

殺虫性インドールアルカロイド okaramine 類に関する研究

(1999 年)

塩野義人

殺虫性インドールアルカロイド okaramine 類に関する研究

(1999 年)

塩野義人

目 次

緒論	1
第 1 章 <i>Penicillium simplicissimum</i> ATCC 90288 株の生産する 新規 okaramine 類縁体および関連物質の単離・精製	8
第 1 節 実験方法	8
第 2 節 新規 okaramine 類縁体および関連物質の単離	10
第 2 章 新規 okaramine 類縁体および関連物質の平面構造	16
第 1 節 各種機器分析	16
第 2 節 理化学的性質	16
第 3 節 新規 okaramine 類縁体の平面構造	19
第 4 節 関連物質 1～5 の平面構造	56
第 5 節 結果と考察	69
第 3 章 Okaramine C および J～Q と関連物質 1～5 の立体構造	71
第 1 節 実験方法	71
第 2 節 関連物質 1～5 の立体構造	72
第 3 節 Okaramine C および J～Q の立体構造	74
第 4 節 結果と考察	83
第 4 章 Okaramine 類の殺虫活性発現における構造と活性との相関	85
第 1 節 実験方法	85
第 2 節 結果と考察	93
第 5 章 Okaramine 類の生合成経路	99
総括	104
参考文献	107
謝辞	109

緒論

微生物の生産する生理活性物質には、天然物の中でも特異な構造を有するものが数多く知られており、特にその生理活性物質の発見が社会的に大きな影響をもたらした最初の例がペニシリンである。このペニシリンの発見を端緒として、微生物界に医薬のソースを求める研究は、新薬開発の有力な手段の一つとして発展し続けてきた。また抗生物質の普及は、人類を常に悩ましてきた伝染病や微生物による疾病の治療を可能とし、それ以後、第2次世界大戦の終了による栄養状態の改善や衛生状態の改良と相俟って、人類の寿命を大きく延長する事に貢献してきた。

抗生物質以外の微生物の代謝産物には、酵素阻害剤、薬理活性物質、免疫活性物質、農薬など多くのものが知られている。特に農薬分野においては、昨今環境問題がクローズアップされる中、農薬としての安全性がかなり深刻な問題になってきている。本来農薬は害虫防除目的のために使用され、その他の有害生物以外には無毒であることが望まれる。最近における農薬の種類は驚くほど多用である。それらの内容として特に殺虫剤ではたくさんある有機合成薬剤の中で、有機リン剤やカーバメート剤に加え、合成ピレスロイド剤が主流を占めるようになってきた。しかし、いずれも人畜に対して毒性を示すものが多く、利益と危険性のバランスを考慮した安全性のもとで使用されている。また環境や動植物中で分解されにくい農薬は、たとえ人畜に対して急性毒性を示さなくても食物連鎖を通じて人体に摂取され、蓄積され毒性を発現する。実際に残留性の高い農薬が、陸、水系などの環境におよび、そこに生息する生物から検出されるにつれ、生態系に及ぼす悪影響が懸念されるようになってきた。また抵抗性害虫の出現により使用できなくなった殺虫剤もあり、殺虫剤抵抗性害虫の防除に新しい殺虫剤の開発が求められている。しかも安全性確保の面から、新しい殺虫剤の開発は一段と難しくなっている。

近年、ドラッグデザインの分野において、高性能のコンピューターによる分子軌道法や分子力場法などの理論化学計算や三次元グラフィックスを用いて分子設計する方法がさかんに行われている¹⁾。また、化学農薬による環境汚染や環境破壊等の問題点を打破するために、生物的防除がそれを補完するものとして注目されてきている²⁾。生物的

防除にはフェロモンやホルモンなどの生化学的農薬と細菌や糸状菌、ウイルス、原生生物などの微生物農薬、天敵の利用などかなり多くのものが含まれる。しかしながら、現在のところはほとんどがBT剤であり、またその作用機構は哺乳動物や魚介類に対して毒性を示さないことから、安全性が高いと考えられている。しかし、BT剤は非標的昆虫に対しても有害である場合もあり、その殺虫スペクトルが余り広くないことから、従来の殺虫剤との併用もさけられない。一方、殺虫ではなく害虫防除という考えから、誘引物質あるいは忌避物質として使用されている性フェロモンなども、単独では農薬のような即効性のある防除は困難で、特に大発生の時などは対応しきれないことなどが問題になっている。

最近、農林水産省が中心になって「環境保全型農業」、「総合防除」、「低投入持続型農業」といった概念が提唱されている³⁾。これは化学農薬などの化学合成資材の投入量を低減し、環境に対する付加を軽減していくことを目的としている。こうしたことをふまえ農薬分野における様々な問題点を解決すべく、現在もなお、新たな殺虫剤の開発が進められている。

著者らのグループでは特に農薬分野における環境汚染問題や残留性に注目し、生物分解されやすいといった利点を有する天然物に、殺虫剤あるいは殺虫剤開発のリード化合物を求めて探索してきた。その際の生物検定にはカイコ (*Bombyx mori* L.) を用い、培地には天然培地であるオカラ (豆腐粕) を利用してきた。オカラは安価でかつ容易に入手可能であり、またその成分は原料が大豆単独であるため比較的均一である。その上水分含量が高く、栄養分が豊富なため微生物の培養に適している。このような検索により、土壤分離菌 *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288 株のオカラ培養物より新規インドールアルカロイドである okaramine A (1) と B (2)、D (3)、E (4)、F (5)、G (6)^{4), 5), 6)} (Fig. 0-1) および痙攣物質である penitrem A⁷⁾、6-bromopenitrem E⁸⁾ を単離・構造決定してきた (Fig. 0-2)。また最近、*Aspergillus japonicus* JV-23 株より麻痺作用を有する asperparaline A と B、C (Fig. 0-3) を単離している⁹⁾。

Okaramine 類はピロロインドール部分とアゾシノインドール部分がジケトピペラジン環を介して縮合した大変興味深い構造を有している。またこのようなトリプトファンにより構成されたジケトピペラジン環を構造単位に持つ化合物は、数多く報告されている。しかしながら、それらの中で okaramine 類のように分子内にアゾシノインドール

環を有する化合物は非常に珍しく、okaramine 類以外に *Aspergillus ochraceus* の生産する cycloechinulin¹⁰⁾ 及び *A. ustus* の生産する 10,20-dehydro[12,13-dehydropropyl]-2-(1',1'-dimethylallyltryptophyl)diketopiperazine¹¹⁾ の 2 種が報告されているのみである (Fig. 0-4)。それ故に okaramine 類に興味を持たれた。そこで他の菌株における okaramine 類の生産性を調べた結果、同族の *P. simplicissimum* AHU 8402 株から okaramine C (7)¹²⁾ (Fig. 0-5) を、また *Aspergillus aculeatus* KF-428 株から okaramine H (8) と I (9)¹³⁾ (Fig. 0-6) を得ることができた。

Okaramine 類の生合成研究に関しては、これまでに阪口らにより重水素ラベルしたトリプトファンが 2 のインドール部分に取り込まれることが確認されている¹⁴⁾。また生合成研究の際に、*P. simplicissimum* ATCC 90288 株の培地に Czapek-Dox 培地を用いると、okaramine 類は全く生産されないけれども、オカラの抽出物をそれに添加すると生育並びに okaramine 類生産性が飛躍的に上昇するという興味深い知見も得られている。このことは、オカラ抽出物中に生育促進物質や生合成促進因子が存在する事を示唆している。一般に微生物における二次代謝は一次代謝から枝分かれした代謝であり、一次代謝と密接に関連した調節機構が存在し、より複雑さを増している。また、二次代謝の生合成制御には、様々な調節制御機構があると推定されている。しかしながら、これらの調節因子と最終産物との因果関係について決定的な解明がなされたものはほとんどない。おそらく okaramine 類の生合成に関しても種々の代謝活動を調節する機構または調節物質が絡んでいると考えられる。すなわち、オカラ抽出物に含まれる促進物質と推定される特異な低分子物質に呼応して、一種またはそれ以上の酵素が誘導され、okaramine 類が生合成されると考えられる。なお本研究室では現在も okaramine 類の生合成促進物質の単離・精製を行っている。

Okaramine A(1) と B (2)、C (7) のカイコに対する LD₅₀ はそれぞれ 8 ppm および 0.2 ppm、8 ppm であるのに対して、4 と 5、8、9 はいずれも全く活性を示さなかった (LD₅₀ > 100 ppm)。また okaramine 類の作用機構はカイコの死亡状態より推測して、有機リンおよびカーバメイトに見られるアセチルコリンエステラーゼ阻害剤とは異なる機構であると考えられている。しかしその作用機構に関する知見は現在のところ得られていない。一方、okaramine 類の農業害虫と衛生害虫に対する試験の結果、2 はネギやサトイモなど根菜類の害虫であるシロイチモジヨトウの二齢幼虫に 1 ppm の低濃度で

殺虫活性が認められている。すなわち選択的に殺虫性を示すことから、2 が害虫防除に役立つことが期待されている。

こうした背景から、本研究では次のことを目的に研究を行った。

(i) 新規 okaramine 類を探索し、単離・構造決定を行い、それらを基に okaramine 類の生合成経路を推察する。

(ii) Okaramine 類の構造と活性との相関より得られる知見から、活性発現に必要な okaramine 類の構造の解明を試みる。

本論文は次の内容で構成されている。

第 1 章では、*P. simplicissimum* ATCC 90288 株をオカラ培地を用いて培養し、新規 okaramine 類縁体およびその生合成関連物質を単離した。その経緯について論述する。

第 2 章では、単離した 9 種の新規 okaramine 類縁体と 5 種の生合成関連物質の平面構造を解析し、決定した。その経緯について論述する。

第 3 章では、第 2 章で平面構造を決定した新規 okaramine 類縁体と関連物質の立体構造についてを検討した。その経緯について論述する。

第 4 章では、okaramine 類のカイコに対する殺虫活性を比較し、そこから得られる知見を基に okaramine 類の活性発現に必須の構造について検討した。その結果について論述する。

第 5 章では、これまで単離された okaramine 類とその関連物質を基に生合成経路を提唱した。その結果について論述する。

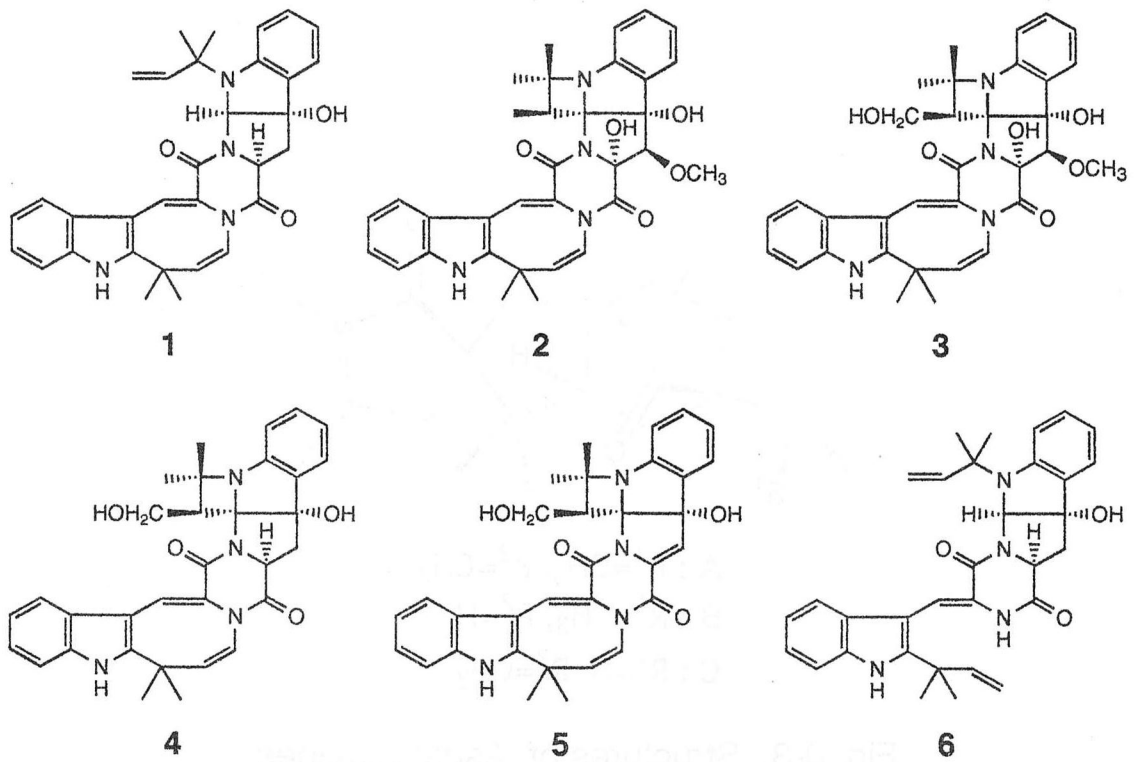
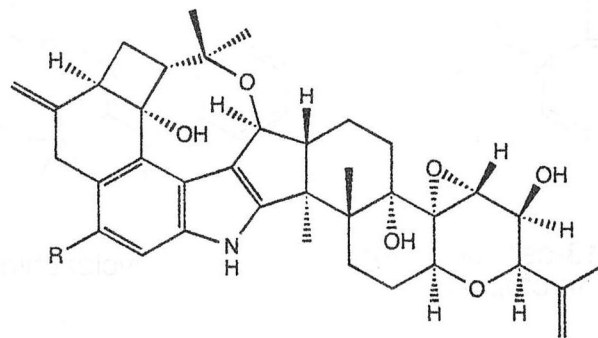


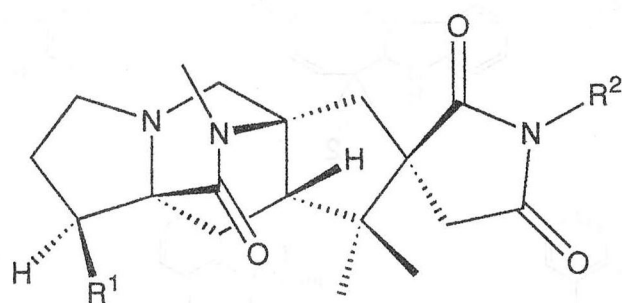
Fig. 0-1 Okaramines A (1), B (2), D (3), E (4), F (5) and G (6)
Produced by *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288



penitrem A : R=Cl

6-bromopenitrem E : R=Br

Fig. 0-2 Neurotoxic Metabolites from *Penicillium simplicissimum*
ATCC 90288

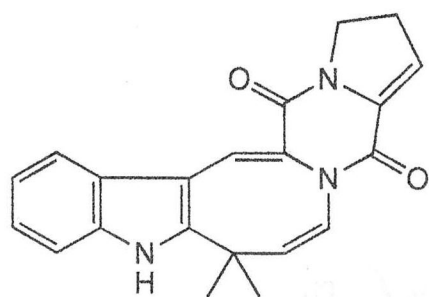


A : $R^1=CH_3$, $R^2=CH_3$

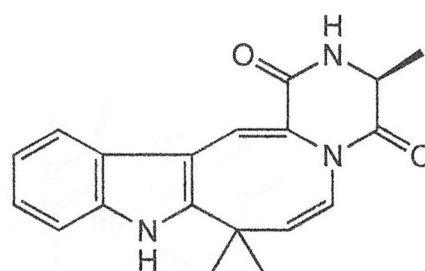
B : $R^1=CH_3$, $R^2=H$

C : $R^1=H$, $R^2=CH_3$

Fig. 0-3. Structures of Asperparalines



10,20-Dehydro[12,13-dehydroprolyl]-
2-(1',1'-dimethylallyl)tryptophyl
diketopiperazine



cycloechinulin

Fig. 0-4 Natural Products Possessing Azocinoindole Nucleus

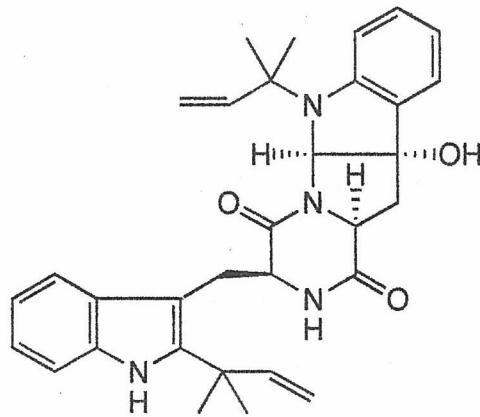


Fig. 0-5 Okaramine C (7) Produced by *Penicillium simplicissimum* AHU 8402

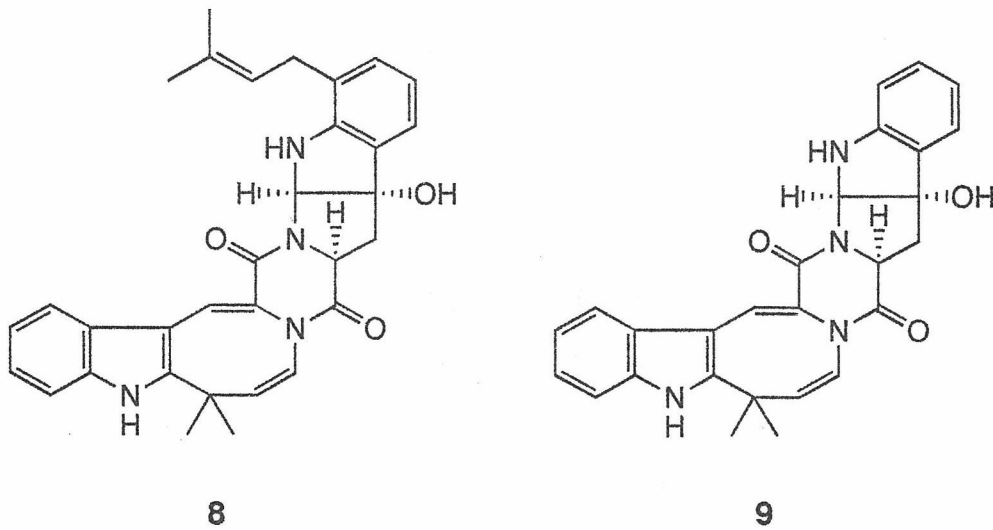


Fig. 0-6 Okaramines H (8) and I (9) Produced by *Aspergillus aculeatus* KF- 428

第1章 *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288 株の生産する新規 okaramine 類縁体および関連物質の単離・精製

序

Okaramine 類の生合成経路および構造と活性との相関に関する知見を得るために、*P. simplicissimum* ATCC 90288 株のオカラ培養物を精査し、新規 okaramine 類縁体の検索を行った。その結果 9 種の新規 okaramine 類縁体 および 5 種の関連物質を単離した。またその過程で okaramine C および H、I が本菌株においても生産されることも確認した。本章ではその培養法と単離・精製法について述べる。

第1節 実験方法

1.1.1. 実験材料

Okaramine 類の生産培地であるオカラは市販のものを用い、培養には直径 9 cm、または 15 cm のシャーレを使用した。

1.1.2. 分離・分析方法

1. カラムクロマトグラフィー

充填剤には、和光純薬工業製 Wakogel C-200 および Merck 社 Kieselgel 60 (230-400 mesh ASTM)、富士シリシア化学製 Chromatorex ODS (100-200 mesh) を使用した。

2. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

TLC 分析には、Merck 社 DC-Alufolien Kieselgel 60F₂₅₄ および DC-Fertigplatten RP-18F₂₅₄s を用いた。各種溶媒を用いて展開後、検出は UV (254nm, 365nm) 吸収および Ehrlich 試薬による呈色を指標に行った。

3. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

HPLC には、日立 L-6200 液体クロマトグラフポンプシステムに、波長可変 UV 検出器 (L-4000 UV Detector) を接続して使用した。カラムは Inertsil ODS (4.6 x 150 mm, GL Science 社) を使用し、各種溶媒を用いて分析した。HPLC を用いた分取には Inertsil ODS (10 x 250 mm, GL Science 社) を使用した。

1. 1. 3. 培養及び溶媒抽出

オカラ 22 kg に、あらかじめ種培養しておいた *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288 株を植菌し、25 °C で 14 日間培養を行った。これをメタノールに一週間浸漬し、培地及び菌体を減圧濾過にて除去し、溶媒を減圧留去した。得られた抽出物を等量のジクロロメタンで三回抽出し、無水硫酸ナトリウムを加えて一晚脱水した後溶媒を減圧留去した。そして 10% 含水メタノールと *n*-ヘキサンで分配し、下相からメタノールを減圧留去した後、等量の酢酸エチルで三回抽出した。これに無水硫酸ナトリウムを加えて一晚脱水し、溶媒を減圧留去したところ、油状抽出物 18.5 g を得た。

1. 1. 4. シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いた粗分画

得られた酢酸エチル抽出物 18.5 g を少量の Wakogel C-200 (ca. 20 g) に吸着させた後、あらかじめ *n*-ヘキサンでスラリー状にしてクロマト管に充填しておいた Wakogel C-200 カラム (200 g, ϕ 4 x 35cm) に負荷した。次に *n*-ヘキサン-酢酸エチル-メタノールからなる混合溶媒系でステップワイズ法により溶出し、50% と 60%、70%、80%、90-100% 酢酸エチル溶出画分、50% メタノール溶出画分に分画した (Fig. 1-1)。

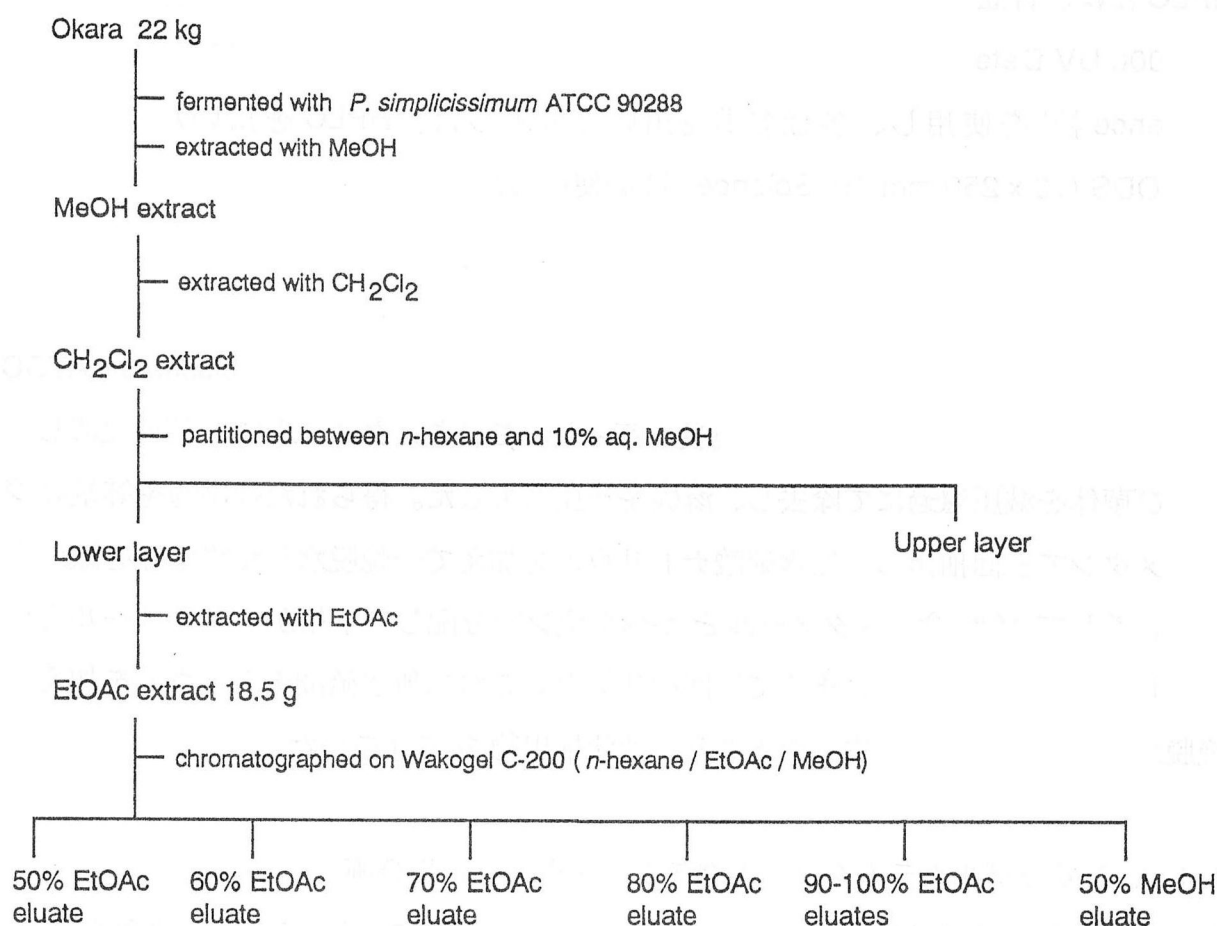


Fig. 1-1 Extraction and Preliminary Separation

第2節 新規 okaramine 類縁体および関連物質の単離

第2章で述べるように化合物 **10** ~ **18** は、新規 okaramine 類縁体であったため、それぞれ okaramine J ~ R と命名した。

1.1.4. より得られた 50% 酢酸エチル溶出画分 (220 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。次に okaramine 類が含まれる 30-40%アセトン溶出画分 (15 mg) を少量の Kieselgel 60 に吸着させた後、乾式で充填し、クロロホルムで脱気した Kieselgel 60 (1.5 g) に負荷した。溶出はクロロホルム-酢酸エチルからなる混合溶媒系で加圧しながら溶出し、15 個のフラクション (Fr.) に分画した。このうち Fr. 9-10 より okaramine K (11; 2.6 mg) を得た (Fig. 1-2)。

1.1.4. より得られた 60% 酢酸エチル溶出画分 (1.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製を繰り返した。得られた Fr. 8-18 (16 mg) について HPLC (MeOH / H₂O = 80 / 20, 3.0 ml / min) を使用し、*Rt* 26.3 min を示すピークより okaramine L (12; 3.0 mg) を得た (Fig. 1-2)。

1.1.4. より得られた 70% 酢酸エチル溶出画分 (1.1 g) をメタノール溶液下で結晶化を行い、okaramine B (2; 250 mg) を濾別した。さらにその濾液をトルエン溶液下で結晶化を行い、okaramine A (1; 220 mg) を得た。次にその濾液をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、関連物質 1 (19, 3.0 mg) を得た (Fig. 1-2)。

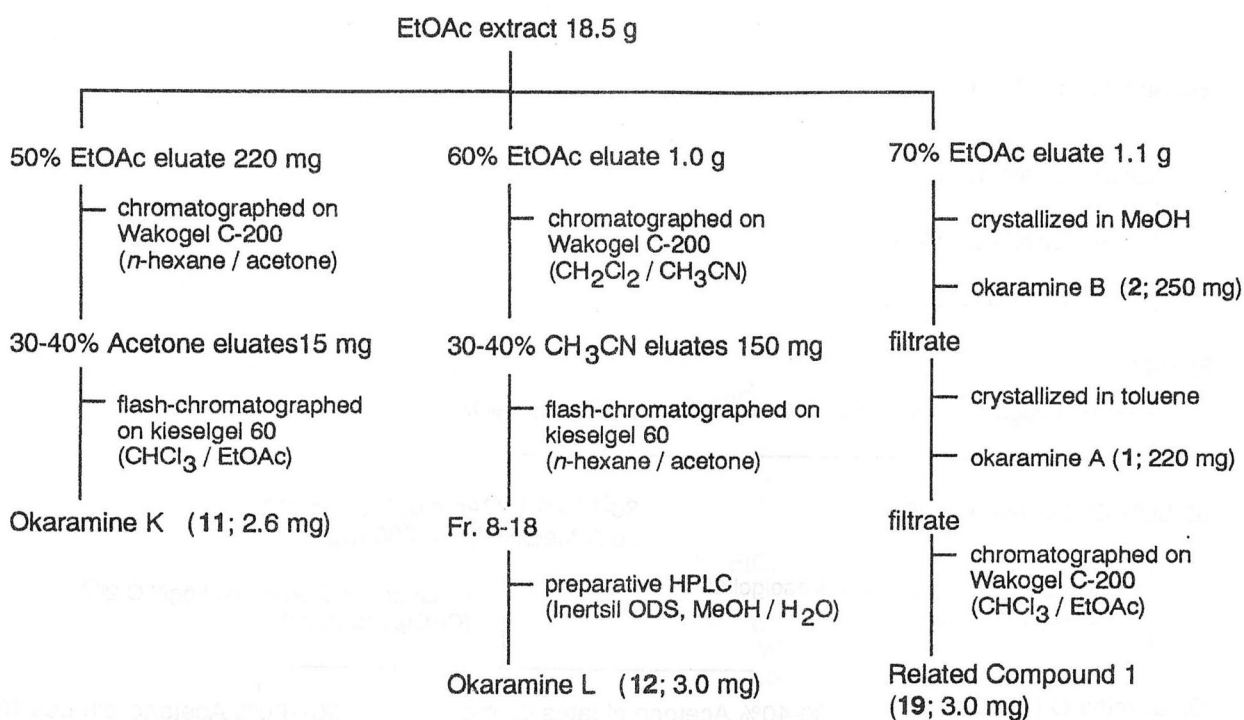


Fig. 1-2 Procedure for Purification of Okaramines K (11) and L (12), Related Compound 1 (19)

1.1.4. より得られた 80% 酢酸エチル溶出画分 (1.0 g) より析出した okaramine B (2; 50 mg) を濾過し、その母液をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、okaramine 類を含む 30-50% と 80-100% 酢酸エチル、50%メタノール溶出画分について精製した。

まず 30-50% 酢酸エチル溶出画分 (600 mg) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、okaramine C (7; 16 mg) と okaramine H (8; 11 mg)、okaramine I (9; 8.5 mg)、okaramine J (10; 30 mg) を得た (Fig. 1-3)。

80-100% 酢酸エチル溶出画分 (115 mg) と 50% メタノール溶出画分 (200 mg) についてはシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。得られた 30-40% アセトン溶出画分からはシリカゲルカラムクロマトグラフィーと分取 HPLC (MeOH / H₂O = 80 / 20, 3.0 ml / min, *R_t* 14.0 min) により okaramine R (18; 2.6 mg) を得た (Fig. 1-3)。また 90-100% アセトン溶出画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、okaramine Q (17; 14 mg) を得た (Fig. 1-3)。

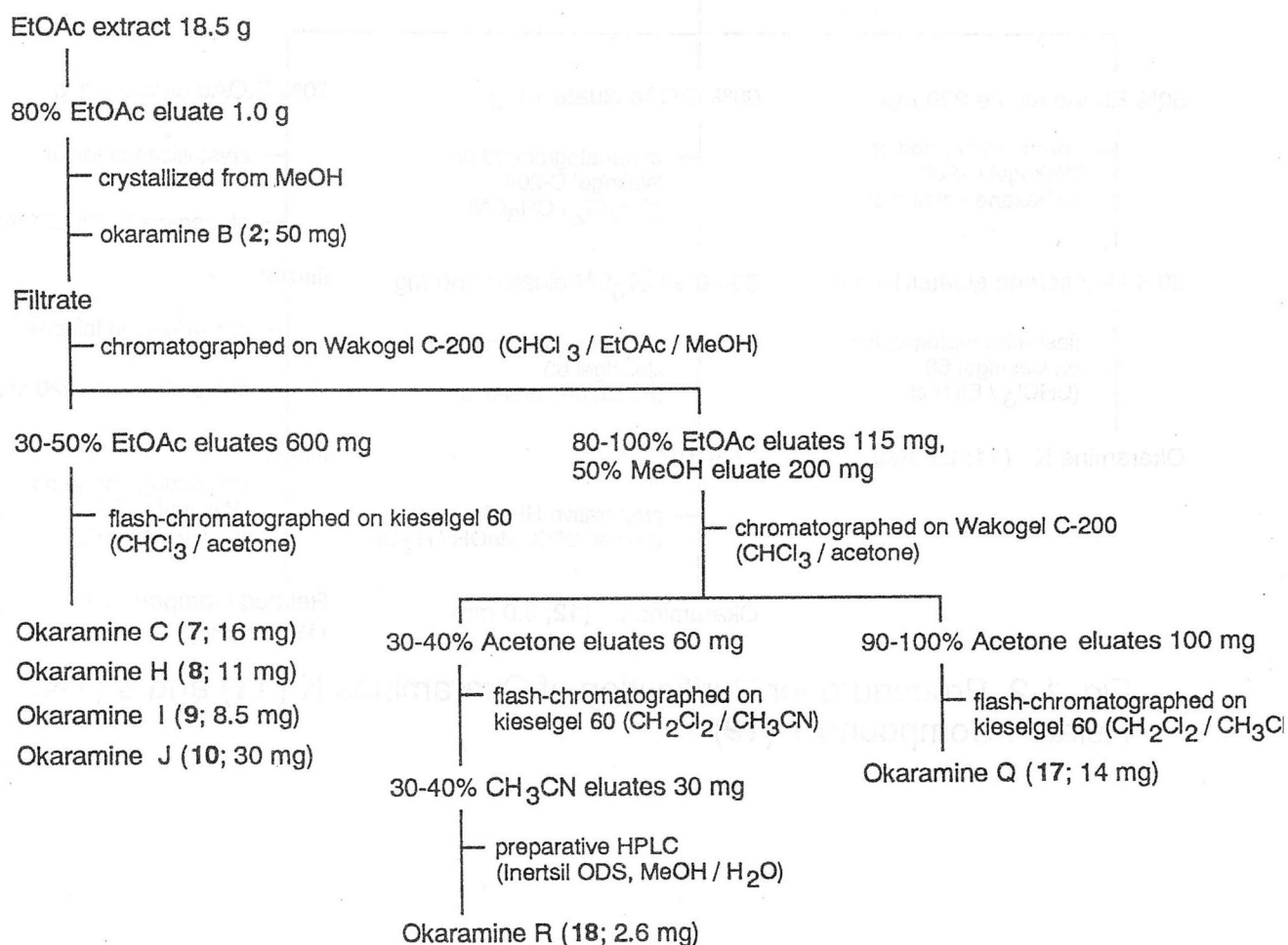


Fig. 1-3 Procedure for Purification of Okaramines C (7), H (8) I (9), J (10), Q (17) and R (18)

1.1.4. より得られた 90-100% 酢酸エチル溶出画分 (2.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、okaramine 類を含む 20-30% と 50-60% 酢酸エチル溶出画分を得た。

20-30% 酢酸エチル溶出画分 (50 mg) を分取 HPLC (MeOH / H₂O = 80 / 20, 3.0 ml / min) により、*Rt* 13.2 min を示すピークより okaramine M (**13**; 14 mg) を *Rt* 21.4 min を示すピークより 関連物質 2 (**20**, 35 mg) を単離した (Fig. 1-4)。

50-60% 酢酸エチル溶出画分 (500 mg) はさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した後、分取 HPLC (CH₃CN / H₂O = 70 / 30, 3.0 ml / min, *Rt* 20.5 min) により okaramine N (**14**, 5.2 mg) を得た (Fig. 1-4)。

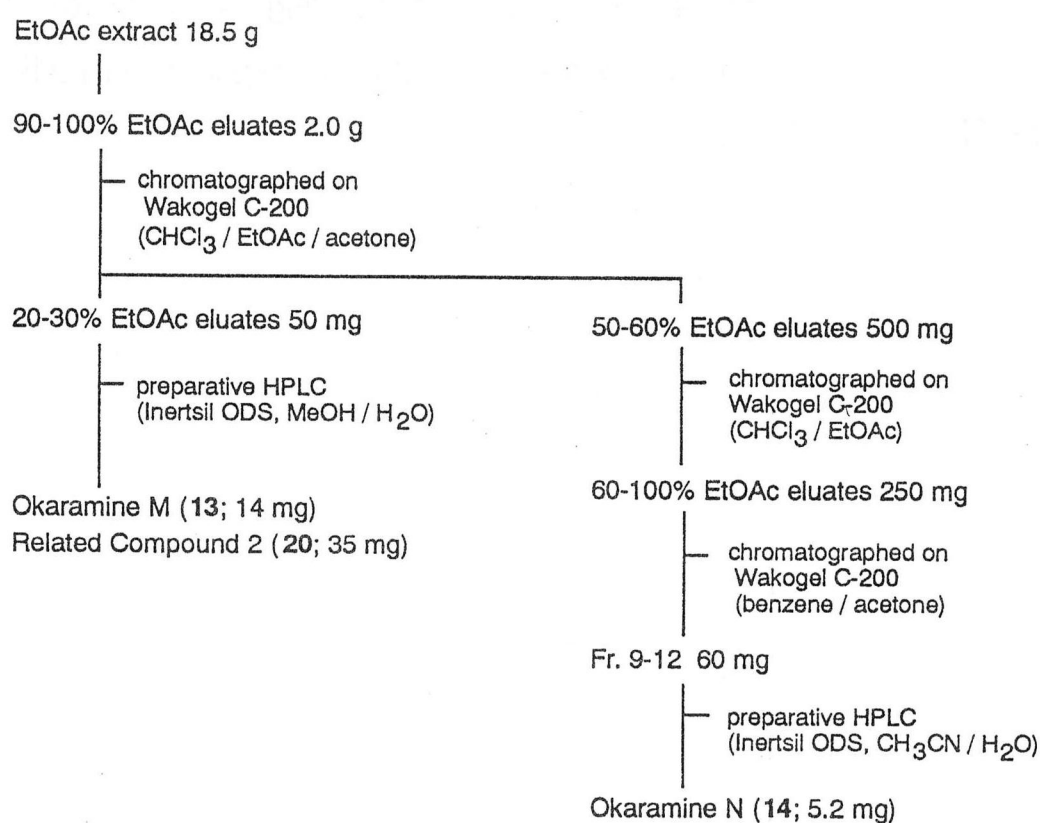


Fig. 1-4 Procedure for Purification of Okaramines M (**13**) and N (**14**), Related Compound 2 (**20**)

1.1.4. より得られた 50% メタノール溶出画分 (5.0 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画し、okaramine 類を含む 40-50% と 100% 酢酸エチル、50% メタノール溶出画分を得た。

40-50% 酢酸エチル溶出画分 (100 mg) はメタノール溶液中で結晶化を行い、関連物質 4 (**22**, 5 mg) を得た (Fig. 1-5)。100% 酢酸エチル溶出画分 (1.5 g) と 50% メタノール溶出画分 (2.5 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画し、60-90% と 100% アセトン溶出画分を得た。100% アセトン溶出画分はメタノール溶液中で結晶化を行い、関連物質 3 (**21**, 80 mg) を得た (Fig. 1-5)。60-90% アセトン溶出画分はさらにシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、50-60% と 70-80% アセトン溶出画分に分画した。50-60% アセトン溶出画分からは分取 HPLC (MeOH / H₂O = 60 / 40, 3.0 ml / min, *R_t* 26.5 min) により okaramine O (**15**; 1.0 mg) を得た (Fig. 1-5)。70-80% アセトン溶出画分はさらに精製を繰り返し、okaramine P (**16**; 5.5 mg) および 関連物質 5 (**23**, 5.0 mg) を得た (Fig. 1-5)。



Fig. 1-5 Procedure for Purification of Okaramines O (**15**) and P (**16**), Related Compounds 3 (**21**), 4 (**22**), 5 (**23**)

第2章 新規 okaramine 類縁体 および関連物質の平面構造

序

前章で単離した9種の新規 okaramine 類縁体および5種の関連物質の理化学的性質ならびにスペクトルデータを解析することにより、平面構造を決定した。本章では構造解析について述べる。

第1節 各種機器分析

融点は YANAGIMOTO MICRO MELTING POINT APPARATUS を用いて測定した。旋光度は HORIBA SEPA-300 を用いて測定した。測定溶媒および温度は各測定値に付記した。紫外吸収スペクトル (UV) は HITACHI U-3210 Spectrophotometer を用いて測定した。赤外吸収スペクトル (IR) は PERKIN ELMER 1760X FT-IR Spectrometer を用いて測定した。核磁気共鳴スペクトル (NMR) は JEOL JMX GSX-500 HI (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz) を用いて測定した。TMS を内部標準として使用し、化学シフトは TMS からの δ 値で示した。質量分析 (MS) : JEOL JMS-DX 300 を用いて測定した。

第2節 理化学的性質

2.2.1. Okaramine 類 J~R

Okaramine J (10). 白色粉末. Mp 151-153 °C. $[\alpha]_D^{20} +31^\circ$ (*c* 0.33, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3360, 1674, 1459, 1434, 748. UV λ_{\max} (MeOH) : 220 (sh), 284 (11,800), 291 (11,300). HR-EIMS m/z 524.2689 (M^+ , $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_3$ calcd. for 524.2779). EIMS m/z 524 (M^+ , 6), 506 (11), 300 (48), 198 (100), 183 (12). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-1 参照.

