

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	アドレナリンおよびプロスタグランジン受容体選択的リガンドの設計と合成に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	林亮司
Author(English)	Ryoji Hayashi
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:乙第4135号, 授与年月日:2017年1月31日, 学位の種別:論文博士, 審査員:高田 十志和,田中 健,伊藤 繁和,小林 雄一,鈴木 啓介
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:乙第4135号, Conferred date:2017/1/31, Degree Type:Thesis doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

**アドレナリンおよびプロスタグランジン受容体選択的
リガンドの設計と合成に関する研究**

林 亮司

目次

第1章 緒論

1. 新薬の創出	2
2. 薬物受容体	5
3. 受容体リガンド	9
4. アドレナリン受容体とそのリガンド	14
5. プロスタグランジン受容体とそのリガンド	19
6. 本研究の目的と概要	29
参考文献	31

第2章 アドレナリン α_{1B} 受容体選択的拮抗薬の設計と合成

第1節 緒言	38
第2節 インドリルピペリジン誘導体の創出	41
第1項 主骨格変換と構造活性相関	41
第2項 側鎖変換と構造活性相関	52
第3節 受容体選択的拮抗薬の α_{1B} 受容体への反応	62
第4節 結論	66
第5節 実験	68
参考文献	102

第3章 ノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬の設計と合成

第1節 緒言	106
第2節 ピペリジン型 IP 受容体選択的作動薬の創出	109
第1項 主骨格変換と構造活性相関	109
第2項 側鎖変換と構造活性相関	118
第3節 ピペリジン型 IP 受容体選択的作動薬のスケールアップ合成	131
第4節 結論	137
第5節 実験	139
参考文献	158

第4章 EP₄ 受容体選択的作動薬の設計と合成

第1節 緒言	160
第2節 生物学的等価体の利用による EP ₄ 受容体選択的作動薬の創出	162
第3節 効率的合成法の確立	166
第4節 結論	184
第5節 実験	186
参考文献	195

第5章 総括

研究業績	207
------	-----

謝辞

略号

- 第 1 章 Ph-I : 第 I 相臨床試験
Ph-II : 第 II 相臨床試験
LBDD : Ligand Based Drug Design
SBDD : Structure Based Drug Design
GPCR : G タンパク共役型受容体
IP₃ : イノシトール-1, 4, 5-三リン酸
PG : プロスタグランジン
SAR : 構造活性相関
cDNA : 相補的 DNA
BA : 生体利用率
- 第 2 章 *K_i* : 結合解離定数
EDTA : エチレンジアミン四酢酸
DTT : ジチオスレイトール
PMSF : フッ化フェニルメチルスルホニル
- 第 3 章 C_{max} : 最高血中濃度
ADP : アデノシン-5'-ニリン酸二ナトリウム
EDC : 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド 塩酸塩
DBU : 1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデセ-7-エン
DMAP : 4-ジメチルアミノピリジン
DIC : *N, N'*-ジイソプロピルカルボジイミド
HPLC : 高速液体クロマトグラフィー
LC/MS : 液体クロマトグラフ質量分析計
- 第 4 章 NMP : *N*-メチル-2-ピロリドン
TBDPS : *t*-ブチルジフェニルシリル
DCC : *N, N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド
TFA : トリフルオロ酢酸

第 1 章

緒論

1. 新薬の創出

1-1 新薬の創出と成功確率

医薬の研究・開発において、研究のスタートとなる起点化合物から構造変換を重ね、開発化合物へのブラッシュアップ、続いて臨床試験での薬効・安全性の確認、そして新薬承認へとたどり着くには非常に長い道のりを必要とし、その成功確率は決して高いものではない。ひとつの例として、文献に掲載された Eli Lilly 社のデータに基づく医薬研究・開発各ステージの成功確率と平均期間を図 1-1 に示す¹⁾。

	研究開始	起点化合物 → リード	リード → 開発候補	開発候補 → 開発化合物	前臨床通過	Ph-I	Ph-II	Ph-III	承認
各段階確率		80%	75%	85%	69%	54%	34%	70%	91%
研究/前臨床 /臨床		35% テーマ設定からPh-I入りまで				12% Ph-I開始から承認まで			
研究/臨床		51% テーマ設定から開発化合物まで			8% 開発化合物から承認まで				
PJ平均数	24	19	15	12	8.5	4.6	1.6	1.1	1
平均期間		1年	1.5年	2年	1年	1.5年	2.5年	2.5年	1.5年

図 1-1 医薬研究・開発の成功確率

この数値から、研究テーマが承認を得られる確率は研究開始からはおよそ 4%であり、新薬創出は極めて厳しい道のりであることがわかる。最も確率の低いステージは Ph-II であり、通常、このステップで初めてヒトでの薬効を確認する。すなわち、Ph-I の結果から設定した投与量で、ヒトで薬効を発揮することができるか否かを確認するステージである（それまでは動物実験での薬効確認だったものが、初めてヒトでの確認となる）。

医薬の研究・開発における研究段階とは、通常開発化合物決定段階までを指す。この段階で、筋の良い開発化合物を創出することが、Ph-II での成功確率向上につながる。以降は、臨床試験を実施する開発化合物を見出すまでの各ステージについて、その概要を順次述べる。

1-2 起点化合物の設定あるいは Hit finding

研究開始段階では、狙う疾患を治療するための標的分子（後述する薬物受容体など）を決め、続いて化合物合成の起点となる化合物を、①内因性化合物（生体内で作られる標的分子に結合する化合物）、②標的分子に結合する公知化合物（天然物、合成物）、③ランダムスクリーニングから得られた標的分子に結合する化合物、などから設定することが一般的である。③において、あらかじめ設定したレベルで標的分子に結合する化合物をヒット（Hit）化合物と言い、ランダムスクリーニングから Hit を見出すことを Hit finding と言う^{2,3)}。

このステージにおいて、筋のよい化合物を起点化合物とするか否かが、その後の開発化合物取得に影響を与える。

1-3 Lead generation

続くステージは、起点化合物からリード化合物へとブラッシュアップする（Lead generation）。リード化合物とは、開発化合物のプロトタイプとなる化合物であり、主骨格など、主要な構造要件はここでほぼ確定する。このステージでは、3-3 項で述べる、LBDD や SBDD を駆使して、化合物をブラッシュアップする。さらに、単に標的分子への親和性や作用を強めるだけでなく、初期安全性に問題なく、薬効モデル動物において目標とする投与経路（経口投与、静脈内投与など）で薬効を示す化合物を取得する必要がある。

1-4 Lead 最適化

次は、リード化合物から臨床開発を実施する化合物の候補、すなわち開発候補化合物へと改良するステージである。このステージでは、リード化合物のマイナーチェンジ（置換基変換やアルキル鎖長の増減程度）でターゲットプロダクトプロファイルをクリアすることが期待できる化合物にブラッシュアップする。ターゲットプロダクトプロファイルは、

狙う疾患において臨床現場で受け入れられるような効果、用法・用量などから設定する。薬効においては、適応症にマッチした動物モデルでの薬効を確認する。また、各種動物での体内動態を調べ、ヒトにおける体内動態を外挿すること、短期的な反復投与により、安全性を確認することなどを実施する。このステージで化合物の構造は確定する。また、次ステージや臨床試験への化合物供給などを見据え、大量合成可能な製造法検討を開始する。

1-5 開発化合物の決定

このステージは、最適化した化合物、すなわち開発候補化合物の開発化合物としての適合性を確認する。具体的には、化合物の安全性をより長期の試験で確認することや、詳細な物性（安定性、吸湿性、結晶多形コントロールなど）や代謝酵素の阻害などを含む詳細な体内動態などを検討し、開発適合性を判断する。さらに、将来の製造に向け、合成法を大スケールに対応可能、かつ効率的なものに改良する。一定品質の化合物が再現性良く得られること、製造コスト低減のため、短工程、カラムレス、煩雑な操作の回避などを指す。

1-6 まとめ

ここでは、新薬創出には多くのステップを経ること、その成功確率は非常に低いことを述べた。また、起点化合物から開発化合物に至るまでの各ステージでの検討内容を述べ、医薬開発化合物は、単に標的分子に作用し、薬効を発揮するだけでなく、安全性、体内動態、化合物としての安定性、大量合成可能な製造プロセスなど、多岐にわたる項目をクリアする必要があることを述べた。

2. 薬物受容体

2-1 薬物受容体^{4,5)}

多くの医薬は生体内のタンパク質を標的分子として、生理作用を発揮する。この標的分子（タンパク質）として、酵素や薬物受容体がよく知られている。酵素と薬物受容体の働きの一例として、アンジオテンシン II による血圧上昇の概要を図 1-2 に示す。

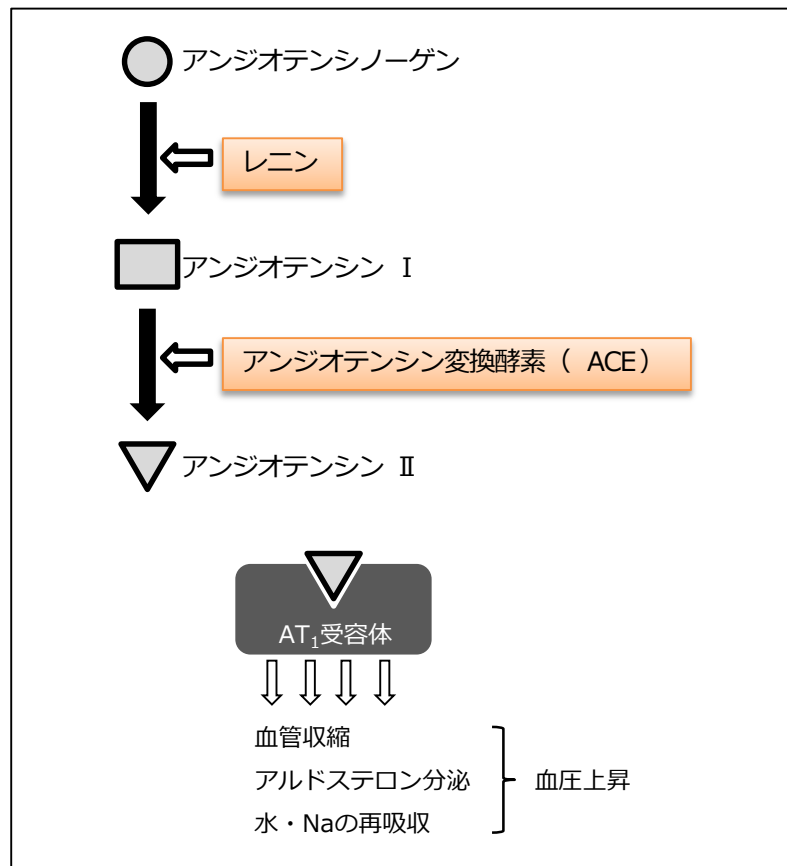


図 1-2 アンジオテンシン II の生成と血圧上昇

肝臓等で合成されるタンパク質であるアンジオテンシノーゲンは、酵素であるレニンによってアンジオテンシン I に変換される。続いて、アンジオテンシン I はアンジオテンシン変換酵素 (ACE) によってアミノ酸 8 残基からなるアンジオテンシン II に変換される。このアンジオテンシン II が薬物受容体である AT₁ 受容体に結合すると、AT₁ 受容体を介したシグナルが発生し、血管収縮・アルドステロン上昇・水やナトリウムの再吸収などが生

じることで血圧が上昇する。

この流れを考えると、血圧上昇を抑制するためには、アンジオテンシンⅡの量を減らす、あるいはAT₁受容体からのシグナルを減らすという方法が考えられる（図1-3）。

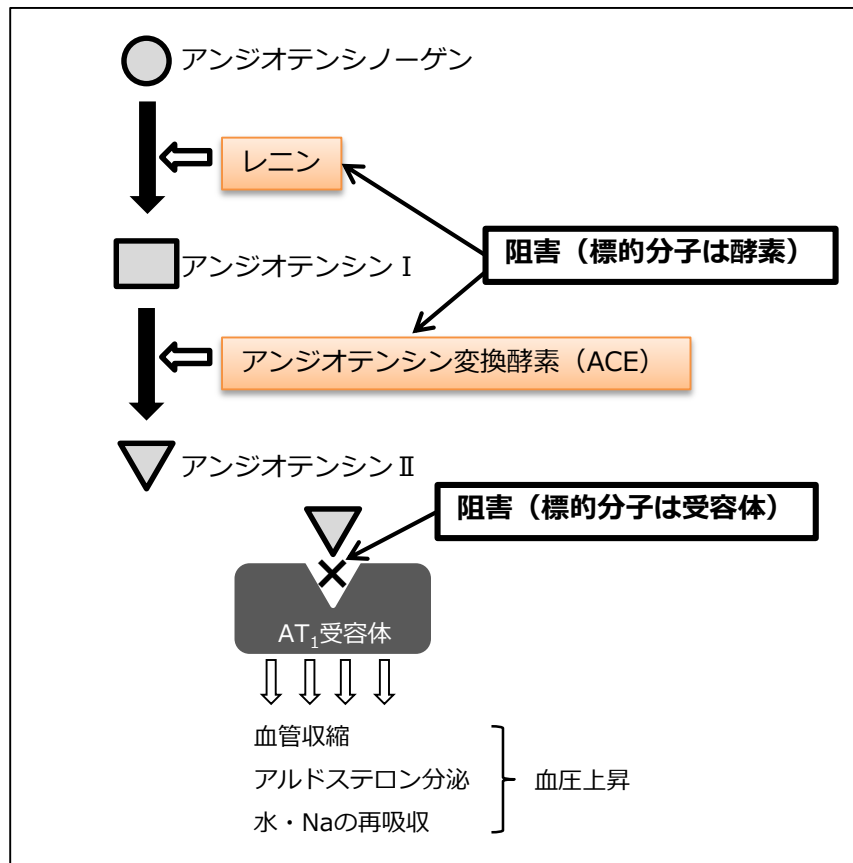


図1-3 血圧低下の標的分子

アンジオテンシンⅡの量を減らすにはレニンまたはアンジオテンシン変換酵素の働きを阻害する化合物、AT₁受容体からのシグナルを減らすにはアンジオテンシンⅡとAT₁受容体の結合を阻害する化合物が必要である。前者の化合物の標的分子が「酵素」であり、後者の化合物の標的分子が「薬物受容体」である。酵素と薬物受容体のどちらを阻害すればより効果的であるかはケースバイケースであり、優劣をつけるものではないが、薬物受容体は、最もよく知られている、創薬のための標的分子である。

2-2 Gタンパク共役型受容体 (GPCR) ⁶⁾

薬物受容体は、細胞膜上あるいは細胞内に存在し、細胞外からの情報伝達物質と特異的に結合し、細胞に応答を誘起する、タンパク質からなる構造体である。

この薬物受容体には、核内受容体、チロシンキナーゼ型受容体、イオンチャネル型受容体などが知られているが、最も創薬の標的として利用されている薬物受容体はGタンパク共役型受容体 (**G Protein-Coupled Receptor** : GPCR) である。

GPCRは7回膜貫通部位 (seven trans membrane, 7TM) を持つ受容体で、このファミリーに属するタンパク質は800以上にも及び、細胞表面に最も豊富に、かつ多種多様に存在する ⁷⁾ (図1-4)。その機能は、細胞外から細胞内への情報伝達で、受容体に特異的な化合物、例えばホルモンや神経伝達物質など、が結合したときに、その信号が細胞内のGタンパク質を活性化する。その結果、セカンドメッセンジャーとしてIP₃ (イノシトール-1, 4, 5-三リン酸)、Ca²⁺、サイクリックAMP (cAMP) などが放出される。セカンドメッセンジャーは、さらに受容体を活性化するか、または何らかの効果器 (エフェクター) に作用し、シグナルの空間的・時間的拡散や増幅を行い、多様な細胞機能を調節する。

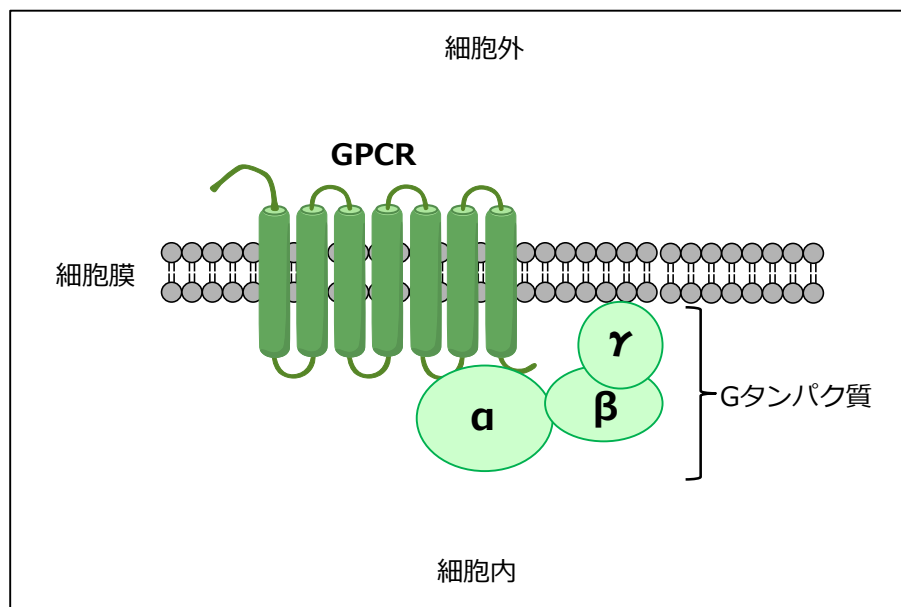


図1-4 GPCR

2-3 GPCR と医薬

臨床の場で処方されている医薬の約 50%が GPCR を標的分子としており、世界売上げ 100 位以内の医薬のうち 25 品目が GPCR を標的分子としたものである⁸⁻¹⁴⁾。

GPCR を標的としている医薬のいくつかの例を、表 1-1 に示す。

表 1-1 GPCR を標的分子とする既存医薬の例

対象疾患	標的 GPCR	化合物 ¹⁾	作用
高血圧	AT ₁ 受容体	AT ₁ 受容体拮抗薬	血圧の低下
高血圧	α ₁ 受容体	α ₁ 受容体拮抗薬	血圧の低下
ぜんそく	β ₂ 受容体	β ₂ 受容体作動薬	気管支の拡張
アレルギー	H ₁ 受容体	H ₁ 受容体拮抗薬	アレルギー症状の抑制
胃潰瘍	H ₂ 受容体	H ₂ 受容体拮抗薬	胃酸分泌の抑制
過活動性膀胱	β ₃ 受容体	β ₃ 受容体作動薬	膀胱の弛緩
肺高血圧	IP 受容体	IP 受容体作動薬	肺動脈圧の低下

1) 作動薬と拮抗薬については本章 3-1 項に記載

さらに、現在開発中の新規な医薬候補化合物の主たる標的分子は依然として GPCR であり、GPCR は創薬にとって極めて重要な標的分子である。

2-4 まとめ

ここまで、創薬には複数の標的分子があり、そのなかでも薬物受容体がよく知られていること、さらに薬物受容体のなかでも GPCR が創薬にとって非常に重要であることとともに、その構造やシグナル伝達についても述べた。既存医薬の約 50%が標的分子を GPCR としているものの、GPCR は現在 800 以上のファミリーが知られており、今後も創薬のた

めの標的分子として重要で、さらなる研究が必要である。次節では、GPCR を標的とする化合物について述べる。

3. 受容体リガンド

3-1 受容体リガンド - 作動薬と拮抗薬 -

創薬研究における「リガンド」とは、酵素基質、受容体と結合する分子などのタンパク質結合分子を指す。ここで、タンパク質が前節で述べた GPCR の場合、リガンドとは GPCR と共有結合、静電的結合、水素結合、van der Waals 結合、疎水性結合などで結合する分子のことである。この分子は、「作動薬」と「拮抗薬」に大別される。

作動薬とは、GPCR と結合することでその GPCR の構造変化をもたらし、続いて細胞内シグナルを発生させる分子である。作動薬による作用は、GPCR への結合の強さと結合によってシグナルを発生させる力によって決まり、前者は解離定数、後者は固有活性が指標となる。

拮抗薬とは GPCR と結合して作動薬の作用を阻害するが、それ自体は GPCR と結合しても細胞内シグナルを発生させない分子である。拮抗薬には「競合的拮抗薬」と「非競合的拮抗薬」があり、競合的拮抗薬は GPCR の作動薬との結合部位に可逆的に結合し、作動薬の濃度-反応曲線を高濃度側に平行移動させる。一方非競合的拮抗薬は、GPCR の作動薬との結合部位に非可逆的に結合する、あるいは GPCR の作動薬結合部位との異なる部位に結合することで作動薬の作用を阻害する。この場合、作動薬の濃度を上げて非競合的拮抗薬の影響を受けるため、最大反応が低下する。

創薬においては、標的分子とともに、作動薬あるいは拮抗薬どちらのアプローチを選択するかが重要となる。

3-2 受容体選択的リガンドの役割

創薬においては、もうひとつ重要な「選択性」というキーワードが存在する。例えば、ある病態改善のために、標的とする GPCR のリガンドを用いた場合、そのリガンドが標的以外の GPCR にも働くと、求めていなかった生理作用が生じることもある。これが生体にとって望ましくない場合は、副作用が生じるということになる。医薬は「安全に」薬効を発揮することが求められる。複数の GPCR に作用することで、相加的あるいは相乗的に薬効が強くなるケースも考えられるが、同時に複数の GPCR に作用すればするほど、副作用の懸念が高まると想定する方が妥当である。そのため、創薬のためには、標的とする GPCR に優先的に結合する、すなわち「選択性の高い」リガンドを目指すことが重要である。さらに、選択的リガンドは、病態の改善を図る、医薬としての利用の他、放射標識して動物に投与することで、生体内での GPCR の分布を確認する、あるいは動物に投与して特定の GPCR を介する生理作用を強めるあるいは遮断することで、生じる動物の変化をとらえ、その GPCR が介する生理作用を解明することにも利用できる。すなわち、受容体や病態研究のツールとして、選択的リガンドを利用することができる。

3-3 受容体リガンドの分子設計 - LBDD と SBDD -

求める作用を発揮するリガンドは、様々な構造変換を経て見出される。そのための起点となる化合物は、1-2 で述べたように、①内因性リガンド（生体内で作られるリガンド）、②公知のリガンド、③ランダムスクリーニングから得られたヒット（Hit）化合物、などを用いることが知られている。

例えば、プロスタグランジン IP 受容体作動薬であるベラプロストは、内因性の作動薬であるプロスタグランジン I_2 (PGI_2) を起点化合物とし、易加水分解性改善のために、エノールエーテル構造部分を変換し、続いて ω 側鎖と呼ばれるアリルアルコール構造を含む鎖状構造部位を変換することで見出された¹⁵⁻¹⁸⁾ (図 1-5)。これは①の内因性リガンドを

起点とする創薬の例である。

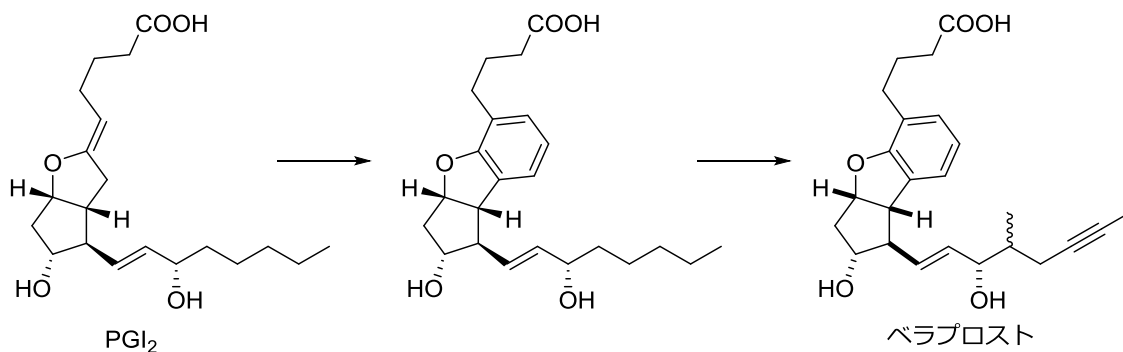


図 1-5 PGI₂ からベラプロスト

また、AT₁ 受容体拮抗薬であるロサルタンは、特許で開示された武田薬品の AT₁ 受容体拮抗薬 CV-2961 を起点化合物とし、酢酸部分とベンジル部分を変換することで見出された¹⁹⁾。これは②の公知リガンドを起点とする創薬の例である (図 1-6)。

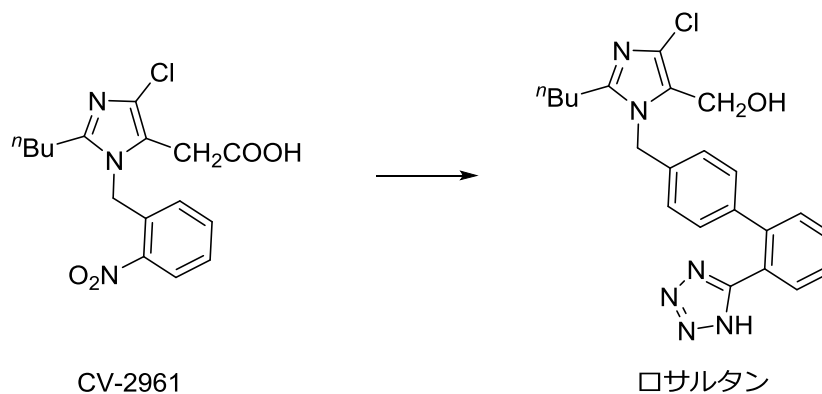


図 1-6 CV-2961 からロサルタン

これら①、②とは異なり、③のランダムスクリーニングはリガンドに必要な構造要件が全くわからない場合に用いられ、多種多様の構造を有する化合物群から望む標的に結合する化合物を見出す方法である。化合物群としては、オリジナルな合成品、天然物、市販化合物など、様々なソースを用い、例えば、標的となる GPCR などを発現させた細胞での反

応を効率的に評価することによって期待される効果を発揮する化合物を見出し、起点化合物とする。

これら①～③の方法で見出した起点化合物は、続いて種々構造を変換し、ブラッシュアップされる。すなわち。標的分子に対する親和性の向上、選択性の向上、化合物自身の物理化学的安定性の向上、体内動態の改良、安全性の向上などを目指し、構造変換される。標的に対する親和性や選択性の向上を図るときに用いる方法として、LBDD (Ligand Based Drug Design) と SBDD (Structure Based Drug Design) がよく知られている。

LBDD は、起点とする化合物そのものに注目し、種々の仮説に基づき、その構造を変換していく方法である。この方法では、起点化合物の誘導体の合成と評価を行い、構造活性相関 (Structure Activity Relationship : SAR) を確認しながら構造最適化を実施する。この SAR から、間接的に、リガンドが作用する標的分子の局所的な構造、特にリガンドと相互作用する部位を推定する。この方法では、後述する SBDD のような標的分子の立体構造に関する情報を必要としない。

一方、SBDD は、標的分子の三次元構造についての知識を使用して、リガンドを設計する方法である。X 線結晶構造解析や NMR を用いて標的分子の三次元構造を調べ、その構造情報を基にリガンドを設計する。さらにリガンドと標的分子との複合体 (結晶) を作り、構造解析を実施するというサイクルで、実際の結合状態の変化を確かめながらリガンドをブラッシュアップしていく。また、X 線結晶構造解析などの実験的手法のみでなく、計算化学に基づいた分子モデリングにより、リガンド-標的分子間の相互作用とリガンドの生体内挙動を推定し、病態に関連する標的分子を阻害あるいは活性化する分子構造を合理的に設計することも含まれる。

GPCR 選択的なリガンドの設計においては、現状 LBDD が主要な方法である。これは SBDD を実施するには前述の通り、GPCR の結晶構造や GPCR とリガンドの複合体の結晶構造が必要であるものの、その構造情報が非常に乏しいからである。その理由として、

GPCR は細胞膜から抽出されると構造が不安定になることが挙げられる²⁰⁾。しかしながら、GPCR にある種の抗体を結合させ GPCR のコンフォメーションを固定化するとともに GPCR – 抗体複合体の親水性表面を拡大させることで結晶格子の形成を促す方法²¹⁾、GPCR の第3細胞内ループの構造の一部を別構造に置き換えることで結晶格子を形成させる方法²²⁻²⁴⁾、GPCR に複数のアミノ酸変異を導入して結晶格子の形成を促す方法²⁵⁾などが開発され、いくつかの GPCR の三次元構造が報告されている。具体的には、アドレナリン受容体 (β_1 および β_2)、ムスカリン性アセチルコリン受容体 (M_2 および M_3)、オピオイド受容体 (μ , δ および κ) など、18 種が挙げられる²⁶⁾。前述したとおり、GPCR の種類は 800 にも及んでいることから、現在三次元構造が報告されている GPCR はわずかである。しかしながら、今後種々方法が進歩することで、さらに多くの GPCR の三次元構造が解明され、GPCR 選択的リガンドの設計に SBDD が利用されることが期待される。

3-4 まとめ

ここまで受容体選択的リガンド、特に GPCR 選択的リガンドについて、その有用性や設計方法について述べた。GPCR 選択的リガンドは、医薬候補として有用であるだけでなく、GPCR の生体内における分布や役割を推定するツールとして利用でき、その存在価値は大きい。そして、GPCR 選択的リガンドを得るには、まず起点となる化合物を設定し、続いて LBDD または SBDD などの方法を用い、求めるレベルのリガンドへとブラッシュアップしていく。GPCR については、SBDD に必要な三次元構造情報がまだ多くないため、立体構造未知の場合も適用可能な LBDD が構造最適化の主たる方法となっている。

次節からは、筆者が注目する GPCR とそのリガンド、さらに医薬として用いられているリガンドについて述べる。

4. アドレナリン受容体とそのリガンド

4-1 受容体の分類 - タイプとサブタイプ -

L-チロシンから生合成されるノルアドレナリン、アドレナリン（図 1-7）は交感神経系の神経伝達物質、または血管作動性ホルモンとして生体機能の調節に重要な役割を担っている。

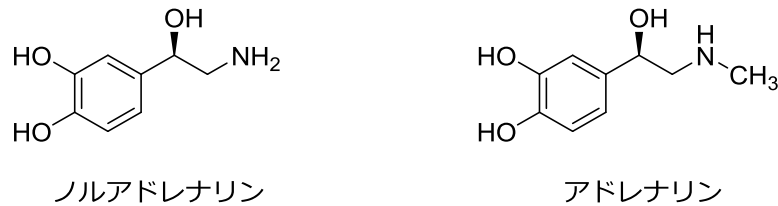


図 1-7 ノルアドレナリンとアドレナリン

これらノルアドレナリン、アドレナリンは GPCR のひとつであるアドレナリン受容体に結合することにより細胞内に情報を伝達する。アドレナリン受容体は Ahlquist により、まず α 受容体と β 受容体に分類され²⁷⁾、その後種々の薬物に対する反応の違いから、 α 受容体は α_1 受容体と α_2 受容体に、 β 受容体は β_1 受容体と β_2 受容体に分けられた。 α_1 受容体を介する作用としては血管や尿道の収縮が、 α_2 受容体を介する作用としては血小板凝集や中枢における血圧の低下が、 β_1 受容体を介する作用としては心筋の収縮が、 β_2 受容体を介する作用としては気管支の拡張などが知られている。

さらに薬理学的手法、分子生物学的手法などにより、現在は、 α 受容体が α_{1A} 、 α_{1B} 、 α_{1D} 、 α_{2A} 、 α_{2B} 、 α_{2C} に、 β 受容体が β_1 、 β_2 、 β_3 に細分化されている²⁸⁾（図 1-8）。

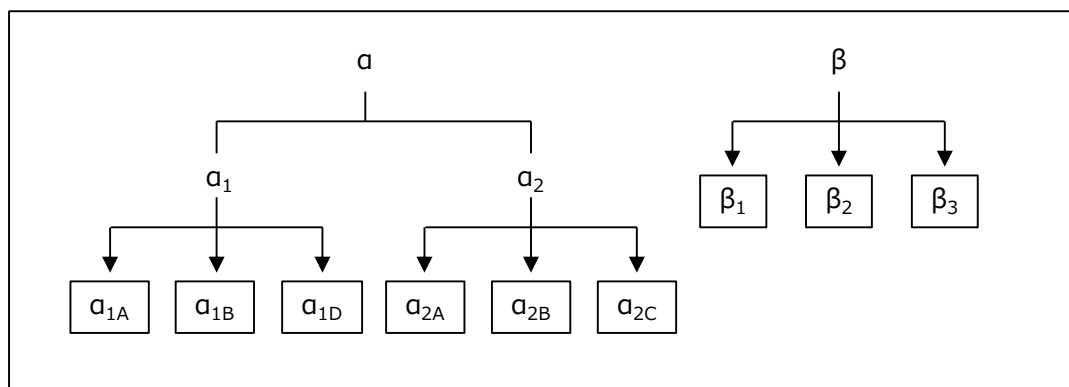


図 1-8 アドレナリン受容体の分類

これら受容体への選択的リガンドとして、 α_{1A} 受容体選択的拮抗薬や β_3 受容体選択的作動薬などが知られており、次項で述べるように医薬として用いられている。一方、 α_{1B} 受容体選択的リガンドはわずかな報告例しかなく、それらの選択性も不十分である。そのため、 α_{1B} 受容体を介する生理作用の解明や創薬研究の進展のためには、高選択的なリガンドの創出が求められている。

4-2 アドレナリン受容体と医薬

アドレナリンリガンドの医薬への利用としては、まずアドレナリンおよびノルアドレナリンそのものが急性低血圧時またはショック時の補助療法（血圧上昇）に用いられる医薬である。さらに、 β_1 受容体拮抗薬が高血圧や狭心症の治療薬として、 β_2 受容体作動薬が気管支喘息の症状緩和などに用いられている。また、 α_2 受容体作動薬は中枢性の降圧薬として知られている。

さらに、1965年にファイザー社で見出されたプラゾシンは、フェネチルアミンを基本構造とするアドレナリンとは大きく異なったキナゾリン骨格を有する α_1 受容体拮抗薬であり（図 1-9）、高血圧の治療薬として用いられている²⁹⁾。

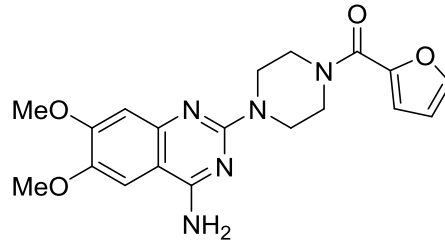


図 1-9 プラゾシン

さらにプラゾシンは、1980 年代後半には、前立腺肥大に伴う排尿障害の治療薬としても承認されている。プラゾシンは α_1 受容体サブタイプ間 (α_{1A} 、 α_{1B} 、 α_{1D}) での選択性はないものの、 α_2 受容体や β 受容体と比べ、 α_1 受容体に高い選択性を有する拮抗薬である。

サブタイプのレベルで選択性を有する医薬としては、シロドシンが知られている³⁰⁾。シロドシンは、前立腺肥大に伴う排尿障害の治療薬として用いられている、フェネチルアミンを基本構造とする α_{1A} 受容体選択的拮抗薬であり (図 1-10)、ヒト α_1 受容体親和性に関し、 α_{1B} 受容体に対しては 100 倍以上、 α_{1D} 受容体に対しては 50 倍以上、 α_{1A} 受容体に選択的である。

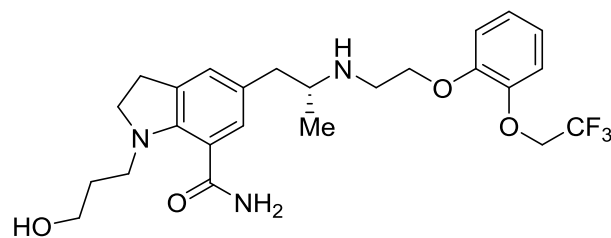


図 1-10 シロドシン

また、 β 受容体に目を向けると、過活動膀胱治療薬として用いられているミラベグロンはフェネチルアミンを基本構造とする β_3 受容体選択的作動薬であり (図 1-11)、膀胱平滑筋に存在する β_3 受容体に結合することで膀胱を弛緩させる作用を発揮する。ミラベグロンはヒト β_1 および β_2 受容体作動性が極めて低く、選択的な β_3 受容体作動薬である³¹⁾。

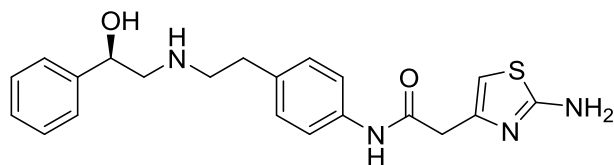


図 1-11 ミラベグロン

このように、既存医薬品の標的となったアドレナリン受容体には、 α_1 受容体、 α_2 受容体、 β_1 受容体、 β_2 受容体、 β_3 受容体、サブタイプレベルでは α_{1A} 受容体がある。このような状況のもと、筆者が注目したアドレナリン受容体は α_{1B} 受容体である。

α_1 受容体サブタイプのひとつである α_{1A} 受容体については、選択的な拮抗薬も、それによる医薬も知られている。一方、 α_{1B} 受容体選択的拮抗薬はほとんど知られておらず、情報がゼロではないものの、 α_{1B} 受容体の機能も詳細には分かっていない。

筆者が α_{1B} 受容体拮抗薬研究を開始した際、 α_{1B} 受容体は多くの α_1 受容体拮抗薬に対し不活性（親和性の高い化合物がほとんどない）と評価されており、 α_{1B} 受容体に親和性を有する拮抗薬としてクロロエチルクロニジンが汎用されていた³²⁾ (図 1-12)。

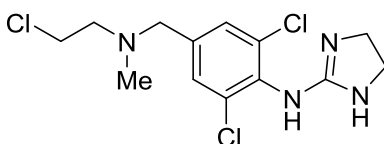


図 1-12 クロロエチルクロニジン

しかしながら、クロロエチルクロニジンは α_{1B} 受容体と共有結合を作り、不可逆に受容体を阻害してしまうことや、選択性が不十分なことなどで、受容体機能を解明するツールにはなり得なかった。また、その他に α_{1B} 受容体に親和性が高いと報告された化合物は、それ以上の親和性で他の受容体と結合するため、選択性は極めて乏しかった。そのため、アカデミアや製薬企業で α_{1B} 受容体選択的拮抗薬の創出に挑戦しており、シクラゾシンと L-765,314 (図 1-13) が望ましいとは言えないものの、従来よりも選択性の高い α_{1B} 受容

拮抗薬であると報告されていた^{33,34)}。

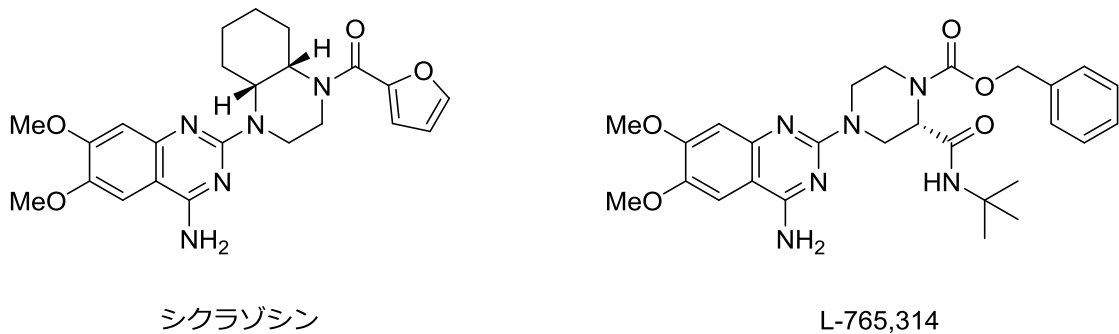


図 1-13 シクラゾシンと L-765,314

しかしながら、これらの化合物も他の受容体、特に構造類似性の高い α_{1A} および α_{1D} 受容体両方に数十倍以上の選択性を示すというほどではなく、真の受容体機能解明のツールとして、より高選択的な拮抗薬が求められていた。同時に、第 2 章で詳しく述べるように、遺伝子改変動物を使った実験から、 α_{1B} 受容体が血圧調節や神経変性に関与する可能性が示された。すなわち受容体機能の解明ツールとして、さらに、循環器系疾患や神経変性疾患の治療のための医薬として、高選択的な α_{1B} 受容体拮抗薬が求められていた。

4-3 まとめ

ここまで、アドレナリン受容体の分類、アドレナリン受容体リガンドの医薬としての利用について述べた。アドレナリン受容体リガンドは、循環器、呼吸器、泌尿器など、様々な診療領域での医薬として用いられており、アドレナリン受容体は創薬のための標的 GPCR として、非常に有用である。一方、まだ選択的リガンドが得られておらず、その受容体機能が詳細に解明されていない受容体もある。特に、 α_{1B} 受容体については、高選択的リガンドが存在しないものの、遺伝子改変動物の結果から循環器系疾患や神経変性疾患への関与が報告されている。そのため、 α_{1B} 受容体機能の詳細解明や α_{1B} 受容体高選択的な拮抗薬の創出は、研究価値が極めて高いと思われる。

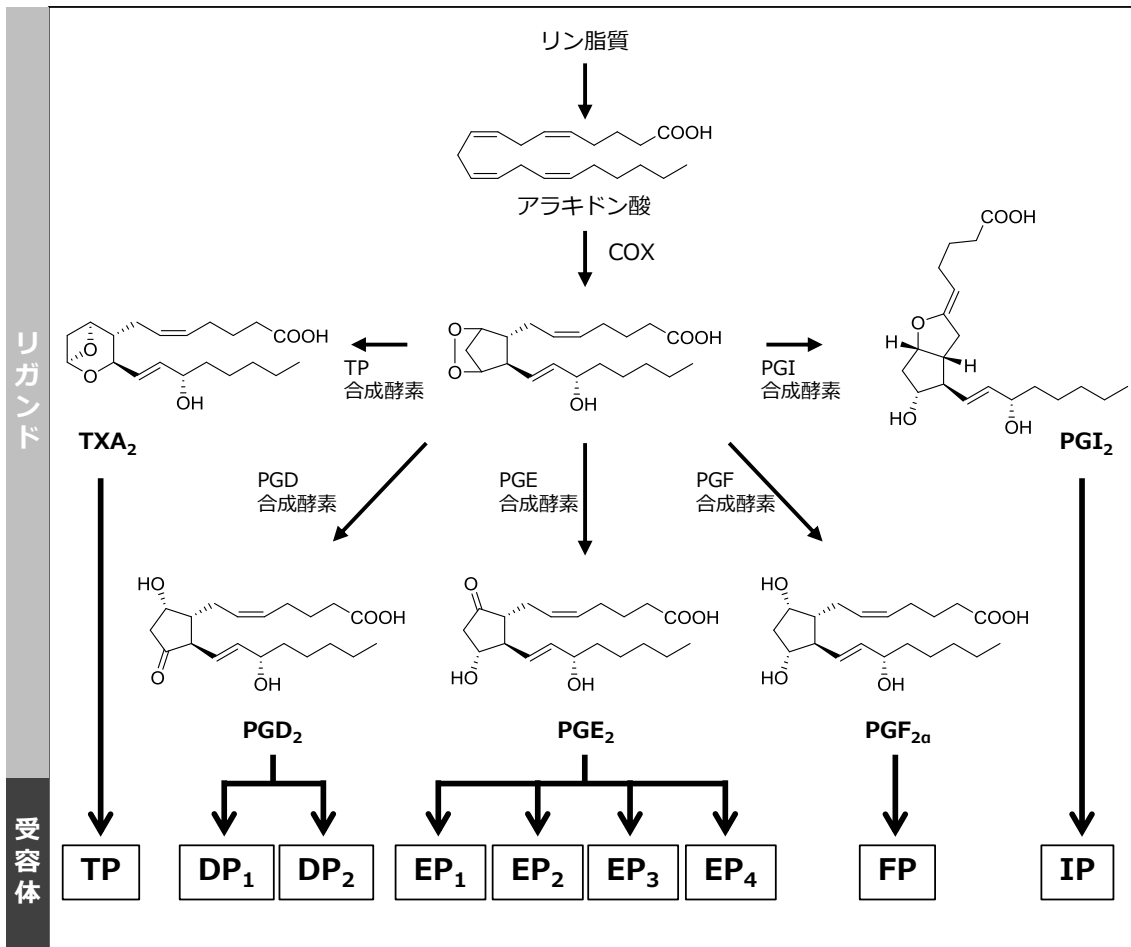
5. プロスタグランジン受容体とそのリガンド

5-1 受容体の分類 - タイプとサブタイプ -

プロスタグランジン (PG) は、ヒト精液中に含まれる子宮収縮物質として 1930 年に発見された。1957 年に、まず PGE₂ と PGF_{2α} の構造が同定され、その後、種々の内因性プロスタグランジンの発見、構造決定がなされた。図 1-14 に、プロスタグランジン受容体 (GPCR) と、それぞれの受容体のリガンドである内因性プロスタグランジンを生合成経路とともに示す。

プロスタグランジンは、産生細胞において刺激に応じて合成され、速やかに細胞外に放出される。そして、標的細胞に作用した後、速やかに局所で不活性化される。このような細胞間伝達物質は、オートコイドと呼ばれ、血液を介して全身に運ばれるホルモンとは異なっている。これら内因性プロスタグランジンは、複数の不斉炭素を有する特徴的な構造を有しており、構造決定以降、E. J. Corey に代表される、多くの有機合成化学者の全合成ターゲットとして盛んに研究された³⁵⁾。

これらプロスタグランジンは、当初は動物組織を用いた評価、続いて分子生物学的手法による受容体 cDNA クローニング、受容体分子の解析などから、図 1-14 に示した 9 種類の受容体を介し、多彩な作用を発揮することが明らかにされている。



杉本幸彦, 生化学, **78** (11), 1039 (2006), p1040.掲載の図を一部改変

図 1-14 内因生プロスタグランジン受容体リガンドとプロスタグランジン受容体の分類

さらに、プロスタグランジン受容体欠損マウスの作製により、プロスタグランジンが多様な生理作用に関わっていることが報告されている (表 1-2)。

表 1-2 プロスタグランジン受容体欠損マウスの主な表現型

受容体	表現型
DP ₁	卵白アルブミン誘発喘息におけるアレルギー応答の減弱
DP ₂	皮膚炎応答の減弱
EP ₁	ストレス負荷時攻撃性の亢進
EP ₂	排卵・受精の障害
EP ₃	発熱応答の消失
EP ₄	PGE ₂ による骨形成作用の消失
FP	黄体退縮不全による分娩消失
IP	血栓傾向
TP	適応免疫応答の亢進

杉本幸彦, 生化学, **78** (11), 1039 (2006), p1041.掲載の表を一部改変

5-2 プロスタグランジン受容体と医薬

プロスタグランジン受容体リガンドの医薬への利用としては、まず PGE₂ そのものが妊娠末期における陣痛誘発や陣痛促進に用いられる医薬である。さらに、その強力な血小板凝集抑制作用や血管拡張作用から、医薬としての応用が期待されながらも、エキソエノールエーテル構造に由来する易加水分解性から経口剤として利用することが困難な PGI₂ に、インター-*m*-フェニレン構造という独自の構造を適用し、さらに構造最適化させたベラプロストは、「慢性動脈閉塞症に伴う潰瘍、疼痛及び冷感の改善」、「原発性肺高血圧症」、「肺動脈性肺高血圧症」を効能又は効果として使用されている（図 1-15）。

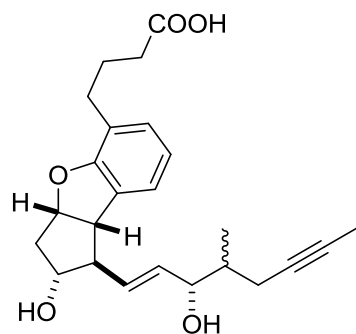


図 1-15 ベラプロスト

ベラプロストにおける成功のポイントは、易加水分解性を克服した主骨格の設計とともに、主骨格および側鎖等の構築法確立である。プロスタグランジンは当初有機合成化学者の全合成ターゲットになっていたように、その合成は難易度が高く、設計した分子をいかに合成するかというハードルが存在する。次にベラプロスト合成の概略を示す(図 1-16)。

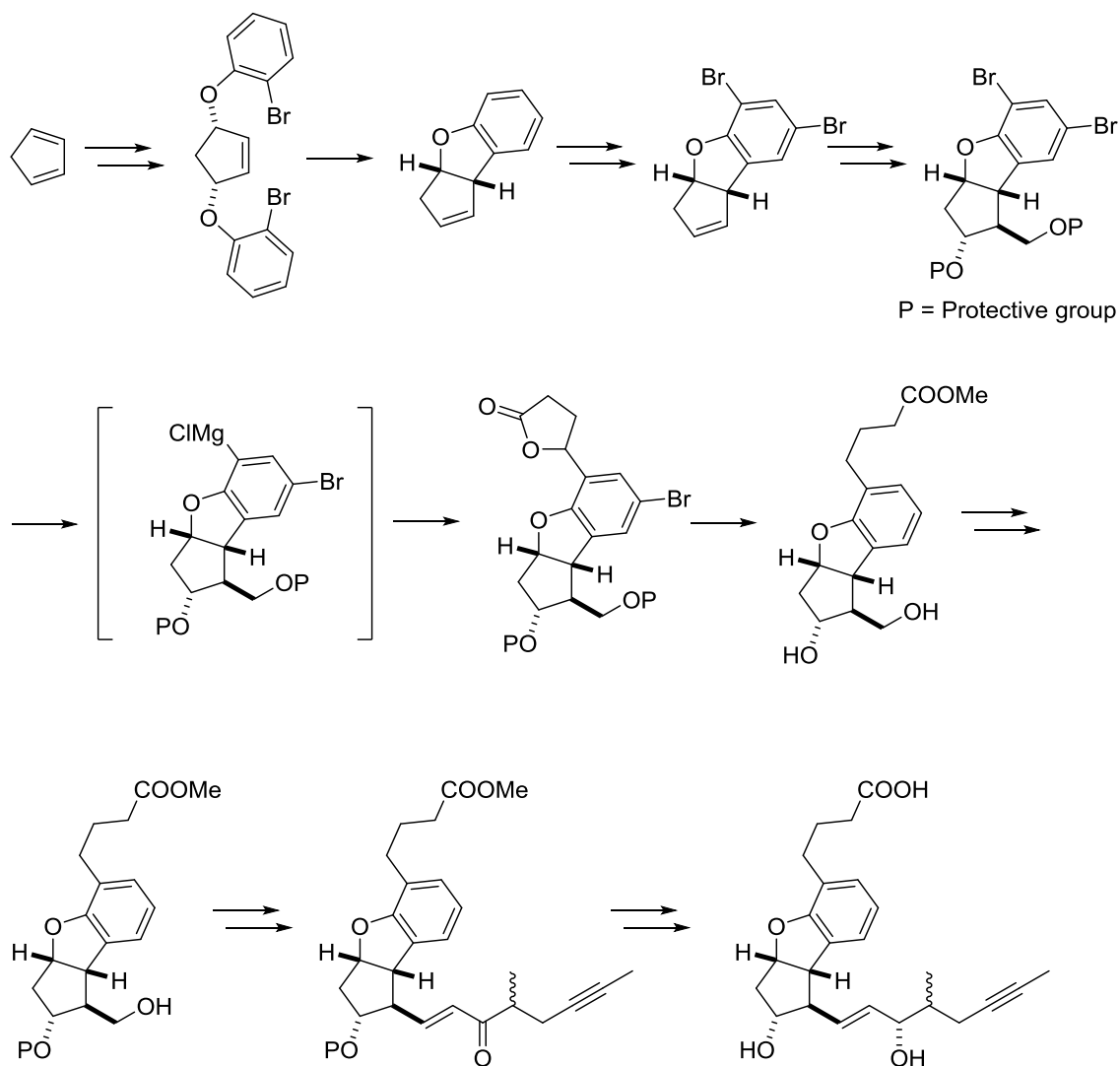


図 1-16 ベラプロストの合成

この合成においては、2つの *o*-ブロモフェノキシ基を導入したシクロペンテンの Grignard 化と続く S_N2' 反応によるシクロペンタ[*b*]ベンゾフラン骨格の構築や、Prins 反応による水酸基とヒドロキシメチル基の立体選択的導入、選択的な酸素 *o*-位での Grignard 交換を経る α 側鎖の導入、Horner-Emmons 反応による ω 側鎖導入など、様々な反応を駆使している^{36,37}。

ベラプロストは化学的安定性が高く、世界初の経口投与可能なプロスタグランジン I_2 誘導体として上市された。しかしながら、生体内では天然のプロスタグランジンと同様の代謝を受けることから血中での持続性は長くなく、製剤的工夫なしでは1日3回の服薬が

必要である。現在、医薬には患者の利便性（コンプライアンス）改善が望まれており、経口薬の服薬も、可能である限り、1日1回が望まれている。そのため、持続性向上という課題の解決に様々な研究者が挑戦し、そのアプローチのひとつが、天然のプロスタグランジンとは全く異なる構造であるノンプロスタノイド構造への変換である。例えば、小野薬品はONO-1301を、藤沢薬品（現アステラス製薬）はFK-788を、日本新薬はセレキシパグを見出し、研究・開発を進めた³⁸⁻⁴²⁾（図1-17）。

