

選択的 LTB₄ 受容体阻害活性を有する 2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinylbenzo[*b*]furan 誘導体の合成とそのコンフォメーション^{1,2)}

安藤久美子

Synthesis of 2-, 4- and 5-(2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl)-7-alkyloxybenzo[*b*]furans and their Leukotriene B₄ Receptor Antagonistic Activity

Kumiko ANDO

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University,
11-68 Koshien Kyuban-cho, Nishinomiya 663-8179, Japan

(Received July 7, 2005)

Variable 7-carboxylpropoxy or (1-phenyl)ethoxybenzo[*b*]furan derivatives with (*E*)- and (*Z*)-2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl groups at the 2-, 4-, and 5-positions were prepared to find novel and selective leukotriene B₄ (LTB₄) receptor antagonists. (*E*)-2-(2-Diethylcarbamoyl-1-methylvinyl)-7-(1-phenylethoxy)benzo[*b*]furan (**4v**) showed selective inhibition of the human BLT₂ receptor (hBLT₂). On the other hand, (*E*)-2-acetyl-4-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl)-7-(1-phenylethoxy)benzo[*b*]furan (**7c**) inhibited both human BLT₁ receptor (hBLT₁) and hBLT₂. The (*E*)-2-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) group lay on approximately the same plane as the benzo[*b*]furan ring, whereas the (*E*)-4-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) group had a torsion angle (45.7°) from the benzo[*b*]furan ring plane. However, the (*Z*)-(2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl)benzo[*b*]furans were inactive. The inhibitory activity depended on the conformation of the 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl groups.

Key words—leukotriene B₄ antagonist; BLT; 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl groups; conformation; benzo[*b*]furan

1. はじめに

Leukotriene B₄ (LTB₄) は、アラキドン酸に由来する生理活性脂質であり生体防御に重要な役割を果たしている。しかし、LTB₄ の過剰産生は気管支喘息、腸疾患³⁻⁸⁾ など様々な炎症性疾患の発症、増悪の原因になると考えられている。そのため、様々な LTB₄ 受容体拮抗化合物が、抗炎症薬としての臨床使用を目指して合成されてきたが、臨床使用には至っていない。⁹⁻²¹⁾

しかし近年、第 2 の LTB₄ 受容体である BLT₂ 受容体が新たに発見され、続いてクローニングも成し遂げられた。²²⁻²⁶⁾ これを契機として LTB₄ 受容体拮抗化合物を用いて、動脈硬化症、^{27,28)} 臓器移植時の免疫抑制、^{29,30)} 疥癬、³¹⁾ 膵臓癌、^{32,33)} 慢性関節リウマチ³⁴⁻³⁷⁾ への適応が研究され始め、LTB₄ 受容体拮抗

薬の創製は新しい局面を迎えていると考えられる。

そこで筆者は、BLT₁ and/or BLT₂ 受容体拮抗活性を指向した benzo[*b*]furan 誘導体の合成を行い、それらの LTB₄ 受容体阻害活性を評価した。その結果、BLT₁, BLT₂ 両受容体、又は選択的な BLT₂ 受容体阻害活性を有する benzo[*b*]furan 誘導体を見出した。さらに、受容体選択性と化合物のコンフォメーションとの関連について知見を得たので報告する。

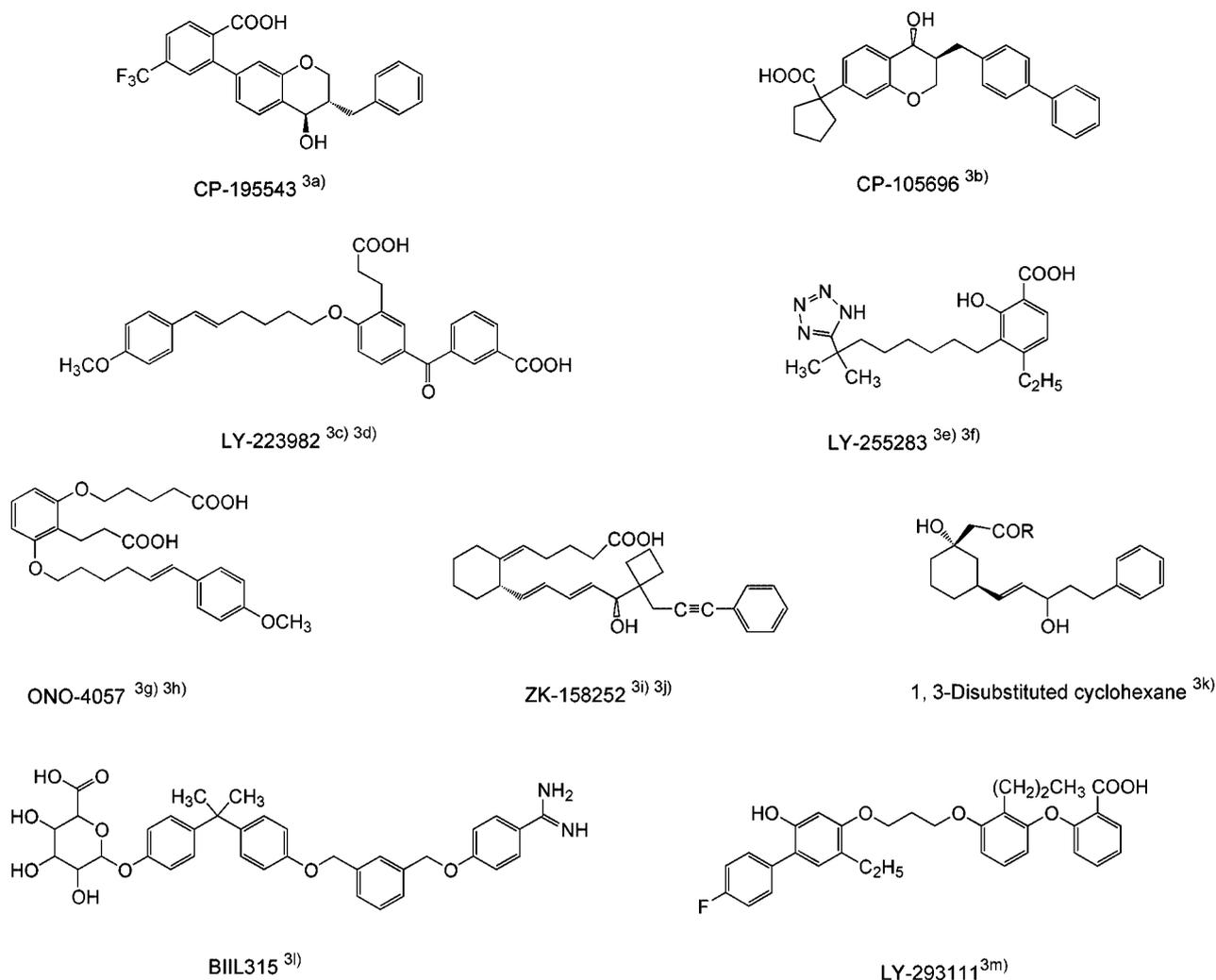
2. Design

これまでに合成されてきた LTB₄ 受容体拮抗化合物は、主に脂肪族アルキルを有する化合物、エーテル結合を有する化合物に大別される (Fig. 1)。筆者は、このような複数のコンフォメーションをとり得る脂肪族アルキル化合物、エーテル化合物よりも、コンフォメーションが固定された単純な複素環化合物³⁸⁻⁴⁵⁾ の方が生理活性発現物質としてより好ましいと考え、次のようなデザインを考案した。LTB₄ の共役二重結合、単独二重結合、OH 基を環化することにより、benzo[*b*]furan 骨格を想定し、

