

博士論文

ハロメチルならびに類縁官能基を有するキノキサリン  
およびカルコン誘導体の合成と抗菌活性に関する研究

Synthesis and antimicrobial studies of quinoxaline and  
chalcone derivatives having halomethyl and  
analogous functional groups

成蹊大学大学院理工学研究科理工学専攻

石川久登

## 目次

	ページ
第 1 章 序論	1
第 2 章 2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体	
2-1 はじめに	17
2-2 合成	20
2-3 抗細菌活性	23
2-4 抗真菌活性	27
2-5 まとめ	30
2-6 実験項	30
第 3 章 鉄イオン輸送系の利用を指向した 2,3-ビス(ブロモメチル) キノキサリン誘導体	
3-1 はじめに	44
3-2 合成	47
3-3 抗菌活性	56
3-4 まとめ	59
3-5 実験項	60
第 4 章 カルコンの臭素付加体とエポキシ体	
4-1 はじめに	76
4-2 4'-置換カルコン誘導体の合成と抗菌活性	80
4-3 3'位の置換基と抗菌活性の関係	88

4-4 置換位置の最適化	94
4-5 まとめ	100
4-6 実験項	100
第5章 総括	118
研究成果の発表	120
謝辞	122

## 第一章 序論

抗菌剤は細菌や真菌が引き起こす食物の腐敗や工業材料の腐食を防止するためおよび感染症を治療するために使用され、人々が健康で安全な生活を送るうえで必要不可欠である。

その抗菌剤の開発は、1929年に A. Fleming がブドウ球菌 (*Staphylococcus* 属) の培養実験中、コンタミネーションにより生じたアオカビ (*Penicillium chrysogenum*) のコロニーの周囲に阻止円 (ブドウ球菌の生育が阻止される領域) が生じる現象を発見したことに端を発する。そして、Fleming はそこからペニシリンを発見した<sup>1</sup>。その後、1940年に H. W. Florey と E. B. Chain が *Penicillium chrysogenum* が生産するペニシリンの製造を工業化することに成功し、翌 1941 年には臨床でその抗菌剤としての効果を確認した。ついで、S. A. Waksman が *Streptomyces griseus* からストレプトマイシン<sup>2</sup>を見出して以後、化学療法剤としての抗菌剤の開発が盛んになった。その後、スルファジアジン、メチシリン、メトロニダゾール、ナリジクス酸など様々な抗菌剤が開発された (図 1-1)。

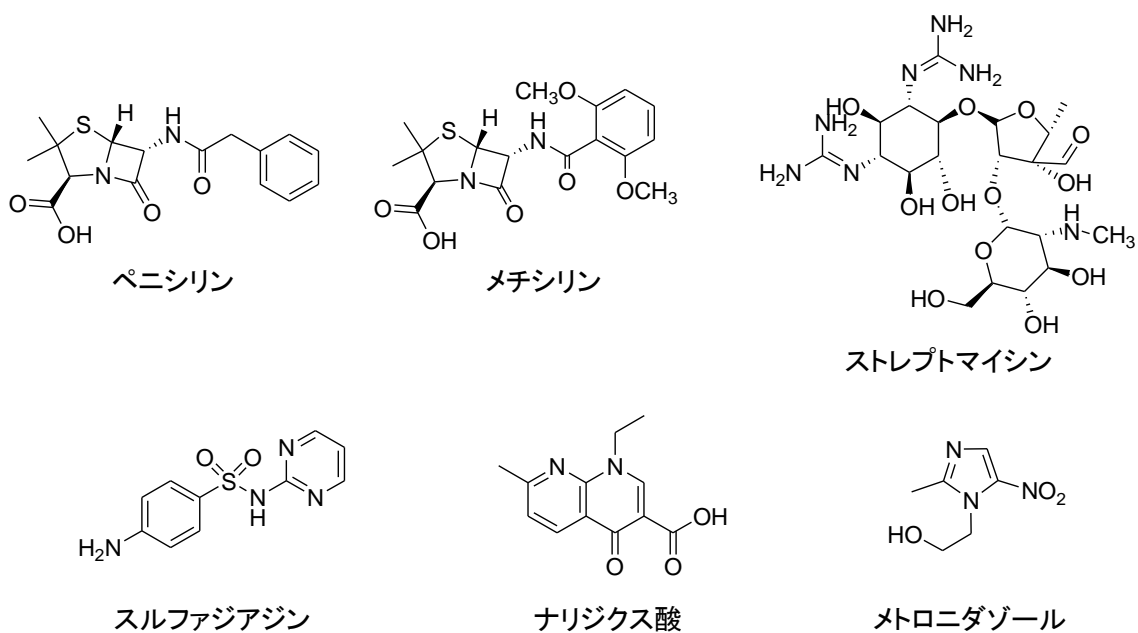


図 1-1. 代表的な抗菌剤

近年、様々な工業分野で細菌や真菌が原因となる問題が発生している。製紙分野では抄紙（紙をすく）工程において、抄紙機の中で細菌や真菌によりスライム（生物膜）が形成され、それが悪臭や紙のシミ・キズを招き、紙質や生産性を低下させる問題が生じている。また、木材分野では、保存中の木材で真菌が増殖し、木材の変色や腐朽が引き起こされ出荷できない木材が発生している。さらに、塗料分野では、製品中で微生物が増殖することにより、使用前に製品が劣化し不良品になってしまうという問題が起こっている。そのうえ、繊維や建材など他の工業分野でも細菌や真菌が引き起こす問題が報告されており、このような問題は大きな経済的損失を与えている。そこで、この問題を解決するために抗菌剤が使用されるようになり、抗菌剤の用途が化学療法剤だけでなく工業用や日用品への使用にも広がった。そして、工業用としてこれまで多くの抗菌剤が開発されてきた（図 1-2）。

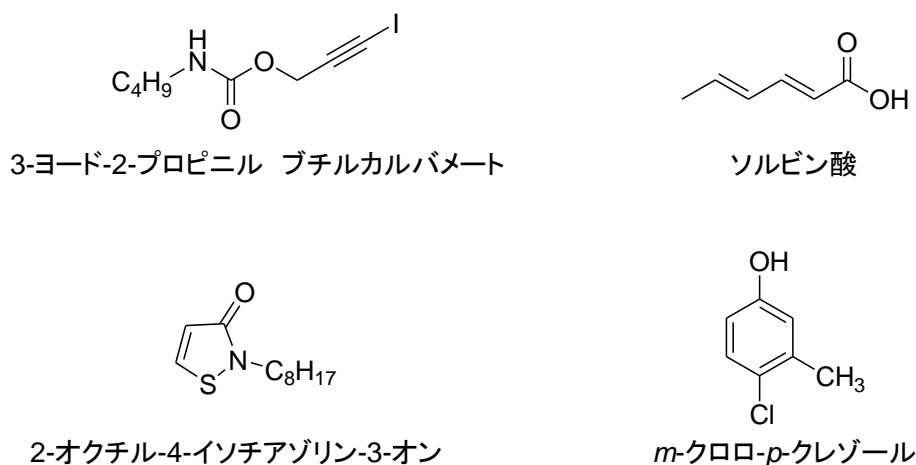


図 1-2. 代表的な工業用抗菌剤

しかしながら、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）や多剤耐性緑膿菌（MDRP）などのような、これまで有効だった抗菌剤が効かなくなる薬剤耐性菌が現れている<sup>3-5</sup>。そのため、これからも既知の抗菌剤に対する効果の低下が起ると考えられているので、新しい抗菌剤の開発が常に要求されている。

新規抗菌剤の開発の流れは、基礎研究後、医薬品の場合は非臨床試験、臨床試験、承認申請・製造販売であり、工業用抗菌剤の場合は使用環境での適正試験、承認申請・製造販売である（図 1-3）。その中でも、基礎研究は、リード化合物もしくはリード化合物の探索・合成、薬効試験や細胞に対する毒性試験を行なう応用のための核となる研究である。本研究はその基礎研究の「リード化合物もしくはリード化合物の探索・合成」に寄与している。

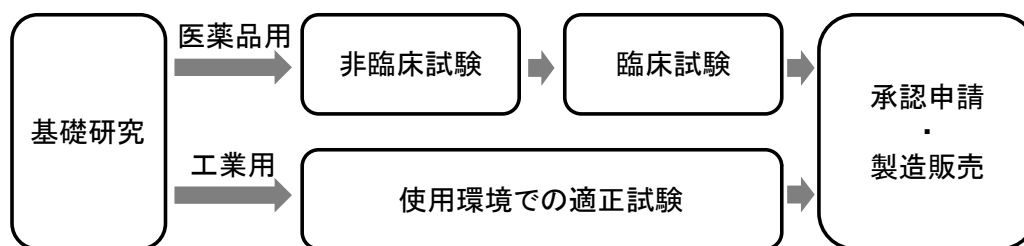


図 1-3. 新規抗菌剤の開発の流れ

抗菌活性を有する新規化合物の分子設計を行なうために、現在使用されている抗菌剤の分子構造を調査した。その結果、ブromo酢酸ベンジル、1,4-ビス(ブromoアセトキシ)-2-ブテンと 2-ブromo-4'-ヒドロキシアセトフェノンのようなブromoアセチル基をもつ化合物をいくつか見出すことができた (図 1-4)。

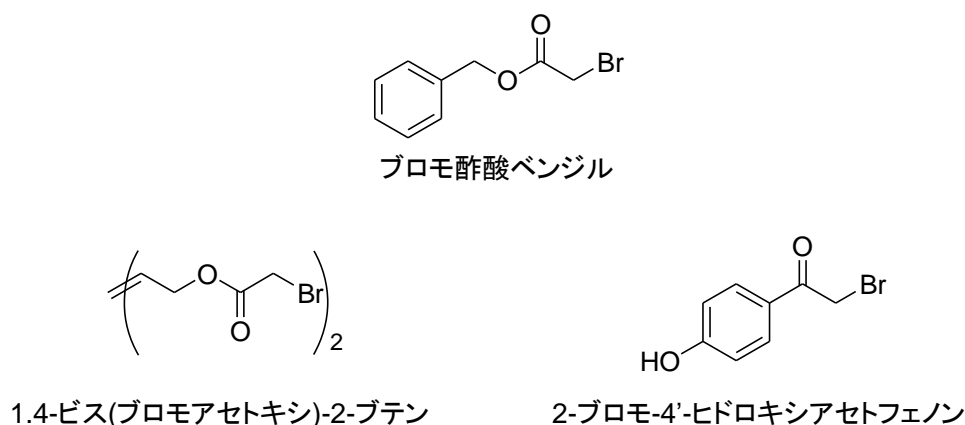


図 1-4. ブromoアセチル基をもつ抗菌剤

そこで、このブromoアセチル基が抗菌活性に重要な骨格であると考えた。おそらく、ブromoアセチル基の特性である求電子性や親油性が抗菌活性によい影響を与えていると思われる。

また、Naylor らは細菌が細胞壁を形成する際に欠かすことのできない DD-カルボキシペプチダーゼを競争的に阻害するジペプチドに、標的酵素との不可逆

的結合を容易にするブロモアセチル基を導入したジペプチド誘導体の抗菌活性について報告している (図 1-5) <sup>6</sup>。

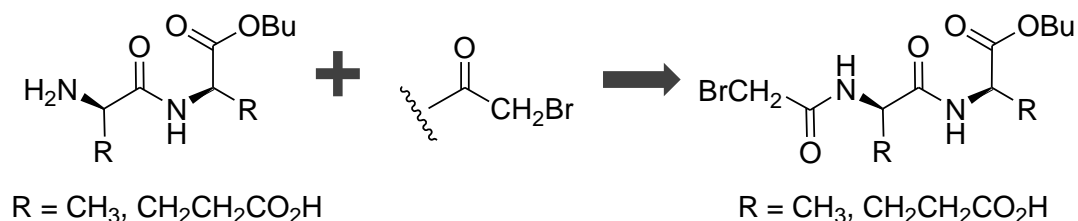


図 1-5. Nayler らが報告した化合物

いくつかの化合物において黄色ブドウ球菌や大腸菌に対する抗菌活性が向上していることが報告されている。ゆえに、標的酵素を不可逆的に阻害する能力を与えると考えられるブロモアセチル基を生物活性の発現に重要な構造単位に導入することで、より高い抗菌活性を示す新しい化合物ができると推測できる。

そこで、本研究ではブロモアセチル基を生物活性の発現に重要な構造単位に導入した化合物を合成し、それらの抗菌活性を測定することで構造活性相関を調査することを目的とした。生物活性の発現に重要な構造単位としては、キノキサリン環とカルコン骨格に注目した。窒素含有複素環化合物であるキノキサリン環は移植性腫瘍細胞の増殖抑制効果とグラム陽性菌の成長阻害が知られている hinomycin、levomycin、actinoleutin のような抗生物質に含まれている <sup>7-9</sup>。さらに、キノキサリン誘導体は、抗腫瘍活性、抗真菌活性、抗細菌活性、抗ウィルス活性、抗原生動物活性など様々な生物活性が多く報告されている <sup>10-21</sup> (図 1-6)。また、キノキサリン誘導体は DNA 上のシトシン-リン酸-グアニンサイト (CpG サイト) と結合し、DNA が誘導する RNA 合成を阻害することで抗菌作用を発現していることが示唆されている <sup>22</sup>。以上のことから、キノキサリン環は生物活性を示すうえでとても重要な構造単位であると考えられる。



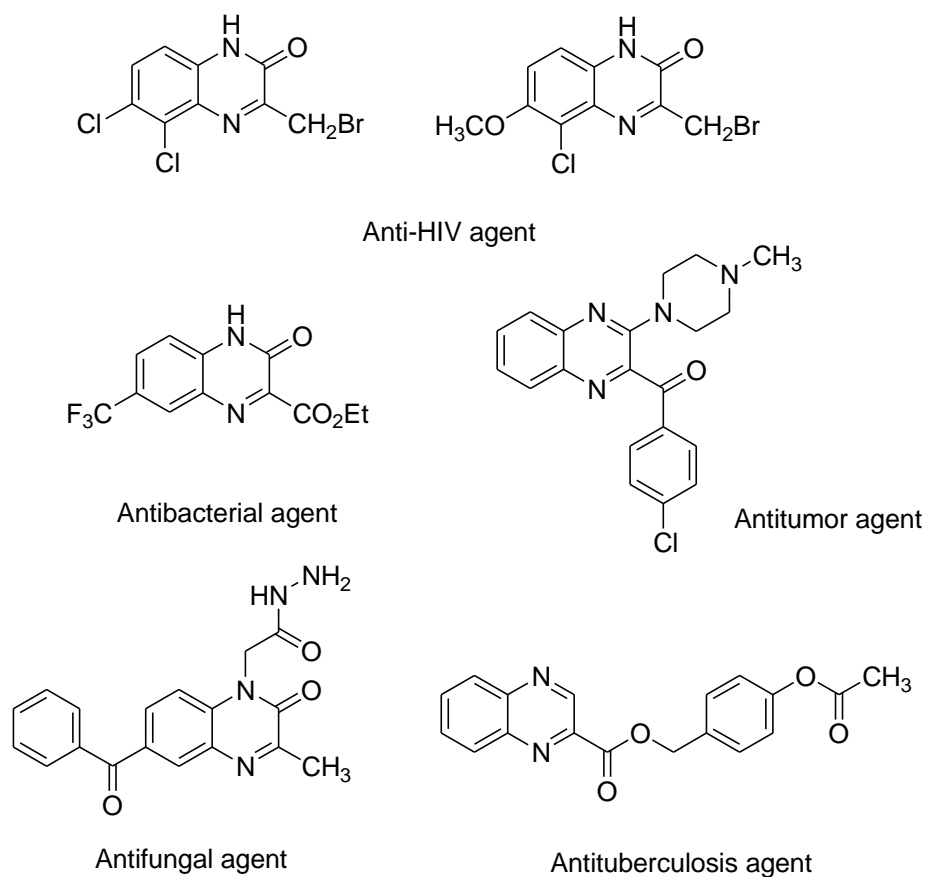


図 1-6. 生物活性をもつキノキサリン誘導體

一方、カルコン骨格は抗炎症活性や抗腫瘍活性、抗酸化活性、グラム陽性菌に対する活性などの生物活性を有するリコカルコン A（漢方カンゾウの有効成分の一つ、図 1-7）<sup>23-28</sup> の基本骨格である。

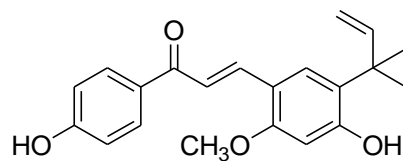


図 1-7. リコカルコン A

そのため、様々なカルコン誘導体が合成され、抗腫瘍活性、抗菌活性、抗マalaria活性、抗 HIV ウィルス活性や抗炎症活性などの様々な生物活性を持つことが報告されている (図 1-8) <sup>29-38</sup>。そして、カルコン誘導体の作用機序は呼吸鎖電子伝達系における NADH 酸化や NADH-シトクロム c 還元酵素を阻害することであると示唆されている <sup>39</sup>。

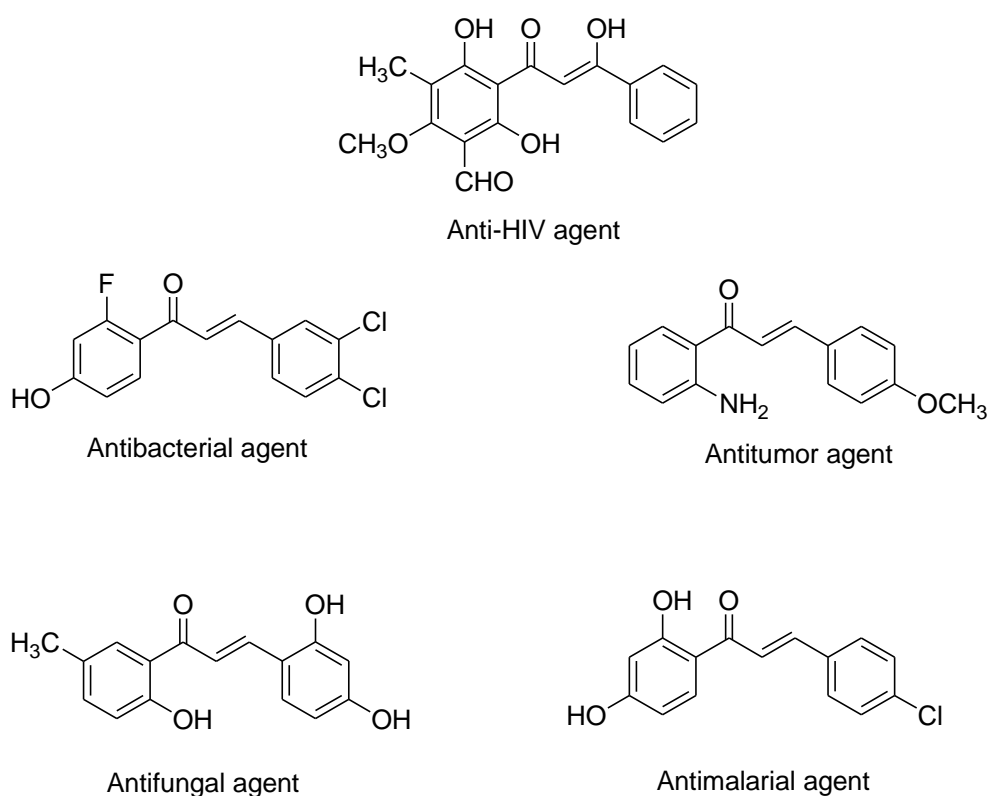
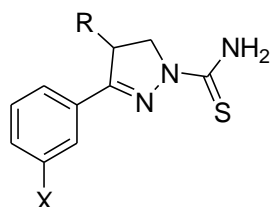


図 1-8. 生物活性をもつカルコン誘導体

ゆえに、カルコン骨格も生物活性の発現にとっても重要な構造単位であると考えられる。

Azam らは様々なフェニルピラゾリン誘導体を合成し、それらの抗アメーバ活性について報告している (図 1-9) <sup>40</sup>。フェニルピラゾリン誘導体の抗アメーバ活性において、置換基 X が水素、ブロモ基、クロロ基と電子求引性が増加する

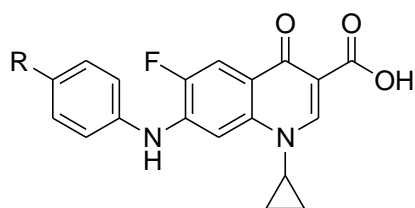
につれて活性は向上し、置換基 R が水素からメチル基になるとさらに活性が向上することが明らかにされている。



X	R	IC <sub>50</sub> (μM)
H	H	17.2
Br	H	13.2
Cl	H	8.7
Cl	CH <sub>3</sub>	4.4

図 1-9. フェニルピラゾリン誘導体の抗アメーバ活性

一方、Al-Hiari らはフルオロキノロン誘導体の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を報告している (図 1-10)<sup>41</sup>。置換基 R が電子供与基のメチル基であると、フルオロキノロン誘導体は黄色ブドウ球菌に対して全く活性を示さなくなり、置換基 R を水素から電子求引基のクロロ基に変換しても抗菌活性は変化しなかったことを報告している。



R	MIC (μg/mL)
CH <sub>3</sub>	>100
H	10
Cl	10

図 1-10. フルオロキノロン誘導体の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性-1

また、Al-Hiari らはフルオロキノロン誘導体の親油性が与える黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性への影響も調査し、エステル化による親油性の向上は抗菌活性を大きく低下させることが明らかにされている (図 1-11)<sup>42</sup>。フルオロキノロン誘導体において、カルボキシ基 ( $R = H$ ) をメチルエステル ( $R = CH_3$ ) に変換し化合物の親油性を向上させたところ、黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性が著しく低下した。

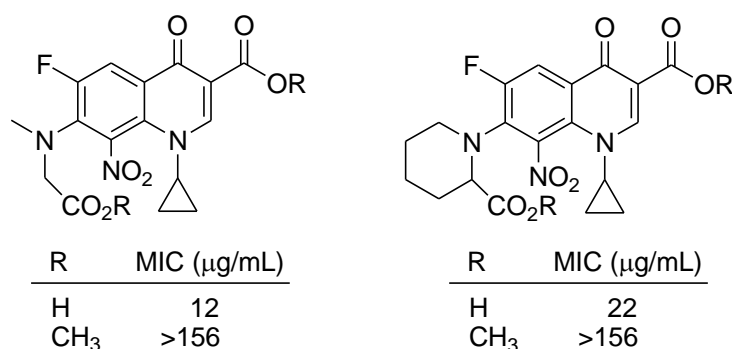


図 1-11. フルオロキノロン誘導体の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性-2

以上の報告から、導入する置換基により生物活性の強弱は変化することがわかる。そして、その変化は導入される基本構造によって異なる。そのため、この置換基が与える生物活性への影響を調査することは、リード化合物から最も高い活性を有する化合物を合理的に見出すために、極めて重要である。そこで、本研究では基本構造に様々な置換基を導入し、抗菌活性に及ぼす置換基の影響を調査することにした。

以下、各章の概略について説明する。

第二章では、複素環化合物であるキノキサリン骨格にブロモアセチル基を組み合わせた 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体 **1** を合成し、ブロモを他のハロゲンに変換した化合物も合成し、それらの抗菌活性を評価した (図 1-12)。

主に、2位と3位のハロメチル基や6位もしくは7位の置換基による抗菌活性への影響を調査した。

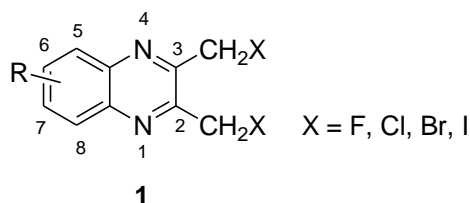


図 1-12. 目的化合物-1

第三章では、さらに多くの細菌への効果を目指し、細菌すべてが有する鉄イオン輸送系という機構を利用するために 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン骨格にリンカーを介してカテコール構造を連結させた化合物 **2**、**3** を合成し、それらの抗菌活性を評価した (図 1-13)。そして、カテコール構造の有無や違い、リンカーの違いによる抗菌活性への影響を調査した。

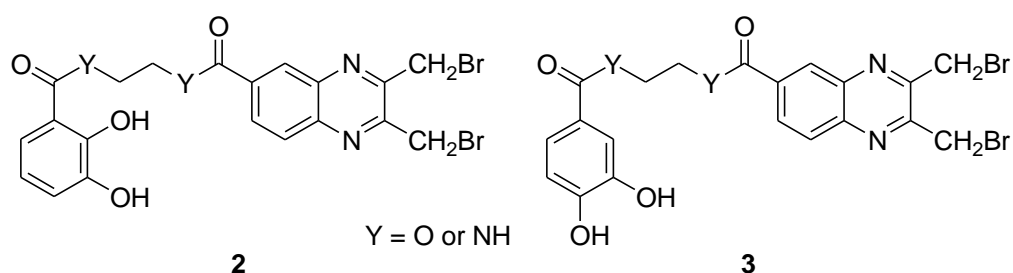


図 1-13. 目的化合物-2

第四章では、2'、3' や 4' 位に置換基を有するカルコン骨格にブロモアセチル基を導入した化合物 **4**、ブロモアセチル基と異なる反応性置換基であるエポキシ基を導入した化合物 **5**、およびそれらの前駆体であるカルコン誘導体 **6** を合成して抗菌活性を評価した (図 1-14)。

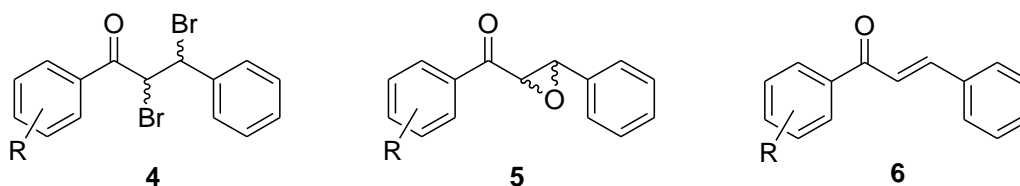
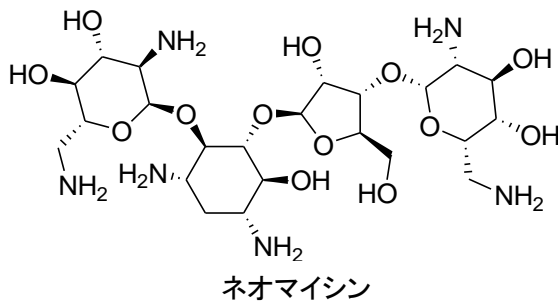


図 1-14. 目的化合物-3

本研究で合成された化合物の抗菌活性は、表 1-1 の 14 種類の微生物（細菌と真菌）に対して、最小発育阻止濃度（MIC）を用いて評価した<sup>43</sup>。MIC は、微生物の成長を妨げる化合物の最小の濃度のことであり、この値が小さければ小さいほど高い活性であることを表す。また、今回は MIC 値が 100  $\mu\text{g/mL}$  を基準として、この値を超えると活性を示していないとした。実際に使用されているネオマイシン（抗生物質）<sup>44</sup> や 1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン（塗料用抗菌剤）<sup>45</sup>、*N*-ジクロロフルオロメチルチオ-*N'*,*N'*-ジメチル-*N-p*-フェニルスルファミド<sup>45</sup>（木材用抗菌剤）は図 1-15 に表すような MIC 値を示すことが報告されている。

表 1-1. 試験微生物（細菌と真菌）

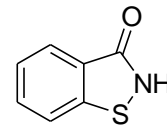
Bacteria	Fungi	
<b>Gram-positive</b>	<b>Mold</b>	<b>Yeast</b>
<i>Bacillus subtilis</i> (B. s.)	<i>Aspergillus niger</i> (A. n.)	<i>Rhodotorula rubra</i> (R. r.)
<i>Staphylococcus aureus</i> (S. a.)	<i>Penicillium citrinum</i> (P. c.)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (S. c.)
<b>Gram-negative</b>	<i>Aureobasidium pullulans</i> (A. p.)	
<i>Escherichia coli</i> (E. c.)	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (C. c.)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P. a.)	<i>Mucor spinescens</i> (M. s.)	
<i>Serratia marcescens</i> (S. m.)	<i>Alternaria sp.</i> (A. s.)	
	<i>Gliocladium virens</i> (G. v.)	



*Bacillus subtilis*: 1.5 µg/mL

*Staphylococcus aureus*: 6.3 µg/mL

*Escherichia coli*: 24 µg/mL



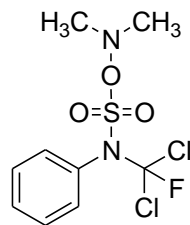
1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン

*Bacillus subtilis*: 10 µg/mL

*Staphylococcus aureus*: 10 µg/mL

*Escherichia coli*: 10 µg/mL

*Pseudomonas aeruginosa*: 10 µg/mL



*N*-ジクロロフルオロメチルチオ-*N*',*N*'-ジメチル-*N*-*p*-フェニルスルファミド

*Aspergillus niger*: 20 µg/mL

*Penicillium citrinum*: 10 µg/mL

*Aureobasidium pullulans*: 2 µg/mL

*Cladosporium cladosporioides*: 10 µg/mL

図 1-15. ネオマイシンと 1,2-ベンズイソチアゾリ-3-オン、*N*-ジクロロフルオロメチルチオ-*N*',*N*'-ジメチル-*N*-*p*-フェニルスルファミドの抗菌活性

なお、抗菌剤にはペニシリンやレボフロキサシンなどのような菌を死滅させるもの、クロラムフェニコールやテトラサイクリンなどのような菌の増殖を抑制し菌を減らすものがある。本研究での抗菌活性を示す化合物が菌を死滅させるものか、菌の増殖を抑制し菌を減らすものかを特定していないため、本研究での抗菌とはこれらどちらかを含むものである。

## 参考文献

- 1) A. Fleming, *Br. J. Exper. Pathol.*, **10**, 226–236 (1929).
- 2) A. Schatz, E. Bugie, S. A. Waksman, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **55**, 66-69 (1944).
- 3) S. K. Fridkin, J. C. Hageman, M. Morrison, L. T. Sanza, K. C. Sabetti, J. A. Jernigan, K. Harriman, L. H. Harrison, R. Lynfield, M. M. Farley, *N. Engl. J. Med.*, **352**, 1436–1444 (2005).
- 4) W. T. Siebert, N. Moreland, T. W. Williams, *South. Med. J.*, **71**, 1353–1355 (1978).
- 5) A. H. C. Uttley, N. Woodford, A. P. Johnson, B. Cookson, R. C. George, M. Wilcox, R. Spencer, G. R. Weeks, T. R. Frieden, S. S. Munsiff, D. E. Low, B. Kreiswirth, E. Manso, G. D. Sio, F. Biavasco, P. E. Varaldo, G. Sambo, C. Maffel, *The Lancet*, **342**, 615–617 (1993).
- 6) J. Goodacre, L. Jeffries, J. H. C. Nayler, R. J. Ponsford, I. Stirling, *J. Med. Chem.*, **20**, 1445-1448 (1977).
- 7) A. Dell, D. H. William, H. R. Morris, G. A. Smith, J. Feeney, G. C. K. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 2497-2502 (1975).
- 8) S. Sato, O. Shiratori, K. Katagiri, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **20**, 270-276 (1967).
- 9) C. Bailly, S. Echeperre, F. Gago, M. Waring, *Anti-Cancer Drug Des.*, **14**, 291-303 (1999).
- 10) G. K. Rao, R. B. Kotnal, P. N. S. Pai, *Int. J. Biol. Chem.*, **3**, 71-77 (2009).
- 11) P. Sanna, A. Carta, M. Loriga, S. Zanetti, L. Sechi, *Farmaco*, **53**, 455–461 (1998).
- 12) P. Sanna, A. Carta, M. Loriga, S. Zanetti, L. Sechi, *Farmaco*, **54**, 161–168 (1999).
- 13) P. Sanna, A. Carta, M. Loriga, S. Zanetti, L. Sechi, *Farmaco*, **54**, 169–177 (1999).
- 14) A. Carta, P. Sanna, M. Loriga, M. G. Setzu, P. L. Colla, R. Loddo, *Farmaco*, **57**,



- 19–25 (2002).
- 15) M. A. Shaaban, O. M. Khalil, K. R. Ahmed, P. F. Lamie, *J. Chem. Res.*, 574-578 (2009).
- 16) H. M. Refaat, A. A. Moneer, O. M. Khalil, *Arch. Pharm. Res.*, **27**, 1093–1098 (2004).
- 17) M. M. Ali, M. M. F. Ismail, M. S. A. EL-Gaby, M. A. Zahran, Y. A. Ammer, *Molecules*, **5**, 864–873 (2000).
- 18) T. Fonseca, B. Gigante, M. M. Marques, T. L. Gilchrist, E. D. Clercq, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 103–112 (2004).
- 19) S. Piras, M. Loriga, A. Carta, G. Paglietti, M. P. Costi, S. Ferrai, *J. Heterocycl. Chem.*, **43**, 541-548 (2006).
- 20) S. A. Kotharkar, D. B. Shinde, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 6181–6184 (2006).
- 21) A. Budakoti, A. R. Bhat, F. Athar, A. Azam, *Eur. J. Med. Chem.*, **43**, 1749–1757 (2008).
- 22) A. Y. Ali, M. S. EzzEl-Din, J. A. Hasanen, M. E. Abdel-Fattah, *Ind. J. Chem.*, **42B**, 2835-2845 (2003).
- 23) S. Shibata, H. Inoue, S. Iwata, R. Ma, L. Yu, H. Ueyama, J. Takayasu, T. Hasegawa, H. Tokuda, A. Nishino, H. Nishino, A. Iwashima, *Planta Med.*, **57**, 221-224 (1991).
- 24) K. Okada, Y. Tamura, M. Yamamoto, Y. Inoue, R. Takagaki, K. Takahashi, S. Demizu, K. Kajiyama, Y. Hiraga, T. Kinoshita, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2528-2530 (1989).
- 25) M. Rafi, R. T. Rosen, A. Vassil, C. T. Ho, H. Zhang, G. Ghai, G. Dipaola, *Anticancer Res.*, **20**, 2653-2658 (2000).
- 26) S. B. Christensen, M. Chen, L. Andersen, U. Hjerne, C. E. Olsen, C. Cornett, T. G.

