

# フェノール系化合物の合成と5 リポキシゲナーゼ活性阻害効果

新事業企画開発部 探索グループ(つくば駐在) 加藤 久豊 山口 修平<sup>1)</sup>

フェルラ酸を出発物質として、ショウガオール類縁体ならびにフラン環に共役したフェノール化合物の合成を行ない、これらの化合物のラット好塩基性白血病細胞(RBL-1)由来の5 リポキシゲナーゼ活性に対する阻害効果を検討した。ショウガオール類縁体の中では、側鎖アルキル末端にカルボキシル基を導入した誘導体の阻害活性が低下した以外は、側鎖アルキル基中の官能基の違いによる阻害活性への影響はほとんど観察されず、各誘導体は[6] ショウガオールと同等の阻害活性を示すことがわかった。一方、フラン環に共役したフェノール化合物の阻害活性はショウガオール類よりも高く、ノルジヒドログアイアレチン酸の阻害活性に匹敵することがわかった。フラン環に共役したフェノール化合物は、シクロオキシゲナーゼに対する阻害活性も有しており、アラキドン酸代謝系に関連する酵素阻害剤としての可能性が示唆された。

## 1 緒 言

細胞膜の構成成分の一つであるアラキドン酸は、ホスホリパーゼの作用により細胞膜中のリン脂質から遊離した後、シクロオキシゲナーゼまたはリポキシゲナーゼが関与する代謝系によって、それぞれプロスタグランジンまたはロイコトリエン(以下、LTと略す)などの代謝産物に変換される。

リポキシゲナーゼには5 リポキシゲナーゼ、8 リポキシゲナーゼ、12 リポキシゲナーゼなど、複数のリポキシゲナーゼが存在することが知られており、LTの合成経路においては5 リポキシゲナーゼが関与する<sup>2)</sup>。すなわち、アラキドン酸に5 リポキシゲナーゼが作用すると5 ヒドロペルオキシエイコサテトラエン酸(以下、5-HPETEと略す)が生成される。5-HPETEはさらに5 リポキシゲナーゼの触媒作用を受けてロイコトリエンA<sub>4</sub>(以下、LTA<sub>4</sub>と略し、他のロイコトリエンについても同様に略記する)に変換される。また、5-HPETEは別経路で5 ヒドロキシエイコサテトラエン酸(以下、5-HETEと略す)にも変換される。LTA<sub>4</sub>は他のLTの共通中間体となり、LTB<sub>4</sub>へ、あるいは、LTC<sub>4</sub>からLTD<sub>4</sub>、LTE<sub>4</sub>へと代謝される(Fig.1)。

LTは、炎症や免疫反応の化学伝達物質として、あるいは神経系や神経内分泌のシステムの中でも重要な役割を果たしており<sup>2)</sup>、気道抵抗上昇作用、気管粘膜分泌促進作用、血管透過性亢進作用や白血球遊走作用などの様々な作用が知られている<sup>3)-5)</sup>。LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub>、LTE<sub>4</sub>などのアナフィラキシー緩反応性物質(slow reacting substance of anaphylaxis, 略号SRS-A)は、気管支喘息などのアレルギー性疾患の発現に関与するとされ、また、LTB<sub>4</sub>の作用は、リウマチ、脊椎関節炎、痛風、乾癬、潰瘍性大腸炎、

呼吸器疾患などの原因と考えられている。

このように5 リポキシゲナーゼは、関節炎、乾癬、アレルギー、喘息および炎症等の関連物質の生合成に重要な役割を演じており、5 リポキシゲナーゼの活性を阻害する薬剤は、これらLTが関与する疾病の治療に有用であることが知られている。

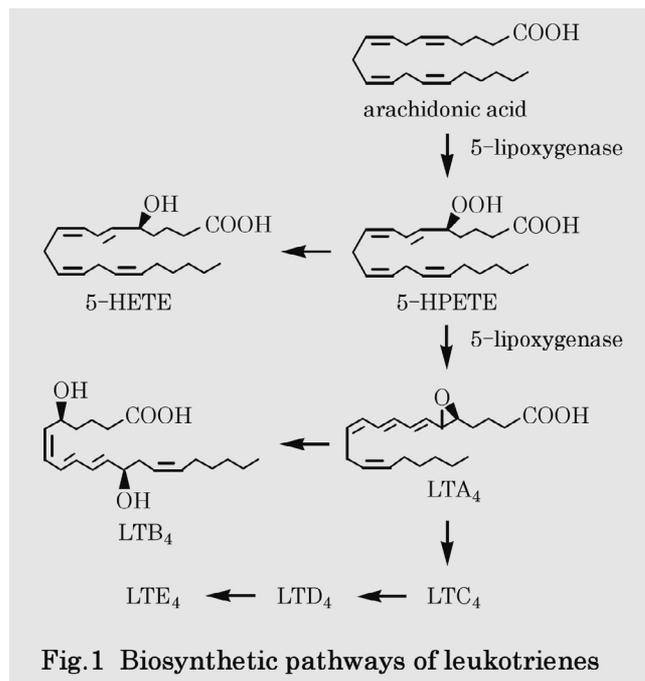


Fig.1 Biosynthetic pathways of leukotrienes

また、動脈硬化においては、従来12あるいは15 リポキシゲナーゼが関与すると考えられてきたが、最近、動脈硬化巣に存在するリポキシゲナーゼは、5 リポキシゲナーゼが大部分であることが報告され、5 リポキシゲナーゼの阻害により動脈硬化が抑制できる

