薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
105 (9) 840—844 (1985)

Bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体の合成と抗 Virus 活性について¹⁾

永原美知子,* 栗山 澄, 池本雅彦, 中西輝雄

科研製薬株式会社京都研究所

Synthesis and Antiviral Activity of Bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone Derivatives

MICHIKO NAGAHARA,* KIYOSHI KURIYAMA, MASAHICO IKEMOTO,
and TERUO NAKANISHI

Kyoto Research Institute, Kaken Pharmaceutical Co., Ltd., 14, Shinomiya
Minamikawara-cho, Yamashina-ku, Kyoto, 607, Japan

(Received March 8, 1985)

Bis(methoxy-2-benzofuranyl)ketones (IIa—e) were synthesized by the reaction of 1,3-dichloro-2-propanone with methoxysalicylaldehydes (Ia—e) in the presence of sodium hydroxide. Bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketones (IIIa—e) were prepared from IIa—e by treatment with aluminium chloride. Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methane (IV) was obtained by reduction of bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIa) with 80% hydrazine monohydrate in the presence of potassium hydroxide. Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methanol (V) was prepared by reduction of IIIa with sodium borohydride.

Some of these compounds showed an antiviral activity against influenza virus *in vitro*. Bis(6-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIb) was most active in the screening of *in vitro*, which was also effective *in vivo*.

Keywords—bis(methoxy-2-benzofuranyl)ketone; bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone; bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methane; bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methanol; antiviral activity; influenza virus

著者らは virus 増殖の抑制を主作用とする virus 感染治療剤の研究開発を目的として、種々の化合物を合成するとともに、それらの抗 virus 活性について検討を行った。

その結果 bisbenzofuran 誘導体が influenza virus の増殖を抑制することを見いだした。

本報では bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体の合成法及びそれらの抗 virus 活性について報告する。

合成の部

Bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体 (IIIa—e) を Chart 1 に示したように 5 種の methoxysalicylaldehyde (Ia—e) から合成した。

すなわち Ia—e を dioxane に溶解し、等モルの NaOH でアルカリ塩とし、次に等モルの 1,3-dichloro-2-propanone を加え 70—80°C で 0.5—1.0 時間反応させて bis(methoxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体 (IIa—e) を得た (Table I)。

IIa—e を chlorobenzene に溶解し、AlCl₃ を加えて、100°C で 1.0 時間反応させて bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体 (IIIa—e) を得た (Table I)。

また Chart 1 に示したように、bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIa) を diethylene glycol 中で 80% H₂NNH₂·H₂O と KOH とで還元すると bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methane (IV) を得た。

また IIIa を NaBH₄ で還元すると bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methanol (V) を得た。

また Chart 1 に示したように、化合物 IV 及び V を得る別の方法として、bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IIa) を 80% H₂NNH₂·H₂O 又は NaBH₄ で還元して VI 及び VII をえ、それらを、それぞれ AlCl₃ で処理して脱メチル化すると IV 及び V が得られた。

またハロゲン原子を含む化合物 (VIII, IX, X) は Chart 1 に示したように合成した。すなわち bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIa) を AcOH に懸濁し、10—15°C で Br₂ を加え、更に室温で 30 分間反応して

Chart 1

bis(4,6-dibromo-7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (VIII) を得た。また bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IIa) を CHCl_3 に溶解し、還流下で、 SO_2Cl_2 を加え、さらに 2.0 時間反応して bis(4-chloro-7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IX) を得た。次に IX を chlorobenzene に溶解し、無水 AlCl_3 を加え、70—80°C で 30 分間反応して bis(4-chloro-7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (X) を得た。

以上の方法で得られた bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体をそれぞれナトリウム塩とし、influenza virus の増殖に対する効果を検討した。

抗 Virus 活性試験の部²⁾

(i) *In Vitro* 感染 virus として influenza virus (A₀/PR-8) を、また宿主細胞としてニワトリ胎児線維芽細胞を用いて被検化合物の効果を検討した (Table II)。

化合物 IIIa—e の最小細胞増殖抑制濃度は 25—50 $\mu\text{g/ml}$ で化合物間に大差は認められなかった。しかし influenza virus 増殖抑制活性は benzofuran 環上の hydroxy 基の位置により著しく異なった。すなわち hydroxy

