

2021 年度 課程博士学位論文

ニンニク (*Allium sativum*) から得られるチオアクロレインを  
利用した抗がん作用を有するチオピランの合成研究

【薬学】生薬学分野 米田 太一

本論文は、以下の論文の内容を総括したものである。

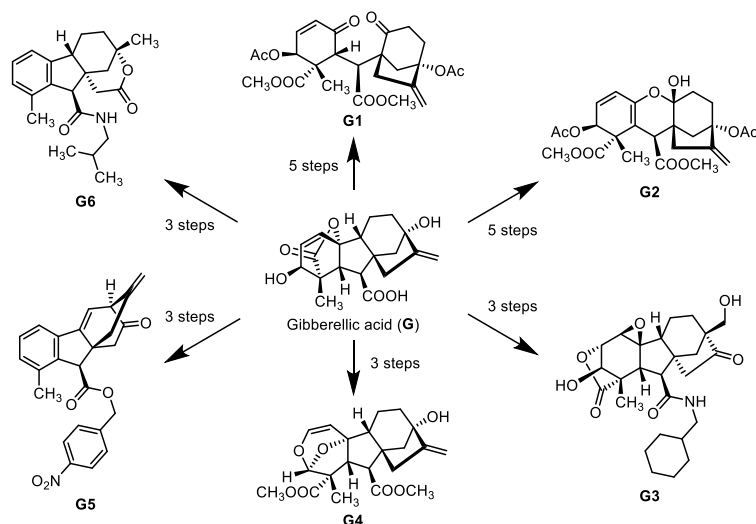
- [1] Taichi Yoneda, Seikou Nakamura, Shogo Okui, Sayaka Okazaki, Souichi Nakashima, Hisashi Matsuda. Detection of New 3,4-Dimethylpyrrole Derivatives upon the Incubation of Exogenous Amines with Extract of Onion (*Allium cepa*) and Crude Alliinase from Garlic (*A. sativum*). *Heterocycles* **2021**, 102, 2168-2178. [第 1 章]
- [2] Taichi Yoneda, Naoto Kojima, Takahiro Matsumoto, Daisuke Imahori, Tomoe Ohta, Tatsusada Yoshida, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda, and Seikou Nakamura. Construction of sulfur-containing compounds with anti-cancer stem cell activity using thioacrolein derived from garlic based on nature-inspired scaffolds. *Org. Biomol. Chem.* **2022**, 20, 196-207. [第 1 章, 第 2 章]

## 目次

序論.....	1
本論.....	5
第一章 チオアクロレインを利用したチオピランの合成.....	5
第一節 タマネギを用いたピロール合成.....	5
第二節 ニンニクを用いたチオピラン合成.....	10
小括.....	20
第二章 得られたチオピランの化学的安定性および抗がん作用.....	21
第一節 化学的安定性の評価.....	21
第二節 抗がん作用の評価.....	21
小括.....	23
結論.....	24
謝辞.....	25
実験の部.....	26
第一章の実験.....	26
第一節の実験.....	26
第二節の実験.....	49
第二章の実験.....	114
第一節の実験.....	114
第二節の実験.....	115
引用文献.....	116

## 序論

2013年 Hergenrother らは、天然由来低分子化合物に環歪み反応を制御して適用することにより、複雑な天然物のような誘導体を作成するための Complexity-to-Diversity (CtD) 戦略を提起した (Scheme 1).<sup>1-3)</sup> 複雑な環状構造を有する天然由来低分子化合物 (Complexity) に対して環の開裂, 拡大, 融合, 転位などの反応を適用することにより, 多様な骨格を有する化合物ライブラリー (Diversity) を構築することができる. 容易に入手可能な天然物を素材とすることで, 持続可能な研究を推進するとともに, 天然由来低分子化合物の構造的特徴である, 複雑で立体的な分子構造を有する多様な化合物を得ることに成功している.



Scheme 1. CtD 戦略<sup>1)</sup>

CtD 戦略のような天然由来低分子化合物を原料とした半天然物合成に着想を得て, 著者は天然由来低分子化合物の生成過程の中間体を用いた化合物合成を行うことで, 半天然物を合成することが出来ないかと考えた. そこで, 著者はネギ属 (*Allium*) 植物に着目した.

ネギ属植物はヒガンバナ科における最大種であり, 食用から園芸品種まで多種多様な植物が存在する. 代表例としてニンニク (*Allium sativum*), タマネギ (*A. cepa*), ネギ (*A. fistulosum*) などが挙げられ, 我が国の食卓においても日常的に目にする身近な植物も多く属する. 特徴成分としては含硫黄化合物が挙げられ, ネギ属植物の独特な臭気や刺激性に関与している.

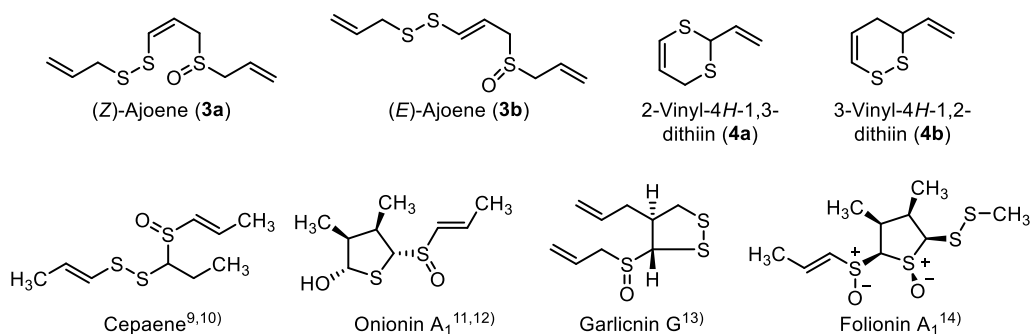
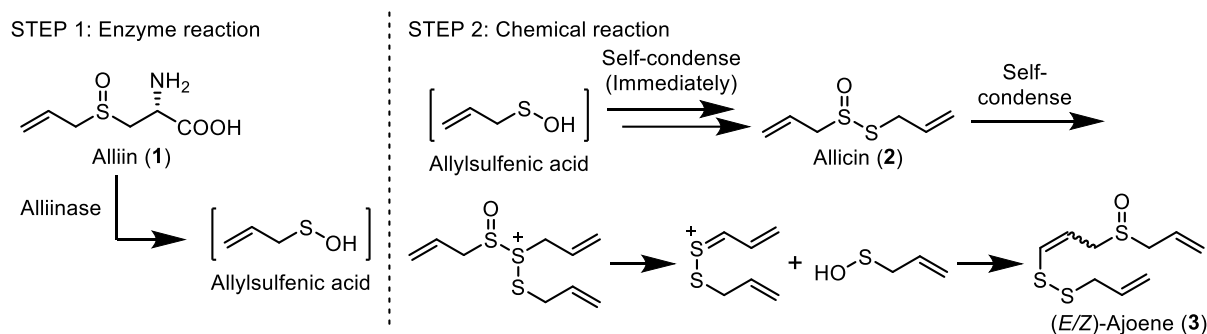


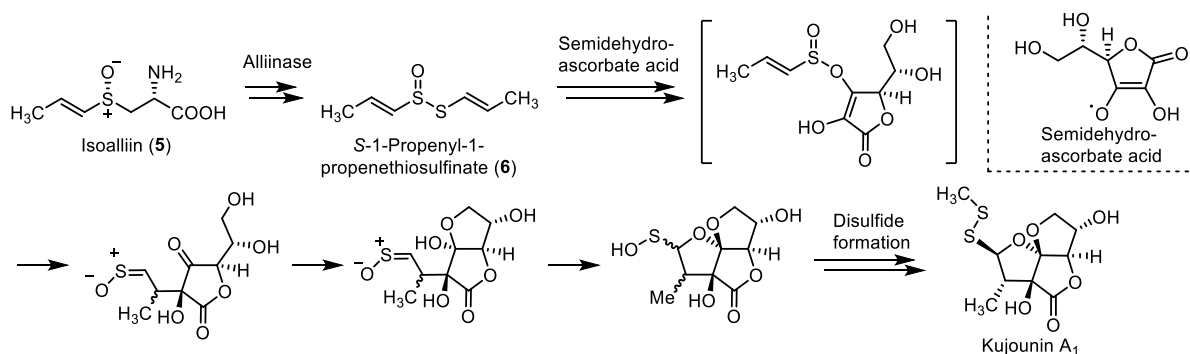
Figure 1. ネギ属植物由来含硫黄化合物

これら含硫黄化合物は植物中においては **alliin (1)**<sup>4)</sup> に代表されるシステインスルホキシド誘導体と **alliinase** 等の酵素との酵素反応産物である不安定化合物を鍵中間体として生成する。<sup>5)</sup> この一連の化合物生成反応は化学防御機構と呼ばれ、植物が虫等の外敵から身を守るための機構であると考えられている。すなわち、システインスルホキシド誘導体と酵素群はそれぞれ植物内の異なる部位に貯蔵されており、通常は酵素反応が進行しない。植物細胞に障害が起きると細胞膜が破壊され、異なる部位に貯蔵されていた酵素基質であるシステインスルホキシド誘導体と酵素が混合され、酵素反応が進行する (Scheme 2. STEP 1)。そしてはじめに、**allicin (2)**<sup>6,7)</sup> に代表されるチオスルフィネートなどが生成する。なお、ネギ属植物含有されるシステインスルホキシド誘導体の種類やその含有量は種により異なり、種による化合物の多様性に寄与している。酵素反応により生成したチオスルフィネート等が更に縮合や分解反応を連続的に行うことにより、**ajoene (3)**<sup>8)</sup> を代表例とするネギ属植物の多様な含硫黄化合物が生成する (Scheme 2. STEP 2)。



Scheme 2. ネギ属植物由来含硫黄化合物の生成機構

ここで、ネギ属植物から得られる含硫黄化合物は **allicin (2)** や **ajoene (3)** の生成過程のように、酵素反応生成物同士のみでの反応から生成するものの他に (Figure 1)<sup>9-14)</sup>, **kujounin A<sub>1</sub>**<sup>15,16)</sup> のような酵素反応生成物が植物中に存在する他の成分と反応することにより生成すると考えられる化合物がある (Scheme 3)。九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’) より単離された **kujounin A<sub>1</sub>** はシステインスルホキシド誘導体 **isoalliin (5)** が酵素反応により分解されることにより生成するチオスルフィネート (**6**) と植物中のアスコルビン酸とが反応することにより生成すると推定された。



Scheme 3. Kujounin A<sub>1</sub> の推定生成経路<sup>15,16)</sup>

また、含硫黄化合物以外にも、ネギ属植物の加工時に問題となる変色の原因物質としてピロール誘導体が見出された。<sup>17)</sup> このピロール誘導体の生成過程として、酵素反応により生成したチオスルフィネートと植物中のアミノ酸とが反応し、ピロール骨格が形成する過程が提唱されている。このようにネギ属植物由来の酵素反応生成物が化学反応を起こす他の植物成分に代わり、適切な反応試薬を加えることで、半天然物の合成が出来ないかと考えた。

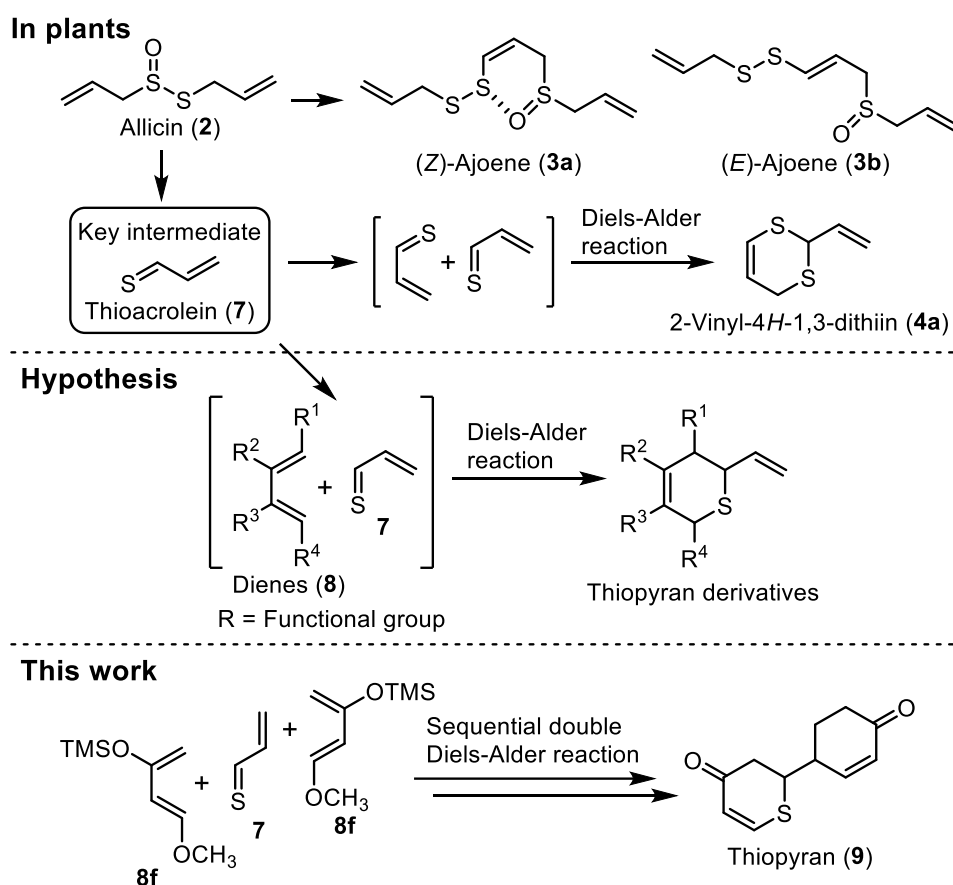
一方、ネギ属植物ニンニクから得られる含硫黄化合物の代表例の一つである ajoene (**3**) は、ビニルスルフィド構造をもつ直鎖状の含硫黄化合物であり、(Z)-体 (**3a**) および (E)-体 (**3b**) の幾何異性体が知られている。**3** は、抗がん、<sup>18-22)</sup> 神経保護、<sup>23)</sup> 抗菌、<sup>24)</sup> 抗真菌、<sup>25)</sup> および抗炎症作用<sup>26)</sup>を有することが報告されている重要なメディカルシーズである。特に抗がん作用においては動物実験における転移抑制作用や腫瘍サイズの増大抑制作用に加え、<sup>21)</sup> *in vitro* における検討において未だ治療薬のない、がん幹細胞 (CSC) に対して増殖抑制作用を示すことが報告されるなど、<sup>22)</sup> 抗腫瘍効果を持つ化合物として期待された。しかしながら、**3a** を酢酸エチル中で 60 °C で 3 日間加熱した場合の残留率は 19.9% であるなど、<sup>27)</sup> 化学的に不安定なこともあり臨床では利用されていない。また、**3** の幾何異性体について、抗がん作用等において、(Z)-体 (**3a**) が (E)-体 (**3b**) よりも強いことが報告されており、<sup>18,20)</sup> 実際に著者の検討においても、**3a** が **3b** よりもがん細胞に対する強い細胞増殖抑制作用を有することを確認した (Table 1)<sup>28)</sup>。著者は、この作用の違いが分子内の硫黄原子と酸素原子の非結合性の相互作用 (S-O 相互作用) によりコンフォメーションが固定化されるためであると推測した。上述の背景のもと、著者は、ビニルスルフィド構造をもち、分子配座を固定化したチオピラン誘導体が、**3a** と同等の活性を有し化学的に安定な抗がん薬になり得ると仮説を立てた。

Table 1. Ajoene (**3**) のがん細胞増殖抑制作用

がん細胞増殖抑制作用 – 50% 細胞増殖抑制濃度 (IC <sub>50</sub> , μM) –		
	Z-体 ( <b>3a</b> )	E-体 ( <b>3b</b> )
MDA-MB-231 <sup>28)</sup>	15	36
U251-MG <sup>28)</sup>	19	40
WHCO1 <sup>20)</sup>	25	39
Hep 3B <sup>18)</sup>	31	75

一方、ニンニクから得られる **3** 以外の含硫黄化合物として、環状構造を有する 2-vinyl-4H-1,3-dithiin (**4a**) および 3-vinyl-4H-1,2-dithiin (**4b**) が知られている。<sup>8,29)</sup> **4a** および **4b** は、ニンニク中の酵素反応生成物である allicin (**2**) の分解反応による thioacrolein (チオアクロレイン, **7**) の生成と、続く **7** の自己 Diels-Alder 反応を経て生成すると推定されている。**4a** および **4b** は多様な生物活性を示すことが知られているが、**3** と同様に化学的に不安定であり医薬品として用いることが難しい。そこで、著者は、**4a** および **4b** の生成過程である **7** の Diels-Alder 反応を応用することで、化学的に安定なチオピランの構築が出来ないかと考えた (Scheme 4)。すなわち、反応剤として適切なジエンを用いることで **7** との thio-Diels-Alder 反応を行うことができれば、チオピラン環が構築することができると考えた。

本研究では、まず第一章においてネギ属植物由来の酵素反応生成物を化学反応へと利用できるかネギ属植物タマネギを用いて検討を行った。検討の結果、ネギ属植物由来の酵素反応生成物は化学反応へ用いることが可能であることが分かったことから、**7** を用いたチオピラン合成について検討を行った。種々反応条件の検討の結果、ジエンとして反応性の高いシリルエノールエーテルを有するジエンを用いることで、ネギ属植物ニンニク由来の **2** から系中で発生した **7** との Diels-Alder 反応が進行し、位置選択的なチオピラン合成を達成した。本反応においては興味深いことに2分子のジエンとの連続的な Diels-Alder 反応が進行した二環式のチオピラン **9** が得られた。続いて、第二章において得られた化合物の化学的安定性および抗がん作用を評価した。



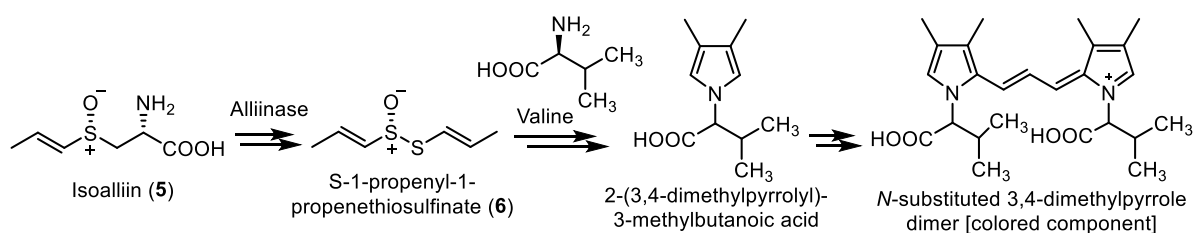
Scheme 4. 研究の概要

# 本論

## 第一章 チオアクロレインを利用したチオピランの合成

### 第一節 ピロール生成を指標とするネギ属植物抽出物を利用した反応の検討

タマネギ (*A. cepa*) やニンニク (*A. sativum*) のペーストは、放置すると着色することが知られている。例えば、加工されたタマネギはピンクや赤に着色する。近年、Imai らは 2-(3,4-dimethylpyrrolyl)-3-methylbutanoic acid や 2-(3,4-dimethyl-1*H*-pyrrolyl)propanoic acid といった *N*-置換 3,4-ジメチルピロール類を色素前駆体として同定し、着色成分が *N*-置換ピロールおよびそれらの二量体の混合物であることを明らかにした (Scheme 5).<sup>17,30,31)</sup>

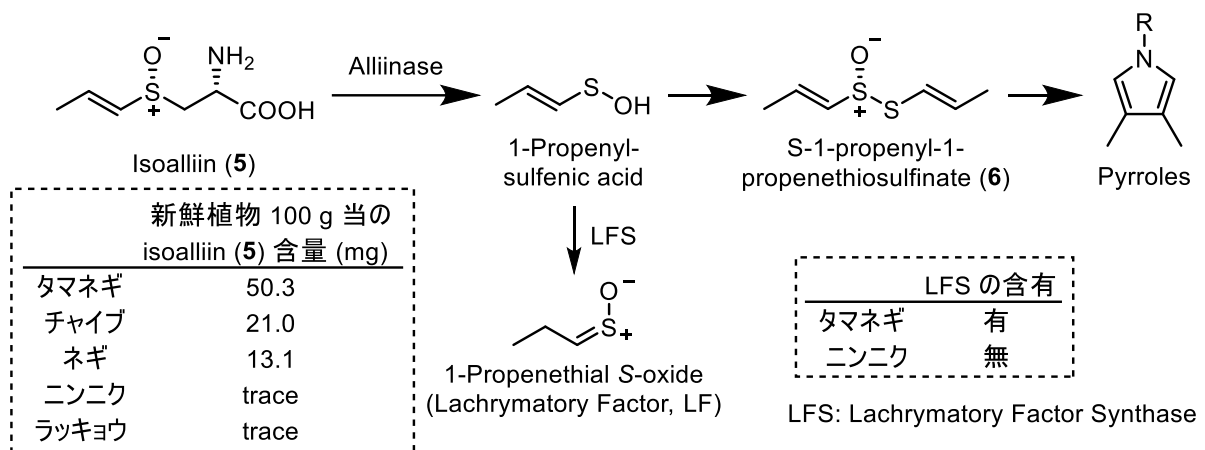


Scheme 5. タマネギ中での *N*-置換 3,4-ジメチルピロールの生成

ピロールの生成プロセスは、まずシステインスルホキシド誘導体である isoalliin (5) が酵素 alliinase による分解を受け、*S*-1-propenyl-1-propenethiosulfinate (6) などの含硫黄化合物を生成する。続いて、これらの含硫黄化合物が、植物中のアミノ酸と反応して、*N*-置換 3,4-ジメチルピロールを生成すると考えられた。この生成プロセスの報告に着想し、著者は天然物の生成過程の中間体を用いた化合物合成に応用できないかと考えた。すなわち、タマネギの酵素反応生成物と非天然アミン類との反応を行うことで、半天然型 *N*-置換 3,4-ジメチルピロールを得ることが出来ないかと考えた。

まず、目的のピロール合成を達成するために、素材となるネギ属植物について検討した。今回のピロール合成において最も重要な前駆体はシステインスルホキシド誘導体である isoalliin (5) であり、タマネギ (*A. cepa*) が 5 の含量および素材の入手のしやすさから最適な素材であると考えられた。一方、タマネギ中にはシステインスルホキシド誘導体の分解酵素である alliinase の他に、alliinase により生成したスルフェン酸誘導体を催涙因子 (Lachrymatory Factor, LF) へと変換する酵素である Lachrymatory Factor Synthase (LFS) を有している (Scheme 6)。LFS の存在により、ピロール合成に重要な *S*-1-propenyl-1-propenethiosulfinate (6) の生成量が減弱することが危惧されたため、LFS を失活させる必要があった。植物中に存在する 1 種の酵素のみを選択的に失活させることは困難なことから、タマネギ中の酵素を全て失活させた後、必要な酵素である alliinase を再度追加する方法をとることとした。この計画において、ニンニク (*A. sativum*) は LFS を含有しないことが分かっているため、タマネギと同じく素材の入手も簡単であることから、alliinase 分画のための素材として適すると考えられた。





Scheme 6. ピロール合成に関わる 5 および LFS の植物による含有量の違い

著者は、出発物質としてネギ属植物タマネギ (*A. cepa*) に含有されるシステインスルホキシド誘導体の利用を想定した。タマネギ中のシステインスルホキシド分解酵素は、microwave (500W) で加熱することによって不活化した。ニンニクの酵素分画は先行報告に従って調製した。<sup>30)</sup>これらの原料を用いて、まず加熱処理したタマネギとニンニクから得られた粗 alliinase を混合することで、加熱処理したタマネギ中のシステインスルホキシドが alliinase にとって良好な基質であるかどうかを評価した (Figure 2)。LCMS 分析の結果から、新鮮タマネギの抽出物および加熱処理したタマネギとニンニク由来粗 alliinase の混合物の抽出物の両方にシステインスルホキシド isoalliin (5) の酵素分解生成物 6 [保持時間 4.7 min,  $m/z$  163 (M + H)<sup>+</sup>] および Di(1-propenyl)disulfane [保持時間 3.5 min,  $m/z$  147 (M + H)<sup>+</sup>] が含まれることを確認した。また、システインスルホキシド由来のチオスルフィネートの多段階反応による複合化合物の生成も確認した (保持時間 7.5-10.0)。以上の結果から、加熱処理したタマネギ中のシステインスルホキシドはニンニク由来酵素に対する良好な基質であることを確認した。

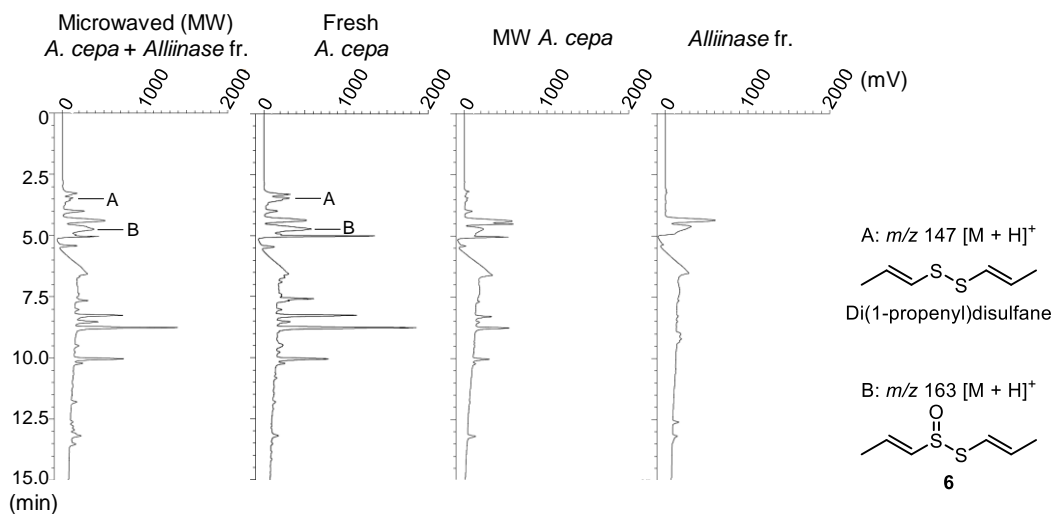
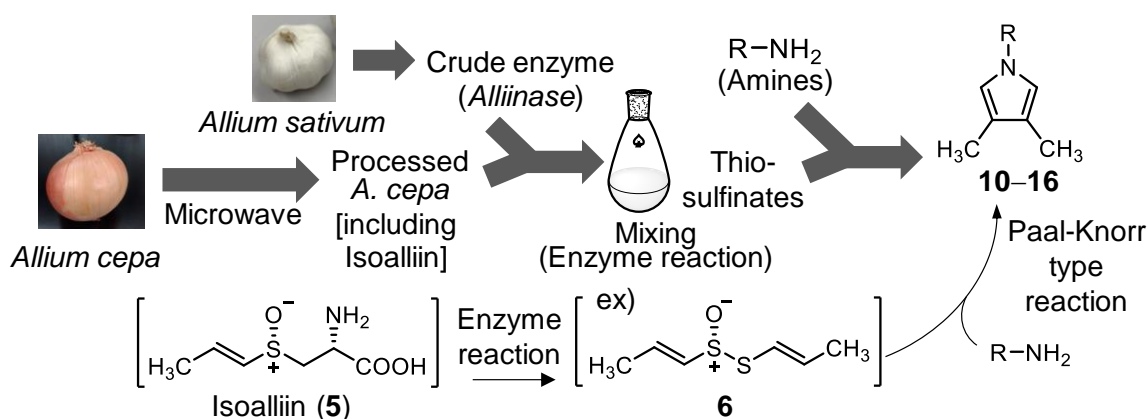


Figure 2. 各抽出条件によるタマネギ抽出物の HPLC 分析

次に、植物中でのピロール生成反応を模倣して、タマネギ由来システインスルホキシドから *N*-置換 3,4-ジメチルピロールの合成を試みた (Scheme 7). はじめに、天然物と同様のアミノ酸を用いた反応を検討した. すなわち、加熱処理したタマネギとニンニク由来粗 *alliinase* とを混合することで 1 分間の酵素反応を行った後、植物繊維を濾過により除去した. ろ液をジエチルエーテルおよび水を用いて液々分配を行うことでチオスルフィネートをジエチルエーテル分画に抽出し、減圧下濃縮した. (L)-Phenylalanine をリン酸カリウム緩衝液 (pH5.5) に直ちに加え、100 °C で 15 分間反応液を還流した. 予想通り、求核反応が進行し、*N*-置換 3,4-ジメチルピロール **10** を乾燥タマネギから 0.021% の収率で得た (Table 2). さらに、種々の *N*-置換 3,4-ジメチルピロールを、(L)-phenylalanine の代わりに (L)-tryptophan や (L)-leucine, (L)-methionine といった天然アミノ酸を求核剤として検討を行ったところ、**10** の合成と同様に、それぞれ *N*-置換 3,4-ジメチルピロール **11** (0.075%, 乾燥タマネギからの収率), **12** (0.11%) 及び **13** (0.068%) を得ることができた (Figure 3). 続いて、同様の操作を非天然型のアミンである 1-phenethylamine や aniline, dodecylamine といった一級アミンを求核剤として用いた反応を検討した. その結果、非天然型アミンにおいても反応が進行し、*N*-置換 3,4-ジメチルピロール **14** (0.032%), **15** (0.043%) 及び **16** (0.047%) を **10** と同様の収率で得た.

化合物 **10** は無色の amorphous powder として得られ、その分子式は ESIMS 分析および HR-ESIMS 分析により  $C_{15}H_{16}NO_2$  であると決定した.  $^1H$  および  $^{13}C$  NMR スペクトル ( $CDCl_3$ ) は、化合物 **10** がピロール部分およびフェニルアラニン部分を含むことを示した. フェニルアラニン部分の位置は、 $1'-H$  および 2,5- $C$  間の HMBC 相関に基づいて決定した. また、 $1'$  位の絶対立体配置は、phenylglycine methyl ester (PGME) 法 (Figure 3)<sup>32)</sup> を適用することにより確認した. **10** 及び (*S*)-phenylglycine methyl ester [(*S*)-PGME] を縮合剤で処理することで (*S*)-PGME アミド (**10a**) を得た. 一方、(*R*)-PGME アミド (**10b**) は、(*R*)-PGME を用いて同様の操作を行うことにより **10** から得られた. Figure 3 に示すように、**10a** のピロール環のプロトンに割り当てたシグナルを、**10b** のプロトンに対して高磁場側で観測したのに対し [ $\Delta\delta$ : negative], **10a** のベンゼン環のプロトンに割り当てたシグナルは、**10b** のプロトンに対して低磁場側で観測した [ $\Delta\delta$ : positive].



Scheme 7. *N* 置換 3,4-ジメチルピロール生成の概略

Table 2. *N*-置換 3,4-ジメチルピロール (10–16) の合成

Processed <i>A. cepa</i>		Crude enzyme (Alliinase)	Thiosulfinate 6-containing fraction		Amines	<i>N</i> -substituted 3,4-dimethylpyrroles 10–16	
					15 min, reflux		
No.	Amine	Product	Yield (%) <sup>a</sup>	No.	Amine	Product	Yield (%) <sup>a</sup>
1			0.021	5			0.032
2			0.075	6			0.043
3			0.11	7			0.047
4			0.068				

<sup>a</sup> 乾燥タマネギからの単離収率 (w/w)

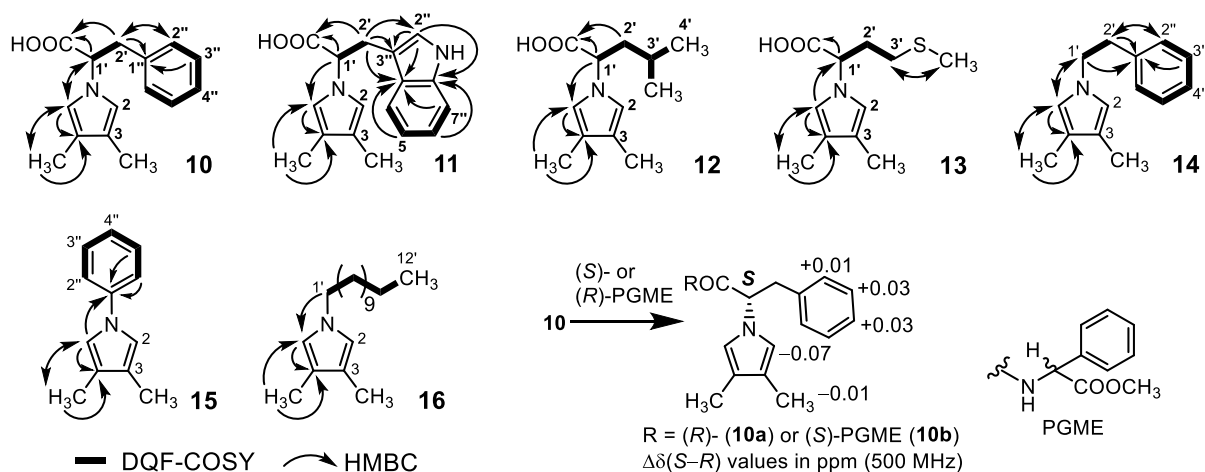
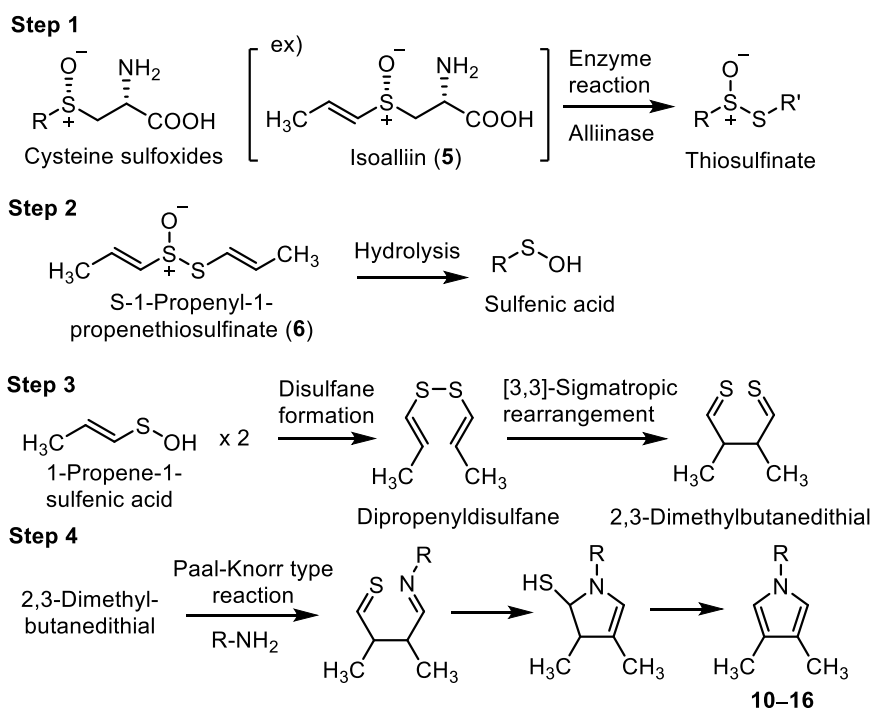


Figure 3. 化合物 10-16 の 2D NMR 測定における主な相関と 10 の絶対立体構造の決定したがって、10 の 1' 位での絶対立体配置は *S* であることが確認され、反応物のアミノ酸の絶対立体配置はこの反応において保持されることが分かった。その結果、化合物 10 の化学構造を、(*S*)-2-(3,4-dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-3-phenylpropanoic acid と決定した。

11-16 の化学構造は <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR スペクトルおよび 2D NMR (DQF-COSY および HMBC) スペクトルの詳細な分析によって決定した。化合物 11-16 のピロール部分と側鎖部分との相関は、HMBC スペクトルに基づいて確認した。また、化合物 14 の生成において、反応溶媒を水 [pH 7.0] やアセトン、ジエチルエーテルとした場合の収率は全て同等であった (0.053%, 0.040%, 0.071%)。これらの結果は、求核剤の求核性および溶媒の極性が反応の進行にほとんど影響を及ぼさないことを示唆している。

*N*-置換 3,4-ジメチルピロール 10-16 の合成に対する推定反応機構を Scheme 8 に示す。まず、*S*-1-propenyl-1-propenethiosulfinate (6) などのチオスルフィネートが、alliinase による酵素反応により isoalliin (5) などのシステインスルホキッドから生成される [ステップ 1]。第二に、チオスルフィネートは加水分解によって、スルフェン酸などの非常に不安定な中間体に分解される [ステップ 2]、一部のチオスルフィネートはジスルファンに変換され、生成したジスルファンは、1,4-ジチオケトン中間体を [3,3]-シグマトロピー転位によって生成すると推定される [ステップ 3]。これは、ネギ属植物からの抽出物および蒸留物に、di(1-propenyl)disulfane が含まれていること、<sup>33,34</sup> および di(1-propenyl)disulfane が加熱下で 3,4-dimethylthiophene に変換されるという報告によって支持される。<sup>35,36</sup> さらに、alliinase 処理したタマネギ抽出物の LCMS 分析は *m/z* 147 (M+H) を示す化合物の存在が確認でき、これは di(1-propenyl)disulfane の存在を示唆した。最後に、1,4-ジチオケトン中間体とアミンの間の Paal-Knorr 型反応<sup>37)</sup>によってピロール骨格が形成されることにより化合物 10-16 が得られると推定した [ステップ 4]。



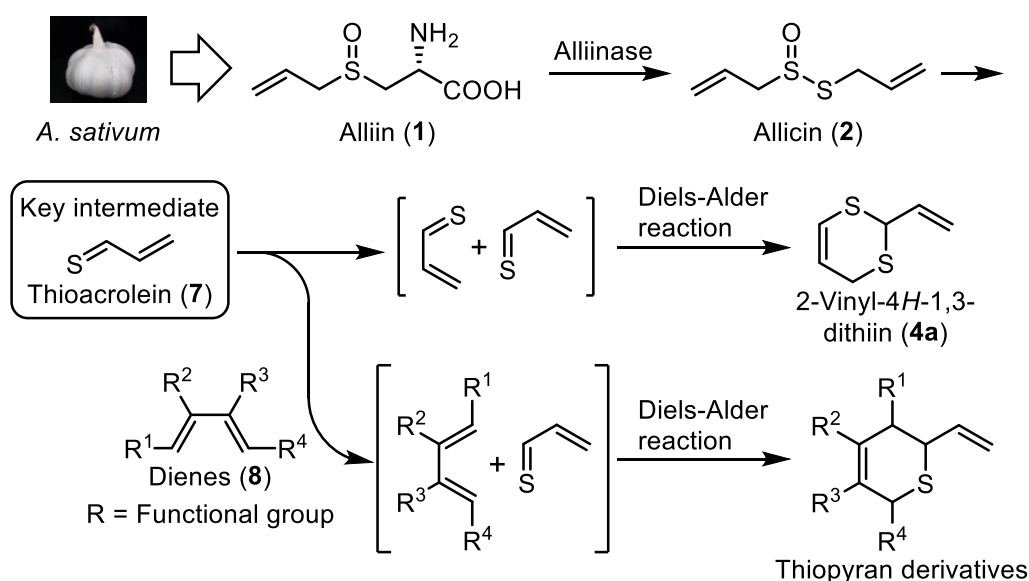
Scheme 8. *N*-置換 3,4-ジメチルピロール 10-16 の推定合成経路

第二節 チオアクロレインを利用したチオピランの合成

第一節の検討から、ネギ属植物の酵素反応生成物と植物外から添加した反応剤との反応が進行することが分かった。続いて、チオピランの合成について検討を行うこととした。

チオピラン誘導体を合成するための植物由来含硫黄化合物の生成過程に着想を得た合成プロセスの概要を Scheme 9 に示す。ニンニク由来の環状含硫黄化合物である vinylthiain (4) は thioacrolein (7) の自己 Diels-Alder 反応により生成すると考えられている。この生成過程に着想し、適切なジエン 8 と 7 との thio-Diels-Alder 反応を行うことができれば、非天然型のチオピランが得られると考えた。そこでまず 7 の単離を検討したが困難であった。著者の知る限り、7 の合成が試みられた例も数例あるが、<sup>38)</sup> 7 の単離に成功した例は報告されていない。理由として、7 は反応性が高く、生成後、即座に自己 Diels-Alder 反応により二量化する傾向があることが考えられる。実際に合成が試みられた例においても二量体である 2-vinyl-4*H*-1,3-dithiain (4a) や 3-vinyl-4*H*-1,2-dithiain (4b) が得られており、今回のニンニクからの単離検討においてもこれら 4 が得られたのみであった。

以上のように 7 の単離ができなかったことから、チオピラン合成への次のアプローチとして、ニンニクから得られる allicin (2) の分解によって系中にて生成した 7 の利用を検討した。すなわち、7 の分離はできなかったものの、その二量体である 4 が得られたことから、系中での 7 の存在が示唆された。そこで、7 を反応に利用するための前駆体を検討した。例えば生成経路の上流に位置する alliin (1) を 7 の生成における前駆体として用いる場合には、生合成経路を考慮すると酵素反応が必要となる。1 を単離し、試験管内で酵素反応を再現することは非効率であることから、1 の酵素分解反応は植物中にて行うこととした。次に、alliin (1) の酵素による分解反応の生成物である allicin (2) は単離可能な化合物であるが、徐々に分解して 7 を生成すると考えられている。そこで、2 を利用することで、系中で 7 を誘導し、チオピラン合成に利用できるのではないかと考えた。



Scheme 9. チオピラン合成の概要

まず、**2** の抽出条件を検討した (Figure 4). 抽出溶媒として、水、メタノール、アセトン、トルエン、酢酸エチルおよびジエチルエーテルについて検討したところ、水、メタノール、アセトンなどの極性溶媒は、**2** だけでなく他の多くのニンニク成分も抽出した. 系中で生成する **7** を効率的に反応に用いるために **2** の純度は高い方が望ましいため、これらの極性溶媒を使用して得られた **allicin (2)** 含有画分は、**7** の合成に使用するには不適切であると考えられた. 一方、**2** は、トルエン、酢酸エチル、ジエチルエーテルなどの溶媒によって選択的に抽出されたため、これらの非極性溶媒は、**7** の利用を志向した **allicin (2)** 含有画分を生成するための優れた抽出溶媒と考えられた. そのため、以後の検討においては、抽出効率に優れたジエチルエーテルを抽出溶媒として使用することとした. このようにして得られた **allicin (2)** 分画から **thioacrolein (7)** を系中で生成し、鍵反応として **Diels-Alder** 反応を用いたチオピランの合成を計画した. 系中で一過性に生成する **7** を効率的に反応に用いるため、反応性の高いジエンであるシリルエノールエーテルを有するジエン類について検討することとした.

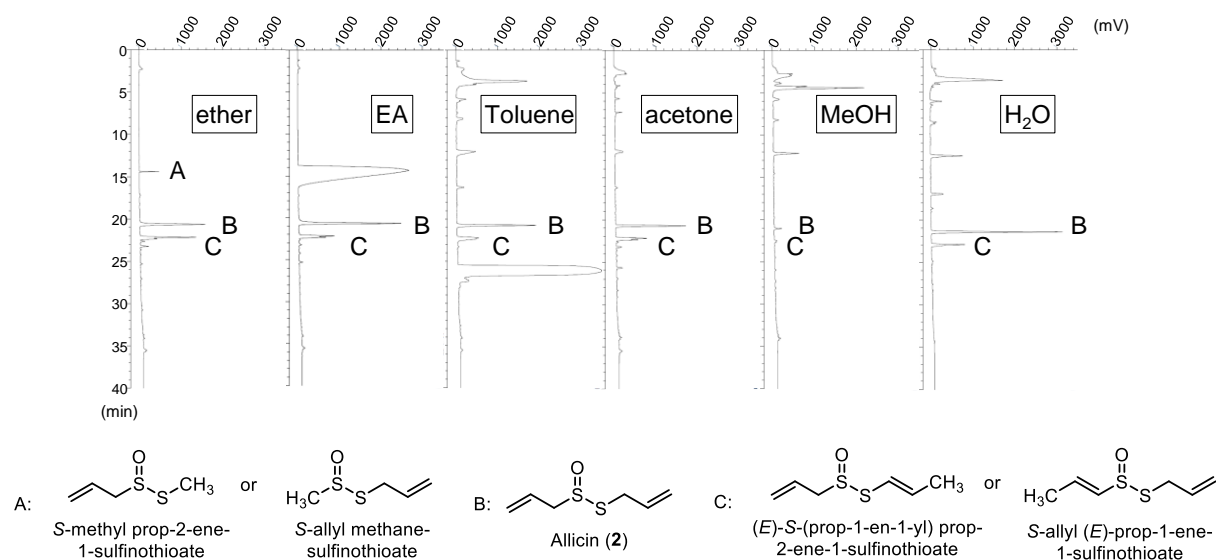
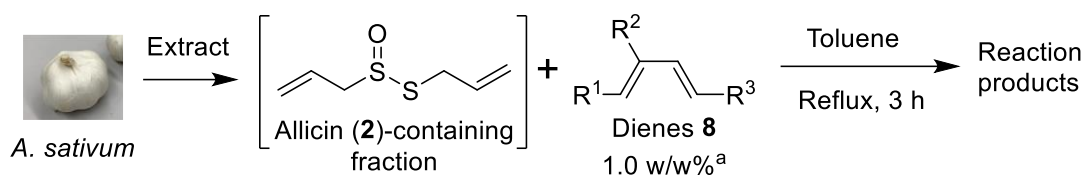
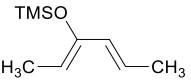
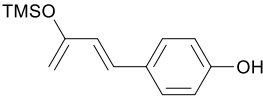
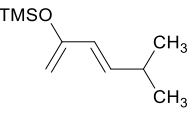
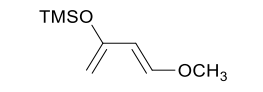
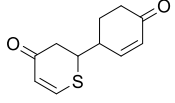
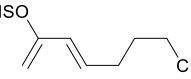
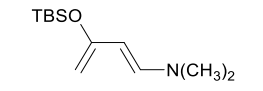
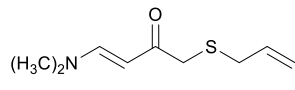
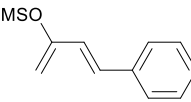


Figure 4. Allicin (**2**) の抽出条件の検討

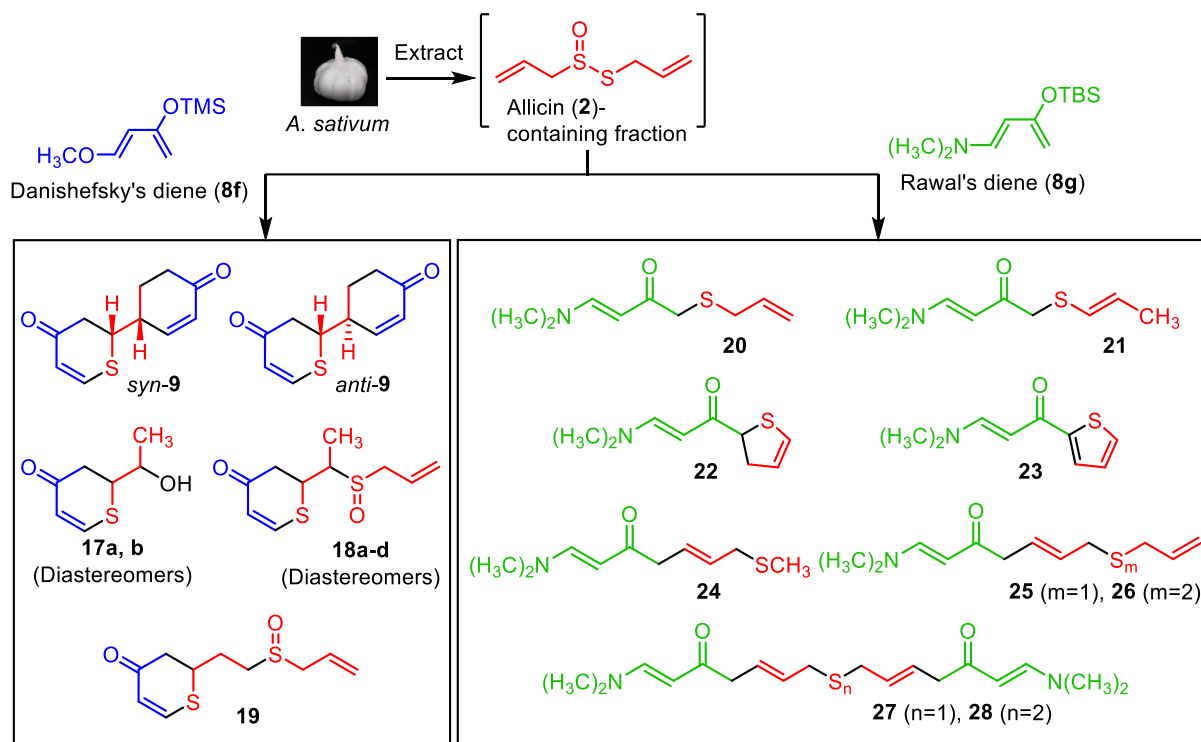
反応剤として種々のシリルエノールエーテルを合成し、ニンニク抽出物である **allicin (2)** 分画との反応を検討した. シリルエノールエーテル **8a-e** [((*Z,Z,E*)-hexa-2,4-dien-3-yl)oxy]trimethylsilane, (*E*)-trimethyl((5-methylhexa-1,3-dien-2-yl)oxy)silane, (*E*)-trimethyl(octa-1,3-dien-2-yl)oxy)silane, (*E*)-trimethyl((4-phenylbuta-1,3-dien-2-yl)oxy)silane, および (*E*)-4-(3-((trimethylsilyl)oxy)buta-1,3-dien-1-yl)phenol] をジエンとして使用した場合には、ニンニク抽出物との反応生成物は得られなかったが、より活性なジエンである (*E*)-((4-methoxybuta-1,3-dien-2-yl)oxy)trimethylsilane (Danishefsky's diene, **8f**)<sup>39</sup> を利用することで、2分子の **8f** との反応が進行したと考えられる二環系チオピラン **9** が得られた (Table 4). また、同時に単環系のチオピラン **17-19** も得られた (Scheme 10). 一方、(*E*)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-*N,N*-dimethylbuta-1,3-dien-1-amine (Rawal's diene, **8g**)<sup>40</sup> を使用した場合には、チオピランは得られなかったが、代わりに環状含硫黄化合物を含む含硫黄化合物 **20-28** が得られた.

**Table 4.** Allicin (**2**) 含有分画と ジエン (**8**) との反応の検討



Entry	Diene	Product	Entry	Diene	Product
1	 ((2 <i>Z</i> ,4 <i>E</i> )-hexa-2,4-dien-3-yl)oxytrimethylsilane ( <b>8a</b> )	none <sup>b</sup>	5	 ( <i>E</i> )-4-(3-((trimethylsilyl)oxy)buta-1,3-dien-1-yl)phenol ( <b>8e</b> )	none <sup>b</sup>
2	 ( <i>E</i> )-trimethyl((5-methylhexa-1,3-dien-2-yl)oxy)silane ( <b>8b</b> )	none <sup>b</sup>	6	 ( <i>E</i> )-((4-methoxybuta-1,3-dien-2-yl)oxy)trimethylsilane ( <b>8f</b> )	 <b>9</b> (0.014% from dry <i>A. sativum</i> ) <sup>c</sup>
3	 ( <i>E</i> )-trimethyl(octa-1,3-dien-2-yloxy)silane ( <b>8c</b> )	none <sup>b</sup>	7	 ( <i>E</i> )-3-(( <i>tert</i> -butyl(dimethylsilyl)oxy)- <i>N,N</i> -dimethylbuta-1,3-dien-1-amine ( <b>8g</b> )	 <b>20</b> (0.0048% from dry <i>A. sativum</i> ) <sup>c</sup>
4	 ( <i>E</i> )-trimethyl((4-phenylbuta-1,3-dien-2-yl)oxy)silane ( <b>8d</b> )	none <sup>b</sup>			

<sup>a</sup> 新鮮ニンニクに対する重量 %.  
<sup>b</sup> ニンニク抽出物とジエンとの反応物が単離されなかった.  
<sup>c</sup> 乾燥ニンニク (乾燥減量 61% から計算) からの単離収率.



**Scheme 10.** ニンニク抽出物と **8f** および **8g** との反応により得られた化合物一覧

2-(4-Oxocyclohex-2-en-1-yl)-2,3-dihydro-4*H*-thiopyran-4-ones (**9**) は黄色油状物質として得られた。ESIMS により擬似分子イオンピークが  $m/z$  231  $[M + Na]^+$  に観察され、分子式  $C_{11}H_{12}O_2S$  は、HREIMS により決定した。*Anti*-**9** および *syn*-**9** の  $^1H$  および  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ ) スペクトルは、3 つのメチレンプロトン [*anti*-**9**:  $\delta_H$  2.82 (d-like,  $J = 8.7$ , H-3a), 2.74 (d-like,  $J = 6.2$ , H-3b), 2.59 (td-like,  $J = 16.9$ , 4.2, H-5'a), 2.40 (ddd,  $J = 16.9$ , 13.3, 4.8, H-5'b), 2.21 (dddd-like,  $J = 10.7$ , 4.9, H-6'a), and 1.89 (ddd-like,  $J = 13.3$ , 10.7, 4.2, H-6'b); *syn*-**9**:  $\delta_H$  2.82 (dd,  $J = 16.2$ , 3.7, H-3a), 2.74 (dd,  $J = 16.2$ , 12.4, H-3b), 2.60 (td-like,  $J = 16.9$ , 4.4, H-5'a), 2.40 (ddd,  $J = 16.9$ , 13.3, 4.9, H-5'b), 2.17 (dddd-like,  $J = 14.5$ , 4.9, H-6'a), and 2.04 (dddd,  $J = 14.5$ , 13.3, 10.0, 4.4, H-6'b)], 2 つのメチンプロトン [*anti*-**9**:  $\delta_H$  3.58 (dt-like,  $J = 8.7$ , 6.2, H-2) and 2.83 (m, H-1'); *syn*-**9**:  $\delta_H$  3.77 (ddd,  $J = 12.4$ , 5.7, 3.7, H-2), and 2.83 (m, H-1')], 4 つのオレフィンプロトン [*anti*-**9**:  $\delta_H$  7.46 (d,  $J = 10.1$ , H-6), 6.94 (dd-like,  $J = 10.3$ , H-2'), 6.25 (d,  $J = 10.1$ , H-5), and 6.12 (d,  $J = 10.3$ , H-3'); *syn*-**9**:  $\delta_H$  7.47 (d,  $J = 10.1$ , H-6), 6.88 (dd-like,  $J = 10.2$ , H-2'), 6.24 (d,  $J = 10.1$ , H-5), and 6.13 (d,  $J = 10.3$ , H-3')], および 2 つのカルボニル基 [*anti*-**9**:  $\delta_C$  193.4 (C-4) and 198.3 (C-4'); *syn*-**9**:  $\delta_C$  193.8 (C-4) and 198.4 (C-4')] に対応するシグナルを示した。これらの分光データは、*anti*-**9** および *syn*-**9** の平面構造が同じであることを示唆した。上記の官能基の位置は、二次元 NMR の詳細な解析により決定した。すなわち、二量子フィルター相関分光法 (double quantum filter correlation spectroscopy, DQF COSY, Figure 1) により次のプロトン間に相関を観察した [*anti*-**9**: H-2 and H-3 and 1'; H-5 and H-6; H-2' and H-1' and 3'; H-6' and H-1' and 5'; *syn*-**9**: H-2 and H-3 and 1'; H-5 and H-6; H-2' and H-1' and 3'; H-6' and H-1' and 5']。また、異種核多量子相関分光法 (heteronuclear multiple bond connectivity spectroscopy, HMBC, Figure 1) では、次のプロトンと炭素ペアの間に



長距離相関を観察した [*anti-9*: H-2 and C-4, 6 and 2'; H-3 and C-4; H-5 and C-3; H-6 and C-2 and 4; H-2' and C-2 and 4'; H-5' and C-1' and 4'; *syn-9*: H-2 and C-4 and 2'; H-3 and C-4 and 1'; H-5 and C-3; H-6 and C-2 and 4; H-2' and C-4' and 6'; H-5' and C-1' and 4'; H-6' and C-2' and 4']. さらに、キラルカラムで化合物 *anti-9* および *syn-9* をそれぞれ分離することで、旋光性を示す立体異性体 *anti-9a*, *anti-9b*, *syn-9a* および *syn-9b* (*anti-9a*:  $[\alpha]_D^{21} - 132.9$ , *anti-9b*:  $[\alpha]_D^{21} + 118.6$ , *syn-9a*:  $[\alpha]_D^{21} - 136.0$ , *syn-9b*:  $[\alpha]_D^{21} + 153.3$  in MeCN) が得られた. それぞれの立体異性体の絶対配置は、ECD スペクトルを DFT 計算より求め、実測のスペクトルと比較することにより決定した (Figure 5). すなわち、*anti-9a* (2*R*, 1'*S*), *anti-9b* (2*S*, 1'*R*), *syn-9a* (2*R*, 1'*R*), および *syn-9b* (2*S*, 1'*S*) の DFT 計算により得られた ECD スペクトル (Figure 5, 破線) は、それぞれ実測のスペクトル (Figure 5, 実線) と良好な一致を示した. これらすべての証拠に基づいて、*anti-9a*, *anti-9b*, *syn-9a* および *syn-9b* の化学構造を Figure 5 に示す通り決定した.

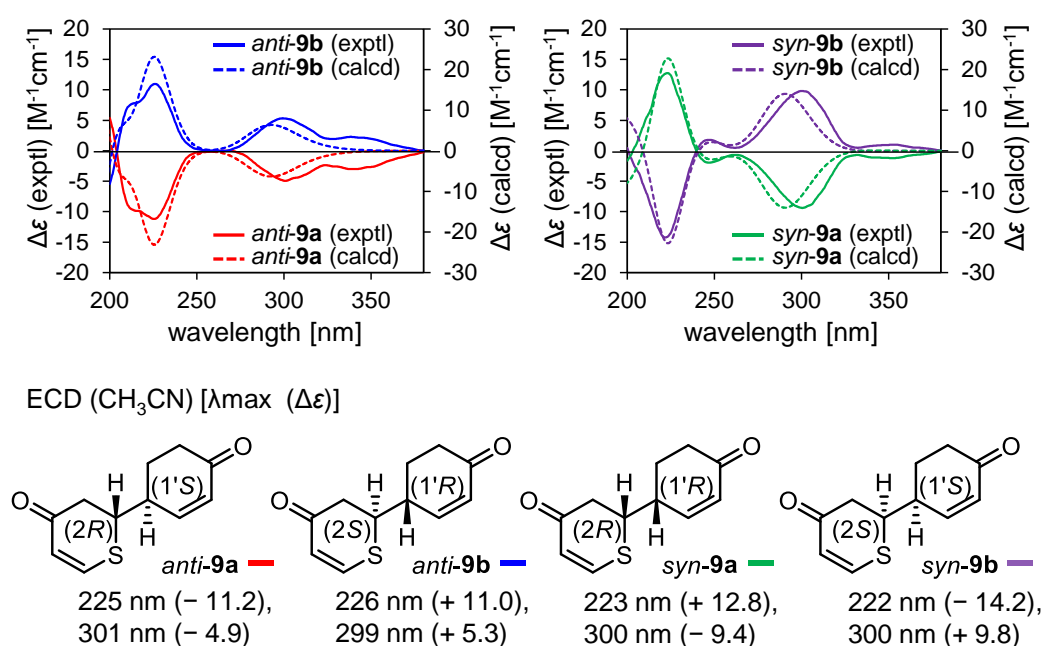
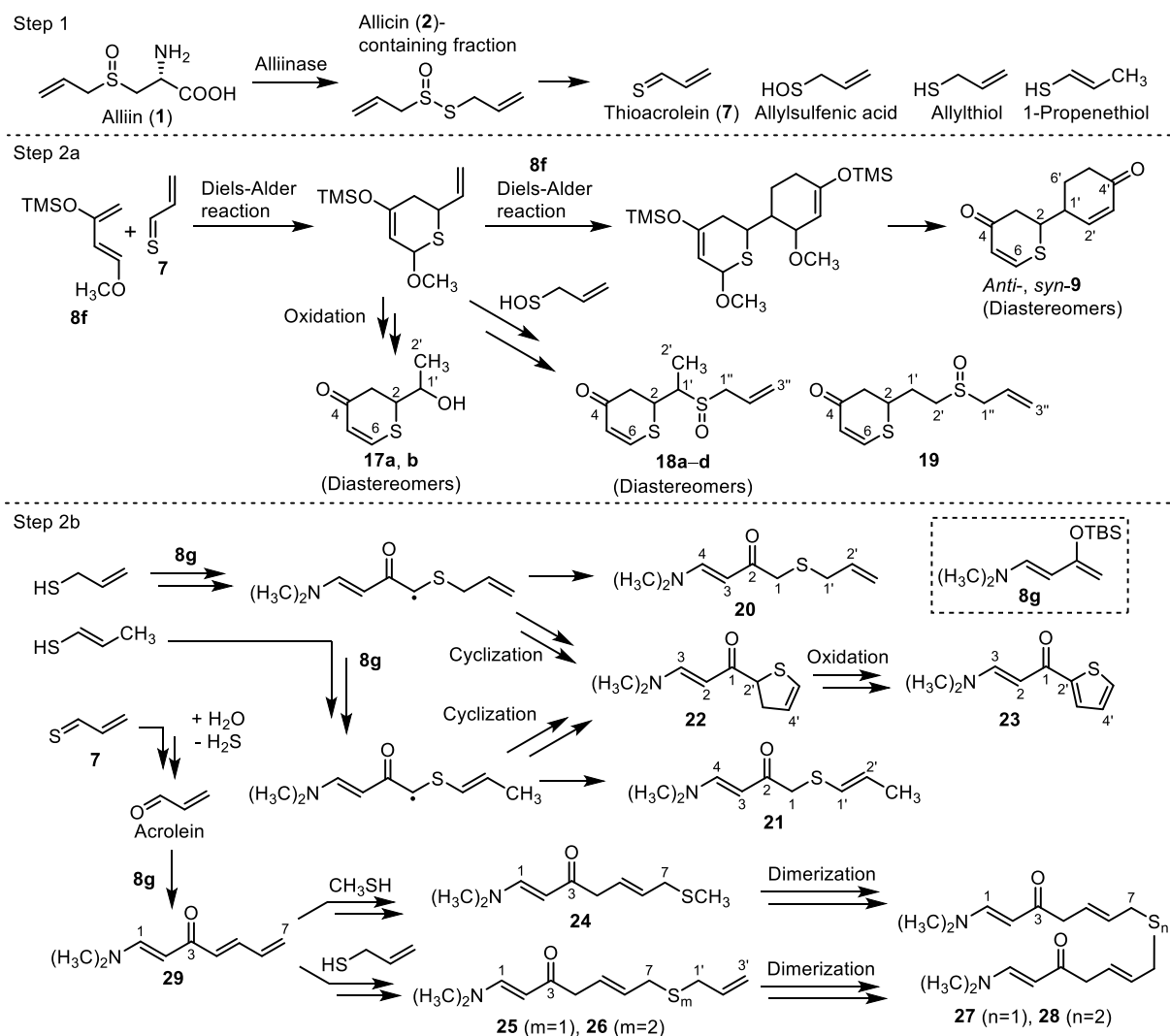


Figure 5. チオピラン 9 の ECD スペクトルを用いた絶対立体配置の決定.

得られた化合物の推定生成経路を Scheme 11 に示す. ステップ 1 では、酵素反応が抽出前処理によって進行し、allicin (2) などのチオスルフィネートが生成される. ジエチルエーテルで抽出した後、allicin (2) はさらに化学的に分解し、チオピラン合成における鍵中間体である thioacrolein (7) の他に allylsulfenic acid や allylthiol, 1-propenethiol といった中間体を生成する. <sup>5)</sup> 単環式のチオピランである 17–19 が得られていることから、まず、thioacrolein (7) とのチオカルボニル部位と Danishefsky's diene (8f) の Diels-Alder 反応が進行し、単環式のチオピラン中間体が生成すると考えられた. この単環式のチオピラン中間体のシリルエノールの分解とメトキシ基の脱離に加え、オレフィン残基が酸化されることによりチオピラン 17 が生成すると推定した. また、単環式のチオピラン中間体のシリルエノールの分解とメトキシ基の脱離に加え、allylsulfenic acid <sup>31)</sup> がオレフィン残基に付加することによってチオピラン 18 および 19 が生成すると推定した. さらに単環式のチオピラン中間体のオレフィン残基と 2

分子目の **8f** との Diels-Alder 反応が進行し、シリルエノールの分解とメトキシ基の脱離が進行することによりチオピラン **9** が生成すると考えた。

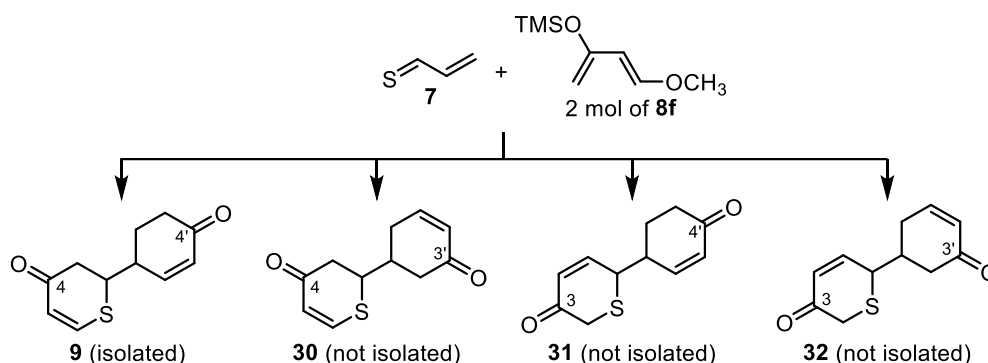
一方, Rawal's diene (**8g**) を用いた反応においては, **7** との Diels-Alder 反応生成物が得られなかった. 化合物 **20** および **21** は, allylthiol や 1-propenethiol のラジカル付加反応によって合成されると推定した. これは, 化合物 **22** と **23** が得られていること, および硫黄がラジカルを生成しやすく, ラジカルを安定化させるという事実によって裏付けられる.<sup>41,42)</sup> 炭素鎖が延長した化合物である化合物 **24–28** は, 同時に分離されている化合物 **29** を中間体として使用して生成すると考えた. 化合物 **29** は, **7** から生成する acrolein と **8g** とのアルドール縮合によって生成する. Acrolein の付加による炭素鎖延長反応は, 他のネギ属植物由来化合物の生成プロセスとして報告例があり<sup>43,44)</sup>, **8g** とのアルドール反応も知られている.<sup>45)</sup> 化合物 **24–26** は, **29** と methylthiol や allylthiol などのチオールとのチオマイケル付加反応によって生成されると推定した.<sup>46)</sup> 最後に, 化合物 **27** と **28** は, 化合物 **24–26** の二量化によって合成されると推定した.



Scheme 11. 化合物 **9** および **17–29** の推定生成経路.

