

ドクゼリ (*Cicuta virosa*) の
中枢毒性 C₁₇-多価不飽和アルコールの
薬学的研究

東北大学大学院薬学研究科
薬学専攻

上井 幸司

本論文を作成するにあたり以下の略語を用いた。

ACSF	artificial cerebrospinal fluid
AcOEt	ethyl acetate
Ac ₂ O	acetic anhydride
[α] _D	specific optical rotation
Bn	benzyl
br.	broad
Bz	benzoyl
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butyl lithium
CD	circular dichroism
COSY	correlation spectroscopy
d	doublet
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimethylamino)pyridine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
DPPA	diphenylphosphoryl azide
EBOB	4'-ethynyl-4- <i>n</i> -propylbicycloorthobenzoate
ED ₅₀	median effective dose
Et ₃ N	triethylamine
Et ₂ O	diethyl ether
EtOH	ethyl alcohol
GABA	γ-aminobutylic acid
HEPES	<i>N</i> -2-hydroxyethylpiperazine- <i>N'</i> -2-ethanesulfonic acid
HMBC	¹ H-detected multiple-bond heteronuclear multiple quantum coherence
HMPA	hexamethylphosphoric triamide
IC ₅₀	median inhibition concentration
i.p.	intraperitoneal administration
IR	infrared
<i>J</i>	coupling constant
KOH	potassium hydroxide
LD ₅₀	median lethal dose
m	multiplet
Me	methyl
MPM	<i>p</i> -methoxyphenylmethyl
MS	mass spectrum
MTPA	α-methoxy-α-(trifluoromethyl)phenylacetic acid
NMR	nuclear magnetic resonance
Pd/C	palladium on charcoal

$\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$	bis(benzonitrile)palladium(II) chloride
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)
PPh_3	triphenylphosphine
PPTS	pyridinium <i>p</i> -toluenesulfonate
<i>i</i> -PrOH	isopropanol
q	quartet
s	singlet
S. E. M.	standard error maximum
t	triplet
TBAF	tetra- <i>n</i> -butylammonium fluoride
TBDMS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
THF	tetrahydrofuran
THP	tetrahydropyranyl
TLC	thin layer chromatography
Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethane
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -toluenesulfonic acid
TTX	tetrodotoxin
UV	ultraviolet

総論

天然には、フグやトリカブトのように強力な毒性を持つ動・植物が存在する¹⁾。フグ毒 (tetrodotoxin (1, LD₅₀: 0.01 mg/kg, i.p.)) やトリカブト毒 (aconitine (2, LD₅₀: 0.31 mg/kg, i.p.)) に代表される天然毒物 (Fig. 1) には、複雑な構造を持ち、意外な反応性を示すものが多いことから、これらは化学的研究においてしばしば興味深い対象となる。さらに、天然毒物を強力なリガンドとして用いることにより、イオンチャネルやレセプターの研究が進展するなど、天然毒物は生命科学研究の発展に大きく寄与している²⁾。

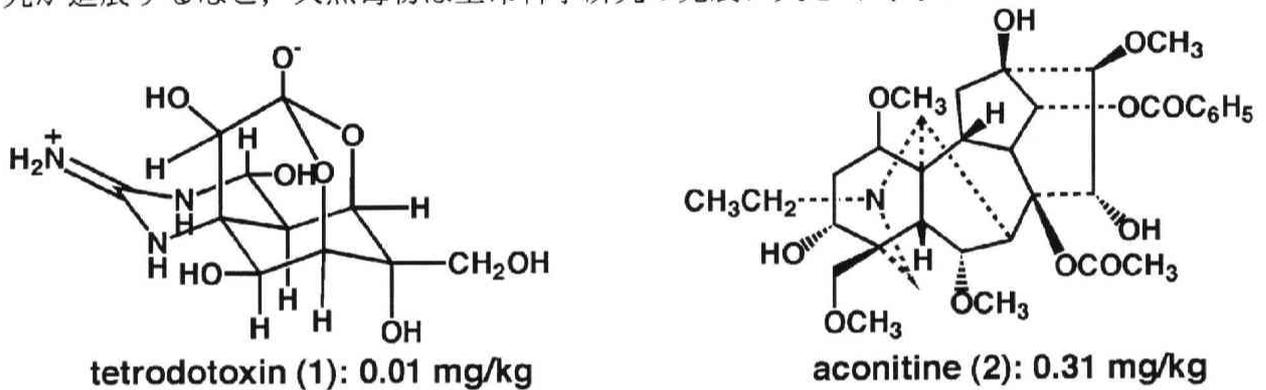


Fig. 1. Structures and LD₅₀ values (mice, i.p.) of tetrodotoxin (1) and aconitine (2)

天然毒物には、フジウツギ科のホミカやツツラフジ科の植物である *Anamirta cocculus* から単離された strychnine (3, LD₅₀: 0.96 mg/kg, i.p.) や picrotoxin (4, LD₅₀: 9.8 mg/kg, i.p.) などの痙攣毒がある (Fig.2).

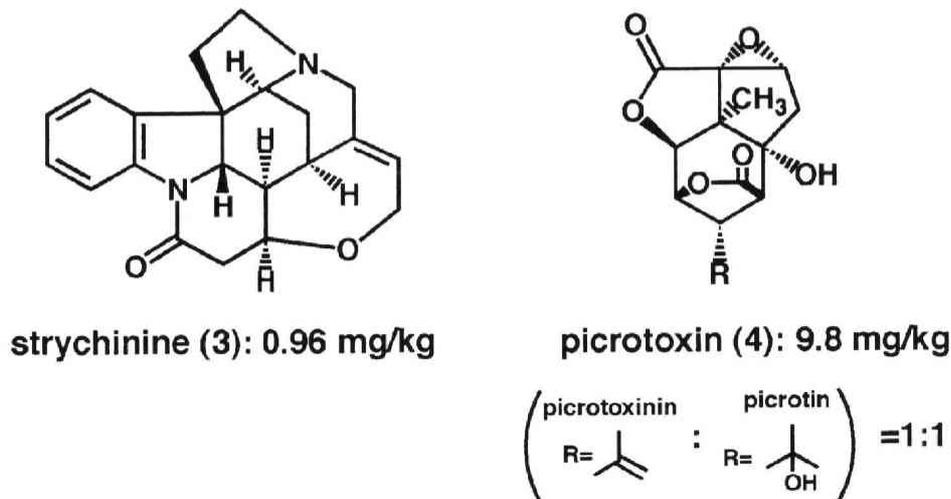


Fig. 2. Structures and LD₅₀ values (mice, i.p.) of strychnine (3) and picrotoxin (4)

セリ科 (Umbelliferae) 植物のドクゼリ (*Cicuta virosa*) もその一つであり、ヒトや動物がドクゼリを摂取すると、強直性・間代性痙攣を生じ、呼吸麻痺により死に至ることもある。ドクゼリは、日本をはじめシベリア・韓国・中国・ヨーロッパ・北米など世界各地の水辺や湿地に自生する植物であり、その外観がセリに良く似ていることから誤食による中毒事故が発生する。その毒性は、根茎において特に強く、春先と秋の終わり頃には一層強くなるといわれている。宮城県でも、1992年にドクゼリによる中毒事故が発生した。この中毒事故では、誤食者は1人あたり0.5-6.0gのドクゼリ根茎を摂取し、その後1-4時間に中毒症状を呈した。その症状は眩暈や吐気から始まり、嘔吐・悪心・冷汗へと進み、重症患者では意識喪失や痙攣にまで至っている³⁾。

ドクゼリの毒成分としては、1915年に多価不飽和アルコールである **cicutoxin (5)** が単離され⁴⁾、1953年に Anet らによりその平面構造が決定された (Fig. 3)⁵⁾。しかしながら、**cicutoxin (5)** は2個のアセチレンと3個のオレフィンが共役したポリエンイン構造を持ち、化学的に極めて不安定であることから、その絶対配置は未だ決定されていない。

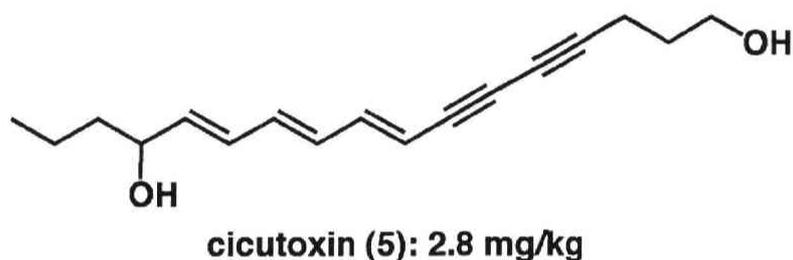


Fig. 3. Structure and LD₅₀ value (mice, i.p.) of cicutoxin (5)

これまでに、ドクゼリからは主要な毒成分である **cicutoxin (5)** に加えて、その類縁体である **cicutol (6)**⁵⁾、**cicudiol (7)**、**2,3-dihydroenantheol (8)**、化合物 **9, 10, 11, 12, 13, 14** が単離された (Fig. 4)⁶⁾。さらに、1995年には Wittstock らにより **isocicutoxin (15)**、**isocicutol (16)**、**falcarindiol (17)**、化合物 **18, 19, 20** が単離された (Fig. 4)⁷⁾。しかしながら、これらの成分の中で不斉炭素を持つ化合物では、**falcarindiol (17)**⁸⁾を除いて、その絶対配置は明らかにされていない。

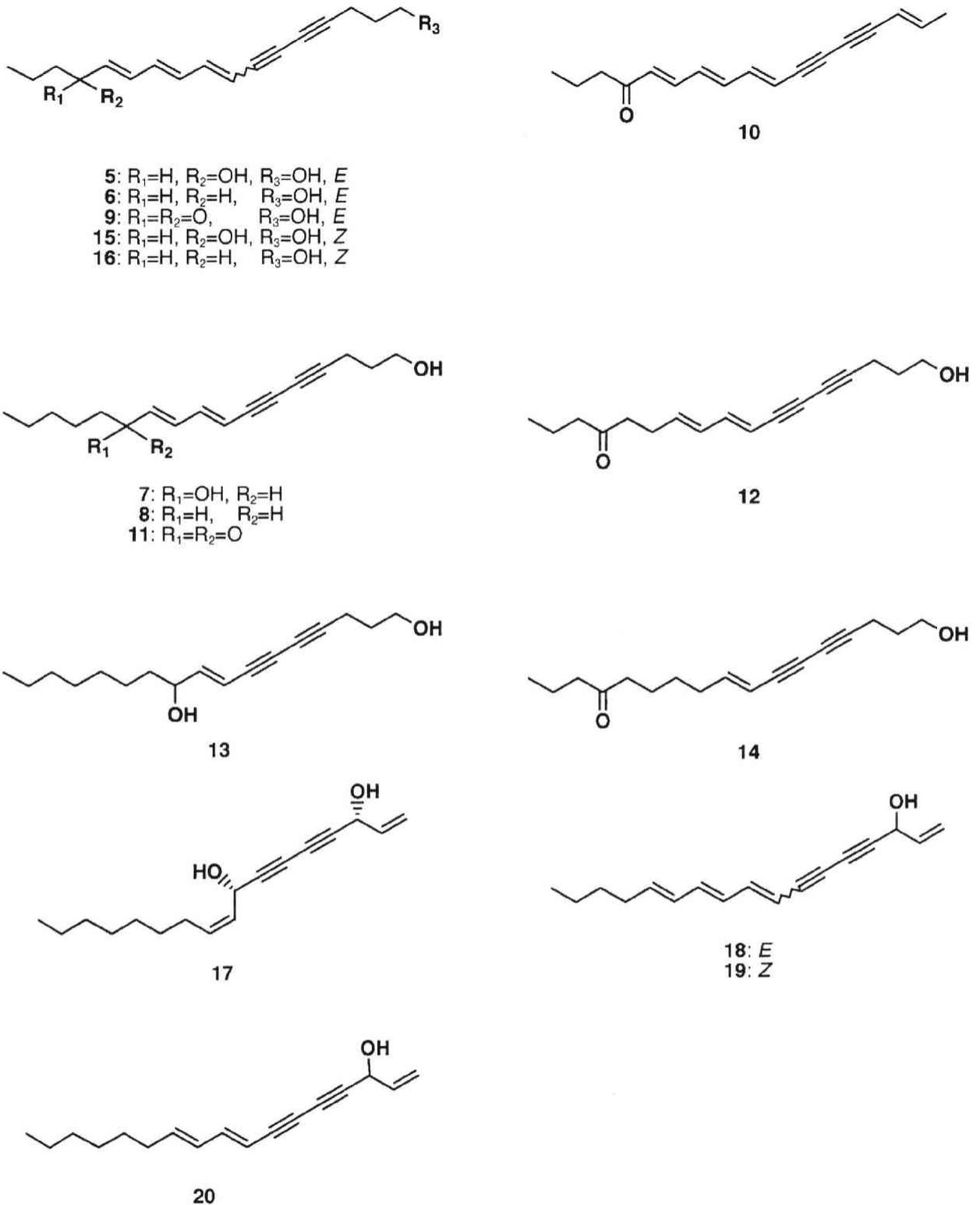


Fig. 4. Structures of polyacetylenic compounds from *C. virosa*

ところで、cicutoxin (5) のような多価不飽和化合物は、セリ科植物に加えて、ウコギ科やキク科植物からも単離された他⁹⁾、微生物・海草・海綿・昆虫からも得られている

(Fig. 5). これらの多価不飽和化合物は、脂肪酸から生合成されていると推測されている。Cicutoxin (5) も同様に C₁₈ 脂肪酸である oleic acid (24) から生合成されると推定されている (Scheme 1)^{6,9)}。

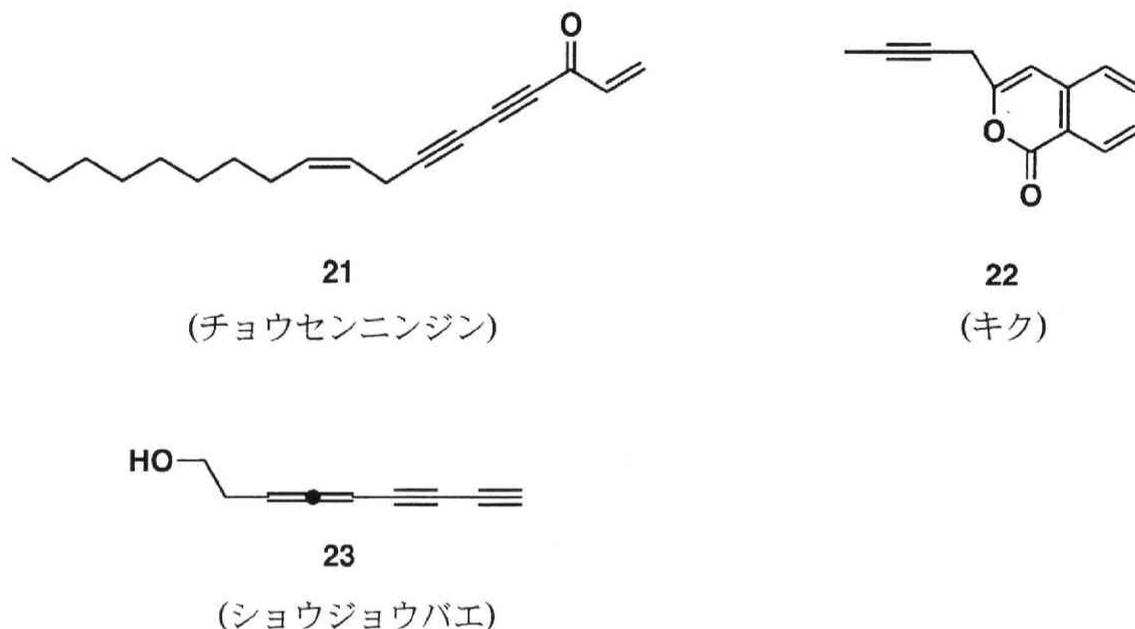
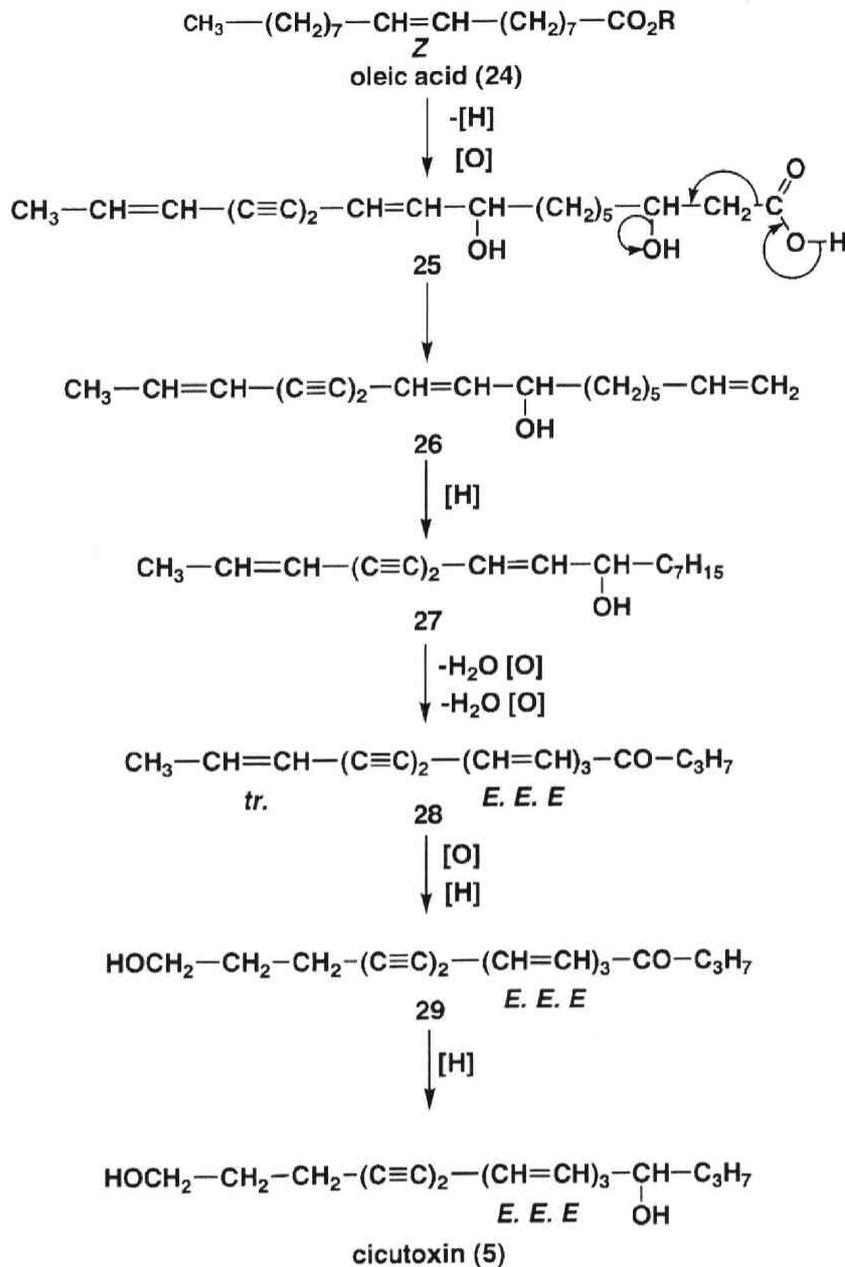


Fig. 5. Naturally occurring acetylenes

ドクゼリに含まれる多価不飽和アルコールの生物活性については、これまでに主として *in vitro* 実験の結果が報告されている。すなわち、cicutoxin (5) は KB 細胞に対して殺細胞活性を示すことが報告されている¹⁰⁾。また、モノアラ貝の巨大神経細胞である RPD1 を用いた電気生理学実験により、cicutoxin (5) をはじめとする数種の多価不飽和アルコールは、活動電位の再分極相に関与する電位依存性 K⁺ チャンネルのなかで遅延整流 K⁺ 電流を抑制することが報告され¹¹⁾、さらに、T-リンパ球を用いたパッチクランプ法によって、cicutoxin (5) は K⁺ 依存電流を濃度依存的に抑制することが報告されている¹²⁾。その他、ドクゼリ中毒の臨床療法の事例等が数例報告されているが¹³⁾、これらの報告以外には、cicutoxin (5) をはじめとするドクゼリ含有多価不飽和アルコールの生物活性に関する研究はこれまでなされていない。

上述したように、cicutoxin (5) は 85 年前に既に単離され、その類縁体も知られているものの、これらの多価不飽和アルコールに関しては化学的にも薬理的にも十分な研究



Scheme 1. Biosynthesis of polyacetylenic alcohol

が成されているとは言い難い。従って、我々の身近に存在する植物であるドクゼリの痙攣毒について化学および薬理学研究を行うことは、ドクゼリを植物科学的に解明するのみならず、痙攣に関与する神経系について新たな知見を加えたり、新しいタイプの抗痙攣薬を開発するうえで有用な情報を提供することになる。このような状況のもと、毒性発現の作用機構の解明に有用な有毒多価不飽和アルコールの探索を行ったところ、新規な cicutoxin 類縁体である virol A (30), B (31), C (32) が単離された (Fig. 6)。そこで、物

理化学的手段を用いて、未決定の **cicutoxin (5)** の絶対配置を決定するとともに、新規な化合物 **virol A (30)**, **C (32)** については絶対配置を含めた化学構造、一方、**virol B (31)** については平面構造を決定した。その詳細を第 1 章で述べる。

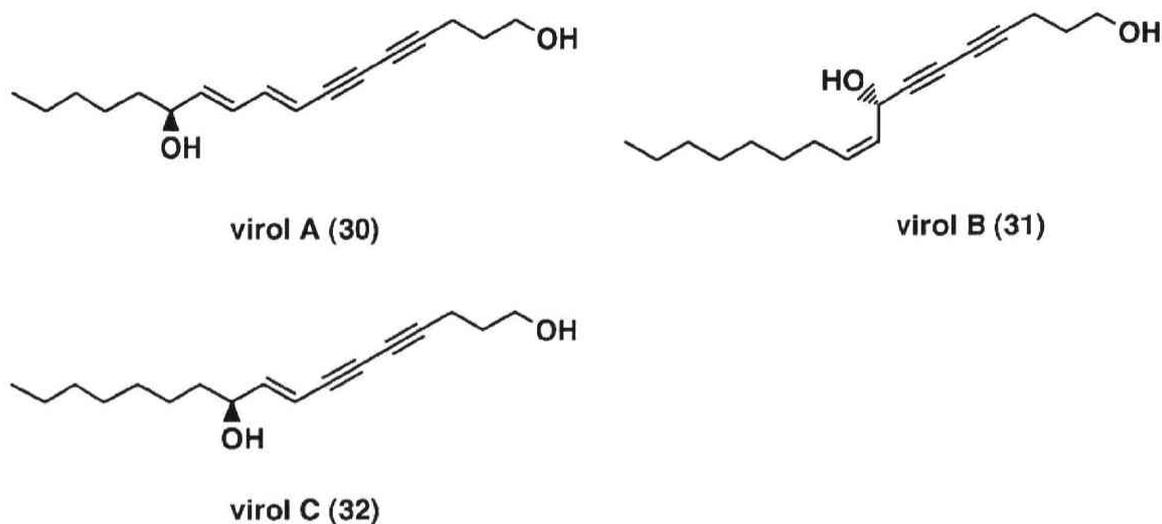


Fig.6. New polyacetylenic alcohols from *C. virosa*

本実験で得られた新規な多価不飽和アルコール **virol A (30)**, **B (31)**, **C (32)** はドクゼリの微量成分であったため、毒性発現機構を解明するためには十分な量のサンプルを化学合成により確保する必要があった。さらに、**virol** 類を化学合成することは、物理化学的手段によって決定された **virol A (30)**, **C (32)** の絶対配置を確実なものにし、**virol B (31)** の絶対配置を明らかにすることを意味する。第 2 章では **virol A (30)**, **B (31)**, **C (32)** の化学合成の詳細を述べる。

さらに、**cicutoxin (5)** をはじめとする多価不飽和アルコールを様々な誘導体に導き、それらのマウス急性毒性試験を行い、毒性発現に関わる構造的要因を明らかにした。この詳細を第 3 章で述べる。

続いて、多価不飽和アルコールの毒性発現の作用機構を検討した。ドクゼリの毒成分の中で **cicutoxin (5)** が最も強力な毒性を示す。しかしながら、**cicutoxin (5)** は化学的に不安定であることから、実験するうえで比較的取り扱いが容易な化合物である **virol A (30)** を薬理学実験では使用することとした。**Virol A (30)** の行動薬理的な実験により、その痙攣発現には GABA_A 受容体が関与していることが既に示唆されている¹⁴⁾。そこで、

本研究ではパッチクランプ法を用いた電気生理学実験により，virol A(30) の GABA 誘発電流に対する影響を検討した。また，virol A(30) の GABA_A 受容体上の様々なリガンド結合部位に対する受容体結合実験を行い，それらの GABA_A 受容体での結合部位を明らかにした。この詳細を第 4 章で述べる。

さらに，第 4 章で明らかとなった GABA_A 受容体の virol A(30) 結合部位と，cicutoxin 類縁体との結合実験により，その構造と結合度との関係を検討した。この詳細を第 5 章で述べる。

本論

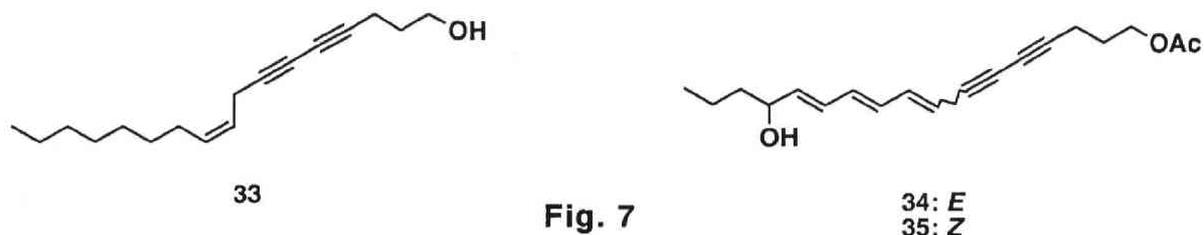
第1章 ドクゼリに含まれる多価不飽和アルコールの単離と構造¹⁵⁾

本章では、ドクゼリに含まれる多価不飽和アルコールの単離， virol A (30), B (31), C (32) の平面構造， ならびに cicutoxin (5), isocicutoxin (15), virol A (30), C (32) の絶対配置について述べる。

第1節 多価不飽和アルコールの単離

節に沿って輪切りにしたドクゼリの根茎を MeOH で抽出し， 得られた MeOH エキスを H₂O と Et₂O で分配して Et₂O 可溶部を得た。 Et₂O 可溶部をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し， Fr. A-R を得， さらに Fr. E, F, H, K, L を Chart 1 に示すように分画した。 その結果， Fr. E より既知成分である faltarindiol (17), Fr. F より既知成分である 2,3-dihydroenantheol (8), 既知化合物である化合物 33 が単離された。 Fr. H についてはシリカゲルカラムクロマトグラフィーに続いて高速液体クロマトグラフィーを用いて分画することにより， 既知化合物である化合物 34, 35 が得られた。 一方， Fr. K を繰り返しかラムクロマトグラフィーに付したところ， 既知成分として化合物 9, 12, 新規な化合物 virol A (30), B (31), C (32) が単離された。 Fr. L からは既知化合物 cicutoxin (5), isocicutoxin (15) が得られた。

これらの化合物のうち， 化合物 33 はセリの成分として Bohlmann らにより単離されているものの¹⁶⁾， 今回ドクゼリからは初めて単離された。 また， 化合物 34 および 35 は， 今回天然物として初めて得られた¹⁰⁾。



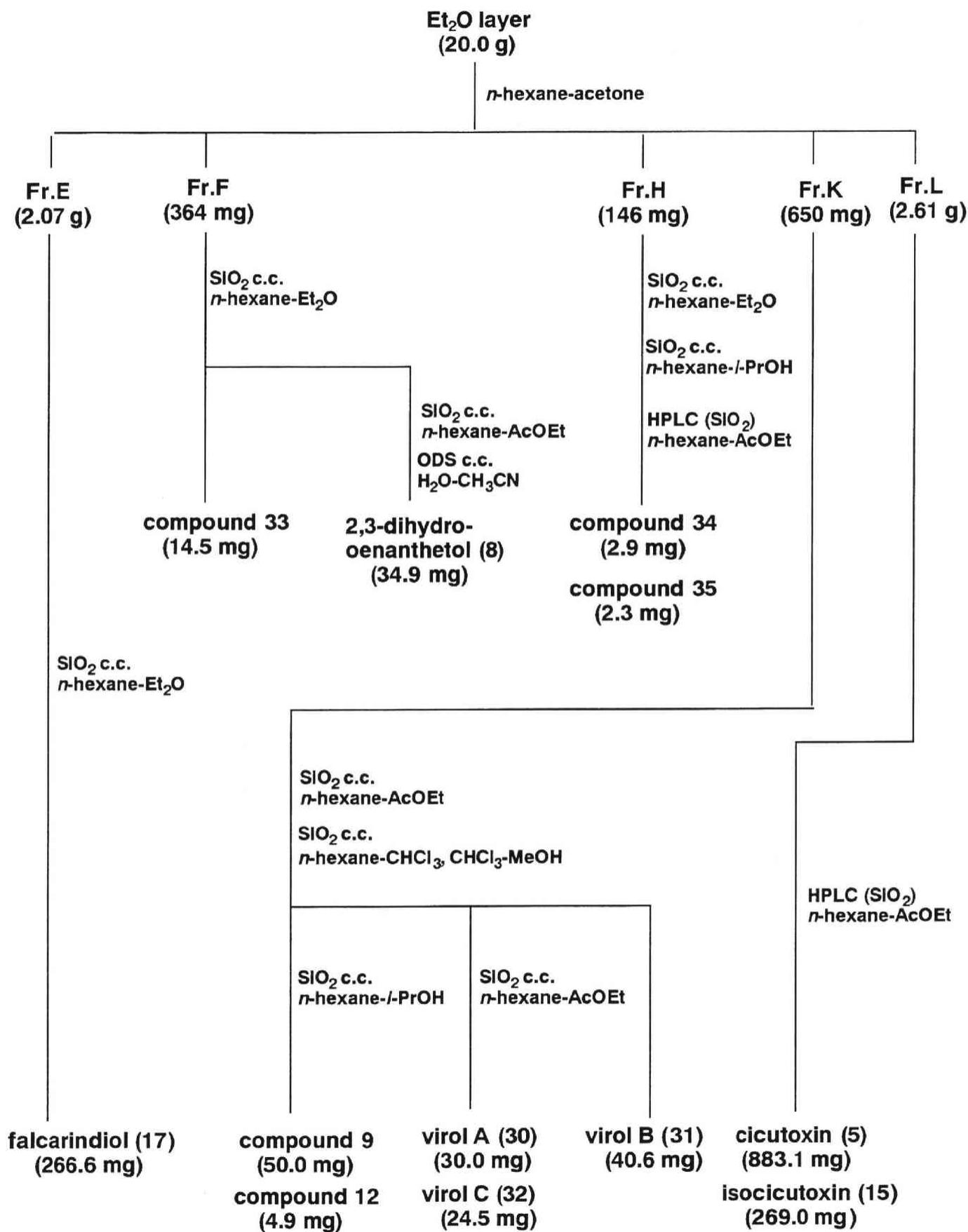


Chart 1. Isolation of polyacetylenic compounds from *C. virosa*

第2節 Virol A (30) の平面構造

Virol A (30), $[\alpha]_D^{25} +15.5^\circ$ (c 1.10, MeOH), $C_{17}H_{24}O_2$ (High-resolution MS (m/z 260.1812, (M^+))), のIR スペクトルは, 3352 cm^{-1} に水酸基, $2230, 2135\text{ cm}^{-1}$ に非対称アセチレン, $1636, 986\text{ cm}^{-1}$ に共役オレフィンに基づく吸収を示した. これらの部分構造の存在は virol A (30) が cicutoxin (5) の類縁体であることを示唆する. さらに, virol A (30) の UV 吸収帯 (λ_{max} ($\log \epsilon$): 310.6 (4.46), 293.2 (4.53), 280.5 (sh), 235.6 (4.57), 226.2 (4.37) nm) は, cicutoxin (5) のそれら (λ_{max} ($\log \epsilon$): 335.4 (4.64), 317.8 (4.66), 304.5 (sh), 251.6 (4.22), 241.8 (4.07) nm) よりも約 20 nm ずつ短波長シフトしている. この結果を, virol A (30) の分子式や ^{13}C -NMR (CH_3 - x 1, $-\text{CH}_2$ - x 6, $>\text{CH}-\text{O}$ x 1, $-\text{CH}_2-\text{O}$ x 1, $-\text{CH}=\text{CH}-$ x 2, $-\text{C}\equiv\text{C}-$ x 2) とともに考え合わせると, virol A (30) はジエンジイン型共役系を有することが推測された. Virol A (30) の ^1H , ^{13}C -NMR スペクトルからは, メチル基 (δ_{H} 0.89 (t, 3H, $J=6.8$ Hz), δ_{C} 14.0), メチレン基 (δ_{H} 1.19-1.46 (m, 6H), δ_{C} 22.6, 25.0, 31.7; δ_{H} 1.47-1.59 (m, 2H), δ_{C} 37.2; δ_{H} 1.73-1.85 (m, 2H), δ_{C} 30.9; δ_{H} 2.48 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), δ_{C} 16.2) に加えて, E, E の立体配置を持つ 2 個の共役オレフィン (δ_{H} 5.61 (d, 1H, $J=15.5$ Hz), 6.68 (dd, 1H, $J=15.5, 11.3$ Hz), δ_{C} 110.5, 143.8; δ_{H} 5.84 (dd, 1H, $J=15.3, 6.4$ Hz), 6.27 (dd, 1H, $J=15.3, 11.3$ Hz), δ_{C} 140.1, 129.0), オレフィンに隣接するカルビニル基 (δ_{H} 4.18 (q, 1H, $J=6.4$ Hz), δ_{C} 72.3), ヒドロキシメチル基 (δ_{H} 3.76 (t, 2H, $J=6.1$ Hz), δ_{C} 61.4), 4 個のアセチレン炭素 (δ_{C} 65.8, 72.5, 77.4, 84.7) の存在が明らかとなった. 次いで, ^1H -NMR スペクトルのスピンドカップリング実験を行ったところ, メチレン水素シグナル (δ_{H} 1.73-1.85, H-2) は, ヒドロキシメチル水素シグナル (δ_{H} 3.76, H-1) およびメチレン水素シグナル (δ_{H} 2.48, H-3) と結合していることが判明した. 一方, カルビニル水素シグナル (δ_{H} 4.18, H-12) はオレフィン水素シグナル (δ_{H} 5.84, H-11) およびメチレン水素シグナル (δ_{H} 1.47-1.59, H-13) とカップリングしていた. さらにこのメチレン水素シグナルは, δ_{H} 1.19-1.46 に現れているメチレン水素シグナル群 (H-14-16) とカップリングしていた. その結果, virol A は 30 式で示される平面構造を有すると結論された.

