

薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
98 (8) 1101-1107 (1978)

UDC 547.589.4.04.09 : 615.218.3.011.5.015.11

Azulene 関連化合物の研究 (第 1 報) Guaiazulenylglyoxylamide, Guaiazulenylglyoxylic Acid Ester 類および Acylaminoguaiazulene 類の合成と抗アレルギー作用

浜島 良, 岩野勝行, 奥田博久
東洋製薬化成株式会社研究所¹⁾

Studies on the Compounds related to Azulene. I. Synthesis and Antiallergic Activity of Guaiazulenylglyoxylamides, Guaiazulenylglyoxylic Acid Esters and Acylaminoguaiazulenes

RYO HAMAJIMA, KATSUYUKI IWANO and HIROHISA OKUDA
Research Laboratories, Toyo Pharmaceutical Co., Ltd.¹⁾

(Received August 2, 1977)

A new series of guaiazulenylglyoxylamides, guaiazulenylglyoxylic acid esters, guaiazulenylglyoxylpiperazines, and acylaminoguaiazulenes was prepared, and their antiallergic activity was evaluated by passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test in the rat.

Guaiazulenylglyoxalyl chloride derived from guaiazulene using oxalyl chloride was converted into glyoxylamides (1), glyoxylic acid esters (2), and glyoxylpiperazines (3) with appropriate amine, alcohol, or piperazine, respectively. Acylaminoguaiazulenes (5) were prepared from 3-aminoguaiazulene with the corresponding acid anhydride or acid chloride.

Many of guaiazulenylglyoxylpiperazines (3), particularly some of them (3a, 3b, 3c, 3f and 3g) showed a high antiallergic activity by oral administration, but none of the other types of compound showed a significant activity.

Keywords—azulene derivatives; guaiazulenylglyoxylamides; guaiazulenylglyoxylic acid esters; guaiazulenylglyoxylpiperazines; acylaminoguaiazulenes; antiallergic activity; PCA test

カミツレ (*Matricaria Chamomilla* L.) はヨーロッパにおいて古くから喘息, 湿疹, 枯草熱等の治療に民間薬として繁用されてきたが, その有効成分は azulene 化合物の chamazulene であることが知られている。²⁾ またこの chamazulene および guaiazulene は臨床的にも喘息,^{3), 4), 5)} 薬物アレルギー,⁴⁾ リュウマチ⁵⁾ 等のアレルギー性疾患に治療効果を示す報告がある。さらに山崎らはラットの受動性皮膚過敏反応 (PCA 反応) と抗原添加による感作モルモット肺細切組織からのヒスタミン遊離を guaiazulene が抑制することを報告している。⁶⁾ 著者らは azulene の上記のような抗アレルギー作用に興味をもち azulene 関連化合物, 主に guaiazulenylglyoxylamide, guaiazulenylglyoxylic acid ester 類および acylaminoguaiazulene 類を合成し, その作用をラット PCA 反応により検討した結果, 経口投与にて guailazulene より強力な作用を有する化合物を見出した。以下その結果につき報告する。

Guaiazulene は C-3 位が吸電子置換反応を非常に受けやすく, oxalyl chloride とはルイス酸の存在なしに低

1) Location: 2-5-4 Tsurumi, Tsurumi-ku, Osaka.

2) G. Pommer, *Arch. Exp. Path. Pharmac.*, **199**, 74 (1942).

3) S. Blazzó, *Schweiz. Med. Wschr.*, **79**, 222 (1949); *idem ibid.*, **81**, 110 (1951).

4) H. Tuzcek, *Med. Klin.*, **48**, 1744 (1953).

5) F. Vida, *Med. Klin.*, **48**, 1288 (1953).

6) 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 孝, 日薬理誌, **54**, 362 (1958).