武庫川女子大学薬学部 (〒663-8179 西宮市甲子園九番町 11-68)

e-mail: kumikoan@mww.mukogawa-u.ac.jp

本総説は、平成 16 年度日本薬学会近畿支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

Fig. 1. Structures of Reported LTB₄ Receptor Antagonists

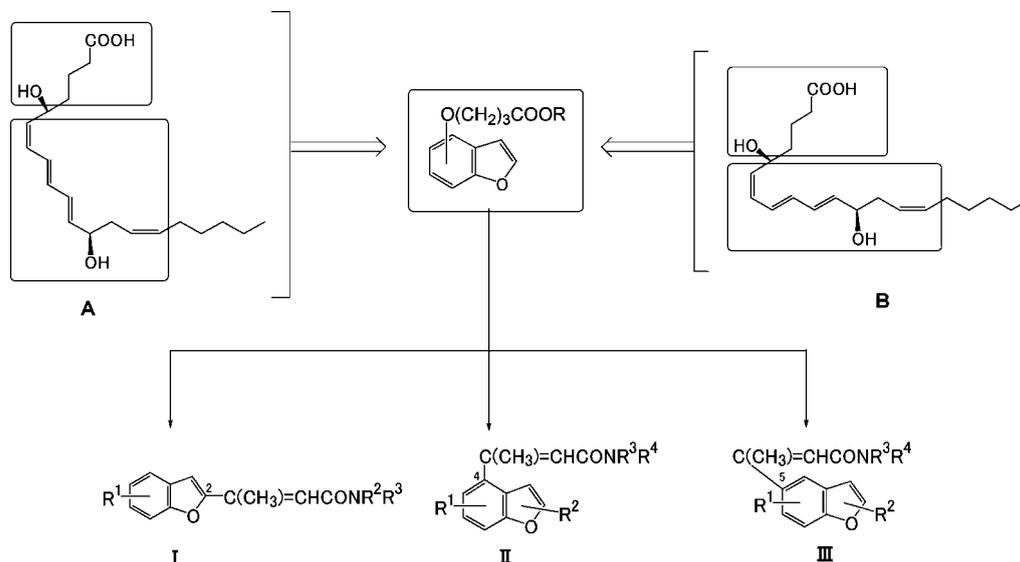
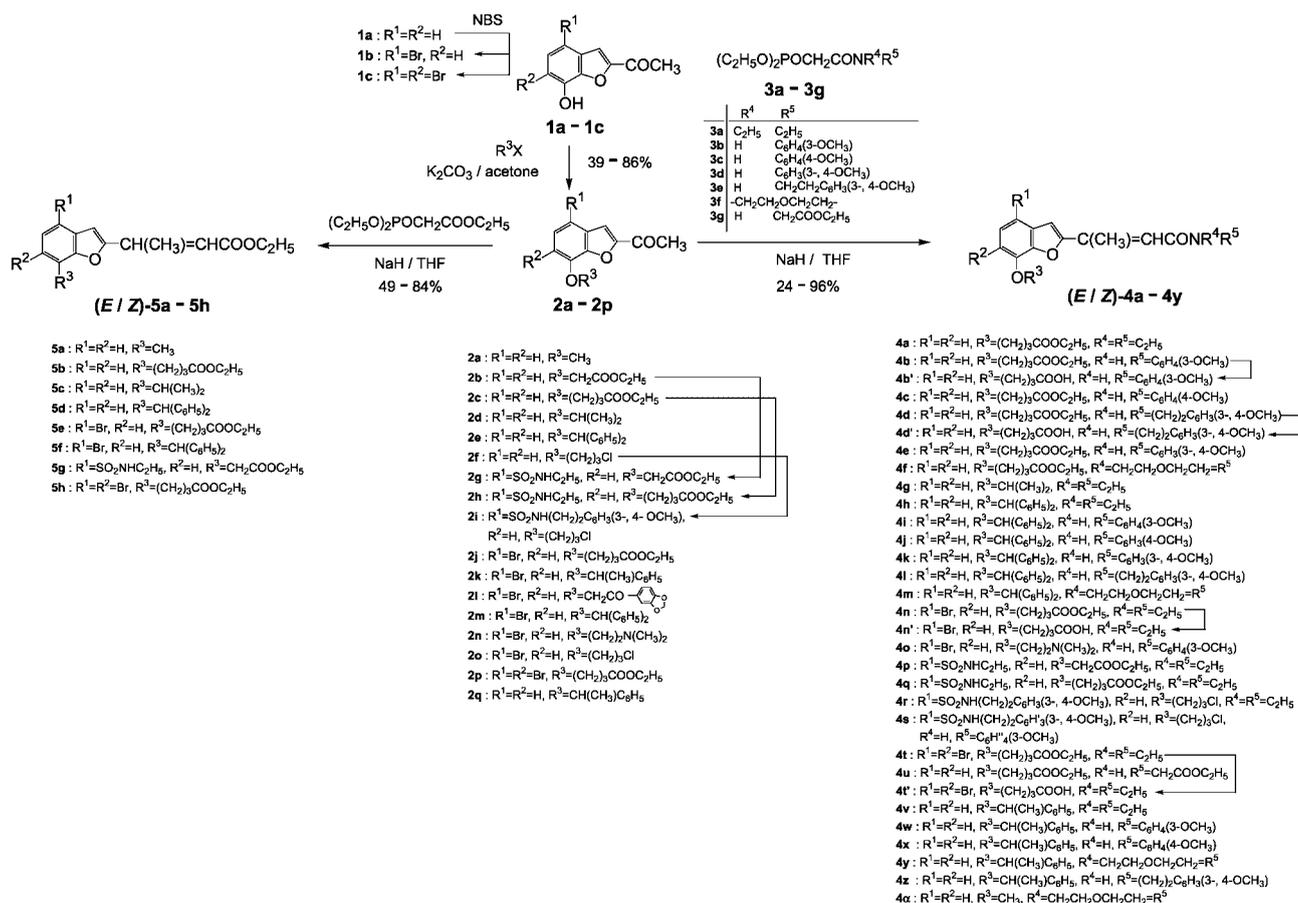
さらに LTB₄ の末端構造を 3-カルボキシプロポキシ基 (O(CH₂)₃COOH) と考えた。一方、筆者らは最近、 α , β -不飽和カルバモイル基⁴⁶⁾を有する benzo[*b*]furan 誘導体が興味深い生理活性を示すことを見出している。^{47,48)} この知見に基づいて考案した種々の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基^{49,50)}を、3-カルボキシプロポキシ基を 7 位に有する benzo[*b*]furan 環の 2 位, 4 位, 5 位に導入した誘導体をデザインし、合成を行った (Fig. 2)。

3. Benzo[*b*]furan 誘導体の合成

3-1. 2-(2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl) benzo[*b*]furan 誘導体の合成 Benzo[*b*]furan 骨格の 2 位への 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基の導入は、アセチル基に対する Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) 反応⁵¹⁻⁵³⁾の適応を検討した (Scheme 1)。

2-Acetyl-7-hydroxybenzo[*b*]furan (1a-c) の 7 位水酸基に対して、種々のアルキルハライドを用いてアルキル化を行い、対応するアルキルオキシ体 (2a-q) を得た。これら 2a, c-e, g-j, n, p, q を、NaH 存在下ホスホナミド類 (3a-g)⁵⁴⁾を用いて HWE 反応を行い目的化合物である 2 位に 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基を有する benzo[*b*]furan 誘導体 (4a-z, α) を得た。

化合物 4 は、*E* 体、*Z* 体の混合物として得られたため、これらをカラムクロマトグラフィーで分離し、NMR, Nuclear Overhauser Enhancement (NOE) を用いて構造を決定した (Fig. 3)。NOE において、(*E*)-4 では、ビニル基上の CH₃ と benzo[*b*]furan の 3 位の H との間のみ NOE 相関が観測され、(*Z*)-4 では、ビニル基上の CH₃ は、benzo[*b*]furan の 3 位の H, ビニル基上の H との間にも NOE

Fig. 2. Designed Benzo [b]furan Compounds (I, II, III) and Possible Conformers (A, B) of LTB₄

Scheme 1

相関が観測された。ビニル基上の CH₃ は, *E* 体, *Z* 体ともに 3 位の H 間との NOE 相関が観測されたことから, 2 位のビニル基は benzo [b]furan の 2 位,

3 位間の二重結合と *s-trans* であると決定した。次に, 化合物 4 の (*E*)-, (*Z*)-2-(2-alkylcarbonyl-1-methylvinyl) 基の benzo [b]furan 平面に対するね

じれ角を, MM2 (CambridgeSoft, Chem 3D 5.0) を用いて算出したところ, *E* 体では $0-4^\circ$, *Z* 体では $25-27^\circ$ であるという結果を得た. これらの結果を確認するため, (*E*)-**4 α** の X 線結晶解析を行い, 2 位の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基の二重結合は, benzo[*b*]furan 平面に対して 6.9° の角度に存在することを明らかとした (Fig. 4).^{1,2)} このことから, 化合物 (*E*)-**4** の 2 位の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基の二重結合は benzo[*b*]furan 平面とほぼ同一平面上に存在すると決定した.