## Diels-Alder 反応の位置選択性についての検討

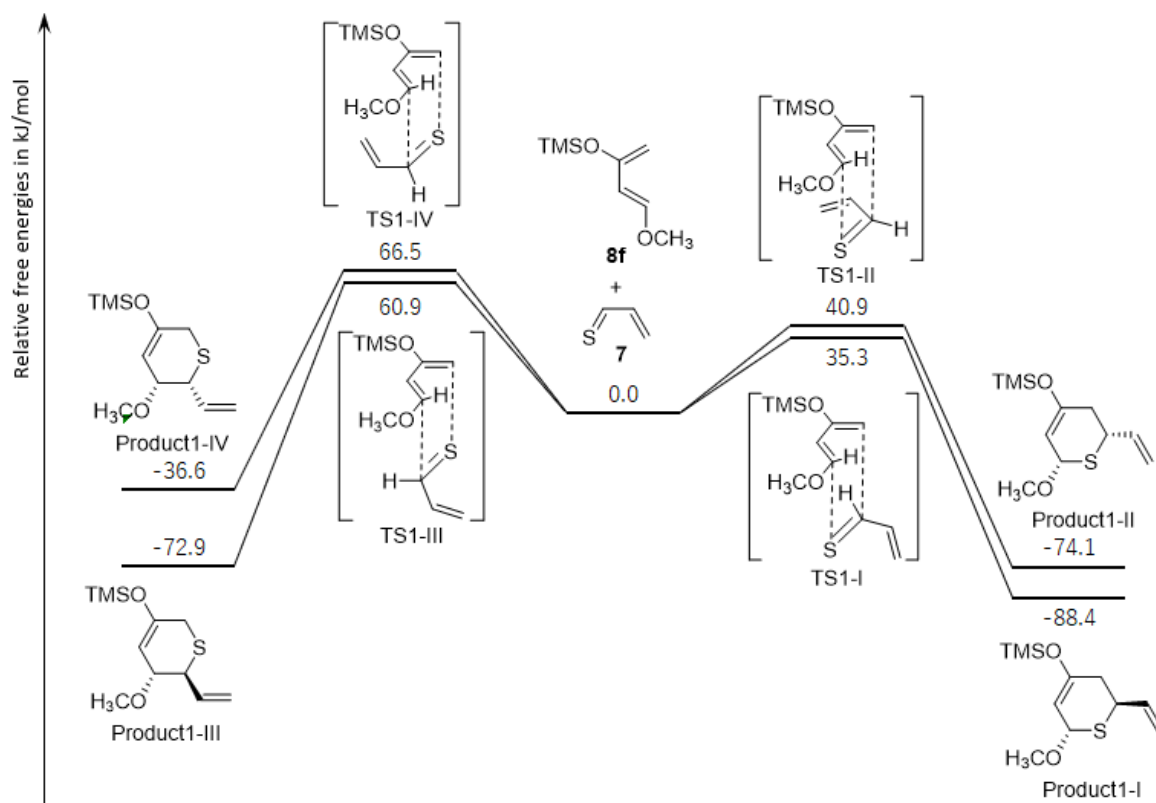
今回、7 と 2 分子の 8f との sequential double Diels-Alder 反応により二環式チオピラン 9 が得られた。ここでジエノフィルとしての thioacrolein (7) は、チオカルボニル基とビニル基の 2 つの反応部位を持っており、理論上、7 と 2 分子の 8f との反応により、4 つの位置異性体 9, 30, 31, および 32 が生成される可能性がある (Scheme 12)。しかし、今回の反応においては 30, 31, および 32 は得られず、9 のみが位置選択的に得られた。この反応についてさらに詳細な知見を得るために、Gaussian09\_E<sup>47)</sup> および ReactionPlus Pro<sup>48)</sup> (B3LYP / 6-31G (d,p)<sup>49)</sup>, 298 K, 1 atm) を使用して DFT 計算を実行した。



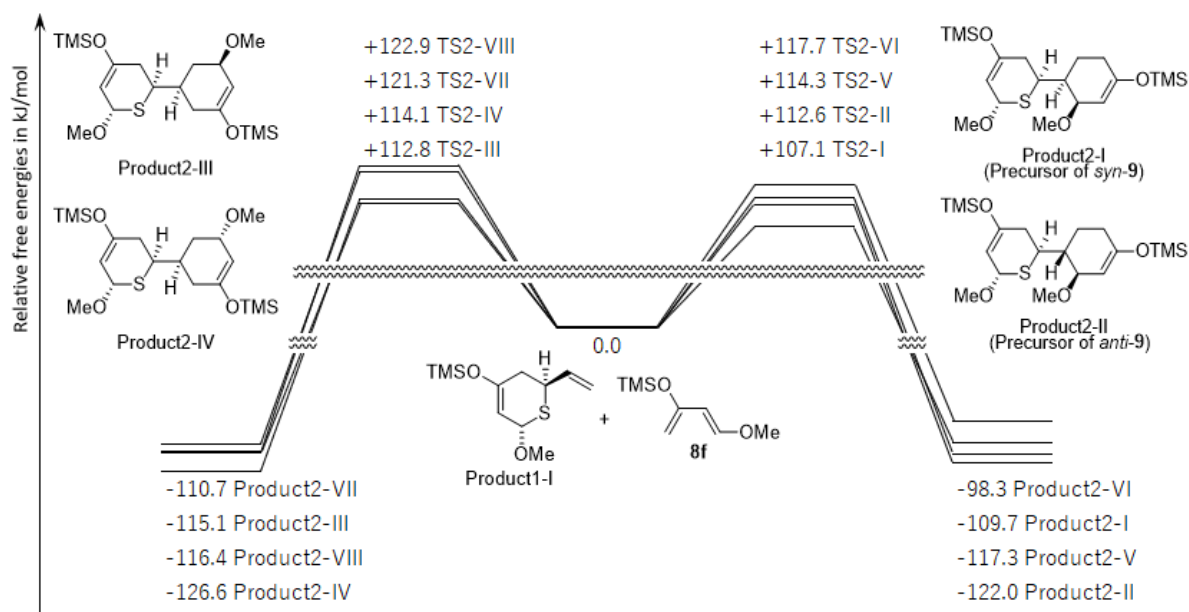
**Scheme 12.** チオアクロレイン (7) と 2 mol の 8f との Diels-Alder 反応により得られる 4 種の構造異性体の構造。

Thioacrolein (7) の 2 つの反応部位のうち、先の推定生成経路より、シクロヘキサノン骨格を持たないチオピラン 17-19 が得られていることから、チオカルボニル基が最初に反応したと考えられた。また、先行研究による報告もチオカルボニル基の反応が優先されることを支持した。<sup>50,51)</sup> よって、まず 7 のチオカルボニル部分と 1 分子目の 8f との反応経路のエネルギープロファイル解析を行い、実験的に見出した位置選択性を検討した。Figure 6 に、チオピラン (product1-I から IV) の形成につながる thio-Diels-Alder 反応のエネルギープロファイルを示す。この反応では、7 は 8f に近づくための 4 つの遷移状態を有し (TS1-I, TS1-II, TS1-III, および TS1-IV), これらの経路は、4 つの異性体 (product1-I, product1-II, product1-III, および product1-IV) の形成につながる。遷移状態 TS1-I, TS1-II, TS1-III および TS1-IV は、それぞれ 35.3, 40.9, 60.9, および 66.5 kJ/mol に位置するエネルギー遷移状態として識別した。Intrinsic reaction path (IRC)<sup>52,53)</sup> の計算は、いずれの遷移状態から生成物までの経路にも 2 つ目の極大値を示さず、2 つの新たな共有結合の生成は協奏的に進行することが示唆された。全ての反応は発熱性であり ( $\Delta E$  (kJ/mol) = product1-I: -88.4; product1-II: -74.1; product1-III: -72.9; および product1-IV: -36.6), 逆反応の大きなエネルギー障壁 (> 103.1 kJ/mol) のため、最終生成物の分布は速度論的に支配されると考えられた。この点で、product1-I は、product1-II, III, および IV へ至るそれぞれの遷移状態よりもそれぞれ 5.6, 25.6, および 31.2 kJ/mol エネルギーが低く、生成に有利であることが示唆された。一般的な Diels-Alder 反応における *endo* 則に反し、最も生成に有利である product1-I は *exo* 付加体であることは興味深い知見である。ボルツマン方程式によれば、25.6 kJ/mol のエネルギー差では生成比が product1-I :

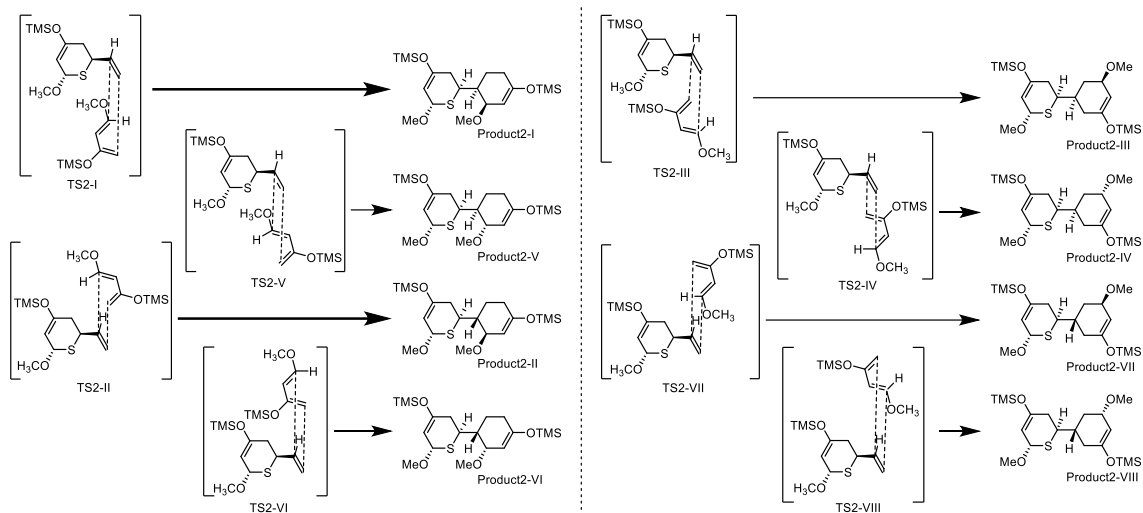
product1-III = 99.99 : 0.01 と見積もられ, product1-III や product1-IV はほとんど得られないはずであり, **31** と **32** が得られなかった実験結果と一致した.



**Figure 6.** チオアクロレイン (**7**) と **8f** との thio-Diels-Alder 反応における遷移状態および反応生成物の構造および DFT 計算によるエネルギープロファイル解析 [ $\Delta G$  (kJ/mol), 298 K, 1 atm].



**Figure 7.** Product1-I と **8f** との Diels-Alder 反応における反応生成物の構造および DFT 計算によるエネルギープロファイル解析 [ $\Delta G$  (kJ/mol), 298 K, 1 atm].



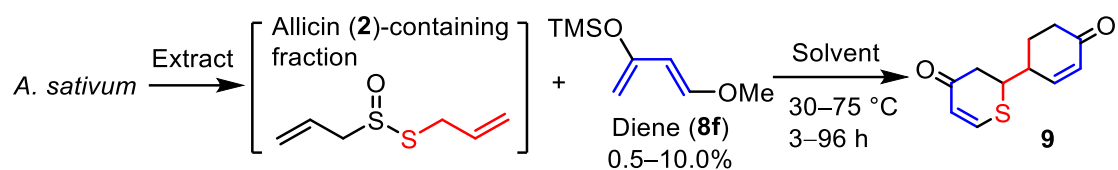
**Scheme 13.** Product1-I と **8f** との Diels-Alder 反応における遷移状態および反応生成物の構造

第 1 段階の反応では product1-I が優先的に生成されることが示唆されたため、2 分子目の **8f** と product1-I の反応経路のエネルギープロファイル解析を行った (Figure 7, Scheme 13). この反応では, product1-I には **8f** に近づく 8 つの考えられる遷移状態があった (TS2-I から VIII). これらの遷移状態はまた, IRC により協奏的な反応で環状生成物 (product 2-I から VIII) を構築することが分かった. 逆反応のエネルギー障壁が大きいため (>209.6 kJ/mol), 第 2 段階の反応も速度論的に制御されるものと推測した. 遷移状態のエネルギーが最も低く, 生成が有利である product2-I および product2-II は *syn-9* および *anti-9* の前駆体化合物であり, 実験結果と矛盾しない.

### 反応条件の最適化

目的のチオピラン **9** が得られたものの, 収率が低かったことから, より高い収率で **9** を得るために反応条件の最適化を試みた. まず, トルエン中で 75 °C に加熱した反応条件下で, ジエン **8f** の添加量と反応時間を変化させた場合の **9** の収率への影響を調べた (Table 5, entries 1–6). 添加した **8f** の量は, ニンニク (*A. sativum*) 球根全体の新鮮重量に基づいて決定した. 収率は HPLC を使用して, ニンニクに含まれる allicin (**2**) の理論値に基づいて計算した.<sup>54,55</sup> トルエンを反応溶媒とした検討では, 化合物 **9** の収率を 7.4% に向上させることができたが (entry 5), さらなる収率の向上を目的として反応溶媒を検討した (entries 7–11). 溶媒条件の検討からは, ジクロロメタンが **9** の合成に最も適していることが示唆された (entry 11). 次に, 添加したジエンの量と反応時間を検討したところ (entries 12–21), entry 16 に示す反応 [反応溶媒: ジクロロメタン; 反応温度: 30 °C; ジエン **8f** の添加量: 1.0%; 反応時間: 72 時間] において, **9** が 9.8% の収率で得られた. この反応条件において, ニンニク全球根の新鮮重量に基づいて計算した **9** の収率は 0.027% であり, ニンニク全球根の乾燥重量に基づいて計算した収率は 0.068% であった. 一方, ニンニク中において **2** から生成する vinylthiophene (**4**) の収率は 19.6% に相当する.<sup>8)</sup> 今回, **2** から **9** が 9.8% の収率で得られたという事実は, 良好な収率で **7** から **9** の合成を達成できたと考える.

**Table 5.** Allicin (**2**) 含有ニンニク抽出物と **8f** との反応条件の検討.



entry	solv.	temp. (°C)	diene (w/w%) <sup>a</sup>	time (h)	w/w% yield from dry <i>A. sativum</i> <sup>b</sup>	mol% yield from <b>2</b> <sup>c</sup>
1	toluene	75	1.0	3	0.014	2.1
2	toluene	75	1.0	24	0.019	2.7
3	toluene	75	1.0	48	0.015	2.2
4	toluene	75	1.0	72	0.015	2.2 <sup>d</sup>
5	toluene	75	1.5	48	0.051	7.4
6	toluene	75	2.0	48	0.029	4.2
7	toluene	30	1.0	48	0.026	3.8
8	benzene	30	1.0	48	0.028	4.0
9	neat	30	1.0	48	0.033	4.8
10	CH <sub>3</sub> CN	30	1.0	48	0.039	5.7
11	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	1.0	48	0.065	9.4
12	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	0.5	24	0.005	0.8
13	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	0.5	48	0.013	1.9
14	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	1.0	3	0.008	1.2
15	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	1.0	24	0.045	6.5
16	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	1.0	72	0.068	9.8
17	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	1.0	96	0.056	8.0
18	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	1.5	24	0.025	3.7
19	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	2.0	24	0.034	4.9
20	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	5.0	48	0.018	2.6
21	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	30	10.0	48	0.035	5.0

<sup>a</sup>新鮮ニンニクに対する重量%. <sup>b</sup>ニンニク抽出物とジエンとの反応物が単離されなかった.

<sup>b</sup>HPLC を用いた定量により計算した乾燥ニンニク (乾燥減量 61% にて計算) からの収率.

<sup>c</sup>HPLC を用いた定量により計算したニンニク中で生成した **2** からの収率.<sup>54,55)</sup> <sup>d</sup>同時に化合物

**17, 18** および **19** がそれぞれ 1.6%, 2.1% および 0.5% の収率で得られた.

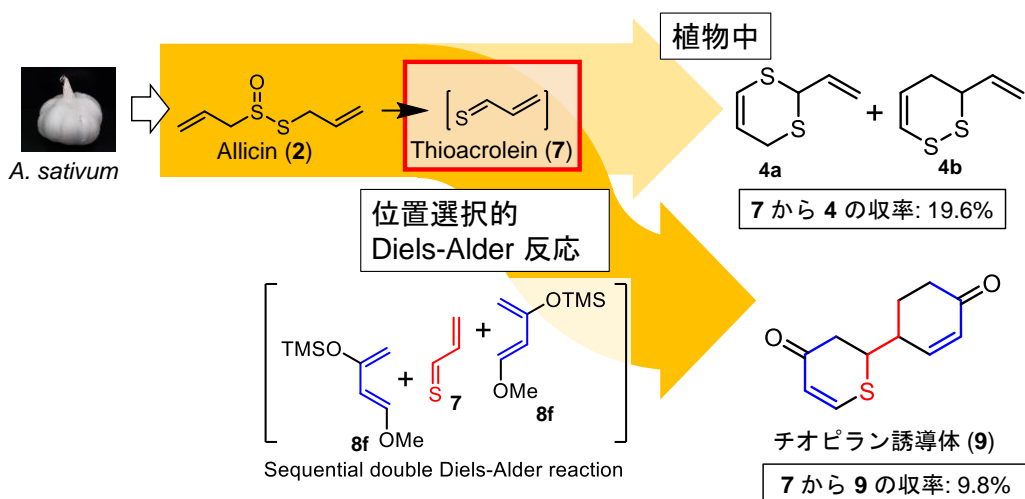
## 小括

第一章ではニンニク由来の抗がん物質 (Z)-ajoene (**3a**) に代わる抗がん物質を合成することを目的として、ネギ属植物由来の低分子化合物の生成過程の中間体を用いた半天然物の合成を行った。

まず、第一節ではネギ属植物由来のピロールの生成過程に着目し、タマネギ抽出物とアミンとの反応を検討した。その結果、天然型であるアミノ酸との反応生成物 **10-13** に加え、非天然型のアミンとの反応生成物 **14-16** を得た。これらピロールはタマネギ抽出物中の 1,4-ジチオケトンとアミンとの Paal-Knorr 型反応により生成すると考えられ、反応物のアミノ酸の絶対立体配置はこの反応において保持されることを PGME 法による絶対立体配置の決定により確認した。

以上の検討からネギ属植物の酵素反応生成物と植物外から添加した非天然型の反応剤との反応が進行することが分かった。

続いて第二節では、ニンニク由来の vinylthiioin (**4**) の生成過程に着目し、ニンニク抽出物中の thioacrolein (**7**) とシリルエノールエーテルとの反応を検討した。その結果、Danishefsky's diene (**8f**) との反応においてチオピラン **9** および **17-19** を得た。また、Rawal's diene (**8g**) を使用した場合には、チオピラン **9** は得られなかったが、代わりに、環状含硫黄化合物を含む、硫黄含有化合物 **20-28** を得た。興味深いことに、チオピラン **9** は 2 分子の **8f** との sequential double Diels-Alder 反応により位置選択的に合成された二環系の化合物であった。反応の位置選択性は DFT 計算によっても支持された。



## 第二章 得られたチオピランの化学的安定性および抗がん作用

### 第一節 化学的安定性の評価

チオピラン *syn-9* および *anti-9* の化学的な安定性について評価を行った (Table 7). チオピラン **9** およびニンニク由来抗がん物質 (*Z*)-ajoene (**3a**) について, それぞれ DMSO-*d*<sub>6</sub> または CD<sub>3</sub>OD に溶解し, NMR を用いた内標準法による定量を行った. 測定を行ったサンプル溶液を 60 °C で 1 週間保存した後, 再度定量を行い, 保存前後の溶液中の化合物の濃度を比較検討することで, 溶液中での残存率を評価した. その結果, *syn-9* および *anti-9* の両方が (*Z*)-ajoene (**3a**) よりも 1 週間の加熱後に溶液中に多く残存していた. すなわち, 得られた環状化合物 *syn-9* および *anti-9* が **3a** よりも溶液中において化学的に安定であることを示唆する.

Table 7. チオピラン (**9**) および (*Z*)-ajoene (**3**) を 60 °C で 1 週間加熱した際の残存率. <sup>a</sup>

compound	solvent	
	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	CD <sub>3</sub> OD
<i>syn-9</i>	99%	96%
<i>anti-9</i>	96%	83%
<b>3a</b>	77%	81%

<sup>a</sup> 各残存率の計算は NMR による定量により行った.

### 第二節 抗がん作用の評価

がん幹細胞 (Cancer stem cell, CSC) はさまざまながん細胞に少数存在し, 自己複製能力と多分化能の両方を備えている.<sup>56)</sup> さらに CSC の多くは, より分化したがん細胞とは異なり休眠期にあることから, 既存の抗がん剤に耐性があり, 化学療法後のがんの再発に参与する.<sup>57)</sup> このような背景から CSC を特異的に標的とする治療薬の開発は喫緊の課題である. その中で, ニンニク由来の (*Z*)-ajoene (**3a**) に CSC 形成阻害作用が報告されたことは CSC に対する有効な薬剤がない事から興味深い知見である. そこで, 今回ニンニク抽出物を用いた化合物合成により得られた化合物について抗 CSC 作用を検討することとした.

抗 CSC 作用のひとつとして CSC に対する細胞増殖抑制作用を検討することとした. がん細胞としてヒト神経膠芽腫細胞株 U-251 MG を用いて, 球体形成法により CSC を生成し<sup>58)</sup>, 球体の形成は光学顕微鏡により確認した. このようにして作成した CSC および通常培養した細胞株 (nonCSC) に対するチオピランを含む 12 種の合成化合物の細胞増殖抑制作用を, 陽性対照として (*Z*)-ajoene (**3a**) を使用して評価した. 細胞生存率は, 細胞の ATP レベルの定量化に基づく CellTiter-Glo<sup>®</sup>3D 細胞生存率アッセイを使用して評価した.

その結果, 化合物 *syn-9* は 50 μM において U-251MG CSC および non-CSC の両方に対する有意な細胞増殖抑制作用を示した. しかし, *syn-9* のジアステレオマーである *anti-9* を含む他の硫黄含有化合物は 50 μM で U-251 MG non-CSC および CSC に対して有意な細胞増殖抑制作用を示さなかった. 有意な作用を示した *syn-9* のジアステレオマーである *anti-9* について, より詳細な検討を行うために, ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 を用いて U251



MG と同様に調整した CSC および non-CSC に対する細胞増殖抑制作用を評価した (Table 6). 同時に (*Z*)-ajoene (**3a**) のジアステレオマーである (*E*)-ajoene (**3b**) についても検討を行った. 化合物 *syn-9a*, *syn-9b*, **3a** および **3b** は, U-251 MG の場合と同様に, MDA-MB-231 non-CSC と CSC の両方に対して細胞増殖抑制作用を示した. *syn-9a* および *syn-9b* の CSC に対する細胞毒性活性は, ポジティブコントロール **3a** と同等であった. 一方, *syn-9a* および *syn-9b* の non-CSC に対する細胞増殖抑制作用は, **3a** よりもわずかに低かった. non-CSC に対する **1b** の細胞増殖抑制作用は, *syn-9a*, *syn-9b* および **3a** の細胞増殖抑制作用よりも低かった. 一方, *anti-9a* および *anti-9b* は, U-251 MG CSC および non-CSC と同様に MDA-MB-231 CSC に対して 50  $\mu$ M において有意な細胞増殖抑制作用を示さなかった. *anti-9* と *syn-9* はジアステレオマーであり, 一方のジアステレオマーには細胞増殖抑制作用があるにも関わらずもう一方のジアステレオマーには作用が見られないのは, これらの化合物の立体的な分子構造の違いが薬理活性に寄与することを示しており, 興味深い知見である.

**Table 6.** チオピラン (**9**) および ajoene (**3**) の CSCs および non-CSCs に対する細胞増殖抑制作用.

Anti-proliferative activity (IC <sub>50</sub> , $\mu$ M) <sup>a</sup>				
	U-251 MG CSC	U-251 MG nonCSC	MDA-MB-231 CSC	MDA-MB-231 nonCSC
<i>syn-9a</i> (2 <i>R</i> ,1' <i>R</i> )	39 $\pm$ 3	26 $\pm$ 5	43 $\pm$ 1	32 $\pm$ 2
<i>syn-9b</i> (2 <i>S</i> ,1' <i>S</i> )	30 $\pm$ 7	32 $\pm$ 5	40 $\pm$ 2	24 $\pm$ 5
<i>anti-9a</i> (2 <i>R</i> ,1' <i>S</i> )	N. E. <sup>b</sup>	N. E. <sup>b</sup>	N. E. <sup>b</sup>	47 $\pm$ 3
<i>anti-9b</i> (2 <i>S</i> ,1' <i>R</i> )	N. E. <sup>b</sup>	N. E. <sup>b</sup>	N. E. <sup>b</sup>	47 $\pm$ 1
( <i>Z</i> )-Ajoene ( <b>3a</b> , positive control)	39 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	43 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1
( <i>E</i> )-Ajoene ( <b>3b</b> )	40 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	43 $\pm$ 1	36 $\pm$ 2
Adriamycin (positive control)	0.051 $\pm$ 0.014	0.040 $\pm$ 0.009	0.48 $\pm$ 0.08	0.20 $\pm$ 0.02

<sup>a</sup>各値は mean  $\pm$  S.E.M. を表す (*N* = 3). <sup>b</sup>50  $\mu$ M にて有意な作用を認めなかった.

## 小括

第二章では、第一章で合成した化合物の抗がん物質としての有用性を評価するために、化学的な安定性の評価および CSC に対する細胞増殖抑制作用の評価を行った。

第一節ではチオピラン *syn-9* および *anti-9* について、NMR を用いた定量により溶液中での化学的安定性について評価を行った。その結果、ニンニク由来の抗がん物質である (*Z*)-ajoene (**3a**) は DMSO-*d*<sub>6</sub> 溶液中で 1 週間加熱後の溶液中残存率が 77% であるのに対し、同条件で *syn-9* は 99%, *anti-9* は 96% の残存率であった。すなわち、合成した環状化合物 *syn-9* および *anti-9* が **3a** よりも溶液中において化学的に安定であることが示唆された。

続いて第二節では、ニンニク由来の不安定化合物を鍵中間体とした化合物合成より得られた化合物について抗がん作用の検討を行った。その結果、*syn-9a* および *syn-9b* に **3a** と同等の CSC 増殖抑制作用が認められた (U251-MG CSC に対する細胞増殖抑制作用 (IC<sub>50</sub>): *syn-9a*: 39 μM; *syn-9b*: 30 μM; **3a**: 39 μM)。一方、*anti-9a* および *anti-9b* は、CSC に対して有意な細胞増殖抑制作用を示さず、これらの化合物の立体的な分子構造の違いが薬理活性に寄与することが示唆された。



30 μM	U251-MG CSC増殖抑制作用 (IC <sub>50</sub> )	39 μM
99%	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> 中 60 °C で 1 週間加熱後の残存率	77%

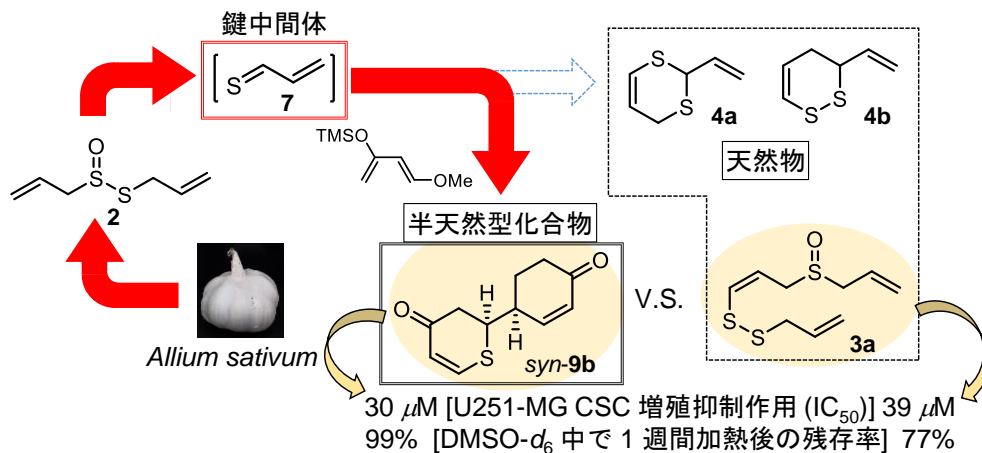
## 結論

今回、ニンニク由来の抗がん物質である (Z)-ajoene (**3a**) に代わる抗がん薬の開発を目指し、チオピランの合成を行った。

第一章では化合物の新たな合成戦略として、ネギ属植物由来低分子化合物の生成過程における中間体を用いた半天然物の合成を試みた。その結果、ニンニクやタマネギといったネギ属植物由来の化学的に不安定な化合物を利用することで、目的とするチオピランを含む 20 種の新規化合物を合成することが出来た。特に二環式チオピラン **9** の合成においては、ニンニクより得られる thioacrolein (**7**) を初めて合成に利用することに成功し、2 分子のシリルエノールエーテルとの sequential double Diels-Alder 反応により位置選択的なチオピラン合成を達成した。

第二章では、化学的な安定性やがん幹細胞に対する細胞増殖抑制作用の評価を行うことで、合成した化合物の抗がん物質としての有用性を評価した。その結果、syn-**9** はニンニク由来の **3a** と同等の CSC 増殖抑制作用を有し、**3a** より化学的に安定であった。すなわち、チオピラン syn-**9** はニンニク由来の抗がん物質である **3a** に代わる抗がん薬となり得る可能性がある。

以上のように植物含有化合物の化学的に不安定な化合物を利用した半天然型化合物の合成戦略は、抗がん薬開発を含む創薬において有用である。



## 謝辞

本研究に際し、ご懇意なるご指導とご高配を賜りました京都薬科大学 生薬学分野 中村誠宏准教授、および松田久司名誉教授ならびに中嶋聡一助教 (当時) に衷心より深甚なる謝意を表します。

本論文の作成にあたり御助言を賜りました京都薬科大学 薬品製造学分野 山下正行教授、ならびに同 薬化学分野 古田巧教授に深く感謝申し上げます。

本研究に際し数多くの御助言、御協力を賜りました京都薬科大学 薬品製造学分野 小島直人准教授、長崎国際大学 薬品資源学研究室 太田智絵講師ならびに同 計算創薬学研究室 吉田達貞講師に深く感謝申し上げます。

高分解能質量測定におきまして、大変お世話になりました京都薬科大学 共同利用機器センター 服部恭尚講師ならびに安東友繁助教 (当時) に厚く御礼申し上げます。

また、本研究に際しご協力下さいました、京都薬科大学生薬学分野職員、学生諸氏の皆様に深く感謝致します。

## 実験の部

水素核磁気共鳴スペクトル ( $^1\text{H}$  NMR), 炭素核磁気共鳴スペクトル ( $^{13}\text{C}$  NMR), Hetero-nuclear Multiple Quantum Coherence (HMQC) スペクトル, Hetero-nuclear Multiple-Bond Connectivity (HMBC), NOE correlated spectroscopy (NOESY) スペクトルは JEOL JNM-ECA 600K (600 MHz) を用いて測定した. 旋光度は Horiba SEPA-300 digital polarimeter ( $l = 5$  cm) を用いて測定した. 赤外吸収スペクトル (IR) は JASCO FT/IR-4600 Fourier Transform Infrared Spectrometer を用いて測定した. 高分解能質量分析 (High resolution ESI-MS, EI-MS) および質量分析 (ESI-MS) は SHIMADZU LCMS-IT-TOF (HRESI-MS), JEOL JMS-GCMATE mass spectrometer (HREI-MS) および Agilent Technologies Quadrupole LC/MS 6130 (ESI-MS) を用いて測定した. 高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS) については, 高速液体クロマトグラフは Nexera UHPLC システム, トリプル四重極型質量分析計は SHIMADZU LCMS 8040 を用いた. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は, ポンプ: SHIMADZU LC-6AD, LC-20AR, 紫外可視分光光度計検出器: SHIMADZU SPD-20A および SPD-10A, SPD-10AVP を用いた. カラムクロマトグラフィーの吸着剤は, 順相系: シリカゲル Silica Gel BW-200 (Fuji Silysia Chemical, 150–350 mesh), 逆相系: Cosmosil140C<sub>18</sub>-OPN (Nacalai Tesque) を用いた. 合成吸着剤は DIAION ion exchange Resin HP-20 (MISUBISHI CHEMICAL CORPORATION) を用いた. 薄層クロマトグラフィー (TLC) には silica gel 60F<sub>254</sub> (Merck, 順相), RP-18 60F<sub>254</sub> (Merck, 逆相) を使用し, スポットの検出は UV (254, 365 nm), ニンヒドリンスプレー (和光純薬社製試薬), および 1% Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>/10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液を噴霧し, 加熱時の呈色により行った. 試薬は特に明記しないものは富士フイルム和光純薬株式会社製試薬 (特級) を用いた.

## 第一章の実験

### 第一節の実験

#### 植物材料

新鮮な タマネギ (*A. cepa*, 鱗茎) およびニンニク (*A. sativum*, 球根) は, 2018 年 から 2021 年に京都市で市販品として入手した. 植物は中村誠宏准教授 (京都薬科大学) によって同定された.

#### タマネギ (*A. cepa*, 鱗茎) の乾燥減量の測定

乾燥機にて 110 °C で 1 時間乾燥した平型秤量瓶をデシケーターに移し, 30 分間放冷した. 放冷後, 秤量瓶の重量を量り, タマネギ (*A. cepa*) 鱗茎の切片 (重量 A: 4.4452 g, 4.2056 g, 4.7513g) をそれぞれ秤量瓶に取り, 全体を再び秤量した. 秤量した *A. cepa* 切片を microwave (500 W) で 30 秒間加熱した後, 110 °C に設定した乾燥機にて 5 時間乾燥した. 乾燥後, サンプルをデシケーターに入れ, 30 分間放冷した. 放冷後, それぞれ試料の重量 (重量 B: 0.4006 g, 0.3736 g, 0.4471 g) を測定することにより, 乾燥減量  $\{(1 - [\text{重量 B の合計}] / [\text{重量 A の合計}]) * 100 = 91\%$  を測定した. これらの結果から, 乾燥した *A. cepa* の乾燥重量は, 新鮮な *A. cepa* の乾燥減量 (91%) を考慮して計算した.

#### ニンニク (*A. sativum*, 球根) からの粗 alliinase 分画の調製

粗酵素 alliinase 分画は, Imai らによって報告された方法に続いて得られた<sup>17,30</sup>新鮮なニンニク (*A. sativum*, 233.35 g) 全球根を, 蒸留水 (466mL) 中でハンドミキサーを用いて粉碎し, 植物繊維をろ過により除去した. 次いで, 1.0 M HCl 水溶液を用いて, ろ液の pH を 4.0 に調整した. ろ液を 4 °C で 1 時間冷却した後, 沈殿物を遠心分離 (3000 g, 5 分, 4 °C) にて回収し, グリセロール 10% およびピリドキサーール-5'-リン酸 20 μM を含む 0.05 M リン酸緩衝液 (60mL, pH6.5) に再溶解したものを -20 °C にて保存した.

#### 加熱処理したタマネギとニンニク由来粗 alliinase との反応生成物の分析

[サンプル調整]

タマネギ (*A. cepa*) の全鱗茎を 500 W の microwave で 100 g 当 2 分間加熱を行った. 加熱処理した *A. cepa* を室温に戻した後, 粗 alliinase 分画と蒸留水中でハンドミキサーで混合した後, 上清を直接 LCMS 分析用サンプルとした.

[分析条件]

System: Shimadzu LabSolutions

Column: YMC-triart C18, 4.6×250 mm i.d.

Mobile phase A: H<sub>2</sub>O containing 0.1% HCOOH, B: MeCN,

gradient: mobile phase A-B

0.0-13.0 min: linear gradient with 100-0→10-90,

13.0-15.0min: linear gradient with 0–100→0–100

Detection: UV (210 nm) and ESI MS

Flow rate: 0.8 mL/min

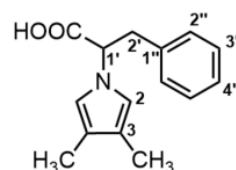
Column oven: 40 °C

Sample injection: 10 mL

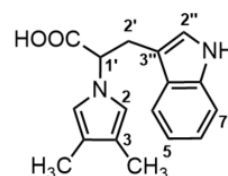
### ピロール誘導体 10 の合成

タマネギ (*A. cepa*, 276.68 g) の全鱗茎を 500 W の microwave で 6 分間加熱した。加熱処理した *A. cepa* および粗 alliinase 分画 (10 mL) をハンドミキサーで混合した後, diethyl ether (150 mL) を用いて酵素反応生成物を抽出した。植物繊維をろ過により除去し, ろ液を diethyl ether (70 mL × 2) でさらに抽出した。Diethyl ether 抽出分画を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を用いて乾燥後ろ過し, ろ液を減圧下濃縮した。抽出物および (L)-phenylalanine (484.3 mg, 3 mmol, 過剰量) をリン酸カリウム緩衝液 (pH 5.5, 20 mL) に溶解し, 15 分間 100 °C で加熱還流した。反応終了後, 反応液を diethyl ether (20 mL × 3) で抽出し, 有機層を減圧濃縮した。抽出物を順相中圧液体クロマトグラフィー {MPLC, mobile phase: EtOAc-MeOH (100:0→0:100 gradient 20 min, v/v) [YMC-DispoPackAT SIL-25 (12 g)]} で精製することにより, ピロール誘導体 10 (5.4 mg, 0.022 mmol) を得た。

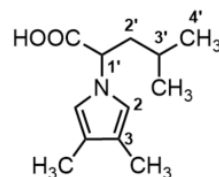
**(S)-2-(3,4-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-3-phenylpropanoic acid (10):** 5.4 mg from fresh *A. cepa* (276.68 g), dry *A. cepa* (24.90 g), pale yellow amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> and <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: see Table 8; IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 1674, 1448, 1417; HR-ESI-MS *m/z*: 242.1187 [M-H]<sup>-</sup> (Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub>: 242.1189); ESI-MS *m/z*: 282 [M+K]<sup>+</sup>, 266 [M+Na]<sup>+</sup>, 244 [M+H]<sup>+</sup>. [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> -49.3 (*c* = 1.0, MeOH).



**(S)-2-(3,4-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-3-(1H-indol-3-yl)propanoic acid (11):** 18.7 mg from fresh *A. cepa* (275.11 g), dry *A. cepa* (24.76 g), blue amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> and <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: see Table 8; IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 1646, 1449, 1418; HR-ESI-MS *m/z*: 283.1441 [M+H]<sup>+</sup> (Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 283.1444); ESI-MS *m/z*: 321 [M+K]<sup>+</sup>, 305 [M+Na]<sup>+</sup>, 283 [M+H]<sup>+</sup>. [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> -3.0 (*c* = 1.0, acetone).



**(S)-2-(3,4-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-methylpentanoic acid (12):** 27.3 mg from fresh *A. cepa* (279.97 g), dry *A. cepa* (25.20 g), colorless amorphous powder; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> and <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>C</sub>: see Table 8; IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 1714, 1651, 1600, 1513, 1503, 1463, 1449, 1392; HR-EIMS *m/z*: 209.1413 [M] (Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>: 209.1416); EIMS *m/z*: 209 [M]. [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> +17.0 (*c* = 1.0, MeOH).



**Table 8.** 化合物 **10–13** の  $^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR データ (**10, 11, 13**: $\text{CDCl}_3$ , **12**: $\text{CD}_3\text{OD}$ )

	<b>10</b>		<b>11</b>		<b>12</b>		<b>13</b>	
Position	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2,5	6.30 (1H, s)	118.3	6.46 (1H, s)	117.9	6.41 (1H, s)	118.4	6.36 (1H, s)	118.1
3,4		117.7		118.1		116.2		117.7
3,4-Me	1.91 (3H, s)	10.0	1.94 (3H, s)	10.1	1.92 (3H, s)	10.2	1.96 (3H, s)	11.2
1'	4.42 (1H, dd, $J = 10.0, 4.5$ )	65.1	4.59 (1H, t-like, $J = 6.8$ )	62.9	4.48 (1H, dd, $J = 10.6, 5.3$ )	61.1	4.49 (1H, dd-like, $J = 7.5$ )	61.5
2'	3.12 (1H, dd, $J = 14.5, 10.0$ )	39.3	3.24 (1H, m)	28.6	1.76 (2H, m)	42.6	2.10 (1H, m)	31.9
	3.39 (1H, dd, $J = 14.5, 4.5$ )		3.54 (1H, m)				2.38 (1H, m)	
3'					1.58 (1H, m)	25.8	2.20 (1H, m)	30.8
							2.38 (1H, m)	
4'					0.86 (3H, d, $J = 6.7$ )	23.3	0.86 (3H, d, $J = 6.7$ )	22.0
1'-CO <sub>2</sub> H		176.2		175.4		175.6		176.3
1''		138.1						
2'',6''	6.97 (1H, d, $J = 6.5$ )	128.8						
3'',5''	7.19 (1H, m)	128.3						
2''			6.61 (1H, s)	127.1				
3''				110.5				
3''a				123.0				
4''			7.52 (1H, d, $J = 7.6$ )	118.2				
5''	7.19 (1H, m)	128.3	7.06 (1H, t, $J = 7.6$ )	119.2				
6''	6.97 (1H, d, $J = 6.5$ )	128.8	7.12 (1H, t, $J = 7.6$ )	121.8				
7''			7.25 (1H, d, $J = 7.6$ )	111.2				
7''a				135.8				
3'-Me					0.90 (3H, $J = 6.7$ )	21.8		
S-Me							2.06 (3H, s)	15.3

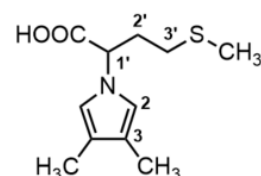


**Table 9.** 化合物 14–16 の  $^1\text{H}$  NMR および  $^{13}\text{C}$  NMR データ ( $\text{CDCl}_3$ )

14			15			16		
Position	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	Position	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	Position	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
2	6.36 (1H, s)	118.4	2	6.84 (1H, s)	116.7	2	6.35 (1H, s)	118.3
3,4		117.9	3,4		120.8	3,4		117.5
5	6.36 (1H, s)	118.4	5	6.84 (1H, s)	116.7	5	6.35 (1H, s)	118.3
3,4-Me	1.99 (3H, s)	10.1	3,4-Me	2.08 (3H, s)	10.2	3,4-Me	2.00 (3H, s)	10.0
1'	3.95 (2H, t, $J = 7.9$ )	51.0	1'		140.7	1'	3.71 (2H, t, $J = 7.2$ )	49.3
2'	3.00 (2H, t, $J = 7.9$ )	38.6	2',6'	7.31 (1H, d, $J = 7.6$ )	119.5	2'	1.69 (2H, m)	31.7
1''		138.8	3',5'	7.37 (1H, t, $J = 7.6$ )	129.4	3'-9'	1.25 (2H, m)	29.7
2'',6''	7.13 (1H, d-like, $J = 7.4$ )	128.8	4'	7.26 (1H, t, $J = 7.6$ )	124.6	10'	1.25 (2H, m)	31.9
3'',5''	7.29 (1H, t-like, $J = 7.4$ )	128.6				11'	1.25 (2H, m)	22.7
4''	7.22 (1H, t-like, $J = 7.4$ )	126.6				12'	0.88 (3H, t, $J = 7.2$ )	14.1

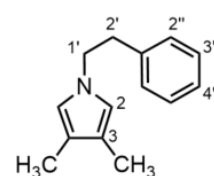
**(S)-2-(3,4-Dimethyl-1H-pyrrol-1-yl)-4-(methylthio)butanoic acid (13):**

14.1 mg from fresh *A. cepa* (241.54 g), dry *A. cepa* (21.74 g), yellow amorphous powder;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : see Table 8; IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 1645, 1448, 1397, 1363; HR-ESI-MS  $m/z$ : 226.0907 [ $\text{M-H}$ ] $^-$  (Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_2\text{S}$ : 226.0909); ESI-MS  $m/z$ : 226 [ $\text{M-H}$ ] $^-$ . [ $\alpha$ ] $_{\text{D}}^{21}$  -18.6 ( $c = 1.0$ , acetone).



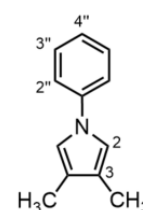
**3,4-Dimethyl-1-phenethyl-1H-pyrrole (14):** 13.0 mg from fresh *A. cepa*

(303.12 g), dry *A. cepa* (26.92 g), colorless amorphous powder;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : see Table 9; IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 1603, 1535, 1496, 1454; HR-EIMS  $m/z$ : 119.1360 [ $\text{M}$ ] (Calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}$ : 119.1361); EIMS  $m/z$ : 199 [ $\text{M}$ ].

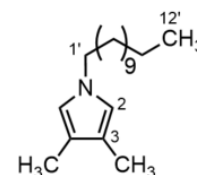


**3,4-Dimethyl-1-phenyl-1H-pyrrole (15):** 9.6 mg from fresh *A. cepa* (245.0 g), dry *A.*

*cepa* (22.05 g), colorless amorphous powder;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : see Table 9; IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 1601, 1529, 1499, 1443, 1399; HR-EIMS  $m/z$ : 171.1050 [ $\text{M}$ ] (Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}$ : 171.1048); EIMS  $m/z$ : 171 [ $\text{M}$ ].



**1-Dodecyl-3,4-dimethyl-1*H*-pyrrole (16):** 8.8 mg from fresh *A. cepa* (299.12 g), dry *A. cepa* (27.28 g), colorless amorphous powder;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : see Table 9; IR (ATR)  $\text{cm}^{-1}$ : 1462, 1399; HR-EIMS  $m/z$ : 263.2614 [M] (Calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{N}$ : 263.2613); EIMS  $m/z$ : 263 [M].



### **(S)- および (R)-phenylglycine methyl ester (PGME) amides 10a および 10b の合成**

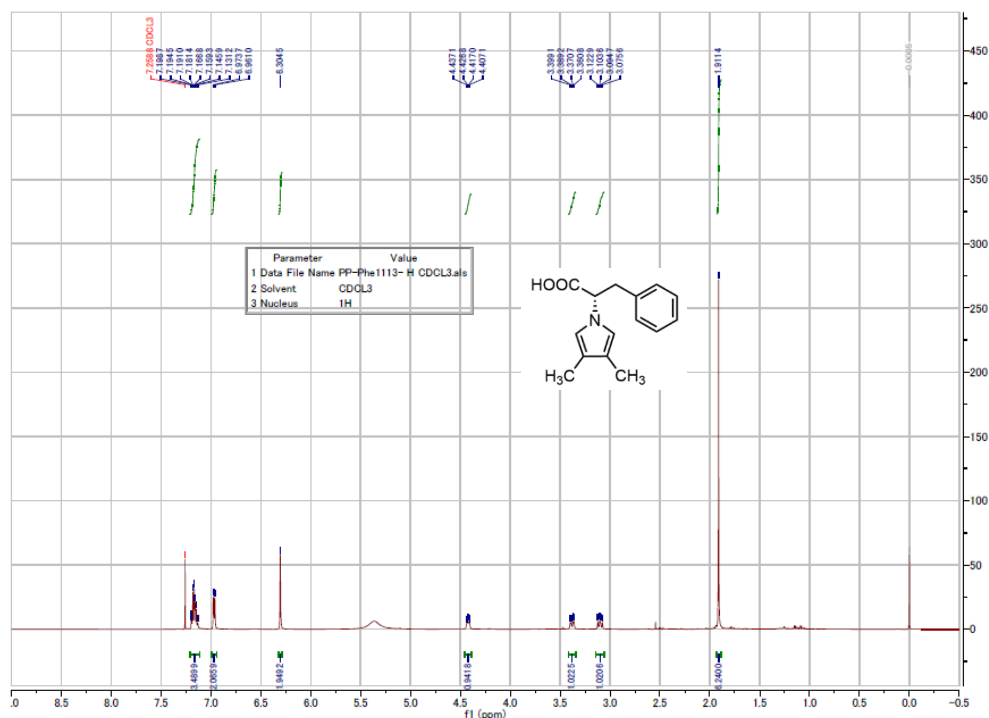
化合物 **10** (2.2 mg, 0.00090 mmol) の DMF (0.5 mL) 溶液を 0 °C に冷却し, (S)-PGME (2.2mg, 0.011 mmol), PyBOP® (7.1 mg, 0.014 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (HOBT, 2.1 mg, 0.014 mmol) および *N*-methylmorpholine (3.1  $\mu\text{L}$ , 0.033 mmol) を添加した. 反応液を室温で 3 時間攪拌した後, EtOAc (20 mL) を加え, 得られた希釈液を 5% HCl 水溶液 (20 mL  $\times$  3), 飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (20 mL  $\times$  3) および飽和食塩水 (20 mL  $\times$  3) で洗浄した. 有機相を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  にて乾燥し, ろ液を濃縮することで (S)-PGME アミド **10a** を得た. (R)-PGME アミド **10b** も同様の方法を用いて得た.

**(S)-PGME amide 10a:**  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 1.97 (6H, s, 3- $\text{CH}_3$ , 4- $\text{CH}_3$ ), 3.13 (1H, dd-like,  $J = 14.5$ , 10.0, H-2'), 3.56 (1H, dd,  $J = 14.5$ , 5.0, H-2'), 4.58 (1H, dd,  $J = 10.0$ , 5.0, H-1'), 6.38 (2H, s, H-2, H-5), 7.05 (2H, d-like,  $J = 7.0$ , H-2'', 6''), 7.20 (1H, t-like,  $J = 7.0$ , H-4''), 7.21 (2H, t-like,  $J = 7.0$ , H-3'', 5'').

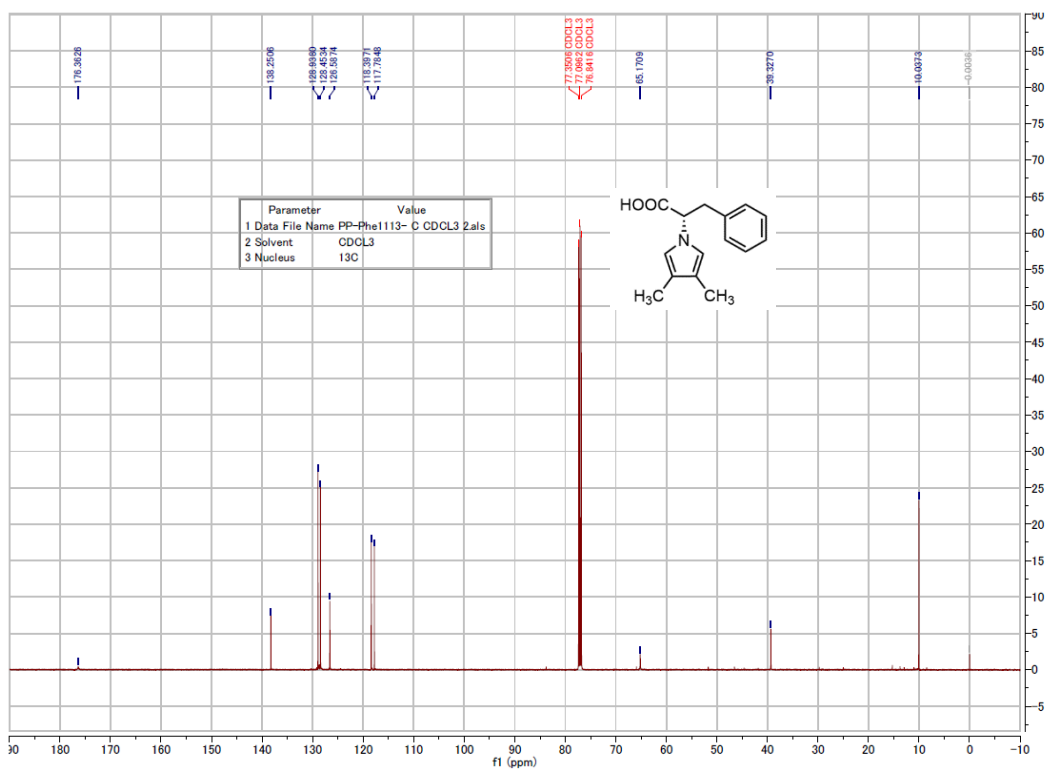
**(R)-PGME amide 10b:**  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 1.98 (6H, s, 3- $\text{CH}_3$ , 4- $\text{CH}_3$ ), 3.18 (1H, dd-like,  $J = 14.5$ , 10.0, H-2'), 3.58 (1H, dd,  $J = 14.5$ , 5.0, H-2'), 4.53 (1H, dd,  $J = 10.0$ , 5.0, H-1'), 6.45 (2H, s, H-2, H-5), 7.04 (2H, d-like,  $J = 7.0$ , H-2'', 6''), 7.16 (1H, t-like,  $J = 7.0$ , H-4''), 7.18 (2H, t-like,  $J = 7.0$ , H-3'', 5'').

### **NMR spectroscopic data of synthesized compounds 10–16**

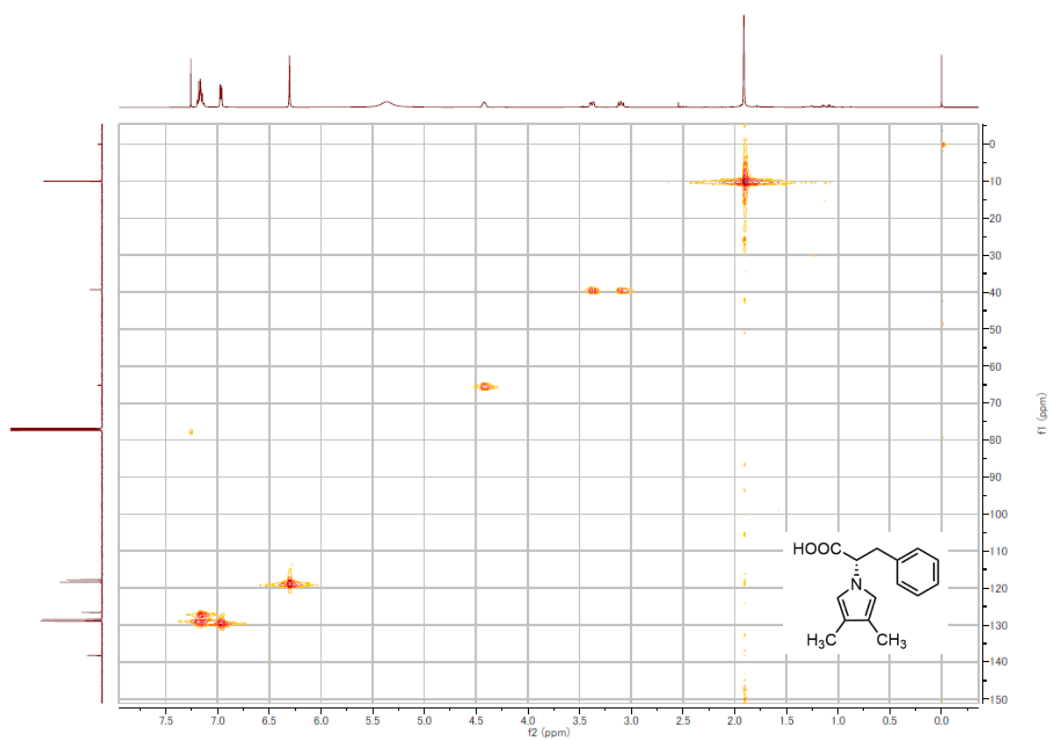
#### **NMR spectroscopic data of 10**



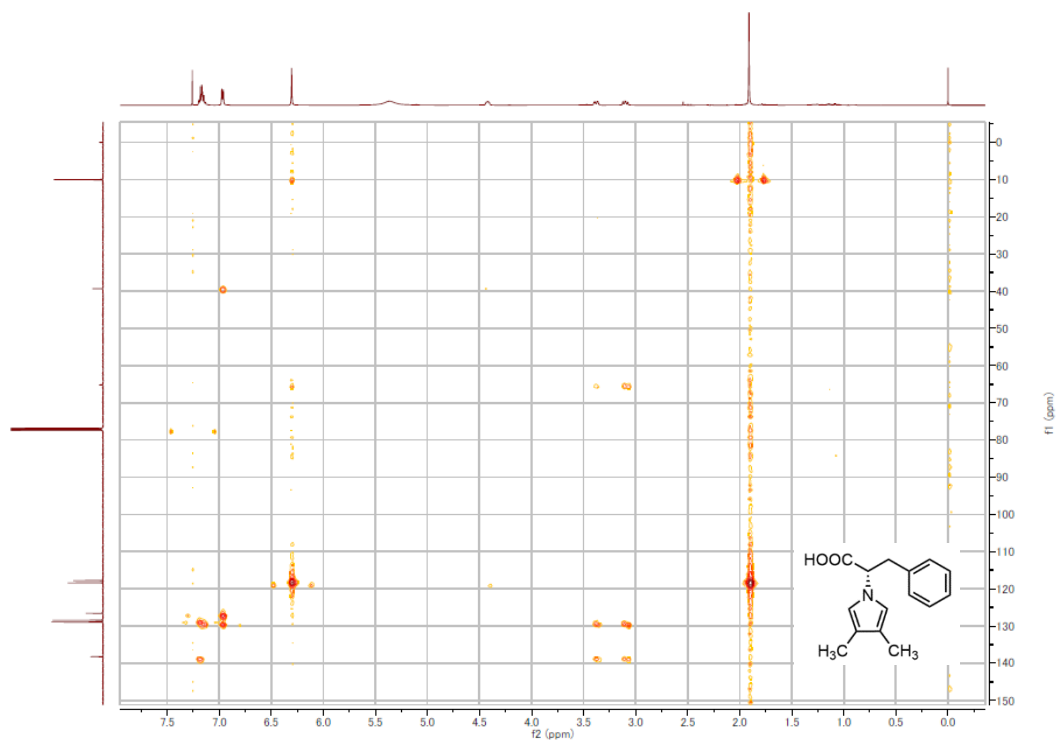
$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz) spectroscopic data of **10**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



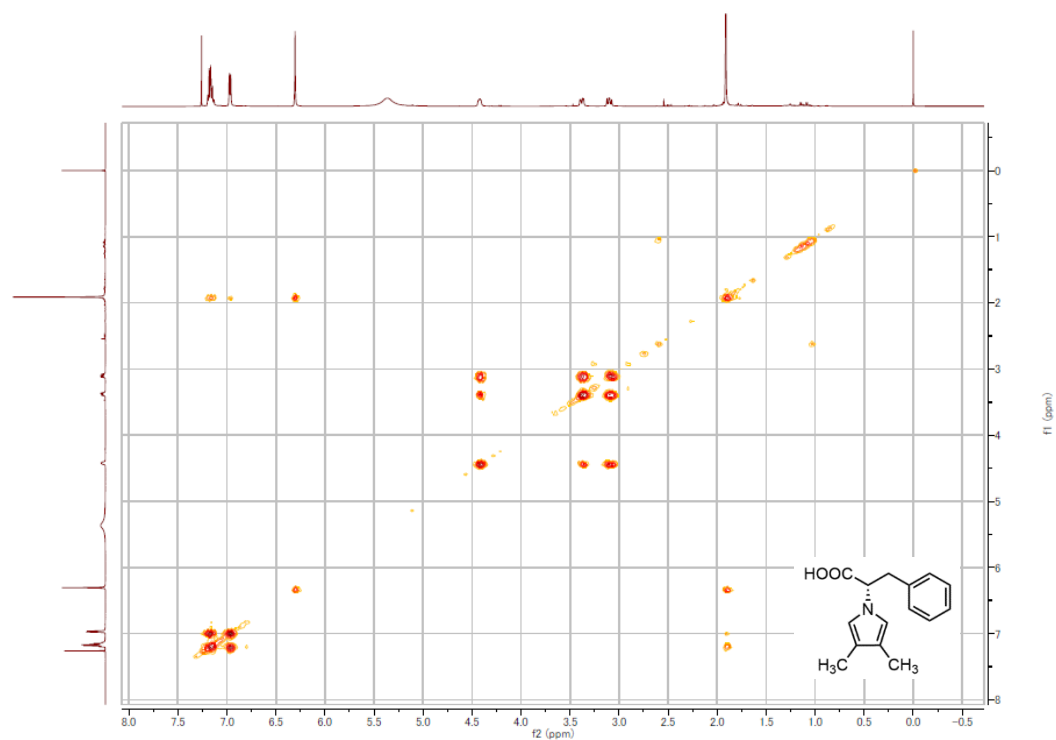
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) spectroscopic data of **10**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **10**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

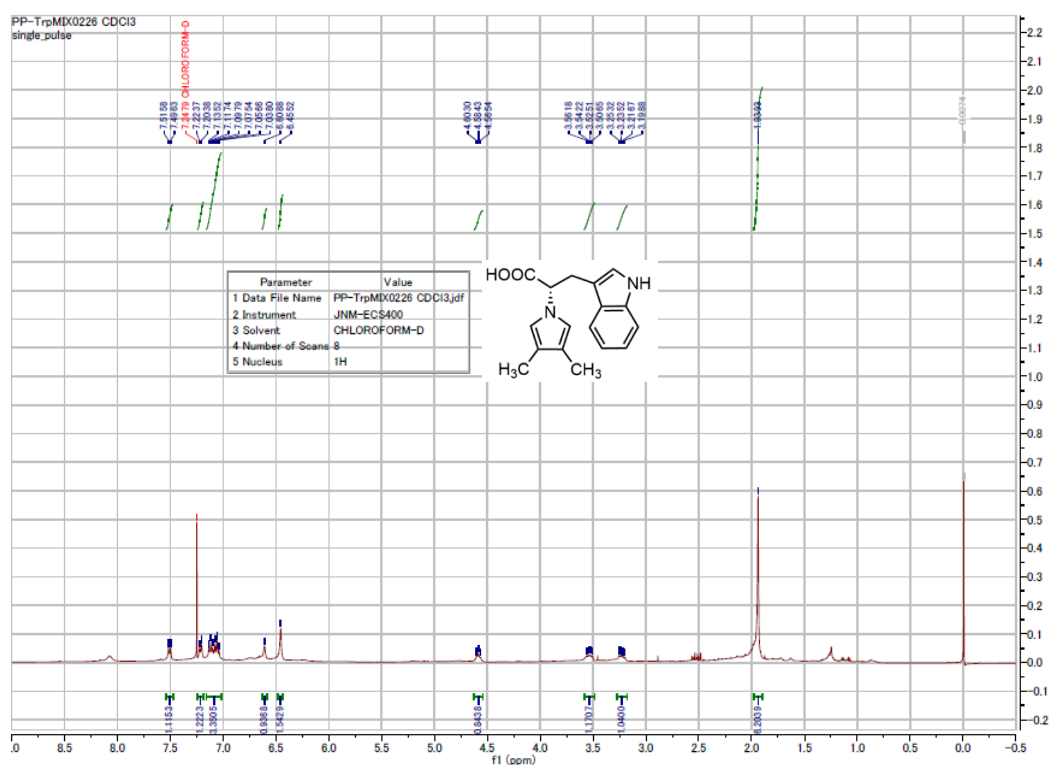


HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **10**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

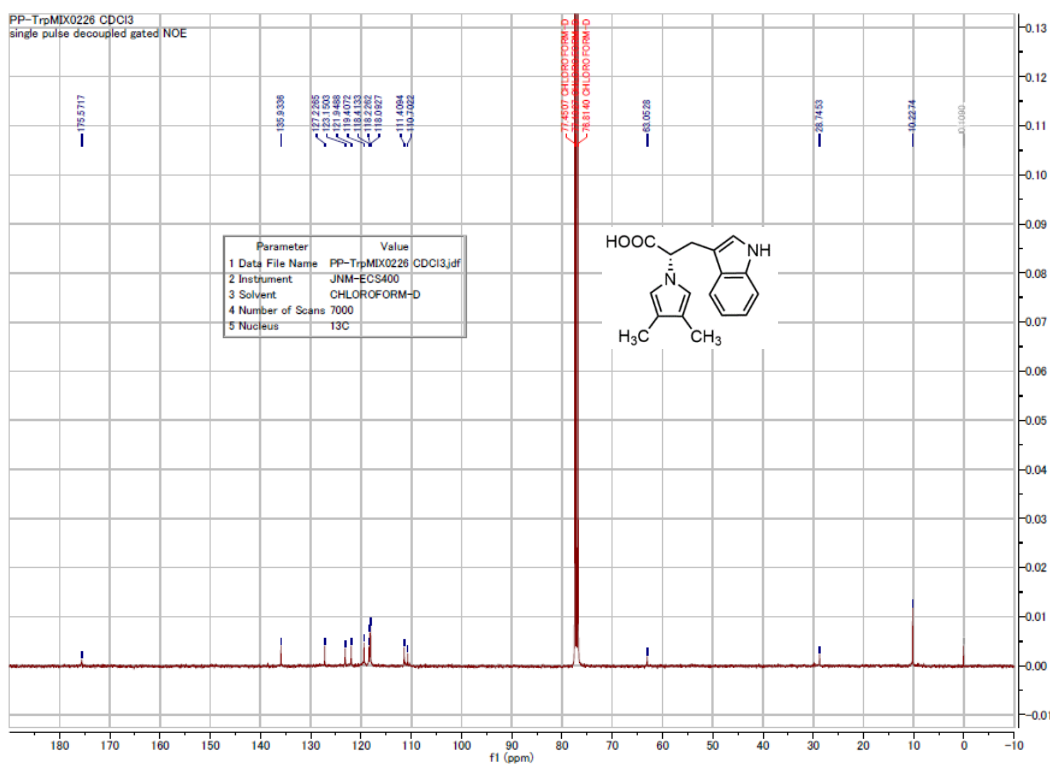


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **10**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

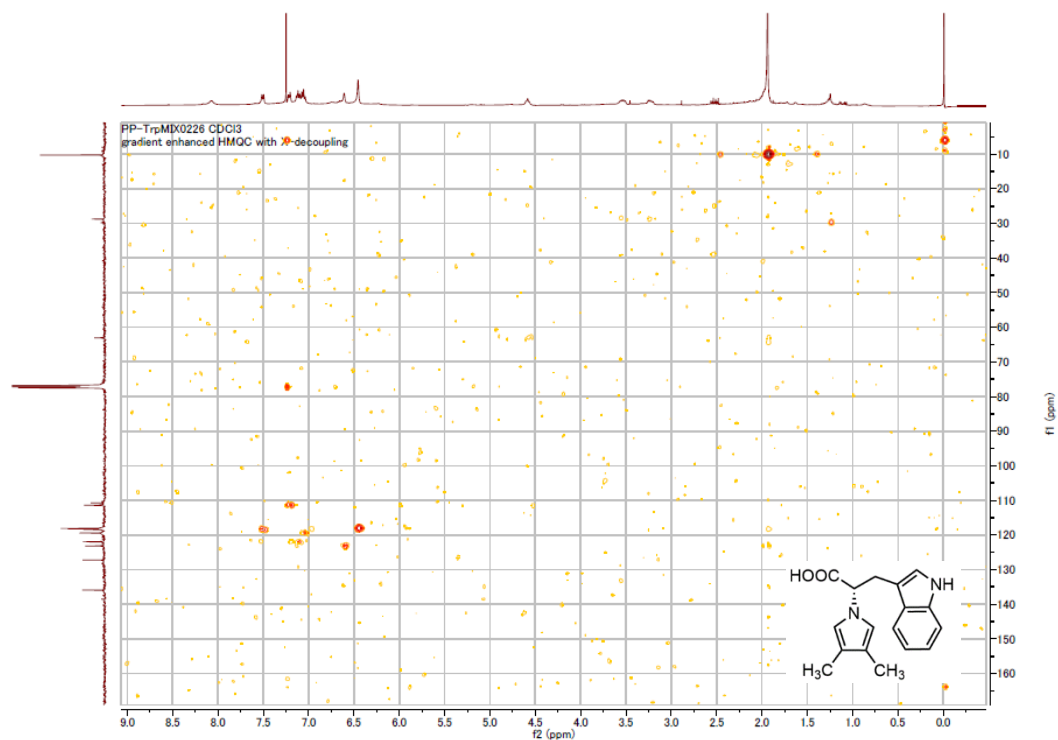
## NMR spectroscopic data of **11**



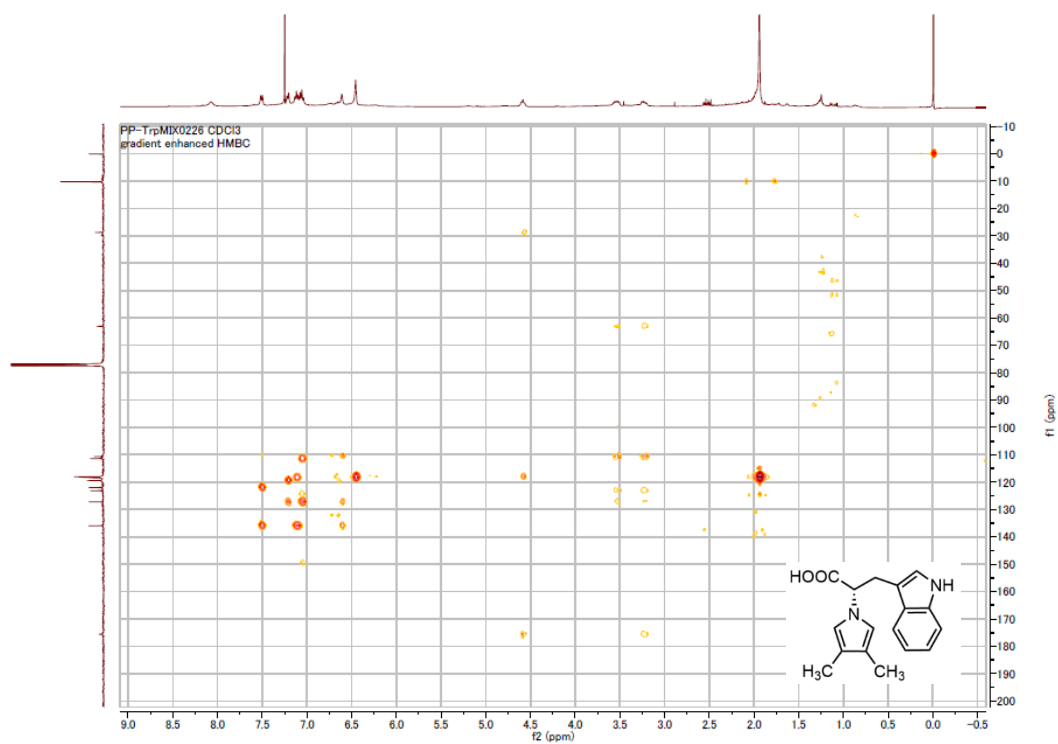
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) spectroscopic data of **11**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



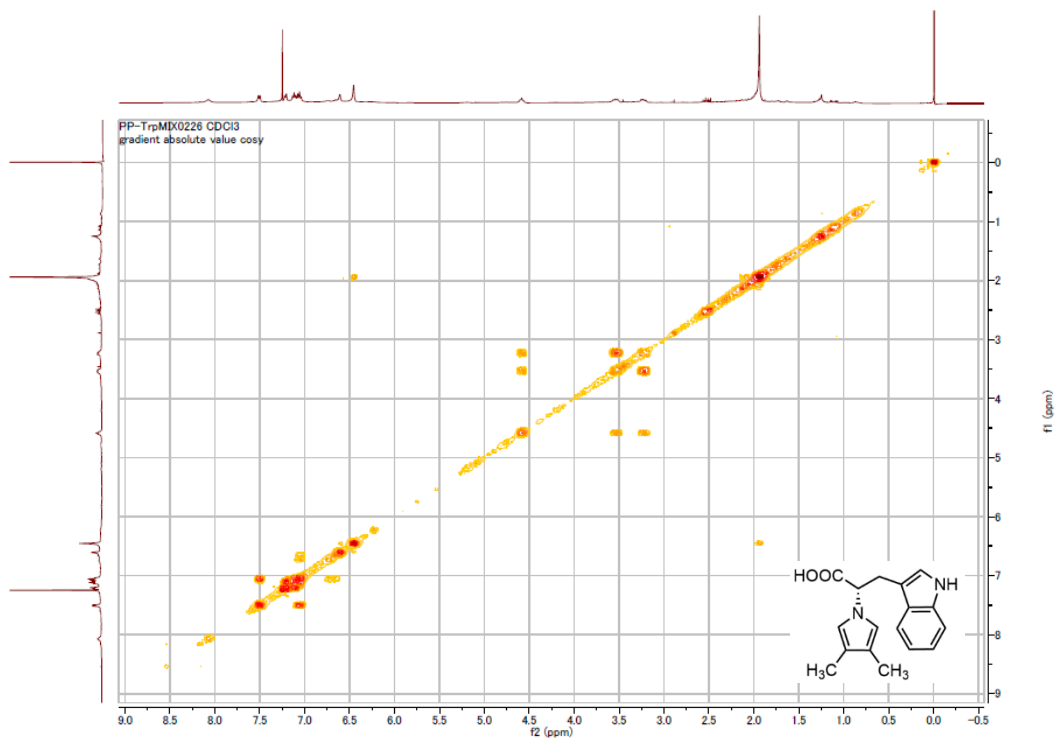
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of **11**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **11**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

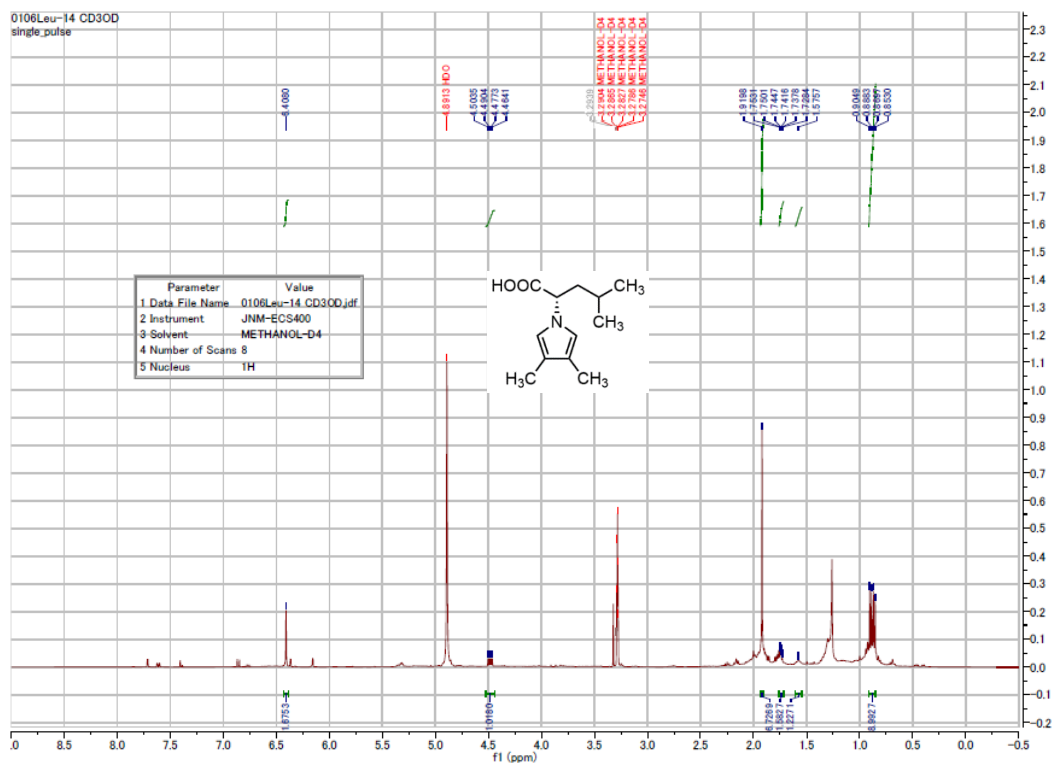


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **11**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

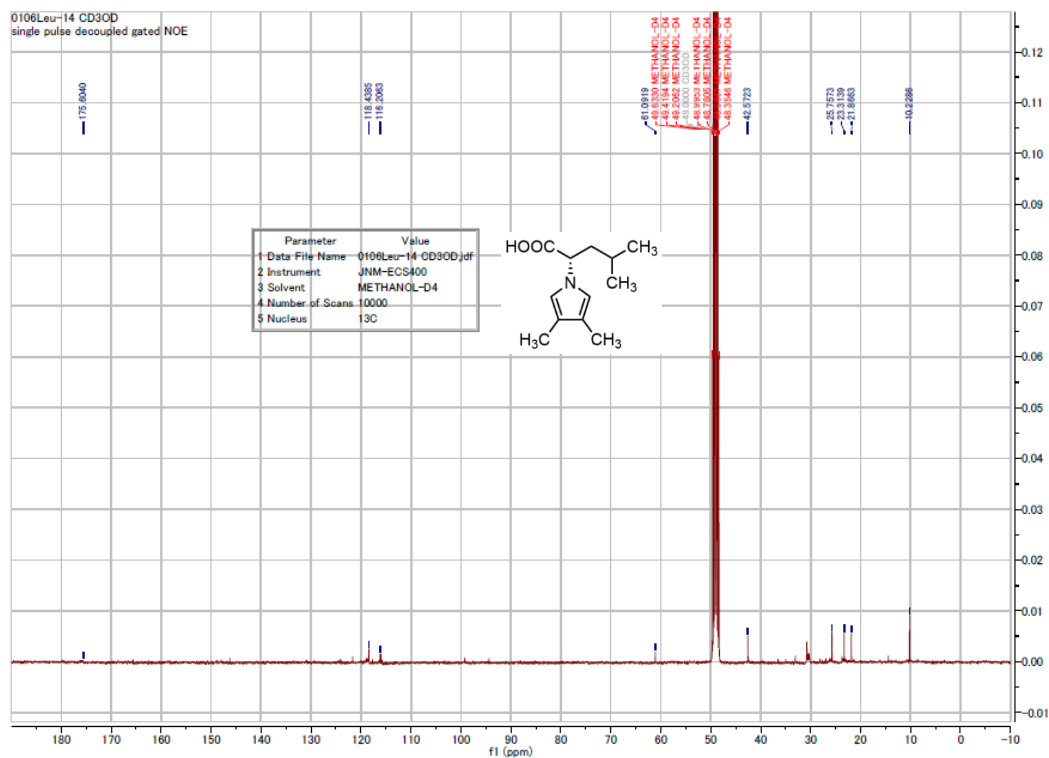


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **11**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

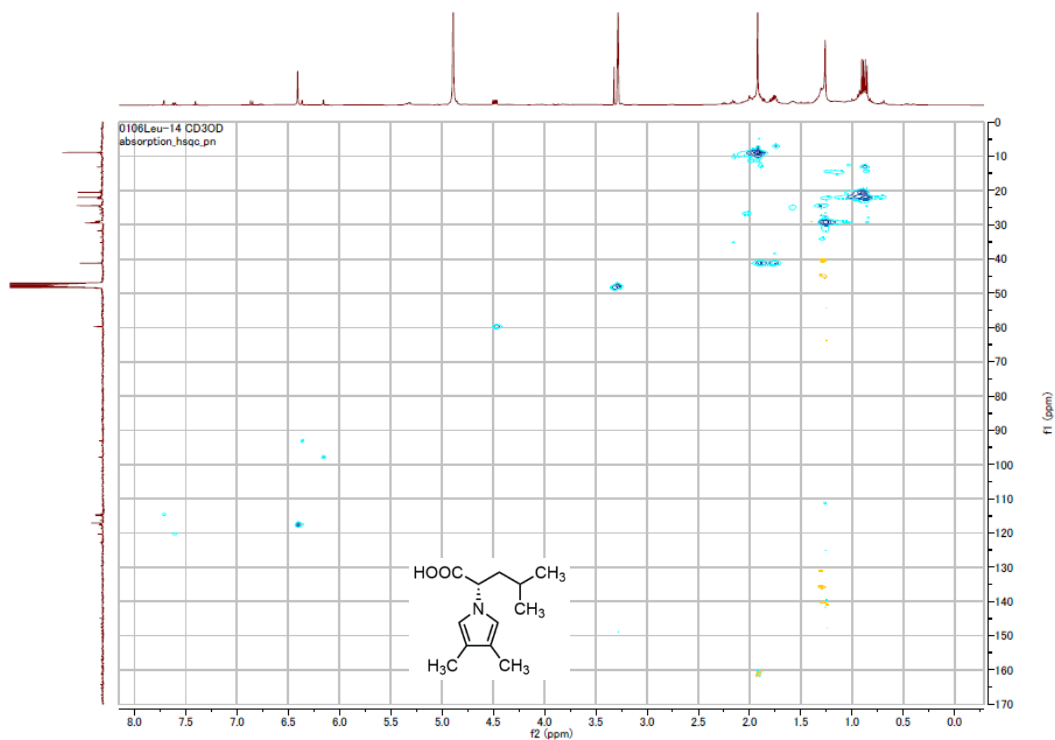
### NMR spectroscopic data of **12**



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) spectroscopic data of **12**. Measured in CD<sub>3</sub>OD.

