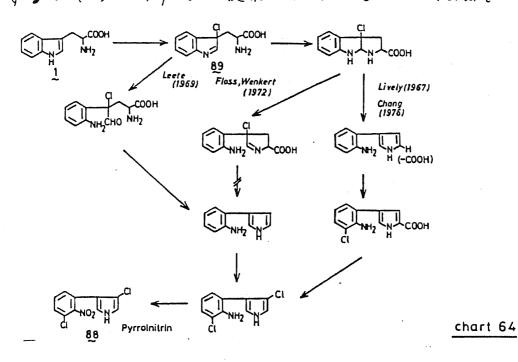
なお Cbz-Cl を用いた反応の時には acyl 化の際 H20 と Cbz-Cl との共溶媒として THFを用いないと、 acyl 化にかなりの時間を要し、終本の収率が低下する。また上述の NaOH(1倍モル当量)の反応に対してNaOHを3倍モル当量用いた反応では oxytryptoplan 29 a の消失は速くなるが、86 aの収率は低下し(85 a: 49%,86 a: 53%)副生成物が分くなる。この副生成物の中にはこの反応の中間体と思われる

NHR NHR R H O O Me

diamino acid 誘導体のも存在していると考えられるが、現在まで確認するには至っていない。

8.7a R=COOMe, COOCH, Ph 以上の様に oxytryptamine 3.6 の結果と同様に oxytryptophan 29 も N, N-acyl 転位により pyrrolidoxe

carboxylic acid & a が生成する事が明らかとなった。 種々のPseudomonas によって生産される抗力じ性抗生物 質である pyrrolnitrin & の生合成としては tryptophan が precurior ある事が確かめているが、tryptophan 以後の生合成過程は未だ明らかではなく 3-chloroindolening & 9を中間体と するいくつかのpath が提案されている 65e,66) (chart 64)。



しかしいすれの場合も中間体の証明はなく、またこれらの part についての化学的裏付けもない。
さこで着者の行なった exytryptophan 29 を経由した pyraelidave carboxylic acid 80 への変換反応の結果から pyrrolnitrin 88 の生合成ルートとして chart 65 に示す様な part も可能ではないかと思われる。

着音はtryptopian 1からformythynusinin 2への生体内酸化に対する有機化学反応として酸素分子を直接酸化として用いる事のできる光増配散像性反応を取り上げtyptopian の酸に至かを担ぐの条件で検討した。その結果水溶液中における0~5・cの反応ではformythynusinine 2は全く生成せず 収率良く3a-hydroperexyzyzzoioindが 5が得られ、構造を確認した。この事は生体内でのtryptophanはからfraulturenini 2への酸化の中間体と考えられている3-hydroperexy indolening こを初めて3a-hydroperexy pyrzoloindole 5の形で単解し証明した事になる。収率良くpowderとして得られた5はMez Sで還元すると収率良くpowderとして得られた5はMez Sで還元すると収率良くpowderとして得られた5はMez Sで還元すると収率

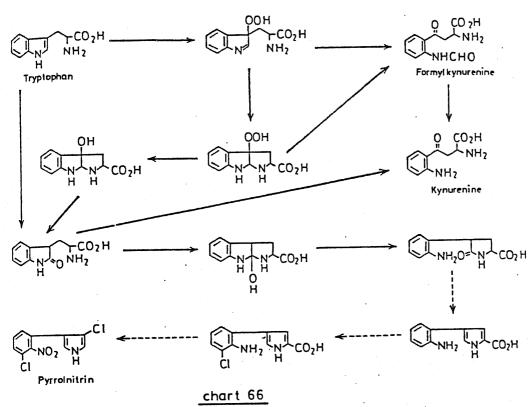
収率良く powder として得られたえば Me25で退たするでた 量的に 3a-hydroxypyrroloindole 2 へ変換でき、また加熱等 の条件では2 と少量の 3 に変化するが Na2 CO3 (まには NaH CO3) - CH3 CO2 H (まには HCL) 溶液中においては速 やかに3のみが選択的に得られる事が判った。

またこの溶液を用いて tryptoplan 1の増彫酸化を0~5°Cで行なうとを11単離できず formylkynurenine 3のみが50~60%の収率で単離できた。この反応は tryptoplan 2,3-

dioxygenaseのモデル反応になると思われる。

酸性水溶液性(Yoo N HCL、Yo N CH3 CO2 H, a cetate tuffer)におする液性の関係では水溶液中の反応と同様3-hydroxypyrroformy-pyrroformdoleを変化では水溶液やの反応とは対し、アルカリ性 phoophate tuffer 中の反応では3a-hydroxypyrroformdole及したからまでの影響にはないち-hydroxyformylkynuruninu 3を得によるではないでは今のでは今の表になければならない。この様になりないの特にないの様になりによるなければならない。と変えるかには内外を変化反応ではPHを変えたり、bufferを変える事を初めて明らかにした。なりでは対している結果ではありになる事が確かになった。

3- Hydroxypyrroloindole之を酸で処理する事により容易に得られるoxytryptophan 29 はアルカリ性水溶液中空気酸化



を受けて diexytryptophan 66 と kynurenine 6 に変化する. Oxytryptophan 29 から kynurenine 5 が生成しに事はtryptophan しから formylkynurenine 3 を経る6 生成のpath以外にもし から29を経る path しある事が判った。

また oxytryptophan 29を酸素のない条件下 NaOH と加熱環流すると N, N-acyl 転位した pyrrolidone carboxylic acid 80が収率良く得られた。この結果から tryptophan を precursorとする pyrrolnitrin 88の生合成として 29から20を経由するルートも可能ではないかと思われる(chart 66)。

Oxytryptamine 3.6 は free tase では不安定であるとされていたが、今回の結果はこの原因がN.N-acyl 転位によるpyrrolidone 39の生成による為ではなく、むしろ容易に空気酸化を受ける為である事が明らかとなった。

このN,N'- acyl 転位は oxytryptophan 29 の場合と同様酸素のない条件でNaOHと加熱環流する事により達せられ、3-(0-aminophenyl)-2-pyrrolidone 39 が得られる事を明らかにした。

融点はヤマト MP-1 (シリコン油)を使用し、キャピラ リーにて測定する、すべて未補正). I R スペクトルは 日立 295 型, 215 三 及び 260-10 型赤外分光光度計にて 測定した(cmT でき示)。またUVスペクトルは日立 340 型及び323 型目記分光光度計にて測定(nmで表示・ 足量には340型を定用・)し、連続測定の場合には340 型自記分光光度計司キーボードを使用した。 Mass スペ フトルは日立RMU-6E二重収斂質量分析計にて測足し 、NMRスペットルは日本電子JEOLMH-100を使用し TMS (CDCla) またはDSS(D20,5%CF3CD2H-D20)を内部 基準として測定する(Sppmで測定)。CD、ORDスペクト ルは日本分光 J-2c 型を用い(CDスペクトルは分子精円 率[6], ORD スペクトルは分子旋光度[9]で表示する。) 元素分析は Perkin - Elmer 240 C, H, N 分析 計を用い測足 した。 HPLC は日立 633A で測定し、 peakの面積、保 持間等は日立834型クロマトデータ処理処理装置を用 いた(保持間をtRと表示する.).担体は日立3011-C( 弱酸性陽イオン交换樹脂カラム, 4 mm p× 15 cm),月立 3053 ( 逆相力ラム, 4mm ø×15cm), ケコム Nuclessil 5C-18(逆祖カラム、4mm×20cm)を使う。 pH は 日立 - 堀場 M-7I で測定する。 SiO2 は Merck 社 Kieselgel 60, Mallinckrodt 社 Silicic acid (カラムクロマト用), Merck社 Kieselgel GF254 nach Stahl (夢層 1 ロマト用)を 用い. AlzDz は Merck社 Aluminium oxid 90(カラムクロマ ト用). Merck 社 Aluminium GF254 (薄層クロマト用)を用 いる。プレパラティブ薄層クロマトグラフィーは Prep.TLC(担体-展開溶媒)と表示し、これは担体20g を20cm×20cm のガラス板にのせて作成したものを使 用する。イオン交換樹脂としてはオルガノ社の Amberlite CG-50, Ambelite IRC-50 (COOH form),室町工業社の Dowex 50W-X8 (SC3H form)を用い、resinを 2N NaGH -H2D → 2NHCL → H2O の順で洗浄したものを使用する. また陰イオン交換樹脂はオルガノ社の Ambelite-CG 400 Type I を用い、パナロH- form は resin を 2N NaOH → H2O

の前処理したもの、 次 CH3COO form は resin を 2N Na OH → H2O → 2N CH3 CO2H → H2O の前処理をしたものを使用する。 Sephadex G-10 は 生化学工業社のものを使用する。

、光反応の光源はワシオ電機の Adlegen JCV-50CWランプ,英光社の6CW低圧水銀ランプを使用する。反応客話は Ryrex製で、反応中は真正断熱を行なつ・

● 电素 68)

· Xanthene 系

Rose Bengal (CHROMA, 和光社)

· Thiazine 系 Methylene Blue (Merck社)

λ<sub>niax</sub> (ε) nm: 265 (20300) 320 (6770) 522 (19300) 560 (60900) 247 (20800)
293 (47900)
326<sup>sh</sup> (10100)
610<sup>sh</sup> (38100)
663 (95200)

Rhodamine B(Merck社) Eosin Y (半井 化学) Toluidine Blue (并代学)

#### · Acridine 系

Acriflavine (半井代学) Proflavine (和光社) Acridine Oronge (半井代学)

sensitizer	ET [KCAL/ mol]	$\phi$ isc	φ 102
Methylene Blue	34	0.52	0.52
Rose Bengal	39.5 ~ 42	ð·8	0.83
Proflavine		0.47	6.12
Acriflavine	49		
Eosin Y	43 ~ 46	1.0	0.68

71127 - 693

Culli- Call: 70 12 ---- 490 nm < A < 610 nm

( Cuck: -: Hat 20.0g+ 無水 Ca th: 27.0g / Hat 100mi)

K=Cr=07 7, 109- ---- >550 nm

( K2 Cm2 07 3.03 / H2O 100 me )

Nano2 71129 - ---- > 400 nm

( Na NO = 7.30g / H20 100 mil )

Pyrex 71109 - ---- >300 mm

呈色反応70)

- · Ninhydrin ( 5.28 minhydrin / EtcH 100 ml)
- Ehrlich (P-dimethy camero tenjaideinsde 17/ETCH 50ml +

齊層クロマトプラフィー 上に噴霧し 加熱する.

- 。シアソ Zeul (スプレー試楽I; NaNO219/5%HQ10ml スプレー試楽Ⅱ; α-naphthol 20 mg /10% NaOH 10 ml) 口紙に反応をスポットレ、新鮮なスプレー試楽I を噴霧した後、新鮮なスプレー試験Ⅱを噴霧して 加熱する。
- KI starch test

KI starch 紙に反応液をスポットし.反応液が有機溶媒であれば H2Oを付け、又アルカり性水溶液の場合は CH3COOH 水溶液を付け、褐色~紫色を示

した場合を陽性とする.
indomety71)

1. 指示薬 (でんぷん)の調節

溶解性でんぷんりに冷水10減を加え、されを転過 200.2中にかまでなから加え、皇温に冷却後使用する。なお本液は用時調節する。

2. 市販기 ‰N Naz SzOz の標定(F)

滴定用の K=Cr207 約10mg を精秤し、これをH208múに溶かす。更に KI 200mg, 36%HCl 0.5mlを加え ふたをして約10分 暗所に放置する。H20約10ml, でんぷん0.3mlを加えて、遊離しに J2 を Na2S2O2で滴定する。K2Cr2O7(19至:49.012):ag, 1/00N Na2S2O3:bml

F = 1000 " a b

3. 3a-hydroperoxypyrolaindrie 5aの定立

1 19.6 mg を HzD 10mlに溶解し、すはやく10% HzSO4 0.2ml, KI 20 mg を加え 約10分ふにをして暗戸に放置する。

予の標定を行なった /m N Naz S203 を用いでんぶんを 指示薬として 滴定する。 (終末点、は 淡褐色~淡黄 色の水溶液)

YHON Na=S=03 (F=0.995): 14.35 ml

$$\frac{14.35}{0.995} = \frac{236}{100} \cdot \frac{1}{2}$$
19.6

L- tryptophan La

mp. 282°C (:ler.

Ehrlich: 紫色 Ninhydrin:赤紫色

HPLC

tr = 30 min

TR = 12.3 mm.

Pucking Haterial : Elvent

3011-C 0.5H KH: PO4 Nucleosil 52.18 H20/ HEOH = 9/1

NMRスペクトル

2 pro (20,c)

3,25 3.51 (IH. dd Jed. 15 nz ABX, C3-H)

(IH, dd J: 18 5H= ABX, Co-H) (IH, dd, J= 5.8 H= AEX. C.-H)

4.05

(3H. M. AromH + 0-H) ~ 7.45

7.08 7.67 7.45

(IH , m . Aromit '

(IH, m, Armid) 7.83 7.67

リマスペット・レ

L max (E) nm:

229 ( E 測定せず)

272 Sh (5320)

(5430) 279

(4590) 288

。1R スペフトル

cm-1:

3405, 1665, 1590, 1415, 1359

745

## 第一章に関する実験の部

## 1. 2- Carboxy - 3a-hydrexy - 1.2.3.3a.8.8a-hexarydropyrrelo [2.3-b] indeli 2

I) <u>単離(R.B. 1/300 モル当量)</u>

Jryptophan 1 1.02g (5mM)(DL, L まにはD体)をH2O 200ml に加熱して溶解し、室温に冷却後色素(R.B. 15 mg, 1500 モル 当量), H2O 85 ml , EtOH 15 ml と一緒に反応容器に殺す。 反応液を氷で冷却後(D~5°C)撹拌しなから激しく酸素を 通じ CuClz·CaClz filter(490 nm <入<610 nm)に透して500W halogen lamp を照射する。反応はTLC (5102-n-PrDH/H=0= 7/3), UVスペクトル、HPLC (Packing Material: 3053, Eluent: H2O, Press: 110 kg/cm2, Detect.: 254 nm, Temp.: r.t.) で追跡する. 3.5 時間後UVスペフトルロ indoleの吸収 から pyrroloindole型(λmax 237,294 nm)の吸収に変化する 。またTLC, HPLCから原料しのapot及びpeakの消失が 認められた為光照射を終える。 KI starch test 陽性であ る為 Me2S 2ml を直ちに加え、室温で約1時間撹拌する と KI starch test 陰性になる。過剰の MezS, EtOH を 30~35° Cで滅圧留去して除いた後、反応液に CH3 CO2H (3ml)を 加えて液性を弱酸性し CH2Cl2抽出(100ml×1+50ml×2)を 行なって R.B.を除去する。 H2O, CH2Cl2に溶けないものを 口過した後口液(300 ml)を凍結乾燥で約20 ml に濃縮する ・これをイオン交換樹脂(Amberlite CG-50, cooH form, 2.8 cm 4×37 cm)にのせ、H2O で溶出させると cis, transの 混合物として 3a-hydroxypyrroloindole 2 a fraction が約 300 ml 得られる。凍結乾燥で H2O を留去するて淡褐色 powder が約1.2g得られる.これをH2O及びH2O-EtOH から分別再結晶を行ない(DL-体では cis, L-, D-体では trans が難溶性の異性体で最初に折出する。)、それぞれの 異性体を得た・

trans-2c: 鱗片狀晶, trans-2a,b, cis-2a,b.c: 微针狀晶 trans-2a: mp. 231-5~232°C(dec.)(26°Cで川時間BO5の存在下真空ポンプで乾燥) Anal. Calcd. for C11H12N2O3·H2O: C,55.45; H,5.92; N,11.76. Found: C,55.34; H,5.93; N,11.49. Sppn 2.85(2H,d-like,J=7Hz,C3-H),4.34(1H,t,J=7Hz,C2-H),5.31(1H,S,C8a-H),

<sup>\*</sup> 以後すべて COOH form で使用する.