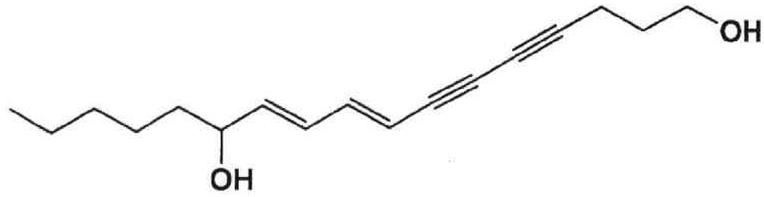
Table 1. ^1H and ^{13}C NMR spectral data for cicutoxin (**5**), isocicutoxin (**15**), virols A (**30**), B (**31**) and C (**32**) in CDCl_3 .^a

	5		15		30		31		32	
No	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	3.73 t (6.0)	61.4 t	3.78 t (6.9)	61.5 t	3.76 t (6.1)	61.4 t	3.75 t (7.0)	61.3 t	3.74 t (6.9)	61.3 t
2	1.79 q (6.9)	31.0 t	1.82 q (6.9)	31.0 t	1.73-1.85 m	30.9 t	1.79 q (7.0)	30.8 t	1.79 quint (6.9)	30.8 t ^b
3	2.48 t (6.9)	16.3 t	2.51 t (6.9)	16.4 t	2.48 t (7.0)	16.2 t	2.43 t (7.0)	15.8 t	2.46 t (6.9)	16.0 t
4		85.3 s		85.8 t		84.7 s		81.2 s		83.6 s
5		65.9 s		65.9 s		65.8 s		64.9 s		65.6 s
6		77.7 s		81.1 s		77.4 s		69.8 s		74.8 s
7		75.1 s		72.9 s		72.5 s		75.6 s		73.4 s
8	5.61 d (15.4)	110.0 d	5.44 d (11.5)	107.9 d	5.61 d (15.5)	110.5 d	5.18 d (8.0)	58.6 d	5.72 d (15.9)	108.6 d
9	6.71 dd (15.4, 10.2)	144.4 d	6.53 dd (11.5, 10.4)	143.1 d	6.68 dd (15.5, 11.3)	143.8 d	5.51 dd (10.5, 8.0)	128.1 d	6.27 dd (15.9, 5.8)	149.2 d
10	6.24 dd (14.3, 10.2)	131.6 d	6.24 dd (14.3, 10.4)	130.1 d	6.27 dd (15.3, 11.3)	129.0 d	5.59 dt (10.5, 7.5)	134.3 d	4.15 br.q (5.8)	72.1 d
11	6.33 dd (14.3, 9.6)	135.4 d	6.75 dd (14.3, 10.2)	123.0 d	5.84 dd (15.3, 6.4)	140.1 d	2.11 q (7.5)	27.7 t	1.52 q (6.3)	36.8 t
12	6.24 dd (14.8, 9.6)	129.8 d	6.39 dd (14.5, 10.2)	136.1 d	4.18 q (6.4)	72.3 d	1.36-1.42 m	29.1 t ^b	1.18-1.44 m ^d	25.2 t
13	5.81 dd (14.8, 6.6)	139.3 d	5.83 dd (14.0, 6.6)	139.4 d	1.47-1.59 m	37.2 t	1.25-1.30 m ^c	29.2 t ^b	1.18-1.44 m ^d	29.4 t ^c
14	4.18 q (6.6)	72.3 d	4.20 q (6.6)	72.4 d	1.19-1.46 m ^d	25.0 t	1.25-1.30 m ^c	29.3 t	1.18-1.44 m ^d	29.2 t ^c
15	1.28-1.62 m	39.4 t	1.28-1.68 m	39.4 t	1.19-1.46 m ^d	31.7 t	1.25-1.30 m ^c	22.6 t	1.18-1.44 m ^d	31.7 t ^c
16	1.28-1.62 m	18.7 t	1.28-1.68 m	18.7 t	1.19-1.46 m ^d	22.6 t	1.25-1.30 m ^c	31.8 t	1.27 m ^d	22.6 t
17	0.93 t (7.1)	14.0 q	0.94 t (7.1)	14.0 q	0.89 t (6.8)	14.0 q	0.88 t (7.0)	14.1 q	0.88 t (6.7)	14.0 q

^a Coupling constants (Hz) are given in parentheses

^{b,c} Signals are interchangeable

^{d,e} Signals are not identified

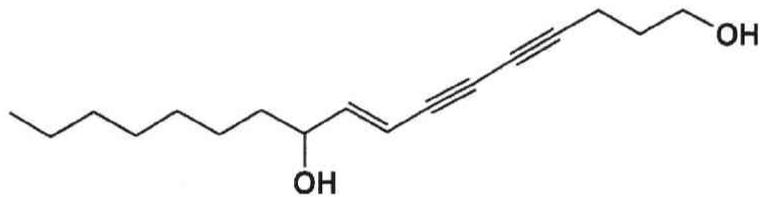


30

Fig. 8

第3節 Virol C の平面構造

Virol C (32), $[\alpha]_D +6.4^\circ$ (c 0.82, MeOH), は high-resolution MS において m/z 262.1914 に分子イオンピークを示すことから, $C_{17}H_{26}O_2$ の分子式であることが推測された. Virol C (32) と virol A (30), cicutoxin (5) の IR, UV, 1H , ^{13}C -NMR スペクトルの比較は, virol C が 32 式で示されるエンジン型共役系を有する virol A 類縁体であることを示唆した. このことは, ^{13}C - 1H COSY スペクトルや 1H -NMR でのスピンドカップリング実験による virol C (32) の 1H , ^{13}C -NMR スペクトルの解析からも支持された (Table 1).



32

Fig. 9

第4節 Virol B の平面構造

Virol B (31), $[\alpha]_D +221^\circ$ (c 0.21, MeOH), は virol C (32) と同一の分子式 $C_{17}H_{26}O_2$ (High-resolution MS (m/z 262.1911 (M^+))) を持つ. さらに virol B (31) と C (32) は同様な官能基 (水酸基 (IR: 3596 cm^{-1}), 非対称アセチレン基 (IR: 2255 cm^{-1})) を持つ. しかしながら, その UV スペクトル (λ_{max} ($\log \epsilon$): 256.6 (2.85), 243.2 (3.06), 230.8 (3.07) nm) は, virol C (32) の吸収帯 (λ_{max} ($\log \epsilon$): 283 (4.22), 267 (4.32), 253 (4.15), 240 (3.84), 229 (3.56), 214 (4.63) nm) に比べて短波長側にシフトしていることから, virol B (31) にはジイン共役系が存在することが示唆された. ^{13}C - ^1H COSY によって ^1H と ^{13}C -NMR シグナル間の相関を得た後 (Table 1), ^1H -NMR スペクトルにおいてスピンドカップリング実験を行ったところ, 2種の部分構造 (31a, 31b) が導かれた. なお, オレフィン部分の立体配置は, オレフィン水素シグナル (δ 5.51, 5.59) の結合定数が 10.5 Hz であることから *Z* と結論した.

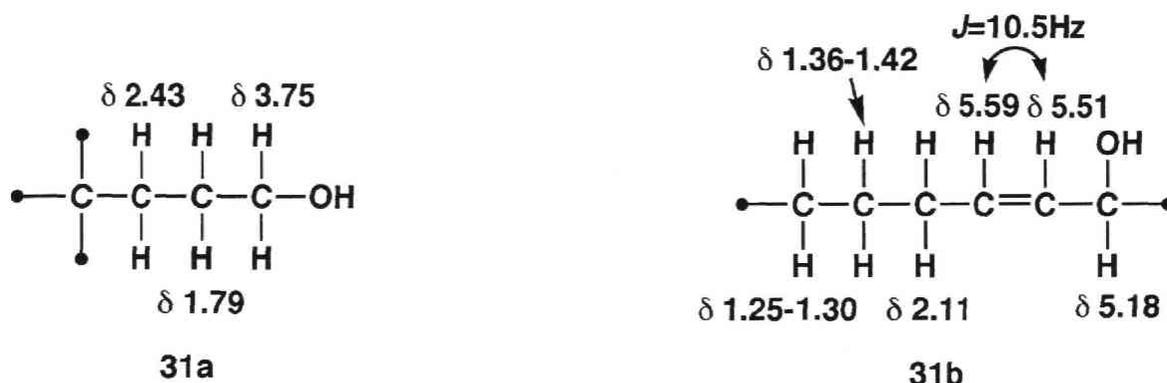


Fig. 10

また, HMBC スペクトルより δ 81.2 のアセチレン炭素シグナルは部分構造 31a のメチレン水素シグナル (δ 1.79, 2.43) と相関が見られた. また, δ 64.9 のアセチレン炭素シグナルはメチレン水素シグナル (δ 2.43) と相関が認められた. 従って部分構造 31a は部分構造 31c に拡張された. 一方, δ 75.6 および δ 69.8 のアセチレン炭素シグナルは部分構造 31b のメチレン水素シグナル (δ 5.18) とそれぞれ相関が見られたため, 部分構造 31b は部分構造 31d に拡張された.

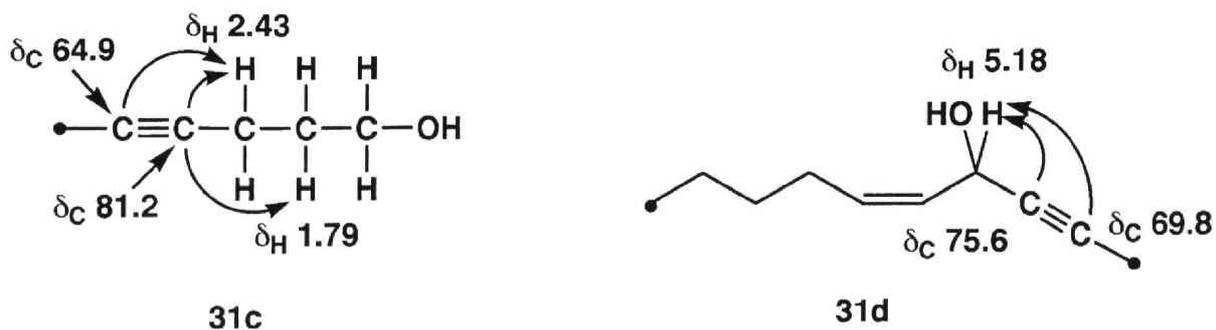


Fig. 11

UV スペクトルよりジアセチレン構造の存在が明らかであるので部分構造 **31c** と **31d** を連結し部分構造 **31e** とした.

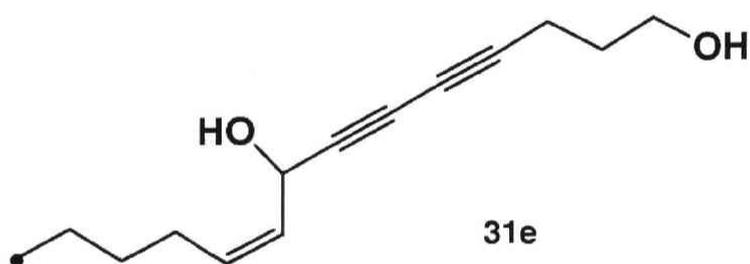


Fig. 12

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルでの δ_{H} 1.25-1.30 (m, 8H) のメチレン水素シグナルは、スピンドカップリング実験によって、メチレン水素シグナル (δ_{H} 1.39-1.42 (m, 2H), δ_{C} 29.1) およびメチル水素シグナル (δ_{H} 0.88 (t, 3H, $J=7.0$ Hz), δ_{C} 14.1) とのみ相関が見られたため、virol B は **31** 式で示される平面構造を有すると結論された.

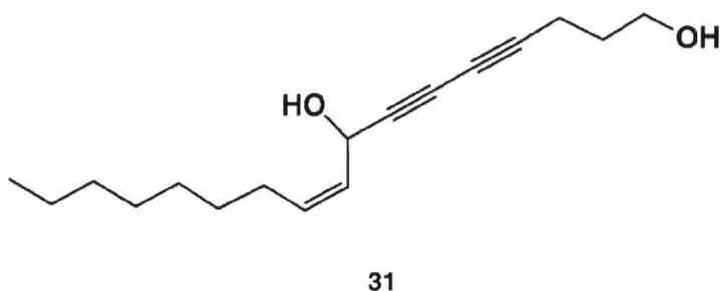


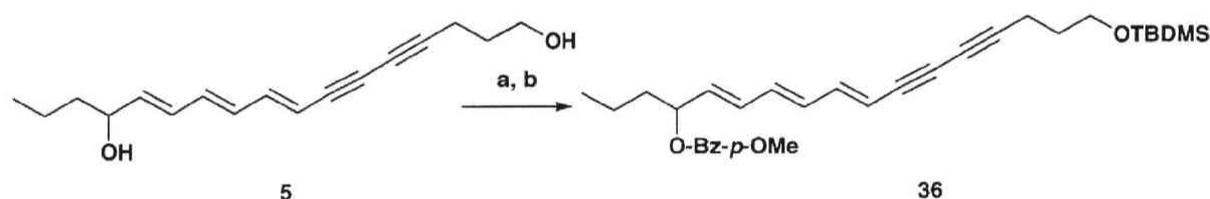
Fig. 13

Virol B (31) は天然からは少量しか得られなかった。さらに、不斉炭素はジアセチレンとオレフィンに結合しているため、物理化学的手法により絶対配置を決定することには困難が予想された。従って、virol B (31) の絶対配置は不斉合成により決定することとした。

なお、virol A (30), C (32) の平面構造は、ドクゼリから既に単離された cicudiol (7), 化合物 13 と同一である⁶⁾。しかしながら、それらの比旋光度や絶対配置に関するデータは全く報告されていない。さらに、それらのサンプルを入手することができなかった。従って、今回単離した virol A (30), C (32) を新規化合物であると判断した。また Wittstock らは、virol B (31) と同一の平面構造を持つ化合物を得て、そのものが抽出段階での化合物 32 からのアリル転位異性体であることを報告している⁷⁾。今回の実験では virol B (31), C (32) の抽出過程において、それらの異性化反応は進行しなかった。従って両化合物は天然に存在することを確認した。

第5節 多価不飽和アルコール *cicutoxin*, *isocicutoxin*, *virol A*, *C* の絶対配置

Cicutoxin (**5**) やその類縁体である *isocicutoxin* (**15**), *virol A* (**30**), *C* (**32**) は、共役した不飽和結合に由来する発色団によって 250-350 nm にかけて弱い Cotton 効果を示すものの、非対称性発色団により複雑な振動構造を持った吸収帯となり、Cotton 効果の解析は困難であった。そこで、*cicutoxin* (**5**) とその類縁体 (*isocicutoxin* (**15**), *virol A* (**30**), *C* (**32**)) のアリル位の不斉炭素の絶対配置を決定するために、CD 励起子キラリティー法を適用することとした。CD 励起子キラリティー法は2個の異なった発色団間の励起子相互作用にも拡張して適用することができ、相互作用する2個の発色団の吸収波長位置が近い程、強い Cotton 効果を示す¹⁷⁾。従って、*p*-メトキシベンゾイルエステル (λ_{\max} 257 nm) は、*cicutoxin* (**5**) とその類縁体の共役系の長軸に沿った π - π^* 遷移 (250-350 nm) と強い分裂型 Cotton 効果を生じることが推測された。そこで、*cicutoxin* (**5**) を 1-TBDMS エーテルに変換した後、*p*-メトキシベンゾイルエステル (**36**) を得た (Scheme 2)。



Reagents and conditions : a) *tert*-butyldimethylsilyl chloride (1.5 equiv.), Et₃N (3.0 equiv.), DMAP (0.1 equiv.), CH₂Cl₂, 0 °C, 3 h (80%); b) *p*-methoxybenzoyl chloride (1.5 equiv.), Et₃N (3.0 equiv.), DMAP (0.1 equiv.), CH₂Cl₂, 0 °C, 3 h (94%)

Scheme 2

p-メトキシベンゾイルエステル (**36**) と 1-TBDMS エーテルの CD 差スペクトルを測定したところ、負のキラリティー (243 nm に正, 250-350 nm に重なり合った負の Cotton 効果) を示した (Fig.14)。従って、*p*-メトキシベンゾイルエステル (**36**) は Newman 投影図に示した優位配座を持つことが明らかとなり、その結果、*cicutoxin* (**5**) の絶対配置は 14-*R* と決定された (Fig. 14)。

Isocicutoxin (**15**), *virol A* (**30**), *C* (**32**) も、*cicutoxin* (**5**) と同様な反応により *p*-メトキシベンゾイルエステル (**37**, **38**, **39**) へ導いた。*Isocicutoxin* (**15**) から誘導された *p*-メトキシベンゾイルエステル (**37**) の CD 差スペクトルは、強度に差があるものの、*cicutoxin* 由

来のそれ(36)と似た吸収帯を示した。一方, virol A(30), C(32)から誘導された *p*-メトキシベンゾイルエステル(38, 39)は正のキラリティーを示した。以上の結果, isocicutoxin(15), virol A(30), C(32)の立体化学は, 各々 14*R*, 12*S*, 10*S*配置と決定された。

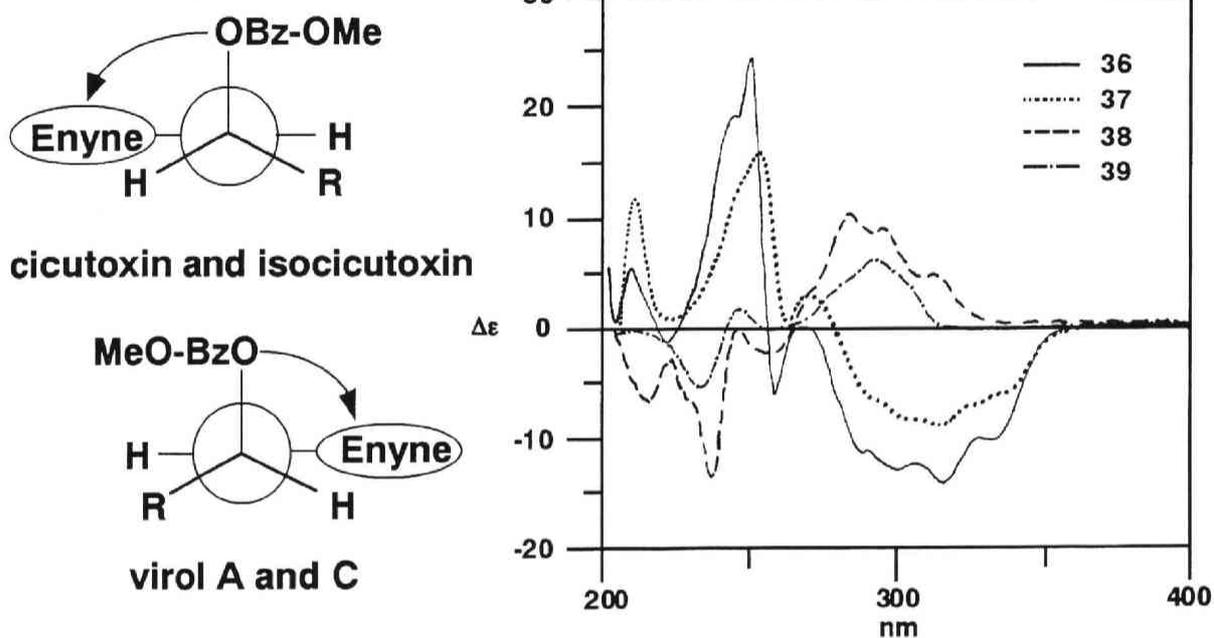


Fig. 14. Difference CD spectra and Newman projections of *p*-methoxybenzoates (36, 37, 38, 39)

ところで, NMR スペクトルを利用した新 Mosher 法も, 有機化合物の絶対配置の決定の際には汎用性が高い¹⁸⁾。そこで, CD 励起子キラリティー法によって決定された絶対配置を確認するために, 一連の多価不飽和アルコールに新 Mosher 法を適用した。すなわち, cicutoxin(5), isocicutoxin(15), virol A(30), C(32)を di-*R*-(+) および di-*S*-($-$) MTPA エステル(40a,b; 41a,b; 42a,b; 43a,b)へ導いたところ, MTPA のフェニル基の異方性効果は遠隔に位置する水素にまで影響を及ぼし, それぞれの化合物の $\Delta\delta$ 値は, 正負の符号が MTPA の左右に系統だって分布した(Fig. 15)。従って, cicutoxin(5), isocicutoxin(15), virol A(30), C(32)の絶対配置はそれぞれ 14*R*, 14*R*, 12*S*, 10*S*と帰属された。この結果は, CD 励起子キラリティー法によって得られた4種の多価不飽和アルコールの絶対配置を支持する。

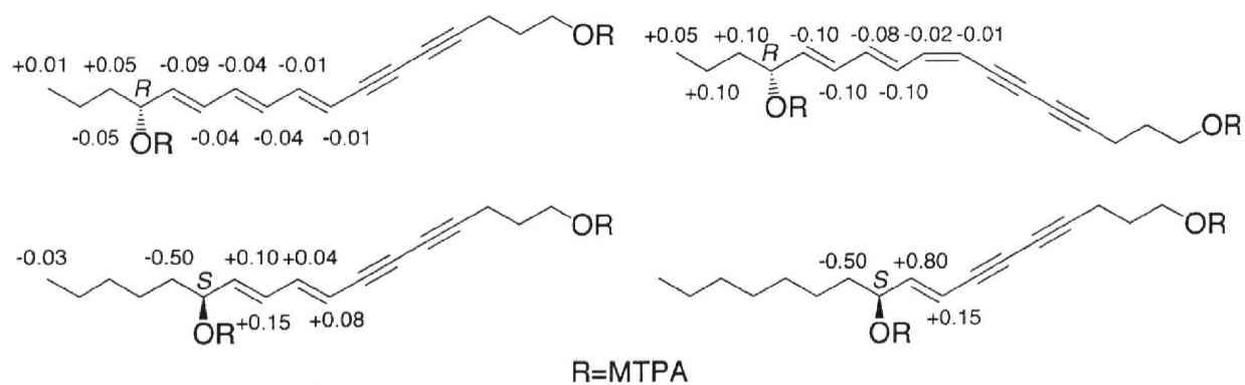
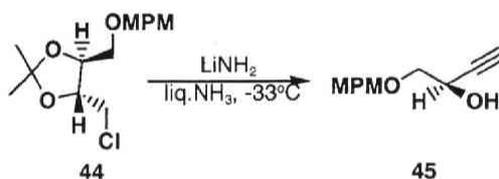


Fig. 15. $^1\text{H-NMR}$ chemical shift differences for MTPA derivatives of cicutoxin (5) and its congeners (15, 30 and 32): $\Delta\delta$ (ppm) = δ (S-MTPA ester) - δ (R-MTPA ester).

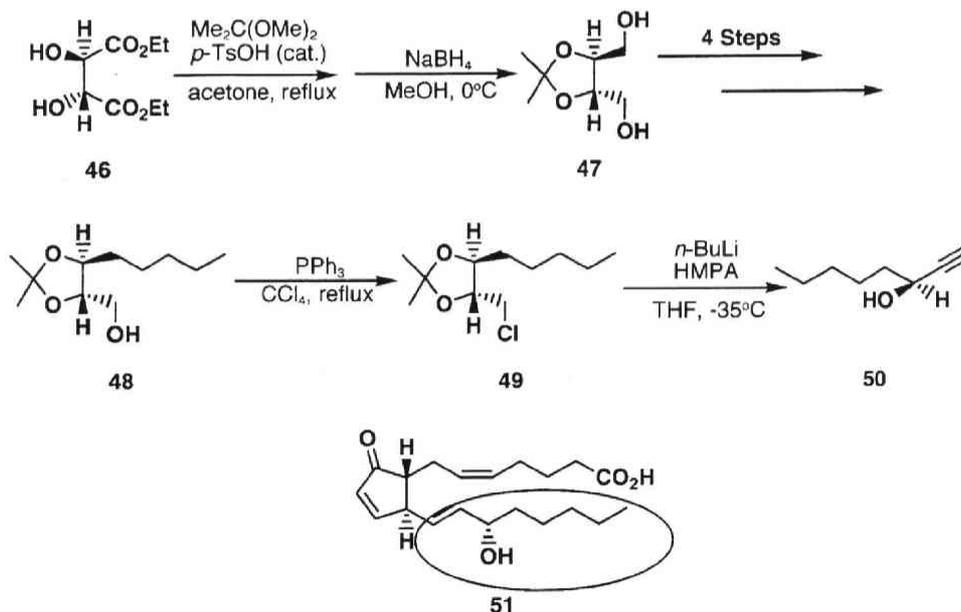
第2章 Virol A, B, C の合成¹⁹⁾

キラル素子をキラル化合物の合成の出発原料として用いることは、目的とする不斉中心を構築するために確実な方法である。本合成においては、Takano らによって発展されたキラルな 3-hydroxy-1-alkyne が virol 類の合成に最適な素子であると考えた。Takano らは Yadav らの方法²⁰⁾ (Scheme 3)を応用して、prostaglandin (51) 合成における重要な中間体である (*S*)-1-octyn-3-ol (50) を合成した (Scheme 4)²¹⁾。

Yadav *et al.* (1989)

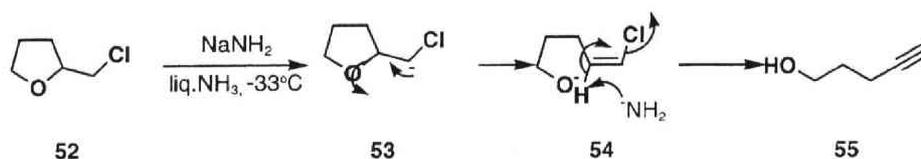


Takano *et al.* (1990)



この方法は、Eglinton らによる tetrahydrofurfuryl chloride (52) の 2 重脱離によるアセチレン構築²²⁾ (Scheme 5) に基礎を置くものである。

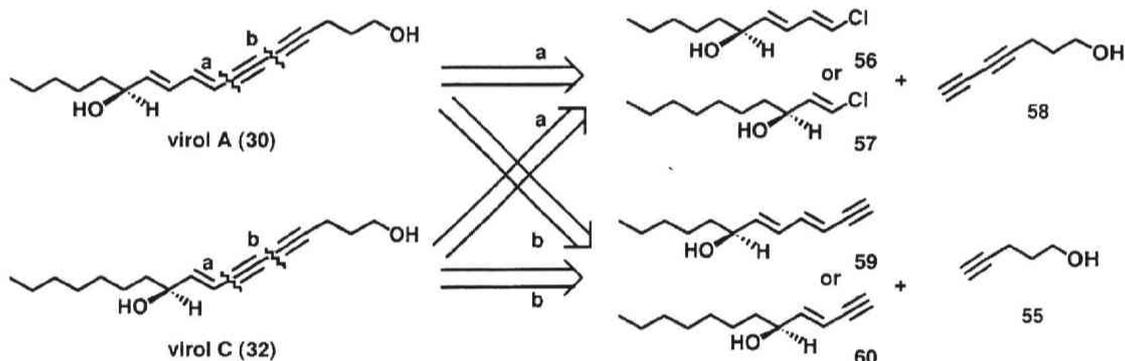
Eglinton *et al.* (1952)



Scheme 5

第1節 Virol A, Cの合成

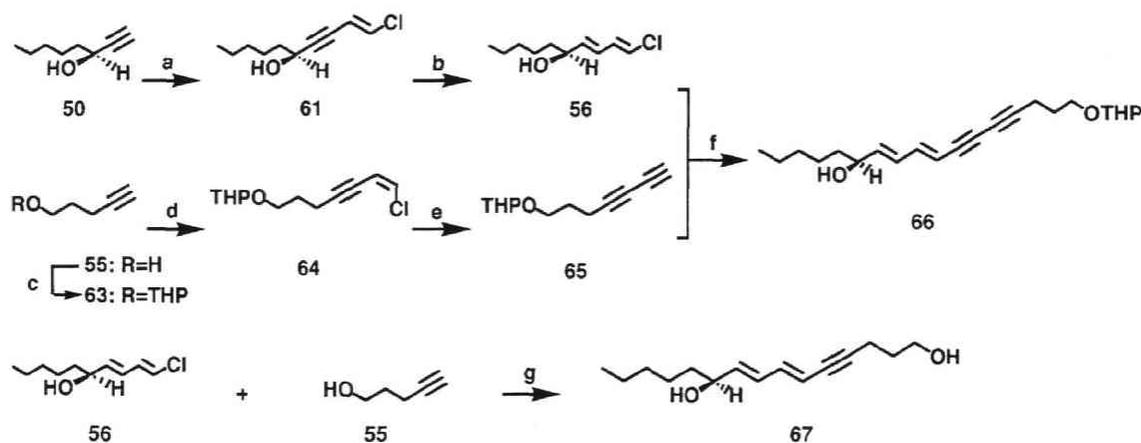
Virol A (30) および C (32) の合成では、共役系の構築にあたり、クロスカップリング反応に基づく2種の経路 **a** および **b** を考えた。すなわち、経路 **a** ではハロゲン化アルケニルと末端アセチレンとの Sonogashira らの条件下でのクロスカップリング反応を用い²³⁾、経路 **b** では末端アセチレン同士の Cadiot-Chodkiewicz らの条件によるクロスカップリング反応を用いる²⁴⁾。なお、化合物 56, 59, 化合物 57, 60 は立体選択的にキラルな 3-hydroxy-1-alkyne (50, 71) から調製することができる。



Scheme 6

光学活性なプロパルギルアルコールの合成は、Takano らの方法に準じて行った。すなわち、Scheme 4 と同様に diethyl L-tartrate (46) より 8 工程で光学的に純粋な (*S*)-1-octyn-3-ol (50) を得た²¹⁾。化合物 50 と *trans*-1,2-dichloroethylene との改良 Sonogashira 反応により²³⁾、立体選択的に好収率で化合物 61 を与えた²⁵⁾。化合物 61 のヒドロアルミニウム化とそれに続くプロトン分解により化合物 56 とした^{25a, 26)}。経路 **a** による virol A (30) 合成における一方のセグメントである化合物 65 は、化合物 63²⁷⁾ の *cis*-1,2-dichloroethylene とのクロスカップリング反応、

脱塩化水素化²⁸⁾によって得られた。化合物 **65** は極めて不安定で、濃縮すると即座に重合するものの、piperidine 中、 $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$, CuI の存在下で化合物 **56** とのカップリング反応を試みた。その結果、化合物 **56** はその大部分が回収され、期待される生成物 **66** は満足な収率では得られなかった (最高収率 23%)。おそらく、化合物 **65** の自己重合反応が進行してしまったためと考えられた。実際に、化合物 **55** と化合物 **56** とのカップリング反応では、期待される化合物 **67** が得られた。このことは、ジアセチレンを持つ化合物は同条件下におけるカップリング反応の適切な基質にはなり得ないことを示唆する²⁹⁾。

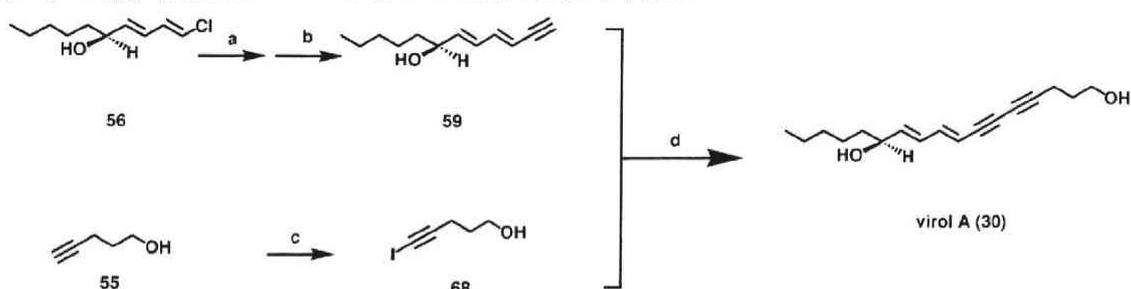


Reagents and conditions: a) *trans*-1,2-dichloroethylene (5 equiv.), $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (5 mol%), CuI (10 mol%), piperidine (2 equiv.), benzene, r.t., 3 h (91%); b) $\text{Na}[\text{AlH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2]$ (1 equiv.), THF, -10°C , 2h; then sat. NH_4Cl aq. -10°C -r.t. (87%); c) 3,4-dihydro-[2H]-pyran (1.5 equiv.), PPTS (10 mol%), CH_2Cl_2 , r.t., 3h (98%); d) *cis*-1,2-dichloroethylene (4 equiv.), $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (5 mol%), CuI (15 mol%), *n*- BuNH_2 (5 equiv.), benzene, r.t., 15 h (92%); e) TBAF (2.5 equiv.), THF, r.t., 21.5 h (91%); f) $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (10 mol%), CuI (5 mol%), piperidine (110 equiv.), r.t., 3h (23%); g) $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (5 mol%), CuI (10 mol%), piperidine (110 equiv.), r.t., 3 h (85%).

Scheme 7

以上のように、経路 **a** による virol A (**30**) の合成はジアセチレン部分の構築に問題を残した。そこで、ジアセチレン部分を最終段階で構築する経路 **b** を試みた。キラルな合成素子 **59** は³⁰⁾、化合物 **56** の ethynyltrimethylsilane とのクロスカップリング反応、脱保護により得られた。他のセグメント (**68**) は、化合物 **55** から文献記載の方法により調製した³¹⁾。化合物 **59** と化合物 **68** の CuI, pyrrolidine 存在下における反応は virol A (**30**) を好収率で与えた。合成 virol A の各種の物理化学的データは、天然 virol A (**30**) のものと一致したため、virol A

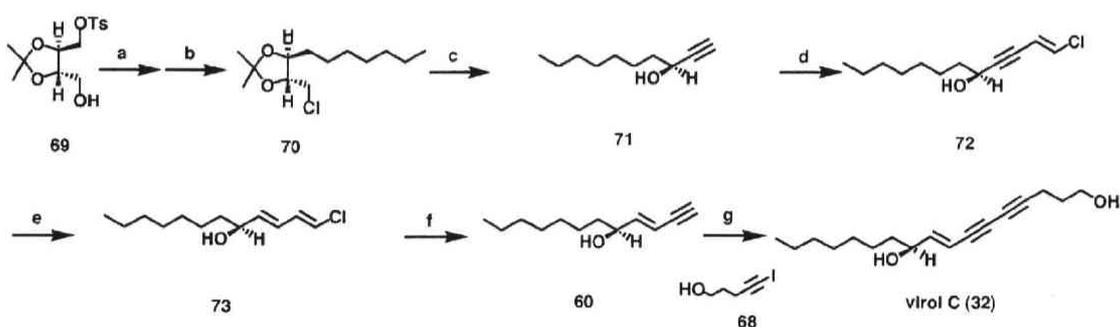
(30) の絶対配置が 12*S* であることが確認された。



Reagents and conditions: a) ethynyltrimethylsilane (2.5 equiv.), $(\text{PhCN})_2\text{PdCl}_2$ (17 mol%), CuI (17 mol%), piperidine (170 equiv.), r.t., 3 h (81%); b) TBAF (1.7 equiv.), THF, r.t., 10 min (99 %); c) I_2 (5 equiv.), morpholine (5 equiv.), benzene, 60 °C, 2 h (92%); d) CuI (10 mol%), pyrrolidine (100 equiv.), r.t., 2 h (91%).

Scheme 8

続いて、経路 **b** が virol A (30) の合成に効率的であったため、引き続き同様な経路により virol C (32) の合成を行った。Threitol 誘導体 (69)^{21b)} から Takano らにより報告されている方法²¹⁾を応用して 3 工程で得られた (*S*)-decyn-3-ol (71)³²⁾ を、*trans*-1,2-dichloroethylene とのクロスカップリング反応に付し、化合物 72 を好収率で与えた。このものをヒドロアルミニウム化、プロトン分解により化合物 73 を得、*n*-BuLi により処理して、セグメント 60 とした。化合物 60 と化合物 68 とのクロスカップリング反応は、virol C (32) を好収率で与えた。合成した virol C の各種の物理化学的データは天然 virol C (32) のそれらと完全に一致したため、virol C (32) の絶対配置は 10*S* であることが確認された。

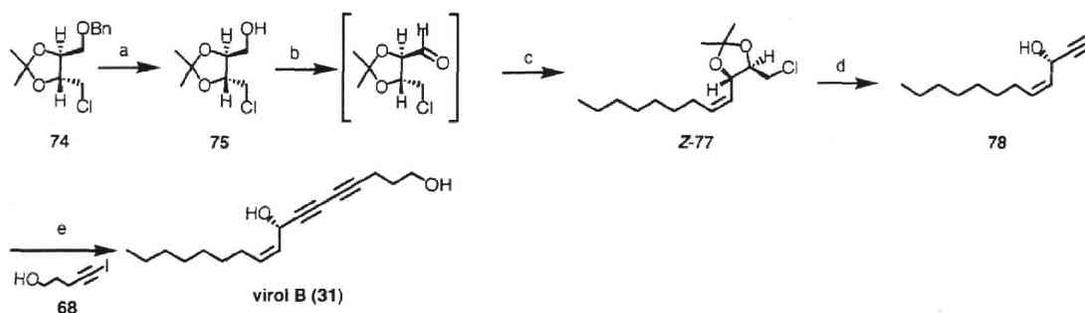


Reagents and conditions: a) *n*-hexylcopper lithium (3 equiv.), Et_2O , -30 °C, 1 h; b) PPh_3 (6 equiv.), CCl_4 , reflux, 26 h (71 %, 2 setps); c) *n*-BuLi (6 equiv.), HMPA (6 equiv.), THF, -35 °C, 1.5 h (65%); d) *trans*-1,2-dichloroethylene (5 equiv.), $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (5 mol%), CuI (10 mol%), piperidine (2 equiv.), benzene, r.t., 4h (85%); e) $\text{Na}[\text{AlH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2]$ (1.2 equiv.), THF, -10 °C, 2 h; then sat. NH_4Cl aq. -10 °C-r.t. (84%); f) *n*-BuLi (6 equiv.), HMPA (6 equiv.), THF, -35 °C, 1.5 h (77%); g) 68 (1.1 equiv.), CuI (10 mol%), pyrrolidine (91 equiv.), r.t., 2 h (65%).