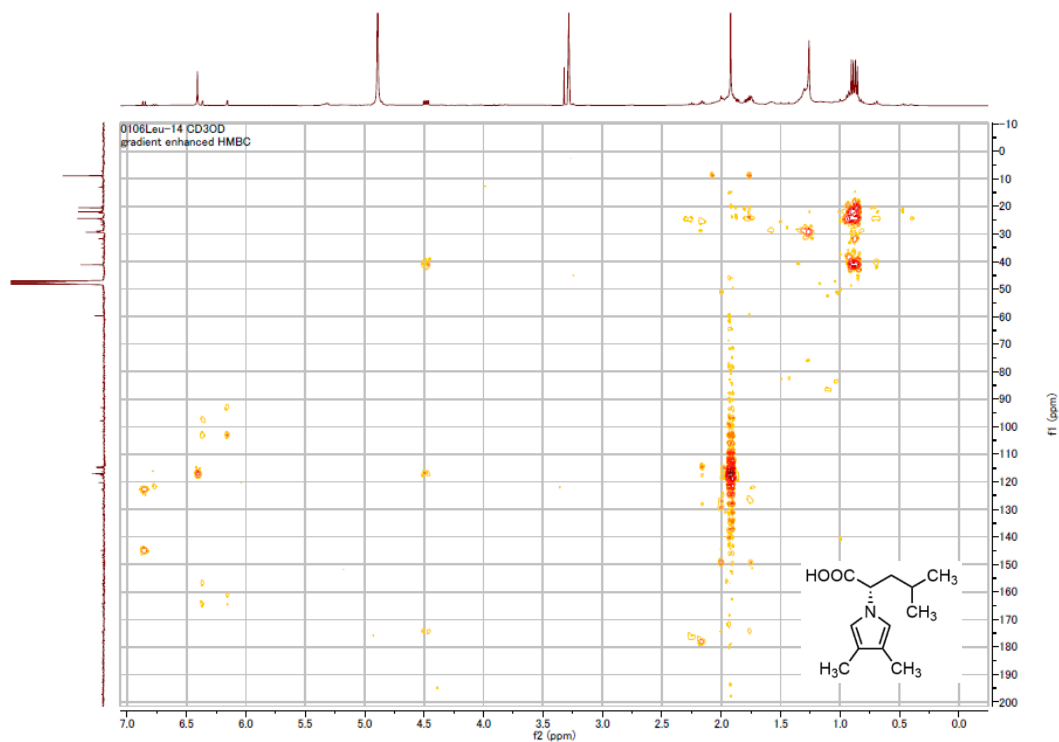


<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of **12**. Measured in CD<sub>3</sub>OD.

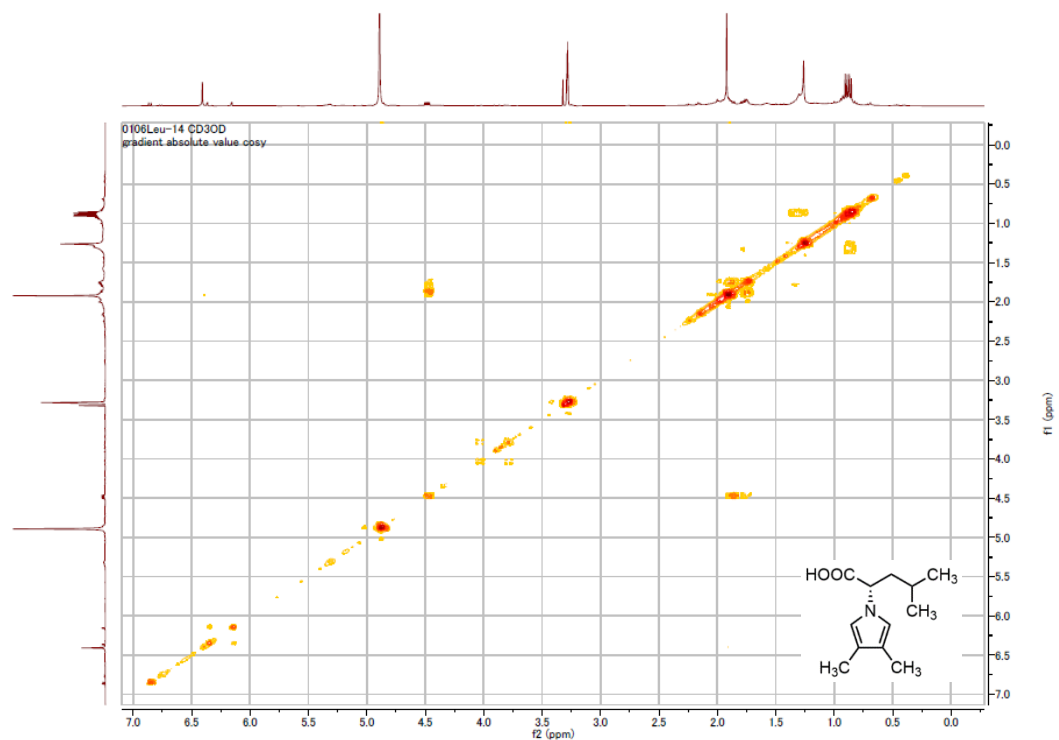


HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **12**. Measured in CD<sub>3</sub>OD.



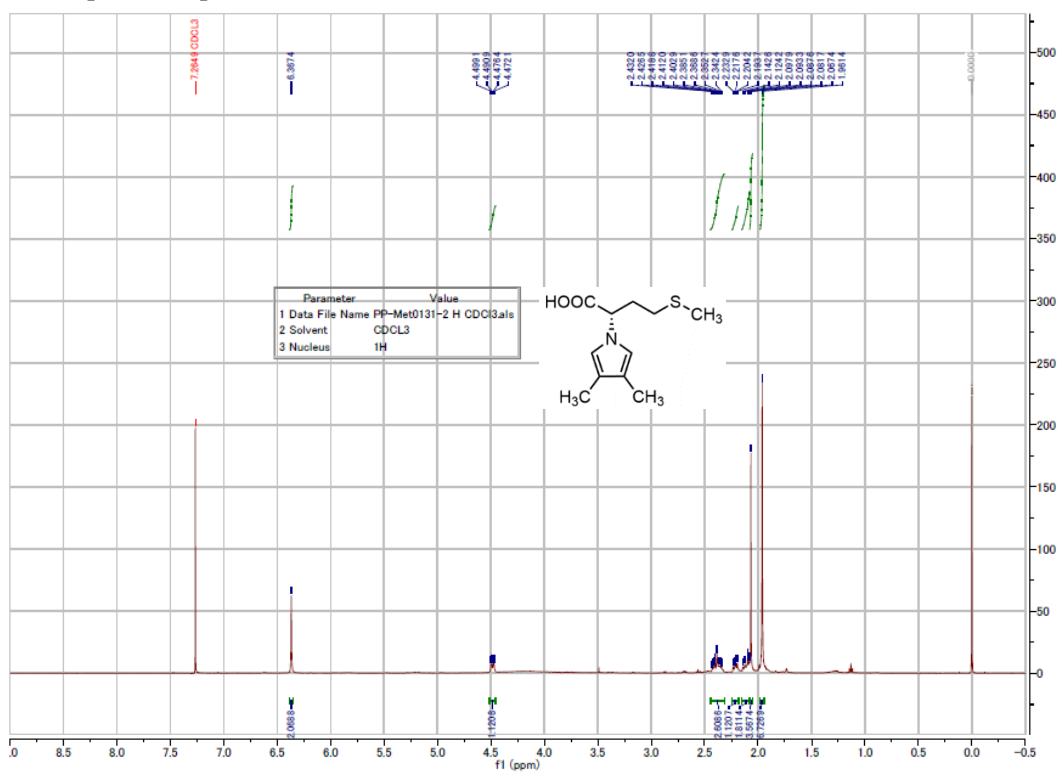


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **12**. Measured in CD<sub>3</sub>OD.

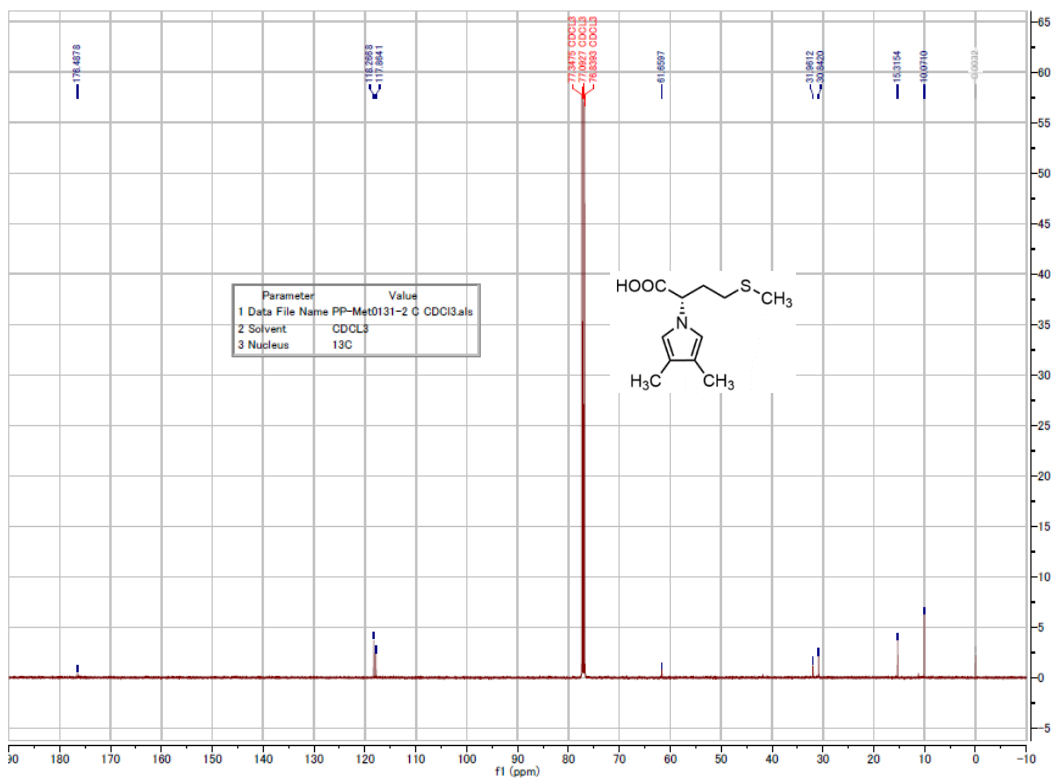


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **12**. Measured in CD<sub>3</sub>OD.

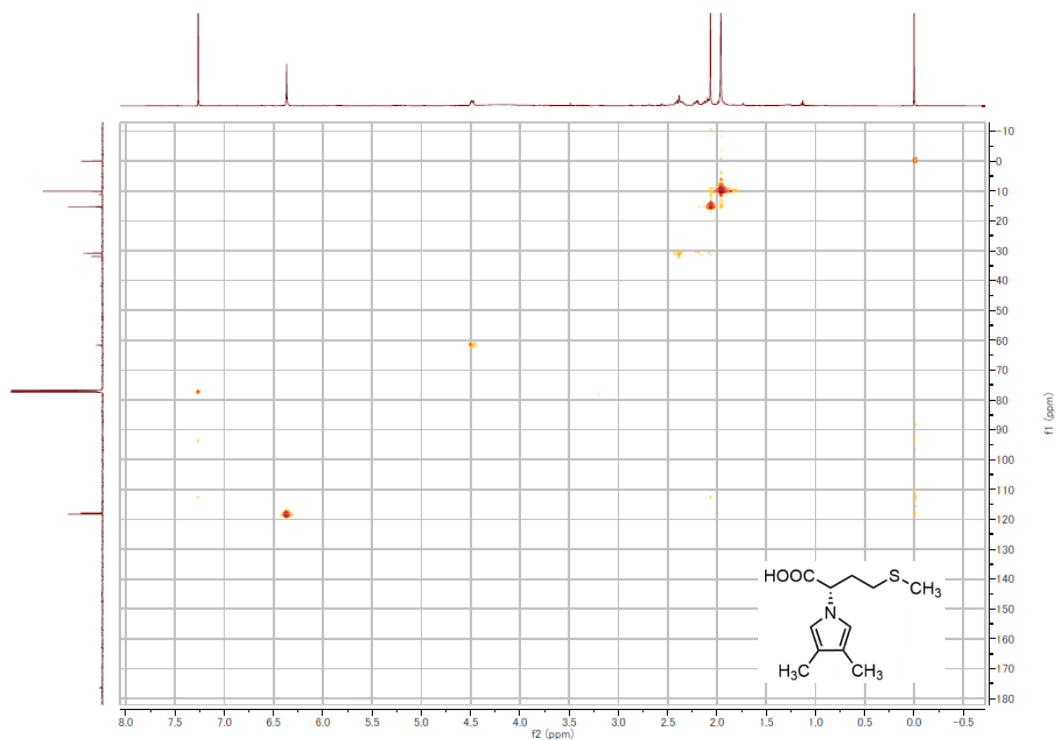
NMR spectroscopic data of **13**



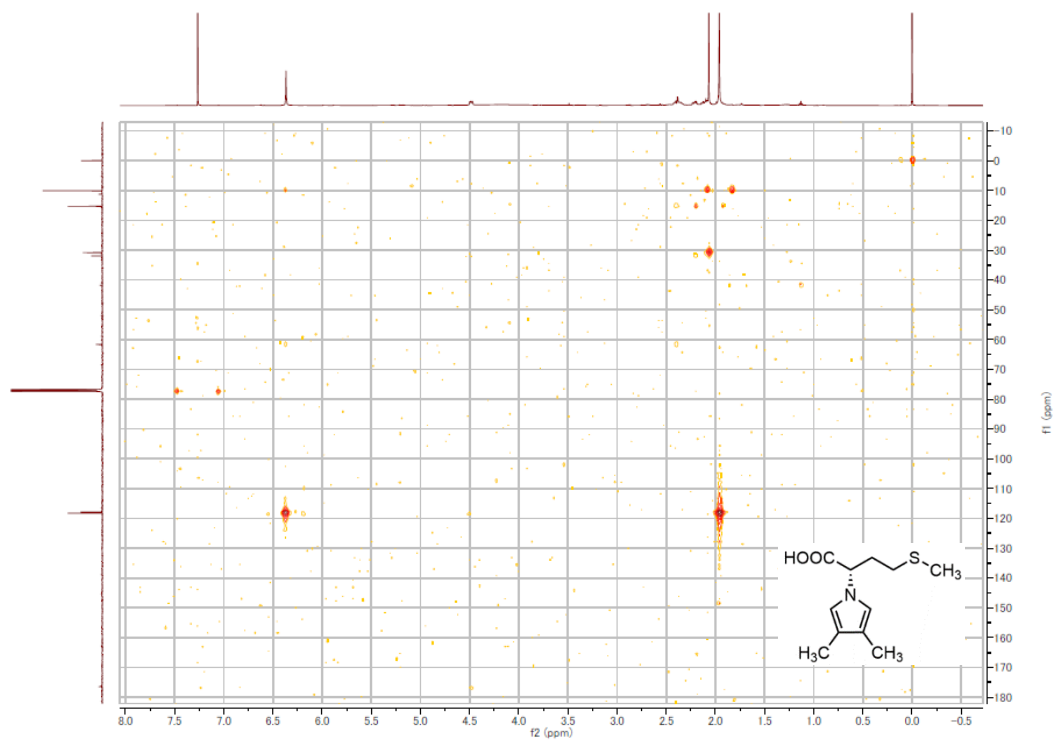
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) spectroscopic data of **13**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



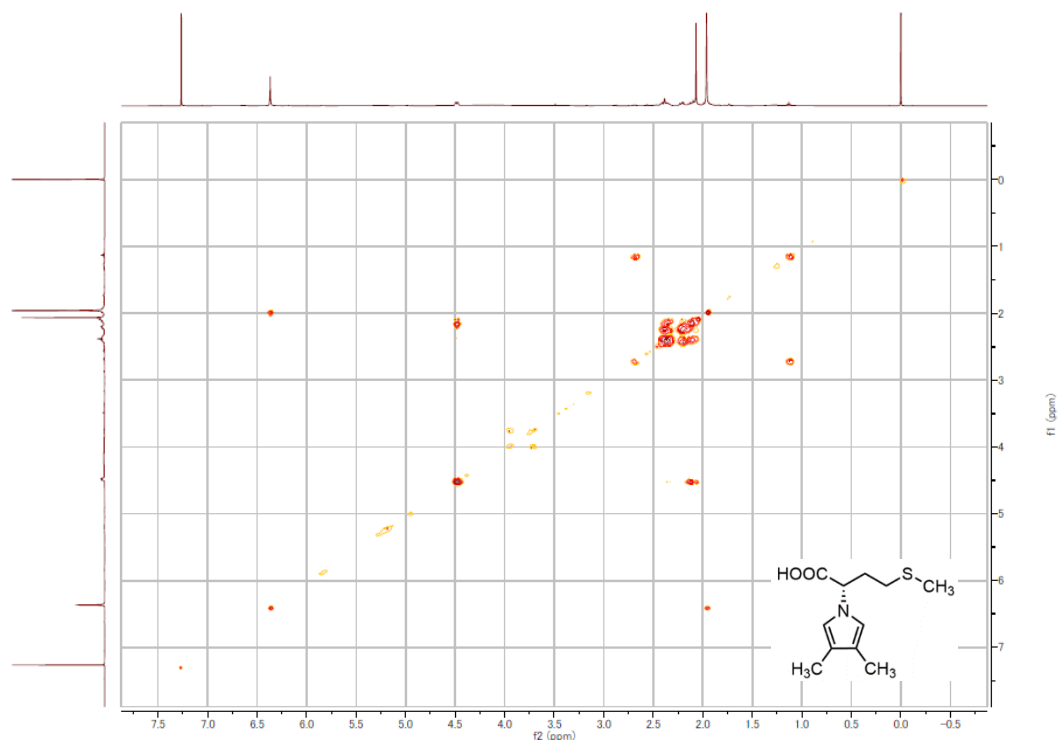
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) spectroscopic data of **13**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **13**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

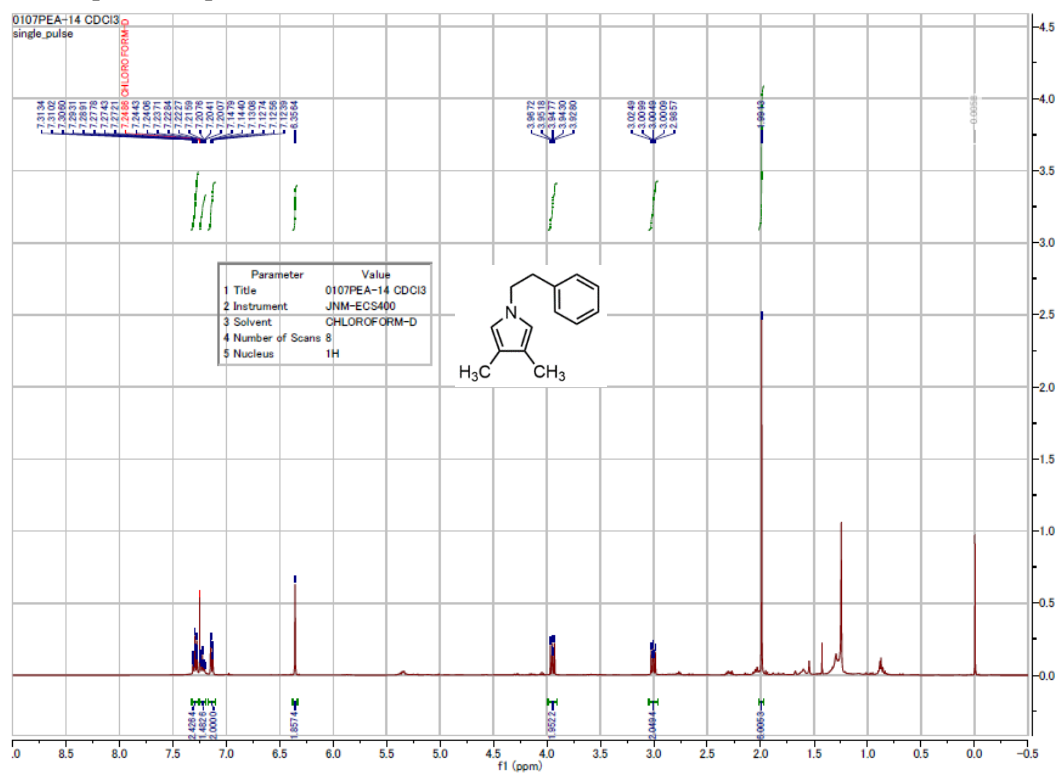


HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **13**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

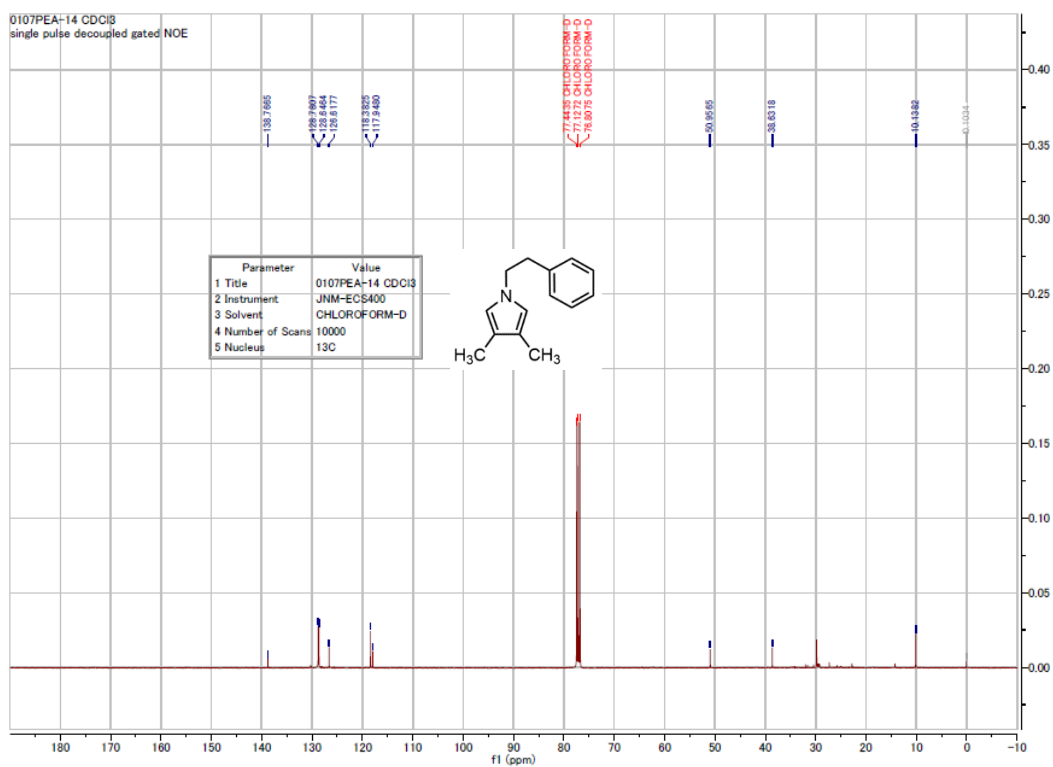


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **13**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

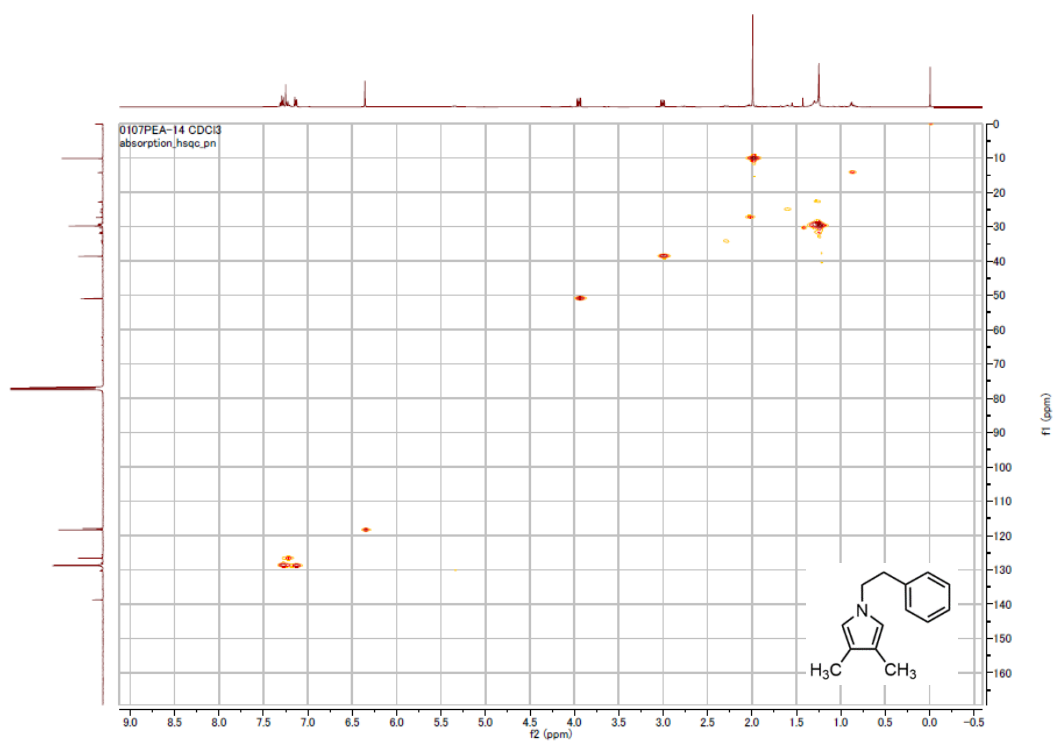
NMR spectroscopic data of **14**



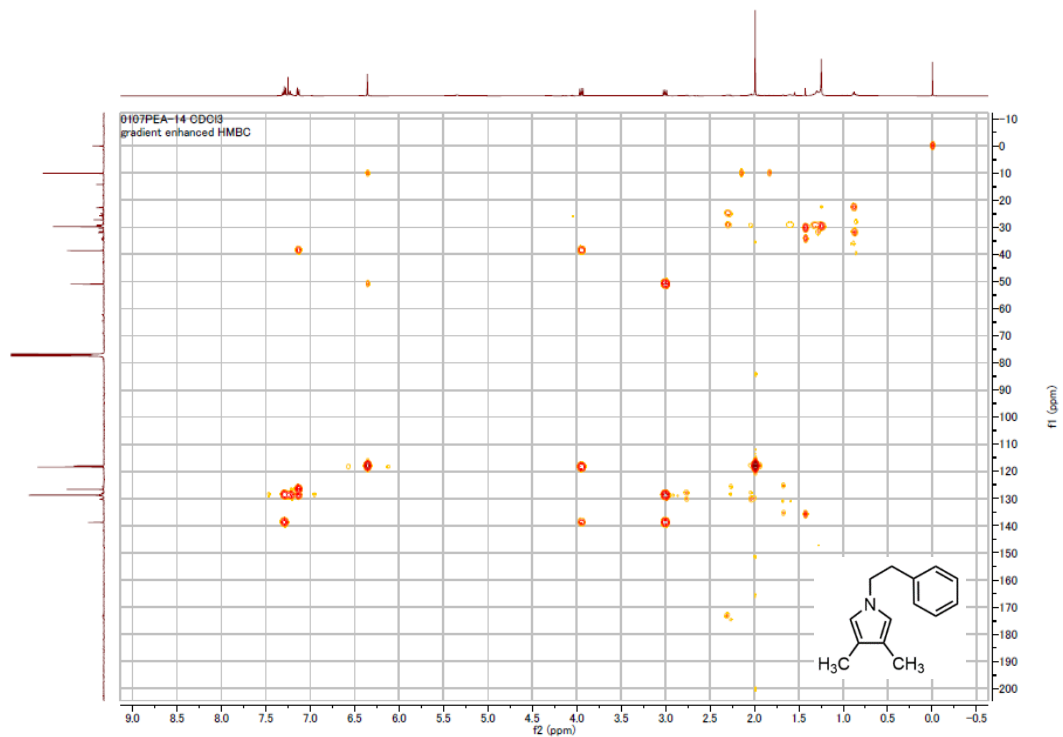
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) spectroscopic data of **14**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



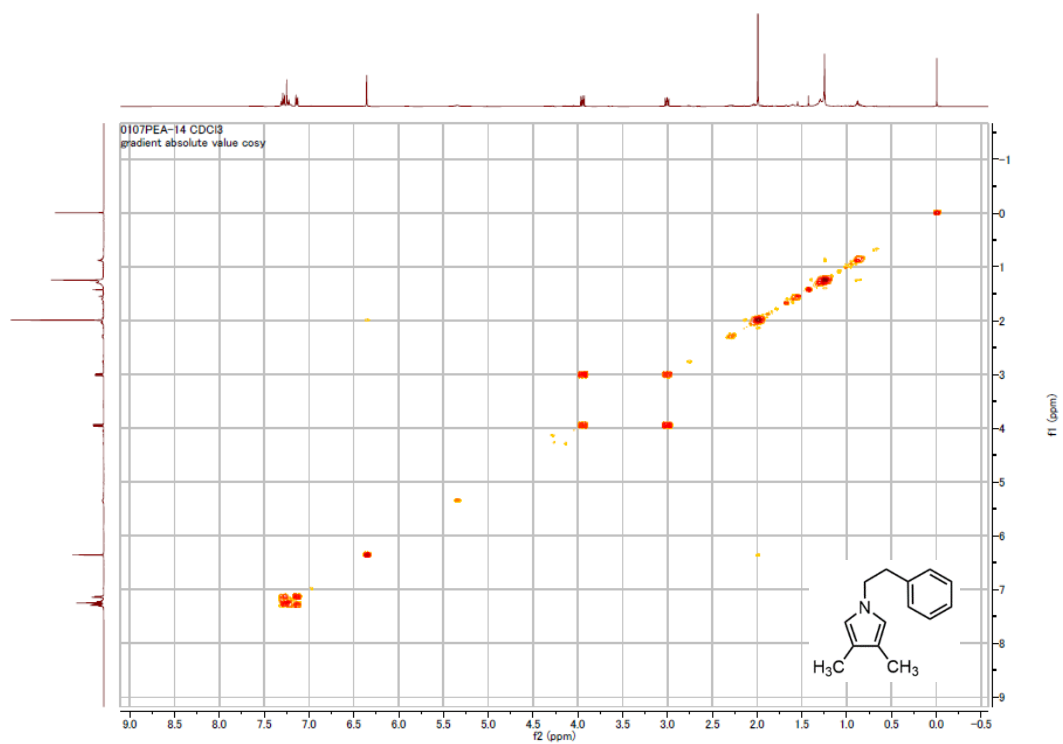
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of **14**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **14**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

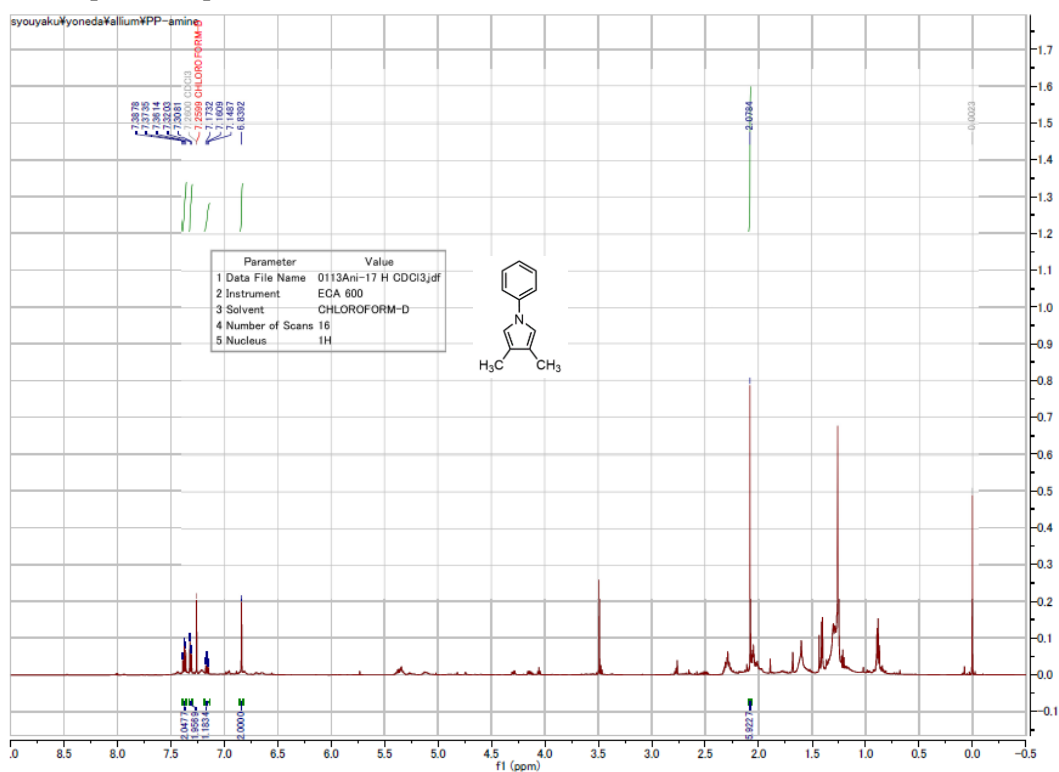


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **14**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

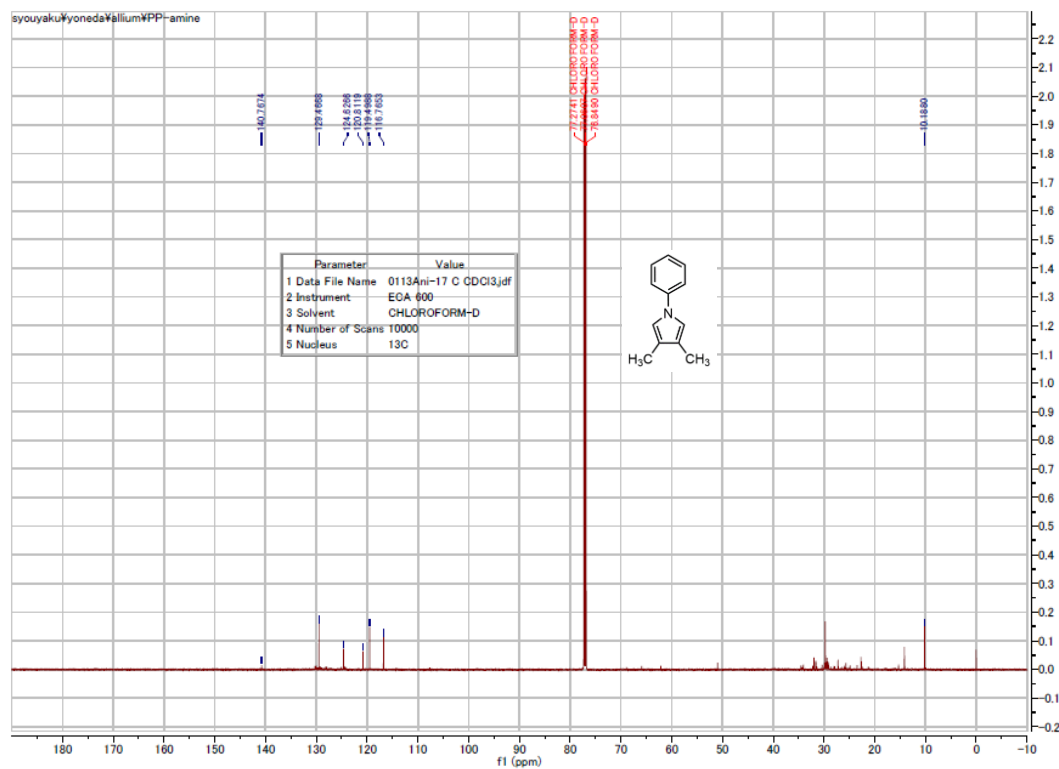


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **14**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

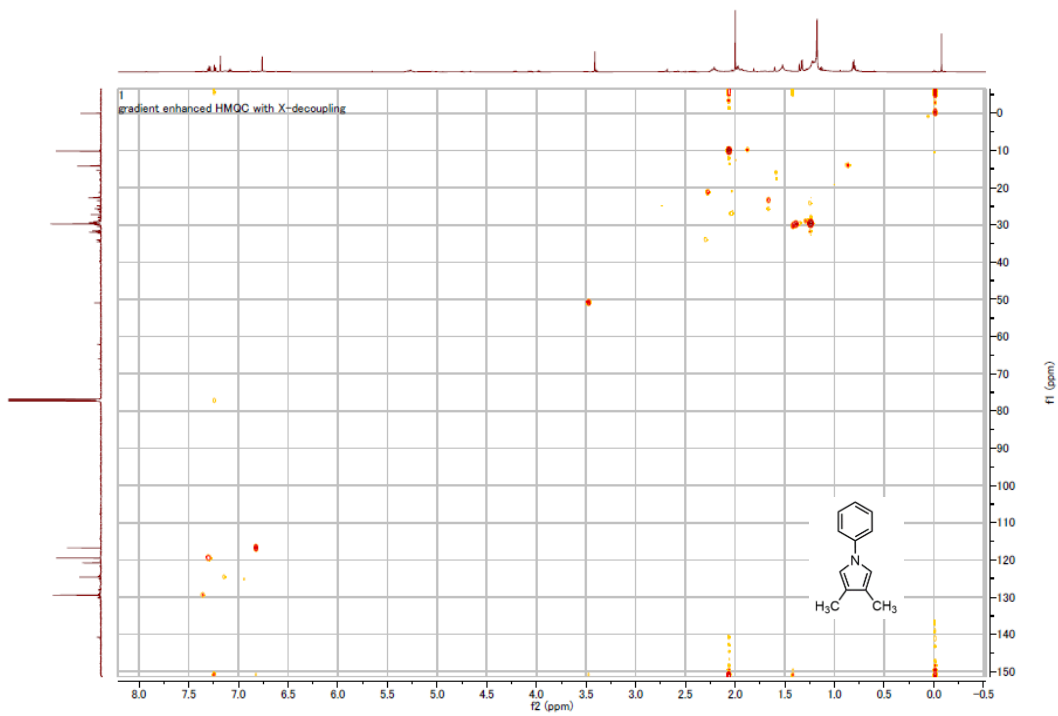
# NMR spectroscopic data of **15**



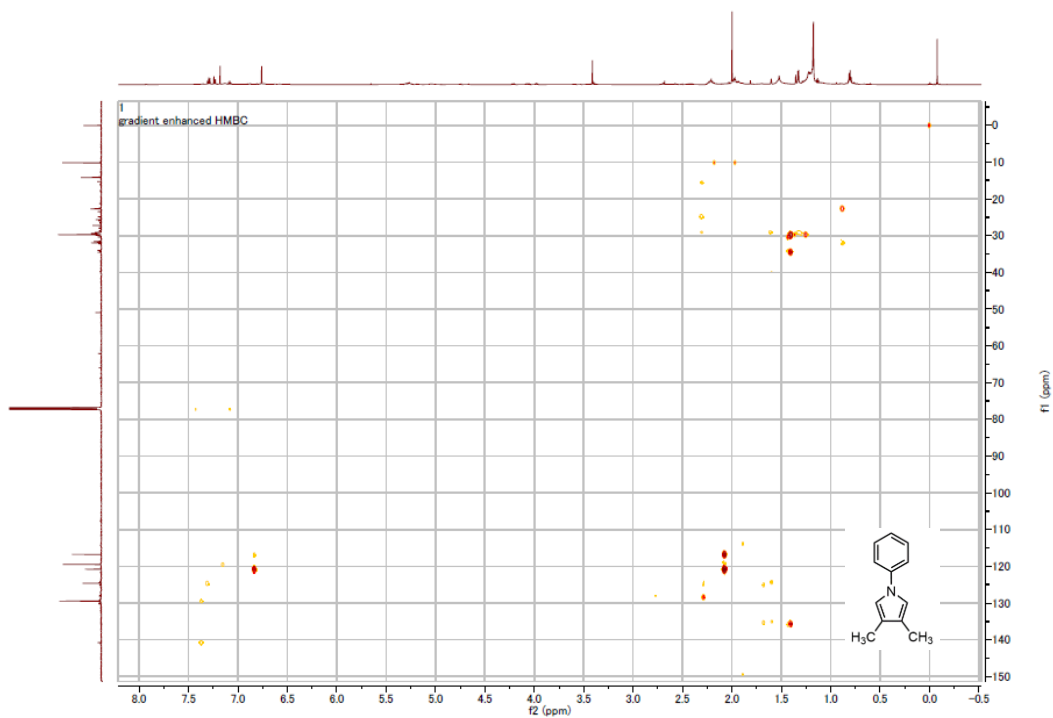
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz) spectroscopic data of **15**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz) spectroscopic data of **15**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

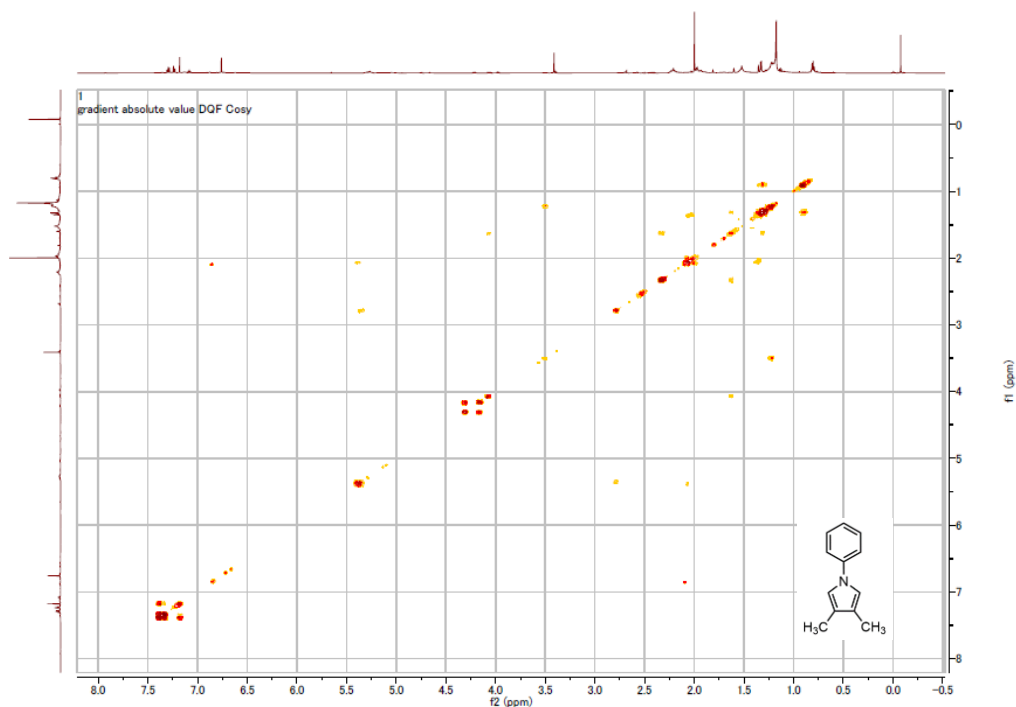


HMQC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **15**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



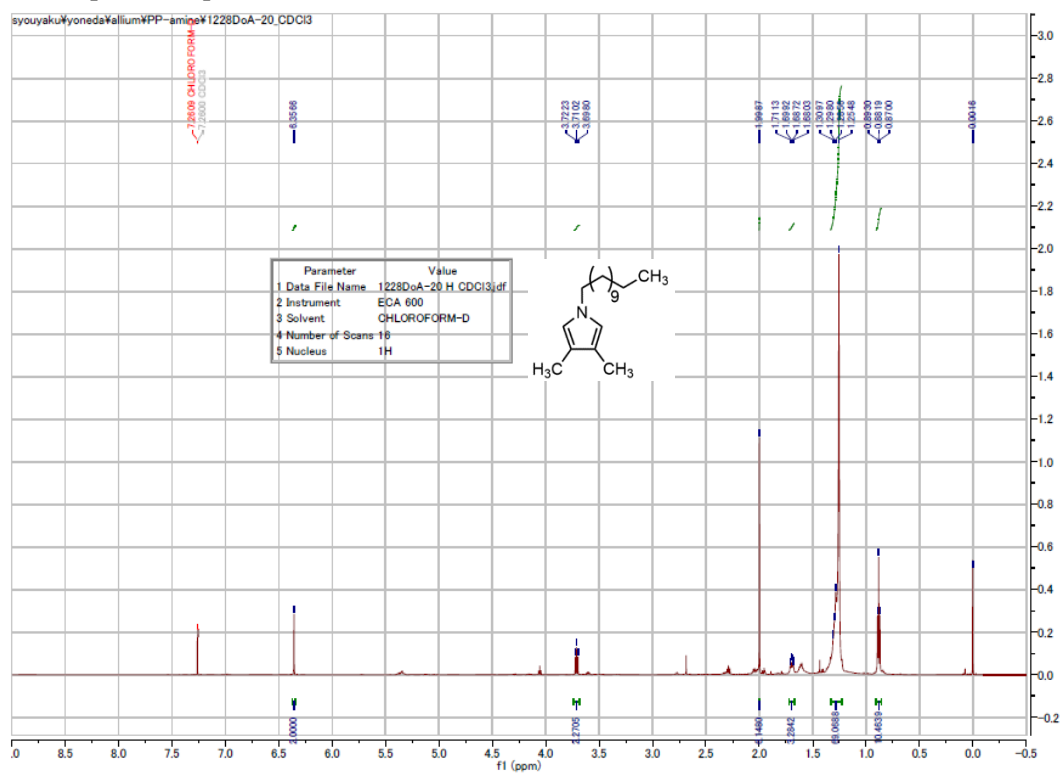
HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **15**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



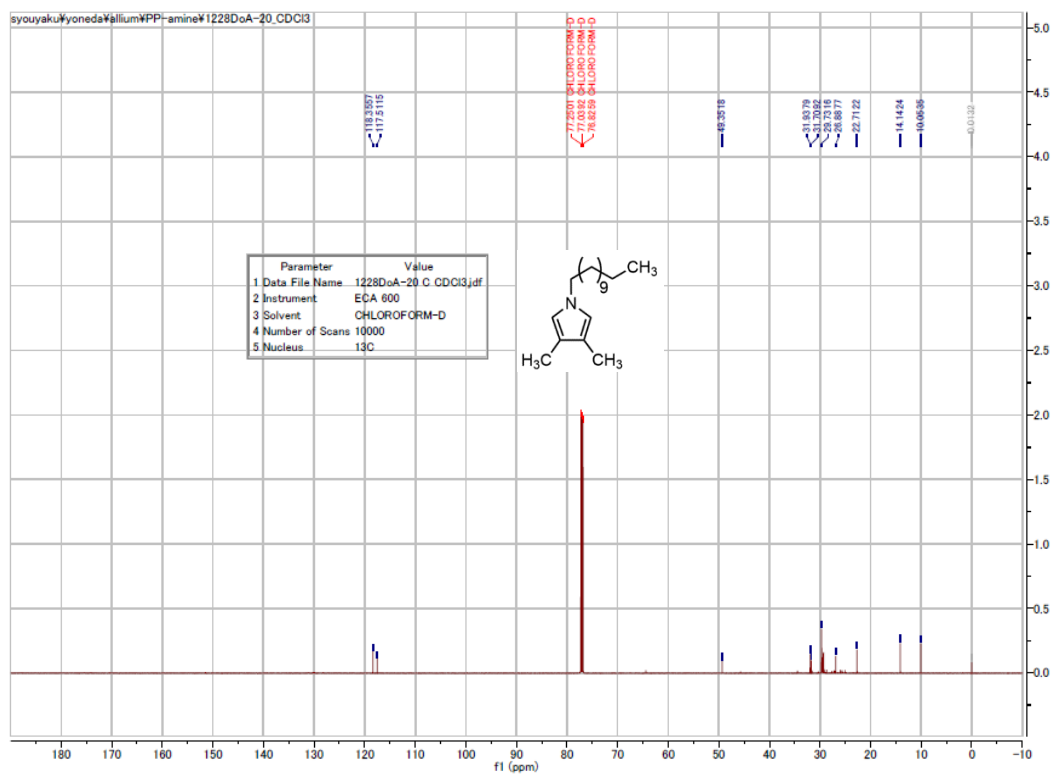


COSY NMR (600 MHz) spectroscopic data of **15**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

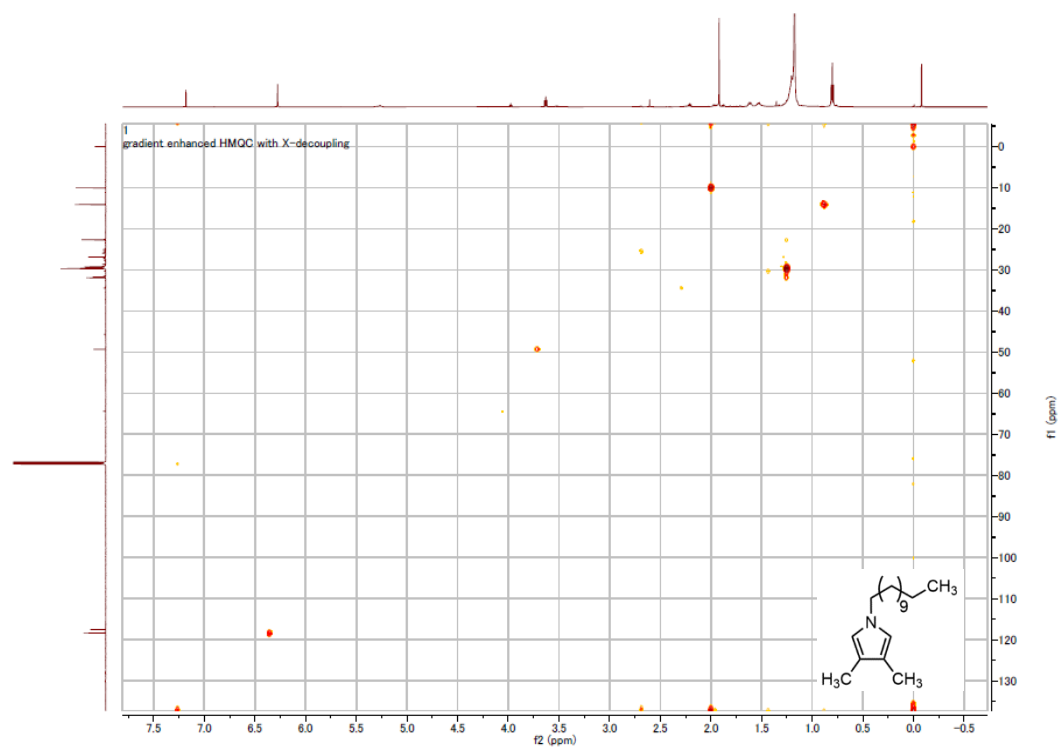
NMR spectroscopic data of **16**



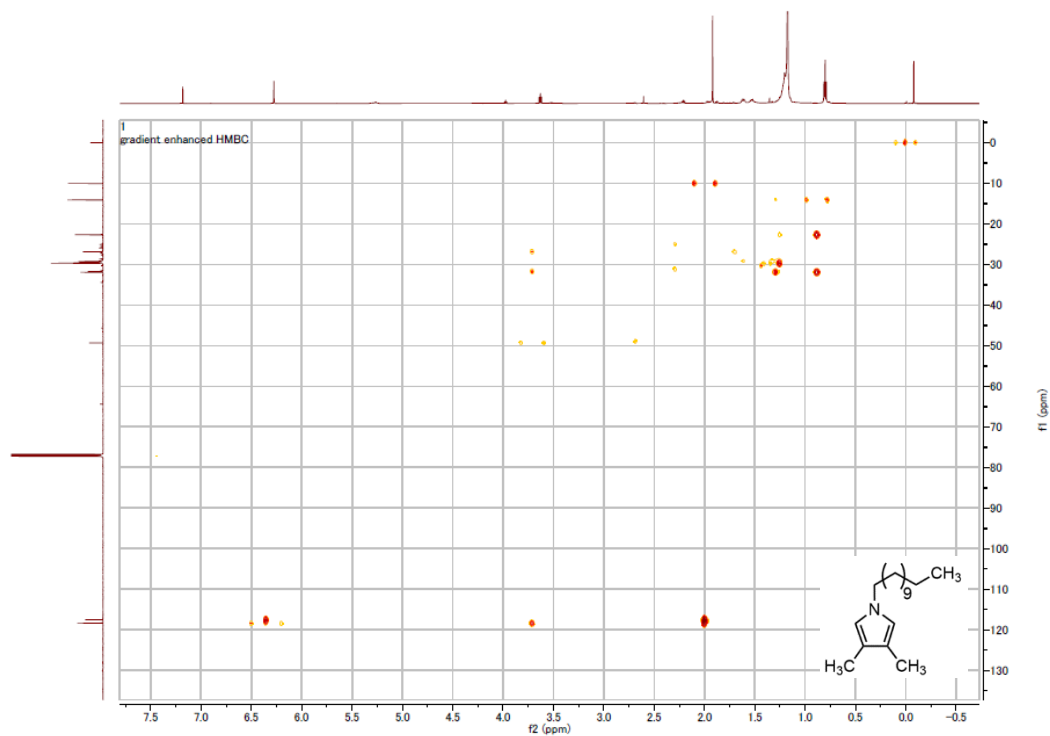
$^1\text{H}$ -NMR (600 MHz) spectroscopic data of **16**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



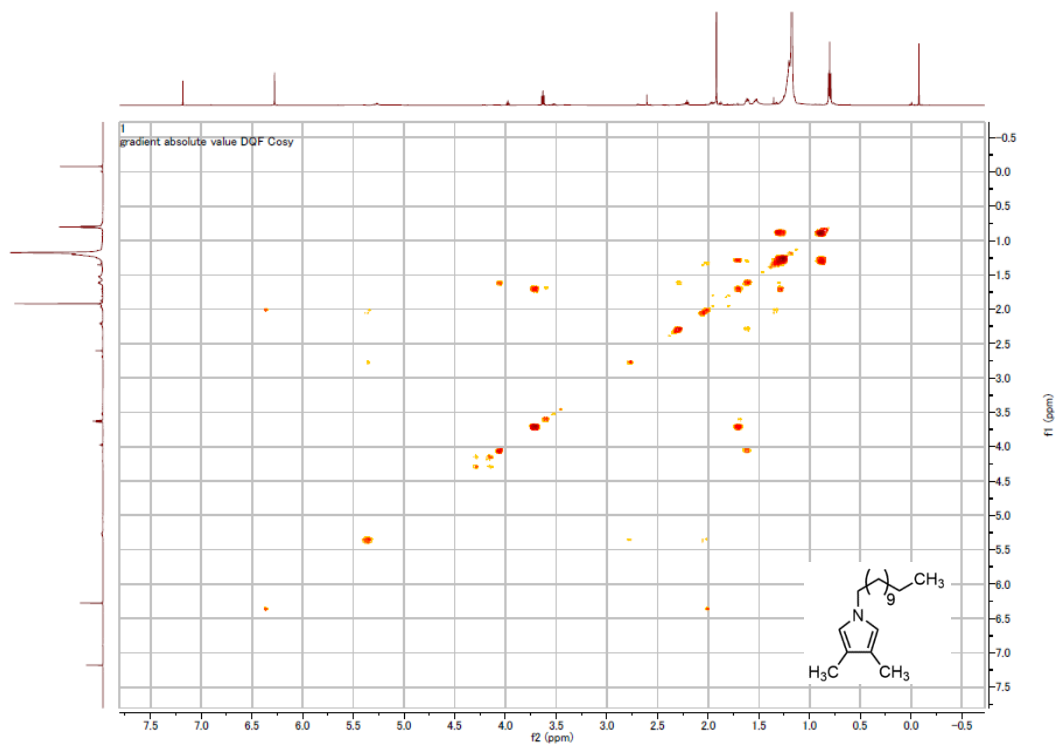
$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz) spectroscopic data of **16**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **16**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **16**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



COSY NMR (600 MHz) spectroscopic data of **16**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

## 第二節の実験

### 植物材料

新鮮なニンニク (*A. sativum*, 球根) は, 2018 年 から 2021 年に京都市で市販品として入手した。植物は中村誠宏准教授 (京都薬科大学) によって同定された。

### Allicin (2) 抽出条件の検討

#### [サンプル調整]

ニンニク (*A. sativum*) の全球根を各種溶媒中 [distilled water (H<sub>2</sub>O), methanol (MeOH), acetone, toluene, ethyl acetate (EA) および diethyl ether (ether)] (3 mL / g) にてハンドミキサーで粉碎した後, 上清を直接 LCMS 分析用サンプルとした。

#### [分析条件]

System: Shimadzu LabSolutions

Column: YMC-triart PFP, 4.6×250 mm i.d.

Mobile phase A: H<sub>2</sub>O, B: MeOH,

gradient: mobile phase A–B

0.0-30.0 min: linear gradient with 90–10→0–100,

30.0-40.0min: linear gradient with 0–100→0–100

Detection: UV (210 nm) and ESI MS

Flow rate: 0.8 mL/min

Column oven: 40 °C

Sample injection: 10 mL

### ニンニク (*A. sativum*, 球根) の乾燥減量の測定

乾燥機にて 110 °C で 1 時間乾燥した平型秤量瓶をデシケーターに移し, 30 分間放冷した。放冷後, 秤量瓶の重量を量り, *A. sativum* 球根の切片 (重量 A: 2.2263 g, 2.4467 g, 2.5166 g) をそれぞれ秤量瓶に取り, 全体を再び秤量した。秤量したニンニク (*A. sativum*, 球根) 切片を microwave (500 W) で 30 秒間加熱した後, 110 °C に設定した乾燥機にて 5 時間乾燥した。乾燥後, サンプルをデシケーターに入れ, 30 分間放冷した。放冷後, それぞれの試料の重量 (重量 B: 0.8143 g, 1.0339 g, 0.9687g) を測定することにより, 乾燥減量  $\{(1 - [\text{重量 B の合計}] / [\text{重量 A の合計}]) * 100 = 61\%$  を測定した。これらの結果から, 乾燥した *A. sativum* の乾燥重量は, 新鮮な *A. sativum* の乾燥減量 (61%) を考慮して計算した。

### (E/Z)-ajoenes (3) の単離

(E/Z)-ajoenes (3) は Block らにより報告された方法<sup>8)</sup>を一部改変することにより得られた。すなわち, 新鮮なニンニク (*A. sativum*, 370 g) の全球根を粉碎し, ハンドミキサーで 3 分間 diethyl ether と混合した。植物繊維をろ過により除去し, ろ液を減圧下で濃縮することにより

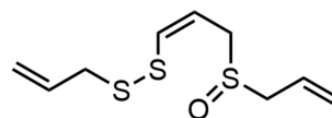
allicin (**2**) 含有画分 (2.5 g, 新鮮植物からの収率 0.7%) を得た. Allicin (**2**) 含有画分 (2.5 g) を acetone-H<sub>2</sub>O (3:2, v/v) に溶解し, 4 時間加熱還流した. 反応終了後, 反応液を減圧濃縮し, 反応混合物 (2.3 g) を得た. 反応混合物 (2.3 g) を順相 MPLC {mobile phase: n-hexane-ethyl acetate (70:30→0:100 gradient 50 min, v/v) [YMC-DispoPack AT SIL-25 (40 g)]} により精製することにより **3a** (72.5 mg, 0.020%) および **3b** (146.8 mg, 0.040%) を得た.

**(Z)-Ajoene [(Z)-4,5,9-trithiadodeca-1,6,11- triene 9-oxide, 3a]:**

Yellow oil, ESI-MS: m/z 257 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ 6.53 (H-6, dd, *J* = 9.5, 1.0 Hz), 5.98 – 5.67 (H-2, 7 and 11, all m), 5.44

(H-12a, ddd-like, *J* = 10.3, 1.0, 1.0 Hz), 5.40 (H-12b, ddd-like, *J* = 17.0, 1.0, 1.0 Hz), 5.16 (H-1a, ddd-like, *J* = 16.8, 1.0, 1.0 Hz), 5.15 (H-1b, d-like, *J* = 9.2 Hz), 3.62 (H-8a, ddd, *J* = 13.0, 6.8, 1.0 Hz), 3.53 (H-8b, ddd, *J* = 13.0, 9.1, 1.0 Hz), 3.49 (H-10a, dddd, *J* = 13.0, 7.3, 1.0, 1.0 Hz), 3.38 (H-10b, dddd, *J* = 13.0, 7.6, 1.0, 1.0 Hz), 3.35 (H<sub>2</sub>-3, d, *J* = 7.3 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 138.6 (C-6), 132.6 (C-11), 125.7 (C-2), 123.9 (C-12), 119.3 (C-1), 118.0 (C-7), 54.9 (C-10), 49.6 (C-8), 42.1 (C-3).

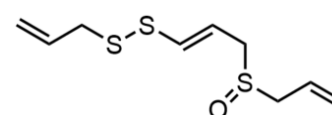


**(E)-Ajoene [(E)-4,5,9-trithiadodeca-1,6,11- triene 9-oxide, 3b]:**

Yellow oil, ESI-MS: m/z 257 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ 6.35 (H-6, dd, *J* = 14.7, 1.1 Hz), 5.96 – 5.73 (H-2, 7 and 11, all m),

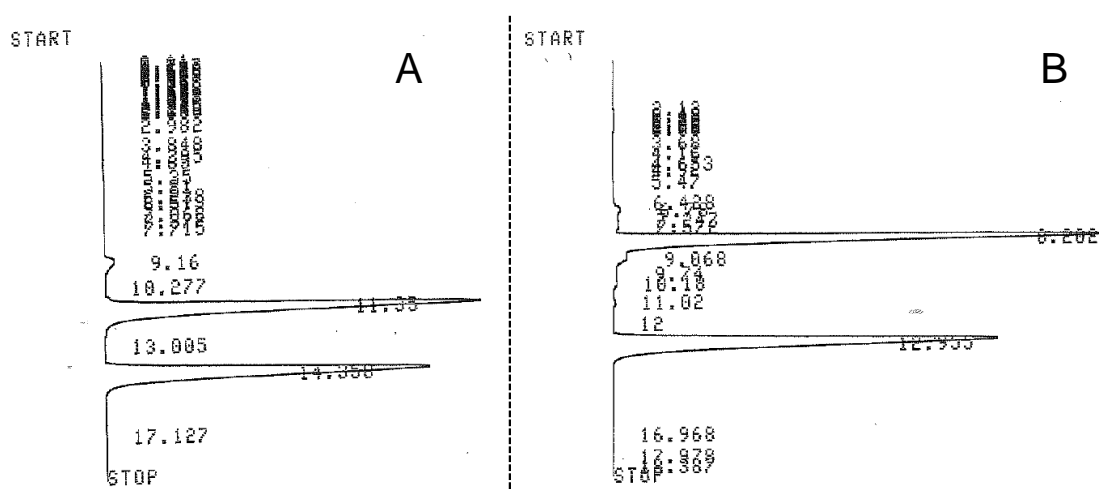
5.45 (H-12a, ddd-like, *J* = 10.2, 1.1, 1.1 Hz), 5.38 (H-12b, ddd-like, *J* = 17.1, 1.1, 1.1 Hz), 5.16 (H-1a, ddd-like, *J* = 16.9, 1.0, 1.0 Hz), 5.14 (H-1b, ddd-like, *J* = 9.8, 1.0, 1.0 Hz), 3.56 (H-8a, ddd, *J* = 13.1, 7.6, 1.1 Hz), 3.50 (H-10a, dddd, *J* = 13.0, 7.2, 1.1, 1.1 Hz), 3.44 (H-8b, dddd, *J* = 13.1, 8.0, 1.1, 1.1 Hz), 3.37 (H-10b, dddd, *J* = 13.0, 7.7, 1.1, 1.1 Hz), 3.33 (H<sub>2</sub>-3, ddd, *J* = 7.3, 1.0, 1.0 Hz). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 134.8 (C-6), 132.6 (C-11), 125.6 (C-2), 124.0 (C-12), 119.4 (C-1), 116.8 (C-7), 54.4 (C-10), 53.0 (C-8), 41.4 (C-3).



