

新規な 5,5-ジアリールペンタジエナミド  
構造を有する TRPV1 拮抗薬の創製

佐久 磨

# 目次

序論.....	1
第1章 研究の概要および新規誘導体探索の背景とデザイン.....	4
第2章 ペンタジエナミド誘導体の初期探索.....	9
第1節 5位に同一の置換基を有するペンタジエナミド誘導体の合成.....	9
第2節 5位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体の合成.....	10
第3節 5位にアルキル基を有する誘導体の合成.....	13
第4節 評価結果.....	14
第1項 5位に同一の置換基を有するペンタジエナミド誘導体の評価結果と考察.....	14
第2項 5位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体の評価結果と考察.....	15
第5節 結論.....	18
第3章 第2世代ペンタジエナミド誘導体の探索と開発化合物の創製.....	20
第1節 探索計画.....	20
第2節 第2世代ペンタジエナミド誘導体の合成.....	22
第3節 評価結果.....	33
第1項 水溶性向上を指向した誘導体の評価結果と考察.....	33
第2項 アミド部位を変換した誘導体の評価結果と考察.....	35
第3項 アミノ基を導入した誘導体の評価結果と考察.....	37
第4項 アルコキシ基を導入した誘導体の評価結果と考察.....	39
第5項 5位左側芳香環(Aパート)上の置換基変換に対する評価結果と考察.....	41
第6項 アミド部位を変換した誘導体の評価結果と考察2.....	43
第7項 開発候補化合物の選択.....	44
第4節 開発候補化合物の薬物動態試験結果.....	48
第5節 開発候補化合物のラットにおける鎮痛作用.....	49
第4章 総括.....	51
第5章 実験項.....	53
第1節 薬理作用および薬物動態の評価方法.....	53
第2節 化合物合成の実験項.....	58
参考文献.....	107
謝辞.....	112



## 序論

我々の体は、約 43°C 以上または約 15°C 以下の温度に接すると、温度の感覚に加えて痛みを感じることを日常生活において経験している。一方、発熱は生体防御機能の一環であるが、体温をコントロールするためのメカニズムは長い間不明であった。

表皮に近い感覚神経終末において発現が確認されているイオンチャンネル型受容体が、温度や他の物理刺激を受容することが判明すると、一部の一次求心性線維上に熱刺激によって開口するイオンチャンネルの存在が明らかとなった。<sup>1)</sup> そして、1997 年にカプサイシン受容体 TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1) の遺伝子がクローニングされ、このチャンネルは熱刺激によって活性化されることが証明されたことで、生体内における温度受容体の分子実体が初めて明らかとなった。<sup>2)</sup> TRPV1 は、TRP (transient receptor potential) イオンチャンネルスーパーファミリーの TRPV サブファミリーに属する。カルシウムチャンネルは、電位作動性チャンネル、リガンド作動性チャンネルおよび受容体活性化チャンネルに分類されるが、TRP は受容体活性化カルシウムチャンネルの分子実体と考えられており、さまざまな刺激に応答して活性化されることが明らかになっている。

トウガラシの主成分カプサイシンは辛味とともに痛みをひき起こし、侵害性刺激受容体をもつ感覚神経を特異的に脱分極させて細胞内カルシウム濃度の増大を引き起こすことが報告されている。<sup>3)</sup> TRPV1 は、カプサイシンの他に生体において痛みを惹起する酸(プロトン)、熱(43°C 以上)によっても活性化される複数の有効刺激をもつ痛み受容体として機能している。43°C という熱活性化温度閾値は、ヒトや動物に痛みを引き起こす温度閾値とほぼ一致しており、TRPV1 が、組織を実質的に傷つける可能性のある刺激(侵害刺激)や熱刺激受容に関与することを示唆している(Figure 1)。

炎症時には、その部位の pH が下がり、痛みを制御したり創傷の治癒を促進する炎症関連メディエーターと呼ばれる種々の物質が放出されたりすることが知られている。炎症関連メディエーターとして知られる ATP やブラジキニンは、それぞれの Gq タンパク質共役型受容体(P2Y<sub>1</sub> 受容体と B2 受容体)に作用してプロテインキナーゼ C によって TRPV1 をリン酸化して、その活性化温度閾値を体温以下に低下させることが知られている。<sup>4)</sup> これらの炎症関連メディエータ

一の産生が亢進したり神経細胞外が酸性化したりする環境では、体温が TRPV1 の活性化刺激となり、痛覚過敏やアロディニア(異痛症)の原因となる。また、TRPV1 欠損マウスはほとんどの行動薬理試験において正常反応を示すが、カラゲニン誘発の炎症性発熱疼痛は完全に消失する。<sup>5)</sup>

一方、TRPV1 の作動薬で当該受容体を刺激すると痛覚神経は脱感作され、痛み刺激の伝達が抑制されることで、痛みを感じにくくなることが知られている。この作用機序を利用して帯状疱疹後に発生する疼痛や糖尿病性神経障害による痛みの改善に TRPV1 アゴニストを用いたカプサイシンクリームが臨床で使用されているが、一日数回の塗布が必要なことに加え、塗布直後の灼熱痛が副作用として問題となっている。TRPV1 拮抗薬は、これらの問題を解決できる可能性が高く、また炎症性疼痛から神経因性疼痛まで様々な痛みを改善できる鎮痛薬として期待できる。<sup>6)</sup>

以上の知見から、TRPV1 は炎症性疼痛、神経因性疼痛などにおいて重要な役割を担っていると考えられ、新規な疼痛治療薬の開発を目指して、TRPV1 拮抗薬の探索研究を開始した。

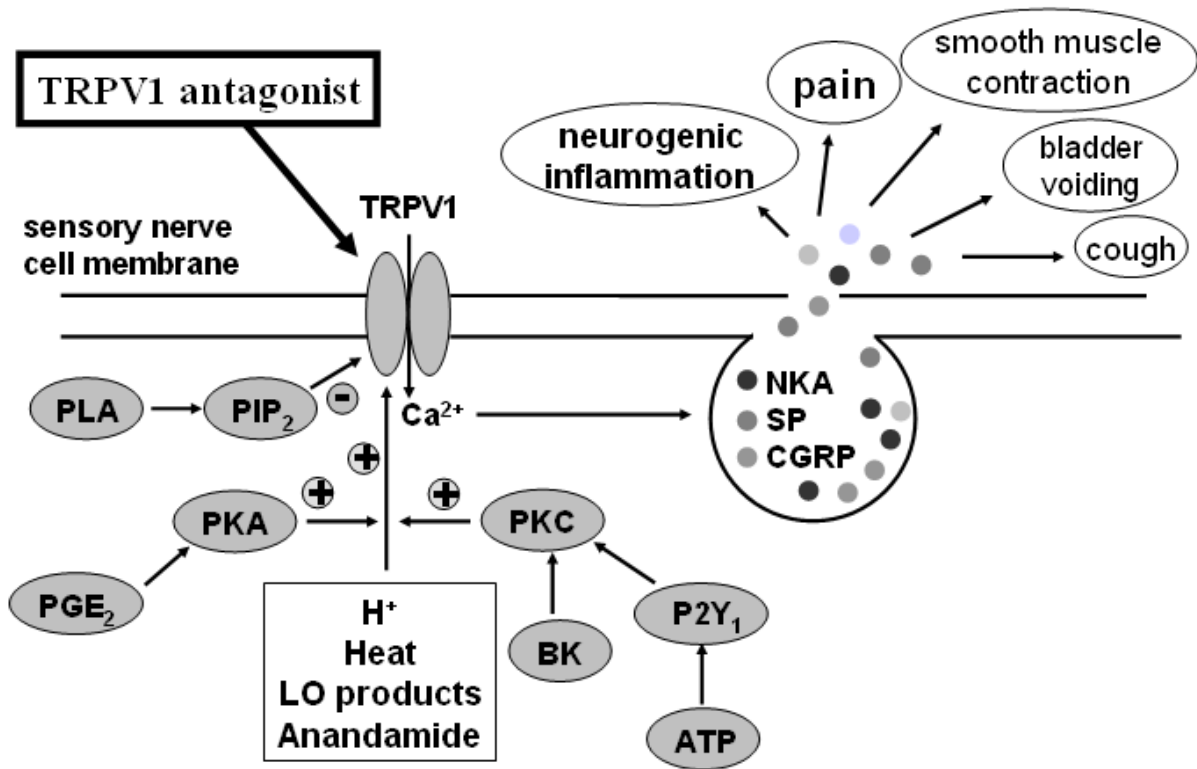


Figure 1. TRPV1 channels as nociceptors; ATP = Adenosine Tri-Phosphate, BK = Bradykinin, CGRP = Calcitonin Gene-Related Peptide, LO = Lipoxygenase, NKA = Neurokinin A, P2Y<sub>1</sub> = P2Y purinoceptor 1, PGE<sub>2</sub> = Prostaglandin E2, PIP<sub>2</sub> = Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate, PKA = Protein Kinase A, PKC = Protein Kinase C, PLA = Phospholipase A, SP = Substance P, TRPV1 = Transient Receptor Potential Vanilloid 1.

## 第1章 研究の概要および新規誘導体探索の背景とデザイン

筆者の所属する協和発酵キリン株式会社所有の社内化合物ライブラリーからランダムスクリーニングによって TRPV1 拮抗薬の探索を行ったところ、カルシウム流入に対して亢進作用を示す作動薬 1 および 2 が見出された(Figure 2)。作動活性( $EC_{50}$ )は化合物 2 の方が強力であるものの、分子構造から、ジエナミド構造に由来する化学的不安定性、代謝的不安定性が懸念され、低分子創薬の歴史に鑑みても経口薬として有用な化合物に誘導することは極めて難しいと思われた。

薬物代謝反応は、第 I 相反応と第 II 相反応に大別される。第 I 相反応は、酸化、還元、加水分解などにより、ヒドロキシル基、カルボキシル基、アミノ基などの極性基の生成や導入を伴う反応である。これらの導入される官能基は第 II 相の抱合反応に比べると小さな極性基であるが、一般的に作用部位に対する親和性を失い薬理作用が低下するとともに、排泄が促進される。また、このような代謝物は、臓器障害、発がん、変異原性などの毒性作用と深く関わっていることが多い。<sup>7)</sup> 酸化反応の代表的な酵素である P450 は、基質特異性が比較的広く、反応は、求電子的攻撃を受けやすい部位に起こりやすい。すなわち、N, O, Sなどの不対電子を有するヘテロ原子や $\pi$ 電子を有する二重結合などは一般に反応性が高く、水素引抜き反応による水酸化やエポキシ化を受ける。しかしながら、薬物代謝型の P450 は、基質の官能基を識別しているのではなく、基質結合部位に対する総合的な結合性を認識していると考えられており、薬物の脂溶性と代謝安定性との相関に関しては多くの報告がある。<sup>8)</sup> これは、薬物代謝が、脂溶性の生体外異物の排泄を促すための極性化反応であることから類推可能である。

