5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールとその類似化合物を 出発原料としたトルイル酸エステル誘導体の合成と それらの生物活性評価^{注1), 注2)}

野村 正人^{*1}・山川 恭弘^{*2}・立花 伸哉^{*1}・藤原 義人^{*1}
服部 文弘^{*3}・下村 健次^{*3}

^{*1} 近畿大学工学部化学環境工学科 (〒739-2116 東広島市高屋うめの辺)

^{*2} 協和産業株式会社 (〒664-0028 伊丹市西野 5-196)

^{*3} 御木本製薬株式会社・研究開発部 (〒516-0018 伊勢市黒瀬町 1425 番)

Synthesis and Physiological Activity of Toluyol Esters from 5-Methyl-2-Phenyl-2-Hexenal Derivatives

Masato NOMURA^{*1}, Yasuhiro YAMAKAWA^{*2}, Shinya TACHIBANA^{*1},
Yoshihito FUJIHARA^{*1}, Fumihito HATTORI^{*3}, and Kenji SHIMOMURA^{*3}

^{*1} Department of Chemistry and Environmental Technology, Kinki University
(Umenobe, Takaya, Higashihiroshima-shi 739-2116)

^{*2} Kyouwa sangyo Co., Ltd.
(Nishino, Itami-shi 664-0028)

^{*3} Research and Development Division, Mikimoto pharmaceutical & Co., Ltd.
(1425, Kurose, Ise-shi 516-0018)

Abstract : Physiologically active compounds, 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal(1) from Idaho potatoes and related compounds, 4-methyl-2-phenyl-2-pentenal(2), 2-methyl-4-phenylpentanal(3) and 2-methyl-2-pentenal(4) were synthesized and used as starting compounds for the synthesis of twenty-one compounds through condensation with *o*-, *m*- and *p*-toluoyl chlorides. The derivatives obtained were examined for capacity as whitening agents and growth-regulation. (4h) derived from (4) were found to be inhibited by tyrosinase by 71%. This inhibitory action considerably exceeded that of arbutin used in commercial cosmetics. Seventeen derivatives were found effective for weed control in a field (50g/a), and showed particularly strong inhibitory action forward growth of *Monochoria vaginalis*.

Key words : Synthesis, physiologically activity, Idaho potatoes, 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal, whitening agents, herbicides.

1 緒 言

近年、植物から単離された化学物質については、さまざまなバイオアッセイが確立されたことにより、利用目的に合った生物活性が見いだされ注目されている^{1), 2)}。また、天然物中に存在している有用な生物活性物質についての情報をもとにして、これらを安全性の高い医薬品

あるいは農薬などに変換することは、バイオマス資源の有効利用という観点からも重要な課題とされている。著者らも植物の精油成分中に存在するモノテルペノイドを母格とした新規化合物の合成を行い得られた化合物について、各種の生物活性試験を行ったところ、家屋害虫(蚊, ダニなど)に対する殺虫・忌避効果^{3), 4)}ならびに雑草に対する生長阻害効果^{5), 6)}などを見いだすことができ、これらの結果についてはすでに報告した。そこで今回、アメリカ・アイダホ (Idaho) 産ジャガイモ中に存在し、拡散性と保香性を持ち合わせていることから、香料素材として使用されている^{7), 8)} 5-メチル-2-フェニ

注1) 前報: 油化学, 47, 1233 (1998)。

注2) 本報を“生理活性物質の合成に関する研究 (第20報)”とする。

連絡者: 野村正人

ル-2-ヘキセナール (1) とその類縁化合物である 4-メチル-2-フェニル-2-ペンテナール (2), 2-メチル-4-フェニルペンタナール (3) および 2-メチル-2-ペンテナール (4) を出発物質として用いて, 官能基変換を行ったのち, 3 種類のトルイル酸クロリド類との縮合反応を行った。得られたエステル化合物について, 化粧品配合剤への利用を目的とした美白効果試験と水田および畑地雑草に対する除草剤の開発を目的とした除草活性試験を実施したところ, それぞれの生物活性試験において, 著者らが期待した効果を発現する化合物を見いだすことができたので, これらの結果について報告する。

2 実験方法

2・1 試料の調製

5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール (1), 4-メチル-2-フェニル-2-ペンテナール (2), 2-メチル-4-フェニルペンタナール (3) および 2-メチル-2-ペンテナール (4) : 市販品 (1), (2) (Lancaster 社製), (3) (東京化成工業製) および (4) (Lancaster 社製) を使用した。

(1) : bp 97~99°C/700 mmHg, $d_4^{25}=0.9487$, $n_D^{20}=1.5350$

(2) : bp 84~86°C/0.7 mmHg, $d_4^{25}=1.0029$, $n_D^{20}=1.4639$

(3) : bp 94~96°C/10 mmHg, $d_4^{25}=0.9726$, $n_D^{20}=1.4607$

(4) : bp 134~136°C, $d_4^{25}=0.8675$, $n_D^{20}=1.4505$

2・2 機器分析

IR スペクトルは日本分光工業社製, IR-810 型により KBr セルを使用し液膜で測定した。 ^1H および ^{13}C -NMR スペクトルは日本電子社製, JNM-EX 400 型によりテトラメチルシラン (TMS) を内部標準とし, 重クロロホルム溶媒中で測定した。また, 元素分析値は CHN コーダ (柳本製, MT-5 型) を用いて測定した。

