



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（薬学）
報告番号	乙 第1852号
学位記番号	論 第 193 号
氏 名	石地 雄二
授与年月日	平成 27年 1月 26日
学位論文の題名	神経伝達物質調節薬の創薬化学に関する研究
論文審査担当者	主査： 中川 秀彦 副査： 樋口 恒彦, 中村 精一, 今泉 祐治

名古屋市立大学学位論文

神経伝達物質調節薬の
創薬化学に関する研究

2014 年度 (2014 年 12 月)

石地 雄二

1. 本論文は、2014年12月に名古屋市立大学大学院薬学研究科において審査されたものである。

主査 中川秀彦 教授
副査 今泉祐治 教授
樋口恒彦 教授
中村精一 教授

2. 本論文は、学術情報雑誌に収載された次の報文を基礎とするものである。

1. Yuji Ishichi, Mitsuru Sasaki, Masaki Setoh, Tetsuya Tsukamoto, Seiji Miwatashi, Hiroshi Nagabukuro, Satoshi Okanishi, Shigemitsu Imai, Reiko Saikawa, Takayuki Doi, Yuji Ishihara : Novel Acetylcholinesterase Inhibitor as Increasing Agent on Rhythmic Bladder Contractions: SAR of 8-{3-[1-(3-Fluorobenzyl)piperidin-4-yl]propanoyl}-1,2,5,6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-one (TAK-802) and Related Compounds. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1901-1911.
2. Yuji Ishichi, Eiji Kimura, Eiji Honda, Masato Yoshikawa, Takashi Nakahata, Yasuko Terao, Atsuko Suzuki, Takayuki Kawai, Yuichi Arakawa, Hiroyuki Ohta, Naoyuki Kanzaki, Hideyuki Nakagawa, Jun Terauchi : Novel Triple Reuptake Inhibitors with Low Risk of CAD Associated Liabilities: Design, Synthesis and Biological Activities of 4-[(1*S*)-1-(3,4-Dichlorophenyl)-2-methoxyethyl]piperidine and Related Compounds. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4600-4613.
3. Yuji Ishichi, Yoshinori Ikeura Hideaki Natsugari : Amide-based Atropisomers in Tachykinin NK1-receptor Antagonists: Synthesis and Antagonistic Activity of Axially Chiral *N*-Benzylcarboxamide Derivatives of 2,3,4,5-Tetrahydro-6*H*-pyrido[2,3-*b*][1,5] oxazocin-6-one. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4481-4490.

4. 本論文の基礎となる研究は、武田薬品工業株式会社化学研究所において石原雄二博士、寺内 淳博士および夏苺英昭博士の指導の下に行われた。

略語表

5-HT	5-Hydroxytryptamine (serotonin)	5-ヒドロキシトリプタミン (セロトニン)
ACh	Acetylcholine	アセチルコリン
AChE	Acetylcholinesterase	アセチルコリンエステラーゼ
AcOEt	Ethyl acetate	酢酸エチル
AcOH	Acetic acid	酢酸
Ar	Aryl	アリール
AUC	Area under the curve	曲線下面積
BBB	Blood brain barrier	血液脳関門
Boc	tert-Butoxy carbonyl	第三ブトキシカルボニル
Bu	Butyl	ブチル
CAD	Cationic amphiphilic drug	陽イオン両親媒性薬物
CDCl ₃	Chloroform-d	重クロロホルム
CDI	<i>N,N'</i> -Carbonyl diimidazole	<i>N,N'</i> -カルボニルジイミダゾール
CHO 細胞	Chinese hamster ovary 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
DA	Dopamine	ドーパミン
DAT	Dopamine transporter	ドーパミントランスポーター
DMF	Dimethyl formamide	ジメチルホルムアミド
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DSM-V	Diagnostic and statistical manual of mental disorders V	精神障害の診断と統計マニュアル V
Et	Ethyl	エチル
Et ₂ O	Diethyl ether	ジエチルエーテル
EtOH	Ethanol	エタノール
gem	Geminal	ジェミナル
GPCR	G protein-coupled receptor	G タンパク 共役型受容体

hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムチャネル遺伝子
i.d.	intra duodenal	十二指腸内投与
IPE	Diisopropyl ether	ジイソプロピルエーテル
IR	Infrared spectroscopy	赤外線分光法
LUTS	Lower urinary tract symptoms	下部尿路症状
mCPBA	meta-Chloroperoxybenzoic acid	メタクロロ過安息香酸
Me	Methyl	メチル
MED	Minimum effective dose	最小有効用量
mp	Melting point	融点
Ms	Methanesulfonyl	メタンスルホニル
MW	Molecular weight	分子量
NDRI	Noradrenalin and dopamine reuptake inhibitor	ノルアドレナリン・ドーパミン再取り込み阻害薬
NE	Norepinephrine	ノルエピネフリン
NET	Norepinephrine transporter	ノルエピネフリントランスポーター
NK1	Neurokinin 1	ニューロキニン 1
NKA	Neurokinin A	ニューロキニン A
NKB	Neurokinin BB	ニューロキニン B
NOESY	Nuclear Overhauser effect correlated spectroscopy	核オーバーハウザー効果関連スペクトル
NMR	Nuclear magnetic resonance spectroscopy	核磁気共鳴スペクトル
ORTEP ☒	Oak Ridge thermal ellipsoid plot ☒	オルテップ☒
Ph	Phenyl	フェニル
PLsis	Phospholipidosis	ホスホリピドーシス
PMB	<i>para</i> -Methoxybenzyl	パラ-メトキシベンジル
p.o.	per os	経口投与
Pr	Propyl	プロピル
QOL	Quality of Life	生活の質
SERT	Serotonin transporter	セロトニントランスポーター

SSRI	Selective serotonin reuptake inhibitor	選択的セロトニン再取り込み阻害薬
SNRI	Serotonin and noradrenalin reuptake inhibitor	セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬
SP	Substance P	サブスタンス P
TCA	Tricyclic antidepressant	三環系抗うつ薬
THF	Tetrahydrofuran	テトラヒドロフラン
TMS	Tetramethyl silane	テトラメチルシラン
TRI	Triple reuptake inhibitor	トリプル再取り込み阻害薬
TST	Tail suspension test	尾懸垂試験

目次

理論の部

第1章	緒言	
第1節	シグナル伝達因子としての神経伝達物質	1
第2節	医薬品としての神経伝達物質調節薬	4
第2章	新規アセチルコリンエステラーゼ阻害薬 TAK-802 および関連化合物の構造活性相関と律動性膀胱収縮増強作用	
第1節	背景	6
第2節	分子設計	7
第3節	合成	8
第4節	構造活性相関と律動性膀胱収縮増強作用	10
第5節	小括	16
第3章	CAD 関連毒性リスクの低い新規トリプル再取り込み阻害薬の 構造活性相関と抗うつ作用	
第1節	背景	17
第2節	分子設計	18
第3節	合成	20
第4節	構造活性相関および抗うつ薬としての <i>in vivo</i> 評価	22
第5節	小括	28
第4章	2環性アミド誘導体タキキニン NK1 受容体拮抗薬における アトロプ異性の制御と構造活性相関	
第1節	背景	29
第2節	分子設計	30
第3節	合成	32
第4節	2環性アミド誘導体のアトロプ異性と構造活性相関	33
第5節	小括	40
第5章	結語	41
	謝辞	42

実験の部

第2章に関する実験	44
第3章に関する実験	56
第4章に関する実験	74
引用文献および脚注	85

第1章 緒言

第1節 シグナル伝達因子としての神経伝達物質

生物は、恒常性の維持、自己複製能力、外界と生命体との隔離などを特徴とする要素によって定義され、一種の動的な平衡状態にあることを特徴とする。細胞はその最小単位であるが、複数の細胞が集まりより複雑な生命体を形成するようになると、細胞間での情報伝達システムが必要となった。その最も基本的な情報伝達手段が、ホルモンなど化学物質を介した液性伝達である。しかし、進化の過程で生体を構成する細胞数が増え、器官や臓器を形成してそれぞれの役割を分業するようになると、より高速で標的を絞ったシグナル伝達が必要となった。この要件を満たすために生物（動物）が発達させてきたのが神経系である。神経系を構築する神経細胞（ニューロン, Figure 1）は、機能的には細胞核の存在する細胞体（細胞維持）、細胞体から広がる樹状突起（シグナル入力）、および細胞体から一方方向に伸びる長い軸索と神経終末（シグナル出力）からなる。入力と出力の長い距離を繋ぐのは、膜の活動電位であり、その伝達スピードは、1-18 m/s 以上と言われる。これにより、化学物質の液性伝達に比べ飛躍的に効率が高くなり、シグナル伝達のネットワークも複雑かつ高速化され、動的な活動が可能となった。このように、伝達の間接部分は電気信号を取り入れることにより高速化されたものの、神経系の入力と出力部分を担うのは液性伝達による神経伝達物質である¹。

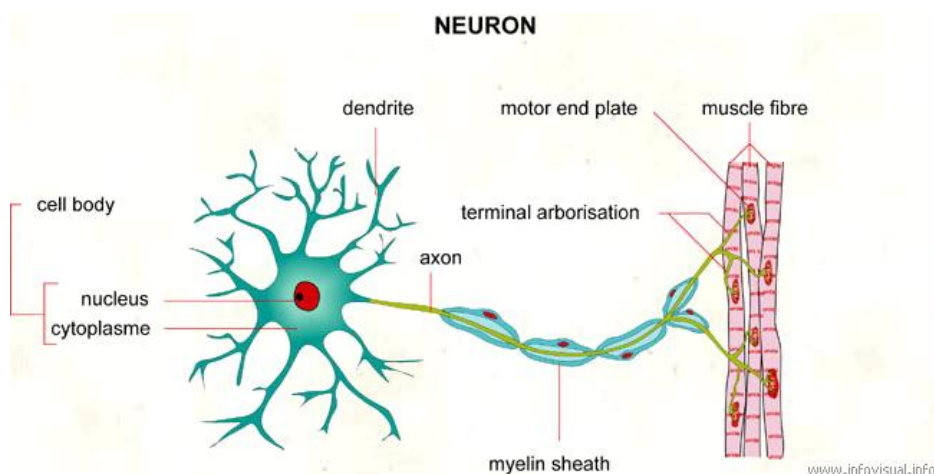


Figure 1. Diagram of neuron

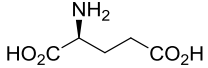
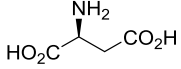
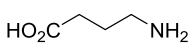
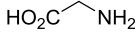
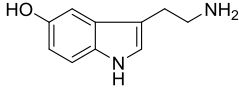
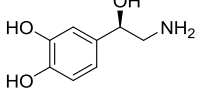
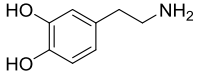
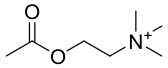
神経伝達物質は大きく 1) アミノ酸類、2) モノアミン類、3) 神経ペプチド類および 4) その他に分類され、例えば以下に示すものが知られている。

- 1) アミノ酸類・・・グルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、 γ -アミノ酪酸
- 2) モノアミン類・・・セロトニン、ノルエピネフリン、ドーパミン、ヒスタミン
- 3) 神経ペプチド類・・・ソマトスタチン、バソプレッシン、エンドルフィン、サブスタンス P、オレキシン、コレシストキニン

4) その他・・・アセチルコリン、一酸化窒素、アナンダマイドなど

これらのうち、代表的な神経伝達物質の構造、機能および生体内での分布を Table 1 に示した。

Table 1. Structure, function and distribution of representative neurotransmitters

神経伝達物質	構造式	機能	生体内分布
グルタミン酸		中枢での主要な興奮性アミノ酸 (情報伝達、可塑性)	グルタミン酸作動神経 (多くの神経細胞)
アスパラギン酸		興奮性アミノ酸	主に大脳皮質、小脳、脊髄
γ-アミノ酪酸 (GABA)		中枢での主要な抑制性アミノ酸 (興奮性神経の抑制)	GABA神経系(中枢)
グリシン		抑制性アミノ酸 (主に下位中枢で機能)	主に脳幹、脊髄
セロトニン (5-HT)		気分、睡眠、体温調節、疼痛 消化、心血管系への関与	セロトニン神経系(中枢) 末梢でのホルモン作用
ノルエピネフリン (NE)		中枢における覚醒、活動、抑うつ 交感神経の最終伝達物質	ノルエピネフリン神経系(中枢) 交感神経末
ドーパミン (DA)		報酬系、意欲、運動機能、学習	ドーパミン神経系(中枢)
エンドルフィン	31残基ペプチド (β-エンドルフィン)	報酬、鎮痛	中枢(視床下部、扁桃体など)
サブスタンスP	11残基ペプチド	ストレス反応、悪心、免疫、 血管透過性、腸管収縮など	中枢(一次知覚神経終末) 末梢組織
アセチルコリン (ACh)		中枢でのコリン作動性神経伝達 運動神経・副交感神経終末での 伝達物質	コリン作動性神経(中枢) 自律神経節 運動神経・副交感神経終末

シナプス末端から放出された神経伝達物質の受け手(効果器)は、主に次の3つに存在する(Figure 2 参照)。

1. 他の神経細胞

中枢神経内での神経細胞ネットワークや自律神経節での節前・節後ニューロン間でのシグナル伝達などが知られる。生体内情報伝達の中核をなし、思考、情動、運動機能調節、痛覚、呼吸、消化などあらゆる生体機能の維持に関与する。

2. 筋肉組織

神経終末と筋肉組織の接着部は、神経筋接合部と呼ばれる。骨格筋は体性運動神経の

支配を受け、伝達物質はアセチルコリンである。一方、平滑筋は自律神経の支配を受け、交感神経ならばノルエピネフリン、副交感神経ならばアセチルコリンが筋組織に対する直接の神経伝達物質である。

3. 腺組織

生体内の多くの腺組織は自律神経の支配を受ける。例えば多くの消化腺（胃、腸、膵臓など）では、副交感神経のシグナルによって消化腺液の分泌が促進され、交感神経によって抑制される。このように交感神経と副交感神経は互いに拮抗する効果を示し、生体を取り巻く環境によってそのバランスが変化する。すなわち、交感神経は生体を闘争状態に、副交感神経は休息状態に誘導し、諸器官をコントロールする。

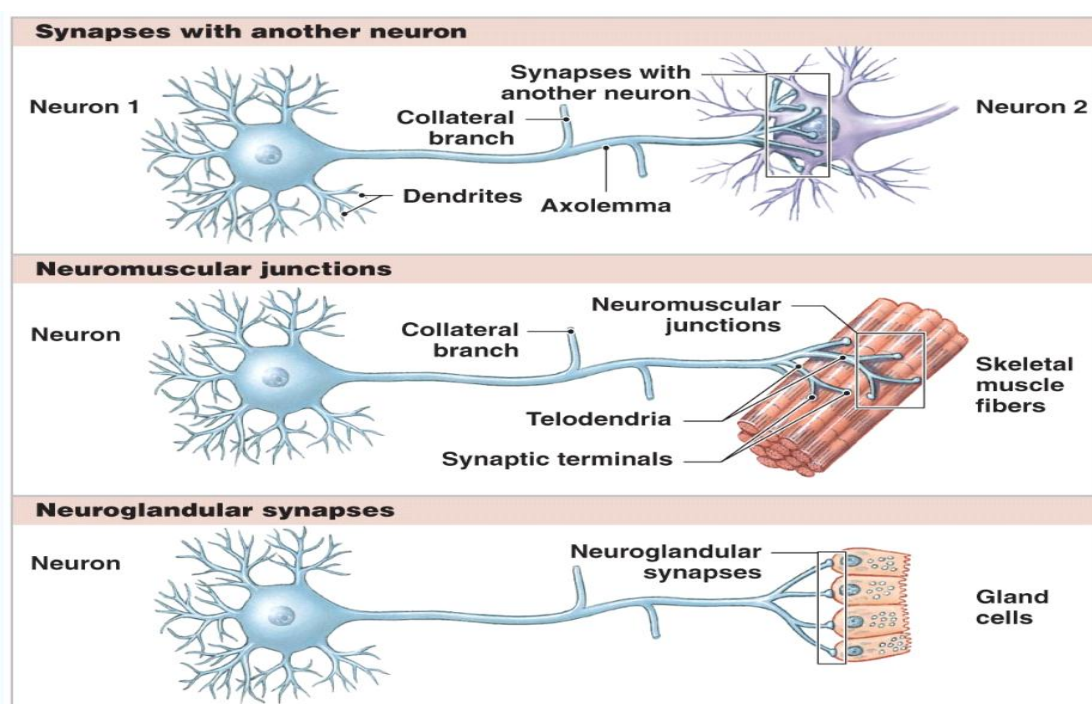


Illustration: Georgia Highlands College, Pearson Education Inc.

Figure 2. Three classes of synapse-effector junctions

効果器での神経伝達は主に受容体を介して行われるが、受容体には速い伝達速度を持つタイプ（ミリ秒単位）と遅いタイプ（秒単位）が知られる。速いタイプの代表例はイオンチャンネル共役型受容体であり、リガンドが受容体に結合することにより特定のイオンが膜を通過し、神経の活動電位を変化させる。一般に陽電荷(ナトリウムイオンなど)の通過により膜を脱分極させるものは興奮性イオンチャンネル受容体と呼ばれ、AMPA 受容体、MND A 受容体、およびニコチン性アセチルコリン受容体などが知られる。一方、陰電荷(塩化物イオンなど)を通過させて膜を過分極させるものは抑制性イオンチャンネル受容体と呼ばれ、GABA 受容体、グリシン受容体が代表例である。このように神経の活動電位は興奮性と抑制性の両面から制御される。

遅いタイプの受容体の代表は G タンパク共役型受容体(GPCR) である。神経伝達物質が GPCR に結合すると、受容体は近傍にある G タンパクを活性化させ、G タンパクを構成する α サブユニットと $\beta\gamma$ サブユニットを解離させる。これらサブユニットは、さらに下流にある受容体群やチャンネルにシグナルを伝達し、それぞれの生理作用を発現させる。このように複雑なプロセスを経てシグナルを伝えるため、伝達速度はイオンチャンネル型と比べて遅いのが特徴である。これまでに非常に多くの種類の GPCR が知られ、モノアミン類や神経ペプチド類の受容体の大多数、代謝型グルタミン酸受容体およびムスカリン性アセチルコリン受容体などがその代表例である。さらに GPCR には、多数のサブタイプが存在することが知られる。これらサブタイプは、異なる生理効果や生体内分布を示し、協奏的あるいは競合的に働いて生体を維持している。このように GPCR は多種多様な機能を有し、全タンパク中最大のスーパーファミリーを形成している。それだけに医薬品ターゲットの宝庫であり、現在知られる医薬品の数割が GPCR を標的にしていると言われる²。

第2節 医薬品としての神経伝達物質調節薬

神経伝達物質は、それぞれ特徴のある生理活性作用を有し、いずれも生体の恒常性維持に不可欠な物質である。しかしこれらの物質バランスが崩れると、生体にとって不都合な反応を惹起しうる。例えば、アルツハイマー病における中枢コリン濃度の低下とコリン作動性神経の減少（アセチルコリン仮説）、統合失調症における脳内ドーパミン濃度および感度の上昇（ドーパミン仮説）、筋萎縮性側索硬化症におけるグルタミン酸刺激の増加と運動ニューロンの破壊、および神経因性疼痛における興奮性刺激の過剰など、神経伝達物質のバランス障害に起因する疾患は数多い。したがって、これら疾患の治療にとって、関連する神経伝達シグナルの調節は極めて大きな意義を持つ。

神経伝達シグナルの調節は、中枢神経におけるシナプスのみならず、末梢での神経終末でも行われ、それぞれ中枢性および末梢性薬剤を指向することも可能である。神経伝達シグナルは、例えば以下の4つの形式で調節することができる。

1) 神経伝達物質そのもの、前駆体あるいはその擬似物質（作動薬）

例えば、パーキンソン病治療薬としてのレボドパは、生体内での代謝によってドーパミンを生成する。パーキンソン病は脳内ドーパミンの不足とドーパミン神経系の変性を特徴とする疾患で、これはドーパミン補充療法として知られる。また、ベンゾジアゼピンは GABA_A 受容体に結合してアゴニスト的に作動することにより神経興奮を抑制することが知られ、抗不安薬、睡眠導入薬、抗けいれん薬等に処方されている。

2) 神経伝達物質と拮抗するが本来のアゴニスト作用を有しないもの（拮抗薬）

受容体拮抗薬は、医薬品の中でも大きな比重を占め、多種多様なものが知られる。例えば、神経伝達物質の拮抗薬の一つ、ドーパミン D2 受容体拮抗薬は、統合失調症の陽性

症状緩和に用いられる。これは、中脳辺縁系におけるドーパミン神経系の過剰興奮が妄想や幻覚などの陽性症状の原因であるとする仮説を根拠とする。末梢では、 β 受容体拮抗薬はアドレナリンの β 作用を遮断することによる降圧薬、抗不整脈薬として知られる。他にも膜電位に対する拮抗により、電位依存型ナトリウムチャンネル遮断薬（リドカインなど）は神経衝撃伝導を遮断し、局所麻酔薬として用いられる。本論文で記載したタキキニン NK1 拮抗薬は、GPCR に属する NK1 受容体の拮抗薬で、当初は鎮痛薬としての開発を念頭に研究が進められた。数多くの製薬会社から多様な拮抗薬が報告されたが、そのうちメルク社のアプレピタントが制吐薬として開発され発売に至っている³。

3) アゴニスト作用を持つがその作用が完全な作動薬よりも弱いもの（部分作動薬）

部分作動薬は、受容体の置かれた状況によって部分的な作動薬/拮抗薬として働くことができ、これに注目した創薬も知られる。例えば上記ドーパミン D2 受容体の部分作動薬であるアリピプラゾールは、統合失調症の陽性症状と共に感情表出能力低下など陰性症状にも有効であるとされている。すなわち、ドーパミンが過剰に作用している中脳辺縁系では拮抗薬として働いて陽性症状を改善し、ドーパミン作用の不足している前頭前皮質では作動薬として働いて陰性症状に効くとされている⁴。

4) シグナル物質の代謝・分布を調節するもの（酵素阻害、再取り込み阻害など）

本論文で言及したアセチルコリンエステラーゼ阻害薬は、アルツハイマー病治療薬として処方されており、代表的薬剤はドネペジル⁵である。アセチルコリンエステラーゼはアセチルコリンを加水分解する酵素で、これを阻害することにより脳内のアセチルコリン濃度を上昇させる。同じく本論文で示したモノアミン再取り込み阻害薬は、シナプス間隙に放出されたモノアミンの再吸収を阻害することにより、シナプスでのモノアミン濃度を高める。脳内モノアミン濃度を上昇させる薬剤として他にモノアミンオキシダーゼ阻害薬⁶（MAO 阻害薬）が知られるが、これは脳内モノアミン酸化酵素を阻害することによりモノアミンのクリアランスを低下させる。このように神経伝達物質の代謝や分布を調節することにより、作動薬や拮抗薬と異なる作用機作で薬効を発現させることができる。

以上のように、神経伝達シグナルは様々な様式により調節することができ、いずれも重要で魅力的な創薬ターゲットとなっている。

本論文では、筆者が武田薬品工業株式会社において実施した、3つの神経伝達物質調節薬、すなわち、

- (1) アセチルコリンエステラーゼ阻害薬（排尿困難治療薬）
- (2) トリプル再取り込み阻害薬（抗うつ薬）
- (3) NK1 受容体拮抗薬（頻尿・尿失禁治療薬）

の分子設計と創薬化学について論ずる。

第2章 新規アセチルコリンエステラーゼ阻害薬 TAK-802 および関連化合物の構造活性相関と律動性膀胱収縮増強作用

第1節 背景

医療技術の発展により、とりわけ先進諸国において高齢人口の比率が高まり続けている。加齢に伴う身体機能の低下を軽減し、生活の質 (QOL) を落とさずに健康的な生活を送ることは、現代社会における大きな関心事の一つである。中高年以降の身体機能低下のうち、下部尿路症状 (LUTS) は最も頻繁に報告される疾患の一つである。下部尿路症状は、蓄尿障害 (頻尿・尿失禁、夜間頻尿など) と排尿障害 (排尿困難など) に大きく分類され、そのいずれもが QOL の低下を来す⁷。排尿困難の原因の一つとして挙げられるのが、低緊張膀胱と呼ばれる膀胱平滑筋の収縮力低下であり、加齢・前立腺肥大・糖尿病および多発性硬化症に伴って発症しやすいことが知られている。膀胱平滑筋は、副交感神経の支配下にあり、そこでの神経伝達物質はアセチルコリン (ACh) である。したがって、アセチルコリンのシグナルを増強することにより膀胱平滑筋の収縮力を賦活することが期待でき、実際にこれまでいくつかのコリン作動薬が臨床適用されてきた (Figure 3)。

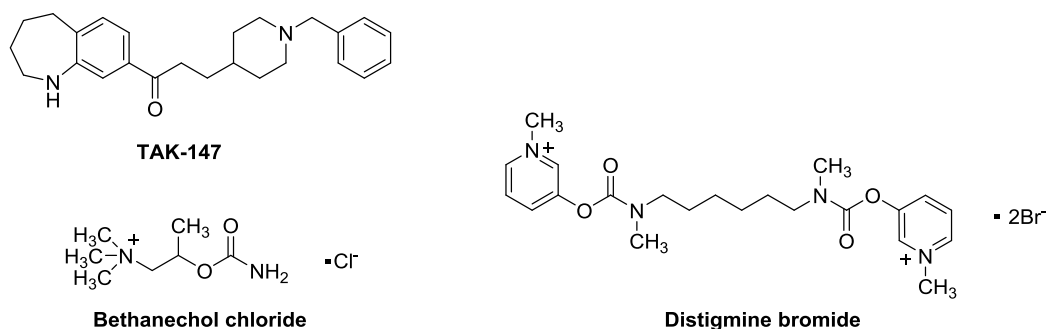


Figure 3. Structures of TAK-147, bethanechol chloride, and distigmine bromide.

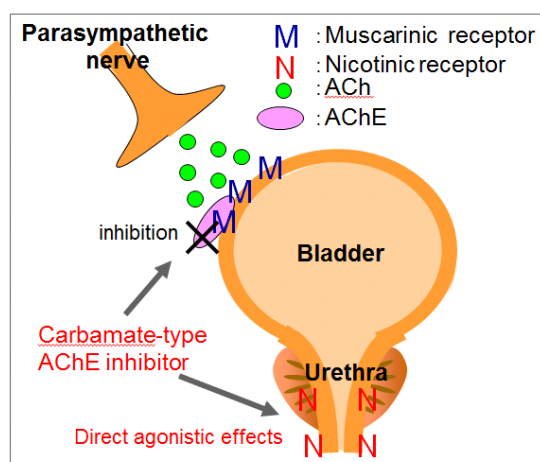
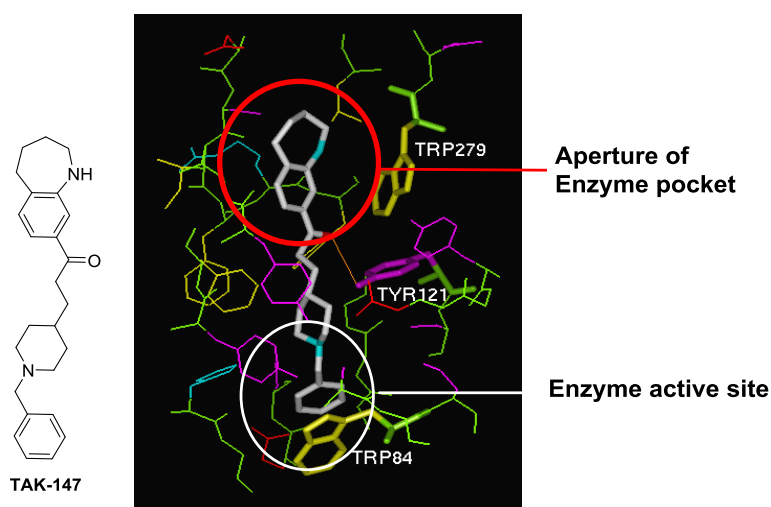


Figure 4. Mechanism of action of cholinergic agents

その一つのベタネコール⁸は、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) による加水分解を受けにくいアセチルコリン類縁体であり、膀胱平滑筋のムスカリン受容体に直接作用して収縮力を増強させる。一方、異なるターゲット分子への作用で類似の効果が期待できるのが、AChE 阻害である。これは副交感神経終末で放出された ACh の AChE による分解を阻害することにより、神経終末での ACh 濃度を上昇させ、ACh の効力を増強する (Figure 4)。現在、そのような作用を示す化合物としてジスチグミン⁹が上市されているが、その化学構造に起因する副作用が指摘され、臨床効果の不十分さが示唆されている¹⁰。すなわち、ジスチグミンは AChE 阻害によるコリン作動性の薬理作用を示すが、カルバマート構造を持つために、尿道のニコチン受容体に対する直接的なアゴニスト作用を併せ持つことが知られる¹¹。尿道のニコチン受容体作動は、平滑筋の収縮を惹起し、尿道抵抗の上昇に伴い、高圧排尿と呼ばれる望ましくない症状を導く。このような背景を基礎として、尿道抵抗を上昇させない新しい排尿障害治療薬が望まれており、筆者は、尿道のニコチン受容体に対する直接的なアゴニスト作用の無い、すなわちカルバマート構造を持たない、新しい AChE 阻害薬の創成を目指した。

第2節 分子設計

当社では、アルツハイマー病治療薬を指向した非カルバマート系 AChE 阻害薬 TAK-147 が過去に見いだされている¹² (Figure 5)。石原らによる TAK-147 関連化合物の研究結果から、ベンジルピペリジンプロパノン構造が強い AChE 阻害作用発現に必須であることが明らかとなっている。一方、1位アリール基は、薬物-酵素複合体モデルにおいて酵素活性部位の開口部付近に位置すると考えられることから、構造変換に対して許容性があることが示唆された^{12c}。そこで、1位アリール基の変換により、*in vitro* AChE 阻害活性および膀胱収縮力増強作用の強い化合物を見出すことができると考えた。



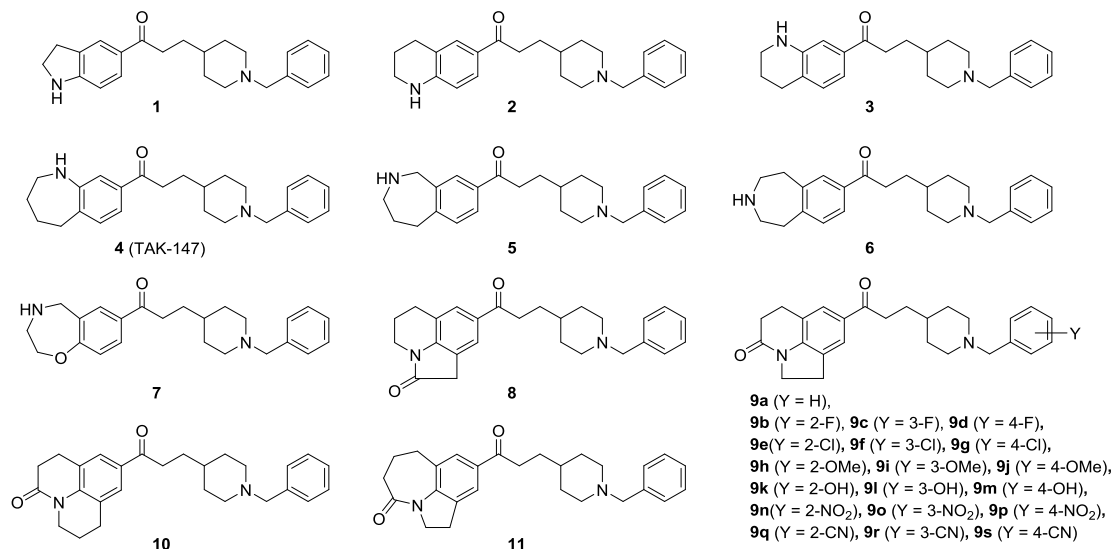
(Based on the crystal structure of Torpedo enzyme using DOCK and directed-DOCK)

Figure 5. Docking model of AChE and TAK-147

第3節 合成

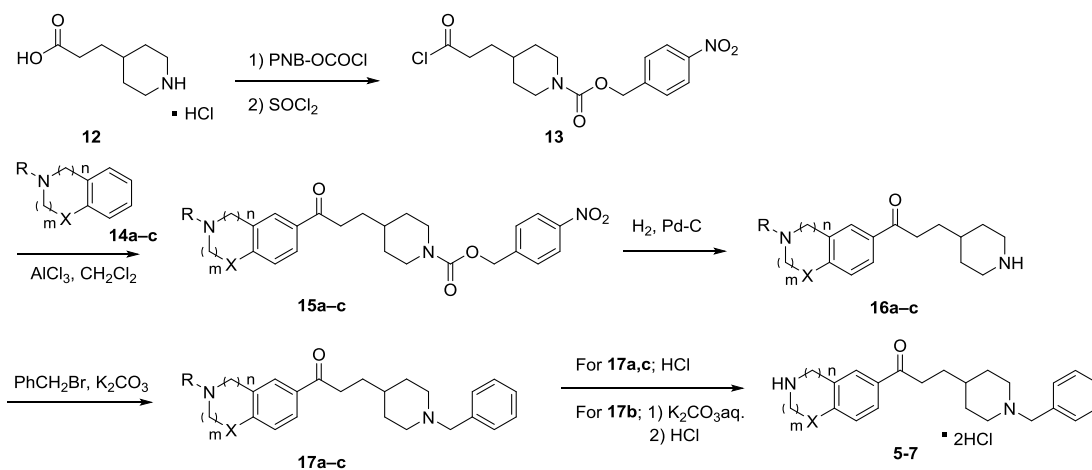
第2節で示した化合物デザインにより、下記の化合物を合成することとした(Figure 6)。

Figure 6.