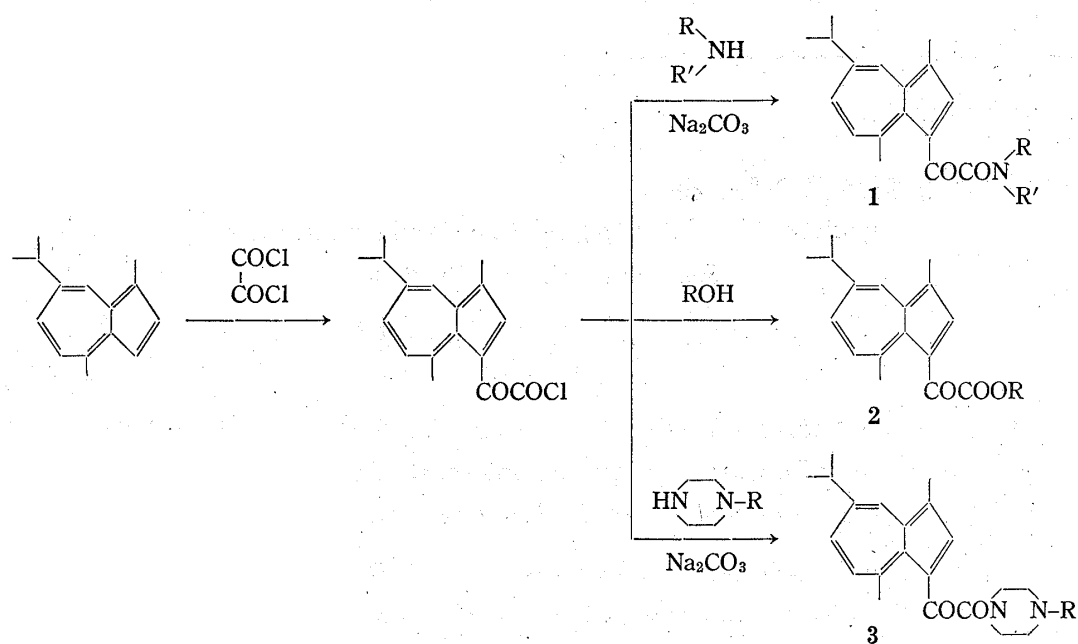
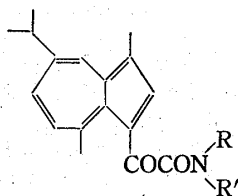


TABLE I. Glyoxylamide Derivatives of Guaiazulene



Com- pound.	R	R'	mp (°C)	Yield (%)	Formula	Analysis (%)		
						Calcd. (Found)	C	H
1a	H		142—143	82	C ₂₅ H ₂₇ NO ₃	77.09 (76.97)	6.99 6.93	3.60 3.49
1b	H		149—149.5	93	C ₂₅ H ₂₅ NO ₄	73.63 (73.90)	6.44 6.24	3.58 3.31
1c	H	CH ₂ CH ₂ N(CH ₂ CH ₃) ₂ ·HCl	165—167 (dec.)	60	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₂ ·HCl	68.21 (67.97)	8.21 8.35	6.92 6.97
1d	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂ ·HCl	121—123 (dec.)	63	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₂ ·HCl	67.59 (67.65)	7.99 7.91	7.17 7.00
1e			200—201	57	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₂	74.97 (75.17)	6.29 6.56	8.74 8.46
1f			101—102	78	C ₂₁ H ₂₅ NO ₃	74.31 (74.29)	7.42 7.38	4.13 4.33

温でアシル化を受け、3-guaiazulenylglyoxalyl chloride となる。⁷⁾ この化合物を Chart 1 に示すように、対応する amine, alcohol, piperazine と縮合させ、glyoxylamide (1), glyoxylic acid ester (2), glyoxylpiperazine (3) とした。

7) W. Treibs, *Chem. Ber.*, **92**, 2152 (1959); D.H. Reid, W.H. Stafford, W.L. Stafford, *J. Chem. Soc.*, **1958** 1118.