2・3 アルコール (1a)~(4a) の合成

(5-メチル-2-フェニル-2,3-デヒドロヘキサノール (1a) の合成を例にあげる) 滴下漏斗および攪拌機を付した 300 mL のフラスコに氷冷下, 水素化アルミニウムリチウム 1.2 g (3.2×10^{-2} mol) を取り, テトラヒドロフラン 50 mL を加え懸濁したのち, 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール (1) 5.0 g (2.7×10^{-2} mol) を溶かしたテトラヒドロフラン混合溶液 100 mL を 1 時間要して滴下した。ついで, 室温で 24 時間攪拌した。反応終了後, 油分をエーテル抽出し水洗後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を留去して得た粗反応油をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒; ヘキサン: エーテル=9:1) を用いて分離精製し, (1a) を収率 88% で得た。また, (2)~(4) についても同様の操作方法で

反応を行い, (2a)~(4a) を Table 1 に示した収率で得た。

(1a) : IR ν max KBr (cm^{-1}) : 3350, 1000 (-OH), 1380, 1360 (*gem*-CH₃), 1600, 1500, 760, 700 (ϕ)

^1H -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 0.83 (6H, d, $J=2.86$ Hz, *gem*-CH₃), 1.98 (1H, s, -OH, Disappeared with D₂O), 4.26 (2H, s, -CH₂OH), 5.72 (1H, t, -CH=C<), 7.16~7.34 (5H, m, ϕ)

^{13}C -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 22.38 (C₆, C₇), 28.76 (C₅), 37.47 (C₄), 68.06 (C₁), 126.93 (C₁₁), 127.79 (C₃), 128.21 (C₁₀, C₁₂), 128.76 (C₉, C₁₃), 138.78 (C₈), 140.78 (C₂)

(2a) : IR ν max KBr (cm^{-1}) : 3360, 1010 (-OH), 1380, 1360 (*gem*-CH₃), 1600, 1500, 760, 700 (ϕ)

^1H -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 0.93 (6H, d, $J=3.62$ Hz, *gem*-CH₃), 2.21 (1H, br.s, -OH, Disappeared with D₂O), 4.21 (2H, s, -CH₂OH), 5.48 (1H, d, $J=4.26$ Hz, -CH=C<), 7.17~7.34 (5H, m, ϕ)

^{13}C -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 23.15 (C₅, C₆), 27.52 (C₄), 67.84 (C₁), 126.95 (C₁₀), 128.23 (C₉, C₁₁), 128.56 (C₈, C₁₂), 135.91 (C₃), 137.92 (C₂), 138.95 (C₇)

(3a) : IR ν max KBr (cm^{-1}) : 3325, 1040 (-OH), 1600, 1500, 760, 700 (ϕ)

^1H -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 0.87 (3H, d, $J=2.86$ Hz, >CH-CH₃), 1.20 (3H, d, $J=3.08$ Hz, ϕ -CH-CH₃), 1.28~1.73 (2H, m, >CH-CH₂-CH<), 2.03 (1H, br.s, -OH, Disappeared with D₂O), 2.79 (1H, m, ϕ -CH<), 3.32 (2H, m, -CH₂OH), 7.17 (3H, m, ϕ), 7.26 (2H, m, ϕ)

^{13}C -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 16.33 (C₆), 22.16 (C₅), 33.43 (C₂), 37.12 (C₄), 41.67 (C₃), 67.92 (C₁), 125.87 (C₁₀), 126.88 (C₈, C₁₂), 128.38 (C₉, C₁₁), 147.10 (C₇)

(4a) : IR ν max KBr (cm^{-1}) : 3350, 1010 (-OH)

^1H -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 0.96 (3H, t, -CH₂CH₃), 1.64 (3H, s, -CH₃), 2.65 (1H, s, -OH, Disappeared with D₂O), 3.96 (2H, s, -CH₂OH), 5.39 (1H, m, -CH=C<)

^{13}C -NMR δ CDCl₃ (ppm) : 13.47 (C₆), 14.06 (C₅), 20.90 (C₄), 68.70 (C₁), 128.01 (C₃), 134.08 (C₂)

2・4 エポキシド (1b), (2b) および (4b) の合成

(2,3-エポキシ-5-メチル-2-フェニルヘキサノール (1b) の合成を例にあげる) 塩化カルシウム管を付した三角フラスコに 2・3 の項で合成した (1a) 5.0g (2.6×10^{-2} mol) を取り, 蒸留エーテル 100 mL を加え溶解後, *m*-クロロ過安息香酸 7.9 g (4.6×10^{-2} mol) を少量ずつ加えたのち, 冷暗所で 7 日間放置した。反応終了

後、反応油に粉末の水酸化カルシウムを加え、過剰の *m*-クロロ過安息香酸を処理したのち、エーテル抽出し水洗後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を留去して得た粗反応油をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（展開溶媒：ヘキサン：エーテル=7：3）を用いて分離精製し（1b）を収率74%で得た。また、同様の操作で（2a）および（4a）から（2b）および（4b）を Table 1 に示した収率で得た。