HWE 反応により合成した化合物 **4** の, *E* 体, *Z* 体の生成比を検討した (Table 1). 塩基として NaH を用いた場合, *E* 体が優位に生成した (*E*-selectivity: 51–100%). しかし, スルホンアミド基を有する化合物 (**4q–s**) では *E* 選択性の低下がみられた (*E*-selectivity: 11–34%).^{51,55)} 選択性を検討するため, 塩基として NaH の代わりに LiCl, 1, 8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) を用いたところ, 若干の *E* 選択性の向上がみられた. (**4a, c, e, h–m**, *E* selectivity: 67–100%)^{56,57)} ホスホノアミ

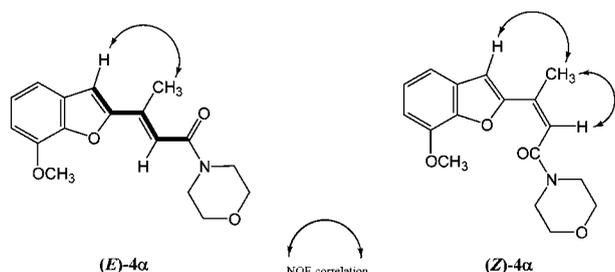


Fig. 3. Structures of (*E*)- and (*Z*)-**4 α** , and NOE Correlations

ド類 (**3**) の代わりにジエチルホスホノ酢酸エチル^{58–60)} を用いて NaH 又は LiCl/DBU 条件下反応を行ったが, 同様に *E* 体が優位に生成した (Scheme 1, **5a–h**).

3-2. 4-(2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl) benzo[*b*]furan 誘導体の合成 次に, benzo[*b*]furan 骨格の 4 位への 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基の導入は, 芳香族ハロゲンとアルケンを用いた Heck 反応^{50,61)} の適応を検討した (Scheme 2).

2-Acetyl-7-hydroxybenzo[*b*]furan (**1a**)⁶²⁾ を, NBS を用いて 4 位を選択的にブロム化し, 4-ブromo体 (**1b**) を得た. これらの 7 位水酸基をアルキル化したアルキルオキシ体 (**2j–m, o**) を, 酢酸パラジウム (II), トリ-*o*-トリルホスフィン, トリエチルアミンを用いて Heck 反応条件下, クロトンアミド類 (**6a–e**) を反応させ, *E* 選択的に 4 位に 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基を有する benzo[*b*]furan 誘導体 ((*E*)-**7a–o**) を得た. 2-アセチル体 ((*E*)-**7a**) はさらに桂皮酸に類似した構造を有する (*E*)-**8a, b** へと導いた.

このようにして合成した 4 位置換体 ((*E*)-**7**) の構造を, NOE を用いて検討した. ビニル基上の CH_3 は, benzo[*b*]furan の 3 位の H, 5 位の H との間に, とともに NOE 相関がみられ, 2 位置換体 ((*E*)-**4**) とは異なった挙動を示した (Fig. 5). この違いについて検討するために, 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基のコンフォメーションについて, MM2, Dreiding Stereomodels (BÜCHI 社) を用いて検討したところ, 4 位の炭素とビニル基炭素間の自由回転は, ビニル基と 3 位, 5 位 H との立体障

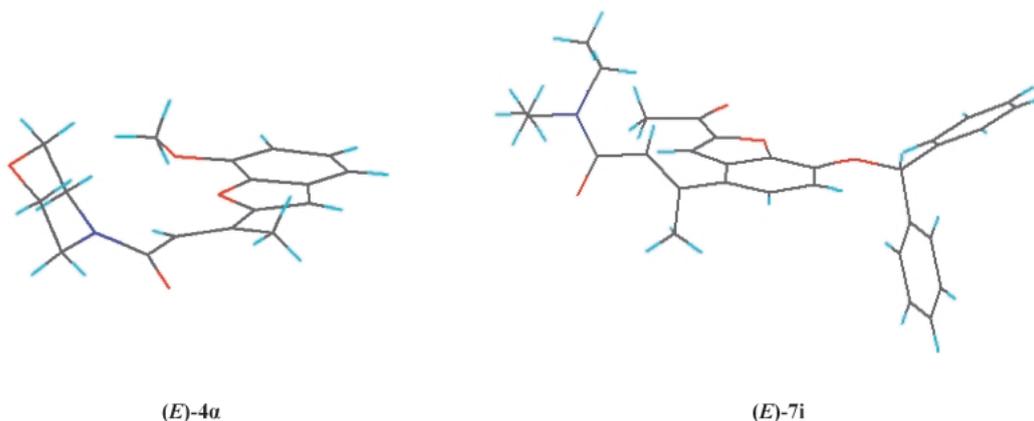


Fig. 4. X-Ray Structures of (*E*)-**4 α** and **7i**

Table 1. Isomeric Ratio of 2-(2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl) benzo [*b*] furans (**4**) and 2-(2-Ethoxycarbo-1-methylvinyl) benzo [*b*] furans (**5**)

Compd	Base			
	NaH		LiCl/DBU	
	<i>E/Z</i> ratio ^{a)}	Yield (%)	<i>E/Z</i> ratio ^{a)}	Yield (%)
4a	74 : 26	71.5	71 : 29	50.9
4b	77 : 23	81.6		
4c	72 : 28	96.9	77 : 23	49.8
4d	81 : 19	87.2		
4e	78 : 22	87.2	82 : 18	74.5
4f	68 : 32	37.6		
4g	72 : 28	76.5		
4h	62 : 38	79.1	64 : 36	50.9
4i	76 : 24	70.0	83 : 17	46.5
4j	71 : 29	80.7	82 : 18	42.0
4k	80 : 20	75.3	84 : 16	89.7
4l	61 : 39	64.5	73 : 27	41.5
4m	54 : 46	82.6	67 : 33	18.6
4n	72 : 28	90.0		
4o	81 : 19	57.0		
4p	69 : 31	25.6		
4q	22 : 78	53.0		
4r	11 : 89	47.0		
4s	34 : 66	52.0		
4t	72 : 25	35.5		
4u	75 : 25 ^{b)}	10.8		
4v	64 : 36	64.4		
4w	80 : 20	54.0		
4x	64 : 36	17.8		
4y	70 : 30	55.4		
4z	60 : 40	90.9		
4α	57 : 43	77.5		
5a	<i>E</i> ≃100	68.5		
5b	64 : 36	52.0		
5c	64 : 36	65.9		
5d	62 : 38	75.1	<i>E</i> ≃100	81.7
5e	<i>E</i> ≃100	52.0		
5f	71 : 29	84.0	<i>E</i> ≃100	53.6
5g	51 : 49	49.4		
5h	70 : 30	51.9		