- Theander, A. Kharazmi, *Planta Med.*, **60**, 121-123 (1994).
- 27) M. Chen, S. B. Christensen, T. G. Theander, A. Kharazmi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**, 339-344 (1994).
- 28) M. Chen, T. G. Theander, S. B. Christensen, L. Hviid, L. Zhai, A. Kharazmi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**, 1470-1475 (1994).
- 29) Z. Nowakowska, *Eur. J. Med. Chem.*, **42**, 125-137 (2007).
- 30) S. F. Nielsen, T. Boesen, M. Larsen, K. Schonning, H. Kromann, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 3047-3054 (2004).
- 31) Y. Xia, Z.-Y. Yang, P. Xia, K. F. Bastow, Y. Nakanishi, K.-H. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 699-701 (2000).
- 32) H. Tsuchiya, M. Sato, M. Akagi, T. Tanaka, M. Inuma, *Pharmazie*, **49**, 756-758 (1994).
- 33) J. N. Dominguez, J. E. Charris, G. Lobo, N. G. Dominguez, M. M. Moreno, F. Riggione, E. Sanchez, J. Olson, P. J. Rosenthal, *Eur. J. Med. Chem.*, **36**, 555-560 (2001).
- 34) F. Bois, A. Boumendjel, A. M. Mariotte, G. Conseil, A. D. Petro, *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 2691-2695 (1999).
- 35) N. J. Lawrence, R. P. Patterson, L.-L. Ooi, D. Cook, S. Ducki, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 5844-5848 (2006).
- 36) M. Szajda, B. Kedzia, *Pharmazie*, **44**, 190-191 (1989).
- 37) S. K. Kumar, E. Hager, C. Pettit, H. Gurulingappa, N. E. Davidson, S. R. Khan, *J. Med. Chem.*, **46**, 2813-2815 (2003).
- 38) H.-K. Hsieh, L.-T. Tsao, J.-P. Wang, C.-N. Lin, *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**, 163-170 (2000).

- 39) H. Haraguchi, K. Tanimoto, Y. Tamura, K. Mizutani, T. Kinoshita, *Phytochemistry*, **48**, 125-129 (1998).
- 40) M. Abid, A. Azam, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 2812-2816 (2006).
- 41) Y. M. Al-Hiari, I. S. Al-Mazari, A. K. Shakya, R. M. Darwish, R. Abu-Dahab, *Molecules*, **12**, 1240-1258 (2007).
- 42) Y. M. Al-Hiari, A. M. Qaisi, M. Y. Abu-Shuheil, M. M. El-Absdelah, W. Voelter, *Z. Naturforsch.*, **62b**, 1453-1458 (2008).
- 43) P. D. Ellner, H. C. Neu, *J. Am. Med. Assoc.*, **246**, 1575-1578 (1981).
- 44) V. Pokrovskaya, V. Belakhov, M. Hainrichson, S. Yaron, T. Baasov, *J. Med. Chem.*, **52**, 2243-2254 (2009).
- 45) T. Uchibori, 抗菌・抗カビ技術, CMC Press, Tokyo (2005).

## 第2章 2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導體

### 2-1 はじめに

序論でも述べたが、キノキサリン誘導體は、抗腫瘍活性、抗真菌活性、抗細菌活性、抗ウイルス活性、抗原生動物活性など様々な生物活性が多く報告されているため、キノキサリン環はとても有用な骨格である。また、Nayler らによって、標的酵素との不可逆的結合を容易にすると考えられるプロモアセチル基を導入したジペプチドがより高い抗菌活性を示したことが報告されている。そこで、キノキサリン環とプロモアセチル基を組み合わせた化合物は高い抗菌活性を示す新しい化合物になると考えた。まず、分子設計に関して説明する。キノキサリン環の2位と3位にプロモメチル基を導入すると、図2-1に表すようにプロモメチルイミノ構造が形成され、これはプロモアセチル構造と化学的に等価と見なすことができる。これにより、キノキサリン環に2つのプロモアセチル構造を組み入れることができる。この2,3-ビス(プロモメチル)キノキサリン骨格を基本構造とした。

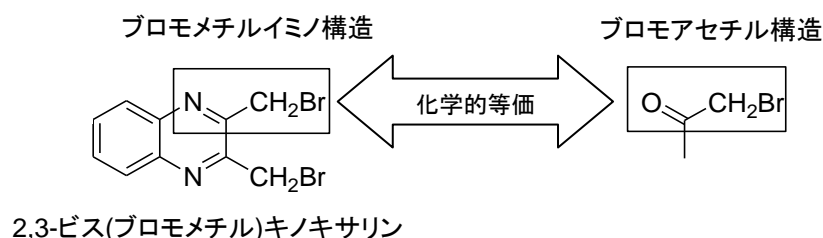


図 2-1. 分子設計

ハロメチル基にはプロモメチル基の他にフルオロメチル、クロロメチルとヨ

ードメチル基が存在し、ハロメチル基はそのハロゲンの種類が変化することで求電子性が変化することが一般的に知られている。そのため、そのハロメチル基の異なる求電子性が標的分子と不可逆的結合する能力を変化させるため、抗菌活性に異なる影響を与えると考えた。

また、導入する置換基により生物活性の強弱が変化することは知られており、この置換基が与える生物活性への影響を調査することは、リード化合物の最適化にとっても重要な知見を与える。そこで、基本構造に導入した置換基が抗菌活性にどのような影響を及ぼすかを調査することにした。

続いて、合成戦略に関して説明する (図 2-2)。市販の 1,2-フェニレンジアミン誘導体 **A** と 1,4-ジブromo-2,3-ブタンジオン **B** を用いた縮合環化により 2,3-ビス(ブromoメチル)キノキサリン誘導体 **C** を合成する。そこから各種のハロゲン交換反応を行ない、2 位と 3 位にフルオロメチル **D**、クロロメチル **E**、ヨードメチル基 **F** をもつキノキサリン誘導体を合成する。

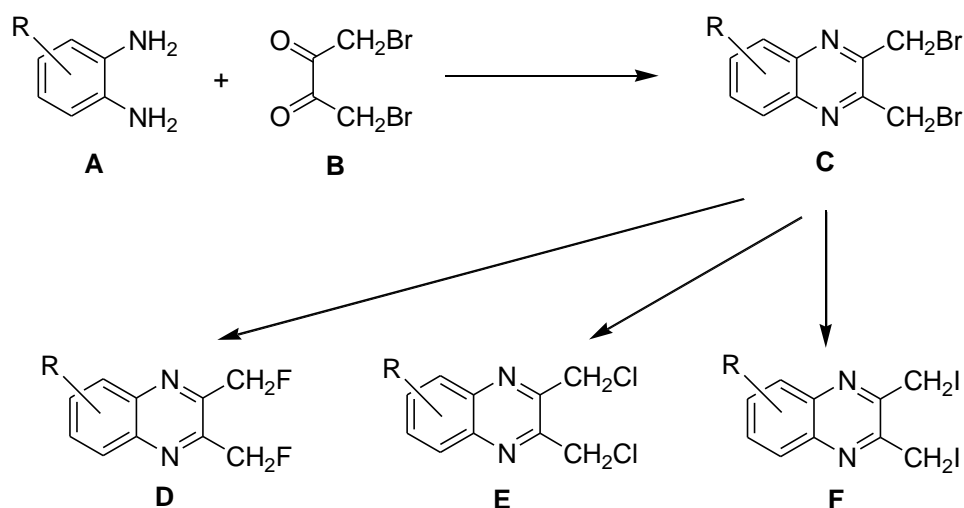


図 2-2. 合成スキーム

本章では、6 位または 7 位に様々な置換基を導入した 2,3-ビス(ハロメチル)キノ

ノキサリン誘導体を合成し（図 2-3）、それらの抗菌活性を評価し、ハロメチル基と置換基が抗菌活性に与える影響について検討を行なった。

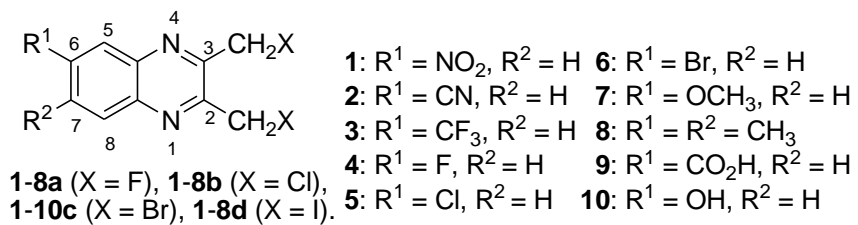
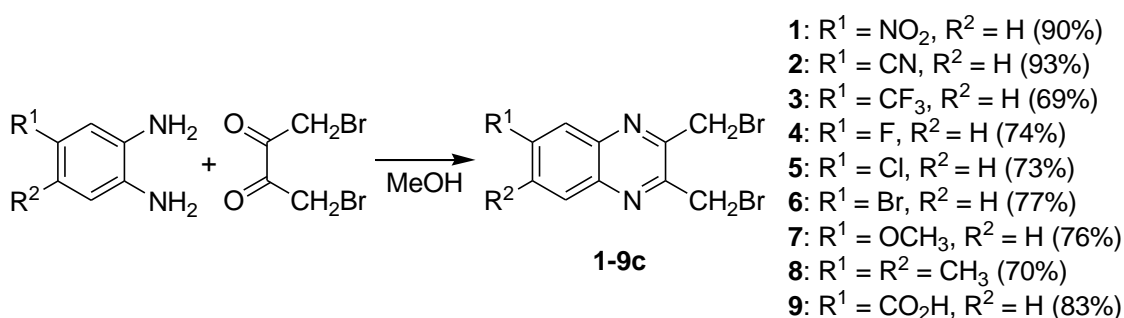


図 2-3. 目的化合物

## 2-2 合成

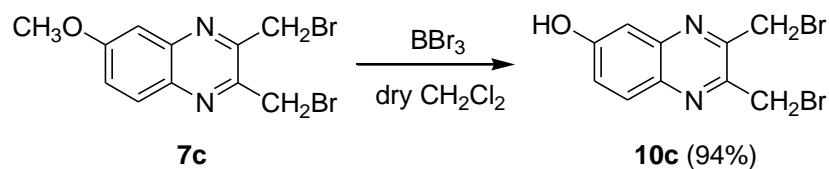
2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体 **1c-9c** は、Carta によって報告される方法<sup>1</sup>によって1,2-フェニレンジアミン誘導体と1,4-ジブロモ-2,3-ブタンジオンの脱水縮合反応によって合成した (Scheme 2-1)。 **1c-9c** が収率 69-93% で得られたことから、1,2-フェニレンジアミン誘導体の4位の置換基の電子特性はこの反応の効率に重大な影響を及ぼさないことがわかった。反応終了後、**1c**、**2c**、**4c-9c** は反応液から析出するが、**3c** は凝固しにくい性質のために析出しなかった。すべての化合物 **1c-9c** は後処理後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。



Scheme 2-1

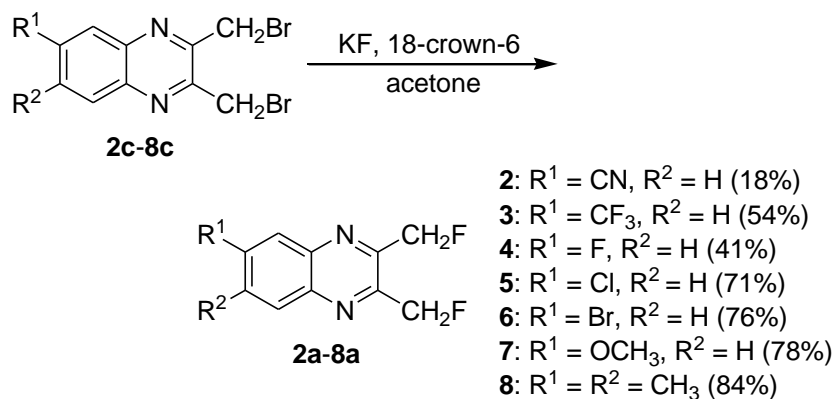
6-ヒドロキシキノキサリン **10c** は、メトキシ体 **7c** を三臭化ホウ素で処理することにより合成した (Scheme 2-2)。この脱メチル化反応は、副反応を起こさず進行し、**10c** を高収率 (94%) で与えた。ジメトキシトルエンやジメトキシイソプロピルベンゼンのようなベンゼン環のメトキシ基の三臭化ホウ素による脱メチル化反応は、室温下で24時間以内に終了すると報告されている<sup>2,3</sup>。しかしながら、**7c** の脱メチル化には室温下で5日間要したことから、キノキサリン環の6位のメトキシ基のC-O結合は、ベンゼン環に結合したものより切断されにくい

ことがわかった。



**Scheme 2-2**

2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体 **2a-8a** は、対応するブロモメチル体 **2c-8c** とフッ化カリウムを 18-クラウン-6-エーテル存在下で反応させて、収率 18–84% で得た (Scheme 2-3) <sup>4</sup>。このフッ素化反応においては、反応基質として強い電子求引基を有するキノキサリン誘導体 **2c-4c** を用いた場合は多くの副生成物が生じたため、目的化合物は低収率であった。特に、**1c** (6-NO<sub>2</sub>) のフッ素化は複雑な混合物を与え、**1a** を単離できなかった。

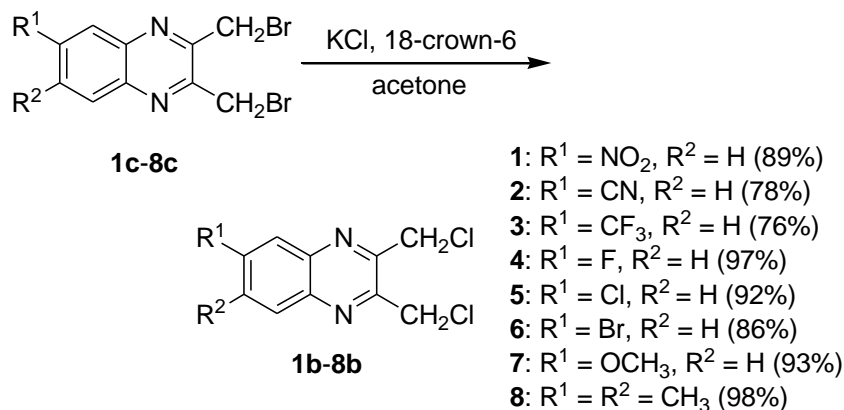


**Scheme 2-3**

**1c-8c** と塩化カリウムの反応により、2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン誘導体 **1b-8b** を高い収率で得た (Scheme 2-4) <sup>5,6</sup>。強い電子求引基を 6 位に持つ化合

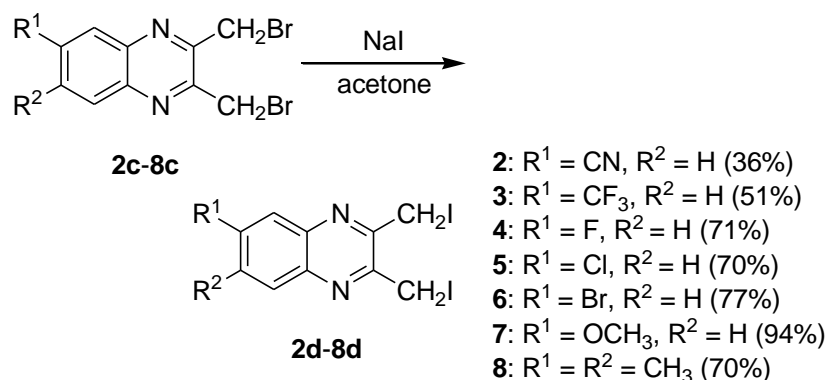


物のフッ素化反応では深刻な副反応が生じたが、この塩素化反応ではそのような副反応は生じなかった。また、TLC による分析では目的化合物 **1b-8b** と出発物質 **1c-8c** の  $R_f$  値がほぼ同じであったことから、反応追跡には HPLC を用いた。



**Scheme 2-4**

2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン誘導体 **2d-8d** は Finkelstein 反応によって **2c-8c** から合成し、収率 36-94% で得た (Scheme 2-5) <sup>7</sup>。この反応も塩素化と同様に HPLC で追跡した。フッ素化反応と同様に、強い電子求引基をもつ **2d** (6-CN) と **3d** (6- $\text{CF}_3$ ) の反応は多くの副反応を伴い、目的化合物を低収率で与えた。そして、6-位にニトロ基がある **1c** のヨウ素化はまったく **1d** を与えなかった。



**Scheme 2-5**

## 2-3 抗細菌活性

合成した 2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体 (**2a-8a**, **1b-8b**, **1c-10c**, **2d-8d**) の抗細菌活性を表 2-1 にまとめた。

グラム陽性菌 (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) に対する抗菌活性に注目すると、4 種類の 2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン誘導体 (**1b-3b**, **7b**)、5 種類の 2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン誘導体 (**2d**, **4d-7d**) と 8 種類の 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体 (**1c-8c**) がグラム陽性菌に対して抗菌活性を示したが、すべての 2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体 (**2a-8a**) は全く活性を示さなかった。それらの中で、2,3-ビス(クロロメチル)-6-ニトロキノキサリン **1b** が最も高い活性を示し、次いで 2,3-ビス(ヨードメチル)-6-シアノキノキサリン **2d** が高い活性を示した。キノキサリン誘導体の活性と置換基の関係を見ると、ハロメチル基の求電子性が抗菌活性に重要な影響を与えることが示唆される。つまり、他のハロメチル基と比べてフルオロメチル基の最も低い求電子性が 2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体 (**2a-8a**) の不活性の直接的な原因であると解釈できる。

ハロメチル基のハロゲンの種類と活性の関係を 6-シアノ誘導体 (**2b**, **2c**, **2d**) および 6-クロロ誘導体 (**5b**, **5c**, **5d**) において比較すると、 $-\text{CH}_2\text{I} > -\text{CH}_2\text{Br} > -\text{CH}_2\text{Cl}$  の順に高い活性を示した。類似の傾向 ( $-\text{CH}_2\text{I} \approx -\text{CH}_2\text{Br} > -\text{CH}_2\text{Cl}$ ) は 6-フルオロ誘導体 (**4b**, **4c**, **4d**) と 6-ブロモ誘導体 (**6b**, **6c**, **6d**)、6-メトキシ誘導体 (**7b**, **7c**, **7d**) を含む化合物で観測できた。これらの場合、最も高い求電子性のハロメチル基を有する化合物が最も高い活性を示した。対照的に、6-(トリフルオロメチル)キノキサリン誘導体の活性は **3c** ( $-\text{CH}_2\text{Br}$ )  $>$  **3b** ( $-\text{CH}_2\text{Cl}$ ) の順で、ヨードメチル体 (**3d**) が不活性であった。これらの結果は先ほどの化合物の場合と同様に高め

られた求電子性に起因すると思われる、この場合では **3d** のヨードメチル基の求電子性が先ほどの化合物のハロメチル基より過剰になっていたと考えられる。つまり、**3d** が抗菌活性を出す前に MIC 分析状況下で分解してしまうほど、**3d** の 6 位に存在する電子求引基のトリフルオロメチル基がヨードメチル基の求電子性を増加させたと思われる。電子求引基と活性の間に見られる類似の相関は 6-ニトロ誘導体 (**1b**, **1c**) でも観測され、ブロモメチル基より求電子性が低いクロロメチル基をもつときが最も活性が高かった。6-トリフルオロメチル誘導体の場合と同様に、6 位のニトロ基の強い電子求引性がハロメチル基の求電子性を増加させ、**1b** のクロロメチル基には十分な求電子性、**1c** のブロモメチル基には不安定性をもたらしたことが考えられる。電子求引基によって誘発されるハロメチル基の不安定化の概念は、2,3-ビス(ブロモメチル)-6-ニトロキノキサリン **1c** のヨウ素化反応が目的のヨードメチル体 **1d** の代わりに副生成物の複雑な混合物を与えたという事実からも支持されると思われる。

以上から、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体の抗細菌活性はそのハロメチル基の求電子性に依存していることから、ハロメチル基が反応し不可逆的結合を形成しやすいことにも依存していると考えられる。ゆえに、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体がある標的分子と不可逆的結合を形成することで、抗細菌活性を発現していると思われる。

親水性置換基であるカルボキシ基をもつ **9c** とヒドロキシ基をもつ **10c** は全く活性を示さなかった。一般的に化合物の親油性が細胞膜透過に重要な役割をすることから<sup>8</sup>、**9c** と **10c** の細胞膜透過が親水性置換基によって阻害されたと考えられ、導入する置換基には適度な親油性が必要であると思われる。

すべての化合物はグラム陰性菌 (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*) に対して不活性だったことから、2,3-ビス(ハロメチル)キノ

キサリン骨格はグラム陰性菌特有の外膜を透過する能力がないと考えられる。

表 2-1. 抗細菌活性の結果

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	MIC (μg/mL)				
				Gram-positive		Gram-negative		
				B. s. <sup>a</sup>	S. a. <sup>b</sup>	E. c. <sup>c</sup>	P. a. <sup>d</sup>	S. m. <sup>e</sup>
<b>1b</b>	NO <sub>2</sub>	H	Cl	<b>0.4</b>	<b>6.3</b>	>100	>100	>100
<b>1c</b>	NO <sub>2</sub>	H	Br	<b>25</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>2a</b>	CN	H	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>2b</b>	CN	H	Cl	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100
<b>2c</b>	CN	H	Br	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
<b>2d</b>	CN	H	I	<b>6.3</b>	<b>6.3</b>	>100	>100	>100
<b>3a</b>	CF <sub>3</sub>	H	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>3b</b>	CF <sub>3</sub>	H	Cl	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
<b>3c</b>	CF <sub>3</sub>	H	Br	<b>12.5</b>	<b>12.5</b>	>100	>100	>100
<b>3d</b>	CF <sub>3</sub>	H	I	>100	>100	>100	>100	>100
<b>4a</b>	F	H	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>4b</b>	F	H	Cl	>100	>100	>100	>100	>100
<b>4c</b>	F	H	Br	<b>25</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>4d</b>	F	H	I	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
<b>5a</b>	Cl	H	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>5b</b>	Cl	H	Cl	>100	>100	>100	>100	>100
<b>5c</b>	Cl	H	Br	<b>50</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>5d</b>	Cl	H	I	<b>12.5</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
<b>6a</b>	Br	H	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>6b</b>	Br	H	Cl	>100	>100	>100	>100	>100
<b>6c</b>	Br	H	Br	<b>25</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>6d</b>	Br	H	I	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100
<b>7a</b>	OCH <sub>3</sub>	H	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>7b</b>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	<b>100</b>	<b>100</b>	>100	>100	>100
<b>7c</b>	OCH <sub>3</sub>	H	Br	<b>25</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>7d</b>	OCH <sub>3</sub>	H	I	<b>25</b>	<b>100</b>	>100	>100	>100
<b>8a</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	F	>100	>100	>100	>100	>100
<b>8b</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl	>100	>100	>100	>100	>100
<b>8c</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Br	<b>50</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>8d</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	I	>100	>100	>100	>100	>100
<b>9c</b>	CO <sub>2</sub> H	H	Br	>100	>100	>100	>100	>100
<b>10c</b>	OH	H	Br	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Bacillus subtilis*. <sup>b</sup>*Staphylococcus aureus*. <sup>c</sup>*Escherichia coli*.

<sup>d</sup>*Pseudomonas aeruginosa*. <sup>e</sup>*Serratia marcescens*.

## 2-4 抗真菌活性

2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体 (**2a-8a**, **1b-8b**, **1c-10c**, **2d-8d**) の真菌に対する MIC 値を表 2-2 にまとめた。5 種類の 2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン誘導体 (**1b-4b**, **7b**)、4 種類の 2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン誘導体 (**2d**, **4d**, **5d**, **7d**) と 7 種類の 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体 (**1c-7c**) が抗真菌活性を示した。一方、2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体 (**2a-8a**) はすべて不活性であった。これらの結果は、抗細菌活性と同様に、より高い求電子性のハロメチル基をもつキノキサリン誘導体が抗真菌活性を示す傾向があることを表している。

6 位の置換基と活性の関係を詳しく見てみると、6 位に電子求引基をもつ化合物は高い活性を示し、中でも **1b** (6-NO<sub>2</sub>)、**2b** (6-CN)、**2d** (6-CN)、**4d** (6-Cl) が *Aspergillus niger* や *Cladosporium cladosporioides*、*Mucor sprinescens* などに対して最も高い活性 (MIC = 12.5 µg/mL) を示した。対照的に、電子供与基であるメチル基を 6 位と 7 位にもつ化合物 (**8a**, **8b**, **8c**, **8d**) は全く活性を示さず、比較的強い電子供与基の 6-OCH<sub>3</sub> 体では **7b** と **7c** が弱い活性を示した。

2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン誘導体 (**1b-8b**) では、**1b** (6-NO<sub>2</sub>) が最も広い抗真菌スペクトルを示し、次に **3b** (6-CF<sub>3</sub>)、**2b** (6-CN)、**4b** (6-F) の順であった。これは、6 位の置換基の電子求引性が強くなればなるほどクロロメチル基の求電子性が増加し、その結果、抗真菌スペクトルも広くなることを示唆している。

ブロモメチル基 (**1c-8c**) とヨードメチル基 (**2d-8d**) をもつキノキサリン誘導体に関しては、強い電子求引基 (6-CN) を持つ **2c** と **2d** が最も広範囲に高い活性を示し、次いで **4c** と **4d** (6-F) が広範囲に高い活性を示した。強い電子求引

基のトリフルオロメチル基をもつ **3d** は、細菌への効果と類似して真菌に対しても不活性であった。この結果は強い電子求引基によって誘発されるハロメチル基の不安定化の概念を補強し、**3d** は抗真菌活性を出す前に分解に至ったと考えられる。**1c** (6-NO<sub>2</sub>) と **3c** (6-CF<sub>3</sub>) の中程度の活性も、ブロモメチル基の類似した不安定化に起因すると考えられる。

以上から、抗細菌活性と同様に 2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体の抗真菌活性もハロメチル基の求電子性に依存していた。ゆえに、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体の真菌に対する活性発現も、ある標的分子と不可逆的結合を形成することによるものと思われる。

一方、親水性置換基をもつ **9c** と **10c** は抗細菌活性と類似して真菌に対しても不活性であった。これは親水性置換基によって細胞膜透過が阻害されたためと考えられる。

表 2-2. 抗真菌活性の結果

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	X	MIC (μg/mL)								
				Mold							Yeast	
				A. n. <sup>a</sup>	P. c. <sup>b</sup>	C. c. <sup>c</sup>	A. p. <sup>d</sup>	A. s. <sup>e</sup>	M. s. <sup>f</sup>	G. v. <sup>g</sup>	R. r. <sup>h</sup>	S. c. <sup>i</sup>
<b>1b</b>	NO <sub>2</sub>	H	Cl	<b>12.5</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>50</b>
<b>1c</b>	NO <sub>2</sub>	H	Br	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	>100	<b>50</b>
<b>2a</b>	CN	H	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>2b</b>	CN	H	Cl	<b>25</b>	>100	<b>12.5</b>	<b>50</b>	>100	<b>12.5</b>	>100	<b>100</b>	>100
<b>2c</b>	CN	H	Br	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	<b>100</b>	<b>50</b>
<b>2d</b>	CN	H	I	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>12.5</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	>100	>100	<b>25</b>
<b>3a</b>	CF <sub>3</sub>	H	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>3b</b>	CF <sub>3</sub>	H	Cl	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	>100	<b>25</b>	>100	>100	<b>100</b>
<b>3c</b>	CF <sub>3</sub>	H	Br	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>25</b>	>100	<b>100</b>	<b>50</b>
<b>3d</b>	CF <sub>3</sub>	H	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>4a</b>	F	H	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>4b</b>	F	H	Cl	<b>100</b>	>100	<b>25</b>	100	>100	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>4c</b>	F	H	Br	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>50</b>
<b>4d</b>	F	H	I	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>25</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>25</b>	>100	>100	<b>25</b>
<b>5a</b>	Cl	H	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>5b</b>	Cl	H	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>5c</b>	Cl	H	Br	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>25</b>	>100	>100	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>5d</b>	Cl	H	I	>100	>100	<b>12.5</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>6a</b>	Br	H	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>6b</b>	Br	H	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>6c</b>	Br	H	Br	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	>100	>100	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>6d</b>	Br	H	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>7a</b>	OCH <sub>3</sub>	H	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>7b</b>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	>100	>100	<b>50</b>	>100	>100	<b>50</b>	>100	>100	>100
<b>7c</b>	OCH <sub>3</sub>	H	Br	<b>50</b>	>100	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	>100	>100	<b>100</b>
<b>7d</b>	OCH <sub>3</sub>	H	I	>100	>100	>100	>100	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100
<b>8a</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>8b</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>8c</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>8d</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>9c</b>	CO <sub>2</sub> H	H	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>10c</b>	OH	H	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Aspergillus niger*. <sup>b</sup>*Penicillium citrinum*. <sup>c</sup>*Cladosporium cladosporioides*. <sup>d</sup>*Aureobasidium pullulans*.

<sup>e</sup>*Alternaria sp.* <sup>f</sup>*Mucor spinescens*. <sup>g</sup>*Gliocladium virens*. <sup>h</sup>*Rhodotorula rubra*. <sup>i</sup>*Saccharomyces cerevisiae*.