（1b）：IR ν max KBr (cm^{-1}) : 3425, 1020 (-OH), 1390, 1370 (*gem*-CH₃), 1610, 1500, 760, 700 (ϕ)

¹H-NMR δ CDCl₃ (ppm) : 0.86 (6H, d, J=2.66 Hz, *gem*-CH₃), 2.78 (1H, q, J=12.64 Hz, >CH-O-), 2.92 (1H, s, -OH, Disappeared with D₂O), 3.44 (1H, m, -CH₂-CH<), 3.93 (2H, m, -CH₂OH), 7.33

(5H, d, J=4.62 Hz, ϕ)

¹³C-NMR δ CDCl₃ (ppm) : 22.53 (C₆), 22.73 (C₇), 26.46 (C₅), 36.94 (C₄), 60.33 (C₃), 64.57 (C₁), 65.56 (C₂), 126.93 (C₉, C₁₃), 127.68 (C₁₁), 128.16 (C₁₀, C₁₂), 136.11 (C₈)

（2b）：IR ν max KBr (cm^{-1}) : 3420, 1025 (-OH), 1380, 1360 (*gem*-CH₃), 1600, 1500, 700 (ϕ)

¹H-NMR δ CDCl₃ (ppm) : 0.76 (3H, d, *gem*-CH₃), 1.01 (3H, s, *gem*-CH₃), 1.01 (1H, s, -CH (CH₃)₂), 2.70 (1H, br.s, -OH, Disappeared with D₂O), 2.72 (1H, q, J=12.66 Hz, >CH-O-), 3.05 (1H, q, -CH<), 3.93 (2H, m, -CH₂OH), 7.34 (5H, m, ϕ)

¹³C-NMR δ CDCl₃ (ppm) : 17.83 (C₅), 19.82 (C₆), 27.06 (C₄), 64.68 (C₁), 66.66 (C₂), 66.84 (C₃), 126.77

Table 1 Physical Constants and Yields of (1a)~(4h).

Compound	m.p./°C	d_4^{20}	n_D^{20}	Anal.				Yield ^{a)} (%)
				C	(%)	H	(%)	
				Calcd	Found	Calcd	Found	
(1a)	—	0.9769	1.5248	82.11	81.97	9.47	9.45	88
(2a)	—	0.9702	1.5181	81.82	81.76	9.09	9.02	89
(3a)	—	0.9649	1.5130	80.90	80.81	10.11	10.01	83
(4a)	—	0.8644	1.4470	72.00	71.89	12.00	11.97	88
(1b)	—	1.0384	1.5118	75.73	75.61	8.74	8.71	74
(2b)	62.6~63.8	—	—	75.00	74.96	8.33	8.35	71
(4b)	—	0.9926	1.4405	62.07	61.97	10.34	10.29	66
(1c)	—	1.0469	1.5450	86.30	86.24	8.22	8.16	77
(2c)	—	1.0420	1.5419	86.33	86.37	7.91	7.82	68
(3c)	—	1.0421	1.5420	85.71	85.67	8.57	8.63	64
(4c)	—	1.0519	1.5453	83.17	83.04	8.91	9.02	69
(1d)	—	1.0570	1.5485	86.30	86.24	8.22	8.14	72
(2d)	—	1.0608	1.5509	86.33	86.27	7.91	8.01	66
(3d)	—	1.0511	1.5438	85.71	85.77	8.57	8.52	62
(4d)	—	1.0410	1.5375	83.17	83.01	8.91	9.01	64
(1e)	—	1.0469	1.5412	86.30	86.32	8.22	8.09	68
(2e)	—	1.0234	1.5160	86.33	86.26	7.91	7.87	64
(3e)	—	1.0260	1.5175	85.71	85.64	8.57	8.52	67
(4e)	—	1.0250	1.5169	83.17	83.24	8.91	8.87	32
(1f)	44.9~46.0	—	—	81.82	81.74	7.79	8.02	41
(2f)	—	1.0664	1.5238	81.63	81.56	7.48	7.44	38
(4f)	63.2~64.6	—	—	77.06	77.12	8.26	8.19	46
(1g)	68.2~70.2	—	—	81.82	81.97	7.79	7.72	48
(2g)	—	1.1043	1.5418	81.63	81.49	7.48	7.56	52
(4g)	73.3~75.2	—	—	77.06	76.97	8.26	8.19	42
(1h)	79.8~80.9	—	—	81.82	81.92	7.79	7.82	42
(2h)	—	1.1262	1.5074	81.63	81.53	7.48	7.42	30
(4h)	164.9~166.1	—	—	77.06	76.96	8.26	8.21	39

a) Total yield (%)

(C₈, C₁₂), 127.72 (C₁₀), 128.18 (C₉, C₁₁), 136.08 (C₇)
 (4b): IR ν max KBr (cm⁻¹): 3400, 1040 (-OH)
¹H-NMR δ CDCl₃ (ppm): 1.03 (3H, t, J=6.26 Hz, -CH₂CH₃), 1.28 (3H, s, -CH₃), 2.67 (1H, q, J=10.58 Hz, >CH-O-), 2.83 (1H, s, -OH, Disappeared with D₂O), 2.99 (1H, t, J=5.82 Hz, -CH₂-CH<), 3.54~3.67 (2H, m, -CH₂OH)
¹³C-NMR δ CDCl₃ (ppm): 10.51 (C₅), 14.00 (C₆), 21.50 (C₄), 61.39 (C₂), 61.59 (C₃), 65.70 (C₁)