Okaramine K (11). 白色粉末. Mp 148-151 °C. $[\alpha]_D^{20} +100^\circ$ (*c* 0.06, MeOH).

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3356, 1685, 1621, 1434, 1062, 747. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 225 (sh), 290 (9,400), 342 (11,600). HR-EIMS m/z 522.2654 (M^+ , $C_{32}H_{34}N_4O_3$ calcd. for 522.2623). EIMS m/z 522 (M^+ , 75), 504 (23), 453 (34), 238 (19), 198 (30). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 2-4 参照.

Okaramine L (12). 白色粉末. Mp 130-133 $^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{20}$ +69 $^{\circ}$ (c 0.03, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3362, 2970, 1680, 1402, 1305, 746. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 223 (48,300), 284 (11,700), 291 (11,500). HR-EIMS m/z 524.2814 (M^+ , $C_{32}H_{36}N_4O_3$ calcd. for 524.2779). EIMS m/z 524 (M^+ , 5), 506 (3), 471 (8), 455 (2), 403 (6), 353 (3), 200 (100), 198 (89), 183 (16), 167 (6). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 2-6 参照.

Okaramine M (13). 白色粉末. Mp 157-160 $^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{20}$ -39 $^{\circ}$ (c 0.33, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3347, 1675, 1417, 1391, 745. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 274 (12,500), 279 (6,900), 290 (5,200). HR-EIMS m/z 482.2284 (M^+ , $C_{29}H_{30}N_4O_3$ calcd. for 482.2311). EIMS m/z 482 (M^+ , 11), 371 (17), 354 (23), 353 (97), 242 (16), 198 (34), 130 (100). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 2-7 参照.

Okaramine N (14). 白色粉末. Mp 192-195 $^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{20}$ +284 $^{\circ}$ (c 0.15, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3357, 1673, 1610, 1463, 1217, 755. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 254 (12,000), 284 (8,200), 292 (7,600). HR-EIMS m/z 522.2654 (M^+ , $C_{32}H_{34}N_4O_3$ calcd. for 522.2630). EIMS m/z 522 (M^+ , 70), 504 (30), 454 (80), 436 (20), 371 (10), 309 (30), 267 (15), 200 (75), 170 (100), 130 (20). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 2-8 参照.

Okaramine O (15). 白色粉末. Mp 190-193 $^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_D^{20}$ +275 $^{\circ}$ (c 0.036, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3372, 1660, 1467, 1378, 745. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 254 (10,800), 284 (6,800), 291 (6,400). HR-EIMS m/z 538.2582 (M^+ , $C_{32}H_{34}N_4O_4$ calcd. for 538.2580). EIMS m/z 538 (M^+ , 20), 520 (80), 502 (30), 470 (20), 450 (50), 401 (15), 396 (20), 319 (20), 292 (20), 222 (55), 200 (100), 130 (40). ^1H - および ^{13}C -NMR

(acetone- d_6) : Table 2-10 参照.

Okaramine P (16). 白色粉末. Mp 188-190 °C. $[\alpha]_D^{20} +254^\circ$ (c 0.22, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3358, 2972, 1654, 1461, 1216, 773. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 284 (9,300), 290 (8,600). HR-EIMS m/z 538.2560 (M^+ , $C_{32}H_{34}N_4O_4$ calcd. for 538.2580). EIMS m/z 538 (M^+ , 30), 520 (100), 502 (45), 469 (5), 437 (15), 381 (5), 335 (15), 292 (20), 242 (55), 200 (75), 130 (10). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-11 参照.

Okaramine Q (17). 白色粉末. Mp 243-246 °C. $[\alpha]_D^{20} +516^\circ$ (c 0.31, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3545, 1662, 1360, 1285, 753. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 234 (26,600), 288 (13,900), 376 (15,500). HR-EIMS m/z 536.2402 (M^+ , $C_{32}H_{32}N_4O_4$ calcd. for 536.2423). EIMS m/z 536 (M^+ , 60), 518 (100), 503 (45), 467 (15), 318 (15), 222 (35), 196 (27), 167 (30). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-12 参照.

Okaramine R (18). 白色粉末. Mp 185-187 °C. $[\alpha]_D^{20} -109^\circ$ (c 0.20, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3316, 1674, 1612, 1371, 756. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 232 (29,400), 286 (16,200), 373 (14,900). HR-EIMS m/z 536.2407 (M^+ , $C_{32}H_{32}N_4O_4$ calcd. for 536.2423) EIMS m/z 536 (M^+ , 5), 520 (5), 319 (100), 304 (80), 264 (85), 222 (58), 217 (43), 196 (32), 149 (100), 131 (40). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-14 参照.

2.2.1. 関連物質 1~5

関連物質 1 (19). White powder. Mp 168-170 °C. $[\alpha]_D^{20} -64^\circ$ (c 0.09, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3358, 2971, 1673, 1459, 1326, 746. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 225 (66,400), 284 (15,700), 291 (14,300). HR-EIMS m/z 508.2803 (M^+ , $C_{32}H_{36}N_4O_2$ calcd. for 508.2830). EIMS m/z 508 (M^+ , 8), 198 (100), 183 (14), 168 (8). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-16 参照.

関連物質 2 (20). 白色粉末. Mp 137-140 °C. $[\alpha]_D^{20} -86^\circ$ (c 0.40, MeOH) .

IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3348, 2977, 1674, 1457, 743. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 223 (60,100), 284 (13,700), 292 (sh). HR-EIMS m/z 508.2801 (M^+ , $C_{32}H_{36}N_4O_2$ calcd. for 508.2830). EIMS m/z 508 (M^+ , 11), 198 (100), 183 (10), 168 (6), 130 (43). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-19 参照.

関連物質 3 (21). 白色粉末. Mp 175-178 °C. $[\alpha]_D^{20}$ -115° (c 0.32, MeOH) IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3335, 2919, 1674, 1456, 744. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 221 (58,400), 281 (10,100), 290 (8,600). HR-FABMS m/z 373.1662 ($[M+H]^+$, $C_{22}H_{21}N_4O_2$ calcd. for 373.1660). FABMS m/z 373 ($[M+H]^+$, 20), 241 (4), 171 (16), 130 (24). ^1H - および ^{13}C -NMR (CD_3OD) : Table 2-15 参照.

関連物質 4 (22). 白色粉末. Mp 171-173 °C. $[\alpha]_D^{20}$ -186° (c 0.10, Pyridine) IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3424, 1680, 1456, 1333, 751. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 221 (66,600), 283 (14,500), 290 (12,700). HR-FABMS m/z 441.2298 ($[M+H]^+$, $C_{27}H_{29}N_4O_2$ calcd. for 441.2290). FABMS m/z 441 ($[M+H]^+$, 6), 373 (5), 130 (100). ^1H - および ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$) : Table 2-17 参照.

関連物質 5 (23). 白色粉末. Mp 171-173 °C. $[\alpha]_D^{20}$ -35° (c 0.19, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3317, 1672, 1457, 1324, 743. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ) : 222 (54,100), 282 (10,600), 290 (9,600). HR-EIMS m/z 440.2236 (M^+ , $C_{27}H_{28}N_4O_2$ calcd. for 440.2212). EIMS m/z 440 (M^+ , 20), 198 (95), 130 (100). ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6) : Table 2-18 参照.

第3節 新規 okaramine 類縁体の平面構造

2.3.1. Okaramine J (10)

化合物 10 の分子式は HR-EIMS より $C_{32}H_{36}N_4O_3$ と決定した。UV スペクトルにおいて okaramine A (1) および B (2) に認められるアゾシノインドール部分に特徴的な 380 nm 付近の吸収は見られず、284 と 291 nm に吸収が見られた。IR スペクトルにおいて

3360 cm⁻¹の吸収から水酸基及びアミノ基の存在が、1674 cm⁻¹の吸収からアミドカルボニル部分の存在が示唆された。¹³C-NMR スペクトルデータ (Table 2-1) において δ_c 169.8 と δ_c 168.5 に見られるカルボニル基のシグナルより、ジケトピペラジン環を有することが示唆された。また、¹H-NMR スペクトル (Fig. 2-2, Table 2-1) において δ_H 6.71 から δ_H 7.55 に okaramine 類に特徴的なシグナルが存在することから本化合物は okaramine 類縁体であることが支持された。

まず **10** と同一の分子式を有する okaramine C (**7**) (Fig. 2-1, Table 2-2) の NMR スペクトルデータと **10** のそれと比較した。¹H-NMR スペクトルより δ_H 10.00 (br. s) のシグナルは **7** の 7'-NH に、δ_H 7.36 (d, J=7.9) および δ_H 7.08 (ddd, J=7.9, 7.0, 0.9)、δ_H 7.02 (ddd, J=7.9, 7.0, 0.9)、δ_H 7.55 (d, J=7.9) のシグナルは、それぞれ芳香環上の 8' 位および 9' 位、10' 位、11' 位のプロトンに、δ_H 3.13 (dd, J=15.3, 11.3) と δ_H 3.73 (dd, J=15.3, 4.0) のシグナルは 1' 位のメチレンプロトンに、δ_H 4.58 (dd, J=11.3, 4.0) のシグナルは 2' 位に帰属された。また、δ_H 5.07 (dd, J=10.7, 1.2) と δ_H 5.13 (dd, J=17.4, 1.2)、δ_H 6.24 (dd, J=17.4, 10.4)、δ_H 1.58 (s)、δ_H 1.59 (s) のシグナルは 6a' 位の側鎖の α, α-ジメチルアシル基に、δ_H 2.15 (dd, J=13.1, 11.0) と δ_H 2.59 (dd, J=13.1, 6.7) のシグナルは 3 位のメチレンプロトンに、δ_H 4.68 (dd, J=11.0, 6.7) のシグナルは 2 位のメチンプロトンに帰属された。しかし、**7** に見られた 8-N 位に結合した α, α-ジメチルアシル基が消失し、新たに okaramine H (**8**) (Fig. 2-1, Table 2-3) に認められたプレニル基に特有なシグナル [δ_H 1.74 (3H, s)、δ_H 1.76 (3H, d, J=0.9)、δ_H 3.28 (1H, dd, J=16.2, 7.6)、δ_H 3.22 (1H, dd, J=16.2, 7.0)、δ_H 5.29 (1H, m)] が観測された。

そこで **10** のピロロインドール部分の構造を決定するために **8** の NMR スペクトルデータと比較した。δ_H 7.13 (d, J=7.6) と δ_H 6.71 (t, J=7.6)、δ_H 6.97 (d, J=7.6) のシグナルは **8** の芳香環の 4 位と 5 位、6 位のプロトンに、δ_H 5.46 (d, J=4.0) と δ_H 5.56 (d, J=4.0) の互いにカップリングしたシグナルはそれぞれ 8a 位と 8-N 位に帰属された。これらのことよりプレニル基が芳香環の 7 位に結合していることが予測された。そこでこの結合位置を確認するために HMBC 測定を行った。その結果、10 位のメチレンプロトンより 7a 位 (δ_c 147.2) と 6 位 (δ_c 129.7) のカーボンシグナルに相関が見られたため (Fig. 2-3)、プレニル基の結合位置を 7 位と確認した。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-1 に示したように決定し、新規化合物であった

ため okaramine J と命名した。

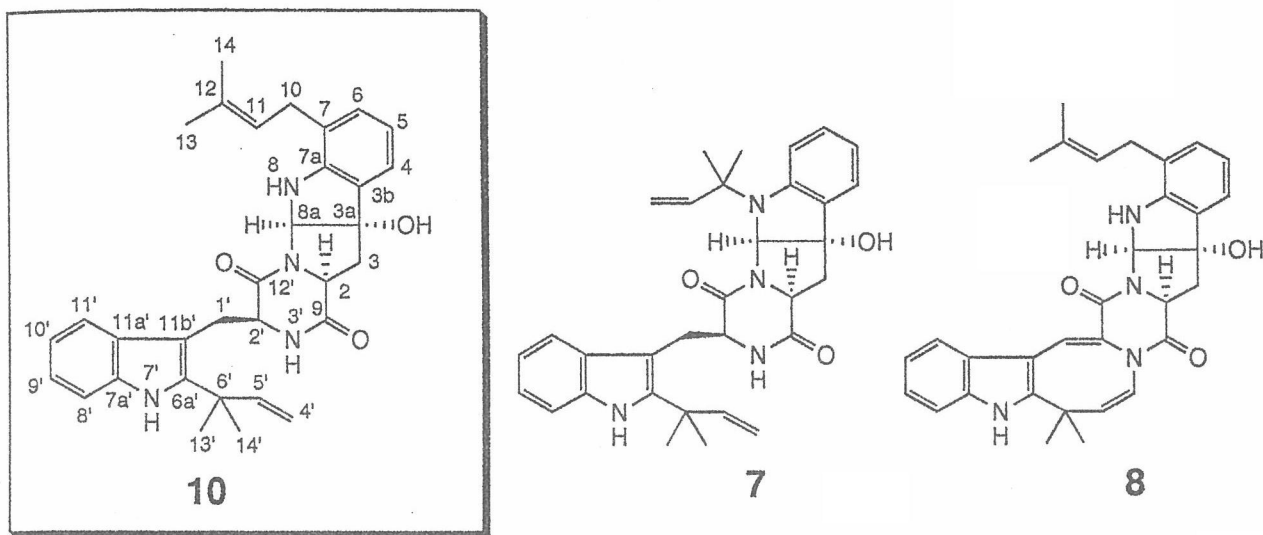


Fig. 2-1 Structures of Okaramines J (10), C (7) and H (8)

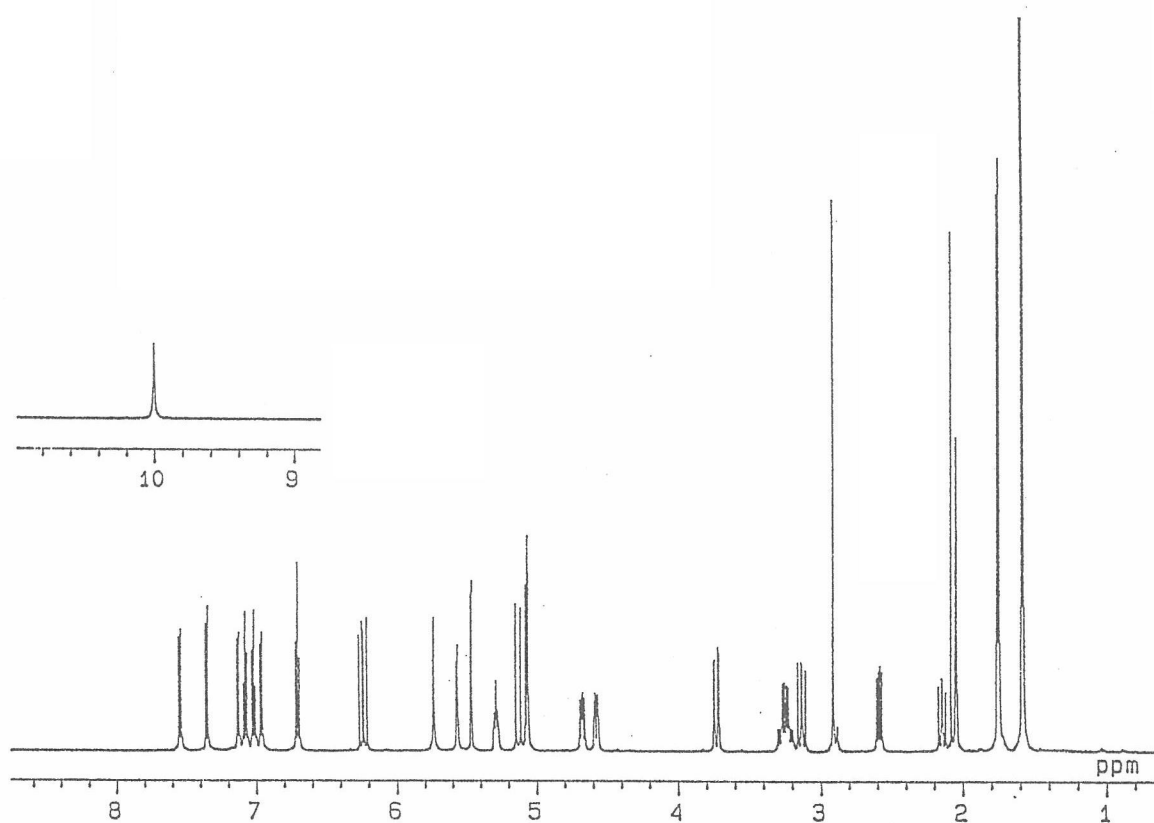


Fig. 2-2 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of 10 (500 MHz, Acetone- d_6)

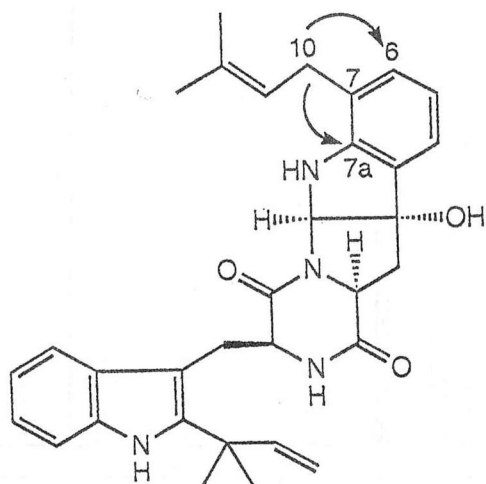
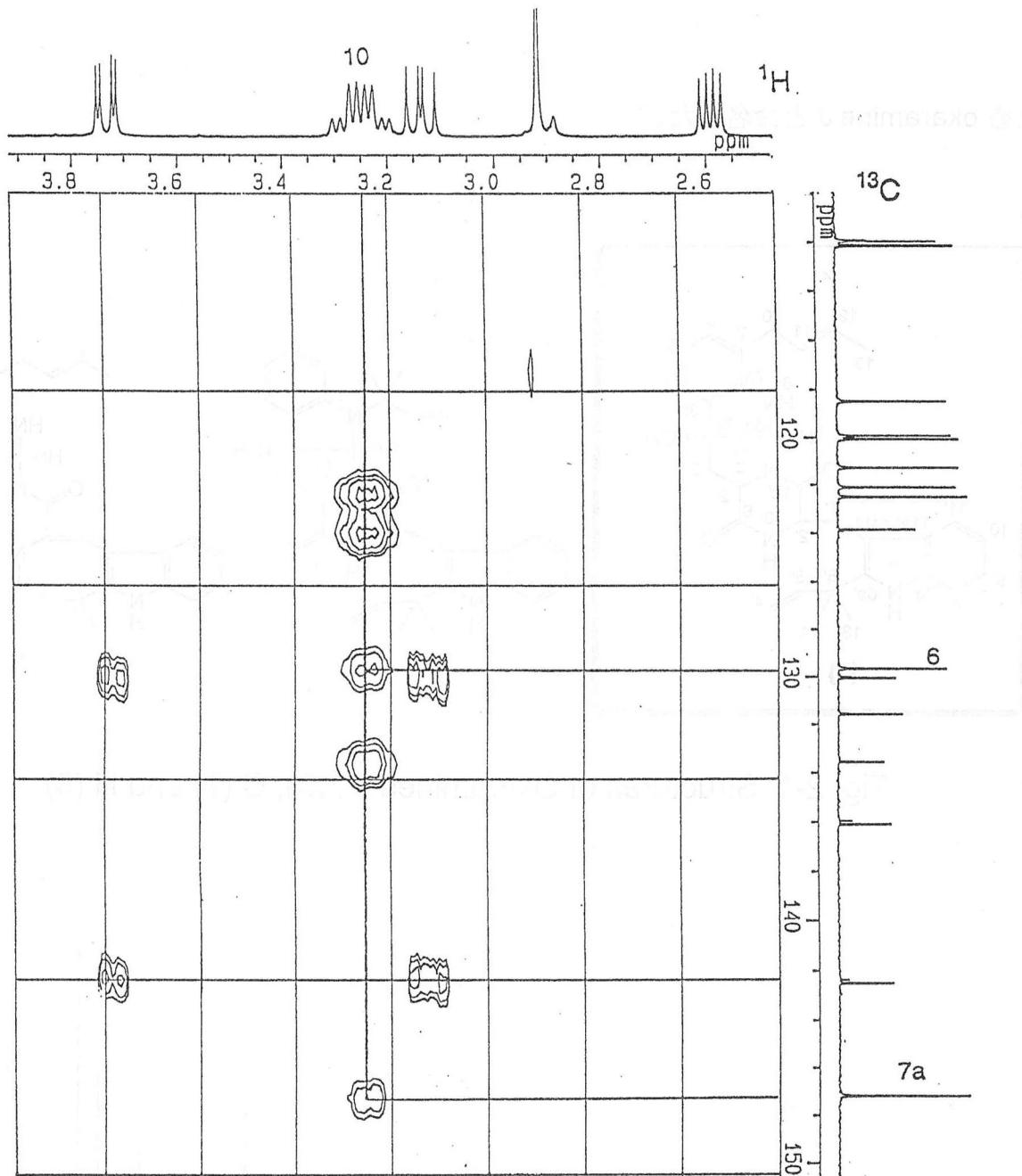


Fig. 2-3 HMBC Correlations of 10

Table 2-1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine J (10)

No	δ _c (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	59.5 (d)	4.68 (dd, 11.0, 6.7)	3, 9
3	42.3 (t)	2.15 (dd, 13.1, 11.0) 2.59 (dd, 13.1, 6.7)	3b, 9 2, 3a, 8a, 9
3a	87.4 (s)		
3b	131.6 (s)		
4	121.3 (d)	7.13 (d, 7.6)	3a, 6, 7a
5	119.9 (d)	6.71 (t, 7.6)	3b, 7
6	129.7 (d)	6.97 (d, 7.6)	4, 7a, 10
7	123.9 (s)		
7a	147.2 (s)		
8a	85.4 (d)	5.46 (d, 4.0)	3, 3a
9	169.8 (s)		
10	30.1 (t)	3.22 (dd, 16.2, 7.0) 3.28 (dd, 16.2, 7.6)	6, 7, 7a, 11, 12
11	122.5 (d)	5.29 (m)	13, 14
12	133.6 (s)		
13	25.9 (q)	1.76 (d, 0.9)	11, 12, 14
14	17.9 (q)	1.74 (s)	11, 12, 13
1'	26.6 (t)	3.13 (dd, 15.3, 11.3) 3.73 (dd, 15.3, 4.0)	2', 11a', 11b', 12'
2'	56.2 (d)	4.58 (dd, 11.3, 4.0)	1', 12'
4'	112.1 (t)	5.07 (dd, 10.7, 1.2) 5.13 (dd, 17.4, 1.2)	6' 5', 6'
5'	147.2 (d)	6.24 (dd, 17.4, 10.4)	6', 6a', 13', 14'
6'	39.9 (s)		
6a'	142.5 (s)		
7a'	136.1 (s)		
8'	111.9 (d)	7.36 (d, 7.9)	10', 11a'
9'	122.1 (d)	7.08 (ddd, 7.9, 7.0, 0.9)	7a', 11'
10'	120.1 (d)	7.02 (ddd, 7.9, 7.0, 0.9)	8', 11a'
11'	118.5 (d)	7.55 (d, 7.9)	7a', 9', 11b'
11a'	130.1 (s)		
11b'	105.4 (s)		
12'	168.5 (s)		
13'	28.4 (q)	1.58 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	28.3 (q)	1.59 (s)	5', 6', 6a', 13'
3a-OH		5.07 (s)	3a, 8a
8-NH		5.56 (d, 4.0)	3a, 3b
3'-NH		5.73 (br. s)	2, 2', 12'
7'-NH		10.00 (br. s)	6a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

Table 2-2 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine C (7)

No	δ_c (Mult.)	δ_H (Mult. J Hz)
2	58.1 (d)	4.39 (dd, 10.1, 5.2)
3	34.7 (t)	2.44 (dd, 13.4, 10.1) 3.00 (dd, 13.1, 5.2)
3a	84.3 (s)	
3b	134.4 (s)	
4	124.3 (d)	7.18 (dd, 7.3, 0.9)
5	119.9 (d)	6.68 (td, 7.3, 0.9)
6	129.5 (d)	7.03 (td, 7.3, 0.9)
7	115.1 (s)	6.93 (d, 7.3)
7a	149.4 (s)	
8a	85.5 (d)	5.42 (s)
9	170.0 (s)	
10	59.6 (s)	
11	149.0 (d)	6.47 (dd, 18.0, 11.0)
12	111.5 (t)	5.06 (dd, 11.0, 1.2) 5.18 (dd, 18.0, 1.2)
13	25.5 (q)	1.49 (s)
14	28.1 (q)	1.71 (s)
1'	26.2 (q)	3.05 (dd, 15.3, 11.0) 3.62 (dd, 15.3, 4.6)
2'	56.2 (s)	4.36 (dd, 11.0, 4.6)
4'	112.0 (t)	4.91 (dd, 10.4, 0.9) 5.00 (dd, 17.4, 0.9)
5'	146.9 (d)	6.08 (dd, 17.4, 10.4)
6'	39.6 (s)	
6a'	142.4 (s)	
7a'	135.9 (s)	
8'	111.9 (d)	7.28 (d, 7.9)
9'	122.0 (d)	7.04 (td, 7.9, 0.9)
10'	119.8 (d)	6.96 (td, 7.9, 0.9)
11'	118.3 (d)	7.41 (d, 7.9)
11a'	129.8 (s)	
11b'	105.3 (s)	
12'	169.5 (s)	
13'	28.2 (q)	1.46 (s)
14'	28.2 (q)	1.47 (s)
3a-OH		4.78 (s)
3'-NH		5.55 (s)
7'-NH		10.04 (br. s)

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

Table 2-3 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine H (8)

No	δ_c (Mult.)	δ_H (Mult. <i>J</i> Hz)
2	58.8 (d)	4.77 (dd, 11.2, 6.7)
3	42.1 (t)	2.71 (dd, 13.4, 6.7) 2.32 (dd, 13.4, 11.2)
3a	87.5 (s)	
3b	131.8 (s)	
4	121.4 (d)	7.19 (d, 7.3)
5	120.1 (d)	6.74 (dd, 7.6, 7.3)
6	129.6 (d)	6.98 (d, 7.6)
7	124.1 (s)	
7a	147.5 (s)	
8a	85.3 (d)	5.52 (d, 3.1)
9	167.4 (s)	
10	29.9 (t)	3.28 (dd, 15.9, 7.0) 3.20 (dd, 15.9, 7.6)
11	122.5 (d)	5.28 (m)
12	133.8 (s)	
13	25.8 (q)	1.75 (d, 0.9)
14	17.8 (q)	1.73 (d, 0.6)
1'	114.8 (d)	7.64 (s)
2'	127.4 (s)	4.71 (t, 1.5)
4'	123.7 (d)	5.82 (d, 8.2)
5'	140.2 (d)	5.97 (d, 8.2)
6'	36.9 (s)	
6a'	148.9 (s)	
7a'	135.1 (s)	
8'	112.5 (d)	7.41 (dd, 7.0, 1.5)
9'	122.8 (d)	7.15 (td, 7.0, 1.2)
10'	121.7 (d)	7.17 (td, 7.0, 1.5)
11'	117.8 (d)	7.70 (dd, 7.0, 1.2)
11a'	131.1 (s)	
11b'	106.0 (s)	
12'	163.8 (s)	
13'	26.9 (q)	1.79 (s)
14'	28.1 (q)	1.68 (s)
3a-OH		5.07 (s)
7'-NH		10.81 (br. s)
8-NH		5.54 (d, 3.1)

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

2.3.2. Okaramine K (11)

化合物 **11** は、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルより積分比が 90 / 10 の混合物であった。そこでこの二成分を分離するために分取 HPLC を試みた。しかし得られたそれぞれの成分は、1、2 日後にはいずれも元の比で存在することが判明したため、**11** は分離不能な二成分の平衡混合物で存在していることが明らかになった。そのため構造決定には、**11** の主成分に帰属されるシグナルを解析することにした。

化合物 **11** の分子式は HR-EIMS より $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_3$ と決定した。この分子式は okaramine G (**6**) (Fig. 2-4) と同一であり、さらに UV スペクトルおよび IR スペクトルにおいても非常に近似していた。そこで **11** と **6** の NMR スペクトルデータ (Table 2-4, 5) を比較した結果、8-N 位の α, α -ジメチルアリル基に帰属されるシグナルが認められず、**10** で認められたプレニル基に特有なシグナル [δ_{H} 1.75 (3H, s)、 δ_{H} 1.75 (3H, s)、 δ_{H} 3.24 (1H, dd, $J=15.3, 7.6$)、 δ_{H} 3.28 (1H, dd, $J=15.3, 6.7$)、 δ_{H} 5.30 (1H, m)] が観測された。そこで **11** のテトラヒドロピロロインドール部分を **10** と比較し、さらにプレニル基の結合位置は HMBC スペクトルにより得られる相関より確認した。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-4 に示したように決定し、新規化合物であったため okaramine K と命名した。

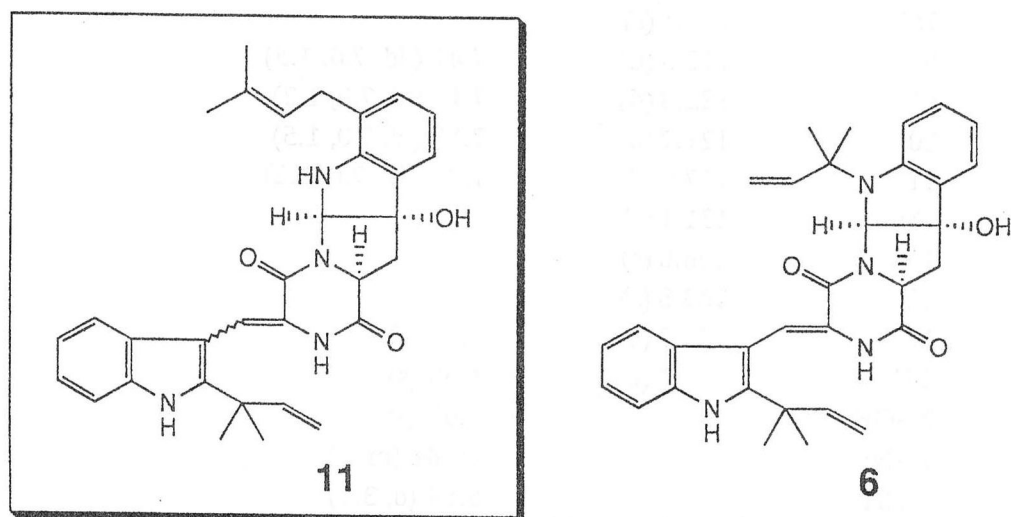


Fig. 2-4 Structures of Okaramines G (**6**) and K (**11**)

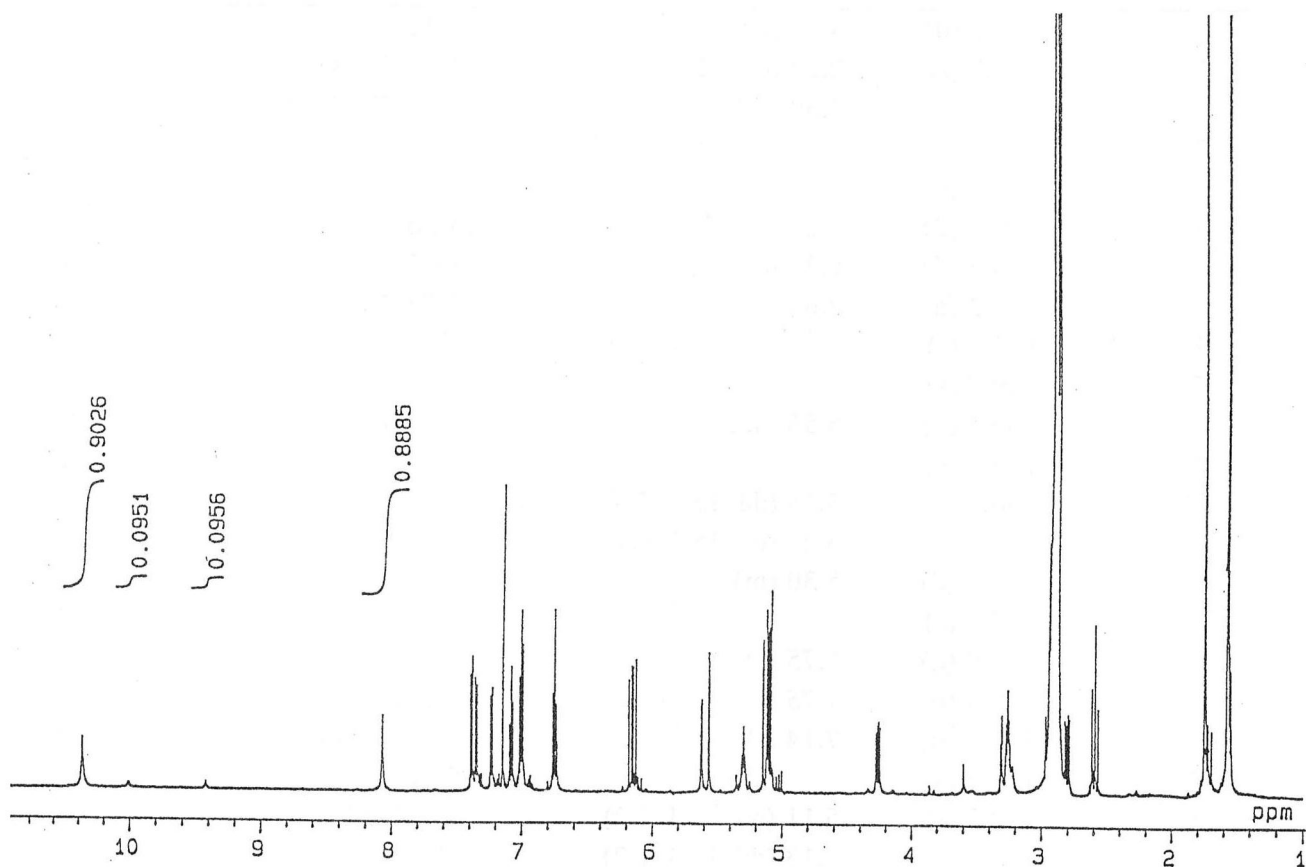


Fig. 2-5 ¹H-NMR Spectrum of 11 (500 MHz, Acetone-*d*₆)

Table 2-4 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine K (11)

No	δ _c (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	59.2 (d)	4.26 (dd, 11.9, 5.8)	3, 12'
3	43.3 (t)	2.80 (dd, 11.9, 5.8) 2.59 (t, 11.9)	2, 3a, 3b, 8a 2, 3a, 3b, 8a, 9
3a	86.6 (s)		
3b	130.4 (s)		
4	122.6 (d)	7.23 (d, 7.3)	3a, 6, 7a
5	120.2 (d)	6.75 (t, 7.3)	3b, 7
6	130.3 (d)	7.0 (m)	4, 7a, 10
7	123.5 (s)		
7a	149.9 (s)		
8a	82.2 (d)	5.56 (d, 2.1)	2, 3, 3a
9	165.3 (s)		
10	30.1 (t)	3.24 (dd, 15.3, 7.6) 3.28 (dd, 15.3, 6.7)	6, 7a, 11, 13, 14 6, 7a, 12
11	122.5 (d)	5.30 (m)	13, 14
12	133.6 (s)		
13	27.9 (q)	1.75 (s)	11, 12
14	17.1 (q)	1.75 (s)	11, 12
1'	111.7 (d)	7.14 (s)	2', 6a', 11a', 12'
2'	127.2 (s)		5', 6'
4'	112.3 (t)	5.11 (dd, 10.4, 1.2) 5.13 (dd, 17.4, 1.2)	5', 6', 13', 14' 5', 6'
5'	145.9 (d)	6.16 (dd, 17.4, 10.4)	6', 13', 14'
6'	40.1 (s)		
6a'	145.0 (s)		
7a'	136.2 (s)		
8'	112.4 (d)	7.38 (d, 7.9)	10', 11a'
9'	122.2 (d)	7.08 (ddd, 8.2, 7.9, 1.2)	7a', 11'
10'	120.8 (d)	7.00 (m)	8', 11a'
11'	120.1 (d)	7.35 (d, 7.6)	7a', 9', 11b'
11a'	127.2 (s)		
11b'	104.6 (s)		
12'	159.2 (s)		
13'	25.9 (q)	1.57 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	28.0 (q)	1.58 (s)	5', 6', 6a', 13'
3a-OH		5.02 (s)	3a, 3b
8-NH		5.59 (d, 2.1)	7a, 3b
3'-NH		8.04 (br. s)	2, 2', 12'
7'-NH		10.32 (br. s)	6a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

Table 2-5 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data for Okaramine G (6)

No	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult. J Hz)
2	59.5 (d)	4.11 (dd, 12.2, 5.9)
3	47.6 (t)	2.33 (t, 12.2) 2.51 (dd, 12.2, 5.9)
3a	85.2 (s)	
3b	133.0 (s)	
4	124.5 (d)	7.61 (dd, 7.3, 1.0)
5	119.6 (d)	6.63 (td, 7.3, 1.0)
6	129.7 (d)	6.94 (ddd, 8.2, 7.3, 1.0)
7	113.7 (d)	6.78 (dd, 8.2, 1.0)
7a	150.7 (s)	
8a	86.7 (d)	5.97 (s)
9	164.2 (s)	
10	59.6 (s)	
11	148.7 (d)	6.06 (dd, 17.7, 10.9)
12	112.2 (t)	4.96 (dd, 10.9, 1.1) 5.09 (dd, 17.7, 1.1)
13	29.0 (q)	1.49 (s)
14	23.5 (q)	1.47 (s)
1'	111.6 (t)	7.02 (s)
2'	126.9 (d)	
4'	112.4 (t)	4.97 (dd, 10.9, 1.1) 4.99 (dd, 17.4, 1.1)
5'	146.1 (d)	6.02 (ddd, 17.4, 10.9)
6'	40.1 (s)	
6a'	144.9 (s)	
7a'	136.3 (s)	
8'	112.4 (d)	7.26 (dd, 7.0, 1.5)
9'	122.3 (d)	6.96 (ddd, 8.0, 7.0, 1.2)
10'	120.8 (d)	6.91 (ddd, 8.0, 7.0, 1.5)
11'	119.8 (d)	7.20 (dd, 8.0, 1.2)
11a'	127.2 (s)	
11b'	104.4 (s)	
12'	157.9 (s)	
13'	28.0 (q)	1.48 (s)
14'	28.0 (q)	1.48 (s)
3a-OH		5.01 (s)
3'-NH		7.94 (br. s)
7'-NH		10.79 (br. s)

Taken in acetone- d_6 at 500 MHz ($^1\text{H-NMR}$) and at 125 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$).