従って、主に分子の脂溶性を指標として、誘導体展開による厳密な側鎖の最適化を行えば、化合物 2 のような一見不安定で Drug-like とは言い難い構造からの創薬にも可能性があるのではないかと考えられた。実際に、同様に TRPV1 作動活性を示し、類似したジエナミド構造を有する黒胡椒の主成分であるピペリン(Figure 3)は、自然界に安定に存在することが知られている化合物である。また、TRPV1 拮抗作用は中枢神経系を介して発現すると考えられるため、創出される化合物群は適度な中枢移行性を有している必要があるが、ジエナミド構造に由来する分子の高い脂溶性は、この目的にはむしろ好ましいと思われた。そこで周辺化合物をさらに探

索したところ、5,5-ジアリール体(化合物 3)に 100 倍以上の作動活性の増強が認められた。これらの結果から、この化合物をリード化合物に設定し、活性を保持したままアゴニストからアンタゴニストへの変換に挑戦することとした。

TRPV1 アゴニストのレシニフェラトキシシン(RTX; Figure 3)のバニリル基上にヨウ素を導入した I-RTX は、活性がアゴニストからアンタゴニストに完全に転換されることが、NovoNordisk 社で偶然に発見された。<sup>9)</sup> また、2002 年に、カプサイシン(Figure 3)の結合ドメインが報告された後、受容体の細胞内ループ中の単一アミノ酸の変異(S512Y)によって、TRPV1 アンタゴニストである I-RTX がアゴニスト作用を示すことが判明した。<sup>10)</sup> これらの結果から、詳細なメカニズムは不明ではあるものの、リガンドやチャネルのわずかな構造の変化は、TRPV1 の活性に非常に大きな影響を与えることが予想され、様々な骨格を有する誘導体で活性転換に成功した例が報告されている。<sup>11)</sup> そこで、化合物 3 に対して、活性の逆転を目的に種々の誘導体を合成した結果、チオモルホリンを 7-ヒドロキシナフチルアミンに変換した化合物 4 やイソキノリンを導入した化合物 5a は、高い親和性を保持したまま、アンタゴニスト活性を示すことが見出された(Figure 2)。

これらの化合物に対して、神経因性疼痛モデルであるラット M&K モデルを用いて、in vivo 薬効評価を行った。坐骨神経を損傷させたラットの左後肢足裏真中へ filament を押し当て、filament が曲がるまで垂直に約 4 秒間押し当てて、逃避反応(足を引っ込める)の有無を観察した。ED<sub>T6</sub> 値は、逃避反応の 50%閾値が 6 g となるときの薬物投与濃度を示す。化合物 5a は、本モデルの機械刺激性アロディニアに対して経口で有意な抑制作用を示すことが分かった(ED<sub>T6</sub> = 23.4 mg/kg, p.o.)。

これらの結果から、ジエナミド誘導体の構造最適化による良好な動態特性の獲得と TRPV1 拮抗活性の向上を系統的に試みた。本論文では、化合物 5a をリード化合物としたジエナミド 5 位の左右の両芳香環の変換、修飾に関して、そのデザイン、合成および構造活性相関について報告する。



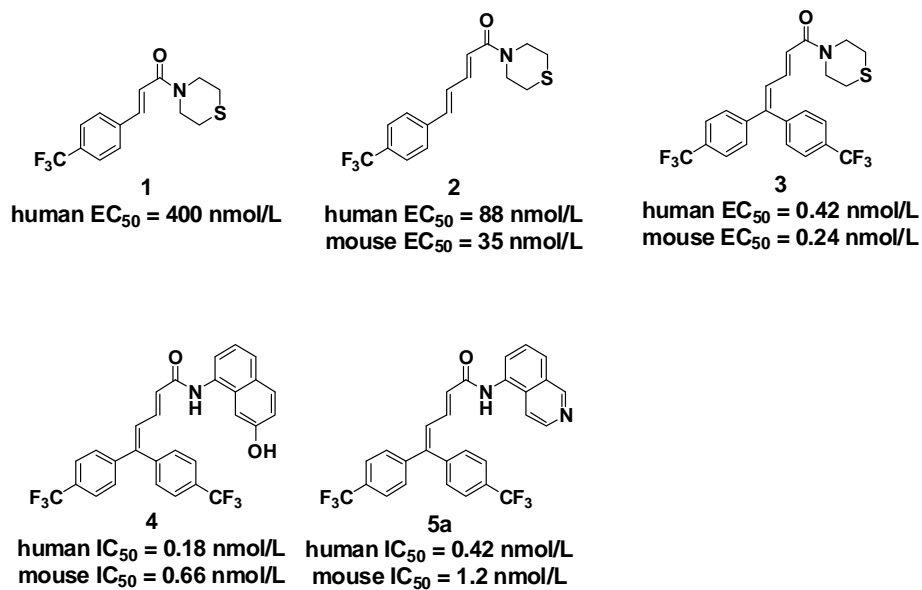


Figure 2. Structure-Activity Relationship of the First Lead Compounds.

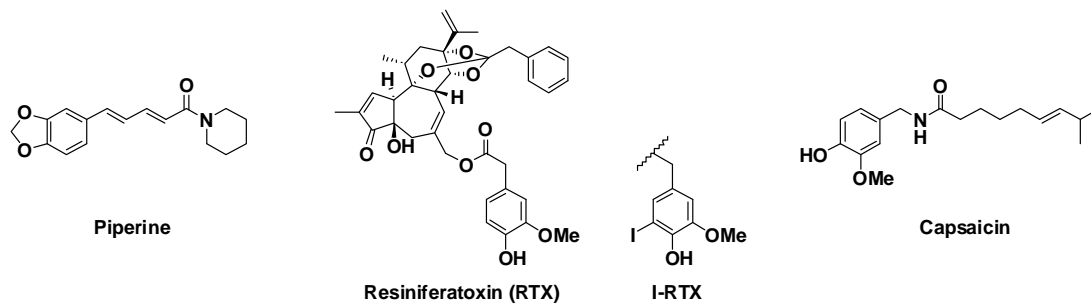


Figure 3. Chemical Structures of Selected TRPV1 Ligands.

第2章では、炎症性疼痛、神経因性疼痛などにおいて重要な役割を担っていると考えられる TRPV1 受容体の創薬ターゲットとしての可能性を検証する目的で、新規な疼痛治療薬の開発を目指した TRPV1 拮抗薬の初期探索研究を述べる。

上述のように、ランダムスクリーニングでヒットした TRPV1 作動薬 1 および 2 をリード化合物として、構造新規性を有する 5,5-ジアリールペンタジエナミド誘導体に展開し、強力な拮抗活性を示す化合物 5a を見出した。そこで、良好な吸収性を有する経口剤の開発を目的に、化合物 5a の高脂溶性の改善を試みたが、5 位に 2 つの対称な芳香環を有するペンタジエナミド誘導体においては、活性保持と脂溶性の低減の両立は達成できなかった。そこで、5 位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体の簡便な合成法を見出し、最適化を実施した。物性改善を意識した幅広い置換基の探索の結果、代謝安定性が改善され、フリー体分率の向上、ラットモデルにおける薬効の増強を果たした。なかでも、活性と物性が最適化された 17b, 17f は、良好な動態プロファイルを示し、in vivo で強力な薬効を有することが判明した(Figure 4)。

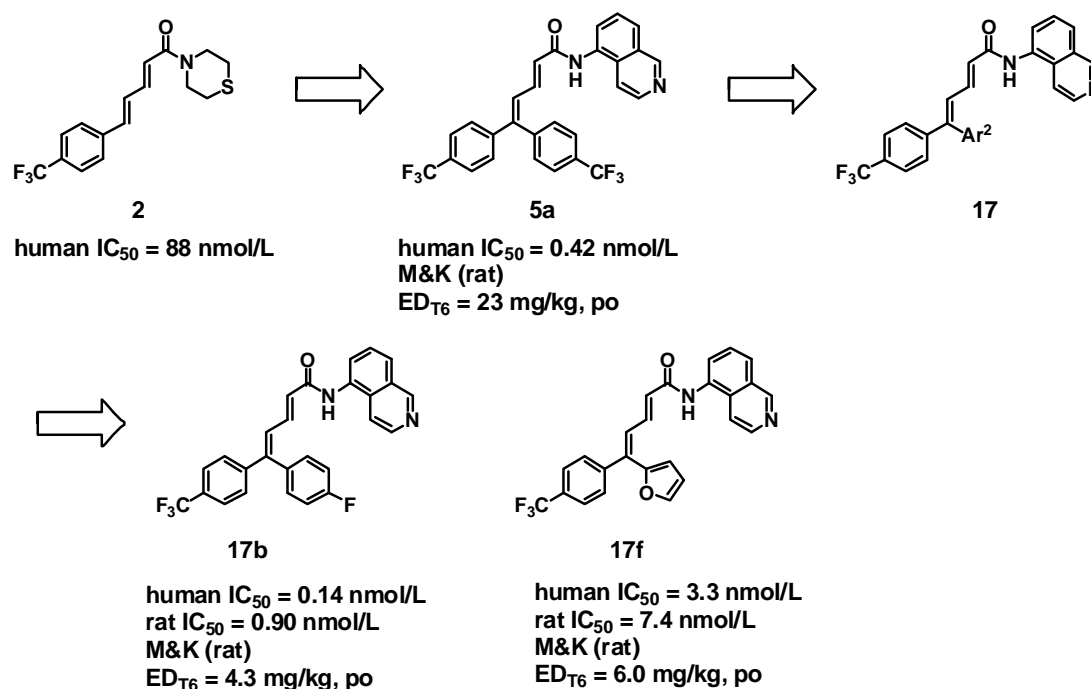


Figure 4. Structural Modification of Novel 5,5-Diarylpentadienamide Derivatives.

しかしながら、第2章で見出された化合物 17b, 17f は、十分な TRPV1 拮抗活性を示すものの、薬物相互作用の原因となる CYP3A4 不可逆阻害作用や心毒性の原因となる hERG チャンネル阻害作用を有することが判明した。また、水溶性、代謝安定性、中枢移行性などにも改善の余地があった。そこで、第3章では、17f を新たなリード化合物に設定し、5 位の芳香環とアミド側鎖の探索を継続した。すでに第2章の初期検討で把握されていた構造活性相関情報を基に、5 位芳香環へ脂溶性低減が期待できる官能基の導入や、水溶性向上が期待できるアミノ基の導入を行った。その結果、アミノ基の導入に対しては、水溶性の改善が見られたが、CYP 不可逆阻害作用の回避は困難だった。一方、アルコキシ基を導入すると、物性、動態の改善が見られ、中枢移行性が向上したことから、薬効の増強が認められた。さらに、嵩高いアルコキシ基へと展開することで、TRPV1 拮抗活性が向上することが分かり、拮抗活性と動態のバランスに優れた誘導体が見出された。一方、アミド部位のイソキノリル基を 3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル基へ変換すると、hERG 阻害作用は大幅に減弱することを見出した。

これら各パートの検討結果を組み合わせた誘導体の中から、ラット in vivo 評価で強薬効を示す誘導体を抽出し、ヒト臨床推定用量との相関が高いサルカセット PK 試験結果と  $hIC_{50}$  値で誘導体間の優劣を判定した。これらの結果を総合的に判断し、化合物 47b が選択された。さらに、47b の各エナンチオマーを合成したところ、TRPV1 拮抗活性、動態ともに R 体に優位性があることを明らかにした。