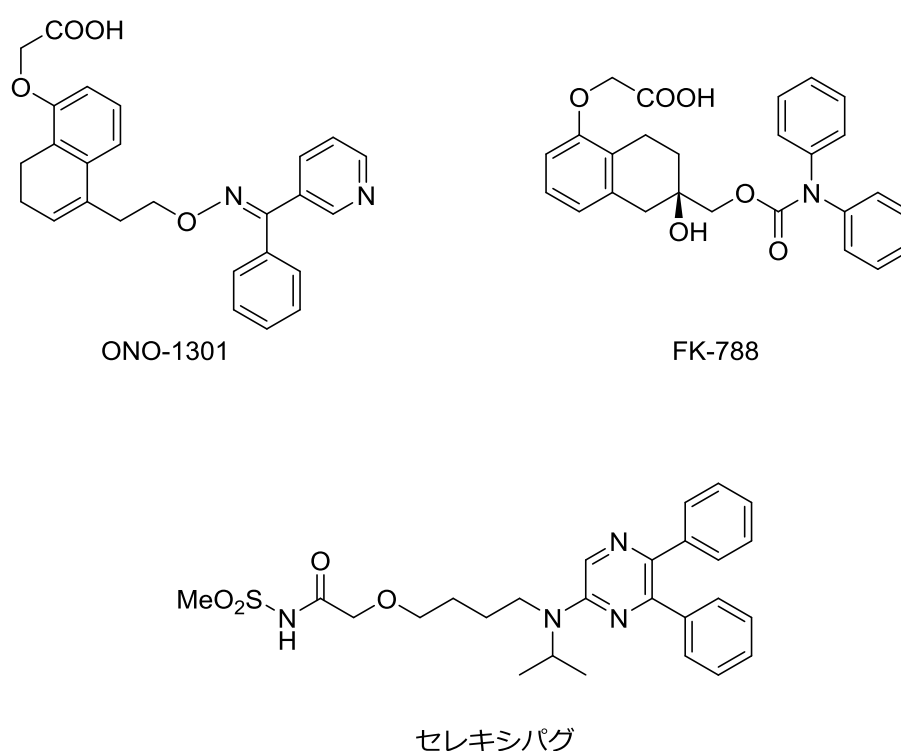


図1-17 ノンプロスタノイド IP 受容体作動薬

これらは、天然型とは大きく異なる構造を利用するとともに、プロスタグランジンの代表的代謝部位のひとつであるアルキルカルボン酸をオキシ酢酸構造とすることなどで代謝安定性を向上させ、天然型のプロスタグランジンよりも持続性を改善している（セレキシパグは2015年12月に米国で肺動脈性肺高血圧治療薬として承認された）。

筆者も、これらと同様、持続改善のためにノンプロスタノイド化合物というアプローチ

での研究を行い、ジヒドロベンゾオキサジン構造を有する、新規な IP 受容体作動薬を見出した⁴³⁾ (図 1-18)。

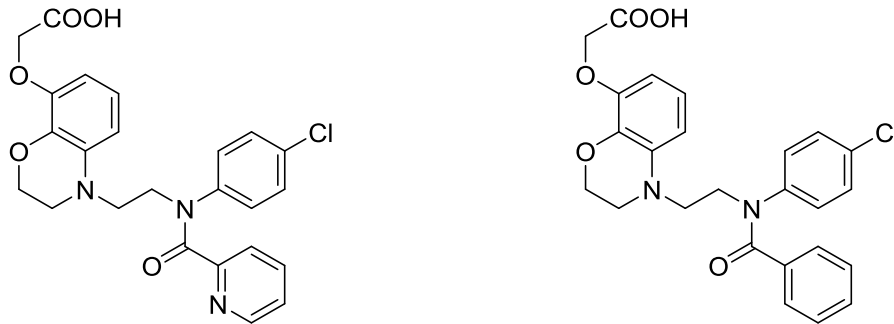


図 1-18 ジヒドロベンゾオキサジン型 IP 受容体作動薬

しかしながら、本化合物は、持続性はベラプロストよりも大幅な改善があったにもかかわらず、第 3 章で述べるように、血中曝露の向上、生体利用率 (Bioavailability : BA) の向上という課題を有している。しかしながら、この点の改良ができれば、1 日 1 回の服薬で効果を発揮する、患者のコンプライアンスを大きく改善した、従来にないプロスタグランジン IP 受容体作動薬として期待できる。

他のプロスタグランジン受容体リガンドによる医薬としては、天然型誘導体であるが、作動性発現に重要と思われるアリルアルコール部位の水酸基をジェミナルジフルオロ構造としたタフルプロスト (図 1-19) が、緑内障・高眼圧症治療剤 (点眼剤) として用いられている⁴⁴⁾。

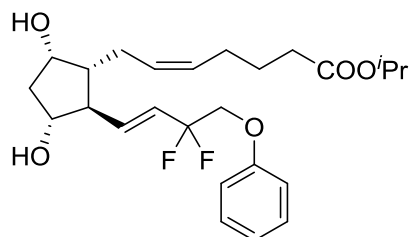


図 1-19 タフルプロスト

タフルプロストは、プロドラッグであり、角膜中のエステラーゼでイソプロピルエステル部位が加水分解されて生成したカルボン酸が活性本体として、FP 受容体に結合し、作用を発揮する。タフルプロストの活性本体は、強力なヒト FP 受容体作動性と他のプロスタグランジン受容体に対し高い FP 受容体選択性を有することが確かめられており⁴⁵⁾、眼のぶどう膜・強膜流出経路からの房水流出を促進し、強力かつ安定した眼圧降下作用を発揮する。また、アルコールの代替構造としてジェミナルジフルオロ構造を用いるデザインも興味深い。合成ルートの概略を図 1-20 に示す。

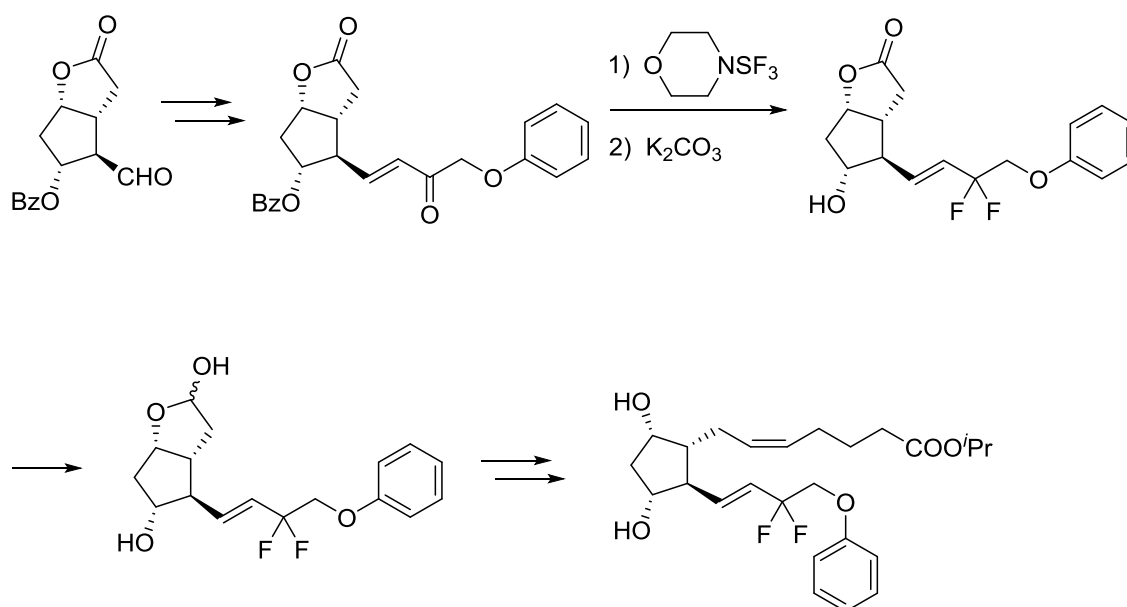


図 1-20 タフルプロストの合成

この合成ではアリルジフルオリド構造の構築が鍵であり、エノンをもルホリノサルファトリフルオリドで処理することで、良好な収率でジェミナルジフルオリドを合成している。さらに、ラクトールの Wittig 反応においては、 $\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2$ を塩基として用い、溶媒や温度条件を制御することにより、99:1 という非常に高い Z 選択性で α 側鎖を導入していることも特徴である⁴⁶⁾。

このタフルプロストと同様、FP 受容体を標的とする PG 系緑内障治療薬としては、ウノ

プロストン、ラタノプロスト、トラボプロストなど複数が知られている。

一方で、EP 受容体サブタイプを標的とする医薬は、内因性の PGE₁ または PGE₂、および PGE₁ 誘導体であるリマプロスト⁴⁷⁾ (図 1-21) 程度しか知られていない。

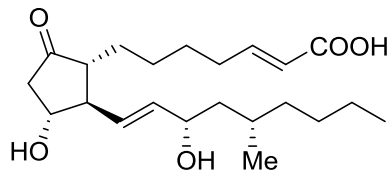


図 1-21 リマプロスト

EP 受容体は図 1-14 に示した通り、EP₁~EP₄ の 4 種のサブタイプがあり、これら 4 種の受容体は異なった生理作用に関わることが知られている⁴⁸⁾。

なかでも、EP₄ 受容体は胸腺、心臓、腎臓、肝臓、消化管、肺、骨などに存在することや、EP₄ 受容体刺激により、破骨細胞の形成が促進されることが知られている⁴⁹⁾。さらに、PGE₂ の持つ細胞保護作用は、EP₄ 受容体を介する血流改善や炎症性サイトカインの産生調節によるものであろうとの報告もある⁵⁰⁻⁵²⁾。そのため、EP₄ 受容体リガンドはこれら生理反応に関わる疾患の予防や治療に有効ではないかと期待されている。例えば、小野薬品は、骨疾患の治療に有効な EP₄ 作動薬について報告しており^{53,54)}、ONO-4819⁵⁵⁾ (図 1-22) は椎骨骨折の治療薬として臨床試験が実施された。

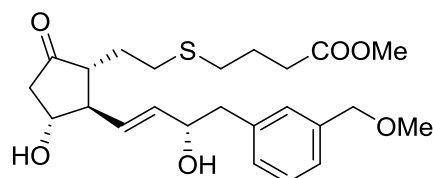


図 1-22 ONO-4819

小野薬品の EP₄ 作動薬創出は、PGE₁ または PGE₂ の α および ω 側鎖を変換していくというものであり、内因性化合物を起点化合物とする新たなリガンド設計という戦略である。しかしながら、化合物の化学的な安定性にまだ改善の余地があるなど、さらなる化合物のブラッシュアップが必要と思われる (ONO-4819 は注射剤として用いられる。さらに、活性本体はカルボン酸であるが、メチルエステル化するという方法で安定性を高めている)。

EP₄ 受容体が、種々の組織に分布し、様々な生理反応に関与すると期待されることから、今後、高選択的なリガンドを見出すことができれば、EP₄ 受容体の機能解明による最適な適応症の選定や新薬の創出が可能となる。

5-3 まとめ

ここまで、プロスタグランジン受容体の分類と内因性リガンド、プロスタグランジン受容体リガンドの医薬としての利用について述べた。内因性プロスタグランジンは、その特徴的な構造から有機合成化学者のターゲットとなったばかりではなく、多彩な生理活性を有し、様々な診療領域での医薬として用いられている。前節で述べたアドレナリン受容体とともに、医薬創出を目指した標的 GPCR として、非常に有用である。

医薬として上市されたものの、持続性に関し改良の余地がある IP 受容体作動薬や、EP₄ 受容体が様々な生理反応に関与することが報告されながらも、選択的なリガンドがほとんどなく、医薬として上市されていない EP₄ 受容体リガンドは、有望化合物が得られれば、新薬へとつながる可能性が高く、その研究価値は極めて高いと思われる。

6. 本研究の目的と概要

これまで、医薬の研究・開発は、非常に長い道のりを必要とし、成功確率も非常に低いことを述べた。また、医薬に求められるものとしては、標的分子への作用だけでなく、安全性、体内動態、化合物としての安定性、大量合成可能な製造プロセスなどであることを述べた。さらに、GPCR が新薬の標的として重要であること、アドレナリン受容体やプロスタグランジン受容体が新薬の標的として価値があること、しかしながら、これら受容体サブタイプに選択的な化合物が必ずしも取得できていないなどの理由から、これら受容体を介する医薬を創出するには、さらなる研究が必要であることを述べた。

新薬研究を進める上で、標的分子に高い親和性と選択性で作用するリガンドが必要である。また、標的分子への作用が期待通りであったとしても、安全性が高いこと、体内動態が求めるレベルにあることも必須である（例えば経口投与可能や、1日1または2回の投与で薬効を保つ持続性を有するなど）。さらに、上述したように、有望な化合物を大量に供給できる合成法が、開発そして事業化には必須である。

本研究では、「新薬創出」という共通の最終目標をもちながらも、それぞれ異なる問題を有する分子についての解決法を提供することを目的とした。

すなわち、アドレナリン α_{1B} 受容体およびプロスタグランジン EP₄受容体は、高選択的なリガンドが得られていないため、受容体の詳細な機能、これら受容体が関与する疾患、薬物治療の可能性などが明確になっていない。この問題を解決し、新薬創出へと結びつけるためには、**受容体高選択的なリガンドの設計と合成**が必要である。

また、プロスタグランジン IP 作動薬は、従来の天然型化合物の生体内での持続時間が改善でき、1日1回服薬で効果を発揮するようになれば、患者のコンプライアンスを大きく改善できる。そのための、**体内動態が改善された化合物の設計と合成**が必要である。

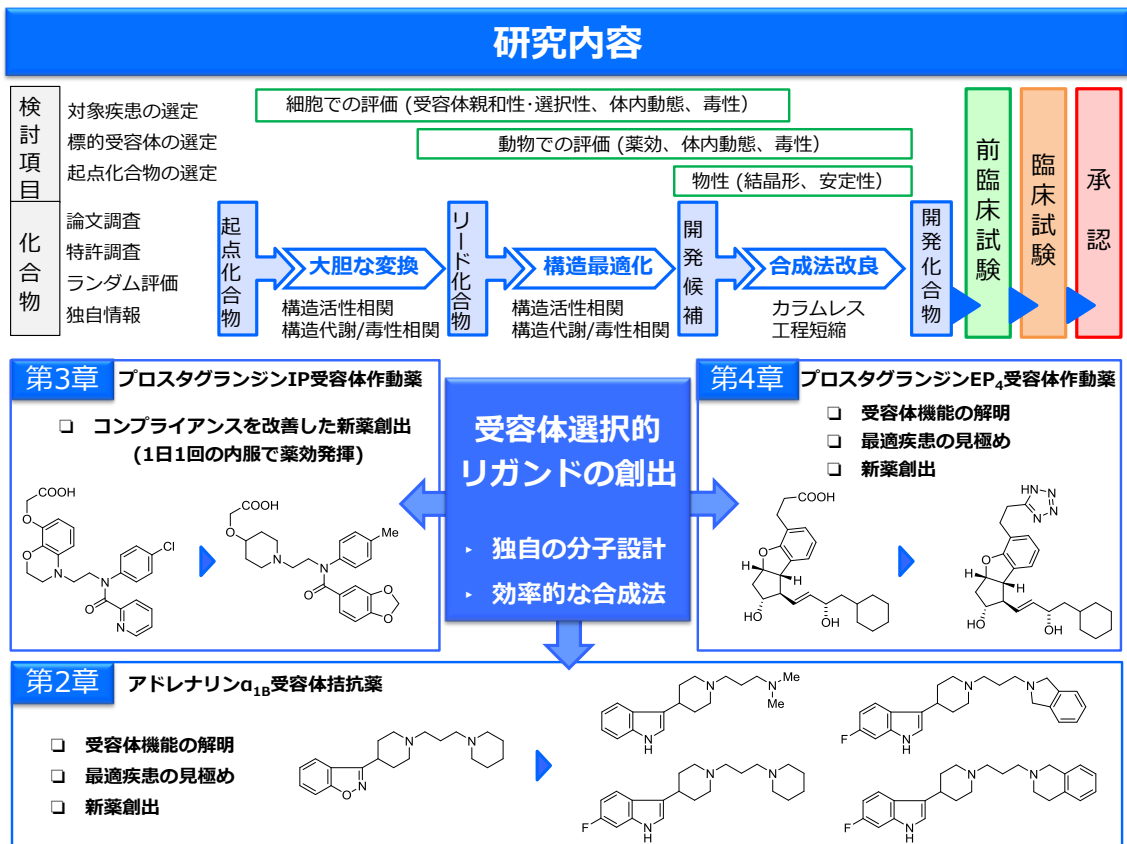
本論文は全5章で構成されており、本章を第1章とする。

第2章では、アドレナリン α_{1B} 受容体の機能解明のツール、およびアドレナリン α_{1B} 受容体の機能調節による医薬を目指した、アドレナリン α_{1B} 受容体高選択的拮抗薬の設計と合成について述べている。

第3章では、プロスタグランジン IP 受容体作動薬について、生体内で代謝を受けやすい従来の天然型プロスタグランジン誘導体の体内動態改良を目指した、ノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬の設計と合成について述べている。

第4章では、オリジナルライブラリから見出された起点化合物からの、生物学的等価体を利用した構造変換による、新規かつ化学的に安定な EP₄ 受容体高選択的作動薬の設計と合成について述べている。

第5章では、各章で得られた結果を総括し、将来を展望している。



参考文献

- 1) S. M. Paul, D. S. Mytelka, C. T. Dunwiddie, C. C. Persinger, B. H. Munos, S. R. Lindborg, A. L. Schacht, *Nature Rev. Drug Discov.*, **9**, 203 (2010).
- 2) G. M. Kesertül, G. M. Makara, *Drug Discov. Today*, **11**, 741 (2006).
- 3) K. H. Bleicher, H. J. Bohm, K. Müller, A. L. Alanine, *Nature Rev. Drug Discov.*, **2**, 369 (2003).
- 4) A. J. Trevor, B. G. Katzung, S. B. Masters, 柳澤輝行, 丸山敬監訳, “カッツング薬理学 エッセンシャル”, 丸善出版 (2012).
- 5) 公益社団法人 日本薬学会編, “メディシナルケミストリー用語解説 310”, じほう (2014).
- 6) A. Chattopadhyay, *Advances in Biology*, **2014**, 12 (2014).
- 7) R. V. Noorden, *Nature*, **490**, 320 (2012).
- 8) C. Ellis, *Nature Rev. Drug Discov.*, **3**, 577 (2004).
- 9) E. Jacoby, R. Bouhelal, M. Gerspacher, K. Seuwen, *ChemMedChem*, **1**, 760 (2006).
- 10) P. A. Insel, C.-M. Tang, I. Hahntow, M. C. Michel, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1768**, 994 (2007).
- 11) R. Heilker, M. Wolff, C. S. Tautermann, M. Bieler, *Drug Discov. Today*, **14**, 231 (2009).
- 12) S. Schlyer, R. Horuk, *Drug Discov. Today*, **11**, 481 (2006).
- 13) W. Thomsen, J. Frazer, D. Unett, *Current Opinion in Biotechnology*, **16**, 655 (2005).
- 14) S. H. S. Lin, O. Civelli, *Annals of Medicine*, **36**, 204 (2004).
- 15) K. Ohno, H. Nagase, K. Matsumoto, H. Nishiyama, S. Nishio, *Adv. Prostaglandin*

- Thromboxane Leukot. Res.*, **15**, 279 (1985).
- 16) H. Wakita, K. Matsumoto, H. Yoshiwara, Y. Hosono, R. Hayashi, H. Nishiyama, H. Nagase, *Tetrahedron*, **55**, 2449 (1999).
- 17) A. K. Sim, A. P. McCraw, M. E. Cleland, S. Nishio, T. Umetsu, *Arzneim. Forsch.*, **35**, 1816 (1985).
- 18) T. Akiba, M. Miyazaki, N. Toda, *Br. J. Pharmacol.*, **89**, 703 (1986).
- 19) G. Bhardwaj, *Expert Opinion on Drug Discovery*, **1**, 609 (2006).
- 20) L. Buchen, *Nature*, **476**, 387 (2011).
- 21) S. G. F. Rasmussen, H. J. Choi, D. M. Rosenbaum, T. S. Kobika, F. S. Thian, P. C. Edwards, M. Burqhammer, V. R. Ratnala, R. Sanishvili, R. F. Fischetti, G. F. X. Schertler, W. I. Weis, B. K. Kobika, *Nature*, **450**, 383 (2007)
- 22) V. Cherezov, D. M. Rosenbaum, M. A. Hanson, S. G. F. Rasmussen, F. S. Thian, T. S. Kobika, H. J. Choi, P. Kuhn, W. I. Weis, B. K. Kobika, R. C. Stevens, *Science*, **318**, 1258 (2007).
- 23) D. M. Rosenbaum, V. Cherezov, M. A. Hanson, S. G. F. Rasmussen, F. S. Thian, T. S. Kobika, H. J. Choi, X. J. Yao, W. I. Weis, R. C. Stevens, B. K. Kobika, *Science*, **318**, 1266 (2007).
- 24) V. P. Jaakola, M. T. Griffith, M. A. Hanson, V. Cherezov, E. Y. Chien, J. R. Lane, A. P. Lizeaman, R. C. Stevens, *Science*, **322**, 1211 (2008).
- 25) T. Warne, M. J. Serrano-Vega, J. G. Baker, R. Moukhametzianov, P. C. Edwards, R. Henderson, A. G. W. Leslie, C. G. Tate, G. F. X. Schertler, *Nature*, **454**, 486 (2008).
- 26) A. J. Venkatakrisnan, X. Deupt, G. Lebon, C. G. Tate, G. F. Schrtler, M. M. Babu, *Nature*, **494**, 185 (2013).

- 27) R. P. Ahlquist, *Am. J. Physiol.*, **153**, 586 (1948).
- 28) J. P. Hieble, S. Z. Langer, R. J. Lefkowitz, K. P. Minneman, R. R. Ruffolo Jr., *Pharmacol. Rev.*, **47**, 267 (1995).
- 29) ファイザー株式会社, 医薬品インタビューフォーム “ミニプレス[®]錠 0.5mg・1mg”, 改訂第7版 (2016).
- 30) キッセイ薬品工業株式会社, 医薬品インタビューフォーム “ユリーフ[®]錠 2mg・4mg、ユリーフ[®]OD錠 2mg・4mg”, 改訂第8版 (2016).
- 31) アステラス製薬株式会社, 医薬品インタビューフォーム “ベタニス[®]錠 25mg・50mg”, 改訂第4版 (2012).
- 32) J. P. Hieble, W. E. Bondinell, R. R. Ruffolo Jr., *J. Med. Chem.*, **38**, 3415 (1995).
- 33) D. Giardina, M. Crucianelli, R. Romanelli, A. Leonardi, E. Poggest, C. Melchiorre, *J. Med. Chem.*, **39**, 4602 (1996).
- 34) M. A. Patane, A. L. Scott, T. P. Broten, R. S. L. Chang, R. W. Ransom, J. DiSalvo, C. Forray, M. G. Bock, *J. Med. Chem.*, **41**, 1205 (1998).
- 35) E. J. Corey, X.-M. Cheng, “The Logic of Chemical Synthesis” , New York, John Wiley & Sons, Inc. (1989), Chapter 12.
- 36) 長瀬博, 松本和久, 西山久雄, 有機合成化学協会誌, **54**, 47 (1996).
- 37) H. Wakita, K. Matsumoto, H. Yoshiwara, Y. Hosono, R. Hayashi, H. Nishiyama, H. Nagase, *Tetrahedron*, **55**, 2449 (1999).
- 38) K. Kondo, K. Machii, M. Narita, A. Kawamoto, S. Yamasaki, N. Hamanaka, *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.*, **23**, 401 (1995).
- 39) K. Hattori, A. Tanaka, O. Okitsu, S. Tabuchi, K. Taniguchi, M. Nishio, S. Koyama, M. Higaki, J. Seki, K. Sakane, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**, 3091 (2005).
- 40) K. Kuwano, A. Hashino, T. Asaki, T. Hamamoto, T. Yamada, K. Okubo, K.

- Kuwabara, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **322**, 1181 (2007).
- 41) A. Nakamura, T. Yamada, T. Asaki, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 7720 (2007).
- 42) K. Kuwano, A. Hashino, K. Noda, K. Kosugi, K. Kuwabara, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **326**, 691 (2008).
- 43) M. Ohno, R. Hayashi, M. Isogaya, H. Ueda, WO2004052871A1 (2004).
- 44) 参天製薬株式会社, 医薬品インタビューフォーム “タブコム[®]配合点眼液”, 第 3 版 (2016).
- 45) T. Nakajima, T. Matsugi, W. Goto, M. Kageyama, N. Mori, Y. Matsumura, H. Hara, *Biol. Pharma. Bull.*, **26**, 1691 (2003).
- 46) Y. Matsumura, N. Mori, T. Nakano, H. Sasakura, T. Matsugi, H. Hara, Y. Morizawa, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 1527 (2004).
- 47) 小野薬品工業株式会社, 医薬品インタビューフォーム “オパルモン[®]錠 5 μ g, 新様式第 9 版 (2014).
- 48) R. A. Coleman, W. L. Smith, S. Narumiya, *Pharmacol. Rev.*, **46**, 205 (1994).
- 49) S. Narumiya, Y. Sugimoto, F. Ushikubi, *Physiol. Rev.*, **79**, 1193 (1999).
- 50) S. Takahashi, K. Takeuchi, S. Okabe, *Biochem. Pharmacol. Ther.*, **58**, 1997 (1993).
- 51) J. Quiroga, J. Prieto, *Pharmacol. Ther.*, **58**, 67 (1993).
- 52) S. Shinomiya, H. Naraba, A. Ueno, I. Utsunomiya, T. Maruyama, S. Ohuchida, F. Ushikubi, K. Yuki, S. Narumiya, Y. Sugimoto, A. Ichikawa, S. Oh-ishi, *Biochem. Pharmacol.*, **61**, 1153 (2001).
- 53) T. Maruyama, M. Asada, T. Shiraishi, A. Ishida, H. Egashira, H. Yoshida, T. Maruyama, S. Ohuchida, H. Nakai, K. Kondo, M. Toda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 2029 (2001).

- 54) T. Maruyama, M. Asada, T. Shiraishi, K. Sakata, A. Seki, H. Yoshida, Y. Shinagawa, T. Maruyama, S. Ohuchida, H. Nakai, K. Kondo, M. Toda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 2033 (2001).
- 55) T. Ninomiya, A. Hosoya, T. Hiraga, M. Koide, K. Yamaguchi, H. Oida, Y. Arai, N. Sahara, H. Nakamura, H. Ozawa, *Eur. J. Pharmacol.*, **650**, 396 (2011).

第 2 章

アドレナリン α_{1B} 受容体選択的拮抗薬の設計と合成

第1節 緒言

第1章4項で述べたように、現在、プラゾシン、シロドシンなど特定のアドレナリン受容体に作用する化合物が医薬として利用されている。高血圧治療薬として汎用されているプラゾシンは、 α_2 受容体に比べ α_1 受容体に選択的であるものの、 α_1 受容体サブタイプ (α_{1A} 、 α_{1B} 、 α_{1D}) には非選択的である。その後数多くの化合物が合成され、 α_{1A} 受容体に選択性の高い化合物として5-メチルウラピジル、シロドシン等が開発された(図2-1)^{1,2)}。

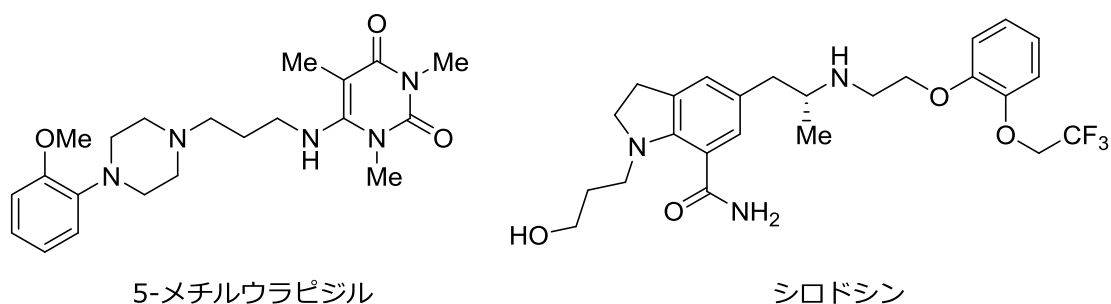


図2-1 5-メチルウラピジルとシロドシン

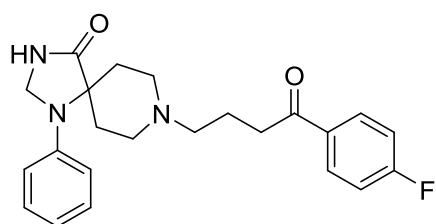
そして、これら α_{1A} 受容体に選択性の高い化合物を用いた実験から、 α_{1A} 受容体が尿道平滑筋の収縮に深く関わっていることが示唆され、 α_{1A} 受容体拮抗薬の前立腺肥大に伴う排尿障害治療薬としての応用が種々検討された³⁾。シロドシンはそのような検討を経て上市された化合物のひとつである。

一方、 α_1 受容体サブタイプのうち、 α_{1B} 受容体および α_{1D} 受容体に選択的に作用することを主たるメカニズムとする医薬は今のところ知られていない。しかしながら、 α_{1B} 受容体トランスジェニックマウスの実験からは、 α_{1B} 受容体の心筋収縮や心肥大、腫瘍形成への関与が示唆されている^{4,5)}。

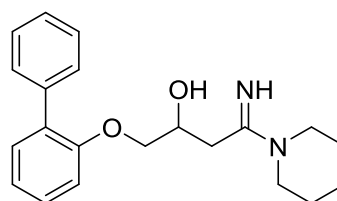
また、 α_{1B} 受容体ノックアウトマウスの実験から、 α_{1B} 受容体の昇圧反応への関与が示唆されており⁶⁾、さらに種々の実験から、 α_{1B} 受容体刺激が血管平滑筋細胞の増殖を促進すること⁷⁾、ヒト冠状動脈やヒト脳動脈の α_1 受容体刺激による収縮は α_{1B} 受容体が関与している可能性が高

いこと⁸⁾なども報告されている。

加えて、 α_{1B} 受容体（野生型あるいは活性型）を過剰発現させたマウスは加齢によりパーキンソン病類似の運動障害が起き、その原因は中枢神経のアポトーシス性細胞死であること、この神経細胞死は α_{1B} 受容体が高密度に発現している領域から始まっていることも報告されている⁹⁾。これはトランスジェニックマウスという特殊な系での実験であるが、神経変性疾患に α_{1B} 受容体が関与する可能性があり、 α_{1B} 受容体選択的拮抗薬の医薬としての利用を期待させる報告である。そして、このような期待を検証するためには、受容体選択的リガンドが重要なツールとなるため、 α_{1B} 受容体に親和性を有する化合物、しかも受容体選択性の高い化合物が必要である。しかしながら、 α_{1B} 受容体選択的リガンドに関する報告は非常に少なく、報告されているスピペロン、AH11110 についても、その選択性、親和性は十分なものではない¹⁰⁻¹²⁾。



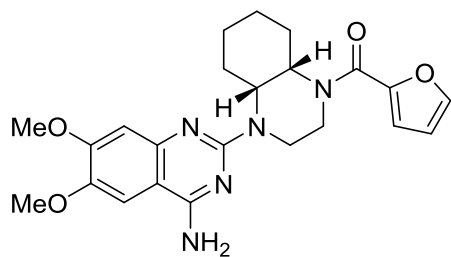
スピペロン



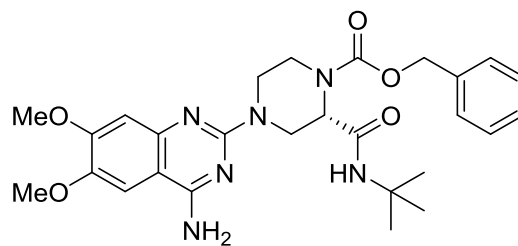
AH11110

図2-2 スピペロンとAH11110

また、 α_{1A} 受容体に対する選択性が 100 倍を超える α_{1B} 受容体拮抗薬としてシクラゾシン¹³⁾とL-765,314¹⁴⁾が報告されたが、 α_{1D} 受容体との選択性は約 10~20 倍と、それほど高くなく、真の高選択的リガンドが存在しない状況である。



シクラゾシン



L-765,314

図 2-3 シクラゾシンと L-765,314

そこで、本章では、 α_{1B} 受容体到高親和性・高選択性を有する新規な拮抗薬の設計と合成を検討した。既存化合物を上回る選択性を有する拮抗薬に対する細胞や動物（通常状態や動物モデル）の反応を評価することで、 α_{1B} 受容体を介する生理作用の解明や創薬研究を進展させることができるため、高選択的拮抗薬の創出は極めて価値がある。

第2節 インドリルピペリジン誘導体の創出

第1項 主骨格変換と構造活性相関

第1章で述べた通り、研究開始には、起点となる化合物が必要である。前節で述べたシクラゾシンやL-765,314はプラゾシンと同様、キナゾリンを主骨格とする化合物であるが、筆者は従来の α_1 受容体拮抗薬とは異なる構造での化合物創出を目指した。具体的には、文献情報からリスペリドン¹⁵⁾に注目した(図2-4)。

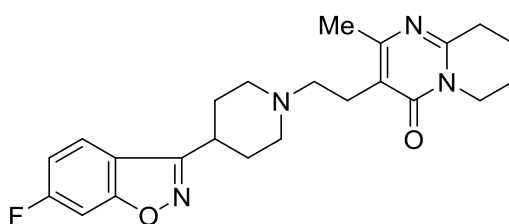


図2-4 リスペリドン

リスペリドンは D_2 受容体拮抗薬として知られているが、それだけではなく、 α_1 受容体にも高い親和性を有しており、 α_{1A} 受容体よりも α_{1B} 受容体に100倍親和性が高いとの報告¹⁶⁾がある。この情報から、筆者は、リスペリドンの部分構造を削除し、よりシンプルな構造の α_1 受容体リガンドを見出し、その化合物を起点化合物として、その後種々の構造変換を加えることを考えた。起点化合物の分子量が小さければ小さいほど、その後の官能基追加の余地が増すからである。リスペリドンの部分構造削除の考え方を図2-5に示す。

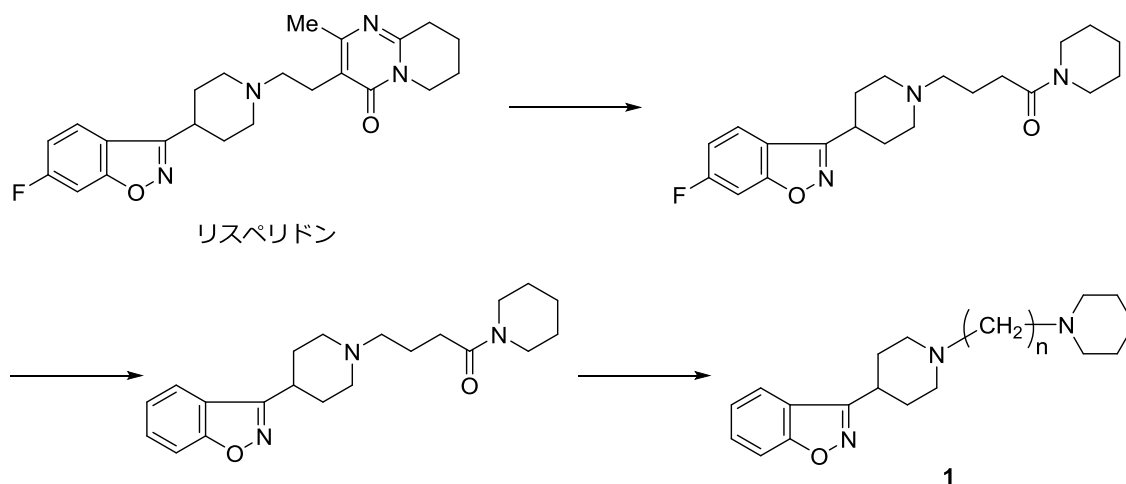


図 2-5 起点化合物 **1** の設計

まず、図 2-5 の考え方で設計したベンゾイソキサゾール誘導体 **1** について、合成原料が入手容易な $n = 3$ を選択し、 α_{1B} 受容体および α_{1A} 受容体親和性を確認することとした。これは、 α_{1A} 受容体に対する選択性を持たせることが最も難しいと考えたからである。合成は相当するピペリジン **2** のクロリド **3** による *N*-アルキル化を用い、生成物は 2 塩酸塩として単離・精製し、評価に用いた (図 2-6)。

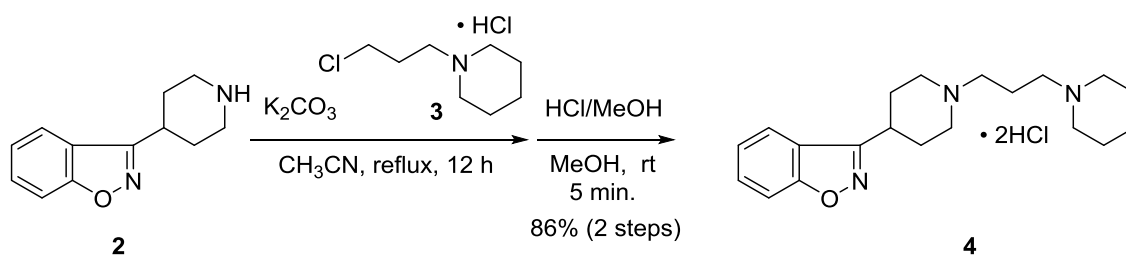


図 2-6 ベンゾイソキサゾール **4** の合成

受容体親和性の評価は、 α_{1B} 受容体についてはラット肝臓、 α_{1A} 受容体についてはラット顎下腺のホモジネートを用い、 $[^3\text{H}]$ プラゾシンを放射性リガンドとする競合拮抗実験から求めた結合解離定数 K_i を親和性の指標とした。解離定数が小さければ小さいほど、受容体親和性が高いことを意味する。

ベンゾイソキサゾール **4** の α_{1B} 受容体、 α_{1A} 受容体への K_i は、それぞれ 14 nM、57 nM と、 α_{1B} 受容体に対し中程度の親和性と、わずかながらの選択性を示した。このようなシンプルな構造でこのような結果が得られたことから、筆者はベンゾイソキサゾール **4** が起点化合物として十分なレベルであると考え、構造変換に着手した。

構造変換においては、ベンゾイソキサゾール **4** の構造を図 2-7 に示すように、主骨格部分と側鎖部分に分けて考え、有望な主骨格部を見出した後、側鎖を変換し、最後は置換基を最適化する戦略とした。主骨格をベンゾイソキサゾリルピペリジン部とした理由は、内因性リガンドであるアドレナリンやノルアドレナリンの基本構造がフェネチルアミンであり、アリール+アルキル+アミンと構成されているベンゾイソキサゾリルピペリジンがフェネチルアミンに相当すると考えたからである。

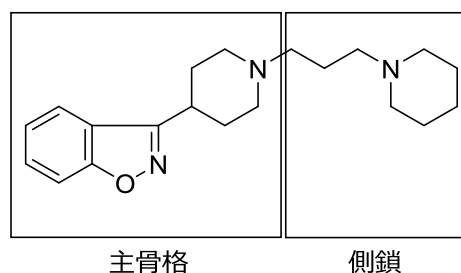


図 2-7 主骨格部と側鎖部

起点化合物の構造変換として、まず主骨格部を種々変換した。この部分は、上述したように、内因性リガンドのフェネチルアミンに相当すると考えたため、アリール+アルキルアミン（主としてピペリジン）という構造を基本とした。構造変換のポイントとしては、ヘテロ元素の種類、アリール部分と塩基性窒素の距離や空間的配置、配座の自由度などを変化させることである。合成については、ベンゾイソキサゾール **4** と同様、相当するアミンをクロリド **3** で *N*-アルキル化した。主骨格部を変換した化合物の合成について、次に具体例を示す（図 2-8~2-11）。いずれの化合物も、塩酸塩として単離・精製し、受容体結合実験を実施した。

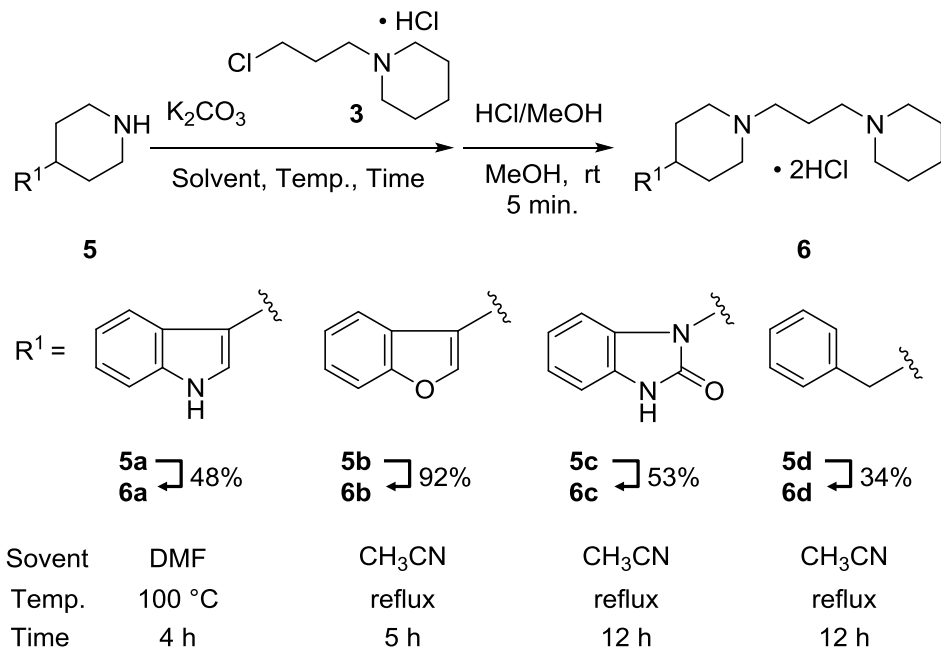


図 2-8 主骨格部芳香環の変換

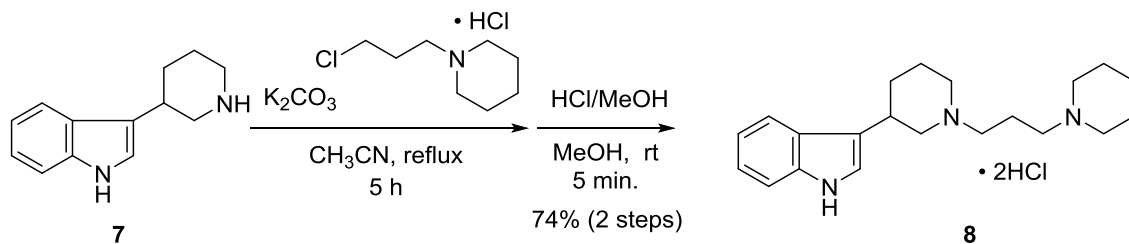


図 2-9 主骨格部の変換

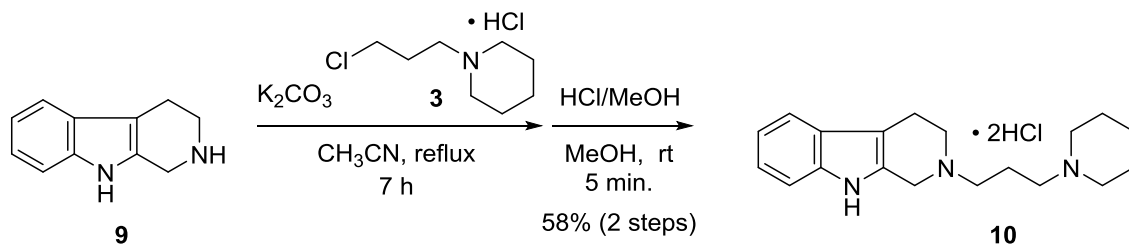


図 2-10 主骨格部の変換 2

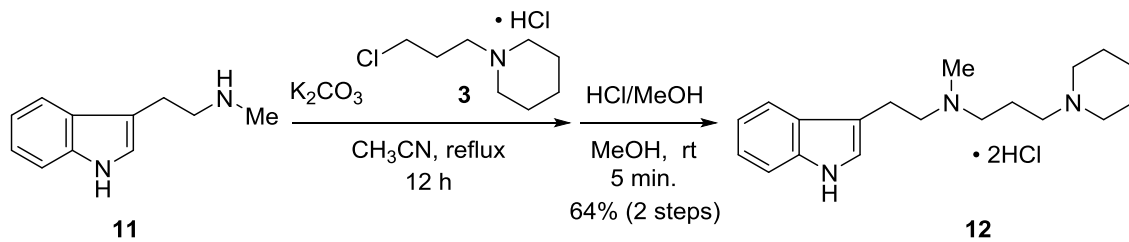


図 2-11 主骨格部の変換 3

合成した化合物のラット α_{1B} 受容体および α_{1A} 受容体に対する結合実験の結果を表 2-1 および表 2-2 に示す。表 2-1 は起点化合物 **4** のベンゾイソオキサゾール部を他の芳香環に変換した化合物を、表 2-2 は芳香環をインドールとした種々の化合物についてまとめたものである。

表 2-1 主骨格部変換における α_{1B} 受容体親和性・選択性

化合物 No.	R ²	受容体親和性: <i>K_i</i> (nM)		α_{1B} 選択性
		α_{1B}	α_{1A}	α_{1A}/α_{1B}
4		14	57	4.0
6a		3.0	120	40
6b		7.7	60	7.8
6c		70	900	13
6d		1,100	未測定	

表 2-1 から、インドール **6a** が α_{1B} 受容体親和性、選択性ともに起点化合物 **4** よりも向上していることがわかる。 α_{1B} 受容体親和性の *K_i* は一桁 nM と強力であり、 α_{1B} 受容体選択性も 40 倍となり、選択性良好と言えるレベルである。さらに、表 2-1 中の化合物をインドール **6a** と比較することで、以下が明らかとなった。

- ① 芳香環部とピペリジン窒素の位置がインドール **6a** とほぼ同じで、芳香環部分をベンゾフランに変換したベンゾフラン **6b** は、 α_{1B} 受容体への親和性は大きく変わらないもの

の、選択性が低下した。

- ② 2-オキソ型としたジヒドロベンゾイミダゾール-2-オン **6c** は α_{1B} 受容体への親和性、選択性ともに低下した。
- ③ インドールの 1 および 2 位を削除し、ピペリジン部の自由度を増したベンジル体 **6d** は α_{1B} 受容体への親和性が大きく低下した（そのため α_{1A} 受容体親和性は測定せず）。

これらのうち、①から、選択性発現にはインドール 1 位の水素結合が寄与していると推定できる。特にインドール窒素を酸素に替えることで選択性が低下していることから、この 1 位部分が水素ドナーとして働くことが α_{1B} 受容体との相互作用に有利（ α_{1B} 受容体との親和性向上）、あるいは水素アクセプターとして働くことが α_{1A} 受容体との相互作用に有利（ α_{1A} 受容体との親和性向上）に働くため、受容体選択性に影響が出たと思われる。

また、ジヒドロベンゾイミダゾール-2-オン **6c** では α_{1B} 受容体への親和性が 1/20 以下に低下した。仮説として、インドール 2 位に相当する部分の立体障害が、 α_{1B} 受容体との相互作用にとって不利に働いたことが考えられる。この仮説を検証するには、主骨格をインドール **6a** と同様のインドリルピペリジンで、2 位に置換基を導入する方法が考えられる。この置換基導入については、以降に検討することとした。

続いて、芳香環部分を α_{1B} 受容体親和性および選択性向上に有利に働いたインドールに固定し、塩基性窒素の空間配置、自由度などに違いを持たせたインドール誘導体の結果を表 2-2 に示す。

表 2-2 主骨格部変換における α_{1B} 受容体親和性・選択性 2

化合物 No.	R ²	受容体親和性: <i>K_i</i> (nM)		α_{1B} 選択性
		α_{1B}	α_{1A}	α_{1A}/α_{1B}
4		14	57	4.0
6a		3.0	120	40
8		110	1,500	14
10		320	2,600	8.1
12		91	2,200	24

結果を **6a** と比較すると、インドール部分に対し、ピペリジン窒素の位置を変えた **8** および **10** は、いずれも α_{1B} 受容体親和性が大きく低下し、選択性も低下した。また、ピペリジン構造をなくし、鎖状として、より塩基性窒素の自由度を増した **12** も α_{1B} 受容体親和性が大きく低下した。

いずれも **6a** よりも塩基性窒素の位置がややインドール部に近くなっており、インドール部と塩基性窒素のわずかの距離の違いが受容体親和性に影響を与えることが明らかとなった。

これら、表 2-1、2-2 の結果から、4-(3-インドリル)ピペリジンが、 α_{1B} 受容体との相互作用

用に極めて有用な主骨格部であることが確認できた。

次に、この結果を受け、インドール上の置換基効果について検討した。まず、化合物の合成について、図 2-12 に示す。

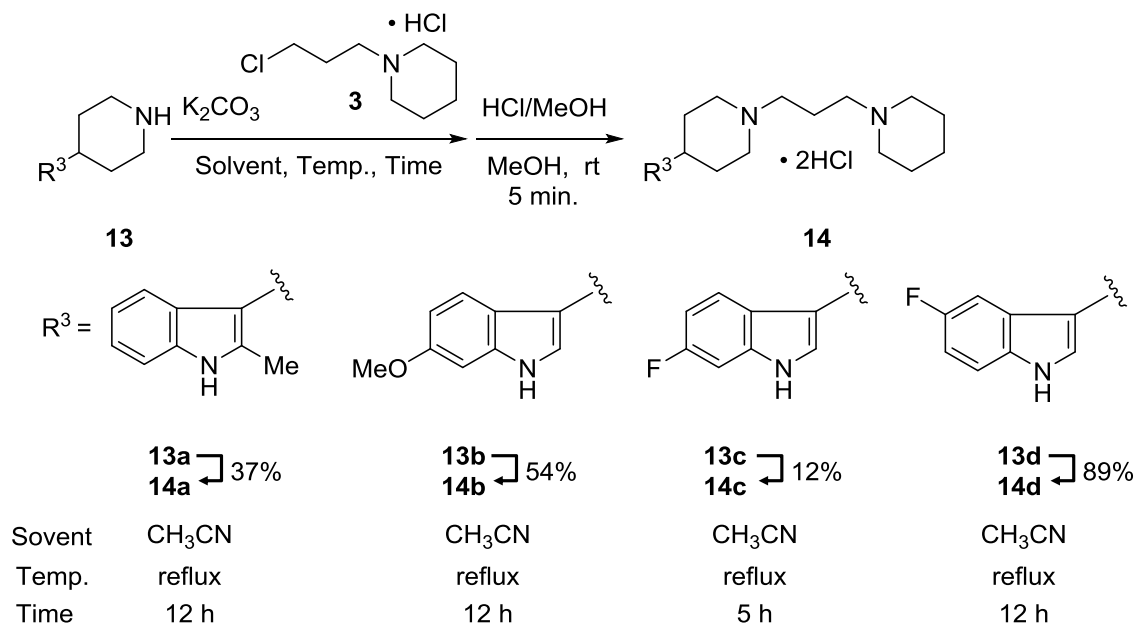


図 2-12 インドール置換基の変換

ここで、合成に必要な主骨格部については、次のように合成した (図 2-13)。

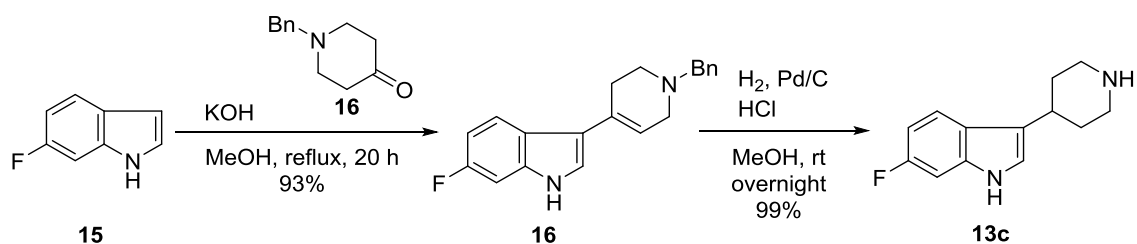


図 2-13 置換インドリルピペリジンの合成

これら合成した化合物のラット α_{1B} 受容体および α_{1A} 受容体に対する結合実験の結果を表 2-3 に示す。

表 2-3 インドール部の置換基効果

化合物 No.	R ²	受容体親和性 : K _i (nM)		α _{1B} 選択性
		α _{1B}	α _{1A}	α _{1A} /α _{1B}
6a		3.0	120	40
14a		71	1,900	27
14b		1,100	18,000	16
14c		0.63	21	33
14d		16	690	43

得られた結果を **6a** と比較することで、以下が明らかとなった。

- ① 今回導入した置換基のうち、インドール 6 位のフッ素のみが α_{1B} 受容体親和性を向上させた。
- ② 置換位置が同じものの、導入する置換基がフッ素かメトキシかの違いのみで、α_{1B} 受容体親和性は 1000 倍以上変化した (**14b** vs **14c**)。
- ③ 導入する置換基が同一 (フッ素) であっても、置換位置の違いで 20 倍以上 α_{1B} 受容体

親和性が変化した (**14c vs 14d**)。

表 2-1 に示した結果から、インドール 2 位に相当する部分の立体障害が、 α_{1B} 受容体との相互作用にとって不利に働いた (**6a vs 6d**) との仮説を述べた。表 2-3 の 2-メチル体 **14a** の結果も、この仮説に合致した結果である。すなわち、2-メチル体 **14a** は α_{1B} 受容体選択性の変化は少ないものの、親和性が低下しており、立体障害が両受容体との相互作用に不利に働いたと考えられる。

また、②の劇的な結果は、置換基効果のインパクトを示すものである (**14b vs 14c**)。メトキシ基はかさ高い電子供与基であるとともに水素結合アクセプターであり、一方フッ素はサイズが小さく、電気陰性度は非常に高い。また、水素アクセプターでもある。芳香環部分への電子的効果が大きく影響を与えているように思われるが、フッ素の置換位置を隣に移しただけでも 20 倍以上の α_{1B} 受容体親和性向上が認められていることから (**14c vs 14d**)、電子的効果に加え、受容体との水素結合も 6-フッ素体 **14c** の受容体親和性向上に寄与していると思われる。