6.80 (1H, d, J=8Hz, C7-H), 6.97 (1H, t, J=8Hz, C5-H), 7.23 (1H, t, J=8Hz, C6-H), 7.36 (1H, d, J=8Hz, C4-H); CD (C=4.94 ×  $10^{-4}$ , H2D) [93 (mm) + 0.20 ×  $10^{3}$  (215), + 1.44 ×  $10^{4}$  (239), + 0.4 ×  $10^{3}$ (262), + 3.4 ×  $10^3$  (296); ORD (C= 4.94 ×  $10^{-4}$ , H<sub>2</sub>D) [P] (nm)  $-1.13 \times 10^{4}$  (216),  $-1.70 \times 10^{4}$  (226),  $+1.13 \times 10^{4}$  (247),  $+0.8 \times 10^{3}$ (280), +4.0 × 103 (310). cis-2a: mp. 229.5 ~ 230°C (4cc.) (50°C で3時間 P2Osの存在下 真空 ポンプで 乾燥)Anal. Calcd. for C11 H12 N 2 O 3 : C. 59.99; H. 5.49; N. 12.72. Found : C. 59.59; H, 5.49; N, 12.29. Sppm 2.55 (IH, t, J= 12.12 Hz, C3-H), 2.92 (IH, & J=12,7 Hz, C3-H), 3-86 (IH, &, J=12,7 Hz, C2-H) 5.40 (IH, 5, C8a-H), 6.86 (IH, d, J=8Hz, C7-H), 6.98 (IH, t, J=8Hz, C5-H), 7.30 (IH, t, J=8Hz, C6-H), 7.40 (IH, d, J=8Hz,  $C_4-H$ ); CD (C= 4.78 ×  $10^{-4}$ , H<sub>2</sub>O)[0] (nm) - 1.78 ×  $10^{-4}$ (238),  $-0.4 \times 10^{3}$  (262),  $-5.4 \times 10^{3}$  (295); ORD (C= 4.78 ×  $10^{-4}$ , H<sub>2</sub>O) [\$\varPsi\$]  $(nm) + 1.00 \times 10^4 (223), -2.26 \times 10^4 (236), -1.0 \times 10^3 (280), -7.3$ x 103 (309) trans-2b: mp. 231.5°C (dec.) (50°Cで 6時間 P205の存在下真空 ポンフ·で乾燥) 8 5% CF3 CO2H-D2O 2.92 (2H, d,J=7Hz, C3-H), 4.70 (IH, t, J=7.7Hz, C2-H), 5.41 (IH, s, C8a-H), 6.80 (IH, d, J=8Hz, C7-Ha C4-H), 6.95 (IH, t, J=8Hz, C5-H or C6-H), 7.31 (IH, t. J= 8Hz, C6-H or C5-H), 7.39 (IH, d, J= 8Hz, C4-H or C7-H); V max cm-1: 3450 br, 3270, 3140 br, 1610 br, 1470, 1380, 1318;  $\frac{\pi}{2}$  (%): 221(M+1,12), 220(M+100),177 (28),176(14), 175(35), 158 (28), 157 (19), 148 (21), 147 (55), 146 (55), 133 (26), 132 (74), 131 (20), 130(36), 120(22), 119(16), 118(17), 77(23): CD (C= 4-68  $\times 10^{-4}$ , H<sub>2</sub>0) [0] (nm) -1.42 ×  $10^{4}$  (237), -0.4 ×  $10^{3}$  (262), -3.0 ×  $10^{3}$ (294); ORD (C= 4.68 x 10-4, H20) [4] (nm) + 1.24 x 10+ (221), -1.11  $\times 10^4$  (244), +0.6  $\times 10^3$  (278), -3.2  $\times 10^3$  (309). cis-2b: mp. 226 ~227°C(dec.)(50°Cで 3時間P205存在下真空ポンプで乾燥) δ D2O 2.58 (IH, t, J=12,12 Hz, C3-H), 2.92 (IH, β, J=12,7 Hz, C3-H), 3.86 (1H, &, J=12.7 Hz, C2-H), 5.44 (1H, S, C8a-H), 6.86 (IH, d.J=8Hz, Cy-H), 6.99 (IH, t,J=8Hz, C5-H), 7.34 ( 1H. t, J= 8Hz, C6-H), 7.44 (1H, d, J= 8Hz, C4-H); V max cm-1: 3535, 3300, 1620, 1480, 1405, 1370, 1340; " (%): 221 (M+1, 17), 220 (100), 202 (15), 177 (30), 176 (18), 175 (39), 173 (20), 158 (29), 157 (20), 156 (18), 155 (14), 149 (25), 148 (24), 147 (58), 146 (60),

|33(21), 132(55), |31(21), |30(42), |20(15), |19(12), |18(21); CD (C= 4.73 ×  $10^{-4}$ , |420| [8] (nm) + 1.70 ×  $|0^{4}(237), +0.4 \times 10^{3}(263), +5.4 \times 10^{3}(295); ORD (C= 4.73 \times 10^{-4}, |420) [4] (nm) -1.18 \times 10^{4}(214), -2.58 \times 10^{4}(226), +1.20 \times 10^{4}(246), -0.6 \times 10^{3}(278), +5.5 \times 10^{3}(308).$ 

trans-, cis-2a, trans-, cis-2c のスペクトルデータ は Table 1.2 Fig. 8を参照。

## II) 足量(Table3の R.B. 1300 モル当量の例)

I)と同様な方法によって口液300 mlを得る。これを凍結乾燥で濃縮レメスフラスコで正確に50mlにする。メスピペットで20ml 精秤し、Amberlite CG-50 (4.2 cm p × 10 cm,溶出液: H20)で分離すると、2a (cis, transの混合物)のfaction が400 ml得られる。20倍布釈でリン足量(cis: trans=1:1と仮足してをまめると、を=2000+2140/2=2070;294 nm)すると0D=0.431になり、収量を求めると366.5 mgとなり、反応液の全体量(50 ml)に換算すると916 mg,(83%)となる。

HPLCによる(定量法はP.106を参照)収率は83%である。

## II) 定量(Table 4 の M.B. Yoo モル当量の例)

R.B.の代わりにM.B.を用いりと同様な方法で反応し、1.5 時間で反応を終える。直ちにMe2S (2ml)で還元し、過剰のMe2S, EtOHを滅圧留去で除いに後 CH2Cl2 抽出 (50ml×3)を行ない、下溶物を口過で除去した口液 (300ml)を凍結乾燥して濃縮し正確に 50mlとする。 20mlを精秤し、Amberlite C.G.-5D (4.2 cm 4×14 cm, 溶出液: H2O)で分離すると 2aの fraction が 500ml 得られる。 15 倍に布釈してひと 2aの fraction が 500ml 得られる。 15 倍に布釈して以 と 284.6 mg になり、全体量 (50 ml)に換算すると 711 mg (65%)になる。 HPLC による収率は71%である

IV) <u>定量(Table 4 の P.F. 1/70 モル当量の例)</u>
R.B. の代わりに P.F. を用い I)と同様な方法によって黄色の口液

<sup>\*</sup> C11H12N2O3 として計算した値.

350ml得る。この内 50mlを精秤し、Amberlite CG-50(2.9cm中\* 25cm) に付着させ、H2O で溶出させると第一の fraction として Zaを 250 ml 得た・この溶液をそのままUV定量( 294nm; E=2070) するとOD=0.696になり、収量は18.5 mgで ある. これを全体量(350 ml)に換算すると129 mg(23%)に なる。第二のpactionとしては未反応のしを1000ml得に、 これを直接 U ▽足量 (288 nm; E= 4590) すると OD= 0.897 とな 1). 収量は39.9 mgである。これを全体量に換算すると 279 mg (54%) になる.

2. <u>Prhymer support R.B. の合成</u> 文献に従って<sup>31d)</sup> chloromethylated polystyrene 2% divinyl benzenc copolymer heads (200~400 mesh. Cl: 0.8 meg/g) 10.0g, R.B. (和光 社) 7.55 g (7.8 mM) に DMF 300 ml を加え、内温約60°Cで 110 時間撹拌する。反応終了後、吸引口過により溶媒を除 き、次の順に従って beads をよく洗浄する。1. DMF (1000 ml) 2. CH3 CO2 Et (300 ml) 3. Et OH (300 ml) 4. 50% 含水 Et OH (500ml) 5. H2O (300ml) 6. 50%含水 MeOH (300ml) 7. MeOH

(500ml) よく洗浄後乾燥すると暗赤色の beads を約 11g 得に・

3. 2.3-Diphenyl-P-dioxene O & Di

Benzoin 10.6 g (50 mM) 1. ethylene glycol 125 ml, P-toluene sulforce acid 0.1g を加え、外温 230°Cで 13時間加熱愛流す ろ、冷却後 H2O 200 ml を加え CH2Cl2 抽出 (50 ml×3)を行な う。 CH2CL2 を水洗した後芒硝乾燥して、 CH2Cl2を減圧留 去すると淡黄色 solid 12.0gを得た。これをETOHから再結晶 すると目的とする 2,3- dephenyl-P-diexene が無色微針 状として 4.4g (37%) 得られた。mp. 95~95.5°C (lit."mp. 95~96°C) の他 I R スペクトルが文献値と一致した。 λ EtDH 246 sh, 312 nm, 5 ppm 4.31 (4H, S, CH2), 7.07~7.34 (10H. m. Arom H)

4. <u>2.3 - Diphenyl - P - diorenc の P - R.B.による光増感</u>酸素化反応

2.3- Niphenyl-P-dioxene 238mg(1mm)をCHiCli 290mlに溶解し、D-R.B. 15gを加え、酸素気流下状冷却(0~5°C)でPyrex filter(7300mm)を透して500W ハロチンランプで照射する。TLC(SiO.-CHiCli/Jenzenu=1/1)より約1時間で原料が消失する。口過によりのPRBを除き、得られた口液の溶媒を減圧留去すると赤褐色カラメル状物を294mg得に、これをSiOz(5g, benzene ~ CHiCli)で分離するとethyene glycel dibenzoate が白色 solidで207mg(76%)得られ、これをbenzene から再結晶すると無色微針状晶を149mg(51%)得た・mp. 72~73°C(1it. 73°C) 人max: 229, 274.5, 282mm、Vmax:1725、1708 cm-1

5. <u>LJryptophan La の D-R·B·による光増感酸素化反応</u> L- Jryptophan La 1.02g (5mH) を H2O 100mlに加熱下溶解し 至温まで冷却後反応容器に移す。この中へ H20185ml, EtCH15ml. O-RB. 10.9g E加九 酸素 氧流下水冷却(0~ s'c)て Pyrex filter を透して 500か ハログンランプで照射 する。 UVスペクトル、TLC にて反応を追跡し 多時間 後においてもlanでかなり残存するが、反応を止め、反応 液のKI starch test 陽性である為 Heas約1 Wを加え約1時 間撹拌する。 D-R.B. を口過で除いた 反応液 1000 ml から100ml を精秤し、凍結乾燥で濃縮後 Amberlite CG-50 (3.7em / \* 22cm · 溶出液: H20)で分離すると 3a-hydrxypyrolaindele Za N 350 ml得られ これを直接UV足量 するとOD=0.472 になり収量は17.6mg である。 また tryptoplan la o fraction & 1000ml 得られ、5倍市积 \_でUT足量(279mm、E=5430)するとOD=0.467にはり、収 量は87.7 mgとなる。 これらを全体量に換算するとZaの生成は176 mg (16%), La の回収量は 877 mg (86%) になる。

6. 2- Carboxy - 3a-hydroperexy - 1,2,3,3a,8,8a - hexahydropyrrolo
[2,3-b] indole 5a の単菌性

L-Jaypti-plan La 1.02g (5mM), 5% EtOH-H2O 300 ml, R.B. 15 mg (300 モル当量) を用い 1. I)と同様な方法で反応を3.5時間行なう(iodometry:99%)。反応終了後直ちに反応液にCH3CO2H 3 mlを加え

て液性を弱酸性にし、CH2Cl2 抽出(70 mi×2+50 ml×1)で R.B. を除く。水層から不溶物を口過し(iodometry:92%).得 られた口液を凍結乾燥すると淡褐色 powder になる( udonuty:約85%).このcrude 5a 500 mg を H2O 50mlに溶解し . Sephadex G-10 (許300g) のカラム (9.2 cmp x 15 cm) にの t H2Oで溶出させる。溶出してくる液をUVスペクトル , KI starch test で検索すると Sa の fraction が約400 ml 得られ、これを凍結乾燥すると気aをほぼ無色のpowderで 約300 mg 得た (iodometry: 約82%). なお 5aの fraction の前に266 nmに極大吸収をもつ fraction を得にか、ご 〈微量であり、かっ不安定なものである為詳細な検討は 行なっていない。 5aのスペクトルデータは本論 Table 6. Fig. 9 (P. 21,22) を参照。 TLC: cis-5a Rf 0.8 (褐色), trans-5a Rf 0.7 (褐色) (SiO2-n-PrOH/H2O=7/3, Ehrlich 試 薬)(cf. trans-2a:Rf 0.6 (赤紫色), cis-2a: Rf 0.7 (赤紫 色)). HPLC: tR=8,12 min (Packing Material: 3011-C, Eluent: 0.5 M KHPO4, Press: 20~30 kg/cm2, Detect: 254 nm, Temp.: 60°C) ₹aの水溶液に MezSを加え還元すると ₹a が生成する-これは標品と TLC,HPLC,U V スペクトルが一致した。

## 3a- Hydroperoxypyrroloindole 5a の安定性

Powderでの安定性(-50~-70°C) Sephadex G-10 のカラムに通して精製しに3a-hydroperoxypyrrolaindole 5a 100 mgをハイアルヒンに入れ、フタの まわりにパラフィルムをまいて deep freizer 中 (-50~-70°C) で保存する。分解の様子は気を20mg 精秤し、idometry を2~3回行なって平均値を求める。その値はTable26に示 し、それをプラフにすると Fig.11になる。 -10°C (冷蔵庫製 水室内)での安定性の結果は Table 27 (Fig. 11) に示す。

水溶液中での安定性 Crude 5a 235 mg (iodonutry:74%) を H2O 100 mg に溶解し、皇温 (24°C)で放置する。この水溶液から5 ml を精秤し 3a-hydroxypyrroloindole 2 (trans: more polar, cis: less polar)

との類推がから決めた・

て undometry で分解を追跡すると Table 28 (Fig 11) の結果を 得に・

Table 26 2aの-50~-70℃中での 安定性

Table 28	5aの水溶液中での
	安定性

	iodometry (%)
ОВ	8 2
	7 8
49日後	76
71日後	76

	iodonietry (%)
0.5 時間後	74
2.5	6 5
7. 5	6 6
9.0	6 1
22	5 3
4.5	4 0
75	3 2
147	2 5
168	0