可能性が示唆されている<sup>6,7)</sup>。

一方、5 リボキシゲナーゼに対して阻害作用を示す化合物としては、ノルジヒドロクワイアレン酸<sup>8)</sup>(以下、NDGAと略す)、エスクレチン、[6] ショウガオールおよびコーヒー酸などのフェノール系化合物が知られている<sup>9)</sup>。

筆者らはフェノール系化合物の抗酸化性に着目し、側鎖構造が異なるいくつかのフェノール系化合物を合成するとともに、活性酸素消去能、チロシナーゼ活性阻害能、シクロオキシゲナーゼ活性阻害能等<sup>10)~14)</sup>の検討を行ってきた。その一環として徳島文理大学薬学部生薬学教室の協力を得て、5 リボキシゲナーゼ活性阻害能の検討を行った結果<sup>15)16)</sup>について報告する。

## 2 実験

### 2.1 試薬

無水テトラヒドロフラン、無水1,3 ジメチル 2 イミダゾリジノンおよび無水アセトニトリルはそれぞれ特級試薬をモレキュラーシーブス4A上で乾燥したものを、窒素雰囲気下で使用した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにはMerck社製のシリカゲル60(70-230メッシュ)、分取用シリカゲル薄層クロマトグラフィーにはAldrich社製のTLCアルミニウムシート(シリカゲル60F<sub>254</sub>, 20cm×20cm)を用いた。

3-メトキシ-4-ヒドロキシシナミルアルコール(化合物3)はフェルラ酸を水素化リチウムアルミニウムで還元することで調製した。*t*-ブチルリチウム/ペンタン溶液は関東化学社から購入した。化合物1bは化合物1aと同様の方法で合成した。化合物9a-9c、化合物11、[6] ショウガオール(化合物18)、6-O-メチル [6] ジングロール(化合物19)ならびに、6-O-メチル [6] シングジオール(化合物20)は既報<sup>10)</sup>に従って合成した。

ラット好塩基性白血病細胞(以下、RBL-1と略す)は大日本製薬社、5-HETEはSigma Aldrich Japan社、アラキドン酸およびNDGAはナカライテスク社製の試薬をそれぞれ使用した。

### 2.2 実験装置

融点(m.p.)はヤナコ機器開発研究所製MP-500Dを用いて測定した。核磁気共鳴(<sup>1</sup>H NMR)スペクトルは、日本電子社製JNM-EX400核磁気共鳴測定装置を用い、重クロロホルム中で測定した。赤外線吸収(IR)スペクトルは、日本分光製FT/IR-7300を用い、KBrペレット法により測定した。質量分析(FAB MS)は日本電子社製JMS-AX505HAを用いて行なった。

### 2.3 方法

#### 2.3.1 化合物5の調製

化合物3(11.4 g, 79.9mmol)の無水テトラヒドロフラン(350ml)溶液に、氷冷下でトリエチルアミン(22.3ml, 160mmol)、*N,N*-ジメチルアミノピリジン(976mg, 7.99mmol)、塩化ピパロイル(19.7ml,

160mmol)を滴下した。室温で16時間攪拌後、飽和食塩水(100ml)で2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下で濃縮することで、化合物4の粗生成物を得た。つぎに、得られた化合物4の粗生成物をテトラヒドロフラン(270ml)およびメタノール(90ml)に溶解し、*p*-トルエンスルフィン酸ナトリウム(15.7g, 87.9mmol)およびテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(0)(923 mg, 0.799mmol)を加えて加熱還流した。4時間反応後、蒸留水(90ml)を加えて攪拌し、4で放置した。生成した結晶を濾別し回収した。濾液を減圧下で濃縮した後、酢酸エチル(200ml)で抽出し、有機層を蒸留水(100ml)で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下で濃縮し、酢酸エチルと*n*-ヘキサンとの混合溶媒から再結晶を行なった。得られた結晶を前述の結晶と合わせ、無色柱状結晶の化合物5(20.3g, 収率63%)を得た。

m.p.: 172-174

<sup>1</sup>H NMR: 1.36(9H, s), 2.43(3H, s), 3.80(3H, s), 3.92(2H, d, *J*=7.6Hz), 6.06(1H, dt, *J*=7.6, 15.6Hz), 6.33(1H, d, *J*=15.6Hz), 6.82-6.94(3H, m), 7.33(2H, d, *J*=8.0Hz), 7.75(2H, d, *J*=8.0Hz)  
IR (cm<sup>-1</sup>): 2980, 1747, 1600, 1508, 1480, 1465, 1420, 1399, 1343, 1314, 1304, 1289, 1269.

#### 2.3.2 化合物6aの調製

化合物5(4.45g, 7.45mmol)の無水テトラヒドロフラン(50ml)および無水1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(10ml)溶液に、78で1.60Mの*t*-ブチルリチウム/ペンタン溶液(7.40ml, 11.8mmol)を滴下した。同温で5分間攪拌後、プロピオンアルデヒド(0.87ml, 12.1mmol)を滴下した。同温で10分間攪拌した後、徐々に昇温した。反応溶液の温度が30になったところで、5%クエン酸/メタノール溶液を加えて反応を停止させた。この反応混合物に飽和食塩水(60ml)、蒸留水(20ml)および酢酸エチル(20ml)を加えて攪拌後、有機層を分取した。水層を酢酸エチル(20ml)で抽出し、合せた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下で留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製を行い、淡黄色の高粘度液状の化合物6a(3.72g, 収率73%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR: 0.97-1.01(3H, m), 1.24-1.44(11H, m), 2.43(3H, s), 3.71(1H, t, *J*=9.6Hz), 3.80(3H, s), 4.30-4.32(1H, m), 5.72(1H, dd, *J*=10.0 and 16.0Hz), 6.16(1H, d, *J*=5.6Hz), 6.78-6.80(2H, m), 6.93(1H, dd, *J*=4.0 and 4.4Hz), 7.31(2H, d, *J*=8.4Hz), 7.71(2H, dd, *J*=8.4 and 10.0Hz)

IR (cm<sup>-1</sup>): 3511, 2972, 1753, 1598, 1509, 1268, 1124.

