インドリルカルボン酸類と天然ケトン由来の単環性第1アミン類との アミドの調製とその美白効果関連活性

小林由佳, 井出 寧*, 前川義文, 藤原義人, 野村正人
(近畿大学工学部, *シャンソン化粧品(株))

平成14年12月4日受理

*Preparation of amides consisting of indolyl carboxylic acids and monocyclic primary amines derived
from naturally occurring ketones, and their skin depigmentation-related activities*

Yuka KOBAYASHI, Yasushi IDE,* Yoshifumi MAEGAWA, Yoshihito FUJIHARA, and Masato NOMURA

School of Biotechnology and Chemistry, Faculty of Engineering, Kinki University,

Umenobe, Takaya, Higashihiroshima, Hiroshima 739-2116, Japan

**Chanson Cosmetics Co., Ltd., Kuniyoshida, Shizuoka 422-8615, Japan*

Recently, air pollution by chlorofluorohydrocarbons from freezers and air conditioners has caused fear of the destruction of the ozone layer. It has been suggested that excess exposure to ultraviolet rays causes serious problems such as skin cancer, inflammation, and skin aging. In many studies, blotches and freckles caused by inflammation of the skin have been researched and it has been reported that natural organic compounds from plants inhibit them. In this report, we synthesized amines that were derived from (–)-perillaldehyde (1), *cis*-jasnone (2), and karahanaenone (3) which had 5-, 6-, and 7-membered rings. They were condensed with seven kinds of indole carboxylic acids. These compounds were tested for anti-tyrosinase activity, superoxide scavenging effect, and anti-hyaluronidase activity. As a result, compounds (4c), (5c), and (8c) was found to inhibit tyrosinase activity by 87–99%. These compounds showed good activity compared with arbutin used as a commercial cosmetic. Compounds (7c), (7d), (8c), and (8d) showed superoxide scavenging activity by 32–49%, and compounds (6e) and (6f) was found to inhibit hyaluronidase activity by 7–8%.

(Received December 4, 2002)

Key words: indole carboxylic acids; skin depigmentation effect; anti-tyrosinase activity; superoxide scavenging effect

緒 言

植物は古くから漢方薬あるいは生薬として使用されているだけでなく、精油成分中に含まれている化学成分は食品添加物および化粧品などにも使用されている。また、最近のさまざまなバイオアッセイ法の確立により、植物から幅広い生理活性を発現する有効成分が見いだされるようになった^{1)~3)}。

近年、有害ガスの一つであるフロンなどを大気中に放出してきた結果、オゾン層の破壊が進み、地表に到達する太陽光線の中でも特に人体に悪影響を与える中波長(290~320 nm)の紫外線(UV-B)到達量が増加している^{4), 5)}。その悪影響として、皮膚に対する短期的作用の一つである色素沈着によるシミ・ソバカスの形成を促進させる原因となることが挙げられる⁶⁾。最近のエコロジーブームを反映して、

植物由来成分の美白効果についての研究が盛んに行われ、アルブチン、コウジ酸、ビタミンC(アスコルビン酸)、およびプラセンタエキスなどが見いだされている^{7), 8)}。

筆者らは、植物が多種類のモノテルペンを生産し、それらは低毒性で易分解・低残留性などの特性をもっていることなどから、食品香料あるいは化粧品香料として広く利用されていることに注目している。すでに、これらモノテルペンを出発物質として用い、植物ホルモンのオーキシンであるインドリル酢酸に類似した数種のインドリル化合物を側鎖に導入した化合物の合成を行い、チロシナーゼ活性阻害、活性酸素消去効果、およびヒアルロニダーゼ活性阻害を検討したところ、比較物質であるアルブチンよりも高い阻害活性を発現する化合物を見いだしている⁹⁾。

本報では、これらの関連研究の一環として、鎮静や抗アレルギー作用などの生理作用を併せもつシソ油(*Perilla*

frutescens var. *crispa*) から得られる (–)-ペリラルデヒド (1), 神経昂揚や抗うつ作用をもつジャスミン油 (*Jasminum polyanthum*) の主要香気成分である *cis*-ジャスモン (2), および鎮静作用や鎮痙作用のあるホップ (*Humulus lupulus* L.) 中に存在するカラハナエノン (3) を出発物質として用い, 簡便な方法により, それぞれ対応するアミン体に変換した後, 7種類のインドリルカルボン酸類との縮合反応を行った. 得られた新規化合物に対し, それぞれの酵素によるチロシナーゼ活性阻害試験, 活性酸素消去効果試験, およびヒアルロニダーゼ活性阻害試験を *in vitro* で評価したところ, 強い酵素阻害活性を発現する化合物を見出すことができたので報告する.

実験方法

1. 試料の調製

(–)-ペリラルデヒド ((–)-4-イソプロペニル-1-シクロヘキセン-1-カルボキシアルデヒド) (1) (甲南化工(株)), *cis*-ジャスモン (3-メチル-2-[(2*Z*)-2-ペンテニル]-2-シクロペンテン-1-オン) (2) (甲南化工(株)), およびカラハナエノン (2,2,5-トリメチル-4-シクロヘプテン-1-オン) (3) (大洋香料(株)) はそれぞれ市販品を減圧蒸留したものを使用した.

