

アラキドン酸カスケード調節剤の合成と
その作用発現機構に関する研究

1990

大 川 滋 紀

アラキドン酸カスケード調節剤の合成と
その作用発現機構に関する研究

1990

大川 滋紀

目次

理論の部

		頁
第1章	緒言	1
第2章	従来の研究概要並びに研究方針	3
第1節	アラキドン酸カスケードと疾患	3
第2節	トロンボキサンA ₂ (TXA ₂) 合成酵素阻害剤	4
第3節	5-リポキシゲナーゼ阻害剤	5
第4節	活性酸素消去剤	7
第5節	研究方針	8
第3章	特異的TXA ₂ 合成酵素阻害剤の合成	11
第1節	TXA ₂ 合成酵素とTXA ₂ 合成酵素阻害剤との 相互作用についての概念的モデルの構築	11
第2節	ω -ピリジルアルケン酸類の合成	13
第3節	TXA ₂ 合成酵素阻害活性	23
第4章	ロイコトリエン類の合成と5-リポキシゲナーゼ 阻害剤スクリーニング系の確立	27
第1節	LTA ₄ メチルエステルの合成	27
第2節	LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄ , Δ^6 -trans-LTB ₄ の合成	29
第3節	5-リポキシゲナーゼ阻害剤スクリーニング系の確立	32
第5章	TXA ₂ 合成酵素と5-リポキシゲナーゼに対して 阻害作用を示す Dual Inhibitor の合成	34
第1節	ドラッグデザイン	34
第2節	合成法	36
第3節	生物活性	45

第6章	CV-6504の生物学的還元反応と ヒドロキノン体の生物活性	53
第1節	キノン体とヒドロキノン体のラジカル消去作用及び 5-リポキシゲナーゼ阻害作用	54
第2節	生体内還元機構の検討	61
結語		80
謝辞		81
実験の部		
第3章	第2節に関する実験	83
第3章	第3節に関する実験	89
第4章	第1節に関する実験	90
第4章	第2節に関する実験	93
第4章	第3節に関する実験	96
第5章	第2節に関する実験	97
第5章	第3節に関する実験	117
第6章	第1節に関する実験	118
第6章	第2節に関する実験	120
引用文献		121

第1章 緒言

近年、循環器系の疾患に対する理解が進み、心筋梗塞、脳梗塞などの発生、進展の機序がある程度生化学的に説明出来るようになってきた。マクロファージ、多形核白血球、血小板、血管内皮細胞の産生する各種メディエータ類(TXA₂, PGI₂, LT's, HPETE's, HETE's, PDGF, MDGF, EDRF*など)や活性酸素種(スーパーオキシドアニオン、過酸化水素、ヒドロキシラジカル、過酸化脂質など)は、これらの病態の急性期における血管のれん縮、閉塞、あるいは出血後に生ずる浮腫などと深く関わっている^{1,2)}。さらにこれらのメディエータ類は、基礎病変としての動脈硬化においても重要な役割を果たしていることが示唆されている^{2,3)}。著者はこのような観点から、まず始めに血小板凝集及び血管れん縮の阻害作用を示し虚血性の循環器疾患の治療薬となる可能性が高いTXA₂合成酵素の特異的阻害剤を合成することを企画した。その合成にあたっては、TXA₂合成酵素とその基質であるプロスタグランジンH₂との相互作用をもとに、第3の相互作用部分として脂溶性部分を想定して概念的なモデルを構築した。ドラッグデザインはこのモデルに従って行い、第3の相互作用部分に相当する部分には芳香環を導入することにした。その結果、物性、薬理学的性質のみならず薬物動力学にも優れた化合物、(E)-7-phenyl-7-(3-pyridyl)-6-heptenoic acid (CV-4151)を見いだすことができた³⁾。本化合物のTXA₂合成酵素に対する阻害作用は、ヒト全血中でIC₅₀値が1×10⁻⁷Mと高い活性を示した。

次にこれまでに得られた知見を基にして、TXA₂合成酵素とロイコトリエン類合成の初発酵素である5-リポキシゲナーゼの両酵素に対して阻害作用を示すdual inhibitorの合成を企画した。実際の病態においては、複数のメディエータが協力しあって作用を発現していたり、時間経過により違った

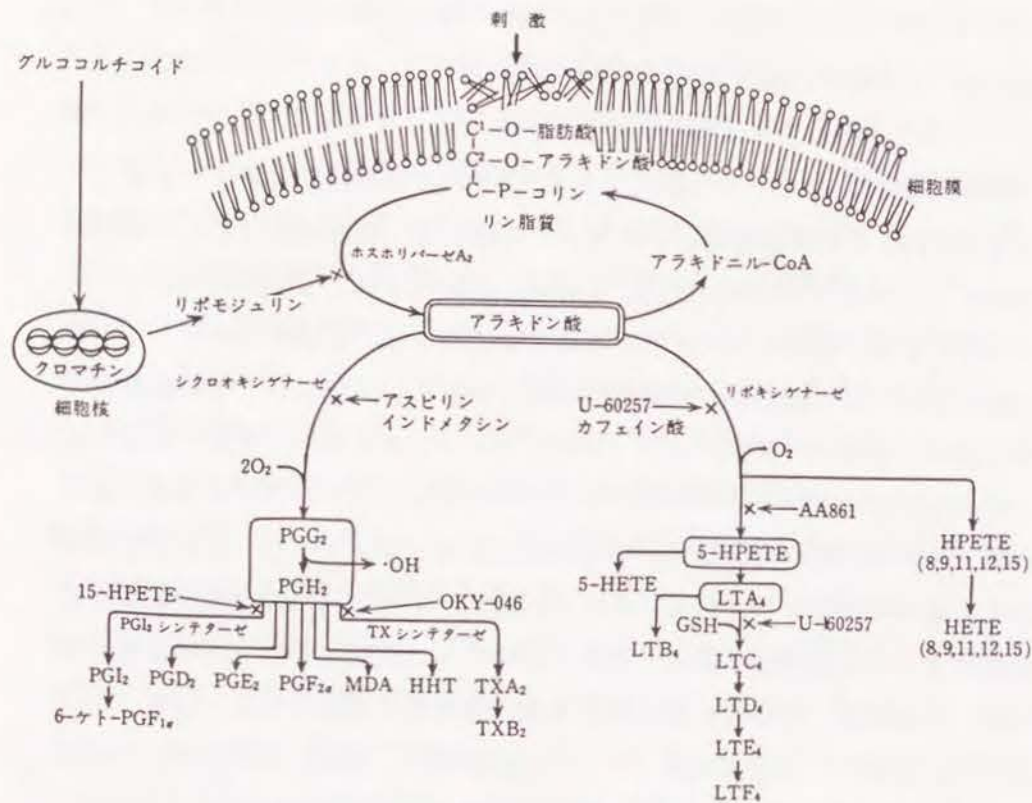
*TXA₂:Thromboxane A₂, PGI₂:Prostaglandine I₂, LTs:Leukotrienes,
HPETEs:Hydroperoxyeicosatetraenoic acids, HETEs:Hydroxyeicosatetra-
enoic acids, PDGF:Platelet derived growth factor, MDGF:Macrophage
derived growth factor, EDRF:Endothelium derived relaxing factor.

第1節 アラキドン酸カスケードと疾患

動物組織には“アラキドン酸カスケード”と呼ばれる物質代謝系がある (Figure 1)。この代謝系は、ホルモン、神経伝達、免疫反応などの生理的刺激によりホスホリパーゼと呼ばれる酵素が活性化され、リン脂質からアラキドン酸が加水分解されることにより始まる。生体はこの遊離されたアラキドン酸を原料にして数多くの生理活性物質を造り出しているが、その経路は大きく分けてプロスタグランジン (PG) やトロンボキサン (TX) などが造られるシクロオキシゲナーゼ系とロイコトリエン (LT) やヒドロキシエイコサテトラエン酸 (HETE) などが造られるリポキシゲナーゼ系に分けられる。個々のアラキドン酸カスケード代謝物はそれぞれが持つ特異的な生物活性によって細胞機能を調節しており、それらの代謝異常は種々の疾患 (狭心症、心筋梗塞、脳梗塞、糖尿病性血管障害などの虚血性疾患、喘息、アレルギー、腎炎などの免疫疾患、さらには動脈硬化、発熱、炎症、消化管潰瘍など) と密接な関連を持っている⁸⁾。従ってアラキドン酸代謝系を人為的に制御することができれば、これらの疾患の予防や治療につながることになる。実際抗炎症薬のアスピリンやインドメタシンがシクロオキシゲナーゼの特異的阻害薬であること⁹⁾や、ステロイド剤がホスホリパーゼを阻害するリボモジュリンを誘導すること¹⁰⁾などが見いだされ、その抗炎症作用の一端が明らかにされている。以上のような観点からアラキドン酸カスケードに関わる酵素の特異的阻害剤や代謝物のアゴニスト、アンタゴニストの開発が活発に進められている。

種類のメディエータが関与したりしていることが考えられる。従って複数のメディエータを同時に抑える薬物の方がより優れた薬効を発揮する可能性がある。これらの考察から、複数機能性を有する化合物のドラッグデザインを先の概念的モデルを基にして行い、その芳香環部分に5-リポキシゲナーゼに対する作用部位としてキノン構造を導入することにした。キノン類はまた活性酸素の消去能も有していることが知られていることから^{4*)~6)}、その作用による薬効への寄与も期待した。また、デザインした化合物の5-リポキシゲナーゼ阻害作用を調べるためにロイコトリエン類が必要であったため、当初立体化学が決定されていなかったロイコトリエン類の合成も併せて行った。同時にそれらを用いて、5-リポキシゲナーゼ系のHPLCによるアッセイシステムを確立した⁵⁾。その結果現在までに例を見ない、TXA₂合成酵素阻害作用、5-リポキシゲナーゼ阻害作用、活性酸素種消去作用の3作用を高度にバランス良く発現する化合物として2,3,5-trimethyl-6-(3-pyridylmethyl)benzoquinone (CV-6504) を見いだすことができた⁶⁾。本化合物のTXA₂合成酵素阻害作用はヒト全血中でIC₅₀値 3.3×10⁻⁷M、5-リポキシゲナーゼ阻害作用はヒト全血中でIC₅₀値 3.6 × 10⁻⁷M と両酵素に対しバランスのとれた活性を示し、また過酸化脂質生成抑制作用もラット脳ホモジネートでIC₅₀値1.8×10⁻⁶M と高い活性を示した。また CV-6504 についてはRBL-1細胞 (rat basophilic leukemia cells)やPB-3c細胞(マウス骨髄由来細胞)によるヒドロキノン体への還元反応、キノン体とヒドロキノン体の5-リポキシゲナーゼに対する作用及びDPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate)やgalvinoxylラジカルの消去作用についても検討を加えた⁷⁾。更に得られたデータをもとにCV-6504の生体内における挙動、作用メカニズムについて考察を加えた。

尚、本研究で見いだされたCV-4151及びCV-6504の両化合物はそれぞれ虚血性の心疾患、腎炎を中心に現在臨床でその薬効評価が進められている。



HPETE: ヒドロペルオキシエイコサテトラエン酸
 HETE: ヒドロキシエイコサテトラエン酸
 HHT: 12(S)-ヒドロキシ-5, 8, 10-ヘプタデカトリエン酸
 MDA: マロンジアルデヒド

Figure 1. アラキドン酸カスケード

第2節 トロンボキサンA₂ (TXA₂) 合成酵素阻害剤

TXA₂は強力な血管収縮作用と血小板の凝集作用を有しており、その作用は細胞内カルシウムイオンの増加を介して行われる。一方プロスタグランジンI₂ (PGI₂)はTXA₂とは全く逆の作用を有しており、TXA₂とPGI₂の産生のバランスが恒常性の維持につながっていると考えられている。実際、動脈硬化症、糖尿病、虚血性心疾患、ショック、川崎病、腎炎などにおいてTXA₂の産生昂進が認められており^{11)~13)}、TXA₂が病態の

発症や増悪に関与している可能性が推測される。先に述べたシクロオキシゲナーゼの阻害剤はTXA₂の生成を抑制するとともにPGI₂の生成も抑制するのに対し、TXA₂合成酵素阻害剤では蓄積したPGH₂がPGI₂合成に利用されることから両者のバランス改善にはより有効であると考えられる。現在市販、または開発が進められているTXA₂合成酵素阻害剤の主なものをFigure 2に示した。

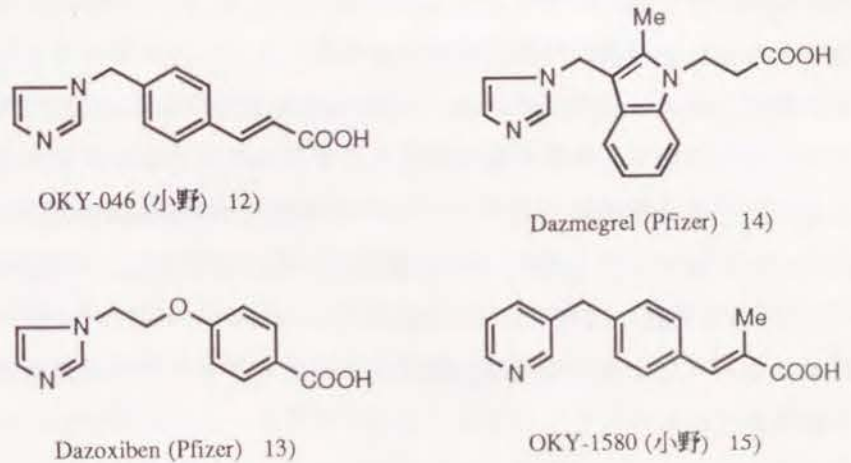


Figure 2. Thromboxane A₂ synthase inhibitors

第3節 5-リボキシゲナーゼ阻害剤

5-リボキシゲナーゼは血小板以外の血液細胞(肥満細胞、白血球、マクロファージなど)に存在し、アラキドン酸の5位に酸素を添加して5-ヒドロキシエイコサペンタエン酸(5-HPETE)を合成する酵素である。5-HPETEはさらにロイコトリエンA₄ (LTA₄)を経由してロイコトリエンC₄ (LTC₄)、ロイコトリエンD₄ (LTD₄)、ロイコトリエンE₄ (LTE₄)などのペプチドロイコトリエン類(ペプチドLTS)やロイコトリエンB₄に変換される。ペプチドLTSは強い血管透過性昂進作用や気管支平滑筋収縮作用などを¹⁶⁾、またLTB₄は強い白血球遊走作用を有しており¹⁷⁾、炎症、気管支喘息などに深く関わっている。従って5-リボキシ

ゲナーゼの阻害剤によりこれらロイコトリエン類の産生を抑制することはそれらの疾患の予防、治療に意味のあることと考えられる。

著者らはキノン、ヒドロキノン類が5-リポキシゲナーゼに対して強い阻害活性を示すことを世界に先駆けて明らかにしているが(AA-861など⁸⁾)、その5-リポキシゲナーゼについても機能や性質が徐々に解明されつつある。そしてその状態には活性中心に存在する鉄イオンが3価の状態をとる active state と2価の状態をとる resting state の2つが存在し、過酸化脂質により active state への活性化を受けること、一方ヒドロキノン類、フェノール類などにより resting state への不活性化を受けることなどが推定されている。現在までに知られている5-リポキシゲナーゼの阻害剤はヒドロキノン類のような抗酸化剤¹⁸⁾⁻¹⁹⁾、ヒドロキサム酸誘導体に代表される鉄のキレート剤²⁰⁾⁻²¹⁾、アラキドン酸や5-HPEETEなどの構造類似物質²²⁾⁻²³⁾の3種類に大別される(Figure 3)。尚、キノン類は生体内でDT-ジアホラーゼなどの2電子還元酵素によってヒドロキノンに還元されることが知られている²⁴⁾。

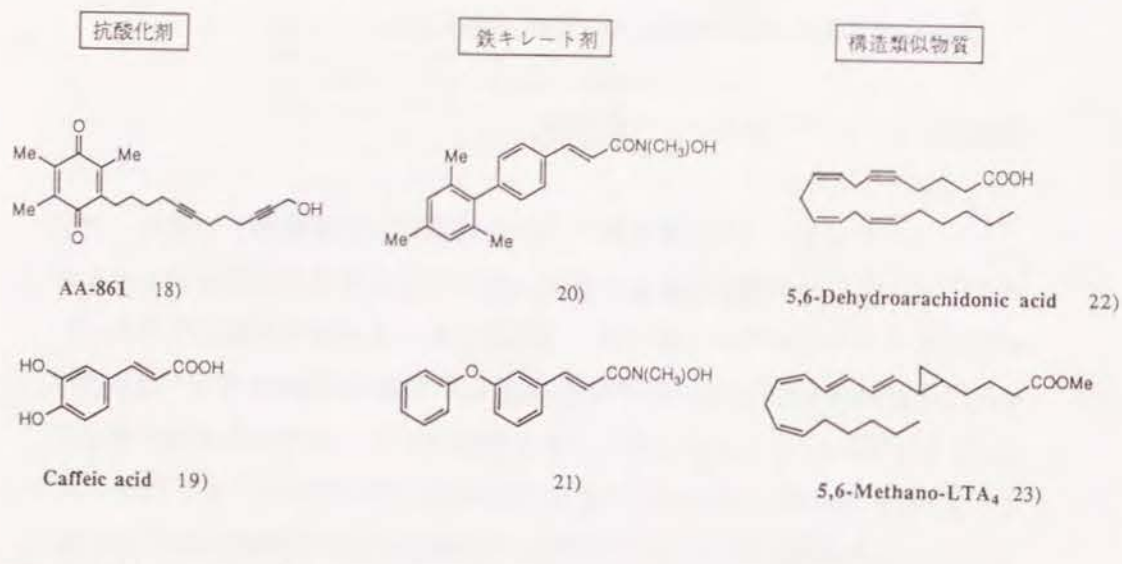
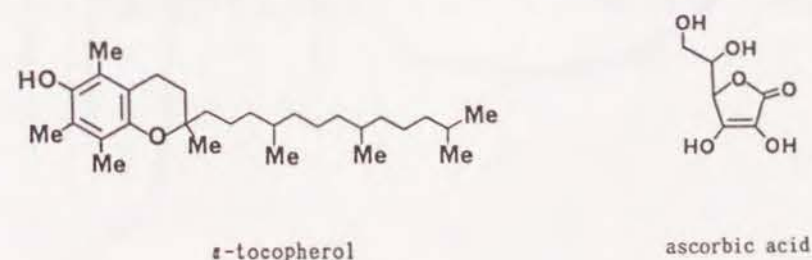


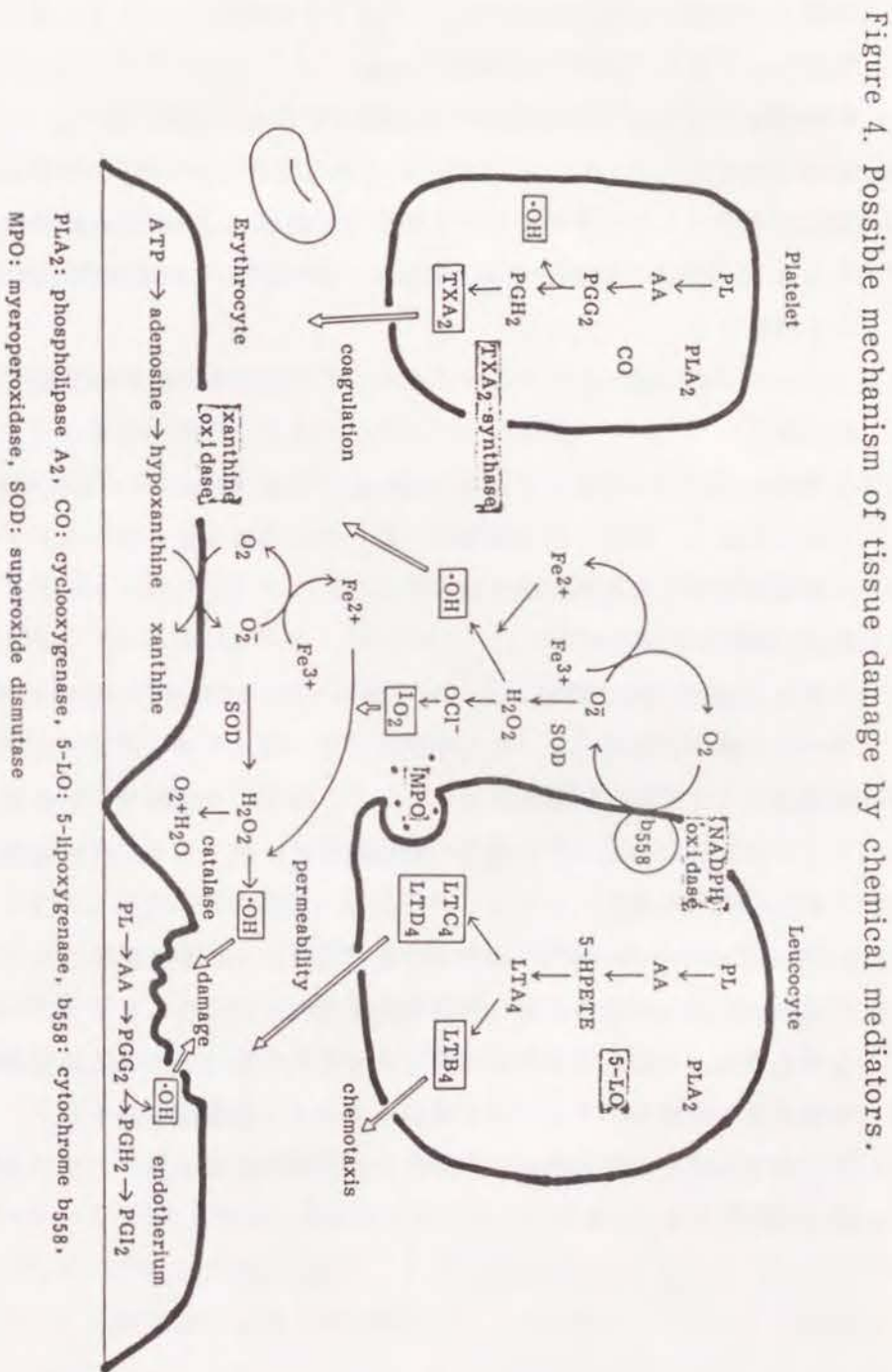
Figure 3. 5-Lipoxygenase inhibitors

第4節 活性酸素消去剤

第1節から第3節まではアラキドン酸カスケードとその調節について述べて来た。ここでは活性酸素種と疾患(心筋梗塞、脳梗塞、リウマチ、炎症、癌など)とのかかわりとその消去剤について簡単に述べてみたい。活性酸素種(active oxygen species, AOS)とはスーパーオキシドアニオン(O_2^-)、過酸化水素(H_2O_2)、ヒドロキシラジカル($\cdot OH$)、ferylイオン($\cdot OH$ と鉄イオンのコンプレックス)、過酸化脂質ラジカル($ROO\cdot$)など一般的に不安定で反応性に富んだ分子種を総称したものである²⁵⁾⁻²⁶⁾。生体は外から取り入れた酸素を還元的に処理することによってエネルギーを得、更には生体成分の生合成や殺菌にも積極的に利用している。また先に述べたアラキドン酸カスケードとのかかわりでは、 PGG_2 から PGH_2 への変換の際に反応性の高い $\cdot OH$ が生成することが知られている²⁶⁾⁻²⁷⁾。通常そのような過程で生ずるAOSは生体内に存在するSOD(superoxide dismutase)やカタラーゼなどの酵素、あるいはアスコルビン酸や α -トコフェロールなどの抗酸化剤によって消去され、細胞障害にいたることは無いが、虚血再灌流時などAOSの産生が異常に高まった時、あるいは防御系の機能が低下している時には細胞膜が酸化的に傷害される。このような場合の反応はラジカル反応であることから連鎖的に細胞膜の障害が進み最終的には細胞の壊死に至る。このような障害を防止する試みとしてSODの臨床応用がなされ一応の成果を得てはいるが²⁷⁾⁻²⁸⁾、SODが O_2^- に特異的であること、生体内での寿命が短いこと及び血管外で起きた反応には無効であることなどから新たなAOS消去剤の開発が切望されている。



これまでにTXA₂、5-リポキシゲナーゼ代謝産物、AOSと疾患とのかわりについて述べてきたが、これらはいずれも個々の問題としてとらえるのではなく複合的に考える必要がある。ここでは心筋梗塞や脳梗塞などの虚血性疾患を例にとってそれぞれのケミカルメディエータの役割について概説する(Figure 4)。先にも述べたようにTXA₂は強い血小板凝集作用と血管平滑筋の収縮作用が知られており、その産生過剰あるいは逆の作用を持つPGI₂の産生低下などにより両者の均衡に破綻が生ずると血流障害が惹起される。²⁸⁾ 虚血時においてはまず無酸素による酸化的リン酸化能の消失³¹⁾から、ミトコンドリアのATP合成がとまり²⁹⁾、それに続いてイオンの透過性の亢進³⁰⁾、リン脂質や蛋白質の分解などが起こり³²⁾最終的には細胞の壊死へとつながっていくが、途中で血流が再開された場合においても細胞機能の回復と同時に新たな障害が生じてくる。虚血中には前述の変化と共にATPの分解によるキサンチン、ヒポキサンチンの蓄積、キサンチンデヒドロゲナーゼのキサンチンオキシダーゼへの変化が起こっており、これらが血流再開時に供給された酸素と反応することによりスーパーオキドが産生され、それから生じる種々の活性酸素類(ヒドロキシラジカル、過酸化水素、過酸化脂質など)が細胞膜障害を引き起こす。³³⁾ また同時に虚血領域で生じた炎症反応に伴い白血球より産生されるLTC₄、LTD₄は細動脈の収縮をもたらすとともに強い血管透過性亢進作用を持つ。¹⁶⁾ この作用により局所性の浮腫が形成されるとともに、同時に産生されるLTB₄によりさらに白血球が呼び込まれる。¹⁷⁾ このように虚血時のみならず再灌流時においても細胞障害が進展し、臨床の場合においてもこのことが大きな問題となっている。



以上のような知見を基に、虚血性循環器疾患の原因と考えられる血管の閉塞を防止するTXA₂合成酵素阻害剤を中心に研究を進めることにし、以下のような研究方針を立てた。

[I] 特異的なTXA₂合成酵素阻害剤の合成

- 1) 特異的なTXA₂合成酵素阻害作用を持つ化合物の合成を行う。
- 2) ドラッグデザインにあたってはTXA₂合成酵素とPGH₂との相互作用及びチトクロームP-450の構造を考慮し、TXA₂合成酵素とTXA₂合成酵素阻害剤との相互作用についての新しい概念的なモデルを構築する。

[II] ロイコトリエン類の合成と5-リボキシゲナーゼ系代謝物の分離分析法の確立

LTC₄、LTD₄、LTE₄、 Δ^6 -trans-LTB₄などのロイコトリエン類を合成し、次にこれらを用いてHPLCによる5-リボキシゲナーゼ系代謝物の分離分析法を確立する。

[III] Dual Inhibitorの合成

- 1) TXA₂合成酵素阻害作用、5-リボキシゲナーゼ阻害作用を合わせ持つ化合物の合成を行う。また抗酸化活性と5-リボキシゲナーゼの阻害活性とは密接な関連があることから、適当な生体膜指向性のデザインを施すことにより生体内での酸化障害防止剤としての活性も期待することができる。
- 2) ドラッグデザインは前述のモデルを基に行い、その芳香環部分に5-リボキシゲナーゼ阻害作用、活性酸素消去作用を目的としてキノン環を導入する。化合物の評価に関しては生化学及び薬理学的有効性の見地から3作用がバランス良く備わっていることを重要視する。
- 3) 生体内に於ける作用メカニズムをESRや培養細胞を用いたモデル実験から考察する。

第1節 TXA₂合成酵素とTXA₂合成酵素阻害剤との相互作用についての概念的モデルの構築

1975年にTXA₂が発見されて以来多数のTXA₂合成酵素阻害剤(thromboxane A₂ synthase inhibitor: TXSI)が合成され、TXSIに対する構造活性因子がかなり明確になっている。それらを要約すると次のようになる。

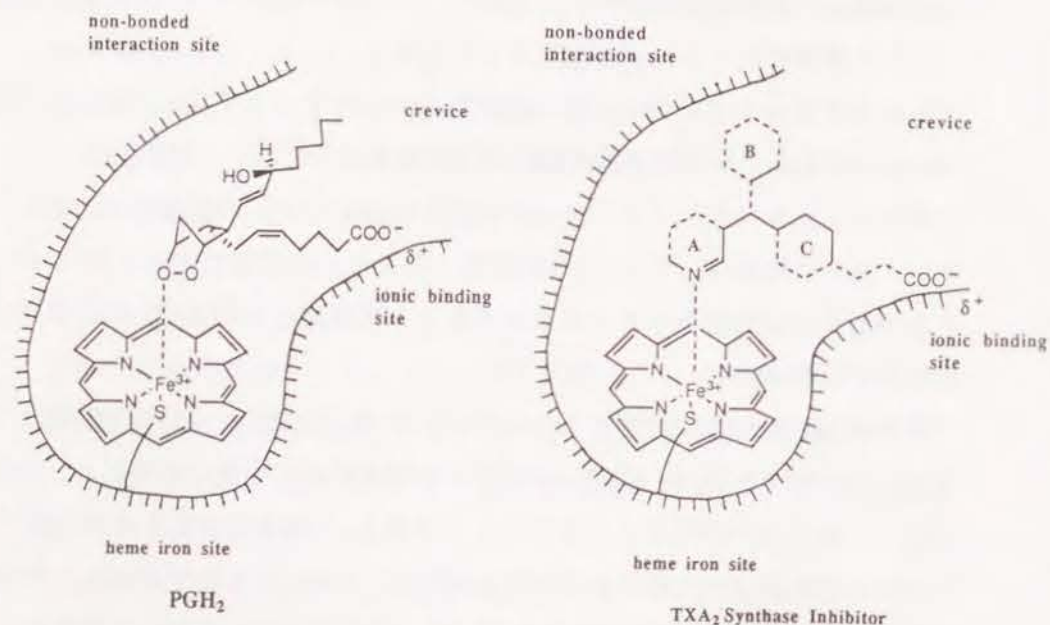
- 1) 殆どのTXSIは活性中心としてイミダゾール、ピリジンなどを含み、その置換位置はそれぞれ1位と3位である。
- 2) イミダゾールやピリジン内の窒素原子から約9~11 Åの距離にカルボキシル基を有する化合物が強い阻害活性を示す。

TXSIにおけるイミダゾールの3位またはピリジンの窒素原子とカルボキシル基との距離は、TXA₂合成酵素(TXS)の基質であるPGH₂エンドパーオキシド結合とカルボキシル基との距離に良く一致しており構造の相関性が示唆される。

著者は以上の知見に加えてTXSがチトクロームP-450系統の酵素であることからチトクロームP-450と基質との相互作用に着目した。今井らはP-450の活性部分の構造をP-448₁と種々の基質を用いて調べており、その結果ヘム鉄の上部にベンゾ[a]ピレンが入る程度の疎水性の部分が存在することを明らかにしている³⁴⁾。このような疎水性部分は大きさに差があるものの、種々のチトクロームP-450において存在することから、TXSの活性中心であるヘム鉄の上部にもヘム分子を安定化している疎水性の π - π 相互作用部位(non-bonded interaction site)が存在し、この部分がPGH₂の ω 側鎖と親和性を示すものと考えた。以上の考察から、TXSは3つの相互作用部位即ち、TXSの活性中心でPGH₂エンドパーオキシドの酸素原子と電子の授受を行うヘム鉄部分、ヘム分子を安定化している疎水性の π - π 相互作用部位、そして窒素原子から約10 Åの距離にあ

るカチオン部位を想定した概念的なモデルを構築した (Figure 5)。
 このような構造因子を持つ酵素に対応する化合物として ω -pyridylalken-
 oic acid 類をデザインした。

Figure 5. Conceptual model for the TXA₂ synthase -
 TXA₂ synthase inhibitor interactions



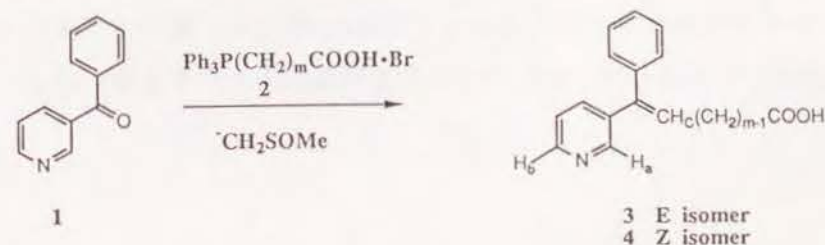
第2節 ω -ピリジルアルケン酸類の合成

(1) Wittig反応による ω -ピリジルアルケン酸骨格の合成

目的とする ω -ピリジルアルケン酸類はWittig試薬(2)と種々のピリジル
 ケトン類(1)との反応によって合成した(Method A)。反応はDMSO中で行い、塩
 基としてメチルスルフィニルメチド(methylsulfinylmethide)を用いたが、
 概ね良好な収率でE体(3)とZ体(4)の混合物を得た。2種の異性体は分別再結
 晶または逆相HPLCによって分離したが、分離が困難な場合にはエステル体と
 して分離の後、加水分解を行った。各々の異性体はIR、UV、MSなどのスペク
 トルからは立体配置を決めることが出来なかったため数種類の化合物(Table
 1: 3a, 4c, 4f, Table II: 25g)についてX線結晶構造解析を行った。またE体(
 Table 1: 3a-h)とZ体(4a-h)とのNMRスペクトルを比較することにより、3-ピ
 リジル基のHaプロトンとHbプロトンはE体が δ 8.51-8.58 (1H, J=2Hz)と δ
 8.41-8.46 (1H, quartet, J=1.5 and 5Hz)に、Z体が δ 8.45-8.47 (1H, J=2Hz)
 と δ 8.54-8.55 (1H, quartet, J=1.5 and 5Hz)にピークを示し、ビニル基につ
 いたHcプロトンはE体の方がZ体よりも少し高磁場に現れること(E体: δ 6.10-
 6.12, Z体: δ 6.15-6.16)が明らかになった(Figure 6)。一方シリカゲルTLC
 においてもE体はZ体よりも小さいRf値を示し、これらの結果は一連の誘導体
 の立体配置を決定するのに役に立った。

E体とZ体の生成比は、温度、溶媒、塩基などの反応条件を変化させても顕
 著な変化が見られなかったが、反応生成物を臭化水素酸と加熱することによ
 りE体の含量を増加させる(E:Z, 2:1)ことができた。またZ体を同様に処理す
 ることによってE体とZ体の平衡混合物(2:1)を得た。

Method A



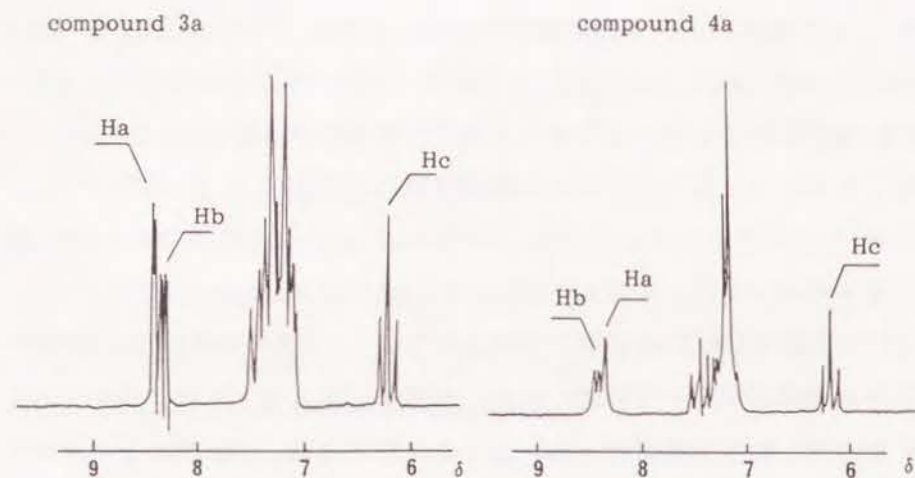


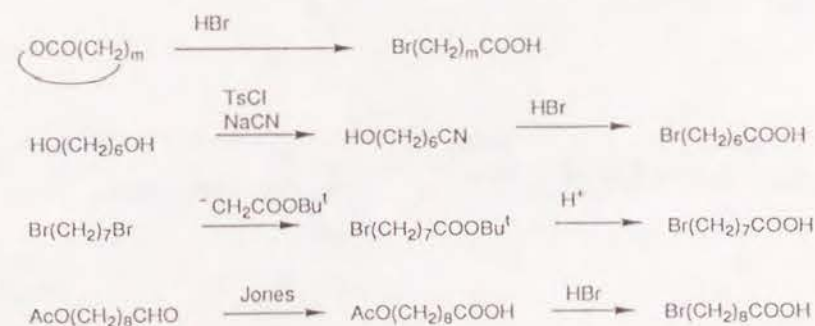
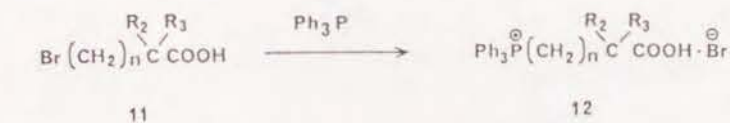
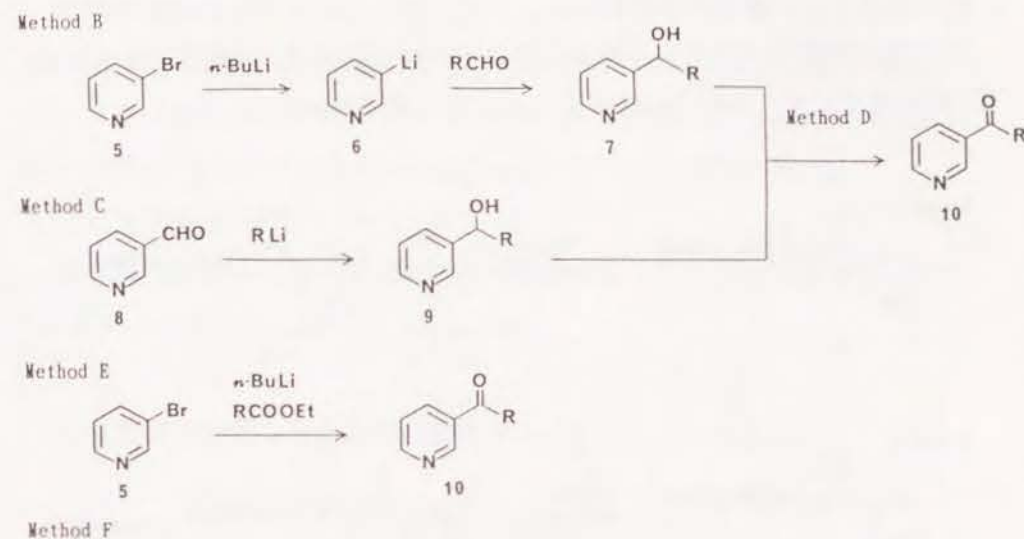
Figure 6. NMR spectra of compounds 3a and 4a.