Table 27 5aの-10°C中での

#### 安定性

	is dometry (%)
OB	58
1 日後	58
17日後	49

## 8. <u>反応温度 50°C 付近て の1aの増</u>感酸化

i- Jryptophan 1a 1.02 g, 5% Et OH - H2O 300 mi, R.B. 15 mg ( /300 E ル当量)で反応温度を約50°Cに保ちなから前述の方法で 増感酸れを行なう。 TLC, UDスペクトルから2.5 時間 後にねの消失が認められた寿反応を終え、反応温度を室 温まで冷却する。反応液の KI stavch test 隱性である寿 Me.S 2ml を加え 皇温で約1時間撹拌する・KI starch test 陰性 を確認後、過剰のHerS , ECOHを減圧留主で除さ、水層に CH3 CD=H 3 ml を加えて CH2 Cl2 抽出 (100 ml × 3) し 不溶物を口 過する。水層を凍結乾燥して HDD を留去すると淡褐色 ponder or 925 mg得られ、この内 410 mg さH2O 5ml に落か し CF3 CO2H2ml を加えて室温で約2時間復抖する。この 反応液も Dowex 50WX-8(3.5 cm px 8 cm , 溶水液: 0.2 N Aco NH4) で分離するとZaと Eaの混合物の fraction かっこか 得られ、こ れを15倍布釈でリヤ足量( Za:294 mm, E= 2070, ba:360 mm, E=4440)するとOD=0.486(Za),0.443(Ea)になり、収量は232mg (Za), 93 mg (sa)である。これを全体量に換算すると2aの収率は48%, saの収率は21%になる。

## 9. 反応温度 90°C 付近での Laの増 感 酸 化

収量\* は127mg(12%)である。
- 方 CH2Cl2層は芒硝乾燥後CH2Cl2を滅圧留去すると褐色カラメル状物を264mg得た。これはTLC(SiOz-CH2CO2FT)より9くのスポットが認められた為分離精製は行なっていない。

# 10. L- Tryptophan 1aの 03 取以 11 1 3 formylky nu renene 3a

L- Jryptoplan La 1.02g (5mH) を th2 0 200 mL に 加熱して溶解し、室温まで冷却後 EtOH 30 ml を加え、氷冷却下 (内温 0~5°C) 撹拌しながらオソン発生装置から発生した 03を導入する・約10分後、 U V スペットルから tryptoplian La の吸収(入thio 272 sh, 279, 288 nm) が消失し、 人thio 231, 260,320 nm があらわれる。 10分で 03導入を止め 反応液の KI starch test が陽性である為 Me2S 3 ml を加え、氷冷却下約30分娩 持する。 (KI starch test 陰性)過剰の Me2S, EtOH を 約15°C で泯圧留去後不溶物を口過で除き、 口液 (250 ml) からメス

<sup>\*</sup> kynurenine は288 nm で E=444 であり kynurenine を差し引いて求める.

フラスコで 50ml 精科 し Amberlite (G-50(3.7emが 9em, 溶出液: Hu0)で分離するとやの fraction が 1600ml得られ、この 1mlを15倍に希釈しり下足量する(320nm, E=3400)と DD=0.097になり収量は 162mj である。これを全体量 (250ml)に挟算すると fcemg (69%)になる。

残りの反応液200ml を凍結乾燥で20mlに濃縮し. Amberlite CG-50 (29cmか、11cm)で分離すると るの fraction か約 650ml 寻られ 先に得られた 1600ml と一緒に凍結乾燥で H2D を留去すると 792mgの淡黄色 powder を得る. この powder を呈温で POS存在下真空かンプで 5時間乾燥する と 745 mg (63%)で恒量になる. この powder からH20-ETOHで 結晶化を試みにが成功せず、このpowderで以下のスペフトルデータを 測定して、mp. 152~152.5°C (dec.) (lit-162°C (dec.)), 入max (E) nm:23/ (20100), 261 (9450), 320 (3400), V KBr : 3250. 3690 pr, 1698, 1668, 1584 cm², Sppm (D20): 3.74 (2H . d J= 5H≥, COCH2), 4.16 (1H, 大 J=5Hz, CHNHz), 7.30 (1H, t J=7Hz, Arom H-5位), 7.63( 1H, t J-7Hz, AromH-4位), 8·04 (1H, d J=7Hz, Arom H-6位), 8·12 ( IH, d J=7Hz, Arom H-3位), 8.32(IH, S, CHO), HPLC(3011-C-0.5 M KH1 PO4) tR = 18 min, (Nucleosil 5C-18 - H20/HECH = 9/1) tR = 9.5 min, Ehrlich, Ninhydrin: 黄色, TLC (SiOz-n-ProH: 25-28% NH40H= 7:3) Rf 0.9, (SiDz- n-ROH: HzD=7:3) Rf 0.65, (SiOz - n-BuOH : ACOH : HzO = 4:1:1) Rf 0.5

ちの numbering を使用. 5 0 CO.H NH. 4 3 2 NHCHO

# 11. <u>3a-24yd.sp. 1.6xypy 22.44.1.1.16に 5aから 2aと 2a への変換</u> 1) <u>5aの</u> 三温下水溶液中での分解

3a-Hydroperoxypy rolomani 2a (189 mg, iodometry: 71%) をH2O (30 ml)に溶形し、室温 (20~25°C)で7日撹拌する(KI starch test 陰性になる.). 不溶物を口週で除さ、口液をCH2Cl2 曲出(10ml×2)する.水層を凍結乾燥で約10mlに濃縮し.再 び祈出してきた不溶物を口過で除いた後 Amberlite CG-50( 3.3 cm p x 27cm)に付着させ、H2Oで溶出すると先ず 2aの paction N 200 ml 得られる...れを10 治に布釈してUV 定量(294 nm, ε= 2070) すると、OD= 0.393になり 収量は 83.5 mg で収率 67%( 使用した気の純度を71%として求めた値であり、以下全て同様 にudmetryの値を考慮して収率を求める.)になる. Zaのfraction を凍結乾燥して得た淡褐色 powder は前述の標品とTLC, 星色反応, UVスペフトル、IRスペフトル、NMRスペフトル、HPLCか - 致した。 次にformythynumine 20 のfraction or 500ml得られ、1倍市級で UV定量(320 nm:E=3400)するとOD=0.178になり 収率は5%であ ろ、この Za a fraction を 凍結 乾燥して得た淡黄色 powder は融 点142~142.5°C(dec.)を示し、またUVスペフトル、IRスペフトル、 TLC, 呈色反応, HPLC が別途合成して得た標品と一致 11: ,

### I) <u>与の沸騰水中での分解</u>

- Method A: 5a(224 mg, isolometry: 72%)の水溶液 (10ml) を沖除水(170 ml)の中に加え 10分沸腾させる。KI sharch test 陽性 から陰性へ変わったので沸腾を止め、氷を用いて内温を呈温まで冷却する。不溶物を口過した口液を Amberlite CG-50 (3.8 cm Ø \* 2/cm, 溶出液: H20)で分離すると 2aの fraction が 200 ml 得られ 5倍が、駅でリア是量すると 0D=0.566 になり、収量(3 62 mg (40%)である。又 3aの fraction も 1000 ml得られ 2倍が、収量(3 20 mm, を3 400)すると 0D=0.236 になり、収量は 33 mg (21%)である。
- 。 Method B: 5a (214 mg, isdometry: 78%) を HzO 50 ml に 溶解し 予め /20~150℃に加熱してある油浴中で加熱 すると約/5 分後に KI starch test 陰性となる・至温む

冷却後 不溶物を口週で除き 口液をAmberlite CG-50( $3.8\,\mathrm{cm}\,\rho$  ×  $21\,\mathrm{cm}$ ,溶出液: $h_0$ )で分離すると 2a の  $f_{1}a\,\mathrm{dim}$  が  $3\,\mathrm{no}\,\mathrm{nl}$  得られ 5 倍希釈で U  $\mathrm{V}$  定量 ( $294\,\mathrm{nm}$ ,  $\epsilon$ = 2070)ですると 0D=0.516 になり、収量 は  $82\,\mathrm{ng}$  ( $53\,\mathrm{\%}$ ) である。また 3a の  $f_{1}a\,\mathrm{dim}$  も  $1000\,\mathrm{nl}$  得られ 5 倍希釈で U  $\mathrm{V}$  定量 ( $320\,\mathrm{nm}$  :  $\epsilon$ = 3400) すると 0D=0.085 になり収量は  $30\,\mathrm{ng}$  ( $18\,\mathrm{\%}$ )である。

その他の同様の反応で得た結果は Table 7に示す。

### II) 金属イオンによる 処の分解(Talle 8. Run 1の例)

5a (240 mg, indometry: 77%)に Fe Cl3·6 H20 (30 mg... 0.1 倍 モル当量)を溶解した H2D (100 ml)を加え、至温で撹拌する。約1時間後 KI starch test 陰性になった蒸撹拌を止め、不溶物を口過後口液を凍結乾燥で約5 mlに濃縮する、再び不溶物を口過した後 Amberlite CG-50 (3.7 cm p × 25 cm)溶出液: H2O)で分離すると Za の fraction が 100 ml得られ、6倍希釈でリア定量(294 mm, 6~2070)すると OD=0.364になり収量は 93 mg (54%)である。

3 に 2aの fraction も 1000 ml得られ直接UV定量(320mm, E=3400)を行なうと OD=0.104になり 収量は7mg(4%)である

Fe cla·6H2O(1倍も儿当量). Fe SO 4·7H2O(川倍モル当量) Cu Cl(0·1倍モル当量), Cu Cla·2H2O(0·1倍モル当量)を用いた上と同様の反応の結果は Table 8 に示す。

### ID) SiOrによる 型の分解

題(204 mg, indometry: 73%) を HiD 100 ml に溶解しての中に海砂 20g を加え室温下 (25~30°C)で放置する。約68時間後 KI starch test 陽性であるが後処理を行なった・即ら海砂及び不溶物を口過で除さ、得られた口液150 ml の内はM を精秤し、indometry を行なうと16%になる。残り135 mlに Hers Iml を加え、室温で約30分撹拌する(KI starch test 陰性).これを凍結乾燥で約10 mlに濃縮し、析出した不溶物を口過で除いた後 Amberlite CG-5D (3.8 cm Ø × 19 em, 溶出液: 10)で分離すると 2a の fiaction が300 ml得られる倍布釈でUV定量(294 mm, 8=2070)すると、

OD=0.470になり収量は90mg(72%,反応液135mlからの収率)であ ここの内未反応の Eaを He-Sで 還元 LT生成した Za lJ 20 mg で. 友応中に生成した Za は70 mg (56%)になる。また 3aの fraction t 550ml得られ直接UD定室(320mm ミ3400)するとOD-0.076 になり 収室は 3mg (約2%) である。

### か光照射による50万分解

a) halogen lamp の既射 (>300 nm)

5a (281 mg, iodometry: 71%) & H2O 350 ml に溶解し、氷 冷却下 ( on 5°C ) Pyrex filter & 透して 500 W halogen lamp & 照射する。5時間後においても気は残存し、iodometryで 53% を示す。 反応 放 290 ml\*に Me=S 1 ml を加え、 室温で約 |時間撹拌する(KI starch test 陰性)。反応液を凍結乳 煤で約10㎡に混縮後析出した不溶物を口遏して除き。 Amberlite CG - 50 (2.7 cm p \* 18 cm, 洛出液: H2O) で分離す ると Za の fraction が 200 ml 得られる培希釈でリV定量( :94 nm, E=2070) するとOD=0.818 になり、収量は139mg(90%) である。この内未反応の50をMerSで還元した Za は引か で 反応中に生成した 2a は58 mg (38%) になる。また30 a fraction & 450 ml得与礼直接UV定量(320 nm, E= 3400) す る'と OD=0.236 になり収量は 7mg (5%)である。

b)低压水银 lamp n 照射 (253.7 nm)
59 (202 ng, iodometry: 81%) & HiO 300 ml に溶解し 水 冷却下(10~5°C)60页低圧水銀 lampで内部照射をすると 約30分後にKI starch test 陰性になる。反応液を凍結乾 燥で約/0減に濃縮後折出した不溶物を口過で除く。ロ 液を Amberlite CG-50 (3.8 cm / 16 cm, 溶出液: H2O)で分 離すると Za o fraction N° 250 ml 得られ、5倍希釈でリマ 足量 (294mm, E=2070) すると OD=0.393 になり収量は 52 mg (34%) である。まに 3aの fraction & 1000 ml得られる 直接UT定量 (320nm, E=3400)すると OD: 0.250になり 収量は17mg(11%)である。

同様の10取低圧水銀 lampによる反応の結果はTable?に 示す.

<sup>\* 0.5, 2, 4, 5</sup> 時間後にされぞれ反応液から15mlを精秤し、udomutry 下洲足した.

### 17) 被斬液中におけるよの分解 (Table 12, Run 10 ) 2 到)

5a(225 mg, ledonatry: 78%)にテめアH1.3 に調節して Na. Coa- CHacoa + 溶液 (10% Na. COa 100 mix (PH 11.5) に CHacoaH 5 m と加えて pH 9 3 にする) 40 ml を加え、室温で撹拌 する。約ル分点、KI starch test 陰性になった為撹拌を止 か (PH P.3) CH3 CO:H を約 8 ml 加え、反応液を中性付近にし た後 Amberlite CG-50 (3.8 cm A \* 27 cm , 溶出液:HzO)で分離 すると、最初に色素の様な褐色水溶液,次にCrude Raの fraction を約100ml 得た。これを減圧留去で濃縮し、Amberlite CG-50 (28cmp×11cm,溶離液: H2O) て再分離すると2a が約/moml 得られ 滅圧留去で H2O を除くと淡褐色カラ メル状物として10mg(6%)得に。 更に並の fraction t 1000 ml得られ、11倍に希釈レリア定量

(320,m, č=3400) すると OD=0.167になり収量は128mg( 72%)になる。

他の総割液中においても同様に反応を行ない。 Table 10にその結果をまとめた. なお Table 29 に Table 10 て用い r緩衝液の作り方を示した。

Table 29 種々の緩衝液の作り方

Run	buffer solution	рн
• 1	Hepes 1.1913/HzO 100ml (PH 5.3) に 10% Na OH EDDえる.	7.3
2	1/30 KH2PD4 20ml - 1/30 Na2HPD4 40ml	7.2
3	4/15 " 10 ml - 4/15 " 190 ml	8.1
4	0.1 H Naz HPO+ 50ml - 0.1 H NaOH 43.2 mg + H2O 6.8 ml	11.6
5	0.2H H3BO3 + 0.2H KCl 50.0ml - 0.2H NaOH 32.0ml + H2O 1/8.0ml	9.4
6	1/20 Naz CO3 10 ml - 0.1M Na H CO3 90 ml	8.8
7	" 75 ml - " 25 ml	10.3
9	10% Na; CD3 70 ml - 30% HCl 14 ml	9.7
11	" 60 ml - CH3 CO 2 H 1 ml	10.3
12	100ml 19ml	7.0

### 四) <u>炭酸水溶液中における 5a の分解 (Table 10, Run 13)</u>

5a (293 mg, isdometry: 74%)を予めCO2で飽和した水溶液50ml に溶解し、ドライアイスから発生する CO2 を導入して室温で1時間撹 料する。KI starch Test 陽性である患 Meis 2ml 加え室温で約1時間道拌する(KI starch test 陰性)この反応液をAmberlite CG-50(29cm p\* 26cm, 溶出液: Hi:)で分離すると2aの fraction の 500 ml 得られ 4倍命釈:U D 定量 (294mm, を2070)すると OD=0.787になり収量は127mg (101%)である。

