(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2006-335738
(P2006-335738A)
(43)公開日　平成18年12月14日(2006.12.14)

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
C07F 9/572 (2006.01)	C07F 9/572 CSPZ	4H050

審査請求 未請求　請求項の数 1　OL　（全 11 頁）

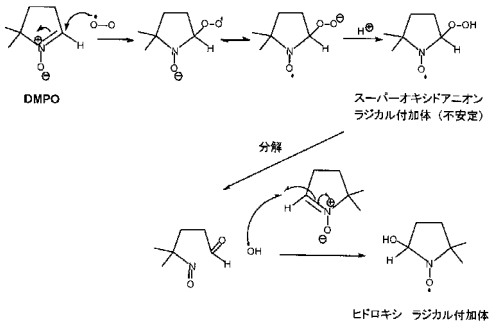
(21)出願番号　特願2005-164972 (P2005-164972)
(22)出願日　平成17年6月6日 (2005.6.6)

(71)出願人　598015084
学校法人福岡大学
福岡県福岡市城南区七隈８丁目１９番１号
(72)発明者　大熊　健太郎
福岡県福岡市早良区野芥５丁目３３番１号
(72)発明者　塩路　幸正
福岡県福岡市城南区片江３丁目１７番２０号

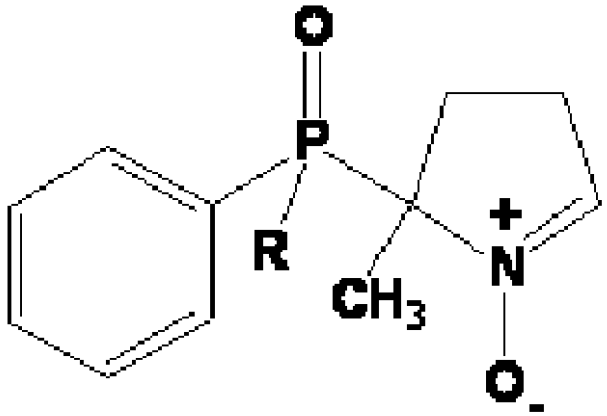
Ｆターム(参考)　4H050 AA01　AA03　AB91

(54)【発明の名称】ホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤

(57)【要約】
【課題】従来の市販スピントラップ剤であるＤＭＰＯはスペクトルは単純で解析しやすいものの特にスーパーオキシドアニオンラジカルの捕捉が充分ではなかった。
【解決手段】本特許の試薬は特にスーパーオキシドアニオンラジカルの捕捉に威力を発揮する。この試薬により有機溶媒でも測定ができ，従来水溶液でしか測定できなかったために充分に抗酸化作用が測定できなかった脂溶性物質でも測定が可能となった。また，室温で安定に保存できるために試薬の取り扱いが飛躍的に簡単になった。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ピロールＮ－オキシド化合物は、ＤＭＰＯが液体であるのに対して本スピントラップ剤は、結晶の固体を特徴とするホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤、一般化学式は化１で表される。
【化１】



【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、活性酸素種と安定な付加体を生成する電子スピン共鳴測定用のスピン捕捉剤に関するものである。
【背景技術】
【０００２】
体内に酸素を取り込んでエネルギーを燃焼させると、必ず活性酸素が発生することはよく知られている。
【０００３】
また、この活性酸素は細胞膜を傷つけて組織を破壊し、細胞核中のＤＮＡに損傷を与え種々の病気を引き起こすことが知られている。
【０００４】
スーパーオキシドアニオンラジカルは、酸素が一電子還元されることにより発生する活性酸素で、このラジカルの消去能の測定は一般に活性酸素消去能（抗酸化活性）の目安とされる。スーパーオキシドアニオンラジカルは、生体のあらゆる部分から大量に発生する。

【０００５】
私たちの体を構成している約６０兆個の細胞は、酸素と糖によりエネルギーを生み出すが、このエネルギー代謝の過程から、スーパーオキシドアニオンラジカルが発生する。
【０００６】
呼吸によって取り込んだ酸素の約２％がスーパーオキシドアニオンラジカルに変化するともいわれる。生体内には特に強いスーパーオキシドアニオンラジカル消去能を持つ酵素スーパーオキシドジスムターゼ（ＳＯＤ）があり、一般的なスーパーオキシドアニオンラジカル消去物質の能力は、このＳＯＤの能力と比較し換算される。
【０００７】
したがって、スーパーオキシドアニオンラジカル消去能は、ＳＯＤ活性と言われ、単位も酵素単位であるＵＮＩＴ／ｍｌ（ｍｇ）などの単位で表わされる。