第2項 側鎖変換と構造活性相関

本項では、主骨格部を 4-(3-インドリル)ピペリジンに固定し、側鎖部分を種々変換した。構造変換のポイントとしては、ピペリジン部分の環状構造、ヘテロ原子、ピペリジン窒素部の塩基性、末端環状構造部分と 4-(3-インドリル)ピペリジン間の距離などを変化させることである。化合物の合成は、これまで通り、相当するアルキルハライドによる *N*-アルキル化による方法、あるいは前駆体との *N*-アルキル化後に還元する方法を併用した。具体的合成例は以降に示す。

まず、導入する側鎖に対応するアルキルハライドは、ジハライドを用いた *N*-アルキル化により合成した。4 級化のおそれのある場合、相間移動触媒を用いた 2 層系でアルキル化し、続いて塩酸塩としてから濃縮する方法により、目的とするアルキルクロリドを塩酸塩として得た (図 2-14)。

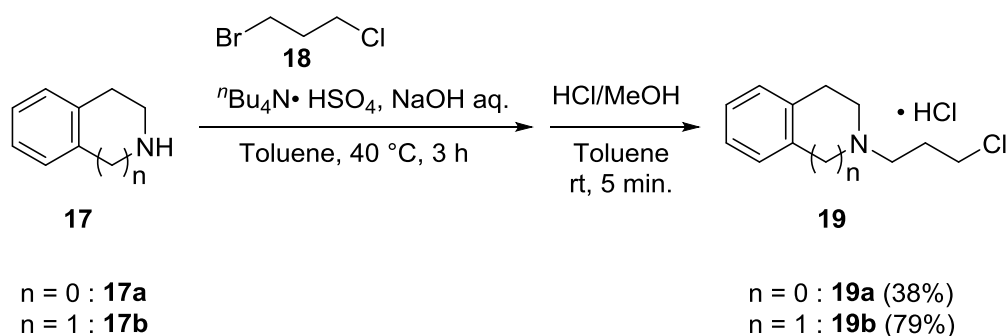


図 2-14 側鎖原料の合成

また、4 級化のおそれがない場合は DMSO 溶媒中、水酸化カリウムを塩基として用いる *N*-アルキル化により、目的とするアルキルクロリドを合成した (図 2-15)。

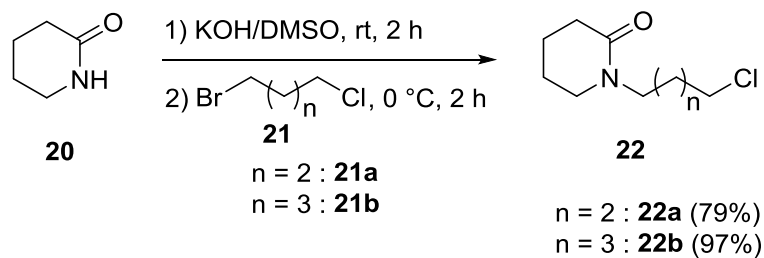


図 2-15 側鎖原料の合成 2

続いて、4-(3-インドリル)ピペリジンのN-アルキル化を行った (図 2-16、2-17)。

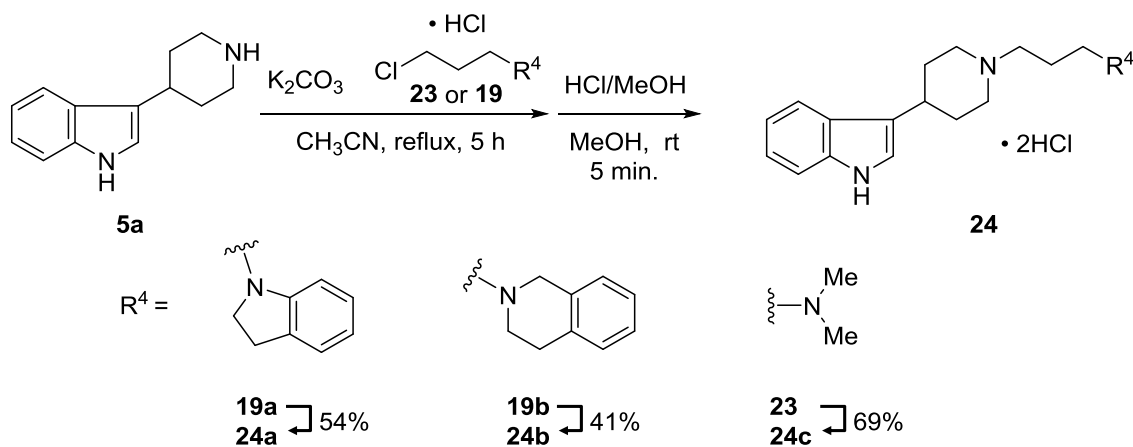


図 2-16 側鎖末端の変換

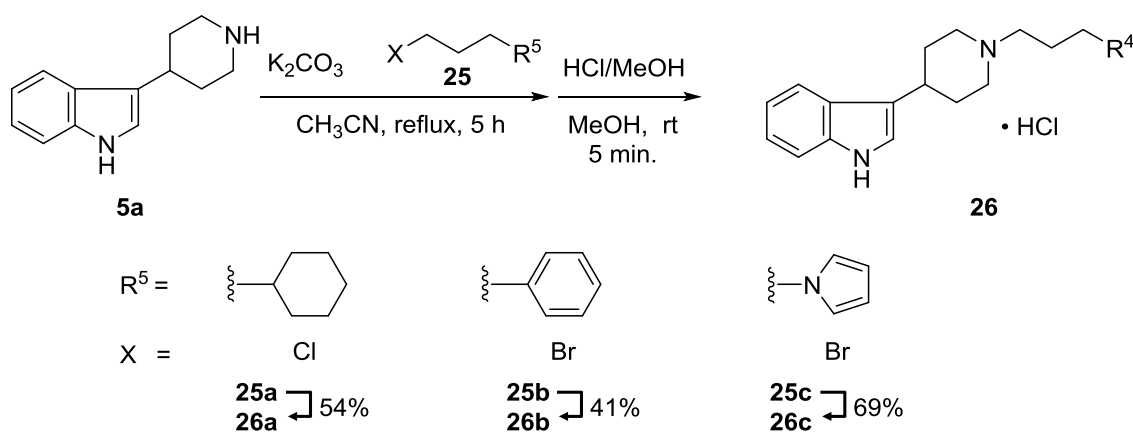


図 2-17 側鎖末端の変換 2

さらに、ピペリジン間の距離を変えた化合物は次のように合成した (図 2-18、2-19)。

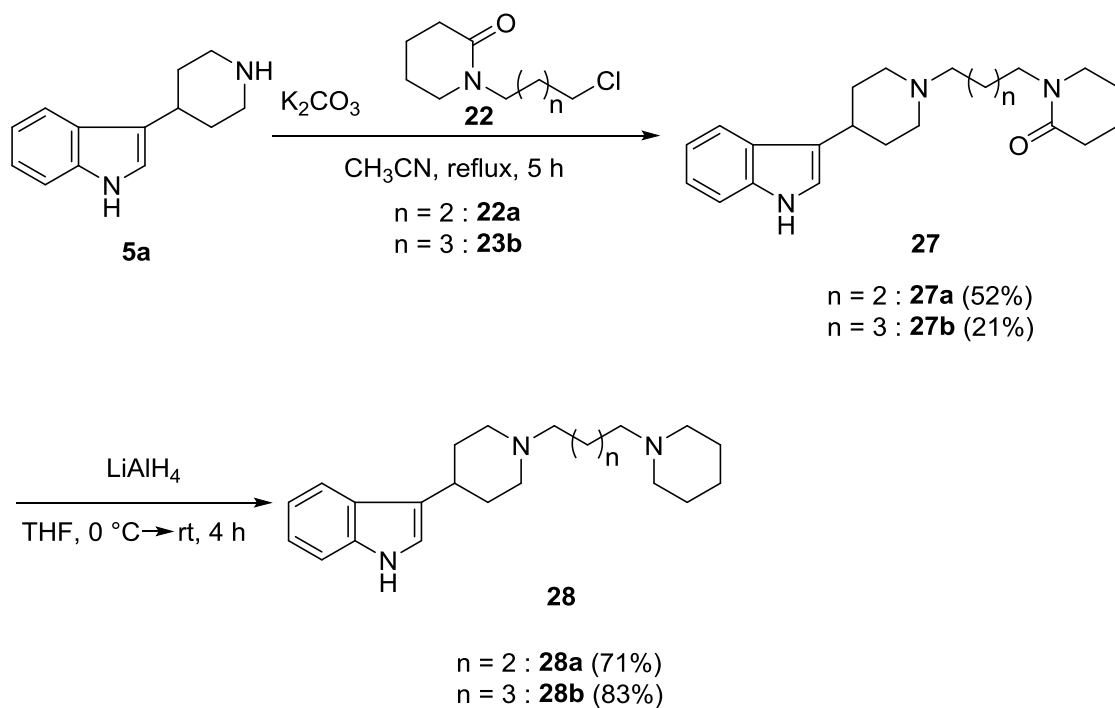


図 2-18 側鎖末端の変換 3

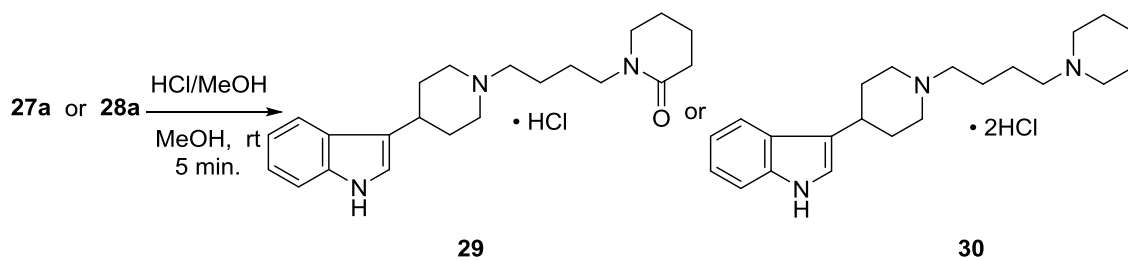


図 2-19 側鎖末端の変換 4

さらに末端ピペリジン部を他の含窒素環状構造に変換した化合物は次のように合成した(図 2-20、2-21)。

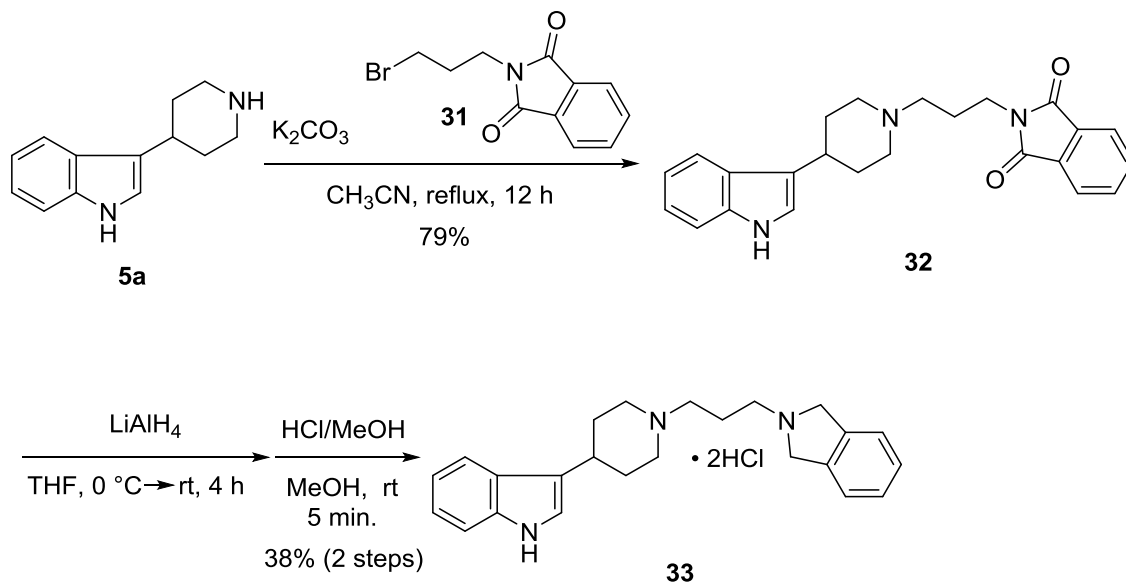


図 2-20 側鎖末端の変換 5

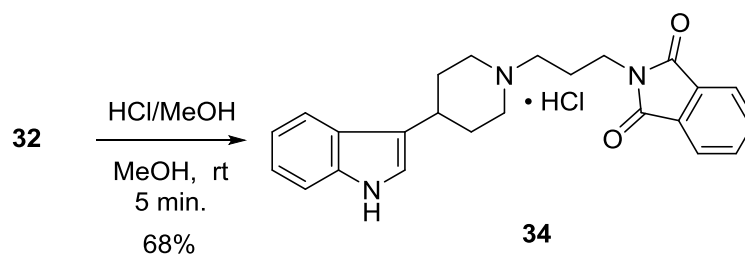


図 2-21 側鎖末端の変換 6

これら合成した化合物のラット α_{1B} 受容体および α_{1A} 受容体に対する結合実験の結果を表 2-4 および表 2-5 に示す。

まず、表 2-4 にインドール **6a** の末端ピペリジン部あるいはピペリジン間の鎖長を変化させた結果を示す。

表 2-4 側鎖末端部変換における α_{1B} 受容体親和性・選択性

化合物 No.	R ⁶	受容体親和性: <i>K_i</i> (nM)		α_{1B} 選択性
		α_{1B}	α_{1A}	α_{1A}/α_{1B}
6a		3.0	120	40
26a		47	140	3.0
26b		13	16	1.2
29		3.8	11	2.9
30		1.1	56	51
28b		1.5	57	38
24c		4.8	240	50
5a		440	3100	7.0

表 2-4 に示す結果から、以下が明らかとなった。

- ① 側鎖部を削除すると、両受容体への親和性は低下した。特に α_{1B} 受容体に対する親和性は 1/100 に低下した (**6a** vs **5a**)。
- ② 側鎖末端のピペリジンを、非環状構造のジメチルアミノに変換しても、影響はほとんど

認められなかった (**6a vs 24c**)。

- ③ ピペリジン間の鎖長を 3~5 に変化させても、影響はほとんど認められなかった (**6a vs 30、28b**)。
- ④ 側鎖末端のピペリジンを、シクロヘキシルまたはベンゼンに変換すると、 α_{1B} 受容体親和性が低下した (**6a vs 26a、26b**)。さらに、 α_{1B} 受容体選択性はほぼ消失した。
- ⑤ 側鎖末端のピペリジンを γ -バレロラクタムに変換すると、 α_{1B} 受容体親和性が変わらないものの、選択性はほぼ消失した (**6a vs 29**)。

これらの結果から、側鎖末端の環状構造やアルキル鎖長に比べ、塩基性窒素の有無が、化合物の α_{1B} 受容体選択性に極めて大きな影響を与えることが明らかとなった。**30、28b、29**においては、数十倍あった α_{1B} 受容体選択性がほぼ消失したが、インドール **6a** からの共通する変化は、側鎖末端ピペリジン部の塩基性窒素に相当する部分がないことである (アミド窒素は塩基性を示さない)。これは、側鎖末端の塩基性部分が、 α_{1B} 受容体との相互作用に寄与する、あるいは α_{1A} 受容体との相互作用に不利に働くことが考えられる。

そこで、側鎖末端構造と 4-(3-インドリル)ピペリジン間のアルキル鎖長は 3 に固定し、側鎖末端部分に窒素を持ちながらも、その塩基性が異なるような部分構造を導入した。結果を表 2-5 に示す。

表 2-5 部変換における α_{1B} 受容体親和性・選択性 2

化合物 No.	R ⁶	受容体親和性: <i>K_i</i> (nM)		α_{1B} 選択性
		α_{1B}	α_{1A}	α_{1A}/α_{1B}
6a		3.0	120	40
34		7.2	53	7.4
26c		11	86	7.8
24a		7.5	51	6.8
33		3.6	50	14
24b		2.1	130	62

表 2-5 に示す結果から、以下が明らかとなった。

- ① 化合物 **34**、**26c**、**24a** は強力な α_{1B} 受容体親和性は維持されるものの、 α_{1B} 受容体選択性はいずれも一桁であり、ほとんど選択性が認められなかった。
- ② 化合物 **33**、**24b** は *K_i* 一桁 nM の強力な α_{1B} 受容体親和性ととも、10 倍を超える α_{1B} 受容体選択性を示した。そのレベルは、インドール **6a** とほぼ同等であった。

これらの検討で、 α_{1B} 受容体選択性と側鎖末端の構造について興味深い結果が得られた。すなわち表 2-4 の **26a**、**26b** のように、側鎖末端部分に窒素の存在しない場合だけでなく、表 2-4 の **29** や表 2-5 の **34**、**26c** のように窒素原子が存在していても、その塩基性が失われている場合は α_{1B} 受容体選択性がほぼ消失した。さらにインドリン体 **24a** のように、塩基性窒素が存在してもアニリン型で塩基性が非常に低い場合も α_{1B} 受容体選択性がほぼ消失した。一方、側鎖末端部分中の窒素が生理的 pH で十分イオン化できる塩基性を示すようなイソインドリン体 **33** やイソキノリン体 **24b** の場合は二桁の α_{1B} 受容体選択性が維持された。

これは、側鎖末端部分の窒素が生理的 pH でプロトン化されることで、 α_{1B} 受容体選択性が生じると推定できる結果である。 α_{1A} 受容体と α_{1B} 受容体のアミノ酸配列を膜貫通領域で比較すると、両者はほとんど一致しているものの、119 番目のアミノ酸残基は α_{1A} 受容体がアスパラギン、 α_{1B} 受容体はアスパラギン酸である。あくまでも仮説であるが、 α_{1B} 受容体のアスパラギン酸部分が今回の化合物における側鎖末端のプロトン化された窒素とイオン-イオン相互作用している可能性が考えられる。このような構造活性相関は、従来報告されていないものである。

これまでの結果に基づき、以下の点を考慮し、 α_{1B} 受容体親和性・選択性が高いと予想できる化合物を合成した。

- ① 主骨格は 4-(3-インドリル)ピペリジンで、6 位にフッ素を導入する。
- ② 側鎖末端部分には、生理的 pH で確実にプロトン化される塩基性を有する窒素原子を含む構造とする。

側鎖末端部分として選択した構造は、イソインドリンとイソキノリンである。合成法を次に示す (図 2-22)。

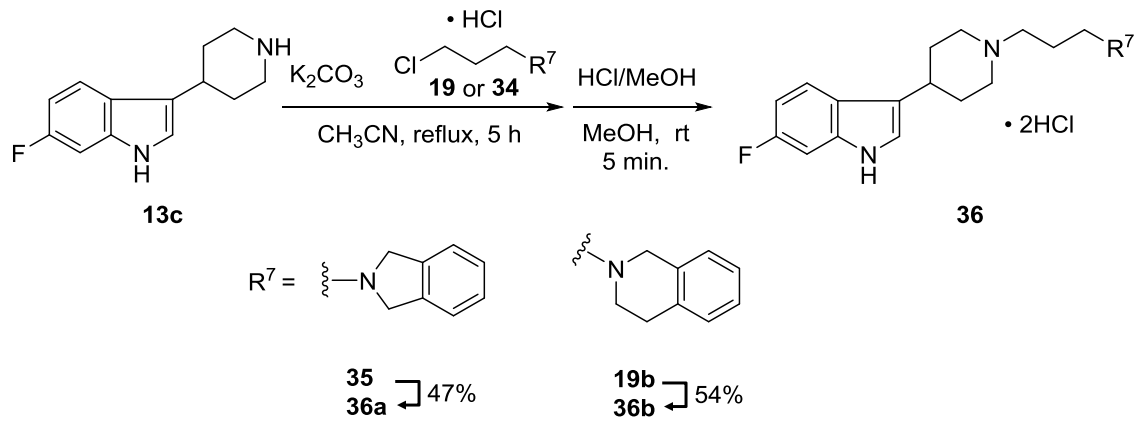


図 2-22 6-フッ素置換インドール誘導体での側鎖末端変換

これら 2 化合物とともに、やはり同様の主骨格部を有するピペリジン体 **14c** についてラットおよびヒト α_{1B} 受容体および α_{1A} 受容体の結合試験を実施した。ヒトに関しては、受容体発現細胞を用い、ラットと同様、放射性リガンドとして $[^3\text{H}]$ プラゾシンを使用した。結果を表 2-6 に示す。

表 2-6 フッ素置換体における α_{1B} 受容体親和性・選択性

化合物 No.	構造	受容体親和性: K_i (nM)		
		上段: ラット、下段: ヒト		α_{1B} 選択性
		α_{1B}	α_{1A}	α_{1A}/α_{1B}
14c		0.63	21	33
		3.4	350	103
36a		0.79	18	23
		0.69	39	57
36b		0.61	24	39
		0.49	28	57

これらの化合物は予想通り、いずれも α_{1B} 受容体への親和性・選択性が高かった。さらにラットよりもヒトの方が α_{1B} 受容体選択性が良好であった。続いてヒト α_{1B} 発現細胞を用い、細胞内 Ca^{2+} 濃度を指標に拮抗作用を検討したところ、**14c**、**36a**、**36b**いずれも拮抗作用を示した。ノルエピネフリン 1 μ M刺激時の IC_{50} 値は、それぞれ 380 nM、47 nM、569 nMであり、これらのなかでイソインドリン体 **36a** は強力な拮抗薬であることを確認した（非選択的 α_1 受容体拮抗薬であるプラゾシンの IC_{50} 値は 28 nMであった）。さらに **36a** のヒト α_{1D} 受容体親和性を評価したところ、 K_i は 47 nM であり、 α_{1B} 受容体へ約 70 倍選択的であった。この結果から、**36a** は α_{1B} 受容体親和性が高く、かつ、これまでにない α_{1D} 受容体選択性を有する拮抗薬であると確認できた。

さらに、この研究により、側鎖末端部に生理的 pH でイオン化するような塩基性を有する窒素の存在が、二桁以上の α_{1B} 受容体選択性を発揮するために必要であるとの新知見を得た。

α_{1A} 受容体と α_{1B} 受容体のアミノ酸配列を膜貫通領域で比較すると、両者はほとんど一致しているものの、119番目のアミノ酸残基は α_{1A} 受容体がアスパラギン、 α_{1B} 受容体はアスパラギン酸である。あくまでも仮説であるが、 α_{1B} 受容体のこのアスパラギン酸部分が今回の化合物において、側鎖末端のプロトン化された窒素との相互作用に寄与している可能性が考えられた。

第3節 受容体選択的拮抗薬の α_{1B} 受容体への反応

これまでの検討により、従来にない、 α_{1B} 受容体選択的拮抗薬を複数見出した。続いて、このオリジナルな化合物の α_{1B} 受容体への反応を検討した。具体的には、前節の誘導体のうち、代表的な1種について、 α_{1B} 受容体や α_{1B} 受容体を発現している組織への反応を検討した。代表となる化合物としては、結晶性が高く高純度かつ一定品質を保ちやすい、吸湿性が低い、などの利点を有すとともに、ラットでの α_{1B} 受容体選択性が50倍と高い、ジメチルアミン体**24c**を選択した(図2-23)。

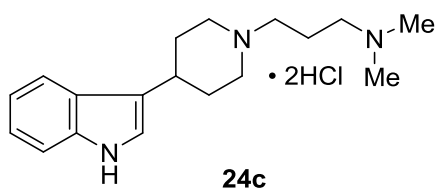


図2-23 化合物**24c**

最初に、ヒトリコンビナント α_{1B} 受容体発現細胞への反応を検討した。この実験では、遺伝子導入によりヒト α_{1B} 受容体を発現させた細胞を用い、作動薬であるノルアドレナリンの反応(細胞内 Ca^{2+} の上昇)に拮抗薬がどのような影響を与えるかを確認した(図2-24)。ここでは公知の α_{1B} 拮抗薬L-756,314も比較例として検討した。

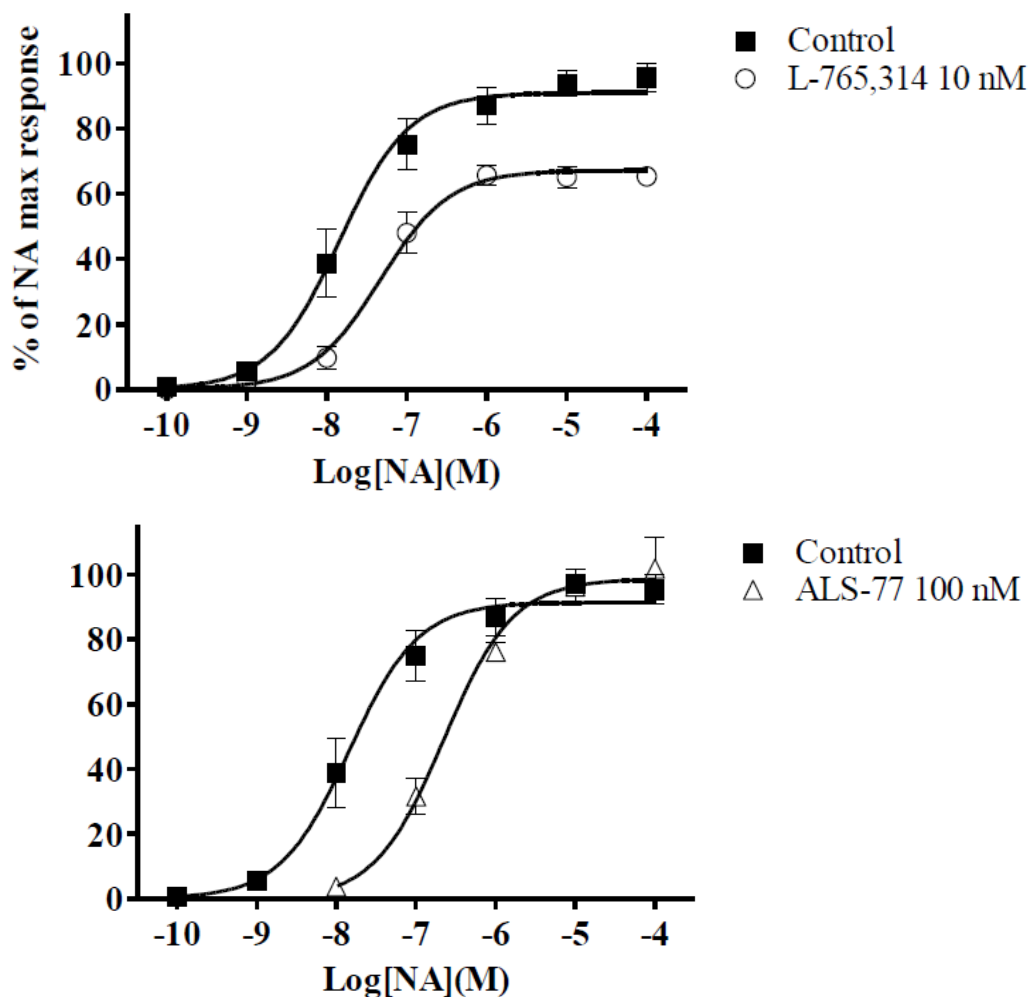


図 2-24 リコンビナント α_{1B} 受容体での濃度反応曲線

化合物 **24c** は 100 nM の濃度で、ノルアドレナリンの濃度反応曲線を高濃度側に平行移動させた。この結果は、ジメチルアミン体 **24c** が競合的 α_{1B} 受容体拮抗薬であることを示している。一方 L-765,314 は 10 nM の濃度で、単なる平行移動でなく、最大反応が低下した。これは insurmountable (拮抗薬が受容体から解離しにくい) な性質を持つためと推定でき、非競合拮抗型の反応である。受容体機能を確認するツールとしては、競合拮抗薬の方が解釈容易であり、この点でジメチルアミン体 **24c** は有用であると考えられる。以降は **24c** を用いた結果を示す。

次にラット肝臓を用いた実験を行った。ラットの肝臓に発現している α_1 受容体は α_{1B} 受容

体であることが知られており、本節での化合物探索においてもまずラット肝臓ホモジネート（均等質）を用いた評価を実施している。最近、ひとつの受容体が異なった条件下で、異なる反応を示すという興味深い結果が報告されており、化合物の受容体に対する反応が異なる例としては、ヒスタミン H₂ 受容体（モルモット海馬におけるスライス（切片） vs ホモジネート）¹⁷⁾、M₃ ムスカリン様アセチルコリン受容体（ラット大脳皮質におけるセグメント（断片） vs ホモジネート）^{18,19)}が挙げられる。

そこで、ラット肝臓を用い、セグメントとホモジネートという状態の違いでの α_{1B} 受容体に対する化合物の親和性を検討した。実験は、³H ラベルしたプラゾシンを化合物 **24c** で置換させる競合拮抗実験である。結果を図 2-25 に示す。

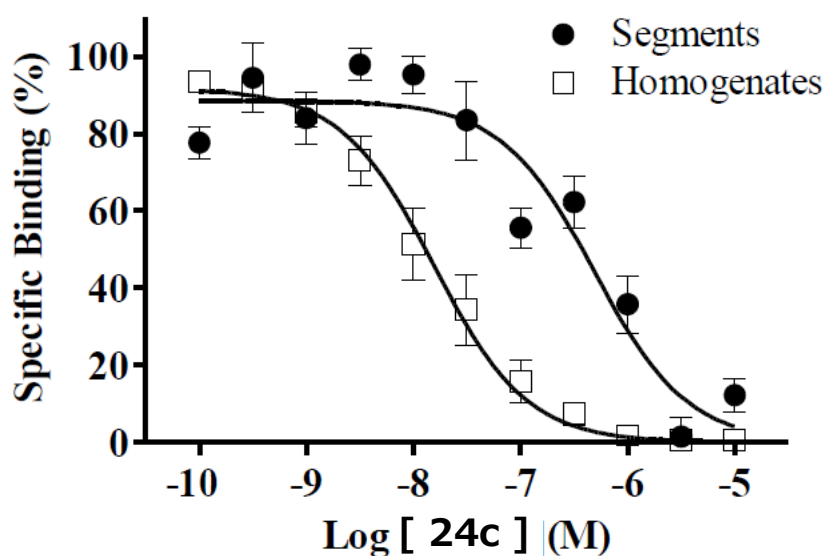


図 2-25 ラット肝臓 α_{1B} 受容体での親和性

24c はホモジネート、セグメント、いずれにおいても³H]プラゾシンを濃度上昇に伴い置換し、最後は完全に置換した。しかしながら、セグメントではホモジネートよりも 10 倍以上高濃度が必要であった。すなわち、H₂ 受容体や M₃ 受容体と同様、受容体の置かれた環境によって拮抗薬の反応が異なるという興味深い結果が得られた。

そこで、組織における反応をさらに確認するため、 α_{1B} 受容体が高発現している血管であるラット頸動脈を用い、フェニレフリン (α_1 受容体作動薬) 刺激による収縮反応に対する抑制作用を検討した。結果を図 2-26 に示す。

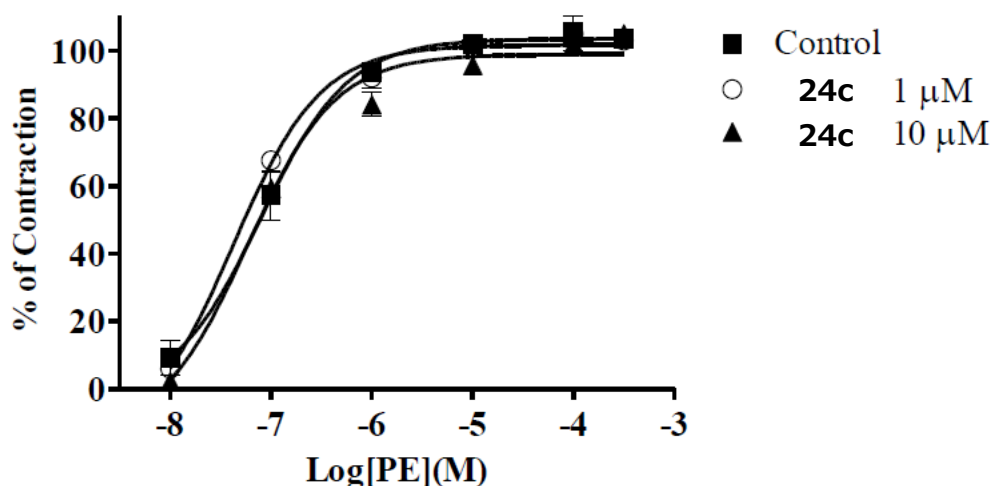


図 2-26 ラット頸動脈の収縮抑制反応

この実験で、驚くべきことに **24c** は収縮抑制作用がほとんど認められなかった。

これらの結果から、 α_{1B} 受容体はホモジネート、セグメントなどの環境の違いにより、拮抗薬の反応が異なること、筆者が創出したジメチルアミン体 **24c** はホモジネートという環境下では強力な α_{1B} 受容体拮抗薬であるにもかかわらず、セグメントではその作用が大きく減弱し、さらにラット頸動脈では拮抗薬として作用していないことが明らかとなった。

これは、受容体のフェノタイプ（表現型）が環境によって異なるということの証明となるだけでなく、医薬を目指した化合物創出の過程では、リコンビナントやホモジネートでの評価だけで *in vivo* 実験で作用を確認する化合物を選定しては危険であり、適切な組織での評価を組み込むことにより、病態で効果を発揮する医薬候補化合物を見出す確率が高まることを示したものである。

第4節 結論

本章では、既存化合物のほとんど知られていない、選択的アドレナリン α_{1B} 受容体拮抗薬の設計と合成、さらに構造活性相関について検討した。その結果は次の点にまとめられる。

- ① D_2 受容体拮抗薬であるとともに、 α_1 受容体、特に α_{1A} 受容体よりも α_{1B} 受容体に高い親和性を有すると報告されている既存化合物リスペリドンC1CN(C)CC1C2=CC=CC=C2C3=CC=CC=C3を、部分構造の削除により、シンプルな構造とした化合物 (3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピ)ピペリジン-4-イル)ベンゾ[d]イソキサゾール) は α_{1B} 受容体に対し中程度の親和性と、わずかながらの選択性を示し、研究の起点化合物として適当であることが分かった。
- ② 主骨格部の変換では、芳香環部分としてインドール構造が極めて有効であり、起点化合物のベンゾイソキサゾール部をインドールに変換するのみで、 α_{1B} 受容体への親和性と選択性、いずれも向上することが分かった。さらにインドール部の置換基効果を検討した結果、インドール 6 位にフッ素を導入することで、高い α_{1B} 受容体選択性を保ったまま、親和性が向上することが分かった。この効果は、フッ素の電子的な効果とともに、受容体と水素結合が関わると推定した。
- ③ α_{1B} 受容体への親和性と選択性にすぐれたインドール誘導体の側鎖部分の構造変換を種々検討した結果、側鎖末端部に生理的 pH でイオン化するような塩基性を有する窒素の存在が、二桁以上の α_{1B} 受容体選択性を発揮するために必要であるとの新知見を得た。 α_{1A} 受容体と α_{1B} 受容体のアミノ酸配列を膜貫通領域で比較し、あくまでも仮説であるが、 α_{1B} 受容体の 119 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸部分が今回の化合物において、側鎖末端のプロトン化された窒素とのイオン-イオン相互作用に寄与している可能性が考えられた (α_{1A} 受容体の 119 番目のアミノ酸残基はアスパラギンである)。
- ④ 種々の構造変換から得られた主骨格および側鎖構造の構造活性相関情報をもとに、 α_{1B} 受容体への高親和性、高選択性が期待できる化合物 3 種を合成し、評価したところ、いずれも期待通りの結果が得られ、ヒト α_{1B} 受容体に対しても高い親和性・選択性を示した。さ

らに、いずれも作動薬による細胞内 Ca^{2+} 上昇を抑制する作用があることから、 α_{1B} 受容体拮抗薬であることが分かった。代表的化合物は、ヒト α_{1D} 受容体に対し、既存化合物よりも α_{1B} 受容体選択的であり、今回設計・合成した新規なインドール誘導体は既存化合物を上回る α_{1B} 受容体選択的拮抗薬であると分かった。

- ⑤ 創出した α_{1B} 受容体選択的拮抗薬は組織のセグメントよりもホモジネートの方が、 α_{1B} 受容体への親和性が強力であった。これは α_{1B} 受容体が置かれている環境で、受容体の反応が異なるということであり、受容体のフェノタイプ（表現型）が環境によって異なるということの証明となった。

本章で得られた結果から、以下の結論が得られる。

4-(3-インドリル)ピペリジンはアドレナリン α_{1B} 受容体選択的拮抗薬の主骨格部分として有用であり、この主骨格に α_{1B} 受容体選択性を向上させるために有用な塩基性窒素を有する側鎖部分、受容体親和性を向上させるために有用なインドール6位のフッ素置換を組み合わせることで、強力かつ高選択的なアドレナリン α_{1B} 受容体選択的拮抗薬が得られることが分かった。さらに、本章で得られた構造活性相関から、これまでほとんど知られていなかったアドレナリン α_{1B} 受容体選択的リガンドの設計のために有用な知見を提示することができた。これは、アドレナリン α_{1B} 受容体の機能解明のための強力なツールを提供することにつながり、今後、アドレナリン α_{1B} 受容体の分布や挙動、本受容体を介した生理反応などの研究が発展するものと期待できる。

さらに創出した α_{1B} 受容体選択的拮抗薬を用い、 α_{1B} 受容体のフェノタイプ（表現型）が環境によって異なることを明らかにした。この結果より、 α_{1B} 受容体を標的分子とする創薬においては、組織での評価をスクリーニングカスケードに組み込むことの重要性を示すことができた。この知見は、病態で、求める反応を発揮する化合物を見出す確率を高めるために極めて重要であり、今後の創薬研究に寄与するものである。

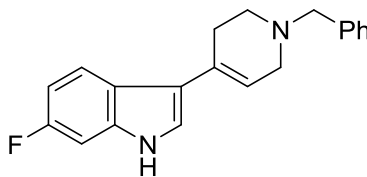
第5節 実験

^1H NMR スペクトル (300MHz) は、核磁気共鳴装置 (Varian 2000) を用いて測定し、ケミカルシフトはテトラメチルシラン (TMS) を基準として δ (単位 : ppm) で示した。なお、塩酸塩でピークがブロード化する場合は、フリー体に変換して ^1H NMR スペクトルを測定した。赤外吸収スペクトルは、日本分光製 FT/IR-500 を用いて薄膜法または KBr 法で測定した。質量分析、元素分析は、株式会社東レリサーチセンターに測定を依頼した。

融点は、Yanako MP500D を用いて測定した。

無水溶媒は関東化学製の有機合成用脱水溶媒を使用し、その他の溶媒、および試薬に関しては特に断りのない限り市販の特級試薬をそのまま使い、反応はアルゴン雰囲気で行った。

3-(1-ベンジル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン-4-イル)-6-フルオロ-1*H*-インドール (16)



16

85% 水酸化カリウム (6.3 g, 96 mmol) のメタノール (50 mL) 溶液に、6-フルオロインドール (3.9 g, 29 mmol)、1-ベンジル-4-ピペリドン (6.0 g, 32 mmol) を加え、20 時間加熱還流した。反応混合物を室温まで冷却した後、析出した固体を濾過し、メタノール/水=2/1 (100 mL) で洗浄後、50 °C で 10 時間乾燥させると、表題化合物 (8.2 g, 収率 93%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 2.54–2.62 (2H, m), 2.74 (2H, t, $J = 5.8$ Hz), 3.24 (2H, dd, $J = 2.5, 5.8$ Hz), 3.66 (2H, s), 6.14–6.19 (1H, m), 6.90 (1H, ddd, $J = 2.2, 8.8, 9.3$ Hz), 7.03 (1H, dd, $J = 2.2, 9.3$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 7.27–7.43 (5H, m), 7.79 (1H, dd, $J = 5.2, 8.8$ Hz), 8.00–8.15 (1H, brs)

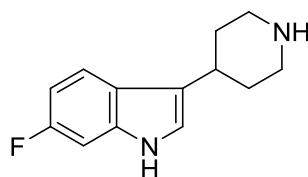
MS (EI) : m/z 306 [M]⁺

IR (KBr) cm^{-1}

2818, 1623, 1532, 1458, 1341, 1302, 1232, 1116, 955, 804, 700

mp 160 °C (分解)

6-フルオロ-3-(ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール (**13c**)



13c

16 (3.0 g, 10 mmol) のメタノール (190 mL) 溶液に、2.9 M 塩酸/メタノール (5.0 mL)、5% パラジウム/カーボン (0.60 g) を加えた後、水素置換し、一晩室温で攪拌した。反応混合物をセライトで濾過した後、濾液を濃縮し、続いて水酸化ナトリウム水溶液を pH = 12 になるまで加え、クロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮し、得られた粗生成物をメタノール/ジエチルエーテルから再沈殿すると、表題化合物 (2.2 g, 収率 99%) が白色結晶性粉末として得られた。

¹H NMR (CD₃OD)

δ 1.85–2.04 (2H, m), 2.20–2.30 (2H, br), 3.10–3.30 (3H, m), 3.45–3.55 (2H, br), 6.80 (1H, ddd, $J = 2.4, 8.8, 9.8$ Hz), 7.04 (1H, dd, $J = 2.4, 9.8$ Hz), 7.08 (1H, d, $J = 0.8$ Hz), 7.56 (1H, dd, $J = 5.2, 8.8$ Hz)

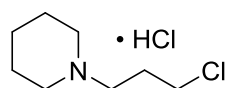
MS (EI) : m/z 218 [M]⁺

IR (KBr) cm^{-1}

3291, 2826, 1625, 1548, 1461, 1341, 1271, 1156, 1105, 1011, 951, 795

mp 214 °C

1-(3-クロロプロピル)ピペリジン塩酸塩 (3)



3

ピペリジン (0.45 g, 5.3 mmol)、1-ブromo-3-クロロプロパン (5.2 g, 33 mmol) のトルエン (17.5 mL) 溶液に、硫酸水素テトラ *n*-ブチルアンモニウム (0.51 g, 1.5 mmol) と 25% 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) を加え、40 °C で 3 時間攪拌した。反応溶液を室温に冷却し、トルエン層を分離した後飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾別後、濾液に塩化水素/メタノール (2 mL) を加えて濃縮した。得られた粗結晶をメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (0.96 g, 収率 91%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 1.34–1.52 (1H, m), 1.81–1.99 (3H, m), 2.22–2.41 (2H, m), 2.43–2.54 (2H, m),
2.59–2.74 (2H, m), 3.06–3.16 (2H, m), 3.50–3.61 (2H, br), 3.68 (2H, t, $J = 5.8$
Hz)

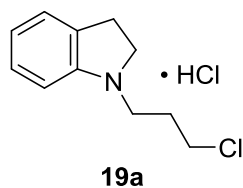
MS (FAB) : m/z 162 $[\text{M}+\text{H}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

2950, 2699, 2643, 2544, 2526, 1457, 1389, 1312, 1288, 1225, 1156, 1079, 1013,
971, 955, 797, 651, 585

mp 218–223 °C

1-(3-クロロプロピル)インドリン塩酸塩 (**19a**)



インドリン (1.8 g, 15 mmol)、1-ブromo-3-クロロプロパン (14.7 g, 93 mmol) のトルエン (50 mL) 溶液に、硫酸水素テトラ *n*-ブチルアンモニウム (1.4 g, 4.2 mmol) と 25% 酸化ナトリウム水溶液 (30 mL) を加え、40 °C で 3 時間攪拌した。反応溶液を室温に冷却し、トルエン層を分離した後飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾別後、濾液に塩化水素/メタノール (6 mL) を加えて濃縮した。得られた粗結晶をメタノール/ジエチルエーテルから再結晶し、表題化合物 (1.3 g, 収率 38%) を白色結晶として得た。

¹H NMR (CDCl₃) フリー体

δ 2.07 (2H, tt, *J* = 6.6, 6.6 Hz), 2.97 (2H, t, *J* = 8.2 Hz), 3.24 (2H, t, *J* = 6.6 Hz), 3.35 (2H, t, *J* = 8.2 Hz), 3.68 (2H, t, *J* = 6.6 Hz), 6.51 (1H, d, *J* = 7.4 Hz), 6.66 (1H, dt, *J* = 0.8, 7.4 Hz), 7.04–7.11 (2H, m)

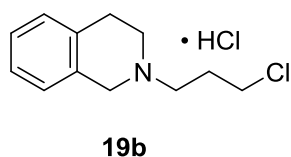
MS (FAB) : *m/z* 196 [M+H]⁺

IR (KBr) cm⁻¹

2860, 2437, 2400, 2234, 1485, 1461, 1406, 1098, 754, 733, 604, 542

mp 152–154 °C

2-(3-クロロプロピル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン塩酸塩 (**19b**)



1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン (2.0 g, 15 mmol)、1-ブromo-3-クロロプロパン

(14.7 g, 93 mmol) のトルエン (50 mL) 溶液に、硫酸水素テトラ *n*-ブチルアンモニウム (1.4 g, 4.2 mmol) と 25% 水酸化ナトリウム水溶液 (30 mL) を加え、40 °C で 3 時間攪拌した。反応溶液を室温に冷却し、トルエン層を分離した後飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。硫酸ナトリウムを濾別後、濾液に塩化水素/メタノール (6 mL) を加えて濃縮した。得られた粗結晶をメタノール/ジエチルエーテルから再結晶し、表題化合物 (2.9 g, 収率 79%) を白色結晶として得た。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 2.06 (2H, tt, $J = 6.6, 6.6$ Hz), 2.66 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 2.74 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 2.90 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.64 (2H, s), 3.65 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 6.99–7.05 (1H, m), 7.06–7.16 (3H, m)

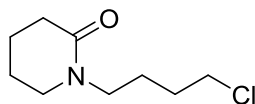
MS (FAB) : m/z 210 $[\text{M}+\text{H}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

2917, 2663, 2573, 2477, 2411, 1498, 1454, 1425, 1332, 1271, 1050, 916, 820, 755, 657

mp 188–189 °C

1-(4-クロロブチル)ピペリジン-2-オン (**22a**)



22a

85% 粉末状水酸化カリウム (3.7 g, 56 mmol) の DMSO (15 mL) 懸濁液に、室温で δ -バレロラクタム (1.4 g, 14 mmol) の DMSO (5 mL) 溶液、続いて水冷下 1-ブロモ-4-クロロブタン (4.8 g, 28 mmol) を滴下した。室温で 2 時間攪拌した後、反応混合物を水 (40 mL) にあけ、クロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液: 酢酸エチル) で精製すると、

表題化合物 (2.1 g, 収率 79%) が無色油状物として得られた。

^1H NMR (CDCl_3)

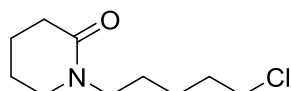
δ 1.64–1.86 (8H, m), 2.34–2.42 (2H, m), 3.24–3.31 (2H, m), 3.40 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.58 (2H, t, $J = 6.3$ Hz)

MS (EI) : m/z 189 $[\text{M}]^+$

IR (neat) cm^{-1}

2943, 2867, 1637, 1494, 1447, 1418, 1352, 1328, 1301, 1232, 1169, 1146

1-(5-クロロペンチル)ピペリジン-2-オン (**22b**)



22b

85% 粉末状水酸化カリウム (3.7 g, 56 mmol) の DMSO (15 mL) 懸濁液に、室温で δ -バレロラクタム (1.4 g, 14 mmol) の DMSO (5 mL) 溶液、続いて水冷下 1-ブromo-5-クロロペンタン (5.2 g, 28 mmol) を滴下した。室温で 2 時間攪拌した後、反応混合物を水 (40 mL) にあけ、クロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液: 酢酸エチル) で精製すると、表題化合物 (2.8 g, 収率 97%) が無色油状物として得られた。

^1H NMR (CDCl_3)

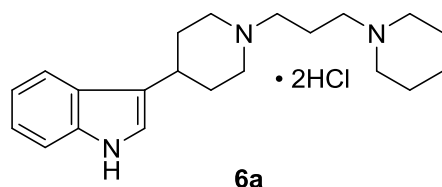
δ 1.38–1.64 (4H, m), 1.72–1.87 (6H, m), 2.32–2.42 (2H, m), 3.23–3.31 (2H, m), 3.36 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.54 (2H, t, $J = 6.6$ Hz)

MS (EI) : m/z 203 $[\text{M}]^+$

IR (neat) cm^{-1}

2938, 2862, 1637, 1494, 1465, 1447, 1418, 1352, 1329, 1299, 1265, 1220, 1169

3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩 (**6a**)



4-(3-インドリル)ピペリジン(2.0 g, 10 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩(2.2 g, 11 mmol) の DMF (60 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (5.5 g, 40 mmol) を加え、100 °C で 4 時間攪拌した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (50 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : クロロホルム) で精製し、さらに酢酸エチルから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (1.5 g, 収率 59 %) が白色結晶として得られた。フリー体 (1.3 g) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (1.3 g) が白色結晶として得られた。

¹H NMR (CDCl₃) フリー体

δ 1.43–1.47 (2H, m), 1.56–1.63 (4H, m), 1.71–1.89 (4H, m), 2.04–2.16 (4H, m),
2.31–2.40 (8H, m), 2.83 (1H, tt, *J* = 3.6, 11.9 Hz), 3.04–3.08 (2H, br), 6.97 (1H,
d, *J* = 1.6 Hz), 7.07–7.21 (2H, m), 7.35 (1H, dd, *J* = 0.8, 7.9 Hz), 7.65 (1H, dd, *J*
= 0.8, 7.9 Hz), 7.98–8.12 (1H, brs)

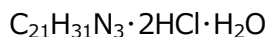
MS (FAB) : *m/z* 326 [M+H]⁺

IR (KBr) cm⁻¹

3496, 3303, 2934, 2688, 2553, 1638, 1459, 1425, 1232, 1015, 945, 741, 546

mp 227 °C (分解)

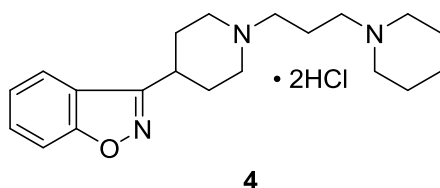
元素分析



計算値 : C 62.60, H 8.38, N 10.43, Cl 17.60

測定値 : C 62.52, H 8.29, N 10.32, Cl 17.37

3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)ベンゾ[d]イソオキサゾール塩酸塩 (4)



4-(3-ベンゾイソオキサゾリル)ピペリジン (191 mg, 0.80 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩 (222 mg, 1.1 mmol) のアセトニトリル (50 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (366 mg, 2.6 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : *n*-ヘキサン/酢酸エチル = 3/1) で精製すると、表題化合物のフリー体 (236 mg) が微黄色粘稠物として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (277 mg, 収率 86%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.44–1.47 (2H, m), 1.56–1.63 (4H, m), 1.70–1.80 (2H, m), 2.07–2.19 (6H, m),
2.31–2.44 (8H, m), 3.05–3.13 (3H, m), 7.26–7.31 (1H, m), 7.50–7.59 (2H, m),
7.76 (1H, dt, $J = 1.1, 6.8$ Hz)

MS (EI) : 327 $[\text{M}]^+$

IR (neat) cm^{-1} フリー体

2938, 2808, 2770, 2311, 1518, 1470, 1441, 1377, 1344, 1315, 1241, 1154, 1127

mp 234 °C (分解)

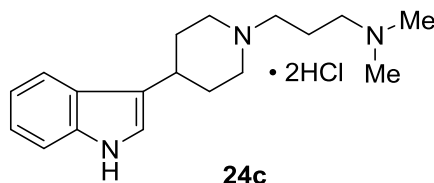
元素分析

$\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O} \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 57.41, H 7.95, N 10.04, Cl 16.95

測定値 : C 57.33, H 7.78, N 10.06, Cl 16.96

3-(4-(1*H*-インドール-3-イル)ピペリジン-1-イル)-*N,N*-ジメチルプロパン-1-アミン・2 塩酸塩 (24c)



4-(3-インドリル)ピペリジン (1.0 g, 5.0 mmol)、96% 3-ジメチルアミノプロピルクロリド・塩酸塩 (0.91 g, 5.5 mmol) のアセトニトリル (50 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (2.07 g, 15 mmol)、ヨウ化ナトリウム (0.82 g, 5.5 mmol) を加え、5 時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (40 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : 酢酸エチル) で精製すると、表題化合物のフリー体 (1.2 g) が微赤色結晶として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (1.2 g, 収率 69%) が微黄色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.69–1.89 (4H, m), 2.01–2.08 (4H, m), 2.12–2.18 (6H, m), 2.32 (2H, t, $J = 7.4$)

H_z), 2.39–2.46 (2H, m), 2.84 (1H, tt, *J* = 3.6, 11.8 Hz), 3.05–3.09 (2H, br), 6.97 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 7.09 (1H, dt, *J* = 1.1, 7.1 Hz), 7.18 (1H, dt, *J* = 1.1, 7.1 Hz), 7.35 (1H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.65 (1H, d, *J* = 7.1 Hz), 8.35–8.53 (1H, brs)

MS (EI) : *m/z* 285 [M]⁺

IR (neat) cm⁻¹ フリー体

3418, 3146, 3012, 2930, 2778, 1458, 1377, 1342, 1249, 1222, 1116

mp 240 °C (分解)

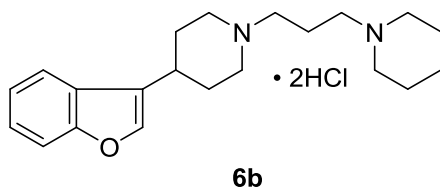
元素分析

C₁₈H₂₇N₃·2HCl

計算値 : C 60.33, H 8.16, N 11.73, Cl 19.79

測定値 : C 60.02, H 8.08, N 11.45, Cl 19.76

4-(ベンゾフラン-3-イル)-1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン・2 塩酸塩 (**6b**)



3-(3-ベンゾフランニル)ピペリジン (152 mg, 0.64 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩 (178 mg, 0.90 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (265 mg, 1.9 mmol)、ヨウ化ナトリウム (135 mg, 0.90 mmol) を加え、5 時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : クロロホルム/メタノール = 20/1) で精製すると、表題化合物のフリー体 (238 mg) が無色粘稠物として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続

いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (235 mg, 収率 92%) が白色結晶として得られた。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) フリー体

δ 1.44–1.47 (2H, m), 1.60–1.63 (4H, m), 1.70–1.88 (4H, m), 2.03–2.14 (4H, m), 2.31–2.42 (8H, m), 2.73 (1H, tt, $J = 3.6, 11.9$ Hz), 3.04–3.08 (2H, br), 7.20 (3H, dt, $J = 1.1, 7.3$ Hz), 7.38 (1H, s), 7.46 (1H, d, $J = 7.3$ Hz), 7.61 (1H, d, $J = 7.3$ Hz)

MS (EI) : m/z 326 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3463, 2951, 2543, 1455, 1251, 1185, 1102, 1016, 987, 956, 857, 741

mp 267–275 °C

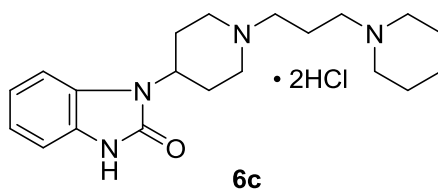
元素分析

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O} \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 62.59, H 8.10, N 6.95, Cl 17.59

測定値 : C 62.61, H 7.94, N 7.01, Cl 17.65

1-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1,3-ジヒドロ-2*H*-ベンゾ[*d*]イミダゾール-2-オン・2 塩酸塩 (**6c**)



98% 4-(1-(2-ケト)ベンズイミダゾリニル)ピペリジン (100 mg, 0.45 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩 (124 mg, 0.62 mmol) のアセトニトリル (30 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (205 mg, 1.5 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリ

シア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液：酢酸エチル) で精製すると、表題化合物のフリー体 (107 mg) が無色アモルファスとして得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (100 mg, 収率 53%) が白色結晶として得られた。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) フリー体

δ 1.44–1.46 (2H, m), 1.57–1.64 (4H, m), 1.70–1.84 (4H, m), 2.10–2.17 (2H, m), 2.34–2.54 (10H, m), 3.08–3.12 (2H, br), 4.39 (1H, tt, $J = 4.1, 12.6$ Hz), 6.99–7.14 (3H, m), 7.25–7.31 (1H, m), 10.70–10.83 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 342 [M] $^+$

IR (neat) cm^{-1} フリー体

3148, 2938, 2812, 2774, 1694, 1487, 1377, 1274, 1259, 1216, 1156, 1094

mp 224 °C (分解)

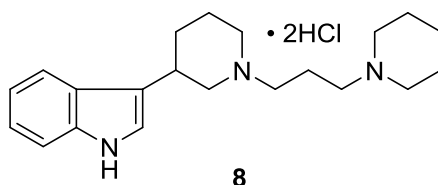
元素分析

$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O} \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.4\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 56.84, H 7.82, N 13.26, Cl 16.78

測定値 : C 56.79, H 7.79, N 13.02, Cl 16.73

3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-3-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩 (**8**)



3-(3-インドリル)ピペリジン (104 mg, 0.44 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩 (122 mg, 0.62 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (182 mg, 1.3 mmol)、ヨウ化ナトリウム (93 mg, 0.62 mmol) を加え、5 時間加熱還流した。析

出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : クロロホルム) で精製すると、表題化合物のフリー体 (125 mg) が淡黄色粘稠物として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いて凍結乾燥すると、表題化合物 (129 mg, 収率 74%) が白色アモルファスとして得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.51–1.63 (8H, m), 1.71–1.83 (6H, m), 2.00–2.11 (3H, m), 2.31–2.41 (7H, m),
2.98–3.01 (1H, br), 3.13–3.23 (2H, m), 7.00 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 7.15 (2H, dt, $J =$
1.1, 7.0 Hz), 7.35 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 7.68 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 7.92–8.07 (1H,
brs)

MS (EI) : m/z 325 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3434, 2974, 2679, 1626, 1457, 1339, 1229, 1102, 1009, 945, 752

mp 245 °C (分解)

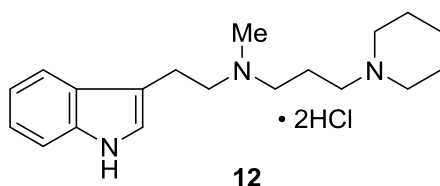
元素分析

$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{N}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 1.3\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 59.79, H 8.51, N 9.96, Cl 16.81

測定値 : C 59.81, H 8.52, N 9.97, Cl 16.78

N-(2-(1*H*-インドール-3-イル)エチル)-*N*-メチル-3-(ピペリジン-1-イル)プロパン-1-アミン・
2 塩酸塩 (12)



3-(2-メチルアミノエチル)インドール (123 mg, 0.70 mmol)、1-(3-クロロプロピル) ピペリジン・塩酸塩 (194mg, 0.96 mmol) のアセトニトリル (50 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (320 mg, 2.3 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液：*n*-ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で精製すると、表題化合物のフリー体 (166 mg) が微黄色粘稠物として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再沈殿すると、表題化合物 (167 mg, 収率 64%) が微黄色結晶性粉末として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.43–1.46 (2H, m), 1.55–1.62 (4H, m), 1.68–1.78 (2H, m), 2.30–2.38 (9H, m),
2.46 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), 2.68–2.73 (2H, m), 2.91–2.96 (2H, m), 6.97 (1H, d, $J =$
2.2 Hz), 7.08–7.20 (2H, m), 7.32 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.60 (1H, dt, $J = 7.7$ Hz),
8.35–8.50 (1H, brs)

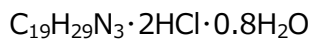
MS (EI) : m/z 299 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3487, 3409, 3262, 2953, 2933, 2644, 2538, 1617, 1459, 1427, 1338, 1231, 1096,
1009, 946, 854, 750

mp 197–199 °C

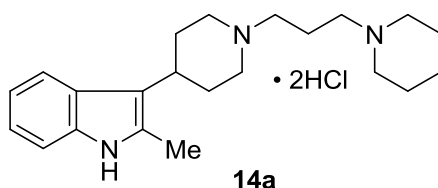
元素分析



計算値 : C 59.00, H 8.49, N 10.86, Cl 18.33

測定値 : C 59.08, H 8.27, N 10.83, Cl 18.44

2-メチル-3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩 (**14a**)



4-(3-(2-メチル)インドリル)ピペリジン (171 mg, 0.80 mmol)、1-(3-クロロプロピル) ピペリジン・塩酸塩 (222 mg, 1.1 mmol) のアセトニトリル (50 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (366 mg, 2.6 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : *n*-ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で精製すると、表題化合物のフリー体 (224 mg, 収率 82%) が淡黄色粘稠物として得られた。フリー体 (220 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてエタノールから再結晶すると、表題化合物 (120 mg) が微赤色結晶として得られた。さらに、塩酸塩 (49 mg) を凍結乾燥し、表題化合物 (43 mg) を白色アモルファスとして得た。

¹H NMR (CDCl₃) フリー体

δ 1.44–1.48 (2H, m), 1.56–1.64 (4H, m), 1.74–1.83 (4H, m), 2.01–2.09 (2H, m), 2.17–2.43 (11H, m), 2.74 (1H, tt, *J* = 3.8, 12.0 Hz), 3.07–3.11 (2H, br), 7.00–7.11 (2H, m), 7.24–7.27 (2H, m), 7.71 (1H, d, *J* = 7.9 Hz), 7.70–7.80 (1H, brs)

MS (EI) : *m/z* 339 [M]⁺

IR (KBr) cm^{-1}

3421, 2946, 2668, 1653, 1559, 1541, 1508, 1458, 947, 753

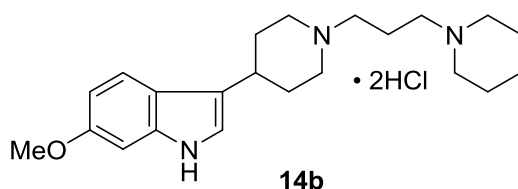
元素分析

$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 1.9\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 59.16, H 8.76, N 9.41, Cl 15.87

測定値 : C 59.24, H 8.65, N 9.36, Cl 15.91

6-メトキシ-3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩
酸塩 (**14b**)



4-(3-(6-メトキシ)インドリル)ピペリジン (138 mg, 0.60 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩 (167 mg, 0.83 mmol) のアセトニトリル (40 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (275 mg, 2.0 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : *n*-ヘキサン/酢酸エチル = 1/1) で精製し、さらに酢酸エチル/*n*-ヘキサンから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (131 mg, 収率 61%) が白色結晶として得られた。フリー体 (128 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてエタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (137 mg) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.43–1.47 (2H, m), 1.55–1.63 (4H, m), 1.70–1.86 (4H, m), 2.02–2.18 (4H, m), 2.31–2.42 (8H, m), 2.78 (1H, tt, $J = 3.8, 12.0$ Hz), 3.03–3.07 (2H, br), 3.84 (3H,

s), 6.77 (1H, dd, $J = 2.2, 8.5$ Hz), 6.85–6.86 (2H, m), 7.51 (1H, d, $J = 8.5$ Hz),
7.82–7.94 (1H, brs)

MS (EI) : 355 [M]⁺

IR (KBr) cm⁻¹

3491, 3436, 3265, 2932, 2689, 2557, 1734, 1630, 1577, 1542, 1508, 1455, 1306,
1257, 1204, 1170, 1034

mp 220 °C (分解)

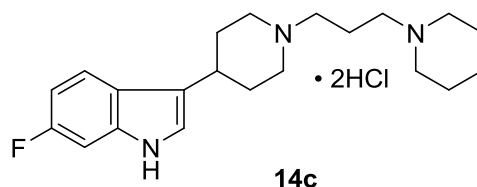
元素分析

C₂₂H₃₃N₃O·2HCl·H₂O

計算値 : C 59.19, H 8.35, N 9.41, Cl 15.88

測定値 : C 58.98, H 8.32, N 9.31, Cl 15.85

6-フルオロ-3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩
酸塩 (**14c**)



4-(3-(6-フルオロ)インドリル)ピペリジン (218 mg, 1.0 mmol)、1-(3-クロロプロピル) ピ
ペリジン・塩酸塩 (277 mg, 1.4 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリ
ウム (414 mg, 3.0 mmol)、ヨウ化ナトリウム (210 mg, 1.4 mmol) を加え、5 時間加熱
還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで
抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をプレ
パラティブ TLC (展開液 : アンモニア飽和クロロホルム/メタノール = 10/1) で精製し、さ
らにクロロホルムから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (67 mg, 収率 20%) が白色結

晶として得られた。フリー体 (50 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (37 mg) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.44–1.45 (2H, m), 1.56–1.63 (4H, m), 1.74–1.86 (4H, m), 2.02–2.14 (2H, m), 2.31–2.42 (6H, m), 2.76–2.83 (1H, m), 3.04–3.08 (2H, br), 6.87 (1H, ddd, $J = 2.2, 8.7, 9.6$ Hz), 6.95 (1H, d, $J = 1.6$ Hz), 7.03 (1H, dd, $J = 2.2, 9.9$ Hz), 7.54 (1H, dd, $J = 5.5, 8.7$ Hz), 7.91–8.01 (1H, brs)

MS (EI) : 343 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3493, 3279, 2942, 2640, 1625, 1457, 1348, 1228, 1135, 947, 846, 787

mp 253–256 °C

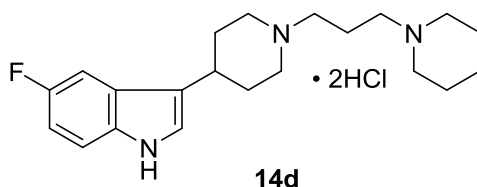
元素分析

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{FN}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 58.06, H 7.89, N 9.67

測定値 : C 57.74, H 7.90, N 9.51

5-フルオロ-3-(1-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2塩酸塩 (**14d**)



4-(3-(5-フルオロ)インドリル)ピペリジン (175 mg, 0.80 mmol)、1-(3-クロロプロピル)ピペリジン・塩酸塩 (222 mg, 1.1 mmol) のアセトニトリル (50 mL) 懸濁溶液に、炭酸カ

リウム (366 mg, 2.6 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : 酢酸エチル) で精製し、さらに酢酸エチル/*n*-ヘキサンから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (212 mg, 収率 99 %) が白色結晶として得られた。フリー体 (208 mg) をメタノールに溶解させ、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (227 mg) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.44–1.45 (2H, m), 1.56–1.63 (4H, m), 1.71–1.85 (4H, m), 2.01–2.18 (4H, m), 2.31–2.42 (8H, m), 2.70–2.80 (1H, m), 3.04–3.08 (2H, br), 6.92 (1H, dt, $J = 2.5$, 9.0 Hz), 7.01 (1H, d, $J = 2.5$ Hz), 7.24–7.29 (2H, m), 8.00–8.20 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 343 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3489, 3217, 2939, 2639, 2551, 1637, 1485, 1457, 1228, 1168, 937, 795, 629

mp 240 °C (分解)

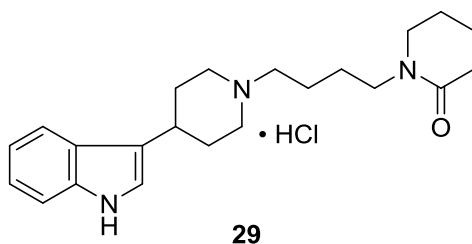
元素分析

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{FN}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 59.29, H 7.82, N 9.88, Cl 16.67, F 4.47

測定値 : C 59.25, H 7.77, N 9.80, Cl 16.67, F 4.16

1-(4-(4-(1*H*-インドール-3-イル)ピペリジン-1-イル)ブチル)ピペリジン-2-オン塩酸塩 (**29**)



4-(3-インドリル)ピペリジン (320 mg, 1.6 mmol)、1-(4-クロロブチル)- δ -バレロラクタム (334 mg, 1.8 mmol) のアセトニトリル (20 mL) 溶液に、炭酸カリウム (677 mg, 4.9 mmol)、ヨウ化ナトリウム (270 mg, 1.8 mmol) を加え、5時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (15 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液：酢酸エチル) で精製し、さらに酢酸エチル/*n*-ヘキサンから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (293 mg, 収率 52%) が白色結晶として得られた。フリー体 (90 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (89 mg) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.56–1.58 (4H, m), 1.71–1.88 (6H, m), 2.04–2.14 (4H, m), 2.36–2.43 (4H, m), 2.84 (1H, tt, $J = 3.8, 12.1$ Hz), 3.03–3.07 (2H, br), 3.26–3.28 (2H, m), 3.37–3.42 (2H, m), 6.97 (1H, d, $J = 1.9$ Hz), 7.07–7.21 (2H, m), 7.36 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 7.98–8.14 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 353 [M] $^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3197, 2936, 2635, 2365, 1635, 1496, 1458, 1354, 1289, 1241, 1178, 953, 745

mp 201–204 $^{\circ}\text{C}$

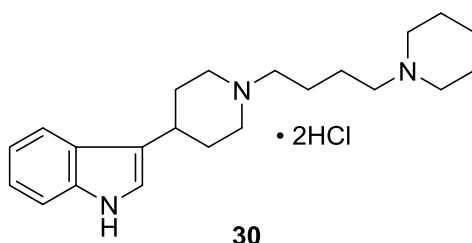
元素分析

$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}\cdot\text{HCl}\cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 67.45, H 8.28, N 10.73, Cl 9.05

測定値 : C 67.27, H 8.15, N 10.60, Cl 9.26

3-(1-(4-(ピペリジン-1-イル)ブチル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩 (**30**)



水素化リチウムアルミニウム (150 mg, 4.0 mmol) の THF (15 mL) 懸濁溶液に、**27a** (290 mg, 0.82 mmol) の THF (10 mL) 溶液 を氷冷下で滴下した。室温で 4 時間攪拌した後、反応混合物に飽和硫酸ナトリウム水溶液、続いて無水硫酸ナトリウムを加え、析出した白色固体を濾別した。濾液を濃縮して得られた粗結晶を酢酸エチルから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (197 mg, 収率 71%) が微黄色結晶として得られた。フリー体 (187 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (193 mg) が微黄色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.43–1.47 (2H, m), 1.52–1.63 (8H, m), 1.75–1.89 (2H, m), 2.04–2.14 (4H, m), 2.29–2.42 (8H, m), 2.80–2.88 (1H, m), 3.04–3.08 (2H, br), 6.98 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 7.07–7.21 (2H, m), 7.36 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.94–8.06 (1H, brs)

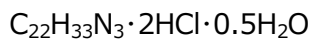
MS (EI) : m/z 339 [M] $^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3502, 3279, 2948, 2663, 1618, 1458, 1428, 1338, 1231, 1078, 1011, 971, 949,
753

mp 243–244 °C

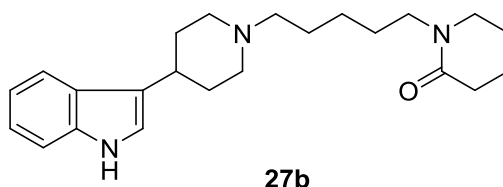
元素分析



計算値 : C 62.70, H 8.61, N 9.97, Cl 16.82

測定値 : C 62.74, H 8.97, N 9.86, Cl 16.65

1-(5-(4-(1*H*-インドール-3-イル)ピペリジン-1-イル)ペンチル)ピペリジン-2-オン (27b)



4-(3-インドリル)ピペリジン (345 mg, 1.7 mmol)、1-(5-クロロペンチル)- δ -バレロラクタム (387 mg, 1.9 mmol) のアセトニトリル (20 mL) 溶液に、炭酸カリウム (714 mg, 5.2 mmol)、ヨウ化ナトリウム (283 mg, 1.9 mmol) を加え、5 時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (15 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液: クロロホルム) で精製し、さらに酢酸エチル/*n*-ヘキサンから再結晶すると、表題化合物 (125 mg, 収率 21%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 1.26–1.38 (2H, m), 1.53–1.63 (4H, m), 1.73–1.89 (6H, m), 2.04–2.14 (4H, m), 2.35–2.40 (4H, m), 2.84 (1H, tt, $J = 3.6, 10.7$ Hz), 3.25–3.29 (2H, m), 3.36 (2H, t, $J = 7.7$ Hz), 6.98 (1H, d, $J = 1.9$ Hz), 7.09 (1H, dt, $J = 1.1, 8.0$ Hz), 7.18 (1H, dt, $J = 1.1, 6.8$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.92–8.06 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 367 [M] $^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3215, 2944, 2815, 2366, 1627, 1496, 1458, 1417, 1345, 1237, 1104, 746

mp 65–68 °C

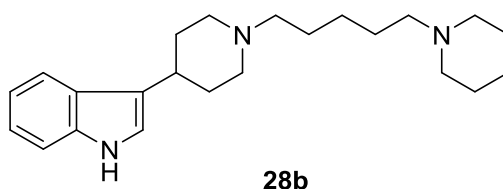
元素分析

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}\cdot\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 71.65, H 9.15, N 10.90

測定値 : C 71.68, H 9.39, N 10.73

3-(1-(5-(ピペリジン-1-イル)ペンチル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール (**28b**)



水素化リチウムアルミニウム (170 mg, 4.5 mmol) の THF (15 mL) 懸濁溶液に、**27b** (340 mg, 0.93 mmol) の THF (10 mL) 溶液 を氷冷下で滴下した。室温で 4 時間攪拌した後、反応混合物に飽和硫酸ナトリウム水溶液、続いて無水硫酸ナトリウムを加え、析出した白色固体を濾別した。濾液を濃縮して得られた粗結晶を酢酸エチルから再結晶すると、表題化合物 (273 mg, 収率 83%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 1.26–1.66 (14H, m), 1.75–1.89 (2H, m), 2.03–2.13 (4H, m), 2.26–2.40 (6H, m), 2.83 (1H, tt, $J = 3.6, 12.1$ Hz), 3.03–3.08 (2H, br), 6.98 (1H, d, $J = 2.5$ Hz), 7.10 (1H, dt, $J = 1.1, 7.1$ Hz), 7.18 (1H, dt, $J = 1.1, 7.1$ Hz), 7.36 (1H, dd, $J = 1.1, 7.1$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 7.1$ Hz), 7.92–8.04 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 353 [M] $^+$

IR (KBr) cm^{-1}

2936, 2811, 1443, 1377, 1347, 1276, 1243, 1225, 1145, 1120, 1096, 1016, 975,
809, 783, 739

mp 94–95 °C

元素分析

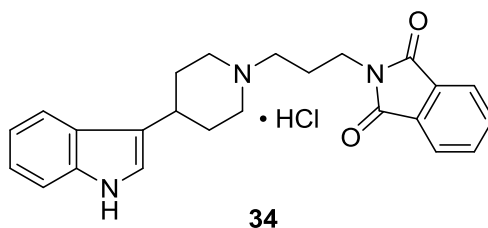
$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 74.35, H 10.04, N 11.31

測定値 : C 74.04, H 10.13, N 11.13

2-(3-(4-(1*H*-インドール-3-イル)ピペリジン-1-イル)プロピル)イソインドリン-1,3-ジオン

塩酸塩 (34)



4-(3-インドリル)ピペリジン (320 mg, 1.6 mmol)、N-(3-ブロモプロピル) フタルイミド (590 mg, 2.2 mmol) のアセトニトリル (100 mL) 溶液に、炭酸カリウム (732 mg, 5.2 mmol) を加え、12 時間加熱還流した。析出した塩を濾別後、濾液を濃縮した。濃縮して得られた粗結晶をメタノールから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (490 mg, 収率 79 %) が白色結晶として得られた。フリー体 (120 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (90 mg) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.54–1.66 (4H, m), 1.88–2.09 (6H, m), 2.47 (2H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.71–2.80 (1H, m), 2.98–3.02 (2H, br), 3.79 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), 6.86 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 7.08 (1H,

dt, $J = 1.1, 7.9$ Hz), 7.17 (1H, dt, $J = 1.1, 7.9$ Hz), 7.35 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.58 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.68–7.74 (2H, m), 7.82–7.88 (2H, m), 7.88–8.00 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 387 [M]⁺

IR (KBr) cm^{-1}

3395, 2953, 2485, 1769, 1706, 1618, 1459, 1396, 1339, 1231, 1103, 1040, 964, 892, 751, 720, 605, 531

mp 237 °C

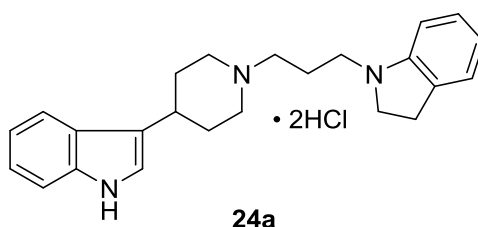
元素分析

$\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$

計算値 : C 68.00, H 6.18, N 9.91, Cl 8.36

測定値 : C 67.62, H 6.21, N 9.96, Cl 8.41

3-(1-(3-(インドリン-1-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩 (**24a**)



4-(3-インドリル)ピペリジン (175 mg, 0.88 mmol)、1-(3-クロロプロピル)インドリン・塩酸塩 (223 mg, 0.96 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (362 mg, 2.6 mmol)、ヨウ化ナトリウム (143 mg, 0.96 mmol) を加え、5 時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液: クロロホルム) で精製すると、表題化合物のフリー体 (227 mg) が淡黄色粘稠物として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチル

エーテルから再結晶すると、表題化合物 (186 mg, 収率 54%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.77–1.91 (4H, m), 2.05–2.19 (4H, m), 2.51 (2H, t, $J = 8.0$ Hz), 2.89 (1H, tt, $J = 3.6, 11.6$ Hz), 2.95 (2H, t, $J = 8.2$ Hz), 3.07–3.14 (4H, m), 3.34 (2H, t, $J = 8.2$ Hz), 6.49 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 6.64 (1H, dt, $J = 0.8, 8.2$ Hz), 6.93 (1H, d, $J = 1.4$ Hz), 7.04–7.23 (4H, m), 7.32 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.04–8.18 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 359 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3399, 3054, 2921, 2497, 1618, 1489, 1460, 1430, 1340, 1235, 1151, 1097, 1052, 1013, 954

mp 233–234 °C

元素分析

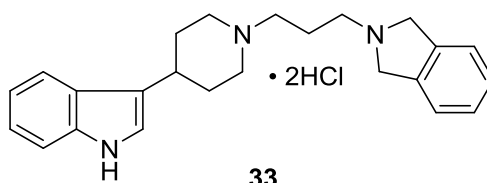
$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3 \cdot 1.85\text{HCl} \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 66.95, H 7.32, N 9.76, Cl 15.20

測定値 : C 66.90, H 7.22, N 9.67, Cl 15.23

3-(1-(3-(イソインドリン-2-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩

(**33**)



水素化リチウムアルミニウム (950 mg, 25 mmol) の THF (100 mL) 懸濁溶液に、**32** (2.0 g, 5.2 mmol) の THF (65 mL) 溶液 を氷冷下で滴下した。室温で 4 時間攪拌した後、反応

混合物に飽和硫酸ナトリウム水溶液、続いて無水硫酸ナトリウムを加え、析出した白色固体を濾別した。濾液を濃縮して得られた粗結晶を酢酸エチルから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (1.1 g) が淡黄色結晶として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (0.84 g, 収率 38%) が微緑色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.81–1.91 (4H, m), 2.06–2.18 (4H, m), 2.49–2.54 (2H, m), 2.76–2.87 (3H, m),
3.09–3.12 (2H, br), 3.95 (4H, s), 7.08–7.20 (6H, m), 7.35 (1H, d, $J = 7.9$ Hz),
7.66 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 8.00–8.09 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 359 $[\text{M}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3269, 2936, 2399, 1636, 1458, 1340, 1232, 1100, 971, 744

mp 210°C (分解)

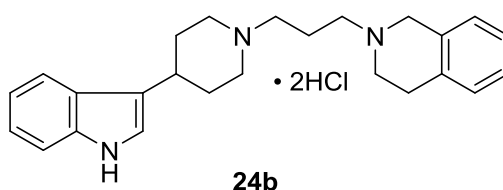
元素分析

$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 61.53, H 7.53, N 8.97

測定値 : C 61.66, H 7.54, N 8.96

2-(3-(4-(1*H*-インドール-3-イル)ピペリジン-1-イル)プロピル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン・2 塩酸塩 (**24b**)



4-(3-インドリル)ピペリジン (175 mg, 0.88 mmol)、2-(3-クロロプロピル)-1, 2, 3, 4-テ

トラヒドロイソキノリン・塩酸塩 (236 mg, 0.96 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (362 mg, 2.6 mmol)、ヨウ化ナトリウム (143 mg, 0.96 mmol) を加え、5時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : クロロホルム) で精製し、さらに酢酸エチル/*n*-ヘキサンから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (200 mg, 収率 67%) が白色結晶として得られた。フリー体 (154 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノールから再結晶すると、表題化合物 (84 mg) が微黄色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.77–1.93 (4H, m), 2.05–2.19 (4H, m), 2.46–2.51 (2H, m), 2.57 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.75 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.75 (2H, t, $J = 5.8$ Hz), 2.80–2.93 (3H, m), 3.08–3.12 (2H, br), 3.65 (2H, s), 6.96 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 7.01–7.20 (6H, m), 7.24 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.05–8.20 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 373 [M] $^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3050, 2944, 2806, 2756, 1618, 1498, 1454, 1374, 1340, 1257, 1223, 1136, 1092, 1074, 1031, 1009, 933, 740

mp 166–168 °C

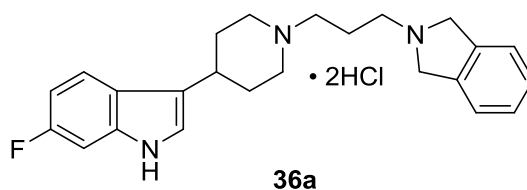
元素分析

$\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 64.45, H 7.59, N 9.05

測定値 : C 64.65, H 7.38, N 8.98

6-フルオロ-3-(1-(3-(イソインドリン-2-イル)プロピル)ピペリジン-4-イル)-1*H*-インドール・2 塩酸塩 (**36a**)



4-(3-(6-フルオロ)インドリル)ピペリジン (109 mg, 0.5 mmol)、2-(3-クロロプロピル)イソインドリン・塩酸塩 (139 mg, 0.60 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (207 mg, 1.5 mmol)、ヨウ化ナトリウム (90 mg, 0.60 mmol) を加え、5時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : クロロホルム/メタノール = 20/1) で精製し、さらにクロロホルムから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (107 mg, 収率 56%) が白色結晶として得られた。フリー体 (78 mg) のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (79 mg) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.79–1.91 (4H, m), 2.03–2.09 (2H, m), 2.04–2.20 (2H, m), 2.49–2.56 (2H, m), 2.76–2.86 (3H, m), 3.08–3.14 (2H, m), 3.94 (4H, s), 6.86 (1H, ddd, $J = 2.5, 8.7, 9.6$ Hz), 6.92–6.95 (1H, m), 6.97–7.22 (1H, m), 7.17–7.23 (4H, m), 7.53 (1H, dd, $J = 5.5, 8.7$ Hz), 7.94–8.11 (1H, brs)

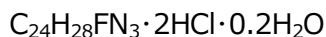
MS (EI) : m/z 377 [M] $^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3752, 3650, 3265, 2922, 2399, 1623, 1456, 1343, 954, 843, 763

mp 225–235 $^{\circ}\text{C}$

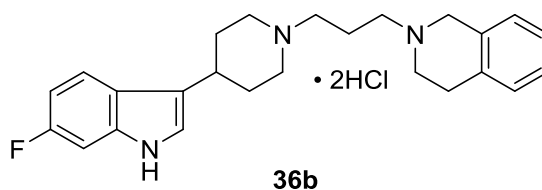
元素分析



計算値 : C 63.49, H 6.75, N 9.25, Cl 15.67, F 4.18

測定値 : C 63.45, H 6.74, N 9.24, Cl 15.64, F 4.12

2-(3-(4-(6-フルオロ-1*H*-インドール-3-イル)ピペリジン-1-イル)プロピル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン・2 塩酸塩 (**36b**)



4-(3-(6-フルオロ)インドリル)ピペリジン (175 mg, 0.80 mmol)、2-(3-クロロプロピル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン・塩酸塩 (236 mg, 0.96 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 懸濁溶液に、炭酸カリウム (331 mg, 2.4 mmol)、ヨウ化ナトリウム (144 mg, 0.96 mmol) を加え、5 時間加熱還流した。析出した塩を濾別し、濾液を濃縮後、水 (10 mL) を加え、続いてクロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士シリシア化学製シリカゲル NH-DM1020、溶出液 : クロロホルム/メタノール = 20/1) で精製し、さらに酢酸エチルから再結晶すると、表題化合物のフリー体 (176 mg) が白色結晶として得られた。フリー体のメタノール溶液に、塩化水素/メタノールを加えた後、濃縮し、続いてメタノール/ジエチルエーテルから再結晶すると、表題化合物 (202 mg, 収率 54%) が白色結晶として得られた。

^1H NMR (CDCl_3) フリー体

δ 1.78–1.91 (4H, m), 2.03–2.16 (4H, m), 2.47 (2H, t, $J = 7.7$ Hz), 2.57 (2H, t, $J = 7.7$ Hz), 2.75 (2H, t, $J = 5.8$ Hz), 2.78–2.86 (1H, m), 2.91 (2H, t, $J = 5.2$ Hz),

3.06–3.10 (2H, br), 3.65 (2H, s), 6.83–7.14 (7H, m), 7.52–7.57 (1H, m), 7.85–
8.07 (1H, brs)

MS (EI) : m/z 391 [M]⁺

IR (KBr) cm^{-1}

3407, 2936, 2585, 1625, 1551, 1499, 1456, 1345, 1225, 1139, 953, 809, 755

mp 176–178 °C

元素分析

$\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{FN}_3 \cdot 2\text{HCl} \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$

計算値 : C 64.15, H 6.98, N 8.98, Cl 15.15, F 4.06

測定値 : C 64.04, H 7.18, N 8.96, Cl 15.18, F 3.83

アドレナリン α_{1A} および α_{1B} 受容体への結合実験

受容体標本の調製

すべての操作は0-4 °Cで行った。

アドレナリン α_{1A} 受容体標本としてはラット下顎腺から 43,000 xg 沈殿分画を調製し、これを粗膜標本として実験に使用した。

SD 雄性ラットをジエチルエーテル麻酔下脱血し、下顎腺を摘出し秤量した後、ハサミで細断し Potter-Elvehjem 型テフロンホモジナイザーに移して5容(下顎腺湿重量 1g に対して 5 mL) の 5 mM EDTA、0.2 mM DTT、0.1 mM PMSF を含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH = 7.4) 中でホモジナイズした。ホモジネートをナイロンメッシュに通した後、800 xg で10分間遠心し、得られた上清を 43,000 xg で15分間遠心した。次にこの沈殿を 10 mM MgCl₂、0.2 mM DTT、0.1 mM PMSF を含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH = 7.4) (緩衝液A) で懸濁し、43,000 xg で15分間遠心した。こうして得られた沈殿を蛋白濃度が約 10 mg/mL となるように緩衝液Aで懸濁し、これを粗膜標本とした。

アドレナリン α_{1B} 受容体標本としてはラット肝臓から 100,000 xg 沈殿分画を調製し、これを粗膜標本として実験に使用した。

SD 雄性ラットをジエチルエーテル麻酔下脱血し、肝臓を摘出し秤量した後、ハサミで細断し Potter-Elvehjem 型テフロンホモジナイザーに移して9容(肝湿重量 1g に対して 9 mL) の 0.25 M ショ糖、10 mM MgCl₂、1 mM EDTA、0.2 mM DTT、0.1 mM PMSF を含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH=7.4) 中でホモジナイズした。ホモジネートを 800 xg で10分間遠心し、得られた上清を 100,000 xg で10分間遠心し、上清をさらに 100,000 xg で60分遠心した。この遠心で得られた沈殿を 10 mM MgCl₂、0.2 mM DTT、0.1 mM PMSF を含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH=7.4) (緩衝液A) で蛋白濃度が約 10 mg/mL となるように懸濁し、これを粗膜標本とした。

それぞれの粗膜標本は分注して-80 °Cで保存し、用時実験に使用した。蛋白濃度はウシ血清アルブミンをスタンダードとして Lowry 法により求めた。

受容体結合実験

0.5 nM [³H]プラゾシンと 200 µg 粗膜標本を含む緩衝液 A (400 µL) を標準反応液とした。受容体標本と [³H]プラゾシンを 25 °C、30 分間インキュベーションした後、氷冷した緩衝液 A 2 mL を加えて反応を終了させ、Whatman GF/C ガラスフィルターで急速減圧吸引濾過することにより細胞膜を分離し、細胞膜に結合した放射活性より結合活性 (全結合活性) を測定した。同じ実験を 10 µM フェントラミン存在下で行うことにより非特異的結合活性を測定し、全結合活性から、この非特異的結合活性を差し引いたものを特異的結合活性とした。

被験薬物溶液の作製は、最初に 10 mM となるように蒸留水、エタノールまたは DMSO で被験薬物を溶解し、これを蒸留水で段階希釈して行った。

放射性リガンドの解離定数 K_d 値と 試料中の全受容体数 B_{max} 値は、Scatchard plots から求めた。各化合物の解離定数 K_i (nM) は次式より求めた。

$$K_i = IC_{50} / [1 + (\text{放射性リガンド濃度} / K_d \text{ 値})]$$

参考文献

- 1) J. P. Hieble, R. R. Ruffolo Jr., *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **6**, 367 (1997).
- 2) K. Shibata, R. Foglar, K. Horie, K. Obika, A. Sakamoto, S. Ogawa, G. Tsujimoto, *Mol. Pharmacol.*, **48**, 250 (1995).
- 3) *New Current*, **7**, 14 (1996).
- 4) S. Cotechia, S. Exum, M. G. Caron, R. J. Lefkowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 2896 (1990).
- 5) C. A. Milano, P. C. Dolber, H. A. Rockman, R. A. Bond, M. E. Venable, L. F. Allen, R. J. Lefkowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 10109 (1994).
- 6) A. Cavalli, A. L. Lattion, E. Hummler, M. Nenniger, T. Pedrazzini, J. F. Aubert, M. C. Michel, M. Yang, G. Lembo, C. Vecchione, M. Mostardini, A. Schmidt, Friedrich Beermann, S. Cotecchia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 11589 (1997).
- 7) L. Chen, X. Xin, A. D. Eckhart, N. Yang, J. E. Faber, *J. Biol. Chem.*, **270**, 30980 (1999).
- 8) 村松郁延, *血管と内皮*, **6**, 431 (1996).
- 9) M. J. Zuscik, S. Stands, S. A. Ross, D. J. J. Waugh, R. J. Gaivin, D. Morilak, D. M. Perez, *Nat. Med.*, **6**, 1388 (2000).
- 10) A. P. Ford, T. J. Williams, D. R. Blue, D. E. Clarke, *Trends. Pharmacol. Sci.*, **15**, 167 (1994).
- 11) H. K. King, *Soc. Neurosci. Abstr.*, **20**, 526 (1994).
- 12) J. B. Bremner, B. Coban, R. Griffith, *J. Computer-Aided Mol. Design*, **10**, 545 (1996).
- 13) D. Giardina, M. Crucianelli, R. Romanelli, A. Leonardi, E. Poggest, C. Melchiorre, *J. Med. Chem.*, **39**, 4602 (1996).

- 14) M. A. Patane, A. L. Scott, T. P. Broten, R. S. L. Chang, R. W. Ransom, J. DiSalvo, C. Forray, M. G. Bock, *J. Med. Chem.*, **41**, 1205 (1998).
- 15) A. Schotte, P. Bonaventure, P. F. M. Janssen, J. E. Leysen, *Jpn. J. Pharmacol.*, **69**, 399 (1995).
- 16) A. J. Sleight, W. Koek, D. C. H. Bigg, *Eur. J. Pharmacol.*, **238**, 407 (1993).
- 17) M. D. T. Tuong, M. Garbarg, J. C. Schwartz, *Nature*, **287**, 548 (1980).
- 18) A. S. M. Anisuzzaman, A. Nishimune, H. Yoshiki, J. Uwada, I. Muramatsu, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **339**, 186 (2011).
- 19) A. S. M. Anisuzzaman, J. Uwada, T. Masuoka, H. Yoshiki, M. Nishio, Y. Ikegaya, N. Takahashi, N. Matsuki, Y. Fujibayashi, Y. Yonekura, T. Momiyama, I. Muramatsu, *J. Neurochem.*, **126**, 360 (2013).

第3章

「ホブ」IP 受容体選択的作動薬の設計と合成

第1節 緒言

第1章5項で述べたプロスタグランジンのなかで、IP受容体作動薬であるPGI₂は、血小板凝集抑制作用や血管拡張作用を有することが知られている^{1,2)}。このPGI₂の生理作用は注目を浴び、構造決定以降、多くの類縁体が合成された。特に、PGI₂はエキソエノールエーテル構造を有し、極めて加水分解されやすいことから、易加水分解性を改善するための、電子求引基の導入や酸素を炭素に置き換えるなどの構造変換が種々行われた。東レが実施した変換は、ベンゼンを挿入した、インター-*m*-フェニレン構造とするものであり、その後ω側鎖を最適化することで、ベラプロストを創出した。ベラプロストのナトリウム塩であるベラプロストナトリウムは化学的に極めて安定な世界初の経口投与可能なPGI₂誘導体であり、「慢性動脈閉塞症に伴う潰瘍、疼痛及び冷感の改善」を効能又は効果として1992年に国内で承認された。

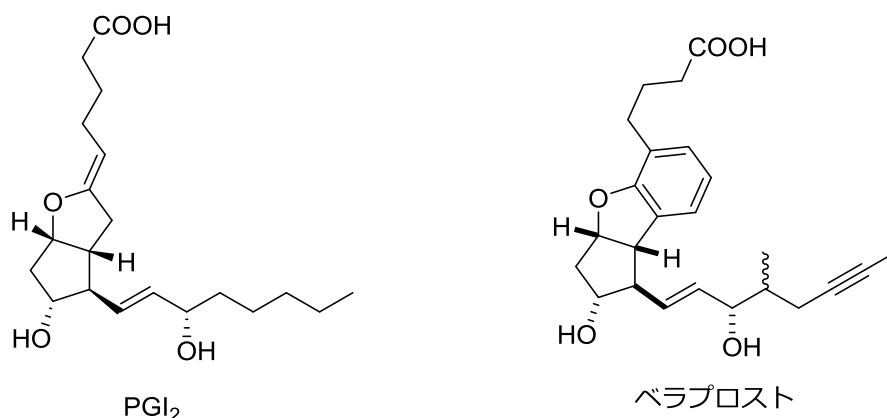


図3-1 PGI₂とベラプロスト

しかしながら、ベラプロストは、化学的安定性が高いものの、生体内では天然のPGと同様、β酸化などの代謝のため、血中での持続性は長くなく、製剤的工夫なしでは1日3回の服薬が必要である^{3,4)}。しかしながら、現在、医薬には患者の利便性（コンプライアンス）改善が望まれており、経口薬の服薬も、可能である限り、1日1回が望まれている。そのため、代謝改善を目的として、PGI₂の構造を大きく変換した化合物が種々検討された。オクティミベートは

そのような化合物のひとつであり、PG 共通のシクロペンタン構造がなく、nonprostanoid prostacyclin mimetics と表現された^{5,6)}。その後、多くの研究グループがノンプロスタノイド IP 作動薬を報告しており、いくつかの代表的化合物を図 3-2 に示す⁷⁻¹¹⁾。いずれもシクロペンタン構造がなく、PG に共通して見られるアリルアルコール構造もない。一方、天然型 PG にない共通点として、末端に複数の芳香環を有することが挙げられる。

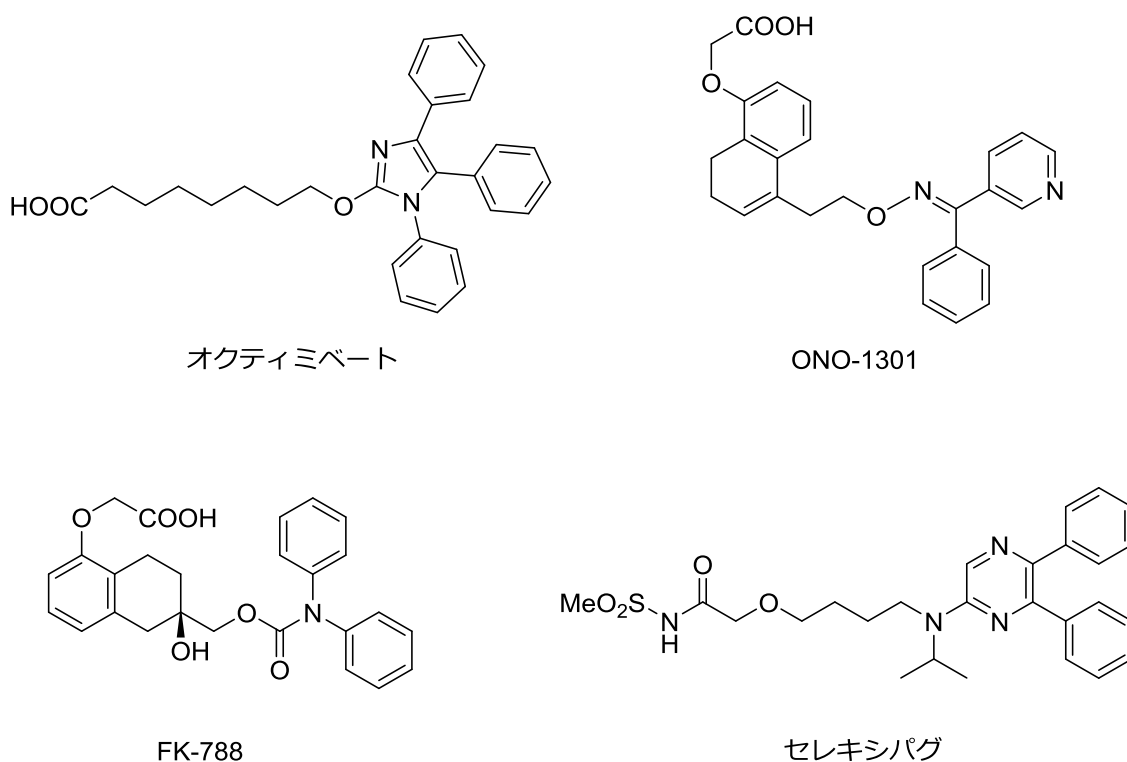


図 3-2 ノンプロスタノイド IP 作動薬

筆者らも天然型 PG だけでなく、ノンプロスタノイド IP 受容体作動薬の研究も行い、**37**、**38** に代表される、ジヒドロベンゾオキサジン系を主骨格とするノンプロスタノイド IP 受容体作動薬を見出した (図 3-3)¹²⁾。

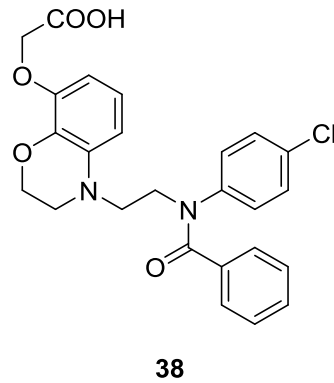
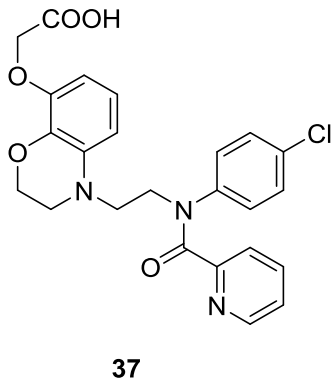


図 3-3 ジヒドロベンゾオキサジン型 IP 作動薬

これらジヒドロベンゾオキサジン型 IP 受容体作動薬は、持続性はベラプロストよりも大幅に改善され、さらに強力な血小板凝集抑制作用を有するものの、依然として体内動態に関する懸念があった。すなわち、絶食したイヌでの体内動態評価において、ジヒドロベンゾオキサジン **37** の 2.5 mg/kg 経口投与での曝露量や生体利用率 (Bioavailability : BA) が低く、経口投与を目指す医薬の候補化合物としてはさらなる改良が必要であった (最高血漿中濃度 (Cmax) = 138 ng/mL、BA = 13%)。

そこで本章では、ジヒドロベンゾオキサジン誘導体を起点化合物として、IP 受容体作動性に基づく強力な血小板凝集抑制作用を維持し、かつ体内動態を改善した新規なノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬の設計と合成を検討した。ジヒドロベンゾオキサジン誘導体の強力な血小板凝集抑制作用や良好な持続性を維持したまま、高い曝露と生体利用率 (BA) を有するプロスタグランジン IP 受容体選択的作動薬を創出できれば、1 日 1 回の服薬で効果を発揮する、患者のコンプライアンスを大きく改善した、従来にない慢性動脈閉塞症、原発性肺高血圧症、肺動脈性肺高血圧症の治療薬として期待できる。

第2節 ピペリジン型 IP 受容体選択的作動薬の創出

第1項 主骨格変換と構造活性相関

構造変換のポイントとして、まず分子量低減を考えた。Lipinski の rule of 5¹³⁾に代表されるように、化合物は分子量が低い方が消化管の膜透過には有利であり、BA 改善に寄与すると考えられる。

そこで、まず **38** の主骨格であるジヒドロベンゾオキサジン部分を芳香環として最もシンプルなベンゼンに置き換えた化合物を設計/合成した。ジヒドロベンゾオキサジン部分の変換を行った理由は、オキシ酢酸部分は、カルボン酸が IP 受容体作動性発現に必須の官能基であるとともに、酸素が生体内での代謝のひとつであるβ酸化を抑制するために有効であることから変換すべきではないこと、また、ベンズアニリド部は、図 4-2 に示した既存ノンプロスタノイド IP 受容体作動薬がいずれも末端に複数の芳香環を有しているように、**38** の末端ベンズアニリド部分の 2 つの芳香環が IP 受容体作動性発現に極めて重要な構造で、変換すべきではないと考えたからである。さらに、ベンズアニリドという構造は IP 受容体作動薬としてはオリジナリティが高く、特許性という観点からも維持することが有効であった。