2.3.3. Okaramine L (12)

化合物 **12** の分子式は HR-EIMS より $C_{32}H_{36}N_4O_3$ と決定した。この分子式は **10** と同一であり、また 1H -および ^{13}C -NMR スペクトルパターン (Fig. 2-7, Table 2-6) より okaramine 類似骨格であることが示唆された。そこで **12** と **10** の NMR スペクトルデータを比較した結果、**10** の 8-N 位に帰属されるプロトンが消失し、新たに芳香環プロトンに帰属される 1H 分のプロトン [δ_H 6.58 (d, 7.9)] が観測され、その上 10 位のメチレンプロトンが 1ppm 低磁場シフトしていることが認められた。これらのことより **12** は **10** のプレニル基が、8-N 位に結合していることが予測された。さらに HMBC スペクトルより、10 位のメチレンプロトンから 7a 位と 8a 位のカーボンシグナルに (Fig. 2-8)、8a 位のプロトンから 10 位のカーボンシグナルに相関が見られたため、プレニル基の結合位置を 8-N 位と決定した。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-6 に示したように決定し、新規化合物であったため okaramine L と命名した。

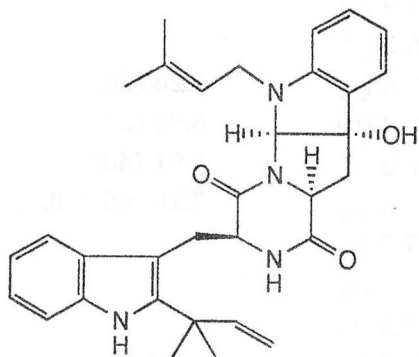


Fig. 2-6 Structure of Okaramine L (**12**)

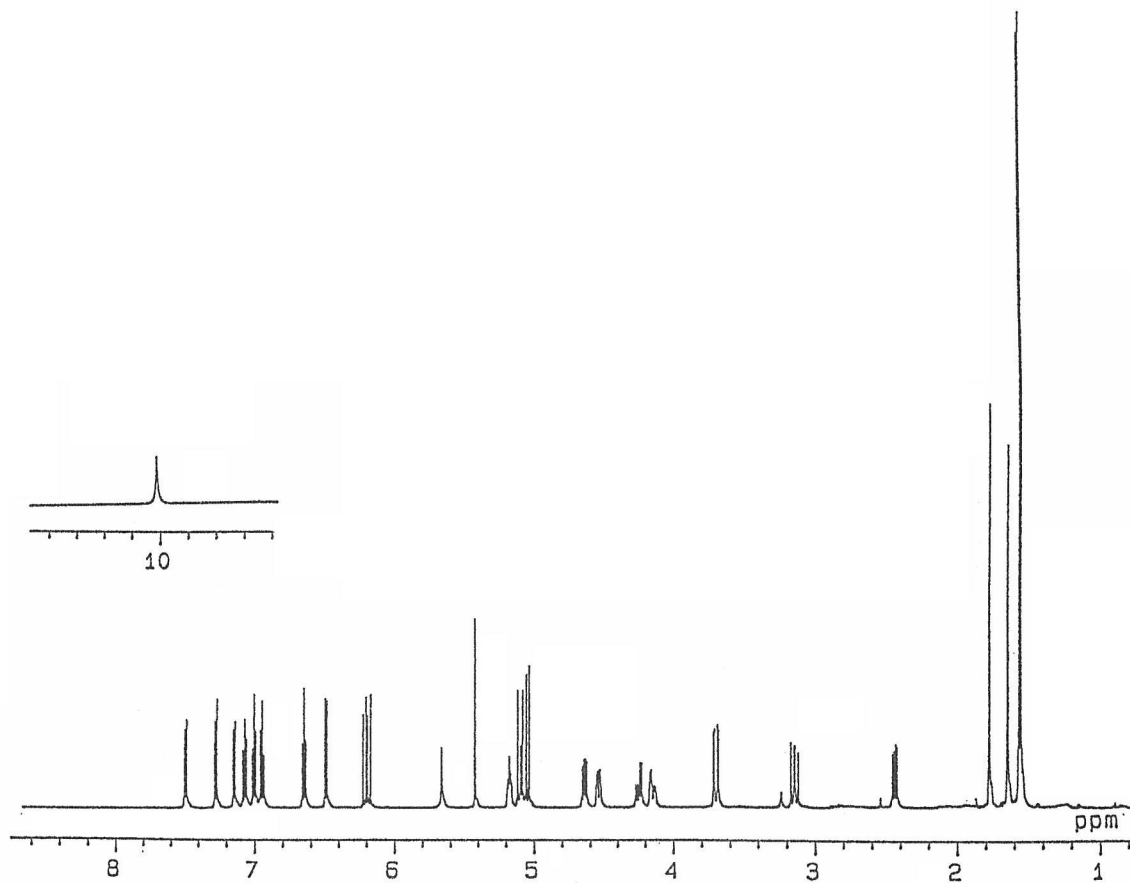


Fig. 2-7 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of 12 (500 MHz, Acetone- d_6)

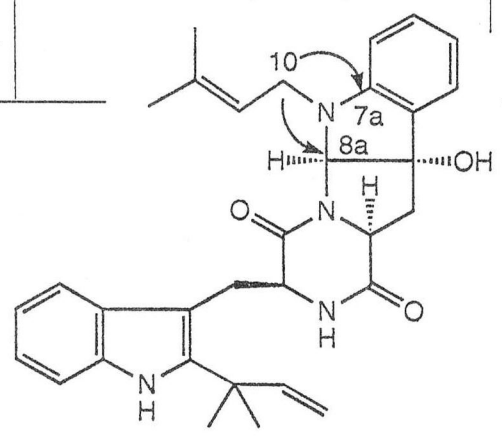
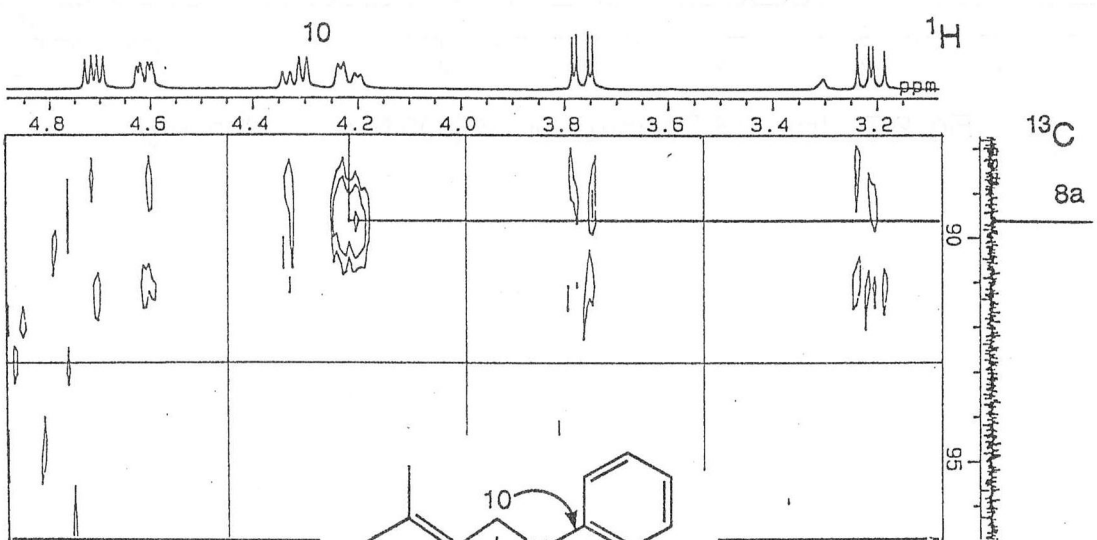
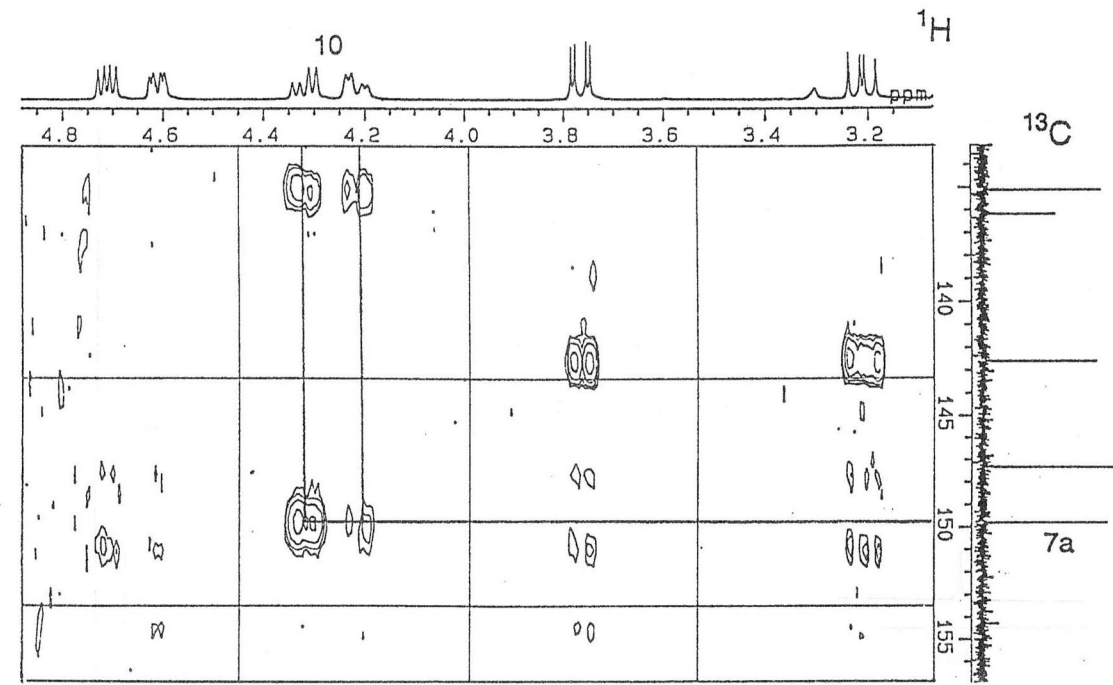


Fig. 2-8 HMBC Spectrum of 12

Table 2-6 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine L (12)

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	60.4 (d)	4.71 (dd, 11.6, 6.4)	3, 12
3	41.7 (t)	2.01 (dd, 13.4, 11.6) 2.50 (dd, 13.4, 6.1)	3a, 8a 3a, 8a
3a	86.6 (s)		
3b	132.6 (s)		
4	122.8 (d)	7.23 (dd, 7.9, 0.9)	3a, 6, 7a
5	119.2 (d)	6.74 (td, 7.9, 0.9)	3b, 7
6	130.2 (d)	7.15 (td, 7.9, 0.9)	4, 7a
7	109.9 (d)	6.58 (d, 7.9)	3b, 5
7a	149.8 (s)		
8a	89.6 (d)	5.50 (d, 4.0)	3, 10, 8a
9	170.5 (s)		
10	47.0 (t)	4.22 (dd, 16.2, 5.5) 4.32 (dd, 16.2, 7.3)	8, 7a, 11, 12 8, 7a, 11, 12
11	121.4 (d)	5.25 (m)	13, 14
12	135.1 (s)		
13	26.1 (q)	1.70 (d, 0.9)	11, 12
14	18.4 (q)	1.83 (s)	11, 12
1'	26.6 (t)	3.21 (dd, 15.3, 11.0) 3.77 (dd, 15.3, 4.0)	2', 6a', 11a', 11b' 2', 6a', 11a', 11b'
2'	56.6 (d)	4.61 (dd, 11.0, 4.0)	1', 9, 11b'
4'	112.2 (t)	5.12 (dd, 17.4, 1.2) 5.17 (dd, 10.7, 1.2)	6' 5', 6'
5'	147.3 (d)	6.28 (dd, 17.4, 10.7)	6', 6a', 13', 14'
6'	40.0 (s)		
6a'	142.6 (s)		
7a'	136.2 (s)		
8'	112.0 (d)	7.37 (dd, 7.9, 0.9)	10', 11a'
9'	122.2 (d)	7.09 (ddd, 7.9, 7.0, 1.2)	7a', 11'
10'	120.1 (d)	7.04 (ddd, 7.9, 7.0, 0.9)	8', 11a'
11'	118.5 (d)	7.59 (d, 7.9)	7a', 9', 11b'
11a'	130.2 (s)		
11b'	105.5 (s)		
12'	170.3 (s)		
13'	28.4 (q)	1.61 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	28.5 (q)	1.62 (s)	5', 6', 6a', 13'
3a-OH		5.17 (s)	3a, 8a
3'-NH		5.74 (br. s)	2, 2', 12'
7'-NH		10.21 (br. s)	6a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

2.3.4. Okaramine M (13)

化合物 **13** の分子式は HR-EIMS より $C_{29}H_{30}N_4O_3$ と決定した。 1H - および ^{13}C -NMR スペクトルパターン (Fig. 2-10, Table 2-7) および 1H - 1H COSY、HSQC スペクトルデータよりインドール核 [δ_H 7.02 (ddd, $J=8.2, 7.0, 1.2$)、 δ_H 7.11 (ddd, $J=8.2, 7.0, 1.2$)、 δ_H 7.40 (dd, $J=8.2, 1.2$)、 δ_H 7.65 (dd, $J=8.2, 1.2$)、 δ_H 10.20 (br. s)] および テトラヒドロピロロインドール核 [δ_H 1.85 (t, $J=12.2$)、 δ_H 2.36 (dd, $J=12.2, 5.2$)、 δ_H 3.70 (ddd, $J=12.2, 5.2, 1.2$)、 δ_H 5.97 (s)、 δ_H 7.11 (td, $J=7.6, 1.2$)、 δ_H 7.27 (td, $J=7.6, 0.9$)、 δ_H 7.36 (dd, $J=7.6, 0.9$)、 δ_H 7.94 (d, $J=7.6$)、 δ_H 5.97 (s)]、1 組の ABX 型 [δ_H 3.28 (dd, $J=15.0, 6.7$)、 δ_H 3.40 (ddd, $J=15.0, 4.0, 0.9$)、 δ_H 4.48 (m)] に帰属されるシグナルが観測されたことから、okaramine 類似の骨格を有する化合物であることが示唆された。しかし 3a 位の水酸基に帰属されるシグナルが見られず、新たにアセチル基 [δ_H 2.62 (s)、 δ_C 24.2 (q)、 δ_C 170.3 (s)] の存在が認められた。その上、他の okaramine 類と比較し、7 位と 8a 位のプロトンのシフト値がそれぞれ約 1ppm、約 0.5 ppm 低磁場にシフトしていた。これらのことはカルボニル基による磁気異方性効果によると考えられたため、**13** は 8-N 位にアセチル基を、3a 位に α, α -ジメチルアリル基を持つ構造であると推定した。次にこの推定構造を明らかにするために HMBC 測定を行った結果、8a 位のプロトンからアセチル基の 15 位のカーボンに、13 位と 14 位のメチルプロトンから 3a 位のカーボンに相関が見られた (Fig. 2-11)。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-9 に示したように決定し、新規化合物であったため okaramine M と命名した。

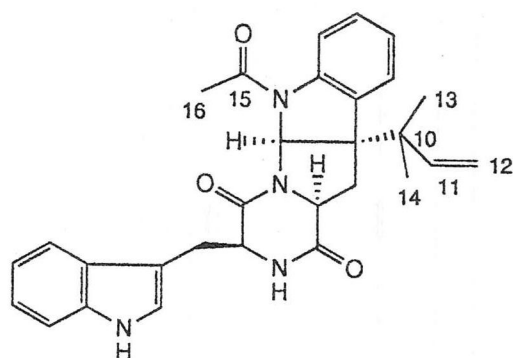


Fig. 2-9 Structure of Okaramine M (13)

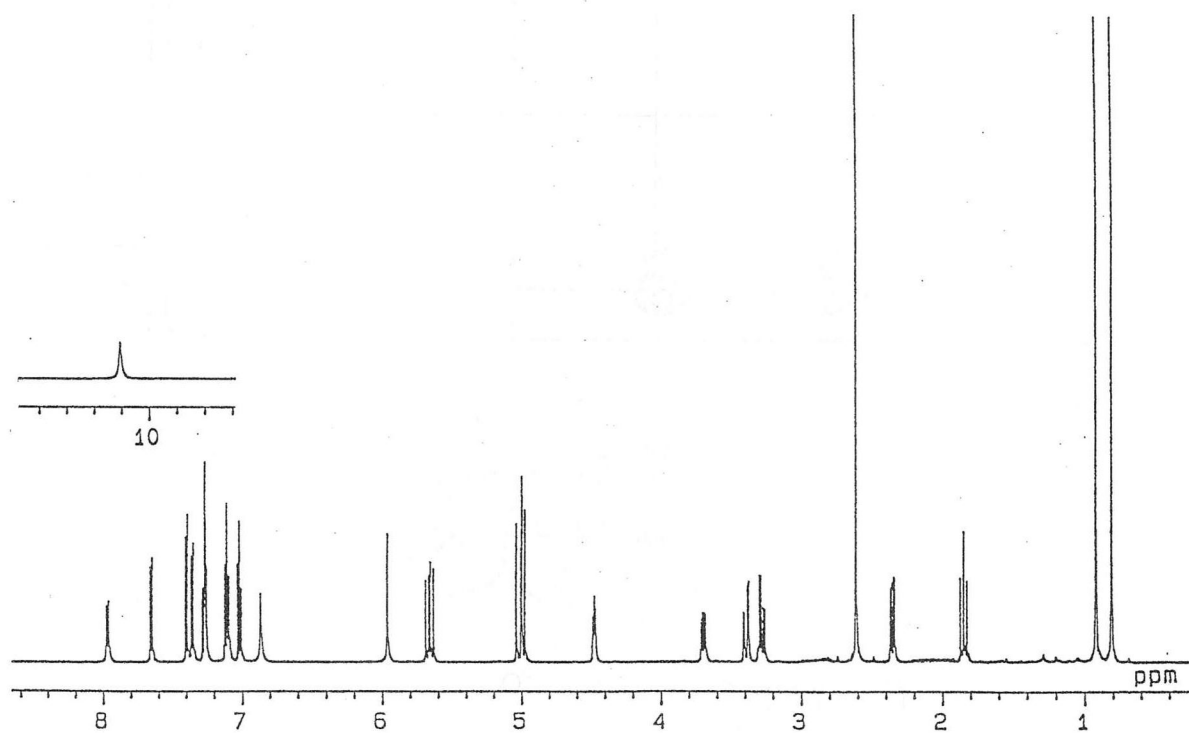


Fig. 2-10 ¹H-NMR Spectrum of 13 (500 MHz, Acetone-*d*₆)

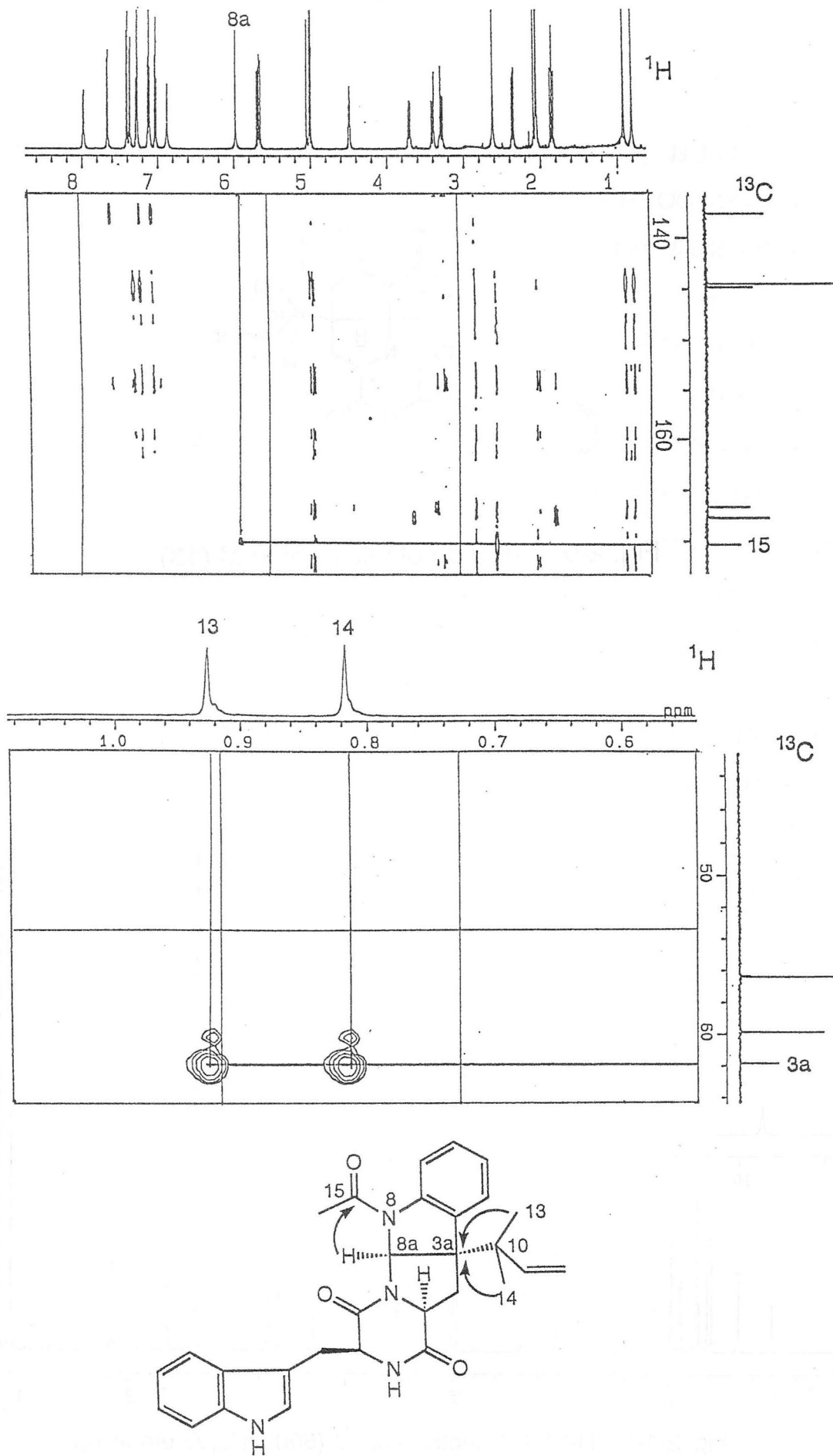


Fig. 2-11 HMBC Spectrum of 13

Table 2-7 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine M (13)

No	δ_C (Mult.)	δ_H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	59.8 (d)	3.70 (ddd, 12.2, 5.2, 1.2)	3, 9
3	37.2 (t)	1.85 (t, 12.2)	2, 3a, 3b, 9
		2.36 (dd, 12.2, 5.2)	2, 3a, 3b, 8a
3a	61.8 (s)		
3b	133.6 (s)		
4	125.6 (d)	7.36 (dd, 7.6, 0.9)	3a, 6, 7a
5	124.8 (d)	7.11 (td, 7.6, 1.2)	3b, 7
6	129.3 (d)	7.27 (td, 7.6, 0.9)	4, 7a
7	119.0 (s)	7.94 (d, 7.6)	3b, 5
7a	144.8 (s)		
8a	80.1 (d)	5.97 (s)	2, 3, 3a, 3b, 7a, 10
9	167.7 (s)		
10	41.0 (s)		
11	144.5 (d)	5.66 (dd, 17.4, 10.7)	3a, 13, 14
12	114.3 (t)	4.99 (dd, 10.7, 1.2)	10, 11
		5.02 (dd, 17.4, 1.2)	10, 11
13	22.5 (q)	0.92 (s)	3a, 11, 14
14	23.5 (q)	0.84 (s)	3a, 11, 13
1'	28.3 (t)	3.28 (dd, 15.0, 6.7)	2', 6a', 11a'
		3.40 (ddd, 15.0, 4.0, 0.9)	2', 6a', 11a', 12'
2'	56.4 (d)	4.48 (m)	9, 11b'
6a'	125.4 (d)	7.27 (s)	7a', 11a', 11b'
7a'	137.6 (s)		
8'	112.2 (d)	7.40 (dd, 8.2, 1.2)	10', 11a'
9'	122.4 (d)	7.11 (ddd, 8.2, 7.0, 1.2)	7a', 11'
10'	119.7 (d)	7.02 (ddd, 8.2, 7.0, 1.2)	8', 11a'
11'	119.8 (d)	7.65 (dd, 8.2, 1.2)	7a', 9', 11b'
11a'	128.5 (s)		
11b'	110.0 (s)		
12'	166.7 (s)		
3'-NH		6.87 (br. s)	2
7'-NH		10.20 (br. s)	6a', 11a', 11b'
15	170.3 (s)		
16	24.2 (q)	2.62 (s)	15

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

2.3.5. Okaramine N (14)

化合物 **14** の分子式は HR-EIMS より $C_{32}H_{34}N_4O_3$ と決定した。この分子式は okaramine A (**1**) より水素 2 原子多く、また 1H -および ^{13}C -NMR スペクトルパターン (Fig. 2-13, Table 2-8) より okaramine 類似の骨格を有することが示唆された。そこで、**1** の NMR スペクトルデータ (Table 2-9) を **14** のそれと比較した。その結果、**14** の ^{13}C -NMR スペクトルにおいて、**1** の 1' 位と 2' 位のシグナルが帰属できなかった。すなわち δ_c 23.6 のメチレンカーボンと δ_c 63.4 のメチンカーボンが不明のシグナルであった。また 1H -NMR スペクトルにおいては、**1** の 1' 位に帰属されるシグナルが見られず、新たに 1 組の ABX 型のシグナル [δ_H 3.38 (dd, $J=15.0, 3.7$)、 δ_H 3.56 (dd, $J=15.0, 3.7$)、 δ_H 4.33 (t, $J=3.7$)] が観測された。さらに UV スペクトルから長波長側 (370 nm 付近) に極大吸収が見られないことから、**14** は **1** の 1' 位と 2' 位が飽和した構造であると推定された。その上 HMBC スペクトルより、 δ_H 3.38 と δ_H 3.56 のメチレンプロトンから 6a' 位と 11a' 位、12' 位に、また δ_H 4.33 のメチンプロトンから 9 位と 11b' 位、12' 位のカーボンに相関が認められたため (Fig. 2-14)、これらのシグナルはそれぞれ 1' 位と 2' 位に帰属することができた。

以上より化合物 **14** の平面構造を Fig. 2-12 に示したように決定し、新規化合物であったため okaramine N と命名した。

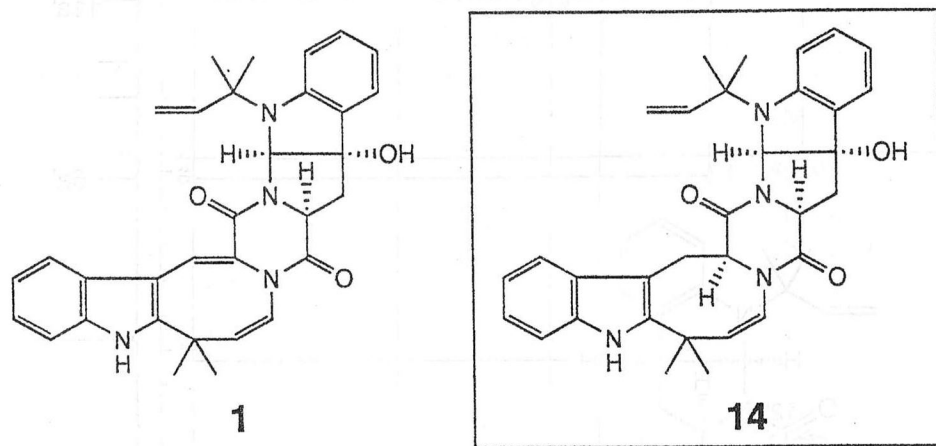


Fig. 2-12 Structures of Okaramines A (**1**) and N (**14**)

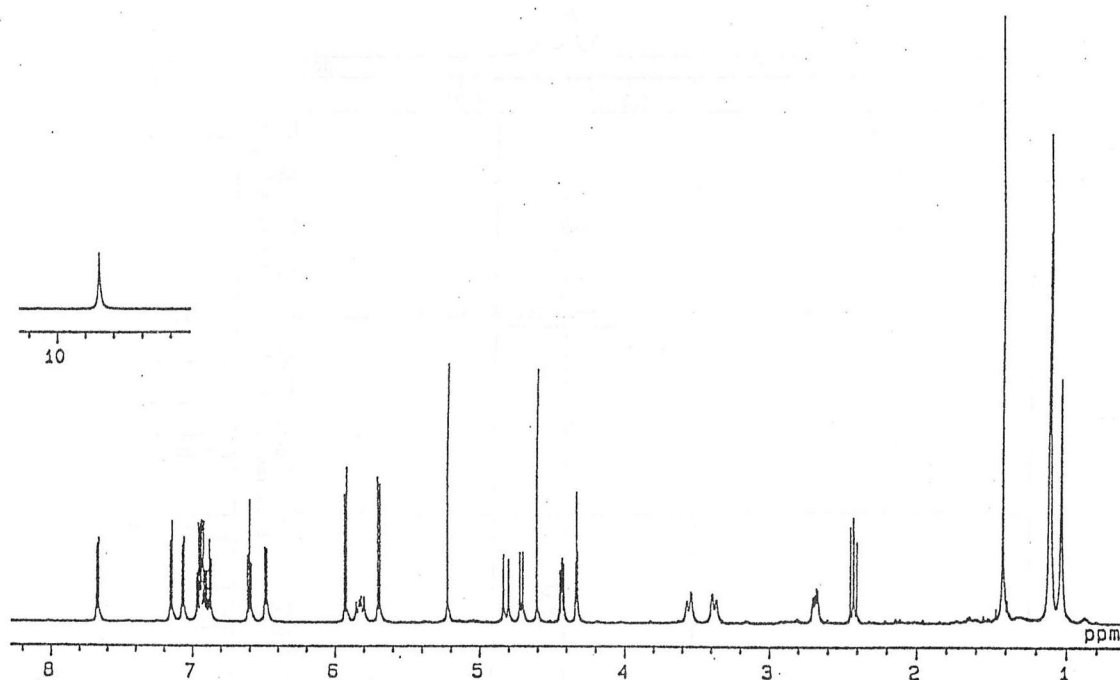


Fig. 2-13 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **14** (500 MHz, Acetone- d_6)

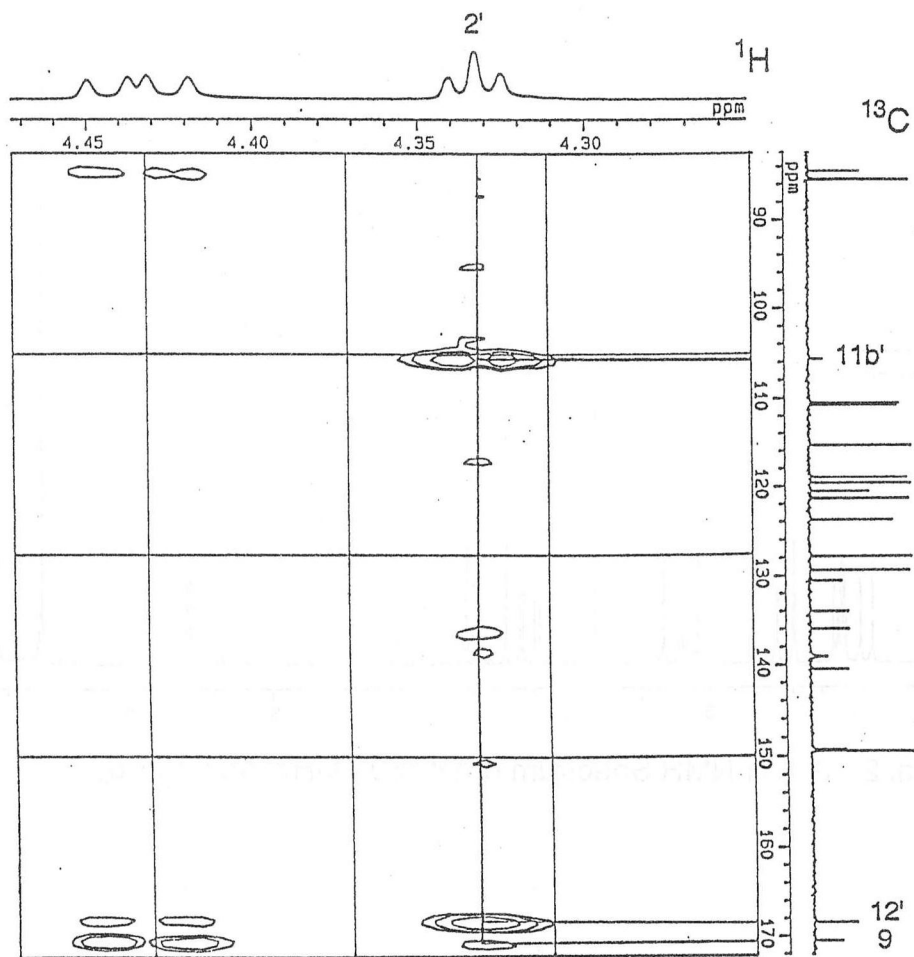
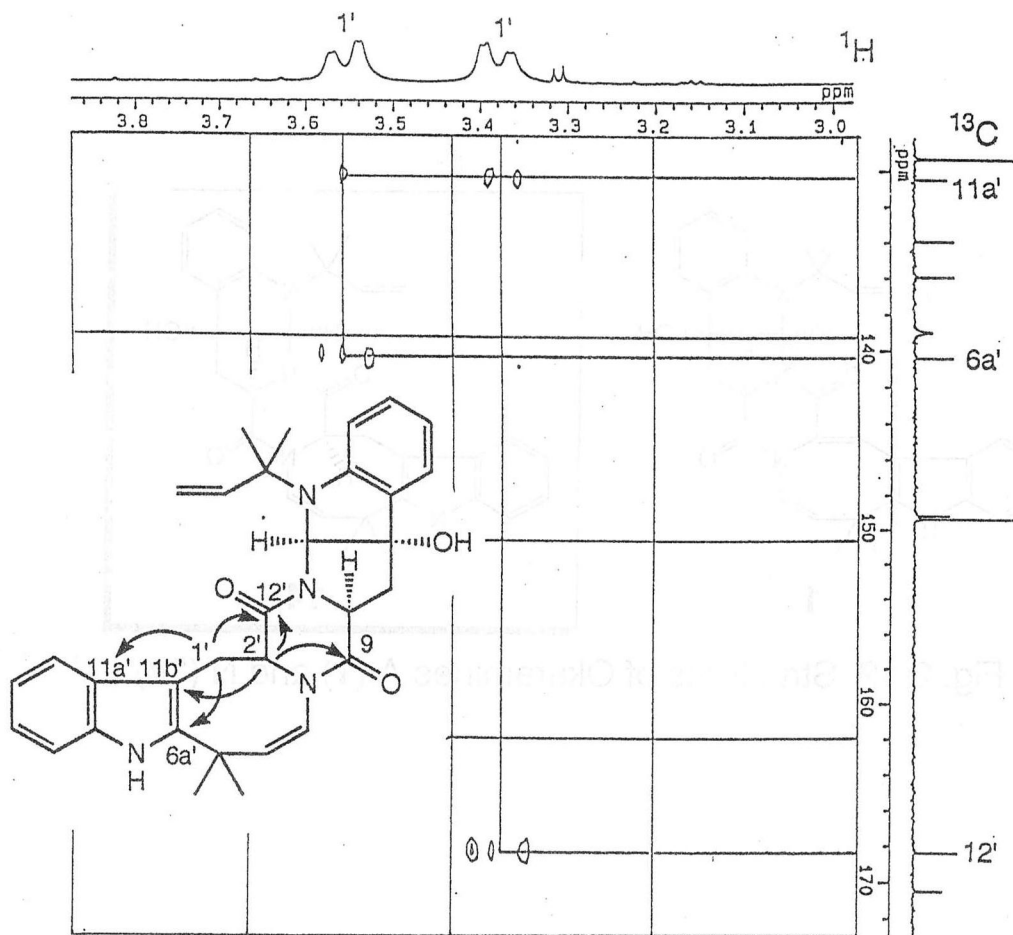