さらに、これらの研究を通じて、低分子創薬の候補化合物としては従来ほとんど顧みられることはなかったジエン構造を分子内に有する化合物に対して有益な知見を得ることができた。ジエナミド構造の有する適度な脂溶性とカップリング反応による構造変換の容易性に注目して、構造活性相関の綿密な検討を行った結果、従来までに合成された TRPV1 拮抗薬の中でも最強の拮抗活性を有し、優れた体内動態特性の付与と心毒性、遺伝毒性作用の回避を達成した有望な新規 TRPV1 拮抗薬の開発候補品の創製に成功した。

以下、各章において、これらの研究の経過と得られた結果について詳述する。

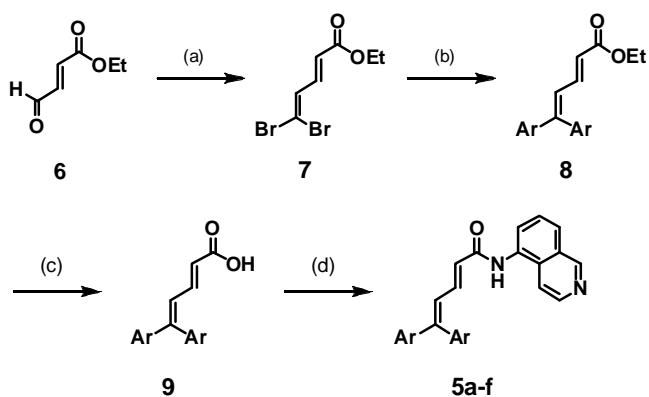
## 第2章 ペンタジエナミド誘導体の初期探索

前章で述べた新規誘導体探索の背景とデザインに基づいて、初期ヒット化合物からの考察をもとに、ジエナミド誘導体の構造最適化による良好な動態特性の獲得と TRPV1 拮抗活性の向上を試みた。

### 第1節 5位に同一の置換基を有するペンタジエナミド誘導体の合成

(*E*)-4-オキソ-2-ブテン酸エチル(6)に四臭化炭素を作用させて 5,5-ジブromoペンタジエン酸エチル(7)を得た。この化合物 7 に対して、種々のアリール基を有するボロン酸を作用させることで、5位に2つの置換基が同時に導入された 8 を得た。これを加水分解後、アミド化することによって目的のジエナミド 5 へと導いた(Scheme 1)。

Scheme 1

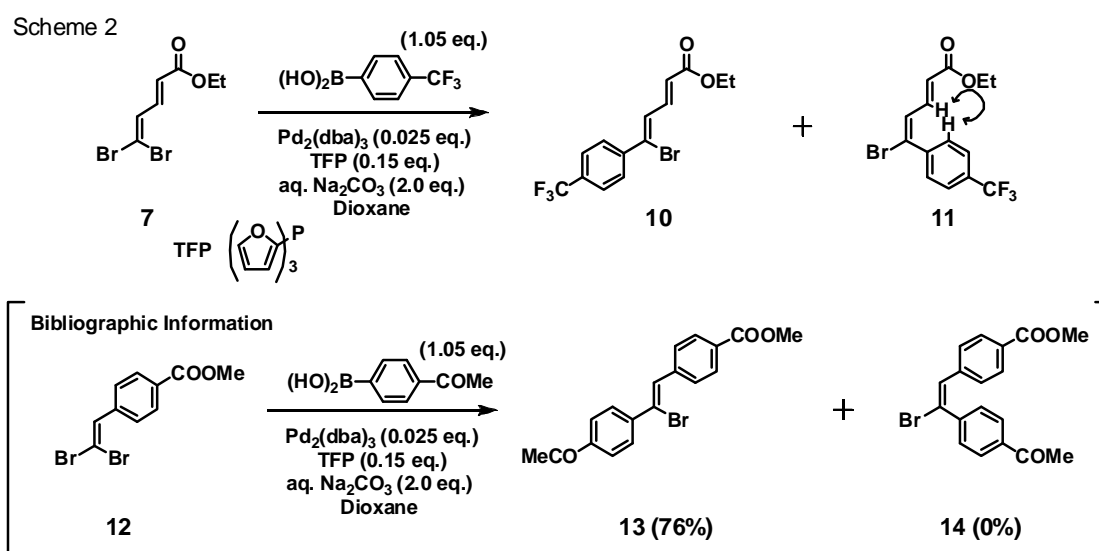


(a)  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (b)  $\text{ArB(OH)}_2$ ,  $\text{Pd(PPh}_3)_4$ , aq.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Dioxane; (c)  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , THF; (d) 5-aminoisoquinoline,  $\text{WSC}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , DMF.

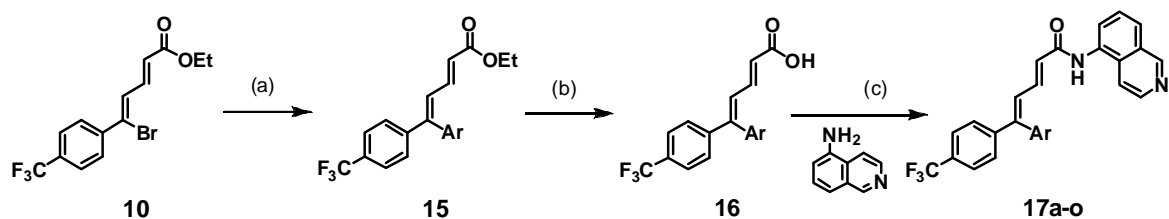
Compound	Ar
5a	
5b	
5c	
5d	
5e	
5f	

## 第2節 5 位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体の合成

5,5-ジブromoペンタジエン酸エチル(7)に対して位置選択的に置換基を導入することができれば、5 位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体(非対称体)の効率的な合成法となる。そこで、ジブromoオレフィン 12 に対して Z 体が選択的に生成することが報告されている<sup>12)</sup> Scheme 2 に示す条件下、4-トリフルオロメチルフェニル基の導入を検討した。しかし、化合物 12 の場合とは異なり、ジエン 7 からは両異性体が約 2:1 の比で得られた。化合物 12 の結果から、主生成物は Z 体であると予想されたが、構造を確認する必要がある。そこで、カラムクロマトグラフィーで分離した主生成物(10: 推定構造)を Scheme 3 に示すルートで最終サンプルへと導いた。その後、Scheme 4 に示す別法による合成を行い、構造の比較を行った。フェニルアセチレン(18)を出発原料としてオレフィン 20 を構築する反応は、100%の位置選択性で進行することが知られており、<sup>13)</sup>実際に副生物の生成は見られなかった。このルートで合成したカルボン酸 25 と最終物 26 の <sup>1</sup>H NMR は、Scheme 3 に示す主生成物 10 から導いたそれぞれの誘導体 16a, 17a と一致しなかった。また、化合物 11 においては、矢印で示すプロトン間で NOE が観測された。これらの結果から、優先的に得られた 10 が Z 体であると判断した。また、ここで確立した Scheme 4 に示すルートは、Scheme 3 のルートでは異性体の分離が困難な場合の代替法として利用した。



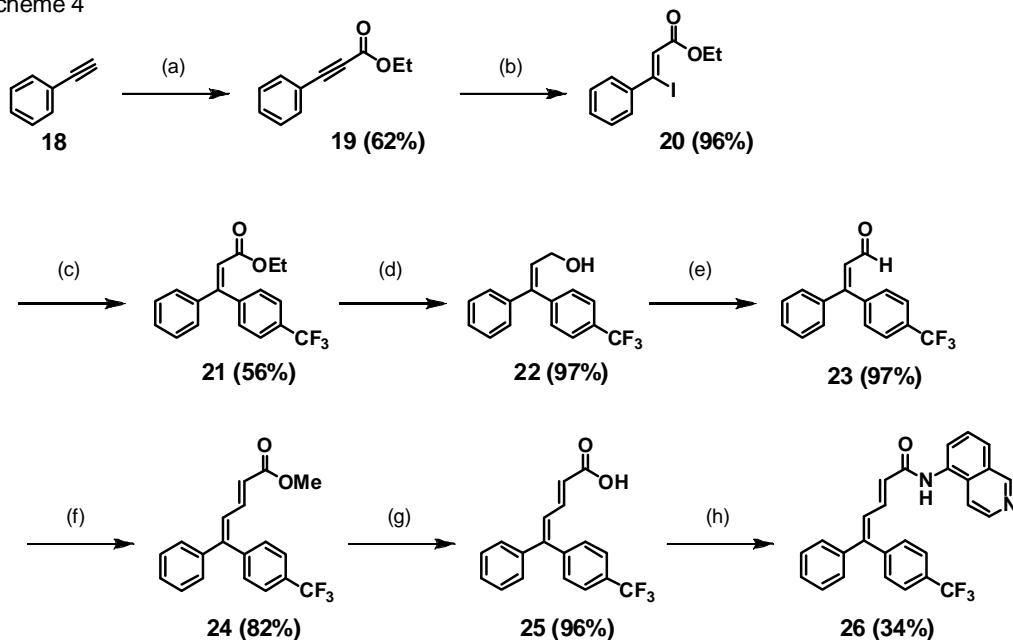
Scheme 3



(a)  $\text{ArB}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , TFP, aq.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Dioxane or  $\text{ArSn}^n\text{Bu}_3$ , Toluene; (b)  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , THF; (c) 5-aminoisoquinoline,  $\text{WSC}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , DMF.

Compound	Ar	Compound	Ar	Compound	Ar
17a		17f		17k	
17b		17g		17l	
17c		17h		17m	
17d		17i		17n	
17e		17j		17o	

Scheme 4

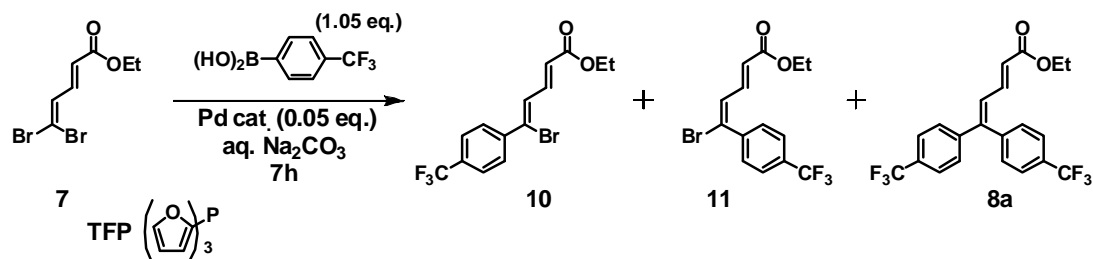


(a) ethyl chloroformate,  $^n\text{BuLi}$ , THF; (b)  $\text{NaI}$ , AcOH; (c) 4-(trifluoromethyl)phenylboronic acid,  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , TFP, aq.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Dioxane; (d)  $^i\text{Bu}_2\text{AlH}$ , THF; (e)  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (f)  $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOMe}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (g)  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , THF; (h) 5-aminoisoquinoline,  $\text{WSC}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , DMF.