【０００８】
スーパーオキシドアニオンラジカルは生体内に存在する種々の病気の原因となるラジカルで、炎症や貧血などに加え、ガンや老化などのＤＮＡ損傷に大きな役割を果たしているといわれている。
【０００９】
有酸素運動であるマラソンなどのトレーニングでも活性酸素が生成し、細胞膜を傷つけて筋肉疲労や炎症を引き起こす原因となっている。傷つけられた細胞からエネルギー生成に必要な酵素が流出し、エネルギー代謝が阻害されたり血中に疲労物質がたまり筋機能の低下を引き起こす。つまり筋肉細胞の破壊や筋機能の低下などの原因となっている活性酸素を抑制すれば筋肉疲労や炎症は予防できる。この活性酸素を抑制する抗酸化物質はポリフェノールやビタミンＣ、Ｅ、β－カロチンなどがある。
【００１０】
スピントラップ法は、生体内の活性酸素の電子スピン共鳴（ＥＳＲ）測定に広く利用されている（Ｏｘｉｄａｔｉｖｅ Ｓｔｒｅｓｓ，Ｈ．Ｓｉｅｓ，ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｌｏｎｄｏｎ，１９８５；Ｂ．Ｈａｌｌｉｗｅｌｌ ａｎｄ Ｊ．Ｍ．Ｃ．Ｇｕｔｔｅｒｉｄｇｅ，Ｆｒｅｅ Ｒａｄｉｃａｌｓ ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，Ｃｌａｒｅｎｄｏｎ ＰＲＥＳＳ，Ｏｘｆｏｒｄ，２ｎｄ ｅｄｎ．，１９８９．）。
【００１１】
スーパーオキシドアニオンラジカルを捕らえるスピントラップ剤として最も良く用いられるのがＤＭＰＯ（５，５－ジメチル－１－ピロリン Ｎ－オキシド）で、スーパーオキシドアニオンラジカルおよびヒドロキシラジカルを捕捉する化合物としてよく用いられる（Ｅ．Ｇ．Ｊａｎｚｅｎ，ａｎｄ Ｊ．Ｉ．－Ｐ．Ｌｉｕ，Ｊ．Ｍａｇｎ．Ｒｅｓｏｎ．，１９７３，９，５１０；Ｅ．Ｇ．Ｊａｎｚｅｎ，ａｎｄ Ｄ．Ｌ．Ｈａｉｒｅ ｉｎ Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｆｒｅｅ Ｒａｄｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ＪＡＩ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，１９９０，２５３．）。
【００１２】
ポリフェノールやビタミンＣ、Ｅ、βカロチンなどの抗酸化物質を含む食品のスーパーオキシドアニオンラジカル消去活性を調べるのにも用いられる。
【００１３】
しかしながら、ＤＭＰＯはスーパーオキシドアニオンラジカルを捕らえるものの、その付加体の寿命が短く（半減期は５０秒ほど）、ヒドロキシラジカルを捕捉したスペクトルに変化する（Ｅ．Ｆｉｎｋｅｌｓｔｅｉｎ，Ｇ．Ｍ．Ｒｏｓｅｎ，ａｎｄ Ｅ．Ｊ．Ｒａｕｃｋｍａｎ，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１９８０，１０２，４９９４．）。
【００１４】
また、スペクトルの解析が難しく、熟練者でないと解析ができないという欠点がある。さらに、水溶性のものでないと測定できないため、ベーターカロテン、ビタミンＥなどの多くの抗酸化物質の測定も困難である。
【００１５】
従って、脂溶性の物質も測定可能な試薬の開発が強く望まれている。
【００１６】
またＤＭＰＯはスーパーオキシドアニオンラジカルのみならずヒドロキシラジカルをも捕捉するのでスペクトルが時間を追うごとに複雑になり解析が難しくなる。
【００１７】
もし、スーパーオキシドアニオンラジカルのみを捕捉し、得られる付加体の寿命の長い捕捉剤を作ることができればこの難点を一気に解決できる。
【００１８】
そのために多くの研究者がこれまでに新規スピントラップ剤の開発をしてきたが、実用化にいたった化合物は存在しない（Ｙ．－Ｋ．Ｘｕ，ｅｔａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００２，６７，７６２４；Ｈ．Ｋａｒｏｕｉ，ｅｔａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅ

