

## 博士論文（要約）

論文題目     **HIV-1 インテグラーゼ阻害剤**  
                  **JTK-303 (elvitegravir) の創薬研究**

氏     名     佐藤   元秀

# 目次

序論 .....	1
本論	
第一章  リード化合物の創出	
第一節  4-キノロン-3-カルボン酸化合物の特徴 .....	5
第二節  合成 .....	7
第二章  リード化合物から JTK-303 (elvitegravir) の創製	
第一節  3 位および 6 位の構造活性相関ならびに合成 .....	8
第二節  1 位の構造活性相関ならびに合成 .....	11
第三節  中央ベンゼン環の構造活性相関ならびに合成 .....	16
第四節  1 位の組み合わせ効果の検討ならびに合成 .....	19
第五節  最適化検討ならびに合成 .....	21
第六節  HIV-1 インテグラーゼコアドメイン、JTK-303 (elvitegravir) およびウイルス DNA 三者複合体のホモロジーモデル.....	23
第三章  JTK-303 (elvitegravir) の薬理、薬物動態および毒性プロファイル	
第一節  薬理プロファイル .....	24
第二節  薬物動態および毒性プロファイル .....	28
結論 .....	29
謝辞 .....	30
実験の部	
第一章  化学合成実験およびホモロジーモデル構築の部 .....	31
第二章  薬理実験および薬物動態実験の部 .....	65
引用文献 .....	69

## 略号表

本論文中において、以下の略号を使用した。

Ac	acetyl
AUC <sub>0-inf</sub>	血漿中濃度曲線下面積 (0-無限大)
BA	バイオアベイラビリティ
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl
Bu	butyl
C <sub>max</sub>	最高血漿中濃度
C <sub>5min</sub>	投与 5 分後血漿中濃度
CC <sub>50</sub>	50%細胞毒性濃度
CL <sub>tot</sub>	全身クリアランス
CYP	シトクロム P450
dba	dibenzylideneacetone
DIAD	diisopropyl azodicarboxylate
DIBAH	diisobutylaluminium hydride
DMAP	4-dimethylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
EC <sub>50</sub>	50%有効濃度
EDC	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
Et	ethyl
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
IC <sub>50</sub>	50%阻害濃度
IPA	2-propanol
IPE	isopropyl ether
Me	methyl
Ms	methanesulfonyl
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NMM	<i>N</i> -methylmorpholine
NMO	<i>N</i> -methylmorpholine <i>N</i> -oxide
PBMC	末梢血単核細胞
Ph	phenyl
Pr	propyl
t <sub>1/2</sub>	消失半減期
t <sub>max</sub>	最高血漿中濃度到達時間
TBAF	tetrabutylammonium fluoride

TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
Vd <sub>ss</sub>	分布容積

## 序論

ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus : HIV) は、プラス鎖の一本鎖 RNA を持ち、レトロウイルス科レンチウイルスに属する。HIV には HIV-1 と HIV-2 の 2 種類のタイプがあり、世界的に拡散しているのは HIV-1 である。HIV は、ヒトの CD4 陽性 T リンパ球などの免疫担当細胞に感染し、増殖しながら感染細胞を徐々に破壊していく。その結果、免疫力が低下し、種々の日和見感染症を併発する後天性免疫不全症候群 (acquired immune deficiency syndrome : AIDS) を発症する。1981 年に初の AIDS の症例が米国で報告されて以来、30 年以上にわたり人類と HIV との闘いが続いている。<sup>1)</sup>

国連合同エイズ計画 (UNAIDS) によると、全世界の 2013 年末時点での HIV 陽性者数は約 3500 万人に上る。2013 年の新規 HIV 感染者数は約 210 万人、また AIDS による死亡者数は約 150 万人であり、<sup>2)</sup> 抗 HIV 薬による治療が必要な患者は、依然として非常に多い状況である。

HIV はヒトの免疫担当細胞に感染すると、まずウイルス RNA が宿主細胞内に放出され (Step 1)、次にウイルス RNA の逆転写反応により生成したウイルス DNA が、宿主細胞の染色体に組み込まれ (Step 2)、その後、組み込まれたウイルス DNA の転写、翻訳を経て、ウイルス粒子が再構成されて出芽する (Step 3) という生活環を営む (Figure 1)。

### Figure 1. 非公開

Step 1 では、まずウイルス粒子表面上の糖タンパク質 gp120 が宿主細胞の表面抗原である CD4 と結合し、続いて宿主細胞表面上のケモカイン受容体 (CCR5 または CXCR4) と結合する。その後、ウイルス粒子表面上の糖タンパク質 gp41 が宿主細胞の細胞膜に入り、ウイルス粒子と宿主細胞膜が融合して、ウイルスのタンパク質と RNA が細胞内へ放出される。Step 2 では、ウイルスの逆転写酵素により、ウイルス一本鎖 RNA を鋳型として、二本鎖 DNA が合成される。この二本鎖 DNA は核内に移行し、ウイルスのインテグラーゼによ

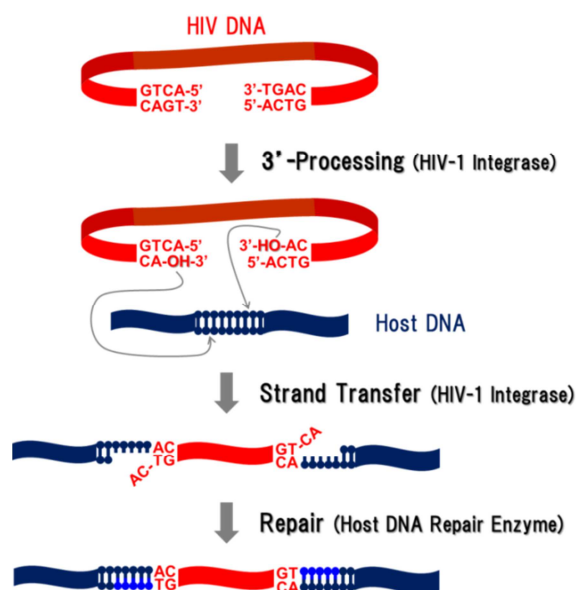
り、宿主細胞の染色体に組み込まれる。Step 3 では、組み込まれたウイルス DNA を鋳型としてウイルス mRNA が合成され、さらに前駆体タンパク質が合成される。前駆体タンパク質は、ウイルス RNA とともにウイルス粒子を形成して膜より出芽するが、出芽の過程でウイルスのプロテアーゼにより切断され、構造タンパク質や酵素などの成熟タンパク質となりウイルス粒子は感染性を獲得する。

このように HIV の生活環においては、ウイルスの逆転写酵素、プロテアーゼおよびインテグラーゼが重要な役割を果たしており、これらを標的とした抗 HIV 薬の研究開発が進められた。<sup>3-6)</sup> その結果、1987年に初の抗 HIV 薬として逆転写酵素阻害剤の zidovudine(AZT)<sup>7)</sup> が、1995年にはプロテアーゼ阻害剤の saquinavir<sup>8)</sup> が、さらに 1996年には逆転写酵素アロステリック阻害剤の nevirapine<sup>9)</sup> がそれぞれ承認された。

これら標的が異なる薬剤の上市に伴い、抗 HIV 療法は単剤療法から多剤併用療法 (combination antiretroviral therapy : cART) へと進歩した。<sup>10)</sup> cART の導入により、HIV 感染者の生命予後は劇的に改善し、かつて治療法のない致死性疾患であった AIDS は、現在では慢性疾患と位置付けられるようになった。デンマークのコホート研究によると、25歳の HIV 感染者の平均生存期間は、cART 導入前の 1995-1996年においては 7.6年であったのに対し、導入後の 2000-2005年においては 32.5年に伸びた。<sup>11)</sup> しかしその一方で、抗 HIV 薬を長期間服薬することにより、耐性ウイルスが出現するという新たな問題が生じた。このような背景のもと、医薬品が創製されていなかったインテグラーゼ阻害剤に大きな期待と注目が集まった。<sup>12)</sup>

HIV-1 インテグラーゼは 288 残基のアミノ酸で構成され、N 末ドメイン (アミノ酸残基 1-49)、触媒ドメイン (アミノ酸残基 50-212) および C 末ドメイン (アミノ酸残基 213-288) の 3つのドメインを持ち、ウイルス DNA の両 3'-末端の 2 残基を切断する 3'-processing 反応と、その結果生成した 3'-末端をヒト DNA に挿入する strand transfer 反応を触媒する酵素である (Figure 2)。<sup>13)</sup> この酵素反応には、触媒ドメインに存在する DDE モチーフと呼ば

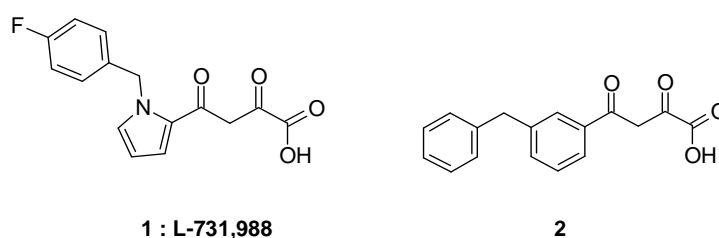
**Figure 2. Integration pathway**



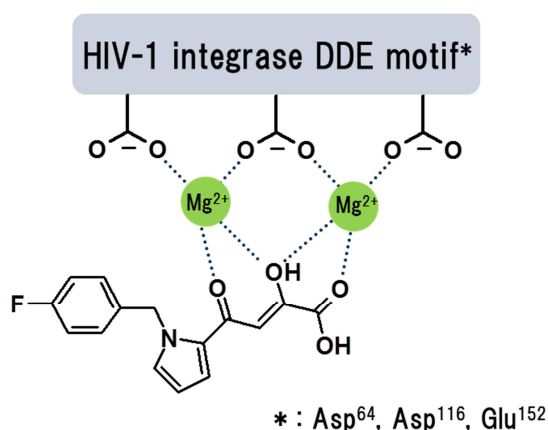
れる3つの酸性アミノ酸残基 (Asp<sup>64</sup>、Asp<sup>116</sup>およびGlu<sup>152</sup>) と2つのMg<sup>2+</sup>イオンが関与すると考えられている。

2000年に $\alpha,\gamma$ -ジケトカルボン酸構造を持つ化合物1、2が、インテグラーゼのstrand transfer反応を阻害するとともに、抗HIV活性を示すことを米国Merck社のグループが報告した (Figure 3)。<sup>14)</sup>  $\alpha,\gamma$ -ジケトカルボン酸構造は、 $\alpha$ 位のカルボニル基がケト-エノール互変異性を取り得るが、これらの化合物は $\alpha$ -エノール体として触媒反応に関与する2つのMg<sup>2+</sup>イオンに配位して阻害作用を示すと考えられた (Figure 4)。

**Figure 3.** First reported HIV-1 integrase strand transfer inhibitors



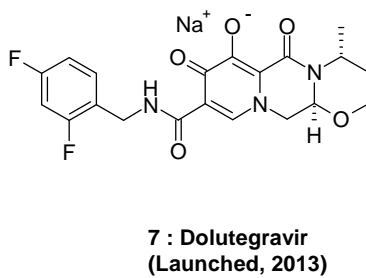
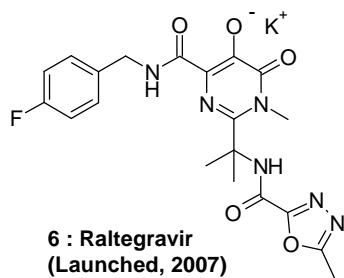
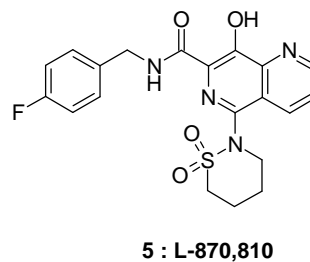
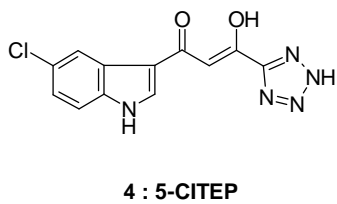
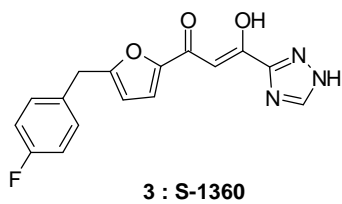
**Figure 4.** Putative binding mode of 1



この報告を端緒として、インテグラーゼ阻害剤の探索が欧米の大手製薬企業を中心に活発に行われた。具体的には $\alpha,\gamma$ -ジケトカルボン酸構造を基に、 $\gamma$ 位にカルボニル基、 $\alpha$ 位に脱プロトン化し得るヒドロキシ基、および配位可能なルイス塩基性ヘテロ原子を有する阻害剤が数多く見出された (Figure 5)。<sup>15)</sup> この中で、raltegravirがfirst-in-classの抗HIV薬として2007年にFDAから承認された。<sup>16)</sup> しかしながら、承認薬に辿り着くまでにいくつもの化合物が毒性により開発の中止を余儀なくされている。

インテグラーゼが創薬標的として注目が高まる中、2002年に著者も医薬品としてのHIV-1インテグラーゼ阻害剤の創製を目的として創薬研究を開始した。

**Figure 5.** Structures of representative HIV-1 integrase inhibitors





# 本論

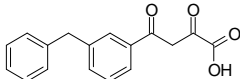
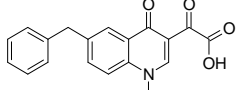
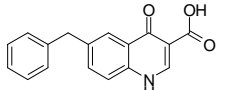
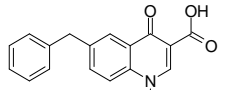
## 第一章 リード化合物の創出

### 第一節 4-キノロン-3-カルボン酸化合物の特徴

創薬研究は、まずリード化合物を見出すことから始まるが、リード化合物の良し悪しはその後の合成展開に大きく影響を及ぼすことから、何をリード化合物とするかは大変重要なポイントである。オリジナリティのある良質なリード化合物を創出するため、**1**、**2**を基に  $\alpha,\gamma$ -ジケトカルボン酸構造のバイオアイソスター<sup>17)</sup>として、4-キノロン-3-グリオキシル酸体 **8** ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ) をデザイン、合成したが、酵素阻害活性 ( $IC_{50}$ ) は認められなかった (Table 1)。この理由として、3位カルボニル基がエノール化できないためではないかと考察した。<sup>18)</sup>

しかしその一方で、**8**の類縁体として合成したモノケトカルボン酸構造を持つ4-キノロン-3-カルボン酸体 **9** ( $IC_{50} = 1.63 \mu M$ ) に酵素阻害活性が認められた。<sup>19)</sup> **9**は4位カルボニル基がケト-エノール互変異性を取り得るが、互変異性を取り得ない **10** ( $IC_{50} = 2.30 \mu M$ ) でもほぼ同等の酵素阻害活性が認められた。これらの結果より、4位はケト体として活性を発現しており、モノケトカルボン酸構造はジケトカルボン酸構造に代わる新たな scaffold に成り得ると考えられた。

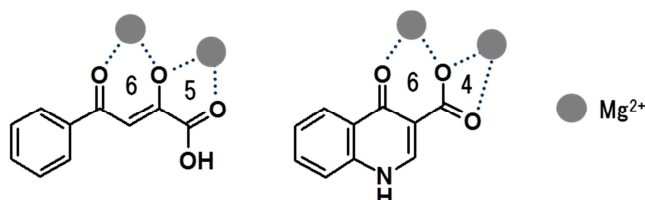
**Table 1.** Enzymatic inhibitory activity and antiviral activity of **2** and **8–10**

compound	Inhibition of Strand Transfer $IC_{50}$ ( $\mu M$ )	Antiviral Activity	Cytotoxicity
		$EC_{50}$ ( $\mu M$ )	$CC_{50}$ ( $\mu M$ )
<b>2</b> 	0.05	0.44	>30
<b>8</b> 	> 100	> 30	> 30
<b>9</b> 	1.63	> 30	> 30
<b>10</b> 	2.30	>30	>30

Data are given as the mean (n = 3)

ただし、**9**の阻害活性は**2** ( $IC_{50} = 0.05 \mu M$ )と比較して約1/30の強度であった。この活性の差は、化合物の配位力の差に起因しているのではないかと考察した。**2**の scaffold は、2つの  $Mg^{2+}$ イオンと5員環と6員環を形成して配位すると考えられていた。同様に考えると、**9**の scaffold は2つの  $Mg^{2+}$ イオンと4員環と6員環を形成して不利なジオメトリーで配位するため、その配位力は**2**と比較すると弱いであろうと推測した (Figure 6)。<sup>20)</sup>

**Figure 6.** Putative chelation geometries of diketo acid and monoketo acid scaffolds



配位力が弱いという特徴は、活性においては不利であるが、金属イオンへの非特異的な強い配位は毒性に繋がる懸念があることから、安全性においては有利ではないかと考えた。

また、**9**の scaffold は抗菌薬として承認されているキノロンカルボン酸骨格<sup>21)</sup>であることから、医薬品として好ましいプロファイルの scaffold であるとも考えた。

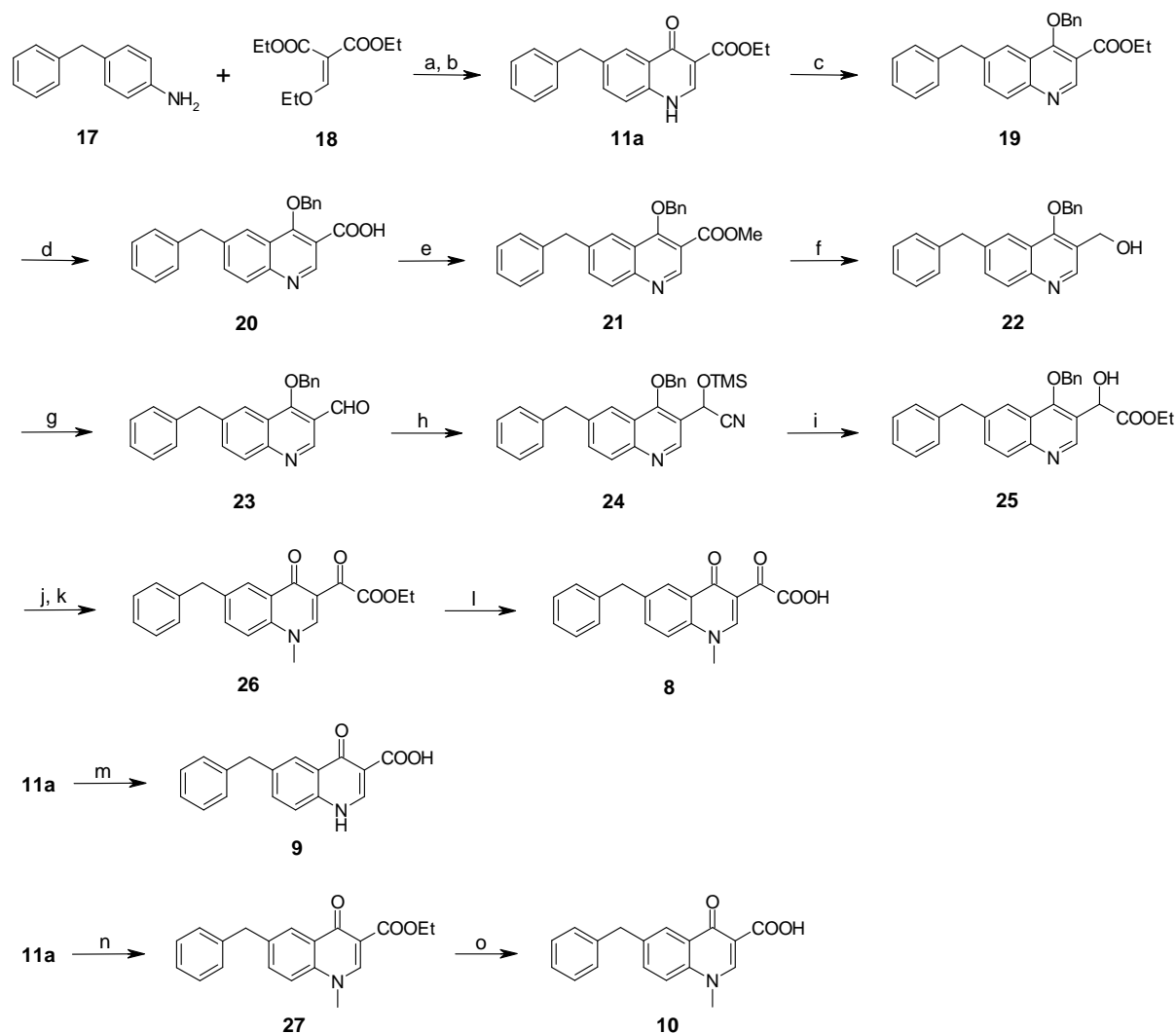
ジケトカルボン酸型化合物の多くが、安全性の問題で開発を中止していたことから、前例のないモノケトカルボン酸型化合物**9**をリード化合物として、以下の方針で構造活性相関研究を進め、目的とする阻害剤を創製することとした。

- 1) まず、酵素阻害活性を指標にインテグラーゼのポケットの大きさや性質（疎水性または極性）を推測しながら各部位の構造変換を行う。
- 2) その後、高活性を示した各部位の構造を組み合わせることで最適化を行う。

## 第二節 合成

Table 1 の化合物 **8–10** は、Scheme 1 の合成法に従い合成した。4-Benzylaniline (**17**) と 2-ethoxymethylene malonic acid diethyl ester (**18**) との求核置換反応後、高温条件下、環化反応を行い **11a** とし、<sup>22)</sup> ベンジル化、アルカリ加水分解を経て 3-キノリンカルボン酸体 (**20**) を得た。**20** のエステル化、エステルの還元、アルコールの酸化を行いアルデヒド体 (**23**) とし、**23** に TMSCN を反応させた後、<sup>23)</sup> エタノリシス、イミデートの加水分解、アルコールの酸化、さらに *N*-メチル化を経てジケトエステル体 (**26**) を得た。**26** のアルカリ加水分解を行うことで **8** に導いた。また、**11a** のアルカリ加水分解を行うことで **9** に、同じく **11a** の *N*-メチル化、さらにアルカリ加水分解を行うことで **10** にそれぞれ導いた。

Scheme 1. Syntheses of **8–10** and **11a**<sup>a</sup>



<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) toluene, reflux; (b) Ph<sub>2</sub>O, 250 °C; (c) BnOH, DIAD, Ph<sub>3</sub>P, THF; (d) LiOH, THF/H<sub>2</sub>O; (e) MeI, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 60 °C; (f) DIBAH/toluene, THF, -20 °C then r.t.; (g) MnO<sub>2</sub>, AcOEt; (h) TMSCN, NMO, CHCl<sub>3</sub>; (i) AcCl, EtOH/CHCl<sub>3</sub>, 0 °C then EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux; (j) MnO<sub>2</sub>, THF; (k) MeI, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF; (l) NaOH, EtOH/THF/H<sub>2</sub>O, 0 °C; (m) NaOH, EtOH/THF/H<sub>2</sub>O, reflux; (n) MeI, NaH, DMF, 0 °C then r.t.; (o) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux.

