

博士論文

論文題目 ステロイド骨格の代替となるフェナンスリジノン骨格
を用いた生理活性物質の創製

氏 名 西山 郵子

目次

第 1 章 研究の背景

第 1 節 生理活性物質としてのステロイド誘導体	1
1.1.1 ステロイド誘導体	1
1.1.2 核内受容体を介した生命現象の調節	2
1.1.3 ステロイド骨格と医薬品	3
第 2 節 生理活性物質の効率的創出	6
1.2.1 マルチテンプレート手法	6
1.2.2 ジフェニルペンタン骨格	7
第 3 節 新規ステロイド代替骨格	8
1.3.1 標的タンパク質に作用する共通の骨格	8
1.3.2 フェナンスリジノン骨格	8
第 4 節 本研究の目的	9

第 2 章 生物活性のプロファイリング

第 1 節 フェナンスリジノン類縁体	10
2.1.1 ラクタム窒素上に置換基を導入した化合物の合成	11
2.1.2 2 位に置換基を導入した化合物の合成	12
2.1.3 メトキシ基を導入した化合物の合成	12
2.1.4 ジオキソラン構造を導入した化合物の合成	14
第 2 節 生物活性評価対象の選定	15
2.2.1 核内受容体	15
2.2.2 α -グルコシダーゼ	17
第 3 節 生物活性のプロファイリング	19
2.3.1 活性評価系	18
2.3.2 活性ヒートマップの作成	22

第3章 ステロイドホルモン受容体リガンドの創製

第1節 ステロイドホルモン受容体リガンド	24
3.1.1 アンドロゲン受容体	24
3.1.2 糖質コルチコイド受容体	25
3.1.3 プログステロン受容体	26
第2節 活性プロファイルの解析	27
3.2.1 ラクタム窒素上の置換基の効果	27
3.2.2 2位の置換基の効果	28
3.2.3 メトキシ基の導入位置の効果	28
3.2.4 リード化合物の選定	29
第3節 ARとPRに対する活性および選択性向上に向けた化合物の構造展開	30
3.3.1 4位の置換基の検討	30
3.3.2 アミドの電子密度による効果	32
3.3.3 その他の標的に対する選択性	32
3.3.4 ドッキングスタディによる評価	34
第4節 小括	35

第4章 レチノイド関連オーファン受容体 γ リガンドの創製

第1節 レチノイド関連オーファン受容体	36
4.1.1 概説	35
4.1.2 各サブタイプの機能および役割	37
4.1.3 RORを標的にした治療戦略	37
第2節 レチノイド関連オーファン受容体リガンド	38
4.2.1 天然物系のリガンド	37
4.2.2 合成リガンド	40
第3節 活性プロファイルの解析	43
4.3.1 ラクタム窒素上の置換基の効果	43
4.3.2 2位の置換基の効果	44
4.3.3 メトキシ基の導入位置の効果	45
第4節 ROR γ に対する活性向上に向けた化合物の展開	46
4.4.1 9位の置換基の検討	46
4.4.2 LXRとの活性分離	48
第5節 小括	49

第5章 α -グルコシダーゼ阻害剤の創製

第1節 α -グルコシダーゼ阻害剤	51
5.1.1 イミノ糖誘導体	51
5.1.2 イミノ糖以外の骨格を有する化合物	53
第2節 活性プロファイルの解析	54
5.2.1 ラクタム窒素上の置換基の効果	54
5.2.2 2位の置換基の効果	55
5.2.3 メトキシ基の導入位置の効果	56
第3節 活性向上に向けた化合物の展開	57
5.3.1 置換基の組み合わせによる活性および選択性の向上	57
第4節 阻害様式の検討	59
5.4.1 ドッキングスタディによる評価	59
5.4.2 Lineweaver-Burk plot による評価	60
第5節 小括	60

第6章 研究の総括および今後の展望

第1節 研究の総括	62
6.1.1 マルチテンプレート法による生理活性物質の効率的創出	63
6.1.2 ステロイド代替骨格としてのフェナンスリジノン骨格	63
第2節 今後の展望	64
6.2.1 活性プロファイルの活用	64
6.2.2 化合物の標的タンパク質の推測	65

実験項	67
-----	----

参考文献	88
------	----

謝辞	96
----	----

第 1 章

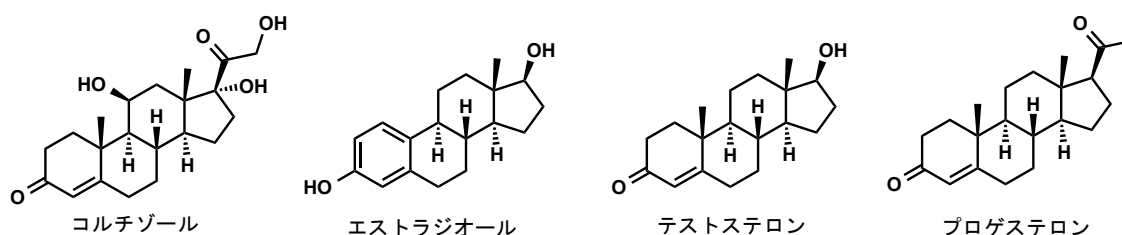
研究の背景

第 1 節 生理活性物質としてのステロイド誘導体

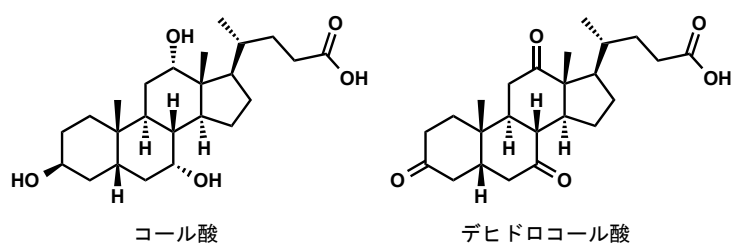
1.1.1 ステロイド誘導体

ステロイド骨格を有する化合物は、強力な生物活性を示す化合物として重要であり、ヒトの生理作用に深い関わりがある。生体内で生合成され、細胞膜の重要な構成成分となっている他、胆汁に含まれる胆汁酸やステロイドホルモンとして、発生、恒常性、代謝など、生命維持に関わる遺伝子群の制御を担っている。細胞質・膜・核などに存在する様々な標的タンパク質に結合することで、その機能を発揮する。

A ステロイドホルモン



B 胆汁酸



C 膜構成成分

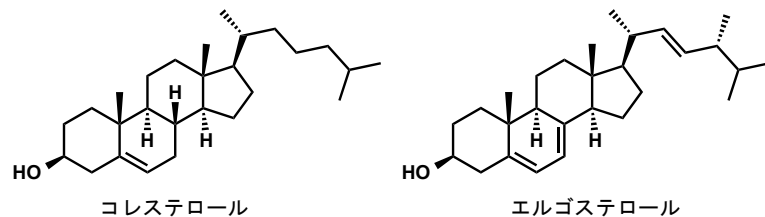


図 1-1 代表的なステロイド

1.1.2 核内受容体を介した生命現象の調節

ステロイドホルモンなどの生理活性物質は、各核内受容体に特異的に結合し、遺伝子の発現を制御することによって作用を発揮する¹⁾。ヒトでは48種のタンパク質が核内受容体として、遺伝子配列の相同性により分類されている（図1-2）。

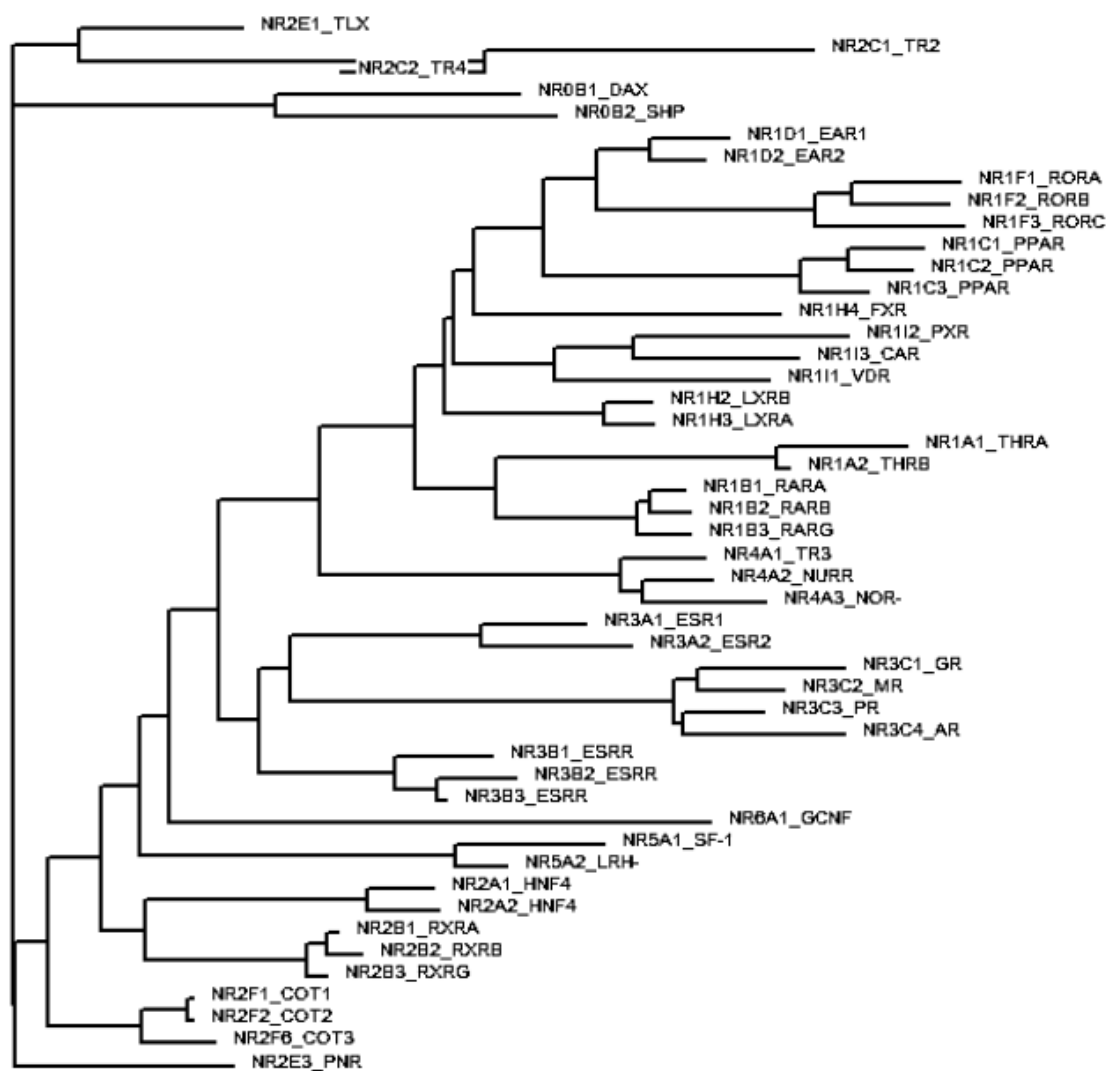


図 1-2 核内受容体の分子系統樹²⁾

48 種のうち、内因性リガンドが同定されているものは、26 種ほどしかない（表 1-1）。核内受容体に作用するステロイド誘導体は、GR に対してコルチゾール、PR に対してプロゲステロン、AR に対してテストステロン、ER に対してエストラジオール、LXR と ROR に対してオキシステロール、など多岐に渡る。

表 1-1 内因性リガンドが同定されている核内受容体

遺伝子	名称		内因性リガンド
NR1A1	TR α	甲状腺ホルモン受容体 α	チロキシンホルモン
NR1A2	TR β	甲状腺ホルモン受容体 β	
NR1B1	RAR α	レチノイド受容体 α	全 <i>trans</i> -レチノイン酸
NR1B2	RAR β	レチノイド受容体 β	
NR1B3	RAR γ	レチノイド受容体 γ	
NR1C1	PPAR α	ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 α	脂肪酸
NR1C2	PPAR δ	ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 δ	
NR1C3	PPAR γ	ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 γ	
NR1F1	ROR α	レチノイド関連オーファン受容体 α	コレステロール 全 <i>trans</i> -レチノイン酸
NR1F2	ROR β	レチノイド関連オーファン受容体 β	
NR1F3	ROR γ	レチノイド関連オーファン受容体 γ	
NR1H3	LXR α	肝臓 X 受容体 α	オキシステロール
NR1H2	LXR β	肝臓 X 受容体 β	
NR1H4	FXR	ファルネソイド X 受容体	胆汁酸
NR1I1	VDR	ビタミン D 受容体	1,25 α -ジヒドロキシ ビタミン D ₃
NR1I2	PXR/SXR	プレグナン X 受容体	異物ステロイド
NR1I3	CAR	構成的アンドロスタン受容体	アンドロスタン
NR2B1	RXR α	レチノイド X 受容体 α	9- <i>cis</i> -レチノイン酸
NR2B2	RXR β	レチノイド X 受容体 β	
NR2B3	RXR γ	レチノイド X 受容体 γ	
NR3A1	ER α	エストロゲン受容体 α	エストロゲン
NR3A2	ER β	エストロゲン受容体 β	
NR3C1	GR	糖質コルチコイド受容体	コルチゾン
NR3C2	MR	鉱質コルチコイド受容体	アルドステロン
NR3C3	PR	プロゲステロン受容体	プロゲステロン
NR3C4	AR	アンドロゲン受容体	テストステロン

1.1.3 ステロイド骨格と医薬品

核内受容体は、ヒトの生命維持に関わる遺伝子群を制御しているため、医薬品の標的として注目されてきた。

例えば、自己免疫疾患やアレルギー性疾患などの際には、合成ステロイドホルモンであるプレドニゾンやデキサメタゾンが使用される（図 1-3）。このようなステロイド系抗炎症薬では、医薬品の主成分として、糖質コルチコイドあるいはその誘導体が配合されている。

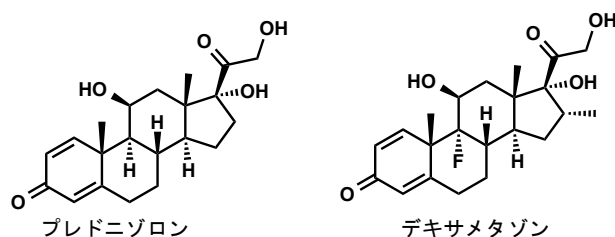


図 1-3 合成ステロイドホルモン

これらは炎症反応を強力に抑制するが、多岐にわたる副作用が問題となっている。そのため吸入薬や軟膏といった局所投与に使用が限定される場合が多くある。

ステロイド骨格を有する化合物は、標的タンパク質以外の様々なタンパク質にも作用してしまうだけでなく、代謝されやすく、その代謝物が他の標的に作用してしまう恐れもあると考えられる（図 1-4）。また、ステロイド骨格では置換基の導入位置が合成的に制限される場合があるため、選択性の向上が困難であると考えられる。

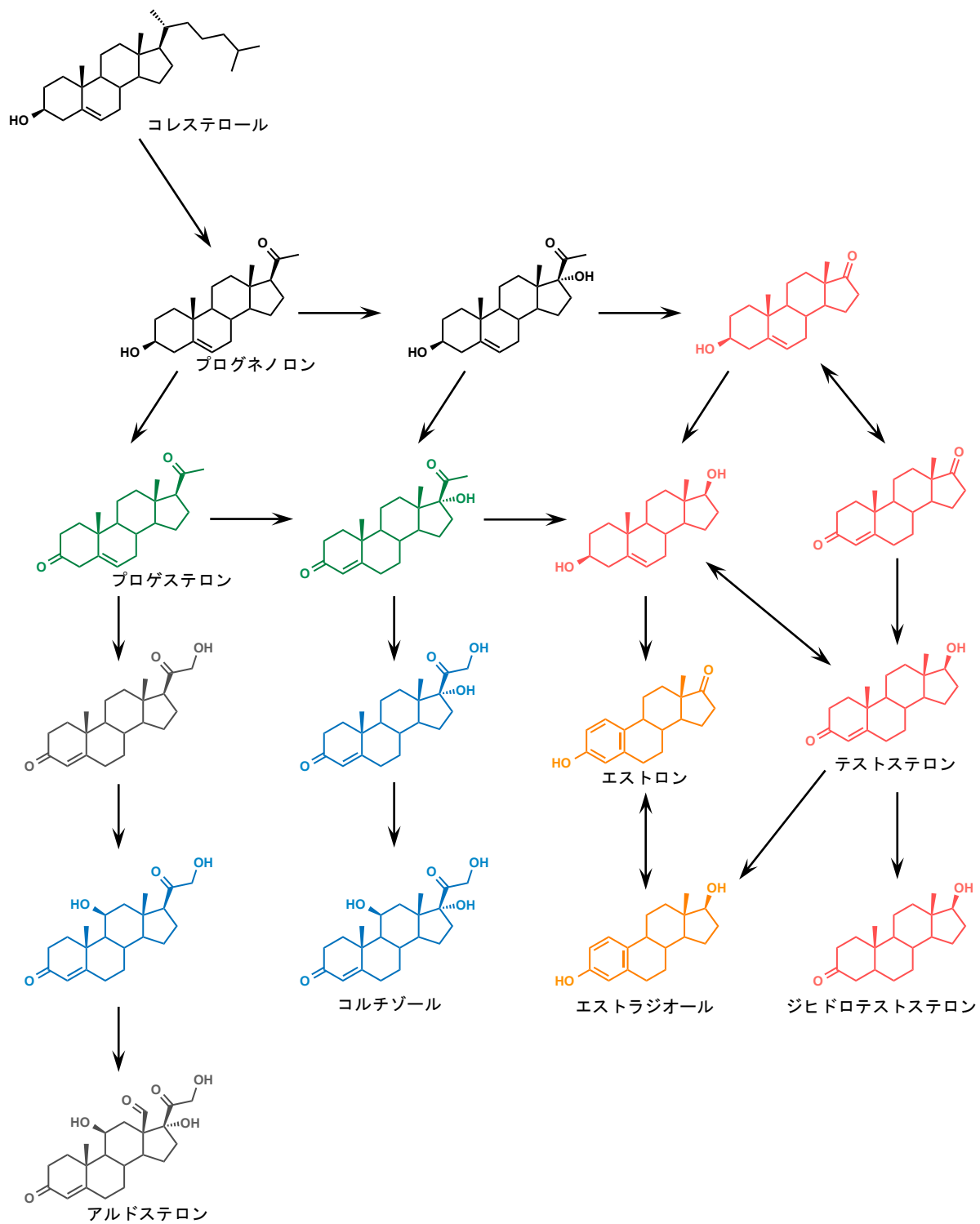


図 1-4 ステロイドホルモンの生合成

青：糖質コルチコイド，緑：プロゲステロン，赤：アンドロゲン，橙：エストロゲン，灰：鉱質コルチコイドを示す。

第2節 生理活性物質の効率的創出

1.2.1 マルチテンプレート手法

当研究室では、質の高い化合物ライブラリーを構築する手段としてマルチテンプレート手法を提唱している。本手法は、ヒトの生体内に存在する5～7万種のタンパク質の立体構造に着目すると、約1000種の基本構造から成ることに着目したドラッグデザイン手法である³⁾。したがって、各立体構造（フォールド構造）に着目し、その構造に結合する低分子を「テンプレート」として設定することで、共通のフォールド構造を有するタンパク質に対するリガンドを効率的に創製できると考える。特に創薬におけるシードおよびリード化合物探索において、テンプレートに対して最小限の構造展開を行うことで、母核構造の探索手順等が省けるため、効率的なシードおよびリード化合物の創出が可能になると考えられる。更に得られたシードまたはリード化合物は、各標的タンパク質に対して構造展開することより、それぞれの標的タンパク質に対する選択的リガンドを創製できる可能性もある。

これまでにサリドマイドのフタルイミド骨格をテンプレートとして、構造修飾を施すことにより多岐に渡る生理活性物質の創製に成功している（図1-5）。

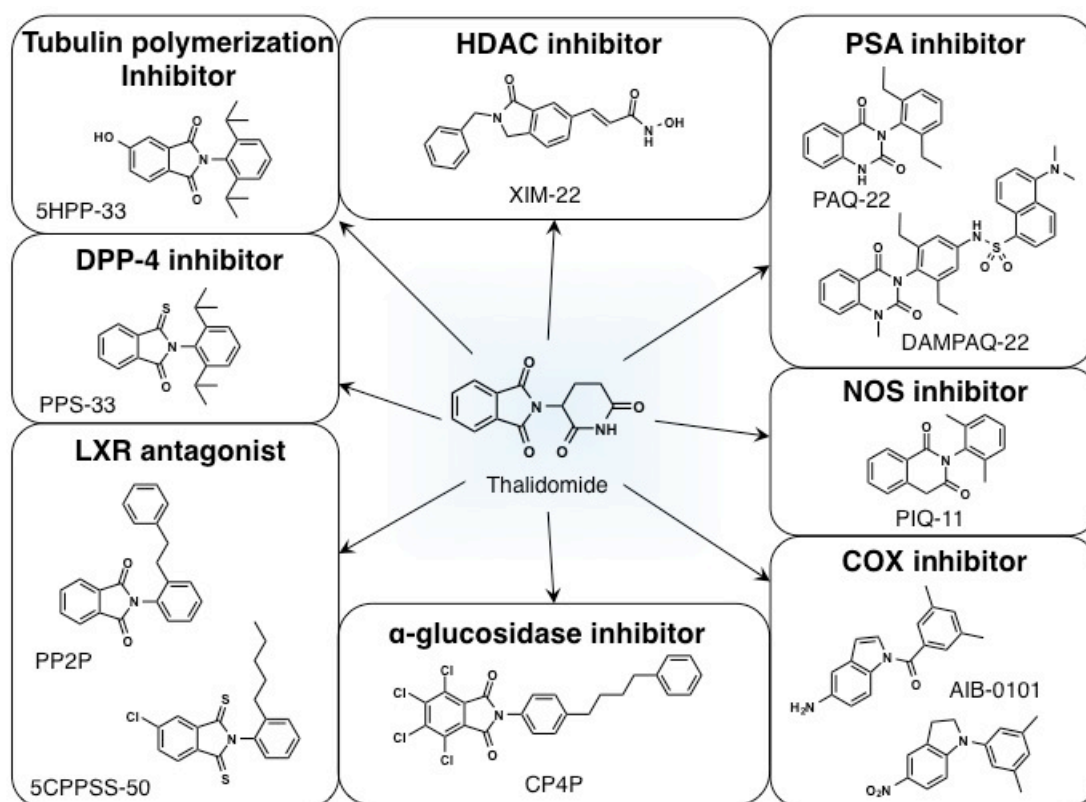


図1-5 サリドマイドのフタルイミド骨格をテンプレートとした生理活性物質の創製⁴⁾

1.2.2 ジフェニルペンタン骨格

フタルイミド骨格以外にもテンプレートとして機能する骨格に、ジフェニルペンタン骨格がある。ジフェニルペンタン骨格に様々な化学修飾を施すことで様々なリガンドの創出に当研究室で成功している（図 1-6）。これらは特にステロイド骨格を認識するタンパク質のリガンドであることから、ジフェニルペンタン骨格はステロイドの代替骨格として機能していることが示唆された⁵⁾。ステロイド骨格は置換基の導入位置が合成的に限定される場合があるため、このような代替構造は、選択性の向上や創薬の効率化といった点において医薬化学的に扱いやすくなると考えられる。

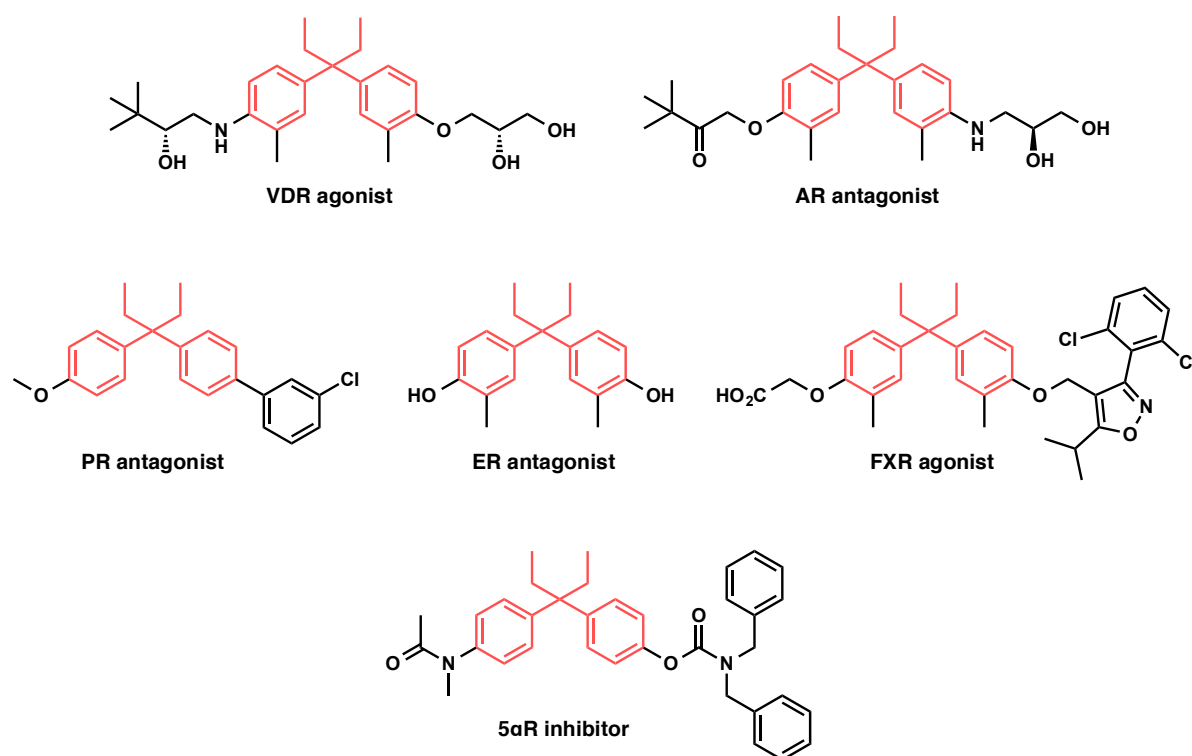


図 1-6 ジフェニルペンタン骨格をテンプレートとした生理活性物質の創製^{5), 6), 7), 8), 9)}

赤色で示した構造はジフェニルペンタン骨格を示す。VDR, AR, PR, ER, FXR は核内受容体, 5αR はステロイドの代謝に関与する酵素の一つで、ステロイド型阻害剤が知られている。

第3節 新規ステロイド代替骨格

1.3.1 標的タンパク質に作用する共通の骨格

核内受容体の1つである肝臓X受容体 (Liver X receptor; LXR) は、生体内のコレステロール代謝や血糖の調節、炎症反応の抑制を担っている。

これまでに、内因性リガンドとして 22-(*R*)-ヒドロキシコレステロールといったオキシステロール類、合成リガンドとして T0901317 が、LXR リガンドとしてよく知られている (図 1-7)。また、当研究室における LXR リガンドの創製研究において、T0901317 から構造展開により、見出されたフェナンスリジノン類縁体 **4** に LXR に対する作用があることがわかった¹⁰⁾。

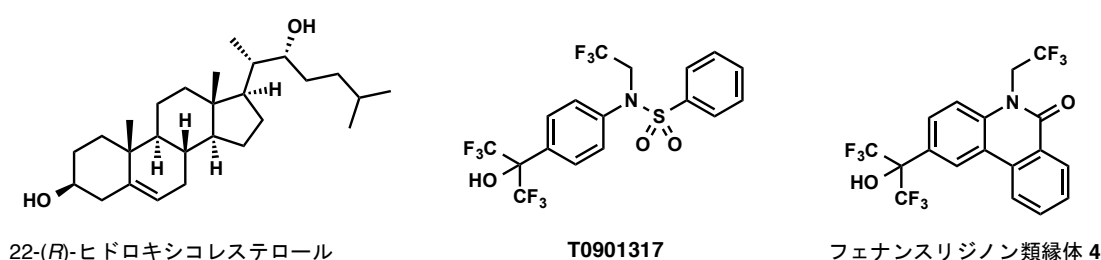


図 1-7 LXR に作用する化合物

さらに、フェナンスリジノン骨格を有する化合物は、コレステロール類を内因性リガンドとする NPC1 と NPC1L1 にも結合することがわかった^{11), 12)}。

これらのことから、フェナンスリジノン骨格がステロイドの代替骨格として、機能している可能性が考えられた。

1.3.2 フェナンスリジノン骨格

フェナンスリジノン骨格は、環の位置が固定された剛直な構造を有している。一般的に、このような剛直な構造の方が各種標的に対して強い活性と高い選択性を示すと言われている。

したがって、剛直なフェナンスリジノン骨格をテンプレートとして構造展開を行うことで、活性増強や選択性の発現に有利となる可能性があった。また、ジフェニルペンタン骨格に比べて構造展開が容易であること、アミド構造を有するために脂溶性が低いことから、創薬の効率化をはかるための有用な骨格となるのではないかと考えられた。

第4節 研究の目的

以上のことから、本研究では、フェナンスリジノン骨格を用いて、ステロイド骨格をリガンドとする様々な標的タンパク質に対するリガンドの効率的創出を目的とした。そして、ステロイド骨格を認識する様々な標的分子に対して作用するフェナンスリジノン類縁体を創出できれば、フェナンスリジノン骨格を新たなステロイド代替骨格として提案できると考えた。

もし、フェナンスリジノン骨格をステロイドの代替構造として提案できれば、ステロイド類縁体を内因性リガンドとする様々の標的タンパク質に対して、シードおよびリード化合物創出の効率化が期待されるだけでなく、剛直性や置換基導入位置の多様性から選択性の付与も期待される。テンプレートを設定し、標的に応じて化学修飾を施すことで生理活性物質を見出すマルチテンプレート手法は、実際の創薬でも利用できる可能性がある。

これらの目的を達成するため、フェナンスリジノン類縁体の種々標的分子に対する活性のプロファイリングを行い（第2章）、その解析をもとに個別に構造展開を行うことで、ステロイドホルモン受容体リガンド、（第3章）、レチノイド関連オーファン受容体 γ リガンド（第4章）、 α -グルコシダーゼ阻害剤（第5章）を創出し、活性および選択性の向上が可能であることを実証する。

第 2 章

生物活性のプロファイリング

第 1 節 フェナンスリジノン類縁体

フェナンスリジノン骨格が、ステロイド骨格の代替骨格として機能することを実証するために、ステロイド系化合物を認識するタンパク質に対して活性評価を行うことにした。また、様々なフェナンスリジノン類縁体における複数の標的タンパク質に対する活性を同時に評価することで、リード化合物の創出がより効率よく行えると考えた。

フェナンスリジノン骨格のラクタム窒素上および 2 位の置換基のアルキル鎖の効果、また核内受容体リガンドでよく用いられているメトキシ基の導入による効果を検討するために、様々なフェナンスリジノン類縁体 **1-34** を合成し、活性のプロファイリングを行った (図 2-1)。