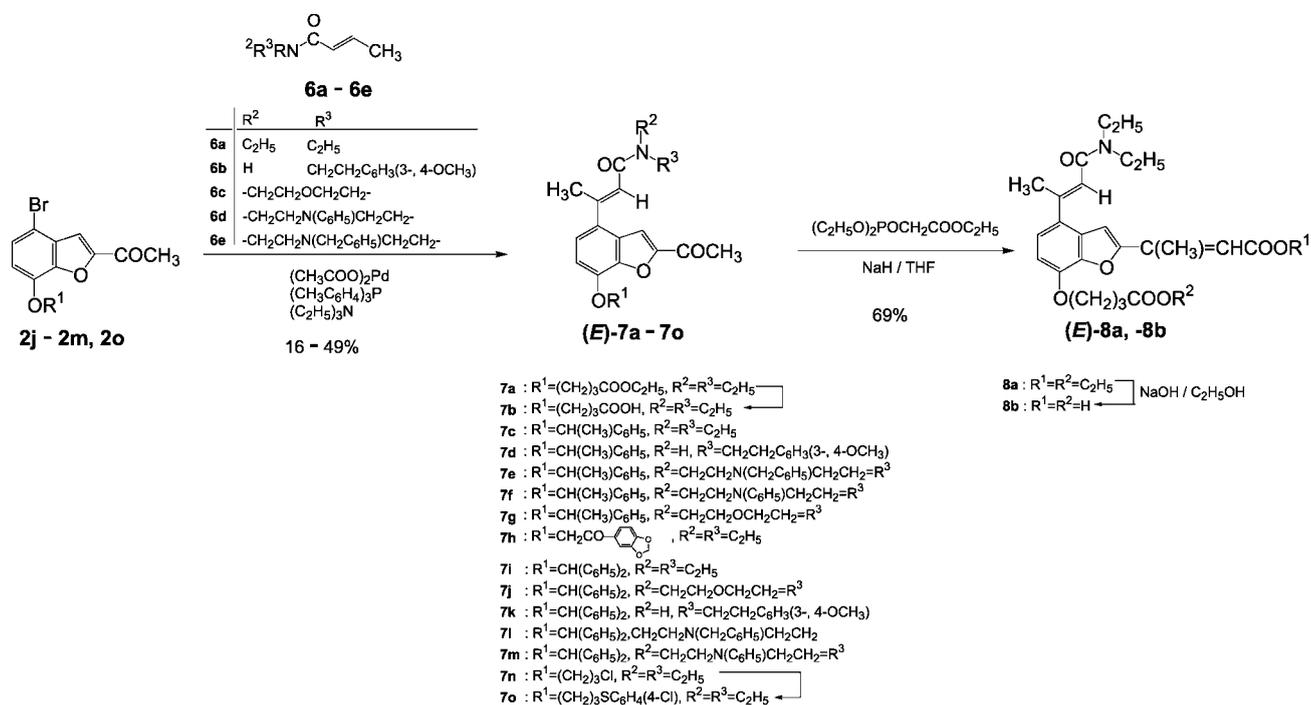
^{a)} The ratio was determined using the signal intensity of the olefinic methyl group (*E*≃2.3 ppm, *Z*≃2.2 ppm) or olefinic proton (*E*≃6.9 ppm, *Z*≃6.0 ppm) in ¹H-NMR. ^{b)} The ratio was determined by HPLC.

害があるために困難であると考えられた。(E)-**7**と類似の構造を有する β-chloro-β-(2,4,6-trimethyl-3-bromophenyl)-α-methylacrylic acid (**IV**),⁶³⁾ *o*-(β, β-dimethyl-α-isopropylvinyl) phenyltrimethylammonium iodide (**V**)⁶⁴⁾においては、フェニル炭素原子とビニル炭素原子間の自由回転が立体障害により阻害

されるため分子不斉化合物となり、適切な塩とすることで分離できると報告されている (Fig. 5). このことから、(E)-**7**においても、4位炭素とビニル炭素原子間の自由回転が、3位、5位 H との間の立体障害により阻害され、分子不斉化合物として存在することが考えられた。このことを検討するため、7位に不斉炭素原子を有する 7-(1-フェニルエトキシ)体 ((E)-**7c—g**) を合成し、¹H-NMR を用いてジアステレオマーの存在を精査したが、ジアステレオマーは確認されなかった。この結果から、(E)-**7**の4位炭素原子とビニル炭素原子間の自由回転の阻害は、分子不斉を形成するには十分でないと考えられた。恐らく、4位のビニル基と3位、5位 H との重なりが十分ではないためと思われる。これらのことから、(E)-**7**の構造を決定するため、(E)-**7i**の X 線結晶解析を行い、4位の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基の二重結合は、benzo [*b*] furan 平面に対して 45.7°の角度に存在することを明らかとした (Fig. 4).^{1,2)} 他の4位置換体 ((E)-**7**) についても MM2 を用いて検討したところ、ねじれ角は 38.8—47.9°と算出された。この値から考えられる (E)-**7**のコンフォメーションと、上記 NOE 相関結果はよく一致した。以上のように、(E)-**4**の2位の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基が benzo [*b*] furan とほぼ同一平面に存在するのに対して、(E)-**7**の4位の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基は、benzo [*b*] furan 平面と約 46°の角度に存在するという特徴が認められた。2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基は置換位置によって、異なったねじれ角で存在することが明らかとなった。

3-3. 5-(2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl) benzo [*b*]furan 誘導体の合成 5位に 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基を有する benzo [*b*] furan 誘導体の合成は、4位置換体の場合と同様に Heck 反応を用いて行った (Scheme 3).

化合物 (**9**,^{65,66)} **10**⁴⁸⁾) より合成した 5-bromobenzo [*b*] furan 体 (**11a—c**) に対してクロトンアミド類 (**6a—c**) を用いて Heck 反応を行い、5位に 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基を有する benzo [*b*] furan 誘導体 ((E)-**12a—d, g, h**) を得た。2-アセチル体 ((E)-**12c**) は、さらに HWE 反応を適応し (E)-**12e** を得、続いて加水分解を行い (E)-**12f** を得た。



Scheme 2

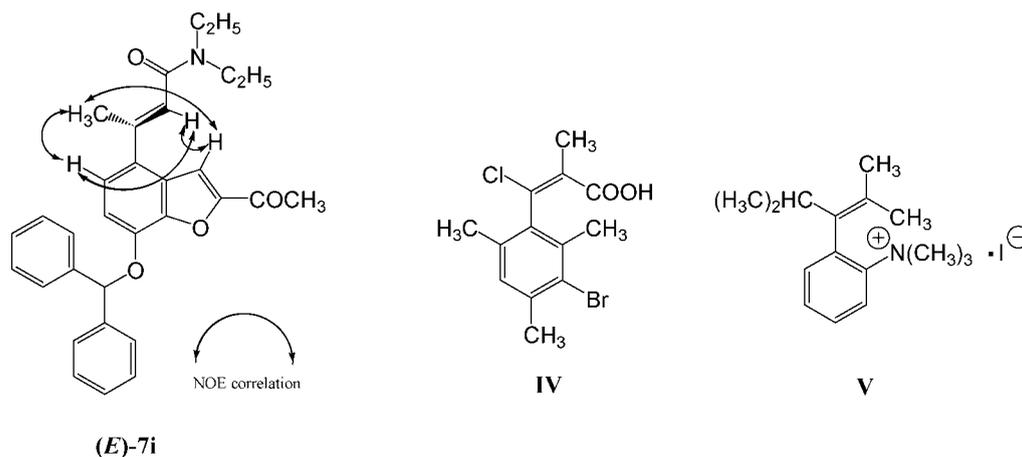
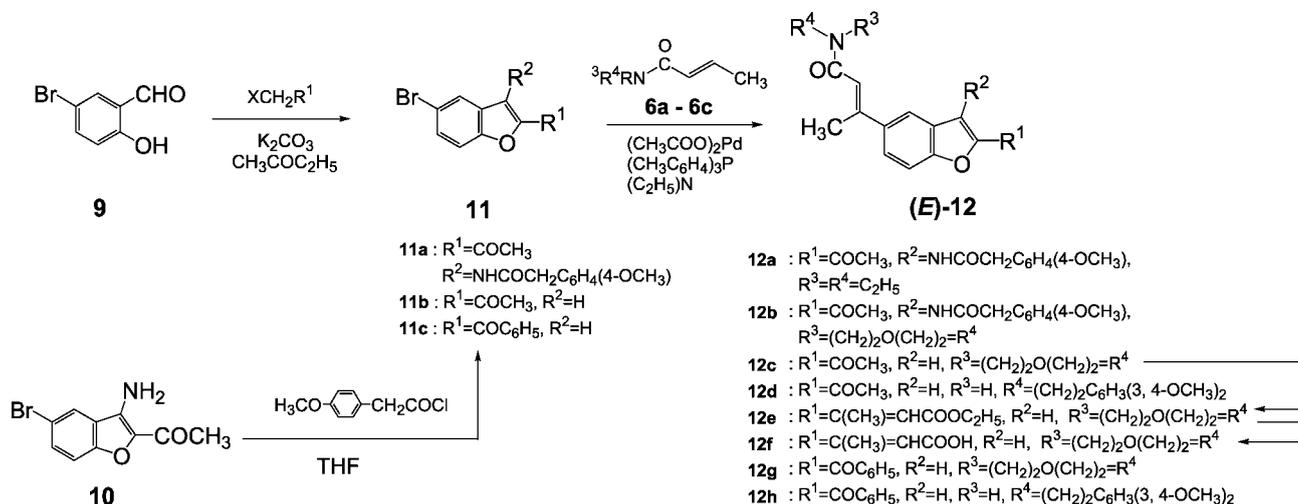