続いて、鈴木カップリング反応条件の最適化を行った。

Table 1 に示すように、上述の文献条件<sup>12)</sup>では、異性体 11 の生成とともに二置換体 8a の生成もみられ、とりわけ目的物 10 と 8a との分離は非常に困難であった。そこで、精製工程の簡略化と収率の向上をめざして、8a の生成を抑える条件を探索した。Run 3 に示すように、パラジウム触媒を DBA 錯体からトリフェニルホスフィン錯体へと変更すると反応速度が遅くなり、二置換体 8a の生成が抑えられることが判明した。この条件では原料 7 が消失しないが、溶媒を THF へと変更することで、8a の生成を完全に抑えたままで、反応が完結することが分かった (Run 4)。この結果は、酢酸パラジウムを用いても同様であった (Run 5)。また、低温での反応を試みたが、40℃まで温度を下げると反応は全く進行しなくなった (Run 6)。これらの結果から、Run 4 の条件が最適であると判断し、ブロモ体 10 を用いて、Scheme 3 に示すルートにより、種々の誘導体を合成した。

Table 1. Optimization of Suzuki Coupling Reaction with Ethyl 5,5-Dibromopentadienoate



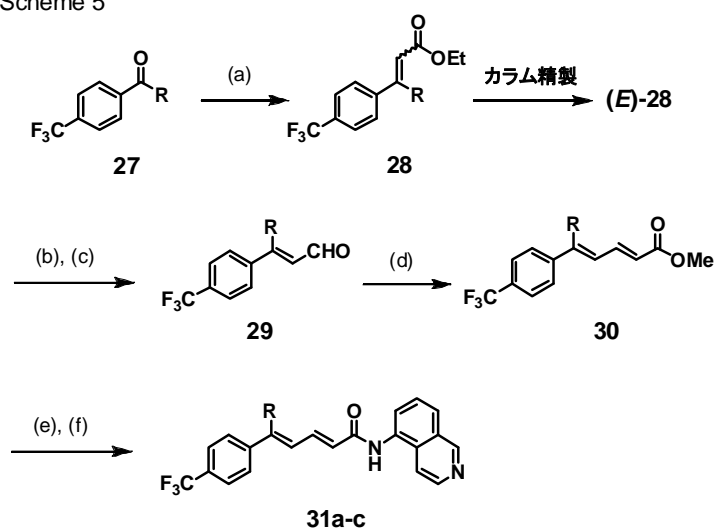
Run	Pd cat.	Temp. ( )	Solvent	生成比 (NMR) <sup>a)</sup>				Yield 10 (%)
				10	11	8a	7	
1	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> TFP	70	Dioxane	66	28	6	0	45
2	Pd <sub>2</sub> (dba) <sub>3</sub> TFP	70	THF	68	26	6	0	---
3	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	70	Dioxane	66	20	0	14	50
4	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	70	THF	75	25	0	0	66
5	Pd(OAc) <sub>2</sub> PPh <sub>3</sub>	70	THF	75	25	0	0	65
6	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	40	Dioxane	0	0	0	100	---

a) Determined by the peak area ratios of protons in diene moiety

### 第3節 5位にアルキル基を有する誘導体の合成

5位にアルキル基を有する誘導体や5位に置換基を持たない誘導体は、ジアリール体合成に用いた鈴木カップリングを利用するルートでは合成が困難であったため、ケトンまたはアルデヒド **27** から合成した(Scheme 5)。**27** に対する Horner-Wadsworth-Emmons 反応は *E/Z* 選択性が低かったが、カラム精製により *E* 体のみを得た。続いて、エステル部位を還元、酸化によりアルデヒド **29** へと変換したのち、Wittig 反応を用いてジエン骨格を構築した。続く加水分解とアミド化は Scheme 3 と同様の方法で行った。

Scheme 5



Compound	R
<b>31a</b>	•H
<b>31b</b>	•Me
<b>31c</b>	•CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

(a) (EtO)<sub>2</sub>POCH<sub>2</sub>COOEt, NaH, DME; (b) tBu<sub>2</sub>AlH, THF; (c) MnO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (d) Ph<sub>3</sub>P=CHCOOMe, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (e) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (f) 5-aminoisoquinoline, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, DMF.

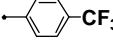

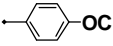
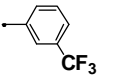
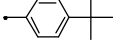
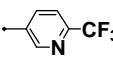


## 第4節 評価結果

### 第1項 5位に同一の置換基を有するペンタジエナミド誘導体の評価結果と考察

5位に同一の置換基を有するペンタジエナミド誘導体の評価結果を Table 2 に示す。リード化合物 **5a** のトリフルオロメチル基を除いた **5b**、酸素原子を導入した **5c**、置換基の位置を変えた **5d** などではいずれも TRPV1 拮抗活性(h IC<sub>50</sub>, rat IC<sub>50</sub>)が減弱した。一方で、嵩高い <sup>t</sup>Bu 基を有する **5e** は **5a** を上回る拮抗活性を示したが、脂溶性(clogP)が大幅に向上した結果、代謝安定性(rat CLint)が低下した。そこで、脂溶性を低減させるため、ピリジン環を導入したところ、**5f** はラット血漿中のフリー体分率(rat fu)や代謝安定性が劇的に向上するものの、活性が保持されなかった。

Table 2. In Vitro TRPV1 Activities and Pharmacokinetic Profile

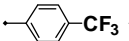
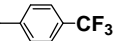
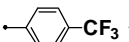


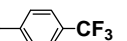


Compound	R	h IC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> (nmol/L)	rat fu <sup>b)</sup> (%)	rat CLint <sup>c)</sup> (L/h/kg)	clogP <sup>d)</sup>
<b>5a</b>		0.42	2.0	0.028	1200	7.62
<b>5b</b>		37	74	0.14	410	5.85
<b>5c</b>		6.6	12	0.047	740	7.91
<b>5d</b>		1.6	2.7	0.057	1300	7.62
<b>5e</b>		0.18	0.31	0.016	10000	9.51
<b>5f</b>		130	500	1.92	57	4.92

- a) h = human; IC<sub>50</sub> values based on inhibition of capsaicin (100 nM) induced influx of Ca<sup>2+</sup> into human or rat TRPV1-expressing 293 EBNA cells. Each IC<sub>50</sub> value reported represents an average of at least three independent experiments with four replicates at each concentration.
- b) fu = Unbound fraction in rat plasma.
- c) CLint = Hepatic intrinsic clearance of rat; Intrinsic clearance calculated from the disappearance rate of compound in rat liver microsomes. n = 2.
- d) clogP = Hydrophobicity partition coefficient.

## 第2項 5位に異なる置換基を有するペンタジエナミド誘導体の評価結果と考察

非対称体 ( $R^1 \neq R^2$ ) の活性評価結果を Table 3 に示す。 $R^2$  がフェニル基である 17a は 5a と同等の拮抗活性 ( $h\ IC_{50}$ ) を示したが、 $R^1$  がフェニル基である 26 では、10 倍程度活性が減弱した。さらに、 $R^1$ ,  $R^2$  がともにフェニル基である 5b では活性が約 100 分の 1 程度となった。この結果から予想されることは、①  $R^1$  は  $R^2$  より置換基変換に対する許容性が低い、②  $R^1$  が変化すると  $R^2$  の許容性も変化する、という 2 点である。従って、 $R^1$  を固定して、 $R^2$  の変換により脂溶性の低減を試みれば、高活性を保ったまま、動態を改善できる可能性があると考えた。

Table 3. SAR of Asymmetric ( $R^1$ ,  $R^2$ ) Dienes

Compd.	$R^1$	$R^2$	$h\ IC_{50}^a$ (nmol/L)
5a			0.42
17a			0.15
26			4.1
5b			37

a) h = human;  $IC_{50}$  values based on inhibition of capsaicin (100 nM) induced influx of  $Ca^{2+}$  into human or rat TRPV1-expressing 293 EBNA cells. Each  $IC_{50}$  value reported represents an average of at least three independent experiments with four replicates at each concentration.

$R^2$  を変換した誘導体の  $IC_{50}$  値、動態評価結果、ラットアロディニア改善作用を Table 4 に示す。 $R^2$  のフェニル基上の  $CF_3$  基をフルオロ、メトキシ、シアノ基などに変換した誘導体ではいずれも高い拮抗活性 ( $h\ IC_{50}$ ,  $rat\ IC_{50}$ ) が保持され、予想通り  $R^2$  の芳香環上の置換基変換は概ね許容されることが分かった。シアノ基を導入した 17e やベンゼン環をフラン環に変換した 17f では、5a と比べて脂溶性 ( $clogP$ ) が大きく低減し、フリー体分率 ( $rat\ fu$ )、代謝安定性 ( $h\ CLint$ ) の向上とともに、薬効の指標である  $fuCmax/rIC_{50}$  値、 $C_{CSF}/rIC_{50}$  値の向上が認められた。一方、17f に対してフランからチオフェンへの変換 (17i) と、2 位置換体から 3 位置換体への変換 (17j) で活性が向上した。また、5 位メチル基の導入 (17g) によっても活性が 10 倍程度向上した。しかしながら、これらの誘導体では、代謝安定性が低下し、17f に匹敵する  $fuCmax/rIC_{50}$  値は得られなかった。

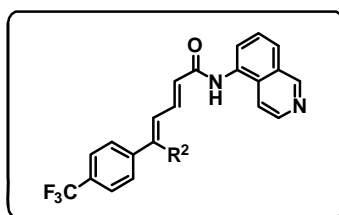
さらに脂溶性を低減させたピリジンやピリミジンを導入した誘導体 17k, l, m では拮抗活性が保持されなかった。同様に、フェノールを導入した場合(17c)も、活性は大きく減弱した。この部位は許容性が広いと考えられたが、酸性官能基の導入や塩基性の複素環への変換は、いずれも許容されなかった。17c と 17d との比較から、パラ位からの側鎖伸長でプロトドナーが消失すると活性が回復することが確認された。

R<sup>2</sup>を無置換とした 31a やメチル基を導入した 31b では活性は大幅に減弱した。一方、シクロヘキセニル基を導入した 17n は芳香環を導入した他の誘導体と比べて遜色ない活性を示し、芳香環は活性発現に必須ではないことが確認された。同様に、ブチル基を導入すると 31a, b と比べて活性の向上が見られた。しかし、脂溶性の低減が可能なジヒドロピランを導入した 17o では活性は減弱した。また、17n, 31c の fuCmax/rIC<sub>50</sub> 値は 17f には及ばなかった。

化合物 17a, b, e, f は、薬効の指標である fuCmax/rIC<sub>50</sub>、C<sub>CSF</sub>/rIC<sub>50</sub> が高い値を示したため、ラット M&K モデルで in vivo 薬効評価を行った。その結果、いずれもリード化合物 5a を超える薬効(ED<sub>T6</sub>)が確認された。また、PK/PD 解析において、fuCmax/rIC<sub>50</sub> よりも C<sub>CSF</sub>/rIC<sub>50</sub> が in vivo 薬効と良い相関を示し、中枢移行性が in vivo 薬効発現に重要であることが示された。一方、fuCmax/rIC<sub>50</sub>、C<sub>CSF</sub>/rIC<sub>50</sub> の値が低い 17i の in vivo における薬効を確認したところ、実際に薬効は弱かった。

これらの初期探索から、R<sup>2</sup>の変換による動態改善の可能性が確認できたが、大幅に脂溶性が低下する置換基は TRPV1 拮抗活性においては許容されない傾向が見られた。また、芳香環は必須ではないものの、ある程度のサイズを有する置換基の存在が活性発現には必須であると考えられた。

Table 4. Structures and Assay Results of 5,5-Diarylpentadienamide Analogs with Variations at the Right Aryl Portion