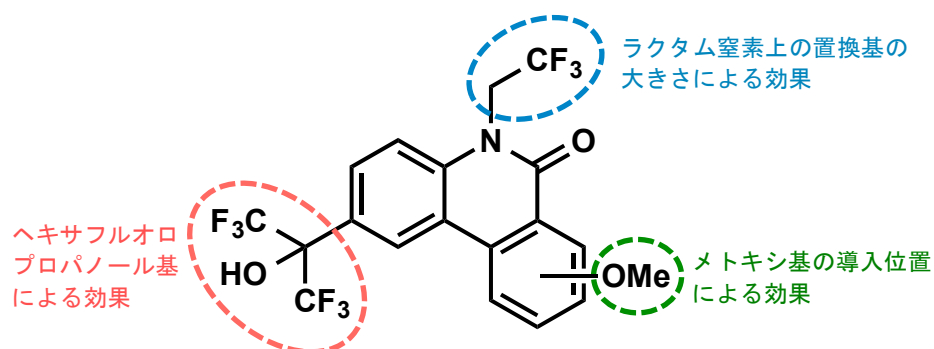
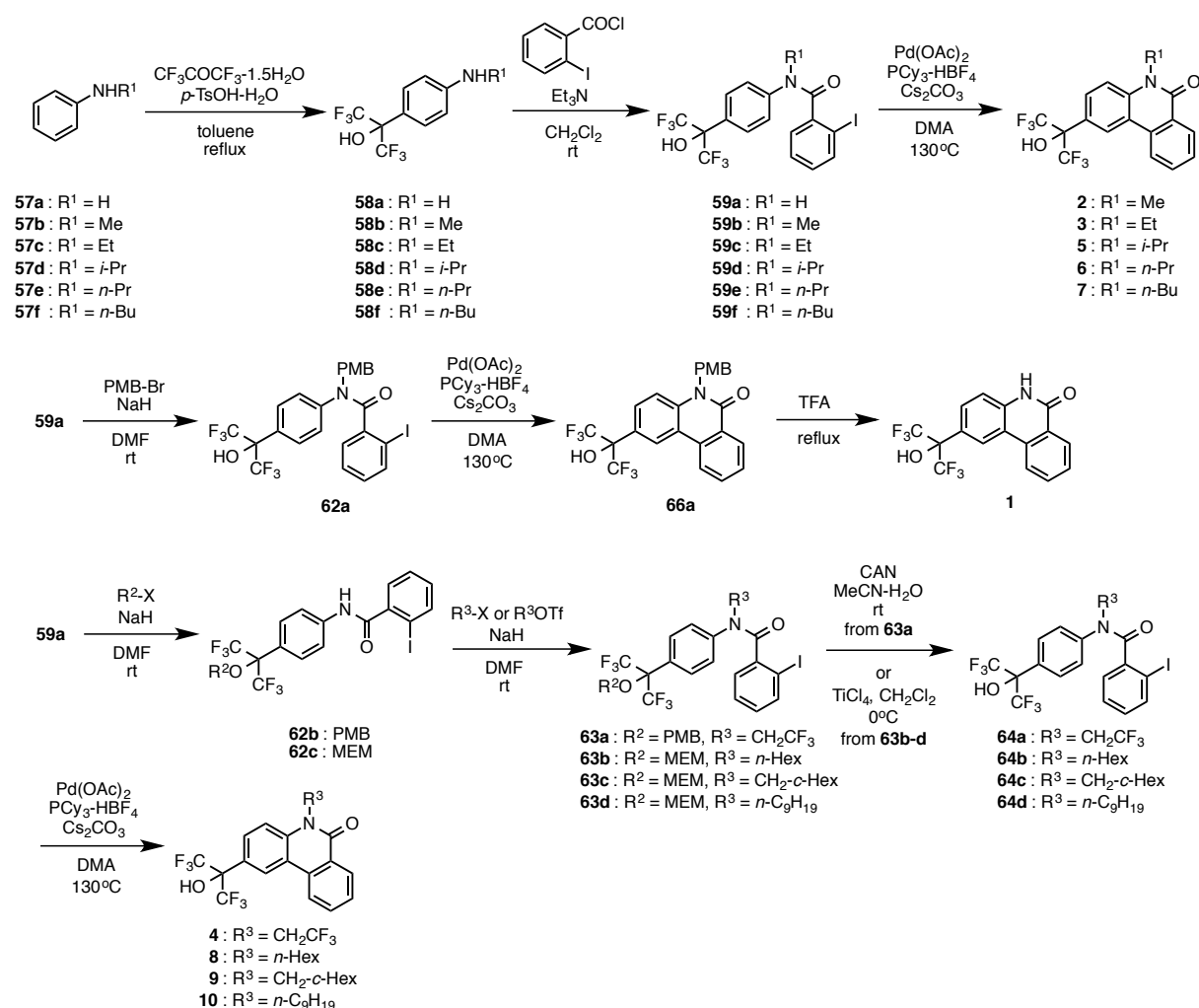


図 2-1 フェナンスリジノン類縁体

2.1.1 ラクトム室素上に置換基を導入した化合物の合成

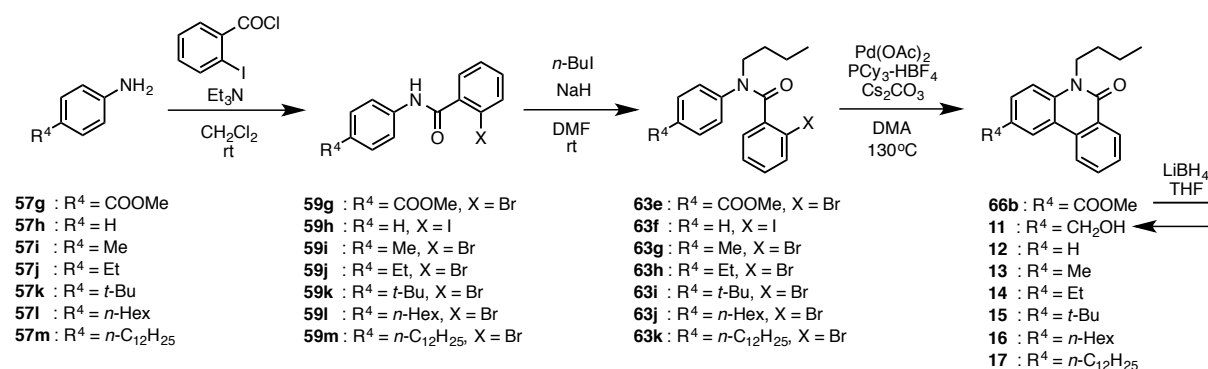
ラクトム上にアルキル鎖を有する化合物 **1-10** は、スキーム 2-1 に示した方法で合成した。*N*-置換アニリン **57a-f** をトルエン中でヘキサフルオロアセトンと反応させることで、ヘキサフルオロプロパノール構造を有するアニリン誘導体 **58a-f** を得た。これに、2-ヨードベンゾイルクロリドを反応させることでアミド化し、パラジウム触媒を用いた分子内カップリング反応によりフェナンスリジノン骨格化合物 **2, 3, 5, 6, 7** を得た。また、**59a** のアミド室素上に 4-メトキシベンジル (PMB) 基を導入した後、分子内カップリング反応を行い、フェナンスリジノン骨格化合物 **66a** を得た。さらに、**66a** を TFA 処理することでアミドの脱保護を行い、**1** を得た。**59a** の末端水酸基を MEM 基あるいは、PMB 基で保護した後、*N*-アルキル化を行い、脱保護を経て、分子内カップリング反応を行い、フェナンスリジノン誘導体 **4, 8, 9, 10** を得た。



スキーム 2-1 ラクトム室素上に置換基を導入した化合物の合成

2.1.2 2 位に置換基を導入した化合物の合成

フェナンスリジノン 2 位に置換基を導入した化合物 **11-17** は、スキーム 2-2 に示した方法で合成した。アニリンおよびパラ位に各種の官能基を有するアニリン誘導体に 2-ヨードまたは 2-ブロモのベンゾイルクロリドを反応させ、アミド体 **59g-m** を得た。そして、アミドの水素原子を引き抜き、*n*-ブチル基を導入した。これをパラジウム触媒で閉環させ、フェナンスリジノン化合物 **66b** および **12-17** を得た。また、**66b** を水素化ホウ素リチウムにより還元し、**11** を得た。

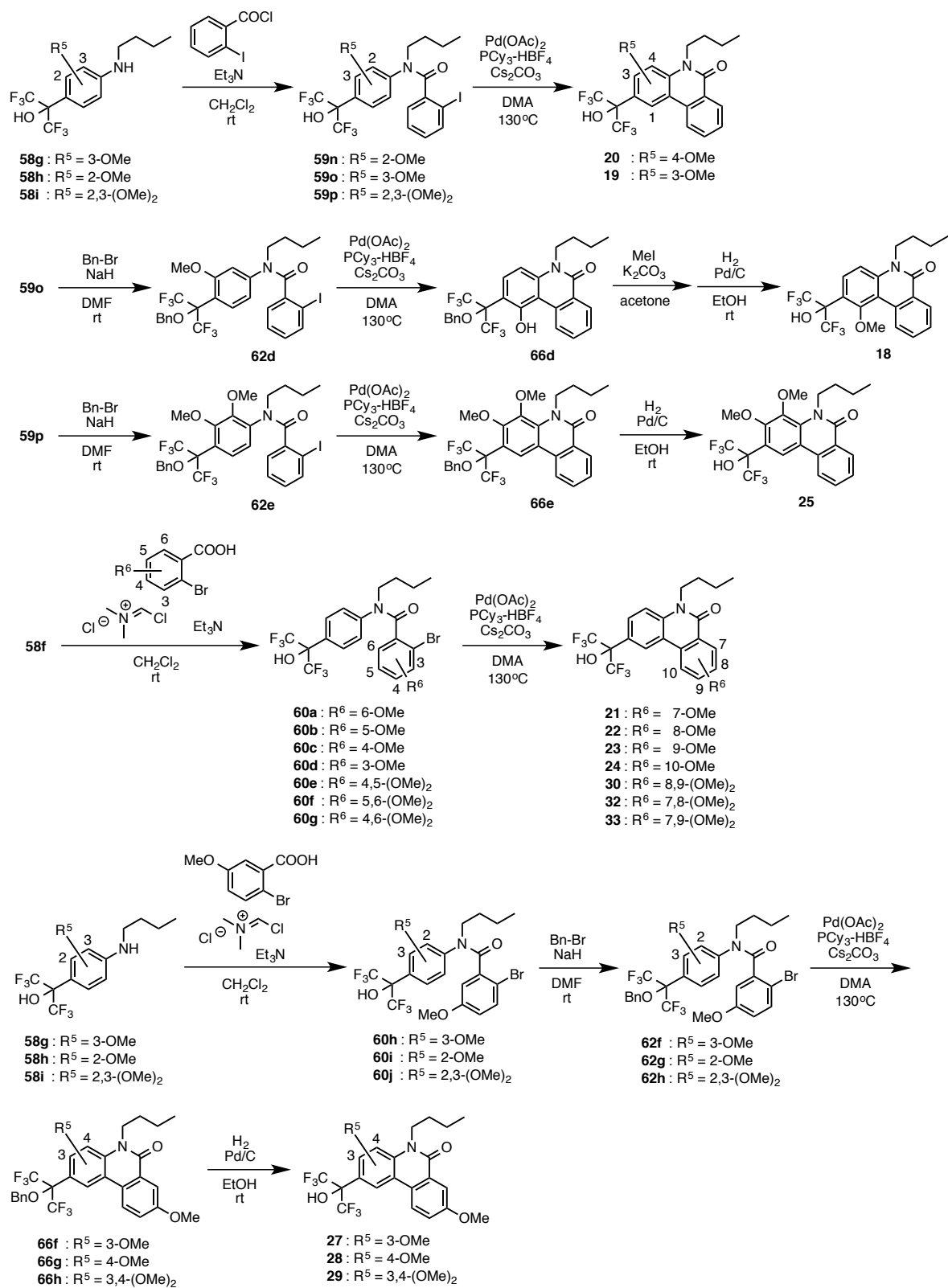


スキーム 2-2 2 位に置換基を導入した化合物の合成

2.1.3 メトキシ基を導入した化合物の合成

フェナンスリジノン骨格にメトキシ基を導入した化合物は、スキーム 2-3 に示した方法で合成した。ヘキサフルオロプロパノール構造を有する *n*-ブチルアニリン誘導体に 2-ヨードベンゾイルクロリド、またはメトキシ基と臭素が導入された安息香酸誘導体をビルスマイヤー試薬により反応させ、アミド体を得た。これらのアミド体をパラジウム触媒で閉環し、フェナンスリジノン類縁体 **18-25**, **27-30**, **32**, **33** を得た。

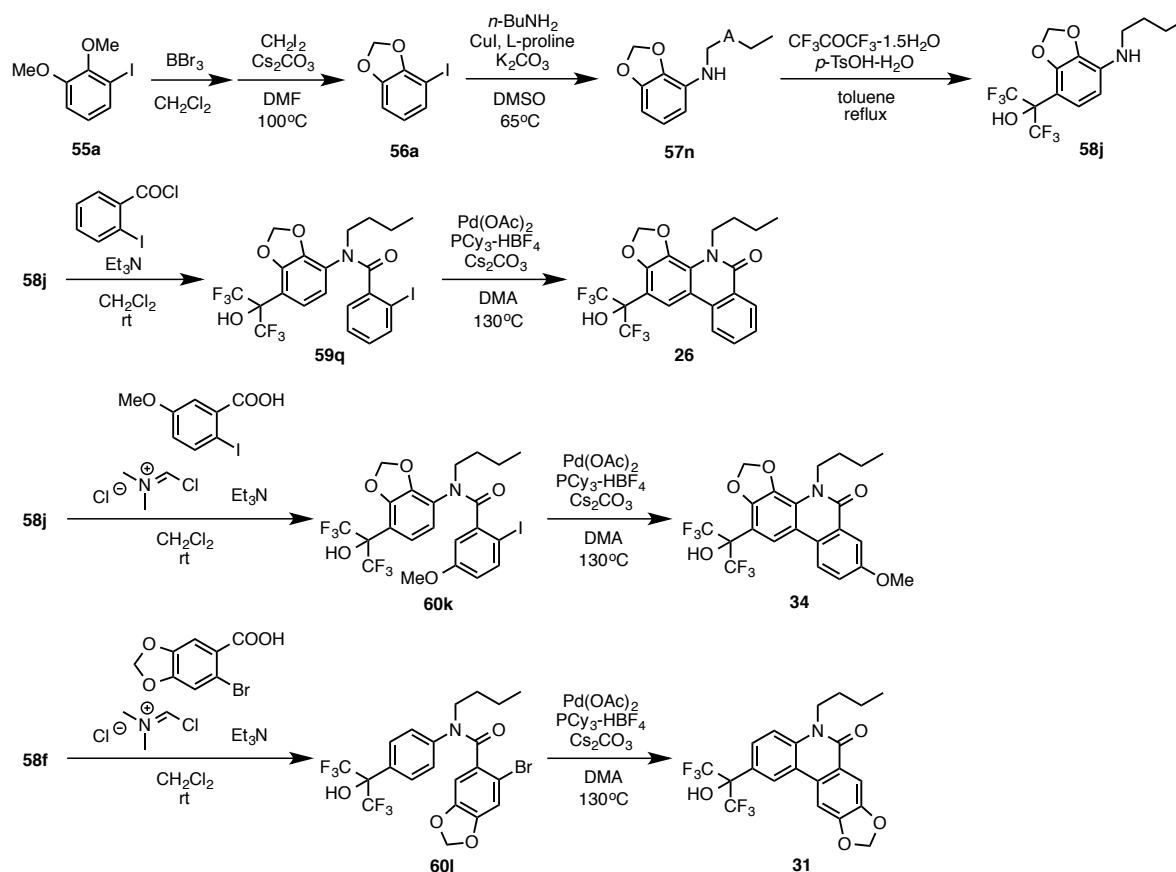
62d をカップリングすると、異性体が生成し、**66d** をメチル化することで 1 位にメトキシ基を持つフェナンスリジノン骨格化合物を得た。その後、水素添加でベンジル基を脱保護することで、1 位にメトキシ基を持つ誘導体 **18** を得た。



スキーム 2-3 メトキシ基を導入した化合物の合成

2.1.4 ジオキソラン構造を導入した化合物の合成

フェナンスリジノン3,4位にジオキソラン構造を導入した化合物 **26**, **31**, **34** は、スキーム 2-4 に示した方法で合成した。ベンゾ[*d*][1,3]ジオキソール誘導体に、*n*-ブチルアミンを銅触媒によるアミノ基を導入し、ヘキサフルオロアセトンと反応させ、ヘキサフルオロプロパノール構造およびジオキソラン構造を有する *n*-ブチルアニリン誘導体 **58j** を得た。これに対して、2-ヨードベンゾイルクロリドまたは 2-ヨード-5-メトキシ安息香酸を反応させ、アミド体を得、パラジウム触媒で閉環し、フェナンスリジノン類縁体 **26**, **34** を得た。また、ヘキサフルオロプロパノール構造を有する *n*-ブチルアニリン誘導体 **58f** に、6-ブロモベンゾ[*d*][1,3]ジオキソール-5-カルボン酸をビルスマイヤー試薬にて反応させ、アミド体 **60l** を得た。パラジウム触媒で閉環し、フェナンスリジノン骨格誘導体 **31** を得た。



スキーム 2-4 ジオキソラン構造を導入した化合物 **26**, **31**, **34** の合成

第 2 節 生物活性評価対象の選定

2.2.1 核内受容体

核内受容体は遺伝子配列に高い共通性があり、一般に、核内受容体の構造は A～F の 6 つの共通したドメイン構造を有している（図 2-2）。

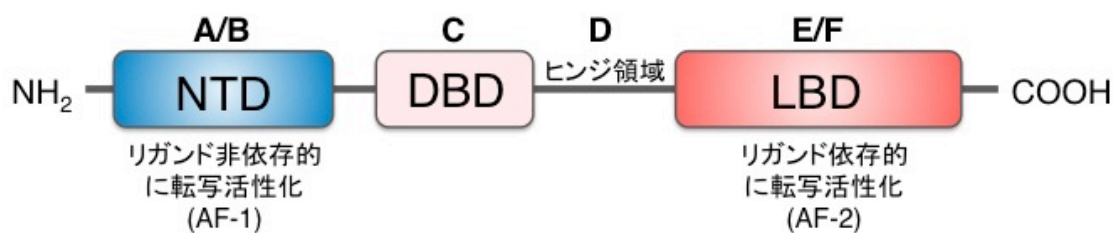


図 2-2 核内受容体のドメイン構造

N 末端領域にある A/B 領域は、リガンド非依存的に転写活性化能を有する AF-1 (activation function 1) を含む領域である。C 領域は、DNA 結合領域 (DNA binding domain; DBD) と呼ばれ、DNA に結合するための特異的な構造が存在する。それぞれの核内受容体は、DBD の構造が異なるため、各核内受容体に対応する応答配列 (response element) に高い結合特異性・親和性を持つ。これにより、特異的な遺伝子発現の制御が可能となる。D 領域はヒンジ領域とも呼ばれ、DBD とそのあとに続く LBD を柔軟に結ぶ領域で、核内に移行するためのシグナル配列が存在する。C 末端領域にある E/F 領域には、小分子リガンドが結合する領域 (ligand binding domain; LBD) が存在し、リガンド依存的に転写活性化能を有する AF-2 領域を含む。

LBD は、リガンド依存的な転写活性発現において特に重要な働きを担っている。三次元構造において 12 個の α -ヘリックスを有しており、C 末端側にある 12 番目のヘリックス (H12, AF-2 が含まれる) は、リガンドの結合によりコンフォメーションが変動する。アゴニストが結合すると、H12 が折り畳まれてコアアクチベーターと相互作用できるようになることで、転写の活性化が引き起こされる。実際に、LXR のアゴニストとして知られる T0901317 は、H11 内のヒスチジン残基と水素結合を形成し、H12 の適切な折りたたみを誘導していることが X 線結晶構造解析により明らかとなっている (図 2-3)。

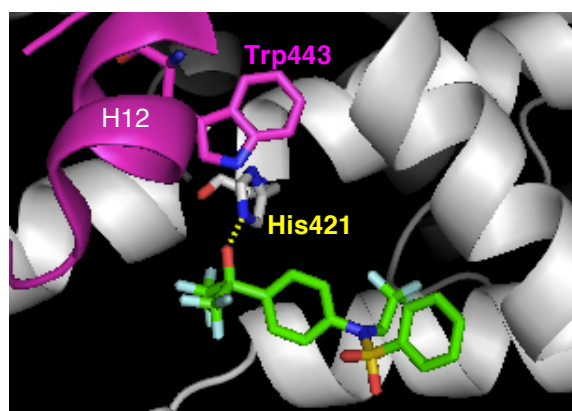


図 2-3 T0901317 と LXR α LBD との相互作用

マゼンタ: H12, 緑: T0901317 を示している。黄色の点線は T0901317 と LXR α LBD の 419 番目のヒスチジン残基との水素結合を表している。LXR α LBD (PDB ID: 1UHL)より作成。

以上のことから、フェナンスリジノン骨格がステロイド代替構造となり得るか検証する目的で、ステロイド系化合物を内因性リガンドとして認識する核内受容体を選択すべく、オキシステロール類をリガンドとするレチノイド関連オーファン受容体 (Retinoid-related orphan receptor; ROR)、ステロイドホルモン受容体として知られるアンドロゲン受容体 (Androgen receptor; AR)、糖質コルチコイド受容体 (Glucocorticoid receptor; GR)、プロゲステロン受容体 (Progesterone receptor; PR) について活性評価を行うこととした。同時に、フェナンスリジノン誘導体が生じた LXR アンタゴニスト活性が、LXR と二量体を形成するレチノイド X 受容体 (Retinoid X receptor; RXR) 依存的でないことを確認する目的から、RXR についても評価した。

2.2.2 α -グルコシダーゼ

α -グルコシダーゼに対しても、フェナンスリジノン類縁体の活性を評価することとした。 α -グルコシダーゼは小腸上皮細胞において、糖の α -グルコシド結合を加水分解する酵素として知られている（図 2-4）。二糖類から単糖類へ分解する作用を有するため、 α -グルコシダーゼの阻害剤は、糖の吸収を遅らせる糖尿病治療薬として用いられている。

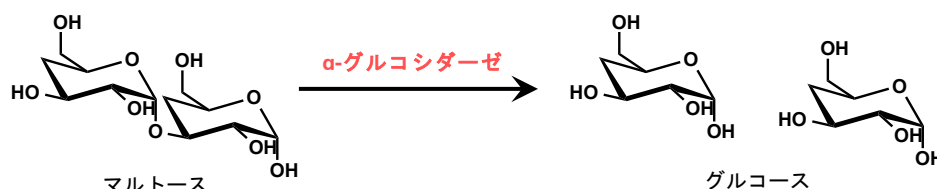


図 2-4 α -グルコシダーゼの活性

当研究室におけるマルチテンプレート手法の研究から、LXR リガンドが α -グルコシダーゼ阻害活性を有することを発見した^{1), 2), 3)}。驚くべきことに、LXR リガンドとして報告されている T0901317, GW3965, 22-(*R*)-ヒドロキシコレステロール, riccardin C は、それぞれ構造が大きく異なっているにも関わらず強い α -グルコシダーゼ阻害作用を有することも見出した（図 2-5）。さらに、 α -グルコシダーゼ阻害剤として知られている genistein⁴⁾ および当研究室で見出された PP2P も、LXR に対してアンタゴニスト作用を示すことがわかった¹⁾。

構造多様性を有する LXR リガンドや α -グルコシダーゼ阻害薬が両タンパク質に共通して作用すること、またステロイド骨格を有する 22-(*R*)-ヒドロキシコレステロールに α -グルコシダーゼ阻害作用が見られたことから、LXR リガンドとして見出されたフェナンスリジノン骨格を有する化合物が、 α -グルコシダーゼ阻害活性を有する可能性が考えられた。

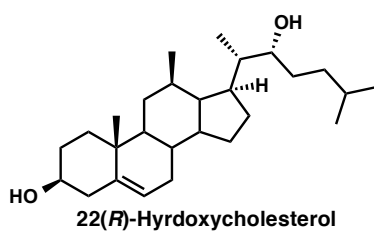
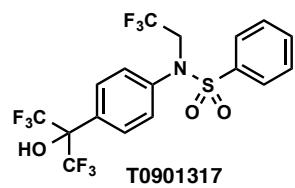
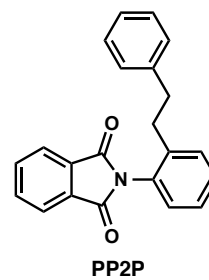
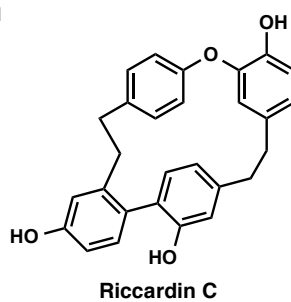
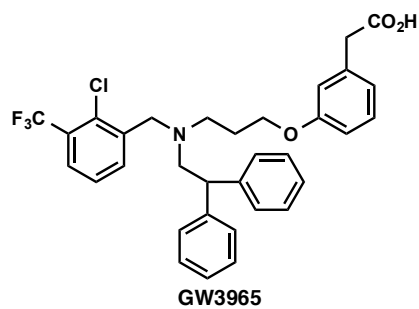
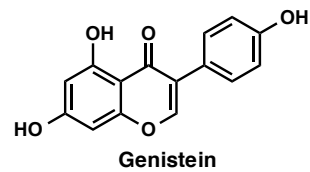
A**B**

図 2-5 LXR に対する活性および α -グルコシダーゼ阻害活性を有する化合物

(A) もともと LXR リガンドとして報告された化合物, (B) もともと α -グルコシダーゼ阻害剤として報告された化合物.

第3節 生物活性のプロファイリング

2.3.1 活性評価系

(a) レポーター遺伝子アッセイ

核内受容体 GR, AR, ROR, LXR, RXR の活性評価は、レポーター遺伝子アッセイを用いた。

GR, AR, ROR のレポーター遺伝子アッセイでは、受容体の全長配列を含む DNA プラスミド (CMX-hGR α , CMX-hAR, pcDNA3.1(-)-hROR α 1, pcDNA3.1(-)-hROR β 1, pcDNA3.1(-)-hROR γ 1), およびその応答配列とルシフェラーゼを連結した DNA プラスミド (GRE-LUC, ARE-LUC, RORE-TK-LUC) をヒト胎児腎細胞 HEK293 に導入し、遺伝子導入した受容体由来の転写産物であるルシフェラーゼの発光量を定量することで、導入した受容体の活性を測定した (図 2-6A)。

LXR, RXR のレポーター遺伝子アッセイでは、GR, AR, ROR とは異なりリガンド結合部位のみを連結した DNA プラスミド (CMX-GAL4N-hLXR α -LBD, CMX-GAL4N-hLXR β -LBD, CMX-GAL4N-hRXR α -LBD) および MH100 とルシフェラーゼを連結した DNA プラスミド (TK-MH100x4-LUC) を用いた。タンパク質 GAL4 は DNA 上の MH100 配列と結合し、転写活性化が起こると MH100 の下流に存在するルシフェラーゼが転写・翻訳され、ルシフェラーゼの発光量を定量することで、導入した遺伝子の活性を測定した (図 2-6B)。

なお well 間における遺伝子導入効率の規格化には、上記遺伝子と同時に遺伝子導入した β -ガラクトシダーゼの活性を指標に用いている。

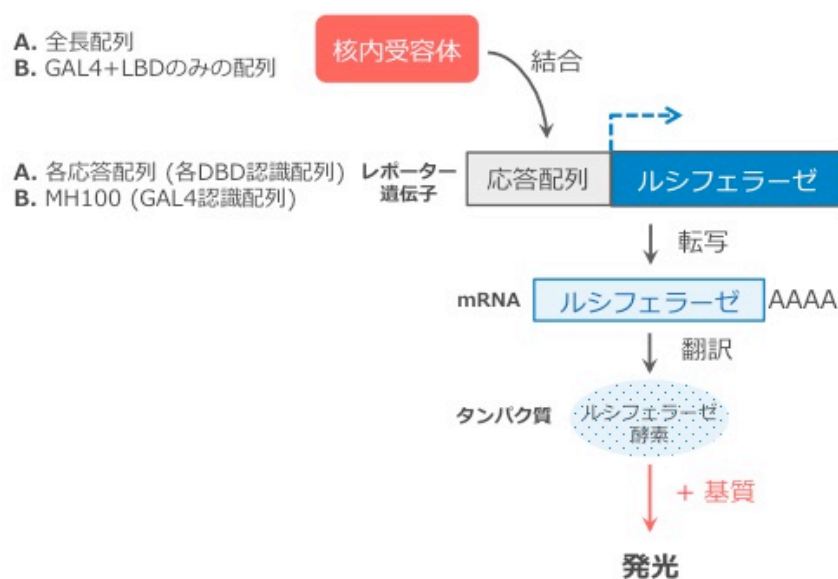
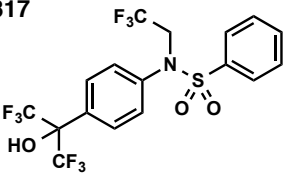
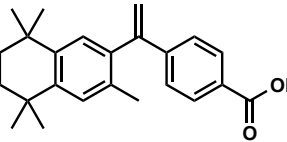
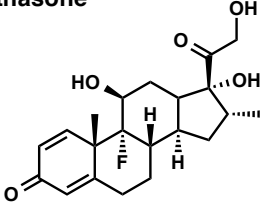
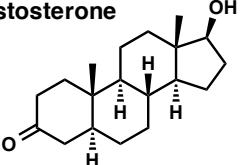


図 2-6 レポーター遺伝子アッセイの原理

受容体の活性は、アゴニスト共存下でのアンタゴニスト活性すなわち IC_{50} 値で判定した。
 その際の各受容体のアゴニストおよびその終濃度を表 2-1 に示した。

表 2-1 アゴニスト共存下におけるアンタゴニスト活性評価

受容体	共存させたアゴニスト	
LXR α	T0901317 	0.3 μ M
LXR β		0.1 μ M
RXR α	Bexarotene 	3 nM
RXR β		5 nM
GR α	Dexamethasone 	0.5 nM
AR	Dihydrotestosterone 	0.3 nM

(b) アルカリホスファターゼアッセイ

核内受容体 PR の活性評価には、ヒト乳がん細胞 T-47D によるアルカリホスファターゼアッセイを用いた^{5),6)}。T-47D は、内因性 PR を発現しており、PR にアゴニストが作用すると PR の標的遺伝子であるアルカリホスファターゼが誘導される性質を有している。アンタゴニスト活性は、PR アゴニストであるプロゲステロン (1 nM) を共存させて評価し、*p*-ニトロフェノールリン酸 (pNPP) を基質としたアルカリホスファターゼの酵素反応において生成する *p*-ニトロフェノール (pNP) の吸光度により判定した (図 2-7)。

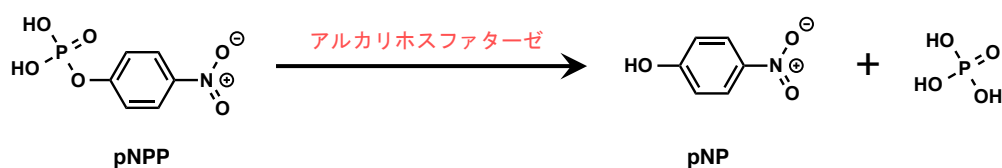


図 2-7 アルカリホスファターゼアッセイの原理

p-NP は、405 nm 付近で吸収極大となる。

(c) α -グルコシダーゼ阻害活性試験

α -グルコシダーゼの阻害活性は、酵母由来の α -グルコシダーゼに対して、*p*-ニトロフェニル- α -D-グルコピラノシド (pNPG) を基質とした試験管内の酵素反応において生成する pNP の吸光度により判定した。

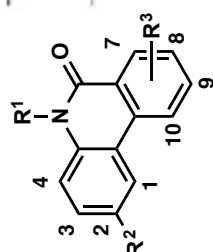
2.3.2 活性ヒートマップの作成

核内受容体 LXR, ROR, RXR, AR, GR, PR および α -グルコシダーゼの活性評価結果は, IC_{50} 値で表し, ヒートマップに表した (表 2-2)。ヒートマップは, 活性が強いすなわち IC_{50} 値が小さくなるほど赤色, 活性が弱いほど青色で活性の強さを示した。