TABLE I. Bisbenzofuranyl Ketone Derivatives

Compd. No.	R	Position of R	Yield (%)	mp (°C)	Recryst. solvent	Formula	Analysis (%)		
							Calcd	Found	
IIa	OCH ₃	7	65.3	143—144	EtOH	C ₁₉ H ₁₄ O ₅	C	70.80	71.09
							H	4.38	4.09
IIb	OCH ₃	6	40.3	191—193	EtOH	C ₁₉ H ₁₄ O ₅	C	70.80	70.89
							H	4.38	4.41
IIc	OCH ₃	5	50.0	173—174	EtOH	C ₁₉ H ₁₄ O ₅	C	70.80	70.79
							H	4.38	4.50
IId	OCH ₃	4	51.6	181—183	Acetone	C ₁₉ H ₁₄ O ₅	C	70.80	70.71
							H	4.38	4.31
IIe	OCH ₃	4, 6	41.4	201—203	Acetone	C ₂₁ H ₁₈ O ₇	C	65.97	66.25
							H	4.74	4.91
IIIa	OH	7	84.3	268—269 (dec.)	EtOH	C ₁₇ H ₁₀ O ₅ ^{a)}	C	69.39	69.51
							H	3.43	3.21
IIIb	OH	6	77.1	256—258 (dec.)	EtOH-H ₂ O	C ₁₇ H ₁₀ O ₅ ·1/2H ₂ O	C	67.55	67.36
							H	3.33	3.56
IIIc	OH	5	74.1	277—278 (dec.)	EtOH-H ₂ O	C ₁₇ H ₁₀ O ₅ ·H ₂ O	C	65.39	65.39
							H	3.87	3.72
IIId	OH	4	80.8	235—237 (dec.)	EtOH	C ₁₇ H ₁₀ O ₅ ^{a)}	C	69.39	69.17
							H	3.43	3.52
IIIe	OH	4, 6	85.9	>280	EtOH-H ₂ O	C ₁₇ H ₁₀ O ₇ ^{a)}	C	62.58	62.36
							H	3.09	2.88

a) They were dried 7 h at 110°C.

TABLE II. Antiviral Activities of Bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone Derivatives *in Vitro*

Compd. No.	Minimum cytotoxic concentration (μg/ml)	Minimum effective concentration (μg/ml)	Chemotherapeutic co-efficient
IIIa	25.0	6.25	4.0
IIIb	25.0	3.13	8.0
IIIc	50.0	25.0	2.0
IIId	50.0	25.0	2.0
IIIe	50.0	12.5	4.0
IV	25.0	25.0	1.0
V	25.0	50.0	0.5
VIII	25.0	6.25	4.0
X	12.5	6.25	2.0
Amantadine	100.0	25.0	4.0

基を6位に有する化合物 IIIb に最も強力な活性が認められ, IIIa (7位) > IIIc (5位), IIId (4位) の順に活性が低下した. 化合物 IIIb の効果は化学療法係数で比較した場合, 対照化合物の Amantadine^{2,3)} よりもすぐれていた.

また methoxy 体 IIa—e には influenza virus 増殖抑制活性はほとんど無く, methoxy 基を ethoxy 基, propoxy 基, そして butoxy 基に変えても活性はほとんど無かった.

また hydroxy 基を他の置換基例えば alkyl 基又は carboxyl 基に変えると抗 virus 活性は低下し, hydroxy 基

は influenza virus 増殖抑制活性の作用発現に必須と考えられた。また acyloxy 基や alkylaminoalkoxy 基については検討中である。

一方, bisbenzofuranyl ketone の $>C=O$ (IIIa) を $>CH_2$ (IV) や $>CH-OH$ (V) に置換した化合物では最小細胞増殖抑制濃度以上でしか抗 virus 活性は認められず, 特異的な virus 増殖抑制活性は観察されなかった。

また化合物 IIIa への halogen の導入 (化合物 VIII, X) は細胞増殖や virus 増殖抑制にほとんど影響しなかった。

なお化合物 IIIa—e の 50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では直接的な殺 influenza virus 効果は認められなかったことから, これらは virus の細胞内増殖系に作用して抗 virus 効果を発揮するものと考えられた。

(ii) *In Vivo* *In vitro* で最も強い抗 influenza virus 作用を示した bis(6-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIb) のジナトリウム塩について *in vivo* で, その virus 効果を検討した。被検化合物は感染後 4 日目から 9 日まで腹腔内投与した (Table III)。

対照群では感染後 20 日目までに 50% のマウスが死亡した。Amantadine 50 mg/kg/d は軽度延命傾向を示しただけであったが, bis(6-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIb) を 50 mg/kg/d 投与した群では感染後 20 日目でも 1/10 例が死亡したのみで明らかな延命効果が認められた。

これらの結果は化合物 IIIb 及びその周辺化合物の抗 influenza virus 剤としての可能性を示唆するものであり, 今後はより詳細な検討を行い医薬品としての応用を目指したいと考えている。

