- 3) R.M. Acheson, A.S. Bailey, I.A. Selby, *J. Chem. Soc. (C)*, **1967**, 2066.
- 4) R. Huisgen, H. Seidl, J. Wulff, *Chem. Ber.*, **102**, 915 (1969).
- 5) M. Petrovann, A. Sauciuc, I. Zugravescu, *Rev. Roum. Chim.*, **19**, 437 (1974) [*Chem. Abstr.*, **81**, 12723 (1974)].
- 6) 林 英作, 大石悦男, 薬誌, **86**, 576 (1966).
- 7) 林 英作, 東野武郎, 飯島千穂子, 幸野康子, 土肥原利子, 薬誌, **82**, 584 (1962).
- 8) 林 英作, 大石悦男, 手塚忠夫, 江間公子, 薬誌, **88**, 1333 (1968).

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (11) 1048-1052 (1981)

Azulene 関連化合物の研究 (第 3 報¹⁾) Acylamino- guaiazulene 類の合成と抗潰瘍作用

浜島 良,* 西村英明, 小島勝彦
東洋製薬化成株式会社研究所

Studies on the Compounds related to Azulene. III.¹⁾ Synthesis and Antiulcer Activity of Acylaminoguaiazulenes

RYO HAMAJIMA,* HIDEAKI NISHIMURA, and KATSUHIKO KOJIMA
Research Laboratories, Toyo Pharmaceutical Co., Ltd., Tsurumi-ku, Osaka

(Received April 17, 1981)

Acylaminoguaiazulenes, mainly dicarboxylic acid monoguaiazulenamides, were synthesized and their antiulcer activity was investigated by Shay ulceration method in the rat.

Dicarboxylic acid monoguaiazulenamides, particularly aliphatic dicarboxylic acid monoguaiazulenamides, showed a high antiulcer activity. Compounds (**1g**, **h**) were more effective than guaiazulene in both administrations (*s.c.* and *i.d.*). Structure-activity relationship of these compounds was briefly discussed.

Keywords—azulene derivatives; acylaminoguaiazulenes; dicarboxylic acid monoguaiazulenamides; antiulcer activity; Shay ulceration

アズレン誘導体は種々の薬理活性を示すことが知られている。²⁻⁶⁾ 我々は前報^{1,7)} で種々の guaiazulene 誘導体を合成し, それらの抗アレルギー作用について報告した。今回は acylaminoguaiazulene 類, 特に脂肪族ジカルボン酸のモノアミド化合物である dicarboxylic acid monoguaiazulenamide 類を種々合成し, その抗潰瘍作用について Shay 潰瘍法⁸⁾ に従って検討した。

化合物 (**1a—k**) のなかで, 新規に 5 種類の誘導体を前報の方法⁷⁾ に準じて合成した。化合物 (**2**) は 3-amino-guaiazulene から直接対応するマロン酸誘導体を dicyclohexylcarbodiimide (DCC) にて縮合させて得た。このさいジアミド体 (**4**) が少量副成した。なお, 化合物 (**2**) は, マロン酸モノエステルあるいはモノエステルカルボン酸クロリドを縮合させ, 化合物 (**3**) としてから加水分解することによっても得られた。

抗潰瘍活性スクリーニング結果と考察

各種合成 acylaminoguaiazulene 類の Shay 法による抗潰瘍活性テストは Table II に示した通りである。その結果, カルボキシル基を持たない化合物 (**1a—c**) はほとんど潰瘍抑制作用を示さなかった。ジカルボン酸のモノアミド化合物は強い抑制作用を示し, 中でも脂肪族ジカルボン酸モノアミド化合物に強力な作用が認められた。Guaiazulene は皮下投与の場合に比べて十二指腸内投与において強い作用を示したが, 化合物 (**1g**, **h**) はいずれの投与方法においても guaiazulene より強い作用を示した。脂肪族ジカルボン酸の炭素数と作用の関係は炭

Chart 1

TABLE I. 3-Acylamido Derivatives of Guaiazulene

Compound	mp (°C)	Yield (%)	Formula	Analysis (%)		
				Calcd	Found	
				C	H	N
1e	177—180	66	$C_{23}H_{29}NO_3$	75.17 (75.23)	7.95 7.89	3.81 3.82
1h	141—144	70	$C_{20}H_{25}NO_3$	73.36 (73.50)	7.70 7.63	4.28 4.41
1i	154—156	73	$C_{21}H_{27}NO_3$	73.87 (74.11)	7.97 7.84	4.10 4.09
1j	165—166	85	$C_{22}H_{29}NO_3$	74.33 (74.30)	8.22 8.19	3.94 3.98
1k	97—100	62	$C_{23}H_{31}NO_3$	74.76 (74.81)	8.46 8.39	3.79 3.62