## 第二章 リード化合物から JTK-303 (elvitegravir) の創製

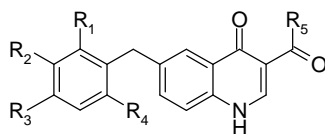
### 第一節 3位および6位の構造活性相関ならびに合成

まず、リード化合物 **9** について3位カルボキシ基の構造変換を実施したところ、エチルエステル体 **11a** ( $IC_{50} > 100 \mu M$ )、カルボキサミド体 **11b** ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ) では、いずれも酵素阻害活性が消失した (Table 2)。この結果は、 $Mg^{2+}$ イオンとの配位におけるヒドロキシ基の重要性を示すものであり、カルボキシ基は活性の発現に必須であると考えられた。

次に、6位ベンジル基についてベンゼン環上の置換基の効果を検討した。パラ位にクロロ基を導入した **12a** ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ) では、酵素阻害活性が消失したことから、パラ位方向には空間がほとんどないと考えられた。一方、メタ位またはオルト位にクロロ基を導入した **12b** ( $IC_{50} = 0.80 \mu M$ )、**12c** ( $IC_{50} = 0.41 \mu M$ ) では、酵素阻害活性の向上が認められた。

さらに、オルト位の置換基を種々検討したところ (**12d-g**)、フルオロ基を導入した **12d** ( $IC_{50} = 0.50 \mu M$ ) が、**12c** とほぼ同等の酵素阻害活性を示した。オルト位またはメタ位へのクロロ基の導入により酵素阻害活性が向上したことから、クロロ基の二置換体の検討を実施した (**12h-j**)。その結果、**12j** ( $IC_{50} = 0.07 \mu M$ ,  $EC_{50} = 3.4 \mu M$ ) で大幅に酵素阻害活性が向上するとともに、抗 HIV 活性 ( $EC_{50}$ ) が認められた。

**Table 2.** Enzymatic inhibitory activity and antiviral activity of **11a, b** and **12a-j**



compound	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Inhibition of	Antiviral	Cytotoxicity
						Strand Transfer	Activity	
						IC <sub>50</sub> (μM)	EC <sub>50</sub> (μM)	CC <sub>50</sub> (μM)
<b>11a</b>	H	H	H	H	OEt	> 100	> 30	> 30
<b>11b</b>	H	H	H	H	NH <sub>2</sub>	> 100	> 30	> 30
<b>12a</b>	H	H	Cl	H	OH	> 100	> 6	> 6
<b>12b</b>	H	Cl	H	H	OH	0.80	> 6	> 6
<b>12c</b>	Cl	H	H	H	OH	0.41	> 6	> 6
<b>12d</b>	F	H	H	H	OH	0.50	15.9	> 30
<b>12e</b>	Me	H	H	H	OH	1.08	> 6	18.5
<b>12f</b>	OMe	H	H	H	OH	1.17	> 6	16.6
<b>12g</b>	CF <sub>3</sub>	H	H	H	OH	0.72	> 6	14.8
<b>12h</b>	Cl	H	H	Cl	OH	0.37	> 6	14.9
<b>12i</b>	H	Cl	H	Cl	OH	0.25	> 6	13.2
<b>12j</b>	Cl	Cl	H	H	OH	0.07	3.4	12.6

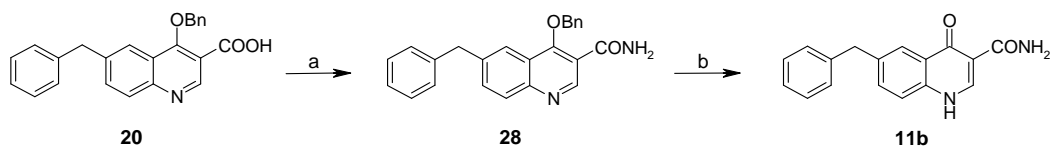
Data are given as the mean (n = 3)

Table 2 の **11a** は、Scheme 1 の合成法に従い合成した。

また **11b** は、Scheme 2 の合成法に従い **20** のアミド化、ベンジル基の脱保護により合成した。

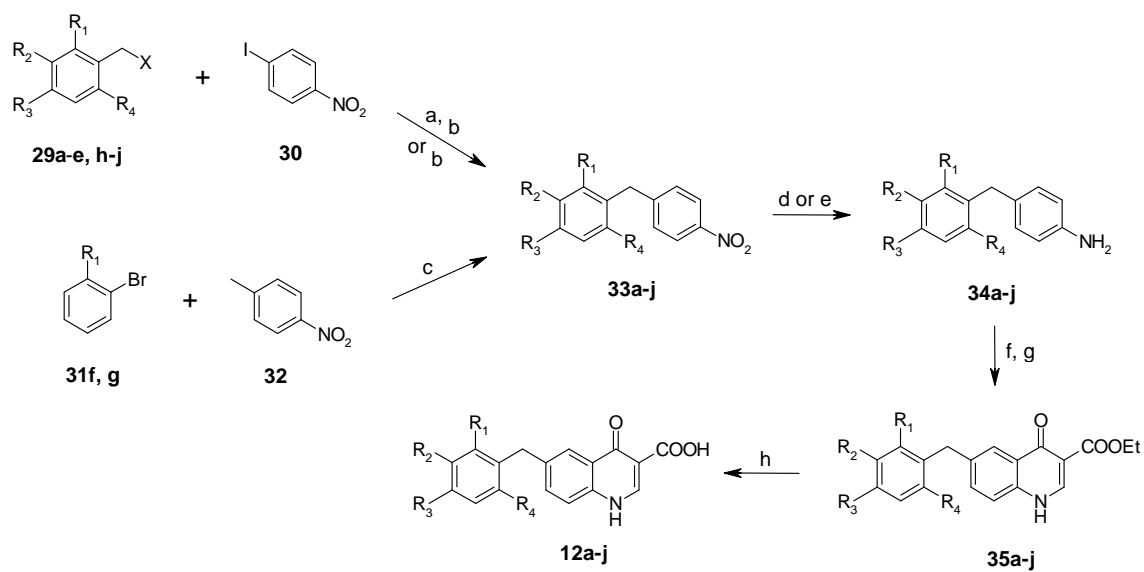
**12a-j** は、Scheme 3 の合成法に従い合成した。ベンジル亜鉛ハライド体 (**29a-d**)、またはベンジルハライド体 (**29e, h-j**) から調製したベンジル亜鉛ハライド体と 4-iodonitrobenzene (**30**) を根岸カップリング反応に付し、ニトロベンゼン体 (**33a-e, h-j**) を得た。また、ブロモベンゼン体 (**31f, g**) と 4-methylnitrobenzene (**32**) をカップリング反応に付し、ニトロベンゼン体 (**33f, g**) を得た。<sup>24)</sup> **33a-j** のニトロ基を還元してアニリン体 (**34a-j**) とし、**34a-j** と **18** との求核置換反応後、高温条件下、環化反応を行い、さらにアルカリ加水分解を行うことで **12a-j** に導いた。

### Scheme 2. Synthesis of **11b**<sup>a</sup>



<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a)  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{DMF}$ ; (b)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd-C}$ ,  $\text{MeOH/THF}$ .

### Scheme 3. Syntheses of **12a-j**<sup>a</sup>



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	X		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	X
<b>a</b>	H	H	Cl	H	ZnCl	<b>f</b>	OMe	H	H	H	—
<b>b</b>	H	Cl	H	H	ZnCl	<b>g</b>	CF <sub>3</sub>	H	H	H	—
<b>c</b>	Cl	H	H	H	ZnCl	<b>h</b>	Cl	H	H	Cl	Br
<b>d</b>	F	H	H	H	ZnCl	<b>i</b>	H	Cl	H	Cl	Br
<b>e</b>	Me	H	H	H	Br	<b>j</b>	Cl	Cl	H	H	Cl

<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) Zn, 1,2-dibromoethane, TMSCl, THF; (b) Pd(dba)<sub>2</sub>, tri-2-furylphosphine, THF; (c) Pd(OAc)<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 140 °C; (d) Zn, AcOH; (e) H<sub>2</sub>, Pd-C, EtOH; (f) **18**, toluene, reflux; (g) Ph<sub>2</sub>O, 250 °C; (h) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux.

## 第二節 1位の構造活性相関ならびに合成

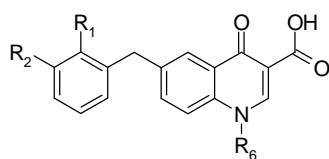
前節で見出された **12j** を基に、キノロン環 1 位における置換基の効果を検討した。まずアルキル基を導入し、この部位の空間の大きさを確認した。メチル体 **13a** ( $IC_{50} = 0.083 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.45 \mu M$ ) は、**12j** と比較して酵素阻害活性は同等であったものの、抗 HIV 活性が大幅に向上した (Table 3)。抗 HIV 活性は細胞を使用して評価しているため、**13a** で認められた抗 HIV 活性の向上は、化合物の物理化学的性質の改善に因るところもあると考えられた。またエチル体 **13b** ( $IC_{50} = 0.031 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.29 \mu M$ )、プロピル体 **13c** ( $IC_{50} = 0.055 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.64 \mu M$ )、イソプロピル体 **13d** ( $IC_{50} = 0.026 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.33 \mu M$ ) およびブチル体 **13e** ( $IC_{50} = 0.065 \mu M$ ,  $EC_{50} = 2.34 \mu M$ ) に **12j** と同等以上の酵素阻害活性が認められ、抗 HIV 活性は **13e** を除き、大幅に向上した。

以上の結果から、この部位には、ある程度の大きさの疎水性基を許容する空間が存在すると考えられた。

次に、極性基の導入を実施した。カルボン酸体 **13f** ( $IC_{50} = 0.032 \mu M$ ,  $EC_{50} = 13.59 \mu M$ )、**13g** ( $IC_{50} = 0.038 \mu M$ ,  $EC_{50} > 30 \mu M$ ) に強い酵素阻害活性が認められたものの、抗 HIV 活性が大幅に低下した。これらの化合物はジカルボン酸化合物であるため、細胞膜の透過性が低くなり、その結果、抗 HIV 活性が大幅に低下したものと考えられた。

カルバモイルメチル体 **13h** ( $IC_{50} = 0.035 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.54 \mu M$ ) は、**13a** と比較して酵素阻害活性は約 2 倍向上し、抗 HIV 活性は同等であった。また、カルバモイルエチル体 **13i** ( $IC_{50} = 0.116 \mu M$ ,  $EC_{50} = 2.04 \mu M$ )、アミノエチル体 **13j** ( $IC_{50} = 0.215 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.57 \mu M$ ) では活性の向上は認められなかった。

検討した極性基の中では、ヒドロキシエチル基が活性の向上に大きく寄与することがわかり、**13k** ( $IC_{50} = 0.021 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.10 \mu M$ )、**13n** ( $IC_{50} = 0.024 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.08 \mu M$ ) に強力な活性が認められた。一方、ヒドロキシプロピル体 **13l** ( $IC_{50} = 0.077 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.47 \mu M$ ) では活性が低下したことから、高活性を示すためにはヒドロキシ基が適切な位置に存在することが重要であると考えられた。

**Table 3.** Enzymatic inhibitory activity and antiviral activity of **13a–n**

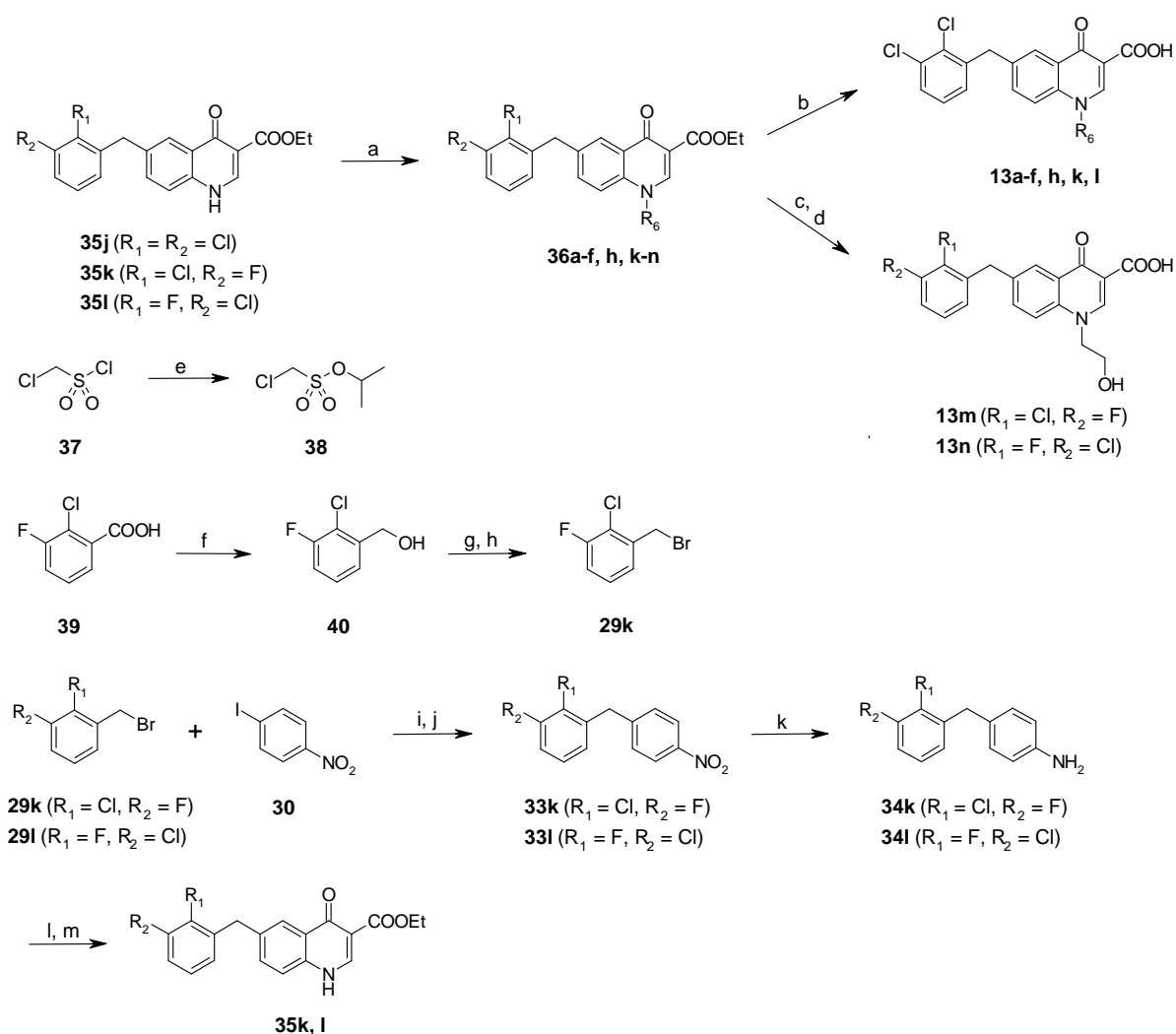
compound	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>6</sub>	Inhibition of	Antiviral	Cytotoxicity
				Strand Transfer	Activity	
				IC <sub>50</sub> (μM)	EC <sub>50</sub> (μM)	CC <sub>50</sub> (μM)
<b>13a</b>	Cl	Cl	Me	0.083	0.45	14.4
<b>13b</b>	Cl	Cl	Et	0.031	0.29	16.2
<b>13c</b>	Cl	Cl	Pr	0.055	0.64	15.6
<b>13d</b>	Cl	Cl	<i>i</i> -Pr	0.026	0.33	> 6
<b>13e</b>	Cl	Cl	Bu	0.065	2.34	15.0
<b>13f</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	0.032	13.59	> 30
<b>13g</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	0.038	> 30	> 30
<b>13h</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	0.035	0.54	22.6
<b>13i</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	0.116	2.04	15.1
<b>13j</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	0.215	0.57	5.3
<b>13k</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	0.021	0.10	> 6
<b>13l</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	0.077	0.47	15.1
<b>13m</b>	Cl	F	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	0.044	0.34	> 6
<b>13n</b>	F	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	0.024	0.08	> 6

Data are given as the mean (n = 3)

Table 3 の化合物のうち **13a–f**、**h** および **13k–n** は、Scheme 4 の合成法に従い合成した。**35j** の *N*-アルキル化、さらにアルカリ加水分解を行うことで **13a–f**、**h**、**k** および **13l** に導いた。また、安息香酸体 (**39**) の還元、アルコールのメシル化、さらにブロモ化を行い、**29k** を得た。**29k**、**1** から調製したベンジル亜鉛ハライド体と **30** を根岸カップリング反応に付し、ニトロベンゼン体 (**33k**, **1**) を得た後、ニトロ基を還元してアニリン体 (**34k**, **1**) とし、**34k**, **1** と **18** との求核置換反応後、高温条件下、環化反応を行い、**35k**, **1** を得た。**35k**、**1** の *N*-アルキル化、ヒドロキシ基の脱保護、さらにアルカリ加水分解を行うことで **13m**、**n** に導いた。なおアルキル化試薬 (**38**) は、スルホニルクロリド体 (**37**) と 2-propanol とを反応させることにより合成した。



**Scheme 4.** Syntheses of **13a–f, h** and **13k–n**<sup>a</sup>



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>6</sub>
<b>36a</b>	Cl	Cl	Me
<b>36b</b>	Cl	Cl	Et
<b>36c</b>	Cl	Cl	Pr
<b>36d</b>	Cl	Cl	<i>i</i> -Pr
<b>36e</b>	Cl	Cl	Bu

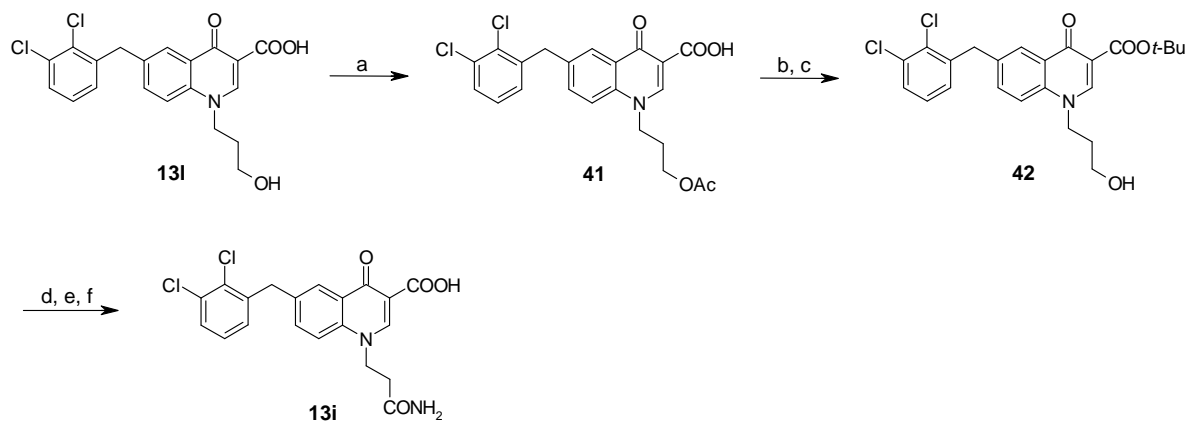
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>6</sub>
<b>36f</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Et
<b>36h</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
<b>36k</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OAc
<b>36l</b>	Cl	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OAc
<b>36m</b>	Cl	F	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OTBS
<b>36n</b>	F	Cl	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OTBS

	R <sub>6</sub>
<b>13a</b>	Me
<b>13b</b>	Et
<b>13c</b>	Pr
<b>13d</b>	<i>i</i> -Pr
<b>13e</b>	Bu
<b>13f</b>	CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H
<b>13h</b>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
<b>13k</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
<b>13l</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH

<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) alkyl halides, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 80 °C; (b) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux or NaOH, EtOH/THF/H<sub>2</sub>O, reflux or LiOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux; (c) TBAF, THF, 0 °C; (d) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux; (e) IPA, NMM, Et<sub>2</sub>O, 0 °C; (f) BH<sub>3</sub>·THF, THF, r.t. then 50 °C; (g) MsCl, Et<sub>3</sub>N, THF, 0 °C then 50 °C; (h) LiBr, THF, 0 °C; (i) Zn, 1,2-dibromoethane, TMSCl, THF; (j) PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, THF, r.t. then reflux; (k) Zn, AcOH; (l) **18**, toluene, reflux; (m) Ph<sub>2</sub>O, 250 °C.

また Table 3 の化合物のうち **13i** は、Scheme 5 の合成法に従い合成した。**13i** のヒドロキシ基のアセチル化、カルボキシ基のエステル化、さらにヒドロキシ基の脱保護を行い、**42** を得た。**42** のヒドロキシ基のカルボキシ基への酸化、アミド化、さらにカルボキシ基の脱保護を行うことで **13i** に導いた。

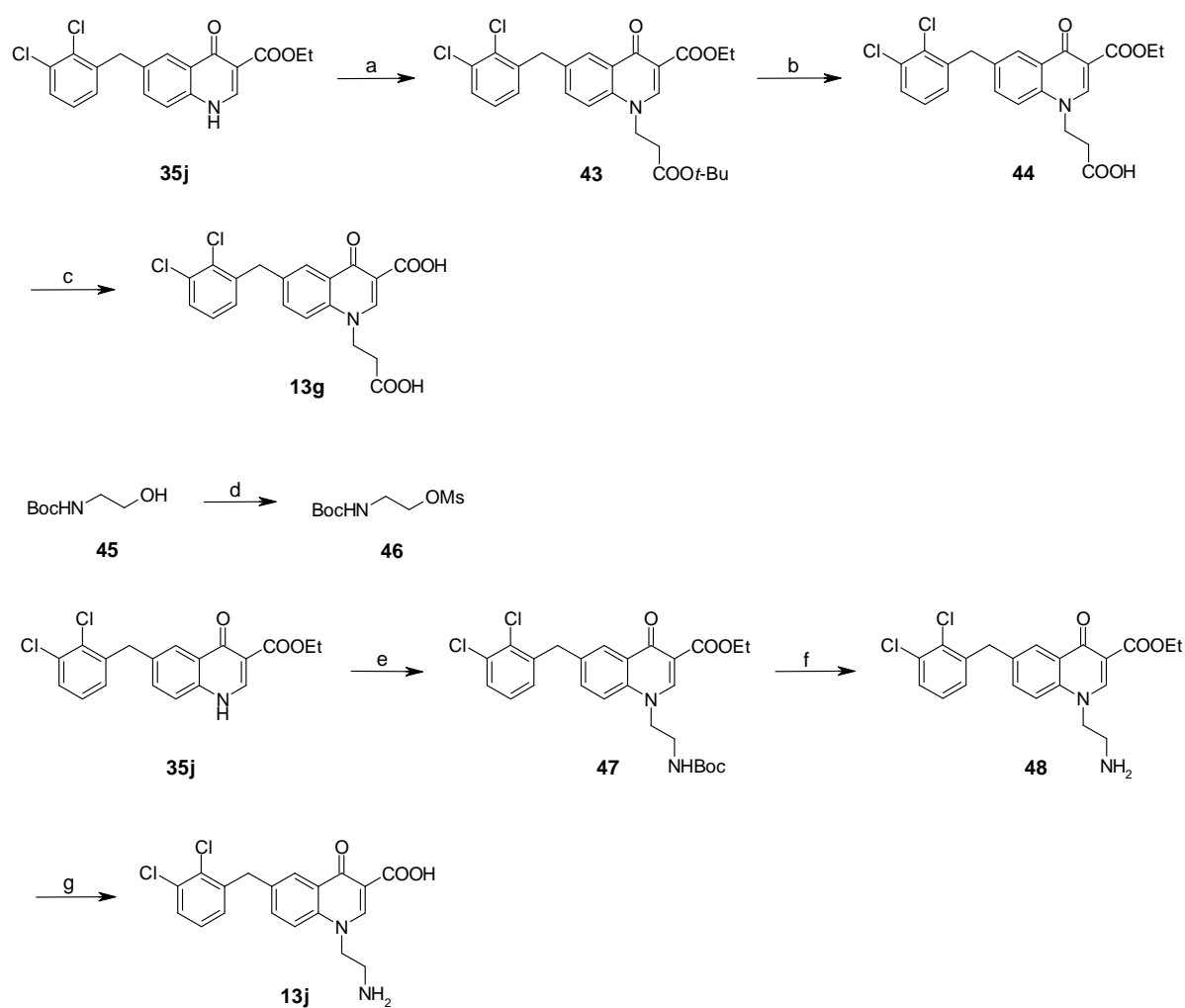
### Scheme 5. Synthesis of **13i**<sup>a</sup>



<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) Ac<sub>2</sub>O, NaOAc, AcOH, reflux; (b) *N,N*-dimethylformamide di-*tert*-butyl acetal, toluene, reflux; (c) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH/THF; (d) Jones' reagent, acetone/1,4-dioxane, 0 °C; (e) NH<sub>4</sub>Cl, Et<sub>3</sub>N, DMAP, EDC·HCl, DMF; (f) HCO<sub>2</sub>H, 70 °C.

Table 3 の化合物のうち **13g**、**j** は、Scheme 6 の合成法に従い合成した。**35j** の *N*-アルキル化、カルボキシ基の脱保護、さらにアルカリ加水分解を行うことで **13g** に導いた。また **45** から調製した **46** を用いて **35j** の *N*-アルキル化、アミノ基の脱保護、さらにアルカリ加水分解を行うことで **13j** に導いた。

### Scheme 6. Syntheses of **13g** and **13j**<sup>a</sup>



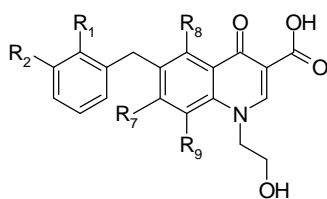
<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) acrylic acid *tert*-butyl ester, Triton B/MeOH, DMF, 90 °C; (b) TFA, CHCl<sub>3</sub>; (c) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, 60 °C; (d) MsCl, Et<sub>3</sub>N, Et<sub>2</sub>O, 0 °C; (e) **46**, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 80 °C; (f) TFA, CHCl<sub>3</sub>; (g) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux.