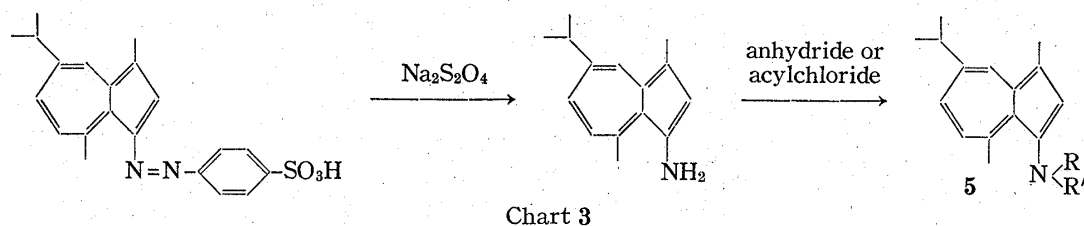
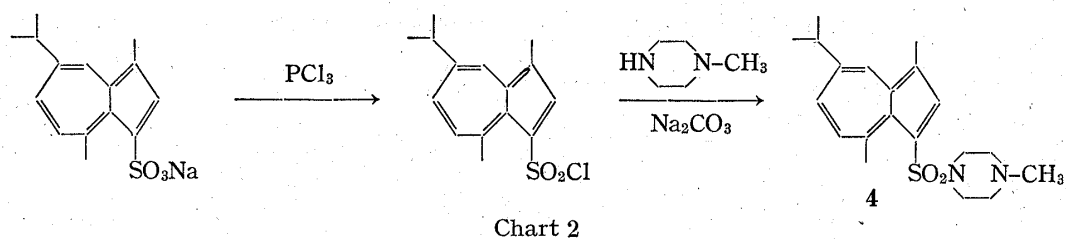


TABLE II. Glyoxylic Acid Ester Derivatives of Guaiazulene

COCOOR

Compound	R	mp (°C)	Yield (%)	Formula	Analysis (%)		
					Calcd. (Found)		
					C	H	N
2a		68—69	78	C ₂₂ H ₂₁ NO ₃	76.06 (76.09)	6.09 (6.10)	4.03 (4.00)
2b	· HCl	179—181 (dec.)	82	C ₂₃ H ₂₉ NO ₃ · HCl	68.39 (68.51)	7.49 (7.22)	3.47 (3.48)
2c	· HCl	160—162 (dec.)	86	C ₂₃ H ₃₁ NO ₃ · HCl	68.05 (68.31)	7.95 (7.88)	3.45 (3.41)
2d	· HCl	171—173 (dec.)	89	C ₂₄ H ₃₁ NO ₃ · HCl	68.97 (69.19)	7.72 (7.80)	3.35 (3.22)
2e	· HCl	87—91 (dec.)	93	C ₂₃ H ₂₉ NO ₄ · HCl	65.78 (65.90)	7.20 (7.21)	3.34 (3.39)

同じく piperazine 誘導体である 4-(3-guaiazulenylsulfonyl) 1-methyl-piperazine (4) は sodium guaiazulene-3-sulfonate を三塩化リンで sulfonyl chloride⁸⁾ とし, 1-methyl-piperazine と縮合させて得た。

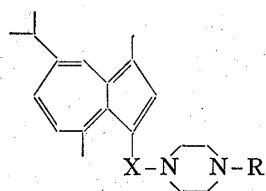
Acylamide 類 (5) は 3-(*p*-sulfophenyl azo) guaiazulene⁸⁾ を sodium hydrosulfite で還元を行ない, 3-amino-guaiazulene とし, これを単離することなく酸無水物あるいは酸クロライドと反応させて得た。イミド化合物 (5g) は酸無水物を 3-aminoguaiazulene と反応させ, さらに加熱により, 分子内脱水させて得た。

スクリーニング結果と考察

Table V のスクリーニングの結果から, glyoxyamide 類 (1a—1f) および glyoxylic acid ester 類 (2a—2e) は guaiazulene に比して作用は弱い。

8) W. Treibs, W. Schroth, *Ann. Chem.*, **586**, 202 (1954).