Fig. 5. NOE Correlation and Structure of *(E)*-7i, and Structure of Molecular Dissymmetrical β-Chloro-β-(2,4,6-trimethyl-3-bromophenyl)-α-methylarlic Acid (IV) and *o*-(β, β-Dimethyl-α-isopropylvinyl) phenyltrimethylammonium Iodide (V)

これらの構造を, NMR, NOE を用いて検討した. *(E)*-12 の NOE において, ビニル基上の CH₃ と H は, とともに 4 位, 6 位 H に NOE 相関を示し, 4 位置換体 (*(E)*-7) の場合と同様の挙動を示した. MM2 によりさらに検討を行い, 5 位の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基と benzo [*b*]furan 平面との角度は 31.3—38.9° と算出された. 以前の本研究室の研究により, *(E)*-12 と同様に benzo [*b*]furan の 5 位に 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基を有する 2-(4-cyanobenzoyl)-3-(*Z*)-(2-cyano-3-hydroxybut-

2-enonyl) amino-5-(*E*)-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) benzo [*b*]furan の 2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基と benzo [*b*]furan 平面との角度は 33.5°⁴⁸⁾ と決定されている. これらの結果から, *(E)*-12 における 5 位の *(E)*-2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl 基も 4 位置換体 (*(E)*-7) の場合と同様に, benzo [*b*]furan 平面と同一平面には存在しないと考えられるが, 4 位の場合と比較して立体的な障害が少ないため, ねじれ角が小さいと思われる.



Scheme 3

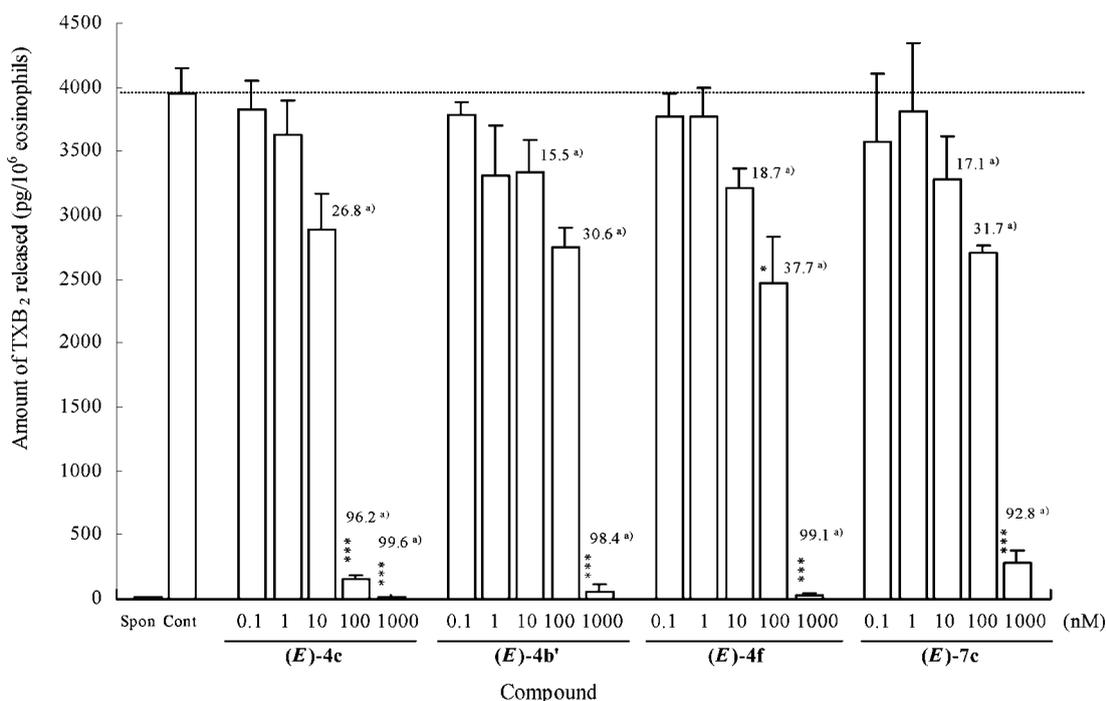


Fig. 6. Effect of (E)-4c, (E)-4b', (E)-4f, (E)-7c on LTB₄-induced TXB₂ Release from Bronchoalveolar Eosinophils Harvested from Sephadex G-200-treated with Guinea Pigs (mean ± S.E., n=3)

(E)-4c, (E)-4b', (E)-4f, (E)-7c was added 5 min before eosinophil stimulation by LTB₄ (100 nM). Statistically significant differences from the control are indicated (*p<0.05, ***p<0.001, Bonferroni's multiple test). Spon: Spontaneous, Cont: Control, a) Inhibition (%).

4. 生理活性の評価

合成した benzo [b] furan 誘導体の LTB₄ 受容体に対する antagonist 活性の検討を行った。

始めに、モルモットの気管支及び肺胞内より採取し精製した好酸球を、LTB₄ で刺激した際に引き起こされる TXB₂ 遊離に及ぼす化合物の影響を検討した (Table 2).⁶⁷⁾ (E)-4b', c, d, f, g, (Z)-4g, (E)-4n, n', o, u, (E)-7c, g, i, (E)-8b は 100 μM の濃度にお

いて完全に TXB₂ 遊離を抑制した。次に、100 μM で阻害活性が認められたこれらの化合物を 1 μM, 10 nM の濃度において評価を行ったところ、(E)-4b', c, f, (E)-7c が阻害活性を示した。これら 4 化合物は 0.1 nM—1 μM の濃度において、濃度依存的な阻害活性を示した (Fig. 6)。最も強い阻害活性を示した (E)-4c は、1 μM の濃度においてほぼ完全に TXB₂ 遊離を抑制し、100 nM において 96.2%, 10

Table 2. LTB₄ Antagonistic Activity (Ratio of Amount of TXB₂ Released against Control (%))

Compd ^{a)}	Concentration		
	100 μM	1 μM ^{b)}	10 nM ^{b)}
4b'	0.2	0.3	47.9
4c	0.1	0.2	77.8
4d	2.7	40.9	57.1
4e	45.8		
4f	0.5	0.3	48.6
4g	0.2	56.6	90.1
(Z)-4g	0.3	84.5	94.1
4h	16.0		
4i	91.8		
4j	118.6		
4k	115.4		
(Z)-4k	115.4		
4l	127.3		
4m	112.4		
(Z)-4m	14.1		
4n	1.4	64.7	87.2
4n'	0.07	44.9	96.3
4o	n.d. ^{c)}	60.7	93.1
(Z)-4q	54.0		
4r	39.0		
(Z)-4r	60.7		
4u	0.2	69.1	97.4
7a	45.0		
7c	0.8	3.7	89.1
7d	41.9		
7e	23.7		
7f	81.7		
7g	1.0	65.9	96.3
7h	32.1		
7i	n.d. ^{c)}	16.2	83.6
7j	10.2		
7k	105.2		
7l	122.0		
7m	39.1		
8a	101.3		
8b	6.1	77.8	97.4
12a	56.7		
12b	113.9		

a) Compounds without indication of (Z) are (E)-isomers. b) Fourteen potent compounds were further evaluated at concentrations of 1 μM and 10 nM. c) n.d.: no TXB₂ release was detected.