(2) ピリジルケトン類の合成

市販で得られないピリジルケトン類は3種類の方法で合成した(Method B, C, E)。3-リチオピリジンはエチルエーテル中で3-ブロモピリジンと*n*-ブチルリチウムとの反応により調製した。2級アルコール体の酸化は二酸化マンガンによる方法とSwern酸化³⁵⁾とを併用した(Method D)。

(3) Wittig試薬の合成

ω -ピリジアルケン酸骨格の合成に用いたWittig試薬(12)は対応する ω -ブロモカルボン酸類(11)とトリフェニルホスフィンとの反応により調製した(Method F)。 $n=3, 4, 5$ の ω -ブロモカルボン酸類は対応するラク톤を臭化水素酸により開環して得た。 $n=6$ のものは1,6-ヘキサジオールをモノトシレートとした後、トシル基をシアノ基で置換して、最後にシアノ基を臭化水素酸で加水分解して得た。 $n=7$ のものは、1,6-ジブロモヘキサンに*t*-ブチル酢酸のカルバニオンを反応させた後保護基を加水分解して得た。 $n=8$ のものは8-ホルミルオクチルアセテートをJones酸化し、続いてアセチル基を臭素で置換して合成した。 $n=9, 10$ のものは市販品をそのまま用いた。

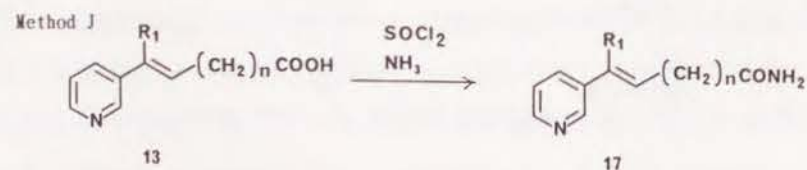
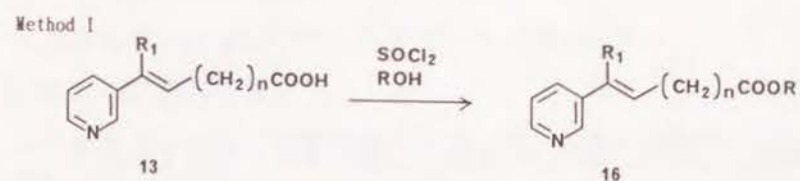
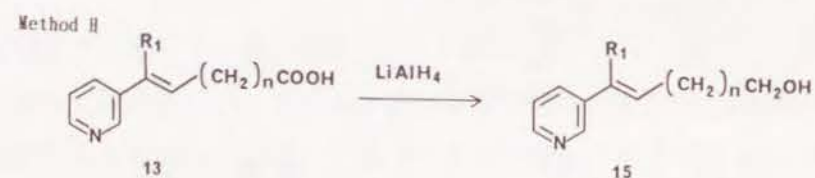
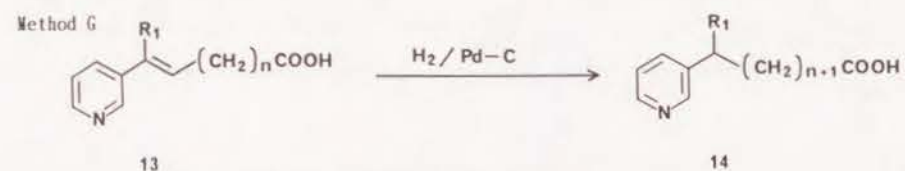


(4)飽和の側鎖を持つ誘導体の合成

側鎖の二重結合の必要性を明確にするため接触還元により飽和の化合物を合成した(Method G)。

(5)カルボキシル基の修飾反応

化合物(13)のカルボキシル基をアルコールへの還元(Method H)、エステル化(Method I)、アミド化(Method J)などにより誘導体化した。



(6)カルボキシル基の α 炭素の修飾反応

生体内で代謝される際に予想される側鎖の β 酸化を阻害し、作用持続性を高める目的でカルボキシル基の α 位に置換基を導入した。

所望の置換基を有するWittig試薬とピリジルケトンとを反応させる方法(Method K)、及びエステル体(15a)にLDAを作用させてカルバニオンを発生させ、次ぎに種々の求核試薬(ketone, disulfide, alkyl halide, aralkyl halideなど)を反応させる方法(Method L)により目的物を得た。

(7)ピリジン-N-オキシドの合成

化合物(3c)をm-クロロ過安息香酸で処理することにより対応するピリジン-N-オキシド体(21)に導いた(Method M)。

以上の方法で合成した化合物の物性をTable I ~ Vに示した。

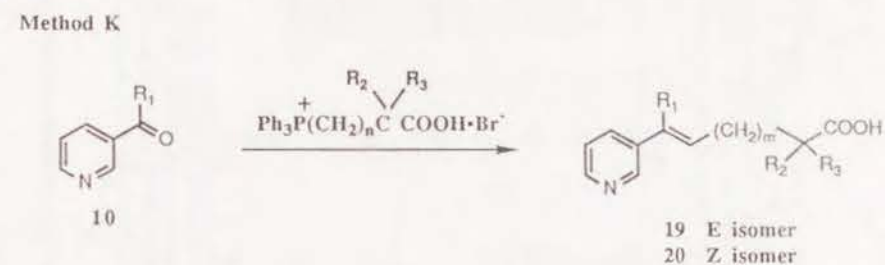
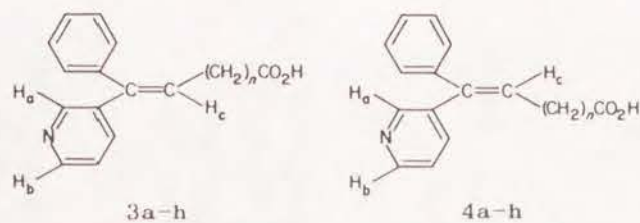


Table I. Physical Properties and Inhibitory Activity of ω -Phenyl- ω -(3-pyridyl)alkenoic Acids 3a-h and 4a-h and Compounds 14a, 22, and 23



compd	n	formula ^b	mp, °C	yield, ^a %	characteristic chemical shifts in ¹ H NMR spectra, ppm			inhibitory activity: IC ₅₀ , ^d M
					H _a	H _b	H _c	
3a	2	C ₁₆ H ₁₅ NO ₂	109-110	74	8.58	8.41	6.20	1.1 × 10 ⁻⁷
4a	2	C ₁₆ H ₁₅ NO ₂	oil		8.47	8.54	6.17	4.5 × 10 ⁻⁷
3b	3	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂	82-83	87	8.56	8.42	6.12	3.0 × 10 ⁻⁸
4b	3	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂	100-101		8.45	8.56	6.15	2.8 × 10 ⁻⁷
3c	4	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	114-115	86	8.53	8.44	6.12	2.6 × 10 ⁻⁸
4c	4	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	93-94		8.45	8.55	6.16	5.1 × 10 ⁻⁸
3d	5	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	oil	84	8.52	8.44	6.11	2.9 × 10 ⁻⁸
4d	5	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	oil		8.44	8.55	6.16	6.5 × 10 ⁻⁸
(3e+4e) ^c	6	C ₂₀ H ₂₃ NO ₂	oil	73	8.52, 8.44	8.44, 8.53	6.10, 6.16	4.1 × 10 ⁻⁸
3f	7	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	oil	76	8.52	8.43	6.12	3.2 × 10 ⁻⁸
4f	7	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	79-80		8.44	8.55	6.16	2.3 × 10 ⁻⁷
3g	8	C ₂₂ H ₂₇ NO ₂	oil	85	8.51	8.44	6.11	4.2 × 10 ⁻⁸
4g	8	C ₂₂ H ₂₇ NO ₂	90-91		8.42	8.54	6.16	3.1 × 10 ⁻⁷
3h	9	C ₂₃ H ₂₉ NO ₂	52-53	62	8.54	8.43	6.12	5.5 × 10 ⁻⁸
4h	9	C ₂₃ H ₂₉ NO ₂	94-95		8.46	8.54	6.16	5.2 × 10 ⁻⁷
14a		C ₁₈ H ₂₁ NO ₂	oil	96				2.7 × 10 ⁻⁷
22 ^e		C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	oil	83				>10 ⁻⁴
23		C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	149-150 ^f	32				>10 ⁻⁴

^a Yields (percent) are shown as a mixture of *E* and *Z* isomers. ^b Analyses (C, H, N) within ±0.4% of calculated values. ^c It was difficult to separate each isomer in a pure state by HPLC on a reverse-phase column. ^d IC₅₀ = the molar concentration of test compound required to reduce the amount of thromboxane B₂ (the stable metabolite of thromboxane A₂) formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes by 50%. ^e HPLC analysis of the product showed it to be a 1:1 mixture of *E* and *Z* isomers, one of which is crystalline, but the stereochemistry is not clear.

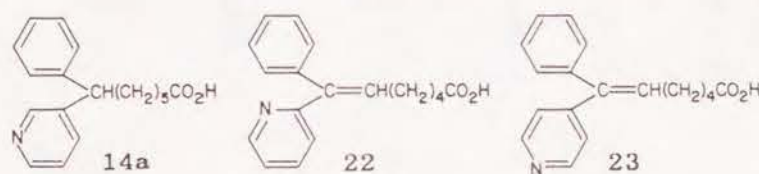
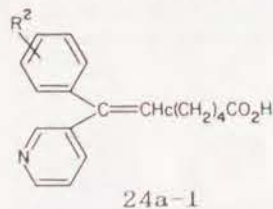


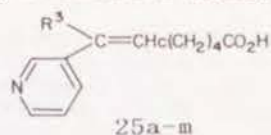
Table II. Physical Properties and Inhibitory Activity of 7-(Substituted-phenyl)-7-(3-pyridyl)-6-heptenoic Acids 24a-1



compd ^a	R ²	formula ^b	yield, %	characteristic chemical shifts of H _c in ¹ H NMR spectra, values in ppm		<i>E/Z</i> ^d	IC ₅₀ , ^d M
				in ppm			
24a	4-Me	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	73	6.09/6.13		1:1	8.5 × 10 ⁻⁸
24b	4-OMe	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	76	6.02/6.05		1:1	8.0 × 10 ⁻⁸
24c	4-CHMe ₂	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	85	6.07/6.13		1:1	6.3 × 10 ⁻⁸
24d	4-Br	C ₁₈ H ₁₈ NO ₂ Br	44	6.10/6.14		2:3	8.2 × 10 ⁻⁸
24e	3-Br	C ₁₈ H ₁₈ NO ₂ Br	62	6.10/6.14		2:3	1.8 × 10 ⁻⁷
24f	2-Br	C ₁₈ H ₁₈ NO ₂ Br	22	6.28 ^g			1.3 × 10 ⁻⁷
24g	4-F	C ₁₈ H ₁₈ NO ₂ F	45	6.09/6.12		2:3	8.3 × 10 ⁻⁸
24h	3-F	C ₁₈ H ₁₈ NO ₂ F	65	6.14/6.20		2:3	5.5 × 10 ⁻⁸
24i	2-F	C ₁₈ H ₁₈ NO ₂ F	33	6.07/6.28		1:9	7.0 × 10 ⁻⁸
24j	3-CF ₃	C ₁₉ H ₁₈ F ₃ NO ₂	61	6.20/6.22		2:3	5.2 × 10 ⁻⁸
24k	3-NO ₂	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₄	82	6.20/6.28		2:3	7.3 × 10 ⁻⁸
24l	H	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	86	6.12/6.16		1:1	3.6 × 10 ⁻⁸

^a All compounds are a mixture of *E* and *Z* isomers and were oily substances except for 14a. ^b Analyses (C, H, N) within ±0.4% of calculated values. ^c The *Z* isomer is a crystalline compound with mp 126-127 °C. ^d IC₅₀ = the molar concentration of test compound required to reduce the amount of thromboxane B₂ (the stable metabolite of thromboxane A₂) formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes by 50%. ^e The ratios were obtained from the peak height of proton H_c in isomers. ^f Isomers in which chemical shifts of H_c are higher are tentatively presented as *E* isomers and other as *Z* isomers. ^g Single product was observed. ^h 14l represents a 1:1 mixture of 9c and 10c.

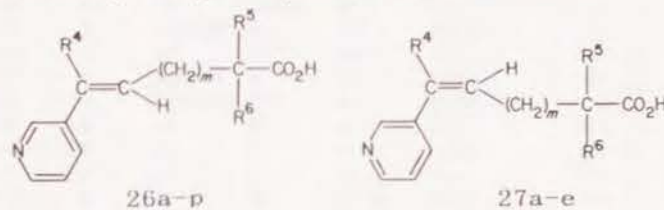
Table III. Physical Properties and Inhibitory Activity of 7-Substituted-7-pyridyl-6-heptenoic Acids 25a-m



compd	R ³	stereochem ^a	formula ^b	mp, °C	yield, %	characteristic chemical shifts of H _c in ¹ H NMR spectra, ppm	E/Z ^e	IC ₅₀ ^d M
25a	H	E/Z	C ₁₂ H ₁₅ NO ₂	oil	92	5.80/6.29	2:3	2.5 × 10 ⁻⁷
25b	Me	E	C ₁₃ H ₁₇ NO ₂	oil	35	5.58	3:7	7.1 × 10 ⁻⁸
	Me	Z	C ₁₃ H ₁₇ NO ₂	82-83		6.29		2.1 × 10 ⁻⁷
25c	(CH ₂) ₅ Me	E/Z	C ₁₈ H ₂₇ NO ₂	oil	41	5.54/5.67	3:1	7.5 × 10 ⁻⁸
25d	(CH ₂) ₃ Ph	E/Z	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	oil	23	5.55/5.69	4:1	6.5 × 10 ⁻⁸
25e	1-naphthyl	Z	C ₂₂ H ₂₁ NO ₂	oil	20	6.50 ^f		3.4 × 10 ⁻⁸
25f	2-naphthyl	E	C ₂₂ H ₂₁ NO ₂	oil	51	6.21	3:2	1.9 × 10 ⁻⁸
		Z	C ₂₂ H ₂₁ NO ₂	157-158		6.30		6.0 × 10 ⁻⁸
25g	2-thienyl	E	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂ S	84-85	84	6.04	2:3	2.0 × 10 ⁻⁸
		Z	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂ S	93-94		6.22		5.4 × 10 ⁻⁸
25h	3-thienyl	E	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂ S	oil	73	6.06	2:3	3.1 × 10 ⁻⁸
		Z	C ₁₆ H ₁₇ NO ₂ S	100-102		6.21		6.2 × 10 ⁻⁸
25i	3-methyl-2-thienyl	E/Z	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂ S	oil	64	6.04	1:4	2.9 × 10 ⁻⁸
25j	2-thiazolyl	Z	C ₁₅ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	97-98	44	6.21/6.85	1:5	9.8 × 10 ⁻⁷
25k	2-benzo[b]thienyl	Z	C ₂₀ H ₁₉ NO ₂ S	145-146	63	6.33 ^f		1.3 × 10 ⁻⁶
25l	3-pyridyl		C ₁₇ H ₁₈ N ₃ O ₂	oil	43	6.21 ^f		1.0 × 10 ⁻⁷
25m	3,4-(methylenedioxy)phenyl	E	C ₁₉ H ₁₉ NO ₄	oil	76	6.05	2:3	4.1 × 10 ⁻⁸
		Z	C ₁₉ H ₁₉ NO ₄	90-91		6.06		5.6 × 10 ⁻⁸

^a Stereochemistry rested on their ¹H NMR spectra as shown in Table II. ^b Analyses (C, H, N) within ±0.4% of calculated values. ^c Yield (percent) represents a mixture of E and Z isomers. ^d IC₅₀ = the molar concentration of test compound required to reduce the amount of thromboxane B₂ (the stable metabolite of thromboxane A₂) formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes by 50%. ^e Ratios were obtained from the peak height of H_c in stereoisomers. ^f Single product was observed.

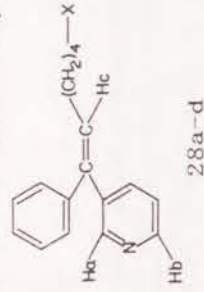
Table IV. Physical Properties and Inhibitory Activity of Compounds 26a-p and 27a-e



compd	m	R ⁴	R ⁵	R ⁶	formula ^a	mp, °C	yield, %	IC ₅₀ ^b M	characteristic chemical shifts in ¹ H NMR spectra, ppm		
									H _a	H _b	H _c
26a	3	Ph	Me	Me	C ₂₀ H ₂₃ NO ₂	oil	43	2.1 × 10 ⁻⁸	8.56	8.44	6.12
27a	3	Ph	Me	Me	C ₂₀ H ₂₃ NO ₂	137-138	42	3.0 × 10 ⁻⁸	8.46	8.55	6.16
26b	4	Ph	Me	Me	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	oil	54	4.5 × 10 ⁻⁸	8.54	8.46	6.11
27b	4	Ph	Me	Me	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	109-110	58	3.8 × 10 ⁻⁸	8.46	8.55	6.14
26c	3	2-Th ^c	Me	Me	C ₁₈ H ₂₁ NO ₂ S	oil	41	1.8 × 10 ⁻⁸	8.60	8.49	6.03
27c	3	2-Th	Me	Me	C ₁₈ H ₂₁ NO ₂ S	141-142	40	3.7 × 10 ⁻⁸	8.49	8.60	6.22
26d	4	2-Th	Me	Me	C ₁₉ H ₂₃ NO ₂ S	oil	32	4.8 × 10 ⁻⁸	8.58	8.46	6.01
27d	4	2-Th	Me	Me	C ₁₉ H ₂₃ NO ₂ S	138-139	30	4.3 × 10 ⁻⁸	8.49	8.59	6.20
26e	3	2-Th	Ph	H	C ₂₂ H ₂₁ NO ₂ S	135-136	58	3.2 × 10 ⁻⁸	8.56	8.44	5.99
27e	3	2-Th	Ph	H	C ₂₂ H ₂₁ NO ₂ S	174-175	57	5.0 × 10 ⁻⁸	8.48	8.60	6.17
26f	3	Ph	SPh	H	C ₂₄ H ₂₅ NO ₂ S	oil	97	3.3 × 10 ⁻⁸	8.56	8.43	6.12
26g	3	Ph	SMe	H	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂ S	oil	50	3.0 × 10 ⁻⁸	8.64	8.42	6.13
26h	3	Ph	S-i-Bu	H	C ₂₂ H ₂₇ NO ₂ S	oil	49	1.1 × 10 ⁻⁷	8.54	8.46	6.13
26i	3	Ph	Bz	H	C ₂₅ H ₂₅ NO ₂	oil	87	5.8 × 10 ⁻⁸	8.56	8.43	6.11
26j	3	Ph	CH ₂ =CHCH ₂	H	C ₂₁ H ₂₃ NO ₂	oil	85	5.0 × 10 ⁻⁸	8.53	8.46	6.13
26k	3	Ph	HC≡CCH ₂	H	C ₂₁ H ₂₁ NO ₂	oil	82	2.8 × 10 ⁻⁸	8.60	8.43	6.13
26l	3	Ph		H	C ₂₃ H ₂₇ NO ₃	oil	85	6.5 × 10 ⁻⁸	8.57	8.43	6.13
26m	3	Ph		H	C ₂₁ H ₂₅ NO ₃	oil	86	4.2 × 10 ⁻⁸	8.63	8.41	6.13
26n	3	Ph	CH ₂ OMe	H	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	oil	87	4.1 × 10 ⁻⁸	8.57	8.46	6.13
26o	3	Ph		H	C ₂₃ H ₂₅ NO ₂	oil	74	6.0 × 10 ⁻⁸	8.53	8.43	6.12
26p	3	Ph	-(Me)C=CH ₂	H	C ₂₁ H ₂₃ NO ₂	oil	68	2.8 × 10 ⁻⁸	8.56	8.43	6.13

^a Analyses (C, H, N) within ±0.4% of calculated values. ^b IC₅₀ = the molar concentration of test compound required to reduce the amount of thromboxane B₂ (the stable metabolite of thromboxane A₂) formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes by 50%. ^c 2-Th means 2-thienyl group.

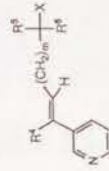
Table V. Physical Properties and Inhibitory Activities in Vitro and ex Vivo Systems of Compounds 28a-d, 3g, and 21



compd	X	formula ^a	mp, °C	characteristic chemical shifts in ¹ H NMR spectra, ppm				IC ₅₀ ^b M	ex vivo test system, % inhib ^c
				H _a	H _b	H _c	H _e		
28a	COOMe	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	oil	8.49	8.42	6.07	1.0 × 10 ⁻⁷	92	
28b	COOEt	C ₂₀ H ₂₃ NO ₂	oil	8.49	8.41	6.08	6.0 × 10 ⁻⁷	90	
28c	CH ₂ OH	C ₁₈ H ₂₁ NO	oil	8.48	8.40	6.09	2.2 × 10 ⁻⁶	92	
28d	CONH ₂	C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O	97-98	8.48	8.42	6.08	4.0 × 10 ⁻⁷	93	
3g	(CH ₂) ₄ COOH	C ₂₂ H ₂₇ NO ₂	oil	8.51	8.44	6.11	4.2 × 10 ⁻⁸	92	
21		C ₁₈ H ₁₉ NO ₃	166-167	8.28	8.26	6.22	>10 ⁻⁶	85	

^a Analyses (C, H, N) within ±0.4% of calculated values. ^b IC₅₀ = the molar concentration of test compound required to reduce the amount of thromboxane B₂ (the stable metabolite of thromboxane A₂) formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes by 50%. ^c Percent inhibition on the production of serum TXB₂ 2 h after oral administration of compound (10 mg/kg) to the rat.

Table VI. Comparison of TXA₂ Synthase Inhibitory Activity of the High Potent Compounds in ex Vivo Test System



compd	m	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	X	production of TXB ₂ 1mg/kg po 24h % inhib
3c	4	Ph	H	H	H	COOH	53
3d	5	Ph	H	H	H	COOH	24
3e	6	Ph	H	H	H	COOH	17
3g	8	Ph	H	H	H	COOH	10
25f	4	2-naphthyl	H	H	H	COOH	17
25g	4	2-thienyl	H	H	H	COOH	10
26a	4	Ph	Me	Me	Me	COOH	14
26c	4	2-thienyl	Me	Me	Me	COOH	17
26h	4	Ph	Si-t-Bu	Me	Me	COOH	8
26m	4	Ph	Me	Me	Me	COOH	37
28b	4	Ph	H	H	H	COOEt	35

第3節 TXA₂合成酵素阻害活性

(1) In vitro スクリーニング

TXA₂合成酵素標品として馬血小板マイクロソームを用い各化合物のTXA₂合成酵素阻害活性を調べた。TXA₂の安定代謝物であるTXB₂の量はラジオイムノアッセイ(RIA)法によって測定した。阻害活性をTable I~Vに示した。

まずメチレン鎖の長さや阻害活性について見てみると、n=4-5付近(化合物3c, 3d)に活性の極大が見られた(Table I)。これらの化合物の窒素原子とカルボキシル基との距離をX線結晶構造解析のデータから算出してみるとほぼ9~10Åとなり、必要条件を満たしていることが明らかになった (Figure 7)。

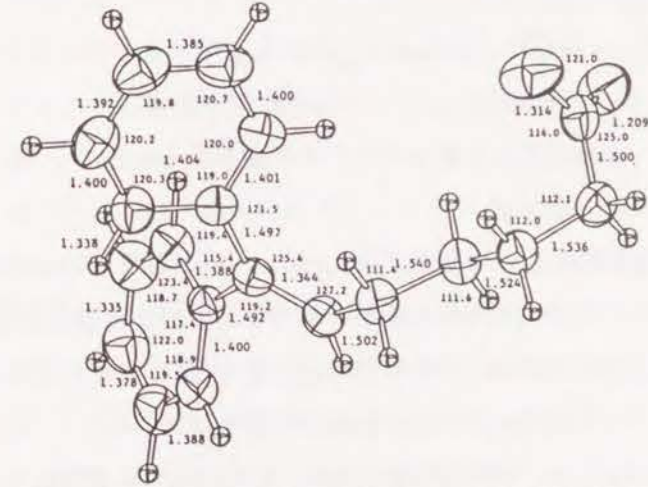


Figure 7. ORTEP presentation of (E)-7-phenyl-7-(3-pyridyl)-6-heptenoic acid (3c; CV-4151).

二重結合上の立体配置に関しては側鎖や芳香環の種類に関係無く、総じてE体の方がZ体よりも強い阻害活性を示した。またこの二重結合を飽和体にした化合物(14a)では阻害活性が大幅に低下しており、二重結合の重要性が確かめられた。

ピリジル基の置換位置については、3位のものが強い阻害作用を示し、2

位(22)及び4位(23)のものはほとんど阻害作用を示さなかった。

芳香環の種類としてはフェニル基以外に、2-ナフチル基(25f)、2-チエニル基(25g)を持つ化合物に強い阻害活性が見られ、3-ピリジル基(25i)、2-チアゾリル基(25j)などの極性のある複素環基を持つ誘導体はいずれも活性が低かった(Table II)。

芳香環上の置換基に関しては、フェニル基の場合その電子的効果に関係無く阻害活性が低下し、極性基ほどその程度は著しい傾向が見られた(Table II)。またチエニル基の場合には3位にメチル基を持つもので強い活性が見られたがメンゾチエニル基のように大きな置換基を導入すると活性が低下した。

カルボキシル基の α 位への置換基の導入は、作用への顕著な影響を示さなかったが、化合物26a, 26cなどでは、親化合物である3cや25gよりも少し強い作用を示した(Table IV)。

またR₃に芳香環を有しない化合物(25a)や芳香環に代えてアルキル基を導入した化合物(25b)は化合物3cに比べて阻害作用が弱く、これまでに述べた事実と併せて、始めに示した概念的モデルの妥当性を示していた。

(2) Ex vivo スクリーニング

In vitroで阻害活性の強かった化合物についてex vivoでのTXA₂合成酵素阻害活性を調べた。Ex vivoでは5-8週令の雄ラットに被験化合物を経口投与し、一定時間後に血液を採取してそのTXB₂含有量をRIAで測定し、コントロールとの比較によってTXA₂合成酵素阻害活性を算出した。

化合物(3c)の24時間後における阻害活性は、10mg/kg投与で94%、1mg/kg投与で53%と最も強い値を示した。2-ナフチル基を有する化合物(25f)や2-チエニル基を有する化合物(25g)はin vitroでは化合物(3c)を上回る阻害活性を示しながらex vivoにおける作用は弱かった。また作用持続時間の延長を目的としてカルボキシル基の α 炭素に置換基を導入した化合物(26a, 26c, 26h, 26m)ではその効果は全く見られなかった(Table III)。

また化合物(3c)に比べて長い側鎖を有する化合物(3g)や末端のカルボキシル基を修飾した化合物(28a-d)はin vitroではそれほど強い阻害活性を示していなかったが、ex vivoでは化合物(3c)と同等の作用を示した(Table V)。

同様にピリジン-N-オキシドを有する化合物(29)はin vitroでは全く阻害活性を示さなかったが、ex vivo(10mg/kg, 2時間後)では化合物(3c)と殆ど同等の作用を示した。これらの事実は生体内では β 酸化、ピリジン-N-オキシドの還元、エステルやアミドの加水分解、さらにはヒドロキシメチル基の酸化などが容易に起こり、より活性の強い化合物(3c)が生成することを示唆しており、TXSIのプロドラッグ化についても大きな示唆を与えるものであった。

(4) その他の酵素に対する作用

最も強いTXA₂阻害活性を示した化合物(3c)は他のアラキドン酸系の酵素であるシクロオキシゲナーゼ、プロスタグランジン I₂合成酵素、15-リポキシゲナーゼ(soybean)、5-リポキシゲナーゼ(rat basophilic leukemia-1 cells)などに対しては殆ど作用を示さなかった。

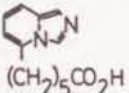
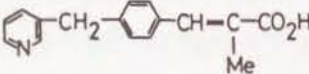
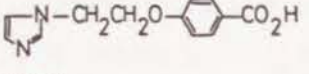

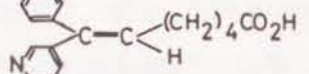
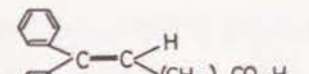
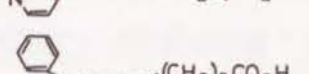
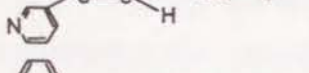
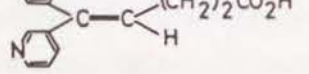
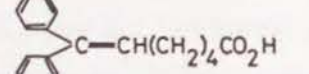
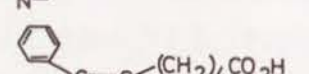
(5) 考察

先にも述べたように、化合物のドラッグデザインはFigure 5に示した概念的なモデルに従って行った。合成した化合物のうち、化合物 3c が強いTXA₂合成酵素阻害作用を示したが、この化合物はモデルの3つのサイトによく適合する構造を有している。即ち、ヘム鉄と結合するピリジンの窒素原子、その窒素原子から8.5-10Åの距離にあり、イオン結合によりアンカーとしての役割を果たすカルボキシル基、そして非結合性の $\pi-\pi$ 相互作用部位をなすベンゼン環の3つである。またこのモデルの妥当性は、Ullrichらによって精製TXA₂合成酵素を用いた分光学的な手法によって明らかにされている³⁶⁾。その結果をTable IIIに示した。このように既存のTXSIと比較して、化合物 3cはTXSに対して非常に高い親和性を示すことが明らかとなった。

現在化合物 3cは開発コード番号CV-4151としてPhase II 臨床試験が行われ、種々の循環器疾患に対する治療効果が検討されている。

Table VII. Spectral and kinetic constants of thromboxane synthase inhibitors

Experimental procedures were as described in the text. ' K_i ' values were determined spectrophotometrically at a concentration of 220 pmol cytochrome P450 in 500 μ l. IC_{50} values were calculated from inhibition studies using 36 μ M PGH_2 at an enzyme concentration of 4 pmol cytochrome P450 in 500 μ l. The calculated SC_{50} values correspond to the half-spectral change at 4 pmol/500 μ l of cytochrome P450

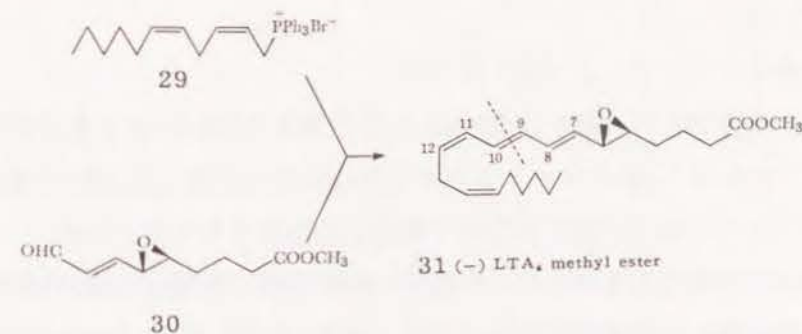
Inhibitors	IC_{50}	' K_i '	SC_{50}
	nmol/l	μ mol/l	nmol/l
 CGS-13080	2.6	0.242	4.4
 OKY-1581	3.9	0.200	3.6
 UK-37248	11	0.275	5
 Imidazole	48000	9.8	180
 3c	2.1	0.128	2.3
 3d	5.2	0.128	2.3
 3h	5.4	0.128	2.3
 3a	11	0.308	5.6
 22	65	3	55
 21	3800	132	2400
 23	250000	56	1000

第4章 ロイコトリエン類の合成と5-リボキシゲナーゼ阻害剤スクリーニング系の確立

本研究に着手した当時(1980年)ロイコトリエン類は容易に入手できる化合物ではなく、また5-リボキシゲナーゼ系の代謝産物に対する生化学的スクリーニング法も確立されていなかった。そこで著者はHPLCによる5-リボキシゲナーゼ系の代謝産物の分離分析を行うために、その標品となるロイコトリエン類の合成を行うことにした⁵⁾。

第1節 LTA₄メチルエステルの合成

LTC₄、LTD₄、及びLTE₄の重要な共通合成中間体である(-)-LTA₄メチルエステル体(31)はGleasonらのラセミ体合成法³⁷⁾を応用してホスホニウム塩(29)とエポキシアルデヒド(30)の縮合により合成することにした(Scheme 1)。

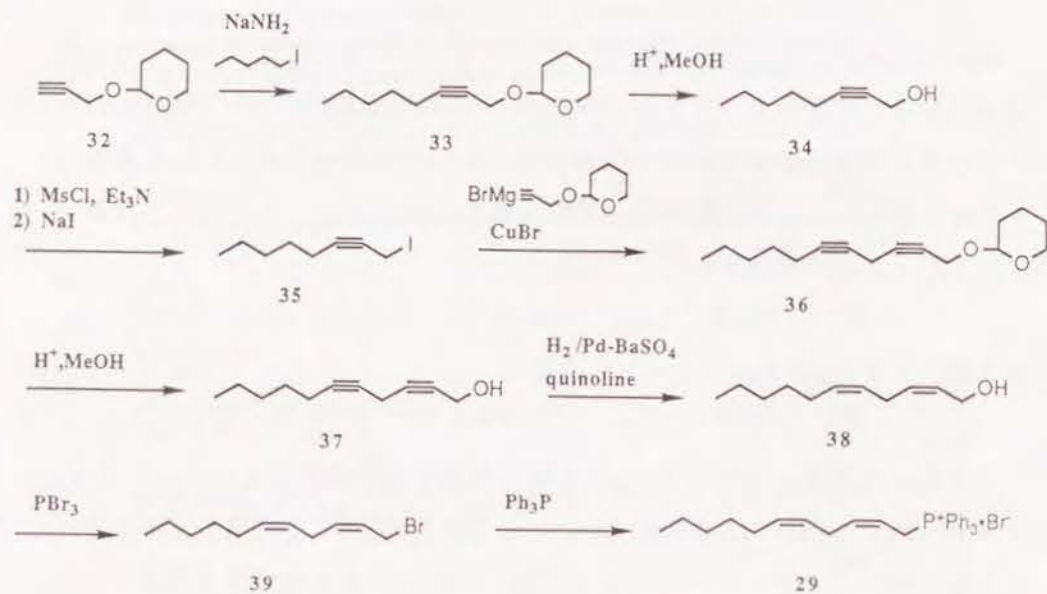


Scheme 1.