Scheme 9

第2節 Virol B の合成

Virol B (31) は、物理化学的手法によりその絶対構造を決定することは困難であった。そこで、virol B (31) の不斉合成を行うことにより、その絶対構造を決定することとした。Virol A (30), C (32) の合成と同様に、ジアセチレン部分は、合成の最終段階で構築する計画を立てた。すなわち、セグメント 78 を化合物 68 とのカップリング反応に付し、ジアセチレンを構築することとした。Threitol 誘導体 (74)²¹⁾ の脱ベンジル化、酸化、さらに *n*-octyltriphenylphosphonium bromide との Wittig 反応³³⁾ により化合物 *Z*-77 および *E*-77 を 27:2 の比率で得た。次いで、*Z*-77 を二重脱離反応に付し、化合物 78 を得た。最後に、改良 Cadiot-Chodkiewicz 反応の条件を用いて²⁴⁾、化合物 78 と化合物 68 のカップリングを行い virol B (31) を好収率で得た。合成した virol B の比旋光度 ($[\alpha]_D +232^\circ$ (*c* 0.33, MeOH)) を天然 virol B (31) の値 ($[\alpha]_D +221^\circ$ (*c* 0.21, MeOH)) と比較することにより、C-8 の絶対配置を *S* と決定した。



Reagents and conditions: a) H_2 , 10%-Pd on carbon, MeOH- $CHCl_3$, r.t., 15 min. (95%); b) $(COCl)_2$ (3 equiv.), DMSO (6 equiv.), CH_2Cl_2 , $-78^\circ C$, 1.5 h, then Et_3N (9 equiv.), $-78^\circ C$ -r.t.; c) *n*-octyltriphenylphosphonium bromide (1.5 equiv.), *n*-BuLi (1.3 equiv.), THF-HMPA (1:1), $-78^\circ C$, 1 h, then $0^\circ C$, 19 h (54%, 2 steps); d) *n*-BuLi (6 equiv.), HMPA (6 equiv.), THF, $-35^\circ C$, 1.5 h (73%); e) CuI (10 mol%), pyrrolidine (176 equiv.), r.t., 2 h (91%).

Scheme 10

第3章 急性毒性発現に及ぼす多価不飽和アルコールの構造的要因

薬理活性の発現に必須な構造的要因が明らかとなれば、より強力な活性化合物の創製につながる。さらに、それは活性の作用機構研究に極めて有用な情報を提供する。そこで、**cicutoxin (5)**をはじめとする多価不飽和アルコールを、それらの1級および2級水酸基と共役系に注目して様々な誘導体へ導き、これらの化合物についてマウスを用いて急性毒性を検討した (Fig. 16).

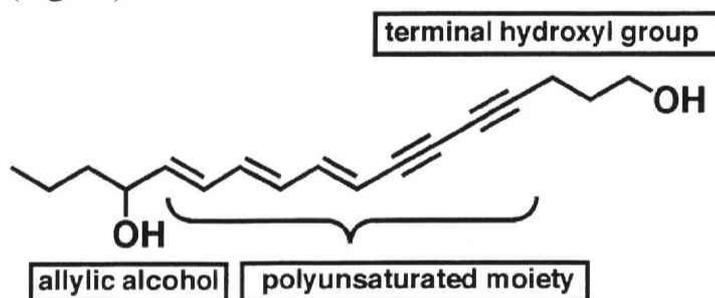
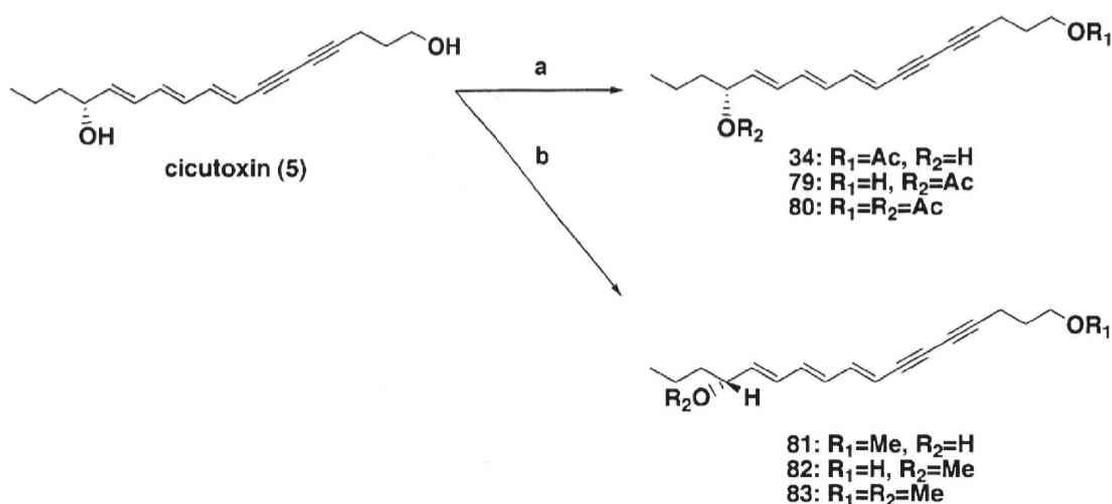


Fig. 16

第1節 多価不飽和アルコールの化学変換

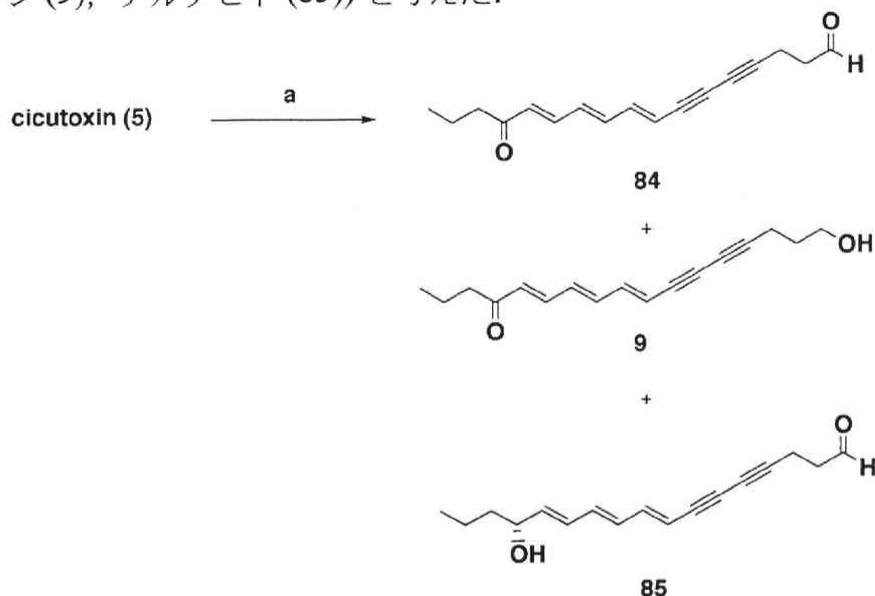
様々な構造的特徴をもつ誘導体を得るために、**cicutoxin (5)**とその類縁体の化学変換を行った。はじめに、**cicutoxin (5)**を定法によりアセチル化し、2種のモノアセチルエステル (**34, 79**) とジアセチルエステル (**80**)を得た。また、**cicutoxin (5)**をDMF中 CH_3I , KOH によりメチル化し、モノ (**81, 82**) およびジメチルエーテル (**83**)とした。



Reagents and conditions: a) Ac_2O (13 equiv.), pyridine (31 equiv.), 0°C , 4 h (**34**: 45%, **79**: 5%, **80**: 21%); b) MeI (4 equiv.), powdered KOH (8 equiv.), DMF, r.t., 15 min. (**81**: 24%, **82**: 5%, **83**: 27%)

Scheme 11

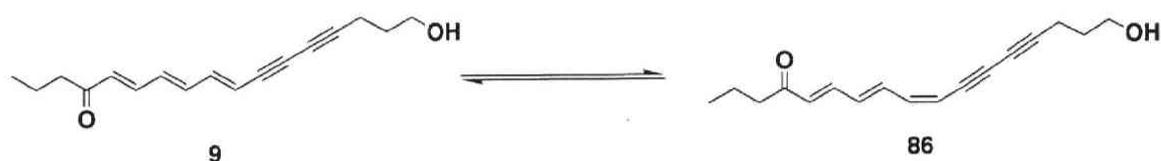
続いて, cicutoxin (5) の 1 級, 2 級水酸基の酸化反応を検討した. その結果, cicutoxin (5) の SO₃-pyridine 錯体および Et₃N を用いた酸化により³⁴⁾, 3 種の生成物 (エノアルデヒド (84), エノン (9), アルデヒド (85)) を与えた.



Reagents and conditions: a) SO₃-pyridine (6 equiv.), Et₃N (29 equiv.), CH₂Cl₂, DMSO, r.t., 4 h (9: 8%, 84: 16%, 85: 13%)

Scheme 12

なお, エノン (9) およびエノアルデヒド (84) は光照射下, 8 位のオレフィンが異性化する. エノン (9) の場合, 研究室内, CDCl₃ 中, 3 時間でエノン (9) と化合物 86 が 65:35 の割合で存在する平衡混合物となる. そこで, これらの化合物は暗所で分離・保存した.



Scheme 13

同様の知見として, 緑濃菌より得られたジエンテトライン構造を持つ caryoynencins (87) が光により幾何異性体の混合物となることが Yamaguchi らにより報告されている³⁵⁾.

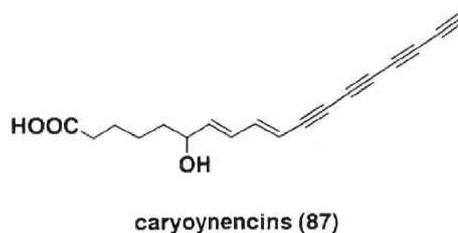
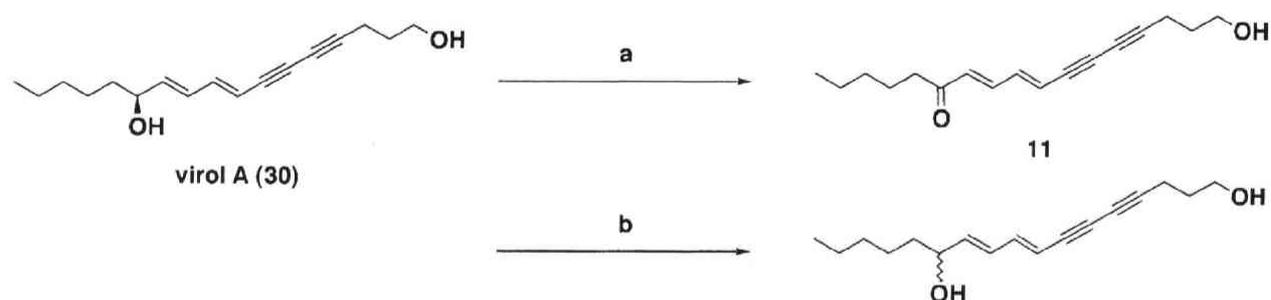


Fig. 17

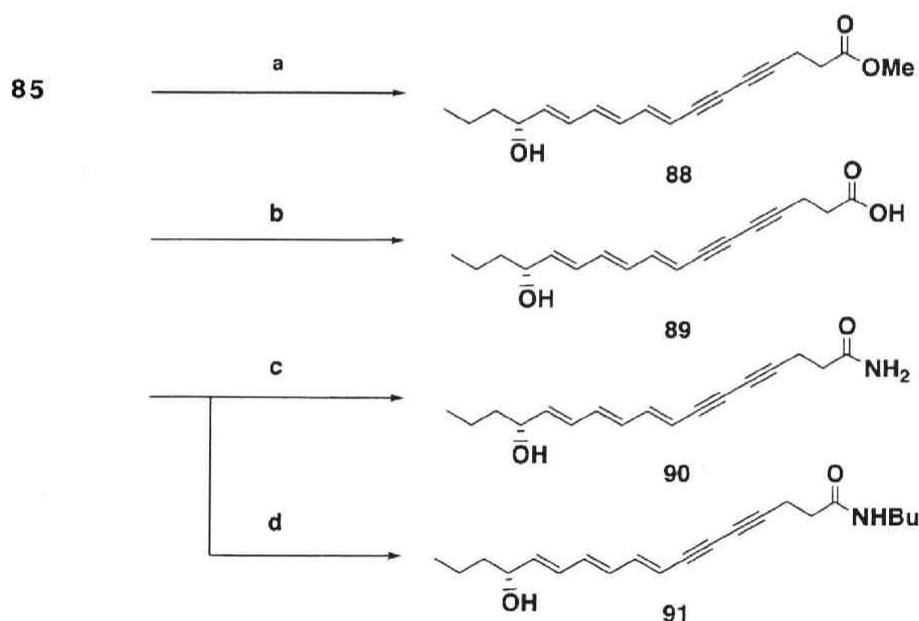
Cicutoxin 誘導体 (9 および 84) は分子内に長い共役系を持つため日光下では極めて不安定であった。そこで, virol A (30) を MnO_2 により酸化することで, より安定な化合物 11 を得た。化合物 11 も光照射により異性化反応が起きるものの, その速度は cicutoxin 誘導体 (9) よりかなり遅かった。さらに, 化合物 11 を NaBH_4 により virol A (30) のラセミ化合物へ還元した。



Reagents and conditions: a) MnO_2 (20 equiv.), CH_2Cl_2 , r.t., 8 h (91%); b) NaBH_4 (0.5 equiv.), MeOH, 0°C , 15 min. (80%)

Scheme 14

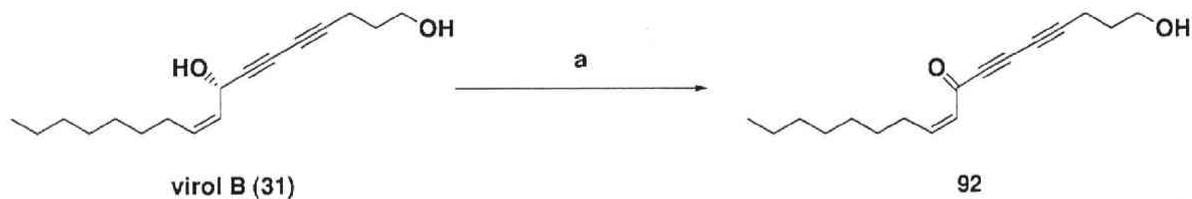
化合物 (85) をメチルエステル (88) へ導き³⁶⁾, この化合物をカルボン酸 (89) へ加水分解した。さらに化合物 89 をアミド (90, 91) へ変換した³⁷⁾。



Reagents and conditions: a) I_2 (1.3 equiv.), KOH (2.6 equiv.), MeOH, r.t., 15 min. (71%); b) 1N NaOH, MeOH, r.t., 9 h. (75 %); c) NH_4Cl (2.4 equiv.), DPPA (2.4 equiv.), Et_3N (5 equiv.), DMF, 0°C , 8.5h (63%); d) BuNH_2Cl (2.4 equiv.), DPPA (2.4 equiv.), Et_3N (5 equiv.), DMF, 0°C , 9.5h (70%).

Scheme 15

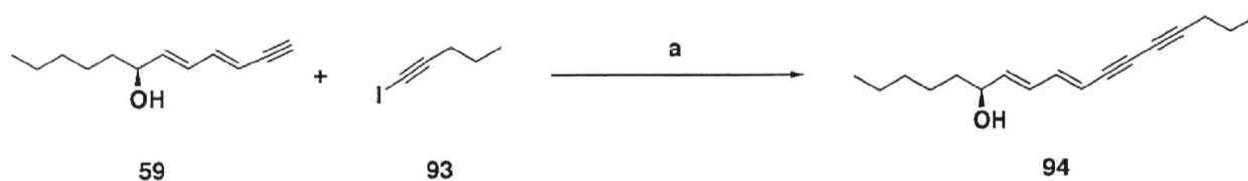
続いて, virol B (31) を MnO_2 により酸化し, 交差共役した構造をもつ化合物 92 を得た.



Reagents and conditions: a) MnO_2 (20 equiv.), CH_2Cl_2 , r.t., 7.5 h (84%)

Scheme 16

Virol A (30) の 1 級水酸基が還元された構造をとる化合物 94 は, virol A (30) の合成中間体である化合物 59 と 1-iodopentyne (93) のカップリング反応により合成された.



Reagents and conditions: a) CuI (10 mol%), pyrrolidine (100 equiv.), r.t., 2 h (83%).

Scheme 17

第2節 多価不飽和アルコールの構造と急性毒性

第1章第1節および第3章第1節で得られた、様々な官能基を有する多価不飽和アルコールについて、マウス腹腔内投与(i.p.)により急性毒性試験を行った。

はじめに共役系の長さとおレフィンの立体化学が急性毒性に及ぼす効果を考察した。Cicutoxin (5, LD₅₀ 値: 2.8 mg/kg) から共役オレフィンが1個減少した共役ジエンジン構造を持つ virol A (30, LD₅₀ 値: 9.5 mg/kg) は、毒性が cicutoxin (5) の約 1/3 以下であった。さらに、virol A (30) よりも共役2重結合が1個減少した virol C (32, LD₅₀ 値: >105 mg/kg) の毒性は極めて弱い。一方、virol A (30) の合成中間体より誘導されたジエンモノイン共役系を持つ化合物 67 (LD₅₀ 値: >70.8 mg/kg) も弱い毒性を示している。これらの結果は、共役系の長さが毒性発現にとって極めて重要な要素であることを示唆している。

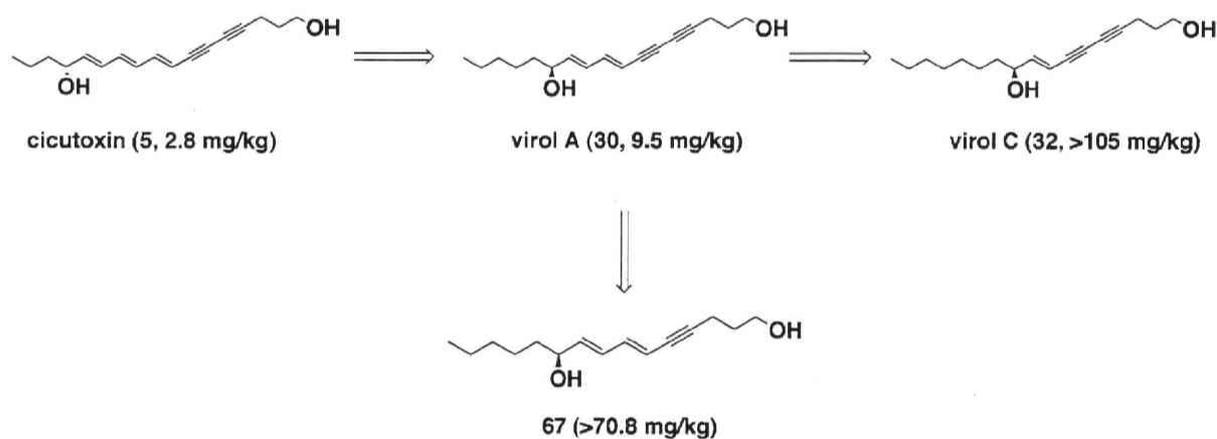


Fig. 18

Cicutoxin (5) の8*Z*,10*E*,12*E*異性体である isocicutoxin (15, LD₅₀ 値: 38.5 mg/kg) の毒性は、cicutoxin (5) の約 1/14 であった。また、オレフィンとアセチレンによる共役系が水酸基により分断された virol B (31, LD₅₀ 値: >393 mg/kg) や falcarindiol (17, LD₅₀ 値: >200 mg/kg) の毒性は極めて弱い。交差共役構造をもつ化合物 92 (LD₅₀ 値: >26 mg/kg) も毒性は弱くなっている。

アセチレンが3個以上共役した化合物 95 の毒性を検討する必要があるものの、強力な毒性を発現するためには、少なくとも2個の*E*配置のオレフィンと2個のアセチレンが共役している構造が必要であることが、本実験結果から明らかとなった。

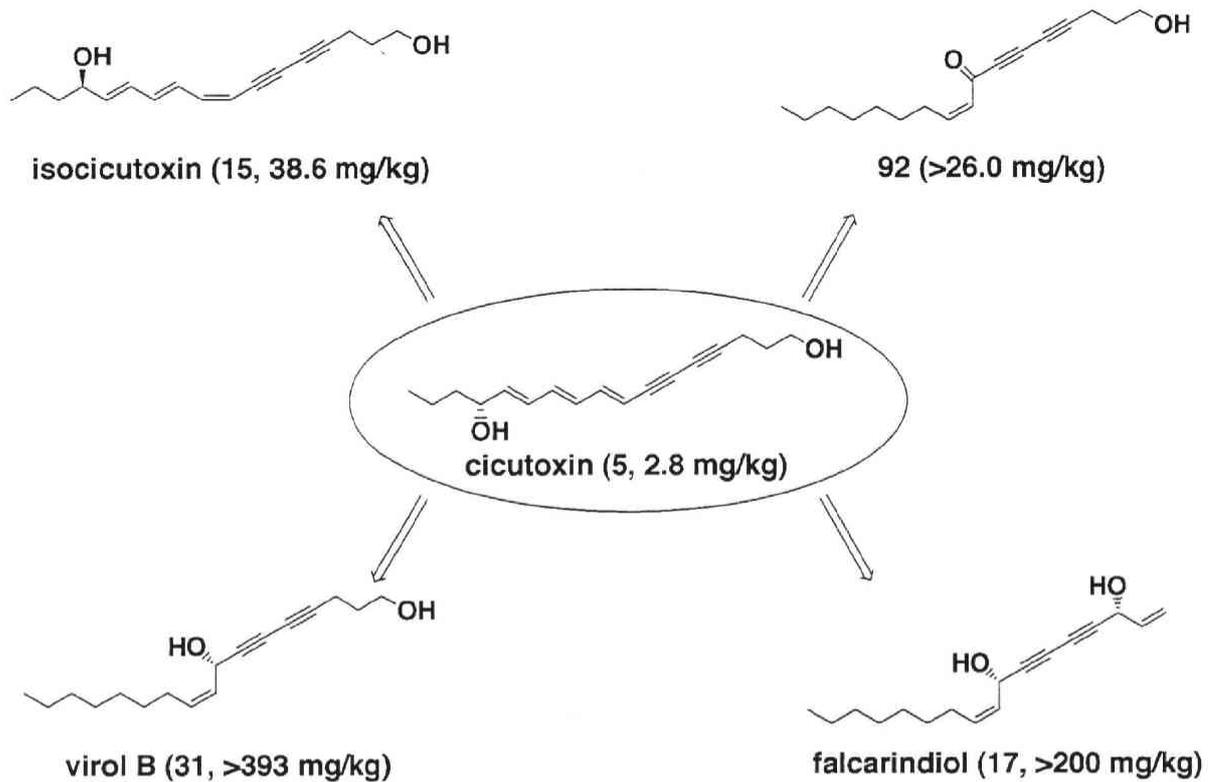


Fig.19

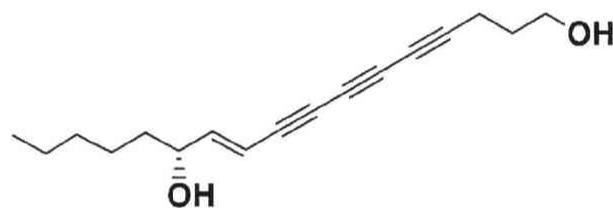


Fig. 20

次に1級水酸基が急性毒性に及ぼす効果を考察した。Cicutoxin (5) の1級水酸基のメチルエーテル (81, LD₅₀ 値: 10.6 mg/kg) の毒性は cicutoxin (5) の約 1/4 であった。また, virol A (30) の1級水酸基が還元された化合物 (94, LD₅₀ 値: >97.6 mg/kg) の毒性は極めて弱い。一方, cicutoxin (5) の1級水酸基のアセチルエステル (34, LD₅₀ 値: 1.9 mg/kg) は cicutoxin (5) より若干強い毒性を示している。アセトキシル基は生体内で水酸基へと容易に加水分解されると推測される。従って, 1級水酸基は毒性を発現するために必須であることが示唆された。

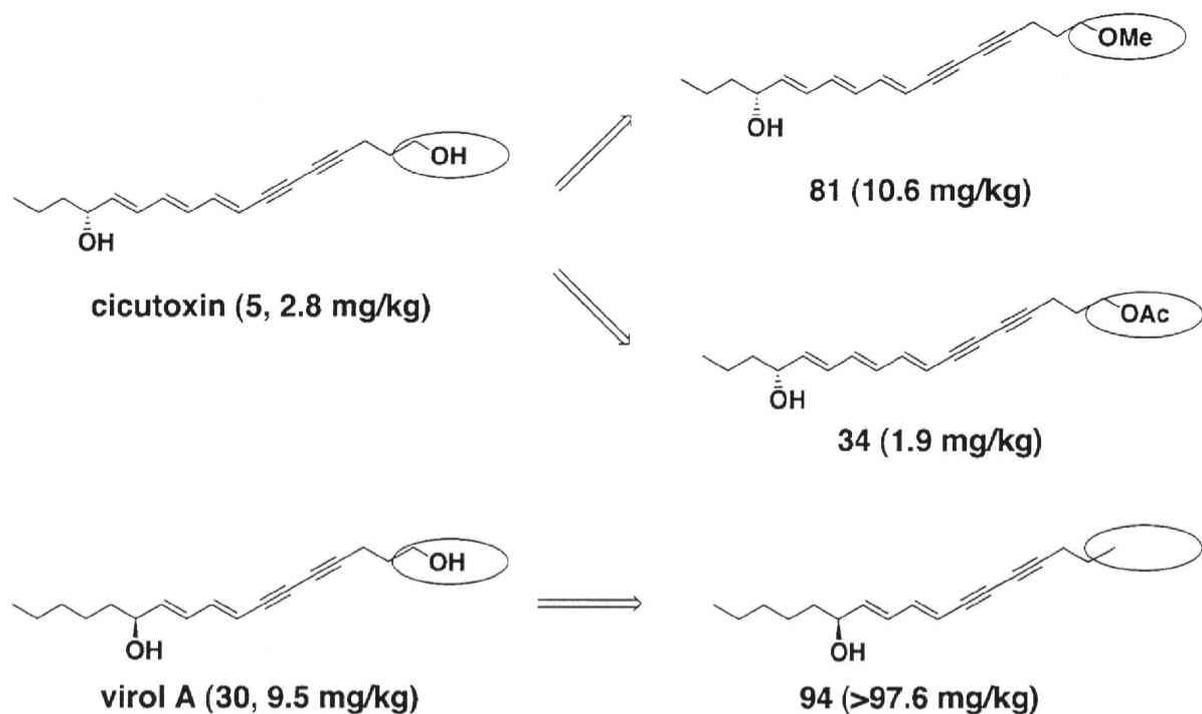


Fig. 21

次に、2級水酸基が急性毒性に及ぼす効果を考察した。Cicutoxin (5) の2級水酸基のアセチルエステル (79, LD₅₀ 値: 2.8 mg/kg) は cicutoxin (5) と同等の毒性を示した。また、cicutoxin (5) の2級水酸基の酸化体 (9, LD₅₀ 値: 7.6 mg/kg) の毒性は、cicutoxin (5) の約 1/3 であった。Virol A (30) の2級水酸基の酸化体 (11, LD₅₀ 値: >25.8 mg/kg) から得られた結果にも同様の傾向がみられた。一方、virol A (30) の2級水酸基が還元された構造を持つ化合物 (8, LD₅₀ 値: >37.8 mg/kg) の毒性は極めて弱い。これらの結果は、毒性発現には2級水酸基が重要な要素を占めていることを示唆する。ところで、virol A (30) とその対掌体とのラセミ化合物 (7.4 mg/kg) は天然 virol A (30, LD₅₀ 値: 9.5 mg/kg) よりも強力な毒性を示した。この実験結果は2級水酸基のキラリティーも毒性を発現するために重要な役割を果たしていることを強力に示唆している。

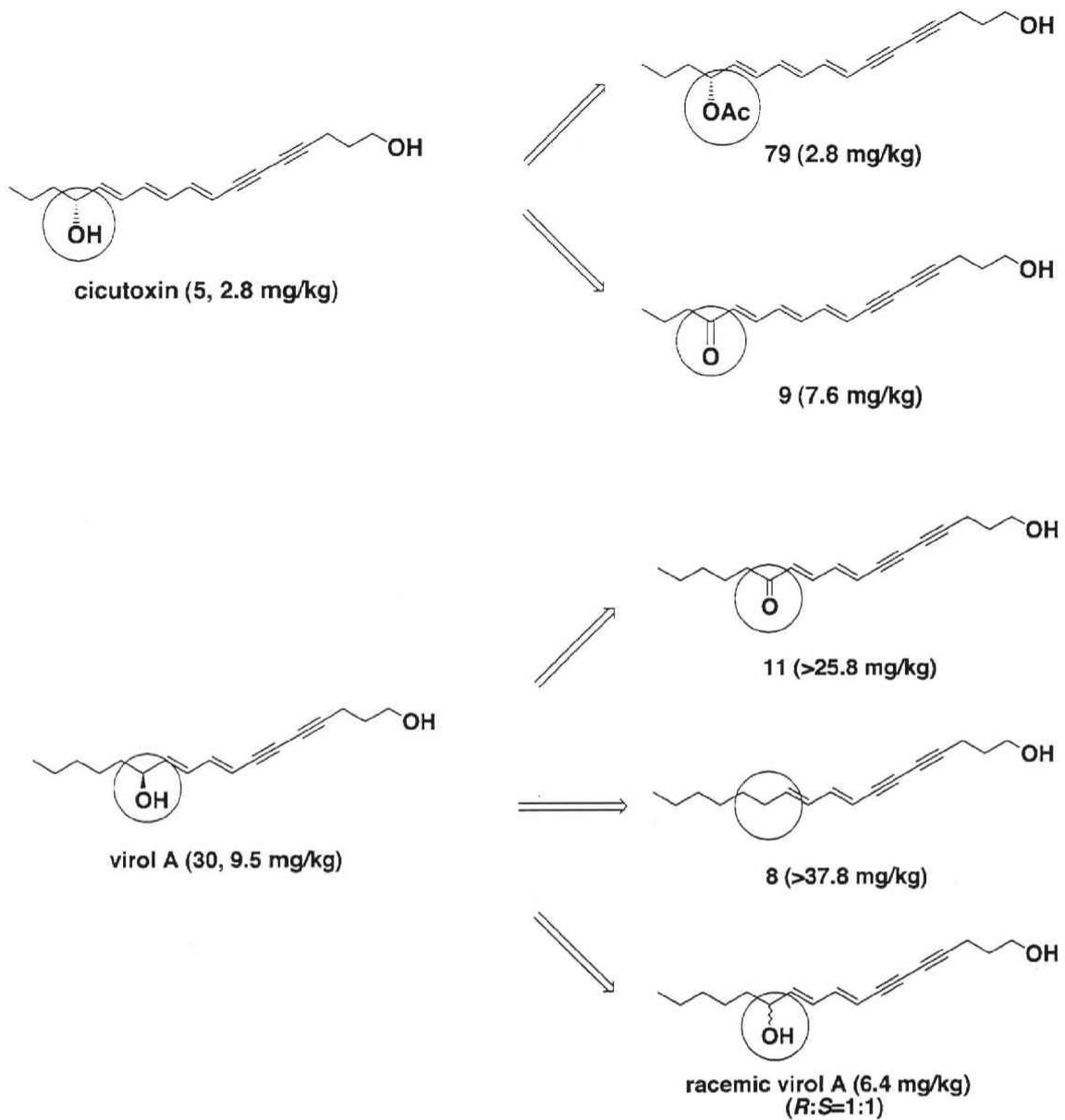


Fig. 22

続いて1級水酸基の酸化段階による毒性の変化を検討した。メチルエステル(88, LD₅₀値: 1.7 mg/kg), カルボン酸(89, LD₅₀値: 0.76 mg/kg) および1級アミド(90, LD₅₀値: 1.1 mg/kg)は cicutoxin (5) と比較して毒性はそれぞれ約2倍, 4倍, 3倍となった。それに対して, アルデヒド(84, LD₅₀値: 4.9 mg/kg), ブチルアミド(91, LD₅₀値: 4.9 mg/kg)は cicutoxin (5) より毒性は減少した。

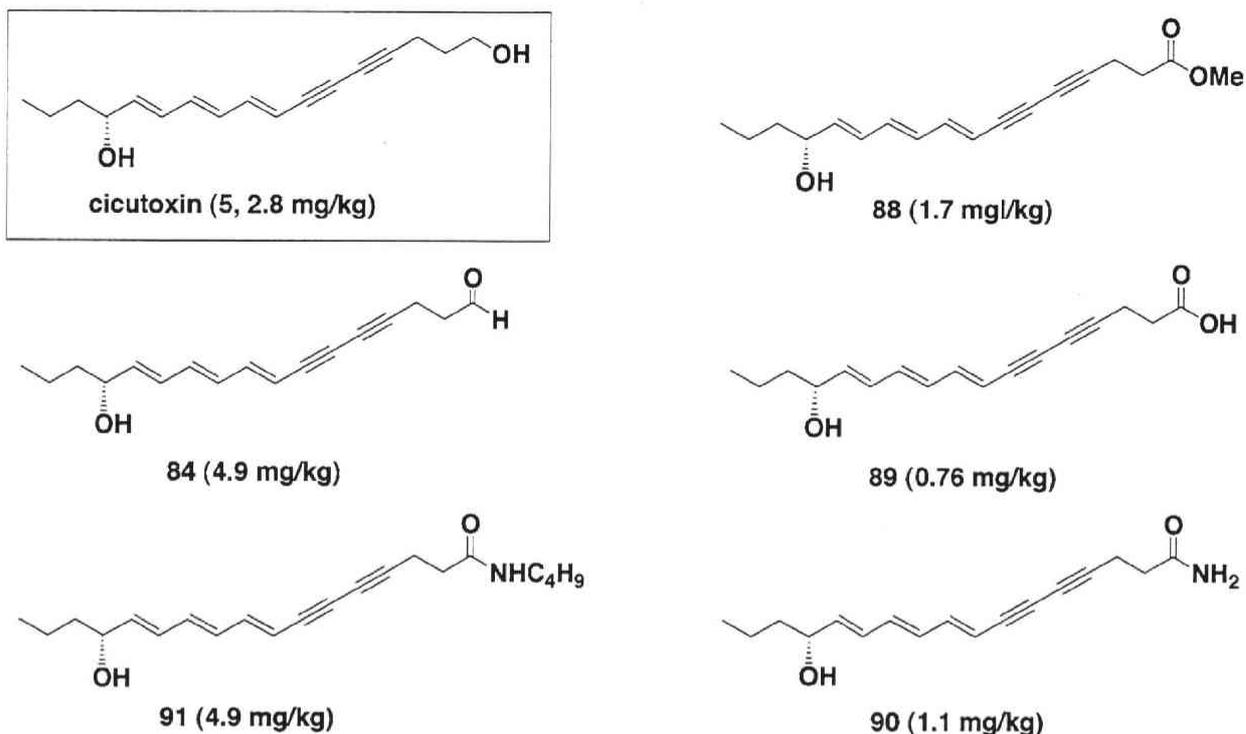


Fig. 23

毒性の弱いアルデヒド (**84**) およびブチルアミド (**91**) については、アルデヒド (**84**) は化学的に極めて不安定なために、またブチルアミド (**91**) はアミド窒素に接続するアルキル基による立体的な妨害のために毒性の発現が妨げられているものと推測した。従って、1級水酸基に加えて末端に存在するカルボニル基も毒性発現へ導く要素であると考えられる。天然からこれまでに得られていない化合物が強力な毒性を示すという結果は、本化合物群の毒性発現の作用機構を検討する場合、極めて興味深い情報を与えうるものと考えられる。

化合物 **12** (LD_{50} 値: 1.1 mg/kg) は、構造的には上述した分類のいずれにも属さない化合物であるが、この化合物は極めて強力な毒性を示す。さらに、cicutoxin (**5**) をはじめとする他の多価不飽和アルコールはおよそ 10-20 分で毒性を発現するのに対して、化合物 **12** は毒性を発現するまでにおよそ 50-60 分を要する。このことは、化合物 **12** は生体内で代謝された後、毒性を発現していることを示唆している。

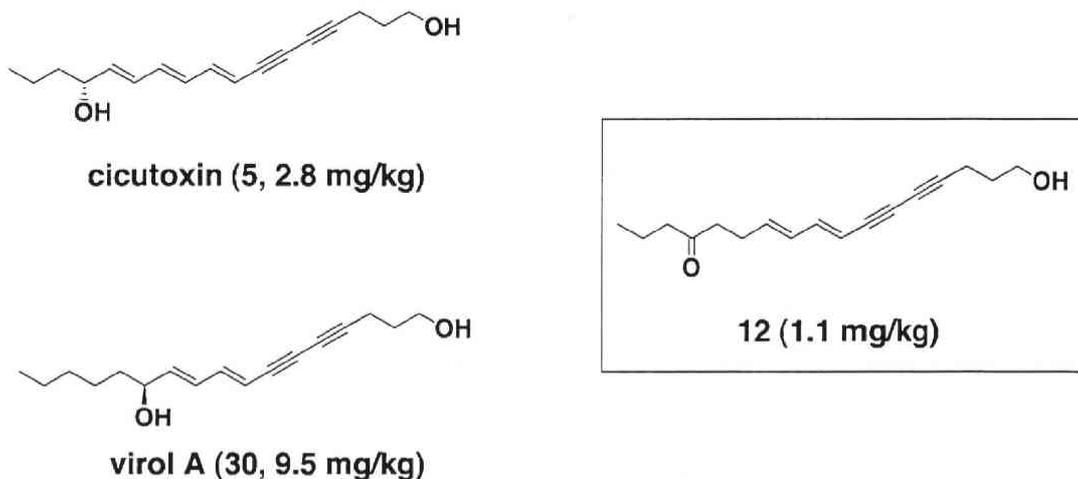


Fig. 24

以上, cicutoxin (5) 類縁体の多価不飽和アルコールの毒性発現に重要な構造的要因は, (1) 1級水酸基の存在およびその酸化段階, (2) 共役系の長さや立体化学, (3) 2級水酸基の存在とそのキラリティーであることが明らかとなった (Fig. 25).