その結果, フェナンスリジノン類縁体は評価したすべての標的に対して活性を示すことが明らかになった。特に AR, GR, PR に作用する化合物で, IC_{50} 値が $1\ \mu\text{M}$ 以下と比較的強い活性を有していたことから, 仮説通りにフェナンスリジノン骨格がステロイド骨格の代替構造として機能しうることが示唆された。また, 2 位の置換基をアルキル鎖に変換すると, ほとんどの核内受容体で活性が低下するが, ROR ではやや活性が見られる。このことから 2 位のヘキサフルオロプロパノール構造は, 核内受容体との相互作用に重要な働きを示すと考えられるが, ROR に対して選択的な化合物を創出できる可能性がある。

そこでこのヒートマップをより詳細に解析し, リード化合物を選定することで構造展開, そして各標的分子に強い活性および選択性を有する化合物の創出を試みた。その結果を, 第 3 章から第 5 章に記載した。

表 2-2 活性ヒートマップ



	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (μM)										α-glucosidase
				AR	GR	PR	RORα	RORβ	RORγ	RXRα	LXRα	LXRβ		
1	H	HO(CF ₃) ₂ C	H	0.10	>20	0.78	>20	>20	>20	>20	9.2	6.5	59	
2	Me	HO(CF ₃) ₂ C	H	0.50	>20	0.34	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>100	
3	Et	HO(CF ₃) ₂ C	H	1.7	>20	1.4	>20	>20	>20	>20	13	6.1	>100	
4	CH ₂ CF ₃	HO(CF ₃) ₂ C	H	7.0	11	2.1	9.9	10	9.0	>20	13	7.6	62	
5	n-Pr	HO(CF ₃) ₂ C	H	5.6	17	3.8	11	8.2	4.2	>20	12	9.2	>100	
6	i-Pr	HO(CF ₃) ₂ C	H	3.6	15	3.0	12	9.7	6.0	>20	7.2	6.9	48	
7	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	H	1.8	7.4	1.2	9.8	6.5	3.9	10	8.7	4.4	60	
8	n-Hex	HO(CF ₃) ₂ C	H	4.0	NA	2.5	7.6	5.4	4.7	14	11	10	39	
9	CH ₂ -o-Hex	HO(CF ₃) ₂ C	H	2.0	NA	3.3	10	8.8	5.8	12	10	5.0	38	
10	n-C ₆ H ₁₃	HO(CF ₃) ₂ C	H	15	NA	10	>20	>20	>20	>20	NA	>20	46	
11	n-Bu	CH ₂ OH	H	9.6	>20	8.6	20	20	20	>20	>20	>20	>100	
12	n-Bu	H	H	17	>20	7.1	10	13	15	>20	18	15	>100	
13	n-Bu	Me	H	11	>20	7.9	18	17	17	>20	15	14	77	
14	n-Bu	Et	H	19	19	7.8	9.0	7.9	9.2	>20	14	14	80	
15	n-Bu	t-Bu	H	17	>20	8.3	12	13	10	NA	>20	>20	56	
16	n-Bu	n-Hex	H	>20	>20	15	10	11	13	NA	13	>20	46	
17	n-Bu	n-C ₁₂ H ₂₅	H	NA	NA	>20	NA	NA	NA	NA	>20	>20	55	
18	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	1-OMe	>20	>20	4.0	>20	>20	>20	>20	>20	>20	29	
19	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3-OMe	1.1	1.3	0.41	8.2	8.2	7.5	12	11	8.5	35	
20	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	4-OMe	2.4	3.9	0.56	7.5	6.9	5.4	9.1	6.2	5	24	
21	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	7-OMe	9.4	14	12	12	15	12.8	15	8.8	11	43	
22	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	8-OMe	1.0	8.2	1.1	12	15	13.3	15	8.9	11	45	
23	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	9-OMe	>20	10	5.8	6.6	7.2	2.7	6.6	5.7	2.1	36	
24	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	10-OMe	>20	20	2.7	7.7	>20	8.5	7.2	3.3	3.8	30	
25	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4-(OMe) ₂	6.1	NA	0.51	10	10	8.5	9.5	7.3	9.6	18	
26	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4-(OCH ₂ O-)	0.54	0.68	0.23	>20	>20	>20	>20	>20	>20	17	
27	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,8-(OMe) ₂	0.58	1.7	0.3	9.5	13	12	13	19	18	61	
28	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	4,8-(OMe) ₂	1.7	5.2	0.34	11	11	10	13	10	10	21	
29	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4,8-(OMe) ₃	2.7	>20	0.2	13	18	12	12	10	10	29	
30	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	8,9-(OMe) ₂	1.6	17	9.6	18	16	19	18	8.8	8.9	>100	
31	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	8,9-(OCH ₂ O-)	3.7	>20	4.3	>20	>20	8.7	14	8.1	13	28	
32	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	7,8-(OMe) ₂	4.6	7.9	4.2	7.3	7.7	8.0	4.6	3.2	3.2	29	
33	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	7,9-(OMe) ₂	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	32	
34	n-Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4,8,9-(OMe) ₄	0.32	0.6	0.17	>20	>20	>20	NA	>20	>20	20	

第 3 章

ステロイドホルモン受容体リガンドの創製

第 1 節 ステロイドホルモン受容体リガンド

3.1.1 アンドロゲン受容体

アンドロゲン受容体 (Androgen receptor; AR) は、精巣、前立腺、精囊の他、脳に多く分布¹⁾し、生殖機能の調節や前立腺がんの発生に関与する遺伝子の発現を調節する。ビカルタミドなど、非ステロイド系 AR アンタゴニストは、主に前立腺がんのホルモン療法剤として用いられる²⁾が、薬剤耐性化およびがん増悪化が問題になっている。そのため新規の治療薬の開発がさかんに行われている。2013 年に日本でも承認された **MDV3100** は、AR アンタゴニスト作用の他に、AR の核内移行と DNA 結合、活性化補助因子の動員を抑制する³⁾。ビカルタミドと比較して、AR に対して高い親和性があり、ビカルタミド抵抗性前立腺がんにも有効な薬剤として期待されている。この他に、非ステロイド系の AR アンタゴニストとしてキノリン誘導体 **4b** ($IC_{50} = 16.5$ nM)⁴⁾ や **compound 26** ($IC_{50} = 16.5$ nM)⁵⁾ などが報告されており、いずれも強い活性を示している。AR アンタゴニスト以外の前立腺がん治療薬の開発としては、アンドロゲン合成酵素阻害薬 **TAK-700** やタキサン系化合物がある。**TAK-700** は、精巣や副腎に存在する酵素 (17,20-リアーゼ) を選択的に阻害し、精巣以外でのアンドロゲンの合成も阻害する。しかしながら、全生存期間において改善がみられなかったため、開発が中止されている。

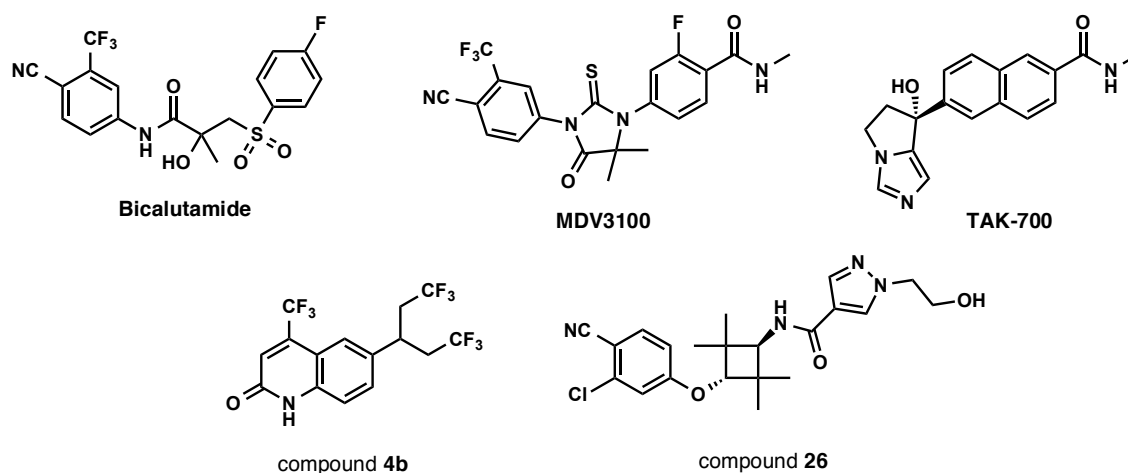


図 3-1 AR アンタゴニスト

3.1.2 糖質コルチコイド受容体

糖質コルチコイド受容体 (Glucocorticoid receptor; GR) は、内因性のコルチコイドをリガンドとして機能する。GR α は全身に発現しているが、特に肝臓や腎臓では高発現している。GR β はリガンド非存在時には主に細胞質に存在し、ヒートショックプロテイン (heat shock protein; HSP90, 70, 50, 20) などと複合体を形成している。リガンドが結合すると複合体が解離し、ホモ二量体もしくは単量体として核内へ移行する。核内では二量体として標的遺伝子の応答配列 (glucocorticoid response element; GRE) に直接結合して転写を活性化するか、もしくは単量体として NF- κ B (nuclear factor- κ B) や AP-1 (activator protein-1) などの他の転写因子とタンパク質-タンパク質間相互作用をして転写を抑制する⁵⁾。

1.1.3 で述べたように、コルチコイドは強力な抗炎症・免疫抑制作用、増殖抑制作用を有するステロイドであり、アレルギー疾患、膠原病、リウマチ、がんの治療に使用されている。しかしその一方で、ステロイドの薬理作用による体重増加、骨粗鬆症、糖尿病などの副作用が問題となっている。これらのことから、副作用を軽減した GR アゴニストが臨床で求められている。

肝臓において GR アンタゴニストは、糖新生経路に関わる遺伝子の制御を通して血糖値を下げる効果が報告されている⁶⁾。GR アゴニストはインスリン抵抗性や糖尿病に対する治療薬となる可能性があり、期待されている。

3.1.3 プロゲステロン受容体

プロゲステロン受容体 (Progesterone receptor; PR) は、子宮、卵管、乳腺の他、脳に多く分布し、排卵や着床などの生殖現象の調節を行う。

合成 PR アゴニストは、避妊や子宮内膜がんのためのホルモン補充療法といった婦人科系疾患に用いられている⁷⁾。ミフェプリストン (RU486) に代表されるアンタゴニストは、避妊薬、子宮内膜症、子宮筋腫、乳がんの治療に用いられている。図 3-2 で示すように臨床で用いられている PR リガンドは、ほとんどがステロイド骨格を有するものである⁸⁾。このようなリガンドは、他のステロイドホルモン受容体 AR, GR などにも作用することが実際知られており、副作用が懸念される。

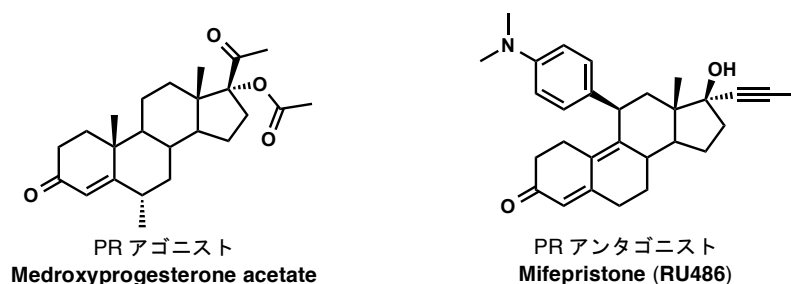


図 3-2 ステロイド骨格を有する PR リガンド

一方で、非ステロイド骨格を有する PR リガンドの開発も進められている。Tanaproget^{9), 10)} は PR アゴニストとして見出され、現在臨床試験も進行中である。Tanaproget の構造展開から得られた化合物によって PR アンタゴニスト **WAY-255348** が見出された。この化合物は、アルカリホスファターゼによる活性評価で、 $IC_{50}=5\text{ nM}$ と強い活性を有している¹¹⁾。

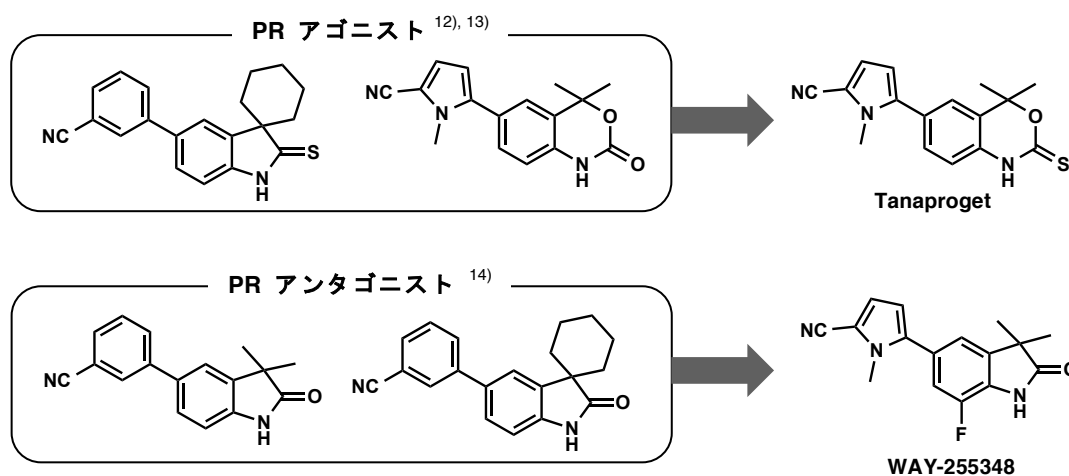


図 3-3 非ステロイド骨格を有する PR リガンド

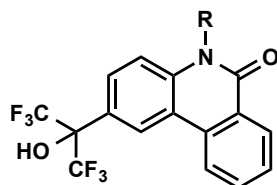
第 2 節 活性プロファイルの解析

ステロイドホルモン受容体に対して、更なる活性増強と選択性獲得を目指して、第 2 章で作成したヒートマップを用いて、フェナンスリジノン類縁体の構造活性相関を詳細に解析した。

3.2.1 ラクタム窒素上の置換基の効果

ラクタム窒素上の置換基の AR, GR, PR のアンタゴニスト活性の構造活性相関を詳細に解析したところ、*n*-ブチル基を導入した **7** に 3 種のステロイドホルモン受容体に対して強い活性が認められた (表 3-1)。GR に関しては、*n*-ブチル基 (**7**) が最も強いアンタゴニスト活性を示した。AR に関してはアルキル鎖が短いほどアンタゴニスト活性が向上する結果が得られた。特に **1** は AR に対して IC₅₀ 値が 0.1 μM と強い活性を示し、GR に対して 200 倍以上の選択性、PR に対しても約 8 倍の選択性がある。PR に対しても、アルキル鎖が短いと強いアンタゴニスト活性を示す傾向があった。PR に対して最も強い活性を示したのはメチル体 **2** で、その IC₅₀ 値は 0.34 μM であった。化合物 **2** は AR に対してほぼ同等の活性を示したものの、GR に対して 60 倍近い選択性を示した。

表 3-1 AR, GR, PR のアンタゴニスト活性に対するラクタム窒素上の置換基効果



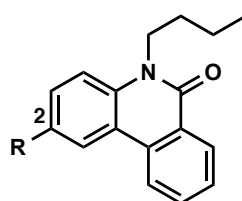
cmpd	R	IC ₅₀ (μM)		
		AR	GR	PR
1	H	0.10	>20	0.78
2	Me	0.50	>20	0.34
3	Et	1.7	>20	1.4
5	<i>n</i> -Pr	5.6	17	3.8
7	<i>n</i> -Bu	1.8	7.4	1.2
8	<i>n</i> -Hex	4.0	NA	2.5
10	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	15	NA	10

3.2.2 2位の置換基の効果

次に2位の置換基に関して、活性プロファイルを解析した。その結果、フェナンスリジノン骨格の2位をアルキル鎖にすると、AR, GR, PR に対する活性は低下した。このことから2位のヘキサフルオロプロパノール構造が3種の受容体アンタゴニスト活性に重要であることが明らかとなった。

T0901317 と LXR の X 線結晶構造解析において、ヘキサフルオロプロパノール構造のヒドロキシ基は、H11 内のヒスチジン残基と相互作用して、H12 の折りたたみを誘導していることが示唆されている (2.2.1)。このことから、フェナンスリジノン類縁体においても、このヘキサフルオロプロパノール構造が、アンタゴニスト作用を示すためには必要であると推察される。

表 3-2 AR, GR, PR のアンタゴニスト活性に対する2位の置換基効果

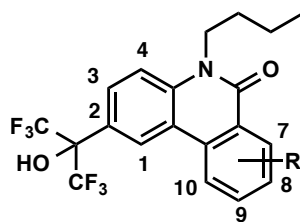


cmpd	R	IC ₅₀ (μM)		
		AR	GR	PR
7	HO(CF ₃) ₂ C	1.8	7.4	1.2
12	H	17	>20	7.1
13	Me	11	>20	7.9
14	Et	19	19	7.8
15	<i>t</i> -Bu	17	>20	8.3
16	<i>n</i> -Hex	>20	>20	15
17	<i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅	NA	NA	>20

3.2.3 メトキシ基の導入位置の効果

メトキシ基の導入位置による AR, GR, PR のアンタゴニスト活性を比較した。3位, 4位, 8位にメトキシ基をそれぞれ導入した **19**, **20**, **22** において、AR, GR, PR のアンタゴニスト活性が強くなる傾向がみられた。**19** では、PR に対する活性は最も強く、AR, GR に対しても強い活性を示した。**20** は、**19** と同等の PR アンタゴニスト活性を示したが、AR, GR に対して、それぞれ約 4.5 倍、約 7 倍選択的である。**22** では、AR, PR の活性が強く、GR に対して約 8 倍選択性がある。

表 3-3 メトキシ基の導入による AR, GR, PR のアンタゴニスト活性



cmpd	R	IC ₅₀ (μM)		
		AR	GR	PR
18	1-OMe	>20	>20	4.0
19	3-OMe	1.1	1.3	0.41
20	4-OMe	2.4	3.9	0.56
21	7-OMe	9.4	14	12
22	8-OMe	1.0	8.2	1.1
23	9-OMe	>20	10	5.8
24	10-OMe	>20	>20	2.7

3.2.4 リード化合物の選定

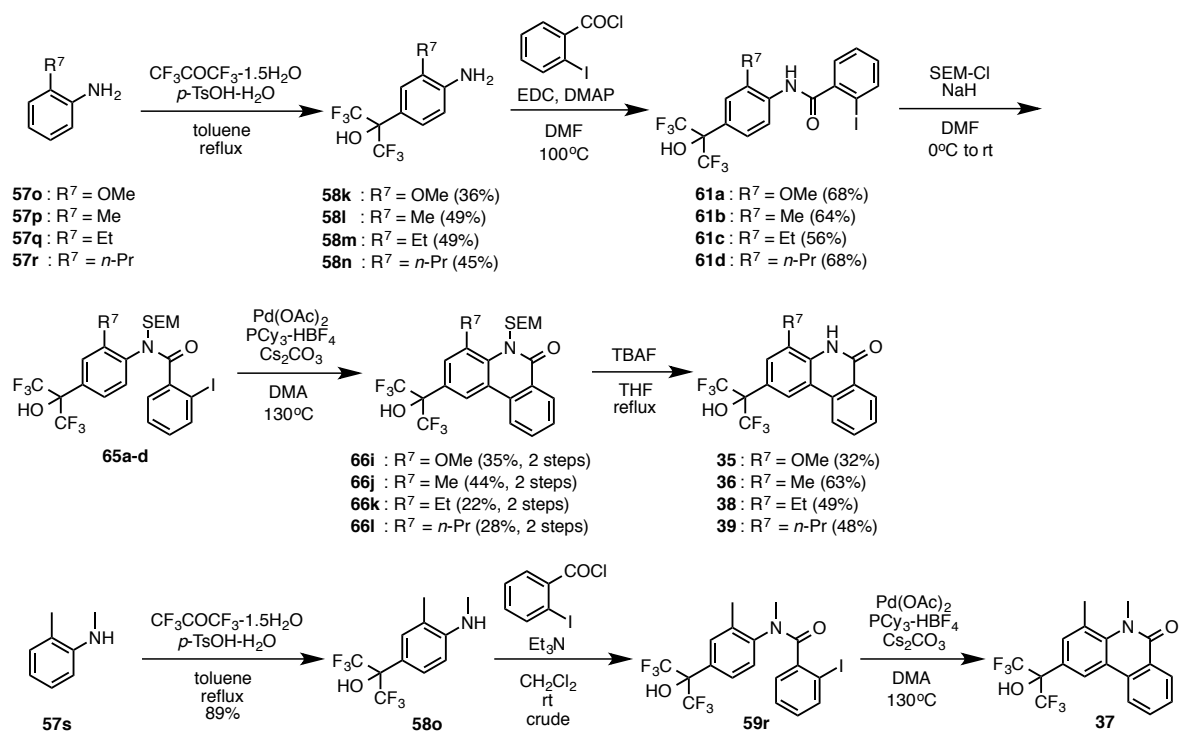
以上の活性ヒートマップの解析から、ラクタム上の置換基において AR に対して強い活性を有する **1** および PR に対して強い活性を有する **2** をリード化合物として選定した。次節では、選定したリード化合物に対する構造展開により PR と AR に対して強い活性および選択性を有する化合物の創出を試みた。特に、**20** に PR に対する選択性がみられたことから、4 位の置換基の検討を中心に行うことにした。

第3節 PR と AR に対する活性および選択性向上に向けた構造展開

選定したリード化合物 **1**, **2** に対して新たに構造展開を実施し, PR と AR に対して強い活性および選択性を有する化合物の創出を試みた。

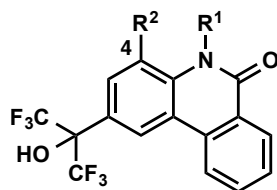
3.3.1 4 位の置換基の検討

最初に, プロファイル解析から得られた知見を参考にしてラクタム室素上の置換基を水素原子に固定し, 4 位に置換基を導入した化合物を新たに設計・合成した (スキーム 3-1)。



スキーム 3-1 4 位に置換基を導入した化合物の合成

表 3-4 4 位の置換基変換における AR, GR, PR のアンタゴニスト活性



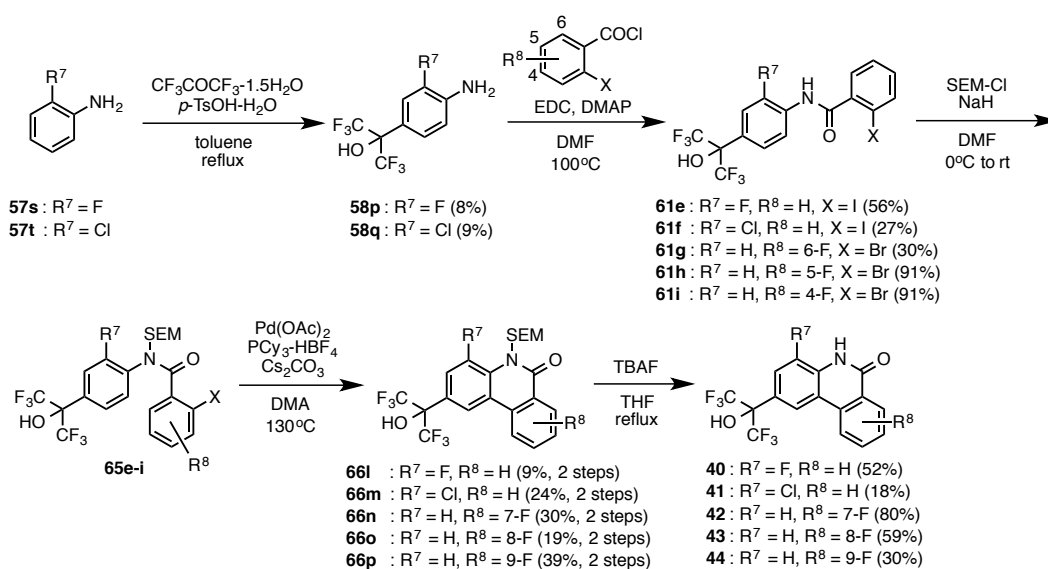
cmpd	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)		
			AR	GR	PR
1	H	H	0.10	>20	0.78
2	Me	H	0.50	>20	0.34
35	H	OMe	>20	>20	0.27
36	H	Me	>20	>20	0.09
37	Me	Me	0.77	>20	0.17
38	H	Et	14	>20	0.21
39	H	<i>n</i> -Pr	5.4	16	0.37

新たに合成した化合物について活性評価を行ったところ、期待通りに PR に対する活性は向上した。**35**, **36** では, AR のアンタゴニスト活性は消失し, **36** で PR アンタゴニスト活性が最も強くなり, その IC₅₀ 値は 0.09 μM であった。4 位のアルキル鎖を伸ばすと, PR の活性は減弱し, AR の活性が強くなる傾向がみられた。

3.3.2 アミドの電子密度による効果

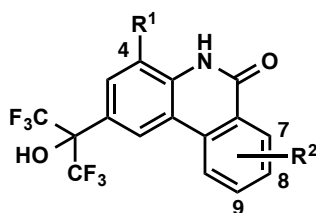
更なる活性向上のため、4位の近傍のアミドに着目した。既存の非ステロイド骨格を有するAR アンタゴニストは、アミドの近傍に電子吸引性置換基が導入されているものが多い。そこで、アミド近傍に電子吸引基を導入し検討を行った。

4位の置換基および7位, 8位, 9位に置換基を導入した化合物を設計・合成した (スキーム 3-2)。



スキーム 3-2 電子吸引性基を導入した化合物の合成

表 3-5 アミドの電子密度の変化による AR, GR, PR のアンタゴニスト活性



cmpd	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)		
			AR	GR	PR
1	H	H	0.10	> 20	0.78
40	F	H	0.28	7.8	0.13
41	Cl	H	< 0.1	> 20	0.35
42	H	7-F	0.46	9.8	0.73
43	H	8-F	0.68	> 20	0.31
44	H	9-F	0.92	7.0	1.0

新たに合成した化合物 **40-44** について活性評価したところ, PR に関しては **36** より強い活性を有する化合物は創出できなかった。一方で, AR に対する活性については, 4 位にハロゲンを導入した化合物 **41, 42** が、アルキル鎖を導入した化合物 **35-39** (表 3-4) よりもアンタゴニスト活性が向上した。特に, クロル基を導入した **41** は, **1** よりも AR に対して強い活性を示した。化合物 **41** の活性について、再現性を確認する予定である。

3.3.3 その他の標的に対する選択性

AR に対して強い活性を有する **1** および PR に対して強い活性を有する **36** について、他の核内受容体に対する活性を確認した。その結果, **1** および **36** は、ともに高い選択性を示した (表 3-6)。

表 3-6 化合物 **1** および **36** の選択性

cmpd	IC ₅₀ (μM)						
	RORα	RORβ	RORγ	LXRα	LXRβ	RXRα	α-glucosidase
1	> 20	> 20	> 20	9.2	6.5	> 20	59
36	NA	> 20	> 20	> 20	> 20	> 20	27

3.3.4 ドッキングスタディーによる評価

AutoDock4.2 を用いて化合物 **36** と PR (PDB ID: 3ZRA) のドッキングスタディーを行った。図 3-4 は得られた計算結果を元の PDB データに導入して作成した。

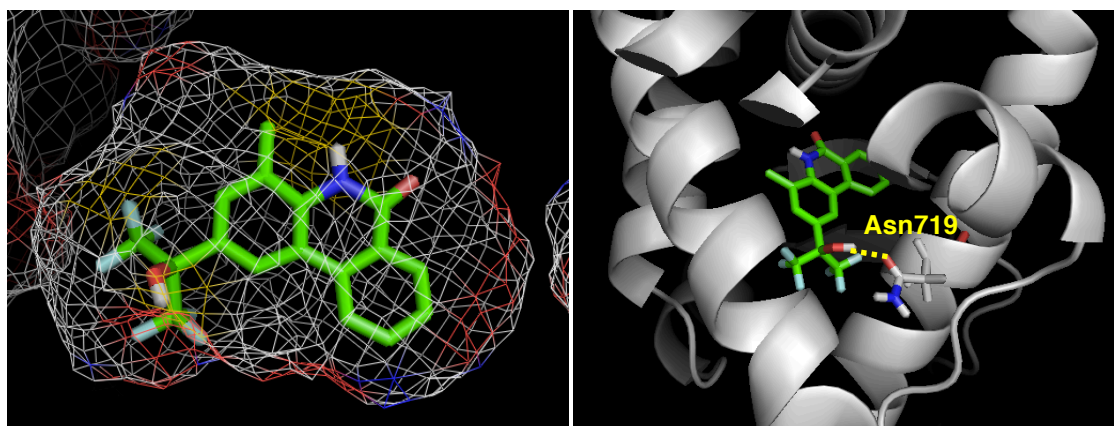


図 3-4 PR と化合物 **36** のドッキングシミュレーション結果

36 は、フェナンスリジノン骨格の 2 位のヘキサフルオロプロパノール構造は、PR の 719 番目のアスパラギンと水素結合を結合していることが示唆され、リガンドポケット内に収まっていることが観察された。

またフェナンスリジノン骨格の 4 位とラクタム窒素上の置換基と各受容体との空間配置を比較した。PR 分子に対して AR および GR 分子を重ね合わせたところ、**36** のラクタム窒素近傍は、AR および GR では比較的広い空間があるのに対し、4 位のメチル基の近傍は AR および GR では空間が狭く、一方 PR では空間に余裕があることが示唆された (図 3-5)。この結果は、4 位のメチル基が PR に対する選択性を向上させていることを支持するものと考えている。

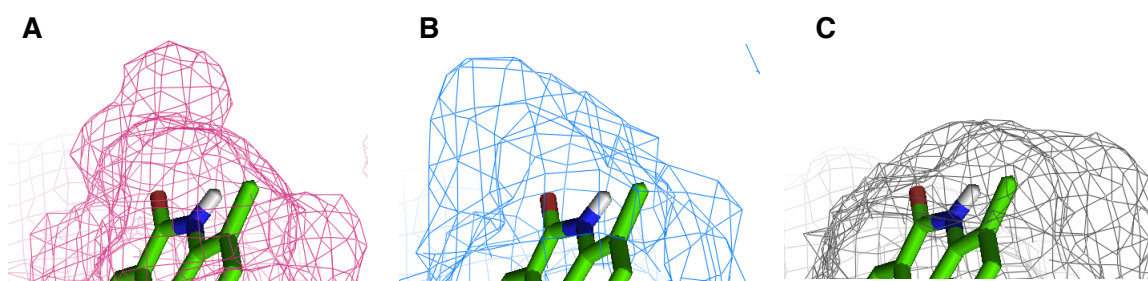


図 3-5 化合物 **36** と AR, GR, PR との空間配置の比較

AR (PDB ID: 2AXA), GR (PDB ID: 4LSJ), PR (PDB ID: 3ZRA) により作成. PR と **36** のドッキングシミュレーション結果に対して、AR および GR タンパク質を重ね合わせた。(A) AR, (B) GR, (C) PR と **36** の 4 位近傍を示したものである。

第4節 小括

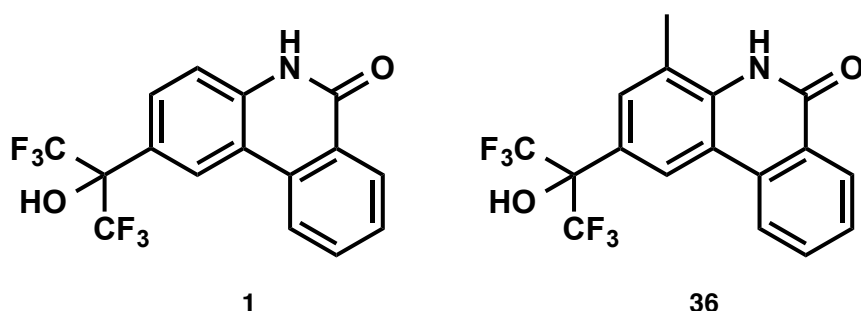


図 3-6 AR アンタゴニスト (1) および PR アンタゴニスト (36)

PR に対して約 8 倍, GR に対して 200 倍以上選択的な AR アンタゴニスト **1** と, AR, GR に対して 200 倍以上選択的な PR アンタゴニスト **36** を創出した。これらの化合物は, LXR, ROR, RXR, α -グルコシダーゼに対しても高い選択性を示した。このことから、遺伝子の相同性の高い核内受容体のグループ間でもフェナンスリジノン骨格を用いて高い選択性を有する化合物の創出が可能であることが示唆された。

今回は検討できなかったが, AR に対して強い活性を有する **41** は, これまでの活性プロファイルからアミド窒素上の置換基を *n*-ブチル基にすれば, PR に対する活性を減弱でき, AR 選択的化合物の創出が可能となるかもしれない。また, PR の更なる活性向上策として, **36** と **43** を組み合わせた化合物を考えている。**43** は, **1** に比較して AR 活性は減弱するが, PR の活性は 2 倍ほど増強している。この結果をふまえ, ラクタム窒素上の置換基に水素原子, 4 位にメチル基, 8 位にフルオロ基を導入した化合物は PR に対する選択性・活性が向上する可能性があると考えている。

第 4 章

レチノイド関連オーファン受容体 γ リガンドの創製

第 1 節 レチノイド関連オーファン受容体

4.1.1 概説

レチノイド関連オーファン受容体 (Retinoid-related orphan receptor; ROR) は、核内受容体ファミリーに属し、免疫や代謝、概日リズムに関与すると言われている。ROR には、 α , β , γ の 3 種類のサブタイプが存在しており、ヒトにおいて ROR α には $\alpha 1 \sim 4$, ROR β には $\beta 1$, ROR γ には $\gamma 1, \gamma 2$ (γt) のアイソフォームが存在している (図 4-1)。

LBD 末端部分には、Activation function 2 (AF2) とよばれる転写促進領域が存在する。この領域は 12 番目の α -ヘリックス (H12) 内にある ROR において保存されたアミノ酸配列 PLYKELF を有している。H12 の欠失あるいは H12 内に点変異がある場合は、ROR の転写活性を失う¹⁾。

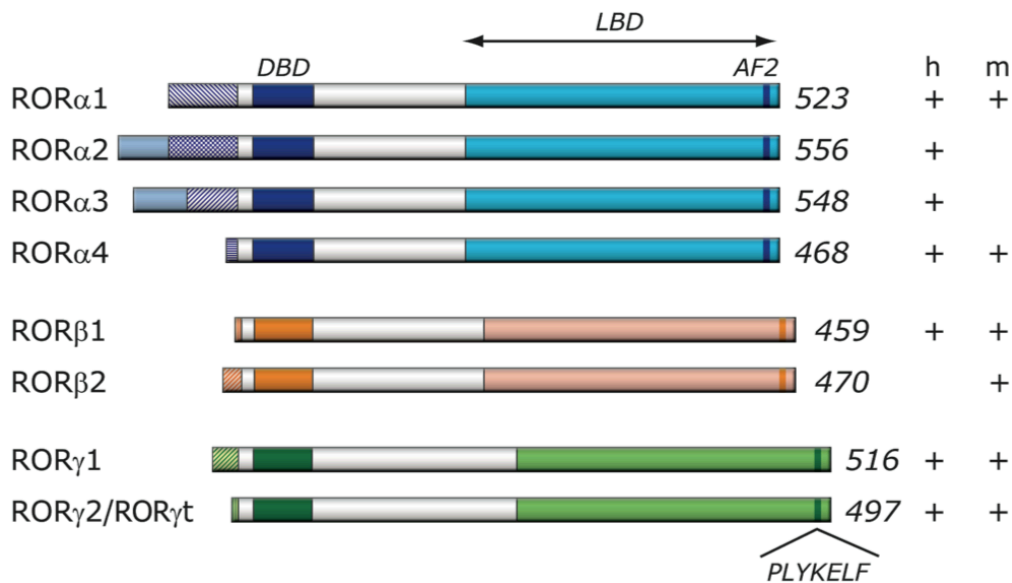


図 4-1 ROR ファミリーの構造¹⁾

Schematic structure of the various human (h) and mouse (m) ROR isoforms. The DNA binding domain (DBD) and ligand binding domain (LBD), and activation function 2 (AF2) are indicated. The variable regions at the N-terminus of each ROR generated by alternative promoter usage and/or alternative splicing are indicated by patterned boxes on the left. The numbers on the right refer to the total number of amino acids in RORs. The different ROR isoforms identified in human and mouse are shown on the right (+/-).