(1) ホスホニウム塩(29)の合成

ホスホニウム塩(29)は、プロパギルアルコールからScheme 2に示す経路で合成した³⁸⁾。ジェンアルコール(38)をメシル化後、ヨウ化ナトリウムでヨード体とした場合には、シス二重結合のトランスへの異性化が起こるのに対し、ジェンアルコール(38)と三臭化リンとの反応、及びトリフェニルホスフィンとブロム体(39)との反応(ベンゼン中、室温)ではシス配置

二重結合の異性化が起こらないことを $^1\text{H-NMR}$ と $^{13}\text{C-NMR}$ により確認した。



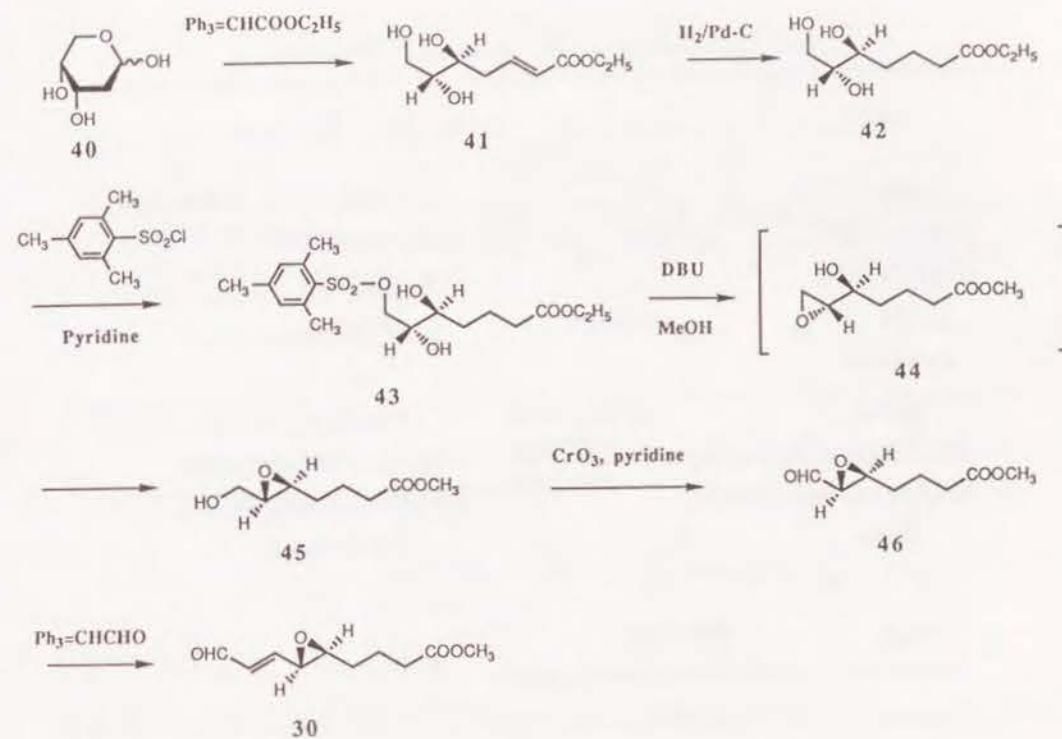
Scheme 2

(2) エポキシアルデヒド (30) の合成

エポキシアルデヒド (30) はScheme 3 に示すようにRokachらの方法³⁹⁾を応用することにより、D-2-デオキシリボース(40)から合成した。Rokachらはエポキシアルコール(45)を得る反応で塩基としてナトリウムメトキドを用いているが、本反応を実際に行ってみると収率が悪く実用には適さないことがわかった。種々条件を検討したところ、塩基として1,8-ジアザビクロ[5.4.0]-7-ウンデセン(DBU)を無水メタノール中で作用させると収率良く光学活性なエポキシアルコール(45)が得られることが明らかとなった。

(3) LTA₄メチルエステル(31)の合成

前記のエポキシアルデヒド体(30)とホスホニウム塩(29)とを、n-ブチルリチウムの存在下縮合させることによりLTA₄メチルエステル(31)を合成した(Scheme 1)。

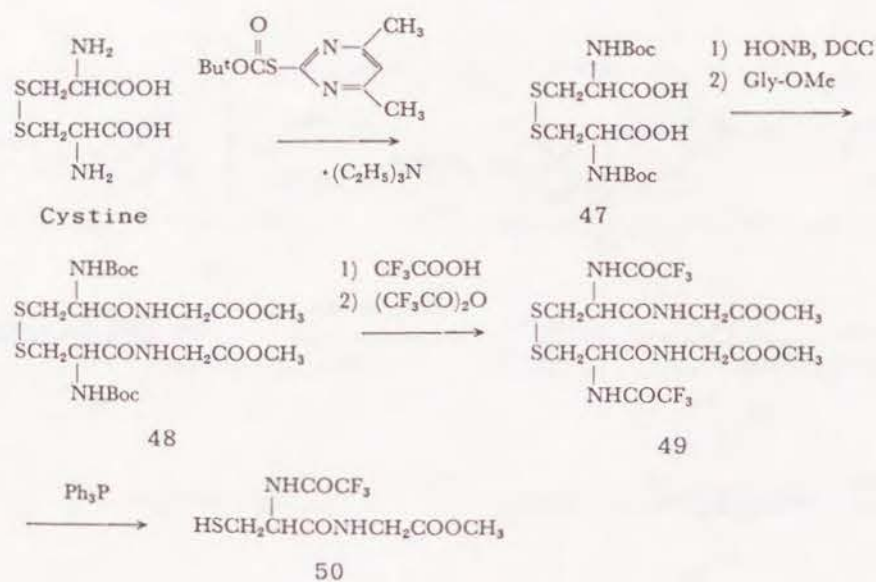


Scheme 3

第2節 LTC₄、LTD₄、LTE₄、及び Δ^6 -trans-LTB₄の合成

(1) LTD₄のペプチド部分の合成

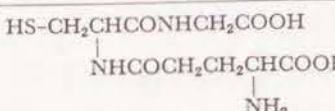
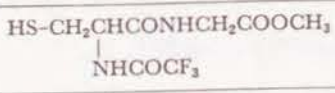
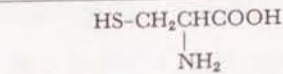
出発原料のシスチンをt-ブトキシカルボニル (Boc) 化後、藤野らのN-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボキシイミド (HONB) -ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) 法⁴⁰⁾でグリシンメチルエステルと縮合させ、次いでBoc基をトリフルオロアセチル基に変換した(Scheme 4)。ジスルフィド体(49)はトリフェニルホスフィンによる還元でチオール体(50)に導いた。



(2) LTA₄メチルエステルとペプチド部分との縮合反応

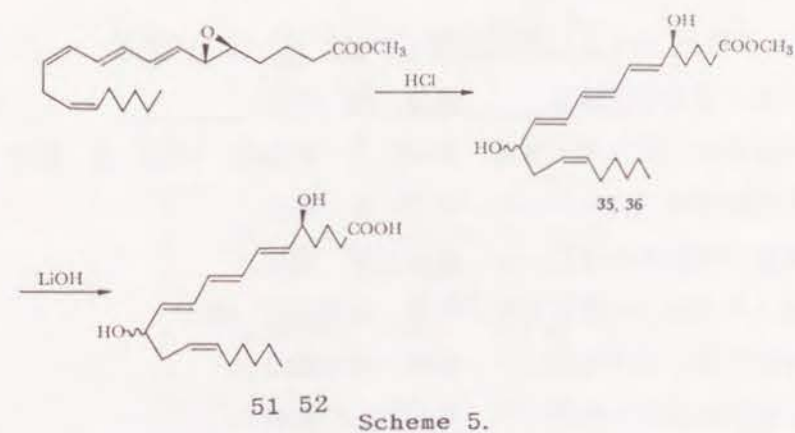
これまでに合成したLTA₄メチルエステルとペプチド部分（グルタチオン、トリフルオロシステイニルグリシンメチルエステル）及びシステインとの縮合反応は、メタノール中でトリエチルアミンの存在下 Table VIII に示した条件で行った。縮合成績体は、炭酸カリウムで脱保護を行った後、HPLCによって精製を行った。

Table VIII. Reaction of LTA₄ Methyl Ester with Thiols

RSH	RSH/ LTA ₄ -CH ₃	(C ₂ H ₅) ₃ N/ LTA ₄ -CH ₃	Yield (%)	Lobar RP-8 solvent (CH ₃ OH:H ₂ O)
	3	12	82	80 : 20
	2	3	80	85 : 15
	3	6	58	90 : 10

(3) Δ⁶-trans-LTB₄の合成

LTA₄メチルエステルから Scheme 5に示す経路で12R-Δ⁶-trans-LTB₄ (51)と12S-Δ⁶-trans-LTB₄ (52)とを合成した。



RBL-1細胞は、カルシウムイオノホア(A-23187)の刺激によってLT類を産生遊離する細胞として知られている。そこでRBL-1細胞にアラキドン酸を加えることによって生合成されるLT類を逆相HPLCによって分析し、合成品のLTC₄、LTD₄、LTE₄及び¹⁶-trans-LTB₄のピーク位置との対応を調べてみた。HPLCのクロマトグラムをFigure 8に、またそれぞれのピーク番号と化合物との対応及びスペクトルデータをTable IXに示した。尚LTB₄はラット腹腔内マクロファージから単離した。

従ってRBL-1細胞にあらかじめ被験化合物とアラキドン酸を加えておき、A-23187で刺激したときに産生されてくるLT類やHETE類を定量することによって5-リポキシゲナーゼ阻害作用を調べることが可能になった。

また本研究で合成したLT類は5-リポキシゲナーゼ及びLT類の研究初期段階(1981-1983)に下記の国内研究機関に分与され、この分野の研究発展に貢献した。さらに本方法で合成されたLTC₄、LTD₄、LTE₄及び¹⁶-trans-LTB₄は、試薬として和光純薬から発売され現在に至っている。

LT C₄、LT D₄を分与した研究機関(1982. 2. 1現在)

- 東京大学薬学部薬理学教室 鶴藤 丞 教授
- 千葉大学医学部内科学第二講座 富岡玖夫 助教授、熊谷 朗 教授
- 東京大学医学部第三内科 北村 論 講師
- 東京大学医学部脳神経外科 浅野孝雄 講師
- 東京都老人化学総合研究所薬理学室長 室田誠逸 博士
- 北里大学医学部薬理学教室 鹿取 信 教授
- 新潟大学医学部薬理学教室 今井昭一 教授
- 岐阜薬科大学薬理学教室 江田英昭 教授
- 京都薬科大学薬理学教室 河野茂勝 講師
- 京都大学医学部医化学教室 早石 修 教授
- 大阪大学医学部第一内科 多田道彦 助教授

以上

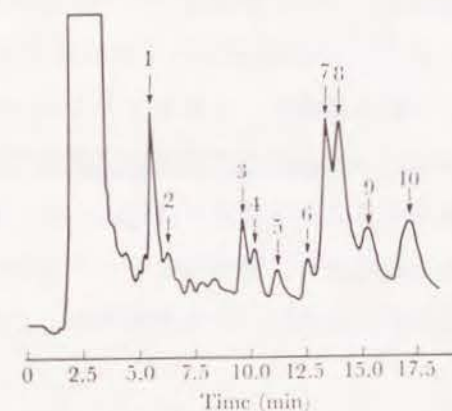


Figure 8. HPLC of Lipoygenase Products from Arachidonic Acid with RBL-1 Cells

Table IX. UV Spectra of Lipoygenase, Products from Arachidonic Acid with RBL-1 Cells

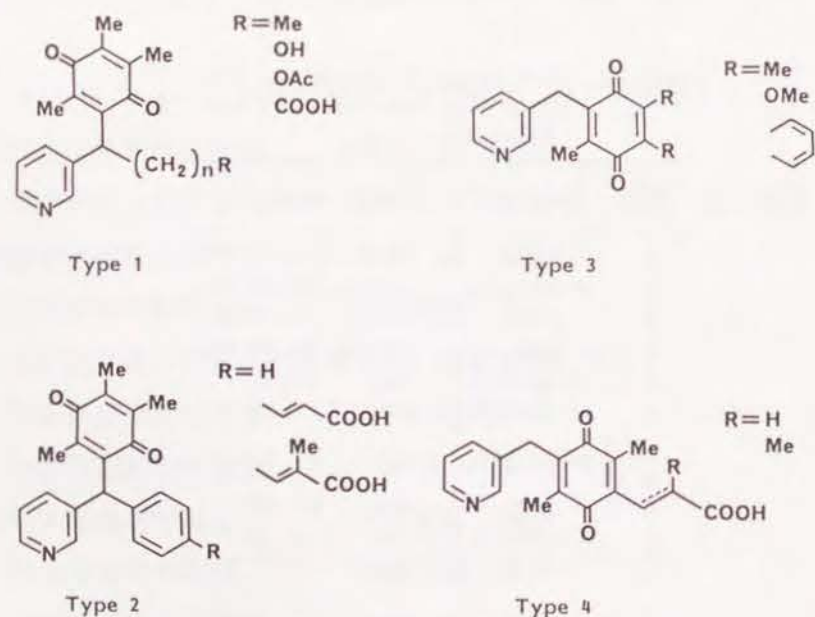
Peak No.	Compound	UV λ _{max} (nm)
1	LTC ₄	270 (sh), 281, 290 (sh)
2	¹¹ -trans LTC ₄	270 (sh), 280, 290 (sh)
3	LTD ₄	270 (sh), 281, 290 (sh)
4	LTE ₄	270 (sh), 281, 290 (sh)
5	20-OH LTB ₄	259, 269, 281
6	5S, 12S-DHETE	259, 270, 281
7	} ⁶ -trans LTB ₄	259, 269, 281
8		
9	LTB ₄	260, 271, 282
10	5, 6-DHETE	259, 269, 281

第5章 TXA₂合成酵素と5-リボキシゲナーゼに対して阻害作用を示す Dual Inhibitorの合成

第1節 ドラッグデザイン

著者らは先の研究において、キノン類が5-リボキシゲナーゼの阻害作用を示すことを明らかにした¹⁸⁾。本研究においても5-リボキシゲナーゼとの相互作用部位としてキノン類を選択し、これをTXA₂合成酵素とTXA₂合成酵素阻害剤とのconceptual modelにおける芳香環部分 (Figure 5 に示したB環、C環部分) に導入することを考えた (Figure 10)。キノン類はまた抗酸化作用を示すことが知られており、適当なデザインを行うことによって、生体内における活性酸素の除去作用^{4a)~b)}を発現することが期待される。

Figure 9.

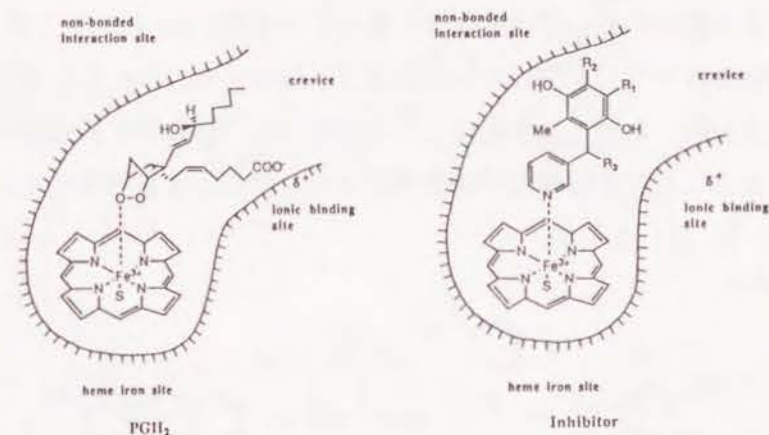


以上のような考え方にに基づき、TXA₂合成酵素阻害作用、5-リボキシゲナーゼ阻害作用を有し、活性酸素除去作用をも合わせ持つ化合物を目的としてTYPE 1から4の構造をデザインした (Figure 9)。

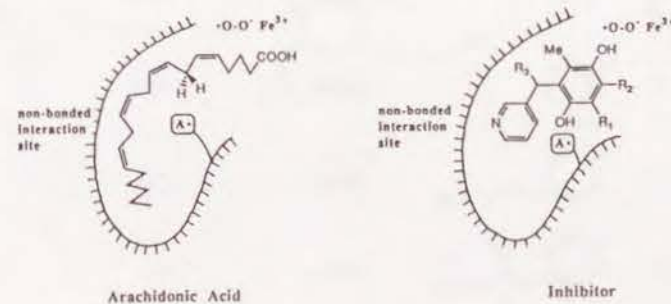
TYPE 1 はB環部分にキノン環を導入し、これにアルキル鎖を付けたもの、TYPE 2 はB環部分にキノン環、C環部分にベンゼン環を導入したもの、TYPE 3はキノン環がB環部分に対応する構造、TYPE 4はC環部分にキノン環を導入し更にカルボン酸側鎖を加えたものである。

Figure 10.

Conceptual model of active site of TXA₂ synthase



Conceptual model of active site of 5-lipoxygenase

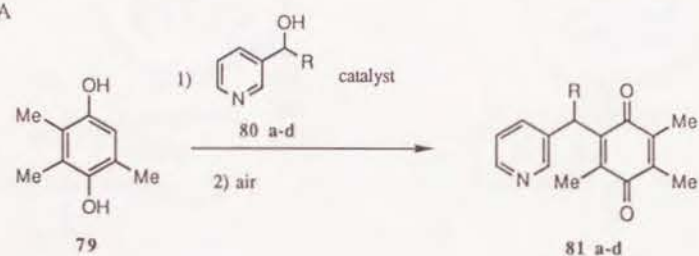


第2節 合成法

Method A

トリメチルヒドロキノン (79) とピリジルメタノール誘導体 (80a-d) を硫酸、トリフルオロメタンスルホン酸などの触媒下縮合させ、次いで空気酸化に付して目的とするキノン体 (81a-d) を得た。R に芳香環を有するものは収率がよかった。R がメチルのものでは3-ピリジルのもので比較的良い収率であったが、4-ピリジルのものでは10%の収率でしか目的物が得られず、2-ピリジルのものでは全く縮合体を得ることは出来なかった。反応性の違いはアリルカチオンのでき易さに関係すると考えられる。また触媒には上述のように液体の酸がよく、三フッ化ホウ素などでは80a-dのピリジン部分と不溶性の錯体を作ってしまうため反応が進行しなかった。81c, 81d は酸でエステルを加水分解した後、空気酸化して化合物 69、70 (Table X) に導き、69はさらにパラジウム炭素触媒上で水素添加反応に付した後空気酸化でキノン体 (Table X, 71) とした。

Method A

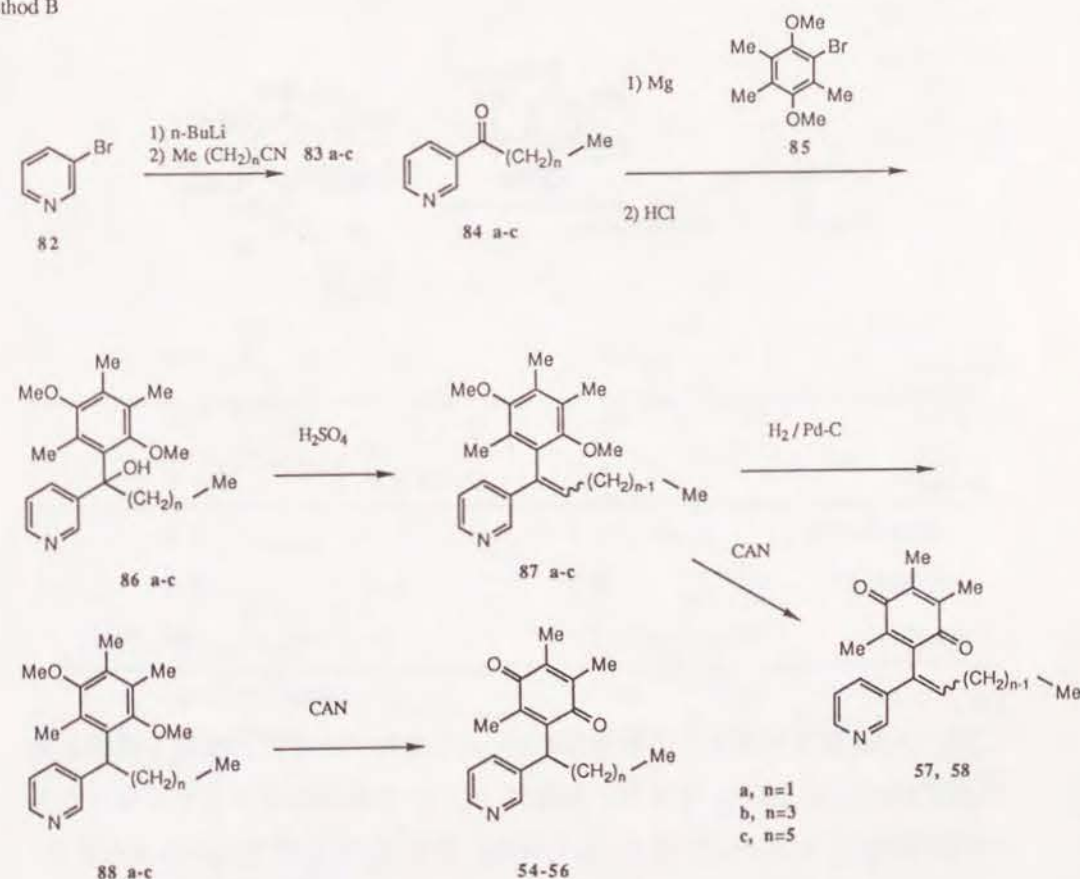


	R	catalyst	yield (%)
a	Me	CF ₃ SO ₃ H	61.3
b		H ₂ SO ₄	72.7
c		H ₂ SO ₄	72.6
d		H ₂ SO ₄	82.7

Method B

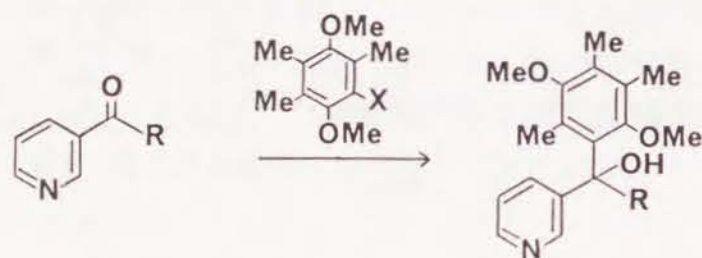
3-ブロモピリジン (82) にn-ブチルリチウムを作用させ3-リチオピリジンとし、これにニトリル (83a-c) を反応させてケトン体 (84a-c) を得た。次にトリメチルヒドロキノンから導いた85にマグネシウムを反応させグリニャール試薬にした後84a-cを反応させて3級アルコール体 (86a-c) を得た。この反応ではケトンのα位のプロトンの引き抜き反応が競争的に起こるため収率は30~40%程度にとどまった。

Method B



このため化合物85をリチウム試薬や比較的塩基性の低いといわれているセリウム誘導体(X=CeCl₂)⁴¹⁾に変えて反応を行ってみた(Figure 11)。下表に示したようにR'がシクロヘキシル基のようにα位に分岐のある場合にはリチウム化合物でも良好な収率で目的物を得ることができるが、n-ブチル基のように直鎖アルキル基の場合にはリチウム試薬、セリウム化合物のいずれにおいても大幅な収率の向上は見られなかった。唯一Rがメチル基の場合においてセリウム誘導体においてのみ目的物を得ることができたので低塩基性の効果が出たのかもしれない。

Figure 11



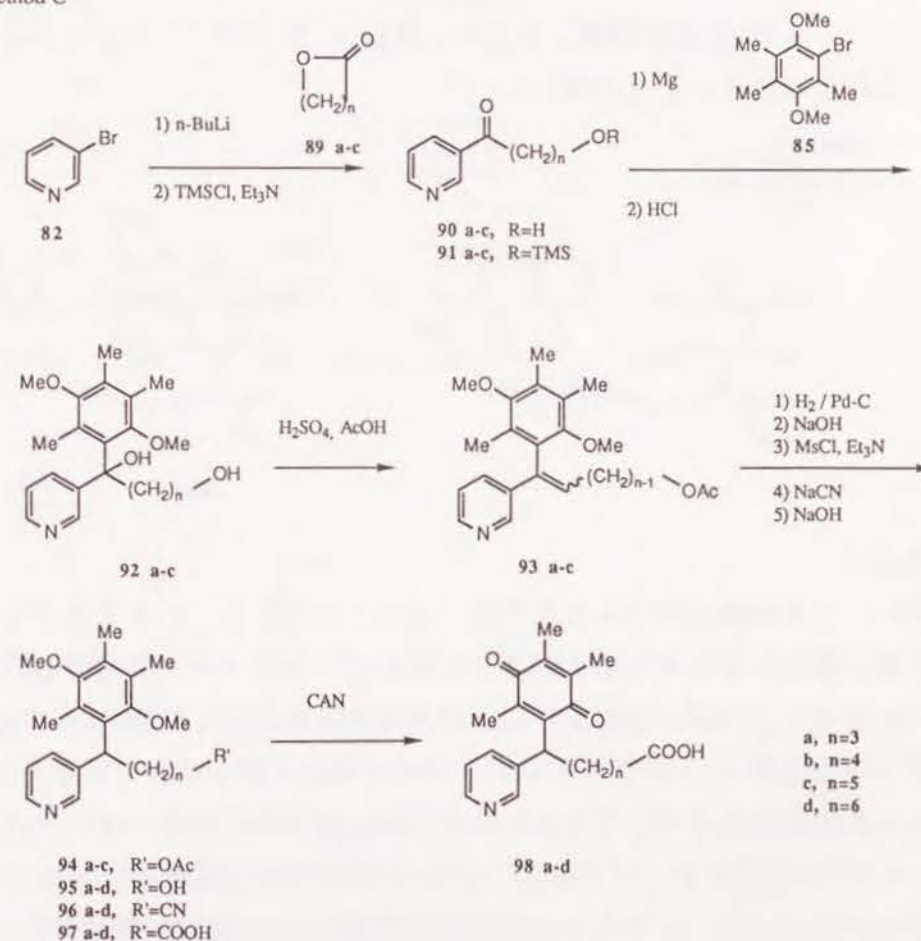
R	yield (%)		
	Li	MgBr	CeCl ₂
cyclohexyl	84	—	88
n-butyl	27	38	34
methyl	0	0	8

86a-cは硫酸を作用させて脱水体87a-cとした後パラジウム触媒下接触水素添加反応に付し 88a-c を得た。最後に 88a-c を硝酸セリウムアンモニウム(CAN)酸化⁴²⁾してキノン体54-56を得た。また87cをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによりZ体とE体とに分離し、各々をCAN酸化してキノン体(57, 58)を得た。

Method C

Method Bと同様の縮合反応で末端に酸素官能基を持つTYPE 1 の化合物を合成した。まず3-ブロモピリジン(82)にn-ブチルリチウムを作用させてリチオ体とした後、ブチロラクトン (n=3 89a), バレロラクトン (n=4 89b), カプロラクトン (n=5 89c)を反応させアルコール体(90a-c)を得、次に末端のアルコールをトリメチルシリル基で保護して91a-cとした。

Method C

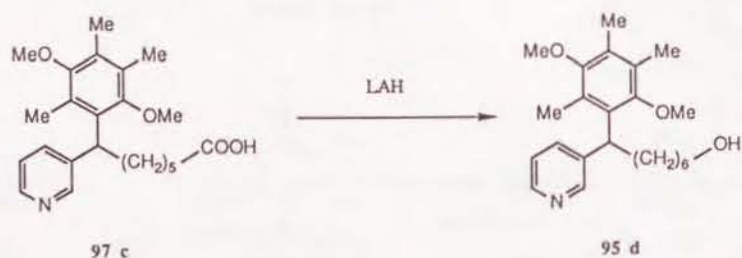


このものに85から調製したグリニャール試薬を反応させ、続いて3級アルコールを脱水して93a-cに導いた。93a-cはパラジウム触媒下接触水素添加反応に付して94a-cにした後、アセチル基を加水分解して95a-cに導いた。95a-c及び後で述べる方法によって導いた95d(n=6)は常法によりニトリル体(96a-d)に導き、アルカリ加水分解してカルボン酸(97a-d)にした後、CAN酸化を行ってキノン体(98a-d)にした。また途中で得られたアセチル体(94a-c)、アルコール体(95a-c)もそれぞれCAN酸化により対応するキノン体に導いた。

Method D

アルコール体(95d)は別途、カルボン酸(97c)を水素化アルミニウムリチウムで還元することにより合成した。

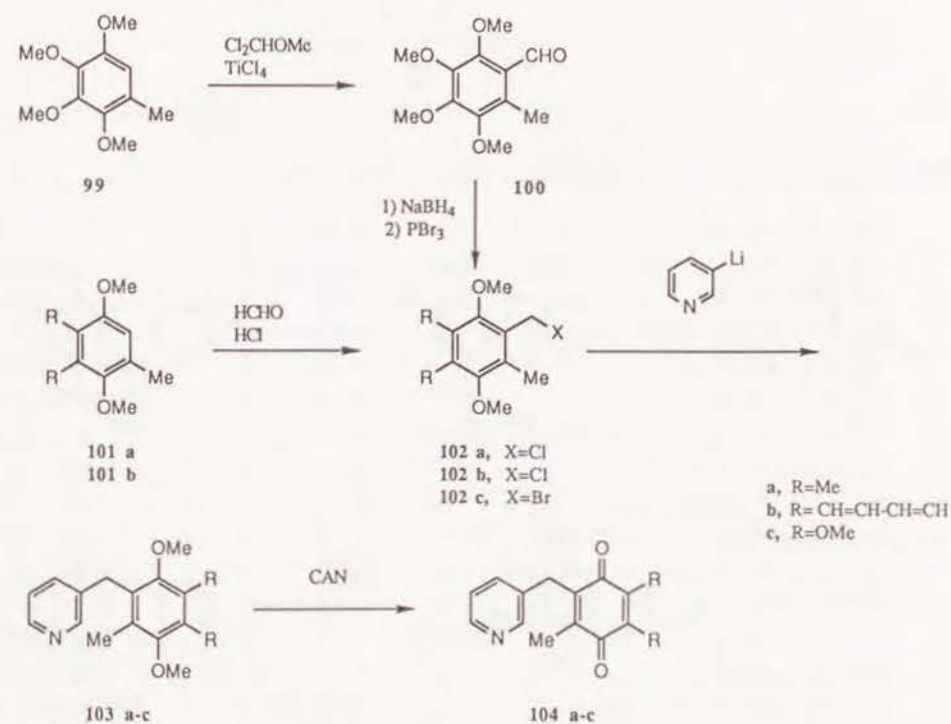
Method D



Method E

TYPE 3 の化合物は次のような方法によって合成した。2-メチルナフトヒドロキノン及びトリメチルヒドロキノンのジメチルエーテル体(101a, 101b)にクロロメチレーション反応を行いクロロメチル体(102a, 102b)とした。1, 2, 3, 4-テトラメトキシ-5-メチルベンゼン(99)の場合にはジクロロメチルメチルエーテルと四塩化チタンでホルミル化の後、水素化ホウ素ナトリウムで還元し、つづいて三臭化リンで処理してプロモメチル体(102c)に導いた。102a-cに3-リチオピリジンと反応させて103a-cを得た。103a-cをCAN酸化しキノン体(104)に導いた。

Method E



Method F

2,5-ジメチルベンゾキノン(105)を常法によりジメチルエーテル体に導き、さらに99から103を導いたのと同様の方法によって106に導いた。106をもう一度四塩化チタンとジクロロメチルメチルエーテルでホルミル化して107とし、つづいてWittig反応により109, 110を合成した。109, 110はCAN酸化した後、エステル部分を酸性で加水分解して111, 112とした。また109をパラジウム触媒で接触水素化反応を行った後CAN酸化を行い、つづいて111のとときと同様に酸性加水分解を行って113を合成した。

以上述べた化合物の物性データをTable X-XI に示した。

Method F

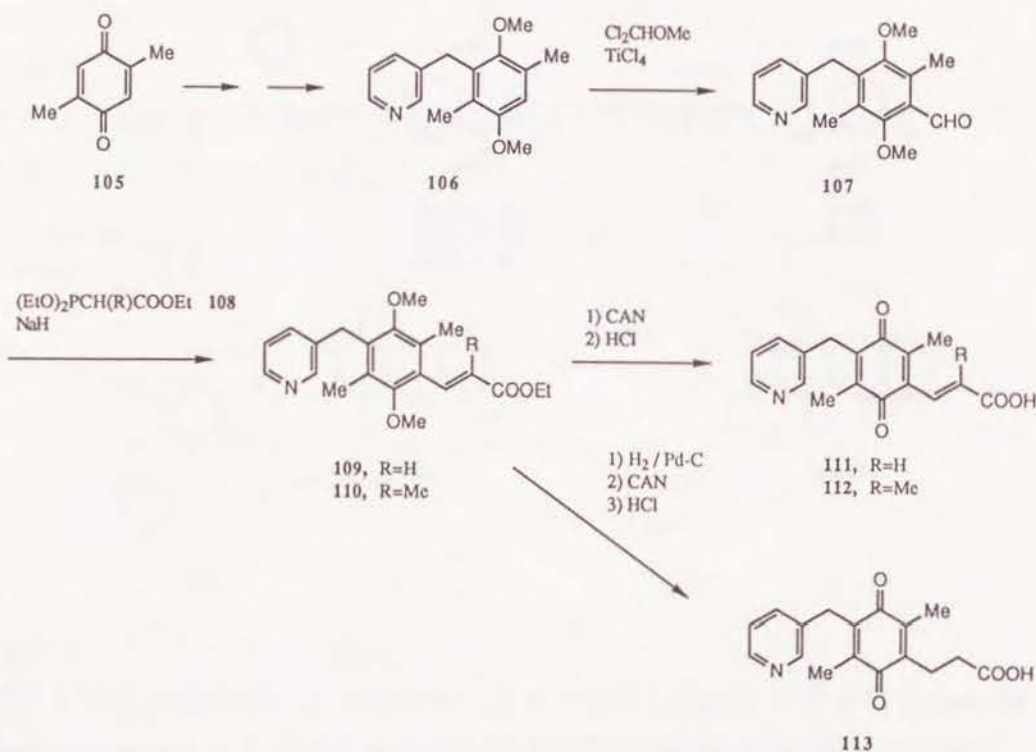
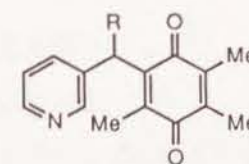


Table X. Physical Properties of 3-Pyridylmethyl-1,4-benzoquinone Derivatives



no.	R	synth method	yield(%) ^a	mp(°C)	recrystn solvent	formula(f. w.) ^b	type ^c	log P
53	-Me	A	61.3	oil		C ₁₆ H ₁₇ NO ₂ (255.32)	1	2.85
54	-CH ₂ Me	B	64.0	56-57	IPE ^d -hexane	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂ (269.35)	1	3.35
55	-(CH ₂) ₃ Me	B	62.9	oil		C ₁₉ H ₂₃ NO ₂ (297.40)	1	4.35
56	-(CH ₂) ₅ Me	B	63.1	44-45	hexane	C ₂₁ H ₂₇ NO ₂ (325.45)	1	5.35
57	=CH(CH ₂) ₄ Me (Z)	B	77.8	oil		C ₂₁ H ₂₅ NO ₂ (323.44)	1	5.05
58	=CH(CH ₂) ₄ Me (E)	B	77.8	oil		C ₂₁ H ₂₅ NO ₂ (323.44)	1	5.05
59	-(CH ₂) ₄ OH	C	46.0	104-105	IPE-EtOAc	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃ (313.40)	1	3.19
60	-(CH ₂) ₅ OH	C	68.8	oil		C ₂₀ H ₂₅ NO ₃ (327.43)	1	3.69
61	-(CH ₂) ₄ OAc	C	93.3	76-77	IPE-EtOAc	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄ (355.44)	1	4.08
62	-(CH ₂) ₅ OAc	C	91.0	60-61	IPE-EtOAc	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄ (369.46)	1	4.58
63	-(CH ₂) ₃ COOH	C	54.3	82-84	EtOH	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄ (327.39)	1	0.35
64	-(CH ₂) ₄ COOH	C	58.0	68-69	EtOAc	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄ (341.41)	1	0.85
65	-(CH ₂) ₅ COOH	C	57.0	126-127	IPE-EtOAc	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄ (355.44)	1	1.35
66	-(CH ₂) ₆ COOH	C, D	75.9	113-114	EtOAc	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄ (369.46)	1	1.85
67	=CH(CH ₂) ₄ COOH	C	60.3	oil		C ₂₁ H ₂₃ NO ₄ (353.42)	1	1.05
68	-Ph	A	72.7	oil		C ₂₁ H ₁₉ NO ₄ (317.39)	2	4.48
69	-C ₆ H ₄ -CH=CH(Me)COOH	A	85.6	199-201	EtOAc	C ₂₅ H ₂₃ NO ₄ (401.47)	2	2.08
70	-C ₆ H ₄ -CH=CHCOOH	A	81.7	232-233	EtOAc	C ₂₄ H ₂₁ NO ₄ (387.44)	2	1.78
71	-C ₆ H ₄ -(CH ₂) ₂ COOH	A	44.2	205-207	EtOAc	C ₂₄ H ₂₃ NO ₄ (389.45)	2	2.08

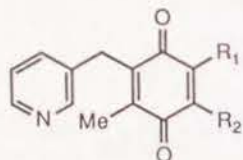
^aNo attempt was made to optimize yields. Numbers represent the yield for the last step.