2. 機器分析

各縮合生成物の物理定数については旋光度計 ((株) アタゴ製, デジタル偏光計 AA-5 型) および屈折光度計 ((株) アタゴ製, ILLUMINATOR) を用いて測定した. また, IR スペクトルは日本分光工業(株)製 IR-810 型により, KBr セルを使用し液膜で測定した. ¹H-NMR スペクトルは日本電子(株)製 JNM-EX400 型 (400 MHz) により, テトラメチルシラン (TMS) を内部標準として, 重クロロホルム溶媒中で測定し構造を確認した. また, MS は日本電子(株)製 JMS-HX100 型ガスクロマトグラフ-質量分析装置を用い, GC-EI-MS モード (70 eV) で測定した. カラムは DB-1 (0.25 mm×30 m, J & W 社製), キャリヤーガスとして He (1.0 kg/cm²) を用いて, カラムオーブンは 60°C から 240°C まで 10°C/min で昇温した.

3. 合成実験

(1) ニトリル体 (1a) の合成

Dean-Stark トラップを取り付けたフラスコに, (1) 5.0 g (30 mmol) と *N,N*-ジメチルヒドラジン 3.0 g (50 mmol) を採り, 無水ベンゼン 50 mL を加えた後, 理論量 (約 0.6 g) の水が生成するまで加熱還流した. その後, 液量が半分になるまでベンゼンを留去した. 冷却後, ヨウ化メチル 9.4 g (60 mmol) を加え, 4 時間加熱還流した. 放冷後, 析出したヒドラゾニウム塩をろ取し, これに 1.0 M 水酸化カ

リウム-メタノール溶液 60 mL を加え, アミン臭がなくなるまで加熱還流した. 反応終了後, 油分をヘキサン抽出し水洗後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥, ヘキサンを留去した. 次いで, シリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒; ヘキサン-エーテル=9:1, 和光純薬工業(株)製, C-200) で精製し, (1a) を 86% の収率で得た.

(1a): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 2200 (–CN).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 1.73 (3H, s, –C–CH₃), 1.85 (2H, m, –CH–CH₂–CH₂–C=), 2.19 (1H, m, –CH₂–CH–CH₂–), 2.30 (2H, m, =CH–CH₂–CH–), 2.31 (2H, m, –CH–CH₂–CH₂–C=), 4.72 (2H, s, =CH₂), 6.64 (1H, t, *J*=1.9 Hz, –C=CH–CH₂–).

(2) アルコール体 (1b) および (2a) の合成

((–)-4-イソプロペニル-1-シクロヘキセン-1-メチルアルコール (1b) の合成を例に挙げる) 水素化アルミニウムリチウム 1.4 g (36 mmol) を無水エーテル 10 mL で懸濁した後, 内温を 4°C 以下に保ちながら (1) 2.7 g (18 mmol) のエーテル溶液 25 mL を 1 時間要して滴下した. 次いで, 室温で 24 時間攪拌を行った. 反応終了後, 未反応の水素化アルミニウムリチウムを 5% 硫酸水溶液で処理した後, 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反応油をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒; ヘキサン-エーテル=9:1) で分離精製し, (1b) を 89% の収率で得た. また, (2) を用いて同様の操作を行い, (2a) を 84% の収率で得た.

(1b): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3330 (–OH).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 1.73 (3H, s, –C–CH₃), 1.84 (2H, m, –CH–CH₂–CH₂–C=), 2.16 (2H, m, –CH–CH₂–CH₂–C=), 2.13 (2H, m, =CH–CH₂–CH–), 2.16 (1H, m, –CH₂–CH–CH₂–), 3.97 (2H, s, –C–CH₂–OH), 4.71 (2H, s, –C=CH₂), 5.68 (1H, s, –C=CH–).

(2a): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3330 (–OH).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 0.99 (3H, t, *J*=7.6 Hz, –CH₂–CH₃), 1.69 (3H, s, –C–CH₃), 2.06 (2H, m, =C–CH₂–CH₂–CH–), 2.13 (2H, qui, *J*=7.6 Hz, –CH₂–CH₃), 2.41 (2H, m, =C–CH₂–CH₂–CH–), 2.88 (2H, d, *J*=6.8 Hz, –C–CH₂–CH–), 4.67 (1H, s, –CH–OH), 5.34 (1H, td, *J*=6.8, 10.4 Hz, –CH=CH–CH₂–CH₃), 5.41 (1H, td, *J*=7.6, 10.4 Hz, –CH=CH–CH₂–CH₃).

(3) オキシム体 (2b) および (3a) の合成

(3-メチル-2-[(2*Z*)-2-ペンテニル]-2-シクロペンテン-1-オキシム (2b) の合成を例に挙げる) ヒドロキシルアミン塩酸塩 10.0 g (150 mmol) を水 50 mL に溶解した後, (2) 4.9 g (30 mmol) と 1.0 M-NaOH 水溶液 100 mL を加えた. この不均一系混合液を攪拌しながらエタノール 200 mL で

均一化した後、油浴上 (70~80°C) で 24 時間加熱還流を行った。反応終了後、エタノールを留去後、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反応油をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒: ヘキサン-エーテル=9:1) で分離精製し、(2b) を 87% の収率で得た。また、(3) を用いて同様の操作を行い、(3a) を 88% の収率で得た。

(2b): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3300 (-OH), 1650 (=N-OH).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 0.98 (3H, t, $J=7.3$ Hz, -CH₂-CH₃), 1.87 (3H, s, -C-CH₃), 2.13 (2H, qui, $J=6.8$ Hz, -CH₂-CH₃), 2.15 (2H, t, $J=6.8$ Hz, -C-CH₂-CH₂-CH=), 2.41 (2H, t, $J=6.8$ Hz, -CH=CH-CH₂-CH₃), 2.66 (2H, d, $J=4.4$ Hz, -C-CH₂-CH-), 5.27 (1H, td, $J=4.4$, 10.2 Hz, -CH=CH-CH₂-CH₃), 5.34 (1H, dt, $J=6.8$, 10.2 Hz, -CH=CH-CH₂-CH₃), 8.98 (1H, br. s, =N-OH).