RORは単量体でその応答配列 (ROR response element; RORE) に結合する。一方で、多くの核内受容体がホモ二量体またはヘテロ二量体を形成して各々の応答配列に結合するが、これはLBDの10番目のヘリックス (H10) が関与していると言われている。RORのH10にはねじれが存在し、そのために二量体形成能が低くなっていると考えられている^{2),3)}。

長い間リガンド未知の受容体として知られていたが、最近になって天然および合成リガンドが数多く報告されるようになってきた。また、RORの生理的作用や疾患との関連性が明らかになりつつある。RORは、創薬のターゲットとして注目されている。

4.1.2 各サブタイプの機能および役割

ROR α は、肝臓、筋組織、皮膚、肺、脂肪組織、腎臓などの様々な組織に発現しているが、特に小脳や視床に高頻度に発現している^{4),5)}。ROR α 欠損マウスでは、骨の形成異常⁶⁾、運動失調⁷⁾や小脳萎縮を示す。さらに、萎縮した脾臓や胸腺がみられることから、胸腺リンパ球形成や発達にも関与している可能性がある⁸⁾。

ROR β は、視床下部や脳下垂体、網膜に発現している^{9),10)}。ROR β 欠損マウスは、運動機能や視覚などに欠陥を示す。また、網膜の光受容体の成熟に関与しているという報告もある¹¹⁾が、詳細はほとんど明らかになっていない。

ROR γ 1は、筋組織、脂肪組織、睪丸、膵臓、前立腺、心臓、肝臓といった多くの組織で発現している¹²⁾。一方でROR γ tは、免疫に関連する細胞で顕著に発現している。ROR γ 欠損マウスでは、リンパ節やパイエル板が存在しない¹³⁾ことから、ROR γ はリンパ器官形成やパイエル板の発達に必須であると考えられる。

4.1.3 RORを標的にした治療戦略

研究の進展により、ROR選択的に阻害する治療戦略は、自己免疫疾患や代謝異常の治療に有望であることがわかってきた。

ROR α とROR γ tは、Th17細胞 (ヘルパーT細胞) の発達のための主要な制御因子であり、多発性硬化症、関節リウマチ、炎症性腸疾患、乾癬といった自己免疫疾患の発症に関与している^{14),15)}。Th17細胞は、サイトカインであるインターロイキン-17 (IL-17) を産生する能力を有する。RORはIL-17のプロモーター領域にあるROREを介してIL-17の発現を制御する¹⁶⁾。ROR γ のみ、またはROR α とともに遺伝子を欠損させたマウスでは、Th17細胞

へ分化せず、多発性硬化症の動物実験モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (Experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE) を誘発しなかった¹⁷⁾。これらのことから、ROR α や ROR γ t に対する選択的阻害剤は自己免疫反応の軽減につながる可能性がある。現在の Th17 細胞を介した自己免疫疾患の治療は、免疫抑制剤の投与によるもので、副作用を伴う。ROR を標的にすることで、全免疫システムを抑制するのではなく、一部分を抑制することになるため、副作用の軽減になると期待される。

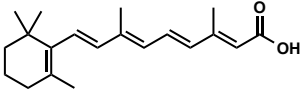
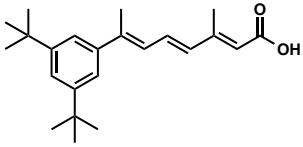
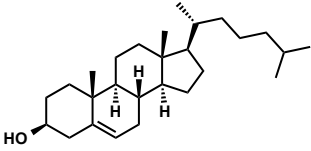
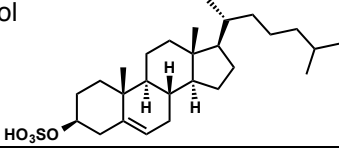
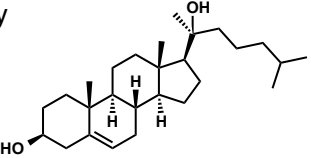
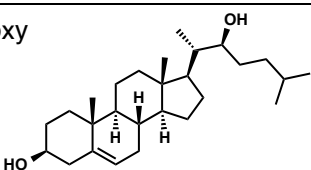
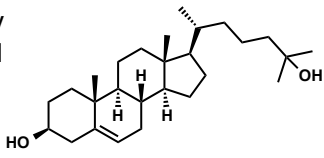
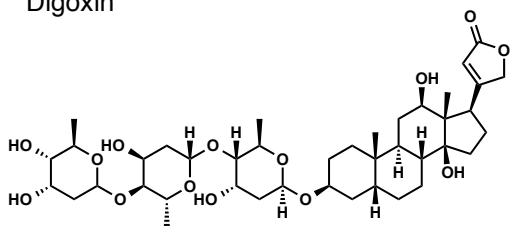
また ROR α と ROR γ は、グルコースや脂質代謝に重要であることが変異マウスの表現型の解析から明らかとなった^{18), 19)}。Staggerer マウスは自然発生の ROR α 欠損マウスであるが、野生型マウスと比較して血漿コレステロール値が低く²⁰⁾、高脂肪食を与えても体重増加や脂肪肝は認められなかった¹⁹⁾。ROR α を抑制することで肝臓でのグルコース生産の抑制に有用である可能性がある^{21), 22)}。ROR γ 欠損マウスは、コレステロールやトリグリセリドの値は正常であるが、血中グルコース濃度は野生型と比べてわずかに低下した¹⁸⁾。これらのことから、ROR α と ROR γ を抑制する化合物は、メタボリックシンドロームやそれに付随する疾患の治療薬となりうる可能性がある。

第2節 レチノイド関連オーファン受容体リガンド

4.2.1 天然物系のリガンド

ROR の天然物系のリガンドを表 3-1 にまとめた。全トランス型レチノイン酸 (All-trans retinoic acid; ATRA) や合成レチノイド ALRT1550 は、ROR β との共結晶構造が測定された ROR β リガンドである²³⁾。これらのリガンドは、ROR β を介した転写活性を減弱させる。コレステロールやコレステロール硫酸は、ROR α に対してアゴニスト活性を示し、共結晶構造も得られている^{24), 25)}。20 α -ヒドロキシコレステロール、22(R)-ヒドロキシコレステロール、25-ヒドロキシコレステロールは、ROR γ のアゴニストとして共結晶構造がとられた²⁶⁾。また、強心配糖体の1つであるジゴキシンは、Huh らにより、4812 の化合物からショウジョウバエの S2 細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイにより ROR γ のアンタゴニストとして見出された^{27), 28)}。ジゴキシンは、ROR α に対しては活性を示さない ROR γ 選択的なリガンドである。

表 4-1 天然物系 ROR リガンド

Compound		Activity	
1	<p>ATRA</p> 	ROR β antagonist	$K_d = 280 \text{ nM}^{*1}$ $K_i = 280 \text{ nM}^{*1}$ $IC_{50} = 0.15 \text{ nM}^{*2}$
2	<p>ALRT1550</p> 	ROR β antagonist	$K_i = 160 \text{ nM}^{*1}$ $IC_{50} = 0.039 \text{ nM}^{*2}$
3	<p>Cholesterol</p> 	ROR α agonist	$EC_{50} = 200 \text{ nM}^{*3}$
4	<p>Cholesterol Sulfate</p> 	ROR α agonist	
5	<p>20α-Hydroxy Cholesterol</p> 	ROR γ agonist	$EC_{50} = 20\text{-}40 \text{ nM}^{*3}$
6	<p>22(R)-Hydroxy Cholesterol</p> 	ROR γ agonist	$EC_{50} = 20\text{-}40 \text{ nM}^{*3}$
7	<p>25-Hydroxy Cholesterol</p> 	ROR γ agonist	$EC_{50} = 20\text{-}40 \text{ nM}^{*3}$
8	<p>Digoxin</p> 	ROR γ inverse agonist	$IC_{50} = 680 \text{ nM}^{*2}$

*1: Radioligand binding assay, *2: GAL4-DBD NR-LBD luciferase reporter assay, *3: AlphaScreen assay

4.2.2 合成リガンド

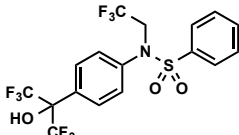
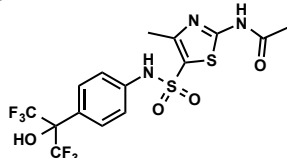
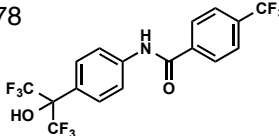
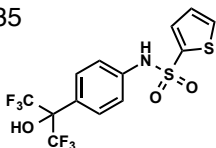
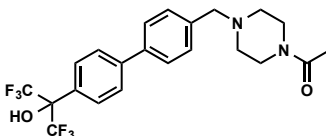
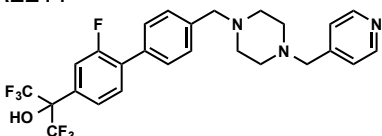
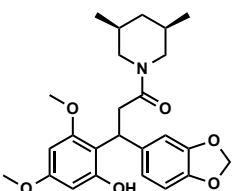
2010 年、スクリプス研究所の Burris らのグループが、LXR アゴニストとして知られる T0901317 に強い ROR α / γ インバースアゴニスト活性があることを報告した²⁹⁾。T0901317 は、初の ROR 合成リガンドで、ROR α および ROR γ に対して強く結合している化合物である。GAL4/UAS システムを利用した ROR のレポーター遺伝子アッセイにおいて、ROR α および ROR γ では濃度依存的に活性を示したのに対し、ROR β ではほとんど活性はみられなかった。これにより、非ステロイド骨格を持つ ROR リガンドの探索がさらに進められた。

スクリプス研究所では、T0901317 類似化合物など他にも多くの ROR リガンドを報告している (表 4-2)。ROR γ 選択的リガンドの探索のため、T0901317 類縁体の構造活性相関解析を行ったところ、SR1001³⁰⁾、SR1078³¹⁾、SR3335²²⁾を見出すことに成功した。SR1001 は、GAL4/UAS システムを利用した ROR のレポーター遺伝子アッセイにおいて、ROR α および γ に対して濃度依存的に作用したが、LXR に対しては活性を示さなかった。また放射性リガンド [³H]25-ヒドロキシコレステロールとの競合実験により ROR α および ROR γ に対する結合も確認されている (ROR α : K_i = 172 nM, ROR γ : K_i = 111 nM)。SR1078 は、合成リガンド初の ROR α / γ アゴニストであり、T0901317 が作用した FXR や LXR には作用しない ROR 選択的なリガンドであることが確認された。SR3335 は、ROR γ や LXR α に対して作用しない ROR α 選択的なインバースアゴニストである。

LXR に対する選択性を維持しつつ ROR α の活性を低下させるため、SR1001 からさらに構造展開を行い得られた化合物が、SR1555³²⁾ および SR2211³³⁾ である。SR1555 は、GAL4/UAS システムを利用した ROR のレポーター遺伝子アッセイにおいて LXR, FXR, ROR α の活性を有しておらず、また放射性リガンド [³H]T0901317 との競合実験において、ROR γ の時のみ競合が確認されたことから、ROR γ 選択的インバースアゴニストであることが明らかとなった。SR2211 は、シンチレーションプロキシミティアッセイ法 (Scintillation proximity assay; SPA) によって放射性リガンドと化合物群との結合を測定することで見出された。ROR α に対して活性を示さず、ROR γ 選択的にインバースアゴニスト活性を示す。

これらの他にも、ROR γ 選択的なリガンドを得るために、スクリプス研究所のグループは、ハイスループットスクリーニング (HTS) を実施し、リード化合物を取得、更なる構造展開により ML209 (SR9805)^{34), 35)}を見出している。

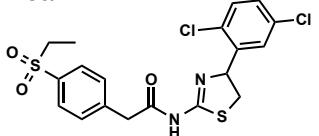
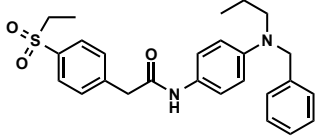
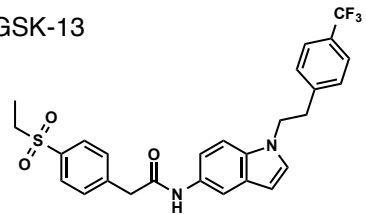
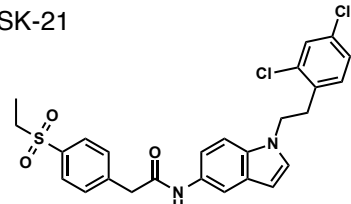
表 4-2 合成 ROR リガンド (スクリップス研究所)

Compound		Activity	
9	T0901317 	RORα inverse agonist	$K_i = 132 \text{ nM}^{*1}$ $IC_{50} = 2.0 \text{ } \mu\text{M}^{*2}$
10	SR1001 	RORα inverse agonist	$K_i = 172 \text{ nM}^{*1}$
		RORγ inverse agonist	$K_i = 111 \text{ nM}^{*1}$ $IC_{50} = 117 \text{ nM}^{*3}$
11	SR1078 	RORα/γ agonist	$EC_{50} = 1\text{-}3 \text{ } \mu\text{M}^{*2}$
12	SR3335 	RORα inverse agonist	$K_i = 220 \text{ nM}^{*1}$ $IC_{50} = 480 \text{ nM}^{*3}$
13	SR1555 	RORγ inverse agonist	$IC_{50} = 1.5 \text{ } \mu\text{M}^{*3}$
14	SR2211 	RORγ inverse agonist	$K_i = 105 \text{ nM}^{*1}$ $IC_{50} = 320 \text{ nM}^{*3}$
15	ML209 (SR9805) 	RORγ inverse agonist	$IC_{50} = 500 \text{ nM}^{*2}$

*1: Radioligand binding assay, *2: luciferase reporter assay, *3: AlphaScreen assay

グラクソ・スミスクラインでも ROR γ リガンドの取得に向けて HTS が実施された。蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence resonance energy transfer; FRET) を利用したアッセイ法により、表 4-3 に示す化合物が得られている^{36),37)}。

表 4-3 合成 ROR リガンド (グラクソ・スミスクライン)

Compound		Activity	
16	GSK-6a 	ROR γ inverse agonist	pIC ₅₀ = 6.0 ^{*4}
17	GSK-2 	ROR γ agonist	EC ₅₀ = 20 nM ^{*4}
18	GSK-13 	ROR γ inverse agonist	IC ₅₀ = 5 nM ^{*4} IC ₅₀ = 31 nM ^{*5}
19	GSK-21 	ROR γ inverse agonist	IC ₅₀ = 6 nM ^{*4} IC ₅₀ = 9 nM ^{*5}

*4: TR-FRET (co-activator binding assay), *5: Th17 cell differentiation assay

バイオベンチャーであるジェネンテックも、スルホンアミド型の ROR γ リガンドを報告している³⁸⁾。
[³H]25-ヒドロキシコレステロールとの競合実験により、ROR γ LBD との結合を評価し、図 4-2 の化合物を得た。
この化合物は、IC₅₀ 値 130 nM という強い活性を示す。

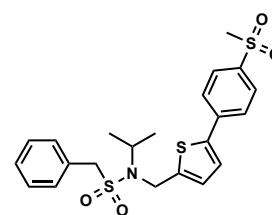


図 4-2 ROR γ インバーサアゴニスト (ジェネンテック)

第3節 活性プロファイルの解析

ROR に対して更なる活性増強と選択性の獲得を目指し、第2章で作成したヒートマップを用いてフェナンスリジノン類縁体の構造活性相関を詳細に解析した。

4.3.1 ラクタム窒素上の置換基の効果

ラクタム窒素上の置換基の ROR インバースアゴニスト活性について構造活性相関の解析を行った。その結果、比較的短いアルキル鎖 (**1-3**) では、 α , β , γ のいずれにおいてもほとんど活性を示さなかったが、*n*-ブチル基を導入した **7** において ROR γ に対する活性が最も強い結果が得られた。さらにアルキル鎖を伸ばすと、ROR γ に対する活性は低下した。一方、ROR α と ROR β については *n*-ヘキシル体 **8** が、わずかながら強いインバースアゴニスト活性を有していた。

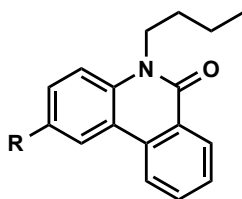
表 4-4 ラクタム窒素上の置換基の ROR インバースアゴニスト活性

cmpd	R	IC ₅₀ (μM)		
		ROR α	ROR β	ROR γ
1	H	>20	>20	>20
2	Me	>20	>20	>20
3	Et	>20	>20	>20
5	<i>n</i> -Pr	11	8.2	4.2
7	<i>n</i> -Bu	9.8	6.5	3.9
8	<i>n</i> -Hex	7.6	5.4	4.7
10	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	>20	>20	>20

4.3.2 2位の置換基の効果

2位の置換基について解析を行ったところ、エチル基を導入した **14** で α , β , γ のいずれに対しても活性が認められた。ROR γ に対しては、ヘキサフルオロプロパノール構造を導入した **7** よりも **14** の活性の減弱がみられた。

表 4-5 2位の置換基の ROR インバースアゴニスト活性



cmpd	R	IC ₅₀ (μM)		
		ROR α	ROR β	ROR γ
11	CH ₂ OH	>20	>20	>20
12	H	10	13	15
13	Me	18	17	17
14	Et	9.0	7.9	9.2
15	<i>t</i> -Bu	12	13	10
16	<i>n</i> -Hex	10	11	13
17	<i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅	>20	>20	>20

4.3.3 メトキシ基の導入位置の効果

メトキシ基の導入位置による ROR インバーサゴニスト活性を比較した。メトキシ基を 3 位, 4 位, 9 位にそれぞれ導入した **19**, **20**, **23** において, ROR インバーサゴニスト活性を比較的に強く示した。特に, **23** は, ROR γ に対する活性が 1.1 μ M と活性ヒートマップ中では最も強く, ROR α と比べて約 5 倍, ROR β と比べて約 7 倍 ROR γ 選択的であった。以上の結果から, 9 位へのメトキシ基の導入が, ROR γ に対する活性や選択性の向上に寄与すると考えられた。

表 4-6 メトキシ基の導入による ROR インバーサゴニスト活性

cmpd	R	IC ₅₀ (μ M)		
		ROR α	ROR β	ROR γ
18	1-OMe	>20	>20	>20
19	3-OMe	8.2	8.2	7.5
20	4-OMe	7.5	6.9	5.4
21	7-OMe	12	15	13
22	8-OMe	12	15	13
23	9-OMe	5.3	7.7	1.1
24	10-OMe	7.7	>20	8.5

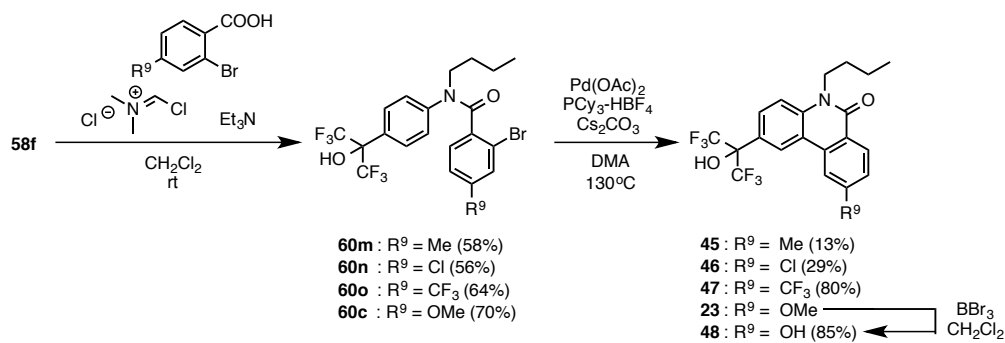
第 4 節 ROR γ に対する活性向上に向けた化合物の展開

選定したリード化合物 **23** に対して新たに構造展開を実施し, ROR γ に対して強い活性および選択性を有する化合物の創出を試みた。

4.4.1 9 位の置換基の検討

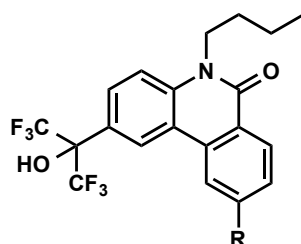
プロファイル解析から、9 位のメトキシ基の導入により ROR γ に対する活性および選択性が向上したため、最初に 9 位の置換基について検討を行い、活性向上とサブタイプ間の選択性向上を目指した。

9 位に置換基を導入した化合物を新たに設計・合成した (スキーム 4-1)。



スキーム 4-1 9 位に置換基を導入した化合物の合成

表 4-7 9 位の置換基における ROR インバーサゴニスト活性



cmpd	R	IC ₅₀ (μM)		
		RORα	RORβ	RORγ
23	OMe	5.3	7.7	1.1
45	Me	7.6	7.1	1.0
46	Cl	5.6	4.9	0.69
47	CF ₃	5.5	5.6	2.6
48	OH	6.4	5.5	4.1

新たに合成した化合物 **45-48** について活性評価を行った (表 4-7)。トリフルオロメチル基を導入した **47** とヒドロキシ基を導入した **47** は, RORγ インバーサゴニスト活性および選択性ともに低下したが, メチル基を導入した **45** は, **23** と比較して活性および選択性は同等であった。**47**, **48** は望むプロファイルが得られなかったものの, クロル基を導入した **46** では RORγ 活性が向上し, 結果として RORα に対して 8 倍, RORβ に対して 7 倍選択的な RORγ インバーサゴニストを得ることに成功した (図 4-3)。

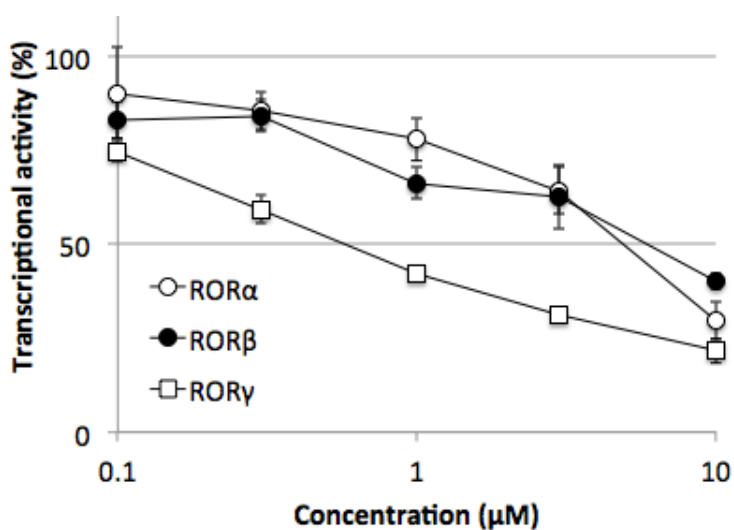


図 4-3 化合物 **46** のアンタゴニスト活性

4.4.2 LXR との活性分離

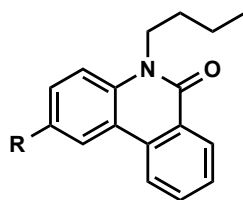
ROR γ 選択的な抑制活性を示した **46** について, T0901317 や既に ROR γ 選択的なリガンドとして報告されている SR1001 との活性を比較した。その結果, **46** は LXR アゴニスト活性をほとんど示さなかったが, LXR α , β ともにアンタゴニスト活性を有することが明らかとなった (表 4-8)。

表 4-8 T0901317, SR1001, および **46** の LXR に対する活性

cmpd	LXR α		LXR β	
	EC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (μ M)
T0901317	0.29	NA	0.12	NA
SR1001	NA	NA	NA	NA
46	NA	3.6	NA	0.52

そこで, 次に **46** の LXR アンタゴニスト活性との作用分離をはかるため, 活性ヒートマップを解析したところ, 2 位の置換基変換により LXR と ROR に対する活性を分離できる可能性が考えられた (表 4-9)。

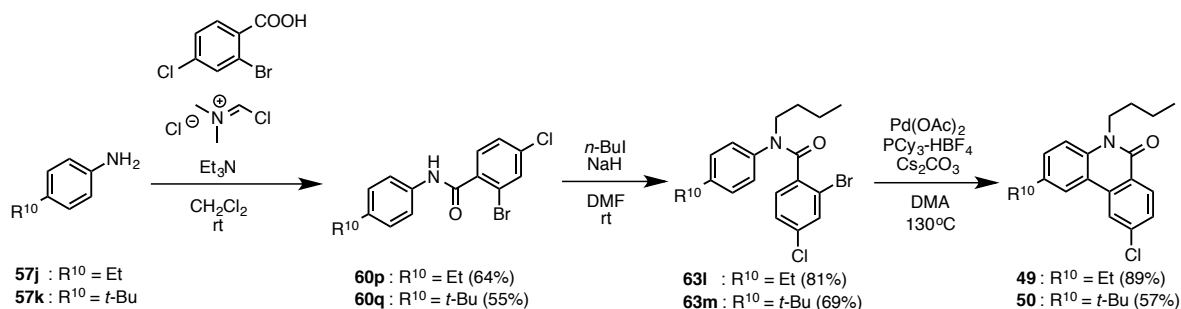
表 4-9 2 位の置換基の ROR アンタゴニスト活性および LXR アンタゴニスト活性



cmpd	R	IC ₅₀ (μ M)				
		ROR α	ROR β	ROR γ	LXR α	LXR β
11	CH ₂ OH	>20	>20	>20	>20	>20
12	H	10	13	15	18	15
13	Me	18	17	17	15	14
14	Et	9.0	7.9	9.2	14	14
15	<i>t</i> -Bu	12	13	10	>20	>20
16	<i>n</i> -Hex	10	11	13	13	>20
17	<i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅	>20	>20	>20	>20	>20

2 位にエチル基を導入した **14** では, ROR に対する活性が他の置換基よりも強く, LXR に対する活性も **46** に比べて大きく低下している。同様に *t*-ブチル基を導入した **15** では, ROR に対する活性は **14** よりも劣るが, LXR に対する活性は低下している。

以上の結果をもとに, **46** の LXR アンタゴニスト活性の減弱を目指した新たな化合物を設計した。9 位のクロル基と, 2 位のエチル基または *t*-ブチル基を組み合わせた化合物 **49**, **50** を合成した (スキーム 4-2)。



スキーム 4-2 LXR アンタゴニスト活性の減弱を目指した化合物の合成

49, **50** について ROR インバースアゴニスト活性, LXR アンタゴニスト活性を評価した。その結果, ROR に対する活性はやや減弱しているものの, LXR に対する活性は, どちらの化合物も期待通りに減弱した (図 4-3)。

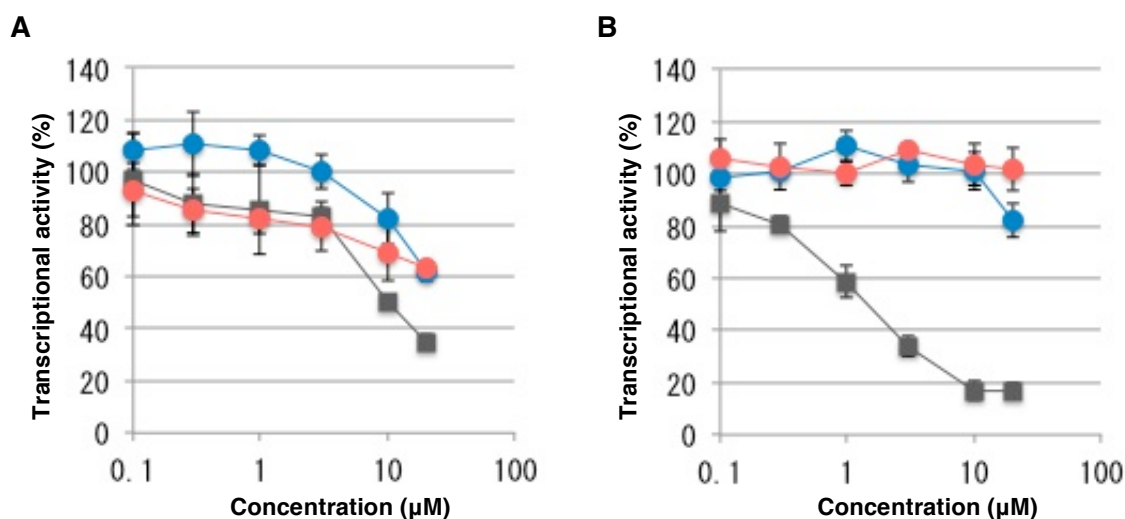


図 4-4 LXR アンタゴニスト活性

■ **46**, ● **49**, ● **50** の活性 (A) LXRα に対する活性. T0901317 (0.3 μM) 添加時を 100%の活性とする, (B) LXRβ に対する活性. T0901317 (0.1 μM) 添加時を 100%の活性とする。