#### 2.3.3 化合物7aの調製

化合物6a(9.03g, 19.6mmol)の無水アセトニトリル(50ml)溶液に、モレキュラーシーブス3A(2g)およびフェニルセレンクロリド(4.36g, 22.8mmol)を加え、室温で2時間攪拌した。この反応

混合物を飽和食塩水(100ml)で2回洗浄し、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下で留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、淡黄色液状の化合物7a(10.9g, 収率88%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ : 1.07 1.11 (3H, m), 1.24 1.38 (11H, m), 2.37 (3H, s), 3.50 (1H, dd), 3.73 (1H, dd), 3.79 3.89 (4H, m), 4.68 (1H, d), 6.87 7.55 (12H, m)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2971, 1754, 1598, 1509, 1478, 1463, 1274, 1118.

FAB MS  $m/z$ : 617 (M + H)<sup>+</sup>

#### 2.3.4 化合物8aの調製

化合物7a(9.93g, 16.1mmol)のジクロロメタン(200ml)溶液に、氷冷下で0.48Mの3-クロロ過安息香酸(以下、mCPBAと略す)/ジクロロメタン溶液(50.0ml, 24.0mmol)溶液を滴下した。同温で30分間攪拌後、反応混合物に10%チオ硫酸ナトリウム水溶液(200ml)を加えて分配した。有機層を分取し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下で留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、淡黄色液状の化合物8a(7.26g, 収率98%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ : 0.91 0.96 (3H, m), 1.24 1.38 (9H, m), 1.60 1.80 (1H, m), 1.90 2.01 (1H, m), 2.46 (3H, s), 3.73 and 3.78 (3H, two s), 4.90 5.00 and 5.08 5.15 (1H, two m), 5.79 and 5.86 (1H, two d,  $J=2.0$  and  $3.2\text{Hz}$ ), 6.67 (1H, d,  $J=8.0\text{Hz}$ ), 6.75 (1H, d,  $J=8.0\text{Hz}$ ), 6.82 6.99 (2H, m), 7.36 (2H, d,  $J=8.0\text{Hz}$ ), 7.80 (2H, d,  $J=8.0\text{Hz}$ )

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2973, 1754, 1508, 1458, 1321, 1304, 1283.

#### 2.3.5 化合物1aの合成

化合物8a(1.49g, 3.25mmol)の*t*-ブチルアルコール(30ml)溶液に、0.49Mの水素化ナトリウム/*t*-ブチルアルコール溶液(20.0mL, 9.80mmol)を滴下した。40℃にて2時間攪拌後1N塩酸を加え反応を停止させた。溶媒を減圧下で留去した後、酢酸エチル(100ml)を加え、飽和食塩水(50ml)で2回洗浄した後、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下で留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、淡黄色液状の化合物1a(420mg, 収率59%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ : 1.27 (3H, t,  $J=7.6\text{Hz}$ ), 2.70 (2H, q,  $J=7.6\text{Hz}$ ), 3.92 (3H, s), 5.65 (1H, s), 6.02 (1H, d,  $J=3.0\text{Hz}$ ), 6.39 (1H, d,  $J=3.0\text{Hz}$ ), 6.90 (1H, d,  $J=8.0\text{Hz}$ ), 7.12 7.16 (2H, m)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3510, 2974, 2362, 1506, 1254, 1209.

#### 2.3.6 化合物10の合成

化合物9a(R:メキシメチル基, 1.94g, 5.02mmol)のジクロロメタン(50ml)溶液に、文献記載の方法に従って調製した $\text{NaHSO}_4/\text{SiO}_2^{18}$ (1.00g)を加え、室温で攪拌した。18時間後、シリカゲルを濾別し、ジクロロメタンで洗浄した。合わせた濾液を減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー

に供することで、淡黄色液状の化合物10(719mg, 収率40%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ : 1.25 (3H, t,  $J=7.2\text{Hz}$ ), 1.32 (4H, m), 1.44 (2H, m), 1.61 (2H, m), 2.19 (2H, m), 2.29 (3H, t,  $J=7.2\text{Hz}$ ), 2.85 (4H, m), 3.87 (3H, s), 4.12 (2H, q,  $J=7.2\text{Hz}$ ), 5.52 (1H, s), 6.08 (1H, d,  $J=16.0\text{Hz}$ ), 6.70 (2H, m), 6.79 (2H, m)

#### 2.3.7 化合物12の合成

化合物9b(R:ピバロイル基, 594mg, 1.33mmol)のテトラヒドロフラン(40ml)溶液に、氷冷下で、水素化リチウムアルミニウム(202mg, 5.32mmol)を加えた。室温で1時間攪拌後、反応混合物に1N塩酸を加えて反応を停止した。次に蒸留水(15ml)を加え、酢酸エチル(20ml)による抽出を2回行った。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下で留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、無色中粘度液状の化合物12(315mg, 収率73%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ : 1.23 1.83 (12H, m), 2.02 (2H, m), 2.56 2.69 (2H, m), 3.61 (2H, t), 3.84 (3H, s), 4.04 (1H, dd), 5.45 5.49 (1H, m), 5.58 5.66 (1H, m), 6.65 6.67 (2H, m), 6.79 (1H, d)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3349, 2930, 1666, 1602, 1516, 1464, 1453, 1431, 1368, 1273, 1236, 1154, 1036.