Compound	R <sup>2</sup>	h IC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> (nmol/L)	rat fu <sup>b)</sup> (%)	h CLint <sup>c)</sup> (L/h/kg)	fuCmax <sup>d)</sup> /rIC <sub>50</sub>	C <sub>CSF</sub> <sup>e)</sup> /rIC <sub>50</sub>	ED <sub>T6</sub> <sup>f)</sup> (mg/kg)	clogP <sup>g)</sup>
5a		0.42	2.0	0.028	740	0.081	<0.15	23	7.62
17a		0.14	0.90	0.036	NT <sup>h)</sup>	1.2	NT	17	6.74
17b		0.072	0.30	0.089	NT	5.3	7.3	4.3	6.88
17c		8.2	20	NT	NT	NT	NT	NT	6.07
17d		0.15	0.62	NT	580	NT	2.2	>30	6.66
17e		2.1	7.0	0.85	NT	1.8	2.5	10	6.17
17f		3.3	7.4	0.11	95	1.9	8.1	6.0	5.91
17g		0.34	2.3	0.042	170	0.62	3.0	NT	6.41
17h		3.3	9.9	0.048	280	0.30	1.1	NT	5.91
17i		0.96	2.6	0.039	610	0.46	2.1	<30	6.38
17j		0.49	1.7	NT	620	NT	NT	NT	6.38
17k		16	84	0.81	NT	NT	NT	NT	5.24
17l		34	110	0.29	NT	NT	NT	NT	5.24
17m		240	720	1.3	5.6	NT	NT	NT	4.28
31a	-H	940	1600	1.0	NT	NT	NT	NT	5.30
31b	-Me	950	330	0.71	NT	NT	NT	NT	5.70
17n		0.33	1.1	0.052	NT	0.70	NT	NT	7.37
31c		6.0	6.4	0.057	160	0.79	1.6	NT	7.29
17o		26	70	0.77	NT	NT	NT	NT	5.17

a) h = human; IC<sub>50</sub> values based on inhibition of capsaicin (100 nM) induced influx of Ca<sup>2+</sup> into human or rat TRPV1-expressing 293 EBNA cells. Each IC<sub>50</sub> value reported represents an average of at least three independent experiments with four replicates at each concentration. b) fu = Unbound fraction in rat plasma. c) CLint = Hepatic intrinsic clearance of rat; Intrinsic clearance calculated from the disappearance rate of compound in rat liver microsomes. n = 2. d) Cmax = Maximum concentration that a drug achieves in tested area after the drug has been administrated. e) C<sub>CSF</sub> = Cerebrospinal fluid concentration. f) ED<sub>T6</sub> = 50% thresholds of paw withdrawal at 6 g. g) clogP = Hydrophobicity partition coefficient. h) NT = Not tested.

## 第5節 結論

第2章では、ランダムヒット化合物からの展開により見いだされた 5a をリード化合物として、5,5-ジアリールペンタジエナミド誘導体の 5 位芳香環の最適化を実施した。本誘導体の展開においては、骨格に由来する高脂溶性の改善が必要と思われた。幅広い置換基の探索を行い、脂溶性の低減によるフリー体分率の向上、薬効増強をめざした。5 位に同一の置換基を有する誘導体の展開には、限界が見られたため、非対称体への展開を計画し、簡便な合成法を見出した。本法においては、対称体合成に使用していた Stille 反応、鈴木-宮浦反応が同様に適用でき、これによって幅広い置換基を効率的に導入することができた。そして脂溶性を適度に低減した 17b, 17f は、血漿中曝露、中枢移行性の向上が確認され、in vivo で強力な活性を示した (Figure 5)。

しかしながら、次章で述べるように、これらの化合物は薬物相互作用の原因となる CYP3A4 不可逆阻害作用や心毒性の原因となる hERG (human Ether-a-go-go Related Gene) チャネル阻害作用<sup>14)</sup>を有することが判明した。さらに、極めて水溶性が低いことや、高脂溶性に起因する低代謝安定性など物性面においては依然として改善の必要があった。そこで、本章において見出した 5 位置換基の構造活性相関を利用したさらなる最適化研究について第3章で述べる。

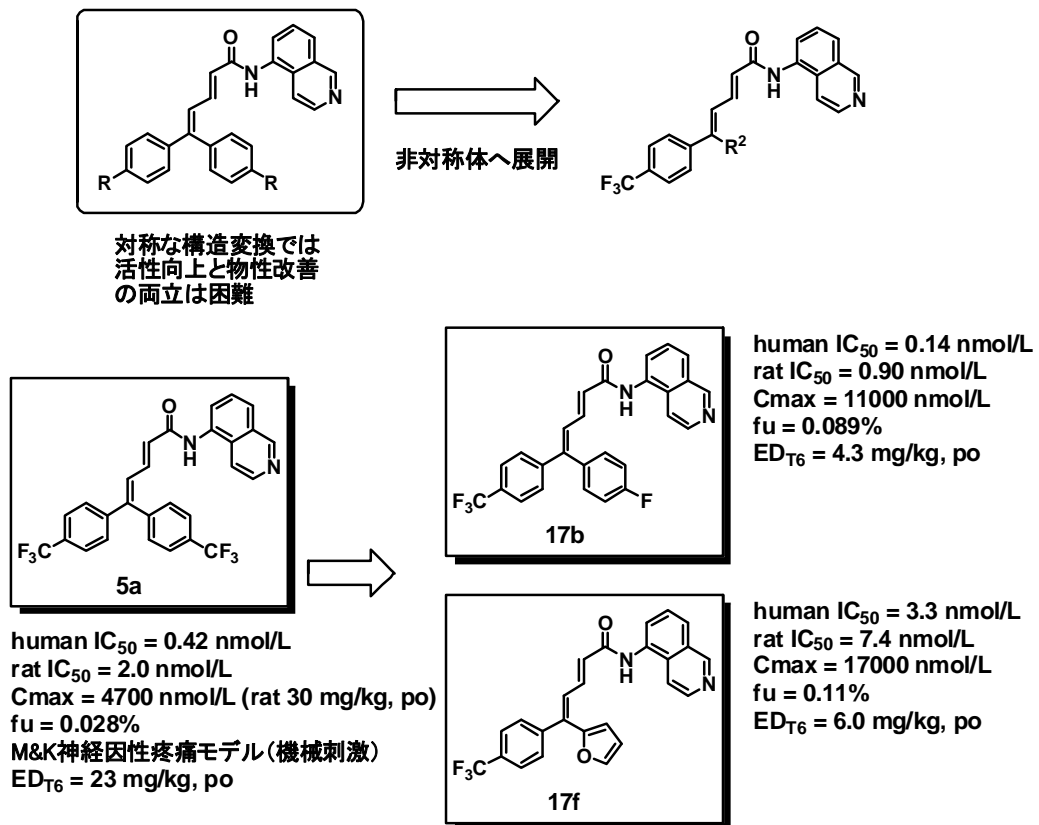


Figure 5. Summary of the Structural Modification Obtained in This Chapter.

## 第3章 第2世代ペンタジエナミド誘導体の探索と開発化合物の創製

### 第1節 探索計画

前章では、ランダムヒット化合物からの誘導体展開により見いだされた TRPV1 拮抗薬 **5a** をリード化合物として、5,5-ジアリールペンタジエナミド誘導体の初期誘導体展開について述べた。その研究の過程で、リード化合物の高脂溶性に基づく代謝不安定性、低溶解性が明らかになり、経口剤としての開発は困難と思われた。しかし、5 位に異なる置換基を導入する合成法が確立され、活性への影響が大きい部分の変換による物性の調節が可能となった。この方法によって、幅広い置換基検討を行った結果、タンパク結合率、代謝安定性が改善され、薬効の増強を果たした。なかでも、活性と物性が最適化された化合物 **17b**, **17f** は、良好な動態プロファイルを示し、*in vivo* で強力な薬効を示した(Figure 6)。

しかしながら、これらの化合物は CYP3A4 不可逆阻害作用、hERG 阻害作用を有することが判明した。また、極めて水溶性が低いことや、高脂溶性に起因する低代謝安定性など物性面においては依然として改善の必要があった。

そこで、5 位のそれぞれの芳香環 (Figure 7 の A, B パート) とアミド側鎖 (Figure 7 の C パート) の探索を継続した。前報の結果から、A パートの変換に対する許容性は、B パートよりも低いことが明らかとなっている。そこで、A パートにおいては、分子量低減を期待したトリフルオロメチル基の変換とピリジン環への展開に限定した。一方、許容性の高い B パートに関しては、脂溶性低減を期待したアルコキシ基の導入や水溶性向上が期待できるアミノ基の導入、ピリジン環、ピリミジン環への変換など幅広い展開を行った。

また、C パートにおいては、イソキノリンの二環性構造をもとに、脂溶性低減が期待できるヒドロキシル基やカルボニル基の導入<sup>15)</sup>を行い、A, B パートの置換基との組み合わせによる効果を精査した。これらのアミンは不斉点を有することから、光学分割による異性体間の活性差についても検討を行った。

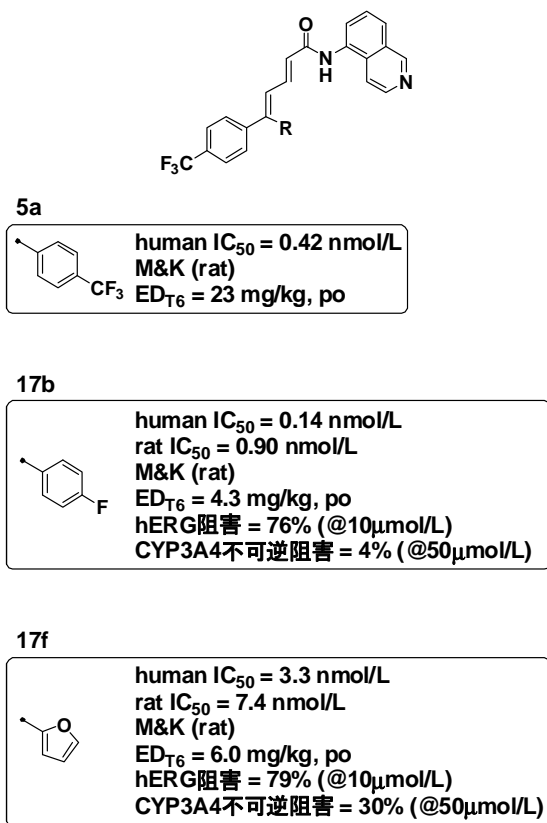


Figure 6. Profile for the Lead Compounds.