第5節 小括

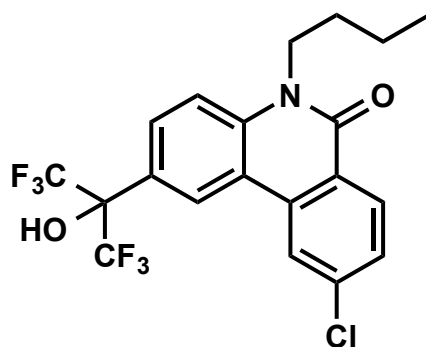


図 4-5 ROR γ インバーシアゴニスト

ROR の活性について、活性プロファイルからリード化合物を選定し、構造展開を行うことで、ROR γ インバーシアゴニストを効率よく創出することに成功した。また、LXR との活性分離を行う際にも、活性プロファイルを利用して選択性を向上させることが可能であることが示唆された。

第 5 章

α -グルコシダーゼ阻害剤の創製

第 1 節 α -グルコシダーゼ阻害剤

5.1.1 イミノ糖誘導体

これまでに、 α -グルコシダーゼ阻害剤として多くのイミノ糖誘導体が知られており、競合阻害剤として酵素活性を抑制する（図 5-1）。

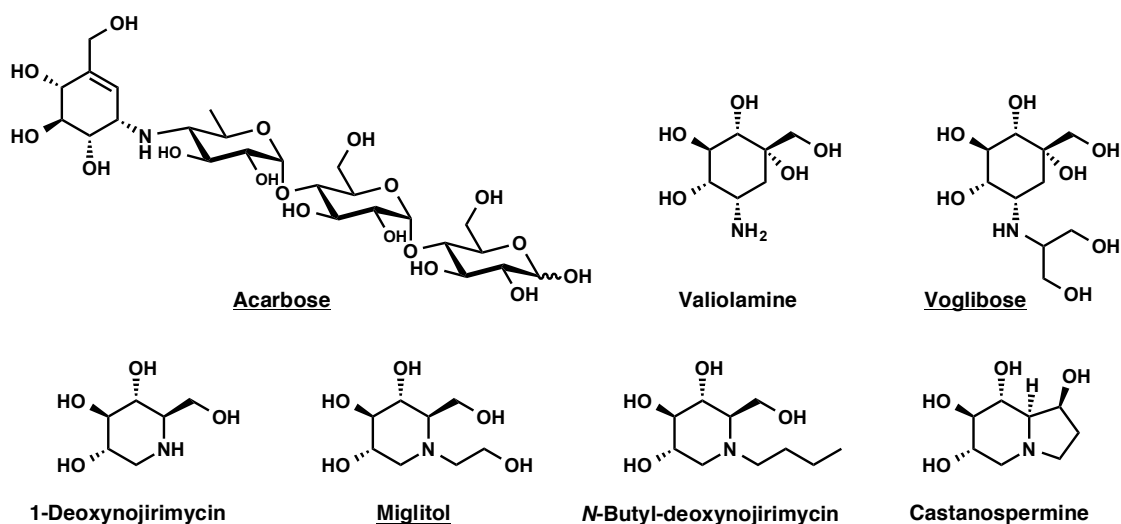


図 5-1 α -グルコシダーゼ阻害作用を有するイミノ糖誘導体の構造

下線を引いた化合物は、現在糖尿病治療薬として臨床で用いられている化合物。

バイエル社によって放線菌 *Actinoplanes* SE50 株から産生されるアカルボース（Acarbose）は、強力なスクラーゼ阻害活性（ブタ腸スクラーゼに対する IC_{50} : 0.5 μ M）を有していることがわかった¹⁾。その後の研究により、アカルボースは食後の血糖値を下げることから、1990 年にドイツで医薬品として承認された。ヨーロッパやアメリカなどでも販売され、日本ではグルコバイという名で現在も臨床で用いられている。アカルボースは、小腸から分泌される α -グルコシダーゼ（二糖類を分解）だけでなく、膵臓から分泌される α -アミラーゼ（多糖類を分解）に対しても阻害作用がある。

バリオラミン (Valiolamine) は、抗生物質バリダマイシン A を産生する *Streptomyces hygroscopicus* から共に産生される²⁾。マルターゼおよびスクラーゼに対して強い活性を示すことから、アミノ基を置換した様々なバリオラミン類縁体が合成され、ボグリボース (Voglibose) が新たに見出された。マルターゼおよびスクラーゼに対する IC₅₀ は、それぞれ 0.015 μ M, 0.0046 μ M であり、日本では 1994 年に糖尿病治療薬ベイスンとして承認されている。

ノジリマイシン (Nojirimycin) は、天然物から初めて単離され、 α -および β -グルコシダーゼ阻害活性を有するイミノ糖である。しかしながら、イミノ糖の C1 位のヒドロキシ基は不安定であるために、1-デオキシノジリマイシン (1-Deoxynojirimycin; DNJ) が見出された。DNJ は、*in vitro* では比較的強い α -グルコシダーゼ阻害活性を示すが、*in vivo* では強い阻害作用を示さなかった²⁾。そこで、*in vivo* で活性を上げるべく、多くの DNJ 類縁体が合成され、ミグリトール (Miglitol) が見出された。ミグリトールは、 α -グルコシダーゼ選択的に作用する阻害薬セイブルとして 1999 年に承認されている。これにより、分解が遅れて腸管に残った糖質が発酵して起こる腹部膨満感や下痢といった消化管副作用が軽減された。

α -グルコシダーゼ阻害剤として見出された DNJ、*N*-ブチルデオキシノジリマイシン (NB-DNJ) やカスタノスペルミン (Castanospermine) は、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus; HIV) に対して複製阻害を引き起こす^{3), 4), 5)}。このような活性は、グリコシル化阻害によるものであると考えられている。グリコシル化 (糖鎖付加) は、ウイルスが他の細胞へ感染する際に、細胞と融合するのに必要な過程で、HIV は表面に多くの糖鎖付加したタンパク質 (糖タンパク質) を発現させている。NB-DNJ は、ヒト B 型肝炎ウイルス (HBV) に対しても活性を示す⁶⁾。これらのことから、 α -グルコシダーゼ阻害作用を持つ化合物は、抗ウイルス活性も有する可能性がある。

5.1.2 イミノ糖以外の骨格を有する化合物

(a) クマリン誘導体

4-ヒドロキシクマリン誘導体は、 α -グルコシダーゼ阻害剤として知られる genistein と類似した構造をしており、すでに抗 HIV 活性を有していることがわかっていた⁷⁾。そこで他のクマリン類縁体について、 α -グルコシダーゼ阻害活性を評価したところ、強い阻害活性を示した(図 5-2)。クマリン誘導体 **10** では、 $IC_{50} = 0.86 \mu M$, $K_i = 589 \text{ nM}$ で非競合阻害を示す⁸⁾。一方、クマリン誘導体 **11** では、 $IC_{50} = 2.82 \mu M$, $K_i = 4.810 \mu M$ で、競合阻害を示す⁸⁾。

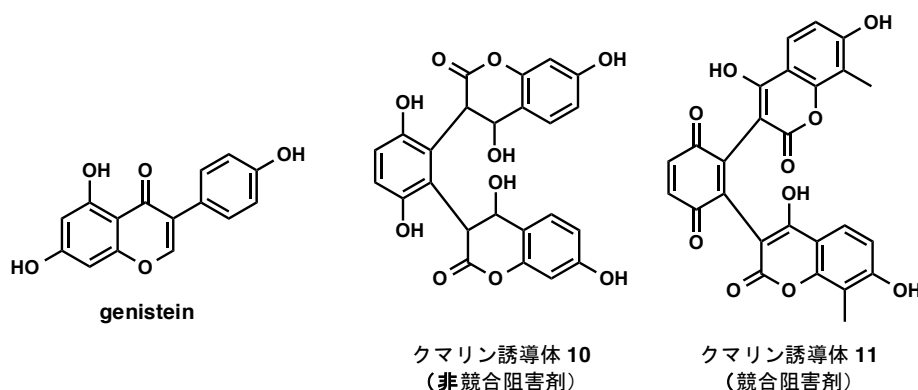


図 5-2 α -グルコシダーゼ阻害作用をクマリン誘導体の構造

(b) カルコン誘導体

ホップに含まれるキサントフモール (Xanthohumol; XN) は、これまでに抗酸化や抗菌作用など様々な生理作用⁹⁾を有しており、抗肥満効果も報告されている¹⁰⁾。これまでその作用機構は明らかになっていなかったが、最近になって α -グルコシダーゼ阻害活性 ($IC_{50} = 8.8 \mu M$, 非競合阻害)⁹⁾ や、脂質合成を制御するタンパク質 SREBP (sterol regulatory element-binding protein, LXR の標的遺伝子とされる) の成熟体へのプロセッシング (グリコシル化) の抑制が示唆されている¹¹⁾。

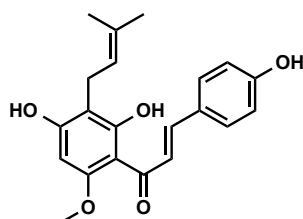


図 5-3 キサントフモールの構造

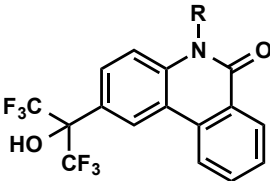
第2節 活性プロファイルの解析

糖等価体の構造ではないにもかかわらず、フェナンスリジノン類縁体において α -グルコシダーゼ阻害活性を示すことが明らかとなった。そこで α -グルコシダーゼに対して更なる活性増強と選択性の獲得を目指し、第2章で作成したヒートマップを用いて構造活性相関を詳細に解析した。

5.2.1 ラクタム窒素上の置換基の効果

ラクタム窒素上の置換基を解析したところ、 α -グルコシダーゼの阻害活性は、比較的長いアルキル鎖（**7**, **8**, **10**）を導入すると強くなる傾向がみられ、*n*-ヘキシル基を導入した**8**で最も強い阻害活性を示した（表 5-1）。このことから、ラクタム窒素上の置換基の疎水性や嵩高さが重要であることが示唆された。

表 5-1 ラクタム窒素上の置換基の α -グルコシダーゼ阻害活性

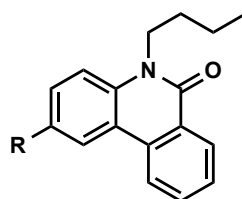


cmpd	R	IC ₅₀ (μM)
		α -glucosidase
2	Me	>100
3	Et	>100
5	<i>n</i> -Pr	>100
7	<i>n</i> -Bu	60
8	<i>n</i> -Hex	39
10	<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	46

5.2.2 2位の置換基の効果

2位の置換基に関して活性プロファイルを解析した。2位に水素原子を導入した **12** では阻害活性を示さず、アルキル鎖の長い **16**, **17** で阻害活性を示したことから、 α -グルコシダーゼの阻害活性には、疎水性の高い置換基が好まれることが示唆された。2位の置換基では、*n*-ヘキシル基を導入した **16** が最も強い阻害活性を示した。

表 5-2 2位の置換基の α -グルコシダーゼ阻害活性



cmpd	R	IC ₅₀ (μM)
		α -glucosidase
7	HO(CF ₃) ₂ C	60
12	H	>100
13	Me	77
14	Et	80
16	<i>n</i> -Hex	46
17	<i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅	55

5.2.3 メトキシ基の導入位置の効果

メトキシ基の導入位置に関して、活性プロファイルを解析した。1 位, 3 位, 4 位にメトキシ基を導入すると, **7** と比較して 2 倍ほど活性が向上した。3, 4 位にジメトキシ基を導入した **25** や 3, 4-ベンゾジオキソラン構造を有する **26** においても強い活性を示した。また 8 位, 9 位にメトキシ基を導入した **22, 23** でも **7** より強い阻害活性を示した。

そこでさらに 9 位の置換基について解析したところ、電子吸引性基を導入した **46, 47** と電子供与性基を導入した **45, 48** は同等の阻害活性を示した。一方で、親水性置換基である **23, 48** は, **45-47** と比較して強い活性を示している傾向がみられた。これらのことから, 9 位の置換基は、親水性の置換基が重要であることが示唆された。

表 5-3 メトキシ基の導入による α -グルコシダーゼ阻害活性

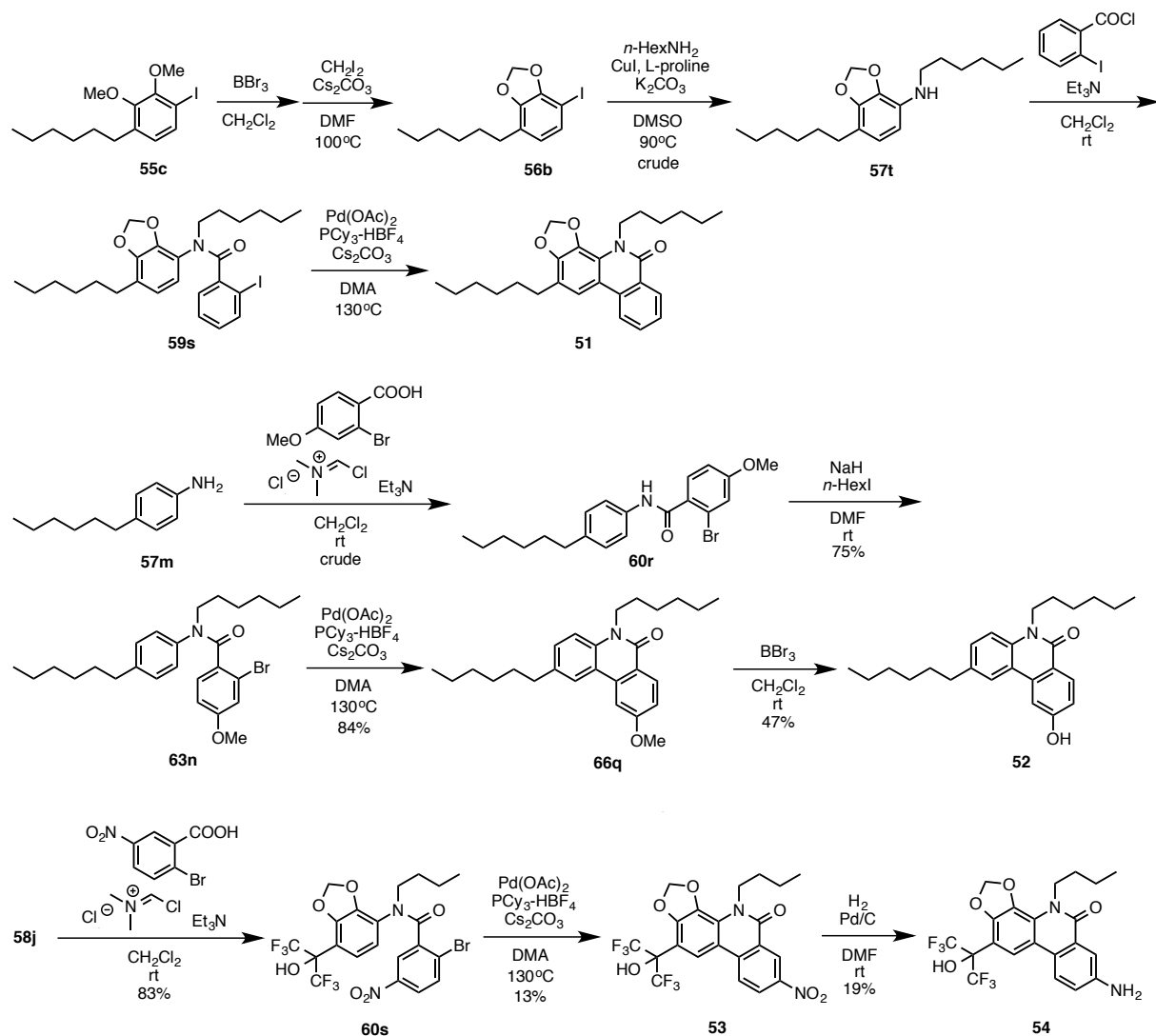
cmpd	R	IC ₅₀ (μM)
		α -glucosidase
7	H	60
18	1-OMe	30
19	3-OMe	35
20	4-OMe	24
25	3,4-diOMe	18
26	3,4-(-OCH ₂ O-)	17
22	8-OMe	45
23	9-OMe	36
45	9-Me	56
46	9-Cl	51
47	9-CF ₃	49
48	9-OH	32

第3節 活性向上に向けた化合物の構造展開

これまでの活性プロファイルの解析から、 α -グルコシダーゼの阻害活性には、ラクタム窒素上や2位の置換基の疎水性、嵩高さが重要であること、および9位の置換基には親水性が好まれることが示唆された。そこで、更なる活性および選択性を有する化合物の創出を試みた。

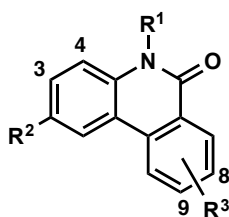
5.3.1 置換基の組み合わせによる活性および選択性の向上

強い阻害活性を示した置換基を組み合わせることで、 α -グルコシダーゼ阻害活性が強くなると考えた。更に LXR 活性との活性分離を目指して、新たな化合物を設計・合成した (スキーム 5-1)。



スキーム 5-1 LXR との活性分離を目指した化合物の合成

表 5-4 置換基の組み合わせによる α -グルコシダーゼ阻害活性



cmpd	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (μM)		
				α -glucosidase	LXR α	LXR β
7	<i>n</i> -Bu	HO(CF ₃) ₂ C	H	60	8.7	4.4
51	<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -Hex	3,4-(-OCH ₂ O-)	24	NA	NA
52	<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -Hex	9-OH	8.5	NA	NA
34	<i>n</i> -Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4-(-OCH ₂ O-), 8-OMe	20	NA	NA
53	<i>n</i> -Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4-(-OCH ₂ O-), 8-NO ₂	5.1	11	15
54	<i>n</i> -Bu	HO(CF ₃) ₂ C	3,4-(-OCH ₂ O-), 8-NH ₂	5.3	>20	>20

51 は、ラクタム窒素上の置換基、2位の置換基で最も強い活性であった *n*-ヘキシル基を導入した **8** および **16** と、3,4 ジオキソラン構造に変換した **26** の置換基を組み合わせた化合物である。この α -グルコシダーゼ阻害活性は 24 μ M と **26** よりも減弱した。一方、**8**, **16** と 9 位にヒドロキシ基を導入した **48** を組み合わせた **52** では、8.5 μ M と阻害活性が増強した。注目すべきことに **51**, **52** は、LXR アンタゴニスト活性は消失した。**51**, **52** では LXR に対する活性はほとんど見られなかったことから、2位のヘキサフルオロプロパノール構造が LXR との相互作用に重要であるという知見と一致する。

化合物 **7** の 8 位にメトキシ基を導入した **22** は、 α -グルコシダーゼ阻害活性が向上した（表 5-3）ことから、LXR に対する活性を示さなかった **34** のさらなる活性増強を目指して、8位の置換基の検討を行った。**53**, **54** では、期待通り α -グルコシダーゼ阻害活性が向上した。一方で、LXR に対しては、**53** が弱い活性を有していたのに対して、**54** はほとんど阻害活性を示さなかった。

以上の結果から、活性の強かった置換基を組み合わせることで LXR にほとんど作用しない α -グルコシダーゼ選択的化合物 **51**, **52** の創出に成功した。活性の強かった **52** について、更なる阻害作用を検討するべく、次節では阻害様式の検討を行った。

第 4 節 阻害様式の検討

5.4.1 ドッキングスタディーによる評価

AutoDock4.2 を用いて化合物 **52** と α -グルコシダーゼ (PDB ID: 3WY2) のドッキングスタディーを行った。図 5-4 は得られた計算結果を元の PDB データに導入して作成した。

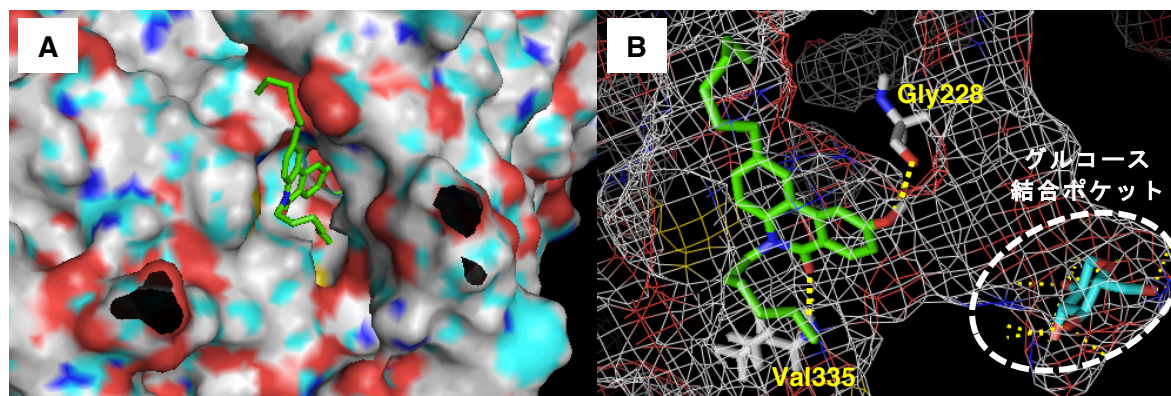


図 5-4 α -グルコシダーゼと化合物 **52** のドッキングシミュレーション結果

α -グルコシダーゼ (PDB ID: 3WY2) より AutoDock4.2 を用いて作成. (A) α -グルコシダーゼの表面, (B) グルコース結合ポケットの入り口付近. Binding energy は, -7.93 kcal/mol.

化合物は、グルコースの結合ポケットの入り口近傍の表面に結合している可能性が示唆された。一方、グルコース結合ポケットに化合物が結合する結果は得られなかった。

5.4.2 Lineweaver-Burk plot による評価

α -グルコシダーゼに対して高活性を示した化合物 **52** の阻害様式を検討するために、Lineweaver-Burk plot を作成した。競合阻害を示すことが報告されている DNJ は、報告通り競合阻害を示した (図 5- 5A) 。そして化合物 **52** は、非競合阻害を示すことが明らかとなった (図 5- 5B) 。これは、5.4.1 における化合物が基質ポケットに結合していない可能性を支持する結果だと考えている。

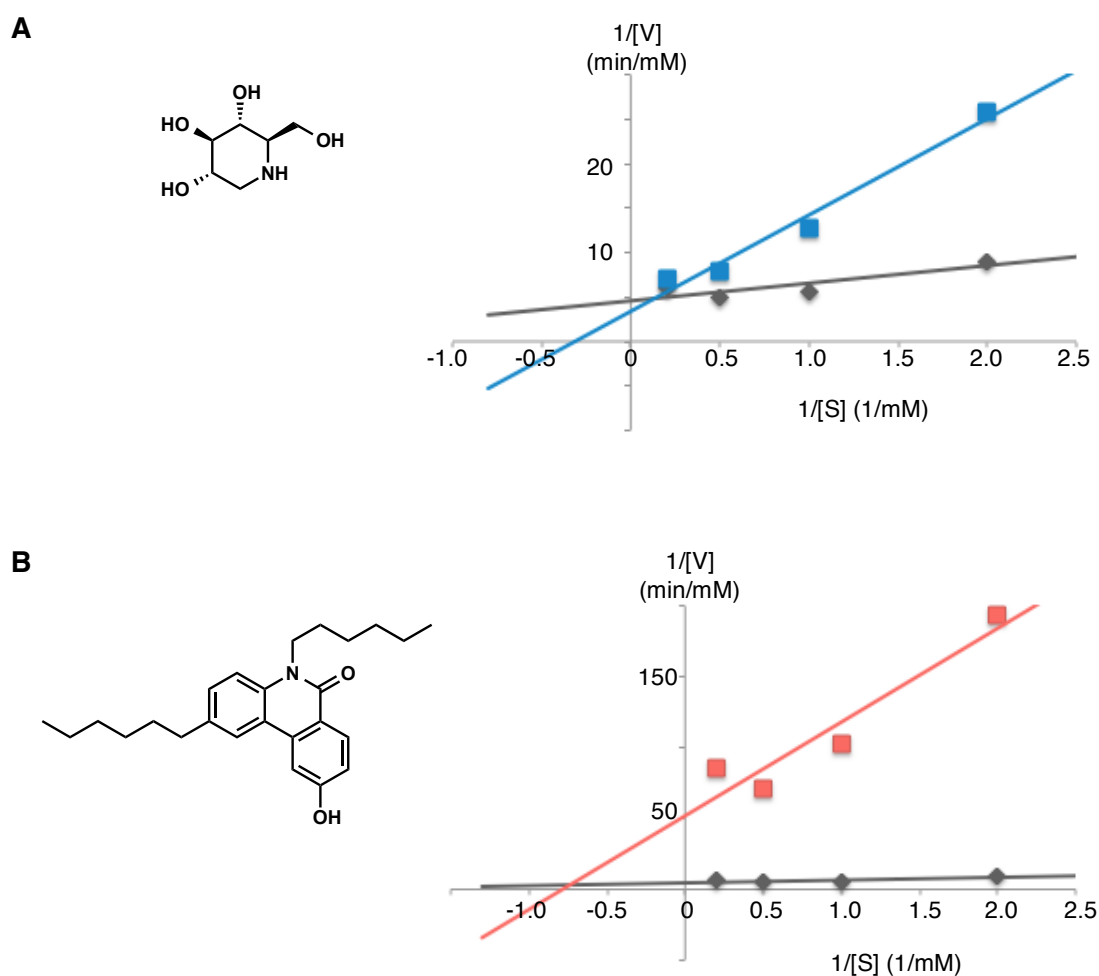


図 5-5 Line-weaver-Burk plot による α -グルコシダーゼ阻害様式の検討

◆コントロール (DMSO), ■1-デオキシノジリマイシン, ■化合物 **52** の活性. 縦軸は反応速度 V の逆数, 横軸は基質濃度 $[S]$ の逆数を表す. (A) 1-デオキシノジリマイシン, (B) 化合物 **52**.

第5節 小括

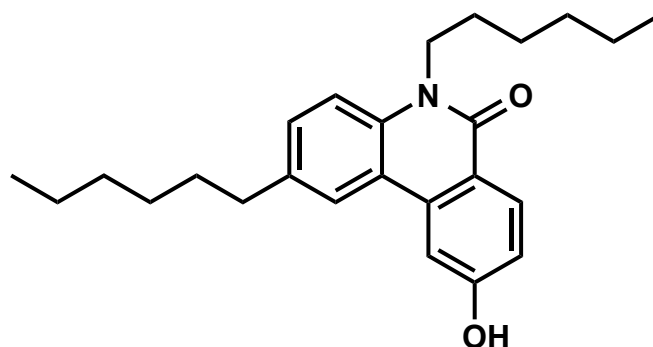


図 5-6 α -グルコシダーゼ阻害剤

フェナンスリジノン骨格を用いて、 α -グルコシダーゼに対して強い活性と選択性を有する非競合阻害剤 **52** を創出できた。このことから、活性プロファイルで、活性の強かった置換基を組み合わせることで、活性を向上させることが可能であることが示唆された。更に、LXR との活性分離により、選択性を向上させることもできた。また、当研究室の知見である α -グルコシダーゼ阻害活性と LXR 活性との共通性を示すリガンドの例を増やすことができた。

第 6 章

研究の総括 および 今後の展望

第 1 節 研究の総括

ステロイド骨格を有する生体内物質は、ステロイドホルモンや膜構成成分、胆汁酸などとして、発生、恒常性、免疫、代謝など非常に多岐に渡る生理活性を示すことが知られている。ステロイド骨格を有する生体内物質およびその類縁体を医薬として応用する場合、強力な薬理作用が期待される反面、多岐に渡る生理活性が副作用として発現することが危惧され、副作用と所望の薬理作用との分離が大きな課題となる。ステロイド系薬剤において、副作用の分離が困難である一因として、ステロイド骨格を有する生理活性物質は、生体内で代謝されてもなお別の生理活性が発現することや、ステロイド骨格は置換基の導入が合成的に制限される位置も存在するため構造展開に制限があること、などが挙げられる。このことから当研究室では、ステロイド骨格を代替する新規骨格を創出できれば、効率的なリード化合物の創出、また選択性の優れた副作用の少ないステロイド様作用を示す化合物の創出が可能と考えている。当研究室では過去に、ステロイド系内因性物質をリガンドとして認識する核内受容体 LXR に対して、フェナンスリジノン骨格を有する化合物がアンタゴニストとして作用することを見出している。フェナンスリジノン骨格は剛直であることから、活性増強や選択性発現に有利かも知れない。加えて、フェナンスリジノンは全ての位置に置換基を容易に導入することが可能である。このことから私は、フェナンスリジノン骨格がステロイド代替骨格として機能するとの仮説を立て、本研究を開始した。

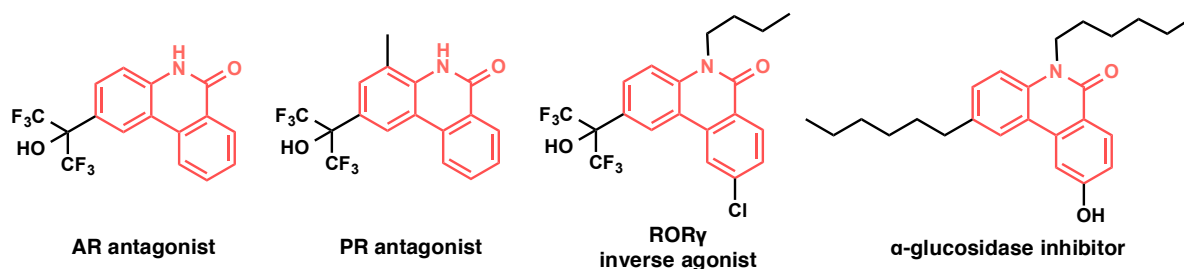


図 6-1 フェナンスリジノン骨格をテンプレートとして見出された化合物

6.1.1 マルチテンプレート法による生理活性物質の効率的創出

フェナンスリジノン骨格をテンプレートとして化学修飾を施すことにより、フェナンスリジノンのライブラリーを作成した。そして、ステロイド骨格を認識する標的タンパク質として、LXR α , LXR β , AR, GR, PR, ROR α , ROR β , ROR γ , RXR α , α -グルコシダーゼを選択した。これら様々な標的に対して同時に活性を評価し、プロファイルを解析することにより、全ての標的に対するリガンドを効率よく創製することが可能であった。このように、想定される複数の標的分子を予め選択して生物活性プロファイルを解析する今回の手法により、複数の標的に対するリード化合物を効率的に選定できたことから、マルチテンプレート法の発展的方法として利用できることが期待される。幾つかの標的（AR, PR, ROR γ , α -グルコシダーゼ）に対して、プロファイル解析をもとに更なる構造展開を行うことで、各標的に対して選択的な生理活性物質の創出に成功した（図 6-1）。活性や選択性について更なる改善が必要である化合物もあるが、ステロイド系化合物を認識する標的分子に対して、フェナンスリジノン系化合物の活性増強や選択性改善が可能であることを実証できたと考えている。