^bAll compounds were analyzed for C, H, and N within $\pm 0.4\%$ of the calculated values.

^cSee Chart I.

^dIPE=isopropylether.

Table XI. Physical Properties of 3-Pyridylmethyl-1,4-benzoquinone derivatives



no.	R ₁	R ₂	synth		recrystn		formula(f. w.) ^b	type ^c	log P
			method	yield(%) ^a	mp(°C)	solvent			
72	-Me	-Me	E	88.0	66-67	IPE-EtOAc	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂ (241.30)	3	2.55
73	-CH=CH-CH=CH-		E	94.0	102-103	IPE-EtOAc	C ₁₇ H ₁₅ NO ₂ (263.30)	3	2.77
74	-OMe	-OMe	E	82.2	152-153	EtOAc-EtOH	C ₁₅ H ₁₅ NO ₄ Cl (309.75)	3	0.61
75	-Me	-(CH ₂) ₂ COOH	F	72.8	149-150	EtOAc-THF	C ₁₇ H ₁₇ NO ₄ (299.33)	4	-0.65
76	-Me	-CH=CHCOOH	F	72.4	175-180	THF	C ₁₇ H ₁₅ NO ₄ (297.32)	4	-0.95
77	-Me	-CH-C(Me)COOH	F	70.5	196-200	THF	C ₁₈ H ₁₇ NO ₄ (311.34)	4	-0.65
78	-Me	-(CH ₂) ₂ COOEt	F	81.1	oil		C ₁₉ H ₂₁ NO ₄ (327.38)	4	3.28

^{a, b, c} See footnotes of Table X.

^d This compound was prepared as the hydrochloride.

第3節 生物活性

次のような方法で生物活性を調べた。

(i) TXA₂合成酵素阻害作用

①馬血小板ミクロソームを用いたin vitroにおけるTXA₂産生抑制作用(ラジオイムノアッセイ(RIA)による定量)⁴³⁾

②ラットを用いたex vivoにおける血清TXA₂産生抑制作用(RIAによる定量)

(ii) 5-リボキシゲナーゼ阻害作用

RBL(rat basophilic leukemia)-1細胞を用いた5-HETE産生阻害作用(HPLCによる定量)⁴⁴⁾

(iii) 過酸化脂質生成抑制作用

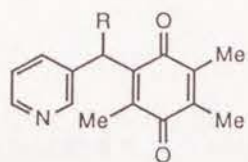
ラット脳ホモジネートを用いた過酸化脂質の生成抑制作用(TBA法による定量)⁴⁵⁾

結果をTable XII-XIII に示した。

(i) TXA₂合成酵素阻害作用

(3-ピリジル)メチルベンゾキノロン類のトロンボキサン合成酵素阻害作用は、in vitroでは馬血小板ミクロソームでのTXA₂産生により、ex vivoではラット血清中のTXB₂量により調べた。in vitroにおけるTXA₂合成酵素阻害作用では、化合物 64, 65, 66 などの4から6個のメチレン鎖の末端にカルボキシル基を持つ化合物が最も強い作用を示し、この結果は以前CV-4151の研究において得た結果に良く一致した。これらの化合物はex vivoにおいても強い作用を示したが、アルキル鎖の短い63は他の3つに比べると活性が弱かった。ピリジン環に共役した二重結合の導入(64と67、57, 58と56の比較)はそのジオメトリーにかかわらず活性にあまり影響を与えないか、むしろ活性の低下を招いた。また化合物53, 54などの短いアルキル鎖を有するものや72や73のように全くアルキル鎖を有しないものもin vitro、ex vivo共に比較的強い活性を示した。アルキル鎖の末端に水酸基、アセトキシ基を持つ60, 62や無置換の56などはin vitroでは弱い阻害活性しか示さなかったが、ex vivoで

Table XII. Screening results of 3-pyridylmethyl-1,4-benzoquinone derivatives.



compd	R	%inhibn of TXB ₂ production		inhibn of LTB ₄ production ^c IC ₅₀ (×10 ⁻⁸ M)	%inhibn of lipid peroxidation ^d 10 ⁻⁶ M
		in vitro ^a 10 ⁻⁶ M	ex vivo ^b 10mg/kg		
53	-Me	89	90	950	93
54	-CH ₂ Me	76	75	66	83
55	-(CH ₂) ₃ Me	28		97	83
56	-(CH ₂) ₅ Me	46	70	7.3	83
57	=CH(CH ₂) ₄ Me(Z)	7		26	80
58	=CH(CH ₂) ₄ Me(E)	6		22	77
59	-(CH ₂) ₄ OH	44	40	10	67
60	-(CH ₂) ₅ OH	61	72	10	83
61	-(CH ₂) ₄ OAc	45	37	25	77
62	-(CH ₂) ₅ OAc	39	84	8.7	73
63	-(CH ₂) ₃ COOH	41	36	1000	37
64	-(CH ₂) ₄ COOH	90	64	6000	34
65	-(CH ₂) ₅ COOH	86	90	930	49
66	-(CH ₂) ₆ COOH	90	97	700	52
67	=CH(CH ₂) ₄ COOH(E+Z)	92	91	720	28
68	-Ph	29		760	73
69	-C ₆ H ₄ -CH=C(Me)COOH	68	19	10000	41
70	-C ₆ H ₄ -CH=CHCOOH	22		8700	39
71	-C ₆ H ₄ -(CH ₂) ₂ COOH	25		10000	48

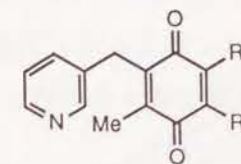
^aPercent inhibition of the amount of TXB₂ formed by incubating PGH₂ with horse platelet microsomes. Values are the mean of duplicate experiments.

^bPercent inhibition of the amount of serum TXB₂ 24h after oral administration of test compound to the rat.

^cThe molar concentration of test compound required to reduce by 50% the amount of LTB₄ formed by RBL-1 cells.

^dInhibition of lipid peroxidation in rat brain homogenates.

Table XIII. Screening results of 3-pyridylmethyl-1,4-benzoquinone derivatives.



compd	R ₁	R ₂	% inhibn of TXB ₂ production		inhibn of LTB ₄ production ^c IC ₅₀ (×10 ⁻⁸ M)	% inhibn of lipid peroxidation ^d 10 ⁻⁶ M
			in vitro ^a 10 ⁻⁶ M	ex vivo ^b 10mg/kg		
72	Me	Me	60	86	6.2	80
73		-CH=CH-CH=CH-	57	92	8.2	42
74	OMe	OMe	40	74	520	39
75	Me	-(CH ₂) ₂ COOH	53	86	500	14
76	Me	-CH=CHCOOH	79	90	880	14
77	Me	-CH=C(Me)COOH	45	73	870	4
78	Me	-CH=CHCOOEt	28	80	80	35

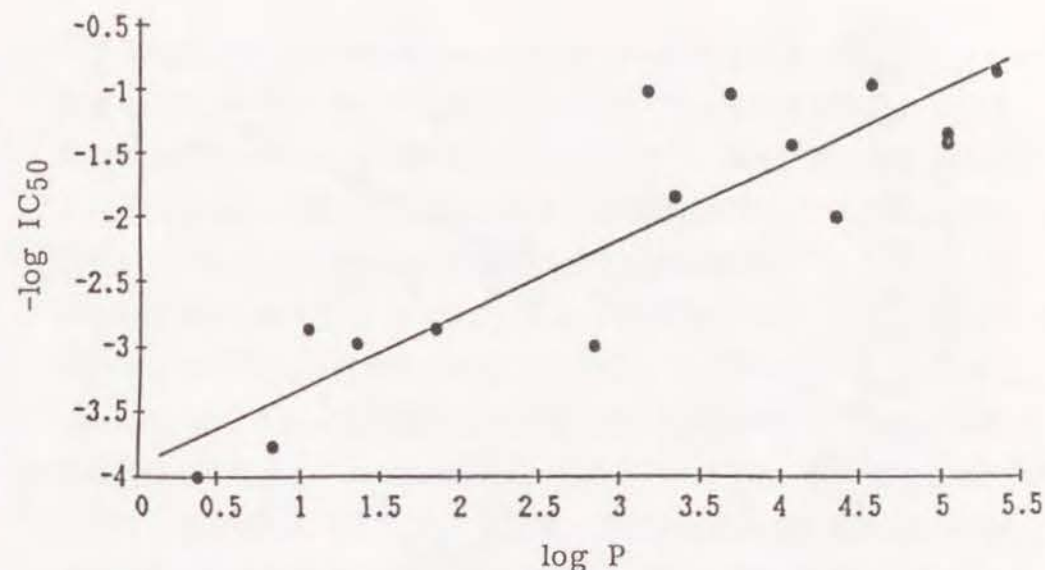
^a ^b ^c ^d See footnotes of Table 3.

は末端にカルボキシル基を持つ64と同等の強い作用を示した。この理由としてこれらの化合物は生体内で末端がカルボキシル基に酸化されて作用を発現することが考えられ、このこともCV-4151の研究において見いだした結果とよく一致した。側鎖の途中にフェニル基を導入すると活性は低下したが(66と71の比較)、キノン環にカルボキシル基を有する側鎖を導入しても活性には影響を与えなかった(72と75, 76, 77の比較)。

(ii) 5-リポキシゲナーゼ阻害作用

5-リポキシゲナーゼ阻害作用はRBL-1細胞におけるLTB₄の産生阻害作用により評価した。基本骨格に近いコンパクトな化合物でTXA₂合成酵素阻害作用も強い72, 73が最も強い阻害作用を示した。それに続いて末端に水酸基やアセトキシ基を有するアルキル置換基を持つ59, 60, 61, 62や末端が無置換のアルキル基を有する56などが強い阻害作用を示した。化合物74は化合物72のメチル基2つがメトキシ基に置き換わった化合物であるが活性は大きく低下し、また全般的に極性基を導入すると活性は低下する傾向が見られた(72と75, 76, 77, 56と65の比較)。このように分子の脂溶性と5-リポキシゲナーゼ阻害作用との間には相関関係があるように思われたので、各化合物についてlog Pを求め、活性との相関を見ることにした。log Pはまず化合物(72)についてオクタノール/水の分配率から求め、その他の化合物については化合物72のlog P値と各置換基の π 値⁴⁶⁾から計算によって求めた。

TYPE 1の化合物についてlog Pに対してLTB₄産生抑制作用のIC₅₀値をプロットした結果をFigure 11に示した。この両者の間には直線関係が認められその相関係数は0.88であった。これと同様の結果がMerck社のグループから報告されており⁴⁷⁾、酵素の活性中心が極めて脂溶性の高い環境にあることが想像される。またこれまでに報告された活性の強い5-リポキシゲナーゼ阻害剤には直線的な分子が多いことから、酵素の基質結合部位は立体的にかなり規制されていることが推定され、72のようなコンパクトな分子の方がはいりこみやすいと考えられる。

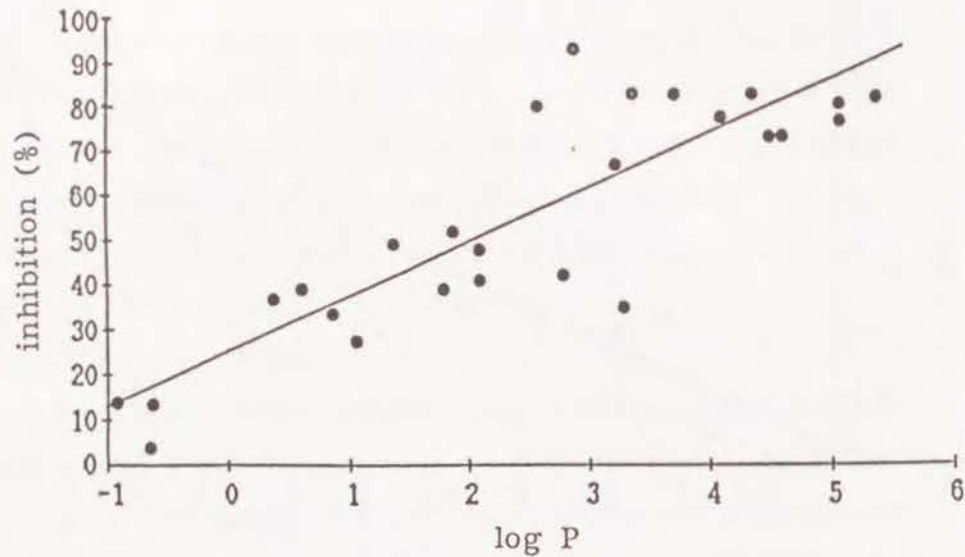


$$\log IC_{50} = -0.565 \log P + 3.85 \quad r=0.88$$

Figure 11. The linear dependence of LTB₄ biosynthesis inhibition (log IC₅₀) on log P (Type 1 compounds).

(iii) 脂質過酸化抑制作用

脂質過酸化抑制作用はラットの脳ホモジネートにおける過酸化脂質の生成抑制作用により評価した。本作用についても5-リポキシゲナーゼ阻害作用と同様に、log Pに対して過酸化脂質生成抑制作用をプロットしてみると直線関係が認められ、その相関係数は0.86と良い相関を示した(Figure 12)。従って5-リポキシゲナーゼ阻害作用と過酸化脂質生成抑制作用との間にも相関関係が成立することになる。5-リポキシゲナーゼには活性中心のヘム鉄が3価状態をとる active state と2価の状態をとる resting state が存在し、ヒドロキノン類やフェノール類などの抗酸化剤は酵素を resting stateに還元するためにその阻害作用を発現すると考えられている。従って立体的要因が大きく変化しない限り、脂質過酸化抑制作用に代表される抗酸化能と5-リポキシゲナーゼ阻害作用とが相関することが理解される。



$$\text{Inh}(\%) = 12.2 \log P + 25.33 \quad r = 0.86$$

Figure 12. The linear dependence of lipid peroxidation inhibition (%) on log P.

(ii) Dual inhibitorとしての化合物の評価

これまでに述べてきた結果から、化合物72がトロンボキサン₂合成酵素阻害作用と5-リボキシゲナーゼ阻害作用とを最もバランス良く発現する化合物として挙げられ、それに次ぐ化合物として56, 60, 62などが挙げられる。化合物72についてはヒト血液におけるin vitroでのLTB₄及びTXA₂生成抑制作用を調べた。5-リボキシゲナーゼ阻害剤の対照化合物としてAA-861を、トロンボキサン₂合成酵素阻害剤の対照として化合物3c(CV-4151)を用いた。化合物72及びAA-861は濃度依存的にLTB₄の生成を抑制し、そのIC₅₀はそれぞれ、 $3.3 \times 10^{-7} \text{M}$ 及び $1 \times 10^{-6} \text{M}$ であった。また化合物72及び化合物3cのTXA₂生成に対するIC₅₀はそれぞれ $3.6 \times 10^{-7} \text{M}$ 及び $1 \times 10^{-7} \text{M}$ であり、両化合物ともPGI₂の生成を促進した。このように化合物72はヒト全血中のTXA₂合成酵素活性及び5-リボキシゲナーゼ活性をバランスよく阻害し、さらにPGI₂の生成を促進した。

(iii) 化合物72の抗腎炎作用

これまでに腎炎とTXA₂⁴⁸⁾, LTs⁴⁹⁾, 及びAOS⁵⁰⁾との関わりについて幾つかの報告がなされている。従ってこれらを同時に抑える化合物は、単

一の作用しか持たない物に比べより有効に腎炎の治療効果を発現することが期待される。アドリマイシンによって惹起される糸球体腎障害ラットは、腎炎モデルの1つとして位置付けられており⁴⁸⁾、本モデルにおいては尿蛋白排泄量と共にTXA₂, LTsの産生がが著名に増加してくることが知られている⁵¹⁾。このモデルに化合物72を連投(10mg/kg, p.o.)することにより、尿蛋白排泄量は著名に(>50%)抑制されることが明らかになった(Table XV)。同モデルにTXA₂合成酵素阻害剤(化合物3c), 5-リボキシゲナーゼ阻害剤(AA-861), 及びAOS消去剤(CV-3611)をそれぞれ単独で投与しても、尿蛋白量は殆ど減少しなかった(Table XV)。このような結果は、腎障害モデルに関与していると思われるTXA₂, LTs, 及びAOSの3者を複合的に抑える化合物72のような化合物が、新しい腎炎治療薬となる可能性を示唆するものである。化合物72は現在腎炎治療剤を目的とし、開発コード番号CV-6504としてPhase IIにおける臨床試験が進行中である。

Table XV. Protective effect of CV-6504(compound 72) on adriamycin-induced proteinuria in rats

Group	No. of rats	Total protein ^a (mg/100g/24hr)	Albumin ^a (mg/100g/24hr)
Vehicle	8	142 ± 20	93 ± 13
CV-6504 ^b	8	60 ± 7**	39 ± 5**
Normal	5	5 ± 2	2 ± 0.7

^aValues represent means ± SEM. Asterisks(**) distinguish statistically significant values using Dunnett's test (P<0.01 vs vehicle).

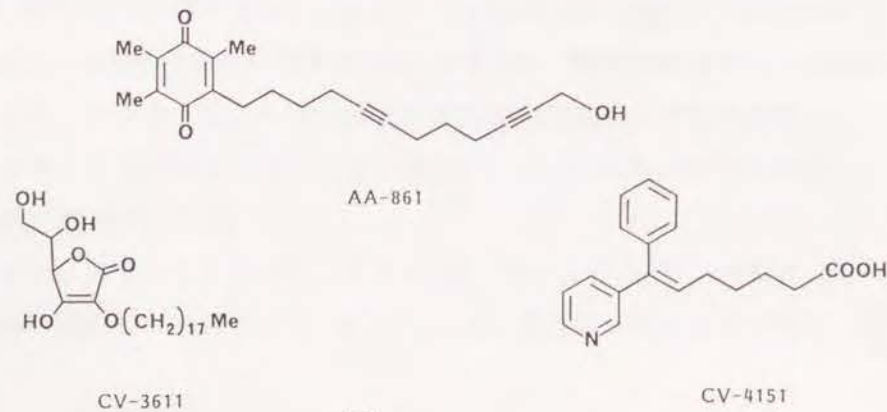
^bCompound 72(hydrochloride, 10mg/kg/day) was administered orally for 4 weeks.

Table XV. Protective effect of AA-861, CV-4151, and CV-3611 on adriamycin-induced proteinuria in rats

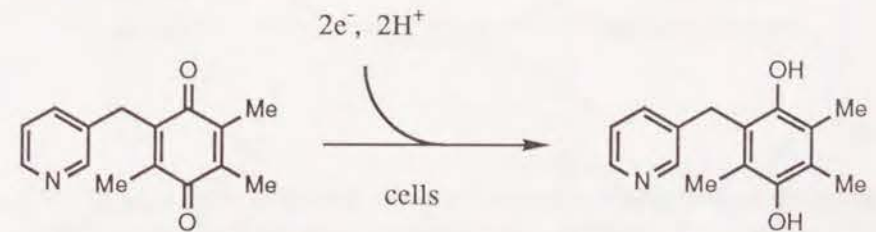
Group	Dose mg/kg/day	No. of rats	Total protein ^a (mg/100g/24hr)	Albumin ^a (mg/100g/24hr)
Vehicle	-	15	115 ± 20	63 ± 11
AA-861 ^b	100	7	95 ± 14	49 ± 8
CV-4151 ^b	30	7	131 ± 21	75 ± 11
CV-3611 ^b	50	7	122 ± 23	70 ± 11

^aValues represent means ± SEM.

^bAll compounds were administered orally for 4 weeks.



第5章で示したように化合物72 [2,3,5-trimethyl-6-(3-pyridylmethyl)-benzoquinone] はTXA₂合成酵素阻害作用、5-リボキシゲナーゼ阻害作用及び活性酸素(AOS)消去作用を有する、現在腎炎治療剤として開発が進行中の化合物である。これら3種の作用のうち、構造中に含まれるピリジン環とロンボキササン合成酵素阻害作用との関係は第2章のCV-4151に関する研究で明らかにしたが、5-リボキシゲナーゼ阻害作用とAOS消去作用に関わっていると推測されるキノン環の作用発現機構についてはほとんど未知の状態である。一方、5-リボキシゲナーゼについては最近になって以下に述べるような様々な知見が報告されている。すなわち、本酵素は活性中心に存在すると推測される鉄が2価の状態にあるresting stateと3価の状態にある active stateがあること⁵²⁾、ヒドロパーオキシドにより活性化を受けること⁵³⁾、フェノールなどの抗酸化剤によって阻害を受けること⁵⁴⁾、酵素活性を発現する時には酵素がサイトゾルから膜に移動すること⁵⁵⁾などである。これらの知見から、著者らは抗酸化剤による5-リボキシゲナーゼの阻害機構として、鉄の3価(active state)から2価(resting state)への還元作用、及び鉄イオンの活性化剤として働くヒドロパーオキシドの消去作用が重要であると考え、化合物72の場合ヒドロキノン体が活性本体であると推定した。そこで本推定を解明するために、化合物72のキノン体とヒドロキノン体について5-リボキシゲナーゼ阻害作用とラジカル消去作用を調べ、さらにキノン体の種々の細胞を用いた還元反応についても検討を加えた。



第1節 キノン体とヒドロキノン体のラジカル消去作用及び5-リボキゲナーゼ阻害作用

(1) ラジカル消去作用

A. 安定ラジカルとの反応

a. ESRによる評価

化合物72とそのヒドロキノン体について、安定ラジカルとの反応を調べてみた。安定ラジカルとしてガルビノキシルと1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) を用いたが、ヒドロキノン体はいずれの場合にも瞬時に安定ラジカルを消去し、その当量関係は安定ラジカル2モルに対しヒドロ

Scheme 6. Reactions of CV-6504 hydroquinone with DPPH and galvinoxyl.

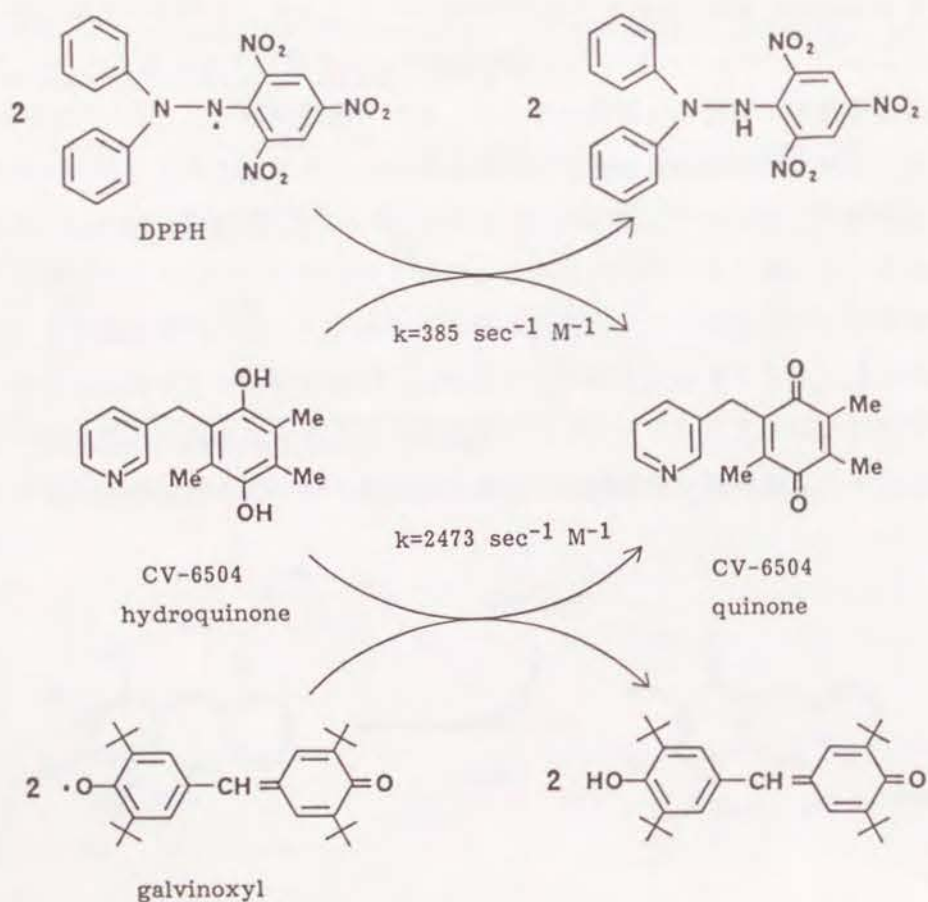


Figure 13. ESR spectrum of DPPH (0.52mM) before (A) and after (B) the addition of CV-6504 hydroquinone (1.0mM).

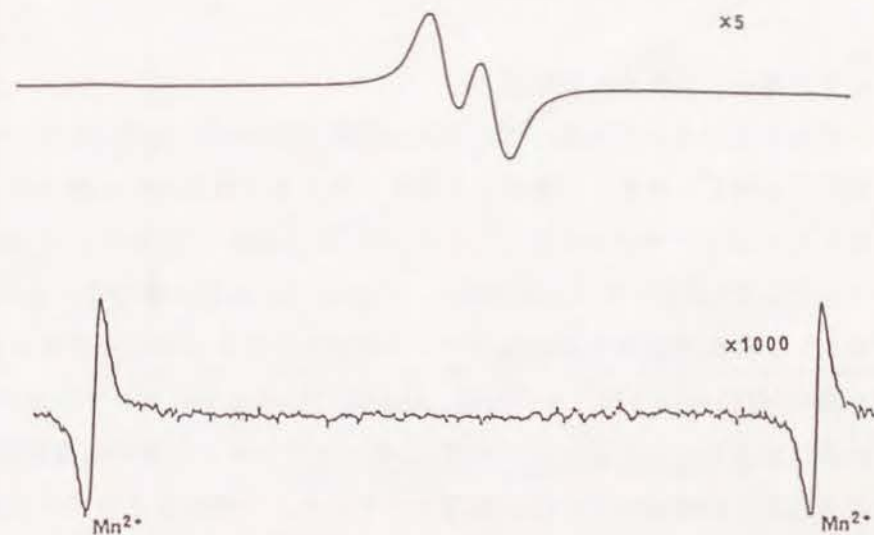


Figure 14. ESR spectrum of galvinoxyl (0.49mM) before (A) and after (B) the addition of CV-6504 hydroquinone (1.0mM).

キノン体1モルであることが判った(Figures 13, 14)。またラジカル消去後の反応成績体を調べたところ安定ラジカルの還元体と化合物72であることが判った。これに対して化合物72の場合にはこのような消去作用は示さなかった。

b. ストップフロー法による反応速度の測定

化合物72のヒドロキノン体と安定ラジカルとの反応について、2波長分光光度計—ストップフロー法を用いて反応速度を測定した。0.2mMのDPPHと0.5-0.063mMのヒドロキノン体のエタノール溶液を25℃で反応させ、 $\lambda_1=420\text{nm}$ 、 $\lambda_2=515\text{nm}$ における吸光度差($\lambda_2-\lambda_1$)を測定した。結果をFigure 15に示したが、擬似1次反応で進行した。次にヒドロキノン体の濃度と擬1次反応速度定数とをプロットすることにより、相関係数0.998の直線が得られ、これより2次の速度定数を $385\text{ sec}^{-1}\text{ M}^{-1}$ と決定した。同様にガルビノキシルとの反応も擬1次反応で進行し、ヒドロキノン体の濃度と擬1次反応速度定数とは良い相関を示した(相関係数、0.99)。これより2次の反応速度定数は $2473\text{ sec}^{-1}\text{ M}^{-1}$ と決定した。(Figure 16)。

B. ヒドロキシラジカルとの反応

ヒドロキシラジカル発生系としてFenton試薬($\text{ADP}+\text{Fe}(\text{II})+\text{H}_2\text{O}_2$)を用いて、化合物72とそのヒドロキノン体のヒドロキシラジカル消去作用を調べた。発生させたヒドロキシラジカルは5,5-ジメチル-1-ピロリン-N-オキシド(DMPO)でトラップしてESRスペクトルを測定し(Figure 18)、化合物72またはそのヒドロキノン体無添加時と添加時のピーク強度からヒドロキシラジカル消去作用を調べた(Figure 17)。その結果、化合物72にはヒドロキシラジカルの消去作用は殆ど見られなかったのに対し、そのヒドロキノン体では濃度依存的に消去作用が観察された。化合物72のヒドロキノン体によるOHラジカル消去は次に示される反応により進行すると考えられる。

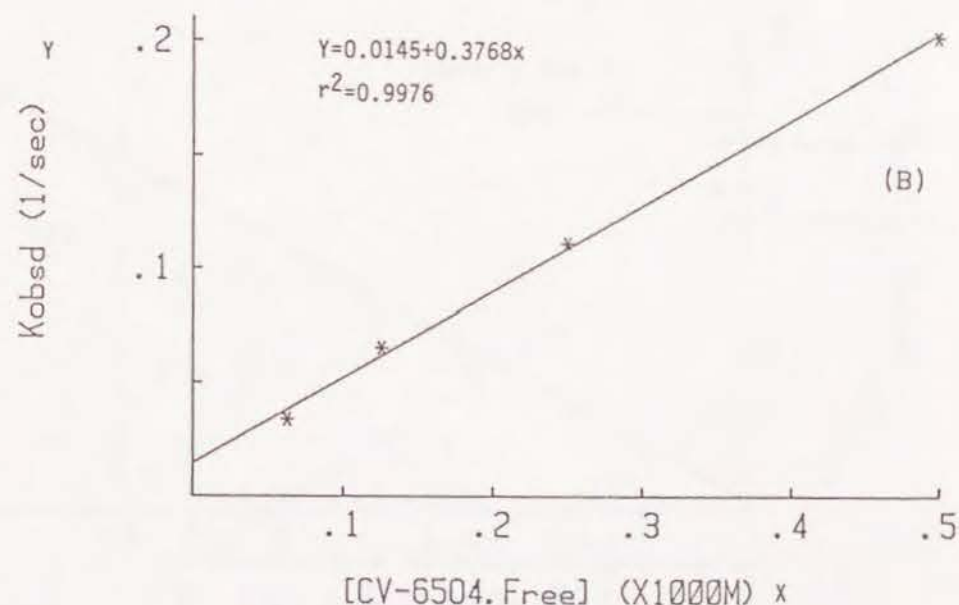
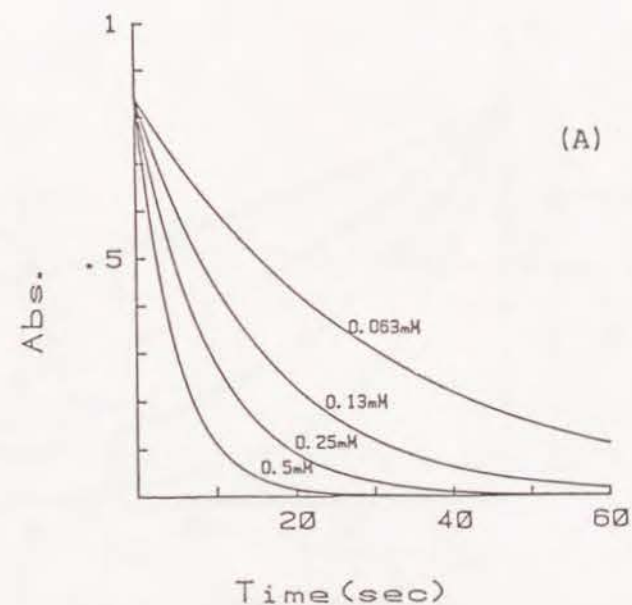


Figure 15. (A) Decay plots of DPPH in the presence of CV-6504 hydroquinone (0.063-0.5mM) at 25°C observed at 422nm (reference:516nm). (B) Plots of K_{obs} vs concentration of CV-6504 hydroquinone.

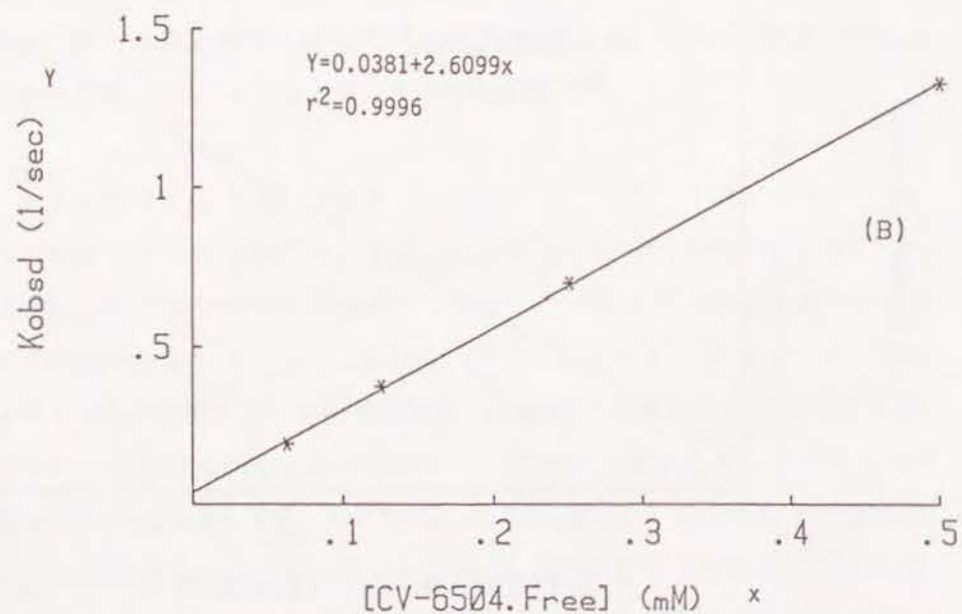
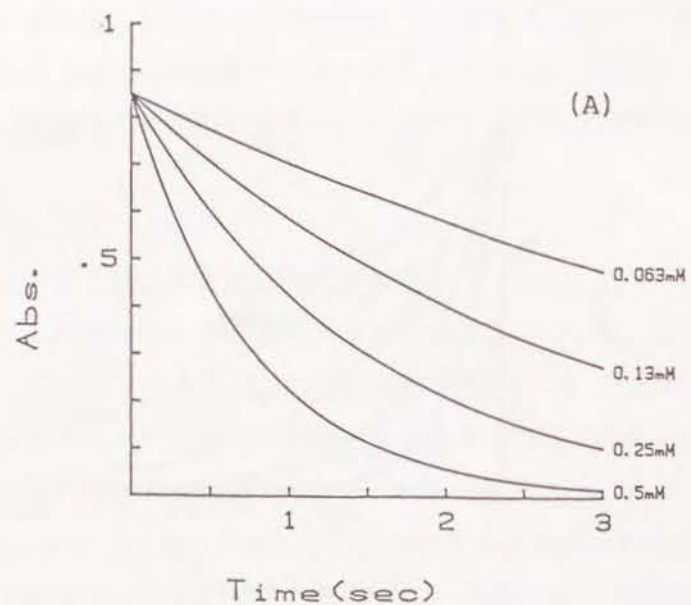


Figure 16. (A) Decay plots of galvinoxyl (0.01mM) in the presence of CV-6504 hydroquinone (0.063-0.5mM) at 25°C observed at 428nm (reference:500nm). (B) Plots of K_{obs} vs concentration of CV-6504 hydroquinone.