### 化合物 9 および 17–19 の合成

新鮮なニンニク (*A. sativum*, 195.2 g) の全球根を粉碎し, ハンドミキサーで 3 分間 diethyl ether と混合した. 植物繊維をろ過により除去し, ろ液を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> にて乾燥させた後に減圧下濃縮することにより allicin (**2**) 含有画分 (890.3 mg, 新鮮植物からの収率 0.5 %) を得た. 得られた allicin (**2**) 含有画分 (890.3 mg) および Danishefsky's diene (**8f**, 1.75 mL, 9 mmol) を toluene (3 mL) に溶解し, 75 °C で 72 時間攪拌した. 反応終了後, 反応液を減圧下濃縮し, 反応混合物 (962.4 mg) を得た. 反応混合物 (962.4 mg) を逆相 MPLC {mobile phase: H<sub>2</sub>O-MeOH (90:10→0:100 gradient 50 min, v/v) [YMC-DispoPack AT ODS-25 (40 g)]} にて分画することにより, 5 つの分画 [Fr. 1 (59.0 mg), Fr. 2 (63.0 mg), Fr. 3 (62.3 mg), Fr. 4 (99.4 mg), および Fr. 5 (238.3 mg)] を得た. Fr. 2 (63.0 mg) を逆相 HPLC {mobile phase: H<sub>2</sub>O-MeOH (75:25, v/v) [5C<sub>18</sub>-MS-II (250×10 mm i.d.)]} で精製することにより, **17a** (2.6 mg, 0.016 mmol, 0.0013%), **17b** (3.6 mg, 0.023 mmol, 0.0018%), **18a** (2.7 mg, 0.012 mmol, 0.0014%), **18b** (4.1 mg, 0.018 mmol, 0.0021%), **19** (2.6 mg, 0.011 mmol, 0.0013%), **18c** (2.6 mg, 0.011 mmol, 0.0013%) および **18d** (2.3 mg, 0.010

mmol, 0.0012%) を得た. また, Fr. 3 (62.3 mg) を逆相 HPLC {mobile phase: H<sub>2</sub>O-MeOH (75:25, v/v) [5C18-MS-II (250 × 10 mm i.d.)]} で精製することにより, それぞれラセミ混合物として *anti-9* (4.5 mg, 0.022 mmol, 0.0023%) および *syn-9* (6.9 mg, 0.033 mmol, 0.0035%) を得た. ラセミ混合物 *anti-9* (1.6 mg) についてキラルカラムによる光学分割 {mobile phase: n-hexane-2-propanol (60:40, v/v) [CHIRAL PAK AD-H (250 × 4.6 mm i.d.)]} を行うことで, *anti-9a* (0.8 mg) および *anti-9b* (0.7 mg) を得た. ラセミ混合物 *syn-9* (1.9 mg) についてキラルカラムによる光学分割 {mobile phase: n-hexane-2-propanol (50:50, v/v) [CHIRAL PAK AD-H (250 × 4.6 mm i.d.)]} を行うことで, *syn-9a* (1.0 mg) および *syn-9b* (0.6 mg) を得た.



**Figure 8.** HPLC analysis chart of *anti-9* (A) and *syn-9* (B)

[Analysis conditions]

共通: Column: CHIRAL PAC AD-H, 4.6×250 mm i.d.

Detection: UV (315 nm)

Flow rate: 1 mL/min

Sample injection: 10 μL

A: Mobile phase: *n*-Hexane : 2-Propanol = 60 : 40

Sample preparation: *anti-9* 1.6 mg / 0.5 mL [*n*-Hexane : 2-Propanol = 60 : 40]

Retention time: *anti-9a* = 11.4 min; *anti-9b* = 14.4 min

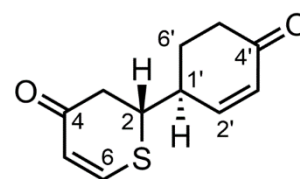
B: Mobile phase: *n*-Hexane : 2-Propanol = 50 : 50

Sample preparation: *syn-9* 1.9 mg / 0.5 mL [*n*-Hexane : 2-Propanol = 50 : 50]

Retention time: *syn-9a* = 8.2 min; *syn-9b* = 13.0 min

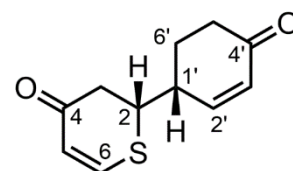
### 2-(4-Oxocyclohex-2-en-1-yl)-2,3-dihydro-4*H*-thiopyran-4-one (**9**):

*anti-9a* (2*R*, 1'*S*) and *anti-9b* (2*S*, 1'*R*): Yellow oil; *anti-9a*: [ $\alpha$ ]<sup>21</sup><sub>D</sub> -132.9 (*c* = 1.0, CH<sub>3</sub>CN); ECD (CH<sub>3</sub>CN)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) [225 nm (- 11.2), 301 nm (- 4.9)]; *anti-9b*: [ $\alpha$ ]<sup>21</sup><sub>D</sub> +118.6 (*c* = 1.0, CH<sub>3</sub>CN); ECD (CH<sub>3</sub>CN)  $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ ) [226 nm (+ 11.0), 299 nm (+ 5.3)]; IR (ATR)  $\nu_{\max}$  = 2954, 1658, 1547



cm<sup>-1</sup>; HRMS (EI) *m/z*: [M]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>S 208.0558; Found: 208.0555; LRMS (ESI) *m/z*: [M + Na]<sup>+</sup> 231; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.46 (H-6, d, *J* = 10.1), 6.94 (H-2', dd-like, *J* = 10.3), 6.25 (H-5, d, *J* = 10.1), 6.12 (H-3', d, *J* = 10.3), 3.58 (H-2, ddd, *J* = 8.7, 6.2, 6.2), 2.83 (H-1', m), 2.82 (H-3, m), 2.59 (H-5'a, dt-like, *J* = 16.9, 4.2), 2.40 (H-5'b, ddd, *J* = 16.9, 13.3, 4.8), 2.21 (H-6'a, dd-like, *J* = 10.7, 4.9), 1.89 (H-6'b, ddd-like, *J* = 13.3, 10.7, 4.2); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 198.3 (C-4'), 193.4 (C-4), 149.4 (C-2'), 144.7 (C-6), 130.9 (C-3'), 123.9 (C-5), 46.2 (C-2), 41.5 (C-3), 36.8 (C-5'), 26.1 (C-6').

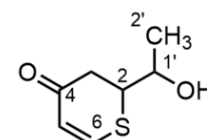
*syn-9a* (2*R*, 1'*R*) and *syn-9b* (2*S*, 1'*S*): Yellow oil; *syn-9a*: [α]<sup>21</sup><sub>D</sub> -136.0 (*c* = 1.0, CH<sub>3</sub>CN) ; ECD (CH<sub>3</sub>CN) λ<sub>max</sub> (Δε) [223 nm (+ 12.8), 300 nm (- 9.4)]; *syn-9b*: [α]<sup>21</sup><sub>D</sub> +153.3 (*c* = 1.0, CH<sub>3</sub>CN) ; ECD (CH<sub>3</sub>CN) λ<sub>max</sub> (Δε) [222 nm (- 14.2), 300 nm (+ 9.8)]; IR (ATR) ν<sub>max</sub> = 2952, 1667, 1574,



1548 cm<sup>-1</sup>; HRMS (EI) *m/z*: [M]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>S 208.0558; Found 208.0561; LRMS (ESI) *m/z*: [M + Na]<sup>+</sup> 231; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.47 (H-6, d, *J* = 10.1), 6.88 (H-2', dd-like, *J* = 10.2), 6.24 (H-5, d, *J* = 10.1), 6.13 (H-3', d, *J* = 10.2), 3.77 (H-2, ddd, *J* = 12.4, 5.7, 3.7), 2.83 (H-1', m), 2.82 (H-3a, dd, *J* = 16.2, 3.7), 2.74 (H-3b, dd, *J* = 16.2, 12.4), 2.60 (H-5'a, dt-like, *J* = 16.9, 4.4), 2.40 (H-5'b, ddd, *J* = 16.9, 13.3, 4.9), 2.17 (H-6'a, ddd-like, *J* = 14.5, 4.9, 1.7), 2.04 (H-6'b, dddd-like, *J* = 14.5, 13.3, 10.0, 4.4); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 198.4 (C-4'), 193.8 (C-4), 148.9 (C-2'), 145.3 (C-6), 131.5 (C-3'), 123.8 (C-5), 46.5 (C-2), 41.8 (C-3), 36.6 (C-5'), 25.4 (C-6').

## 2-(1'-Hydroxyethyl)-2,3-dihydro-4*H*-thiopyran-4-one (17):

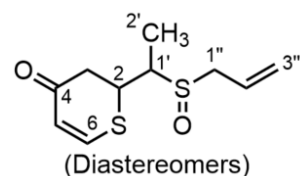
**17a**: Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S + Na)<sup>+</sup>: 181.0294. Found: 181.0299. IR (ATR): 2971, 1649, 1545 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: *m/z* 181 (M + Na)<sup>+</sup>.



<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.41 (H-6, d, *J* = 10.2), 6.21 (H-5, d, *J* = 10.2), 3.99 (H-1', quin-like, *J* = 5.5), 3.46 (H-2, ddd, *J* = 10.1, 6.7, 4.3), 2.88 (H-3a, dd, *J* = 16.3, 4.3), 2.77 (H-3b, dd, *J* = 16.3, 10.1), 1.33 (H-2', d, *J* = 4.6). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 194.0 (C-4), 144.7 (C-6), 123.8 (C-5), 68.6 (C-1'), 50.4 (C-2), 41.1 (C-3), 20.6 (C-2').

(Diastereomers)

**17b**: Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S + Na)<sup>+</sup>: 181.0294. Found: 181.0291. IR (ATR): 2973, 2894, 2161, 2018, 1649, 1545 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: *m/z* 181 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.42 (H-6, d, *J* = 10.2), 6.19 (H-5, d, *J* = 10.2), 4.03 (H-1', quin-like, *J* = 6.2), 3.53 (H-2, ddd, *J* = 11.2, 5.7, 4.0), 2.87 (H-3a, dd, *J* = 16.2, 4.0), 2.78 (H-3b, dd, *J* = 16.2, 11.2), 1.34 (H-2', d, *J* = 6.2). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 194.3 (C-4), 145.0 (C-6), 123.5 (C-5), 68.6 (C-1'), 49.2 (C-2), 39.2 (C-3), 20.5 (C-2').

**2-(1'-(Allylsulfinyl)ethyl)-2,3-dihydro-4H-thiopyran-4-one (18):****18a:** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> + Na)<sup>+</sup>:253.0327. Found: 253.0330. IR (ATR): 2932, 1706, 1657, 1548 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 253 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.40 (H-6, d, *J* =10.2), 6.24 (H-5, d, *J* = 10.2), 5.81 (H-2''), dddd, *J* = 17.0, 10.1, 8.1, 6.9), 5.44 (H-3''a, d-like, *J* = 10.1), 5.41 (H-3''b, d-like, *J* = 17.0), 3.78 (H-2, td-like, *J* = 9.6, 3.8), 3.55 (H-1''a, ddt, *J* = 12.8, 6.9, 1.3), 3.42 (H-1''b, ddt, *J* = 12.8, 8.1, 0.7), 2.95 (H-3a, dd-like, *J* = 16.3, 3.8), 2.93 (H-1', m), 2.85 (H-3b, dd, *J* = 16.3, 9.6), 1.37 (H-2', d, *J* = 7.0). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 192.7 (C-4), 144.0 (C-6), 125.6 (C-2''), 124.0 (C-5), 123.9 (C-3''), 54.5 (C-1'), 54.4 (C-1''), 43.9 (C-2), 41.2 (C-3), 7.2 (C-2').**18b:** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> + Na)<sup>+</sup>: 253.0327. Found: 253.0324.IR (ATR): 2932, 1656, 1548 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 253 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.42(H-6, d, *J* = 10.2), 6.23 (H-5, d, *J* = 10.2), 5.82 (H-2''), dddd, *J* = 17.1, 10.3, 8.0, 7.0), 5.45 (H-3''a, d-like, *J* = 10.3), 5.42 (H-3''b, d-like, *J* = 17.1), 3.80 (H-2, ddd, *J* = 9.5, 7.9, 4.7), 3.56 (H-1''a, dd-like, *J* =13.0, 7.0), 3.43 (H-1''b, dd-like, *J* = 13.0, 8.0), 2.97 (H-3a, d-like, *J* = 4.7), 2.96 (H-3b, d-like, *J* =9.5), 2.91 (H-1', m), 1.45 (H-2', d, *J* = 6.8). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 192.8 (C-4), 144.2 (C-6),

125.5 (C-2''), 124.0 (C-5), 123.9 (C-3''), 54.3 (C-1'), 54.1 (C-1''), 44.5 (C-2), 41.9 (C-3), 7.9 (C-2').

**18c:** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> + Na)<sup>+</sup>: 253.0327. Found: 253.0330.IR (ATR): 2968, 2933, 2348, 1657, 1548 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 253 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 7.45 (H-6, d, *J* = 10.2), 6.21 (H-5, d, *J* = 10.2), 5.97 (H-2''), dddd, *J* = 17.0, 10.1, 8.2, 6.6), 5.51(H-3''a, d-like, *J* = 10.1), 5.43 (H-3''b, d-like, *J* = 17.0), 4.27 (H-2, dt, *J* = 11.7, 3.8), 3.66 (H-1''a, dd,*J* = 13.5, 6.6), 3.30 (H-1''b, dd, *J* = 13.5, 8.2), 3.07 (H-1', qd, *J* = 7.1, 3.8), 2.92 (H-3a, dd, *J* = 16.4,3.8), 2.78 (H-3b, dd, *J* = 16.4, 11.7), 1.25 (H-2', d, *J* = 7.1). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 193.1 (C-

4), 145.0 (C-6), 124.9 (C-2''), 124.3 (C-3''), 123.8 (C-5), 57.1 (C-1'), 52.9 (C-1''), 40.9 (C-2), 39.1 (C-

3), 9.9 (C-2').

**18d:** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> + Na)<sup>+</sup>: 253.0327. Found: 253.0322.IR (ATR): 2967, 2916, 1706, 1656, 1548 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 253 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 7.45 (H-6, dd, *J* = 10.2, 1.0), 6.22 (H-5, d, *J* = 10.2), 5.97 (H-2''), dddd, *J* = 16.9, 10.2, 8.4, 6.4),5.52 (H-3''a, d-like, *J* = 10.2), 5.42 (H-3''b, d-like, *J* = 16.9), 4.29 (H-2, ddd, *J* = 10.9, 4.8, 3.3), 3.69(H-1''a, dd, *J* = 13.6, 6.4), 3.28 (H-1''b, dd, *J* = 13.6, 8.4), 3.03 (H-1', qd, *J* = 7.0, 3.3), 2.80 (H-3a, dd,*J* = 16.4, 10.9), 2.74 (H-3b, dd, *J* = 16.4, 4.8), 1.24 (H-2', d, *J* = 7.0). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ

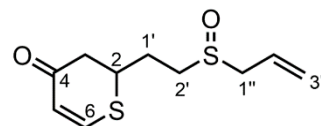
193.4 (C-4), 145.2 (C-6), 124.9 (C-2''), 123.9 (C-3''), 124.0 (C-5), 58.2 (C-1'), 52.7 (C-1''), 42.1 (C-

3), 41.5 (C-2), 9.7 (C-2').



**2-(2'-(Allylsulfinyl)ethyl)-2,3-dihydro-4H-thiopyran-4-one (19):**

Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> + Na)<sup>+</sup>: 253.0327. Found: 253.0330. IR (ATR): 2917, 1657, 1548 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS:



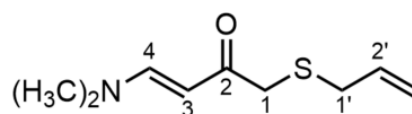
m/z 253 (M + Na)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.39 (H-6, d, *J* = 12.8), 6.20 (H-5, d, *J* = 12.8), 5.88 (H-2'', dddd-like, *J* = 17.1, 7.6), 5.57 (H-3''a, d-like, *J* = 10.2), 5.41 (H-3''b, d-like, *J* = 17.1), 3.63 (H-2, m), 3.51 (H-1'', m), 2.88 (H-3a, dd-like, *J* = 16.0, 3.6), 2.77 (H-2', td, *J* = 7.0, 1.7), 2.65 (H-3b, dd, *J* = 16.0, 10.1), 2.20 (H-1', m). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 194.57 (C-4), 144.5 (C-6), 125.3 (C-2''), 124.1 (C-3''), 123.8 (C-5), 56.2 (C-1''), 47.5 (C-2'), 44.0 (C-3), 41.9 (C-2), 26.9 (C-1').

**化合物 20–29 の合成**

新鮮なニンニク (*A. sativum*, 69.42 g) の全球根を粉碎し、ハンドミキサーで 3 分間 diethyl ether と混合した。植物繊維をろ過により除去し、ろ液を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> にて乾燥させた後に減圧下濃縮することにより allicin (**2**) 含有画分 (453.4 mg, 新鮮植物からの収率 0.65%) を得た。得られた allicin (**2**) 含有画分 (453.4 mg) および Rawal's diene (**8g**, 0.75 mL, 2.902 mmol) を toluene (3 mL) に溶解し、75 °C で 3 時間攪拌した。反応終了後、反応液を減圧下濃縮し、反応混合物 (880.7 mg) を得た。反応混合物 (880.7 mg) を逆相 MPLC {mobile phase: H<sub>2</sub>O-MeOH (90:0 → 0:100 gradient 50 min, v/v) [YMC-DispoPack AT ODS-25 (40 g)]} にて分画することにより、6 つの分画 [Fr. 1 (142.1 mg), Fr. 2 (9.6 mg), Fr. 3 (25.6 mg), Fr. 4 (35.2 mg), Fr. 5 (104.9 mg) および Fr. 6 (122.0 mg)] を得た。Fr. 3 (25.6 mg) を逆相 HPLC {mobile phase: H<sub>2</sub>O-MeOH (65:35, v/v) [5C<sub>18</sub>-MS-II (250 × 10 mm i.d.)]} で精製することにより、**22** (1.0 mg, 0.00546 mmol, 0.0014% from *A. sativum*), **23** (1.4 mg, 0.00772 mmol, 0.0020%), **20** (1.3 mg, 0.00702 mmol, 0.0019%), **21** (0.2 mg, 0.00108 mmol, 0.00029%) および **24** (0.7 mg, 0.00351 mmol, 0.0010%) を得た。また、Fr. 4 (35.2 mg) を逆相 HPLC {mobile phase: H<sub>2</sub>O-MeOH (45:55, v/v) [5C<sub>18</sub>-MS-II (250 × 10 mm i.d.)]} で精製することにより、**29** (1.6 mg, 0.0106 mmol, 0.0023%), **27** (1.9 mg, 0.00565 mmol, 0.0027%), **25** (1.4 mg, 0.00621 mmol, 0.0020%), **28** (1.2 mg, 0.00326 mmol, 0.0017%) および **26** (1.0 mg, 0.00388 mmol, 0.0014%) を得た。

**(E)-1-(Allylthio)-4-(dimethylamino)but-3-en-2-one (20):**

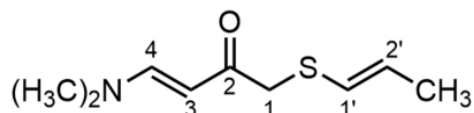
Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NOS + H)<sup>+</sup>: 186.0943. Found: 186.0947. IR (ATR): 2914, 1649, 1435,



1421, 1355, 1279, 1217, 1072 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 186 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.62 (H-4, d, *J* = 12.8), 5.80 (H-2', ddt, *J* = 17.2, 10.0, 7.2), 5.24 (H-3, d, *J* = 12.8), 5.18 (H-3'a, ddd-like, *J* = 17.2, 2.4, 0.8), 5.11 (H-3'b, ddd-like, *J* = 10.0, 2.4, 0.8), 3.20 (H-1', dd-like, *J* = 7.2, 0.8), 3.18 (H-1, s), 3.09 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.84 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 192.8 (C-2), 153.4 (C-4), 133.5 (C-2'), 117.8 (C-3'), 93.6 (C-3), 44.9 (*N*-CH<sub>3</sub>), 39.2 (C-1), 37.1 (*N*-CH<sub>3</sub>), 34.9 (C-1').

**(E)-4-(Dimethylamino)-1-((E)-prop-1'-en-1'-ylthio)but-**

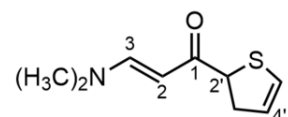
**3-en-2-one (21):** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NOS + H)<sup>+</sup>: 186.0951. Found: 186.0947. IR



(ATR): 2916, 1649, 1562, 1435, 1421, 1356, 1275, 1219, 1078 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 186 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.63 (H-4, d, *J* = 12.8), 5.99 (H-1', dd, *J* = 14.8, 1.6), 5.73 (H-2', dq, *J* = 14.8, 6.8), 5.27 (H-3, d, *J* = 12.8), 3.34 (H<sub>2</sub>-1, s), 3.09 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.84 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 1.73 (H<sub>3</sub>-3', dd, *J* = 6.8, 1.6). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 192.2 (C-2), 153.6 (C-4), 126.6 (C-2'), 122.6 (C-1'), 93.3 (C-3), 44.9 (*N*-CH<sub>3</sub>), 41.9 (C-1), 37.2 (*N*-CH<sub>3</sub>), 18.5 (C-3').

**(E)-1-(2',3'-Dihydrothiophen-2'-yl)-3-(dimethylamino)prop-2-en-1-one**

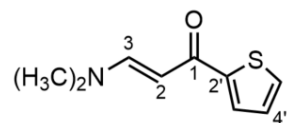
**(22):** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NOS + H)<sup>+</sup>: 184.0784. Found: 184.0791. IR (ATR): 2922, 1649, 1618, 1570, 1433, 1420,



1358, 1281, 1090 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 184 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.64 (H-3, d, *J* = 12.4), 6.06 (H-5', dt-like, *J* = 6.2, 2.0), 5.56 (H-4', dt-like, *J* = 6.2, 2.0), 5.18 (H-2, d, *J* = 12.4), 4.38 (H-2', dd, *J* = 10.3, 6.2), 3.29 (H-3'a, dddd-like, *J* = 16.5, 6.2, 2.0, 2.0), 3.09 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.89 (H-3'b, dddd-like, *J* = 16.5, 7.6, 2.0, 2.0), 2.83 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 193.9 (C-1), 153.7 (C-3), 123.8 (C-5'), 122.1 (C-4'), 92.4 (C-2), 54.6 (C-2'), 45.0 (*N*-CH<sub>3</sub>), 37.4 (C-3'), 37.2 (*N*-CH<sub>3</sub>).

**(E)-3-(Dimethylamino)-1-(thiophen-2'-yl)prop-2-en-1-one (23):** Yellow

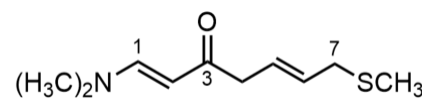
oil, High resolution ESI-MS: Calcd for (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NOS + H)<sup>+</sup>: 182.0634. Found: 182.0627. IR (ATR): 2922, 1633, 1550, 1516 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 182 (M +



H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.80 (H-3, d, *J* = 12.3), 7.63 (H-5', dd, *J* = 3.7, 1.2), 7.47 (H-3', dd, *J* = 5.0, 1.2), 7.08 (H-4', dd, *J* = 5.0, 3.7), 5.63 (H-2, d, *J* = 12.3), 3.14 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.93 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 180.9 (C-1), 153.6 (C-3), 147.4 (C-2'), 130.2 (C-3'), 128.4 (C-5'), 127.5 (C-4'), 91.7 (C-2), 44.9 (*N*-CH<sub>3</sub>), 37.3 (*N*-CH<sub>3</sub>).

**(1E,5E)-1-(Dimethylamino)-7-(methylthio)hepta-1,5-dien-3-**

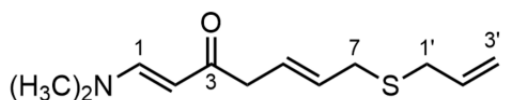
**one (24):** Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for



(C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NOS + H)<sup>+</sup>: 200.1097. Found: 200.1104. IR (ATR): 2915, 1644, 1626, 1563, 1435, 1420, 1358, 1276, 1219, 1098 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 200 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): δ 7.56 (H-1, d, *J* = 12.4), 5.70 (H-5, dt, *J* = 15.1, 7.6), 5.51 (H-6, dt, *J* = 15.1, 7.6), 5.05 (H-2, d, *J* = 12.4), 3.12 (H-4, d, *J* = 7.6), 3.10 (H-7, d, *J* = 7.6), 3.09 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.82 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.02 (*S*-CH<sub>3</sub>, s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): δ 195.2 (C-3), 152.8 (C-1), 128.5 (C-6), 128.0 (C-5), 94.7 (C-2), 44.8 (C-4), 44.8 (*N*-CH<sub>3</sub>), 37.0 (*N*-CH<sub>3</sub>), 35.9 (C-7), 14.3 (*S*-CH<sub>3</sub>).

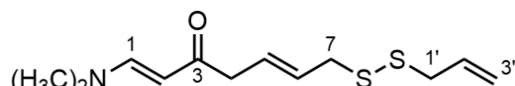
**(1E,5E)-7-(Allylthio)-1-(dimethylamino)hepta-1,5-**

**dien-3-one (25):** Yellow oil, High resolution ESI-MS:



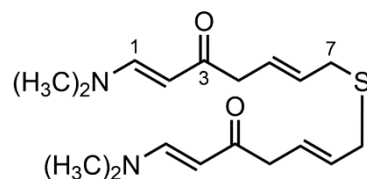
Calcd for (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NOS + H)<sup>+</sup>: 226.1260. Found: 226.1263. IR (ATR): 2912, 1646, 1625, 1563, 1431, 1419, 1357, 1275, 1097 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 226 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.56 (H-1, d, *J* = 12.5), 5.77 (H-2', ddt, *J* = 17.0, 10.0, 7.0), 5.70 (H-5, dtt, *J* = 15.0, 7.0, 1.5), 5.50 (H-6, dtt, *J* = 15.0, 7.0, 1.5), 5.13 (H-3'a, ddt, *J* = 17.0, 3.0, 1.0), 5.11 (H-3'b, ddt, *J* = 10.0, 1.0), 5.05 (H-2, d, *J* = 12.5), 3.11 (H<sub>2</sub>-4, 7 and 1', all m), 3.09 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.82 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 195.2 (C-3), 152.8 (C-1), 134.3 (C-2'), 128.7 (C-6), 128.2 (C-5), 117.3 (C-3'), 94.9 (C-2), 45.4 (C-4), 44.8 (*N*-CH<sub>3</sub>), 36.9 (*N*-CH<sub>3</sub>), 33.3 (C-1'), 32.5 (C-7).

**(1*E*,5*E*)-7-(Allyldisulfanyl)-1-(dimethylamino)hepta-1,5-dien-3-one (26)**: Yellow oil, High resolution ESI-



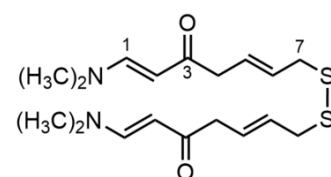
MS: Calcd for (C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NOS<sub>2</sub> + H)<sup>+</sup>: 258.0981. Found: 258.0978. IR (ATR): 2921, 1647, 1625, 1567, 1433, 1420, 1356, 1279, 1217, 1095 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 258 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.56 (H-1, d, *J* = 12.8), 5.84 (H-2', ddt, *J* = 17.2, 10.0, 7.2), 5.82 (H-5, dt, *J* = 15.2, 7.2), 5.56 (H-6, dtt, *J* = 15.2, 7.6, 1.2), 5.20 (H-3'a, dd, *J* = 17.2, 1.6), 5.15 (H-3'b, d-like, *J* = 10.0), 5.08 (H-2, d, *J* = 12.8), 3.35 (H<sub>2</sub>-7, d, *J* = 7.6), 3.32 (H<sub>2</sub>-1', d, *J* = 7.2), 3.12 (H<sub>2</sub>-4, d-like, *J* = 6.8), 3.08 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.81 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 194.9 (C-3), 152.9 (C-1), 133.5 (C-2'), 129.5 (C-5), 127.8 (C-6), 118.4 (C-3'), 94.2 (C-2), 45.5 (C-4), 44.9 (*N*-CH<sub>3</sub>), 42.3 (C-1'), 41.5 (C-4), 36.8 (*N*-CH<sub>3</sub>).

**(1*E*,1'*E*,5*E*,5'*E*)-7,7'-Thiobis(1-(dimethylamino)hepta-1,5-dien-3-one (27)**: Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for



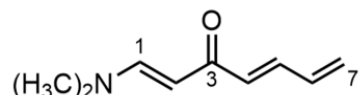
(C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S+Na)<sup>+</sup>: 359.1764. Found: 359.1759. IR (ATR): 2913, 1645, 1625, 1562, 1433, 1420, 1358, 1276, 1098 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 337 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ 7.55 (H-1, d, *J* = 12.5), 5.70 (H-5, dt, *J* = 15.0, 7.5), 5.50 (H-6, dt, *J* = 15.0, 7.5), 5.06 (H-2, d, *J* = 12.5), 3.11 (H<sub>4</sub>-7, d-like, *J* = 7.5), 3.09 (H<sub>4</sub>-4, d-like, *J* = 7.5), 3.08 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.82 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ 195.2 (C-3), 152.8 (C-1), 128.9 (C-6), 128.1 (C-5), 94.8 (C-2), 45.5 (C-4), 44.8 (*N*-CH<sub>3</sub>), 37.1 (*N*-CH<sub>3</sub>), 32.6 (C-7).

**(1*E*,1'*E*,5*E*,5'*E*)-7,7'-Disulfanediylobis(1-(dimethylamino)hepta-1,5-dien-3-one (28)**: Yellow oil, High resolution ESI-MS: Calcd for



(C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> + H)<sup>+</sup>: 369.1665. Found: 369.1660. IR (ATR): 2918, 1646, 1625, 1563, 1434, 1420, 1357, 1277, 1096 cm<sup>-1</sup>. ESI-MS: m/z 369 (M + H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.57 (H-1, d, *J* = 12.8), 5.79 (H-5, dtt, *J* = 14.8, 7.2, 0.8), 5.56 (H-6, dtt, *J* = 14.8, 7.6, 1.2), 5.09 (H-2, d, *J* = 12.8), 3.33 (H<sub>4</sub>-7, dd-like, *J* = 7.6, 0.8), 3.12 (H<sub>4</sub>-4, d-like, *J* = 7.2), 3.08 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s), 2.82 (*N*-CH<sub>3</sub>, br. s). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): δ 194.9 (C-3), 152.9 (C-1), 129.4 (C-5), 127.8 (C-6), 94.9 (C-2), 45.7 (C-4), 44.8 (*N*-CH<sub>3</sub>), 41.6 (C-7), 36.9 (*N*-CH<sub>3</sub>).

**(1*E*,4*E*)-1-(Dimethylamino)hepta-1,4,6-trien-3-one (29)**: Yellow oil, High resolution EI-MS: Calcd for (C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO)<sup>+</sup>: 151.0997. Found:



151.1000. IR (ATR): 2922, 1619, 1593, 1542, 1435, 1419, 1358, 1269, 1085  $\text{cm}^{-1}$ . ESI-MS:  $m/z$  152 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7.71 (H-1, d,  $J = 12.8$ ), 7.17 (H-5, dd,  $J = 15.2, 11.2$ ), 6.49 (H-6, ddd,  $J = 16.8, 11.2, 10.0$ ), 6.27 (H-4, d,  $J = 15.2$ ), 5.57 (H-7, dd,  $J = 16.8, 1.2$ ), 5.40 (H-7, dd,  $J = 10.0, 1.2$ ), 5.20 (H-2, d,  $J = 12.8$ ), 3.12 ( $N\text{-CH}_3$ , br. s), 2.87 ( $N\text{-CH}_3$ , br. s). <sup>13</sup>C NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  186.6 (C-3), 153.4 (C-1), 138.8 (C-5), 135.9 (C-6), 132.5 (C-4), 123.5 (C-7), 96.1 (C-2), 45.1 ( $N\text{-CH}_3$ ), 37.3 ( $N\text{-CH}_3$ ).

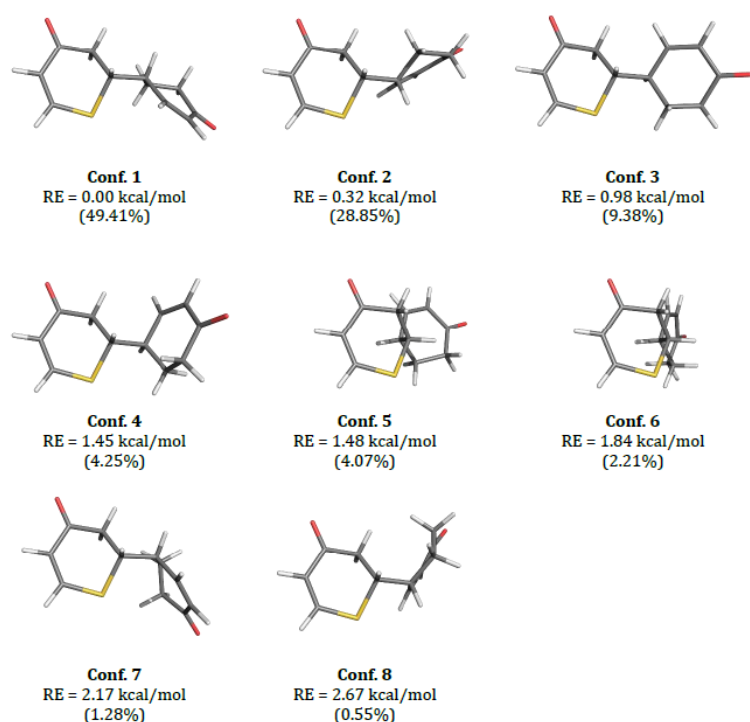
### 化合物 9 の 理論 ECD スペクトルの計算

各エナンチオマー *anti-9a*, *anti-9b*, *syn-9a* および *syn-9b* についての配座異性体の初期配座は, Spartan '10 program<sup>59</sup>) で実装した Merck 分子力場 (Merck molecular force field, MMFF) を使用して真空中で幾何学的に最適化した. ボルツマン分布において 1% を超える存在比を持つ *anti-9a*, *anti-9b*, *syn-9a* および *syn-9b* の配座異性体 (それぞれ 9, 9, 8 および 8 種の配座異性体) は, CAM-B3LYP/6-31G(d) レベルでの密度関数理論 (density functional theory, DFT) 法 (Figure S12-S15) により最適化した. ECD の計算値は, それぞれの最適化した配座異性体について CAM-B3LYP/def2-TZVPP レベルで時間依存密度汎関数理論 (time-dependent density functional theory, TD-DFT) 計算を使用して計算した. 配座異性体の最適化および ECD 計算は, いずれも Gaussian 16 プログラム<sup>60</sup>)を使用して MeCN 中での積分方程式表式化分極連続体モデル (integral equation formalism polarizable continuum model, IEFPCM) で実行した. 計算値による ECD 曲線は, SpecDis v1.71<sup>61</sup>) を使用して生成した.

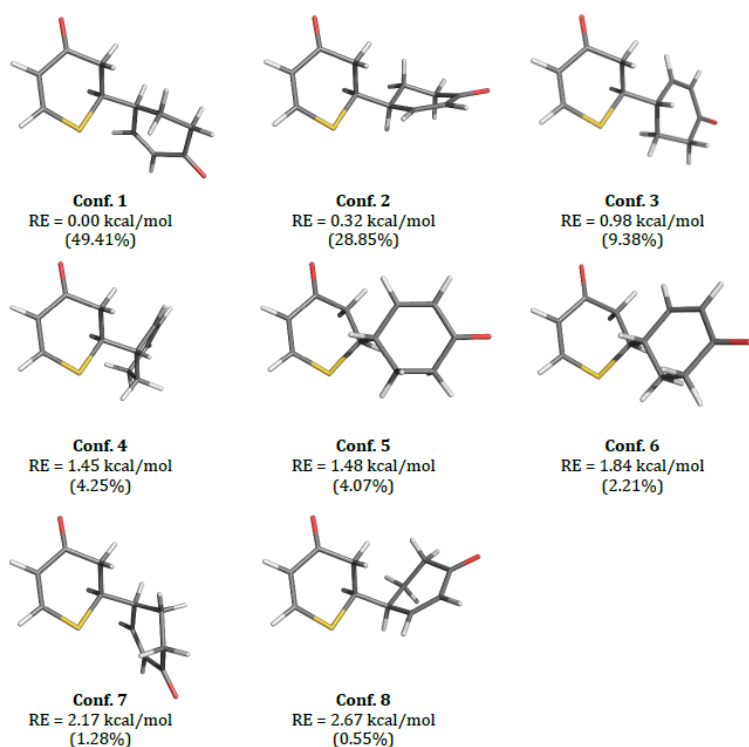
### Diels-Alder 反応のエネルギープロファイル解析

DFT 計算は, Gaussian 09\_E<sup>47</sup>) ソフトウェアパッケージを使用して実行した. 遷移状態構造の初期構造は Reaction Plus Pro プログラム<sup>48</sup>) を用い, nudged elastic band (NEB) 法<sup>62,63</sup>) に基づいて検討した. 出発物質, 遷移状態, および生成物の配座の最適化は, B3LYP<sup>49</sup>) 交換相関汎関数と 6-31G(d,p) 基底関数を使用して実行した. 振動周波数計算を実行して, 極小値に虚数周波数がなく, 各 TS に単一の虚数周波数しかないことを確認した. 遷移構造としての停留点の性質は, 構造最適化と同じ理論レベルでの振動解析と固有反応座標 (intrinsic reaction coordinate, IRC) 法によって確認した. すべての計算では, 溶媒として  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  を使用した分極連続体 (polarizable continuum, PCM) モデルを使用した. 予測される自由エネルギー値は, 電子エネルギーと 298.15 K でのギブズエネルギーの熱補正の合計として計算した.

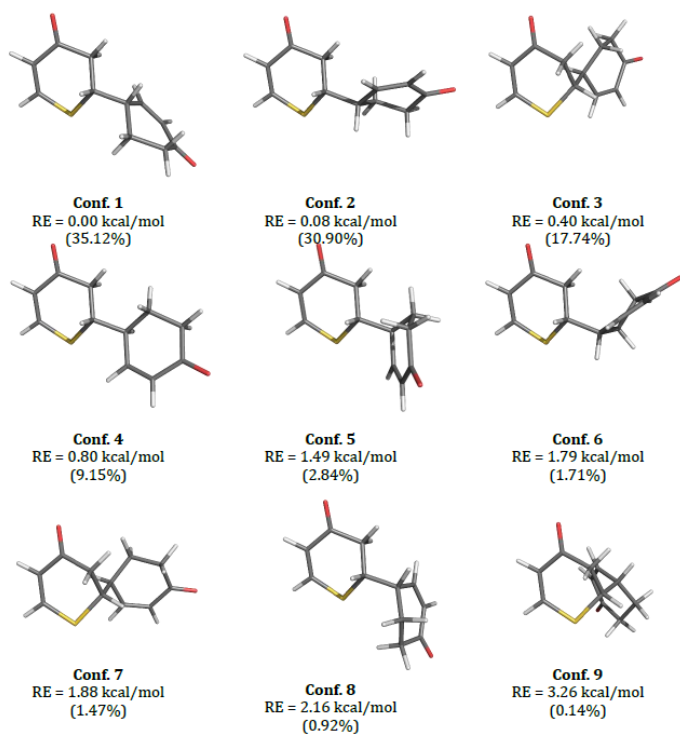
**The DFT-optimized structures of conformers of 9 with their equilibrium population.**



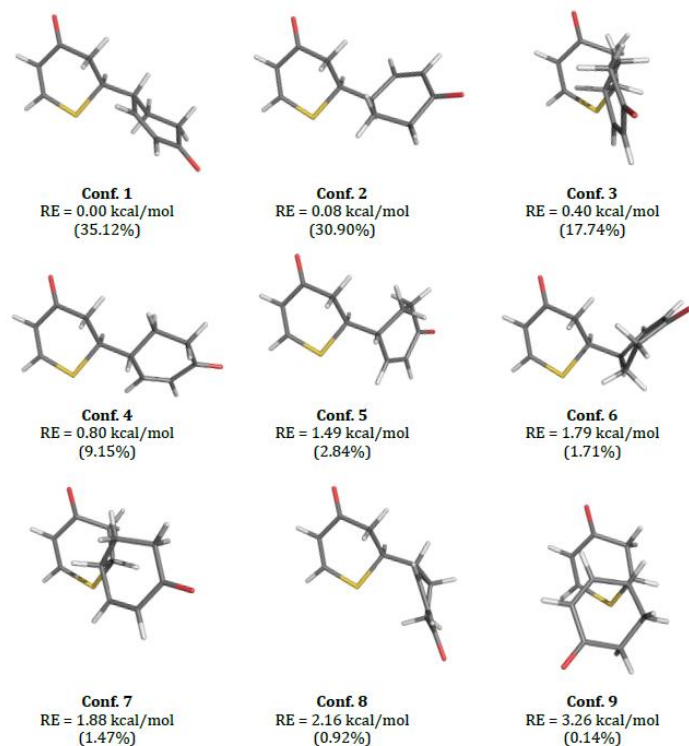
**Figure 9.** Optimized geometries, relative energies (REs), and Boltzmann distributions at 298.15 K of the 8 low-energy conformers of *syn-9a* calculated at the CAM-B3LYP/6-31G(d) level in MeCN.



**Figure 10.** Optimized geometries, relative energies (REs), and Boltzmann distributions at 298.15 K of the 8 low-energy conformers of *syn-9b* calculated at the CAM-B3LYP/6-31G(d) level in MeCN.

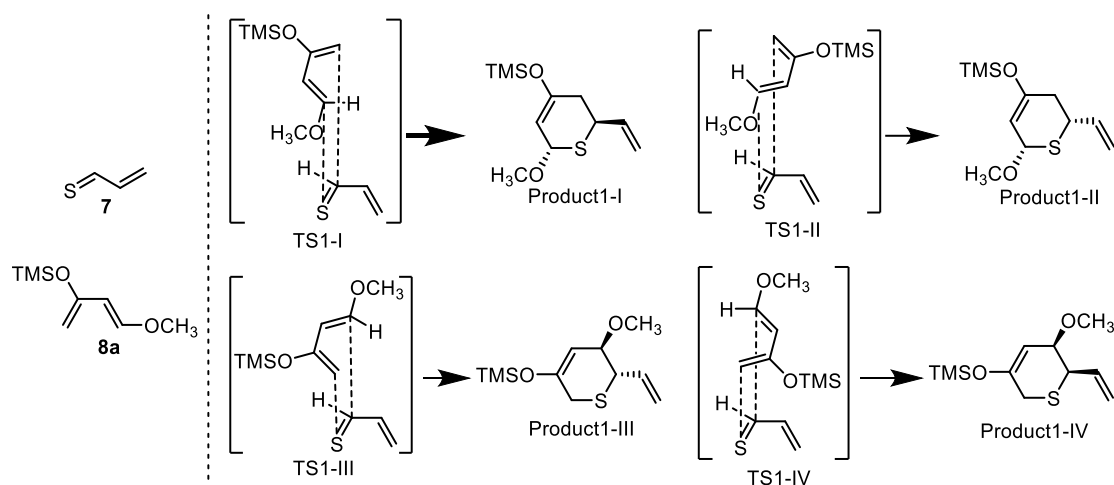


**Figure 11.** Optimized geometries, relative energies (REs), and Boltzmann distributions at 298.15 K of the 9 low-energy conformers of *anti-9a* calculated at the CAM-B3LYP/6-31G(d) level in MeCN.



**Figure 12.** Optimized geometries, relative energies (REs), and Boltzmann distributions at 298.15 K of the 9 low-energy conformers of *anti-9b* calculated at the CAM-B3LYP/6-31G(d) level in MeCN.

## Computational data of DFT calculations for examination of Diels-Alder reaction.



**Figure 13.** transition state structures for thio-Diels–Alder reactions of thioacrolein (7) and Danishefsky's diene (8f).

### Thioacrolein (7)

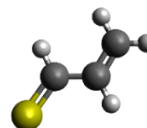
HF = -514.8848786 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.059696 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -514.825183 hartrees



### Danishefsky's diene (8f)

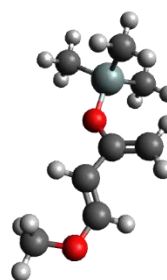
HF = -754.4783627 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.224657 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -754.253706 hartrees



### TS1-I

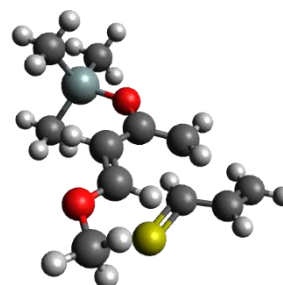
HF = -1269.351052 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-289.7197 1/cm)

Zero-point correction = 0.285591 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.065461 hartrees



### Product1-I

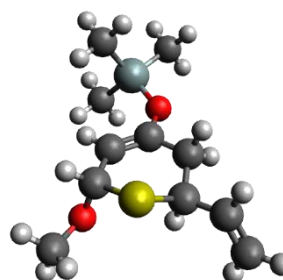
HF = -1269.4023132 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.289751 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.112562 hartrees



### TS1-II

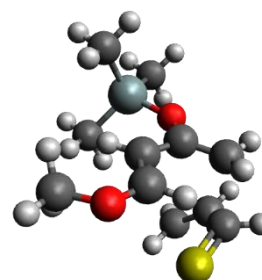
HF = -1269.3500071 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-298.2156 1/cm)

Zero-point correction = 0.286709 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.063298 hartrees



### Product1-II

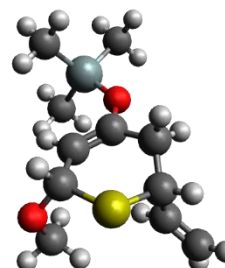
HF = - 1269. 3973179 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.290231 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.107087 hartrees



### TS1-III

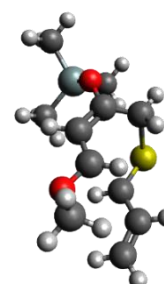
HF = -1269.3412107 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-303.7707 1/cm)

Zero-point correction = 0.285518 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.055693 hartrees



### Product1-III

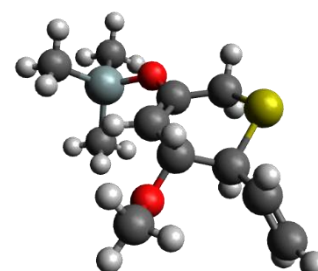
HF = - 1269.3962618 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.289612 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.106650 hartrees





### TS1-IV

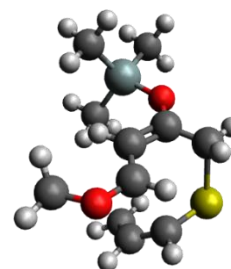
HF = -1269.339 8135 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-263.0759 1/cm)

Zero-point correction = 0.286249 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.053565 hartrees



### Product1-IV

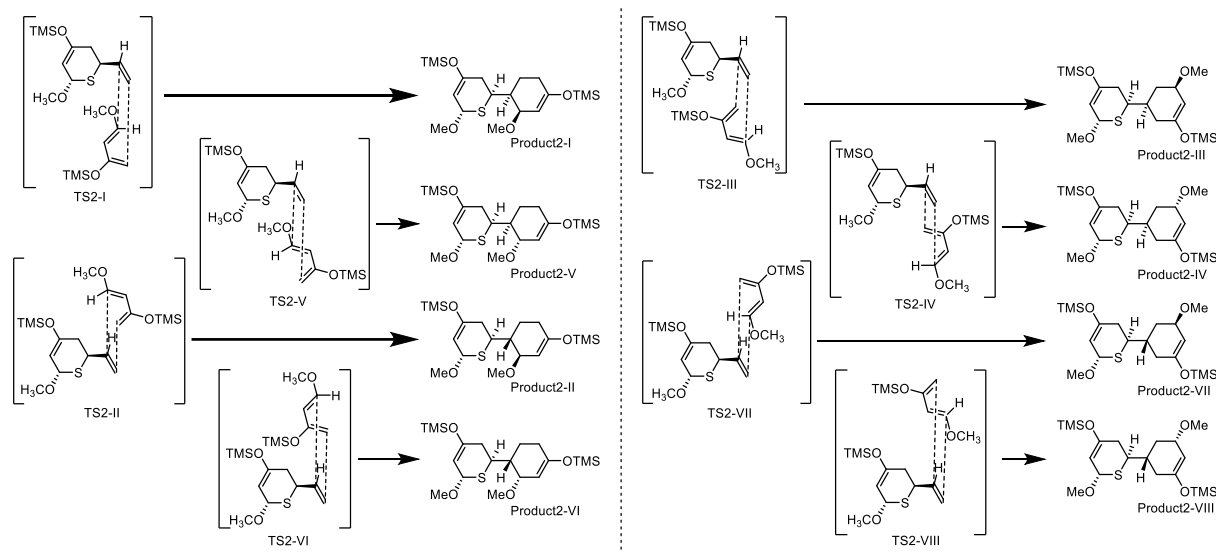
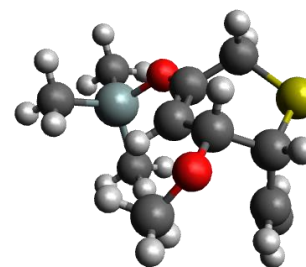
HF = -1269.3827537 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.289907 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -1269.092847 hartrees



**Figure 14.** produced structures for Diels–Alder reactions of product1-I and Danishefsky’s diene (**8f**).

### TS2-I

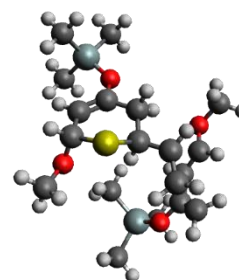
HF = -2023.8416529 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-492.4656 1/cm)

Zero-point correction = 0.516172 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.325481 hartrees



### Product2-I

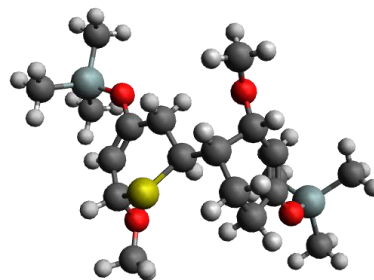
HF = -2023.9301441 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.522076 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.408068 hartrees



### TS2-II

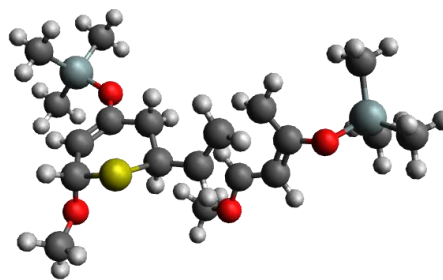
HF = -2023.8380702 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-490.0376 1/cm)

Zero-point correction = 0.515326 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.322744 hartrees



### Product2-II

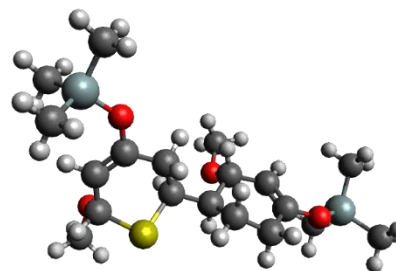
HF = -2023.9332031 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.522240 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.410963 hartrees



### TS2-III

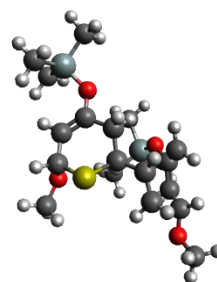
HF = -2023.8393261 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-535.1374 1/cm)

Zero-point correction = 0.516040 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.323286 hartrees



### Product2-III

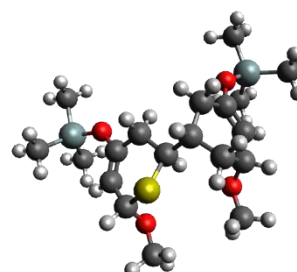
HF = -2023.9324886 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.522418 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.410070 hartrees



### TS2-IV

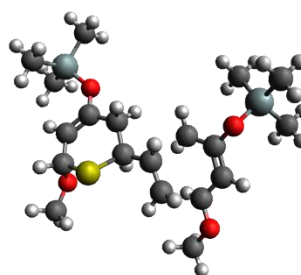
HF = -2023.8383123 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-534.5200 1/cm)

Zero-point correction = 0.515522 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.322791 hartrees



### Product2-IV

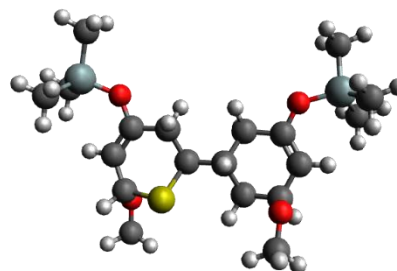
HF = -2023.9363025 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.521835 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.414468 hartrees



### TS2-V

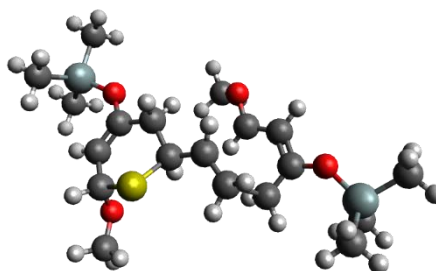
HF = -2023.8389869 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-512.4581 1/cm)

Zero-point correction = 0.515597 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.323390 hartrees



### Product2-V

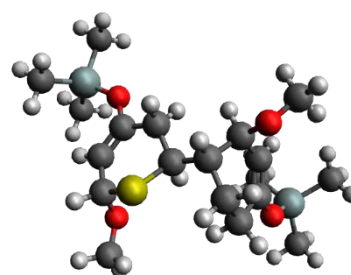
HF = -2023.934742 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.521989 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.412753 hartrees



### TS2-VI

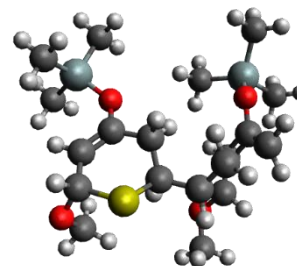
HF = -2023.8379701 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-515.4318 1/cm)

Zero-point correction = 0.516519 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.321451 hartrees



### Product2-VI

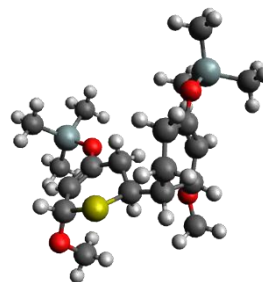
HF = -2023.9262385 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.522527 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.403711 hartrees



### TS2-VII

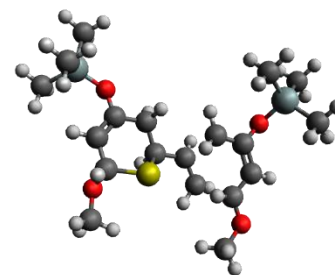
HF = -2023.8355427 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-549.5131 1/cm)

Zero-point correction = 0.515473 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.320070 hartrees



### Product2-VII

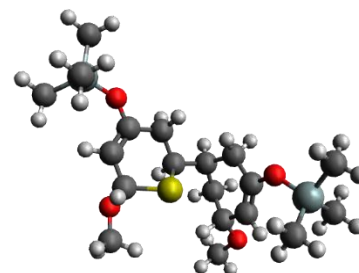
HF = -2023.9303045 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.521868 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.408437 hartrees



### TS2-VIII

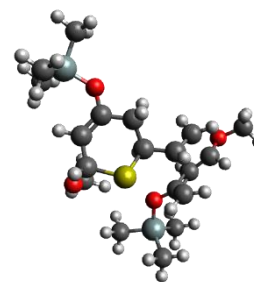
HF = -2023.8354093 hartrees

Imaginary Frequencies: 1 (-529.8103 1/cm)

Zero-point correction = 0.515966 (Hartree/Particle)

Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.319444 hartrees



### Product2-VIII

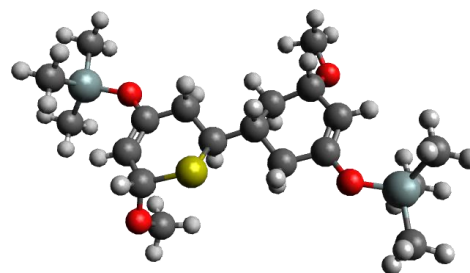
HF = -2023.9324726 hartrees

Imaginary Frequencies: none found

Zero-point correction = 0.521895 (Hartree/Particle)

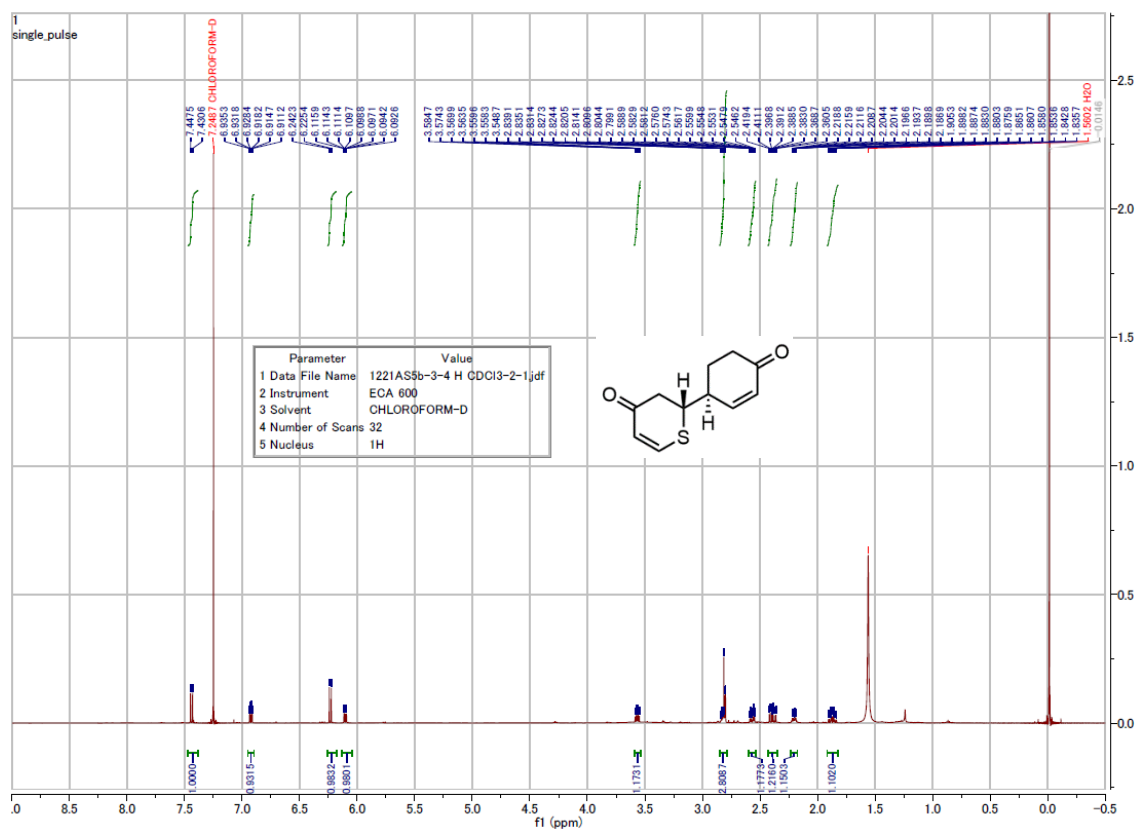
Temperature: 298.150 Kelvin. Pressure: 1.00000 Atm.