### 第三節 中央ベンゼン環の構造活性相関ならびに合成

前節で見出された **13k** を基に、中央ベンゼン環における置換基の効果を検討した。まず 5、7 または 8 位にそれぞれフルオロ基を導入したところ、5-フルオロ体 **14a** ( $IC_{50} = 0.084 \mu M$ ,  $EC_{50} = 1.68 \mu M$ )、8-フルオロ体 **14c** ( $IC_{50} = 0.034 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.53 \mu M$ ) では、酵素阻害活性、抗 HIV 活性がいずれも低下した (Table 4)。一方、7-フルオロ体 **14b** ( $IC_{50} = 0.025 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.13 \mu M$ ) では活性が維持された。そこで 7 位の置換基をさらに検討した結果、電子求引基を有するクロロ体 **14e** ( $IC_{50} = 0.043 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.51 \mu M$ )、トリフルオロメチル体 **14g** ( $IC_{50} = 0.674 \mu M$ ,  $EC_{50} > 6 \mu M$ ) およびシアノ体 **14h** ( $IC_{50} = 0.050 \mu M$ ,  $EC_{50} = 2.00 \mu M$ ) では活性が低下し、特に抗 HIV 活性は大幅に低下した。

一方、電子供与基については、メチル体 **14f** ( $IC_{50} = 0.041 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.18 \mu M$ ) では活性の向上は認められなかったものの、メトキシ体 **14d** ( $IC_{50} = 0.012 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.06 \mu M$ ) において約 2 倍の向上が認められた。また、**14d** の  $R_1$  をフルオロ基に置換した **14i** ( $IC_{50} = 0.009 \mu M$ ,  $EC_{50} = 0.02 \mu M$ ) でも強力な活性が認められた。

**Table 4.** Enzymatic inhibitory activity and antiviral activity of **14a-i**

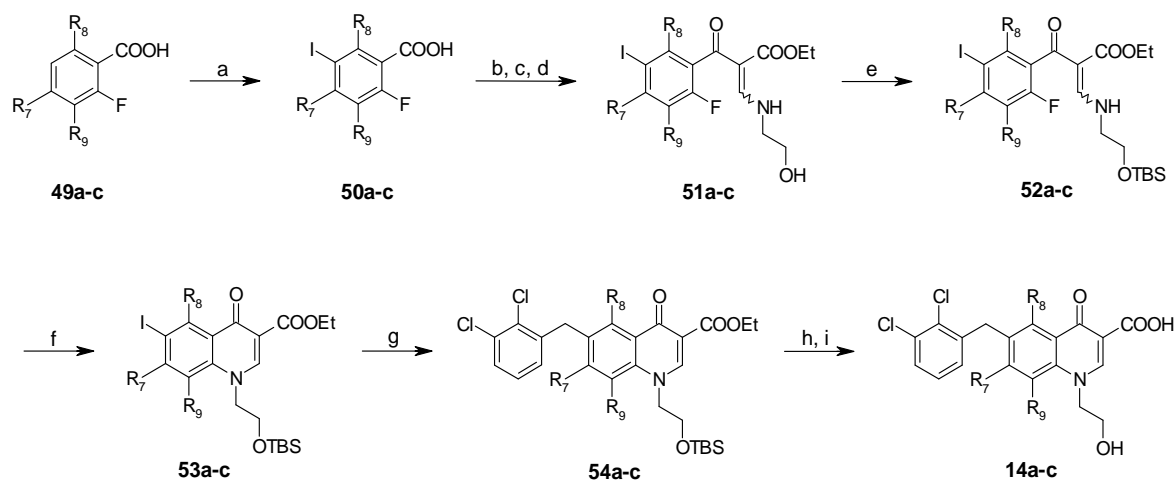


compound	$R_1$	$R_2$	$R_7$	$R_8$	$R_9$	Inhibition of	Antiviral	Cytotoxicity
						Strand Transfer	Activity	
						$IC_{50}$ ( $\mu M$ )	$EC_{50}$ ( $\mu M$ )	$CC_{50}$ ( $\mu M$ )
<b>14a</b>	Cl	Cl	H	F	H	0.084	1.68	14.3
<b>14b</b>	Cl	Cl	F	H	H	0.025	0.13	9.8
<b>14c</b>	Cl	Cl	H	H	F	0.034	0.53	> 30
<b>14d</b>	Cl	Cl	OMe	H	H	0.012	0.06	4.2
<b>14e</b>	Cl	Cl	Cl	H	H	0.043	0.51	> 6
<b>14f</b>	Cl	Cl	Me	H	H	0.041	0.18	> 30
<b>14g</b>	Cl	Cl	CF <sub>3</sub>	H	H	0.674	> 6	10.0
<b>14h</b>	Cl	Cl	CN	H	H	0.050	2.00	13.9
<b>14i</b>	F	Cl	OMe	H	H	0.009	0.02	5.3

Data are given as the mean (n = 3)

Table 4 の化合物 **14a-c** は、Scheme 7 の合成法に従い合成した。安息香酸体 (**49a-c**) をヨウ素化し、酸クロリドとした後、ethyl 3-(dimethylamino)acrylate と縮合し、2-aminoethanol との求核置換反応後、ヒドロキシ基の保護、環化反応を行い、オキソキノリンカルボン酸エステル体 (**53a-c**) を得た。<sup>25)</sup> **53a-c** と **29j** から調製した 2,3-dichlorobenzylzinc chloride とを根岸カップリング反応に付し、**54a-c** を得た後、ヒドロキシ基の脱保護、さらにアルカリ加水分解を行うことで **14a-c** に導いた。

### Scheme 7. Syntheses of **14a-c**<sup>a</sup>

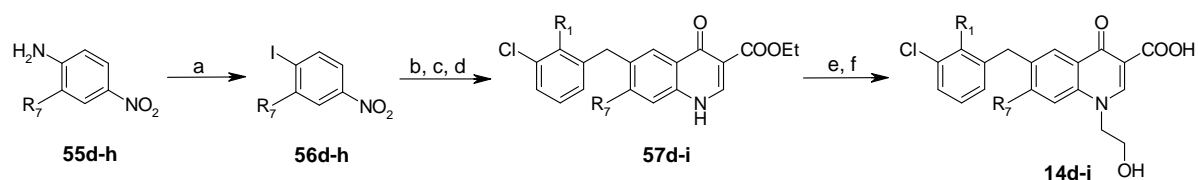


	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>9</sub>
<b>a</b>	H	F	H
<b>b</b>	F	H	H
<b>c</b>	H	H	F

<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) NIS, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H or conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0 °C; (b) (COCl)<sub>2</sub>, DMF (cat.), toluene or SOCl<sub>2</sub>, DMF (cat.), toluene, reflux; (c) ethyl 3-(dimethylamino)acrylate, Et<sub>3</sub>N, THF, 50 °C; (d) 2-aminoethanol, THF, 50 °C; (e) TBSCl, imidazole, DMF; (f) NaH, THF, 0 °C; (g) 2,3-dichlorobenzylzinc chloride, Pd(dba)<sub>2</sub>, tri-2-furylphosphine, THF, reflux; (h) TBAF, THF; (i) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux.

また Table 4 の化合物 **14d-i** は、Scheme 8 の合成法に従い合成した。アニリン体 (**55d-h**) を Sandmeyer 反応に付し、ヨウ素体 (**56d-h**) とした。**56d-h** とベンジル亜鉛ハライドとの根岸カップリング反応、ニトロ基の還元、さらに高温条件下、**18** と反応させることにより、**57d-i** を得た。**57d-i** の *N*-アルキル化、さらにヒドロキシ基の脱保護とアルカリ加水分解を同時に行うことで **14d-i** に導いた。

### Scheme 8. Syntheses of **14d-i**<sup>a</sup>



	R <sub>1</sub>	R <sub>7</sub>		R <sub>1</sub>	R <sub>7</sub>
<b>d</b>	Cl	OMe	<b>g</b>	Cl	CF <sub>3</sub>
<b>e</b>	Cl	Cl	<b>h</b>	Cl	CN
<b>f</b>	Cl	Me	<b>i</b>	F	OMe

<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) NaNO<sub>2</sub>, 6 M HCl, H<sub>2</sub>O, 0 °C then NaI, H<sub>2</sub>O; (b) 2,3-dichlorobenzylzinc chloride or 3-chloro-2-fluorobenzylzinc bromide, Pd(dba)<sub>2</sub>, tri-2-furylphosphine, THF; (c) Zn, AcOH; (d) **18**, Ph<sub>2</sub>O, 250 °C; (e) 2-bromoethyl acetate, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 80 °C; (f) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux.

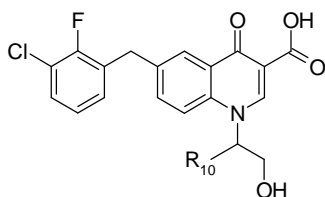
#### 第四節 1位の組み合わせ効果の検討ならびに合成

第二章の第二節で述べた通り、1位にアルキル基を導入することにより抗 HIV 活性が向上したことから、ヒドロキシエチル基との相加効果を確認するため組み合わせを実施した。

具体的には **13n** を基に、窒素原子の  $\alpha$  位にアルキル基を導入したところ、(*S*)-メチル体 **15a** ( $IC_{50} = 14.8$  nM,  $EC_{50} = 27.7$  nM) で活性が向上した (Table 5)。一方、**15a** の光学異性体である (*R*)-メチル体 **15b** ( $IC_{50} = 38.3$  nM,  $EC_{50} = 115.5$  nM) では活性が低下した。そこで (*S*)-体でさらに検討を行ったところ、(*S*)-エチル体 **15c** ( $IC_{50} = 9.0$  nM,  $EC_{50} = 17.1$  nM)、(*S*)-プロピル体 **15d** ( $IC_{50} = 8.2$  nM,  $EC_{50} = 9.8$  nM)、(*S*)-イソプロピル体 **15e** ( $IC_{50} = 8.2$  nM,  $EC_{50} = 7.5$  nM)、(*S*)-*tert*-ブチル体 **15f** ( $IC_{50} = 6.0$  nM,  $EC_{50} = 1.3$  nM) とアルキル基が嵩高くなるに従い、抗 HIV 活性の向上が認められた。また、より嵩高い疎水性基を導入した (*S*)-シクロヘキシル体 **15g** ( $IC_{50} = 5.6$  nM,  $EC_{50} = 7.3$  nM) でも、強力な抗 HIV 活性が認められた。

一方、平面性が高い疎水性基を導入した (*S*)-フェニル体 **15h** ( $IC_{50} = 9.8$  nM,  $EC_{50} = 51.6$  nM) では、活性は若干向上するにとどまった。以上の結果から、窒素原子の  $\alpha$  位については、(*S*)-体の嵩高い疎水性基を許容する空間が存在すると考えられた。

**Table 5.** Enzymatic inhibitory activity and antiviral activity of **15a–h**

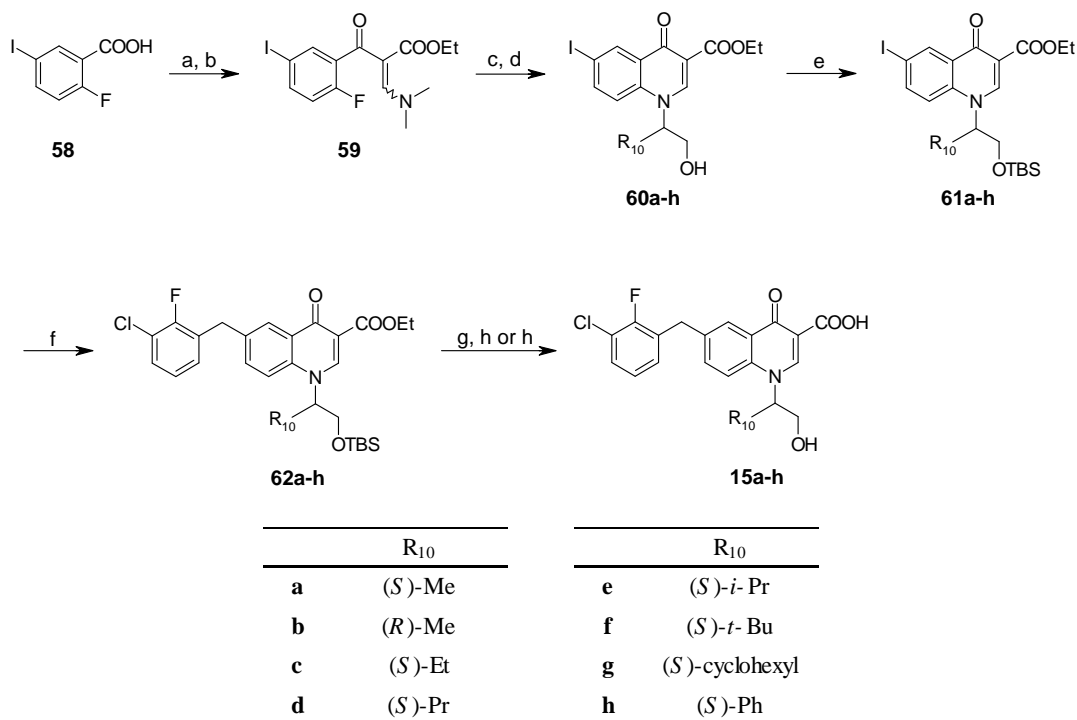


compound	$R_{10}$	Inhibition of	Antiviral	Cytotoxicity
		Strand Transfer	Activity	
		$IC_{50}$ (nM)	$EC_{50}$ (nM)	$CC_{50}$ ( $\mu$ M)
<b>15a</b>	( <i>S</i> )-Me	14.8	27.7	13.7
<b>15b</b>	( <i>R</i> )-Me	38.3	115.5	14.4
<b>15c</b>	( <i>S</i> )-Et	9.0	17.1	13.0
<b>15d</b>	( <i>S</i> )-Pr	8.2	9.8	12.5
<b>15e</b>	( <i>S</i> )- <i>i</i> -Pr	8.2	7.5	14.0
<b>15f</b>	( <i>S</i> )- <i>t</i> -Bu	6.0	1.3	14.4
<b>15g</b>	( <i>S</i> )-cyclohexyl	5.6	7.3	7.7
<b>15h</b>	( <i>S</i> )-Ph	9.8	51.6	8.7

Data are given as the mean ( $n = 3$ )

Table 5 の化合物は、Scheme 9 の合成法に従い合成した。安息香酸体 (58) を酸クロリドとした後、ethyl 3-(dimethylamino)acrylate と縮合し、アクリル酸エステル体 (59) を得た。59 と各種アミノアルコールとの求核置換反応、環化反応、さらにヒドロキシ基の保護を行い、オキソキノリンカルボン酸エステル体 (61a-h) を得た。61a-h と 291 から調製した 3-chloro-2-fluorobenzylzinc bromide とを根岸カップリング反応に付し、62a-c を得た後、ヒドロキシ基の脱保護、さらにアルカリ加水分解を行うことで 15a-h に導いた。

### Scheme 9. Syntheses of 15a-h<sup>a</sup>



<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) SOCl<sub>2</sub>, DMF (cat.), toluene, reflux; (b) ethyl 3-(dimethylamino)acrylate, Et<sub>3</sub>N, THF, 50 °C; (c) aminoalcohols, THF, 60 °C; (d) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 70 °C; (e) TBSCl, imidazole, DMF; (f) 3-chloro-2-fluorobenzylzinc bromide, Pd(dba)<sub>2</sub>, tri-2-furylphosphine, THF, reflux; (g) TBAF, THF; (h) NaOH, EtOH/H<sub>2</sub>O, reflux.

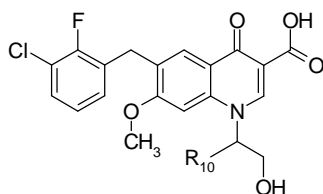


## 第五節 最適化検討ならびに合成

最後に、高活性を示した各部位の構造を組み合わせて最適化を実施した。具体的には、第三節で見出された **14i** を基に、第四節で得られた知見を適用し、 $R_{10}$  に (*S*)-アルキル基を導入した。その結果、抗 HIV 活性が 1 nM 以下を示す **16b** ( $IC_{50} = 7.2$  nM,  $EC_{50} = 0.9$  nM)、**16d** ( $IC_{50} = 5.8$  nM,  $EC_{50} = 0.6$  nM) を見出すに至った (Table 6)。また、これらの化合物の抗 HIV 活性は、細胞毒性 ( $CC_{50}$ ) と 4000 倍以上乖離していた。ここでも (*S*)-体と (*R*)-体では活性差が認められ、**16b** の光学異性体 **16c** ( $IC_{50} = 14.4$  nM,  $EC_{50} = 108.8$  nM) では、抗 HIV 活性が約 120 倍低下した。

なお、抗 HIV 活性が約 1 nM を示すにもかかわらず、酵素阻害活性が約 6 nM で頭打ちとなっている化合物が Table 5、6 に存在するが、これは酵素阻害活性の評価系にターゲット DNA が 5 nM 添加されていることに起因するのではないかと考えられた。

**Table 6.** Enzymatic inhibitory activity and antiviral activity of **16a–e**

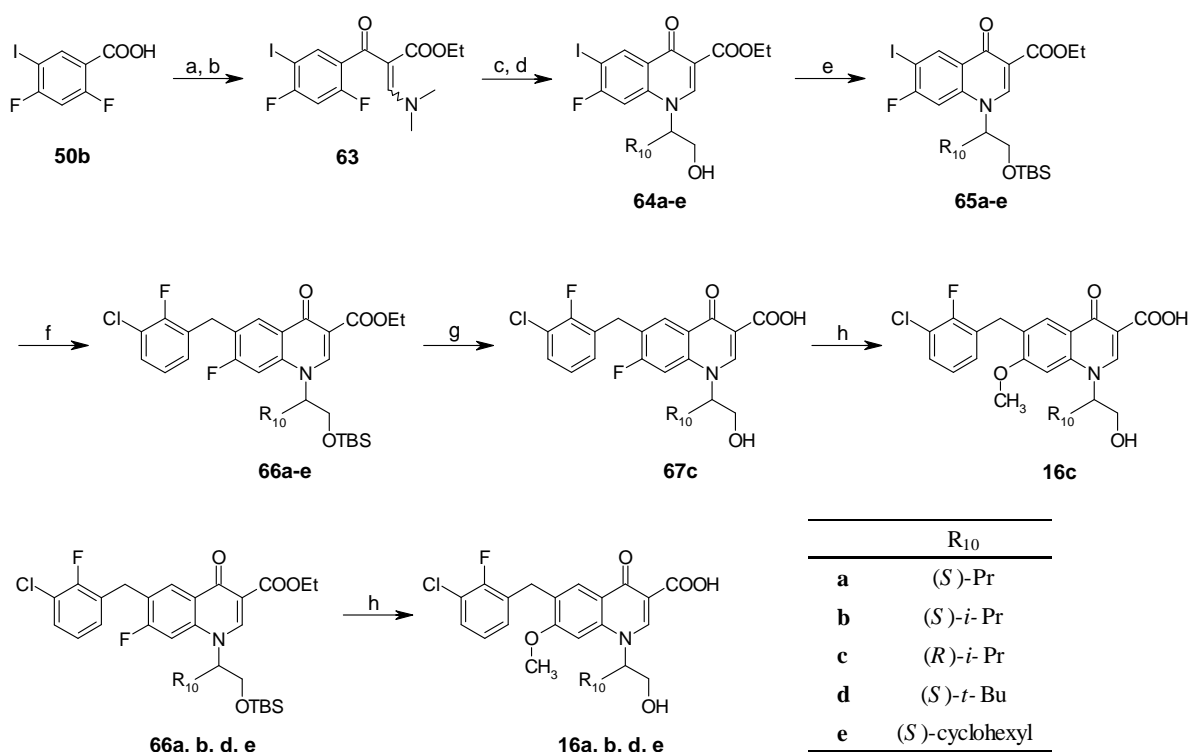


compound	$R_{10}$	Inhibition of	Antiviral	Cytotoxicity
		Strand Transfer	Activity	
		$IC_{50}$ (nM)	$EC_{50}$ (nM)	$CC_{50}$ ( $\mu$ M)
<b>16a</b>	( <i>S</i> )-Pr	5.8	1.3	3.1
<b>16b (JTK-303)</b>	( <i>S</i> )- <i>i</i> -Pr	7.2	0.9	4.0
<b>16c</b>	( <i>R</i> )- <i>i</i> -Pr	14.4	108.8	4.2
<b>16d</b>	( <i>S</i> )- <i>t</i> -Bu	5.8	0.6	3.4
<b>16e</b>	( <i>S</i> )-cyclohexyl	6.7	2.8	3.0

Data are given as the mean ( $n = 3$ )

Table 6 の化合物は、Scheme 10 の合成法に従い合成した。安息香酸体 (**50b**) を酸クロリドとした後、ethyl 3-(dimethylamino)acrylate と縮合し、アクリル酸エステル体 (**63**) を得た。**63** と各種アミノアルコールとの求核置換反応、環化反応、さらにヒドロキシ基の保護を行い、オキソキノリンカルボン酸エステル体 (**65a-e**) を得た。**65a-e** と **291** から調製した 3-chloro-2-fluorobenzylzinc bromide とを根岸カップリング反応に付し、**66a-e** を得た後、ヒドロキシ基の脱保護、アルカリ加水分解、さらにフルオロ基をメトキシ基へと変換することで **16a-e** に導いた。

### Scheme 10. Syntheses of **16a-e**<sup>a</sup>



<sup>a</sup>Reagents and conditions: (a) (COCl)<sub>2</sub>, DMF (cat.), toluene or SOCl<sub>2</sub>, DMF (cat.), toluene, reflux; (b) ethyl 3-(dimethylamino)acrylate, Et<sub>3</sub>N, THF, 50 °C; (c) aminoalcohols, THF; (d) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 80 °C; (e) TBSCl, imidazole, DMF; (f) 3-chloro-2-fluorobenzylzinc bromide, Pd(dba)<sub>2</sub>, tri-2-furylphosphine, THF, reflux; (g) NaOH, IPA/H<sub>2</sub>O, reflux; (h) NaOMe, MeOH, reflux.

ラットにおける 2 週間毒性試験をはじめ各種試験の結果を考慮した上で、最終的に **16b** を開発化合物 JTK-303 (後に一般名 elvitegravir と命名) として選択し、<sup>26)</sup> 詳細な薬理、薬物動態および毒性試験が行われた。

## 第六節 HIV-1 インテグラーゼコアドメイン、JTK-303 (elvitegravir) およびウイルス DNA 三者複合体のホモロジーモデル

Prototype foamy virus (PFV) インテグラーゼの複合体 X 線構造情報<sup>27)</sup> を基にした HIV-1 インテグラーゼのホモロジーモデル<sup>28)</sup> を参考にして、HIV-1 インテグラーゼ、JTK-303 およびウイルス DNA の三者複合体モデルを作成し、JTK-303 が阻害活性を発現する理由について考察した (Figure 7)。

本モデルからは、4 位カルボニル基と 3 位カルボキシ基は 2 つの  $Mg^{2+}$  イオンと配位していることが、またキノロン環はウイルス DNA の 3'-末端のアデニン塩基とスタッキングしていることが考えられた。

1 位(S)-イソプロピル基は、インテグラーゼの疎水性領域に位置しており、疎水性相互作用をしていることが考えられた。一方、ヒドロキシ基はインテグラーゼの溶媒露出領域に位置しており、直接的な相互作用は示唆されなかった。

7 位メトキシ基についても、インテグラーゼとの直接的な相互作用は示唆されなかった。

6 位ベンジル基は、ベンゼン環がウイルス DNA の 3'-末端側から 2 残基目のシトシン塩基とスタッキングしていることが考えられた。また、ベンゼン環上の 2 つのハロゲン原子は、インテグラーゼの疎水性領域に位置しており、疎水性相互作用をしていることが考えられ、さらに電子求引効果により、シトシン塩基とのスタッキングを強めている可能性も考えられた。

**Figure 7.** 非公開

### 第三章 JTK-303 (elvitegravir) の薬理、薬物動態および毒性 プロファイル

#### 第一節 薬理プロファイル

JTK-303 が、インテグラーゼの 3'-processing 反応または strand transfer 反応のいずれの反応を阻害しているのかを明らかにするため、電気泳動法により全インテグラーゼ反応に対する阻害活性を評価した (Figure 8)。HIV-1 の U5LTR (long terminal repeat) を模して合成した 21 塩基長のドナーDNA を  $^{32}\text{P}$  で標識し、全インテグレーション反応を行い、3'-processing 反応により生成した 19 塩基長の DNA 産物に相当するバンドと strand transfer 反応により生成した 21 塩基長を超える DNA 産物に相当するバンドの放射活性をイメージアナライザーで定量し、阻害活性を算出した。その結果、JTK-303 は 3'-processing 反応、strand transfer 反応をそれぞれ 2068 nM、27 nM の  $\text{IC}_{50}$  値で阻害した (Table 7)。このことより、JTK-303 はジケトルボン酸型化合物<sup>11), 29)</sup>と同様に、*in vitro*において strand transfer 反応を選択的に阻害することが明らかとなった。

**Figure 8.** 非公開

**Table 7.** Inhibitory activity of JTK-303 for 3'-processing and strand transfer in a gel-based overall HIV-1 integrase assay

$\text{IC}_{50}$ (nM)	
3'-Processing	Strand Transfer
2068	27

Data are given as the mean (n = 3)

次に、JTK-303 の①50%ヒト血清存在下での抗 HIV 活性、②各種サブタイプの HIV 臨床分離株に対する抗 HIV 活性、③薬剤耐性の HIV 臨床分離株に対する抗 HIV 活性をそれぞれ評価した。<sup>30)</sup>

① 50%ヒト血清存在下での抗 HIV 活性

HIV-1 IIIB を PBMC に感染させ、50%ヒト血清存在下、JTK-303 の抗 HIV 活性を評価したところ、JTK-303 は強力な抗 HIV 活性 ( $EC_{50} = 1.5 \text{ nM}$ ,  $EC_{90} = 9.8 \text{ nM}$ ) を示し、その活性強度は非核酸系逆転写酵素阻害 efavirenz<sup>31)</sup> ( $EC_{50} = 2.2 \text{ nM}$ ,  $EC_{90} = 10.8 \text{ nM}$ ) と同程度であり、プロテアーゼ阻害剤 nelfinavir<sup>32)</sup> ( $EC_{50} = 12.7 \text{ nM}$ ,  $EC_{90} = 114.4 \text{ nM}$ ) よりも強力であった (Table 8)。

また、血清添加により JTK-303 の抗 HIV 活性は約 8 倍低下し、細胞毒性とは 10 万倍以上乖離していた。

**Table 8.** Effects of human serum on antiviral activity of JTK-303 in human PBMCs

Human Serum	JTK-303			Efavirenz			Nelfinavir		
	$EC_{50}$	$EC_{90}$	$CC_{50}$	$EC_{50}$	$EC_{90}$	$CC_{50}$	$EC_{50}$	$EC_{90}$	$CC_{50}$
	(nM)	(nM)	( $\mu\text{M}$ )	(nM)	(nM)	( $\mu\text{M}$ )	(nM)	(nM)	( $\mu\text{M}$ )
0%	0.2	1.2	9.7	0.2	1.2	24.4	2.6	20.7	10.9
50%	1.5	9.8	170.1	2.2	10.8	> 300	12.7	114.4	217.6

Data are given as the mean (5 or 6 donors)