nMにおいて26.8%のTXB₂遊離抑制を示した。(E)-4b', f, (E)-7cもまた1 μMの濃度においてほぼ完全にTXB₂遊離を抑制したが、100 nMにおいては、(E)-4cには及ばなかった。この評価により、(E)-4, (E)-7はLTB₄依存性TXB₂遊離を抑制する

ことが確認されたが、5位置換体である化合物(E)-12において、阻害活性は認められなかった。⁴⁸⁾

次に、BLT₁, BLT₂受容体選択的阻害活性検討のため、BLT₁, BLT₂の単独過剰発現細胞であるCHO-hBLT₁(hBLT₁), CHO-hBLT₂(hBLT₂)を用いたLTB₄依存性カルシウム上昇反応に対する阻害活性の評価を行った。^{26,68)}始めに、10 μMの濃度において2位置換体((E)-4a, b', c, d, d', e, f, g, n', u, v, w, y, z, (Z)-4a, v), 7位置換体((E)-7a, c, d, g, i, j, n, (E)-8b), 5位置換体((E)-12c)を評価した(Table 3)。2位置換体である(E)-4a, b', d, d', e, f, g, v, yは、hBLT₁よりもhBLT₂のカルシウム遊離を強く抑制する傾向が確認され、hBLT₂において70%以上のカルシウム遊離抑制作用を示した。しかし、(Z)-4a, vは、カルシウム遊離抑制効果は認められなかった。一方、4位置換体である(E)-7cは、hBLT₁, hBLT₂両受容体に対して強いカルシウム遊離抑制作用を示した。

さらに、これらの受容体選択性と濃度依存性について検討するため、強い「阻害」活性が認められた(E)-4a, b', d, f, v, y, (E)-7cについて、1 nM—10 μMの濃度において阻害活性の評価を行った(Table 4)。(E)-2-(2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl)化合物((E)-4a, b', d, f, v, y)がhBLT₂選択的な阻害活性を示した。その中で最も強い阻害活性が認められた(E)-4vは、hBLT₁よりもhBLT₂を強く阻害し、hBLT₂においては陽性対照であるZK-158252よりも強いカルシウム遊離抑制作用を示した。一方、(E)-4-(2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl)化合物((E)-7c)はhBLT₁, hBLT₂両受容体に対して強いカルシウム遊離抑制作用が認められた(Fig. 7)。

2-Alkylcarbamoyl-1-methylvinyl基の構造と、阻害活性の関連について検討した。窒素上にモルホルノ基、ジエチル基を有する化合物は強い阻害活性を有し、これらの中で特に、7位に1-フェニルエトキシ、又は3-カルボキシプロポキシ基を有する化合物は、さらに阻害活性が向上する傾向が認められた。

さらに、hBLT₁, hBLT₂受容体選択性と2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl基の立体的な構造の関連について検討した。先に示したNOE相関結果より、(E)-4の2位の2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl基がbenzo[b]furanとほぼ同一平面に存在するの

Table 3. Inhibition of Calcium Mobilization in CHO-hBLT₁ and CHO-hBLT₂ Cell at 300 nM LTB₄

Compd ^{e)} (10 μM)	Inhibition (%)	
	CHO-hBLT ₁	CHO-hBLT ₂
4a	21.9	88.1
4b ^{a)}	35.8	71.7
4c ^{a)}	1.7	6.6
4d	41.3	89.3
4d'	16.5	71.8
4e	22.1	83.9
4f ^{a)}	24.1	72.1
4g	9.0	70.2
4n'	7.4	4.1
4u	7.0	34.6
4v	69.9	com. ^{b)}
4w	n.i. ^{c)}	5.0
4y	53.0	84.5
4z	8.6	53.6
(Z)-4a	9.2	34.4
(Z)-4v	8.4 ^{d)}	10.8 ^{d)}
7a	8.1	33.3
7c ^{a)}	92.6	92.8
7d	10.8	29.7
7g	8.4	21.0
7i	12.6	9.3
7j	20.9	53.8
7n	19.2	33.3
8b	5.7	4.4
12c	8.0	4.8
ZK158252 ^{a)}	92.3	92.7
ZK158252 ^{a)}	56.6	61.3

a) Concentration of LTB₄: 100 nM. b) Calcium mobilization was completely inhibited. c) Not inhibited. d) Concentration of (Z)-4v: 5 μM. e) Compounds without indication of (Z) are (E)-isomers.

Table 4. IC₅₀ for CHO-hBLT₁ and CHO-hBLT₂

Compd	IC ₅₀ (μM)	
	CHO-hBLT ₁	CHO-hBLT ₂
(E)-4a ^{a)}	—	4.84
(E)-4d ^{a)}	—	1.78
(E)-4y ^{a)}	>10 ⁻⁵	7.97
(E)-4v ^{a)}	2.88	0.68
ZK158252 ^{a)}	1.70	1.18
(E)-4b ^{b)}	>10 ⁻⁵	6.41
(E)-4f ^{b)}	>10 ⁻⁵	0.83
(E)-7c ^{b)}	0.42	0.48
ZK158252 ^{b)}	0.054	0.031

a) Stimulated by LTB₄ at 300 nM. b) Stimulated by LTB₄ at 100 nM.

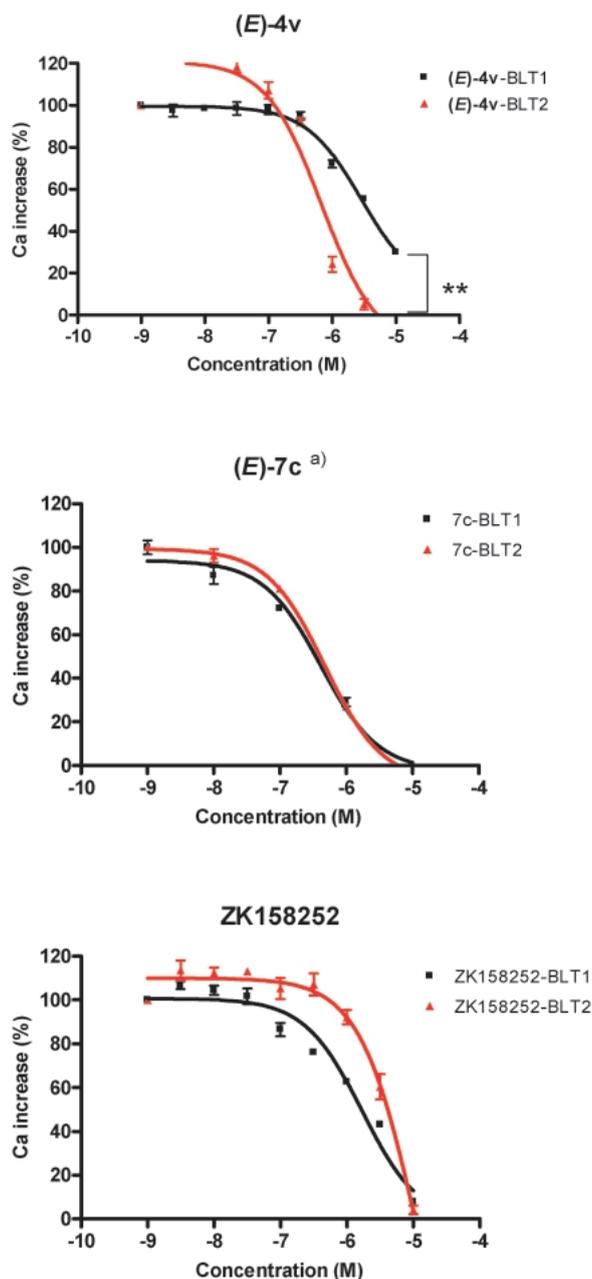


Fig. 7. Effect of (E)-4v, (E)-7c, ZK158252 on Calcium Mobilization by LTB₄ (300 nM) in CHO-hBLT₁ and CHO-hBLT₂ Cells (mean ± S.D., n=3, 4)

a) Stimulated by LTB₄ at 100 nM. **p<0.001 (two-way ANOVA).