Sum of electronic and zero-point Energies = -2023.410578 hartrees

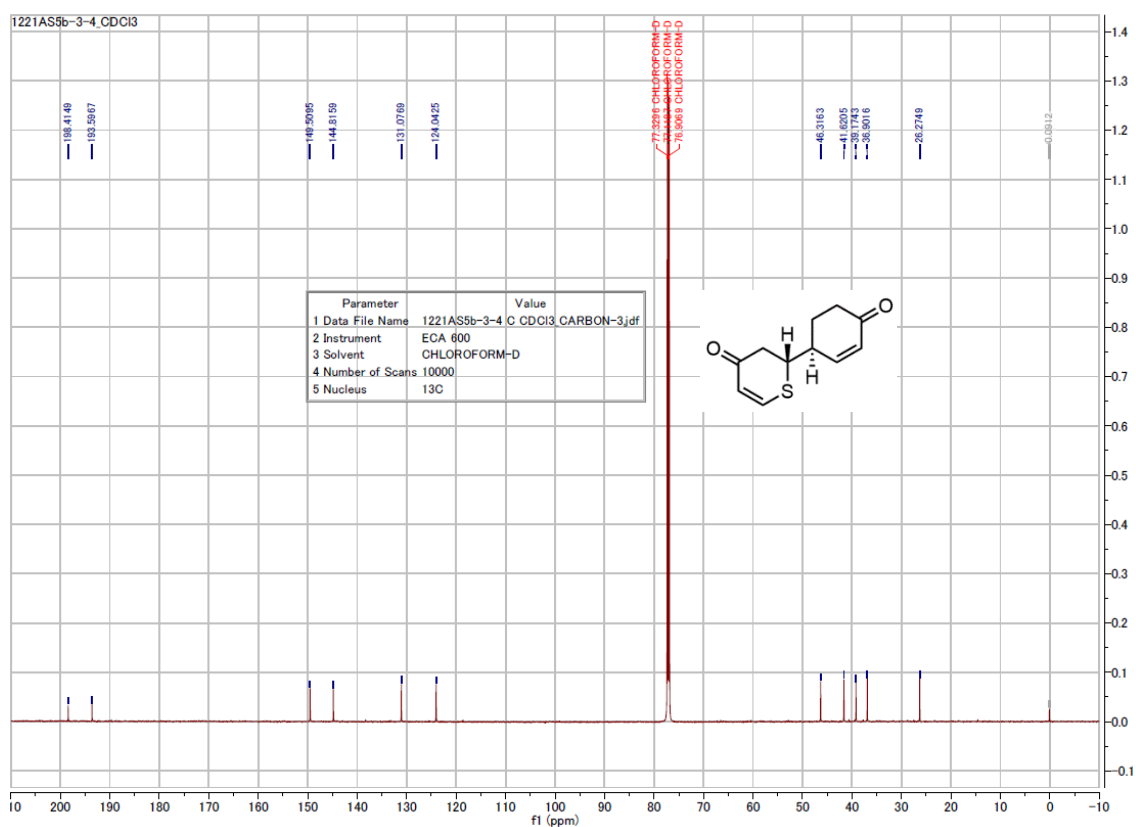


## NMR spectroscopic data of synthesized compounds

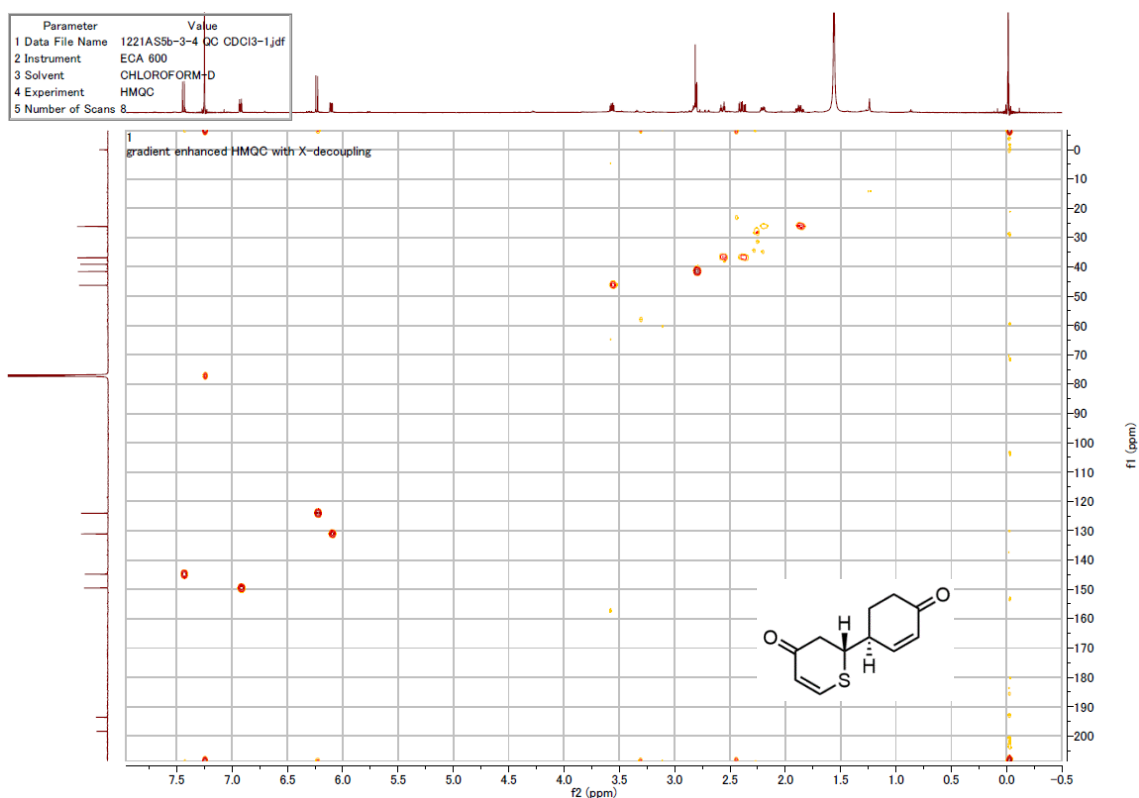
### NMR spectroscopic data of *anti*-9



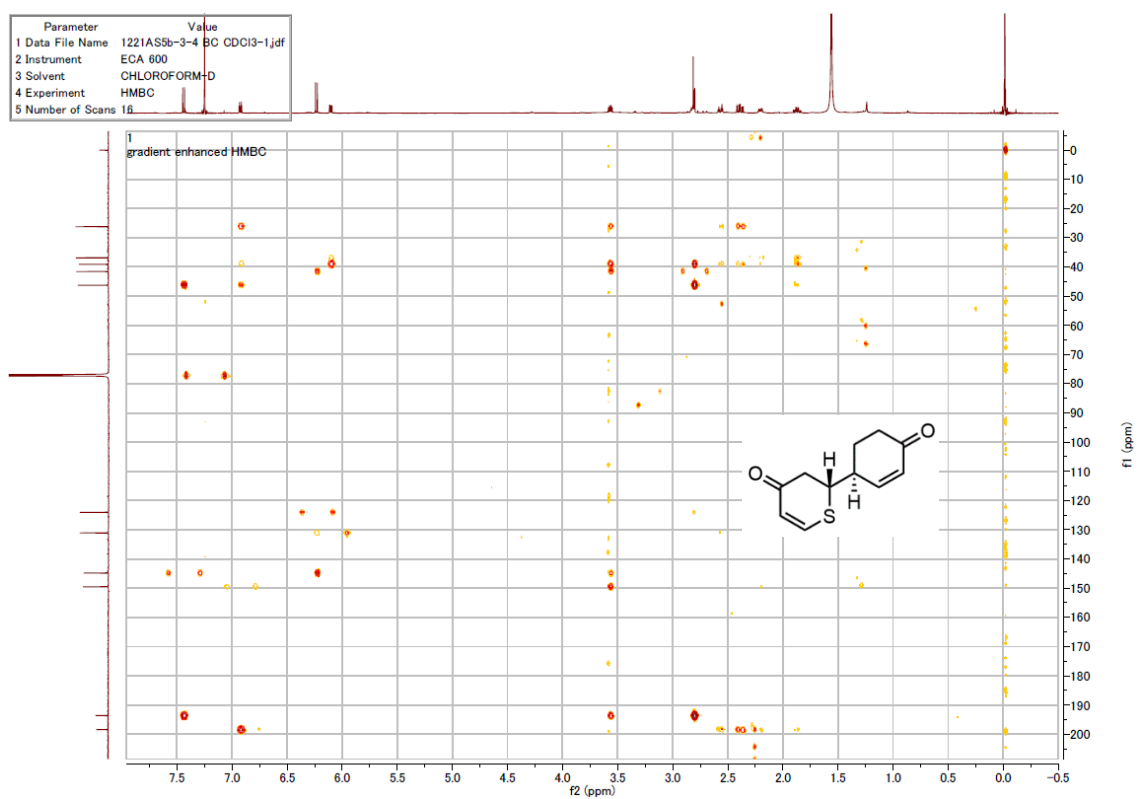
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz) spectroscopic data of *anti*-9. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



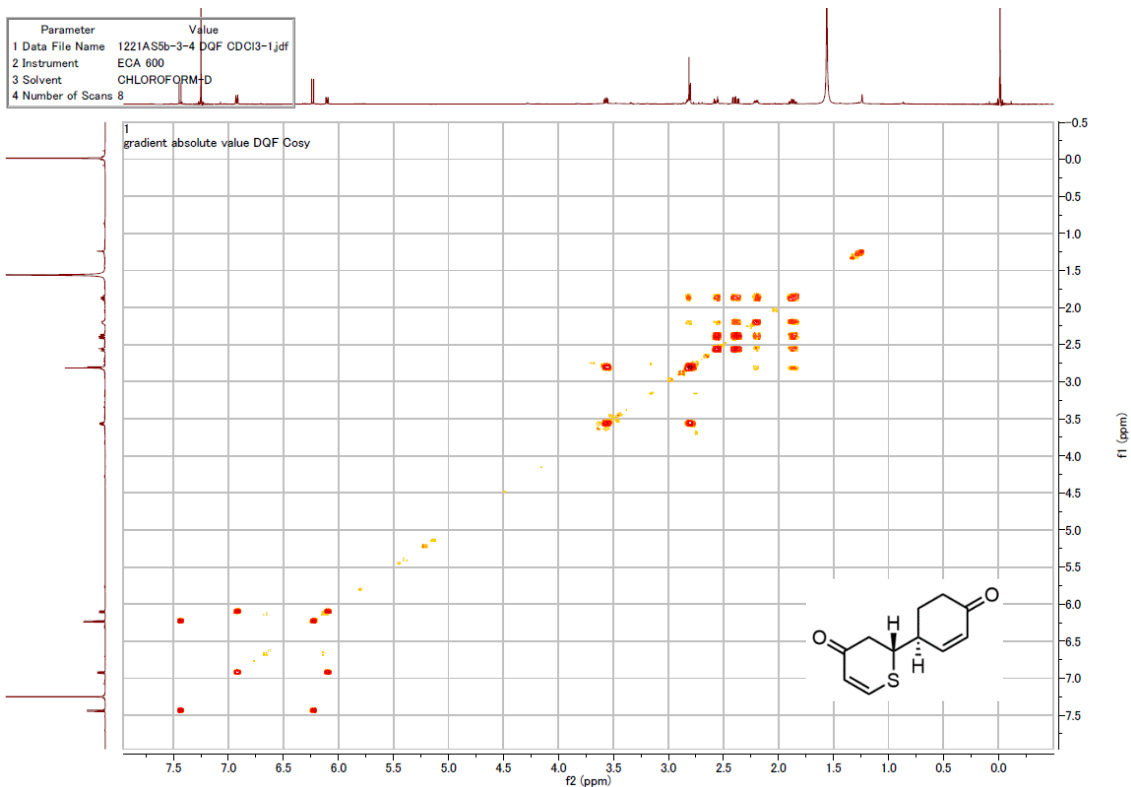
$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz) spectroscopic data of *anti*-9. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of *anti*-9. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

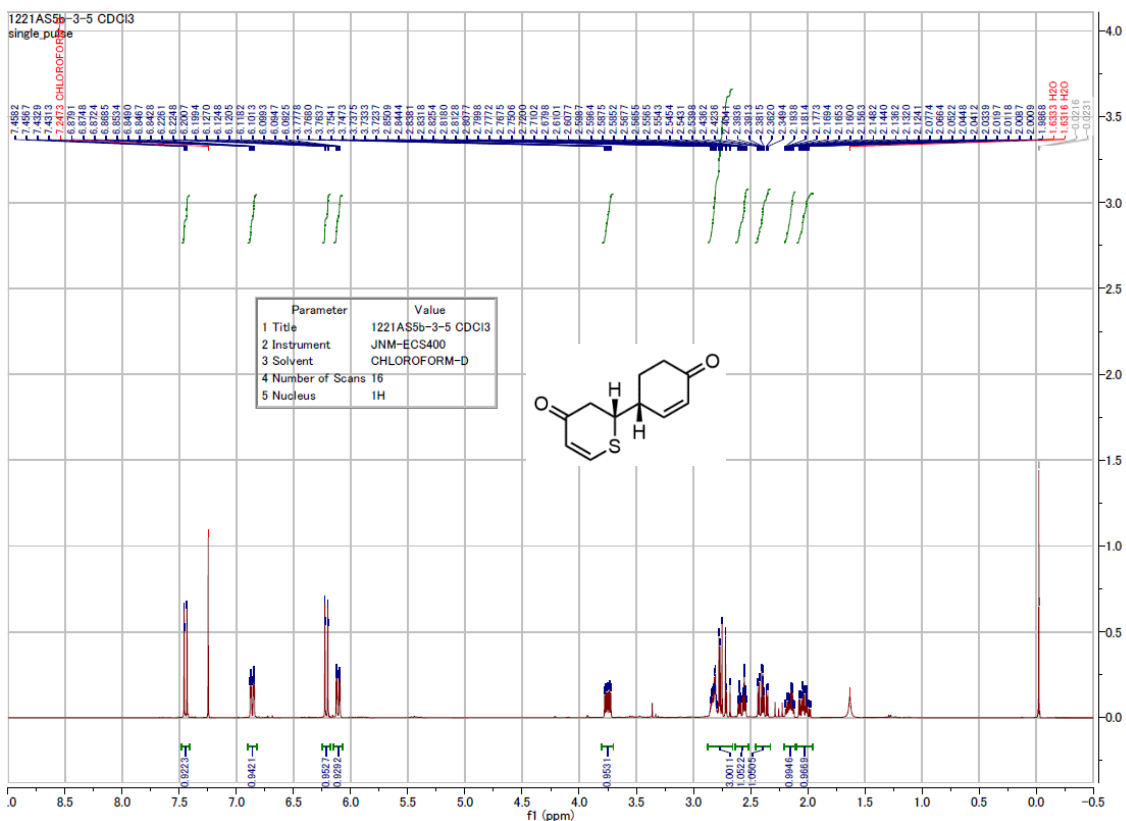


HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of *anti*-9. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

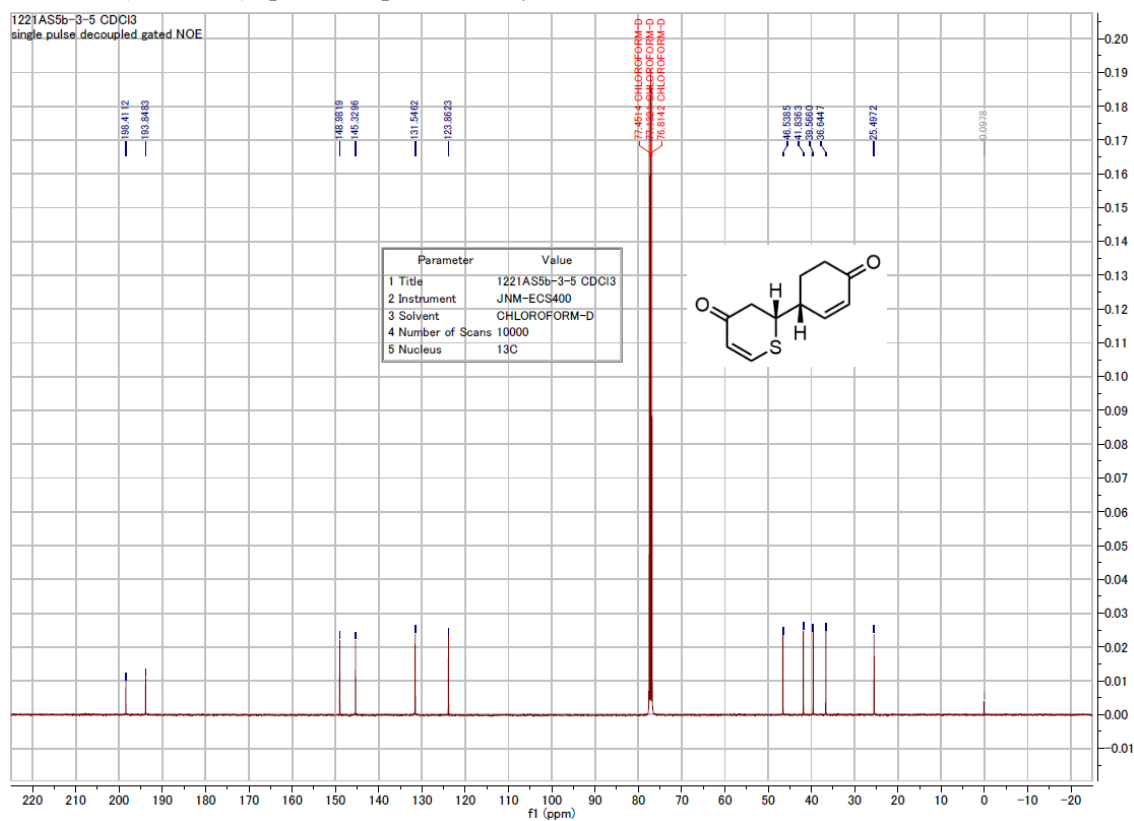


COSY NMR (600 MHz) spectroscopic data of *anti*-**9**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

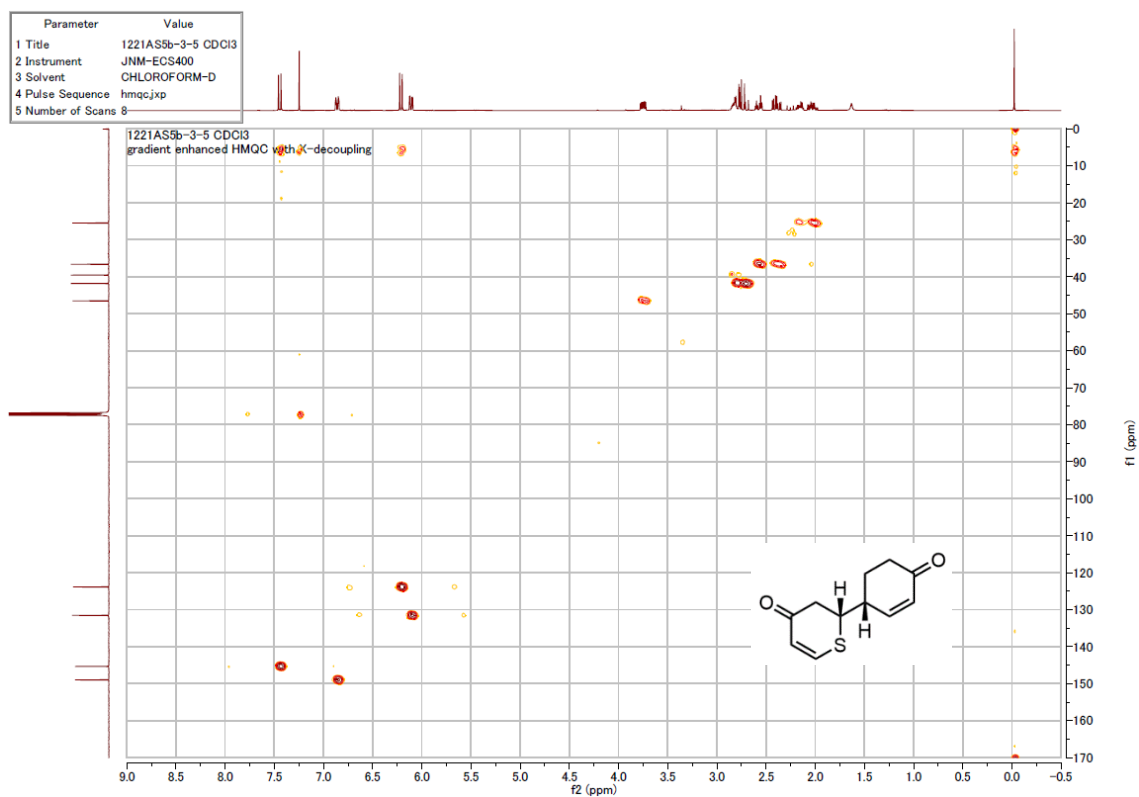
NMR spectroscopic data of *syn*-**9**



<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) spectroscopic data of *syn-9*. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

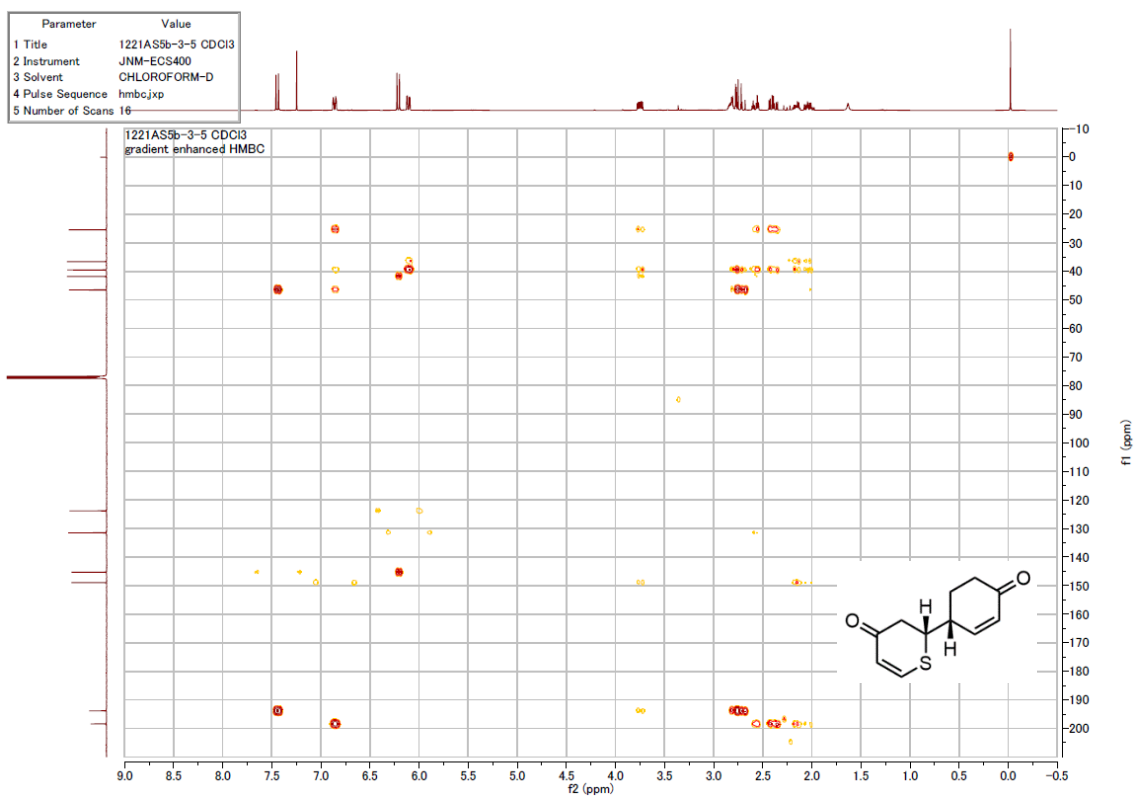


<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of *syn-9*. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

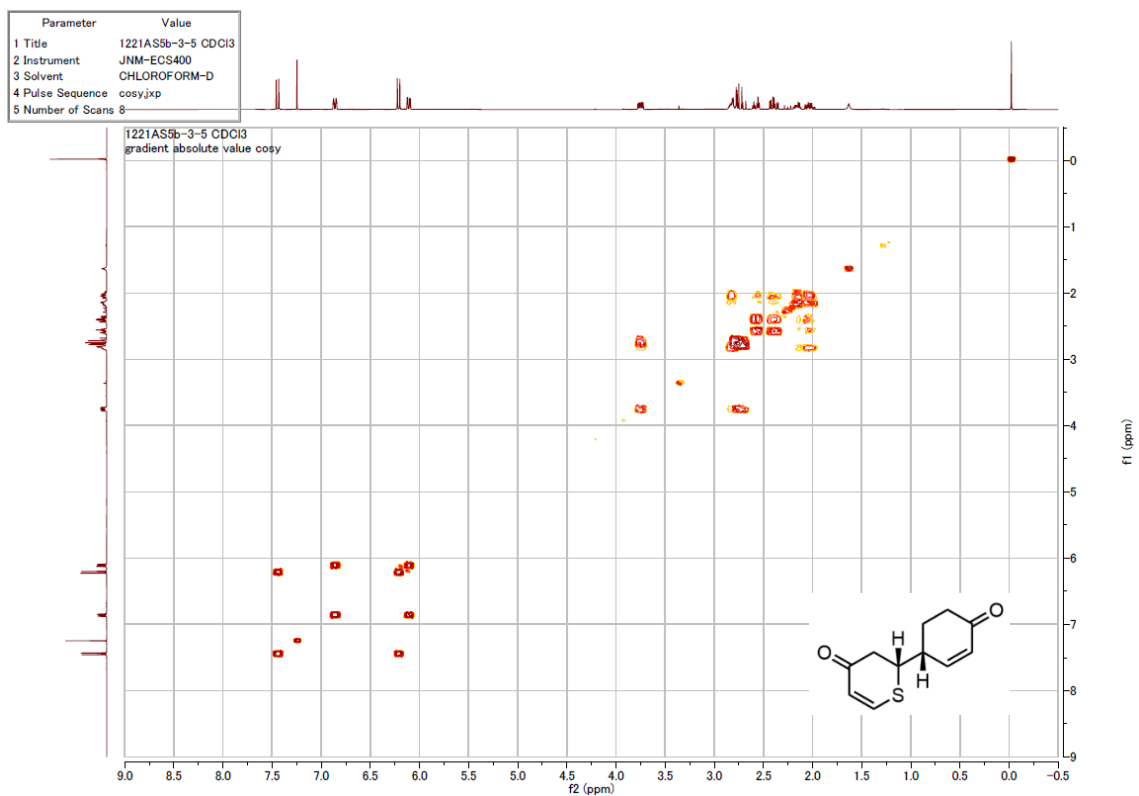


HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of *syn-9*. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



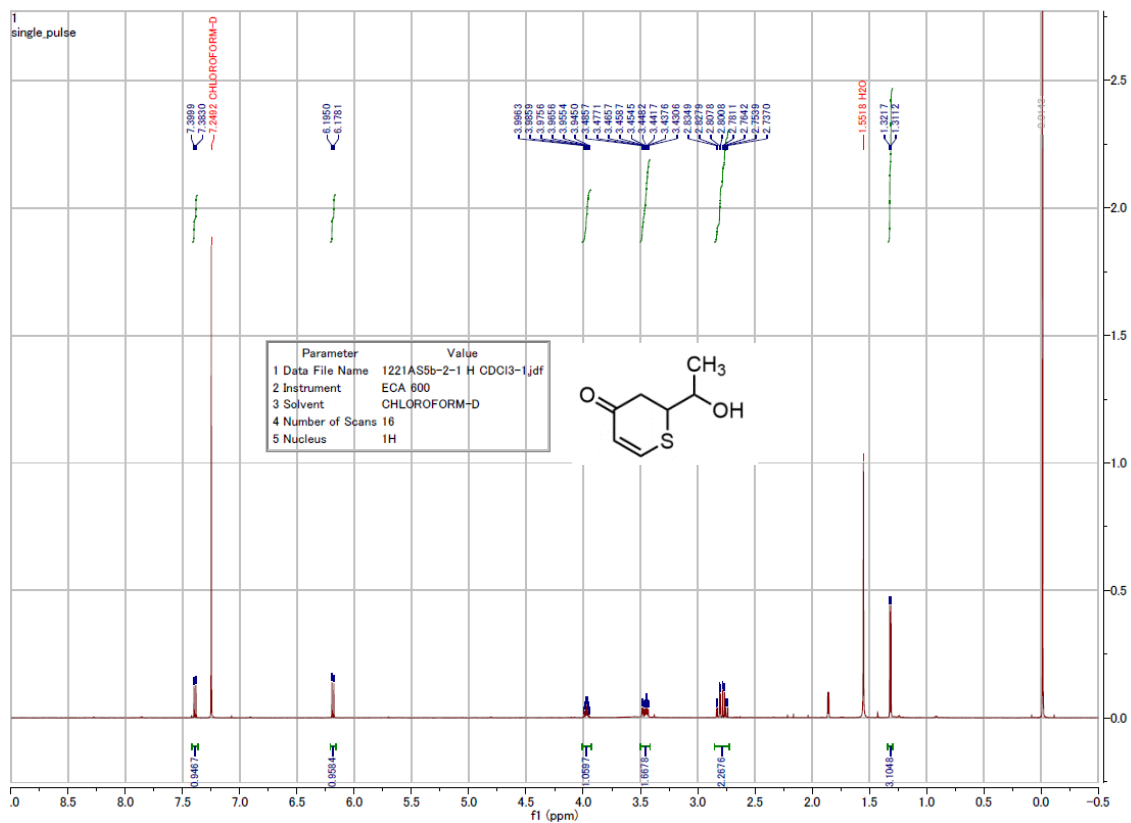


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of *syn*-**9**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

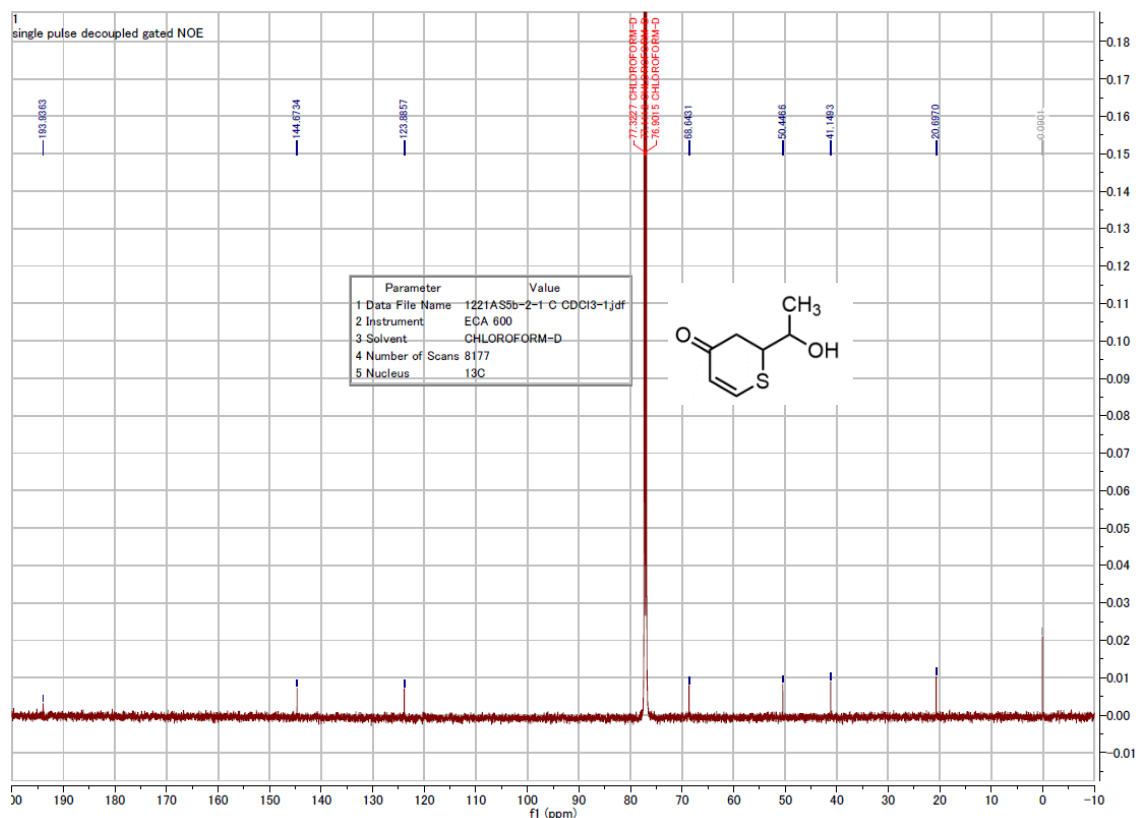


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of *syn*-**9**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

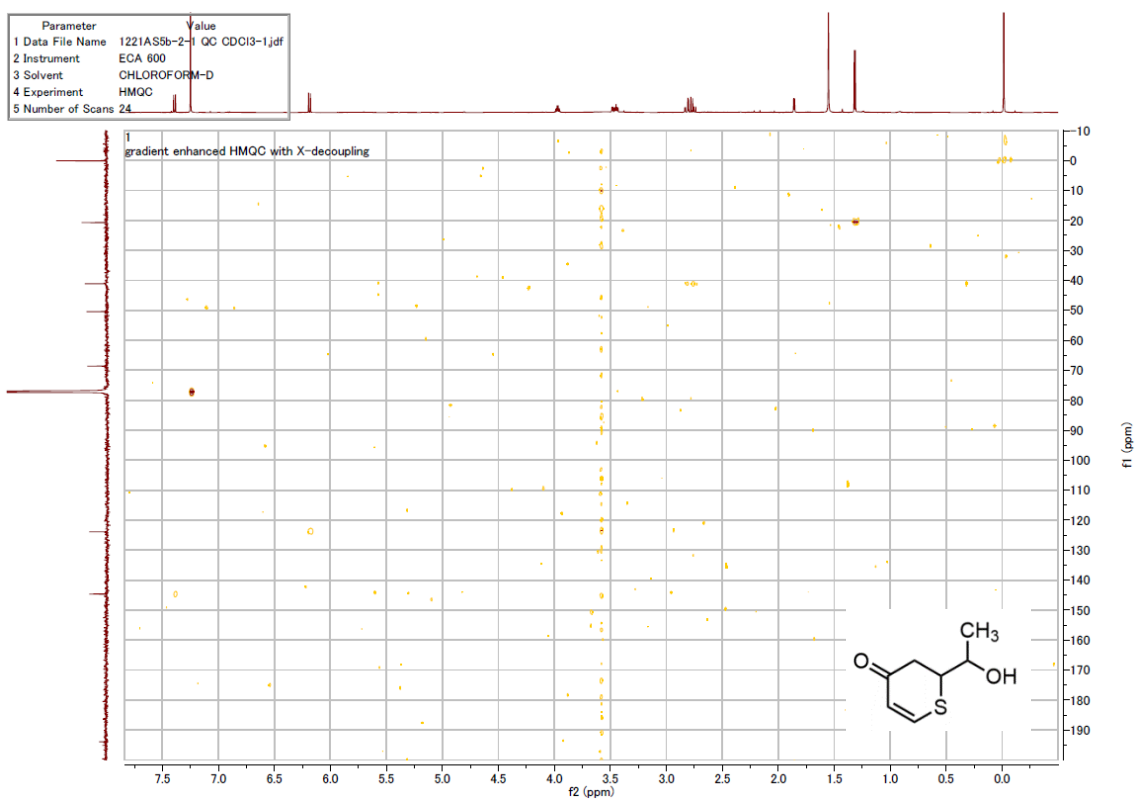
# NMR spectroscopic data of 17a



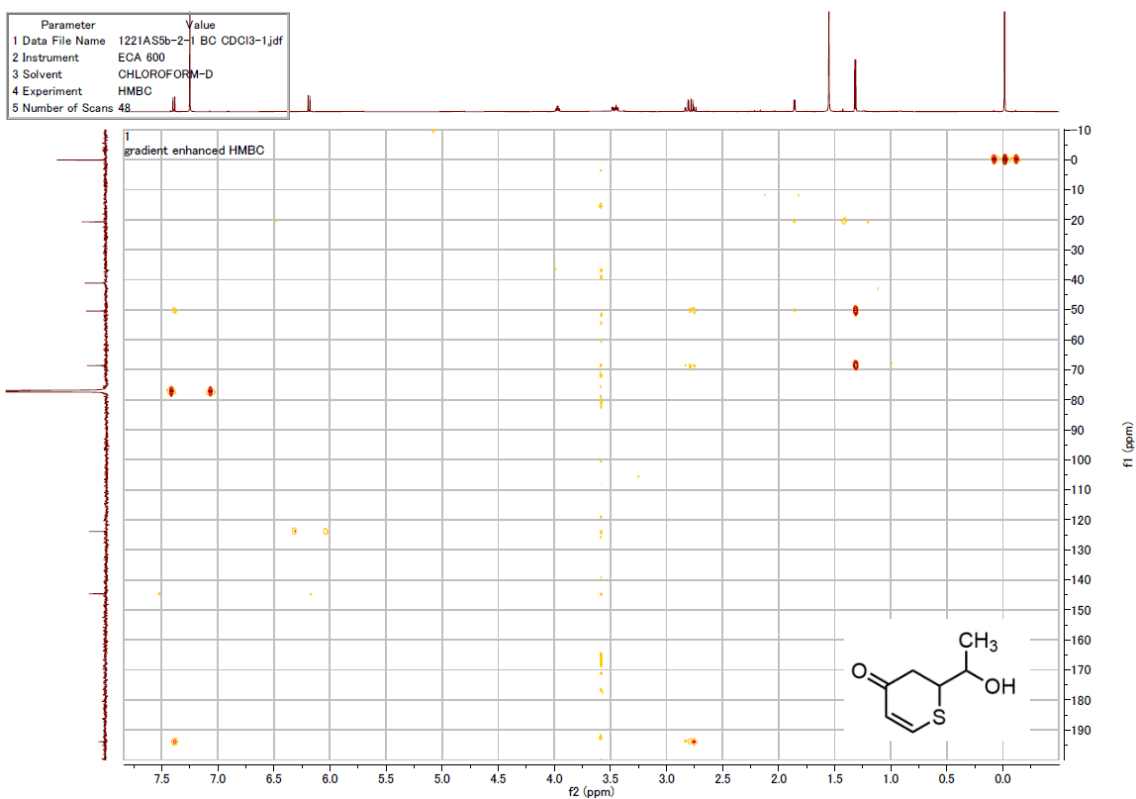
# <sup>13</sup>C-NMR (600 MHz) spectroscopic data of 17a. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



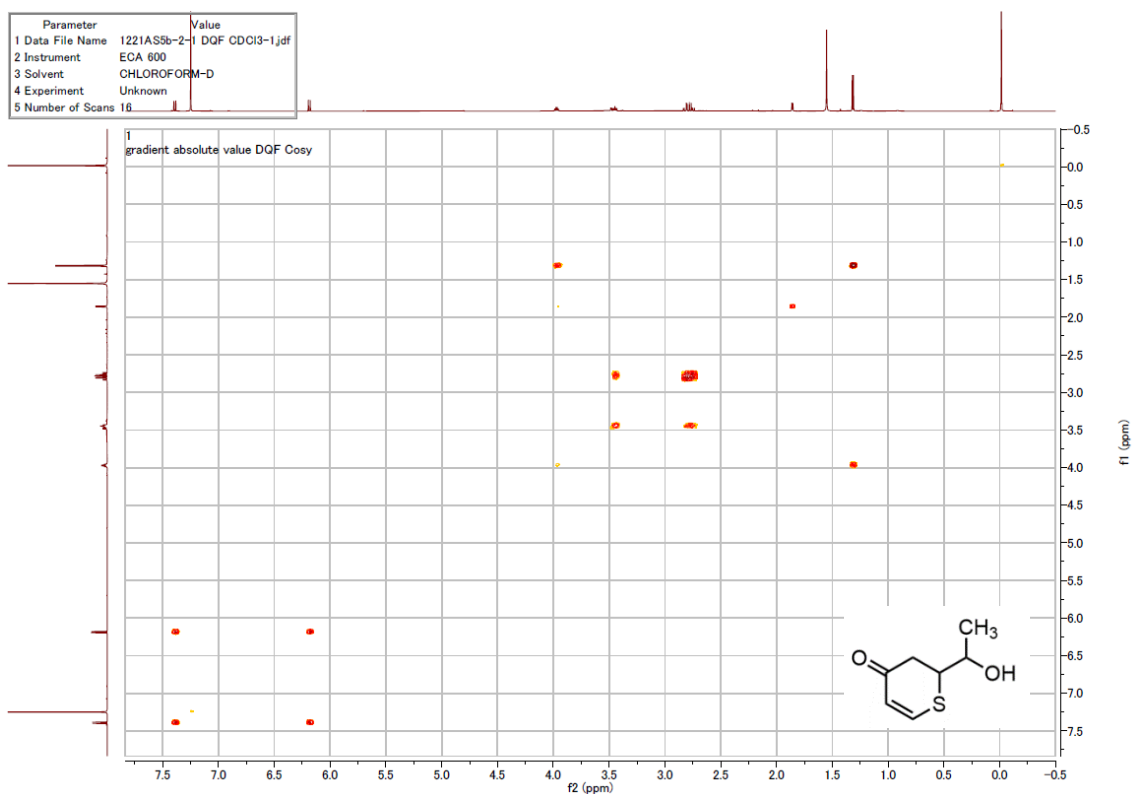
$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz) spectroscopic data of **17a**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **17a**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

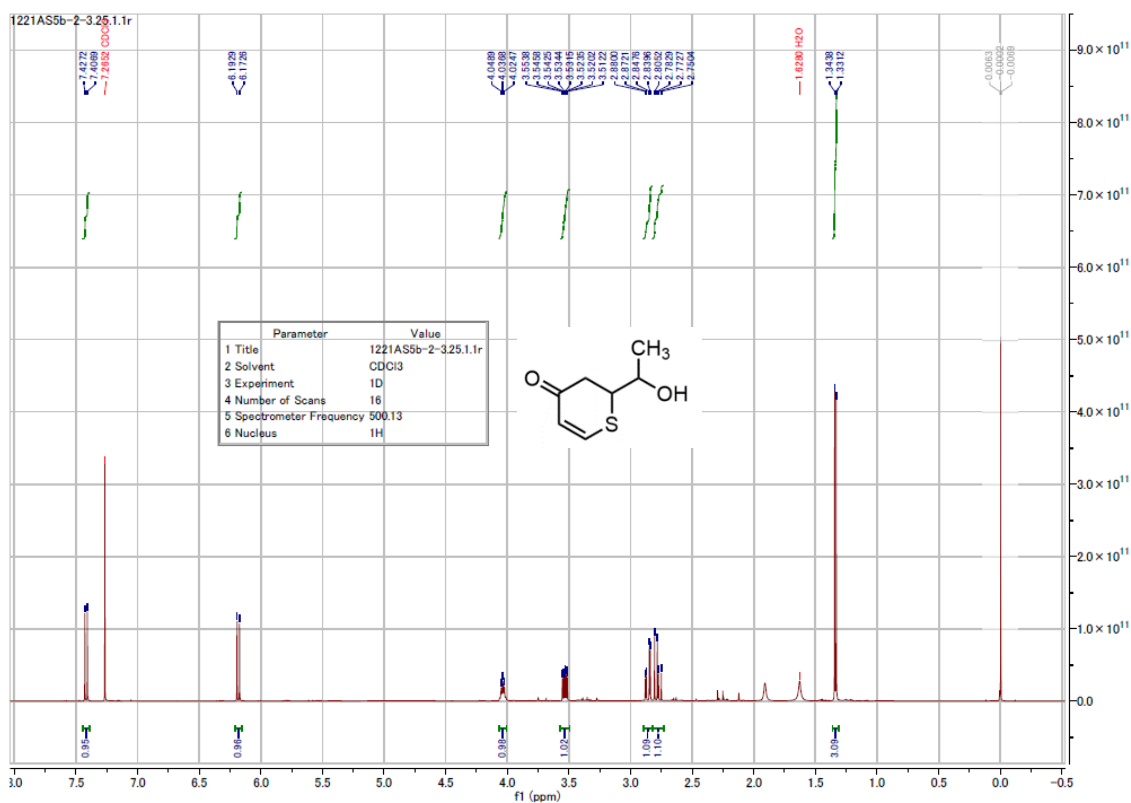


HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **17a**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

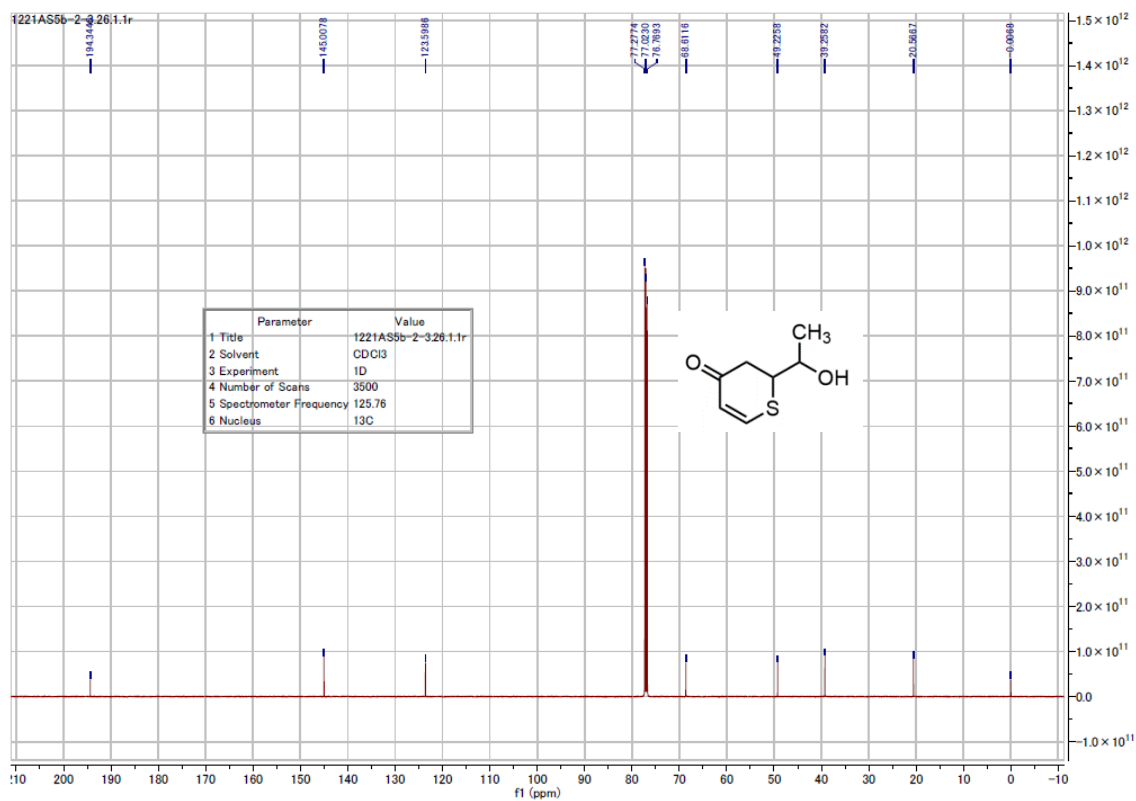


COSY NMR (600 MHz) spectroscopic data of **17a**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

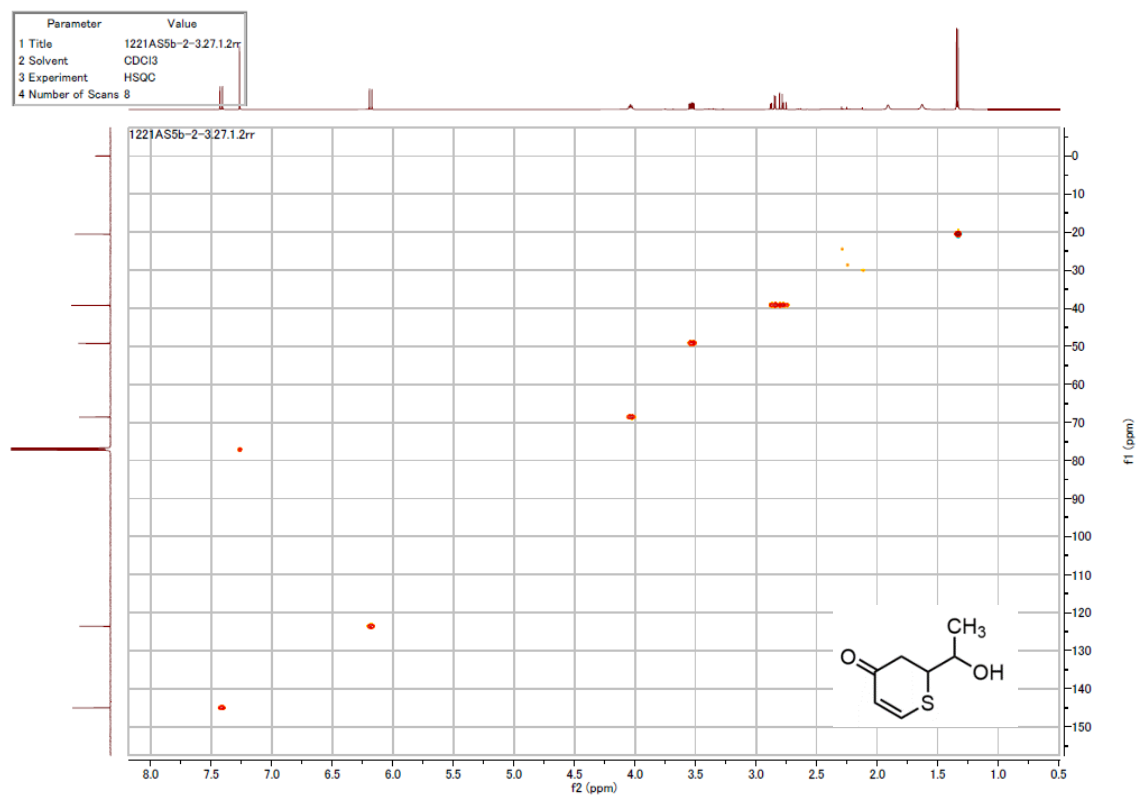
NMR spectroscopic data of **17b**



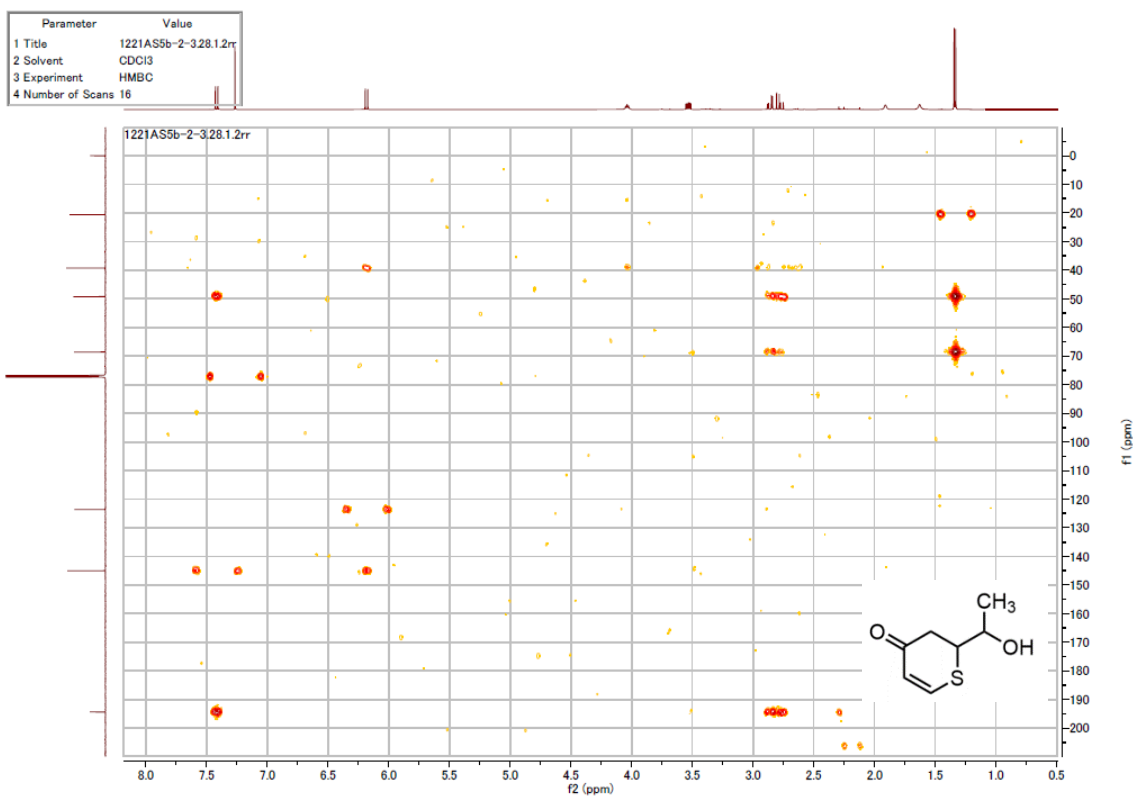
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) spectroscopic data of **17b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



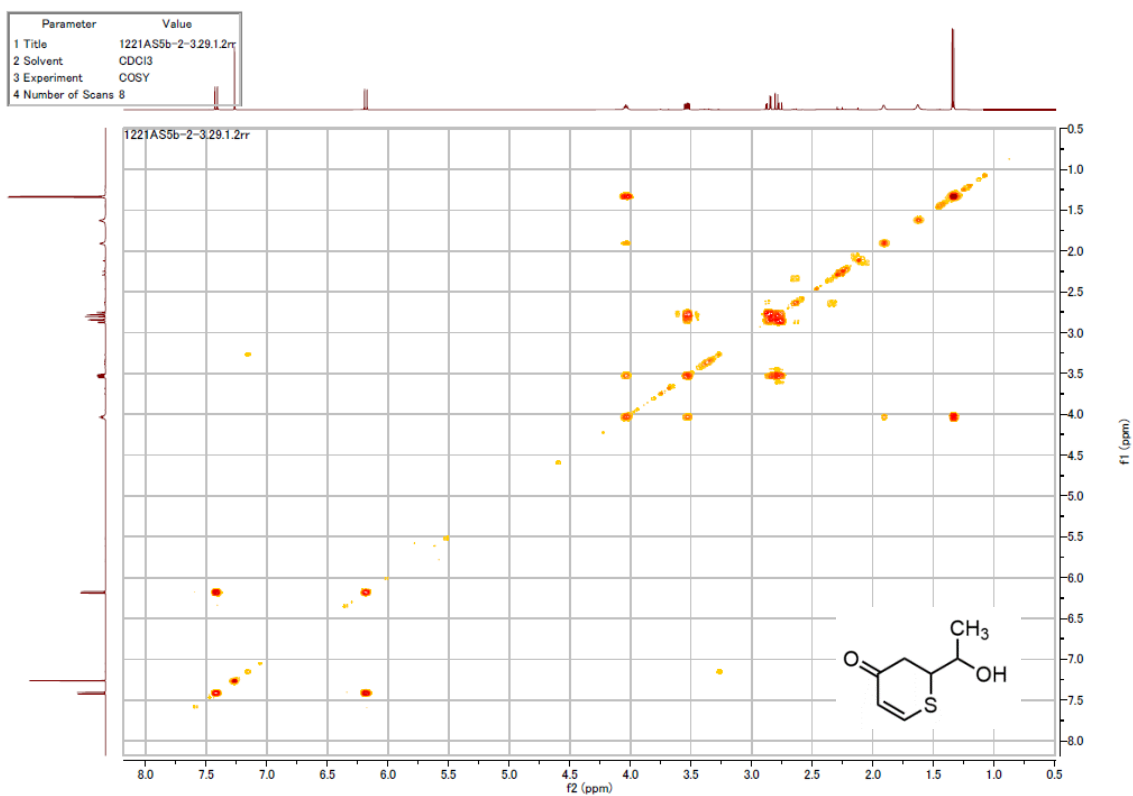
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) spectroscopic data of **17b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **17b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

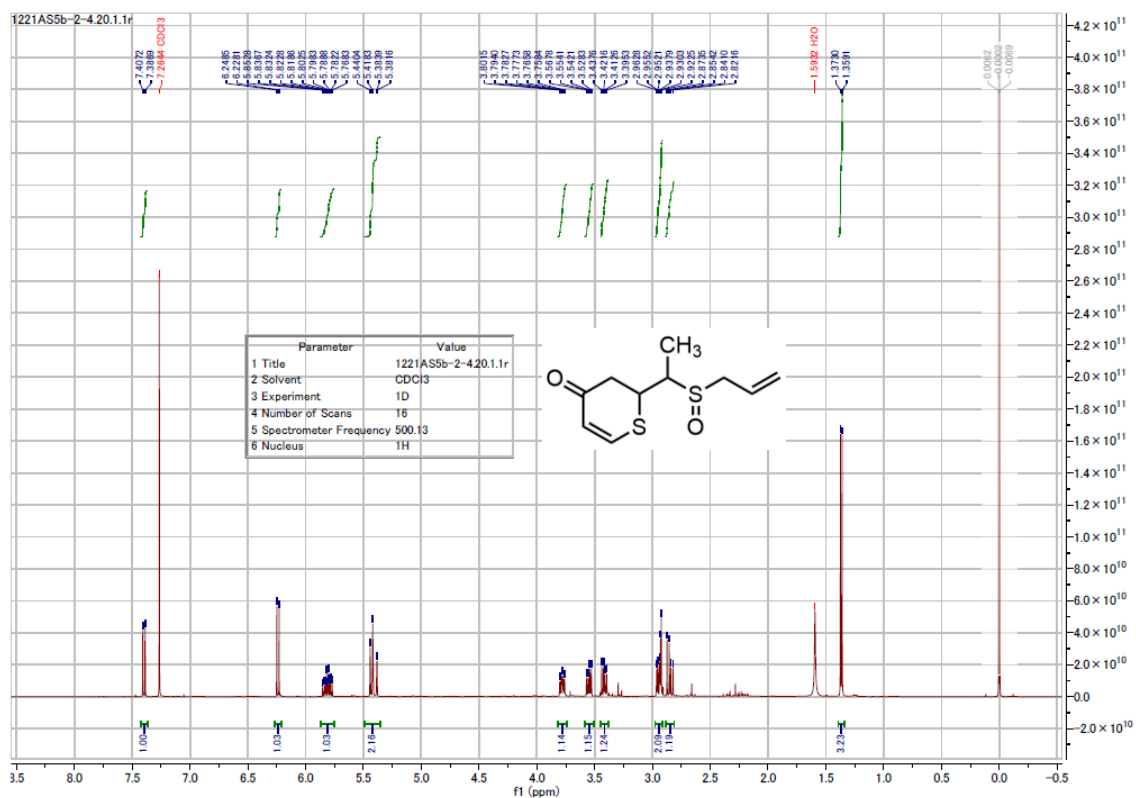


HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **17b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

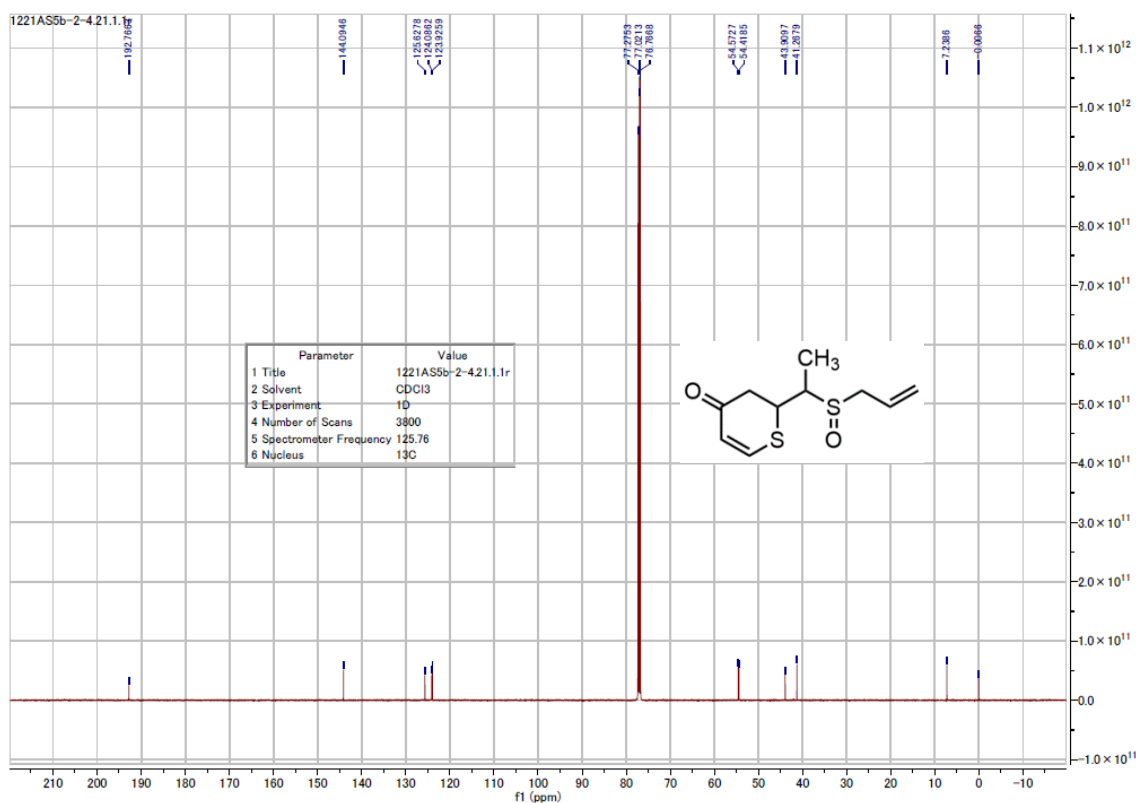


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **17b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

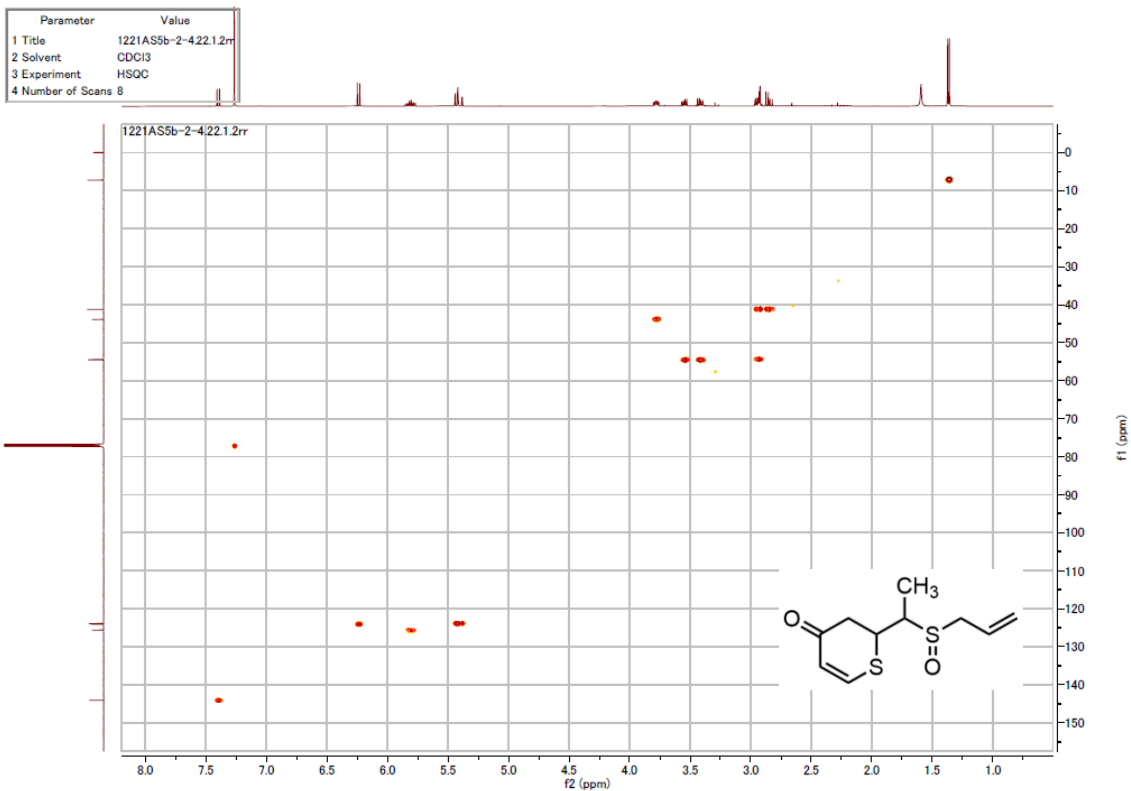
NMR spectroscopic data of **18a**



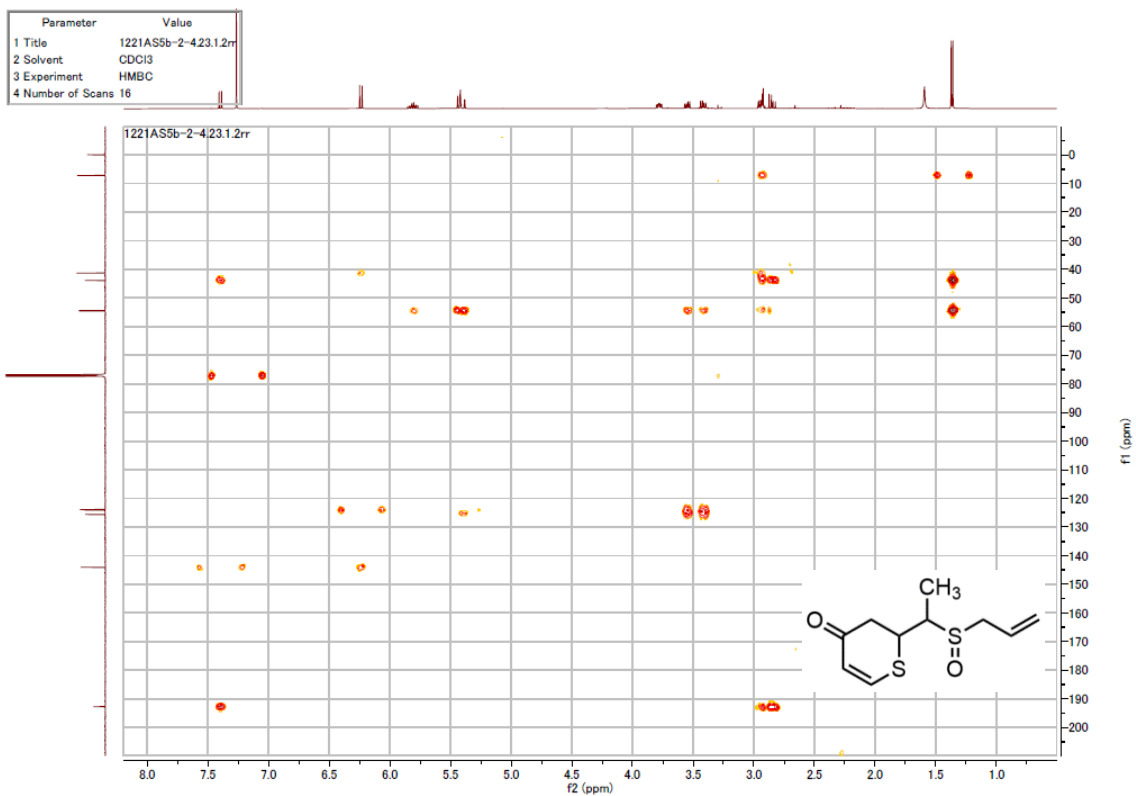
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18a**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) spectroscopic data of **18a**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

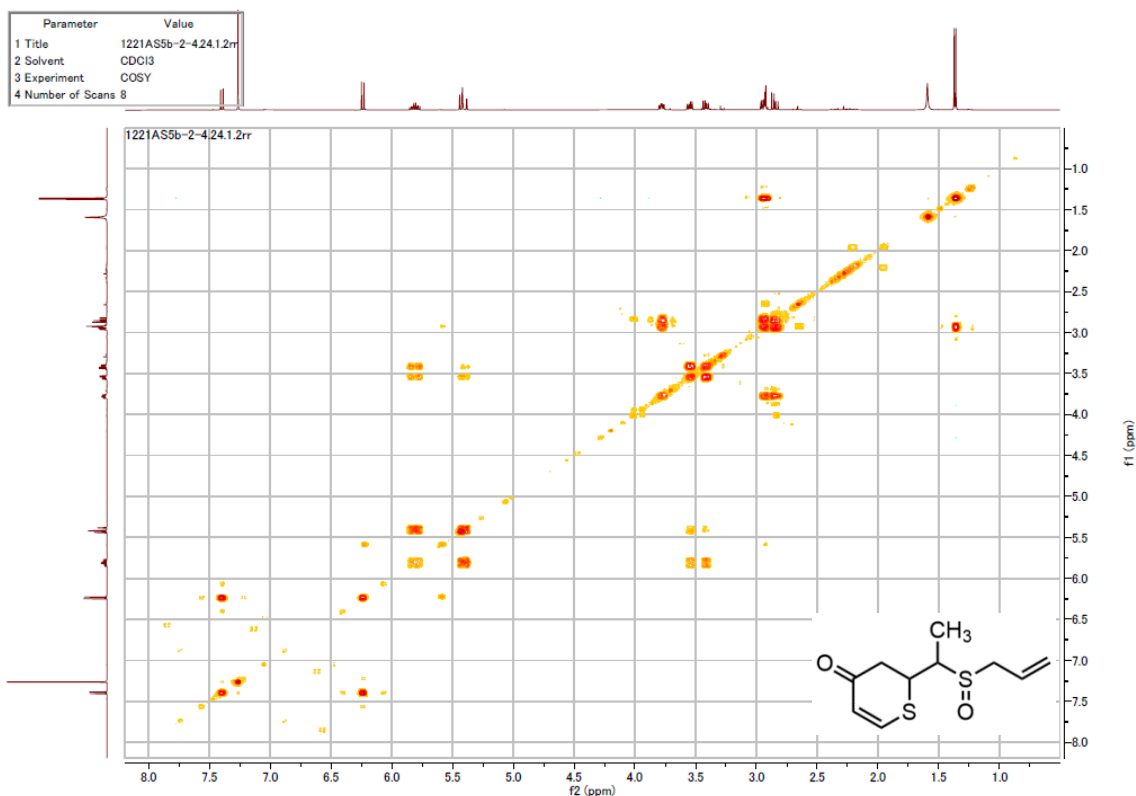


HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18a**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



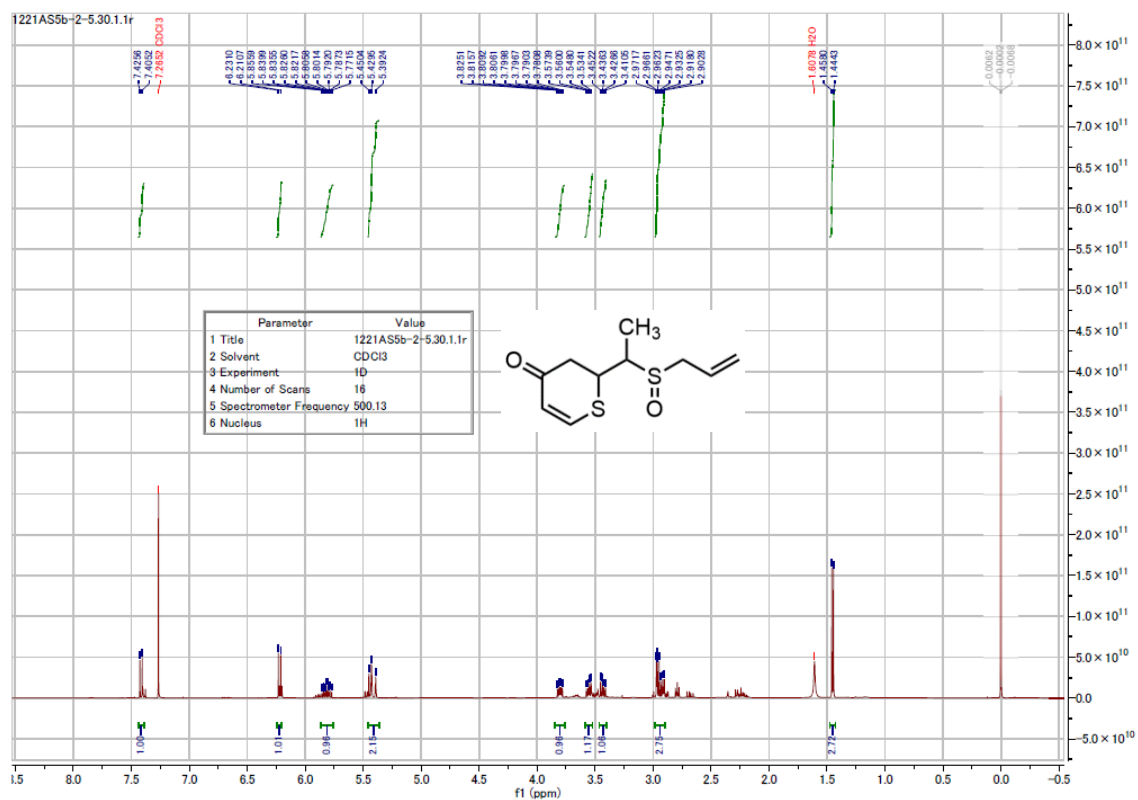
HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18a**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



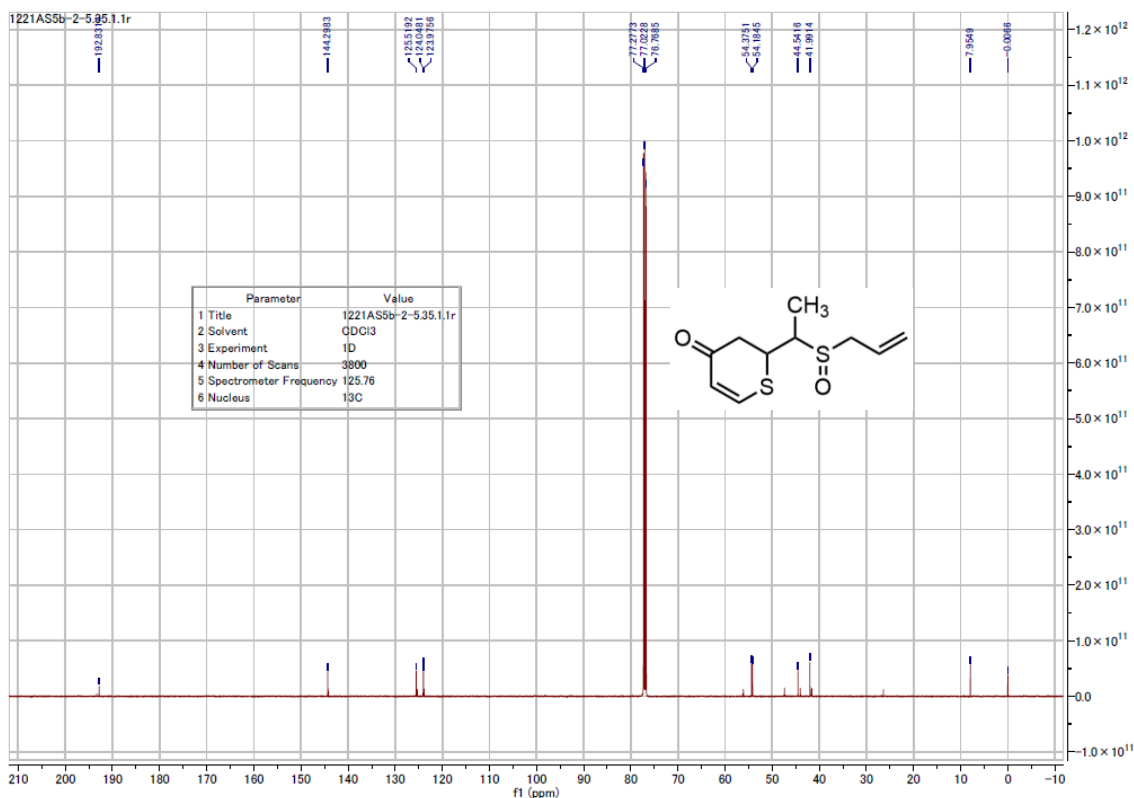


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18a**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

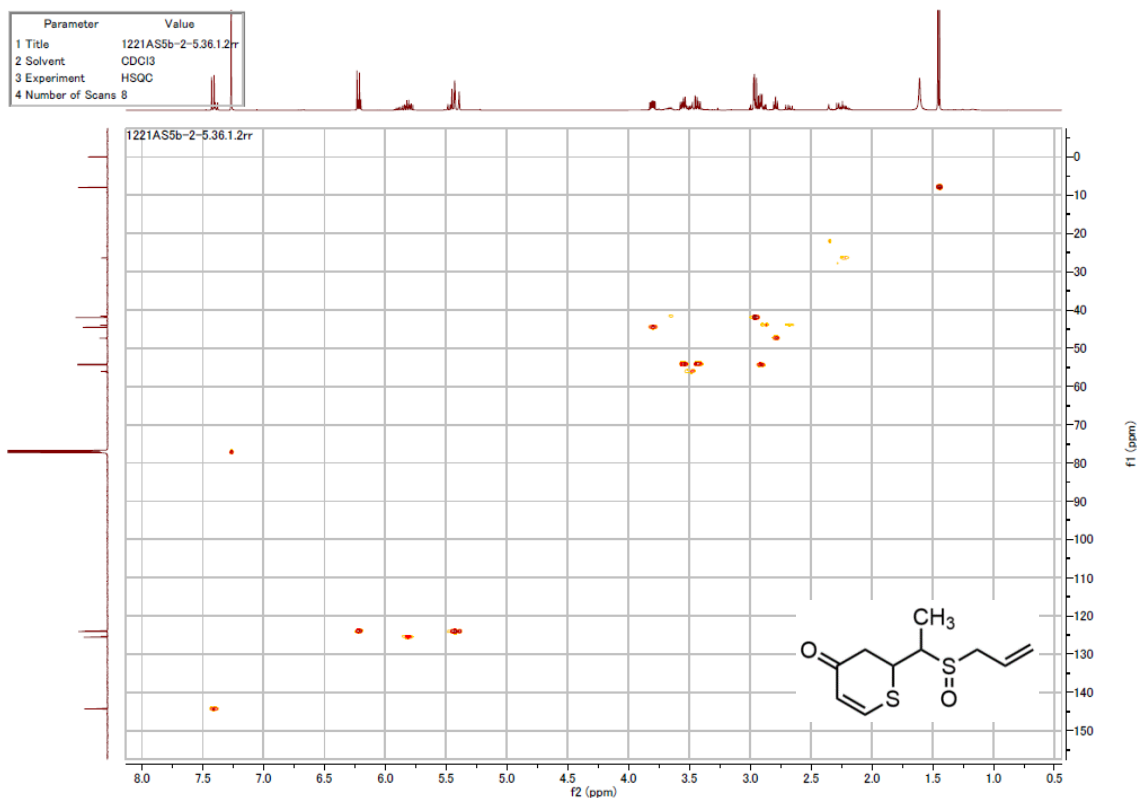
NMR spectroscopic data of **18b**



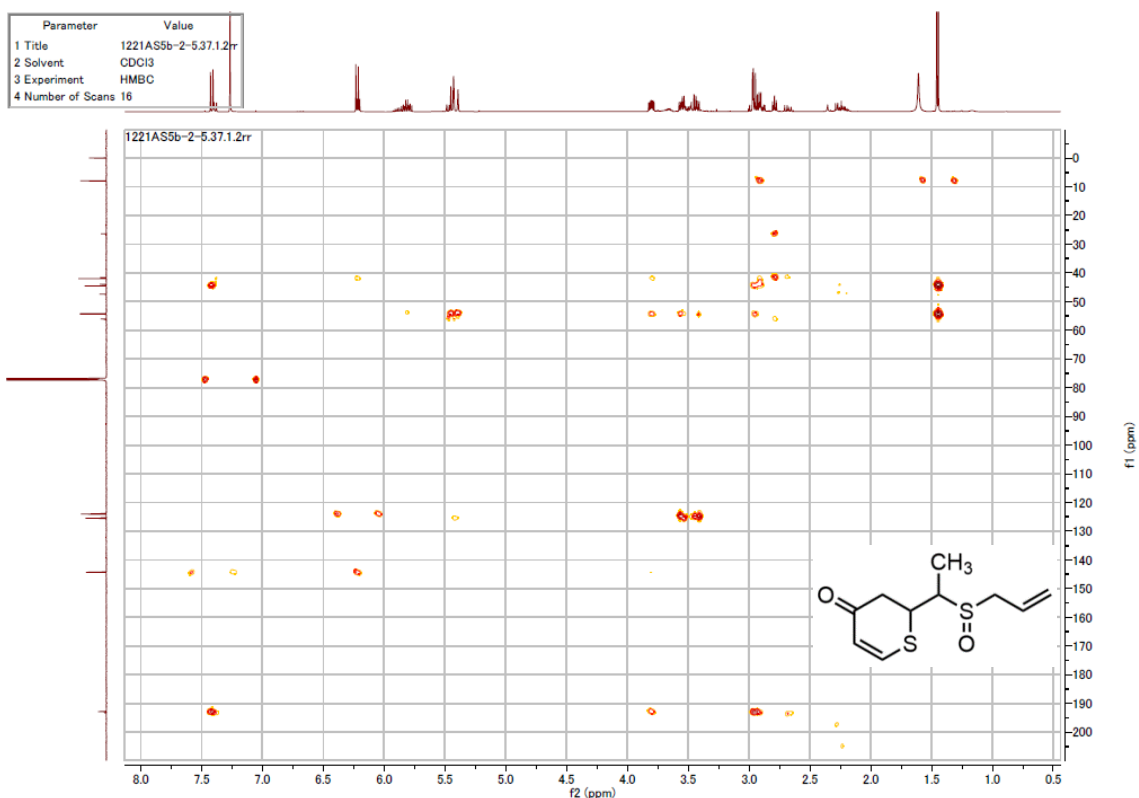
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