② 各種サブタイプの HIV-1 臨床分離株と HIV-2 臨床分離株に対する抗 HIV 活性

8 種類 (12 株) の HIV-1 臨床分離株と、HIV-2 臨床分離株に対する JTK-303 の抗 HIV 活性を評価したところ、すべての臨床分離株に対し、JTK-303 は強力な抗 HIV 活性 ( $EC_{50} = 0.10\text{--}1.26 \text{ nM}$ ) を示した (Table 9)。その活性強度は、efavirenz ( $EC_{50} = 0.30\text{--}47.0 \text{ nM}$ ,  $EC_{50}$  (HIV-2) > 1000 nM) と同等以上であり、AZT ( $EC_{50} = 0.60\text{--}25.3 \text{ nM}$ )、nelfinavir ( $EC_{50} = 0.99\text{--}70.5 \text{ nM}$ ,  $EC_{50}$  (HIV-1 C) < 0.10 nM) よりも強力であった。

**Table 9.** Antiviral activity of JTK-303 against 8 subtypes of HIV-1 clinical isolates and a HIV-2 isolate in human PBMCs

Virus	Isolate	EC <sub>50</sub> (nM)				
		JTK-303	AZT	Efavirenz	Nelfinavir	
HIV-1	A	RW/92/016	0.41	7.91	0.61	13.4
		96USHIPS7	0.26	8.41	0.65	25.8
		BR/92/014	0.53	0.60	30.9	32.5
	B	BR/92/021	0.76	2.13	47.0	70.5
		BR/93/017	0.18	1.10	0.58	2.05
		BR/93/022	1.13	11.7	0.62	20.1
	C	BR/92/025	0.10	2.84	0.30	< 0.10
	D	UG/92/046	0.50	7.26	1.19	27.7
	E	CMU02	1.26	9.07	1.82	22.7
	F	BR/93/020	0.74	25.3	0.32	16.4
	G	JV1083	0.35	11.1	0.65	14.0
	O	BCF01	1.17	1.52	0.69	0.99
HIV-2	CDC 310319	0.53	1.14	> 1000	16.1	

One experiment

③ 薬剤耐性臨床分離株に対する抗 HIV 活性

プロテアーゼ阻害剤に耐性を示す 4 種類の臨床分離株と、多剤耐性を示す 4 種類の臨床分離株に対する JTK-303 の抗 HIV 活性を評価したところ、すべての薬剤耐性臨床分離株に対し、JTK-303 は強力な抗 HIV 活性 (EC<sub>50</sub> = 0.02–1.13 nM) を示した (Table 10)。特に、AZT、efavirenz および nelfinavir が効果を示さない臨床分離株 MDR1385、MDR3761 に対しても、JTK-303 は強力な抗 HIV 活性 (それぞれ EC<sub>50</sub> = 0.02 nM, 0.73 nM) を示した。

**Table 10.** Antiviral activity of JTK-303 against clinical isolates resistant to anti-HIV drugs in human PBMCs

Isolate	Resistance mutations <sup>a)</sup>	EC <sub>50</sub> (nM) <sup>b)</sup>				
		JTK-303	AZT	Efavirenz	Nelfinavir	
<b>Protease inhibitor-resistant isolates</b>						
1064-52	PR <sup>c)</sup> L10I I54V L63P A71T V82F L90M	0.63	13.6	0.29	838.5	
1002-60	PR L10I M46I I54V L63P V82F L90M	0.13	6.72	0.21	> 1000	
052-52	PR L10R M46I L63P A71V V82T I84V	0.17	63.9	< 0.10	95.0	
144-44	PR V32I M46I L63P L90M	0.72	7.24	0.60	165.3	
<b>Multidrug-resistant isolates</b>						
MDR769	RT <sup>d)</sup> M41L K65R D67N V75I F116Y Q151M Y181I L210W T215Y	0.18	720.7	0.54	> 1000	
	PR L10I M36M/V M46I I54V L63P A71V V82A I84V L90M					
MDR807	RT M41L D67N M184V L210W T215Y K219N	1.13	159.4	0.71	135.0	
	PR L10I G48V I54T L63Q A71V V82A					
MDR1385	PR L10I M36I M46I I54I/V L63P A71V V82T L90M	0.02	> 1000	> 1000	> 1000	
MDR3761	PR L10I M46I I84V L63P A71I L90M	0.73	> 1000	> 1000	> 1000	

a) Mutation sites are represented as the position number in the RT- or protease-coding region and the amino acid residue in the wild-type and drug-resistant viruses

b) One experiment

c) Protease gene

d) Reverse transcriptase gene

## 第二節 薬物動態および毒性プロファイル

ラット、イヌにそれぞれ JTK-303 を静脈内投与および経口投与を行い、経時的に血漿中濃度を測定し、薬物動態パラメーターを算出した (Table 11, 12)。その結果、JTK-303 はラット、イヌにおいて良好な薬物動態プロファイルを示し、バイオアベイラビリティはそれぞれ 34.1%、29.6%であった。

**Table 11.** Pharmacokinetic parameters of JTK-303 after intravenous administration (1 mg/kg)

	C <sub>5min</sub> (ng/mL)	t <sub>1/2α</sub> <sup>a)</sup> (hr)	t <sub>1/2β</sub> <sup>b)</sup> (hr)	t <sub>1/2γ</sub> <sup>c)</sup> (hr)	AUC <sub>0-inf</sub> (ng·hr/mL)	CL <sub>tot</sub> (L/hr/kg)	Vd <sub>ss</sub> (L/kg)
Rat	4655	0.2	1.6	N.C.	1955	0.5	0.4
Dog	684	0.5	1.5	5.0 <sup>*</sup>	954	1.0	2.6

Data are given as the mean (n = 3)

\*Data are given as the mean (n = 2)

N.C. : Not calculated

a) Rats : 0.083 hr–0.5 hr, Dogs : 0.083 hr–0.5 hr

b) Rats : 1 hr–12 hr, Dogs : 1 hr–6 hr or 1 hr–12 hr

c) Dogs : 6 hr–12 hr or 6 hr–24 hr

**Table 12.** Pharmacokinetic parameters of JTK-303 after oral administration (3 mg/kg)

	t <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	t <sub>1/2</sub> <sup>a)</sup> (hr)	AUC <sub>0-inf</sub> (ng·hr/mL)	BA (%)
Rat	0.25	755	2.3	1999	34.1
Dog	1.00	136	5.2	843	29.6

Data are given at the mean (n = 3)

a) Rats : t<sub>max</sub>–12 hr, Dogs : t<sub>max</sub>–24 hr

またラット 6 ヶ月間の慢性毒性試験 (最高用量 2000 mg/kg)、イヌ 9 ヶ月間の慢性毒性試験 (最高用量 100 mg/kg) をはじめ各種毒性試験を実施した結果、JTK-303 には問題となる毒性所見は認められなかった。



## 結論

本研究において、著者は以下の研究成果を得た。

- 1) 医薬品としての HIV-1 インテグラーゼ阻害剤を創製する目的で、まずはリード化合物の創出を行った。その結果、従来のジケトカルボン酸型化合物とは異なる scaffold を有するモノケトカルボン酸型化合物 **9** が、酵素阻害活性 ( $IC_{50} = 1.63 \mu M$ ) を示すことを見出した。化合物と  $Mg^{2+}$  イオンとの配位力に着目し、多くのジケトカルボン酸型阻害剤で認められた安全性の問題を克服するため、**9** をリード化合物とした。
- 2) リード化合物 **9** について、HIV-1 インテグラーゼのポケットの大きさや性質（疎水性または極性）を推測しながら各部位の構造変換を行い、その後、高活性を示した構造を組み合わせて最適化を行った。その結果、酵素阻害活性が 220 倍、抗 HIV 活性が 33000 倍以上向上した JTK-303 ( $IC_{50} = 7.2 \text{ nM}$ ,  $EC_{50} = 0.9 \text{ nM}$  in HIV-1 IIB/MT-4) の創製に成功した。
- 3) JTK-303 は、*in vitro* において strand transfer 反応を選択的に阻害し、50% ヒト血清存在下でも強力な抗 HIV 活性 ( $EC_{50} = 1.5 \text{ nM}$ ,  $EC_{90} = 9.8 \text{ nM}$  in HIV-1 IIB/PBMC) を示した。さらに、各種サブタイプの臨床分離株、薬剤耐性の臨床分離株に対しても JTK-303 は幅広く強力な抗 HIV 活性を示した。その活性強度は、既存の抗 HIV 薬である AZT、efavirenz および nelfinavir と比較し、同等以上であった。また JTK-303 は、良好な薬物動態プロファイルを示すとともに、各種毒性試験において問題となる毒性所見が認められなかった。

JTK-303 (elvitegravir) は、健常成人対象の第 1 相臨床試験終了後、<sup>33)</sup> 米国 Gilead 社に導出された。Gilead 社が海外で実施した HIV 陽性者対象の 10 日間反復投与試験において、JTK-303 は血中ウイルス量を最大約 1/100 に低下させること、および CYP3A 阻害剤との併用により 1 日 1 回の服薬が可能となることが示された。<sup>34)</sup> 序論にも述べた通り、抗 HIV 療法は多剤併用療法が基本であり、これに服薬利便性を考慮して、Gilead 社は JTK-303、CYP3A 阻害剤および 2 種類の逆転写酵素阻害剤を合剤化し、1 日 1 回 1 錠の服薬で済む配合錠の開発を進めた。Gilead 社が海外で実施した第 3 相試験の結果、この配合錠は対照薬と同等の有効性、安全性を示し、<sup>35)</sup> 抗 HIV 薬として 2012 年に米国で、2013 年には EU と国内でそれぞれ承認され、STRIBILD<sup>®</sup> (国内ではスタリビルド<sup>®</sup> 配合錠) として患者さんのもとに届けられることとなった。さらに、JTK-303 は単剤としても 2013 年に EU で、2014 年には米国で VITEKTA<sup>®</sup> としてそれぞれ承認された。

## 謝辞

本稿を纏めるにあたり、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました、東京大学大学院薬学系研究科 内山真伸 教授に心より感謝申し上げます。

本研究を遂行する機会を与えて下さいました、日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所 春田純一 前所長、医薬総合研究所 石黒繁夫 元所長、坪島正巳 元所長に謹んで感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、終始温かい御指導、御鞭撻を賜りました、日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所化学研究所 新海久 前所長に深く感謝いたします。

本研究の遂行に際し、終始多大なる御協力、御助言を頂きました、日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所化学研究所 川上浩 前グループリーダー、本村隆尚 グループリーダー、松田隆 主任研究員、山下正樹 主任研究員、近藤健太郎 研究員、磯島博隆 主任研究員、伊藤佳治 前研究員、小関英和 前研究員、荒巻久晃 前研究員、赤木辰夫 研究員に深く感謝いたします。

本研究の遂行に際し、薬理試験を実施して頂きました、日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所生物研究所 松崎裕児 副所長、池田了 前グループリーダー、渡辺渡 前主任研究員、医薬探索研究所 渡邊靖夫 グループリーダーに深く感謝いたします。また薬理試験を行うにあたり、多大なる御協力を頂きました、京都大学ウイルス研究所 松岡正雄教授、東北大学大学院医学系研究科 児玉栄一 講師に深く感謝いたします。

本研究の遂行に際し、薬物動態試験を実施して頂きました、日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所薬物動態研究所 高橋満 副所長、圓谷誠二 主任研究員、和巻修一 研究員、元素分析および質量分析の測定を実施して頂きました、同生産技術研究所 高橋光政 主任研究員、永尾瑛太 研究員、また本研究のコーディネートをさせて頂きました、同研究企画部 加納光記 部長に深く感謝いたします。

最後に本研究の成功を信じ、御尽力、御協力頂きましたすべての方々に心より感謝申し上げます。

# 実験の部

## 第一章 化学合成実験およびホモロジーモデル構築の部

融点 (Mp) は、柳本微量融点測定器または Stanford Research Systems MPA100 を用いて測定し、すべて未補正である。

$^1\text{H}$ -核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは、JEOL JNM-A300W、Bruker DPX300、Bruker ARX400 または Varian MERCURYplus-AS400 を用いて測定した。化学シフトは、テトラメチルシランを内部標準物質としたときの  $\delta$  値 (ppm) で示し、スピン結合定数は  $J$  値 (Hz) で示した。カップリングパターンは、singlet (s)、doublet (d)、triplet (t)、quartet (q)、multiplet (m)、broad (br) と略して示した。

元素分析は、Perkin-Elmer 2400 series II CHNS/O を用いて測定した。

質量分析 (MS) は、Agilent Technologies 1100 series LC/MS を用いて ESI 法にて測定した。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、関東化学シリカゲル 60 (中性) または Merck 230-400 mesh silica gel 60 を用いて実施した。分取薄層クロマトグラフィーは、Merck Pre-coated TLC silica gel 60 F<sub>254</sub> を用いて実施した。

### Scheme 1. Syntheses of 8–10 and 11a

#### Compound 11a

##### 6-Benzyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (11a)

4-Benzylaniline (**17**) (2.01 g, 11.0 mmol) のトルエン溶液 (20 mL) に 2-ethoxymethylene-malonic acid diethyl ester (**18**) (2.4 mL, 12 mmol) を加え、加熱還流下、終夜攪拌した。

反応液を放冷後、減圧下濃縮し、残渣に Ph<sub>2</sub>O (20 mL) を加え、アルゴン雰囲気下、低沸点物質を留去しながら 250 °C で 30 分間加熱攪拌した。反応液を放冷後、析出した固体をろ取し、AcOEt で洗浄することにより、標題化合物 **11a** (2.09 g, 収率 62%) を白色固体として得た。

Mp 270 °C.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.28 (1H, br s), 8.50 (1H, s), 7.97 (1H, s), 7.61–7.52 (2H, m), 7.34–7.17 (5H, m), 4.20 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.08 (2H, s), 1.27 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  308 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>) calcd C 74.25%, H 5.58%, N 4.56%; found C 73.85%, H 5.69%, N 4.57%.

#### Compound 8

##### 6-Benzyl-4-benzyloxyquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (19)

**11a** (3.82 g, 12.4 mmol)、benzyl alcohol (1.56 mL, 15.1 mmol) および triphenylphosphine (6.52 g, 24.9 mmol) の THF 溶液 (100 mL) に diisopropyl azodicarboxylate (3.6 mL, 18 mmol) を 10 分間以上かけて滴下し、室温で 2.5 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、残渣をシ

リカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 4/1 → 3/1) で精製することにより、標題化合物 **19** (4.72 g, 収率 96%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.05 (1H, s), 7.98 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.93 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 7.75 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz), 7.42–7.37 (5H, m), 7.35–7.21 (5H, m), 5.23 (2H, s), 4.41 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.14 (2H, s), 1.35 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

#### **6-Benzyl-4-benzyloxyquinoline-3-carboxylic acid (20).**

**19** (4.72g, 11.9 mmol) の THF 溶液 (375 mL) に 1 M LiOH 水溶液 (75 mL) を加え、室温で 24 時間攪拌した。反応液に 0 °C で 5% KHSO<sub>4</sub> 水溶液を加え酸性とした後、飽和食塩水を加え、AcOEt で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣に IPE を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **20** (3.05 g, 収率 70%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.56 (1H, br s), 9.06 (1H, s), 7.96 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.92 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 7.73 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz), 7.44–7.37 (5H, m), 7.35–7.29 (2H, m), 7.27–7.21 (3H, m), 5.25 (2H, s), 4.14 (2H, s).

#### **6-Benzyl-4-benzyloxyquinoline-3-carboxylic acid methyl ester (21)**

**20** (2.68 g, 7.25 mmol) の DMF 溶液 (25 mL) に K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.50 g, 10.9 mmol) を加え、60 °C で 30 分間攪拌した。0 °C まで冷却した反応液に iodomethane (0.54 mL, 8.7 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。氷冷下、反応液に水を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **21** (2.61 g, 収率 94%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.06 (1H, s), 7.98 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.94 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 7.76 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz), 7.42–7.38 (5H, m), 7.35–7.29 (2H, m), 7.27–7.20 (3H, m), 5.22 (2H, s), 4.15 (2H, s), 3.94 (3H, s).

#### **(6-Benzyl-4-benzyloxyquinolin-3-yl)methanol (22)**

**21** (1.94 g, 5.07 mmol) の THF 溶液 (40 mL) をドライアイス入りの EtOH で冷却し、アルゴン雰囲気下、0.99 M diisobutylaluminium hydride トルエン溶液 (15 mL, 15 mmol) を 10 分間以上かけて滴下した。反応液を 2 時間以上かけて -20 °C まで昇温し、その後室温で 4 時間攪拌した。反応液に 10% ロッセル塩水溶液を加え、1 時間攪拌し、分層した後、水層を AcOEt で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 1/3) で精製することにより、標題化合物 **22** (1.17 g, 収率 62%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.85 (1H, s), 7.98 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.94 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 7.76 (1H, dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz), 7.42–7.38 (5H, m), 7.36–7.29 (2H, m), 7.28–7.20 (3H, m), 5.22 (2H, s), 4.15 (2H, s), 3.94 (3H, s).

### 6-Benzyl-4-benzyloxyquinoline-3-carbaldehyde (23)

22 (1.82 g, 4.92 mmol) の AcOEt 溶液 (70 mL) に活性 MnO<sub>2</sub> (5.51 g) を加え、室温で 24 時間攪拌した。反応液をセライトでろ過後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 3/1) で精製することにより、標題化合物 23 (1.53 g, 収率 85%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.35 (1H, br s), 9.05 (1H, s), 8.02–8.00 (2H, m), 7.81 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz), 7.42 (5H, s), 7.36–7.22 (5H, m), 5.45 (2H, s), 4.18 (2H, s).

### (6-Benzyl-4-benzyloxyquinolin-3-yl)trimethylsilyloxyacetonitrile (24)

23 (854 mg, 2.32 mmol) と *N*-methylmorpholine *N*-oxide (42 mg, 0.47 mmol) の CHCl<sub>3</sub> 溶液 (10 mL) にゆっくりと cyanotrimethylsilane (500 μl, 3.8 mmol) を加え、室温で 14 時間攪拌した。反応液を AcOEt で希釈し、有機層を水 (2 回)、飽和食塩水の順で洗浄した。有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮することにより、標題化合物 24 (1131 mg, 定量的) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 9.04 (1H, s), 8.11 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.86–7.86 (1H, m), 7.66 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz), 7.49–7.45 (3H, m), 7.42–7.37 (2H, m), 7.37–7.33 (2H, m), 7.31–7.24 (3H, m), 5.73 (1H, s), 5.21 (2H, dd, *J* = 17.6, 11.1 Hz), 4.21 (2H, s), 0.20 (9H, s).

### (6-Benzyl-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-yl)hydroxyacetic acid ethyl ester (25)

アルゴン雰囲気下、EtOH (8.6 mL) と CHCl<sub>3</sub> (9.5 mL) の混合液に acetyl chloride (9.5 mL) を 0 °C で 30 分間以上かけて滴下した後、24 (1128 mg, 2.32 mmol) の CHCl<sub>3</sub> 溶液 (9.5 mL) をゆっくり加え、0 °C で 1 時間攪拌した。反応液に水 (1.45 mL)、次に EtOH (9.5 mL) を加え、1 時間加熱還流した。反応液を放冷後、減圧下濃縮し、残渣に飽和重曹水を加え、AcOEt と EtOH の混合液で抽出した。有機層を飽和食塩水 (2 回) で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH = 50/1 → 25/1) で精製することにより、標題化合物 25 (580 mg, 収率 74%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.84 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.92–7.88 (2H, m), 7.53 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.31–7.16 (5H, m), 5.77 (1H, d, *J* = 6.5 Hz), 5.14 (1H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.11–3.98 (4H, m), 1.12 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

### (6-Benzyl-1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-yl)oxoacetic acid ethyl ester (26)

25 (184 mg, 0.55 mmol) の THF 溶液 (30 mL) に活性 MnO<sub>2</sub> (558 mg) を加え、室温で 9 時間攪拌した。反応液をセライトでろ過後、減圧下濃縮した。残渣を DMF (2 mL) に溶解し、iodomethane (50 μl, 0.80 mmol) と K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (223 mg, 1.6 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液を AcOEt で希釈し、氷水に注いだ後、分層した。水層を AcOEt で抽出し、有機層を水 (3 回)、飽和 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液、飽和食塩水の順で洗浄した。有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣に AcOEt を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 26 (159 mg, 収率 84%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.77 (1H, s), 8.07 (1H, s), 7.77 (2H, d, *J* = 1.2 Hz), 7.33–7.25 (4H, m), 7.23–7.18 (1H, m), 4.29 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.12 (2H, s), 3.98 (3H, s), 1.29 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

**(6-Benzyl-1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-yl)oxoacetic acid (8)**

**26** (158 mg, 0.45 mmol) の EtOH/THF/H<sub>2</sub>O (8 mL/2 mL/8 mL) 溶液に 1 M NaOH 水溶液 (1.2 mL) を加え、0 °C で 1.5 時間攪拌した。反応液を 0.5 M HCl 水溶液に注ぎ、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **8** (134 mg, 収率 92%) を得た。

Mp 222 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.55 (1H, br s), 8.72 (1H, s), 8.06 (1H, s), 7.75 (2H, d, *J* = 1.1 Hz), 7.33–7.24 (4H, m), 7.23–7.18 (1H, m), 4.13 (2H, s), 3.97 (3H, s). MS (ESI) *m/z* 322 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 71.02%, H 4.71%, N 4.36%; found C 70.98%, H 4.69%, N 4.35%.

**Compound 9**

**6-Benzyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (9)**

**11a** (1.80 g, 5.86 mmol) の EtOH/THF (10 mL/10 mL) 溶液に 4 M NaOH 水溶液 (4.4 mL) を加え、3.5 時間加熱還流した。反応液を放冷後、減圧下濃縮し、得られた粗生成物を水で希釈し、6 M HCl 水溶液を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **9** (1.33 g, 収率 81%) を得た。

Mp 240–241 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.42 (1H, s), 13.40 (1H, br s), 8.86 (1H, s), 8.13 (1H, s), 7.77 (1H, s), 7.34–7.21 (5H, m), 4.15 (2H, s). MS (ESI) *m/z* 279 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>) calcd C 73.11%, H 4.69%, N 5.01%; found C 72.92%, H 4.97%, N 4.93%.

**Compound 10**

**6-Benzyl-1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (27)**

**11a** (200 mg, 0.65 mmol) の DMF (8 mL) 溶液にアルゴン雰囲気下、氷冷下で NaH (28 mg, 0.72 mmol) を加え、15 分間攪拌した。反応液に iodomethane (45 μl, 0.72 mmol) を加え、室温でさらに 2 時間攪拌した。反応液を氷水に注いだ後、析出した固体をろ取し、*n*-hexane で洗浄することにより、標題化合物 **27** (160 mg, 収率 76%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.45 (1H, s), 8.42 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 7.51 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.2 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.31–7.25 (2H, m), 7.23–7.17 (3H, m), 4.40 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 4.11 (2H, s), 3.85 (3H, s), 1.42 (3H, t, *J* = 7.2 Hz).

**6-Benzyl-1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (10)**

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**27** から標題化合物 **10** を収率 91% で得た。

Mp 233–235 °C. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 14.97 (1H, br s), 8.72 (1H, s), 8.41 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.68 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.1 Hz), 7.53 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.35–7.18 (5H, m), 4.17 (2H, s), 4.00 (3H, s). MS (ESI) *m/z* 294 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>) calcd C 73.71%, H 5.15%, N 4.78%; found C 73.76%, H 5.09%, N 4.81%.

## Scheme 2. Synthesis of 11b

### Compound 11b

#### 6-Benzyl-4-benzyloxyquinoline-3-carboxamide (28)

**20** (257 mg, 0.70 mmol)、NH<sub>4</sub>Cl (152 mg, 2.8 mmol)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride (419 mg, 2.2 mmol)、1-hydroxybenzotriazole hydrate (125 mg, 0.93 mmol) および Et<sub>3</sub>N (395 μl, 2.8 mmol) を DMF (2.5 mL) 中で混合し、室温で 19 時間攪拌した。反応液を水に注ぎ AcOEt で抽出し、有機層を 5% KHSO<sub>4</sub> 水溶液 (2 回)、飽和重曹水、飽和食塩水の順で洗浄した。有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲル薄層クロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH = 10/1) で精製することにより、標題化合物 **28** (168 mg, 収率 65%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.82 (1H, s), 8.07 (1H, br s), 7.93 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.91 (1H, d, *J* = 1.4 Hz), 7.85 (1H, br s), 7.68 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz), 7.43–7.37 (5H, m), 7.35–7.30 (2H, m), 7.27–7.21 (3H, m), 5.26 (2H, s), 4.15 (2H, s).

#### 6-Benzyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxamide (11b)

**28** (50 mg, 0.14 mmol) の MeOH/THF (2 mL/2 mL) 溶液に 5% Pd–C (18 mg) を加え、室温で 30 分間水素を添加した。触媒をセライトでろ過後、ろ液を減圧下濃縮し、残渣に *n*-hexane/AcOEt (1/1) を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **11b** (34 mg, 収率 89%) を白色固体として得た。

Mp 279–282 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.60 (1H, br s), 9.35 (1H, d, *J* = 4.6 Hz), 8.68 (1H, s), 8.07 (1H, d, *J* = 0.9 Hz), 7.63 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.7 Hz), 7.60 (1H, d, *J* = 7.9 Hz), 7.38 (1H, d, *J* = 4.4 Hz), 7.33–7.24 (4H, m), 7.23–7.18 (1H, m), 4.10 (2H, s). MS (ESI) *m/z* 279 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·0.5H<sub>2</sub>O) calcd C 72.20%, H 5.17%, N 9.91%; found C 72.07%, H 4.97%, N 9.92%.