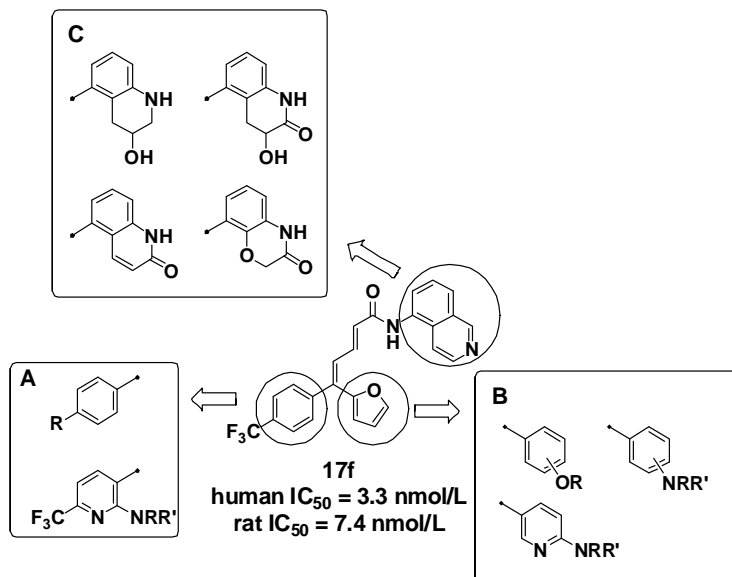
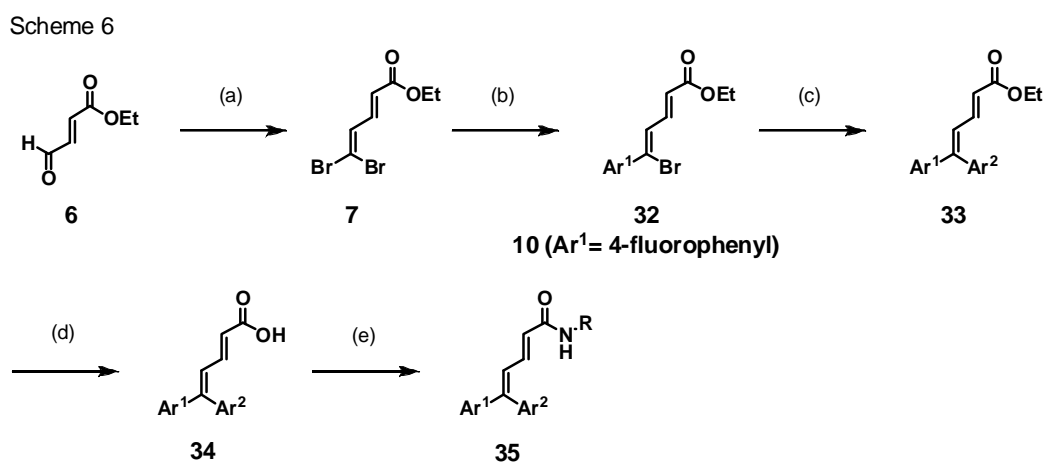


Figure 7. Design of Novel Pentadienamide Compounds from 17f.



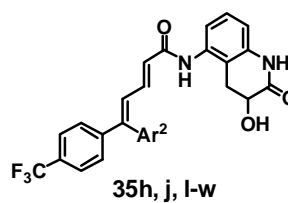
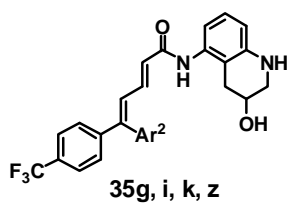
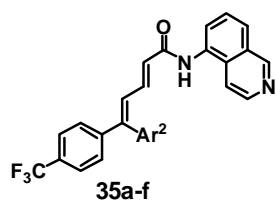
## 第2節 第2世代ペンタジエナミド誘導体の合成

5,5-ジアリールペンタジエナミド誘導体の一般的合成法を Scheme 6 に示す。前章にて確立した位置選択的に置換基を導入する鈴木カップリング条件を化合物 7 に対して適用した。分離困難な二置換体の生成を抑えるため、工程(b)においては、工程(c)と比べて反応活性の劣る触媒条件を採用している。市販のボロン酸を用いて、種々の置換基を有するアリール基を 5 位に導入した。段階的な置換基導入を経て得たエステル 33 を加水分解して、カルボン酸 34 とし、常法にてアミド化を行い目的の化合物 35 を得た。

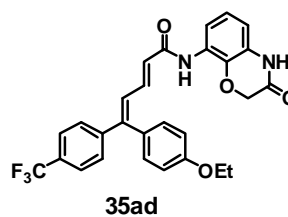
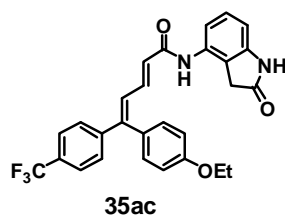
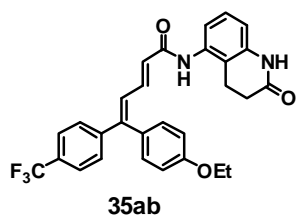
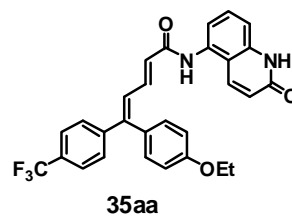
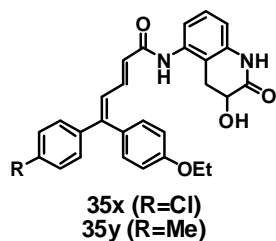


(a) CBr<sub>4</sub>, PPh<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (b) Ar<sup>1</sup>B(OH)<sub>2</sub>, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, aq. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, THF; (c) Ar<sup>2</sup>B(OH)<sub>2</sub>, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, tris(2-furyl)phosphine, aq. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxane or Ar<sup>2</sup>Sn<sup>n</sup>Bu<sub>3</sub>, toluene; (d) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (e) RNH<sub>2</sub>,WSC·HCl, HOBt·H<sub>2</sub>O, DMF.

Scheme 6 (continued)

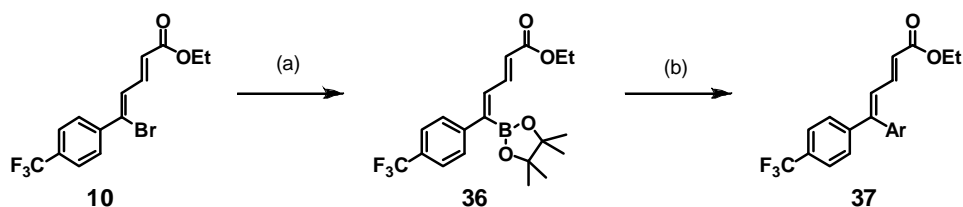


Compound	Ar <sup>2</sup>	Compound	Ar <sup>2</sup>	Compound	Ar <sup>2</sup>	Compound	Ar <sup>2</sup>
35a		35g		35h		35q	
35b		35i		35j		35r	
35c		35k		35l		35s	
35d		35z		35m		35t	
35e				35n		35u	
35f				35o		35v	
				35p		35w	



また、母核をボロン酸エステル **36** へと導いた後、ブロモ基を有する試薬を用いてエステル **37** を得る方法も併用した(Scheme 7)。

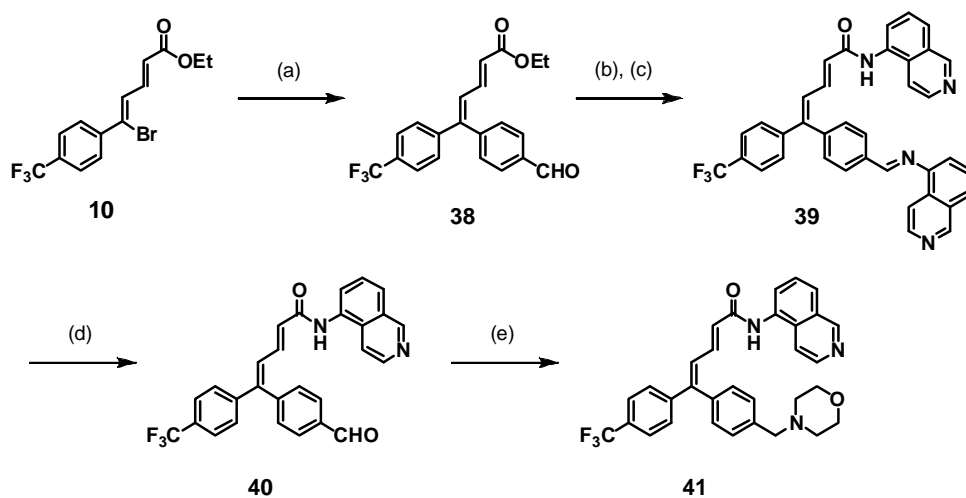
Scheme 7



(a) bis(pinacolato)diboron, PdCl<sub>2</sub>(dppf), AcOK, dioxane; (b) ArBr, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, tris(2-furyl)phosphine, aq. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxane.

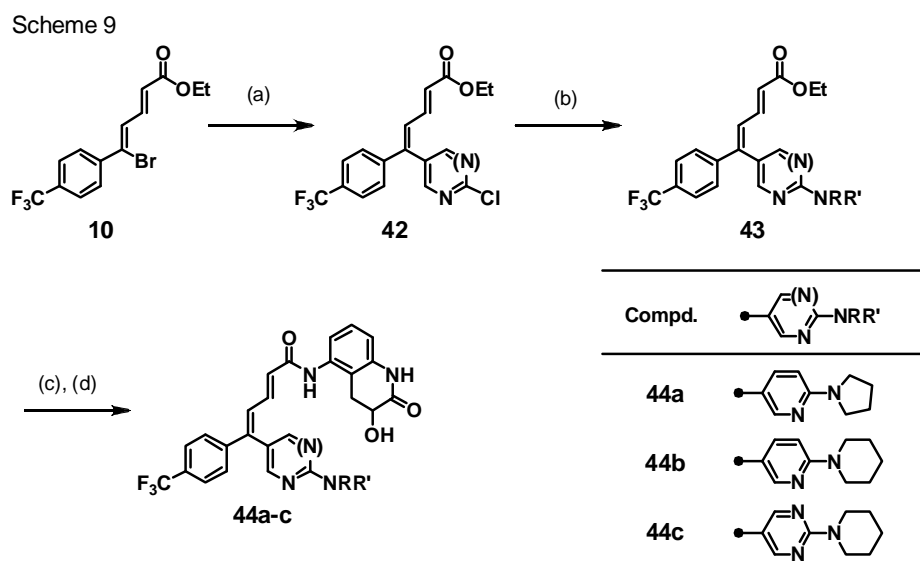
5 位フェニル基上にモルホリノメチル基を有する誘導體 **41** は、Scheme 8 に示す方法でホルミル基を有するエステル **38** を得た後、加水分解、アミド化と酸処理により化合物 **39** を経由して化合物 **40** へと導き、**40** からの還元的アミノ化によって合成した。

Scheme 8



(a) 4-formylphenylboronic acid, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, tris(2-furyl)phosphine, aq. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxane; (b) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (c) 5-aminoisoquinoline, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, DMF; (d) 1M HCl, THF; (e) morpholine, Na(OAc)<sub>3</sub>BH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