ｍ．，１９９９，６４，１４７１；Ｅ．Ｇ．Ｊａｎｚｅｎ，ａｎｄＹ．－Ｋ．Ｚｈａｎｇ，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，１９９５，６０，５４４１；Ｖ．Ｒｏｕｂａｕｄ，ｅｔａｌ．，Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，Ｐｅｒｋｉｎ　Ｔｒａｎｓ．，１９９７，２，１８２７）。
本発明では従来のリン化合物の合成と反応性に関する研究により、これらの問題を解決する新規スピントラップ剤を開発した。
【特許文献１】特開２０００－１２８８９３号公報
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【００１９】
従来のスピントラップ剤であるＤＭＰＯは、幅広い分野で利用されており、スーパーオキシドアニオンラジカルとのスピンアダクト（付加体）およびヒドロキシラジカルのスピンアダクトはそれぞれ特徴的なスペクトルを与える。
【００２０】
しかしながら、図１によれば、スーパーオキシドアニオンラジカルのスピンアダクトは不安定で、わずかの半減期でヒドロキシラジカルのスピンアダクトに変化する。
【００２１】
この不安定性のためＤＭＰＯの用途は著しく制限されており、スーパーオキシドアニオンラジカルと安定なスピンアダクトを形成するスピントラップ剤が必要とされている。
【００２２】
また、ＤＭＰＯを含め従来のスピントラップ剤は全て液体であり、ＤＭＳＯ等に溶解した一定濃度の溶液として製品流通していた。このため製品の劣化が著しく、固体の試薬が望まれている。
【課題を解決するための手段】
【００２３】
本発明は、上記目的を達成するため、請求項１記載の発明は、ピロールＮ－オキシド化合物は、ＤＭＰＯが液体であるのに対して本スピントラップ剤は、結晶の固体を特徴とする。
【００２４】
ＤＭＰＯは不安定でかつ液体なので冷蔵庫あるいは冷凍庫で保存しなければならない。アンプルを開けたらできるだけ早く使用しなければならないなど不便な点が多い。
【００２５】
これに対し、本スピントラップ剤は結晶性の固体であり、常温でそのまま保存しても安定である。　従って、特に保存に注意する必要はなく、測定の度に試料を秤量して残りはそのままで良い。
【００２６】
液体と異なり酸素との接触面積がきわめて小さいために安定になったのである。また、水溶液のみならず有機溶媒中でも測定が可能となった。
【００２７】
インビボで抗酸化物質の作用を調べる際にこの点はきわめて有用である。
【００２８】
実際に抗酸化作用をラジカル捕捉という手段で研究を行っている研究者は有機溶媒中でも測定できるスピントラップ剤の開発を待ち望んでいる。
【００２９】
これらの問題を解決するため検討した結果、アリールホスホリル基が直結したピロールＮ－オキシド化合物が最も望ましい物性を持つことが分かった。
【００３０】
本スピントラップ剤は従来のスピントラップ剤の代表として用いられているＤＭＰＯに比べて、捕捉したラジカルの寿命が長い（ＤＭＰＯの５０秒に対し化合物１は６分程度）、有機溶媒でも測定が可能（ジメチルスルホキシド溶媒中でも測定できる）、さらに、固体

の安定な結晶なので保存が容易（室温で保存できる）といった利点を有している。

【発明の効果】

【００３１】

本発明は、活性酸素やフリーラジカルは、発がん、老化、生活習慣病といった病気や健康に深く関わっており、信頼性・特異性の高い定量法が求められている。

【００３２】

本スピントラップ剤は、これらの疾病の研究において非常に有用性の高いものである。また、健康食品への関心が高まり、食品の抗酸化能の評価が重要になってきている。

【００３３】

本スピントラップ剤によって、食品中の抗酸化成分の分速な定量が可能になる効果を奏する。

【発明を実施するための最良の形態】

【００３４】

一般化学式の化１においてＲが、メチル基またはフェニル基の化合物。

【実施例】

【００３５】

以下に実施例を挙げ、本発明のホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤について、図面を参照して詳細に説明する。ＥＳＲスペクトルはＪＥＯＬ　ＴＥＳ－ＲＥ１Ｘを用いて記録し、^{1}Ｈ－及び^{13}Ｃ－ＮＭＲスペクトルはＪＥＯＬ　ＧＳＸ－４００　ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｅｒを用いた。ケミカルシフトはｐｐｍ単位で低領域はテトラメチルシランから得た。ＴＬＣ分析はＭｅｒｃｋ　ｓｉｌｉｃａ　ｇｅｌ　６０　F_{254}　ａｌｕｍｉｎｕｍ　ｐｌａｔｅｓ　を用いた。

【００３６】

図１は、本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤のＤＭＰＯによるスーパーオキシドアニオンラジカルの捕捉反応の化学式である。

【００３７】

図２は、本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の合成経路の化学式である。

【００３８】

図１において、中間体１ａの合成は、アセトニトリル（１５０ｍｌ）中でクロロジフェニルホスフィン（１００　ｍｍｏｌ，２０ｍｌ）に水（１ｍｏｌ，１８ｍｌ）を加え６時間還流した溶媒を留去し、残渣を水（５０ｍｌ）に溶解しジクロロエタンで抽出した（５０ｍｌｘ３）である。