(3a): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3300 (-OH), 1680 (=N-OH), 1380, 1360 (gem-CH₃).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 1.14 (6H, s, >C(CH₃)₂), 1.64 (3H, s, =CCH₃), 2.12 (2H, d, $J=6.8$ Hz, =CH-CH₂-C-), 2.31 (2H, t, $J=6.4$ Hz, -C-CH₂-CH₂-C=), 2.74 (2H, t, $J=6.4$ Hz, -C-CH₂-CH₂-C=), 5.36 (1H, t, $J=1.6$ Hz, -C=CH-CH₂-), 9.54 (1H, br. s, =N-OH).

(4) 飽和アミン体 (4), (7), および (8) の合成

(4-イソプロペニルシクロヘキサン-1-メチルアミン (4) の合成を例に挙げる) 水素化アルミニウムリチウム 2.3 g (60 mmol) を無水テトラヒドロフラン 10 mL で懸濁した後、内温を 4°C 以下に保ちながら、(1a) 4.4 g (30 mmol) テトラヒドロフラン溶液 25 mL を 1 時間要して滴下した後、油浴上 (40~50°C) で 24 時間加熱還流を行った。反応終了後、未反応の水素化アルミニウムリチウムを 5% 硫酸水溶液で分解した後、油分をエーテルで抽出し水洗後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。エーテルを留去し、(4) を 59% の収率で得た。また、(2b) および (3a) を用いて同様の操作を行い、(7) を 67%, (8) を 81% の収率で得た。

(4): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3380, 3350, 1650 (-NH₂).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 1.36 (2H, br. s, -NH₂), 1.55 (2H, m, =C-CH-CH₂-CH₂-), 1.58 (1H, m, -CH-CH₂-NH₂), 1.61 (2H, m, =C-CH-CH₂-CH₂-), 1.74 (3H, s, -C-CH₃), 1.84 (1H, m, -CH₂-CH-CH₂-), 1.89 (2H, m, =C-CH-CH₂-CH₂-), 1.91 (2H, m, =C-CH-CH₂-CH₂-), 3.41 (2H, t, $J=6.5$ Hz, -CH-CH₂-NH₂), 4.79 (2H, s, -C=CH₂).

(7): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3280, 3250, 1640 (-NH₂).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 0.89 (3H, t, $J=7.3$ Hz, -CH₂-

CH₃), 1.04 (2H, br. s, -NH₂), 1.54 (3H, s, -CH-CH₃), 1.73 (1H, m, -CH-CH₃), 2.56 (2H, m, CH₃-CH-CH₂-CH₂-), 2.74 (2H, m, CH₃-CH-CH₂-CH₂-), 2.91 (2H, dd, $J=6.9$, 14.7 Hz, -CH-CH₂-CH=CH-), 5.11 (1H, br. s, >CH-CH-NH₂), 5.51 (1H, td, $J=7.3$, 10.4 Hz, -CH=CH-CH₂-CH₃), 5.63 (1H, td, $J=6.9$, 10.4 Hz, -CH=CH-CH₂-CH₃).

(8): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3380, 3300, 1620 (-NH₂), 1380, 1360 (gem-CH₃).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 0.77, 0.97 (each 3H, s, gem-CH₃), 0.99 (2H, br. s, -NH₂), 1.65 (2H, m, -CH-CH₂-CH₂-C=), 1.71 (3H, s, -C-CH₃), 1.89 (2H, d, $J=7.2$ Hz, -CH-CH₂-C-), 2.05 (2H, t, $J=7.2$ Hz, -CH-CH₂-CH₂-C=), 2.58 (1H, dd, $J=2.1$, 7.2 Hz, -CH-NH₂), 5.34 (1H, t, $J=6.4$ Hz, -C=CH-CH₂-).

(5) 不飽和アミン体 (5) および (6) の合成

((-)-4-イソプロペニル-1-シクロヘキサン-1-メチルアミン (5) の合成を例に挙げる) 窒素気流下に、トリフェニルホスフィン 1.9 g (7.2 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 1.0 mL に (1b) 1.1 g (7.2 mmol) とフタルイミド 1.1 g (7.2 mmol) のテトラヒドロフラン混合溶液 20 mL を加えた。その後、冷却下にジエチルアゾジカルボキシラート (40% トルエン溶液) 2.6 g (14 mmol) を 30 分要して滴下した後、室温で 2 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反応油をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒: ヘキサン-エーテル=9:1) で分離精製した。次いで、得られた中間体 1.0 g (3.4 mmol) をエタノール 20 mL に溶解した後、ヒドラジン-水合物 1.5 g (29 mmol) を添加し、油浴上 (60~70°C) で 12 時間加熱還流を行った。反応終了後、エタノールを留去して得られた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。エーテルを留去し、(5) を 65% の収率で得た。また、(2a) を用いて同様の操作を行い、(6) を 53% の収率で得た。

(5): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3370, 3250, 1650 (-NH₂).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 0.88 (3H, s, -C-CH₃), 1.24 (2H, s, -NH₂), 1.47 (1H, m, -CH₂-CH-CH₂-), 1.83 (2H, m, -CH-CH₂-CH₂-C=), 2.04 (2H, m, -CH-CH₂-CH₂-C=), 2.16 (2H, m, =CH-CH₂-CH-), 3.76 (2H, s, -C-CH₂-NH₂), 4.71 (2H, s, -C=CH₂), 5.54 (1H, s, -C=CH-CH₂-).