次に、ベンゼン誘導体の合成法を示す。ベンゼンとベンズアニリド部位の距離やオキシ酢酸の導入部位を変更した化合物も合成した (図 3-4~3-7)。

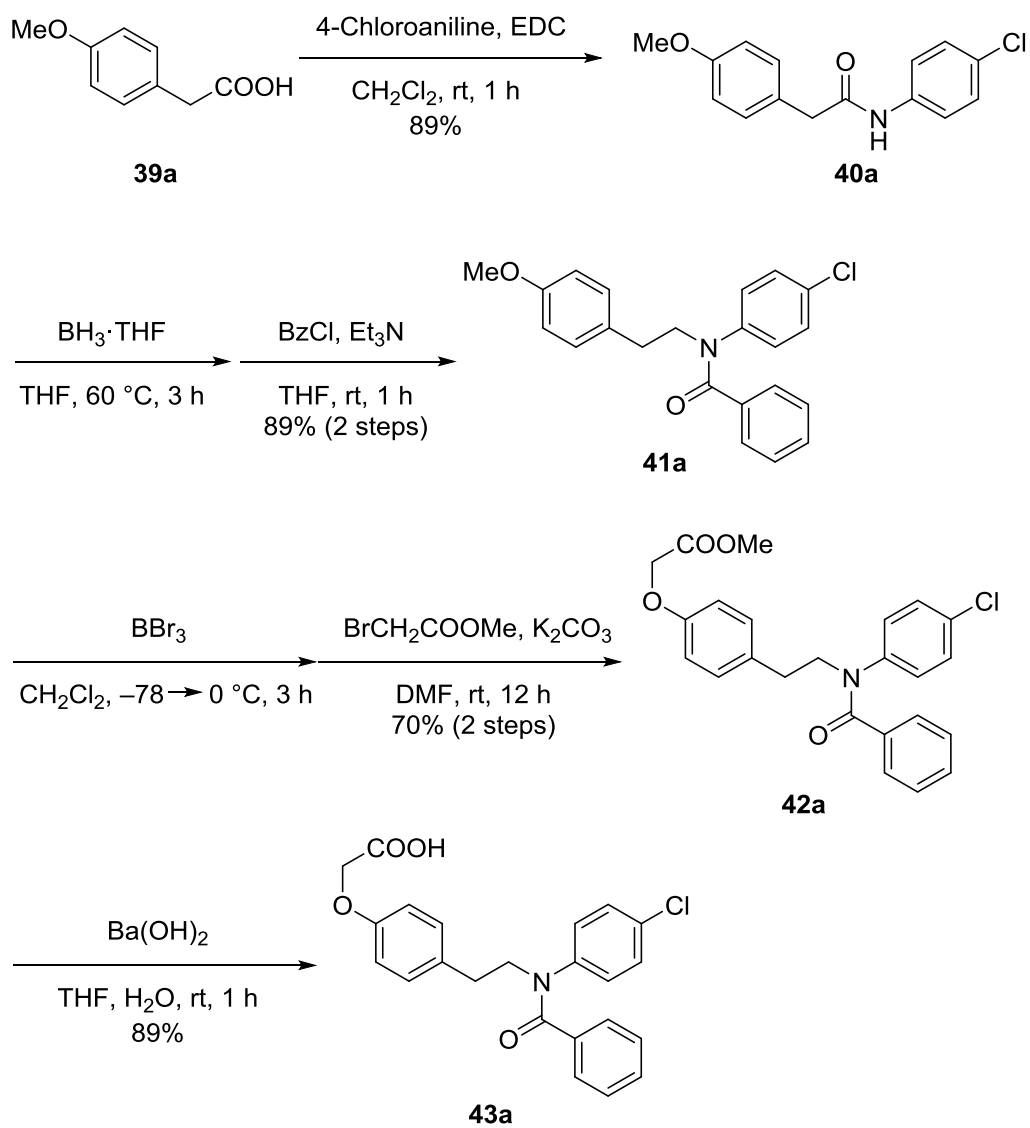


図 3-4 ベンゼン誘導体の合成 1

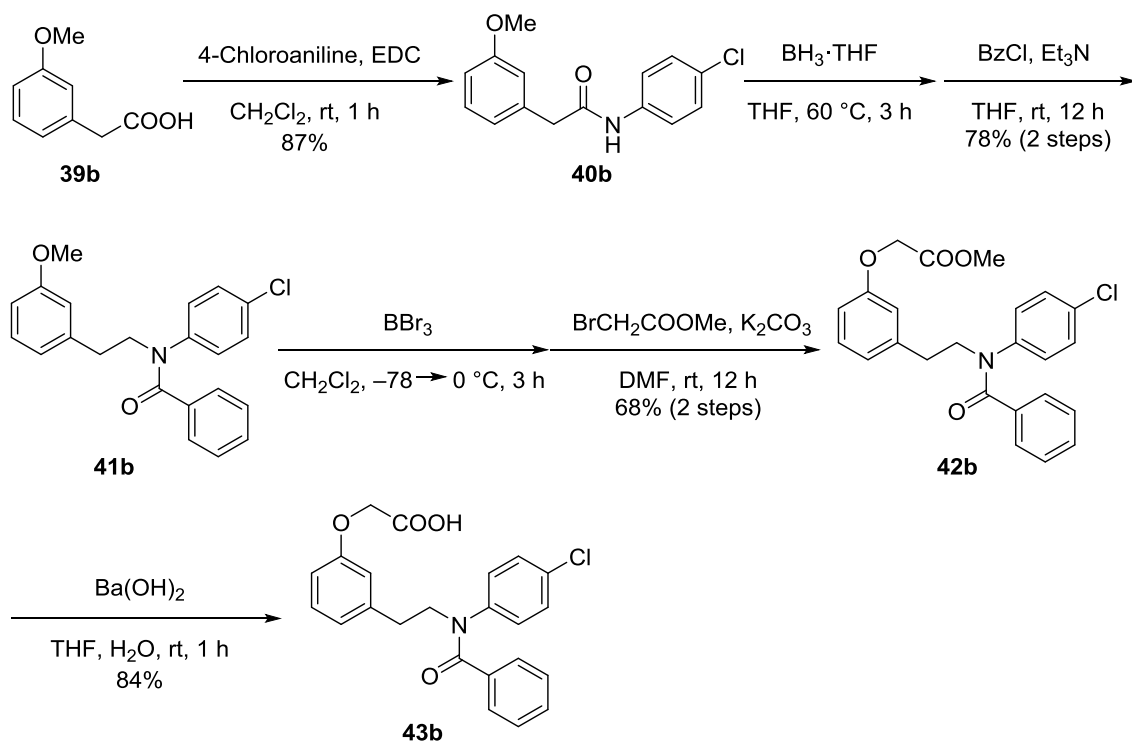


図 3-5 ベンゼン誘導体の合成 2

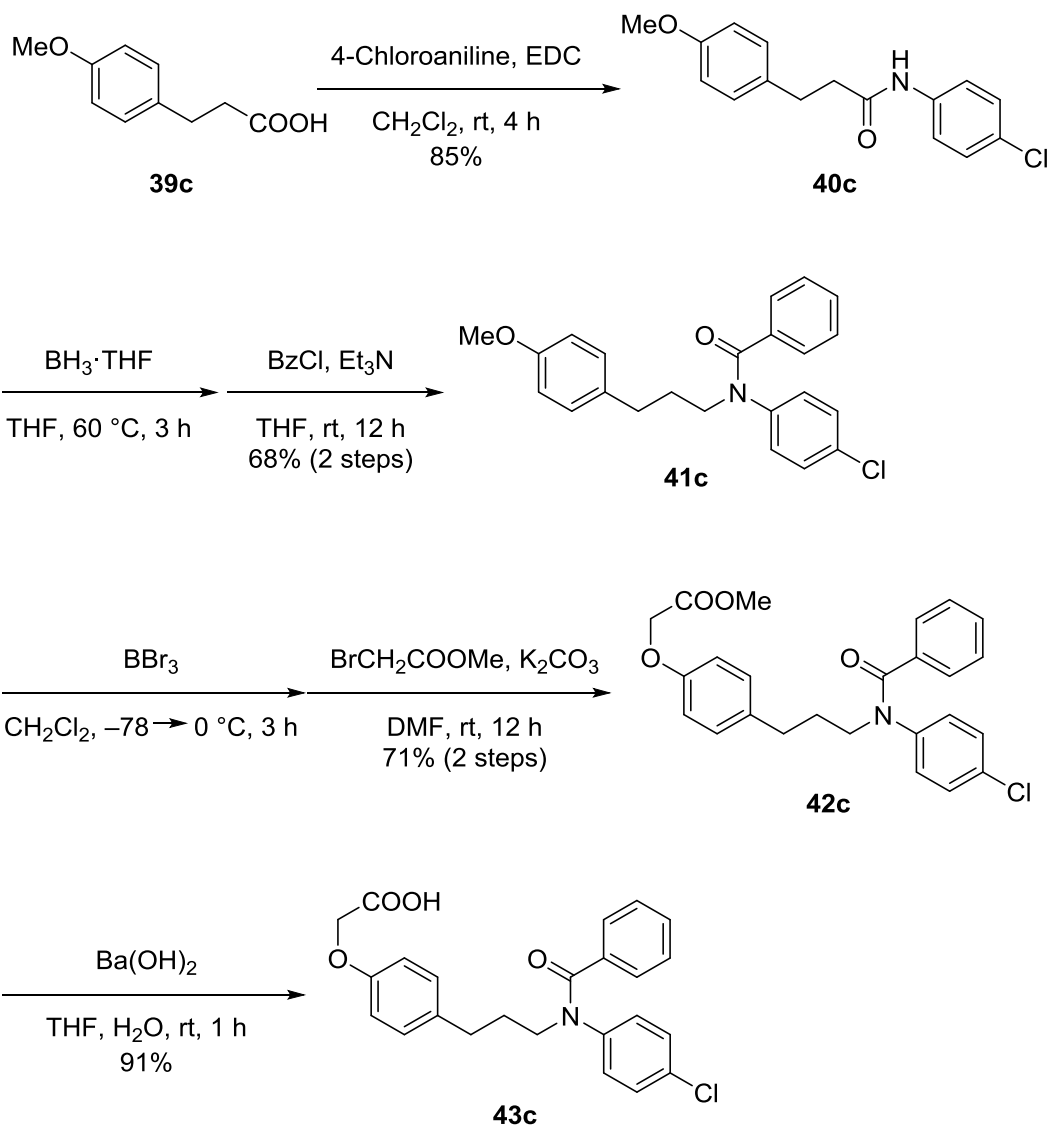


図 3-6 ベンゼン誘導体の合成 3

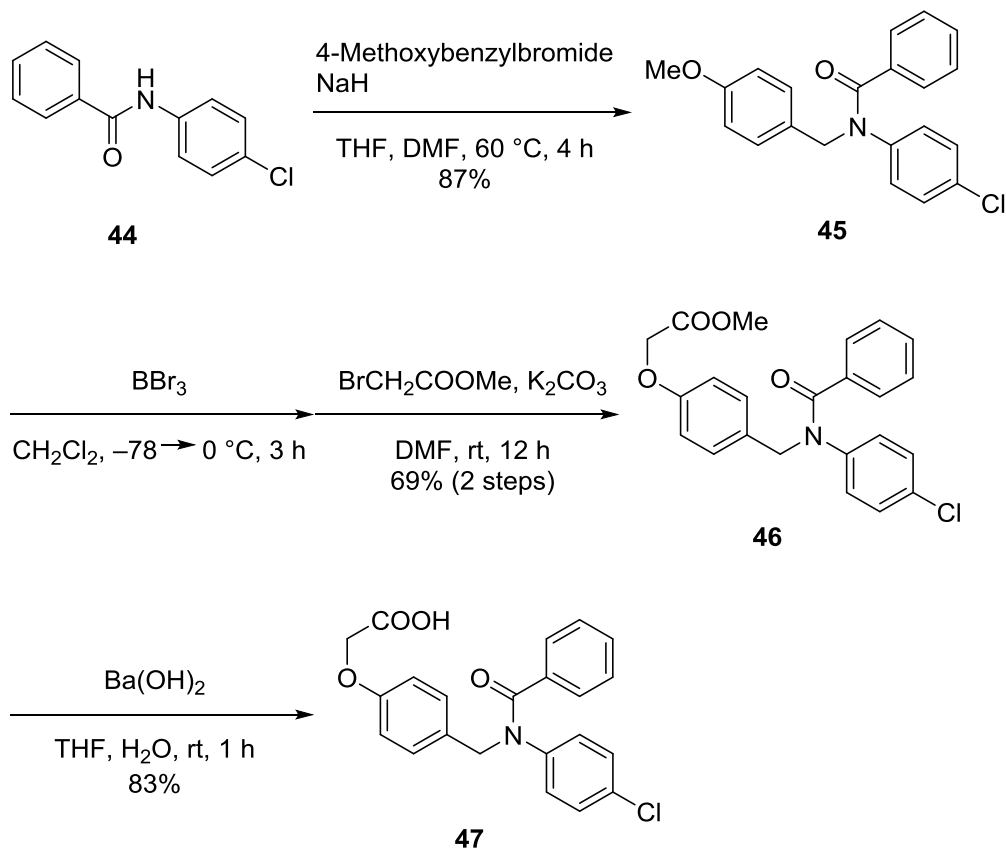
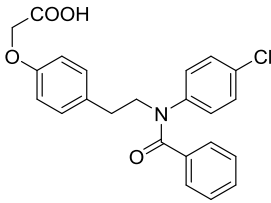
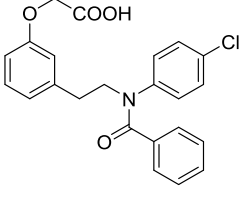
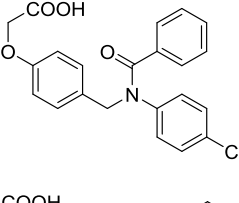
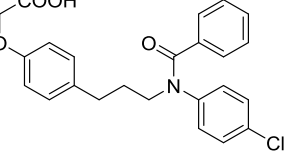
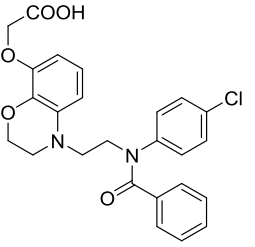


図 3-7 ベンゼン誘導体の合成 4

いずれもベンズアニリド構造を構築した後、オキシ酢酸部位を導入した。合成した 4 化合物の IP 受容体作動性の評価としては、ヒト多血小板血漿を用い、凝集惹起剤として ADP を作用させた血小板に対しての凝集抑制作用を指標とした¹⁴⁾。結果を表 3-1 に示す。ベンゼン部の置換位置、ベンゼン-アミド間の長さで血小板凝集抑制作用は変化し、*p*-置換かつベンゼンとアミド間がエチレンで結合した **43a** は、ジヒドロベンゾオキサジンよりも弱いながらも、 $\text{IC}_{50} = 740 \text{ nM}$ の血小板凝集抑制作用を示した。

表 3-1 ベンゼン誘導体のヒト血小板凝集抑制作用

化合物 No.	構造	血小板凝集抑制 IC ₅₀ (nM)
43a		740
43b		>30,000
47		>30,000
43c		20,000
38		13

この結果からジヒドロベンゾオキサジン部の変換は可能と考え、続いて、合成した中で、IP 受容体作動性低下の程度が低かった **43a** のベンゼン部分を飽和の単環構造へと変換することを考えた。単環とした理由は、分子量の増加を抑えるためである。また、 sp^3 炭素を増加させることは、より druggable な構造変化であると考えたからである¹⁵⁾。置き換える構造としては、シクロヘキサン、ピペリジン、ピロリジン考えた。ここで、シクロヘキサンに関

しては、オキシ酢酸部分とエチレンベンズアニリド部の cis/trans 異性体が生じないように、不飽和結合を導入した。合成を図 3-8~3-10 に、血小板凝集抑制作用を表 3-2 に示す。

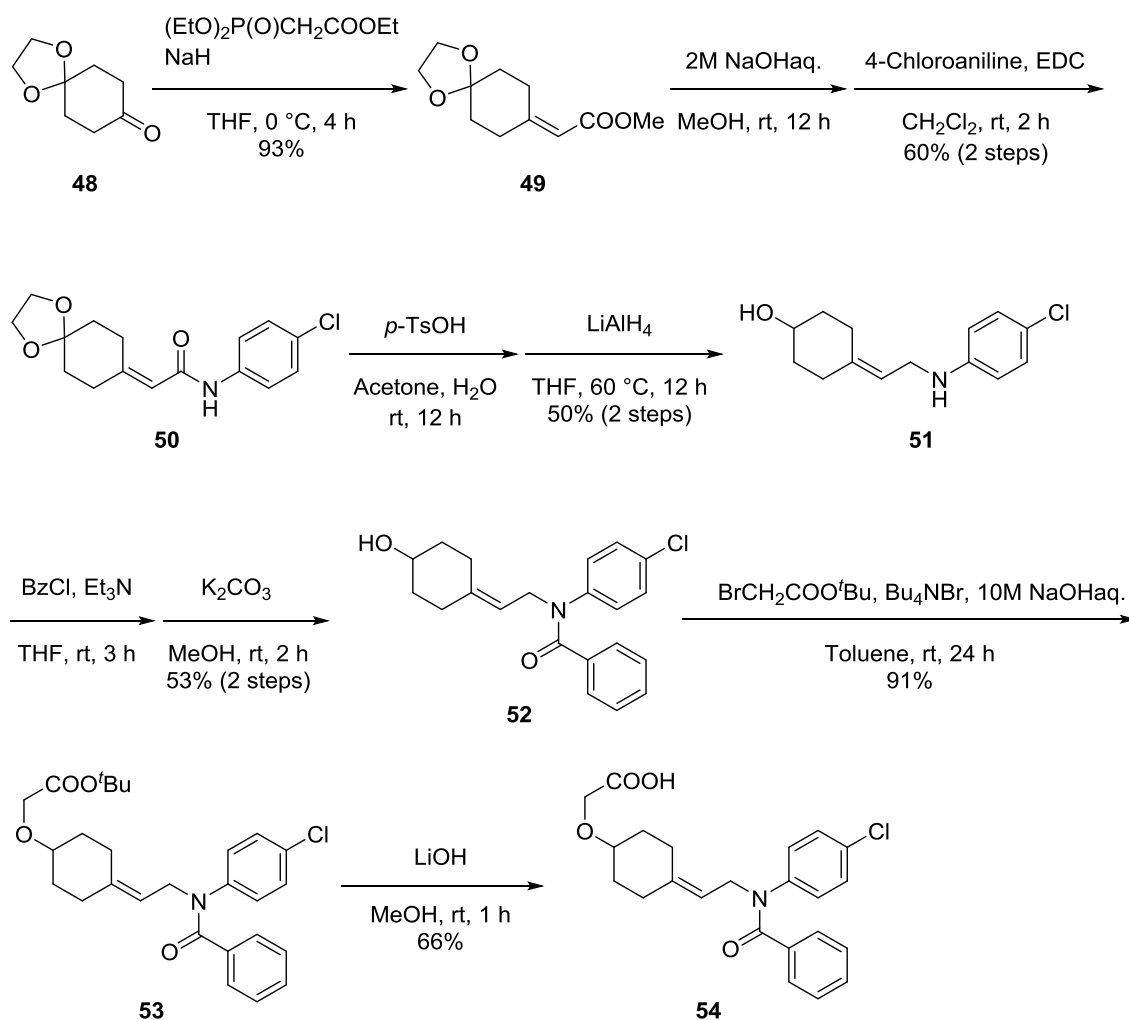


図 3-8 シクロヘキサン誘導体の合成

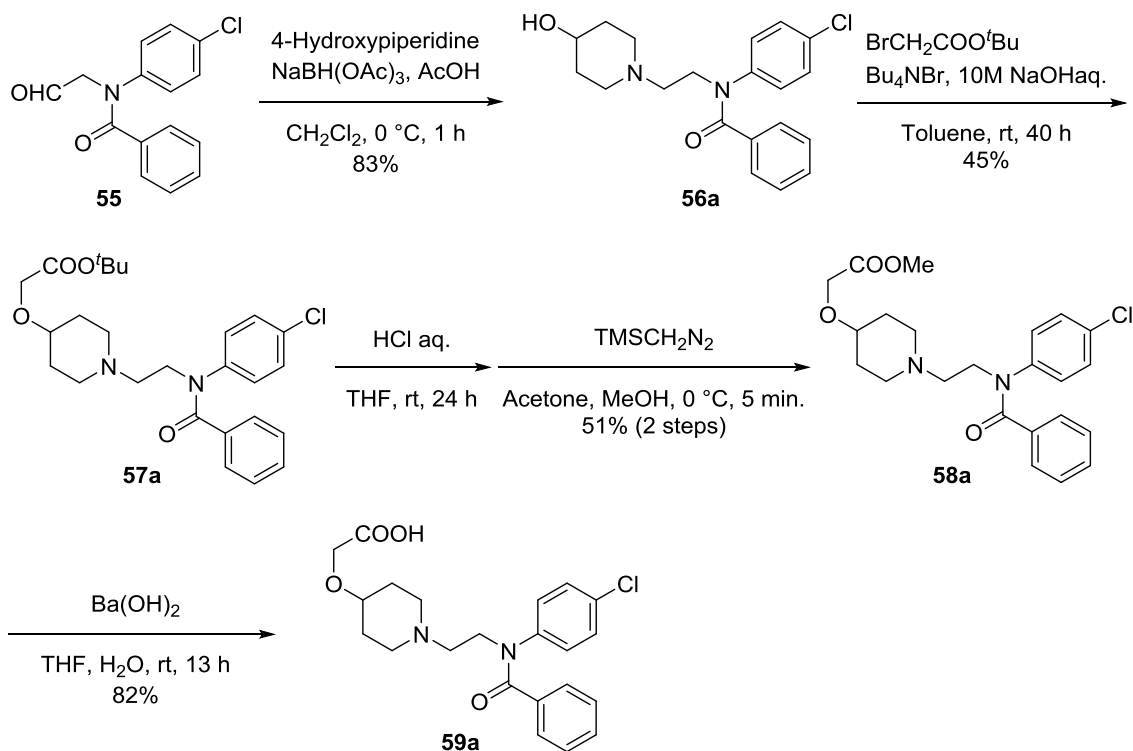


図 3-9 ピペリジン誘導体の合成

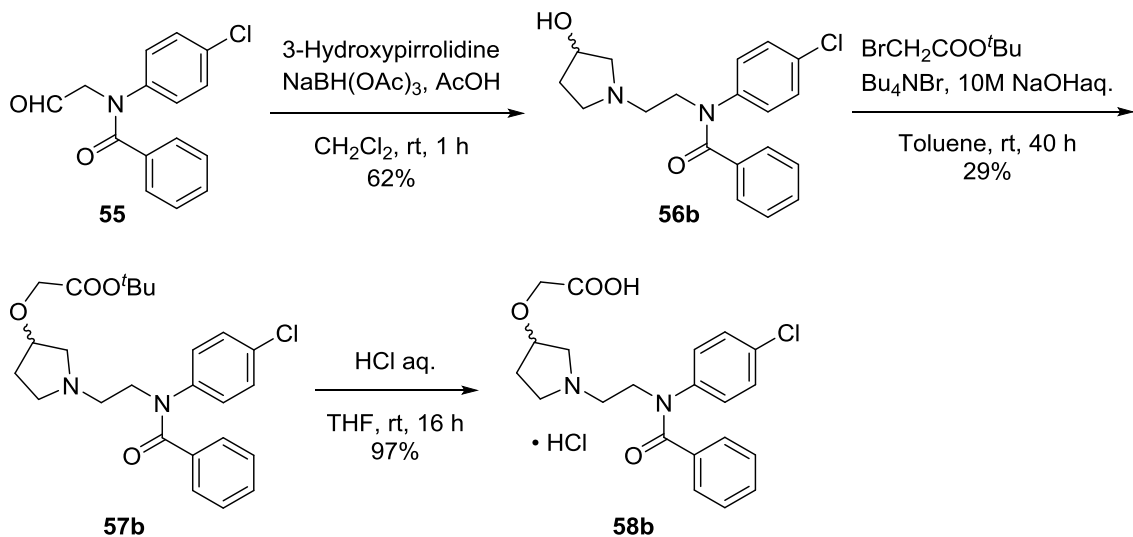
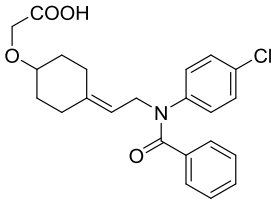
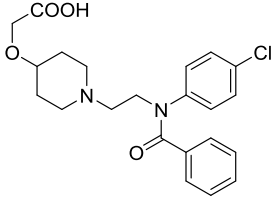
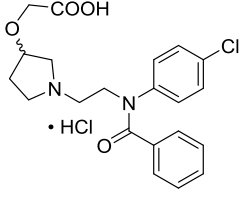
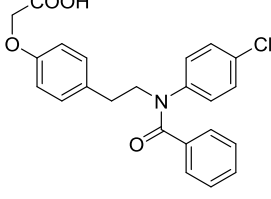


図 3-10 ピロリジン誘導体の合成

表 3-2 主骨格変換におけるヒト血小板凝集抑制作用

化合物 No.	構造	血小板凝集抑制 IC ₅₀ (nM)
54		320
58a		440
58b		23,000
43a		740

シクロヘキサンおよびピペリジン誘導体に関しては、ベンゼン誘導体を上回る血小板凝集抑制作用を示した (54, 58a vs 43a)。特に、ピペリジン窒素のような塩基性の高い窒素原子を有する IP 受容体作動薬は例がなく、新しいタイプの IP 受容体作動薬として、非常に興味深い結果であった。

そこで、主骨格部の環構造としては、特徴のあるピペリジンを選択し、続いてベンズアニリド部分の置換基変換による IP 受容体作動性向上を目指した。

第 2 項 側鎖変換と構造活性相関

本項では、主骨格部をピペリジンに固定し、末端ベンズアニリド部分の置換基を種々変換した。構造変換のポイントとしては、電子的効果やかさ高さを变化させた置換基を導入することである。化合物の合成は、これまでとは異なり、多くの種類を効率的に合成するため固相法によるコンビナトリアル合成を利用した。合成法を図 3-11 に示す。

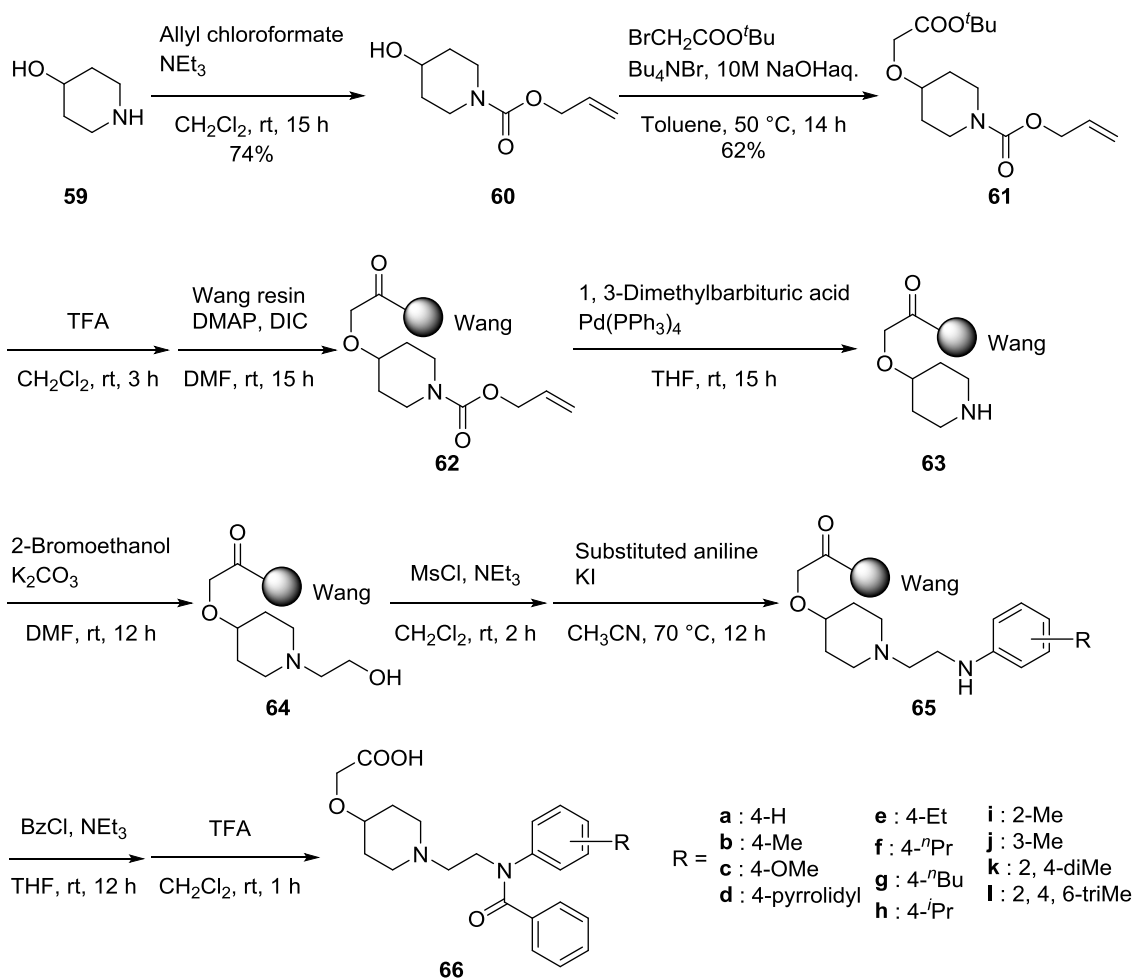


図 3-11 固相合成によるピペリジン型 IP 作動薬の合成

合成は、まず、市販の 4-ヒドロキシピペリジンの窒素原子をアリルカーボナートで保護した後、O-アルキル化により酢酸 *t*-ブチルエステル構造を導入し、エステル **61** とした。**61** のエステル部分を加水分解した後、Wang 樹脂に固相化し、固相担持体 **62** とした。**62** の

窒素部分の脱保護、つづくヒドロキシエチル化でアルコール **64** を得た。**64** のヒドロキシル基をメシル化し、アニリン部分、続いてベンゾイル部分を導入した。最後に Wang 樹脂から切り出し、ベンズアニリド **66a** から **66l** を得た。化合物はいずれも HPLC で精製し、LC/MS で目的物の生成を確認した。これらの血小板凝集抑制作用を表 3-3 に示す。

表 3-3 アニリン部の置換基効果

化合物 No.	R	血小板凝集抑制
		IC ₅₀ (nM)
66a		3,200
66b		130
66c		900
66d		>1,000
66e		430
66f		1,000
66g		>1,000
66h		>1,000
66i		>1,000
66j		>1,000
66k		>1,000
66l		>1,000

今回の置換基導入により、以下が明らかとなった。

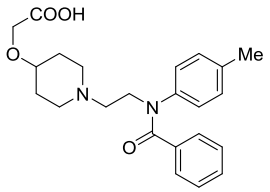
- ① アニリン 4 位へのメチル基の導入により、無置換から 10 倍以上血小板凝集抑制作用が向上した (**66a vs 66b**)。
- ② 4 位へのアルキル基導入は炭素数が増えると効果が弱くなり、メチル置換が最も血小板凝集抑制作用が強力であった (**66b vs 66e~h**)。
- ③ 置換基がメチル基であっても、4 位以外の置換位置、あるいは多置換では血小板凝集抑制作用が認められなかった (**66b vs 66i~l**)。

これらの結果から、アニリン部に置換基効果が認められるものの、有効な置換基は少なく、メチル置換が有効であったものの、置換位置やアルキル鎖長の許容範囲は狭かった。これらの結果については、アニリン周辺のかさ高さが影響しており、置換基の立体反発により、ベンズアニリドの 2 つのベンゼンが好ましい配座となることを妨げていると推定した。

ここまでで合成したピペリジン型化合物で、最も血小板凝集抑制作用が強力であった 4-メチル体 **66b** について、他のプロスタグランジン受容体に対する選択性、さらに体内動態を確認することとした。

各種プロスタグランジン受容体との親和性を検討するため、ヒトプロスタグランジン受容体を強制発現させた細胞をそれぞれ調製し、受容体結合実験を行った。結果を表 3-4 に示す。

表 3-4 **66b** のヒトプロスタグランジン受容体親和性

化合物 No.	構造	ヒトプロスタグランジン受容体親和性 K_i (nM)						
		IP	EP ₁	EP ₂	EP ₃	EP ₄	FP	TP
66b		990	>50,000	>50,000	>50,000	>50,000	>50,000	>50,000

4-メチル体 **66b** は、IP 受容体に対し、 $K_i = 990$ nM の親和性を示したものの、他のプロスタグランジン受容体の K_i は 50 μ M を超えており、IP 受容体に 50 倍以上の選択性を有していた。この結果より、**66b** は、受容体親和性は改善余地があるものの、選択性の良好な IP 受容体作動薬であることが確認できた。

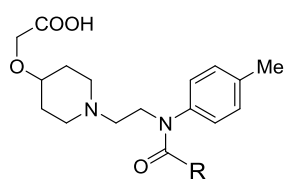
次に、イヌにおける体内動態を確認した。先に述べたジヒドロベンゾオキサジン誘導体の時と同様、絶食したイヌに 4-メチル体 **66b** を 2.5 mg/kg 経口投与したところ、最高血漿中濃度 (Cmax) = 1611 ng/mL、BA = 77%とジヒドロベンゾオキサジン **37** からの大幅な向上が認められた (**37** : 最高血漿中濃度 (Cmax) = 138 ng/mL、BA = 13%)。この理由を明らかにするには今後詳細な検討が必要であるが、**66b** のピペリジン窒素は生理的 pH でプロトン化されてカチオン型となるため、イオン化部位がカルボン酸だけで、生理的 pH ではアニオン型となる **37** よりも、胆汁中排泄に関わるアニオントランスポーターに認識されにくいのではないかと推定した。これは主骨格に塩基性窒素を有するピペリジンを選択した効果であると思われる。

しかしながら、医薬開発候補とするにはまだ血小板凝集抑制作用が弱いことが **66b** の欠点である。そこで、 $IC_{50} < 100$ nM の血小板凝集抑制作用を目指し、さらなる構造変換を行った。

血小板凝集抑制作用向上のための変換として、これまで検討していなかった、ベンゾイル部分の置換基変換を試みた。アニリン部分の置換基変換が血小板凝集抑制作用に影響を与えるように、ベンゾイル部分の置換基変換も同様の影響があると期待できる。

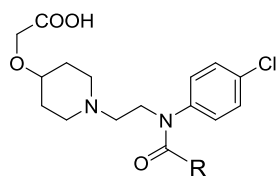
導入する置換基は、ハロゲン、電子供与基、電子求引基、芳香環など複数で、置換位置も複数検討することとした。また、アニリン部分の置換基は、これまで合成したピペリジン型 IP 作動薬の中で血小板凝集抑制作用が高かった、4-メチルおよび 4-クロロとした。これらの置換基を有する多くの種類の誘導体を効率的に得るため、アニリン部の置換基変換と同様、目的物の合成には固相合成法を用いた。ベンゾイル部の置換基変換について、図 3-12 に合成を示す。

表 3-5 ベンゾイル部の置換基効果



化合物 No.	R	血小板凝集抑制
		IC ₅₀ (nM)
66b		130
68a		970
68b		690
68c		1,200
68d		>10,000
68e		>10,000
68f		160
68g		100
68h		160
68i		32
68j		>10,000

表 3-6 ベンゾイル部の置換基効果 2



化合物 No.	R	血小板凝集抑制
		IC ₅₀ (nM)
43a		440
69a		2,000
69b		1,500
69c		3,100
69d		>10,000
69e		>10,000
69f		340
69g		350
69h		310
69i		74
69j		>10,000

今回の置換基導入により、次の①～⑤の結果を得た。

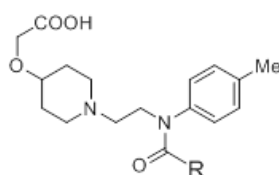
- ① アニリン部分の置換基が 4-メチル、4-クロロいずれの場合にも、ベンゾイル部分への置換基導入効果は類似の傾向を示した。
- ② 4 位置換はいずれも活性が低下した。特に CF₃ およびベンゼンの導入は大幅な血小板凝集抑制作用の低下を引き起こした (68d、68e、69d、69e)。
- ③ ベンゾイル部 3 位の置換では、CF₃ をのぞき、良好な血小板凝集抑制作用を示した。強力な電子求引基である CF₃ の導入はいずれの置換位置においても血小板凝集抑制作用が大きく低下した (68d、68j、69d、69j)。
- ④ 電子供与基であるメトキシ基の置換において、3 位では活性向上、4 位では活性低下が認められた (68i vs 68c、69i vs 69c)。
- ⑤ 3-メトキシ置換が最も血小板凝集抑制作用向上に効果的であり、目標である IC₅₀ < 100 nM をクリアした (68i、69i)。

これらの結果の中で、③の、いずれの置換位置でも CF₃ 導入により大幅な血小板凝集抑制作用の低下が認められたことから、ベンゾイル部分の電子密度の低下が活性低下を招く可能性があると推定できる。

また、電子供与基であるメトキシ基の置換において、3 位では活性向上、4 位では活性低下が認められたことから、ベンゾイル部分への置換基導入による活性変化は、単なる電子状態への影響だけでなく、立体的な影響も受けることが予想された。

次に、血小板凝集抑制作用が最も強力であった、アニリン部 4-メチル、ベンゾイル部 3-メトキシ置換を基本構造として、ベンゾイル部分にさらに電子供与基を導入した。合成法はこれまでと同様、固相合成法を用いた。合成した 70a~e と、その血小板凝集抑制作用を表 3-7 に示す。

表 3-7 ベンゾイル部の置換基効果 3



化合物 No.	R	血小板凝集抑制
		IC ₅₀ (nM)
68i		32
70a		530
70b		1,600
70c		>3,000
70d		>3,000
70e		21

ベンゾイル部の 2, 4, 5, 6 位に、それぞれメトキシ基を導入したが、いずれも元となる 3-メトキシ体 **68i** (IC₅₀ = 32 nM) よりも血小板凝集抑制作用が低下した (**70a~d**)。

一方、3, 4 位にメチレンジオキシ構造を導入した **70e** は血小板凝集抑制作用が向上した (**70e** vs **68i**)。置換位置が 3, 4 位でアルコキシ置換という共通点がありながらも、3, 4-メトキシ体 **70d** と 3, 4-メチレンジオキシ体 **70e** の血小板凝集抑制作用が大きく異なる点は大変興味深い結果であった。

同じ 3, 4 位のアルコキシ置換でありながら活性が大きく異なった原因のひとつは、メチレンジオキシ基が環構造のためリジットかつコンパクトであるのに対し、ジメトキシはフレキシブル (回転可能) かつかさ高いことであると考えた (図 3-13)。

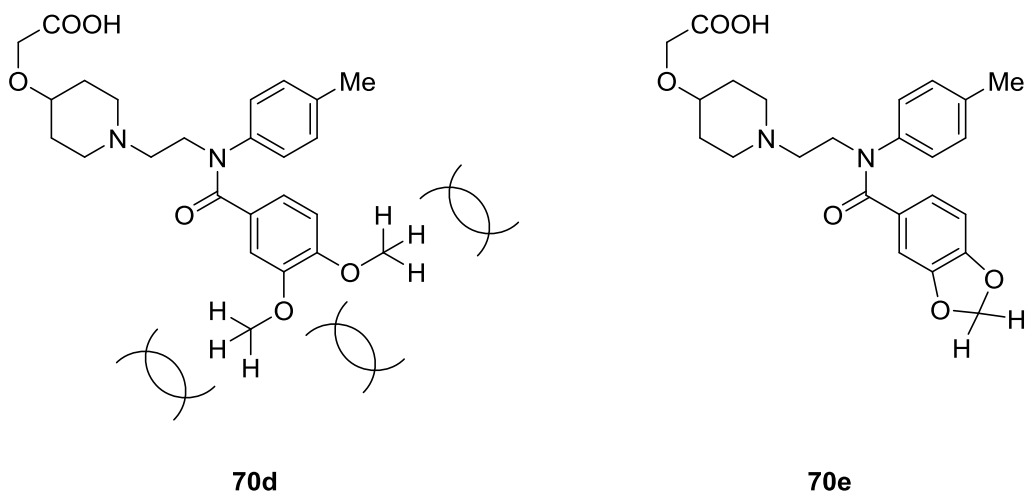


図 3-13 70d と 70e の違いの推定

例えば、ベンゾイル部分のかさ高い置換基の存在は、IP 受容体とのベンゾイル部分の直接の相互作用の阻害、あるいは2つのベンゼン部分（ベンズアニリド部）の配座を好ましくない方向に向ける、などを引き起こす可能性が考えられる。

これまでの構造変換で、目的とする血小板凝集抑制作用 ($IC_{50} < 100$ nM) を有する化合物を見出した (68i, 69i, 70e)。そこで、最も活性が高かった 3, 4-メチレンジオキシ体 70e について、ヒトプロスタグランジン受容体結合試験、イヌ PK 試験を実施した。ヒトプロスタグランジン受容体結合試験結果を表 3-8 に示す。

表 3-8 70e のヒトプロスタグランジン受容体親和性

化合物 No.	構造	ヒトプロスタグランジン受容体親和性 K_i (nM)					
		IP	EP ₂	EP ₃	EP ₄	FP	TP
70e		400	>50,000	>50,000	>50,000	>50,000	>50,000

表 3-8 に示す通り、検討したプロスタグランジン受容体のなかで受容体親和性が認められた受容体は IP 受容体のみであり、未検討のプロスタグランジン受容体 (EP₁、DP) があるものの、**70e** は IP 受容体選択性が高いことが期待できた。検討した受容体の中では 100 倍以上 IP 受容体に選択的である。

さらに **70e** の絶食したイヌでの PK 試験を実施したところ (0.5 mg/kg、経口投与)、良好な曝露 (C_{max} = 130 ng/mL) と BA (76%) を示した。

以上より、本章第 1 節で掲げた目標である、「ジヒドロベンゾオキサジン誘導体を起点化合物として、IP 受容体作動性に基づく強力な血小板凝集抑制作用を維持し、かつ体内動態を改善した新規なノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬の創出」を達成できた。

第 3 節 ピペリジン型 IP 受容体選択的作動薬のスケールアップ合成

ここまでの検討は、目的とするレベルの薬理作用、体内動態特性を有する化合物の創出についてであった。しかしながら、医薬を目指すには、第 1 章で述べた通り、薬理作用や安全性、体内動態とともに、物性や製造に関する課題もクリアする必要がある。例えば、熱安定性の低い化合物を経口剤向けに製剤化する際、かかる熱により一部が分解し、一定の品質が保てない可能性がある。また、採算性のとれるコストで、必要な量の原薬および製剤を製造することも必須である。前節で見出したピペリジン型ノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬は、コンビナトリアル合成の手法で少量多品種の化合物を合成した。しかしながら、有望化合物をさらに高次評価に進めるためには、スケールアップ可能な合成法を確立する必要がある。探索初期段階においては、数十 mg の合成でも検討が可能であるが、開発化合物としての適否を検討する段階においては、kg スケールの合成が必要となる。また、高純度の化合物を再現よく合成するため、さらに経済性の高い（低コストの）製造とするには、精製法をカラムクロマトグラフィーではなく、再結晶とすることが望ましい。また、原薬は、単に再結晶可能な結晶となるだけでなく、溶媒和などない、開発に適した結晶であることも必要である。

そこで、本節では、前節で見出した **70e** について、医薬開発を目指した、スケールアップ合成を可能とする合成法を検討した。

まず、化合物探索に用いた固相合成ルートを次に示す（図 3-14）。本ルートはアニリン部とベンゾイル部を種々変換するため、これらの導入を合成の後半に置き、最後に Wang 樹脂から切り出すルートである。

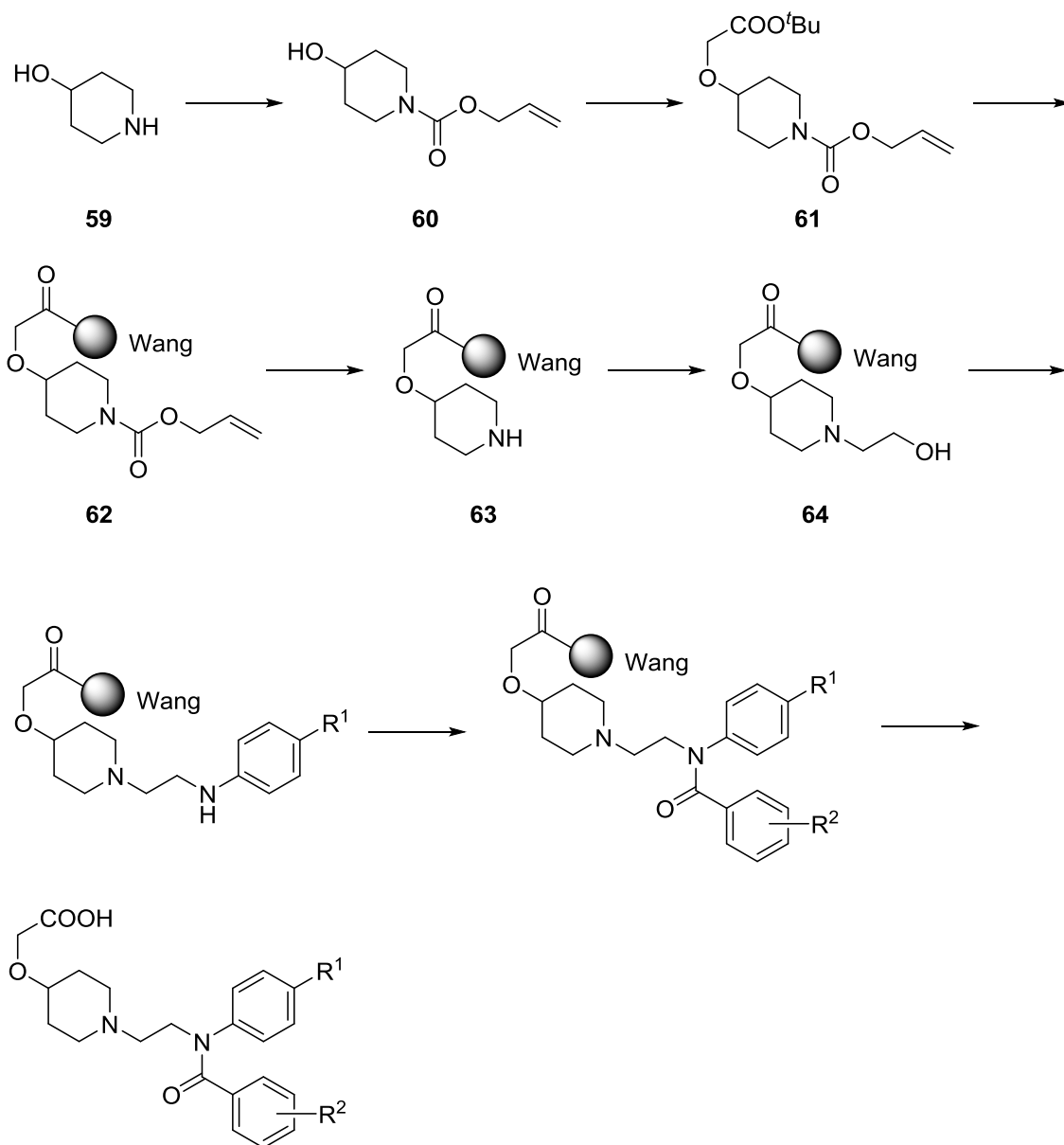


図 3-14 固相合成ルート

今回確立すべき合成ルートは 3, 4-メチレンジオキシ体 **70e** に特化した合成ルートであり、高収率、カラムレスの精製、ショートステップ、が求められる。また、固相合成ルートのように、直線的なルートではなく、複数成分を別途並行して合成し、後半で合わせる収束的なルートが望ましい。

ここで、今回検討する合成は、収率の良い合成法が報告されており¹⁶⁾ (図 3-15)、委託製造可能なピペリジン **74** を利用することとし、エチレンベンズアニリド部分を並行して合成す

る収束的ルート考えた。3,4-メチレンジオキシ体 **70e** の逆合成を図 3-16 に示す。

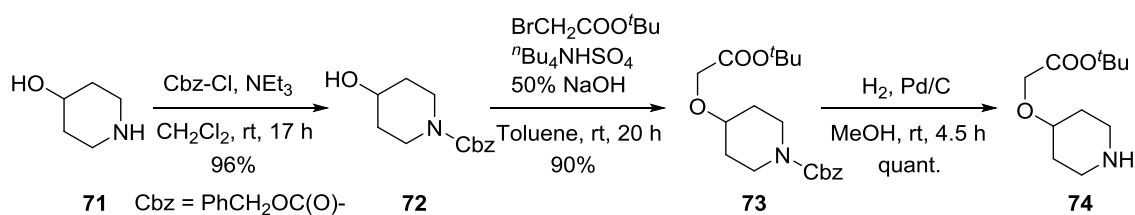


図 3-15 ピペリジン **74** の合成 (文献既知法)

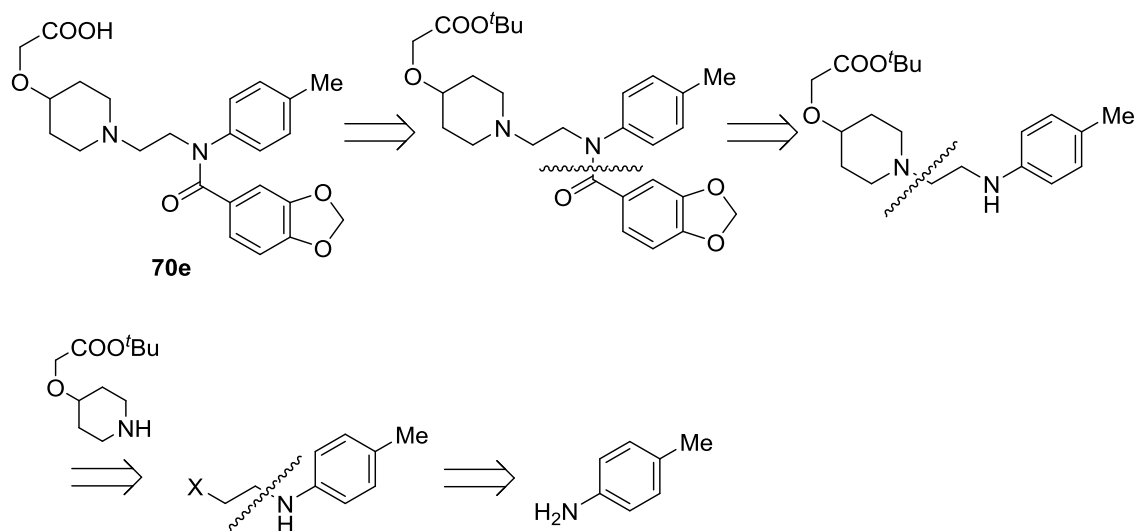


図 3-16 3,4-メチレンジオキシ体 **70e** の逆合成

図 3-16 に示した計画では、出発物質は入手容易な *p*-トルイジンである。ここで、*p*-トルイジンへのハロエチル基の導入は、1 ステップではなく、アミドを経由する 2 ステップの方が安定した結果が得られると思われる (図 3-17)。

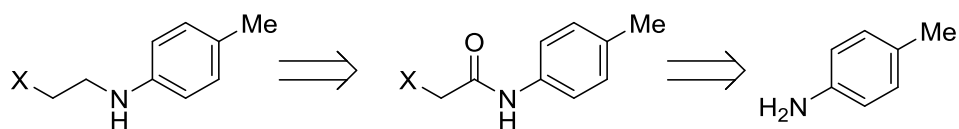


図 3-17 中間体の逆合成

その他の反応は、ピペリジン窒素のアルキル化、酸クロリドによるベンゾイル化、酸加水分解であり、一般に知られた反応で対応可能である。

反応条件を検討し、確立した合成ルートと反応条件を図 3-18 に示す。

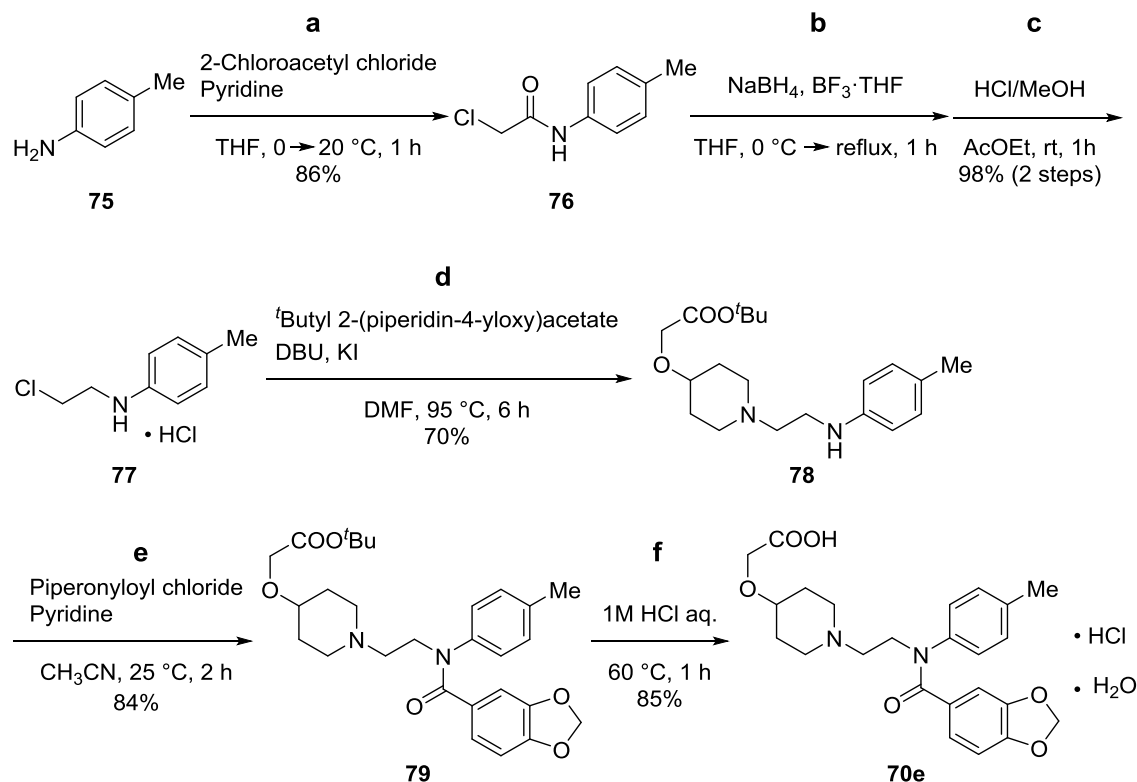


図 3-18 3, 4-メチレンジオキシ体 **70e** の新規合成法

新たな全合成ルートの各工程について概説する。

工程 a : *p*-トルイジンのクロロアセチル化である。反応は、*p*-トルイジンとピリジンの THF 溶液に内温 20 °C 以下を保ちながらクロロアセチルクロリドを滴下し、その後内温 20 °C で攪拌する。反応終了後、蒸留水、1 M 塩酸を順次加え、析出した固体を濾取後、蒸留水でスラリー洗浄、続いて減圧加熱乾燥し、クロロアセチルアミド **76** を得る。

工程 b, c : アミドの還元と塩酸塩化である。アミド部のカルボニルのみを選択的に還元す

るため、還元剤としては水素化ホウ素ナトリウムと三フッ化ホウ素・THF 錯体から発生させた BH₃ を用いる。反応は、クロロアセチルアミド **76** の THF 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム、続いて三フッ化ホウ素・THF 錯体を -10~0 °C で加え、その後 1 時間加熱環流する。反応終了後、水、炭酸カリウム水溶液を加え、続いて酢酸エチルを加える。析出物を濾別後、酢酸エチル層を分液し、ここに塩化水素/メタノールを加える。濃縮後、得られた固体を酢酸エチルで洗浄し、減圧乾燥し、クロロエチルアニリン **77** を得る。ここでの塩酸塩化は、分子内アルキル化によるアジリジン形成を防ぐためである。

工程 d : クロロエチルアニリン **77** による、ピペリジン **74** のアルキル化である。塩基として DBU を用い、ヨウ化カリウムを添加する。反応は、化合物 **74** の DMF 溶液に、ヨウ化カリウム、クロロエチルアニリン **77**、DBU を加え、95 °C で加熱攪拌する。反応終了後、水を加え、続いて酢酸エチルで抽出する。酢酸エチル層を濃縮し得られた固体をエタノールから再結晶し、アニリン **78** を得る。

工程 e : 二級アミンの酸クロリドによるベンゾイル化である。反応は、アニリン **78** のアセトニトリル溶液にピリジン、続いてピペロニル酸クロリドを内温 10 °C 以下で加え、その後 25 °C で攪拌する。反応終了後、中和、酢酸エチル抽出し、続いてエタノール/*n*-ヘキサンから再結晶し、エステル **79** を得る。

工程 f : エステルの酸加水分解である。反応は、**79** に 1M 塩酸を添加後、内温 60 °C で攪拌する。反応終了後、反応溶液を攪拌しながら徐々に冷却し、析出した結晶を氷冷した蒸留水で洗浄、続いて室温で減圧乾燥することで、カルボン酸 **70e** の塩酸塩、1 水和物を得る。

化合物探索時はフリー体での合成と評価であったが、今回の検討で、物性に問題ない結晶取得を試みた結果、塩酸塩かつ 1 水和物の形で、安定な結晶を得ることができた。元素分析値、

含水量も組成を支持するものであった。

p-トレイジンからの収率は 42%であり、まだ改良の余地はあるものの、収率、反応操作に大きな懸念はなかった。この合成法で、**70e** の塩酸塩、1 水和物 254.5g の合成を実施し、スケールアップも問題ないことを確認した。

以上より、スケールアップ対応可能な **70e** の新規合成法を確立することができた。

第4節 結論

本章では、強力な血小板凝集抑制作用を有し、かつ体内動態良好な、新規ノンプロスタノイド IP 選択的作動薬の設計と合成、さらに構造活性相関について検討した。その結果は次の点にまとめられる。

- ① 強力な血小板凝集抑制作用を有すものの、体内動態に懸念のあった、末端にベンズアニリド部位を有する、ジヒドロベンゾオキサジン誘導体の、主骨格（ジヒドロベンゾオキサジン）部は、他の環状構造に代替可能であることが分かった。
- ② 主骨格部としては、ピペリジンが有効であり、ジヒドロベンゾオキサジン誘導体より血小板凝集抑制作用が劣るものの、体内動態が大幅に向上した。この理由のひとつとして、ピペリジン窒素が生理的 pH でカチオン型にイオン化し、化合物の胆汁中排泄に関与するアニオントランスポーターに認識されにくくなったことが考えられる。この点でもピペリジン構造の導入は効果的であった。
- ③ 末端ベンズアニリド部分の2つのベンゼン部に対し、適切な位置に適切な置換基を入れると血小板凝集抑制作用が向上することが分かった。効果的な置換基/置換位置としては、アニリン側ベンゼンの4位にメチル基、ベンゾイル側ベンゼンの3,4位にメチレンジオキシ基であり、この変換により、強力な血小板凝集抑制作用と高い IP 受容体選択性を有する、ノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬が得られた。さらにベンズアニリド部の置換基における置換基効果を明らかにした。
- ④ 得られた、強力な血小板凝集抑制作用を有するピペリジン型作動薬は、イヌ体内動態が良好で、高い曝露と BA を示した。
- ⑤ 見出した **70e** の、スケールアップ対応可能な合成法を検討し、*p*-トルイジンを出発物質とする、5工程、収率42%の新規合成法を確立した。