【００３９】

収率９７％の^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ３）：７．４７－７．５７（ｍ，６．５Ｈ），７．６７－７．７３（ｍ，４Ｈ），８．１０（ｄ，Ｊ＝４６４Ｈｚ，１Ｈ）．^{31}Ｐ－ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ，ＣＤＣｌ３）：２３．３．である。

【００４０】

また、中間体１ｂの合成は、中間体１ａ（５０ｍｍｏｌ，１０ｇ）と５－クロロ－２－ペンタノン（１００　ｍｍｏｌ，１２　ｍｌ）を窒素雰囲気下で２－プロパノール（１５０　ｍｌ）に溶解し－５℃に冷却し、攪拌しながらアンモニアを－５℃で３０分間、さらに６０℃で２時間吹き込んだ。

【００４１】

一晩攪拌した後、ろ過し溶媒を留去した残渣を２Ｎ塩酸（１００ｍｌ）に溶解しジクロロメタン（１００ｍｌｘ３)で有機物を抽出した水層を炭酸水素ナトリウムで中和し、ジクロロメタン（１００　ｍｌｘ３）で抽出した硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去し、得られた黄色結晶をベンゼン：ヘキサンから再結晶した。

【００４２】

収率５０％で^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．３５（ｄ，Ｊ＝１４Ｈｚ，３Ｈ），１．４７－１．５０（ｍ，１Ｈ），１．６１－１．６６（ｍ，１Ｈ），１．７

６－１．８０（ｍ，１Ｈ），２．１２－２．１９（ｍ，１Ｈ），２．５７－２．５９（ｍ，１Ｈ），３．０７－３．０９（ｍ，１Ｈ），７．３５－７．５１（ｍ，６Ｈ），８．１４－８．２０（ｍ，４Ｈ）．^{13}Ｃ－ＮＭＲ（１００ ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）：２４．７５，２４．８４，２５．９０，２５．９５，３５．０８，３５．１３，４７．７６，４７．８４，６２．１５，６３．１０，１２８．２５，１２８．２８，１１２８．３５，１２８．３９，１２８．３５，１２８．５，１３１．５４，１３１．５７，１３１．６，１３１．７２，１３１．８５，１３２．０６，１３２．５３，１３２．６１，１３２．６７，１３２．７５，１３２．８４，１３２．９３，１３３．１２，１３３．２．^{31}Ｐ－ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）：３２．９．である。

【００４３】

また、化合物１の合成は、中間体１ｂ（１０ｍｍｏｌ，３ｇ）をクロロホルム（１５０ｍｌ）に溶解し、窒素雰囲気下、－５℃で攪拌したｍ－クロロ過安息香酸（２０ｍｍｏｌ，３．６ｇ）を加え３時間攪拌し、反応液をろ過し、２Ｎ 塩酸（１００ｍｌｘ２）、飽和炭酸水素ナトリウム食塩水（１００ｍｌｘ３）、飽和食塩水（１００ｍｌｘ２）で洗浄したクロロホルム層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を留去し、得られた黄色オイルをカラムクロマトグラフィー（溶出：酢酸エチル：ＭｅＯＨ＝９：１）により精製し１を得た。

【００４４】

白色結晶の収率１８％の^{1}Ｈ－ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ３）：１．７２（ｄ，Ｊ＝１３．２Ｈｚ，３Ｈ），１．８６－１．９７（ｍ，１Ｈ），２．１２－２．２３（ｍ，１Ｈ），２．３７－２．４７（ｍ，１Ｈ），３．１９－３．２９（ｍ，１Ｈ），６．６５（ｑ，Ｊ＝２．８Ｈｚ，１Ｈ），７．４５－７．５６（ｍ，６Ｈ），８．０８－８．１３（ｍ，２Ｈ），８．３９－８．４４（ｍ，２Ｈ）．^{13}Ｃ－ＮＭＲ（１００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ３）：２１．２４，２１．２８，２５．７９，３０．２３，７８．３６，７９．０７，１２８．４９，１２８．６２，１２８．７０，１２８．８２，１２８．９８，１３２．１０，１３２．１９，１３２．４１，１３２．４４，１３２．６９，１３３．２０，１３３．３０，１３６．２５．３１Ｐ－ＮＭＲ（１６２ＭＨｚ，ＣＤＣｌ３）：３４．３．５．である。

【００４５】

また、中間体２ａの合成は、エチルフェニルホスフィネート（４．５２ ｍｌ，３０．０ｍｍｏｌ）、ＴＨＦ（６０ｍｌ）に－２０℃でメチルマグネシウムブロマイド（１．８ｅｑ．，５４．０ｍｍｏｌ）を加えた。９時間攪拌後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え反応を停止し、濾過した後、有機相を分離し、水相を酢酸エチルで抽出した有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を除去し、残留物をカラムクロマトグラフィー(溶出：酢酸エチル)により精製し目的物２ａを得た。