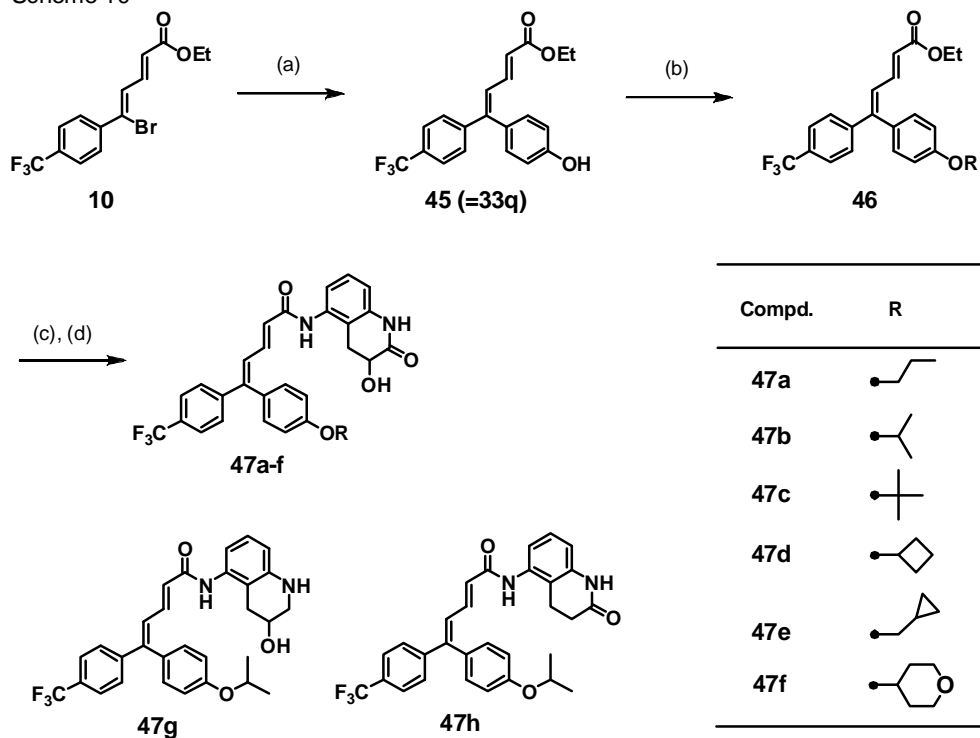
5位のピリジンまたはピリミジン環上に置換基を有する誘導体は、Scheme 9 に示す方法で2-クロロピリジン-5-イル基または2-クロロピリミジン-5-イル基を有する誘導体 **42** を得た後、種々のアミンを用いて合成した。すなわち、Scheme 9 に示す条件下、置換反応によりエステル **43** を合成し、**43** を用いて Scheme 6 と同様の方法で目的化合物 **44** を得た。



(a) 2-chloropyridine-5-boronic acid or 2-chloropyrimidine-5-boronic acid,  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , tris(2-furyl)phosphine, aq.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , dioxane; (b)  $\text{RR}'\text{NH}$ ,  $\text{Pr}_2\text{NEt}$ , DMF; (c)  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , THF; (d) 5-amino-3-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one, WSC·HCl,  $\text{HOBT}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , DMF.

5位フェニル基上にアルコキシ基を有する誘導体 **47** は、Scheme 6 に示す方法でヒドロキシル基を有する誘導体 **45** を得た後、光延反応によって化合物 **46** へと誘導し、**46** を用いて Scheme 6 と同様の方法で合成した(Scheme 10)。

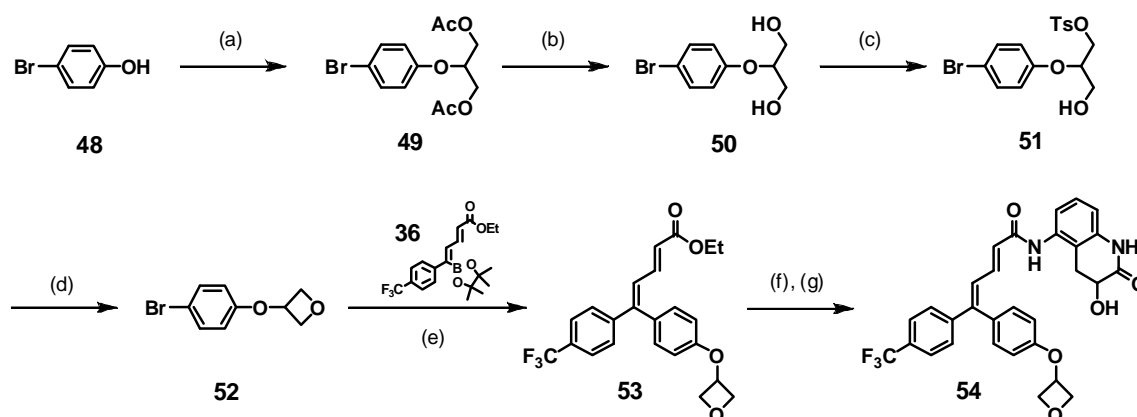
Scheme 10



(a) 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenol, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, tris(2-furyl)phosphine, aq. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxane; (b) ROH, DEAD, PPh<sub>3</sub>, toluene; (c) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (d) RNH<sub>2</sub>, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, DMF.

5位フェニル基上に3-オキセタニルオキシ基を有する化合物 54 は、Scheme 11 に示す方法で合成した。オキセタン-3-オールは、文献<sup>16)</sup>で数例が知られているものの、収率や再現性に問題があった。そこで、オキセタン-3-オールを経由しないルートを新たに構築した。4-ブロモフェノール(48)を原料として光延反応により 49 を得た後、加水分解によりジオール 50 を合成した。片方のヒドロキシル基のみをトシル化して 51 とし、塩基性条件下、環化反応を行うことでオキセタン環を構築した。以降は、Scheme 6, 7 に示す方法で目的物 54 へと誘導した。

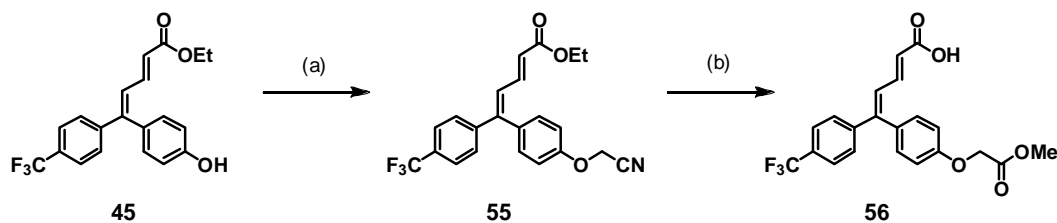
Scheme 11



(a) diacetin, DEAD, PPh<sub>3</sub>, toluene; (b) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (c) TsCl, NaH, THF; (d) NaH, THF; (e) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, aq. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, THF; (f) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (g) 5-amino-3-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, DMF.

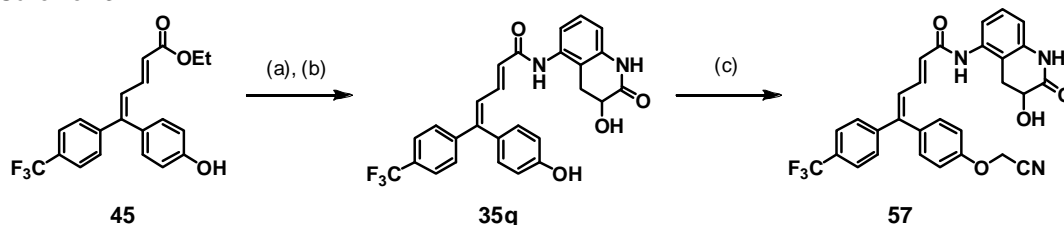
クロロアセトニトリルを用いて化合物 **45** から合成したシアノメチル基を有する化合物 **55** は、加水分解工程において、シアノ基の加水分解が見られた(Scheme 12)。そこで、フェノール部位を残したままアミド化を行い、最後にシアノメチル化を行うことで、目的物 **57** を得た(Scheme 13)。

Scheme 12



(a) chloroacetonitrile, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF; (b) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF.

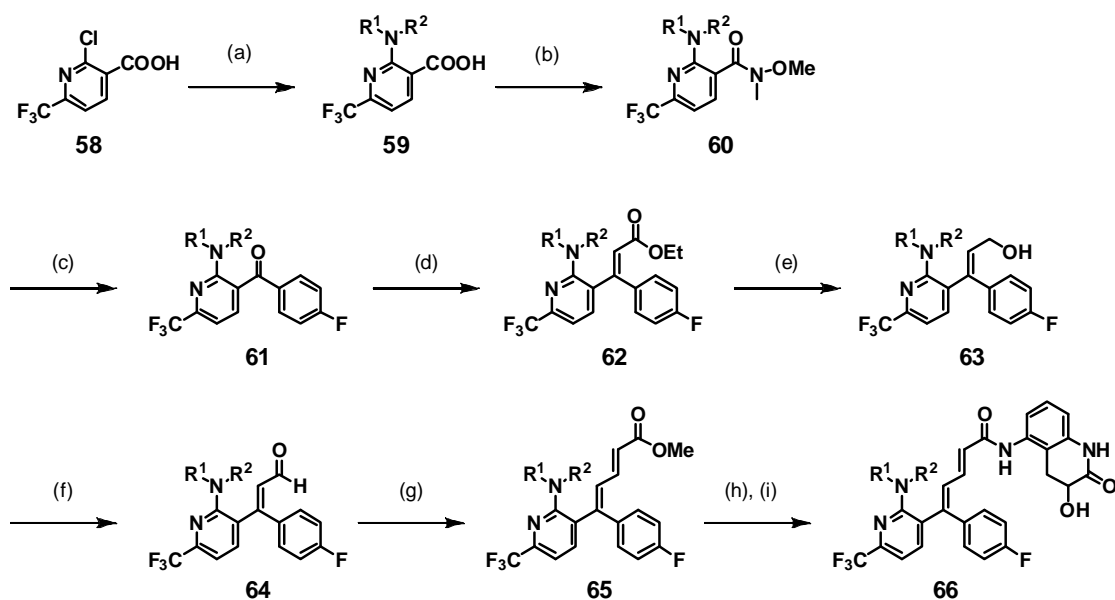
Scheme 13



(a) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (b) 5-amino-3-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, DMF; (c) chloroacetonitrile, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF.

一方、2-アミノ-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル基を5位に有する誘導体 **66** に対しては、Scheme 6 の合成法が適用できないため、カルボン酸 **58** を原料として、段階的にジエンの構築を行った(Scheme 14)。水中で **58** にアミンを作用させて、**59** とした後、Weinreb アミド **60** を経由してケトン **61** を得た。続いて、Horner-Wadsworth-Emmons 反応により、オレフィン **62** を得た。化合物 **62** を還元して得たアルコール **63** を二酸化マンガで酸化してアルデヒド **64** とし、Wittig 反応によってジエンを構築して **65** を得た。メチルエステル **65** は、Scheme 6 と同様の方法により加水分解とアミド化を行い、目的のジエナミド **66** へと誘導した。

Scheme 14



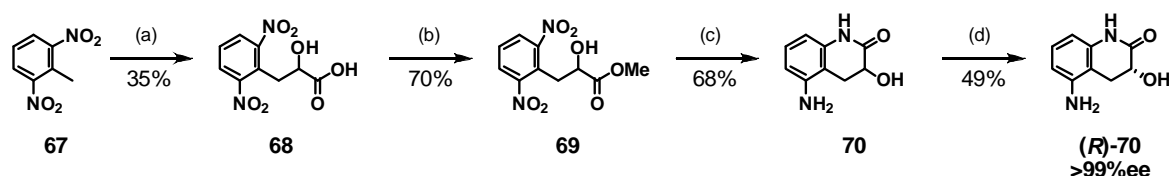
(a) R<sup>1</sup>R<sup>2</sup>NH, H<sub>2</sub>O; (b) MeNHOMe·HCl, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, DMF; (c) (4-fluorophenyl)magnesium bromide, THF; (d) (EtO)<sub>2</sub>POCH<sub>2</sub>COOEt, NaH, THF; (e) *t*-Bu<sub>2</sub>AlH, THF; (f) MnO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (g) Ph<sub>3</sub>P=CHCOOMe, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (h) LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, H<sub>2</sub>O, THF; (i) 5-amino-3-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-one, WSC·HCl, HOBT·H<sub>2</sub>O, DMF.