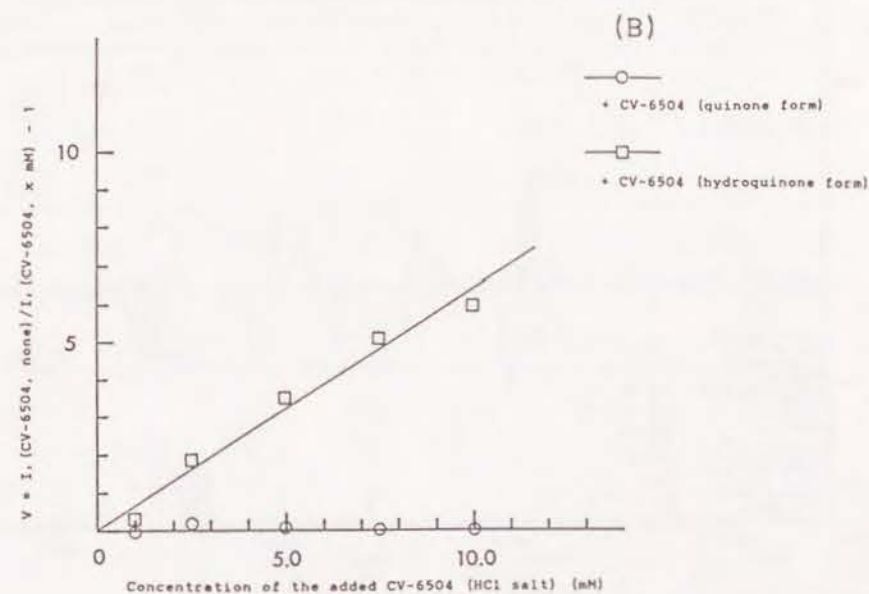
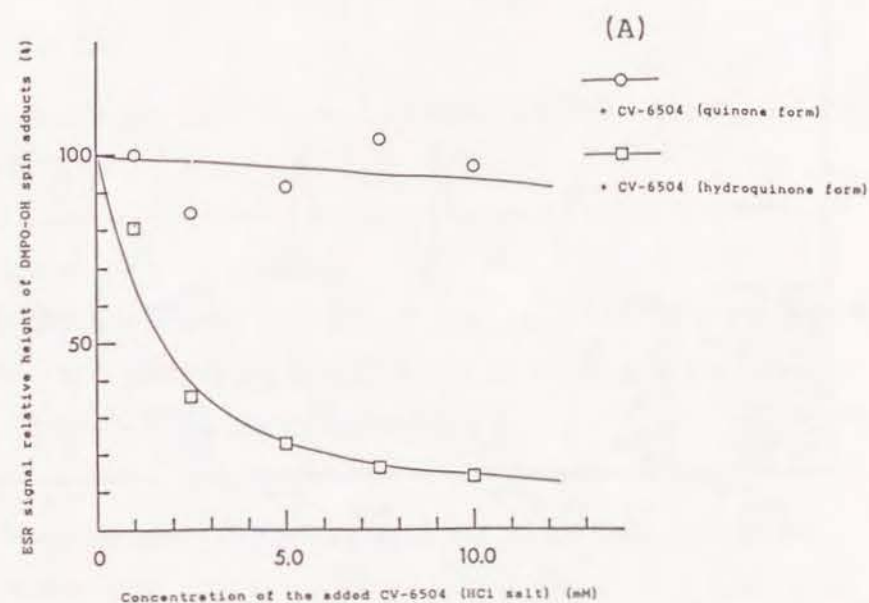


Figure 17. (A) Relationships between ESR signal height of DMPO-OH spin adduct and concentration of CV-6504 quinone form or hydroquinone form. (B) Relationships between V , which represents $I_t(\text{CV-6504, none})/I_t(\text{CV-6504, XmM})-1$, and concentration of CV-6504 quinone form or hydroquinone form. I_t : ESR signal intensity.

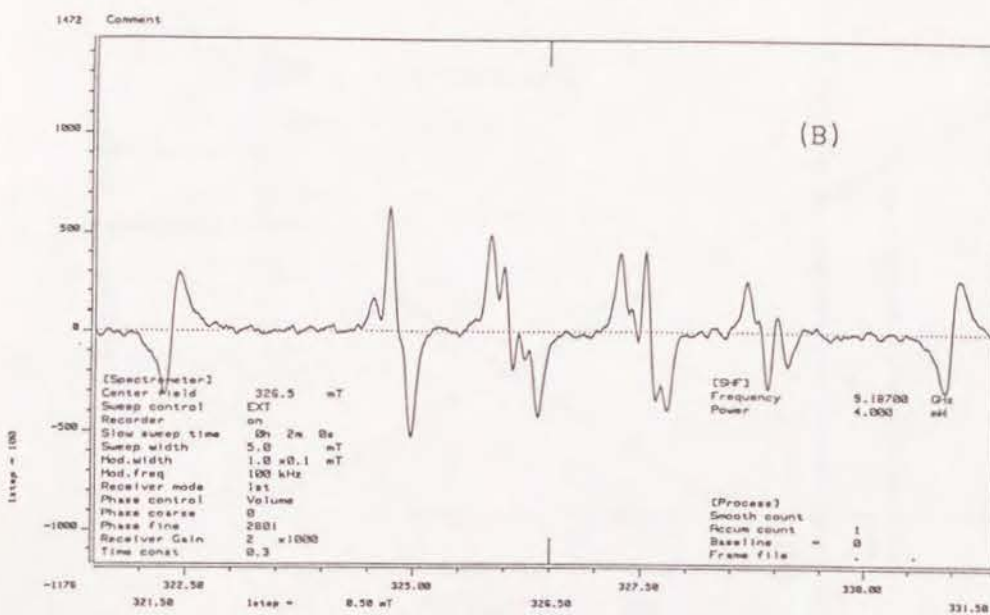
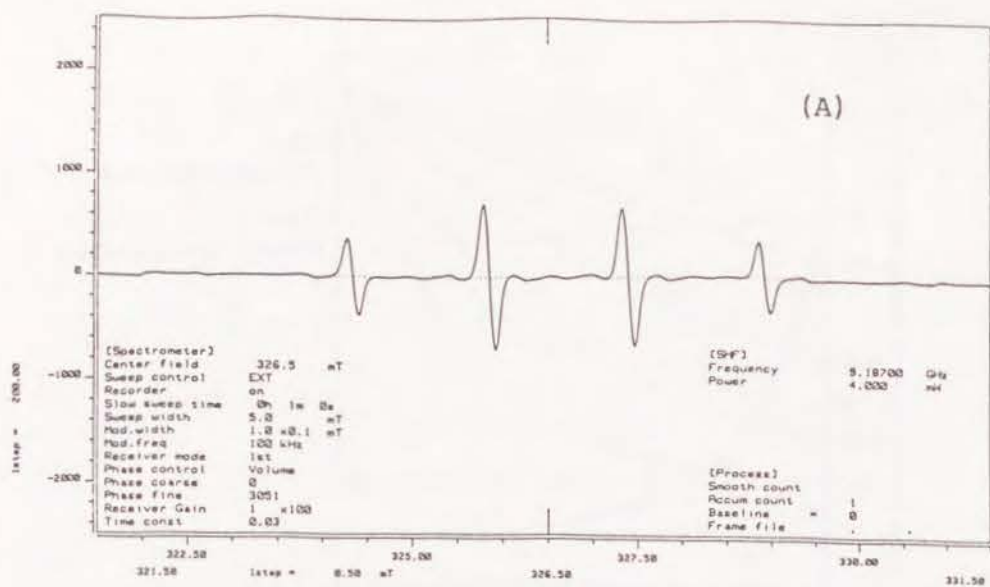


Figure 18. ESR spectrum of DMPO-OH spin adduct (A) and DMPO-O₂ spin adduct (B).



QH₂: 化合物72のヒドロキノン、
 ·QH: 化合物72のセミキノン、
 Q: 化合物72

(2) 5-リポキシゲナーゼ阻害作用

化合物72とそのヒドロキノン体との5-リポキシゲナーゼ(モルモット多形核白血球)に対する阻害作用を調べた。Table XV に示した結果から明らかなようにヒドロキノン体が強い阻害活性を示した。

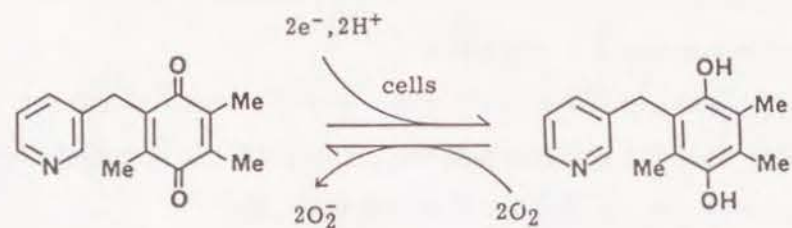
Table XV. 5-Lipoxygenase inhibitory activity of CV-6504 quinone and CV-6504 hydroquinone.

compounds	conc. (M)	no. of. expt.	inhibition (%)	IC ₅₀ (M)
Quinone	10 ⁻⁶	3	26.4	1.0 × 10 ⁻⁴
	10 ⁻⁵	3	30.6	
	10 ⁻⁴	3	50.0	
Hydroquinone	10 ⁻⁶	3	27.1	4.2 × 10 ⁻⁶
	10 ⁻⁵	3	64.1	
	10 ⁻⁴	3	98.9	

第2節 生体内還元機構の検討

(1) 種々の細胞による還元反応

Scheme 7. Redox cycle of CV-6504.



化合物72のRBL-1細胞、PB-3c細胞、ラット胸部大動脈平滑筋細胞、血管内皮細胞による還元反応を調べた。還元反応はUVスペクトルにおけるキノンの吸収極大の減少によりモニターした(Figures 20-22)。その結果血管内皮細胞を除く3種の細胞では速やかに還元反応が進行した。ヒドロキノン体を空気酸化したときのスペクトル変化(Figure 19)は還元時のそれと全く逆の経過を示した。また還元反応後、生成物をクロロホルムで抽出し、これを約1時間放置することにより空気酸化した生成物のIRスペクトルを測定したところ、化合物72のIRスペクトルに完全に一致した(Figure 24)。これは細胞により還元された化合物72が再び空気酸化により化合物72に還元することを示し、細胞による反応生成物が確かにヒドロキノン体であることを証明する結果である。

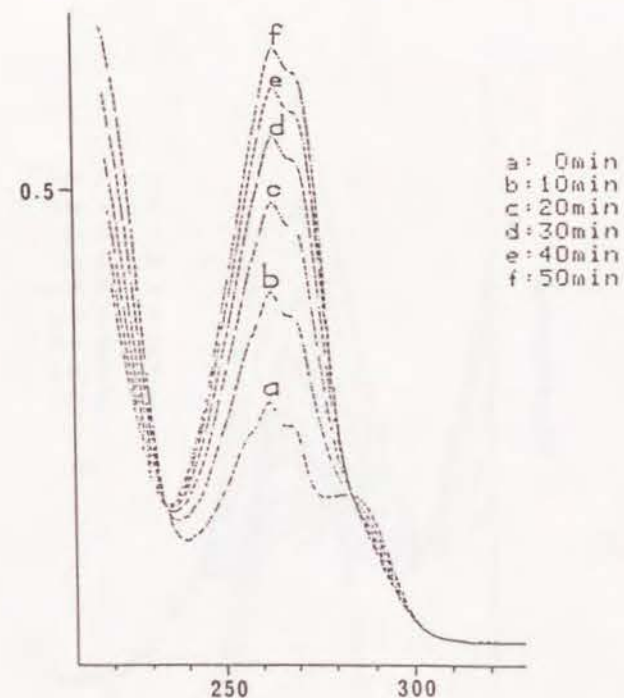


Figure 19. Spectral changes of CV-6504 hydroquinone with air.

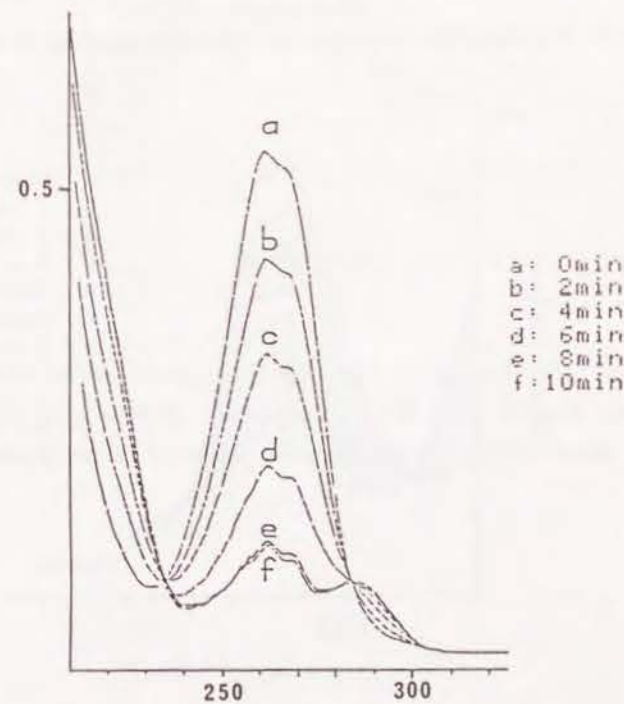


Figure 20. Spectral changes of CV-6504 (quinone) with RBL-1 cells.

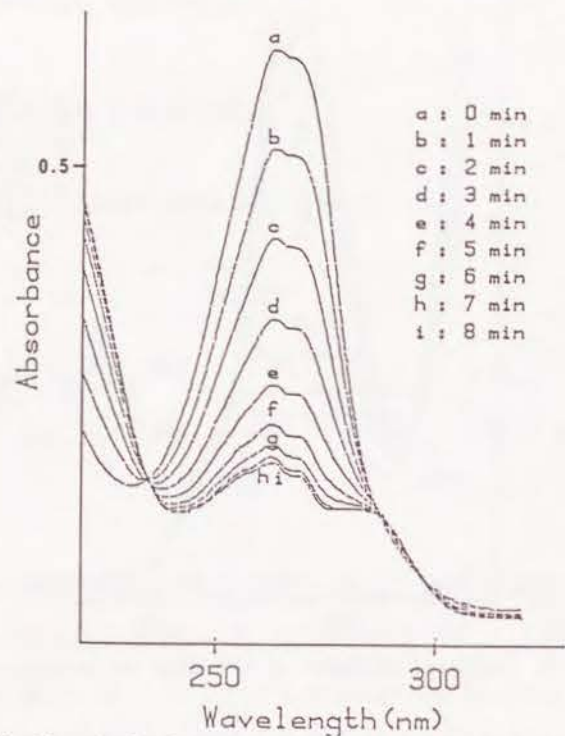


Figure 21. Spectral changes of CV-6504 (quinone) with PB-3c cells.

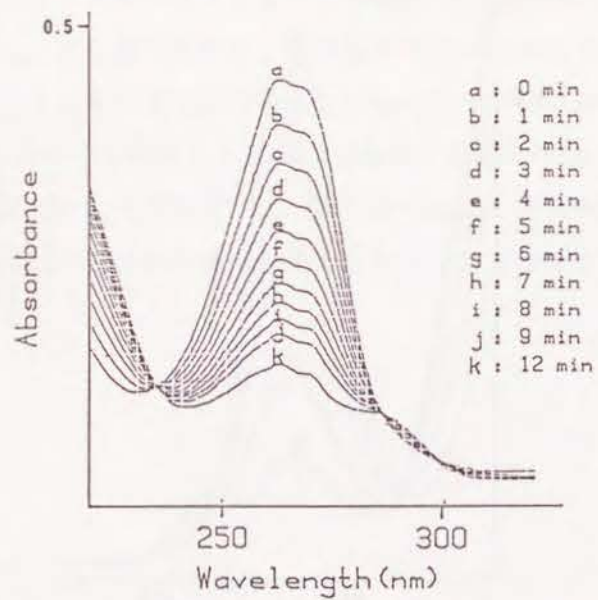


Figure 22. Spectral changes of CV-6504 (quinone) with SMC.

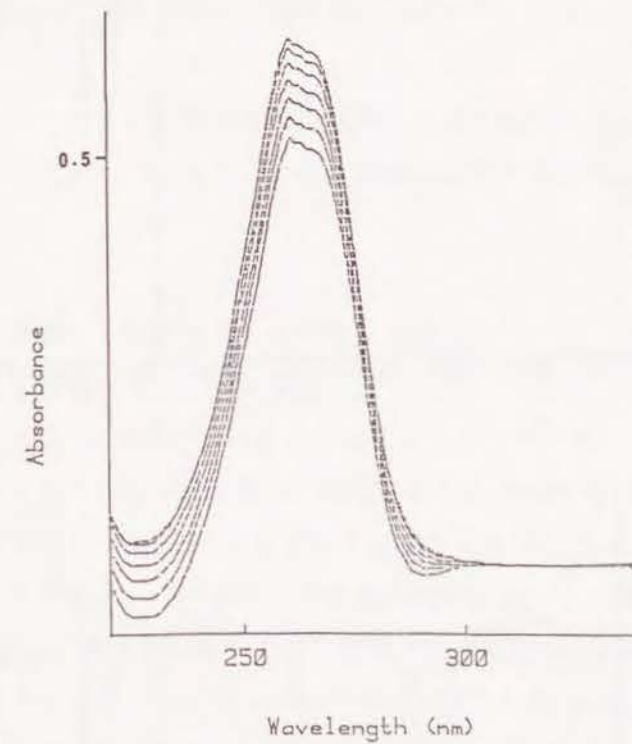


Figure 23. Spectral changes of CV-6504 (quinone) with endotherium of bovine pulmonary artery. Reduction of CV-6504 did not occur in this system. The spectral changes were based on precipitation of the cells.

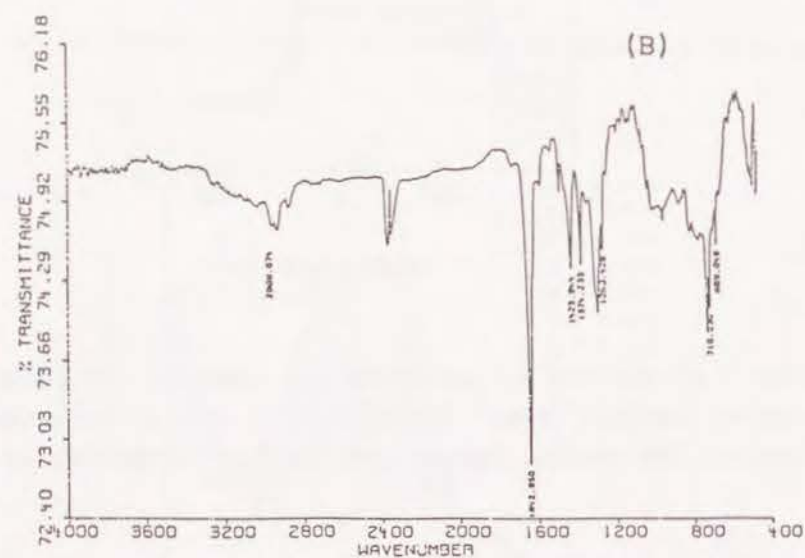
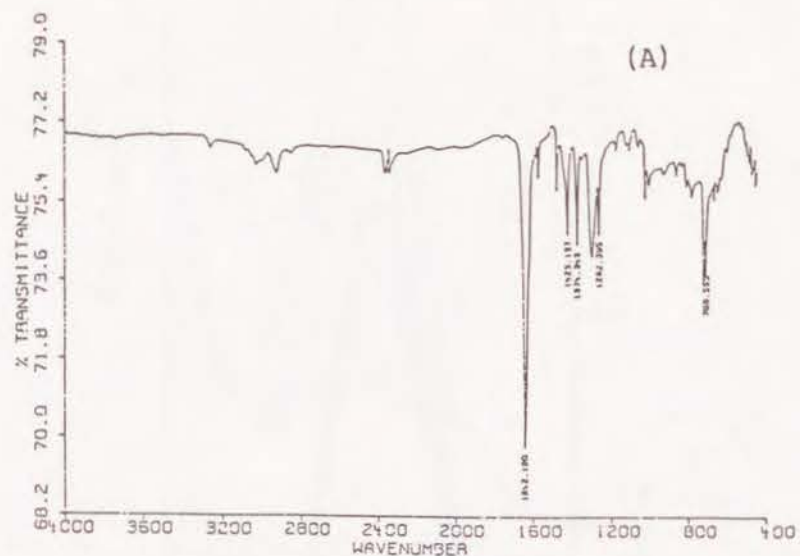


Figure 24. IR spectrum of CV-6504 standard (A) and air oxidation product of the supernatant (B) which was obtained by the cell (RBL-1) reduction of CV-6504.

(2) 細胞による還元機構について

化合物72の細胞による還元機構については、次の3つの可能性が考えられる (Scheme 9)。

- a) 細胞の産生するスーパーオキシドとの反応による還元。⁵⁶⁾
- b) 1電子還元酵素によりセミキノンを經由する2段階還元。²⁶⁾
- c) 2電子還元酵素 (DT-ジアホラーゼなど) による一段階還元。²⁶⁾

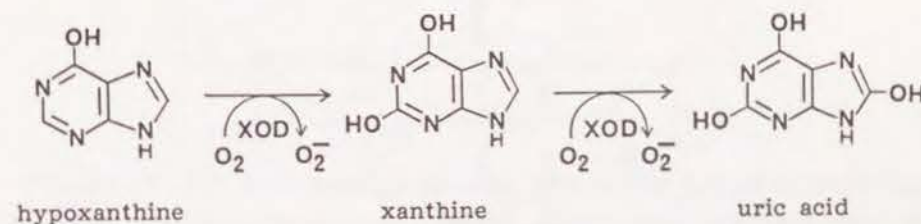
キノンとスーパーオキシドの反応は文献的にも知られているが、まず基礎的な検討事項としてスーパーオキシドと化合物72との反応について調べてみた。

A. スーパーオキシドによるキノンの還元反応

a. ESRによる検討

ヒポキサンチン (2.0mM, 50 μ l)とキサンチンオキシダーゼ(0.25units, 50 μ l)からジエチレントリアミン5酢酸(DETAPAC, 5.5mM, 30 μ l)存在下に発生させたスーパーオキシド (Scheme 8)をDMP Oでトラップし (Scheme 10)、そのESRシグナルからスーパーオキシドの量を測定した。この場合ESRシグナル強度が2分後に最大となることから、すべての測定は2分後に行い、化合物72とそのヒドロキノン体のスーパーオキシド消去作用(すなわちスーパーオキシドによるキノンの還元反応)を調べた (Figure 25)。

Scheme 8. Hypoxanthine-xanthine oxidase system.



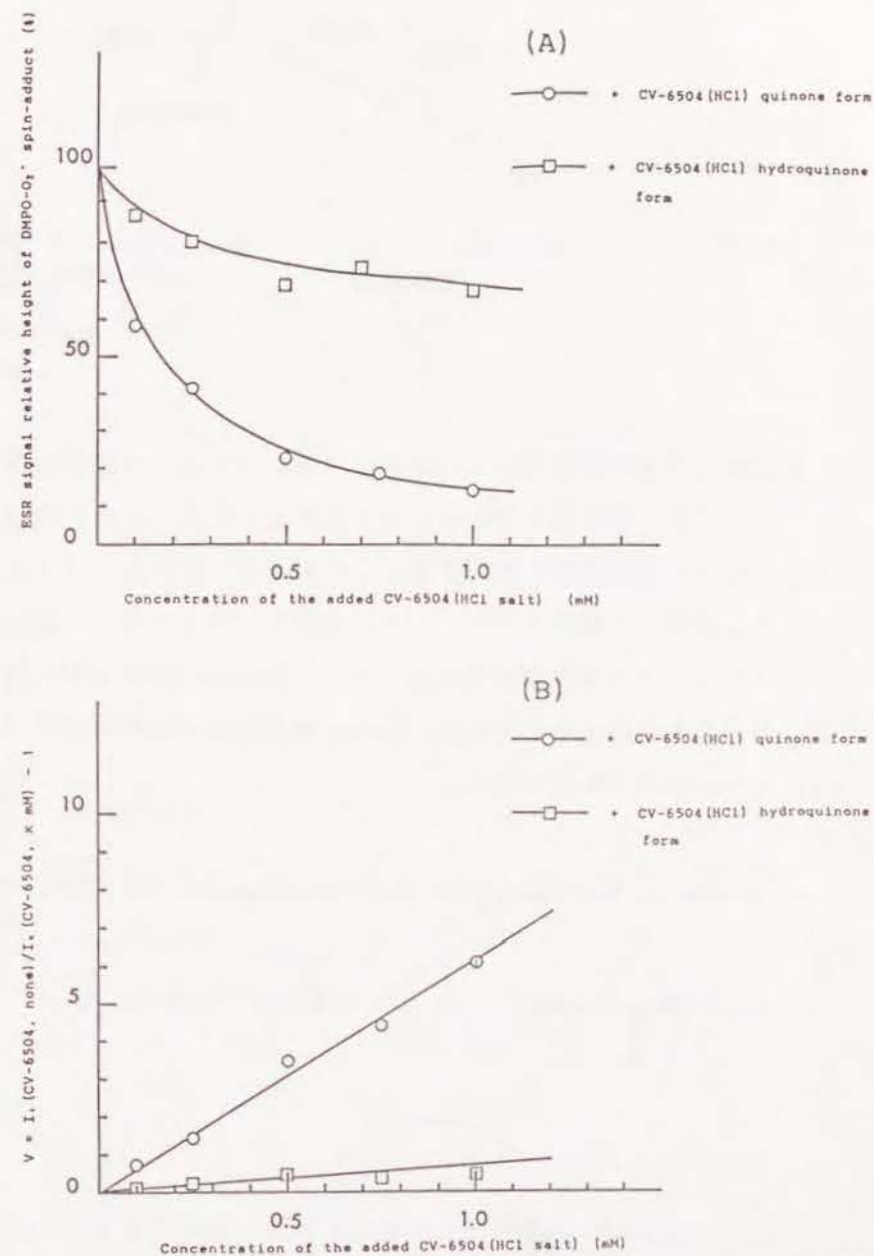
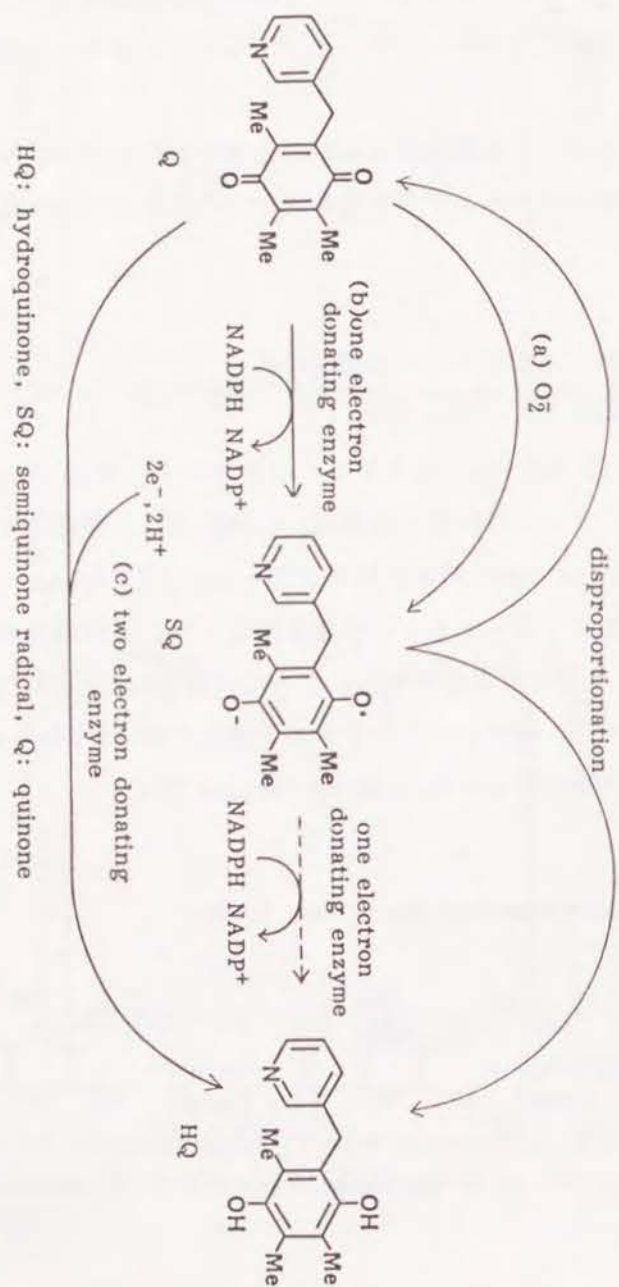
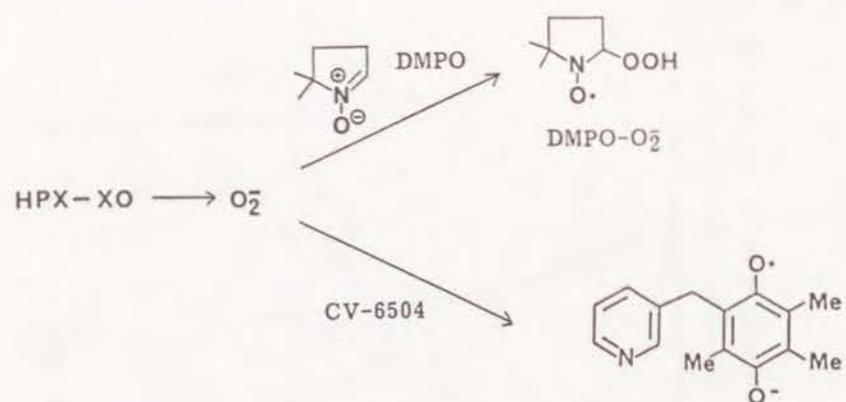


Figure 25. (A) Relationships between ESR signal height of DMPO-O₂ adduct and concentration of CV-6504 quinone form and hydroquinone form. (B) Relationships between V (see footnote of Figure 17) and concentration of CV-6504 quinone form and hydroquinone form.

Scheme 10. Reactions of O_2^- with CV-6504 and DMPO.



化合物72では濃度依存的にDMPO-O₂⁻のシグナル強度が弱くなり、スーパーオキシドを消去していることが確かめられた。また化合物72のヒドロキノン体では添加濃度を高くすると、DMPO-O₂⁻のシグナル強度が僅かに小さくなるのが観察された。しかしながら、ヒドロキノン体にはニトロキシドラジカルの消去作用があることから、Scheme 10 に示した反応によりスピンアダクトを消去した可能性があり、直接的にスーパーオキシドと反応したかどうかは明らかではない。

Scheme 11. Reaction of CV-6504 hydroquinone with DMPO-O₂⁻.

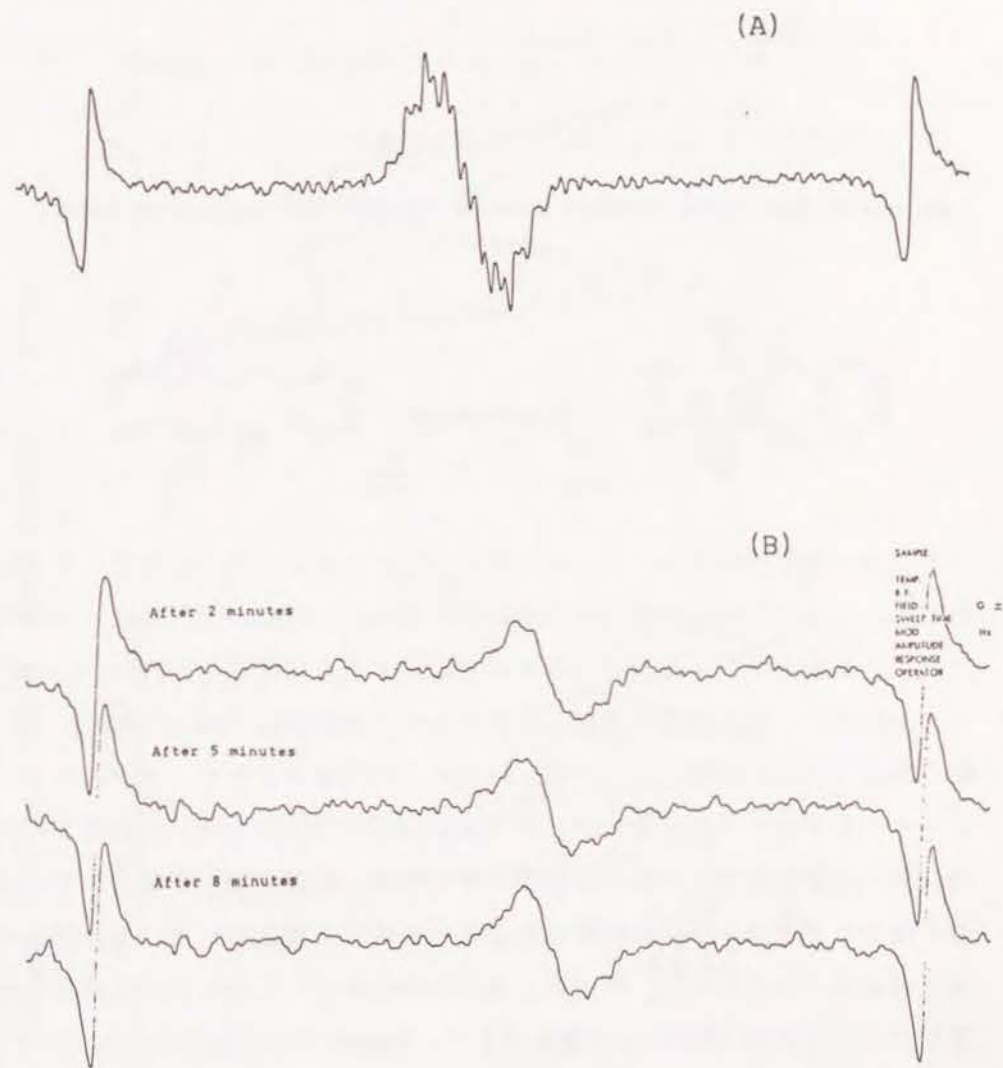
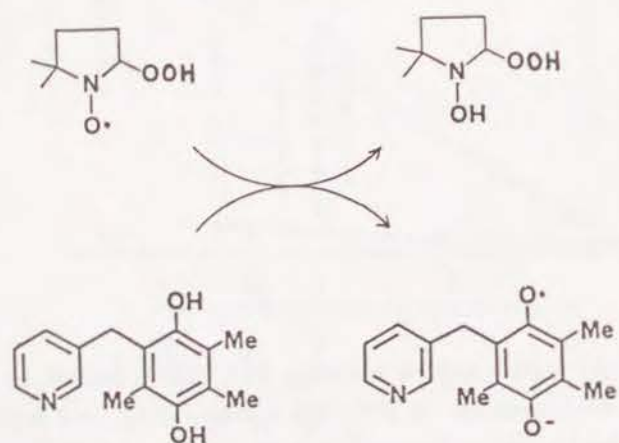
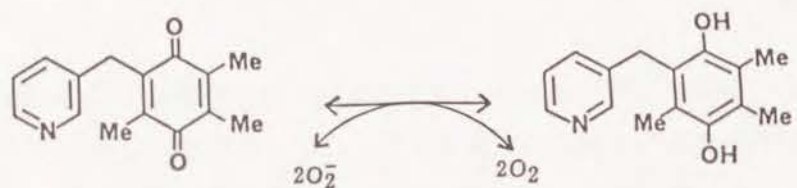


Figure 26. (A) ESR spectra of semiquinone radical observed when a solution of CV-6504 (0.1M) in DMF was added to HPX-XOD system; $g = 2.0040$. (B) ESR spectrum of semiquinone radical generated by autoxidation of CV-6504 hydroquinone. A solution of CV-6504 hydroquinone in DMF was added to phosphate buffer solution (pH 7.4) under air.

またHPX-XOD系に過剰の化合物72を添加することにより、化合物72のセミキノンラジカルのESRシグナルが観測された(Figure 26)。このシグナルは化合物72のヒドロキノンの自動酸化によって得られたセミキノンラジカルのESRシグナルに一致した。

b. UVスペクトルによるキノンの還元反応のモニター

Scheme 12. Reversible reaction between CV-6504 and superoxide anion.