本章で得られた結果から、以下の結論が得られる。

ペペリジンはノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬の主骨格部分として有用であり、この主骨格に、IP 受容体作動性発現に重要な、オキシ酢酸とベンズアニリド構造の末端部分を有する側鎖を組み合わせることで、強力かつ選択的、さらに体内動態が良好な IP 受容体作動薬が得られることが分かった。このような、塩基性の高い窒素を有する IP 受容体作動薬は従来知られていなかった。

さらに、探索時での固相法による合成法から、スケールアップ対応可能な、短工程、カラムレス、好収率の新規合成法を確立できた。

今後、さらなる高次評価が必要であるが、本章で得られたノンプロスタノイド IP 受容体作動薬は、強力な IP 受容体作動性と高い IP 受容体選択性を有するとともに、化学的・代謝的に安定な IP 受容体作動薬という特長から、従来の IP 受容体作動薬よりもコンプライアンスが改善された医薬として期待できる。

第5節 実験

^1H NMR スペクトル (400MHz) は、核磁気共鳴装置 (日本電子製 JNM-AL410 型) を用いて測定し、ケミカルシフトはテトラメチルシラン (TMS) を基準として δ (単位 : ppm) で示した。

赤外吸収スペクトルは、日本電子製 FT/IR-410 型フーリエ変換赤外分光光度計を用いて KBr 法または ATR 法で測定した。

質量分析、元素分析は、株式会社東レリサーチセンターに測定を依頼した。

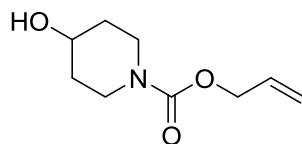
融点は、Yanako MP500D を用いて測定した。

固相合成において、LC/MS 分析および分取 LC/MS は Waters 社製 XterraTM Prep MS C₁₈ カラム (分析 : 粒子径 5 μm , 4.6 mm \times 50 mm 流速 1.5 mL/min.、分取 : 粒子径 5 μm , 10 mm \times 50 mm) を用い、分析には Waters 社製 MicroMass ZQ を、分取には Agilent 社製 System1100 を用いた。パラレル合成の際は、Bohdan 社製 MiniBlockTM を用いた。

固相担体と結合した化合物は、トリフルオロ酢酸の 10% ジクロロメタン溶液で処理することで樹脂から切り出し、LC/MS で分析した。

固相合成

4-ヒドロキシピペリジン-1-カルボン酸アリル (60)



60

4-ヒドロキシピペリジン (4.00 g, 39.6 mmol) のジクロロメタン (50 mL) 溶液にトリエチルアミン (16.6 mL, 119 mmol) を加え、0 $^{\circ}\text{C}$ に冷却した。ここにクロロギ酸アリル (6.29 mL, 59.3 mmol) を滴下し、そのまま 1 時間攪拌した。反応液を室温まで昇温し、さらに 15 時間攪拌した。次に、水 (60 mL) を加え、続いて酢酸エチル (60 mL \times 3) で抽出した。有

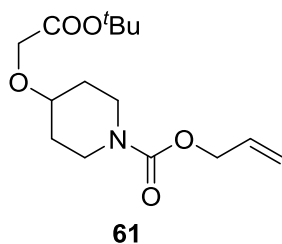
機層を乾燥後濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出液：シクロヘキサン/酢酸エチル = 20/1）で精製し、表題化合物（5.43 g, 74%）を無色油状物として得た。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 1.45–1.54 (2H, m), 1.85–1.88 (2H, m), 2.26 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 3.09–3.16 (2H, m), 3.82–3.91 (3H, m), 4.58 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 5.21 (1H, dd, $J = 1.5, 9.5$ Hz), 5.29 (1H, dd, $J = 1.5, 17.2$ Hz), 5.94 (1H, ddt, $J = 8.5, 9.5, 17.2$ Hz)

MS (ESI) : m/z 186 $[\text{M}+\text{H}]^+$

4-(2-(*t*-ブトキシ)-2-オキソエトキシ)ピペリジン-1-カルボン酸アリル (**61**)



60 (5.43 g, 29.3 mmol) のトルエン (100 mL) 溶液に、10 M 水酸化ナトリウム水溶液 (50 mL)、テトラ *n*-ブチルアンモニウムブロミド (4.72 g, 14.7 mmol) を加えた。次に、プロモ酢酸 *t*-ブチル (10.8 mL, 73.3 mmol) を滴下し、続いて反応溶液を 50 °C に加熱し、14 時間攪拌した。水層と有機層を分液し、続いて水層を酢酸エチル (50 mL \times 3) で抽出した。有機層を合わせ、乾燥、続いて濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出液：シクロヘキサン/酢酸エチル = 5/1）で精製し、表題化合物 (5.41 g, 収率 62%) を無色油状物として得た。

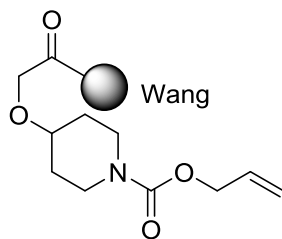
^1H NMR (CDCl_3)

δ 1.43 (9H, s), 1.52–1.61 (2H, m), 1.78–1.86 (2H, m), 3.15–3.22 (2H, m), 3.51–3.59 (2H, m), 3.75–3.82 (2H, m), 3.96 (2H, s), 4.53 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 5.15 (1H, dd, $J = 1.5, 9.5$ Hz), 5.25 (1H, dd, $J = 1.5, 17.2$ Hz), 5.89 (1H, ddt, $J = 8.5, 9.5,$

17.2 Hz)

MS (ESI) : m/z 300 [M+H]⁺

Wang 樹脂固相化 2-((1-(アリルオキシ)カルボニル)ピペリジン-4-イル)オキシ)酢酸 (**62**)



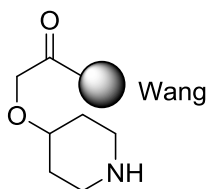
62

61 (6.60 g, 22.1 mmol) にトリフルオロ酢酸の 50% ジクロロメタン溶液を加え、3 時間攪拌した。反応溶液を濃縮し、続いてトルエン (60 mL × 2) で共沸した。残渣に DMF (40 mL) を加え、基質溶液とした。

基質溶液を Wang 樹脂 (6.0 g, 1.3 mmol/g) の入った反応容器に加え、続いて、4-ジメチルアミノピリジン (1.50 g, 12.3 mmol)、*N,N'*-ジイソプロピルカルボジイミド (4.15 mL, 27.0 mmol) を加え、15 時間攪拌した。次に、固体を DMF、メタノール、THF、ジクロロメタン (それぞれ 50 mL × 5) で順次洗浄し、続いて真空乾燥して、表題化合物 (7.99 g, 0.976 mmol/g) を得た。

MS (ESI) : m/z 244 [M+H]⁺

Wang 樹脂固相化 2-(ピペリジン-4-イルオキシ)酢酸 (**63**)



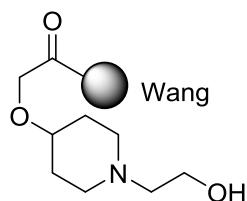
63

62 (1.44 g, 0.971 mmol/g) の THF (10 mL) スラリーに、Pd(PPh₃)₄ (578 mg, 0.50

mmol)、1,3-ジメチルイソイソビツール酸 (2.19 g, 14.0 mmol) を加え、15 時間攪拌した。固体を DMF、メタノール、THF、ジクロロメタン (それぞれ 5 mL × 5) で順次洗浄し、続いて真空乾燥して、表題化合物 (1.77 g, 0.790 mmol/g) を得た。

MS (ESI) : m/z 160 [M+H]⁺

Wang 樹脂固相化 2-((1-(2-ヒドロキシエチル)ピペリジン-4-イル)オキシ)酢酸 (**64**)

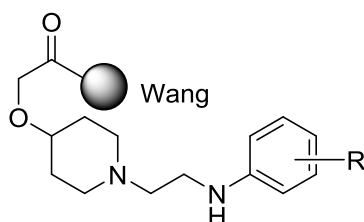


64

63 (1.36 g, 0.971 mmol/g) の DMF (5 mL) スラリーに炭酸カリウム (933 mg, 6.75 mmol)、2-ブロモエタノール (390 μ L, 5.5 mmol) を加え、12 時間攪拌した。固体を水、DMF、メタノール、THF、ジクロロメタン (それぞれ 5 mL × 5) で順次洗浄し、続いて真空乾燥して、表題化合物 (1.56 g, 0.884 mmol/g) を得た。

MS (ESI) : m/z 204 [M+H]⁺

Wang 樹脂固相化 2-((1-(2-(置換フェニルアミノ)エチル)ピペリジン-4-イル) オキシ) 酢酸 (**65**) (例として R = 4-Me)



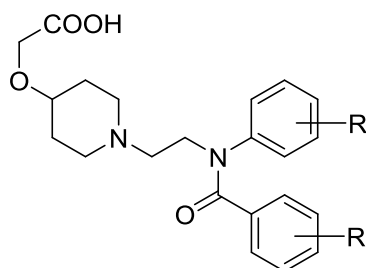
65

64 (2.97 g, 1.067 mmol/g) のジクロロメタン (20 mL) スラリーに、トリエチルアミン (1.86 mL, 13.4 mmol) を滴下し、続いて反応溶液を氷浴にて冷却した。メタンスルホン酸ク

クロリド (0.69 mL, 8.93 mmol) を滴下し、そのまま 30 分攪拌し、続いて室温に昇温して、さらに 2 時間攪拌した。固体を DMF、THF、ジクロロメタン (それぞれ 15 mL × 3) で順次洗浄し、続いて真空乾燥して、固相担体を得た。

次に、この固相担体のアセトニトリル (30 mL) スラリーに、*p*-トルイジン (2.55 g, 23.8 mmol)、ヨウ化カリウム (247 mg, 1.49 mmol) を加え、70 °C で 12 時間攪拌した。固体を DMF、メタノール、THF、ジクロロメタン (それぞれ 250 mL × 5) で順次洗浄し、続いて真空乾燥して、表題化合物 (3.12 g, 0.949 mmol/g) を得た。

2-((1-(2-(*N*-フェニルベンズアミド)エチル)ピペリジン-4-イル)オキシ)酢酸



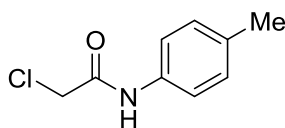
Carboxylic acid (Target Product)

65 (170 mg, 0.949 mmol/g) の THF (1 mL) スラリーに、酸クロリド (5.0 当量, 0.80 M)、トリエチルアミン (126 μ L, 0.90 mmol, 0.90 M) を加え、12 時間攪拌した。固体を DMF、メタノール、THF、ジクロロメタン (それぞれ 1 mL × 5) で順次洗浄し、続いて真空乾燥した。

次に、得られた固体にトリフルオロ酢酸の 10% ジクロロメタン (1.0 mL) 溶液を加え、1 時間攪拌した。固体を濾別し、ジクロロメタン (1 mL) で洗浄した。この洗浄液と濾液を合わせ、濃縮し、粗生成物を得た。この粗生成物を分取 LC/MS (H_2O/CH_3CN) で精製し、目的とするカルボン酸を得た。

スケールアップ合成

2-クロロ-*N*-(*p*-トリル)アセトアミド (76)



76

10 L のガラス反応容器 (四ツ口) に *p*-トルイジン 500.6 g (4.672 mol) を秤量 (Mettler 社、PM-16K) し、反応装置を組み立てた (メカニカルスターラー、500 mL 滴下ポート、温度計、アルゴン置換コック)。反応容器を減圧後、アルゴン置換した (減圧度 100 mmHg 以下、置換回数 3 回)。アルゴンをフローしながら、THF 2058.8 g を加えて攪拌し、これにピリジン 388.1 g (4.906 mol、1.05 当量) を加え、氷/食塩浴により内温を -2.0 °C に冷却した。塩化クロロアセチル 554.9 g (4.913 mol、1.05 当量) を滴下漏斗より、内温を 20 °C 以下に保ちながら、85 分かけて滴下した。滴下中の内温は 3.0~16.0 °C であった。滴下終了後、氷/食塩浴を外し、内温を室温に昇温した。内温が 20 °C に達した時点から反応開始とし、反応開始後 30 分および 1 時間攪拌した後に、サンプリングし、TLC 分析を行った。反応溶液をシリカゲルプレートおよび NH-シリカゲルプレートに直接スポットし、*n*-ヘキサン/酢酸エチル = 3/1 で展開、UV およびニンヒドリン発色で原料の消失を確認した。

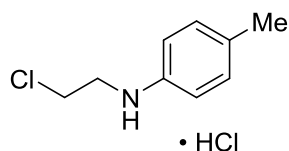
次に、反応容器を氷浴に浸し、内温を 10 °C 以下に冷却した。反応溶液の内温を 25 °C 以下に保ちながら、氷冷した蒸留水 1300 mL を滴下した。次いで 1 M 塩酸 1017.1 g を滴下した後に、氷/食塩浴で内温を 5 °C 以下に冷却した。内温が 5 °C に達した時点からさらに 30 分静置した。析出した固体を濾紙 (ADVANTEC Lot No. C0711503) を用いてブフナーポートにて吸引濾取し、次いで反応容器を蒸留水 1000 mL で洗浄した後、再度、吸引濾取した。得られた固体を 10 L セパラブルフラスコに移し、蒸留水 3000 mL を加えて室温にて 1 時間攪拌 (スラリー洗浄) した後、一晩静置した。沈殿物を濾紙 (ADVANTEC Lot No. C0711503)

を用いて吸引濾取し、次いで蒸留水 3000 mL で洗浄した。濾取した白色粉末を恒量になるまで減圧加熱乾燥をすることにより、白色固体 737.3 g (4.015 mol、収率 85.9%) を得た。

得られた白色固体の機器分析から、表題化合物 **76** であることを確認した。

項目		結果
性状	色、形状	白色、粉末性固体
	水分含有量 (%)	0.38
構造確認	融点 (°C)	161.0–161.4
	元素分析 (C ₉ H ₁₀ ClNO)	計算値 (%) : C, 58.86; H, 5.46; N, 7.63; Cl, 19.31 測定値 (%) : C, 58.89; H, 5.52; N, 7.67; Cl, 19.32
	IR (KBr 法, cm ⁻¹)	3273, 1674, 1616, 1555, 1512, 1401, 1344, 1292, 1252, 1193, 961, 865, 820, 712
	400MHz ¹ H NMR (CDCl ₃)	δ 8.16 (1 H, br), 7.42 (2 H, m), 7.17 (2 H, d, J = 8.0 Hz), 4.19 (2 H, s), 2.34 (3H, s)
	質量分析 (EI, LM)	計算値 : 183 (C ₉ H ₁₀ ³⁵ ClNO)、185 (C ₉ H ₁₀ ³⁷ ClNO) 測定値 : 183、185

N-(2-クロロエチル)-4-メチルアニリン塩酸塩 (**77**)



77

アルゴン置換(減圧度 100 mmHg 以下、置換回数 3 回)した 30 L のガラス反応槽に **76** 721.1 g (3.93 mol) および脱水 THF 7106.5 g (約 7900 mL、2010 mL/mol-基質) を加え、攪拌を開始した。反応槽ジャケットに冷媒を循環させて、冷却を開始した。冷却開始から 52 分後、

懸濁液の内温が $-4.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ となった時点で水素化ホウ素ナトリウム 223.6 g (5.91 mol 、 1.50 当量) を加え、さらに 28 分間攪拌した。懸濁液の内温が $-6.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ となった時点で三フッ化ホウ素 \cdot THF 錯体 1091.3 g (7.80 mol 、 1.98 当量) を、内温を $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下に保ちながら滴下装置より 3 時間 21 分かけて滴下した。滴下中の内温は、 $-6.9\sim-1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ であった。滴下終了後、冷媒の循環を止めて昇温を開始した。内温が $20.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ に達した時点で熱媒を循環させて、反応溶液の加熱を開始した。昇温開始から 1 時間 26 分後、内温が $67.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ に達し還流が始まった時点を実験開始とし、 1 時間加熱還流させた。反応溶液を 16 時間かけて $26.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却した後、サンプリングし、TLC 分析した。反応溶液をシリカゲルプレートに直接スポットし、 n -ヘキサン/酢酸エチル = $4/1$ で展開、UV およびニンヒドリン発色で原料の消失を確認した。

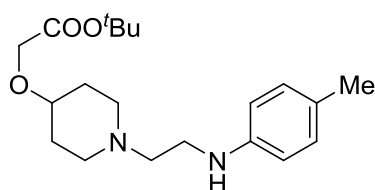
続いて、ジャケット内に冷媒 ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) を循環させて反応溶液を $-7.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却した後、蒸留水 806.6 g (0.8 L) を 1 時間 3 分かけて滴下した。滴下中の内温は $-7.5\sim-1.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ であった。ついで、炭酸カリウム 2520.9 g と蒸留水 2526.1 g より調製した 50% 炭酸カリウム水溶液 5036.5 g を 1 時間 2 分かけて滴下し、さらに 30 分間攪拌した。蒸留水 2012.2 g (2.0 L) および酢酸エチル 5438.1 g (6.0 L) を加え、室温に昇温しながら 35 分間攪拌した後、白色不溶物を吸引濾過により濾別した。濾過物を酢酸エチル 907.4 g および蒸留水 889.8 g で洗浄した。濾液を再び 30 L ガラス反応槽に移液した後、 30 分間攪拌後、分液し、続いて酢酸エチル層を蒸留水 2990.0 g (3.0 L)、 25% 食塩水 3004.1 g (3.0 L) で順次洗浄した。また、水層を酢酸エチル 2646.3 g (3.0 L) で抽出し、得られた酢酸エチル層を、先ほど洗浄に用いた蒸留水および 25% 食塩水で順次洗浄した。酢酸エチル層を合わせて無水硫酸マグネシウム 703.0 g で一晩乾燥後、吸引濾過し、濾過物を酢酸エチル 912.5 g で洗浄して酢酸エチル層濾液を得た。

次に、酢酸エチル層濾液を 50 L ガラス反応槽に移液した後、塩化水素/メタノール溶液 1919.9 g (2.16 M 溶液 (2180 mL)) を加え、室温にて 1 時間攪拌した。反応溶液を 20 L エバポレ

ーターにて減圧濃縮した後、濃縮残渣 1818.0 g に酢酸エチル 3612.0 g (約 4000 mL) を加えて再び減圧濃縮し、酢酸エチルへの溶媒置換を行った。濃縮残渣-1 1752.7 g に再度酢酸エチル 3589.4 g (約 4000 mL) を加えて減圧濃縮し、酢酸エチルへの溶媒置換を行った。2 回目の溶媒置換で得られた濃縮残渣-2 (1651.7 g) は白色固体であった。この濃縮残渣に酢酸エチル 3582.4 g (約 4000 mL) を加え、メカニカルスターラーを用いて 30 分間室温にて攪拌した。攪拌終了後、沈殿物を吸引濾過により濾取し、酢酸エチル約 1000 mL で 2 回洗浄 (酢酸エチル-1 : 923.3 g、酢酸エチル-2 : 901.3 g) して、白色粉末 1171.5 g を得た。得られた粉末をセパラブルフラスコに移し、室温にて減圧乾燥した。16.5 時間減圧乾燥することで、表題化合物 **77** を白色粉末として 782.3 g 得た (収率 98.2%)。構造は ^1H NMR、IR、質量分析および元素分析にて確認した。

項目		結果
性状	色、形状	白色、粉末性固体
構造確認	融点 (°C)	169.0–170.0
	元素分析 (C ₈ H ₁₀ Cl ₃ N)	計算値 (%) : C, 52.45; H, 6.36; N, 6.80; Cl, 34.40 測定値 (%) : C, 52.46; H, 6.40; N, 6.75; Cl, 34.30
	IR (ATR 法, cm ⁻¹)	2905, 2838, 2772, 2684, 2627, 2598, 2458, 2359, 1575, 1511, 1471, 1441, 1374, 1281, 1266, 1201, 1176, 1106, 1058, 1036, 1021, 986, 942, 922, 808, 774, 723, 704.
	400MHz ¹ H NMR (CD ₃ OD)	δ 7.41 (4H, s), 3.86–3.75 (4H, m), 2.41 (3H, s)
	質量分析 (EI, LR)	計算値 : 169 (C ₉ H ₁₂ ³⁵ ClN)、171 (C ₉ H ₁₂ ³⁷ ClN) 測定値 : 169、171.

2-((1-(2-(*p*-トリルアミノ)エチル)ピペリジン-4-イル)オキシ)酢酸 *t*-ブチル (**78**)



78

10 L 四ツ口フラスコに **77** 459.3 g (2.13 mol) を秤量し (METTLER PM-16K、以下省略)、反応装置を組み立てた (温度記録計、1000 mL 滴下ロート、攪拌装置、冷却管、アルゴン置換用コック)。系内をアルゴンで置換 (減圧度 100 mmHg 以下、置換回数 3 回) した後、脱水 DMF 3470.4 g (3.68 L、8 mL/g-基質) を加え、攪拌を開始した。ヨウ化カリウム 35.4 g (0.213 mol、0.10 当量) を秤量し、反応溶液に加えた後、反応容器を氷水に浸して冷却を開

始した。77 485.6 g (2.36 mmol、1.11 当量) を秤量し、内温 13.8~16.7 °Cの間で 23 分間かけて添加した。ついで、DBU 810.2 g (5.32 mol、2.50 当量) を秤量し、滴下ロートを用いて内温 11.0~13.5 °Cの間で 23 分間かけて滴下した。滴下終了後、反応容器を氷水から取り出し、マントルヒーターで加熱を開始した。加熱開始から 1 時間 40 分後、内温が 95.0 °C となったところで反応開始とし、内温 95.0~97.3 °Cの間で反応を行った。反応開始より 3、5、6 時間後にサンプリングし、分析した。5 時間後と 6 時間後の分析結果に変化が見られなかったことから、この時点で反応終了とした。

反応容器を氷水に浸して反応液を 25.3 °Cまで冷却した後、攪拌を停止して 13.5 時間静置した。30 L ガラス反応槽に蒸留水 7356.5 g、反応溶液、および酢酸エチル 4173.3 g (4.6 L) を加え、室温にて 30 分間攪拌した。攪拌停止後、水層-1 と酢酸エチル層-1 を分液し、水層-1 13160.5 g および酢酸エチル層-1 3663.8 g を得た。水層-1 を 30 L ガラス反応槽に移液し、酢酸エチル 4002.6 g (4.6 L) を加え、室温にて 30 分間攪拌した。攪拌停止後、水層-2 と酢酸エチル層-2 を分液し、水層-2 12766.8 g および酢酸エチル層-2 4366.9 g を得た。水抽出層-2 を TLC にて分析し、目的物 **78** が含まれていないことを確認した。酢酸エチル層-1 および酢酸エチル層-2 を 30 L ガラス反応槽に移液した後、13% 食塩水(塩化ナトリウム 845.2 g と蒸留水 5658.7 g より調製) で 3 回洗浄 (13% 食塩水-1 2008.3 g、13% 食塩水-2 2049.5 g、13% 食塩水-3 2017.7 g、室温 30 分間攪拌) した。得られた酢酸エチル層 8379.6 g を 20 L セパラブルフラスコに移液し、無水硫酸ナトリウム 1005.3 g を加えて 2 時間静置した。吸引濾過により固形物を濾別し、残渣を酢酸エチル 1787.0 g で洗浄した。濾液をあわせてエバポレーターで減圧濃縮した。

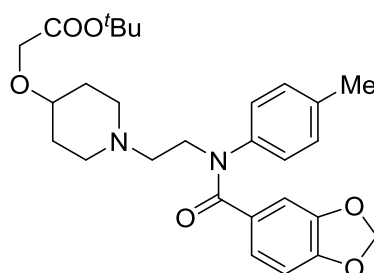
濃縮残渣 741.5 g を 5 L セパラブルフラスコに移した後、エタノール 1443.1 g (1.84 L) を加え、反応装置を組み立てた (温度記録計、攪拌装置、冷却管、アルゴン置換用コック)。フラスコをオイルバスに浸して加熱 (バス温 70 °C) しながら攪拌を開始した。内温が 50.5 °Cと

なった時点で濃縮残渣が溶解した。フラスコをオイルバスから取り外し、水浴に浸して冷却を開始した。冷却開始から 20 分後、内温が 33.5 °C となった時点でフラスコを氷/食塩浴に浸して攪拌を継続した。内温が 19.0 °C となった時点で結晶が析出し始め、内温が 16.0 °C となった時点で発熱 (16.0~21.0 °C) を伴いながら急速に粉末が析出した。結晶析出開始時から 1 時間 40 分経過した時点で、攪拌を終了した (内温 7.0 °C)。

攪拌終了後、析出物を吸引濾過し、氷冷したエタノール 550.9 g (690 mL) で洗浄した。得られた白色粉末を 5 L セパラブルフラスコに移し、室温にて減圧乾燥した。23.6 時間減圧乾燥することで、表題化合物 **78** を白色粉末として 516.9 g (1.48 mol) 得た (収率 69.5%)。構造は ¹H NMR、IR、質量分析および元素分析にて確認した。

項目		結果
性状	色、形状	白色、粉末性固体
構造確認	融点 (°C)	98.1-98.8
	元素分析 (C ₈ H ₁₀ Cl ₃ N)	計算値 (%) : C, 68.93; H, 9.26; N, 8.04
		測定値 (%) : C, 68.69; H, 9.32; N, 7.96
	IR (KBr 法, cm ⁻¹)	3360, 2936, 2860, 2785, 1746, 1618, 1524, 1484, 1469, 1451, 1408, 1368, 1324, 1309, 1260, 1239, 1159, 1118, 1048, 1017, 972, 845, 822, 800, 791, 756.
	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃)	δ 6.99 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.56 (2H, d, J = 8.4 Hz), 4.17 (1H, br.s), 4.01 (2H, s), 3.42 (1H, dddd, J = 4.4, 4.4, 8.8, 8.8 Hz), 3.12 (2H, dd, J = 4.6, 4.6 Hz), 2.77 (2H, m), 2.60 (2H, t, J = 6.0 Hz), 2.24 (3H, s), 2.15 (2H, dd, J = 9.4, 9.4 Hz), 1.90 (2H, m), 1.67 (2H, m), 1.48 (9H, s).
質量分析 (EI, LR)	計算値 : 348 (C ₂₀ H ₃₂ N ₂ O ₃) 測定値 : 348	

2-((1-(2-(*N*-(*p*-トリル)ベンゾ[*d*][1,3]ジオキサール-5-カルボキシアミド)エチル)ピペリジン-4-イル)オキシ)酢酸 *t*-ブチル (**79**)



79

10 L 四ツ口フラスコに **78** 349.2 g (1.00 mol) を秤量し (METTLER PM-16K、以下省略)、反応装置を組み立てた (温度記録計、1000 mL 滴下ロート、攪拌装置、アルゴン置換用コック)。系内をアルゴンで置換 (減圧度 100 mmHg 以下、置換回数 3 回) した後、脱水アセトニトリル 1551.3 g (2.0 L、5.4 mL/g-基質) を加え、攪拌を開始した。脱水ピリジン 104.0 g (1.31 mol、1.31 当量) を秤量し、反応溶液に加えた後、反応容器を氷/塩浴に浸して冷却を開始した。

3 L ミツロフラスコに攪拌装置、アルゴン置換用コックおよび温度計を装着し、系内をアルゴンで置換 (減圧度 100 mmHg 以下、置換回数 3 回) した後、ピペロニル酸クロリド 203.0 g (1.10 mol、1.10 当量) を秤量し、3 L ミツロフラスコに加えた。脱水アセトニトリル 700.3 g (0.90 L) を加え、室温にて 26 分間攪拌した後、反応容器に装着した 1000 mL 滴下ロートに懸濁液を移液した。容器を脱水アセトニトリル 79.1 g (0.10 L) で洗浄し、滴下ロートに移液した。

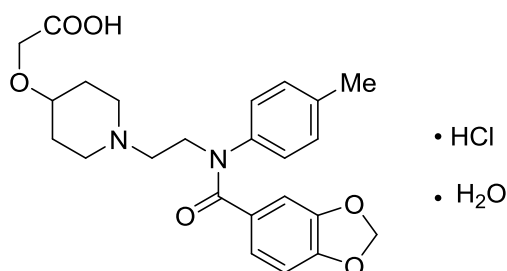
冷却した反応溶液 (内温 3.1 °C) にピペロニル酸クロリド/アセトニトリル懸濁液を内温 3.1 ~8.0 °C の間で 11 分間かけて添加した。滴下終了後、反応容器を氷/食塩浴から取り出し、室温にて攪拌した。内温が 20.0 °C となったところで反応開始とし、内温 20.0~22.4 °C の間で反応を行った。反応開始より 0.5、1.5 時間後にサンプリングし、分析した。反応開始 0.5 時間後での分析結果が終了判定基準を満たしたことから、反応開始 2 時間で反応終了とした。

反応溶液にエタノール 232.2 g (350 mL) を加え、反応容器に冷却管を装着した後、マントルヒーターにて加熱を開始した。内温 60.0~63.6 °Cにて攪拌し、内温 60.0 °C到達時から 1 時間後および 2 時間後にサンプリングし、HPLC 分析した。1 時間後の時点でのピペロニル酸無水物の area % は、目的物 **79** の area % 対比 0.66% であった。マントルヒーターを取り外し、室温にて一晩攪拌 (11 時間 40 分) した。

30 L ガラス反応槽に 5% 炭酸カリウム水溶液 (炭酸カリウム 333.0 g、蒸留水 6275.0 g より調製) 6603.2 g、反応溶液 (内温 25.2 °C) および酢酸エチル 3558.3 g (4.0 L) を加え、室温にて 30 分間攪拌 (内温 23.8~23.9 °C) した後、11 分間静置し、5% 炭酸カリウム水溶液抽出層を抜き取った。次いで、酢酸エチル抽出層に 25% 塩化ナトリウム水溶液 (塩化ナトリウム 800.3 g と蒸留水 2402.3 g より調製) 2963.9 g (2.5 L) を添加し、室温にて 36 分間攪拌 (内温 24.2~24.6 °C) した後、10 分間静置し、25% 食塩水抽出層を抜き取った。酢酸エチル抽出層を 10 L セパラブルフラスコに移液し、減圧濃縮した。濃縮残渣を酢酸エチル 1352.6 g (1.5 L) に溶解した後、不溶物を吸引濾過により濾別し、残渣を酢酸エチル 461.2 g (0.5 L) にて洗浄した。濾液を合わせて減圧濃縮した後、濃縮残渣 588.3 g をエタノールで 2 回溶媒置換 (1 回目 : 1096.9 g、2 回目 : 1106.2 g) した。濃縮残渣 516.6 g からサンプリングし、¹H NMR を測定してエタノール含有量を 11.3 g (9.3 mL) と算出した。濃縮残渣にエタノール 193.3 g (250 mL) を加え、油浴にて加熱しながら攪拌溶解した (溶解時内温 66.5 °C)。次いで、内温 66.5 °Cにて *n*-ヘキサン 685.0 g (1037 mL) を 18 分間かけて滴下した。滴下終了後に加熱を停止し、攪拌しながら冷却を開始した。一晩攪拌したところ、結晶が析出した (加熱停止時から 15 時間 5 分後、内温 28.0 °C) ので、氷/食塩浴にて 1 時間冷却した (内温 5.0 °C)。濾紙を用いて析出物を吸引濾取し、ついで氷冷した *n*-ヘキサン/エタノール [4/1 (v/v)] 487.2 g (698 mL) で洗浄した。濾取した白色粉末 470.6 g を恒量になるまで室温にて減圧乾燥することにより、表題化合物 **79** を白色粉末として、418.1 g (0.842 mol、収率 84.0%) 得た。得られた白色粉末の機器分析から構造を確認した。

項目		結果
性状	色、形状	白色、粉末性固体
構造確認	融点 (°C)	97.6-98.2
	元素分析 (C ₂₈ H ₃₆ N ₂ O ₆)	計算値 (%) : C, 67.72; H, 7.31; N, 5.64 測定値 (%) : C, 67.69; H, 7.37; N, 5.5
	IR (KBr 法, cm ⁻¹)	3066, 2960, 2899, 2863, 2810, 2779, 1738, 1646, 1580, 1510, 1490, 1442, 1411, 1391, 1372, 1350, 1315, 1300, 1245, 1160, 1117, 1061, 1036, 971, 928, 867, 845, 820, 795, 758, 718, 689.
	¹ H NMR (400MHz, CDCl ₃)	δ 7.02 (2H, d, J = 8.3 Hz), 6.95 (2H, d, J = 8.3 Hz), 6.81 (1H, s), 6.79 (1H, d, J = 8.1 Hz), 6.56 (1H, d, J = 8.1 Hz), 5.90 (2H, s), 3.98 (2H, s), 3.97 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.38 (1H, dddd, J = 9.0, 9.0, 4.5, 4.5 Hz), 2.79 (2H, dd, J = 6.1, 5.6 Hz), 2.56 (2H, t, J = 7.1 Hz), 2.28 (3H, s), 2.15 (2H, t, J = 9.5 Hz), 1.88 (2H, m), 1.60 (2H, m), 1.47 (9H, s).
	質量分析 (EI, LR)	計算値 : 496 (C ₂₈ H ₃₆ N ₂ O ₆) 測定値 : 496

2-((1-(2-(*N*-(*p*-トリル)ベンゾ[*d*][1,3]ジオキサール-5-カルボキシアミド)エチル)ピペリジン-4-イル)オキシ)酢酸 塩酸塩 1 水和物 (**70e**)



70e

5 L 四ツ口フラスコに **79** 300.0 g (0.604 mol) を秤量し (METTLER PM-16K、以下省略)、反応装置を組み立てた (攪拌装置、1000 mL 滴下ロート、温度計、アルゴン置換用コック、ガラス栓)。系内をアルゴンで置換 (減圧度 100 mmHg 以下、置換回数 3 回) した後、反応装置を水浴に浸して、攪拌を開始した。反応容器に 1 M 塩酸 3042.1 g (3000 mL、3.00 mol、4.97 当量) を内温 20.5~23.0 °C の間で 16 分間かけて滴下ロートから添加した。滴下終了後、反応容器をオイルバスに浸して加熱を開始した。内温が 55.0 °C となった時点で、懸濁液が透明な溶液へと変化し始めた。内温が 60.0 °C となった時点で反応開始とし、内温 60.0~69.0 °C の間で反応を行った。反応開始より 0.5 時間ごとにサンプリングし、分析した。分析結果が終了判定基準を満たしたことから、反応開始 1 時間後で反応終了とした。

次に、オイルバスの加熱を停止し、4 時間 27 分かけて内温を 33.0 °C とした。目的物 **70e** の種晶を添加した後、オイルバスを取り外し、室温 (実績温度 : 20.0~25.0 °C) にて 20 時間 45 分攪拌した。加熱停止直後から 3 時間後、5 時間後、21 時間 45 分後に上澄み液を HPLC にて分析し、5 時間後および 21 時間 45 分後の分析において目的物 **70e** の含有量が初期濃度の 10% 以下になったことを確認した。析出物を、濾紙 (ADVANTEC 5C) を用いて吸引濾過し、ついで氷冷した蒸留水 303.8 g で洗浄した。

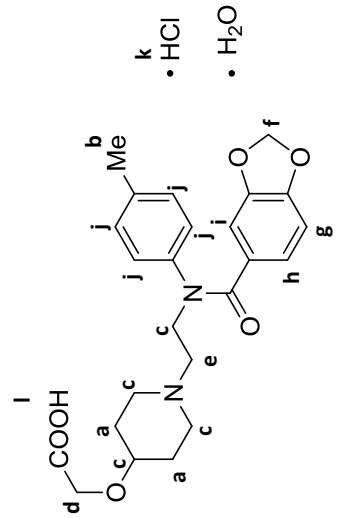
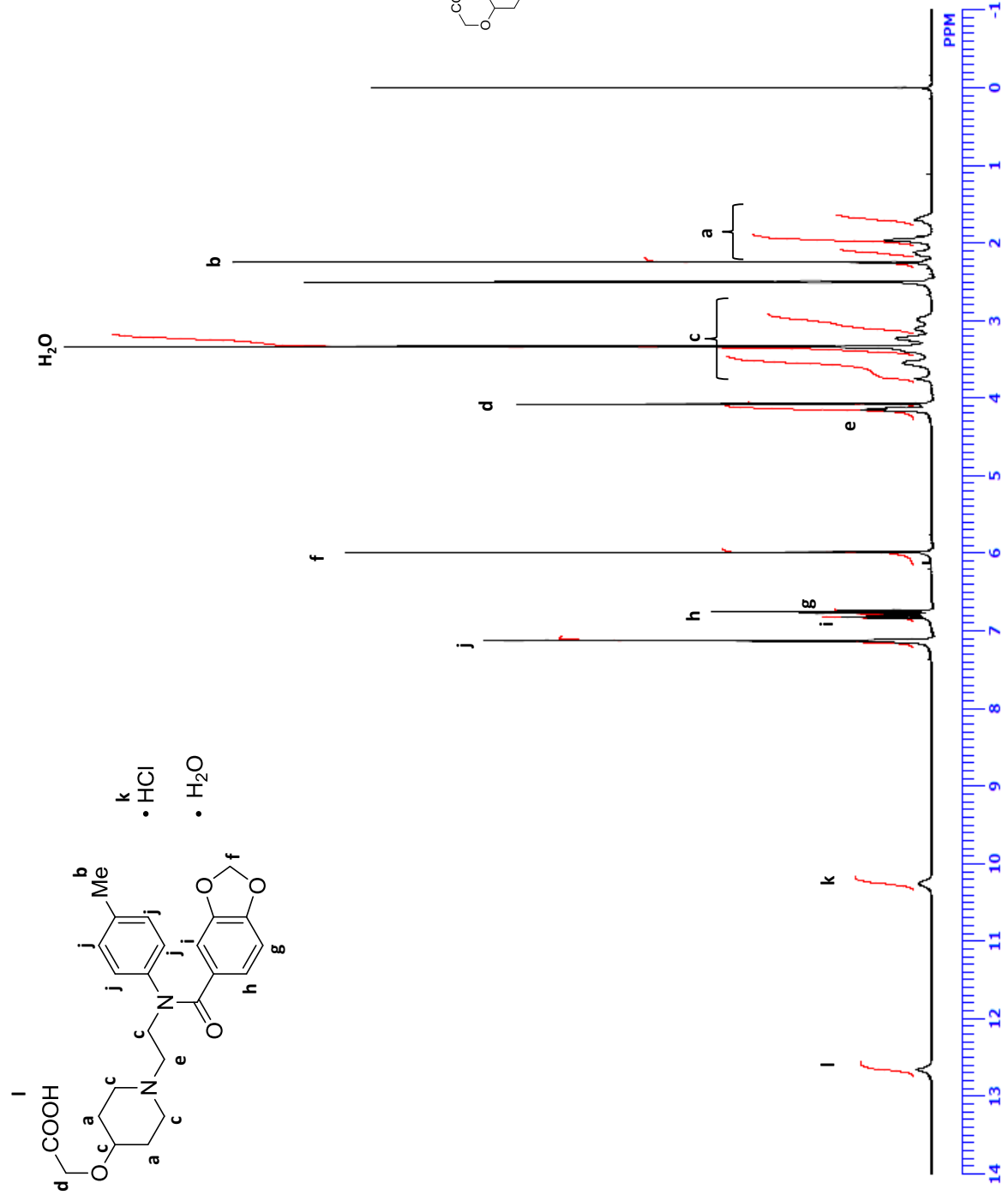
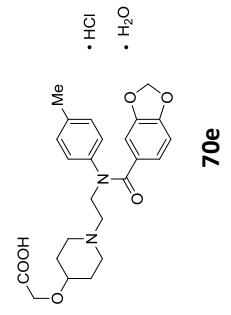
濾取した固体 434.4 g を 5 L セパラブルフラスコに移し、HPLC 用蒸留水 1503.3 g を加え、氷水浴 (1.0°C) にて冷却しながら 37 分間スラリー洗浄した (内温 20.5~10.5 °C)。濾紙 (ADVANTEC 5C) を用いて懸濁液を吸引濾過し、濾過残渣を氷冷した HPLC 用蒸留水 300.7

g にて洗浄した。濾取した固体を恒量になるまで室温にて減圧乾燥することにより、白色粉末 254.5 g (0.514 mol、収率 85.1%) を得た。得られた白色粉末の機器分析から、構造を目的物 **70e** の 1 塩酸塩、1 水和物と確認した。

項目		結果
性状	色、形状	白色、粉末性固体
構造確認	融点 (°C)	144.5–145.5
	元素分析 (C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₇ · HCl · H ₂ O)	計算値 (%) : C, 58.24; H, 6.31; Cl, 7.16; N, 5.66 測定値 (%) : C, 57.88; H, 6.37; Cl, 7.09; N, 5.58
	IR (ATR 法, cm ⁻¹)	3315, 2908, 2615, 1735, 1633, 1618, 1600, 1513, 1451, 1394, 1355, 1322, 1304, 1266, 1244, 1228, 1206, 1176, 1111, 1079, 1036, 967, 939, 918, 861, 827, 808, 792, 755, 720, 715, 676, 668.
	¹ H-NMR (400MHz, DMSO-d ₆)	δ 12.72–12.60 ppm (1H, brs), 10.32–10.20 (1H, brs), 7.16–7.10 (4H, m), 6.85–6.83 (1H, brs), 6.79 (1H, dd, J = 8.0, 1.2 Hz), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz), 5.98 (2H, s), 4.18–4.16 (2H, m), 4.07 (2H, s), 3.79–2.93 (7H, m), 2.25 (3H, s), 2.18–1.64 (4H, m).
	質量分析 [ESI (pos.), LR] (フリー体として)	計算値 : m/z 441 [M+H] ⁺ 測定値 : m/z 441 [M+H] ⁺
	水分含有率	計算値 (%) : 3.50 測定値 (%) : 3.94

主要化合物の¹H NMR スペクトル **70e**

OBNUC 1H
 EXMOD NON
 OBFRQ 399.65 MHz
 OBSET 124.00 KHz
 OBFIN 10500.00 Hz
 POINT 32768
 FREQU 8000.00 Hz
 SCANS 32
 ACQTM 4.0960 sec
 PD 2.9010 sec
 PW1 6.70 usec
 IRNUC 1H
 CTEMP 22.0 c
 SLVNT DMSO
 EXREF 0.00 ppm
 BF 0.12 Hz
 RGAIN 19



参考文献

- 1) S. Moncada, R. Gryglewski, S. Bunting, J. R. Vane, *Nature*, **263**, 663 (1976).
- 2) S. Moncada, R. Korb, S. Bunting, J. R. Vane, *Nature*, **273**, 767 (1978).
- 3) T. Yuge, T. Hamasaki, T. Hase, M. Horiba, K. Matsumoto, A. Tajima, K. Ohno, 薬物動態, **4**, 727 (1989).
- 4) R. Kato, Y. Uji, K. Matsumoto, *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **20**, 515 (1989).
- 5) H. Wise, R. L. Jones, *Trends. Pharmacol. Sci.*, **17**, 17 (1996).
- 6) N. A. Meanwell, J. L. Romine, S. M. Seiler, *Drugs Future*, **19**, 361 (1994).
- 7) K. Kondo, K. Machii, M. Narita, A. Kawamoto, S. Yamasaki, N. Hamanaka, *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.*, **23**, 401 (1995).
- 8) K. Hattori, A. Tanaka, O. Okitsu, S. Tabuchi, K. Taniguchi, M. Nishio, S. Koyama, M. Higaki, J. Seki, K. Sakane, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**, 3091 (2005).
- 9) K. Kuwano, A. Hashino, T. Asaki, T. Hamamoto, T. Yamada, K. Okubo, K. Kuwabara, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **322**, 1181 (2007).
- 10) A. Nakamura, T. Yamada, T. Asaki, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 7720 (2007).
- 11) K. Kuwano, A. Hashino, K. Noda, K. Kosugi, K. Kuwabara, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **326**, 691 (2008).
- 12) M. Ohno, R. Hayashi, M. Isogaya, H. Ueda, WO2004052871A1 (2004).
- 13) C. A. Lipinski, F. Lombard, B. F. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **23**, 3 (1997).
- 14) see ref.12 example 3.
- 15) F. Lovering, J. Bikker, C. Humblet, *J. Med. Chem.*, **52**, 6752 (2009).
- 16) X. Song, C. R. Xu, H. T. He, T. J. Siahaan, *Bioorg. Chem.*, **30**, 285 (2002).

第 4 章

EP₄ 受容体選択的作動薬の設計と合成

第1節 緒言

第1章5項において、プロスタグランジン EP₄ 受容体は、種々の生理作用への関与が報告されているものの、高選択的なリガンドが得られておらず、医薬としての上市や受容体の詳細機能解明がなされていないことを述べた。

さらに、第1章1項および3項で、研究のスタートに必要な起点化合物を、ライブラリからのランダムスクリーニングで取得するケースもあることを述べた。この場合、より独自性が高く、質のよいライブラリを保有していることが筋のよい起点化合物を得るための強みとなる。

東レ株式会社 基礎研究所（1999年 医薬研究所に改称）はインター-*m*-フェニレン PGI₂ 誘導体の合成研究から、オリジナリティの高いインター-*m*-フェニレン化合物のライブラリを有している。これはプロスタグランジン系の医薬を見出す際の強みであると考えられた。そこで、このライブラリ化合物について、EP₄ 受容体を主に、種々のプロスタグランジン受容体への作用をスクリーニングした。これは、第1章5項で述べたように、EP₄ 受容体リガンドは様々な生理反応に関わる疾患の予防や治療に有効ではないかと期待されているにも関わらず、既存化合物がほとんど知られておらず、さらに公知化合物においても用法が注射剤と限定的であり、安定な化合物が見出されていないからである。

すなわち、ベラプロストに代表されるインター-*m*-フェニレン誘導体は化学的安定性が高いことが特長であり、この誘導体で EP₄ 受容体リガンドが得られれば、「安定な化合物が見出されていない」という問題を解決できると考えた。

このような観点で、独自ライブラリをスクリーニングした結果、インター-*m*-フェニレン構造で、EP₄ 受容体に親和性・選択性を有するシクロヘキシル体 **80** を見出した（図4-1）。

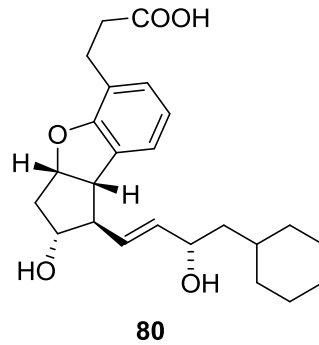


図 4-1 インター-*m*-フェニレン型 EP₄ 作動薬

さらに本化合物が、モルモットにおいて、PGE₂ に匹敵する子宮頸管熟化作用を有していることを見出した。PGE₂ は海外で子宮頸管熟化剤（出産補助薬）として用いられているが¹⁾、EP₃ 受容体作動性に基づく子宮収縮作用を併せ持つため、過度の子宮収縮による子宮破裂や胎児仮死の危険性が指摘されている。一方、**80** はモルモットでの実験ではあるが、子宮頸管熟化作用を有するものの、子宮収縮作用が分離していることが確認できた。すなわち、**80** は、PGE₂ よりも安全な出産補助薬として期待できる。

しかしながら、既存化合物の再利用では、その物質特許存続期間が短いという問題があり、同様の特長を持ちながら、新規な化合物へと変換することが望ましい。

そこで、本章では **80** の安定かつ EP₄ 受容体選択的という特長を維持し、かつ構造新規で物質特許権利化可能な EP₄ 受容体作動薬の設計と合成を検討した。目的とする EP₄ 受容体選択的作動薬が得られれば、これまでにない安全な出産補助薬として期待できるとともに、受容体の存在部位や遺伝子改変動物から期待される医薬としての可能性を検証する、新たなツールとしての利用価値が高い。

第2節 生物学的等価体の利用による EP₄ 受容体選択的作動薬の創出

前節において、ライブラリから発見した **80** を基に、新規構造の化合物へと変換する必要性を述べた。しかしながら、新規性を追求するあまり、大幅な構造変換を行うと、**80** の特長そのものを失う可能性がある。

新規な構造で、**80** の特長維持という目的を達成する手段として、今回、生物学的等価体 (Bioisosters) の利用を考えた。生物学的等価体とは、生理活性発現に關与するある特定の物理化学的性質が、共通または類似している置換基あるいは部分構造であり、もととする構造と類似の生理活性を発現する。また、生物学的等価体への変換を行った場合、もとの化合物のいくつかの性質は保持されるものの、他の性質が変化する場合もある。表 4-1 にこれまで報告されている生物学的等価体の例を示す。

表 4-1 生物学的等価体

部分構造	生物学的等価体					
カルボニル 						
カルボン酸 						
水酸基 —OH						

公益社団法人 日本薬学会 編, メディシナルケミストリー用語解説 310, じほう (2014), p36.から一部改変

今回の **80** での検討においては、受容体親和性および作動性に重要なカルボン酸部分を生物学的等価体に変換することを考えた。

カルボン酸の生物学的等価体としては、これまで、ヒドロキサム酸、ホスホン酸、スルホン酸、アシルスルホンアミド、テトラゾールなどが知られている²⁾。これらは、酸性度、サイズ、形など異なっており、どのような特徴が生物学的等価体として重要であるかは、ケースバイケ

ースである。これまで **80** は、これら生物学的等価体への変換を実施しておらず、いずれを選択しても新規化合物となる。

筆者は、これら生物学的等価体のなかで、テトラゾール³⁾を選択し、合成することを考えた。テトラゾールは構造の平面性や酸性度 ($pK_a = 4.5 \sim 4.9$) がカルボン酸とよく似ており⁴⁾、類似の生理活性が期待できる。一方、カルボン酸よりサイズがやや大きく、脂溶性も高いという違いがある。このような違いが、カルボン酸からテトラゾールに変換した際の生理活性の違い(作用の向上など)を生み、進歩性につながると、特許的に有利である。

このような考えから、**80** のテトラゾール体の合成を試みた。合成は、**80** の前駆体であるメチルエステル体 **81** を出発物質とし、次に示すルートで行った (図 4-2)。

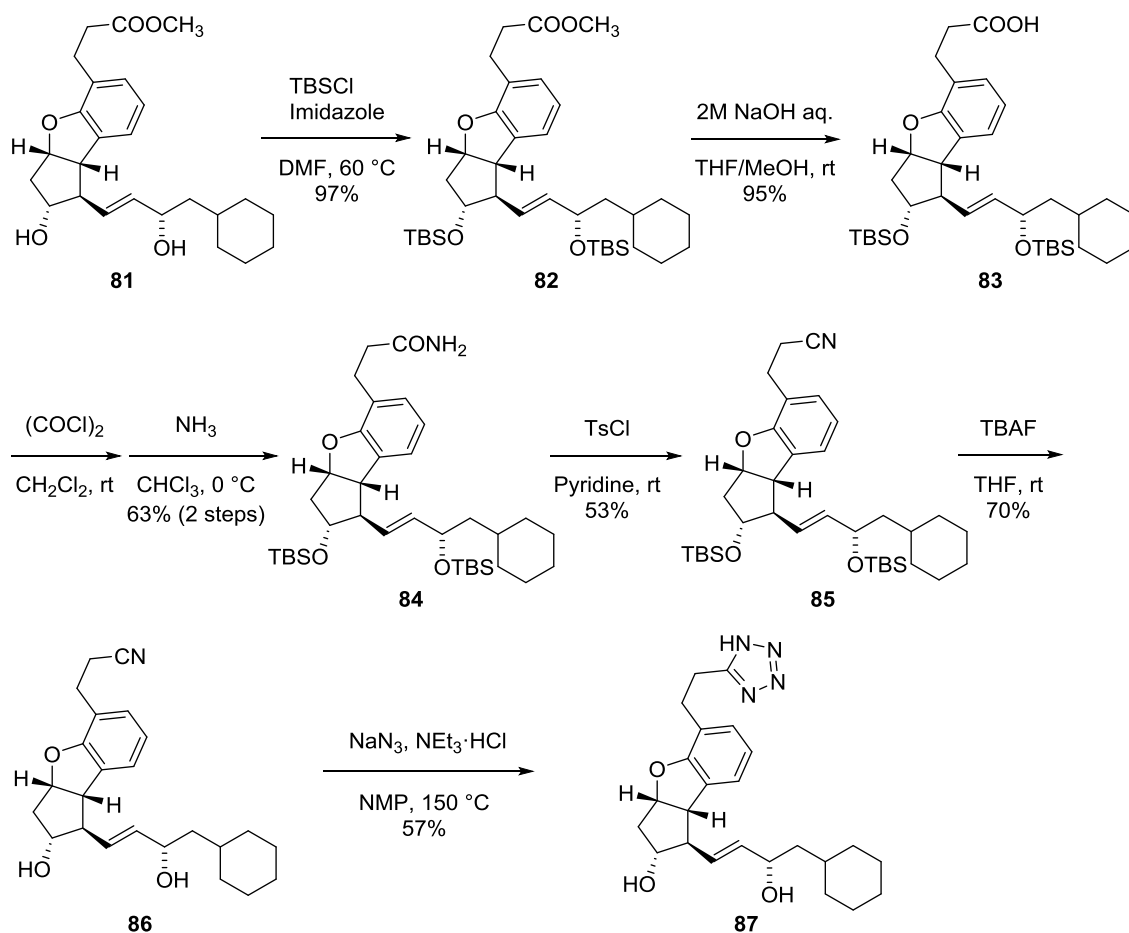


図 4-2 テトラゾール体 **87** の合成

合成は、メチルエステル体の2種の水酸基をトリブチルシリル (TBS) 保護した後、カルボン酸に加水分解し、続いて酸クロリド経由で第1アミドに変換した。第1アミドを *p*-トルエンスルホニルクロリドで処理すると、*O*-トシル化、続いて脱トシレートが起こり、ニトリル **85** が得られる。このニトリルを NaN_3 と反応させ、テトラゾール体 **87** を合成した。