2・5 トルイル酸クロリド類との縮合反応

(5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセニル-*o*-メチルベンゾエート (1c) の合成を例にあげる) 2・3 の項で合成した (1a) 1.0 g (5.3×10⁻³ mol) を乾燥ベンゼン 30 mL に溶解したのち、反応温度を 5℃ 以下に保ちながら *o*-トルイル酸クロリド 1.9 g (1.2×10⁻² mol) を溶解したベンゼン混合溶液 30 mL とトリエチルアミン 2.5 g (2.5×10⁻² mol) を溶解したベンゼン混合溶液 40 mL をそれぞれ交互に 1 時間を要して滴下したのち、室温で 12 時間攪拌した。反応終了後、ベンゼン層を水洗し無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を留去して得た粗反応油をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒: ヘキサン: エーテル=95: 5) を用いて分離精製し、(1c) を収率 77% で得た。以下、*m*-および *p*-トルイル酸クロリドを用いる以外、同様の縮合条件で反応を行い (1d) ~ (1h) を収率 41~72% で得た。また、(2a)~(4a) についても同様の縮合反応を行い、(2c)~(4c) を Table 1 に示した収率で得た。一方、2・4 の項で得たエポキシド (1b), (2b) および (4b) についても同様の縮合反応を行い、それぞれ (1f)~(2h) および (4f)~(4h) を Table 1 に示した収率で得た。また、(1c)~(4c), (1f)~(2h) および (4f)~(4h) の構造については、Table 2 に示した特徴あるそれぞれの吸収スペクトルにより確認した。

2・6 生物活性試験

2・6・1 美白効果試験

(1) チロシンを基質にしたチロシナーゼ阻害活性試験

それぞれの化合物を所定の濃度 (0.08 mM) に調製したのち、チロシナーゼ (Sigma chemical 社製, EC 1.14.18.1) を用いて、前報⁹⁾に従って操作し、475 nm に設定した分光光度計で測定した。

(2) DOPA を基質にしたチロシナーゼ阻害活性試験

3,4-ジヒドロキシ-*L*-フェニルアラニン (DOPA) (和光純薬社製) を所定の濃度 (1.66 mM) に調製したのち、(1) の項に示した前報⁹⁾に準じて行った。

(3) 活性酸素抑制効果試験

それぞれの化合物を所定の濃度 (0.714 mM) に調製したのち、Superoxide dismutase (SOD) テストワ

コー試薬 (和光純薬社製) を用いて前報⁹⁾に従って操作し、生成するジホルマザンを 560 nm に設定した分光光度計で測定した。

(4) ヒアルロニターゼ阻害活性試験

0.4% のヒアルロン酸を含むリン酸緩衝液 (pH 6.0) を調製したのち、ヒアルロニターゼ (Sigma chemical 社製, EC 3.2.1.35) を用いて、前報⁹⁾に従って Ostwald 粘度計 (No. 4) で測定した。

(5) B-16 細胞によるメラニン生成阻害効果および細胞毒性試験方法¹⁰⁾

B-16 マウスメラノーマ細胞 (4×10⁴ cell/mL) は、*L*-glutamine (0.3 mg/mL) を含む、10% の子牛の胎児の血清とそれぞれの試料を濃縮し、Eagle's 最小必要培地 (MEM, Nissui Seiyaku Co., Tokyo pH 7.6) により、細胞は 5% の CO₂ と 95% の空气中、37℃ で 6 日間培養 (培地は 3 日目に交換) した。6 日後、細胞は試験管で遠心分離したのちシャーレ (60×15 mm) に移し確認した。細胞の白色化段階は肉眼による確認 (±: 変化は認められない, +: わずかな白色化, ++: 完全な白色化) で評価した。

2・6・2 雑草防除第一次スクリーニング

水田一次スクリーニング (処理薬量: 20 g/a) には雑草として、ノビエ (*Echinochloa crus-galli*: イネ科), ホタルイ (*Scirpus juncooides*: カヤツリグサ科) およびコナギ (*Monochoria vaginalis*: ミズアオイ科) を、また、畑地一次スクリーニング (処理薬量: 50 g/a) には雑草として、イチビ (*Abutilon theophrasti*: アオイ科), アオゲイトウ (*Amaranthus retroflexus*: ヒユ科), メヒシバ (*Digitaria ciliaris*: イネ科) およびエノコログサ (*Setaria viridis*: イネ科) を使用した。実験方法は前報¹¹⁾に準じて行った。

3 結果および考察

合成した 21 種類のエステル化合物 (1c)~(4h) について、酵素レベルでのチロシナーゼ活性阻害試験、活性酸素抑制効果試験およびヒアルロニダーゼ活性阻害試験を実施し、化粧品美白剤としての評価を行った。その結果を Table 3 に示す。

一般にシミおよびソバカスの生成をもたらす原因であるメラニンの産生は表皮基底層中に存在するメラノサイトの中のチロシンが母体となって形成され、この母体のチロシンが同じメラノサイト中に存在する酸化酵素であるチロシナーゼとの接触作用によってドーパに酸化され、さらにドーパからドーパキノンに酸化される。この二つの段階でいずれも酵素チロシナーゼが関与しており、その後の反応は自動酸化的に進むものと考えられており、最後には、緩急を交えた複雑な生化学変化を受けてメラニン重合体となる。この物質が皮膚タンパク SH

Table 2 IR and NMR Spectral Data of (1c)~(4h).