化合物 **1–11** のうち、**1–4** については既に報告済みの方法^{12b}に従って合成した。2環性の基本骨格を持つ化合物 **5–7** の合成を Scheme 1 に示した。

Scheme 1



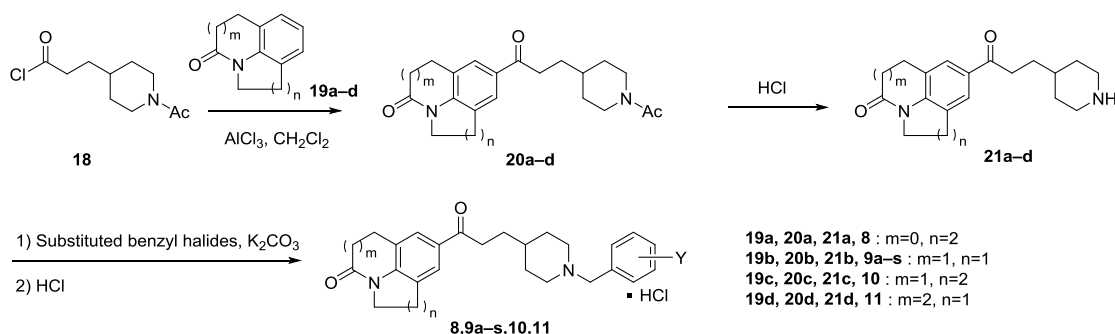
2-Benzazepines: **5**, **14a**, **15a**, **16a**, **17a**; X=-(CH₂)-, m=2, n=1, R=Ac
 3-Benzazepines: **6**, **14b**, **15b**, **16b**, **17b**; X=-(CH₂)-, m=1, n=2, R=COCF₃
 1,4-Benzoxazepines: **7**, **14c**, **15c**, **16c**, **17c**; X=O, m=2, n=1, R=CHO

窒素原子に保護基を導入した2-ベンゾアゼピン **14a** および1,4-ベンゾオキサゼピン **14c** に対するFriedel-Craftsアシル化は、高い位置選択性を示し、それぞれ8-アシル-2-ベンゾアゼピンと7-アシル-1,4-ベンゾアオキサゼピンを与えることは既に石原らによって報告されている^{13a}。同様に、保護された3-ベンゾアゼピンの場合にも、7位選択的にアシル化が進行した^{13b}。基本骨格ともう一方のピペリジン部分にはそれぞれ

アミン性の窒素原子が存在するが、それぞれの選択的な脱保護のために適切な保護基の選択が重要である。今回、ピペリジン側の保護基として *p*-ニトロベンジルオキシカルボニル基^{*)}を採用した。同保護基は、Friedel-Crafts アシル化の条件下でも安定で、脱保護には接触還元反応を用いることができ、基本骨格側の選択的な脱保護が可能である。酸クロリド **13** と保護された2環性アミン **14a-c**¹⁴ との Friedel-Crafts アシル化により、それぞれ選択的にケトン成績体 **15a-c** を得た。*p*-ニトロベンジルオキシカルボニル基の脱保護の後にベンジル基を導入し、基本骨格側の窒素保護基を除去し、それぞれ化合物 **5-7** を塩酸塩として合成した。

3環性化合物 **8, 9a-s, 10** および **11** の合成を Scheme 2 に示した。3環性基本骨格 **19a-d** の合成は、公知の方法¹⁵ に準じて行った。酸クロリド **18**¹⁶ による3環性基本骨格 **19a-d** の Friedel-Crafts アシル化は、それぞれ位置選択的に進行し、それぞれケトン **20a-d** を与えた。脱保護の後にアルキル化を行い、それぞれ塩酸塩として化合物 **8, 9a-s, 10** および **11** を合成した。

Scheme 2

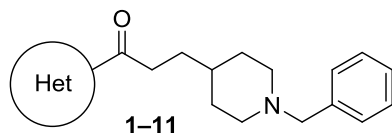


*) *para*-ニトロベンジルオキシカルボニル基はその芳香環上に電子求引基を持つため、アシルカチオンのような求電子分子種に対して安定である。また、接触還元反応によって容易に除去でき、他のアミン保護基(例： *N*-アセチル, *N*-ホルミルおよび *N*-トリフルオロアセチルなど)に対して選択的な脱保護が可能である。

第4節 構造活性相関と律動性膀胱収縮増強作用

AChE 阻害活性は、ヒト赤血球由来 AChE を用い、エルマン法¹⁷により測定した。対照化合物として用いたジスチグミンの阻害活性は $IC_{50} = 380 \text{ nM}$ であった。最初に 1 位アール基の効果について検討した (Table 2)。

Table 2. AChE Inhibitory Activity of Compounds with Various Heterocyclic Frameworks **1–11**.



compd	Het	salt	<i>h</i> AChE inhibition	
			IC_{50} (nM) ^a	95% CI ^b
1		fumarate	53	(50–57)
2		2HCl	64	(60–70)
3		fumarate	166	(153–180)
4 (TAK-147)		fumarate	193	(178–210)
5		2HCl	23	(21–24)
6		2HCl	25	(23–27)
7		2HCl	40	(38–42)
8		HCl	3.6	(3.3–3.9)
9a		HCl	1.3	(1.0–1.7)
10		HCl	9.8	(8.7–11)
11		HCl	16	(14–19)
Distigmine^c			380	(366–394)

^a The IC_{50} value is the concentration required to inhibit control enzyme activity by 50%. These values were calculated from the results of two experiments conducted in duplicate. All compounds were dissolved in distilled water. ^b 95% confidence interval for each IC_{50} value. ^c Distigmine bromide.

いずれの化合物も 1–200 nM の強い阻害活性を示し、中でも 3 環性構造を持つ化合物に 2 環性化合物の 10 から 100 倍の活性が見られた。2 環性アミン化合物 **1–4** において、環の大きさが増すにつれて活性が徐々に減弱する傾向があった。また、化合物 **2** と **3** の比較に見られるように、3-(1-benzylpiperidin-4-yl)propanoyl 基の置換位置としては、7 位よりも 6 位の方が有利であった。これらの結果は、石原らが過去に実施したラット大脳由来の AChE を用いた結果^{12b} と良く一致した。2-ベンゾアゼピン **5**、3-ベンゾアゼピン **6**、およびオキサゼピン **7** の AChE 阻害は、化合物 **1–4** よりもやや強い活性を示した。3 環性構造を持つ化合物 **8, 9a, 10** および **11** は、 $IC_{50} = 1.3–16$ nM の強力な阻害活性を示したが、2 環性化合物と同様、環の大きさの増大に伴って減弱傾向が見られた。3 環性化合物で著しい活性の向上が見られた理由について、ドッキングモデルを用いて考察を加えた (Figure 7, ドッキングにおける化合物としては **9c** を用いた)。

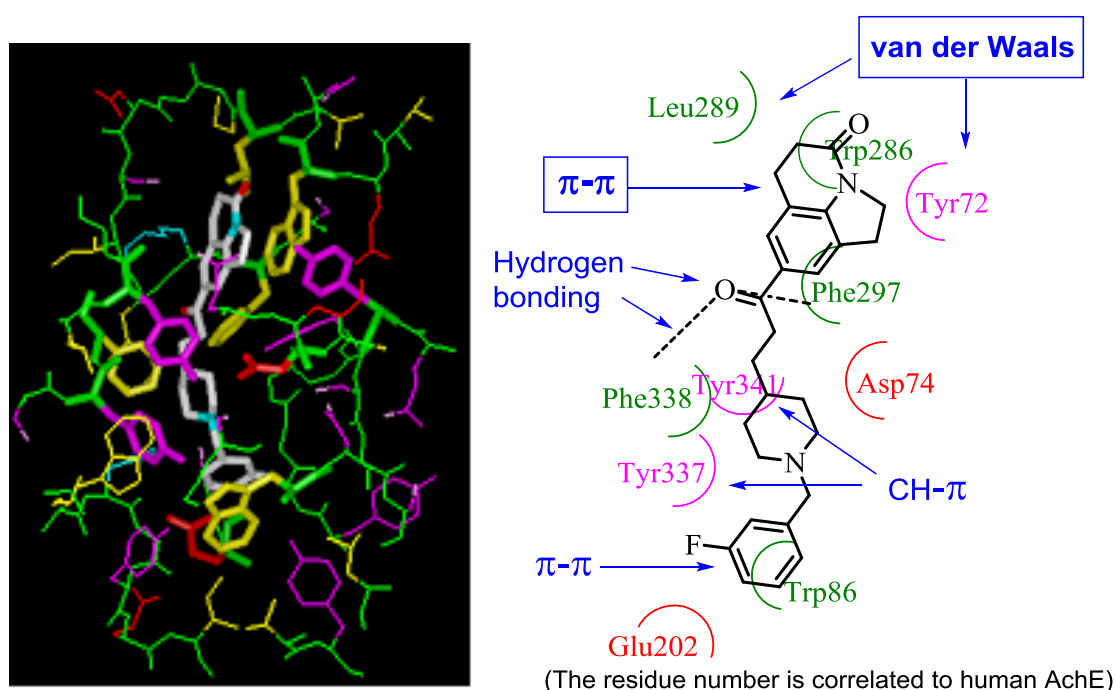


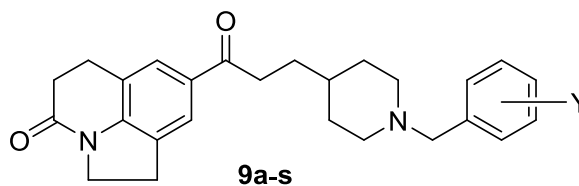
Figure 7. Binding mode of **9c** and AChE

ドッキングの結果、3 環性ピロロキノリン環は酵素開口部位近傍の Trp 286 と π - π 相互作用を、また Leu 289 および Tyr 72 と van der Waals 相互作用を新たに獲得したことが示唆された。他の 3 環性化合物でも同様の相互作用が予測されたことから、これらの新たな相互作用が活性向上の合理的理由になると考えられた。

次に、これら化合物の中で最も強い阻害活性を示した

1,2,5,6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-one 誘導体 **9a** について、ピペリジン側芳香環上の置換基最適化を行った (Table 3)。

Table 3. The Effect of Substituents in 8-[3-(1-Benzylpiperidin-4-yl)propanoyl]-1,2,5,6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-ones **9a-s**.



compd ^a	Y	<i>h</i> AChE inhibition	
		IC ₅₀ (nM) ^b	95% CI ^c
9a	H	1.3	(1.0–1.7)
9b	2-F	2.5	(2.3–2.8)
9c	3-F	1.3	(1.2–1.5)
9d	4-F	4.6	(4.1–5.3)
9e	2-Cl	5.1	(4.6–5.6)
9f	3-Cl	4.9	(4.2–5.6)
9g	4-Cl	153	(143–163)
9h	2-OMe	64	(61–68)
9i	3-OMe	125	(116–135)
9j	4-OMe	345	(321–371)
9k	2-OH	1.1	(0.97–1.2)
9l	3-OH	8.7	(7.9–9.6)
9m	4-OH	0.49	(0.45–0.54)
9n	2-NO ₂	90	(83–98)
9o	3-NO ₂	2.9	(2.7–3.2)
9p	4-NO ₂	43	(40–47)
9q	2-CN	55	(51–58)
9r	3-CN	6.8	(6.4–7.2)
9s	4-CN	32	(30–34)
Distigmine^d		380	(366–394)

^a All compounds were tested as their HCl salts except distigmine.

^{b, c, d} See corresponding footnotes of Table 2.

フッ素原子、塩素原子および水酸基の導入によっても、活性は維持された。置換位置はおおむね3位、2位>4位の順に有利であったが、水酸基については4位置換が好ましいことが判明した。この中で、4位に水酸基を持つ化合物 **9m** (Y = 4-OH) が特に強い阻害活性 ($IC_{50} = 0.49 \text{ nM}$)を示した。

強い AChE 阻害活性を持つ化合物を選択し、モルモットおよびラットにおける律動性膀胱収縮増強作用を評価した。薬物投与前後の膀胱内圧測定図 (シストメトログラム) を Figure 8 に示す。

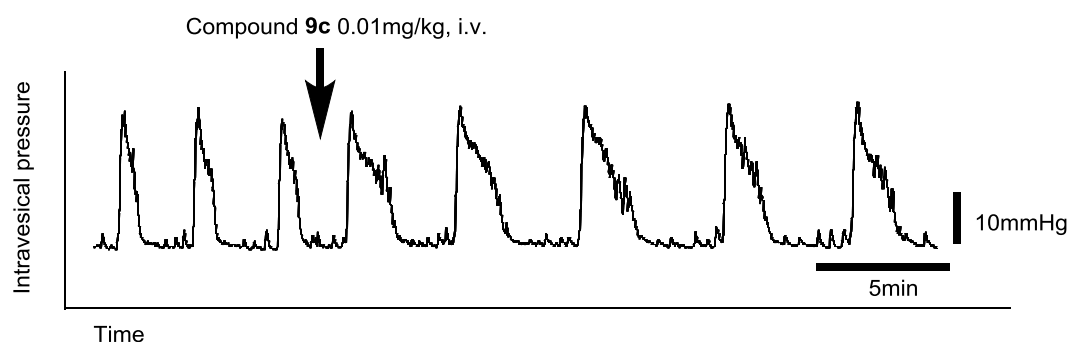


Figure 8. Cystometrograms of anesthetized guinea pig and the effect of **9c**.

麻酔下のモルモット膀胱内に生理食塩水を注入すると、一定の時間間隔で収縮が起こる (律動性膀胱収縮)。ここに化合物 **9c** を iv 投与すると、最大圧力には影響を与えず、主に昇圧時間の延長による収縮増強作用が見られた。この増強作用を、膀胱内圧下曲線の面積を倍にする時の薬物用量 (AUC200) を用いて数値化し*)、評価した。選択化合物のモルモットにおける AUC200 値を Table 4 に示す。

*) 膀胱内圧曲線の AUC 値が 2 倍以上の上昇を示す時に有意差が認められたため、*in vivo* パラメータとして AUC200 値を設定した。リファレンス 18 文献を参照。

Table 4. AUC200 Value and Bioavailability of Selected Compounds

compd	hAChE inhibition		AUC200 ^a		BA ^{d,f}
	IC ₅₀ (nM)	guinea pigs ^b		rats ^{d,e}	rats
		(μg/kg, i.v.)		(μg/kg, i.d.)	(%)
4 (TAK-147)	193	660			
5	23	195			
6	25	560			
8	3.6	5.4			
10	9.8	87			
11	16	11.6			
9a	1.3	3.0		55	16
9b	2.5	15			
9c	1.3	0.769	(0.075–1.877) ^c	22	33
9f	4.9	5.0			
9k	1.1	1.0		122	7.3
9l	8.7	27			
9m	0.49	76			
Distigmine^g	380	21.1	(6.5–39.4) ^c		

^a Dose necessary to double the area under the curve (AUC) of the vesical contraction.

All compounds were dissolved in distilled water. ^b Values are an average of 5-8 independent experiments. ^c 95% confidence interval for AUC200 value (iv). In the blanks, 95% confidence levels could not be calculated. ^d Compounds that exhibited potent AUC200 value in guinea pigs were examined. ^e An average of 7-10 independent experiments.

^f Preliminary pharmacokinetic data. ^g Distigmine bromide.

モルモット iv 投与における各化合物の AUC200 値は、その AChE 阻害活性と概ね比例関係にあった。中でも化合物 **9a**, **9c** および **9k** は、強い律動性膀胱収縮増強作用 (低い AUC200 値) を示した。一方、最も強い AChE 阻害活性を示した化合物 **9m** (Y = 4-OH) の作用は、*in vivo* においてその作用は明らかに弱かった。次に、モルモット iv において強い作用を示した化合物 **9a**, **9c** および **9k** について、ラット十二指腸内 (id) 投与^{*)}による評価を行った。その結果、化合物 **9a** および **9c** についてはモルモット iv と整合する AUC200 値を示したが、化合物 **9k** (Y = 2-OH) においては明らかな減弱が見られた。これは、膜透過性や代謝安定性の影響であると考えられ、化合物 **9k** のラットでの経口吸収性は他の 2 化合物よりも低かった (BA 値: 7.3% (**9k**), 16% (**9a**), 33% (**9c**))。これら 3 化合物のうち、最も強力な律動性膀胱収縮増強作用を示したのは化合物 **9c** であり、その AUC200 値は 22 μg/kg, id であった。これらの結果から、化合物 **9c** をさらなる評価の候補化合物として選択した。ところで、対照化合物のジスチグミンのモルモット iv における AUC200 値は 21.1 μg/kg, iv であり、その AChE 阻害活性 (IC₅₀ = 380 nM) に比べ強い値を示した**)。化

合物 **9c** とジスチグミンのムスカリンおよびニコチン作用について検討した結果、化合物 **9c** のニコチン作用はジスチグミンの 1/3 であることを我々は既に報告している¹⁸。また、ブチリルコリンエステラーゼ (BChE) 阻害活性を評価した結果、ジスチグミンが $IC_{50} = 537 \text{ nM}$ であるのに対し、化合物 **9c** は $>10,000 \text{ nM}$ であった。BChE は主に末梢組織に分布しており、この結果は化合物 **9c** がより副交感神経選択的であることを示す¹⁸。

以上のように、化合物 **9c** は、ジスチグミンに比べて強い AUC200 値を示し、かつニコチン作用および BChE に対する選択性においてジスチグミンよりも優れていた。この優れた選択性は、化合物 **9c** がジスチグミンに見られるカルバマート構造を有しないことに起因すると考えられる。一方、膀胱収縮を増強させることが知られる既存薬のベサネコール (コリン作動薬, Figure 3) は、アゴニスト作用により副交感神経系を間断無く刺激すると考えられる。我々の律動性膀胱収縮増強作用試験において、ベサネコールは膀胱内の基底圧を上昇させ、最大圧を低下させた。これは膀胱コンプライアンスの低下を示唆し¹⁸、临床上のリスクと考えられた。一方、化合物 **9c** は、排尿反射が惹起されている間だけその収縮力を増強させ、膀胱基底圧には影響を与えなかった。このことから、化合物 **9c** は、膀胱収縮力低下による排尿障害治療薬として既存薬に比較して優れた薬効を示すことが期待された。

*) 律動性膀胱収縮試験は麻酔下で実施する必要があるため、化合物の投与は経口投与 (p.o.) の代わりに十二指腸内投与 (i.d.) を採用した。

***) ジスチグミンがその AChE 阻害活性に比して高い AUC200 値を示した理由は明らかとなっていない。体内分布や代謝的な因子が関与しているものと推測される。

第5節 小括

一連の新規非カルバマート系 AChE 阻害薬を合成し、排尿障害治療薬としての評価を行った。その中で 1,2,5,6-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-4-one 誘導体の化合物 **9c** は、強い AChE 阻害活性 ($IC_{50} = 1.3 \text{ nM}$) を有し、かつ優れた律動性膀胱収縮増強作用を示し、その AUC₂₀₀ 値はモルモット iv で $0.769 \mu\text{g}/\text{kg}$, ラット十二指腸内投与 (i.d.) で $22 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。さらに化合物 **9c** のニコチン作用は、カルバマート系 AChE 阻害薬であるジスチグミンの 1/3 の強度であった。このことから、化合物 **9c** は、膀胱収縮力低下による排尿障害治療薬として優れた薬効を示すことが期待された。化合物 **9c** のフリーアミン体は、開発化合物に選定され、**TAK-802** として Phase-I および Phase-II 臨床試験が実施された。

第3章 CAD 関連毒性リスクの低い新規トリプル再取り込み阻害薬の構造活性相関と抗うつ作用

第1節 背景

うつ病（特に DSM-V における大うつ病性障害）は、抑うつ気分、興味の喪失および活動意欲の低下などを特徴とする精神疾患である。現代のストレス社会においては、うつ病は極めて普遍的であり、WHO によれば、全世界で3億5000万人の人々が罹患しているとされる¹⁹。うつ病の発症メカニズムは未だ不明な点が多く、単一の理論では説明されない可能性も指摘されてはいるが、これまでに様々な仮説が提唱されてきた。その中で、古くから論じられ、また現在においても広く支持されている仮説の一つが、モノアミン仮説である。脳内モノアミン神経伝達物質のうち、うつ病との関連が示唆されているのがセロトニン、ノルアドレナリンおよびドーパミンであり、モノアミン仮説はこれらモノアミンによるシグナル伝達の低下によりうつ病を説明する。これまで、モノアミン仮説を基礎とした抗うつ薬が多数開発され、また現在も広く処方されている。このうち、最も歴史のあるイミプラミンやアミトリプチリンなどの三環系抗うつ薬は、主にセロトニンとノルアドレナリンの再取り込みを阻害するが、抗コリン作用などの副作用により、現在では主に中等度以上のうつ病患者に処方される例が多い。それに代わって登場したのがフルオキセチン、パロキセチンなどの選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) で、現在最も広く使われているカテゴリーの抗うつ薬である。SSRI は、セロトニントランスポーターを選択的に阻害することにより、シナプス間隙のセロトニン濃度を上昇させる。前述の三環系抗うつ薬より副作用が少ないとされるが、一方で寛解率や難治性うつ病への有効性が不十分であることが示唆されている²⁰。そこで他のモノアミンを同時に高めることにより、より高い有効性が期待できる薬剤が開発された。デュロキセチンやベンラファキシンなどのセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) がそれに該当し、一定の市場を形成している。トリプル再取り込み阻害薬 (TRI) は、セロトニン・ノルアドレナリンにさらにドーパミンの再取り込み阻害作用（モノアミントランスポーター阻害作用）を加えた薬剤である。ドーパミンは意欲や快樂に関連するモノアミンであり、これら3つのモノアミンシグナルを同時に賦活することは、寛解率の改善、難治性うつ病への適用などより高い有効性が期待できる治療法である。また、より早い薬効発現（オンセット）、SSRI で問題になる性機能障害の改善も TRI の特長として示唆されている²¹。

しかしながら、これらモノアミン再取り込み阻害薬は、いずれも塩基性部位を持つ脂溶性薬剤、いわゆる cationic amphiphilic drug (CAD) であり、CAD 構造に基づく CYP2D6 阻害、hERG 阻害およびホスホリピドドーシス (PLsis) のリスクが伴う。これら CAD 関連毒性リスクの回避は、今日の創薬における主要なテーマの一つである。そこで筆者らは、これら CAD 構造由来のリスクの低い新しい TRI の開発、およびその方法論の確立を指向し

研究を開始した。

第2節 分子設計

CYP2D6 阻害、hERG 阻害および PLsis リスクの低い、新しい TRI をデザインするに当たり、まず既存のモノアミン再取り込み阻害薬の構造と脂溶性について解析した*) (Figure 9)。

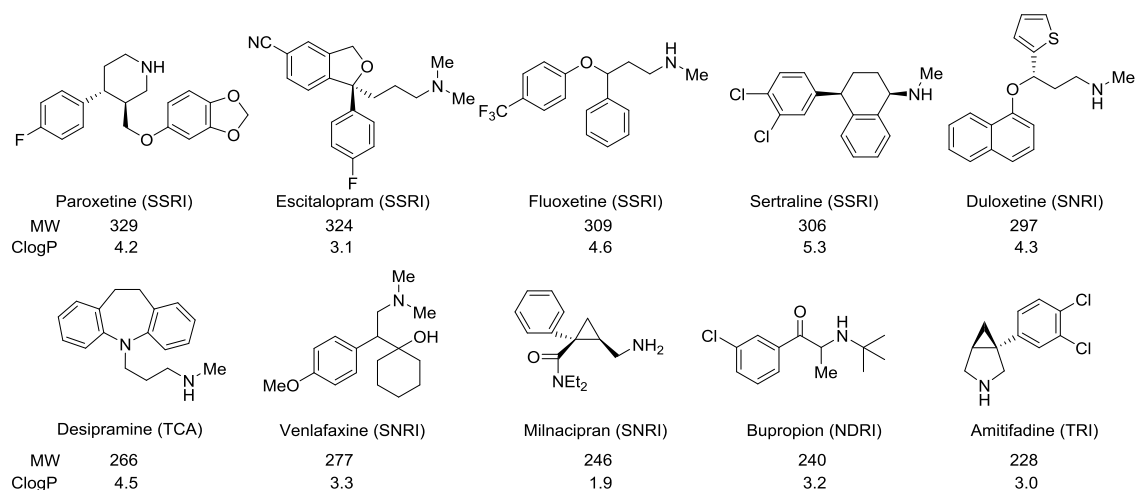


Figure 9. MW and ClogP values of some existing monoamine reuptake inhibitors.

これら化合物のうち、ミルナシプランおよびブプロピオンは特に CYP2D6 阻害、hERG 阻害および PLsis リスクが低いことで知られる。興味深いことに、分子量とこれらリスクのスコア（社内測定データ）が良い相関を示し、分子量が小さいほどリスクが低く、中でも分子量 300 以下が一定の目安となることが示唆された。さらに分子量と関連して、芳香環の数を 1 個に限定することがリスク回避に有効であると考えられた。脂溶性 (ClogP 値**)がこれらリスクを規定する因子の一つであることは、これまでも示唆されており²²、分子量が近いエスシタロプラムとパロキセチンを比較した場合、脂溶性の高いパロキセチン (ClogP = 4.2) の方がよりリスクが高いスコアを示した。これらの社内分析を基に、目標とする ClogP 値を 3.5 以下と設定した。

*) 社内データによる評価

***) ClogP 値は Daylight 社ソフトを用いて計算した。(ClogP, version 4.82, Daylight Software, Daylight Chemical Information Systems, Inc., Aliso Viejo, CA; <http://www.daylight.com>.)

以上の分子量と脂溶性に関する制限に加え、分子の形状についても考慮した。ターゲット臓器が脳であることから、血液脳関門 (BBB) を通過しやすい分子形状が求められる。分子形状についての合理的な体系は未だ確立されていないが、コンパクトで比較的対称性の良い分子が BBB 通過に適していると考えられた。また、医薬品開発の観点からは、不斉点の数は最小限に抑えることが望ましい。これらの条件を満たした上で、特定の側鎖置換基を変換することにより、効率的に分子全体の脂溶性を調節し、モノアミン再取り込み阻害と CYP2D6 阻害、hERG 阻害および PLsis リスクの低減とのバランスを図ることとした。

また、求められる3つのモノアミン再取り込み阻害活性の比率についても、あらかじめおおよその指針を立てた。最近のモノアミン仮説を基礎とした医薬品は、セロトニン再取り込み阻害を基盤とし、そこにノルエピネフリン再取り込み阻害を付加させる様式が多く見受けられる。このことから、ドーパミン再取り込み阻害は、既存薬の課題である寛解率や難治性所見の改善、また副作用回避に有効と期待される²¹が、その強度は、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害を支援する程度が望ましいと考えられた。以上の考察を踏まえ、4位ベンジル置換ピペリジンを基礎とした一連のモノアミン再取り込み阻害薬をデザインした (Figure 10)。

- MW < ca. 300
- Number of Ar ring = 1
- ClogP < ca. 3.5
- Simple symmetrical structure
- Minimum chiral center
- Substituents to adjust lipophilicity

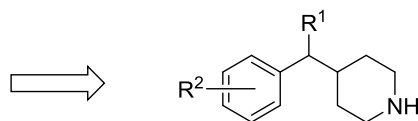


Figure 10. Design of piperidine-based core structure.

ピペリジン環は、対称性が高く BBB の通過に有用な部分構造である*)。この構造を基に、脂溶性基としてベンゼン環を持ち、さらに分子全体の脂溶性を調節する目的でベンジル位置置換基 R¹ を設定した。ベンゼン環上の置換基 R² は、3つの再取り込み阻害活性の強度およびバランスに重要な役割を果たしている。筆者らによる基礎的な検討の結果、3,4-ジクロロフェニル基が望ましい置換基の一つであることが判明していることから、本稿では、主に本置換基を持つ誘導体について論ずる。

*) ピペリジン構造は、中枢神経系薬物によく見られる部分構造である。(e.g. Paroxetine, Pethidine and Haloperidol).

第3節 合成

第2節で論じた分子設計に基づき、下記化合物の合成を行った (Figure 11)。

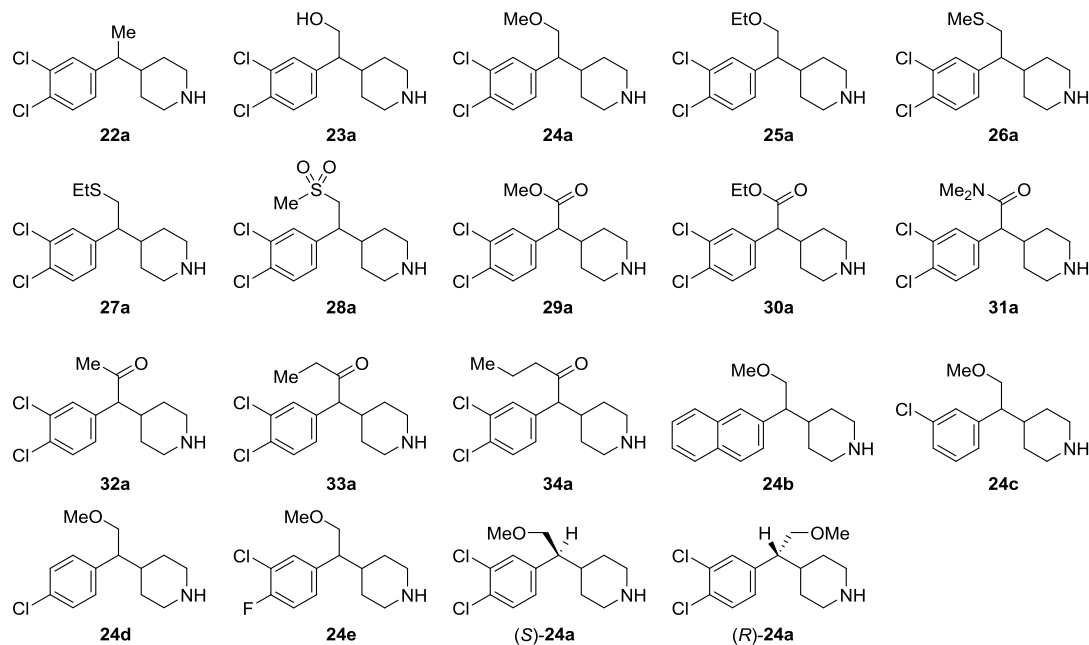
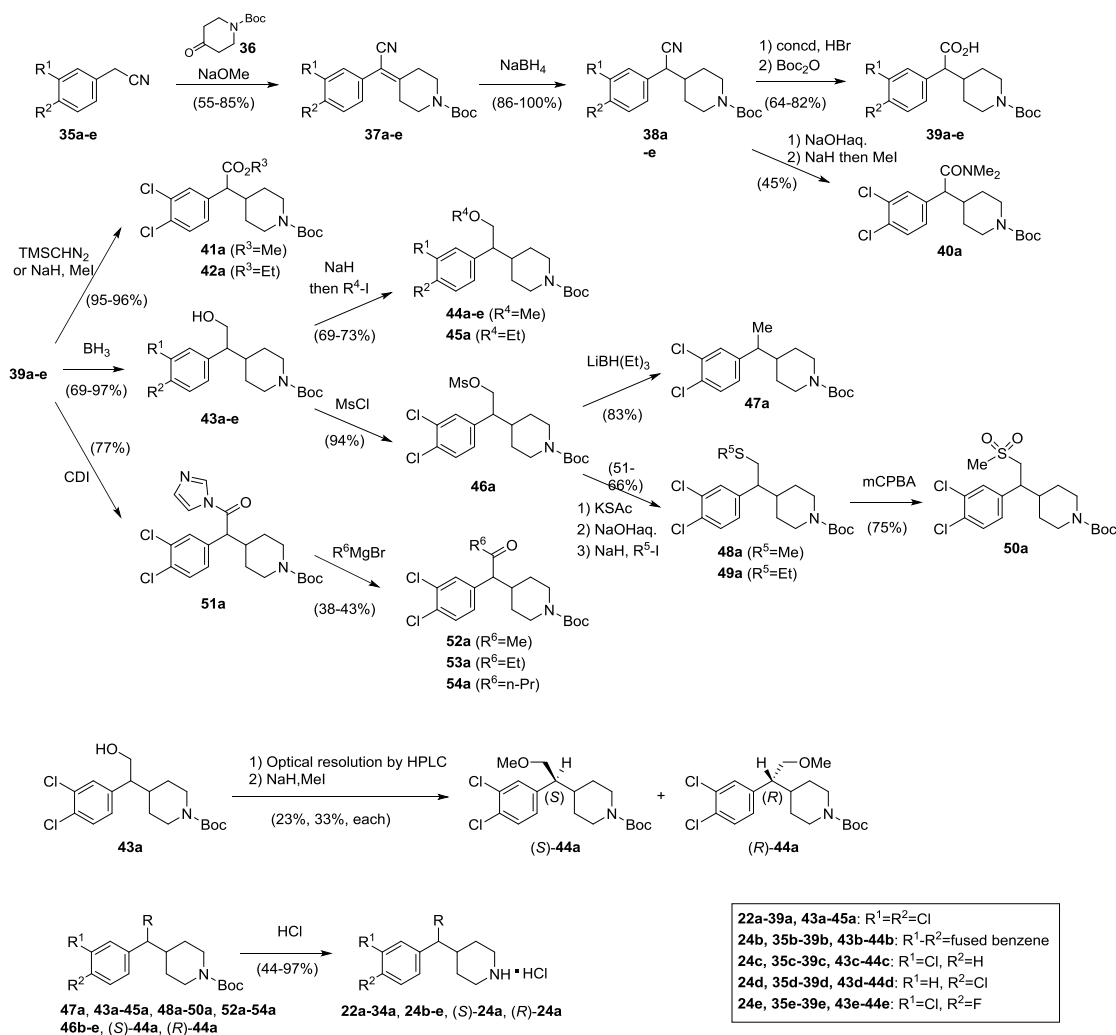


Figure 11. Synthesized compounds (each compound was prepared as its HCl salt)

一連のピペリジン誘導体の合成法を Scheme 3 に示す。フェニルアセトニトリル誘導体 **35a-e** と 1-Boc-4-ピペリドン (**36**) を塩基性条件下で縮合させ、得られた不飽和ニトリル **37a-e** を水素化ホウ素ナトリウムで還元することによりニトリル中間体 **38a-e** を得た。次いで、ニトリル基を酸加水分解した後、Boc 基を再導入してカルボン酸 **38a-e** とした。一方、アルカリ条件下で加水分解を行うと部分加水分解が進行し、対応するアミドが得られた。このアミドは、*N*-ジメチル化により中間体 **40a** とした。カルボン酸 **38a-e** は、トリメチルシリルジエタノールあるいはヨウ化エチルでアルキル化することにより、エステル **41a** および **42a** とした。一方、カルボン酸 **38a-e** のボラン還元によりアルコール **43a-e** とし、さらに *O*-アルキル化によりエーテル中間体 **44a-e** および **45a** を得た。アルコール **43a** をメシレート **46a** に変換し、リチウムトリエチルボロヒドリド²³を用いて水素原子を導入し、メチル誘導体 **47a** とした。また、メシレート **46a** にチオ酢酸カリウムを作用させ、加水分解の後に *S*-アルキル化によりチオエーテル **48a** および **49a** を、さらに **48a** を mCPBA により酸化してスルホン **50a** を得た。

Scheme 3



一方、カルボン酸 **39a** を 1,1'-カルボニルジイミダゾール (CDI) と反応させて活性カルボニル中間体 **51a** に変換し、次いでアルキルマグネシウムブロミドで置換してケトン **52a**, **53a** および **54a** を調製した²⁴。アルコール **43a** については、キラルカラム HPLC により光学分割を実施し、続く *O*-メチル化により光学活性メチルエーテル中間体 (*S*)-**44a** および (*R*)-**44a** を得た。最後に、これら *N*-Boc 中間体 **47a**, **43a-45a**, **48a-50a**, **52a-54a**, **44b-e**, (*S*)-**44a** および (*R*)-**44a** を塩化水素-エタノール溶液中、脱保護することにより、対応するアミン塩酸塩 **22a-34a**, **24b-e**, (*S*)-**24a** および (*R*)-**24a** を合成した。化合物 (*S*)-**24a** の絶対配置は、X 線結晶構造解析によって決定した。その ORTEP 図を Figure 12 に示す。

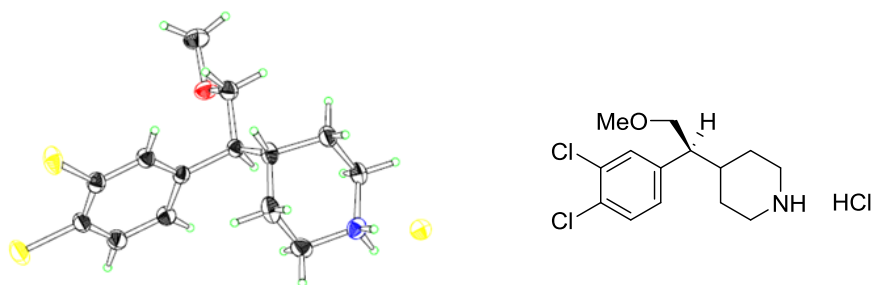


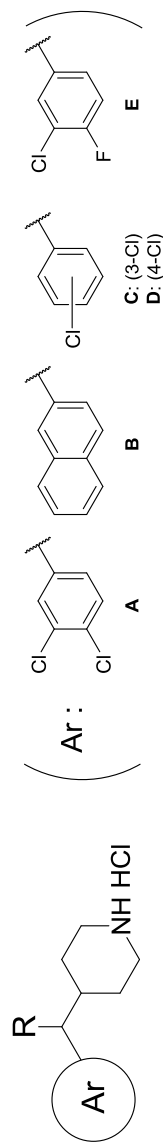
Figure 12. ORTEP drawing and structure of (S)-**24a**, thermal ellipsoids are drawn at 20% probability.