### 12. J. myslynuxmund 2aの種々溶液中におこる安定性 (Table 11, Run 5)

L- Jornylkynwiemic 3a(33mg, 0.14m H)を予かpH 8.8 に調整した 0.05 M Naz CO3- G IM NaH CO3 溶液 (0.05 M Naz CO3 5ml - 0.14 NaH CO3 45ml · Table 1D. Run 6 で使用)ご加に溶解し、室温で)時間撹拌する。反応液に CH3 CO2 H 2ml)を加えた後 (pH 4) それを Amperlite CG-50 (3.7 cm p\*/1c cm, 溶出液: H2O) で分離すると formylkynwrenine 3a か traction が 1000 ml 得られ直接 U V 定量(320 nm, E=3400)すると OD=0.256 になり回収重は 18 mg (54%) である。この他の同様な反応の結果は Talis 11に示す。

#### 13. 取による 50 a 分解

L- Jryptiphon La 1.02g (5mM). 5% EtOH- Hill 300 ml. R.B. 15mg (1/300 モル当量) され、前述と同様の方法(另一章実験部参照) にて 3.5 時間反応する: 反応終了後反応液に CH2CO2H 3ml を加え CHICL: 抽出(100ml×3)し、水層「不溶物を口過し て得られるゑの水溶液に36% HCL 5ml を加え、アルゴン 雰囲気下室温で撹拌する.約17時間後(I stavch test 陰性 になった為撹拌を終え、不溶物を口過で除いた後派圧留 去て約 100 ml に濃縮し、 2N NaOH で pH : に調節する. TLC (SiD, - "-ProH/H20=7/3) より 2a & 0-zminophenol の存在 が認められる。この 状溶液を CH2Cl2 抽出(100 ml \* 3) し. 飽 和食塩水て洗浄(30ml \* 2)後芒硝乾煤する。CH2Claを減圧 留去するで 0-aminophenal を solid として 210 mg (40%)得た。 これを benzene - ether or ら再結晶すると mp 55~170°C or powder か得られ、これは標品との混融で融点降下が見られない 事,IRスペフトル, TLC ,UVスペブトルが標品と-致する事から構造を確認した。また CH:22: 抽出後の水 層を Amberlite CG-50(3.0 cmp×24cm, 溶出液:H2O)で分離す

### 第二章に関する実験の部

## 1. <u>Inyptoplante o Nav CD3 - CH3 CO3 H 温液 = 3 光增 思緻意化</u> <u>反於 I) Tollie 12. Run 7 の例</u>

L- Tryptoplan 10 510mg (25mH) を加速下、子のpH70に 調整し下 5% Naz CD3 - CH3 CO2H (5% Naz CO3 300ml - CH3 CO2H 10.5 ml) 285 ml に溶解し 呈温まで冷却待反応容器に換 す. この中にETOH 15ml , Milhyl. ... Paris 21mg (0.05 モル当 量)を加え、氷冷却下( 0~5°C)酸素を通じながら液体フ イルター(フ350nm)を達して 500双 ハロテンランプを照射 する. 反応30分後 TLC(SiO=- MBOH/HW = 7:1)及びリマスペク トルから之の消失が認められた為反応を終了する。反応 液 350 ml からメスフラスコを用いて 50ml を特辞し. 充液の KI starch test 陽性である為 三温で約1時間放置 すると KI starch test 陰性となる。 その反応 液を Amberlite CG-50(21cm×26cm)に付着させ、 H2O で 溶出させると formythynurenine 3a on fraction \$ 1000 ml得られ 3 倍希釈でUV定量 (320 nm: E=3400)を行なうと OD= 0.217 となり収量は45 mg である。これを反応液の全体量(350 nl)に換算すると 316 mg (54%)となる. なおこの fraction は凍結乾燥によって HD を留去すると淡黄色 prowder が得 られ、これはUマスペットル、IRスペットル、TLC、 呈色反応,HPLCが標品と一致する。 - 方反応液(350ml)から50mlを精秤し <u>Me.S 約1mlを加え</u> <u>室温で約 10 分撹拌する。(Me2S も加えると直ちに還元され</u> る.) 反応液を Amberlite CG-50 (3.8 cm ダ×30 cm , 溶出液: Hao) で分離する t 2aの fraction が 1400 ml 得られ、3倍希釈 でUV足量を行なうと OD=0.117になり収量は 34 mg であ る、これを全体量に換算すると Z39ng(40%)となる、

<sup>\* 20</sup>の fraction の前に反応で生成した色素(褐色)が溶出するのみできの後には何も溶出しない。また 5% HCV の20% NaOHで溶出させても何も得られない。

同様の操作で Naz COs(または Na H COs)- CH3 COzH(またはHCU)溶液中の増感酸化を行なった結果はTable 12に示す.

#### II) Table 13 ( R. B. を用いた反応)

#### 2. 対照実験(増感剤,光照射を除いた実験)

L- Juptoplan La 261 mg (1.3 m M) を うめ pH 69 に調整した約5% NaH CO3 - CH3 CO2 H (約5% NaH CO3 150 ml - CH3 CO2 H 5 ml) 125 ml に加温下溶解し、室温まで冷却後、H2O 17.5 ml, Et OH 7.5 mlを加え室温で激しく撹拌する。90時間後撹拌を止め、反応液にH2Oを加えて 200 ml にする。この中から50 ml を精秤し、Amberlite CG-50 (2.4 cm p × 17 cm, 溶出液 140)で分離すると formyl by nucleuch 2a と Laの混じっに faction 1000 ml 得られ、これを4倍に希状して2aをU快算すると 0D=0.019 になり 収量は5 mgで、全体量に換算すると 21 mg (7%)になる。一方 Juptoplan をUD 是量(288 nm, E=4590)すると 0D=0.347 になる。しかし2aは286 nm (E=1660)で OD=0.337 を示す為、Laは実質的に OD=0.311になり、収量は55 mg である。これは全体量に換算すると 221 mg になり、原料回収は82%である。

<sup>\*</sup> R.B. が- 緒に溶出した為淡赤色の水溶液である。

#### 3. <u>3a- Hydroxypyrroloindole 2a 及い formylkynurenisu 2a の</u> HPLCによる定量法

I) 於量 線の作成(内部基準物質:L- Tryptoplan La)
· 3a- Hydroxypyrroloindolc Za

3a·hydroxypy:zzoloundele cis-2a 16.4 mg と trans-2a 16.5 mg. を一緒 にしたサンプルを 加熱下 氷に溶かす。冷却後 メスフラスコを使い 正確に 25 ml にする。(サンプルA) 内部基準物質として 用いる L- tryptophan la 1.0103gを 加熱して水に溶かし、冷却後 250ml に希釈する。 (サンプルB) サンプル B を 10 ml を精秤し、これを 4倍に希釈する。 (サンプル C)

サンプルAの中に一定量のサンプルBまたはサンプルCを加え HPLCを用い されぞれの peakの面積値を 基にして面積比を求める。(Table 30)

#### HPLC

Packing Material : Nucleosil 5c-18

Eluent : H20/MEDH = 9/1

Press : 120 kg/cm2

Temp.: rt., Detect.: 254 nm

Table 30 2a/19 の面積比と重量比

Run	7:7"~ A (2a) 0.1 ml (1a)	重量比(2)	面積比(4)
1	0.1 ml / サンプル B	D. 326	0059
2	0.3 ml 7 - 7 1 B	0.977	(.160
3	0.5 ml / 527 N B	1628	0.274
4	0.8 ml / 7:7"~ B	2605	5.509
5	0.3 ml/ 7-7"1 C	3.908	5754
6	1.5 -l / 7-7.~ B	4 885	: 982
7	0.45ml / サンプル C	5 862	1.136
8	0.50 ml / 457 n C	6.513	1 289
9	0.65 ml / 727 LC	8.467	1. 632
10	0.80ml/ 7:70 C	10.421	2.006
11	1.00 inl / 7:7"~ C	13.026	2. 655

Run 1~11 の エ, りの値を使い、最か二来法\* でれを求める。

( a.3 cx c /3. a )

z- <del>z</del>	y(z-え)	(ス-え)*	
-5.003	-0.295	25.030	4 - 4(x-\bar{z}) = :-
- 4. 352	- 0.696	18.940	$y = \frac{y(x-\overline{x})}{(x-\overline{x})^2} x + \overline{y}$
- 3.70/	- 1.041	13. 697	,
- 2.724	-1.387	7.420	22
-1.421	- 1.071	2019	$y = \frac{33.604}{164.008} \times + 1.04.5$
- 0.444	- 0.436	0.197	164.008
0.533	0.605	0.284	•
1.184	1.526	1.402	y= 0.20/2 - 0.030
3. /38	5.12/	9.847	
5.092	10.215	25.928	
7.497	20.436	59. 244	
	33.004	164.008	

## · L-Jornythynurenine 3a

formylkymuresine 3a 41.3 mg & 25 mlon \* に溶かす。 (サンプルD)

このサンプルDの中に一定量のサンプルBまだはサンプルとを加え、HPLCを用いてそれぞれの peak

の面積値を基にLで面積比を求める。(Table 31)

Table 31 <sup>30</sup>/10 の重量比と面積比

Run	7>7"10 D (2a) 0.1 ml (1a)	重量比(2)	面積比例
ı	0.05 ml / 727°~A	0 - 204	0.449
2	0.10 ml / サンアルA	0.409	0.897
3	0.20 ml / サンプルA	0 818	1.747
4	0.30 mg / 727% A	1. 226	2.650
5	0.10 ml / 1270 B	1.635	3.632
6	0. 12 ml / 7 > 7 L B	1.962	4.427
7	0.14ml / 727 LB	2 289	4.808
8	0.15 ml / 5>70 B	2.453	5.640
5	0-17~l / ガンプルB	2780	5.988
10	0.18 ml / 727 LB	2.943	6 843
"	0.20 ml/ 7:7"B	3 270	7.212

Run  $1\sim 11$  の x y の値を使い最少=東注で 式を求める.  $\frac{7=2.243x-0.049}{}$  (0.2<x<3.2)

# I) L- Inyptophon 10 を pherphate buffer : 落解して後の PHの変動 PHの変動 F め pH 8 9 に調整した phorphate buffer (15 M Na: HPO: 320ml

子のpH89 に調整したploophate buffic (X5HNa=HPO4320ml-Y5HKH2PO410ml+10%NaOH) 285mlにLtryptophania 1.02g(5mH)を加熱して溶かし室温まで冷却後EtOH15mlを加み、pHメーターを用いてpHを測定するとpH85に下がった。以下同様の方法にてphoophate buffer の濃度及びえの量を変えてpHの変動を測定した結果はTakic 32に示す。

Table 32 Jryptophan 1a & acetate buffer に溶解した後のpHの変動

/3 M KH2PO4 10ml /3 M Na2HPO4 320ml ] PH 9.1 10% NaOH		1a 1.029 , phosphate buffic (285 ml) - ] pH 8.7 ECOH (15 ml)
1 M KH2PO+ 10ml 1 M Na2HPO+ 320ml ] pH 8.9 10% Na OH	<b>→</b>	la 1.029 / Theophate buffer (285ml) - PH8.8 EtOH (15ml)
1/5 M KH2PO4 10 ml 1/5 M Na2HPO4 320 ml pH 9.2	<b>→</b>	La 504 mg / phispiale baffer (285ml) - ] pH 8.8 EtOH (15ml)
"	<del></del>	la 279 mg / phaseinti tuffer (285 ml) - ] pH 9.0 EtOH (15 ml)
10 M KH2PO4 10 ml ] pH84 10 M Na2HPO4 320 xvi ] pH84		1a 505 mg / phesphate graffer (285 ml) - ] pH 8.4 Et OH (15 ml)

# 4. Acetate Suffice 中における tryptephan la の光増態 酸素化反応 (Table 14, Run 3)

L-Jryptophan La 500 mg (2.5 mM) を予めpH 4.6 に調整したacetate fuffer (1/5 M CH3 CO: H 204 ml - 1/5 M CH3 CO: Na 196 ml) 100 mlに加熱下溶解し、室温まで冷却後反応液に移す。この中にacetate fuffer 185 ml, Et OH 15 ml, M.B. P mg (1/100 モル当量)を加え(pH 4.6)、氷冷却下(0~5°C)酸素を通じなから液体フェルター (>550 mm)を透して500 W ハロケンランプで照射する。反応はリマスペクトル、HPLC (Packing Haterial: 3053, Eluent: H2O, Press: 1/10 kg/em², Temp.: v.t.)で追跡

<sup>\*</sup> Herhylene Blue 96 mg (1/50 = 11 当是) E加江 1 PH 日不 变.

L 4時間後近がほぼ完全に消失した為反応を止める(pH 4 7). 反応液の KI starch test 陽性であったので HerS 2 ml を加え、水浴を除き約1時間撹拌する(還元後 pH 4.7)。過剰の HerS , EtoH を滅圧留ま(約10°C)で除き、CHICCLi抽出(50ml×3)後水層は不溶物を口過し、その口液を凍結乾燥で約10mlに濃縮する。これをAmberlite CG-50(4.2cm ¢ 17 cm,溶出液:Ho)で分離すると最初に反応で生成したと思える褐色の色素、次に3a-fydroxypyrrolundole 2a が500ml 得られる。これを20后に希釈しひ定量 (294 nm. 6:2070) すると、OD=0.315になり、収量は335 mg (62%)である。

また 2a の fraction 500 ml の内メスフラスコで25mlを精秤し、凍結乾燥で約1mlに濃縮後、この中へ内部基準物質とするなを含む水溶液(サンプルB)をメスピペットでかるml 加える。 HPLC から 2a/La の面積比を求め、検量線を用いて重量比を算出し、 2a の収率を求めると 19%になる (内部基準法)。

一方 CH2Cl2 抽出によって得られた CH2Cl2 層は芒硝乾燥後 CH2Cl2 を滅圧留去すると緑青色オイルが得られ、この中に TLC (SiO2-CH2Cl2) より 3-fermyl undole の存在が認められた (Table 14, Run 1, 2 の場合).