TABLE III. Glyoxylpiperazine Derivatives of Guaiazulene



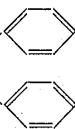
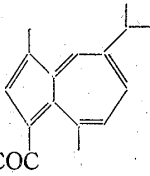
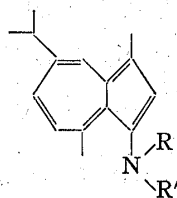
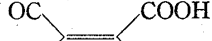
Com- pound	X	R	mp (°C)	Yield (%)	Formula	Analysis (%)		
						Calcd. (Found)		
						C	H	N
3a	COCO	H	128—132 (dec.)	30	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₂ ·HCl	67.28 (67.14)	7.26 (7.29)	7.47 (7.39)
3b	COCO	CH ₃	100—103 (dec.)	62	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₂ ·HCl	67.94 (67.73)	7.52 (7.48)	7.20 (7.33)
3c	COCO	CH ₂ CH ₃	81—84 (dec.)	80	C ₂₃ H ₃₀ N ₂ O ₂ ·HCl	68.56 (68.29)	7.75 (7.88)	6.95 (6.91)
3d	COCO	CH ₂ CH ₂ CH ₃	99—100 (dec.)	63	C ₂₄ H ₃₂ N ₂ O ₂ ·HCl	69.13 (68.91)	7.98 (7.98)	6.72 (6.43)
3e	COCO	CH ₂ CH ₂ OH	86—89 (dec.)	32	C ₂₃ H ₃₀ N ₂ O ₃ ·HCl	65.94 (66.21)	7.46 (7.20)	6.69 (6.50)
3f	COCO	CH ₂ COOH	193—195 (dec.)	77	C ₂₃ H ₂₈ N ₂ O ₄	69.67 (69.36)	7.12 (6.98)	7.07 (7.35)
3g	COCO	CH ₂ - 	90—92 (dec.)	45	C ₂₈ H ₃₂ N ₂ O ₂ ·HCl	72.32 (72.51)	7.15 (7.24)	6.02 (5.90)
3h	COCO	CH- 	167—168	46	C ₃₄ H ₃₆ N ₂ O ₂	80.92 (81.14)	7.19 (7.11)	5.55 (5.39)
3i	COCO		283—284	63	C ₃₈ H ₄₂ N ₂ O ₄	77.26 (77.55)	7.17 (6.92)	4.74 (4.47)
4	SO ₂	CH ₃	170—171	58	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₂ S·CH ₃ SO ₃ H	55.24 (55.42)	7.06 (7.00)	6.13 (5.98)

TABLE IV. Acyl Amide Derivatives of Guaiazulene



Com- pound	R	R'	mp (°C)	Yield (%)	Formula	Analysis (%)		
						Calcd. (Found)		
						C	H	N
5a	H	COCH ₃	163—164	80	C ₁₇ H ₂₁ NO	79.96 (79.85)	8.29 (8.27)	5.49 (5.46)
5b	H		182—184 (dec.)	82	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	73.29 (73.33)	6.80 (6.63)	4.50 (4.57)

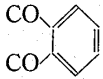
5c	H	COCH ₂ CH ₂ COOH	170—171	63	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	72.82 (73.02)	7.40 (7.13)	4.47 (4.21)
5d	H	CO-  -Cl	244.5—245	61	C ₂₂ H ₂₂ NOCl	75.10 (74.91)	6.30 (6.42)	3.98 (3.83)
5e	H	CO-  ·HCl	216—218	63	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O·HCl	71.08 (71.18)	6.53 (6.55)	7.89 (7.67)
5f	H	CO-  HOOC- 	Change to 5g by heating	63	C ₂₃ H ₂₃ NO ₃	76.43 (76.66)	6.41 (6.42)	3.88 (3.67)
5g			218—219	84	C ₂₃ H ₂₁ NO ₂	80.44 (80.48)	6.16 (6.15)	4.08 (3.96)