(6): IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹); 3350, 3250, 1590 (-NH₂).

¹H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm); 0.87 (3H, t, $J=7.3$ Hz, -CH₂-CH₃), 1.19 (2H, s, -NH₂), 1.71, 2.34 (2H, m, -C-CH₂-CH₂-CH-), 1.87 (3H, s, -C-CH₃), 1.92 (2H, qui, $J=7.3$

Fig. Synthetic Process for (4a)–(8g)

Table 1. Physical Constants and Yield of (4a)–(8g)

Compound	mp (°C)	d_4^{25}	n_D^{25}	$[\alpha]_D^{25}$	Yield (%) [*]
(4a)	163.2–165.1	—	—	—	57
(4b)	96.1– 97.5	—	—	—	79
(4c)	174.1–175.8	—	—	—	63
(4d)	48.7– 49.6	—	—	—	56
(4e)	143.7–144.6	—	—	—	52
(4f)	116.1–117.0	—	—	—	87
(4g)	118.1–120.3	—	—	—	86
(5a)	134.2–134.7	—	—	–70.8	88
(5b)	85.1– 88.4	—	—	–60.0	88
(5c)	87.5– 88.7	—	—	–38.8	54
(5d)	103.1–103.9	—	—	–44.4	68
(5e)	175.6–177.1	—	—	–64.8	81
(5f)	114.1–115.2	—	—	–31.5	83
(5g)	113.6–114.5	—	—	–41.7	88
(6a)	104.5–105.5	—	—	—	86
(6b)	—	1.0803	1.5539	—	82
(6c)	58.3– 60.0	—	—	—	57
(6d)	124.8–128.4	—	—	—	43
(6e)	150.2–152.1	—	—	—	74
(6f)	—	1.0644	1.5343	—	80
(6g)	—	1.0071	1.5277	—	71
(7a)	148.3–150.4	—	—	—	53
(7b)	—	1.0917	1.5549	—	54
(7c)	—	1.1187	1.5662	—	27
(7d)	123.2–125.6	—	—	—	24
(7e)	146.4–149.1	—	—	—	56
(7f)	—	1.0986	1.5543	—	31
(7g)	—	1.0832	1.5481	—	42
(8a)	200<	—	—	—	65
(8b)	138.5–139.7	—	—	—	75
(8c)	200<	—	—	—	43
(8d)	62.8– 64.8	—	—	—	46
(8e)	200<	—	—	—	54
(8f)	137.0–137.5	—	—	—	58
(8g)	124.4–125.8	—	—	—	82

* Isolated yield.

Table 2. IR, ¹H-NMR, and MS Spectroscopic Properties of (4a)–(5g)