6.1.2 ステロイド代替骨格としてのフェナンスリジノン骨格

このようにフェナンスリジノン骨格を用いて、ステロイド骨格を認識する複数の標的に対する化合物を効率的に創出できたことから、フェナンスリジノン骨格がステロイド骨格の代替構造として機能することが示唆された。

第2節 今後の展望

6.2.1 活性プロファイルの活用

本研究では、活性ヒートマップで表した結果を、1つの標的に対する選択性を向上させるための、リード化合物の選定と構造展開の指針として利用してきた。これ以外の活用法として、特定の疾患の治療薬開発のためのリード化合物、すなわち多重薬理活性を示す化合物の選定に、この活性プロファイルが利用可能ではないかと考えた。例えば、糖尿病に着目した場合、LXR β やROR γ 、 α -グルコシダーゼに対して多重薬理作用を示す化合物 **23** は、リード化合物として有用であるかもしれない (図 6-2)。

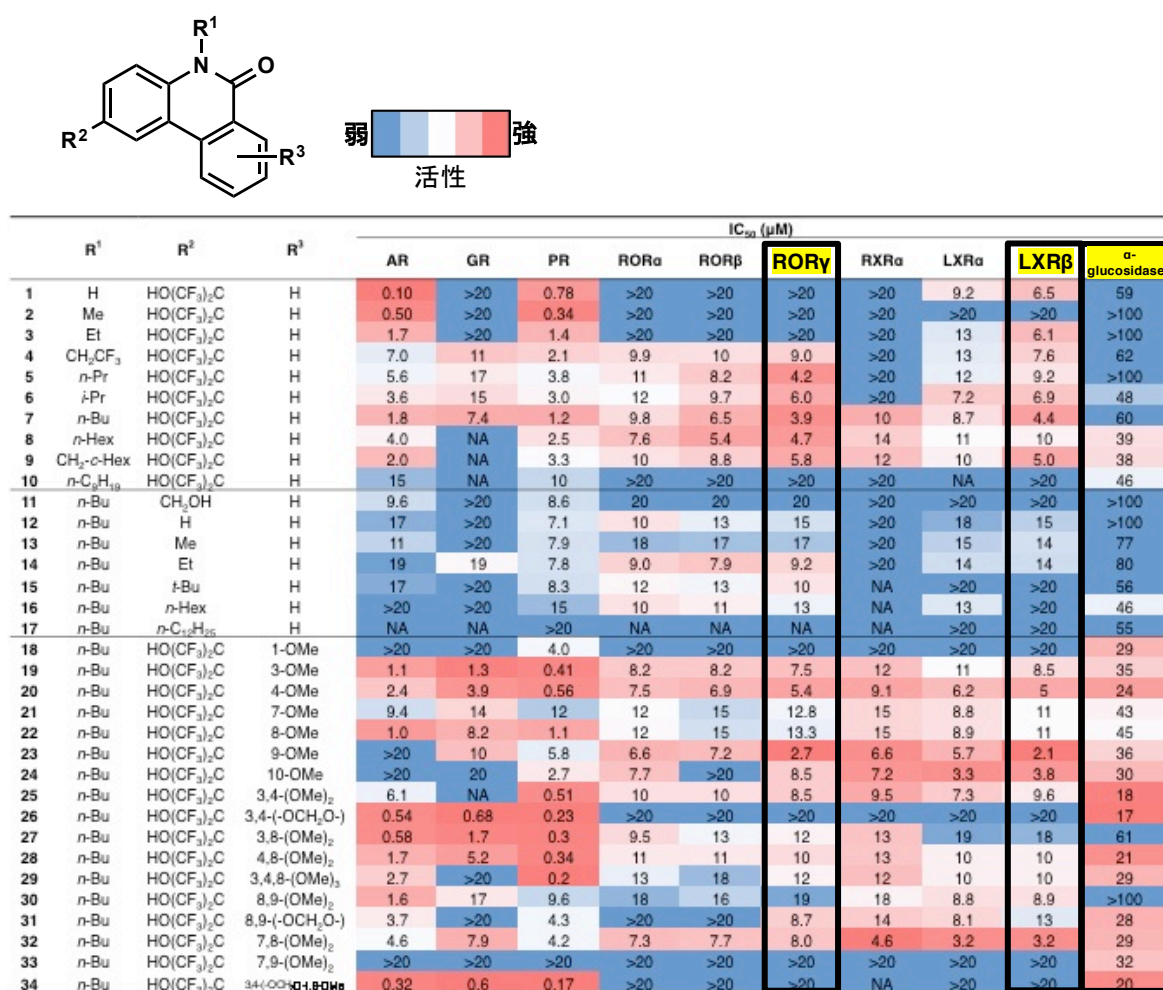


図 6-2 フェナンスリジノン骨格をテンプレートとして見出された化合物

6.2.2 化合物の標的タンパク質の推測

フェナンスリジノン類縁体は、これまでにヒト C 型肝炎ウイルス (Human hepatitis C virus; HCV) に対して、増殖抑制活性を有することがわかっている^{1),2)}。これら化合物の作用機序に興味を持たれるが、HCV 由来の NS3 プロテアーゼ阻害活性は弱く、ウイルス由来の標的分子に作用していないことも示唆されている³⁾。このことから、宿主側に標的分子が存在することも考えられる。あくまで仮説の領域であるが、フェナンスリジノン系 HCV 阻害薬が、ステロイド系化合物を認識するヒト由来タンパク質を標的にしている可能性も考えられる。そこで、フェナンスリジノン類縁体の活性について、HCV に対する活性 (PLogEC₅₀) と各種の核内受容体および α -グルコシダーゼに対する活性 (PLogIC₅₀) をプロットし、その相関関係を検討した (図 6-4)。近似直線を引き、相関係数 R^2 を算出したところ、GR, AR, PR において高い相関係数を示した (表 6-1)。これらのことから、フェナンスリジノン類縁体の抗 HCV 作用は、核内受容体 GR, AR, PR と何らかの関わりがあること、そしてステロイド骨格を認識するタンパク質を標的にしている可能性が推測される。

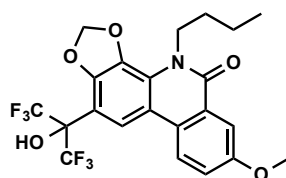


図 6-3 抗 HCV 活性を有するフェナンスリジノン骨格化合物 (34)

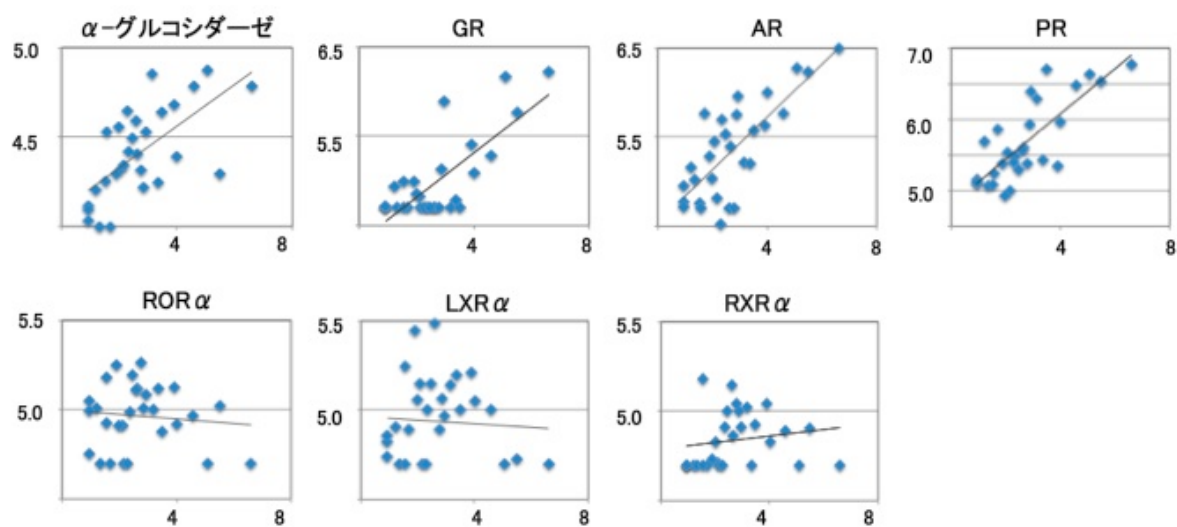


図 6-4 HCV に対する活性と、核内受容体および α -グルコシダーゼに対する活性の相関関係

縦軸: 核内受容体または α -グルコシダーゼに対する活性 ($PLogIC_{50}$)，横軸: HCV に対する活性 ($LogEC_{50}$) を表す。グラフ内の直線は、近似曲線を表す。

表 6-1 HCV に対する活性と、核内受容体および α -グルコシダーゼに対する活性の相関係数

標的タンパク質	R^2
α -グルコシダーゼ	0.421
GR	0.585
AR	0.593
PR	0.623
ROR α	0.010
LXR α	0.002
RXR α	0.027

実験項

有機化学

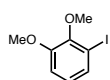
1. General comments

Melting points were determined by using a Yanagimoto hot-stage melting point apparatus and are uncorrected. ¹H-NMR spectra were recorded on JEOL JNM-GX500 (500 MHz) spectrometer and a JEOL JMN-ECA500 (500 MHz) spectrometer. Chemical shifts (δ) are expressed in parts per million (ppm) relative to deuteriochloroform or tetramethylsilane as an internal reference with coupling constants in Hz. The abbreviations s, d, dd, ddd, t, td, q, quin, sext and m signify singlet, doublet, doublet doublet, doublet doublet doublet, triplet, triplet doublet, quartet, quintet, sextet and multiplet, respectively. Fast atom bombardment mass spectra (FAB-MS) and high resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a JOEL JMS-HX 110 spectrometer with *m*-nitrobenzyl alcohol. Elemental analyses were carried out in the Microanalytical Laboratory of Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo and were within ± 0.4% of theoretical values. Flash column chromatography was performed on silica gel 60 Kanto Kagaku (40-100 μm).

2. Phenanthridinone derivatives

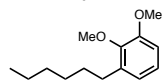
■ General Procedure A:

1-Iodo-2,3-dimethoxybenzene (**55a**; YN115)



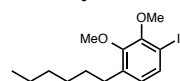
To a solution of veratrol (5.40 g, 39.0 mmol) in THF (60 mL) was added *n*-butyllithium (1.60 M hexane solution, 26.0 mL, 41.6 mmol) at 0°C, and the mixture was stirred at the room temperature for 20 min. After the reaction mixture was cooled to -45 °C, to this was added a solution of iodine (10.6 g, 41.6 mmol), and the mixture was stirred at the room temperature for 1 h. The reaction was quenched by the addition of saturated aqueous NH₄Cl solution and then extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with 10% aqueous Na₂S₂O₃ solution, brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silicagel chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 20:1) to give **55a** (6.51 g, 24.7 mmol, 63%) as a pale yellow solid. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.32 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 6.86 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 1H), 6.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.81 (s, 3H).

1-Hexyl-2,3-dimethoxybenzene (**55b**; YN113)



Prepared from veratrol (3.60 g, 26.0 mmol) and 1-iodohexane (3.84 mL, 26.0 mmol) in accordance with the general procedure A. Colorless oil (43%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.96 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.75 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 2.60 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.57-1.56 (m, 2H), 1.34 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.30-1.26 (m, 4H), 0.88-0.85 (m, 3H).

1-Hexyl-4-iodo-2,3-dimethoxybenzene (**55c**; YN129)



Prepared from **55b** (2.47 g, 11.1 mmol) and iodine (8.45 g, 33.3 mmol) in accordance with the general procedure A. Pale yellow oil (20%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.30-6.26 (m, 1H), 6.19-6.16 (m, 1H), 3.37-3.28 (m, 8H), 2.09-2.04 (m, 2H), 1.06-1.04 (br m, 2H), 0.81-0.79 (br m, 2H), 0.74-0.68 (m, 2H), 0.39-0.38 (m, 3H).

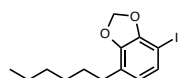
■ General Procedure B:

4-Iodobenzo[d][1,3]dioxole (**56a**; YN143)



To a mixture of **55a** (6.51 g, 24.7 mmol) in CH₂Cl₂ (30.0 mL) was added BBr₃ (1.0 M CH₂Cl₂ solution, 86.5 mL, 86.5 mmol) at 0 °C under atmosphere, and the mixture was stirred at the room temperature. The next day, the reaction mixture was poured into ice, and volatile materials were removed under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate. The combined organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in DMF (120 mL), and to this were added Cs₂CO₃ (8.05 g, 24.7 mmol) and CH₂I₂ (2.00 mL, 24.7 mmol) and the mixture was stirred at 100 °C for 9 h under Ar atmosphere. After the reaction mixture was cooled to room temperature, DMF was removed under reduced pressure. To the residue were added ethyl acetate and water, and the resulting insoluble material was removed by filtration and washed with ethyl acetate. The filtrate was extracted with ethyl acetate, and the combined organic layer was washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated under pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 20:1) to give **56a** (5.01 g, 20.2 mmol, 82%, 2 steps) as a colorless oil. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.13 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.60 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.01 (s, 2H).

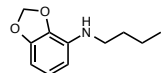
4-Hexyl-7-iodobenzo[d][1,3]dioxole (**56b**; YN268)



Prepared from **55c** (787 mg, 2.26 mmol) in accordance from the general procedure B. Brown oil (56%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.97 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.92 (s, 2H), 2.49 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.45 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.54-1.50 (m, 2H), 1.25-1.22 (m, 2H), 1.19-1.17 (m, 2H), 0.81 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H).

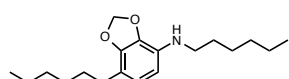
■ General Procedure C:

N-butylbenzo[d][1,3]dioxolo-4-amine (**57n**; YN172)



To a mixture of **56a** (2.00 g, 8.06 mmol) and K₂CO₃ (2.23 g, 16.1 mmol) were added a solution of CuI (466 mg, 2.44 mmol) and L-proline (562 mg, 4.88 mmol) in DMSO (8.00 mL) and *n*-butylamine (3.16 mL, 32.0 mmol), and the mixture was stirred at 90 °C for 3.5 h. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with ethyl acetate, and then washed with water and brine. The organic layer was dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 20:1) to give **57n** (602 mg, 3.12 mmol, 39%) as a colorless oil. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.65 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.25-6.22 (m, 2H), 5.82 (s, 2H), 3.09 (s, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.56-1.50 (m, 2H), 1.35 (tq, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H), 0.87 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

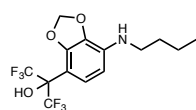
N,7-dihexylbenzo[d][1,3]dioxol-4-amine (**57t**; YN272)



Prepared from **56b** (400 mg, 1.20 mmol) and *n*-hexylamine (636 μL, 4.82 mmol) in accordance with the general procedure C. Brown oil (274 mg, crude).

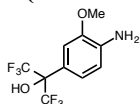
■ General Procedure D:

2-(7-(Butylamino)benzo[d][1,3]dioxol-4-yl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58j**; YN173)



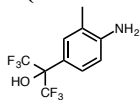
To a solution of hexafluoroacetone 1.5-hydrate (709 μ L, 6.21 mmol) in toluene (6.00 mL) were added **57n** (600 mg, 3.10 mmol) and *p*-TsOH-H₂O (53.4 mg, 310 μ mol), and the mixture was stirred at 110°C for 2 h. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with ethyl acetate, washed with satd NaHCO₃ aqueous solution and brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/AcOEt = 20:1-5:1) to give **58j** (429 mg, 1.19 mmol, 39%) as a yellow oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.37 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.94 (s, 2H), 3.14 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.60-1.53 (m, 2H), 1.35 (tq, *J* = 7.5, 7.5 Hz, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

2-(4-Amino-3-methoxyphenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58k**; YN217)



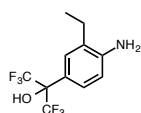
Prepared from *o*-anisidine (1.13 mL, 10.0 mmol) in accordance with the general procedure D. Brown solid (36%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ : 7.00 (s, 1H), 6.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.66 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H).

2-(4-Amino-3-methylphenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58l**; YN218)



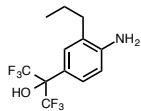
Prepared from *o*-toluidine (1.07 mL, 10.0 mmol) in accordance with the general procedure D. White solid (49%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ : 7.12 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.63 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H).

2-(4-Amino-3-ethylphenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58m**; YN226)



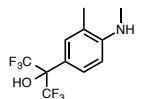
Prepared from *o*-ethylaniline (1.85 mL, 15.0 mmol) in accordance with the general procedure D. White solid (49%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ : 8.15 (s, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.63 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 2.44 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.10 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H).

2-(4-Amino-3-propylphenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58n**; YN228)



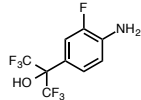
Prepared from 2-*n*-propylaniline (2.11 mL, 15.0 mmol) in accordance with the general procedure D. White solid (45%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ : 8.14 (s, 1H), 7.13 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.40 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.50 (tq, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H), 0.89 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-(3-methyl-4-(methylamino)phenyl)propan-2-ol (**58o**; YN274)



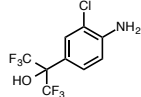
Prepared from *N*-methyl-*o*-toluidine (1.85 mL, 15.0 mmol) in accordance with the general procedure D. White solid (89%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.46 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 6.73 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.91 (s, 3H), 2.19 (s, 3H).

2-(4-Amino-3-fluorophenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58p**; YN290)



Prepared from 2-fluoroaniline (1.45 mL, 15.0 mmol) in accordance with the general procedure D. Pink solid (8%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ : 7.18 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 9.7, 8.6 Hz, 1H).

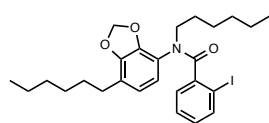
2-(4-Amino-3-chlorophenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58q**; YN291)



Prepared from 2-chloroaniline (1.58 mL, 15.0 mmol) in accordance with the general procedure D. Pink solid (9%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.58 (s, 1H), 7.35 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), (d, *J* = 9.2 Hz, 1H).

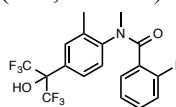
■ General Procedure E:

N-hexyl-*N*-(7-hexylbenzo[d][1,3]dioxol-4-yl)-2-iodobenzamide (**59s**; YN276)



To a solution of **57t** in CH₂Cl₂ (4.00 mL) were added dropwise 2-iodobenzoyl chloride (183 μL, 1.33 mmol) and Et₃N (306 μL, 2.21 mmol) at 0°C, then the mixture was stirred and was allowed to warm to room temperature. The next day, the mixture was diluted with ethyl acetate and then water was added. The organic layer was separated and washed with brine, and dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 20:1 to 5:1) to give **59s** (276 mg, 0.515 mmol, 43%, 2 steps) as a yellow solid. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.59 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.05-7.01 (m, 2H), 6.80-6.76 (m, 1H), 6.58 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 5.80 (s, 2H), 3.80-3.75 (m, 2H), 2.36-2.35 (br m, 2H), 1.58-1.54 (m, 2H), 1.45-1.39 (m, 2H), 1.36-1.30 (m, 2H), 1.25-1.21 (m, 4H), 1.17-1.14 (m, 2H), 0.82-0.77 (m, 6H).

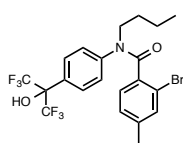
N-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-1-yl)-2-methyl-2-iodo-*N*-methylbenzamide (**59r**; YN287)



Prepared from **58o** (287 mg, 1.00 mmol) and 2-iodobenzoyl chloride (207 μL, 1.50 mmol) in accordance with the general procedure E. Colorless oil (375 mg, crude).

■ General Procedure F:

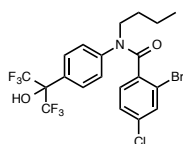
2-Bromo-*N*-butyl-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-4-methylbenzamide (**60m**; YN018)



To a solution of 2-bromo-4-methylbenzoic acid (68.2 mg, 0.317 mmol) in CH₂Cl₂ (1.50 mL) was added chloromethylenedimethyliminium chloride (40.6 mg, 0.317 mmol) at 0°C under an Ar atmosphere, and the mixture was stirred at room temperature for 1 h. Then, 2-(4-butylaminophenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58f**) (50.1 mg, 0.159 mmol) and Et₃N (44.0 μL, 0.317 mmol) were added at

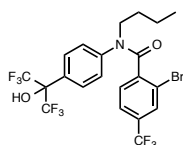
0°C. Stirring was continued for 3 h, then the mixture was allowed to warm to room temperature, and diluted with ethyl acetate. Water was added, and the organic layer was separated, washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 4:1) to give **60j** (93.5 mg, 0.183 mmol, 58%) as a colorless oil. MS (FAB) *m/z* 512, 514 (M+H)⁺.

2-Bromo-*N*-butyl-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-4-chlorobenzamide (**60n**; YN034)



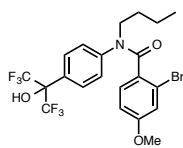
Prepared from 2-(4-(butylamino)phenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58f**) and 2-bromo-4-chlorobenzoic acid in accordance with general procedure F. Colorless oil (56%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.49 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.97 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.93-3.81 (m, 2H), 1.60-1.52 (m, 2H), 1.39-1.30 (m, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

2-Bromo-*N*-butyl-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-4-(trifluoromethyl)benzamide (**60o**; YN032)



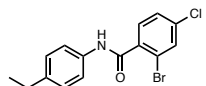
Prepared from 2-(4-(butylamino)phenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58f**) and 2-bromo-4-(trifluoromethyl)benzoic acid in accordance with general procedure F. 2-Bromo-4-(trifluoromethyl)benzoic acid was prepared by the reported method. Colorless oil (64%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.63 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.08 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.94 (br s, 2H), 1.67-1.60 (m, 2H), 1.41 (tq, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H), 0.94 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

2-Bromo-*N*-butyl-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-3-methoxybenzamide (60c)



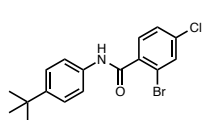
Prepared from 2-(4-(butylamino)phenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58f**) and 2-bromo-3-methoxybenzoic acid in accordance with general procedure F. White solid (70%). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.51 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.22 (m, 2H), 7.00 (dd, $J = 7.9, 7.9$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.05-3.90 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.73-1.63 (m, 2H), 1.50-1.35 (m, 2H), 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). MS (FAB) m/z 528 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-Bromo-4-chloro-*N*-(4-ethylphenyl)benzamide (60p; YN045)



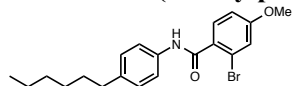
Prepared from 4-ethylaniline (**57j**) and 2-bromo-4-chlorobenzoic acid in accordance with the general procedure F. Yellow solid (64%). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.61 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.40 (dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 2.65 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.24 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).

2-Bromo-*N*-(4-(*tert*-butyl)phenyl)-4-chlorobenzamide (60q; YN106)



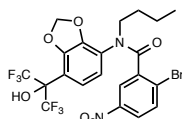
Prepared from 4-(*tert*-butyl)aniline (**57k**) and 2-bromo-4-chlorobenzoic acid in accordance with the general procedure F. White solid (55%). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.64 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.39-7.38 (m, 3H), 1.31 (s, 9H).

2-Bromo-*N*-(4-hexylphenyl)-4-methoxybenzamide (60r; YN107)



Prepare from *p*-hexylaniline (**57m**) and 2-bromo-4-methoxybenzoic acid in accordance with the general procedure F. Brown solid (crude).

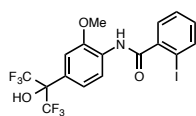
2-Bromo-*N*-butyl-*N*-(7-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)benzo[*d*][1,3]dioxol-4-yl)-5-nitrobenzamide (60s; YN177)



Prepared from 2-(7-(butylamino)benzo[*d*][1,3]dioxol-4-yl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (**58j**) and 2-brom-5-nitrobenzoic acid in accordance with the general procedure F. Pale yellow solid (83%). ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.66 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 8.24 (dd, $J = 8.9, 2.6$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.91 (s, 2H), 3.91-3.84 (br m, 2H), 1.67 (tt, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 2H), 1.45 (tq, $J = 7.4, 7.4$ Hz, 3H), 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).

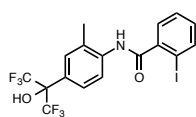
■ General procedure G:

***N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-2-methoxyphenyl)-2-iodobenzamide (61a; YN247)**



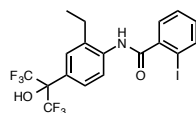
To a solution of EDCI (1.15 g, 6.00 mmol) and DMAP (733 mg, 6.00 mmol) in DMF (8.00 mL) were added 2-iodobenzoic acid (1.49 g, 6.00 mmol) under Ar atmosphere, Then the mixture was stirred at room temperature for 30 min. **58k** (578 mg, 2.00 mmol) was added, and the mixture was stirred at 100°C for 4 h. The organic layer was separated and washed with brine, and dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 3:1) to give **61a** (704 mg, 1.36 mmol, 68%) as a pale yellow solid. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.50-7.45 (m, 2H), 7.30-7.27 (m, 2H), 7.21 (td, *J* = 7.4, 1.7 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H).

***N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-2-methylphenyl)-2-iodobenzamide (61b; YN246)**



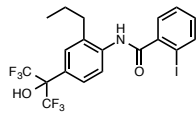
Prepared from **58l** (546 mg, 2.00 mmol) and 2-iodobenzoic acid (1.49 g, 6.00 mmol) in accordance with the general procedure G. Pale yellow solid (64%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.52-7.51 (m, 3H), 7.24-7.22 (m, 1H), 2.37 (s, 3H).

***N*-(2-ethyl-4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-2-iodobenzamide (61c; YN243)**



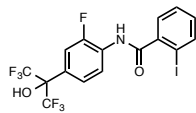
Prepared from **58m** (574 mg, 2.00 mmol) and 2-iodobenzoic acid (1.49 g, 6.00 mmol) in accordance with the general procedure G. Pale yellow solid (56%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.50-7.48 (m, 1H), 7.23 (td, *J* = 7.6, 1.9 Hz, 1H), 2.75 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.17 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

***N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-2-propylphenyl)-2-iodobenzamide (61d; YN244)**



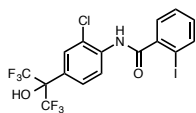
Prepared from **58n** (602 mg, 2.00 mmol) and 2-iodobenzoic acid (1.49 g, 6.00 mmol) in accordance with the general procedure G. Yellow solid (68%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.54-7.51 (m, 3H), 7.47 (dd, *J* = 7.4, 1.7 Hz, 1H), 7.23 (td, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 2.70 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.59 (tq, *J* = 7.6, 7.6 Hz, 2H), 0.91 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

***N*-(2-fluoro-4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-2-iodobenzamide (61e; YN293)**



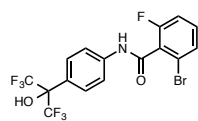
Prepared from **58p** (308 mg, 1.11 mmol) and 2-iodobenzoic acid (590 mg, 2.38 mmol) in accordance with the general procedure G. Dark red oil (56%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 8.03 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.24-7.22 (m, 1H).

***N*-(2-chloro-4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)-2-iodobenzamide (61f; YN295)**



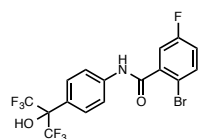
Prepared from **58q** (379 mg, 1.29 mmol) and 2-iodobenzoic acid (640 mg, 2.58 mmol) in accordance with the general procedure G. Brown solid (27%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H), 7.24 (td, *J* = 3.9, 1.3 Hz, 1H).

2-Bromo-6-fluoro-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)benzamide (61g; YN270)



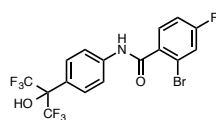
Prepared from 2-(4-aminophenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (518 mg, 2.00 mmol) and 2-bromo-6-fluorobenzoic acid (657 mg, 3.00 mmol) in accordance with the general procedure G. Colorless oil (30%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 7.81 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.67 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.59 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.42 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

2-Bromo-5-fluoro-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)benzamide (61h; YN269)



Prepared from 2-(4-aminophenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (518 mg, 2.00 mmol) and 2-bromo-5-fluorobenzoic acid (657 mg, 3.00 mmol) in accordance with the general procedure G. Colorless oil (91%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 7.82 (dt, *J* = 9.4, 2.3 Hz, 2H), 7.76 (dd, *J* = 8.9, 4.9 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.54 (dd, *J* = 8.6, 2.9 Hz, 1H), 7.33 (td, *J* = 8.7, 3.2 Hz, 1H).

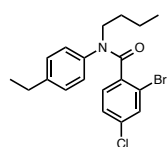
2-Bromo-4-fluoro-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenyl)benzamide (61i; YN271)



Prepared from 2-(4-aminophenyl)-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (518 mg, 2.00 mmol) and 2-bromo-6-fluorobenzoic acid (876 mg, 4.00 mmol) in accordance with the general procedure G. Pale yellow solid (91%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 7.81 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.72 (dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, 1H), 7.67-7.63 (m, 3H), 7.39 (td, *J* = 8.5, 2.3 Hz, 1H).

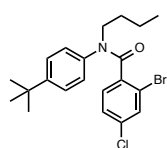
■ General Procedure H:

2-Bromo-*N*-butyl-4-chloro-*N*-(4-ethylphenyl)benzamide (63l; YN046)



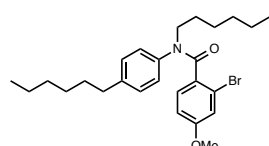
To a solution of **60m** (169 mg, 0.500 mmol) in DMF (1.00 mL) was added sodium hydride (48.0 mg, 1.20 mmol) at 0°C under an Ar atmosphere, and the mixture was stirred at room temperature for 1 h. Then, 1-iodobutane (110 mg, 0.600 mmol) was added at 0°C. The mixture was stirred overnight, and allowed to warm to room temperature. Then, it was diluted with ethyl acetate, and water was added. The organic layer was separated, washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 4:1) to give **63l** (160 mg, 0.405 mmol, 81%) as a colorless oil. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.40 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.03-7.00 (m, 4H), 6.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.89-3.87 (br m, 2H), 2.56 (q, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.64-1.58 (m, 2H), 1.40 (tq, *J* = 7.6, 7.6 Hz, 2H), 1.17 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H), 0.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

2-Bromo-*N*-butyl-*N*-(4-(tert-butyl)phenyl)-4-chlorobenzamide (63m; YN108)



Prepared from **60n** and 1-iodobutane in accordance with the general procedure H. Yellow oil (69%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.34 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J* = 6.6, 2.0 Hz, 2H), 6.98-6.95 (m, 3H), 6.87 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 3.81 (t, *J* = 2.0 Hz, 2H), 1.58-1.52 (m, 2H), 1.33 (tq, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H), 1.16 (s, 9H), 0.86 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

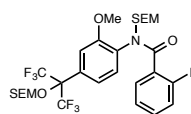
2-Bromo-*N*-hexyl-*N*-(4-hexylphenyl)-4-methoxybenzamide (63n; YN109)



Prepared from **60o** and 1-iodohexane in accordance with the general procedure H. Brown oil (75%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.99 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.95 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 6.55 (dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, 1H), 3.86 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.46 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.63-1.57 (m, 2H), 1.49 (tt, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 2H), 1.35 (tt, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 2H), 1.28-1.21 (m, 10H), 0.87-0.81 (m, 6H).

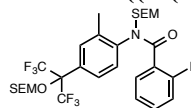
■ General Procedure I:

***N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-2-methoxyphenyl)-2-iodo-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65a; YN252)**



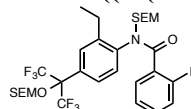
61a (682 mg, 1.31 mmol) was added to a solution of sodium hydride (158 mg, 3.94 mmol) in DMF (4.00 mL) at 0°C. The reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature, then SEM-Cl (697 μ L, 3.94 mmol) was added to the reaction mixture at 0°C. The reaction mixture was stirred for 6 h at room temperature, then the reaction mixture was diluted with ethyl acetate, quenched with water, washed with water, brine, dried over Na₂SO₄, and column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 20:1 to 10:1) to give **65a** (789 mg, crude) as a yellow oil.