【００４６】

収率５０％で^{1}Ｈ－ＭＮＲ（ＣＤＣｌ$_3$）：１．８１（ｄｄ，Ｊ＝３．６Ｈｚ，１３．６Ｈｚ，３Ｈ），７．６５（ｄ，Ｊ＝４７６Ｈｚ，１Ｈ），７．５０－７．７５（ｍ，５Ｈ）．である。

【００４７】

また、中間体２ｂの合成は、化合物２ｂは文献（Ｃ．Ｆｒｅｊａｖｉｌｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，１９９５，３８，２５８）に従い合成したアンモニアを中間体２ａ（２０．０ｍｍｏｌ）と５－クロロペンタン－２－オン（３．９ ｍｌ，３０．０ｍｍｏｌ）のエタノール溶液（１６ｍｌ）に５０℃どで２時間吹き込んだ反応液を濾過後、溶媒を留去し、残留物に２Ｎ塩酸を加え、ジクロロメタン（２０ｍｌｘ２）で抽出し、水相のｐＨが１０になるまで炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルム（１００ｍｌｘ ４）で抽出後、有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去し、残留物をカラムクロマトグラフィー（溶出：酢酸エチル：ＥｔＯＨ＝４：１）により精製し目的物２ｂを得た。

【００４８】

収率７４％で無色オイル状の^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．３０（ｄｄ，Ｊ＝１６．０Ｈｚ，１０４Ｈｚ，３Ｈ），１．２４－１．３７（ｍ．１Ｈ），１．７７（ｄｄ，Ｊ＝４．０Ｈｚ，１４．０Ｈｚ，３Ｈ），１．８０－１．８４（ｍ，１Ｈ），１．５８－１．６８，１．９５－２．０６（ｍ，２Ｈ），２．２７－２．３８，２．４５－２．５１（ｍ，１Ｈ），２．８４－２．９１，２．９７－３．０３，３．１１－３．１７（ｍ，１Ｈ），７．４３－７．９３（ｍ，５Ｈ）.^{13}℃－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：２１．５０（Ｊ＝１０．８Ｈｚ），２３．３２（Ｊ＝１０．９Ｈｚ），２５．５６（Ｊ＝３．３Ｈｚ），３３．０１（Ｊ＝６．６Ｈｚ），３４．６８（Ｊ＝６．６Ｈｚ），４６．９７（Ｊ＝６．７Ｈｚ），１２８．０４，１２８．１６，１２８．２１，１２８．２８，１２９．０９，１２９．１７，１３１．４３，１３１．５２，１３２．１６，１３２．１９．である。

【００４９】

また、化合物２の合成は、ｍ－クロロ過安息香酸（０．８ｇ，５．０ＭＭＯＬ）のクロロホルム溶液（１０ｍｌ）に、化合物２ｂ（２．５ｍｍｏｌ）のクロロホルム溶液（３０ｍｌ）を－１０℃で加え、１時間攪拌後に反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および生理食塩水で洗浄後、有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し溶媒を除去したカラムクロマトグラフィー（溶出：酢酸エチル：メタノール＝９：１）により精製し化合物２を得た。

【００５０】

収率１８％で無色オイル状の^{1}Ｈ－ＭＮＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．３８－１．４６（ｍ，１Ｈ）１．９０（ｄ，Ｊ＝１２Ｈｚ，３Ｈ）２．０８５（ｄ，Ｊ＝１８．４Ｈｚ，３Ｈ），１．９９－２．０９（ｍ，１Ｈ），２．２４－２．３２（ｍ，１Ｈ），２．７９－２．８９（ｍ，１Ｈ），６．５７（ｄｔ，Ｊ＝１．２Ｈｚ，２．４Ｈｚ，１Ｈ），７．２７－７．９１２（ｍ，５Ｈ）.^{13}℃－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１３．４９，１４．１８，１４．９７（Ｊ＝２．６Ｈｚ），２５．２１，２８．６８，７６．０７（Ｊ＝７１．４Ｈｚ），１２８．１５，１２８．６９，１２９．０７，１３０．３４，１３１．２８，１３１．３６，１３５．３４．である。