Compound	IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm ⁻¹) ^a		¹ H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm) ^b					MS (<i>m/z</i>)
	$\nu_{\text{-CON}}$	$\nu_{\text{-NH-}}$	-NHCO-	=CNH-	-NHCOCH ₂ -	-OCH ₃	-CH ₂ NHCO-	
(4a)	1610 (vs)	3350 (w)	6.36 (s)	9.84 (br.s)	—	—	—	296 (M ⁺ , 60), 174 (15), 160 (52), 144 (100), 116 (17), 89 (29)
(4b)	1650 (vs)	3400 (w)	7.02 (s)	10.25 (br.s)	3.64 (s)	—	3.02 (t, <i>J</i> =6.4 Hz)	310 (M ⁺ , 30), 174 (9), 130 (100), 117 (5), 93 (5)
(4c)	1640 (vs)	3300 (w)	7.93 (s)	10.91 (br.s)	—	—	3.50 (d, <i>J</i> =7.8 Hz)	312 (M ⁺ , 90), 176 (46), 160 (100), 132 (23), 105 (27), 93 (7)
(4d)	1650 (vs)	3350 (w)	8.41 (s)	10.08 (br.s)	4.11 (s)	—	4.11 (d, <i>J</i> =6.8 Hz)	326 (M ⁺ , 25), 190 (10), 146 (100), 117 (8), 91 (7)
(4e)	1640 (vs)	3250 (w)	7.85 (s)	10.78 (br.s)	—	2.94 (s)	3.78 (d, <i>J</i> =6.4 Hz)	326 (M ⁺ , 95), 190 (38), 173 (100), 158 (17), 146 (22), 119 (22), 91 (7)
(4f)	1640 (vs)	3300 (w)	6.91 (s)	10.10 (br.s)	3.59 (s)	3.81 (s)	3.02 (d, <i>J</i> =6.4 Hz)	340 (M ⁺ , 45), 160 (100), 145 (13), 117 (11), 93 (5)
(4g)	1630 (vs)	3250 (w)	6.75 (s)	9.90 (br.s)	3.52 (s)	3.76 (s)	3.07 (d, <i>J</i> =6.4 Hz)	354 (M ⁺ , 25), 174 (100), 159 (9), 131 (7), 93 (5)
(5a)	1640 (vs)	3350 (w)	6.26 (s)	9.84 (br.s)	—	—	4.02 (d, <i>J</i> =8.6 Hz)	294 (M ⁺ , 100), 160 (40), 152 (65), 144 (95), 89 (30)
(5b)	1650 (vs)	3350 (w)	5.97 (s)	9.48 (br.s)	3.77 (s)	—	3.68 (d, <i>J</i> =8.2 Hz)	308 (M ⁺ , 40), 193 (20), 166 (10), 130 (100), 93 (7)
(5c)	1640 (vs)	3350 (w)	5.61 (s)	11.04 (br.s)	—	—	3.29 (d, <i>J</i> =8.2 Hz)	310 (M ⁺ , 100), 176 (35), 160 (98), 152 (65), 132 (25), 93 (15)
(5d)	1630 (vs)	3350 (w)	5.89 (s)	8.74 (br.s)	3.70 (s)	—	3.67 (d, <i>J</i> =8.2 Hz)	324 (M ⁺ , 30), 193 (15), 173 (7), 146 (100), 133 (5), 91 (10)
(5e)	1640 (vs)	3350 (w)	6.27 (s)	9.91 (br.s)	—	3.83 (s)	4.02 (d, <i>J</i> =8.2 Hz)	324 (M ⁺ , 30), 190 (35), 173 (100), 152 (45), 130 (10), 119 (25)
(5f)	1630 (vs)	3350 (w)	5.82 (s)	9.03 (br.s)	3.74 (s)	3.82 (s)	4.06 (d, <i>J</i> =8.2 Hz)	338 (M ⁺ , 40), 193 (10), 160 (100), 145 (15), 130 (5), 117 (10)
(5g)	1620 (vs)	3300 (w)	5.76 (s)	8.56 (br.s)	4.10 (s)	3.81 (s)	3.67 (d, <i>J</i> =8.2 Hz)	352 (M ⁺ , 25), 174 (100), 159 (10), 131 (10), 93 (5)

^avs: very strong, w: weak^bs: singlet, br.s: broad singlet, d: doublet, t: triplet

Hz, –CH₂–CH₃), 2.54 (2H, m, –C–CH₂–CH₂–CH–), 2.79 (2H, dd, *J*=5.9, 14.0 Hz, –C–CH₂–CH=), 4.46 (1H, s, –CH–NH₂), 5.21 (1H, td, *J*=5.9, 10.2 Hz, –CH=CH–CH₂–CH₃), 5.35 (1H, td, *J*=7.3, 10.1 Hz, –CH=CH–CH₂–CH₃).

(6) インドリルカルボン酸類との縮合反応による (4a)～(8g) の合成

(*N*-[(4-イソプロペニルシクロヘキシル)メチル]-2-インドリルカルボキサミド) (4a) の合成を例に挙げる) 窒素気流下に (4) 0.4 g (2.9 mmol) にインドリル-2-カルボン酸 (a) 0.3 g (1.9 mmol) を加え, この混合物を *N,N*-ジメチルホルムアミド 2.0 mL で溶解した. 次いで, 氷冷下にジエチルフォスフォニルシアミド 0.4 g (2.4 mmol) を加え, 激しく攪拌しながらトリエチルアミン 0.5 g (4.7 mmol) を 30 分要して滴下した. さらに, 同温度で 3 時間攪拌した後, 室温で 60 時間攪拌した. 反応終了後, 油分を酢酸エチルで抽出し水洗後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥した. 溶媒を留去後, 得られた反応油をシリカゲルクロマトグラフィー (展開溶媒: ヘキサン–エーテル=8:2) を用いて分離精製

し, (4a) を 57% の収率で得た. また, インドリル類 (b)～(g) との縮合反応についても同一条件で行い, (4b)～(4g) を 52～87% の収率で得た. 一方, (5)～(8) との縮合反応についても (4) と同一反応条件で行い, (5a)～(8g) を得た. これら化合物の物理定数および収率を Table 1 に, また, それぞれのスペクトルデータを Table 2 および 3 に示した.

4. 生理活性試験

(1) チロシンを基質としたチロシナーゼ活性阻害試験

それぞれの化合物を所定濃度 (0.08 mM) に調製した後, チロシナーゼ (Sigma Chemical 社製, EC1.14.18.1) を用いて, 既報¹⁰⁾に準じて操作し, 475 nm の吸光度を測定した.

(2) L-DOPA を基質としたチロシナーゼ活性阻害試験

3,4-ジヒドロキシ-L-フェニルアラニン (DOPA) (和光純薬工業(株)製) を所定濃度 (1.66 mM) に調製した後, 既報¹⁰⁾に準じて測定した.