***N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-2-methylphenyl)-2-iodo-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65b; YN259)**



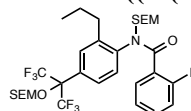
Prepared from **61b** (641 mg, 1.27 mmol) in accordance with the general procedure I. Pale yellow oil (822 mg, crude).

***N*-(2-ethyl-4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)phenyl)-2-iodo-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65c; YN245)**



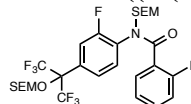
Prepared from **61c** (578 mg, 1.12 mmol) in accordance with the general procedure I. Yellow oil (442 mg, crude).

***N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-2-propylphenyl)-2-iodo-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65d; YN249)**



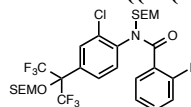
Prepared from **61d** (721 mg, 1.36 mmol) in accordance with the general procedure I. Yellow oil (668 mg, crude).

***N*-(2-fluoro-4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)phenyl)-2-iodo-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65e; YN296)**



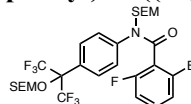
Prepared from **61e** (297 mg, 0.586 mmol) in accordance with the general procedure I. Colorless oil (172 mg, crude).

***N*-(2-chloro-4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)phenyl)-2-iodo-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65f; YN298)**



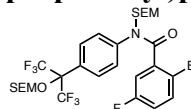
Prepared from **61f** (181 mg, 0.346 mmol) in accordance with the general procedure I. Colorless oil (219 mg, crude).

2-Bromo-6-fluoro-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)propan-2-yl)phenyl)-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65g; YN275)



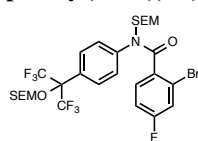
Prepared from **61g** (252 mg, 0.548 mmol) in accordance with the general procedure I. Yellow oil (242 mg, crude).

2-Bromo-5-fluoro-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)propan-2-yl)phenyl)-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65h; YN273)



Prepared from **61h** (742 mg, 1.61 mmol) in accordance with the general procedure I. Colorless oil (612 mg, crude).

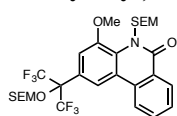
2-Bromo-4-fluoro-*N*-(4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)propan-2-yl)phenyl)-*N*-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)benzamide (65i; YN280)



Prepared from **61i** (826 mg, 1.80 mmol) in accordance with the general procedure I. Colorless oil (917 mg, crude).

■ General Procedure J:

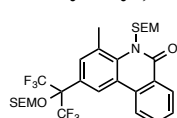
2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-4-methoxy-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5*H*)-one (66h; YN256)



To a solution of **65a** (750 mg, 0.962 mmol) in DMA (4.00 mL) were added PCy₃-HBF₄ (177 mg, 0.481 mmol), Cs₂CO₃ (2.04 g, 6.25 mmol) and Pd(OAc)₂ (39.3 mg, 0.175 mmol) under Ar atmosphere, then the mixture was stirred for 3.5 h at 130°C. At 0°C, the mixture was diluted with ethyl acetate and then water was added.

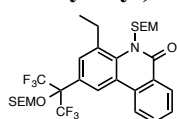
The organic layer was separated and washed with brine, and dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 20:1) to give **66h** (297 mg, 0.456 mmol, 35%, 2 steps) as a yellow oil. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.47 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.74-7.71 (m, 1H), 7.57-7.55 (m, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.11 (s, 2H), 4.92 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.84 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.40 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.20 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 0.97 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 0.82 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 0.73 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 0.00 (s, 9H), -0.24 (s, 9H).

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-4-methyl-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5*H*)-one (66i; YN261)



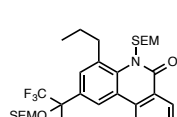
Prepared from **65b** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (359 mg, 0.565 mmol, 44%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.44 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.74-7.70 (m, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 5.71 (s, 1H), 4.90 (s, 2H), 3.83 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.51 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.98 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 0.77 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.00 (s, 9H), -0.18 (s, 9H).

4-Ethyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5*H*)-one (66j; YN248)



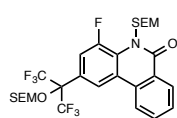
Prepared from **65c** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (158 mg, 0.244 mmol, 22%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.44 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.72 (td, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 7.55-7.54 (m, 2H), 5.62 (s, 2H), 4.90 (s, 2H), 3.83 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.51 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.11 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.24 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 0.98 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 0.75 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.00 (s, 9H), -0.19 (s, 9H).

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-4-propyl-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5*H*)-one (66k; YN262)



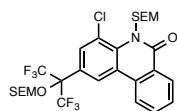
Prepared from **65d** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (248 mg, 0.374 mmol, 28%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.63 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.56 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.36 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.91 (td, *J* = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.75-7.72 (m, 2H), 5.82 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 4.02 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.67 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.24 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.80-1.77 (m, 3H), 1.17 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 1.09 (t, *J* = 7.2 Hz, 0.95 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.19 (s, 9H), 0.00 (s, 9H).

4-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5H)-one (66l; YN297)



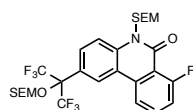
Prepared from **65e** in accordance with the general procedure J. Brown oil (35.3 mg, 0.0552 mmol, 9%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.76 (td, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 4.92 (s, 2H), 3.83 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.59 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.98 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 0.86 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.00 (s, 9H), -0.16 (s, 9H).

4-Chloro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5H)-one (66m; YN299)



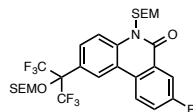
Prepared from **65f** in accordance with the general procedure J. Brown oil (45.2 mg, 0.0824 mmol, 24%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.56 (s, 1H), 8.53 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 5.85 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 3.88 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.74 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 1.02 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 0.98 (m, 2H), 0.02 (s, 9H), -0.05 (s, 9H).

7-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5H)-one (66n; YN281)



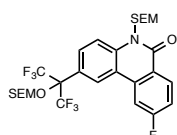
Prepared from **65g** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (103 mg, 0.162 mmol, 30%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.50 (s, 1H), 8.29 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.94-7.90 (m, 1H), 7.81-7.76 (m, 2H), 7.53-7.48 (m, 1H), 5.76 (s, 2H), 5.01 (s, 2H), 3.83 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.13-1.10 (m, 2H), 0.95 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 0.02 (s, 9H), -0.09 (s, 9H).

8-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5H)-one (66o; YN282)



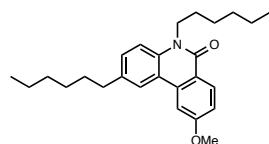
Prepared from **65h** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (197 mg, 0.308 mmol, 19%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.55 (s, 1H), 8.31 (dd, *J* = 8.9, 4.9 Hz, 1H), 8.23 (dd, *J* = 8.6, 2.9 Hz, 1H), 7.79 (s, 2H), 7.58-7.54 (m, 1H), 5.89 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 3.93 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.07 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 1.01 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.10 (s, 9H), 0.00 (s, 9H).

9-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methoxy)propan-2-yl)-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)phenanthridin-6(5H)-one (66p; YN285)

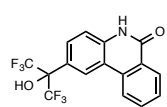


Prepared from **65i** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (448 mg, 0.299 mmol, 39%, 2 steps). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.60 (dd, *J* = 9.2, 5.7 Hz, 1H), 8.52 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.92 (dd, *J* = 10.3, 2.3 Hz), 7.82 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.38-7.34 (m, 1H), 5.88 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 3.94 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.10 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 1.01 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 0.10 (s, 9H), 0.00 (s, 9H).

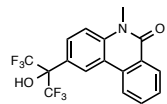
2,5-Dihexyl-9-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (66q; YN111)



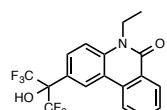
Prepared from **63n** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (84%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.42 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.07 (dd, *J* = 8.0, 2.5 Hz, 1H), 4.27 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.67 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.74-1.68 (m, 2H), 1.62-1.59 (m, 4H), 1.44-1.39 (m, 2H), 1.30-1.26 (m, 8H), 0.83 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H).

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (1; AA02)

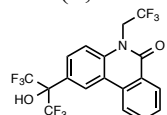
White solid. Mp: 97.0-99.0°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.9 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.58 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.42 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.34 (dd, J = 1.2 Hz, 1H), 7.91 (ddd, J = 8.2, 7.3, 1.2 Hz, 1H), 7.74 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H), 7.70 (ddd, J = 8.2, 7.3, 1.2 Hz, 1H), 7.48 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{F}_6\text{NO}_2$: 362.0616, found: 362.0603 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-5-methylphenanthridin-6(5H)-one (2; AA08)

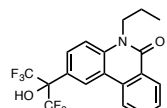
White solid. Mp: 86.0-87.5°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.66 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.56 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 8.31 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.81 (dd, J = 8.6, 6.7 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 9.2, 6.7 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.70 (s, 1H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{NO}_2$: 376.0772, found: 376.0765 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Ethyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (3; AA03)

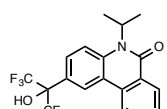
White solid. Mp: 208.0-209.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.68 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.56 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 8.31 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 7.80 (td, J = 7.9, 1.3 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.50 (s, J = 9.0 Hz, 1H), 4.48 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 3.71 (s, 1H), 1.44 (t, J = 7.3 Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{NO}_2$: 390.0929, found: 390.0918 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-5-(2,2,2-trifluoroethyl)phenanthridin-6(5H)-one (4; AA01)

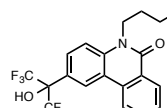
White solid. Mp: 76.1-77.8°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.70 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.56 (dd, J = 8.1, 1.1 Hz, 1H), 8.33 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.87 (dd, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 7.66 (td, J = 8.1 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 5.13 (s, 2H), 3.78 (s, 1H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{F}_9\text{NO}_2$: 444.0646, found: 444.0653 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-5-propylphenanthridin-6(5H)-one (5; AA22)

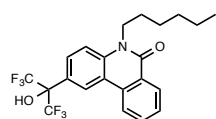
White solid. Mp: 183.8-184.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.55 (dd, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.79 (dd, J = 7.9, 7.9 Hz, 1H), 7.62 (dd, J = 7.9, 7.9 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.35 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.70 (s, 1H), 1.88-1.81 (m, 2H), 1.09 (t, J = 7.9 Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{F}_6\text{NO}_2$: 404.1085, found: 404.1052 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-5-isopropylphenanthridin-6(5H)-one (6; KZ01)

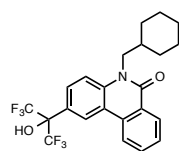
White solid. Mp: 172.5-173.0°C. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.94 (s, 1H), 8.66 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.39 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.35 (dd, J = 7.9, 1.8 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.89 (dd, J = 7.9, 7.9 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.68 (dd, J = 7.9, 7.9 Hz, 1H), 5.38 (br s, 1H), 1.61 (d, J = 6.7 Hz, 6H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{F}_6\text{NO}_2$: 404.1085, found: 404.1103 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{F}_6\text{NO}_2$: C, 56.58; H, 3.75; N, 3.47, found: C, 56.34; H, 3.81; N, 3.49.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (7; NAK636)

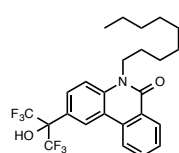
White solid. Mp: 166.0-166.6°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (s, 1H), 8.55 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.79 (dd, J = 7.9, 7.3 Hz, 1H), 7.62 (dd, J = 7.9, 7.3 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.39 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.81 (s, 1H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.56-1.50 (m, 2H), 1.03 (t, J = 7.3 Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{F}_6\text{NO}_2$: 418.1242, found: 418.1262 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-5-hexylphenanthridin-6(5H)-one (8; AA25)

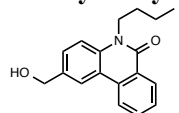
White solid. Mp: 132.0-132.2°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.54 (d, $J = 7.9, 1.8$ Hz, 1H), 8.29 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.78 (dd, $J = 8.5, 7.3$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.5, 7.3$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.37 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 3.91 (s, 1H), 1.84-1.76 (m, 2H), 1.53-1.47 (m, 2H), 1.42-1.32 (m, 4H), 0.91 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{NO}_2$: 446.1555, found: 446.1516 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-(Cyclohexylmethyl)-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (9; AA26)

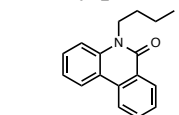
White solid. Mp: 200.9-201.7°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.5, 7.3$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.5, 7.3$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.30 (br s, 2H), 3.75 (s, 1H), 1.98-1.88 (m, 1H), 1.76-1.64 (m, 5H), 1.24-1.17 (m, 5H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{NO}_2$: 458.1555, found: 458.1569 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-5-nonylphenanthridin-6(5H)-one (10; AA27)

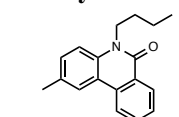
White solid. Mp: 98.1-99.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.67 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz), 8.54 (dd, 1H, $J = 7.9, 1.8$ Hz), 8.29 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 7.84 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.79 (dd, 1H, $J = 7.9, 7.3$ Hz), 3.87 (s, 1H), 1.84-1.76 (m, 2H), 1.53-1.46 (m, 2H), 1.43-1.36 (m, 2H), 1.33-1.24 (m, 8H), 0.88 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{F}_6\text{NO}_2$: 488.2024, found: 488.1981 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-hydroxymethylphenanthridin-6(5H)-one (11; MN319)

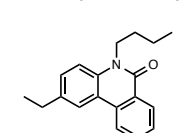
White solid. Mp: 150.0-153.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 18.54 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.28-8.26 (m, 2H), 7.75 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.0, 1.8$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.37 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.99-1.94 (m, 1H), 1.81-1.74 (m, 2H), 1.55-1.48 (m, 2H), 1.01 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). Anal. calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2$: C, 76.84; H, 6.81; N, 4.98, found: C, 76.94; H, 6.71; N, 5.01.

5-Butylphenanthridin-6(5H)-one (12; YN066)

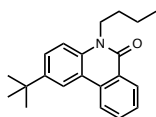
Colorless oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.54 (dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 1H), 8.30 (dd, $J = 8.6, 1.3$ Hz, 1H), 8.27 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.74 (t, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.52 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.29 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.52 (m, 2H), 1.00 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}$: 252.1338, found: 252.1349 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-methylphenanthridin-6(5H)-one (13; MN267)

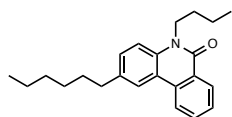
Colorless oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.55 (dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.74 (td, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 1H), 7.57 (m, 1H), 7.37-7.30 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.82-1.75 (m, 3H), 1.56-1.48 (m, 2H), 1.01 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}$: 266.1545, found: 266.1584 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-ethylphenanthridin-6(5H)-one (14; MN324)

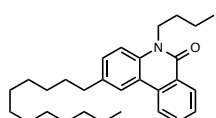
Pale brown oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.55 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.75 (td, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.39 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.39 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 2.79 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.57-1.49 (m, 2H), 1.34 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 1.02 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}$: 280.1701, found: 280.1696 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-tert-Butyl-5-butylphenanthridin-6(5H)-one (15; MN325)

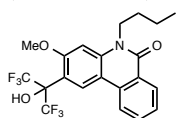
Pale brown oil. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.56 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 8.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.78-7.74 (m, 1H), 7.60 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.56-1.50 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.02 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}$: 308.2014, found: 308.2008 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-hexylphenanthridin-6(5H)-one (16; MN338)

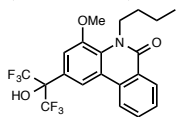
White solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.75 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.33 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 4.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.74 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.41-1.32 (m, 6H), 1.02 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}$: 336.2327, found: 336.2310 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-dodecylphenanthridin-6(5H)-one (17; MN339)

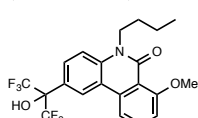
White solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.55 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.75 (ddd, $J = 8.0, 6.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.57 (td, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.36 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.74 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.83-1.76 (m, 2H), 1.73-1.66 (m, 2H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.41-1.32 (m, 6H), 1.02 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}$: 336.2327, found: 336.2310 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-3-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (19; YN089)

White solid. Mp: 101.0-104.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.52 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.6, 6.7$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 7.9, 6.7$ Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.38 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.12 (s, 3H), 1.82 (qn, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.54 (sext, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.05 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{NO}_3$: 448.1347, found: 448.1350 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

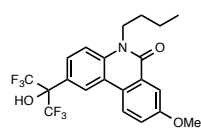
5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (20; KZ08)

White solid. Mp: 91.0-95.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.50 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 7.9, 7.3$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $J = 7.9, 7.3$ Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 4.54 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.03 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 1.84 (qn, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.44 (sext, $J = 7.3$ Hz, 2H), 0.99 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). MS (FAB) m/z : 448 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_6\text{NO}_3 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 55.30; H, 4.42; N, 3.07, found: C, 55.27; H, 4.46; N, 3.09.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-7-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (21; KZ31)

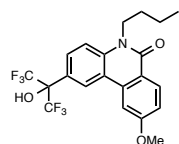
White solid. 226.0-230.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.64 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.10 (dd, $J = 9.1, 2.4$ Hz, 1H), 5.09 (br s, 1H), 4.26 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 1.72 (qn, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.44 (sext, $J = 7.3$ Hz, 2H), 0.95 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). MS (FAB) m/z : 448 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_6\text{NO}_3 \cdot 3/4 \text{H}_2\text{O}$: C, 54.73; H, 3.04, found: C, 54.71; H, 4.51; N, 2.91.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-8-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (22; KZ12)



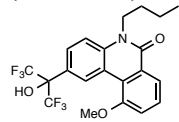
White solid. Mp: 195.0-197.5°C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.59 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 9.2, 3.0 Hz, 1H), 4.59 (s, 1H), 4.38 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.77 (qn, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.52 (sext, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.02 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). MS (FAB) *m/z*: 448 (M+H)⁺. Anal. calcd for C₂₁H₁₉F₆NO₃·H₂O: C, 54.20; H, 4.55; N, 3.01, found: C, 53.89; H, 4.12; N, 2.96.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-9-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (23; KZ32, YN028)



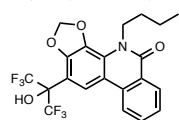
White solid. Mp: 85.5-87.0°C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.51 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 7.9, 7.9 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 5.22 (br s, 1H), 4.20 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 1.68 (qn, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.48 (sext, *J* = 7.3 Hz, 2H), 0.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). MS (FAB) *m/z*: 448 (M+H)⁺. Anal. calcd for C₂₁H₁₉F₆NO₃·H₂O: C, 54.20; H, 4.55; N, 3.01, found: C, 54.32; H, 4.54; N, 3.13.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-10-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (24; KZ33)



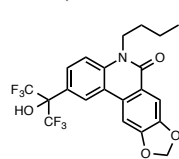
White solid. Mp: 175.5-177.0°C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.75 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 7.9, 7.9 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.68 (br s, 1H), 4.30 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 1.74 (qn, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.49 (sext, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). MS (FAB) *m/z*: 448 (M+H)⁺. Anal. calcd for C₂₁H₁₉F₆NO₃: C, 56.38; H, 4.28; N, 3.13, found: C, 56.15; H, 4.41; N, 3.14.

4-Butyl-11-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]phenanthridin-5(4H)-one (26; HA718)



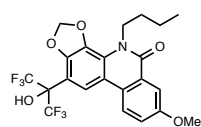
White solid. Mp: 186.5-188.5°C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.98 (s, 1H), 8.32 (dd, *J* = 7.9, 1.2 Hz, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.26 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.85 (td, *J* = 7.3, 1.2 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.19 (s, 2H), 4.43 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 1.68 (tt, *J* = 7.3, 7.9 Hz, 2H), 1.37 (tq, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 2H), 0.93 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for C₂₁H₁₈F₆NO₄: 462.1140, found: 462.1169 (M+H)⁺.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*j*]phenanthridin-6(5H)-one (31; KZ26)



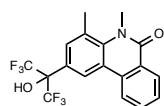
White solid. Mp: 214.5-215.5°C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.43 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.79 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 6.13 (s, 2H), 4.45 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.75 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.50 (sext, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.01 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). MS (FAB) *m/z*: 462 (M+H)⁺. Anal. calcd for C₂₁H₁₇F₆NO₄: C, 54.67; H, 3.71; N, 3.04, found: C, 54.45; H, 3.72; N, 3.12.

4-Butyl-11-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-8-methoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]phenanthridin-5(4H)-one (34; HA719)



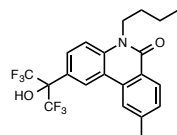
White solid. Mp: 196.0-197.5°C. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.94 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 9.2, 3.1 Hz, 1H), 6.16 (s, 2H), 4.44 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 1.68 (tt, *J* = 7.3, 7.9 Hz, 2H), 1.36 (qt, *J* = 7.3, 7.9 Hz, 2H), 0.92 (t, *J* = 7.9 Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for C₂₂H₂₀F₆NO₅: 492.1246, found: 492.1257 (M+H)⁺.

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-4,5-dimethylphenanthridin-6(5H)-one (37; YN292)



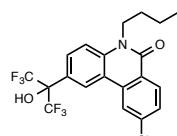
Prepared from **59r** (375 mg, 0.725 mmol) in accordance with the general procedure J. White solid (53%, 2 steps). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- D_6) δ : 8.49 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.34 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.89 (td, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 1H), 7.68 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.72 (s, 3H).

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-9-methylphenanthridin-6(5H)-one (45; YN021)



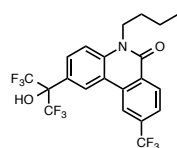
Prepared from **60j** in accordance with general procedure J. White solid (13%). Mp 194.5-196.0°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.58 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.39-7.36 (m, 2H), 4.30 (dd, $J = 7.7, 3.9$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.75-1.69 (m, 2H), 1.48-1.42 (m, 2H), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_6\text{NO}_2$ 431.1320, found: 431.1320 (M^+).

5-Butyl-9-chloro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (46; KZ11, YN035)



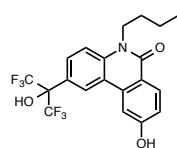
Prepared from **60k** in accordance with general procedure J. White solid (29%). Mp 194.0-198.5°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.56 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.46 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.35 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.80-1.74 (m, 2H), 1.53-1.47 (m, 2H), 1.01 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{ClF}_6\text{NO}_2$ 452.0852, found: 452.0868 ($\text{M}+\text{H}^+$).

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-9-(trifluoromethyl)phenanthridin-6(5H)-one (47; YN033)



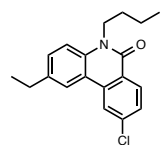
Prepared from **60l** in accordance with general procedure J. White solid (80%). Mp 182.5-185.0°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.61 (dd, $J = 10.0, 5.4$ Hz, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.83 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.33 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.77-1.71 (m, 2H), 1.47 (td, $J = 14.9, 7.4$ Hz, 2H), 0.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{F}_9\text{NO}_2$ 486.1116, found: 486.1113 ($\text{M}+\text{H}^+$).

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-9-hydroxyphenanthridin-6(5H)-one (48; YN029)



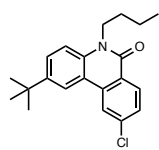
To a solution of **23** (55.9 mg, 0.125 mmol) in CH_2Cl_2 (1.20 mL) was added boron tribromide (17% in CH_2Cl_2 , 0.400 mL) under an Ar atmosphere. The mixture was stirred overnight at room temperature, then NaHCO_3 was added to it. Water was added, and the organic layer was separated, washed with brine, dried over MgSO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (n -hexane/ $\text{AcOEt} = 2:1$) to give **48** (45.9 mg, 0.106 mmol, 85%) as a white solid. Mp 250.0-252.5°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- D_6) δ : 8.50 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.10 (dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, 1H), 4.30 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 1.66-1.60 (m, 2H), 1.41 (tq, $J = 7.4, 7.4$ Hz, 2H), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{NO}_3$ 433.1113, found: 433.1118 (M^+).

5-Butyl-9-chloro-2-ethylphenanthridin-6(5H)-one (49; YN048)



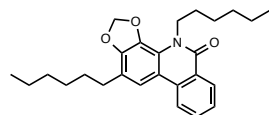
Prepared from **63l** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (89%). $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.48 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.79 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.78 (tt, $J = 7.7, 3.9$ Hz, 2H), 1.52 (tq, $J = 7.4, 7.4$ Hz, 2H), 1.34 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).

2-(*tert*-butyl)-5-butyl-9-chlorophenanthridin-6(5*H*)-one (50; YN110)



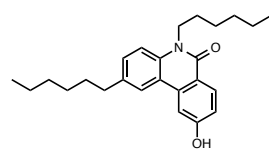
Prepared from **63m** in accordance with the general procedure J. Yellow oil (57%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.18 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 8.9, 2.0 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.35 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.78 (tt, *J* = 7.6, 7.6 Hz, 2H), 1.55-1.48 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.01 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

4,11-Dihexyl-[1,3] dioxolo[4,5-*c*] phenanthridin-6(5*H*)-one (51; YN286)



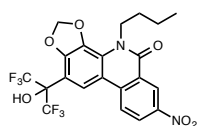
Prepared from **59s** in accordance with the general procedure J. Brown oil (12%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.41 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.63-7.60 (m, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.42 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.97 (s, 2H), 4.43 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 2.61 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.70 (tt, *J* = 6.5, 6.5 Hz, 2H), 1.61 (tt, *J* = 7.5, 7.5 Hz, 2H), 1.37-1.24 (m, 12H), 0.84-0.80 (m, 6H).

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-9-hydroxyphenanthridin-6(5*H*)-one (52; YN112)



To a solution of **66q** (165 mg, 0.418 mmol) in CH₂Cl₂ (4.50 mL) was added boron tribromide (17% in CH₂Cl₂, 1.50 mL) under an Ar atmosphere. The mixture was stirred overnight at room temperature, then NaHCO₃ was added to it. Water was added, and the organic layer was separated, washed with brine, dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/AcOEt = 4:1) to give **52** (73.9 mg, 0.195 mmol, 47%) as a white solid. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.12 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.52 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.30 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.72 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.80-1.74 (m, 2H), 1.71-1.65 (m, 2H), 1.47-1.44 (m, 2H), 1.38-1.30 (m, 10H), 0.90-0.86 (m, 6H).

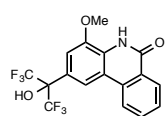
4-Butyl-11-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-7-nitro-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]phenanthridin-6(5*H*)-one (53; YN179)



Prepared from **60p** in accordance with the general procedure J. Yellow solid (13%). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 9.26 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 8.45 (dd, *J* = 9.2, 2.3 Hz, 1H), 8.17 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 6.17 (s, 2H), 4.47 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.74-1.68 (m, 2H), 1.40 (tq, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H), 0.92 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

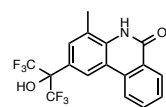
■ General Procedure K:

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (35; YN257)



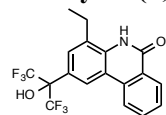
TBAF (2.28 mL, 2.28 mmol) was added to a solution of **66h** (297 mg, 0.456 mmol) in THF (10.0 mL) at room temperature. Then, the reaction mixture was stirred at 100°C for 5.3 h. The reaction mixture was diluted with ethyl acetate and then water was added. The organic layer was separated and washed with brine, and dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (chloroform/methanol = 50:1) to give **35** (56.3 mg, 0.144 mmol, 32%) as a white solid. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.67 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.64 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.45 (s, 1H), 8.19 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 4.23 (s, 3H).

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-4-methylphenanthridin-6(5H)-one (36; YN263)



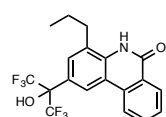
Prepared from **66i** (359 mg, 0.981 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (63%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.66 (s, 1H), 8.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.12 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.91 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 2.73 (s, 3H).

4-Ethyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (38; YN251)



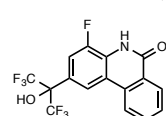
Prepared from **66j** (158 mg, 0.244 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (49%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.67 (s, 1H), 8.61 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.56 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 8.11 (td, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 7.89 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 3.18 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.39 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

2-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-4-propylphenanthridin-6(5H)-one (39; YN264)



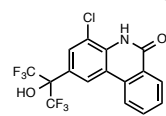
Prepared from **66k** (248 mg, 0.374 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (48%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.66 (s, 1H), 8.60 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.55 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 8.10 (td, *J* = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 3.14 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.76 (tq, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H), 1.13 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

4-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (40; YN300)



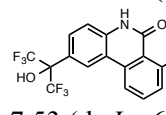
Prepared from **66l** (34.5 mg, 0.0539 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (52%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.44 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.38 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.97-7.93 (m, 1H), 7.75 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H).

4-Chloro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (41; YN301)



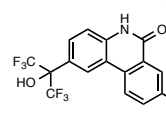
Prepared from **66m** (42.7 mg, 0.0779 mmol) in accordance with the general procedure K. Pale yellow solid (18%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.35 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 8.27 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 7.86-7.83 (m, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.63 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H).

7-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (42; YN284)



Prepared from **66n** (95.3 mg, 0.149 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (80%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.64 (s, 1H), 8.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.01-7.96 (m, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H).

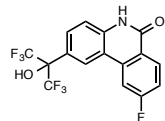
8-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (43; YN282)



Prepared from **66o** (197 mg, 0.308 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (59%). ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-D₆) δ: 8.55 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.52 (dd, *J* = 8.9, 4.9 Hz, 1H), 8.00 (dd, *J* = 9.2, 2.9 Hz, 1H), 7.80-7.74 (m, 2H), 7.49

(d, $J = 8.6$ Hz, 1H).

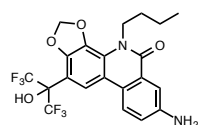
9-Fluoro-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)phenanthridin-6(5H)-one (44; YN289)



Prepared from **66p** (401 mg, 0.627 mmol) in accordance with the general procedure K. White solid (30%). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- D_6) δ : 8.64 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.49 (dd, $J = 8.9, 6.0$ Hz, 1H), 8.33 (dd, $J = 10.6, 2.6$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.64 (td, $J = 8.6, 2.3$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H).