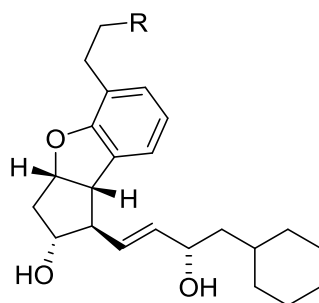
得られたテトラゾール体 **87** の各種EP受容体に対する作動性をカルボン酸体 **80** と比較した結果を表4-2に示す。ここで、各種EP受容体への作動性評価には、次のような動物の組織標本を用いた。

EP₁およびEP₂受容体 (混在) : モルモット回腸

EP₃受容体 : モルモット子宮

EP₄受容体 : ウサギ伏在静脈

表4-2 EP受容体作動性



No.	R	受容体作動性		
		EP ₄ EC ₅₀ (nM)	EP ₁ +EP ₂ EC ₅₀ (nM)	EP ₃ EC ₂₀₀₀ (nM)
80	—COOH	5.7	150	540
87		2.6	3,400	2,800

テトラゾール体 **87** は、EP₄作動性にやや向上が認められ、一方EP₁+EP₂受容体およびEP₃

受容体作動性は低下した。すなわち、EP₄受容体作動性と選択性ともに向上した結果が得られ、**80**については、カルボン酸部分のテトラゾールへの変換がより有望な化合物への改良につながった。

さらに、モルモットにおいて、テトラゾール体は強力な子宮頸管熟化作用が認められ⁵⁾、目的通り、「ライブラリから見出した**80**の特長を維持し、かつ構造新規なEP₄受容体選択的作動薬」を取得できた。

第3節 効率的合成法の確立

医薬を目指した研究を進めるには、第1章、さらに第3章3節で述べたように、スケールアップ可能な合成法が必要である。上述のように、テトラゾール体はカルボン酸 **80** のメチルエステル体である **81** を出発物質としたため、合成には極めて多段階のステップを必要とし、全収率も低い。そこで、テトラゾール体 **87** の効率的な合成法の確立に向け、検討を行った。ここでいう「効率的」とは、従来よりも合成ステップを削減すること、さらに個々のステップの収率を向上させることである。

先の合成法では、**80** のメチルエステル体の合成に 11 ステップ、その後、メチルエステルからテトラゾール前駆体であるニトリル体への変換に 5 ステップを有しており、これは極めて効率が悪い。そのため、効率よくベンゼン部分にシアノエチル基を導入する改良が必要である。

また、出発物質としては、図 4-3 のような西山らの光学活性な **88** の合成が報告されていることから^{6,7)}、この化合物を出発物質とすることが望ましいと考えた。

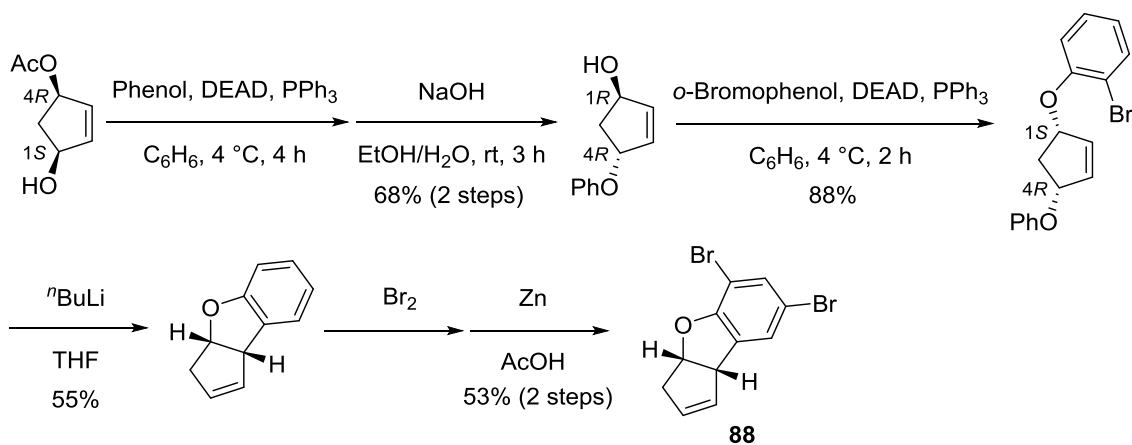


図 4-3 光学活性原料 **88** 合成法 (文献既知法)

次に、検討する新規合成ルートの概略を示す (図 4-4)。

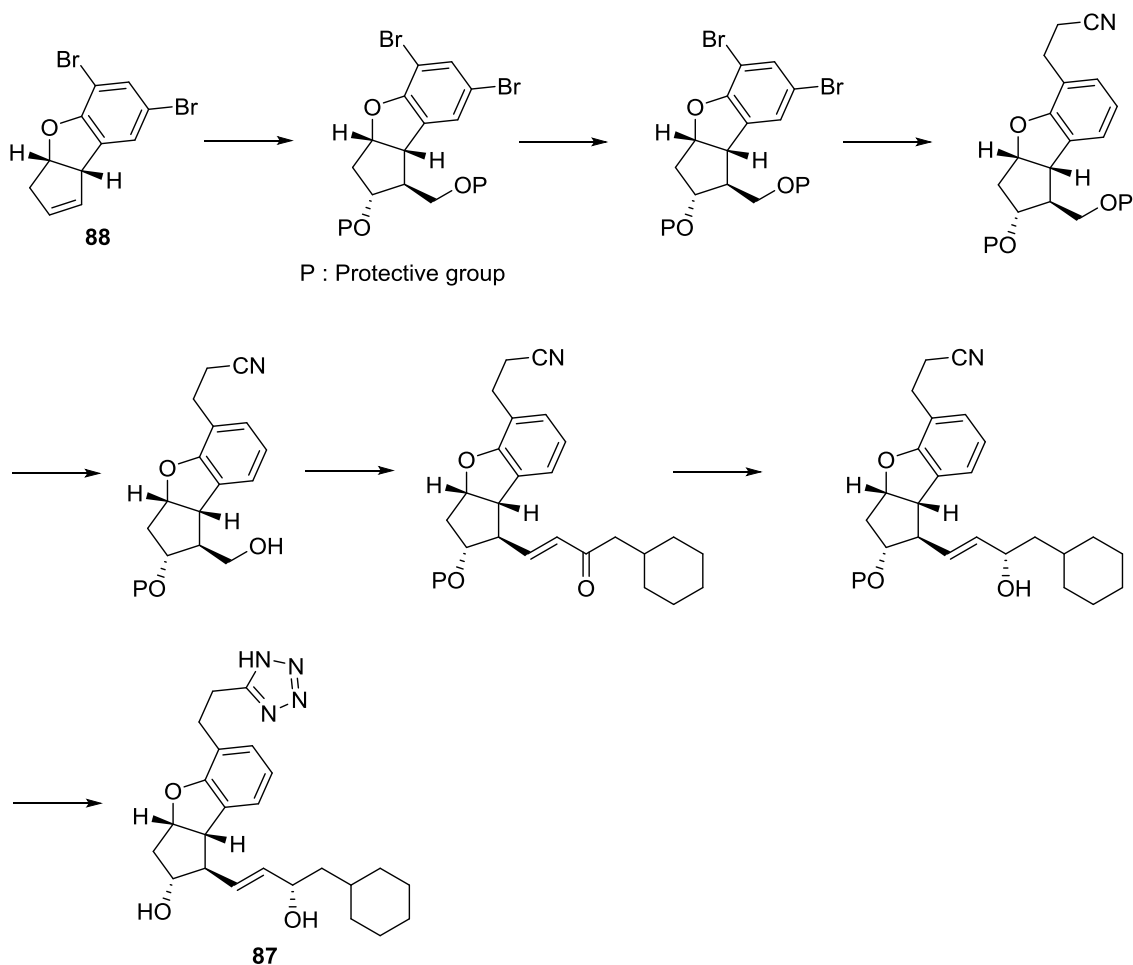


図 4-4 テトラゾール体 **87** の新規合成ルート概略

合成ルートを検討するにあたり、筆者は、2つの水酸基の保護基として *t*-ブチルジフェニルシリル (TBDPS) を用いると、1級アルコールのみの選択的脱保護が可能であるとの知見を既に有しており、これを活かすことを考えた。すなわち、図 4-4 における保護基 P は TBDPS とすることにした。その上で、合成ルート検討のポイントを以下のように考えた。

- ① シクロペンテン部への立体制御した水酸基およびヒドロキシメチル基の導入は、ベラブロスト合成時に確立した Prins 反応を用いる。
- ② ブロミドからシアノエチルへの変換では、短工程、かつカラム精製を不要とする変換法を確立する。

- ③ 収率向上のため、エノンからアリルアルコールの還元は、高選択的に目的の立体を有するアリルアルコール (α 体) を得られる方法を確立する。ベラプロスト合成時は、 $\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3/\text{MeOH}$ による Luche 法を用いているが、この方法はエノンの選択的 1,2 還元には有効であるものの、水酸基の立体選択性は乏しく、改良の余地がある。

ここで、①に示した Prins 反応の利用については、インター-*m*-フェニレン骨格による高い位置および立体選択性が得られるからである。すなわち、Prins 反応を用いると、図 4-5 に示すように、立体障害の少ない *exo* 側からオレフィンが配位したカチオン中間体が生成し、そこに酢酸が *endo* 側から立体障害を最も避けるように付加すると考えられる。この 2 つのステップにベンゼン部の立体障害が効果的に働くため、インター-*m*-フェニレン骨格を有する本誘導体の合成に Prins 反応が極めて有効である。

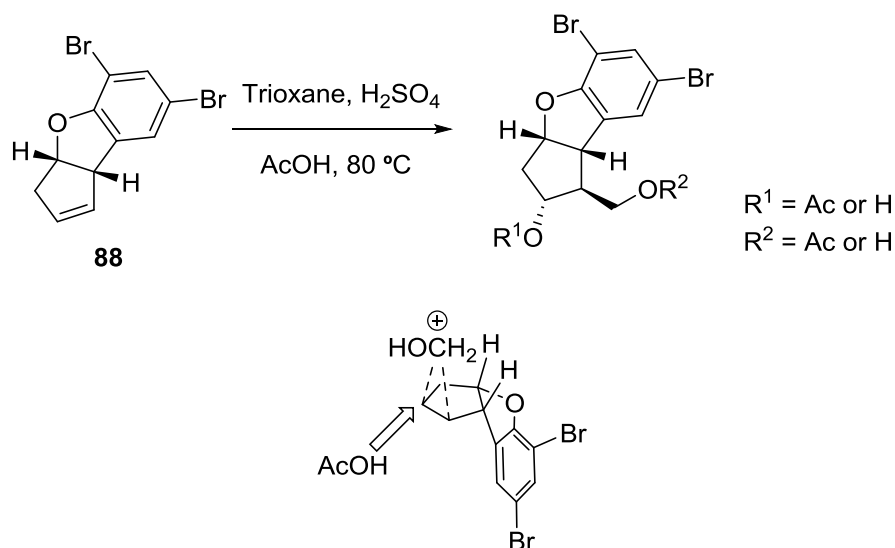


図 4-5 Prins 反応における選択性の発現

続いて②の検討として、まず、シアノエチル導入の短工程化を検討した。

これまでにベラプロストの合成において、主骨格部の選択的 Grignard 化を検討しており⁶⁾、同様にシクロペンタ[*b*]ベンゾフラン誘導体の酸素 *o*-位の臭素を選択的に Grignard 交換でき

る条件を確立している (図 4-6)。一般に Grignard 試薬だけでは芳香族ブロミドの金属ハロゲン交換反応はほとんど進行しないが、この場合は、Grignard 試薬の酸素への配位効果により、酸素 *o*-位の臭素が金属交換されやすくなっていると考えられる。本反応では Grignard 試薬を過剰に用いても、酸素原子 *p*-位の臭素の金属交換は起こらない。

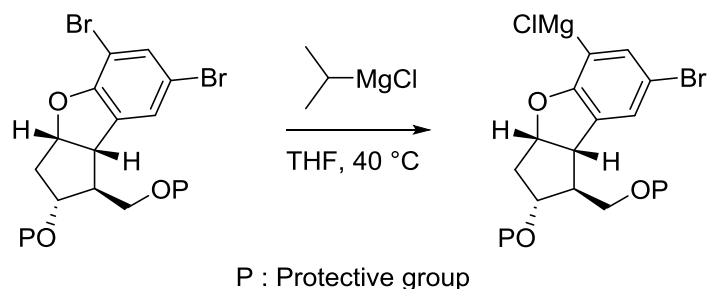


図 4-6 選択的 Grignard 交換反応

この知見を利用し、以下①~④の方法で Grignard 体からのシアノエチル体合成を検討した。

- ① Grignard 体を銅アート錯体に変換後、シアノエチル化、続いて脱 Br (図 4-7)
- ② Grignard 体を銅アート錯体に変換後、アクリロニトリルへ付加させ、続いて脱 Br (図 4-8)
- ③ Grignard 体とハロアルケニルニトリルの遷移金属触媒によるカップリング、続いて不飽和結合の還元と脱 Br (図 4-9)
- ④ Grignard 体のホルミル化経由での Horner-Emmons 反応による不飽和ニトリルの導入、続いて不飽和結合の還元と脱 Br (図 4-10)

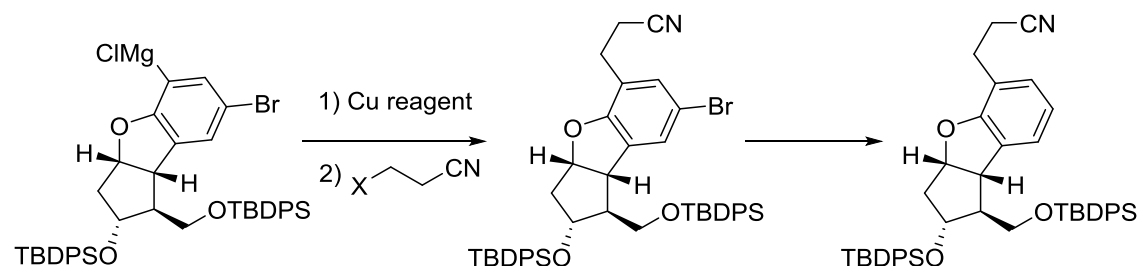


図 4-7 シアノエチル基の導入①

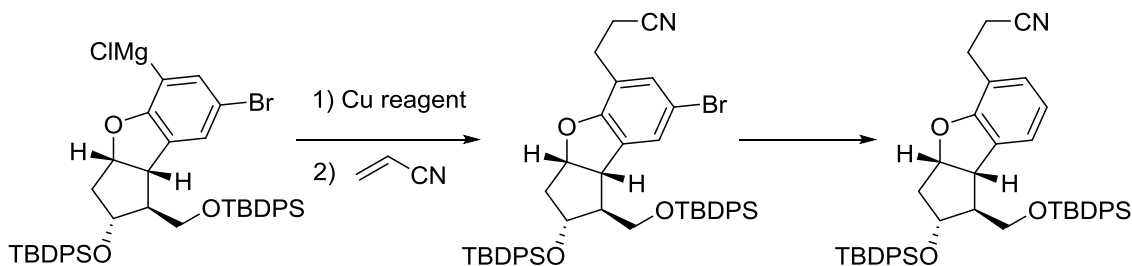


図 4-8 シアノエチル基の導入②

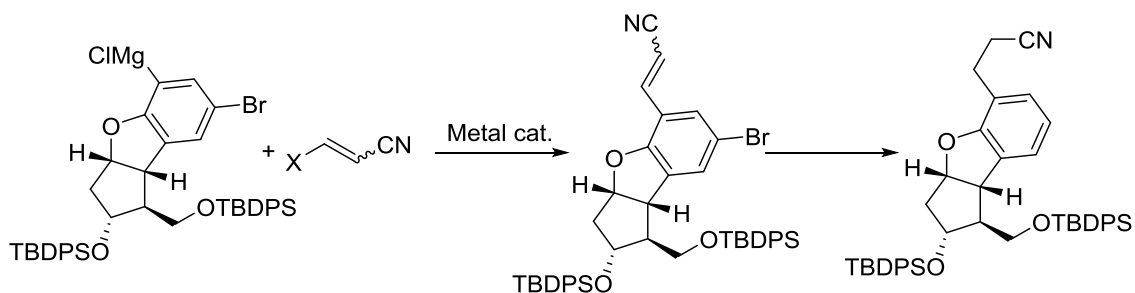


図 4-9 シアノエチル基の導入③

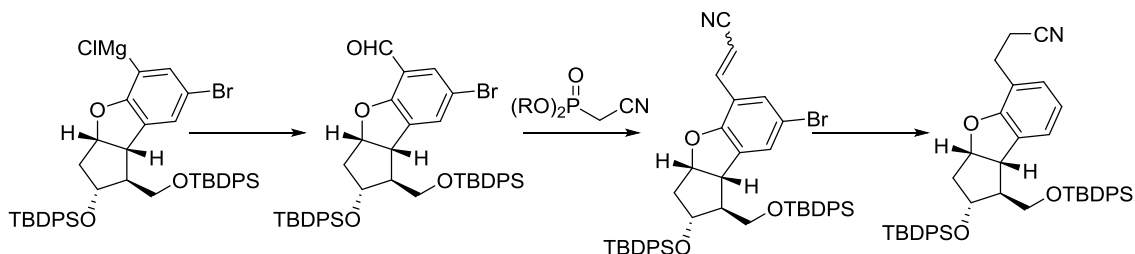
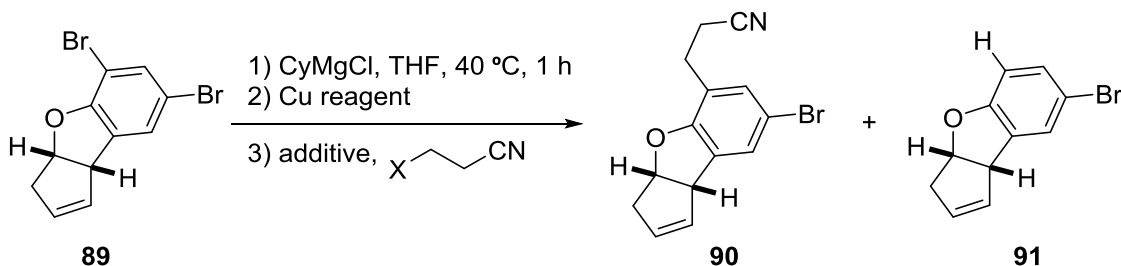


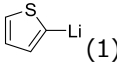
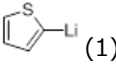
図 4-10 シアノエチル基の導入④

これら 4 タイプの反応を順次検討した。なお、検討に際しては、まだ水酸基とヒドロキシエチル基導入前、かつラセミ体のシクロペンテン **89** を用いたモデル反応での比較とした。

まず、①の Grignard 体から調製した銅アート錯体のシアノエチル化を検討した。この場合、Grignard 体を用いると、アルキル化よりも E_2 脱離が優先すると考え、より求核性の高い銅アート錯体を経るアルキル化を検討した。結果を表 4-3 に示す (表中の収率は単離収率)。

表 4-3 アルキル化によるシアノエチル基の導入



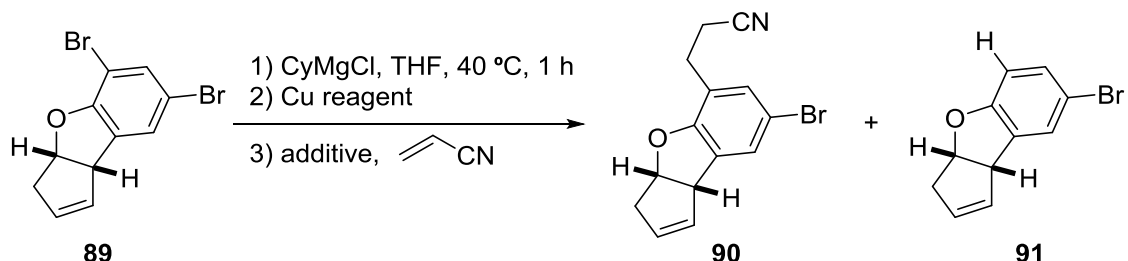
entry	X	Cu reagent (モル比)	additive (モル比)	温度	時間	収率 (%)	
						90	91
1	Br	CuBr (0.4)	none	$-40\text{ to }40\text{ }^\circ\text{C}$	21 h	-	6
2	Br	CuI (1)	LiCl (2), TMSCl (1)	$-50\text{ }^\circ\text{C}$ to rt	19 h	6	54
3	Br	CuBr·SMe ₂ (1)	BF ₃ ·OEt ₂ (1)	$-50\text{ }^\circ\text{C}$ to rt	7 h	21	54
4	Br	CuCN (1)	BF ₃ ·OEt ₂ (1)  (1)	$-78\text{ }^\circ\text{C}$ to rt	20 h	29	38
5	OTf	CuCN (1)	 (1)	$-78\text{ }^\circ\text{C}$ to rt	6 h	-	77


検討の結果、additive なしでは反応が全く進行せず (entry 1)、このタイプの反応において有効な additive として知られる LiCl、TMSCl、BF₃·OEt₂ を加えた場合は、シアノエチル体 **90** が得られたものの、いずれも低収率だった (entry 2, 3, 4)。また、求電子剤側の反応性を高めようと脱離基をトリフラートに変更したが、反応は進行しなかった (entry 5)。銅錯体側も Gilman 型や higher order の Lipshutz 型など検討したが、良好な結果は得られなかった。いずれも、金属ハロゲン交換部のプロトン付加体が目的のシアノエチル体よりも多く得られており、求核剤を銅アート錯体としても、酸性度の高いシアノ基α位の脱プロトンが進行するため、ハロゲン化アルキルへの求核置換反応では、収率よく目的物を得ることは難しいと考えた。

次に、①のような問題が起こらない系として、②のアクリロニトリルへの付加反応を検討した。この反応においても、一般に Grignard 試薬よりも不飽和結合への付加反応に有利な銅ア

ート錯体を利用し、前述の検討と同様に実施した。結果を表 4-4 に示す。

表 4-4 付加反応によるシアノエチル基の導入

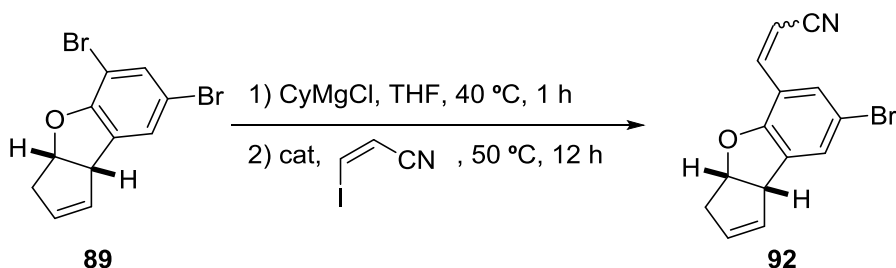


entry	Cu reagent (モル比)	additive (モル比)	温度	時間	収率 (%)	
					90	91
1	none	none	-50 °C to rt	26 h	-	-
2	CuI (1)	LiCl (2)	-50 °C to rt	7 h	9	17
3	CuI (1)	LiCl (2), TMSCl (1)	-50 °C to rt	18 h	50	13
4	CuI (1)	LiCl (2), TMSCl (1), HMPA (2)	-50 °C to rt	9 h	-	-
5	CuI (1)	LiCl (2), BF ₃ ·OEt ₂ (1)	-50 °C to rt	3 h	-	-
6	CuBr·SMe ₂ (1)	TMSCl (2)	-50 °C to rt	7 h	1	96
7	CuBr·SMe ₂ (1)	TMSOTf (3)	-50 °C to rt	3 h	-	-
8	CuBr (1)	TMSCl (2), HMPA (2)	-50 °C to rt	19 h	-	-
9	CuCN (1)	 (1)	-78 °C to rt	17 h	-	88

Additive として LiCl を加えた際、わずかながら目的物が得られ (entry 2)、この条件に、銅反応剤の共役付加を促進することが知られているトリメチルシリルクロリド (TMSCl) を加えると、50%の収率で付加体を得ることができた (entry 3)。しかしながら、さらなる収率向上を目指し、銅試薬、additive を種々検討したものの、いずれも目的物が得られず (entry 4~9)、付加による方法は収率向上が困難と判断した。

次に、③の遷移金属触媒によるカップリングを検討した。アルケニルハライドとしては、文献既知化合物の 3-ヨードアクリロニトリルを用いた。遷移金属触媒としては、Grignard 体とアルケニルハライドのカップリング例が知られており、かつ還元的脱離に有利な二座配位子を有するパラジウムまたはニッケル触媒を検討した⁸⁾。結果を表 4-5 に示す。

表 4-5 カップリング反応による不飽和ニトリルの導入



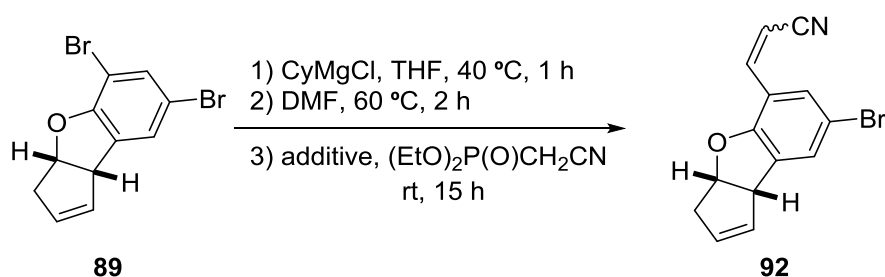
entry	cat.	収率 (%)
1	Ni(dppe)Cl ₂ (5 mol%)	13
2	Pd ₂ (dba) ₃ ·CHCl ₃ (5 mol%)	trace
3	Pd ₂ (dba) ₃ ·CHCl ₃ (5mol%), dppe (10 mol%)	trace
4	Pd(dppf)Cl ₂ (5 mol%)	96

検討したなかで、Pd(dppf)Cl₂ を用いたときのみ、高収率で目的のカップリング体が得られた (entry 4)。本来このタイプの反応にはパラジウムよりもニッケルがよく用いられるが、今回、Ni(dppe)Cl₂ を触媒として用いると、カップリング体が得られるものの、低収率であった (entry 1)。構造不明の副生物が複数種回収されたことにより、アルケニルヨウ素とのカップリングには触媒活性が高すぎるため、種々の反応が進行してしまった可能性が考えられる。

また、今回ハロアルケンとして 3-ヨードアクリロニトリル^{9,10)}を用いたが、この試薬は不安定、刺激臭など、ハンドリングという観点から懸念があることがわかった。この反応をスケールアップに用いる場合には、ハロアルケン側の詳細検討が必要であると思われる。

最後に、④のホルミル化経由での Horner-Emmons 反応による不飽和二トリルの導入を検討した。ホルミル体経由ということで、他の①～③の反応よりも 1 ステップ多くなるものの、使用する試薬は入手容易、大量スケールでも取扱いの懸念が低いと思われる。反応は、ホルミル化剤としては DMF を用い、ホルミル体で単離することなく、続く Horner-Emmons 反応までをワンポットで行った。結果を表 4-6 に示す。

表 4-6 Horner-Emmons 反応による不飽和二トリルの導入



entry	additive	収率 (%)
1	K ₂ CO ₃ , MeOH	22
2	K ₂ CO ₃ , MeOH, H ₂ O	15
3	MeOH, H ₂ O	36
4	none	93

まず、Grignard 交換反応後に DMF を加え、続いてホスホナート、K₂CO₃、そして MeOH を加えたが、低収率であった (entry 1)。低収率の原因は K₂CO₃ の溶解性が悪いためと考え、H₂O を加えたが収率はやや低下する結果となった (entry 2)。別途、ホルミル体を一旦単離し、K₂CO₃/MeOH/THF 条件で Horner-Emmons 反応を行ったところ、84%の収率で目的物が得られたことから、単に塩基の溶解度ではなく、ワンポット反応の際に夾雑する無機塩などが反応を阻害している可能性が考えられる。

次に、Grignard 交換反応後の溶液は塩基性のため、 K_2CO_3 は必要ないのでは、と考え、 K_2CO_3 を除いたところ、若干収率が向上した (entry 3 vs 1)。

そこで、ホスホナート以外は何も加えず反応を行ったところ、93%という高収率で目的物を得ることができた (entry 4)。この条件により、ワンポットで3ステップの反応を実施したが、副生物も少なく、簡便な操作で不飽和二トリルを導入できた。

なお、この系が塩基性であり、 K_2CO_3 の添加なしに Horner-Emmons 反応が進行することは、次の反応によるものと考えられる (図 4-11)。

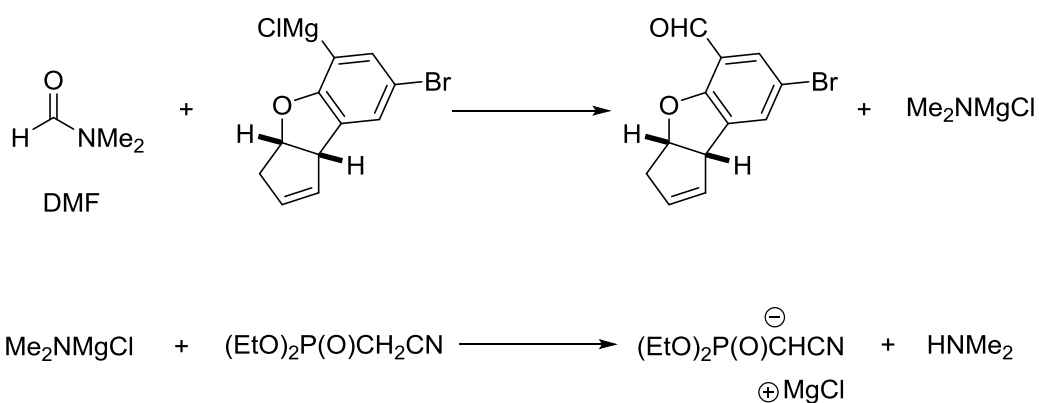


図 4-11 系中での反応

さらに、実際の基質で、本条件で反応を行ったところ、良好な収率で不飽和二トリルを導入できることを確認した (図 4-12)。なお、実際の基質ではスケールアップ合成時を想定し、Grignard 試薬は $iPrMgCl$ を使用した。

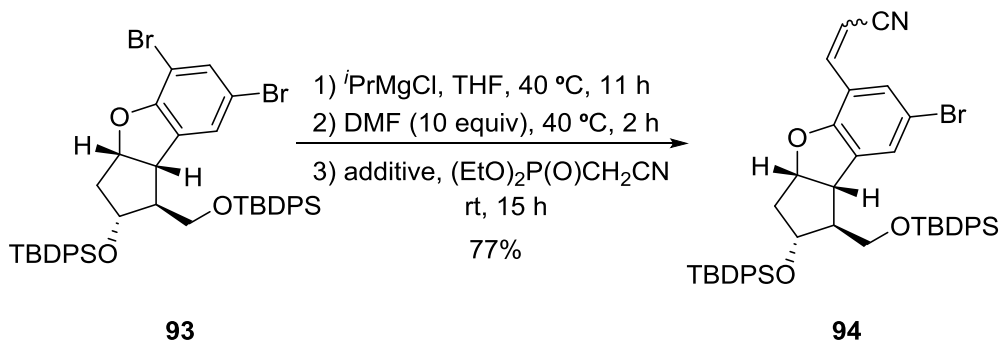


図 4-12 不飽和二トリルの導入

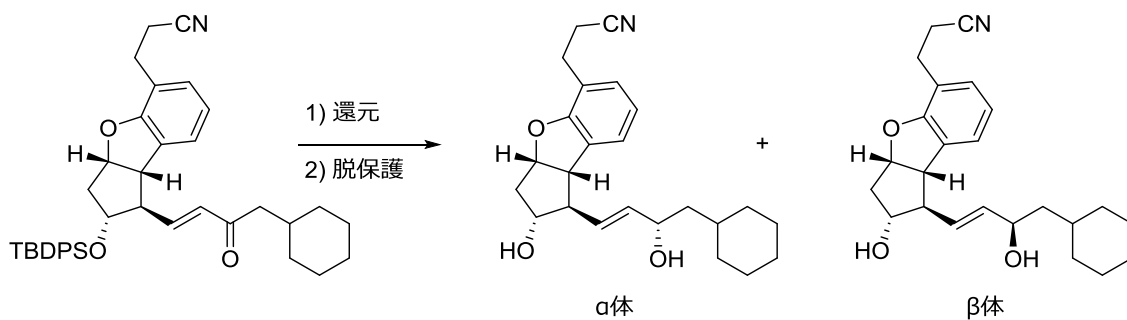
今回は反応確認のため、シリル保護基を外さず、カラムクロマトグラフィーで精製し、収率を求めたが、実際は単離精製することなく水素添加し、不飽和結合の還元と臭素の除去を行った後、精製する。

以上①～④の方法を検討し、スケールアップには④の Grignard 体のホルミル化経路での Horner-Emmons 反応による不飽和二トリルの導入、続いて不飽和結合の還元が利用できることを明らかにした。

次に、合成ルート検討のポイント③の、エノンの立体選択的な還元を検討した。

前述の通り、ベラプロスト合成時は、THF 溶媒中、Luche 法^{11,12)}を用い、エノンの 1,2 還元を行っているが、生じる水酸基の α/β 選択性はほとんどない。これまでの知見で、メタノールの代わりに、よりかさ高いシクロヘキサノールを用いると、 α 体が優先する ($\alpha/\beta = 4.9$) ことが分かっている。これは還元剤の活性種である $\text{NaBH}_{4-n}(\text{OR})_n$ の R 部分がかさ高くなったためと考えられる。そこで、今回の中間体について、かさ高い還元剤数種での選択性を比較した。結果を表 4-7 に示す。なお、選択性は TBDPS 基を脱保護した後、HPLC での面積比で確認した。

表 4-7 エノンの立体選択的 1,2 還元



entry	還元剤	溶媒	添加剤	温度	α/β
1	L-Selectride ¹⁾	THF	none	-78 to 0 °C	1.7
2	LiAl(O ^t Bu) ₃ H	THF	none	0 °C	1.7
3	Red-Al ²⁾	THF	none	-78 °C	3.2
4	NaBH ₄	THF-CyOH ³⁾	CeCl ₃	rt	4.9

1) LiB(^tBu)₃H

2) NaAl(OCH₂CH₂OMe)₂H₂

3) Cyclohexanol

この結果、Luche 法を超える選択性は認められなかった。そこで、他の方法として、不斉還元条件を用いることを考えた。これは、ジアステレオ選択的な還元反応に限界がある場合は、エナンチオ選択的な反応が有効な場合があるからである。還元システムとしては、エノンの還元に適応可能であり、入手容易な不斉リガンドを用いる反応を用いた¹³⁻²⁹⁾。

選択性は前検討と同様に、TBDPS 基を脱保護した後、HPLC での面積比で確認した。結果を表 4-8 に示す。

素化ホウ素ナトリウムの場合、従来の最高値を上回ることがなかった (entry 1~3, 6~9)。しかしながら、Corey らの条件³⁰⁻³²⁾を参考に、ボラン錯体と触媒量の二環性オキサザボロリジン誘導体を組み合わせたとこ、望みの α 選択性が著しく向上する結果が得られた (entry 9)。以後、この還元システムを Corey 法と述べる。

Corey 法による高選択性は、文献³⁰⁾で提唱されているメカニズムを参考に、次のように考えた (図 4-13)。

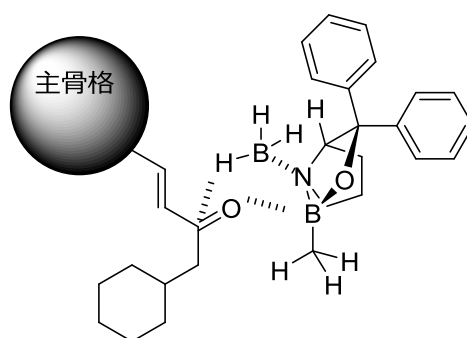
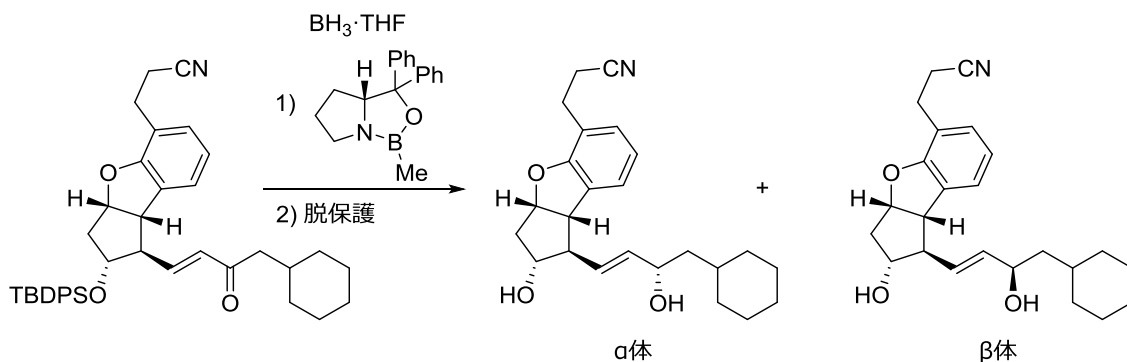


図 4-13 還元の変移状態

すなわち、まず、ルイス酸性の高いボランが、不斉リガンドが有する窒素原子と相互作用する。この作用により、不斉リガンド上のホウ素原子のルイス酸性が高まり、基質のカルボニルを強力に引きつけ、活性化するとともに、図 4-13 に示すような舟形の六員環遷移状態でヒドリドが移動し、速やかに還元が進行する。この際、ケトンの 2 つの置換基のうちビニル基が立体的にかさ高いと認識され³³⁾、シクロヘキシルメチル基がアキシャル、ビニル基側がエクソトリアルに配置される。この遷移状態で還元されると、目的の α 体が生成する。

この Corey 法では、選択性が高いものの、反応が完結しないという問題があった。そこで、還元剤のモル比、温度を変え、還元を試みた (表 4-9)。また、生成物の単離も行った。

表 4-9 オキサザボロリジンによる還元条件検討



entry	還元剤モル比	温度	時間	α/β	α 体単離収率 (%)	備考
1	0.6	0 °C to rt	1.5 h	16.2	-	反応完結せず
2	1.3	0 °C	25 min.	21.7	74	反応完結
3	1.3	-10 °C	50 min.	21.2	66	反応完結

用いる還元剤 ($\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$) のモル比を 2 倍にしたところ、0 °C でも反応は完結し、選択性も若干向上した (entry 2 vs 1)。カラム精製により目的物を単離したところ、単離収率は 74% であった。

一方、選択性の向上を狙い、反応温度を -10 °C に下げた場合は、期待に反し選択性、単離収率ともに向上は認められなかった (entry 3 vs 2)。Corey 法ではしばしばこのような例が報告されており³⁴⁻³⁶⁾、以下の様な理由が推定できる。

- ① 反応温度が低くなることで、反応後に基質を含むホウ酸エステル触媒からの解離が遅くなり、触媒能が低下する。
- ② 溶媒と触媒との相互作用が強くなり、触媒能が低下する。

表 4-9 に示した結果から、還元剤であるボラン錯体は基質に対し 1.3 倍モル必要であり、反応温度は 0 °C が適当であると考えた。

このように、還元剤、不斉リガンド検討の結果、選択性が向上する還元システムを見出したが、 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ は室温での貯蔵が困難であり、一定の品質を保つことが難しいと考えられる。より安定な還元剤（ボラン錯体）としてボラン・トリエチルアミン錯体やボラン・ジエチルアニリン錯体の代替を試みたものの、反応は完結しなかった。そこで、水素化ホウ素ナトリウムと三フッ化ホウ素・テトラヒドロフラン錯体を反応させ、反応時にボランを調整する方法³⁷⁾を試したところ、収率、選択性とも変わりなく目的物が得られた。この結果より、本反応では還元剤を用時調整することとした。

以上より、検討項目としていた2つのステップを改良することができた。この結果を踏まえ、確立した全合成ルートを図 4-14 に示す。

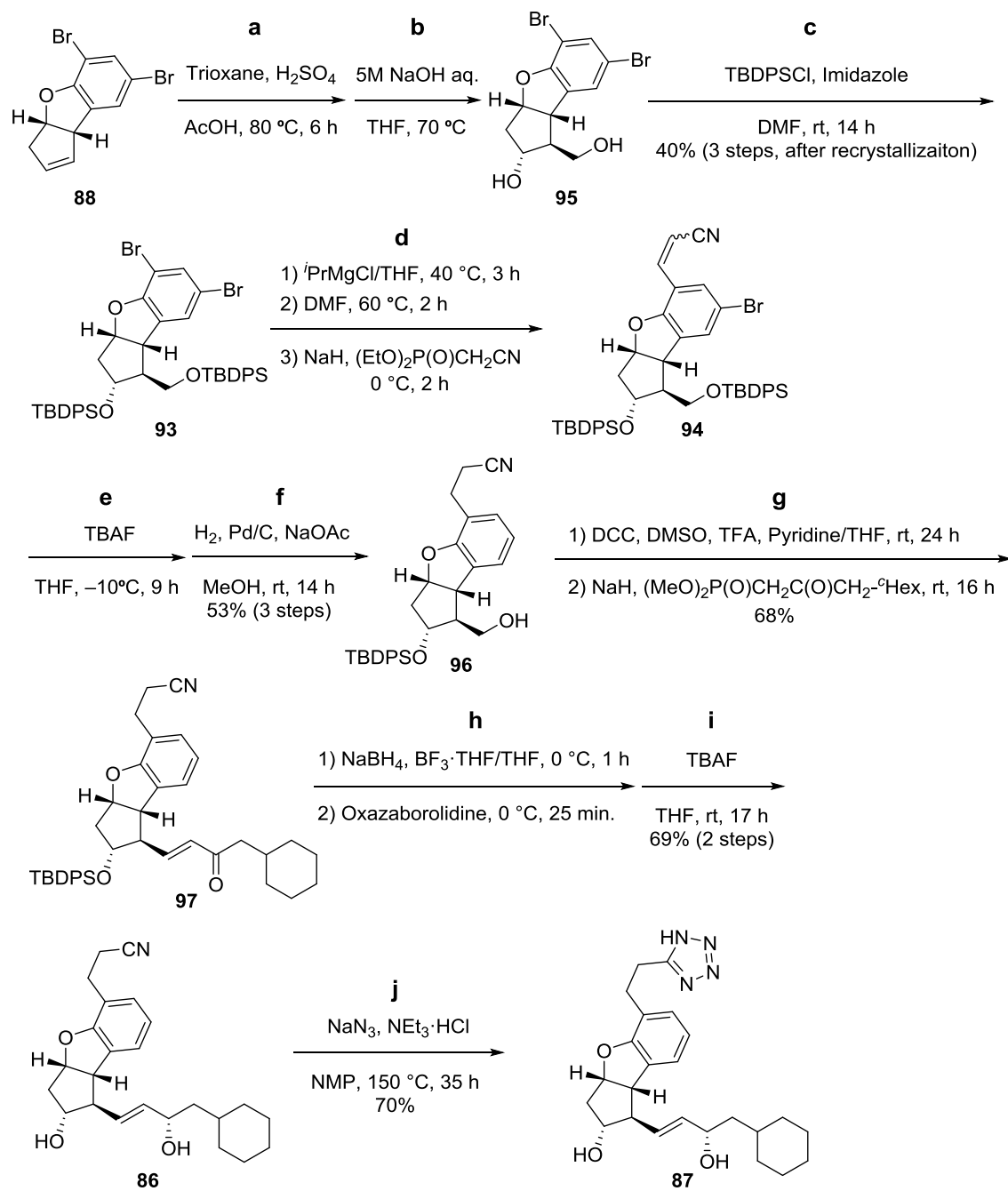


図 4-14 テトラゾール体 **87** の全合成

新たな全合成ルート各工程について概説する。

工程 a, b : 西山らの方法によって合成できる光学活性なシクロペンテン **88** への Prins 反応とそれに続くアセチル基の加水分解による、立体選択的な水酸基およびヒドロキシメチル基の導入である。ここでの位置および立体選択性は、先述の通りである。

工程 c : 2 つの水酸基の TBDPS 保護である。保護基導入後、カラムクロマトグラフィーと再結晶で精製する。

工程 d : 先に検討した、選択的 Grignard 交換からのホルミル化、続く Horner-Emmons 反応による不飽和二トリルの導入である。

工程 e, f : 1 級水酸基側の TBDPS 保護の選択的除去とそれに続く水素添加による不飽和部の還元および臭素の加水素分解である。ここでカラムクロマトグラフィーと再結晶で精製する。

工程 g : ヒドロキシメチル部分の Moffatt 酸化によるアルデヒドへの変換と、それに続く Horner-Emmons 反応による ω 側鎖部の導入である。この工程後は再結晶のみで、高収率で目的のエノンを得ることができる。

工程 h, i : 先に検討した、エノンの立体選択的な 1,2 還元である。反応後、TBDPS を除去し、続いて β 体をカラムクロマトグラフィーで分離する。

工程 j : ニトリルのテトラゾール化で目的物とする工程である。この工程は再結晶精製のみで高純度の目的物を得ることができる。

このように、当初 17 ステップを必要としていた合成を 10 ステップに削減するとともに、還元立体選択性向上による収率向上も図り、大量スケールでの合成が可能な効率的な全合成ルートへの改良を達成した。

第4節 結論

本章では、オリジナルライブラリから見出した EP₄ 受容体作動薬の特長を維持し、かつ構造新規で物質特許権利化可能な EP₄ 作動薬の設計と、スケールアップ合成を可能とする効率的な合成ルートへの改良について検討した。その結果は次の点にまとめられる。

- ① オリジナルライブラリから見出したインター-*m*-フェニレン型 PG 誘導体のカルボン酸部分を生物学的等価体として知られるテトラゾールに変換した **87** は、起点としたカルボン酸体 **80** よりもターゲットである EP₄ 受容体への作動性と選択性が若干向上し、起点化合物の特長を維持し、かつ構造新規で物質特許権利化可能な化合物の創出という目標を達成した。
- ② 見出したテトラゾール体 **87** の効率的な合成法確立を目指し、特にエチレンニトリルの導入とエノンの立体選択的還元にフォーカスして検討した。エチレンニトリルの導入は、複数の手法を検討した結果、Grignard 交換、ホルミル化、Horner-Emmons 反応をフンポットで進める合成法が、高収率・簡便操作・入手容易かつハンドリングに問題のない試薬の使用、という点で適切であることが分かった。
- ③ エノンの還元において、ジアステレオ選択的還元では高選択的な条件は見出せなかったが、エナンチオ選択的な還元により、目的とする α -ヒドロキシ体を高選択的に得られることが分かった。還元剤としてはボラン・THF、不斉リガンドとして二環性オキサザボロリジンの組み合わせが極めて有効であり、 α/β 比は約 22 と高選択的な還元を達成した。
- ④ 各ステップの改良を加え、同一原料からの合成ステップ数は、従来の 17 ステップを 10 ステップに削減した。

本章で得られた結果から、以下の結論が得られる。

これまで、プロスタグランジン EP₄ 受容体選択的作動薬は ONO-4819 などわずかにしか知られていなかったが、化学的に安定なインター-*m*-フェニレン骨格を有する化合物においても、

α 側鎖および ω 側鎖を適切に設計することで、EP₄受容体選択的作動薬が得られることが分かった。また、設計に用いた生物学的等価体の利用、というコンセプトがPGリガンドにおいて有効である例を示すこともできた。

さらにスケールアップ合成を見据えた効率的合成法への改良も達成でき、本章で得られた化合物は、当初目的の、安全な出産補助薬（子宮頸管熟化薬）として臨床の場での使用が期待できる。

また、医薬としての利用にとどまらず、プロスタグランジンEP₄受容体の機能解明のための強力なツールとしても本章で得られた化合物は利用可能であり、今後、プロスタグランジンEP₄受容体の分布や挙動、本受容体を介した生理反応などの研究の発展に寄与するものと期待できる。

第5節 実験

^1H NMR スペクトル (300MHz) は、核磁気共鳴装置 (Varian 2000) を用いて測定し、ケミカルシフトはテトラメチルシラン (TMS) を基準として δ (単位 : ppm) で示した。

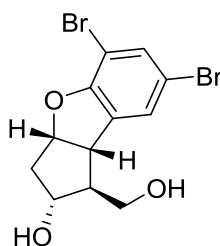
赤外吸収スペクトルは、日本分光製 FT/IR-500 を用いて薄膜法または KBr 法で測定した。

質量分析、元素分析は、株式会社東レリサーチセンターに測定を依頼した。

融点は、Yanako MP500D を用いて測定した。

無水溶媒は関東化学製の有機合成用脱水溶媒を使用し、その他の溶媒、および試薬に関しては特に断りのない限り市販の特級試薬をそのまま使い、反応はアルゴン雰囲気で行った。

(1*S*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-5, 7-ジブromo-1-(ヒドロキシメチル)-2, 3, 3*a*, 8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-2-オール (**95**)



95

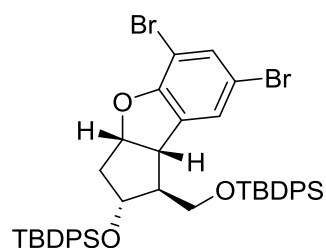
(3*aS*, 8*bS*)-5,7-ジブromo-3*a*, 8*b*-ジヒドロ-3*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン **88** (31.6 g, 100 mmol) に、酢酸 (160 mL)、トリオキサン (18.2 g, 202 mmol)、濃硫酸 (10.7 mL) を加え、80 °C で 6 時間攪拌した。

反応混合物に水 (100 mL) を加え、続いて 0 °C に冷却し、炭酸水素ナトリウム (18.5 g) を加えた。ここに、THF (150 mL)、水 (100 mL) を加え、続いて 0 °C に冷却し、5M 水酸化ナトリウム水溶液 (70 mL) を加えた。次に反応混合物を 70 °C に加熱し、22.5 時間攪拌した後、エタノール (100 mL) を加え、70 °C で 8 時間攪拌した。

反応混合物を濃縮し、水 (300 mL) を加え、続いて酢酸エチル (600 mL × 1、300 mL × 2) で抽出した。有機層を合わせ、飽和食塩水、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で

順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮した。得られた表題化合物を含む濃縮物は、そのまま次の反応に用いた。

t-ブチル(((1*S*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-5, 7-ジブromo-1-(((*t*-ブチルジフェニルシリル)オキシ)メチル)-2, 3, 3*a*, 8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-2-イル)オキシ)ジフェニルシラン (93)



93

前記濃縮物に、DMF (200 mL)、イミダゾール (20.4 g, 300 mmol)、*t*-ブチルジフェニルシリルクロリド (66.0 g, 240 mmol) を加え、室温で 14 時間攪拌した。

反応混合物を濃縮し、水 (300 mL) を加え、続いて酢酸エチル (300 mL × 3) で抽出した。

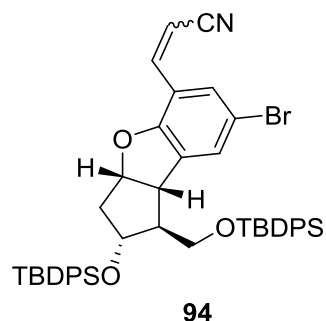
有機層を合わせ、0.5 M 塩酸、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮した。

得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (溶出液: *n*-ヘキサン/酢酸エチル = 95/5) で精製し、さらに酢酸エチルから再結晶することで、表題化合物 (33.72 g, 収率 40% (3 steps)) を白色結晶として得た。

¹H NMR (CDCl₃)

δ 0.85 (9H, s), 1.00 (9H, s), 2.00–2.06 (1H, m), 2.12–2.18 (1H, m), 2.33–2.38 (1H, m), 3.38–3.49 (2H, m), 3.72 (1H, dd, *J* = 4.1, 8.6 Hz), 4.08–4.12 (1H, m), 5.18–5.24 (1H, m), 6.98–7.00 (1H, m), 7.28–7.46 (15H, m), 7.52–7.57 (6H, m)

3-((1*S*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-7-ブromo-2-((*t*-ブチルジフェニルシリル)オキシ)-1-(((*t*-ブチルジフェニルシリル)オキシ)メチル)-2, 3, 3*a*, 8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-5-イル)アクリロニトリル (**94**)

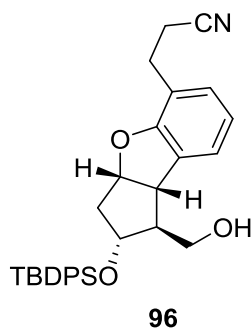


93 (5.00 g, 5.95 mmol) の THF (20 mL) 溶液に、アルゴン雰囲気下、40 °C で *i*PrMgCl の THF (2.0 M) 溶液 (3.6 mL, 7.2 mmol) を加え、そのまま 3 時間攪拌した。

反応混合物に脱水 DMF (4.6 mL, 60 mmol) を加え、2 時間攪拌した。続いて、反応混合物を 0 °C に冷却し、ジエチル(シアノメチル)ホスホネート (1.2 mL, 7.1 mmol) を加え、そのまま 2 時間攪拌した。

反応混合物に酢酸エチルを加え、続いて、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮した。得られた表題化合物を含む濃縮物は、そのまま次の反応に用いた。

3-((1*S*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-2-((*t*-ブチルジフェニルシリル)オキシ)-1-(ヒドロキシメチル)-2, 3, 3*a*, 8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-5-イル)プロパニトリル (**96**)



前記濃縮物の THF (30 mL) 溶液に、-10 °C でフッ化テトラブチルアンモニウムの 1 M THF

溶液 (5.4 mL) を加え、9 時間攪拌した。室温で酢酸エチルを加え、続いて飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮した。

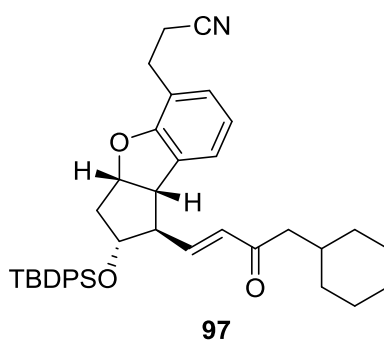
得られた濃縮物のメタノール (50 mL) 溶液に、アルゴン雰囲気下、室温で、酢酸ナトリウム (730 mg, 8.9 mmol)、10% Pd/C (50% wet) (500 mg) を加え、反応系を水素置換した後、14 時間攪拌した。