Compound	IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}^{\text{a)}$ (cm ⁻¹)			¹ H-NMR $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3^{\text{b)}}$ (ppm)				
	$\nu\text{-CO}$	$\nu\text{-}\phi$	$\nu\text{-CH}_2\text{O-}$	$\text{-CH=}\overset{\text{C}}{\text{<}}$	$\text{-CH}_2\text{O-}$	$\text{-}\overset{\text{CH}}{\text{C}}\text{-}\overset{\text{C}}{\text{<}}\text{O}$	$\phi\text{-CH}_3$	$\text{-CO-}\phi$
(1c)	1730(vs)	1610(s) 1500(s)	1260(m)	5.89 (t, J=11.02Hz)	5.01(s)	—	2.46(s)	7.15~7.78(m)
(2c)	1730(vs)	1605(s) 1500(s)	1255(m)	5.88 (t, J=11.02Hz)	5.00(s)	—	2.34(s)	7.23~7.46(m)
(3c)	1725(vs)	1610(s) 1505(s)	1260(m)	—	4.99(s)	—	2.35(s)	7.32~7.86(m)
(4c)	1730(vs)	1610(s) 1505(s)	1255(m)	5.54 (t, J=8.02Hz)	4.68(s)	—	2.60(s)	7.35~7.92(m)
(1d)	1720(vs)	1605(s) 1500(s)	1245(m)	5.86 (t, J=11.02Hz)	4.98(s)	—	2.56(s)	7.56~7.89(m)
(2d)	1725(vs)	1600(s) 1510(s)	1250(m)	5.89 (t, J=11.06Hz)	4.96(s)	—	2.47(s)	7.61~7.97(m)
(3d)	1725(vs)	1605(s) 1505(s)	1245(m)	—	4.97(s)	—	2.52(s)	7.57~8.02(m)
(4d)	1730(vs)	1600(s) 1500(s)	1240(m)	5.56 (t, J=8.00Hz)	4.98(s)	—	2.49(s)	7.64~8.16(m)
(1e)	1720(vs)	1610(s) 1505(s)	1255(m)	5.52 (t, J=11.07Hz)	4.69(s)	—	2.36(s)	7.39~7.97(m)
(2e)	1720(vs)	1605(s) 1510(s)	1250(m)	5.53 (t, J=11.08Hz)	4.68(s)	—	2.35(s)	7.42~8.03(m)
(3e)	1720(vs)	1600(s) 1500(s)	1255(m)	—	4.67(s)	—	2.37(s)	7.45~8.12(m)
(4e)	1720(vs)	1610(s) 1505(s)	1255(m)	5.53 (t, J=11.08Hz)	4.68(s)	—	2.38(s)	7.29~7.96(m)
(1f)	1720(vs)	1600(s) 1500(s)	1250(m)	—	4.67 (d.d, J=2.46, 2.68Hz)	3.32 (t, J=6.27Hz)	2.47(s)	7.23~7.80(m)
(2f)	1725(vs)	1600(s) 1500(s)	1245(m)	—	4.65 (d.d, J=2.47, 2.71Hz)	3.31 (t, J=6.28Hz)	2.42(s)	7.26~7.78(m)
(4f)	1725(vs)	1605(s) 1500(s)	1245(m)	—	4.63 (d.d, J=2.49, 2.72Hz)	3.35 (t, J=6.27Hz)	2.37(s)	7.24~7.81(m)
(1g)	1730(vs)	1610(s) 1505(s)	1255(m)	—	4.64 (d.d, J=2.52, 2.86Hz)	3.33 (t, J=6.25Hz)	2.34(s)	7.25~7.85(m)
(2g)	1725(vs)	1610(s) 1505(s)	1250(m)	—	4.62 (d.d, J=2.47, 2.84Hz)	3.37 (t, J=6.29Hz)	2.36(s)	7.24~7.88(m)
(4g)	1725(vs)	1615(s) 1500(s)	1255(m)	—	4.59 (d.d, J=2.51, 2.87Hz)	3.29 (t, J=6.24Hz)	2.32(s)	7.31~7.91(m)
(1h)	1730(vs)	1610(s) 1510(s)	1260(m)	—	4.47 (d.d, J=2.49, 2.62Hz)	2.98 (t, J=6.29Hz)	2.41(s)	7.58~7.99(m)
(2h)	1730(vs)	1610(s) 1510(s)	1255(m)	—	4.44 (d.d, J=2.47, 2.61Hz)	2.96 (t, J=6.27Hz)	2.39(s)	7.57~7.96(m)
(4h)	1730(vs)	1610(s) 1510(s)	1255(m)	—	4.49 (d.d, J=2.48, 2.58Hz)	2.94 (t, J=6.32Hz)	2.42(s)	7.60~8.00(m)

a) vs ; very strong, s ; strong, m ; medium

b) s ; singlet, d ; doublet, d.d ; double doublet, t ; triplet, m ; multiplet

Fig. 1 Process of Synthesis for (1a)~(4h).