Fig. 2-14 HMBC Spectrum of 14

Table 2-8 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine N (14)

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	58.4 (d)	4.43 (dd, 9.2, 6.4)	3, 8a, 9, 12'
3	36.3 (t)	2.43 (dd, 13.1, 9.2)	2, 3b, 8a, 9
		2.69 (dd, 13.1, 6.4)	2, 3b, 8a, 9
3a	84.5 (s)		
3b	133.9 (s)		
4	123.7 (d)	7.07 (dd, 7.3, 1.2)	3a, 6, 7a
5	119.6 (d)	6.60 (td, 7.3, 1.2)	3b, 7
6	129.3 (d)	6.88 (ddd, 8.6, 7.3, 1.2)	4, 7a, 10
7	115.3 (s)	6.49 (d, 8.6)	3b, 5
7a	149.2 (s)		
8a	85.4 (d)	5.23 (s)	3a, 3b, 7a, 10
9	170.5 (s)		
10	59.2 (s)		
11	149.3 (d)	5.83 (dd, 17.7, 11.0)	
12	110.7 (t)	4.72 (dd, 11.0, 1.2)	10, 11
		4.82 (dd, 17.7, 1.2)	
13	24.4 (q)	1.11 (s)	7a, 10, 11, 12, 14
14	27.9 (q)	1.04 (s)	7a, 10, 11, 12, 13
1'	23.6 (t)	3.38 (dd, 15.0, 3.7)	6a', 11a', 11b'
		3.56 (dd, 15.0, 3.7)	11a', 12'
2'	63.4 (d)	4.33 (t, 3.7)	1', 9, 11b', 12'
4'	127.8 (d)	5.93 (d, 8.6)	5', 6'
5'	139.0 (d)	5.70 (d, 8.6)	4', 6', 6a', 14'
6'	37.1 (s)		
6a'	140.4 (s)		
7a'	135.9 (s)		
8'	110.4 (d)	7.15 (d, 7.3, 1.2)	10', 11a'
9'	121.3 (d)	6.96 (ddd, 7.9, 7.3, 1.2)	7a', 11'
10'	118.9 (d)	6.93 (ddd, 7.9, 7.6, 1.2)	8', 11a'
11'	120.5 (d)	7.67 (dd, 7.6, 1.2)	7a', 9'
11a'	130.5 (s)		
11b'	105.6 (s)		
12'	168.4 (s)		
13'	30.8 (q)	1.12 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	32.2 (q)	1.43 (s)	5', 6', 6a', 13'
3a-OH		4.61 (s)	3, 3a, 3b
7'-NH		9.71 (br. s)	6a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

Table 2-9 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine A (1)

No	δ_c (Mult.)	δ_H (Mult. J Hz)
2	57.7 (d)	4.55 (dd, 9.6, 5.8)
3	34.8 (t)	2.56 (dd, 13.4, 5.8) 3.11 (dd, 13.4, 9.6)
3a	84.9 (s)	
3b	134.4 (s)	
4	124.2 (d)	7.29 (dd, 7.3, 1.5)
5	119.9 (d)	6.75 (td, 7.3, 0.9)
6	129.5 (d)	7.05 (ddd, 8.2, 7.3, 1.5)
7	115.2 (d)	6.90 (dd, 8.2, 0.9)
7a	149.2 (s)	
8a	85.6 (d)	5.52 (s)
9	167.5 (s)	
10	59.6 (s)	
11	149.2 (d)	6.40 (dd, 17.7, 10.7)
12	111.4 (t)	5.05 (dd, 10.7, 1.2) 5.17 (dd, 17.7, 1.2)
13	25.0 (q)	1.51 (s)
14	28.2 (q)	1.69 (s)
1'	115.9 (d)	7.68 (s)
2'	127.9 (s)	4.71 (t, 1.5)
4'	123.5 (d)	5.60 (d, 7.9)
5'	139.9 (d)	5.87 (d, 7.9)
6'	36.7 (s)	
6a'	148.8 (s)	
7a'	135.0 (s)	
8'	112.5 (d)	7.40 (dd, 7.0, 1.2)
9'	122.8 (d)	7.14 (td, 7.0, 1.2)
10'	121.6 (d)	7.18 (td, 7.0, 1.2)
11'	117.8 (d)	7.73 (dd, 7.0, 1.2)
11a'	131.2 (s)	
11b'	105.8 (s)	
12'	165.0 (s)	
13'	27.1 (q)	1.69 (s)
14'	28.2 (q)	1.65 (s)
3a-OH		4.92 (s)
7'-NH		10.79 (br. s)

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

2.3.6. Okaramine O (15) および P (16)

化合物 **15** および **16** の分子式は HR-EIMS よりいずれも **14** より酸素 1 原子多い $C_{32}H_{34}N_4O_4$ と決定した。**15** と **16** の 1H -NMR スペクトル (Fig. 2-16, 17, Table 2-10, 11) を詳細に解析した結果、**15** と **16** のテトラヒドロピロロインドール核部分はそれぞれ **1** と **8** に帰属された。またアゾシノインドール核部分は共に ^{13}C -NMR スペクトルより 1' 位のシグナルが低磁場にシフトしていることから、1' 位に水酸基を有することが分かった。さらに水酸基の結合位置は **15** の HMBC スペクトル (Fig. 2-18) において、水酸基のシグナルから 1' 位と 2' 位、11b' 位に相関が認められことから確認された。

以上より化合物 **15** と **16** の平面構造を Fig. 2-15 に示したように決定し、共に新規化合物であったため、それぞれを okaramine O および P と命名した。

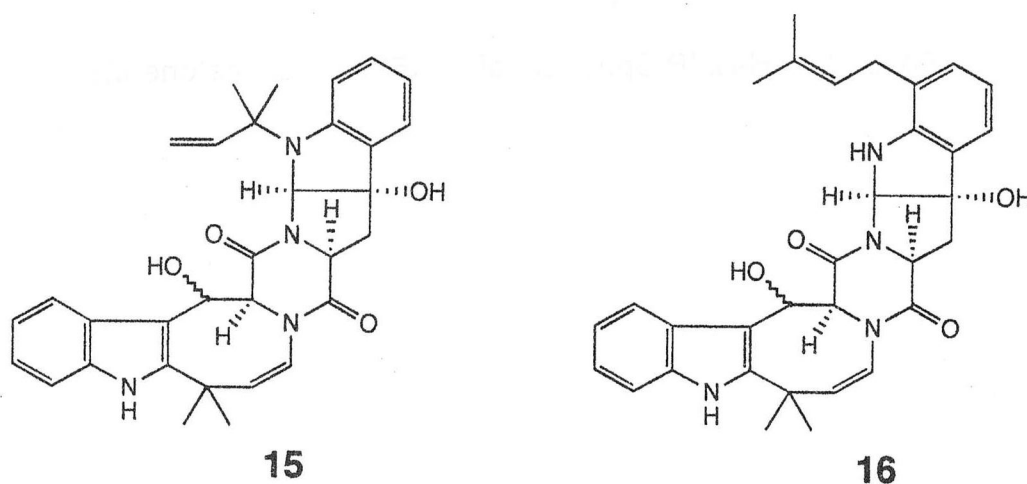


Fig. 2-15 Structures of Okaramines O (**15**) and P (**16**)

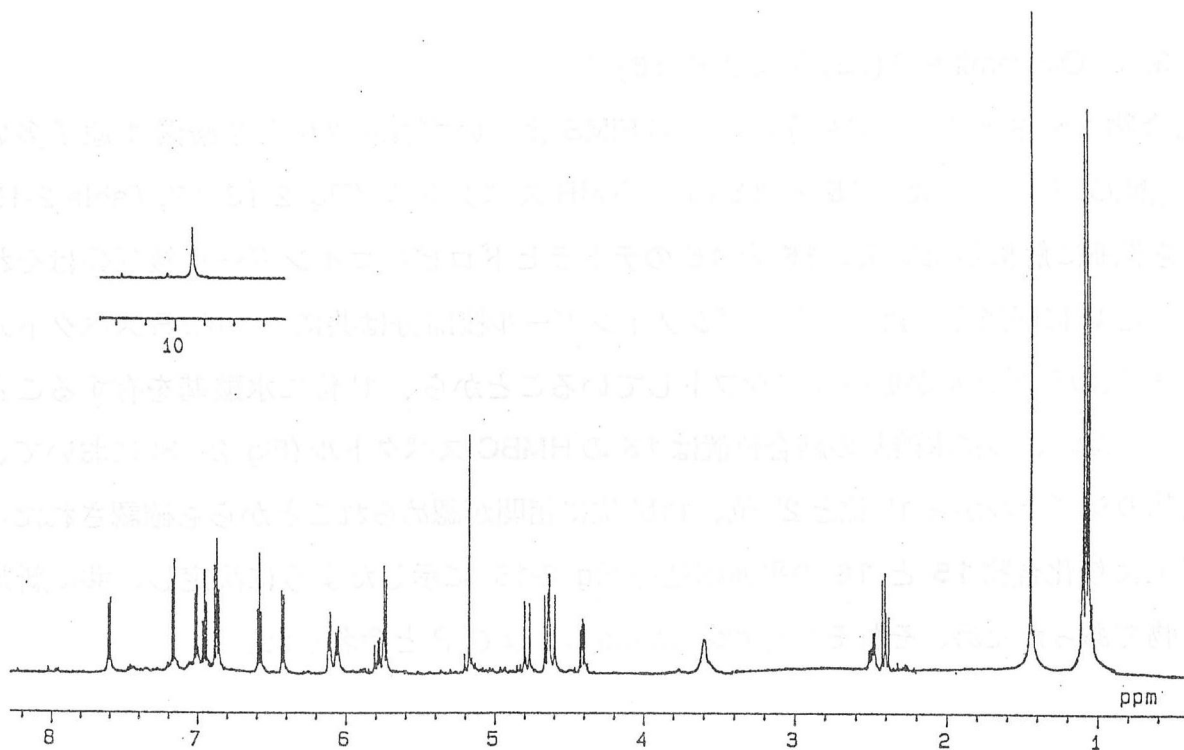


Fig. 2-16 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **15** (500 MHz, Acetone- d_6)

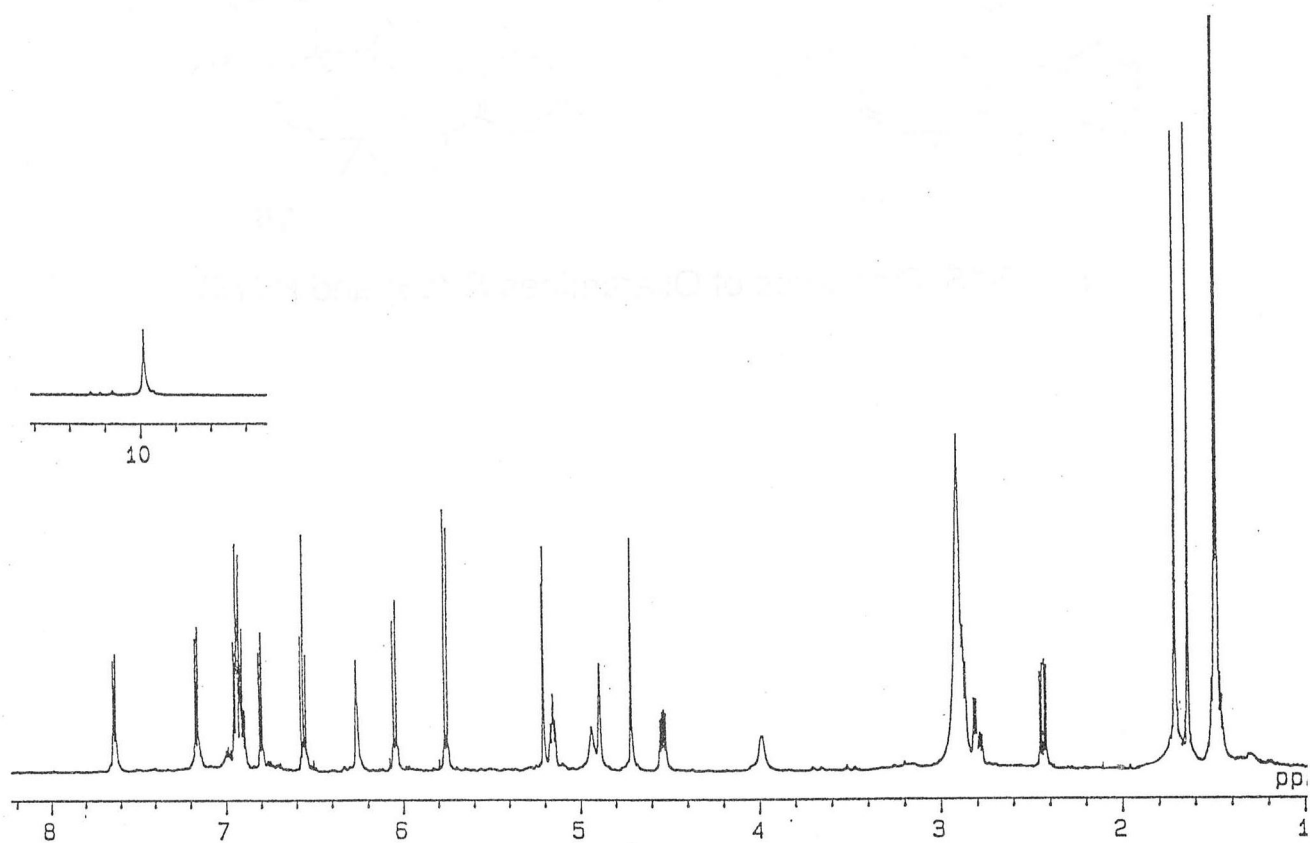


Fig. 2-17 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **16** (500 MHz, Acetone- d_6)

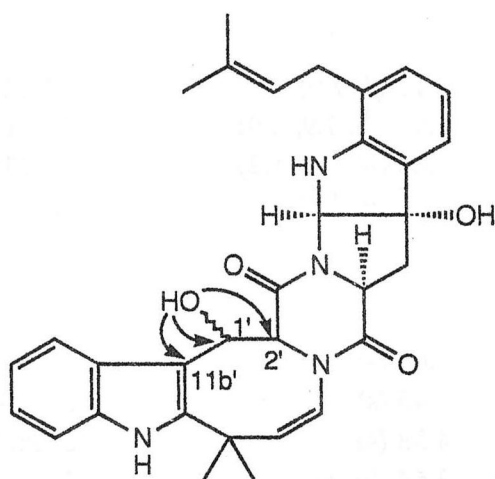
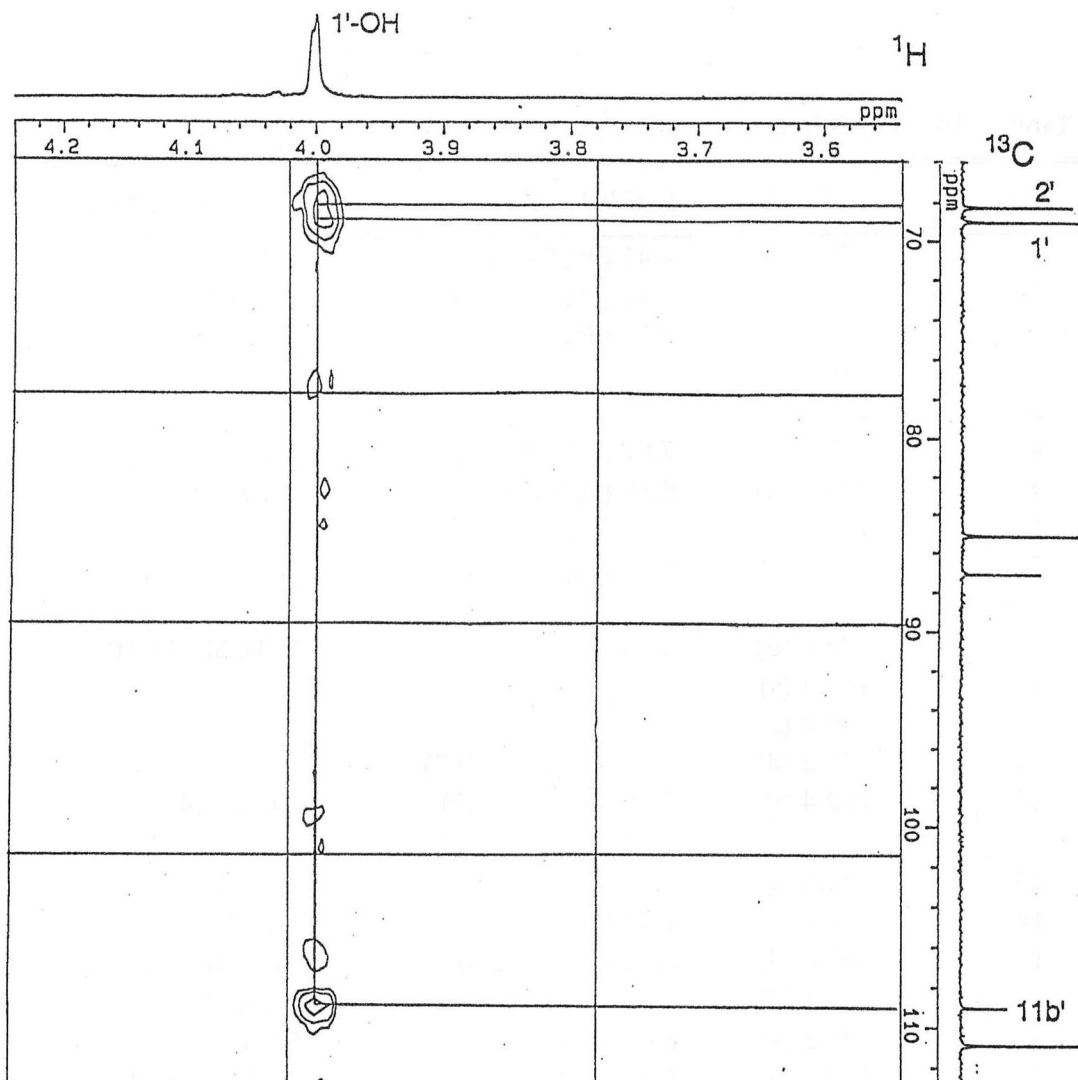


Fig. 2-18 HMBC Spectrum of 16

Table 2-10 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data for Okaramine O (15)

No	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	58.0 (d)	4.41 (dd, 9.2, 6.4)	3, 12'
3	36.8 (t)	2.41 (dd, 13.1, 9.2) 2.50 (dd, 13.1, 6.4)	2, 3a, 3b, 8a 2, 3a, 8a, 9
3a	84.3 (s)		
3b	133.9 (s)		
4	123.8 (d)	7.01 (dd, 7.6, 1.2)	3a, 6, 7a
5	119.6 (d)	6.59 (td, 7.6, 0.9)	3b, 7
6	129.2 (d)	6.88 (td, 7.6, 1.2)	4, 7a
7	115.2 (s)	6.43 (dd, 7.6, 0.9)	3b, 5
7a	149.3 (s)		
8a	85.6 (d)	5.23 (s)	2, 3a, 3b, 7a, 10
9	166.7 (s)		
10	59.2 (s)		
11	149.2 (d)	5.78 (dd, 17.7, 10.7)	
12	110.4 (t)	4.66 (dd, 10.7, 1.2) 4.79 (dd, 17.7, 1.2)	10, 13, 14 10
13	24.6 (q)	1.10 (s)	10, 11, 14
14	27.8 (q)	1.07 (s)	10, 13
1'	67.6 (d)	6.11 (dd, 7.0, 2.4)	6a', 11a', 11b'
2'	69.1 (d)	4.64 (d, 2.4)	1', 9, 11b'
4'	129.3 (s)	6.06 (d, 8.5)	5', 6'
5'	140.4 (d)	5.74 (d, 8.5)	4', 6', 6a', 13', 14'
6'	37.4 (s)		
6a'	143.2 (s)		
7a'	135.8 (s)		
8'	110.8 (d)	7.17 (d, 7.9)	10', 11a'
9'	121.5 (d)	6.96 (td, 7.9, 0.9)	7a', 11'
10'	119.4 (d)	6.86 (td, 7.9, 1.2)	8', 11a'
11'	120.1 (d)	7.61 (d, 7.9)	7a', 9', 11b'
11a'	129.8 (s)		
11b'	109.3 (s)		
12'	170.4 (s)		
13'	30.6 (q)	1.08 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	32.6 (q)	1.45 (s)	5', 6', 6a', 13'
3a-OH		4.58 (s)	3, 3a, 3b
1'-OH		3.64 (br. s)	3a, 8a, 3b
7'-NH		9.87 (br. s)	11a', 11b'

Taken in acetone- d_6 at 500 MHz ($^1\text{H-NMR}$) and at 125 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$).

Table 2-11 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine P (16)

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	58.7 (d)	4.54 (ddd, 12.8, 5.8, 1.5)	3, 12'
3	43.4 (t)	1.45 (t, 12.8)	2, 3a, 8a, 9
		2.44 (dd, 12.8, 5.8)	2, 3a, 8a, 9
3a	87.0 (s)		
3b	130.7 (s)		
4	121.1 (d)	6.94 (dd, 7.6, 1.2)	3a, 6, 7a
5	119.3 (d)	6.56 (t, 7.6)	3b, 4, 7
6	129.1 (d)	6.80 (dd, 7.6, 1.2)	4, 7a, 10
7	123.1 (s)		
7a	147.1 (s)		
8a	85.1 (d)	5.21 (d, 3.7)	3a, 3b, 7a, 10
9	168.8 (s)		
10	29.6 (t)	2.78 (dd, 15.9, 7.3)	6, 7a, 12
		2.89 (dd, 15.9, 7.3)	6, 7a, 12
11	122.3 (d)	5.15 (m)	
12	133.5 (s)		13, 14
13	25.9 (q)	1.72 (d, 0.9)	11, 12, 14
14	17.9 (q)	1.65 (s)	11, 12, 13
1'	69.0 (d)	6.26 (d, 1.5)	6a', 11a', 11b'
2'	68.2 (d)	4.71 (t, 1.5)	1', 9, 11b'
4'	126.9 (d)	6.05 (d, 8.6)	5', 6'
5'	140.6 (d)	5.76 (d, 8.6)	4', 6', 6a', 13', 14'
6'	38.0 (s)		
6a'	143.2 (s)		
7a'	135.7 (s)		
8'	110.9 (d)	7.17 (dd, 7.0, 1.5)	10', 11a'
9'	121.4 (d)	6.93 (td, 7.0, 1.5)	7a', 11'
10'	119.5 (d)	6.90 (td, 7.0, 1.5)	8', 11a'
11'	119.6 (d)	7.63 (dd, 7.0, 1.5)	7a', 9'
11a'	129.2 (s)		
11b'	109.0 (s)		
12'	165.2 (s)		
13'	29.6 (q)	1.49 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	32.9 (q)	1.50 (s)	5', 6', 6a', 13'
1'-OH		4.00 (s)	1', 2', 11b'
3a-OH		4.93 (s)	3, 3a, 8a
7'-NH		9.97 (br. s)	6a', 11a', 11b'
8-NH		4.85 (d, 3.7)	3a, 3b

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

2.3.7. Okaramine Q (17)

化合物 **17** の分子式は HR-EIMS より $C_{32}H_{34}N_4O_4$ と決定した。UV スペクトルにおいて okaramine B (**2**) [233 nm (27,000)、288 nm (12,900)、375 nm (17,900)] と非常に類似した吸収を示した。そこで **2** と **17** の 1H -および ^{13}C -NMR のスペクトル (Fig. 2-20, Table 2-12, 13) のシグナルパターンを比較した結果、メトキシ基に帰属されるシグナルは観測されず、新たに孤立したメチレンに帰属されるシグナルが認められた。すなわち **17** は **2** のメトキシ基が脱離し、プロトンに置き変わった化合物であることが明らかになった。またこの構造は EIMS より、**17** の分子量が **2** [$(C_{33}H_{34}N_4O_5, m/z 566 (M^+))$] より 30 マスユニット (CH_2O) 少ないことから支持された。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-19 に示したように決定し、新規化合物であったため okaramine Q と命名した。

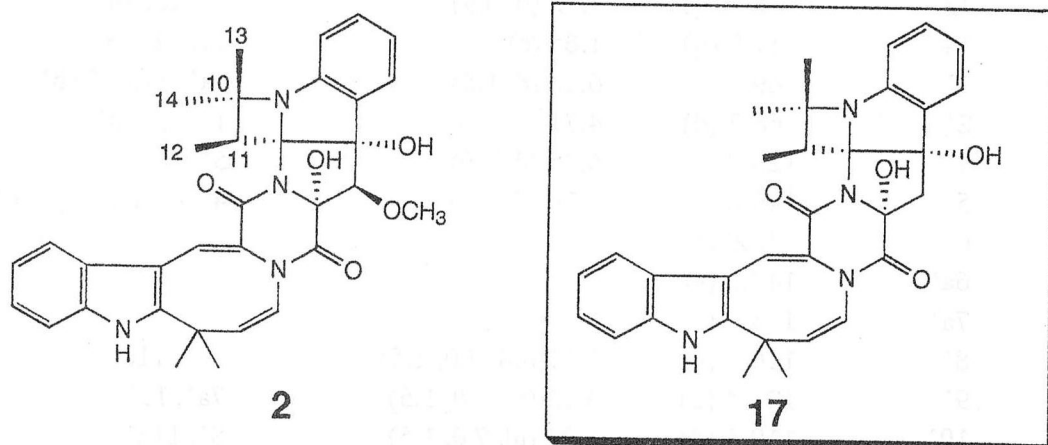


Fig. 2-19 Structures of Okaramines B (**2**) and Q (**17**)

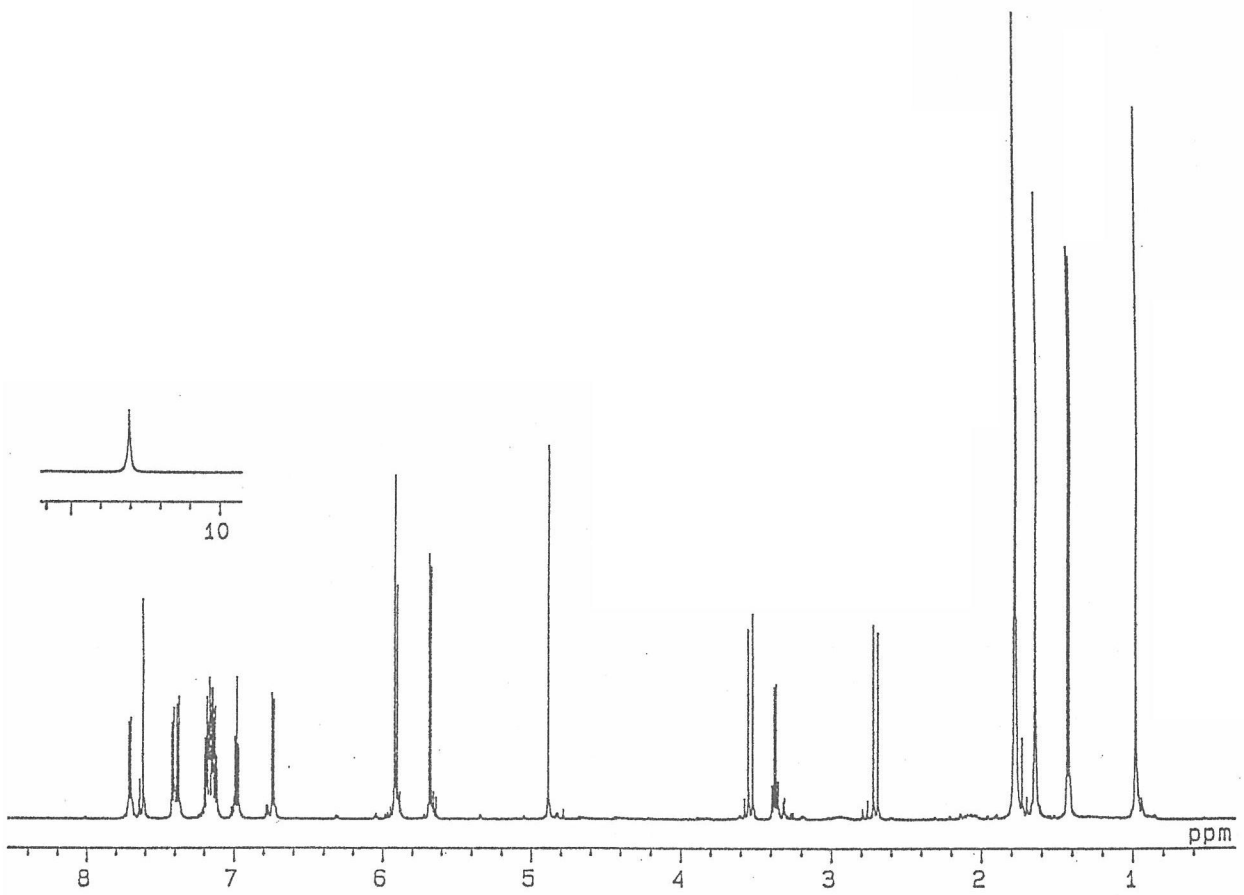


Fig. 2-20 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of 17 (500 MHz, Acetone- d_6)

Table 2-12 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine Q (17)

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	88.1 (s)		
3	48.6 (t)	2.71 (d, 15.0) 3.54 (d, 15.0)	2, 3a, 3b 2, 3a, 3b, 8a, 9
3a	86.8 (s)		
3b	141.6 (s)		
4	125.3 (d)	7.42 (dd, 7.6, 0.9)	3a, 6, 7a
5	123.6 (d)	6.98 (td, 7.6, 0.9)	3b, 7
6	130.0 (d)	7.18 (td, 7.6, 0.9)	4, 7a, 10
7	118.7 (d)	6.74 (d, 7.6)	3b, 5
7a	151.1 (s)		
8a	96.5 (s)		
9	165.3 (s)		
10	63.9 (s)		
11	41.9 (d)	3.36 (q, 7.6)	3a, 8a, 10 11, 12
12	11.4 (q)	1.43 (d, 7.6)	8a, 10 11
13	25.8 (q)	1.77 (s)	11, 14
14	26.8 (q)	0.98 (s)	11, 13
1'	114.6 (d)	7.61 (s)	2', 6a', 11a', 12'
2'	128.3 (s)		
4'	123.4 (d)	5.68 (d, 7.9)	5', 6'
5'	140.2 (d)	5.91 (d, 7.9)	6', 9, 13', 14'
6'	37.1 (s)		
6a'	148.3 (s)		
7a'	135.2 (s)		
8'	112.5 (d)	7.38 (dd, 7.6, 1.2)	10', 11a'
9'	122.7 (d)	7.13 (td, 7.6, 1.2)	7a', 11'
10'	121.5 (d)	7.17 (td, 7.6, 1.2)	8', 11a'
11'	117.8 (d)	7.71 (dd, 7.6, 1.2)	7a', 9'
11a'	131.3 (s)		
11b'	106.3 (s)		
12'	163.1 (s)		
13'	27.7 (q)	1.78 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	28.2 (q)	1.65 (s)	5', 6', 6a', 13'
2-OH		5.92 (s)	2
3a-OH		4.89 (s)	3, 3a, 3b, 8a
7'-NH		10.61 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

Table 2-13 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine B (2)

No	δ_c (Mult.)	δ_H (Mult. J Hz)
2	85.8 (s)	
3	82.6 (d)	4.21 (s)
3a	84.6 (s)	
3b	140.0 (s)	
4	125.1 (d)	7.39 (d, 7.3)
5	122.9 (d)	7.02 (td, 7.3, 1.2)
6	129.3 (d)	7.20 (ddd, 7.6, 7.3, 1.2)
7	117.6 (d)	6.73 (d, 7.6)
7a	150.1 (s)	
8a	93.4 (s)	
9	163.9 (s)	
10	62.6 (s)	
11	40.7 (d)	3.11 (q, 7.6)
12	10.9 (q)	1.24 (d, 7.6)
13	25.0 (q)	1.67 (s)
14	26.1 (q)	0.87 (s)
1'	113.6 (d)	7.41 (s)
2'	126.2 (s)	
4'	122.2 (d)	5.68 (d, 7.9)
5'	139.3 (d)	5.94 (d, 7.9)
6'	36.1 (s)	
6a'	147.9 (s)	
7a'	134.0 (s)	
8'	112.0 (d)	7.42 (dd, 7.3, 1.8)
9'	121.7 (d)	7.14*
10'	120.7 (d)	7.14*
11'	116.5 (d)	7.61 m
11a'	130.0 (s)	
11b'	104.4 (s)	
12'	162.2 (s)	
13'	27.9 (q)	1.59 (s)
14'	27.2 (q)	1.68 (s)
2-OH		6.44 (s)
3a-OH		5.27 (s)
7'-NH		11.44 (br. s)

Taken in DMSO-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

* Overlapped signals

2.3.9. Okaramine R (18)

化合物 **18** の分子式は HREIMS より $C_{32}H_{32}N_4O_4$ と決定した。UV スペクトルにおいて **1** に観測された長波長側の吸収が認められた。その上、 1H -NMR スペクトル (Fig. 2-22, Table 2-14) においても **1** に見られたアゾシノインドール環 [δ_H 5.84 (d, $J=8.2$)、 δ_H 5.97 (d, $J=8.2$)、 δ_H 7.13 (td, $J=7.0, 1.5$)、 δ_H 7.17 (td, $J=7.0, 1.5$)、 δ_H 7.38 (dd, $J=7.0, 1.5$)、 δ_H 7.61 (s)、 δ_H 7.68 (dd, $J=7.0, 1.5$)、 δ_H 10.68 (br. s)] および N-8 位に結合した α, α -ジメチルアリル基 [δ_H 5.18 (d, $J=17.4$)、 δ_H 5.24 (d, $J=11.3$)、 δ_H 6.20 (dd, $J=17.4, 11.3$)] に帰属されるシグナルが認められた。また ^{13}C -NMR スペクトル (Table 2-14) からジケトピペラジン環に帰属される以外のアミド基 (δ_C 179.9) のシグナルが新たに観測された。さらに HMBC スペクトルより、このアミド基のカルボニル基は 3a 位の水酸基と 3 位のメチレンと相関が見られた (Fig. 2-23)。これらのことより 8a 位にカルボニル基を持つオキシインドール骨格を有する化合物であることが分かった。以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-21 に示したように決定し、新規化合物であったため okaramine R と命名した。

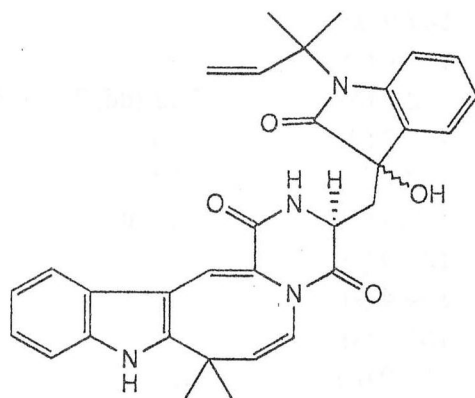


Fig. 2-21 Structure of Okaramine R (**18**)

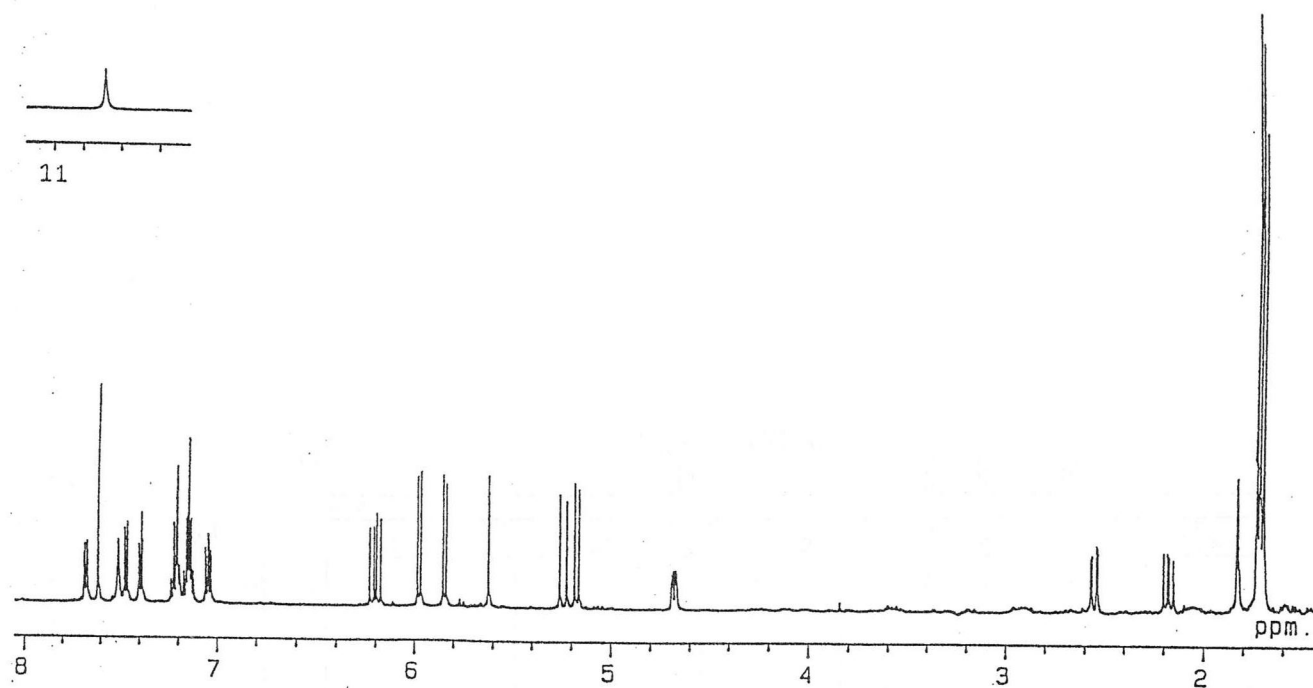


Fig. 2-22 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of 18 (500 MHz, Acetone- d_6)