触媒を濾別し、濾液を濃縮後、水 (150 mL) を加え、続いて酢酸エチル (100 mL × 4) で抽出した。有機層を合わせ、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (溶出液: *n*-ヘキサン/酢酸エチル = 8:2) で精製することで、表題化合物 (1.57 g, 収率 53% (3 steps)) を白色固体として得た。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 0.92 (9H, s), 1.52–1.64 (1H, brs), 2.08–2.35 (3H, m), 2.55–2.97 (4H, m), 3.45–3.54 (3H, m), 4.07–4.16 (1H, m), 5.08 (1H, ddd, $J = 4.1, 7.1, 9.0$ Hz), 6.82 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 6.99 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.10 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.32–7.61 (10H, m)

3-((1*R*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-2-((*t*-ブチルジフェニルシリル)オキシ)-1-((*E*)-4-シクロヘキシル-3-オキソブテ-1-エン-1-イル)-2, 3, 3*a*, 8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-5-イル)プロパンニトリル (**97**)



THF (3 mL) に **96** (517 mg, 1.04 mmol) および *N,N*-ジシクロヘキシルカルボジイミド

(258 mg, 1.25 mmol) を加え、さらに DMSO (0.74 mL)、トリフルオロ酢酸 (0.02 mL)、ピリジン (0.02 mL) を加え、室温で 24 時間攪拌した。この溶液を、Moffatt 酸化溶液とする。別のフラスコに、NaH (54 mg, 60% in oil, 2.25 mmol) を THF (1 mL) に懸濁させ、0 °C でジメチル (3-シクロヘキシル-2-オキソプロピル)ホスホネート (335 mg, 1.35 mmol) の THF (1 ml) 溶液を加え、その後室温で 1 時間攪拌し、Wadsworth 試薬を調製した。この Wadsworth 試薬を、先に調製した Moffatt 酸化溶液に -10 °C で加え、その後室温で 16 時間攪拌した。

反応溶液に酢酸 (0.08 mL) を加えて中和し、続いてシクロヘキサン (10 mL) を加えた。析出したウレアを濾別し、残渣をシクロヘキサン/酢酸エチル = 5/1 の混合溶媒で洗浄した。得られた濾液と洗浄液とを合わせ、水で 2 回洗浄し、続いて有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、濃縮した。濃縮後再びシクロヘキサン (10 mL) を加え、析出したウレアを先と同様に濾別、洗浄した。得られた濾液と洗浄液を合わせ濃縮し、残渣を *n*-ヘキサン/酢酸エチルから再結晶し、表題化合物 (435 mg, 収率 68%) を黄色結晶として得た。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 0.82–1.00 (11H, m), 1.12–1.35 (3H, m), 1.61–1.72 (5H, m), 1.75–1.87 (1H, m), 2.05–2.15 (1H, m), 2.25–2.34 (3H, m), 2.61–2.66 (2H, m), 2.74–3.01 (3H, m), 3.47–3.53 (1H, m), 3.99–4.05 (1H, m), 5.04–5.11 (1H, m), 6.03 (1H, dd, $J = 0.6, 15.6$ Hz), 6.53 (1H, dd, $J = 8.7, 15.6$ Hz), 6.81 (1H, dd, $J = 7.2, 7.5$ Hz), 6.99 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 7.32–7.60 (10H, m)

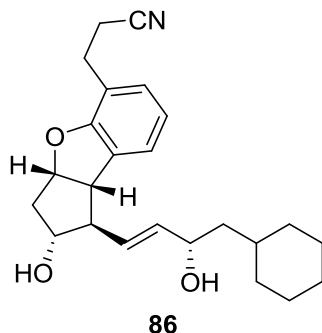
MS (CI) : m/z 618 $[\text{M}+\text{H}]^+$

IR (KBr) cm^{-1}

3448, 2927, 2856, 2243, 1691, 1625, 1459, 1429, 1385, 1361, 1318, 1258, 1196, 1113, 1010, 957, 855, 822, 742, 705

mp 133.0–134.0 °C

3-((1*R*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-1-((*S*, *E*)-4-シクロヘキシル-3-ヒドロキシブテ-1-エン-1-イル)-2-ヒドロキシ-2, 3, 3*a*, 8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-5-イル)プロパンニトリル (**86**)



25 mL ニロナスフラスコに、水素化ホウ素ナトリウム (381 mg, 10.1 mmol) を量り取り、アルゴン置換した。続いて、0 °C で THF (4.0 mL)、および三フッ化ホウ素・THF 錯体 (1.90 g, 13.6 mmol) の THF (6 mL) 溶液を加え、1 時間攪拌した。これを A 液とする。

別に用意した 25 mL ニロナスフラスコに、オキサザボロリジン触媒 (11.7 mg, 0.042 mmol) を量り取り、アルゴン置換した。ここに、0 °C で A 液 (0.35 mL) を加えて 5 分間攪拌した後、0 °C で **97** (210 mg, 0.340 mmol) の THF (1.5 mL) 溶液を滴下し、25 分間攪拌した。

次に、0 °C で反応混合物に塩化アンモニウム (140 mg, 2.62 mmol) の蒸留水 (10 mL) 溶液を加え、室温で 15 分間攪拌した後、酢酸エチル (10 mL × 4) で抽出した。有機層を飽和重炭酸水素ナトリウム水溶液 (10 mL)、および飽和食塩水 (10 mL) で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過、続いて濃縮した。得られた粗生成物 (220 mg) を THF (10 mL) に溶解し、室温でフッ化テトラブチルアンモニウムの 1 M THF 溶液 (0.8 mL) を加え、17 時間攪拌した。

室温で、反応混合物に水 (10 mL)、および飽和食塩水 (10 mL) を加え、続いて酢酸エチル (40 mL) で抽出した。水層を酢酸エチル (20 mL) で抽出し、先の有機層と合わせて飽和食塩水 (10 mL) で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過、続いて濃縮した。得られた粗生成物 (267 mg) は、カラムクロマトグラフィー (溶出液: シクロヘキサン/酢酸エチル = 1/4

→ 酢酸エチルのみ) で精製し、表題化合物 (90 mg, 0.236 mmol, 収率 69%) を淡黄色油状物として得た。

^1H NMR (CDCl_3)

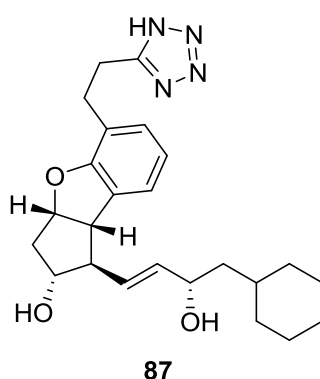
δ 0.86–1.80 (13H, m), 1.85–1.95 (1H, m), 2.28 (2H, dd, $J = 8.8, 17.6$ Hz), 2.56–2.72 (3H, m), 2.82–2.98 (2H, m), 3.35 (1H, dd, $J = 9.2, 9.2$ Hz), 3.81 (1H, dd, $J = 9.1, 16.2$ Hz), 4.18 (1H, dd, $J = 6.6, 13.5$ Hz), 5.07 (1H, dd, $J = 7.1, 14.8$ Hz), 5.45–5.61 (2H, m), 6.78 (1H, dd, $J = 7.4, 7.4$ Hz), 6.96–6.99 (2H, m)

MS (EI) : m/z 381 $[\text{M}]^+$

IR (neat) cm^{-1}

3376, 3016, 2924, 2850, 2249, 1670, 1598, 1478, 1456, 1425, 1345, 1302, 1257, 1216, 1198, 1169, 1138, 1067, 1035, 1017, 972

(1*R*, 2*R*, 3*aS*, 8*bS*)-5-(2-(1*H*-テトラゾール-5-イル)エチル)-1-((*S*, *E*)-4-シクロヘキシル-3-ヒドロキシブテ-1-エン-1-イル)-2,3,3*a*,8*b*-テトラヒドロ-1*H*-シクロペンタ[*b*]ベンゾフラン-2-オール (**87**)



86 (534 mg, 1.40 mmol) を 50 mL ナスフラスコに量り取り、アルゴン雰囲気下、*N*-メチル-2-ピロリドン 20 mL、アジ化ナトリウム (546 mg, 8.40 mmol)、トリエチルアミン塩酸塩 (578 mg, 4.20 mmol) を加え、150 °C で 35 時間攪拌した。反応液に 1 M 塩酸を加え、続いて酢酸エチル (60 mL × 3) で抽出した。有機層を合わせ、1 M 塩酸 (60 mL × 3)、

蒸留水 (60 mL)、飽和食塩水 (60 mL) の順でそれぞれ洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤を濾別後、濾液を濃縮し、続いて山善中圧分取液体カラムクロマトグラフィー装置 BPLC-100 型 (カラム : DIOL-40B、溶出液 : 酢酸エチル/シクロヘキサン = 4/1) を用いて精製した。さらに若干残存した *N*-メチル-2-ピロリドンを除去するために、カラム精製物 520 mg に水 30 mL、炭酸水素ナトリウム 252 mg、塩化ナトリウム 0.5 g を加え、続いて *t*-ブチルメチルエーテル (20 mL × 3) で洗浄した。さらにこの有機層に水 20 mL、炭酸水素ナトリウム 252 mg、塩化ナトリウム 0.5 g を加え、再度水で抽出した。これらの水層をすべて合わせ、クエン酸 1 水和物 1.26 g を加えて酸性にし、続いて酢酸エチル (30 mL × 3) で抽出した。有機層を蒸留水 (30 mL)、飽和食塩水 (30 mL) の順でそれぞれ洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後濃縮して、茶褐色固体 470 mg を得た。この一部 344 mg をメタノール/ジエチルエーテルから再結晶し、第一晶 215 mg、第二晶 88 mg、合わせて 303 mg (0.714 mmol) の表題化合物を無色針状晶として得た (収率 70%)。

^1H NMR (CDCl_3)

δ 0.88–1.02 (2H, m), 1.16–1.53 (6H, m), 1.62–1.81 (5H, m), 2.00–2.12 (1H, br),
2.39–2.43 (1H, m), 2.58–2.68 (1H, br), 2.80–2.89 (1H, m), 3.12–3.28 (2H, m),
3.46–3.63 (2H, m), 4.08–4.16 (1H, m), 4.19–4.26 (1H, m), 5.17–5.27 (1H, br),
5.56–5.61 (2H, m), 6.67 (1H, dd, $J = 7.2, 7.2$ Hz), 6.73 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 6.95
(1H, d, $J = 7.2$ Hz)

MS (CI) : m/z 424 $[\text{M}]^+$

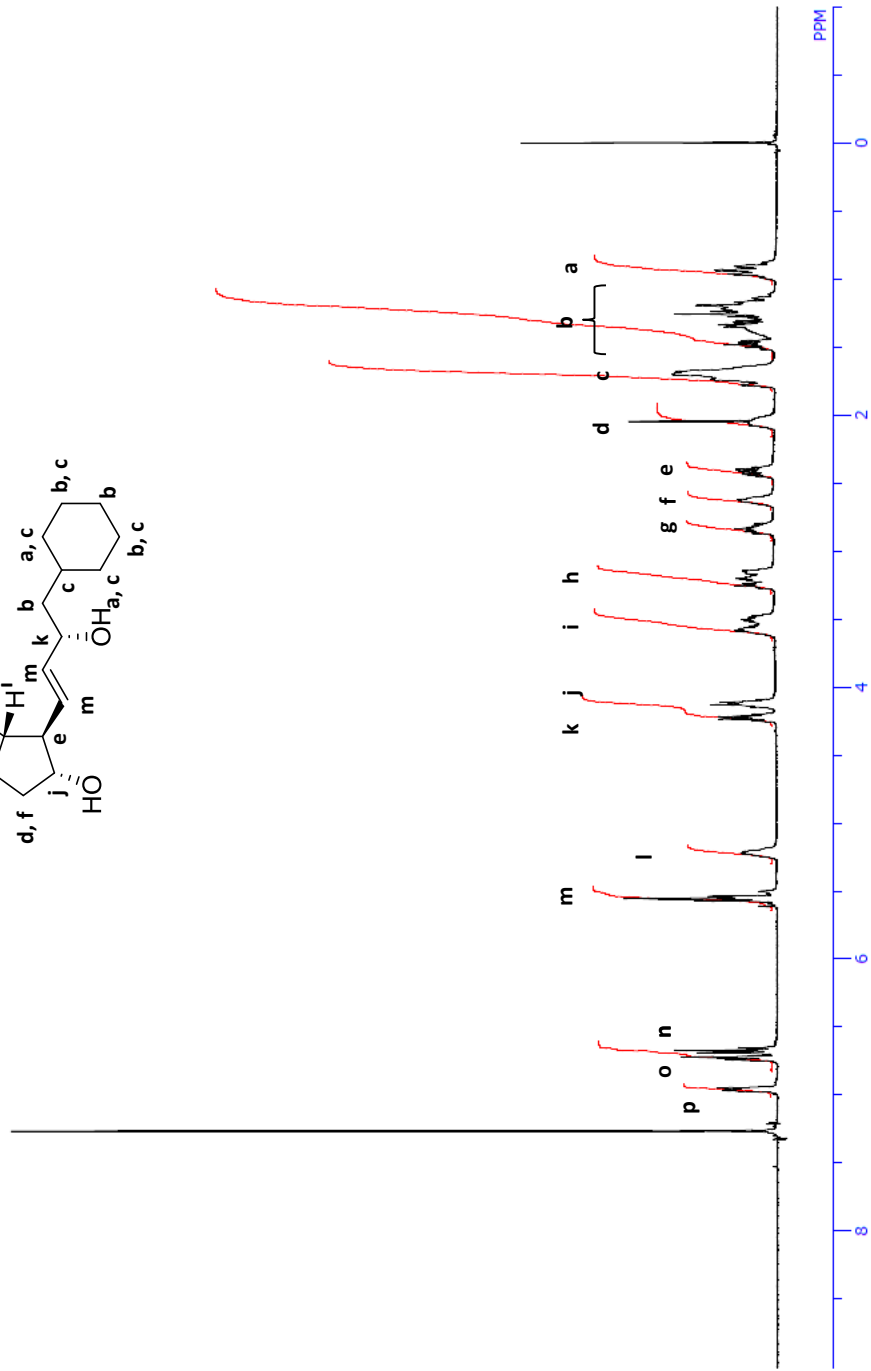
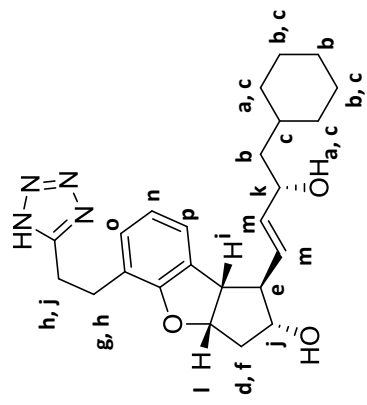
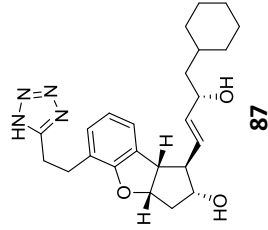
IR (KBr) cm^{-1}

3386, 2922, 2850, 1655, 1560, 1509, 1450, 1257, 1194, 1064, 973, 863, 744

mp 80.3–82.3 °C

主要化合物の¹H NMR スペクトル **87**

OBNUC 1H
 EXMOD single_pulse.ex2
 OBFRQ 395.88 MHz
 OBSET 6.28 KHz
 OBFIN 0.87 Hz
 POINT 13107
 FREQU 5938.15 Hz
 SCANS 8
 ACQTM 2.2073 sec
 PD 4.0000 sec
 PW1 5.25 usec
 IRNUC 1H
 CTEMP 23.0 C
 SLVNT CDCL3
 EXREF 0.00 ppm
 BF 0.12 Hz
 RGAIN 46



参考文献

- 1) P. Rix, P. Ladehoff, A. M. Møller, K. A. Tilma, M. Zdravkovic, *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, **75**, 45 (1996).
- 2) C. Ballatore, D. M. Huryn, A. B. Smith, III, *ChemMedChem*, **8**, 385 (2013).
- 3) R. J. Herr, *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 3379 (2002).
- 4) J. M. McManus, R. M. Herbst, *J. Org. Chem.*, **24**, 1643 (1959).
- 5) 脇田尚宜, 山田尚弘, 畠山仁志, 石垣 剛, 平野啓之, 森 岳志, WO2000/024727 (2000).
- 6) H. Nishiyama, K. Isaka, K. Itoh, K. Ohno, H. Nagase, K. Matsumoto, H. Yoshiwara, *J. Org. Chem.*, **57**, 408 (1992).
- 7) H. Nishiyama, N. Sakata, H. Sugimoto, Y. Motoyama, H. Wakita, H. Nagase, *Synlett*, **8**, 930 (1998).
- 8) L. A. Paquette, “*Encyclopedia Reagent for Organic Synthesis*”, **1**, eds. by S. D. Burke, R. M. Coates, R. L. Danheiser, S. E. Denmark, D. J. Hart, L. S. Liebeskind, D. C. Liotta, A. J. Pearson, H. J. Reich, J. H. Rigby, W. R. Roush, New York, John Wiley & Sons, Inc. (1995), p515 and p518.
- 9) S. Ma, X. Lu, Z. Li, *J. Org. Chem.*, **57**, 709 (1992).
- 10) C. Botteghi, G. Chelucci, M. Marchetti, *Synth. Commun.*, **12**, 25 (1982).
- 11) J. L. Luche, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 601 (1978).
- 12) J. L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 2226 (1978).
- 13) B. M. Trost, I. Fleming, “*Comprehensive Organic Synthesis*”, **8**, eds. by C. H. Heathcock, G. Pattenden, FRS, S. V. Ley, FRS, S. L. Schreiber, R. Noyori, M. F. Semmelhack, L. A. Paquette, E. Winterfeldt, Oxford, Pergamon Press (1991), p159.

- 14) E. D. Lund, P. E. Shaw, *J. Org. Chem.*, **42**, 2073 (1977).
- 15) P. S. Portoghese, *J. Org. Chem.*, **27**, 3359 (1962).
- 16) T. H. Johnson, K. C. Klein, *J. Org. Chem.*, **44**, 461 (1979).
- 17) S. R. Landor, B. J. Miller, A. R. Tatchell, *J. Chem. Soc. (C)*, 1822 (1966).
- 18) S. R. Landor, B. J. Miller, A. R. Tatchell, *J. Chem. Soc. (C)*, 2239 (1971).
- 19) N. Baggett, P. Stribblehill, *J. Chem. Soc., Parkin Trans. 1*, 1123 (1977).
- 20) S. R. Landor, *J. Chem. Soc. (C)*, 197 (1967).
- 21) R. S. Brinkmeyer, V. M. Kapoor, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 8339 (1977).
- 22) S. Yamaguchi, H. S. Mosher, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 9254 (1972).
- 23) S. Yamaguchi, H. S. Mosher, *J. Org. Chem.*, **38**, 1870 (1973).
- 24) T. Mukaiyama, M. Asami, J. Hanna, S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, 783 (1977).
- 25) M. Asami, H. Ohno, S. Kobayashi, T. Mukaiyama, *Bull. Chem., Soc., Jpn*, **51**, 1869 (1978).
- 26) A. Hirao, H. Mochizuki, S. Nakayama, N. Yamazaki, *J. Org. Chem.*, **44**, 1720 (1979).
- 27) A. Hirao, H. Mochizuki, S. Itsuno, M. Ohowa, N. Yamazaki, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 807 (1979).
- 28) 社団法人 日本化学会編, “第 4 版 実験化学講座 26 有機合成Ⅷ”, 丸善株式会社 (1992), p53.
- 29) S. Itsuno, M. Nakao, K. Miyazaki, H. Masuda, K. Ito, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2039 (1985).
- 30) E. J. Corey, C. J. Helal, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **37**, 1987 (1998).
- 31) E. J. Corey, R. K. Bakshi, S. Shibata, C. P. Chen, V. K. Singh, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 7025 (1987).

- 32) E. J. Corey, R. K. Bakshi, S. Shibata, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5551 (1987).
- 33) E. J. Corey, C. J. Helal, *Tetrahedron Lett.*, **36**, 9153 (1995).
- 34) J. Zhao, X. Bao., X. Liu, B. Wan, X. Han, C. Yang, J. Yang, Y. Feng, B. Jiang, *Tetrahedron Asymmetry*, **11**, 3351 (2000).
- 35) J. M. Bruel, M. Maffei, G. Bouno, *Tetrahedron Asymmetry*, **4**, 2255 (1993).
- 36) G. B. Stone, *Tetrahedron Asymmetry*, **5**, 465 (1994).
- 37) A. C. Cope, "*Organic Reaction*", **13**, eds. by H. C. Brown, E. E. Schweizer, C. Walling, E. S. Huyser, F. W. Stacey, J. F. Havris, Jr., New York, John Wiley & Sons, Inc. (1963), p29.

第5章

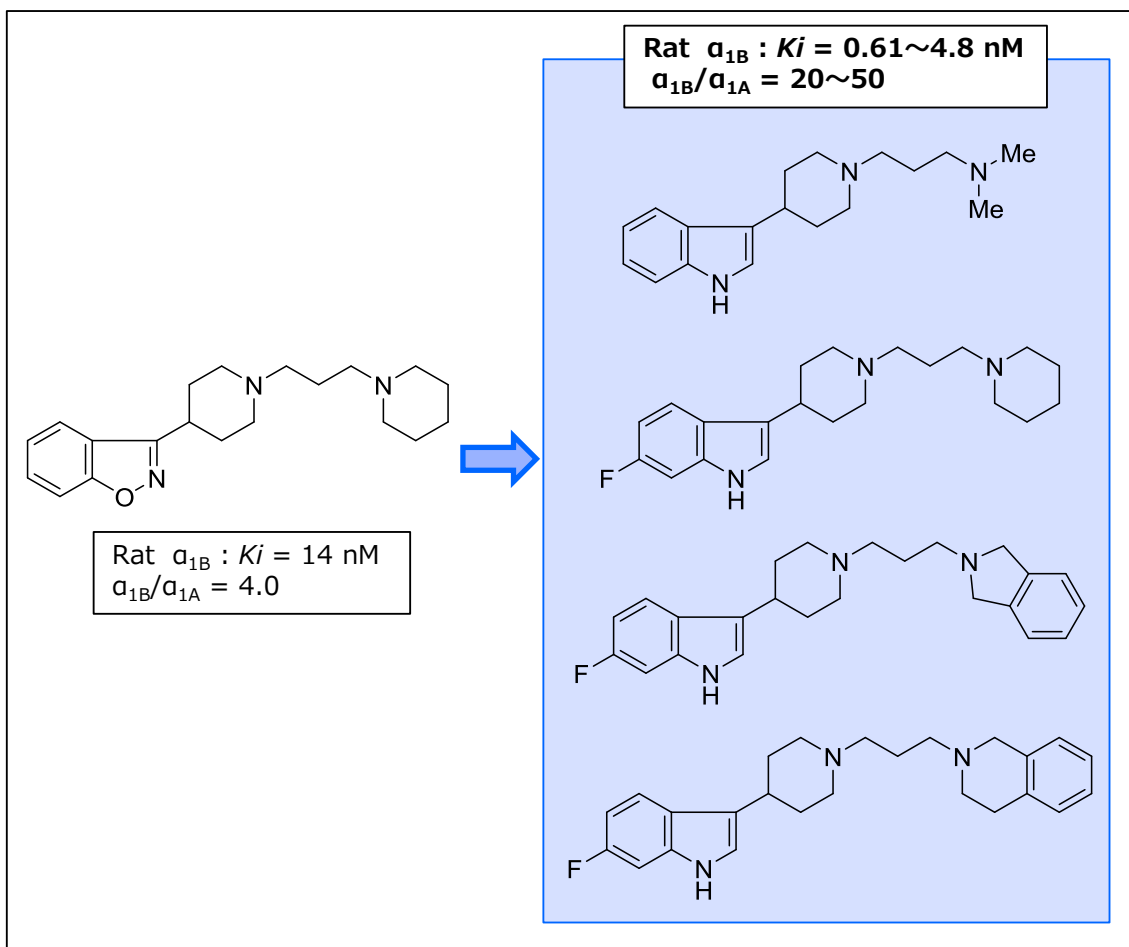
総括

本論文は、新薬創出を目指した、アドレナリンおよびプロスタグランジン受容体選択的なりガンドの設計と合成について述べている。本章では、各章で得られた結論を総括し、今後の展望について記述する。

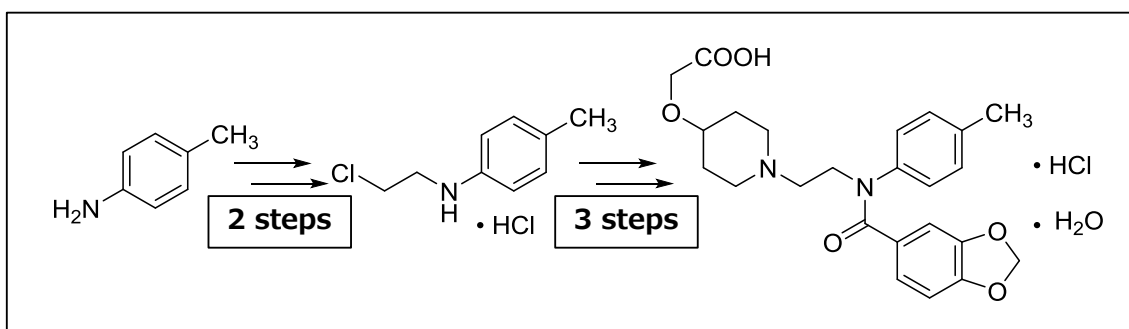
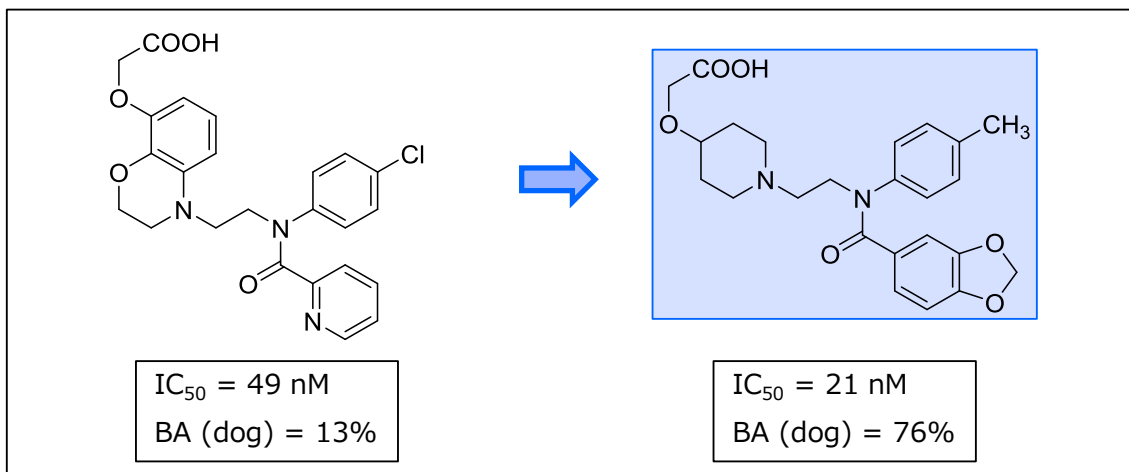
第 1 章「緒論」では、まず新薬の研究・開発と成功確率を述べ、さらに、新薬創出には化合物が目的とする薬効を発揮するだけでなく、安全性・体内動態・物性・大量合成可能な合成法、など、様々な要件をクリアすることが必要であることに言及した。また、新薬の標的分子として、GPCR が有用であること、筆者が注目するアドレナリン α_{1B} 受容体、プロスタグランジン IP 受容体・EP₄ 受容体とそのリガンド、関連する医薬について調査した。アドレナリン α_{1B} 受容体やプロスタグランジン EP₄ 受容体は、選択的リガンドが求められていること、プロスタグランジン IP 受容体作動薬は、代謝安定性の向上が求められていることに言及し、これらの課題に取り組む本研究の意義、目的について記述した。

これらの背景、意義に基づき、第 2 章以降の検討を進めた。

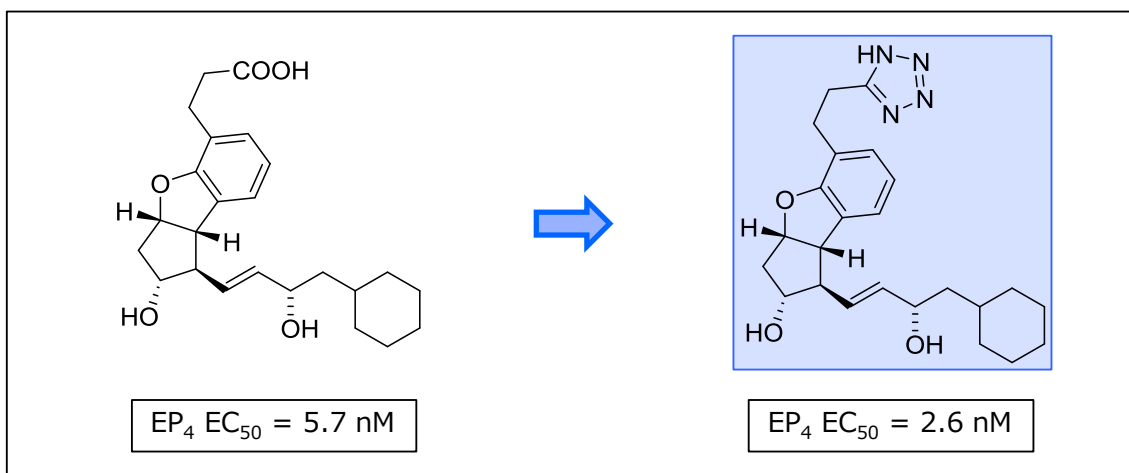
第 2 章「アドレナリン α_{1B} 受容体選択的拮抗薬の設計と合成」では、高選択的リガンドが知られていないアドレナリン α_{1B} 受容体に関し、高い親和性と選択性を有する拮抗薬の創出を目的とした。筆者は、独自の発想による起点化合物の選定と LBDD により、高い親和性と既存化合物を上回る選択性を有する拮抗薬を創出した。あわせて、分子中、側鎖末端部の塩基性窒素原子の存在が高いアドレナリン α_{1B} 受容体選択性発現に必要であるという新知見を明らかにした。さらに、創出した高選択的拮抗薬を用い、受容体が置かれている環境で、拮抗薬との反応が異なるという、これまで知られていないアドレナリン α_{1B} 受容体の興味深い挙動を明らかにした。

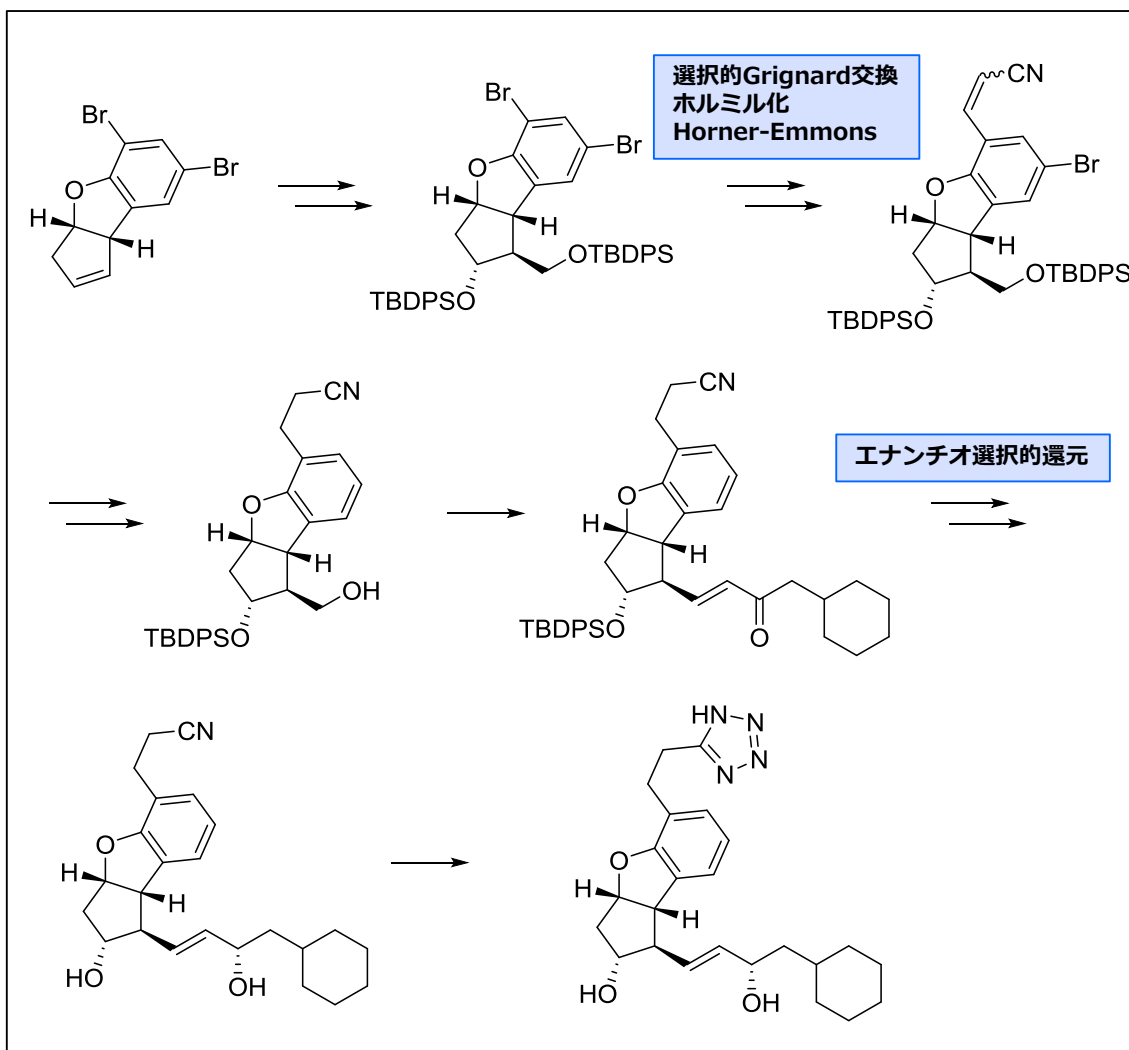


第3章「ノンプロスタノイド IP 受容体選択的作動薬の設計と合成」では、既存化合物の良好な IP 受容体作動性を維持しつつ、体内動態を改良することを目指し、主骨格に高い塩基性を有する窒素原子を導入するという従来知られていない変換で、目的とする高活性、高選択的かつ体内動態良好な IP 受容体作動薬を創出した。さらに、少量多品種を合成するための固相合成法から、大量製造を可能とする合成法への改良を達成した。



第4章「EP₄受容体選択的作動薬の設計と合成」では、オリジナルライブラリから見出されたEP₄受容体作動性および選択性、安定性の良好な化合物を元に、生物学的等価体を利用して、新規構造であるとともに作動性・選択性の向上したEP₄受容体選択的作動薬を創出した。さらに、将来のスケールアップ合成を見据え、煩雑かつ多段階の合成法を、より効率的な合成法へと改良した。





本研究において、アドレナリン α_{1B} 受容体については、**既存化合物を上回る高選択的拮抗薬を提供できた**。今後、得られた高選択的拮抗薬を研究ツールとする受容体機能の解明、機能解明に基づく新薬創出が期待できる。また、**アドレナリン α_{1B} 受容体選択性を向上させるための独自の構造活性相関情報を獲得できた**。この知見は、今後新たな高選択的リガンドを設計するために有用である。さらに、本研究で得られたアドレナリン α_{1B} 受容体選択的拮抗薬を用いた実験より、**アドレナリン α_{1B} 受容体は置かれた環境の違いで、リガンドとの反応が異なることを明らかとした**。これは、有望化合物を絞り込む際、評価カスケードの早期に動物組織での実験を組み込む必要性を示しており、本知見は、医薬として真に有効な化合物を見出す確率を高めることにつながる成果である。

プロスタグランジン IP 受容体作動薬に関しては、**強力な作動性、高い選択性と良好な体内動態を示す化合物を提供できた。**さらに、**スケールアップ合成を可能とする合成法を確立できた。**これは、患者のコンプライアンスを改善した、慢性動脈閉塞症、原発性肺高血圧症、肺動脈性肺高血圧症に対する治療薬の創出が期待できる成果である。

プロスタグランジン EP₄ 受容体については、**高い作動性と物理化学的安定性を有する新規プロスタグランジン EP₄ 受容体選択的作動薬を提供できた。**さらに、**効率的な合成法を確立し、**プロスタグランジン EP₄ 受容体作動薬による安全な出産補助薬（子宮頸管熟化薬）の創出が期待できる成果を得た。また、従来プロスタグランジン EP₄ 受容体の機能研究は、ノックアウトマウスなど、遺伝子改変動物を用いる方法が中心であったが、本研究成果により、プロスタグランジン EP₄ 受容体選択的作動薬に対する生体反応を研究することが可能となる。遺伝子改変という特殊な環境での反応ではなく、化合物に対する反応を知ること、今後、適切な対象疾患を見極めることができると考えられる。

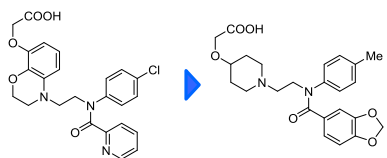
本研究で得られた化合物、知見を活かすことで、今後アドレナリン α_{1B} 受容体、プロスタグランジン IP 受容体および EP₄ 受容体を標的分子とした新薬が創出されることを期待する。

総括

アドレナリン受容体およびプロスタグランジン受容体選択的化合物の設計と合成

第3章 プロスタグランジンIP受容体作動薬

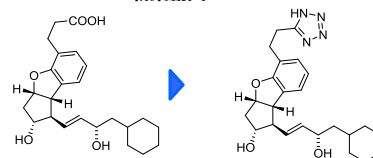
- コンプライアンスを改善した新薬創出 (1日1回の内服で薬効発揮)



生体利用率 (BA)の大幅向上 (12%→76%)
大量合成法確立 (5 steps)

第4章 プロスタグランジンEP₄受容体作動薬

- 受容体機能の解明
- 最適疾患の見極め
- 新薬創出



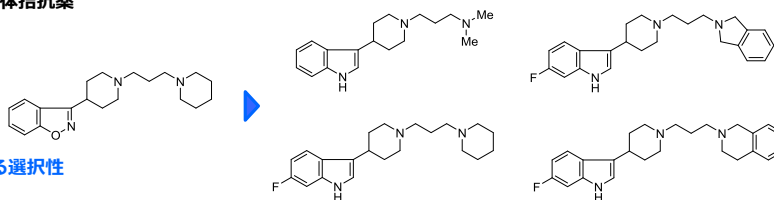
EP₄受容体作動性・選択性の向上 (生物学的等価体利用)
大量合成法確立 (10 steps)

受容体選択的 リガンドの創出

- ▶ 独自の分子設計
- ▶ 効率的な合成法

第2章 アドレナリンα_{1B}受容体拮抗薬

- 受容体機能の解明
- 最適疾患の見極め
- 新薬創出



高い親和性・既存化合物を上回る選択性
独自の構造活性相関

α_{1B}、IP、EP₄受容体を標的分子とする新薬の創出に寄与

研究業績

1. 発表論文

第2章

- 1) R. Hayashi, E. Ohmori, M. Isogaya, M. Moriwaki, H. Kumagai, 'Design and synthesis of selective α_{1B} adrenoceptor antagonists', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 4045 (2006).
- 2) R. Hayashi, E. Ohmori, M. Moriwaki, H. Kumagai, M. Isogaya, 'Indolylpiperidine derivatives as potent and selective α_{1B} adrenoceptor antagonists', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 3921 (2015).
- 3) H. Yoshiki, J. Uwada, A. S. Anisuzzaman, H. Umada, R. Hayashi, M. Kainoh, T. Masuoka, M. Nishio, I. Muramatsu, 'Pharmacological distinct phenotypes of α_{1B} -adrenoceptors: variation in binding and functional affinities for antagonists', *Br. J. Pharmacol.*, **171**, 4890 (2014).

第3章

- 4) R. Hayashi, H. Sakagami, M. Koiwa, H. Ito, M. Miyamoto, M. Isogaya, 'Piperidine derivatives as nonprostanoid IP receptor agonists', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**, 2360 (2016).
- 5) R. Hayashi, H. Ito, T. Ishigaki, Y. Morita, M. Miyamoto, M. Isogaya, 'Piperidine derivatives as nonprostanoid IP receptor agonists 2', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**, 2886 (2016).

第4章

- 6) R. Hayashi, Y. Hosono, K. Nakatsuji, Y. Tanaka, T. Mori, T. Kanno, K. Makita, M. Moriwaki, T. Ohyama, Y. Ochi, C. Inada, M. Isogaya, 'Efficient synthesis of a novel *m*-phenylene derivative as a selective EP₄ agonist inducing follicular growth and maturation in the ovary', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**, 7505 (2011).

2. 本論文に直接関係しない発表論文

- 1) C. Sakai, S. Iwano, M. Shimizu, J. Onodera, M. Uchida, E. Sakurada, Y. Yamazaki, Y. Asaoka, N. Imura, Y. Uno, N. Murayama, R. Hayashi, H. Yamazaki, Y. Miyamoto, 'Analysis of gene expression for microminipig liver transcriptomes using parallel long-read technology and short-read sequencing', *Biopharm. Drug Dispos.*, **37**, 220 (2016).
- 2) K. Yoshikawa, T. Ohyama, E. Takahashi, Y. Numajiri, M. Konno, M. Moriyama, N. Takemi, K. Kunita, K. Nishimura, R. Hayashi, 'Identification of alpha-substituted acylamines as novel, potent, and orally active mGluR5 negative allosteric modulators', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 3135 (2015).
- 3) S. Suzuki, T. Okano, R. Horiuchi, N. Hareyama, K. Amikura, N. Yamamoto, Y. Yoshizawa, M. Yagi, K. Serizawa, R. Hayashi, 'Discovery of potent α_{1L} -adrenoceptor agonists: Design and synthesis of bicyclic derivatives', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 3368 (2015).
- 4) E. Takahashi, T. Arai, M. Akahira, M. Nakajima, K. Nishimura, Y. Omori, H. Kumagai, T. Suzuki, R. Hayashi, 'The discovery of potent glycine transporter type-2 inhibitors: design and synthesis of phenoxymethylbenzamide derivatives',

Bioorg. Med. Chem. Lett., **24**, 4603 (2014).

- 5) S. Kanie, A. Otsuka, S. Yoshikawa, R. Kobayashi, S. Itaba, H. Yokokawa, Y. Tajima, R. Hayashi, H. Mochizuki, S. Ozono, 'TRK-380, a novel selective human β_3 -adrenoceptor agonist, ameliorates formalin-induced pollakiuria in rats and carbachol-induced bladder contraction in dogs', *Urology*, **82**, 975.e7 (2013).
- 6) E. Takahashi, N. Hirano, T. Nagahara, S. Yoshikawa, S. Momen, H. Yokokawa, R. Hayashi, 'Discover of potent transient receptor potential vanilloid 1 antagonists: design and synthesis of phenoxyacetamide derivatives', *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 3154 (2013).
- 7) Y. Morita, T. Ishigaki, K. Kawamura, R. Hayashi, M. Isogaya, M. Kitsukawa, M. Miyamoto, M. Uchida, K. Iseki, 'Synthesis of novel IP agonists via *N*-aminoethyl cyclic amines prepared by decarboxylative ring-opening reactions', *Molecules*, **17**, 1233 (2012).
- 8) S. Kanie, A. Otsuka, S. Yoshikawa, T. Morimoto, N. Hareyama, S. Okazaki, R. Kobayashi, K. Hasebe, K. Nakao, R. Hayashi, H. Mochizuki, R. Matsumoto, S. Ozono, 'Pharmacological effect of TRK-380, a novel selective human β_3 -adrenoceptor agonist, on mammalian detrusor strips', *Urology*, **79**, 744.e1 (2012).
- 9) H. Wakita, K. Matsumoto, H. Yoshiwara, Y. Hosono, R. Hayashi, H. Nishiyama, H. Nagase, 'Synthesis of 5, 6, 7-trinor-4, 8-inter-*m*-phenylene PGI₂ and Beraprost', *Tetrahedron*, **55**, 2449 (1999).
- 10) T. Yokozawa, R. Hayashi, T. Endo, 'Design and synthesis of novel hydrolyzable polysulfides from 2, 4-dimethylene-1, 3-dioxolane', *Macromolecules*, **27**, 3698 (1994).

- 11) T. Yokozawa, R. Hayashi, T. Endo, 'Selective cationic addition polymerization of 2, 4-dimethylene-1, 3-dioxolane by a common Lewis acid: synthesis of vinyl ether-pendant polymer under cationic polymerization conditions', *Macromolecules*, **25**, 3313 (1992).
- 12) T. Yokozawa, R. Hayashi, T. Endo, 'Preparation and radical ring-opening polymerization of exo-methylene-substituted cyclic ketene acetals', *J. Polym. Sci. A. Polym. Chem.*, **28**, 3739 (1990).
- 13) Y. Masuyama, R. Hayashi, K. Otake, Y. Kurusu, 'Charge reversal of electrophilic π -allylpalladium intermediates: carbonyl allylation by allylic acetates with $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2\text{-SnCl}_2$ ', *J. Chem Soc., Chem. Commun.*, 44 (1988).

3. 著書

林 亮司, 川村邦昭, 伊関克彦, '非天然 IP 作動薬のプロセスルート開発', 橋本光紀監修, "医薬品原薬・中間体製造におけるスケールアップとトラブル対策", 株式会社シーエムシー出版 (2008), pp248.

4. 特許

- 1) 熊木治郎、林 亮司、桑田浄伸、'ポリエステル組成物'、特開平 4-366162 (1992).
- 2) 熊木治郎、林 亮司、福本忠男、'ポリエステル樹脂組成物'、特開平 4-370143 (1992).
- 3) 林 亮司、熊木治郎、桑田浄伸、'ポリエステル組成物'、特開平 5-001218 (1993).
- 4) 熊木治郎、歌崎憲一、林 亮司、'ポリエステル組成物'、特開平 5-001214 (1993).
- 5) 林 亮司、熊木治郎、桑田浄伸、'ポリエステル組成物'、特開平 5-001217 (1993).

- 6) 林 亮司、若林幸雄、'難燃性ポリエステル樹脂射出成形品'、特願平 4-251697 (1992).
- 7) 林 亮司、若林幸雄、沖田 茂、松岡英夫、'難燃性ポリエステル樹脂射出成形品'、特開平 6-145489 (1994).
- 8) 平山直樹、吉原秀夫、川邊紀雄、林 亮司、林崎良英、'安定同位体を含有する化合物、重合体および分析方法'、特開 2004-284965 (2004).
- 9) 越智靖夫、林 亮司、磯ヶ谷昌文、'子宮頸管熟化剤'、特願平 11-069524 (1999).
- 10) 越智靖夫、林 亮司、熊谷洋樹、'プロスタグランジン EP4 受容体作用薬'、特願平 11-069696 (1999).
- 11) 林 亮司、大森英爾、磯ヶ谷昌文、森脇光博、'アドレナリン α 1B 受容体拮抗薬'、特願平 11-178170 (1999).
- 12) 熊谷洋樹、山田尚弘、森 岳志、磯ヶ谷昌文、林 亮司、'育毛あるいは発毛調節剤'、特願 2000-097542 (2000).
- 13) 熊谷洋樹、越智靖夫、林 亮司、'プロスタグランジン EP₄ 受容体作用薬'、特開 2000-854809 (2002).
- 14) 越智靖夫、林 亮司、磯ヶ谷昌文、'子宮頸管熟化剤'、特開 2000-854808 (2002)
- 15) 熊谷洋樹、山田尚弘、森 岳志、磯ヶ谷昌文、林 亮司、'育毛あるいは発毛調節剤'、特開 2001-872268 (2003).
- 16) 林 亮司、大森英爾、磯ヶ谷昌文、森脇光博、'アドレナリン α 1B 受容体拮抗薬'、特開 2000-878716 (2003).
- 17) 大野道博、林 亮司、磯ヶ谷昌文、'ベンゾモルホリン誘導体'、特願 2002-355544 (2002).
- 18) 大野道博、林 亮司、磯ヶ谷昌文、上田 寛、'ベンゾモルホリン誘導体'、特開 2004-852871 (2006).
- 19) 林 亮司、阪上英樹、小岩雅和、牧田 圭、'環状アミン誘導体またはその薬学的に許容される塩ならびにその医薬用途'、特開 2007-106692 (2007).

20) 林 亮司、菊地 司、新居賢樹、黒澤 聡、長谷部光、蟹江小葉子、'ベンジルアミン誘導体
またはその薬学的に許容される酸付加塩、およびその医薬用途、特願 2007-020582
(2007).

21) 林 亮司、菊地 司、新居賢樹、黒澤 聡、長谷部光、蟹江小葉子、大園誠一郎、大塚篤史、
'ベンジルアミン誘導体またはその薬学的に許容される酸付加塩、およびその医薬用途、
特許第 4720909 号 (2011).

5. 学会発表

1) 林 亮司、大森英爾、磯ヶ谷昌文、森脇光博、熊谷洋紀、'選択的アドレナリン α_{1B} 受容体
拮抗薬の設計と合成、日本薬学会 医薬化学部会 第 24 回メディシナルケミストリーシ
ンポジウム、大阪 (2005), 2P-24.

2) Yoshikawa S., Morimoto T., Okazaki S., Hareyama N., Nakao K., Hayashi R.,
Mochizuki H., Matsumoto R., Otsuka A., Ozono S., 'TRK-380, A novel β_3 -
adrenoceptor (AR) agonist with potent agonistic activity, functionally relaxes
detrusor strips in some species including humans', International Continence
Society, San Francisco (2009), 502.

3) Yoshikawa S., Kanie S., Kobayashi R., Nakajima M., Hasebe K., Nakao K., Hayashi
R., Mochizuki H., Matsumoto R., Otsuka A., Ozono S., 'TRK-380, A novel β_3 -
adrenoceptor (AR) agonist, decreases voiding frequency in rats with
formalin-induced pollakiuria and suppresses the non-voiding contractions (NVCS)
in bladder outlet obstruction (BOO)', International Continence Society, San
Francisco (2009), 505.

4) Yoshikawa S., Kobayashi R., Itaba S., Okazaki S., Hasebe K., Nakao K., Hayashi R.,

Mochizuki H., Matsumoto R., Otsuka A., Ozono S., Yoshimura N., 'Effect of TRK-380, a novel β_3 -adrenoceptor (AR) agonist, on carbachol-induced bladder contractions in anesthetized dogs', International Continence Society, San Francisco (2009), 707.

- 5) S. Suzuki, T. Okano, R. Horiuchi, N. Hareyama, K. Amikura, N. Yamamoto, Y. Yoshizawa, M. Yagi, K. Serizawa, R. Hayashi, 'Discovery of potent α_{1L} -adrenoceptor agonists: Design and synthesis of bicyclic derivatives', 249th American Chemical Society Meeting Division of Medicinal Chemistry, Denver (2015), 153.
- 6) 松村雄輝, 菊地 司, 鈴木紳也, 岡野 翼, 清水なつみ, 小林良輔, 晴山菜菜, 八木麻衣, 吉澤良隆, 佐藤優介, 林 亮司, 腹圧性尿失禁治療薬 (5-HT_{2C} 受容体作動薬) の探索, 日本薬学会 第 136 年会, 横浜 (2016), 28AB-am193.
- 7) 坂井知津香, 岩野俊介, 東恵理子, 内田将史, 小野寺純, 宇野泰広, 林 亮司, 杉山 篤, 中村和市, 宮本庸平, 山崎浩史, 'マイクロミニピッグにおける薬物動態関連機能分子の解析', 第 43 回 日本毒性学会学術年会, 名古屋 (2016), S9-8.

謝辞

本論文をまとめるにあたり、終始懇切丁寧なご指導、ご鞭撻を賜りました東京工業大学 物質理工学院 高田十志和教授に心より感謝申し上げます。

本論文審査にあたり、貴重なご意見、ご指導を賜りました、東京工業大学 理学院 鈴木啓介教授、生命理工学院 小林雄一教授、物質理工学院 田中健教授、伊藤繁和准教授に深く御礼申し上げます。

アドレナリン α 受容体リガンドの研究にあたり、ご指導、ご討論、そして本論文化合物のご評価を賜りました、福井大学 医学部 名誉教授 村松郁延先生に心より御礼申し上げます。

本論文の研究は、東レ株式会社 基礎研究所・医薬研究所において行われたものです。論文の動機付けとご鞭撻を賜りました、東レ株式会社 常務取締役・研究本部長 恒川哲也博士に深く感謝いたします。東レ株式会社での研究の機会を与您いただき、その後も常にご指導、ご鞭撻を賜りました、東レ株式会社 元副社長 田中千秋氏に心より感謝申し上げます。東レ株式会社 基礎研究所において、プロスタグランジン研究に導いていただき、ご指導、ご鞭撻を賜りました、東レ株式会社 元理事・基礎研究所長 故大野清隆博士に心より感謝申し上げます。

本論文の研究を進めるにあたり、ご指導、ご鞭撻を賜りました、東レ株式会社 常任理事・医薬研究所長 伊関克彦博士、歴代基礎研究所長・医薬研究所長に感謝申し上げます。

アドレナリン α 受容体リガンド研究の機会を与您いただくとともに、ご指導、ご討論いただきました、東レ株式会社 基礎研究所 元主任研究員 松本和久氏、元薬理第1研究室長 松下映夫博士に感謝申し上げます。

本論文の研究を進めるにあたり、数え切れないほどのご指導、ご討論、ご協力をいただきました、東レ株式会社 基礎研究所・医薬研究所の先輩、同僚、共同研究者の皆様に心より感謝申し上げます。