実 験 の 部⁴⁾

Bis(methoxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体 (IIa—e) の一般的合成法 Methoxysalicylaldehyde (Ia—e) (Ia—d は 3.3 g, 0.022 mol) の dioxane (15 ml) 溶液に室温攪拌下に NaOH (1 g, 0.025 mol) を加え, 徐々に加温しさらに 75°C 20—30 分間加熱する。ついで 1,3-dichloro-2-propanone (1.4 g, 0.011 mol) を少量ずつ加え, さらに 80°C に 30 分—1 時間加熱し, 冷却後, 水 200 ml を加え, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, Table I に示す溶媒より再結晶して黄色—黄褐色結晶の IIa—e を得た。融点, 収率及び元素分析の結果を Table I に示した。

Bis(hydroxy-2-benzofuranyl)ketone 誘導体 (IIIa—e) の一般的合成法 IIa—e (IIa—d は 7.4 g, 0.023 mol) を chlorobenzene 60 ml に懸濁し, 室温攪拌下に無水 AlCl_3 (IIa—d は 9.2 g, 0.069 mol, IIe は 15.4 g, 0.115 mol) を少量ずつ加え, 徐々に加温し, さらに 100°C に 1—2 時間加熱する。冷却後, 水を加え, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, Table I に示す溶媒より再結晶して, 黄色—橙赤色結晶の IIIa—e を得た。融点, 収率及び元素分析の結果を Table I に示した。

Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methane (IV) の合成 Method A—Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIa) (0.5 g, 0.0016 mol), 80% $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.3 g 及び diethyleneglycol 6 ml の混合物を攪拌下に 110—120°C で 30 分間加熱し, ついで KOH (1.1 g, 0.02 mol) を加え N_2 gas の発生が止むまでさらに加熱した。冷却後, 水を加え, dil. HCl で酸性にし, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, EtOH— H_2O 混液から再結晶して, 黄土色りん片状の IV を得た。mp 154—155°C。収率 61.1%。Anal. Calcd $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_4$: C, 72.85; H, 4.32. Found: C, 72.56; H, 4.41。

Method B—Bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IIa) (2.4 g, 0.007 mol), 80% $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 3.5 g, diethyleneglycol 50 ml 及び KOH 5.5 g を method A と同様に反応し, mp 117—119°C の赤褐色粉末状の bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)methane (VI) 1.0 g (50.0%) を得た。この VI (1.2 g, 0.004 mol) を chlorobenzene 15 ml に懸濁し, 室温攪拌下に無水 AlCl_3 (1.1 g, 0.08 mol) を少量ずつ加え, 徐々に加温し, さらに 100°C で 1 時間加熱した。冷却後, 水を加え, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, EtOH— H_2O 混液から再結晶して IV を 0.7 g (63.6%) 得た。

Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methanol (V) の合成 Method A—Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIa) (1.2 g, 0.004 mol) を MeOH 20 ml に懸濁し, NaOH (0.32 g, 0.08 mol) を水 2 ml に溶解した溶液を加え,

TABLE III. Antiviral Activity of Bis(6-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone *in Vivo*

Compd.	No. of animals	10-d survival (%)	20-d survival (%)
Control	10	60	50
IIIb	10	100	90
50 mg/kg (<i>i.p.</i>)			
Amantadine	10	80	50
50 mg/kg (<i>i.p.</i>)			

5°C に冷却し, NaBH_4 (0.14 g, 0.04 mol) を少量ずつ加え, 室温で 2 時間反応した. 反応終了後水を加え, dil. HCl で酸性にし, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ 混液から再結晶して, 灰白色粉末状の bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)methanol (V) を得た. mp 270°C 以上. 収率 50.8%. *Anal.* Calcd $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_5$: C, 68.92; H, 4.08. Found: C, 68.93; H, 3.87.

Method B—Bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IIa) (2.5 g, 0.007 mol) を MeOH 50 ml に懸濁し, NaOH 0.6 g を水 5 ml に溶解した溶液を加え, 5°C に冷却し, NaBH_4 0.25 g を加え method A と同様に反応し mp 97—99°C (dec.) の黄褐色粉末状の bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)methanol (VII) 2.0 g (90.9%) を得た. この VII (1.3 g, 0.004 mol) を chlorobenzene 15 ml に懸濁し, 室温攪拌下に無水 AlCl_3 (1.6 g, 0.012 mol) を少量ずつ加え, 徐々に加温し, さらに 100°C で 30 分間加熱した. 冷却後, 水を加え, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ 混液から再結晶して V を 0.5 g (42.4%) 得た.

Bis(4,6-dibromo-7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (VIII) の合成 Bis(7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIa) (2.9 g, 0.01 mol) を AcOH 50 ml に懸濁し, 10—15°C に冷却して, Br_2 (6.4 g, 0.04 mol) を少量ずつ加え, 滴下後 30 分間室温で反応した. 反応終了後水を加え, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後, acetone から再結晶して, 黄色結晶の bis(4,6-dibromo-7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (VIII) を得た. mp 285—287°C (dec.). 収率 65.6%. *Anal.* Calcd $\text{C}_{17}\text{H}_6\text{Br}_4\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 32.52; H, 1.28; Br, 50.91. Found: C, 32.61; H, 1.09; Br, 50.85. NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 7.65 (2H, s, 5, 5'-H), 8.05 (2H, s, 3, 3'-H).