【００５１】

また、スピントラップ剤３（Ｒ＝ｉ－Ｐｒ）の合成において、中間体３ａの合成は、ジクロロフェニルホスフィン（３．４ｍｌ，２５．０ｍｍｏｌ）のＴＨＦ溶液（６０ｍｌ）にイソプロピルマグネシウムブロマイド（１．１ｅｑ．，２７．５ｍｍｏｌ）を－７８℃で加え、２時間攪拌後、その反応液にトリエチルアミン（３．５ｍｌ，２５．０ｍｍｏｌ）、水（０．５ｍｌ，２５ｍｍｏｌ）を加え、室温でさらに２時間攪拌し、反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え反応を停止し、ジクロロメタンで希釈した溶液を濾過した後、有機相を分け、水相をジクロロメタンで抽出した。

【００５２】

有機相を合わせたものを硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を除去した残留物はカラムクロマトグラフィー(溶出：酢酸エチル)により精製し目的物３ａを得た。

【００５３】

収率９７％で無色オイル状の^{1}Ｈ ＭＮＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．０５（ｄｄ，３Ｈ）１．１８（ｄｄ，３Ｈ），２．１５－２．３２（ｍ，５Ｈ）．である。

【００５４】

また、中間体３ｂの合成は、化合物２ｂと同様の方法で合成した。

【００５５】

収率４０％で無色オイル状の^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．１１（ｄｑ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，１０８Ｈｚ，３Ｈ），１．６０－１．７１（ｍ．２Ｈ），２．０２－２．１０（ｍ，１Ｈ），２．４３－２．５３（ｍ，１Ｈ），２．７１－２．７７（ｍ，１Ｈ），２．９７－３．０１（ｍ，１Ｈ），６．５８（ｄ，Ｊ＝２．４Ｈｚ，１Ｈ），７．２６－７．８５（ｍ，５Ｈ）．である。

【００５６】

また、化合物３の合成は、化合物２と同様の方法で合成した。

【００５７】

収率３４％で無色オイル状の^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．００（ｄｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，２０．０Ｈｚ，３Ｈ），１．５１（ｄｄ，Ｊ＝７．４Ｈｚ，１５．８Ｈｚ，３Ｈ），１．０４－１．１１（ｍ，１Ｈ），１．３２－１．３７（ｍ，１Ｈ），１．９８（ｄ，Ｊ＝８．０Ｈｚ，３Ｈ），２．７０－２．８２（ｍ，１Ｈ），６．６２（ｄ，Ｊ＝４．０Ｈｚ，１Ｈ），１．９６－７．４８－７．８８（ｍ，５Ｈ）．である。

【００５８】

また、スピントラップ剤４（Ｒ＝ＯＥｔ）の合成において、中間体４ｂの合成は、アンモニアをエチルフェニルホスフィネート（２０．０ｍｍｏｌ）と５－クロロペンタン－２－オン（３．９ｍｌ，３０．０ｍｍｏｌ）のエタノール（１６ｍＬ）溶液に５０℃で２時間吹き込み反応液を濾過後、溶媒を留去し、残留物に２Ｎ塩酸を加え、ジクロロメタン（２０ｍｌｘ２）で抽出した。

【００５９】

水相のｐＨが１０になるまで炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルム（１００ｍｌｘ４）で抽出後、有機相を硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去し残留物はカラムクロマトグラフィー（溶出：酢酸エチル：ＥｔＯＨ＝４：１）により精製し目的物４ｂを得た。

【００６０】

収率３５％で無色オイル状の^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ３）：１．６１－１．７６（ｍ，３Ｈ），２．２０－２．２６（ｍ，１Ｈ），２．７７－２．８３（ｍ，１Ｈ），２．９８－３．０４（ｍ，１Ｈ），３．９１－４．１８（ｍ，２Ｈ），７．２７－７．９１（ｍ，５Ｈ）．^{13}℃ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：16．７４（Ｊ＝５．８Ｈｚ），２３．９１（Ｊ＝８．３Ｈｚ），２５．８０(Ｊ＝４．２　Ｈｚ)，３３．９９（Ｊ＝５．０　Ｈｚ），４７．０３（Ｊ＝６．６Ｈｚ），６１．９１（Ｊ＝１１９．５　Ｈｚ），６０．９８（Ｊ＝７．４Ｈｚ），１２７．９８，１２８．０９，１２８．２０，１２９．３６，１３１．８６，１３１．８９，１３３．１６，１３３．２５．である。