ESRによる検討では、スーパーオキシドのスピンアダクトをモニターしたが、ここではキノンの還元反応をUVで調べた。Figure 27(A)はヒポキサンチンとキサンチンオキシダーゼとの反応によるUV変化を1分毎にモニターした結果で、時間経過と共にヒポキサンチンの吸収(250nm)が減少し、尿酸の吸収(294nm)が増大している。Figure 27(B)はヒポキサンチン、キサンチンオキシダーゼと共に化合物72を100nmolM加えて反応を行った結果で、265nmに見られる化合物72の吸収が減少すると共に、尿酸の吸収が増大している。この場合ヒポキサンチンの吸収は化合物72の吸収と重なるため、その変化の様子は観察できなかった。反応終了後の吸収曲線から化合物72の残存量を計算したところ約40 nmolという値が求まり、60nmolの化合物72がスーパーオキシドにより還元されたことが明らかになった。また反応終了後、1Nの水酸化ナトリウムを加えて空気酸化を促進することにより、化合物72の吸収が増大していく様子が観測されたが[(Figure 27(C))], 最終的な吸収曲線から化合物72の量を計算したところ約90nmolという値が求まり、ほぼ当初の添加量を回復していた。このことより、化合物72はスーパーオキシドによってヒドロキノン体に還元されることが明らかになった。

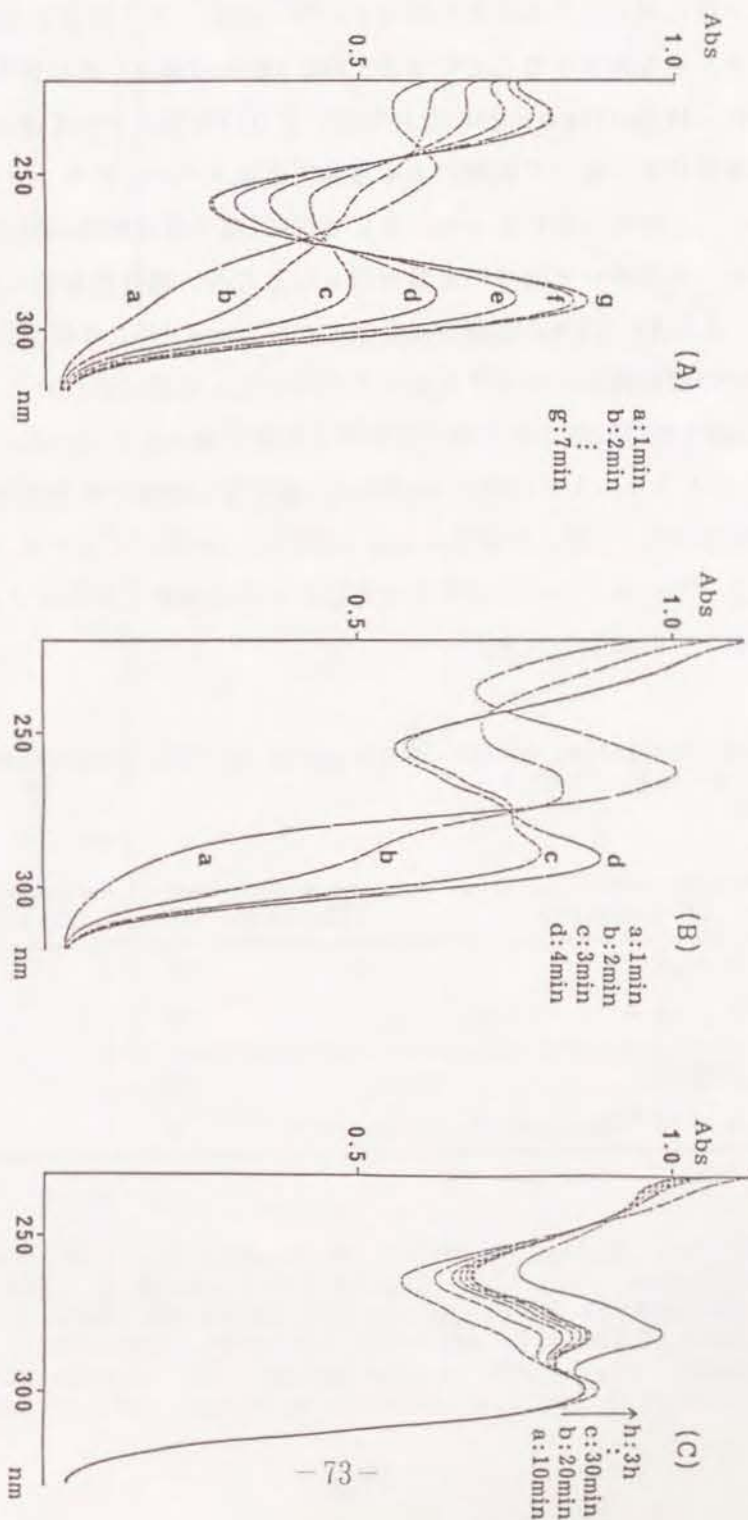


Figure 27. Spectral changes of HPX-XOD system with none (A) and with CV-6504 (B). (C) Spectral changes of the reduction product, which was obtained from CV-6504 under condition (B), in the air oxidation.

B. SODとジクマロールの還元反応に対する影響

これまでの検討により、化合物72は確かにスーパーオキシドによってヒドロキノン体に還元されることが明らかになったが、ここではSODをがスーパーオキシドを消去することによる、RBL-1細胞の還元反応に対する影響を検討した。結果はFigure 28に示したが、SOD添加によって還元速度は全く影響を受けず、従って細胞による還元反応はスーパーオキシドによるものではないことが明らかになった。そこで次に2電子還元酵素の阻害剤であるジクマロールを用いて同様の実験を行ったところ、濃度依存的に還元反応を阻害し、 $0.3\mu\text{M}$ では90%の阻害作用を示した(Figure 29)。本阻害作用がジクマロールの細胞毒性に由来するものではないことを調べるために、ジクマロール $0.5\mu\text{M}$ での LTB_4 産生能を調べたが全く影響が見られなかった(Table XVII)。従ってジクマロールの作用は特異的な2電子還元酵素の阻害作用であることが確認された。以上の結果から化合物72は、細胞に存在する2電子還元酵素によって、セミキノラジカルを経由せずに直接ヒドロキノンに還元されていることが結論される。

Table XVII. Inhibitory effect of dicumarol on LTB_4 production in RBL-1 cells.

conc. of dicumarol	LTB_4 production (% inhibition)
5×10^{-5}	87
5×10^{-6}	35
5×10^{-7}	3
5×10^{-8}	4

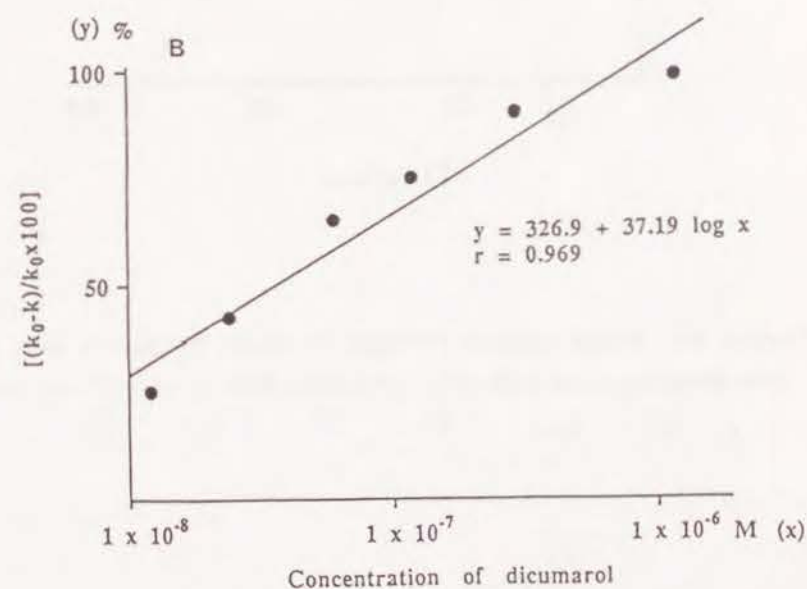
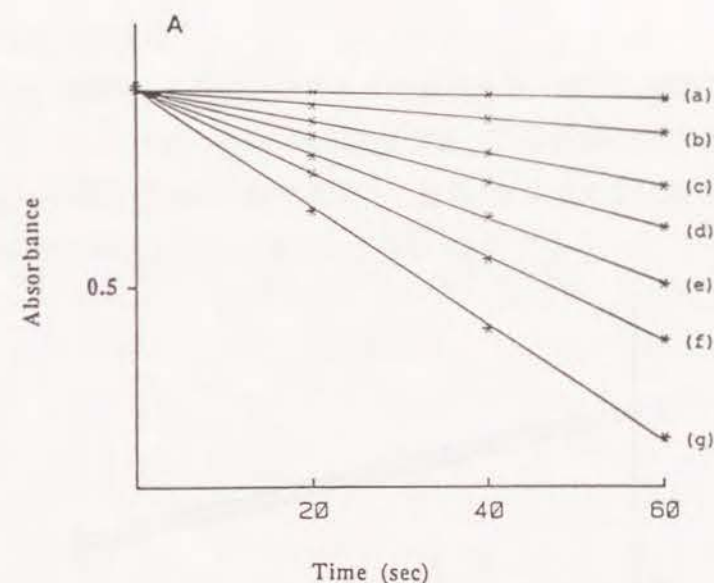


Figure 28. (A) Effect of dicumarol (a:1.2, b:0.30, c:0.12, d:0.060, e:0.024, f:0.012 μM) on the reduction of CV-6504 (0.03mM) by PB-3c cells. (B) Plots of the inhibition of the reduction rate of CV-6504 $[(k_0-k)/k_0 \times 100]$ versus concentration of dicumarol (k : the rate constant with dicumarol, k_0 : the rate constant without dicumarol).

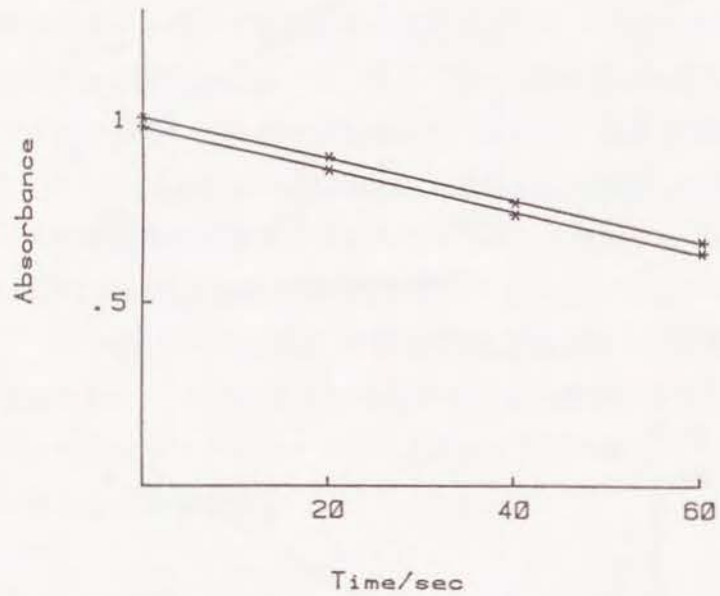


Figure 29. Decay plots of CV-6504 (0.03mM) by RBL-1 cells (2×10^6 /mL) with none (A) and with SOD (20U/mL) (B).

C. 還元速度定数のpH変化

化合物72のRBL-1細胞による還元速度をpHを変化させて調べ、結果をFigure 30に示した(K_0 はpHが7.0の時の速度定数、 K_i は各pHにおける速度定数)。反応速度は中性付近(pH 6-8)で最大で、酸性、アルカリ性になるに従い減少し、至適pHの存在することが明らかとなった。

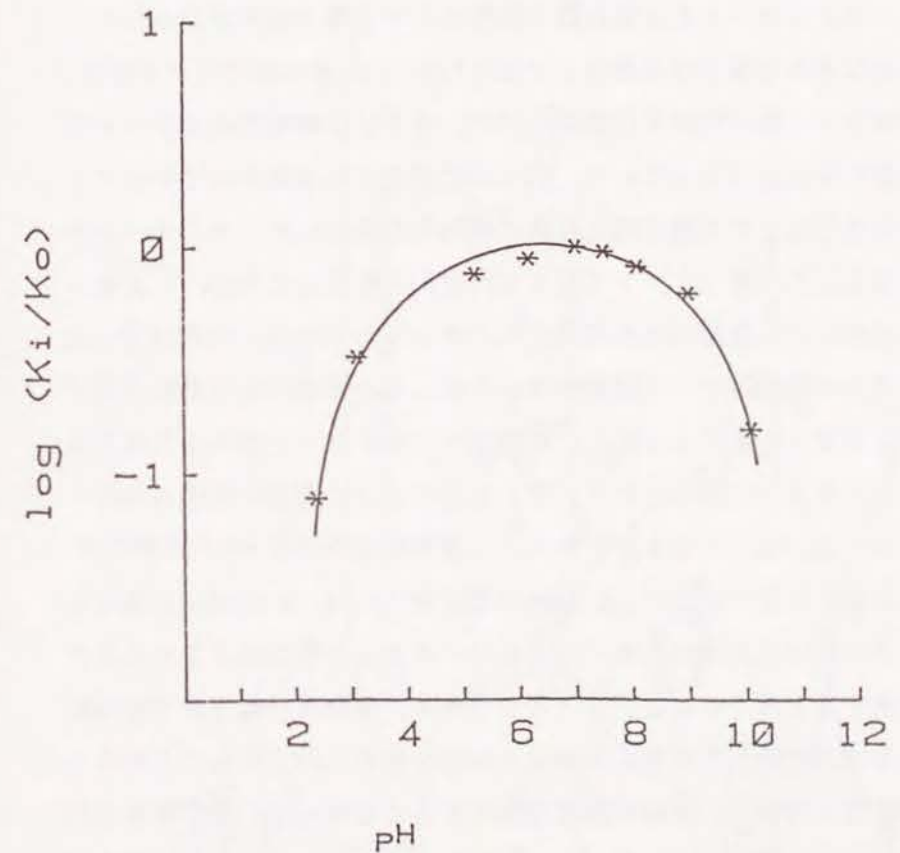
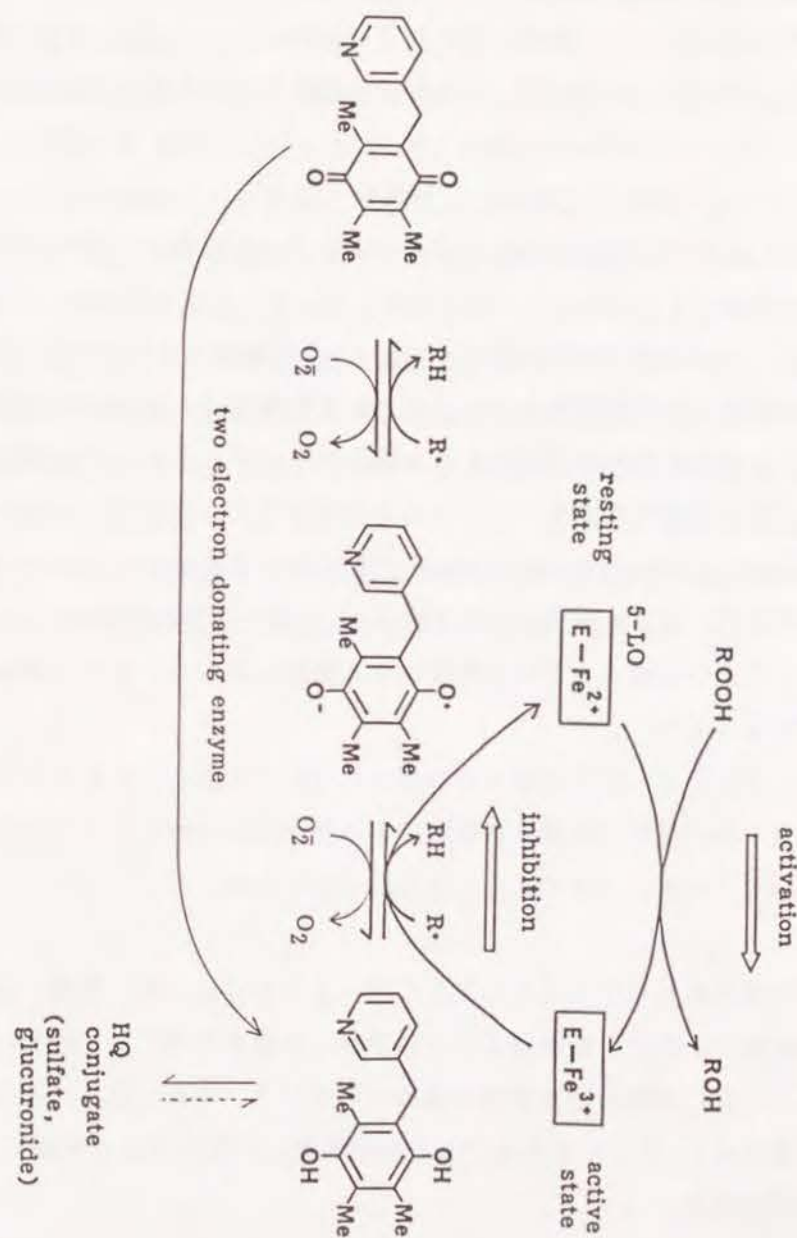


Figure 30. Effect of pH on rate constant of CV-6504 by reduction with cells

考察

分子内にキノン構造を持つ化合物72は、5-リポキシゲナーゼ阻害作用と過酸化脂質生成抑制作用を有している。これまでもこのような作用を有するキノン系の化合物が幾つか知られているが、その作用発現機構については殆ど研究がなされていなかった。今回の実験でこれらの作用がいずれも分子内に含まれるキノン構造がヒドロキノン構造に還元されることにより発現することが明らかになった。生体内に存在するキノン系化合物の還元酵素にはNADPH-チトクロームP450還元酵素などの1電子還元酵素とDT-ジアホラーゼなどの2電子還元酵素とが知られている。その時作用する酵素の種類によりキノン類が抗酸化作用を示すか、あるいは細胞毒性を示すかを決定する重要な分岐点になっている。例えば制癌剤として知られているアドリアマイシンなどはこの1電子還元酵素に親和性が高いため、セミキノンラジカルが生成し、このセミキノンラジカルが酸素と反応してスーパーオキシドを生成し心筋などに細胞毒性を発現すると考えられている。化合物72も白血球を初め種々の細胞によって還元を受けるが、この場合には殆どが2電子還元酵素による還元であることから、有害なセミキノンラジカルを生成することなくヒドロキノンに還元される。そしてこのように安全に生成されたヒドロキノン体は強い5-リポキシゲナーゼの阻害作用を示す。その阻害作用は活性中心にある3価の鉄(active state)を2価(resting state)に還元し、また鉄イオンの活性化作用のあるヒドロパーオキシド類を減少させるメカニズムに由来すると考えられる。またヒドロキノン体は高い電子供与能を有しており、生体内で発生する有害なラジカル類を有効に消去することによって脂質の過酸化を抑制し、細胞の障害を防止すると思われる。この場合1分子の有害ラジカルと反応したヒドロキノン体はセミキノンラジカルになるが、発生したセミキノンラジカルは更にもう1分子の有害なラジカルと反応してキノンにまで酸化されることが、本実験で示した安定ラジカルとの反応から推定される。ここに述べた化合物72の作用発現機構をScheme 13に総括した。化合物72はCV-6504として臨床試験が進行中である。



Scheme 13. Mechanisms for 5-lipoxygenase inhibition and radical scavenging action of CV-6504.

- 1) TXA₂合成酵素と基質との相互作用から酵素モデルを想定し、TXA₂合成酵素阻害剤として最適と思われる一連の ω -ピリジルアルケン酸誘導体を合成した。その結果、強力な阻害活性を有する(E)-7-phenyl-7-(3-pyridyl)-6-heptenoic acid (3c, CV-4151)を見いだした。
- 2) ロイコトリエン類(LTC₄, LTD₄, LTE₄, 1⁶-trans-LTB₄)を合成し、HPLCによる5-リポキシゲナーゼ阻害活性のアクセシシステムを確立した。
- 3) 1) 2) で得られた知見を基に、TXA₂合成酵素と5-リポキシゲナーゼの両酵素に阻害作用を示し、さらに活性酸素(AOS)の消去作用を有する複合阻害剤を目的として一連のピリジルメチルキノン類を合成した。その結果3作用をバランスよく発現する化合物2,3,5-trimethyl-6-(3-pyridylmethyl)benzoquinone (72, CV-6504)を見いだすことができた。CV-6504はTXA₂、LTs及びAOSがかかっていることが示唆されている腎炎モデル動物において、著名な尿蛋白減少作用を示した。
- 4) CV-6504の活性発現メカニズムについて考察し、ESRを用いたラジカル消去作用の検討及び細胞による還元反応の検討から、その活性本体がヒドロキノン体であることを明らかにした。

本研究で得られたCV-4151とCV-6504は心臓、腎臓、脳などの虚血性疾患や、炎症、動脈硬化などの予防、治療を目的として現在 phase II 段階の臨床試験が進められている。またこれらの化合物によって、TXA₂、LTs及びAOSと各種疾患との関りがより明確にされるものと思われる。

本研究の機会を与えられた武田薬品工業株式会社取締役研究開発本部副本部長 西川正夫博士に深謝申し上げます。

本研究は終始、化学研究所長 寺尾秦次博士のご指導のもとに行われたものであり、ここに厚くお礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、貴重なご意見及び活発なご討論を頂いた加藤金芳博士、白石充博士に深く感謝致します。また有益なご助言とご指導を頂いた後藤義一博士、青野哲也博士、吉村義信博士に厚くお礼申し上げます。薬理試験を担当するとともに、ご助言を頂いた西川浩平博士、寺下善一博士、柴生田由美子博士、松本辰美氏に深謝致します。また理化学的測定を担当された村上守生氏、寺尾孝士氏を始めとする化学研究所分析部門の諸氏に深く感謝致します。

本研究をまとめるに当たり、終始ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました京都大学薬学部 藤多哲朗博士に衷心より感謝の意を表します。

融点は柳本微量融点測定器で測定し未補正である。紫外線吸収スペクトル(UV)は日立3200型自記記録分光光度計を用いた。核磁気共鳴スペクトルはVarian EM-390型(90MHz)あるいはJEOL WH400型(400MHz)で測定し、テトラメチルシラン(TMS)を内部標準とし δ 値(ppm)で表示した。電子スピン共鳴スペクトルはJEOL JES-RE3Xを用いた。2波長分光光度計は日立557型を、ストップフロー装置は日立557-0814型をそれぞれ用いた。テトラヒドロフラン(THF)、イソプロピルエーテル(IPE)は水素化カルシウムで乾燥後常圧で蒸留したものを用い、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジメチルホルムアミド(DMF)、酢酸エチル(EtOAc)、ヘキサン、メタノール(MeOH)、エタノール(EtOH)及びクロロホルム(CHCl_3)は市販品(特級)をそのまま用いた。

元素分析は $\pm 0.4\%$ 以内で一致した。実験操作において抽出液は無水硫酸マグネシウム(MgSO_4)で乾燥し、減圧下で濃縮した。またカラムクロマトグラフィーを行うときにはMerck Kieselgel 60(70-230mesh)を用いた。

第3章 第2節に関する実験

ピリジルケトン類

2-,3-及び4-ピリジルフェニルケトンは市販のもの(和光純薬工業株式会社)をそのまま用いた。4-メチルフェニル 3-ピリジルケトン(mp 77-78°C, 収率20%)と3-ニトロフェニル 3-ピリジルケトン(mp 75-76°C, 収率17%)はHögberg⁵⁷⁾の方法に従って合成した。Table XVIIに挙げたピリジルケトン類は総て以下に述べる3-ピリジルメタノールからSwernらの方法で酸化して合成した。また3-フェニルプロピル 3-ピリジルケトンは3-リチオピリジンとエチル 4-フェニルブチレートとをエチルエーテル中-78°Cで縮合させることにより合成した。

Table XV.

R ₁	yield(%)	mp(°C)	formula	Anal. (calcd.)			Anal. (found)		
				C	H	N	C	H	N
p-OMe-C ₆ H ₄	46	98-99	C ₁₃ H ₁₁ NO ₂	73.22	5.20	6.57	72.94	5.15	6.5
p- ¹ Pr-C ₆ H ₄	98	oil	C ₁₅ H ₁₅ NO	79.97	6.71	6.22	79.79	6.84	6.20
p-Br-C ₆ H ₄	72	125-126	C ₁₂ H ₈ NOBr	54.99	3.08	5.35	54.73	3.14	5.22
m-Br-C ₆ H ₄	80	57-58	C ₁₂ H ₈ NOBr	54.99	3.08	5.35	54.82	3.21	5.42
o-Br-C ₆ H ₄	75	oil	C ₁₂ H ₈ NOBr	54.99	3.08	5.35	55.07	3.10	5.26
p-F-C ₆ H ₄	50	92-93	C ₁₂ H ₈ NOF	71.64	4.01	6.96	71.68	4.13	6.92
m-F-C ₆ H ₄	51	45-46	C ₁₂ H ₈ NOF	71.64	4.01	6.96	71.57	4.16	6.06
o-F-C ₆ H ₄	48	oil	C ₁₂ H ₈ NOF	71.64	4.01	6.96	-----	-----	-----
m-CF ₃ -C ₆ H ₄	81	oil	C ₁₃ H ₈ NOF ₃	62.16	3.21	5.58	62.21	3.16	5.64
2-naphtyl	86	71-72	C ₁₆ H ₁₁ NO	82.38	4.75	6.01	82.33	4.80	5.99
1-naphtyl	86	oil	C ₁₆ H ₁₁ NO	82.38	4.75	6.01	-----	-----	-----
2-thienyl	75	93-94	C ₁₀ H ₇ NOS	63.47	3.73	7.40	63.74	4.11	7.76
3-thienyl	60	74-75	C ₁₀ H ₇ NOS	63.47	3.73	7.40	63.32	3.85	7.22
3-pyridyl	80	115-116	C ₁₁ H ₈ N ₂ O	71.73	4.38	15.21	71.81	4.34	15.11
3,4-methylenedioxy-C ₆ H ₃									
	65	112-113	C ₁₃ H ₉ NO ₃	68.82	3.99	6.17	68.86	3.95	6.28
3-Me, 2-thienyl									
	71	oil	C ₁₁ H ₉ NOS	65.00	4.46	6.89	-----	-----	-----
2-thiazolyl	58	72-73	C ₉ H ₆ N ₂ OS	56.83	3.18	14.73	56.69	3.00	14.58
n-hexyl	61	oil	C ₁₂ H ₁₇ NO	75.35	8.96	7.32	-----	-----	-----
m-NO ₂ -C ₆ H ₄	17	75-76	C ₁₂ H ₈ N ₂ O ₃	63.16	3.53	12.27	-----	-----	-----
p-Me-C ₆ H ₄	20	77-78	C ₁₃ H ₁₁ NO	79.16	5.62	7.10	79.21	5.37	6.99
(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₄	11	oil	C ₁₅ H ₁₅ NO	79.97	6.71	6.22	-----	-----	-----

またTable XVに挙げた3-ピリジルメタノールは3-リチオピリジンと対応するアルデヒドとの反応により合成した。

Table XV.

R ₁	yield(%)	mp(°C)	formula	Anal. (calcd.)			Anal. (found)		
				C	H	N	C	H	N
p-OMe-C ₆ H ₄	60	106-107	C ₁₃ H ₁₃ NO ₂	72.54	6.09	6.51	72.41	6.15	6.70
p- ¹ Pr-C ₆ H ₄	76	107-108	C ₁₅ H ₁₇ NO	79.26	7.54	6.16	79.51	7.36	6.17
p-Br-C ₆ H ₄	51	125-126	C ₁₂ H ₁₀ NOBr	54.57	3.82	5.30	54.50	3.76	5.31
m-Br-C ₆ H ₄	76	95-96	C ₁₂ H ₁₀ NOBr	54.57	3.82	5.30	54.53	3.86	5.32
o-Br-C ₆ H ₄	50	125-126	C ₁₂ H ₁₀ NOBr	54.57	3.82	5.30	54.51	3.76	5.31
p-F-C ₆ H ₄	66	oil	C ₁₂ H ₁₀ NOF	70.92	4.96	6.89	-----	-----	-----
m-F-C ₆ H ₄	70	86-87	C ₁₂ H ₁₀ NOF	70.92	4.96	6.89	71.30	4.90	6.92
o-F-C ₆ H ₄	70	73-74	C ₁₂ H ₁₀ NOF	70.92	4.96	6.89	70.83	4.95	6.81
m-CF ₃ -C ₆ H ₄	58	oil	C ₁₃ H ₁₀ NOF ₃	61.66	3.98	5.53	-----	-----	-----
2-naphtyl	81	135-136	C ₁₆ H ₁₃ NO	81.68	5.57	5.95	81.40	5.70	6.16
1-naphtyl	81	123-125	C ₁₆ H ₁₃ NO	81.68	5.57	5.95	81.61	5.83	6.16
2-thienyl	86	59-60	C ₁₀ H ₉ NOS	62.80	4.74	7.33	62.61	4.74	7.64
3-thienyl	96	oil	C ₁₀ H ₉ NOS	62.80	4.74	7.33	-----	-----	-----
3-pyridyl	50	oil	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O	70.95	5.41	15.04	-----	-----	-----
3,4-methylenedioxy-C ₆ H ₃									
	63	105-106	C ₁₃ H ₁₁ NO ₃	68.11	4.84	6.11	68.07	4.57	6.14
3-Me, 2-thienyl									
	75	oil	C ₁₁ H ₁₁ NOS	64.36	5.40	6.82	-----	-----	-----
2-thiazolyl	95	oil	C ₉ H ₈ N ₂ OS	56.23	4.19	14.57	-----	-----	-----
n-hexyl	80	oil	C ₁₂ H ₁₉ NO	74.57	9.91	7.25	-----	-----	-----

ホスホニウムブロマイド

ω-プロモカルボン酸 (0.1mol) とトリフェニルホスフィン (0.1mol) とを MeCN (100mL) 中 18 時間加熱還流した。生成物が結晶化した時にはろ取り、結晶化しなかった場合には溶媒を減圧で留去した。以上の方法で次の化合物を合成した。(3-カルボキシプロピル)トリフェニルホスホニウムブロマイド

合成した。(3-カルボキシプロピル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 246-248°C), (4-カルボキシブチル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 209-210°C), (5-カルボキシペンチル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 204-205°C), (6-カルボキシヘキシル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 185-187°C), (7-カルボキシヘプチル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 122-124°C), (8-カルボキシオクチル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 90-95°C), (9-カルボキシノニル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (oil), (10-カルボキシデシル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (oil), (5-カルボキシ-5-メチルヘキシル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (mp 160-165°C), (6-カルボキシ-6-メチルヘプチル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (oil), (5-カルボキシ-5-フェニルペンチル)トリフェニルホスホニウムブロマイド (210-215°C)。

ω-ピリジルアルカン酸

一般合成法

NaH (12mmol, 60% mineral oil dispersion, 使用前に hexane で洗浄して mineral oil を除去) の DMSO (10mL) 溶液をアルゴン雰囲気下 85°C で 40 分間加熱した。冷後、反応液にホスホニウムブロマイド (5.5mmol) を加え、10 分間かき混ぜた。次に反応液に氷冷下、上記のピリジル ケトン (5.0mmol) の DMSO 溶液を加え、ホスホランの色が消失するまでかき混ぜた。反応液は水で希釈後トルエンで洗浄し、水層を 2N 塩酸で弱酸性にして生成物を EtOAc で抽出した。抽出液は水洗、乾燥後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (IPE-EtOAc 系の溶媒で溶出) で生成すると ω-ピリジルアルカン酸 (E 体と Z 体の混合物) が得られた。

幾つかの異性体の混合物は分別再結晶によって分離した。分離が困難な場合にはエステル化を行った後に、HPLC による分離 (ODS, MeCN:H₂O:AcOH=1:2:0.03) を行った。エステル化は 1g の混合物を 20mL の EtOH に溶解し、塩化チオニル (2mL) を加えて室温で放置することにより行った。分離された各異性体は EtOH 溶解後 1M-NaOH 水溶液を加え室温で 1 時間放置することによって加水分

解を行い、2N-HCl で pH 4.5 に調整して目的とする ω-ピリジルカルボン酸を得た。

酸触媒による異性化

(Z)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン酸 (4c, 3.0g) の 25% HBr (20mL) 水溶液を 18 時間加熱還流した。冷後、アンモニア水で反応液の pH を 4.5 に調整し、生成物を EtOAc で抽出した。抽出液は水洗、乾燥後、溶媒を留去し、HPLC で E 体と Z 体の混合比を調べたところ 2:1 であることが明らかになった。濃縮残渣を EtOAc から分別再結晶して E 体 (3c) の結晶 (純度 >98%, 融点 114-115°C) 1.4g を得た。NMR (CDCl₃), δ ppm: 1.58 (4H, m), 2.13 (2H, t, J=7.0Hz), 2.29 (2H, t, J=7.0Hz), 6.13 (1H, t, J=7.0Hz), 7.16 (3H, m), 7.31 (3H, m), 7.46 (1H, d, J=7.0Hz), 8.55 (2H, m), 11.8 (1H, s). Anal. calcd. for C₁₈H₁₉NO₂: C, 76.84, H, 6.81, N, 4.98, found: C, 77.01, H, 6.60, N, 4.80.

7-フェニル-7-(3-ピリジル)ヘプタン酸 (14a)

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)ヘプテン酸 (3c, 0.7g, 2.5mmol) の MeOH (20mL) 溶液に 5% Pd-C (0.7g) を加え、接触還元反応を行った。反応終了後触媒をろ去し、ろ液を濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (IPE-EtOAc, 1:1 で溶出) で精製し目的とするジヒドロ体 (14a) 0.6g (油状、収率 86%) を得た。NMR (CDCl₃), δ ppm: 1.34 (4H, m), 1.62 (2H, m), 2.07 (2H, m), 2.31 (2H, t, J=7.5Hz), 3.93 (1H, t, J=8.0Hz), 7.10-7.40 (6H, m), 7.55 (1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.43 (1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.56 (1H, d, J=1.5Hz), 8.60 (1H, broad s). Anal. calcd. for C₁₈H₂₁NO₂: C, 76.30, H, 7.47, N, 4.94, found: C, 76.31, H, 7.44, N, 4.91.

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン酸メチル (15a)

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)ヘプテン酸 (3c, 28g, 0.1mol) の MeOH (200mL) 溶液に塩化チオニル (10mL) を室温に加えた。反応液を 18 時間かき混ぜた後溶媒を留去し、残渣に飽和 NaHCO₃ 水溶液を加えた。生成物を EtOAc で抽出し、

抽出液は、水洗、乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (IPE-EtOAc, 1:1で溶出) で精製し、目的とするエステル体(28a) 30g(油状、収率 97%)を得た。NMR(CDC13), δ ppm; 1.55(4H, m), 2.13(2H, t, J=7.0 Hz), 2.26(2H, t, J=7.0 Hz), 3.66(3H, s), 6.09(1H, t, J=7.0 Hz), 7.15(3H, m), 7.32(3H, m), 7.44(1H, d, J=5.0 Hz), 8.46(2H, m). Anal. calcd. for $C_{19}H_{21}NO_2$: C, 77.26, H, 7.17, N, 4.74, found: C, 77.17, H, 7.27, N, 4.59.

α -置換- ω -ピリジルカルボン酸

一般合成法

n-ブチルリチウム(1.6M in ヘキサン, 5mL, 8mmol)、ジイソプロピルアミン(0.8g, 8mmol)、及びTHF(10mL)から-78℃で調製したLDA溶液に、methyl (E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン酸メチル(28a, 1.2g, 4mmol)のTHF(4mL)溶液を加えた。反応液を15分間かき混ぜた後、各種の親電子試薬(disulfides, ケトンs, propargyl bromide, allyl bromide)のHMPA(2mL)溶液を加えた。反応液を-60℃でさらに15分間かき混ぜた後、水で希釈して生成物をEtOAcで抽出した。抽出液は、水洗、乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(IPE-EtOAc系で溶出)で精製した後加水分解を行い、目的とする遊離酸を得た。

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン-1-オール(28c)

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン酸メチル(28a, 15g, 48mmol)のTHF(100mL)溶液に、0℃で水素化リチウムアルミニウム(5g)を加え30分間かき混ぜた。反応液にロッシェル塩の飽和水溶液を加え、有機層を分離し、有機層は水洗、乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(EtOAcで溶出)で精製して目的とするアルコール体(28c)12.1g(収率94%)を油状物として得た。NMR(CDC13), δ ppm; 1.44(6H, m), 2.14(2H, m), 3.58(2H, m), 6.09(1H, t, J=7.0 Hz), 7.25(7H, m), 8.40(1H, dd, J=4.0 Hz and 2.0 Hz), 8.48(1H, d, J=2.0 Hz). Anal. calcd. for $C_{18}H_{21}NO$: C, 80.86, H, 7.91, N, 5.24, found: C, 81.02, H, 7.85, N, 5.09.

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテンアミド(28d)

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン酸(3c, 1.0g, 3.6mmol)の塩化オキサリル(5mL)溶液を60℃に1時間加熱した。反応液を減圧で濃縮し、残渣に0℃に冷却した5% NH_3 -MeOH溶液を加え、30分かき混ぜた。反応液を濃縮し、残渣をEtOAcから結晶化させて目的とするアミド体(28d)0.87g(収率82.6%)を得た。NMR(CDC13), δ ppm; 1.57(4H, m), 2.15(4H, m), 5.50(2H, broad s), 6.08(1H, t, J=7.0 Hz), 7.26(7H, m), 8.45(2H, m). Anal. calcd. for $C_{18}H_{20}N_2O$: C, 77.11, H, 7.19, N, 9.99, found: C, 76.83, H, 7.35, N, 9.88.