同様な方法で acetate fuffer中行なった増原酸化の結果はTable 14 (Run 1~7)に示す。

#### 5. Phoophate buffer 中における tryptoghan 10の光増度 酸素化反応(Table 14, Run 9)

L- Jryptophan 20503mg(2.5 mM) を予めpH 7.7に調整したphosphate hiffer (10H KH2PO4 400ml-10 H Naz H PO4 50 ml) 100ml に加熱下溶解し、室温まで冷却後反応容器に移す。この中にphosphate buffer 185 ml, EtOH 15ml, H.B. 9mg (1/1000 モル当量)を加え(pH 7.8)、氷冷却下(0~5°C)酸素を通じながら液体フィルター(フ550 nm)を透して500W ハロアンランプで照射する。反応はHPLC, UVスペットルで追跡し、1時間後にかほぼ完全に消失した為反応を止める(PH 7.7)。以下は10 to the starch test 陽性であった身 MezS 2ml を加え、氷浴を除き約1時間撹拌する(PH 7.7)。過剰の MezS,

EtOHを滅圧留去(約10°C)で除き、CH2Cl: 抽出(50ml×3)後水層は不溶物を口過し、その口液を凍結乾燥で約10mlに濃縮する。これをAmberlite CG-50(4·2cmp×16cm,溶的心臓 で濃縮する。これをAmberlite CG-50(4·2cmp×16cm,溶的心臓 で濃縮する。これをAmberlite CG-50(4·2cmp×16cm,溶的 でま成したと思える砂 色の色素,次に sa-hydroxypyrrolamdola 2a & crude で200ml,更に その後 5-hydroxyformylseynwrencm: 20 の fraction を約700ml得に、 2a の fraction の内 50 ml を凍結乾燥で約5 mlに混縮後 Amberlite CG-50(2·4 cmp×21 cm)で再分離すると 2a の fraction が100 ml得られ、これを4倍布級でリア定量の fraction が100 ml得られ、これを4倍布級でリア定量の 294 mm、と=2070)すると 0D=0.560になり収量は24 mgである・1を全体量に換算すると95 mg(17%)になる・マケッと表表をは100mlを表達により収率を表めると15%になる。

5-Hydroxy formy Chegners nine Ja o fraction は 凍結結乾燥すると淡黄色 powder が 130 mg (21%)得られた。この powder の 結晶化を試みたが成功せずこのままの状態でスペクトルデータを測定し Table 15 に示した。

また反応液のHPLCから痕跡量のformyldynusencia 恐の存在が認められる。更に CH2Cl2 抽出によって得られた CH2Cl2 層からは acetate buffer の時と同様 TLCより 3-formylandous の存在が認められる。

同様な方法で phosphate fuffer中行なった増慰酸化の結果は Table 14 (Run 8~11)に示す。

#### 6. 310 から誘導体350への変換

元 に得られた crude の 5- hydroxy formy lky nurening 30 /30 mg (0.5 mH) を Hr.O 20ml に溶解し CF3 CO1H 1ml 加えて皇温で 2時間撹拌するとリヤスペットルで formy fky nurening 型の吸収 (入間 235, 2615, 345 mm) から ky nurening 型の吸収 (入間 243, 285 sh, 357 mm)への変化が認められた為反応を止める。 10% Na OH を加えて反応液をアルカリ性にした後 CH2 Cla 20 ml と Clack 1ml (12.5 倍モル当量) を加え水冷却下約30分撹拌する・濃塩酸で反応液を酸性にして約30分撹拌する・濃塩酸で反応液を酸性にして約30分撹拌该 CH2 Cla 層を分取し、水層を CH2 Cla 抽出 (30 ml × 2 + 15 ml × 1) して得に CH2 Cla 層と一緒にして水洗 (15 ml × 2), 飽和食塩水での洗浄 (15 ml × 1) を行ない 芒硝乾燥する。 CH2 Cla を減圧留去後残渣を Me OH/Et 20 (人) 20 ml に溶解し約10倍モル当量の CH2 Na を加え宝温

で約30分痕拌する。溶媒を留去後 SiO 2 カラム (5g, CH3 CD2 Et) 及び Prep. TLC (SiO2 - \*\* hexang/CH3 CO2 Et = 1/5) で分離すると 34 a を 34 mg, 35a を 12 mg これごれ TLC (SiO2 - CH3 CO2 Et n-Hixance = 外)からからのに apoctで淡黄色カラメル状物として得た。 34a は更に精製する母なくスペクトルデータを測定し、Table 17 に示しに・ 35a: 2 max 236, 263, 366 nm (NaOH添加:不変), 176 (10c), 146 (46)

# 7. 酸性溶液中での La の増惠酸化(Table 18, Ru 2 n例)

L- Tryptophan La 1.02 g (5mM) & 1/00 NHCl (pH2.1) 100 ml 17 加热 して溶解し、室温まで冷却後160NHCL 185ml, EtOH 15ml, M.B. 18mg (1/20 モル当量) を加え (pH 2.5)、酸素、を通じなから 氷冷却下(か5°C) 液体フィルター ()550m)を透して 500W halogen lamp で照 対する・ HPLC, Uヤスペットルで反応を追跡すると約5 時間で やの消失が認められる(pH25).反応液が KI stavch test 陽性 を示す為 Heis 2 ml を加え至温で約1時間撹拌する(pH2.4), KI starch test 陰性を確認後、週期の MezS, ECOHを滅圧貿気で 除きCH2Cl2 抽 出(50ml×3)する. 不溶物を口過で除いて得 「水層 350 ml 3内 150 ml を精秤し、減圧留立て約10 ml に濃縮後 Amberlite CG-50(42cmp×16cm, 溶出液: H2O) で分離すると Zan fraction N 500ml 得られ 20倍布級で U T 定量 (294mm, E= 2070) すると OD=0.358になり、収量 1J380 mg である- これを全体量に換算すると 888 mg (81%) になる.なおacetric buffer の時と同様 HPLC の内部基準 法にて収率を求めると"98%になる。

5% HCL, 物N ACOH 中での同様な反応の結果はTable 18に示す。

## 8. アルカリ1生水溶液中での Laの 増感 酸化 (Table 18, Run 4の例)

L-Juyptephan La 1.02g (5 mH). 5% Na. CD3 300ml. ETCH 4Dml, R.B sty (%300 モル当量) て内温を約30°Cに伝ちなが前述と同様で方法で反応を行なつ。2 時間で La の消失がリヤスペットル、TLC から認められた寿反応を終え、 KI starch Test かほほ陰性である為 ETOHを滅圧留去後、 CH3 CD1H 10ml を加え Ch1cl. 抽出

(100 ml×2+50 ml×1)を行なってR.B.を除く。不溶物を口過で除いた口液にCF3CO2H2mlを加え、室温で2時間撹拌液凍結乾燥で約20 mlに濃縮し、Dowex50WX-8(3.5 cm x×10 cm,溶出液:0.2N AcONH4)で分離するとcrude fegruremine &a か400 ml得られる。これを30倍布釈でUV定量(360 nm, E=4440)するとOD=0.543になり収量は305 mg(29%)である。なお3a-fydroxy-pyriolaindolに2aの生成はTLCより認められないかん。以外にも3~4個の構造不明のspotが見られる。しかしてれらについては検討していない。

#### 第三章に関する実験

1 DoD中における Ingetoplan の光増感酸素化反応 L- Jayptiphan la 1.02g (5mH) & H2O 100mlに加熱下溶解し 至温まで冷却後 EtOH 15 ml. H1O 185 mg, R15 15 mg (1/300 € ル当量)を加え これを水溶液中での反応のサンプルと する。このサンプル10mlを試験管(2.0 cm p × 14.5 cm)に入 れた試料を2本つくり(A、B) 細いガラス管から酸 素を激しく導入し、氷冷却下 (o~5°c) 液体フィルター( 490 nm (入 < 610 nm )を送して 500 W ハロブンランプで外部殿 射する。

一方水溶液中のサンプルと同じ濃度にする為 1-tayptophan 33.7mg (0.16 mM)に D20 9.5ml を加え、ふにをした容器で おだやかに加温して溶かす。室温まで冷却後 CD3CD 0.5ml, R.B 0.553 mg ( 1/300 モル当量) を加え、これをD20 中で の反応のサンプルとし、水溶液での反応と同じ方法で反 応を行なう。(Aと同じ試験管を使った反応:C, Bと 同じ試験管を使った反応:D)

A, B, C, D は 2~25分ごとに反応液から約50×1 取り HPLC ( Packing Material: 3011-C, Eluent: 0.2 M KH. PO. , Pross: 30~50/g/cm², Temp.: 60°C) を用いて知の減少率を求める (tr=16 min) (Table 33).

反応速度定数(知)の求め方 初濃度: Q md/l , 時間 ての後の濃度: (a-x) md/l  $\frac{dx}{dt} = k_1(a-x) \qquad ln \frac{a}{a-x} = k_1 t$ 

dz = y, t=x として最少二来注で、傾きであるだを求める。

Table 33 <u>L- Tryptiphan la の流が率</u>

		H = D				D 2 O	
	x	面積比	. y		χ	面被比	y
	. 0	1. 0			0	1· D	·
	2.5 分後	88.0			2.5分歧	0.95	: 04
	5 0	0.70	0-11		5· 0	0.93	0.07
	7.5	88 0	0.13		8.0	0.89	0.12
	11 - 5	0.83	0.19		10.D	0.85	0.16
Α	. 12.5	0.80	0.22	С	11.0	0.82	0.195
А	15-0	o. <b>77</b>	0.26	•	13 0	v·80	0.23
	17.5	0.73	c. 31		15.0	0.76	0.27
	20.0	0.71	o 34 .		17.5	0.71	0.34
	22.5	0.66	0.41		20 · 0	0.67	0.40
	25.0	0-63	0.46		22 5	0.64	0 445
	27.5	0.60	0.51		25 D	0.61	0.49
	30.0	0.57	0.56		27.7	0.57	0.56
					30.0	0.52	0.65
	0	1.00	-		0	1.00	-
;	2.5分後	0.97	0.03		2	0.97	t. 0 3
;	5∙0	0.92	80.0		4	0.94	0.06
В	7.5	b.87	0:14		6	0.91	0.09
	10 · O	0.84	0.17	D	8	0.86	0.16
	12.5	0.78	0.24		10	0.83	0.19
	15.0	c.76	D · 28		12	0.78	t.24
	17.5	0.72	0.33		14	D 76	6.28
	20.0	c-67	0.40		16		0 33
					18	0.68	0.38

A:  $k_1 = 3.1 \times 10^{-4}$ 

B: k, = 3.3 × 10-4

 $C: k_1 = 3.5 \times 10^{-4}$ 

D: &, = 3.6 x 10-4

#### 2 DABCO存在下級の增限酸化

#### 第四章に関する実験の部

# 1. Oxytryptamine 36 の MeOH 溶液中での安定性

Dxytryptamine·HCl 807.5 mg (3.8 mM)に 20% NaOH 30 ml を加え、すはやく CH2Cl2 抽出 (200 ml x 1 + 100 ml x 2)を行ない CH2Cl2 層を水洗 (50 ml x 2), 飽和食塩水 (50 ml x 1)で洗浄し、芒硝乾燥後 CH2Cl2 を減圧留去すると free base の 36を無色 caramel として 218 mg 得下。 36の free base の NMR: SCDCl3 2.08 (2H, &, J=7Hz, CH2), 2.50~3.03 (2H, m, CH2N), 3.39~3.68 (1H, m, CHCO), 6.64~7.40 (4H, m, Arom H); UV:入版max 250, 280 sh nm 于ree base の 36を MeOH 30 ml に溶解し、室温で 1 時間推

撹する。この反応液をCH2Cl2 20ml中に加え、氷冷却後 2N NaOH 12.4 ml(76 mM)と CH2 Cl2 10 ml に溶解した CLCO2 CH2 1.9 ml(76 mM)をすばやくこの中に同時滴下し、滴下終了 後約50分撹拌する。減圧留去により有機溶媒の大部分を 留去後、 CH2Cl2 抽出 (100 ml×1+50 ml×2) し、 CH2Cl2 層 を水 洗(40ml×2),飽和食塩水(40ml×1)で洗浄する。芒硝皂 爆後 CH2 Cl2 を減圧留去すると45 が solidとして 271 mg(fue base の 36からの収率 94%) 得られる· acetone-n-hexaneか ら再結晶すると mp. 127~128℃の微針状晶を得る. Anal. Calcd. for C12 H14 O3 N2: C, 61.52; H, 6.02; N, 11.96. Found: C, 61.55; H, 6.01; N, 11.89. Sppm (CDCL3, 60°C) 1.83~2.44 (2H, m, CH<sub>2</sub>),  $3.12 \sim 3.90 (3H, m, CH<sub>2</sub>N, COCH)$ , 3.60 (3H, s, CO2 CH3), 5-31 (1H, br. S, NH), 6.72 ~ 7.48 (4H, m, Arom H), 8.96 (1H, br.S, ArNH); Sppm (DMSO-d6) 1.60~2.32 (2H, m, CH2), 3.16 (2H, g, J=6Hz, CH2N, D2O 流力 で 3.08 (2H, t, J=7Hz) に変化する。), 3.40(IH,t,J=6Hz,COCH), 3.53(3H,S,CO2CH3), 6.60~7.48(5H, m, AromH, NH, D20添加で 4Hに変化する。), 10.36 (1H,S, Ar-NH); X max (E) nm : 250 (8510), 280 sh (1400); "/z (%): 234 (M+, 30), 206 (60), 146 (100); U max cm-1: 3385 ( NH), 1715, 1703 (C=0), 1540 (CONH); HPLC: tr = 11.6 min ( Packing Material: Nucleosil 5C-18, Eluent: H29/MeOH = 1/1, Press: 110 kg/cm2, Dect.: 254 nm, Temp.: r.t.) 3.6の free base を MeOH中 24時間室温で撹拌後同様の後処

理をすると45が63%得られる。

#### 2. Oxytuyptimini 36 のアルカリ溶液中における 空気酸化(Table 19, Run 6 の例)

Dxytryptamine·HCl 304 mg (1.4 mM)を無水 EtOH 15 ml に 溶解し、一酸素気流下 10% NaOEt-EtOH 9.6g(10 倍モル当量) を加えて、室温で 15分撹拌する。この反応液 C CLCO2 CH3 2.2 ml(20倍も儿当量)をCH2Cl2 10 ml に溶かした溶液とを CH2Cl2 100 mi- H2O 10 ml の中へすばやく同時滴下し、滴下 終了後氷冷却下約30分撹拌する。 減圧留去により有機溶 媒の大部分を留去後 CH2Cl2 抽出(100 ml×1+50 ml×2)し. CHi:Cl2層を水洗(20ml×2), 飽和食塩水(20ml×1)で洗浄する 、芒硝乾燥後CH2Cl2を減圧留去すると黄色 Solid を 314 mg 得 る。この中にケ量の CH2Cl2 を加え、CH2Cl2 に不溶なものとし て 4.8 を 白 色 powder と して 89 mg (21%, mp. 200~201°C) 得た。 口 液をSiO2カラム(IDq, CH2Cl2~ CH2Cl2/acetone=1/1)及び Prep.TLC (SiOz - CH2Cl2/acetone = 3/1)で分解すると打aが淡黄 caramel 状物として 4mg (1%), 47b が淡黄色 caramel 状物として 69 mg (17%), 48 が 白色 solid として 38 mg (9%) 得られ に. 47a は TLC (5i02- CH2Cl2/acetone = 3/1), UVスペクトル が標品と一致し、47bはbenzene-n-hexaneから再結晶す るとmp.100.5~101.5°C の無色針状晶を得、これは4.7aを CLCO2CH3 と反応させて得た標品とIRスペクトル、UV スペットル、TLC、mmp.が一致した。48はacetoneから再 結晶すると mp. 202~3°C の無色鱗片状晶が得られた。 47 b: Anal. Calcd. for C13 H16 O3 N2: C, 55.71; H, 5.75; N, 10.00. Found : C. 55.68; H. 5.73; N. 9.86. \(\lambda\_{\text{max}}^{\text{EtoH}}(\epsilon)\_{\text{nm}}: 226(32400), 230 (32900), 256 (10800), 262-5 (10000), 328 (4630); D max (E) cm<sup>-1</sup>: 3430, 3260 (NH), 1760, 1738, 1655 (CO), 1535 (NHCO); σ CDCl3 : 3.25 (2H, t, J=5 Hz, CH2 CD), 3.54 (2H, t, J=6 Hz, CH2N), 3.64 , 3.77 (  $3H \times 2$  ,  $2 \times S$  ,  $2 \times CO_2$   $CH_3$  ) , 5.30 (1H, br.S , NHCO ) , 7.03 (IH, t, J=8Hz, Arom H), 7.52 (IH, t, J=8Hz, Arom H), 7.84 (IH, d, J=8Hz. Arom H), 8.44 (IH, d, J=8Hz. Arom H), 11.11 (IH, br. 5, Ar- NH); 1/2 (%): 280 (M+, 14), 262 (12), 147 (16), 146 (100),

120 (6)