第4節 構造活性相関および抗うつ薬としての *in vivo* 評価

種々の側鎖を持つ 3,4-ジクロロフェニル誘導体および側鎖メトキシメチル体における芳香環上置換基についての結果を Table 5 に示す。データとしては、セロトニン・ノルエピネフリン・およびドーパミン (S/N/D) 再取り込み阻害作用²⁷、CYP2D6 阻害作用、hERG 阻害作用、PLsis スコア、およびマウス尾懸垂試験 (TST) における最小有効用量 (mg/kg, po) を並べて表した。最も単純で基準となるメチル誘導体 **22a** は、バランスの取れた S/N/D 再取り込み阻害作用を示した。側鎖への水酸基の導入 **23a** は、S/N/D 再取り込み阻害作用の低減をもたらしたが、CYP2D6 阻害作用、hERG 阻害作用および PLsis スコアに顕著な改善が見られた。

メトキシメチル体 **24a** およびエトキシメチル体 **25a** は、メチル体 **22a** と類似の再取り込み阻害活性プロファイルを示した。エーテルの酸素原子を硫黄原子に置き換えることにより (化合物 **26a**, **27a**)、活性の向上が見られたが、酸化によりスルホン **28a** とすると顕著に低下した。これら化合物の活性強度は、その ClogP 値とほぼ比例し、アルコール **23a**、スルホン **28a** における低活性とスルフィド **26a**, **27a** における高活性はそれぞれその脂溶性から説明可能であった。エステル **29a**, **30a** における保持された活性プロファイルや、アミド **31a** における活性低下もその脂溶性によって説明が付くと考えられた。一方、ケトン **32a**–**34a** は、それぞれ高い阻害活性を示したが、相対的にドーパミン再取り込み阻害が強い結果となった。特にプロピルケトン誘導体 **34a** は、強いドーパミン再取り込み阻害作用を示し、3つの阻害濃度がほぼ同レベルであった。

Table 5 Monoamine reuptake inh., CYP2D6 inh., hERG inh., PLsis score and TST of piperidine compounds with varied Ar and side chain R



Compd ^a	Ar	R	Reuptake inh. IC ₅₀ (nM) ^b , 95%CI ^c				hERG inhibition ^e (%)	PLsis ^f (score)	TST ^g MED(p.o.) (mg/kg)	ClogP
			SERT	NET	DAT	CYP2D6 inhibition ^d (%)				
22a	A	-Me	12 (11-14)	25 (19-32)	160 (120-210)	27	4.6	3	4.6	
23a	A	-CH ₂ OH	79 (65-97)	110 (99-130)	2400 (1300-4200)	-1.5	1.8	12	2.7	
24a	A	-CH ₂ OMe	11 (8.8-13)	14 (10-18)	190 (120-290)	5.7	4.0	42	3.5	
25a	A	-CH ₂ OEt	16 (13-19)	28 (20-38)	170 (120-250)	44	3.7	89	3.8	
26a	A	-CH ₂ SMe	9.1 (7.8-11)	9.3 (6.6-13)	79 (56-110)	32	3.3	73	4.3	
27a	A	-CH ₂ SEt	9.2 (8.1-10)	8.7 (7.0-11)	72 (51-100)	55	4.9	94	4.9	
28a	A	-CH ₂ SO ₂ Me	340 (280-410)	200 (140-300)	2200 (1400-3300)	3.9	1.5	9.0	2.0	
29a	A	-CO ₂ Me	5.2 (4.5-6.0)	18 (12-25)	220 (170-300)	13	4.0	56	3.1	
30a	A	-CO ₂ Et	9.3 (8.0-11)	12 (9.6-16)	97 (81-120)	38	3.4	110	3.7	
31a	A	-CONMe ₂	690 (550-860)	120 (80-190)	500 (370-680)	-8.1	1.8	14	2.3	
32a	A	-COMe	21 (17-26)	44 (32-61)	180 (150-230)	11	3.4	40	2.7	
33a	A	-COEt	18 (14-22)	28 (22-37)	100 (76-150)	6.1	3.2	51	3.3	
34a	A	-COnPr	37 (29-47)	22 (16-31)	26 (19-36)	20	4.3	72	3.8	
24b	B	-CH ₂ OMe	2.1 (1.8-2.6)	36 (19-67)	1100 (790-1500)	22	2.2	38	3.3	
24c	C	-CH ₂ OMe	180 (150-220)	98 (54-180)	2600 (1800-3700)	2.0	1.6	23	2.9	
24d	D	-CH ₂ OMe	120 (95-160)	130 (68-260)	2700 (1900-3800)	-2.8	1.7	22	2.9	
24e	E	-CH ₂ OMe	32 (26-39)	70 (42-120)	580 (410-830)	-18	1.6	24	3.0	

^a All compounds were tested as their racemates. ^b These values were calculated from the results of two experiments. ^c 95% confidence interval for each IC₅₀ value. ^d CYP2D6 inhibition expressed as its % inhibition value at the drug concentration of 10 μ M. ^e hERG inhibition using IonWorks Quattro™²⁵, expressed as its % inhibition value at the drug concentration of 10 μ M. ^f Phospholipidosis potential score measured by reported method²⁶ with NBD-PE and HepG2 cells. In this method, higher score shows increased PLsis potential. Compounds in Table 5 exhibited lower potential. ^g Tail suspension test in mice expressed as minimum effective dose.

CYP2D6 阻害と PLsis ポテンシャルは、ほとんどの化合物で低リスクであった。これは、筆者らの当初の戦略 (低分子量、低脂溶性) の妥当性を裏付けるものであると考えられる。一方、hERG については、既存薬に比べて低いレベルにあるものの、強い再取り込み阻害活性を示す化合物 (化合物 **24a**, **34a** など) においては軽度から中程度の阻害が残る結果となった*)。

次に、開発候補化合物を選択するため、*in vivo* 抗うつ様作用の評価として、経口投与におけるマウス尾懸垂試験²⁸を実施した。強い3つの再取り込み阻害活性を示し、かつ CAD 関連リスクの低い化合物を中心に選び、その最小有効用量 (mg/kg, po) を求めた。メチル体 **22a** およびアルコキシメチル体 **24a**, **25a** は、いずれも強い抗うつ様作用を示した。スルフィド体 **26a** やケトン体 **32a** の抗うつ様作用は、その強いモノアミン再取り込み阻害活性にも関わらず、中程度であった。この理由として、薬物動態が悪いため血中あるいは中枢での薬物濃度が低いことが予想された。以上のことから、これら化合物の中では、メトキシメチル体 **24a** が最もバランスの取れたプロファイル (優れた再取り込み阻害活性、*in vivo* 抗うつ様作用、および低い CYP 阻害、hERG 阻害、PLsis リスク) を示した。

以上の知見を基に、側鎖 **R¹** としてメトキシメチル基を選び、芳香環 (Ar) 上の置換基効果についていくつか検討を行った。2-ナフチル体 **24b** は 3,4-ジクロロ体 **24a** とは異なり、相対的にドーパミン再取り込み作用が弱く、SNRI に似たバランスを示した。ClogP 値のより低い 3-クロロ体 **24c** および 4-クロロ体 **24d** は、再取り込み阻害活性の低下傾向が見られた。3-クロロ 4-フルオロ体 **24e** は、3-クロロ体 **24c** よりもやや低い ClogP 値を持つが、3つのバランスの取れた再取り込み阻害作用を示し、かつ CYP 阻害、hERG 阻害および PLsis 回避に優れていたが、活性強度がやや不十分であった。このように、分子の脂溶性が活性強度、CYP/hERG 阻害および PLsis を規定する因子の一つであることが示唆された。脂溶性 (ClogP 値) と CYP/hERG 阻害および PLsis スコアとの相関を Figure 13a-c に示す。

*) イヌ・テレメトリー試験において、(S)-**24a** の iv 投与による QT 延長は認められなかった。

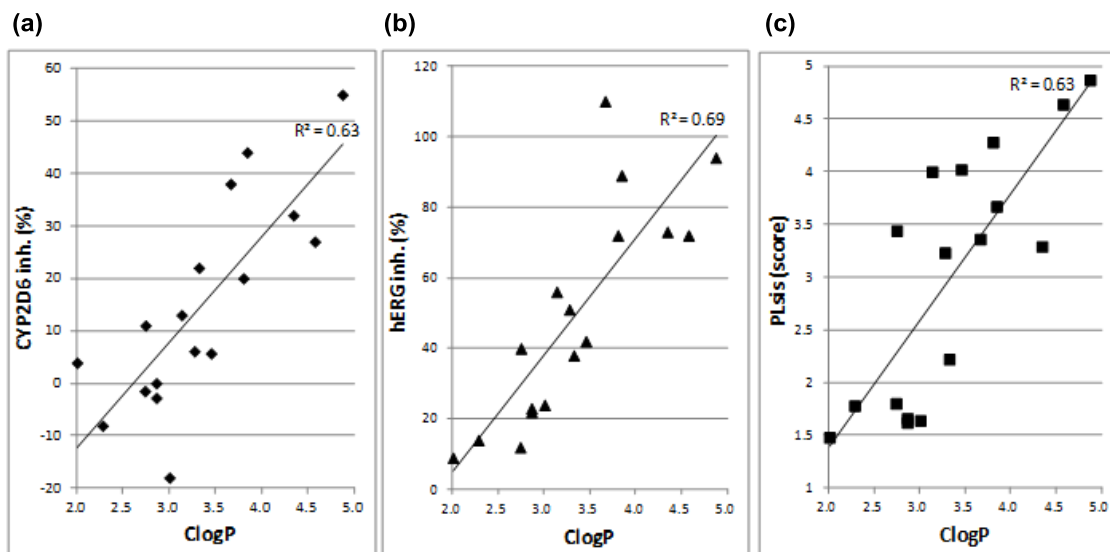
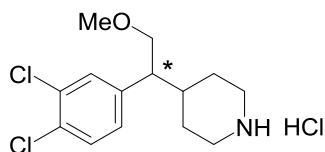


Figure 13. Correlation between CYP2D6 (a), hERG (b) and PLsis (c) vs. ClogP.

CYP 阻害、hERG 阻害および PLsis スコアのいずれも、ClogP 値と強い正の相関を示し、決定係数 (R^2) はそれぞれ 0.63, 0.69 および 0.63 であった。一方、モノアミン再取り込み阻害作用も ClogP 値と正の相関を示すため、活性との両立を考慮し、最適なバランスを持つ ClogP 値を探ることとした。3つの CAD 関連毒性のうち、安全域を考えた際、CYP 阻害と PLsis スコアで広く、hERG 阻害でやや狭い傾向があることから、十分な活性強度と安全が確保できる hERG 阻害率の両立が鍵となり、その ClogP 値は 3.5 近辺が望ましいことが示唆された。合成化合物のうち、メトキシメチル体 **24a** の脂溶性が求められる値に近く (ClogP = 3.5)、活性強度と CYP/hERG 阻害および PLsis スコアの実測値のバランスが最も優れていた。これらの結果から、化合物 **24a** を選択し、光学分割とさらなる評価を行うこととした。

化合物 **24a** と対応する光学活性体を用いた評価結果を Table 6 に示す。

Table 6 Monoamine reuptake inh., CYP2D6 inh., hERG inh., PLsis potential and TST of compound **24a** and its optically active derivatives

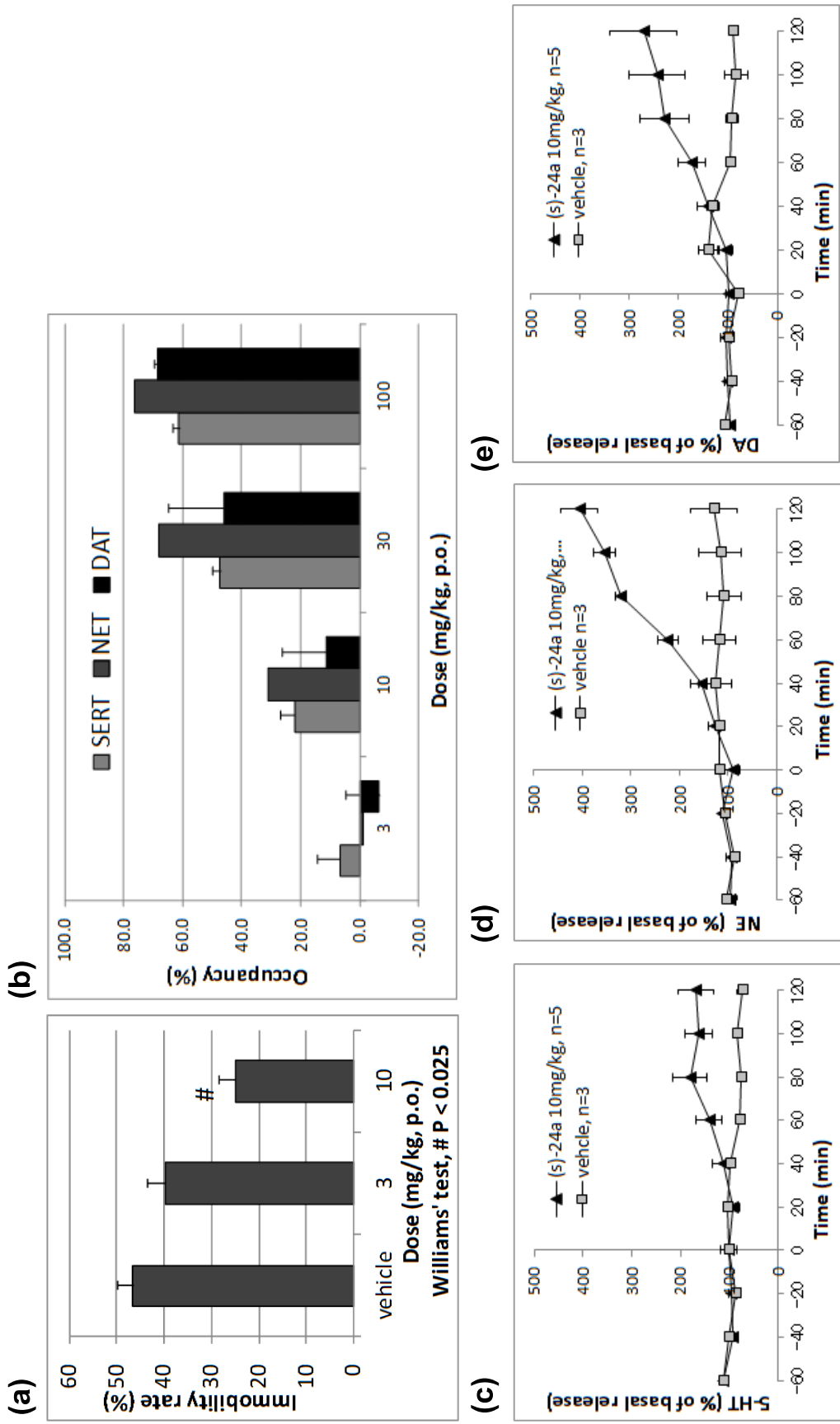


Compd ^a	Stereo *	Reuptake inh. IC ₅₀ (nM) ^b , 95%CI ^c			CYP2D6 inhibition ^d (%)	hERG inhibition ^e (%)	PLsis ^f (score)	TST ^g MED(p.o.) (mg/kg)	ClogP
		SERT	NET	DAT					
<i>(rac)</i> - 24a	<i>RS</i>	11 (8.8-13)	14 (10-18)	190 (120-290)	5.7	42	4.0	3	3.5
<i>(S)</i> - 24a	<i>S</i>	130 (98-160)	15 (11-19)	180 (110-280)	14	48	2.7	10	3.5
<i>(R)</i> - 24a	<i>R</i>	5.7 (4.8-6.7)	21 (16-28)	470 (280-780)	13	46	3.1	10	3.5

^a Compounds *(rac)*-**24a** is a racemate. Others are optically active compounds possessing indicated absolute configuration at 1-position. ^{b, c, d, e, f, g} See corresponding footnotes of Table 5.

R体 (*(R)*-**24a**) のセロトニン再取り込み阻害活性は、S体 (*(S)*-**24a**) の約20倍の強度を示したがノルエピネフリン再取り込み阻害活性は同等程度であった。一方、ドーパミン再取り込み阻害はS体においてラセミ体 (*(rac)*-**24a**) よりもわずかに増強したが、R体では減弱した。これらの結果から、セロトニン再取り込み阻害についてはR体が、ノルエピネフリンおよびドーパミン再取り込み阻害についてはS体がそれぞれユートマーであると判断された。これら2つの光学活性体ではモノアミン再取り込み阻害作用の比率が異なるが、S体の方が3つの作用をバランス良く持つことが判明した。また、CYP阻害、hERG阻害およびPLsis回避も良好であり、強い抗うつ様作用 (TST MED: 10mg/kg, po) を示したことから、化合物 (*(S)*-**24a**) を開発候補化合物に選定し、より高次の *in vivo* 評価を行うこととした。

Figure 14. In vivo profile of compound (S)-24a; **(a)** Mouse tail suspension test, **(b)** Monoamine transporter occupancies in mouse frontal cortex and striatum, **(c-e)** Monoamine concentration (5-HT **(c)**, NE **(d)**, DA **(e)**) in mouse prefrontal cortex measured via microdialysis.



化合物 (S)-24a のマウス尾懸垂試験²⁸、マウス前脳および線条体でのモノアミントランスポーター占有率²⁹、およびマウス前脳でのモノアミン濃度の時間経過 (マイクロダイアリシス³⁰) を Figure 12a-e に示す。マウス尾懸垂試験において、化合物 (S)-24a は用量依存的に不動率を低下させ、10mg/kg, po の投与で統計的な有意差が見られた (パラメトリック Williams' test; $P < .025$, Figure 14a)。化合物 (S)-24a 投与によるマウス前脳モノアミントランスポーターへの薬物占有率は、セロトニン、ノルエピネフリンおよびドーパミン各トランスポーターそれぞれについて、用量依存的な増加が観測された (Figure 14b)。また、化合物 (S)-24a の投与は、少なくとも 120 分間にわたり前脳におけるモノアミン濃度を上昇させ、その最大濃度は、基底濃度に対しそれぞれ 120% (セロトニン)、400% (ノルエピネフリン) および 270% (ドーパミン) であった (Figure 14c-e)。これらの結果から、化合物 (S)-24a はモノアミン仮説を基礎とした抗うつ薬としてのポテンシャルを有していると考察された。以上から、化合物 (S)-24a は、トリプル再取り込み阻害薬としての特性を持ち、かつ CAD 関連毒性のリスクが低い優れた抗うつ薬となることが期待された。

第 5 節 小括

CAD 由来のリスクの低い、新しいトリプル再取り込み阻害薬の開発を目指し、既存モノアミン再取り込み阻害薬の解析を行った結果、分子量と脂溶性を抑える戦略が望ましいと考えられ、一連のピペリジン誘導体をデザインし合成した。モノアミン再取り込み阻害作用は、脂溶性の増大とともに増強したが、一方で CYP 阻害、hERG 阻害および PLsis のリスクもそれに伴って増大した。分子量を 300 以下、芳香環の数を一つに限定し、側鎖置換基を選択することにより、効率的に化合物の最適化を実施した。光学分割を実施後、活性およびリスク回避に最もバランスの取れた化合物 (S)-24a を見いだした。新しいトリプル再取り込み阻害薬である化合物 (S)-24a は、抗うつ薬としての *in vivo* 評価において有効であることが明らかとなった。今回見いだした、分子量と脂溶性を制限することによる CAD 関連毒性回避法は、今後の創薬研究にも有用と考えられる。

第4章 2環性アミド誘導体タキキニン NK1 受容体拮抗薬におけるアトロプ異性の制御と構造活性相関

第1節 背景

神経ペプチドは中枢および末梢神経に存在し、多種多様な生理活性を有する一連のペプチド類の総称で、現在までに50種類以上が知られている。タキキニン類は神経ペプチドの中で大きなファミリーを形成するペプチドであり、血圧降下や腸管収縮作用を持つ物質として哺乳類や両生類など種々の動物種から単離された。タキキニン類は、その共通構造としてペプチドのC末端側に[Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂]というアミノ酸配列を持つ。哺乳類におけるタキキニン類として、サブスタンス P (SP)、ニューロキニン A (NKA) およびニューロキニン B (NKB) が知られており、それぞれ G タンパク質共役受容体を介して生理活性を発現する。これまで、上記3つのペプチドに対する親和性の違いから NK1, NK2 および NK3 受容体が同定されており、このうち NK1 受容体は SP に最も高い親和性を示す。SP は痛み的一次伝達物質として知られるが、その生理作用は多岐に渡り、ストレス反応、不安、神経新生、悪心、記憶の他、呼吸、免疫、血管透過性および腸管収縮の調節等に関与することが明らかとなっている。このことから、その拮抗薬は、痛み、炎症、自己免疫疾患、嘔吐および偏頭痛などの疾患治療薬として期待されている。

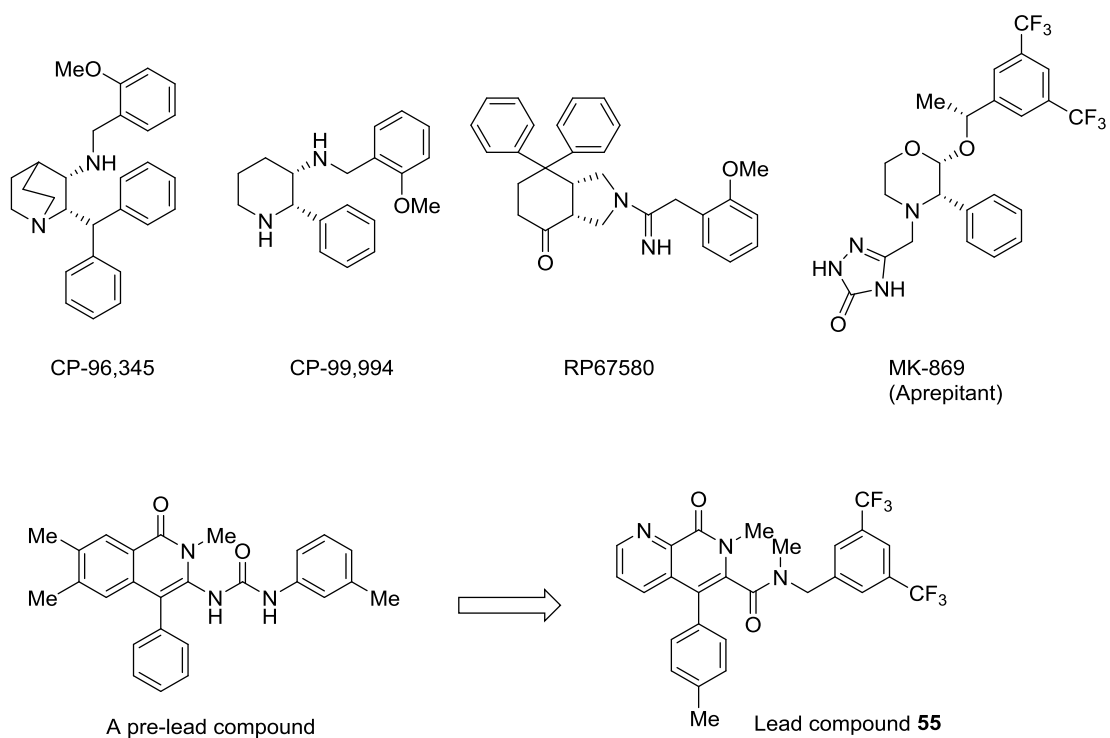


Figure 15. Some various NK1 antagonists and our lead compound 55

1990年代以降、種々の低分子NK1拮抗薬が製薬各社によって報告された。著者らの研究グループにおいてもイソキノロンウレア誘導体をリードとした最適化研究³⁴⁻³⁷において、経口吸収に優れた新規ピリドピリジン系NK1拮抗薬**55**^{34,35}を見いだした (Figure 15)。しかしながら、化合物**55**は次節に示す立体化学的な問題を有することが判明した。

第2節 分子設計

化合物**55**の6位アミド構造は、主に*trans*型配座で存在する*)。しかしこのアミド基は、5位フェニル基と7位N-メチル基に挟まれて立体的に混み合った空間に位置しているため、C-N結合の自由な回転が阻害され、*cis*体および*trans*体が単離可能で、かつそれぞれの生理活性が異なることが判明した。加えてC-N結合の自由回転阻害の結果、通常のクロマトグラフィーで単離可能な一組のアトロプ異性体 (*aR*-**55**) および (*aS*-**55**) が存在し、合計4つの異性体の混合物であることが明らかとなった³⁸ (Figure 16)。

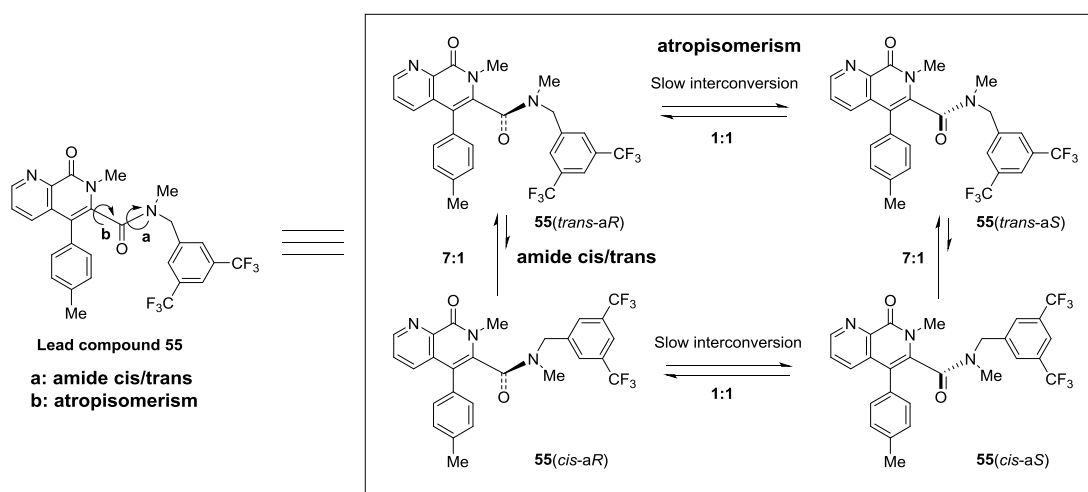
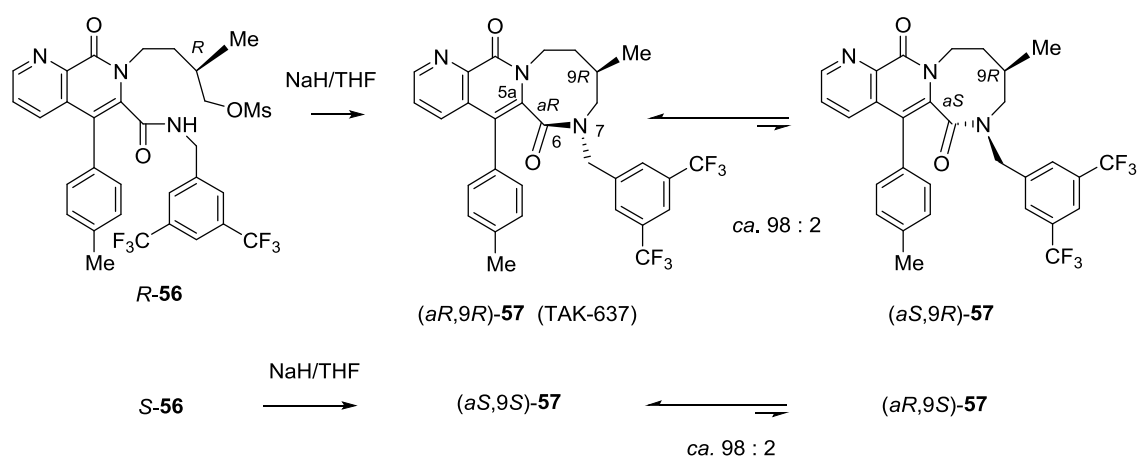


Figure 16. Amide cis/trans isomers and atropisomerism of lead compound **55**

これらの問題点を解決するために、環構造の中にアミド結合を組み込むことを検討した (Scheme 4)。8員環の導入により、**57**のアミド結合は化合物**55**の主異性体と同様の*trans*型配座に固定された。

*) 化合物 *trans*-**55** は、溶液(e.g., CDCl₃) 状態で室温 6 時間後に *trans*-/*cis*-アミドの平衡に達し、その比率は約 7:1 であった。化合物 *cis*-**55** は、カラムクロマトグラフィーで分離可能である。化合物 *cis*-**55** の NK1 アンタゴニスト活性は IC₅₀=7.0 nM であり、*trans*-**55** (IC₅₀=0.34 nM) より弱かった。化合物 *cis*-**55** にもアトロプ異性体が存在し、キラル HPLC カラムを用いて分離可能であった。^{34,35}

また、この8員環化合物 **57** でもアトロプ異性体が存在したが、環上9位のメチル基によってアトロプ異性が熱力学的に制御され、ジアステレオマー比約 98:2 の混合物となることが確認された（1回の再結晶によって、ジアステレオマー純品となることを確認済み）。すなわち、*R*-**56** の環化によって (*aR*,9*R*)-**57** が、*S*-**56** からはその鏡像体である (*aS*,9*S*)-**57** がそれぞれ選択的に得られた。これら4つの立体異性体の NK1 拮抗作用は、[IC₅₀, nM: (*aR*,9*R*)-**57**, 0.45; (*aS*,9*R*)-**57**, 20; (*aR*,9*S*)-**57**, 8.6; (*aS*,9*S*)-**57**, 340] であり、それぞれ *aR* 体が対応する *aS* 体より活性が高く、アトロプ異性によるねじれ構造が薬理活性を規定しているものと考えられた。（このうち (*aR*,9*R*)-**57** は、TAK-637^{36,37} として頻尿・尿失禁を適応疾患として開発が進められた。）



Scheme 4. Atropodiastereoselective formation of **57** from the chiral intermediates (*R*-**56** and *S*-**56**).