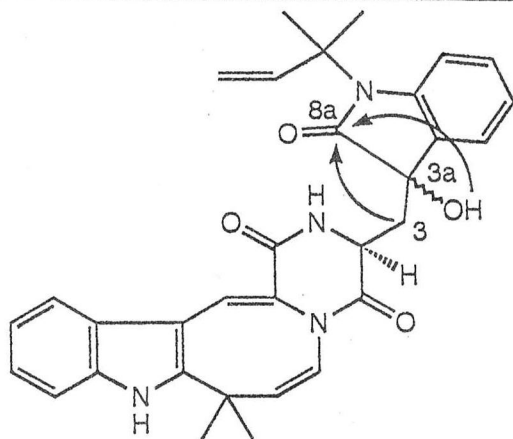
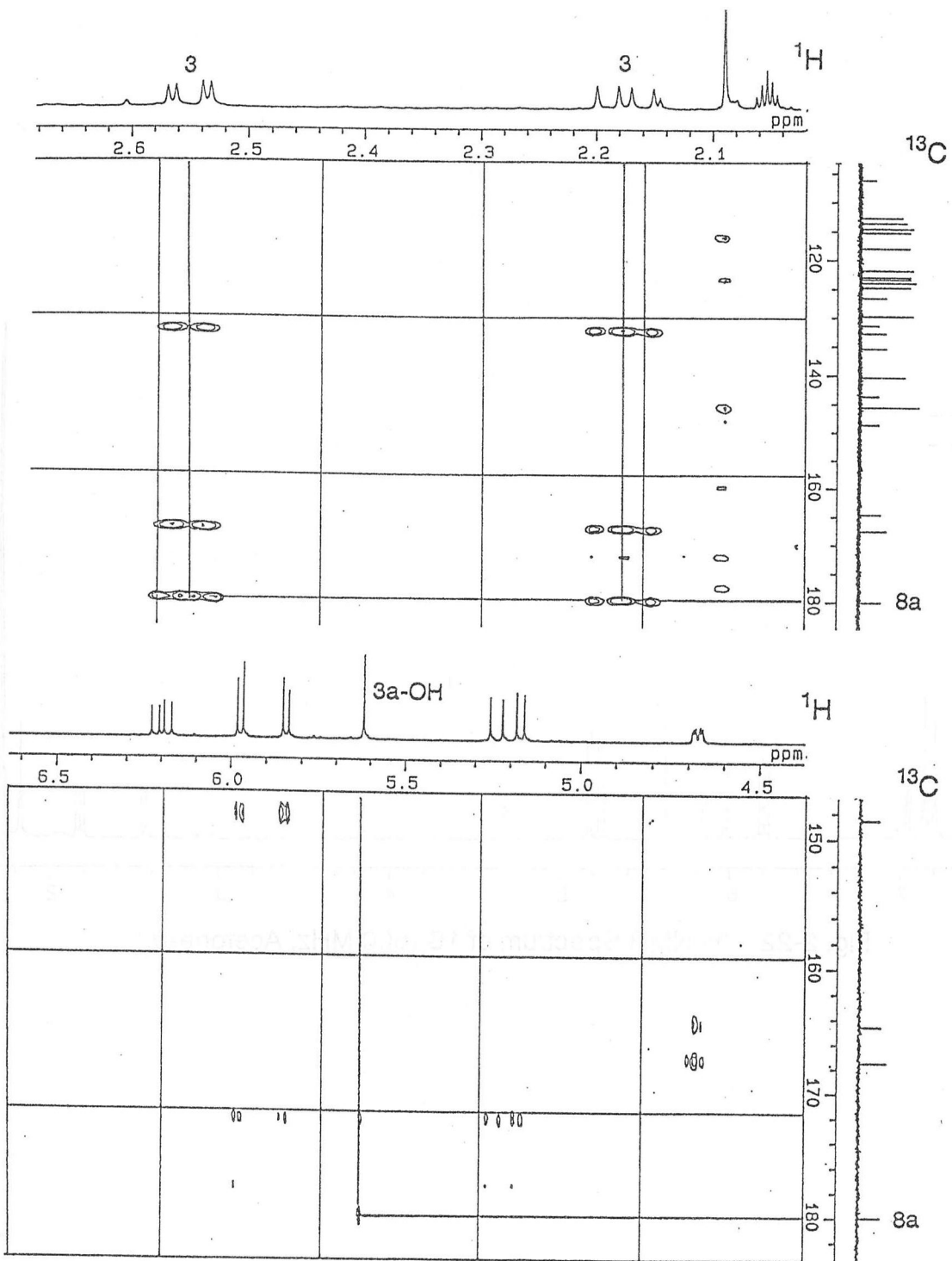


Fig. 2-23 HMBC Spectrum of 18

Table 2-14 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for Okaramine R (18)

No	δ_C (Mult.)	δ_H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	52.1 (d)	4.68 (ddd, 9.5, 3.7, 1.8)	3, 8a, 9, 12'
3	40.5 (t)	2.18 (dd, 15.0, 9.5) 2.55 (dd, 15.0, 3.7)	2, 3a, 8a, 9 2, 3a, 8a, 9
3a	75.2 (s)		
3b	132.6 (s)		
4	124.6 (d)	7.47 (dd, 7.3, 1.5)	3a, 6, 7a
5	123.2 (d)	7.04 (ddd, 7.3, 6.7, 1.8)	3b, 7
6	129.6 (d)	7.23 (td, 6.7, 1.5)	4, 7a, 10
7	115.0 (s)	7.20 (dd, 6.7, 1.8)	3b, 5
7a	143.5 (s)		
8a	179.9 (s)		
9	167.4 (s)		
10	61.1 (s)		
11	145.4 (d)	6.20 (dd, 17.4, 11.3)	10, 13, 14
12	113.4 (t)	5.18 (d, 17.4) 5.24 (d, 11.3)	10, 11
13	25.9 (q)	1.73 (s)	10, 11, 12
14	28.2 (q)	1.83 (s)	10, 11, 13
1'	114.4 (d)	7.61 (s)	2', 6a', 11a', 12'
2'	126.4 (s)		
4'	123.8 (t)	5.84 (d, 8.2)	5', 6', 6a'
5'	140.2 (d)	5.97 (d, 8.2)	4', 6a', 13', 14'
6'	36.9 (s)		
6a'	148.5 (s)		
7a'	135.2 (s)		
8'	112.5 (d)	7.38 (d, 7.0, 1.5)	10', 11a'
9'	122.8 (d)	7.13 (td, 7.0, 1.5)	7a', 11'
10'	121.6 (d)	7.17 (td, 7.0, 1.5)	8', 11a'
11'	117.8 (d)	7.68 (dd, 7.0, 1.5)	7a', 9'
11a'	131.2 (s)		
11b'	106.0 (s)		
12'	164.5 (s)		
13'	27.3 (q)	1.72 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	27.9 (q)	1.70 (s)	5', 6', 6a', 13'
3a-OH		5.62 (s)	8a, 3b
1-NH		7.51 (br. s)	2', 9
7'-NH		10.68 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

第4節 関連物質 1~5 の平面構造

2.4.1. 関連物質 3 (21)

化合物 **21** の分子式はHR-FABMS より $C_{22}H_{20}N_4O_2$ と決定した。 ^{13}C -NMR スペクトルデータ (Table 2-15) において 11 種の異なる炭素のみのシグナルを示した (溶媒の $MeOH-d_4$ 由来のシグナルは差し引く)。このことは、分子内に対称に配置された同一構造の重複が存在していることを示唆した。UV スペクトルよりインドール核に特徴的な吸収を示し、また 1H -NMR (Fig. 2-25, Table 2-15) と 1H - 1H COSY、HSQC スペクトルより $\delta_H 7.30$ (d, $J=7.3$) および $\delta_H 7.09$ (t, $J=7.3$)、 $\delta_H 7.00$ (t, $J=7.3$)、 $\delta_H 7.44$ (d, $J=7.3$)、 $\delta_H 6.45$ (s) のシグナルがインドール核部分に、 $\delta_H 2.16$ (dd, $J=14.0, 7.0$) および $\delta_H 2.91$ (dd, $J=14.0, 3.9$)、 $\delta_H 4.02$ (dd, $J=7.0, 3.9$) のシグナルは、ABX 系のスペクトルパターンに帰属された。これらのことから **21** は 2 分子のトリプトファン (Trp) がジケトピペラジン環を介して縮合した化合物と考えられた。また、このことは FABMS スペクトルのフラグメントピーク、さらに HMBC 測定から得られた相関からも支持された。

以上より化合物 **21** の平面構造を Fig. 2-24 のように決定した。

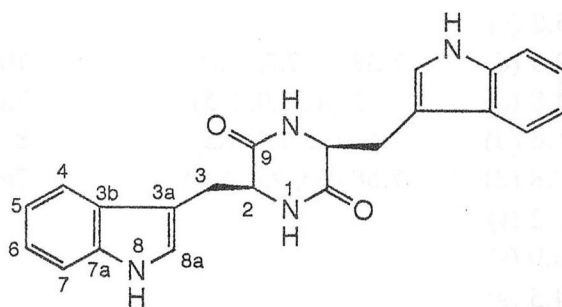


Fig. 2-24 Structure of 21

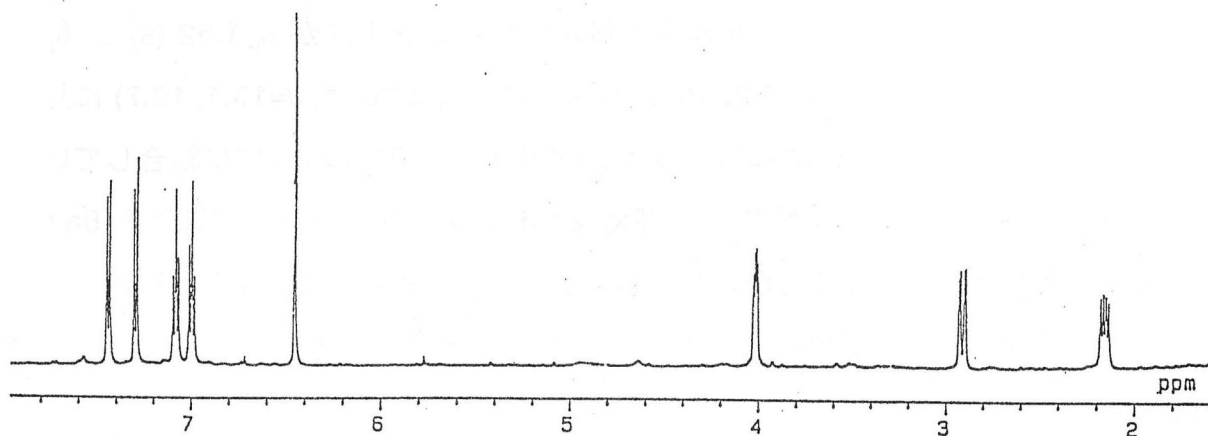


Fig. 2-25 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of 21 (500 MHz, CD_3OD)

Table 2-15 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data for 21

No	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	56.8 (d)	4.02 (dd, 7.0, 3.9)	3, 3a, 9
3	31.4 (t)	2.16 (dd, 14.0, 7.0) 2.91 (dd, 14.0, 3.9)	3a, 3b, 8a 3a, 3b, 8a, 9
3a	109.4 (s)		
3b	128.6 (s)		
4	119.7 (d)	7.44 (d, 7.3)	3a, 6, 7a
5	120.1 (d)	7.00 (t, 7.3)	3b, 7
6	122.5 (d)	7.09 (t, 7.3)	4, 7a
7	112.4 (d)	7.30 (d, 7.3)	3b, 5
7a	138.0 (s)		
8a	125.9 (d)	6.45 (s)	3a, 3b, 7a
9	169.7 (s)		

Taken in $\text{MeOH-}d_4$ at 500 MHz ($^1\text{H-NMR}$) and at 125 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$).

2.4.2 関連物質 1 (19)

化合物 **19** の分子式はHR-EIMS より $C_{32}H_{36}N_4O_2$ と決定した。 ^{13}C -NMR スペクトルデータ (Table 2-16) において 16 種の異なる炭素のみのシグナルが観測されたため、**21** と同様に分子中に対称性を持つと考えられた。そこで **21** と 1H -NMR スペクトル (Fig. 2-27, Table 2-16) を比較した。その結果、**21** の 8a 位に帰属されるシグナルが見られず、新たに α, α -ジメチルアリル基に帰属されるシグナルが δ_H 1.62 (s) と δ_H 1.65 (s)、 δ_H 5.14 (t, $J=10.7, 1.2$)、 δ_H 5.20 (d, $J=17.4, 1.2$)、 δ_H 6.30 (d, $J=17.4, 10.7$) に見られた。これらのことより **19** は α, α -ジメチルアリル基が **21** の 8a 位に結合していると考えられ、さらに HMBC スペクトル (Fig. 2-28) において、メチル基から 8a 位 (δ_C 142.5) に相関が認められたことから明らかになった。これらのことより **19** は 8a 位に α, α -ジメチルアリル基が置換した Trp がジケトピペラジン環を介して縮合した化合物であった。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-26 のように決定した。また **19** は gypsetin の全合成研究の過程で合成された化合物であるけれども¹⁵⁾、天然物からの報告は今回が初めてである。

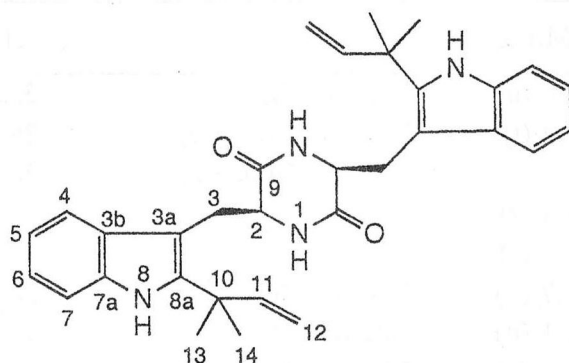


Fig. 2-26 Structure of **19**

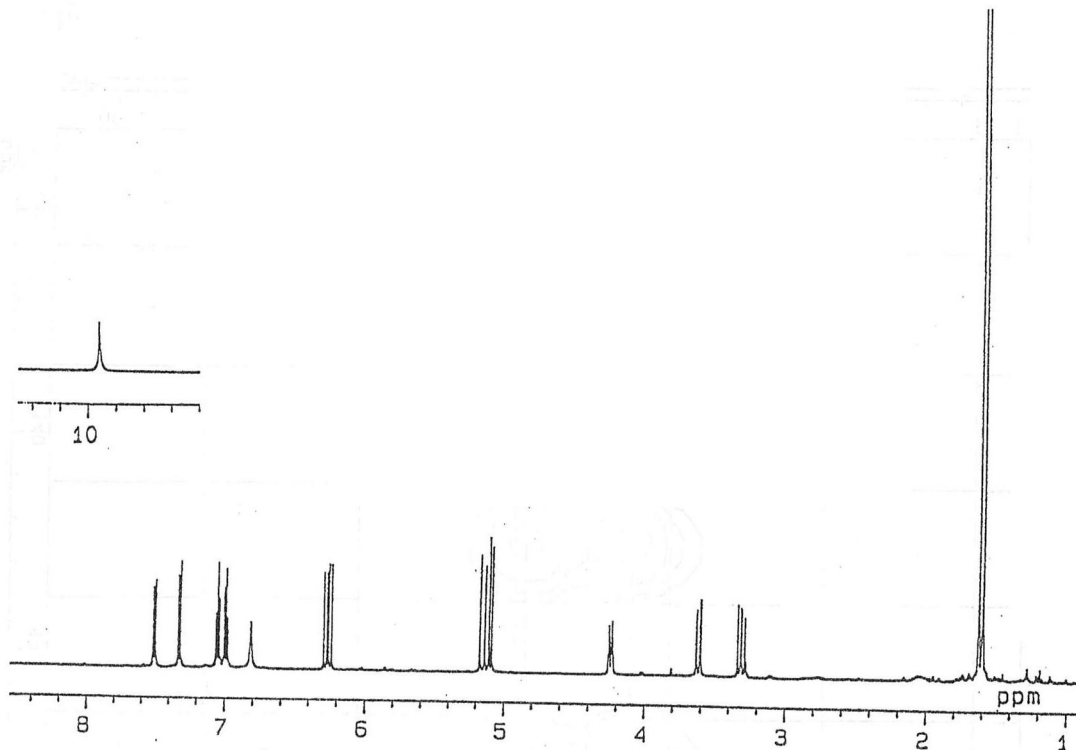


Fig. 2-27 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **19** (500 MHz, Acetone- d_6)

Table 2-16 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data for **19**

No	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	57.3 (d)	4.28 (dt, 11.3, 2.8)	3, 3a, 9
3	32.5 (t)	3.34 (dd, 14.3, 11.3) 3.65 (dd, 14.3, 2.8)	3b, 8a, 9 3b, 8a, 9
3a	106.2 (s)		
3b	130.3 (s)		
4	119.0 (d)	7.52 (d, 7.9)	3a, 6, 7a
5	119.8 (d)	7.02 (td, 7.9, 1.2)	3b, 7
6	121.8 (d)	7.08 (td, 7.9, 1.2)	4, 7a
7	111.7 (d)	7.34 (d, 7.9)	3b, 5
7a	136.2 (s)		
8a	142.5 (s)		
9	168.0 (s)		
10	40.0 (s)		
11	147.5 (d)	6.30 (dd, 17.4, 10.7)	10, 13, 14
12	111.9 (t)	5.14 (dd, 10.7, 1.2) 5.20 (dd, 17.4, 1.2)	10, 11 10
13	27.6 (q)	1.62 (s)	8a, 10, 11, 14
14	28.6 (q)	1.65 (s)	8a, 10, 11, 14
1-NH		6.84 (d, 2.8)	2, 9
8-NH		9.90 (br. s)	3a, 3b

Taken in acetone- d_6 at 500 MHz ($^1\text{H-NMR}$) and at 125 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$).

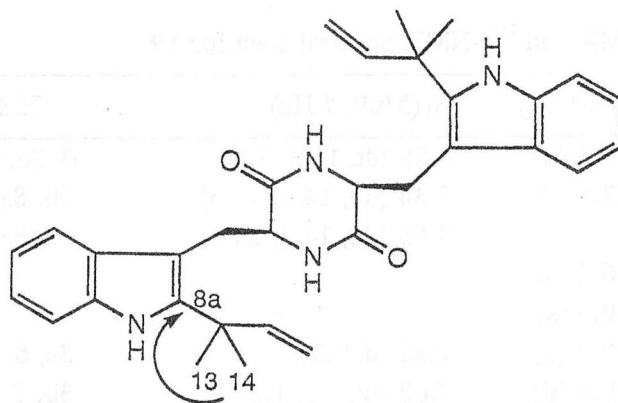
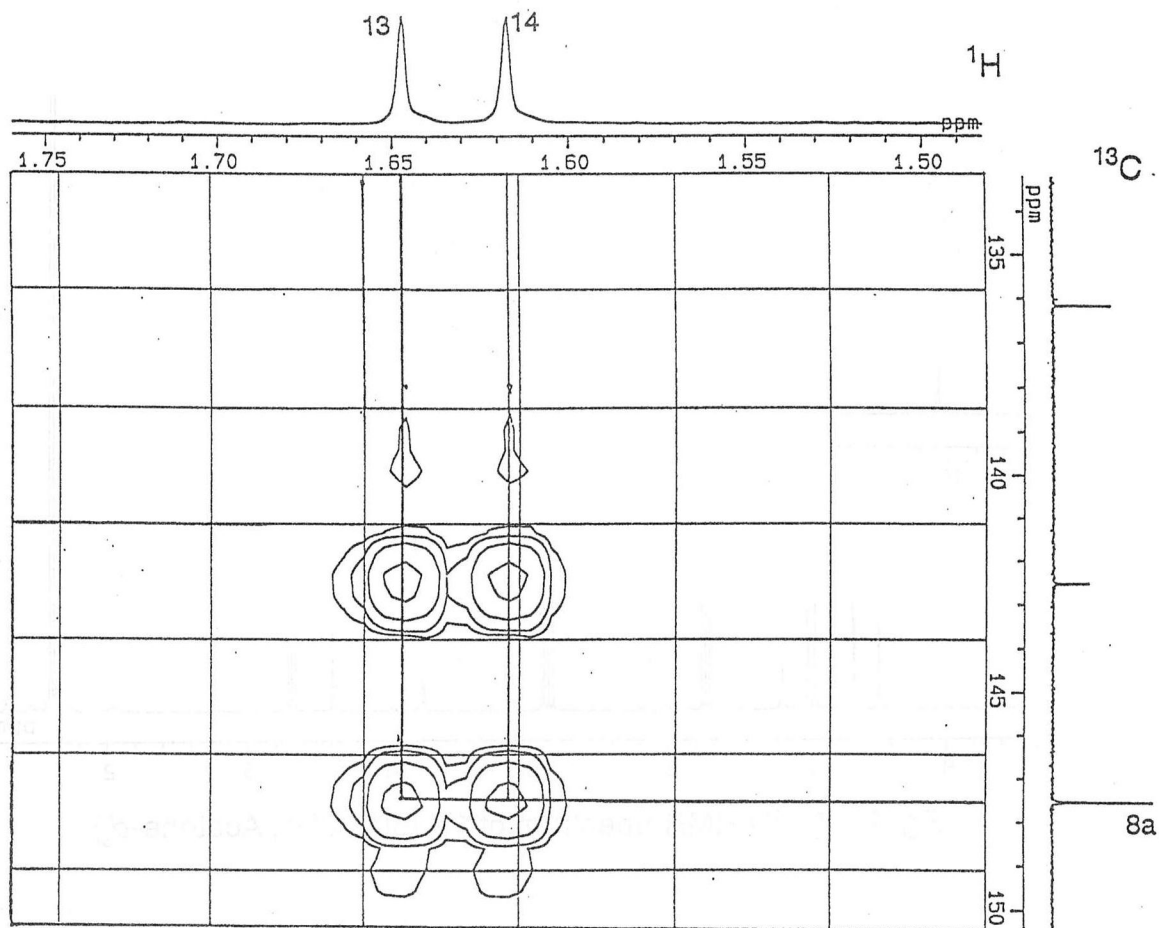


Fig. 2-28 HMBC Spectrum of 19

2.4.3. 関連物質 4 (22) および 5 (23)

化合物 **22** と **23** の分子式はそれぞれHR-FABMS と HR-EIMSより いずれも $C_{27}H_{28}N_4O_2$ と決定した。さらに **22** と **23** は共に MS スペクトルのフラグメントパターンより、**21** に 1 分子の α, α -ジメチルアリル基が置換した化合物であると考えられた。そこでそれぞれ 1H - および ^{13}C -NMR データ (Fig. 2-30, 31, Table 2-17, 18) を解析し、さらに HMBC スペクトルデータより、**22** においてはメチル基から 6a' 位のカーボンに相関が見られ、**23** においては 8a 位のプロトンと 10 位の 4 級カーボンとに相関が見られたため (Fig. 2-32)、**22** と **23** はそれぞれ α, α -ジメチルアリル基が **21** の 8a 位と 8 位に結合した化合物であることが分かった。

以上より化合物 **22** と **23** の平面構造を Fig. 2-29 のように決定した。またこれらの化合物はともに新規化合物であった。

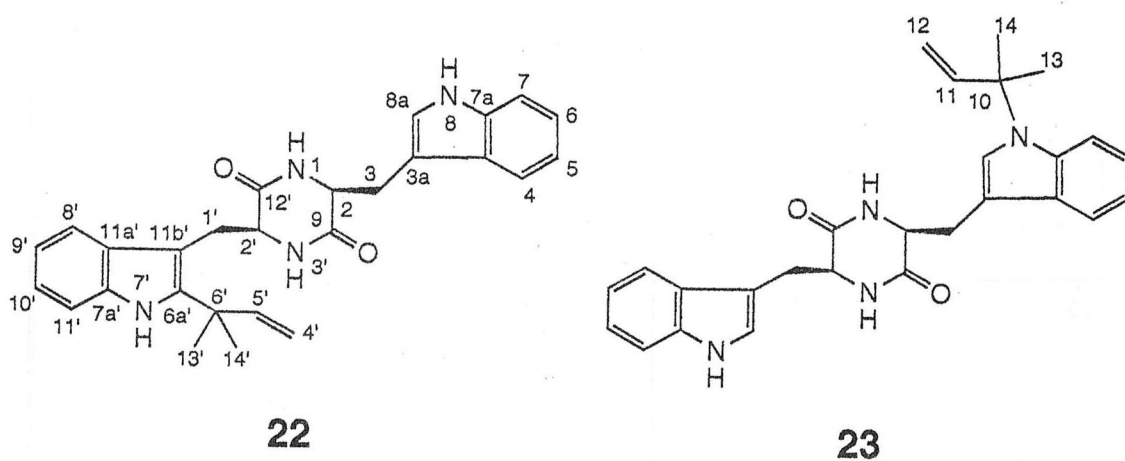


Fig. 2-29 Structures of **22** and **23**

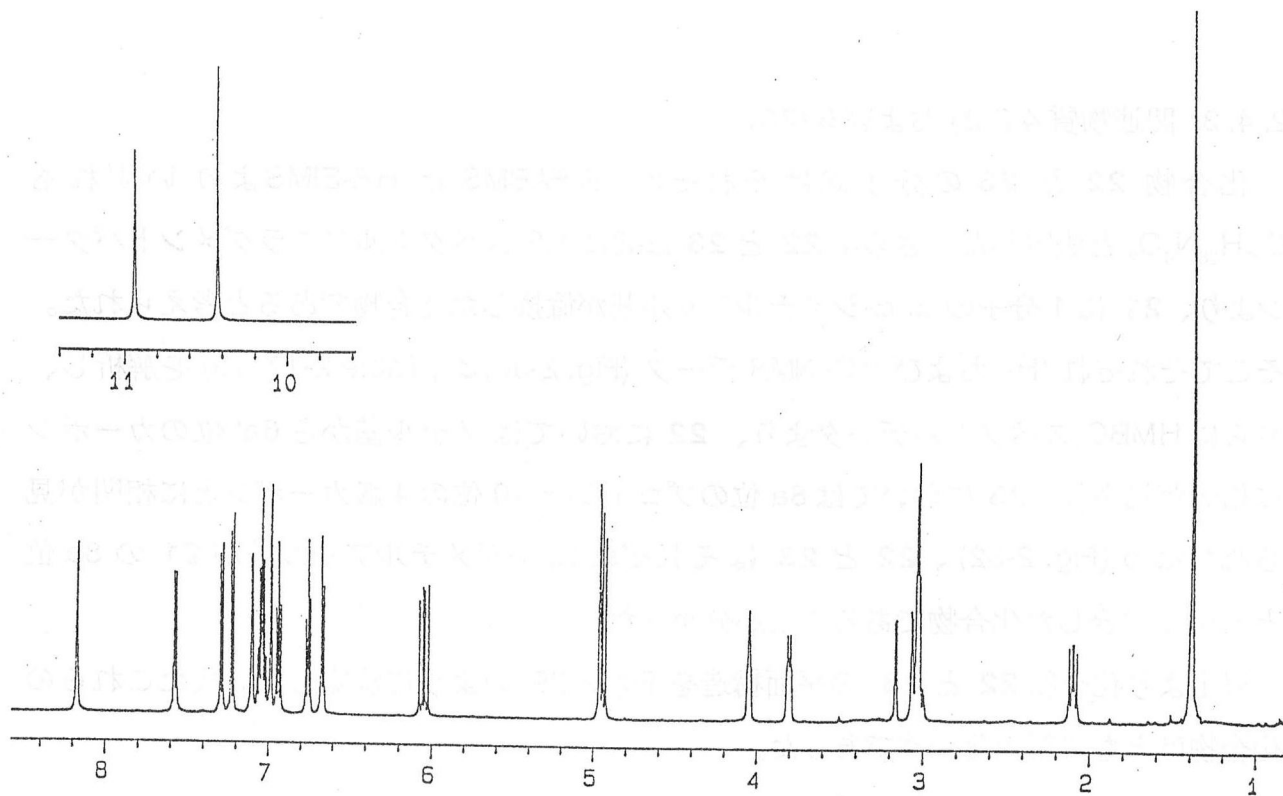


Fig. 2-30 ¹H-NMR Spectrum of 22 (500 MHz, DMSO-*d*₆)

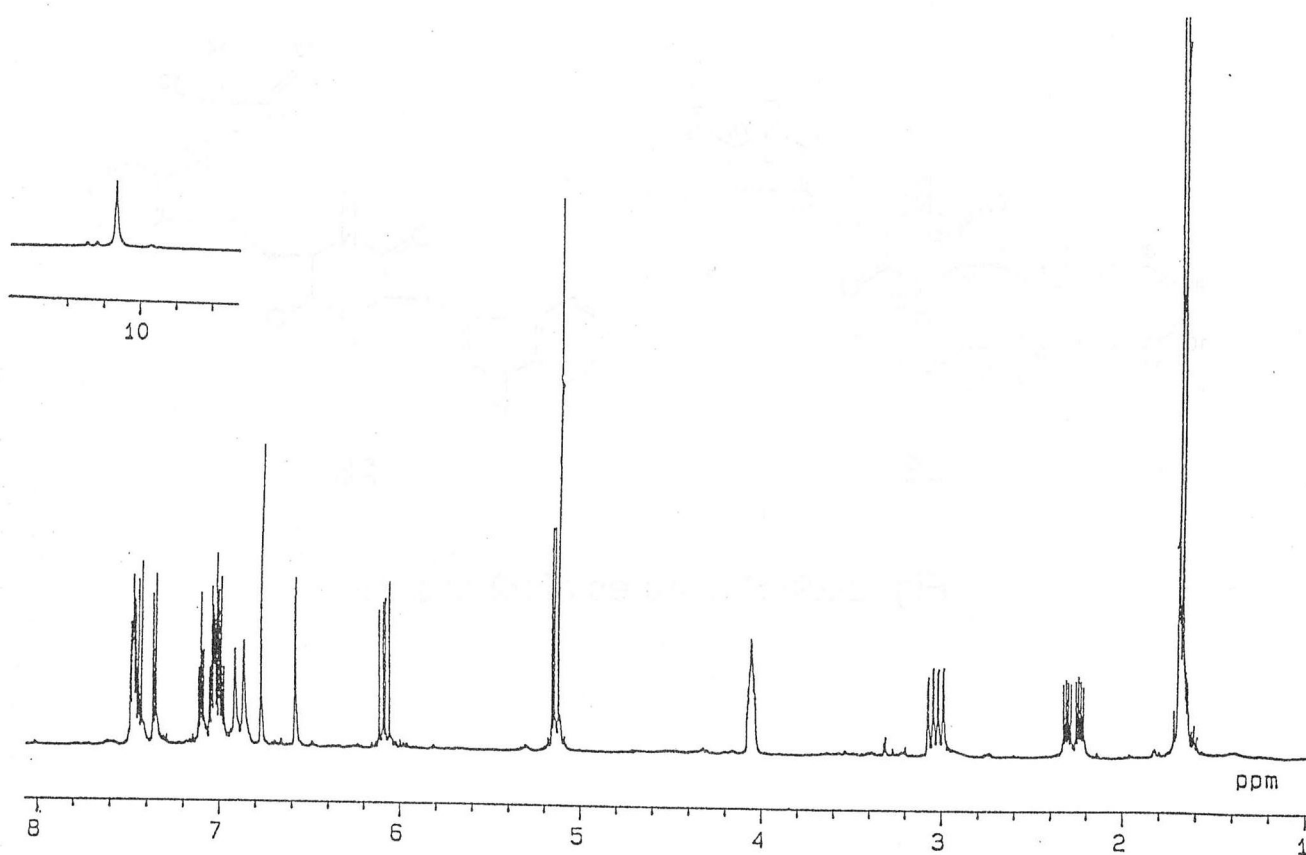


Fig. 2-31 ¹H-NMR Spectrum of 23 (500 MHz, Acetone-*d*₆)

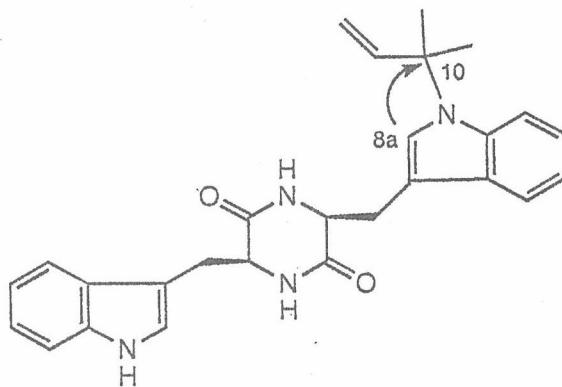
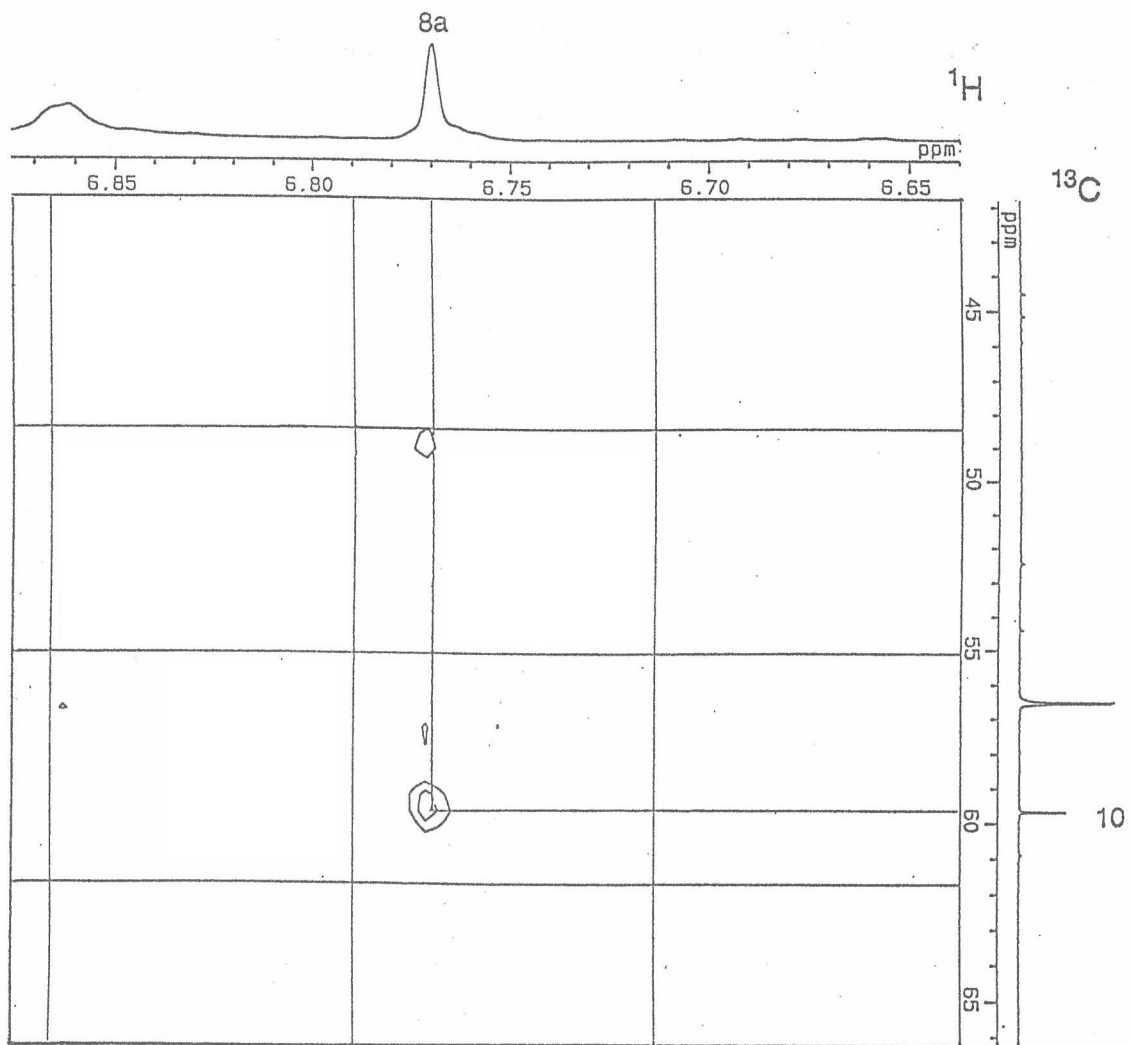


Fig. 2-32 HMBC Spectrum of 23

Table 2-17 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for 22

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	55.4 (d)	4.05 (m)	3a, 12'
3	29.7 (t)	3.08 (dd, 14.6, 4.6) 3.00 (dd, 14.6, 3.4)	2, 3b, 8a, 9 2, 3b, 8a, 9
3a	108.5 (s)		
3b	127.4 (s)		
4	118.7 (d)	7.58 (dd, 7.6, 0.6)	3a, 6, 7a
5	118.3 (d)	7.03 (td, 7.6, 1.2)	3b, 7
6	120.8 (d)	7.06 (td, 7.6, 0.6)	4, 7a
7	111.2 (d)	7.30 (dd, 7.6, 1.2)	3b, 5
7a	135.9 (s)		
8a	124.4 (d)	6.99 (d, 1.5)	3a, 7a
9	166.9 (s)		
1'	30.5 (t)	2.11 (dd, 14.5, 9.5) 3.04 (m)	2', 6a', 11a', 11b', 12' 2', 6a', 11a', 11b', 12'
2'	56.2 (d)	3.81 (dt, 9.5, 3.0)	9, 11b'
4'	110.0 (t)	4.95 (dd, 17.7, 1.2) 4.96 (dd, 10.7, 1.2)	6' 5', 6'
5'	146.2 (d)	6.06 (dd, 17.4, 10.7)	6', 13', 14'
6'	39.9 (s)		
6a'	140.6 (s)		
7a'	134.4 (s)		
8'	110.4 (d)	7.23 (d, 7.9)	10', 11a'
9'	120.1 (d)	6.95 (dd, 7.9, 7.0)	7a', 11'
10'	118.3 (d)	6.76 (dd, 7.9, 7.0)	8', 11a'
11'	118.0 (d)	6.67 (d, 7.9)	7a', 9', 11b'
11a'	129.0 (s)		
11b'	105.0 (s)		
12'	166.2 (s)		
13'	27.7 (q)	1.40 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	27.7 (q)	1.40 (s)	5', 6', 6a', 13'
1-NH		7.11 (br. s)	2, 9
3'-NH		8.18 (d, 3.0)	2', 12'
7'-NH		10.43 (br. s)	6a', 11a', 11b'
8-NH		10.94 (d, 1.5)	3a, 3b

Taken in DMSO-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

Table 2-18 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ Spectral Data for **23**

No	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	56.4 (d)	4.06 (m)	12'
3	31.2 (t)	2.24 (dd, 14.0, 7.3)	2, 3a, 3b, 8a, 9
		3.00 (dd, 14.0, 4.0)	2, 3a, 3b, 8a, 9
3a	108.6 (s)		
3b	130.3 (s)		
4	120.0 (d)	7.44 (dd, 7.9, 1.2)	3a, 6, 7a
5	119.5 (d)	6.99 (ddd, 7.9, 7.0, 1.2)	3b, 7
6	121.3 (d)	7.04 (ddd, 8.2, 7.0, 1.2)	4, 7a
7	114.5 (d)	7.43 (dd, 8.2, 1.2)	3b, 5
7a	136.5 (s)		
8a	126.2 (d)	6.77 (s)	3a, 3b, 7a, 10
9	167.8 (s)		
10	59.6 (t)		
11	145.2 (d)	6.08 (dd, 17.4, 10.7)	10, 13, 14
12	113.7 (s)	5.14 (dd, 10.7, 0.6)	10, 11
		5.16 (dd, 17.4, 0.6)	10, 11
13	28.3 (q)	1.67 s	10, 11, 14
14	28.2 (q)	1.69 s	10, 11, 13
1'	31.6 (t)	2.30 (dd, 14.0, 7.3)	2', 6a', 11a', 11b', 12'
		3.06 (dd, 14.0, 4.0)	2', 6a', 11a', 11b', 12'
2'	56.5 (d)	4.06 (m)	9
6a'	125.6 (d)	6.58 (d, 2.1)	7a', 11a', 11b
7a'	137.5 (s)		
8'	112.2 (d)	7.35 (dd, 8.2, 1.2)	10', 11a'
9'	122.2 (d)	7.10 (ddd, 8.2, 7.0, 0.9)	7a', 11'
10'	119.7 (d)	7.01 (ddd, 7.9, 7.0, 1.2)	8', 11a'
11'	119.8 (d)	7.48 (dd, 7.9, 0.9)	7a', 9'
11a'	128.5 (s)		
11b'	109.9 (s)		
12'	167.9 (s)		
1-NH		6.86 (br. s)	2', 9
3'-NH		6.91 (br. s)	2, 12'
7'-NH		10.13 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'

Taken in acetone- d_6 at 500 MHz ($^1\text{H-NMR}$) and at 125 MHz ($^{13}\text{C-NMR}$).