## Scheme 3. Syntheses of 12a–j

### Compound 12j

#### 1-(2,3-Dichlorobenzyl)-4-nitrobenzene (33j)

Step 1: アルゴン気流下、亜鉛末 (55.1 g, 843 mmol) の THF (56 mL) 懸濁液を激しく攪拌し、加熱還流下で 1,2-dibromoethane (2.91 mL, 33.8 mmol) を加え、5 分間加熱還流した。懸濁液を 0 °C まで冷却し、TMSCl (8.56 mL, 67.5 mmol) を加え、2,3-dichlorobenzyl chloride (**29j**) (82.4 g, 421 mmol) の THF (330 mL) 溶液を滴下した。滴下終了後、室温で 1 時間攪拌し、得られた反応液を 2,3-dichlorobenzylzinc chloride THF 溶液として、次の工程に使用した。

Step 2: 4-iodonitrobenzene (**30**) (70.0 g, 281 mmol)、Pd(dba)<sub>2</sub> (3.23 g, 5.62 mmol) および tri-2-furylphosphine (2.61 g, 11.24 mmol) の THF (1000 mL) 溶液に、アルゴン気流下、Step 1 で得られた 2,3-dichlorobenzylzinc chloride THF 溶液を滴下し、室温で 2 時間攪拌した。反応液を飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液で希釈し、セライトでろ過後、ろ液を AcOEt で抽出した。

有機層を減圧下濃縮し、残渣に AcOEt と水を加え分層した。有機層を水、飽和食塩水の

順で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥後、減圧下濃縮して得られた粗生成物に *n*-hexane を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **33j** (60.2 g, 収率 76%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.15 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.44–7.40 (1H, m), 7.33–7.31 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.20–7.16 (1H, m), 4.24 (2H, s).

#### 4-(2,3-Dichlorobenzyl)aniline (**34j**)

**33j** (25.0 g, 88.6 mmol) の AcOH (400 mL) 溶液に亜鉛末 (70.0 g) を少量ずつ加えた後、室温で 30 分間攪拌した。反応液をセライトでろ過後、ろ液を減圧下濃縮した。残渣を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液で希釈後、AcOEt で抽出した。有機層を水洗し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮して得られた粗生成物に *n*-hexane を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **34j** (36.3 g, 収率 81%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.34–7.31 (1H, m), 7.13–6.96 (4H, m), 6.67–6.62 (2H, m), 4.03 (2H, s), 3.61 (2H, br s).

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**35j**)

**17** から **11a** を合成した方法と同様にして、**34j** から標題化合物 **35j** を収率 68% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.51 (1H, s), 7.90 (1H, s), 7.58–7.55 (3H, m), 7.42–7.34 (2H, m), 4.27 (2H, s), 4.20 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 1.27 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**12j**)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35j** から標題化合物 **12j** を収率 69% で得た。

Mp 261 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.13 (1H, br s), 13.19 (1H, br s), 8.85 (1H, d, *J* = 5.7 Hz), 8.05 (1H, s), 7.80–7.77 (2H, m), 7.58–7.56 (1H, m), 7.44–7.35 (2H, m), 4.34 (2H, s). MS (ESI) *m/z* 348 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>) calcd C 58.64%, H 3.18%, N 4.02%; found C 58.49%, H 3.22%, N 3.79%.

### Compound 12a

#### 6-(4-Chlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**35a**)

**30** と 2,3-dichlorobenzylzinc chloride から **35j** を合成した方法と同様にして、**30** と 4-chlorobenzylzinc chloride (**29a**) から標題化合物 **35a** を収率 21% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 12.25 (1H, br s), 8.48 (1H, d, *J* = 6.7 Hz), 7.96 (1H, s), 7.56 (2H, s), 7.36–7.33 (2H, m), 7.27 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 4.20 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.08 (2H, s), 1.27 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

#### 6-(4-Chlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**12a**)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35a** から標題化合物 **12a** を収率 45% で得た。

Mp 260 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.33 (1H, br s), 13.36 (1H, br s), 8.84 (1H, d, *J* = 4.5 Hz), 8.13 (1H, s), 7.76 (2H, s), 7.37–7.36 (2H, m), 7.35–7.35 (2H, m), 7.31–7.29 (2H, m), 4.15 (2H, s). MS (ESI) *m/z* 314 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>ClNO<sub>3</sub>·0.5H<sub>2</sub>O) calcd C 63.26%, H 4.06%, N 4.34%; found C 63.46%, H 3.84%, N 4.44%.



## Compound 12b

### 6-(3-Chlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35b)

**30** と 2,3-dichlorobenzylzinc chloride から **35j** を合成した方法と同様にして、**30** と 3-chlorobenzylzinc chloride (**29b**) から標題化合物 **35b** を収率 9% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.24 (1H, br s), 8.49 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz), 7.99 (1H, s), 7.59–7.56 (2H, m), 7.33–7.24 (4H, m), 4.20 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.09 (2H, s), 1.27 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

### 6-(3-Chlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12b)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35b** から標題化合物 **12b** を収率 76% で得た。

Mp 238 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  15.33 (1H, br s), 13.52 (1H, br s), 8.82 (1H, s), 8.15 (1H, s), 7.79 (2H, s), 7.37–7.32 (2H, s), 7.37–7.32 (2H, m), 7.28–7.25 (2H, m), 4.17 (2H, s). MS (ESI)  $m/z$  314 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClNO}_3$ ) calcd C 65.08%, H 3.86%, N 4.46%; found C 64.98%, H 3.92%, N 4.54%.

## Compound 12c

### 6-(2-Chlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35c)

**30** と 2,3-dichlorobenzylzinc chloride から **35j** を合成した方法と同様にして、**30** と 2-chlorobenzylzinc chloride (**29c**) から標題化合物 **35c** を収率 20% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.25 (1H, br s), 8.49 (1H, s), 7.93 (1H, s), 7.41–7.12 (6H, m), 4.21–4.17 (4H, m), 1.27 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

### 6-(2-Chlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12c)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35c** から標題化合物 **12c** を収率 48% で得た。

Mp 254 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  15.29 (1H, br s), 13.35 (1H, br s), 8.84 (1H, d,  $J = 4.1$  Hz), 8.05 (1H, s), 7.77 (2H, s), 7.48–7.42 (2H, m), 7.34–7.30 (2H, m), 4.28 (2H, s). MS (ESI)  $m/z$  314 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{ClNO}_3$ ) calcd C 65.08%, H 3.86%, N 4.46%; found C 64.96%, H 3.95%, N 4.53%.

## Compound 12d

### 6-(2-Fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35d)

**30** と 2,3-dichlorobenzylzinc chloride から **35j** を合成した方法と同様にして、**30** と 2-fluorobenzylzinc chloride (**29d**) から標題化合物 **35d** を収率 24% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.31 (1H, br s), 8.54 (1H, s), 8.00 (1H, s), 7.63–7.60 (2H, m), 7.43–7.34 (2H, m), 7.25–7.20 (2H, m), 4.26 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.16 (2H, s), 1.32 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

### 6-(2-Fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12d)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35d** から標題化合物 **12d** を収率 35% で得た。

Mp 256 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  15.33 (1H, br s), 13.41 (1H, br s), 8.86 (1H, d,  $J = 6.4$  Hz), 7.78 (1H, s), 7.41–7.36 (1H, m), 7.32–7.28 (1H, m), 7.22–7.15 (2H, m), 4.18 (2H, s). MS (ESI)

$m/z$  298 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $C_{17}H_{12}FNO_3$ ) calcd C 68.68%, H 4.07%, N 4.71%; found C 68.56%, H 4.20%, N 4.66%.

### Compound 12e

#### 6-(2-Methylbenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35e)

**29j** から **35j** を合成した方法と同様にして、2-methylbenzyl bromide (**29e**) から標題化合物 **35e** を収率 2% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.28 (1H, br s), 8.50 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), 7.87 (1H, s), 7.56–7.53 (2H, m), 7.18 (4H, s), 4.20 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.09 (2H, s), 2.20 (3H, s), 1.27 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

#### 6-(2-Methylbenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12e)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35e** から標題化合物 **12e** を収率 94% で得た。

Mp 252 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  15.32 (1H, br s), 13.37 (1H, br s), 8.84 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz), 7.99 (1H, s), 7.81–7.72 (2H, m), 7.18 (4H, s), 4.16 (2H, s), 2.20 (3H, s). MS (ESI)  $m/z$  294 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $C_{18}H_{15}NO_3$ ) calcd C 73.71%, H 5.15%, N 4.78%; found C 73.68%, H 5.19%, N 4.75%.

### Compound 12h

#### 6-(2,6-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35h)

**29j** から **35j** を合成した方法と同様にして、2,6-dichlorobenzyl bromide (**29h**) から標題化合物 **35h** を収率 46% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.26 (1H, br s), 8.48 (1H, s), 7.80 (1H, s), 7.57–7.54 (4H, m), 7.41–7.36 (1H, m), 4.39 (2H, s), 4.19 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 1.26 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

#### 6-(2,6-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12h)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**35h** から標題化合物 **12h** を収率 47% で得た。

Mp 282 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  15.20 (1H, br s), 13.38 (1H, br s), 8.84 (1H, d,  $J = 4.3$  Hz), 7.92 (1H, s), 7.81–7.76 (2H, m), 7.58–7.56 (2H, m), 7.42–7.38 (1H, m), 4.46 (2H, s). MS (ESI)  $m/z$  348 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $C_{17}H_{11}Cl_2NO_3$ ) calcd C 58.64%, H 3.18%, N 4.02%; found C 58.47%, H 3.31%, N 4.01%.

### Compound 12i

#### 6-(2,5-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35i)

**29j** から **35j** を合成した方法と同様にして、2,5-dichlorobenzyl bromide (**29i**) から標題化合物 **35i** を収率 6% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.30 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), 8.50 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz), 7.92 (1H, s), 7.60–7.57 (2H, m), 7.54 (1H, d,  $J = 2.6$  Hz), 7.50 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz), 7.37 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.6$  Hz), 4.24–4.16 (4H, m), 1.27 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

### 6-(2,5-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12i)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、35i から標題化合物 12i を収率 60% で得た。

Mp 252 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.44 (1H, br s), 8.87 (1H, s), 8.07 (1H, s), 7.80 (2H, s), 7.59 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 7.52 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.40 (1H, dd, *J* = 8.3, 2.3 Hz), 4.28 (2H, s). MS (ESI) *m/z* 348 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>) calcd C 58.64%, H 3.18%, N 4.02%; found C 58.47%, H 3.31%, N 4.01%.

## Compound 12f

### 4-(2-Methoxybenzyl)nitrobenzene (33f)

2-Bromoanisole (31f) (3.26 g, 12.00 mmol)、4-methylnitrobenzene (32) (1.77 g, 10.00 mmol)、Pd(OAc)<sub>2</sub> (112 mg, 0.50 mmol)、triphenylphosphine (524 mg, 2.00 mmol) および Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.92 g, 12.00 mmol) を DMF (40 mL) 中で混合し、アルゴン気流下、140 °C で 2 時間加熱攪拌した。放冷した反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水 (2 回)、飽和食塩水の順で洗浄した。MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 20/1) で精製することにより、標題化合物 33f (992 mg, 収率 41%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.09 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.33 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.28–7.20 (1H, m), 7.11–7.08 (1H, m), 6.90–6.80 (2H, m), 4.04 (2H, s), 3.78 (3H, s).

### 4-(2-Methoxybenzyl)aniline (34f)

33f (992 mg, 4.08 mmol) の EtOH (20 mL) 溶液に 10% Pd-C (500 mg) を加え、室温で 2 時間水素を添加した。触媒をセライトでろ過後、ろ液を減圧下濃縮することにより、標題化合物 34f (822 mg, 粗生成物) を得た。

### 6-(2-Methoxybenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12f)

17 から 9 を合成した方法と同様にして、34f から標題化合物 12f を収率 19% で得た。

Mp 243 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.39 (1H, br s), 13.37 (1H, br s), 8.84 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 8.06 (1H, s), 7.75 (2H, s), 7.27–7.18 (2H, m), 7.00 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 6.93–6.87 (1H, m), 4.08 (2H, s), 3.77 (3H, s). MS (ESI) *m/z* 310 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 69.89%, H 4.89%, N 4.53%; found C 69.56%, H 4.85%, N 4.46%.

## Compound 12g

### 4-(2-Trifluoromethylbenzyl)nitrobenzene (33g)

31f と 32 から 33f を合成した方法と同様にして、2-bromobenzotrifluoride (31g) と 32 から標題化合物 33g を収率 9% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.16–8.14 (2H, m), 7.72–7.70 (1H, m), 7.51–7.47 (1H, m), 7.40–7.37 (1H, m), 7.30–7.26 (2H, m), 7.19–7.17 (1H, m), 4.29 (2H, s).

#### 4-(2-Trifluoromethylbenzyl)aniline (34g)

33j から 34j を合成した方法と同様にして、33g から標題化合物 34g を収率 92% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.63 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz), 7.42–7.38 (1H, m), 7.29–7.25 (1H, m), 7.17 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz), 6.95–6.93 (2H, m), 6.64–6.61 (2H, m), 4.06 (2H, s), 3.59 (2H, br s).

#### 4-Oxo-6-(2-trifluoromethylbenzyl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35g)

34j から 35j を合成した方法と同様にして、34g から標題化合物 35g を収率 53% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.28 (1H, br s), 8.49 (1H, d,  $J = 6.7$  Hz), 7.84 (1H, s), 7.77–7.75 (1H, m), 7.66–7.61 (1H, m), 7.58–7.48 (3H, m), 7.41–7.37 (2H, m), 4.28 (2H, s), 4.22 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 1.26 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

#### 4-Oxo-6-(2-trifluoromethylbenzyl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (12g)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、35g から標題化合物 12g を収率 22% で得た。

Mp 245 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.26 (1H, br s), 13.38 (1H, br s), 8.85 (1H, s), 7.98 (1H, s), 7.80–7.76 (2H, m), 7.72–7.70 (1H, m), 7.67–7.63 (1H, m), 7.52–7.48 (1H, m), 7.43–7.41 (1H, m), 4.36 (2H, s). MS (ESI)  $m/z$  348 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{NO}_3$ ) calcd C 62.25%, H 3.48%, N 4.03%; found C 62.27%, H 3.59%, N 4.02%.

### Scheme 4. Syntheses of 13a–f, 13h and 13k–n

#### Compound 13k

##### 1-(2-Acetoxyethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36k)

35j (6.0 g, 16.0 mmol) と  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (14.3g, 103.5 mmol) の DMF (240 mL) 懸濁液に 2-bromoethyl acetate (6.0 mL, 24.2 mmol) を加え、80 °C で 3.5 時間加熱攪拌した。放冷した反応液に水を加え、析出した固体をろ取り、*n*-hexane/AcOEt (3/2) に加えた。スラリー攪拌後、固体をろ取することにより、標題化合物 36k (6.0 g, 収率 82%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.59 (1H, s), 7.98 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz), 7.83 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.68–7.65 (1H, m), 7.57 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.9$  Hz), 7.43 (1H, dd,  $J = 7.7, 2.0$  Hz), 7.39–7.34 (1H, m), 4.63 (2H, t,  $J = 5.0$  Hz), 4.37 (2H, t,  $J = 5.0$  Hz), 4.29 (2H, s), 4.21 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 1.90 (3H, s), 1.27 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

##### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13k)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、36k から標題化合物 13k を収率 72% で得た。

Mp 245–247 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.21 (1H, br s), 8.87 (1H, s), 8.15 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz), 8.03 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz), 7.82 (1H, dd,  $J = 9.0, 2.3$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.7$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.7$  Hz), 7.41–7.36 (1H, m), 5.01 (1H, br s), 4.61 (2H, t,  $J = 4.9$  Hz), 4.37 (2H, s),

3.80–3.71 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  392 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 58.18%, H 3.85%, N 3.57%; found C 58.02%, H 3.81%, N 3.37%.

### Compound 13a

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36a)

**35j** から **36k** を合成した方法と同様にして、**35j** と iodomethane から標題化合物 **36a** を収率 40% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.45 (1H, s), 8.37 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 7.53 (1H, dd,  $J = 8.7, 2.3$  Hz), 7.38–7.34 (2H, m), 7.14–7.12 (2H, m), 4.39 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.27 (2H, s), 3.86 (3H, s), 1.41 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13a)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**36a** から標題化合物 **13a** を収率 84% で白色固体として得た。

Mp 257 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.01 (1H, s), 8.12 (1H, s), 7.93 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz), 7.85 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.0$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.7$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.6$  Hz), 7.40–7.35 (1H, m), 4.37 (2H, s), 4.09 (3H, s). MS (ESI)  $m/z$  362 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>) calcd C 59.69%, H 3.62%, N 3.87%; found C 59.46%, H 3.52%, N 3.86%.

### Compound 13b

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-ethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36b)

**35j** から **36k** を合成した方法と同様にして、**35j** と iodoethane から標題化合物 **36b** を収率 73% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.48 (1H, s), 8.39 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 7.52 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz), 7.40–7.34 (2H, m), 7.17–7.10 (2H, m), 4.40 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.27–4.19 (4H, m), 1.53 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz), 1.41 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-ethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13b)

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**36b** から標題化合物 **13b** を収率 98% で白色固体として得た。

Mp 222–223 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.20 (1H, br s), 9.04 (1H, s), 8.15 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 8.02 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz), 7.84 (1H, dd,  $J = 9.0, 2.3$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.9$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.9$  Hz), 7.41–7.36 (1H, m), 4.59 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.37 (2H, s), 1.41 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  376 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>·0.25H<sub>2</sub>O) calcd C 59.94%, H 4.10%, N 3.68%; found C 60.05%, H 4.07%, N 3.98%.

## Compound 13c

### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1-propyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36c)

35j から 36k を合成した方法と同様にして、35j と 1-iodopropane から標題化合物 36c を収率 72% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.45 (1H, s), 8.38 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz), 7.50 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.2$  Hz), 7.38–7.34 (2H, m), 7.16–7.10 (2H, m), 4.40 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.26 (2H, s), 4.14–4.09 (2H, m), 1.99–1.86 (2H, m), 1.41 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz), 1.02 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz).

### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-4-oxo-1-propyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13c)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、36c から標題化合物 13c を収率 92% で白色固体として得た。

Mp 220–221 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.19 (1H, br s), 9.02 (1H, s), 8.14 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 8.02 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.83 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.9$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.7$  Hz), 7.41–7.36 (1H, m), 4.51 (2H, t,  $J = 7.3$  Hz), 4.36 (2H, s), 1.88–1.76 (2H, m), 0.91 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  390 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ ) calcd C 61.55%, H 4.39%, N 3.59%; found C 61.35%, H 4.33%, N 3.58%.

## Compound 13d

### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(1-methylethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36d)

Step 1 : 4-Methylmorpholine (1.32 mL, 12.00 mmol) と 2-propanol (1.00 mL, 13.00 mmol) の  $\text{Et}_2\text{O}$  (5 mL) 溶液に、chloromethanesulfonyl chloride (37) (1.49 g, 10.00 mmol) の  $\text{Et}_2\text{O}$  (15 mL) 溶液を 0 °C で滴下し、同温で 2 時間攪拌した。反応液を水 (2 回)、飽和食塩水の順で洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥後、減圧下濃縮することにより、chloromethanesulfonic acid isopropyl ester (38) (1.60 g, 粗生成物) を得た。

Step 2 : 35j から 36k を合成した方法と同様にして、35j と Step 1 で得られた 38 から標題化合物 36d を収率 29% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.63 (1H, s), 8.41 (1H, s), 7.51 (2H, d,  $J = 1.1$  Hz), 7.37–7.33 (1H, m), 7.14–7.11 (2H, m), 4.93–4.79 (1H, m), 4.41 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.26 (2H, s), 1.60 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.42 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(1-methylethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13d)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、36d から標題化合物 13d を収率 55% で白色固体として得た。

Mp 212–214 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.86 (1H, s), 8.18–8.14 (2H, m), 7.85 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.7$  Hz), 7.47–7.45 (1H, m), 7.41–7.36 (1H, m), 5.29–5.20 (1H, m), 4.37 (2H, s), 1.57 (6H, d,  $J = 6.5$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  390 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ ) calcd C 61.55%, H 4.39%, N 3.59%; found C 61.32%, H 4.24%, N 3.58%.

## Compound 13e

### 1-Butyl-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36e)

35j から 36k を合成した方法と同様にして、35j と 1-iodobutane から標題化合物 36e を収率 71% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.44 (1H, s), 8.38 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 7.51 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.2$  Hz), 7.31–7.34 (2H, m), 7.17–7.11 (2H, m), 4.40 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.26 (2H, s), 4.17–4.12 (2H, m), 1.91–1.81 (2H, m), 1.49–1.37 (5H, m), 0.99 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz).

### 1-Butyl-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13e)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、36e から標題化合物 13e を収率 94% で白色固体として得た。

Mp 213–214 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.19 (1H, br s), 9.02 (1H, s), 8.15 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 8.01 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.84 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.9$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.9$  Hz), 7.41–7.36 (1H, m), 4.55 (2H, t,  $J = 7.3$  Hz), 4.37 (2H, s), 1.83–1.71 (2H, m), 1.40–1.28 (2H, m), 0.90 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  404 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO}_3$ ) calcd C 62.39%, H 4.74%, N 3.46%; found C 62.41%, H 4.72%, N 3.50%.

## Compound 13f

### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-ethoxycarbonylmethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36f)

35j から 36k を合成した方法と同様にして、35j と ethyl bromoacetate から標題化合物 36f を収率 27% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.40 (1H, s), 8.36 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz), 7.48 (1H, dd,  $J = 8.7, 2.3$  Hz), 7.36 (1H, dd,  $J = 6.8, 2.6$  Hz), 7.17–7.09 (3H, m), 4.82 (2H, s), 4.39 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.26 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.25 (2H, s), 1.41 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz), 1.26 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

### 1-Carboxymethyl-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13f)

11a から 9 を合成した方法と同様にして、36f から標題化合物 13f を収率 67% で得た。

Mp 269 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.38 (1H, s), 8.85 (1H, s), 8.09 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 7.77 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz), 7.70 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.57 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.9$  Hz), 7.43 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.9$  Hz), 7.40–7.35 (1H, m), 4.79 (2H, s), 4.34 (2H, s). MS (ESI)  $m/z$  406 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}_5$ ) calcd C 56.18%, H 3.23%, N 3.45%; found C 56.06%, H 3.26%, N 3.48%.

## Compound 13h

### 1-Carbamoylmethyl-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36h)

35j から 36k を合成した方法と同様にして、35j と 2-bromoacetamide から標題化合物 36h を収率 92% で得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.63 (1H, s), 7.97 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz), 7.85 (1H, br s), 7.65 (1H, dd,  $J = 8.7, 2.2$  Hz), 7.56 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.7$  Hz), 7.47 (1H, br s), 7.43–7.34 (3H, m), 5.01 (2H, s), 4.28 (2H, s), 4.21 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 1.27 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

**1-Carbamoylmethyl-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13h)**

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**36h** から標題化合物 **13h** を収率 94% で淡黄色固体として得た。

Mp 276 °C.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.09 (1H, br s), 9.02 (1H, s), 8.13 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz), 7.90 (1H, br s), 7.85 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.1$  Hz), 7.64 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6$  Hz), 7.54 (1H, br s), 7.45 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.5$  Hz), 7.40–7.36 (1H, m), 5.24 (2H, s), 4.35 (2H, s). MS (ESI)  $m/z$  405 (M + H) $^+$ . Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·0.67H<sub>2</sub>O) calcd C 54.69%, H 3.71%, N 6.71%; found C 54.75%, H 3.89%, N 7.00%.

**Compound 13l**

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(3-hydroxypropyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13l)**

**35j** から **13k** を合成した方法と同様にして、**35j** と 3-chloropropyl acetate から標題化合物 **13l** を収率 21% で得た。

Mp 205–208 °C.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.16 (1H, br s), 8.96 (1H, s), 8.14 (1H, s), 8.00 (1H, d,  $J = 6.7$  Hz), 7.86–7.83 (1H, m), 7.57 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz), 7.46–7.44 (1H, m), 7.40–7.36 (1H, m), 4.68 (1H, br s), 4.61–4.58 (2H, m), 4.36 (2H, s), 3.47–3.44 (2H, m), 1.97–1.94 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  406 (M + H) $^+$ . Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 59.13%, H 4.22%, N 3.45%; found C 58.99%, H 4.19%, N 3.33%.

**Compound 13m**

**2-Chloro-3-fluorobenzyl alcohol (40)**

アルゴン雰囲気下、2-chloro-3-fluorobenzoic acid (**39**) (5.11 g, 29.3 mmol) の THF (18 mL) 懸濁液に、1.0 M borane THF complex THF 溶液 (45 mL, 45 mmol) を -15 °C で 40 分間以上かけて滴下した。反応液を室温で 1 時間攪拌後、さらに 50 °C で 2 時間加熱攪拌した。反応液に 0 °C で飽和重曹水を加え、室温で終夜攪拌した後、AcOEt で抽出した。有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 4/1) で精製することにより、標題化合物 **40** (4.53 g, 収率 96%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.29–7.21 (2H, m), 7.11–7.06 (1H, m), 4.79 (2H, s), 2.02 (1H, s).

**2-Chloro-3-fluorobenzyl bromide (29k)**

アルゴン雰囲気下、**40** (3.55 g, 22.1 mmol) と Et<sub>3</sub>N (4.6 mL, 33 mmol) の THF (18 mL) 溶液に、methanesulfonyl chloride (2.05 mL, 26 mmol) の THF (12 mL) 溶液を 0 °C で 35 分間以上かけて滴下し、0 °C で 25 分間攪拌後、さらに 50 °C で 2 時間加熱攪拌した。反応液に無水 LiBr (9.6 g, 110 mmol) の THF (30 mL) 溶液を 0 °C で 15 分間以上かけて滴下し、



同温で1時間攪拌した。反応液を氷水に加え、AcOEtで抽出した。有機層を5% KHSO<sub>4</sub>水溶液、飽和重曹水、飽和食塩水の順で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥後、減圧下濃縮することにより、標題化合物 **29k** (4.93 g, 収率 99%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.31–7.24 (2H, m), 7.20–7.14 (1H, m), 4.65 (2H, s).