化合物 (*aS*,9*S*)-**57** の X 線構造解析の結果、トリル基とビス（トリフルオロメチル）フェニル基が中間のアミド基を介して相対している構造（スタッキングコンフォメーション）が観測された^{36,37}。このスタッキングコンフォメーションは、X 線構造解析で明らかとなった化合物 **55** の構造中にも見られたことから、分子のねじれを規定する *aR* 構造と共に、NK1 拮抗作用を発現するために重要なファーマコフォア構造であると考えられた³⁷ (Figure 17)。

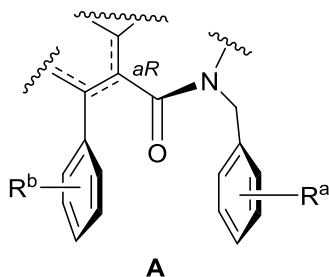


Figure 17. Pharmacophore structure (**A**) required for NK1 receptor recognition

本章では、TAK-637 での知見をベースに、より低分子化を指向した 2 環性アミド誘導体におけるアトロブ異性と構造活性相関について論ずる。

第 3 節 合成

第 2 節で論じた分子設計に基づき、下記化合物の合成を行った (Figure 18)。

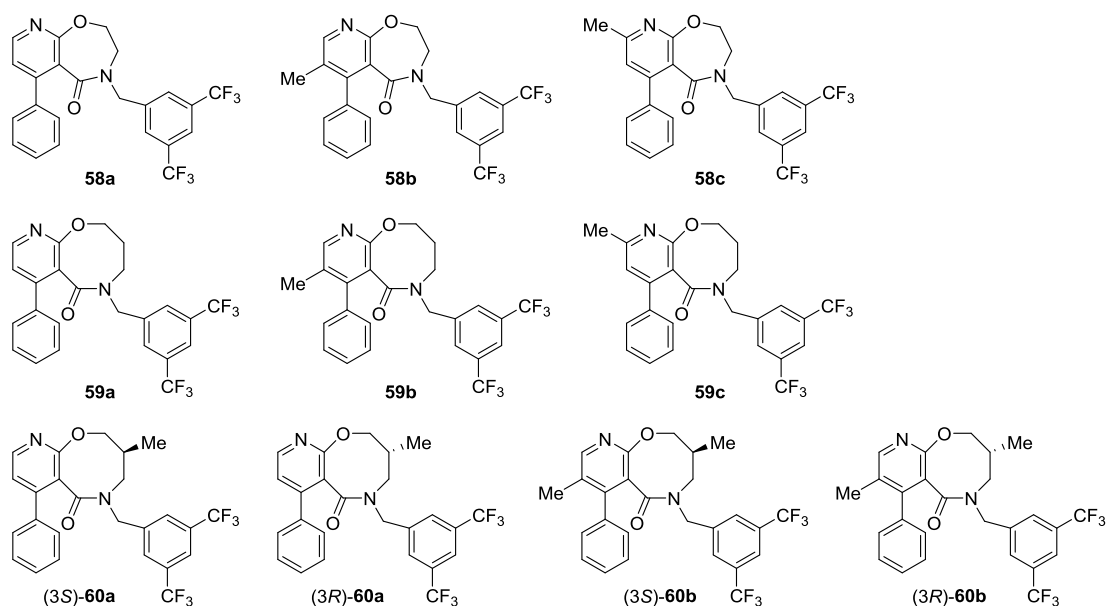
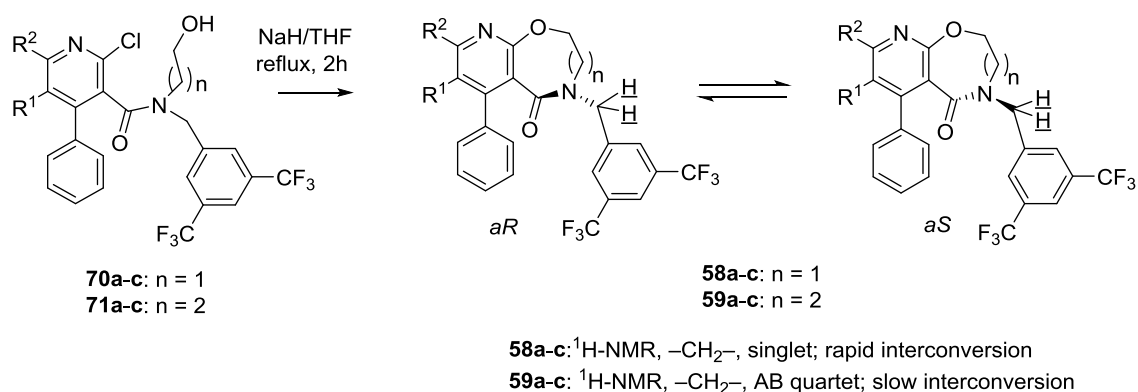


Figure 18. Synthesized compounds

2 環性化合物 **58** – **60** の合成について以下に示す。鍵中間体となる 2-chloro-4-phenylpyridine-3-carboxylic acid **65a–c** は、公知の方法³⁸ に準じて合成した (Scheme 5)。すなわち、ケトン **61a, b** とシアノ酢酸エチルとの脱水縮合により **62a, b** とし、次いでジメチルホルムアミド ジメチルアセタールあるいはジメチルアセトアミド ジメチルアセタールとの縮合によりエナミン **63a–c** を得た。ピリジン環の構築は、エナミン **63a–c** の塩化水素処理によって行い、塩素原子の導入されたニコチン酸エステル誘導体 **64a–c** とし、続く加水分解によってピリジンカルボン酸 **65a–c** を得た。もう一方の構成成分である *N*-3,5-[bis(trifluoromethyl)benzyl]amino-alkanols **69i–iv** は、ベンジルアルコール誘導体 **66** のメシル化と続くアミノアルコール **68i–iv**³⁹ による置換によって調製した (Scheme 6)。ピリジンカルボン酸 **65a–c** とアミノアルコール **68i–iv** のアミド化を行いアミド **70–72** とした。最終ステップにおいて、アミド **70–72** を THF 中水素化ナトリウムの存在下加熱還流することによって分子内環化を行い、目的とする 2 環性アミド誘導体 **58–60** を合成した。これら誘導体の立体化学的挙動については、第 4 節で述べる。

Scheme 7.



58, 59, 70, 71

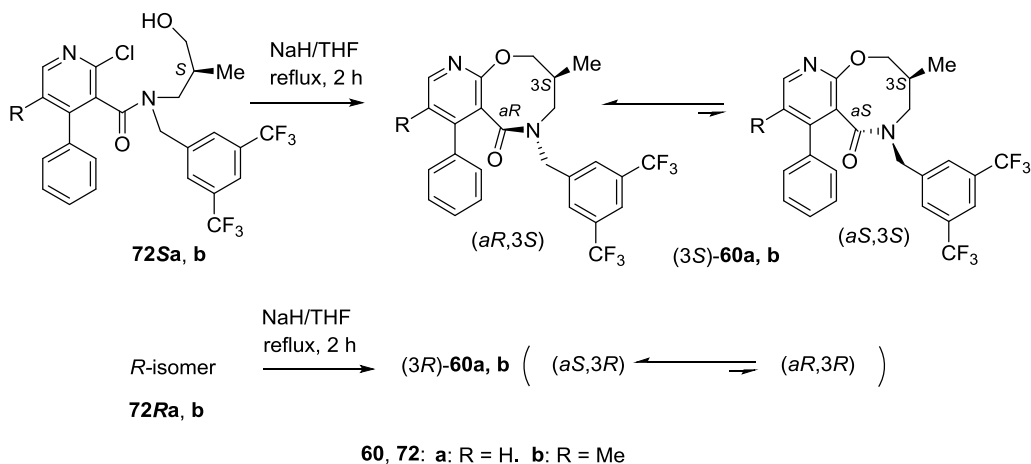
a: $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$. **b:** $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{H}$. **c:** $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$

その結果、7員環誘導体 **58a-c** のベンジル位プロトンはシングレットとして観測され^{*)}、速いコンフォメーション変化によって2つのベンジル位プロトンは区別できないことが示唆された^{*)}。一方、8員環誘導体 **59a-c** のベンジル位プロトンは一對の AB パターン ($J = 15.2 - 15.6 \text{ Hz}$) として観測された。これは、少なくとも NMR のタイムスケールにおいて、コンフォメーション変化が遅いことにより2つのベンジル位プロトンがジアステレオトピックな場に存在し^{35,37}、磁氣的に非等価となった結果であると説明できた。8員環誘導体 **59a-c** の光学分割は実施していないが、これらは *aR*-体および *aS*-体の 1:1 混合物 (ラセミ体) として存在することが予見された。

これらの知見を基に、次に TAK-637 と同様、環上にメチル基を1つ導入した 7-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-6*H*-pyrido[2,3-*b*][1,5]oxazocin-6-one **60** を合成した (Scheme 8)。

*) TAK-637 誘導体の場合、*N*-ベンジルメチレンプロトンは7員環誘導体であっても ^1H NMR で AB-パターンとして観測された。³⁷ 対して本論文の7員環誘導体 **58a-c** はシングレットとして観測されたことから、本論文の2環性化合物では TAK-637 における3環性化合物よりも速いコンフォメーション変化が起こっていると考えられる。

Scheme 8.



光学活性な中間体 **72Sa** および **72Sb** を THF 中水素化ナトリウムの存在下 2 時間加熱還流することにより、環化成績体 (*3S*)-**60a**^{*)} および (*3S*)-**60b**^{*)} がそれぞれ無色結晶として得られた。同様にして、中間体 **72Ra** および **72Rb** から (*3R*)-**60a** および (*3R*)-**60b** をそれぞれ合成した。

¹H NMR (CDCl₃) を測定すると、これら化合物は溶液中でいずれも約 98:2^{**)} のジアステレオマー混合物として存在することが観測された。指標としたピークの化学シフト値は、例えば化合物 (*3S*)-**60b** の場合、C₍₃₎ メチル基が[δ , major 0.83 (d, $J = 6.6$ Hz) and minor 1.31 (d, $J = 7.3$ Hz)], C₍₈₎ メチル基が[δ , major 2.07 (s) and minor 1.98 (s)]であった。化合物 (*3S*)-**60b** の再結晶を繰り返し実施したが、NMR にて観測される溶液中のジアステレオマー比は 98:2 のままであった。また、トルエン中 2 時間加熱還流後も同様であった。このことから、結晶中では単一の可能性があるが、溶液中では 2 つのコンフォーマーが存在すると考えられた^{***)}。

*) 化合物 **60** の C₍₃₎ 立体命名法における優先順位は TAK-637 と異なる。いずれのケースでもメチル基は β 位に位置する。

**) ¹H NMR による比率は、溶媒により僅かに変化した。 *i.e.*, in CD₃OD, *ca.* 96:4, in DMSO-*d*₆, *ca.* 97:3, pyridine-*d*₅, *ca.* 97:3.

***) (*3S*)-**60b** の結晶中でも 2 つのコンフォーマー(約 98:2) が共存する可能性は排除できない。

取り得るコンフォメーションについてより詳細に考察するため、化合物 (3*S*)-**60b** のメジャーなコンフォマーと TAK-637³⁷ のそれとの NMR を比較した (Figure 19)。その結果、化合物 (3*S*)-**60b** と TAK-637 のスペクトルに多くの類似点が見いだされた。すなわち、化合物 (3*S*)-**60b** の C₍₃₎プロトン (H-3) とベンジル位メチレンプロトン (H-1'a) との間に NOE が観測され (Figure 19)、かつそれらプロトンの化学シフト値とカップリング定数が TAK-637 と近い数値を示した。また、C₍₄₎プロトン (H-4b) とベンジル位メチレンプロトン (H-1'b) との間にロングレンジカップリング ($J = 1.4\text{Hz}$) が観測された。これらの類似点により、化合物 (3*S*)-**60b** も TAK-637 同様、(*aR*,3*S*) 構造を有していることが予測された。一方、マイナーなコンフォマーは、TAK-637 のマイナー *aS* 異性体と良いスペクトルの一致を示し、(*aS*,3*S*) 構造を有していると考えられた。

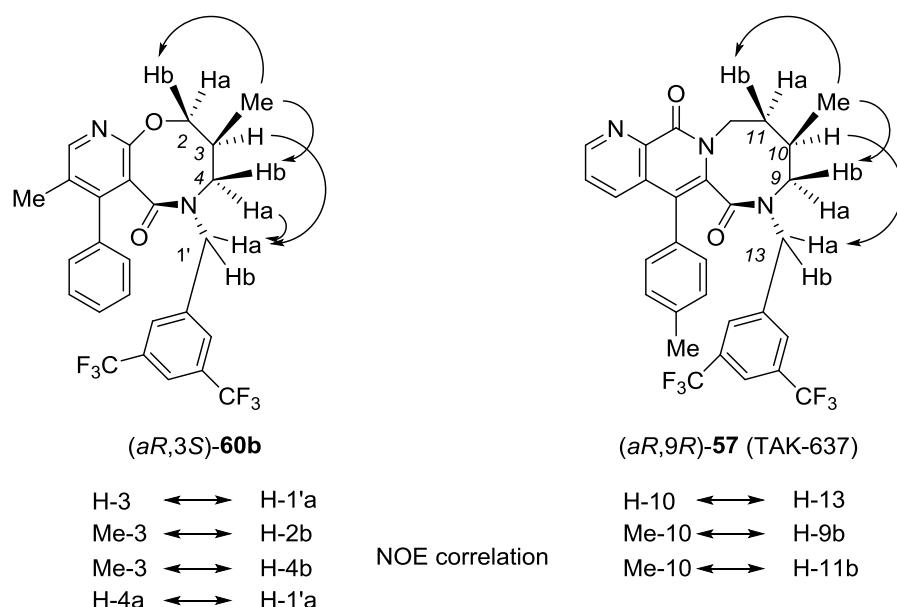


Figure 19. NOE correlation in (*aR*,3*S*)-**60b** and (*aR*,9*R*)-**57** (TAK-637)

化合物の熱力学的平衡に関する挙動については、さらなる考察を加えた。化合物 (3*S*)-**60b** の NOESY スペクトルを精査すると、CH₃-3, CH₃-8, H-4b, H-2a および H-2b のシグナルにおいて、2つのコンフォマー間でサイト間交換ピークが観測された。このことは、2つのコンフォマーが溶液中で互いに変換していることを示唆している⁴⁰。

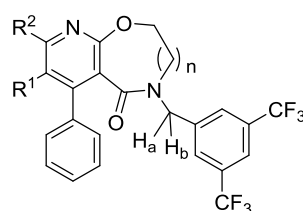
また、(3*S*)-**60b** の2つの回転異性体間の自由エネルギー差を PM3 にて計算すると、2.0 kcal/mol であった。自由エネルギー差 (ΔG) と化学平衡 (K) の間には $\Delta G = -RT \ln K$ (R は気体定数、 T は絶対温度) の関係があることから、2つの回転異性体比は 25°C にて 96:4 と見積もられた。これは実際の生成比 (98:2) に近い値であった。

以上の結果から、化合物 (3*S*)-**60b** は、結晶中では単一の構造を有する可能性があるが、溶液中では比較的速いコンフォメーション変換が起きており、(*aR*,3*S*)-体と (*aS*,3*S*)-体の約 98:2 の平衡状態にあると考えられた。

同様の結果は化合物 (3*S*)-**60a** でも得られており、これらの化合物は、共通して、C₍₃₎メチル基と *N*-[3,5-bis(trifluoromethyl)benzyl]基が 8 員環に対して互いに反対側にある (TAK-637 と同様の) コンフォメーションを取っていることが示唆された。

次いで、合成化合物の NK1 拮抗作用をヒト IM-9 細胞を用いた [¹²⁵I]-Bolton-Hunter (BH)-サブスタンス P バインディングアッセイ^{34,41} によって測定した。2 環性アミド誘導体のうち、環上にメチル基が無い 7 員環誘導体 **58a–c** および 8 員環誘導体 **59a–c** の NK1 拮抗作用を Table 7 に示した。これらは比較的近い値の NK1 拮抗作用を示し、中でもフェニル基の隣接位 (R¹) にメチル基を有する化合物 (**58b** および **59b**) が無置換化合物 (**58a** および **59a**) や R² 位メチル化合物 (**58c** および **59c**) と比較してより強い *in vitro* 活性を示す傾向が見られた。これは、R¹ 位がフェニル基のペリ位に相当し、立体障害の影響で Figure 15 で示したスタッキングコンフォメーションを取りやすくなった結果と考察された (Figure 20)*)。これは、リード化合物 **55** における観測^{34,35} と同様であり、それぞれの熱力学的な最安定配座を反映していると考えられる (Figure 21)。

Table 7. Physicochemical properties and NK1 antagonistic activity of 3,4-dihydropyrido[3,2-*f*][1,4]oxazepin-5(2*H*)-ones **58a–c** and 2,3,4,5-tetrahydro-6*H*-pyrido[2,3-*b*][1,5]oxazocin-6-ones **59a–c** .



Compd. no.	R ¹	R ²	n	Mp (°C)	¹ H-NMR ^a ppm, δ (Hz) (–CH _a H _b –)	NK1 antagonistic activity ^b IC ₅₀ (nM)
58a	H	H	1	200–201	4.88 (2H, s)	4.3
58b	Me	H	1	179–181	4.80 (2H, s)	1.1
58c	H	Me	1	151–153	4.87 (2H, s)	3.3
59a	H	H	2	188–189	4.17, 5.50 (each 1H, d, <i>J</i> =15.2)	7.1
59b	Me	H	2	180–182	4.05, 5.45 (each 1H, d, <i>J</i> =15.6)	1.6
59c	H	Me	2	164–165	4.14, 5.49 (each 1H, d, <i>J</i> =15.2)	2.5

TAK-637 showed IC₅₀ value of 0.45 nM in this assay.

^aIn CDCl₃: s=singlet, d=doublet. ^bInhibition of [¹²⁵I]-BH-SP binding in human IM–9 cells (lymphoblast cells).

*) ¹H NMR において、化合物 **59b**, (3*S*)-**60b** および (3*R*)-**60b** の C₍₇₎-フェニル基のプロトンはブロードなシグナルとして (2H at 6.6–7.4 ppm)、またブロードなシングレット (3H at 7.37 ppm) として観測された。一方、化合物 **59a**, **59c**, (3*S*)-**60a** および (3*R*)-**60a** のものはシャープな形状のマルチプレットとして観測された。これは、化合物 **59b**, (3*S*)-**60b** および (3*R*)-**60b** において、フェニル基の自由回転が部分的に規制されているためと考えられる。

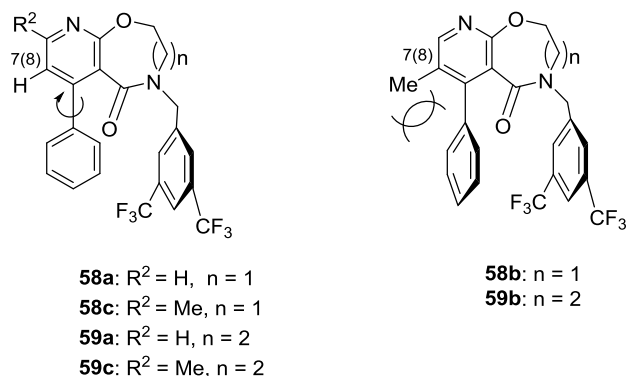


Figure 20. Stacking conformation in **58b** and **59b** (right) caused by the 7- or 8-methyl group.

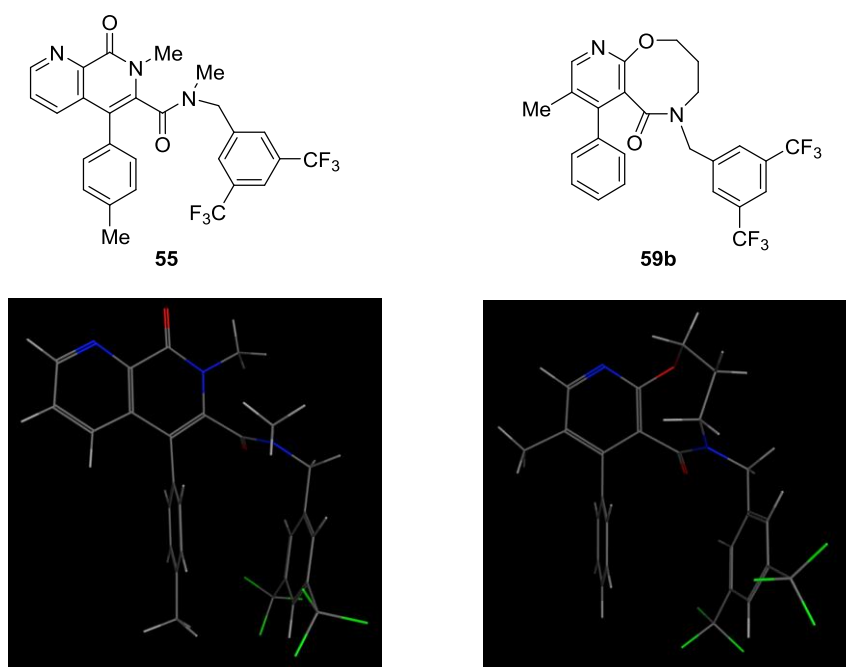
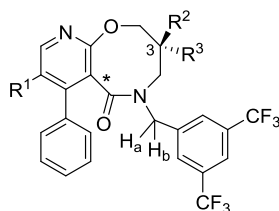


Figure 21. The most stable conformation of lead compound **55** (left) and **59b** (right) (PM3).

光学活性な8員環誘導体 **60** のNK1拮抗作用をTable 8に示した。(3*S*)-**60a** と(3*R*)-**60a**、および(3*S*)-**60b** と(3*R*)-**60b** がそれぞれ鏡像異性の関係にあるが、これら鏡像異性体間で明らかな活性の違いが見られた。すなわち、(3*S*)-体は(3*R*)-体に比べ50–200倍の強い活性を示した。このことから、NK1受容体はアトロプ異性を認識しており、*aR*体がユートマーと考えられた。ペリ位メチル基の効果はここでも認められ、(3*S*)-**60b** ($R^1=Me$) は(3*S*)-**60a** ($R^1=Me$) に比べ約3倍強いNK1拮抗作用を示した。

Table 8. Physicochemical properties and NK1-antagonistic activity of chiral 2,3,4,5-tetrahydro-6H-pyrido[2,3-b][1,5]oxazocin-6-ones **60**.



Compd. no.	R ¹	R ²	R ³	Chirality		mp (°C)	[α] _D (in CHCl ₃)	¹ H-NMR ^a ppm, δ (Hz) (-CH _a H _b -) ^b	NK ₁ -antagonistic activity ^a IC ₅₀ (nM)
				C ₍₃₎	axial (*) ^c				
(3 <i>S</i>)- 60a	H	Me	H	S	R	142–143	-75.1	4.19, 5.49 (each 1H, d, J=15.6)	1.4
(3 <i>S</i>)- 60b	Me	Me	H	S	R	147–148	-106.8	4.06, 5.44 (each 1H, d, J=15.3)	0.47
(3 <i>R</i>)- 60a	H	H	Me	R	S	142–143	+75.2	4.19, 5.49 (each 1H, d, J=15.6)	69
(3 <i>R</i>)- 60b	Me	H	Me	R	S	147–149	+102.5	4.06, 5.44 (each 1H, d, J=15.3)	96

^a See corresponding footnotes of Table 7.

^b The peaks for the major atropisomer are described.

^c In solution (CDCl₃), ca. 2% of the atropisomer exists as determined by ¹H-NMR.

両アトロプ異性体間((3*S*)-**60a** v.s. (3*R*)-**60a** および (3*S*)-**60b** v.s. (3*R*)-**60b**) での大きな活性差について、分子の最安定コンフォメーションから考察を加えた。Figure 22 に(3*S*)-**60b** と (3*R*)-**60b** の最安定コンフォメーションを示す。

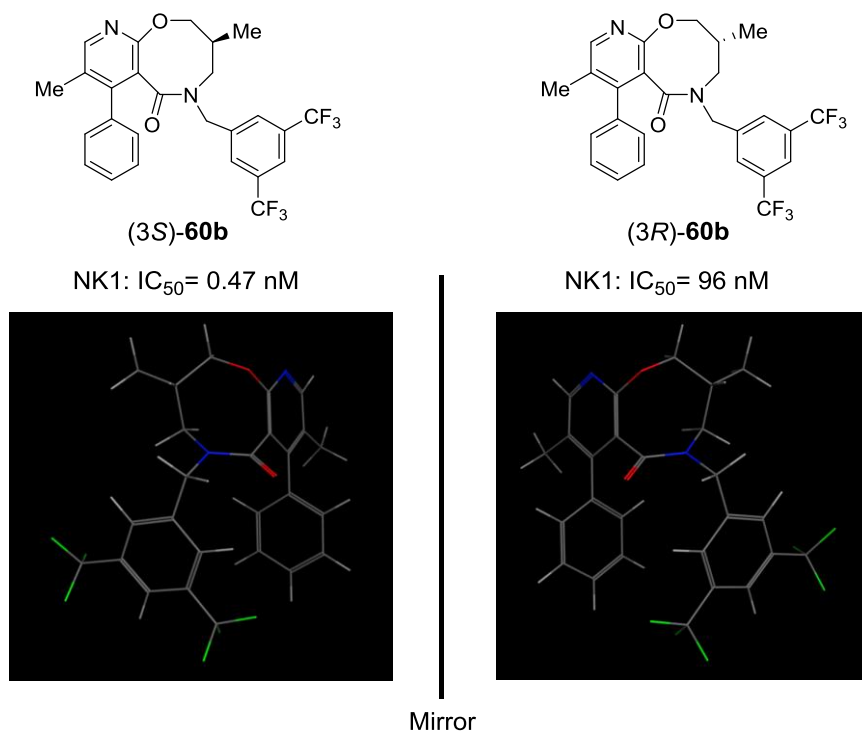


Figure 22. The most stable conformation of lead compound (3*S*)-**60b** (left) and (3*R*)-**60b** (right) (PM3).

これらの分子は大きくねじれており、ねじれの方向は3位メチル基によって規定されていた。(3*S*)-**60b** と (3*R*)-**60b** は鏡像異性体の関係にあり、NK1拮抗作用の重要なファーマコフォアと考えられる π - π スタッキング構造(Figure 17) が互いに逆方向であった。このねじれ構造の違いが大きな活性差の合理的説明になるものと考察された。

第5節 小括

2環性アミド誘導体のうち8員環化合物 (**59a-c**, **60a** および **60b**) にアトロプ異性の存在が示唆された。このアトロプ異性は、環上のメチル基によって熱力学的に制御され、溶液中では平衡状態にあると考えられた。NK1受容体はアトロプ異性を認識し、TAK-637と同様、*aR*構造を持つことが活性発現に有利なことが判明した。合成化合物のうち、(3*S*)-**60b** は TAK-637 と同等の NK1 拮抗作用 ($IC_{50}=0.47$ nM) を示した。分子のねじれに起因したキラリティーとアトロプ異性体間における生物活性の差異は、受容体の分子認識を考察する上で興味深い知見と考えられる。

第5章 結語

神経伝達物質調節薬の創薬を指向して、アセチルコリンエステラーゼ阻害薬、トリプル再取り込み阻害薬、NK1 受容体拮抗薬の分子設計と合成を実施した。アセチルコリンエステラーゼ阻害薬の創薬においては、酵素とのドッキングモデルを用いて活性向上に適した部分構造を推定し、最適化を行った。その結果、非常に強力な阻害活性を示す化合物 **9c** (フリーアミン体: **TAK-802**) を見いだした。トリプル再取り込み阻害薬の合成研究では、3つの脳内モノアミンのバランス良い賦活によって、既存抗うつ薬に比べてより高い有効性が期待できる化合物 (**S**)-**24a** を創出した。また、CAD 化合物における関連毒性の回避を目的として、分子量と脂溶性に注目した作業仮説を検証し、その有効性を確認した。NK1 受容体拮抗薬の科学的知見では、分子のアトロプ異性を制御する方法を確立し、化合物 (**3S**)-**60b** を見いだすに至った。

本研究で得られた知見は、最終的に3つの開発候補化合物の創出に繋がった。本論文には、実際の創薬研究における研究方針および知見が盛り込まれており、これらは神経伝達物質調節薬の研究領域に留まらず、様々な薬効領域の創薬研究に指針を与える成果であると考えられる。

謝辞

本研究の機会を与えて下さいました、武田薬品工業株式会社 元取締役研究開発統括職 大川滋紀博士、元化学研究所所長 加藤金芳博士、化学研究所所長 内川治博士、研究本部長室長 池浦義典博士に深謝いたします。

本研究は終始、元化学研究所所長 夏莉英昭博士、元化学研究所所長 石原雄二博士、元研究戦略室長 寺内淳博士のご指導のもとで行われたものであり、ここに厚く御礼申し上げます。

化合物の合成等において多大なご協力と有益なご助言を頂きました元炎症創薬ユニット 主席研究員 塚本徹也氏、医薬学術部主席部員 見渡誠司博士、生物分子研究所主任研究員 佐々木満氏、炎症創薬ユニット主任研究員 瀬藤正記氏、中枢創薬ユニット主任研究員 木村英司氏、中枢創薬ユニット主任研究員 本多栄治博士、炎症創薬ユニット主任研究員 吉川真人氏、循環代謝創薬ユニット主任研究員 中畑崇博士、元武田サンディエゴ 主任研究員 Young Chen 博士、薬剤安全性研究所主席研究員 清田裕博士、中枢創薬ユニット主任研究員 森本真二氏、中枢創薬ユニット主任研究員 荻野正樹氏に深謝いたします。

本研究の薬理試験をご担当頂きました元医薬研究本部リサーチマネージャー 土居孝行博士、本部長室主席部員 加茂泉博士、XVGen 創薬ユニットリサーチマネージャー 長袋洋博士、医薬学術部主席部員 太田浩之博士、元中枢創薬ユニット主席研究員 寺尾寧子博士、癌創薬ユニット 岡西聡氏、XVGen 創薬ユニット 今井重光氏、CMC 研究センター開発分析研究所主任研究員 犀川礼子氏、XVGen 創薬ユニット主任研究員 鈴木敦子氏、中枢創薬ユニット主任研究員 河合隆幸博士、中枢創薬ユニット主任研究員 荒川佑一氏に深謝いたします。

本研究の化合物スクリーニングをご担当頂きました生物分子研究所リサーチマネージャー 神崎直之博士、生物分子研究所主任研究員 中川秀行氏、元医薬研究本部主席研究員 石丸武範博士に深謝いたします。

本研究の薬物動態試験、初期毒性評価をご担当頂きました薬剤安全性研究所リサーチマネージャー 奥田照明博士、生物分子研究所主席研究員 山口昌史氏、薬剤安全性研究所 主席研究員 栗崎泰行博士、薬剤安全性研究所主任研究員 宮本索博士、研究業務部付課長代理 沢田啓博士、CMC 研究センターグローバル治験薬品質保証部主席部員 吉富純枝氏に深謝いたします。

本研究の化合物構造解析および計算化学をご担当頂きました元化学研究所主席研究員 笠原文子氏、CMC 研究センター製薬研究所主任研究員 村林美香氏、元化学研究所主任研究員 東川恵子氏、化学研究所 西谷充祥氏、循環代謝創薬ユニット主席部員 山本善雄博士、化学研究所主任研究員 米森和子氏に深謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、有益なご助言とご指導を頂きました循環代謝創薬ユニットリサーチマネージャー 前川毅志博士、循環代謝創薬ユニット主席研究員 松永伸之博士に厚く御礼申し上げます。

本論文の執筆に際し、名古屋市立大学大学院薬学研究科 樋口恒彦教授には終始懇篤なご指導、ご高配を賜りました。ここに厚く御礼申し上げます。また、本論文の作成にあたり、有益なご助言を頂きました名古屋市立大学大学院薬学研究科 中川秀彦教授、今泉祐治教授、中村精一教授に深く感謝いたします。

最後に、本論文作成に際して終始あたたかく応援していただいた 妻 石地福子、父 石地千秋、母 故・石地久美子、義父 唐妻能男、義母 唐妻洋子に深く感謝いたします。

実験の部

融点は、Yanagimoto micro melting point apparatus で測定し、未補正である。赤外吸収スペクトルは、Jasco IR-810 で測定した。プロトン核磁気共鳴 ($^1\text{H NMR}$) スペクトルは、Varian Gemini 200 (200 MHz) または Mercury 300 (300 MHz) spectrometers で測定した。ケミカルシフト値は、テトラメチルシランを内部標準に使用し、 δ 値 (ppm) で記載した。ピークのカップリングパターンは以下のように記した: s, シングレット; d, ダブルレット; t, トリプレット; q, カルテット; dd, ダブルダブルレット; ddd, ダブルダブルダブルレット; dt, ダブルトリプレット; dq, ダブルカルテット; m, マルチプレット; br, ブロード。カップリング定数 (J) は、ヘルツ (Hz) で表した。LC/MS (ESI positive) スペクトルは、Waters Micromass ZQ 2000 で測定した。元素分析 (C, H, N) は、(株) 武田分析研究所にて Vario EL (EL-04) instrument で測定し、理論値の 0.4% 以内で化合物純度 (>95%) を確保できていると判断した。カラムクロマトグラフィーは、メルクシリカゲル 60 (63-200 μm) を用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析は、メルクシリカゲル 60 F254 を使い、UV ライト (波長 254 nm) で検出した。比旋光度は、(株) 武田分析研究所にて JASCO DIP-370 digital polarimeter を用いて測定した。合成収率は最適化したものではない。また、合成中間体の同定には、 $^1\text{H NMR}$ を用いた。

第 2 章に関する実験

化合物 **1-4** は、石原らの方法^{12b} に準じて合成した。

4-(3-クロロ-3-オキソプロピル)ピペリジン-1-カルボン酸 4-ニトロベンジル (13).

クロロギ酸 4-ニトロベンジル (16.7 g, 77.5 mmol) の THF (50 mL) 溶液を、3-ピペリジン-4-イルプロパン酸塩酸塩 (**12**)¹⁶ (15.0 g, 44.3 mmol)、水酸化カリウム水溶液 (KOH: 8.70 g, 155 mmol in H_2O 100 mL) および THF (50 mL) 混合物に 0°C にて滴下した。室温で 12 時間攪拌後、減圧下で溶媒を除去し、1 規定塩酸にて酸性とした。混合物を酢酸エチルで 2 回抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をジエチルエーテル-ジイソプロピルエーテルで結晶化することにより、3-(1-[(4-ニトロベンジル)オキシ]カルボニル)ピペリジン-4-イル)プロパン酸を無色結晶 (17.9 g, 69%) として得た。mp: 99–100 $^\circ\text{C}$ (Et_2O –IPE). IR (KBr) 2932, 1695, 1520, 1348, 852 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.05–1.25 (m, 2H), 1.40–1.60 (m, 1H), 1.62 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.65–1.80 (m, 2H), 2.40 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.65–2.95 (m, 2H), 4.05–4.30 (m, 2H), 5.22 (s, 2H), 7.51 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 8.00–10.00 (br, 1H), 8.22 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H). Anal Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 57.14; H, 5.99; N, 8.33. Found: C, 57.08; H, 5.89; N, 8.39. 得られた 3-(1-[(4-ニトロベンジル)オキシ]カルボニル)ピペリジン-4-イル)プロパン酸 (8.00g, 23.8 mmol) を塩化チオニル (20 mL) に 0°C にて攪

拌しながら加えた。室温で 1 時間攪拌後、塩化チオニルを減圧下留去した。残渣をジエチルエーテルで結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (7.00 g, 83%) として得た。mp: 64–65 °C (Et₂O). IR (KBr) 2936, 1799, 1699, 1607, 1522, 1346, 853 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.05–1.25 (m, 2H), 1.40–1.90 (m, 5H), 2.65–2.90 (m, 2H), 2.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 4.10–4.30 (m, 2H), 5.22 (s, 2H), 7.51 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H).

4-[3-オキソ-3-[3-(トリフルオロアセチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1*H*-3-ベンゾアゼピン-7-イル]プロピル]ピペリジン-1-カルボン酸 4-ニトロベンジル(15b). 粉末状の無水塩化アルミニウム (10.0 g, 75.0 mmol) を化合物 **13** (8.87 g, 25.0 mmol) と 3-(トリフルオロアセチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1*H*-3-ベンゾアゼピン **14b** (6.08 g, 25.0 mmol) の塩化メチレン (30 mL) 混合物に室温にて少しずつ加えた。室温で 12 時間攪拌後、反応混合物を氷でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (100 g, Hex:EtOAc = 2:1–1:1) で精製後、エタノール-ジエチルエーテルで結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (5.02 g, 36%) として得た mp: 132–133 °C. IR (KBr) 2938, 1682, 1520, 1346, 770 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.10–1.30 (m, 2H), 1.45–1.65 (m, 1H), 1.65–1.90 (m, 4H), 2.70–2.95 (m, 2H), 2.95–3.20 (m, 6H), 3.65–3.85 (m, 4H), 4.10–4.30 (m, 2H), 5.22 (s, 2H), 7.20–7.30 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.70–7.80 (m, 2H), 8.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H). *Anal Calcd* for C₂₈H₃₀F₃N₃O₆: C, 59.89; H, 5.38; N, 7.48. *Found*: C, 59.84; H, 5.31; N, 7.47.