#### 2.3.8 化合物13の調製

トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル(11  $\mu\text{l}$ , 0.061mmol), および1, 2-ビストリメチルシロキシエタン(0.90ml, 3.7mmol)のジクロロメタン(6ml)溶液に、氷冷下で、化合物9c(R:イソブチロイル基, 133mg, 0.307mmol)のジクロロメタン(1ml)溶液を滴下した。50分間攪拌後、反応混合物にトリエチルアミンを加え反応を停止させた。次に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(5ml)およびクロロホルム(5ml)を加え分配した。有機層を分取し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下で留去した。得られた残渣をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより精製し、淡黄色中粘度液状の化合物13(114mg, 収率78%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ : 1.23 1.64 (17H, m), 1.98 2.06 (4H, m), 2.28 (2H, t), 2.67 2.71 (2H, m), 2.80 2.84 (1H, m), 3.79 (3H, s), 3.91 3.98 (4H, m), 4.12 (2H, q), 5.38 (1H, d), 5.81 (1H, dt), 6.74 6.78 (2H, m), 6.89 (1H, d)

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2924, 1758, 1737, 1608, 1510, 1466, 1420, 1127, 1042.

#### 2.3.8 化合物14の合成

化合物13(159mg, 0.334mmol)のテトラヒドロフラン(6ml)溶液に、氷冷下で、水素化リチウムアルミニウム(50.0mg, 1.33mmol)を加えた。室温にて1時間攪拌後、反応混合物に1N塩酸を加えて反応を停止させた。次に飽和食塩水(5ml)を加え、酢酸エチル(5ml)で3回抽出を行った。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下で留去した。得られた残渣をシ

リカゲル薄層クロマトグラフィーにより精製し、無色シロップを得た。得られたシロップのアセトン(2ml)/蒸留水(2ml)混合溶液に、*p*-トルエンスルホン酸ピリジニウム(8.4mg, 0.034mmol)を加えた。この反応溶液を3時間加熱還流した。つぎに、反応溶液を室温まで放冷した後、溶媒を減圧下で留去し、残渣に飽和食塩水(5ml)を加え、酢酸エチル(5ml)で3回抽出を行った。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下で留去し、残渣をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより精製し、淡黄色中粘度液状の化合物14(85.2mg, 収率80%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR: 1.30 1.58(10H, m), 2.17(2H, dd), 2.81 2.86(4H, m), 3.63(2H, t), 3.86(3H, s), 5.73(1H, s), 6.08(1H, dt), 6.67 6.71(2H, m), 6.78 6.83(2H, m)

IR (cm<sup>-1</sup>): 3336, 2928, 2336, 1664, 1624, 1516, 1452, 1431, 1365, 1274, 1239.

### 2.3.9 化合物15の調製

化合物9c(161mg, 0.379mmol)のエタノール(5ml)溶液に、10%パラジウムカーボン(16mg)を加えた。反応系内を水素雰囲気下として2時間攪拌した後、反応液をセライト濾過し、パラジウムカーボンを濾別した。濾液を減圧下で濃縮し、淡黄色の中粘度液状の化合物15(148mg, 収率91%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR: 1.23 1.71(21H, m), 2.28(2H, t), 2.38(2H, t), 2.43 2.45(1H, m), 2.72(2H, t), 2.87(2H, t), 3.79(3H, s), 4.12(2H, q), 6.72 6.78(2H, m), 6.90(1H, d)

IR (cm<sup>-1</sup>): 2930, 1760, 1730, 1639, 1511, 1452, 1419, 1369, 1267, 1183, 1126, 1098, 1029, 1015.

### 2.3.10 化合物16の調製

化合物15を原料として、化合物13の調製法と同様の操作を行うことで、淡黄色中粘度液状の化合物16(200mg, 78%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR: 1.23 1.35(22H, m), 1.59 1.64(4H, m), 1.90 1.94(2H, m), 2.28(2H, t), 2.64 2.68(2H, m), 3.78(3H, s), 3.98(4H, s), 4.12(2H, q), 6.74 6.78(2H, m), 6.88(1H, d)

IR (cm<sup>-1</sup>): 2936, 1755, 1735, 1606, 1511, 1464, 1418, 1266, 1203, 1117, 1036.

### 2.3.11 化合物17の合成

化合物16を原料として、化合物14の調製法と同様の操作を行うことで、無色薄片状結晶の化合物17(120mg, 99%)を得た。

m.p. (crude): 63.2–64.5 °C

<sup>1</sup>H NMR: 1.20 1.51(14H, m), 2.29(2H, t), 2.62(2H, t), 2.75(2H, t), 3.59(2H, t), 3.81(3H, s), 5.47(1H, s), 6.64 6.67(2H, m), 6.80(1H, d)

IR (cm<sup>-1</sup>): 3415, 2920, 1705, 1611, 1520, 1463, 1455, 1365, 1278, 1236, 1151, 1122, 1064, 1028.