TABLE V. Effect of Examined Compounds on PCA in Rats

Compound	Route			Inhibition (%)
	<i>i.p.</i> dose (mg/kg)	Inhibition (%)	<i>p.o.</i> dose (mg/kg)	
guaiazulene			300	29.4
1a	100	7.2		
1b	100	—		
1c			300	—
1d			300	15.2
1e			500	7.3
1f			300	15.4
2a			300	14.1
2b			300	5.9
2c			300	—
2d			300	19.4
2e			300	—
3a			300	37.4
3b	20	52.6	300	51.6
	40	62.0		
3c			300	47.6
3d			300	20.3
3e			300	14.2
3f			300	33.3
3g	50	47.2	300	37.4
3h	50	9.5	300	—
3i	100	—		
4			300	22.0
5a	100	22.5		
5b	100	19.1		
5c	100	45.2	500	—
5d	100	35.1		
5e	100	15.3	500	37.7
5f	100	35.0	500	7.7
5g	100	6.5		

Piperazine 類 (3a—3i) においては, 1 位 N- 置換基が methyl 基 (3b) の化合物が最も強い作用を示し, 置換基が大きくなるにつれて作用は, 3f (carboxymethyl 基), 3g (benzyl 基) を除き, 3c (ethyl 基), 3d (propyl 基), 3e (β-hydroxyethyl 基), 3h (diphenylmethyl 基), 3i (3-guaiazulenylglyoxyl 基) の順に減弱する. 3f は物性的に塩酸塩としてではなく, 分子内塩となっている点で, 他の piperazine 類と少し異なっている. 3a, 3b,

3c, 3f, 3g は経口投与において, guaiazulene より強い作用を示した. 4 は 3b の oxalyl (COCO) が sulfone (SO₂) に交換された構造を有するが, 作用は 3b の 1/2 以下である. また化合物 3a のアシル化を受けていない N 原子が O 原子に等価変換された構造を有する 1f の作用も 3a の 1/2 以下に減弱する. Piperazine 類の piperazine 環部を直鎖状にかえた化合物に相当する 1c は, 作用を認めない. 以上の点から, PCA 反応抑制作用には oxalyl および piperazine 環構造が重要な役割を演じているものと推察される.

Acylamide 類 (5a—5g) では guaiazulene よりも作用が弱く, carboxyl 基, amino 基の導入によっても作用の増強がみられない.

実験の部⁹⁾

3-Guaiazulenylglyoxalyl Chloride⁷⁾ Guaiazulene 3.3 g を無水エーテル 30 ml に溶解せしめ, 氷冷攪拌下, oxalyl chloride 3 ml を 0° 以下で滴下する. 滴下後さらに 10 min 攪拌を続け, 濃赤色 3-guaiazulenylglyoxalyl chloride⁷⁾ のエーテル溶液を得る. 得られた酸クロライドは不安定な化合物であるため, 以下の実験にはエーテル溶液の状態で使用した.

3-Guaiazulenylglyoxalylamide 類 (1), (3-Guaiazulenylglyoxalyl) piperazine 類 (3) の一般的製法 Guaiazulene 3.3 g (0.017 mol) より得られる 3-guaiazulenylglyoxalyl chloride のエーテル溶液を, 対応する amine あるいは piperazine (0.03 mol), 粉末 Na₂CO₃ 3.9 g, DMF 45 ml 混液中に, 5° 以下冷却攪拌下, 滴下する. ついで室温にもどし, さらに 2.5 hr 攪拌ののち, 反応液を氷水中に注加, ベンゼンにて抽出する. 中性化合物 1a, 1b, 1e, 1f, 3h では, ベンゼン層を d-HCl にて洗浄, 水洗, 無水 Na₂SO₄ にて乾燥後, 溶媒留去, 残渣を再結晶, 1a (ベンゼン-メタノールより黒色ブリズム晶), 1b (アセトン-メタノールより黒褐色針状晶), 1e (ベンゼンより褐色結晶性粉末), 1f (イソプロピルエーテルより黒褐色針状晶), 3h (ベンゼン-*n*-ヘキサンより褐色針状晶). 塩基性化合物 1c, 1d, 3b, 3c, 3d の場合は, ベンゼン層を d-HCl にて逆抽出後, クロロホルムにより塩酸塩の状態で抽出, 無水 Na₂SO₄ にて乾燥, 溶媒留去, 残渣をシクロヘキサンにて洗浄, 1c (アセトンより褐色針状晶) は再結晶にて, 1d, 3b, 3c, 3d はカラムクロマトグラフィー (シリカゲル/クロロホルム:メタノール=9:1) にて精製する.