Table 3 Inhibition of Tyrosinase Activity, Scavenging of superoxide and Hyaluronidase Activity for (1c)~(4h).

Compound ^{a)}	Tyrosinase		Scavenging of superoxide	Hyaluronidase activity
	Tyrosine	L-Dopa		
(1c)	-1.76 ^{b)}	-4.01	16.70	3.66
(1d)	6.06	5.04	15.29	6.46
(1e)	2.79	6.65	22.54	7.58
(1f)	14.86	9.24	25.15	2.14
(1g)	8.55	6.01	-8.85	6.21
(1h)	12.01	33.14	22.74	7.91
(2c)	1.53	1.48	-2.88	10.29
(2d)	0.82	3.76	2.09	12.08
(2e)	3.34	7.74	23.56	0.20
(2f)	3.45	6.32	12.83	4.07
(2g)	2.68	4.61	-8.64	4.58
(2h)	1.86	4.90	-4.97	7.52
(3c)	0.00	2.90	10.14	1.62
(3d)	-2.04	-0.80	9.32	4.36
(3e)	-3.72	-2.51	14.08	7.44
(4c)	1.59	1.77	-20.68	7.93
(4d)	-4.88	-1.08	-15.45	0.09
(4e)	-4.16	-3.08	36.85	3.28
(4f)	19.48	10.31	7.87	7.93
(4g)	-1.44	-3.08	-1.24	0.09
(4h)	54.50	70.67	14.91	3.28
Arbutin	63.00	7.70	0.80	-30.20

a) Concentration ; 15 mM

b) Inhibitory rate (%)

基を介して結合し、メラノタンパクとなって定着することで、シミやソバカスのほかに、ホクロあるいはアザなどとなって出現するものと考えられている。すなわち、チロシンが水酸化されてドーパへ、さらにドーパキノンへの生成段階において、それぞれ触媒として働く酵素チロシナーゼを阻害することで、メラニン生成を抑制することが可能であると考えられている¹¹⁾。

そこで、酵素チロシナーゼに対する活性阻害試験の一つであるチロシンを基質とした活性阻害試験では、化合物(4h)のみが、比較物質として使用した市販品のアルブチンとほぼ同程度の活性阻害(54.50%)を示すことを確認することができた。

一方、ドーパを基質としたチロシナーゼ活性阻害試験では化合物(1h)および(4h)に活性阻害が認められ、アルブチンと比べて、約5倍(33%)および10倍(70%)の値が得られ、非常に高い活性阻害を示すことを確認することができた。

つぎに、皮膚細胞内における活性酸素とは一般にスーパーオキシドアニオン(O_2^-)、ヒドロキシラジカル($\text{HO}^\cdot$)および一重項酸素($^1\text{O}_2$)などのことを指し、紫外線などを浴びることにより増加する傾向が知られている¹²⁾。メラニンの生成経路において、とくにドーパおよびドーパキノンの生成速度は活性酸素であるスーパーオキシドアニオンおよび一重項酸素の存在が大きく関与しているものと考えられ、この活性酸素を抑制することで、メラニンの生成を抑制することができると考えられる。そこで、活性酸素抑制効果試験を行った結果、化合物(1e)、(1f)、(1h)、(2e)および(4e)に良好な抑制効果を示す値が得られ、市販品(Fluka社製)ア

Table 4 Inhibition of Melanine Biosynthesis for (1h) and (4h).

Compound	(1h)			(4h)		
Concentration	0.01 mM	0.05 mM	0.10 mM	0.01 mM	0.05 mM	0.10 mM
Inhibition of Melanogenesis	± ^{a)}	+	none	±	±	±
Toxicity	0 ^{b)}	1	3	0	0	1

a) ++ (Strong) > + > ± (Weak)

b) 3 (Strong) > 2 > 1 > 0 (Weak)

ルブチン (Hydroquinone- β -D-glucopyranoside) と比較すると約 30 倍以上 (22%~36%) の抑制効果があることを確認することができた。現在、美白剤として化粧品へ配合され使用されているアルブチンには、著者らが行った活性酸素抑制効果の方法では 0.80% と非常に低い値にもかかわらず、既報¹³⁾のキサンチン-キサンチンオキシダーゼ系とフラビンモノヌクレオチド (FMN) +UV 系を用いた O₂-産生抑制作用ではアルブチンの活性酸素抑制効果の有効性 (35% 程度) が示唆されている。このことに著者らは着目し、今回合成した化合物の中でもチロシナーゼ活性阻害ならびに活性酸素抑制効果を示した化合物について、B-16 細胞を使った毒性試験を行った。すなわち、とくに、高い評価を得た化合物 (1h) および (4h) についての B-16 細胞を用いた細胞毒性試験結果を Table 4 に示す。メラニン生成阻害において、化合物 (1h) の濃度を 0.05 mM にした場合において、白色化現象を確認することができたが、同時に弱い毒性も発現することも認められた。また、化合物 (4h) では濃度 0.10 mM において弱い毒性が発現したが、メラニン生成阻害については著しい変化は認められなかった。