に対して、(E)-7の4位の2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl基は、benzo[b]furan平面と約46°の角度に存在することが確認されている。2位置換体((E)-4)がhBLT₂を選択的に阻害するのに対して、4位置換体((E)-7)がhBLT₁, hBLT₂両受容体を阻害することから、2-alkylcarbamoyl-1-methylvinyl基の立体的な構造の違いが受容体の選択性に関与すると考えられる。置換位置に起因するコンフォメーショ

ンの変化が2種の受容体への異なった選択性を示したことは、創薬化学研究上興味深い結果である。

強い阻害活性を示した((*E*)-**4a**, **b'**, **d**, **f**, **v**, **y**, (*E*)-**7c**)は cysteinyl leukotriene 受容体について拮抗活性の評価⁶⁾を行ったが、拮抗活性は認められなかった。したがって、これら化合物は LTB₄ 受容体選択性に優れていると考えられる。さらに、これらの化合物のカルシウム遊離抑制活性が細胞毒性に起因するものではないことを確認するために、ATP 依存性カルシウム遊離に対する抑制効果を評価した。10 μM においては、カルシウム遊離抑制がわずかに認められたが、1 μM において抑制作用は認められなかった。したがって、細胞毒性に起因するカルシウム遊離抑制ではないことが確認された。

5. おわりに

LTB₄ 受容体拮抗活性を指向した benzo [*b*] furan 誘導体の合成を行い、強い LTB₄ 受容体阻害活性を有する化合物を見出した。さらに、これら合成化合物のコンフォメーションが、hBLT₁, hBLT₂ 受容体阻害活性の選択性と関連することが明らかとなった。最も強い阻害活性を示した (*E*)-**4v**, **-7c** は、それぞれ2位又は4位に同一の (*E*)-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) 基を持ち、両化合物ともに、7位に1-フェニルエトキシ基を有している。したがって、(*E*)-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) 基の置換位置の異なりに起因するコンフォメーションの差が hBLT₁, hBLT₂ 受容体選択的阻害活性に関与していると考えられることができる。(*E*)-(2-Diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) 基のコンフォメーションと hBLT₁, hBLT₂ 受容体選択的阻害活性の関係についてさらに検討するために、(*E*)-(2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl) 基のコンフォメーションが制御された新規な benzo [*b*] furan 誘導体を合成し、阻害活性の評価を進めている。

謝辞 本研究の遂行にあたりご指導とご鞭撻を賜りました武庫川女子大学薬学部大石義孝教授に心より感謝申し上げます。X線結晶解析を行っていただきました京都薬科大学太田俊作教授、山下正行助教授、LTB₄ 受容体阻害活性測定をご指導いただきました京都薬科大学河野茂勝教授、奈邊 健助教授、BLT₁, BLT₂ 受容体阻害活性を測定していただきました東京大学大学院医学系研究科横溝岳彦助教

授に感謝いたします。本研究は、主に武庫川女子大学薬学部薬化学I講座において行われたものであり、多大なご協力をいただきましたスタッフ、修了生、卒業生、在学生の方々に感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Ando K., Tsuji E., Ando Y., Kunitomo J., Yamashita M., Ohta S., Nabe T., Kohno S., Yokomizo T., Shimizu T., Ohishi Y., *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 3427-3431 (2004).
- 2) Ando K., Tsuji E., Ando Y., Kunitomo J., Kobayashi R., Yokomizo T., Shimizu T., Yamashita M., Ohta S., Nabe T., Kohno S., Ohishi Y., *Org. Biomol. Chem.*, **3**(11), 2129-2139 (2005).
- 3) Turner C. R., Breslow R., Conklyn M. J., Andresen C. J., Patterson D. K., Lopez-Anaya A., *J. Clin. Invest.*, **97**, 381-387 (1996).
- 4) Sharon P., Stenson W. F., *Gastroenterology*, **86**, 453-460 (1984).
- 5) Nakao A., Nasaka K., Ohishi N., Noiri E., Suzuki T., Taniguchi S., *Kidney Int.*, **63** (Suppl) S236-238 (1997).
- 6) Griffiths R. J., Pettipher E. R., Kock K., Farrell C. A., Breslow R., Conklyn M., *J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**, 517-521 (1995).
- 7) Gladue R. P., Carroll L. A., Milici A. J., Scampoli D. N., Stukenbrok H. A., Pettipher E. R., *J. Exp. Med.*, **183**, 1893-1898 (1996).
- 8) Yokomizo T., Kato K., Terawaki K., Izumi T., Shimizu T., *J. Exp. Med.*, **192**, 421-431 (2000).
- 9) Reiter L. A., Koch K., Piscopio A. D., Showell H. J., Alpert R., Biggers M. S., Chambers R. J., Conklyn M. J., Cooper K., Cortina S. R., Dibrino J. N., Dominy B. W., Farrell C. A., Hingorani G. P., Martinelli G. J., Ramchandani M., Wright K. F., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 1781-1786 (1998).
- 10) Koch K., Melvin Jr. L. S., Reiter L. A., Biggers M. S., Showell H. J., Griffiths R. J., Pettipher E. R., Cheng J. B., Milici A. J., Breslow R., *J. Med. Chem.*, **37**, 3197-3199 (1994).
- 11) Gapinski D. M., Mallett B. E., Froelich L. L., Jackson W. T., *J. Med. Chem.*, **33**, 2807-2813 (1999).
- 12) Jackson W. T., Boyd R. J., Froelich L. L., Gapinski D. M., Mallett B. E., Sawyer J. S.,