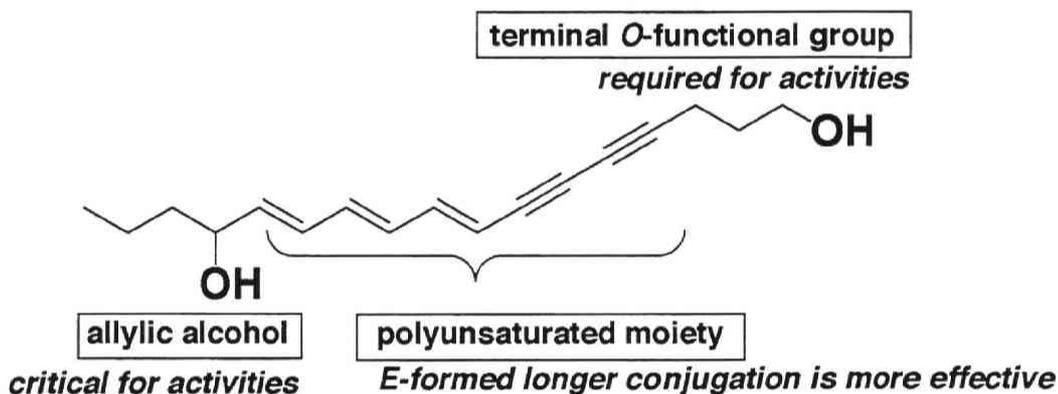


Fig. 25

急性毒性発現に及ぼす多価不飽和アルコールの構造的要因をより明確にするために, 今後はアセチレンが3個以上共役した化合物 (96) や不飽和化合物を全く持たない化合物 (97), 12Rの不斉炭素を有する virol A (30) の対掌体, 水酸基をアミノ基へ変換した化合物 (98) などについても急性毒性を検討する必要がある.

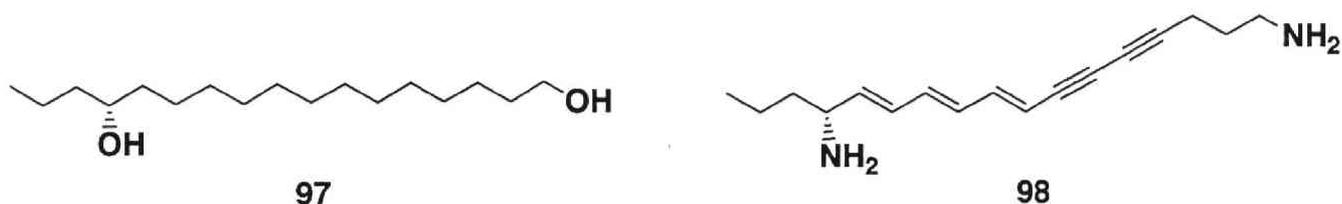


Fig. 26

第4章 電気生理学および受容体結合実験による virol A 誘発痙攣の発現機構の解明

ドクゼリの痙攣発現の作用機構を検討する場合、ドクゼリの主要な毒成分であり、強力な毒性を示す **cicutoxin (5)** を用いることが適切である。しかし、**cicutoxin (5)** は化学的に極めて不安定であるため、詳細な薬理的検討を行うことには困難が予想された。そこで、**cicutoxin (5)** に比べて毒性は若干劣るものの、化学的により安定な **virol A (30)** を用いて痙攣の発現機構を検討した。

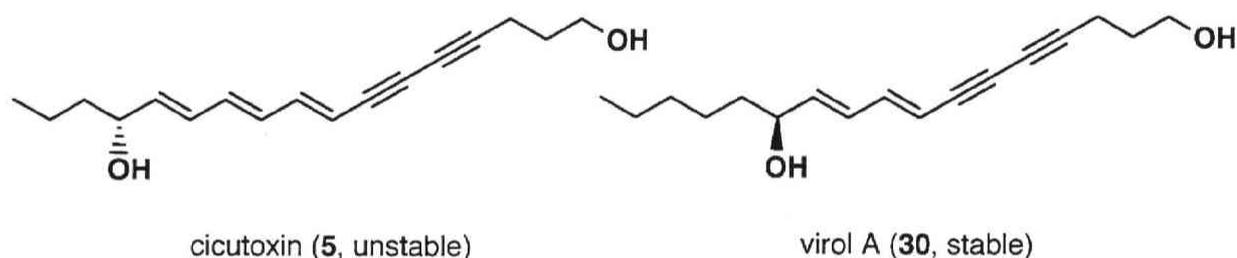


Fig. 27

当研究室で行われた行動薬理学実験により、**virol A** による痙攣誘発までの潜時は (1) バルビツール酸誘導体である **phenobarbital** 前処理により有意に延長される、(2) $GABA_A$ 受容体の **benzodiazepine** 結合部位作用薬である **diazepam** 前処理により有意に延長される、(3) $GABA_A$ 受容体の **GABA** 結合部位アゴニストである **muscimol** 前処理により有意に延長される、(4) $GABA_A$ 受容体の **GABA** 結合部位アンタゴニストである **bicuculline** 前処理により有意に短縮される、という結果が得られた¹⁴⁾。これらの結果から、**virol A (30)** の痙攣発現には $GABA_A$ 受容体に関与していることが示唆されていた。そこで、**virol A (30)** の $GABA_A$ 受容体への関与を電気生理学および受容体結合実験により検討した。

第1節 $GABA$ 誘発電流に対する **virol A** の作用

GABA は、脊椎動物の中樞神経系において最も重要な抑制系伝達物質のひとつである³⁾。**Picrotoxin** や **bicuculline** のような $GABA_A$ 受容体の遮断薬を動物に投与すると、痙攣が引き起こされる。これらの化合物は、海馬 CA1 錐体細胞において、**GABA** 誘発性の Cl^- 電流 (I_{GABA}) を抑制する³⁹⁾。このことから、 $GABA_A$ 受容体に関与して痙攣を誘発すると考

えられる virol A が, GABA 誘発性の Cl⁻ 電流に及ぼす影響を検討することには大きな意味があると考えられる. そこで著者は, 膜電位固定下 nystatin 穿孔パッチクランプ法により, ラット海馬 CA1 錐体細胞での I_{GABA} に対する virol A の作用を検討した.

(1) GABA 誘発電流に対する virol A の影響

保持電位を -40 mV として, GABA を 2 分間隔で約 15 秒間ずつ適用したところ, I_{GABA} は内向き電流として記録された. そこで, GABA を 10⁻⁵ M の濃度で適用し, 安定した I_{GABA} が得られた後に, GABA を適用する 1 分前から virol A (10⁻⁵ M) を適用した. その結果, virol A は単独では電流に全く影響を与えなかった. ところが, GABA (10⁻⁵ M) と virol A (10⁻⁵ M) を同時に適用すると, I_{GABA} は抑制された. 次いで, 実験系内の virol A を標準液で洗浄すると, I_{GABA} は 5 分以内にコントロールとほぼ同じ強度まで回復した (Fig.28).

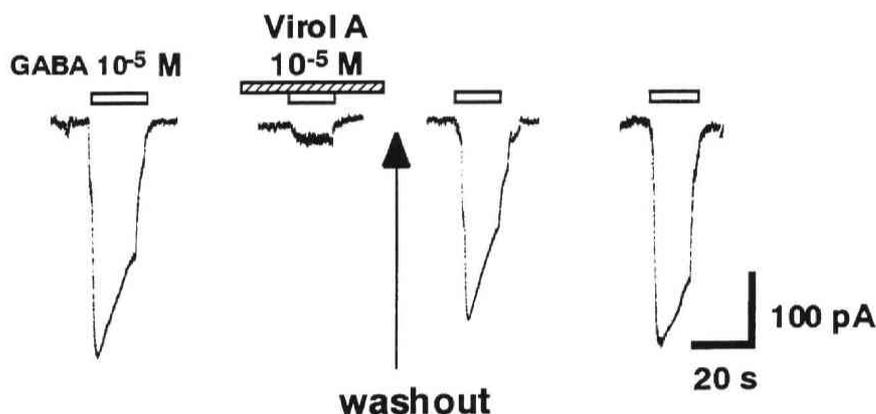


Fig. 28. Effect of virol A (10⁻⁵ M) on the GABA-induced currents in the rat hippocampal neurons. The application of 10⁻⁵ M of GABA induced inward currents at a V_h of -40 mV. I_{GABA} was reduced in the presence of 10⁻⁵ M of virol A.

(2) Virol A の濃度が I_{GABA} の強度に及ぼす影響

Virol A の濃度 (10⁻⁷-10⁻⁵ M) と I_{GABA} の強度の相関を検討した (Fig. 29). その結果, 10⁻⁷ M の濃度の virol A を適用したときには, I_{GABA} の強度に変化はみられなかったが, virol A (30) の濃度を上げるに従い, I_{GABA} は濃度依存的に抑制された. Virol A の濃度を 10⁻⁵ M まで上げると, I_{GABA} はほぼ完全に抑制された (IC₅₀: 9.6 × 10⁻⁷ M). 一方, GABA_A 受容

体のアゴニストである bicuculline の海馬の単離細胞における IC_{50} 値は $2.7 \times 10^{-6} \text{ M}$ であることが報告されている³⁹⁾. 従って, virol A の I_{GABA} に対する抑制効果は bicuculline とほぼ同程度であることが示唆された.

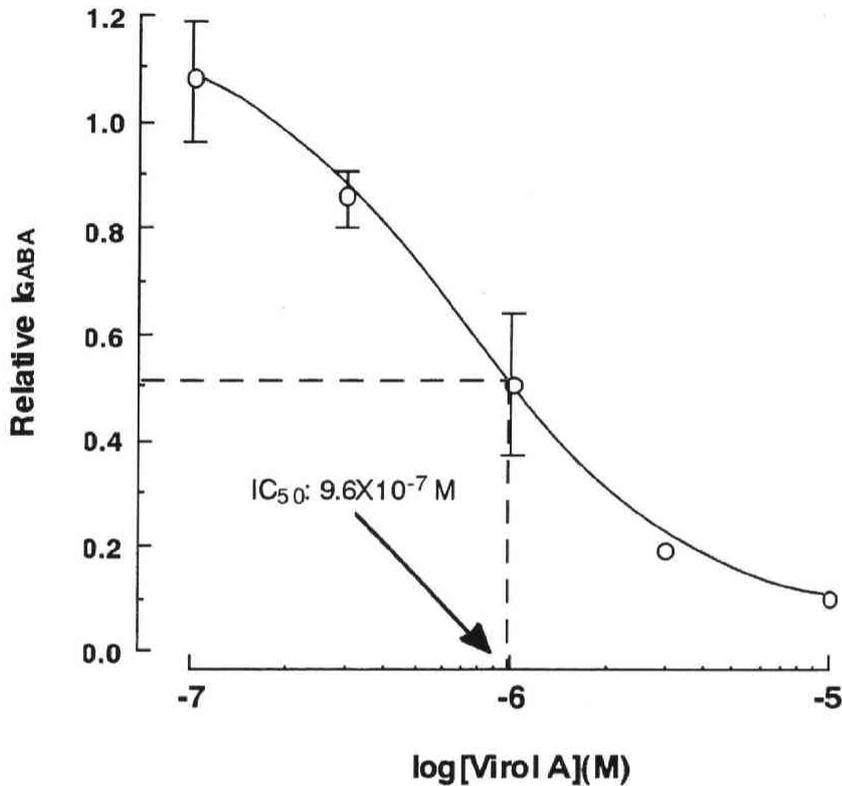


Fig. 29. Concentration-inhibition curve for virol A on I_{GABA} .

All currents amplitudes were normalized to the peak current amplitude induced by 10^{-5} M of virol A. Each point indicates mean relative amplitude \pm S.E.M. from 4 to 7 experiments. The theoretical curves were drawn according to the following equation:

$$I = K_d^n / (C^n + K_d^n)$$

where I is the observed drug-gated current, C is the drug concentration, K_d is the concentration for half maximal response and n is the Hill coefficient.

(3) Cl^- 平衡電位への virol A の影響

$GABA_A$ 受容体は Cl^- イオンチャンネルと複合体を形成している. そこで, Cl^- の平衡電位に対する virol A の影響を検討した. 平衡電位は静止膜電位にほぼ等しいので, この値は膜の内外のイオン濃度の偏りだけを反映する. Virol A 非存在下では, I_{GABA} の電流と膜電位の相関は直線関係を示し, I_{GABA} の平衡電位 (E_{GABA}) は $-17.7 \pm 3.2 \text{ mV}$ であった (Fig. 30, ○). 一方, 細胞外液中の Cl^- 濃度は 161 mM , ピペット内液中の Cl^- 濃度は 70

mM であることから, Nernst の式より Cl⁻ の平衡電位は,

$$\begin{aligned} E_{\text{Cl}} &= RT/F \cdot \ln ([\text{Cl}]_o/[\text{Cl}]_i) \\ &= -58 \log (70/161) \\ &= -21 \text{ mV} \end{aligned}$$

となる. I_{GABA} の平衡電位と Cl⁻ の平衡電位はほぼ等しいことから, 本試験における I_{GABA} は, Cl⁻ を介したものであることが示唆された. 一方, virol A (10^{-6} M) 存在下でも, I_{GABA} の電流と膜電位の相関は直線の関係であり, その傾きから, virol A は, 各膜電位で I_{GABA} を同じ割合で抑制していることが示された. すなわち, virol A による I_{GABA} 抑制作用に電位依存性はないことが明らかとなった (Fig.30, ●). なお, Virol A 存在下での I_{GABA} の E_{GABA} はグラフより -17.2 ± 2.3 mV であった. この結果から, virol A 存在下および非存在下の E_{GABA} がほぼ等しいことが明らかとなり, virol A による I_{GABA} 抑制作用には, Cl⁻ 以外を介した作用は存在していないことが示唆された.

(4) Virol A の有無による I_{GABA} の変化

Virol A の I_{GABA} 抑制機構を調べるために, virol A の有無により生じる GABA 濃度と I_{GABA} の強度の相関の変化を検討した. はじめに, virol A 非存在下における GABA の濃度と I_{GABA} の強度の関係を検討した (Fig. 31, ○). I_{GABA} は, GABA (10^{-7} M) ではほとんど惹起されなかったが, GABA の濃度を上げることにより誘発され, 3×10^{-5} M でほぼ最大値に達した (EC_{50} : 6.5×10^{-6} M).

次に, virol A 存在下における GABA の濃度と I_{GABA} の相関を検討した. 本実験では, virol A の I_{GABA} に対する濃度抑制曲線より得られた IC_{50} 値 (9.6×10^{-7} M) に近い 10^{-6} M の virol A を持続的に適用し, GABA 濃度 (10^{-7} - 3×10^{-4} M) と I_{GABA} の関係を調べた (Fig.31, ●). その結果, virol A (30) の非存在下に比べて, GABA の濃度応答曲線は高濃度側にシフトしたが, I_{GABA} の最大電流値は抑制されなかった (EC_{50} : 2.1×10^{-5} M).

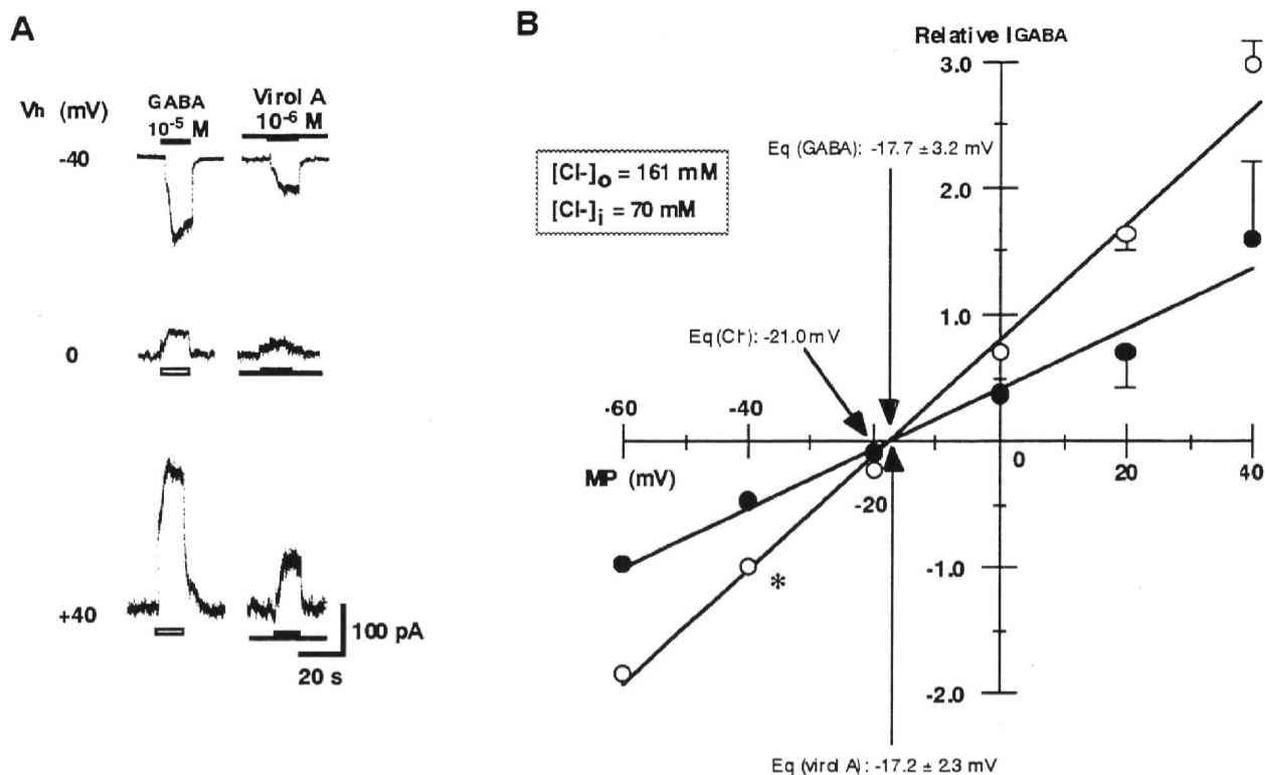


Fig. 30. Effect of virol A on the current-voltage (I-V) relationships for I_{GABA} .
 A: Typical traces of 10^{-5} M of GABA induced currents at various V_h with (right side) or without (left side) virol A (10^{-6} M). B: I-V relationship for I_{GABA} with or without virol A (10^{-6} M). The current amplitudes obtained at each membrane potential were normalized to the peak amplitude induced by 10^{-5} M of GABA at a V_h of -40 mV in the absence of virol A (*). The equilibrium potential of Cl^- calculated from the Nernst equation based on the given external and internal Cl^- concentrations (161 and 70 mM, respectively) was -21 mV. Each point and vertical bar show the mean \pm S.E.M. of 3 to 5 experiments.

このことから、virol A(30)はGABAと競合的に拮抗することで、 I_{GABA} を抑制していると考えられた。すなわち、virol A(30)は、 $GABA_A$ 受容体のGABA結合部位に結合し、GABAの結合部位への結合を妨げることにより痙攣を誘発することが示唆された。

以上の結果から、virol A(30)は、濃度依存的にGABA誘発電流を抑制し、その抑制作用は競合的拮抗作用によるものであることが示唆された。この作用強度および作用機構はGABA結合部位アンタゴニストであるbicucullineと類似したものであると考えられる。

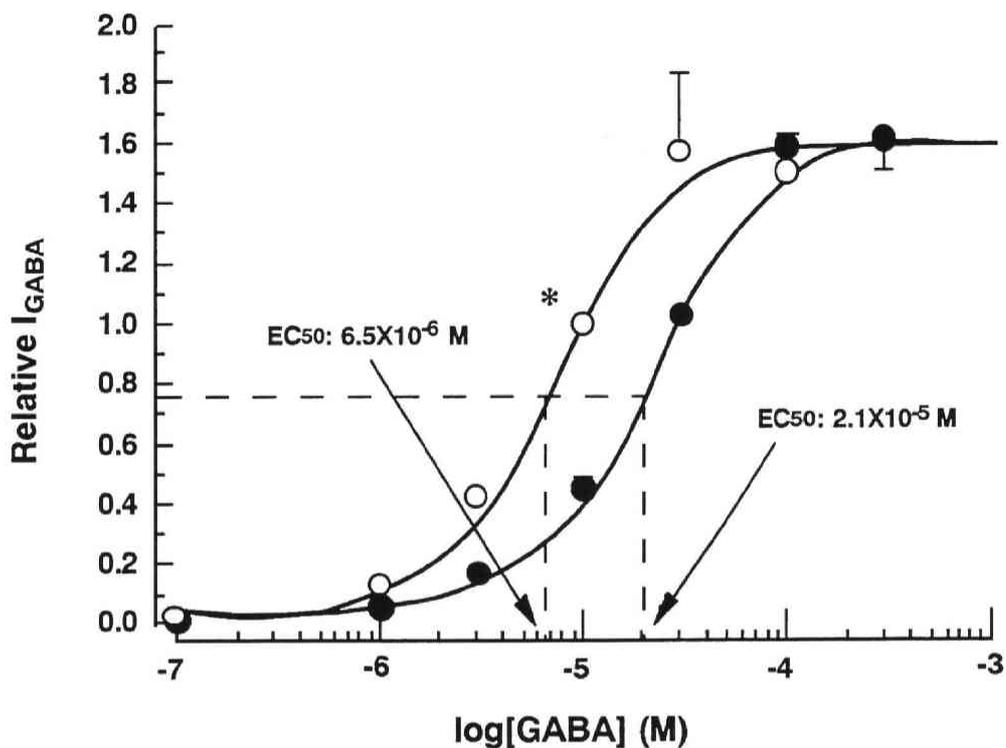


Fig. 31. The concentration-response curves for I_{GABA} with or without virol A 10^{-6} M. V_h was -40 mV. All current amplitudes were normalized to the peak amplitude induced by the 10^{-5} M of GABA in the absence of virol A (*). I_{GABA} concentration-dependently increase and reached maximum response at concentration of 3×10^{-5} M (○). In the presence of 10^{-6} M of virol A, the concentration-response curve for I_{GABA} was shifted to the right side, whereas the maximum response was not changed (closed circle). Each point and vertical bar show the mean \pm S.E.M of 4 to 6 experiments. The theoretical curves were drawn according to the following equation:

$$I = I_{max} \frac{C^n}{C^n + K_d^n}$$

where I_{max} is the maximum current, others are the same as Fig. 29.

第2節 電位依存性 Na⁺ および K⁺ 電流に対する virol A の作用

これまでに、cicutoxin はモノアラ貝の巨大神経細胞において、自発発火による活動電位の再分極を延長することが報告されている¹¹⁾。このことは、cicutoxin が活動電位の再分極層に関与する電位依存性 K⁺ チャネルのうち、遅延整流 K⁺ 電流を抑制している可能性を示唆している。また、T-リンパ球を用いたパッチクランプ法による検討により、cicutoxin が電位依存性 K⁺ 電流 (I_K) を濃度依存的に抑制することも報告されている¹²⁾。しかし、いずれの報告においても、10⁻⁵ M 以上の濃度の cicutoxin で抑制作用が発現され、10⁻⁴ M の濃度の cicutoxin を用いても、I_K は完全には抑制されていない。そこで、これらの報告を確認するために、virol A の電位依存性 Na⁺ および K⁺ 電流に対する作用を検討した。

CdCl₂ (10⁻⁴ M) を含む Choline-Cl をベースにした細胞外液中、保持電位を -70 mV とし、強さ 60 mV, 持続時間 300 ms の脱分極パルスを与え、電位依存性 Na⁺ 電流 (I_{Na}) を記録した。その結果、I_{Na} は、一過性の内向き電流として記録された (Fig. 32)。I_{Na} が安定してから、virol A (10⁻⁶ M および 10⁻⁵ M) を 1 分間適用した結果、virol A は 10⁻⁶ M の濃度では I_{Na} にほとんど影響を与えなかったが、(抑制率 4.5 ± 2.7 %), 10⁻⁵ M の濃度では 31.1 ± 1.4 % 抑制した。

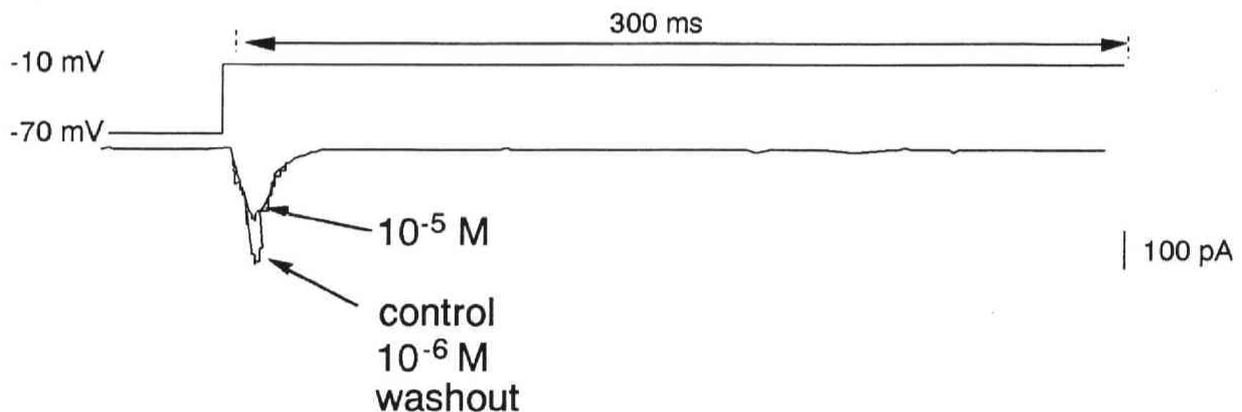


Fig. 32. Effect of virol A on I_{Na}. External solution involved 10⁻⁴ M of CdCl₂.

また、tetrodotoxin (3 × 10⁻⁷ M) および CdCl₂ (10⁻⁴ M) を含んだ標準溶液中で、保持電位を -80 mV とし、強さ 110 mV, 持続時間 800 ms の脱分極パルスを与え、

えることにより I_K を記録した。この条件では、一過性 K^+ 電流と遅延整流 K^+ 電流の集合電流が記録され、 I_K は刺激中持続するピークを持った外向き電流として記録される。 I_K が安定してから virol A (10^{-6} および 10^{-5} M) をそれぞれ 1 分間適用した。その結果、ピーク電流については、いずれの濃度でもほとんど影響がみられず、その抑制率は virol A を 10^{-6} M 適用した場合は $1.8 \pm 4.5\%$ 、 10^{-5} M 適用した場合は $13.5 \pm 8.5\%$ であった。また、定常状態の電流に対しては、 10^{-6} および 10^{-5} M の濃度の virol A はそれぞれ $6.1 \pm 6.7\%$ 、 $40.5 \pm 8.2\%$ の電流を抑制した。

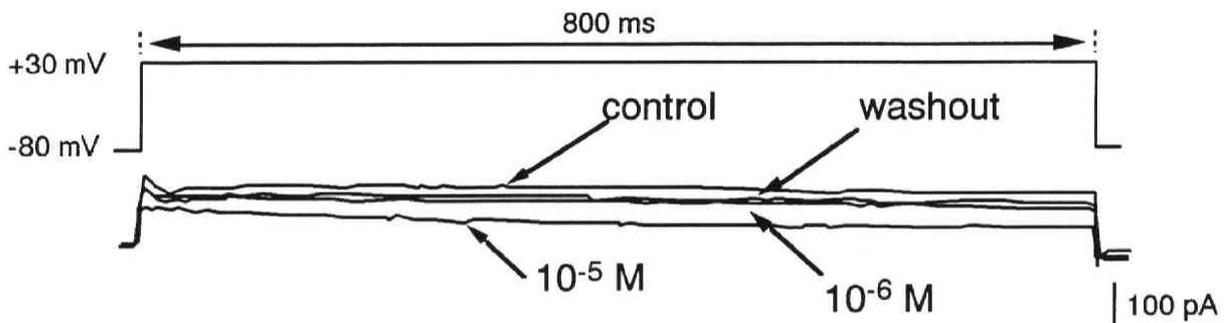


Fig. 33. Effect of virol A on I_K . External solution involved 3×10^{-7} M of TTX and 10^{-4} M of $CdCl_2$.

以上の結果から、virol A は、 I_{Na} および I_K に対して、 10^{-5} M で抑制作用を示したものの、強い作用ではなかった。このため、virol A は I_{Na} や I_K よりも I_{GABA} に対する作用の方が強く発現しているものと考えられた。

第3節 Virol Aの種々のGABA_A受容体に対する結合実験

細胞膜受容体の第1の機能であるアゴニストの特異的結合は、細胞の刺激応答連関の最初の段階である。アゴニスト刺激に対する細胞の応答の程度は、受容体-アゴニスト複合体の量に比例する。このため、この量は薬理的に極めて重要な値である。これを求めるための試験管内 (*in vitro*) 実験が受容体結合実験である。

ところで、これまでの実験結果より、virol AはGABA_A受容体のGABA結合部位に作用することで痙攣を誘発していることが推定された。そこで、GABA_A受容体の各結合部位へのvirol Aの結合の程度を受容体結合実験により検討することとした。

Virol A(30)とGABA_A受容体のGABAアゴニスト結合部位⁴⁰⁾、benzodiazepine結合部位⁴¹⁾あるいはCl⁻チャンネル⁴²⁾との受容体結合実験を検討した。その結果、virol AはGABA結合部位およびbenzodiazepine結合部位に対してほとんど親和性を示さなかった。一方、³H-EBOB(3 nM)をリガンドとしてvirol AとCl⁻チャンネルの結合を検討したところ、virol Aは、濃度依存的に³H-EBOBの結合を阻害した(IC₅₀: 1.15 x 10⁻⁶ M)。この結果は、Cl⁻チャンネル遮断薬として知られるpicrotoxin(IC₅₀: 1.18 x 10⁻⁷)には若干劣るものの、virol AはCl⁻チャンネルに高い親和性を持つことを示している(Fig. 34, Table 2)。

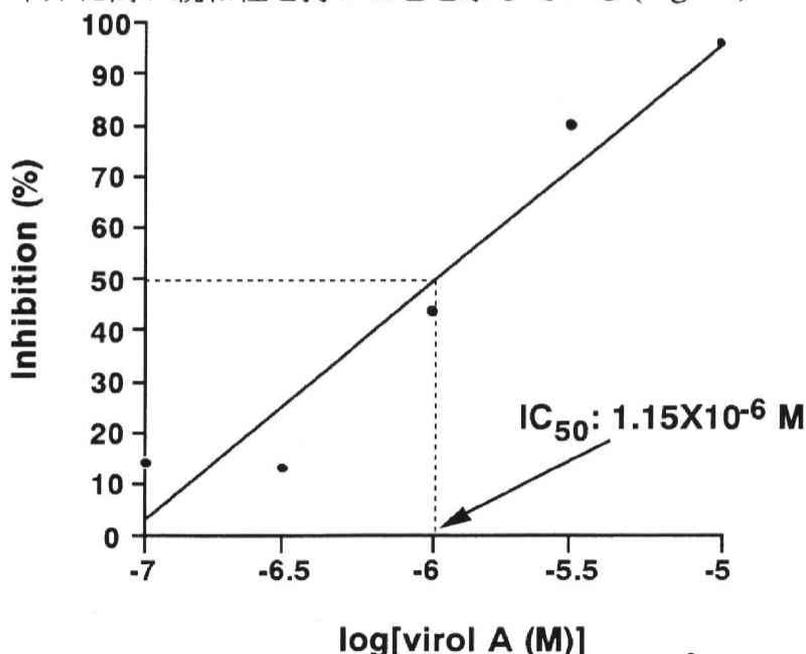


Fig. 34. Concentration-inhibition curve for virol A in ³H-EBOB binding to rat brain membrane preparation. Rat brain membrane preparation was incubated with 3 nM ³H-EBOB and various concentrations of virol A at 25°C for 1h.