(E)-7-フェニル-7-(1-オキシド-3-ピリジル)-6-ヘプテン酸(21)

(E)-7-フェニル-7-(3-ピリジル)-6-ヘプテン酸(3c, 1.5g, 5.3mmol)の $CHCl_3$ (50mL)溶液にm-クロロ過安息香酸(1.3g, 70% purity, 5.3mmol)を少しずつ加え、添加終了後30分間かき混ぜた。反応液は溶媒を留去し、EtOAcから目的とするN-オキシド体(21)1.5g(収率94.6%)を結晶化させた。NMR(CDC13), δ ppm : 1.58(4H, m), 2.16(2H, m), 2.28(2H, m), 6.22(1H, t, J=7.0 Hz), 7.26(7H, m), 8.17(1H, m), 8.28(1H, m). Anal. calcd. for : C, 72.71, H, 6.44, N, 4.71, found: C, 72.67, H, 6.47, N, 4.64.

第3章 第3節に関する実験

トロンボキサン A_2 (TXA $_2$)合成酵素阻害作用

1) 馬血小板ミクロソームを用いたin vitroにおけるTXA $_2$ 産生抑制作用(RIAによる定量)

TXA $_2$ 合成酵素の標品として、Needleman⁴³⁾らの方法に従って調製したインドメサシン処理の馬血小板ミクロソーム(インドメサシン処理馬血小板ミクロソーム: IPM)を用い、既報に従ってTXA $_2$ 合成酵素阻害作用を檢定した。まずIPMの50mMトリス緩衝溶液(pH 7.5)40 μ l(蛋白として46 μ g含有)に種々の濃度の薬物を含む溶液40 μ lを加え、室温で5分間放置した。こ

の混液の40 μ l を採取し、氷冷下にPGH₂30ngを含む緩衝液20 μ l を加え混和後0°Cで5分間放置しTXA₂を生成させた。トリス緩衝液500 μ l を添加して反応を停止させた後、その50 μ l を用いてTXA₂の安定代謝物であるTXB₂の定量を行った。薬物未添加群と添加群のTXB₂の生成量の差よりTXA₂合成酵素に対する阻害率(%)を求めた。

2) ラットを用いたex vivoにおけるTXA₂産生抑制作用

5~8週齢の雄ラットに被検化合物を1または10mg/kg経口投与し2時間後に血液を採取し、25°Cで90分間保温した後血清を得、TXB₂濃度をRIAで測定した。vehicle投与群と薬物投与群の血清のTXB₂の含有量の差よりTXA₂合成酵素に対する阻害率(%)を求めた。

第4章 第1節に関する実験

エチル (2E, 5S, 6R)-5, 6, 7-トリヒドロキシヘプト-2-エノエート(41)

D-2-デオキシリボース 7.25g(54mmol)と、エトキシカルボニルトリフェニルホスホラン19.5g(56mmol)をTHF(100mL)に溶かし、6時間加熱還流する。溶媒を減圧で留去し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製(CHCl₃-MeOH, 85:15)で溶出するとエチル (2E, 5S, 6R)-5, 6, 7-トリヒドロキシヘプト-2-エノエート(41) 8.9g(収率 81%)が得られた。NMR(CDC1₃) δ : 1.27(3H, t), 2.43(2H, m), 3.70(4H, m), 4.16(2H, q), 4.50(3H, m), 5.87(1H, d), 7.00(1H, dd)。

エチル (5S, 6R)-5, 6, 7-トリヒドロキシヘプタノエート(42)

(2E, 5S, 6R)-5, 6, 7-トリヒドロキシヘプト-2-エノエート(41)14g(68.6mmol)をEtOH(150mL)に溶かし、5%Pd-C(2.0g)を加えて接触水素化反応を行った。反応終了後触媒をろ去し、ろ液を濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製する(CHCl₃-MeOH, 85:15)とエチル (5S, 6R)-5, 6, 7-トリヒドロキシヘプタノエート(42)12.5g(収率 89%)が得られた。NMR(CDC1₃) δ : 1.23(3H, t), 1.0-2.0(4H, m), 2.30(2H, m), 3.67(4H, m), 4.10(2H, q), 4.20(3H, b)。[α]_D-5.

7°。

エチル (5S, 6R)-5, 6-ジヒドロキシ-7-メンチレンスルホニルオキシヘプタノエート(43)

エチル (5S, 6R)-5, 6, 7-トリヒドロキシヘプタノエート(42) 24.9g (120.7 mmol)をピリジン(60mL)に溶かし、0°Cに冷却して塩化メンチレンスルホニル26.6g(121.6mmol)を加え、3時間かき混ぜた。反応液を氷水中にあげEtOAcで抽出し、抽出液は1N-HCl、飽和NaHCO₃水で洗い、乾燥後溶媒を留去した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製(CHCl₃-MeOH, 95:5)し、IPE-EtOAcより再結晶するとエチル (5S, 6R)-5, 6-ジヒドロキシ-7-メンチレンスルホニルオキシヘプタノエート(43)24g(収率 51%)が得られた。融点 98-100°C。NMR(CDC1₃) δ : 1.23(3H, t), 1.60(4H, m), 2.23(2H, m), 2.30(3H, s), 2.60(6H, s), 3.70(4H, m), 4.16(2H, q), 6.90(2H, s)。[α]_D +1.9°。

メチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-7-ヒドロキシヘプタノエート(45)

エチル (5S, 6R)-5, 6-ジヒドロキシ-7-メンチレンスルホニルオキシヘプタノエート(43)10g (25.7mmol)を無水MeOH(130mL)に溶かし、DBU 8.1mL (38.6 mmol)を加えて5時間加熱還流した。冷後溶媒を留去し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製(IPE-EtOAc, 1:1)するとメチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-7-ヒドロキシヘプタノエート(45)2.42g(54%)が得られた。NMR(CDC1₃) δ : 1.65(4H, m), 2.40(1H, t), 2.93(2H, m), 3.65(3H, m), 3.60-3.85(2H, m)。[α]_D -35°。

メチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-6-ホルミルヘキサノエート(46)

CH₂Cl₂(20mL)にピリジン1.35mL(16.7mmol)、無水クロム酸 831mg(8.3mmol)を加えて30分間かき混ぜた後、(5S, 6R)-5, 6-エポキシ-7-ヒドロキシヘプタノエート(45)241mg(1.39mmol)のCH₂Cl₂(5mL)溶液を加えた。反応液を更に30分間かき混ぜた後、CH₂Cl₂層を分け取り、残渣はEtOAcで洗って先のCH₂Cl₂層に合わせた。溶媒を減圧で留去し、残渣を再度EtOAcで抽出した。抽出液を減圧で濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製(IPE-EtOAc, 8:2)する

とメチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-6-ホルミルヘキサノエート(46)195mg(収率 80%)が得られた。NMR(CDC1₃) δ : 1.80(4H, m), 2.40(3H, m), 3.20(2H, m), 3.70(3H), 8.93(1H, d)。

メチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-8-ホルミルオクト-7-エノエート(30)

(5S, 6R)-5, 6-エポキシ-6-ホルミルヘキサノエート(46)6.0g(16.6mmol)をCHCl₃(200mL)に溶かし、エトキシカルボニルメチレントリフェニルホスホラン10.6g(16.6mmol)を加えて15時間加熱還流した。溶媒を減圧で留去し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製(IPE-EtOAc, 9:1)し、メチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-8-ホルミルオクト-7-エノエート(30)3.2g(収率 50%)を得た。NMR(CDC1₃) δ : 1.73(4H, m), 2.37(2H, m), 2.93(1H, dt), 3.30(1H, dd), 3.67(3H, s), 6.30-6.50(2H, m), 9.45(1H, d)。[α]_D²⁰ -29.3°。

ウンデカ-2, 5-ジイノール(37)

van Dorpらの方法³⁸⁾にしたがって合成した。

(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエノール(38)

ウンデカ-2, 5-ジイノール(37)1.35g(8.2mmol)をMeOH(100mL)に溶かし、キノリン 0.41mL、5%Pd-BaSO₄触媒100mgを加えて水素添加反応を行い、2当量の水素を吸収した時点で反応を止めMeOHを減圧で留去した。残渣にIPEを加えて触媒をろ去し、ろ液を1N-HCl、飽和NaHCO₃水、飽和食塩水で洗い、乾燥後濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製(IPE-ヘキサン、1:1)して(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエノール(38)1.03g(収率 76%)を得た。NMR(CDC1₃) δ : 0.90(3H, t), 1.30(6H, m), 2.03(2H, m), 2.40(1H, b), 2.80(2H, t), 4.20(2H, d), 5.0-5.90(4H, m)。

(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエニルブロミド(39)

(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエノール(38)604mg(3.6mmol)、ピリジン75 μ L、の

Et₂O(12mL)溶液を-10℃に冷却し、かき混ぜながら PBr₃420mg(1.55mmol)の Et₂O(4mL)溶液を滴下した。滴下終了後反応液を室温で1時間かき混ぜ、水洗、乾燥後溶媒を留去し、粗生成物の(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエニルブロミド(39)841mg(収率 88%)を得た。本品はこのまま次の反応に用いた。

(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエニルトリフェニルホスホニウムブロミド(29)

(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエニルブロミド(39)5.3g(23.0mmol)とトリフェニルホスフィン6.02g(23.0mmol)とのベンゼン(30mL)溶液を室温で48時間かき混ぜた。反応液を濃縮後、EtOAcを加え析出した結晶をろ取り、目的とする(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエニルトリフェニルホスホニウムブロミド(29)10.2g(収率 90%)を得た。得られた結晶はCHCl₃-EtOAcより再結晶した。融点 136-139℃。NMR(CDC1₃) δ : 0.90(3H, t), 1.23(6H, m), 1.87(2H, m), 2.50(2H, m), 4.40-5.90(4H, m), 7.40-8.10(15H, m)。

LTA₄メチルエステル(31)

(2Z, 5Z)-ウンデカ-2, 5-ジエニルトリフェニルホスホニウムブロミド(29)4.34g(8.03mmol)をTHF-Et₂O(1:1, 120mL)に懸濁し、0℃でかき混ぜながらn-ブチルリチウムもヘキサン溶液(1.6M)6.36mL(8.03mmol)を滴下した。15分間かき混ぜた後メチル (5S, 6R)-5, 6-エポキシ-8-ホルミルオクト-7-エノエート(30)1.52g(7.65mmol)のTHF(5mL)溶液を滴下し、更に0℃で30分間、室温で1時間かき混ぜた。反応液に水を加えて生成物をEt₂Oで抽出し、抽出液は水洗乾燥後、溶媒を留去した。残渣をEt₃Nで前処理したシリカゲルでクロマトグラフィーを行い(IPE-ヘキサン、1:1)、LTA₄メチルエステル(31)2.2g(収率 75%)を得た。UV λ_{max} nm(ϵ) in MeOH: 268, 277, 288(31000, 38000, 29000)。

第4章 第2節に関する実験

Boc-シスチン(47)

シスチン13.7g(57mmol)を水に懸濁しEt₃N 24.5mL(171mmol)、続いてBoc-

S-reagent 33g (137mmol) の DMF (50mL) 溶液を加え、室温で1晩かき混ぜた。反応液を Et₂O で洗い、pH 4 に調整して EtOAc で抽出した。抽出液は 1N-HCl、飽和食塩水で洗い、活性炭と MgSO₄ を加えてろ過した。ろ液を減圧で濃縮後、IPE-EtOAc から再結晶すると Boc-シスチン(47) 0.6g (収率 82%) が得られた。融点 143-144℃。

Boc-シスチンとグリシンメチルエステルとの縮合反応

Boc-シスチン(47) 6.5g (14.8mmol) と HONB 5.8g (32.6mmol) との DMF (100mL) 溶液を 0℃ に冷却し、DCC 6.7g (32.6mmol) を加えて同温度で2時間かき混ぜた。析出したウレアをろ別し、Gly·OMe 塩酸塩 3.7g (32.6mmol)、Et₃N 4.75mL (32.6mmol) を加えて室温で更に2時間かき混ぜ、水で希釈して EtOAc で抽出した。抽出液を 1N-HCl、飽和 NaHCO₃ 水、水で洗い乾燥 (MgSO₄) 後、溶媒を留去した。残渣を EtOAc より再結晶して、目的物(48) 7.0g (収率 75%) を得た。融点 146-147℃。

Boc基の除去と CF₃CO基の導入

化合物(48) 3.0g (4.7mmol) をトリフルオロ酢酸 (7.5mL) に溶かし、-10℃ に冷却して無水トリフルオロ酢酸 1.6mL (11.3mmol) を加え、0℃ で30分、室温で1時間かき混ぜる。トリフルオロ酢酸を減圧で留去し、残渣を EtOAc から再結晶すると目的物(49) 2.62g (収率 88%) が得られた。融点 189-190℃。

ジスルフィドの還元

化合物(49) 1g (1.6mmol) をジオキサソ-水 (2:1, 25mL) に溶かし、トリフェニルホスフィン 448mg (1.7mmol) と濃塩酸1滴を加え、アルゴン雰囲気下 40℃ で1時間かき混ぜた。反応液に水を加えて EtOAc で抽出し、水洗、乾燥後溶媒を留去した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (IPE-EtOAc, 7:3) で精製し目的物(50) 685mg (収率 68%) を得た。IPE-EtOAc から再結晶した。融点 99-100℃。

LTC₄メチルエステル

グルタチオン還元型 1.12g (3.6mmol) に Et₃N 2.02mL (14.4mmol) を加え最少

量の MeOH に溶解する。この溶液を LTA₄メチルエステル 407mg (14.4mmol) に加え、アルゴン中3時間かき混ぜた。反応液を減圧で濃縮し、ローバーカラム RP-8 (サイズ C) で精製 (MeOH:H₂O, 8:2) して、LTC₄メチルエステル 700mg (収率 89%) を得た。

LTC₄

LTC₄メチルエステル 21mg (0.033mmol) の MeOH (0.8mL) 溶液に 0.5M K₂CO₃ 溶液 (4mL) を加えてアルゴン雰囲気下室温で3時間かき混ぜた。MeOH を減圧で留去し、濃縮液を DIATON HP-20AG を充填したカラムに吸着させた。水で洗った後、80% EtOH で溶出し LTC₄ 13.7mg (収率 67%) を得た。UV_{max} (ε) nm in MeOH: 270, 281, 290 (32000, 38600, 30000)。

LTD₄の保護体

トリフルオロメチルシステイニルグリシンメチルエステル 240mg (0.76mmol) と Et₃N 116mg (1.14mmol) の MeOH (2mL) 溶液を LTA₄メチルエステルに加え、アルゴン雰囲気下室温で3時間かき混ぜた。反応液を水で希釈し、EtOAc で抽出した。抽出液は水洗、乾燥後溶媒を留去し、残渣をローバーカラム RP-8 (サイズ B) で精製 (MeOH-H₂O, 85:15) して目的物 355mg (収率 80%) を得た。

LTD₄

LTD₄の保護体を LTC₄と同様の方法で加水分解して得た。収率 96%。UV_{max} (ε) nm in MeOH: 270, 281, 290 (31000, 38000, 30000)。

LTE₄メチルエステル

L-システイン 240mg (1.98mmol) に Et₃N 1.1mL を加え、MeOH-H₂O (5:1, 6mL) に溶かして、LTA₄メチルエステルに加えた。アルゴン雰囲気下4時間かき混ぜた後、溶媒を留去し、残渣をローバーカラム (サイズ B) で精製 (MeOH-H₂O, 9:1) して目的物 173mg (収率 58%) を得た。

LTE₄

LTE₄メチルエステルをLTC₄と同様の方法で加水分解して得た。

UV_{max} (ε) nm in MeOH: 270, 281, 290(31000, 38000, 30000)。

第4章 第3節に関する実験

RBL-1細胞によるロイコトリエン類の生合成

洗浄したRBL-1細胞(10⁹/mL)にアラキドン酸(5mg/0.5mL EtOH)とA-23187(2mg/0.5mL EtOH)を加え、37℃で15分間振り混ぜた。反応後EtOH 400mLを加え良く振り混ぜた後、4℃で遠心分離(2000回転、10分間)した。EtOH上澄み液を減圧下に約10mLまで濃縮した。濃縮液の一部 200μLをセミ分取用逆相型カラム(P-18, 8.0×300mm)を用いてHPLCにかけ、Fig. 8のクロマトグラムを得た。次にこの濃縮液を分取用カラムにかけ、主要ピーク成分(ピーク1-10)を分画した。分画した各成分のUVスペクトルと標準合成サンプル(LTC₄, LTD₄, LTE₄, Δ⁸-トランスLTB₄)及びラット腹腔内細胞より単離したLTB₄との比較同定結果をTable IXに示した。

第5章 第2節に関する実験

3,5,6-トリメチル-2-[1-(3-ピリジル)エチル]-1,4-ベンゾキノン(53)

1-(3-ピリジル)エタノール(80a)4.0g(32.5mmol)のジクロロエタン25mL溶液に2,3,5-トリメチルヒドロキノン(79)4.96g(32.6mmol)と、トリフルオロメタンスルホン酸4.5mL(50.9mmol)とを加え、アルゴン雰囲気下20時間加熱還流した。冷後、反応液に氷水を加え、酢酸エチルで洗浄して中性物質を除き、飽和炭酸水素ナトリウムで弱アルカリ性にした。成績体を酢酸エチルで抽出し、抽出液は、水洗、乾燥後、空気酸化に付し、減圧で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテル-酢酸エチル(1:2))で精製して3,5,6-トリメチル-2-[1-(3-ピリジル)エチル]-1,4-ベンゾキノン(53)5.1g(収率61.3%、油状)を得た。NMR(CDCl₃), δppm: 1.63(3H, d, J=3.0Hz), 1.97(3H, s), 2.00(6H, s), 4.50(1H, quartet, J=6.0Hz), 7.27(1H, dd, J=7.5 and 4.5Hz), 7.67(1H, dt, J=7.5 and 1.5Hz), 8.45(1H, dd, J=4.5 and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz)。

3,5,6-トリメチル-2-[フェニル-(3-ピリジル)メチル]-1,4-ベンゾキノン(68)

フェニル-(3-ピリジル)メタノール(80b)1.0g(5.4mmol)のジクロロエタン15mL溶液に2,3,5-トリメチルヒドロキノン(79)823mg(5.4mmol)、濃硫酸 0.5mL(9.4mmol)を加え、2時間加熱還流した。反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水で弱アルカリ性とした後、有機層を分け、水層はクロロホルムで抽出して、抽出液を先の有機層に合わせた。有機層を水洗、乾燥し、空気酸化後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテル-酢酸エチル(1:1))で精製して3,5,6-トリメチル-2-[フェニル-(3-ピリジル)メチル]-1,4-ベンゾキノン(68)1.25g(収率 72.7%、油状)を得た。NMR(CDCl₃), δppm: 1.90(3H, s), 1.97(3H, s), 2.02(3H, s), 5.90(1H, s), 7.05-7.35(6H, m), 7.50(1H, dt, J=4.5 and 1.5Hz), 8.45(2H, m)。

4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノン-2-イル-(3-ピリジル)]メチル-α-

メチル桂皮酸エチル(81d)

4-[ヒドロキシ-(3-ピリジル)]メチル- α -メチル桂皮酸エチル1.0g(3.36 mmol)のジクロロエタン10ml溶液に2,3,5-トリメチルヒドロキノン(79)514 mg(3.38mmol)と濃硫酸0.28ml(5.26 mmol)とを加えて2時間加熱還流した。反応液を飽和炭酸水素ナトリウムで弱アルカリ性とした後、有機層を分け、水層はクロロホルムで抽出して、抽出液を先の有機層に合わせた。有機層を塩化第二鉄で酸化し、水洗、乾燥した後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテル-酢酸エステル(1:1))で精製して4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチル- α -メチル桂皮酸エチル(81d) 1.2g(収率82.7%、油状)を得た。NMR(CDC1₃), δ ppm:1.33(3H, t, J=7.5Hz), 1.92(3H, s), 2.00(3H, s), 2.03(3H, s), 2.10(3H, s), 4.25(2H, quartet, J=7.5Hz), 5.90(1H, s), 7.10-1.70(7H, m), 8.45(2H, m)。

4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチル α -メチル桂皮酸(69)

4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチル α -メチル桂皮酸エチル(81d) 1.2g(2.8mmol)を濃塩酸20mlに溶かし、2時間加熱還流した。冷後、反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水で中和し、成績体を酢酸エチルで抽出した。抽出液は水洗、乾燥し、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル-エタノール(9:1))で精製し、酢酸エチルから再結晶して4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチル α -メチル桂皮酸(69) 0.96g(収率 85.6%、融点 199-201°C)を得た。NMR(CDC1₃), δ ppm:2.03(6H, s), 2.13(3H, d, J=1.0Hz), 5.90(1H, s), 7.17(2H, d, J=7.5Hz), 7.30(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.40(2H, d, J=7.5Hz), 7.60(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.77(1H, s), 8.47(1H, d, J=1.5Hz), 8.57(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 10.40(1H, broad s)。

同様にして化合物76(収率 72.4%、融点 175-180°C)、77(収率 70.5%、融点 196-200°C)、75(収率 72.8%、融点 149-150°C)を合成した。

3-{4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチルフェニル}プロピオン酸(71)

4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチル桂皮酸(69) 0.7g(1.75mmol)を酢酸6ml中5%パラジウム-炭素 0.2g上で水素添加した(約2時間で反応終了)。触媒をろ去後、ろ液を濃縮し、水を加えて飽和炭酸水素ナトリウム水で中性にした。成績体を酢酸エチルで抽出し、塩化第二鉄水と振とうして酸化した。有機層は、水洗、乾燥後、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル-エタノール(9:1))で精製し、酢酸エチルから再結晶すると3-{4-[3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル-(3-ピリジル)]メチルフェニル}プロピオン酸(71)0.3g(収率 44.2%、融点 205-207°C)が得られた。NMR(CDC1₃), δ ppm:2.03(6H, s), 2.13(3H, d, J=1.0Hz), 5.90(1H, s), 7.17(2H, d, J=7.5Hz), 7.30(1H, dd, J=7.5 and 4.5Hz), 7.40(2H, d, J=7.5Hz), 7.60(1H, dt, J=7.5 and 1.5Hz), 7.77(1H, s), 8.47(1H, d, J=1.5Hz), 10.40(1H, broad s)。

3-ヘプタノイルピリジン(84c)

3-ブロムピリジン(82) 10.0g(63.3mmol)のエーテル100ml溶液を-78°Cに冷却し、かき混ぜながら1.6M n-ブチルリチウムヘキサン溶液40ml(64mmol)を滴下した。滴下終了後15分間かき混ぜ、ヘプタニトリル(83d)7.52g(67.7 mmol)のエーテル15ml溶液を滴下し、さらに-78°C~室温で1時間かき混ぜた。反応液に塩化アンモニウム水を加え、成績体を酢酸エチルで抽出し、抽出液は水洗、乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテルで溶出)で精製して3-ヘプタノイルピリジン(84c) 3.9g(収率 32.3%)を得た。油状。NMR(CDC1₃), δ ppm:0.87(3H, t, J=7.5Hz), 1.20-1.90(8H, m), 2.97(2H, t, J=6Hz), 7.40(1H, dd, J=7.5 and 4.5Hz), 8.22(1H, dt, J=7.5 and 1.5Hz), 8.73(1H, dd, J=4.5 and 1.5Hz), 9.17(1H, d, J=1.5Hz)。同様にして、プロピオニトリル及びバレロニトリルとの反応から3-プロピオニルピリジン(84a、収率 30.7%、油状)および3-ペンタノイルピリジン(84b、収率 43.9%、油状)を調製した。

1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘプタノール(86c)

マグネシウム 693mg(28.3g atom), 1-ブロム-2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンゼン(85)7.6g(29.3mmol)及びテトラヒドロフランから65°Cでグリニャール試薬を調製し、これを0°Cに冷却して、かき混ぜながら3-ヘプタノイルピリジン3.75g(21.9mmol)のテトラヒドロフラン10ml溶液を滴下した。滴下終了後、反応液を室温で1時間かき混ぜ、水を加えて酢酸エチルで抽出し、抽出液は水洗、乾燥後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテル)で精製し、ヘキサンより再結晶すると1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘプタノール(86c)3.2g(収率 39%)が得られた。融点 109-110°C。NMR(CDC1₃), δppm:0.83(3H, t, J=7.5Hz), 1.00-1.70(8H, m), 2.07(3H, s), 2.17(3H, s), 2.20(3H, s), 2.20(2H, m), 3.33(3H, s), 3.60(3H, s), 6.87(1H, s), 7.20(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5 Hz), 7.72(1H, dt, J=7.5 and 1.5Hz), 8.45(1H, dd, J=4.5 and 1.5Hz), 8.60(1H, d, J=1.5Hz)。同様にして、1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)プロパノール(86a、精製せずに次の工程に供した)および1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ペンタノール(86b、収率 37.8%、油状)を調製した。

1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)-1-ヘプテン(87c)

1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘプタノール(86c)2.5g(6.74mmol)の酢酸20ml溶液に濃硫酸2.5mlを加えて1時間80°Cに加熱した。冷後、炭酸カリウム6.8gを注意深く加え水で希釈して酢酸エチルで抽出した。抽出液は水、炭酸水素ナトリウム水で洗浄、乾燥後、溶媒を留去し、シリカゲルのショートカラム(イソプロピルエーテル)で精製して1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)-1-ヘプテン(87c)2.2g(収率 92.5%、油状)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:0.86(3H, t, J=7.5Hz), 1.

10-1.60(6H, m), 1.80-2.40(6H, m), 5.70(0.6H, t, J=7.5Hz), 6.25(0.4H, t, J=7.5 Hz), 7.00-7.50(2H, m), 8.20-8.70(2H, m)。同様にして1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)-1-プロペン(87a、84aよりの収率 14.2%、油状)及び1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)-1-ペンテン(87b、収率 73.9%、油状)を合成した。

1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘプタン(88c)

1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)-1-ヘプテン(87c)1.2g(3.4mmol)を酢酸12ml中5%パラジウム炭素0.6g上、80°Cで水素添加した。反応液をTLCで調べ、反応終了後、触媒をろ去し、ろ液を濃縮して酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水で洗浄した。有機層は乾燥後溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテル-ヘキサン(2:1))で精製して1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘプタン(88c)1.1g(収率91.2%)を得た。油状。NMR(CDC1₃), δppm:0.83(3H, t, J=7.5Hz), 1.10-1.40(8H, m), 2.10(3H, s), 2.13(3H, s), 2.17(3H, s), 2.20(2H, m), 3.27(3H, s), 3.60(3H, s), 4.53(1H, t, J=7.5Hz), 7.13(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.37(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.50(1H, d, J=1.5Hz)。

同様にして1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)プロパン(88a、収率 98.0%、油状)および1-(2,5-ジメトキシ-3,5,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ペンタン(88b、収率 90.4%、油状)を調製した。

1-(3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル)-1-(3-ピリジル)ヘプタン(56)

1-(3,6-ジメトキシ-2,4,5-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘプタン(88c)1.1g(3.09mmol)のアセトニトリル-水(1:1)20ml溶液に0°Cでかき混ぜながら硝酸セリウムアンモニウム(CAN)4.5g(8.2mmol)のアセトニトリル

-水15ml溶液を滴下し、滴下終了後30分かき混ぜた。反応生成物は常法に従って単離し、1-(3,5,6-トリメチル-1,4-ベンゾキノ-2-イル)-1-(3-ピリジル)ヘプタン 635mg (収率 63.1%)を得た。NMR(CDC1₃), δ ppm: 0.86(3H, t, J=7.5Hz), 1.10-1.30(8H, m), 1.95(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.20(2H, m), 4.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.18(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.70(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.43(2H, m)。

同様にして下表の化合物を合成した。

No.	mp °C	yield %
55	oil	62.9
63	82-84	54.3
59	104-105	46.0
61	76-77	93.3
64	68-69	58.0
60	oil	68.8
62	60-61	91.0
65	126-127	57.0
72	66-67	88.0
54	56-57	64.0
56	44-45	63.1
57	oil	77.8
58	oil	77.8
67	oil	60.3
73	102-103	94.0
75	149-150	72.8
78	oil	81.1
76	175-180	72.4
77	196-200	70.5
66	113-114	75.9

(E)-1-(3,5,6-トリメチルベンゾキノ-2-イル)-1-(3-ピリジル)ヘプテン (58)及び(Z)-1-(3,5,6-トリメチルベンゾキノ-2-イル)-1-(3-ピリジル)ヘプテン(57)

1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)-1-ヘプテン(87c)1.0g(2.82mmol)のアセトニトリル-水(1:1)20ml溶液を氷冷し、かき混ぜながら硝酸セリウムアンモニウム 4.1g(7.48mmol)のアセトニトリル-水(1:1)15ml溶液を滴下した。滴下終了後30分間同温度でかき混ぜ、炭酸水素ナトリウム水で弱アルカリ性として後、酢酸エチルで抽出した。抽出液は水洗、乾燥後、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(イソプロピルエーテル)で分離して、先に溶出されてくる(E)-1-(3,5,6-トリメチルベンゾキノ-2-イル)-1-(3-ピリジル)ヘプテン(58)を313mg(収率 34.4%、油状)、後から溶出されてくる(Z)-1-(3,5,6-トリメチルベンゾキノ-2-イル)-1-(3-ピリジル)ヘプテン(57)を395mg(収率 43.4%、油状)それぞれ得た。NMR(CDC1₃), δ ppm: (57) 0.87(3H, t, J=7.5Hz), 1.10-1.60(6H, m), 1.93(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.15(2H, m), 6.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.17(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.40(2H, m), (58) 0.83(3H, t, J=7.5Hz), 1.00-1.50(6H, m), 1.93(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.20(2H, m), 5.70(1H, t, J=7.5Hz), 7.23(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.45(2H, m)。

4-(3-ピリジル)-4-オキソブタノール(90a)

3-ブロムピリジン(82)10.0g(63.3mmol)のエーテル100ml溶液を-78°Cに冷却し、かき混ぜながら1.6M n-ブチルリチウムヘキサノール溶液40ml(64mmol)を滴下した。滴下終了後、15分間かき混ぜ γ -ブチロラクトン5.45g(63.3mmol)のエーテル15ml溶液を滴下し、さらに-78°C~室温で1時間かき混ぜた。反応液に塩化アンモニウム水を加え、生成物を酢酸エチルで抽出し、抽出液は水洗、乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl₃-MeOH(9:1))で精製後、酢酸エチル-イソプロピルエーテルから再結晶して4-(3-ピリジル)-4-オキソブタノール(90a)8.0g(76.6%、融点 36-37°C)を得た。NMR(CDC1₃), δ ppm: 0.95(3H, t, J=7.5Hz), 1.10-2.00(4H, m), 2.97

(2H, t, J=7.5Hz), 7.30(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 8.13(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 9.07(1H, d, J=1.5Hz)。

同様にして、 δ -バレロラクトンおよび ϵ -カプロラクトンから5-(3-ピリジル)-5-オキソペンタノール(90b、収率 70.6%、油状)および6-(3-ピリジル)-6-オキソヘキサノール(90c、収率 56.9%、油状)をそれぞれ調製した。

1-(3-ピリジル)-4-トリメチルシリルオキシブタン-1-オン (91a) 4-(3-ピリジル)-4-オキソブタノール(90a)12.5g(69.8 mmol), トリエチルアミン12.6 ml(90.7mmol)のジメチルホルムアミド100ml溶液を氷冷し、かき混ぜながらトリメチルクロルシラン9.1g(83.8mmol)をゆっくり滴下した。滴下終了後、室温で30分間かき混ぜ、水で希釈した後、生成物を酢酸エチルで抽出した。抽出液は水洗、乾燥後、溶媒を留去し、残渣を減圧で蒸留して1-(3-ピリジル)-4-トリメチルシリルオキシブタン-1-オン(91a)13.4g(収率 76.4%、bp₁ 126-130°C)を得た。NMR(CDCl₃), δ ppm:1.50-2.00(4H, m), 3.00(2H, t, J=6.0Hz), 3.60(2H, t, J=6.0Hz), 7.37(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 8.23(1H, dt, J=7.5 and 1.5Hz), 8.77(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 9.20(1H, d, J=1.5Hz)。

同様にして、1-(3-ピリジル)-5-トリメチルシリルオキシペンタン-1-オン(91b、収率 72.2%、bp₁ 134-138°C)および1-(3-ピリジル)-6-トリメチルシリルオキシヘキサノール-1-オン(91c、収率 82.2%、bp₁ 140-143°C)を調製した。

1-アセトキシ-4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-3-ブテン(93a)

1-ブロモ-2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメトキシベンゼン7.73g(29.8mmol), マグネシウム 700mg(28.8mmol), テトラヒドロフラン50 mlより65°Cでグリニャール試薬を調製し、その溶液を0°Cに冷却してかき混ぜながら1-(3-ピリジル)-4-トリメチルシリルオキシブタン-1-オン(91a) 6.0g(23.9mmol)のテトラヒドロフラン10 mL溶液を滴下した。滴下終了後、室温で1時間かき混ぜ、水を加えて酢酸エチルで抽出した。抽出液は水洗、乾燥(MgSO₄)後、溶媒を留去した。残渣をエタノール(50ml)と2規定塩酸(10ml)を加え1時間攪拌した。

反応液を減圧濃縮後、炭酸水素ナトリウムで中和し、生成物を酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗、乾燥後、溶媒を留去した。残渣を酢酸80mlに溶かし、硫酸15mlを加えて80°Cで30分かき混ぜた。冷後、反応液に炭酸水素ナトリウム60gを注意深く加え水で希釈して、生成物を酢酸エチルで抽出した。抽出液は炭酸水素ナトリウム水、水で洗い乾燥(MgSO₄)後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl₃-EtOAc(1:1))で精製して1-アセトキシ-4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-3-ブテン(93a) 4.09g(収率 43.8%)を得た。油状。NMR(CDCl₃), δ ppm:2.00(3H, s), 2.10-2.40(11H, m), 3.40(1.2H, s), 3.50(1.8H, s), 3.67(3H, s), 4.10-4.30(2H, m), 5.67(0.6H, t, J=6.0Hz), 6.30(0.4H, s), 7.20(1H, m), 7.50(1H, s), 8.42(1H, m), 8.50(1H, d, J=1.5Hz)。

同様にして、1-アセトキシ-5-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-5-(3-ピリジル)-4-ペンテン(93b、収率 61.2%、油状)および1-アセトキシ-6-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-6-(3-ピリジル)-5-ヘキセン(93c、収率 66.8%、油状)を調製した。

1-アセトキシ-4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)ブタン(94a)

1-アセトキシ-4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-3-ブテン(93a) 1.0g(2.7mmol)の酢酸10ml溶液に5%パラジウム炭素触媒0.4gを加えて80°Cで接触還元反応を行った。反応終了後、触媒をろ去し、ろ液を減圧で濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶かし、炭酸水素ナトリウム水、水で洗浄し、乾燥後、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムで精製(酢酸エチル)して1-アセトキシ-4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)ブタン(94a)750mg(収率 74.6%)を得た。油状。NMR(CDCl₃), δ ppm:1.60(2H, m), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.13(3H, s), 2.17(3H, s), 2.25(2H, m), 3.27(3H, s), 3.60(3H, s), 4.10(2H, t, J=6.0Hz), 4.55(1H, t, J=7.5Hz), 7.20(1H, dt, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.55(1H, dt, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.50(2H, m)。

同様にして、1-アセトキシ-6-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)

ル)-6-(3-ピリジル)ヘキサン(94b、収率 83.1%、油状)および1-アセトキシ-5-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-5-(3-ピリジル)ペンタン(94c、収率 86.2%、油状)を調製した。

4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-1-ブタノール(95a)

1-アセトキシ-4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)ブタン(94a) 0.7g(1.88mmol)のメタノール3ml溶液に水酸化ナトリウム0.3g(7.50mmol)の水5ml溶液を加えて室温で30分間かき混ぜた後、反応液に水を加えて、生成物を酢酸エチルで抽出した。抽出液は水洗、乾燥後、濃縮し残渣をシリカゲルショートカラムで精製(酢酸エチル)して4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-1-ブタノール(95a) 0.5g(収率 80.5%)を得た。油状。NMR(CDC1₃)、 δ ppm:1.20-1.70(2H, m), 1.90(1H, s), 2.10(3H, s), 2.13(3H, s), 2.17(3H, s), 1.90-2.50(2H, m), 3.27(3H, s), 3.60(3H, s), 3.67(2H, t, J=6.5Hz), 4.58(1H, t, J=7.5Hz), 7.23(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.57(1H, dt, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.37(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.5(1H, d, J=1.5Hz)。同様に、5-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-5-(3-ピリジル)-1-ペンタノール(95b、収率 92.0%、融点 99-100°C)および6-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-6-(3-ピリジル)-1-ヘキサノール(95c、収率 96.2%、融点 90-91°C)を調製した。