2.4.4 関連物質 2 (20)

化合物 **20** の分子式は HR-EIMS より $C_{32}H_{36}N_4O_2$ と決定した。この分子式は **19** と同一であり、また EIMS スペクトルにおいてフラグメントパターンが **19** と類似していた。さらに **19** と NMR スペクトルデータ (Fig. 2-34, Table 2-19) を比較したところ、**19** に認められた分子内の対称性を示さず、新たに 8a 位に帰属されるメチンプロトンが認められ、2 種の α, α -ジメチルアリル基の一方の 4 級炭素が低磁場にシフトしていた。すなわちこれらのことより **20** は **19** の α, α -ジメチルアリル基の一方が、8-N 位に置換した化合物であることが示された。また HMBC 測定からも 2 種の α, α -ジメチルアリル基の結合位置が明らかになった。

以上より本化合物の平面構造を Fig. 2-33 のように決定した。またこの化合物は新規化合物であった。

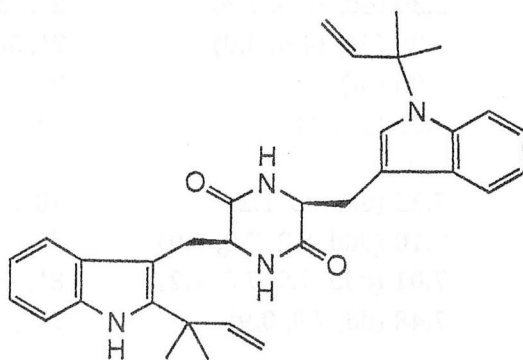


Fig. 2-33 Structure of **20**

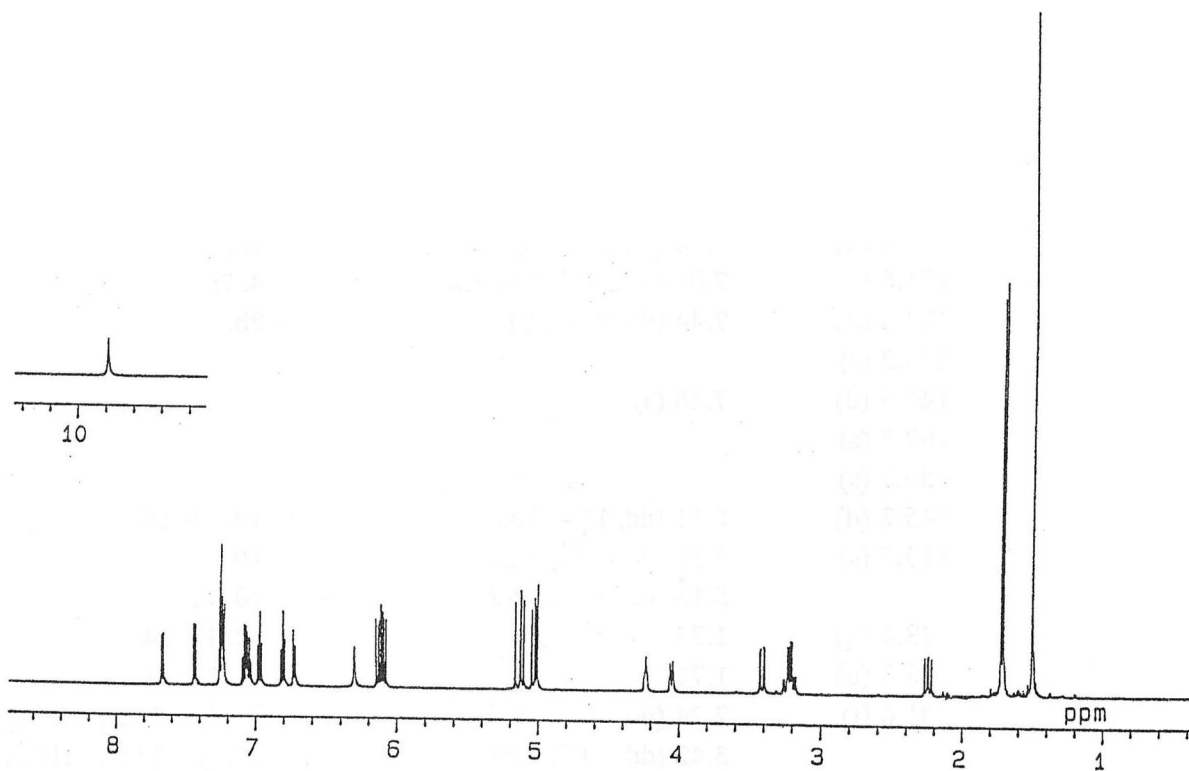


Fig. 2-34 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **20** (500 MHz, Acetone- d_6)

Table 2-19 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for 20

No	δ_c (Mult.)	δ_H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	56.8 (d)	4.24 (m)	3a, 12'
3	30.9 (t)	3.20 (dd, 14.4, 6.1) 3.25 (dd, 14.4, 4.3)	2, 3a, 3b, 8a, 9 2, 3a, 3b, 8a, 9
3a	108.6 (s)		
3b	130.6 (s)		
4	120.2 (d)	7.67 (dd, 7.0, 1.2)	3a, 6, 7a
5	119.6 (d)	7.08 (td, 7.0, 1.2)	3b, 7
6	121.6 (d)	7.05 (ddd, 8.2, 7.0, 1.2)	4, 7a
7	114.5 (d)	7.44 (dd, 8.2, 1.2)	3b, 5
7a	136.3 (s)		
8a	126.3 (d)	7.26 (s)	
9	167.3 (s)		
10	59.7 (s)		
11	145.2 (d)	6.11 (dd, 17.4, 10.7)	10, 13, 14
12	113.7 (s)	5.12 (dd, 10.7, 1.2) 5.15 (dd, 17.4, 14.2)	10 10, 11
13	28.4 (q)	1.73	10, 11, 14
14	28.3 (q)	1.71	10, 11, 13
1'	31.6 (t)	2.24 (dd, 14.7, 10.4) 3.42 (dd, 14.7, 2.8)	2', 6a', 11a', 11b', 12' 2', 6a', 11a', 11b', 12'
2'	57.9 (d)	4.06 (dt, 10.4, 2.8)	1', 11b', 12'
4'	111.9 (t)	5.02 (dd, 10.7, 1.2) 5.04 (dd, 17.4, 1.2)	6' 5', 6'
5'	147.2 (d)	6.12 (dd, 17.4, 10.7)	6', 6a', 13', 14'
6'	39.9 (s)		
6a'	141.7 (s)		
7a'	135.7 (s)		
8'	111.3 (d)	7.24 (dd, 8.2, 1.2)	10', 11a'
9'	121.6 (d)	6.97 (ddd, 8.2, 7.0, 1.2)	7a', 11'
10'	119.9 (d)	6.81 (ddd, 7.9, 7.0, 1.2)	8', 11a'
11'	119.3 (d)	6.73 (d, 7.9)	7a', 9', 11b'
11a'	130.5 (s)		
11b'	106.5 (s)		
12'	168.2 (s)		
13'	28.2 (q)	1.51 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	28.1 (q)	1.51 (s)	5', 6', 6a', 13'
1-NH		7.24 (br. s)	9
3'-NH		6.30 (d, 2.8)	2, 12'
7'-NH		9.79 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'

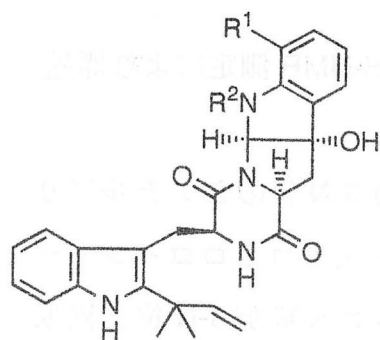
Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

第5節 結果と考察

第1章で単離された okaramine C (7) および H (8)、I (9) は $^1\text{H-NMR}$ 測定により標品とスペクトルデータを比較することにより同定した。

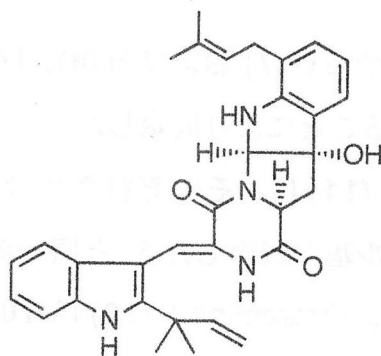
Okaramine J (10) および K (11) は、それぞれ7 および6の8-N位のジメチルアリル基が脱離し、7位にプレニル基が置換した8と同一のテトラヒドロピロロインドール核を有する化合物であった。Okaramine L (12) は10のプレニル基が8-N位に置換した化合物であった。Okaramine M (13) はアセチル基を8-N位に、 α, α -ジメチルアリル基を3a位に有し、他の類縁体とは異なる置換様式を示した。また、このような置換様式のピロロインドール核を有する化合物は13以外に *Penicillium fructigenum* TAKEUCHI より単離された fructigenine A および B が知られている¹⁶⁾。Okaramine N (14) は1のアゾシノインドール環の1'位と2'位間が飽和した化合物であり、okaramine O (15) は14の1'位に水酸基が置換し、okaramine P (16) は15の7位にプレニル基が置換した化合物であった。これら14および15は7から1が生合成される上で、アゾシノインドール環が形成される時の鍵中間体と考えられる。Okaramine Q (17) は2が合成される前段階の化合物であると推定される。また2の類縁体についてはこれまでに okaramine D (3) および E (4)、F (5) の3種が単離されているのみであるため、17は生合成経路や構造・活性相関を考察する上で興味深い類縁体である。Okaramine R (18) は分子内にオキシインドール環を有しており、1の生合成ルートから逸れた化合物であると推定できる (Fig. 2-35)。

関連物質3 (21) は2分子の Trp がジケトピペラジン環を介して縮合した化合物であった。関連物質1 (19) は8-N位に α, α -ジメチルアリル基が置換した Trp がジケトピペラジン環を介し縮合した化合物であった。すなわち21の8a位に α, α -ジメチルアリル基を有する化合物である。関連物質4 (22) および関連物質5 (23) はそれぞれ α, α -ジメチルアリル基が21の8a位と8位に結合した化合物であることが分かった。関連物質2 (20) は22の8-N位に α, α -ジメチルアリル基が置換した化合物であることが分かった。また関連物質は okaramine 類の生合成前駆体と考えられ、okaramine 類の生合成経路を考察する上で重要な化合物である (Fig. 2-35)。

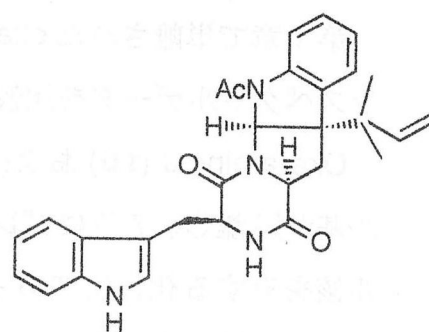


10 : $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$

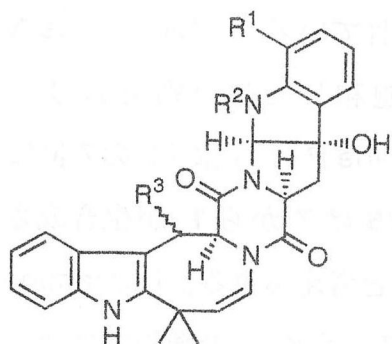
12 : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$



11



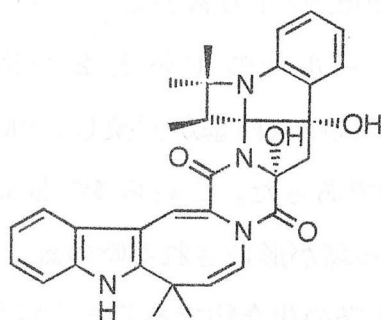
13



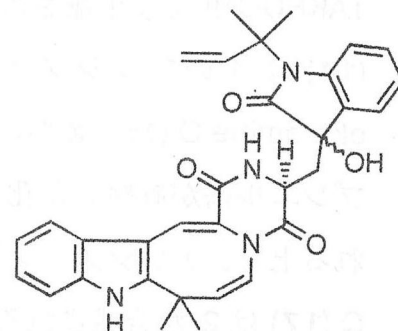
14 : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^3 = \text{H}$

15 : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^3 = \text{OH}$

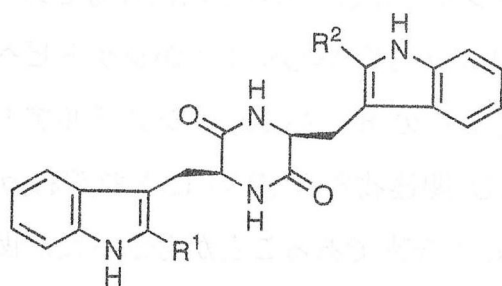
16 : $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{OH}$



17



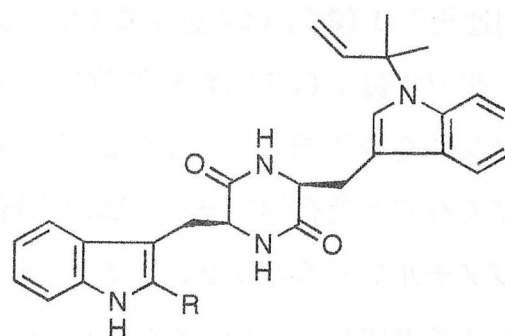
18



19 : $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

21 : $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{H}$

22 : $R^1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}$



20 : $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

23 : $R = \text{H}$

Fig. 2-35 Structures of New Okaramines and the Related Compounds

第3章 Okaramine C および J~Q と関連物質 1~5 の立体構造

序

前章で平面構造を決定した okaramine C および J~Q と関連物質 1~5 の立体構造について、NOESY 測定および酸加水分解反応より得られる情報を基に検討した。

第1節 実験方法

3.1.1. 酸加水分解反応

試料 (5 mg) と 6N HCl (1 ml) を入れた試験管 (ϕ 1.0 cm x 9.0 cm) の口から 2~3 cm の部分をガラス細工用バーナーで熱して内径 1~2 mm 程度にまで細く引き延ばす。次にその試験管を水流ポンプにつなぎ突沸しないように排気する。このとき注意深く減圧し、窒素を三方コックで導入して平衡化させる。再び減圧し、窒素ガスを導入という過程を数回繰り返した後、減圧下で試験管の首の細いところをガスバーナーで加熱して封管する。加水分解反応は 110 °C で 4 時間行う。反応が終われば、冷却後、試験管の上端を切り離し、加水分解物をナスフラスコに移し少量の水を加えて、エバポレーターで減圧し、HCl を除去する。この操作を数回繰り返し HCl を完全に除去し、少量の水を加えて次に述べる HPLC 用キラルカラムに供する試料にした。またその試料に含まれる Trp を必要に応じて HPLC 用 ODS カラムで分析し、分取した。

3.1.2. 分析方法

1. 分析条件

カラム : Inertsil ODS 4.6 x 150 mm、移動相 : $\text{CH}_3\text{CN} / \text{H}_2\text{O} = 10 / 90$ 、

流速 : 0.8 ml / min、温度 : 25 °C、検出 : UV 280 nm、Tryptophan : R_t 6.8 min

2. 分析条件 (光学異性体の分割条件)

カラム : CROWNPAK CR (+) 4.0 x 150 mm、移動相 : aq. HClO₄ pH 2.0 / MeOH = 90 / 10、流速 : 0.6 ml / min、温度 : 30 °C、検出 : UV 280 nm、D-Tryptophan : *Rt* 19.6 min、L-Tryptophan : *Rt* 24.3 min

3. 円二色性 (CD) スペクトル

CD スペクトルは円偏光二色性分散計 J-720WI (日本分光社) を用いて測定した。

第2節 関連物質 1~5 の立体構造

3.2.1. 関連物質 3

関連物質 3 (21) の酸加水分解物をキラルカラムにより分析したところ、L-Trp と同一の保持時間を示した (Fig. 3-1)。このことより 21 の構成アミノ酸である Trp は L 体であり、2 位の立体配置は *S* 配置であることが明らかになった (Fig. 3-3)。

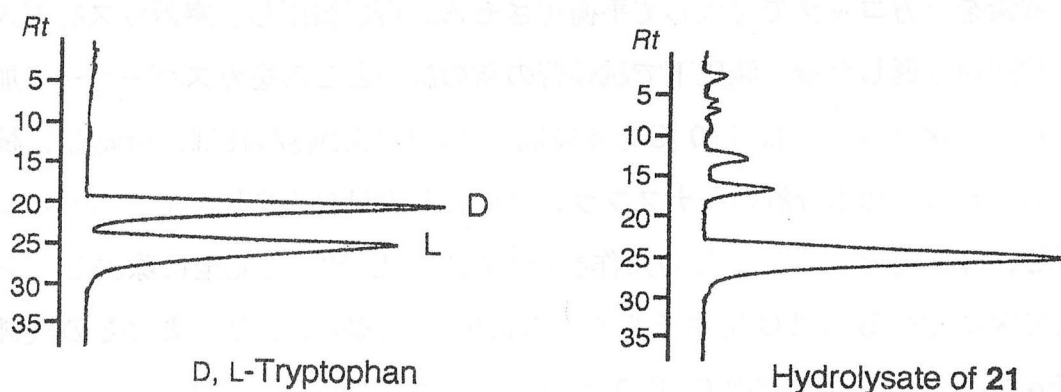


Fig. 3-1 HPLC Analysis of D, L-Tryptophan

3.2.2. 関連物質 1 および 2、4、5

関連物質 1 (19) および 2 (20)、4 (22)、5 (23) の立体配置を決定するためにまず 21 の CD スペクトルと 19 および 20、22、23 のそれらと比較した (Table 3-1)。その結果それぞれの CD スペクトルの 210-220 nm 付近に見られる負のコットン効果が 21 と近似していた。これらのことより 19 および 20、22、23 のいずれも 21 と同一の立体配置を有すると考えられた。また 19 の加水分解反応より得られた分解物は、

HPLC 分析により Trp に基づくピークが見られ (Fig. 3-2)、その上 HPLC 用キラルカラムにより L 体であることが判明した。またこのような酸性条件下での Trp の 8a 位や 8 位に置換した α, α -ジメチルアリル基が脱離することは既に報告されていることから¹⁷⁾、**19** においても α, α -ジメチルアリル基が脱離したと考えられる。そこで **20** と **22**、**23** についても同様に行い、それぞれの立体配置をいずれも *S* 配置と決定した (Fig. 3-3)。

Table 3-1 CD Data of **19**, **20**, **21**, **22** and **23**

	19	20	21	22	23
CD [$\Delta\epsilon$] (nm)	-35.3 (224)	-36.5 (228)	-37.0 (217)	-30.7 (226)	-24.7 (212)

Recorded in MeOH at 23°C.

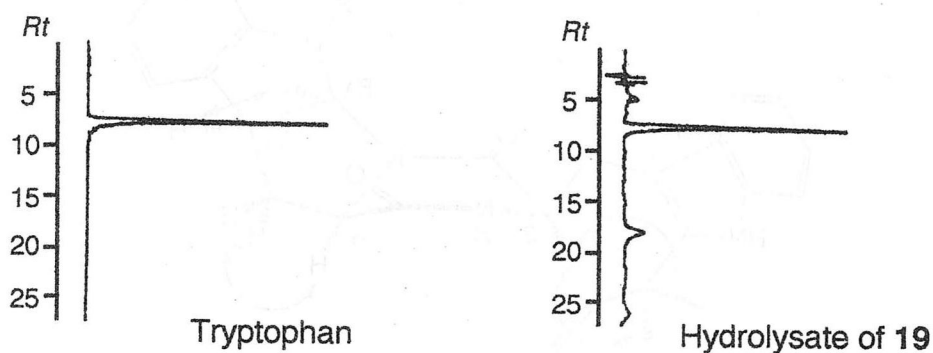


Fig. 3-2 HPLC Analysis of Tryptophan

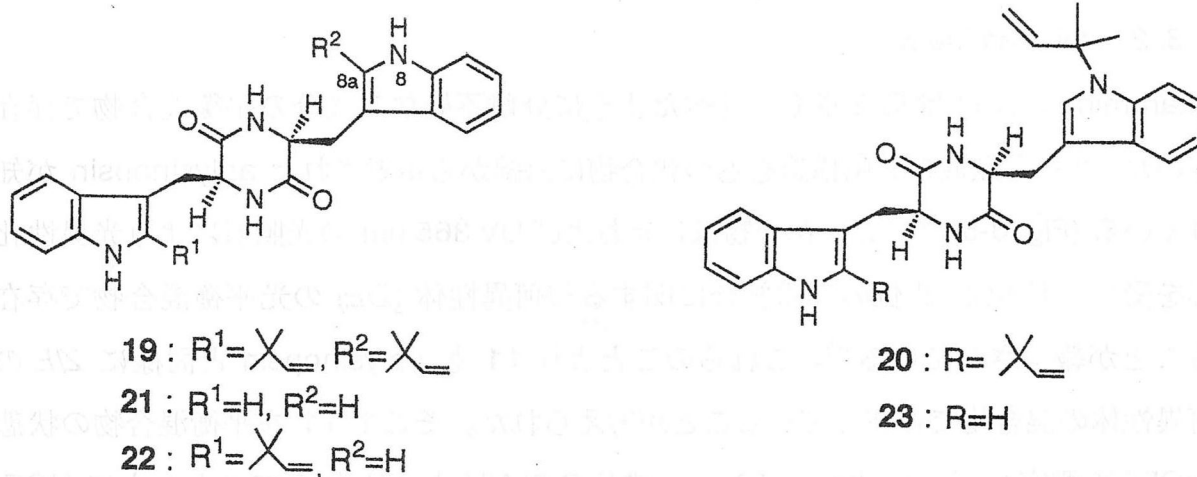


Fig. 3-3 Absolute Stereochemistry of **19-23**

第3節 Okaramine C および J~R の立体配置

3.3.1. Okaramine C および J, L

3.2.2. で **19** の加水分解により Trp が得られたことを利用し、okaramine C (**7**) の加水分解物をキラルカラムにより分析した。その結果、L-Trp が認められたことから **7** の 2' 位の配置を *S* 配置と決定した。さらに okaramine J (**10**) と L (**12**) についても同様に行き、それぞれの 2' 位の配置を *S* 配置と決定した。

また 2 位および 3a 位、8a 位の相対配置については、NOESY スペクトルデータおよび既に X 線結晶構造解析より相対構造が決定している okaramine A (**1**) の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおけるシフト値とカップリング定数を比較することにより決定した (Fig. 3-4)。絶対構造に関しては、第 5 章で述べる生合成経路を考慮して推定した (Fig. 3-4)。

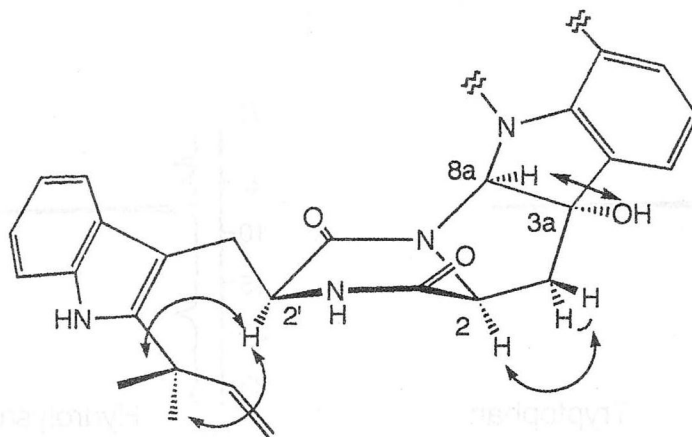


Fig. 3-4 NOESY Correlations (arrow) for **7**, **10** and **12**

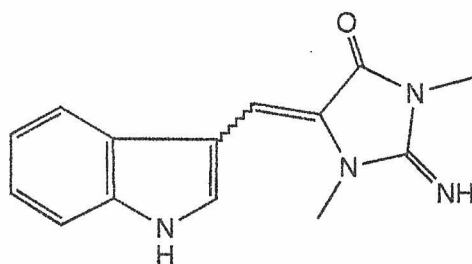
3.3.2. Okaramine K

Okaramine K (**11**) は第 2 章でも述べたように分離不能な二成分の平衡混合物で存在していた。**11** と類似の共鳴構造をもつ化合物に海綿から単離された aplysinopsin が知られている (Fig. 3-5)¹⁸⁾。この化合物は日光および UV 365 nm の光照射により光異性化反応を受け、1' 位と 2' 位の二重結合に関する幾何異性体 (*Z/E*) の光平衡混合物で存在することが報告されている¹⁹⁾。これらのことより **11** も aplysinopsin と同様に *Z/E* の幾何異性体の混合物で存在していることが考えられた。そこで **11** を平衡混合物の状態 で NOESY 測定を行った結果、メジャー成分の 3'-NH と 11' 位のプロトンとに NOE

相関が見られ、またマイナー成分の 3'-NH と 1' 位のプロトンとの間に NOE 相関が見られた (Fig. 3-7)。従って、**11** は予想されたように幾何異性体の混合物で存在していることが示された (Fig. 3-6)。

次に光照射による異性化反応を試みた。**11** を NMR チューブに充填し、外部より UV 365 nm を照射し、¹H-NMR の積分比により反応を追跡した。その結果、6 時間後には $Z/E=60/40$ の平衡に達し、照射後 1、2 日で副生成物の生成はなく、元の比率 ($Z/E=90/10$) に変換されることが確認された (Fig. 3-8)。

また 2 位および 3a 位、8a 位の相対配置については ¹H-NMR スペクトルのシフト値とカップリング定数を **1** と比較することにより決定した。また **7** と **10**、**12** と同様に生合成経路を考慮して絶対構造を推定した。



$Z/E=5/95$ (Natural isomer ratio)

Fig. 3-5 Structure of Aplysinopsin

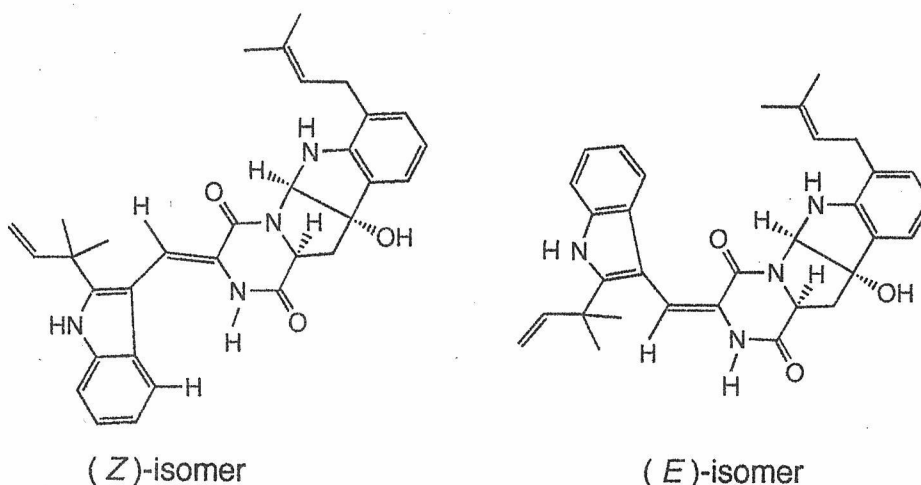


Fig. 3-6 (Z / E)-Forms of **11**

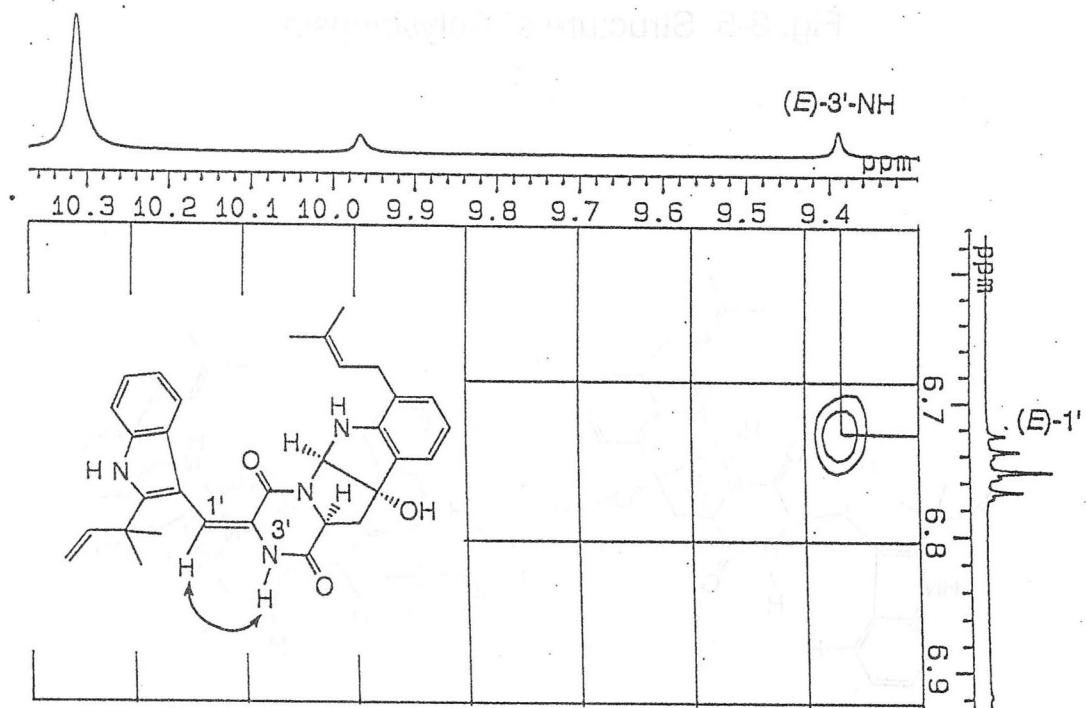
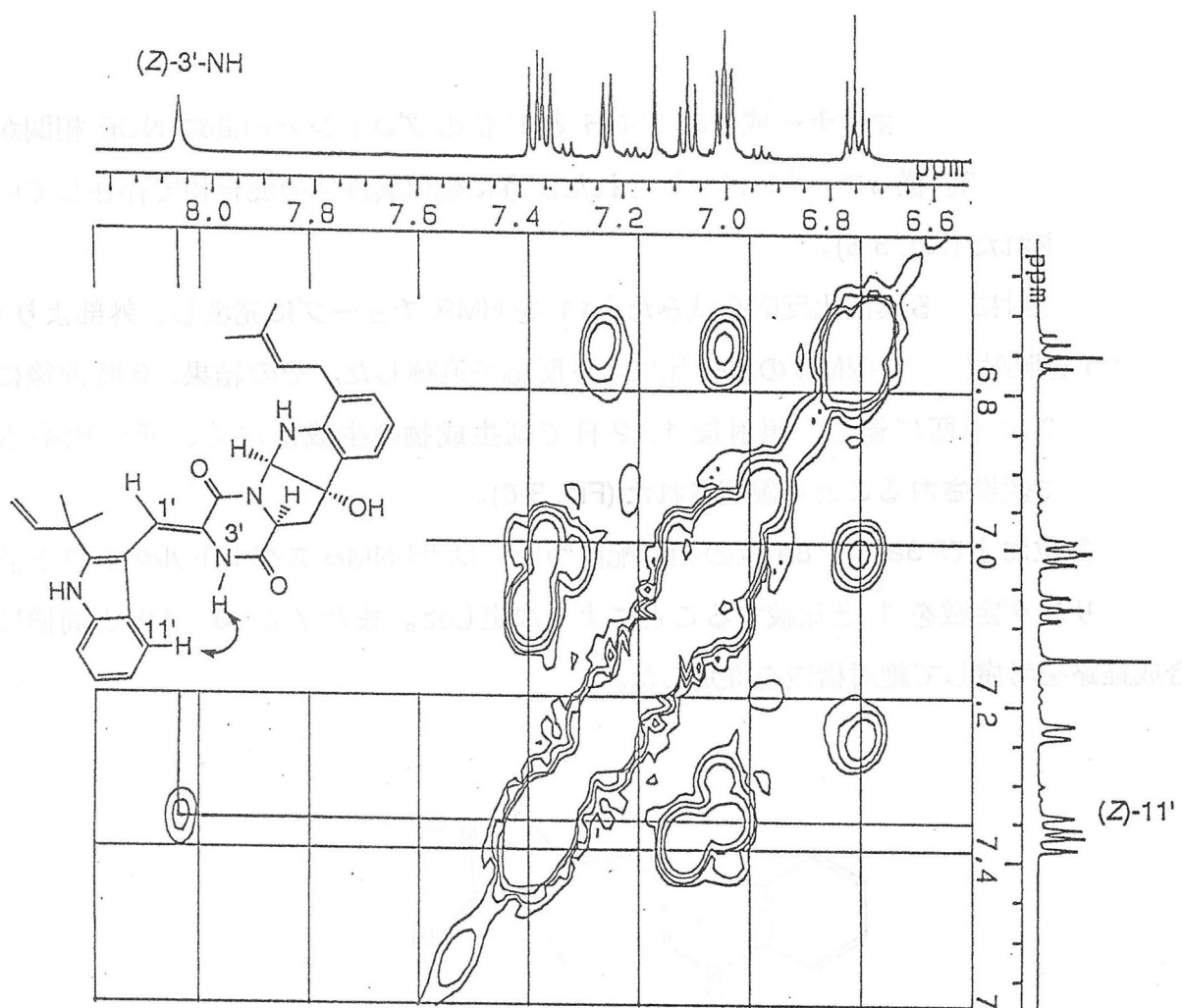