以下の化合物 **15a,c** は、**15b** と同様の方法によって合成した。化合物はアミド結合に関して *cis/trans* の混合物として得られたが、¹H NMR による同定の後、次の反応に用いた。

4-[3-(2-アセチル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1*H*-2-ベンゾアゼピン-8-イル)-3-オキソプロピル]ピペリジン-1-カルボン酸 4-ニトロベンジル (15a). 収率 24%, アモルファス. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.05–1.30 (m, 2H), 1.40–1.90 (m, 7H), 2.05 (s, 3H×1/2), 2.11 (s, 3H×1/2), 2.65–3.10 (m, 6H), 3.70–3.80 (m, 2H×1/2), 3.80–3.90 (m, 2H×1/2), 4.10–4.30 (m, 2H), 4.55 (s, 2H×1/2), 4.60 (s, 2H×1/2), 5.22 (s, 2H), 7.20–7.30 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.75–7.80 (m, 1H+1H×1/2), 7.93 (s, 1H×1/2), 8.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H).

4-[3-(4-ホルミル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1,4-ベンゾオキサゼピン-7-イル)-3-オキソプロピル]ピペリジン-1-カルボン酸 4-ニトロベンジル (15c). 収率 83%, アモルファス. IR (KBr) 2926, 2680, 1678, 1605, 1522, 1346, 1236, 735 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.10–1.30 (m, 2H), 1.45–1.85 (m, 5H), 2.70–2.95 (m, 2H), 2.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.75–3.80 (m, 2H×1/2), 3.90–3.95 (m, 2H×1/2), 4.10–4.30 (m, 4H), 4.56 (s, 2H×1/2), 4.67 (s, 2H×1/2), 5.22 (s, 2H), 7.08 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H×1/2), 7.11 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H×1/2), 7.45–7.55 (m, 2H), 7.80–7.85 (m, 2H), 7.94 (s,

1H×1/2), 8.09 (s, 1H×1/2), 8.20–8.25 (m, 2H).

3-ピペリジン-4-イル-1-[3-(トリフルオロアセチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-3-ベンゾアゼピン-7-イル]プロパン-1-オン(16b). 化合物 **15b** (4.60 g, 8.19 mmol) を EtOH (150 mL) と THF (50 mL)の混合溶媒に溶解し、10% パラジウム-炭素 (含水, 1.0g)を触媒として常温常圧にて接触還元を行った。水素雰囲気下 90 分攪拌した後、触媒を濾去した。濾液を濃縮後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (60 g, EtOAc:MeOH = 9:1)で精製し、エタノール-ジエチルエーテルから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (1.86 g, 59%) として得た。 mp: 124–125 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2924, 1682, 1464, 1167, 756 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.10–1.30 (m, 2H), 1.35–1.55 (m, 1H), 1.60–1.80 (m, 4H), 2.00–2.20 (br, 1H), 2.60 (dt, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 2H), 2.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.00–3.20 (m, 6H), 3.65–3.85 (m, 4H), 7.20–7.30 (m, 1H), 7.75–7.80 (m, 2H). Anal Calcd for C₂₀H₂₅F₃N₂O₂ ·0.25H₂O: C, 62.08; H, 6.64; N, 7.24. Found: C, 61.79; H, 6.50; N, 6.95.

以下の化合物 **16a,c** は、**16b** と同様の方法によって合成した。化合物はアミド結合に関して *cis/trans* の混合物として得られたが、¹H NMR による同定の後、次の反応に用いた。

1-(2-アセチル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-2-ベンゾアゼピン-8-イル)-3-ピペリジン-4-イルプロパン-1-オン(16a). 収率 72%, アモルファス. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.05–1.30 (m, 2H), 1.35–1.50 (m, 1H), 1.60–1.90 (m, 7H), 2.03 (s, 3H×1/2), 2.10 (s, 3H×1/2), 2.58 (t, *J* = 12.0 Hz, 2H), 2.90–3.10 (m, 6H), 3.70–3.80 (m, 2H×1/2), 3.80–3.90 (m, 2H×1/2), 4.54 (s, 2H×1/2), 4.60 (s, 2H×1/2), 7.20–7.30 (m, 1H), 7.75–7.80 (m, 1H+1H×1/2), 7.93 (s, 1H×1/2).

7-(3-ピペリジン-4-イルプロパノイル)-2,3-ジヒドロ-1,4-ベンゾオキサゼピン-4(5H)-カルバルデヒド(16c). 収率 89%, アモルファス. IR (KBr) 2921, 1674, 1603, 1427, 733 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.05–1.55 (m, 2H), 1.60–1.90 (m, 5H), 2.50–2.70 (m, 3H), 2.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.00–3.15 (m, 2H), 3.79 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H), 3.94 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H), 4.10–4.20 (m, 2H), 4.55 (s, 2H×1/2), 4.67 (s, 2H×1/2), 7.07 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.10 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 7.80–8.00 (m, 2H), 8.09 (s, 1H×1/2), 8.22 (s, 1H×1/2).

3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)-1-[3-(トリフルオロアセチル)-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-3-ベンゾアゼピン-7-イル]プロパン-1-オン (17b). ベンジルブロミド (600 mg, 3.51 mmol) を化合物 **16b** (1.34 g, 3.50 mmol) および炭酸水素ナトリウム (0.6 g, 7 mmol) のアセトニトリル (10 mL) 懸濁液に室温にて滴下した。室温で 5 時間攪拌後、反応混合物を水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 g, Hex:EtOAc = 1:1)で精製することに

より、表題化合物を無色油状物 (1.01 g, 61%)として得た。¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.45 (m, 3H), 1.60–1.80 (m, 4H), 1.85–2.05 (m, 2H), 2.80–3.10 (m, 8H), 3.49 (s, 2H), 3.65–3.85 (m, 4H), 7.20–7.40 (m, 6H), 7.70–7.80 (m, 2H).

以下の化合物 **17a,c** は、**17b** と同様の方法によって合成した。化合物はアミド結合に関して *cis/trans* の混合物として得られたが、¹H NMR による同定の後、次の反応に用いた。

1-(2-アセチル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-2-ベンゾアゼピン-8-イル)-3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)プロパン-1-オン (17a). 収率 66%, アモルファス。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.60–1.75 (m, 4H), 1.80–1.90 (m, 2H), 1.90–2.00 (m, 2H), 2.04 (s, 3H×1/2), 2.11 (s, 3H×1/2), 2.80–3.05 (m, 6H), 3.49 (s, 2H), 3.70–3.75 (m, 2H×1/2), 3.80–3.90 (m, 2H×1/2), 4.54 (s, 2H×1/2), 4.59 (s, 2H×1/2), 7.20–7.40 (m, 6H), 7.75–7.80 (m, 1H+1H×1/2), 7.93 (s, 1H×1/2).

7-[3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-2,3-ジヒドロ-1,4-ベンゾオキサゼピン-4(5H)-カルバルデヒド (17c). 収率 58%, アモルファス。 IR (KBr) 2922, 1682, 1603, 1451, 734 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.60–1.80 (m, 4H), 2.80–3.00 (m, 4H), 3.49 (s, 2H), 3.77 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.93 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.10–4.20 (m, 2H), 4.53 (s, 2H×1/2), 4.65 (s, 2H×1/2), 7.05 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H×1/2), 7.08 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H×1/2), 7.20–7.35 (m, 5H), 7.75–7.80 (m, 1H+1H×1/2), 7.90–7.95 (m, 1H×1/2), 8.06 (s, 1H×1/2), 8.20 (s, 1H×1/2).

3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)-1-(2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-2-ベンゾアゼピン-8-イル)プロパン-1-オン 二塩酸塩 (5).^{13a} 化合物 **17a** (1.27 g, 3.03 mmol)の濃塩酸 (20 mL) 溶液を 120 °C で 12 時間攪拌した。混合物を減圧下濃縮することにより表題化合物をアモルファス (1.20 g, 88%)として得、さらにエタノールから結晶化することにより無色結晶として得た。mp: 147-150 °C. IR (KBr) 2921, 1682, 1604, 1452, 740 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.55–1.80 (m, 7H), 1.85–2.00 (m, 2H), 2.80–3.10 (m, 6H), 3.21 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.47 (s, 2H), 3.98 (s, 2H), 7.20–7.35 (m, 6H), 7.65–7.75 (m, 2H). *Anal Calcd for* C₂₅H₃₂N₂O · 2HCl · 0.5H₂O: C, 65.49; H, 7.69; N, 6.11. *Found:* C, 65.60; H, 7.66; N, 6.08.

3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)-1-(2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-3-ベンゾアゼピン-7-イル)プロパン-1-オン 二塩酸塩 (6). 化合物 **17b** (1.00 g, 2.12 mmol)、飽和炭酸ナトリウム水溶液 (10 mL)、水 (10 mL)およびメタノール (30 mL) の混合物を室温で 12 時間攪拌した。反応混合物を濃縮後、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20 g, EtOAc:MeOH = 9:1)で精製することにより、表題化合物のフリー塩基体を無色油状物 (602 mg, 75%)として

得た。フリー塩基体 (602 mg) を塩化水素エタノール溶液で処理し、エタノール-ジエチルエーテルから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶として得た。 mp: 232–234 °C. IR (KBr) 2948, 2728, 1680, 1456, 752 cm^{-1} . ^1H NMR (free base; 300 MHz, CDCl_3) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.65–1.75 (m, 4H), 1.90–2.00 (m, 3H), 2.80–3.05 (m, 12H), 3.48 (s, 2H), 7.10–7.40 (m, 6H), 7.65–7.75 (m, 2H, 6-H and 8-H of 3-benzazepine). *Anal Calcd* for $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O} \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$: C, 66.14; H, 7.66; N, 6.17. Found: C, 66.44; H, 7.82; N, 6.19.

3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)-1-(2,3,4,5-テトラヒドロ-1,4-ベンゾオキサゼピン-7-イル)プロパン-1-オン 二塩酸塩 (7). 化合物 **17c** (2.41 g, 5.93 mmol) の濃塩酸 (10 mL) およびメタノール (10 mL) を1時間加熱還流した。反応混合物を濃縮後、エタノールから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (1.17 g, 44%) として得た。 mp: 234–236 °C; IR (KBr) 2919, 1678, 1601, 1494, 1236, 740 cm^{-1} . ^1H NMR (free base; 300 MHz, CDCl_3) δ 1.20–1.45 (m, 3H), 1.60–2.10 (m, 7H), 2.80–3.00 (m, 4H), 3.24 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H), 3.50 (s, 2H), 4.01 (s, 2H), 4.10 (t, $J = 4.5$ Hz, 2H), 7.06 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.20–7.35 (m, 5H), 7.75–7.80 (m, 2H). *Anal Calcd* for $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$: C, 62.61; H, 7.22; N, 6.08. Found: C, 62.55; H, 7.05; N, 6.10.

8-[3-(1-アセチルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-1,2,5,6-テトラヒドロ-4*H*-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン (20b). 3-(1-アセチル-4-ピペリジニル)プロパン酸 (**18**)¹⁶ (8.82 g, 44.3 mmol) を塩化チオニル (20 mL) に攪拌しながら 0 °C にて少量ずつ加えた。室温で20分攪拌後、減圧下濃縮した。残渣を濾過し、ジエチルエーテルで洗浄することにより、酸塩化物を無色固形物として得た。粉末状の無水塩化アルミニウム (16.2 g, 121 mmol) を、先に得た酸塩化物と 1,2,5,6-テトラヒドロ-4*H*-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン **19b**¹⁶ (6.40 g, 36.9 mmol) の1,2-ジクロロエタン (10 mL) 混合物に室温にて少量ずつ加えた。室温で12時間攪拌後、反応混合物を氷でクエンチし、酢酸エチルで4回抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (50 g, EtOAc: MeOH = 10: 1) で精製することにより、表題化合物のフリー塩基体を無色油状物 (602 mg, 75%) として得た。フリー塩基体 (602 mg) を塩化水素エタノール溶液で処理し、エタノール-ジエチルエーテルから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (12.3 g, 94%) として得た。メタノール-酢酸エチルから再結晶することにより、11.8 g の表題化合物を得た。 mp: 157–159 °C. IR (KBr) 2928, 1672, 1640, 1597, 1493, 1446, 1381, 1152, 972, 750 cm^{-1} . ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.00–1.30 (m, 2H), 1.50–1.95 (m, 5H), 2.09 (s, 3H), 2.53 (dt, $J = 12.9, 2.4$ Hz, 1H), 2.72 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.90–3.15 (m, 5H), 3.24 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.75–3.90 (m, 1H), 4.14 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 4.55–4.70 (m, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.73 (s, 1H). *Anal Calcd* for $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$: C, 71.16; H, 7.39; N, 7.90. Found: C, 71.11; H, 7.58; N, 7.82.

以下の化合物 **20a**、**20c** および **20d** は、化合物 **20b** に準じて合成した。

8-[3-(1-アセチルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-5,6-ジヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-2(1H)-オン (20a). 収率 80%. mp: 80–82 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2930, 1715, 1622, 1495, 1343, 1152, 731 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.05–1.30 (m, 2H), 1.50–2.10 (m, 7H), 2.09 (s, 3H), 2.53 (dt, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 2.83 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.90–3.10 (m, 3H), 3.56 (s, 2H), 3.70–3.85 (m, 3H), 4.55–4.65 (m, 1H), 7.73 (s, 2H). *Anal* Calcd for C₂₁H₂₆N₂O₃ · 0.5H₂O: C, 69.40; H, 7.49; N, 7.71. Found: C, 69.50; H, 7.79; N, 7.44.

9-[3-(1-アセチルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピリド[3,2,1-ij]キノリン-5-オン (20c). 収率 85%. mp: 135–136 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2930, 1674, 1435, 1159, 752 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.00–1.30 (m, 2H), 1.45–1.85 (m, 5H), 1.90–2.05 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.53 (dt, *J* = 12.8, 2.6 Hz, 1H), 2.65–2.70 (m, 2H), 2.85 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.90–3.10 (m, 5H), 3.70–3.90 (m, 3H), 4.55–4.70 (m, 1H), 7.61 (s, 2H). *Anal* Calcd for C₂₂H₂₈N₂O₃: C, 71.71; H, 7.66; N, 7.60. Found: C, 71.63; H, 7.78; N, 7.61.

9-[3-(1-アセチルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-1,2,6,7-テトラヒドロアゼピノ[3,2,1-hi]インドール-4(5H)-オン (20d). 収率 63%. mp: 93–95 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2928, 2859, 1713, 1605, 1146, 754 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.00–1.30 (m, 2H), 1.45–1.85 (m, 7H), 1.90–2.25 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.53 (dt, *J* = 12.8, 2.6 Hz, 1H), 2.90–3.10 (m, 6H), 3.56 (s, 2H), 3.75–3.90 (m, 1H), 3.95–4.05 (m, 2H), 4.55–4.70 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.68 (s, 1H). *Anal* Calcd for C₂₂H₂₈N₂O₃ · 0.1H₂O: C, 71.36; H, 7.68; N, 7.57. Found: C, 71.29; H, 7.81; N, 7.63.

8-(3-ピペリジン-4-イル)プロパノイル)-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-4-オン (21b). 化合物 **20b** (11.9 g, 33.5 mmol) の濃塩酸 (60 mL) 溶液を 140 °C で 4 時間攪拌した。減圧下濃縮後、残渣を 8 規定水酸化ナトリウム水溶液で pH 12 とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣を酢酸エチル–ジエチルエーテルから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (10.4 g, 99%) として得た。 mp: 114–115 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 1914, 1672, 1597, 1493, 1381, 1157, 754 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.00–1.30 (m, 2H), 1.30–1.90 (m, 7H), 2.59 (dt, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.85–3.15 (m, 5H), 3.23 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.73 (s, 1H). *Anal* Calcd for C₁₉H₂₄N₂O₂: C, 73.05; H, 7.74; N, 8.97. Found: C, 72.62; H, 7.76; N, 8.87.

以下の化合物 **21a**、**21c** および **21d** は、化合物 **21b** に準じて合成した。

8-(3-ピペリジン-4-イルプロパノイル)-5,6-ジヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-2(1H)-オン (21a). 収率 31%. mp: 134–136 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2926, 1715, 1671, 1603, 1497, 1343, 1155, 752 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.00–1.25 (m, 2H), 1.30–1.80 (m, 7H), 1.95–2.10 (m, 2H), 2.58 (dt, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 2H), 2.83 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.94 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.00–3.15 (m, 2H), 3.55 (s, 2H), 3.74 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.73 (s, 2H). *Anal Calcd* for C₁₉H₂₄N₂O₂ · 0.25H₂O: C, 72.01; H, 7.79; N, 8.84. Found: C, 72.46; H, 7.87; N, 8.88.

9-(3-ピペリジン-4-イルプロパノイル)-2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピリド[3,2,1-ij]キノリン-5-オン (21c). 収率 72%. mp: 87–88 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2922, 1674, 1603, 1483, 1163, 752 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.00–1.30 (m, 2H), 1.35–1.80 (m, 5H), 1.90–2.05 (m, 2H), 2.59 (dt, *J* = 12.0, 2.4 Hz, 2H), 2.65–2.75 (m, 2H), 2.90–3.15 (m, 9H), 3.89 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 7.62 (s, 2H). *Anal Calcd* for C₂₀H₂₆N₂O₂: C, 73.59; H, 8.03; N, 8.58. Found: C, 73.39; H, 8.12; N, 8.43.

9-(3-ピペリジン-4-イルプロパノイル)-1,2,6,7-テトラヒドロアゼピノ[3,2,1-hi]インドール-4(5H)-オン (21d). 収率 61%, アモルファス. IR (KBr) 2926, 1717, 1672, 1603, 1337, 1151, 733 cm⁻¹. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.00–1.30 (m, 2H), 1.35–1.90 (m, 6H), 1.95–2.20 (m, 4H), 2.58 (dt, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 2H), 2.85–3.15 (m, 6H), 3.56 (s, 2H), 3.98 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.68 (s, 1H).

8-{3-[1-(3-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9c). 化合物 **21b** (1.04 g, 3.32 mmol) と無水炭酸カリウム (0.8 g, 5.8 mmol) のアセトニトリル (10 mL) 懸濁液に 3-フルオロベンジルブロミド (660 mg, 3.49 mmol) を室温にて滴下し、12 時間攪拌した。反応混合物を濃縮後、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をエタノール–ジエチルエーテルから結晶化することにより、表題化合物のフリー塩基を無色結晶 (1.31 g, 94%) として得た。 mp: 111–112 °C. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.50 (4H, m), 1.55–1.80 (4H, m), 1.85–2.05 (2H, m), 2.71 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.80–3.15 (5H, m), 3.22 (2H, t, *J* = 8.6 Hz), 3.47 (2H, s), 4.13 (2H, t, *J* = 8.6 Hz), 6.85–7.15 (3H, m), 7.20–7.35 (1H, m), 7.67 (1H, s), 7.72 (1H, s). *Anal Calcd* for C₂₆H₂₉FN₂O₂: C, 74.26; H, 6.95; N, 6.66. Found: C, 74.28; H, 7.02; N, 6.58. フリー塩基 (1.00 g, 2.38 mmol) を 10 N 塩化水素–エタノール溶液で処理し、エタノール–ジエチルエーテルから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (1.03 g, 95%) として得た。 mp: 201–203 °C. IR (KBr) 1652, 1594, 1259, 1149 cm⁻¹. *Anal Calcd* for C₂₆H₂₉FN₂O₂ · HCl: C, 68.34; H, 6.62; N, 6.13. Found: C, 68.15; H, 6.66; N, 6.04.

以下の化合物 **8**, **10**, **11**, **9a,b** および **9d–s** は、化合物 **9c** に準じて合成した。

8-[3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-5,6-ジヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-2(1H)-オン 塩酸塩 (8). 収率 85%. mp: 244–246 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 1718, 1670, 1604, 1344, 1147 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.42 (m, 3H), 1.61–1.77 (m, 4H), 1.85–2.08 (m, 4H), 2.78–2.96 (m, 6H), 3.48 (s, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.71–3.77 (m, 2H), 7.22–7.33 (m, 5H), 7.72 (s, 2H). *Anal Calcd* for C₂₆H₃₀N₂O₂ ·HCl ·0.25H₂O: C, 70.41; H, 7.15; N, 6.31. Found: C, 70.26; H, 7.26; N, 6.20.

9-[3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-5-オン 塩酸塩 (10). 収率 86%, mp: 236–238 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2938, 1669, 1603, 1364, 1167, 750 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.60–1.75 (m, 4H), 1.80–2.00 (m, 4H), 2.65–2.79 (m, 2H), 2.80–3.00 (m, 8H), 3.48 (s, 2H), 3.89 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.20–7.35 (m, 5H), 7.60 (s, 1H), 7.61 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₇H₃₂N₂O₂ ·HCl ·0.25H₂O: C, 70.88; H, 7.38; N, 6.12. Found: C, 70.79; H, 7.49; N, 6.13.

9-[3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-1,2,6,7-テトラヒドロアゼピノ[3,2,1-*hi*]インドール-4(5H)-オン 塩酸塩 (11). 収率 80%, mp: 209–211 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2928, 1738, 1603, 1143, 737 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.40 (m, 2H), 1.45–2.20 (m, 11H), 2.60–3.10 (m, 5H), 3.16 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 3.30 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 3.49 (s, 2H), 3.49–4.10 (m, 3H), 6.80–7.40 (m, 5H), 7.62 (s, 1H), 7.99 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₇H₃₂N₂O₂ ·HCl ·0.5H₂O: C, 70.19; H, 7.42; N, 6.06. Found: C, 69.78; H, 7.37; N, 6.03.

8-[3-(1-ベンジルピペリジン-4-イル)プロパノイル]-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9a). 収率 80%, mp: 245–248 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 3026, 1672, 1595 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.19–1.43 (m, 3H), 1.60–2.03 (m, 6H), 2.71 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.81–3.09 (m, 6H), 3.22 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.48 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.20–7.32 (m, 5H), 7.66 (s, 1H), 7.70 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₆H₃₀N₂O₂ ·HCl: C, 71.14; H, 7.12; N, 6.38. Found: C, 70.97; H, 7.14; N, 6.18.

8-{3-[1-(2-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9b). 収率 81%, mp: 110–112 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 1644, 1590, 1234, 1148 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.18–1.43 (m, 3H), 1.60–1.80 (m, 4H), 1.91–2.13 (m, 2H), 2.71 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.83–3.10 (m, 6H), 3.22 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.56 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.94–7.41 (m, 4H), 7.66 (s, 1H), 7.70 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₆H₂₉FN₂O₂ ·HCl ·2.5H₂O: C, 62.21; H, 7.03; N, 5.58. Found: C, 62.17; H, 6.73; N, 5.40.

8-{3-[1-(4-フルオロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9d). 収率 84%, mp: 245 °C (Decomposed), (EtOH-Et₂O). IR (KBr) 1671, 1594, 1295, 1149 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.18–1.42 (m, 3H), 1.60–1.81 (m, 4H), 1.83–2.06 (m, 2H), 2.71 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.80–3.08 (m, 6H), 3.22 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.91–7.03 (m, 2H), 7.19–7.33 (m, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.70 (s, 1H). *Anal* Calcd for C₂₆H₂₉FN₂O₂ ·HCl: C, 68.34; H, 6.62; N, 6.13. Found: C, 68.01; H, 6.56; N, 5.99.

8-{3-[1-(2-クロロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9e). 収率 79%, mp: 191–193 °C (EtOH-Et₂O). IR (KBr) 1659, 1594, 1162, 1147 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.48 (m, 3H), 1.58–1.82 (m, 4H), 1.93–2.15 (m, 2H), 2.71 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.84–3.09 (m, 6H), 3.22 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.59 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.15–7.36 (m, 3H), 7.42–7.52 (m, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal* Calcd for C₂₆H₂₉ClN₂O₂ ·HCl ·0.5H₂O: C, 64.73; H, 6.48; N, 5.81. Found: C, 65.42; H, 6.49; N, 5.79.

8-{3-[1-(3-クロロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9f). 収率 86%, mp: 208–210 °C (EtOH-Et₂O). IR (KBr) 1654, 1596, 1162, 1149 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.19–1.42 (m, 3H), 1.58–1.79 (m, 4H), 1.86–2.02 (m, 2H), 2.71 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.81–3.08 (m, 6H), 3.22 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.45 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.16–7.28 (m, 3H), 7.32 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal* Calcd for C₂₆H₂₉ClN₂O₂ ·HCl ·0.5H₂O: C, 64.73; H, 6.48; N, 5.81. Found: C, 64.97; H, 6.39; N, 5.65.

8-{3-[1-(4-クロロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9g). 収率 80%, mp: 235–237 °C (EtOH-Et₂O). IR (KBr) 1670, 1594, 1162, 1145 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.18–1.41 (m, 3H), 1.58–1.78 (m, 4H), 1.84–2.02 (m, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.80–3.08 (m, 6H), 3.22 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.20–7.33 (m, 4H), 7.67 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal* Calcd for C₂₆H₂₉ClN₂O₂ ·HCl ·H₂O: C, 63.54; H, 6.56; N, 5.70. Found: C, 63.26; H, 6.53; N, 5.54.

8-{3-[1-(2-メトキシベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9h). 収率 76%, アモルファス. IR (KBr) 2922, 1671, 1596, 1491, 1151, 755, 729 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.23–1.49 (m, 3H), 1.61–1.79 (m, 4H), 1.96–2.17 (m, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.87–3.06 (m, 6H), 3.22 (t, *J*

= 8.6 Hz, 2H), 3.58 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.14 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.83–6.96 (m, 2H), 7.18–7.41 (m, 2H), 7.67 (s, 1H), 7.72 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{27}H_{32}N_2O_3 \cdot HCl \cdot 2.5H_2O$: C, 63.09; H, 7.45; N, 5.45. *Found*: C, 63.10; H, 7.21; N, 5.30.

8-{3-[1-(3-メトキシベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9i). 収率 84%, mp: 157–159 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2915, 1665, 1597, 1490 cm^{-1} . ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.22–1.43 (m, 3H), 1.59–1.76 (m, 4H), 1.83–2.05 (m, 2H), 2.71 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 2.86–3.06 (m, 6H), 3.22 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.26 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.13 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.76–6.82 (m, 1H), 6.87–6.92 (m, 2H), 7.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{27}H_{32}N_2O_3 \cdot HCl \cdot 0.5H_2O$: C, 67.84; H, 7.17; N, 5.86. *Found*: C, 67.96; H, 7.25; N, 5.70.

8-{3-[1-(4-メトキシベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9j). 収率 61%, アモルファス. IR (KBr) 1654, 1596, 1492, 1382, 1255 cm^{-1} . ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.23–1.49 (m, 3H), 1.61–1.79 (m, 4H), 1.96–2.17 (m, 2H), 2.72 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.87–3.06 (m, 6H), 3.22 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.43 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 4.12 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.67 (s, 1H), 7.72 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{27}H_{32}N_2O_3 \cdot HCl \cdot 0.75H_2O$: C, 67.21; H, 7.21; N, 5.81. *Found*: C, 67.31; H, 7.05; N, 5.75.

8-{3-[1-(2-ヒドロキシベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9k). 収率 47%, mp: 223–225 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 3543, 1661, 1592, 1270, 1148 cm^{-1} . ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.53 (m, 3H), 1.60–1.84 (m, 4H), 1.98–2.16 (m, 3H), 2.72 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.84–3.10 (m, 6H), 3.23 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.68 (s, 2H), 4.13 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.70–6.85 (m, 2H), 6.88–7.00 (m, 1H), 7.12–7.23 (m, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{26}H_{30}N_2O_3 \cdot HCl$: C, 68.63; H, 6.87; N, 6.16. *Found*: C, 68.48; H, 6.94; N, 5.95.

8-{3-[1-(3-ヒドロキシベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9l). 収率 36%, mp: 154–156 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 3182, 1667, 1592 cm^{-1} . ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.30–1.92 (m, 7H), 2.15–2.36 (m, 2H), 2.71 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.82–3.31 (m, 8H), 3.64 (s, 2H), 4.12 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.68–7.18 (m, 5H), 7.65 (s, 1H), 7.69 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{26}H_{30}N_2O_3 \cdot HCl \cdot 1.5H_2O$: C, 64.79; H, 7.11; N, 5.81. *Found*: C, 64.67; H, 6.82; N, 5.65.

8-{3-[1-(4-ヒドロキシベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ

-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9m). 収率 11%, mp: 233–235 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 3432, 1652, 1591 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.22–1.52 (m, 3H), 1.58–1.84 (m, 4H), 1.90–2.18 (m, 2H), 2.66–2.76 (m, 2H), 2.80–3.10 (m, 6H), 3.21 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.47 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.98 (br, s, 1H), 6.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.70 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₆H₃₀N₂O₃ · HCl · 0.5H₂O: C, 67.30; H, 6.95; N, 6.04. *Found*: C, 67.46; H, 7.20; N, 5.86.

8-{3-[1-(2-ニトロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9n). 収率 85%, mp: 166–168 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2934, 1669, 1597, 1532, 1493, 1342, 750 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.60–1.80 (m, 4H), 1.95–2.10 (m, 2H), 2.70–2.80 (m, 4H), 2.90–2.95 (m, 2H), 3.02 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H), 3.23 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.75 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.37 (dt, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H), 7.53 (dt, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 7.62 (dd, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.80 (dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz, 1H). *Anal Calcd* for C₂₆H₂₉N₃O₄ · HCl · H₂O: C, 62.21; H, 6.43; N, 8.37. *Found*: C, 62.42; H, 6.54; N, 8.36.

8-{3-[1-(3-ニトロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9o). 収率 99%, mp: 214–216 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2924, 1669, 1525, 1491, 731 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.26–1.44 (m, 3H), 1.62–1.83 (m, 4H), 1.86–2.12 (m, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.80–3.12 (m, 6H), 3.23 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 4.13 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.48 (dd, *J* = 8.0, 7.8 Hz, 1H), 7.64–7.76 (m, 3H), 8.10 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 8.19 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₆H₂₉N₃O₄ · HCl · 0.5H₂O: C, 63.34; H, 6.34; N, 8.52. *Found*: C, 63.05; H, 6.40; N, 8.32.

8-{3-[1-(4-ニトロベンジル)ピペリジン-4-イル]プロパノイル}-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-4-オン 塩酸塩 (9p). 収率 78%, mp: 230–232 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2920, 1670, 1518, 1491, 735 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.26–1.43 (m, 3H), 1.64–1.78 (m, 4H), 1.92–2.08 (m, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 2.77–3.06 (m, 6H), 3.23 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 4.14 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.15 (s, 1H), 8.19 (s, 1H). *Anal Calcd* for C₂₆H₂₉N₃O₄ · HCl · 0.5H₂O: C, 63.34; H, 6.34; N, 8.52. *Found*: C, 63.66; H, 6.33; N, 8.52.

2-((4-[3-オキソ-3-(4-オキソ-1,2,5,6-テトラヒドロ-4H-ピロロ[3,2,1-ij]キノリン-8-イル)プロピル]ピペリジン-1-イル)メチル)ベンゾニトリル 塩酸塩 (9q). 収率 84%, アモルファス. IR (KBr) 2291, 1668, 1596, 1156 cm⁻¹. ¹H NMR (free base; 200 MHz, CDCl₃) δ 1.21–1.45 (m, 3H), 1.61–1.83 (m, 4H), 1.99–2.18 (m, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.82–3.07 (m, 6H), 3.23 (t, *J*

= 8.4 Hz, 2H), 3.67 (s, 2H), 4.13 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.26–7.40 (m, 1H), 7.49–7.68 (m, 4H), 7.71 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{27}H_{29}N_3O_2 \cdot HCl \cdot 2.5H_2O$: C, 63.71; H, 6.73; N, 8.25. *Found*: C, 64.00; H, 6.54; N, 8.23.

3-({4-[3-オキシ-3-(4-オキシ-1,2,5,6-テトラヒドロ-4*H*-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-8-イル)プロピル]ピペリジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル 塩酸塩 (9r). 収率 76%, アモルファス。IR (KBr) 2926, 2627, 2232, 1667, 1597, 1493, 1383, 1159, 754 cm^{-1} . 1H NMR (free base; 200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.60–2.10 (m, 6H), 2.71 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.80–2.90 (m, 4H), 3.02 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 4.13 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.40 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50–7.65 (m, 3H), 7.67 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{27}H_{29}N_3O_2 \cdot HCl \cdot 0.8H_2O$: C, 67.78; H, 6.66; N, 8.78. *Found*: C, 67.79; H, 6.97; N, 8.51.

4-({4-[3-オキシ-3-(4-オキシ-1,2,5,6-テトラヒドロ-4*H*-ピロロ[3,2,1-*ij*]キノリン-8-イル)プロピル]ピペリジン-1-イル}メチル)ベンゾニトリル 塩酸塩 (9s). 収率 78%, mp: 220–222 °C (EtOH–Et₂O). IR (KBr) 2930, 2627, 2230, 1669, 1597, 1493, 1383, 754 cm^{-1} . 1H NMR (free base; 200 MHz, $CDCl_3$) δ 1.20–1.40 (m, 3H), 1.60–2.10 (m, 6H), 2.71 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.80–3.10 (m, 6H), 3.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.49 (s, 2H), 4.13 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.40 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50–7.65 (m, 3H), 7.67 (s, 1H), 7.71 (s, 1H). *Anal Calcd* for $C_{27}H_{29}N_3O_2 \cdot HCl \cdot 0.5H_2O$: C, 68.56; H, 6.61; N, 8.88. *Found*: C, 68.68; H, 6.80; N, 8.91.

アセチルコリンエステラーゼ阻害活性 アセチルコリンエステラーゼ活性は、ヒト赤血球由来アセチルコリンエステラーゼを用い、チオコリン法により測定した。30 μL の 80 mM Tris-HCl (pH 7.4)、50 μL の アセチルコリンエステラーゼ溶液 (0.2 IU/mL)、50 μl の 5 mM 5,5-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)、20 μL の対象薬物溶液および 50 μL の 4 mM ヨウ化アセチルチオコリンをマイクロプレートウェルに加えた。マイクロプレートリーダー (Spectra rainbow thermo, Tecan, Switzerland)を用いて 412 nm の吸収を 30 秒毎に 10 分間読み取り、分析ソフト (Biolise 2.01) を用いて反応速度を計算した。各薬物の IC₅₀ 値と 95% 信頼区間は、最小自乗法による回帰分析により計算した。

モルモットにおける AUC200 値 動物は雄 5 週齢のハートレー種モルモットを用いた。動物をウレタン (1.2 g/kg) の腹腔内投与によって麻酔した。腹部切開により膀胱を露出させ、ポリエチレンチューブ (PE-100) と繋がった注射針 (20-gauge) を膀胱腔内に挿入し、圧トランスデューサー (AP461G, Nihon koden, Tokyo) で膀胱内圧を測定した。圧シグナルは multiple unit data acquisition system (MP-100A-CE, Biopac systems, Santa Barbara, CA, USA) を介したパーソナルコンピュータで 5Hz の測定間隔で記録した。加温した生理食塩水 (38 °C) を通常の律動性膀胱収縮が起きるまで膀胱内に注入した。対象薬物は安定した膀胱収縮を

確認後に静脈内投与した。薬物の効果は、薬物投与後 5 分間の膀胱内圧曲線下の AUC 値で評価した。各薬物の AUC₂₀₀ 値は、薬物投与後の AUC 値を投与前の 2 倍にする用量として算出した。

ラットにおける AUC₂₀₀ 値 動物は 210–250 g の Sprague-Dawley 種ラットを用いた。動物をウレタン(1.2 g/kg)の腹腔内投与によって麻酔した。低位腹部正中切開により膀胱を露出させ、尿道を結紮した。ポリエチレンチューブ(PE-50)と繋がった 2 本の注射針(23-gauge)を膀胱腔内に挿入し、生理食塩水を 0.1 mL/min の速度で注入した。安定した律動性膀胱収縮を確認後、尿排出が起きないように尿道を結紮した。一旦膀胱内の液を全て排出した後、生理食塩水の注入を再開した。注入は排尿が起きるまで続けた。薬物投与前後の膀胱内圧曲線下の AUC 値を測定し、モルモットと同様の方法で AUC₂₀₀ 値を算出した。

第 3 章に関する実験

4-[シアノ(3,4-ジクロロフェニル)メチリデン]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (37a).