### 2.3.12 5 リポキシゲナーゼ阻害活性の測定

5 リポキシゲナーゼ阻害活性の測定は徳島文理大学薬学部生薬学教室に依頼し、Blackhamらの方法<sup>17)</sup>を参考に実施した。

5 リポキシゲナーゼ源としてラット好塩基性白血球細胞(RBL 1)を使用し、これによるアラキドン酸から5 HETEへの転換率を酵素活性として算出した。活性測定は、以下のように行った。

ジメチルスルホキシド水溶液に溶解した被検試料(5μl)に、200mM塩化カルシウム水溶液(10μl)と20mg/mlのアラキドン酸のメタノール溶液(10μl)を加え、37 °Cで5分間ブレインキュベーションした。これに、0.25Mスクロース、1.0mMのEDTA水溶液、2mMのグルタチオンを含有する50mMリン酸緩衝液(pH7.4)中に1.5 × 10<sup>7</sup> cell/mlで分散させたRBL 1細胞懸濁液(475μl)を添加して攪拌し、37 °Cで3分間反応させた。その後、メタノール(500μl)を加えて反応を停止し、この溶液を4 °C、4000rpmで20分間遠心した。この上清400μlを分取してHPLC分析を行った。HPLC分析は、日立製作所製ポンプL6200、日立製作所製検出器L4000UV、およびナカライテスク社製カラムcosmosil 5C18 MS(内径4.6 × 長さ150mm)を用いて、0.04%の酢酸を含む60%アセトニトリル水溶液で展開し、検出波長235nmでピーク面積を測定した。

また、対照としてジメチルスルホキシド水溶液に溶解した[6] ショウガオール、またはNDGAを被検試料の代わりに用いた。被検試料無添加の場合のピーク面積と比較して、アラキドン酸から5 HETEへの転換率を算出した。{100% 転換率(%)}/転換阻害率(%)とした。転換阻害率と被検試料濃度との関係から、5 HETEへの転換を50%阻害する濃度(IC<sub>50</sub>)を算出した。

## 3 結果と考察

### 3.1 フェノール系化合物の合成

筆者らは、生薬成分またはその代謝物の構造を参考にするとともに、入手容易なフェルラ酸から合成可能な化合物として、フラン環に共役したフェノール類(化合物1)ならびにショウガオール類(化合物2)の合成を検討した(Fig.2)。

#### 3.1.1 フラン環に共役したフェノール類の合成

はじめに、フェルラ酸を水素化リチウムアルミニウムで還元することで調製した3-メトキシ-4-ヒドロキシシナミルアルコール(化合物3)の水酸基ならびにフェノール性水酸基を常法に従ってピバロイル化することで化合物4を調製した。化合物4の側鎖はアリルアシレート構造であるため、0価のパラジウム触媒的作用によりアリル錯体経路で*p*-トルエンスルホン基(以下、Tsと略す)を導入することができた。得られた化合物5のTs基の炭素を*t*-ブチルリチウムの作用でアニオン化した後、アルデヒドを反応させることで、化合物6aおよび6bを得た(Fig.3)。

つぎに、上記の方法で調製したホモアリルアルコール化合物

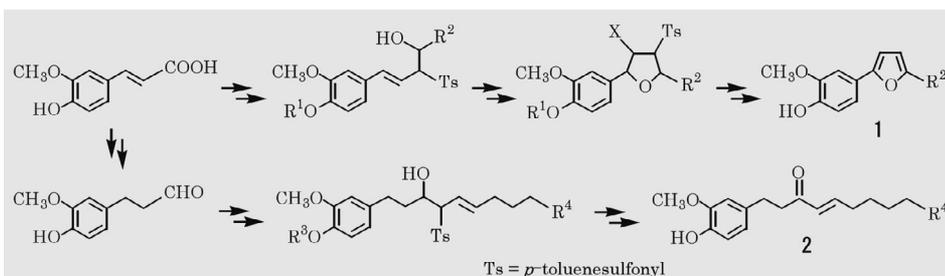


Fig. 2 Synthetic strategy of phenolic compounds from ferulic acid

ラン前駆体8aおよび8bが高収率で得られた (Fig. 4)。得られたフラン前駆体は<sup>1</sup>H NMRならびにNOE差スペクトルの結果から、いずれの化合物とも *syn:anti*=6:4の異性体の混合物であることがわかった。つぎに、化合物8aおよび8bにアルコール溶媒中で水素化ナトリウムを作用させることで、Ts基を*p*-

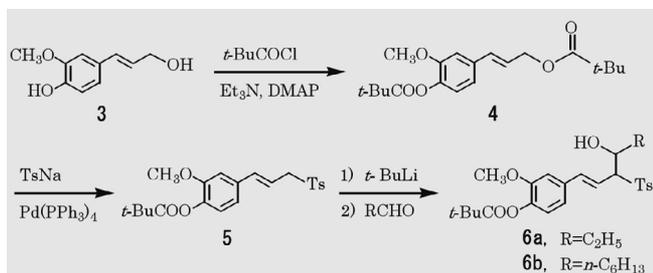


Fig. 3 Preparation of compound 6a and 6b

の環化反応を検討した。すなわち、親電子試薬により活性化された二重結合部分に対して、分子内の水酸基が5員環を形成するように環化する反応である。親電子試薬としてフェニルセレンクロリドまたはジメチルチオメチルスルホニウムテトラフルオロボレートを用いて条件検討を行った。その結果、フェニルセレンクロリドとモレキュラーシーブス3Aとを用いた場合に良好な収率で目的物が得られることがわかった。一方、プロトンスカベンジャーとして3級アミンを用いた場合は反応はまったく進行せず、また、親電子試薬としてジメチルチオメチルスルホニウムテトラフルオロボレートを用いた場合は低収率でしか目的物は得られなかった。