- J. Med. Chem.*, **36**, 1726–1734 (1993).
- 13) Herron D. K., Goodson T., Bollinger N. G., Swanson-Bean D., Wright I. G., Staten G. S., Thompson A. R., Froelich L. L., Jackson W. T., *J. Med. Chem.*, **35**, 1818–1828 (1992).
 - 14) Sawyer J. S., Bach N. J., Baker S. R., Baldwin R. F., Borromeo P. S., Cockerham S. L., Fleisch J. H., Floreancig P., Froelich L. L., Jackson W. T., *J. Med. Chem.*, **38**, 4411–4432 (1995).
 - 15) Kishikawa K., Nakao S., Matsumoto S., Kondo K., Hamanaka N., *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.*, **23**, 279–281 (1995).
 - 16) Kishikawa K., Tateishi N., Maruyama T., Seo R., Toda M., Miyamoto T., *Prostaglandins*, **44**, 261–275 (1992).
 - 17) Pallavi R. D., Abdelmadjid K. H., Mai P., Wolf-Dieter D. S., Bruce M. S., Walter W., *J. Biol. Chem.*, **274**, 23341–23348 (1999).
 - 18) Matousek M., Mitsube K., Mikuni M., Brannstrom M., *Mol. Hum. Reprod.*, **7**, 35–42 (2001).
 - 19) Poudrel J.-M., Hullot P., Vidal J.-P., Girard J.-P., Rossi J.-C., Muller A., Bonne C., Bezuglov V., Serkov I., Renard P., Pfeiffer B., *J. Med. Chem.*, **42**, 5289–5310 (1999).
 - 20) Birke F. W., Meade C. J., Anderskewitz R., Speck G. A., Jennewein H.-M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **297**, 458–466 (2002).
 - 21) Philip M., Scott S. J., Larry F. L., Larry M. L., Stephen S. M., *Biochem. Pharmacol.*, **49**, 1683–1690 (1995).
 - 22) Brink C., Dahlen S.-E., Evans J. F., Hay D. W. P., Nicosia S., Serhan C. N., Shimizu T., Yokomizo T., *Pharmacol. Rev.*, **55**, 195–227 (2003).
 - 23) Toba A., Yokomizo T., Shimizu T., *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, **68–69**, 575–585 (2002).
 - 24) Yokomizo T., Masuda K., Toda K., Izumi T., Shimizu T., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **161**, S51–55 (2000).
 - 25) Yokomizo T., Izumi T., Shimizu T., *Arch. Biochem. Biophys.*, **385**, 231–241 (2001).
 - 26) Yokomizo T., Kato K., Terawaki K., Izumi T., Shimizu T., *J. Exp. Med.*, **192**, 421–431 (2000).
 - 27) Aiello R. J., Bourassa P. A., Lindsey S., Weng W., Freeman A., Showell H. J., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **22**, 443–449 (2002).
 - 28) Mennander A., Tiisala S., Ustinov J., Räisänen A., Paavonen T., Häyry P., *Arterioscler. Thromb.*, **12**, 1380–1386 (1992).
 - 29) Takatsuka H., Takemoto Y., Yamada S., Wakae T., Mori A., Okada M., Iwata N., Okamoto T., *Drugs Exp. Clin. Res.*, **28**, 121–125 (2002).
 - 30) Tanaka M., Tamaki T., Konoeda Y., Uchida Y., Kaizu T., Kawamura A., *Transplant. Proc.*, **32**, 2340 (2000).
 - 31) Iversen L., Kragballe K., Ziboh V. A., *Skin Pharmacol.*, **10**, 169–177 (1997).
 - 32) Tong W.-G., Ding X.-Z., Hennig R., Witt R. C., Standop J., Pour P. M., Adrian T. E., *Clin. Cancer Res.*, **8**, 3232–3242 (2002).
 - 33) Yoo M.-H., Song H., Woo C.-H., Kim H., Kim J.-H., *Oncogene*, **23**, 9259–9268 (2004).
 - 34) Kurihara Y., Endo H., Akahoshi T., Kondo H., *Clin. Exp. Immunol.*, **123**, 323–330 (2001).
 - 35) Hashimoto A., Endo H., Hayashi I., Murakami Y., Kitasato H., Kono S., Matsui T., Tanaka S., Nishimura A., Urabe K., Itoman M., Kondo H., *J. Rheumatol.*, **30**, 1712–1718 (2003).
 - 36) Murakami Y., Akahoshi T., Hayashi I., Endo H., Hashimoto A., Kono S., Kondo H., Kawai S., Inoue M., Kitasato H., *Arthritis Rheum.*, **48**, 2931–2941 (2003).
 - 37) Alten R., Gromnica-Ihle E., Pohl C., Emmerich J., Steffgen J., Roscher R., Sigmund R., Schmolke B., Steinmann G., *Ann. Rheum. Dis.*, **63**, 170–176 (2004).
 - 38) Delorme D., Ducharme Y., Brideau C., Chan C.-C., Chauret N., Desmarais S., Dube D., Falgoutyret J.-P., Relean R., *J. Med. Chem.*, **39**, 3951–3970 (1996). (L 708780, naphthalene derivative with furan ring).
 - 39) Djuric S. W., Docter S. H., Yu S. S., Spangler D., Tsai B. S., Anglin C. P., Gaginella T. S., Kachur J. F., Keith R. H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **4**, 811–816 (1994). (SC-53228, benzopyran derivative).
 - 40) Djuric S. W., Collins P. W., Jones P. T., Shone R. L., Tsai B. S., Fretland D. J., Butchko G. M., Villani-Prince D., Keith R.

- H., *J. Med. Chem.*, **32**, 1145–1147 (1989). (SC 41939, benzopyran derivative).
- 41) Shoupe T. S., Coutts S. M., Baker D. C., Hand E. S., Can. Pat. Appl. (1991) 63pp. CPXXEB CA 2013960, AA 19910319, CAN 115: 158949, AN 1991: 558949. (PF 10042, dibenzofuran derivative).
- 42) Wright C. D., Kuipers P. J., Hoffman M. D., Thueson D. O., Conroy M. C., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **167**, 828–834 (1990). (CI 949, indole derivative).
- 43) Musser J. M., Chakraborty U. R., Sciortino S., Gordon R. J., Khandwala A., Neiss E. S., Pruss T. P., Inwegen R. V., Weinryb I., Coutts S. M., *J. Med. Chem.*, **30**, 96–104 (1997). (PF 5901, quinoline derivative).
- 44) Can C., Cinar M. G., Ulker S., Evinc A., Kosay S., *Eur. J. Pharmacol.*, **350**, 223–228 (1998). (MK 886, indole derivative).
- 45) Poudrel J. M., Hullot P., Vidal J. P., Girard J. P., Rossi J. C., Muller A., Bonne C., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**, 2349–2354 (1996).
- 46) Nakai H., Konno M., Kosuge S., Sakuyama S., Toda M., Arai Y., Obata T., Katsube N., Miyamoto T., Okegawa T., Kawasaki A., *J. Med. Chem.*, **31**, 84–91 (1988).
- 47) Tsuji E., Ando K., Kunitomo J., Yamashita M., Ohta S., Kohno S., Ohishi Y., *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 3139–3141 (2003).
- 48) Ando K., Tsuji E., Ando Y., Kuwata N., Kunitomo J., Yamashita M., Ohta S., Kohno S., Ohishi Y., *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 625–635 (2004).
- 49) Greenspan P. D., Main A. J., Bhagwat S. S., Barsky L. I., Doti R. A., Eagle A. R., Frey L. M., Zhou H., Lipson K. E., Chin M. H., Jackson R. H., Uziel-Fusi S., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 949–954 (1997).
- 50) Greenspan P. D., Fujimoto R. A., Marshall P. J., Raychaudhuri A., Lipson K. E., Zhou H., Doti R. A., Coppa D. V., Zhu L., Pelletier R., Uziel-Fusi S., Jackson R. H., Chin M. H., Kolyuk B. L., Fitt J. J., *J. Med. Chem.*, **42**, 164–172 (1999).
- 51) Boutagy J., Thomas R., *Chem. Rev.*, **74**, 87–99 (1974).
- 52) Matsuura N., Yashiki Y., Nakashima S., Maeda M., Sasaki S., *Heterocycles*, **51**, 975–978 (1999).
- 53) Geirsson J. K. F., Gudmundsson B. Ö., Sigurdardottir R., *Acta Chem. Scand.*, **47**, 1112–1116 (1993).
- 54) Watanabe M., Hisamatsu S., Hotokezaka H., Furukawa S., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2810–2820 (1986).
- 55) Sano S., *Yakugaku Zasshi*, **120**, 432–444 (2000).
- 56) Blanchette M. A., Choy W., Davis J. T., Esenfeld A. P., Masamune S., Roush W. R., Sakai T., *Tetrahedron Lett.*, **25**, 2183–2186 (1984).
- 57) Nets D. F., Seidel J. L., *Tetrahedron Lett.*, **33**, 1957–1958 (1992).
- 58) Ando K., *J. Org. Chem.*, **62**, 1934–1939 (1997).
- 59) Ando K., *Tetrahedron Lett.*, **36**, 4105–4108 (1995).
- 60) Still W. C., Gennari C., *Tetrahedron Lett.*, **24**, 4405–4408 (1983).
- 61) Heck F. R., “Organic Reactions, Vol. 27,” John Wiley & Sons Publishers, New York, 1982, pp. 345–390.
- 62) Ohishi Y., Mukai T., Nagahara M., Yajima M., Kajikawa N., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2393–2405 (1989).
- 63) Adams R., Miller M. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 53–57 (1940).
- 64) Mills W. H., Dazeley G. H., *J. Chem. Soc.*, 460–463 (1936).
- 65) Paizs C., Tosa M., Majdik C., Moldovan P., Novak L., Kolonits P., Marcovici A., Irimie F.-D., Poppe L., *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 1495–1501 (2000).
- 66) Bachelet J. P., Demerseman P., Royer R., Cavier R., Lemoine J., *Eur. J. Med. Chem.*, **17**, 323–325 (1982).
- 67) Nabe T., Yamamura H., Kohno S., *Jpn. J. Pharmacol.*, **70**, 337–345 (1996).
- 68) Yokomizo T., Izumi T., Chang K., Takuwa Y., Shimizu T., *Nature*, **387**, 620–624 (1997).
- 69) Nothacker H.-P., Wang Z., Zhu Y., Reinscheid R. K., Lin S. H. S., Civelli O., *Mol. Pharmacol.*, **58**, 1601–1608 (2000).