(3,4-ジクロロフェニル) アセトニトリル **35a** (20.0 g, 108 mmol), 4-オキシピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル **36** (21.5 g, 108 mmol) および 28% ナトリウムメトキシド メタノール溶液 (23.0 g, 119 mmol) の メタノール (250 mL) 混合物を 2 時間加熱還流下攪拌した。室温まで冷却後、メタノールを減圧下留去し、残渣に水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を淡黄色油状物 (26.6 g, 67%) として得た。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.48 (9H, s), 2.41 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 2.76 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 3.43 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 3.61 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 7.11 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz), 7.38 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 8.2 Hz). MS *m/z*: 311 [M+H-tBu]⁺.

以下の化合物 **37b–e** は、化合物 **37a** 記載の方法に準じて合成した。

4-[シアノ(ナフタレン-2-イル)メチリデン]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (37b).

収率 55%, 無色粉末。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.48 (9H, s), 2.51 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 2.82 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 3.44 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 3.64 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 7.37 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.8 Hz), 7.49–7.56 (2H, m), 7.75 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 7.80–7.90 (3H, m). MS *m/z*: 293 [M+H-tBu]⁺.

4-[(3-クロロフェニル)(シアノ)メチリデン]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (37c).

収率 85%, 無色油状物。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.48 (9H, s), 2.38–2.46 (2H, m), 2.71–2.81 (2H, m), 3.39–3.48 (2H, m), 3.62 (2H, t, *J* = 5.8 Hz), 7.17 (1H, ddd, *J* = 4.9, 3.8, 1.7 Hz), 7.28 (1H,

t, $J = 2.1$ Hz), 7.32–7.40 (2H, m). MS m/z : 233 [M+H-Boc]⁺.

4-[(4-クロロフェニル)(シアノ)メチリデン]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (37d). 収率 84%, 無色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.48 (9H, s), 2.42 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 2.77 (2H, d, $J = 5.8$ Hz), 3.42 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.60 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.16–7.31 (2H, m), 7.32–7.46 (2H, m).

4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)(シアノ)メチリデン]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (37e). 収率 84%, 黄色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.48 (9H, s), 2.41 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 2.77 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.43 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.61 (2H, t, $J = 5.8$ Hz), 7.06–7.22 (2H, m), 7.34 (1H, dd, $J = 6.9, 1.8$ Hz).

4-[(RS)-シアノ(3,4-ジクロロフェニル)メチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (38a). 化合物 **37a** (7.00 g, 19.1 mmol) のメタノール (100 mL) 溶液に水素化ホウ素ナトリウム (0.73 g, 19.3 mmol) を 0°C にて少量ずつ加えた。0°C で 30 分攪拌後、水を加えてクエンチし、減圧下でメタノールを留去し、残渣に水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (6.08 g, 86%) として得た。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.75 (3H, m), 1.45 (9H, s), 1.80–2.00 (2H, m), 2.50–2.75 (2H, m), 3.62 (1H, d, $J = 6.6$ Hz), 4.10–4.30 (2H, m), 7.14 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.39 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.47 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). MS m/z : 313 [M+H-tBu]⁺.

以下の化合物 **38b–e** は、化合物 **38a** 記載の方法に準じて合成した。

4-[(RS)-シアノ(ナフタレン-2-イル)メチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (38b). 収率 92%, 無色結晶. mp 130–132°C (AcOEt-Hexane). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.20–1.70 (3H, m), 1.44 (9H, s), 1.86 (1H, m), 2.00 (1H, m), 2.63 (2H, m), 3.81 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 4.15 (2H, m), 7.36 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz), 7.49–7.58 (2H, m), 7.75 (1H, d, $J = 1.5$ Hz), 7.80–7.90 (3H, m). MS m/z : 295 [M+H-tBu]⁺.

4-[(RS)-(3-クロロフェニル)(シアノ)メチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (38c). 収率 100%, 無色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.19–1.40 (2H, m), 1.45 (9H, s), 1.51–1.59 (1H, m), 1.75–1.98 (2H, m), 2.64 (2H, br), 3.62 (1H, d, $J = 6.8$ Hz), 4.06–4.26 (2H, m), 7.14–7.24 (1H, m), 7.28–7.31 (1H, m), 7.34 (2H, d, $J = 5.3$ Hz). MS m/z : 235 [M+H-Boc]⁺.

4-[(RS)-(4-クロロフェニル)(シアノ)メチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (38d). 収率 84%, 無色油状物. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.27–1.42 (2H, m), 1.45 (9H, s), 1.51–1.56 (1H, m), 1.74–1.95 (2H, m), 2.63 (2H, br), 3.62 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 4.03–4.28 (2H, m), 7.16–7.29 (2H, m), 7.32–7.42 (2H, m). MS m/z : 261 $[\text{M-tBuO}]^+$.

4-[(RS)-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)(シアノ)メチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル(38e). 収率 77%, 黄色油状物 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.25–1.41 (2H, m), 1.45 (9H, s), 1.55 (1H, dt, $J = 5.5, 2.7$ Hz), 1.75–1.95 (2H, m), 2.64 (2H, br), 3.61 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 4.04–4.29 (2H, m), 7.18 (2H, dd, $J = 6.7, 1.0$ Hz), 7.35 (1H, d, $J = 7.0$ Hz). MS m/z : 253 $[\text{M+H-Boc}]^+$.

(2RS)-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル](3,4-ジクロロフェニル)エタン酸 (39a). 化合物 **38a** (1.64 g, 4.44 mmol) に濃塩酸 (15 mL) を室温で加えた。5 時間加熱還流後、減圧下濃縮した。残渣を水–2-プロパノールから結晶化することにより、(2RS)-(3,4-ジクロロフェニル)(ピペリジン-4-イル)エタン酸 臭化水素酸塩を無色結晶 (1.51 g, 92%) として得た mp 268–270°C (H_2O -2-propanol). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6) δ 1.15–1.55 (3H, m), 1.80–1.95 (1H, m), 2.15–2.30 (1H, m), 2.70–3.00 (2H, m), 3.10–3.25 (1H, m), 3.25–3.40 (1H, m), 3.44 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 7.30–7.40 (2H, m), 7.60–7.70 (2H, m), 8.20–8.40 (1H, br), 8.55–8.75 (1H, br). MS m/z : 288 $[\text{M+H}]^+$.

((2RS)-(3,4-ジクロロフェニル)(ピペリジン-4-イル)エタン酸 臭化水素酸塩 (1.00 g, 2.71 mmol)、1 規定水酸化ナトリウム水溶液 1N-NaOH aq. (5.42 mL) および 1,2-ジメトキシエタン (12 mL) の混合物に二炭酸ジ tert-ブチル (650 mg, 2.96 mmol) の 1,2-ジメトキシエタン (12 mL) 溶液を滴下した。室温で 20 時間攪拌後、減圧下濃縮し、残渣に 10% クエン酸水溶液を加え、pH を約 3 に調整した。酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去することにより、表題化合物を無色結晶 (0.83 g, 79%) として得た。mp 171–172°C (EtOAc-Hexane). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.85–1.05 (1H, m), 1.20–1.35 (2H, m), 1.43 (9H, s), 1.80–1.90 (1H, m), 2.00–2.20 (1H, m), 2.50–2.80 (2H, m), 3.20 (1H, d, $J = 10.8$ Hz), 3.90–4.20 (2H, m), 7.00–8.40 (1H, br), 7.16 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.40 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.43 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). MS m/z : 373 $[\text{M+H-H}_2\text{O}]^+$. Anal Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_4$: C, 55.68; H, 5.97; N, 3.61. Found: C, 55.67; H, 5.87; N, 3.66.

以下の化合物 **39b–e** は、化合物 **39a** 記載の方法に準じて合成した。

(2RS)-[1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル](ナフタレン-2-イル)エタン酸 (39b). 収率 68%, 無色非晶状粉末. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.90–1.50 (3H, m), 1.42 (9H, s), 1.90 (1H, m), 2.24 (1H, m), 2.57 (1H, t, $J = 12.3$ Hz), 2.75 (1H, t, $J = 12.3$ Hz), 3.41 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 3.80–4.20 (2H, m), 7.40–7.50 (3H, m), 7.73 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 7.70–7.90 (3H, m), 9.00–11.00

(1H, br). MS m/z: 314 [M+H-tBu]⁺.

(2RS)-[1-(*tert*-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル](3-クロロフェニル)エタン酸 (39c). 収率 64%, 無色結晶. mp 155–156°C (AcOEt-Hexane). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 0.90 (1H, dq, *J* = 12.3, 4.1 Hz), 1.01–1.20 (2H, m), 1.37 (9H, s), 1.73 (1H, d, *J* = 12.2 Hz), 2.05 (1H, q, *J* = 11.1 Hz), 2.54–2.82 (2H, m), 3.30 (1H, s), 3.75–4.03 (2H, m), 7.14–7.47 (4H, m), 12.52 (1H, br).

(2RS)-[1-(*tert*-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル](4-クロロフェニル)エタン酸 (39d). 収率 82%, 無色結晶. mp 193–194°C (AcOEt-Hexane). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 0.77–0.97 (1H, m), 0.99–1.20 (2H, m), 1.37 (9H, s), 1.73 (1H, d, *J* = 12.6 Hz), 2.02 (1H, dd, *J* = 10.1, 7.3 Hz), 2.53–2.82 (2H, m), 3.30 (1H, d, *J* = 10.5 Hz), 3.82 (1H, d, *J* = 12.6 Hz), 3.95 (1H, d, *J* = 13.6 Hz), 7.24–7.49 (4H, m), 12.49 (1H, br).

(2RS)-[1-(*tert*-ブトキシカルボニル)ピペリジン-4-イル](3-クロロ-4-フルオロフェニル)エタン酸 (39e). 収率 80%, 無色結晶. mp 181–182°C (AcOEt-Hexane). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 0.77–0.99 (1H, m), 0.99–1.23 (2H, m), 1.37 (9H, s), 1.72 (1H, d, *J* = 12.2 Hz), 1.90–2.13 (1H, m), 2.53–2.84 (2H, m), 3.36 (1H, s), 3.69–4.06 (2H, m), 7.18–7.45 (2H, m), 7.54 (1H, dd, *J* = 7.3, 2.0 Hz), 12.60 (1H, br). MS m/z: 271 [M-Boc]⁺.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(ジメチルアミノ)-2-オキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (40a). 化合物 **38a** (3.93 g, 10.6 mmol) のエタノール (50 mL) 溶液に 1 規定水酸化ナトリウム水溶液 (50 mL) を室温で加えた。4 時間加熱還流後、減圧下濃縮し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去することにより、4-[(1RS)-2-アミノ-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-オキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチルを無色結晶 (2.81 g, 68%) として得た。mp 231–232°C (EtOAc-Hexane). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.85–1.05 (1H, m), 1.10–1.30 (2H, m), 1.44 (9H, s), 1.85–1.95 (1H, m), 2.05–2.25 (1H, m), 2.50–2.80 (2H, m), 2.92 (1H, d, *J* = 10.2 Hz), 3.90–4.20 (2H, m), 5.35–5.60 (2H, m), 7.19 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 7.39 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.44 (1H, d, *J* = 2.1 Hz). MS m/z: 287 [M+H-Boc]⁺. Anal Calcd for C₁₈H₂₄Cl₂N₂O₃: C, 55.82; H, 6.25; N, 7.23. Found: C, 55.80; H, 6.27; N, 7.03. 4-[(1RS)-2-アミノ-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-オキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (600 mg, 1.55 mmol) の DMF (7.0 mL) 溶液に水素化ナトリウム (ca. 60% in mineral oil, 250 mg, 6.25 mmol) を 0°C にて少量ずつ加えた。0°C で 5 分攪拌後、ヨードメタン (0.39 mL, 6.26 mmol) を加えた。室温で 20 時間攪拌後、減圧下濃縮し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5%

- 100% EtOAc in hexane)で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (422 mg, 66%). として得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.85–1.25 (2H, m), 1.44 (9H, s), 1.70–1.90 (2H, m), 2.15–2.30 (1H, m), 2.50–2.80 (2H, m), 2.93 (3H, s), 3.00 (3H, s), 3.37 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 3.90–4.20 (2H, m), 7.17 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.43 (1H, d, $J = 2.1$ Hz). MS m/z : 359 $[\text{M}+\text{H}-\text{tBu}]^+$.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシ-2-オキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (41a). 化合物 **39a** (100 mg, 0.257 mmol) のメタノール (3.0 mL) 溶液に 2 規定トリメチルシリルジアゾメタン溶液を 0°C にて試薬の黄色が退色しなくなるまで滴下した。室温で 15 分攪拌後、少量の酢酸を加えてクエンチし、減圧下濃縮した。残渣を酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 10% – 50% EtOAc in hexane)で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (99.2 mg, 96%) として得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.82–1.06 (2H, m), 1.14–1.32 (2H, m), 1.44 (9H, s), 1.71 (1H, br), 2.05–2.18 (1H, m), 2.50–2.81 (2H, m), 3.20 (1H, d, $J = 10.5$ Hz), 3.67 (3H, s), 3.92–4.19 (1H, m), 7.16 (1H, dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz), 7.34–7.45 (2H, m). MS m/z : 302 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-エトキシ-2-オキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (42a). 化合物 **39a** (900 mg, 2.32 mmol) の DMF (10 mL) 溶液に無水炭酸カリウム (420 mg, 3.04 mmol) とヨウ化メチル (0.24 mL, 3.00 mmol) を室温で加えた。室温で 20 時間攪拌後、減圧下濃縮した。残渣を酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 100% EtOAc in hexane)で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (920 mg, 95%) として得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.85–1.05 (1H, m), 1.10–1.30 (2H, m), 1.22 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.44 (9H, s), 1.70–1.80 (1H, m), 2.00–2.20 (1H, m), 2.50–2.80 (2H, m), 3.18 (1H, d, $J = 10.5$ Hz), 3.90–4.25 (4H, m), 7.16 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.39 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.43 (1H, d, $J = 2.1$ Hz). MS m/z : 316 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (43a). 化合物 **39a** (3.00 g, 7.73 mmol) の THF (24 mL) 溶液に 1M ボラン THF コンプレックス (24 mL, 24 mmol) を室温で加えた。 70°C で 2 時間攪拌後、飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチした。酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane)で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (2.00 g, 69%) として得た。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.85–1.35 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.60–1.90 (3H, m), 2.40–2.80 (3H, m), 3.80–4.20 (4H, m), 7.00–7.10 (1H, m), 7.25–7.30 (1H, m), 7.35–7.40 (1H, m).

MS m/z: 318 [M+H-tBu]⁺.

以下の化合物 **43b–e** は、化合物 **43a** 記載の方法に準じて合成した。

4-[(1RS)-2-ヒドロキシ-1-(ナフタレン-2-イル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (43b). 収率 89%, 無色非晶状粉末. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.95–1.40 (3H, m), 1.42 (9H, s), 1.60–1.95 (3H, m), 2.45–2.80 (3H, m), 3.85–4.05 (3H, m), 4.05–4.25 (1H, m), 7.31 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.40–7.50 (2H, m), 7.62 (1H, s), 7.75–7.85 (3H, m). MS m/z: 238 [M+H-Boc-OH]⁺.

4-[(1RS)-1-(3-クロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (43c). 収率 97%, 無色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.00 (1H, dq, *J* = 12.4, 4.2 Hz), 1.16–1.40 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.70–1.91 (2H, m), 2.45–2.76 (3H, m), 3.87 (3H, d, *J* = 8.0 Hz), 4.08–4.23 (1H, m), 6.99–7.11 (1H, m), 7.21 (1H, t, *J* = 1.9 Hz), 7.22–7.34 (2H, m). MS m/z: 266 [M-tBuO]⁺.

4-[(1RS)-1-(4-クロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (43d). 収率 92%, 無色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.98 (1H, dq, *J* = 12.4, 4.3 Hz), 1.13–1.36 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.65–1.93 (2H, m), 2.42–2.81 (3H, m), 3.76–4.05 (3H, m), 4.06–4.21 (1H, m), 7.13 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.31 (2H, d, *J* = 8.3 Hz). MS m/z: 266 [M-tBuO]⁺.

4-[(1RS)-1-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (43e). 収率 92%, 無色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.99 (1H, dq, *J* = 12.4, 4.3 Hz), 1.12–1.37 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.66–1.91 (2H, m), 2.45–2.60 (2H, m), 2.60–2.78 (1H, m), 3.77–3.94 (2H, m), 4.01 (1H, d, *J* = 11.5 Hz), 4.07–4.18 (1H, m), 7.01–7.14 (2H, m), 7.24 (1H, dd, *J* = 7.2, 2.1 Hz). MS m/z: 284 [M-tBuO]⁺.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (44a). 化合物 **43a** (630 mg, 1.68 mmol) の DMF (5.0 mL) 溶液に水素化ナトリウム (ca. 60% in mineral oil, 87 mg, 2.18 mmol) を 0°C にて加えた。室温で 10 分攪拌後、ヨウ化メチル (0.136 mL, 2.18 mmol) を加えた。室温で 20 分攪拌後、水でクエンチした。酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (480 mg, 73%) として得た。 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.80–1.40 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.70–1.85 (2H, m), 2.45–2.75 (3H, m), 3.28 (3H, s), 3.55–3.65 (2H, m), 3.95–4.25 (2H, m), 7.02 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz), 7.28 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.35 (1H, d, *J* = 8.2 Hz). MS m/z: 374 [M+H-Me]⁺.

以下の化合物 **44b–e** および **45a** は、化合物 **44a** 記載の方法に準じて合成した。

4-[(1*RS*)-2-メトキシ-1-(ナフタレン-2-イル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (44b). 収率 70%, 無色油状物. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.95–1.40 (3H, m), 1.41 (9H, s), 1.80–1.95 (2H, m), 2.45–2.85 (3H, m), 3.29 (3H, s), 3.65–3.80 (2H, m), 3.85–4.25 (2H, m), 7.32 (1H, dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz), 7.35–7.45 (2H, m), 7.59 (1H, s), 7.75–7.85 (3H, m). MS m/z : 238 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}-\text{MeO}]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(3-クロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (44c). 収率 90%, 無色油状物. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.99 (1H, dq, $J = 12.4, 4.5$ Hz), 1.10–1.38 (2H, m), 1.43 (9H, s), 1.70–1.88 (2H, m), 2.47–2.77 (3H, m), 3.29 (3H, s), 3.62 (2H, dd, $J = 5.9, 2.8$ Hz), 3.98 (1H, br), 4.06–4.18 (1H, m), 7.01–7.08 (1H, m), 7.13–7.23 (3H, m). MS m/z : 254 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(4-クロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (44d). 収率 88%, 無色油状物. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.89–1.05 (1H, m), 1.12–1.37 (3H, m), 1.38–1.48 (9H, m), 1.67–1.87 (2H, m), 2.46–2.61 (2H, m), 2.68 (1H, t, $J = 12.6$ Hz), 3.23–3.33 (3H, m), 3.50–3.69 (2H, m), 3.99 (1H, br), 7.06–7.16 (2H, m), 7.19–7.29 (2H, m). MS m/z : 254 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (44e). 収率 78%, 無色油状物. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.89–1.08 (1H, m), 1.10–1.36 (2H, m), 1.40–1.46 (9H, m), 1.68–1.86 (2H, m), 2.47–2.59 (2H, m), 2.59–2.74 (1H, m), 3.29 (3H, s), 3.53–3.67 (2H, m), 3.94–4.07 (1H, m), 4.08–4.18 (1H, m), 6.99–7.08 (2H, m), 7.22 (1H, dd, $J = 7.2, 1.5$ Hz). MS m/z : 272 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-エトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (45a). 収率 69%, 淡黄色油状物. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.80–1.60 (3H, m), 1.14 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.43 (9H, s), 1.70–1.90 (2H, m), 2.45–2.80 (3H, m), 3.41 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.55–3.70 (2H, m), 3.90–4.30 (2H, m), 7.02 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.29 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.34 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). MS m/z : 346 $[\text{M}+\text{H}-\text{tBu}]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-[(メチルスルホニル)オキシ]エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (46a). 化合物 **43a** (4.05 g, 10.8 mmol) およびトリエチルアミン (1.66 mL, 11.9 mmol) の THF (80 mL) 溶液に 0°C にてメタンサルホニルクロリド (0.92 mL, 11.9

mmol)を滴下した。室温で1時間攪拌後、水でクエンチした。酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (4.57 g, 94%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90–1.40 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.75–1.90 (1H, m), 2.50–2.80 (3H, m), 2.87 (3H, s), 3.95–4.25 (2H, m), 4.40–4.45 (3H, m), 7.02 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz), 7.26 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.41 (1H, d, *J* = 8.2 Hz). MS *m/z*: 396 [M+H-tBu]⁺.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (47a). 化合物 **46a** (380 mg, 0.84 mmol) の THF (5.0 mL) 溶液にリチウムトリエチルボロヒドリド (2.47 mL, 4.20 mmol) を室温にて滴下した。アルゴン雰囲気下、室温で20分攪拌後、飽和塩化アンモニウム水溶液でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 0% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (250 mg, 83%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.91–1.19 (3H, m), 1.23 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 1.28–1.37 (1H, m), 1.38–1.54 (10H, m), 1.80 (1H, d, *J* = 12.8 Hz), 2.46–2.74 (2H, m), 3.92–4.26 (2H, m), 6.97 (1H, dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz), 7.22 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.35 (1H, d, *J* = 8.3 Hz). MS *m/z*: 302 [M+H-tBu]⁺.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(メチルスルファニル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (48a). 化合物 **46a** (4.55 g, 10.1 mmol) の アセトン (100 mL) 溶液にチオ酢酸カリウム (1.73 g, 15.1 mmol) を加え、室温で20時間、次いで30分加熱還流下攪拌した。水でクエンチし、酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、4-[(1*RS*)-2-(アセチルスルファニル)-1-(3,4-ジクロロフェニル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチルを無色油状物 (3.73 g, 85%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90–1.10 (1H, m), 1.15–1.40 (2H, m), 1.43 (9H, s), 1.60–1.75 (1H, m), 1.85–1.95 (1H, m), 2.26 (3H, s), 2.50–2.80 (3H, m), 2.96 (1H, dd, *J* = 13.2, 10.8 Hz), 3.48 (1H, dd, *J* = 13.2, 4.8 Hz), 3.95–4.25 (2H, m), 6.93 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz), 7.17 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.36 (1H, d, *J* = 8.2 Hz). MS *m/z*: 332 [M+H-Boc]⁺. 上記 4-[(1*RS*)-2-(アセチルスルファニル)-1-(3,4-ジクロロフェニル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (3.70 g, 8.56 mmol) と 1 規定水酸化ナトリウム水溶液 (20 mL, 20 mmol) のエタノール (20 mL) 混合物を室温で40分攪拌した。減圧下濃縮後、残渣に水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去することにより、4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-スルファニルエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 を無色油状物 (3.13 g, 94%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90–1.60 (4H, m), 1.43 (9H, s), 1.60–1.90 (2H,

m), 2.45–3.00 (5H, m), 3.95–4.25 (2H, m), 6.97 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.22 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.39 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). MS m/z : 334 $[M+H-tBu]^+$. 上記 4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-スルファニルエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (1.49 g, 3.82 mmol) の DMF (20 mL) 溶液に 0°C にて水素化ナトリウム (ca. 60% in mineral oil, 180 mg, 4.50 mmol) を少量ずつ加えた。室温で2分攪拌後、ヨウ化メチル (0.285 mL, 4.57 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (923 mg, 60%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90–1.60 (4H, m), 1.43 (9H, s), 1.60–1.90 (2H, m), 2.00 (3H, s), 2.50–2.80 (3H, m), 2.93 (1H, dd, $J = 12.4, 5.1$ Hz), 3.95–4.25 (2H, m), 6.98 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.23 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). MS m/z : 304 $[M+H-Boc]^+$.

以下の化合物 **49a** は、化合物 **48a** 記載の方法に準じて合成した。

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(エチルスルファニル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (49a). 収率 78%, 無色油状物. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90–1.60 (3H, m), 1.19 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.43 (9H, s), 1.60–1.90 (2H, m), 2.42 (2H, q, $J = 7.5$ Hz), 2.50–2.80 (4H, m), 2.94 (1H, dd, $J = 12.6, 5.1$ Hz), 3.95–4.25 (2H, m), 6.98 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.23 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). MS m/z : 318 $[M+H-Boc]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(メチルスルホニル)エチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (50a). 化合物 **48a** (515 mg, 1.27 mmol) のジクロロメタン (10 mL) 溶液に *m*-クロロ過安息香酸 (ca. 70% 含水 940 mg, 3.81 mmol) を室温で加えた。室温で1時間攪拌後、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 100% EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (420 mg, 75%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.95–1.40 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.60–1.85 (2H, m), 2.45–2.80 (2H, m), 2.51 (3H, s), 3.10 (1H, dt, $J = 8.6, 4.5$ Hz), 3.30–3.45 (2H, m), 3.95–4.25 (2H, m), 7.05 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.30 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.44 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). MS m/z : 380 $[M+H-tBu]^+$.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(1*H*-イミダゾール-1-イル)-2-オキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (51a). 化合物 **39a** (7.00 g, 18.0 mmol) と 1,1'-カルボニルジイミダゾール (3.52 g, 21.7 mmol) の THF (100 mL) 溶液を室温で2時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 100%

EtOAc in hexane)で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (6.05 g, 77%). として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90–1.30 (3H, m), 1.44 (9H, s), 1.75–1.90 (1H, m), 2.25–2.45 (1H, m), 2.50–2.80 (2H, m), 3.76(1H, d, *J* = 9.9 Hz), 3.90–4.25 (2H, m), 7.06 (1H, s), 7.15 (1H, dd, *J* = 7.8, 2.1 Hz), 7.25 (1H, s), 7.40–7.50 (2H, m), 8.18 (1H, s).

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-オキソプロピル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (52a). 化合物 **51a** (2.00 g, 4.56 mmol) の THF (20 mL) 溶液に 3*M*-メチルマグネシウムブロミド ジエチルエーテル溶液 (2.28 mL, 6.84 mmol)を 0°Cにて滴下した。0°C で5分攪拌後、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 100% EtOAc in hexane)で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (718 mg, 41%) として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.85–1.30 (3H, m), 1.43 (9H, s), 1.70–1.80 (1H, m), 2.10–2.25 (1H, m), 2.11 (3H, s), 2.50–2.80 (2H, m), 3.37(1H, d, *J* = 9.9 Hz), 3.90–4.25 (2H, m), 7.05 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 7.31 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.39 (1H, d, *J* = 8.4 Hz). MS *m/z*: 286 [M+H-Boc]⁺.

以下の化合物 **53–54a** は、化合物 **52a** 記載の方法に準じて合成した。

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-オキソブチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (53a). 収率 38%, 淡黄色油状物。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.85–1.30 (3H, m), 0.98 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.43 (9H, s), 1.65–1.80 (1H, m), 2.10–2.25 (1H, m), 2.30–2.80 (4H, m), 3.36(1H, d, *J* = 10.5 Hz), 3.90–4.25 (2H, m), 7.07 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 7.33 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.38 (1H, d, *J* = 8.4 Hz). MS *m/z*: 344 [M+H-tBu]⁺.

4-[(1*RS*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-オキソペンチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (54a). 収率 43%, 淡黄色油状物。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.80–1.25 (6H, m), 1.40–1.65 (2H, m), 1.43 (9H, s), 1.65–1.80 (1H, m), 2.10–2.25 (1H, m), 2.30–2.40 (2H, m), 2.50–2.80 (2H, m), 3.35(1H, d, *J* = 10.5 Hz), 3.90–4.25 (2H, m), 7.06 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 7.32 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.38 (1H, d, *J* = 8.4 Hz). MS *m/z*: 314 [M+H-Boc]⁺.

4-[(1*S*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル ((*S*)-44a).

4-[(1*R*)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル ((*R*)-44a).

化合物 **43a** (12.7 g, 33.9 mmol) の光学分割を HPLC 法により実施した。(株)ダイセル社製 HPLC (CHIRALPAK AD, 50 mmID×500 mmL)を用い、分取条件 (移動相: hexane/2-propanol =

900/100, 流速: 80 mL/min, カラム温度 30°C) により、保持時間が大きい方の分画として 4-[(1S)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (5.72 g, >99% ee., 回収率 90%) を、保持時間が小さい方の分画として 4-[(1R)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (6.05 g, >99% ee., 回収率 96%) をそれぞれ得た。

4-[(1S)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル (5.72 g, 15.3 mmol) の DMF (50 mL) に 0°C にて 水素化ナトリウム (ca. 60% in mineral oil, 795 mg, 19.9 mmol) を少量ずつ加えた。室温で 10 分攪拌後、ヨウ化メチル (1.24 mL, 19.9 mmol) を加えた。室温で 20 分攪拌後、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 5% – 50% EtOAc in hexane) で精製することにより、化合物 (*S*)-**44a** を無色結晶 (3.00 g, 50%) として得た。mp 100–101°C (AcOEt-Hexane). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 化合物 **44a** と同等。 Anal Calcd for C₁₉H₂₇Cl₂NO₃: C, 58.77; H, 7.01; N, 3.61. Found: C, 58.75; H, 6.90; N, 3.56.

化合物(*R*)-**44a** は、4-[(1R)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]ピペリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチルから上記化合物(*S*)-**44a** と同様の方法で合成した。収率 69%, 無色結晶。mp 100–101°C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 化合物 **44a** と同等。 Anal Calcd for C₁₉H₂₇Cl₂NO₃: C, 58.77; H, 7.01; N, 3.61. Found: C, 58.81; H, 6.88; N, 3.59.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 (24a). 化合物 **44a** (480 mg, 1.24 mmol) のエタノール (10 mL) 溶液に 10 規定塩化水素–エタノール溶液 (10 mL) を室温で加えた。室温で 15 分攪拌後、溶媒を減圧下留去した。残渣をエタノール–酢酸エチルから結晶化することにより、表題化合物を無色結晶 (351 mg, 87%) として得た。mp 187–188°C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.10–1.50 (3H, m), 1.80–2.00 (2H, m), 2.60–2.85 (3H, m), 3.05–3.30 (2H, m), 3.19 (3H, s), 3.50–3.65 (2H, m), 7.23 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 7.51 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.56 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.50–9.20 (2H, br). MS *m/z*: 288 [M+H]⁺. Anal Calcd for C₁₄H₁₉Cl₂NO · HCl: C, 51.79; H, 6.21; N, 4.31. Found: C, 51.81; H, 6.32; N, 4.23.

以下の化合物 **22–24a**, **25–34a**, **24b–e**, (*S*)-**24a** および (*R*)-**24a** は、それぞれ **47a**, **43–44a**, **45a**, **38–40a**, **52–54a**, **44b–e**, (*S*)-**44a** および (*R*)-**44a** から化合物 **24a** と同様の方法により合成した。

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)エチル]ピペリジン 塩酸塩 (22a). 化合物 **47a** より収率 88%, 無色結晶。mp 170–171°C. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.19 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 1.21–

1.46 (3H, m), 1.58–1.79 (1H, m), 1.90 (1H, d, $J = 13.6$ Hz), 2.53–2.87 (3H, m), 3.14 (1H, d, $J = 12.5$ Hz), 3.25 (1H, d, $J = 12.5$ Hz), 7.22 (1H, dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz), 7.49 (1H, d, $J = 1.9$ Hz), 7.57 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 8.67 (1H, br), 9.01 (1H, br). *Anal* Calcd for $C_{13}H_{17}Cl_2N \cdot HCl$: C, 52.99; H, 6.16; N, 4.75. Found: C, 52.93; H, 5.88; N, 4.73.

(2RS)-2-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(ピペリジン-4-イル)エタノール 塩酸塩 (23a). 化合物 **43a** より収率 93%, 無色結晶. mp 223–224°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.10–1.50 (3H, m), 1.80–2.05 (2H, m), 2.40–2.60 (1H, m), 2.60–2.90 (2H, m), 3.05–3.30 (2H, m), 3.60–3.75 (2H, m), 4.50–4.90 (1H, br), 7.21 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.49 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.55 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.40–9.20 (2H, br). MS m/z : 274 $[M+H]^+$. *Anal* Calcd for $C_{13}H_{17}Cl_2NO \cdot HCl$: C, 50.26; H, 5.84; N, 4.51. Found: C, 50.17; H, 5.88; N, 4.50.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-エトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 (25a). 化合物 **45a** より収率 82%, 無色結晶. mp 157–158°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.04 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.10–1.50 (3H, m), 1.80–2.00 (2H, m), 2.60–2.85 (3H, m), 3.10–3.30 (2H, m), 3.38 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.55–3.70 (2H, m), 7.23 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.52 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.20–9.20 (2H, br). MS m/z : 302 $[M+H]^+$. *Anal* Calcd for $C_{15}H_{21}Cl_2NO \cdot HCl$: C, 53.19; H, 6.55; N, 4.14. Found: C, 53.17; H, 6.56; N, 4.09.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(メチルスルファニル)エチル]ピペリジン 塩酸塩 (26a). 化合物 **48a** より収率 81%, 無色結晶. mp 176–178°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.10–1.50 (3H, m), 1.80–2.00 (2H, m), 1.96 (3H, s), 2.60–3.00 (5H, m), 3.05–3.30 (2H, m), 7.23 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz), 7.53 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 8.40–8.70 (1H, br), 8.90–9.20 (1H, br). MS m/z : 304 $[M+H]^+$. *Anal* Calcd for $C_{14}H_{19}Cl_2NS \cdot HCl$: C, 49.35; H, 5.92; N, 4.11. Found: C, 49.27; H, 5.93; N, 3.87.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(エチルスルファニル)エチル]ピペリジン 塩酸塩 (27a). 化合物 **49a** より収率 70%, 無色結晶. mp 167–169°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.11 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.15–1.50 (3H, m), 1.80–2.00 (2H, m), 2.40 (2H, q, $J = 7.5$ Hz), 2.60–3.00 (5H, m), 3.15–3.30 (2H, m), 7.23 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.52 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.60–8.85 (1H, br), 9.05–9.25 (1H, br). MS m/z : 318 $[M+H]^+$. *Anal* Calcd for $C_{15}H_{21}Cl_2NS \cdot HCl$: C, 50.78; H, 6.25; N, 3.95. Found: C, 50.78; H, 6.27; N, 3.80.