2a	157—158	54	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	72.21 (72.01)	7.07 7.29	4.68 4.70
3	108—110	86	C ₂₀ H ₂₅ NO ₃	73.36 (73.30)	7.70 7.93	4.28 4.00
2b	162—164	51	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	72.82 (72.93)	7.40 7.51	4.47 4.39
2c	158—160	46	C ₂₀ H ₂₅ NO ₃	73.36 (73.21)	7.70 7.61	4.28 4.33

TABLE II. Effect of Synthesized Compounds on Shay Ulceration

Compound	Route			
	s.c. dose (mg/kg)	Inhibition (%)	i.d. ^{a)} dose (mg/kg)	Inhibition (%)
Guaiazulene	100	10.3	200	74.3
1a	100	— ^{b)}		
1b	100	12.9		
1c	100	—		
1d	100	43.0		
1e	100	28.9		
1f	100	37.2		
1g	100	76.5	200	86.0
1h	100	52.3	200	88.7
1i			200	86.4
1j			200	5.0
1k			200	58.5
2a			200	94.2
3			200	—
2b			200	99.8
2c			200	99.4

a) Intraduodenal. b) Inactive.

素数が少ない化合物 (2a—c) で強力な作用が見られ、多い化合物 (1j, k) では弱い傾向が見うけられた。化合物 (2a) は強力な作用を有するのに反してエステル化された化合物 (3) は作用を示さなかった。

毒性試験

dd 系雄性マウス (6 週令) を用い、検体 (1g, h)

を経口投与後 7 日間観察し、その間の致死率から Litchfield-Wilcoxon 法により LD₅₀ 値を求めた。なお検体は 5% アラビアゴムに懸濁させて投与した。

Table II に示されるように、化合物 (1g, h) の毒性はさほど強くないようである。

実験の部⁹⁾

Dicarboxylic Acid Mono-3-guaiazulenamide 類 (1e, h—k) 前報⁷⁾ に準じて合成した。3-(*p*-Sulfophenylazo)guaiazulene¹⁰⁾ 3.8 g (0.01 mol) より得られる 3-aminoguaiazulene⁷⁾ のジクロロメタン溶液中に、攪拌下対応する酸無水物 (0.015 mol), 乾燥ピリジン 15 ml を加え、さらに 2.5 h 攪拌を続ける。減圧にて反応液を濃縮、水を加え、次いで 1 N NaOH で強塩基性とする。この溶液をエーテルで洗浄し、希塩酸で強酸性となし、析出した結晶をろ取、水洗後乾燥、再結晶する。1k (ベンゼンより灰青色結晶性粉末), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3230 (N-H), 1695 (carboxyl C=O), 1630 (amide C=O). NMR (CD₃OD) δ : 0.97 (3H, t, *J*=7.5 Hz, -CH₂CH₃), 1.17 (3H, s, -CH₃), 1.33 (6H, d, *J*=6.5 Hz, CH(CH₃)₂), 1.59 (2H, q, *J*=7.5 Hz, -CH₂CH₃), 2.49 (2H, s, meth-

TABLE III. Acute Toxicity in Mice

Compound	LD ₅₀ (mg/kg) <i>p.o.</i>
1g	1320
1h	1810

ylene), 2.53 (2H, s, methylene), 2.58 (3H, s, azulene ring C₁-methyl), 2.87 (3H, s, azulene ring C₄-methyl), 2.82—3.22 (1H, m, $J=6.5$ Hz, CH(CH₃)₂), 6.83 (1H, d, $J=10.2$ Hz, C₅-H), 7.31 (1H, d-d, $J=10.2-2.0$ Hz, C₆-H), 7.49 (1H, s, C₂-H), 8.10 (1H, d, $J=2.0$ Hz, C₈-H). **1e** (アセトン-イソプロピルエーテルより青紫色針状晶), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3230 (N-H), 1695 (carboxyl C=O), 1645 (amido C=O). **1h** (アセトン-クロロホルムより青紫色針状晶), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3220 (N-H), 1700 (carboxyl C=O), 1630 (amido C=O). **1i** (クロロホルムより緑色針状晶), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3220 (N-H), 1700 (carboxyl C=O), 1635 (amido C=O). **1j** (クロロホルムより青紫色針状晶), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3240 (N-H), 1690 (carboxyl C=O), 1635 (amido C=O).