つぎに、ヒアルロニダーゼは細胞間物質中や関節の潤滑液として存在しているヒアルロン酸を分解する酵素であり、そのヒアルロン酸は細胞間の水分保持などの働きと同時に、分解されると水分保持能力が低下する。すなわち、ヒアルロニダーゼを抑制し、ヒアルロン酸の分解を防ぐことにより小じわや肌のかさつきを抑制することが可能であると考えられる¹⁴⁾。そこで、ヒアルロニダーゼに対する活性阻害試験を行った結果、(2) から誘導した化合物 (2c) および (2d) では、得られた数値 (10.29~12.08) は低いものの、従来の市販品 (たとえばアルブチンあるいはコウジ酸) よりも高い数値であり、とくにフェニル基を含有している出発物質の中でも、(2) を母格とした誘導体にヒアルロニダーゼ阻害活性が発現することを確認した。

このような評価の結果から、今回植物成分を母格とした化合物の合成を行い、チロシナーゼ阻害作用を有する化合物を見だし、美白効果を示す候補物質となること

を明らかにした。このことから、天然物由来の成分を簡単な手法で化学修飾することにより化粧品素材として、より可能性の高い機能を持った化合物に変換することができたが、比較物質として用いたアルブチンは細胞毒性を示さない条件下で、メラニン生成抑制効果を示していることから、化粧品薬剤としての有効性が示唆されており¹⁵⁾、今回著者らが得た化合物は測定濃度により比較的毒性が強めに発現する傾向があるため、毒性発現を抑制するような構造変化をともなった置換基の導入が必要であることがわかった。

一方、機能性材料への利用の一つとして、天然物を素材とした農薬のうちでも除草剤としての使用について検討した。その除草活性試験の結果を Table 5 に示した。まず、水田一次スクリーニング (処理薬量: 20 g/a) で使用した。水田雑草は、ノビエ (*Echinochloa crus-galli*: イネ科)、ホタルイ (*Scirpus juncoides*: カヤツリグサ科) およびコナギ (*Monochoriavaginalis*: ミズアオイ科) であり、これらの雑草に対する除草活性は、とくに化合物 (1c), (1e), (1f), (2e)~(2h), (3c)~(3e) および (4d)~(4h) が、10 段階評価で無処理区との相対評価を行ったところ、コナギに対して評価 9 の判定が得られ、いずれも完全に枯殺するという結果を得ることができた。また、ノビエに対して化合物 (1e), (4d) および (4g) が評価 3~4 の判定を得ることができ、時間の経過とともに、その生育抑制効果が促進することが確認されたことから、これらの化合物は遅効性である特性を持つことがわかった。

一方、畑地一次スクリーニング (処理薬量: 50 g/a) で使用した畑地雑草は、イチビ (*Abutilon theophrasti*: アオイ科)、アオゲイトウ (*Amaranthus retroflexus*: ヒユ科)、メヒシバ (*Digitaria ciliaris*: イネ科) およびエノコログサ (*Setaria viridis*: イネ科) であり、これらの雑草に対する除草活性では、イチビに対して化合物 (3e) のみが評価 6 の判定が得られ、生育抑制効果があることを確認することができた。

以上の結果から、それぞれのトルイル酸をエステル結合で導入した化合物について、母格の相違による除草効果を追求したものであり、さきに著者らが報告¹⁶⁾して

Table 5 Herbicidal Activities of (1c)~(4h) in the Paddy field and Field.

Compound	Concentration	Treatment	Herbicidal activities ^{c)}		
			EC ^{d)}	MV ^{e)}	AT ^{f)}
(1c)	20 g/a ^{a)}	Pre	0	9	0
(1e)	"	"	3	9	0
(1f)	"	"	0	9	0
(1h)	20 g/a, 50 g/a ^{b)}	"	2	9	2
(2c)	20 g/a	"	2	9	0
(2d)	"	"	0	9	0
(2e)	20 g/a, 50 g/a	"	2	9	1
(2f)	20 g/a	"	0	9	0
(2g)	"	"	2	7	0
(2h)	"	"	2	8	0
(3c)	"	"	0	9	0
(3d)	"	"	2	9	0
(3e)	20 g/a, 50 g/a	"	2	9	6
(4d)	20 g/a	"	4	9	0
(4e)	"	"	2	9	0
(4g)	"	"	4	9	0
(4h)	"	"	0	9	0

a) Paddy field b) Field

c) Herbicide activity ; 9 (max)~0 (min)

d) *Echinochloa crus-galli*e) *Monochoria vaginalis*f) *Abutilon theophrasti*

いるアレロパシーに関与している *p*-メンタン骨格を有する Cinmethylin 類と類似した化学構造を有していることから、今回使用した水田雑草ならびに畑地雑草に対して、特定な雑草の生長阻害を効果的に発揮していることなどの知見を得ることができた。また、これらの化