50: Anal. Calcd. for C14H18OsN2: C,57.13; H, 6.17; N,9.52. Found: C,57.12; H,6.12; N,9.49. V max: 3260 (NH),1728,1692 (CO),1555 (NHCO),1050 cm<sup>-1</sup>; 入 max (E) nm: 238 (13300),280 (1640),288 sh (1470); n/z (%): 294 (M<sup>+</sup>,3),248 (3),250 (11),146 (100); Sppm - de: 1.09 (3H, t,J·7Hz, CH3 CH2O),2.04~2.34 (2H, m, CH2CH2N),2.84~3.16 (2H, m, CH2CH2N),3.16 ~3.70 (2H, m, CH3CH2O),3.50 (3H,S,CO2CH3),6.78~7.44 (5H, m, Arom H, NH),10.35 (1H, s, Ar-NH).同様 写方 法で行 写,后他の条件での結果はTable 19に示す。

## 3. <u>48 のアルカリ性溶液中での安定性</u>

根 103 mg (0.4 mg) を EtOH 5 ml に懸濁させた中に IM Na OH 3.5 ml (3.5 mM) を加え、酸素気流下室温で1時間撹拌する。反応液を CH2 Cl2 抽出 (50 ml×1+25 ml×2)し、CH2 Cl2層を水洗 (20 ml×2), 飽和食塩水 (20 ml×1)で洗浄する。芒硝乾燥後 CH2 Cl2を減圧留去すると、48 が白色 solidで 81 mg (78%)得られる。これを acetoneから再結晶するとmp. 202℃の無色鱗片状晶が得られ、IRスペフトル、UVスペフトル、TLC が標品と一致した。

#### 4. 48のアシル化反応中における安定性

48 89 mg (0.3 mM) を無水 EtOH 15 ml に懸濁させた中に 10% Na DEt-Et OH 9.6 g (14 mM) を加え、この溶液と Cl CO2 CH3 2.2 ml (28 mM) を CH2 Cl2 10 ml に溶解した溶液とを CH2 Cl2 100 ml-H2 O 10 ml の中にすばやく同時滴下する。滴下終了後氷冷却下約30分撹拌し、有機溶媒の大部分を減圧留去後 CH2 Cl2 抽出 (100 ml×1+50 ml×2)を行なう。 CH2 Cl2 層を水洗 (30 ml×2), 飽和 食塩水 (30 ml×1) で洗浄し、芒硝乾燥後 CH2 Cl2を減圧留去すると 48を白色 powder で 81 mg (91%, mp·200~201°c) 得た。これは 1 R スペクトル, U V スペクトル, TLC が標品と一致した。

#### 5. Oxytyptoplan 29の合成 i) DM SO - HCL によら方法

L- Tryptophan La 20.49 (0.1 mM) 15 CH3 CO2H 150 ml, DMSO 11.7g(1.5 倍 モル当量), 36% HCl 15.2 g(1.5 倍 モル当量)を 皇温にて加えると、 tryptopnan は一旦溶けるが、直ちに 結晶が折出し、反応液はかい状となる。内温 70~90°Cで 加热し、結晶が溶解後20分で反応を終了する。なお反応 の進行はUVスペクトルで追跡し、indoleの吸収(2max 229, 272 sh, 279, 288 nm) から oxinidace の吸収 (入max 251, 279 Sh nm)への変化か見られる。減圧留去により生成し た Me2S を 降 去 後、 反 応 液 を Ambelite CG-400 (ンド CH3 CDz̄ form: 4.7cmp × 36 cm) のカラムにのせ、溶出液としてH20 を用い分離する。 UVスペクトルから oximdole 型の吸収 を示す fraction を集め(約600ml)これを減圧留去で約 200 ml に濃縮後 CH2 Cl2 抽出(50ml×1+20ml×2)を行なう ・得られた水層を滅圧留去で濃縮していくと、29が powder として祈出してくる。これを口取すると 16.65g得られる . (mp. 245.5~246.5°c (dec.)) 母液を再び Amberlite CG-400 ( acetate form: 2.5 cmp ×17 cm, 溶出液: H2O)を用いて分 離し、得られた oxindole型のfaction を前述と同樣濃縮 していくと powder が 3.59g(mp. 242.5~244°c (dec.))得ら れる。計 20-24g(92%) これを H2O から再結晶すると mp. 252~253°c (dec.)(60°c でBOs存在下 減丘 5 時 間 乾燥)(2つの diasterecisomer の混合物)を示す無色プリズム晶が得られ。

b. (lit. mp. 248~249°C (dec.), mp. 244~245°C (dec.) が mp. 256°C (dec.) が mp. 256°C (dec.) が mp. 256°C (dec.) が mp. 248~250°C (dec.) が mp. 246~247°C (dec.) が mp. 250~252°C (dec.) が mp. 249~253°C (dec.) ); δ ppm : 2.03~2.68 (2H, m, 250~252°C (dec.) が mp. 249~253°C (dec.) ); δ ppm : 2.03~2.68 (2H, m, 250~252°C (dec.) ); δ ppm : 2.03~2.68 (2H, m, 250°  $C_3-H$ ), 3.99 (0.4H, t, J=5Hz,  $C_2-H$ ), 4.13 (0.6H, t, J=5Hz,  $C_2-H$ ), 6.75~7.42 (4H, m, Arom H),  $\delta_{ppm}^{5\%}$  CF3 CO2H-D20: 2.06 ~ 2.89 (2H, m, C3-H), 4.43 (0.4H, t, J=7Hz, C2-H), 4.52 (0.6H, t, J=7Hz, C2-H), 6.88~7.56 (4H, m, Arom H) (β-位のメチンプロトンは観 則さればい。) (lit. Sppm 4.48(t,J=7.DHz, C2-H), 4.60 (t, J=6.5 Hz, C2-H), 7.10~ 7.60 (m, Arom H), & ppm 2.62 (m, C3-H), 4.61 (g, C2-H), 7.03~ 7.61 (4H, m, Arom H).); m/z (%): 220 (M<sup>1</sup>, IT), I47(21), I46(100), I33(23), I32(18), I30(16) 128 (25) (lit. strong peak -- 147, 146 (100), 133, 132, 130, 128, medium peak --- 158, 157, 145, 129, weak peak --- 220 (Mr), 175, 174, 156, 134,131); V max cm-1: 2930 br, 1695, 1685, 1648, 1590, 1508, 1490, \*加熱して溶解させる。

|475, 1398, 1354, 1333, 1245 (lit. 16e) 3000, 1648, 1621, 1600, 1584, 1495, 1482, 1468, 1400, 1346, 1200, 1140 cmi); 入 H20 (c)nm: 251 (6830), 279sh (1480) (lit. 入 max (e)nm: 250 (7250)); HPLC: tR = 12.5, 13.6 min (この条件では diasteresismen は 分解できない。); TLC (5102-n-Buoh: CH2 (02H: H2O = 4:1:2) Rf: 0.6

ii) 3a-Hydroxypyhridsindolc 2aの酸加水分解による方法 L-Jup Tophan La 102g (5 mM) の増感酸化及び還元で得られた crude 3a-hydroxypyhrolsindolc 2a (cis, transの混合物) 約1.2gに IN HCl 20 ml を加え、窒素気流で撹拌下加熱(外温 80~90°C)する。 UVスペットルで反応を追跡し、45分で反応を終える(2aの入max 237, 294 mm の吸収から exindole 2の吸収へと変化する。).反応液を Amberlite CG-400 (acetate form, 2.9 cm x 26 cm, 溶出液:H20)で分離すると、目的の oxy Typ Tophan 29aの fraction が 約 200 ml 得られる。連結乾燥及び減圧留去によって H20を留去すると淡褐色 powderを 836 mg 得に(Laより76%, TLCは one apot 及び HPLCは diastereoisonerの なの peak)。H20から再結晶を行うと 623 mg (56%)の淡黄色 powder (mp. 244~245°C (dec.))が得られ、これは DMSO-HCl による方法で得に標品と IR スペットル、UVスペットル、HPLC、TLC, mp., mmp. が一致した・

#### 6. L- Oxytryptophan 29a のアルカリ性 水溶液中における 酸素酸化

i) A法(Table 19, Run3の切り

L- Oxytryptophan 29a 226 mg (1.0 mM) を加熱下 H20 10 ml に溶かす。水溶液が室温まで冷却後 H20 (他の MeOH-H20 を溶媒とする場合は MeOH) 20 ml, 10% Na OH 4.1 ml (10倍 モル当量)を加え、酸素気流下室温で撹拌する。 UVスペクトル、HPLC より約20分で29a の消失か認められた為反応を終了し、KI starch test 陽性であるので5% Mez S-CH3 CO2 H 約10 ml を加え、約10分撹拌する。 KI starch test 陰性を確認後(反応液:酸性)過剰のMez Sを減圧留去し、凍結乾燥で反応液を約5 mlに濃縮後(溶媒が MeOH-H20 の場合には減圧留去で MeOH を留去し、凍結乾燥による濃縮は必要ない。) Amberlite CG-50 (4.2 cm \* 9 cm, 溶出液:

HOOに分離すると最初に dioxytryptophan 66aと少量の hynurinin Ea & & Li fraction (1) E. III kynurinini Ea O fraction (II) を得下。 Fraction (I) 約 200 mg を凍結乾燥で約 5 mlに濃縮し、Amberlite CG-50(3.8 cm p x 22 cm , 溶出液: H2O)て再分離を行なうと 66aの fraction が約 500ml, Eaの fraction か約700ml得られた。66aのfractionは凍結乾燥 で H2D を留去すると 103 mg (43%) の 白色 powder を得る. これは後述する処aの標品とUVスペフトル,IRスペ 1トル、HPLC、TLC が一致する。 - 方 Lynurenine La の fraction (II) は 1000 mlに精秤し、4倍 布积でUV定量(360 nm:ε=4440)するとOD=0.200にな 1). 収量は38 mg (17.5%) になる。また fraction (I) から得 られた baの fraction も同様に1000ml に精秤し、1倍布 駅でUV定量するとOD=0.209になり、収量は10mg(4.6%) である。よって計 48 mg(22%)になる。 それぞれ気の fraction はまとめて凍結乾燥で H2O を留去す ろと黄色 powder (mp. 161.5~164°C (dec.))が得られ、これは 後述する L-tryptophun La の 03 酸化で得た標品とIRス ペクトル、UVスペクトル、TLC、呈色反応、HPLC が - 致した。

ii) B法(Table 19,Run11の例)

L-Oxytryptophan 29 a 221 mg (1.0 mM) を加熱下 H20 10 ml に溶かし、室温まで冷却後 MeOH 20 ml , 10% Na OH 4.1 ml (10 倍モル当量)を加え.酸素気流下内温 50~60°C で 撹 抖する。UVスペクトル、HPLCで反応を追跡し、20分後には既に 29aが消失していた為反応を終える(KI starch test 陰性). 減圧留去でMeOHを除いた後 Amberlite CG-50(2.9 cm Øx11 cm, 溶出液:H2O)で分離するとdioxytryptoplan 66a o fraction と kymerenine 6a o fraction を 得に、662は痕跡量であり、6a or fraction は 1350 mlに 精秤し10倍命釈でリV定量(360 nm, E= 4440)すると OD=0.201になり、収量は 127 mg (61%)である。これは標 品とUVスペクトル、TLC , 星色反応,HPLC かっ致し Ti.

iii) <u>B法(Table 19, Run 1 の例)</u>

L-Oxytryptephan 29a 128 mg (0.6 mM) を加熱下 H20 10ml に溶解し、室温まで冷却後 H2O 10 mlを追加し、室温で撹 抖する。 145 時間で撹拌を終え、減圧留去で反応液を濃 縮すると 29aを78 mg (61%) 淡黄色 powder ( mp. 245~ 247°c (dec.)) として回収できる。母液を100ml に精秤し . 1倍希釈で Rynurenine &a のUV定量を行なうとOD= 0.577 になり収量は3mg (2%) である。母液のHPLCより 29a, Ea以外にdioxytryptophan 66aか diastersisomerの混合物として2%程度認められる。

7. L-Dioxytryptophan 66a の会成

L-Oxytryptophan 29a 2.28g (10mM) を加熱下 H2O 50mlに落 解し、室温まで冷却後 H2O 50ml , 10% NaOH 41.5ml(10倍 モル当量)を加え、酸素気流下室温で撹拌する。HPLC から 60分で 29aの消失が認められた為反応を終え(KI starch test 陽性). 5% MezS-CH3CD2H 約 20 ml を加えて 約10分撹拌する(KI starch test 陰性).減圧留去で過剰 の MezSを留去し、凍結乾燥で約20 ml に濃縮後 Amberlite CG-50(5.9 cmp×11.5 cm, 溶出液: H2O)で分離すると dioxytryptophan 66 a or fraction (1), kyrurenine 6 a or fraction "66aと Ea の混じった fraction (II)に分かれる。 Fraction (II) 1] Amberlite CG-50 (3.7 cm \* 35 cm, 溶出液: H2O)で再分離し、 Qaと 66aとに分ける。 66aの paction をまとめ凍結乾燥によって溶媒を留去すると 1.855g( 76%)の66aを得る。これをH2O約20mlに溶解し、減 圧留去で約5mに濃縮し室温に放置すると難溶性の異性 体が微針状晶として約300mg (mp.226~227°C(dec.))得ら れる。その母液を同様の操作で再結晶を繰り返す(立体 異性体の混合物として析出する.)とH2Oからでは結晶が 析出しなくなる為、EtOH-H2Oの混合溶媒で再結晶すると 易溶性の異性体が微針状晶で約50 mg (mp. 205°C (dec.))得ら れる。(それぞれの異性体の確認はHPLCで行なう。 Packing Material: Nucleosil 5C-18, Eluent: H20/MeoH = 9/1, Press: 110 kg/cm², Detect.: 254 nm, Temp.: r.t.) 難溶性の異性体の 結晶(約300 mg)をH2Oから再結晶を練り返すと mp.229.5

~ 230°C (dec.) の総品が得られる。また易溶性の異性体の結晶(約50 mg)をECOH-H2O から再結晶を繰り返すと mp. 206.5~207.5°C (dec.) の純品が得られる。それぞれのスペクトルデータはTable 20に示す。なお Lynuxuning &a は前述同様UV定量によって収率を求めると 222 mg (10%) になる。

8. L- Tryptopian la の 03 酸化による kynurchine 6aの合成 L- Tryptophan la 1.02g(5mM)をH2O100mlに加熱して溶 解し、皇温で冷却後 H2O 100 ml, EtOH 30 mlを加える。氷冷 却下(内温 0~5°C)オゾン発生装置から発した 03 を反応 液に導入し、撹拌する。UVスペクトルから約10分でしぬ の消失が認められたので氷浴を除き、 反応液の KI starch test が陽性である為 Me2S 3 ml 加え. 約30分撹拌する。 KI starch test 陰性を確認後、 CF3 CO2H 7 mlを反応液に加 えて室温で約1.5時間撹拌すると、UVスペフトルから formylkynuiening 30の吸收 (入 H2O 231, 261, 320 nm)から Lynurening 6aの吸收 (入 max 227, 258, 360 nm) への変化が 見られたので反応を終え、 2N NaOH で中和後、EtOH,過 刺の HezSを滅圧留去で除く。これを Amberlite CG-50( 3.8 cm p × 34 cm , 溶出液: H2O)で分離するとUVスペクト ルより 6g の fraction が約 2000 ml 得られ、これを凍結乾燥 すると 620 mg ( Laか ら 60% の収率) の黄色 powder が得ら れた。これをH2Oから再結晶を試みたが成功せず、この powderのスペクトルデータを以下記載する。 mp. 167~ 168.5°C (dec.) TLC (SiD2 - 7-ProH/H20 = 7/3): Rf 0.65, Ehrlich 試薬:黄褐色, Ninhydrin試築:紫色, Diazo colour test: 赤紫色, Umax cm-1: 3500,3340,1615,1490,1452,1395, 1345, 1214, 1165, 748;  $\lambda_{\text{max}}^{\text{H2O}}$  (E) nm : 226-5(22700), 257-5( 7310), 360 (4440); HPLC: tR = 16 min (Packing Material: 3011-C, Eluent: 0.5 MKH2PO4, Press: 20~30 kg/cm2, Dectct.: 254 nm, Temp.: 60°C) tR = 8.6 min ( Packing Material: Nucleosil 5C-18, Eluent: H20/MeoH = 3/1, Press: 110~120 kg/cm2, Detect .: 254 nm, Temp.: r.t.)