(3) 活性酸素消去効果試験

それぞれの化合物を所定濃度 (0.71 mM) に調製した後, Superoxide dismutase (SOD) テストワコー試薬 (和光純

Table 3. IR, ¹H-NMR, and MS Spectroscopic Properties of (6a)–(8g)

Compound	IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm ⁻¹) ^a		¹ H-NMR $\delta_{\text{ppm}}^{\text{CDCl}_3}$ (ppm) ^b				MS (<i>m/z</i>)
	$\nu_{\text{-CON}}$	$\nu_{\text{-NH-}}$	$\nu_{\text{-NHCO-}}$	$\nu_{\text{=CNH-}}$	$\nu_{\text{-NHCOCH}_2-}$	$\nu_{\text{-OCH}_3}$	
(6a)	1640 (vs)	3250 (w)	6.37 (s)	10.76 (br.s)	—	—	308 (M ⁺ , 65), 160 (100), 148 (95), 133 (50), 119 (60), 91 (40)
(6b)	1650 (vs)	3270 (w)	5.86 (s)	9.75 (br.s)	3.75 (s)	—	322 (M ⁺ , 10), 174 (40), 148 (20), 130 (100), 119 (10), 93 (15)
(6c)	1640 (vs)	3300 (w)	6.28 (s)	9.84 (br.s)	—	—	324 (M ⁺ , 30), 174 (100), 159 (95), 148 (25), 133 (15), 119 (15), 93 (10)
(6d)	1650 (vs)	3250 (w)	6.85 (s)	8.10 (br.s)	3.69 (s)	—	338 (M ⁺ , 15), 190 (45), 146 (100), 133 (10), 119 (10), 93 (10)
(6e)	1650 (vs)	3270 (w)	6.45 (s)	10.82 (br.s)	—	3.79 (s)	340 (M ⁺ , 25), 190 (100), 173 (90), 158 (25), 130 (10), 93 (25)
(6f)	1640 (vs)	3280 (w)	6.86 (s)	9.03 (br.s)	3.80 (s)	3.81 (s)	354 (M ⁺ , 15), 204 (40), 160 (100), 133 (7), 117 (5), 93 (15)
(6g)	1670 (vs)	3300 (w)	6.77 (s)	8.58 (br.s)	3.55 (s)	2.34 (s)	368 (M ⁺ , 15), 218 (10), 174 (100), 158 (10), 131 (10), 93 (10)
(7a)	1610 (vs)	3260 (w)	6.15 (s)	9.75 (br.s)	—	—	310 (M ⁺ , 85), 160 (75), 144 (100), 133 (45), 119 (50), 89 (55)
(7b)	1650 (vs)	3270 (w)	6.15 (s)	9.67 (br.s)	3.73 (s)	—	324 (M ⁺ , 20), 174 (30), 130 (100), 119 (10), 91 (7)
(7c)	1650 (vs)	3270 (w)	6.22 (s)	10.21 (br.s)	—	—	326 (M ⁺ , 50), 190 (90), 173 (100), 133 (15), 119 (30), 91 (10)
(7d)	1650 (vs)	3250 (w)	6.43 (s)	10.01 (br.s)	4.12 (s)	—	326 (M ⁺ , 50), 190 (90), 173 (100), 133 (15), 119 (30), 91 (10)
(7e)	1660 (vs)	3250 (w)	5.70 (s)	9.18 (br.s)	—	2.35 (s)	342 (M ⁺ , 60), 176 (90), 133 (30), 119 (30), 91 (15)
(7f)	1650 (vs)	3270 (w)	4.95 (s)	8.68 (br.s)	3.80 (s)	2.30 (s)	356 (M ⁺ , 20), 160 (100), 133 (10), 117 (10), 98 (10)
(7g)	1640 (vs)	3270 (w)	4.91 (s)	8.81 (br.s)	3.62 (s)	2.34 (s)	370 (M ⁺ , 20), 190 (10), 146 (100), 133 (10), 119 (10), 96 (15)
(8a)	1610 (vs)	3350 (w)	6.16 (s)	9.41 (br.s)	—	—	296 (M ⁺ , 70), 160 (22), 144 (100), 136 (28), 116 (14), 89 (22)
(8b)	1640 (vs)	3280 (w)	5.36 (s)	8.22 (br.s)	3.37 (s)	—	310 (M ⁺ , 40), 174 (35), 130 (100), 121 (10), 103 (7), 93 (7)
(8c)	1640 (vs)	3330 (w)	6.12 (s)	9.16 (br.s)	—	—	312 (M ⁺ , 75), 176 (48), 160 (100), 136 (25), 121 (18), 105 (20), 93 (12)
(8d)	1640 (vs)	3280 (w)	5.59 (s)	8.51 (br.s)	3.11 (s)	—	326 (M ⁺ , 40), 190 (37), 146 (100), 136 (8), 121 (7), 93 (4)
(8e)	1600 (vs)	3350 (w)	6.17 (s)	9.66 (br.s)	—	3.84 (s)	326 (M ⁺ , 87), 190 (53), 174 (100), 146 (17), 136 (12), 119 (17), 93 (8)
(8f)	1650 (vs)	3300 (w)	5.37 (s)	8.01 (br.s)	3.32 (s)	3.42 (s)	340 (M ⁺ , 45), 204 (37), 150 (100), 145 (12), 136 (4), 117 (7), 93 (4)
(8g)	1650 (vs)	3300 (w)	5.39 (s)	8.21 (br.s)	3.32 (s)	3.42 (s)	354 (M ⁺ , 40), 218 (7), 174 (100), 159 (7), 131 (5)

^avs: very strong, w: weak^bs: singlet, br.s: broad singlet, d: doublet, t: triplet

薬工業(株)製)を用いて既報¹⁰⁾に準じて操作し、生成する
ジホルマザンについて 560 nm の吸光度を測定した。

(4) ヒアルロニダーゼ活性阻害試験

0.4%ヒアルロン酸を含むリン酸緩衝液(pH 6.0)を調製
した後、ヒアルロニダーゼ(Sigma Chemical 社製, EC
3.2.1.35)を用いて、既報¹⁰⁾に準じて Ostwald 粘度計(No.
4)で測定した。