4-[(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-(メチルスルホニル)エチル]ピペリジン 塩酸塩 (28a). 化合物 **50a** より収率 91%, 無色結晶. mp 290–292°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.10–1.35 (2H, m), 1.40–1.55 (1H, m), 1.80–2.00 (2H, m), 2.60–2.85 (2H, m), 2.82 (3H, s), 3.10–3.30

(2H, m), 3.55 (1H, dd, $J = 14.7, 3.6$ Hz), 3.60–3.85 (1H, m), 3.76 (1H, dd, $J = 14.7, 9.9$ Hz), 7.30 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.59 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 8.30–8.50 (1H, br), 8.80–9.00 (1H, br). MS m/z : 336 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{14}H_{19}Cl_2NO_2S \cdot HCl$: C, 45.11; H, 5.41; N, 3.76. Found: C, 45.07; H, 5.61; N, 3.51.

(2RS)-(3,4-ジクロロフェニル)(ピペリジン-4-イル)エタン酸メチル 塩酸塩 (29a). 化合物 **41a** より収率 44%, 無色結晶. mp 238–240°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.20–1.40 (2H, m), 1.40–1.60 (1H, m), 1.75–1.85 (1H, m), 2.15–2.35 (1H, m), 2.70–2.95 (2H, m), 3.10–3.30 (2H, m), 3.59 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 3.62 (3H, s), 7.36 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz), 7.60–7.70 (2H, m), 8.80–9.25 (2H, br). MS m/z : 302 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{14}H_{17}Cl_2NO_2 \cdot HCl$: C, 49.65; H, 5.36; N, 4.14. Found: C, 49.18; H, 5.30; N, 4.14.

(2RS)-(3,4-ジクロロフェニル)(ピペリジン-4-イル)エタン酸エチル 塩酸塩 (30a). 化合物 **41a** より収率 79%, 無色結晶. mp 198–200°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.15 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.20–1.40 (2H, m), 1.40–1.60 (1H, m), 1.75–1.85 (1H, m), 2.15–2.35 (1H, m), 2.65–2.90 (2H, m), 3.10–3.30 (2H, m), 3.55 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 4.00–4.20 (2H, m), 7.36 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz), 7.60–7.70 (2H, m), 8.70–9.30 (2H, br). MS m/z : 316 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{15}H_{19}Cl_2NO_2 \cdot HCl$: C, 51.08; H, 5.72; N, 3.97. Found: C, 51.08; H, 5.67; N, 3.95.

(2RS)-2-(3,4-ジクロロフェニル)-*N,N*-ジメチル-2-(ピペリジン-4-イル)エタンアミド 塩酸塩 (31a). 化合物 **40a** より収率 79%, 無色非晶状粉末. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.10–1.45 (2H, m), 1.75–1.85 (1H, m), 2.15–2.30 (1H, m), 2.65–2.95 (1H, m), 2.80 (3H, s), 2.99 (3H, s), 3.10–3.30 (2H, m), 3.35–3.80 (2H, m), 3.85 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 7.39 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz), 7.61 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.67 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 8.60–9.15 (2H, br). MS m/z : 315 $[M+H]^+$.

(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-1-(ピペリジン-4-イル)プロパン-2-オン 塩酸塩 (32a). 化合物 **52a** より収率 79%, 無色結晶. mp 264–266°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.10–1.50 (3H, m), 1.70–1.85 (1H, m), 2.09 (3H, s), 2.20–2.40 (1H, m), 2.65–2.95 (2H, m), 3.05–3.30 (2H, m), 3.83 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 7.25 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.55 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.63 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.60–9.10 (2H, br). MS m/z : 286 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{14}H_{17}Cl_2NO \cdot HCl$: C, 52.11; H, 5.62; N, 4.34. Found: C, 51.82; H, 5.63; N, 4.24.

(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-1-(ピペリジン-4-イル)ブタン-2-オン 塩酸塩 (33a). 化合物 **53a** より収率 85%, 無色結晶. mp 210–212°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 0.85 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.10–1.30 (2H, m), 1.35–1.55 (1H, m), 1.65–1.80 (1H, m), 2.20–2.40 (1H, m), 2.40–2.60 (2H, m), 2.65–2.90 (2H, m), 3.05–3.25 (2H, m), 3.83 (1H, d, $J = 10.5$ Hz), 7.26 (1H, dd, $J =$

8.4, 2.1 Hz), 7.57 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.70–9.10 (2H, br). MS m/z : 300 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{15}H_{19}Cl_2NO \cdot HCl$: C, 53.51; H, 5.99; N, 4.16. Found: C, 53.42; H, 6.00; N, 4.00.

(1RS)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-1-(ピペリジン-4-イル)ペンタン-2-オン 塩酸塩 (34a). 化合物 **54a** より収率 79%, 無色結晶. mp 196–197°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 0.72 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.10–1.30 (2H, m), 1.35–1.55 (3H, m), 1.65–1.80 (1H, m), 2.20–2.40 (1H, m), 2.42 (2H, q, $J = 7.5$ Hz), 2.65–2.90 (2H, m), 3.05–3.25 (2H, m), 3.82 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 7.26 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.60–9.10 (2H, br). MS m/z : 314 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{16}H_{21}Cl_2NO \cdot HCl$: C, 54.79; H, 6.32; N, 3.99. Found: C, 54.55; H, 6.12; N, 3.88.

4-[(1RS)-2-メトキシ-1-(ナフタレン-2-イル)エチル]ピペリジン 塩酸塩 (24b). 化合物 **44b** より収率 85%, 無色結晶. mp 185–187°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.15–1.35 (1H, m), 1.40–1.55 (2H, m), 1.90–2.10 (2H, m), 2.60–2.90 (3H, m), 3.00–3.30 (2H, m), 3.21 (3H, s), 3.70 (2H, d, $J = 3.7$ Hz), 7.39 (1H, dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz), 7.40–7.50 (2H, m), 7.69 (1H, s), 7.80–7.90 (3H, m), 8.60–8.75 (1H, br), 8.80–9.15 (1H, br). MS m/z : 270 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{18}H_{23}NO \cdot HCl$: C, 70.69; H, 7.91; N, 4.58. Found: C, 70.30; H, 7.88; N, 4.37.

4-[(1RS)-1-(3-クロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 (24c). 化合物 **44c** より収率 73%, 無色結晶. mp 147–148°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.08–1.29 (1H, m), 1.31–1.49 (2H, m), 1.81–2.04 (2H, m), 2.63–2.90 (3H, m), 3.02–3.28 (3H, m), 3.33 (2H, br), 3.59 (2H, d, $J = 7.0$ Hz), 7.14–7.23 (1H, m), 7.23–7.40 (3H, m), 8.72 (2H, br). MS m/z : 254 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{14}H_{20}ClNO \cdot HCl$: C, 57.94; H, 7.29; N, 4.83. Found: C, 57.96; H, 7.27; N, 4.59.

4-[(1RS)-1-(4-クロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 (24d). 化合物 **44d** より収率 70%, 無色結晶. mp 158–159°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.11–1.27 (1H, m), 1.29–1.51 (2H, m), 1.79–1.98 (2H, m), 2.59–2.88 (3H, m), 3.04–3.27 (5H, m), 3.57 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.19–7.28 (2H, m), 7.29–7.41 (2H, m), 8.87 (2H, br). MS m/z : 254 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{14}H_{20}ClNO \cdot HCl$: C, 57.94; H, 7.29; N, 4.83. Found: C, 57.83; H, 7.27; N, 4.79.

4-[(1RS)-1-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 (24e). 化合物 **44e** より収率 77%, mp 147–148°C. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.10–1.31 (1H, m), 1.31–1.54 (2H, m), 1.78–2.02 (2H, m), 2.61–2.87 (3H, m), 3.05–3.29 (5H, m), 3.46–3.68 (2H, m), 7.17–7.29 (1H, m), 7.29–7.41 (1H, m), 7.46 (1H, dd, $J = 7.3, 2.1$ Hz), 8.99 (2H, br). MS m/z : 272 $[M+H]^+$. *Anal Calcd* for $C_{14}H_{19}ClFNO \cdot HCl \cdot 0.1H_2O$: C, 54.24; H, 6.57; N, 4.52. Found: C, 54.21;

H, 6.59; N, 4.25.

4-[(1S)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 ((S)-24a). 化合物 (S)-44a より収率 97%, 無色結晶. mp 191°C. $[\alpha]_D^{20} = +29.8^\circ$ ($c = 0.5035$, MeOH). $^1\text{H NMR}$ および MS スペクトルは、化合物 **24a** と同等. *Anal Calcd* for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO} \cdot \text{HCl}$: C, 51.79; H, 6.21; N, 4.31. *Found*: C, 51.78; H, 6.26; N, 4.27.

4-[(1R)-1-(3,4-ジクロロフェニル)-2-メトキシエチル]ピペリジン 塩酸塩 ((R)-24a). 化合物 (R)-44a より収率 95%, 無色結晶. mp 191°C. $[\alpha]_D^{20} = -29.9^\circ$ ($c = 0.5140$, MeOH). $^1\text{H NMR}$ および MS スペクトルは、化合物 **24a** と同等. *Anal Calcd* for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO} \cdot \text{HCl}$: C, 51.79; H, 6.21; N, 4.31. *Found*: C, 51.76; H, 6.09; N, 4.11.

化合物 (S)-24a の X 線結晶構造解析

(S)-24a の結晶データ: $[\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{NO}]^+\text{Cl}^-$, MW = 324.68; 結晶サイズ, 0.45 x 0.25 x 0.10 mm; 無色プリズム; monoclinic, 空間群 $P2_1$, $a = 7.881(3) \text{ \AA}$, $b = 6.980(2) \text{ \AA}$, $c = 14.670(5) \text{ \AA}$, $\alpha = \gamma = 90^\circ$, $\beta = 91.81(2)^\circ$, $V = 806(1) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, $D_x = 1.34 \text{ g/cm}^3$, $T = 293 \text{ K}$, $\mu = 5.076 \text{ mm}^{-1}$, $\lambda = 1.54186 \text{ \AA}$, $R_1 = 0.040$, $wR_2 = 0.118$. (S)-24a の絶対配置は Flack parameter³¹, 0.02(2) から (S) と決定した。(S)-24a の単結晶はメタノール溶液から調製した。

測定は、Rigaku R-AXIS RAPID 回折計を用い、黒鉛単色 Cu-K α 照射で行った。構造は SIR92³² による直説法で解析し、SHELXL-97³³ による F^2 フルマトリックス最小自乗で調整した。全ての非水素原子は anisotropic displacement パラメータで決定した。化合物 (S)-24a の CCDC は補足結晶データは (CCDC No.: 895158) に記載されている。これらのデータは The Cambridge Crystallographic Data Centre www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif. にて無料で閲覧可能である。

モノアミン取り込み阻害活性

ヒトモノアミン発現細胞の作製

ヒトセロトニントランスポーター cDNA は、ヒト脳 cDNA ライブラリーより PCR により増幅し、pCRII-TOPO ベクター (Invitrogen 社製) に挿入した。塩基配列を確認・修正後、pcDNA 3.1 ベクター (Invitrogen 社製) にサブクローニングし、ヒトセロトニントランスポーター発現プラスミドを構築した。ヒトノルエピネフrintransポーター cDNA は、Invitrogen 社より購入し、塩基配列を確認・修正後、pcDNA 3.1 ベクターにサブクローニングし、ヒトノルエピネフrintransポーター発現プラスミドを構築した。ヒトドーパミントランスポーター cDNA は、下記の方法により構築した。特開平 5-076385 記載の pTB1411 に含まれる SR α プロモーターは、制限酵素 HindIII (タカラバイオ社製) で切断し、

平滑末端化後、さらに制限酵素 EcoRI(タカラバイオ社製)で切断し、断片化した。一方、pCI ベクターは、制限酵素 BglII(タカラバイオ社製)で切断し、T4DNA ポリメラーゼで平滑末端化後、さらに制限酵素 EcoRI(タカラバイオ社製)で切断した。このサイトに SR α プロモーター断片を挿入して、pCI-SRa を作製した。次いで、pCI-SRa を制限酵素 ClaI(タカラバイオ社製)で切断後、平滑末端化したサイトに、pGFP-C1(東洋紡社製)を制限酵素 Bsu36I(第一化学薬品社製)で切断後、平滑末端化した 1.63Kb の断片を挿入し、pMSR α neo を作製した。ヒトドーパミントランスポーターcDNA は、ヒト黒質 cDNA ライブラリーより PCR により増幅し、pCRII ベクター (Invitrogen 社製) に挿入した。塩基配列を確認・修正後、pMSR α neo にサブクローニングし、ヒトドーパミントランスポーター発現プラスミドを構築した。

これら作製したモノアミントランスポーター発現プラスミドを、FuGENE6 (Roche Diagnostics 社製) を用い、添付のプロトコールに従い CHO-K1 細胞に導入し、それぞれの発現細胞を樹立した。

ヒトセロトニントランスポーターに対する阻害作用

ヒトセロトニントランスポーター阻害活性の測定にはヒトセロトニントランスポーターを安定発現した CHO 細胞を用いた。特に記載が無い限り、これらの CHO 細胞は、10% 牛胎児血清(MOREGATE)を含む Ham/F12 培地(Invitrogen)を用いて培養した。ほぼコンフルエントになるまで培養した細胞を、PBS (Invitrogen)を用いてリンスした後、Trypsin/EDTA (Invitrogen)を用いて剥がし、遠心操作にて回収した。得られた細胞の数を測定し、培地 1 mL あたり 3×10^5 個の細胞が含まれるように希釈し、96 well white plate (Corning)に 1 穴あたり 100 μ L ずつ分注後、CO₂ 培養器にて一晚培養した。次に、アッセイバッファー (126 mM NaCl, 4.95 mM KCl, 1.26 mM KH₂PO₄, 1.26 mM MgSO₄, 10 mM HEPES, 2.32 mM CaCl₂, 5.52 mM Glucose, 0.5% BSA) を調製し、細胞プレートの培地を除去した後、80 μ L ずつアッセイバッファーを添加した。また試験化合物をアッセイバッファーにて終濃度の 10 倍濃度となるように希釈し、ポリプロピレン製 96 well plate に分注した。その希釈した試験化合物を 10 μ L ずつ細胞プレートに分注した。³H]-5-ヒドロキシトリプタミン (GE Healthcare) をアッセイバッファーにて 200 nM となるように希釈し、それを細胞プレートに 10 μ L ずつ分注した。³H]-5-ヒドロキシトリプタミンを添加してから 20 分経過したところで、アッセイバッファーを吸引除去し、PBS (Invitrogen)で 1 穴あたり 150 μ L、2 回洗浄した。Microscinti20 (PerkinElmer) を 1 穴あたり 100 μ L ずつ分注し、30 分前後攪拌した。放射活性は TopCount (PerkinElmer) で測定した。

各化合物の 10 μ M の阻害活性を、10 μ M の Paroxetine (セロトニントランスポーター阻害剤) の阻害活性を 100%とする相対活性値として算出した。IC₅₀ 値と 95%信頼区間は、XLfit (n=2)によって計算した。

ヒトノルエピネフリントランスポーターに対する阻害作用

ヒトノルエピネフリントランスポーター阻害活性の測定にはヒトノルエピネフリントランスポーターを安定発現した CHO 細胞を用いた。特に記載が無い限り、これらの CHO 細胞は 10% 牛胎児血清(MOREGATE)を含む Ham/F12 培地(Invitrogen)を用いて培養した。ほぼコンフルエントになるまで培養した細胞を、PBS (Invitrogen)を用いてリンスした後、Trypsin/EDTA (Invitrogen)を用いて剥がし、遠心操作にて回収した。得られた細胞の数を測定し、培地 1 mL あたり 3×10^5 個の細胞が含まれるように希釈し、96 well white plate (Corning)に 1 穴あたり 100 μ L ずつ分注後、CO₂ 培養器にて一晚培養した。次にアッセイバッファー (126 mM NaCl, 4.95 mM KCl, 1.26 mM KH₂PO₄, 1.26 mM MgSO₄, 10 mM HEPES, 2.32 mM CaCl₂, 5.52 mM Glucose, 0.5% BSA) を調製し、細胞プレートの培地を除去した後、80 μ L ずつアッセイバッファーを添加した。また試験化合物をアッセイバッファーにて終濃度の 10 倍濃度となるように希釈し、ポリプロピレン製 96 well plate に分注した。その希釈した試験化合物を 10 μ L ずつ細胞プレートに分注した。³H]-ノルエピネフリン (GE Healthcare) をアッセイバッファーにて 200 nM となるように希釈し、それを細胞プレートに 10 μ L ずつ分注した。³H]-ノルエピネフリンを添加してから 45 分経過したところで、アッセイバッファーを吸引除去し、PBS (Invitrogen)で 1 穴あたり 150 μ L、2 回洗浄した。Microscinti20 (PerkinElmer) を 1 穴あたり 100 μ L ずつ分注し、30 分前後攪拌した。放射活性は TopCount (PerkinElmer) で測定した。

各化合物の 10 μ M の阻害活性を、10 μ M の DMI (ノルエピネフリントランスポーター阻害剤) の阻害活性を 100%とする相対活性値として算出した。IC₅₀ 値と 95%信頼区間は、XLfit (n=2)によって計算した。

ヒトドーパミントランスポーターに対する阻害作用

ヒトドーパミントランスポーター阻害活性の測定にはヒトドーパミントランスポーターを安定発現した CHO 細胞を用いた。特に記載が無い限り、これらの CHO 細胞は 10% 牛胎児血清(MOREGATE)を含む Ham/F12 培地(Invitrogen)を用いて培養した。アッセイ前日に、ほぼコンフルエントになるまで培養した細胞を、PBS (Invitrogen)を用いてリンスした後、Trypsin/EDTA (Invitrogen)を用いて剥がし、遠心操作にて回収した。得られた細胞の数を測定し、培地 1 mL あたり 3×10^5 個の細胞が含まれるように希釈し、96 well white plate (Corning)に 1 穴あたり 100 μ L ずつ分注後、CO₂ 培養器にて一晚培養した。試験当日にアッセイバッファー (126 mM NaCl, 4.95 mM KCl, 1.26 mM KH₂PO₄, 1.26 mM MgSO₄, 10 mM HEPES, 2.32 mM CaCl₂, 5.52 mM Glucose, 0.5% BSA) を調製し、細胞プレートの培地を除去した後、80 μ L ずつアッセイバッファーを添加した。また試験化合物をアッセイバッファーにて終濃度の 10 倍濃度となるように希釈し、ポリプロピレン製 96 well plate に分注した。その希釈した試験化合物を 10 μ L ずつ細胞プレートに分注した。アッセイバッファーで³H]-ドーパミン (GE Healthcare) を 200 nM となるように希釈し、またコールドの

ドーパミンを 10 μM となるように希釈した。それを細胞プレートに 10 μL ずつ分注した。 $[^3\text{H}]$ -ドーパミンを添加してから 60 分経過したところで、アッセイバッファーを吸引除去し、PBS (Invitrogen) で 1 穴あたり 150 μL 、2 回洗浄した。Microscinti20 (PerkinElmer) を 1 穴あたり 100 μL ずつ分注し、30 分前後攪拌した。放射活性は TopCount (PerkinElmer) で測定した。

各化合物の 10 μM の阻害活性を、100 μM の Nomifensine (ドーパミントランスポーター阻害剤) の阻害活性を 100% とする相対活性値として算出した。IC₅₀ 値と 95% 信頼区間は、XLfit (n=2) によって計算した。

CYP2D6 阻害試験

対象化合物の CYP2D6 阻害活性は、10 $\mu\text{mol/L}$ のブフラロール、2 nmol/L の CYP2D6 発現昆虫細胞 (BD Biosciences) 由来の CYP2D6 および 10 $\mu\text{mol/L}$ の対照化合物をインキュベートすることにより実施した。インキュベート混合物は 37°C で 20 分間放置した。生成した 1'-ヒドロキシブフラロールを LC/MS/MS を用いて定量した。

マウス尾懸垂試験による抗うつ作用の検証

試験化合物の抗うつ作用の検証のため、急性抗うつ作用を感度よく検出する評価系として汎用されるマウス尾懸垂試験における各化合物の不動時間短縮作用を測定した。試験は以下の要領で実施した。7 週齢の ICR 系雄性マウス (クレア・ジャパン) を温度および湿度をコントロールした環境で 12 時間の昼夜サイクル (午前 7 時にライト点灯) にて飼育した。餌および水は自由に摂れるようにした。試験はコンピューターおよび計測解析用ソフト TS-2 (ニューロサイエンスイデア) で制御された尾懸垂試験装置 (BrainScieceIdea) を用いて実施した。各群 11 匹のマウスを装置内のロードセルに尾で 10 分間懸垂し、マウスの動/不動状態を解析用ソフトに自動判定させ、平均不動率 (%) を算出した。薬物は蒸留水 (大塚) に溶解した。Vehicle 群および薬物投与群いずれも 10 mL/kg の量を試験開始の 60 分前に経口投与した。

マウス前脳および線条体を用いた SERT / NET / DAT ex vivo バインディングアッセイ

動物は雄性 ICR マウスを用い、化合物を経口投与した。投与 1 時間後、マウスを犠牲とし、前脳と線条体を摘出した。SERT, NET および DAT に対する ex vivo バインディングアッセイは、組織をホモゲネートした後、それぞれ $[^3\text{H}]$ -citalopram (25 nM)、 $[^3\text{H}]$ -nisoxetine (25 nM) or $[^3\text{H}]$ -WIN35428 (50 nM) とインキュベートすることにより実施した。100 μM のフルオキセチン、100 μM のデシプラミンおよび 1 mM のノミフェンシンを含むサンプルをインキュベートし、それぞれ SERT, NET および DAT に対する非特異的結合を見積もった。占有率は、特異的結合の % 阻害率を計算して評価した。

マウス前脳における細胞外モノアミンレベルの評価

6週齢のICR系雄性マウス(クレア・ジャパン)を温度および湿度をコントロールした環境で12時間の昼夜サイクル(午前7時にライト点灯)にて飼育した。餌および水は自由に摂れるようにした。マウスをペントバルビタールナトリウムで麻酔後、PaxinosおよびFranklin Atlasの方法(2001)により、プローブを前脳中位に定置移植した(+1.8 mm anteroposterior, -0.6 mm mediolateral from the bregma, and -1.0 mm dorsoventral from the skull)。ガイドカヌーレ(AG-4, Eicom)の固定には、アンカースクリューとアクリル系接着剤を用いた。マウスは手術後1日間、回復のため単独飼育した。実験当日、マイクロダイアリシスプローブ(0.5mm diameter, 4 mm length; A-I-4-02, Eicom)をガイドカヌーレに挿入した。プローブはチャンネルスイベルを通してマイクロインジェクションポンプと接続した。プローブを脳に挿入する前に濾過リンゲル液(147mM Na⁺, 4mM K⁺, 2.3mM, Ca²⁺, 155.6mM Cl)を短時間マイクロダイアリシスプローブに灌流し、2μl/minの速度で実験を維持した。120分以上の安定化時間の後、ダイアリシスを開始し、20分毎にサンプルを採取した。セロトニン、ノルエピネフリンおよびドーパミンの定量はHPLC(HTEC-500, Eicom)で実施した。セロトニンとドーパミンの定量に用いたカラムはEicompak PP-ODS (Eicom)で、移動相には500 mg/L 1-デカンスルホン酸ナトリウム、50 mg/L EDTA-2 ナトリウムおよび1%メタノールを含む0.1 M リン酸バッファー (pH 6.0) を用いた。セロトニン、ノルエピネフリンおよびドーパミンの基底レベルは安定時サンプルの3つの平均を用いた。対象薬物は水に溶解し、10 mL/kgの容量を基底レベルの安定化後に投与した。薬物投与後のダイアリシスは、120分間行った。

第4章に関する実験

2-シアノ-3-フェニルブタ-2-エン酸エチル (62a). 本化合物は、文献³⁸既知の方法に準じて合成した。

2-シアノ-3-フェニルペンタ-2-エン酸エチル (62b). 化合物 **61b** (33.6 g, 250 mmol)、シアノ酢酸エチル (28.3 g, 250 mmol)、酢酸アンモニウム (3.85 g, 50 mmol)、酢酸 (12 g)およびベンゼン (50 mL) の混合物をDean-Stark水分離器で水を除きながら10時間加熱還流した。溶媒を留去後、残渣にジエチルエーテル (100 mL) を加え、水、0.5 規定塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水および飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣を減圧蒸留 (3 mmHg, 160°C) することにより、表題化合物を淡黄色油状物 (37.0 g, 65%)として得た。:¹H NMR 1.00–1.15 (3H+3H×1/2, m), 1.38 (3H×1/2, t, J=7.2), 2.87 (2H×1/2, q, J=7.6), 3.11 (2H×1/2, q, J=7.4), 4.08 (2H×1/2, q, J=7.4), 4.35 (2H×1/2, q, J=7.2), 7.05–7.20 (1H, m), 7.30–7.55 (4H, m).

2-シアノ-5-(ジメチルアミノ)-3-フェニルペンタ-2,4-ジエン酸エチル (63a). 本化合物は、文献³⁸ 既知の方法に準じて合成した。

2-シアノ-5-(ジメチルアミノ)-4-メチル-3-フェニルペンタ-2,4-ジエン酸エチル (63b). 化合物 **62a** (13.4 g, 58.4 mmol)に *N,N*-ジメチルホルムアミド ジメチルアセタール (9.40 mL, 70.2 mmol) を 0°C にて滴下した。室温で 2 時間攪拌後、減圧下濃縮することにより表題化合物 (16.0 g, 96%) を赤色油状物として得た。このものはさらなる精製を行うことなく、次の反応に用いた。

2-シアノ-5-(ジメチルアミノ)-3-フェニルヘキサ-2,4-ジエン酸エチル (63c). 化合物 **62a** (13.4 g, 58.4 mmol)に *N,N*-ジメチルアセトアミド ジメチルアセタール(5–10% メタノール含有品、9.40 mL, 70.2 mmol) を 0°C にて滴下した。室温で 2 時間攪拌後、減圧下濃縮し、析出した結晶をジエチルエーテル-酢酸エチル (1:1)混合溶媒で洗浄することにより、表題化合物を黄色結晶(23.3 g, 63%) として得た。: ¹H NMR 1.12 (3H×1/5, t, *J*=7.0), 1.33 (3H×4/5, t, *J*=7.0), 1.39 (3H×4/5, s), 1.51 (3H×1/5, s), 3.12 (6H×1/5, s), 3.15 (6H×4/5, s), 4.00 (2H×1/5, q, *J*=7.0), 4.25 (2H×4/5, q, *J*=7.0), 5.78 (1H×1/5, s), 7.12 (1H×4/5, s), 7.15–7.48 (5H, m).

2-クロロ-4-フェニルニコチン酸エチル (64a). 本化合物は、文献³⁸ 既知の方法に準じて合成した。

2-クロロ-5-メチル-4-フェニルニコチン酸エチル (64b). 化合物 **63b** (17.9g, 62.9mmol) に 4 規定塩化水素 酢酸エチル溶液 (150mL) を加え、室温で 30 時間攪拌した。溶媒を留去後、残渣に酢酸エチルを加え、水、1 規定塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水および飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 1:4 EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (8.23 g, 47%) として得た。酢酸エチル-ヘキサンから結晶化することにより、無色結晶として得た。: mp 89–90°C; ¹H NMR 0.98 (3H, t, *J*=7.2), 2.11 (3H, s), 4.06 (2H, q, *J*=7.2), 7.15–7.30 (2H, m), 7.37–7.50 (3H, m), 8.33 (1H, s).

2-クロロ-6-メチル-4-フェニルニコチン酸エチル (64c). 化合物 **63c** (6.61 g, 81.9 mmol) から化合物 **64b** と同様の方法により、表題化合物を淡黄色油状物 (15.4 g, 68%) として得た。¹H NMR 1.08 (3H, t, *J*=7.0), 2.60 (3H, s), 4.18 (2H, q, *J*=7.0), 7.13 (1H, s), 7.30–7.50 (5H, m).

2-クロロ-4-フェニルニコチン酸 (65a). 本化合物は、文献³⁸ 既知の方法に準じて合成した。

2-クロロ-5-メチル-4-フェニルニコチン酸 (65b). 化合物 **64b** (8.20 g, 29.7 mmol)、エタノー

ル (10 mL) および 4 規定水酸化ナトリウム水 (10 mL) の混合物を 4 時間加熱還流した。減圧下濃縮後、残渣に濃塩酸を加えて酸性にし、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去することにより、表題化合物を無色結晶 (5.97 g, 81%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し無色結晶を得た。: mp 204–206°C; ¹H NMR 2.18 (3H, s), 7.15–7.30 (2H, m), 7.37–7.60 (3H, m), 8.33 (1H, s). *Anal.* Calcd for C₁₃H₁₀ClNO₂: C, 63.04; H, 4.07; N 5.66. Found: C, 63.02; H, 4.09; N, 5.69.

2-クロロ-6-メチル-4-フェニルニコチン酸 (65c). 化合物 **64c** (6.60 g, 25.2 mmol) から化合物 **65b** と同様の方法により、表題化合物を無色結晶 (4.70 g, 80%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し無色結晶を得た。: mp 191–194°C; ¹H NMR 2.59 (3H, s), 7.16 (1H, s), 7.45 (5H, s), 9.53 (1H, b). *Anal.* Calcd for C₁₃H₁₀ClNO₂: C, 63.04; H, 4.07; N 5.66. Found: C, 63.06; H, 4.06; N, 5.65.

メタンスルホン酸 3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル (67). 3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル アルコール **66** (5.00 g, 20.5 mmol) およびトリエチルアミン (3.14 mL, 22.5 mmol) の THF (50 mL) 溶液に 0°C にてメタンスルホンクロリド (1.74 mL, 22.5 mmol) を滴下し、室温で 30 分攪拌した。反応混合物を減圧下濃縮後、残渣に水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去することにより、表題化合物を無色結晶 (6.28 g, 95%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し無色結晶を得た。: mp 61–62°C; ¹H NMR 3.09 (3H, s), 5.33 (2H, s), 7.87 (2H, s), 7.91 (1H, s). *Anal.* Calcd for C₁₀H₈F₆O₃S: C, 37.27; H, 2.50. Found: C, 37.25; H, 2.72.

2-[[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ]アルカノール (69i–iv). 代表例として 2-[[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ]エタノール **69i** について記載する。: 化合物 **67** (1.89 g, 5.86 mmol) の THF (10 mL) 溶液を 2-アミノエタノール **68i** (3.6 mL, 59.6 mmol) の THF (30 mL) 溶液に 0°C にて滴下し、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を減圧下濃縮後、残渣に水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去することにより、表題化合物を無色結晶 (1.38 g, 82%) として得た。酢酸エチル-ジエチルエーテルから再結晶し無色結晶を得た。: mp 107–108°C; ¹H NMR 1.38 (2H, s), 2.83 (2H, t, *J*=5.4), 3.72 (2H, t, *J*=5.4), 3.96 (2H, s), 7.78 (1H, s), 7.82 (2H, s). *Anal.* Calcd for C₁₁H₁₁F₆NO: C, 46.00; H, 3.86; N 4.88. Found: C, 46.01; H, 3.86; N, 4.89.

同様にして、化合物 **67** とアミノアルコール **68ii–iv** から以下の化合物 **69ii–iv** を合成した。

3-{[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ}プロパン-1-オール (69ii). 化合物 **67** (6.65 g, 20.6 mmol) と 3-アミノプロパノール **68ii** (15.7 mL, 205 mmol) より無色結晶 (4.10 g, 66%) として得た。ジエチルエーテル-ヘキサンから再結晶し無色結晶を得た。: mp 57–58°C; ¹H NMR 1.77 (2H, quintet, *J*=5.8), 2.20–2.80 (2H, b), 2.89 (2H, t, *J*=5.8), 3.82 (2H, t, *J*=5.8), 3.93 (2H, s), 7.89 (3H, s). *Anal.* Calcd for C₁₂H₁₃F₆NO: C, 47.85; H, 4.35; N 4.65. Found: C, 47.76; H, 4.32; N, 4.65.

(2S)-3-{[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ}-2-メチルプロパン-1-オール (69iii). 化合物 **67** (1.20 g, 3.72 mmol) および (2S)-3-アミノ-2-メチルプロパン-1-オール **68iii**³⁹ (500 mg, 5.61 mmol) から無色油状物 (635 mg, 56%) として得た。¹H NMR 0.86 (3H, d, *J*=6.8), 1.98 (1H, m), 2.63 (1H, dd, *J*=11.8, 9.4), 2.70–2.90 (2H, b), 2.86 (1H, ddd, *J*=11.8, 4.0, 1.4), 3.56 (1H, dd, *J*=10.6, 9.4), 3.71 (1H, ddd, *J*=10.6, 4.0, 1.4), 3.87 (1H, d, *J*=13.8), 3.98 (1H, d, *J*=13.8), 7.79 (3H, s).

(2R)-3-{[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ}-2-メチルプロパン-1-オール (69iv). 化合物 **67** (2.40 g, 7.45 mmol) および (2R)-3-アミノ-2-メチルプロパン-1-オール **68iv**³⁹ (1.00 g, 11.2 mmol) より無色油状物 (1.10 g, 47%) として得た。¹H NMR スペクトルは、化合物 **69iii** と同等。

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-N-(2-ヒドロキシアルキル)-4-フェニルニコチンアミド (70, 71, 72S and 72R). 代表例として *N*-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-(2-ヒドロキシエチル)-4-フェニルニコチンアミド **70a** について記載する。: 化合物 **65a** (318 mg, 1.36 mmol) および DMF (触媒量) の THF (10 mL) 溶液に塩化チオニル (0.70 mL, 9.6 mmol) を加え、4 時間加熱還流した。減圧下濃縮後、残渣に THF (5 mL) を加えた。得られた溶液を化合物 **69i** (391 mg, 1.36 mmol)、トリエチルアミン (0.57 mL, 4.1 mmol) の THF (5 mL) 溶液に 0°C にて滴下した。室温で 2 時間攪拌後、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (silica gel, eluted with 1:1 EtOAc in hexane) で精製することにより、表題化合物を無色油状物 (551 mg, 81%, *cis-trans* アミド回転異性体比: 約 2:1) として得た。: ¹H NMR 2.00–2.40 (1H, b), 2.82–3.92 (4H, m), 4.16 (1H×1/3, d, *J*=16.0), 4.41 (1H×1/3, d, *J*=16.0), 4.73 (1H×2/3, d, *J*=15.0), 4.87 (1H×2/3, d, *J*=15.0), 7.20–8.85 (9H, m), 8.43 (1H, m).