## 2-5 まとめ

2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体は 1,2-フェニレンジアミン誘導体と 1,4-ジブロモ-2,3-ブタンジオンの縮合反応から合成した。さらに、フルオロメチル、クロロメチル、ヨードメチル基をもつキノキサリン誘導体を 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体とハロゲン金属塩 (KF, KCl, NaI) との反応で合成したところ、クロロメチル、ブロモメチルおよびヨードメチル基をもつキノキサリンの抗菌活性は、6位の置換基に依存した。一方、すべての 2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体は不活性だった。すなわち、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体の抗菌活性が主にハロメチル基の求電子性に依存し、それは6位の置換基の電子特性に影響されることを明らかにした。それらの中で、2位と3位にクロロメチル基と6位にニトロ基を有するキノキサリンがグラム陽性菌に対して最も高い活性を示し、2位と3位にヨードメチル基と6位にシアノ基を導入したキノキサリンが最も多くの菌に対して高い活性を示した。ハロメチル基のハロゲンの種類と活性の関係においては、6位に中程度の電子求引基が導入された場合、抗菌活性の強度は  $-\text{CH}_2\text{I} \geq -\text{CH}_2\text{Br} > -\text{CH}_2\text{Cl}$  の順で、ほぼハロメチル基の求電子性が減少する順になった。対照的に、6位に強い電子求引基 ( $\text{CF}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ) の導入はヨードメチル基の不安定化を誘発し、低い抗菌活性をもたらした。一方、グラム陰性菌に効果を示すキノキサリン誘導体はなかった。

## 2-6 実験項

### 一般項

すべての試薬と溶媒は和光純薬工業、東京化成工業、シグマ-アルドリッチ社製で、更なる精製なしに使用した。カラムクロマトグラフィーはシリカゲル (関

東化学社製、Silica Gel 60N、粒径 63-210  $\mu\text{m}$ ) を用いて行なった。TLC はメルク社製の Silica Gel 60 F<sub>254</sub> を使用した。融点は SMP3 融点装置で測定し、測定値は未補正である。<sup>1</sup>H と <sup>13</sup>C NMR スペクトルは JEOL JNM-LA400D と JNM-ECA-500 で測定し、溶媒として DMSO-*d*<sub>6</sub> と CDCl<sub>3</sub> を使用した。化学シフト ( $\delta$ ) は ppm として記載し、<sup>1</sup>H NMR にはテトラメチルシラン (TMS, 0.00 ppm) を、<sup>13</sup>C NMR には CDCl<sub>3</sub> (77.16 ppm) と DMSO-*d*<sub>6</sub> (39.52 ppm) の中点を内部標準として使用した。IR スペクトルは JASCO FT/IR-470 で測定した。元素分析は Perkin Elmer 2400 analyzer series II と EURO EA 3000 Series で行なった。

#### 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体の合成 (**1c-9c**)

1,2-フェニレンジアミン誘導体 (7.0 mmol) と 1,4-ジブロモ-2,3-ブタンジオン (7.0 mmol) のメタノール溶液 (10 mL) を 2 時間加熱還流した。室温まで冷却後、**1c**, **2c**, **4c-9c** の沈殿物は吸引ろ過で回収した。**3c** の場合は溶媒を留去した。得られた粗生成物はシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製した。

#### 2,3-ビス(ブロモメチル)-6-ニトロキノキサリン **1c**

Pale yellow solids, yield: 90%, mp: 113-115 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.93 (2H, s), 4.95 (2H, s), 8.23 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 8.57 (1H, dd,  $J = 2.4$  and 9.3 Hz), 8.98 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 29.8 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH<sub>2</sub>), 124.4 (CH), 125.5 (CH), 130.9 (CH), 140.5 (C), 143.9 (C), 148.5 (C), 153.5 (C), 154.3 (C). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3084, 3036, 2980, 1536, 1364, 1330, 891, 851, 586. Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>: C, 33.27; H, 1.95; N, 11.64. Found: C, 33.41; H, 2.10; N, 11.69.

#### 2,3-ビス(ブロモメチル)-6-シアノキノキサリン **2c**

White powders, yield: 93%, mp: 157-159 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.91 (2H,

s), 4.93 (2H, s), 7.95 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 8.8 Hz), 8.18 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.45 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 29.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.9 ( $\text{CH}_2$ ), 114.4 (C), 117.7 (CN), 130.8 (CH), 131.7 (CH), 135.0 (CH), 140.7 (C), 142.9 (C), 153.2 (C), 153.9 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3022, 2976, 2228, 1359, 912, 805, 509. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_3\text{Br}_2$ : C, 38.74; H, 2.07; N, 12.32. Found: C, 38.79; H, 2.10; N, 12.21.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(トリフルオロメチル)キノキサリン **3c**

Brown solids, yield: 69%, mp: 59-61 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.93 (2H, s), 4.94 (2H, s), 7.97 (1H, dd,  $J = 1.8$  and 8.8 Hz), 8.20 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.40 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30.7 ( $\text{CH}_2$ ), 123.5 (q,  $J_{\text{CF}} = 274$  Hz,  $\text{CF}_3$ ), 126.7 (d,  $J_{\text{CF}} = 3.6$  Hz, CH), 127.2 (d,  $J_{\text{CF}} = 4.8$  Hz, CH), 130.5 (CH), 132.7 (q,  $J_{\text{CF}} = 34$  Hz, C), 140.7 (C), 142.7 (C), 152.6 (C), 153.2 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3040, 2979, 1339, 1281, 906, 819, 668. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_2\text{F}_3\text{Br}_2 \cdot 0.1 \text{H}_2\text{O}$ : C, 34.25; H, 1.88; N, 7.26. Found: C, 33.95; H, 1.77; N, 7.10.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-フルオロキノキサリン **4c**

White powders, yield: 74%, mp: 142-143 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.90 (2H, s), 4.91 (2H, s), 7.56-7.61 (1H, m), 7.68-7.71 (1H, m), 8.06-8.10 ppm (1H, m).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30.3 ( $\text{CH}_2$ ), 30.4 ( $\text{CH}_2$ ), 112.8 (d,  $J_{\text{CF}} = 22$  Hz, CH), 121.5 (d,  $J_{\text{CF}} = 26$  Hz, CH), 130.3 (d,  $J_{\text{CF}} = 10$  Hz, CH), 138.9 (C), 142.6 (d,  $J_{\text{CF}} = 15$  Hz, C), 150.3 (C), 151.9 (C), 163.5 (d,  $J_{\text{CF}} = 254$  Hz, C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3025, 2973, 1330, 1225, 891, 802, 638. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{FBr}_2$ : C, 35.96; H, 2.11; N, 8.39. Found: C, 36.12; H, 2.09; N, 8.30.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-クロロキノキサリン **5c**

White powders, yield: 73%, mp: 149-151 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.89 (2H, s), 4.90 (2H, s), 7.74 (1H, dd,  $J = 2.3$  and 9.0 Hz), 8.01 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.07 (1H, d,

$J = 2.3$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30.3 ( $\text{CH}_2$ ), 30.4 ( $\text{CH}_2$ ), 128.1 (CH), 130.4 (CH), 132.1 (CH), 137.0 (C), 140.8 (C), 141.9 (C), 151.2 (C), 152.0 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3029, 2972, 1358, 879, 836, 626, 547. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{ClBr}_2$ : C, 34.27; H, 2.07; N, 7.99. Found: C, 34.41; H, 1.93; N, 7.96.

6-ブロモ-2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン **6c**

White powders, yield: 77%, mp: 142-144 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.89 (2H, s), 4.90 (2H, s), 7.87 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 9.0 Hz), 7.94 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.25 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30.3 ( $\text{CH}_2$ ), 30.4 ( $\text{CH}_2$ ), 125.2 (C), 130.4 (CH), 131.5 (CH), 134.6 (CH), 140.4 (C), 142.2 (C), 151.3 (C), 152.0 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3076, 3028, 2972, 1356, 880, 833, 569. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_2\text{Br}_3 \cdot 0.4 \text{H}_2\text{O}$ : C, 29.87; H, 1.96; N, 6.97. Found: C, 29.73; H, 1.65; N, 6.90.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-メトキシキノキサリン **7c**

White powders, yield: 76%, mp: 133-134 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.97 (3H, s), 4.88 (2H, s), 4.89 (2H, s), 7.35 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 7.44 (1H, dd,  $J = 2.7$  and 9.3 Hz), 7.94 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30.6 ( $\text{CH}_2$ ), 30.9 ( $\text{CH}_2$ ), 56.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 106.3 (CH), 124.6 (CH), 130.1 (CH), 137.9 (C), 143.5 (C), 148.1 (C), 151.0 (C), 161.7 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3017, 2962, 1358, 1238, 1019, 906, 835, 514. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OBr}_2$ : C, 38.18; H, 2.91; N, 8.10. Found: C, 38.28; H, 2.64; N, 8.03.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6,7-ジメチルキノキサリン **8c**

White powders, yield: 70%, mp: 147 °C (decomp.).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.50 (6H, s), 4.90 (4H, s), 7.81 (2H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 20.6 ( $\text{CH}_3$ ), 30.9 ( $\text{CH}_2$ ), 128.1 (CH), 140.7 (C), 141.9 (C), 149.9 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3022, 2970, 2922, 1361, 861, 534. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Br}_2$ : C, 41.89; H, 3.52; N, 8.14. Found: C, 41.66; H, 3.59; N, 7.94.

### 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン-6-カルボン酸 **9c**

White powders, yield: 83%, mp: 170 °C (decomp.).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 5.06 (4H, s), 8.20 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.34 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.8 Hz), 8.58 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 30.0 (CH<sub>2</sub>), 129.1 (CH), 130.3 (CH), 130.4 (CH), 133.0 (C), 140.1 (C), 142.6 (C), 152.2 (C), 153.0 (C), 166.3 (C=O). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3312, 3035, 2981, 1692, 1314, 1276, 910, 826, 635. Anal. Calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>: C, 36.72; H, 2.24; N, 7.78. Found: C, 36.92; H, 2.06; N, 7.65.

### 2,3-ビス(ブロモメチル)-6-ヒドロキシキノキサリン (**10c**) の合成

**7c** (39.8 mg/mL, 0.910 mmol) の乾燥ジクロロメタン溶液 (10 mL) に 1M BBr<sub>3</sub> ジクロロメタン溶液 (6 mL) をアルゴン雰囲気下 -30 °C で加え、室温で 5 日間攪拌した。反応終了後メタノール (30 mL) を加え、溶媒を留去し、残渣をクロロホルム (50 mL) に溶解させた。有機相を水 (50 mL × 3) で洗浄し、乾燥後、脱溶媒し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/アセトン/エタノール (100/10/4 v/v/v)) で精製した。

Pale yellow powders, yield: 94%, mp: 140 °C (decomp.).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.87 (2H, s), 4.88 (2H, s), 7.34 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 7.41 (1H, dd,  $J = 2.5$  and 9.2 Hz), 7.98 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 31.4 (CH<sub>2</sub>), 31.7 (CH<sub>2</sub>), 108.9 (CH), 124.2 (CH), 129.9 (CH), 136.2 (C), 142.8 (C), 147.1 (C), 150.8 (C), 160.0 (C). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3136, 3024, 2968, 1423, 1337, 1224, 908, 834, 643. Anal. Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>OBr<sub>2</sub>·0.1 H<sub>2</sub>O: C, 35.98; H, 2.48; N, 8.39. Found: C, 36.25; H, 2.45; N, 8.08.

### 2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体 (**2a-8a**) の合成

**2c-8c** (1.0 mmol)、KF (10.0 mmol)、18-クラウン-6-エーテル (4.0 mmol) とアセトン (10 mL) の混合物をアルゴン雰囲気下 8 時間加熱還流した。溶媒を留

去し、残渣をクロロホルム (50 mL) に溶解させた。有機相を水 (50 mL × 3) で洗浄し、乾燥後、脱溶媒し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/アセトン/エタノール (200/5/1 v/v/v)) で精製した。

2,3-ビス(フルオロメチル)-6-シアノキノキサリン **2a**

White powders, yield: 18%, mp: 157–159 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.83 and 5.84 (4H, two d,  $J = 47$  Hz), 7.98 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 8.5 Hz), 8.25 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 8.52 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 83.5 (d,  $J_{\text{CF}} = 169$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 83.6 (d,  $J_{\text{CF}} = 169$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 114.7 (CN), 117.7 (C), 131.0 (CH), 131.8 (CH), 135.3 (CH), 140.4 (C), 142.7 (C), 151.4 (d,  $J_{\text{CF}} = 19$  Hz, C), 152.2 (d,  $J_{\text{CF}} = 19$  Hz, C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3082, 2976, 2235, 1615, 1560, 1493, 1323, 1037, 899, 846. Anal. Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_3\text{F}_2$ : C, 60.28; H, 3.22; N, 19.17. Found: C, 60.57; H, 3.44; N, 18.87.

2,3-ビス(フルオロメチル)-6-(トリフルオロメチル)キノキサリン **3a**

Brown oil, yield: 54%.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.84 and 5.85 (4H, two d,  $J = 46$  Hz), 8.01 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 8.27 (1H, dd,  $J = 2.7$  and 9.2 Hz), 8.47 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 83.5 (d,  $J_{\text{CF}} = 169$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 123.5 (q,  $J_{\text{CF}} = 274$  Hz,  $\text{CF}_3$ ), 126.8 (q,  $J_{\text{CF}} = 2.4$  Hz, CH), 127.4 (q,  $J_{\text{CF}} = 3.6$  Hz, CH), 130.8 (CH), 132.7 (q,  $J_{\text{CF}} = 32$  Hz, C), 140.4 (C), 142.4 (C), 150.8 (d,  $J_{\text{CF}} = 19$  Hz, C), 151.6 (d,  $J_{\text{CF}} = 18$  Hz, C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3023, 2964, 1573, 1449, 1316, 1196, 1022, 906, 844. Anal. Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_2\text{F}_5 \cdot 0.8 \text{H}_2\text{O}$ : C, 47.77; H, 3.13; N, 10.13. Found: C, 47.52; H, 3.08; N, 10.36.

6-フルオロ-2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン **4a**

White solids, yield: 41%, mp: 121–123 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.80 and 5.81 (4H, two d,  $J = 47$  Hz), 7.62 (1H, dt,  $J = 2.5$  and 9.0 Hz), 7.77 (1H, dd,  $J = 2.5$  and 8.8 Hz), 8.15 (1H, dd,  $J = 6.0$  and 9.1 Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 83.6 (d,  $J_{\text{CF}}$

= 169 Hz, CH<sub>2</sub>), 83.7 (d,  $J_{CF}$  = 169 Hz, CH<sub>2</sub>), 113.0 (d,  $J_{CF}$  = 22 Hz, CH), 121.6 (d,  $J_{CF}$  = 25 Hz, CH), 131.6 (d,  $J_{CF}$  = 11 Hz, CH), 138.7 (C), 142.3 (d,  $J_{CF}$  = 13 Hz, C), 148.8 (d,  $J_{CF}$  = 19 Hz, C), 150.3 (d,  $J_{CF}$  = 19 Hz, C), 163.5 (d,  $J_{CF}$  = 254 Hz, C). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3054, 2977, 1622, 1570, 1493, 1331, 1210, 1146, 880, 821. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>·0.2 H<sub>2</sub>O: C, 55.66; H, 3.46; N, 12.98. Found: C, 55.56; H, 3.32; N, 12.88.

6-クロロ-2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン **5a**

White powders, yield: 71%, mp: 100–101 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.81 and 5.82 (4H, two d,  $J$  = 47 Hz), 7.77 (1H, dd,  $J$  = 2.0 and 9.0 Hz), 8.08 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz), 8.14 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 83.7 (d,  $J_{CF}$  = 169 Hz, CH<sub>2</sub>), 128.3 (CH), 130.6 (CH), 132.2 (CH), 137.1 (C), 140.0 (C), 141.7 (C), 149.5 (d,  $J_{CF}$  = 19 Hz, C), 150.4 (d,  $J_{CF}$  = 19 Hz, C). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3050, 2975, 1605, 1562, 1465, 1322, 1146, 884, 827, 739. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>Cl·0.3 H<sub>2</sub>O: C, 51.32; H, 3.27; N, 11.97. Found: C, 51.12; H, 3.10; N, 12.21.

6-ブロモ-2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン **6a**

White powders, yield: 76%, mp: 94–95 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.81 and 5.82 (4H, d,  $J$  = 47 Hz), 7.91 (1H, dd,  $J$  = 2.2 and 9.0 Hz), 8.01 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz), 8.33 (1H, d,  $J$  = 2.2 Hz). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 83.7 (d,  $J_{CF}$  = 169 Hz, CH<sub>2</sub>), 125.3 (C), 130.7 (CH), 131.7 (CH), 134.7 (CH), 140.2 (C), 141.9 (C), 149.7 (d,  $J_{CF}$  = 19 Hz, C), 150.3 (d,  $J_{CF}$  = 19 Hz, C). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3075, 2977, 1598, 1560, 1455, 1319, 1146, 880, 821, 583. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>Br·0.4 H<sub>2</sub>O: C, 42.85; H, 2.80; N, 9.99. Found: C, 42.76; H, 2.91; N, 10.16.

2,3-ビス(フルオロメチル)-6-メトキシキノキサリン **7a**

Pale yellow powders, yield: 78%, mp: 103–104 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.99 (3H, s), 5.80 and 5.81 (4H, two d,  $J$  = 48 Hz), 7.41 (1H, d,  $J$  = 2.7 Hz), 7.47 (1H, dd,  $J$  =

2.7 and 9.2 Hz), 8.00 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 56.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 83.5 (d,  $J_{\text{CF}} = 169$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 83.6 (d,  $J_{\text{CF}} = 169$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 106.5 (CH), 124.6 (CH), 130.3 (CH), 137.7 (C), 143.4 (C), 146.4 (d,  $J_{\text{CF}} = 19$  Hz, C), 149.4 (d,  $J_{\text{CF}} = 19$  Hz, C), 161.8 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3016, 2973, 1620, 1498, 1335, 1242, 1146, 1020, 839, 797. Anal. Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OF}_2 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$ : C, 56.65; H, 4.75; N, 12.01. Found: C, 56.85; H, 4.48; N, 11.89.

#### 2,3-ビス(フルオロメチル)-6,7-ジメチルキノキサリン **8a**

White powders, yield: 84%, mp: 130–131 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.52 (6H, s), 5.79 (4H, d,  $J = 47$  Hz), 7.88 (2H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 20.6 ( $\text{CH}_3$ ), 83.9 (d,  $J_{\text{CF}} = 168$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 128.4 (CH), 140.5 (C), 142.0 (C), 148.3 (d,  $J_{\text{CF}} = 19$  Hz, C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3000, 2926, 1625, 1559, 1456, 1361, 1205, 1017, 874. Anal. Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{F}_2$ : C, 64.85; H, 5.44; N, 12.61. Found: C, 64.83; H, 5.50; N, 12.49.

#### 2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン誘導体 (**1b-8b**) の合成

**1c-8c** (1.0 mmol)、KCl (10.0 mmol)、18-クラウン-6-エーテル (4.0 mmol) とアセトン (15 mL) の混合物をアルゴン雰囲気下 16 時間加熱還流した。溶媒を留去し、残渣をクロロホルム (40 mL) に溶解させた。有機相を水 (50 mL  $\times$  3) で洗浄し、乾燥後、脱溶媒し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製した。

#### 2,3-ビス(クロロメチル)-6-ニトロキノキサリン **1b**

White powders, yield: 89%, mp: 97–99 °C (decomp.).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.08 (4H, s), 8.26 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.58 (1H, dd,  $J = 2.4$  and 9.0 Hz), 9.01 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 43.8 ( $\text{CH}_2$ ), 124.4 (CH), 125.5 (CH), 131.0 (CH), 140.5 (C), 143.9 (C), 148.6 (C), 153.0 (C), 153.8 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3027, 2977,



1618, 1526, 1482, 1347, 915, 849, 730. Anal. Calcd for  $C_{10}H_7N_3O_2Cl_2 \cdot 0.7 H_2O$ : C, 42.19; H, 2.79; N, 14.76. Found: C, 42.01; H, 3.02; N, 14.88.

2,3-ビス(クロロメチル)-6-シアノキノキサリン **2b**

White powders, yield: 78%, mp: 162–164 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.05 (4H, s), 7.97 (1H, dd,  $J = 1.3$  and 8.8 Hz), 8.21 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.48 (1H, d,  $J = 1.3$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 43.9 ( $CH_2$ ), 114.6 (CN), 117.8 (C), 130.9 (CH), 131.8 (CH), 135.1 (CH), 140.6 (C), 142.9 (C), 152.8 (C), 153.4 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3002, 2978, 2230, 1568, 1489, 1323, 899, 846, 706. Anal. Calcd for  $C_{11}H_7N_3Cl_2$ : C, 52.41; H, 2.80; N, 16.67. Found: C, 52.52; H, 3.08; N, 16.94.

2,3-ビス(クロロメチル)-6-(トリフルオロメチル)キノキサリン **3b**

Brown solids, yield: 76%, mp: 61–62 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.06 (4H, s), 7.99 (1H, dd,  $J = 2.0$  and 8.8 Hz), 8.23 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.43 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 44.0 ( $CH_2$ ), 123.5 (q,  $J_{CF} = 274$  Hz,  $CF_3$ ), 126.8 (q,  $J_{CF} = 2.4$  Hz, CH), 127.3 (q,  $J_{CF} = 4.8$  Hz, CH), 130.5 (CH), 132.7 (q,  $J_{CF} = 32$  Hz, C), 140.7 (C), 142.7 (C), 152.2 (C), 152.8 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3053, 2984, 1631, 1569, 1449, 1318, 1135, 905, 826, 707. Anal. Calcd for  $C_{11}H_7N_2F_3Cl_2 \cdot 0.6 H_2O$ : C, 43.19; H, 2.70; N, 9.16. Found: C, 43.13; H, 2.51; N, 9.41.

2,3-ビス(クロロメチル)-6-フルオロキノキサリン **4b**

White powders, yield: 97%, mp: 141–142 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.04 (4H, s), 7.60 (1H, dt,  $J = 2.6$  and 9.1 Hz), 7.73 (1H, dd,  $J = 2.5$  and 9.0 Hz), 8.11 (1H, dd,  $J = 2.6$  and 9.1 Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 44.1 ( $CH_2$ ), 44.2 ( $CH_2$ ), 112.8 (d,  $J_{CF} = 22$  Hz, CH), 121.6 (d,  $J_{CF} = 25$  Hz, CH), 131.3 (d,  $J_{CF} = 11$  Hz, CH), 138.9 (C), 142.8 (d,  $J_{CF} = 13$  Hz, C), 150.0 (C), 151.6 (C), 163.5 (d,  $J_{CF} = 254$  Hz, C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3019, 2975, 1620, 1567, 1497, 1334, 1217, 866, 841, 714. Anal. Calcd for

$C_{10}H_7N_2FCl_2 \cdot 0.3 H_2O$ : C, 47.95; H, 3.06; N, 11.18. Found: C, 47.88; H, 3.20; N, 10.93.

6-クロロ-2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン **5b**

White powders, yield: 92%, mp: 142–143 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.03 (4H, s), 7.75 (1H, dd,  $J = 2.2$  and 9.0 Hz), 8.04 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.10 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 44.1 ( $CH_2$ ), 44.2 ( $CH_2$ ), 128.0 (CH), 130.3 (CH), 132.2 (CH), 137.0 (C), 140.2 (C), 141.9 (C), 150.8 (C), 151.6 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3020, 2921, 1605, 1558, 1479, 1323, 879, 805, 731, 711. Anal. Calcd for  $C_{10}H_7N_2Cl_3 \cdot 0.6 H_2O$ : C, 44.10; H, 3.03; N, 10.29. Found: C, 44.09; H, 3.16; N, 10.11.

6-ブロモ-2,3-ビス(クロロメチル)キノキサリン **6b**

White powders, yield: 86%, mp: 137–138 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.02 (4H, s), 7.88 (1H, dd,  $J = 2.0$  and 9.0 Hz), 7.97 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.29 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 44.1 ( $CH_2$ ), 44.2 ( $CH_2$ ), 125.3 (C), 130.5 (CH), 131.5 (CH), 134.7 (CH), 140.4 (C), 142.1 (C), 150.9 (C), 151.6 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3019, 2924, 1597, 1478, 1321, 880, 821, 727, 583. Anal. Calcd for  $C_{10}H_7N_2Cl_2Br$ : C, 39.25; H, 2.31; N, 9.14. Found: C, 39.53; H, 2.45; N, 9.09.

2,3-ビス(クロロメチル)-6-メトキシキノキサリン **7b**

Pale yellow powders, yield: 93%, mp: 108–109 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 3.98 (3H, s), 5.01 and 5.02 (4H, two s), 7.37 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 2.7$  and 9.2 Hz), 7.97 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 44.3 ( $CH_2$ ), 44.4 ( $CH_2$ ), 56.1 ( $OCH_3$ ), 106.5 (CH), 124.6 (CH), 130.2 (CH), 137.9 (C), 143.5 (C), 147.8 (C), 150.6 (C), 161.8 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3004, 2963, 1613, 1445, 1327, 1224, 1020, 853, 836, 714. Anal. Calcd for  $C_{11}H_{10}N_2OCl_2 \cdot 0.2 H_2O$ : C, 50.67; H, 4.02; N, 10.74. Found: C, 50.56; H, 4.28; N, 10.89.

2,3-ビス(クロロメチル)-6,7-ジメチルキノキサリン **8b**

White powders, yield: 98%, mp: 148–149 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.51 (6H, s), 5.02 (4H, s), 7.84 (2H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 20.6 ( $\text{CH}_3$ ), 44.5 ( $\text{CH}_2$ ), 128.2 (CH), 140.7 (C), 141.9 (C), 150.0 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3013, 2917, 1621, 1556, 1484, 1359, 1022, 873, 733. Anal. Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{Cl}_2 \cdot 0.3 \text{H}_2\text{O}$ : C, 55.32; H, 4.87; N, 10.75. Found: C, 55.37; H, 4.68; N, 10.72.

#### 2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン誘導体 (**2d-8d**) の合成

**2c-8c** (0.5 mmol)、NaI (5.0 mmol) とアセトン (10 mL) の混合物をアルゴン雰囲気下 2 時間加熱還流した。溶媒を留去し、残渣をクロロホルム (50 mL) に溶解させた。有機相を水 (40 mL  $\times$  3) で洗浄し、乾燥後、脱溶媒し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製した。

#### 6-シアノ-2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン **2d**

Brown powders, yield: 36%, mp: 126–128 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.82 and 4.84 (4H, two s), 7.90 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 8.8 Hz), 8.11 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.39 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.5 ( $\text{CH}_2$ ), 1.6 ( $\text{CH}_2$ ), 114.0 (CN), 117.9 (C), 130.5 (CH), 131.3 (CH), 134.7 (CH), 140.6 (C), 142.9 (C), 154.4 (C), 155.1 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3034, 2957, 2227, 1554, 1489, 1441, 1356, 916, 803. Anal. Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_3\text{I}_2$ : C, 30.37; H, 1.62; N, 9.66. Found: C, 30.66; H, 1.57; N, 9.66.

#### 2,3-ビス(ヨードメチル)-6-(トリフルオロメチル)キノキサリン **3d**

Brown solid, yield: 51%, mp: 109–111 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.84 (4H, s), 7.92 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.8 Hz), 8.12 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 8.33 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.8 ( $\text{CH}_2$ ), 123.6 (q,  $J_{\text{CF}} = 272$  Hz,  $\text{CF}_3$ ), 126.2 (q,  $J_{\text{CF}} = 3.6$  Hz, CH), 126.9 (q,  $J_{\text{CF}} = 4.8$  Hz, CH), 130.1 (CH), 132.2 (q,  $J_{\text{CF}} = 34$  Hz, C), 140.5 (C), 142.6 (C), 153.7 (C), 154.4 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3022, 2961, 1554, 1496, 1449, 1317,

1282, 899, 843. Anal. Calcd for  $C_{11}H_7N_2F_3I_2$ : C, 27.64; H, 1.48; N, 5.86. Found: C, 27.82; H, 1.51; N, 5.62.

6-フルオロ-2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン **4d**

Pale orange powders, yield: 71%, mp: 148–150 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.81 (4H, s), 7.54 (1H, dt,  $J = 2.2$  and 9.0 Hz), 7.64 (1H, dd,  $J = 2.2$  and 8.8 Hz), 8.02 (1H, dd,  $J = 5.8$  and 9.0 Hz.).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2.2 ( $CH_2$ ), 2.3 ( $CH_2$ ), 112.6 (d,  $J_{CF} = 22$  Hz, CH), 121.2 (d,  $J_{CF} = 26$  Hz, CH), 131.1 (d,  $J_{CF} = 10$  Hz, CH), 138.8 (C), 142.5 (d,  $J_{CF} = 14$  Hz, C), 151.4 (C), 153.1 (C), 163.2 (d,  $J_{CF} = 254$  Hz, C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3042, 2954, 1566, 1490, 1418, 1326, 1215, 894, 818. Anal. Calcd for  $C_{10}H_7N_2FI_2$ : C, 28.06; H, 1.65; N, 6.55. Found: C, 28.36; H, 1.45; N, 6.39.

6-クロロ-2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン **5d**

Orange powders, yield: 70%, mp: 144–146 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.80 (4H, s), 7.70 (1H, dd,  $J = 2.4$  and 9.0 Hz), 7.95 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.01 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2.2 ( $CH_2$ ), 2.3 ( $CH_2$ ), 127.9 (CH), 130.1 (CH), 131.8 (CH), 136.6 (C), 140.1 (C), 141.8 (C), 152.3 (C), 153.2 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3016, 2950, 1557, 1479, 1438, 1355, 893, 832, 735. Anal. Calcd for  $C_{10}H_7N_2ClI_2$ : C, 27.02; H, 1.59; N, 6.30. Found: C, 27.19; H, 1.57; N, 6.38.

6-ブロモ-2,3-ビス(ヨードメチル)キノキサリン **6d**

Pale yellow powders, yield: 77%, mp: 158–160 °C.  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.80 (4H, s), 7.82 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 9.0 Hz), 7.88 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.20 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2.1 ( $CH_2$ ), 2.3 ( $CH_2$ ), 124.8 (CH), 130.2 (CH), 131.3 (CH), 134.3 (C), 140.3 (C), 142.1 (C), 152.4 (C), 153.2 (C). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3026, 2964, 2922, 1547, 1470, 1436, 1351, 880, 830, 569. Anal. Calcd for  $C_{10}H_7N_2BrI_2$ : C, 24.57; H, 1.44; N, 5.73. Found: C, 24.57; H, 1.33; N, 5.84.

2,3-ビス(ヨードメチル)-6-メトキシキノキサリン **7d**

Pale yellow powder, yield: 94%, mp: 161–163°C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.96 (3H, s), 4.80 and 4.81 (4H, two s), 7.30 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 7.40 (1H, dd,  $J = 2.7$  and 9.3 Hz), 7.90 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.7 ( $\text{CH}_2$ ), 3.1 ( $\text{CH}_2$ ), 56.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 106.2 (CH), 124.3 (CH), 129.9 (CH), 137.8 (C), 143.3 (C), 149.1 (C), 152.0 (C), 161.5 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3021, 2959, 1617, 1492, 1443, 1354, 1226, 1020, 886, 819. Anal. Calcd for  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OI}_2$ : C, 30.03; H, 2.29; N, 6.37. Found: C, 30.25; H, 2.21; N, 6.18.

2,3-ビス(ヨードメチル)-6,7-ジメチルキノキサリン **8d**

White powders, yield: 70%, mp: 145–146 °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.48 (6H, s), 4.81 (4H, s), 7.76 (2H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.2 ( $\text{CH}_2$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3$ ), 127.9 (CH), 140.6 (C), 141.6 (C), 150.0 (C). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3023, 2970, 2913, 1623, 1481, 1442, 1358, 1019, 870. Anal. Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{I}_2$ : C, 32.90; H, 2.76; N, 6.40. Found: C, 32.73; H, 2.73; N, 6.17.