結果および考察

食品添加物などにも使用されている(−)-ペリラルデ
ヒド(1), *cis*-ジャスモン(2), およびカラハナエノン(3)を
出発物質として用い、インドリルカルボン酸類(a)~(g)と
の縮合反応をFigに示した方法により行い、目的生成物
(4a)~(8g)を合成した。これら化合物について、マッシュ
ルームから調製したチロシナーゼ酵素を用いた活性阻害試

Table 4. Inhibition of Tyrosinase Activity, Scavenging of Superoxygen, and Hyaluronidase Activity for (4a)–(5g)

Compound	Tyrosinase		S.S ^c	H.A ^d
	Tyrosine	L-Dopa		
(4a) ^a	49.5±2.1 ^b	−1.8±0.2	−2.5±0.3	0.1±0.0
(4b)	18.6±0.7	−34.6±3.6	−0.8±0.1	0.6±0.2
(4c)	97.9±4.5	14.9±2.7	27.9±2.6	−1.9±0.6
(4d)	2.8±0.6	−24.7±3.9	27.5±2.2	−0.2±0.1
(4e)	29.6±3.7	32.8±4.6	3.6±1.2	0.8±0.2
(4f)	10.6±2.0	−18.8±3.6	0.9±0.3	−2.7±0.6
(4g)	7.6±1.9	−16.9±2.7	6.2±0.7	0.9±0.3
(5a)	−13.8±2.6	−9.4±2.4	10.5±1.8	−0.7±0.2
(5b)	12.9±1.2	−14.9±2.2	−0.4±0.2	−0.3±0.1
(5c)	86.7±3.3	48.4±2.2	25.4±1.6	3.7±0.9
(5d)	21.7±3.1	−1.4±0.2	26.1±1.5	5.7±1.4
(5e)	−24.8±1.9	−3.8±0.1	2.6±0.1	2.6±0.1
(5f)	14.6±2.7	−16.9±1.4	2.5±0.2	4.8±0.7
(5g)	−7.9±1.1	−10.2±1.4	3.8±1.1	1.9±0.3
Arbutin	63.0	7.7	0.8	−30.2

^aConcentration; 1.5×10^{-2} M ^bInhibitory rate (%) (The average value that the test was performed three times) ^cScavenging of superoxygen ^dHyaluronidase activity

Table 5. Inhibition of Tyrosinase Activity, Scavenging of Superoxygen, and Hyaluronidase Activity for (6a)–(8g)

Compound	Tyrosinase		S.S ^c	H.A ^d
	Tyrosine	L-Dopa		
(6a) ^a	2.0±0.6 ^b	2.3±0.4	4.4±0.3	1.4±0.2
(6b)	4.5±0.7	1.2±0.3	2.5±0.4	2.6±0.6
(6c)	4.4±0.5	9.8±1.2	11.8±2.4	2.9±1.1
(6d)	2.6±0.7	−2.3±0.8	18.3±2.2	4.3±1.1
(6e)	2.4±0.5	1.7±0.6	6.1±2.2	7.7±1.4
(6f)	3.4±1.1	6.4±1.1	1.7±0.6	8.3±1.3
(6g)	0.8±0.2	7.2±1.2	6.4±1.4	3.5±0.5
(7a)	−22.4±2.3	−36.1±5.4	−5.3±0.2	1.3±0.1
(7b)	8.0±1.5	8.4±1.6	−3.6±0.8	−1.6±0.4
(7c)	19.0±2.5	19.6±2.2	31.9±2.3	0.3±0.1
(7d)	16.0±3.0	29.7±2.3	31.5±1.5	1.2±0.4
(7e)	1.5±0.5	7.0±0.5	11.8±1.4	2.1±0.3
(7f)	4.0±0.2	11.9±1.3	−6.9±0.3	−1.8±0.4
(7g)	4.2±0.2	7.3±0.6	24.1±2.1	−2.0±0.5
(8a)	−11.7±2.1	22.4±3.6	4.7±1.1	5.5±0.3
(8b)	45.3±3.7	6.6±1.2	5.2±1.6	−0.8±0.2
(8c)	99.2±4.6	37.1±0.9	48.6±3.3	0.6±0.1
(8d)	19.4±1.6	−21.2±1.1	39.4±4.6	−0.7±0.2
(8e)	−6.1±0.3	22.9±2.2	3.6±1.2	−2.8±0.3
(8f)	10.7±0.4	−9.6±1.6	8.7±1.6	−1.6±0.4
(8g)	−4.8±0.9	−29.6±3.6	7.6±0.4	1.0±0.1
Arbutin	63.0	7.7	0.8	−30.2

^aConcentration; 1.5×10^{-2} M ^bInhibitory rate (%) (The average value that the test was performed three times) ^cScavenging of superoxygen ^dHyaluronidase activity

験, NBT還元法を用いた活性酸素抑制試験およびヒアルロニダーゼ酵素を用いた活性阻害試験を *in vitro* で行った結果を Table 4 および 5 に示した。