【００６１】

また、化合物４の合成は、化合物２と同様の方法で合成した。

【００６２】

収率１８％で無色オイル状の^{1}Ｈ－ＭＮＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１．２７（ｔ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，３Ｈ），１．３１（ｔ，Ｊ＝７．２Ｈｚ，３Ｈ）１．４９（ｄ，Ｊ＝１５．２Ｈｚ，３Ｈ），１．７０（ｄ，Ｊ＝１５．２Ｈｚ，３Ｈ），１．８５－２．１０（ｍ，２Ｈ），２．０５－２．５５（ｍ，１Ｈ），２．８０－３．１３（ｍ，１Ｈ）３．９２－４．１８（ｍ，２Ｈ）６．６１（ｄｂ，Ｊ＝２．４Ｈｚ，０．５Ｈ），６．８６（ｄｂ，Ｊ＝３．２Ｈｚ，０．５Ｈ），７．４３－７．９０８（ｍ，５Ｈ）．^{13}℃ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_{3}$）：１６．６４（Ｊ　＝１０．７５Ｈｚ），２０．４４（Ｊ＝３６．５Ｈｚ），２５．６７（Ｊ＝３８．１Ｈｚ），３０．４４（Ｊ＝１４．１Ｈｚ），５８．２８，６２．２４（Ｊ＝７．１Ｈｚ），７５．９４（Ｊ＝４６．５Ｈｚ），１２８．０７，１２８．２０，１２８．２７，１２８．４０，１３２．７８，１３２．８１，１３２．９２，１３２．９６，１３２．９８，１３３．０８．である。

【００６３】

図３において、化合物１によるスーパーオキシドアニオンの捕捉は、キサンチン（０．４ｍＭ，８００ｍｌ）のリン酸バッファー溶液（ｐＨ７．４）およびキサンチンオキシダーゼ（０．５ｕｎｉｔ／ｍｌ）によって発生したスーパーオキシドアニオンを化合物１（１０Ｍ，１０ｍｌ）によって捕捉し、ＥＳＲは以下のセッティングで測定した図である。

【００６４】

ｍｉｃｒｏｗａｖｅ　ｐｏｗｅｒ　１０ｍＷ，ｆｉｅｌｄ　３３５±５ｍＴ，ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ　０．１ｍＴ，ｔｉｍｅ　ｃｏｎｓｔａｎｔ　０．１ｓｅｃ，ｓｗｅｅｐ　ｔｉｍｅ　８ｍｉｎである。

【００６５】

図４において、化合物1によるヒドロキシルラジカルの捕捉は、Ｋ$_{4}$［Ｆｅ（ＣＮ）$_{6}$］

（１０ｍＭ）を５０ｍＭリン酸緩衝溶液（ｐＨ７．４）、１．０ｍＭ H_2O_2、そして化合物１（１０ｍＭ）を含んでいる溶液に加え、そのスピンアダクトのＥＳＲスペクトルをシアノ鉄の付加後、測定した図である。

【００６６】

ＥＳＲは以下のセッティングで測定しｍｉｃｒｏｗａｖｅ ｐｏｗｅｒ １０ｍＷ，ｆｉｅｌｄ ３３６．０±１０ｍＴ，ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ０．１ｍＴ，ｔｉｍｅ ｃｏｎｓｔａｎｔ ０．３ｓｅｃ，ｓｗｅｅｐ ｔｉｍｅ ８ｍｉｎである。

【００６７】

図５において、化合物２によるスーパーオキシドアニオンの捕捉は、化合物1と同様の条件で測定した図である。

【００６８】

図６において、化合物３によるスーパーオキシドアニオンの捕捉は、化合物1と同様の条件で測定した図である。

【００６９】

図７において、化合物２によるヒドロキシルラジカルの捕捉は化合物1と同様の条件で測定した図である。

【００７０】

図８において、化合物３によるヒドロキシルラジカルの捕捉は化合物1と同様の条件で測定した。

【産業上の利用可能性】

【００７１】

植物の中に含まれる抗酸化物質の測定には、いろいろな方法があるが，その中でも有力な方法が電子スピン共鳴(ESR)を用いたラジカル捕捉法である。これは植物の中に含まれるポリフェノールや，ビタミンＣ，βカロチンなどを測定するための受託機関が数多くある。その中で現在，スピン捕捉剤としての用途に適用する。

【図面の簡単な説明】

【００７２】

【図１】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤のＤＭＰＯによるスーパーオキシドアニオンラジカルの捕捉反応の化学式である。

【図２】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の合成経路の化学式である。

【図３】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の化合物１とスーパーオキシドアニオンとの付加体のＥＳＲスペクトルである。

【図４】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の化合物１とヒドロキシルラジカルとの付加体のＥＳＲスペクトルである。

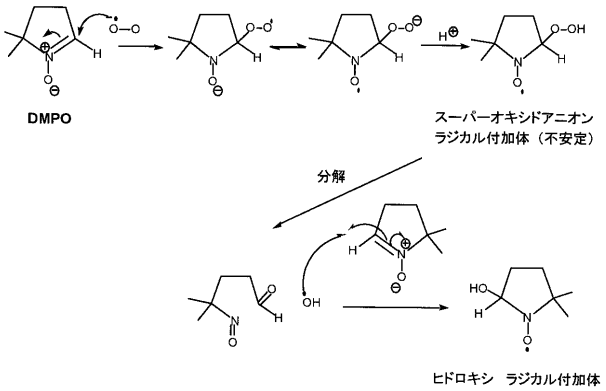
【図５】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の化合物２とスーパーオキシドアニオンとの付加体のＥＳＲスペクトルである。