**6-(2-Chloro-3-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35k)**

**29j** から **35j** を合成した方法と同様にして、**29k** と **30** から標題化合物 **35k** を収率 74% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.32 (1H, br s), 8.51 (1H, s), 7.91 (1H, s), 7.61–7.55 (2H, m), 7.42–7.25 (3H, m), 4.25 (2H, s), 4.20 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 1.26 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

**1-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethyl)-6-(2-chloro-3-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36m)**

**35j** から **36k** を合成した方法と同様にして、**35k** と (2-bromoethoxy)-*tert*-butyldimethylsilane から標題化合物 **36m** を定量的に得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.53 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.81 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.64 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.42–7.25 (3H, m), 4.50 (2H, t, *J* = 4.2 Hz), 4.28 (2H, s), 4.19 (2H, q, *J* = 7.0 Hz), 3.88 (2H, t, *J* = 4.2 Hz), 1.25 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 0.71 (9H, s), –0.25 (6H, s).

**6-(2-Chloro-3-fluorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13m)**

**36m** (1.17 g, 2.00 mmol) の THF (20 mL) 溶液に 0 °C で 1.0 M tetrabutylammonium fluoride THF 溶液 (2.2 mL, 2.2 mmol) をゆっくり滴下し、同温で 15 分間攪拌した。反応液に EtOH (20 mL) と 2 M NaOH 水溶液 (10 mL, 20 mmol) を加え、1 時間加熱還流した。放冷した反応液に水 (50 mL)、次いで 1 M HCl 水溶液 (50 mL, 50 mmol) を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **13m** (653 mg, 収率 87%) を得た。

Mp 227–228 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.25 (1H, br s), 8.90 (1H, s), 8.19 (1H, s), 8.08–8.05 (1H, m), 7.88–7.80 (1H, m), 7.45–7.29 (3H, m), 5.03 (1H, br s), 4.68–4.57 (2H, m), 4.39 (2H, s), 3.82–3.73 (2H, m). MS (ESI) *m/z* 376 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 60.73%, H 4.02%, N 3.73%; found C 60.79%, H 4.06%, N 3.77%.

## Compound 13n

**6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (35l)**

**29j** から **35j** を合成した方法と同様にして、3-chloro-2-fluorobenzyl bromide (**29l**) と **30** から標題化合物 **35l** を収率 16% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.51 (1H, s), 7.96 (1H, s), 7.61–7.55 (2H, m), 7.50–7.45 (1H, m), 7.38–7.33 (1H, m), 7.20 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 4.20 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.16 (2H, s), 1.27 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

**1-(2-*tert*-Butyldimethylsilyloxyethyl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (36n)**

**35j** から **36k** を合成した方法と同様にして、**35i** と (2-bromoethoxy)-*tert*-butyldimethylsilane から標題化合物 **36n** を収率 53% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.48 (1H, s), 8.42 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 7.51 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.4$  Hz), 7.37 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.29–7.23 (1H, m), 7.10–7.04 (1H, m), 7.02–6.96 (1H, m), 4.38 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.28 (2H, t,  $J = 5.0$  Hz), 4.13 (2H, s), 3.96 (2H, t,  $J = 5.0$  Hz), 1.39 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz), 0.78 (9H, s), –0.14 (6H, s).

**6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13n)**

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**36n** から標題化合物 **13n** を収率 80% で得た。

Mp 225–226 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.87 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.04–8.01 (1H, m), 7.85–7.82 (1H, m), 7.51–7.46 (1H, m), 7.43–7.38 (1H, m), 7.24–7.19 (1H, m), 5.00 (1H, br s), 4.61 (2H, t,  $J = 5.1$  Hz), 4.26 (2H, s), 3.80–3.71 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  376 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClFNO}_4$ ) calcd C 60.73%, H 4.02%, N 3.73%; found C 60.34%, H 3.85%, N 3.66%.

## Scheme 5. Synthesis of 13i

**1-(3-Acetoxypropyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (41)**

**13i** (203 mg, 0.50 mmol) と acetic anhydride (0.094 mL, 1.00 mmol) の AcOH (2.0 mL) 溶液に NaOAc (12.3 mg, 0.15 mmol) を加え、4.5 時間加熱還流した。放冷した反応液に水を加え、AcOEt で抽出した。有機層を水洗し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥後、減圧下濃縮することにより、標題化合物 **41** (160 mg, 収率 74%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.79 (1H, s), 8.36 (1H, s), 7.72–7.69 (1H, m), 7.62–7.59 (1H, m), 7.42–7.38 (1H, m), 7.27–7.16 (2H, m), 4.82 (2H, t,  $J = 7.0$  Hz), 4.32 (2H, s), 4.18 (2H, t,  $J = 5.5$  Hz), 2.30–2.25 (2H, m), 2.08 (3H, s).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(3-hydroxypropyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid *tert*-butyl ester (42)**

**41** (160 mg, 0.37 mmol) のトルエン (2.0 mL) 溶液に *N,N*-dimethylformamide di-*tert*-butyl acetal (0.50 mL, 2.00 mmol) を加え、2 時間加熱還流した。反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を 1 M HCl 水溶液、水 (3 回) の順で洗浄した。 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣を THF/MeOH (1.0 mL/1.0 mL) に溶解し、 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (276 mg, 2.00 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水洗し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt} = 4/1$ ) で精製することにより、標題化合物 **42** (90mg, 収率 54%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.45 (1H, s), 8.36 (1H, br s), 7.50–7.44 (2H, m), 7.37–7.32 (1H, m), 7.12–7.08 (2H, m), 4.34 (2H, t,  $J = 7.0$  Hz), 4.23 (2H, s), 3.72 (2H, t,  $J = 5.5$  Hz), 2.26 (1H, br s), 2.13–2.05 (2H, m), 1.59 (9H, s).

#### **1-(2-Carbamoylethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13i)**

**42** のアセトン/1,4-ジオキサン (2.0 mL/2.0 mL) 溶液に Jones 試薬 (0.68 mL) を 0 °C で加え、同温で 30 分間攪拌した後、反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水洗 (2 回) した。Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣を DMF (1.0 mL) に溶解し、Et<sub>3</sub>N (0.012 mL, 0.09 mmol)、4-dimethylaminopyridine (10 mg, 0.08 mmol)、NH<sub>4</sub>Cl (5.0 mg, 0.09 mmol) および 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (16 mg, 0.08 mmol) を加え、室温で 16 時間攪拌した。反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を 1 M HCl 水溶液、水 (3 回) の順で洗浄した。Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣を蟻酸 (1.0 mL) に溶解し、70 °C で 2 時間加熱攪拌後、減圧下濃縮した。残渣に Et<sub>2</sub>O を加え、析出した固体をろ取することにより標題化合物 **13i** (6.0 mg, 収率 15%) を白色固体として得た。

Mp 240 °C.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.93 (1H, s), 8.15 (1H, s), 8.02–7.99 (1H, m), 7.88–7.83 (1H, m), 7.59–7.56 (1H, m), 7.48–7.45 (1H, m), 7.42–7.36 (2H, m), 6.97 (1H, br s), 4.73 (2H, t,  $J = 3.9$  Hz), 4.37 (2H, s), 2.67 (2H, t,  $J = 3.9$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  419 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.67\text{H}_2\text{O}$ ) calcd C 55.69%, H 4.05%, N 6.49%; found C 55.74%, H 3.85%, N 6.18%.

### **Scheme 6. Syntheses of 13g and 13j**

#### **Compound 13g**

#### **1-(2-tert-Butoxycarbonylethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (43)**

**35j** (700 mg, 1.86 mmol) と Triton B (0.15 mL, 40 wt% MeOH 溶液) の DMF (150 mL) 溶液に acrylic acid *tert*-butyl ester (2.67 mL, 18.62 mmol) を加え、90 °C で 2 時間加熱攪拌した。放冷した反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水 (2 回)、飽和食塩水の順で洗浄した。MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 50/1$ ) で精製することにより、標題化合物 **43** (468 mg, 収率 50%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.54 (1H, s), 8.38 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz), 7.52 (1H, dd,  $J = 8.7, 2.2$  Hz), 7.37–7.34 (2H, m), 7.14 (1H, d,  $J = 3.9$  Hz), 7.13 (1H, s), 4.44 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz), 4.39 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.26 (2H, s), 2.80 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz), 1.43 (9H, s), 1.40 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

**1-(2-Carboxyethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (44)**

**43** (428 mg, 0.85 mmol) の  $\text{CHCl}_3$  (3.4 mL) 溶液に trifluoroacetic acid (3.3 mL) を加え、室温で 1.5 時間攪拌後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$ ) で精製することにより、標題化合物 **44** (363 mg, 収率 96%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.27 (1H, s), 8.42 (1H, s), 7.89 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.0$  Hz), 7.85 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.45 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.9$  Hz), 7.26–7.22 (1H, m), 7.20 (1H, dd,  $J = 7.7, 2.1$  Hz), 4.90 (2H, t,  $J = 6.3$  Hz), 4.49 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.39 (2H, s), 3.10 (2H, t,  $J = 6.3$  Hz), 1.45 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz).

**1-(2-Carboxyethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13g)**

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**44** から標題化合物 **13g** を収率 94% で白色固体として得た。

Mp 238 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.13 (1H, br s), 9.01 (1H, s), 8.14 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz), 8.00 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz), 7.84 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.1$  Hz), 7.58 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.6$  Hz), 7.46 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.6$  Hz), 7.40–7.36 (1H, m), 4.73 (2H, t,  $J = 6.7$  Hz), 4.36 (2H, s), 2.83 (2H, t,  $J = 6.7$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  419 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_5$ ) calcd C 57.16%, H 3.60%, N 3.33%; found C 57.17%, H 3.60%, N 3.39%.

**Compound 13j**

**Methanesulfonic acid 2-tert-butoxycarbonylaminoethyl ester (46)**

*N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-2-aminoethanol (**45**) (1.61 g, 10.0 mmol) の  $\text{Et}_2\text{O}$  (8.0 mL) 溶液に  $\text{Et}_3\text{N}$  (3.1 mL, 22.0 mmol) を加え、さらに 0 °C で methanesulfonyl chloride (0.85 mL, 11.0 mmol) をゆっくり滴下し、0 °C で 30 分間攪拌した。反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順で洗浄した。 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥後、減圧下濃縮することにより、標題化合物 **46** (2.44 g, 定量的) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.91 (1H, br s), 4.31 (2H, t,  $J = 5.2$  Hz), 3.52–3.50 (2H, m), 3.05 (3H, s), 1.47 (9H, s).

**1-(2-tert-Butoxycarbonylaminoethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (47)**

**35j** から **36k** を合成した方法と同様にして、**35j** と **46** から標題化合物 **47** を収率 66% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.41–8.40 (2H, m), 7.54 (2H, s), 7.39–7.37 (1H, m), 7.16–7.15 (1H, m), 4.74 (1H, br s), 4.40 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.35 (2H, t,  $J = 4.3$  Hz), 4.28 (2H, s), 3.54 (2H, dt,  $J = 6.1, 4.3$  Hz), 1.45 (9H, s), 1.42 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

**1-(2-Aminoethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (48)**

**47** (683 mg, 1.28 mmol) の  $\text{CHCl}_3$  (40 mL) 溶液に trifluoroacetic acid (20 mL) 加え、室温で 2.5 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、残渣に  $\text{NaHCO}_3$  水溶液を加え、 $\text{AcOEt}/\text{THF}$  (1/1) で抽出した。有機層を水、飽和食塩水の順で洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 50/1 \rightarrow 20/1 \rightarrow 10/1$ ) で精製することにより、標題化合物 **48** (271 mg, 51%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.59 (1H, s), 7.98 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz), 7.78 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.63 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.1$  Hz), 7.56 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.7$  Hz), 7.42 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.7$  Hz), 7.36 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz), 4.30–4.25 (4H, m), 4.20 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 2.88 (2H, t,  $J = 5.9$  Hz), 1.85 (1H, br s), 1.26 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

**1-(2-Aminoethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (13j)**

**46** (269 mg, 0.64 mmol) の  $\text{EtOH}$  (10 mL) 溶液に 1 M  $\text{NaOH}$  水溶液 (10 mL) を加え、30 分間加熱還流した。放冷した反応液に水を加えて希釈し、 $\text{AcOH}$  (1.75 mL) を加え、室温で終夜攪拌した。析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **13j** (237 mg, 収率 87%) を白色固体として得た。

Mp 210 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.92 (1H, s), 8.14 (1H, s), 8.02 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz), 7.83–7.77 (1H, m), 7.59–7.56 (1H, m), 7.47–7.46 (1H, m), 7.41–7.35 (1H, m), 4.48 (2H, t,  $J = 5.4$  Hz), 4.36 (2H, s), 2.93 (2H, t,  $J = 5.4$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  391 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) calcd C 53.41%, H 4.72%, N 6.56%; found C 53.52%, H 4.81%, N 6.48%.

**Scheme 7. Syntheses of 14a–c**

**Compound 14a**

**2,6-Difluoro-3-iodobenzoic acid (50a)**

2,6-Difluorobenzoic acid (**49a**) (5.00 g, 31.6 mmol) の trifluoromethanesulfonic acid (25 mL) 溶液に *N*-iodosuccinimide (6.40 g, 28.4 mmol) を 0 °C で少しずつ加え、同温で 4 時間攪拌した。反応液を氷水に加え、さらに  $\text{NaHSO}_3$  水溶液を加え、析出した固体をろ取することにより、標題化合物 **50a** (6.98 g, 定量的) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.05–7.98 (1H, m), 7.14–7.08 (1H, m).

**2-(2,6-Difluoro-3-iodobenzoyl)-3-(2-hydroxyethylamino)acrylic acid ethyl ester (51a)**

**50a** (2.84 g, 10.00 mmol) のトルエン (15 mL) 溶液に oxalyl chloride (1.75 mL, 20.06 mmol) と DMF (0.05 mL) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、減圧下濃縮した。残渣を THF (10 mL) に溶解し、ethyl 3-(dimethylamino)acrylate (1.58 g, 11.04 mmol) と  $\text{Et}_3\text{N}$  (1.68 mL, 12.05 mmol) の THF (10 mL) 溶液を滴下した後、50 °C で終夜加熱攪拌した。反応液をろ過後、ろ液に THF (10 mL) と 2-aminoethanol (0.72 mL, 12.00 mmol) を加え、50 °C で 3 時間加熱攪拌した。反応液に水を加え、 $\text{AcOEt}$  で抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順で洗浄した。

MgSO<sub>4</sub>で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/AcOEt = 4/1) で精製することにより、標題化合物 **51a** (2.52 g, 収率 59%) を得た。

**3-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethylamino)-2-(2,6-difluoro-3-iodobenzoyl)acrylic acid ethyl ester (52a)**

**51a** (2.51 g, 5.90 mmol) と imidazole (884 mg, 12.98 mmol) の DMF (15 mL) 溶液に *tert*-butyldimethylchlorosilane (1.87 g, 12.40 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順で洗浄した。MgSO<sub>4</sub>で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 4/1 → 7/3) で精製することにより、標題化合物 **52a** (2.35 g, 収率 74%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 11.23–11.06 (1H, m), 8.18 (1H, d, *J* = 14.2 Hz), 7.67–7.61 (1H, m), 6.73–6.69 (1H, m), 4.05–3.97 (2H, m), 3.82–3.78 (2H, m), 3.56–3.50 (2H, m), 1.01 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 0.90 (9H, s), 0.07 (6H, s).

**1-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethyl)-5-fluoro-6-iodo-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (53a)**

**52a** (1.08 g, 2.00 mmol) の THF (10 mL) 溶液に 0 °C で 60% NaH (0.12 g, 3.00 mmol) を加え、同温で 1 時間攪拌した。反応液に AcOEt を加え、水、飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液、飽和食塩水の順で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥後、減圧下濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 3/2 → 1/2) で精製することにより、標題化合物 **53a** (280 mg, 収率 27%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.37 (1H, s), 7.90 (1H, dd, *J* = 9.2, 5.9 Hz), 7.03–7.00 (1H, m), 4.36 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 4.26 (2H, t, *J* = 4.8 Hz), 3.94 (2H, t, *J* = 4.8 Hz), 1.38 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 0.80 (9H, s), -0.11 (6H, s).

**1-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-5-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (54a)**

**29j** と **30** から **33j** を合成した方法と同様にして、**29j** と **53a** から標題化合物 **54a** を粗生成物として得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.39 (1H, s), 7.74 (1H, s), 7.41–7.32 (2H, m), 7.21–7.09 (3H, m), 6.58–6.54 (1H, m), 4.37 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.27–4.21 (2H, m), 3.94 (2H, t, *J* = 4.9 Hz), 1.38 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 0.79 (9H, s), -0.12 (6H, s).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-5-fluoro-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14a)**

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**54a** から標題化合物 **14a** を収率 19% (**53a** からの収率) で白色固体として得た。

Mp 239 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.86 (1H, s), 7.84–7.81 (1H, m), 7.73–7.68 (1H, m), 7.58 (1H, dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz), 7.38–7.29 (2H, m), 5.05–4.96 (1H, m), 4.58 (2H, t, *J* = 4.8 Hz), 4.29 (2H,

s), 3.77–3.69 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  410 ( $M + H$ )<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>FNO<sub>4</sub>) calcd C 55.63%, H 3.44%, N 3.41%; found C 55.76%, H 3.52%, N 3.40%.

## Compound 14b

### 2,4-Difluoro-5-iodobenzoic acid (50b)

49a から 50a を合成した方法と同様にして、trifluoromethanesulfonic acid の代わりに濃硫酸を用い、2,4-difluorobenzoic acid (49b) から標題化合物 50b を定量的に得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.53 (1H, br s), 8.28–8.24 (1H, m), 7.50–7.45 (1H, m).

### 2-(2,4-Difluoro-5-iodobenzoyl)-3-(2-hydroxyethylamino)acrylic acid ethyl ester (51b)

50b (3.00 g, 10.56 mmol) のトルエン (10 mL) 溶液に SOCl<sub>2</sub> (3.00 mL, 41.12 mmol)、DMF (0.02 mL) の順に加え、30 分間加熱還流し、放冷後、減圧下濃縮した。残渣を THF (15 mL) に溶解し、ethyl 3-(dimethylamino)acrylate (1.66 g, 11.61 mmol) と Et<sub>3</sub>N (1.77 mL, 12.68 mmol) の THF (10 mL) 溶液に滴下した後、50 °C で 2.5 時間加熱攪拌した。反応液をろ過後、ろ液に THF (10 mL) と 2-aminoethanol (0.77 mL, 12.68 mmol) を加え、40 °C で 30 分間加熱攪拌した。反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順で洗浄した。MgSO<sub>4</sub> で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (n-hexane/AcOEt = 4/1) で精製することにより、標題化合物 51b (3.00 g, 収率 67%) を得た。

### 3-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethylamino)-2-(2,4-difluoro-5-iodobenzoyl)acrylic acid ethyl ester (52b)

51a から 52a を合成した方法と同様にして、51b から標題化合物 52b を収率 85% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 10.91 (1H, br s), 8.12 (1H, d,  $J = 14.1$  Hz), 7.74–7.69 (1H, m), 6.81–6.75 (1H, m), 4.05 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 3.80–3.77 (2H, m), 3.56–3.49 (2H, m), 1.08 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 0.90 (9H, s), 0.07 (6H, s).

### 1-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethyl)-7-fluoro-6-iodo-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (53b)

52a から 53a を合成した方法と同様にして、52b から標題化合物 53b を収率 81% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.93 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz), 8.47 (1H, s), 7.14 (1H, d,  $J = 9.3$  Hz), 4.38 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.24–4.21 (2H, m), 3.98–3.95 (2H, m), 1.39 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 0.80 (9H, s), –0.11 (6H, s).

**1-(2-*tert*-Butyldimethylsilyloxyethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-7-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (54b)**

29j と 30 から 33j を合成した方法と同様にして、29j と 53b から標題化合物 54b を収率 45% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.47 (1H, s), 8.30 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.40–7.34 (1H, m), 7.16–7.06 (3H, m), 4.37 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.25–4.20 (4H, m), 4.00–3.94 (2H, m), 1.38 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 0.79 (9H, s), 0.00 (3H, s), -0.11 (3H, s).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-7-fluoro-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14b)**

36m から 13m を合成した方法と同様にして、54b から標題化合物 14b を収率 91% で白色固体として得た。

Mp 271 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  14.99 (1H, br s), 8.88 (1H, s), 8.11–8.03 (2H, m), 7.63–7.60 (1H, m), 7.41–7.34 (2H, m), 5.04–4.97 (1H, m), 4.62–4.54 (2H, m), 4.34 (2H, s), 3.80–3.70 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  410 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ . Anal. ( $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{FNO}_4$ ) calcd C 55.63%, H 3.44%, N 3.41%; found C 55.31%, H 3.52%, N 3.44%.

**Compound 14c**

**2,3-Difluoro-5-iodobenzoic acid (50c)**

49a から 50a を合成した方法と同様にして、2,3-difluorobenzoic acid (49c) から標題化合物 50c を収率 84% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.12–8.09 (1H, m), 7.77–7.71 (1H, m).

**2-(2,3-Difluoro-5-iodobenzoyl)-3-(2-hydroxyethylamino)acrylic acid ethyl ester (51c)**

50b から 51b を合成した方法と同様にして、50c から標題化合物 (51c) を収率 85% で得た。

**3-(2-*tert*-Butyldimethylsilyloxyethylamino)-2-(2,3-difluoro-5-iodobenzoyl)acrylic acid ethyl ester (52c)**

51a から 52a を合成した方法と同様にして、51c から標題化合物 52c を収率 91% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.89 (1H, br s), 8.07 (1H, d,  $J = 14.1$  Hz), 7.44–7.36 (1H, m), 7.32–7.30 (1H, m), 3.97 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 3.74–3.71 (2H, m), 3.49–3.42 (2H, m), 1.00 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 0.00 (3H, s), -0.07 (3H, s).

**1-(2-*tert*-Butyldimethylsilyloxyethyl)-8-fluoro-6-iodo-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (53c)**

52a から 53a を合成した方法と同様にして、52c から標題化合物 53c を収率 92% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.69 (1H, dd,  $J = 1.9, 1.1$  Hz), 8.40 (1H, s), 7.69 (1H, dd,  $J = 13.6, 1.9$  Hz), 4.43 (2H, dd,  $J = 8.7, 4.1$  Hz), 4.37 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 3.96–3.91 (2H, m), 1.38 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz), 0.79 (9H, s), -0.12 (6H, s).



**1-(2-tert-Butyldimethylsilyloxyethyl)-6-(2,3-dichlorobenzyl)-8-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (54c)**

**29j** と **30** から **33j** を合成した方法と同様にして、**29j** と **53c** から標題化合物 **54c** を収率 53% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.39 (1H, s), 8.22 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz), 7.38 (1H, dd,  $J = 7.2, 2.6$  Hz), 7.21 (1H, dd,  $J = 15.4, 2.3$  Hz), 7.17–7.12 (2H, m), 4.43 (2H, q,  $J = 4.3$  Hz), 4.37 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 4.23 (2H, s), 3.97–3.90 (2H, m), 1.38 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz), 0.79 (9H, s), –0.14 (6H, s).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-8-fluoro-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14c)**

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**54c** から標題化合物 **14c** を収率 93% で白色固体として得た。

Mp 235 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  14.83 (1H, br s), 8.81 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.79 (1H, dd,  $J = 15.8, 1.9$  Hz), 7.60 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.9$  Hz), 7.48 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.5$  Hz), 7.42–7.37 (1H, m), 5.00 (1H, t,  $J = 5.7$  Hz), 4.69–4.62 (2H, m), 4.35 (2H, s), 3.81–3.74 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  410 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{FNO}_4$ ) calcd C 55.63%, H 3.44%, N 3.41%; found C 55.67%, H 3.52%, N 3.40%.

## Scheme 8. Syntheses of 14d–i

### Compound 14d

#### 1-Iodo-2-methoxy-4-nitrobenzene (56d)

2-Methoxy-4-nitroaniline (**55d**) (4.00 g, 23.79 mmol) を 6 M HCl 水溶液 (40 mL) に懸濁し、攪拌下、0 °C で懸濁液に  $\text{NaNO}_2$  (1.73 g, 24.98 mmol) の水 (3.5 mL) 溶液を滴下し、同温で 30 分間攪拌した。反応液に NaI (3.75 g, 24.98 mmol) の水 (3.8 mL) 溶液をゆっくり滴下し、室温で 1 時間攪拌した。反応液を 10%  $\text{NaHSO}_3$  水溶液に加え、析出した固体をろ取り、EtOH/アセトンから再結晶することにより標題化合物 **56d** (2.62 g, 収率 39%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.09 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.69 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz), 7.60 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.4$  Hz), 3.97 (3H, s).

#### 6-(2,3-Dichlorobenzyl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (57d)

**29j** と **30** から **35j** を合成した方法と同様にして、**29j** と **56d** から標題化合物 **57d** を収率 36% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.11 (1H, br s), 8.48–8.44 (1H, m), 7.59 (1H, s), 7.57 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz), 7.35–7.31 (1H, m), 7.21 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.6$  Hz), 7.06 (1H, s), 4.17 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.13 (2H, s), 3.91 (3H, s), 1.25 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14d)**

**35j** から **13k** を合成した方法と同様にして、**57d** から標題化合物 **14d** を収率 65%で淡黄色固体として得た。

Mp 288 °C.  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.40 (1H, s), 8.80 (1H, s), 7.83 (1H, s), 7.59 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz), 7.37–7.33 (2H, m), 7.25 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 5.04 (1H, t,  $J = 5.7$  Hz), 4.65 (2H, t,  $J = 4.8$  Hz), 4.20 (2H, s), 4.03 (3H, s), 3.81 (2H, dt,  $J = 5.0, 2.5$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  422 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>) calcd C 56.89%, H 4.06%, N 3.32%; found C 56.80%, H 4.22%, N 3.32%.