チロシナーゼ活性阻害について

チロシンが酵素チロシナーゼによって, ドーパ次いでド

ーパキノンへと酸化され, それ以降の自動酸化により複雑な生化学変化を経由してメラニンが生成される。このメラニンが皮膚に沈着することで, シミ・ソバカスとなって現れてくる。チロシン〜ドーパキノンの段階でチロシナーゼが触媒として作用するため, その活性を阻害することでシ

ミ・ソバカスの生成を抑制できるものと考えられている。チロシンを基質として用いた活性阻害試験では化合物(4c)が97.9%, (5c)が86.7%, および(8c)が99.2%の値を示し, 高い阻害活性を示すことがわかった。一方, L-DOPAを基質として用いた活性阻害試験では化合物(7d)が29.7%, (4e)が32.8%, (5c)が48.4%, および(8c)が37.1%を示すことがわかった。今回, 阻害活性が認められた化合物の構造を見ると, インドリル環の側鎖に水酸基を含有しており, これが銅イオン(Cu^{2+})を含むチロシナーゼに作用することにより, Cu^{2+} のキレートが生成し¹¹⁾, 活性中心より引き離されるために高い阻害活性を示したものと思われる。

活性酸素消去効果について

一重項酸素($^1\text{O}_2$), スーパーオキシドアニオン(O_2^-), 過酸化水素(H_2O_2)およびヒドロキシラジカル($\text{HO}^\cdot$)などの活性酸素は, メラニン色素形成の促進やタンパク質を変性させることが知られている。また, しわをつくり出す要因の一つとしても考えられている。これら活性酸素の中でもスーパーオキシドアニオン(O_2^-)を消去することが重要な課題となっている。そこで, O_2^- の消去を目的としたNBT還元法による活性酸素消去効果試験を行ったところ, 化合物(7c)が31.9%, (7d)が31.5%, (4d)が27.5%, (8c)が48.6%, および(8d)が39.4%の活性を示し, 高い消去効果があることを認めた。これらの化合物では, 導入したインドリル環に水酸基が存在していることが, 消去効果向上の要因となっていることがわかった。

ヒアルロニダーゼ活性阻害について

酸性ムコ多糖類の一種で, 人体の結合組織に広く分布しているヒアルロン酸は数百倍もの水分を蓄えることができ, みずみずしい弾力のある肌を保つのに欠かせない物質である。このヒアルロン酸の分解酵素であるヒアルロニダーゼの活性を阻害することにより, 小じわやかさつきを抑制できるものと考えられる。そこで, この活性阻害試験を行ったところ, 今回合成したすべての化合物からは良好な阻害活性を発現する化合物を見いだすことはできなかった。

まとめ

今回行ったそれぞれの活性阻害および消去効果試験で強い阻害活性を示した化合物は, (1) および (3) にインドリル-5-ヒドロキシ-2-カルボン酸(c)を導入した化合物(4c),

(5c), および(8c)であった。これらの化合物は, 特にメラニン生成を抑制する効果をもっていることから, シミ・ソバカスの生成を抑制することができる化粧品配合剤としての利用が期待される。

要 約

近年, 冷蔵庫やエアコンなどに使用されていたフロンガスの大気への放出によるオゾン層の破壊が懸念されている。このことによる過剰な紫外線の暴露が皮膚がんや炎症, 皮膚老化の原因として深刻な問題となっている。そこで, 植物由来の成分である5, 6, および7員環を有する(一)ペリラルデヒド(1), *cis*-ジャスモン(2), およびカラハナエノン(3)を出発物質として用い, 7種類のインドリルカルボン酸との縮合反応で得られた35種類の新規化合物について, 酵素レベルでのチロシナーゼ活性阻害試験, 活性酸素消去効果試験, およびヒアルロニダーゼ活性阻害試験を行った結果, 次の知見を得ることができた。

(1) 化合物(4c), (5c), および(8c)はチロシンを基質としたときのチロシナーゼ阻害活性値が79~87%を示し, 市販品であるアルブチンよりも高い阻害活性があることを明らかにすることができた。

(2) 側鎖に導入したインドリル環にフェノール性水酸基が存在する6種類の化合物においては, 活性酸素消去効果が向上することを明らかにすることができた。

- 1) C. H. Muller, W. H. Muller, and B. L. Haines: *Science*, **143**, 471-473 (1964).
- 2) H. Okudaira: *Medicam News*, **1323**, 20-21 (1991).
- 3) 藤巻正生, 服部達彦, 林 和夫, 荒井綜一: 香料の事典, 朝倉書店, 1980, pp. 436-440.
- 4) W. H. Eaglstein: *Cosmetic and Perfumery*, **90**, 25-28 (1975).
- 5) G. Imokawa, M. Kawai, Y. Mishima, and I. Motegi: *Arch. Dermatol. Res.*, **278**, 352-362 (1986).
- 6) H. Matsuda, M. Higashino, Y. Nakai, M. Iinuma, M. Kubo, and F. A. Lang: *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 153-156 (1996).
- 7) K. Sasaki, and F. Yoshizaki: *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 806-808 (2002).
- 8) S. Y. Choi, S. Kim, H. Kim, K. Suk, J. S. Hwang, B. G. Lee, A. Kim, and S. Y. Kim: *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 450-452 (2002).
- 9) 多田貴広, 野村正人, 榎山利明, 藤原義人, 下村健次, 飯田浩一, 山辺幸久: 油化学, **46**, 891-897 (1997).
- 10) 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**, 372-379 (1995).
- 11) 増田光輝: 化学と工業, **51**, 1066-1069 (1998).