試験菌

グラム陽性菌は *Bacillus subtilis* (IFO 3513) と *Staphylococcus aureus* (IFO 12732) を、グラム陰性菌は *Escherichia coli* (IFO 3972)、*Pseudomonas aeruginosa* (IFO 3080) と *Serratia marcescens* (IFO 3735) を使用した。真菌はカビとして *Aspergillus niger* (IFO 6341)、*Penicillium citrinum* (IFO 6352)、*Aureobasidium pullulans* (IFO 6353)、*Cladosporium cladosporioides* (IFO 6348)、*Mucor spinescens* (IFO 6071)、*Alternaria sp.* と *Gliocladium virens* (IFO 6355) を、酵母として *Rhodotorula rubra* (IFO 0907) と *Saccharomyces cerevisiae* (IFO 0209) を使用した。

## 抗菌活性試験

最小発育阻止濃度 (MIC) はマイクロプランタ (佐久間製作所製) を使用して、寒天平板希釈法によって測定した。化合物 (**2a-8a**, **1b-8b**, **1c-10c**, **2d-8d**) を 1 wt% 濃度 (化合物/水/メチルカルビトール= 1/79/20 wt/wt/wt) になるように溶解させ、グルコースブイヨン寒天培地で希釈した。660 nm で濁度 0.05 の接種用細菌懸濁液と接種用酵母懸濁液を、約  $10^6$  spore/mL の接種用カビ懸濁液を用意した。抗細菌活性は 33 °C で 18 時間培養後、抗真菌活性は 33 °C で 18 時間と 28 °C で 2 日間培養後に成長を観察した。MIC 値は成長を完全に妨げた化合物の最も低い濃度として決定した。

## 参考文献

- 1) A. Carta, P. Sanna, M. Loriga, M. G. Setzu, P. L. Colla, R. Loddo, *Farmaco*, **57**, 19–25 (2002).
- 2) Y. Liu, K. Ding, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 10488–10489 (2005).
- 3) E. H. Vickery, L. F. Pahler, E. J. Eisenbraun, *J. Org. Chem.*, **44**, 4444–4446 (1979).
- 4) J. Leroy, *J. Org. Chem.*, **46**, 206–209 (1981).
- 5) G. W. Gokel, S. H. Korzeniowski, L. Blum, *Tetrahedron Lett.*, **18**, 1633–1636 (1977).
- 6) H. Fujitsu, T. Takagi, I. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **58**, 1589–1590 (1985).
- 7) J. A. Miller, M. J. Nunn, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 416–420 (1976).
- 8) H. Haraguchi, K. Tanimoto, Y. Tamura, K. Mizutani, T. Kinoshita, *Phytochemistry*, **48**, 125–129 (1998).

## 第3章 鉄イオン輸送系の利用を指向した 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン誘導体

### サリン誘導体

#### 3-1 はじめに

前章で、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体は2種類のグラム陽性菌と9種類の真菌に対して抗菌活性を示したが、唯一グラム陰性菌に対しては有効な活性を示す化合物を見出すことができなかった。これはグラム陰性菌が細胞壁の外側に外膜という特殊な膜を有するためと考えられる。この外膜は膜の外側を親水性多糖を含むリポ多糖、内側を親油性のリピド A から成る2重膜であり<sup>1</sup>、親油性や親水性の物質どちらも透過させにくいという特性を有する。そのため、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリンはグラム陰性菌の外膜を透過することができず不活性であったと考えられる。

一方、グラム陰性菌を含むすべての細菌は成長や増殖などのために鉄が必要不可欠であり、至適増殖に中性での生育環境中  $10^{-8} \sim 10^{-6}$  M 濃度の鉄を要する。鉄は地殻表面で酸素、ケイ素、アルミニウムに次いで4番目に豊富な元素であるため、その捕捉は一見簡単のように思われるかもしれない。しかしながら、好気性条件下で鉄は酸化物や難溶性の水酸化物として存在しているために、その利用は非常に困難である。一般に、中性の土壌に溶存する  $\text{Fe}^{3+}$  の濃度は  $10^{-18}$  M であり、細菌の増殖に必要な遊離鉄濃度に比べてはるかに低い<sup>2</sup>。そこで、細菌はこのごく微量に溶存する鉄(III)イオンを捕捉するために、図3-1に示すような鉄イオン輸送系を有している。それは、細菌がシデロフォアと呼ばれる低分子量の鉄イオン輸送体を分泌し、そのシデロフォアが鉄イオンと安定な錯体を

形成することで可溶化し、その錯体が生体膜上の受容体を通して細胞内に取り込まれ、鉄イオンを3価から2価へ還元することにより輸送体から切り離し利用するという機構である。

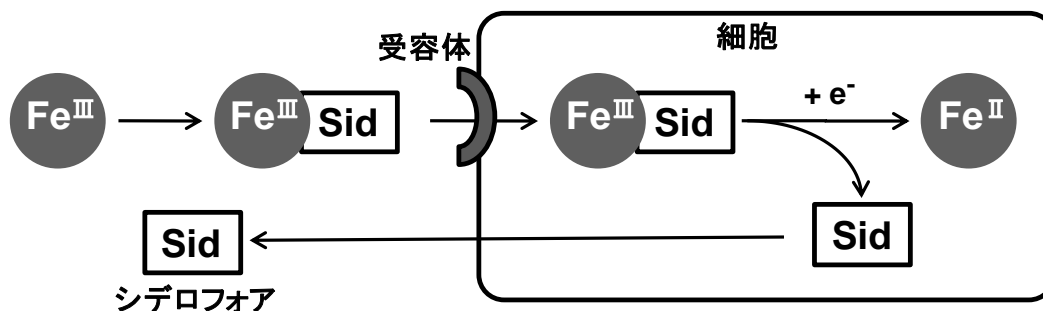


図 3-1. 細菌が有する鉄イオン輸送系

その後シデロフォアは再利用される。これまでに、様々なシデロフォアが単離・構造決定されているが、エンテロバクチン（図 3-2）のようなカテコール構造をもつ化合物が多い<sup>3</sup>。

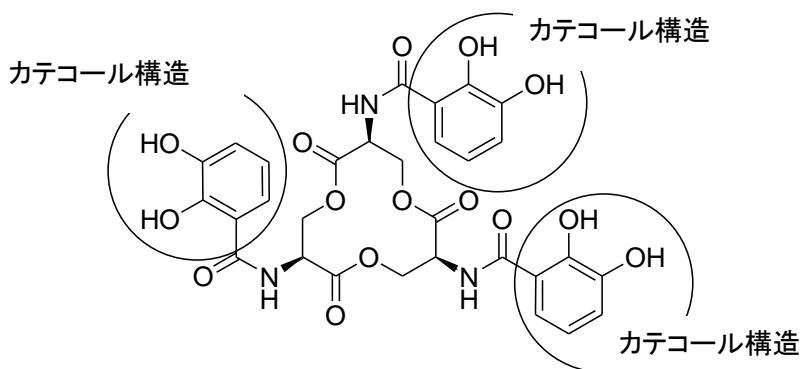


図 3-2. エンテロバクチン

1990年に、図 3-3 に示す GR69153 のような細菌の鉄イオン輸送系を利用した様々な  $\beta$ -ラクタム剤が開発された<sup>47</sup>。通常、 $\beta$ -ラクタム剤は外膜を透過できない



いが、GR69153 は鉄イオン輸送系を利用し、能動的に細菌の細胞内に取り込まれ、グラム陰性菌にも効果を示した。

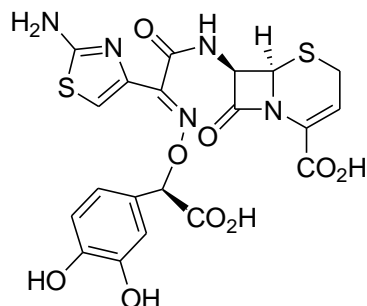


図 3-3. GR69153

そこで、GR69153 の分子設計を応用して、前章で抗菌活性を示すことを報告した 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン構造にリンカーを介してカテコール構造を連結した化合物を設計した (図 3-4)。これらは鉄イオン輸送系を利用し、グラム陰性菌にも効果を示す化合物になると考えた。本章では、図 3-4 の化合物を合成し、それらの抗菌活性を評価し、カテコール構造の有無や違い、リンカーの違いによる抗菌活性への影響を調査した。

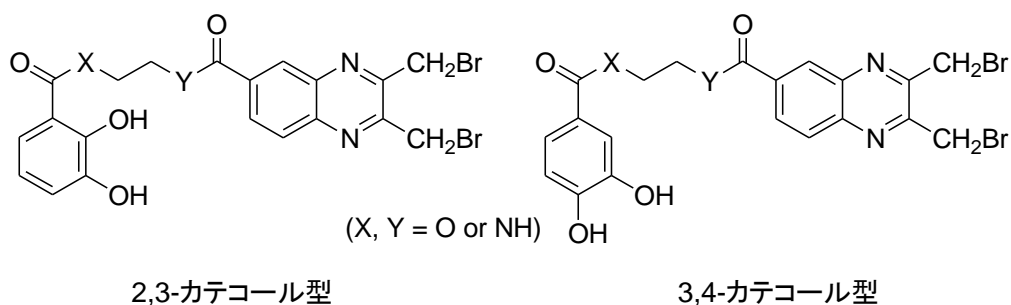
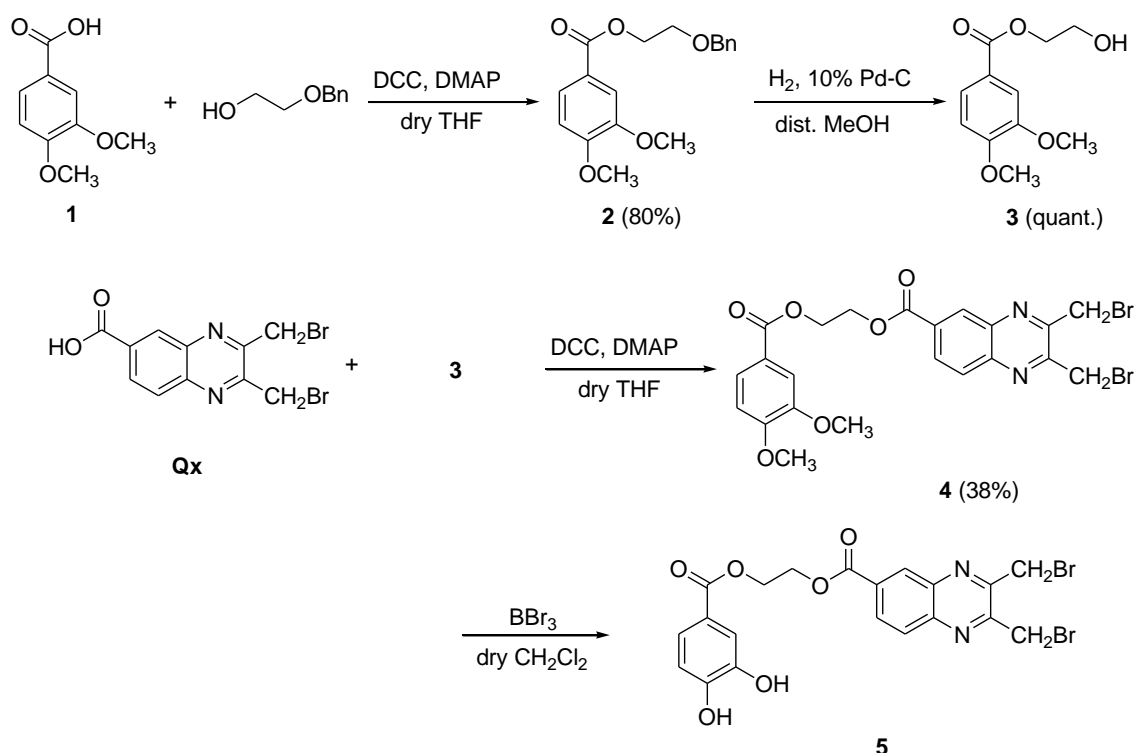


図 3-4. 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンにカテコール構造を連結した化合物

### 3-2 合成

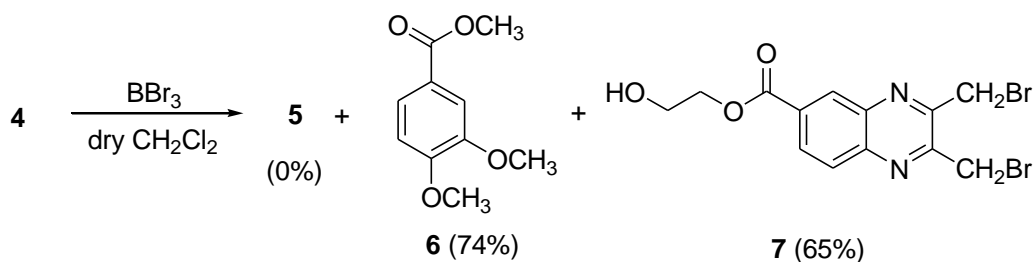
まず、エステル結合 (X, Y = O) でカテコール構造とリンカー、リンカーと 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンを接続した 3,4-カテコール型の化合物の合成を Scheme 3-1 で行なうことにした。



Scheme 3-1

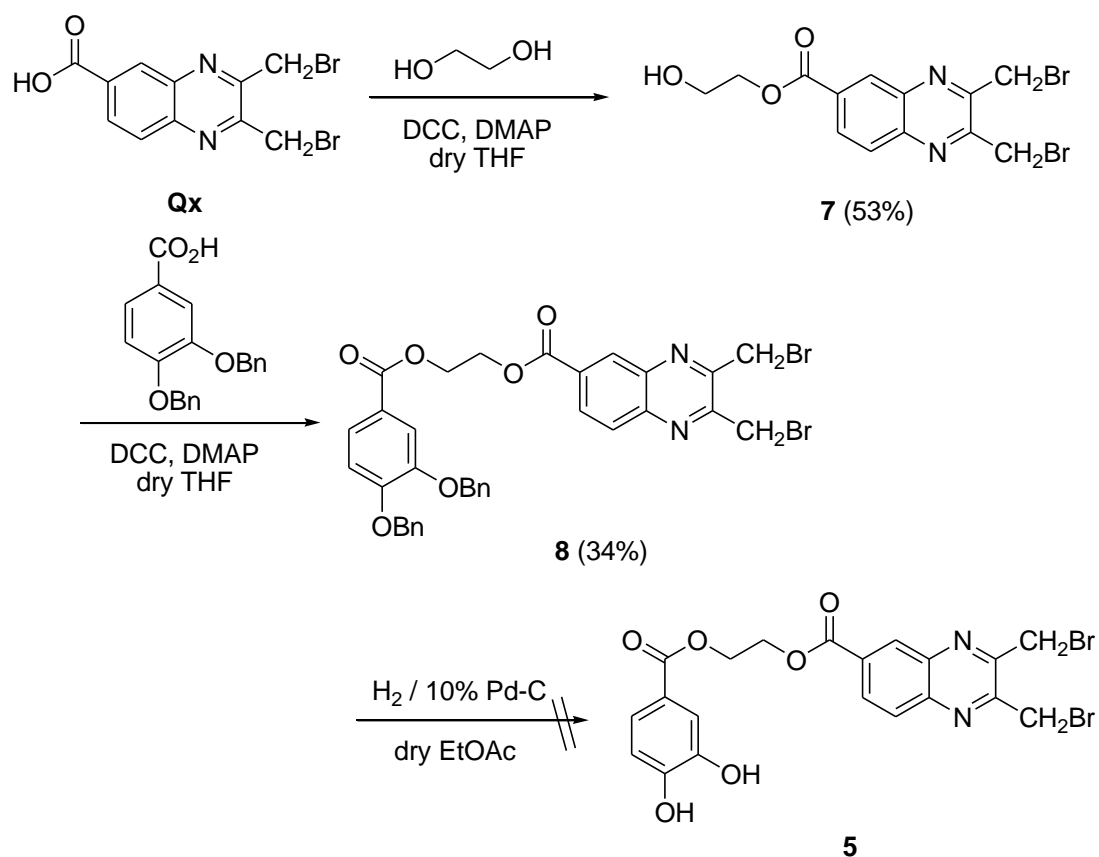
ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)と4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)を用いた縮合法<sup>8</sup>による3,4-ジメトキシ安息香酸**1**と2-ベンジルオキシエタノールの縮合反応から、リンカーとカテコール構造を連結させた化合物**2**を収率80%で得た。水素添加反応<sup>9</sup>により化合物**2**のベンジル基を切断し、アルコール体**3**を定量的に合成した。そして、アルコール体**3**と2,3-ビス(ブロモメチル)-6-キノキサリン酸**Qx**をDCC-DMAP法で縮合し、前駆体**4**を38%で得た(Scheme 3-1)。

前駆体 **4** の三臭化ホウ素による脱メチル化によりカテコール構造を有する **5** の合成を試みたが、目的化合物 **5** はまったく得られず、エステルが切断されて化合物 **6** と **7** がそれぞれ 74% と 65% で得られた (Scheme 3-2)<sup>10</sup>。反応液をメタノールでクエンチしたため、メチルエステル体 **6** が生成したと考えられる。一般に、ベンゼン環に結合するメトキシ基の脱メチル化反応には、三臭化ホウ素やヨード(トリメチル)シランのような強い Lewis 酸、臭化水素酸のような強い Brønsted 酸が用いられる。そのため、強い Lewis 酸である三臭化ホウ素を用いた **4** の脱メチル化で **5** が得られなかったことから、他の条件による **4** の脱メチル化でも **5** は同様に得られないと考えられる。ゆえに、カテコールをメチル基で保護した化合物 **4** の構造は前駆体として不適と考えた。



**Scheme 3-2**

そこで、強い Lewis 酸で除去する保護基でなく、中性で除去できるベンジル基でカテコールを保護した化合物を前駆体とすることにした。そして、Scheme 3-3 に示すスキームで目的化合物 **5** の合成を目指した。



Scheme 3-3

**Qx** とエチレングリコールを DCC-DMAP 法で縮合させた化合物 **7** を収率 53% で合成し、さらに 3,4-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸と縮合させ、化合物 **8** を収率 34% で得た。そして、化合物 **8** の水素添加反応による脱ベンジル化反応を試みたが、目的化合物 **5** は合成できなかった (Scheme 3-3)。この反応の生成物は単離できたが、 $^1\text{H NMR}$  スペクトルからキノキサリン由来のシグナルが観測できず、その構造を特定することができなかった。この結果から、水素添加反応がキノキサリン環に悪影響を与えることがわかり、再び前駆体の構造を見直すことにした。中性である水素添加反応による脱保護ができないことから、脱保護法は酸に限定される。そこで、メチル基の除去より弱い酸で除去可能なメトキシメチル (MOM) 基をカテコールの保護基として用い、さらにカテコール構造

とリンカーの連結をエステルより酸に強いアミド (X = NH) に変更することにした (図 3-5)。そして、Scheme 3-4 に示す方法で目的化合物の合成を目指すことにした。

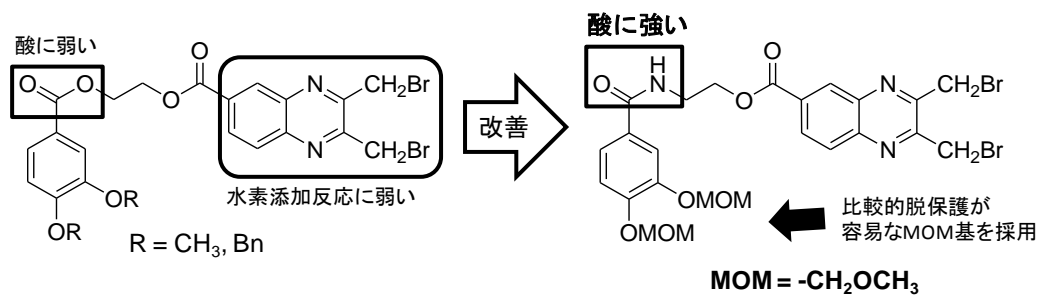
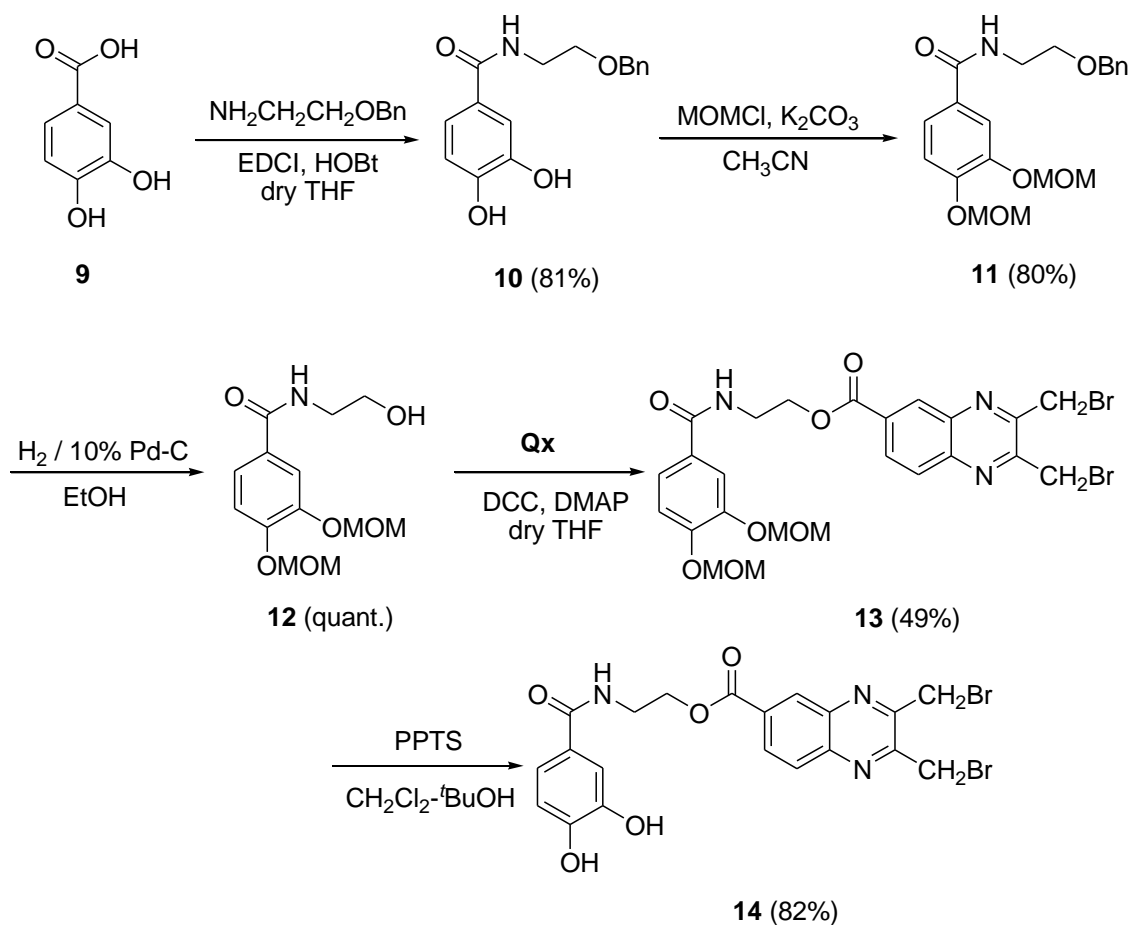


図 3-5. 前駆体構造の改善

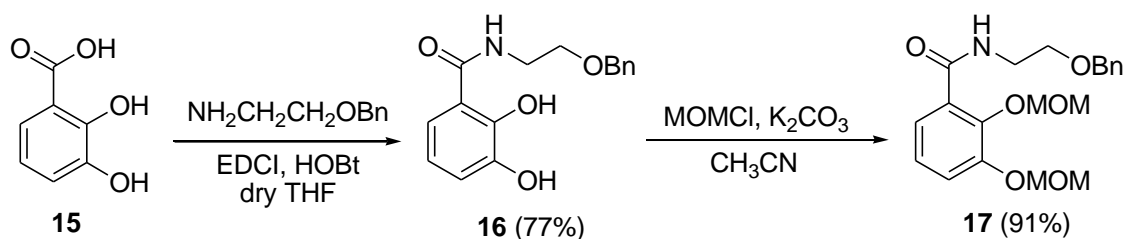


Scheme 3-4

既存の方法<sup>11</sup>で合成した2-(ベンジルオキシ)エチルアミンと3,4-ジヒドロキシ安息香酸 **9** を1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDCI) と1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) による縮合法<sup>12</sup>で反応させ、化合物 **10** を収率 81%で合成し、炭酸カリウム存在下クロロメチルメチルエーテル (MOMCl) でヒドロキシ基を MOM 保護した化合物 **11** を収率 80%で得た<sup>13</sup>。化合物 **12** は化合物 **11** の水素添加反応により定量的に得られ、**Qx** と DCC-DMAP 法で縮合し、化合物 **13** を収率 49%で与えた。化合物 **13** にピリジニウム *p*-トルエンスルホナート (PPTS) を作用させ脱保護し<sup>14</sup>、目的化合物 **14** を収率 82%で得た (Scheme 3-4)。

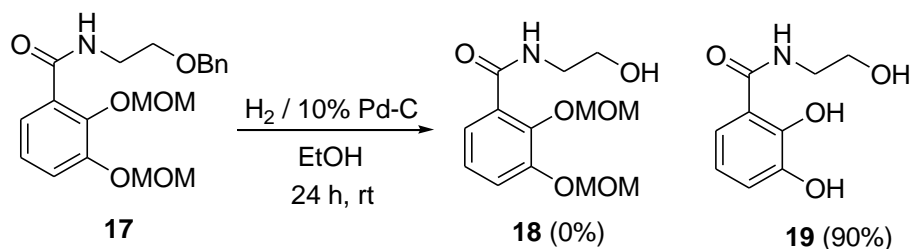
次はこの合成戦略で2,3-カテコール型の合成をすることにした。

EDCI-HOBt 縮合法で2-(ベンジルオキシ)エチルアミンと2,3-ジヒドロキシ安息香酸 **15** から、化合物 **16** を収率 77%で合成し、MOMCl で MOM 保護した化合物 **17** を収率 91%で得た (Scheme 3-5)。



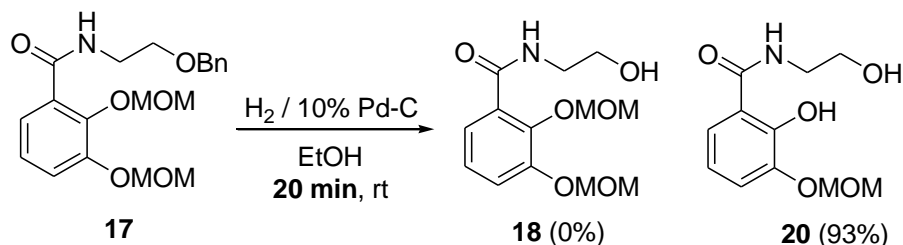
**Scheme 3-5**

化合物 **17** の水素添加反応による化合物 **18** の合成を試みたが、**18** は得られずに2つの MOM も切断された化合物 **19** を収率 90%で得た (Scheme 3-6)。



**Scheme 3-6**

このとき、反応時間は 24 時間であったが、Allmann らは反応時間が 20 分間以内の短時間であれば水素添加反応により MOM 基は切断されないと報告している<sup>15</sup>。そこで、反応時間を 20 分間にして行なったが、2 位の MOM 基も切断された化合物 **20** を収率 93% で得た (Scheme 3-7)。さらに、反応時間を 10 分、5 分と短くして行なったが、目的化合物 **18** は得られなかった。

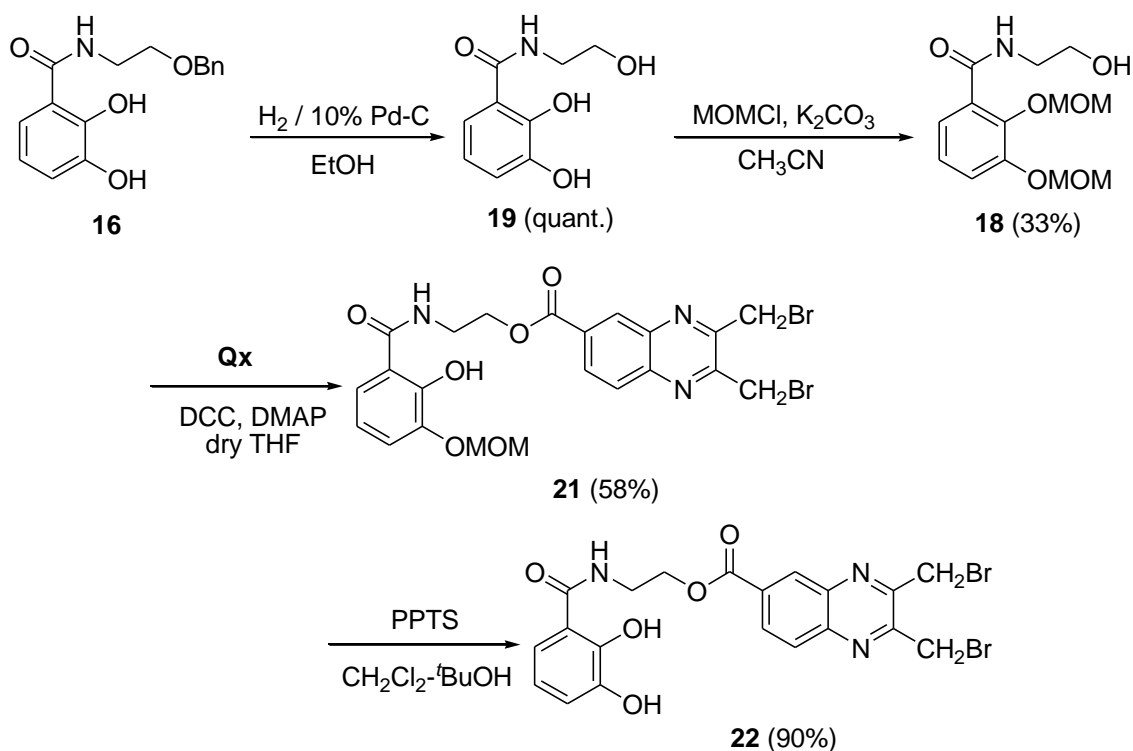


**Scheme 3-7**

この原因は Aldrich 製の 10% Pd-C であることがわかった。Ikawa らは水素存在下で 0.1 g/mL 10% Pd-C (Aldrich 製) 水溶液が pH 約 6 であることを報告している<sup>16</sup>。つまり、10% Pd-C (Aldrich 製) は弱酸であるために、MOM 基が切断されたと考えられる。また、2 位の MOM 基は 1 位のカルボニル基の電子求引性により、3 位の MOM 基より切断されやすいと考えられ、短時間の反応では 2 位の MOM 基も切断された化合物 **20** が主生成物として得られたと考えている。一方、

他社の 10% Pd-C は Aldrich 製よりも酸性であることから<sup>16</sup>、化合物 **18** の合成経路を変更することにした。化合物 **16** の脱ベンジル化をし、フェノール性ヒドロキシ基とアルコール性ヒドロキシ基の酸性度の違いを利用し、選択的な MOM 保護によりして化合物 **18** を合成することにした (Scheme 3-8)。化合物 **19** は化合物 **16** の脱ベンジル化から定量的に得られた。そして、MOMCl と化合物 **19** の反応は、選択的にカテコールを保護した化合物 **18** を収率 33% で与えた。シリカゲルカラムクロマトグラフィー前の TLC による分析で、**18** の 2 位の MOM 基が切断された **20** の存在は確認できなかったが、シリカゲルカラムクロマトグラフィー後に **20** を確認した。そのため、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製操作中に、酸性のシリカゲルによって化合物 **18** の 2 位の MOM 基が切断されていたことが **18** の低収率の原因であると考えている。化合物 **18** と Qx の DCC-DMAP 法による反応は化合物 **21** を収率 58% で与えた。2 位の MOM 基が切断された原因はこれもシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製操作によるものと考えられる。これは、TLC による分析で目的物の R<sub>f</sub> 値がシリカゲルカラムクロマトグラフィー前後で異なるからである。化合物 **22** を合成することが目的であるので、ここで 2 位の MOM 基が切断されていても問題ないと考え、化合物 **21** から脱保護反応を行なうこととした。化合物 **21** に PPTS を作用させ、目的化合物 **22** を収率 90% で得た (Scheme 3-8)。