(Table 1)。

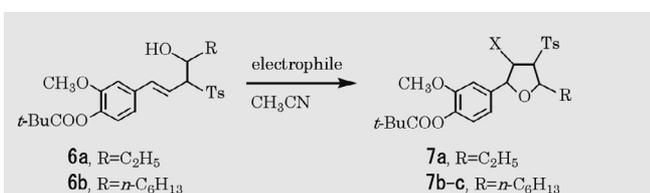


Table 1 Reaction conditions for preparation of cyclic compounds

run	substrate	electrophile	proton scavenger	temp.	product X	yield (%)
1	6a	PhSeCl	MS 3A	r.t.	7a	PhSe 88
2	6b	PhSeCl	MS 3A	r.t.	7b	PhSe 85
3	6b	PhSeCl	—	r.t.	7b	PhSe 76
4	6b	PhSeCl	Et <sub>3</sub> N	80°C	7b	PhSe 0
5	6b	PhSeCl	<i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NEt	80°C	7b	PhSe 0
6	6b	CH <sub>3</sub> SS(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> BF <sub>4</sub>	MS 3A	80°C	7c	CH <sub>3</sub> S 22
7	6b	CH <sub>3</sub> SS(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> BF <sub>4</sub>	—	80°C	7c	CH <sub>3</sub> S 13
8	6b	CH <sub>3</sub> SS(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> BF <sub>4</sub>	Et <sub>3</sub> N	80°C	7c	CH <sub>3</sub> S 0
9	6b	CH <sub>3</sub> SS(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> BF <sub>4</sub>	<i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NEt	80°C	7c	CH <sub>3</sub> S 0

上記のように調製した環化生成物7aおよび7bをmCPBAで酸化したところ、酸化反応と同時にセレンシドの脱離反応が進行しフ

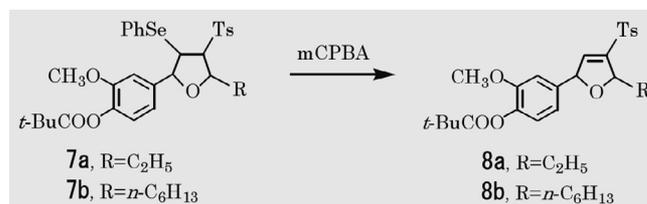


Fig. 4 Preparation of compound 8a and 8b

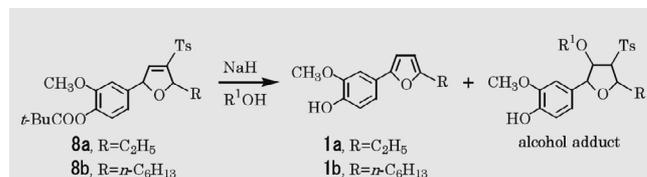


Table 2 Synthesis of furan compound 1a and 1b

run	substrate	solvent	temp.	product	yield (%)	
					product	alcohol adduct
1	8a	<i>t</i> -BuOH	40 °C	1a	59	—
2	8b	<i>t</i> -BuOH	40 °C	1b	51	—
3	8b	<i>i</i> -PrOH	reflux	1b	39	24 (R' = <i>i</i> -Pr)
4	8b	MeOH	reflux	1b	23	35 (R' = Me)

ルエンシルフィン酸として脱離させるとともにピバロイル基の除去を行い、フラン環に結合したフェノール化合物1aおよび1bを調製した。

本反応 (Table 2) において、求核性が低い *t*-ブチルアルコールを溶媒として用いると目的物のみが生成するのに対して、メタノールまたはイソプロピルアルコールを溶媒とした場合は化合物8bのオレフィン部分にアルコールが付加した副生成物が生成した (Table 2, run 3, 4)。また、使用した化合物8bは前述のように *syn:anti*=6:4の異性体の混合物であるが、未反応で回収されたものは *anti*体のみであり、*syn*体は消失していることがわかった。

化合物8bの混合物は、シリカゲル薄層クロマトグラフィーによる分離が可能のため、分取した *syn*体と *anti*体をそれぞれ run 3の条件で反応させたところ、*syn*体からは目的物のみが、*anti*体からは目的物とアルコール付加体が約1:1の比で得られた。

以上のことから、本反応の機構は次のように推定される (Fig. 5)。すなわち、化合物8aおよび8bの *syn*体は、二重結合の転位、オキシニウムイオン形成にともなうTs基の脱離、さらには、オキシニウム化合物からの水素原子の脱離反応を経て、化合物1に変換される。一方、化合物8aおよび8bの *anti*体からも同様に化合物1が生成さ

れる。しかし、*anti*体から二重結合が転位した中間体のコンフォメーションにおいてはTs基とアルキル置換基Rとの間の立体障害が大きい。このことから二重結合の転位反応が進行しにくくなり、アルコールの付加反応との選択性が低下したものと考えられる。

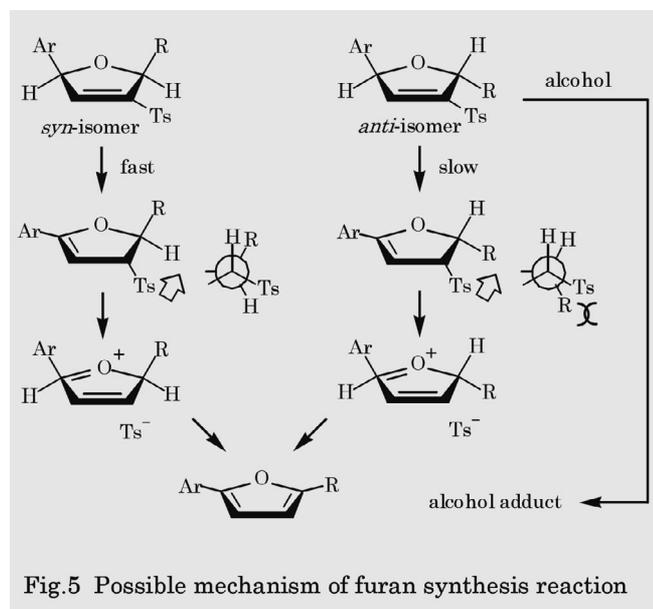


Fig.5 Possible mechanism of furan synthesis reaction

### 3.1.2 ショウガオール類の合成

筆者らは、生姜の主要成分であるショウガオールやジンゲロールの周辺化合物の合成に際し、フェルラ酸から調製した末端カルボキシエチルショウガオールを中間体とする各種類縁体の合成法等を検討した。既報にしたがって調製した化合物9a-cから、各種の官能基変換反応を行い、化合物10-12, 14および17を合成した(Fig.6)。