【図６】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の化合物３とスーパーオキシドアニオンとの付加体のＥＳＲスペクトルである。

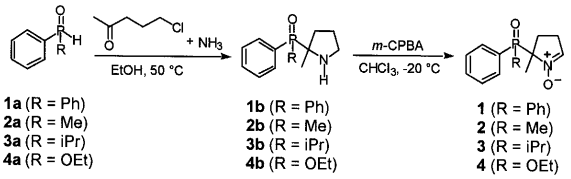
【図７】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の化合物２とヒドロキシルラジカルとの付加体のＥＳＲスペクトルである。

【図８】本発明に係わるホスフィニル基を有する新規スピントラップ剤の化合物３とヒドロキシルラジカルとの付加体のＥＳＲスペクトルである。

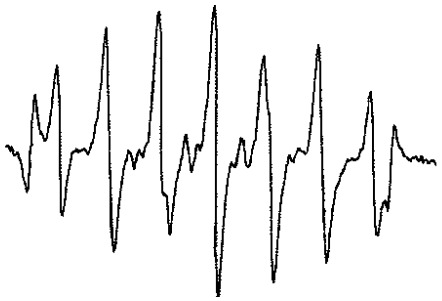
【図１】



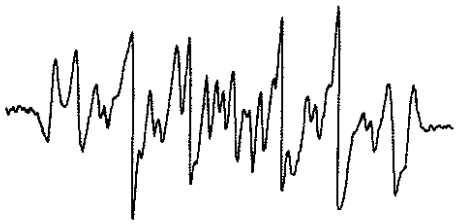
【図２】



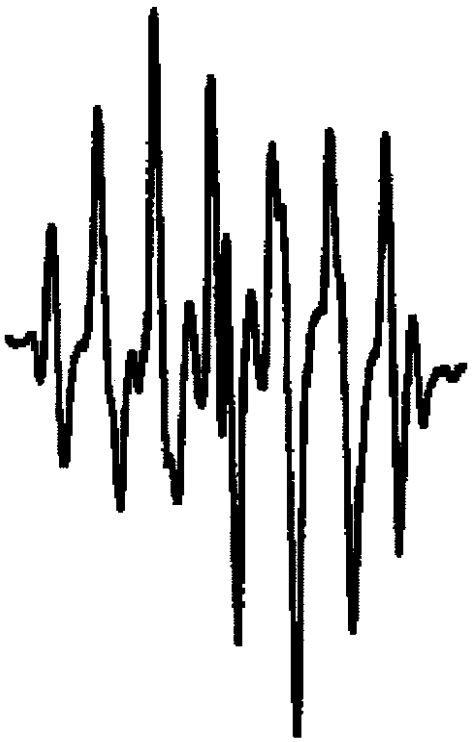
【図３】



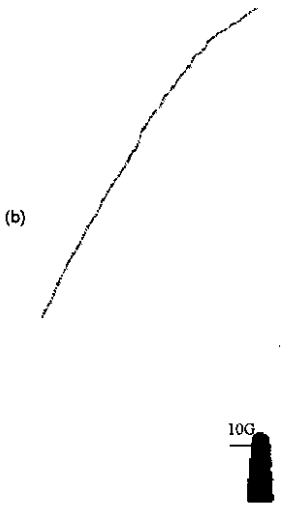
【図４】



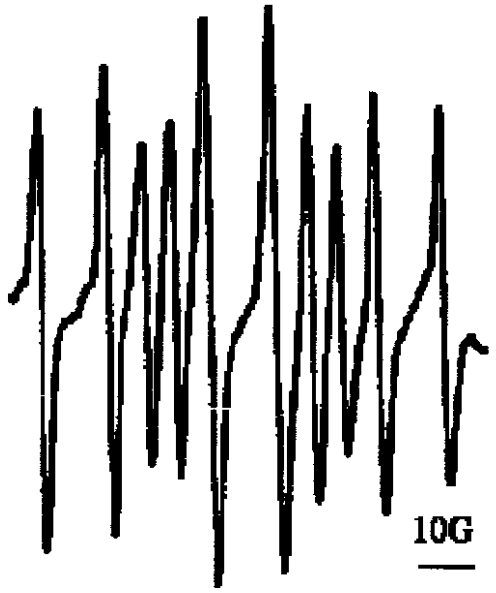
【図５】



【図６】



【図７】



【図８】