**Compound 14e**

**2-Chloro-1-Iodo-4-nitrobenzene (56e)**

**55d** から **56d** を合成した方法と同様にして、2-chloro-4-nitroaniline (**55e**) から標題化合物 **56e** を収率 54%で得た。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.35 (1H, d,  $J = 2.6$  Hz), 8.27 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.89 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.6$  Hz).

**7-Chloro-6-(2,3-dichlorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14e)**

**29j** と **30** から **13k** を合成した方法と同様にして、**29j** と **56e** から標題化合物 **14e** を収率 8%で得た。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.87 (1H, br s), 8.89 (1H, s), 8.32 (1H, s), 8.00 (1H, s), 7.62 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz), 7.39–7.35 (1H, m), 7.20 (1H, dd,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 5.02 (1H, t,  $J = 5.6$  Hz), 4.64 (2H, t,  $J = 4.9$  Hz), 4.40 (2H, s), 3.76 (2H, dd,  $J = 10.1, 5.5$  Hz); MS (ESI)  $m/z$  426 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 53.48%, H 3.31%, N 3.28%; found C 53.28%, H 3.27%, N 3.28%.

**Compound 14f**

**1-Iodo-2-methyl-4-nitrobenzene (56f)**

**55d** から **56d** を合成した方法と同様にして、2-methyl-4-nitroaniline (**55f**) から標題化合物 **56f** を収率 72%で得た。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.18 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz), 8.13 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.76 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.8$  Hz), 2.50 (3H, s).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (57f)**

**29j** と **30** から **35j** を合成した方法と同様にして、**29j** と **56f** から標題化合物 **57f** を収率 34%で得た。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.22 (1H, br s), 8.46 (1H, d,  $J = 6.0$  Hz), 7.59 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz), 7.56 (1H, s), 7.43 (1H, s), 7.37–7.33 (1H, m), 7.13 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.5$  Hz), 4.22–4.15 (4H, m), 2.38 (3H, s), 1.25 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14f)**

**35j** から **13k** を合成した方法と同様にして、**57f** から標題化合物 **14f** を収率 36%で白色固体として得た。

Mp 286 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.23 (1H, br s), 8.82 (1H, s), 7.96 (1H, s), 7.79 (1H, s), 7.62 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz), 7.39–7.35 (1H, m), 7.17 (1H, dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz), 5.02 (1H, t, *J* = 5.6 Hz), 4.64–4.59 (2H, m), 4.29 (2H, s), 3.80–3.75 (2H, m), 2.50 (3H, s). MS (ESI) *m/z* 406 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 59.13%, H 4.22%, N 3.45%; found C 59.00%, H 4.16%, N 3.47%.

**Compound 14g**

**1-Iodo-4-nitro-2-trifluoromethylbenzene (56g)**

**55d** から **56d** を合成した方法と同様にして、4-nitro-2-(trifluoromethyl)aniline (**55g**) から標題化合物 **56g** を収率 27%で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.45 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.36 (1H, d, *J* = 2.6 Hz), 8.16 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-4-oxo-7-trifluoromethyl-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (57g)**

**29j** と **30** から **35j** を合成した方法と同様にして、**29j** と **56g** から標題化合物 **57g** を収率 23%で得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.55–12.49 (1H, m), 8.68 (1H, d, *J* = 6.3 Hz), 8.09 (1H, s), 7.71 (1H, s), 7.64 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz), 7.41–7.37 (1H, m), 7.22 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz), 4.39 (2H, s), 4.20 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 1.26 (3H, t, *J* = 7.1 Hz).

**6-(2,3-Dichlorobenzyl)-7-trifluoromethyl-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14g)**

**35j** から **13k** を合成した方法と同様にして、**57g** から標題化合物 **14g** を収率 42%で白色固体として得た。

Mp 246–248 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 14.62 (1H, br s), 9.00 (1H, s), 8.40 (1H, s), 7.95 (1H, s), 7.65 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz), 7.42–7.39 (1H, m), 7.25 (1H, dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz), 5.06 (1H, t, *J* = 5.6 Hz), 4.75 (2H, t, *J* = 4.9 Hz), 4.48 (2H, s), 3.82–3.77 (2H, m). MS (ESI) *m/z* 460 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>) calcd C 52.20%, H 3.07%, N 3.04%; found C 52.18%, H 3.07%, N 3.06%.

**Compound 14h**

**2-Iodo-5-nitrobenzotrile (56h)**

**55d** から **56d** を合成した方法と同様にして、2-amino-5-nitrobenzotrile (**55h**) から標題化合物 **56h** を収率 51%で得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.69 (1H, d,  $J$  = 2.8 Hz), 8.35 (1H, d,  $J$  = 8.8 Hz), 8.18 (1H, dd,  $J$  = 8.7, 2.7 Hz).

#### **7-Cyano-6-(2,3-dichlorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14h)**

**29j** と **30** から **13k** を合成した方法と同様にして、**29j** と **56h** から標題化合物 **14h** を収率 2% で白色固体として得た。

Mp 265 °C.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.96 (1H, s), 8.79 (1H, s), 8.07 (1H, s), 7.64 (1H, dd,  $J$  = 8.0, 1.5 Hz), 7.43–7.39 (1H, m), 7.32 (1H, dd,  $J$  = 7.7, 1.6 Hz), 5.01 (1H, t,  $J$  = 5.6 Hz), 4.68 (2H, t,  $J$  = 4.9 Hz), 4.52 (2H, s), 3.79–3.74 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  417 (M + H) $^+$ . Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) calcd C 57.57%, H 3.38%, N 6.71%; found C 57.27%, H 3.53%, N 6.71%.

#### **Compound 14i**

#### **6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (57i)**

**29j** と **30** から **35j** を合成した方法と同様にして、3-chloro-2-fluorobenzyl bromide (**29l**) と **56d** から標題化合物 **57i** を収率 16% で得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.10 (1H, br s), 8.48–8.45 (1H, m), 7.76 (1H, s), 7.51–7.43 (1H, m), 7.21–7.15 (2H, m), 7.05 (1H, m), 4.18 (2H, q,  $J$  = 7.1 Hz), 4.04 (2H, s), 3.90 (3H, s), 1.26 (3H, t,  $J$  = 7.1 Hz).

#### **6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (14i)**

**35j** から **13k** を合成した方法と同様にして、**57i** から標題化合物 **14i** を収率 33% で白色固体として得た。

Mp 253–255 °C.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  15.45 (1H, br s), 8.80 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.50–7.46 (1H, m), 7.31 (1H, s), 7.26–7.16 (2H, m), 5.03 (1H, t,  $J$  = 5.6 Hz), 4.64 (2H, t,  $J$  = 4.8 Hz), 4.12 (2H, s), 4.01 (3H, s), 3.84–3.77 (2H, m). MS (ESI)  $m/z$  406 (M + H) $^+$ . Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>ClFNO<sub>5</sub>) calcd C 59.20%, H 4.22%, N 3.45%; found C 59.05%, H 4.22%, N 3.42%.

### **Scheme 9. Syntheses of 15a–h**

#### **Compound 15e**

#### **1-((2S)-1-Hydroxy-3-methylbutan-2-yl)-6-iodo-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (60e)**

Step 1 : 2-Fluoro-5-iodobenzoic acid (**58**) (3.00 g, 11.28 mmol) のトルエン (30 mL) 溶液に SOCl<sub>2</sub> (4.1 mL, 56.21 mmol)、DMF (0.02 mL) の順で加え、1.5 時間加熱還流し、放冷後、減圧下濃縮した。残渣を THF (20 mL) に溶解し、ethyl 3-(dimethylamino)acrylate (1.78 g, 12.43 mmol) と Et<sub>3</sub>N (1.89 mL, 13.56 mmol) の THF (20 mL) 溶液に滴下した後、50 °C で 2.5 時間加熱攪拌した。放冷した反応液に水を加え、AcOEt で抽出し、有機層を水、飽

和食塩水の順で洗浄した。MgSO<sub>4</sub>で乾燥後、減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (*n*-hexane/AcOEt = 2/1 → 1/1) で精製することにより、3-dimethylamino-2-(2-fluoro-5-iodobenzoyl)acrylic acid ethyl ester (**59**) (2.30 g, 収率 52%) を得た。

Step 2: **59** (300 mg, 0.77 mmol) の THF (1.5 mL) 溶液に (*S*)-(+)-2-amino-3-methyl-1-butanol (0.10 mL, 0.920 mmol) を加え、60 °C で 1.5 時間加熱攪拌し、放冷後、減圧下濃縮した。

残渣を DMF (1.2 mL) に溶解し、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (318 mg, 2.30 mmol) を加え、70 °C で 4 時間加熱攪拌した。反応液に 1 M HCl 水溶液を加えて酸性とした後、析出した固体をろ取り、EtOH/Et<sub>2</sub>O (2.0 mL/4.0 mL)、*n*-hexane/Et<sub>2</sub>O (3.3 mL/1.7 mL) の順で洗浄することにより、標題化合物 **60e** (280 mg, 収率 85%) を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.65 (1H, s), 7.93–7.89 (2H, m), 7.34 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 5.38 (1H, br s), 4.40–4.15 (5H, m), 2.61–2.48 (1H, m), 1.40 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.25 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.74 (3H, d, *J* = 6.6 Hz).

#### **1-((2*S*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-3-methylbutan-2-yl)-6-iodo-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**61e**)**

**51a** から **52a** を合成した方法と同様にして、**60e** から標題化合物 **61e** を収率 92% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.89 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 8.68 (1H, s), 7.90 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz), 7.30 (1H, d, *J* = 9.2 Hz), 4.43–4.35 (2H, m), 4.28–4.20 (1H, m), 4.08–4.00 (1H, m), 3.95–3.87 (1H, m), 2.53–2.36 (1H, m), 1.40 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.18 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.83 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 0.77 (9H, s), –0.05 (3H, s), –0.08 (3H, s).

#### **1-((2*S*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-3-methylbutan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**62e**)**

**29j** と **30** から **35j** を合成した方法と同様にして、3-chloro-2-fluorobenzyl bromide (**29i**) と **61e** から標題化合物 **62e** を収率 73% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.68 (1H, s), 8.44 (1H, s), 7.48 (2H, s), 7.30–7.24 (1H, m), 7.10–7.06 (1H, m), 7.02–6.96 (1H, m), 4.42–4.35 (2H, m), 4.33–4.24 (1H, m), 4.13 (2H, s), 4.07–3.99 (1H, m), 3.91–3.89 (1H, m), 2.53–2.41 (1H, m), 1.40 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.17 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.84 (3H, d, *J* = 6.3 Hz), 0.75 (9H, s), –0.07 (3H, s), –0.09 (3H, s).

#### **6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**15e**)**

**11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**62e** から標題化合物 **15e** を収率 74% で白色固体として得た。

Mp 152–153 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.21 (1H, br s), 8.92 (1H, s), 8.25 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 8.22 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.83 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.6 Hz), 7.51–7.46 (1H, m), 7.43–7.38 (1H, m), 7.24–7.19 (1H, m), 5.18 (1H, t, *J* = 4.9 Hz), 4.88–4.81 (1H, m), 4.25 (2H, s), 4.00–3.93 (1H, m), 3.79–3.72 (1H, m), 2.41–2.31 (1H, m), 1.12 (3H, d, *J* = 6.5 Hz), 0.70 (3H, d, *J* = 6.7 Hz). MS (ESI) *m/z* 418 (M + H)<sup>+</sup>. Anal.(C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 63.24%, H 5.07%, N 3.35%; found C 63.14%, H 5.03%, N 3.31%.

## Compound 15a

### 1-((2*S*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxypropan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (62a)

58 から 62e を合成した方法と同様にして、アミノアルコールに (*S*)-(+)-2-amino-1-propanol を用い、58 から 標題化合物 62a を収率 34% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.65 (1H, s), 8.44 (1H, s), 7.52 (2H, d, *J* = 1.2 Hz), 7.28–7.24 (1H, m), 7.10–7.05 (1H, m), 7.02–6.97 (1H, m), 4.91–4.82 (1H, m), 4.40 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.14 (2H, s), 3.94–3.84 (2H, m), 1.62 (3H, d, *J* = 6.7 Hz), 1.42 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 0.78 (9H, s), –0.06 (3H, s), –0.07 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-1-hydroxypropan-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (15a)

36m から 13m を合成した方法と同様にして、62a から 標題化合物 15a を収率 90% で白色固体として得た。

Mp 246–248 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.88 (1H, s), 8.24 (1H, s), 8.17 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.89–7.82 (1H, m), 7.53–7.48 (1H, m), 7.45–7.40 (1H, m), 7.26–7.20 (1H, m), 5.29–5.18 (2H, m), 4.26 (2H, s), 3.87–3.76 (2H, m), 1.53 (3H, d, *J* = 6.5 Hz). MS (ESI) *m/z* 390 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 61.63%, H 4.40%, N 3.59%; found C 61.25%, H 4.37%, N 3.52%.

## Compound 15b

### 1-((2*R*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxypropan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (62b)

58 から 62e を合成した方法と同様にして、アミノアルコールに (*R*)-(-)-2-amino-1-propanol を用い、58 から 標題化合物 62b を収率 37% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.65 (1H, s), 8.44 (1H, s), 7.52 (2H, d, *J* = 1.2 Hz), 7.29–7.24 (1H, m), 7.10–7.05 (1H, m), 7.02–6.97 (1H, m), 4.91–4.82 (1H, m), 4.40 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.14 (2H, s), 3.94–3.84 (2H, m), 1.62 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.42 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 0.78 (9H, s), –0.06 (3H, s), –0.07 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*R*)-1-hydroxypropan-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (15b)

36m から 13m を合成した方法と同様にして、標題化合物 15b を収率 89% で白色固体として得た。

Mp 247–249 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.88 (1H, s), 8.24 (1H, s), 8.16 (1H, d, *J* = 9.2 Hz), 7.89–7.81 (1H, m), 7.52–7.47 (1H, m), 7.44–7.38 (1H, m), 7.25–7.19 (1H, m), 5.25–5.17 (2H, m), 4.26 (2H, s), 3.83–3.73 (2H, m), 1.53 (3H, d, *J* = 6.8 Hz). MS (ESI) *m/z* 390 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 61.63%, H 4.40%, N 3.59%; found C 61.67%, H 4.40%, N 3.63%.

## Compound 15c

### 1-((2*S*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxybutan-2-yl)-6-iodo-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (61c)

**58** から **61e** を合成した方法と同様にして、アミノアルコールに (*S*)-(+)-2-amino-1-butanol を用い、**58** から標題化合物 **61c** を収率 58% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.86 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 8.61 (1H, s), 7.90 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 9.3 Hz), 4.62–4.53 (1H, m), 4.39 (2H, q, *J* = 7.0 Hz), 3.90 (2H, d, *J* = 4.4 Hz), 2.14–1.91 (2H, m), 1.40 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 0.97 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 0.77 (9H, s), –0.07 (3H, s), –0.09 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-1-hydroxybutan-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (15c)

**61e** から **15e** を合成した方法と同様にして、**61c** から標題化合物 **15c** を収率 56% で白色固体として得た。

Mp 224 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.24 (1H, s), 8.86 (1H, s), 8.23–8.19 (2H, m), 7.86–7.83 (1H, m), 7.51–7.46 (1H, m), 7.44–7.39 (1H, m), 7.24–7.19 (1H, m), 5.17 (1H, t, *J* = 5.4 Hz), 5.03 (1H, br s), 4.26 (2H, s), 3.92–3.70 (2H, m), 2.10–1.83 (2H, m), 0.86 (3H, t, *J* = 7.3 Hz). MS (ESI) *m/z* 404 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 62.46%, H 4.74%, N 3.47%; found C 62.34%, H 4.76%, N 3.33%.

## Compound 15d

### 1-((2*S*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxybutan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (62d)

**58** から **62e** を合成した方法と同様にして、アミノアルコールに (*S*)-(+)-2-amino-1-pentanol を用い、**58** から標題化合物 **62d** を収率 23% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.62 (1H, s), 8.44 (1H, s), 7.52 (2H, s), 7.29–7.24 (1H, m), 7.10–7.05 (1H, m), 7.02–6.98 (1H, m), 4.76–4.67 (1H, m), 4.41 (2H, q, *J* = 7.0 Hz), 4.14 (2H, s), 3.95–3.84 (2H, m), 2.03–1.92 (2H, m), 1.42 (3H, q, *J* = 5.6 Hz), 1.40–1.34 (2H, m), 0.97 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 0.76 (9H, s), –0.06 (3H, s), –0.10 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-1-hydroxybutan-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (15d)

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**62d** から標題化合物 **15d** を収率 65% で淡黄色固体として得た。

Mp 160–161 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.22 (1H, br s), 8.85 (1H, s), 8.24–8.18 (2H, m), 7.83 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.51–7.46 (1H, m), 7.43–7.38 (1H, m), 7.23–7.19 (1H, m), 5.19–5.10 (2H, m), 4.25 (2H, s), 3.86–3.71 (2H, m), 2.02–1.83 (2H, m), 1.35–1.16 (2H, m), 0.87 (3H, t, *J* = 7.4 Hz). MS (ESI) *m/z* 418 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 63.24%, H 5.07%, N 3.35%; found C 62.99%, H 5.06%, N 3.27%.

## Compound 15f

### 1-((2*S*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-3,3-dimethylbutan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (62f)

**58** から **62e** を合成した方法と同様にして、アミノアルコールとして (*S*)-2-amino-3,3-dimethyl-1-butanol を用い、**58** から標題化合物 **62f** を収率 41% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.68 (1H, s), 8.42 (1H, d, *J* = 2.2 Hz), 7.57 (1H, d, *J* = 9.2 Hz), 7.47 (1H, dd, *J* = 8.8, 1.8 Hz), 7.28–7.23 (1H, m), 7.07–6.95 (2H, m), 4.67–4.61 (1H, m), 4.40 (2H, q, *J* = 6.8 Hz), 4.17–4.06 (2H, m), 4.12 (2H, s), 1.41 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.05 (9H, s), 0.63 (9H, s), –0.02 (3H, s), –0.12 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-3,3-dimethylbutan-1-hydroxy-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (15f)

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**62f** から標題化合物 **15f** を収率 72% で白色固体として得た。

Mp 216 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.17 (1H, s), 8.81 (1H, s), 8.37 (1H, d, *J* = 9.3 Hz), 8.21 (1H, d, *J* = 1.9 Hz), 7.82 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.1 Hz), 7.51–7.46 (1H, m), 7.43–7.38 (1H, m), 7.24–7.19 (1H, m), 5.13–5.07 (2H, m), 4.26 (2H, s), 4.12–4.00 (2H, m), 0.96 (9H, s). MS (ESI) *m/z* 432 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 63.96%, H 5.37%, N 3.24%; found C 63.97%, H 5.40%, N 3.07%.

## Compound 15g

### 1-((1*S*)-2-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1-cyclohexylethyl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (62g)

**58** から **62e** を合成した方法と同様にして、アミノアルコールとして (*S*)-2-amino-2-cyclohexylethanol を用い、**58** から標題化合物 **62g** を収率 25% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.87 (1H, s), 8.62 (1H, s), 7.68 (2H, s), 7.50–7.31 (1H, m), 7.31–7.15 (1H, m), 4.59 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.22 (2H, s), 4.27–4.19 (1H, m), 4.14–4.07 (1H, m), 2.32–2.00 (3H, m), 1.94–1.80 (3H, m), 1.60 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.58–1.29 (4H, m), 1.15–1.00 (1H, m), 0.94 (9H, s), 0.14 (3H, s), 0.10 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((1*S*)-1-cyclohexyl-2-hydroxyethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (15g)

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**62g** から標題化合物 **15g** を収率 62% で得た。

Mp 217 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.05 (1H, br s), 8.95 (1H, s), 8.26 (1H, d, *J* = 9.1 Hz), 8.22 (1H, s), 7.85–7.80 (1H, m), 7.53–7.38 (2H, m), 7.26–7.19 (1H, m), 5.22–5.17 (1H, m), 4.94–4.87 (1H, m), 4.26 (2H, s), 4.04–3.94 (1H, m), 3.81–3.71 (1H, m), 2.11–1.88 (2H, m), 1.82–1.72 (1H, m), 1.64–1.49 (2H, m), 1.34–1.05 (5H, m), 0.96–0.82 (1H, m). MS (ESI) *m/z* 458 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 65.57%, H 5.50%, N 3.06%; found C 65.37%, H 5.58%, N 2.83%.



## Compound 15h

### 1-((1*S*)-2-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-1-phenylethyl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**62h**)

**58** から **62e** を合成した方法と同様にして、アミノアルコールとして (*S*)-(+)-2-phenylglycinol を用い、**58** から 標題化合物 **62h** を収率 30% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.89 (1H, br s), 8.46 (1H, br s), 7.46–7.44 (5H, m), 7.32–7.26 (3H, m), 7.12–7.07 (1H, m), 7.04–6.99 (1H, m), 5.76–5.69 (1H, m), 4.43 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.38–4.35 (2H, m), 4.12 (2H, s), 1.44 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 0.82 (9H, s), 0.05 (6H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((1*S*)-2-hydroxy-1-phenylethyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**15h**)

**36m** から **13m** を合成した方法と同様にして、**62h** から 標題化合物 **15h** を収率 35% で得た。

Mp 191–193 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.11 (1H, br s), 9.03 (1H, s), 8.21 (1H, s), 8.03–7.95 (1H, m), 7.77–7.71 (1H, m), 7.50–7.43 (1H, m), 7.40–7.28 (6H, m), 7.23–7.17 (1H, m), 6.31–6.24 (1H, m), 5.59–5.53 (1H, m), 4.36–4.26 (1H, m), 4.23–4.16 (1H, m). MS (ESI) *m/z* 452 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>25</sub>H<sub>19</sub>ClFNO<sub>4</sub>) calcd C 66.45%, H 4.24%, N 3.10%; found C 66.44%, H 4.30%, N 2.91%.

## Scheme 10. Syntheses of 16a–e

### Compound 16a

#### 1-((2*S*)-1-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)pentan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-7-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**66a**)

**58** から **62e** を合成した方法と同様にして、アミノアルコールに (*S*)-(+)-2-amino-1-pentanol を用い、**50b** から 標題化合物 **66a** を収率 58% で得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.57 (1H, s), 8.39 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.28–7.21 (2H, m), 7.06–7.02 (1H, m), 7.00–6.95 (1H, m), 4.53 (1H, br s), 4.38 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.12 (2H, s), 3.92–3.82 (2H, m), 1.98–1.90 (2H, m), 1.40 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.38–1.33 (2H, m), 0.96 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 0.74 (9H, s), –0.06 (3H, s), –0.11 (3H, s).

#### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-1-hydroxypentan-2-yl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**16a**)

**66a** (194 mg, 0.33 mmol) と 28% NaOMe/MeOH 溶液 (3.0 mL) を混合し、3 時間加熱還流した。反応液を放冷後、セライトでろ過し、ろ液に AcOH を加えて酸性とした。析出した固体をろ取し、EtOH/水 (3/7)、*n*-hexane の順で洗浄することにより 標題化合物 **16a** (136 mg, 90%) を白色固体として得た。

Mp 201–202 °C. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 15.43 (1H, br s), 8.80 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.50–7.45 (1H, m), 7.44 (1H, s), 7.26–7.21 (1H, m), 7.20–7.15 (1H, m), 5.19 (2H, br s), 4.11 (2H, s), 4.02 (3H, s), 3.87–3.73 (2H, m), 1.99–1.86 (2H, m), 1.37–1.17 (2H, m), 0.89 (3H, t, *J* = 7.3 Hz). MS (ESI) *m/z* 448 (M + H)<sup>+</sup>. Anal. (C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>ClFNO<sub>5</sub>) calcd C 61.68%, H 5.18%, N 3.13%; found C 61.58%, H 5.34%, N 2.90%.

## Compound 16b

### 1-((2*S*)-1-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)-3-methylbutan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-7-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (**66b**)

**58** から **62e** を合成した方法と同様にして、**50b** から標題化合物 **66b** を収率 36% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.64 (1H, s), 8.39 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.28–7.17 (2H, m), 7.07–7.02 (1H, m), 7.00–6.95 (1H, m), 4.40–4.33 (2H, m), 4.13–4.06 (3H, m), 4.03–3.97 (1H, m), 3.94–3.88 (1H, m), 2.51–2.37 (1H, m), 1.39 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz), 1.18 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz), 0.85 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 0.75 (9H, s), –0.05 (3H, s), –0.09 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*S*)-1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**16b**)

**66a** から **16a** を合成した方法と同様にして、**66b** から標題化合物 **16b** を収率 70% で白色固体として得た。

Mp 151–152 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  15.43 (1H, br s), 8.87 (1H, s), 8.03 (1H, s), 7.50–7.44 (2H, m), 7.26–7.22 (1H, m), 7.21–7.16 (1H, m), 5.21–5.18 (1H, m), 4.88 (1H, br s), 4.11 (2H, s), 4.04 (4H, s), 4.01–3.95 (4H, m), 3.82–3.75 (1H, m), 2.45–2.32 (1H, m), 1.16 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 0.73 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  448 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClFNO}_5$ ) calcd C 61.68%, H 5.18%, N 3.13%; found C 61.83%, H 5.33%, N 3.21%.