Malonic Acid Mono-3-guaiazulenamide 類 (2a—c) 対応するマロン酸 (0.043 mol) をアセトニトリルに溶解, 氷冷攪拌下ジシクロヘキシルカルボジイミド 2.1 g (0.01 mol) を加える. この溶液に前記反応例と同用量の 3-aminoguaiazulene を, 氷冷攪拌下加え, 2 h 攪拌をつづけた後, 室温にもどし, さらに 2 h 攪拌後, 減圧下ジクロロメタンを留去する. 水を加え析出したジシクロヘキシルウレアをろ過, ろ液を 1 N NaOH で強塩基性となし, エーテルで洗浄, 希塩酸で強酸性とし, 析出した結晶をろ取する. 結晶を水洗乾燥後, 再結晶する. **2a** (クロロホルムより青紫色針状晶), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3280 (N-H), 1715 (carboxyl C=O), 1630 (amido C=O). エーテル洗浄液を水洗, Na₂SO₄ にて乾燥, 溶媒留去, 残渣を *n*-hexane にて洗浄, ベンゼンより再結晶, 青緑色結晶性粉末 (mp 197—199°C) のジアミド体 (**4**) 10 mg (0.4%) を得る. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3270 (N-H), 1650 (C=O). *Anal.* Calcd C₃₃H₃₈N₂O₂: C, 80.12; H, 7.74; N, 5.66. Found: C, 80.22; H, 7.83; N, 5.48.

2b (クロロホルムより青緑色結晶性粉末), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3250 (N-H), 1715 (carboxyl C=O), 1635 (amido C=O). **2c** (ベンゼンより緑色結晶性粉末), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3260 (N-H), 1715 (carboxyl C=O), 1630 (amido C=O).

Malonic Acid Mono-3-guaiazulenamide Ethyl Ester (3) Method A——同量の 3-aminoguaiazulene 溶液に, 氷冷攪拌下, マロン酸モノエチルエステル 1.3 g (0.01 mol), ジシクロヘキシルカルボジイミド 2.1 g (0.01 mol) を加え, 3 h 攪拌を続けた後, 析出したジシクロヘキシルウレアをろ過, ろ液を減圧留去, 残渣を水, *n*-hexane で洗浄し, 減圧乾燥後シクロヘキサンより再結晶, 青緑色結晶性粉末を得る. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3260 (N-H), 1735 (ester C=O), 1635 (amido C=O).

Method B——同量の 3-aminoguaiazulene 溶液に, 氷冷攪拌下, 乾燥ピリジン 5 ml, マロン酸モノエチルクロライド 1.5 g (0.01 mol) をゆっくり滴下, 滴下後 2 h 攪拌し, 反応液を水洗, 溶媒を減圧留去, 残渣を *n*-hexane で洗浄, Method A と同様シクロヘキサンより再結晶 (2.7 g, 83%) して得る.

得られた化合物 (**3**) 3.3 g (0.01 mol), NaOH 1 g をエタノール 100 ml に溶解せしめ, 3 h 攪拌後, 減圧濃縮し, 水を加えエーテルで洗浄, 水層を希塩酸で強酸性となし, 析出した結晶をろ取, 水洗, 減圧乾燥後, クロロホルムより再結晶 (2.7 g, 90%) して化合物 (**2a**) を得る.

抗潰瘍試験 Shay ら⁸⁾の方法に準じた. すなわち Wistar 系雄性ラット (約 200 g, 1 群 6 匹) を 48 h 絶食後幽門結紮, 18 h 後に殺して胃を摘出, 潰瘍指数を算出した. 被検薬はアラビアゴムで懸濁して用い, 皮下, 十二指腸内投与とも幽門結紮直後に行なった. 潰瘍抑制率は次式により算出した.

$$\text{潰瘍抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{投与群潰瘍指数}}{\text{対照群潰瘍指数}} \right) \times 100$$