Table 2. IC₅₀ values of virol A on GABA receptors

Receptor	ligand	IC ₅₀	
		virol A	positive control
GABA (Agonist site)	³ H-Muscimol	>1x10 ⁻⁵	1.24x10 ⁻⁷ (Muscimol)
GABA (Benzodiazepine)	³ H-Flunitrazepam	>1x10 ⁻⁵	1.37x10 ⁻⁷ (Diazepam)
GABA (Cl ⁻ channel)	³ H-EBOB	1.15x10 ⁻⁶	1.18x10 ⁻⁷ (Picrotoxin)

第4節 Virol A 痙攣発現機構の考察

ヒトの身体ではすみずみまで神経回路が張り巡らされ、外界からの刺激を脳に伝えるとともに、脳からの指令を末梢器官に伝えている。ニューロン(神経細胞)は情報伝達において最小の構造単位であり、ある一定以上の刺激に応答して興奮する。興奮はニューロン内では電気的な信号として伝わるが、細胞間では主にシナプス構造において伝達される。化学的シナプスでは、ニューロン間は電氣的にほぼ絶縁されており、情報伝達は神経伝達物質という化学物質を介してなされている。シナプスはニューロン間およびニューロンと効果器細胞間に形成され、情報伝達を行うのに都合のよい構造をしている。化学的シナプスでは、電気信号(活動電位、インパルス)を伝導するシナプス前ニューロン末端(シナプス小頭、シナプスボタン)が、20 nm 程度のシナプス間隙を挟んでシナプス後ニューロンのシナプス下膜に対峙している。シナプス前ニューロン末端には神経伝達物質を濃縮貯蔵しているシナプス小胞があり、シナプス下膜には高密度に神経伝達物質受容体やイオンチャネルが存在している。

筋緊張を制御するシステムの1つとしてCl⁻チャネル結合型受容体であるGABA_A受容体を介する経路が知られている。これには2種類の作用機構が知られている⁴³⁾(Fig.35)。1つはシナプス前抑制と呼ばれている機構である。これはシナプス前ニューロン末端へ別のニューロンから抑制性の入力があり、ここでGABAが放出されるタイプのものである。GABAはシナプス前ニューロン末端にあるGABA_A受容体を刺激し、受容体で構成されているCl⁻チャネルを開口させる。神経終末部のCl⁻濃度がニューロン細胞体より高く保たれており、またCl⁻の平衡電位が静止電位より脱分極側にあるためにCl⁻が細胞外に流出し、脱分極が生じる。その結果、Na⁺チャネルの抑制がかかり、伝導してきた活動電位に対応した脱分極がし難くなるとともに、Cl⁻コンダクタンス増加の短絡効果により活動電位の振幅が減少し、興奮性神経伝達物質放出が抑制される。もう1つはシナプス後抑制である。抑制性のシナプスにおいてシナプス前ニューロン末端からGABAが放出され、受容体を刺激し、Cl⁻チャネルを開口させる。ニューロン細胞体の細胞内のCl⁻濃度が細胞外よりも低く保たれていて、Cl⁻の平衡電位も膜電位より深い

ので Cl^- が細胞内に流入し、その結果過分極を引き起こす。そのため、興奮性入力がか
 ても脱分極が起こりにくくなり、シナプス後部のニューロンの興奮が抑制される。

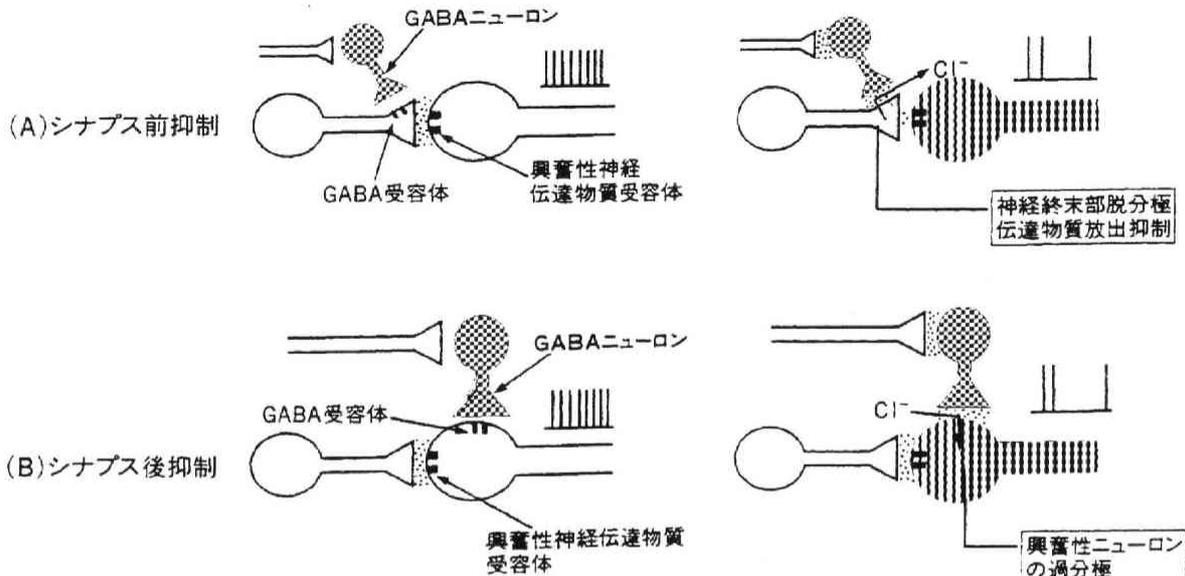


Fig. 35

GABA_A 受容体は、抑制性伝達物質である GABA の結合部位とともに、複数のアロステリック部位を持ち、複雑な薬理的性質を持っている。アロステリック部位には、中枢神経系の抑制剤であるバルビツール酸誘導体、精神安定剤である benzodiazepine、および化学合成あるいは内在性のステロイドが結合する部位が知られている (Fig.36)。これらの結合部位に結合する化合物のうち、バルビツール酸誘導体、benzodiazepine, pregnane steroid, GABA 結合部位に結合する muscimol は GABA の作用を強める (Fig. 36, (↑))。一方、bicuculline は GABA 結合部位を阻害する (↓)。

ところで、 GABA_A 受容体に作用し痙攣を誘発する天然毒として、picrotoxin がよく知られている。この化合物は、シナプス前抑制により痙攣を誘発する。すなわち、 GABA_A 受容体の picrotoxin 結合部位と結合することによって、共役する Cl^- チャネルを閉じ、 Cl^- の流入を阻害する。従って、抑制性 GABA 神経の抑制すなわち脱抑制が起こる結果、痙攣が誘発される。

以前に行われた行動薬理学研究により、virol A (30) は、picrotoxin 誘発性痙攣と同様

の機構により痙攣を発現している可能性が示唆されていた¹⁴⁾。そこで、virol A の GABA_A 受容体への関与を電気生理学および受容体結合実験により検討した。電気生理学の実験で得られた結果からは、virol A は、GABA_A 受容体の GABA 結合部位に結合することで GABA の作用を競合的に阻害するということが推測された。一方、受容体結合実験から得られた結果では、virol A は、GABA 結合部位ではなく、Cl⁻ チャンネルに結合し、Cl⁻ の細胞内への流入を阻害することで、間接的に GABA_A 受容体機能を阻害するということが示唆された (Fig. 36).

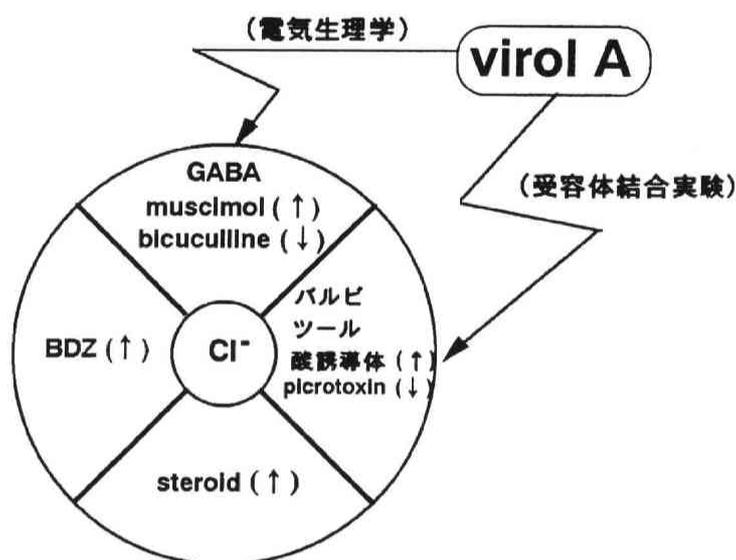


Fig. 36. Effect of virol A on GABA_A receptor

この2つの実験結果は、virol A の GABA_A 受容体に対する作用機構について異なった解釈を与えており、これらの結果について検討するために、今後、picrotoxin を virol A と競合させることにより、電気生理学的に virol A の Cl⁻ チャンネルとの関係を確認する必要がある。また、GABA と virol A との間の化学的な親和性のために、電気生理学実験では virol A が GABA と競合的に拮抗しているような結果を与えていることも推測される。この可能性を否定するためにも、GABA 結合部位アゴニストである muscimol などを用いて電気生理学による検討を行う予定である。受容体結合実験では、GABA_A 受容体が生体内で存在しているときの状態を立体的に保持していない可能性も考えられるため、実際の GABA_A 受容体と virol A との相互作用を反映していない可能性もある。

以上の結果、virol A が、Cl⁻ チャンネルに結合するとともに、その構造の一部が GABA 結合部位への GABA の結合を阻害することにより痙攣を誘発していると推測している。

第5章 多価不飽和アルコールの Cl⁻ チャネルへの結合

第3章における急性毒性に及ぼす多価不飽和アルコールの構造的な要因の検討では、その急性毒性と構造の相関には極めて明確な傾向が存在することが明らかとなった。一方、第4章では、virol A (30) は GABA_A 受容体を介して痙攣を誘発していることが示唆された。現在その詳細は明らかではないが、受容体結合実験の結果から、virol A (30) は少なくとも GABA_A 受容体の Cl⁻ チャネルに強い親和性を持つことが明らかとなっている。以上の結果を踏まえて、Cl⁻ チャネルへの結合に重要な役割を持つ多価不飽和アルコールの構造的な要因 (*in vitro* による検討) を、急性毒性における構造活性相関 (*in vivo* による検討) と比較・検討することは極めて興味深い。そこで、第3章で用いた多価不飽和アルコールを GABA_A 受容体の Cl⁻ チャネルとの結合実験に適用した (Table. 3)。その結果、2級水酸基のキラリティーに関しては期待した結果を得ることができなかったものの、強い急性毒性を示す化合物ほど、Cl⁻ チャネルにも特異的に結合する傾向を示し、急性毒性と Cl⁻ チャネルへの結合の強さに関与する構造的な要因には極めてよい一致が見られた。従って、cicutoxin (5) 類縁体の GABA_A 受容体 Cl⁻ チャネルへの親和性に重要な構造的な要因は、急性毒性における構造活性相関でみられた傾向と同様に (1) 1級水酸基の存在およびその酸化段階、(2) 共役系の長さおよび立体化学、(3) 2級水酸基の存在であることが明らかとなった (Fig. 37)。このことは、Cl⁻ チャネルへの結合が本化合物群の痙攣誘発の主経路であることを示唆している。

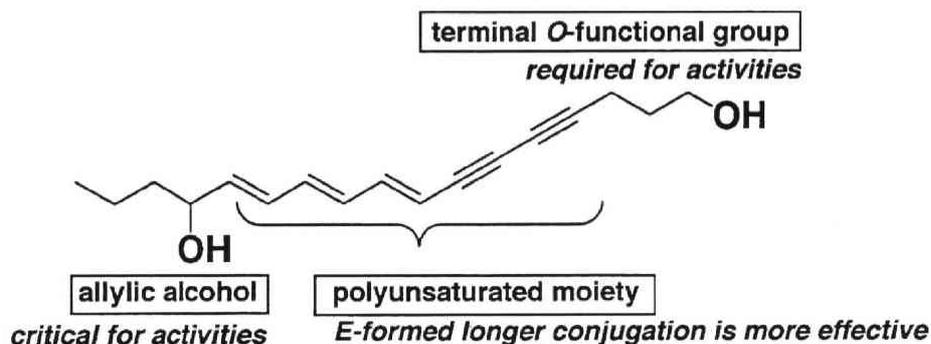


Fig. 37

Table 3. Inhibition and IC₅₀ values of polyacetylenic alcohols on GABA (Cl⁻ channel) receptor

Compounds	Inhibition (%)					IC ₅₀ (M)	LD ₅₀ (mg/kg) (mice, i.p.)
	1X10 ⁻⁷ M	3X10 ⁻⁷ M	1X10 ⁻⁶ M	3X10 ⁻⁶ M	1X10 ⁻⁵ M		
共役系の長さの関与							
5	6.25	42.25	53.07	82.03	99.62	5.44X10 ⁻⁷	2.8
30	14.13	13.38	43.52	80.09	95.96	1.15X10 ⁻⁶	9.5
32	8.34	0.00	4.03	24.45	56.98	7.87X10 ⁻⁶	>105
67	4.51	3.80	7.02	10.17	30.24	>1X10 ⁻⁵	>70.8
共役系の形の関与							
5	6.25	42.25	53.07	82.03	99.62	5.44X10 ⁻⁷	2.8
15	10.94	18.14	38.55	55.81	78.41	2.01X10 ⁻⁶	38.6
17	0.00	4.93	0.00	15.95	46.49	>1X10 ⁻⁵	>200
31	16.39	4.77	1.37	25.85	68.31	6.01X10 ⁻⁶	>393
92	9.19	15.78	8.72	8.37	38.73	>1X10 ⁻⁵	>26.0
1級水酸基の関与							
5	6.25	42.25	53.07	82.03	99.62	5.44X10 ⁻⁷	2.8
34	12.38	26.57	47.15	69.45	93.21	1.10X10 ⁻⁶	1.9
81	1.93	4.21	14.14	33.84	57.95	6.79X10 ⁻⁶	10.6
30	14.13	13.38	43.52	80.09	95.96	1.15X10 ⁻⁶	9.5
94	0.00	0.00	0.00	7.07	31.32	>1X10 ⁻⁵	>97.6
2級水酸基の関与							
5	6.25	42.25	53.07	82.03	99.62	5.44X10 ⁻⁷	2.8
9	6.37	5.18	13.63	61.03	81.45	3.05X10 ⁻⁶	7.6
79	0.00	2.04	5.18	10.17	18.62	>1X10 ⁻⁵	2.8
30	14.13	13.38	43.52	80.09	95.96	1.15X10 ⁻⁶	9.5
8	1.96	4.88	4.97	10.87	21.82	>1X10 ⁻⁵	>37.8
11	0.00	4.45	6.76	17.47	43.43	>1X10 ⁻⁵	>25.8
virol A racemic	5.56	23.63	34.05	70.49	85.43	1.39X10 ⁻⁶	6.4
1級水酸基の酸化段階の関与							
5	6.25	42.25	53.07	82.03	99.62	5.44X10 ⁻⁷	2.8
84	14.12	29.97	42.26	60.00	62.82	2.22X10 ⁻⁶	4.9
88	20.42	43.47	68.55	94.14	97.16	4.20X10 ⁻⁷	1.7
89	26.60	55.47	70.65	92.12	100.00	2.97X10 ⁻⁷	0.76
90	5.33	18.61	30.34	66.63	88.74	1.56X10 ⁻⁶	1.1
91	3.99	2.30	3.69	28.46	42.39	>1X10 ⁻⁵	4.9
その他の構造							
12	10.71	17.00	24.27	45.96	69.54	3.64X10 ⁻⁶	1.1
33	4.98	8.77	2.65	5.37	9.38	>1X10 ⁻⁵	>24.6
80	0.00	0.00	0.00	0.78	20.24	>1X10 ⁻⁵	15.7
83	0.79	2.94	0.00	7.03	15.49	>1X10 ⁻⁵	>57.2
positive control							
picrotoxin	9.07	18.66	38.87	72.53	89.28	1.31X10 ⁻⁶	9.8

結論

生体の構造や働きを探るために、自然界に存在する有機化合物は強力なツールと成り得る。例えば、フグ毒の tetrodotoxin や貝毒の saxitoxin などは強力な毒作用を持つ反面、神経や筋の細胞膜の構造や生理の解明のために利用されてきた。このように、天然毒を研究対象にし、最前線の研究手段を駆使して未知なる生命現象の理解を目指すことは極めて意義がある。

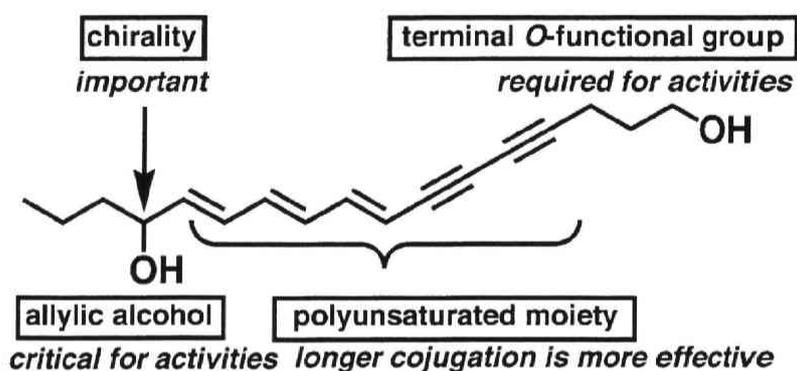
著者は、中枢神経系に作用して、強直性および間代性痙攣を引き起こすセリ科の有毒植物ドクゼリの毒性を化学および薬理学の両方面から検討した。身近なところに存在する植物であるドクゼリの強力な毒性を明らかにすることは、ドクゼリを植物科学の立場から解明することにとどまらず、痙攣に関与する新たな神経系の発見や新しいタイプの抗痙攣薬開発に有用な情報を提供する可能性が高い。

はじめに、cicutoxin (5) に加え、新規な有毒多価不飽和アルコール virol A (30), B (31), C (32) を単離し、それらの平面構造を NMR スペクトルを中心とした各種スペクトルデータをもとに決定した。

続いて、virol A (30), C (32), に加えて、未だに明らかとされていない cicutoxin (5), isocicutoxin (15) の絶対配置を CD 励起子キラリティー法および新 Mosher 法により決定した。

ところで、多価不飽和アルコールの活性発現に重要な構造単位を明らかにするためには基点となる化合物が大量に必要となる。最強の毒性を示す cicutoxin (5) は、ドクゼリからは比較的多くの量が得られる。しかしながら、化学的にはきわめて不安定である。そこで、cicutoxin (5) と構造が類似しており、化学的により安定な化合物である virol A (30) を合成した。さらに、分光学的手法で決定した絶対構造の確認のために、virol B (31), C (32) をパラジウム錯体および銅錯体によるカップリング反応を利用して合成した。

続いてcicutoxin (5), virol A (30)をはじめとする多価不飽和アルコール類を様々な誘導体へ導き、それらの急性毒性をマウスを用いて検討した。その結果、下図に示す構造単位が毒性発現に関与していることが明らかとなった。すなわち、(1) 1級水酸基の存在およびその酸化状態 (2) 共役系の長さや立体化学 (3) 2級水酸基の存在とそのキラリティーが毒性発現において極めて重要であることを明らかとした。



また、当研究室における行動薬理学研究により、virol A (30) は、脳内 GABA_A レセプターに結合することにより痙攣を発現することが示唆された。Virol A (3) の電気生理学および受容体結合実験により検討し、virol A (30) は Cl⁻ チャンネルに結合し、その結果として、GABA 結合部位への GABA の結合を阻害するものと推測された。

また、Cl⁻ チャンネルへの結合に重要な役割を持つ構造的要因を、急性毒性における構造活性相関と比較・検討した。その結果、強い急性毒性を示す化合物ほど、Cl⁻ チャンネルにも特異的に結合する傾向を示し、急性毒性と Cl⁻ チャンネルへの結合の強さに関する構造的要因には極めてよい一致が見られた。

本研究は、身近な植物であるドクゼリに含有される多価不飽和アルコールが化学的に新しいタイプの GABA_A 受容体に関与する痙攣毒であることを明らかにした。さらに、以上の結果は、これまで注目されていなかった脂肪酸関連化合物が新しい生物活性化合物群であることを明らかにするものである。

謝辞

本研究の計画，実施，考察の細部に至る御指導，御援助を賜りました東北大学教授大島 吉輝 先生に謹んで感謝致します。

また，本論文の審査にあたり，有益な御助言を賜りました東北大学教授 小笠原 國郎 先生，東北大学教授 根東 義則 先生ならびに東北大学教授 佐藤 進 先生に厚く御礼申し上げます。

本論文の第 1 章ならびに第 2 章の化学的実験に関して御指導と御助言を賜りました元東北大学助教授 (現金沢大学教授) 太田 富久 先生に深く感謝いたします。

本論文の第 1 章の実験に関して御協力を賜りました東北薬科大学教授 吉崎 文彦 先生，東北薬科大学助手 佐々木 健郎 先生，菊池 理佳子 修士，高平 和達 学士に感謝致します。

本論文の第 2 章の有機合成実験に関して御親切な御助言を賜りました元東北大学薬学部助手 (現徳島文理大学助教授) 杉原 多公通 先生に心から御礼申し上げます。

本論文の第 3 章の動物実験に関して御協力を賜りました大橋 雅津代 修士に感謝致します。

本論文の第 4 章の電気生理学実験にあたり，多大なるお力添えを賜りました大正製薬株式会社 奥山 茂 氏ならびに 大村 知広 氏，東京都神経科学総合研究所 山形 要人 氏に深謝致します。

本論文の第 4 章および第 5 章の受容体結合実験を行うにあたり御協力を賜りました第一化学薬品株式会社 細田 宏 氏，須藤 哲司 氏，澁澤 幸一 氏，吉田 賢二 氏，榊原 陵治 氏，宇佐美 真紀 氏に心より感謝いたします。

本研究に際し植物を採取していただきました東北大学大学院薬学研究科附属薬用植物園技官 早坂 英記 氏，同 大場 慶司 氏に厚く御礼申し上げます。

さらに，日夜公私にわたり御力添えを頂きました 倉田 祥一郎 助教授，高谷 芳明 博士をはじめとする東北大学大学院薬学研究科医薬資源化学分野の諸先輩方ならびに同窓

の諸氏に深く感謝致します。

そして核磁気共鳴スペクトル，質量スペクトル測定の労をとられました東北大学大学院薬学研究科中央分析室の諸氏に御礼申し上げます。

最後に，暖かく励まし続けてくれた友人たちに感謝します。

実験の部

本実験に際し、各反応は特別に記載のない限り Ar 雰囲気下で行った。Et₂O および THF は、使用直前に Ar 雰囲気下 Na/benzophenone ケチルを添加し蒸留したものを用いた。HMPA, CH₂Cl₂ は CaH₂ を、THF, MeOH は Na をそれぞれ乾燥剤として用いて蒸留精製後に使用した。試薬は必要に応じて蒸留あるいは再結晶により精製後使用した。融点 (mp) は YANAGIMOTO 微量融点測定装置、旋光度は JASCO DIP-370 型, DIP-340 型旋光計、IR スペクトルは JASCO A-100 S 型赤外分光光度計、UV スペクトルは HITACHI U-3200 型紫外分光光度計、CD スペクトルは JASCO J-720 型円二色性分光計を用いてそれぞれ測定した。MS は JEOL JMS DX-303 型または JMS AX-500 型質量分析計を使用した。NMR スペクトル測定には JEOL JMS DX303 型および Varian Gemini 2000 型核磁気共鳴装置を使用した。¹H-NMR スペクトル測定には内標準物質として tetramethylsilane (TMS) を 0 ppm の基準として、¹³C-NMR スペクトル測定には CDCl₃ の中心線を 77.1 ppm の基準として用いた。結合定数 (*J*) は hertz (Hz)、化学シフト値は δ (ppm) で表し、結合様式は、以下のように略記した (1 重線: s, 2 重線: d, 3 重線: t, 4 重線: q, 2 分裂した 2 重線: dd, 3 分裂した 2 重線: dt, 多重線: m など)。

カラムクロマトグラフィーは Silica gel 60 (230-400 mesh, Merck) 及び Cosmosil 75C₁₈-OPN (nacalai tesque) を用いた。TLC は Kieselgel 60F-254plate (0.25 mm, Merck) および DC-Fertigplatten RP-18 F-254S (0.25 mm, Merck) を用い、検出は、254 nm における UV 吸収およびアニスアルデヒド硫酸溶液噴霧による加熱発色により行った。HPLC は HITACHI L-6000 型システムを用い、カラムは YMC Pack SH-043-5S-5 120A SIL 20 mm φ x 200 mm を用いた。

第1章第1, 2, 3, 4節の実験

多価不飽和アルコールの単離

1996年10月に山形県にて採取したドクゼリを東北大学薬用植物園の水生植物栽培池にて栽培し、これを1997年4月に収穫した。このものの根茎1.8 kgを節に沿って輪切りにし、MeOH (5.4 L) に3日間浸漬後ろ過した。残渣をさらにMeOHで2回抽出、ろ過し、ろ液を減圧下濃縮して得られた残留物 (120 g) にH₂O (700 mL) を加え、Et₂O (800 mL) で3回分配した。このEt₂O層を減圧下濃縮し、得られたEt₂O可溶画分 (20.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (200 g) に付し、*n*-hexane および *n*-hexane-acetone (9/1-1/1 v/v) で順次溶出することにより、Fr.A (1.25 g), Fr.B (0.04 g), Fr.C (0.01 g), Fr.D (2.24 g), Fr.E (2.07 g), Fr.F (0.36 g), Fr.G (0.74 g), Fr.H (0.15 g), Fr.I (0.35 g), Fr.J (0.34 g), Fr.K (0.65 g), Fr.L (2.61 g), Fr.M (0.19 g), Fr.N (0.40 g), Fr.O (0.16 g), Fr.P (1.62 g), Fr.Q (0.03 g) および Fr.R (1.60 g) を得た。

Falcarindiol (17) の単離

Fr.E (2.07 g) のうち 309 mg をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30 g) に付し、*n*-hexane-Et₂O (2/1 v/v) 溶出部より無色油状の falcarindiol (17, 266.6 mg) を得た。

(3*R*, 8*S*)-(1, 9*Z*)-Heptadecadiene-4, 6-diyne-3, 8-diol (falcarindiol, 17): $[\alpha]_D^{25} +279.2^\circ$ (*c* 0.32, Et₂O). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (t, 3H, *J*=6.9 Hz, H-17), 1.20-1.45 (m, 10H), 2.11 (dq, 2H, *J*=1.4, 7.4 Hz H-11), 4.95 (br, 1H, H-3), 5.21 (dd, 1H, *J*=8.5, 0.8 Hz, H-8), 5.27 (ddd, 1H, *J*=10.2, 1.4, 0.8 Hz, H-1), 5.48 (ddd, 1H, *J*=17.0, 1.6, 0.8 Hz, H-1), 5.52 (ddt, 1H, *J*=10.7, 8.6, 1.4 Hz, H-9), 5.62 (ddt, 1H, *J*=10.7, 0.8, 7.4 Hz, H-10), 5.95 (ddd, 1H, *J*=17.0, 10.2, 5.2 Hz, H-2). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.1 (q, C-17), 22.6 (t, C-16), 27.7 (t, C-11), 29.1 (t, C-14), 29.2 (t, C-12), 29.3 (t, C-13), 31.8 (t, C-15), 58.6 (d, C-8), 63.5 (d, C-3), 68.8 (s, C-6), 70.4 (s, C-5), 78.3 (s, C-7), 79.9 (s, C-4), 117.5 (t, C-1), 127.8 (d, C-9), 134.9 (d, C-10), 136.0 (d, C-2). MS *m/z*: 259 (M⁺-H). High-resolution MS calcd

for $C_{17}H_{24}O_2$: 260.1776. Found: 260.1767. 本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した^{8,44)}.

2,3-Dihydrooenanthetol (8) および化合物 33 の単離

Fr.F (364 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (27 g) に付し *n*-hexane-Et₂O (3/1 v/v) 溶出部より無色油状の化合物 **33** (14.5 mg) を得た. また *n*-hexane-Et₂O (2/1 v/v) 溶出部 (108.7 mg) を逆相カラムクロマトグラフィー (10 g) に付し H₂O-CH₃CN (2/3 v/v) 溶出部 (45.0 mg) を得, これをさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 g) に付し *n*-hexane-AcOEt (7/1 v/v) 溶出部より微細結晶である 2,3-dihydrooenanthetol (**8**, 34.9 mg) を得た.

(8E,10E)-Heptadecadiene-4,6-diyn-1-ol (2,3-dihydrooenanthetol, 8): UV (Et₂O) λ_{\max} (log ϵ): 311 (4.43), 295 (4.51), 236 (4.55), 227 (4.37), 204 (4.33) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3627, 3455, 3002, 2930, 2859, 2228, 2135 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (t, 3H, *J*=7.1 Hz, H-17), 1.25-1.46 (m, 8H), 1.80 (quint, 2H, *J*=6.9 Hz, H-2), 2.10 (q, 2H, *J*=7.1 Hz, H-12), 2.47 (t, 2H, *J*=6.9 Hz, H-3), 3.76 (t, 2H, *J*=6.0 Hz, H-1), 5.49 (d, 1H, *J*=15.7 Hz, H-8), 5.85 (dt, 1H, *J*=15.1, 7.1 Hz, H-11), 6.09 (dd, 1H, *J*=15.1, 10.7 Hz, H-10), 6.67 (dd, 1H, *J*=15.4, 10.7 Hz, H-9); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.0, 16.2, 22.6, 28.8, 28.9, 30.9, 31.7, 32.8, 61.5, 66.0, 75.2, 75.9, 84.1, 107.5, 129.6, 140.0, 145.3. MS *m/z*: 244 (M⁺). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₄O: 244.1827. Found: 244.1835. 本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した⁷⁾.

(9Z)-Heptadecene-4,6-diyn-1-ol (33): UV (Et₂O) λ_{\max} (log ϵ): 337 (2.96) 313 (3.28), 295 (3.29), 254 (3.27), 237 (3.47), 228 (3.49), 201 (4.17) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3627, 3455, 3009, 2930, 2859, 2259, 2155 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (t, 3H, *J*=6.9 Hz, H-17), 1.20-1.40 (m, 10H), 1.77 (quint, 2H, *J*=6.9 Hz, H-2), 2.03 (dq, 2H, *J*=7.4, 1.4 Hz, H-11), 2.38 (t, 2H, *J*=6.9 Hz, H-3), 2.99 (dd, 2H, *J*=6.9, 1.6 Hz, H-8), 3.73 (t, 2H, *J*=6.0 Hz, H-1), 5.38 (dtt, 1H, *J*=10.7, 6.9, 1.4 Hz, H-9), 5.49 (dtt, 1H, *J*=10.7, 7.4, 1.6 Hz, H-10). ¹³C-NMR (75

MHz, CDCl₃) δ : 14.0, 15.6, 17.5, 22.6, 27.1, 29.1, 29.1, 29.2, 30.9, 31.8, 61.4, 64.9, 65.7, 75.8, 76.9, 122.6, 132.8. MS m/z : 246 (M⁺). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₆O: 246.1984. Found: 246.1989. 本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した¹⁶⁾.

化合物 34 および 化合物 35 の単離

Fr.H (146 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (15 g) に付し *n*-hexane-Et₂O (7/3 v/v) 溶出部 (21.6 mg) を得, これをさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (3 g) に付し *n*-hexane-*i*-PrOH (97/3 v/v) 溶出部 (8.3 mg) を得, これをさらに高速液体クロマトグラフィー (YMC Pack SH-043-5S-5 120A SIL 20 mm ϕ x 200 mm) に付し, *n*-hexane-AcOEt (4/1 v/v) で流速 5.0 ml/min により溶出・分取し, 保持時間 82 分のピークから無色油状の cicutoxin monoacetate (**34**, 2.9 mg) および保持時間 90 分のピークから無色油状の isocicutoxin monoacetate (**35**, 2.3 mg) を得た.

(4R)-(5E,7E,9E)-17-Acetoxyheptadecatriene-11,13-diyn-4-ol (34): $[\alpha]_D^{25}$ -11.9° (*c* 0.14, EtOH). UV (Et₂O) λ_{max} (log ϵ): 335 (4.69), 318 (4.69), 252 (4.24), 242 (4.06), 203 (4.10) nm. IR (CHCl₃) ν_{max} : 3601, 3020, 2963, 2932, 2874, 2230, 2135, 1734 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.93 (t, 3H, *J*=7.1 Hz, H-1), 1.25-1.60 (m, 4H, H-2, H-3), 1.88 (quint, 2H, *J*=6.9 Hz, H-16), 2.06 (s, 3H, H'-1), 2.46 (dt, 2H, *J*=0.8, 6.9 Hz, H-15), 4.16 (t, 2H, *J*=6.3 Hz, H-17), 4.18-4.20 (m, 1H, H-14), 5.61 (dd, 1H, *J*=15.4, 0.8 Hz, H-10), 5.83 (dd, 1H, *J*=15.1, 6.9 Hz, H-5), 6.18-6.38 (m, 3H, H-6, H-7, H-8), 6.71 (dd, 1H, *J*=15.4, 10.2 Hz, H-9). MS m/z : 300 (M⁺), 257 (M⁺-Ac). High-resolution MS calcd for C₁₉H₂₄O₃: 300.1725. Found: 300.1720.

(4R)-(5E,7E,9Z)-17-Acetoxyheptadecatriene-11,13-diyn-4-ol (35): $[\alpha]_D^{25}$ -73.1° (*c* 0.11, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 333 (4.57), 318 (4.59), 255 (4.31), 242 (4.12), 205 (4.41) nm. IR (CHCl₃) ν_{max} : 3601, 3023, 2963, 2934, 2874, 2228, 2132, 1734 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.94 (t, 3H, *J*=7.1 Hz, H-1), 1.25-1.60 (m, 4H, H-2, H-3), 1.90 (quint, 2H, *J*=6.9 Hz, H-16), 2.07 (s, 3H, H'-1), 2.48 (t, 2H, *J*=6.9 Hz, H-15), 4.18 (t, 2H, *J*=6.3 Hz,

H-17), 4.20-4.22 (m, 1H, H-4), 5.43 (d, 1H, $J=10.7$ Hz, H-10), 5.84 (dd, 1H, $J=14.0, 6.9$ Hz, H-5), 6.32-6.45 (m, 2H, H-6, H-7), 6.53 (dd, 1H, $J=11.3, 10.7$ Hz, H-9), 6.75 (dd, 1H, $J=13.7, 11.3$ Hz, H-8). MS m/z : 300 (M^+), 257 ($M-Ac^+$). High-resolution MS calcd for $C_{19}H_{24}O_3$: 300.1725. Found: 300.1743.

化合物 9, 12 および virol A (30), B (31), C (32) の単離

Fr.K (650 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (65 g) に付し *n*-hexane-AcOEt (7/2 v/v) 溶出部 (142.9 mg) を得, これをさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (14 g) に付し *n*-hexane- $CHCl_3$ (1/4 v/v) 溶出部より Fr.K-1 (12.2 mg), $CHCl_3$ 溶出部より Fr.K-2 (90.1 mg) および $CHCl_3$ -MeOH (199/1 v/v) 溶出部より無色油状の virol B (31, 40.6 mg) をそれぞれ得た. Fr.K-1 をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1.5 g) に付し *n*-hexane-*i*-PrOH (96/4 v/v) 溶出部より無色油状の化合物 9 (50.0 mg) および 12 (4.9 mg) を得た. 一方, Fr.K-2 をさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー (9.0 g) に付し *n*-hexane-AcOEt (3/1 v/v) 溶出部より virol C (32, 24.5 mg) および無色油状の virol A (30, 30.0 mg) を得た. Virol C (32) の一部を benzene より再結晶し, 無色の粒状結晶を得た.

(5*E*, 7*E*, 9*E*)-17-Hydroxyheptadecatriene-11, 13-diyn-4-one (9): UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 362 (sh), 347 (4.54), 269 (3.88), 237 (3.69), 215 (3.97) nm. IR ν_{max} ($CHCl_3$): 3626, 3481, 2226, 1655, 1599 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ : 0.94 (t, 3H, $J=7.4$ Hz), 1.66 (sex., 2H, $J=7.4$ Hz), 1.82 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.51 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.54 (t, 2H, $J=7.4$ Hz), 3.76 (t, 2H, $J=7.4$ Hz), 5.80 (d, 1H, $J=15.1$ Hz), 6.24 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 6.41 (dd, 1H, $J=14.6, 11.0$ Hz), 6.61 (dd, 1H, $J=14.6, 11.0$ Hz), 6.75 (dd, 1H, $J=15.7, 11.0$ Hz), 7.16 (dd, 1H, $J=15.4, 11.0$ Hz). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.8, 16.3, 17.8, 30.9, 42.9, 61.4, 65.8, 74.5, 80.0, 86.8, 114.4, 131.2, 133.5, 139.6, 141.2, 143.3, 200.8. MS m/z : 256 (M^+), 255 (M^+-1), 43 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{17}H_{20}O_2$ (M^+): 256.1463. Found: 256.1475. 本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した⁶⁾.

(7*E*, 9*E*)-17-Hydroxyheptadecadiene-11, 13-diyn-4-one (12): UV (Et₂O) λ_{max} (log ϵ):

311 (3.98), 294 (4.02), 236 (3.97), 227 (3.88) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3628, 3484, 3015, 2963, 2936, 2879, 2230, 2135, 1713 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.91 (t, 3H, $J=7.4$ Hz, H-1), 1.58 (sex, 2H, $J=7.4$ Hz, H-2), 1.80 (quint, 2H, $J=6.7$ Hz, H-16), 2.35-2.43 (m, 2H, H-6), 2.38 (t, 2H, $J=7.4$ Hz, H-3), 2.48 (t, 2H, $J=7.1$ Hz, H-15), 2.51 (t, 2H, $J=6.6$ Hz, H-5), 3.76 (t, 2H, $J=6.0$ Hz, H-17), 5.51 (d, 1H, $J=15.4$ Hz, H-10), 5.81 (dt, 1H, $J=14.6, 7.1$ Hz, H-7), 6.11 (dd, 1H, $J=14.6, 10.7$ Hz, H-8), 6.63 (dd, 1H, $J=15.4, 10.7$ Hz, H-9). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 13.7 (q, C-1), 16.1 (t), 17.2 (t), 26.8 (t), 30.9 (t), 41.6 (t), 44.8 (t), 61.4 (t, C-17), 65.8 (s), 74.9 (s), 76.2 (s), 84.4 (s), 108.4 (d), 130.4 (d), 137.4 (d), 144.7 (d), 210.3 (s, C-4). MS m/z : 258 (M⁺). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₂O₂: 258.1620. Found: 258.1657.

本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した⁶⁾.