Bis(4-chloro-7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (X) の合成 Bis(7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IIa) (3.2 g, 0.01 mol) を CHCl_3 30 ml にとかし, ゆるやかな還流下に SO_2Cl_2 (3.0 g, 0.022 mol) を CHCl_3 6 ml にとかし少量ずつ加え, 滴下後さらに 2.0 時間還流下に反応した. 冷却後, 析出結晶を濾取, 乾燥して淡黄色結晶状の bis(4-chloro-7-methoxy-2-benzofuranyl)ketone (IX) を得た. mp 218—220°C. 収率 33.3%. *Anal.* Calcd $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_5$: C, 58.33; H, 3.09; Cl, 18.12. Found: C, 58.16; H, 3.31; Cl, 18.31. NMR (CDCl_3) δ (ppm): 4.05 (6H, s, $\text{OCH}_3 \times 2$), 6.93 (2H, d, $J=9$ Hz, 6, 6'-H), 7.20 (2H, d, $J=9$ Hz, 5, 5'-H), 8.05 (2H, s, 3, 3'-H). この IX (4.0 g, 0.01 mol) を chlorobenzene 50 ml にとかし, 室温攪拌下に無水 AlCl_3 (4.0 g, 0.03 mol) を加え, 75—80°C で 30 分間加熱した. 冷却後, 水を加え, 析出結晶を濾取, 水洗, 乾燥後 EtOH から再結晶して橙黄色結晶状の bis(4-chloro-7-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (X) を得た. mp 295°C 以上. 収率 82.6%. *Anal.* Calcd $\text{C}_{17}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{O}_5$: C, 56.23; H, 2.22; Cl, 19.52. Found: C, 56.06; H, 2.42; Cl, 19.21. NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ (ppm): 7.05 (2H, d, $J=10$ Hz, 6, 6'-H), 7.35 (2H, d, $J=10$ Hz, 5, 5'-H), 8.18 (2H, s, 3, 3'-H). Gibbs 反応⁵⁾陰性.

抗 Virus 活性試験 (i) *In Vitro*—10—11 日齢の発育鶏胚より, 常法に従って単層初代ニワトリ胎児線維芽細胞を調整した. MeOH 又は水に溶解した被検化合物を 1/250 容及び培養液で希釈した influenza virus ($\text{A}_0/\text{PR}-8$) を 1/10 容 (100 TCID₅₀) 培養液に添加した. 37°C で, 48 時間培養後, 培養液上清中の virus 量を赤血球凝集反応によって求めた. Virus control に対し, 赤血球凝集力価を 1/4 減少させる濃度を被検化合物の有効濃度とした. 被検化合物の細胞毒性は, virus を添加しない前記と同様な実験系で検討した. 細胞数は核数計算法で測定し細胞数を 20% 以上減少させる被検化合物の濃度を細胞毒性発現濃度とした. また細胞の増殖維持には 2—5% の仔ウシ血清 (Difco) を含む Eagle's MEM (日水) を使用した. 結果は Table II に示した.

$$\text{化学療法系数} = \frac{\text{細胞毒性の発現する最小濃度}}{\text{最小有効濃度}}$$

(ii) *In Vivo*—体重 25 g の ddY 系雄性マウス (静岡実験動物協同組合) に influenza virus ($\text{A}_0/\text{PR}-8$) を 3ILD₅₀ 経鼻感染させた. 感染 4 日目より 9 日目まで 10% アラビアゴム水溶液に懸濁した bis(6-hydroxy-2-benzofuranyl)ketone (IIIb) のジナトリウム塩及び Amantadine (東京化成) を 1 日 1 回 50 mg/kg 腹腔内投与した. 効果は生存率を対照群と比較して判定した. 結果は Table III に示した.

引用文献及び注

- 1) 本報の一部は日本薬学会第 104 年会 (仙台) で発表, 講演要旨集 1984 年, 3 月, 30Y1-22.
- 2) W. L. Davies, R. R. Grunert, R. F. Haff, J. W. McGahen, E. M. Neumayer, M. Paulshock, J. C. Watts, T. R. Wood, E. C. Hermann, C. E. Hoffmann, *Science*, **144**, 862 (1964).
- 3) R. R. Grunert, J. W. McGahen, W. L. Davies, *Virology*, **26**, 262 (1965).
- 4) 融点は Thomas Hoover Capillary 融点測定装置で測定し, 未補正.
- 5) 大須賀昭夫, 神川忠雄, 久保田尚志, 西長 明, “実験化学講座続 5 巻, 有機化合物の定性確認法 (上),” 日本化学会編, 丸善, 東京, 1965, p. 459.