引用文献および注

- 1) 第2報: 浜島 良, 岩野勝行, 奥田博久, 薬誌, **98**, 1108 (1978).
- 2) F. Jung, W. Schoetensack, *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, **212**, 112 (1950); F. Jung, W. Schoetensack, G. Bruno, *ibid.*, **213**, 1 (1951); F. Jung, W. Schoetensack, E. Mahler, L. Burckland, *ibid.*, **213**, 255 (1951).
- 3) 山崎英正, 入野昭三, 宇田昭夫, 内田可亮, 大野博之, 斎藤昭昭, 近藤和二, 秦泉寺圭, 山本 考, 日薬理, **54**, 362 (1958).
- 4) H. Barton, M. Wender, *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, **215**, 573 (1952).
- 5) P. Veraguth, *Radiol. Clin.*, **26**, 323 (1957).
- 6) 藤村知恵子, 関西医科大学雑誌, **13**, 122 (1961).
- 7) 第1報: 浜島 良, 岩野勝行, 奥田博久, 薬誌, **98**, 1101 (1978).
- 8) H. Shay, S. Komarov, S. Feles, D. Merange, M. Gruenstein, H. Siplet, *Gastroenterology*, **5**, 43 (1945).

- 9) 融点はすべて未補正. IR スペクトルは日立 285 赤外分光光度計, NMR スペクトル—バリアン XL 100 (100 MHz) を用いて測定した. 収率, 融点等は Table I を参照.
- 10) W. Treibs, W. Schroth, *Ann. Chem.*, **586**, 202 (1954).

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
101 (11) 1052—1055 (1981)

桂皮成分に関する研究 (第 6 報¹⁾) *Cassia Diterpene (Lactone Type)*
のマススペクトロメトリーについて

中野公子,^a 野原稔弘,^{*,a} 富松利明,^a 西岡五夫^b
徳島大学薬学部,^a 九州大学薬学部^b

Studies on the Constituents of Cinnamomi Cortex. VI.¹⁾ On the
Mass Spectrometry of Cassia Diterpene (Lactone Type)

KIMIKO NAKANO,^a TOSHIHIRO NOHARA,^{*,a} TOSHIAKI
TOMIMATSU,^a and ITSUO NISHIOKA^b

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima University,^a Shomachi 1-78,
Tokushima and Faculty of Pharmaceutical Sciences of Kyushu
University,^b Maedashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka

(Received May 23, 1981)

The electron impact mass spectra of six novel diterpenes (lactone type), isolated from the fraction exhibiting anti-complement activity of Cinnamomi Cortex, have been investigated. A characteristic fragmentation pattern, which is useful to decide the chemical structures of related diterpenes, was provided.

Keywords—Cinnamomi Cortex; diterpenes; EI-mass; FD-mass; mass fragmentation pattern

桂皮水性エキスには, 強い抗補体活性が存在することが江田ら²⁾により明らかにされたが, 著者らは, この活性画分から, “桂皮ジテルペン”ともいうべき一連の化合物を単離し, それらの化学構造を提出した.³⁾ これらのジテルペンは, 化学構造上の特徴により ketal type,^{3a,e)} lactone type,^{3a)} diketone type^{3b,e)} および new ketal type^{1,3d)} に区分出来るが, これらの骨格を持つジテルペンとしては, 自然界では現在まで桂皮中のジテルペンの他には, イイギリ科の植物, *Ryania speciosa* VAHL より単離された, 強力殺虫作用を有する ryanodine⁴⁾ が知られるのみであり, 酸素官能基を多く持つ特異的な骨格を有している. 今後この ryanodine type のジテルペンが天然から更に見い出される可能性があるが, しかしながら, これらの化合物についての電子衝撃質量分析 (EI-MS) スペクトルの fragmentation の解釈は今まで見られず, ここで特徴的な peak を帰属しておく事は, 微量で関連化合物を同定する際にも有力な手段となり得, また analogous derivative の構造解析にも重要な知見を与えるものと考えられる. そこで今回は顕著な EI-MS fragmentation を示す桂皮ジテルペンの中の lactone type のそれらについて報告する.

実験および結果

MS (EI および FD) スペクトルは, JEOL JMS-D-300 を使用し次の条件にて測定した.

EI-MS Ionizing voltage 75 eV; ionizing current 200 μ A; ion accelerating voltage 4.5 kV; sample temperature 200—250°C.

高分解能測定は付属の JMA-2000 mass data analysis system を用いた.

FD-MS Ion source press. 3×10^{-7} Torr.; ion source temperature 60—70°C; ion source potential +2.5