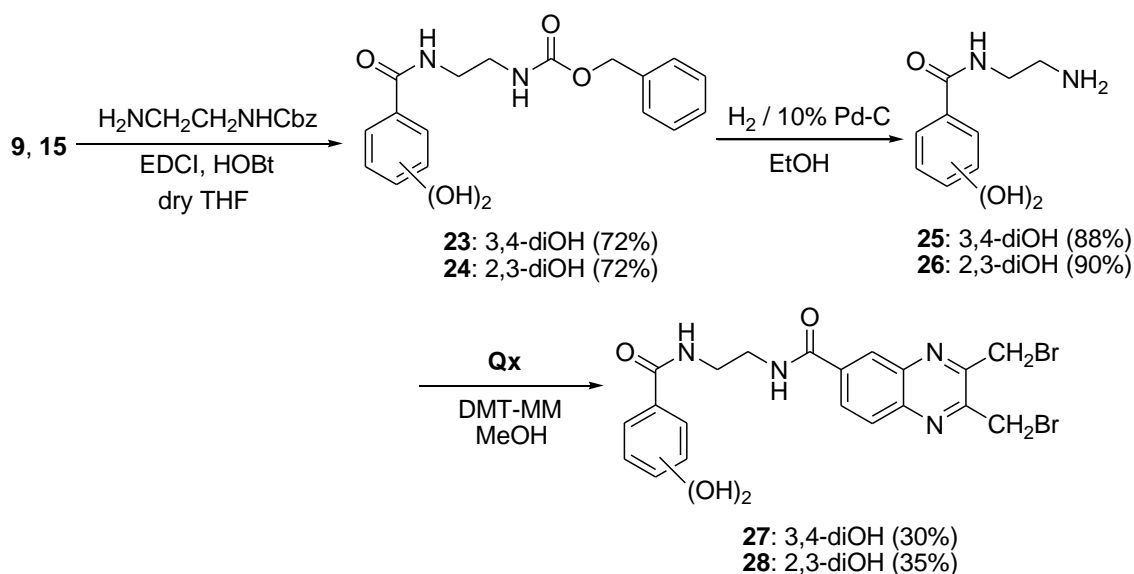


Scheme 3-8

続いて、カテコール構造とリンカー、リンカーと2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンを両方アミド結合 (X, Y = NH) で連結した化合物の合成を Scheme 3-9 に示す経路で合成することにした。最初の反応では必ずエチレンジアミンの片方のアミノ基だけと反応させるために、片方のアミノ基をベンジルオキシカルボニル (Cbz) 基で保護したエチレンジアミンを用いた<sup>17</sup>。4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (DMT-MM)<sup>18,19</sup> は、ヒドロキシ基が存在しても、アミンとカルボン酸の縮合を優先させる試薬であるので、化合物 25、26 から無保護で2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンと連結させることにした。

対応するジヒドロキシ安息香酸 9、15 と 2-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)エチルアミンを EDCI-HOBt 縮合法で反応させ、化合物 23、24 をいずれも収率

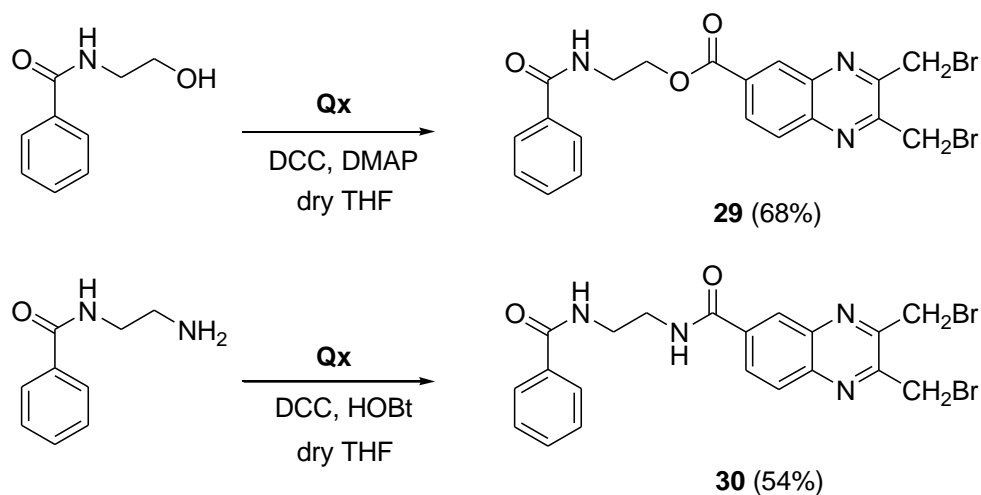
72%で合成し、さらに脱 Cbz 化し、アミノ体 **25**、**26** をそれぞれ収率 88%、90% で得た。最後、それぞれアミノ体 **25**、**26** と **Qx** を DMT-MM により縮合させ、目的化合物 **27**、**28** を 30%、35% で合成した (Scheme 3-9)。最後の縮合反応が低収率であった原因は、メタノールを使用したことにより副生成物である **Qx** のメチルエステル体が生成したことや複雑な副反応が起こったためである。アミノ体 **25**、**26** のアセトン、THF、酢酸エチル、ジクロロメタンなどの溶媒に対する溶解性が低く、プロトン極性溶媒 (アルコールや水) や高沸点のジメチルスルフォキシドにしか溶けないので、反応の改善をできないと考えた。しかしながら、メタノールの使用によって、DMT-MM の塩化物イオンをメタノールが溶媒和し、ブロモメチル基のハロゲン交換反応が起こるのを防ぐことができた。



Scheme 3-9

カテコール構造の有無による活性を比較するために、カテコール構造がない化合物を合成した (Scheme 3-10)。まず、*N*-(2-ヒドロキシエチル)ベンズアミドと **Qx** を DCC-DMAP 法で縮合させ、化合物 **29** を収率 68% で得た。次に、*N*-(2-

アミノエチル)ベンズアミドと **Qx** を DCC-HOBt 法で縮合させ、化合物 **30** を収率 54% で得た。



Scheme 3-10

### 3-3 抗菌活性

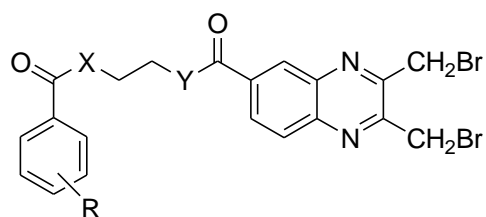
リンカー部位をエステルとアミドで連結した化合物 (**13**, **14**, **21**, **22**) と、アミドだけで連結した化合物 (**27**, **28**)、カテコール構造を持たない化合物 (**29**, **30**) の抗菌活性を評価し、表 3-1、3-2 にまとめた。表 3-1 を見ると、すべての化合物はグラム陽性菌に対して抗菌活性を示したが、グラム陰性菌に対して不活性であったことから、細菌の鉄イオン輸送系を利用して活性を示す化合物はなかったと思われる。それらの中で、カテコールを MOM 基で保護した化合物 (**13**, **21**) が最も高い抗菌活性を示した。また、カテコール構造をもつ化合物 (**14**, **22**, **27**, **28**) の中には、リンカー部分にアミド結合だけで連結し 2,3-カテコール構造を有する **28** が最も高い抗菌活性を示した。

リンカー部分の連結の種類と抗菌活性の関係を比較すると (表 3-1)、アミド

だけで連結した化合物 (X, Y = NH; **27, 28**) はアミドとエステルで連結した化合物 (X = NH, Y = O; **14, 22**) より高い活性を示した。このことから、アミド結合だけで連結した方がより高い抗菌活性を示すと考えられる。

カテコール構造と抗菌活性の関係をアミドとエステルで連結した化合物 (**13, 14, 21, 22, 29**) において比較すると (表 3-1)、カテコール構造をもつ化合物 (**14, 22**) はカテコールを持たない **29** より低い活性を示した。これはカテコール構造の存在により化合物の親油性が低下し、化合物 (**14, 22**) の細胞膜透過が阻害されたためと考えられる。さらに、カテコールを MOM 基で保護し、親油性が向上している化合物 (**13, 21**) はカテコール構造をもつ化合物 (**14, 22**) よりかなり高い活性を示していることから、化合物の親油性低下がカテコール構造をもつ化合物 (**14, 22**) が低い抗菌活性を示す原因であると考えられる。一方、アミドだけで連結した化合物 (**27, 28, 30**) を比べると、3,4-カテコール構造を有する化合物 **27** はカテコールを持たない **30** より低い活性を示した。これもカテコールによって親油性が低下するためと考えられる。しかしながら、2,3-カテコール構造を有する化合物 **28** はカテコールを持たない **30** と同等の抗菌活性を示し、カテコールの導入による親油性低下の影響での低い活性を示さなかったことから、**28** は **14, 22, 27** と異なる傾向であった。このことから、リンカー部分をアミドだけで連結し、2,3-カテコール構造を有する化合物が特異的に高い活性を示すと考えられる。

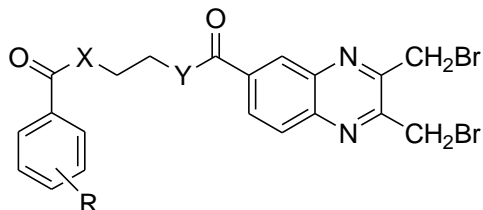
表 3-1. 化合物 13、14、21、22、27、28、29、30 抗菌活性 (細菌と酵母)



	R	X, Y	MIC (μg/mL)						
			Gram-positive		Gram-negative			Yeast	
			B. s. <sup>a</sup>	S. a. <sup>b</sup>	E. c. <sup>c</sup>	P. a. <sup>d</sup>	S. m. <sup>e</sup>	R. r. <sup>f</sup>	S. c. <sup>g</sup>
<b>13</b>	3,4-diOMOM	NH, O	<b>12.5</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>14</b>	3,4-diOH	NH, O	<b>100</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>21</b>	2-OH 3-OMOM	NH, O	<b>12.5</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>22</b>	2,3-diOH	NH, O	<b>100</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>29</b>	H	NH, O	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>27</b>	3,4-diOH	NH, NH	<b>50</b>	<b>100</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>28</b>	2,3-diOH	NH, NH	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>30</b>	H	NH, NH	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Bacillus subtilis*. <sup>b</sup>*Staphylococcus aureus*. <sup>c</sup>*Escherichia coli*. <sup>d</sup>*Pseudomonas aeruginosa*. <sup>e</sup>*Serratia marcescens*. <sup>f</sup>*Rhodotorula rubra*. <sup>g</sup>*Saccharomyces cerevisiae*.

表 3-2. 化合物 13、14、21、22、27、28、29、30 の抗菌活性 (カビ)



	R	X, Y	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )						
			Mold						
			A. n. <sup>a</sup>	P. c. <sup>b</sup>	C. c. <sup>c</sup>	A. p. <sup>d</sup>	A. s. <sup>e</sup>	M. s. <sup>f</sup>	G. v. <sup>g</sup>
<b>13</b>	3,4-diOMOM	NH, O	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>14</b>	3,4-diOH	NH, O	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>21</b>	2-OH 3-OMOM	NH, O	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>22</b>	2,3-diOH	NH, O	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>29</b>	H	NH, O	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>27</b>	3,4-diOH	NH, NH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>28</b>	2,3-diOH	NH, NH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>30</b>	H	NH, NH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Aspergillus niger*. <sup>b</sup>*Penicillium citrinum*. <sup>c</sup>*Cladosporium cladosporioides*.

<sup>d</sup>*Aureobasidium pullulans*. <sup>e</sup>*Alternaria sp.* <sup>f</sup>*Mucor spinescens*. <sup>g</sup>*Gliocladium virens*.

### 3-4 まとめ

リンカーを介してカテコール構造を 2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンに連結させた化合物は、保護基を試行錯誤し、DCC-HOBt 法や DCC-DMAP、EDCI-HOBt、DMT-MM を使用した縮合反応を駆使して、いくつか合成することができた。すべての化合物はグラム陽性菌に対して抗菌活性を示したが、グラム陰性菌に対して有効な活性を示す化合物はなかったことから、細菌の鉄イオン輸送系を利用した化合物はなかったと思われる。中でも、カテコールを MOM 基で保護した化合物 (**13**, **21**) が最も高い抗菌活性を示した。また、カテコール

構造を有する化合物の中では、リンカー部分にアミド結合だけで連結し 2,3-カテコール構造を有する **28** が最も高い抗菌活性を示した。リンカー部分にエステル結合を用いず、アミド結合だけを用いた化合物がより高い抗菌活性を示した。一方、カテコール構造の導入により抗菌活性が低下した。これはカテコール構造の導入が化合物の親油性を低下させたためと考えられる。

### 3-5 実験項

#### 一般項

すべての試薬と溶媒は和光純薬工業、東京化成工業、シグマ-アルドリッチ社製で、更なる精製なしに使用した。カラムクロマトグラフィーはシリカゲル（関東化学社製、Silica Gel 60N、粒径 63-210  $\mu\text{m}$ ）を用いて行なった。TLC はメルク社製の Silica Gel 60 F<sub>254</sub> を使用した。融点は SMP3 融点装置で測定し、測定値は未補正である。<sup>1</sup>H と <sup>13</sup>C NMR スペクトルは JNM-ECA-500 で測定し、溶媒として DMSO-*d*<sub>6</sub> と CDCl<sub>3</sub> を使用した。化学シフト ( $\delta$ ) は ppm として記載し、<sup>1</sup>H NMR にはテトラメチルシラン (TMS, 0.00 ppm) を、<sup>13</sup>C NMR には CDCl<sub>3</sub> (77.16 ppm) と DMSO-*d*<sub>6</sub> (39.52 ppm) の中点を内部標準として使用した。IR スペクトルは JASCO FT/IR-470 で測定した。元素分析は EURO EA 3000 Series で行なった。また、試験菌と抗菌活性試験は第 2 章の実験項 (**2-6**) と同じである。

#### 3,4-ジメトキシ安息香酸 2-(ベンジルオキシ)エチル **2**

3,4-ジメトキシ安息香酸 **1** (10 mmol) と 2-(ベンジルオキシ)エタノール (10 mmol) の乾燥 THF 溶液 (20 mL) に、0 °C で DCC (11 mmol) と DMAP (1.1 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 24 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ

液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: 80%.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.81 (2H, t,  $J = 5.0$  Hz), 3.93 (3H, s), 3.94 (3H, s), 4.49 (2H, t,  $J = 5.0$  Hz), 4.62 (2H, s), 6.89 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.28-7.38 (5H, m), 7.56 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 7.72 (1H, dd,  $J = 2.0$  and 8.5 Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3004, 2938, 1712, 1270, 1222, 1133, 1025, 877, 822, 763, 699. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5$ : C, 68.34; H, 6.37. Found: C, 68.07; H, 6.31.

#### 3,4-ジメトキシ安息香酸 2-ヒドロキシエチル **3**

化合物 **2** (5.0 mmol) と 10% Pd-C (100 mg) のメタノール懸濁液 (30 mL) を、水素雰囲気下室温で 24 時間攪拌した。触媒をろ別し、ろ液を脱溶媒し、目的化合物を得た。

White solids, yield: quant., mp: 85-86 °C.  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.04 (1H, br), 3.94-3.98 (8H, m), 4.45-4.48 (2H, m), 6.90 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.55 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 7.72 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.0 Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3269, 2966, 2877, 1698, 1295, 1269, 1225, 1070, 1025, 877, 831. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5 \cdot 0.05 \text{H}_2\text{O}$ : C, 58.17; H, 6.26. Found: C, 58.26; H, 6.55.

#### 2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(3,4-ジメトキシベンゾイルオキシ)エトキシカルボニル)キノキサリン **4**

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-キノキサリン酸 **Qx** (1.5 mmol) と化合物 **3** (1.5 mmol) の乾燥 THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で DCC (1.6 mmol) と DMAP (0.2 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリ



ウム (50 mL×2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 200:5:1) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 38%, mp: 141-143 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.93 (3H, s), 3.94 (3H, s), 4.68-4.78 (4H, m), 4.92 (2H, s), 4.93 (2H, s), 6.88 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.56 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.71 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.0 Hz), 8.12 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 8.39 (1H, dd, *J* = 1.5 and 9.0 Hz), 8.81 (1H, d, *J* = 1.5 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3084, 2962, 1722, 1263, 1180, 1055, 1042, 885, 818, 507. Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Br<sub>2</sub>·0.7 H<sub>2</sub>O: C, 45.49; H, 3.71; N, 4.82. Found: C, 45.76; H, 4.01; N, 4.63.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-ヒドロキシエトキシカルボニル)キノキサリン **7**

**Qx** (1.1 mmol) とエチレングリコール (1.2 mmol) の乾燥 THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で DCC (1.2 mmol) と DMAP (0.1 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 100:10:4) で精製し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: 53%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.03 (2H, br), 4.55-4.57 (2H, m), 4.93 (2H, s), 4.94 (2H, s), 8.12 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.40 (1H, dd, *J* = 1.6 and 8.6 Hz), 8.81 (1H, d, *J* = 1.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3409, 3080, 2963, 1719, 1234, 889, 838, 588.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(3,4-ビス(ベンジルオキシ)ベンゾイルオキシ)エトキシカルボニル)キノキサリン **8**

化合物 **7** (1.0 mmol) と 3,4-ビス(ベンジルオキシ)安息香酸 (1.0 mmol) の乾燥

THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で DCC (1.1 mmol) と DMAP (0.1 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 100:10:4) で精製し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: 34%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.65 (4H, s), 4.90 (2H, s), 4.91 (2H, s), 5.12 (2H, s), 5.13 (2H, s), 7.08 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.15 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.0 Hz), 7.23-7.26 (1H, m), 7.30-7.41 (10H, m), 8.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.33 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.6 Hz), 8.75 (1H, d, *J* = 1.5 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3064, 2942, 1730, 1315, 1268, 1251, 1040, 888, 857, 756, 531.

#### *N*-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-3,4-ジヒドロキシベンズアミド **10**

3,4-ジヒドロキシ安息香酸 **9** (2.3 mmol) と 2-(ベンジルオキシ)エチルアミン (2.4 mmol) の乾燥 THF 溶液 (20 mL) に、0 °C で EDCI (2.4 mmol) と HOBt (2.4 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。脱溶媒後、残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、1 M 塩酸 (50 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL × 2)、水 (50 mL) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物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、目的化合物を得た。

Pale yellow oil, yield: 81%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.65-3.67 (4H, m), 4.55 (2H, s), 6.59 (1H, br), 6.86 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.07 (1H, d, *J* = 2.0 and 8.0 Hz), 7.29-7.38 (5H, m), 7.59 (1H, dd, *J* = 2.0 and 8.0 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3385, 3000, 2856, 1655, 1370, 1277, 1178, 887, 804, 699.

#### *N*-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-3,4-ビス(メトキシメトキシ)ベンズアミド **11**

化合物 **10** (2.4 mmol) と炭酸カリウム (6.0 mmol) のアセトニトリル懸濁液 (20 mL) に、0 °C でクロロメチルメチルエーテル (5.5 mmol) を加えた。アルゴン雰囲気下室温で 24 時間攪拌し、析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : 酢酸エチル = 7:3) で精製し、目的化合物を得た。

Yellow oil, yield: 80%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.51 (3H, s), 3.52 (3H, s), 3.66-3.67 (4H, m), 4.55 (2H, s), 5.28 (2H, s), 5.29 (2H, s), 6.49 (1H, br), 7.18 (1H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.26-7.38 (6H, m), 7.61 (1H, dd, *J* = 2.0 and 8.5 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3411, 3002, 2923, 1656, 1359, 1260, 1188, 881, 832, 687.

#### *N*-(2-ヒドロキシエチル)-3,4-ビス(メトキシメトキシ)ベンズアミド **12**

化合物 **11** (2.1 mmol) と 10% Pd-C (100 mg) のエタノール懸濁液 (20 mL) を、水素雰囲気下室温で 2 時間攪拌した。触媒をろ別し、ろ液を脱溶媒し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: quant.. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.51 (3H, s), 3.53 (3H, s), 3.65 (2H, q, *J* = 6.5 Hz), 3.83 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 5.28 (2H, s), 5.29 (2H, s), 5.83 (1H, s), 6.58 (1H, br), 7.18 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.40 (1H, dd, *J* = 2.0 and 8.6 Hz), 7.61 (1H, d, *J* = 2.0 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3380, 3084, 2939, 2830, 1652, 1539, 1259, 1155, 1074, 756, 688.

#### 2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(3,4-ビス(メトキシメトキシ)フェニルカルボニルアミノ)エトキシカルボニル)キノキサリン **13**

**Qx** (1.5 mmol) と化合物 **12** (1.5 mmol) の乾燥 THF 溶液 (15 mL) に、0 °C で DCC (1.6 mmol) と DMAP (0.2 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗

浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : 酢酸エチル = 7:3) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 49%, mp: 123-125 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.50 (3H, s), 3.51 (3H, s), 3.90 (2H, q, *J* = 6.0 Hz), 4.63 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 4.92 (2H, s), 4.93 (2H, s), 5.27 (2H, s), 5.28 (2H, s), 6.52 (1H, br), 7.18 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.40 (1H, dd, *J* = 2.0 and 8.6 Hz), 7.62 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.13 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 8.39 (1H, dd, *J* = 1.5 and 9.0 Hz), 8.79 (1H, d, *J* = 1.5 Hz). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 30.2 (CH<sub>2</sub>), 39.6 (CH<sub>2</sub>), 56.4 (CH<sub>3</sub>), 64.7 (CH<sub>2</sub>), 95.2 (CH<sub>2</sub>), 95.5 (CH<sub>2</sub>), 115.7 (CH), 121.5 (CH), 128.3 (C), 129.5 (C), 130.5 (CH), 131.8 (CH), 131.9 (C), 140.8 (C), 143.6 (C), 147.0 (C), 150.2 (C), 152.1 (C), 153.0 (C), 165.8 (C=O), 167.2 (C=O). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3260, 3071, 2951, 1719, 1638, 1511, 1259, 1124, 868, 764, 586.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニルカルボニルアミノ)エトキシカルボニル)キノキサリン **14**

化合物 **13** (0.4 mmol) と PPTS (2.0 mmol) をジクロロメタン (5 mL) と *tert*-ブチルアルコール (5 mL) に溶解させ、40 °C で5時間攪拌した。脱溶媒し、残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、水 (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 100:20:4) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 82%, mp: 185-188 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3.66 (2H, q, *J* = 6.0 Hz), 4.45 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 5.07 (2H, s), 5.08 (2H, s), 6.74 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.93-6.96 (2H, m), 7.05 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.0 Hz), 7.20 (1H, dd, *J* = 2.0 and 8.6 Hz), 7.28 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.21 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.35 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.6 Hz), 8.48 (1H, br), 8.71 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 9.12 (1H, s), 9.48 (1H, s). <sup>13</sup>C NMR (126

MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 30.0 (CH<sub>2</sub>), 38.1 (CH<sub>2</sub>), 64.5 (CH<sub>2</sub>), 114.8 (CH), 115.1 (CH), 119.0 (C), 125.6 (C), 129.2 (CH), 130.2 (CH), 130.6 (CH), 131.8 (C), 140.1 (C), 142.7 (C), 144.8 (CH), 152.4 (C), 153.2 (C), 164.9 (C=O), 166.6 (C=O). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3498, 3398, 3038, 2977, 1713, 1634, 1540, 1329, 1250, 1190, 891, 804, 630.

*N*-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-2,3-ジヒドロキシベンズアミド **16**

2,3-ジヒドロキシ安息香酸 **15** (2.3 mmol) と 2-(ベンジルオキシ)エチルアミン (2.4 mmol) の乾燥 THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で EDCI (2.4 mmol) と HOBt (2.4 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。脱溶媒後、残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、1 M 塩酸 (50 mL)、水 (50 mL) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : 酢酸エチル = 7:3) で精製し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: 77%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.66-3.68 (4H, m), 4.56 (2H, s), 5.76 (1H, s), 6.72 (1H, br), 6.76 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 6.86 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.0 Hz), 7.05 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.0 Hz), 7.29-7.38 (5H, m). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3381, 3031, 2936, 1641, 1373, 1267, 1176, 741, 699.

*N*-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-2,3-ビス(メトキシメトキシ)ベンズアミド **17**

化合物 **16** (2.4 mmol) と炭酸カリウム (6.0 mmol) のアセトニトリル懸濁液 (20 mL) に、0 °C でクロロメチルメチルエーテル (5.5 mmol) を加えた。アルゴン雰囲気下室温で 24 時間攪拌し、析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: 91%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.46 (3H, s), 3.51 (3H, s), 3.66-3.72 (4H, m), 4.55 (2H, s), 5.18 (2H, s), 5.21 (2H, s), 7.13 (1H, t, *J* = 8.5 Hz), 7.25-7.36 (6H, m), 7.71 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.5 Hz), 8.12 (1H, br). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):

3384, 3022, 2927, 1644, 1353, 1261, 1178, 745, 697.

化合物 **17** の水素添加反応による脱ベンジル化

化合物 **17** (2.1 mmol) と 10% Pd-C (100 mg) のエタノール懸濁液 (10 mL) を、水素雰囲気下室温で 24 時間攪拌した。触媒をろ別し、ろ液を脱溶媒し、*N*-(2-ヒドロキシエチル)-2,3-ジヒドロキシベンズアミド **19** を得た。

Colorless oil, yield: 90%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.64 (2H, q, *J* = 6.5 Hz), 3.86 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 5.83 (1H, s), 6.76 (1H, t, *J* = 8.5 Hz), 6.84 (1H, br), 6.93 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.5 Hz), 7.05 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.5 Hz).

反応時間を 20 分間にした場合、*N*-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシ-3-(メトキシメトキシ)ベンズアミド **20** を得た。

Colorless oil, yield: 93%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.52 (3H, s), 3.64 (2H, q, *J* = 6.5 Hz), 3.86 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 5.25 (2H, s), 6.80 (1H, t, *J* = 8.5 Hz), 6.97 (1H, br), 7.17 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.5 Hz), 7.26-7.28 (1H, m), 11.81 (1H, s).

*N*-(2-ヒドロキシエチル)-2,3-ジヒドロキシベンズアミド **19**

化合物 **16** (7.0 mmol) と 10% Pd-C (100 mg) のエタノール懸濁液 (20 mL) を、水素雰囲気下室温で 24 時間攪拌した。触媒をろ別し、ろ液を脱溶媒し、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、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: quant.. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.64 (2H, q, *J* = 6.5 Hz), 3.86 (2H, t, *J* = 6.5 Hz), 5.83 (1H, s), 6.76 (1H, t, *J* = 8.5 Hz), 6.84 (1H, br), 6.93 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.5 Hz), 7.05 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.5 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3384, 3256, 2957, 1648, 1410, 1373, 1261, 1135, 1082, 763, 688.

*N*-(2-ヒドロキシエチル)-2,3-ビス(メトキシメトキシ)ベンズアミド **18**

化合物 **19** (3.6 mmol) と炭酸カリウム (7.2 mmol) のアセトニトリル懸濁液 (30 mL) に、0 °C でクロロメチルメチルエーテル (7.2 mmol) を加えた。アルゴ

ン雰囲気下室温で 24 時間攪拌し、析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、水 (50 mL) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (メタノール : 酢酸エチル = 1:9) で精製し、目的化合物を得た。

Colorless oil, yield: 33%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.52 (3H, s), 3.53 (3H, s), 3.64 (2H, q,  $J = 6.5$  Hz), 3.82 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 5.22 (2H, s), 5.25 (2H, s), 7.15 (1H, t,  $J = 8.5$  Hz), 7.29 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 7.73 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 8.23 (1H, br). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3380, 3084, 2939, 2830, 1652, 1539, 1259, 1155, 1074, 756, 688.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(2-ヒドロキシ-3-(メトキシメトキシ)フェニルカルボニルアミノ)エトキシカルボニル)キノキサリン **21**

**Qx** (1.5 mmol) と化合物 **18** (1.5 mmol) の乾燥 THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で DCC (1.6 mmol) と DMAP (0.2 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL  $\times$  2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 200:5:1) で精製し、目的化合物を得た。

Brown oil, yield: 58%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.52 (3H, s), 3.92 (2H, q,  $J = 6.0$  Hz), 4.66 (2H, t,  $J = 6.0$  Hz), 4.92 (2H, s), 4.93 (2H, s), 5.25 (2H, s), 6.82 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 7.15 (1H, br), 7.22 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.0 Hz), 7.26-7.28 (1H, m), 8.13 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 8.39 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 9.0 Hz), 8.81 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 30.1 ( $\text{CH}_2$ ), 39.5 ( $\text{CH}_2$ ), 56.4 ( $\text{CH}_3$ ), 64.3 ( $\text{CH}_2$ ), 95.4 ( $\text{CH}_2$ ), 115.0 (C), 117.2 (CH), 118.3 (CH), 119.2 (CH), 129.5 (CH), 130.5 (CH), 130.8 (CH), 131.9 (C), 140.4 (C), 143.1 (C), 146.5 (C), 150.0 (C), 152.4 (C), 153.0 (C), 164.8 (C=O), 171.0 (C=O). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3325, 2929, 2844, 1724, 1627, 1530, 1244, 1182, 855,

804, 641.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(2,3-ジヒドロキシフェニルカルボニルアミノ)エトキシカルボニル)キノキサリン **22**

化合物 **21** (0.4 mmol) と PPTS (2.0 mmol) をジクロロメタン (5 mL) と *tert*-ブチルアルコール (5 mL) に溶解させ、40 °C で 5 時間攪拌した。脱溶媒し、残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、水 (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 100:10:4) で精製し、目的化合物を得た。Yellow powders, yield: 90%, mp: 180-182 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.92 (2H, q, *J* = 6.0 Hz), 4.66 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 4.92 (2H, s), 4.93 (2H, s), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.93-6.96 (2H, m), 7.05 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.0 Hz), 8.13 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.38 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.6 Hz), 8.80 (1H, d, *J* = 1.5 Hz). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 31.1 (CH<sub>2</sub>), 38.2 (CH<sub>2</sub>), 64.1 (CH<sub>2</sub>), 114.9 (C), 115.7 (CH), 118.1 (CH), 118.9 (CH), 129.3 (CH), 130.2 (CH), 130.6 (CH), 131.7 (C), 140.4 (C), 142.7 (C), 146.2 (CH), 149.6 (C), 152.3 (C), 153.2 (C), 164.8 (C=O), 170.2 (C=O). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3525, 3382, 2927, 1722, 1642, 1543, 1333, 1257, 1179, 915, 804, 590.

ベンジル 2-(3,4-ジヒドロキシベンズアミド)エチルカルバメート **23**

3,4-ジヒドロキシ安息香酸 **9** (7.7 mmol) とベンジル 2-アミノエチルカルバメート (7.7 mmol) の乾燥 THF 溶液 (40 mL) に、0 °C で EDCI (7.8 mmol) と HOBT (7.8 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。脱溶媒後、残渣を酢酸エチル (100 mL) に溶解させ、1 M 塩酸 (100 mL)、水 (100 mL) と飽和食塩水 (100 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 6:1) で精製し、目的化合物を得た。



White solids, yield: 72%, mp: 171-172 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 3.13 (2H, q,  $J = 6.3$  Hz), 3.26 (2H, q,  $J = 6.3$  Hz), 5.01 (2H, s), 6.73 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.17 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 7.27 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 7.28-7.37 (6H, m), 8.16 (1H, br). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3363, 3091, 2984, 1705, 1625, 1435, 1327, 1266, 1115, 887, 839, 733, 694.

*N*-(2-アミノエチル)-3,4-ジヒドロキシベンズアミド **25**

化合物 **23** (1.5 mmol) と 10% Pd-C (100 mg) のエタノール懸濁液 (10 mL) を、水素雰囲気下室温で 24 時間攪拌した。触媒をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を水 (100 mL) に溶解させ、クロロホルム (30 mL) で洗浄し、脱溶媒と乾燥後に目的化合物を得た。

Pale yellow oil, yield: 88%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 2.65 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz), 3.21 (2H, q,  $J = 6.8$  Hz), 6.73 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.17 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 7.26 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 8.49 (1H, br). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3410, 3288, 3199, 3002, 2944, 1637, 1448, 1338, 1166, 876, 822, 749, 697.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(3,4-ジヒドロキシフェニルカルボニルアミノ)エチルアミノカルボニル)キノキサリン **27**

**Qx** (1.0 mmol) と化合物 **25** (1.1 mmol) のメタノール溶液 (10 mL) に DMT-MM (1.1 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。溶媒を除去し、残渣を酢酸エチル (100 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL  $\times$  2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 6:1) で精製し、目的化合物を得た。

Yellow oil, yield: 30%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 3.44-3.50 (4H, m), 5.07 (2H, s), 5.08 (2H, s), 6.74 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.20 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.0 Hz), 7.29 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 8.17 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 8.30 (1H, dd,  $J = 1.6$  and 8.6 Hz), 8.59 (1H, d,  $J =$

1.6 Hz), 8.59 (1H, br), 9.00 (1H, br), 9.10 (1H, s), 9.45 (1H, s). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3298, 3064, 2931, 1638, 1596, 1543, 1309, 1195, 848, 821, 631.