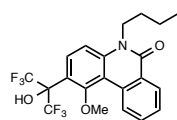
■ General Procedure L:

7-Amino-4-butyl-11-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-[1,3] dioxolo [4,5-*c*] phenanthridin-5(4H)-one (54; YN181)



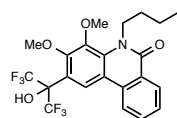
A mixture of **53** (41.8 mg, 0.0825 mmol) and 10% Pd/C (3.00 mg) in DMF (1.00 mL) was stirred at room temperature. The reaction mixture was evacuated and back-filled with H_2 . After overnight at room temperature, the mixture was filter over a pad of celite and the solvent was extracted with ethyl acetate, washed with brine, dried over MgSO_4 and concentrated. The residue was purified by column chromatography (*n*-hexane/ethyl acetate = 2:1) to give **54** (7.30 mg, 0.0152 mmol, 19%) as a yellow solid.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-methoxyphenanthridin-6(5H)-one (18; YN096)



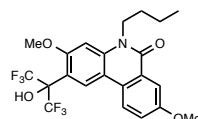
White solid. Mp: 123.0-123.5°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.59 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 8.27 (br s, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.5, 6.7$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 7.65 (dd, $J = 8.5, 6.7$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 4.48-4.40 (m, 1H), 4.35-4.22 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 1.90-1.73 (m, 2H), 1.60-0.97 (m, 2H), 1.03 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). MS (FAB) m/z : 448 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{NO}_3$: 448.1347, found: 448.1394 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-3,4-dimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (25; HA726)



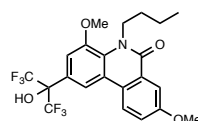
White solid. Mp: 106.0-107.0°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.76 (s, 1H), 8.33 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.87 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.64 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.49 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 1.67 (tt, $J = 7.3, 7.3$ Hz, 2H), 1.28 (tq, $J = 7.3, 7.3$ Hz, 2H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{NO}_4$: 478.1453, found: 478.1445 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-3,8-dimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (27; KZ16)



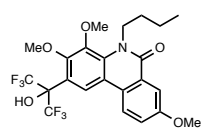
White solid. Mp: 184.5-186.5°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.38 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.33 (dd, $J = 8.5, 3.1$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 4.56 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.34 (s, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 1.85 (qn, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.45 (sext, $J = 7.3$ Hz, 2H), 0.99 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). MS (FAB) m/z : 478 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Anal. calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_6\text{NO}_4$: C, 55.35; H, 4.43; N, 2.93, found: C, 55.17; H, 4.39; N, 2.93.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-3,8-dimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (28; KZ15)



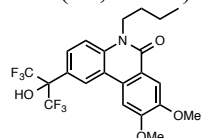
White solid. Mp: 177.0-181.0°C. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.18 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 8.5, 3.1$ Hz, 1H), 7.23 (br s, 1H), 6.98 (s, 1H), 4.39 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.11 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 1.82 (qn, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.55 (sext, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.05 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). MS (FAB) m/z : 478 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_6\text{NO}_4$: 478.1453, found: 478.1412 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-3,4,8-trimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (29; HA727)



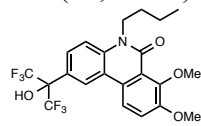
White solid. Mp: 108.0-110.0°C. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.72 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J = 9.2, 3.1$ Hz, 1H), 4.50 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 1.67 (tt, $J = 7.3, 7.3$ Hz, 2H), 1.28 (tq, $J = 7.3, 7.3$ Hz, 2H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HRMS (FAB) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{F}_6\text{NO}_5$: 508.1559, found: 508.1549 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-8,9-dimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (30; KZ25)



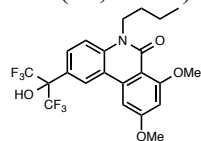
White solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.49 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.79 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 4.07 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 1.74 (tt, $J = 9.4, 9.4$ Hz, 2H), 1.51 (tq, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 2H), 1.01 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H).

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-7,8-dimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (32; KZ27)



White solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (s, 1H), 7.99 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 9.2, 9.2$ Hz, 2H), 4.24-4.22 (m, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 1.76-1.70 (m, 2H), 1.48 (tq, $J = 7.2, 7.2$ Hz, 2H), 1.01 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H).

5-Butyl-2-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-7,9-dimethoxyphenanthridin-6(5H)-one (33; KZ38)



White solid. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 8.47 (s, 1H), 7.79 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 4.15-4.10 (m, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 1.65 (tt, $J = 7.6, 7.6$ Hz, 2H), 1.42 (tq, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 2H), 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H).

■ Reporter gene assay

Human embryonic kidney (HEK) 293 cells were cultured in DMEM containing 5% (v/v) fetal bovine serum, and penicillin/streptomycin at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air. HEK293 cells were seeded in 96-well plate at 1x10⁴ cells/well and incubated 6 h prior to transfection. One well of cells was co-transfected with 30 ng of a nuclear receptor expression plasmid, 50 ng of a luciferase reporter and 10 ng of CMX-β-GAL expression vector. Transfections were performed by the calcium phosphate co-precipitation method. After 24 h, transfected cells were treated with test compounds or dimethyl sulfoxide (DMSO) for 24 h. Treated cells were assayed for luciferase activity in a luminometer. The luciferase activity of each sample was normalized by the level of β-galactosidase activity. Each transfection was carried out in triplicate.

Nuclear receptor plasmids: GR (CMX-hGRα), AR (CMX-hAR), ROR (pcDNA3.1(-)- hRORα1, pcDNA3.1(-)-hRORβ1, pcDNA3.1(-)-hRORγ1), LXR (CMX-GAL4N-hLXRα-LBD, CMX-GAL4N-hLXRβ-LBD), RXR (CMX-GAL4N-hRXRα).

Luciferase reporter plasmids: GR (MTV-Luc), AR (ARE-Luc), ROR (RORE-TK-Luc), LXR (TK-MH100x4-Luc), RXR (TK-MH100x4-Luc).

Plasmids for AR, GR, LXRs, and RXRs were provided by Prof. Dr. Makishima, and plasmids for RORs were provided by Itsuu Institute.

■ T-47D alkaline phosphatase assay

T-47D alkaline phosphatase assays were performed as described in the literature. Human ductal breast epithelial tumor (T-47D) cells were grown in the presence of RPMI-1640 medium with 10% (v/v) fetal bovine serum, penicillin/streptomycin at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in air. T-47D cells were plated in 96-well plates at 1x10⁴ cell/well and incubated overnight. On the next day, cells were treated with fresh media containing test compound plus progesterone (final concentration 1 nM), and incubated for 24 h. The medium was aspirated and the cells were fixed with 100 μL of 1.8% formalin (in PBS). The fixed cells were washed with PBS and 75 μL of assay buffer [2 mg/mL *p*-nitrophenyl phosphate in 1 M diethanolamine water solution, pH 9.0, 2 mM MgCl₂] was added. Following incubation at room temperature with shielding from light for 6 h, the reaction was terminated by addition of 100 μL of 1M NaOH. The absorbance at 405 nm was measured. All data points were measured in triplicate.

■ α-glucosidase inhibiton assay

α-glucosidase (*Saccharomyces* sp., Wako) 0.2 U/mL in 10 mM phosphate buffer (pH 7.0) was treated with DMSO solution of various compounds (final DMSO concentration 1% v/v) in a 96-well plate (final volume 50 μL). After 10 min incubation at 37°C, 50 μL pNPG solution (final concentration 0.2 mM) was added. The mixture was incubated at 37°C for 10 min, then basified by adding 100 μL of 0.5 M Na₂CO₃ solution. The amount of released *p*-nitrophenol was measured based on the absorbance at 405 nm. The experiment was performed in triplicate and repeated at least two times, and the normalized average values are presented. The IC₅₀ values were reproducible.

参考文献

第 1 章

1. 橋本祐一, 村田道雄 編著. 生体有機化学. 東京化学同人 (2012).
2. Moore, J.T., Collins, J.L. and Pearce K.H. The nuclear receptor superfamily and drug discovery. *Pharmaceutical & Medicinal Chemistry* **1**, 504-523 (2006).
3. Hosoda, S., Matsuda, D., Tomoda, H. and Hashimoto, Y. Diphenylpentane skeleton as a multi-template for steroid skeleton-recognizing receptors/enzymes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **9**, 572-580 (2009).
4. Hashimoto, Y. Structural development of biological response modifiers based on thalidomide. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **10**, 461-479 (2002).
5. 細田信之介. 博士論文 (2009).
6. Hosoda, S., Tanatani, A., Wakabayashi, K., Nakano, Y., Miyachi, H., Nagasawa, K. and Hashimoto, Y. Ligand with dual vitamin D₃-agonistic and androgen-antagonistic activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **15**, 4327-4331 (2005).
7. Hosoda, S., Tanatani, A., Wakabayashi, K., Makishima, M., Imai, K., Miyachi, H., Nagasawa, K. and Hashimoto, Y. Ligand with a 3,3-diphenylpentane skeleton for nuclear vitamin D and androgen receptors: Dual activities and metabolic activation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **14**, 5489-5502 (2006).
8. Kainuma, M., Kasuga, J., Hosoda, S., Wakabayashi, K., Tanatani, A., Nagasawa, K., Miyachi, H., Makishima, M. and Hashimoto, Y. Diphenylmethane skeleton as a multi-template for nuclear receptor ligands: Preparation of FXR and PPAR ligands. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **16**, 3213-3218 (2006).
9. Hosoda, S. and Hashimoto, Y. 3,3-Diphenylpentane skeleton as a steroid skeleton substitute: Novel inhibitors of human 5 α -reductase 1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **17**, 5414-5418 (2007).
10. Aoyama, A., Aoyama, H., Dodo, K., Makishima, M., Hashimoto, Y. and Miyachi, H. LXR antagonists with a 5-substituted phenanthridin-6-one skeleton: synthesis and LXR restricted carba-T0901317 analogs. *Heterocycles* **76**, 137-142 (2008).
11. 唐木文霞. 博士論文 (2014).
12. Karaki, F., Ohgane, K., Fukuda, H., Nakamura, M., Dodo, K. and Hashimoto, Y. Structure-activity relationship study of non-steroidal NPC1L1 ligands indentified through cell-based assay using pharmacological chaperone effect as a readout. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **22**, 3587-3609 (2014).

第 2 章

1. Dodo, K., Aoyama, A., Noguchi-Yachide, T., Makishima, M., Miyachi, H. and Hashimoto, Y. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **16**, 4272-4285 (2008).
2. Motoshima, K., Noguchi-Yachide, T., Sugita, K., Hashimoto, Y. and Ishikawa, M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **17**, 5001-5014 (2009).
3. Noguchi-Yachide, T., Aoyama, A., Makishima, M., Miyachi, H. and Hashimoto, Y. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **17**, 3957-3961 (2007).
4. Lee, D.S. and Lee, S.H. Genistein, a soy isoflavone, is a potent alpha-glucosidase inhibitor. *FEBS Letters* **501**, 84-86 (2001).
5. Hamann, L.G., Farmer, L.J., Johnson, M.G., Bender, S.L., Mais, D.E., Wang, M.W., Crombie, D., Goldman, M.E. and Jones, T.K. Synthesis and biological activity of novel nonsteroidal progesterone receptor antagonists based on cyclocymopol monomethyl ether. *Journal of Medicinal Chemistry* **39**, 1778-1789 (1996).
6. Nakagawa, A., Uno, S., Makishima, M., Miyachi, H. and Hashimoto, Y. Progesterone receptor antagonists with a 3-phenylquinazoline-2,4-dione/2-phenylisoquinoline-1,3-dione skeleton. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **16**, 7046-7054 (2008).

第 3 章

1. Negro-Vilar, A. Selective androgen receptor modulators (SARMs): a novel approach to androgen therapy for the new millennium. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. **84**, 3459-3462 (1999).
2. Chen, Y., Sawyers, C.L. and Scher, H.I. Targeting the androgen receptor pathway in prostate cancer. *Current Opinion in Pharmacology* **8**, 440-448 (2008).
3. Tran, C., Ouk, S., Clegg, N.J., Watson, P.A., Arora, V., Wongvipat, J., Smith-Jones, P.M., Yoo, D., Kwon, A., Wasielewska, T., Welsbie, D., Chen, C., Higano, C.S., Beer, T.M., Hung, D.T., Scher, H.I., Hung, M. and Sawyers, C.L. Development of second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer. *Science* **324**, 787-790 (2009).
4. Van Oeveren, A. Motamedi, M., Mani, N.S., Marschke, K.B., Lopez, F.J., Schrader, W.T., Negro-Vilar, A. and Zhi, L. Discovery of 6-*N,N*-bis(2,2-trifluoroethyl)amino-4-trifluoromethyl quinolin-2(1*H*)-one as a novel selective androgen receptor modulator. *Journal of Medicinal Chemistry* **49**, 6143-6146 (2006).
5. Guo, C., Linton, A., Kephart, S., Ornelas, M., Pairish, M., Gonzalez, J., Greasley, S., Nagata, A., Burke, B.J., Edwards, M., Hosea, N., Kang, P., Hu, W., Engebretsen, J., Briere, D., Shi, M., Gukasyan, H., Richardson, P., Dack, K., Underwood, T., Johnson, O., Morell, A., Felstead, R., Kuruma, H., Matsumoto, H., Zoubeydi, A., Gleave, M., Los, G. and Fanjul, A.N. Discovery of aryloxy tetramethylcyclobutanes as novel androgen receptor antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry* **54**, 7693-7704 (2011).
6. Kino, T., Su, Y.A., and Chrousos, G.P. Human glucocorticoid receptor (GR) isoform β : recent understanding of its potential implications in physiology and pathophysiology. *Cellular and*

7. Fujii, S., Nkano, E., Yanagida, N., Mori, S., Masuno, H. and Kagechika, H. Development of *p*-carborane-based nonsteroidal progesterone receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **22**, 5329-5337 (2014).
8. Lin, H.R. Triterpenes from *Alisma orientalis* act as androgen receptor agonists, progesterone receptor antagonists, and glucocorticoid receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **24**, 3626-3632 (2014).
9. Fensome, A., Bender, R., Chopra, R., Cohen, J., Collins, M.A., Hudak, V., Malakian, K., Lockhead, S., Olland, A., Svenson, K., Terefenko, E.A., Unwalla, R.J., Wilhelm, J.M., Wolfrom, S., Zhu, Y., Zhang, Z., Zhang, P., Winneker, R.C. and Wrobel, J. Synthesis and structure-activity relationship of novel 6-aryl-1,4-difydrobenzo[d][1,3]oxazine-2-thiones as progesterone receptor modulators leading to the potent and selective nonsteroidal progesterone receptor agonist Tanaproget. *Journal of Medicinal Chemistry* **48**, 5092-5095 (2005).
10. Zhang, Z., Olland, A.M., Zhu, Y., Cohen, J., Berrodin, T., Chippari, S., Appavu, C., Li, S., Wilhem, J., Chopra, R., Fensome, A., Zhang, P., Wrobel, L., Unwalla, R.J., Lyttle, R. and Winneker, R.C. Mollesular and pharmacological properties of a potent and selective novel nonsteroidal progesterone receptor agonist Tanaproget. *The Journal of Biological Chemistry* **280**, 28468-28475 (2005).
11. Fensome, A., Adams, W.R., Adams, A.L., Berrodin, T.J., Cohen, J., Huselton, C., Illenberger, A., Kern, J.C., Hudak, V., A., Marella, M.A., Melenski, E.G., McComas, C.C., Mugford, C.A., Slayden, O.D., Yudit, M., Zhang, Z., Zhang, P., Zhu, Y., Winneker, R.C. and Wrobel, J.E. Design, synthesis, and SAR of new pyrrole-oxindole progesterone receptor modulators leading to 5-(7-fluoro-3,3-dimethyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-indol-5-yl)-1-methyl-1*H*-pyrrole-2-carbonitrile (WAY-255348). *Journal of Medicinal Chemistry* **51**, 1861-1873 (2008).
12. Fensome, A., Koko, M., Wrobel, J., Zhang, P., Cohen, J., Lundeen, S., Rudnick, K., Zhu, Y., Winneker, R. and Zhang, Z. Novel 5-aryl-1,3-dihydro-indole-2-thiones: potent, orally active progesterone receptor agonists. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **223**, MEDI-069 (2002).
13. Collins, M.A., Hudak, V., Bender, R., Fensome, A., Zhang, P., Miller, L., Winneker, R.C., Zhang, Z., Zhu, Y., Cohen, J., Unwakka, R.J. and Wrobel, J. Novel pyrrole-containing progesterone receptor modulators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **14**, 2185-2189 (2004).
14. Fensome, A., Bender, R., Cohen, J., Collins, M.A., Mackner, V.A., Miller, L.L., Ullrich, J.W., Winneker, R., Wrobel, J., Zhang, P., Zhang, Z. and Zhu, Y. New progesterone receptor antagonists: 3,3-disubstituted-5-aryloxindoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **12**, 3487-3490 (2002).

第 4 章

1. Jetten, A. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nuclear Receptor Signaling* **7**, e003 (2009).
2. Kallen, J.A., Schlaeppli, J.M., Bitsch, F., Geisse, S., Geiser, M., Delhon, I. and Fournier, B. X-ray structure of the hRORalpha LBD at 1.63 Å: structural and functional data that cholesterol or a cholesterol derivative is the natural ligand of RORalpha. *Structure* **10**, 1697-1707 (2002).
3. Stehlin, C., Wurtz, J.M., Steinmetz, A., Greiner, E., Schule, R., Moras, D. and Renaud, J.P. X-ray structure of the orphan nuclear receptor RORbeta ligand-binding domain in the active conformation. *The EMBO Journal* **20**, 5822-5831 (2001).
4. Hamilton, H.P., Frankel, W.N., Kerrebrock, A.W., Hawkins, T.L., FitzHugh, W., Kusumi, K., Russell, L.B., Mueller, K.L., van Berkel, V., Birren, N.W., Kruglyak, L. and Lander, E.S. Disruption of the nuclear hormone receptor RORalpha in staggerer mice. *Nature* **379**, 736-739 (1996).
5. Steinmayr, M., Andre, E., Conquet, F., Rondi-Reig, L., Delhaye-Bouchaud, N., Auclair, N., Daniel, H., Crepel, F., Mariani, J., Sotelo, C. and Becker-Andre, M. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 3960-3965 (1998).
6. Meyer, T., Kneissel, M., Mariani, J. and Fournier, B. In vitro and in vivo evidence for orphan nuclear receptor RORalpha function in bone metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**, 9197-9202 (2000).
7. Gold, D., Gent, P. and Hamilton, B. RORα in genetic control of cerebellum development: 50 staggering years. *Brain Research* **1140**, 19-25 (2007).
8. Dzhagalov, I., Giguere, V. and He, Y.W. Lymphocyte development and function in the absence of retinoic acid-related orphan receptor α. *Journal of Immunology* **173**, 2952-2959 (2004).
9. Andre, E., Gawlas, K. and Becker-Andre, M. A novel isoform of the orphan nuclear receptor RORbeta is specifically expressed in pineal gland and retina. *Gene* **216**, 277-283 (1998).
10. Andre, E., Conquet, F., Steinmayr, M., Stratton, S.C., Porciatti, V. and Becker-Andre, M. Disruption of retinoid-related orphan receptor β changes circadian behavior, causes retinal degeneration and leads to vacillans phenotype in mice. *The EMBO Journal* **17**, 3867-3877 (1998).
11. Srinivas, M., Ng, L., Liu, H., Jia, L. and Forrest, D. Activation of the blue opsin gene in cone photoreceptor development by retinoid-related orphan receptor β. *Molecular Endocrinology* **20**, 1728-1741 (2006).
12. Zhang, Y., Luo, X., Wu, D. and Xu, Y. ROR nuclear receptors: structures, related diseases, and drug discovery. *Acta Pharmacologica Sinica* **36**, 71-87 (2015).
13. Jetten, A. and Joo, J. Retinoid-related orphan receptors (RORs): Roles in cellular differentiation and development. *Advances in Developmental Biology* **16**, 313-355 (2006).
14. Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M. and Kuchroo V.K. IL-17 and Th17 cells. *Annual Review of Immunology* **27**, 485-517 (2009).
15. Tesmer, L.A., Lundy, S.K., Sarkar, S. and Fox, D.A. Th17 cells in human disease. *Immunological*

16. Yang, X.O., Pappu, B.P., Nurieva, R., Akimzhanov, A., Kang, H.S. and Chung, Y. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity* **28**, 29-39 (2008).
17. Ivanov, I.I., McKenzie, B.S., Zhou, L., Tadokoro, C.E., Lepelley, A. and Lafaille, J.J. The orphan nuclear receptor ROR gamma directs the differentiation program of proinflammatory IL-17 T helper cells. *Cell* **126**, 1121-1133 (2006).
18. Kang, H.S., Angers, M., Beak, J.Y., Wu, X., Gimble, J.M. and Wada, T. Gene expression profiling reveals a regulatory role for ROR alpha and ROR gamma in phase I and phase II metabolism. *Physiological Genomics* **31**, 281-294 (2007).
19. Lau, P., Fitzsimmons, R.L., Raichur, S., Wang, S.C., Lechtken, A. and Muscat, G.E. The orphan nuclear receptor, RORalpha, regulates gene expression that controls lipid metabolism: staggerer (SG/SG) mice are resistant to diet-induced obesity. *The Journal of Biological Chemistry* **283**, 18411-18421 (2008).
20. Mamontova, A., Seguret-Mace, S., Esposito, B., Chaniale, C., Bouly, M. and Delhay-Bouchaud, N. Severe atherosclerosis and hypoalphalipoproteinemia in the staggerer mouse, a mutant of the nuclear receptor RORalpha. *Circulation* **98**, 2738-2743 (1998).
21. Chopra, A.R., Louet, J.F., Saha, P., An, J., Demayo, F. and Xu, J. Absence of the SRC-2 coactivator results in a glycogenopathy resembling Von Gierke's disease. *Science* **322**, 1395-1399 (2008).
22. Kumar, N., Kojetin, D.J., Solt, L.A., Kumar, K.G., Nuhant, P. and Duckett, D.R. Identification of SR3335 (ML-176): a synthetic ROR alpha selective inverse agonist. *ACS Chemical Biology* **6**, 218-222 (2011).
23. Stehlin-Gaon, C., Willmann, D., Zeyer, D., Sanglier, S., Van Dorsselaer, A., Renaud, J.P., Moras, D. and Schule, R. All-trans retinoic acid is a ligand for the orphan nuclear receptor ROR β . *Nature Structural Biology* **10**, 820-825 (2003).
24. Kallen, J., Schlaeppli, J.M., Bitsch, F., Geiser, M., Delhon, I. and Fournier, B. X-ray structure of the hROR alpha LBD at 1.63 angstrom: Structural and functional data that cholesterol or a cholesterol derivative is the natural ligand of ROR alpha. *Structure* **10**, 1697-1707 (2002).
25. Kallen, J., Schlaeppli, J.M., Bitsch, F., Delhon, I. and Fournier, B. Crystal structure of the human ROR alpha ligand binding domain in complex with cholesterol sulfate at 2.2 angstrom. *The Journal of Biological Chemistry* **279**, 14033-14038 (2004).
26. Jin, L., Martynowski, D., Zheng, S., Wada, T., Xie, W. and Li, Y. Structural basis for hydroxycholesterols as natural ligands of orphan nuclear receptor ROR gamma. *Molecular Endocrinology* **24**, 923-929 (2010).
27. Huh, J., Leung, M., Huang, P., Ryan, D., Krout, M., Malapaka, R., Chow, J., Manel, N., Ciofani, M., Kim, S., Cuesta, A., Santori, F., Lafaille, J., Xu, H., Gin, S., Rastinejad, F. and Littman, D. Digoxin and its derivatives suppress T_H17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t activity. *Nature* **472**, 486-490 (2011).
28. Fujita-Sato, S., Ito, S., Isobe, T., Ohyama, T., Wakabayashi, K., Morishita, K., Ando, O. and Isono, F. Structural basis of digoxin that antagonizes ROR γ t receptor activity and suppresses Th17 cell

- differentiation and interleukin (IL)-17 production. *The Journal of Biological Chemistry* **286**, 31409-31417 (2011).
29. Kumar, N., Solt, L.A., Conkright, J.J., Wang, Y.J., Istrate, M.A., Busby, S.A., Garcia-Ordonez, R., Burris, T.P. and Geiffin, P.R. The benzenesulfonamide T0901317 [*N*-(2,2,2-trifluoroethyl)-*N*-[4-[2,2,2-trifluoro-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]phenyl]-benzenesulfonamide] is a novel retinoic acid receptor-related orphan receptor- α / γ inverse agonist. *Molecular Pharmacology* **77**, 228-236 (2010).
 30. Solt, L.A., Kumar, N., Nuhant, P., Wang, Y., Lauer, J., Istrate, M., Kamenecka, T.M., Roush, W., Vidovic, D., Schurer, S., Xu, J., Wagoner, G., Drew, P., Griffin, P. and Burris, T. Suppression of TH17 differentiation and autoimmunity by a synthetic ROR ligand. *Nature* **472**, 491-494 (2011).
 31. Wang, Y., Kumar, N., Nuhant, P., Cameron, M., Istrate, M., Roush, W., Griffin, P.R. and Burris, T.R. Identification of SR1078, a synthetic agonist for the orphan nuclear receptors ROR α and ROR γ . *ACS Chemical Biology* **5**, 1029-1034 (2010).
 32. Solt, L.A., Kumar, N., He, Y.J., Kamenecka, T.M., Griffin, P.R. and Burris, T.P. Identification of a selective ROR γ ligand that suppresses T(H)17 cells and stimulates T regulatory cells. *ACS Chemical Biology* **7**, 1515-1519 (2012).
 33. Kumar, N., Lynda, B., Chang, M.R., Lauer, J.L., Solt, L.A., Burris, T.P., Kamenecka, T.M. and Griffin, P.R. Identification of SR2211: a potent synthetic ROR γ -selective modulator. *ACS Chemical Biology* **7**, 672-677 (2012).
 34. Huh, J.R., Englund, E.E., Wang, H., Huang, R., Huang, P., Rastinejad, F., Inglese, J., Austin, C.P., Johnson, R.L., Huang, W. and Littman, D.R. Identification of potent and selective diphenylpropanamide ROR γ inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **4**, 79-84 (2013).
 35. Khan, P.M., El-Gendy B.E.D.M., Kumar, N., Garcia-Ordonez, R., Lin, L., Ruiz, C.H., Cameron, M.D., Geiffin, P.R. and Kamenecka, T.M. Small molecule amides as potent ROR- γ selective modulators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **23**, 532-536 (2013).
 36. Wang, Y., Cai, W., Zhang, G., Yang, T., Liu, Q., Cheng, Y., Zhou, L., Ma, Y., Cheng, Z., Lu, S., Zhao, Y.G., Zhang, W., Xiang, Z., Wang, S., Yang, L., Wu, Q., Orband-Miller, L.A., Xu, Y., Zhang, J., Gao, R., Huxdorf, M., Xiang, J.N., Zhong, Z., Elliot, J.D., Leung, S. and Lin, X. Discovery of novel *N*-(5-(arylcarbonyl)thiazol-2-yl)amides and *N*-(5-(arylcarbonyl)thiophen-2-yl)amides as potent ROR γ t inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **22**, 692-702 (2014).
 37. Yang, T., Liu, Q., Cheng, Y., Cai, W., Ma, Y., Yang, L., Wu, Q., Orband-Miller, L.A., Zhou, L., Xiang, Z., Huxdorf, M., Zhang, W., Zhang, J., Xiang, J.N., Leung, S., Qiu, Y., Zhong, Z., Elliott, J.D., Lin, X. and Wang, Y. Discovery of tertiary amine and indole derivatives as potent ROR γ t inverse agonists. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **5**, 65-68 (2014).
 38. Fauber, B.P., Rene, O., Burton, B., Everett, C., Gobbi, A., Hawkins, J., Johnson, A.R., Liimatta, M., Locker, P., Norman, M. and Wong, H. Identification of tertiary sulfonamides as ROR ϵ inverse agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **24**, 2182-2187 (2014).

第 5 章

1. Lefebvre, P.J. and Scheen, A. The use of acarbose in the prevention and treatment of hypoglycaemia. *European Journal of Clinical Investigation* **24**, 40-44 (1994).
2. Asano, N. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use. *Glycobiology* **13**, 93R-104R (2003).
3. Gruters, R.A., Neefjes, J.J., Termette, M., Goede, R.E.Y., Tulp, A., Huisman, H.G., Miedema, F. and Ploegh, H.L. Interference with HIV-induced syncytium formation and viral infectivity by inhibitors of trimming glucosidase. *Nature* **330**, 74-77 (1987).
4. Taylor, N.R., Sunkara, P.S., Liu, P.S., Kang, M.S., Bowlin, T.L. and Tyms, A.S. 6-*O*-butanoylcastanospermine (MDL 28,574) inhibits glycoprotein processing and the growth of HIVs. *AIDS* **5**, 693-698 (1991).
5. Mehta, A., Rudd, P.M., Block, T.M. and Dwek, R.A. Alpha-glucosidase inhibitors as potential broad based anti-viral agents. *FEBS Letters* **430**, 17-22 (1998).
6. Block, T.M., Lu, X., Platt, F.M., Foster, G.R., Gerlich, W.H., Blumberg, B.S. and Dwek, R.A. Secretion of human hepatitis B virus is inhibited by the imino sugar *N*-butyldeoxynojirimycin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**, 2235-2239 (1994).
7. Skulnick, H.I., Johnson, P.D., Aristoff, P.A., Morris, J.K., Lovasz, K.D., Howe, W.J., Warenpaugh, K.D., Janakirama, M.N., Anderson, D.J., Reischer, R.J., Schwartz, T.M., Banitt, L.S., Tomich, P.K., Lynn, J.C., Horng, M.M., Chong, K.T., Hinshaw, R.R., Dolak, L.A., Seest, E.P., Schwende, F.J., Eush, B.D., Howard, G.M., Toth, L.N., Wilkinson, K.R., Kakuk, T.J., Johnson, C.W., Cole, S.L., Zaya, R.M., Zipp, G.L., Possert, P.L., Dalga, R.J., Zhong, W.Z., Williams, M.G. and Romines, K.R. Structure-based design of nonpeptidic HIV protease inhibitors: the sulfonamide-substituted cyclooctylpyranones. *Journal of Medicinal Chemistry* **40**, 1149-1164 (1997).
8. Shen, Q., Shao, J., Peng, Q., Zhang, W., Ma, L., Chan, A.S.C., and Gu, L. Hydroxycoumarin Derivatives: Novel and potent α -glucosidase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **53**, 8252-8259 (2010).
9. Liu, M., Yin, H., Liu, G., Dong, J., Qian, Z., and Miao, J. Xanthohumol, a prenylated chalcone from beer hops, acts as an α -glucosidase inhibitor in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62**, 5548-5554 (2014).
10. Kirkwood, J.S., Legette, L.L., Miranda, C.L., Jiang, Y. and Stevens, J.F. A metabolomics driven elucidation of the anti-obesity mechanisms of xanthohumol. *The Journal of Biological Chemistry* **288**, 19000-19013 (2013).
11. Miyata, S., Inoue, J., Shimizu, M. and Sato, R. Xanthohumol improves diet-induced obesity and fatty liver by suppressing sterol regulatory element-binding protein (SREBP) activation. *The Journal of Biological Chemistry* **290**, 20565-20579 (2015).

第 6 章

1. Aoyama, H., Sugita, K., Nakamura, M., Aoyama, A., Salim, M.T., Okamoto, M., Baba, M. and Hashimoto, Y. Fused heterocyclic amido compounds as anti-hepatitis C virus agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **19**, 2675-2687 (2011).
2. Salim, M.T., Aoyama, H., Sugita, K., Watashi, K., Wakita, T., Hamasaki, T., Okamoto, M., Urata, Y., Hashimoto, Y. and Baba, M. Potent and selective inhibition of hepatitis C virus replication by novel phenanthridinone derivatives. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **415**, 714-719 (2011).
3. 中村政彦, 博士論文 (2013).

謝辞

本博士論文は、筆者が東京大学大学院 薬学系研究科 薬科学専攻 博士後期過程在学中に生体有機化学研究分野 橋本研究室において行った研究をまとめたものです。本研究に関して終始ご指導ご鞭撻を頂きました、本学 分子細胞生物学的研究所 生体有機化学分野 橋本 祐一 教授に心より感謝致します。また本論文をご精読頂き有用なご助言を頂きました、本学 金井 求 教授、清水 敏之 教授、折原 裕 准教授、花岡 健二郎 准教授に深謝致します。

本研究を遂行するにあたり、適切なご指導、ご助言を頂きました、本学 分子細胞生物学的研究所 生体有機化学分野 石川 稔 准教授に心より感謝致します。

多くの適切なご助言ならびにご討論をしてくださいました、本学 分子細胞生物学的研究所 生体有機化学研究分野 藤井 晋也 講師、山口 卓男 助教、谷内出 友美 助教、橋本 真梨子 氏、東北大学 松本 洋太郎 講師、国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部 三澤 隆史 研究員に心より感謝致します。

本研究を遂行するにあたり、プラスミド提供やご助言を頂きました、日本大学医学部 生体機能医学系生化学分野 榎島 誠 教授、公益財団法人 乙卯研究所 中込 まどか 博士に心より感謝致します。

日々の研究生活において、活発な討論や助言を頂きました、本学 分子細胞生物学的研究所 生体有機化学研究分野の皆様深く感謝致します。

最後になりましたが、これまで経済的、精神的に支えてくれた家族、友人に心より感謝致します。

平成 28 年 3 月

西山 郵子