# 9. <u>Dioxytryptoplan 66aのアルカリ性水溶液中での反応</u>

<sup>\*</sup> 市販のDL- Rynuresuine を用いて測定.

# 第五章に関する実験の部

# I. 3- (0-aminophenyl)-2-pyrrolidons の生成

1. Pyrrolidone 39 の単高t

Oxytryptamine 36 塩酸塩 302mg (1-4mM) に EtOH 40m. を加 え、十分脱気してアルコン置換する。その中に IC% Na DEt - EtOH 9.6g(10 倍モル当量)を加え、外温約 100℃ て9時 間加熱還流する。 友応溶媒を減圧留去後 H2D 50 ml を加え CH2 Cl2 抽出(100 ml×1+50 ml×2)し、CH2 Cl2層の水流(30 ml ×2),飽和食塩水(30mi×1)での洗浄を行ない芒研乾燥す る。CH2Cliを減圧留去するとpynolidone 39 が無色カラ、ル 状物として 103 mg (39%) 得られた。これは TLC (Al=O=-CH2CL2/MEOH=19/),UVスペットルより目的物型のみであり、 Genzieneから再結晶するとmp.120°Cの無色プリスム晶が得られた。これは既に報告している標品とIRスペフトル, UVスペクトル, TLC が一致した。

# Oxytry ptamine 36 から pyrrolidone 39 への変換条件 n検討 ( Fig. 19, 溶媒: Me DH, Na OH: 2 倍モル当型 力例)

Drytryptamine 36 塩酸塩 160 mg (0.75 mH) & Hid 30ml に溶解し、十分脱気してアルゴン 置換する。 その中に 10% NaOH 0.6ml(2倍モル当量)を加え、外温/00~1/10°Cで 加熱還流する。経時変化は HPLC を用い以下の処理を行 なったサンプルを使ってpyrosidone 39の生成で退跡する . 即ち反応液 4mlに CH2Cl2(20ml)- H2O(15ml)を加え抽出 を行なう。 CH2Cle層を分取し 芒硝 5g を加え約10分転線 後、滅圧留去で CHiCleを留去する。得られた残渣を SHEOH Ind に溶解し、これを pyriolidas 乳を含むサンプルとする ·この中に内部基準物質とするNb-methoxycarbonyfe tryjty/sex 87 を一定量加え、HPLCを用いて、39とむのpeakの面放比を 求め、検量線を使って収率を求める

原料の悠としての回収量は反応終了後(5時間後)反 応 15 mlに HzO (40 ml) - CHzClz (60 ml)を加え抽出し、HzC 層を 分取してそれをClcoz CH3(2ml)を含む CH2Cl. (20ml)の中に 加え室温で約1時間撹拌する。 chidi局を分取し H20局

をCHzCl: 抽出(5D mex1)して得たCHzClz層と一緒にしても研乾燥する。このCHzClzを滅圧留去すると無己力で、しとして48mg 得る。これはTLC、UVスペクトル、HPLCが標品の45と一致し、全体量の収率に換算すると72%になる。

これらの結果は Fig. 19,20にホレル・

3. 3-(6-aminophing) )-2- Fyzicidow 30 の定量法 (検量線下成) 元素分析済みの pyziolidow 30 11.5 mgを CH30H 25 mc に溶解し、0.2 ml をメスセペットで精秤する。この中に内部基準物質とするひ 13.0 mg を CH30H 25 ml に溶解させた試料を 0.4 ml メスセペットで精秤して加える。 HPLC を用いてこの混合物のでれこれの peakの面積から比(型)を)を求める。以下同様な方法で各々の重量比(型)の)に対する面積比を求める。 (Table 34) これらの値から最小二条法により次の式が得られた。

#### y (面積比) = 0.499 x (重比) + 0.062

Table 34 39/87 の重量比と面積比

z	0.44	0.89	1.33	1.77	2.21	2.65	3.10	3.54	3.98	4.42	5.31
y	0.262	0.490	0.783	0.908	1.150	1.321	1.712	1.782	2.15/	2. 235	2670

HPLC

Packing Haterial: 3053

39: tr = 5.5 min

Eluent: H20/MeOH= 1/

37: tr = 25 mm

Press : 100 kg/cm2

Temp. : Y.T.

Detect.: 254 nm

4. pysishidone 誘導体型としての単離

Oxytryptamine 36 塩酸塩 355 mg (1.7 mH) を H2O 60 me に溶解し T分脱氧してアルコン置挟する・10% NaOH 1.4 ml (2倍モル当量)を加え外温130°C で加熱還流を5時間行なう。反応液が至温まで冷却後、10% NaOH 5.3 ml + H2O 30 ml + CH2Cl 150 ml の中に CHCl 10 ml に溶解した Cl CO2 CH3 1.3

ml(10倍も儿当量)と友応液とを同時滴下し、窒素気流 中氷冷却下約1時間撹拌する.分取したCH2Cl2層とhD層 (I)をCH2Cl2抽出(50ml×1+20ml×2)して得たCH2Cl2 戸と を一緒にして水洗(40ml×2),飽和食塩水での洗浄(40ml ×1)を行ない Hg SO4 で乾燥する。 CH2 U2 を減圧留去する と淡黄色カラメル次か26月xg 得られた。これをSiOzカラ ム(25g, 溶出液:CH3 CQ ET)で分離すると双を白色 Solid と して158 mg , 55 を無色カラメル状として58 mg 得る他に、 Fr.1 として淡黄色カラメル波物が25岁得られた。この Fr.1 を Bep. TLC (SiOs-CH3COzET)で再分離すると切るが無色 カラメル状物として 12岁得られた。 一方 H2O層(I)(アルカリ性)に塩酸を加え酸性にした後 CH2CL2 抽出(20ml×3)し、芒硝乾烧後 CH2Cl2 を滅圧留去 すると淡黄色カラメル状物を61mg得る。これをSi O2カラ ム(5g,CH3 CDIET)で分離すると窓を無色カラメル求物と して18mg得られる他にFi.2を淡黄色カラメル次物として 36 mg得る. これを Prep. TLC (SiDz-CH3 CD2 Et) で再分離する と 45 か 3 mg, 红a か 9 mg, 78 m 12 mg 得られた。計切 158 mg ( 40%), 45 61 mg (16%), 47 a 21 mg (2%), 78 30 mg (6%) 双は bengene - no fexance から再結晶を行なうと無色プリズ ム晶(mp. 145.5~146 C)が140 mg 得られた。 スペフトルテータ は Table 22 に示す。好は TLC, UVスペクトル, HPLC か標品と一致する、虹丸は TLC、 Uマスペクトルが標品 と一致する。18: LetoH 231, 263 Sh nm, V max 3310 br, 1700 br 1530 cm-1, 1/2 (%) 311 (M+1, 7), 310 (M\*, 13), 260 (53), 204 ( 93), 172(67), 146(100), 144(82) 132(66), 131(50), 130(80). 117 (66), 88 (64), 5 cDC23 1.65~2.58 (2H, m, CH2), 2.84~3.30 ( 2H, m, CH2N), 3.62, 3.77 (6H, two S, COOCH3), 3.86 (1H, t J=7H2 CHCO), 5.04 (1H, br.S. NHCO), 6.96~8.10 (6H, m, Arone H, Ar-NH, COOH) (DD) 添加 すると 6.96~ 7.60 (4H, m, Arom H) に変化 する.)

# II. 3-(0-aminophingl)-2-pyriolidori carboxylic acid の早間

1. Na 塩 (&á) としての単離

2. N- methoxy carbonyl - methyl ester 85a としての単離

L- Orytryptopkan 28a1.20g(5.5 mH) を加熱下 H2O 80ml に溶解する. 十分に脱気をしてアルゴン置換した後10%NaOH と2ml (1.0 ml ) を加え、外温130°Cで 1.)の時と同様に 9.5 時間加熱還流する. 反応終了後反応液を水で冷却し、10%NaOH 4.4 ml (2 倍モル当量), Clcoz CH=1/3 ml (3 倍モル当量)を順に加え、アルゴン雰囲下内温のからで次割し、10%NaOH 4.4 ml (2 倍モルリーン 次の1 とりに 10% NaOH 4.4 ml (2 倍モルリーン 次の1 とりに 10% NaOH 4.4 ml (2 倍モルリーン 次の1 とりに 10% 10 に 10% 10% 10 に 10% 10 に

<sup>\*</sup> HClで酸性にすると元のoxytryptoplan29に戻ってしまう.

なる様にして集め 試験管を2本ずつまとめて東結駐標で 溶媒を留去する。 50% CH3 COIH 溶出部に CH2 Cl.15可溶な淡黄 色カラメル次が存在し、これをまとめると、1.528を得る ·これをHeOH/Ec2O(Y)40ml に溶解し、過刺のCH2/liを含 む EtaO を加え宣温で約10分撹拌すると TLC (SiDz - CHill /autone = 3/1)より原料消失が認められたので反応を終え、減圧 留去で溶媒を留去する。 得られた残渣を SiO2 カラム (40g, CH.Cl./acetone=3/)で分離すると目的とするだるのにこの polar womer 成無色力ラメル状として 584 mg, more prac women が無色 solid として 623 mg, 及びるれらの混合物を 86 mg得下。混合物は SiO2 カラム, acetone-n-hevane による 分別再結晶で分離すると less polar isomer か計 626 mg (40 %), more polar isomer or計 667 mg (mp. 1/3~122°C) 得られた more polar isomer 12 acetone - n-hera : (mp. 124 ~ 126°C) = [= (] CH2Cl2-n-hexase (mp. 148~149°c)から再結晶でき 無色微針 准晶を得る. しかし吸湿性である為元素分析はできなか った。それらのスペフトルデータ·は Table 24に示す。

3. N- benzyloxycarbonyl - methyl ester 86aとしての単離

L- Dxytyptoplan 29a 1.1g (5.0mH) を加熱下 H2O 80ml に溶解する. 十分に脱気をしてアルゴン置換した後 20% 1.0ml() 倍モル当量)を加え、外温 /20~/30°C で 1)の時と同様に 9.5 時間加熱還流する。反応終了後反応液を室温まで冷 却し20% Na OH 2.0 ml (2倍もル当量),共溶媒として用いる THF (10ml)に溶解させにCbz-Cl 2.15ml(3信も心当量) を順に加え、アルコン雰囲気下撹拌する。反応液は白濁 しているけれど約25分後シアン teat か陰性になり 反応を 終える。反応液はAmberlite CG-400 (水のHの form, 2.9cm x · 28cm) に付着させ H2O を十分流して Nat を除いに後 50% CH3 CO2H で溶させ得られた faction を凍結乾燥で溶媒を留去すると CH2Cla に打容な淡黄色カラメル状を1.88g 得る。 の NeOH /Et:O (火) 40ml 溶液に過剰の CH2Nz を加え約 10分痕 拌し 溶媒を減圧留去して得られる残渣をSiOzカラム(

<sup>\*</sup> 検出方法 パない 為この方法を用いる。

20g, chicli/aceTone = 3/) て分離すると目的の 86a か立体具 性体の混合物として淡黄色カラ×ルボで1561g(34%) 得る。この異性体はSiO2カラム(CHaCli/ChaCS)を当人)また 13 active - n. hexaneによる分別再結晶で分離できる。この 分別再結晶で最初に難溶性の異性体が微針状晶(mp. 161~ 162°C) c して得られ、その母液から易溶性の異性添か無 色板冰晶 (mp. 136.5~137°C) として得られる。 more paran isomum :  $CD(c.5.31 \times 10^{-4}, CH_3OH)$  [8]  $(nm) + 1.6 \times 10^{-4} (216), -2.8 \times 10^{-4} (237)$ ORD (C=5.31×104, CH30H) [1] (mm) +4.5×104(221), -1.1×104(249), HPLC: tr = 3.3 min ( Packing Haterial : Nucleosil SC-18, Eluent : His/Hech = 1/9, Press: 100 ~ 110 kg/cm2, Detect.: 254 nm, Temp.: r.t.) less polar isomer: CD (C=5.25 × 10 4, CH3 OH) [B] (nm) + 3.1 × 104 ( 233), ORD (C= 5.25 × 10-4, CH3OH) [\$] (nm) + 1.9 × 104 (249), HPLC: tr = 3.3 min ( Packing Material : Nucleosil sc -18, Eluent : H20/HCOH = 1/9. Press: 100~110 F3/cm2, Detect: 254nm, Temp:: r.t.) その他の スペフトルデータは Table 25、Fig. 22,23 に示す。

#### 謝辞

本研究に際し、終始御指導、御鞭撻を賜わりました日野亨教授、中川昌子助教授に心から御礼申し上げます。

また有益な御助言、御討論をして頂きました

谷口幹雄博士に深く感謝いたします。

酵素系への取り込み実験の検討を行なって下さいました京都大学医学部早石修教授に深謝致します。

発光スペクトルの測定の検討を行なって下さい ました北海道大学金岡祐一教授および畑中保丸博士に深謝致します。

また元素分析,NMR および Mass スペクトルを 測定して頂きました本学分析センターの倉持忠雄, 関宏子,中島純子氏に感謝致します。

#### 参考文献

- 1) a) O. Hayaishi, Dxygenase ed. by O. Hayaishi, Academic Press, New York, N.Y., (1962)
  - b) O. Hayaishi, and M. Nozaki, Science, 164, 398 (1969)
  - c) O. Hayaishi, "The Robert A. Welch Foundation Conferences on Chemical Research, XV. Bio-Organic Chemistry and Mechanism," Houston, Texas (1971)
  - d) 早石修, 野崎光洋,"酸素添加酵素"東大出版会(1973)
  - e) 中川昌子, 有合化, 31, 375 (1973)
  - f) D. Hayaishi, Molecular Mechanism of Oxygen Activation, ed. by O. Hayaishi, Academic Press, New York, N.Y. (1974)
  - 2) a) Y. Kotake, and J. Iwao, Z. Physiol. Chem., 195, 139 (1931)
    - b) Y. Kotake, and T. Masayama, ibid., 195, 158 (1931)
  - 3) a) A. Butenandt, W. Weidel, and W. von Derjugin, Naturwissenschaften, 30, 51 (1942)
    - b) A. Butenandt, W. Weidel, R. Weichert, and W. von Derjugin, Z. Physiol. Chem., 279, 27 (1943)
    - cf.) T. Sakan, J. Chem. Soc. Jpn., 65, 1545 (1942)
  - 4) B. Witkop, Ann., <u>556</u>, 103 (1944)
  - 5) C. Heidelberger, M. E. Gullberg, A. F. Morgan, and S. Lepkovsky, J. Biol. Chem., 179, 143 (1949)
  - 6) a) W.E. Knox, and A.H. Mehler, ibid., 187, 419 (1950)
    - b) idem., ibid.. <u>187</u>, 431 (1950)
  - 7) P.L. Julian, E.W. Meyer, and H.C. Printy, Heterocyclic Compounds.
    Vol. 3, ea., by R.C. Elderfield, John Wiley and Sonsi,
    New York, N.Y., 1952, P1
  - 8) T. Sakan, and O. Hayaishi, J. Biol. Chem., 186, 177 (1950)
  - 9) H. Mason, and C.P. Berg, ibid., 188, 783 (1951)
  - 10) C.E. Dalgliesh, W.E. Knox, and A. Neuberger, Nature, 163, 20
    (1951)
  - 11) O. Hayaishi, S. Rothberg, A. H. Mehler, and Y. Saito, J. Biol. Chem. 229, 889 (1957)
  - 12) B. Witkop, and J. B. Patrick, J. Am. Chem. Soc., 73, 2196 (1951) cf.) R.J. Sundberg, The Chemistry of Indoles, Academic Press,