4-シアノ-1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ブタン(96a)

4-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-4-(3-ピリジル)-1-ブタノール(95a)525mg(1.6mmol), トリエチルアミン0.33ml(2.4mmol)のジクロロメタン3.5ml溶液を0°Cに冷却し、かき混ぜながら塩化メタンスルホニル0.15ml(1.94mmol)を加えた。反応液を30分間同温度でかき混ぜ、水を加えて有機層を分け、水層はジクロロメタンで抽出して、先の有機層に合わせた。得られた有機層は、水洗、乾燥後、濃縮し、残渣をジメチルスルホキシド5mlに溶

かし、シアン化ナトリウム148mg(2.9mmol)を加えて、80°Cで2時間かき混ぜた。次に反応液に水を加えて生成物を酢酸エチルで抽出し、抽出液は水洗、乾燥して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して4-シアノ-1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ブタン(96a)445mg(収率 82.5%)を得た。油状。NMR(CDC1₃)、 δ ppm:1.60-1.80(2H, m), 2.07(3H, s), 2.13(3H, s), 2.20(3H, s), 2.00-2.50(2H, m), 2.37(2H, t, J=7.5Hz), 3.27(3H, s), 3.63(3H, s), 4.60(1H, t, J=7.5Hz), 7.20(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.57(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.42(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.48(1H, d, J=1.5Hz)。

同様に、5-シアノ-1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ペンタン(96b、92.8%、油状)6-シアノ-1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘキサン(96c、収率 93.3%、油状)および7-シアノ-1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ヘブタン(96d、収率 94.3%、油状)を調製した。

5-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-5-(3-ピリジル)ペンタン酸(97a)

4-シアノ-1-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-1-(3-ピリジル)ブタン(96a)445mg(1.32mmol)のメタノール3ml溶液に、水酸化ナトリウム1.5g(37.5mmol)の水5ml溶液を加えて3時間加熱還流した。反応液は冷後、水で希釈して2N塩酸で中性にし酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗、乾燥後、濃縮し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl₃:MeOH(9:1))で精製して5-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-5-(3-ピリジル)ペンタン酸(97a)400 mg(収率 85.1%)を得た。融点 82-84°C。NMR(CDC1₃)、 δ ppm:1.20-2.20(4H, m), 2.07(3H, s), 2.13(3H, s), 2.20(3H, s), 2.40(2H, t, J=6.5Hz), 3.27(3H, s), 3.60(3H, s), 4.60(1H, t, J=6.5Hz), 7.23(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.90(1H, broad s), 8.40(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.67(1H, d, J=1.5Hz)。

同様に、6-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-6-(3-ピリ

ジル)ヘキサン酸(97b、収率 85.4%、融点 183-184°C)、7-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-7-(3-ピリジル)ヘプタン酸(97c、収率 90.9%、油状)および8-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-7-(3-ピリジル)オクタン酸(97d、収率 86.7%、油状)を調製した。

7-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-7-(3-ピリジル)ヘプタノール(95d)

7-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-7-(3-ピリジル)ヘプタン酸(97c)3.0g(7.8mmol)のテトラヒドロフラン(40ml)溶液に、氷冷下、かき混ぜながら水素化リチウムアルミニウム450mg(11.9mmol)を添加した。反応液を室温に戻し、30分間かき混ぜた後、水を注意深く加えて、生成物を、酢酸エチルで抽出した。抽出液は、水洗、乾燥後、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル)で精製して、7-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルフェニル)-7-(3-ピリジル)ヘプタノール(95d)2.3g(収率79.6%、油状)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:1.20-1.70(8H, m), 1.80-2.20(2H, m), 2.07(3H, s), 2.13(3H, s), 2.20(3H, s), 3.27(3H, s), 3.57(2H, t, J=6.0Hz), 3.60(3H, s), 4.53(1H, t, J=6.5Hz), 7.13(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.36(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.50(1H, d, J=1.5Hz)。

2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンジルクロリド(102a)

1,4-ジメトキシ-2,3,5-トリメチルベンゼン2.0g(11.1mmol)、ホルマリン2ml、濃塩酸8mlの混合物を70-80°Cで3時間かき混ぜた。生成物をイソプロピルエーテルで抽出し、抽出液を水洗、乾燥後濃縮した。残渣をメタノールから結晶化させ2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンジルクロリド(102a)2.1g(収率82.9%、融点63-64°C)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:2.20(6H, s), 2.33(3H, s), 3.67(3H, s), 3.80(3H, s), 4.75(2H, s)。

3-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンジル)ピリジン(103)

3-プロモピリジン1.0g(6.33mmol)のエチルエーテル10ml溶液を-78°Cに冷却し、かき混ぜながらn-ブチルリチウム4.0ml(1.6Mヘキサン溶液、6.4mmol)を滴下した。滴下終了後20分間同温度でかき混ぜ、続いて2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンジルクロリド(102a)1.45g(6.36mmol)のエチルエーテル5ml溶液を滴下した。-78°C~室温で1時間かき混ぜた後、反応液を水で希釈し酢酸エチルで抽出した。抽出液を2N-塩酸で逆抽出し、水層を飽和炭酸水素ナトリウム水で弱アルカリ性として、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗、乾燥後濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル)で精製して3-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンジル)ピリジン1.3g(収率75.8%)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:2.10(3H, s), 2.20(6H, s), 3.53(3H, s), 3.60(3H, s), 4.02(2H, s), 7.09(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.33(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.37(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.42(1H, d, J=1.5Hz)。

2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンズアルデヒド(100)

1,2,3,4-テトラメトキシ-5-メチルベンゼン 9.0g(42.5mmol)をCH₂Cl₂(60ml)に溶解し、氷冷下かき混ぜながらジクロルメチルメチルエーテル14.4g(125mmol)を加え、次に四塩化チタン13.8ml(125mmol)を15分で滴下した。さらに15分間かき混ぜた後氷浴をはずし、室温でさらに4時間かき混ぜた。反応液を粉砕した氷(約200g)にあけ、激しくかき混ぜた(30分)後CH₂Cl₂層を水洗(3回)、乾燥(MgSO₄)し、CH₂Cl₂を留去した。残渣をイソプロピルエーテル/ヘキサン(1:1)で再結して、2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンズアルデヒド(100)10.0g(収率98.1%、油状)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:2.43(3H, s), 3.75(3H, s), 3.90(3H, s), 3.93(3H, s), 4.00(3H, s), 10.43(1H, s)。

2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンジルブロミド(102c)

2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンズアルデヒド(100)10g(41.7mmol)のエタノール 150ml溶液に、氷冷下、水素化ホウ素ナトリウム0.78g(20.6mmol)を加えて30分間かき混ぜた。反応液に、食塩水を加え生成物を酢酸エチルで抽出した。抽出液を、水洗、乾燥し、減圧で溶媒を留去し、残渣をイ

ソプロピルエーテルから結晶化させて2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンジルアルコール 8.2g(収率 81.3%、油状)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:2.13(1H, t, J=6.0Hz), 2.27(3H, s), 3.77(3H, s), 3.90(3H, s), 3.93(3H, s), 4.67(2H, d, J=6.0Hz)。

次に2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンジルアルコール6.0(24.8mmol)のテトラヒドロフラン60ml溶液を0℃に冷却しかき混ぜながら三臭化リン4.4g(16.3mmol)を加えた。同温度で30分かき混ぜた後、反応液を水で希釈し、イソプロピルエーテルで抽出した。抽出液は飽和炭酸水素ナトリウム水で洗い、乾燥後、溶媒を留去し2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンジブロミド(102c)6.5g(収率86.0%、油状)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:2.33(3H, s), 3.77(3H, s), 3.90(3H, s), 3.93(3H, s), 4.63(2H, s)。

3-(4-ホルミル-2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルベンジル)ピリジン (107)

3-(2,5-ジメトキシ-3,4,6-トリメチルベンジル)ピリジン(103)と同様の方法で3-(2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルベンジル)ピリジン(106)を合成し、続いて2,3,4,5-テトラメトキシ-6-メチルベンズアルデヒドの時と同様にホルミル化を行って3-(4-ホルミル-2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルベンジル)ピリジン(107)を合成した(収率 93.5%、油状)。NMR(CDC1₃), δppm:2.17(3H, s), 2.53(3H, s), 3.60(3H, s), 3.77(3H, s), 4.10(2H, s), 7.13(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.37(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.43(2H, m), 10.50(1H, s)。

エチル 3-[4-(3-ピリジルメチル)-2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルフェニル]アクリレート(109)

トリエチルホスホノアセテート1.24g(5.53mmol)のジメチルホルムアミド10ml溶液を氷冷し、水素化ナトリウム244mg(含有率60%、6.08mmol)を加えて20分かき混ぜた。次に3-(4-ホルミル-2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルベンジル)ピリジン(107)1.5g(5.26mmol)のジメチルホルムアミド5ml溶液を加え、氷浴を外して1分かき混ぜた。反応液に水を加え、生成物を酢酸エチルで抽出し、抽出液は水洗乾燥後、溶媒を留去した。残渣をイソプロピルエーテルから

結晶化させエチル 3-[4-(3-ピリジルメチル)-2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルフェニル]アクリレート(109)1.6g(収率85.6%、融点77-78℃)を得た。NMR(CDC1₃), δppm:1.33(3H, t, J=7.5Hz), 2.12(3H, s), 2.35(3H, s), 3.60(6H, s), 4.06(2H, s), 4.27(2H, quartet, J=7.5Hz), 6.53(1H, d, J=18.0Hz), 7.13(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.37(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.87(1H, d, J=18.0Hz), 8.40(2H, m)。同様にエチル 3-[4-(3-ピリジルメチル)-2,5-ジメトキシ-3,6-ジメチルフェニル]-α-メチルアクリレート(110、収率 77.0%、油状)を得た。

Elemental Analysis

no.	formula	calcd			found		
		C	H	N	C	H	N
53	C ₁₅ H ₁₇ NO ₂	75.27	6.71	5.49	75.49	6.45	5.38
54	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂	75.81	7.11	5.20	75.82	6.98	5.29
55	C ₁₉ H ₂₃ NO ₂	76.74	7.79	4.71	76.35	7.71	4.66
56	C ₂₁ H ₂₇ NO ₂	77.50	8.36	4.30	77.44	8.41	4.37
57	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	77.98	7.79	4.33	77.85	7.77	4.28
58	C ₂₁ H ₂₅ NO ₂	77.98	7.79	4.33	77.62	7.91	4.27
59	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	72.82	7.40	4.47	73.00	7.38	4.43
60	C ₂₀ H ₂₅ NO ₃	73.37	7.70	4.28	73.01	7.82	4.14
61	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	70.96	7.09	3.94	70.72	7.04	3.96
62	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄	71.52	7.36	3.79	70.88	7.36	3.87
63	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	69.71	6.47	4.28	69.33	6.60	4.19
64	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	70.36	6.79	4.10	70.38	7.08	3.82
65	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	70.96	7.09	3.94	71.17	7.15	3.96
66	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄	71.52	7.37	3.79	71.54	7.43	3.77
67	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	71.37	6.56	3.96	71.19	6.82	3.86
68	C ₂₁ H ₁₉ NO ₂	79.47	6.03	4.41	79.51	6.13	4.28
69	C ₂₅ H ₂₃ NO ₄	74.80	5.77	3.49	74.56	5.76	3.44
70	C ₂₄ H ₂₁ NO ₄	74.40	5.46	3.62	74.57	5.26	3.51
71	C ₂₄ H ₂₃ NO ₄	74.02	5.95	3.60	73.78	6.17	3.42
72	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	74.67	6.27	5.80	74.57	6.34	6.00
73	C ₁₇ H ₁₃ NO ₂	77.55	4.98	5.32	77.42	5.00	5.35
74	C ₁₅ H ₁₆ NO ₄ C1	58.16	5.21	4.52	58.03	5.19	4.52
75	C ₁₇ H ₁₇ NO ₄	68.22	5.72	4.68	68.25	5.69	4.55
76	C ₁₇ H ₁₅ NO ₄	68.68	5.09	4.71	68.29	5.21	4.41
77	C ₁₈ H ₁₇ NO ₄	69.44	5.50	4.45	69.36	5.79	4.30
78	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	69.71	6.47	4.28	69.43	6.53	4.20

¹H-NMR data

compd. no.	solvent	δ ppm
53	A	1.63(3H, d, J=3.0Hz), 1.97(3H, s), 2.00(6H, s), 4.50(1H, q, J=6.0Hz), 7.27(1H, dd, J=7.5Hz and 4.5Hz), 7.67(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.45(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).
54	A	0.93(3H, t, J=7.5Hz), 1.97(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(6H, s), 2.27(2H, q, J=7.5Hz), 4.17(1H, t, J=7.5Hz), 4.17(1H, t, J=7.5Hz), 7.23(1H, dd, J=4.5 Hz and 7.5Hz), 7.70(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.40(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).
55	A	0.87(3H, t, J=6.0Hz), 1.30(4H, m), 1.93(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.20(2H, m), 4.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.20(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.70(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.40(1H, dd, J=4.5 Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).
56	A	0.87(3H, t, J=6.0Hz), 1.30(10H, m), 1.95(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 4.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.18(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.70(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.40(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5 Hz), 8.48(1H, d, J=1.5Hz).
57	A	0.87(3H, t, J=6.0Hz), 1.30(6H, m), 1.93(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.20(2H, m), 6.23(1H, t, J=6.0Hz), 7.20(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.52(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.40(1H, dd, J=4.5 Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).
58	A	0.83(3H, t, J=6.0Hz), 1.30(6H, m), 1.93(3H, s), 2.00(3H, s), 2.10(3H, s), 2.20(2H, m), 5.67(1H, t,

		J=6.0Hz), 7.21(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz)
59	A	1.10-1.80(4H, m), 1.93(3H, s), 1.97(3H, s), 2.08(3H, s), 2.00-2.40(2H, m), 3.60(2H, t, J=6.0Hz), 4.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.23(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.70(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.37(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).
60	A	1.20-1.70(6H, m), 1.97(3H, s), 2.00(3H, s), 2.13(3H, s), 2.00-2.40(2H, m), 3.60(2H, t, J=6.0Hz), 4.27(1H, t, J=7.5Hz), 7.25(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.75(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz).
61	A	1.20-1.80(4H, m), 1.97(3H, s), 2.00(3H, s), 2.03(3H, s), 2.13(3H, s), 2.00-2.40(2H, m), 4.06(2H, t, J=6.8Hz), 4.27(1H, t, J=7.5Hz), 7.27(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.75(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz).
62	A	1.10-1.80(6H, m), 1.97(3H, s), 2.00(3H, s), 2.03(3H, s), 2.13(3H, s), 1.80-2.30(2H, m), 4.03(2H, t, J=6.0Hz), 4.23(2H, t, J=6.0Hz), 4.23(2H, t, J=7.5Hz), 7.23(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.73(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz).
63	A	1.60(2H, m), 1.93(3H, s), 1.97(3H, s), 2.10(3H, s), 2.25(2H, m), 2.38(2H, t, J=6.8Hz), 4.30(1H, t, J=7.5Hz), 7.27(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.75(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.80(1H, broad s),

		8.43(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz).
64	A	1.10-1.80(4H, m), 1.97(3H, s), 2.00(3H, s), 2.13(3H, s), 1.90-2.40(2H, m), 2.33(2H, t, J=6.8Hz), 4.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.27(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.77(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.50(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz), 8.80(1H, broad s).
65	A	1.10-1.80(4H, m), 1.93(3H, s), 1.98(3H, s), 2.13(3H, s), 1.90-2.40(2H, m), 2.30(2H, t, J=6.8Hz), 4.23(1H, t, J=7.5Hz), 7.27(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.80(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz), 9.85(1H, broad s).
66	A	1.20-1.70(4H, m), 1.93(3H, s), 2.00(3H, s), 2.13(3H, s), 2.33(2H, t, J=7.5Hz), 6.90(1H, broad s), 7.26(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.77(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.45(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz).
67	A	1.60(4H, m), 1.97(3H, s), 2.03(3H, s), 2.13(3H, s), 2.00-2.50(4H, m), 5.70(0.5H, t, J=7.5Hz), 6.27(0.5H, J=7.5Hz), 7.25(1H, m), 7.55(1H, m), 8.50(1H, m).
68	A	1.90(3H, s), 1.97(3H, s), 2.02(3H, s), 5.90(1H, s), 7.05-7.35(6H, m), 7.50(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.45(2H, m).
69	A	2.03(6H, s), 2.13(3H, d, J=1.0Hz), 5.90(1H, s), 7.17(2H, d, J=7.5Hz), 7.30(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.40(2H, d, J=7.5Hz), 7.60(1H, dt, J=7.5

		Hz and 1.5Hz), 7.77(1H, s), 8.47(1H, d, J=1.5Hz), 8.57(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 10.40(1H, broad s)
70	B	1.88(6H, s), 1.95(3H, d, J=1.0Hz), 5.87(1H, s), 6.47(1H, d, J=16.0Hz), 7.15(2H, d, J=7.5Hz), 7.30(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.52(2H, d, J=7.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.57(1H, d, J=16.0Hz), 8.40(1H, d, J=1.5Hz), 8.43(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 12.30(1H, broad s).
71	B	1.83(3H, s), 1.90(3H, s), 1.93(4H, d, J=1.0Hz), 2.50(2H, m), 2.70(2H, m), 5.80(1H, s), 7.03(2H, d, J=7.5Hz), 7.18(2H, d, J=7.5Hz), 7.27(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.50(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.37(2H, m).
72	A	2.03(6H, s), 2.10(3H, s), 3.87(2H, s), 7.20(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.53(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.52(1H, d, J=1.5Hz).
73	A	2.27(3H, s), 4.00(2H, s), 7.17(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.57(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 7.68(2H, m), 8.07(2H, m), 8.43(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.53(1H, d, J=1.5Hz).
74	A	2.18(3H, s), 4.00(6H, s), 4.10(2H, s), 7.93(1H, m), 8.40(1H, m), 8.80(1H, m).
75	A	2.07(3H, s), 2.10(3H, s), 2.50(2H, m), 2.83(2H, m), 3.87(2H, s), 7.23(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.60(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.10(1H, broad s), 8.43(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz)

76	B	2.07(3H, s), 2.10(3H, s), 3.87(2H, s), 6.53(1H, d, J=15.0Hz), 7.23(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.43(1H, d, J=15.0Hz), 7.57(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.38(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.43(1H, d, J=1.5Hz), 12.70(1H, broad s).
77	B	1.67(3H, d, J=1.0Hz), 1.87(3H, d, J=1.0Hz), 2.03(3H, s), 3.87(2H, s), 7.20(1H, m), 7.27(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.60(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.38(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).
78	A	1.22(3H, t, J=7.5Hz), 1.55(3H, s), 1.59(3H, s), 1.83(2H, m), 2.13(2H, m), 2.88(2H, s), 3.08(2H, q, J=7.5Hz), 7.17(1H, dd, J=4.5Hz and 7.5Hz), 7.50(1H, dt, J=7.5Hz and 1.5Hz), 8.43(1H, dd, J=4.5Hz and 1.5Hz), 8.47(1H, d, J=1.5Hz).

第5章 第3節に関する実験

5-リポキシゲナーゼ阻害作用

RBL-1細胞(rat basophilic leukemia cells)10⁷個をMCM(mast cell medium) 0.5mlに懸濁し、これにあらかじめ調製した被検液[MCM0.5ml, アラキドン酸50 μg, 被験化合物(最終濃度が10 μM, 1 μM, 0.1 μMからなる)]を加え、37℃で20分間反応を行った。反応後エタノール4mlを加えよくふりませたのち、室温で10分間放置した。ついで遠心機(2000回転/分)に10分間かけ、上澄液を分離した。この上澄液を減圧下に乾固した。濃縮液に60%含水メタノール溶液0.5mlを加えた。この溶液を100 μlとり、高速液体クロマトグラフィーに付し、5-HE TE(5-hydroxy eicosatetraenoic acid)の定量を行った。5-HETEは237nmの吸収を紫外線吸収モニターで測定した。5-HETEの生成抑制率は(1 - b/a) × 100で表される。式中aは化合物を含まないときのピーク高またはピーク面積値を、

bは化合物 を含んでいるときのピーク高またはピーク面積値を表す。

トロンボキサン₂(TXA₂)合成酵素阻害作用

第3章 第3節に関する実験参照。

ラット脳ホモジネートにおける過酸化脂質生成の抑制作用

雄性SDラット(12週令)をベントバルビタール麻酔下、瀉血したのち脳組織を摘出した。脳組織をリン酸緩衝液(pH7.4)中ホモジネートとし、5%ホモジネートとして用いた。同ホモジネートを37℃、1時間反応した後、大川らの方法にしたがって過酸化脂質の生成量をチオバルビツール酸法により測定した。被検化合物は5%ホモジネート中に反応前に最終濃度 10^{-5} Mとなるように添加した。結果を表3に示す。過酸化脂質生成の抑制作用は溶媒(DMSO)添加群と比較し、%抑制率として表した。

第6章 第1節に関する実験

安定ラジカル消去作用

ガルビノキシル(1mM)あるいはDPPH(1mM)のMeOH溶液にCV-6504(0.25-1mM)あるいはCV-6504のヒドロキノン体のMeOH溶液を添加しESRスペクトルを測定した。

ストップフロー法による反応速度の測定

2波長分光光度計とストップフロー装置を用い、DPPH(0.2mM)EtOH溶液とCV-6504(0.063-0.5mM)のEtOH溶液を混合し、 $\lambda_1=420\text{nm}$ と $\lambda_2=515\text{nm}$ の差吸光度($Abs_{\lambda_2}-Abs_{\lambda_1}$)を時間に対してプロットし、その減少速度からラジカル消去速度を求めた。ガルビノキシルの時は0.01mM DMSO溶液を用い、 $\lambda_1=500\text{nm}$ 、 $\lambda_2=428\text{nm}$ に設定して同様にラジカル消去速度を求めた。

ヒドロキシラジカル消去作用

ADPナトリウム塩(20mM, 0.1mL)、塩化第1鉄の0.0012N塩酸溶液(1.0mM, 0.1mL)、CV-6504塩酸塩またはCV-6504ヒドロキノン塩酸塩水溶液(1.0-10.0mM, 0.1mL)、DMPO(500mM, 0.1mL)、H₂O₂(0.3%水溶液、0.1mL)に緩衝液(100mM 食塩水に25mMの重曹水を加えたもの)を加えて全量を1mLにし、水溶液偏平セルに入れて、H₂O₂添加後2分後にESRスペクトルを測定した。

5-リボキシゲナーゼ阻害作用

A. 5-リボキシゲナーゼ酵素標品の調製

雄性Hartrey系モルモットに2%カゼイン溶液30mLを腹腔内投与し、14-15時間後にモルモットを放血致死させ、PBS(50mM リン酸緩衝液を含む生理食塩水、pH7.4)25mLを腹腔内投与した。開腹後、腹腔内液を回収し、1500rpmで5分間遠心し、その回収した細胞をPBSにて洗浄した。その細胞を水に30秒間浮遊することにより混入する赤血球を除去し、50mM HEPES緩衝液(pH 8.0)にて洗浄及び浮遊した。その細胞の85%以上は多形核白血球であった。その細胞を超音波処理(15秒、3回)にて破壊し、10000gで10分間遠心したのち、その上清を5-リボキシゲナーゼ酵素標品として用いた。

B. 5-リボキシゲナーゼ酵素活性測定

5-リボキシゲナーゼ活性測定には $25\mu\text{M}$ [1-¹⁴C]アラキドン酸(5×10^4 cpm)を基質として、50mMリン酸緩衝液(pH 7.4)、2mM CaCl₂、2mM ATP及び酵素を含む反応液(200 μ L)を用いた。25℃で2分間プレインキュベートした後、[1-¹⁴C]アラキドン酸(5×10^4 cpm)を添加し、25℃で3分間反応後その反応液を酸性にし、アラキドン酸及び代謝産物をエーテル抽出した。エーテル層の放射活性はケイ酸薄層クロマトグラフィーで石油エーテル-エチルエーテル-酢酸(15:85:0.1)の展開溶媒を用い、-10℃で18分間展開した。展開後、薄層プレートから放射活性部分のケイ酸をかき取り、生成物の放射活性を計数した。薬物は反応開始2分前に添加した。尚、薬物はジメチルスルホキサイド(DMSO)に溶解し、順次水で希釈した。また反応液中の最終DMSO濃度は0.25%以下とした。

細胞による還元反応

細胞濃度 2×10^6 個/mLの細胞懸濁液(3mL)にCV-6504(1mM)のEtOH溶液(100 μ L)を加え、各時間毎のUVスペクトルを測定した。またSODの影響を調べるときには、SOD(3000U/mL)の懸濁液20 μ Lを、ジクマロールの影響を調べるときにはジクマロール(6mg/100mL)のEtOH溶液50 μ L、ジクマロール(1.2mg/mL)のEtOH溶液10、20、50、及び100 μ Lを細胞液(3mL)に加え、続いてCV-6504のEtOH溶液(1mM, 100 μ L)を加えて $\lambda_1=340\text{nm}$ 、 $\lambda_2=264\text{nm}$ の差吸光度についてタイムスキャンプロットを行い、この吸光度の減少から反応速度を求めた。

スーパーオキシドとの反応

A. ESRによる検討

ヒポキサンチン(2.0mM, 50 μ L)、ジェチレントリアミン-N,N,N',N'',N'''-5酢酸(DETAPAC, 5.5mM, 30 μ L)、CV-6504塩酸塩またはCV-6504ハイドロキノン体塩酸塩(0.1-1.0mM, 50 μ L)、5,5-ジメチル-1-ピロリン N-オキシド(DMPO, 500mM, 20 μ L)、及びキサンチンオキシダーゼ(XOD, 0.25units/mL, 50 μ L)を水溶液偏平セルに入れ、XOD添加後2分後にESRスペクトルの測定を行った。

B. UVスペクトルによる反応の追跡

ヒポキサンチン(2mM, 100 μ L)、キサンチンオキシダーゼ(25unit/3.3mL, 10 μ L)、CV-6504(1mM, 100 μ L)及び1N-NaOH(100 μ L)をリン酸緩衝液(pH6.8, 3mL)に加えてUVスペクトルを測定した。

- 1)a)多田道彦, 葛谷恒彦, "狭心症, 心筋梗塞とアラキドン酸代謝", 代謝, 24, 937(1987).
- b)西田俊朗, 川島康生, 田川邦夫, "虚血障害の分子機作", 代謝, 24, 379(1987).
- c)松本昌泰, 米田正太郎, 木村和文, 鎌田武信, "脳の虚血障害", 代謝, 24, 4131(1987).
- 2)a)王地寛光, 兼本成斌, "冠動脈硬化病変とその進展", 総合臨床, 36, 787(1987).
- b)新津洋司郎, 茂木良弘, "血小板由来の成長因子", 代謝, 24, 607(1987).
- c)荒木信夫, 後藤文男, "特集-脳梗塞治療のすべて 成因に関する最近の知見", 臨床と研究, 64, 3337(1987).
- 3)K. Kato, S. Ohkawa, S. Terao, Z. Terashita, and K. Nishikawa, J. Med. Chem., 28, 287(1985).
- 4)a)E. D. Wills, Biochem. Pharmacol., 21, 1879(1972).
- b)B. H. J. Bielski, (1984), In: "Oxyradicals and their scavengersystems. Volume 1, Molecular Aspects" (G. Cohen and R. A. Greenwald, eds.) P1, Elsevier/New York.
- 5)大川滋紀, 寺尾泰次, 武田研究所報, 42, 13(1983).
- 6)S. Ohkawa, S. Terao, Z. Terashita, Y. Shibouta, and Kohei Nishikawa, J. Med. Chem., submitted.
- 7)S. Ohkawa, T. Terao, M. Murakami, T. Matsumoto, and G. Goto, Chem. Phrm. Bull., in preparation.
- 8)a)室田誠逸編, 現代化学増刊 "プロスタグランジンと病態", 東京化学同人, 1984.
- b)山本尚三, 鹿取信編, "プロスタグランジン研究法(上)(下)", 東京化学同人, 1987.
- 9)J. R. Vane, Nature(London), 231, 232(1971).

- 10) G. J. Blackwell, R. Carnuccio, R. J. DiRosa, L. Flower, P. Parente, and P. Persico, *Nature*(London), 287, 147(1980).
- 11) a) R. L. Lewy, L. Wiener, P. Walinsky, A. M. Lefer, M. J. Silver, and J. B. Smith, *Circulation*, 61, 1165(1980).
 b) H. D. Reines, P. V. Halushka, J. A. Cook, W. C. Wise, and W. Rambo, *Lancet*, 1982, 174.
- 12) K. Iizuka, K. Akahane, D. Momose, M. Nakazawa, T. Tanouchi, M. Kawamura, I. Ohyama, I. Kajiwara, Y. Iguchi, T. Okada, K. Taniguchi, K. Miyamoto, and M. Hayashi, *J. Med. Chem.*, 24, 1139 (1981).
- 13) S. E. Burke, G. DiCola, and M. A. Lefer, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 5, 842 (1983).
- 14) M. J. Parry, M. J. Randall, E. Hawkeawood, P. E. Cross, and R. P. Dickinson, *Br. J. Pharmacol.*, 77, 547p(1982).
- 15) T. Tanouchi, M. Kawamura, I. Ohyama, I. Kajiwara, Y. Iguchi, T. Okada, T. Iizuka, and M. Nakazawa, *J. Med. Chem.*, 24, 1149(1981).
- 16) D. Ezra, L. M. Body, G. Feuerstein, and R. E. Goldstein, *Am. J. Cardiol.*, 51, 1451(1983).
- 17) E. J. Goetzl, and W. C. Pickett, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 125, 1789 (1980).
- 18) S. Terao, M. Shiraishi, K. Kato, S. Ohkawa, Y. Ashida, Y. Maki, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1982, 2909.
- 19) Y. Koshihara, T. Neichi, S. Murota, A. N. Lao, Y. Fujimoto, and T. Tatsuno, *FEBS Lett.*, 158, 41(1983).
- 20) J. B. Summers, H. Mazdiasni, J. H. Holms, J. D. Ratajczyk, R. D. Dyer, and G. W. Dyer, *J. Med. Chem.* 30, 574(1987).
- 21) W. P. Jackson, P. J. Islip, G. Kneen, A. Pugh, and P. J. Wates, *J. Med. Chem.*, 31, 500(1988).
- 22) E. J. Corey, and J. E. Munroe, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 1752(1982).
- 23) Y. Koshihara, S. Murota, N. A. Petasis, and K. C. Nicolaou, *FEBS Lett.*, 143, 13(1982).
- 24) H. Thor, M. T. Smith, P. Hartzell, G. Bellomo, S. A. Jewel, and S. Orrenius, *J. Biol. Chem.*, 257, 12419(1982).
- 25) a) B. Hammond, H. A. Kontos, and M. L. Hess, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 63, 173(1985).
 b) I. Fridovich, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 23(1983).
 c) J. M. McCord, *Free Radical Biol. Med.*, 4, 9(1988).
- 26) a) B. Hammond, H. A. Kontos, M. L. Hess, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 63, 173 (1985).
 b) H. A. Kontos, E. P. Wei, J. T. Povlishock, C. W. Christman, *Circ. Res.* 55, 295 (1984).
- 27) a) 大柳善彦, 吉川敏一, "フリーラジカルの臨床 vol. 1", 日本医学館, 1987.
 b) P. J. Simpson, J. K. Mickelson, and B. R. Luchessi, *Fed. Proc.*, 46, 2413 (1987).
- 28) Dembinska-kiec, T. Gryglewski, A. Zmuda, and R. J. Grygrewski, *Prostaglandins*, 14, 1025(1977).
- 29) J. Astrup, *J. Neurosurg.*, 56, 482(1982).
- 30) A. J. Hansen, *Physiol. Rev.*, 65, 101(1985).
- 31) F. Watanabe, T. Hashimoto, and K. Tagawa, *J. Biochem.*, 97, 1229(1985).
- 32) K. R. Chien, A. Sen, R. Reynolds, A. Chang, Y. Kim, M. D. Gunn, M. Buja, and J. T. Willerson, *J. Clin. Invest.*, 75, 1770(1985).
- 33) J. M. McCord, *N. Engl. J. Med.*, 312, 159(1985).
- 34) Y. Imai, *J. Biochem.*, 1982, 77.
- 35) S. L. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem.*, 43, 4537(1978).
- 36) M. Hecker, M. Haurand, V. Ullrich, and S. Terao, *Eur. J. Biochem.*, 157, (1986).
- 37) J. G. Gleason, D. B. Bryan, and C. W. Kinzig, *Tetrahedron Lett.*, 21, 1129 (1980).
- 38) D. van der Steen, H. J. J. Pabon, and D. A. van Dorp, *Recl. Trav. Chim. Pays-*

- Bas. 82, 1015(1963).
- 39) J. Rokach, R. Zamboni, C. Lau, and Y. Guindon, *Tetrahedron Lett.*, 22, 2759 (1981).
- 40) M. Fujino, S. Kobayashi, M. Obayashi, T. Fukuda, S. Shinagawa, and O. Nishimura, *Chem. Pharm.*, 22, 1857(1974).
- 41) T. Imamoto, T. Kusumoto, and M. Yokoyama, *Tetrahedron Lett.* 24, 5233 (1983).
- 42) a) L. Syper, K. Kloc, J. Mlochoeski, and Z. Szulc, *Synthesis*, 1979, 521.
b) L. Syper, K. Kloc, and J. Mlochowski, *Tetrahedron*, 36, 123(1980).
- 43) P. Needleman, M. Minkes, and A. Raz, *Science*, 193, 163(1979).
- 44) 天野利夫、松本睦子、寺尾泰次、ビタミン、59、211(1985)。
- 45) H. Ohkawa, N. Ohishi, and K. Yagi, *Analytical Biochemistry*, 95, 351(1979).
- 46) M. S. Tute, *Advances in drug research*, Vol. 6, Academic press New York and London, 1971, p1.
- 47) M. L. Hammond, I. E. Kopka, R. A. Zambias, C. G. Caldwell, J. Boger, F. Baker, T. Bach, S. Luell, and D. E. MacIntyre, *J. Med. Chem.*, 32, 1006(1989).
- 48) a) E. A. Lianos, G. A. Andres, M. J. Dunn, *J. Clin. Invest.* 72, 1439(1983).
b) G. Remuzzi, L. Imberit, M. Rossini, C. Morelli, C. Carminati, G. M. Cattanso, T. Bertani, *J. Clin. Invest.*, 75, 94(1985).
- 49) a) J. B. Lefkowitz, A. R. Morrison, G. F. Schreiner, *J. Clin. Invest.*, 82, 1655 (1988).
b) J. Failer, A. Wiemeyer, K. H. Marx, K. Kuhn, K. M. Koch, J. C. Frolich, *Kidney Int.* 36, 46(1989).
c) E. A. Lianos, *J. Clin. Invest.*, 82, 427(1988).
d) M. A. Rahman, M. Nakazawa, S. N. Emancipator, M. J. Dunn, *J. Clin. Invest.*, 81, 1945(1988).
- 50) a) A. Rehan, K. J. Johnson, R. C. Wiggins, R. G. Kunkel, P. A. Ward, *Lab. Invest.*, 51, 396(1984).
b) K. J. Johnson, A. Rehan, P. A. Ward, Abstract from Upjohn symposium/
oxygen radical, 1987, pp. 115.
- c) B. Laurent, R. Ardailou, *Am. J. Physiol.*, 251, F765(1986).
- d) V. Thakur, P. D. Walker, S. V. Shah, *Kidney Int.*, 34, 494(1988).
- 51) S. Okuda, Y. Oh, H. Tsuruda, K. Onoyama, S. Fujimi, M. Fujishima, *Kidney International*, 29, 502(1986).
- 52) R. W. Egan, "Abstract from 21st National Medicinal Chemistry Symposium", P145(1988).
- 53) C. A. Rouzer and B. Samuelsson, *FEBS Lett.*, 204, 293(1986).
- 54) C. Kemal, P. L. Flamberg, R. K. Olson, A. L. Shorter, *Biochemistry*, 26, 7064 (1987).
- 55) B. Samuelsson, S. Dahlen, J. A. Lindgren, C. A. Rouzer, and C. N. Serhan, *Science*, 237, 1171(1987).
- 56) K. Sugioka, M. Nakano, H. T. Nakano, H. Minakami, S. T. Kubota, and Y. Ikegami, *Biochim. Biophys. Acta*, 936, 377(1988).
- 57) T. Hörgberg, and B. Wliff, *J. Med. Chem.*, 24, 1499(1981).