3a の場合は多量の bis 体 3i 生成を伴うので, これを避けるため, piperazine 0.093 mol を使用し, 反応温度は 0° 以下とする. 両化合物の分離は反応液を氷水中に注加, d-HCl にて強酸性とし, 析出する 3i をろ取, d-HCl, 水, メタノールで洗浄する. ベンゼンより再結晶, 褐色針状晶 (3i) を得る. ろ液をエーテルにて洗浄, Na₂CO₃ で塩基性とし, エーテル抽出, 抽出液を飽和食塩水で洗浄, d-HCl で逆抽出, クロロホルムにより化合物を塩酸塩の状態で抽出, 無水 Na₂SO₄ にて乾燥, 溶媒留去, 残渣をベンゼンにて洗浄し, カラムクロマトグラフィー (シリカゲル/クロロホルム:メタノール=9:1) にて精製, 褐色結晶性粉末 (3a) を得る.

3e ではエステル体の副生を避けるため, 溶媒に DMF 25 ml, 水 20 ml 混液を使用し, 反応温度を 2° 以下とする. 他は 1d と同様に操作する.

3g では, ベンゼン抽出液を無水 Na₂SO₄ にて乾燥, HCl ガスを導入し, 溶媒留去, 残渣を *n*-ヘキサンにて洗浄, カラムクロマトグラフィー (シリカゲル/クロロホルム:酢酸エチル=2:1) にて精製する.

1-Carboxymethyl-4-(3-guaiazulenylglyoxalyl)piperazine (3f) 化合物 1, 3 の一般的製法にしたがい 3f の ethyl ester 体を得る. この褐色結晶粉末を NaOH 1 g, メタノール 20 ml, 水 40 ml 混液中に加え, 室温 3 hr 攪拌してのち, 反応液をベンゼンにて洗浄, d-HCl で中和, pH 7 とする. クロロホルム抽出し, 無水 Na₂SO₄ で乾燥, 溶媒留去, 残渣をシクロヘキサンにて洗浄, ベンゼンより再結晶, 褐色結晶性粉末 (3f) を得る. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1620 (COCON, COO⁻).

4-(3-Guaiazulenylsulfonyl) 1-methyl-piperazine Methanesulfonate (4) Sodium guaiazulene-3-sulfonate 2.4 g (0.008 mol) を乾燥ピリジン 28 ml に溶解せしめ, 氷冷攪拌下三塩化リン 10 ml を滴下する. 油浴温度 55° にて 2 min 加熱, 反応液をエーテル 700 ml, 氷水 700 ml に注加, エーテル層を分離, 水洗, 無水 Na₂SO₄ にて乾燥, ろ過, ろ液に粉末 Na₂CO₃ 2 g を加え, さらに室温攪拌下, 1-methyl-piperazine 1.5 g (0.01 mol) を加え, 2 hr 攪拌を続ける. 反応液を水洗, 無水 Na₂SO₄ にて乾燥, 溶媒留去, 残渣に水, ベンゼンを加え methanesulfonic acid 0.8 g を加える. 水層を分離, ベンゼンにて洗浄, クロロホルムによりメタンスルホン酸塩として化合物を抽出, 無水 Na₂SO₄ にて乾燥, 溶媒留去, 減圧乾燥. 赤紫色結晶性粉末を得る. カラムクロマトグラフィー (シリカゲル/酢酸エチル:メタノール=2:1) にて精製, 元素分析試料とする. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2700—2400 (-NH⁺), 1365, 1140 (SO₂).