合物は水田雑草に対して強い活性を示す一方、畑地雑草については弱い活性を示すなどの傾向が認められたことから、阻害活性の発現の作用点は根からの吸収によるものであり、ホルモン移行による脂質あるいは吸収阻害と同様な作用機構¹⁷⁾が考えられる。

(受付：1998年11月30日，受理：1999年1月25日)

文 献

- 1) 石井象二郎，平野千里，玉城佳男，高橋正三，“昆虫行動の化学”培風館（1978），p. 109.
- 2) 後藤俊夫，“天然物化学（有機化学講座 10）”丸善（1982），p. 62.
- 3) 野村正人，広川隆志，藤原義人，武井康浩，山本 亮，農化，67，693（1993）.
- 4) 野村正人，前田崇博，藤原義人，山本 亮，杉浦正昭，柴田光信，油化学，44，309（1995）.
- 5) 野村正人，朝倉正路，藤原義人，農化，70，1265（1996）.
- 6) 野村正人，山川恭弘，井出 寧，早川友浩，藤原義人，油化学，47，263（1998）.
- 7) E.C. Coleman, C.T. Ho, S.S. Chang, *J. Agric. Food Chem.*, 29, 42（1981）.
- 8) 玉井洋進，公開特許公報 昭和62-185009.
- 9) 野村正人，多田貴広，逸見 晃，藤原義人，下村健次，飯田浩一，山辺幸久，油化学，44，372（1995）.
- 10) K. Iida, K. Hase, K. Shimomura, S. Sudo, S. Kadota, T. Nanba, *Planta Med.*, 61, 425（1995）.
- 11) 岸 春雄，“現代香粧品化学”講談社（1980）p. 18.
- 12) K. Maeda, M. Naganuma, M. Fukuda, *Photochem. Photobiol.*, 54, 737（1991）.
- 13) 前田憲寿，福田 寛，フレグランスジャーナル，14，130（1995）.
- 14) B.P. Toole, S.I. Munaim, S. Welles, C.B. Knudson, “*The Biology of Hyaluronan*”, Ciba Foundation Symposium（1989）p. 138.
- 15) 富田健一，福田 実，川崎 清，フレグランスジャーナル，18，72（1990）.
- 16) 野村正人，藤原義人，広川隆志，大坪英二，農化，66，891（1992）.
- 17) M.K. Bach, J. Fellig, *Nature*, 189, 763（1961）.

[報文]

5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールと その類似化合物を出発原料としたトルイル酸 エステル誘導体の合成とそれらの生物活性評価

野村 正人^{*1}・山川 恭弘^{*2}・立花 伸哉^{*1}
藤原 義人^{*1}・服部 文弘^{*3}・下村 健次^{*3}

^{*1} 近畿大学工学部工業化学科 (〒739-2116 東広島市高屋うめの辺)

^{*2} 協和産業株式会社 (〒664-0028 伊丹市西野 5-196)

^{*3} 御木本製薬株式会社・研究開発部 (〒516-0018 伊勢市黒瀬町 1425 番)

アメリカ・アイダホ (Idaho) 産のジャガイモ中から見いだされた 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール (1) は拡散性と保香性を持ち合わせていることから、香料素材として使用されている。そこで、著者らは生物活性物質合成に関する研究の一環として、(1) とその構造が類似している化合物である 4-メチル-2-フェニル-2-ペンテナール (2)、2-メチル-4-フェニルペンテナール (3) および 2-メチル-2-ペンテナール (4) から誘導した新規化合物の用途開発を目的に本研究を行った。すなわち、それぞれの出発物質 (1)~(4) を対応するアルコール体に変換したのち、*o*-, *m*-, *p*-トルイル酸クロリド類との縮合反応を行い、得られた化合物について、化粧品への配合を目的とした美白用薬剤としての活性阻害試験と水田雑草、畑地雑草に対する除草活性試験を行ったところ、それぞれの分野で使用可能な化合物を見いだすことができた。

(連絡者：野村正人) Vol. 48, No. 4, 339 (1999)

[ノート]

ヒユ種子中に含まれるステロール およびカステステロンの同定

高津戸 秀^{*1}・角川 悦子^{*1}・野口 貴弘^{*2}・藤岡 昭三^{*3}

^{*1} 上越教育大学自然系化学教室 (〒943-8512 新潟県上越市山屋敷町 1)

^{*2} タマ生化学 (〒163-0704 東京都新宿区西新宿 2-7-1)

^{*3} 理化学研究所植物機能研究室 (〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1)

ヒユ (*Amaranthus inamoenus*) 種子中に含まれるステロールおよびブラシノステロイドについて調べた。Spinasterol を主成分 (約 80%) として、また、微量成分として、24 ξ -methyl-5 α -cholest-7-en-3 β -ol, 24 ξ -ethyl-5 α -cholest-7-en-3 β -ol および 24-ethyl-5 α -cholesta-7, 24(28)*Z*-dien-3 β -ol を同定した。次に、イネ葉身屈曲試験において活性な物質の一つを GC-MS 分析により、ブラシノステロイドである castasterone と同定した。植物ステロールと castasterone の構造的関係について生合成の観点から論じた。

(連絡者：高津戸秀) Vol. 48, No. 4, 347 (1999)