### 3.2 合成フェノール類の5 リボキシゲナーゼに対する活性阻害効果

上述のように合成した側鎖構造が異なる10種のフェノール化

合物について、RBL 1由来の5 リボキシゲナーゼ活性に対する阻害効果を検討した(Table 3)。

Table 3 Inhibitory effects of phenolic compounds against 5-lipoxygenase activity

compound	solubility for 0.3% DMSO aq. (mg/ml)	IC <sub>50</sub> (μM)
1 a	0.25	0.53
1 b	0.13	1.51
1 0	0.25	11.30
1 1	1.00	283.00
1 2	0.50	12.50
1 4	0.25	14.80
1 7	0.13	11.00
1 8	0.06	7.41
1 9	0.25	16.60
2 0	0.50	11.50
NDGA	—	0.38

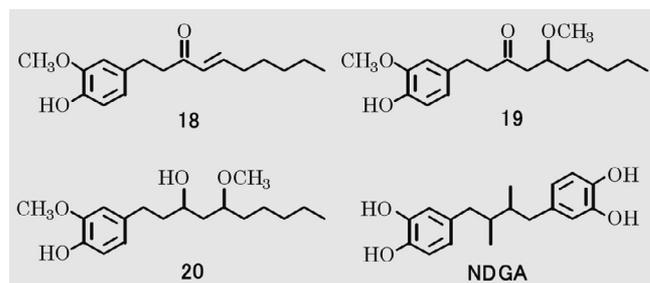


Fig.7 Structures of phenolic compounds 18-20 and NDGA

[6] ショウガオール(化合物18)は、既存薬として知られるエスクラチンと同様にRBL 1由来の5 リボキシゲナーゼ活性を抑制し、その効果(IC<sub>50</sub>)は、[6] ショウガオールが1.6μM、エスクラチンが4.0μMと報告されている<sup>20)</sup>。今回活性評価を行ったショウガオール類縁体10-12, 14, 17, 19-20のIC<sub>50</sub>を比較した場合、側鎖末端に親水性のカルボキシル基を導入した化合物11において例外的な阻害能低下が見られた以外は、アルキル側鎖上の官能

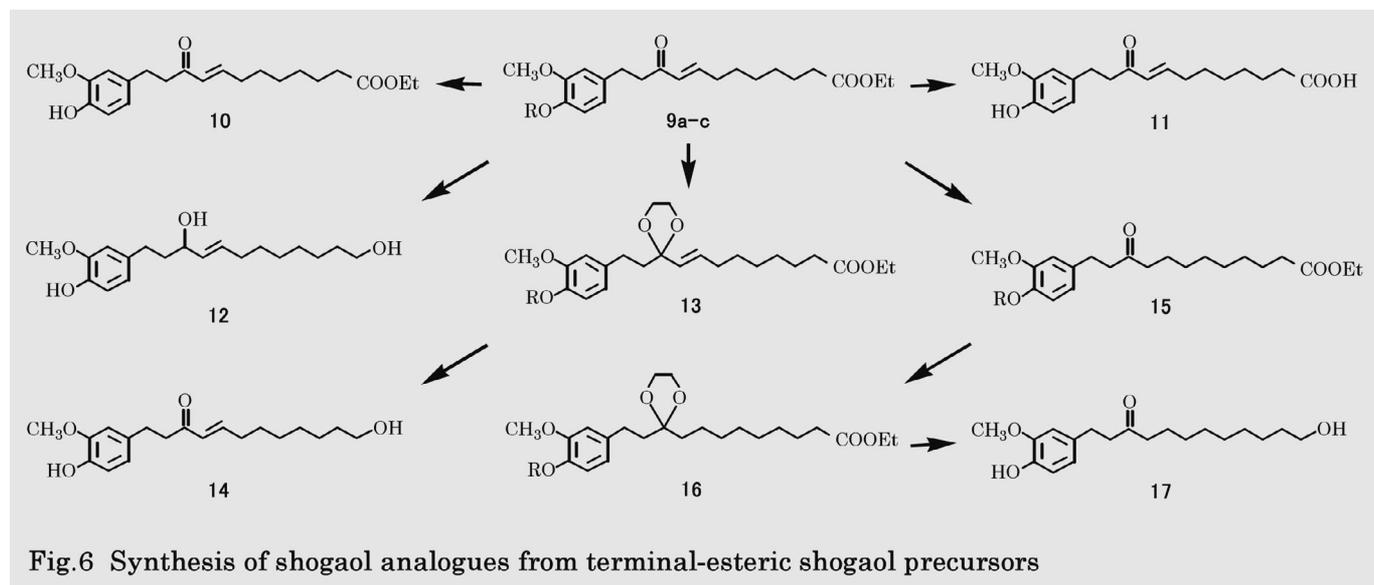


Fig.6 Synthesis of shogaol analogues from terminal-esteric shogaol precursors

基の違いによる5 リボキシゲナーゼ活性阻害効果の差はそれほど大きくはなかった。また、もう一つの陽性対照として用いたNDGAに匹敵する効果を示す化合物は[6] ショウガオールを含めて見られなかった。一方、フラン環に共役したフェノール化合物1aではNDGAに匹敵する活性が認められ、化合物1bの効果もショウガオール類縁体に比べ高いものであった<sup>21)</sup>。