ベンジル 2-(2,3-ジヒドロキシベンズアミド)エチルカルバメート **24**

2,3-ジヒドロキシ安息香酸 **15** (7.7 mmol) とベンジル 2-アミノエチルカルバメート (7.7 mmol) の乾燥 THF 溶液 (20 mL) に、0 °C で EDCI (7.8 mmol) と HOBt (7.8 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。脱溶媒後、残渣を酢酸エチル (100 mL) に溶解させ、1 M 塩酸 (100 mL)、水 (100 mL) と飽和食塩水 (100 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : 酢酸エチル = 7:3) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 72%, mp: 114-116 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.50 (2H, q,  $J = 5.0$  Hz), 3.58 (2H, q,  $J = 5.0$  Hz), 5.12 (2H, s), 6.77 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 6.96 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.0 Hz), 7.05 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.0 Hz), 7.30-7.37 (6H, m), 7.55 (1H, br). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3365, 3064, 2945, 1706, 1641, 1458, 1331, 1263, 1149, 844, 743, 698.

N-(2-アミノエチル)-2,3-ジヒドロキシベンズアミド **26**

化合物 **24** (4.8 mmol) と 10% Pd-C (100 mg) のエタノール懸濁液 (20 mL) を、水素雰囲気下室温で 24 時間攪拌した。触媒をろ別し、ろ液を脱溶媒し、残渣をクロロホルム (50 mL) で洗浄し、目的化合物を得た。

Orange powders, yield: 90%, mp: 89-91 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 2.99 (2H, t,  $J = 6.0$  Hz), 3.53 (2H, q,  $J = 6.0$  Hz), 6.68 (1H, t,  $J = 8.5$  Hz), 6.92 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 7.28 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 9.01 (1H, br). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3338, 3198, 3035, 2937, 1620, 1442, 1368, 1152, 847, 749.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-(2-(2,3-ジヒドロキシフェニルカルボニルアミノ)エ

チルアミノカルボニルキノキサリン **28**

**Qx** (1.0 mmol) と化合物 **26** (1.1 mmol) のメタノール溶液 (10 mL) に DMT-MM (1.1 mmol) を加え、室温で 5 時間攪拌した。溶媒を除去し、残渣を酢酸エチル (100 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL × 2) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 100:20:4) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 35%, mp: 207-209 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3.53 (4H, br), 5.06 (2H, s), 5.07 (2H, s), 6.68 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 6.91 (1H, dd, *J* = 1.3 and 8.0 Hz), 7.28 (1H, dd, *J* = 1.3 and 8.0 Hz), 8.18 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.30 (1H, dd, *J* = 1.5 and 8.6 Hz), 8.63 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 8.95 (1H, br), 9.06 (1H, br), 9.13 (1H, s). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3352, 3280, 3064, 2951, 1640, 1587, 1549, 1339, 1195, 910, 851, 819, 731, 599.

2,3-ビス(ブロモメチル)-6-キノキサリン酸 2-(ベンズアミド)エチル **29**

**Qx** (1.4 mmol) と *N*-(2-ヒドロキシエチル)ベンズアミド (1.5 mmol) の乾燥 THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で DCC (1.5 mmol) と DMAP (0.2 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : 酢酸エチル = 7:3) で精製し、目的化合物を得た。

Pale violet solids, yield: 68%, mp: 172-174 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ: 3.94 (2H, q, *J* = 5.0 Hz), 4.63 (2H, t, *J* = 5.0 Hz), 4.92 (2H, s), 4.93 (2H, s), 6.63 (1H, br), 7.45 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.52 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.79 (2H, d, *J* = 7.5 Hz), 8.13 (1H, d, *J* =

8.6 Hz), 8.40 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.6 Hz), 8.80 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 31.0 (CH<sub>2</sub>), 38.4 (CH<sub>2</sub>), 64.4 (CH<sub>2</sub>), 127.2 (CH), 128.3 (CH), 129.2 (CH), 130.1 (CH), 130.6 (CH), 131.2 (CH), 131.7 (C), 134.4 (C), 140.0 (C), 142.7 (C), 152.3 (C), 153.1 (C), 164.9 (C=O), 166.7 (C=O). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3348, 3058, 2929, 2850, 1724, 1640, 1576, 1326, 1261, 908, 850, 802, 634.

*N*-(2-(ベンズアミド)エチル)-2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリン-6-カルボキサミド **30**

**Qx** (1.0 mmol) と *N*-(2-アミノエチル)ベンズアミド (1.1 mmol) の乾燥 THF 溶液 (10 mL) に、0 °C で DCC (1.1 mmol) と HOBT (1.1 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下室温で 48 時間攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (50 mL) と飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム : アセトン : エタノール = 100:10:4) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 54%, mp: 192-194 °C.  $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 3.78-3.81 (4H, m), 4.93 (2H, s), 4.94 (2H, s), 6.91 (1H, br), 7.44-7.53 (4H, m), 7.83 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 8.12 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 8.23 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz), 8.52 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 31.2 (CH<sub>2</sub>), 62.6 (CH<sub>2</sub>), 64.4 (CH<sub>2</sub>), 127.7 (CH), 128.9 (CH), 129.7 (CH), 130.3 (CH), 130.8 (CH), 132.0 (CH), 132.8 (C), 135.3 (C), 139.0 (C), 140.7 (C), 152.7 (C), 153.8 (C), 164.9 (C=O), 165.4 (C=O). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3276, 3078, 2937, 1636, 1620, 1542, 1366, 891, 851, 808, 667.

## 参考文献

- 1) Smit J., Kamio Y., Nikaido H., *J. Bacteriol.*, **124**, 942-958 (1975).
- 2) A. Katoh, *オレオサイエンス*, **1**, 599-608 (2001).
- 3) G. Winkelmann, *Handbook of Microbial Iron Chelates*, CRC Press, London (1991).
- 4) P. Silley, J. W. Griffiths, D. Monsey, A. M. Harris, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **34**, 1806-1808 (1990).
- 5) H. Nikaido, E. Y. Rosenberg, *J. Bacteriol.*, **172**, 1361-1367 (1990).
- 6) I. A. Critchley, *J. Antimicrob. Chemother.*, **34**, 733-735 (1990).
- 7) S. Nakagawa, M. Sanada, K. Matsuda, T. Hashizume, Y. Asahi, R. Ushijima, N. Ohtake, N. Tanaka, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **33**, 1423-1427 (1989).
- 8) B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **17**, 522-524 (1978).
- 9) T. M. Garrett, T. J. McMurry, M. W. Hosseini, Z. E. Reyes, F. E. Hahn, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 2965-2977 (1991).
- 10) E. H. Vickery, L. F. Pahler, E. J. Eisenbraun, *J. Org. Chem.*, **44**, 4444-4446 (1979).
- 11) X. E. Hu, J. M. Cassady, *Synth. Commun.*, **25**, 907-913 (1995).
- 12) L. Soulere, C. Viode, J. Perie, P. Hoffmann, *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 578-582 (2002).
- 13) A. Scopton, T. R. Kelly, *Org. Lett.*, **6**, 3869-3871 (2004).
- 14) H. Monti, G. Leandri, M. Klos-Ringuet, C. Corriol, *Synth. Commun.*, **13**, 1021-1026 (1983).
- 15) C. P. G. Allmann, P. S. Stevn, *J. Chem. Soc. Parkin Trans. 1*, 163-168 (1987).
- 16) T. Ikawa, H. Sajiki, K. Hirota, *Tetrahedron*, **60**, 6189-6195 (2004).
- 17) S. J. Krivickas, E. Tamanini, M. H. Todd, M. Watkinson, *J. Org. Chem.*, **72**,

8280-8289 (2007).

18) M. Kunishima, C. Kawachi, J. Morita, F. Iwasaki, S. Tani, *Tetrahedron*, **55**, 13159-13170 (1999).

19) M. Kunishima, C. Kawachi, K. Hioki, K. Terao, S. Tani, *Tetrahedron*, **57**, 1551-1558 (2001).

## 第4章 カルコンの臭素付加体とエポキシ化体

### 4-1 はじめに

第2章では、生物活性の発現にとっても重要な骨格であるキノキサリン環と、標的酵素との不可逆的結合を容易にすると考えられるブロモアセチル構造を組み合わせた化合物が高い抗菌活性を示したことを述べた。そこで、ブロモアセチル構造と他の生物活性の発現に重要な構造単位を組み合わせた化合物も高い抗菌活性を示すか、調査することにした。

キノキサリン環以外の生物活性の発現に重要な構造単位として、カルコン骨格に注目した。序論でも述べたが、様々なカルコン誘導体が抗腫瘍活性、抗菌活性、抗マラリア活性、抗 HIV ウィルス活性や抗炎症活性などの様々な生物活性を持つことが報告されていることから、カルコン骨格も生物活性の発現にとっても重要な構造単位であると考えられる。ゆえに、カルコン骨格にブロモアセチル構造を導入した化合物も高い抗菌活性を示す新規化合物になると考えた。まず、分子設計に関して説明すると、図4-1に示すようにカルコン骨格の2つのベンゼン環を繋ぐ部位の炭素-炭素二重結合 (C=C) に臭素を付加させた構造は、ブロモアセチル構造を有する。これをブロモアセチル基とカルコン骨格のハイブリット構造と考えることができ、基本構造とした。

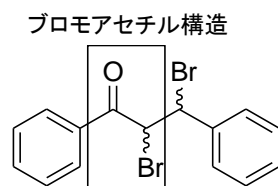


図 4-1. ブロモアセチル基とカルコン骨格のハイブリット構造

このブromoアセチル基が標的酵素との不可逆的結合を容易にすると考えられる要因は、求電子攻撃を受けやすいという特性を有するためである。ゆえに、同じように求電子攻撃を受けやすいエポキシ構造も標的酵素との不可逆的結合を容易にすると考えられる。そこで、エポキシ構造を導入した化合物も高い抗菌活性を有する新規化合物になると考え、図 4-2 に示すカルコンのエポキシ化体も合成することにした。

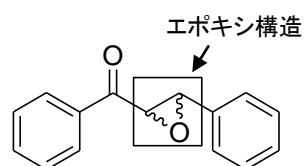


図 4-2. カルコンのエポキシ化体

リード化合物を改良する際のととても重要な知見が得られるために、第 2 章と同様に第 4 章でも、導入した置換基が与える抗菌活性への影響を調査する。一方、Nielsen らはカルコンのカルボニル基に直結していない方のベンゼン環（図 4-3、B 環）に様々な置換基を導入した 4'-カルボキシカルコン誘導体の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を調査する研究を行ない、B 環に導入した置換基の親油性が向上するにつれて抗菌活性も向上したと報告している<sup>1</sup>。しかしながら、カルボニル基に直結しているベンゼン環（A 環）に導入した置換基の抗菌活性への影響は調査されていない。そこで本研究では A 環に様々な置換基を導入し、その影響を調査することにした。



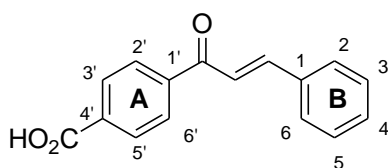


図 4-3. A 環と B 環

合成戦略に関して説明する (図 4-4)。まず、市販のアセトフェノン誘導体 **A** とベンズアルデヒド **B** との Claisen-Schmidt 反応により、カルコン誘導体 **C** を合成する。そのカルコン誘導体 **C** から、臭素付加反応によりカルコンの臭素付加体 **D** を、また酸化剤を反応させてカルコンのエポキシ化体 **E** を合成することにした。

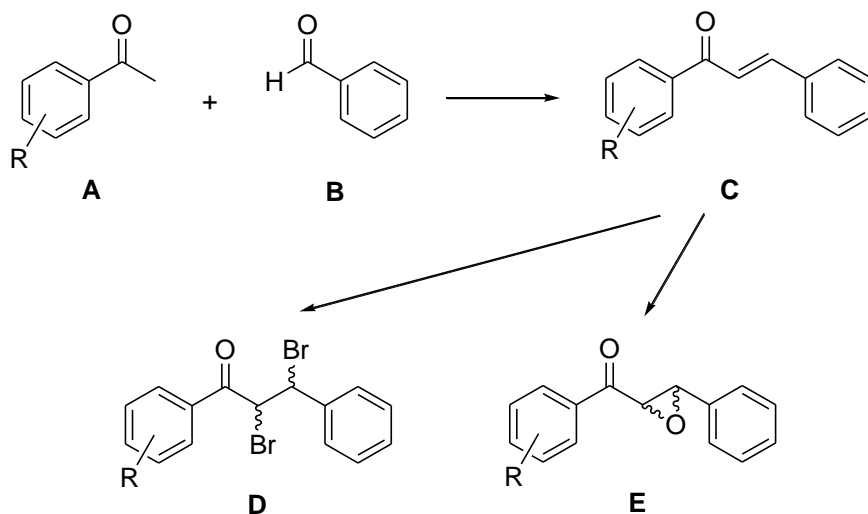
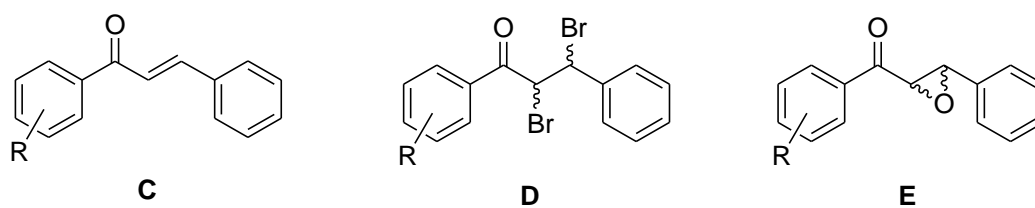


図 4-4. 合成スキーム

本章では、様々な置換基を導入したカルコン誘導体 **C** と、それらにブロモアセチル基を導入したカルコン臭素付加体 **D**、やエポキシ化体 **E** を合成し (図 4-5)、それらの抗菌活性を評価し、ブロモアセチル基やエポキシ基による求電子置換基の違い、導入した置換基とその位置の抗菌活性への影響について検討を行な

った。

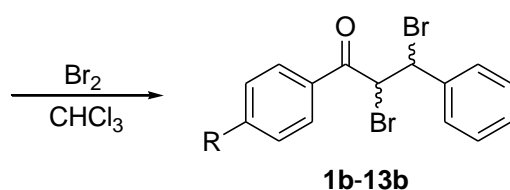
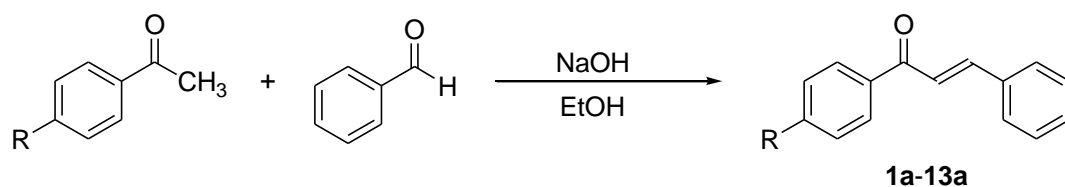


R = OCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, F, Cl, Br, I, CN, CF<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>H, OH, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>

図 4-5. 目的化合物

## 4-2 4'-置換カルコン誘導体の合成と抗菌活性

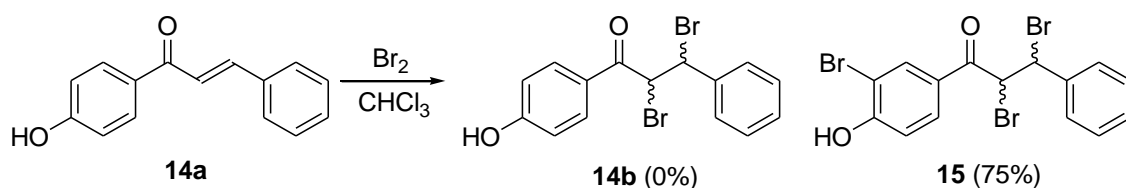
まず、4' 位に置換基を固定してカルコン誘導体の抗菌活性を比較することにした。カルコン誘導体 **1a-13a** は、Dhar が報告している方法<sup>2</sup>を基にして、塩基存在下でアセトフェノン誘導体とベンズアルデヒドを縮合させる Claisen-Schmidt 反応により合成した (Scheme 4-1)。4' 位にカルボキシ基をもつ **12a** の合成では、反応終了後に反応液を塩酸で処理した。これは、塩基性の反応液中にカルボキシラートイオンとして存在するカルボキシ基を元に戻すためである。**1a-13a** の収率が 64-90% であることから、4' 位の置換基 (R) は反応の効率に影響しないことが考えられる。そして **1a-13a** に臭素を反応させることで、カルコンの臭素付加体 **1b-13b** を中程度から高収率で得た。



	Yield (%)	
	a	b
1: R = OCH <sub>3</sub>	90	96
2: R = CH <sub>3</sub>	75	86
3: R = CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	72	74
4: R = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	78	96
5: R = C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	86	94
6: R = F	86	95
7: R = Cl	83	90
8: R = Br	80	92
9: R = I	79	82
10: R = CN	64	76
11: R = CF <sub>3</sub>	73	86
12: R = CO <sub>2</sub> H	84	71
13: R = CONH <sup>t</sup> Pr	78	66

Scheme 4-1

なお、4'-ヒドロキシカルコン **14a** に Scheme 4-1 と同様の方法で臭素付加反応を行なったところ、目的の **14b** は全く得られず、架橋する C=C 二重結合だけでなくヒドロキシ基の隣の 3' 位も臭素が置換した化合物 **15** が収率 75% で得られた (Scheme 4-2)。

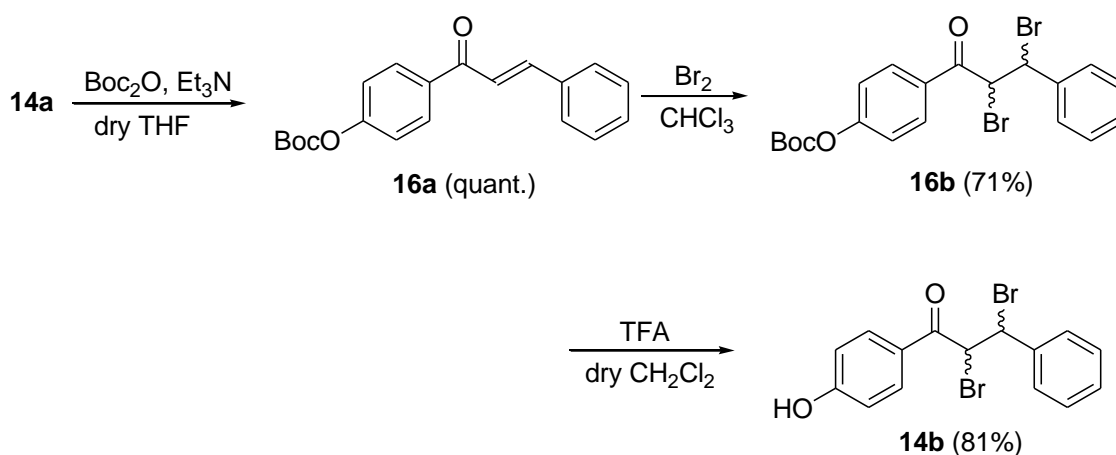


Scheme 4-2

通常、安定で反応性が低いベンゼン環の求核置換反応には触媒が必要であるが、**14a** の場合はヒドロキシ基の電子供与性によりベンゼン環が強く活性化されベンゼン環の反応性が向上していたため、ベンゼンの求核置換反応も起こり **15** が得られたと考えられる。そこで、ヒドロキシ基を保護し、電子供与性を低下させた化合物を経由して **14b** を合成することにし、その際に使用する保護基を検討した。まず、ベンジル基や *tert*-ブチル基のようなエーテル系保護基はヒドロキシ基の電子供与性をあまり低下させないので、ベンゼン環の電子密度を下げず求核置換反応を起こしにくくさせない。一方、アセチル基、ピバロイル基やベンゾイル基のようなアシル系保護基は電子求引性のカルボニル基によりヒドロキシ基の電子供与性を大きく低下させるため、ベンゼン環の電子密度を下げ求核置換反応を起こしにくくさせることができるが、脱保護に塩基を用いることからその塩基が臭素付加体の臭素と反応してしまうことが考えられた。そこで、カルバメート系保護基の *tert*-ブトキシカルボニル (Boc) 基を使用するこ

とにした。この Boc 基はベンゼン環の電子密度を下げ求核置換反応を起こしにくくさせ、酸で脱保護できるので、**14a** からヒドロキシ基の保護を経由して **14b** を合成する場合の保護基として最も適している。

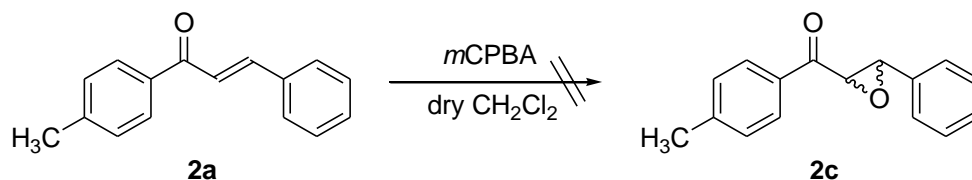
そして、**14a** と二炭酸ジ-*tert*-ブチル (Boc<sub>2</sub>O) をトリエチルアミン存在下で反応させ<sup>3</sup>、ヒドロキシ基を Boc 基で保護した **16a** を定量的に合成した。これまでと同様の方法で **16a** を臭素と反応させ、架橋する C=C 二重結合のみと臭素が反応した **16b** を 71% で得た。このとき、ベンゼン環上も臭素化された化合物は観測されなかった。最後に、**16b** にトリフルオロ酢酸 (TFA) を作用させ、**14b** を 81% で得ることができた (Scheme 4-3)。



Scheme 4-3

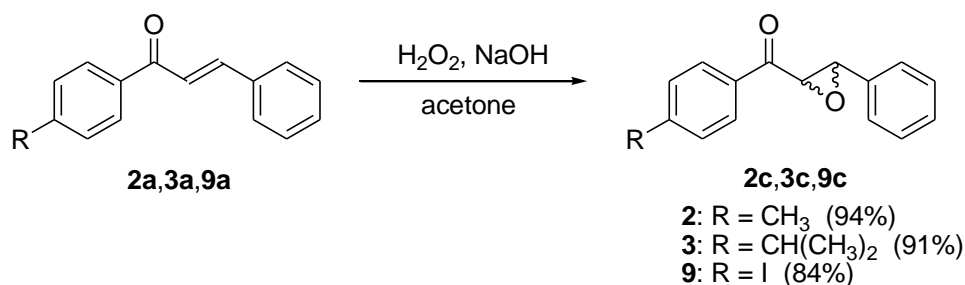
次に、架橋する C=C 二重結合を酸化し、エポキシ環を導入する反応を行なった。カルコン **2a** に酸化剤として *m*-クロロ過安息香酸 (*m*CPBA) を反応させたが、反応は全く進行せず、原料回収に終わった (Scheme 4-4)。 *m*CPBA を使用したエポキシ化反応は C=C 二重結合に電子供与基が多く結合すると反応が加速する。カルコンの場合、C=C 二重結合に電子求引性のカルボニル基が結合してい

たため、反応は減速し全く進行しなかったと考えられる。



**Scheme 4-4**

そこで、C=C 二重結合にカルボニル基が結合している電子不足オレフィンとも反応する過酸化水素を用いることにした<sup>4</sup>。カルコン (**2a**, **3a**, **9a**) と過酸化水素を塩基存在下で反応させて、カルコンのエポキシ化体 (**2c**, **3c**, **9c**) を高収率で得た (Scheme 4-5)。



**Scheme 4-5**

これまで合成した 4' 位に置換基を有するカルコン誘導体 (**1a-14a**, **16a**)、その臭素付加体 (**1b-14b**, **15**, **16b**) とそのエポキシ化体 (**2c**, **3c**, **9c**) の抗菌活性を評価し、細菌と酵母に対する抗菌活性の結果を表 4-1 に、カビに対する抗菌活性の結果を表 4-2 にまとめた。表 4-1 を見ると、1 種類のカルコン誘導体と 6 種類のカルコンの臭素付加体が抗菌活性を示した。それらの中で、4'-カルボキシカルコンの臭素付加体 **14b** と 3'-ブromo-4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体 **15** がグ

ラム陽性菌に対して最も高い活性を示したことから、カルボキシ基とヒドロキシ基のような酸性基の導入が高い抗菌活性に重要であると言える。また、表 4-1 と 4-2 を見ると、ヒドロキシ基をもつ臭素付加体 (**14b**, **15**) が唯一真菌に対して抗菌活性を示したことから、4' 位のヒドロキシ基は真菌に対する活性に必要不可欠であると思われる。

抗菌活性と置換基の関係を 4' 位にカルボキシ基もしくは *N*-イソプロピルアミド基をもつ化合物 (**12a**, **12b**, **13a**, **13b**) において比較する (表 4-1)。その中で、4'-カルボキシカルコン **12a** はカルコン誘導体で唯一グラム陽性菌に対して活性を示し、その臭素付加体 **12b** が前駆体 **12a** より高い活性を示した。この結果から臭素付加によるカルコンへのブロモアセチル構造の導入が抗菌活性を向上させると考えられる。対照的に、*N*-イソプロピルアミドをもつカルコンとその臭素付加体の両方 (**13a**, **13b**) は全く活性を示さなかったことから、フリーのカルボキシ基の存在が抗菌活性を示すうえで重要であると考えられる。

次に、ヒドロキシ誘導体 (**14a**, **14b**, **15**, **16a**, **16b**) について比較する。カルコン誘導体 (**14a**, **16a**) は不活性であったが、臭素付加体 (**14b**, **15**, **16b**) はグラム陽性菌に対して抗菌活性を示したことから、カルコンへの臭素付加によるブロモアセチル構造の導入が抗菌活性を向上させることが考えられる。ヒドロキシ基を Boc 基で保護した臭素付加体 **16b** はヒドロキシ基が無保護の臭素付加体 (**14b**, **15**) と比べて、はるかに低い抗菌活性であったことから、フリーのヒドロキシ基の存在が高い活性には重要であると考えられる。4' 位にヒドロキシ基をもつ臭素付加体 (**14b**, **15**) で比べると、3'位に臭素をもつ **15** は 3' 位が無置換の **14b** よりグラム陽性菌に対する活性が高い、3'位への臭素の導入はグラム陽性菌に対する活性を向上させた。このことは 3'位の臭素の直接的な影響と 3'位に臭素の電子特性による影響のどちらかがグラム陽性菌に対する活性を向上させる

ことを示唆している。

さらに4位にイソプロピル基 (**3a-c**) およびヨウ素 (**9a-c**) を持つカルコン誘導体において比較すると (表 4-1)、カルコンの臭素付加体 (**3b, 9b**) がグラム陽性菌に対して抗菌活性を示し、その前駆体のカルコン誘導体 (**3a, 9a**) は活性を示さなかった。この結果はカルコン骨格への臭素付加によるブロモアセチル構造の導入が抗菌活性を向上させることを支持している。しかしながら、エポキシ化体 (**3c, 9c**) は不活性であったことから、すべての反応性置換基の導入が抗菌活性を向上させるということではなかった。イソプロピル基やヨウ素は嵩ばった親油性の高い置換基であるので、嵩高い置換基あるいは高い親油性置換基の導入が抗菌活性を向上させると考えられるが、嵩高い置換基の *tert*-ブチル基 (**5a, 5b**) や高い親油性置換基のプロピル (**4a, 4b**) はすべて不活性であった。ゆえに、イソプロピル基やヨウ素の効果が置換基の嵩高さや高い親油性によるものでなく、特異的なものであると示唆される。一方、電子供与基であるメトキシ、メチル基を持つカルコン (**1a, 2a**) とその臭素付加体 (**1b, 2b**) は細菌や真菌に対して不活性であり、電子求引基であるフッ素、塩素、臭素、シアノ、トリフルオロメチル基をもつカルコン (**6a-11a**) とその臭素付加体 (**6b-11b**) も細菌や真菌に対して不活性であった。このことから、4' 位の置換基の電子特性 (電子供与性、電子求引性) は抗菌活性に影響を及ぼさないことが考えられる。また、すべての化合物がグラム陰性菌に対して全く活性を示さなかった。

以上の結果を踏まえて、ブロモアセチル構造の導入が抗菌活性を向上させたことはブロモアセチル構造の導入によりカルコン誘導体に標的分子と不可逆的結合を形成する能力が付与されたためと思われる。さらに、4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体の抗菌活性への3' 位の置換基の影響およびカルボキシ基とヒドロキシ基の置換位置による抗菌活性への影響を調査することにした。



表 4-1. 4'位に様々な置換基を有するカルコン誘導体の抗菌活性-1 (細菌と酵母)

	R	MIC (μg/mL)						
		Gram-positive		Gram-negative			Yeast	
		B. s. <sup>a</sup>	S. a. <sup>b</sup>	E. c. <sup>c</sup>	P. a. <sup>d</sup>	S. m. <sup>e</sup>	R. r. <sup>f</sup>	S. c. <sup>g</sup>
1a	OCH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
1b	OCH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2a	CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2b	CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2c	CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3a	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3b	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	<b>12.5</b>	<b>100</b>	>100	>100	>100	>100	>100
3c	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
4a	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
4b	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
5a	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
5b	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6a	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6b	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
7a	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
7b	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
8a	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
8b	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9a	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9b	I	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9c	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
10a	CN	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
10b	CN	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
11a	CF <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
11b	CF <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
12a	CO <sub>2</sub> H	<b>12.5</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100	>100
12b	CO <sub>2</sub> H	<b>6.3</b>	<b>12.5</b>	>100	>100	>100	>100	>100
13a	CONH <sup>t</sup> Pr	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
13b	CONH <sup>t</sup> Pr	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
14a	OH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
14b	OH	<b>6.3</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100	<b>25</b>
15	OH + 3'-Br	<b>6.3</b>	<b>12.5</b>	>100	>100	>100	>100	>100
16a	BocO	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
16b	BocO	<b>100</b>	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Bacillus subtilis*. <sup>b</sup>*Staphylococcus aureus*. <sup>c</sup>*Escherichia coli*. <sup>d</sup>*Pseudomonas aeruginosa*. <sup>e</sup>*Serratia marcescens*. <sup>f</sup>*Rhodotorula rubra*. <sup>g</sup>*Saccharomyces cerevisiae*.

表 4-2. 4'位に様々な置換基を有するカルコン誘導体の抗菌活性-2 (カビ)

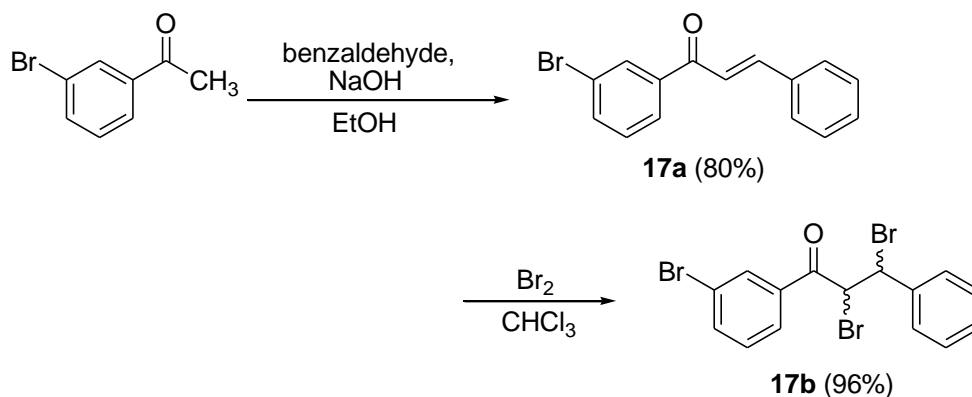
	R	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )						
		Mold						
		A. n. <sup>a</sup>	P. c. <sup>b</sup>	C. c. <sup>c</sup>	A. p. <sup>d</sup>	A. s. <sup>e</sup>	M. s. <sup>f</sup>	G. v. <sup>g</sup>
1a	OCH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
1b	OCH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2a	CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2b	CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2c	CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3a	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3b	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3c	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
4a	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
4b	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
5a	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
5b	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6a	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6b	F	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
7a	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
7b	Cl	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
8a	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
8b	Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9a	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9b	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9c	I	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
10a	CN	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
10b	CN	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
11a	CF <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
11b	CF <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
12a	CO <sub>2</sub> H	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
12b	CO <sub>2</sub> H	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
13a	CONH <sup>i</sup> Pr	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
13b	CONH <sup>i</sup> Pr	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
14a	OH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
14b	OH	>100	>100	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
15	OH + 3'-Br	>100	>100	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100
16a	BocO	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
16b	BocO	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Aspergillus niger*. <sup>b</sup>*Penicillium citrinum*. <sup>c</sup>*Cladosporium cladosporioides*.