(12*S*)-(8*E*,10*E*)-Heptadecadiene-4,6-diyne-1,12-diol (virol A, 30): $[\alpha]_D +15.5^\circ$ (c 1.10, MeOH). UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ): 310.6 (4.46), 293.2 (4.53), 280.5 (sh), 235.6 (4.57), 226.2 (4.37) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3352, 2230, 2135, 1636, 986 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 0.89 (t, 3H, $J=6.8$ Hz, H-17), 1.19-1.46 (m, 6H, H-14, H-15, H-16), 1.47-1.59 (m, 2H, H-13), 1.71 (br s, 2H, exchangable with D₂O), 1.73-1.85 (m, 2H, H-2), 2.48 (t, 2H, $J=7.0$ Hz, H-3), 3.76 (t, 2H, $J=6.1$ Hz, H-1), 4.18 (q, 1H, $J=6.4$ Hz, H-12), 5.61 (d, 1H, $J=15.5$ Hz, H-8), 5.84 (dd, 1H, $J=15.3, 6.4$ Hz, H-11), 6.27 (dd, 1H, $J=15.3, 11.3$ Hz, H-10), 6.68 (dd, 1H, $J=15.5, 11.3$ Hz, H-9). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 14.0 (q), 16.2 (t), 22.6 (t), 25.0 (t), 30.9 (t), 31.7 (t), 37.2 (t), 61.4 (t), 65.8 (t), 72.3 (d), 74.5 (s), 77.4 (s), 84.7 (s), 110.2 (d), 129.0 (d), 140.1 (d). MS m/z : 260 (M⁺), 242, 215, 203, 189, 171, 43 (100%). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₄O₂: 260.1776. Found: 260.1812.

(8*S*)-(9*Z*)-Heptadecene-4,6-diyne-1,8-diol (virol B, 31): $[\alpha]_D +221^\circ$ (c 0.21, MeOH). UV (Et₂O) λ_{\max} (log ϵ): 256.6 (2.85), 243.2 (3.06), 230.8 (3.07) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3596, 3420, 3019, 2957, 2930, 2857, 2255 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, H-17), 1.25-1.30 (m, 8H), 1.36-1.42 (m, 2H), 1.79 (quint, $J=7.0$ Hz, 2H, H-2), 2.11 (q, $J=7.5$ Hz, 2H, H-11), 2.43 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, H-3), 3.75 (t, $J=7.0$ Hz, 2H, H-1), 5.18 (d, $J=8.0$ Hz,

1H, H-8), 5.51 (dd, $J=10.5, 8.0$ Hz, 1H, H-9), 5.59 (dt, $J=10.5, 7.5$ Hz, 1H, H-10). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.1 (q, C-17), 15.8 (t, C-3), 22.6 (t, C-15), 27.7 (t, C-11), 29.1 (t, C-12), 29.1 (t, C-13), 29.3 (t, C-14), 30.8 (t, C-2), 31.8 (t, C-16), 58.6 (d, C-8), 61.3 (t, C-1), 64.9 (s, C-5), 69.8 (s, C-6), 75.6 (s, C-7), 81.2 (s, C-4), 128.1 (d, C-9), 134.3 (d, C-10). MS m/z : 262 (M^+), 261 (M^+-1), 244, 231, 202, 191, 177, 163, 57 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2$: 262.1933. Found: 262.1911.

(10S)-(8E)-Heptadecene-4,6-diyne-1,10-diol (virol C, 32): mp 46.5-48.0 °C. $[\alpha]_D^{25} +6.4^\circ$ (c 0.82, MeOH). UV (Et_2O) λ_{max} (log ϵ): 283 (4.22), 267 (4.32), 253 (4.15), 240 (3.84), 229 (3.56), 214 (4.63) nm. IR (CHCl_3) ν_{max} : 3609, 3439, 3013, 2932, 2859, 2236, 2141 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, $J=6.9$ Hz, H-17), 1.18-1.44 (m, 10H), 1.52 (q, 2H, $J=6.3$ Hz, H-11), 1.79 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz, H-2), 2.46 (t, 2H, $J=6.9$ Hz, H-3), 3.74 (t, 2H, $J=6.9$ Hz, H-1), 4.15 (br q, 1H, $J=5.8$ Hz, H-10), 5.72 (d, 1H, $J=15.9$ Hz, H-8), 6.27 (dd, 1H, $J=15.9, 5.8$ Hz, H-9). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.0, 16.0, 22.6, 25.2, 29.2, 29.4, 30.8, 31.7, 36.8, 61.3, 65.6, 72.1, 73.4, 74.8, 83.6, 108.6, 149.1. MS m/z : 261 (M^+-H). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_2$: 262.1933. Found: 262.1914.

Cicutoxin (5) および isocicutoxin (15) の単離

Fr.L (2.61 g) を高速液体クロマトグラフィー (YMC Pack SH-043-5S-5 120A SIL 20 mm ϕ x 200 mm) に付し, n -hexane-AcOEt (2/1 v/v) で流速 4.0 ml/min により溶出・分取し, 保持時間 108 分のピークから無色油状の **cicutoxin (5)**, 883.1 mg) および保持時間 135 分のピークから無色油状の **isocicutoxin (15)**, 269.0 mg) を得た.

(14R)-(8E,10E,12E)-Heptadecatriene-4,6-diyne-1,14-diol (cicutoxin, 5): $[\alpha]_D^{25} -14.9^\circ$ (c 1.12, MeOH). UV (Et_2O) λ (log ϵ): 335.4 (4.64), 317.8 (4.66), 304.5 (sh), 251.6 (4.22), 241.8 (4.07) nm. IR (CHCl_3) ν_{max} : 3607, 3445, 2226, 2133, 1603, 997 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.93 (t, 3H, $J=7.1$ Hz, H-17), 1.28-1.62 (m, 4H, H-15, H-16), 1.79 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz, H-2), 2.48 (t, 2H, $J=6.9$ Hz, H-3), 3.73 (t, 2H, $J=6.0$ Hz, H-1), 4.18 (q,

2H, $J=6.6$ Hz, H-14), 5.61 (d, 1H, $J=15.4$ Hz, H-8), 5.81 (dd, 1H, $J=14.8$, 6.6 Hz, H-13), 6.24 (dd, 1H, $J=14.3$, 10.2 Hz, H-10), 6.24 (dd, 1H, $J=14.8$, 9.6 Hz, H-12), 6.33 (dd, 1H, $J=14.0$, 9.6 Hz, H-11), 6.71 (dd, 1H, $J=15.4$, 10.2 Hz, H-9). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 14.0 (q), 16.3 (t), 18.7 (t), 31.0 (t), 39.4 (t), 61.4 (t), 65.9 (s), 72.3 (d), 75.1 (s), 77.7 (s), 85.3 (s), 110.0 (d), 129.8 (d), 131.6 (d), 135.4 (d), 139.3 (d), 144.4 (d). MS m/z : 258 (M^+), 215, 187, 43 (100%). High-resolution MS calcd for 258.1647 (M^+), Calcd 258.1620 for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$. 本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した^{5,7)}.

(14*R*)-(8*Z*,10*E*,12*E*)-Heptadecatriene-4,6-diyne-1,14-diol (isocicutoxin, 15): $[\alpha]_D$ -51.9° (c 0.78, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 332.0 (4.54), 317.4 (4.56), 302.0 (sh), 254.8 (4.23), 242.2 (4.06) nm. IR (CHCl_3) ν_{max} : 3607, 3427, 2226, 2131, 1603, 997 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.94 (t, 3H, $J=7.1$ Hz, H-17), 1.28-1.68 (m, 4H, H-15, H-16), 1.82 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz, H-2), 2.51 (t, 2H, $J=6.9$ Hz, H-3), 3.78 (t, 2H, $J=6.9$ Hz, H-1), 4.20 (q, 2H, $J=6.6$ Hz, H-14), 5.44 (d, 1H, $J=11.5$ Hz, H-8), 5.83 (dd, 1H, $J=14.0$, 6.6 Hz, H-13), 6.24 (dd, 1H, $J=14.3$, 10.4 Hz, H-10), 6.39 (dd, 1H, $J=14.5$, 10.2 Hz, H-12), 6.53 (dd, 1H, $J=11.5$, 10.4 Hz, H-9), 6.75 (dd, 1H, $J=14.0$, 11.5 Hz, H-11). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 14.0 (q), 16.4 (t), 18.7 (t), 31.0 (t), 39.4 (t), 61.5 (t), 65.9 (s), 72.4 (d), 72.9 (s), 81.1 (s), 85.8 (s), 107.9 (d), 130.0 (d), 130.1 (d), 136.1 (d), 139.4 (d), 143.1 (d). MS m/z : 258 (M^+), 240, 215, 198, 187, 43 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_2$: 258.1620. Found: 258.1643.

本化合物の各種スペクトルデータは報告値と一致した⁷⁾.

第1章第5節の実験

多価不飽和アルコール (cicutoxin (**5**), isocicutoxin (**15**), viols A (**30**) and C (**32**)) の *p*-メトキシベンゾイルエステル (**36**, **37**, **38**, **39**)

Cicutoxin (**5**: 100 mg, 0.39 mmol) の CH_2Cl_2 (0.5 mL) 溶液に氷冷下 *t*-butyldimethylchlorosilane (87.6 mg, 0.58 mmol), Et_3N (0.24 mL, 1.74 mmol) および DMAP (4.7 mg, 38.8 μmol) を加え, 3 時間攪拌した. 反応液に Et_2O を加え, 飽和 NaHCO_3 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄後, MgSO_4 で乾燥した. 減圧下溶媒を留去し, 残差をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 *v/v*) の流分より無色油状の **cicutoxin TBS エーテル** (116 mg, 80 %) を得た. $[\alpha]_{\text{D}} -13.9^\circ$ (*c* 1.02, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 332.8 (4.74), 316.2 (4.73), 304.5 (sh), 251.6 (4.24), 242.0 (4.01) nm. CD (MeOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 215 (+0.4), 241 (-1.0), 253 (-1.3), 295 (+0.3), 310 (+0.2), 318 (-0.7), 340 (-0.2) nm. IR (CHCl_3) ν_{max} : 3601, 2228, 1603, 997 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.06 (s, 6H), 0.89 (s, 9H), 0.93 (t, 3H, $J=7.0$ Hz), 1.29-1.47 (m, 2H), 1.48-1.64 (m, 2H), 1.70-1.79 (m, 2H), 2.44 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.69 (t, 2H, $J=6.0$ Hz), 4.19 (q, 1H, $J=6.4$ Hz), 5.61 (d, 1H, $J=15.5$ Hz), 5.81 (dd, 1H, $J=15.0, 6.4$ Hz), 6.22-6.33 (m, 3H), 6.70 (dd, 1H, $J=15.5, 10.5$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : -5.4 (q), 14.0 (q), 16.2 (t), 18.3 (s), 18.6 (t), 25.9 (q), 31.3 (t), 39.4 (t), 61.4 (t), 65.5 (s), 72.3 (d), 74.7 (s), 77.9 (s), 85.9 (s), 110.1 (d), 129.7 (d), 131.6 (d), 135.2 (d), 139.1 (d), 144.1 (d). MS *m/z*: 372 (M^+), 354, 315, 245, 75 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_2\text{Si}$ (M^+): 372.2483. Found: 372.2493.

Cicutoxin TBS ether (33.4 mg, 89.8 μmol) の CH_2Cl_2 (1.0 mL) 溶液に, 氷冷下 *p*-methoxybenzoyl chloride (22.1 mg, 0.13 mmol), Et_3N (37.5 μL , 269 μmol), DMAP (1.10 mg, 9.0 μmol) を加え, 3 時間攪拌した. 反応液に Et_2O を加え, 飽和 NaHCO_3 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄後, MgSO_4 で乾燥した. 減圧下溶媒を留去し, 残差をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (3 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (30:1 *v/v*) の流分より無色油状の **cicutoxin *p*-メトキシベンゾイルエステル** (**36**, 42.6 mg, 94%) を得た. $[\alpha]_{\text{D}} -103.6^\circ$ (*c* 0.19,

MeOH). UV (MeOH) λ (log ϵ): 335.2 (4.63), 318.0 (4.64), 305.5 (4.43), 252.4 (4.35), 245.0 (4.15) nm. CD (MeOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 335.0 (-11.1), 318.0 (-14.9), 300.0 (-12.7), 267.0 (+3.1), 259.0 (-3.2), 250.0 (+24.7), 243.5 (+19.9) nm. IR (CHCl₃) ν_{max} : 2330, 1750, 1600, 990 cm⁻¹. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.02 (s, 6H), 0.84 (s, 9H), 0.90 (t, 3H, $J=3.5$ Hz), 1.36 (m, 2H), 1.65-1.74 (m, 4H), 2.38 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.63 (t, 2H, $J=6.0$ Hz), 3.81 (s, 3H), 5.48 (m, 1H), 5.55 (d, 1H, $J=15.5$ Hz), 5.79 (dd, 1H, $J=14.0, 7.0$ Hz), 6.20-6.27 (m, 3H), 6.63 (dd, 1H, $J=15.5, 10.5$ Hz), 6.87 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.95 (d, 2H, $J=9.0$ Hz). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : -5.4 (q), 13.9 (q), 16.2 (t), 18.3 (s), 18.5 (t), 25.9 (q), 31.3 (t), 36.67 (t), 55.5 (q), 61.4 (t), 65.5 (s), 74.1 (d), 74.1 (s), 77.8 (s), 85.9 (s), 110.4 (d), 113.6 (d), 131.6 (d), 132.3 (d), 134.5 (d), 134.9 (d), 135.6 (d), 142.5 (d), 163.4 (s). High-resolution MS calcd for C₃₁H₄₂O₄Si (M⁺): 506.2850. Found: 506.2892.

Cicutoxin *p*-メトキシベンゾイルエステル (36) の調製と同様の手順により, isocicutoxin (15), virol A (30), C (32) よりそれぞれの *p*-メトキシベンゾイルエステル (37, 38, 39) を合成した.

Isocicutoxin TBDMS エーテル: $[\alpha]_{\text{D}} -47.1^{\circ}$ (*c* 0.085, EtOH). UV (EtOH) λ (log ϵ): 334 (4.54), 318 (4.57), 301 (sh), 255 (4.21), 242 (4.06), 204 (4.29) nm. CD (EtOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 335 (-0.8), 319 (-1.0), 305 (sh), 281 (sh), 255 (-0.8), 245 (sh), 230 (+0.3), 209 (+1.7) nm. IR (CHCl₃) ν_{max} : 3601, 3503, 2226 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.07 (s, 6H), 0.90 (s, 9H), 0.94 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.30-1.65 (m, 4H), 1.76 (quint., 2H, $J=6.6$ Hz), 2.46 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.70 (t, 2H, $J=5.9$ Hz), 4.10-4.26 (m, 1H), 5.44 (d, 1H, $J=10.9$ Hz), 5.83 (dd, 1H, $J=6.9, 14.0$ Hz), 6.28-6.44 (m, 2H), 6.52 (t, 1H, $J=10.9$ Hz), 6.75 (dd, 1H, $J=11.8, 13.7$ Hz). MS *m/z*: 372 (M⁺), 354, 315, 155, 75 (100%). High-resolution MS calcd for C₂₃H₃₆O₂Si (M⁺): 372.2483. Found: 372.2495.

Isocicutoxin *p*-メトキシベンゾイルエステル (37): $[\alpha]_{\text{D}} -269.3^{\circ}$ (*c* 1.13, EtOH). UV (EtOH) λ (log ϵ): 335 (4.57), 319 (4.60), 300 (sh), 273 (sh), 256 (4.48), 244 (sh), 205 (4.31) nm.

CD (EtOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 393 (+0.1), 337 (sh), 326 (sh), 313 (-10.6), 300 (sh), 287.9 (sh), 267 (+2.8), 259 (-18.5), 249 (+16.6), 206 (+14.04) nm. IR (CHCl₃) ν_{max} : 2226, 1705 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.07 (s, 6H), 0.90 (s, 9H), 0.95 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz), 1.34-1.50 (m, 2H), 1.60-1.88 (m, 4H), 2.46 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz), 3.70 (t, 2H, $J = 5.9$ Hz), 3.86 (s, 3H), 5.43 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz), 5.55 (br.dt, 1H), 5.85 (dd, 1H, $J = 6.7, 14.4$ Hz), 6.20-6.48 (m, 2H), 6.50 (t, 1H, $J = 11.0$ Hz), 6.76 (dd, 1H, $J = 11.4, 14.1$ Hz), 6.90 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz), 8.02 (d, 2H, $J = 9.1$ Hz). MS m/z : 506 (M⁺), 209, 152, 135 (100%). High-resolution MS calcd for C₃₁H₄₂O₄Si (M⁺): 506.2852. Found: 506.2857.

Virol A TBDMS エーテル: $[\alpha]_{\text{D}}$ +10.9° (c 0.82, MeOH). UV (MeOH) λ (log ϵ): 310 (4.43), 293 (4.50), 280 (sh), 236 (4.54), 226 (4.33), 215 (sh). CD (MeOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 315 (+0.4), 292 (+1.0), 237 (+2.1), 228 (+1.6) nm. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.06 (s, 3H), 0.06 (s, 3H), 0.79-0.96 (m, 12H), 1.21-1.35 (m, 5H), 1.35-1.45 (m, 1H), 1.47-1.61 (m, 2H), 1.70-1.77 (m, 2H), 2.43 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz), 3.69 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz), 4.13-4.20 (m, 1H), 5.61 (d, 1H, $J = 15.5$ Hz), 5.83 (dd, 1H, $J = 15.5, 6.5$ Hz), 6.27 (dd, 1H, $J = 15.5, 11.0$ Hz), 6.67 (dd, 1H, $J = 15.5, 11.0$ Hz). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : -5.4 (q), 14.0 (q), 16.2 (t), 18.3 (s), 22.6 (t), 25.0 (t), 25.9 (q), 31.3 (t), 31.7 (t), 37.2 (t), 61.4 (t), 65.3 (s), 72.3 (d), 74.2 (s), 76.8 (s), 85.4 (s), 110.3 (d), 129.0 (d), 139.9 (d), 143.7 (d). MS m/z : 374 (M⁺), 356, 317 (100%), 261, 243, 115. High-resolution MS calcd for C₂₃H₃₈O₂Si (M⁺): 374.2639. Found: 374.2625.

Virol A *p*-メトキシベンゾイルエステル (38): $[\alpha]_{\text{D}}$ +52.0° (c 0.34, MeOH). UV (MeOH) λ (log ϵ): 312.0 (4.51), 293.8 (4.57), 278.4 (4.48), 260.2 (4.47), 235.2 (4.57), 226.9 (4.41) nm. CD (MeOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 310.0 (+5.5), 292.0 (+10.1), 280.0 (+11.8), 255.0 (-3.8), 235.0 (-17.7), 228.0 (-8.4) nm. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.05 (s, 6H), 0.89 (m, 3H), 0.90 (s, 9H), 1.30-1.31 (m, 5H), 1.39 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 2.42 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz), 3.68 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz), 3.86 (s, 3H), 5.50 (m, 1H), 5.61 (d, 1H, $J = 15.5$ Hz), 5.84 (dd, 1H, $J = 15.5, 6.5$ Hz), 6.32 (dd, 1H, $J = 15.5, 11.0$ Hz), 6.65 (dd, 1H, $J = 15.5, 11.0$ Hz), 6.92 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 8.00 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : -5.4 (q), 14.0 (q), 16.2 (t), 20.3

(s), 22.5 (t), 24.8 (t), 25.9 (q), 31.3 (t), 31.6 (t), 34.5 (t), 55.5 (q), 61.4 (t), 65.4 (s), 74.7 (d), 75.2 (s), 76.2 (s), 85.5 (s), 111.1 (d), 113.6 (d), 130.8 (d), 131.6 (d), 135.3 (d), 143.3 (d), 163.4 (s). High-resolution MS calcd for $C_{31}H_{44}O_4Si$ (M^+): 508.3007. Found: 508.2971.

Viol C TBDMS エーテル: $[\alpha]_D +2.21^\circ$ (c 1.45, EtOH). UV (EtOH) λ (log ϵ): 283 (3.84), 267 (3.94), 253 (3.79), 240 (3.52), 229 (3.34), 214 (4.30), 206 (4.23) nm. CD (EtOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 284 (+0.90), 269 (+0.93), 258 (sh), 254 (+0.70), 214 (+1.88) nm. IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 3603, 3439, 3007, 2957, 2932, 2858, 2235 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.06 (s, 6H), 0.80-0.98 (m, 3H), 0.89 (s, 9H), 1.18-1.50 (m, 10H), 1.50-1.82 (m, 6H), 2.42 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz), 3.68 (t, 2H, $J=5.9$ Hz), 4.17 (quint., 1H, $J=6.2$ Hz), 5.46 (quint., 1H, $J = 6.9$ Hz), 5.73 (d, 1H, $J = 15.5$ Hz), 6.27 (dd, 1H, $J = 5.8, 15.5$ Hz). High-resolution MS calcd for $C_{23}H_{40}O_2Si$ (M^+): 376.2797. Found: 376.2818.

Viol C *p*-メトキシベンゾイルエステル (39): $[\alpha]_D +10.8^\circ$ (c 0.092, EtOH). UV (EtOH) λ (log ϵ): 285 (4.26), 269 (4.47), 255 (4.41), 241 (sh), 213 (4.72), 206 (4.65) nm. CD (EtOH) λ_{ext} ($\Delta\epsilon$): 272 (+7.17), 268 (sh), 218 (+3.50), 203 (-4.87) nm. IR ($CHCl_3$) λ : 3026, 3018, 2957, 2930, 2858, 2235, 1707 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.04 (s, 6H), 0.79-0.90 (m, 3H), 0.88 (s, 9H), 0.87 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz), 1.15-1.44 (m, 12H), 1.72 (quint., 2H, $J=6.0$ Hz), 2.40 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz), 3.67 (t, 2H, $J=5.9$ Hz), 3.86 (s, 3H), 5.49 (ddt, 1H, $J = 1.4, 6.3, 6.6$ Hz), 5.76 (dd, 1H, $J = 1.4, 15.9$ Hz), 6.26 (dd, 1H, $J = 6.3, 15.9$ Hz), 6.92 (d, 2H, $J=9.1$ Hz), 8.0 (d, 2H, $J=9.1$ Hz). MS m/z : 510 (M^+), 453, 209, 135 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{31}H_{46}O_4Si$ (M^+): 510.3165. Found: 510.3134.

cicutoxin (**40a, b**), isocicutoxin (**41a, b**), viols A (**42a, b**) and C (**43a, b**) の MTPA エステル

Cicutoxin (**5**: 9.9 mg, 38.4 μ mol) の CH_2Cl_2 (0.5 mL) 溶液に氷冷下 (*R*)-MTPA chloride (38.8 mg, 153 μ mol), Et_3N (26.7 μ L, 192 μ mol) および DMAP (0.5 mg, 3.8 μ mol) を加え, 室温で5時間攪拌した. 反応液に Et_2O を加え, 飽和 $NaHCO_3$ 水溶液, 飽和 $NaCl$ 水溶液で洗浄後, $MgSO_4$ で乾燥した. 減圧下溶媒を留去し, 残差をシリカゲルカラムクロマ

トグラフィー (1 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 *v/v*) の流分より無色油状の *cicutoxin* (*R*)-MTPA エステル (**40a**, 20.2 mg, 76%) を得た. $[\alpha]_D^{25} +26.9^\circ$ (*c* 0.88, MeOH). UV (MeOH) λ (log ϵ): 334.4 (4.71), 317.2 (4.74), 305.0 (4.57), 252.0 (4.31), 241.8 (4.19) nm. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.91 (m, 3H), 1.30 (m, 1H), 1.43 (m, 1H), 1.58 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.93 (m, 2H), 2.39 (t, 2H, *J* = 6.5 Hz), 3.53 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 4.38 (dt, 1H, *J*=12.0, 6.0 Hz), 4.46 (dt, 1H, *J*=12.0, 6.0 Hz), 5.53 (m, 1H), 5.64 (d, 1H, *J* = 15.5 Hz), 5.74 (dd, 1H, *J* = 15.0, 7.0 Hz), 6.19-6.38 (m, 3H), 6.70 (dd, 1H, *J*=15.5, 10.0 Hz), 7.39 (m, 6H), 7.50 (m, 4H). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{F}_3$ (M^+ - $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3\text{F}_3$): 456.1912. Found: 456.1935.

Cicutoxin (*R*)-MTPA エステル (**40a**) の調製と同様の手順により, *cicutoxin* (**5**), *isocicutoxin* (**15**), *virol A* (**30**), **C** (**32**) よりそれぞれの (*R*)- および (*S*)-MTPA エステル (**40b**, **41a,b**, **42a,b**, **43a,b**) を合成した.

Cicutoxin (*S*)-MTPA エステル (**40b**): $[\alpha]_D^{25} -114.7^\circ$ (*c* 1.17, MeOH). UV (MeOH) λ (log ϵ): 334.8 (4.63), 316.4 (4.67), 304.5 (4.52), 253.4 (4.24), 241.4 (4.12) nm. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (m, 3H), 1.25 (m, 1H), 1.36 (m, 1H), 1.63 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.94 (m, 2H), 2.40 (t, 2H, *J* = 6.7 Hz), 3.53 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 4.39 (dt, 1H, *J*=11.6, 5.8 Hz), 4.45 (dt, 1H, *J*=11.6, 5.8 Hz), 5.51 (m, 1H), 5.63 (d, 1H, *J* = 15.3 Hz), 5.65 (dd, 1H, *J* = 15.6, 7.0 Hz), 6.15-6.35 (m, 3H), 6.69 (dd, 1H, *J*=15.3, 9.2 Hz), 7.41 (m, 6H), 7.51 (m, 4H). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{F}_3$ (M^+ - $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3\text{F}_3$): 456.1912. Found: 456.1935.

Isoicicutoxin (*R*)-MTPA エステル (**41a**): $[\alpha]_D^{25} -30.9^\circ$ (*c* 0.30, EtOH). UV (EtOH) λ (log ϵ): 335 (4.53), 318 (4.57), 302 (sh), 255 (4.22), 242 (4.02), 224 (sh), 205 (4.52) nm. IR (CHCl_3) λ_{max} : 2227, 1747 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz), 1.15-1.37 (m, 2H), 1.50-1.79 (m, 4H), 1.91 (quint., 2H), 2.43 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz), 3.53 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 4.35-4.58 (m, 2H), 5.48 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz), 5.54 (dt, 1H, *J* = 6.0, 7.4 Hz), 5.76 (dd, 1H, *J* = 7.4, 14.3 Hz), 6.22-6.43 (m, 2H), 6.53 (t, 1H, *J* = 11.0 Hz), 6.75 (dd, 1H, *J* = 11.5, 14.0 Hz), 7.37-7.45 (m, 6H), 7.47-7.57 (m, 4H). MS *m/z*: 690 (M^+), 647, 473, 458, 456, 189 (100%).

High-resolution MS calcd for $C_{37}H_{34}O_6F_6$ (M^+): 690.2416. Found: 690.2394.

Isoicutoxin (S)-MTPA エステル (41b): $[\alpha]_D -132.5^\circ$ (c 0.40, EtOH). UV (EtOH) λ ($\log\epsilon$): 335 (4.58), 318 (4.61), 300 (sh), 255 (4.25), 242 (4.08), 230 (sh), 205 (4.64) nm. IR ($CHCl_3$) λ_{max} : 2229, 1747 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.93 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz), 1.29-1.46 (m, 2H), 1.50-1.83 (m, 2H), 1.98 (quint., 2H), 2.44 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz), 3.56 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 4.36-4.54 (m, 2H), 5.47 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz), 5.52 (dt, 1H, $J = 6.9, 6.9$ Hz), 5.66 (dd, 1H, $J = 6.9, 14.6$ Hz), 6.13-6.36 (m, 2H), 6.51 (t, 1H, $J = 11.0$ Hz), 6.67 (dd, 1H, $J = 11.5, 14.3$ Hz), 7.36-7.45 (m, 6H), 7.46-7.57 (m, 4H). MS m/z : 690 (M^+), 647, 473, 456, 189 (100%).

High-resolution MS calcd for $C_{37}H_{34}O_6F_6$ (M^+): 690.2416. Found: 690.2419.

Virol A (R)-MTPA エステル (42a): $[\alpha]_D +70.3^\circ$ (c 0.34, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} ($\log\epsilon$): 312 (4.45), 294 (4.50), 280 (sh), 270 (sh), 236 (4.53), 226 (4.35), 213 (sh), 202 (3.32) nm. IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2231, 1747 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.87 (t, 3H, $J = 6.6$ Hz), 1.10-1.31 (m, 6H), 1.50-1.77 (m, 2H), 1.94 (quint., 2H, $J = 6.3$ Hz), 2.39 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz), 3.55 (s, 3H), 3.57 (s, 3H), 4.33-4.52 (m, 2H), 5.48 (dt, 1H, $J = 6.6, 7.1$ Hz), 5.55 (d, 1H, $J = 15.4$ Hz), 5.67 (dd, 1H, $J = 7.1, 15.4$ Hz), 6.16 (dd, 1H, $J = 10.9, 15.4$ Hz), 6.60 (dd, 1H, $J = 10.9, 15.4$ Hz), 7.25-7.46 (m, 6H), 7.47-7.56 (m, 4H). MS m/z : 692 (M^+), 475, 458, 415, 241, 189 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{37}H_{36}O_6F_6$ (M^+): 692.2573. Found: 692.2579.

Virol A (S)-MTPA エステル (42b): $[\alpha]_D -45.3^\circ$ (c 0.791, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} ($\log\epsilon$): 312 (4.48), 294 (4.52), 280 (sh), 270 (sh), 236 (4.57), 226 (4.39), 214 (sh), 205 (4.31) nm. IR ($CHCl_3$) ν_{max} : 2231, 1747 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.84 (t, 3H, $J = 6.6$ Hz), 1.10-1.35 (m, 6H), 1.50-1.75 (m, 2H), 1.94 (quint., 2H, $J = 6.3$ Hz), 2.39 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz), 3.52 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 4.33-4.52 (m, 2H), 5.50 (dt, 1H, $J = 6.0, 7.4$ Hz), 5.63 (d, 1H, $J = 15.7$ Hz), 5.77 (dd, 1H, $J = 7.4, 15.4$ Hz), 6.31 (dd, 1H, $J = 11.0, 15.4$ Hz), 6.65 (dd, 1H, $J = 11.0, 15.7$ Hz), 7.37-7.46 (m, 6H), 7.46-7.56 (m, 4H). MS m/z : 692 (M^+), 475, 458, 415, 241, 189 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{37}H_{36}O_6F_6$ (M^+): 692.2573. Found: 692.2596.

Virol C (R)-MTPA エステル (43a): $[\alpha]_D +39.7^\circ$ (c 0.392, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} ($\log\epsilon$):

339 (2.70), 316 (2.90), 285 (4.09), 269 (4.18), 254 (4.03), 241 (3.74), 229 (3.56), 214 (4.31), 192 (3.94) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3092, 3072, 3034, 3013, 2932, 2856, 2239, 1747 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.87 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz), 1.13-1.41 (m, 10H), 1.55-1.82 (m, 2H), 1.94 (quint., 2H), 2.38 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz), 3.53 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 4.31-4.52 (m, 2H), 5.46 (quint., 1H, $J = 6.9$ Hz), 5.65 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 6.10 (dd, 1H, $J = 6.9, 15.9$ Hz), 7.38-7.45 (m, 6H), 7.46-7.55 (m, 4H). MS m/z : 694 (M⁺), 460 (M⁺-OMTPA), 243, 226, 189 (100%). High-resolution MS calcd for C₃₇H₃₈O₆F₆ (M⁺): 694.2729. Found: 694.2700.

Virol C (S)-MTPA エステル (43b): $[\alpha]_D -33.0^\circ$ (c 0.30, EtOH). UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ): 339 (2.85), 316 (3.00), 285 (4.03), 269 (4.13), 254 (3.97), 241 (3.70), 229 (3.52), 214 (4.41), 192 (3.89) nm. IR (CHCl₃) ν_{\max} : 3092, 3072, 3036, 2930, 2239, 1747 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.87 (t, 3H, $J = 6.9$ Hz), 1.12-1.36 (m, 10 H), 1.51-1.75 (m, 2H), 1.94 (quint., 2H), 2.38 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz), 3.53 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 4.34-4.52 (m, 2H), 5.48 (dt, 1H, $J = 7.1, 6.2$ Hz), 5.77 (d, 1H, $J = 15.9$ Hz), 6.18 (dd, 1H, $J = 7.1, 15.9$ Hz), 7.38-7.45 (m, 6H), 7.46-7.56 (m, 4H). MS m/z : 694 (M⁺), 460 (M⁺-OMTPA), 243, 226, 189 (100%). High-resolution MS calcd for C₃₇H₃₈O₆F₆ (M⁺): 694.2729. Found: 694.2700.

第2章第1節の実験

(S)-(E)-1-Chlorodec-1-en-3-yn-5-ol (61)

文献記載の方法²¹⁾により調製した 1-octyn-3-ol (**50**, 293.8 mg, 2.33 mmol) の benzene (1.3 mL) 溶液に, 室温下 piperidine (0.46 mL, 4.66 mmol), *trans*-1,2-dichloroethylene (1.120 g, 11.65 mmol), Pd(PPh₃)₄ (134.6 mg, 117 μmol), CuI (44.4 mg, 233 μmol) を加え, 同温下で 3 時間攪拌した. 反応溶液を Et₂O で希釈し, 飽和 NH₄Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **61** (395.4 mg, 91%) を得た. $[\alpha]_D^{25} +7.0^\circ$ (*c* 0.57, CHCl₃). IR ν_{\max} (neat): 3314, 2214, 1586 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.90 (br.t, 3H, *J*=6.9 Hz), 1.22-1.39 (m, 4H), 1.40-1.50 (m, 2H), 1.60-1.81 (m, 2H), 1.92 (br. s, 1H), 4.45 (dt, 1H, *J*=1.4, 6.6 Hz), 5.96 (dd, 1H, *J*=13.7, 1.4 Hz), 6.53 (d, 1H, *J*=13.7 Hz). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 13.9, 22.5, 24.8, 31.4, 37.6, 62.9, 79.9, 93.0, 113.4, 130.9. MS *m/z*: 188 (M⁺+2), 186 (M⁺), 168, 151, 117, 95, 81, 51. High-resolution MS calcd for C₁₀H₁₅O³⁵Cl (M⁺): 186.0811. Found: 186.0821.

(S)-(1E,3E)-1-Chlorodeca-1,3-dien-5-ol (56)

化合物 **61** (400 mg, 2.15 mmol) の THF (6 mL) 溶液に, -10 °C で Na[AlH₂(OCH₂CH₂OCH₃)₂] (70% toluene 溶液; 620 μL, 2.15 mmol) の THF (3 mL) 溶液を滴下した. 2 時間後, 反応溶液を Et₂O で希釈し, 飽和 NH₄Cl 水溶液を加え, 室温まで昇温した. 有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (40 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 **56** (350 mg, 87%) を得た. $[\alpha]_D^{25} +20.5^\circ$ (*c* 0.52, CHCl₃). IR ν_{\max} (neat): 3353, 1651 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.89 (br.t, 3H, *J*=6.9 Hz), 1.20-1.44 (m, 7H), 1.45-1.65 (m, 2H), 4.14 (q, 1H, *J*=6.3 Hz), 5.72 (ddd, 1H, *J*=14.8, 6.3, 1.4 Hz), 6.17 (dd, 1H, *J*=14.8, 11.3 Hz), 6.20 (d, 1H, *J*=13.6 Hz), 6.45 (dd, 1H, *J*=13.6, 11.3 Hz).

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.0, 22.6, 25.0, 31.7, 37.2, 72.4, 121.1, 126.2, 133.2, 137.5.
MS m/z : 190 ($\text{M}^+ + 2$), 188 (M^+), 153, 117, 99, 81 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}^{37}\text{Cl}$ (M^{*+}): 190.0938. Found: 190.0937. Calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{O}^{35}\text{Cl}$ (M^+): 188.0968. Found: 188.0971.

1-(Tetrahydropyranyloxy)-4-pentyne (63)

文献記載の方法²²⁾により調製した 4-pentyn-1-ol (55, 1.00 g, 11.9 mmol) の CH_2Cl_2 (60 mL) 溶液に, 室温下で 3,4-dihydro-[2H]-pyran (1.63 mL, 17.8 mmol) および PPTS (300 mg, 1.19 mmol) を加え, 同温下で 3 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 63 (2.00 g, >98%) を得た. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.45-1.63 (m, 4H), 1.64-1.87 (m, 4H), 1.95 (t, 1H, $J=2.6$ Hz), 2.32 (dt, 2H, $J=2.6, 6.8$ Hz), 3.43-3.56 (m, 2H), 3.77-3.93 (m, 2H), 4.60 (t, 1H, $J=3.5$ Hz). ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 15.26, 19.44, 25.42, 28.65, 30.61, 62.19, 65.79, 68.46, 84.01, 98.87. MS m/z : 168 (M^+), 167, 149 (100%), 85. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_2$ ($\text{M}^+ - 1$): 167.1071. Found: 167.1028.