フェノール系化合物が5 リボキシゲナーゼ活性を抑制する際の機構は、5 リボキシゲナーゼ的作用により生成した脂質ラジカルの消去によるものと考えられている。フェノール部分と共役したフラン環を有することにより、脂質ラジカル消去の際に発生するフェノキシラジカルがより安定な共鳴構造をとることができる化合物1類の方が、ショウガオール類以上の阻害効果を示したと考えることもできる。しかし、アラキドン酸代謝経路上のもう一方の重要酵素であり、かつ、フェノール系化合物による阻害作用が基本的には同じラジカル消去作用であると考えられている<sup>22)</sup>シクロオキシゲナーゼ(COX 1およびCOX 2)に対しては、化合物1a bとショウガオール類19 20との間で阻害活性に大きな差は見られなかった<sup>12)13)</sup>(Table 4)。したがって、化合物1類の5 リボキシゲナーゼ活性阻害効果にはラジカル消去能以外の因子も重要な寄与をしているものと考えられる。

Table 4 Cyclooxygenase inhibitory effects of phenolic compounds

compound	IC <sub>50</sub> (μM)	
	COX-1	COX-2
1 a	13	9.4
1 b	62	8.4
1 9	27	2.2
2 0	34	6.4

#### 4 まとめ

ショウガオール類縁体ならびにフラン環に結合したフェノール化合物類の合成法を検討し、いずれもフェルラ酸を出発物質として10数種の化合物を合成した。これらの化合物のRBL 1由来の5 リボキシゲナーゼ活性阻害能を検討したところ、化合物1a bが高い阻害活性を有することがわかった。これらの化合物は、5 リボキシゲナーゼ活性阻害効果に加え、アラキドン酸代謝経路上のもう一方の重要酵素であるシクロオキシゲナーゼに対する阻害活性も有しており、今後、医薬分野への展開の可能性を探りたいと考えている。

#### 謝 辞

5 リボキシゲナーゼ活性阻害効果を測定していただいた徳島文理大学薬学部生薬学教室の在原重信教授(2006年3月退官)、吉川和子博士、ならびに、シクロオキシゲナーゼ活性阻害効果を

測定していただいた徳島文理大学薬学部衛生化学教室松本仁助教(現、日本薬科大学教授)に感謝いたします。

#### 引用文献

- 1) 現、名古屋工場第二製造部所属。
- 2) 清水孝雄, 蛋白質 核酸 酵素 臨時増刊, 36, 388-397 (1991)
- 3) G. K. Adams, L. M. Lichtenstein, *J. Immunol.*, 122, 55-562 (1979)
- 4) S. Watanabe-Kohno, K. Yasui, T. Nabe, H. Yamamura, M. Horiba, K. Ohata, *Jpn. J. Pharmacol.*, 60, 209-216 (1992)
- 5) S. J. Coles, K. H. Neill, L. M. Reid, K. F. Austen, Y. Nii, E. J. Corey, R. A. Lewis, *Prostaglandins*, 25, 155-170 (1983)
- 6) K. Lotzer, A. J. Habenicht, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 23, E32-36 (2003)
- 7) R. Spanbroek, R. Grabner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 1238-1243 (2003)
- 8) H. Salari, P. Braquet, P. Borgeat, *Prostagland. Leuk. Med.*, 13, 53-60 (1984)
- 9) 油田正樹, 現代東洋医学, 8, 45-50 (1987)
- 10) 加藤久豊, 山口修平, *Natural Medicines*, 58, 266-274 (2004)
- 11) 再表2004 85373号公報(東亜合成株式会社)
- 12) 特開2004 315498号公報(東亜合成株式会社)
- 13) 特開2005 41840号公報(東亜合成株式会社)
- 14) 特開2005 306829号公報(東亜合成株式会社)
- 15) 宮本明菜, 高祖和晃, 吉川和子, 播金裕樹, 箕村知子, 湯浅莉絵, 梅山明美, 在原重信, 山口修平, 加藤久豊, 日本薬学会第126年回要旨集P30[R]am 206 (2006)
- 16) 高祖和晃, 徳島文理大学薬学部修士論文(2006)
- 17) A. Blackham, R. J. Griffiths, C. Hallam, J. Mann, P. D. Mitchell, A. A. Norris, W. T. Simpson, *Agents and Actions*, 30, 3/4, 423-442 (1990)
- 18) C. Ramesh, N. Ravindranath, B. Das, *J. Org. Chem.*, 68, 7101-7103 (2003)
- 19) G. W. Breton, *J. Org. Chem.*, 62, 8952-8954 (1997)
- 20) 末川守, 湯浅和典, 磯野正直, 曾根秀子, 池谷幸信, 榊原巖, 油田正樹, 細谷英吉, *日薬理誌*, 88, 263-269 (1986)
- 21) 既存の5 リボキシゲナーゼ活性阻害剤としては、NDGA、エスクレチン、コーヒー酸、トリヒドロキシステルベン等、カテコール構造を有する化合物が多く知られている。筆者らは、化合物1aおよび1bのメキシフェノール構造をカテコール構造に変更した化合物を別途合成し、それぞれ0.37 μMおよび0.63 μMで5 リボキシゲナーゼ活性を50%阻害することを確認した<sup>15)16)</sup>。
- 22) 原田正敏編, 三川潮, “医薬品の開発 第2巻 薬理活性物質”, 廣川書店(1989)pp.302~327.