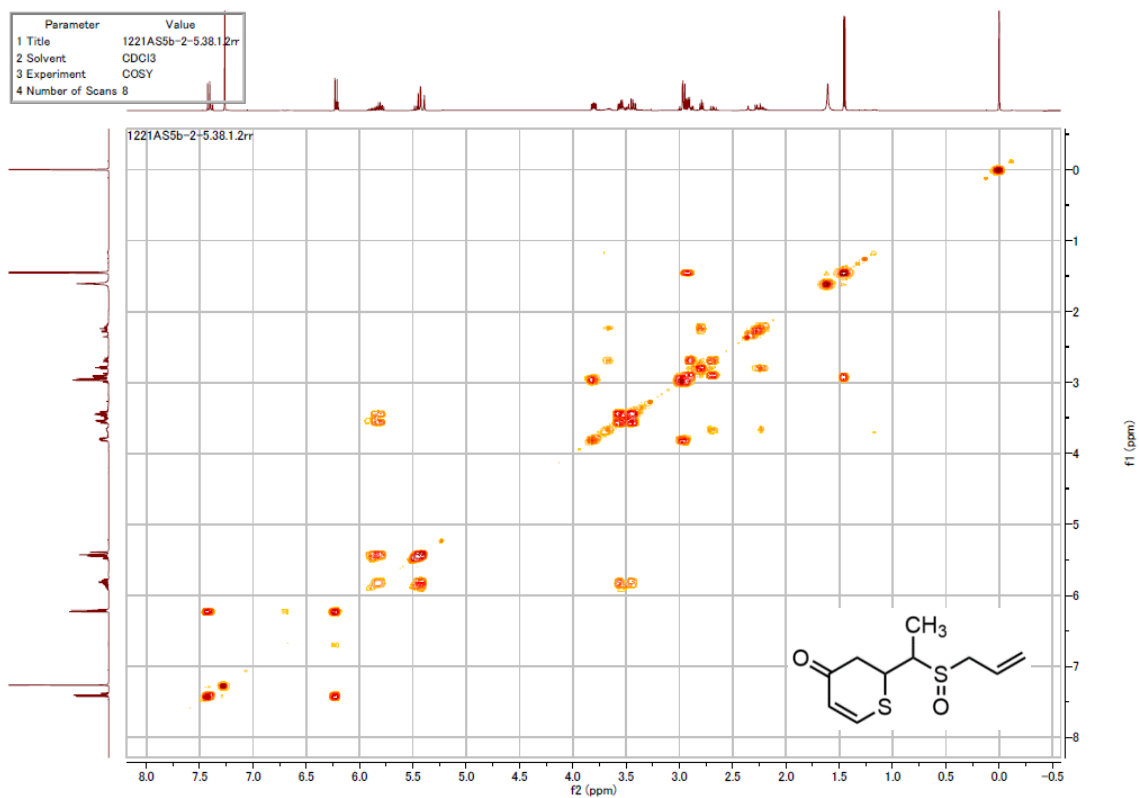
$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz) spectroscopic data of **18b**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18b**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

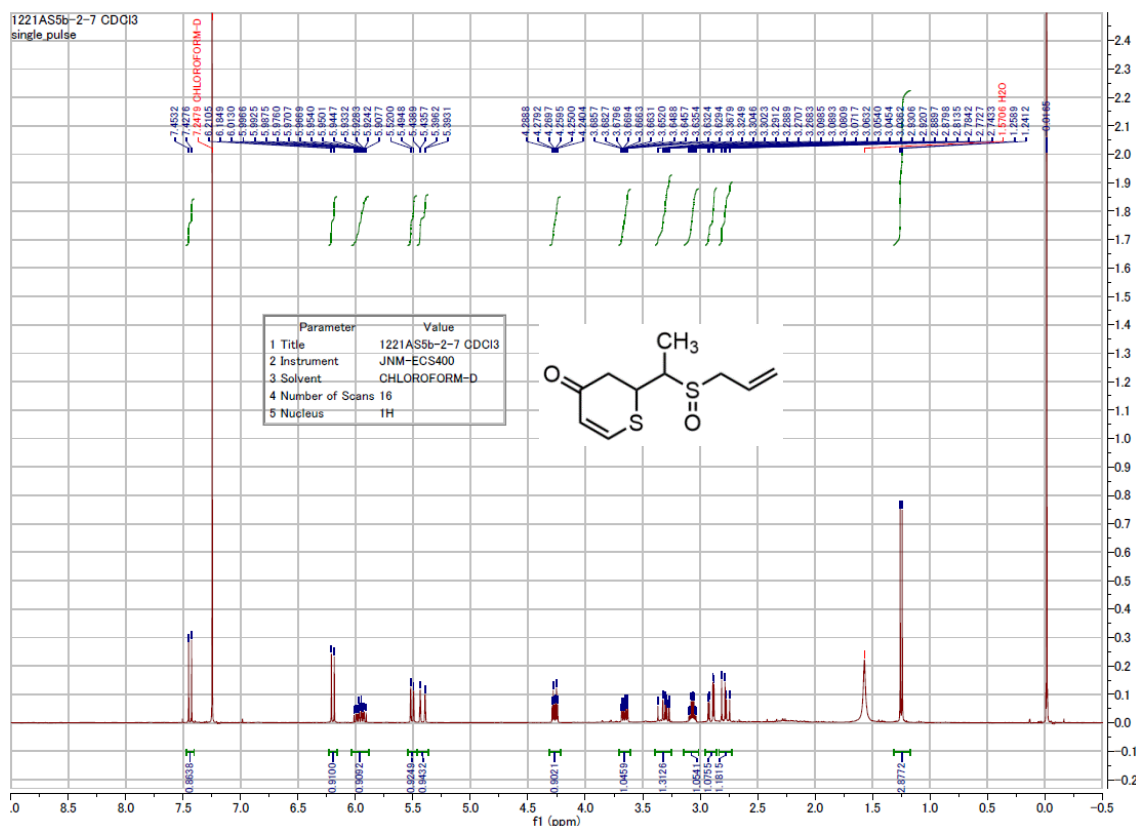


HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

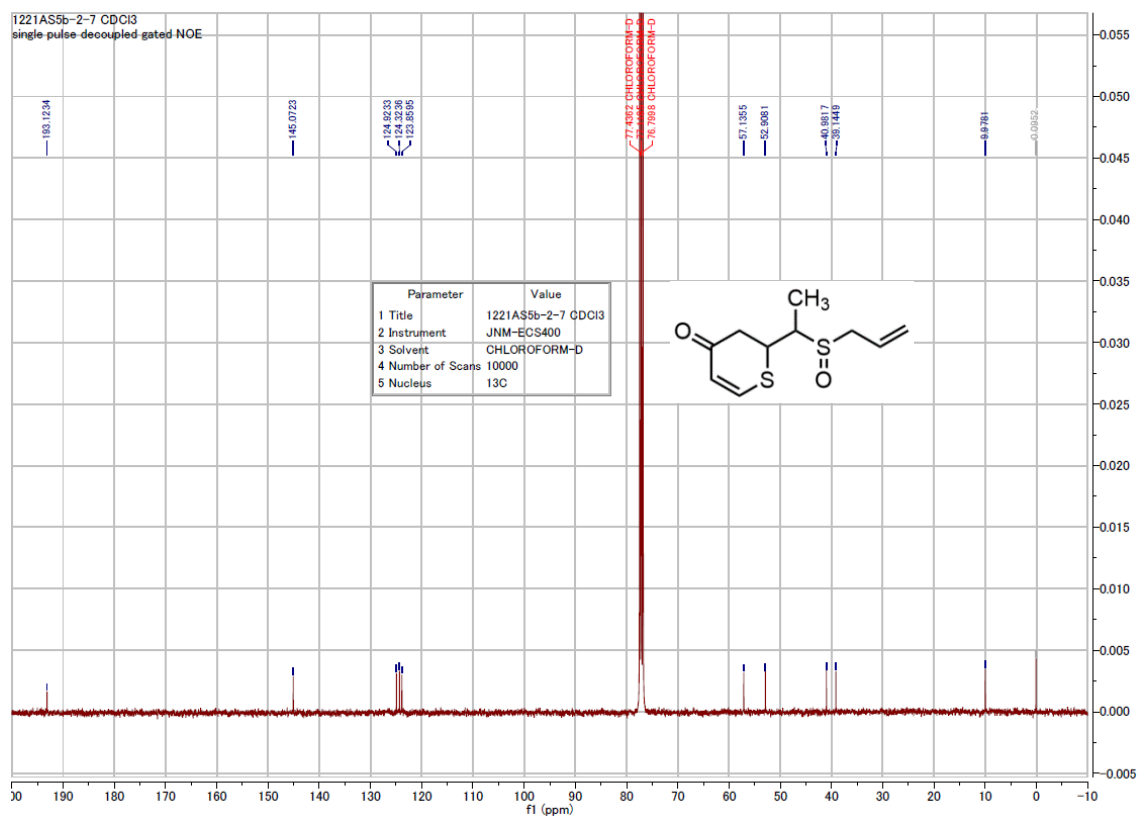


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **18b**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

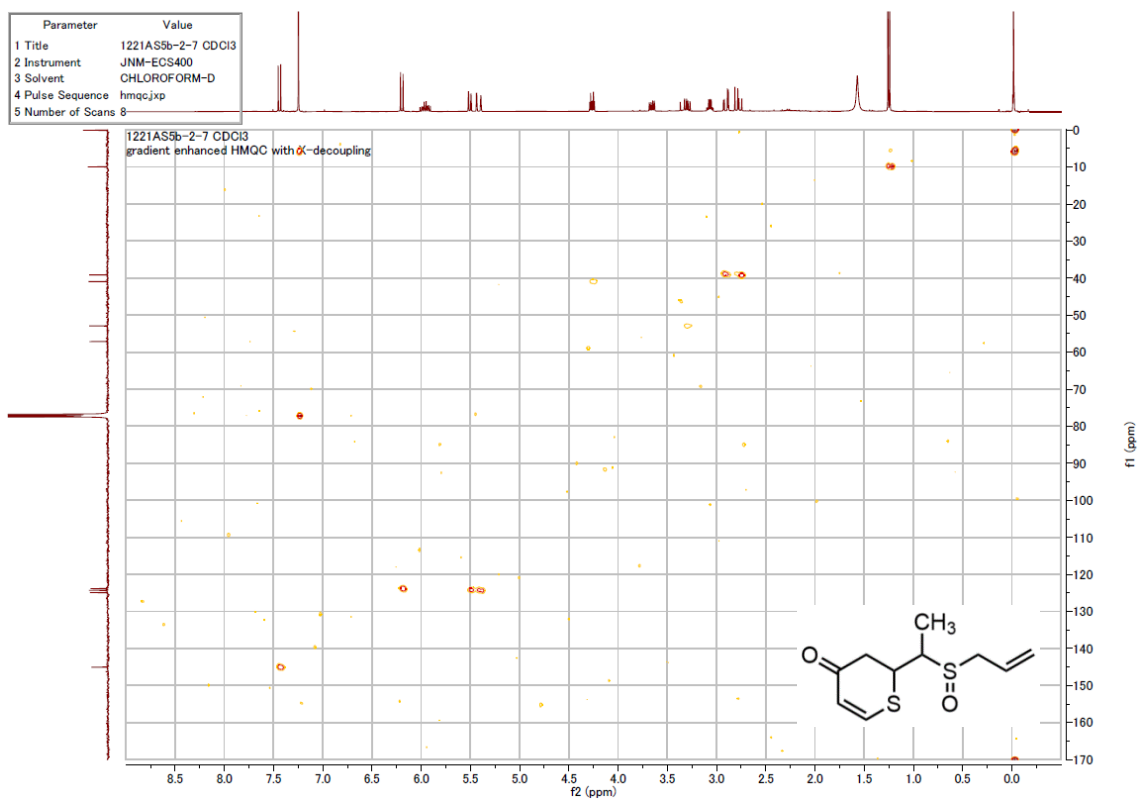
# NMR spectroscopic data of **18c**



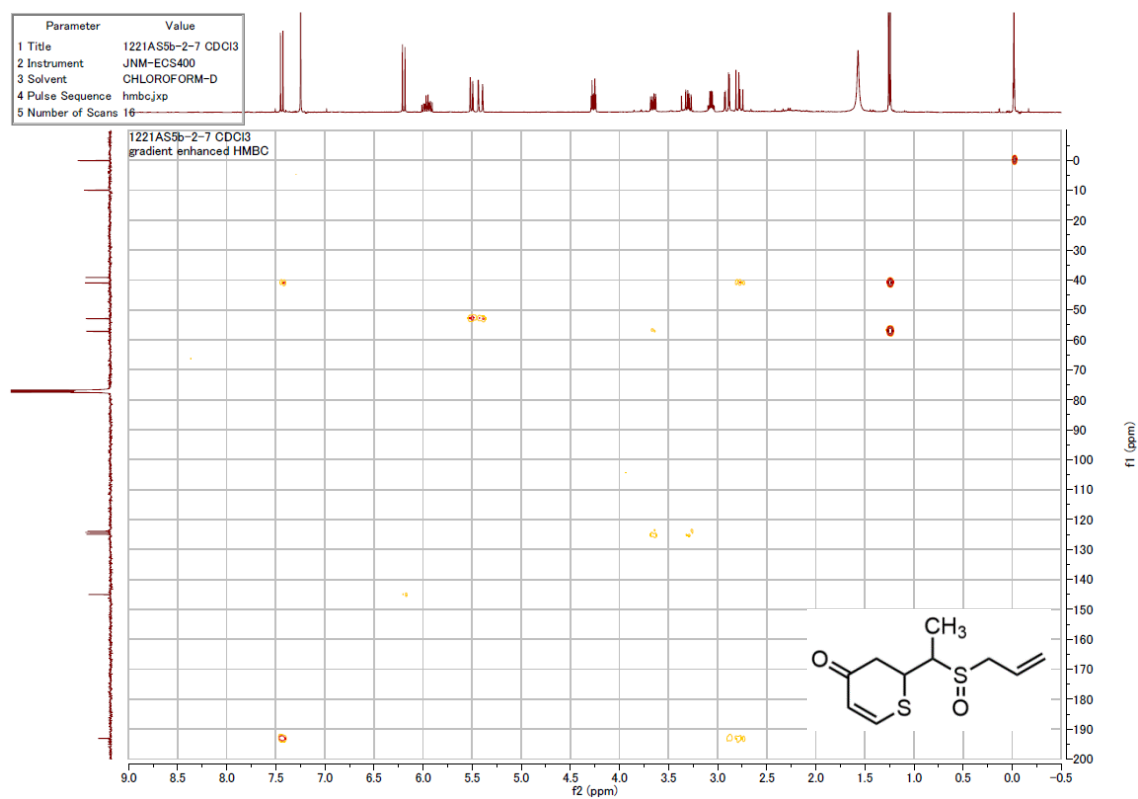
# <sup>13</sup>C-NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18c**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



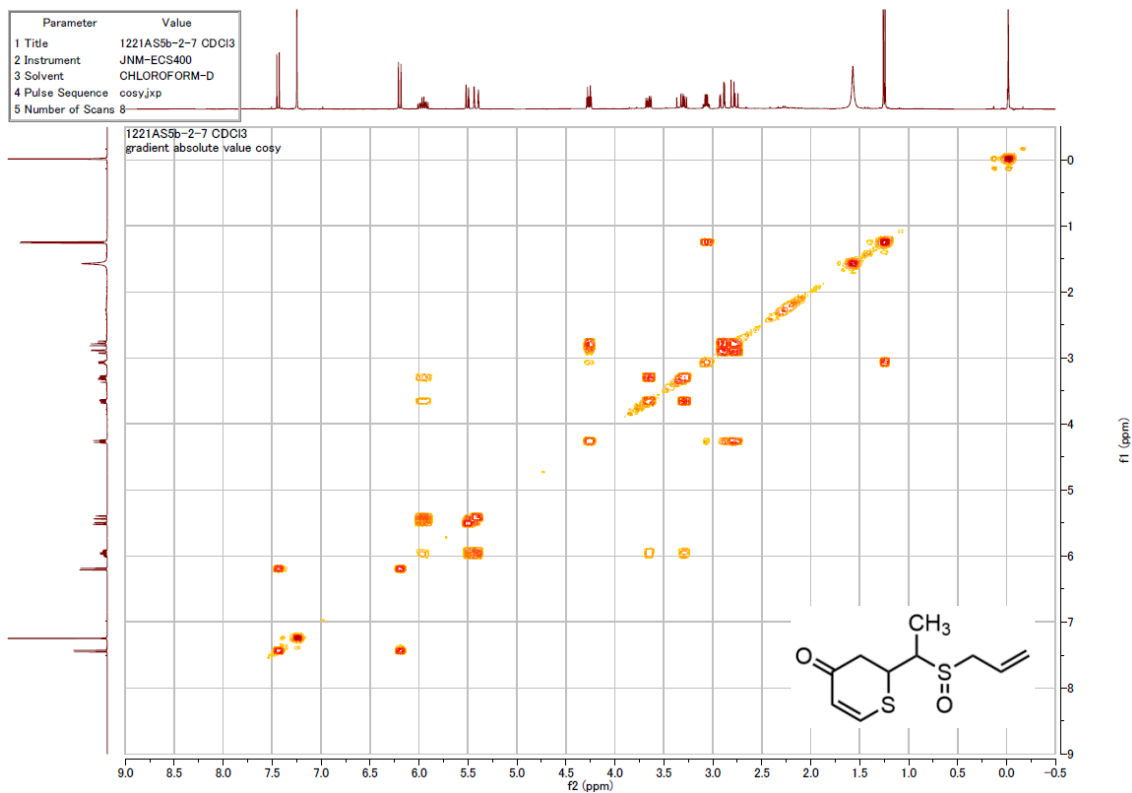
$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz) spectroscopic data of **18c**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18c**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

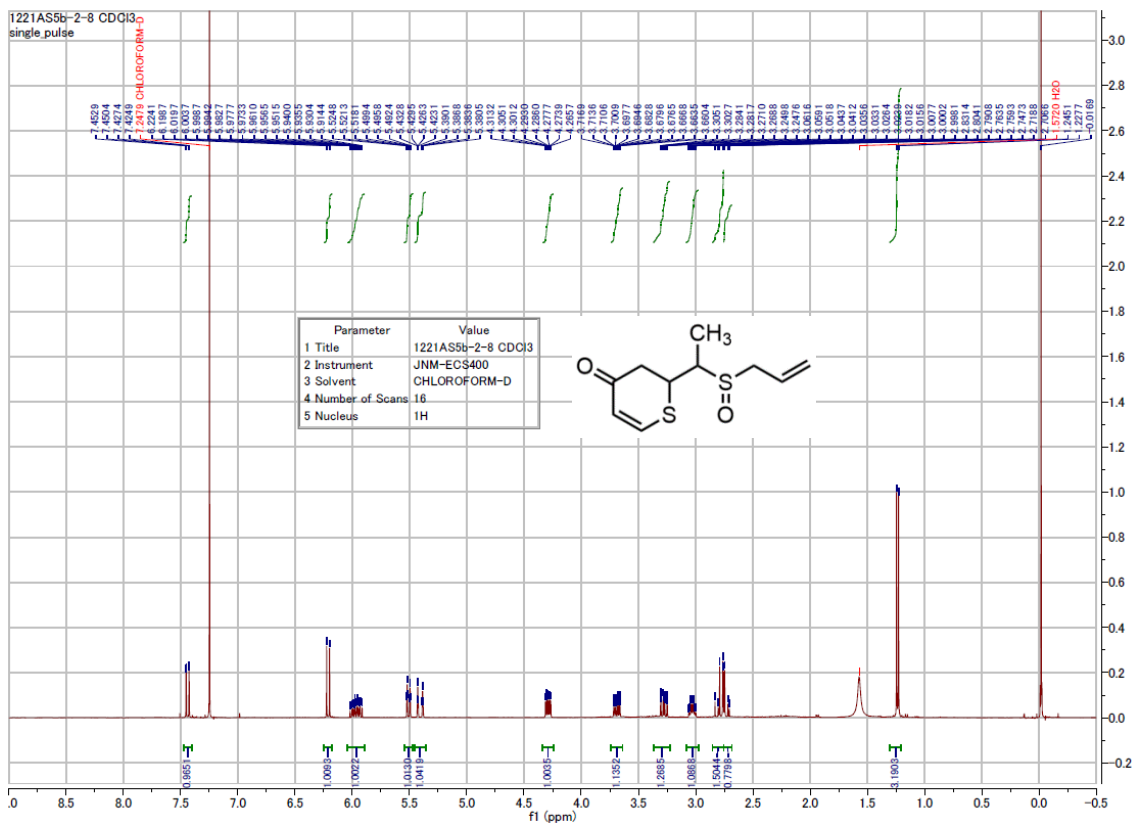


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18c**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

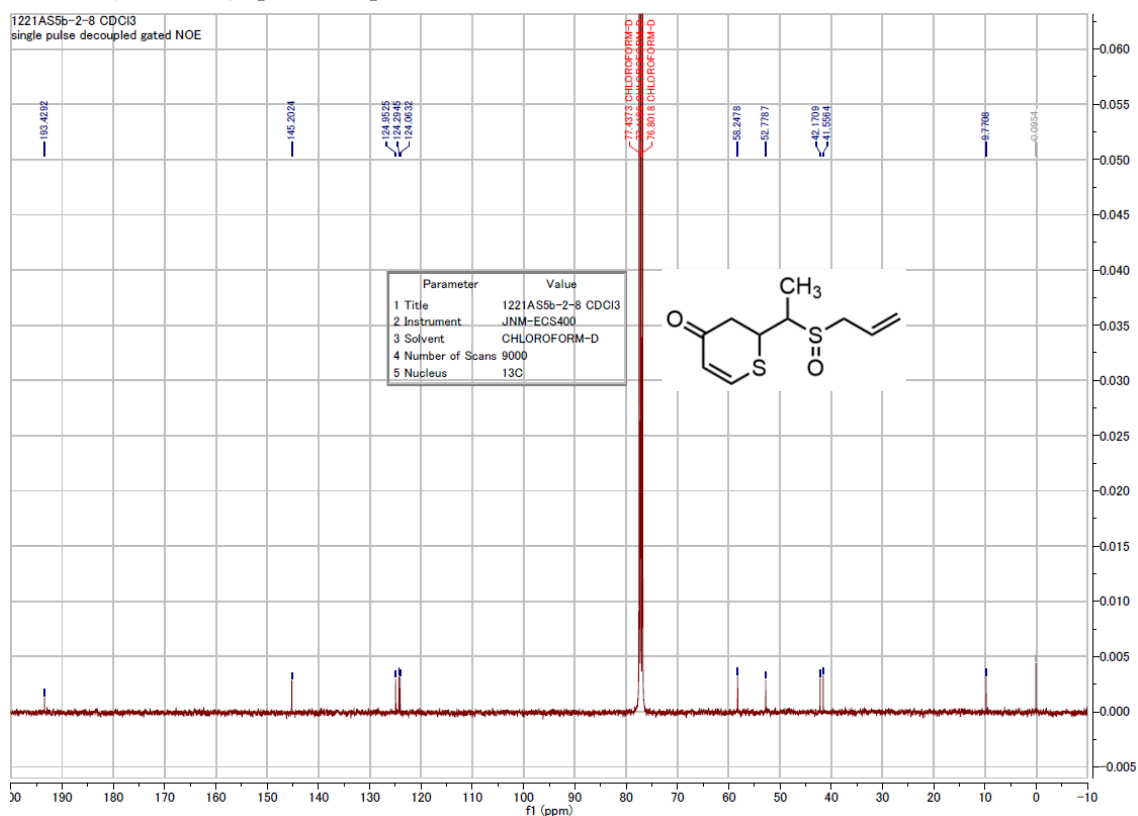


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18c**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

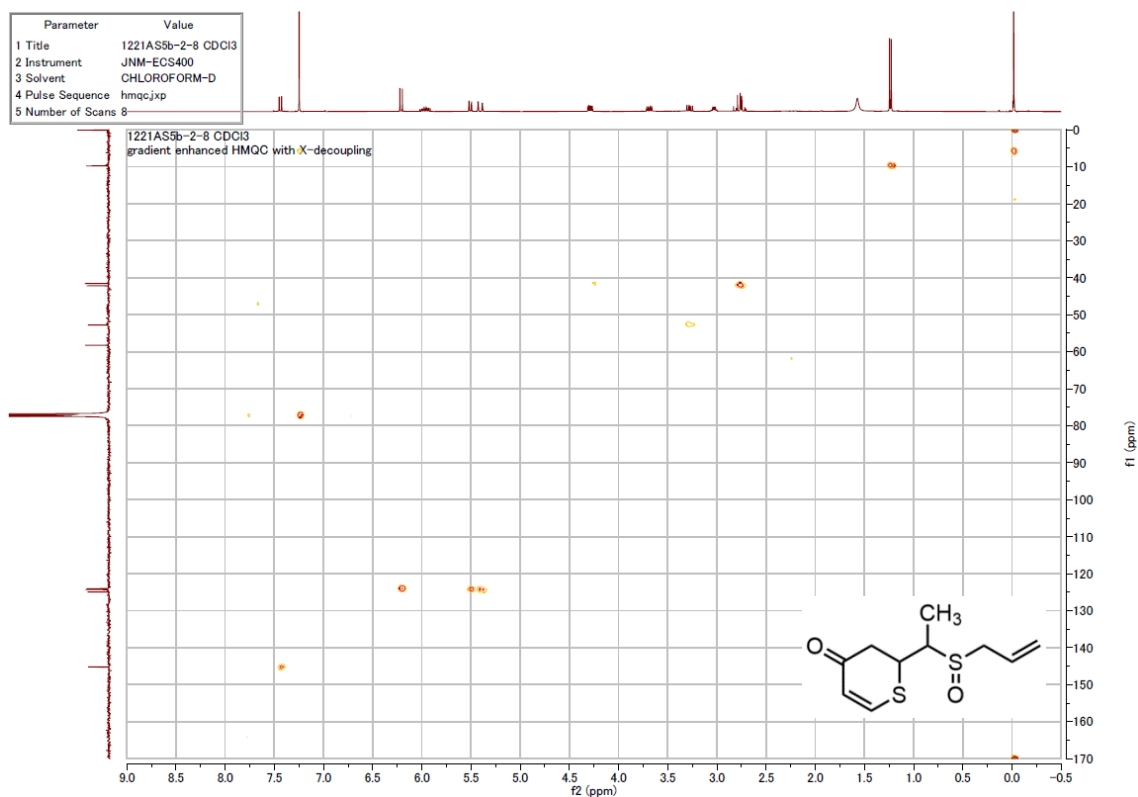
NMR spectroscopic data of **18d**



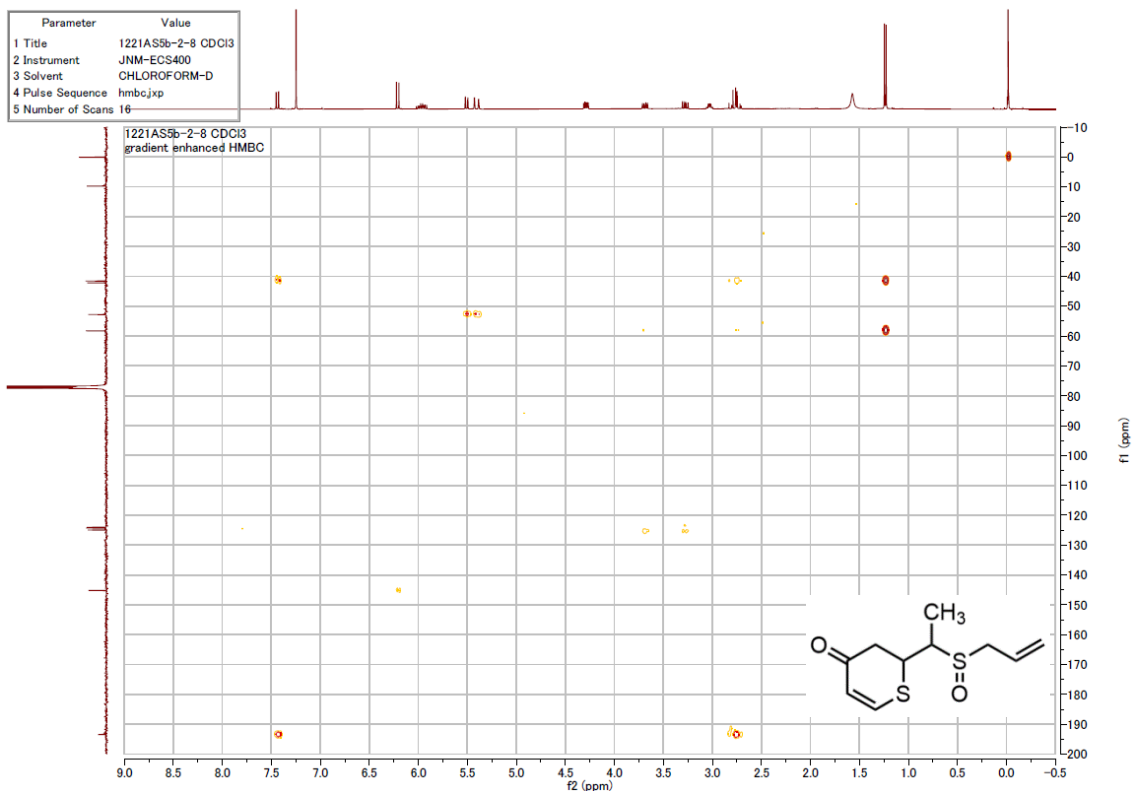
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz) spectroscopic data of **18d**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



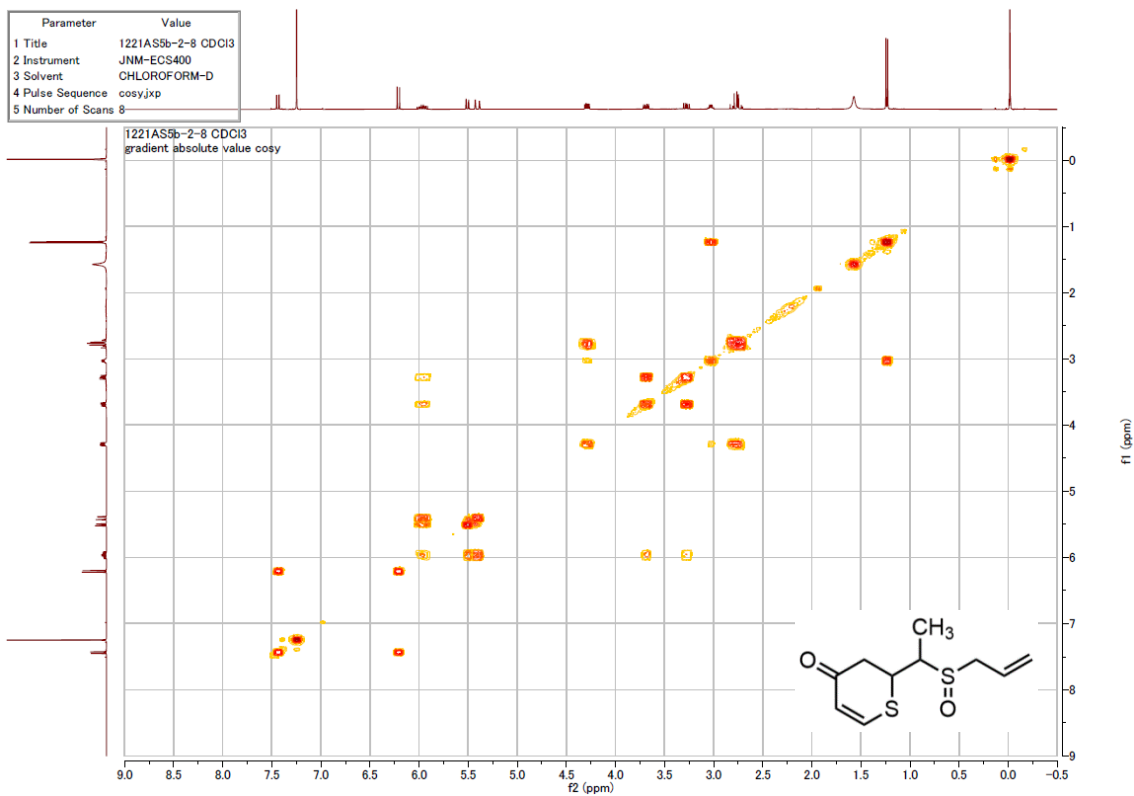
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz) spectroscopic data of **18d**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18d**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



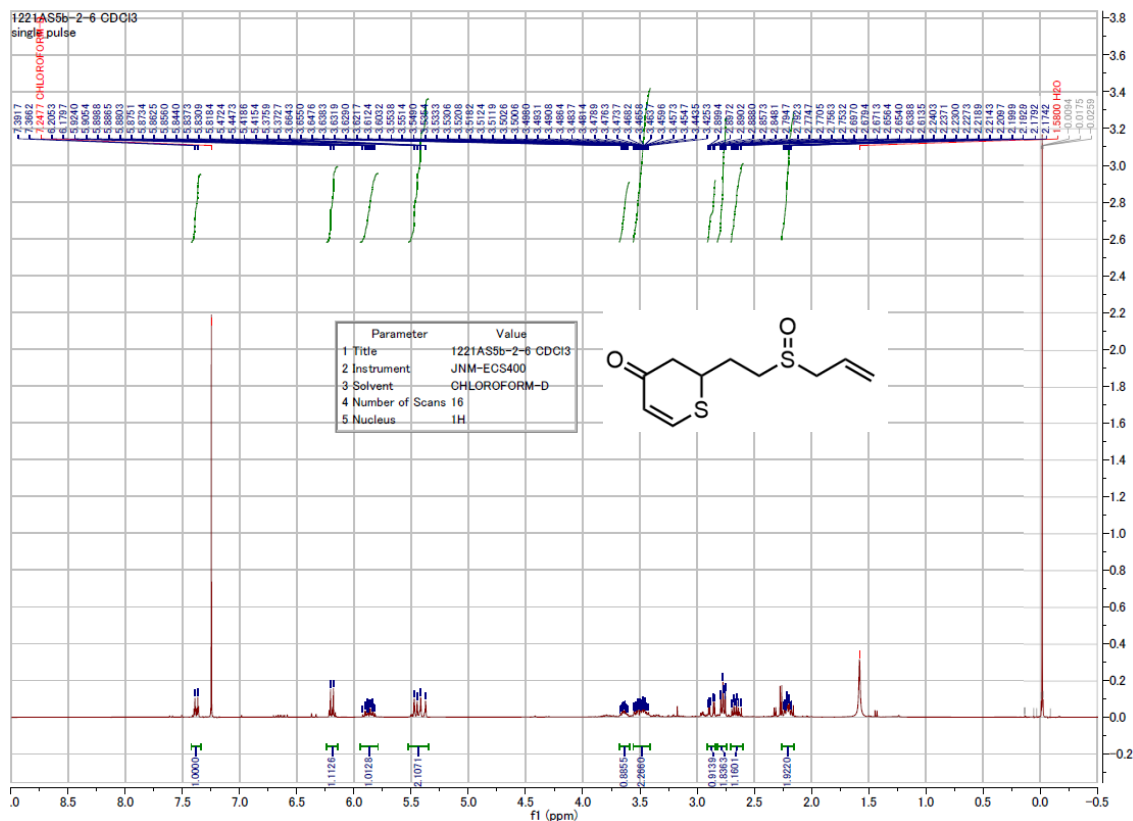
HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18d**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



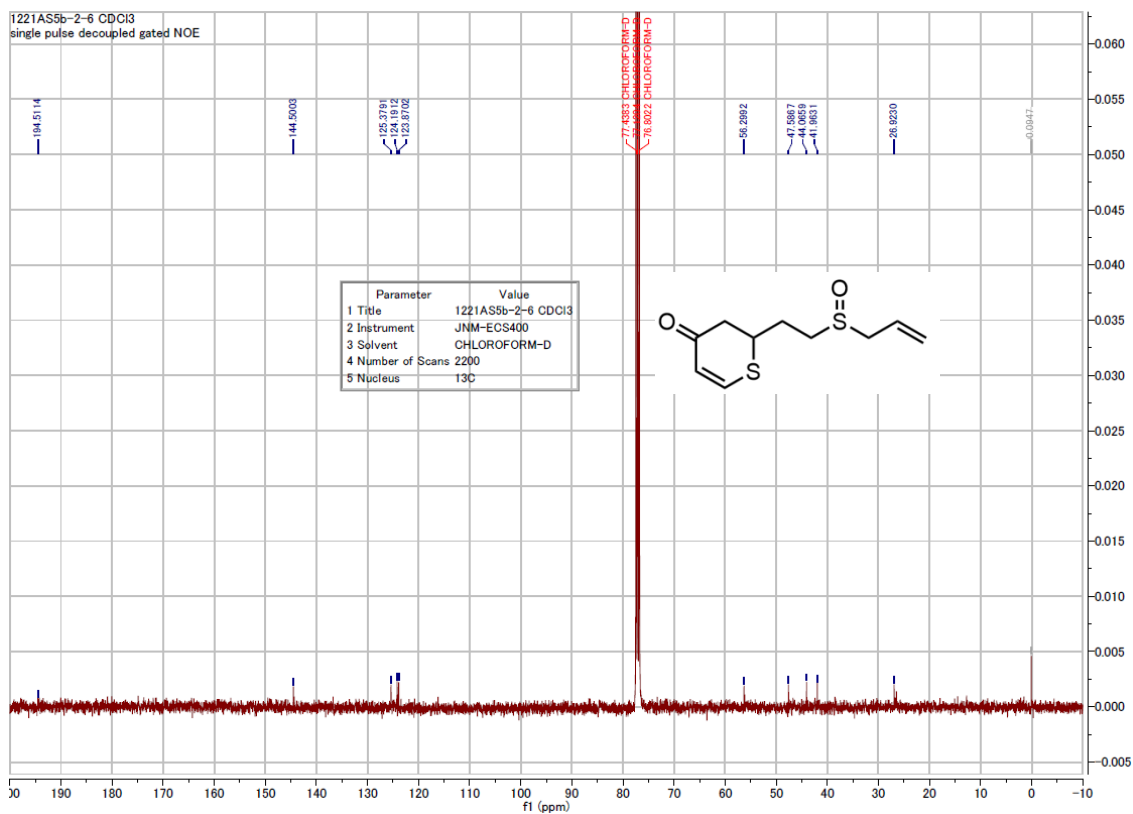
COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **18d**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



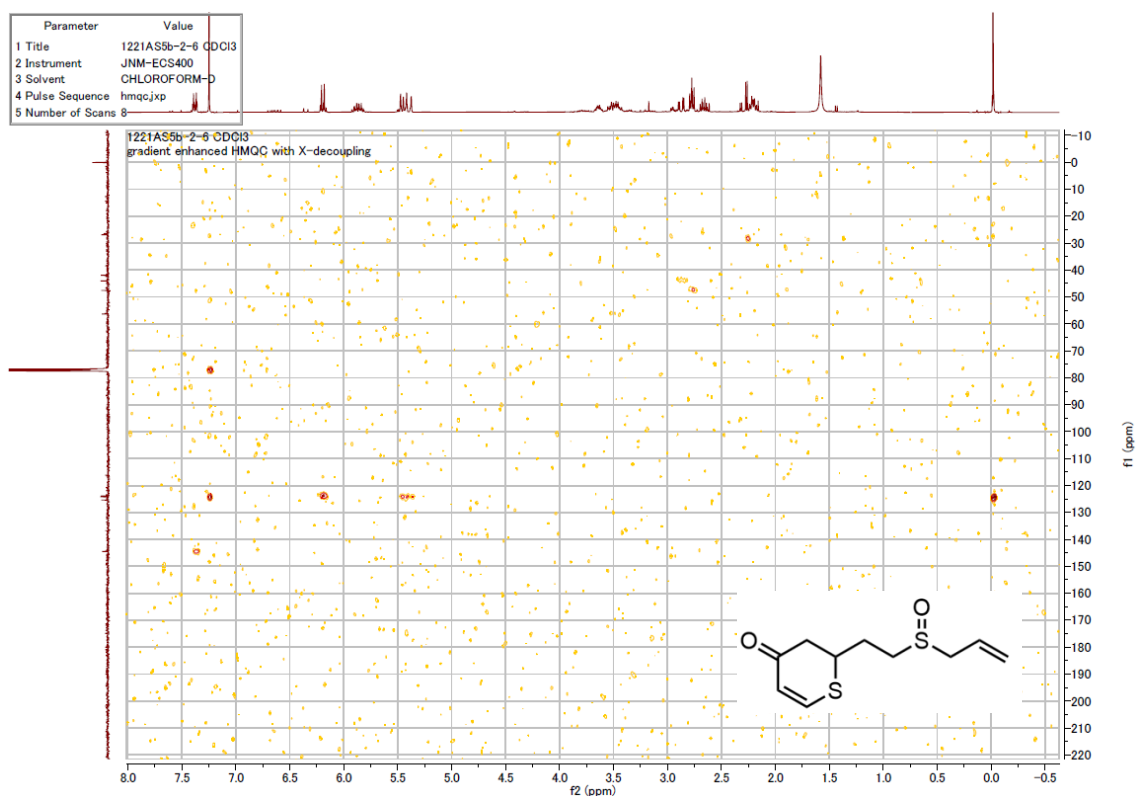
# NMR spectroscopic data of 19



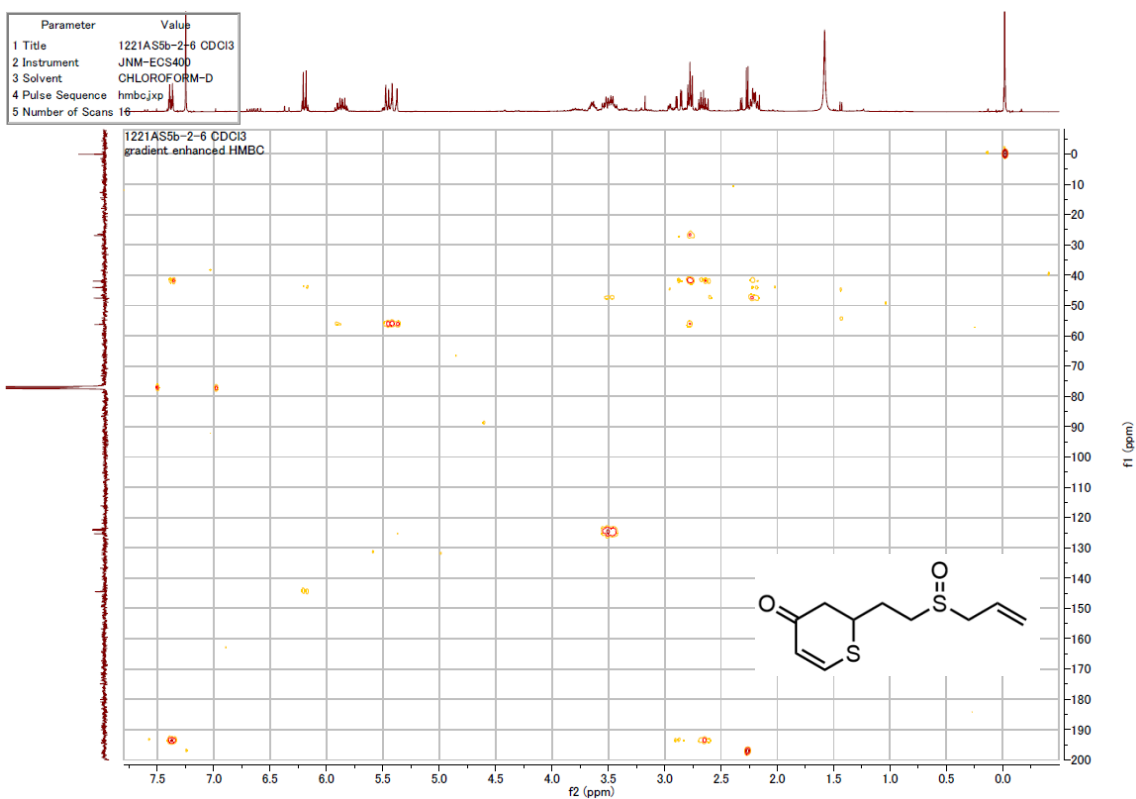
# <sup>13</sup>C-NMR (400 MHz) spectroscopic data of 19. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



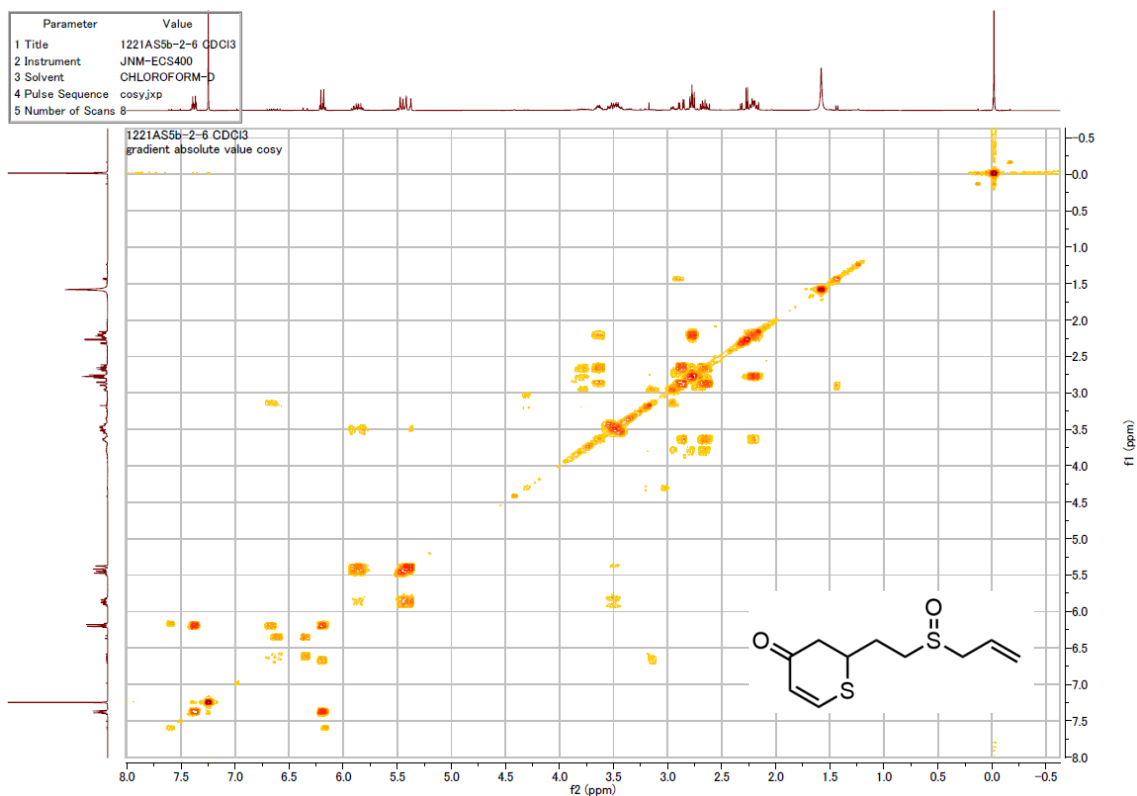
$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz) spectroscopic data of **19**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **19**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

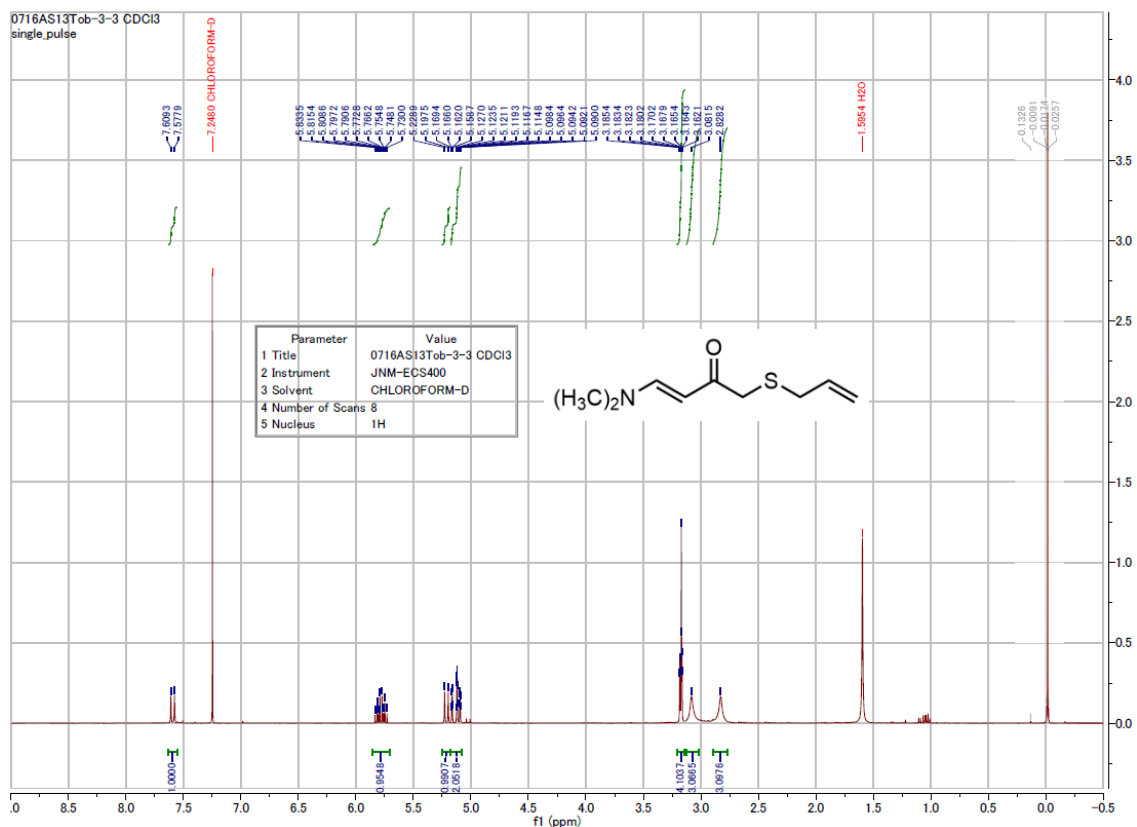


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **19**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

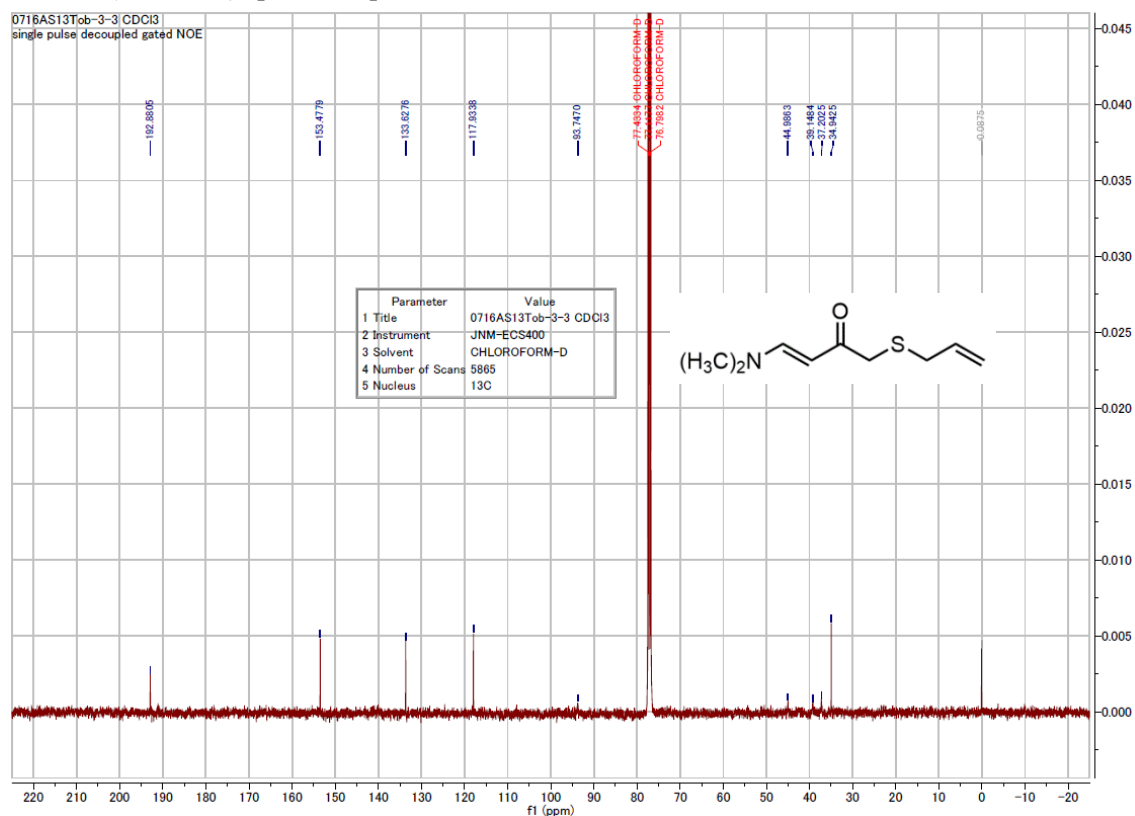


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **19**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

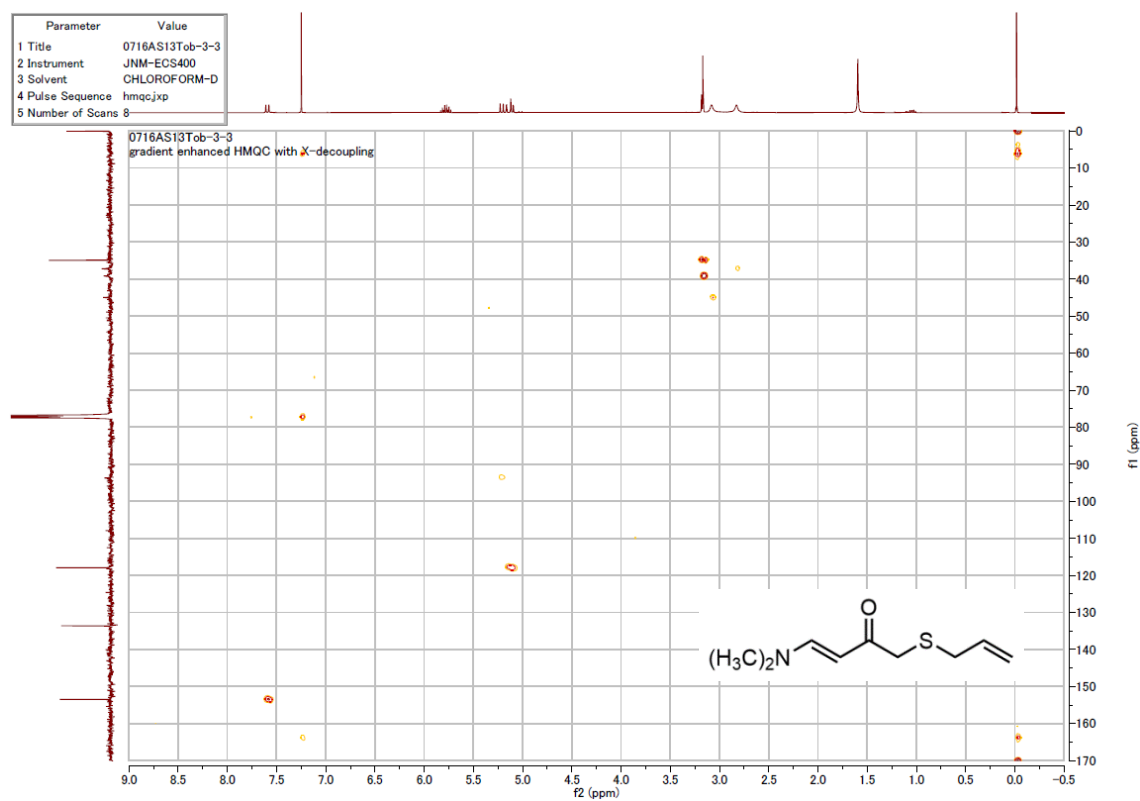
NMR spectroscopic data of **20**



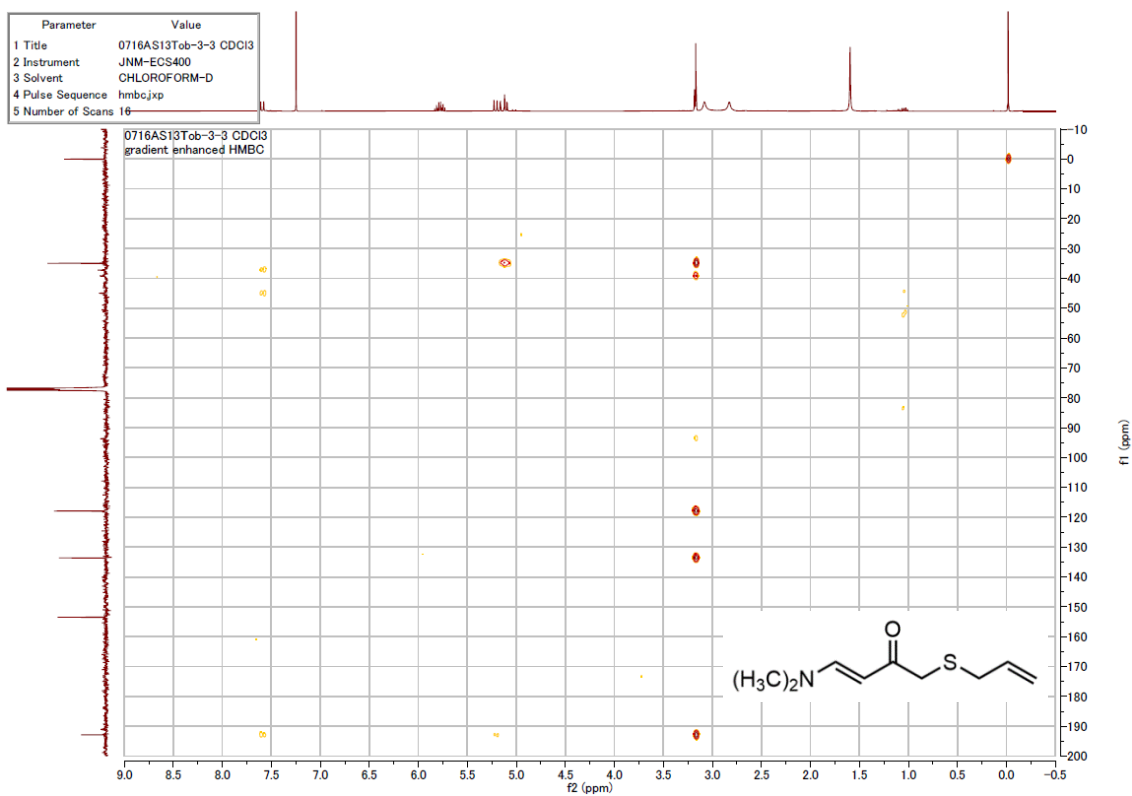
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz) spectroscopic data of **20**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



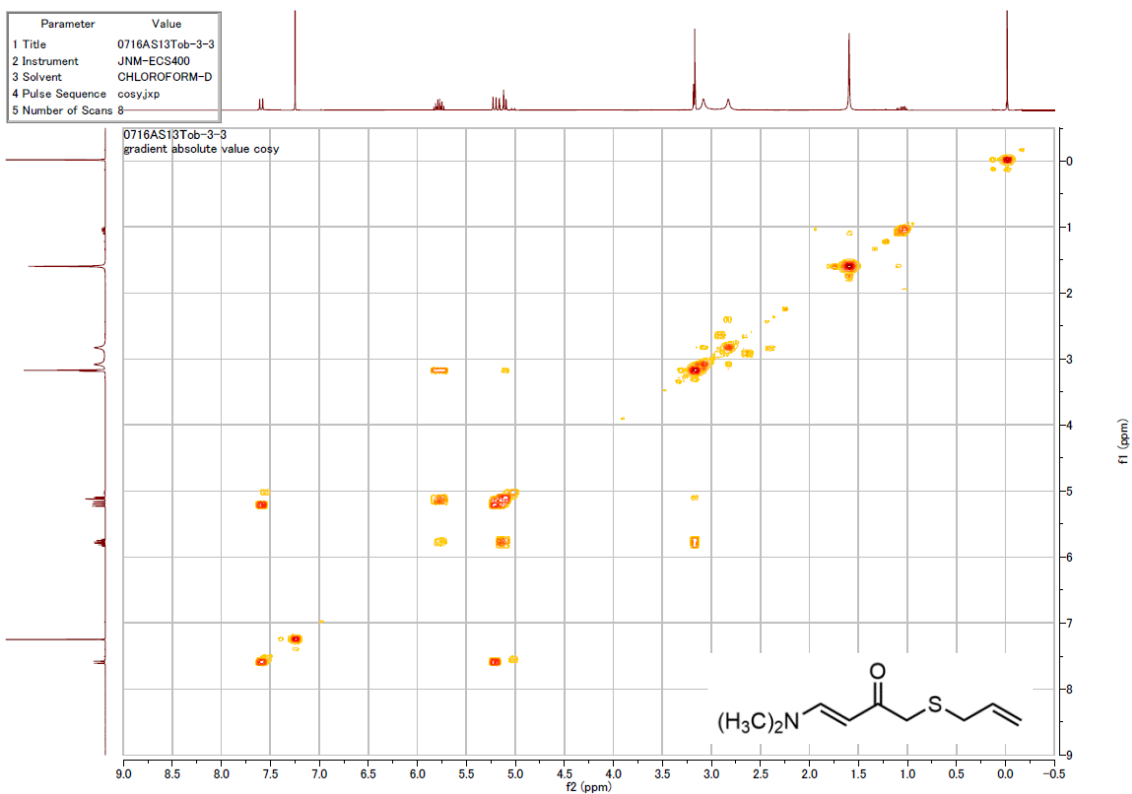
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz) spectroscopic data of **20**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMOC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **20**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

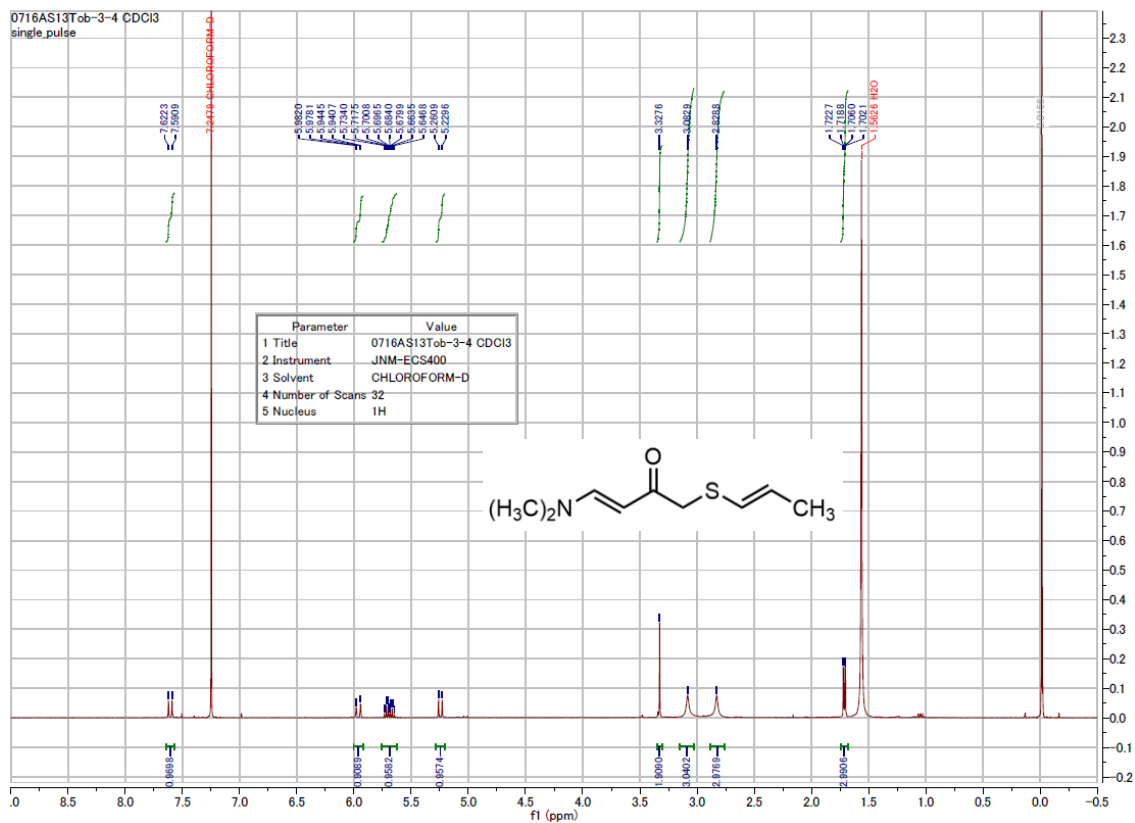


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **20**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

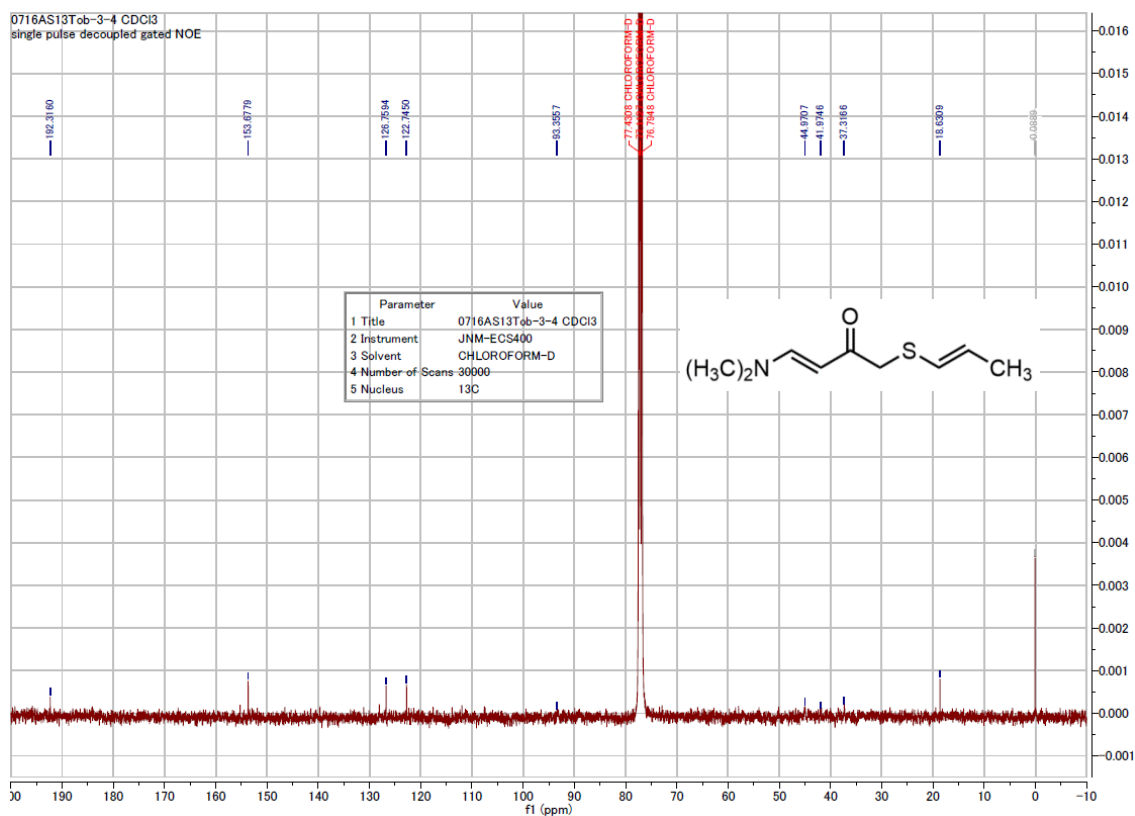


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **20**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