## Compound 16c

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-7-fluoro-1-((2*R*)-1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**67c**)

**58** から **62e** さらに **11a** から **9** を合成した方法と同様にして、**50b** からアミノアルコールに(*R*)-(-)-2-amino-3-methyl-1-butanol を用い、標題化合物 **67c** を収率 47% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  15.10 (1H, br s), 8.93 (1H, s), 8.30–8.27 (2H, m), 7.62–7.50 (1H, m), 7.39–7.33 (1H, m), 7.27–7.20 (1H, m), 4.83–4.75 (1H, m), 4.26 (2H, s), 4.00–3.91 (1H, m), 3.81–3.73 (1H, m), 2.45–2.29 (1H, m), 1.13 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 0.71 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2*R*)-1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (**16c**)

**66a** から **16a** を合成した方法と同様にして、**67c** から標題化合物 **16c** を収率 66% で白色固体として得た。

Mp 150–151 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  15.44 (1H, br s), 8.88 (1H, s), 8.04 (1H, s), 7.53–7.44 (2H, m), 7.29–7.16 (2H, m), 5.20 (1H, t,  $J = 5.3$  Hz), 4.92–4.83 (1H, m), 4.12 (2H, s), 4.04 (3H, s), 4.00–3.94 (1H, m), 3.85–3.74 (1H, m), 2.44–2.32 (1H, m), 1.16 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz), 0.73 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz). MS (ESI)  $m/z$  448 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClFNO}_5$ ) calcd C 61.68%, H 5.18%, N 3.13%; found C 61.65%, H 5.25%, N 3.09%.

## Compound 16d

### 1-((2S)-1-tert-Butyldimethylsilyloxy-2,2-dimethylbutan-2-yl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-7-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (66d)

58 から 62e を合成した方法と同様にして、アミノアルコールとして (S)-2-amino-3,3-dimethyl-1-butanol を用い、50b から標題化合物 66d を収率 41% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.65 (1H, s), 8.37 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz), 7.31–7.24 (2H, m), 7.04–6.95 (2H, m), 4.45–4.35 (3H, m), 4.16–4.05 (5H, m), 1.40 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 1.07 (9H, s), 0.64 (9H, s), –0.01 (3H, s), –0.11 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((2S)-1-hydroxy-3,3-dimethylbutan-2-yl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (16d)

66a から 16a を合成した方法と同様にして、66d から標題化合物 16d を収率 87% で白色固体として得た。

Mp 149–152 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.37 (1H, br s), 8.78 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.52 (1H, s), 7.50–7.46 (1H, m), 7.26–7.21 (1H, m), 7.21–7.16 (1H, m), 5.19–5.14 (1H, m), 5.11 (1H, t,  $J = 4.9$  Hz), 4.11 (2H, s), 4.09–4.05 (2H, m), 4.03 (3H, s), 0.99 (9H, s). MS (ESI)  $m/z$  462 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{ClFNO}_5$ ) calcd C 62.41%, H 5.46%, N 3.03%; found C 62.28%, H 5.74%, N 3.03%.

## Compound 16e

### 1-((1S)-2-tert-Butyldimethylsilyloxy-1-cyclohexylethyl)-6-(3-chloro-2-fluorobenzyl)-7-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid ethyl ester (66e)

58 から 62e を合成した方法と同様にして、アミノアルコールとして (S)-2-amino-2-cyclohexylethanol を用い、50b から標題化合物 66e を収率 27% で得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.68 (1H, s), 8.43 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz), 7.34–7.21 (2H, m), 7.12–6.99 (2H, m), 4.42 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 4.27–4.19 (1H, m), 4.16 (2H, s), 4.08–3.92 (2H, m), 2.17–1.84 (3H, m), 1.78–1.66 (2H, m), 1.56–1.15 (5H, m), 1.44 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz), 0.99–0.85 (1H, m), 0.78 (9H, s), 0.01 (3H, s), –0.06 (3H, s).

### 6-(3-Chloro-2-fluorobenzyl)-1-((1S)-1-cyclohexyl-2-hydroxyethyl)-7-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (16e)

66a から 16a を合成した方法と同様にして、66e から標題化合物 16e を収率 73% で白色固体として得た。

Mp 131–134 °C.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15.45 (1H, br s), 8.87 (1H, s), 8.02 (1H, s), 7.52–7.38 (2H, m), 7.29–7.13 (2H, m), 5.22–5.14 (1H, m), 4.96–4.84 (1H, m), 4.10 (2H, s), 4.06–3.94 (1H, m), 4.03 (3H, s), 3.83–3.72 (1H, m), 2.10–1.92 (2H, m), 1.83–1.73 (1H, m), 1.65–1.51 (2H, m), 1.33–0.87 (6H, m). MS (ESI)  $m/z$  488 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Anal. ( $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{ClFNO}_5 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ ) calcd C 62.84%, H 5.68%, N 2.82%; found C 62.66%, H 5.80%, N 2.53%.

**HIV-1 インテグラーゼコアドメイン、JTK303 (elvitegravir) およびウイルス  
DNA 三者複合体のホモロジーモデルの構築**

非公開

## 第二章 薬理実験および薬物動態実験の部

### HIV-1 Strand Transfer Assay

ドナーDNA (3'-末端を相補鎖に対し 2 塩基欠損させ、5'-末端をビオチンラベルしたものを) をストレプトアビジンコートしたマイクロタイタープレートに固定した。組換えインテグラーゼ (300 nM) を 100  $\mu$ L の反应用緩衝液 (3-(*N*-morpholino)propanesulfonic acid (MOPS)、5 mM MgCl<sub>2</sub>、3 mM dithiothreitol (DTT)、0.1 mg/mL bovine serum albumin (BSA)、5% glycerol、10% DMSO および 0.01% Tween 20) 中、37 °C で 60 分間振盪し、固定化したドナーDNA (0.5 pmol/well) に結合させた。ドナーDNA に結合していない酵素を除去し、被験化合物と 3'-末端がジゴキシゲニンでラベルされたターゲット DNA (5 nM) を添加した。37 °C で 10 分間振盪して strand transfer 反応を行い、0.1% Tween 20 を含むリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で洗浄することで反応を停止した。

ジゴキシゲニンでラベルされた反応生成物は anti-digoxigenin-peroxidase (POD) Fab fragments (Roche Diagnostics) と POD の基質である tetramethylbenzidine (TMB) を用いて検出した。Anti-digoxigenin-peroxidase (POD) Fab fragments 溶液をプレートの各ウェルに 100  $\mu$ L 加え、37 °C で 60 分間振盪した。0.1% Tween 20 を含む PBS で洗浄後、TMB をプレートの各ウェルに 100  $\mu$ L 加え、室温で振盪した。0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を 100  $\mu$ L 加えて比色反応を停止し、マイクロプレートリーダー (SPECTRA max 340, Molecular Devices) を用いて 450 nm における吸光度を測定した。酵素反応を 50% 阻害する濃度を算出し、IC<sub>50</sub> とした。評価は 3 回実施し、結果はその平均値として表記した。

### Antiviral Assay

10% ウシ胎児血清、100 U/mL ペニシリンおよび 100  $\mu$ g/mL ストレプトマイシンを含む RPMI 1640 培地中の MT-4 細胞 ( $1 \times 10^5$  cells/mL) に HIV-1 IIIB 株を 0.01 の感染多価 (multiplicity of infection, MOI) で感染させ、96 ウェルマイクロタイタープレートに播種した。被験化合物を各ウェルに添加し、37 °C で 5 日間培養した後、ミトコンドリアのデヒドロゲナーゼ活性により生細胞を検出する MTT 法で細胞生存率を測定した。細胞に 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) 溶液 (7.5 mg/mL) を添加して振盪した。MTT フォルマザン結晶を 4% Triton-X を含む酸性イソプロパノールに溶解し、595 nm における吸光度を測定した。細胞生存率が 50% となる濃度を算出し、EC<sub>50</sub> とした。評価は 3 回実施し、結果はその平均値として表記した。

## Cytotoxicity

10% ウシ胎児血清、100 U/mL ペニシリンおよび 100  $\mu\text{g/mL}$  ストレプトマイシンを含む RPMI 1640 培地中の MT-4 細胞 ( $1 \times 10^5$  cells/mL) を 96 ウェルマイクロタイタープレートに播種した。被験化合物を各ウェルに添加し、37 °C で 5 日間培養した後、ミトコンドリアのデヒドロゲナーゼ活性により生細胞を検出する MTT 法で細胞生存率を測定した。細胞に MTT 溶液 (7.5 mg/mL) を添加して振盪した。MTT フォルマザン結晶を 4% Triton-X を含む酸性イソプロパノールに溶解し、595 nm における吸光度を測定した。細胞生存率が 50% となる濃度を算出し、 $\text{CC}_{50}$  とした。評価は 3 回実施し、結果はその平均値として表記した。

## HIV-1 Integrase Assay

21 塩基長のオリゴヌクレオチド H-U5V1 (5'-ATG TGG AAA ATC TCT AGC AGT-3', FASMAC Co., Ltd.) の 5'-末端を、T4 ポリヌクレオチドキナーゼ (Invitrogen Corporation) と  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{-ATP}$  (GE Healthcare Bio-Sciences Corporation) を用いて放射ラベルした。Forward reaction buffer (Invitrogen Corporation) に H-U5V1 (300 pM)、T4 ポリヌクレオチドキナーゼ (30 U) および  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{-ATP}$  (5.55 MBq) を加えた反応液 (60  $\mu\text{L}$ ) を 37 °C で 60 分間振盪した後、70 °C で 10 分間加熱して反応を停止した。取り込まれなかった放射性ヌクレオチドは、スピнкаラム (Micro Bio-Spin 6 column, Bio-Rad Laboratories, Inc.) によるゲル濾過で除去した。TE 緩衝液 (pH 8.0) で平衡化したカラムに 60  $\mu\text{L}$  の反応液を注ぎ、遠心分離によりラベルされた H-U5V1 を含むろ液を回収した。ラベルされた H-U5V1 とラベルされていない H-U5V2 (5'-ACT GCT AGA GAT TTT CCA CAT-3', FASMAC Co., Ltd.) を、1:1.2 の割合でアニールした。2 種類のオリゴヌクレオチドの混合物を 95 °C で 5 分間加熱し、ゆっくり室温まで冷却した。アニールした 2 本鎖 DNA を  $^{32}\text{P}$  ラベル DNA 基質 (21 塩基長) として使用した。反应用緩衝液 (20 mM MOPS (pH 7.2)、30 mM  $\text{MgCl}_2$ 、10 mM DTT、0.1 mg/mL BSA、5% glycerol、0.02% Tween 20 および 10% DMSO) に、被験化合物、 $^{32}\text{P}$  ラベル 21 塩基長 DNA (50 nM) および HIV-1 NL4-3 インテグラーゼ (1.5  $\mu\text{M}$ ) を添加した反応液 (20  $\mu\text{L}$ ) を 37 °C で 60 分間振盪した。反応液を氷上で急速に冷却し、25  $\mu\text{L}$  の 2  $\times$  TBE Urea Sample Buffer (Invitrogen Corporation) を混合した。反応生成物を 5 M 尿素を含む 25% ポリアクリルアミドゲルを用いて TBE 緩衝液中 450V で約 200 分間電気泳動した後、3'-processing 反応により生成した 19 塩基長の DNA 産物に相当するバンドと strand transfer 反応により生成した 21 塩基長を超える DNA 産物に相当するバンドの放射活性をイメージアナライザーで定量した。それぞれの DNA 産物の生成が 50% 阻害される濃度を算出し、 $\text{IC}_{50}$  とした。評価は 3 回実施し、結果はその平均値として表記した。

**50%ヒト血清存在下での抗 HIV 活性と細胞毒性評価**

非公開

**各種サブタイプの HIV-1 臨床分離株と HIV-2 臨床分離株に対する抗 HIV 活性**

非公開

## 薬剤耐性臨床分離株に対する抗 HIV 活性

非公開

### ラットおよびイヌ PK 試験

雄性ラット (Sprague-Dawley 系、 $n = 3$ ) と雄性イヌ (ビーグル、 $n = 3$ ) を用いた。経口投与は、0.5%メチルセルロース水溶液を用いて JTK-303 の懸濁液を調製し、ラットでは非絶食条件下、イヌでは摂餌後にいずれも 3 mg/kg で実施した。また静脈内投与は、JTK-303 を 80% ポリエチレングリコール 400 (PEG 400) 水溶液に溶解し、ラットでは非絶食条件下、イヌでは摂餌後にいずれも 1 mg/kg で実施した。投与後は、0.083、0.167、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72 および 96 時間のタイミングで採血し、高速液体クロマトグラフィー タンデムマススペクトロメトリー (LC/MS/MS) を用いて未変化体の濃度を測定した。 $C_{max}$  と  $t_{max}$  は実測値、 $t_{1/2}$  は血漿中濃度を片対数プロットし、最小二乗法により得られた直線の傾きから算出した。投与後最終定量時点 ( $t$ ) までの  $AUC_{0-t}$  は台形法で、それ以降無限大までの  $AUC_{t-inf}$  は消失速度定数より外挿してそれぞれ求め、 $AUC_{0-inf}$  は  $AUC_{0-t}$  と  $AUC_{t-inf}$  の和より算出した。また、モーメント解析法により  $CL_{tot}$  および  $Vd_{ss}$  を算出した。



## 引用文献

- 1) (a) Gottlieb, M. S.; Schroff, R.; Schanker, H. M.; Weisman, J. D.; Fan, P. T.; Wolf, R. A.; Saxon, A. *N. Engl. J. Med.* **1981**, *305*, 1425–1431. (b) Masur, H.; Michelis, M. A.; Greene, J. B.; Onorato, I.; Stouwe, R. A. V.; Holzman, R. S.; Wormser, G.; Brettman, L.; Lange, M.; Murray, H. W.; Cunningham-Rundles, S. *N. Engl. J. Med.* **1981**, *305*, 1431–1438. (c) Siegal, F. P.; Lopez, C.; Hammer, G. S.; Brown, A. E.; Kornfeld, S. J.; Gold, J.; Hassett, J.; Hirschman, S. Z.; Cunningham-Rundles, C.; Adelsberg, B. R.; Parham, D. M.; Siegal, M.; Cunningham-Rundles, S.; Armstrong, D. *N. Engl. J. Med.* **1981**, *305*, 1439–1444.
- 2) [http://www.unaids.org/sites/default/files/documents/20141118\\_FS\\_WADreport\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/documents/20141118_FS_WADreport_en.pdf)
- 3) Hogberg, M.; Morrison, I. *Expert Opin. Ther. Patents* **2000**, *10*, 1189–1199.
- 4) Vacca, J. P.; Condra, J. H. *Drug Discovery Today* **1997**, *2*, 261–272.
- 5) Pendri, A.; Meanwell, N. A.; Peese, K. M.; Walker, M. A. *Expert Opin. Ther. Patents* **2011**, *21*, 1173–1189.
- 6) Clercq, E. D. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 13–25.
- 7) Mitsuya, H.; Weinhold, K. J.; Furman, P. A.; St. Clair, M. H.; Lehrman, S. N.; Gallo, R. C.; Bolognesi, D.; Barry, D. W.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1985**, *82*, 7096–7100.
- 8) Roberts, N. A.; Martin, J. A.; Kinchington, D.; Broadhurst, A. V.; Craig, J. C.; Duncan, I. B.; Galpin, S. A.; Handa, B. K.; Kay, J.; Kröhn, A.; Lambert, R. W.; Merrett, J. H.; Mills, J. S.; Parkes, K. E. B.; Redshaw, S.; Ritchie, A. J.; Taylor, D. L.; Thomas, G. J.; Machin, P. J. *Science* **1990**, *248*, 358–361.
- 9) Cohen, K. A.; Hopkins, J.; Ingraham, R. H.; Pargellis, C.; Wu, J. C.; Palladino, D. E. H.; Kinkade, P.; Warren, T. C.; Rogers, S.; Adams, J.; Farina, P. R.; Grob, P. M. *J. Med. Chem.* **1991**, *266*, 14670–14674.
- 10) (a) Mocroft, A.; Vella, S.; Benfield, T. L.; Chiesi, A.; Miller, V.; Gargalianos, P.; d’Armino, M. A.; Yust, I.; Bruun, J. N.; Phillips, A. N.; Lundgren, J. D. *Lancet* **1998**, *351*, 1725–1730. (b) Palella, F. J. Jr.; Delaney, K. M.; Moorman, A. C.; Loveless, M. O.; Fuhrer, J.; Satten, G. A.; Aschman, D. J.; Holmberg, S. D. *N. Engl. J. Med.* **1998**, *338*, 853–860.
- 11) Lohse, N.; Hansen, A-B. E.; Pedersen, G.; Kronborg, G.; Gerstoft, J.; Sørensen, H. T.; Vaeth, M.; Obel, N. *Ann. Intern. Med.* **2007**, *146*, 87–95.
- 12) Craigie, R. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 23213–23215.
- 13) Pommier, Y.; Johnson, A. A.; Marchand, C. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 236–248.
- 14) (a) Hazuda, D. J.; Felock, P.; Witmer, M.; Wolfe, A.; Stillmock, K.; Grobler, J. A.; Espeseth, A.; Gabryelski, L.; Schleif, W.; Blau, C.; Miller, M. D. *Science* **2000**, *287*, 646–650. (b) Wai, J. S.; Egbertson, M. S.; Payne, L. S.; Fisher, T. E.; Embrey, M. W.; Tran, L. O.; Melamed, J. Y.; Langford, H. M.; Guare, Jr. J. P.; Zhuang, L.; Grey, V. E.; Vacca, J. P.; Holloway, M. K.; Naylor-Olsen, A. M.; Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Wolfe, A. L.; Stillmock, K. A.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. J.; Young, S. D.; *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4923–4926.
- 15) (a) Barreca, M. L.; Ferro, S.; Rao, A.; Luca, L. D.; Zappala, M.; Monforte, A. M.; Debyser,

- Z.; Witvrouw, M.; Chimirri, A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7084–7088. (b) Goldgur, Y.; Craigie, R.; Cohen, G. H.; Fujiwara, T.; Yoshinaga, T.; Fujishita, T.; Sugimoto, H.; Endo, T.; Murai, H.; Davies, D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 13040–13043. (c) Zhuang, L.; Wai, J. S.; Embrey, M. W.; Fisher, T. E.; Egbertson, M. S.; Payne, L. S.; Guare, J. P. Jr.; Vacca, J. P.; Hazuda, D. J.; Felock, P. J.; Wolfe, A. L.; Stillmock, K. A.; Witmer, M. V.; Moyer, G.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. J.; Leonard, Y. M.; Lynch, J. J. Jr.; Michelson, S. R.; Young, S. D. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 453–456. (d) Hazuda, D. J.; Young, S. D.; Guare, J. P.; Anthony, N. J.; Gomez, R. P.; Wai, J. S.; Vacca, J. P.; Handt, L.; Motzel, S. L.; Klein, H. J.; Dornadula, G.; Danovich, R. M.; Witmer, M. V.; Wilson, K. A. A.; Tussey, L.; Schleif, W. A.; Gabryelski, L. S.; Jin, L.; Miller, M. D.; Casimiro, D. R.; Emini, E. A.; Shiver, J. W. *Science* **2004**, *305*, 528–532. (e) Summa, V.; Petrocchi, A.; Bonelli, F.; Crescenzi, B.; Donghi, M.; Ferrara, M.; Fiore, F.; Gardelli, C.; Paz, O. G.; Hazuda, D. J.; Jones, P.; Kinzel, O.; Laufer, R.; Monteagudo, E.; Muraglia, E.; Nizi, E.; Orvieto, F.; Pace, P.; Pescatore, G.; Scarpelli, R.; Stillmock, K.; Witmer, M. V.; Rowley, M. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5843–5855. (f) Johns, B. A.; Kawasuji, T.; Weatherhead, J. G.; Taishi, T.; Temelkoff, D. P.; Yoshida, H.; Akiyama, T.; Taoda, Y.; Murai, H.; Kiyama, R.; Fuji, M.; Tanimoto, N.; Jeffrey, J.; Foster, S. A.; Yoshinaga, T.; Seki, T.; Kobayashi, M.; Sato, A.; Johnson, M. N.; Garvey, E. P.; Fujiwara, T. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5901–5916.
- 16) Deeks, S. G.; Kar, S.; Gubernick, S. I.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, *7*, 117–118.
- 17) Johns, B. A.; Svolto, A. C. *Expert Opin. Ther. Patents* **2008**, *18*, 1225–1237.
- 18) Maurin, C.; Bailly, F.; Buisine, E.; Vezin, H.; Mbemba, G.; Mouscadet, J. F.; Cotelle, P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5583–5586.
- 19) Sato, M.; Motomura, T.; Aramaki, H.; Matsuda, T.; Yamashita, M.; Ito, Y.; Kawakami, H.; Matsuzaki, Y.; Watanabe, W.; Yamataka, K.; Ikeda, S.; Kodama, E.; Matsuoka, M.; Shinkai, H. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1506–1508.
- 20) Kirschberg, T.; Parrish, J. *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2007**, *10*, 460–472.
- 21) (a) Koga, H.; Itoh, A.; Murayama, S.; Suzue, S.; Irikura, T. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1358–1363. (b) Hayakawa, I.; Hiramitsu, T.; Tanaka, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 4907–4913. (c) Fernandes, P. B.; Chu, D. T. W.; Swanson, R. N.; Ramer, N. R.; Hanson, C. W.; Bower, R. R.; Stamm, J. M.; Hardy, D. *J. Antimicrob. Agents Chemother.* **1988**, *32*, 27–32.
- 22) Gould, R. G. Jr.; Jacobs, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2890–2895.
- 23) Kim, S. S.; Kim, D. W.; Rajagopal, G. *Synthesis* **2004**, *2*, 213–216.
- 24) Inoh, J.; Satoh, T.; Pivsaart, S.; Miura, M.; Nomura, M. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 4673–4676.
- 25) Cecchetti, V.; Clementi, S.; Cruciani, G.; Fravolini, A.; Pagella, P. G.; Savino, A.; Tabarrini, O. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 973–982.
- 26) Sato, M.; Kawakami, H.; Motomura, T.; Aramaki, H.; Matsuda, T.; Yamashita, M.; Ito, Y.; Matsuzaki, Y.; Yamataka, K.; Ikeda, S.; Shinkai, H. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4869–4882.
- 27) Hare, S.; Gupta, S. S.; Valkov, E.; Engelman, A.; Cherepanov, P. *Nature* **2010**, *464*, 232–236.

- 28) (a) Johnson, B. C.; Métifiot, M.; Pommier, Y.; Hughes, S. H. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2012**, *56*, 411–419. (b) Johnson, B. C.; Métifiot, M.; Ferris, A.; Pommier, Y.; Hughes, S. H. *J. Mol. Biol.* **2013**, *425*, 2133–2146.
- 29) Sechi, M.; Derudas, M.; Dallochio, R.; Dessi, A.; Bacchi, A.; Sannia, L.; Carta, F.; Palomba, M.; Ragab, O.; Chan, C.; Shoemaker, R.; Sei, S.; Dayam, R.; Neamati, N. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5298–5310.
- 30) Matsuzaki, Y.; Watanabe, W.; Yamataka, K.; Sato, M.; Enya, S.; Kano, M.; Kodama, E.; Matsuoka, M.; Ikeda, S. Paper presented at 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections February 5–8, **2006**, Denver CO., Poster number 508.
- 31) Kaldor, S. W.; Kalish, V. J.; Davies, II. J. F.; Shetty, B. V.; Fritz, J. E.; Appelt, K.; Burgess, J. A.; Campanale, K. M.; Chirgadze, N. Y.; Clawson, D. K.; Dressman, B. A.; Hatch, S. D.; Khalil, D. A.; Kosa, M. B.; Lubbehusen, P. P.; Muesing, M. A.; Patick, A. K.; Reich, S. H.; Su, K. S.; Tatlock, J. H. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3979–3985.
- 32) Young, S. D.; Britcher, S. F.; Tran, L. O.; Payne, L. S.; Lumma, W. C.; Lyle, T. A.; Huff, J. R.; Anderson, P. S.; Olsen, D. B.; Carroll, S. S.; Pettibone, D. J.; O'Brien, J. A.; Ball, R. G.; Balani, S. K.; Lin, J. H.; Chen, I-W.; Schleif, W. A.; Sardana, V. V.; Long, W. J.; Byrnes, V. W.; Emini, W. A. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1995**, *39*, 2602–2605.
- 33) Kawaguchi, I.; Ishikawa, T.; Ishibashi, M.; Irie, S.; Kakee, A. Paper presented at 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections February 5–8, **2006**, Denver CO., Poster number 580.
- 34) DeJesus, E.; Berger, D.; Markowits, M.; Cohen, C.; Hawkins, T.; Ruane, P.; Elion, R.; Farthing, C.; Zhong, L.; Cheng, A. K.; McColl, D.; Kearney, B. P. *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* **2006**, *43*, 1–5.
- 35) (a) DeJesus, E.; Rockstroh, J.; Molina, K. J-M.; Gathe, J.; Ramanathan, S.; Wei, X.; Yale, K.; Szwarcberg, J.; White, K.; Cheng, A. K.; Kearney, B. P. *Lancet* **2012**, *379*, 2429–2438. (b) Sax, P. E.; DeJesus, E.; Mills, A.; Zolopa, A.; Cohen, K.; Wohl, D.; Gallant, J. E.; Liu, H. C.; Zhong, L.; Yale, K.; White, K.; Kearney, B. P.; Szwarcberg, J.; Quirk, E.; Cheng, A. K. *Lancet* **2012**, *379*, 2439–2448.