2-[(Z)-7-Chlorohept-6-en-4-ynyl-1-oxy]tetrahydropyran (64)

化合物 63 (2.00 g, 11.9 mmol) の benzene (25 mL) 溶液に, 室温下 *n*-butylamine (5.88 mL, 59.5 mmol), *cis*-1,2-dichloroethylene (4.61 g, 47.6 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (687 mg, 0.595 mmol) および CuI (359 mg, 1.79 mmol) を順次加え, 同温下で 15 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 64 (2.50 g, 92%) を得た. IR ν_{max} (neat): 2216 cm^{-1} . ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.46-1.65 (m, 4H), 1.66-1.82 (m, 2H), 1.87 (dt, 2H, $J=13.2, 7.2$ Hz), 2.52 (dt, 2H, $J=7.2, 2.1$ Hz), 3.47-3.57 (m, 2H), 3.82-3.92 (m, 2H),

4.62 (br.t, 1H, $J=3.6$ Hz), 5.85 (dt, 1H, $J=7.4$, 2.1 Hz), 6.30 (d, 1H, $J=7.4$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 16.5, 19.5, 25.5, 28.7, 30.6, 62.2, 65.9, 75.0, 98.7, 98.9, 112.6, 127.1. MS m/z : 230 (M^++2), 228 (M^+), 193, 144, 128, 91, 85, 67, 57, 43. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2^{37}\text{Cl}$ ($\text{M}^{*+}\text{-H}$): 229.0809. Found: 229.0799. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_2^{35}\text{Cl}$ (M^+): 228.0917. Found: 228.0860. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2^{35}\text{Cl}$ ($\text{M}^+\text{-H}$): 227.0838. Found: 227.0828.

2-(Hepta-4,6-diynyl-1-oxy)tetrahydropyran (65)

化合物 **64** (2.17 g, 9.52 mmol) の THF (75 mL) 溶液に室温下 TBAF (1.0 M THF 溶液; 23.8 mL, 23.8 mmol) を加え, 同温下で 21.5 時間攪拌した. 反応溶液を飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 g) に付し, $n\text{-hexane-AcOEt}$ (30:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **65** (1.66 g, 91%) を得た. IR ν_{max} (neat): 2226 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.48-1.64 (m, 4H), 1.65-1.76 (m, 1H), 1.76-1.92 (m, 3H), 1.97 (t, 1H, $J=1.1$ Hz), 2.39 (dt, 2H, $J=1.1$, 6.9 Hz), 3.42-3.58 (m, 2H), 3.77-3.92 (m, 2H), 4.59 (t, 1H, $J=4.1$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 16.0, 19.5, 25.4, 28.2, 30.6, 62.2, 64.6, 65.0, 65.7, 68.5, 77.9, 98.9. MS m/z : 193 (M^++1), 192 (M^+), 91, 90, 89, 85, 55, 44, 40. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_2$ ($\text{M}^+\text{-H}$): 191.1072. Found: 191.1066.

(S)-(8E, 10E)-1-(Tetrahydropyranyl-2-oxy)heptadeca-8,10-diene-4,6-diyn-12-ol (66)

化合物 **56** (79.5 mg, 420 μmol) の piperidine (4.2 mL) 溶液に室温下で化合物 **65** (120 mg, 624 μmol), $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$ (16.1 mg, 42.2 μmol) および CuI (4.23 mg, 21.0 μmol) を加え, 同温下で 3 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, $n\text{-hexane-AcOEt}$ (6:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 **66** (33.1 mg, 23%) を得た. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +10.7^\circ$ (c 1.10, CHCl_3). IR ν_{max} (neat): 3400, 2225,

1630 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (br.t, 3H), 1.19-1.43 (m, 6H), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.50-1.64 (m, 1H, exchangeable with D_2O), 1.66-1.97 (m, 4H), 2.47 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.42-3.59 (m, 2H), 3.79-3.97 (m, 2H), 4.17 (q, 1H, $J=6.2$ Hz), 4.60 (m, 1H), 5.61 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 5.84 (dd, 1H, $J=15.2, 6.5$ Hz), 6.27 (dd, 1H, $J=15.2, 11.0$ Hz), 6.68 (dd, 1H, $J=15.2, 11.0$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.0, 16.7, 19.5, 22.6, 25.0, 25.5, 28.5, 30.7, 31.7, 37.2, 62.2, 65.6, 65.8, 72.3, 74.3, 77.3, 85.0, 98.9, 110.2, 129.0, 140.0, 143.7. MS m/z : 344 (M^+), 271, 259, 85 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_3$ (M^+): 344.2351. Found: 344.2378.

(S)-(6E,8E)-Pentadeca-6,8-dien-4-yne-1,10-diol (67)

化合物 **56** (91.9 mg, 488 μmol) の piperidine (5 mL) 溶液に室温下で 4-pentyn-1-ol (**55**, 42.1 mg, 500 μmol), $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$ (9.4 mg, 25 μmol) および CuI (9.8 mg, 49 μmol) を加え, 同温下で 3 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, n -hexane-AcOEt (2:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 **67** (98.0 mg, 85%) を得た. $[\alpha]_{\text{D}} +19.4^\circ$ (c 0.13, MeOH). IR ν_{max} (CHCl_3): 3609, 3452, 2210 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, $J=6.7$ Hz), 1.20-1.44 (m, 6H), 1.46-1.64 (m, 2H), 1.78 (quint, 2H, $J=6.2$ Hz), 2.46 (dt, 2H, $J=1.9, 6.2$ Hz), 3.74 (t, 2H, $J=6.7$ Hz), 4.13 (m, 1H), 5.58 (d, 1H, $J=15.5$ Hz), 5.74 (dd, 1H, $J=15.2, 6.7$ Hz), 6.22 (dd, 1H, $J=15.2, 10.9$ Hz), 6.50 (dd, 1H, $J=15.5, 10.9$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ : 13.9, 16.1, 22.5, 25.0, 31.3, 31.7, 37.1, 61.6, 72.4, 80.2, 92.4, 111.9, 130.0, 138.2, 140.3. MS m/z : 236 (M^+), 218 (M^+-18), 137, 71. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$ (M_+): 236.1776. Found: 236.1772.

(S)-(7E,9E)-Dodeca-7,9-dien-11-yn-6-ol (59)

化合物 **56** (100 mg, 319 μmol) の piperidine (5.3 mL) 溶液に室温下で ethynyltrimethylsilane

(78.1 mg, 800 μmol), $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$ (20.3 mg, 53.0 μmol) および CuI (10.0 mg, 53.0 μmol) を加え、同温下で3時間攪拌した。反応溶液を Et_2O で希釈し、飽和 NH_4Cl 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より無色油状の TMS アセチレン (165 mg, 81.0%) を得た。 $[\alpha]_D^{25} +10.2^\circ$ (*c* 0.15, CHCl_3)。 IR ν_{max} (neat): 3605, 3430, 2118 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.20 (s, 9H), 0.90 (br.t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.22-1.45 (m, 6H), 1.47-1.63 (m, 2H), 1.96 (br s, 2H, exchangeable with D_2O), 4.16 (q, 1H, $J=6.3$ Hz), 5.62 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 5.81 (dd, 1H, $J=15.1, 6.3$ Hz), 6.25 (dd, 1H, $J=15.1, 10.9$ Hz), 6.63 (dd, 1H, $J=15.7, 10.9$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ : -0.2, 13.9, 22.5, 25.0, 31.7, 37.3, 76.7, 97.3, 104.4, 111.3, 129.3, 139.6, 142.3。 MS m/z : 250 (M^+), 235, 207, 193, 179, 151, 99, 73 (100%)。 High-resolution MS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{OSi}$ (M^+): 250.1751。 Found: 250.1718。

TMS アセチレン (598 mg, 2.38 mmol) の THF (75 mL) 溶液に、氷冷下で TBAF (1.0 M THF 溶液; 4.07 mL, 4.07 mmol) を加え、反応溶液を室温まで昇温し、同温下 10 分間攪拌した。反応溶液を Et_2O で希釈し、飽和 NH_4Cl 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より、無色油状の化合物 **59** (421 mg, 99%) を得た。 $[\alpha]_D^{25} +25.9^\circ$ (*c* 0.69, CHCl_3)。 IR ν_{max} (neat): 3308, 2254 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (br.t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.18-1.45 (m, 6H), 1.48-1.66 (m, 2H), 3.03 (d, 1H, $J=2.2$ Hz), 4.17 (q, 1H, $J=6.4$ Hz), 5.58 (ddd, 1H, $J=15.7, 2.2, 1.1$ Hz), 5.83 (dd, 1H, $J=15.2, 6.4$ Hz), 6.26 (ddd, 1H, $J=15.2, 10.7, 1.1$ Hz), 6.66 (dd, 1H, $J=15.7, 10.7$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ : 14.0, 22.5, 25.0, 31.7, 37.2, 72.3, 79.7, 82.8, 110.3, 129.0, 139.8, 143.0。 MS m/z : 178 (M^+), 161, 135, 122, 107, 99 (100%), 79, 77, 71。 High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}$ (M^+): 178.1358。 Found: 178.1385。

5-Iodopent-4-yn-1-ol (68)

文献記載の方法で調製した 4-pentyn-1-ol (55, 100 mg, 1.19 mmol), morpholine (1.55 g, 17.8 mmol) および iodine (1.51 g, 5.95 mmol) の benzene (17 mL) 溶液を 60 °C で 2 時間攪拌後, 減圧下溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (2:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 68 (230 mg, 92%) を得た. IR ν_{\max} (neat): 3299 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.60-1.90 (m, 3H), 2.50 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.75 (t, 2H, $J=6.0$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ : -6.5, 17.2, 31.0, 61.2, 93.9. MS m/z : 210 (M^+), 127, 83, 65. High-resolution MS calcd for $\text{C}_5\text{H}_7\text{OI}$ (M^+): 209.9543. Found: 209.9541.

(S)-(8E,10E)-Heptadeca-8,10-diene-4,6-diyne-1,12-diol (virol A) (30)

化合物 59 (286 mg, 1.60 mmol) の pyrrolidine (16 mL) 溶液に, 室温下で化合物 68 (370 mg, 1.77 mmol) および CuI (32.0 mg, 0.160 mmol) を加え, 同温下で 2 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (2:1 v/v) の流分より無色油状の virol A (30, 378 mg, 91%) を得た. $[\alpha]_D^{25} +15.4^\circ$ (c 0.67, MeOH). IR ν_{\max} (neat): 3302, 2361 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (br.t, 3H, $J=6.7$ Hz), 1.18-1.46 (m, 6H), 1.20-1.62 (m, 2H), 1.71 (br s, 2H, exchangeable with D_2O), 1.80 (m, 2H), 2.48 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.75 (t, 2H, $J=6.2$ Hz), 4.17 (quint., 1H, $J=6.5$ Hz), 5.61 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 5.84 (dd, 1H, $J=15.2, 6.5$ Hz), 6.27 (dd, 1H, $J=15.4, 10.9$ Hz), 6.68 (dd, 1H, $J=15.4, 10.9$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ : 14.0, 16.2, 22.5, 25.0, 30.9, 31.7, 37.2, 61.4, 65.8, 72.3, 74.6, 76.9, 84.8, 110.2, 129.1, 140.3, 144.0. MS m/z : 260 (M^+), 242 (M^+-18), 155, 105. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$ ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$): 242.1671. Found: 242.1671. 各種スペクトルデータは天然物の値と一致した.

(2*S*,3*S*)-1-Chloro-2,3-(*O*-isopropylidene)decane-2,3-diol (70)

CuI (490 mg, 2.58 mmol) の Et₂O (5.5 mL) 懸濁液に -30 °C で攪拌下, *n*-hexyl lithium (0.88 M *n*-hexane 溶液; 5.8 mL, 5.15 mmol) を加えた. 1 時間後, 化合物 **69** (163 mg, 515 μmol) の Et₂O (3.7 mL) 溶液を滴下した. 1 時間後, 反応溶液に飽和 NH₄Cl 水溶液を加えゆっくりと室温まで昇温した. 反応溶液を Et₂O で希釈し, 飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (15 g) に付すことで過剰の試薬を除去し, 得られた化合物 (118 mg) と PPh₃ (806 mg, 3.07 mmol) の CCl₄ (13 mL) を 26 時間加熱還流した. 反応溶液をセライト濾過後, 濾液を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, *n*-hexane-Et₂O (100:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 **70** (90.7 mg, 71% (2 steps)) を得た. $[\alpha]_D -1.4^\circ$ (*c* 1.20, CHCl₃). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (br.t, 3H, *J*=6.7 Hz), 1.22-1.52 (m, 10H), 1.41 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.55-1.66 (m, 2H), 3.61 (d, 2H, *J*=4.9 Hz), 3.82-3.93 (m, 2H). ¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃) δ: 14.0, 22.6, 25.9, 27.0, 27.5, 29.1, 29.6, 31.8, 33.5, 44.4, 79.4, 80.3, 109.3. MS *m/z*: 235 (*M*⁺+2), 233 (*M*⁺, 100%), 199. High-resolution MS calcd for C₁₃H₂₅O₂³⁷Cl (*M*⁺): 235.1279. Found: 235.1272. Calcd for C₁₃H₂₅O₂³⁵Cl (*M*⁺): 233.1308. Found: 233.1311.

(*S*)-1-Decyn-3-ol (71)

HMPA (0.50 mL, 2.90 mmol) の THF (6 mL) 溶液に, -35°C で *n*-BuLi (1.6 M *n*-hexane 溶液; 1.81 mL, 2.90 mmol) を加えた. 30 分後, 化合物 **70** (120 mg, 0.485 mmol) の THF (6 mL) 溶液を滴下し, 1.5 時間攪拌した. 反応溶液に飽和 NH₄Cl 水溶液を加え, 室温まで昇温した. Et₂O で抽出し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下溶媒留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 g) に付し, *n*-hexane-Et₂O (10:1 v/v) の流分より, 化合物 **71** (48.6 mg, 65%) を得た. $[\alpha]_D -4.5^\circ$ (*c* 0.71, CHCl₃) (lit.^{32c}) $[\alpha]_D -3.4^\circ$ (CHCl₃, 95% ee). IR ν_{\max} (neat): 3342, 3312, 2116 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.86 (br.t, 3H, *J*=6.9 Hz), 1.16-1.57 (m, 10H), 1.62-1.82 (m, 2H), 2.41 (br.s, 1H), 2.46 (d,

1H, $J=1.9$ Hz), 4.37 (dt, 1H, $J=1.9, 6.6$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.9, 22.5, 24.9, 29.0, 29.1, 31.6, 37.5, 62.2, 72.7, 85.1. MS m/z : 153 (M^+), 139, 121, 97, 83, 70, 41 (100%). 各種スペクトルデータは報告値と一致した。^{32,45)}

(S)-(E)-1-Chlorododec-1-en-3-yn-5-ol (72)

化合物 **71** (33.5 mg, 0.217 mmol) の benzene (0.12 mL) 溶液に, 室温下 piperidine (43.0 μL , 0.43 mmol), *trans*-1,2-dichloroethylene (86.0 μL , 1.08 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (12.5 mg, 10.9 μmol), CuI (4.1 mg, 21.7 μmol) を加え, 同温下で 4 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **72** (42.1 mg, 85%) を得た. $[\alpha]_D^{20} +7.2^\circ$ (c 0.39, CHCl_3). IR ν_{max} (neat): 3333, 2361 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (br. t, 3H, $J=6.7$ Hz), 1.17-1.37 (m, 8H), 1.38-1.52 (m, 2H), 1.65-1.78 (m, 2H), 1.85 (br. s, 1H), 4.48 (dq, 1H, $J=1.9, 6.6$ Hz), 5.96 (dd, 1H, $J=13.7, 1.9$ Hz), 6.54 (d, 1H, $J=13.7$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.0, 22.5, 25.0, 29.1, 29.6, 31.7, 37.6, 62.9, 79.8, 92.9, 113.3, 130.8. MS m/z : 215 ($\text{M}^+ + 1$), 213 ($\text{M}^+ - 1$), 179, 115 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}^{37}\text{Cl}$ ($\text{M}^{*+} - 1$): 215.1017. Found: 215.1017. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}^{35}\text{Cl}$ ($\text{M}^+ - 1$): 213.1046. Found: 213.1060.

(S)-(1E,3E)-1-Chlorododeca-1,3-dien-5-ol (73)

化合物 **72** (29.7 mg, 0.14 mmol) の THF (1 mL) 溶液に, -10°C で $\text{Na}[\text{AlH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2]$ (70% toluene 溶液; 49 μL , 0.17 mmol) の THF (0.2 mL) 溶液を滴下した. 2 時間後, 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液を加え, 室温まで昇温した. 有機層を飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (40 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 **73** (25.0 mg, 84%) を得た. $[\alpha]_D^{20} +15.8^\circ$ (c 0.80, CHCl_3).

IR ν_{\max} (neat): 3342, 1651, 1585 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (br.t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.14-1.44 (m, 10H), 1.45-1.64 (m, 2H), 4.14 (q, 1H, $J=6.6$ Hz), 5.72 (dd, 1H, $J=14.8$, 6.6 Hz), 6.17 (dd, 1H, $J=14.8$, 11.0 Hz), 6.20 (d, 1H, $J=13.7$ Hz), 6.45 (dd, 1H, $J=13.7$, 11.0 Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.1, 22.6, 25.3, 29.2, 29.5, 31.8, 37.3, 72.4, 121.1, 126.2, 133.2, 137.4. MS m/z : 218 ($\text{M}^+ + 2$), 216 (M^+), 181, 163, 97 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}^{37}\text{Cl}$ (M^{*+}): 218.1251. Found: 218.1225. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}^{35}\text{Cl}$ (M^+): 216.1280. Found: 216.1264.

(S)-(E)-Dodeca-3-en-1-yn-5-ol (60)

HMPA (46.9 μL , 0.27 mmol) の THF (0.3 mL) 溶液に, -35°C で $n\text{-BuLi}$ (1.6 M $n\text{-hexane}$ 溶液; 0.16 mL, 0.27 mmol) を加えた. 1 時間後, 化合物 **73** (9.7 mg, 44.9 μmol) の THF (0.3 mL) 溶液を滴下し, 2 時間攪拌した. 反応溶液に飽和 NH_4Cl 水溶液を加え, 室温まで昇温した. Et_2O で抽出し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下溶媒留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 g) に付し, $n\text{-hexane-Et}_2\text{O}$ (10:1 v/v) の流分より, 化合物 **60** (6.2 mg, 77%) を得た. $[\alpha]_D^{25} +13.5^\circ$ (c 0.62, CHCl_3). IR ν_{\max} (neat): 3389, 3314, 2104, 1635 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (br.t, 3H, $J=6.7$ Hz), 1.12-1.48 (m, 10H), 1.48-1.60 (m, 2H), 2.89 (d, 1H, $J=2.2$ Hz), 4.17 (q, 1H, $J=7.1$ Hz), 5.70 (ddd, 1H, $J=15.9$, 2.2, 1.3 Hz), 6.26 (ddd, 1H, $J=15.9$, 7.1, 0.5 Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 13.9, 22.5, 25.1, 29.1, 29.3, 31.7, 36.8, 72.1, 77.8, 81.8, 106.7, 147.8. MS m/z : 180 (M^+), 151, 95, 81 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}$ (M^+): 180.1514. Found: 180.1520.

(S)-(8E)-Heptadeca-8-ene-4,6-diyne-1,10-diol (virol C) (32)

化合物 **60** (5.9 mg, 32.8 μmol) と化合物 **68** (7.5 mg, 36.1 μmol) の pyrrolidine (0.3 mL) 溶液に室温で CuI (1 mg, 5.3 μmol) を加え 1.5 時間攪拌した. 反応溶液に飽和 NH_4Cl を加え,

Et₂Oで抽出し、飽和 NaCl 水溶液で洗浄、MgSO₄で乾燥後、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (3:1 v/v) の流分より、無色油状の virol C (**32**, 5.6 mg, 65%) を得た。[α]_D +6.8° (c 0.44, MeOH). IR ν_{max} (neat): 3605, 3435, 2233, 1602 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (br. t, 3H), 1.18-1.44 (m, 10H), 1.47-1.70 (m, 2H), 1.80 (quint, *J*=6.3 Hz, 2H), 2.47 (t, *J*=6.3 Hz, 2H, *J*=6.7 Hz), 3.76 (t, 2H, *J*=6.3 Hz), 4.17 (dq, 1H, *J*=1.1, 6.0 Hz), 5.73 (dd, 1H, *J*=15.9, 1.1 Hz), 6.28 (dd, 1H, *J*=15.9, 6.0 Hz). ¹³C-NMR (75MHz, CDCl₃) δ: 13.9, 16.0, 22.5, 25.1, 29.1, 29.3, 30.8, 31.7, 36.9, 61.4, 65.5, 72.1, 73.3, 74.7, 83.5, 108.6, 149.0. MS *m/z*: 262 (M⁺), 261, 231, 217, 191, 177, 163, 149, 135, 127, 57 (100%). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₆O₂ (M⁺): 262.1933. Found: 262.1938. 各種スペクトルデータは天然物の値と一致した。

第2章第2節の実験

(2*S*,3*S*)-4-Chloro-2,3-(*O*-isopropylidene)butane-1,2,3-triol (75)

文献記載の方法²¹⁾により調製した化合物 **74** (258.4 mg, 957 μmol) の MeOH (5 mL) 溶液に 10%-Pd/C (26 mg) および CHCl_3 (1滴) を加え、水素気流下 15 分攪拌した。反応溶液をセライト濾過後、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (4:1 v/v) の流分より、化合物 **75** (164 mg, 95%) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +2.9^\circ$ (*c* 1.44, CHCl_3)。IR ν_{max} (neat): 3445 cm^{-1} 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (s, 6H), 1.86-1.99 (m, 1H, exchangeable with D_2O), 3.60-3.76 (m, 2H), 3.66 (dd, 1H, $J=11.8$, 6.0 Hz), 3.89 (ddd, 1H, $J=11.8$, 5.1, 3.8 Hz), 4.04 (dt, 1H, $J=7.7$, 4.1 Hz), 4.17 (ddd, 1H, $J=7.7$, 6.0, 5.1 Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 27.0, 27.2, 44.2, 62.3, 76.3, 79.7, 110.1。MS m/z : 167 (M^+-13), 165 (M^+-15), 105, 43。High-resolution MS calcd for $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3^{37}\text{Cl}$ ($\text{M}^{*+}\text{-Me}$): 167.0289。Found: 167.0280。Calcd for $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3^{35}\text{Cl}$ ($\text{M}^+\text{-Me}$): 165.0318。Found: 165.0309。

(2*S*, 3*S*)-(Z)-1-Chloro-2,3-(*O*-isopropylidene)dodec-4-ene-2,3-diol (77)

Oxalyl chloride (210 μL , 2.41 mmol) の CH_2Cl_2 (7 mL) 溶液に -78°C で DMSO (341 μL , 4.81 mmol) を加えた。20 分後、化合物 **75** (144 mg, 801 μmol) の CH_2Cl_2 (12 mL) 溶液を 10 分間かけて滴下した。さらに 1.5 時間後、 Et_3N (1.05 mL, 7.21 mmol) を滴下し 15 分攪拌後、室温まで昇温した。反応溶液を Et_2O で希釈し、 H_2O 、飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下溶媒留去し淡黄色油状の粗化合物を得た。本化合物は精製することなしに次の反応に用いた。

1-Bromooctane と triphenylphosphine より調製した、octyltriphenylphosphorane (547 mg, 1.20 mmol) の THF (2 mL) -HMPA (2 mL) 溶液に、 -5°C で *n*-BuLi (1.6 M *n*-hexane 溶液; 651 μL , 1.04 mmol) を加えた。反応溶液を -78°C まで冷却し、上記粗化合物の THF (2 mL) 溶液を加えた。1 時間後、 0°C まで昇温し、19 時間攪拌した。反応溶液を Et_2O で希釈し、 H_2O 、飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下溶媒留去した。残渣

をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20 g) に付し, *n*-hexane-Et₂O (50:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **Z-77** (118 mg, 54% (2 steps)) およびその *E*-異性体 (**E-77**, 8.9 mg, 4% (2 steps)) を得た. **E-77**: $[\alpha]_D -13.3^\circ$ (*c* 0.12, CHCl₃). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (t, 3H, *J*=6.6 Hz), 1.16-1.41 (m, 10H), 1.44 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 2.06 (dt, 2H, *J*=7.7, 7.4 Hz), 3.57 (dd, 1H, *J*=11.8, 4.9 Hz), 3.67 (dd, 1H, *J*=11.8, 4.1 Hz), 3.90 (ddd, 1H, *J*=8.1, 4.9, 4.1 Hz), 4.25 (t, 1H, *J*=8.1 Hz), 5.44 (dd, 1H, *J*=15.1, 8.1 Hz), 5.85 (dt, 1H, *J*=15.1, 7.7 Hz). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.1, 22.6, 27.0, 27.2, 28.8, 29.1, 29.7, 32.3, 43.5, 47.9, 74.5, 80.4, 102.2, 126.2, 137.9. MS *m/z*: 274 (M⁺), 261, 259, 239, 85 (100%). High-resolution MS calcd for C₁₅H₂₇O₂³⁵Cl (M⁺): 274.1699. Found: 274.1738. Calcd for C₁₄H₂₄O₂³⁷Cl (M⁺-Me): 261.1436. Found: 261.1424. Calcd for C₁₄H₂₄O₂³⁵Cl (M⁺-Me): 259.1465. Found: 259.1428. **Z-77**: $[\alpha]_D +7.5^\circ$ (*c* 0.48, CHCl₃). ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (br.t, 3H, *J*=6.6 Hz), 1.13-1.52 (m, 10H), 1.46 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.98-2.25 (m, 2H), 3.56 (dd, 1H, *J*=12.0, 4.8 Hz), 3.70 (dd, 1H, *J*=11.9, 3.9 Hz), 3.88 (ddd, 1H, *J*=8.4, 4.8, 3.9 Hz), 4.70 (dt, 1H, *J*=0.7, 8.4 Hz), 5.38 (ddt, 1H, *J*=10.8, 8.4, 1.1 Hz), 5.73 (ddt, 1H, *J*=10.8, 0.7, 7.3 Hz). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.1, 22.6, 26.9, 27.3, 27.9, 29.1, 29.2, 29.6, 31.8, 43.2, 74.4, 80.2, 109.7, 125.6, 137.5. MS *m/z*: 276 (M⁺+2), 274 (M⁺), 261, 239, 85 (100%). High-resolution MS calcd for C₁₅H₂₇O₂₃₇Cl (M⁺): 276.1670. Found: 276.1694. Calcd for C₁₅H₂₇O₂³⁵Cl (M⁺): 274.1699. Found: 274.1718.

(*S*)-(Z)-Dodec-4-en-1-yn-3-ol (78)

HMPA (1 mL, 6.0 mmol) の THF (3 mL) 溶液に, -35°C で *n*-BuLi (1.6 M *n*-hexane 溶液; 3.8 mL, 6.0 mmol) を加えた. 30分後, 化合物 **Z-77** (276.3 mg, 1.0 mmol) の THF (5 mL) 溶液を滴下し, 90分攪拌した. 反応溶液に飽和 NH₄Cl 水溶液を加え, 室温まで昇温した. Et₂O で抽出し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下溶媒留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 g) に付し, *n*-hexane-Et₂O (6:1 v/v) の流分より, 化合物 **78** (131.4 mg, 73%) を得た. $[\alpha]_D +103^\circ$ (*c* 0.22, CHCl₃). IR ν_{\max} (neat): 3381,

3312, 2364 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.13-1.46 (m, 10H), 1.84 (br. s, exchangeable with D_2O , 1H), 2.13 (dt, 2H, $J=7.1, 6.6$ Hz), 2.50 (d, 1H, $J=2.2$ Hz), 5.11-5.27 (m, 1H), 5.52-5.66 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.1, 22.6, 27.6, 29.1, 29.2, 29.3, 31.8, 58.1, 73.0, 84.2, 128.8, 134.4. MS m/z : 180 (M^+), 179, 81 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}$ (M^+-1): 179.1436. Found: 179.1469.

(S)-(Z)-Heptadec-9-ene-4,6-diyne-1,8-diol (virol B, 31)

化合物 **78** (120 mg, 0.67 mmol) と化合物 **68** (140.7 mg, 0.67 mmol) の pyrrolidine (6.7 mL) 溶液に室温で CuI (127.6 mg, 0.67 mmol) を加え40分攪拌した。反応溶液に飽和 NH_4Cl を加え, Et_2O で抽出し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, n -hexane-AcOEt (3:1 v/v) の流分より, 無色油状の virol B (**31**, 159.7 mg, 91%) を得た。 $[\alpha]_D^{25} +232^\circ$ (c 0.33, MeOH). IR ν_{max} (neat): 3595, 3418, 2254 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.18-1.47 (m, 10H), 1.62 (br. s, 1H, exchangeable with D_2O), 1.79 (quint, 2H, $J=13.2, 6.9$ Hz), 1.94 (br. s, 1H, exchangeable with D_2O), 2.05-2.16 (m, 2H), 2.43 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 3.75 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 5.18 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 5.45-5.65 (m, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.1, 15.8, 22.6, 27.6, 29.1, 29.2, 29.3, 30.8, 31.8, 58.6, 61.4, 65.0, 69.8, 75.7, 81.3, 128.3, 134.5. MS m/z : 262 (M^+), 261, 217, 91(100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_2$ (M^+-1): 261.1853. Found: 261.1846. 各種スペクトルデータは天然物の値と一致した。

第3章第1節の実験

(4R)-(5E,7E,9E)-17-Acetoxyheptadecatriene-11,13-diyn-4-ol (34)

(14R)-(8E,10E,12E)-14-Acetoxyheptadecatriene-4,6-diyn-1-ol (79)

(4R)-(5E,7E,9E)-4,17-Diacetoxyheptadecatriene-11,13-diyne (80)

Cicutoxin (5, 8.5 mg, 32.9 μ mol) の pyridine (16.4 μ L, 1.02 mmol) 溶液に氷冷下 (CH_3CO)₂O (4.03 mg, 39.5 μ mol) を加え, 同温下で 8.3 時間攪拌した. H_2O を加え, AcOEt により抽出, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄後, MgSO_4 で乾燥し, 減圧下溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2 g) に付し *n*-hexane-AcOEt (5/1 v/v) の流分より無色油状の化合物 **80** (2.6 mg, 23 %), 4/1 (v/v) の流分より無色油状の化合物 **34** (5.4 mg, 55 %) および 3/1 (v/v) の流分より無色油状の化合物 **79** (1.0 mg, 10 %) を得た.

化合物 **34**: $[\alpha]_D -15.7^\circ$ (*c* 0.24, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 334 (4.65), 317 (4.66), 302 (4.43), 251 (4.17), 241 (3.97) nm. IR ν_{max} (CHCl_3): 3400, 2330, 2220, 2120, 1730, 1600, 1240, 990 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.93 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.25-1.60 (m, 4H), 1.88 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.06 (s, 3H), 2.46 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 4.16 (t, 2H, $J=6.3$ Hz), 4.18-4.20 (m, 1H), 5.60 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 5.83 (dd, 1H, $J=15.1, 6.9$ Hz), 6.18-6.38 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, $J=15.4, 10.2$ Hz). MS m/z : 300 (M^+), 257 (M^+-43). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_3$: 300.1725. Found: 300.1716. 本化合物の各種スペクトルデータは天然物のものと一致した.

化合物 **79**: $[\alpha]_D +36.3^\circ$ (*c* 0.28, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 336 (4.45), 317 (4.59), 252 (4.21), 242 (4.04), 205 (4.15) nm. IR ν_{max} (CHCl_3): 3626, 3454, 2361, 2226, 1728, 1602 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.23-1.68 (m, 4H), 1.81 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.05 (s, 3H), 2.49 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 3.76 (br.t, 2H), 5.29 (q, 1H, $J=6.9$ Hz), 5.62 (d, 1H, $J=15.1$ Hz), 5.71 (dd, 1H, $J=15.1, 6.9$ Hz), 6.18-6.38 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, $J=15.1, 10.3$ Hz). MS m/z : 300 (M^+), 258 (M^+-42), 240, 198, 141, 71, 43. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_3$ (M^+): 300.1725. Found: 300.1735.

化合物 **80**: $[\alpha]_D +37.0^\circ$ (*c* 2.00, MeOH). UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 334 (4.72), 316 (4.72), 303

(4.48), 251 (4.24), 242 (4.00) nm. IR ν_{\max} (CHCl₃): 2330, 2230, 2140, 1730, 1600, 1230, 990 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.92 (t, 3H, *J*=7.1 Hz), 1.23-1.72 (m, 4H), 1.88 (quint, 2H, *J*=6.9 Hz), 2.05 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.46 (t, 2H, *J*=6.9 Hz), 4.16 (t, 2H, *J*=6.3 Hz), 5.29 (q, 1H, *J*=6.9 Hz), 5.61 (d, 1H, *J*=15.4 Hz), 5.71 (dd, 1H, *J*=15.1, 6.9 Hz), 6.20-6.40 (m, 3H), 6.70 (dd, 1H, *J*=15.4, 10.2 Hz). High-resolution MS calcd for C₂₁H₂₆O₄ (M⁺): 342.1830. Found: 342.1795.

(4*R*)-(5*E*,7*E*,9*E*)-17-Methoxyheptadecatriene-11,13-diyn-4-ol (81)

(14*R*)-(8*E*,10*E*,12*E*)-14-Methoxyheptadecatriene-4,6-diyn-1-ol (82)

(4*R*)-(5*E*,7*E*,9*E*)-4,17-Dimethoxyheptadecatriene-11,13-diyne (83)

Cicutoxin (5, 102.9 mg, 0.399 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に氷冷下 MeI (99.3 μ L, 1.60 mmol), KOH (179 mg, 3.19 mmol) を加え, 同温下で 10 分間攪拌した. 反応溶液を Et₂O で希釈し, 1 N HCl 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (100:3 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **83** (30.8 mg, 27%), 6/1 (v/v) の流分より無色油状の化合物 **82** (5.4 mg, 5%) および 4/1 (v/v) の流分より無色油状の化合物 **81** (26.0 mg, 24%) を得た.

化合物 **81**: $[\alpha]_D^{25}$ -15.1° (*c* 0.57, EtOH). UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ): 334 (4.23), 318 (4.24), 302 (sh), 252 (3.84), 242 (3.68), 204 (3.80) nm. IR ν_{\max} (CHCl₃): 3603, 2361, 2227, 1603 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.92 (t, 3H, *J*=7.1 Hz), 1.20-1.64 (m, 4H), 1.92 (quint, 2H, *J*=6.8 Hz), 2.48 (t, 2H, *J*=6.8 Hz), 3.80 (s, 3H), 4.24 (t, 2H, *J*=6.2 Hz), 4.15-4.29 (m, 1H), 5.60 (d, 1H, *J*=15.4 Hz), 5.83 (dd, 1H, *J*=15.0, 6.7 Hz), 6.18-6.42 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, *J*=15.4, 9.9 Hz, H-9). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 13.9, 16.3, 18.6, 27.5, 39.4, 54.9, 66.4, 66.5, 72.3, 75.4, 77.4, 84.1, 110.0, 129.9, 131.7, 135.6, 139.5, 144.6. MS *m/z*: 272 (M⁺), 258 (M⁺-14). High-resolution MS calcd for C₁₈H₂₀O₂ (M⁺): 272.1776. Found: 272.1764.

化合物 **82**: $[\alpha]_D^{25}$ +34.2° (*c* 0.13, EtOH). UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ): 334 (4.32), 318 (4.33), 302

(sh), 252 (3.91), 242 (3.74), 204 (3.88) nm. IR ν_{\max} (CHCl_3): 3600, 2361, 2226, 1602 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.26-1.44 (m, 2H), 1.51-1.1.65 (m, 1H), 1.66-1.78 (m, 1H), 1.81 (quint, 2H, $J=7.1$ Hz), 2.49 (dt, 2H, $J=1.1, 7.1$ Hz), 3.76 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 3.77 (s, 3H), 5.16 (q, 1H, $J=7.1$ Hz), 5.63 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 5.72 (dd, 1H, $J=15.1, 7.1$ Hz), 6.24-6.42 (m, 3H), 6.70 (dd, 1H, $J=15.4, 10.4$ Hz). MS m/z : 272 (M^+), 258 (M^+-14). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ (M^+): 300.1725. Found: 300.1711.