Fig. 3-7 NOESY Spectrum of 11

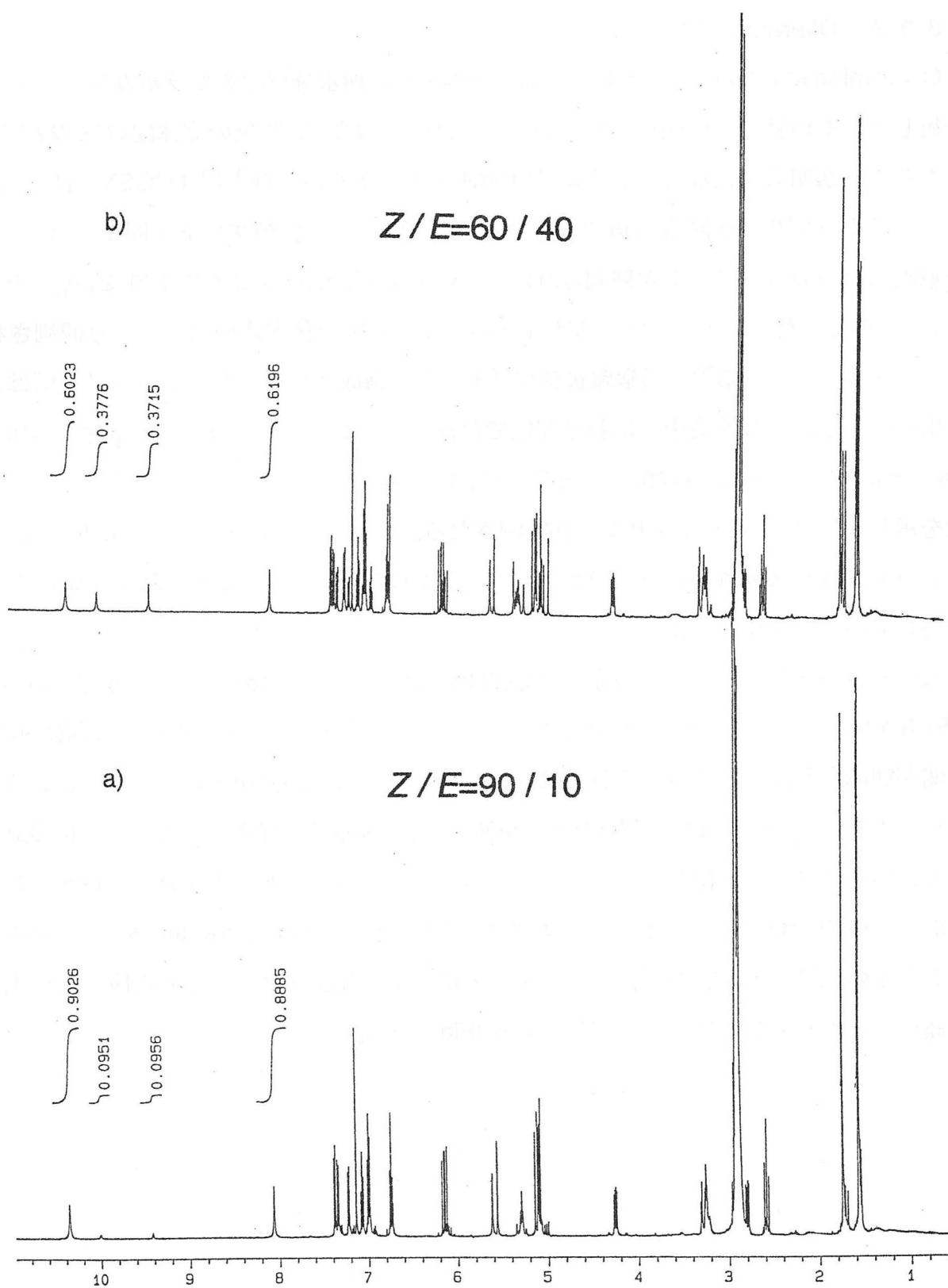


Fig. 3-8 a) $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **11**

b) $^1\text{H-NMR}$ Spectrum of **11** after UV Irradiation (365 nm, 6 hr)

3.3.3. Okaramine M

Okaramine M (**13**) の酸加水分解反応より得られた加水分解物をキラルカラムにより分析した。その結果、L-Trp が認められたことから、**13** の 2' 位の立体配置は *S* 配置であることが明らかになった。また $^1\text{H-NMR}$ スペクトルおよび $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$, $^1\text{H-}$ ホモスピンドカップリング測定 (Fig. 3-9) において、2 位と 2' 位のプロトン間に $^5J(\text{H}, \text{H})$ の遠隔スピンドカップリングが観測された [2; δ_{H} 3.70 (ddd, $J=12.2, 5.2, 1.2$), 2'; δ_{H} 4.48 (m)]。この事実は、溶液中によるジケトピペラジン環の立体配座の相違により観測されることが知られている²⁰。通常環状ジペプチドより構成されるジケトピペラジン環は、自由度に制限があり溶液中では船型配座で存在していると考えられている (Fig. 3-10)。特に Fig. 3-10 (A) のような配座をとる場合、2 種の α 位のプロトンが偽アキシャル配置を示し、 $^5J(\text{H}, \text{H})$ カップリングが観測される。これらのことより **13** の 2 位と 2' 位のプロトンはシス配置をとり、ジケトピペラジン環は Fig. 3-11 に示したような立体配座をしていると考えられた。

次にピロロインドール部分の立体配置に関する知見を得るため NOESY 測定を行った (Fig. 3-11)。その結果、8a 位のメチンプロトンと 13 と 14 位のメチル基との間に NOE 相関が観測されたことより、これらはシス配置であることが分かった。しかし、これらのシグナルと 2 位のプロトンとの間に NOE 相関が観測されなかったため、2 位の立体配置と関連付けることはできなかった。さらに、ピロロインドール部分の構造が **13** と類似した既存の化合物と **13** のビニル基を還元した dihydro-okaramine M との CD スペクトルの比較したが、絶対構造を決定するには至らなかった。そこで現段階では生合成経路を考慮して絶対構造を推定している (Fig. 3-11)。

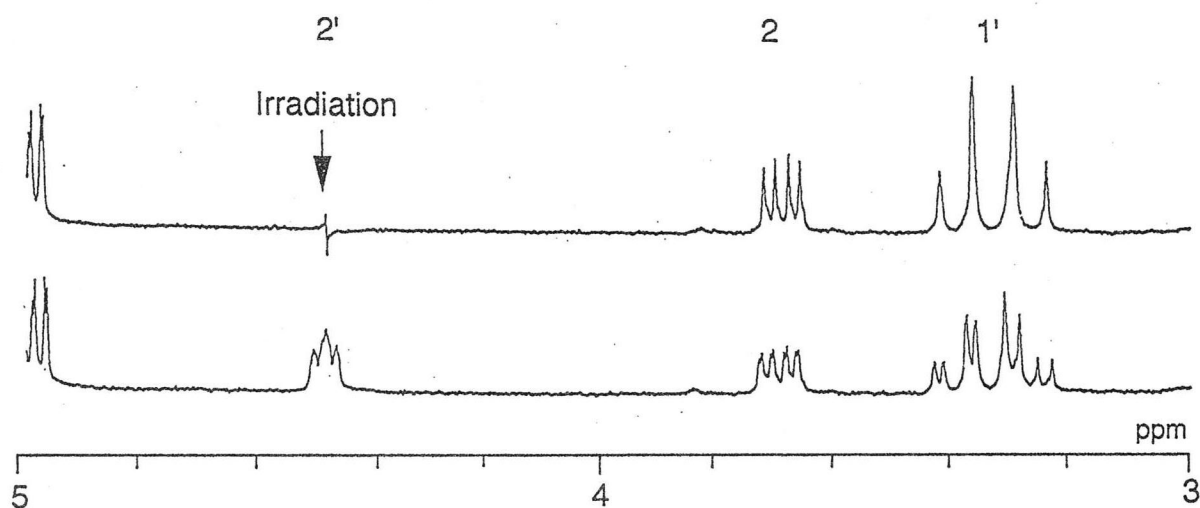


Fig. 3-9 Homodecoupled Spectrum of **13**

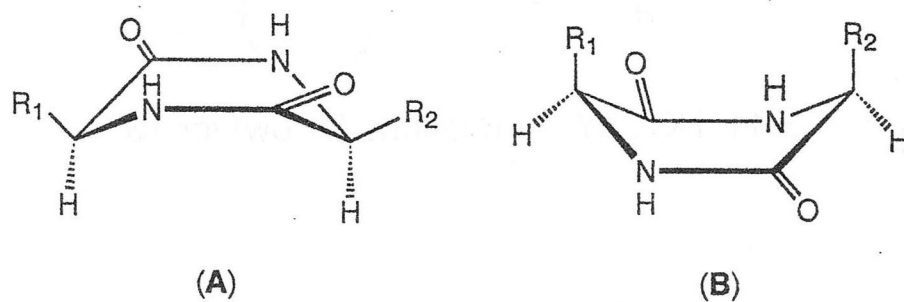


Fig. 3-10 Possible Conformations of Diketopiperazines

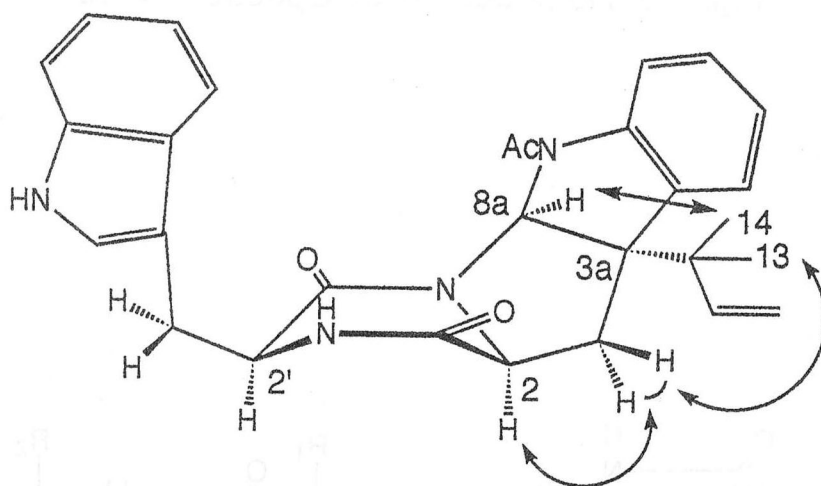


Fig. 3-11 NOESY Correlations (arrow) for **13**

3.3.4. Okaramine N および O、P

Okaramine N (14) の NOESY スペクトルにおいて、2 位と 2' 位のプロトンが互いに相関しているため、シス配置であると考えられた。さらに 2 位のプロトンは、3a 位の水酸基と相関のある 8a 位のプロトンと相関を示した。これによりこれらの 3a 位の水酸基と 8a 位のプロトンは、2 位のプロトンと同一配向であることが分かった。これらのことより、14 の相対構造を決定した (Fig. 3-12)。14 の絶対構造については、生合成経路を考慮して推定した (Fig. 3-12)。

Okaramine O (15) と P (16) の相対構造についても NOESY スペクトルより得られた相関を基に、1' 位を除いて Fig. 3-13 に示したように決定した。

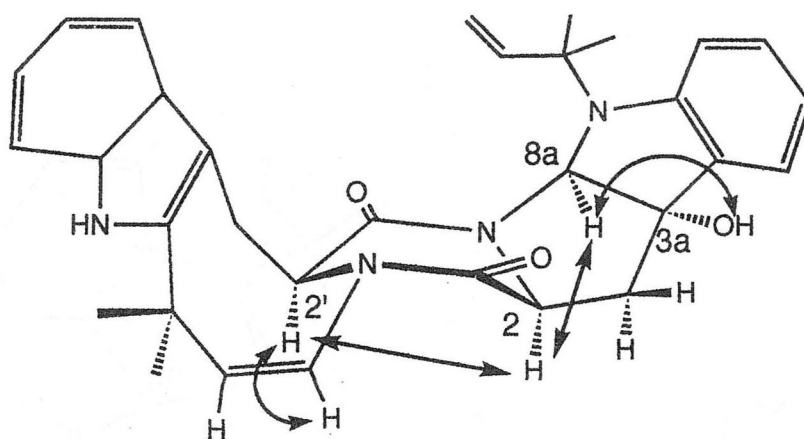


Fig. 3-12 NOESY Correlations (arrow) for 14

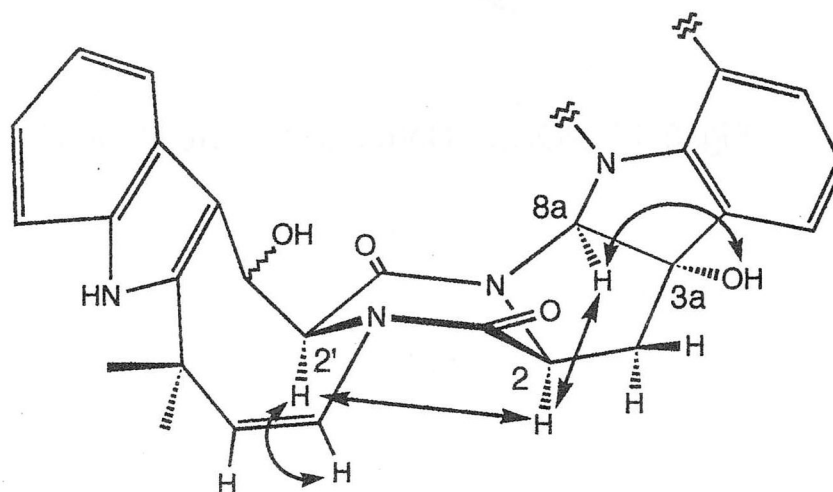


Fig. 3-13 NOESY Correlations (arrow) for 15 and 16

3.3.5. Okaramine Q

Okaramine Q (17) は NOESY スペクトルより次のような相関を得た。まず、アゼチジン環部分において、11 位のプロトンは 14 位のメチル基と相関し、また 12 位のメチル基は 13 位のメチル基と相関していることから、11 位のメチンプロトンと 14 位のメチル基が同一の向きであることが明らかになった。次に 2 位と 3a 位の水酸基については、両水酸基がいずれも 3 位の α 配置のプロトンに相関が見られたことから、両水酸基は共に同一配向であることが示された。また 2 位の水酸基は 11 位のメチンプロトンとの間に相関が認められることから、相対構造を決定した (Fig. 3-14)。絶対構造については、生合成経路を考慮して推測した (Fig. 3-14)。

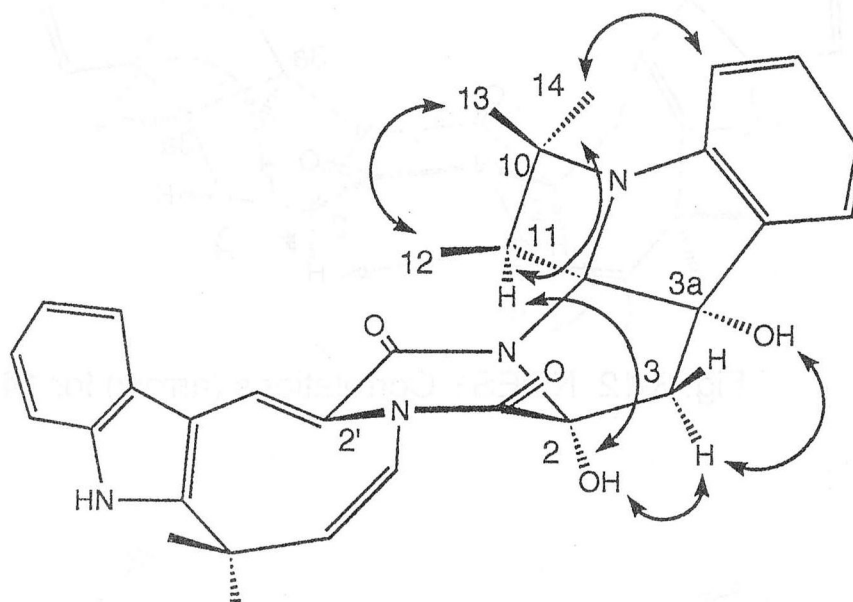


Fig. 3-14 NOESY Correlations (arrow) for 17

第4節 結果と考察

Okaramine 類や関連物質について、酸加水分解反応や NOESY スペクトルより得られた相関より立体配置について検討した。まず関連物質 3 (21) については、加水分解反応により得られた分解物を分析することにより、2 位を *S* 配置と決定した。その他の関連物質 1 (19) と 2 (20)、4 (22)、5 (23) の立体配置については、まずそれぞれの CD スペクトルを 21 のそれと比較し、さらに酸加水分解反応よりいずれも *S* 配置と決定した。

Okaramine C (7) と J (10)、L (12) の 2' 位の立体配置は、酸加水分解反応によりいずれも *S* 配置と決定した。また 2 位と 3a 位、8a 位の相対配置に関しては、X 線結晶構造解析により相対構造が決定している okaramine A (1) との ¹H-NMR スペクトルのシフト値およびカップリング定数を比較することにより決定した。

Okaramine K (11) は NOESY スペクトルデータより、1' 位と 2' 位の二重結合による幾何異性体の平衡混合物であった。さらにこれらの異性体は、UV 照射実験により光異性化反応を受け、*Z/E* = 90/10 から *Z/E* = 60/40 に変化する特性を示した。また UV 照射後、数日後には元の比に変換されることより、*Z* 体の方が *E* 体より熱力学的に安定であると考えられた。しかし、okaramine 類の中で 11 と同様の共鳴構造を有する okaramine G (6) においては、このような事実は観測されなかった。おそらく 6 の 8-N 位の α, α -ジメチルアシル基とインドール核のベンゼン環との立体的反発により *E* 体を形成できないことが、幾何異性体の平衡混合物で存在しない原因と考えられた。また 2 位と 3a 位、8a 位の相対配置に関しては、1 と ¹H-NMR スペクトルを比較することにより決定した。

Okaramine M (13) の 2' 位の立体配置は加水分解反応により *S* 配置と決定した。また 2' 位と 2 位のプロトンが遠隔カップリングしていることより *Sis* 配置と判明した。しかしながら 3a 位と 8a 位の立体配置に関しては NOESY 測定より *Sis* 配置と判明したけれども、どちらも 2 位のプロトンに相関が認められなかったため、生合成的関連付けにより、絶対構造を推定した。

Okaramine N (14) と Q (17) に関しては NOESY 測定より得られる相関を基に相対配置を決定した。

Okaramine O (15) と P (16) に関しても NOESY 測定より得られる相関を基に、1' 位

の配置を除いて相対配置を決定した。

Okaramine R (18) の 2 位の立体配置は生合成経路を考慮して推定した。しかし、3a 位の立体配置に関して今のところ不明である。

現在 okaramine 類の絶対構造を決定するために 1 の *p*-bromobenzoate 誘導体より結晶化を試みている。

第4章 Okaramine 類の殺虫活性発現における構造と活性との相関

序

Okaramine A (1) と B (2)、C (7) はカイコに対して強力な殺虫活性を示す。そこで本章では、今回得られた新規 okaramine 類縁体について活性試験を行い、その構造と活性との相関を解析し、活性発現に要求される構造を置換基およびコンホーメーションから考察した。

第1節 実験方法

4.1.1. 経口投与

シャーレに人工飼料 (シルクメート2 (s)) の薄片 1g を入れ、そこに予め調製しておいた検定溶液 100 μ l を染み込ませる。次に減圧下で溶媒を留去し、シャーレに三齢のカイコ 5 頭を入れる。これを 25 $^{\circ}$ C でインキュベートし、24 時間後のカイコの致死率を調べた。なお、1 サンプルにつきシャーレ 3 枚、計 15 頭以上のカイコを用いて致死率を調べた。

4.1.2. 注射投与

三齢のカイコの腹部に、検定物質を含むアセトン溶液をマイクロシリンジで、3 μ l 注射投与した。注入後、25 $^{\circ}$ C でインキュベートし、24 時間後のカイコの致死率を調べた。なお、計 15 頭以上のカイコを用いて致死率を調べた。

4.1.3. Okaramine B の誘導体の合成

1. 接触水素化反応

Okaramine B (2, 300 mg) を酢酸 (180 ml) に溶解し、触媒量の 10%Pd/C を加え、室温で 3 日間常圧水素添加した。次に 10%Pd/C を濾別した後、溶媒を留去した。得られ

た残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (Wakogel C-200, *n*-hexane / EtOAc = 9 / 1) により精製し、25 個のフラクションに分画した。Fr. 11-13 より **25** を 70 mg (23%) 得た。次に Fr. 14-15 をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (Kieselgel 60, *n*-hexane / EtOAc = 9 / 1) により精製し、**26** を 56 mg (19%) 得た。さらに Fr. 16-19 をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (Kieselgel 60, *n*-hexane / EtOAc = 9 / 1) により精製し、Fr. 7-12 より **24** を 39 mg (13%) 得、Fr. 16-18 より **27** を 17 mg (5.6%) 得た (Fig. 4-1)。

2. 化合物 **24** および **25**、**26**、**27** の理化学的性質

化合物 **24** : 黄色針状結晶。Mp 270-273 °C. $[\alpha]_D^{20} +514$ (*c* 0.26, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3356, 1666, 1615, 1461, 1357, 744. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 230 (31,400), 283 (10,300), 366 (20,800), EIMS *m/z* 568, 499, 481, 244, 214, 176. ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 4-1 参照.

化合物 **25** : 黄色針状結晶。Mp 249-252 °C. $[\alpha]_D^{20} +284$ (*c* 0.28, MeCN). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3240, 1660, 1616, 1417, 1353, 745. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 234 (31,300), 285 (10,900), 360 (19,200). EIMS *m/z* 570, 499, 481, 351, 228, 131. ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 4-2 参照.

化合物 **26** : 黄色針状結晶。Mp 264-267 °C. $[\alpha]_D^{20} +587$ (*c* 0.27, MeCN). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3310, 1672, 1611, 1460, 1357, 743. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 234 (37,800), 285 (10,600), 360 (22,000). EIMS *m/z* 570, 499, 481, 351, 201, 131. ^1H - および ^{13}C -NMR (acetone- d_6): Table 4-3 参照.

化合物 **27** : 白色粉末。Mp 223-225 °C. $[\alpha]_D^{20} +696$ (*c* 0.05, MeOH). IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3350, 1665, 1370, 740. UV λ_{\max} (MeOH) nm (ϵ): 223 (39,700), 284 (8,200), 290 (7,600), EIMS *m/z* 570, 522, 501, 483, 353, 320, 198. ^1H - および ^{13}C -NMR (CDCl_3): Table 4-4 参照.

3. 化合物 **24** の化学構造

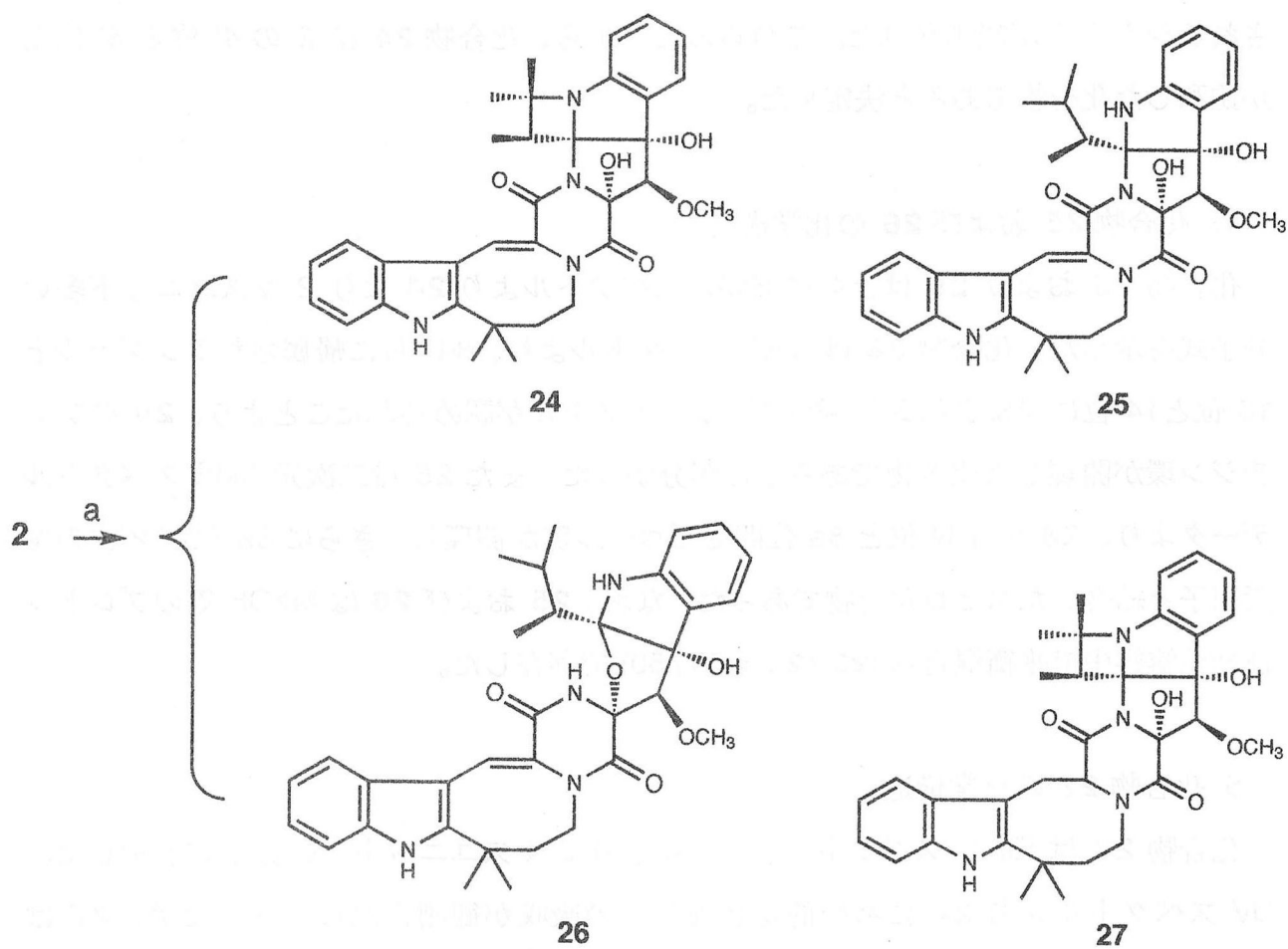
化合物 **24** は EIMS スペクトルより okaramine B (**2**) より 2 マスユニット多い分子式を示した。また、¹H- および ¹³C-NMR スペクトルにおいて、**2** の 4' 位と 5' 位に帰属されるシグナルが認められず、新たに互いにカップリングした 2 種のメチレンに帰属されるシグナルが観測された。これらのことから、化合物 **24** は **2** の 4' 位と 5' 位間が飽和した化合物であると決定した。

4. 化合物 **25** および **26** の化学構造

化合物 **25** および **26** はともに EIMS スペクトルより **24** より 2 マスユニット多い分子式を示した。化合物 **26** は NMR スペクトルより、8-N 位に帰属されるシグナルと 13 位と 14 位に帰属される 2 種のダブルットメチルが認められたことより、**24** のアゼチジン環が開環した化合物であることが分かった。また **25** は二次元 NMR スペクトルデータより、**26** の 1-N 位と 8a 位間でピロール環が開環し、さらに 8a 位が 2 位の酸素原子と結合したスピロ化合物であった。なお、**25** および **26** は MeOH 等のプロトン性極性溶媒中で平衡混合物 (**25** / **26** = 50 / 50) で存在した。

5. 化合物 **27** の化学構造

化合物 **27** は EIMS スペクトルより **24** より 2 マスユニット多い分子式を示した。UV スペクトルより **24** に特徴的な長波長側の吸収が観測されなかったため、**27** は **24** の 1' 位と 2' 位が飽和していることが示唆された。また NMR スペクトルデータの解析からもこの構造が支持された。しかし、現在のところ 2' 位の立体配置に関しては不明である。



a ; H₂, 10% Pd-C, AcOH, rt, 3 days

Fig. 4-1 Hydrogenation of Okaramine B (2)

Table 2-12 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for 24

No	δ _c (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	86.5 (s)		
3	84.1 (d)	4.33 (s)	3b, 9
3a	85.2 (s)		
3b	140.9 (s)		
4	125.8 (d)	7.43 (dd, 7.7, 1.2)	3a, 6, 7a
5	123.8 (d)	7.03 (td, 7.7, 1.2)	3b, 7
6	130.2 (d)	7.22 (ddd, 7.9, 7.7, 1.2)	4, 7a
7	118.7 (d)	6.77 (dd, 7.9, 1.2)	3b, 5
7a	151.7 (s)		
8a	95.0 (s)		
9	165.0 (s)		
10	64.0 (s)		
11	41.8 (d)	3.24 (q, 7.4)	3a, 8a, 10, 12, 14
12	11.4 (q)	1.33 (d, 7.4)	11
13	25.6 (q)	1.76 (s)	11, 14
14	26.7 (q)	0.95 (s)	11, 13
1'	113.5 (d)	7.61 (s)	6a', 11', 11a', 12'
2'	127.3 (s)		
4'	43.9 (t)	3.45 (ddd, 14.0, 13.1, 3.1) 3.91 (m)	2', 6', 9 2', 6'
5'	36.6 (t)	2.18 (ddd, 14.0, 13.1, 4.9) 1.52 (dt, 14.0, 3.1)	6', 6a', 13' 6', 6a', 13'
6'	36.3 (s)		
6a'	144.5 (s)		
7a'	135.4 (s)		
8'	112.3 (d)	7.40 (dd, 7.3, 1.2)	10', 11a'
9'	122.5 (d)	7.16 (dt, 7.3, 1.2)	7a', 11'
10'	121.2 (d)	7.13 (dt, 7.3, 1.2)	8', 11a'
11'	118.1 (d)	7.71 (dd, 7.3, 1.2)	7a', 9', 11b'
11a'	130.7 (s)		
11b'	107.4 (s)		
12'	162.4 (s)		
13'	27.7 (q)	1.41 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	30.4 (q)	1.57 (s)	5', 6', 6a', 13'
2-OH		5.28 (s)	2, 3, 9
3-OMe	61.2 (q)	3.94 (s)	3
3a-OH		4.65 (s)	3, 3a, 3b,
7'-NH		10.45 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

* Overlapped signals

Table 4-3 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for 25

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	85.8 (s)		
3	84.8 (d)	4.64 (s)	3, 3a, 3b, 3-OMe, 8a, 9
3a	86.2 (s)		
3b	130.4 (s)		
4	125.9 (d)	7.31 (dd, 7.3, 1.2)	3a, 6, 7a
5	119.7 (d)	6.71 (td, 7.3, 0.9)	3b, 7
6	130.6 (d)	7.06 (ddd, 7.9, 7.3, 1.2)	4, 7a
7	111.3 (d)	6.74 (d, 7.9)	3b, 5
7a	150.8 (s)		
8a	94.7 (s)		
9	164.2 (s)		
10	28.0 (d)	2.44 (m)	8a, 12, 13, 14
11	43.0 (d)	2.38 (m)	3a, 8a, 12, 13, 14
12	11.0 (q)	1.13 (d, 7.3)	8a, 10
13	18.8 (q)	0.99 (d, 7.0)	10, 11, 14
14	23.7 (q)	0.94 (d, 7.0)	10, 11, 13
1'	113.3 (d)	7.40 (s)	6a', 11a', 12'
2'	126.9 (s)		
4'	43.7 (t)	3.32 (ddd, 14.0, 13.2, 3.1)	2', 6', 9
		3.75 (ddd, 14.0, 4.6, 2.1)	2', 6', 9
5'	36.4 (t)	1.47 (ddd, 14.0, 3.1, 2.1)	6', 6a', 13'
		2.13 (ddd, 14.0, 13.2, 4.6)	6', 13'
6'	36.2 (s)		
6a'	144.7 (s)		
7a'	135.4 (s)		
8'	112.3 (d)	7.40 (dd, 7.9, 1.9)	10', 11a'
9'	122.5 (d)	7.13*	7a', 11'
10'	121.2 (d)	7.13*	8', 11a'
11'	117.9 (d)	7.65 (m)	7a', 9', 11b'
11a'	130.5 (s)		
11b'	107.1 (s)		
12'	163.4 (s)		
13'	27.8 (q)	1.40 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	30.4 (q)	1.56 (s)	5', 6', 6a', 13'
2-OH		5.55 (s)	2, 3, 9
3-OMe	62.0 (q)	3.86 (s)	3
3a-OH		4.63 (s)	3, 3a, 3b
7'-NH		10.47 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'
8-NH		6.41 (br. s)	3a, 3b

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

* Overlapped signals

Table 4-2 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for 26

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	90.3 (s)		
3	92.9 (d)	4.11 (s)	2, 3b, 3-OMe, 9
3a	86.9 (s)		
3b	132.5 (s)		
4	123.6 (d)	7.28 (d, 7.6)	3a, 6, 7a
5	118.0 (d)	6.67 (td, 7.6, 0.9)	3b, 7
6	129.6 (d)	7.06 (td, 7.6, 1.5)	4, 7a
7	108.9 (d)	6.57 (d, 7.6)	3b, 5
7a	148.1 (s)		
8a	113.4 (s)		
9	165.4 (s)		
10	25.4 (d)	2.02 (m)	8a, 11, 13, 14
11	44.4 (d)	2.08 (m)	13, 14
12	6.5 (q)	0.90 (d, 7.3)	8a, 10, 11
13	16.8 (q)	0.59 (d, 7.0)	10, 11, 14
14	23.6 (q)	0.81 (d, 7.0)	10, 11, 13
1'	114.4 (d)	7.63 (s)	2', 6a', 11a', 12'
2'	124.5 (s)		
4'	45.2 (t)	4.00 (m)	
		3.77 (m)	
5'	36.4 (t)	1.72 (m)	
		2.14 (m)	
6'	36.2 (s)		
6a'	144.9 (s)		
7a'	135.5 (s)		
8'	112.4 (d)	7.44 (m)	10', 11a'
9'	122.7 (d)	7.17 *	7a', 11'
10'	121.4 (d)	7.17 *	8', 11a'
11'	118.1 (d)	7.65 (dd, 7.0, 2.1)	7a', 9', 11a', 11b'
11a'	130.5 (s)		
11b'	107.2 (s)		
12'	163.0 (s)		
13'	27.9 (q)	1.44 (s)	5', 6a', 14'
14'	30.5 (q)	1.59 (s)	5', 6a', 13'
1-NH		8.25 (s)	2', 3, 9
3-OMe	60.4 (q)	3.55 (s)	3
3a-OH		6.10 (s)	3a, 3b
7'-NH		10.60 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'
8-NH		6.40 (br. s)	3a, 3b, 8a

Taken in acetone-*d*₆ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

* Overlapped signals

Table 4-4 ¹H-NMR and ¹³C-NMR Spectral Data for 27

No	δ _C (Mult.)	δ _H (Mult. J Hz)	HMBC (H to C)
2	84.7 (s)		
3	83.9 (d)	4.08 (s)	3b, 3-OMe, 9
3a	83.8 (s)		
3b	138.9 (s)		
4	124.2 (d)	7.29 (d, 7.6)	3a, 6, 7a
5	123.8 (d)	7.06 (t, 7.6)	3b, 7
6	129.7 (d)	7.24 (td, 7.6, 1.2)	4, 7a
7	118.9 (d)	6.86 (d, 7.6)	3b, 5
7a	150.2 (s)		
8a	94.6 (s)		
9	164.9 (s)		
10	64.6 (s)		
11	41.0 (d)	3.16 (q, 7.6)	3a, 12, 13, 14
12	11.0 (q)	1.33 (d, 7.6)	8a, 10, 11
13	25.1 (q)	1.78 (s)	10, 11, 14
14	26.6 (q)	0.91 (s)	10, 11, 13
1'	30.1 (t)	3.72 (15.3, 5.5) 3.74 (dd, 15.3, 7.3)	6a', 11a', 11b', 12'
2'	67.0 (d)	4.00 (dd, 7.3, 5.5)	9, 11b', 12'
4'	45.9 (t)	2.56 (ddd, 14.5, 9.8, 4.9) 4.06 (dt, 14.5, 4.9)	2', 6', 9 2', 6', 9
5'	40.5 (t)	1.87 (ddd, 14.7, 9.8, 4.9) 2.38 (dt, 14.7, 4.9)	6', 13', 14' 6', 13', 14'
6'	35.4 (s)		
6a'	141.0 (s)		
7a'	134.1 (s)		
8'	110.3 (d)	7.31 (dd, 7.3, 1.2)	10', 11a'
9'	121.7 (d)	7.17 (td, 7.3, 1.2)	7a', 11'
10'	119.7 (d)	7.13 (td, 7.3, 1.2)	8', 11a'
11'	118.3 (d)	7.70 (d, 7.3)	7a', 9', 11b'
11a'	128.7 (s)		
11b'	106.5 (s)		
12'	167.9 (s)		
13'	27.5 (q)	1.64 (s)	5', 6', 6a', 14'
14'	30.9 (q)	1.46 (s)	5', 6', 6a', 13'
2-OH		3.45 (s)	2, 3
3-OMe	61.3 (q)	3.96 (s)	3
3a-OH		3.85 (s)	3, 3a, 3b
7'-NH		8.04 (br. s)	6a', 7a', 11a', 11b'

Taken in CDCl₃ at 500 MHz (¹H-NMR) and at 125 MHz (¹³C-NMR).