<sup>d</sup>*Aureobasidium pullulans*. <sup>e</sup>*Alternaria sp.* <sup>f</sup>*Mucor spinescens*. <sup>g</sup>*Gliocladium virens*.

### 4-3 3'位の置換基と抗菌活性の関係

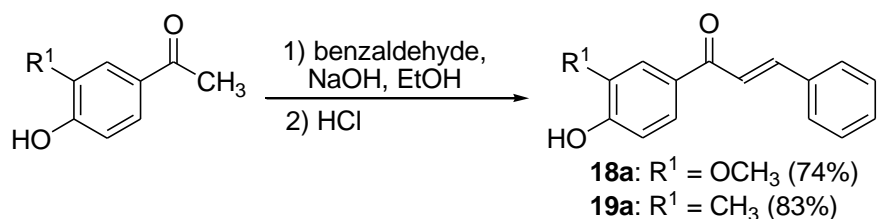
4-2 の表 4-1 で、4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体 **14b** の 3' 位に臭素を導入した化合物 **15** が **14b** よりグラム陽性菌に対して高い活性を示したことから、3' 位の置換基と抗菌活性の関係を調査することにした。3' 位の臭素の直接的な影響を調べるために、まず、3'-ブromoカルコンの臭素付加体を合成した。3'-ブromoアセトフェノンとベンズアルデヒドを塩基存在下で反応させ、3'-ブromoカルコン **17a** を収率 80% で合成し、臭素を付加させて目的の 3'-ブromoカルコンの臭素付加体 **17b** を 96% で得た (Scheme 4-6)。 **17a** と **17b** が高収率で得られたことから、3' 位の臭素はカルコン形成反応と臭素付加反応の効率に影響しなかったと考えられる。



Scheme 4-6

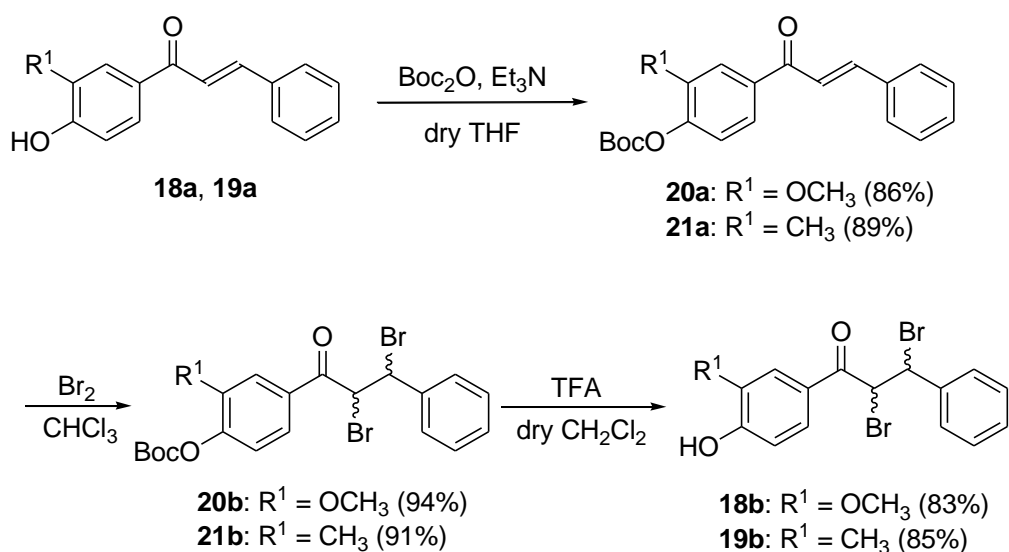
次は 3' 位の置換基の電子特性が抗菌活性を向上させた可能性も存在するため、3' 位に様々な置換基を導入した 4'-ヒドロキシカルコン臭素付加体を合成することにした。3' 位に強い電子供与基のメトキシ基と弱い電子供与基のメチル基を導入したカルコンの臭素付加の合成をした。まず、カルコン誘導体 (**18a**, **19a**)

はアセトフェノン誘導体とベンズアルデヒドを塩基存在下で反応させ、塩酸で処理して、収率 74-83%で合成した (Scheme 4-7)。



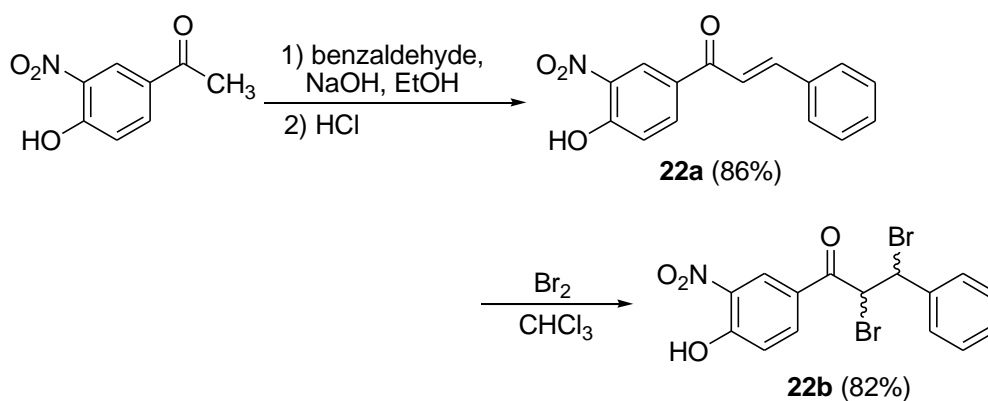
Scheme 4-7

3'位の電子供与基でベンゼン環がさらに活性化していると考えられるので、ヒドロキシ基を Boc 基で保護してから臭素付加反応を行なうことにした。4'-ヒドロキシカルボン誘導体 (**18a**, **19a**) と Boc<sub>2</sub>O をトリエチルアミン存在下で反応させ、ヒドロキシ基の Boc 保護体 (**20a**, **21a**) を収率 86-89%で合成し、さらに臭素と反応させ、臭素付加体 (**20b**, **21b**) を収率 91-94%で得た。最後に、トリフルオロ酢酸で Boc 基を除去して、目的の **18b** と **19b** をそれぞれ収率 83%、85%で得た (Scheme 4-8)。



**Scheme 4-8**

今度は 3'位に強い電子求引基であるニトロ基をもつカルコンの臭素付加体を合成した。アセトフェノン誘導体とベンズアルデヒドを塩基存在下で反応させ、塩酸で処理して、4'-ヒドロキシ-3'-ニトロカルコン **22a** を収率 86% で得た (Scheme 4-9)。3'位の電子供与基が存在する場合は Boc 保護後に臭素付加反応を行なったが、**22a** はニトロ基の強い電子求引性によってベンゼン環が不活性されベンゼンの求核置換反応が起こりにくくなっていると考えられるので、ヒドロキシ基を保護せずにそのまま臭素付加反応を行なうことにした。**22a** に臭素を反応させ、臭素付加体 **22b** を収率 82% で得た (Scheme 4-9)。このとき、ベンゼン環上の置換は確認されなかった。



Scheme 4-9

4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体 (**14b**, **15**, **18b**, **19b**, **22b**) と 3'-ブロモカルコンの臭素付加体 **17b** の抗菌活性結果を表 4-3 と 4-4 に示し、4'-ヒドロキシ-3'-ニトロカルコンの臭素付加体がグラム陽性菌に対して最も高い抗菌活性を示した。まず、表 4-3 を使って抗菌活性を比較する。3'-ブロモカルコン臭素付加体 **17b** は全く活性を示さなかったことから、3'位に臭素を有する **15** が 3'位に無置換の **14b** よりグラム陽性菌に対する抗菌活性が高い要因は 3'位の臭素の直接的な影響ではないと言える。ゆえに、3'位の置換基の電子特性が抗菌活性を向上させている可能性が強くなった。そこで、様々な 3'-置換 4'-ヒドロキシカルコン臭素付加体の抗菌活性について比較すると、ブromoより強い電子求引基であるニトロ基をもつ臭素付加体 **22b** は無置換体 **14b** や 3'位に臭素をもつ臭素付加体 **15** よりグラム陽性菌に対して高い活性を示した。次に弱い電子供与基のメチル基を有する臭素付加体 **19b** は抗菌活性を示したが、その活性は無置換体 **14b** より低かった。さらに、3'位に強い電子供与基のメトキシ基を導入した臭素付加体 **18b** は不活性で、メチル体 **19b** より低い抗菌活性を示した。以上の結果をまとめると、メトキシ体 **18b** < メチル体 **19b** < 無置換体 **14b** < ブromo体 **15** < ニトロ体 **22b** という順でグラム陽性菌に対する抗菌活性を示し、これは 3'位に置換基の電

電子求引性が向上する順とほぼ同じである。すなわち、3'位に置換基をもつ 4'-ヒドロキシカルコン臭素付加体のグラム陽性菌に対する抗菌活性は、3'位の置換基の電子求引性が向上すると高くなることがわかった。このことから、3'位の置換基の電子求引性が 4'位のヒドロキシ基の  $pK_a$  を低下させ抗菌活性を向上させると考えられるが、図 4-6 に示すようにメトキシ体 **18b** とニトロ体 **22b** は 4'位のヒドロキシ基との水素結合が生じるため、3'位の置換基の電子特性とヒドロキシ基の  $pK_a$  は単純な関係にならないと考えられる。

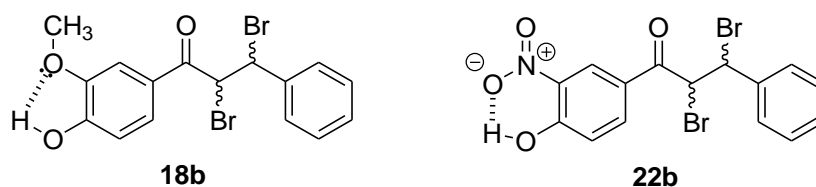


図 4-6. メトキシ体 **18b** とニトロ体 **22b** の水素結合

そのため、3'位の置換基の電子求引性は 4'位のヒドロキシ基の  $pK_a$  以外に影響を与え、抗菌活性を向上させていると思われる。一方、表 4-3 と 4-4 の両方を見ると、抗真菌活性は無置換体 **14b** がメトキシ体 **18b**、メチル体 **19b**、ブロモ体 **15** とニトロ体 **22b** より高いことから、3'位の置換基の電子求引性の低下や向上が抗真菌活性に低下させると考えられる。

表 4-3. 4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体と 3'-ブロモカルコンの臭素付加体の  
抗菌活性-1 (細菌と酵母)

		MIC (μg/mL)						
		Gram-positive		Gram-negative			Yeast	
		B. s. <sup>a</sup>	S. a. <sup>b</sup>	E. c. <sup>c</sup>	P. a. <sup>d</sup>	S. m. <sup>e</sup>	R. r. <sup>f</sup>	S. c. <sup>g</sup>
<b>17b</b>	4'-H, 3'-Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>18b</b>	4'-OH, 3'-OCH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>19b</b>	4'-OH, 3'-CH <sub>3</sub>	<b>12.5</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100	<b>50</b>
<b>14b</b>	4'-OH, 3'-H	<b>6.3</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100	<b>25</b>
<b>15</b>	4'-OH, 3'-Br	<b>6.3</b>	<b>12.5</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>22b</b>	4'-OH, 3'-NO <sub>2</sub>	<b>3.1</b>	<b>3.1</b>	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Bacillus subtilis*. <sup>b</sup>*Staphylococcus aureus*. <sup>c</sup>*Escherichia coli*. <sup>d</sup>*Pseudomonas aeruginosa*. <sup>e</sup>*Serratia marcescens*. <sup>f</sup>*Rhodotorula rubra*. <sup>g</sup>*Saccharomyces cerevisiae*.

表 4-4. 4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体と 3'-ブロモカルコンの臭素付加体の  
抗菌活性-2 (カビ)

		MIC (μg/mL)						
		Mold						
		A. n. <sup>a</sup>	P. c. <sup>b</sup>	C. c. <sup>c</sup>	A. p. <sup>d</sup>	A. s. <sup>e</sup>	M. s. <sup>f</sup>	G. v. <sup>g</sup>
<b>17b</b>	4'-H, 3'-Br	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>18b</b>	4'-OH, 3'-OCH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>19b</b>	4'-OH, 3'-CH <sub>3</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>14b</b>	4'-OH, 3'-H	>100	>100	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
<b>15</b>	4'-OH, 3'-Br	>100	>100	<b>25</b>	>100	>100	>100	>100
<b>22b</b>	4'-OH, 3'-NO <sub>2</sub>	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

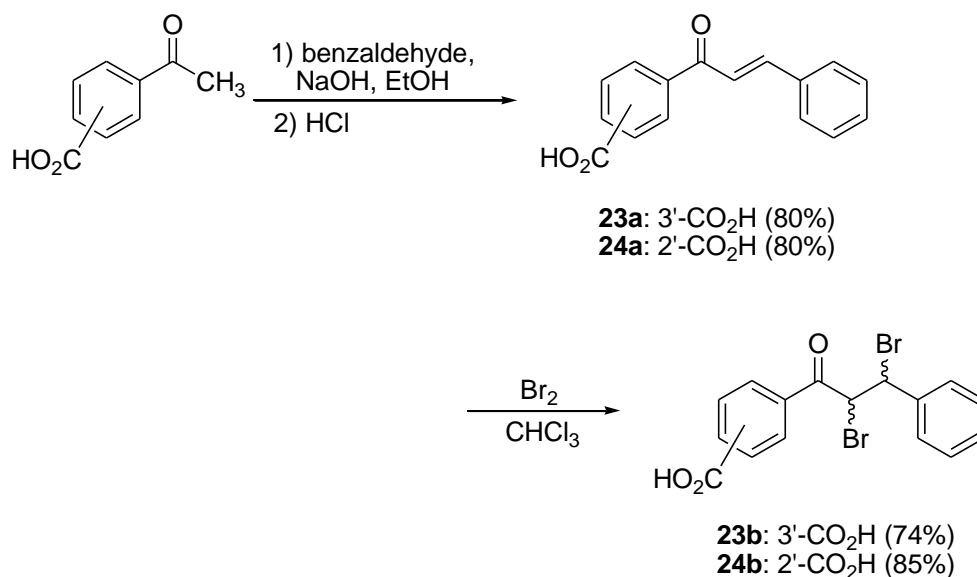
<sup>a</sup>*Aspergillus niger*. <sup>b</sup>*Penicillium citrinum*. <sup>c</sup>*Cladosporium cladosporioides*.  
<sup>d</sup>*Aureobasidium pullulans*. <sup>e</sup>*Alternaria sp.* <sup>f</sup>*Mucor spinescens*. <sup>g</sup>*Gliocladium virens*.



#### 4-4 置換位置の最適化

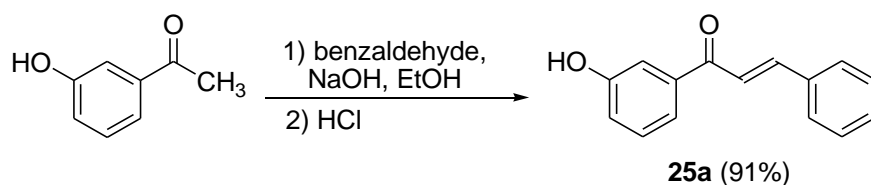
4-2 の表 4-1 で、4' 位にカルボキシ基とヒドロキシ基を導入したカルコンの臭素付加体が高い抗菌活性を示したことから、カルボキシ基とヒドロキシ基を用いて A 環の置換位置と抗菌活性の関係を調査することにした。

まず、カルボキシ基をもつカルコンの臭素付加体の合成を行なった。カルボキシアセトフェノンとベンズアルデヒドを塩基存在下で反応させ、塩酸で処理して目的物を析出させ、3'-カルボキシカルコン **23a** と 2'-カルボキシカルコン **24a** を両方とも収率 80% で合成し、さらに臭素と反応させ、臭素付加体 **23b** と **24b** をそれぞれ収率 74%、85% で得た (Scheme 4-10)。2' 位体、3' 位体ともにカルコンと臭素付加体が高収率で得られていることから、カルコン形成反応と臭素付加反応の効率は置換基の置換位置に影響されないと考えられる。



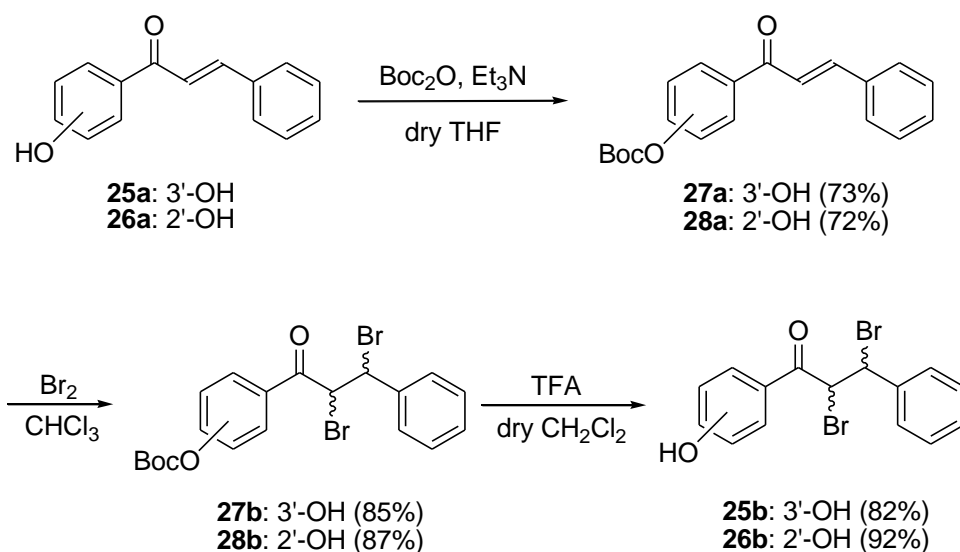
Scheme 4-10

次はヒドロキシ基をもつカルコンの臭素付加体の合成を行なった。2'-ヒドロキシカルコンは市販されていたが、3'-ヒドロキシカルコンは市販されていないので、合成した。3'-ヒドロキシアセトフェノンとベンズアルデヒドを塩基存在下で反応させ、塩酸で処理して 3'-ヒドロキシカルコン **25a** を収率 91% で得た (Scheme 4-11)。



**Scheme 4-11**

4'-ヒドロキシカルコンのときと同様に Boc 保護してから、臭素付加反応を行なうことにした。ヒドロキシカルコン (**25a**, **26a**) と  $\text{Boc}_2\text{O}$  をトリエチルアミン存在下で反応させ、ヒドロキシ基の Boc 保護体 (**27a**, **28a**) を収率 72-73% で合成し、臭素と反応させ、臭素付加体 (**27b**, **28b**) を収率 85-87% で得た (Scheme 4-12)。このときも、やはりベンゼン環上も臭素化された化合物は観測されなかった。それから、トリフルオロ酢酸で脱保護して、**25b** と **26b** をそれぞれ収率 82%、92% で得た。カルボキシ体の合成と同様にどの反応もよい収率であることから、ヒドロキシ体における Boc 保護反応、臭素付加反応や脱保護反応の効率が置換基の位置に影響されないことがわかった。



**Scheme 4-12**

これまでに合成した 2' 位や 3' 位にカルボキシ基やヒドロキシ基をもつカルコンの臭素付加体と 4' 位にカルボキシ基やヒドロキシ基をもつカルコンの臭素付加体の抗菌活性結果を表 4-5 と 4-6 にまとめた。まず、カルボキシ基をもつカルコンの臭素付加体について、表 4-5 を用いて比較する。3'-カルボキシカルコンの臭素付加体 **23b** はグラム陽性菌に対して抗菌活性を示し、その活性は 4' 位体 **12b** の抗菌活性とほぼ同等だった。一方、2'-カルボキシ誘導体 **24b** は 3' 位体 **23b** と 4' 位体 **12b** よりはるかに低い活性 (MIC = 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) であった。カルボキシカルコン誘導体の抗菌活性と置換位置の関係においては、3' 位体 **23b** と 4' 位体 **12b** がほぼ同じ抗菌活性だったが、2' 位体 **24b** で著しい活性の低下を観測した。これは、カルコン骨格の 2' 位にカルボキシ基が存在するという構造的特徴が原因と推測される。すなわち、2' 位のカルボキシ基はその OH が隣の 1' 位のカルボニル基との間に分子内水素結合を形成することができるが (図 4-7)、3' 位や 4' 位のカルボキシ基には不可能である。また、この分子内水素結合がカルボキシ基のプロトン放出能を大きく低下させるが、4' 位のカルボキシ基と 3' 位

のカルボキシ基にはそのようなプロトン放出能の低下がなく、かつそれらに差があまりない。これらのことから、カルボキシ基の置換位置と抗菌活性の関係においては、プロトン放出能の低下がない 3' 位体と 4' 位体が最も高い活性を示すことがわかった。

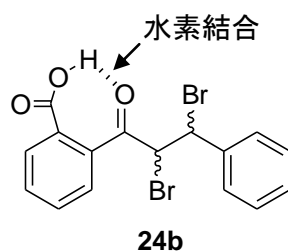


図 4-7. 2'-カルボキシカルコンの臭素付加体 **24b** の分子内水素結合

次に、ヒドロキシ誘導体について比較する。表 4-5 と 4-6 の両方を見ると、3'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体 **25b** は 2 種類のグラム陽性菌と 8 種類の真菌に対して抗菌活性を示し、グラム陽性菌に対する抗菌活性が 4' 位体 **14b** とほぼ同じだが、抗真菌スペクトルが **14b** より向上した。しかしながら、2' 位体 **26b** が不活性であった。これらの結果はカルボキシ誘導体の結果と類似していることから、2'-ヒドロキシカルコン誘導体の不活性は分子内水素結合を形成できるという構造的特徴が原因と推測される (図 4-8)。また、3' 位もしくは 4' 位に存在するヒドロキシ基がグラム陽性菌に対する高い抗菌活性に重要であることがわかった。一方、抗真菌スペクトルに関しては 4' 位体 **14b** より 3' 位体 **25b** の方が広いことから、真菌に対する抗菌活性は 3' 位のヒドロキシ基は最も効果的であると考えられる。

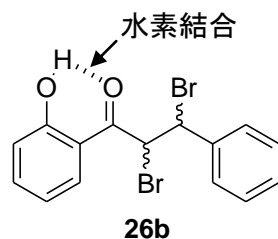


図 4-8. 2'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体 **26b** の分子内水素結合

以上をまとめると、3' 位の酸性基と 4' 位の酸性基は高い抗菌活性を示すうえで重要である。また、3'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体が最も広い抗真菌スペクトルを示したことから、真菌に対する活性に関しては 3'-ヒドロキシ基が最も有効である。一方、2' 位の酸性基はプロトン放出能が著しく低いため、抗菌活性を著しく低下させる。

表 4-5. CO<sub>2</sub>H と OH をもつカルコンの臭素付加体の抗菌活性-1 (細菌と酵母)

		MIC (μg/mL)						
		Gram-positive		Gram-negative			Yeast	
		B. s. <sup>a</sup>	S. a. <sup>b</sup>	E. c. <sup>c</sup>	P. a. <sup>d</sup>	S. m. <sup>e</sup>	R. r. <sup>f</sup>	S. c. <sup>g</sup>
<b>12b</b>	4'-CO <sub>2</sub> H	<b>6.3</b>	<b>12.5</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>23b</b>	3'-CO <sub>2</sub> H	<b>12.5</b>	<b>12.5</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>24b</b>	2'-CO <sub>2</sub> H	<b>100</b>	<b>100</b>	>100	>100	>100	>100	>100
<b>14b</b>	4'-OH	<b>6.3</b>	<b>50</b>	>100	>100	>100	>100	<b>25</b>
<b>25b</b>	3'-OH	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100	<b>50</b>	<b>12.5</b>
<b>26b</b>	2'-OH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Bacillus subtilis*. <sup>b</sup>*Staphylococcus aureus*. <sup>c</sup>*Escherichia coli*. <sup>d</sup>*Pseudomonas aeruginosa*. <sup>e</sup>*Serratia marcescens*. <sup>f</sup>*Rhodotorula rubra*. <sup>g</sup>*Saccharomyces cerevisiae*.

表 4-6. CO<sub>2</sub>H と OH をもつカルコンの臭素付加体の抗菌活性-2 (カビ)

		MIC (μg/mL)						
		Mold						
R		A. n. <sup>a</sup>	P. c. <sup>b</sup>	C. c. <sup>c</sup>	A. p. <sup>d</sup>	A. s. <sup>e</sup>	M. s. <sup>f</sup>	G. v. <sup>g</sup>
<b>12b</b>	4'-CO <sub>2</sub> H	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>23b</b>	3'-CO <sub>2</sub> H	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>24b</b>	2'-CO <sub>2</sub> H	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<b>14b</b>	4'-OH	>100	>100	<b>25</b>	<b>25</b>	>100	>100	>100
<b>25b</b>	3'-OH	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	>100	<b>100</b>
<b>26b</b>	2'-OH	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

<sup>a</sup>*Aspergillus niger*. <sup>b</sup>*Penicillium citrinum*. <sup>c</sup>*Cladosporium cladosporioides*. <sup>d</sup>*Aureobasidium pullulans*. <sup>e</sup>*Alternaria sp.* <sup>f</sup>*Mucor spinescens*. <sup>g</sup>*Gliocladium virens*.

#### 4-5 まとめ

2', 3' や 4' 位に酸性基、アルキル基、電子供与基や電子求引基などを有するカルコンの臭素付加体とエポキシ化体はアセトフェノン誘導体とベンズアルデヒドとの Claisen-Schmidt 反応により得たカルコン誘導体から合成した。それらの中で、4' 位にヒドロキシ基、3' 位にニトロ基を導入したカルコンの臭素付加体がグラム陽性菌に対して最も高い抗菌活性を示し、次に 4' 位にカルボキシ基を有するカルコンの臭素付加体 **14b** と 3' 位にブロモ基、4' 位にヒドロキシ基を導入したカルコンの臭素付加体 **15** が高い活性を示した。また、臭素付加によるカルコン骨格へのブロモアセチル構造の導入は抗菌活性を向上させることが分かった。しかし、エポキシ化体はすべて不活性であったことから、すべての反応性置換基が抗菌活性を向上させるということではなかった。それから、3'位に置換基をもつ 4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体はその 3' 位の置換基の電子求引性が向上するにつれて、グラム陽性菌に対する抗菌活性も向上することがわかった。導入する置換基と抗菌活性の関係においては、3' 位や 4' 位のカルボキシ基やヒドロキシ基のような酸性基が高い抗菌活性に重要であることが分かったが、電子供与基や電子求引基を導入した化合物はまったく活性を示さなかった。また、真菌に対する活性を示すにはヒドロキシ基の存在が不可欠であると考えられ、3'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体が最も広い抗真菌スペクトルを示した。

#### 4-6 実験項

一般項

すべての試薬と溶媒は和光純薬工業、東京化成工業、シグマ-アルドリッチ社製で、更なる精製なしに使用した。カラムクロマトグラフィーはシリカゲル（関東化学社製、Silica Gel 60N、粒径 63-210  $\mu\text{m}$ ）を用いて行なった。TLC はメルク社製の Silica Gel 60 F<sub>254</sub> を使用した。融点は SMP3 融点装置で測定し、測定値は未補正である。<sup>1</sup>H NMR スペクトルは JNM-ECA-500 で測定し、溶媒として CDCl<sub>3</sub> を使用した。化学シフト ( $\delta$ ) は ppm として記載し、<sup>1</sup>H NMR には テトラメチルシラン (TMS, 0.00 ppm) を内部標準として使用した。IR スペクトルは JASCO FT/IR-470 で測定した。元素分析は EURO EA 3000 Series で行なった。また、試験菌と抗菌活性試験は第 2 章の実験項 (2-6) と同じである。

#### 4-アセチル-N-イソプロピルベンズアミドの合成<sup>5</sup>

4-アセチル安息香酸 (3.1 mmol)、イソプロピルアミン (3.1 mmol) の乾燥 THF 溶液 (20 mL) に DCC (ジシクロヘキシルカルボジイミド; 3.2 mmol) と HOBT (1-ヒドロキシベンゾトリアゾール; 3.2 mmol) を加え、混合物を 24 時間室温で攪拌した。析出した固体をろ別し、ろ液を脱溶媒した。残渣を酢酸エチル (50 mL) に溶解させ、5wt% 炭酸水素ナトリウム溶液 (50 mL) と飽和食塩水で洗浄した。脱溶媒後、粗生成物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、目的物を得た。

White powders, yield: 88%, mp: 161-162 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.28 (6H, d,  $J = 6.5$  Hz), 2.64 (3H, s), 4.30 (1H, sept,  $J = 6.5$  Hz), 6.06 (1H, br), 7.84 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 8.00 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3318, 3058, 2933, 1683, 1630, 1535, 770. Anal. Calcd. for C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>N: C, 70.22; H, 7.37; N, 6.82. Found: C, 70.52; H, 7.67; N, 6.88.



#### カルコン誘導体の合成 (A タイプ)

アセトフェノン誘導体 (10 mmol) とベンズアルデヒド(10 mmol) を 10wt% 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) とエタノール (10 mL) に溶解させ、24 時間室温で攪拌した。水 (100 mL) を反応液に加え希釈し、析出した固体をろ取し、目的物を得た。

固体が析出しなかった場合、酢酸エチル (80 mL) で抽出した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル:ヘキサン=1:2) で精製し、目的物を得た。

#### 4'-メトキシカルコン **1a**

White powders, yield: 90%, mp: 104-106 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.90 (3H, s), 6.93 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.35-7.37 (3H, m), 7.52 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.59 (2H, d,  $J = 6.5$  Hz), 7.78 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 8.01 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3043, 2937, 1649, 1599, 1270, 1024, 836, 743, 698. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2 \cdot 0.3 \text{H}_2\text{O}$ : C, 78.28; H, 6.08. Found: C, 78.22; H, 5.97.

#### 4'-メチルカルコン **2a**

Pale yellow powders, yield: 75%, mp: 37-39 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.44 (3H, s), 7.31 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.40-7.44 (3H, m), 7.54 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 7.64-7.66 (2H, m), 7.81 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 7.94 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3027, 2911, 1658, 1448, 1391, 822, 759, 692. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O} \cdot 0.3 \text{H}_2\text{O}$ : C, 84.40; H, 6.46. Found: C, 84.52; H, 6.28.

#### 4'-イソプロピルカルコン **3a**

Yellow oil, yield: 72%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.30 (6H, d,  $J = 7.0$  Hz), 2.99 (1H, sept,  $J = 7.0$  Hz), 7.36 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.39-7.45 (3H, m), 7.54 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 7.63-7.67 (2H, m), 7.80 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 7.97 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz). IR (KBr,

cm<sup>-1</sup>): 3028, 2962, 1663, 1609, 834, 768, 694. Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O·0.5H<sub>2</sub>O: C, 83.36; H, 7.38. Found: C, 83.60; H, 7.36.

4'-プロピルカルコン **4a**

Yellow solids, yield: 78%, mp: 42-43 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.97 (3H, t, *J* = 7.0 Hz), 1.69 (2H, sext, *J* = 7.0 Hz), 2.67 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 7.31 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.41-7.44 (3H, m), 7.55 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.63-7.66 (2H, m), 7.81 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.96 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3061, 2928, 1656, 1598, 830, 714, 691. Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>O: C, 86.36; H, 7.25. Found: C, 83.23; H, 7.46.

4'-tert-ブチルカルコン **5a**

Yellow solids, yield: 86%, mp: 88-90 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.37 (9H, s), 7.41-7.61 (6H, m), 7.64-7.66 (2H, m), 7.82 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.98 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3067, 2963, 1654, 1601, 839, 742, 678. Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O·0.5 H<sub>2</sub>O: C, 83.48; H, 7.74. Found: C, 83.62; H, 7.89.