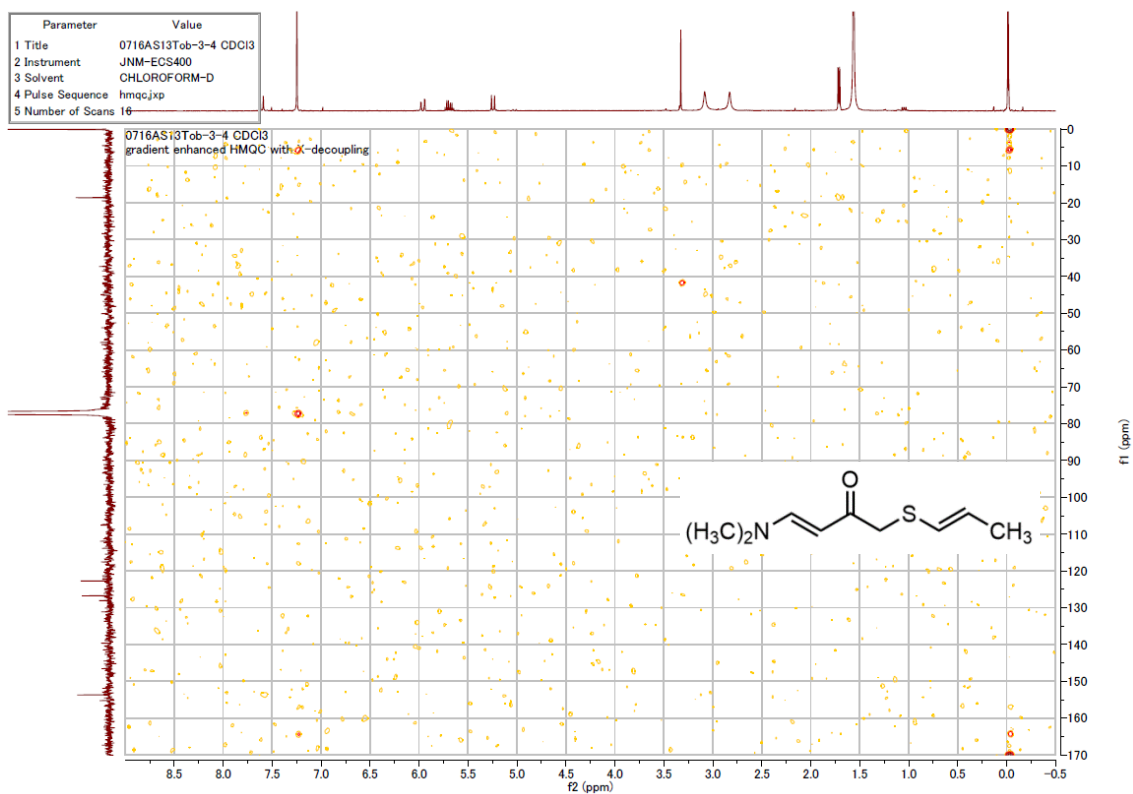
# NMR spectroscopic data of 21



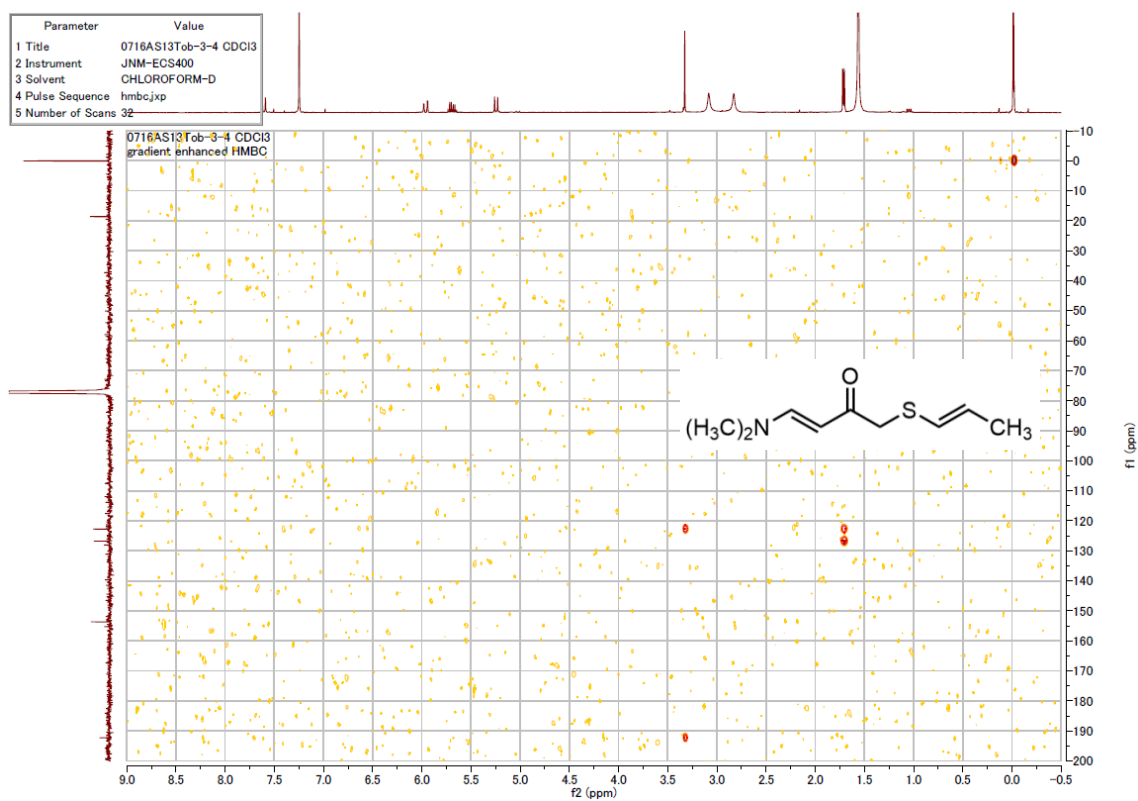
# <sup>13</sup>C-NMR (400 MHz) spectroscopic data of 21. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



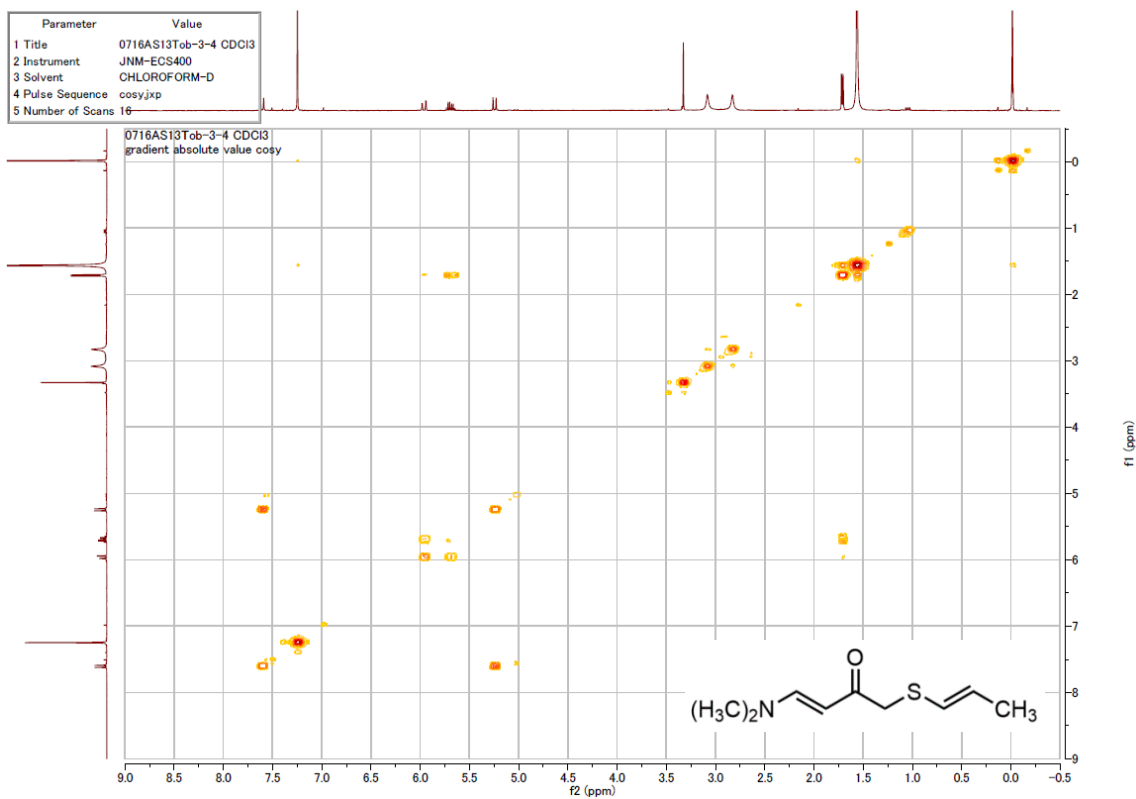
$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz) spectroscopic data of **21**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **21**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

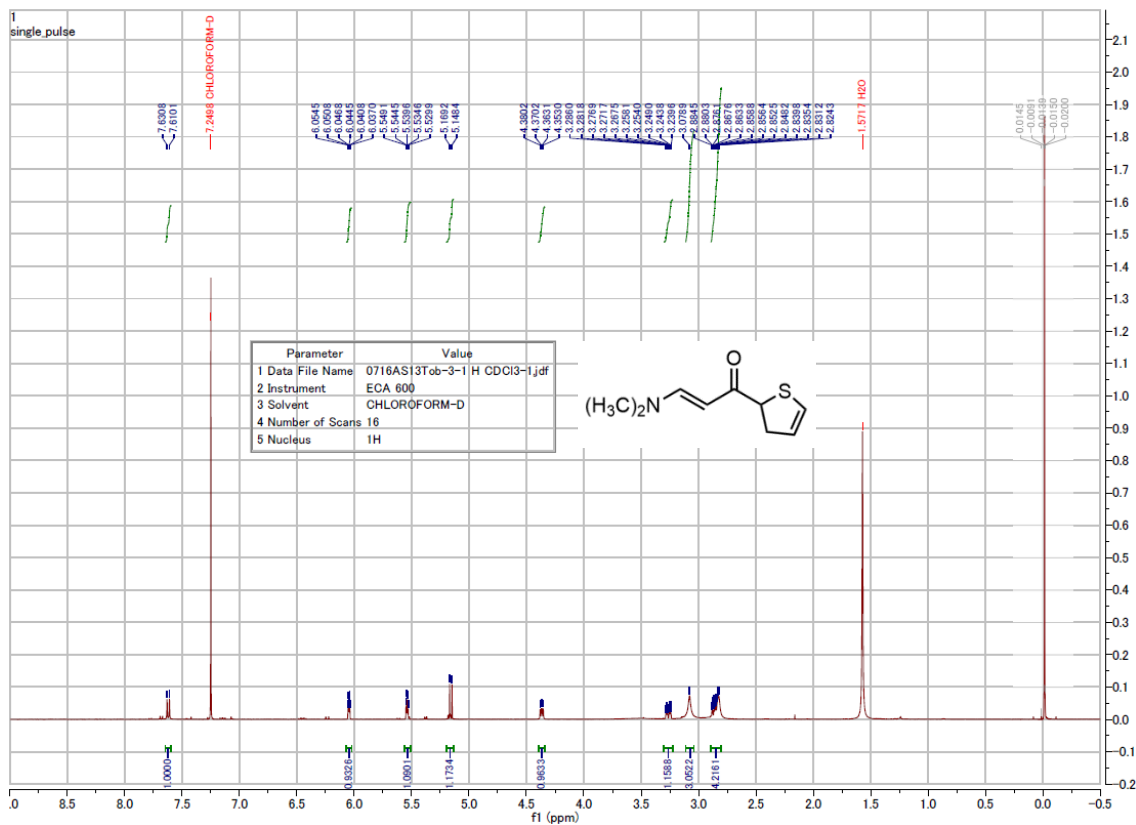


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **21**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



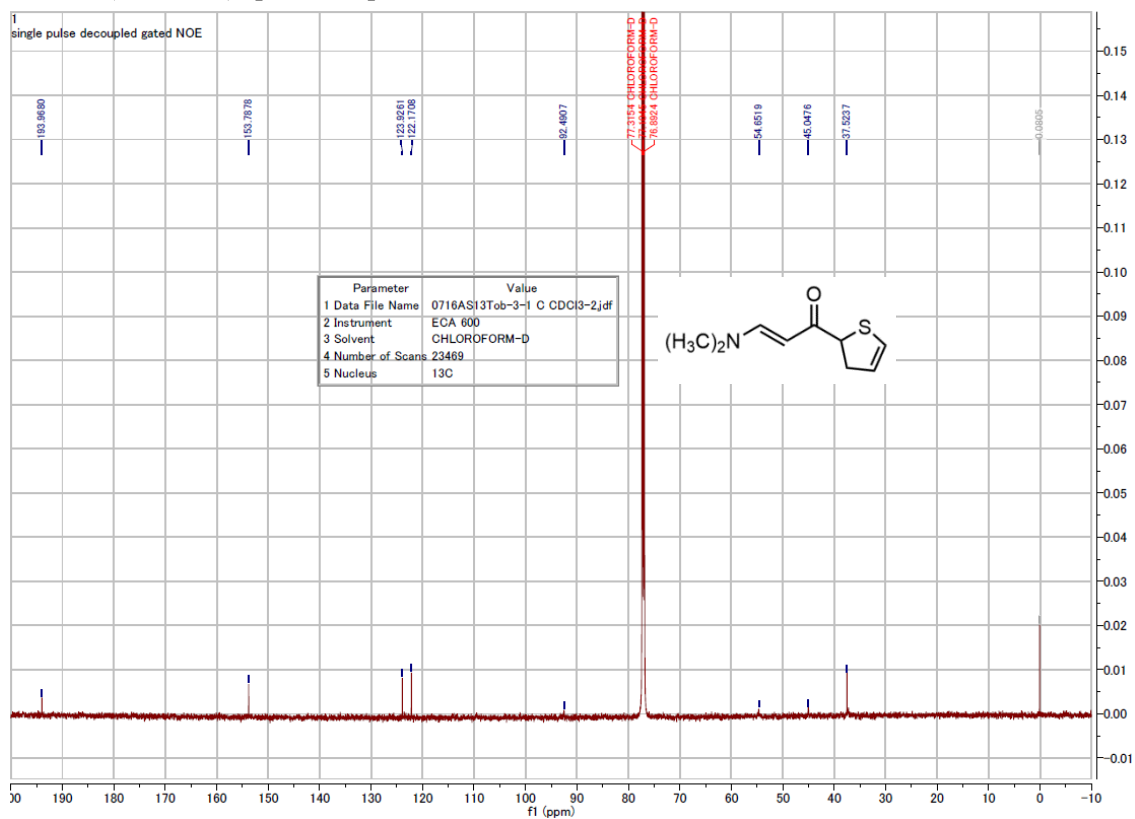
COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **21**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

NMR spectroscopic data of **22**

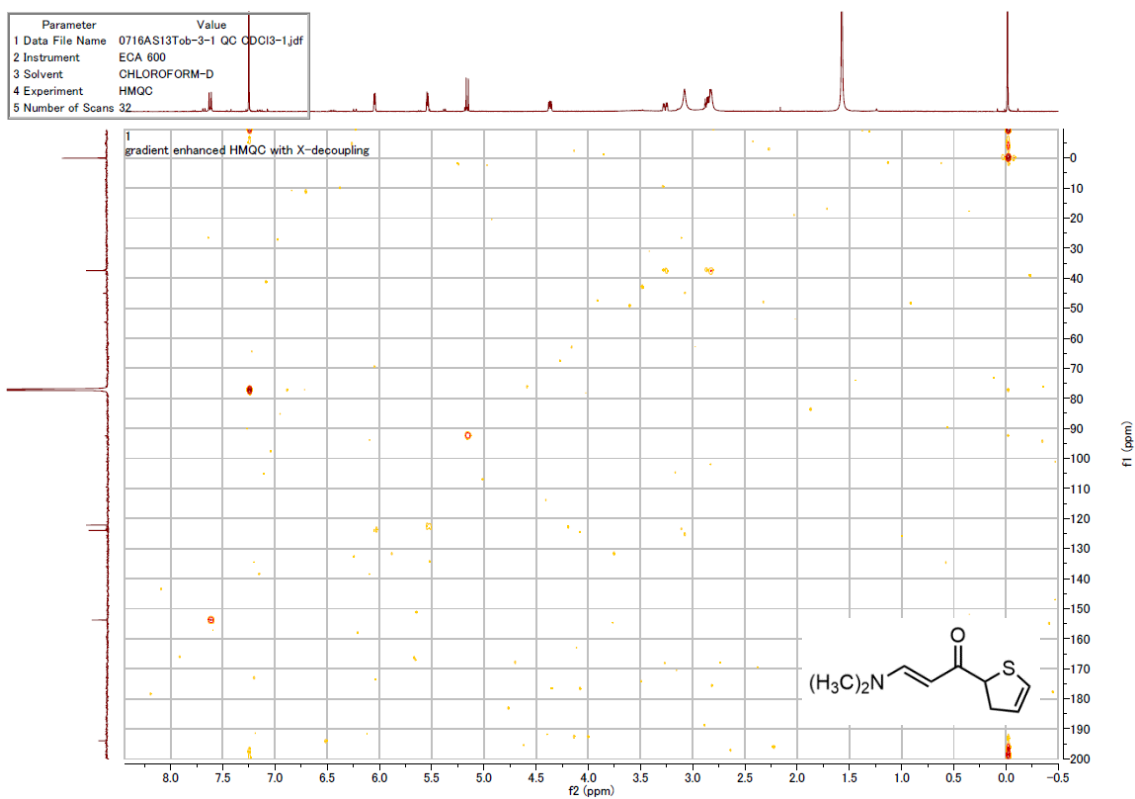




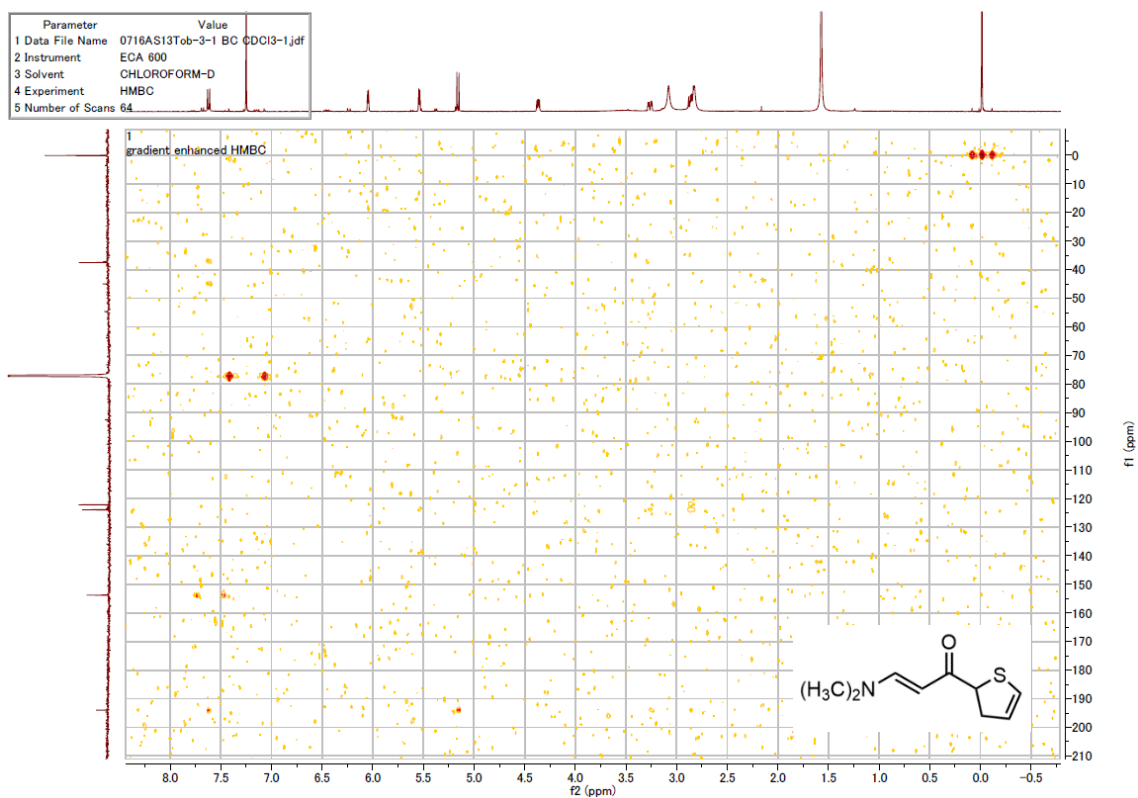
$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz) spectroscopic data of **22**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



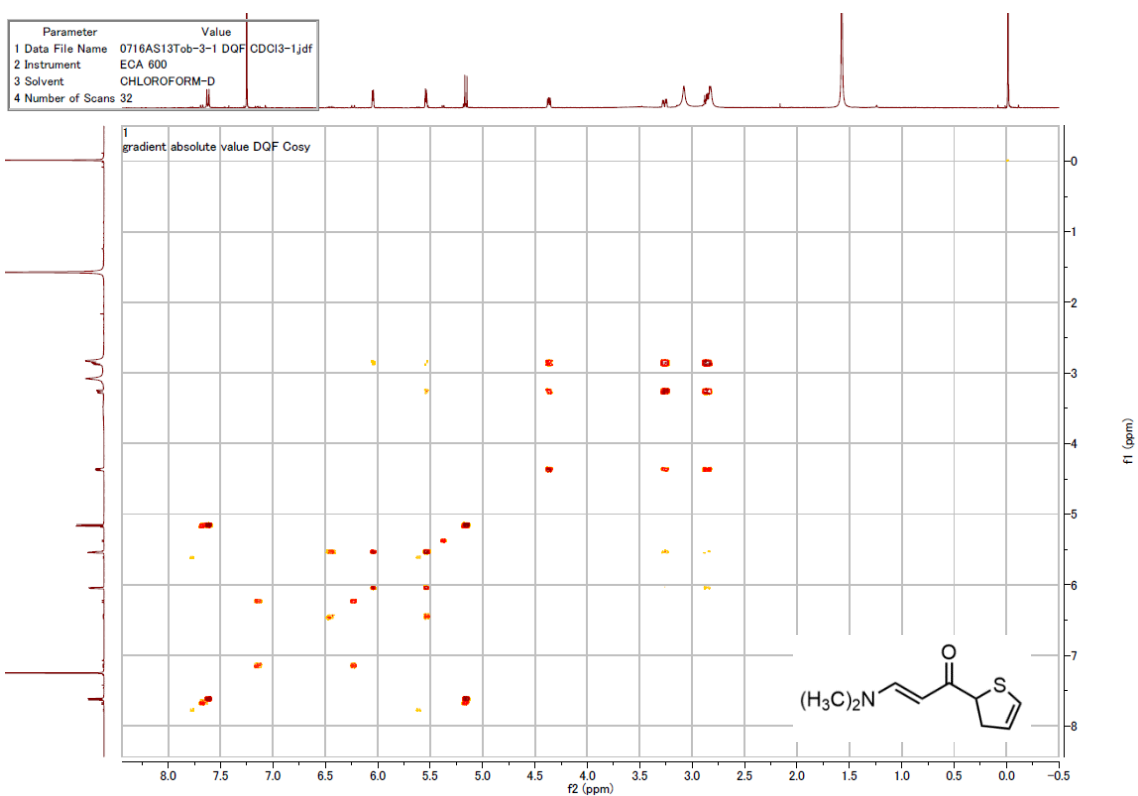
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz) spectroscopic data of **22**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **22**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .

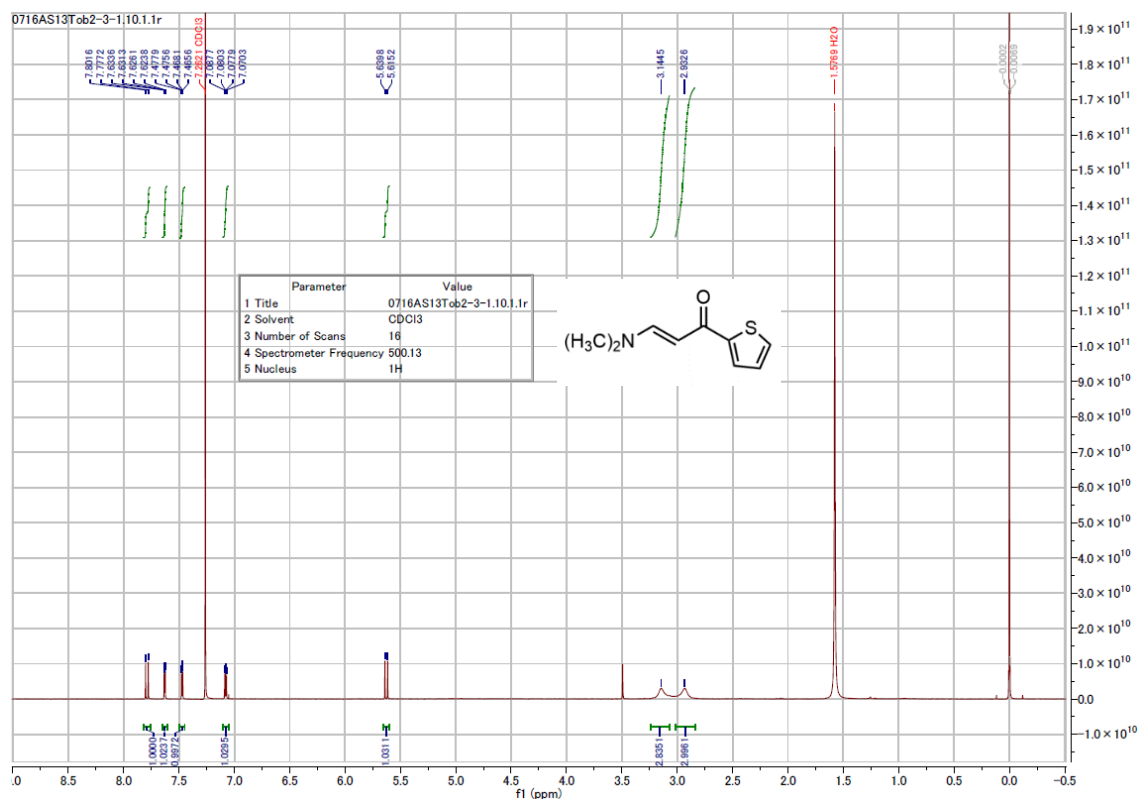


HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **22**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

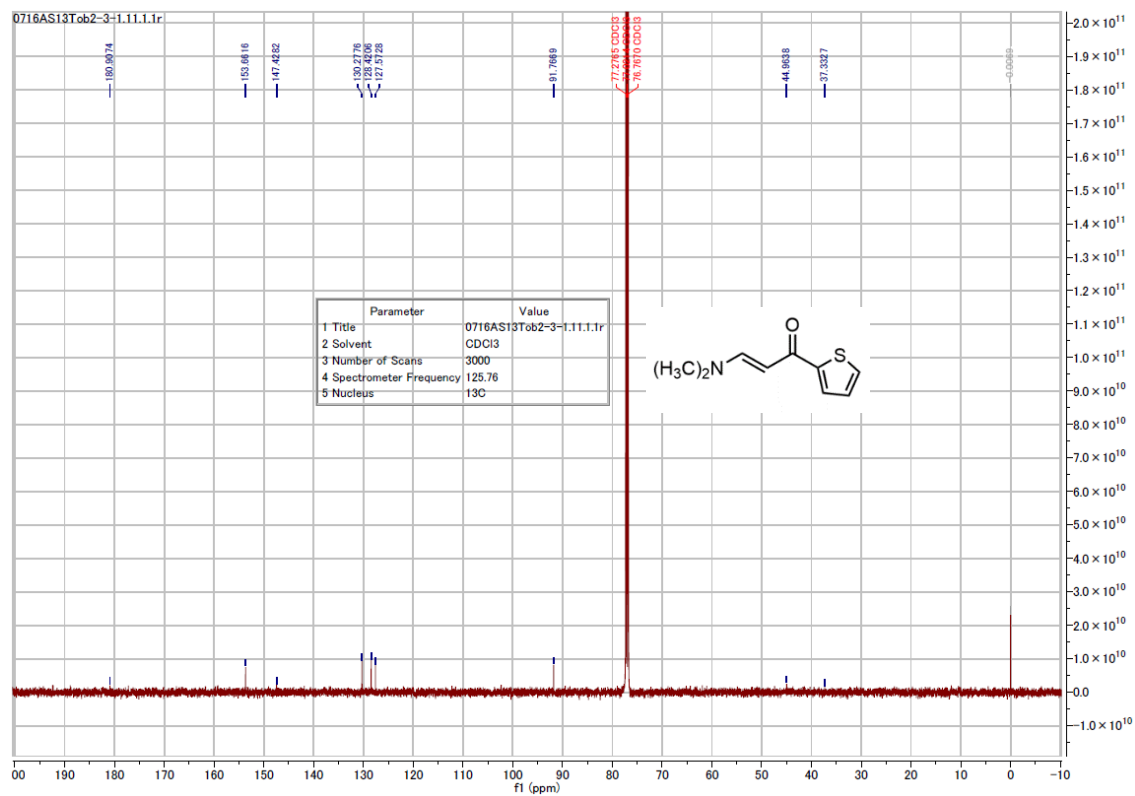


COSY NMR (600 MHz) spectroscopic data of **22**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

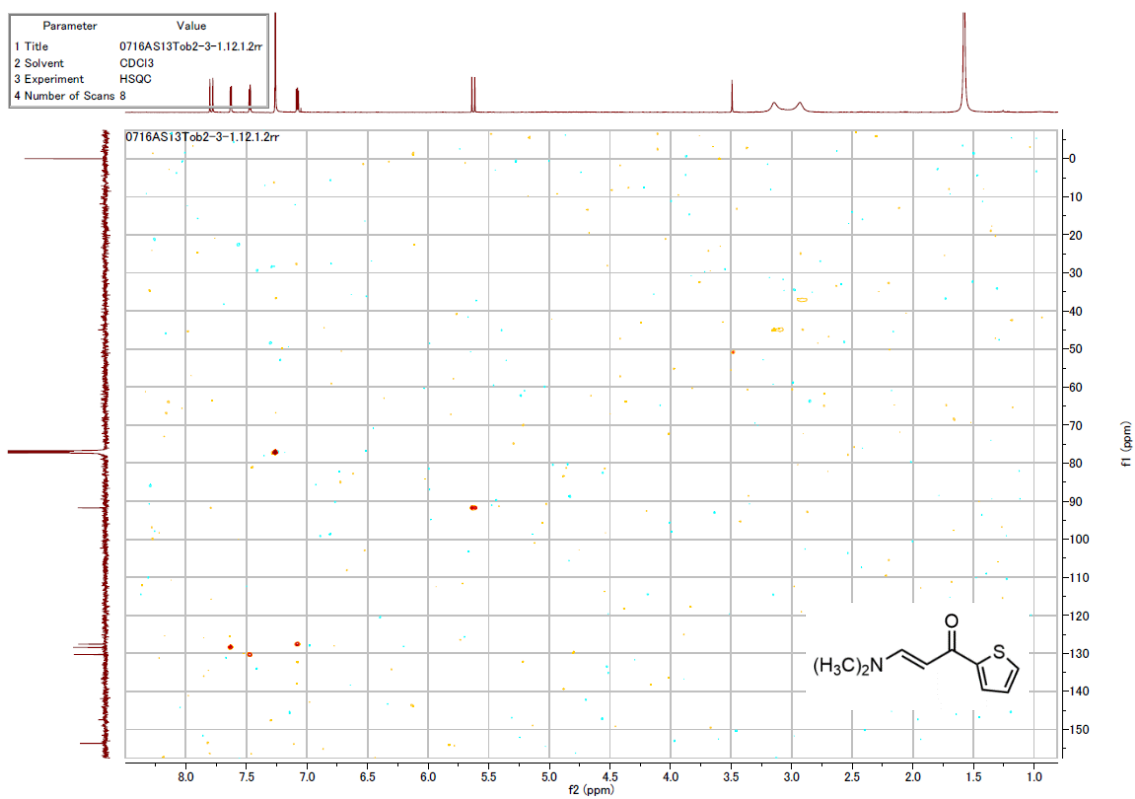
NMR spectroscopic data of **23**



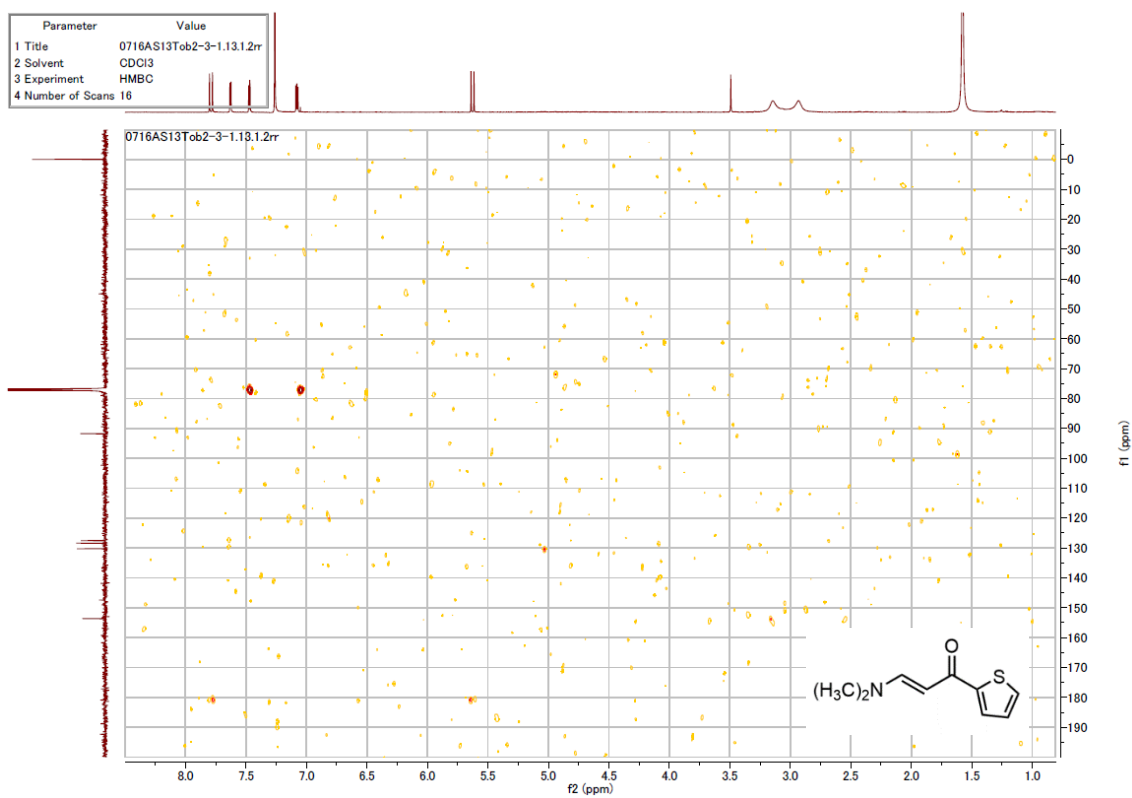
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) spectroscopic data of **23**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



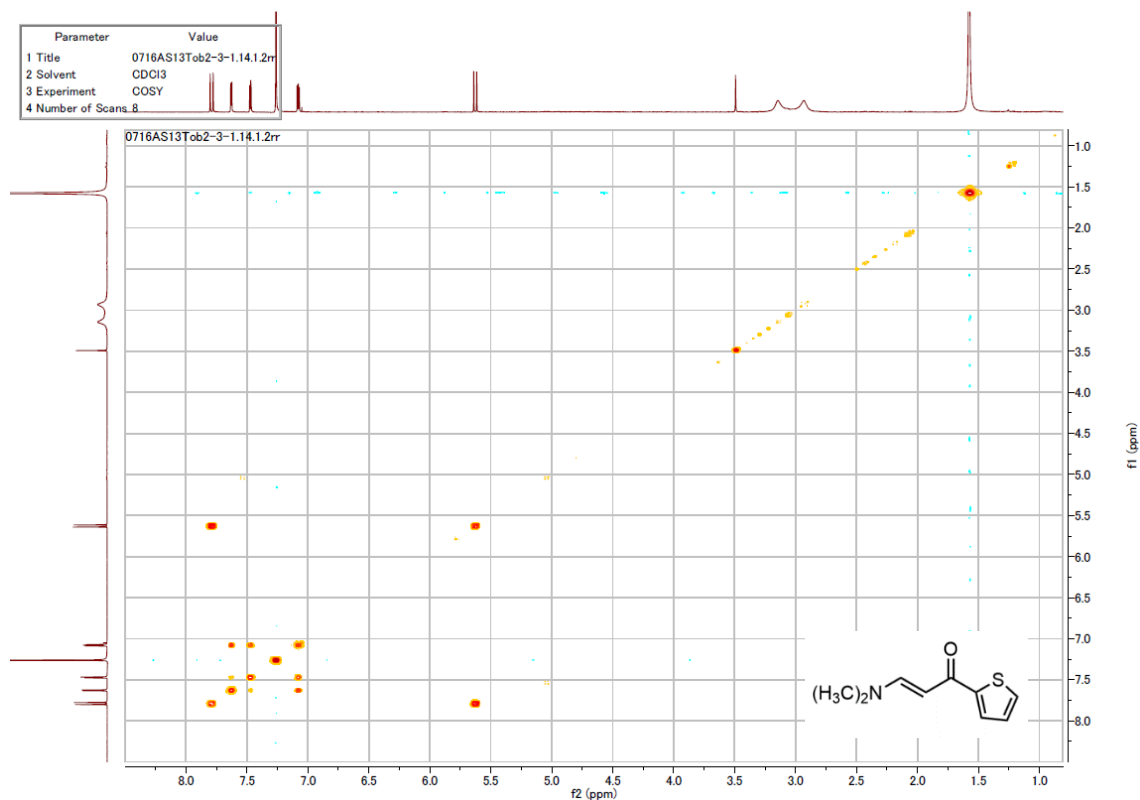
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) spectroscopic data of **23**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **23**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

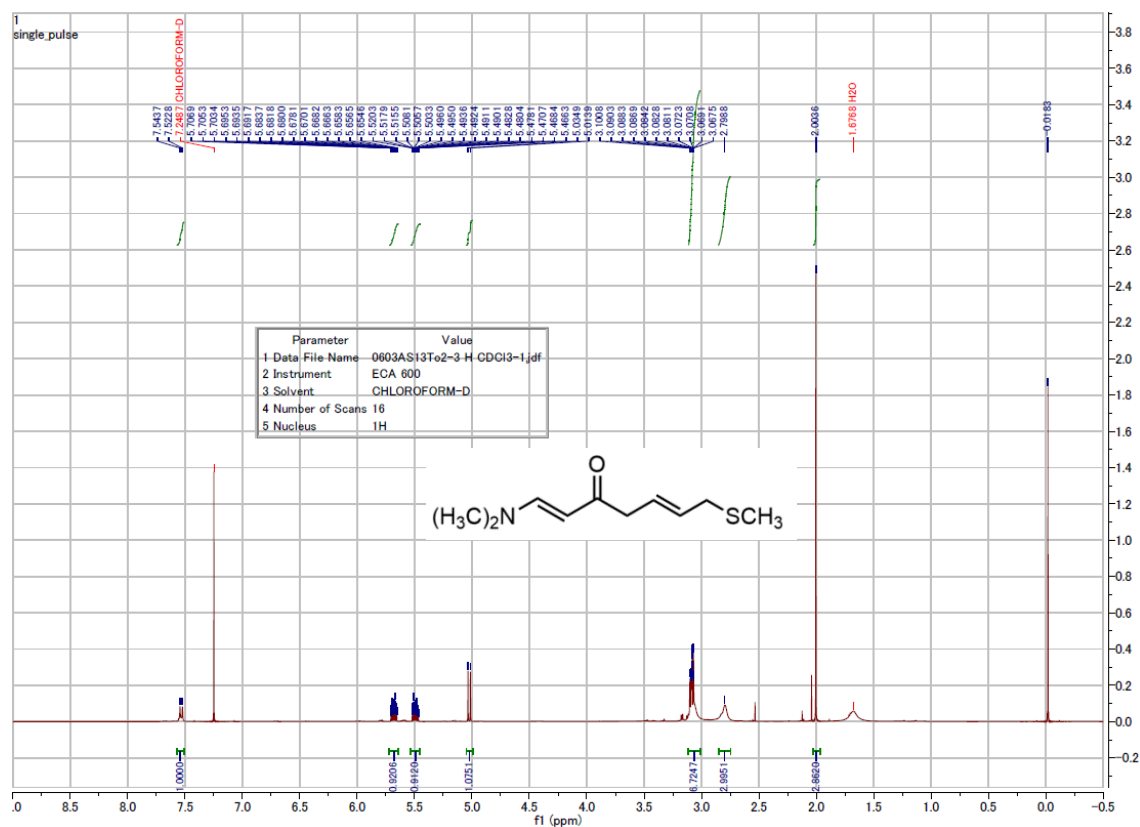


HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **23**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

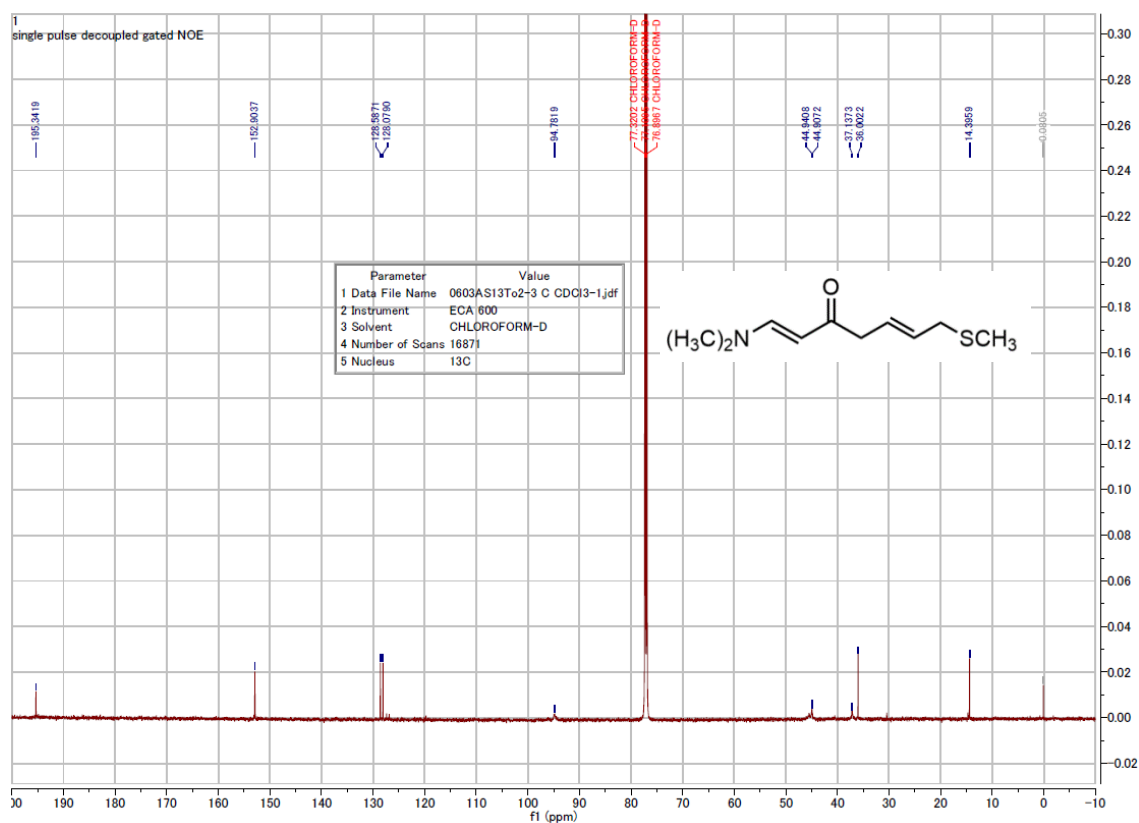


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **23**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

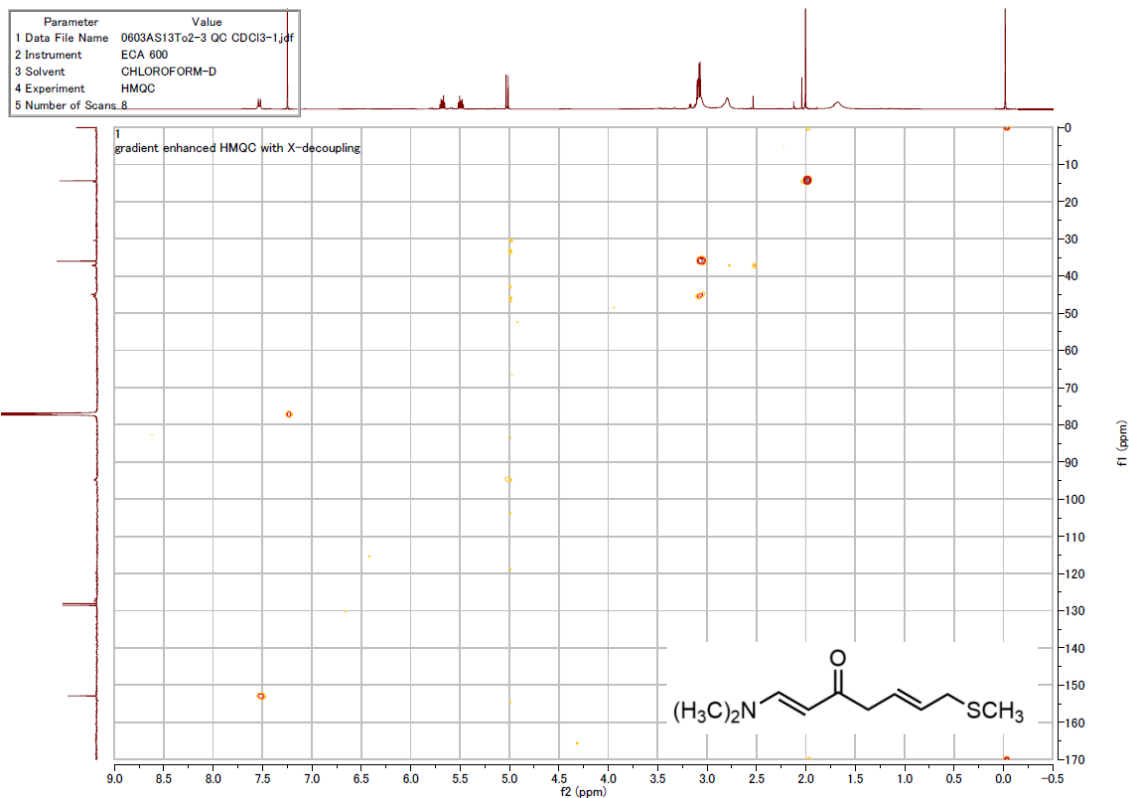
NMR spectroscopic data of **24**



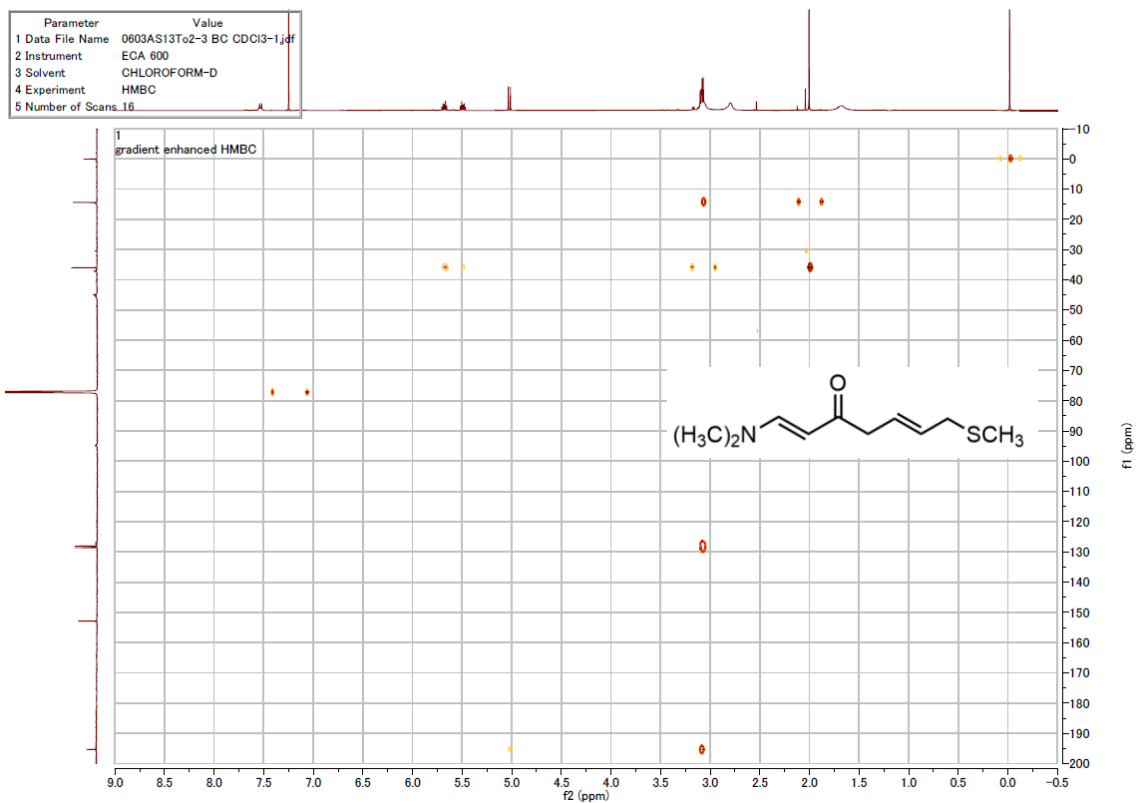
$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz) spectroscopic data of **24**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



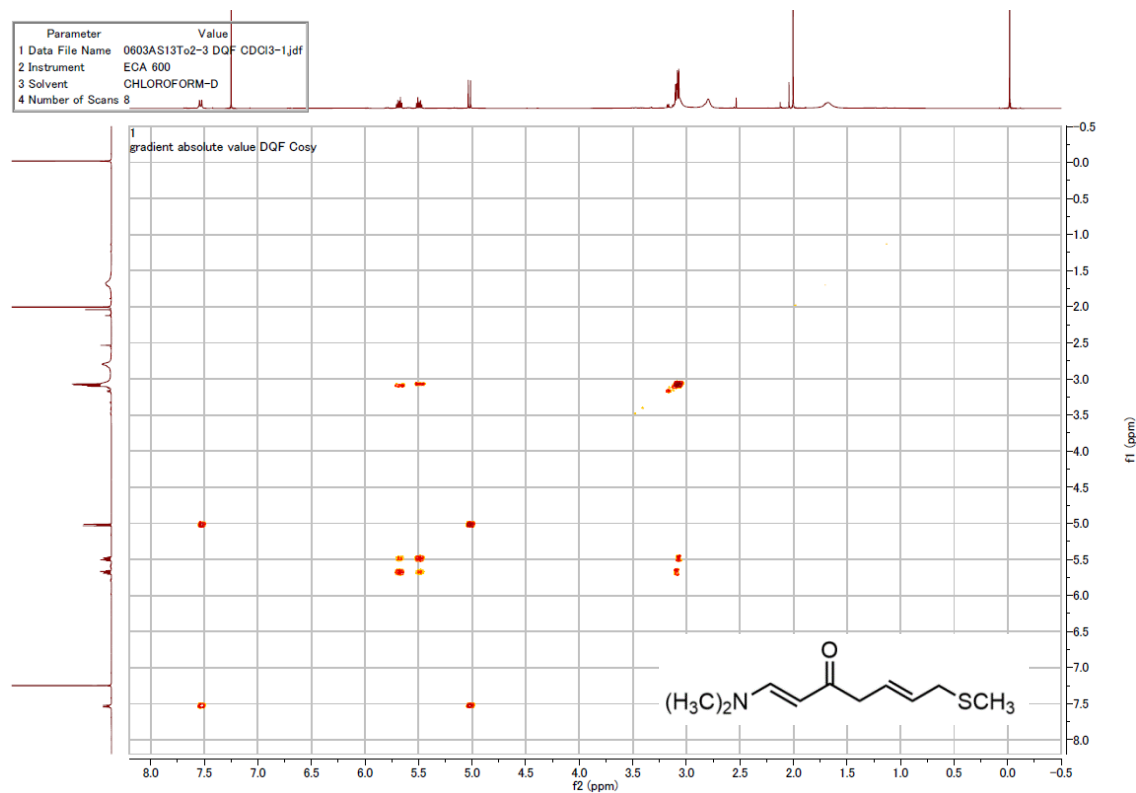
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz) spectroscopic data of **24**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



HMQC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **24**. Measured in  $\text{CDCl}_3$ .



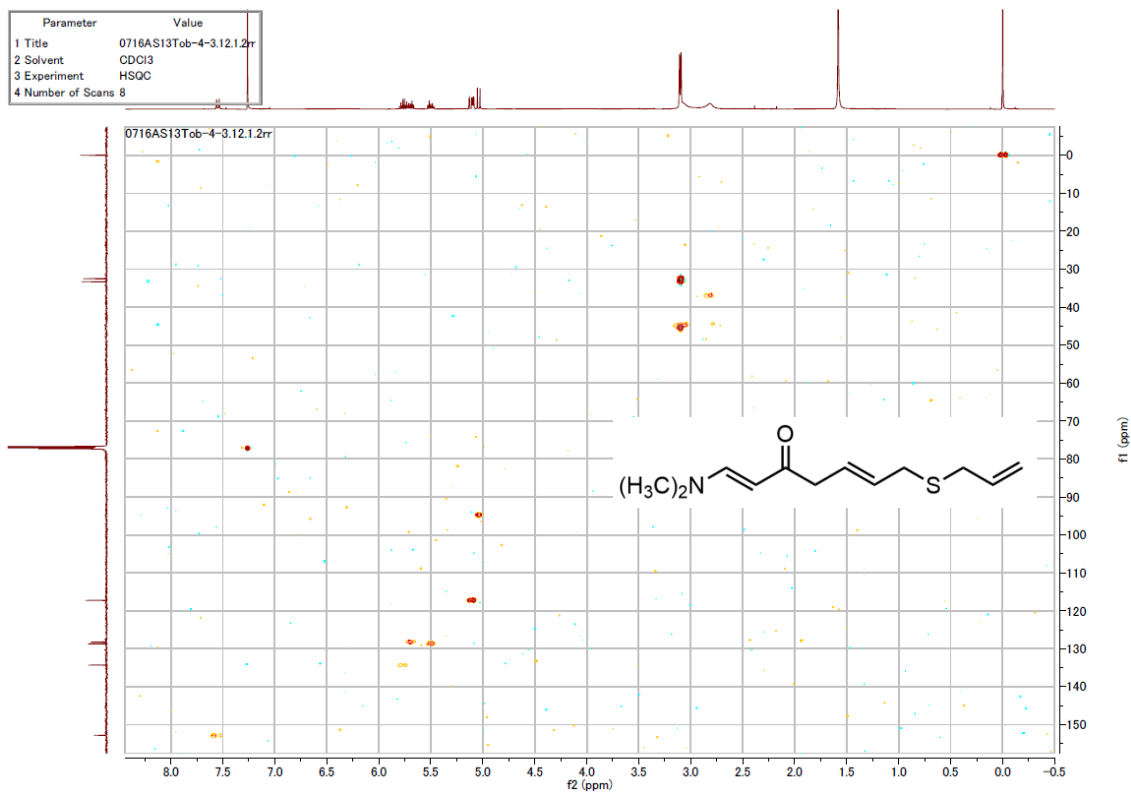
HMBC NMR (600 MHz) spectroscopic data of **24**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



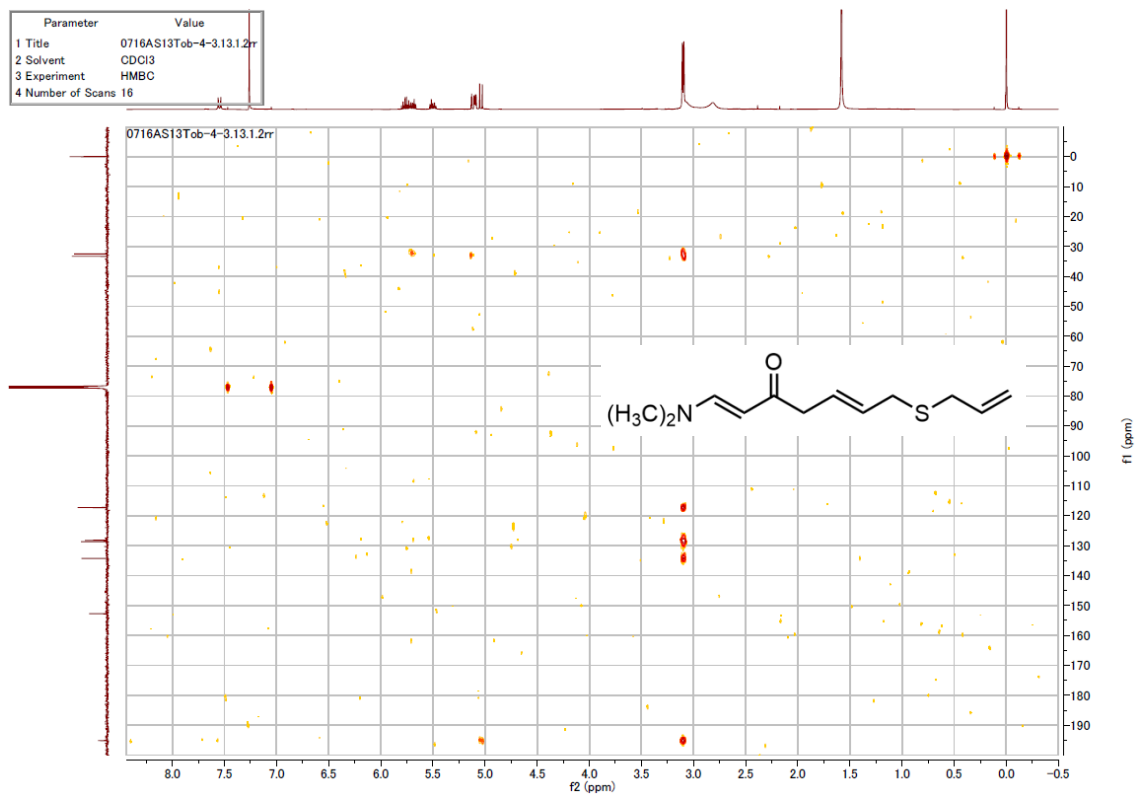
COSY NMR (600 MHz) spectroscopic data of **24**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



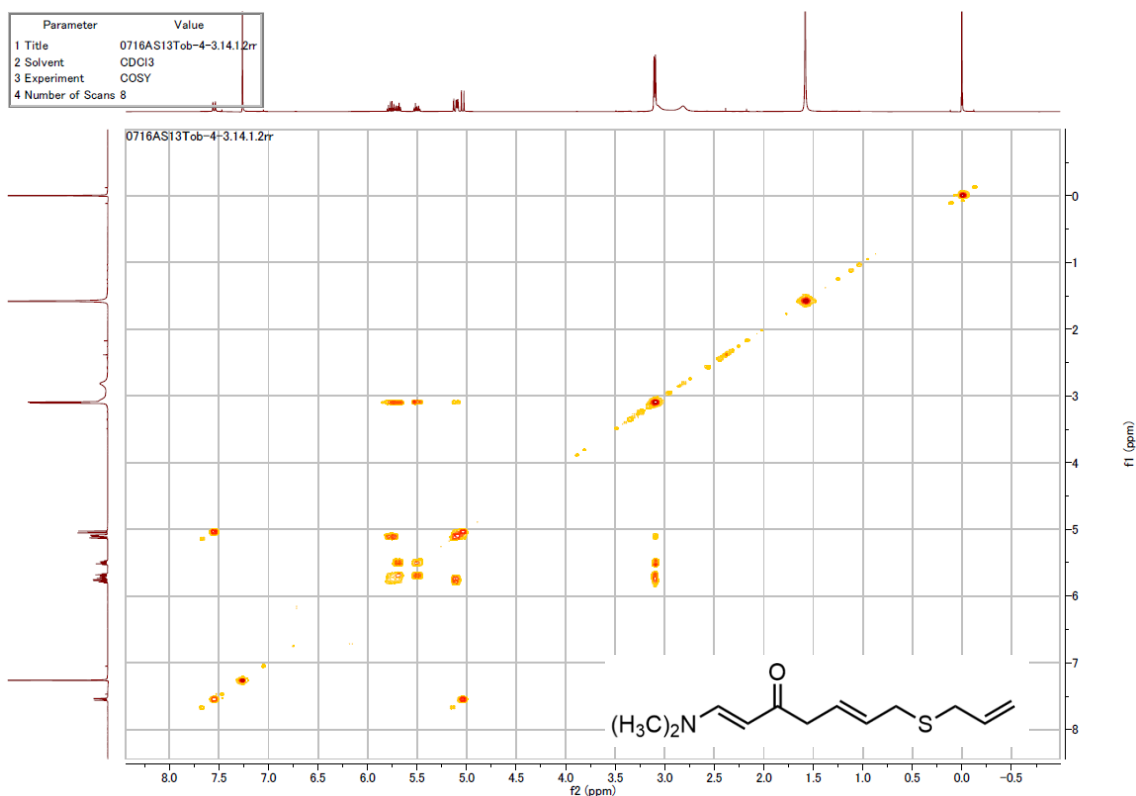




HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **25**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

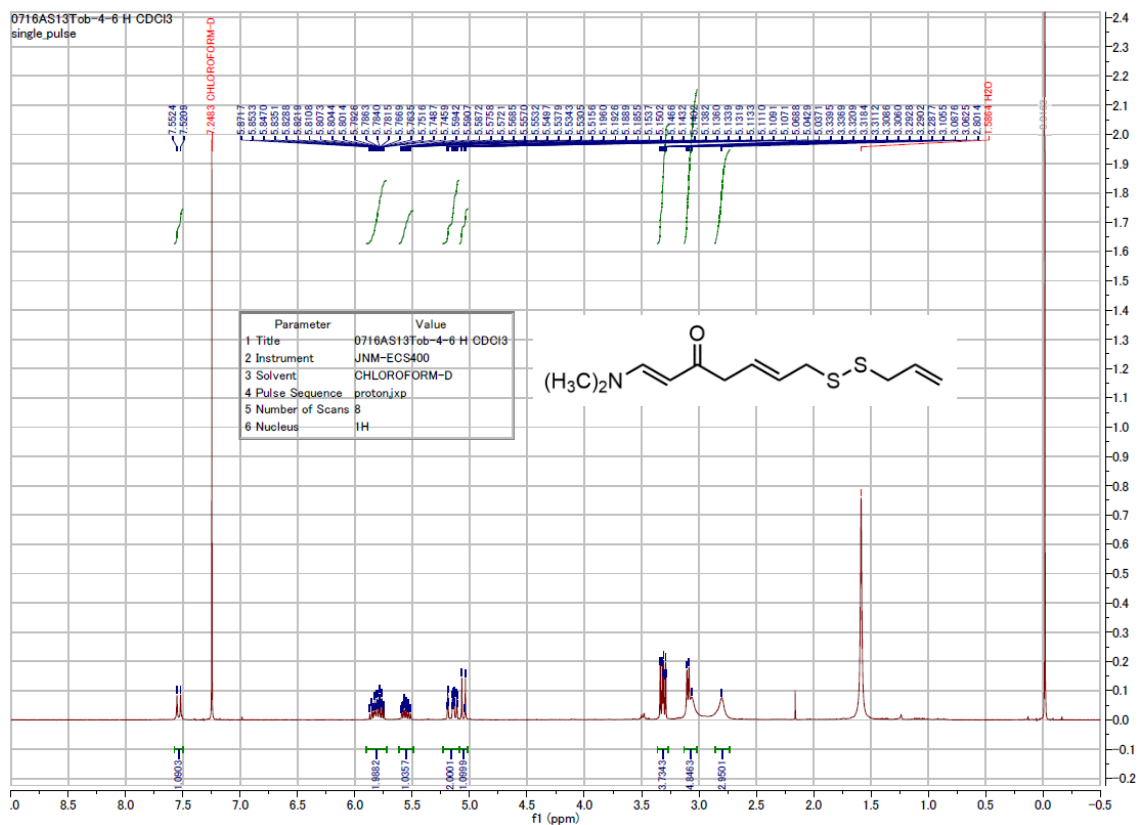


HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **25**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

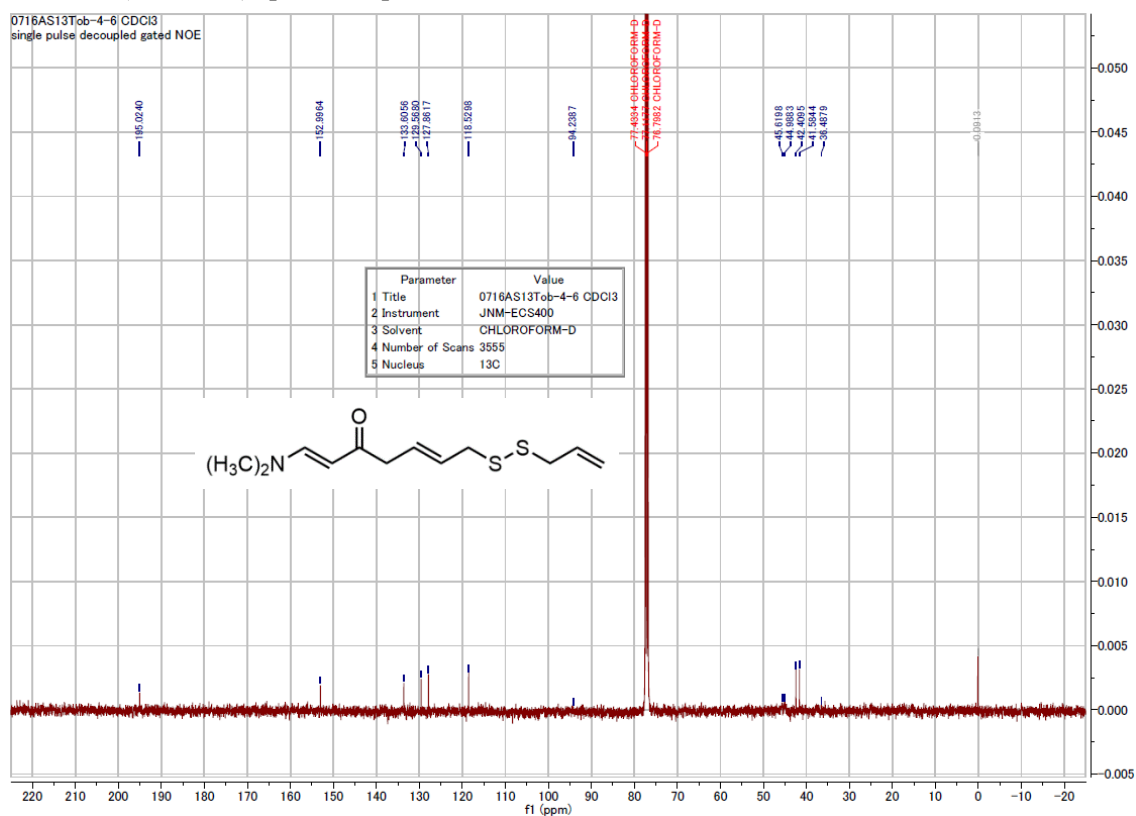


COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **25**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

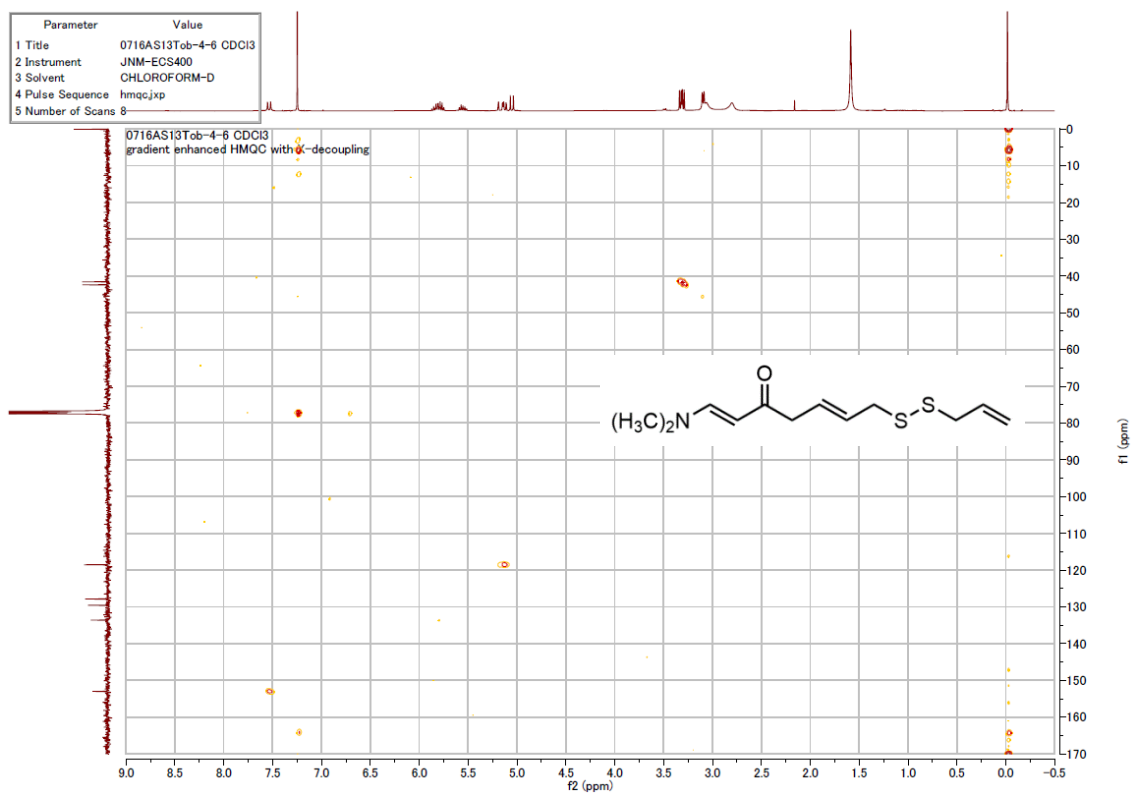
NMR spectroscopic data of **26**



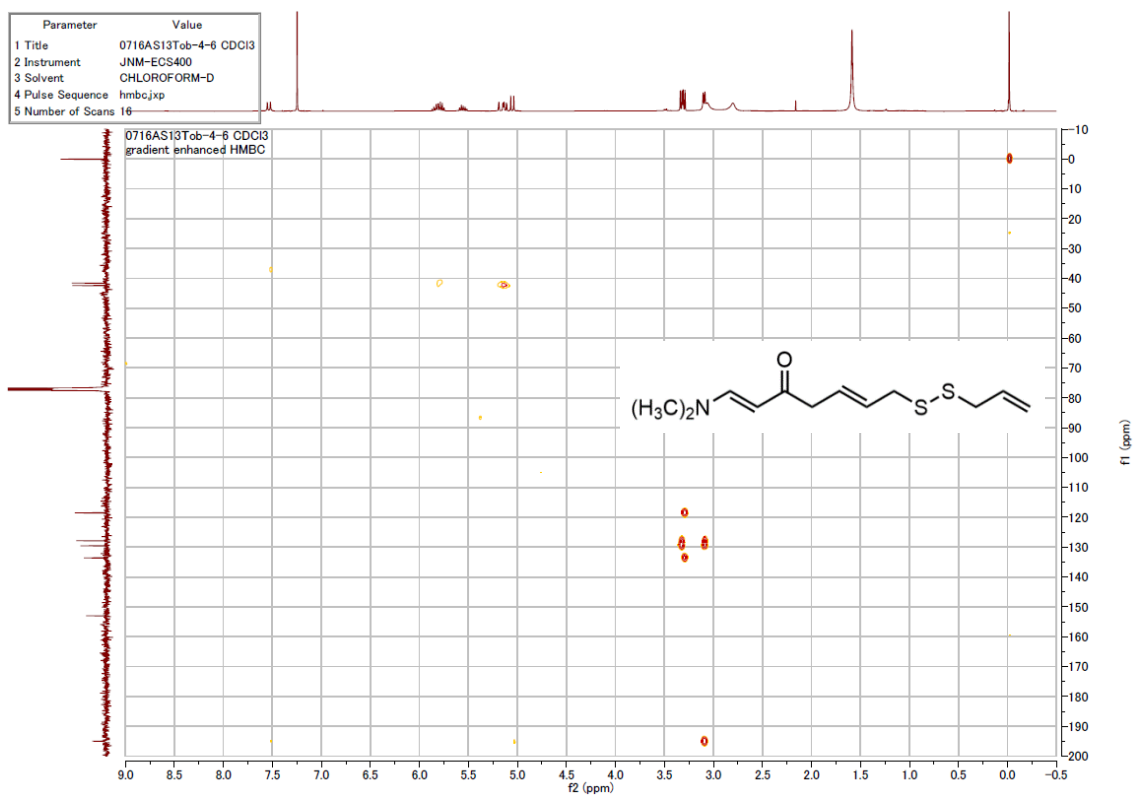
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) spectroscopic data of **26**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