化合物 **83**: $[\alpha]_D^{20} +23.8^\circ$ (c 0.21, EtOH). UV (EtOH) λ_{\max} ($\log\epsilon$): 334 (4.41), 317 (4.42), 302 (sh), 251 (3.98), 242 (3.81), 205 (3.95) nm. IR ν_{\max} (CHCl_3): 2361, 2337, 1602 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (t, 3H, $J=7.4$ Hz), 1.28-1.42 (m, 4H), 1.50-1.65 (m, 1H), 1.65-1.80 (m, 1H), 1.92 (quint, 2H, $J=7.0$ Hz), 2.48 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 3.77 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 4.24 (t, 2H, $J=7.0$ Hz), 5.12 (q, 1H, $J=7.0$ Hz), 5.61 (d, 1H, $J=15.1$ Hz), 5.71 (dd, 1H, $J=14.8, 7.0$ Hz), 6.24-6.38 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, $J=15.1, 9.9$ Hz). MS m/z : 286 (M^+), 271 (M^+-15), 254 (M^+-32), 45 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_2$ (M^+): 286.1933. Found: 286.1917.

(8E,10E,12E)-14-Oxoheptadecatriene-4,6-diyn-1-al (84)

(5E,7E,9E)-17-Hydroxyheptadecatriene-11,13-diyn-4-one (9)

(14R)-(8E,10E,12E)-14-Hydroxyheptadecatriene-4,6-diyn-1-al (85)

Cicutoxin (**5**, 637 mg, 2.47 mmol) の CH_2Cl_2 (7.5 mL) 溶液に氷冷下 DMSO (7.5 mL, 106 mmol), Et_3N (10 mL, 71.2 mmol), SO_3 -pyridine 錯体 (4.72 g, 29.6 mmol) を加え, 同温下で 4 時間攪拌した. 反応溶液を Et_2O で希釈し, 飽和 NH_4Cl 水溶液, 飽和 NaCO_3 水溶液, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO_4 で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (50 g) に付し, n -hexane-AcOEt (10:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **84** (100 mg, 16%), 4/1 (v/v) の流分より無色油状の化合物 **85** (82.2 mg, 13%) および 2/1 (v/v) の流分より無色油状の化合物 **9** (50.5 mg, 8%) を得た.

化合物 **84**: UV (EtOH) λ_{\max} ($\log\epsilon$): 363 (sh), 348 (4.67), 269 (3.95), 243 (4.06), 204 (4.18) nm. IR ν_{\max} (CHCl_3): 2226, 1730, 1654, 1603, 997 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.94 (t,

3H, $J=7.1$ Hz), 1.68 (m., 2H), 2.54 (t, 2H, $J=7.2$ Hz), 2.61-2.83 (m, 4H), 5.78 (d, 1H, $J=15.1$ Hz), 6.23 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 6.39 (dd, 1H, $J=14.6, 11.0$ Hz), 6.58 (dd, 1H, $J=14.6, 11.0$ Hz), 6.73 (dd, 1H, $J=15.7, 11.0$ Hz), 7.20 (dd, 1H, $J=15.4, 11.0$ Hz), 9.91 (s, 1H). MS m/z : 254 (M^+), 43 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{17}H_{18}O_2$ (M^+): 254.1307. Found: 254.1276.

化合物 9: UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 362 (sh), 347 (4.54), 269 (3.88), 237 (3.69), 215 (3.97) nm. IR ν_{max} ($CHCl_3$): 3626, 3481, 2226, 1655, 1599 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.94 (t, 3H, $J=7.4$ Hz), 1.66 (sex., 2H, $J=7.4$ Hz), 1.82 (quint, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.51 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.54 (t, 2H, $J=7.4$ Hz), 3.76 (t, 2H, $J=7.4$ Hz), 5.80 (d, 1H, $J=15.1$ Hz), 6.24 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 6.41 (dd, 1H, $J=14.6, 11.0$ Hz), 6.61 (dd, 1H, $J=14.6, 11.0$ Hz), 6.75 (dd, 1H, $J=15.7, 11.0$ Hz), 7.16 (dd, 1H, $J=15.4, 11.0$ Hz). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.8, 16.3, 17.8, 30.9, 42.9, 61.4, 65.8, 74.5, 80.0, 86.8, 114.4, 131.2, 133.5, 139.6, 141.2, 143.3, 200.8. MS m/z : 256 (M^+), 255 (M^+-1), 43 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{17}H_{20}O_2$ (M^+): 256.1463. Found: 256.1475.

化合物 85: $[\alpha]_D^{25} +51.4^\circ$ (c 0.14, EtOH). UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 336 (4.49), 318 (4.55), 302 (sh), 252 (4.10), 243 (3.93), 204 (4.08) nm. IR ν_{max} ($CHCl_3$): 3597, 2357, 1728, 1603, 997 cm^{-1} . 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.93 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.30-1.64 (m, 4H), 2.63-2.79 (m, 4H), 4.20 (q, 1H, $J=6.7$ Hz), 5.60 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 5.83 (d, 1H, $J=15.1, 6.6$ Hz), 6.17-6.44 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, $J=15.4, 10.2$ Hz), 9.80 (s, 1H). ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.8, 16.3, 17.8, 30.9, 42.9, 61.4, 65.8, 74.5, 80.0, 86.8, 114.4, 131.2, 133.5, 139.6, 141.2, 143.3, 200.8. MS m/z : 256 (M^+), 238, 228, 213, 43 (100%). High-resolution MS calcd for $C_{17}H_{20}O_2$ (M^+): 256.1463. Found: 256.1448.

(7*E*,9*E*)-17-Hydroxyheptadecatriene-11,13-diyn-6-one (11)

Virol A (30, 8.6 mg, 33 μ mol) の CH_2Cl_2 (0.1 mL) 溶液に室温下 MnO_2 (57.4 mg, 0.66 mmol) を加え, 同温下で 7 時間攪拌した. 反応溶液をセライト濾過し, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt

(3:1 v/v) の流分より化合物 **11** (7.7 mg, 91%) を得た. この一部を *n*-hexane-Et₂O により再結晶し, 無色の針状晶を得た. mp. 65.0-65.5°C. UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ): 336 (4.54), 320 (4.60), 252 (3.69), 203 (3.97) nm. IR ν_{\max} (CHCl₃): 3626, 3477, 2361, 2227, 1680, 1595 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.89 (t, 3H, *J*=8.2 Hz), 1.22-1.38 (m, 4H), 1.62 (quint., 2H, *J*=7.4 Hz), 1.82 (quint., 2H, *J*=6.9 Hz), 2.51 (t, 2H, *J*=6.9 Hz), 2.55 (t, 2H, *J*=7.4 Hz), 3.77 (t, 2H, *J*=7.4 Hz), 6.01 (d, 1H, *J*=15.4 Hz), 6.24 (d, 1H, *J*=15.5 Hz), 6.75 (dd, 1H, *J*=15.5, 11.1 Hz), 7.13 (dd, 1H, *J*=15.4, 11.1 Hz). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 13.9, 16.3, 22.4, 23.9, 30.8, 31.4, 41.2, 61.4, 65.6, 73.8, 81.0, 87.4, 118.9, 131.7, 140.2, 142.1, 200.7. MS *m/z*: 258 (M⁺), 202, 145, 43 (100%). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₂O₂ (M⁺): 258.1620. Found: 258.1600.

(8*E*,10*E*)-Heptadecadiene-4,6-diyne-1,12-diol

化合物 **11** (20 mg, 76.9 μ mol) の MeOH (1.0 mL) 溶液に -20°C で NaBH₄ (1.4 mg, 38.5 μ mol) を加えた. 30 分後, acetone 加え, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣を Et₂O で希釈し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (3:1 v/v) の流分より, 無色油状の virol A のラセミ体 (16 mg, 80%) を得た. : $[\alpha]_D \pm 0^\circ$ (c 0.32, MeOH). 本化合物の比旋光度をのぞく各種スペクトルデータは, 天然物のものと一致した.

Methyl (14*R*)-(8*E*,10*E*,12*E*)-14-hydroxyheptadecatriene-4,6-diynate (88**)**

化合物 **85** (102 mg, 0.397 μ mol) の MeOH (5.3 mL) 溶液に氷冷下 KOH (57.9 mg, 1.03 mmol) の MeOH (1.3 mL) 溶液, I₂ (131 mg, 0.515 mmol) の MeOH (1.3 mL) を加えた. 15 分後, 飽和 Na₂S₂O₃ 水溶液を加えた. 反応溶液を Et₂O で希釈し, 飽和 NaCl 水溶液で洗浄し, MgSO₄ で乾燥後, 減圧下にて溶媒を留去した. 残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g) に付し, *n*-hexane-AcOEt (6:1 v/v) の流分より, 無色油状の化合物 **88** (80.6 mg, 71%) を得た. $[\alpha]_D -15.0^\circ$ (c 0.25, EtOH). UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ): 335 (4.57), 318

(4.58), 302 (sh), 252 (4.12), 242 (3.95), 204 (4.01) nm. IR ν_{\max} (CHCl₃): 3609, 3460, 2229, 2135, 1736, 1602, 997 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.93 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 1.29-1.64 (m, 4H), 2.58 (dt, 2H, $J=2.2, 6.6$ Hz), 2.67 (br.t, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.19 (br.q, 1H), 5.60 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 5.82 (dd, 1H, $J=14.8, 6.6$ Hz), 6.18-6.41 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, $J=15.4, 10.2$ Hz). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 13.8, 15.5, 18.5, 32.7, 39.3, 51.9, 66.1, 72.2, 75.4, 77.2, 83.5, 109.8, 129.8, 131.6, 135.6, 139.4, 144.6, 172.0. MS m/z : 286 (M⁺), 268, 71(100%). High-resolution MS calcd for C₁₈H₂₂O₃ (M⁺): 286.1569. Found: 286.1560.

(14*R*)-(8*E*,10*E*,12*E*)-14-Hydroxyheptadecatriene-4,6-diynic acid (89)

化合物 **88** (57.6 mg, 0.201 mmol) の MeOH (3.6 mL) 溶液に室温で 1*N* NaOH 水溶液 (22.5 μ L) を加えた。9 時間後、H₂O で希釈し、1*N* HCl 水溶液を酸性になるまで加えた。反応溶液を AcOEt で抽出し、飽和 NaCl 水溶液で洗浄、MgSO₄ で乾燥後、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (1:2 v/v) の流分より、無色油状の化合物 **89** (41.0 mg, 75%) を得た。[α]_D -15.0° (*c* 0.40, EtOH). UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ): 336 (4.16), 318 (4.17), 302 (sh), 251 (3.73), 242 (3.57), 207 (4.06) nm. IR ν_{\max} (CHCl₃): 3603, 3501, 2690, 2361, 2229, 2135, 1716, 1602, 997 cm⁻¹. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.94 (t, 3H, $J=5.2$ Hz), 1.22-1.65 (m, 4H), 2.58-2.74 (m, 4H), 3.16 (br.s, 1H), 4.20 (q, 1H, $J=6.5$ Hz), 5.60 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 5.82 (dd, 1H, $J=15.0, 6.7$ Hz), 6.18-6.38 (m, 3H), 6.72 (dd, 1H, $J=15.7, 10.2$ Hz). ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 13.9, 15.4, 18.6, 32.6, 39.4, 66.3, 72.4, 75.7, 77.3, 83.3, 109.9, 129.9, 131.7, 135.7, 139.5, 144.8, 175.9. MS m/z : 272 (M⁺), 254, 43(100%). High-resolution MS calcd for C₁₇H₂₀O₃ (M⁺): 272.1412. Found: 272.1431.

(14*R*)-(8*E*,10*E*,12*E*)-14-Hydroxyheptadecatriene-4,6-diynamide (90)

化合物 **89** (10.9 mg, 40 μ mol) の DMF (0.5 mL) 溶液に氷冷下 NH₄Cl (5.1 mg, 96 μ mol), DPPA (20.6 μ L, 96 μ mol), Et₃N (27.8 μ L, 0.20 mmol) を加えた。8.5 時間後、AcOEt で希釈

し、飽和 NH_4Cl 水溶液、飽和 NaCO_3 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (2:3 v/v) の流分より、無色油状の化合物 **90** (6.5 mg, 63%) を得た。 $[\alpha]_D^{25}$ -16.7° (*c* 0.084, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 334 (4.43), 317 (4.46), 302 (sh), 252 (4.02), 242 (3.92), 202 (3.98) nm. IR ν_{max} (CHCl_3): 3600, 3501, 3405, 2361, 2229, 1653, 1602, 997 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.91 (t, 3H, $J=5.0$ Hz), 1.26-1.62 (m, 4H), 2.45 (t, 3H, $J=7.2$ Hz), 2.68 (t, 3H, $J=7.2$ Hz), 4.13-4.22 (m, 1H), 5.30-5.60 (m, 2H), 5.57 (d, 1H, $J=14.8$ Hz), 5.81 (dd, 1H, $J=14.8, 6.9$ Hz), 6.15-6.36 (m, 3H), 6.69 (dd, 1H, $J=14.8, 10.3$ Hz). MS m/z : 271 (M^+), 253, 141, 71, 43 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{N}$ (M^+): 271.1572. Found: 272.1466.

(14*R*)-(8*E*,10*E*,12*E*)-*N*-Butyl-14-hydroxyheptadecatriene-4,6-diynamide (91)

化合物 **89** (9.1 mg, 34 μmol) の DMF (0.5 mL) 溶液に氷冷下 BuNH_3Cl (8.8 mg, 81 μmol), DPPA (17.4 μL , 81 μmol), Et_3N (23.4 μL , 0.17 mmol) を加えた。9.5 時間後、AcOEt で希釈し、飽和 NH_4Cl 水溶液、飽和 NaCO_3 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (2:1 v/v) の流分より、無色油状の化合物 **91** (7.8 mg, 70%) を得た。 $[\alpha]_D^{25}$ -4.1° (*c* 0.049, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 333 (3.95), 317 (3.99), 302 (sh), 254 (3.61), 242 (3.56), 205 (3.68) nm. IR ν_{max} (CHCl_3): 3602, 3310, 2228, 1658, 1602, 997 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, $J=6.8$ Hz), 0.93 (t, 3H, $J=7.3$ Hz), 1.24-1.58 (m, 8H), 2.41 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 2.71 (t, 3H, $J=7.1$ Hz), 3.29 (dt, 2H, $J=5.5, 7.1$ Hz), 4.17-4.24 (m, 1H), 5.50 (br.s, 1H), 5.60 (d, 1H, $J=15.4$ Hz), 5.84 (dd, 1H, $J=14.6, 6.0$ Hz), 6.17-6.37 (m, 3H), 6.71 (dd, 1H, $J=15.4, 11.4$ Hz). MS m/z : 327 (M^+), 309, 280, 57 (100%), 43. High-resolution MS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{O}_2\text{N}$ (M^+): 327.2198. Found: 327.2208

(9Z)-1-Hydroxyheptadecene-4,6-diyne-8-one (92)

Virol B (31, 16.7 mg, 63.7 μmol) の CH_2Cl_2 (0.2 mL) 溶液に室温下 MnO_2 (110 mg, 1.28 mmol) を加え、同温下で 6.5 時間攪拌した。反応溶液をセライト濾過し、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1.5 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (3:1 v/v) の流分より化合物 92 (14.0 mg, 84%) を得た。UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 295 (4.00), 279 (4.08), 265 (4.02), 253 (sh), 208 (4.15) nm. IR ν_{max} (CHCl_3): 3620, 3439, 2234, 1645, 1604 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (t, 3H, $J=6.9$ Hz), 1.18-1.39 (m, 8H), 1.40-1.55 (m., 2H), 1.83 (quint., 2H, $J=6.9$ Hz), 2.53 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 2.69 (dq, 2H, $J=1.4, 7.4$ Hz), 3.76 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 6.17 (dt, 1H, $J=11.5, 1.4$ Hz), 6.30 (dt, 1H, $J=15.5, 7.4$ Hz), 6.75 (dd, 1H, $J=15.5, 11.1$ Hz), 7.13 (dd, 1H, $J=15.4, 11.1$ Hz). MS m/z : 260 (M^+), 229, 189, 176, 55 (100%). High-resolution MS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$ (M^+): 260.1776. Found: 260.1783.

(6S)-(7E,9E)-Heptadecadiene-11,13-diyn-4-ol (94)

化合物 59 (18.4 mg, 0.103 mmol) の pyrrolidine (1 mL) 溶液に、室温下で化合物 93 (30.2 mg, 0.155 mmol) および CuI (2.0 mg, 10 μmol) を加え、同温下で 1 時間攪拌した。反応溶液を Et_2O で希釈し、飽和 NH_4Cl 水溶液、飽和 NaCl 水溶液で順次洗浄、 MgSO_4 で乾燥後、減圧下にて溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (3 g) に付し、*n*-hexane-AcOEt (6:1 v/v) の流分より無色油状の化合物 94 (20.8 mg, 83%) を得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{+15.4}$ (c 0.67, MeOH). UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ): 311 (4.20), 294 (4.25), 236 (4.25), 226 (4.12) nm. IR ν_{max} (CHCl_3): 3603, 3443, 2361, 2229, 1591 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (t, 3H, $J=6.6$ Hz), 1.00 (t, 3H, $J=4.1$ Hz), 1.24-1.43 (m, 8H), 1.48-1.65 (m, 2H), 2.32 (t, 2H, $J=6.9$ Hz), 4.17 (q, 1H, $J=6.3$ Hz), 5.61 (d, 1H, $J=15.7$ Hz), 5.83 (dd, 1H, $J=15.4, 6.3$ Hz), 6.27 (dd, 1H, $J=15.4, 10.9$ Hz), 6.68 (dd, 1H, $J=15.7, 10.9$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75MHz, CDCl_3) δ : 13.3, 13.9, 21.5, 21.7, 22.5, 24.9, 31.6, 37.1, 65.4, 72.3, 74.2, 85.7, 119.4, 127.6, 129.1, 140.0, 143.7. MS m/z : 244 (M^+), 215, 173, 145, 71, 43 (100%). High-resolution MS

calcd for $C_{17}H_{24}O$ (M^+): 244.1827. Found: 244.1824.

第3章第2節の実験

1. 使用動物

全ての実験には、体重 21-25 g の Std-ddY 系雄性マウス (日本 SLC) を使用し、室温 22 ± 2 °C、湿度 55 ± 5 % および明暗 12 時間サイクルの一定環境下で飼育した。また、動物は固形資料および水道水を自由に摂取させた。

2. 使用薬物

第1章第1節および第3章第1節で確保したサンプルを benzene に溶解し、 -80 °C で凍結保存した。このものを用時融解して溶媒を減圧下留去し用いた。

3. 投与方法

サンプルを、2% アラビアゴムを含む生理食塩水に懸濁し、マウス体重 10 g あたり 0.1 ml を i.p. 投与した。

4. 急性毒性試験

投与量は、死亡率 0% から 100% までの間を等比的に増加させ、投与後 72 時間の死亡率から Litchfield-Wilcoxon 法⁴⁰⁾ により算出した。

第4章第1,2節の実験

1. 標本の作製

10-15日齢の Wistar 系ラットを Et₂O 麻酔下断頭し、頭蓋より速やかに脳を摘出した。その後、海馬を摘出し、マイクロスライサー (DTK-1000, 堂阪 EM) にて厚さ 400 μm に薄切した。薄切した海馬スライス標本を、95% O₂/5% CO₂ 混合ガスを通気して飽和させた人工脳脊髄液 (ACSF) 中で1時間以上インキュベーションし回復させた。海馬スライス標本を、pronase (0.4 mg/mL) を含む酵素液に移し、31°C にて20分間酵素処理し、さらに thermolysin (0.4 mg/mL) で同様に処理した。酵素処理後、海馬スライス標本から CA1 錐体細胞を含む領域をパンチアウトし、35 mm 径のファルコンディッシュ中にて先端系の細い (70-150 μm) パスツールピペットにて機械的に海馬 CA1 錐体細胞を急性単離した⁴⁷⁾。

2. 電気生理学的方法

I_{GABA}, I_{Na} および I_K は、膜電位固定化に nystatin 穿孔パッチクランプ法を適用し、whole-cell で記録した⁴⁸⁾。急性単離した海馬 CA1 錐体細胞に、標準溶液中で電気抵抗が 5-8 MΩ のガラス電極をあて、吸引することによりギガオームシールを形成した。得られた電流は、パッチクランプ用増幅器 (CEZ-2400, 日本光電) を介して増幅し、オシロスコープ (VC-11, 日本光電) でモニターした。同時に、ペンレコーダー (8K21, NEC 三栄) により電流波形を記録した。I_{Na} および I_K は、刺激装置 (SEN-7203, 日本光電) を用いて刺激を加えることにより惹起した。それにより得られた電流はパーソナルコンピュータ (PC-9801DA, NEC) にて電位依存性イオンチャネル解析ソフト (QP-120J, 日本光電) を用いデジタル化してディスク上に記録し、解析した。実験は全て室温で行った。

3. 溶液組成

ACSF のイオン組成は、NaCl (124 mM), KCl (3.5 mM), NaHPO₄ (1.25 mM), MgSO₄ (2

mM), CaCl_2 (2.5 mM), glucose (10 mM) とした.

標準外液のイオン組成は, NaCl (150 mM), KCl (5 mM), MgCl_2 (1 mM), CaCl_2 (2 mM), *N*-2-hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid (HEPES, 10 mM), glucose (10 mM) とした. pH は, tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) により 7.4 とした.

I_K を記録する場合には, I_{Na} および電位依存性 Ca^{2+} 電流 (I_{Ca}) を抑制するために, tetrodotoxin (TTX, 3×10^{-7} M) および CdCl_2 (10^{-4} M) を標準液に加え, 細胞外液とした.

また, I_{Na} を記録する場合には細胞外液のイオン組成を, NaCl (20 mM), Choline-Cl (136 mM), CsCl (5 mM), CaCl_2 (2 mM), HEPES (10 mM), glucose (10 mM) とした. pH は, Tris により 7.4 とした. また, I_{Ca} を抑制するために CdCl_2 10^{-4} M を加えた. ピペット内液のイオン組成は, *N*-Methyl-D-glucosamine (NMDG)-methanesulphonate (20 mM), K-methanesulphonate (60 mM), MgCl_2 (5 mM), KCl (60 mM), HEPES (10 mM) とした. ピペット内液の pH は Tris により 7.4 とした. また, ピペット内液には nystatin を $200 \mu\text{g/mL}$ となるように添加した.

I_{GABA} の電流-電圧関係を検討する場合には, 電位依存性イオンチャネル電流を抑制する目的で細胞外液には標準溶液中の KCl を同モル濃度の CsCl に置換したものをを用い, TTX (3×10^{-7} M) および CdCl_2 (10^{-4} M) を加えた. ピペット内液には, K-methanesulfonate を同濃度の Cs-methanesulfonate に置換して用いた.

GABA は, 10^{-2} M の濃度で標準液に溶解してストックし, 実験時に目的の濃度に用時希釈して用いた. Virol A (30) は, 10^{-2} M の濃度で DMSO に溶解してあるサンプルを用時標準液に希釈して実験に用いた. Virol A (30) を含む実験溶液中の DMSO 濃度は常に 0.1% 以下とした. この濃度の DMSO は, 海馬 CA1 錐体細胞の電位依存性チャネル電流および GABA 誘発電流に何ら影響を与えないことは確認されている. 薬物の適用は, 細胞周囲の液体環境を急速に交換可能な Y-tube 法を用いて行った⁴⁹⁾. データは, 平均値 \pm 標準誤差で表した.

4. 評価

データはコントロールの電流に対する相対値の平均 \pm 標準誤差で示し，相対値を 1 から差し引き 100 倍したものを抑制率とした．

第4章第2節および第5章の実験

GABA (Chloride channel) 受容体結合実験の測定系

アッセイチューブ (第一チューブ, DRL) に, 被験物質溶液 0.1 mL, 50 mM Tris-HCl buffer (pH7.4) 0.3 mL, $^3\text{H-EBOB}$ 溶液 (3 nM) 0.1 mL およびラット大脳皮質粗膜画分 (5 mg tissue) 0.5 mL を加え, 25 °C で 1 時間インキュベートした. インキュベート後, 0.3% エチレンジイミン処理した濾紙 (GF/B, Whatman) を用い濾過したのち, 濾紙を放射能測定用のバイアルビンに移し, 液体シンチレーター (Atomlight, PACKARD) 5 mL を加え混和した後, 液体シンチレーションカウンター (1500 型, PACKARD) を用い放射エネルギーを測定 (2 分間) した. なお, 被験物質非存在下での特異的結合量を求めるため, 被験物質の代わりに 50% DMSO 溶液を, 非特異的結合量を求めるため, 被験物質の代わりに picrotoxin 溶液 (1×10^{-4} M) を加え同様の操作を行った.

各濃度における被験物質の阻害率は, 被験物質存在下での特異的結合量と非存在下での特異的結合量との比より算出し, Dose-response curve は, 被験物質存在下での特異的結合量と非存在下での特異的結合量との比を logit 変換した後, 各濃度の常用対数値に対してプロットする logit-log モデルにあてはめ回帰した.

IC_{50} ($^3\text{H-EBOB}$ とラット下大脳皮質粗膜画分の結合を 50% 阻害する被験物質濃度) 値は, 得られた回帰式より算出した.

GABA (GABA 結合部位) 受容体結合実験の測定系

結合実験は, chloride channel による実験系に準じて行った. ただし, トレーサーとして $^3\text{H-muscimol}$ (10 nM), レセプタータンパクとしてラット小脳 (5 mg tissue), 置換物質として muscimol (10^{-4} M) を用いた.

GABA (Benzodiazepine 結合部位) 受容体結合実験の測定系

結合実験は, chloride channel による実験系に準じて行った. ただし, トレーサーとし

て ^3H -flunitrazepam (1 nM), レセプタータンパクとしてラット大脳皮質 (5 mg tissue), 置換物質として diazepam (10^{-4}M) を用いた.

引用文献とノート

- 1) 川合述史, 脳と毒物, 朝倉書店, 1989年
- 2) 例えば, Benski, D.; Catteral, W. A. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **1980**, *77*, 639-642.
- 3) a) 公衆衛生情報みやぎ, **1992**, *187*, 11-12. b) 彦坂直道, 大野健一, 赤坂敏子, 今田隆一, 金木慎哉, 塚本二郎, 武藤真也, 中毒研究, **1993**, *6*, 77-80.
- 4) Jacobson, C. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1915**, *37*, 916-934.
- 5) a) Anet, E. F. L. J.; Silk, M. H.; Trippett, S. *Chem. Ind.*, **1952**, 757. b) Anet, E. F. L. J.; Silk, M. H.; Trippett, S. *J. Chem. Soc.*, **1953**, 309-322.
- 6) Bohlmann, F.; Hänel, P. *Chem. Ber.*, **1969**, *102*, 3293-3297.
- 7) Wittstock, U.; Hadacek, F.; Wurz, G.; Teuscher, E.; Greger, H. *Planta Med.*, **1995**, *61*, 439-445.
- 8) a) Larsen, P. K.; Nielsen, B. E.; Limmich, J. *Acta Chem. Scand.*, **1969**, *23*, 2552-2554. b) Limmich, E. *Phytochemistry*, **1981**, *20*, 1419-1420.
- 9) Bohlmann, F.; Burkhardt, T.; Zdero, C. *Naturally Occurring Acetylenes.*, Academic Press, London, 1973.
- 10) Konoshima, T.; Lee, K. H. *J. Nat. Prod.*, **1986**, *49*, 1117-1121
- 11) Wittstock, U.; Lichtnow, K. H.; Teuscher, E. *Planta Med.*, **1997**, *63*, 120-124.
- 12) Strauß, U.; Wittstock, U.; Schubert, R.; Teuscher, E.; Jung, S.; Mix, E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1996**, *219*, 332-336.
- 13) ドクゼリおよびその成分についての生物活性の例 : a) Starreveld, E.; Hope, E. *Neurology*, **1975**, *25*, 730-734. b) Knutsen, O. H.; Paszkowski, P. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **1984**, *22*, 157-166. c) North, D. S.; Nelson, R. B. *West. J. Med.*, **1985**, *143*, 250. d) Smith, R. A.; Lewis, D. *Vet. Hum. Toxicol.*, **1987**, *29*, 240-241. e) Panter, K. E.; Keeler, R. F.; Baker, D. C. *J. Anim. Sci.*, **1988**, *66*, 2407-2413.

- f) Teuscher, E.; Greger, H.; Adrian, V. *Pharmazie*, **1990**, *45*, 537-538. g) Rizzi, D.; Basile, C.; Di Maggio, A.; Sebastio, A.; Introna Jr., F.; Rizzi, R. *Nephrol Dial. Transplant*, **1991**, *6*, 939-943.
- 14) 大橋雅津代, 修士学位論文, 東北大学大学院薬学研究科, 1999年.
- 15) Ohta, T.; Uwai, K.; Kikuchi, R.; Nozoe, S.; Oshima, Y.; Sasaki, K.; Yoshizaki, F. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 12087-12098.
- 16) a) Bohlmann, F.; Niedballa, U.; Rode, K.-M. *Chem. Ber.*, **1966**, *99*, 3552-3558.
b) Bohlmann, F.; Rode, K.-M. *Chem. Ber.*, **1968**, *101*, 1163-1175.
- 17) Harada, N.; Nakanishi, K. *Circular Dichroic Spectroscopy-Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*, University Science Books, Mill Valley, **1983**.
- 18) Ohtani, I.; Kusumi, T.; Kashman, Y.; Kakisawa, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 4092-4096.
- 19) Uwai, K.; Oshima, Y.; Sugihara, T.; Ohta, T. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 9469-9480.
- 20) a) Yadav, J. S.; Chander, M. C.; Joshi, B. V. *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, 2737-2740.
b) Yadav, J. S.; Chander, M. C.; Rao, C. S. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 5455-5458.
- 21) a) Takano, S.; Sugihara, T.; Ogasawara, K. *Synlett*, **1990**, 453. b) Takano, S.; Sugihara, T.; Ogasawara, K. *Heterocycles*, **1990**, *31*, 1721-1725.
- 22) a) Eglinton, G.; Jones, E. R. H.; Whiting, M. C. *J. Chem. Soc.*, **1952**, 2873.
- 23) a) Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 4467-4470.
b) Alami, M.; Linstrumelle, G. *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *32*, 6109-6112. c) Alami, M.; Ferri, F.; Linstrumelle, G. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 6403-6406. d) Alami, M.; Crousse, B.; Linstrumelle, G. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 3543-3544. e) Chemin, D.; Linstrumelle, G. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 5335-5344.
- 24) Chodkiewicz, W. *Ann. Chim. (Paris)*, **1957**, [13] *2*, 819-869 b) Alami, M.; Ferri, F. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 2763-2766.
- 25) 化合物 **56** と **61** のラセミ合成 : a) Crousse, B.; Alami, M.; Linstrumelle, G.

- Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 4245-4248. b) Mladenova, M.; Linstrumelle, G. *Synth. Commun.*, **1996**, *26*, 2831-2842.
- 26) 化合物 **56** の他の合成法 : Yadav, J. S.; Barma, D. K.; Dutta, D. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 4479-4482.
- 27) Bohlmann, F.; Miethe, R. *Chem. Ber.*, **1971**, *104*, 1362-1374.
- 28) Kende, A. S.; Smith, C. A. *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 2655-2657.
- 29) a) Shvartberg, M. S.; Vaslevskii, S. F.; Prikhod'ko, T. A. *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, **1982**, 2524; *Chem. Abst.*, **1983**, *98*, 125812. b) Bardamova, M. I.; Kotlyarevskii, I. L.; Trosenko, Z. P. *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, **1984**, 821; *Chem. Abst.*, **1984**, *101*, 130320.
- 30) 化合物 **59** のラセミ合成 : Alami, M. L.; Linstrumelle, G. *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *43*, 6109-6112.
- 31) Southwick, P. L.; Kirchner, J. R. *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, 3305-3308.
- 32) a) Marques, M. D.; Rowland, P. J.; Scopes, P. H.; Thaller, V. *J. Chem. Res. (Miniprint)*, **1986**, 1348-1371. b) Glänzer, B. I.; Faber, K.; Griengl, H. *Tetrahedron*, **1987**, *43*, 5791-5796. c) Parker, K. A.; Ledebøer, M. W. *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 3214-3217.
- 33) a) Sonnet, P. E. *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 3793-3794. b) Tumlinson, J. H.; Klein, M. G.; Doolittle, R. E.; Ladd, T. L.; Proveaux, A. T. *Science*, **1977**, *197*, 789-792. c) Reitz, A. B.; Nortey, S. O.; Jordan Jr., A. D.; Mutter, M. S.; Maryanoff, B. E. *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 3302-3308.
- 34) Parikh, J. R.; Doering, W. von E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5505-5507.
- 35) Yamaguchi, M.; Park, H.-J.; Ishizuka, S.; Omata, K.; HIRAMA, M. *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 5015-5022.
- 36) Yamada, S.; Morizono, D.; Yamamoto, K. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 4329-4332.
- 37) Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6203-6205.

- 38) Bormann, J. *Trends Neurosci.*, **1988**, *11*, 112-116.
- 39) Shirasaki, T.; Klee, M. R.; Nakaye, T.; Akaike, N. *Brain Res.*, **1991**, *561*, 77-83.
- 40) Snodgrass, S.R. *Nature*, **1978**, *273*, 392-394.
- 41) Speth, R. C.; Wastek, G. J. *Life Sci.*, **1979**, *24*, 351-358.
- 42) Lewin, A. H.; de Costa, B. R.; Rice, K. C.; Skolnick, P. *Mol. Pharmacol.*, **1989**, *35*, 189-194.
- 43) 痛み・筋緊張・ストレスと伝達物質, ノバルティス ファーマ株式会社, 東京, 1997
- 44) a) Limmich, E. *Phytochemistry*, **1979**, *18*, 1495-1197. b) Nitz, S.; Spraul, M. H.; Drawert, F. *J. Agric. Food Chem.*, **1990**, *38*, 1445-1447.
- 45) 化合物 **22** の EI マススペクトルは, M^+ のピーク強度が極めて低かったため, このものを *p*-ブロモベンゾイルエステルに導き (yield: 69 %), その構造を同定した. $[\alpha]_D -15.5^\circ$ (*c* 0.44, $CHCl_3$). 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.88 (br.t, $J=6.7$ Hz, 3H), 1.18-1.42 (m, 8H), 1.48-1.60 (m, 2H), 1.85-1.96 (m, 2H), 2.49 (d, 1H, $J=2.2$ Hz), 5.58 (dt, 1H, $J=2.2, 6.6$ Hz), 7.60 (d, 2H, $J=8.5$ Hz), 7.93 (d, 2H, $J=8.5$ Hz). MS m/z : 338 (M^{*+}), 336 (M^+), 295, 293, 267, 265, 254, 252, 185, 183 (100%), 157, 155, 153. High-resolution MS calcd for $C_{17}H_{21}O_2^{81}Br$: 338.0706. Found: 338.0744 (M^{*+}). Calcd for $C_{17}H_{21}O_2^{79}Br$: 336.0725. Found: 336.0702 (M^+). Calcd for $C_{10}H_{17}O$: 153.1279. Found: 153.1257 (M^+ -*p*-Br-Bz).
- 46) Litchfield, J. T.; Wilcoxon, F. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1949**, *96*, 131-144.
- 47) Akaike, N.; Harata, N. *Jpn. J. Physiol.*, **1994**, *44*, 433-473.
- 48) Harata, N.; Wu, J.; Ishibashi, H.; Ono, K.; Akaike, N. *J. Physiol. (London)*, **1997**, *500*, 673-688.
- 49) Shirasaki, T.; Klee, M. R.; Nakaye, T.; Akaike, N. *Brain Res.*, **1991**, *561*, 77-83.

発表論文リスト

1. Ohta, T.; Uwai, K.; Kikuchi, R.; Nozoe, S.; Oshima, Y.; Sasaki, K.; Yoshizaki, F., "Absolute Stereochemistry of Cicutoxin and Related Toxic Polyacetylenic Alcohols from *Cicuta virosa*", *Tetrahedron*, **1999**, 55, 12087-12098.
2. Uwai, K.; Oshima, Y.; Sugihara, T.; Ohta, T., "Syntheses and Stereochemical Assignment of Toxic C₁₇-Polyacetylenic Alcohols, Virols A, B, and C, Isolated from Water Hemlock (*Cicuta virosa*)", *Tetrahedron*, **1999**, 55, 9469-9480.