第 2 節 結果と考察

Okaramine 類と okaramine B (2) の接触還元反応により合成した 4 種の還元物質 24 ~27 の経口投与法および注射法による殺虫活性試験の結果を Table 4-5 にまとめた。注射投与法は経口投与法に比べ感度が向上したけれども、致死効果に要する濃度の傾向および生物検定に要する時間は、共に同一であった。

まず、okaramine 類に特徴的な 8-N 位の側鎖に注目し、構造と活性について考察した。okaramine A (1) および C (7) は 8 ppm で活性を示すのに対して、8-N 位に α, α -ジメチルアリル基が置換していない okaramine H (8) および I (9)、J (10)、K (11)、P (16) では活性を示さず、また 8-N 位にプレニル基やアセチル基が置換している okaramine L (12) および M (13) も不活性であった。これらのことは活性発現には 8-N 位に置換した α, α -ジメチルアリル基が必須であることを示している。しかし okaramine G (6) の活性は 7 と同等の活性を示すと予想されたけれども、実際には 7 の 1/5 程度に低下し、さらに 1 とほとんど同一の骨格を保持している okaramine N (14) および O (15) も不活性であった。これらの結果は、活性発現には α, α -ジメチルアリル基の存在以外にアゾシン環付近の立体構造も関与していることを示唆した。そこで第 3 章で得られた NOESY スペクトルの相関をもとに 1 および 6、7、14 のそれぞれの溶液中のコンホメーションを比較した (Fig. 4-2, 3)。また 1 に関してはそのアセチル体の X 線結晶構造解析より得られた知見も含め推測した。7 は 3'-NH と 6' 位のメチル基との間に NOE 相関が見られたため、アゾシン環が開環しているにもかかわらず 1 と類似のコンホメーションを保持していた。6 はベンゼン環とジケトピペラジン環が空間的に近接したコンホメーションを形成し、1 とは全く異なるコンホメーションをとっていることが分かった。14 はアゾシン環の 1' 位と 2' 位が飽和することにより、全体的に 1 よりかなり内側に折れ曲がった様なコンホメーションを形成していた。従って、これらのことより α, α -ジメチルアリル基は活性発現に本質的な構造因子であり、アゾシン環付近のコンホメーションは、活性発現を促す作用があると考えられた。

そこで、これらのことを裏付けるために okaramine 類の中で最強の活性を発揮する 2 について、アゼチジン環およびアゾシン環部分の化学変換を行った。すなわち接触還元反応を行い、アゾシン環の 4' 位と 5' 位間が飽和した 24 と、24 のアゼチジン

環が開環した **25** と **26**、**24** のアゾシン環の 1' 位と 2' 位間がさらに飽和した **27** を合成した。アゼチジン環が開環したタイプの **25** と **26** は予測したように 100 ppm においても全く活性を示さなかった。一方、アゼチジン環を有している **24** と **27** はアゾシン環の水素数が増加するに従って活性が低下したため、アゾシン環付近のコンホーメーションの変化が活性発現に影響するという考えを支持した。

以上の構造・活性相関の知見を総合すると okaramine 類の活性発現には α, α -ジメチルアリル基、あるいはアゼチジン環が必須であることから、特に 10 位のジェミナルメチル基が重要であることが分かった。またアゾシン環付近のコンホーメーションの変化が活性発現を助ける働きをすることも明らかになった。そこでこれらの結果を基に **2** と okaramine 類の作用点の活性部位との相関関係を Fig. 4-4 に示したように推察した。**6** と **14**、**24**、**27** の様にアゾシン環のコンホーメーションが **1** や **2** と異なる場合は、 α, α -ジメチルアリル基あるいはアゼチジン環が結合部位に都合よく接近できないため、活性低下につながると考えられる。また **2** は **1** の 40 倍の活性を示すことから、アゼチジン環の方が α, α -ジメチルアリル基に比べ自由度が制限されているため、より都合よく活性部位に結合すると考えられた。従って、アゼチジン環および α, α -ジメチルアリル基付近の立体的な形状 (置換基の幅や長さ) に対する要求もかなり厳しいと考えられる。また okaramine Q (**17**) は **2** の 1/40 に活性が低下することから、メトキシ基の役割にも興味を持たれる。

Table 4-5

Toxicity of Okaramines against Silkworms

Compounds		Oral administration	Injection
		LD ₅₀ µg/g diet	LD ₅₀ µg/body
Okaramines	A (1)	8	0.7
	B (2)	0.2	0.02
	C (7)	8	- ^a
	D (3)	20	-
	E (4)	>100	-
	F (5)	>100	-
	G (6)	40	-
	H (8)	>100	>100
	I (9)	>100	>100
	J (10)	>100	>100
	K (11)	>100	>100
	L (12)	>100	>100
	M (13)	>100	>100
	N (14)	>100	>100
	O (15)	>100	>100
	P (16)	>100	>100
	Q (17)	8	-
	R (18)	>100	-
Okaramine B derivatives	24	6	-
	25	>100	-
	26	>100	-
	27	80	-

^{a)} Not tested.

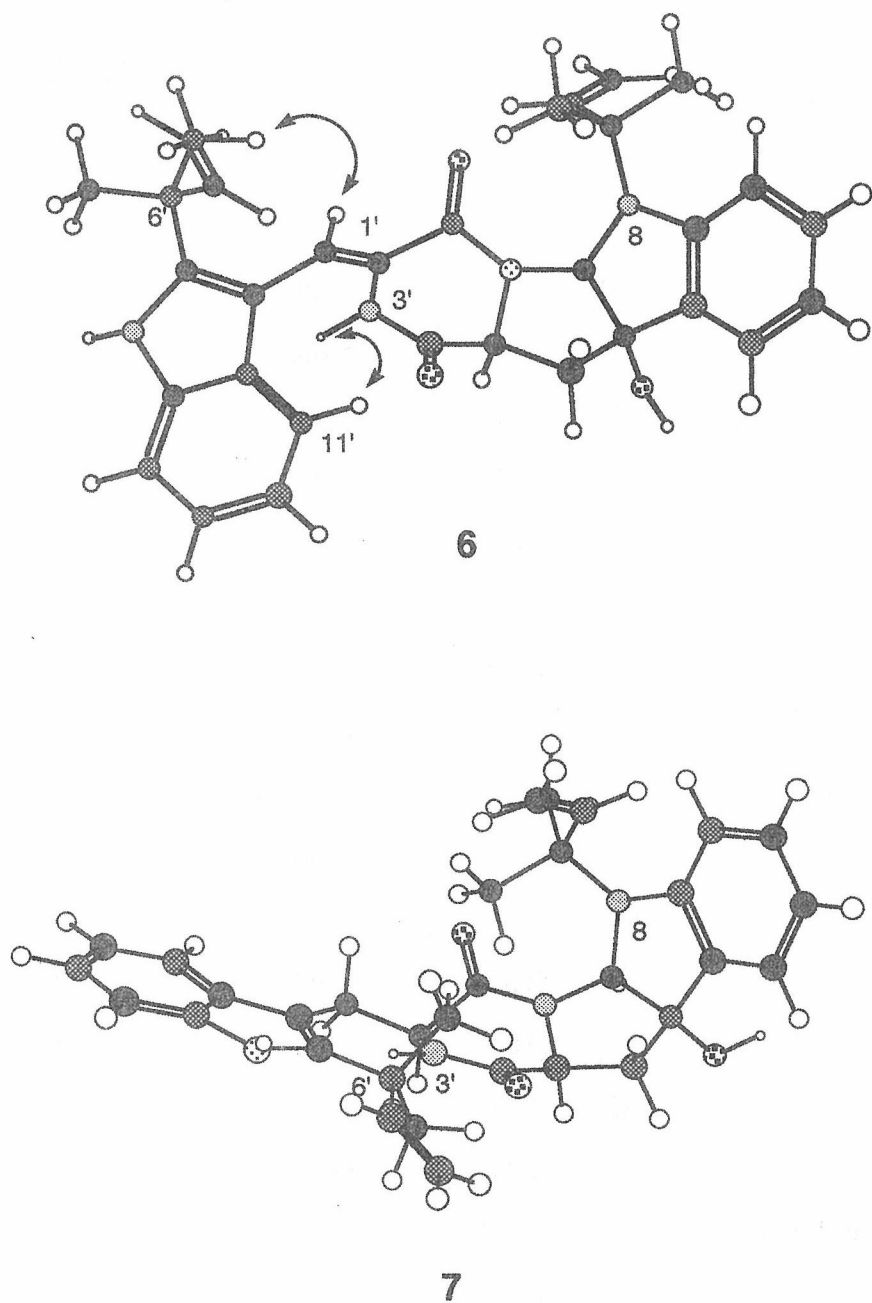
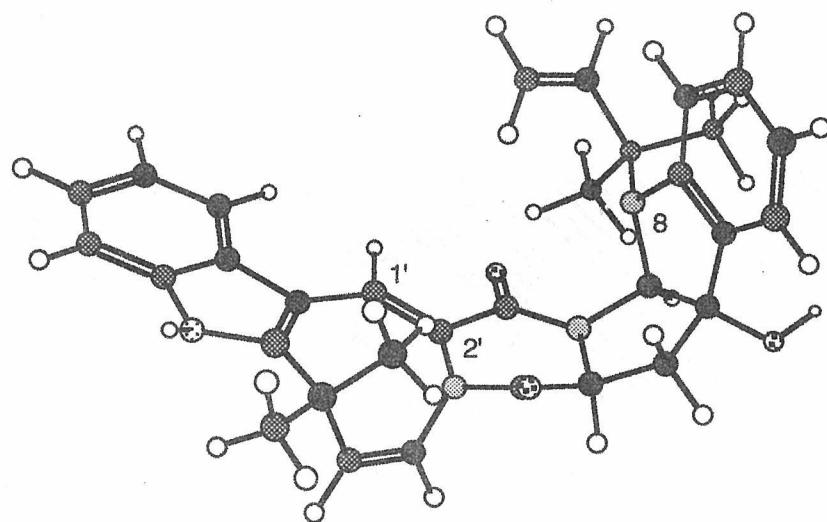
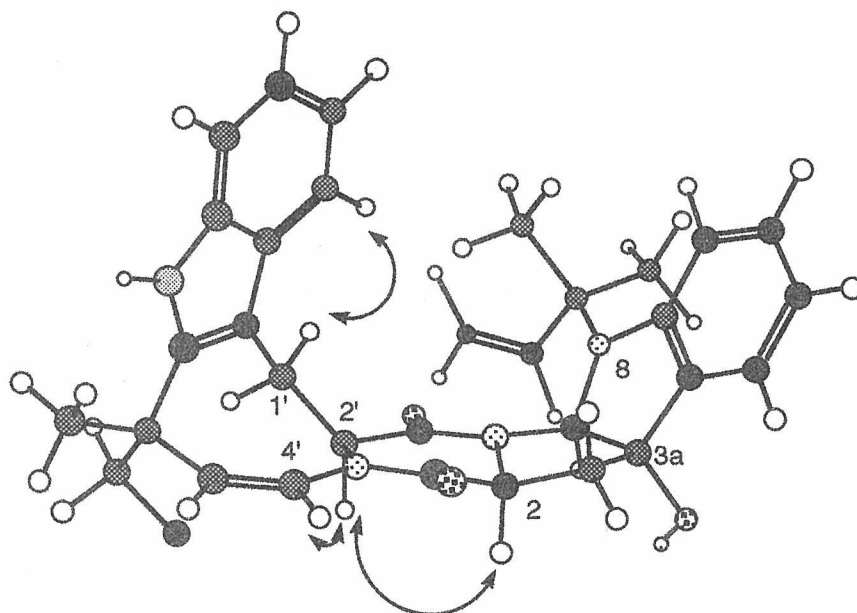


Fig. 4-2 Conformation of Okaramines C (7) and G (6) Deduced from NOESY Correlations



1



14

Fig. 4-3 Conformation of Okaramines A (1) and N (14) Deduced from NOESY Correlations

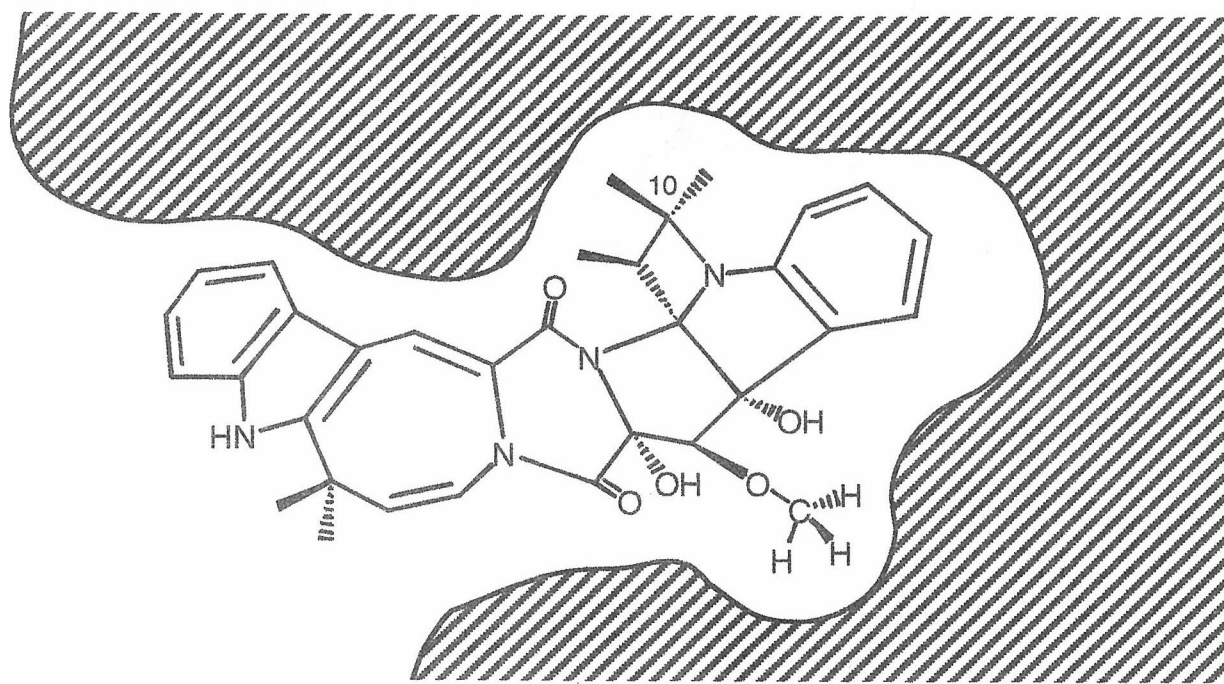


Fig. 4-4 A Model of Interaction of Okaramine B with Active Site

第5章 Okaramine 類の生合成経路

序

一般に微生物および植物中に見出される二次代謝産物は、天然有機化合物の中であってその一次代謝産物とは異なり、構造が複雑でかつ多種多様なものが多い。またそれぞれの有する特異的な生物活性と相俟って、その生合成経路にかなり興味が持たれている。そこでこれまで得られた okaramine 類縁体並びにその関連物質より、okaramine 類の生合成経路を考察した。

Okaramine 類の生産量を比較してみると、okaramine A (1) と B (2) の生産量は約 10 mg / kg 培地であるのに対して、それ以外の okaramine 類は多くても約 1 mg / kg 培地以下であることから、菌体内では 1 と 2 を生産する経路が主であると考えられる。まず 2 分子の L-Trp がジケトピペラジン環を介して縮合し、前駆体と考えられる関連物質 3 (21) が生合成される。次にプレニル化反応を順次受け、関連物質 4 (22) と 5 (23) を経て、関連物質 1 (19) と 2 (20) に誘導される (Fig. 5-1, Part 1)。

関連物質 2 (20) から okaramine 類への生合成経路は次のように考えられる。まず 20 が分子内環化反応さらに酸化反応を受け、okaramine C (7) に導かれる。次に 7 から 1 へは okaramine N (14) と okaramine O (15) を経由して生合成される。すなわち、まず 7 の 3' 位と 4' 位間で環化反応が起こり、14 に誘導され、続いて 1' 位が酸化されて 15 に導かれる。最後に 15 の 1' 位と 2' 位間で脱水され、二重結合が構築され、1 が生合成される。また、1 は okaramine G (6) の環化反応より生合成される経路も考えられるけれども、6 は α, α -ジメチルアリル基と 3' 位のアミドプロトンとが空間的に離れた立体配座を形成することから、現段階では 6 よりアゾシノインドール環は構築されにくいと考えている (Fig. 5-1, Part 2)。

Okaramine H (8) と J (10)、K (11)、P (16) はそれぞれ 1 と 7、6、15 より 8-N 位の α, α -ジメチルアリル基がアザクライゼン型の転移反応を経由して生合成されると推定される (Fig. 5-1, Part 2)。Okaramine L (12) および M (13) は 21 より、okaramine

I (9) は 22 より、okaramine R (18) は 20 よりそれぞれ多段階反応を経由し、生合成されると推定される (Fig. 5-1, Part 1)。

Okaramine B (2) は 1 より誘導された仮想中間体および okaramine Q (17) を経て生合成されると考えられる。またこれまで仮想中間体は 1 から 2 の生合成経路における鍵中間体として興味を持たれてきた。そのため今回単離された 17 は、2 の生合成経路を考察する上でかなり有益な化合物であると同時に仮想中間体の存在を示唆する化合物でもあった (Fig. 5-1, Part 3)。

このように okaramine 類のような複雑で特異的な構造を持つ化合物でも、一次代謝産物である Trp をそのまま骨格に取り込み、修飾しながら okaramine 類が組立られていくことが示された。しかしながら、1 に至る経路は数種考えられるため、現段階ではどの経路で生合成が行われているかは不明であり、培養日数や他の要因によりいずれかの経路で生合成されることが予想される。今後さらに生合成研究を進める上で、今回提唱した生合成経路は重要な役割を果たすと期待される。

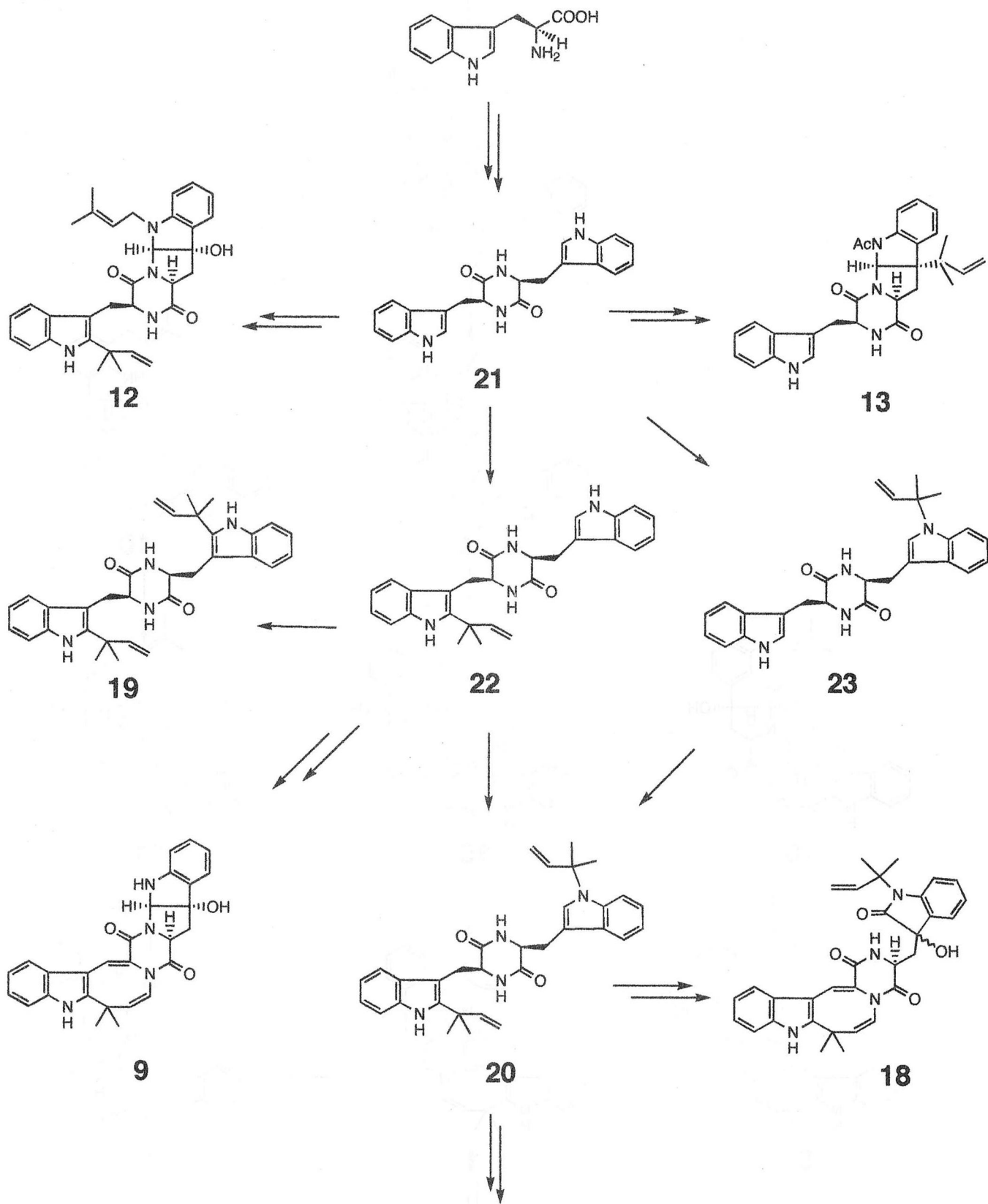


Fig. 5-1 Proposed Biogenetic Pathway for Okaramines (Part 1)

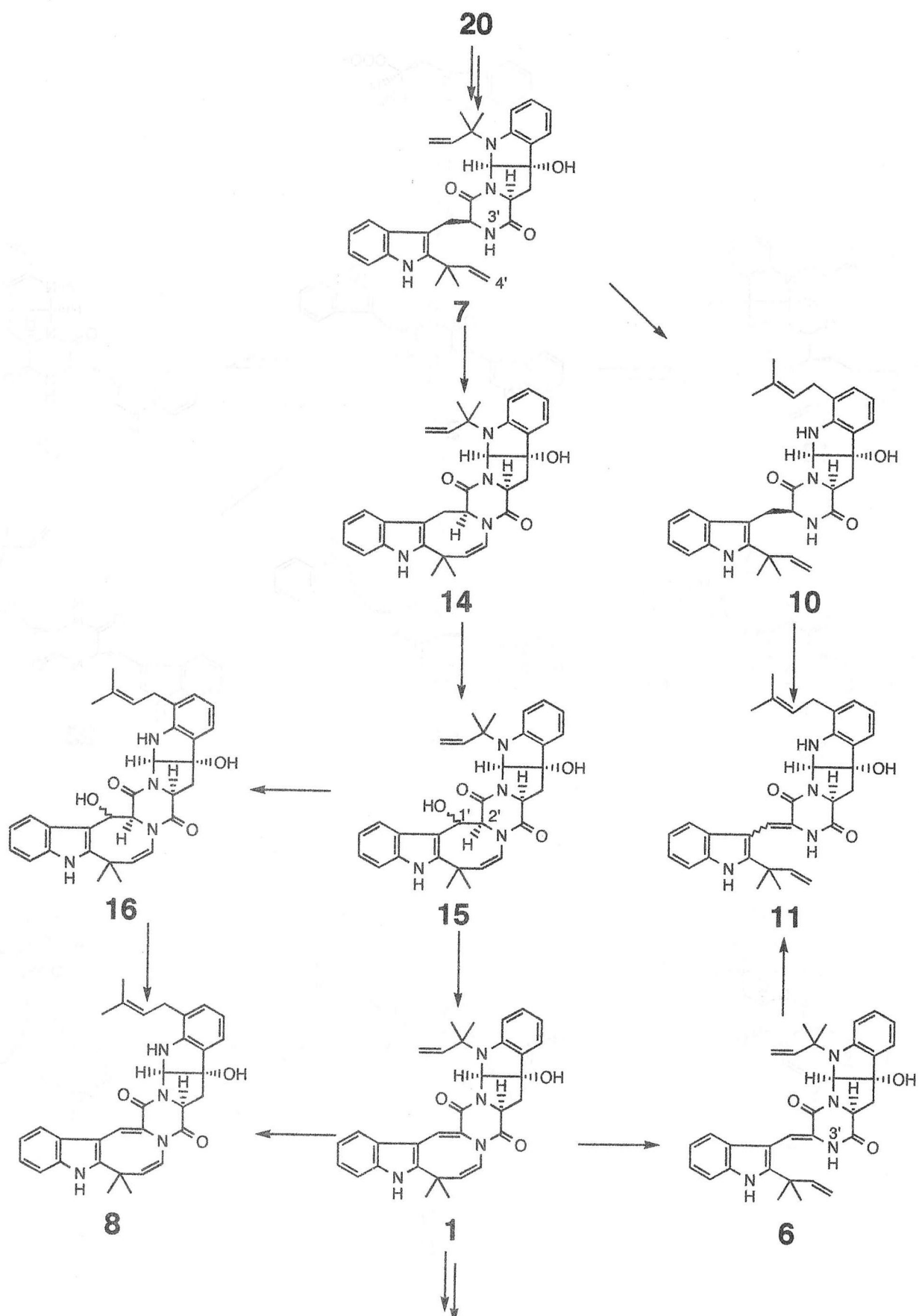


Fig.5-1 Proposed Biogenetic Pathway for Okaramines (Part 2)

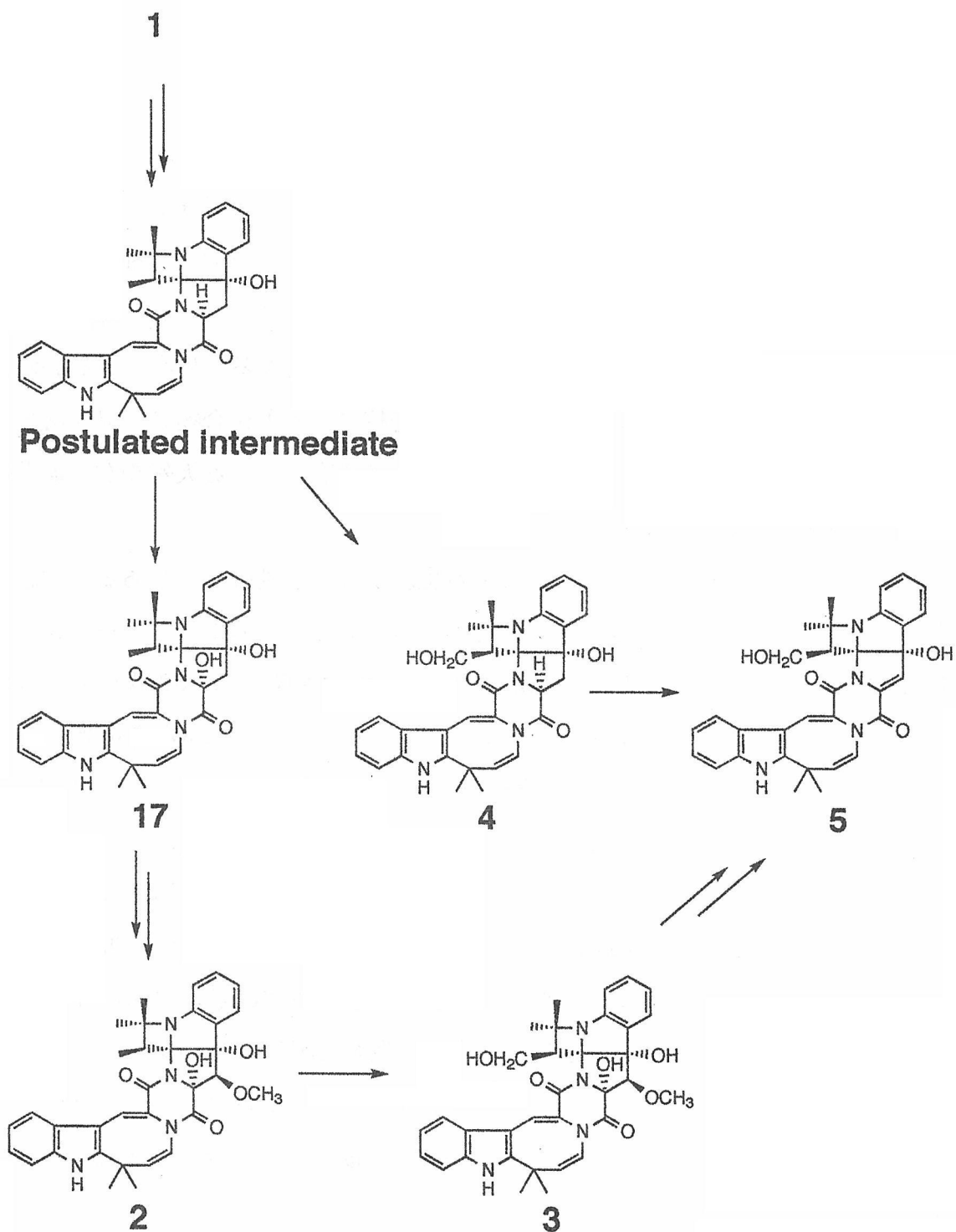


Fig.5-1 Proposed Biogenetic Pathway for Okaramines (Part 3)

総括

戦後の50年にわたり、様々な有機合成殺虫剤が衛生害虫の駆除や安定な食糧供給に果たしてきた貢献は大きい。そして今後も合成殺虫剤が公衆衛生や農業生産において、重要な役割を果たすであろうと考えられる。しかしながら、合成殺虫剤には選択性が低く標的害虫以外の生物にまで活性を示すものや、難分解性であるため土壌に残留し生物濃縮により人に影響を及ぼし使用中止になっているものもある。現在、新しい殺虫剤の開発には高選択性や易分解性、新規な活性部位を持つリード化合物の発見が必要とされている。そこで生体内で生分解され易いという利点を有している天然物が、農薬開発における探索源として注目されている。

本研究室では、微生物の中で特に糸状菌の生産する新規殺虫性物質あるいは殺虫剤開発のリード化合物となるような新規生理活性物質の発見を目的にスクリーニングを行っており、すでに土壌分離菌 *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288 株のオカラ培養物より殺虫活性を有する okaramine A (1) および B (2)、D (3)~G (6) を単離・構造決定してきた。さらに同族の *P. simplicissimum* AHU 8402 株から okaramine C (7) を、*Aspergillus aculeatus* KF-428 株から okaramine H (8) と I (9) を得てきた。Okaramine 類はその分子内にアゾシノインドール骨格を持つ天然物ではユニークな構造を有していた。そこで okaramine 類の生合成経路に興味を持たれ、取り込み実験より 2 のインドール部分が Trp に由来することが証明されている。さらに生合成研究の過程で、オカラ中に okaramine 類の生合成を促進する因子が存在することも明らかになっている。これらのことより okaramine 類の生合成経路を解明することは、今後の研究を進める上で重要であると同時に基本的な生合成経路がほぼ確立されている応用微生物学的見地からも非常に興味を持たれる。

一方、okaramine A (1) および B (2)、C (7) はカイコに対し強力な殺虫効果を示し、特に 2 は害虫であるシロイチモジヨトウに選択的に殺虫活性を示した。さらにその作用機序は、現在の殺虫剤の主流をなすアセチルコリンエステラーゼ阻害によるものではないと考えられているため、okaramine 類の活性発現機構にかなり興味を持たれている。

そこで本研究では、新たに *P. simplicissimum* ATCC 90288 株のオカラ培養物から新

規 okaramine 類縁体を精査し、それらの殺虫活性を評価することにより活性発現に必要な構造に関する知見を得るとともに okaramine 類の生合成経路の解明を目的した。

第 1 章では、*P. simplicissimum* ATCC 90288 株をオカラ培地で培養し、その MeOH 抽出物から TLC 上での発色を指標として精製し、9 種の新規 okaramine 類縁体と 5 種の関連物質を単離した。またその過程で、これまで他の菌株で単離されていた 7 および 8、9 の生産も確認することができた。

第 2 章では、第 1 章で単離した新規 okaramine 類縁体および関連物質について各種機器分析により構造を解析し、それぞれの平面構造を決定した。Okaramine J (10) および K (11)、L (12) はいずれもテトラヒドロピロロインドール部分にプレニル基を有する化合物であった。Okaramine M (13) はアセチル基を有する okaramine 類には珍しい化合物であった。Okaramine N (14) および O (15)、P (16) はアゾシン環の 1' 位と 2' 位間が飽和した化合物であった。Okaramine Q (17) は 2 のメトキシ基が脱離した化合物であった。Okaramine R (18) はオキシインドール環を有する化合物であった。関連物質 3 (21) は 2 分子の Trp がジケトピペラジンを介して縮合した化合物であった。関連物質 4 (22) および 5 (23) は 21 に 1 分子の α, α -ジメチルアリル基が、関連物質 1 (19) および 2 (20) は 21 に 2 分子の α, α -ジメチルアリル基が結合した化合物であった。

第 3 章では、平面構造を決定した okaramine J~Q と関連物質について、酸加水分解反応および NOESY スペクトルによりそれぞれの立体構造を検討した。

まず関連物質 3 (21) を酸加水分解し、得られた加水分解物を分析することにより、2 位の立体配置を *S* 配置と決定した。続いて関連物質 1 (19) および 2 (20)、4 (22)、5 (23) の立体構造については、それぞれの CD スペクトルを 21 のそれと比較し、さらに加水分解反応より、いずれも *S* 配置と決定した。

Okaramine C (7) および J (10)、L (12) の 2' 位の立体配置については、関連物質と同様に酸加水分解反応により、いずれも *S* 配置と決定した。また 7 および 10、12 の 2 位と 3a 位、8a 位の相対配置については NOESY スペクトルデータおよび X 線結晶構造解析より相対構造が明らかにされている 1 との ¹H-NMR スペクトルにおけるシフト値およびカップリング定数を比較することにより決定した。

Okaramine K (11) は 1' 位と 2' 位の二重結合による幾何異性体 (*Z/E* = 90/10) の平

平衡混合物であった。また **11** の 2 位と 3a 位、8a 位の相対配置については NOESY スペクトルデータおよび $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおけるシフト値およびカップリング定数を比較することにより決定した。

Okaramine M (**13**) の 2' 位の立体配置については、酸加水分解反応により S 配置と決定した。また **13** の 2 位と 3a 位、8a 位の相対配置については NOESY スペクトルデータおよび生合成経路を考慮して推定した。

Okaramine N (**14**) および Q (**17**) の相対立体配置については NOESY スペクトルデータにより決定した。

Okaramine O (**15**) および P (**16**) の相対立体配置についても、1' 位の配置を除いて NOESY スペクトルより決定した。

また okaramine 類の絶対構造については、生合成経路を考慮して推定した。

第 4 章では、okaramine 類の構造とその活性との相関より得られた知見を総合し、活性発現に必要な構造を推測した。その結果、活性発現には α, α -ジメチルアリル基、あるいはアゼチジン環が必須であり、さらにアゾシノインドール環付近のコンホーメーションの変化も活性発現に関与することを明らかにした。

第 5 章では、これまで単離された okaramine 類と関連物質を基に生合成経路を提唱した。まず 2 分子の L-Trp がジケトピペラジン環を介して縮合し、**21** に生合成される。その後順次プレニル化を受け、**20** に誘導される。続いて **20** は分子内環化反応や酸化反応により **7** に導かれた後、さらに環化および酸化反応を受け、**14** と **15** を経由して **1** に生合成される。次に **1** は環化および酸化反応を経て **17** を経由して、**2** へ生合成される。**7** 位にプレニル基が置換した **8** および **10**、**11**、**16** はそれぞれ **1** および **7**、**6**、**15** の N-8 位の α, α -ジメチルアリル基がアザクライゼン型の転移反応を経て、生合成されたものと考えられる。

以上のように *P. simplicissimum* ATCC 90288 株のオカラ培養物より新規 okaramine 類縁体 J~R および関連物質 1~5 を単離・構造決定した。またそれらより okaramine 類の生合成経路を提唱した。さらにカイコに対する殺虫活性試験より、活性発現に必要な構造を明らかにした。今後 okaramine 類の作用点および作用機構が解明されれば、今回得られた構造と活性相関に関する知見は、新薬の分子設計もしくは開発につながると思われる。

参考文献

- 1) 藤田稔夫 編, 構造活性相関とドラックデザイン 化学同人 (1986).
- 2) 松中昭一, 新農薬学—21世紀農業における農薬の新使命—ソフトサイエンス社 (1998).
- 3) 志賀正和, 日本農業研究所研究報告「農業研究」, **7**, 41 (1994).
- 4) Hayashi, H., Takiuchi, K., Murao, S., and Arai, M., *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 461-469 (1989).
- 5) Hayashi, H., Asabu, Y., Murao, S., and Arai, M., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 246-250 (1995).
- 6) Hayashi, H., and Sakaguchi, A., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 804-806 (1998).
- 7) Hayashi, H., Asabu, Y., Nakayama, M., Murao, S., and Arai, M., *Chem. Express*, **8** (3), 177-180 (1993).
- 8) Hayashi, H., Asabu, Y., Nakayama, M., Murao, S., and Arai, M., *Chem. Express*, **8** (4), 233-236 (1993).
- 9) Hayashi, H., Nishimoto, Y., and Nozaki, H., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 5655-5658 (1997).
- 10) Guzman, F., S., Gloer, J., B., Wicklow, D., T., and Dowd, P., F., *J. Nat. Prod.*, **55**, 931-939 (1992).
- 11) Steyn, P., S., *Tetrahedron*, **29**, 107-120 (1973).
- 12) Hayashi, H., Fujiwara, T., Murao, S., and Arai, M., *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 3143-3145 (1991).
- 13) Hayashi, H., Furutsuka, K., and Shiono, Y., *J. Nat. Prod.*, **62** (1999) in press.
- 14) 阪口篤志 大阪府立大学 修士論文 (1995 年度).
- 15) Schkeryantz, J. M., Woo, J. G., and Danishefsky, S. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7025-7026 (1995).
- 16) Arai, K., Kimura, K., Mushiroda, T., and Yamamoto, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 7025-7026 (1995).
- 17) Arai, K., Shimizu, S., Taguchi, Y., and Yamamoto, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**,

991-999 (1981).

18) Kazlauskas, R., Murphy, P., T., Quinn, R., J., and Wells, R. J., *Tetrahedron Lett.*, **1**, 61-64 (1977).

19) Guella, G., Mancini, I., Zibrowius, H., and Pietra, F., *Helv. Chim. Acta.*, **72**, 1444-1450 (1989).

20) Davies, B., D., and Khaled, M., A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2**, 1238-1244 (1976).

謝辞

本研究を行うにあたり、終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜りました大阪府立大学農学部教授 林 英雄先生に深甚なる感謝の意を表します。また、本論文を作成するにあたり、御指導と御助言を頂きました大阪府立大学農学部教授 荒井基夫先生ならびに同教授 切畑光統先生に深く感謝致します。

MS スペクトル測定に御協力を頂きました京都大学農学部 入江一浩先生ならびに信州大学農学部 廣田 満先生に厚く御礼申し上げます。

CD スペクトル測定に御協力を頂きました大阪府立大学工学部 八木繁幸先生に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行において、多大な御指導と御助力を頂きました大阪府立大学農学部 藤田智之先生ならびに秋山康紀先生に心から感謝致します。また、本研究に御協力くださいました生理活性物質化学研究室の皆様にも心より感謝の意を表します。

実験材料であるオカラを無償で提供して下さった北川とうふ店に厚く御礼申し上げます。

最後に、天然物化学の領域へ導いて下さり、温かい御指導を頂きました大阪府立大学名誉教授 故中山 充先生に厚く御礼申し上げますとともに先生の御冥福を心からお祈り申し上げます。