3-Guaiazulenylglyoxylic Acid Ester 類 (2) の一般的製法 Guaiazulene 3.3 g (0.017 mol) より得られる 3-guaiazulenylglyoxalyl chloride のエーテル溶液中に, 2° 以下冷却攪拌下, 対応する alcohol (0.065 mol), DMF 45 ml 混合液を滴下する. 滴下後室温にて 1 hr 攪拌を続け, 氷水中に注加, Na₂CO₃ を加え強塩基性となし, ベ

9) 融点はすべて未補正. IR スペクトルは日立 285 赤外分光光度計を用いて測定した. 収率, 融点等は Table I—IV を参照.

ンゼン抽出, 水洗, ベンゼン抽出液を d-HCl にて逆抽出, クロロホルムにより塩酸塩の状態抽出, 無水 Na_2SO_4 にて乾燥, 溶媒留去, 残渣をシクロヘキサンにて洗浄, カラムクロマトグラフィー (シリカゲル/クロロホルム: メタノール=15:1) にて精製する.

2a では, ベンゼン抽出液を溶媒留去し, 残渣をベンゼン-シクロヘキサンより再結晶, 黒褐色針状晶 (**2a**) を得る.

3-Aminoguaiazulene 3-(*p*-Sulphophenyl azo) guaiazulene⁸⁾ 10 g (0.026 mol) を水 250 ml, ジクロロメタン 100 ml 中に加え, 室温攪拌下, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 25 g を少しずつ加え, 攪拌を 5 min 続けた後, ジクロロメタン層を分離, 無水 Na_2SO_4 にて乾燥, 青緑色 3-aminoguaiazulene のジクロロメタン溶液を得る. 化合物は酸化分解を非常に受けやすいため, ジクロロメタン溶液で以下の実験に使用する.

3-Acylaminoguaiazulene 類 (5) の一般的製法 3-(*p*-Sulphophenyl azo) guaiazulene 10 g (0.026 mol) より得られる 3-aminoguaiazulene のジクロロメタン溶液中に, 攪拌下対応する酸無水物あるいは酸クロライド (0.052 mol), 乾燥ピリジン 30 ml を加え, 室温にて 2 hr 攪拌を続ける. 減圧にて反応液を濃縮, 水, *n*-ヘキサンを加えて析出する結晶をろ取, 水洗, *n*-ヘキサンにて洗浄, 残渣を再結晶, **5a** (ベンゼン-*n*-ヘキサンより青緑色針状晶), **5b** (アセトン-ベンゼンより黒褐色針状晶), **5c** (アセトン-ベンゼンより青緑色針状晶), **5d** (アセトンより青紫色針状晶), **5f** (アセトン-ベンゼンより青緑色針状晶).

5e は塩酸塩ではなく, 3-nicotinoylaminoguaiazulene (mp 142—144° の緑色結晶) として得られ, これを乾燥ベンゼン中 HCl ガスを導入し, 析出する結晶をろ取, アセトン-メタノールより再結晶, 青緑色針状晶 (**5e**) を得る.

5g は phthalic anhydride, 乾燥ピリジン 100 ml を加え, 加熱還流 3 hr 後, 減圧にて溶媒留去, 残渣を水洗, メタノール洗浄, アセトン-メタノールより再結晶, 黒紫色針状晶 (**5g**) を得る.

PCA 反応 体重 250 g 前後の Wistar 系雄性ラット (1 群 5 匹) を用い, 検体は水に可溶性化合物は生理食塩水に溶解させ, 水に不溶性化合物は 0.5% CMC-生理食塩水に懸濁させて, それぞれ投与した.

PCA 反応は山崎ら⁶⁾ の方法に準じておこなった. 40 倍に希釈した抗卵白アルブミン家兎血清 0.1 ml を腹部皮内に注射し, 3 hr 後卵白アルブミン 20 mg, Evans blue 5 mg を生理食塩水 1 ml に溶解した液をラット尾静脈より注入し, 30 min 後, 放血致死せしめ, 皮膚内部の色素着色部位面積を測定した. 検体は腹腔, 経口投与ともに, 抗原注入 4 hr 前に投与し, 抑制率は下記の式で計算した.

$$\text{PCA 反応抑制率} = \left(1 - \frac{\text{検体投与群着色部面積}}{\text{対照群着色部面積}} \right) \times 100$$