同様にして、対応する 3-ピリジンカルボン酸 **65a–c** と 2-{[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]アミノ}アルカノール **69i–iv** から以下の化合物 **70b,c, 71a–c, 72Sa,b** お

よび **72Ra,b** を合成した。

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-(2-ヒドロキシエチル)-5-メチル-4-フェニルニコチンアミド (**70b**). 化合物 **65b** (300 mg, 1.21 mmol) および **69i** (430 mg, 1.33 mmol) より無色結晶 (435 mg, 70%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 146–148°C; ¹H NMR 1.60–1.70 (1H, b), 2.09 (3H, s), 3.02 (1H, dt, *J*=15.0, 5.6), 3.25 (1H, dt, *J*=15.0, 5.6), 3.60 (2H, m), 4.57 (1H, d, *J*=15.2), 4.79 (1H, d, *J*=15.2), 7.05–7.50 (5H, m), 7.62 (2H, s), 7.76 (1H, s), 8.33 (1H, s). *Anal.* Calcd for C₂₄H₁₉ClF₆N₂O₂: C, 55.77; H, 3.71; N 5.42. Found: C, 55.79; H, 3.73; N, 5.41.

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-(2-ヒドロキシエチル)-6-メチル-4-フェニルニコチンアミド (**70c**). 化合物 **65c** (2.00 g, 8.07 mmol) および **69i** (2.86 g, 8.88 mmol) から無色結晶 (4.07 g, 98%) として得た。cis-trans アミド回転異性体比は約 3:2 であった。; ¹H NMR 1.95–3.80 (5H, m), 2.58 (3H, s), 4.15 (1H×2/5, d, *J*=16.2), 4.41 (1H×2/5, d, *J*=16.2), 4.75 (1H×3/5, d, *J*=15.0), 4.85 (1H×3/5, d, *J*=15.0), 7.15 (1H×3/5, s), 7.17 (1H×2/5, d, *J*=15.0), 7.23–7.58 (5H, m), 7.74 (2H, s), 7.78 (1H, s).

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-(3-ヒドロキシプロピル)-4-フェニルニコチンアミド (**71a**). 化合物 **65a** (830 mg, 3.55 mmol) および **69ii** (1.07 g, 3.55 mmol) から無色結晶 (1.55 g, 84%, cis-trans アミド回転異性体比: 約 3:1) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 121–122°C; ¹H NMR 1.00–1.70 (2H, m), 2.75–3.20 (2H, m), 3.35–3.55 (3H, m), 4.06 (1H×1/4, d, *J*=16.2), 4.31 (1H×1/4, d, *J*=16.2), 4.65 (1H×3/4, d, *J*=15.2), 4.76 (1H×3/4, d, *J*=15.2), 7.20–7.55 (6H, m), 7.72 (2H, s), 7.80 (1H, s), 8.47 (1H, d, *J*=5.2). *Anal.* Calcd for C₂₄H₁₉ClF₆N₂O₂: C, 55.77; H, 3.71; N, 5.42. Found: C, 55.65; H, 3.70; N, 5.57.

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-(3-ヒドロキシプロピル)-5-メチル-4-フェニルニコチンアミド (**71b**). 化合物 **65b** (300 mg, 1.21 mmol) および **69ii** (400 mg, 1.33 mmol) より無色油状物 (626 mg, 97%, cis-trans アミド回転異性体比: 約 1:1) として得た。: ¹H NMR 1.10–1.80 (2H, m), 1.85–2.00 (1H, b), 2.06 (3H×1/2, s), 2.08 (3H×1/2, s), 2.80–3.30 (3H, m), 3.35–3.70 (1H, m), 4.08 (1H×1/2, d, *J*=16.4), 4.39 (1H×1/2, d, *J*=15.0), 4.47 (1H×1/2, d, *J*=16.4), 4.70 (1H×1/2, d, *J*=15.0), 6.90–7.62 (7H, m), 7.72 (1H×1/2, s), 7.77 (1H×1/2, s), 8.28 (1H×1/2, s), 8.31 (1H×1/2, s).

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-(3-ヒドロキシプロピル)-6-メチル-4-フェニルニコチンアミド (**71c**). 化合物 **65c** (938 mg, 4.02 mmol) および **69ii** (1.33 g, 4.42

mmol)より無色油状物 (1.95 g, 96%, *cis-trans* アミド回転異性体比: 約 3:2) として得た。: $^1\text{H NMR}$ 1.15–1.65 (2H, m), 2.59 (3H, s), 2.75–3.20 (2H, m), 3.25–3.55 (3H, m), 4.06 (1H \times 2/5, d, $J=15.4$), 4.31 (1H \times 2/5, d, $J=15.4$), 4.65 (1H \times 3/5, d, $J=15.2$), 4.74 (1H \times 3/5, d, $J=15.2$), 7.16 (1H, s), 7.20–7.60 (5H, m), 7.72 (2H, s), 7.78 (1H, s).

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-[(2*S*)-3-ヒドロキシ-2-メチルプロピル]-4-フェニルニコチンアミド (**72Sa**). 化合物 **65a** (850 mg, 3.64mmol) および **69iii** (1.37 g, 4.35 mmol)より無色油状物 (1.40 g, 74%, *cis-trans* アミド回転異性体比: 約 1:1) として得た。: $^1\text{H NMR}$ 0.53 (3H \times 1/4, d, $J=7.0$), 0.63 (3H \times 1/4, d, $J=7.0$), 0.75 (3H \times 1/4, d, $J=6.8$), 0.81 (3H \times 1/4, d, $J=6.8$), 1.50–1.90 (1H, m), 2.42–3.80 (5H, m), 4.00–4.95 (2H, m), 7.10–7.90 (9H, m), 8.42 (1H, m).

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-[(2*S*)-3-ヒドロキシ-2-メチルプロピル]-5-メチル-4-フェニルニコチンアミド (**72Sb**). 化合物 **65b** (513 mg, 2.07 mmol) および **69iii** (653 mg, 2.07 mmol) より無色油状物 (1.06 g, 94%) として得た。: $^1\text{H NMR}$ 0.60–0.82 (3H, m), 1.50–2.00 (2H, m), 2.00–2.15 (3H, m), 2.15–3.92 (4H, m), 4.05–4.92 (2H, m), 7.00–7.85 (8H, m), 8.34 (1H, m).

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-[(2*R*)-3-ヒドロキシ-2-メチルプロピル]-4-フェニルニコチンアミド (**72Ra**). 化合物 **65a** (1.14 g, 4.88 mmol) および **69iv** (1.84 g, 5.83 mmol) より無色油状物 (2.14 g, 85%, *cis-trans* アミド回転異性体比: 約 1:1) として得た。: $^1\text{H NMR}$ スペクトルは、化合物 **72Sa** と同等。

N-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-クロロ-*N*-[(2*R*)-3-ヒドロキシ-2-メチルプロピル]-5-メチル-4-フェニルニコチンアミド (**72Rb**). 化合物 **65b** (824 mg, 3.49 mmol) および **69iv** (1.10 g, 3.49 mmol) より無色油状物 (1.73 g, 100%.) として得た。: $^1\text{H NMR}$ スペクトルは、化合物 **72Sb** と同等。

4-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-6-フェニル-3,4-ジヒドロピリド[3,2-*f*][1,4]オキサゼピン-5(2*H*)-オン (**58a–c**) および 5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6*H*-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン (**59a–c**). 代表例として、4-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-6-フェニル-3,4-ジヒドロピリド[3,2-*f*][1,4]オキサゼピン-5(2*H*)-オン **58a** について記載する。:化合物 **70a** (348 mg, 0.69 mmol)の THF (15 mL) 溶液に水素化ナトリウム (60% in oil) (60 mg, 1.5 mmol)を加え、2 時間加熱還流した。冷却後、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去することにより、表題化合物を無色結晶 (278 mg, 86%) として得た。

エタノール-ヘキサンから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 200–201°C; ¹H NMR 3.70 (2H, t, *J*=5.8), 4.47 (2H, t, *J*=5.8), 4.88 (2H, s), 7.24 (1H, d, *J*=5.2), 7.25–7.55 (5H, m), 7.80 (2H, s), 7.86 (1H, s), 8.44 (1H, d, *J*=5.2). MS (electron impact) *m/z* 466 (*M*⁺) [(C₂₃H₁₆F₆N₂O₂)⁺].

同様にして、**70b**, **70c** および **71a–c** から以下の化合物 **758b**, **4c** および **59a–c** を合成した。

4-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-7-メチル-6-フェニル-3,4-ジヒドロピリド[3,2-*f*][1,4]オキサゼピン-5(2*H*)-オン (58b). 化合物 **70b** (100 mg, 0.19 mmol) より無色結晶 (74 mg, 80%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 179–181°C; ¹H NMR 2.13 (3H, s), 3.57 (2H, t, *J*=5.8), 4.42 (2H, t, *J*=5.8), 4.80 (2H, s), 7.16 (2H, m), 7.47 (3H, m), 7.65 (2H, s), 7.81 (1H, s), 8.32 (1H, s).

4-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-8-メチル-6-フェニル-3,4-ジヒドロピリド[3,2-*f*][1,4]オキサゼピン-5(2*H*)-オン (58c). 化合物 **70c** (2.16 g, 4.18 mmol) より無色結晶 (1.66 g, 83%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 151–153°C; ¹H NMR 2.58 (3H, s), 3.69 (2H, t, *J*=5.4), 4.47 (2H, t, *J*=5.4), 4.87 (2H, s), 7.11 (1H, s), 7.17–7.56 (5H, m), 7.80 (2H, s), 7.86 (1H, s). *Anal.* Calcd for C₂₄H₁₈F₆N₂O₂ · 1/4H₂O: C, 59.44; H, 3.85; N, 5.78. Found: C, 59.42; H, 3.82; N, 5.84.

5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6*H*-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン (59a). 化合物 **71a** (1.00 g, 1.93 mmol) より無色結晶 (763 mg, 82%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 188–189°C; ¹H NMR 1.65–1.88 (1H, m), 2.18–2.45 (1H, m), 3.36 (1H, dd, *J*=15.2, 3.8), 3.73 (1H, m), 4.17 (1H, d, *J*=15.2), 4.32 (1H, dt, *J*=12.6, 3.6), 4.67 (1H, ddd, *J*=12.6, 5.6, 3.6), 5.50 (1H, d, *J*=15.2), 7.16 (1H, d, *J*=5.2), 7.20–7.45 (5H, m), 7.71 (2H, s), 7.83 (1H, s), 8.41 (1H, d, *J*=5.2). *Anal.* Calcd for C₂₄H₁₈F₆N₂O₂: C, 60.00; H, 3.78; N, 5.83. Found: C, 59.92; H 3.76, N 5.89.

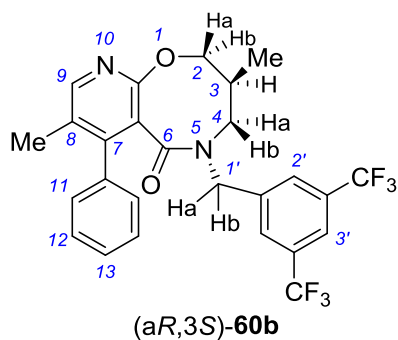
5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-8-メチル-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6*H*-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン (59b). 化合物 **71b** (550 mg, 1.03 mmol) より無色結晶 (324 mg, 64%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 180–182°C; ¹H NMR 1.71 (1H, m), 2.07 (3H, m), 2.28 (1H, m), 3.24 (1H, dd, *J*=15.2, 3.8), 3.64 (1H, dd, *J*=15.2, 12.0), 4.05 (1H, d, *J*=15.6), 4.27 (1H, dt, *J*=12.6, 3.8), 4.63 (1H, ddd, *J*=12.6, 5.4, 2.0), 5.45 (1H, d, *J*=15.6), 6.6–7.4 (2H, b), 7.37 (3H, bs), 7.54 (2H, s), 7.78 (1H, s), 8.29 (1H, s). *Anal.* Calcd for C₂₅H₂₀F₆N₂O₂: C, 60.73; H, 4.08; N, 5.67. Found: C, 60.69; H,

4.05; N, 5.63.

5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-9-メチル-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6H-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン (59c). 化合物 **71c** (1.95 g, 3.67 mmol) より無色結晶 (1.40 g, 77%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 164–165°C; ¹H NMR 1.79 (1H, m), 2.30 (1H, m), 2.56 (3H, s), 3.35 (1H, m), 3.77 (1H, m), 4.14 (1H, d, *J*=15.2), 4.31 (1H, m), 4.65 (1H, m), 5.49 (1H, d, *J*=15.2), 7.02 (1H, s), 7.20–7.50 (5H, m), 7.72 (2H, s), 7.83 (1H, s). *Anal.* Calcd for C₂₅H₂₀F₆N₂O₂: C, 60.73; H, 4.08; N, 5.67. Found: C, 60.43; H, 4.04; N, 5.74.

(3S)-5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-3,8-ジメチル-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6H-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン [(3S)-60b]. 化合物 **72Sb** (417 mg, 0.76 mmol) の THF (40 mL) 溶液に水素化ナトリウム (60% in oil) (61 mg, 1.53 mmol) を加え、2時間加熱還流した。冷却後、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去することにより、表題化合物を無色結晶 (251 mg, 65%) として得た。酢酸エチル-ヘキサンから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 147–148°C; [α]_D²⁰ -106.8° (*c*=0.257, CHCl₃). *Anal.* Calcd for C₂₆H₂₂F₆N₂O₂: C, 61.49; H, 4.36; N, 5.51. Found: C, 61.30; H, 4.52; N, 5.70. ¹H NMR スペクトル (CDCl₃; Varian Mercury 300 (300 MHz)) において、CH₃-3 and CH₃-8 それぞれが積分比約 98:2 の比率で2つのピークとして観測された。(a*R*,3*S*)-**60b** 体として同定されたメジャーな方の異性体の ¹H NMR は以下の通りであり、これは TAK-637:^{34,35} のケースと良い類似性を示した。0.83 (3H, d, *J*=6.6, CH₃-3), 2.07 (3H, s, CH₃-8), 2.40 (1H, m, H-3), 2.97 (1H, d, *J*=15.5, H-4a), 3.48 (1H, dd, *J*=15.5, 10.5, H-4b), 3.87 (1H, dd, *J*=12.6, 10.5, H-2a), 4.06 (1H, d, *J*=15.3, -CHaHb-Ar), 4.59 (1H, dd, *J*=12.6, 5.1, H-2b), 5.44 (1H, d, *J*=15.3, -CHaHb-Ar), 6.6–7.4 (2H, b, Ar), 7.37 (3H, bs, Ar), 7.53 (2H, s, Ar), 7.78 (1H, s, Ar), 8.29 (1H, s, H-9); NOE (CDCl₃; Bruker DPX 300 (300 MHz)) は、ベンジル位メチレン-Ha および H-3、CH₃-3 および H-2a、CH₃-3 および H-4b、H-4a および b ベンジル位メチレン Ha の間でそれぞれ観測された(Figure 19)。また、ロングレンジカップリングが H-4b とベンジル位メチレン-Hb (*J*=1.4 Hz)、および H-2b と H-4a (*J*=1.0 Hz) にそれぞれ観測された。(a*S*,3*S*)-**60b** 体として同定されたマイナーな方の異性体の ¹H NMR は以下の通りであり、これは TAK-637:^{34,35} のケースと良い類似性を示した。1.31 (3H, d, *J*=7.3, CH₃-3), 1.98 (3H, s, CH₃-8), 3.35 (1H, dd, *J*=15.0, 4.5, H-4a), 3.65 (1H, dd, *J*=15.0, 6.0, H-4b), 4.23 (1H, dd, *J*=13.5, 4.5, H-2b), 4.35 (1H, dd, *J*=13.5, 4.5, H-2a), 8.23 (1H, s, H-9). マイナー異性体のその他のピークは、メジャー異性体との重なりによってアサインできなかった。化合物 (3*S*)-**60b** の NOESY スペクトルにおいて、CH₃-3、CH₃-8、H-4b、H-2a および H-2b にピーク間相互交換が観測された。

当社機器分析 G で測定された (a*R*,3*S*)-**60b** の NMR データは、以下の通りである。

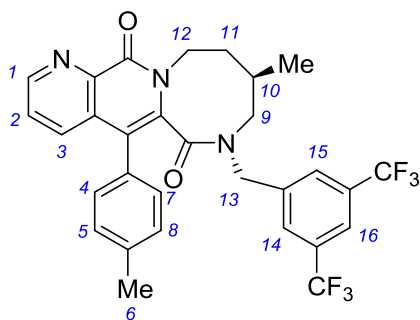


Atom	δ (ppm)		Multiplicity
2a	3.867	1H	dd, $J_{2b} = 12.6$, $J_3 = 10.3$ Hz
2b	4.580	1H	ddd, $J_{2a} = 12.6$, $J_3 = 5.2$, $J_{4a} = 1.0$ Hz
3	2.389	1H	m, $J_{4b} = 10.6$, $J_{2a} = 10.3$, $J_{3-Me} = 7.0$, $J_{2b} = 5.2$, $J_{4a} = 1.6$ Hz
3-Me	0.830	3H	d, $J_3 = 7.0$ Hz
4a	2.974	1H	ddd, $J_{4b} = 15.3$, $J_3 = 1.6$, $J_{2b} = 1.0$ Hz
4b	3.478	1H	ddd, $J_{4a} = 15.3$, $J_3 = 10.6$, $J_{1'b} = 1.4$ Hz
8-Me	2.069	3H	d, $J_9 = 0.6$ Hz
9	8.286	1H	q, $J_{8-Me} = 0.6$ Hz
11, 12, 13	ca. 6.9, 7.4	5H	m
1'a	4.065	1H	d, $J_{1'b} = 15.5$ Hz
1'b	5.421	1H	d like, $J_{1'a} = 15.5$, $J_{4b} = 1.4$ Hz
2'	7.527	2H	s like
3'	7.776	1H	s like

NOE 相関

	2a	2b	3	3-Me	4a	4b	8-Me	9	1'a	1'b	2'	3'	11	12	13
2a		⊙				○									
2b	⊙		⊙	○											
3		○		⊙	⊙	△			⊙						
3-Me	⊙	○	⊙		⊙	△									
4a			○	⊙		⊙			○	△					
4b	○			△	⊙										
8-Me								⊙							
9							⊙						○		
1'a			⊙		○					⊙	⊙				
1'b					△				⊙		⊙				
2'							○		○	○					
3'															
11															
12															
13															

当社機器分析 G で測定された (aR,9R)-57 (TAK-637) の NMR データは、以下の通りである。



(aR,9R)-57 (TAK-637)

Atom	δ (ppm)		Multiplicity
1	8.905	1H	dd, $J = 4.4, 1.7$ Hz
2	7.468	1H	dd, $J = 8.3, 4.2$ Hz
3	7.551	1H	dd, $J = 8.3, 1.7$ Hz
4	7.335	1H	dd, $J = 7.8, 2.0$ Hz
5	ca. 7.26	1H	dd
6-Me	2.372	3H	s
7	7.043	1H	d, $J = 7.7$ Hz
8	6.832	1H	dd, $J = 7.8, 2.2$ Hz
9a	2.975	1H	d, $J = 15.1$ Hz
9b	ca. 3.46	1H	dd
10	2.095	1H	septet
10-Me	0.909	3H	d, $J = 7.1$ Hz
11a	1.697	1H	dt, $J = 14.4, 11.5$ Hz
11b	2.285	1H	dt
12a	3.526	1H	dd, $J = 14.5, 11.5$ Hz
12b	5.096	1H	ddd
13a	3.999	1H	d, $J = 15.0$ Hz
13b	5.464	1H	d, $J = 15.0$ Hz
14, 15	7.473	2H	bs
16	7.814	1H	bs

(3S)-5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-3-メチル-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6H-ピリド[2,3-b][1,5]オキサゾシン-6-オン [(3S)-60a]. 化合物 72Sa (1.40 g, 2.63 mmol) から化合物 (3S)-60b と同様の方法により、(3S)-60a を無色結晶 (1.06 g, 82%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 142–143°C; $[\alpha]_D^{20} -75.1^\circ$ ($c=0.381$, CHCl_3). Anal. Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_2$: C, 60.73; H, 4.08; N, 5.77. Found: C, 60.60; H, 4.00; N, 5.77; ^1H NMR (taken on Varian Mercury 300) [(aR,3S):(aS,3S) = ca. 98:2];

for (*aR,3S*), 0.87 (3H, d, $J=6.9$), 2.45 (1H, m), 3.10 (1H, d, $J=15.3$), 3.58 (1H, dd, $J=15.3, 10.5$), 3.91 (1H, dd, $J=12.7, 10.5$), 4.19 (1H, d, $J=15.6$), 4.63 (1H, dd, $J=12.7, 5.1$), 5.49 (1H, d, $J=15.6$), 7.17 (1H, d, $J=5.0$), 7.20–7.50 (5H, m), 7.71 (2H, s), 7.83 (1H, s), 8.42 (1H, d, $J=5.0$), and for (*aS,3S*), following peaks were assigned; 1.36 (3H, d, $J=7.8$, CH₃-3), 3.64 (1H, dd, $J=15.0, 6.6$, H-4b), 4.34 (1H, dd, $J=13.5, 4.5$, H-2a), 7.06 (1H, d, $J=5.0$, H-8), 8.36 (1H, d, $J=5.0$, H-9).

(3R)-5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-3-メチル-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6H-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン [(3R)-60a]. 化合物 **72Ra** (2.14 g, 4.14 mmol) から化合物 (*3S*)-**60b** と同様の方法により、(*3R*)-**60a** を無色結晶 (1.52 g, 74%) として得た。酢酸エチル-ジイソプロピルエーテルから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 142–143°C; ¹H NMR は (*3S*)-**60a** と同等。[α]_D²⁰ +75.2° ($c=0.724$, CHCl₃). *Anal.* Calcd for C₂₅H₂₀F₆N₂O₂: C, 60.73; H, 4.08; N, 5.67. Found: C, 60.60; H, 3.86; N, 5.77.

(3R)-5-[3,5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジル]-3,8-ジメチル-7-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-6H-ピリド[2,3-*b*][1,5]オキサゾシン-6-オン [(3R)-60b]. 化合物 **72Rb** (843 mg, 1.55 mmol) から (*3S*)-**60b** と同様の方法により (*3R*)-**60b** を無色結晶 (533 mg, 68%) として得た。酢酸エチル-ヘキサンから再結晶し、無色結晶を得た。: mp 147–149°C; ¹H NMR は (*3S*)-**60b** と同等。[α]_D²⁰ +102.5° ($c=0.573$, CHCl₃). *Anal.* Calcd for C₂₆H₂₂F₆N₂O₂: C, 61.49; H, 4.36; N, 5.51. Found: C, 61.26; H, 4.33; N, 5.69.

ヒト IM-9 細胞における [¹²⁵I]-BH-サブスタンス P バインディングアッセイ

過去に報告済みの方法により実施した。^{34, 41}

引用文献

1. 一般的な参考書: (a) Nestler, E. J.; Hyman, S. E.; Malenka, R. C.: *Molecular Neuropharmacology: A Foundation for Clinical Neuroscience*. New York, McGraw-Hill (2001)., (b) Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M.: *Principles of Neural Science* New York, McGraw-Hill (2000).
2. Filmore, David (2004). "It's a GPCR world". *Modern Drug Discovery* (American Chemical Society) 2004 (November): 24–28.
3. Aapro, M. S.; Schmoll, H. J.; Jahn, F.; Carides, A. D.; Webb, R. T. *Cancer Treatment Reviews*, **2013**, *39*, 113–117.
4. Tadori, Y.; Forbes, R.A.; McQuade, R. D.; Kikuchi, T. *Eur. J. Pharmacol.*, **2008**, *597*, 27-33.
5. Sugimoto, H.; Ogura, H.; Arai, Y.; Iimura, Y.; Yamanishi, Y. *Jpn. J. Pharmacol.* **2002**, *89*, 7-20.
6. Finberg, J. P. M. *Pharmacology & Therapeutics* **2014**, *143*, 133–152.
7. Berry, S. J.; Coffey, D. S.; Walsh, P. C.; Ewing, L. L. *J. Urol.* **1984**, *132*, 474.
8. (a) Dinko, A.C. *Urology*, **1976**, *8*, 455. (b) King, J. A.; Huddart, H.; Staff, W. G. *Gen. Pharmacol.* **1998**, *30*, 131. (c) O'Donnell, P. D.; Hawkins, W. H. *Urology* **1993**, *41*, 452.
9. (a) Schmid, O. *US patent* 2,789,981. (b) Herzfeld, E.; Kraupp, O.; Pateisky, K.; Stumpf, Ch. *Wien. Klin. Wochenschr.* **1957**, *69*, 245. (c) Takagi, K.; Takayanagi, I.; Aoyama, T.; Kudo, T. *Oyo Yakuri* **1970**, *4*, 741. (d) Tanaka, Y.; Masumori, N.; Itoh, N.; Furuya, S, Nishizawa, O.; Tsukamoto, T. *Urology* **2001**, *57*, 270.
10. (a) Shah, P. J.; Abrams, P. H.; Choa, R. G.; Ashken, M. H.; Gaches, C. G.; Green, N. A.; Wiles, A. *Br. J. Urol.* **1983**, *55*, 229. (b) Philip, N. H.; Thomas, D. G. *Br. J. Urol.* **1980**, *52*, 942. (c) Hameed, A.; Charles, T. J. *Br. J. Clin. Pract.* **1994**, *48*, 103.
11. (a) von Heyden, B.; Riemer, R. K.; Nunes, L.; Brock, G. B.; Lue, T. F.; Tanagho, E. A. *Neurourol. Urodyn.* **1995**, *14*, 153. (b) Zwart, R.; Van Kleef, R. G.; Vijverberg, H. P. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1999**, *868*, 636. (c) Sung, J. J.; Kim, S.J.; Lee, H. B.; Chung, J. M.; Choi, Y. M.; Cha, C. I.; Suh, Y. H.; Lee, K. W. *Muscle Nerve* **1998**, *21*, 1135. (d) Pereira, E. F.; Alkoncon, M.; Tano, T.; Castro, N. G.; Froes-Ferrao, M. M.; Rozental, R.; Aronstam, R. S.; Schratzenholz, A.; Maelicke, A. *J. Recept. Res.* **1993**, *13*, 413. (e) Finkbeiner, A. E.; Bissada, N. K.; Welch, L. T. *Urology* **1977**, *10*, 83.
12. (a) Ishihara, Y.; Goto, G.; Miyamoto, M. *Current Med. Chem.* **2000**, *7*, 341. References are cited therein. (b) Ishihara, Y.; Hirai, K.; Miyamoto, M; Goto, G. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2292. (c) Yamamoto, Y.; Ishihara, Y.; Kuntz, I.D. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3141.
13. (a) Ishihara, Y.; Tanaka, T.; Miwatashi, S.; Fujishima, A.; Goto, G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1994**, 2993. (b) Anton, M.; Kurt, S.; Ernst-Otto, R.; Richard, R. DE2016136.

14. (a) Grunewald, G. L.; Dahanukar, V. H. Ching, P.; Criscione, K. R. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3539. (b) Meyers, A. I.; Hutchings, R. H. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1807. (c) Orazi, O.O.; Corral, R. A.; Giaccio, H. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1986**, 1977. (d) Evans, D.; Lockhart, I. M. *J. Chem. Soc.* **1965**, 4806. (e) Ruggli, P.; Bussemaker, B. B.; Müller, W.; Staub, A. *Helv. Chim. Acta.* **1935**, 1388.
15. (a) Kato, T.; Niitsuma, T.; Maeda, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1971**, *19*, 832. (b) Hallas, G.; Taylor, D. C. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1518. (c) Smith, P. A. S.; Yu, T-Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1096. (d) Zhang, S.; Hodgetts, K.; Rachwal, S.; Rosewater, D.; Thurkauf, A. WO2000-077004.
16. Ishihara, Y.; Miyamoto, M.; Nakayama, T.; Goto, G. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 529.
17. Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, R.M. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88.
18. Nagabukuro, H.; Okanishi, S.; Imai, S.; Ishichi, Y.; Ishihara, Y.; Doi, T. *Eur. J. Pharmacol.* **2004**, *485*, 299.
19. World Health Organization (WHO). Fact sheet No. 369: Depression, October, 2012. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/en/index.html>
20. Kulkarni, S. K.; Dhir, A. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2009**, *18* (6), 767–788.
21. (a) Prins, J.; Olivier, B.; Korte, S. M. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2011**, *20* (8), 1107–1130. (b) Golembiowska, K.; Kowalska, M.; Bymaster, F. P. *Synapse* **2012**, *66*, 435–444. (c) Millan, M. J. *Neurotherapeutics* **2009**, *6*, 53–77. (d) Skolnick, P.; Krieter, P.; Tizzano, J.; Basile, A.; Popik, P.; Czobor, P.; Lippa, A. *CNS Drug Rev.* **2006**, *12* (2), 123–134. (e) Skolnick, P.; Popik, P.; Janowsky, A.; Beer B.; Lippa, S. A. *Life Sci.* **2003**, *73*, 3175–3179.
22. 最近の CAD 関連リスクの低減例 (a) Cumming, J. G.; Bower, J. F.; Waterson, D.; Faull, A.; Poyser, P. J.; Turner, P.; McDermott, B.; Campbell, A. D.; Hudson, J.; James, M.; Winter, J.; Wood, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 3895–3899. (b) Sato, I.; Morihira, K.; Inami, H.; Kubota, H.; Morokata, T.; Suzuki, K.; Iura, Y.; Nitta, A.; Imaoka, T.; Takahashi, T.; Takeuchi, M.; Ohta, M.; Tsukamoto, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8607–8618.
23. Krishnamurthy, S.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3064–3066.
24. Bonini, B. F.; Comes-Franchini, M.; Fochi, M.; Mazzanti, G.; Alfredo Ricci, A.; Varchi, G. *Synlett* **1998**, *9*, 1013–1015.
25. (a) Netzer, R.; Ebneith, A.; Bischoff, U.; Pongs, O. *Drug Discov. Today* **2001**, *6*, 78–84. (b) Bridgland-Taylor, M. H.; Hargreaves, A. C.; Easter, A.; Orme, A.; Henthorn, D. C.; M. Ding, M.; Davis, A. M.; Small, B. G.; Heapy, C. G.; Abi-Gerges, N.; Persson, F.; Jacobson, I.; Sullivan, M.; Albertson, N.; Hammond, T. G.; Sullivan, E.; b, J.-P. Valentin, J. -P.; C.E. Pollard, C. E. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **2006**, *54*, 189–199. (c) X. Cao.; T. Lee.; M. Holmqvist.; D. Mikhailov.; Y. Ni.; H. Zhang.; C. Hogan.; M. E. Digan.; L. Urban.; G. Erdemli. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **2011**, *64*, e8.

26. Miyamoto, S.; Matsumoto, A.; Mori, I.; Horinouchi, A. *Toxicol. Mech. Methods* **2009**, *19*(8), 477–485.
27. (a) Skolnik, P.; Popik, P.; Janowsky, A.; Beer, B.; Lippa, A. S. *Eur. J. Pharmacol.* **2003**, *461*, 99–104. (b) Eshleman, A. J.; Carmolli, M.; Cumbay, M.; Martens, C. R.; Neve, K. A.; Janowsky, A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *289*, 877–885.
28. Steru, L.; Chermat, R.; Thierry, B.; Simon, P. *Psychopharmacology* **1985**, *85*, 367–370.
29. Bymaster, F. P.; Zhang, W.; Carter, P. A.; Shaw, J.; Chernet, E.; Phebus, L.; Wong, D. T.; Perry, K. W. *Psychopharmacology* **2002**, *160*, 353–361.
30. Bonaventure, P.; Kelly, L.; Aluisio, L.; Shelton, J.; Lord, B.; Galici, R.; Miller, K.; Atack, J.; Lovenberg, T. W.; Dugovic, C. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *321*, 690–698.
31. Flack, H. D. *Acta Cryst.* **1983**, *A39*, 876–881.
32. Altomare, A.; Cascarano, G.; Giacovazzo, C.; Guagliardi, A.; Burla, M.; Polidori, G.; Camalli, M. *J. Appl. Cryst.* **1994**, *27*, 435–436.
33. Sheldrick, G. M. *Acta Cryst.* **2008**, *A64*, 112–122.
34. Natsugari, H.; Ikeura, Y.; Kiyota, Y.; Ishichi, Y.; Ishimaru, T.; Saga, O.; Shirafuji, H.; Tanaka, T.; Kamo, I.; Doi, T.; Otsuka, M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3106–3120.
35. Ikeura, Y.; Ishichi, Y.; Tanaka, T.; Fujishima, A.; Murabayashi, M.; Kawada, M.; Ishimaru, T.; Kamo, I.; Doi, T.; Natsugari, H. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4232–4239.
36. Ikeura, Y.; Ishimaru, T.; Doi, T.; Kawada, M.; Fujishima, A.; Natsugari, H. *Chem. Commun.* **1998**, 2141–2142.
37. Natsugari, H.; Ikeura, Y.; Kamo, I.; Ishimaru, T.; Ishichi, Y.; Fujishima, A.; Tanaka, T.; Kasahara, F.; Kawada, M.; Doi, T. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3982–3993.
38. (a) Prager, R. H.; Were, S. T. *Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 1441–1445. (b) Miyazaki, M.; Matsuzawa, M. Jpn. Kokai Tokkyo Koho H6-41116 (February 15, 1994).
39. (a) Shimazaki, M.; Nagashima, N.; Suga, K.; Ohashi, T.; Watanabe, K. Jpn. Kokai Tokkyo Koho S57-142960 (September 3, 1982). (b) Shimazaki, M.; Nagashima, N.; Ohashi, T.; Watanabe, K. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP57-165357 (October 12, 1982). (c) Shimazaki, M.; Nagashima, N.; Murakami, H.; Ohashi, T.; Watanabe, K. Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP61-271258 (December 1, 1986).
40. 最近のアトロプ異性における NOESY (EXSY) スペクトルに関しては下記文献参照 : Gibson, K. R.; Hitzel, L.; Mortishire-Smith, R. J.; Gerhard, U.; Jelley, R. A.; Reeve, A. J.; Rowley, M.; Nadin, A.; Owens, A. P. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9354–9360.
41. Cascieri, M. A.; Ber, E.; Fong, T. M.; Sadowski, S.; Basal, A.; Swain, C.; Seward, E.; Frances, B.; Burns, D.; Strader, C. D. *Mol. Pharmacol.* **1992**, *42*, 458–463.