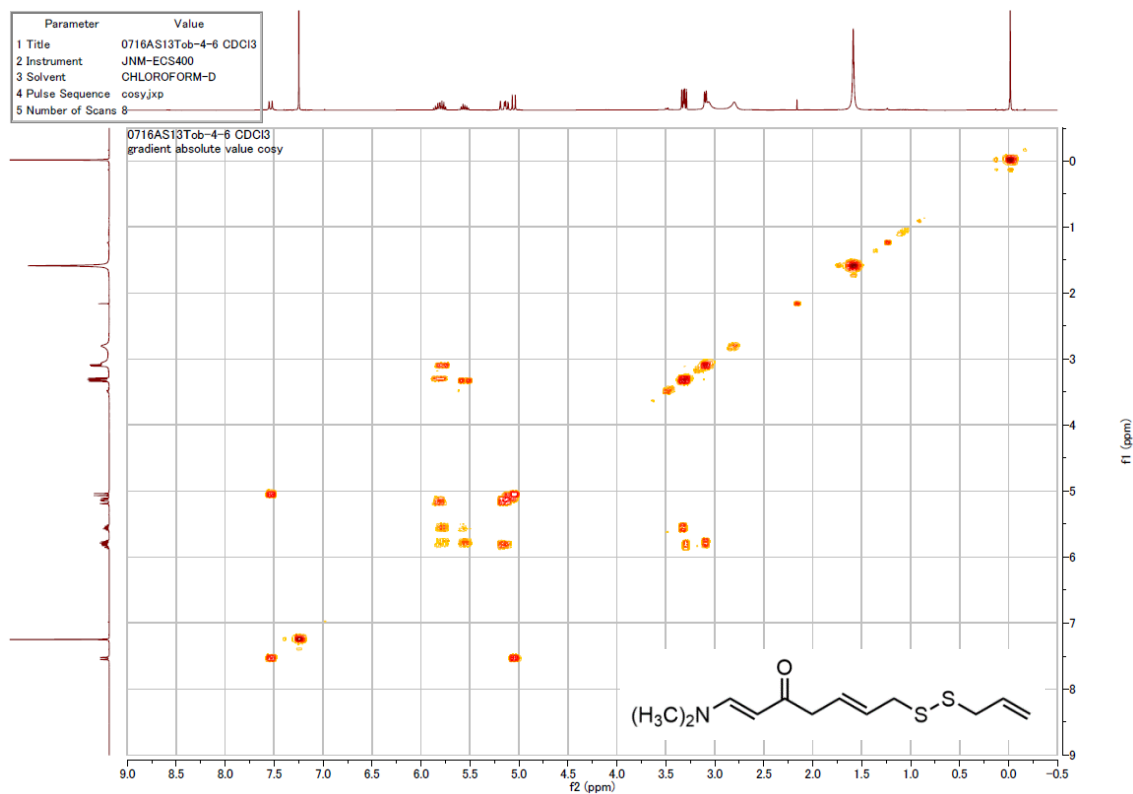
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of **26**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **26**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

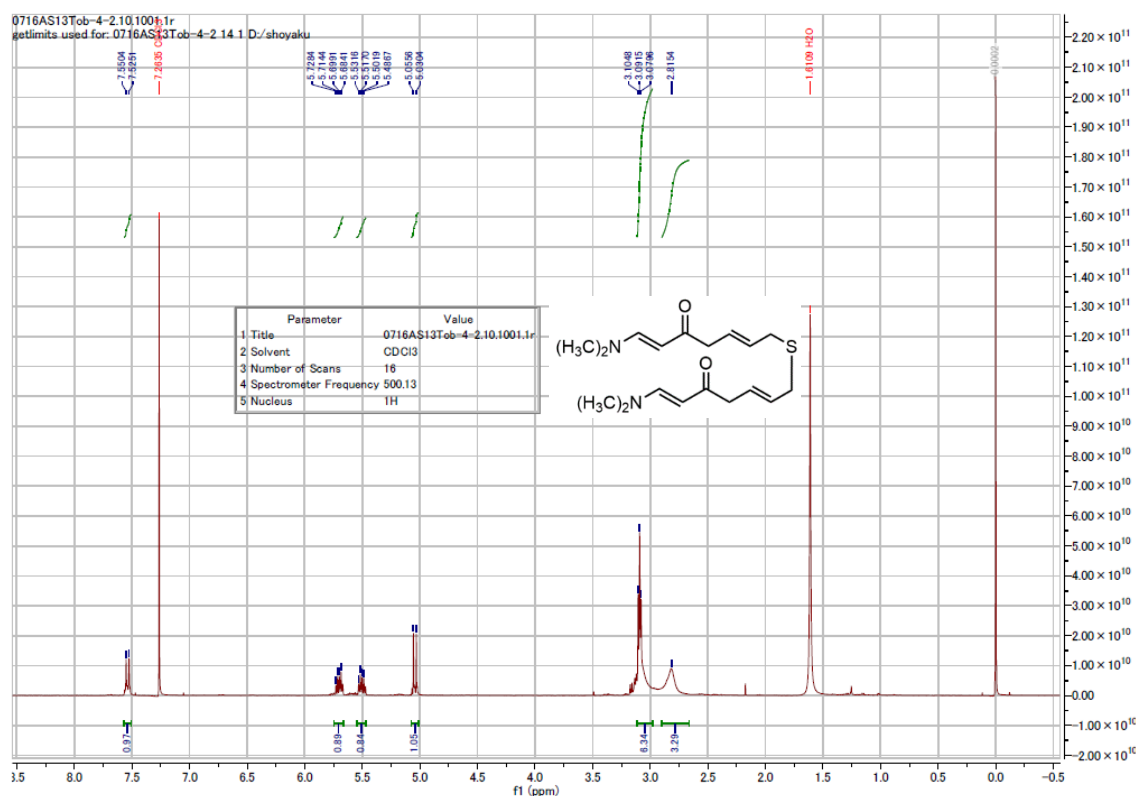


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **26**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

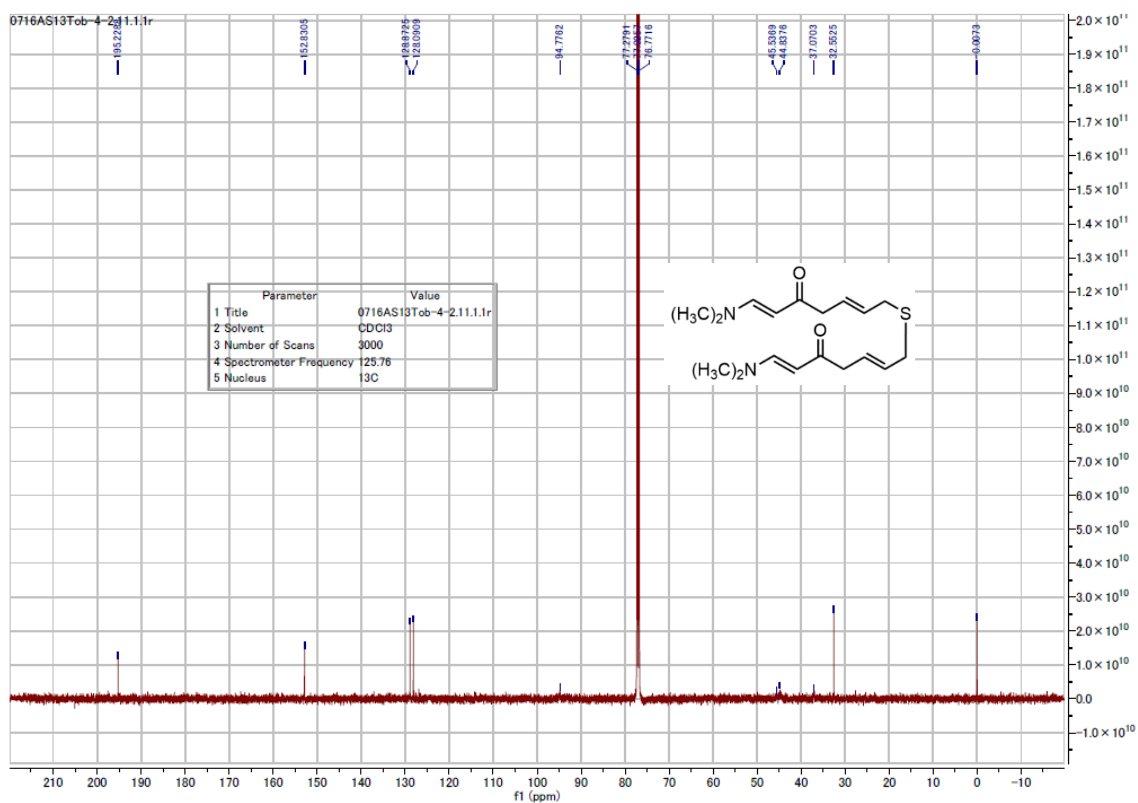


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **26**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

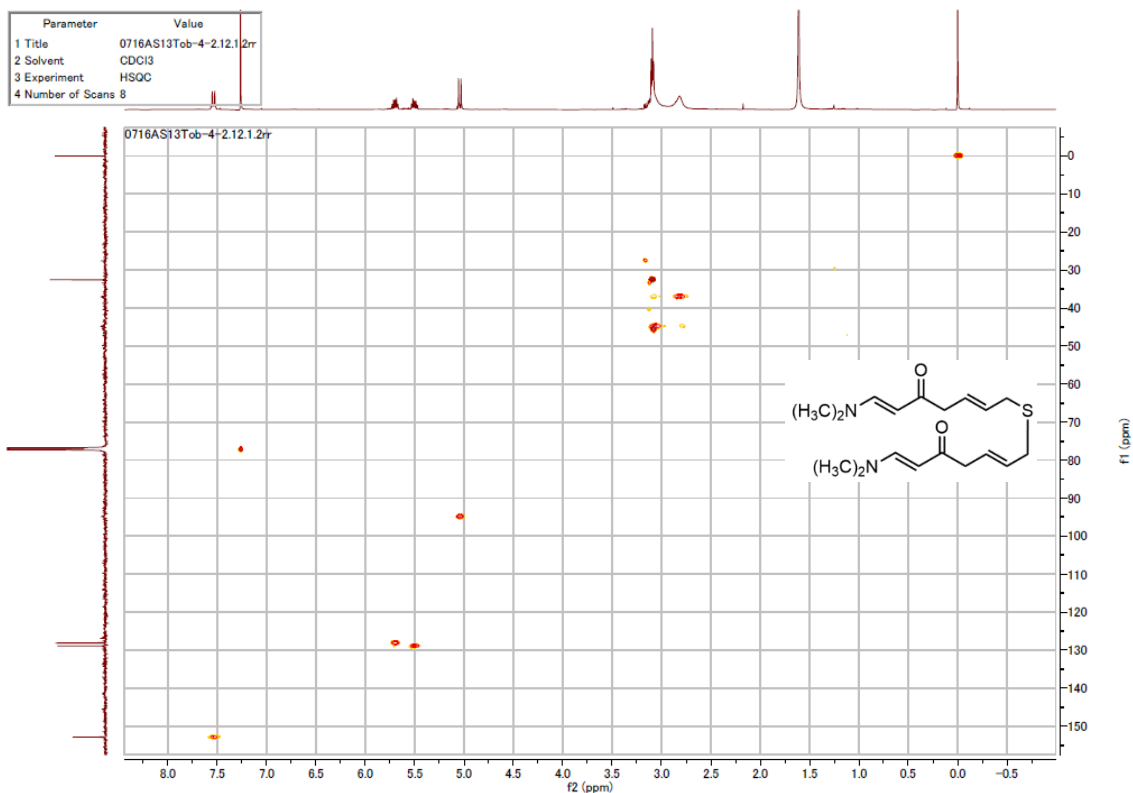
## NMR spectroscopic data of 27



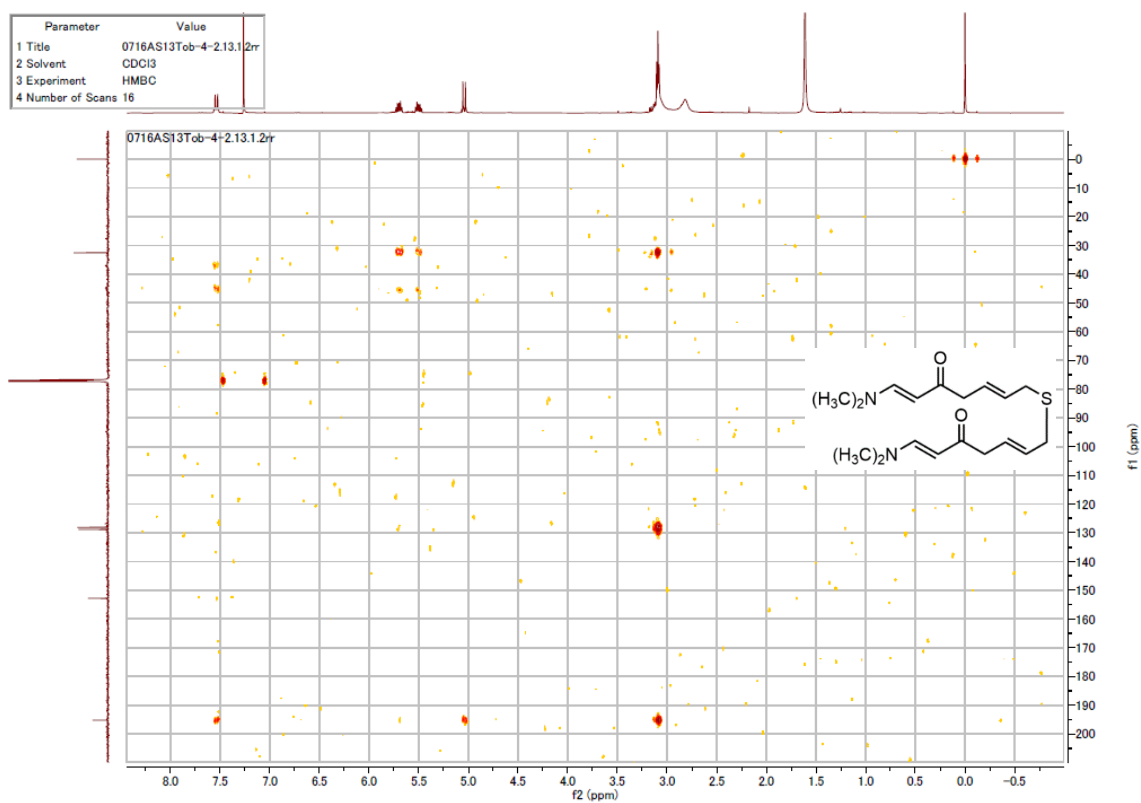
## <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz) spectroscopic data of 27. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



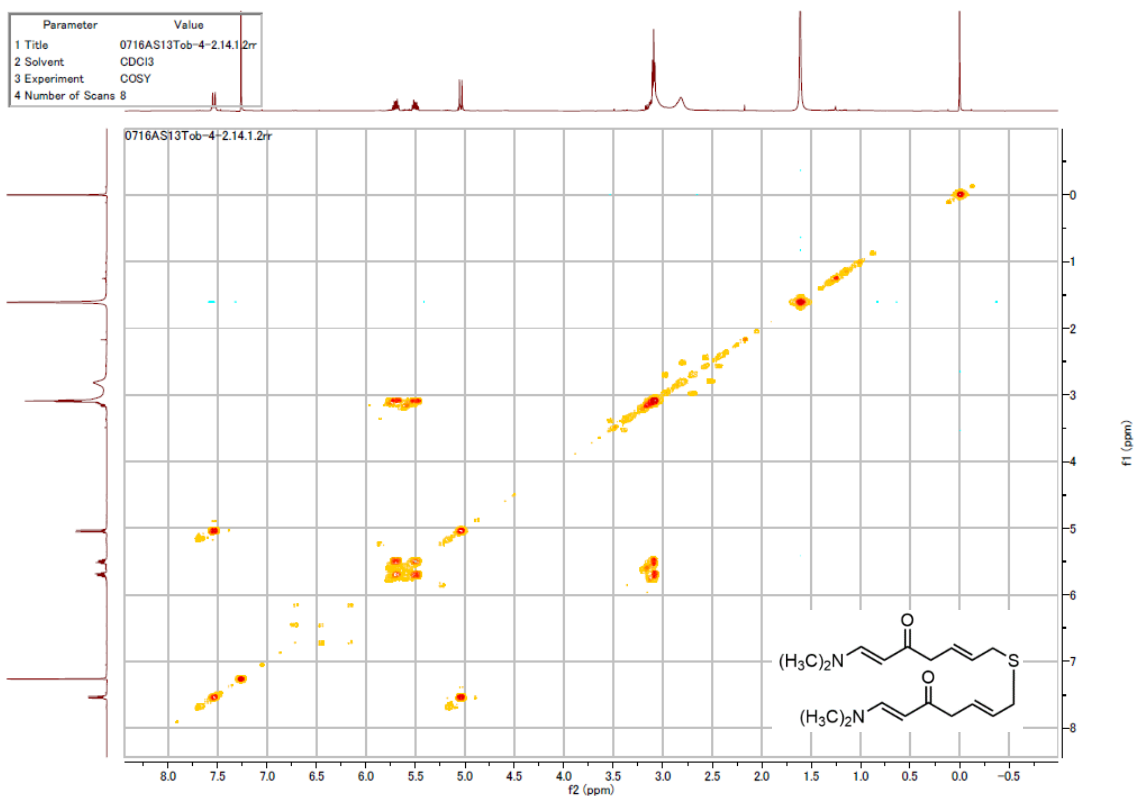
## <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz) spectroscopic data of 27. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMQC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **27**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

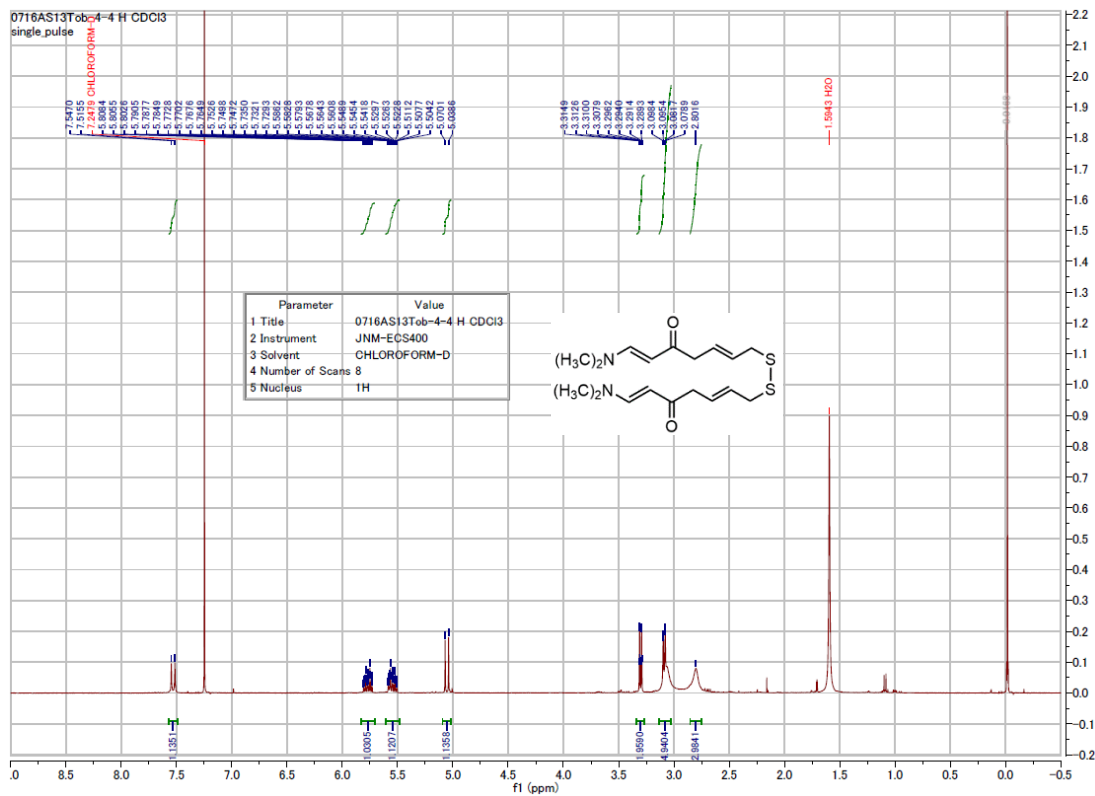


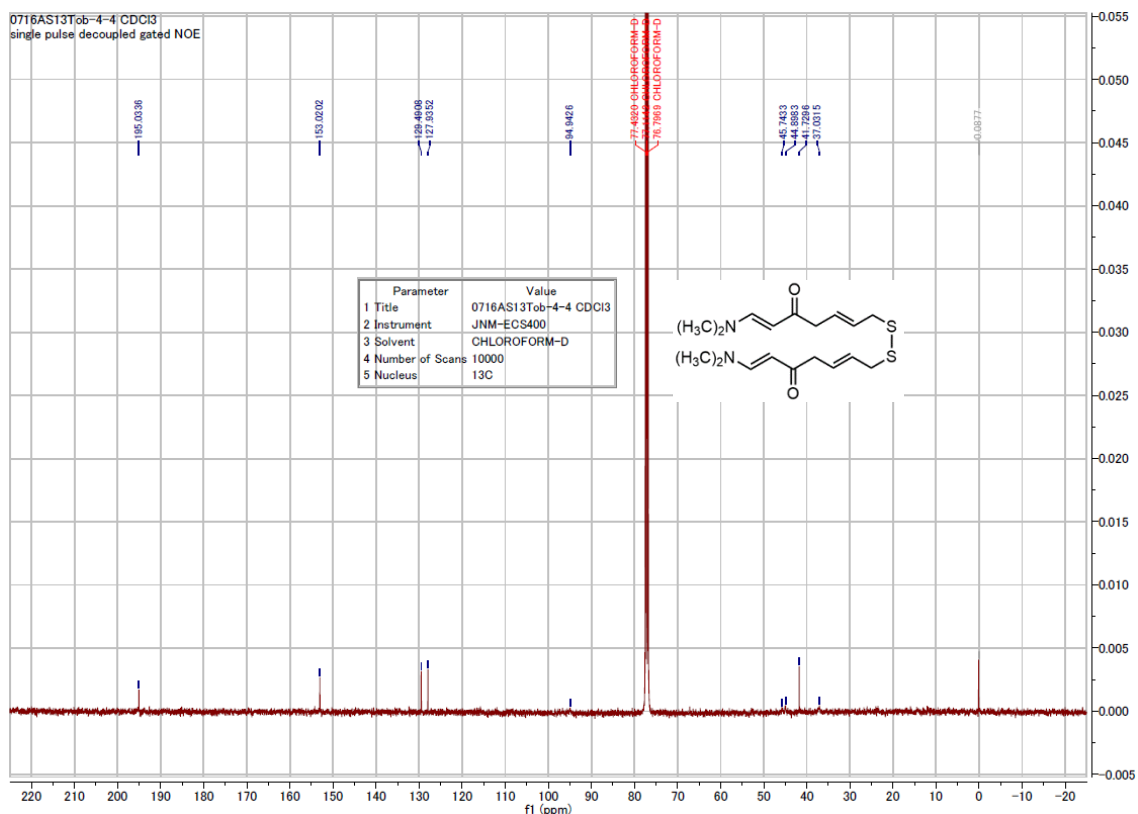
HMBC NMR (500 MHz) spectroscopic data of **27**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



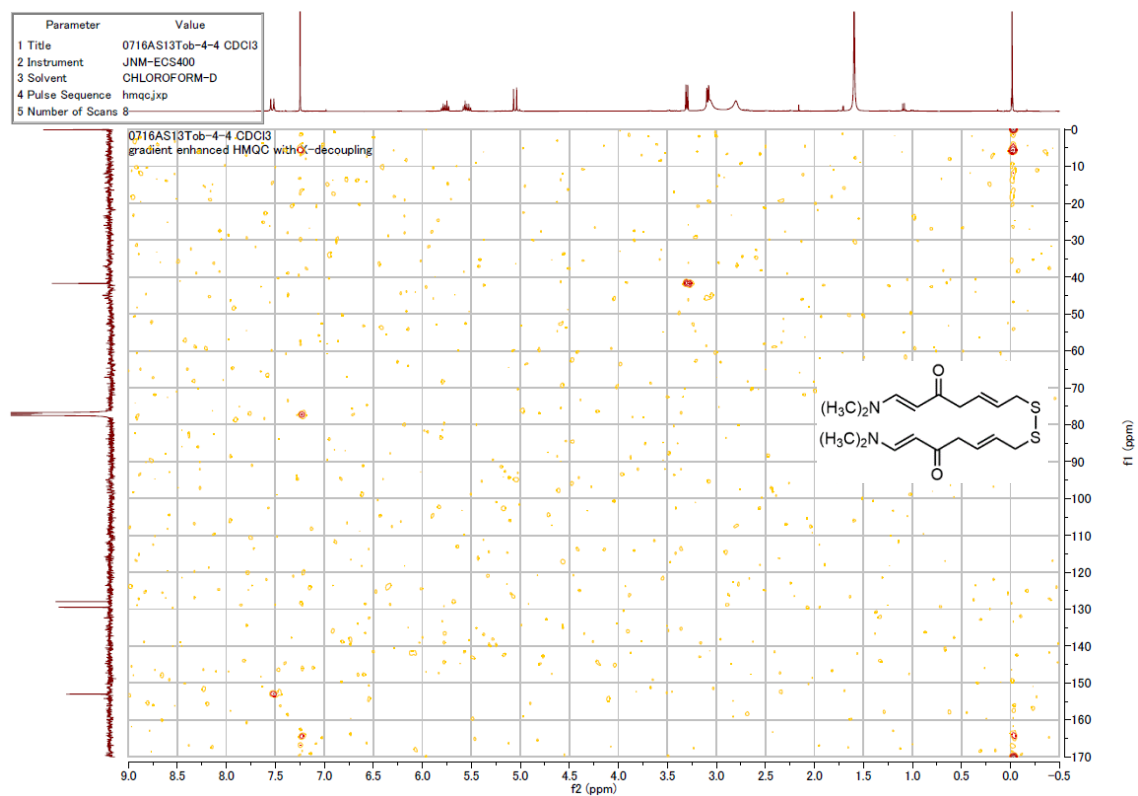
COSY NMR (500 MHz) spectroscopic data of **27**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

NMR spectroscopic data of **28**



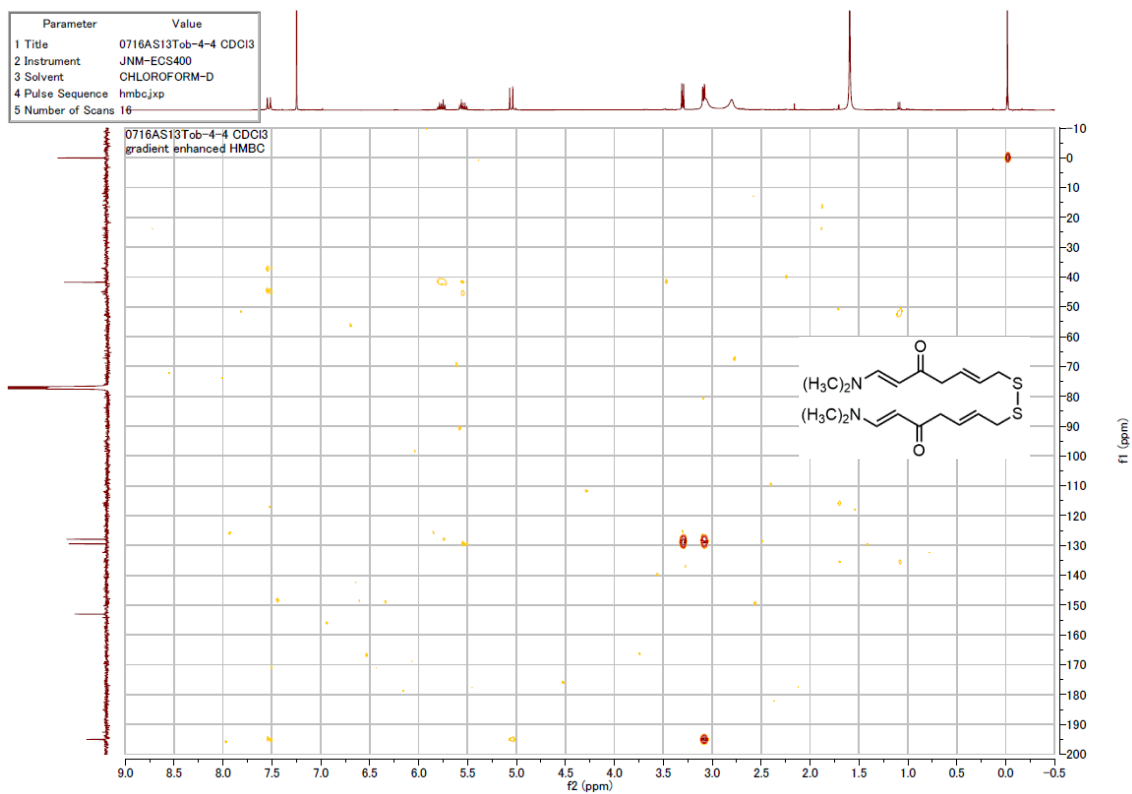


<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of **28**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

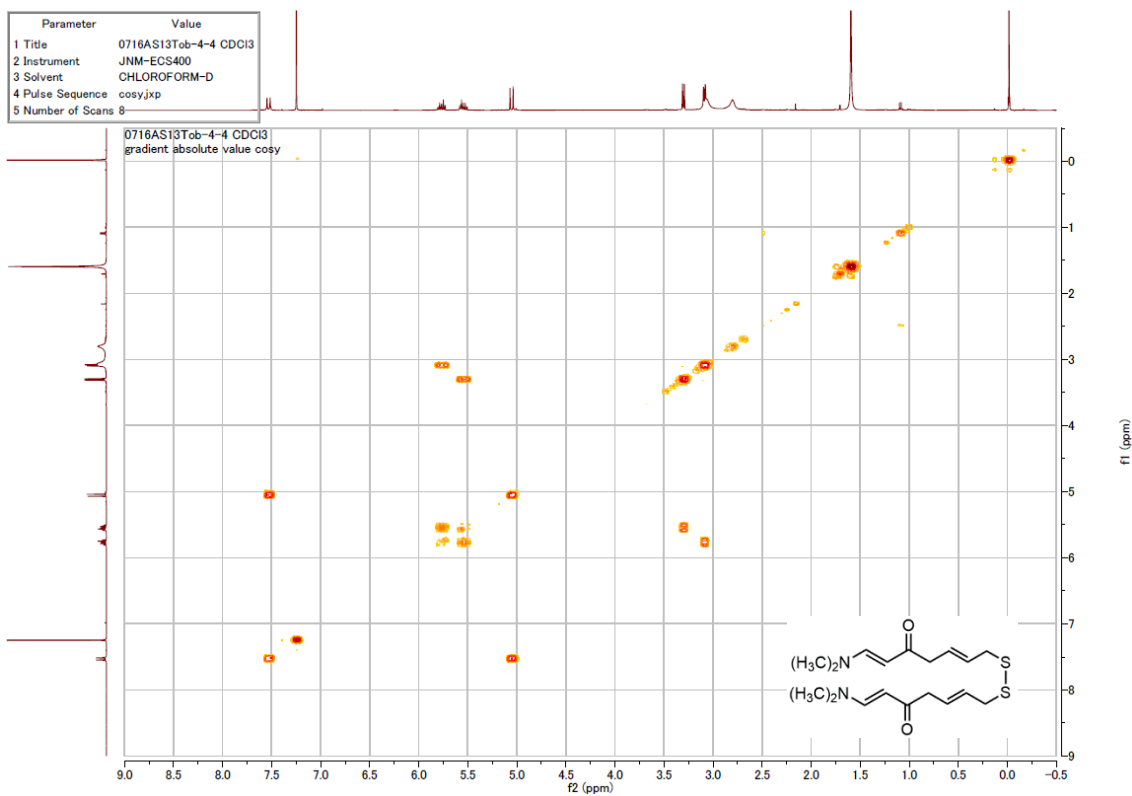


HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **28**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



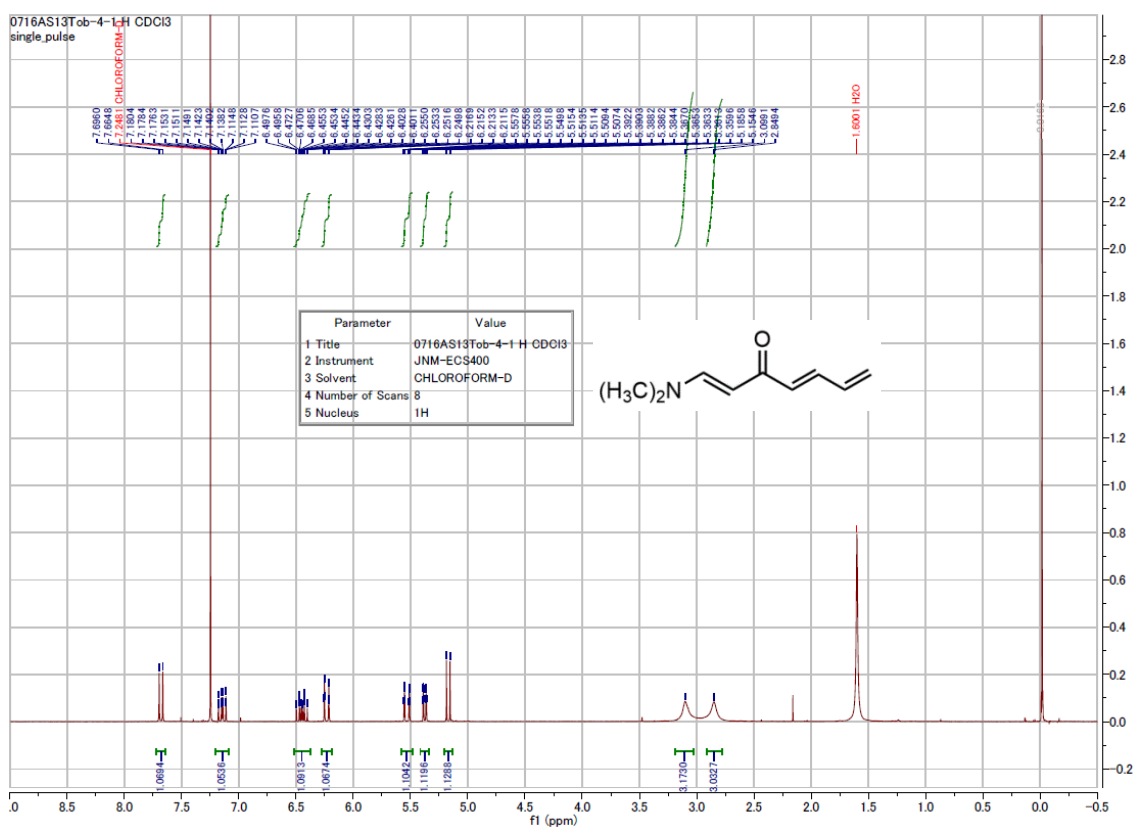


HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **28**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

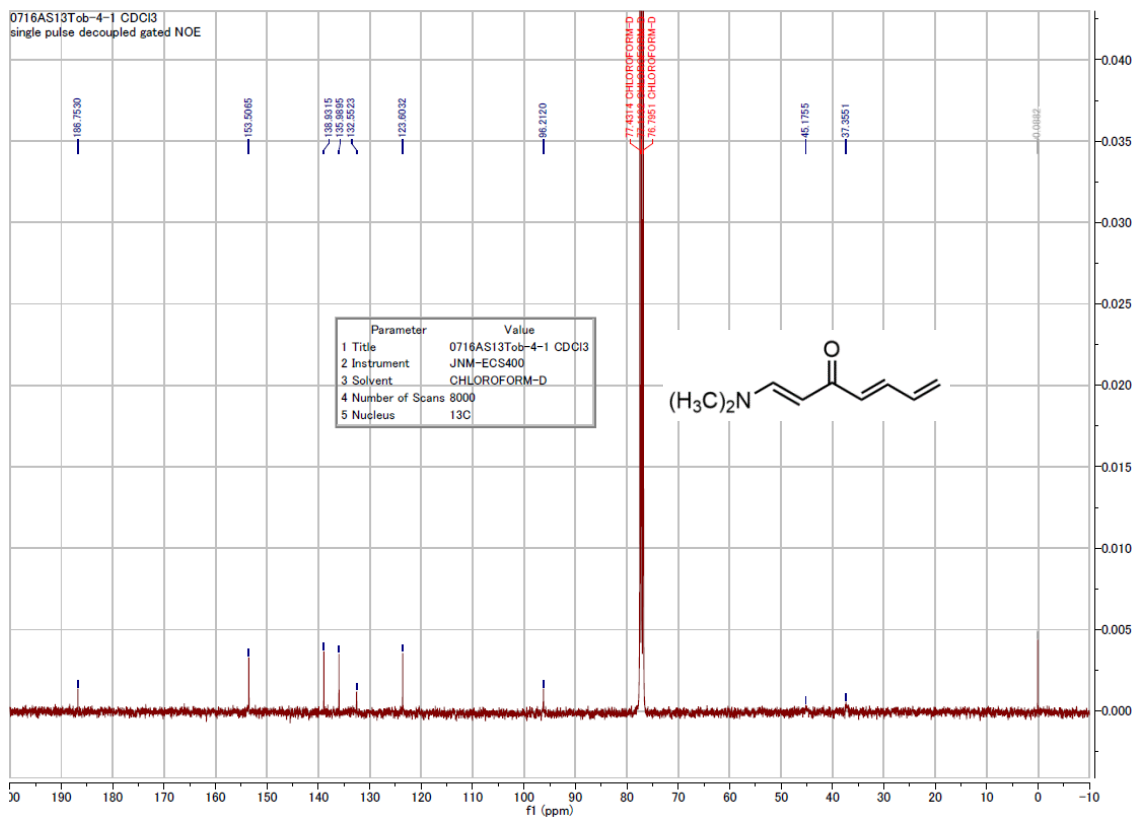


COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **28**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

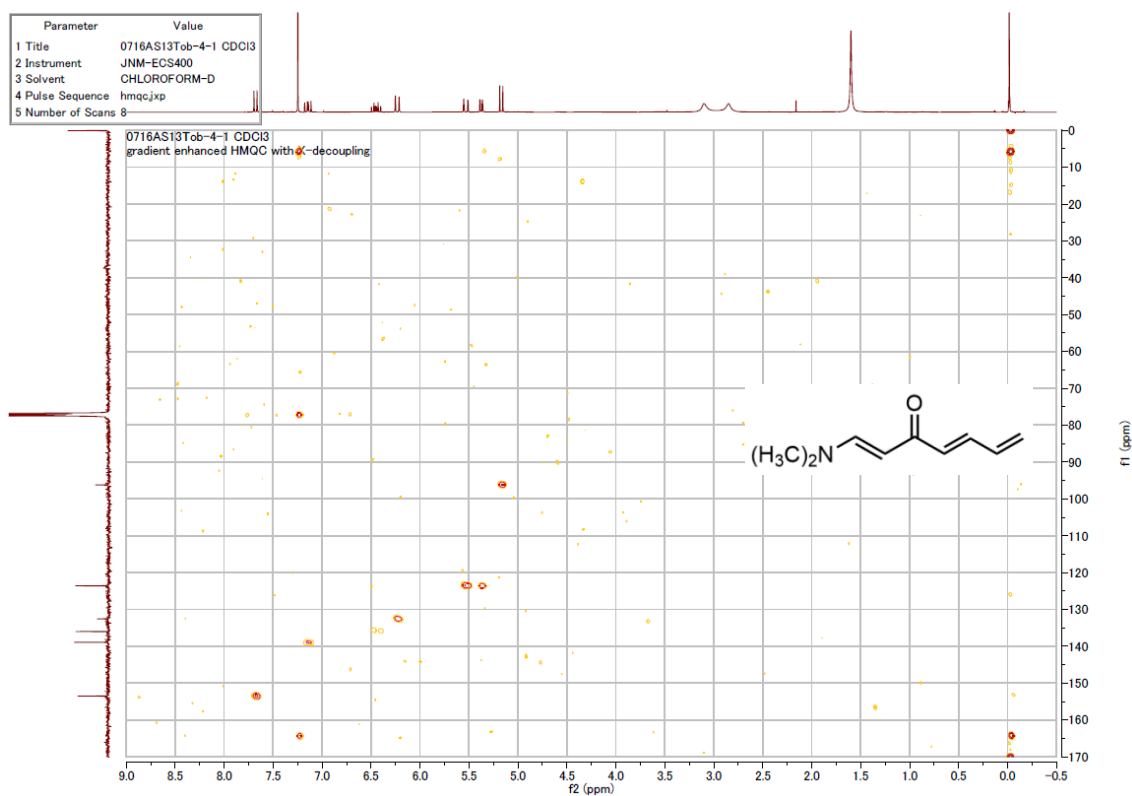
**<sup>1</sup>H-NMR spectroscopic data of 29**



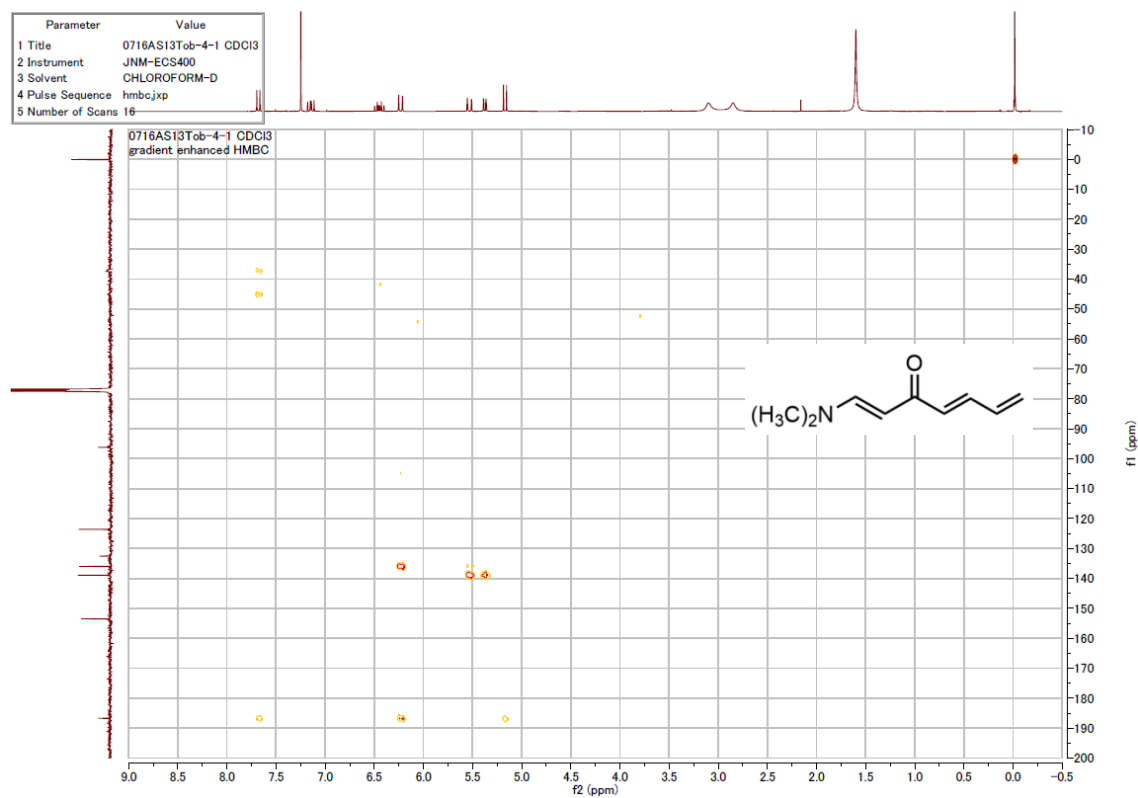
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) spectroscopic data of 29. Measured in CDCl<sub>3</sub>.**



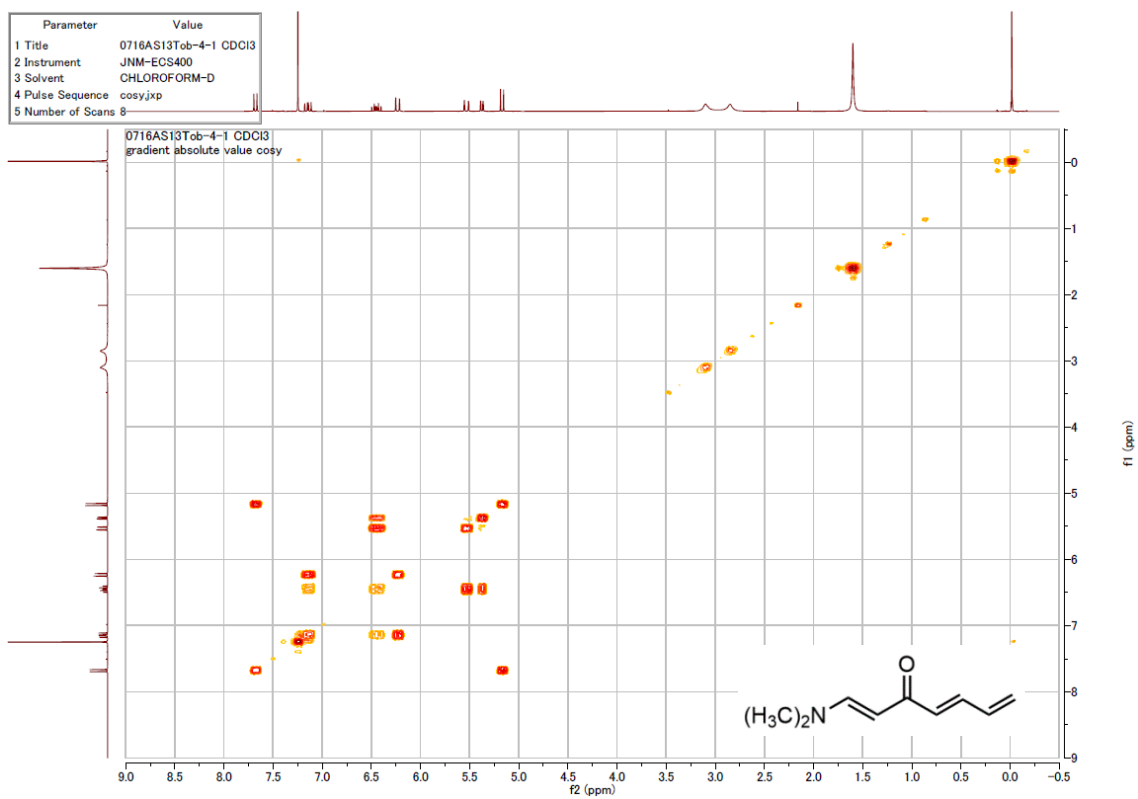
**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz) spectroscopic data of 29. Measured in CDCl<sub>3</sub>.**



HMQC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **29**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



HMBC NMR (400 MHz) spectroscopic data of **29**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.



COSY NMR (400 MHz) spectroscopic data of **29**. Measured in CDCl<sub>3</sub>.

## 第二章の実験

### 第一節の実験

#### 細胞培養

ヒト神経膠芽腫細胞株 U-251MG およびヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 は、American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA) から購入した。U-251MG は、ダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM) / 低グルコース (富士フィルム和光純薬, 大阪, 日本) で培養した。MDA-MB-231 は、DMEM/高グルコース (富士フィルム和光純薬) で培養した。各培地には、10% ウシ胎児血清 (fetal bovine serum, FBS; Sigma-Aldrich, セントルイス, ミズーリ州, 米国) および 1% ペニシリン/ストレプトマイシン (PC/SM; 富士フィルム和光純薬) を含有した。

#### CSC および nonCSC の CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D 細胞生存率アッセイ

U-251MG および MDA-MB-231 の CSC は、先行報告に従い、<sup>58)</sup> スフィア形成法によって調製した。すなわち、細胞は超低接着 96 穴プレート (Corning International, コーニング, ニュージャージー州, 米国) 上で 2% B-27 [B-27<sup>®</sup> Serum-Free Supplement (50×); Thermo Fisher Scientific], 20 ng / mL 上皮成長因子 (epidermal growth factor, EGF; Peprotech, ロッキーヒル, ニュージャージー州, 米国), 20 ng / mL 塩基性繊維芽細胞成長因子 (basic fibroblast growth factor, b-FGF; Peprotec) および 1% PC / SM を含む DMEM / F12 (Thermo Fisher Scientific, ウォルサム, マサチューセッツ州, 米国) で 7 日間培養した。細胞は、1 穴あたり  $3.0 \times 10^3$  cells / 90  $\mu$ L の密度で超低接着 96 ウェルプレートに播種し、播種後 24 時間で試験化合物 (1 穴あたり 10  $\mu$ L) で処理した。スフィアの形成は倒立顕微鏡下で確認した。6 日後、細胞を含む培地を 96 穴ホワイトプレート (96F Nunclon TM Delta White Microwell SI; Thermo Fisher Scientific) に移した。DMEM / F12 で 10 倍に希釈した CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D 試薬 (Promega, マディソン, ウィスコンシン州, 米国) を 1 穴あたり 100  $\mu$ L 添加し、室温で 5 分間振とうして混合した後、37  $^{\circ}$ C で 25 分間インキュベートした。発光はルミノメーター (GloMax<sup>®</sup> Discover System; Promega) で測定した。

nonCSC は、1 穴あたり細胞を  $3.0 \times 10^3$  cells / 90  $\mu$ L の密度で 96 ウェルプレートに播種し、播種の 24 時間後に試験化合物 (1 穴あたり 10  $\mu$ L) で処理しました。3 日後、CSC と同様に 96 ウェルホワイトプレートを使用して CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D 試薬を用いた細胞生存率の評価を行った。

#### 統計解析

統計解析は、GraphPad Prism 8.21 を使用して実行されました。統計解析は、一元配置分散分析 (ANOVA) と、それに続く治療群間の差異を分析するための Tukey-Kramer または Dunnett 検定により行った。 $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ , または  $***P < 0.001$  の場合、差は有意であると見なした。

## 第二節の実験

### 化合物 3a および 16 の $^1\text{H}$ NMR スペクトルを利用した定量分析

NMR スペクトルは、JEOL JNM-ECS400 (日本電子, 東京, 日本) で測定した. 合計 8 回のスキャンが実行され, 測定パラメータは Table 10 の通りとした. スペクトルの解析は, JEOL Delta v5.0.3 および MestReNova を使用し, 位相補正は自動で実行した.

分析用サンプルは, 定量分析用化合物 (4.8  $\mu\text{mol}$ ) および内標準物質 dimethyl sulfone ( $\text{DMSO}_2$ , 4.8  $\mu\text{mol}$ ) を  $\text{DMSO}-d_6$  (0.6 mL) に溶解することで調整した. サンプル調整後, 即座に  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを測定した後, サンプルを 60  $^\circ\text{C}$  にて保管した. 7 日後, 再度  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを測定し, 定量分析を行った.  $\text{CD}_3\text{OD}$  を測定溶媒とした際には DSS- $d_6$  Reference Material [Sodium 3-(trimethylsilyl)-1-propane-1,1,2,2,3,3- $d_6$ -sulfonate] (1.2  $\mu\text{mol}$  / 0.6 mL) を内標準物質として同様の操作を行った.

P

Table 10.

パラメータ	設定値
x_domain	$^1\text{H}$
x_sweep	15 ppm
scan	8
x_acquisition_time	2.73 sec
x_resolution	0.366 Hz
x_point	16384
x_angle	90 deg
relaxation_delay	60 sec

## 引用文献

1. Huigens, R. W.; Morrison, K. C.; Hicklin, R. W.; Timothy, T. A.; Richter, M. F.; Hergenrother, P. J. A Ring-Distortion Strategy to Construct Stereochemically Complex and Structurally Diverse Compounds from Natural Products. *Nat. Chem.* **2013**, *5* (3), 195–202.
2. Ciardiello, J. J.; Stewart, H. L.; Sore, H. F.; Galloway, W. R. J. D.; Spring, D. R. A Novel Complexity-to-Diversity Strategy for the Diversity-Oriented Synthesis of Structurally Diverse and Complex Macrocycles from Quinine. *Bioorganic Med. Chem.* **2017**, *25* (11), 2825–2843.
3. Srinivasulu, V.; Sieburth, S. M.; Khanfar, M. A.; Abu-Yousef, I. A.; Majdalawieh, A.; Ramanathan, M.; Sebastian, A.; Al-Tel, T. H. Stereoselective Late-Stage Transformations of Indolo[2,3- a ]Quinolizines Skeleta to Nature-Inspired Scaffolds. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (18), 12872–12885.
4. Stoll, A.; Seebeck, E. Die Synthese Des Natürlichen Alliins Und Seiner Drei Optisch Aktiven Isomeren. 5. Mitteilung Über Allium-Substanzen. *Helv. Chim. Acta* **1951**, *34* (2), 481–487.
5. Block, E. The Organosulfur Chemistry of the Genus Allium - Implications for the Organic Chemistry of Sulfur. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1992**, *31* (9), 1135–1178.
6. Chester J. Cavallito, John Hays Bailey. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, Physical properties and antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 1950–1951.
7. Chester J. Cavallito, Johannes S. Buck, C.M. Suter. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. II. Determination of the chemical structure. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 1952–1954.
8. Block, E.; Ahmad, S.; Jain, M. K.; Crecely, R. W.; Apitz-Castro, R.; Cruz, M. R. (E,Z)-Ajoene: A Potent Antithrombotic Agent from Garlic. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106* (26), 8295–8296.
9. Bayer, T.; Breu, W.; Seligmann, O.; Wray, V.; Wagner, H. Biologically Active Thiosulphinates and  $\alpha$ -Sulphinyl disulphides from *Allium Cepa*. *Phytochemistry* **1989**, *28* (9), 2373–2377.
10. Morimitsu, Y.; Kawakishi, S. Inhibitors of Platelet Aggregation from Onion. *Phytochemistry* **1990**, *29* (11), 3435–3439.
11. El-Aasr, M.; Fujiwara, Y.; Takeya, M.; Ikeda, T.; Tsukamoto, S.; Ono, M.; Nakano, D.; Okawa, M.; Kinjo, J.; Yoshimitsu, H.; Nohara, T. Onionin A from *Allium Cepa* Inhibits Macrophage Activation. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73* (7), 1306–1308.
12. Nohara, T.; Fujiwara, Y.; Kudo, R.; Yamaguchi, K.; Ikeda, T.; Murakami, K.; Ono, M.; Kajimoto, T.; Takeya, M. Isolation and Characterization of New Onionins A2 and A3 from *Allium Cepa*, and of Onionins A1, A2, and A3 from *Allium Fistulosum*. *Chem. Pharm. Bull.* **2014**, *62* (11), 1141–1145.
13. Ono, M.; Fujiwara, Y.; Ikeda, T.; Pan, C.; El-Aasr, M.; Lee, J. H.; Nakano, D.; Kinjo, J.; Nohara, T. Atypical Cyclic Sulfides, Garlicnins G, I, and J, Extracted from *Allium Sativum*. *Chem. Pharm. Bull.* **2017**, *65* (1), 102–106.
14. Fukaya, M.; Nakamura, S.; Kyoku, Y.; Nakashima, S.; Yoneda, T.; Matsuda, H. Cyclic Sulfur

- Metabolites from *Allium Schoenoprasum* Var. *Foliosum*. *Phytochem. Lett.* **2019**, *29* (September 2018), 125–128.
15. Fukaya, M.; Nakamura, S.; Nakagawa, R.; Nakashima, S.; Yamashita, M.; Matsuda, H. Rare Sulfur-Containing Compounds, Kujounins A1 and A2 and Allium Sulfoxide A1, from *Allium Fistulosum* “Kujou.” *Org. Lett.* **2018**, *20* (1), 28–31.
  16. Nakamura, S.; Nakashima, S.; Matsuda, H. Sulfur-Containing Compounds from Leaves of Allium Plants, . *J. Asian Assoc. Sch. Pharm.* **2021**, *10*, 1–8.
  17. Imai, S.; Akita, K.; Tomotake, M.; Sawada, H. Identification of Two Novel Pigment Precursors and a Reddish-Purple Pigment Involved in the Blue-Green Discoloration of Onion and Garlic. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (3), 843–847.
  18. Lee, D. W.; Lee, M. Y.; Ku, B.; Yi, S. H.; Ryu, J. H.; Jeon, R.; Yang, M. Application of the DataChip/MetaChip Technology for the Evaluation of Ajoene Toxicity in Vitro. *Arch. Toxicol.* **2014**, *88* (2), 283–290.
  19. Kaschula, C. H.; Hunter, R.; Stellenboom, N.; Caira, M. R.; Winks, S.; Ogunleye, T.; Richards, P.; Cotton, J.; Zilbeyaz, K.; Wang, Y.; Siyo, V.; Ngarande, E.; Parker, M. I. Structure-Activity Studies on the Anti-Proliferation Activity of Ajoene Analogues in WHCO1 Oesophageal Cancer Cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *50*, 236–254.
  20. Hunter, R.; Kaschula, C. H.; Parker, I. M.; Caira, M. R.; Richards, P.; Travis, S.; Taute, F.; Qwebani, T. Substituted Ajoenes as Novel Anti-Cancer Agents. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2008**, *18* (19), 5277–5279.
  21. Taylor, P.; Noriega, R.; Farah, C.; Abad, M. J.; Arsenak, M.; Apitz, R. Ajoene Inhibits Both Primary Tumor Growth and Metastasis of B16/BL6 Melanoma Cells in C57BL/6 Mice. *Cancer Lett.* **2006**, *239* (2), 298–304.
  22. Jung, Y.; Park, H.; Zhao, H. Y.; Jeon, R.; Ryu, J. H.; Kim, W. Y. Systemic Approaches Identify a Garlic-Derived Chemical, Z-Ajoene, as a Glioblastoma Multiforme Cancer Stem Cell-Specific Targeting Agent. *Mol. Cells* **2014**, *37* (7), 547–553.
  23. Yoo, D. Y.; Kim, W.; Nam, S. M.; Yoo, M.; Lee, S.; Yoon, Y. S.; Won, M. H.; Hwang, I. K.; Choi, J. H. Neuroprotective Effects of Z-Ajoene, an Organosulfur Compound Derived from Oil-Macerated Garlic, in the Gerbil Hippocampal CA1 Region after Transient Forebrain Ischemia. *Food Chem. Toxicol.* **2014**, *72*, 1–7.
  24. Ohta, R.; Yamada, N.; Kaneko, H.; Ishikawa, K.; Fukuda, H.; Fujino, T.; Suzuki, A. In Vitro Inhibition of the Growth of *Helicobacter Pylori* by Oil-Macerated Garlic Constituents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43* (7), 1811–1812.
  25. Williams, C. F.; Vacca, A. R.; Dunham, L.; Lloyd, D.; Coogan, M. P.; Evans, G.; Graz, M.; Cable, J. The Redox-Active Drug Metronidazole and Thiol-Depleting Garlic Compounds Act Synergistically in the Protist Parasite *Spironucleus Vortens*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2016**, *206* (1–2), 20–28.
  26. Lee, D. Y.; Li, H.; Lim, H. J.; Lee, H. J.; Jeon, R.; Ryu, J. H. Anti-Inflammatory Activity of



- Sulfur-Containing Compounds from Garlic. *J. Med. Food* **2012**, *15* (11), 992–999.
27. Naznin, M. T.; Akagawa, M.; Okukawa, K.; Maeda, T.; Morita, N. Characterization of E- and Z-Ajoene Obtained from Different Varieties of Garlics. *Food Chem.* **2008**, *106* (3), 1113–1119.
  28. Yoneda, T.; Kojima, N.; Matsumoto, T.; Imahori, D.; Ohta, T.; Yoshida, T.; Watanabe, T.; Matsuda, H.; Nakamura, S. Construction of Sulfur-Containing Compounds with Anti-Cancer Stem Cell Activity Using Thioacrolein Derived from Garlic Based on Nature-Inspired Scaffolds. *Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20* (1), 196–207.
  29. Block, E.; Ahmad, S.; Catalfamo, J. L.; Jain, M. K.; Apitz-Castro, R. The Chemistry of Alkyl Thiosulfinate Esters. 9. Antithrombotic Organosulfur Compounds from Garlic: Structural, Mechanistic, and Synthetic Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108* (22), 7045–7055.
  30. Imai, S.; Akita, K.; Tomotake, M.; Sawada, H. Model Studies on Precursor System Generating Blue Pigment in Onion and Garlic. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54* (3), 848–852.
  31. Kubec, R.; Štefanová, I.; Moos, M.; Urajová, P.; Kuzma, M.; Zápál, J. Allithiolanes: Nine Groups of a Newly Discovered Family of Sulfur Compounds Responsible for the Bitter Off-Taste of Processed Onion. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66* (33), 8783–8794.
  32. Nagai, Y.; Kusumi, T. New Chiral Anisotropic Reagents for Determining the Absolute Configuration of Carboxylic Acids. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (11), 1853–1856.
  33. Brodnitz, M. H.; Pollock, C. L.; Vallon, P. P. Flavor Components of Onion Oil. *J. Agric. Food Chem.* **1969**, *17* (4), 760–763.
  34. Nishimura, H.; Wijaya, C. H.; Mizutani, J. Volatile Flavor Components and Antithrombotic Agents: Vinylthiins from *Allium victorialis* L. *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36* (3), 563–566.
  35. Block, E.; Shu, H. Z. Onion Essential Oil Chemistry. Cis- and Trans-2-Mercapto-3,4-Dimethyl 2,3-Dihydrothiophene from Pyrolysis of Bis(1-Propenyl) Disulfide. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31* (35), 4999–5002.
  36. Block, E.; Bayer, T.; Naganathan, S.; Zhao Shu-Hai. Allium Chemistry: Synthesis and Sigmatropic Rearrangements of Alk(En)yl 1-Propenyl Disulfide S-Oxides from Cut Onion and Garlic. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (12), 2799–2810.
  37. Amarnath, V.; Anthony, D. C.; Amarnath, K.; Valentine, W. M.; Wetterau, L. A.; Graham, D. G. Intermediates in the Paal-Knorr Synthesis of Pyrroles. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (24), 6924–6931.
  38. Bock, H.; Mohmand, S.; Hirabayashi, T.; Semkow, A. Gas-Phase Reactions. 29. Thioacrolein. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104* (1), 312–313. <https://doi.org/10.1021/ja00365a068>.
  39. Danishefsky, S.; Kitahara, T. Useful Diene for the Diels-Alder Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96* (25), 7807–7808.
  40. Kozmin, S. A.; Rawal, V. H. Preparation and Diels-Alder Reactivity of 1-Amino-3-Siloxy-1,3-Butadienes. *J. Org. Chem.* **1997**, *62* (16), 5252–5253.
  41. Castarlenas, R.; Di Giuseppe, A.; Pérez-Torrente, J. J.; Oro, L. A. The Emergence of Transition-Metal-Mediated Hydrothiolation of Unsaturated Carbon-Carbon Bonds: A Mechanistic Outlook. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52* (1), 211–222.

42. Hoyle, C. E.; Lee, T. Y.; Roper, T. Thiol-Enes: Chemistry of the Past with Promise for the Future. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2004**, *42* (21), 5301–5338.
43. Kubec, R.; Curko, P.; Urajová, P.; Rubert, J.; Hajšlová, J. Allium Discoloration: Color Compounds Formed during Greening of Processed Garlic. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65* (48), 10615–10620.
44. Kubec, R.; Urajová, P.; Lacina, O.; Hajšlová, J.; Kuzma, M.; Zápál, J. Allium Discoloration: Color Compounds Formed during Pinking of Onion and Leek. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (46), 10192–10199.
45. De Rosa, M.; Soriente, A. Water Opportunities: Catalyst and Solvent in Mukaiyama Aldol Addition of Rawal's Diene to Carbonyl Derivatives. *Tetrahedron* **2011**, *67* (33), 5949–5955.
46. Liu, Y.; Lai, Z.; Yang, P.; Xu, Y.; Zhang, W.; Liu, B.; Lu, M.; Chang, H.; Ding, T.; Xu, H. Thio-Michael Addition of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Amides Catalyzed by Nmm-Based Ionic Liquids. *RSC Adv.* **2017**, *7* (68), 43104–43113.
47. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. *Gaussian 09, Revision E.01*, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2013.
48. HPC Systems Inc., <http://www.hpc.co.jp/chem/react1.html> (written in Japanese).
49. Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B* **1988**, *37* (2), 785–789.
50. Li, G. M.; Niu, S.; Segi, M.; Tanaka, K.; Nakajima, T.; Zingaro, R. A.; Reibenspies, J. H.; Hall, M. B. On the Behavior of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Thioaldehydes and Thioketones in the Diels-Alder Reaction. *J. Org. Chem.* **2000**, *65* (20), 6601–6612.
51. Vedejs, E.; Perry, D. A.; Houk, K. N.; Rondan, N. G. Regiochemistry in Thiocarbonyl Diels-Alder Additions: Reversal of Selectivity by Substituent Effects in Thioaldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105* (23), 6999–7001.
52. Gonzalez, C.; Schlegel, H. B. Reaction Path Following in Mass-Weighted Internal Coordinates. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94* (14), 5523–5527.
53. Fukui, K. The Path of Chemical Reactions - the IRC Approach. *Acc. Chem. Res.* **1981**, *14* (12), 363–368.

54. Rose, P.; Whiteman, M.; Moore, P. K.; Zhu, Y. Z. Bioactive S-Alk(En)Yl Cysteine Sulfoxide Metabolites in the Genus *Allium*: The Chemistry of Potential Therapeutic Agents. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22* (3), 351–368.
55. Block, E.; Naganathan, S.; Putman, D.; Zhao, S. H. *Allium* Chemistry: HPLC Analysis of Thiosulfinates from Onion, Garlic, Wild Garlic (Ramsoms), Leek, Scallion, Shallot, Elephant (Great-Headed) Garlic, Chive, and Chinese Chive. Uniquely High Allyl to Methyl Ratios in Some Garlic Samples. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40* (12), 2418–2430.
56. Clarke, M. F.; Dick, J. E.; Dirks, P. B.; Eaves, C. J.; Jamieson, C. H. M.; Jones, D. L.; Visvader, J.; Weissman, I. L.; Wahl, G. M. Cancer Stem Cells—Perspectives on Current Status and Future Directions: AACR Workshop on Cancer Stem Cells. *Cancer Res.* **2006**, *66* (19), 9339–9344.
57. Hemmati, H. D.; Nakano, I.; Lazareff, J. A.; Masterman-Smith, M.; Geschwind, D. H.; Bronner-Fraser, M.; Kornblum, H. I. Cancerous Stem Cells Can Arise from Pediatric Brain Tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100* (25), 15178–15183.
58. Takada, T.; Takata, K.; Ashihara, E. Inhibition of Monocarboxylate Transporter 1 Suppresses the Proliferation of Glioblastoma Stem Cells. *J. Physiol. Sci.* **2016**, *66* (5), 387–396.
59. Spartan '10, Wavefunction Inc., Irvine, CA, 2010.
60. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Li, X.; Caricato, M.; Marenich, A. V.; Bloino, J.; Janesko, B. G.; Gomperts, R.; Mennucci, B.; Hratchian, H. P.; Ortiz, J. V.; Izmaylov, A. F.; Sonnenberg, J. L.; Williams-Young, D.; Ding, F.; Lipparini, F.; Egidi, F.; Goings, J.; Peng, B.; Petrone, A.; Henderson, T.; Ranasinghe, D.; Zakrzewski, V. G.; Gao, J.; Rega, N.; Zheng, G.; Liang, W.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Throssell, K.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M. J.; Heyd, J. J.; Brothers, E. N.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T. A.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A. P.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Millam, J. M.; Klene, M.; Adamo, C.; Cammi, R.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Fox, D. J. *Gaussian 16, Revision A.03*, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2016.
61. Bruhn, T.; Schaumlöffel, A.; Hemberger, Y.; Bringmann, G. SpecDis: Quantifying the Comparison of Calculated and Experimental Electronic Circular Dichroism Spectra. *Chirality* **2013**, *25* (4), 243–249.
62. Jónsson, H.; Mills, G.; Jacobsen, K. W. Nudged Elastic Band Method for Finding Minimum Energy Paths of Transitions. In *Classical and Quantum Dynamics in Condensed Phase Simulations*; WORLD SCIENTIFIC, **1998**; *25*, 385–404.
63. Henkelman, G.; Jónsson, H. Improved Tangent Estimate in the Nudged Elastic Band Method for Finding Minimum Energy Paths and Saddle Points. *J. Chem. Phys.* **2000**, *113* (22), 9978–9985.