- New York . 1970, P. 282
- 13) a) A. Ek. H. Kissman, J. B. Patrick, and B. Witkop, Experientia, 8, 36 (1952)
  - b) G. A. Hamilton, P. Feigelson, and F.O. Brady, "Molecular Mechanism of Oxygen Activation, ed. by O. Hayaishi, Academic Press, New York, N.Y. (1974)
- G. A. Hamilton, Adv. Enzymol., 32, 55 (1969)
- 15) a) B. Witkop, Ann. 558, 98 (1947)
  - b) F. Sakiyama, and N. Masuda, Chem. Lett., 949 (1973)
  - c) F. Sakiyoma, N. Masuda, T. Nakazawa, and Y. Katsuragi, Chem. Lett., <u>8</u> 893 (1978)
- 16) a) B. G. Toennies, and R.R. Homiller, J. Am. Chem. Soc., 64, 3054(1942
  - b) B. Witkop, Ann., <u>558</u>, 91 (1947)
  - c) S. Sakamura, and Y. Obata, 日農化誌, 29, 817 (1955)
  - d) C.A. Benassi, E. Scoffone, and F.M. Veronese, Tetrahedron Lett. 4389 (1965)
  - e) W. E. Savige, Aust. J. Chem., 28, 2275 (1975)
- 17) G.G. Jayson, G. Scholes, and J. Weiss, J. Biochem., 57, 386 (1954)
- 18) a) R.S. Asquith, and D.E. Rivett, Biochem. Biophys. Acta, <u>252</u>, 111 (1971)
  - b) A. Pirie, J. Biochem., 125, 205, (1971)
- 19) A. Nishinaga, Chem. Lett., 273 (1975)
- 20) a) L. Weil, W. G. Gordon, and A.R. Buchert, Arch. Biochem. Biophys., 33,90 (1951)
  - b) S. Isaka, and J. Kato, J. Coll. Arts. Sci., Chiba Univ., 1. 43 (1952)
  - c) D. Shugar, Acta Biochem. Polon., 1, 3 (1954)
  - d) Z. Yoshida, and M. Kato, J. Am. Chem. Soc., 76, 311 (1954); idem., 日化誌, 75,106(1954)
  - e) 原春樹,農化誌, 34,493(1960)
  - fo L.A. Sluyterman, Biochem. Biophys. Acta, 60,557 (1962)
  - 9) L. Weil, Arch. Biochem. Biophys., 110, 57 (1965)
  - h) S. Gurnani, M. Arifuddin, and K.T. Augusti, Photochem. Photobiol., <u>5</u>, 495 (1966)
  - i) M.S. Ashkinazi, and I.A. Dolidze, Biokhimiya, 32, 1000 (1967)
  - j) W. E. Savige, Aust. J. Chem., 24, 1285 (1971)
  - k) F.Y.-H. Wu, and D.B. Mc Cormick, Biochem. Biophys. Acta,

- 236, 479(1971)
- 1) R. Bonneau, R. Pottier. O. Bagno, and J. Joussot Dubien, Photochem. Photobiol., 21, 159 (1975)
- 21) cf.) a) I. Saito, T. Matsuura, M. Nakagawa, and T. Hino, Acc. Chem. Res., 10.346 (1977)
  - b) I. Saito, M. Imuta, Y. Takahashi, S. Matsugo, and T. Matsuura, J. Am. Chem. Soc., 99, 2005 (1977)
- 22) a) C.A. Benassi, E. Scotone, G. Galiazzo, and G. Jori, Photochem. Photobiol., 6, 857 (1967)
  - b) G. Jori, G. Galiazzo, and G. Gennari, ibid., 9, 179 (1969); G. Gauzzo, and G. Jori, J. Org. Chem., 37, 1429 (1972)
- 23) 4) C.S. Foote, Science, 162, 963 (1968); idem., Acc. Chem. Res., 1. 104 (1968)
  - b) 松浦輝男 , 有合化, <u>26</u>, 217 (1968)
  - c) D.R. Kearns, Chem. Rev., 71, 395 (1971)
  - d) R-W. Denny, and A. Nickon, Organic Reaction, 20, 133 (1973)
  - e) H-H-Wasserman, and R.W. Murray, "Singlet Oxygen" Academic Press, New York (1979)
- 24) a) I. Saito, and T. Matsuura, Chem. Lett., 1173, 1197 (1972)
  - b) C.S. Foote, and A.A. Dzakpaso, Tetrahedon Lett., 1247 (1975)
  - c) H.H. Wasserman, and S. Terao, ibid., 1135 (1975)
  - d) M. J. S. Dewar, and W. Thiel, J. Am. Chem. Soc., 96, 624 (1975)
- R. Nilsson, P.B. Merkel, and D.R. Kearns, Photochem. Photobiol. 25) 16, 117 (1972)
- 26) a) L.I. Grossweine, and A.G. Kepka, ibid., 16, 305 (1972)
  - b) A. Yoshimura, and S. Kato, Bull. Chem. Soc. Jpn., 1141 (1973)
    - c) R.S. Davisdon, and K.R. Trethewey, J. Am. Chem. Soc., 98, 4008 (1976)
- 27) a) M. Nakagawa, T. Kaneko, K. Yoshikawa, and T. Hino, ibid., 96,624 (1974)
  - b) M. Nakagawa, K. Yoshikawa, and T. Hino, ibid., 97, 6496, (1975)
  - c) M. Nakagawa, H. Okajima, T. Hino, ibid., 98, 635 (1976)
  - idem., ibid., 99, 4424 (1977)
  - e) M. Nakagawa, H. Watanabe, S. Kodato, H. Okajima, T. Hino, J.L. Flippen and B. Witkop, Pro. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 4730 (1977)
  - f) 中川昌子, 日野亨, 有合化, 35, 42 (1977)
  - 9) M. Nakagawa, J. Chiba, and T. Hino, Heterocycles, 9, 385 (1978)
  - h) M. Nakagawa, S. Kato, S. Kataoka, and T. Hino, J. Am. Chem. Soc.,

- <u>101</u>, 3136 (1979)
- 1) 日野亨, 中川昌子, 化学の領域増刊 125号 P177 (1980); 化学增刊 85号 P57 (1980)
- K. Freter, M. Weissbash, E. Redfield, S. Undenfriend, and 28) B. Witkop, J. Am. Chem. Soc., <u>80</u>, 983 (1958), 及び その内に記載の文献.
- M. Nakagawa, T. Maruyama, K. Hirakoso, and T. Hino, Tetrahedron 2G) Lett. 4339 (1980)
- M. Nakagawa, S. Kato, S. Kataoka, S. Kodato, H. Watanabe, 30) H-Okajima, T. Hino, and B. Witkop, Chem. Pharm. Bull., 29, 1013 (1981)
- 31) a) J.R. Williams, G. Orton, and L.R. Unger, Tetrahedron Lett., 4603 (1973)
  - b) E.C. Blossey, D.C. Necker, A.L. Thayer, and A.P. Schaap, J. Am. Chem. Soc., <u>95</u>, 5820 (1973)
  - c) C.C. Leznoff, Chem, Soc, Rev., 3, 65 (1974)
  - d) E.C. Blossey, D.C. Necker, A.L. Thayer, and A.P. Schaap, ibid., 97, 3741 (1975)
  - e) I. Saito, M. Imuta, S. Matsugo, H. Yamamoto, and T. Matsuura, Synthesis, 255 (1976)
  - f) 玉垣誠三, 化学, 34, 342 (1979)
  - of.) S. Tamagaki, C.E. Liesner, and D.C. Neckers, J. Org. Chem., 45, 1573 (1980)
  - P. K. Summerbell, and D. R. Berger, J. Am. Chem. Soc., <u>81</u>, 633 (1959) 32)
  - A.P. Schaap, A.L. Thayer, K.A. Zaklika, and P.C. Valenti, 33) ibid., 101, 4016 (1979)
  - 34) cf.) M. Sun, and S. Zigman, Photochem. Potobiol. 29, 893 (1979)
  - 35) a) 中川,佐藤,菊地,日野, 投稿中
    - b) 中川, 片岡, 日野, 兼学会第99年会 (1979,礼幌) 叶) 片岡茂博修士論文(1980)
  - E.H. White, and M.J.C. Harding, Photochem. Photobiol., 4, 36) 1129 (1965)
  - 37) F. Mc Capra, and C.Y. Chang, Chem. Commun., 522 (1966)
  - 38) a) N. Sugiyama, H. Yamamoto, and Y. Omote, Bull. Chem. Soc. Jpn. 41, 1917 (1968)
    - b) 中川, 権正, 日野, 未発表データ, cf.) 権正晃徳修士論文 (1981)

- I. Saito, S. Matsugo, and T. Matsuura, J. Am. Chem. Soc., 101, 39) 4757 (1979)
- M. Nakagawa, S. Kato, K. Nakano, and T. Hino, Chem. Commun., 4C) 855 (1981)
- 中川,渡边,日野,藥学会第97年会(1977,栗京), cf.) 41) 渡边夯之修士部文(1978)
- 42) cr) 中川, 丘岛, 日野, 未発表デ-9, cf) 丘島晴雄修士 論文 (1976)
- 43) a) T. Hino, S. Kodato, K. Takahashi, H. Yamaguchi, and M. Nakagawa, Tetrahedron Lett. 4913 (1978)
  - . b) M. Nakagawa, H. Sugumi, S. Kodato, and T. Hino, ibid., 5323 (1981)
    - c) 中川, 集組, 日野, 第25回日本薬学会関東支部 大会講演 要旨集 P71 (1981)
- 松浦輝男,化学,423(1980) 44)
- E. Wenkert, B.S. Bernstein, and J.H. Udelhofen. J. Am. Chem. Soc., 45) <u>80</u>, 4899 (1958)
- P. J. Islip. and A.C. White , J. Chem. Soc., 1201 (1964) 46)
- J. B. Hendrickson, R. Göschke, and R. Rees, Tetrahedron, 47) 20,565(1964)
- E.E. van Tamelen, J.P. Yardley, N. Miyano, and W.B. Hinshaw. Jr., 48) J. Am. Chem. Soc. 91, 7333 (1969)
- Poo. An. Thio, and M. J. Kornet, J. Heterocycl. Chem., 49) 8 . 479 (1971)
- J. Harley Mason, and R.F.J. Ingleby, J. Chem. Soc., 50) 3639 (1958)
- P. Aeberli, W. J. Houlihan, J. Org. Chem., 33, 1640 (1968) 51)
- P.C. Julian, and J. Pikl, J. Am. Chem. Soc., 57, 539 (1935) 52)
- R.B. Longmore, and B. Robinson, Collect. Czech, Chem. Comm., 53) 32 , 2184 (1967)
- E.C. Kendall, and A. Osterberg, J. Am. Chem. Soc., 49, 2047 54) (1927)
- M. Kotake, T. Sakan, and T. Miwa, ibid., 72, 5085 (1950) 55)
- J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, C. E. Dalgliesh, and A. Neuberger, 56) Biochem. J., 48, 591 (1951)
- H. Behringer, and H. Weissauer, Chem. Ber., 85,743 (1952) 57)

- 58) H. Rinderknecht, H. Koechlin, and C. Niemann, J. Org. Chem.,
  18, 971 (1953)
- 59) P.L. Julian, E.E. Dailey, H.C. Printy, H.C. Cohen, and S. Hamashige, J. Am. Chem. Soc., 78, 3503 (1956)
- 2635 (1974)

  M. Ohno. T.F. Spande, and B. Witkop, J. Org. Chem., 39,
- 51) W.E. Savige, Proc-Int. Wolltextil Forschungskonf, 5th, 2, 507 (1975); C.A. 87, 136344u (1977)
- 62) a) T. Wieland, O. Weiberg, and W. Dilger, Ann., 592, 69 (1955)
  - b) A. Fontana, F.M. Veronese, and E. Boccu, Acta Vitaminol. Enzymol., 29, 270 (1975)
- F.M. Veronese, A. Fontana, E. Boccu, and C.A. Benassi, Z. Naturforsh. B., 23, 1319 (1968)
- 64) a) W.E. Savige, and A. Fontana, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 599 (1976)
  - b) K. Szabo Pusztay, L. Szabo, Synthesis, 276 (1979)
- 65) a) 海尾,刈米,化学の領域,24,59 (1970)
  - b) K. Arima, H. Imanaka, M. Kousaka, and G. Tamura, Arg. Biol. Chem., 28, 575 (1964)
  - c) H. Imanaka, M. Kousaka, G. Tamura, and K. Arima, J. Antibiotics, Ser. A. 18, 207 (1965)
  - d) K. Arima, H. Imanaka, M. Kousaka, A. Fukuda, and G. Tamura, ibid., 18, 201 (1965)
  - e) D.H. Lively, G. Gorman, M.E. Haney, and J.A. Mabe, Antimicrobial Agents and Chemoterapy 1966, 462 (1967)
  - f) 鯵坂, 除門,清水,今中,田村,有馬 日本製芸会 43年予講集 P 242 (1968)
  - 9) R.P. Elander, J.A. Mabe, R.H. Hamill, and M. Gorman, Appl. Microbiol. 16, 753 (1968)
  - 66) a) 今中,三好,酒井,田村,有馬,日本農芸化学会 43年于講集 P. 243 (1968)
    - b) R. Hamill, R. Elander, J. Mabe, and M. Gorman, Antimicrobial Agents and Chemoterapy 1967, 388 (1968)
    - c) E. Leete, Acc. Chem. Res., 2, 59 (1969)
    - d) H. Imanaka, M. Ajisaka, K. Hattori, G. Tamura, and K. Arima, Ferment. Technol. Today Proc. Int. Ferment Symp. 4th,

- 619 (1972): C.A., 84, 40573e (1976)
- e) L.L. Martin, C.-J. Chang, H.G. Floss, J.A. Mabe, E.W. Hagaman, and E. Wenkert, J.Am. Chem. Soc., 94, 8942 (1972)
- f) C.-J. Chang, H.G. Floss, L.H. Hurley, and M. Zmijewski, J. Org. Chem., 41, 2932 (1976)
  - 3) O. Salcha, F. Lingens, and P. Fischer, Tetrahedron Lett., 3097 (1978)
  - h) O. Salcha, and F. Lingens, ibid., 3101 (1978)
  - i) S.J. Gould, C.C. Chang, D.S. Darling, J.D. Roberts, and M.Squillacote, J. Am. Chem. Soc., 102, 1707 (1980)
- 67) H. Wieland, and B. Witkop. Ann., 543, 171 (1940)
- 68) 松浦耀男"酸素酸化反应"丸善 P224 (1977)
- John Wiely & Sons. Inc. (1966)
- 70) E. Stahl Thin Layer Chromatography Springer-Verlag Berlin · Heidelberg · New York P854 (1969)
- 71) 小方芳郎 ·有機過酸比物の化学 南江堂 P331 (1971)
- 72) C.E. Dalgliesh, J. Chem. Soc., 137 (1952)