4'-フルオロカルコン **6a**

Yellow solids, yield: 86%, mp 79-80 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.18 (2H, t, *J* = 8.6 Hz), 7.42-7.44 (3H, m), 7.51 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.63-7.66 (2H, m), 7.82 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 8.06 (2H, dd, *J* = 5.4 and 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3021, 2942, 1656, 1598, 1234, 834, 737, 699. Anal. Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>OF: C, 79.63; H, 4.90. Found: C, 79.77; H, 4.81.

4'-クロロカルコン **7a**

Pale yellow powders, yield: 83%, mp 97-98 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.39-7.48 (6H, m), 7.60-7.63 (2H, m), 7.79 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.94 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3084, 2942, 1658, 1600, 854, 731, 690, 657. Anal. Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>OCl·0.3 H<sub>2</sub>O: C, 72.61; H, 4.71. Found: C, 72.90; H, 4.81.

4'-ブロモカルコン **8a**

White powders, yield: 80%, mp: 101-103 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.42-7.45 (2H, m), 7.48 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 7.64-7.67 (4H, m), 7.82 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 7.95 (2H, d, *J* = 8.5 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3058, 2915, 1658, 1596, 827, 727, 692, 535. Anal. Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>OBr·0.5 H<sub>2</sub>O: C, 60.83; H, 4.08. Found: C, 60.78; H, 4.11.

4'-ヨードカルコン **9a**

Pale yellow powders, yield: 79%, mp: 108-110 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.42-7.45 (3H, m), 7.67 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 7.63-7.66 (2H, m), 7.73 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.80 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 7.88 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3024, 1659, 1609, 977, 824, 759, 692. Anal. Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>OI·1.1 H<sub>2</sub>O: C, 50.90; H, 3.76. Found: C, 50.80; H, 3.47.

4'-シアノカルコン **10a**

Pale yellow powders, yield: 64%, mp: 111-113 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.47-7.49 (3H, m), 7.80 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 7.91-7.93 (2H, m), 7.97 (1H, d, *J* = 16.0 Hz), 8.07 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 8.30 (2H, d, *J* = 8.5 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3032, 2229, 1662, 1606, 848, 766, 696. Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>NO·0.3 H<sub>2</sub>O: C, 80.52; H, 4.90; N, 5.87. Found: C, 80.46; H, 4.85; N, 5.96.

4'-(トリフルオロメチル)カルコン **11a**

White powders, yield: 73%, mp: 121-122 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.44-7.51 (4H, m), 7.65-7.67 (2H, m), 7.78 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.83 (1H, d, *J* = 15.5 Hz), 8.11 (2H, d, *J* = 8.3 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3061, 1666, 1604, 1328, 840, 746, 689. Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>O: C, 69.56; H, 4.01. Found: C, 69.49; H, 4.05.

4'-(*N*-イソプロピルアミノカルボニル)カルコン **13a**

White powders, yield: 78%, mp: 147-149 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.30 (6H,

d,  $J = 6.5$  Hz), 4.32 (1H, sept,  $J = 6.5$  Hz), 5.98 (1H, br), 7.43-7.45 (3H, m), 7.52 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.65-7.67 (2H, m), 7.83 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.87 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 8.06 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3297, 3058, 2972, 1633, 1610, 847, 752, 690. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_2\text{N}\cdot 0.4 \text{H}_2\text{O}$ : C, 75.92; H, 6.64; N, 4.66. Found: C, 75.79; H, 6.61; N, 4.73.

### 3'-ブロモカルコン **17a**

Pale yellow powders, yield: 80%, mp: 92-94 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.37 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz), 7.43-7.48 (4H, m), 7.65-7.67 (2H, m), 7.70-7.73 (1H, m), 7.83 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.93-7.95 (1H, m), 8.14 (1H, m). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3066, 1663, 1603, 980, 799, 759, 564. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{OBr}\cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$ : C, 60.83; H, 4.08. Found: C, 60.61; H, 3.87.

### カルコン誘導体の合成 (Bタイプ、酸処理あり)

アセトフェノン誘導体 (9.75 mmol) とベンズアルデヒド (10.2 mmol) を 10wt% 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) とエタノール (10 mL) に溶解させ、24 時間室温で攪拌した。反応液に水 (200 mL) と 1 M 塩酸 (20 mL) を加え、析出した固体をろ取して目的物を得た。

固体が析出しなかった場合、酢酸エチル (80 mL) で抽出した。脱溶媒後、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル:ヘキサン=1:2) で精製し、目的物を得た。

### 4'-カルボキシカルコン **12a**

White powders, yield: 84%, mp: 226-228 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.48-7.49 (3H, m), 7.79 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 7.91-7.93 (2H, m), 7.97 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 8.11 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 8.25 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3058, 2857, 1685, 1657,

1597, 1428, 1286, 852, 751, 688. Anal. Calcd. for  $C_{16}H_{12}O_3 \cdot 0.5 H_2O$ : C, 73.55; H, 5.02.

Found: C, 73.73; H, 5.29.

4'-ヒドロキシ-3'-メトキシカルコン **18a**

Yellow oil, yield: 74%.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 4.00 (3H, s), 6.09 (1H, s), 7.00 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.40-7.43 (3H, m), 7.56 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.64-7.66 (4H, m), 7.81 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3350, 3079, 2838, 1652, 1583, 1426, 1267, 1191, 1030, 884, 821.

4'-ヒドロキシ-3'-メチルカルコン **19a**

Pink solids, yield: 83%.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2.33 (3H, s), 5.42 (1H, s), 6.86 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.41-7.43 (3H, m), 7.54 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.64-7.66 (2H, m), 7.80 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.84 (1H, dd,  $J = 1.6$  and  $8.5$  Hz), 7.88 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3268, 2944, 1651, 1606, 864, 811, 768, 693.

4'-ヒドロキシ-3'-ニトロカルコン **22a**

Yellow powders, yield: 86%, mp: 156-158 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.30 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.45-7.46 (3H, m), 7.52 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.67-7.69 (2H, m), 7.89 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 8.32 (1H, dd,  $J = 1.7$  and  $9.0$  Hz), 8.83 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz), 10.95 (1H, s). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3224, 3085, 1658, 1592, 1533, 1345, 860, 822.

3'-カルボキシカルコン **23a**

Pale yellow powders, yield: 80%, mp: 153-156 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.43-7.45 (3H, m), 7.56-7.69 (4H, m), 7.87 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 8.25-8.32 (2H, m), 8.72 (1H, s). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3025, 2569, 1680, 1657, 1610, 1418, 1216, 746, 681. Anal. Calcd. for  $C_{16}H_{12}O_3 \cdot 0.5 H_2O$ : C, 73.55; H, 5.02. Found: C, 73.29; H, 5.06.

2'-カルボキシカルコン **24a**

White powders, yield: 80%, mp: 154-156 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.43-7.45 (3H, m), 7.56-7.69 (4H, m), 7.87 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 8.25-8.32 (2H, m), 8.72 (1H, s). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3025, 2569, 1680, 1610, 1418, 1218, 746, 681.

#### 3'-ヒドロキシカルコン **25a**

Yellow powders, yield: 91%, mp: 117-119 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.09 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.6 Hz), 7.38-7.44 (4H, m), 7.49-7.53 (2H, m), 7.56 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.64-7.66 (2H, m), 7.82 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3203, 3058, 1654, 1600, 1447, 758, 683.

#### カルコン誘導体の臭素付加反応

カルコン誘導体 (1.0 mmol) をクロロホルム (10 mL) に溶解させ、さらに 10-20 °C で臭素 (2.0 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応液にクロロホルム (30 mL) を加え、10wt% チオ硫酸ナトリウム水溶液 (40 mL) と飽和食塩水 (40 mL) で洗浄した。乾燥後に脱溶媒し、目的物を得た。

#### 2,3-ジブromo-1-(4-メトキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **1b**

White powders, yield: 96%, mp: 160-162 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.91 (3H, s), 5.65 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.80 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.02 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.36-7.45 (3H, m), 7.53 (2H, d,  $J = 6.5$  Hz), 8.09 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3004, 2837, 1669, 1271, 1023, 836, 748, 692, 579. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{Br}_2 \cdot 0.2 \text{H}_2\text{O}$ : C, 47.84; H, 3.61. Found: C, 47.65; H, 3.34.

#### 2,3-ジブromo-1-(4-メチルフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **2b**

White powders, yield: 86%, mp: 170-172 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.46 (3H, s), 5.64 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.82 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.35 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.38-7.47 (3H, m), 7.53 (2H, d,  $J = 6.9$  Hz), 8.01 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):

3058, 2988, 1684, 1441, 833, 741, 692, 563. Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>OBr<sub>2</sub>: C, 50.29; H, 3.69. Found: C, 50.39; H, 3.42.

2,3-ジブロモ-1-(4-イソプロピルフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **3b**

Brown solids, yield: 74%, mp: 113-115 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.30 (6H, d, *J* = 7.0 Hz), 3.01 (1H, sept, *J* = 7.0 Hz), 5.64 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.82 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.38-7.46 (5H, m), 7.53 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 8.04 (2H, d, *J* = 8.0 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3000, 2962, 1686, 1422, 764, 693, 582. Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>OBr<sub>2</sub>: C, 52.71; H, 4.42. Found: C, 52.94; H, 4.66.

2,3-ジブロモ-3-フェニル-1-(4-プロピルフェニル)-1-プロパノン **4b**

White powders, yield: 96%, mp: 130-133 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.99 (3H, t, *J* = 7.0 Hz), 1.69 (2H, sext, *J* = 7.0 Hz), 2.69 (2H, t, *J* = 7.0 Hz), 5.65 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.82 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.34-7.45 (5H, m), 7.53 (2H, d, *J* = 7.5 Hz), 8.02 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3012, 2956, 1680, 854, 744, 692, 567. Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>OBr<sub>2</sub>: C, 52.71; H, 4.42. Found: C, 52.52; H, 4.46.

2,3-ジブロモ-1-(4-tert-ブチルフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **5b**

White powders, yield: 94%, mp: 131-133 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.37 (9H, s), 5.65 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.83 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.36-7.45 (3H, m), 7.53 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 7.56 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.05 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3017, 2964, 1676, 848, 763, 695, 582. Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>OBr<sub>2</sub>: C, 53.80; H, 4.75. Found: C, 54.08; H, 4.86.

2,3-ジブロモ-1-(4-フルオロフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **6b**

White powders, yield: 95%, mp: 168-170 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.63 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.77 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.23 (2H, t, *J* = 8.5 Hz), 7.39-7.47 (3H, m), 7.52 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 8.12-8.16 (2H, m). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3070, 2837, 1686, 1219,

771, 750, 695, 580. Anal. Calcd. for  $C_{15}H_{11}OFBr_2$ : C, 46.67; H, 2.87. Found: C, 46.53; H, 2.84.

2,3-ジブロモ-1-(4-クロロフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **7b**

White powders, yield: 90%, mp: 189-190 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.62 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.76 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.39-7.54 (7H, m), 8.04 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3064, 2907, 1687, 812, 756, 699, 695, 584. Anal. Calcd. for  $C_{15}H_{11}OCIBr_2 \cdot 0.4 H_2O$ : C, 43.97; H, 2.90. Found: C, 43.69; H, 2.80.

2,3-ジブロモ-1-(4-ブロモフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **8b**

White powders, yield: 92%, mp: 198-200 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.62 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.75 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.39-7.47 (3H, m), 7.53 (2H, d,  $J = 7.0$  Hz), 7.70 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.96 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3031, 2984, 1688, 841, 752, 695, 582. Anal. Calcd. for  $C_{15}H_{11}OBr_3 \cdot 0.6 H_2O$ : C, 39.36; H, 2.64. Found: C, 39.16; H, 2.46.

2,3-ジブロモ-1-(4-ヨードフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **9b**

Pale yellow powders, yield: 82%, mp: 161-163 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.61 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.74 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.38-7.46 (3H, m), 7.53 (2H, d,  $J = 7.0$  Hz), 7.80 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.93 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3024, 2988, 1685, 841, 749, 694, 579. Anal. Calcd. for  $C_{15}H_{11}OBr_2I \cdot 0.6 H_2O$ : C, 36.47; H, 2.24. Found: C, 36.76; H, 1.95.

2,3-ジブロモ-1-(4-シアノフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **10b**

White powders, yield: 76%, mp: 221-223 °C.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.62 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.75 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.39-7.47 (3H, m), 7.52 (2H, d,  $J = 7.0$  Hz), 7.86 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 8.19 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3098, 2985, 2231,



1693, 854, 738, 695, 561. Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>NOBr<sub>2</sub>·0.6 H<sub>2</sub>O: C, 48.67; H, 2.86; N, 3.55. Found: C, 48.48; H, 2.90; N, 3.73.

2,3-ジブロモ-1-(4-(トリフルオロメチル)フェニル)-3-フェニル-1-プロパノン

### **11b**

White powders, yield: 86%, mp: 153-155 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.63 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.79 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.38-7.45 (3H, m), 7.54 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 7.82 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.21 (2H, d, *J* = 8.0 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3065, 2980, 1694, 1333, 857, 753, 693, 579. Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>OF<sub>3</sub>Br<sub>2</sub>: C, 44.07; H, 2.54. Found: C, 44.31; H, 2.65.

2,3-ジブロモ-1-(4-カルボキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **12b**

White powders, yield: 71%, mp: 213-215 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.64 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.81 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.41-7.48 (3H, m), 7.54 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 8.19 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.27 (2H, d, *J* = 8.0 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3065, 2986, 2877, 1691, 1405, 1288, 796, 732, 696, 582. Anal. Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>Br<sub>2</sub>: C, 46.23; H, 3.01. Found: C, 46.10; H, 2.94.

2,3-ジブロモ-1-(4-(*N*-イソプロピルアミノカルボニル)フェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **13b**

White powders, yield: 66%, mp: 159-161 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.30 (6H, d, *J* = 6.5 Hz), 4.31 (1H, sept, *J* = 6.5 Hz), 5.64 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.80 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.96 (1H, br), 7.42-7.48 (3H, m), 7.54 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 7.91 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.15 (2H, d, *J* = 8.0 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3321, 3035, 2972, 2877, 1698, 1634, 1531, 860, 756, 690, 579. Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>: C, 50.36; H, 4.23; N, 3.09. Found: C, 50.46; H, 4.10; N, 3.30.

2,3-ジブロモ-1-(4-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)フェニル)-3-フェニル-1-プロ

ロパノン **16b**

White powders, yield: 71%, mp: 142-144 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.58 (9H, s), 5.63 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.78 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.36-7.45 (5H, m), 7.51-7.53 (2H, m), 8.14 (2H, d, *J* = 8.6 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3035, 2980, 1762, 1685, 849, 766, 693, 579. Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>Br<sub>2</sub>: C, 49.61; H, 4.16. Found: C, 49.42; H, 3.92.

2,3-ジブロモ-1-(3-ブロモフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **17b**

White powders, yield: 96%, mp: 123-124 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.62 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.74 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.38-7.54 (6H, m), 7.78-7.90 (1H, m), 8.01-8.03 (1H, m), 8.21-8.23 (1H, m). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3031, 2984, 1684, 811, 747, 692, 581. Anal. Calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>OBr<sub>3</sub>: C, 40.31; H, 2.48. Found: C, 40.61; H, 2.21.

2,3-ジブロモ-1-(4-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)-3-メトキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **20b**

White powders, yield: 94%, mp: 110-112 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.58 (9H, s), 3.97 (3H, s), 5.63 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.78 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.29 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.38-7.53 (5H, m), 7.69 (1H, dd, *J* = 1.7 and 8.0 Hz), 7.73 (1H, d, *J* = 1.7 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3031, 2983, 1761, 1674, 1258, 1071, 889, 811, 594.

2,3-ジブロモ-1-(4-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)-3-メチルフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **21b**

White powders, yield: 91%, mp: 165-167 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.58 (9H, s), 2.40 (3H, s), 5.63 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 5.78 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 7.29 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.38-7.54 (5H, m), 7.96 (1H, dd, *J* = 1.7 and 8.0 Hz), 7.99 (1H, d, *J* = 1.7 Hz). IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3031, 2983, 1761, 1674, 1258, 1071, 889, 811, 594.

2,3-ジブロモ-1-(4-ヒドロキシ-3-ニトロフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン

**22b**

White powders, yield: 82%, mp: 167-169 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.63 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.76 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.34 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.40-7.54 (5H, m), 8.35 (1H, dd,  $J = 1.6$  and 8.5 Hz), 8.87 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz), 11.04 (1H, s). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3144, 3073, 1680, 1550, 1325, 906, 824, 586.

2,3-ジブロモ-1-(3-カルボキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **23b**

Pale yellow powders, yield: 74%, mp: 179-180 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.66 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.86 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.38-7.45 (3H, m), 7.56 (2H, d,  $J = 7.0$  Hz), 7.70 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 8.35-8.39 (2H, m), 8.77 (1H, s). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3001, 2856, 1690, 1413, 1263, 758, 697, 566. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{Br}_2 \cdot 0.2 \text{H}_2\text{O}$ : C, 46.23; H, 3.01. Found: C, 45.98; H, 3.23.

2,3-ジブロモ-1-(2-カルボキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **24b**

Pale yellow powders, yield: 85%, mp: 164-165 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.58 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.70 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.30-7.45 (5H, m), 7.66-7.68 (1H, m), 7.79 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.6 Hz), 7.85-7.90 (1H, m), 7.96 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.6 Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3036, 2677, 1683, 1413, 1219, 742, 696, 566.

2,3-ジブロモ-1-(3-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)フェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **27b**

White powders, yield: 85%, mp: 101-102 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.58 (9H, s), 5.62 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.76 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.36-7.53 (6H, m), 7.56 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 7.90 (1H, s), 7.95 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3031, 2982, 1762, 1684, 809, 679, 583.

2,3-ジブロモ-1-(2-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)フェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **28b**

White powders, yield: 87%, mp: 125-126 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.59 (9H, s), 5.59 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 6.06 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.32-7.53 (7H, m), 7.63 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 8.03 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3065, 2932, 1766, 1691, 809, 771, 585.

2,3-ジブromo-1-(3-ブromo-4-ヒドロキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **15**  
の合成

4'-ヒドロキシカルコン (1.3 mmol) をクロロホルム (50 mL) に溶解させ、さらに 10-20 °C で臭素 (2.0 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応液を 10wt% チオ硫酸ナトリウム水溶液 (40 mL) と飽和食塩水 (40 mL) で洗浄した。乾燥後に脱溶媒し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : ヘキサノン = 1:2) で精製し、目的化合物を得た。

White powders, yield: 75%, mp: 155-158 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.62 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.72 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.16 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.37-7.45 (3H, m), 7.53 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 8.00 (1H, dd,  $J = 2.3$  and 8.5 Hz), 8.27 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3339, 3061, 2981, 1664, 828, 757, 692, 588. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{Br}_2$ : C, 38.92; H, 2.39. Found: C, 38.91; H, 2.56.

ヒドロキシ基を Boc 基で保護する反応

ヒドロキシカルコン誘導体 (4.5 mmol)、二炭酸ジ-*tert*-ブチル ( $\text{Boc}_2\text{O}$ ; 4.9 mmol) とトリエチルアミン (5.0 mmol) を乾燥 THF (40 mL) に溶解させ、24時間室温で攪拌した。脱溶媒後、残渣を酢酸エチル (40 mL) に溶解させ、5wt% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (40 mL)、1 M 塩酸 (40 mL) と飽和食塩水 (40 mL) で洗浄した。乾燥と脱溶媒し、目的物を得た。

4'-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)カルコン **16a**

Pale yellow powders, yield: quant., mp: 116-118 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.58 (9H, s), 7.32 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.41-7.44 (3H, m), 7.50 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.64-7.66 (2H, m), 7.82 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 8.06 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2999, 1753, 1658, 1599, 751, 691. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4$ : C, 74.06; H, 6.21. Found: C, 74.19; H, 6.14.

2'-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)-3'-メトキシカルコン **20a**

Yellow powders, yield: 86%, mp: 126-129 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.57 (9H, s), 3.95 (3H, s), 7.24-7.26 (1H, m), 7.42-7.44 (3H, m), 7.50 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.61-7.66 (4H, m), 7.82 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2983, 1755, 1664, 1593, 1257, 1028, 888, 826.

2'-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)-3'-メチルカルコン **21a**

Yellow solids, yield: 89%, mp: 104-106 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.58 (9H, s), 2.38 (3H, s), 7.24 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.41-7.44 (3H, m), 7.49 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.63-7.66 (2H, m), 7.80 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.88 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 8.6 Hz), 7.91 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2986, 1750, 1665, 1610, 888, 830, 757, 693.

3'-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)カルコン **27a**

White powders, yield: 73%, mp: 93-94 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.58 (9H, s), 7.40-7.44 (4H, m), 7.49 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 7.52 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 7.63-7.66 (2H, m), 7.81-7.84 (2H, m), 7.88 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.6 Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3058, 2983, 1759, 1660, 1598, 806, 685.

2'-(*tert*-ブトキシカルボニルオキシ)カルコン **28a**

Pale yellow liquid, yield: 72%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.43 (9H, s), 7.23-7.28 (2H, m), 7.36 (1H, dt,  $J = 1.0$  and 8.5 Hz), 7.39-7.42 (3H, m), 7.55 (1H, dt,  $J = 1.5$  and

8.5 Hz), 7.58-7.64 (2H, m), 7.75 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.5 Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3038, 2889, 1761, 1643, 1595, 776, 711.

#### Boc 基を除去する反応

Boc 基を有するカルコンの臭素付加体 (0.52 mmol) を乾燥ジクロロメタン (10 mL) に溶解させ、0 °C でトリフルオロ酢酸 (2.6 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下 24 時間室温で攪拌した。反応液に 5wt% 炭酸水素ナトリウム水溶液 (10 mL) を加えてクエンチし、有機相を乾燥させた。脱溶媒後、得られた粗生成物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、目的化合物を得た。

#### 2,3-ジブロモ-1-(4-ヒドロキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **14b**

Pale yellow powders, yield: 81%, mp: 156-157 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.64 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.78 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 6.96 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.37-7.45 (3H, m), 7.53 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 8.05 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3296, 3025, 2865, 1656, 1436, 847, 756, 689, 577. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{Br}_2$ : C, 46.91; H, 3.15. Found: C, 46.81; H, 3.15.

#### 2,3-ジブロモ-1-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **18b**

White powders, yield: 83%, mp: 174-176 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.02 (3H, s), 5.65 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.81 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 6.20 (1H, s), 7.03 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.36-7.53 (5H, m), 7.67-7.70 (2H, m). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3364, 3017, 1664, 1393, 1269, 1190, 1031, 881, 822, 598.

#### 2,3-ジブロモ-1-(4-ヒドロキシ-3-メチルフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **19b**

White powders, yield: 85%, mp: 178-180 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.35 (3H, s), 5.48 (1H, s), 5.65 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.79 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 6.20 (1H, s), 6.88 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.38-7.54 (5H, m), 7.89 (1H, dd,  $J = 1.5$  and 8.0 Hz), 7.93 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3336, 3058, 1655, 1576, 1454, 1420, 1374, 1211, 914, 830, 589.

2,3-ジブromo-1-(3-ヒドロキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **25b**

White powders, yield: 82%, mp: 140-141 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.05 (1H, s), 5.62 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.77 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.15 (1H, dd,  $J = 1.7$  and 8.6 Hz), 7.38-7.55 (7H, m), 7.66 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3463, 3030, 2865, 1677, 1334, 1200, 808, 676, 572.

2,3-ジブromo-1-(2-ヒドロキシフェニル)-3-フェニル-1-プロパノン **26b**

White powders, yield: 92%, mp: 192-194 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.63 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 5.88 (1H, d,  $J = 11.5$  Hz), 7.01 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 7.08 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.39-7.47 (5H, m), 7.59 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 7.85 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3418, 3024, 2865, 1632, 1337, 1208, 750, 585.

カルコンのエポキシ化体の合成

カルコン誘導体 (1.0 mmol) をアセトン (20 mL) に溶解させ、さらに 10-20 °C で 34% 過酸化水溶液 (10 mL) と 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (2.5 mL) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応液に水 (50 mL) を加え、エーテル (50 mL  $\times$  3) で抽出した。有機相を飽和食塩水 (40 mL) で洗浄し、乾燥と脱溶媒後、目的物を得た。

2-(4-メチルベンゾイル)-3-フェニルオキシラン **2c**

White powders, yield: 94%, mp: 72-74 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.47 (3H, s),

4.07 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz), 4.29 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz), 7.29 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz), 7.36-7.43 (5H, m), 7.92 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3038, 2981, 1683, 1238, 803, 753, 698. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2 \cdot 0.4 \text{H}_2\text{O}$ : C, 78.28; H, 6.08. Found: C, 78.03; H, 6.01.

2-(4-イソプロピルベンゾイル)-3-フェニルオキシラン **3c**

Colorless oil, yield: 91%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.27 (6H, d,  $J = 6.8$  Hz), 2.98 (1H, sept,  $J = 6.8$  Hz), 4.07 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 4.29 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 7.34 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz), 7.36-7.43 (5H, m), 7.96 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3034, 2963, 1684, 1183, 842, 746, 697. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$ : C, 77.50; H, 7.01. Found: C, 77.63; H, 7.27.

2-(4-ヨードベンゾイル)-3-フェニルオキシラン **9c**

Pale yellow powders, yield: 84%, mp: 120-121 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.07 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz), 4.22 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz), 7.35-7.42 (5H, m), 7.73 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.86 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz). IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3031, 2932, 1663, 1179, 808, 764, 700. Anal. Calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{I}$ : C, 51.45; H, 3.17. Found: C, 51.49; H, 3.21.

参考文献

- 1) S. F. Nielsen, T. Boesen, M. Larsen, K. Schonning, H. Kromann, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 3047-3054 (2004).
- 2) D. N. Dhar, J. B. Lal, *J. Org. Chem.*, **23**, 1159-1161 (1958).
- 3) M. M. Hansen, J. R. Riggs, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 2705-2706 (1998).
- 4) G. B. Payne, *J. Org. Chem.*, **24**, 2048-2049 (1959).
- 5) K. Dodo, T. Minato, Y. Hashimoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 190-194 (2009).



## 第5章 総括

2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体、カルコン誘導体、カルコンの臭素付加体、カルコンのエポキシ化体、およびリンカーを介してカテコール構造を2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンに連結させた化合物を合成し、14種類の菌体(グラム陽性菌、グラム陰性菌、カビや酵母)に対するそれらの抗菌活性を評価した。

第2章では、6位または7位に様々な置換基を導入した2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体を合成したところ、クロロメチル基、ブロモメチル基およびヨードメチル基をもつキノキサリンの抗菌活性は、6位の置換基に依存していた。しかしながら、すべての2,3-ビス(フルオロメチル)キノキサリン誘導体は抗菌活性を示さなかった。すなわち、2,3-ビス(ハロメチル)キノキサリン誘導体の抗菌活性が主にハロメチル基の求電子性に依存し、それは6位の置換基の電子特性の影響を受けることを明らかにした。それらの中で、2位と3位にクロロメチル基、6位にニトロを導入したキノキサリンがグラム陽性菌に対して最も高い活性を示し、2位と3位にヨードメチル基、6位にシアノ基を有するキノキサリンが最も多くの菌に対して高い活性を示した。

第3章では、第2章で唯一グラム陰性菌に対して有効なキノキサリン誘導体の合成ができなかったため、細菌の鉄イオン輸送系を利用してグラム陰性菌にも効果を示すキノキサリン誘導体の合成を目指した。そして、リンカーを介してカテコール構造を2,3-ビス(ブロモメチル)キノキサリンに連結させた化合物をいくつか合成したところ、グラム陽性菌に対しては抗菌活性を示したが、グラム陰性菌に効果を示す化合物はなかった。リンカー部分にエステル結合を用いず、アミド結合だけを用いた化合物がより高い抗菌活性を示した。一方、カテ

コール構造の導入により抗菌活性が低下した。これはカテコール構造の導入が化合物の親油性を低下させたためと考えられる。

第4章では、2'位もしくは3'位、4'位に様々な置換基を有するカルコン誘導体、カルコンの臭素付加体、カルコンのエポキシ化体を合成し、中でも4'位にヒドロキシ基、3'位にニトロ基を導入したカルコンの臭素付加体がグラム陽性菌に対して最も高い抗菌活性を示した。また、カルコン骨格に臭素を付加させてプロモアセチル構造を導入すると抗菌活性が向上することを明らかにした。それから、3'位に置換基をもつ4'-ヒドロキシカルコンの臭素付加体では、3'位の置換基の電子求引性の向上によって、グラム陽性菌に対する抗菌活性が向上することが分かった。さらに、3'位もしくは4'位へのカルボキシ基やヒドロキシ基のような酸性基の導入が高い抗菌活性に重要であることを明らかにした。一方、真菌に対する抗菌活性では、3'位にヒドロキシ基を導入したカルコンの臭素付加体が最も広い抗菌スペクトルを示した。

以上のように、ハロメチル基を有するキノキサリン誘導体やカルコン誘導体の合成と抗菌活性について述べてきた。これらの研究を通して、ハロメチル基を有するキノキサリン誘導体やカルコン誘導体がグラム陽性菌や真菌に対して有効な抗菌活性を示す新しい抗菌剤の候補になることを明らかにした。また、導入した置換基がキノキサリン誘導体やカルコン誘導体の抗菌活性に与える影響も明らかにした。

## 研究成果の発表

### 査読付き論文

1. Synthesis and antimicrobial activity of 2,3-bis(bromomethyl)quinoxaline derivatives

Hisato Ishikawa, Takayuki Sugiyama, Keisuke Kurita, Akihiro Yokoyama

*Bioorganic Chemistry*, **41-42**, 1-5 (2012).

2. Synthesis of 2,3-bis(halomethyl)quinoxaline derivatives and evaluation of their antibacterial and antifungal activities

Hisato Ishikawa, Takayuki Sugiyama, Akihiro Yokoyama

*Chemical and Pharmaceutical Bulletin*

(審査を終えて受理済み、Web 上での公開および雑誌への掲載待ち)

### 特許

1. キノキサリン系化合物またはその塩、および工業用殺菌組成物

杉山孝之、加藤明良、石川久登

特願 2009-187453

2. カルコン系化合物またはその塩、及び工業用殺菌組成物

横山明弘、石川久登、杉山孝之、鈴木康紀

特願 2012-198885

### 学会 (口頭発表)

1. 2,3-位に反応性置換基を有するキノキサリン類の合成とそれらの抗菌活性評価—その1  
加藤明良、石川久登、松村有里子、杉山孝之  
第 57 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム（東京） **2009**
2. 2,3-位に反応性置換基を有するキノキサリン誘導体の合成とそれらの抗菌活性評価—その2  
加藤明良、石川久登、松村有里子、杉山孝之  
日本化学会第 90 春季年会（大阪） **2010**
3. 4'位に様々な置換基を有するカルコンの臭素付加体の合成とそれらの抗菌活性評価  
石川久登、杉山孝之、鈴木康紀、横山明弘  
第 64 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム（新潟） **2012**

学会 (ポスター発表)

1. Synthesis of quinoxaline derivatives bearing reactive substituents at the 2- and 3-positions and their antibacterial and antifungal activities - Part 3.  
Hisato Ishikawa, Yuriko Matsumura, Takayuki Sugiyama, Keisuke Kurita  
Pacifichem 2010, (Hawaii) **2010**.
2. 2,3-ビス（ハロメチル）キノキサリン誘導体の合成と抗菌活性  
石川久登、杉山孝之、横山明弘  
第 41 回複素環化学討論会（熊本） **2011**

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、ご指導いただきました横山明弘先生に厚く感謝いたします。

また、本研究にご助言を頂きました、坪村太郎先生、原節子先生、久富寿先生、戸谷希一郎先生、栗田恵輔先生に心から感謝いたします。

共同研究として、抗菌活性の測定や特許出願にご協力していただきました日本エンバイロケミカルズ株式会社の杉山孝之博士および鈴木康紀氏にも心から感謝いたします。

そして、高石助教をはじめ有機化学研究室の皆さんに感謝いたします。

最後に、長い学生生活を支えてくれた家族に感謝いたします。

2013年1月