Compd.	NR <sup>1</sup> R <sup>2</sup>
<b>66a</b>	
<b>66b</b>	

アミド部位に導入したアミンの合成は、文献法<sup>15)</sup>に従って行った。不斉炭素を有するアミド部位の(3*R*)-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリンについては、①キラルカラム分割(Scheme 15)、②ジアステレオマー分割(Scheme 16)、③ジアステレオマー塩分割(Table 5)、④不斉還元(Scheme 17)、⑤酵素反応による光学分割(Scheme 18)を検討し、①

③⑤の方法では、極めて高純度の光学活性体の取得が可能であることを見出した。これらの手法で得たキラルアミンを用いて、それぞれの光学活性体の合成を行った。絶対立体配置は X 線結晶構造解析により決定した。

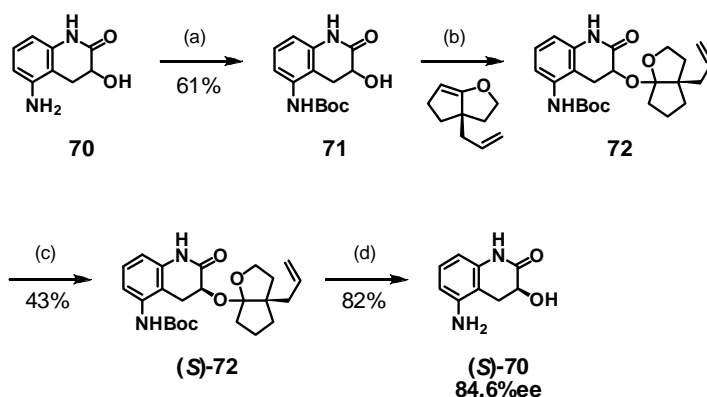
Scheme 15. Chiral Column Separation



(a)  $\text{HCOCOOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CsCO}_3$ ,  $\text{MeOH}$ ; (b)  $\text{Me}_2\text{NCH(OMe)}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (c)  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{DMF}$ ,  $\text{EtOH}$ ; (d) chiral column separation.

ジアステレオマー分割の検討では、化合物 **70** のアミノ基を Boc 基で保護し、保護体 **71** に対して、PPTS (pyridinium *p*-toluenesulfonate) の存在下、*S*-ALBO-V (cyclopenta[*b*]furan derivative) によりアセタール化し、ジアステレオマー混合物 **72** を得た。**72** は TLC 上でわずかに Rf 値の差が見られたため、シリカゲルカラムによる分離を行った。低極性フラクションを単離した後、これを塩酸水溶液で処理し、Boc 基およびアセタールを除去することにより、*S* 体の化合物 **72** が 84.6% ee の光学純度で得られた。しかし、望む *R* 体は、高極性フラクションからの単離が必要であり、*S* 体より高純度で単離することは困難であると思われたため、この方法は断念した。

Scheme 16. Diastereomer Separation

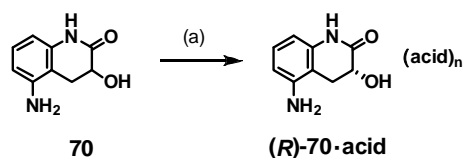


(a)  $\text{Boc}_2\text{O}$ ,  $\text{THF}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ; (b) PPTS, 1,4-dioxane; (c) silica gel column chromatography; (d)  $2\text{M HCl}$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .



ジアステレオマー塩分割の検討結果を Table 5 に示す。アミン **70** に対して、表に示す種々の光学活性な酸と塩を形成させ、メタノールとエーテルの混合溶媒から再結晶を行った。カンファースルホン酸、リンゴ酸、ジベンゾイル酒石酸の塩からの分割では、十分な光学純度が得られなかったが、酒石酸を用いると 85%ee 以上で光学分割体を得られることが分かった。*L*-(+)-酒石酸からは、(*R*)-**70** が得られることが分かった。回収率には改善の余地があったが、Run 4~6 で得た塩をまとめて再度再結晶を行うことで、さらに光学純度の向上が認められ、99%ee 以上のアミン(*R*)-**70** を得た。また、逆の立体配置を有する *D*-(-)-酒石酸からも、同様の手法で高純度の(*S*)-**70** が得られた。

Table 5. Optimization of the Diastereomer Salt Resolution Protocol

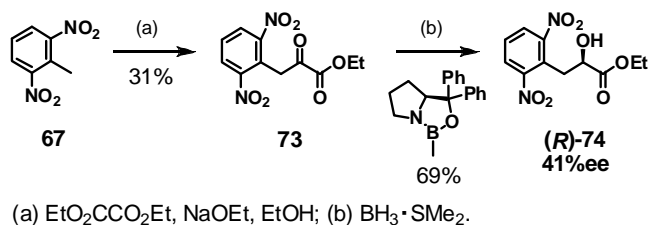


(a) acid, MeOH, Et<sub>2</sub>O.

Run	仕込み量 (mg)	酸	溶媒 (v/w)	光学純度 (%ee)	塩の得量 (mg) (回収率)
1	100	(+)-10-camphorsulfonic acid	MeOH (60) Et <sub>2</sub> O (30)	0	19 (8%)
2	100	(S)-(-)-malic acid	MeOH (50) Et <sub>2</sub> O (30)	5	21 (15%)
3	100	(-)-dibenzoyl- <i>L</i> -tartaric acid	MeOH (40) Et <sub>2</sub> O (30)	33	26 (12%)
4	100	<i>L</i> -(+)-tartaric acid	MeOH (70) Et <sub>2</sub> O (30)	86	26 (18%)
5	200	<i>L</i> -(+)-tartaric acid	MeOH (70) Et <sub>2</sub> O (30)	90	67 (23%)
6	500	<i>L</i> -(+)-tartaric acid	MeOH (65) Et <sub>2</sub> O (30)	90	115 (16%)
7 (4+5+6)	178 (90%ee)		MeOH (50) Et <sub>2</sub> O (20)	99	48 (27%)

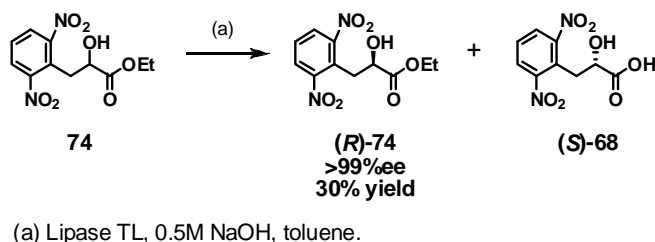
続いて、ケトン **73** の不斉還元を検討した(Scheme 17)。しかし、化合物 **67** からケトン **73** へのアルキル化の収率が低く、不斉還元反応についても文献情報<sup>17)</sup>を参考に検討したが、他の方法と比べて優位性は見出せなかった。

Scheme 17. Asymmetric Reduction



酵素反応による光学分割法を検討したところ、良好な結果が得られた(Scheme 18)。すなわち、Scheme 17 の方法で得たエチルエステル **74** をトルエン、水酸化ナトリウム水溶液の二層条件下、Lipase TL (Thermomyces Lanuginosa Lipase)で処理すると、不要な *S* 体が選択的にカルボン酸(*S*)-**68** に加水分解され、(*R*)-**74** が未反応で残った。反応後に、水層に溶解した(*S*)-**68** を分液抽出で除去し、(*R*)-**74** のトルエン溶液を濃縮するのみで、望む(*R*)-**74** を簡便に単離することができた。良好な収率(30%)で目的物が得られ、光学純度も 99%ee 以上であった。

Scheme 18. Enzymatic Resolution.



### 第3節 評価結果

#### 第1項 水溶性向上を指向した誘導体の評価結果と考察

第2章で見出した化合物 17b, 17f は CYP 不可逆阻害作用、hERG 阻害作用を有することと、水溶性が極めて低いことが明らかとなった。これらの誘導体は、in vitro においては、既に十分な TRPV1 拮抗活性を有するため、さらなる強薬効化合物を創出するには物性面における改善を図ることが効果的であると思われた。そこで、前章にて拮抗活性への許容性が広いことを確認した 5 位芳香環上パラ位に水溶性向上が期待できる塩基性官能基の導入を行った。結果を Table 6 に示す。

Table 6. In Vitro TRPV1 Activities and Pharmacokinetic Profile

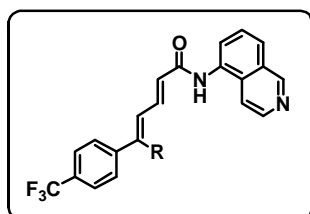
Compd.	R	h IC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> (nmol/L)	rat <sup>b)</sup> fu(%)	h CLint <sup>c)</sup> (L/h/kg)	fuCmax <sup>d)</sup> /rIC <sub>50</sub>
17b		0.07	0.30	0.09	NT <sup>e)</sup>	5.3
17f		3.3	7.4	0.11	92	1.9
35a		18	57	0.11	120	NT
35b		0.35	0.63	0.05	620	0.34
35c		3.3	10	0.17	560	NT
35d		0.11	0.14	0.02	1900	0.42
35e		0.07	0.10	0.01	1900	0.85
35f		0.58	1.2	0.09	170	0.26
41		1.6	4.2	0.30	80	0.46

a) h = human, r = rat; IC<sub>50</sub> values based on inhibition of capsaicin (100 nM) induced influx of Ca<sup>2+</sup> into human or rat TRPV1-expressing 293 EBNA cells. Each IC<sub>50</sub> value reported represents an average of at least three independent experiments with four replicates at each concentration. b) fu = unbound fraction in rat plasma. c) CLint = hepatic intrinsic clearance of rat; Intrinsic clearance calculated from the disappearance rate of compound in rat liver microsomes. n = 2. d) Converted to 10 mg/kg. e) NT = Not tested.

アミノ基を有する **35a** は、TRPV1 拮抗活性(h IC<sub>50</sub>, rat IC<sub>50</sub>)が大きく減弱した。そこで、水素結合ドナーの存在の是非を確認するため、窒素上に置換基を有する誘導体へと展開した結果、ジメチルアミノ基を導入した **35b** では、活性が回復した。一方、芳香環部分をピリジンとした **35c** では、1/10 程度活性が減弱した。置換基を環状のピロリジン、ピペリジンへと変換すると、活性は増強した(**35d**, **35e**)。水溶性の向上が可能なモルホリンを導入した **35f** においても、強活性が保持されたが、メチレン鎖を挿入すると活性は 1/3 程度に低下した(41)。これらの結果から、水素結合ドナーの導入と含窒素複素環への変換により若干の活性減弱が見られたものの、この部位への塩基性官能基の導入は、概ね許容されることが分かった。

実際に塩基性官能基が分子の水溶性に及ぼす影響を確認したところ、Table 7 に示すように、酸性溶液中(JP1)においては、**35b** は **17f** に比べて大幅な溶解度の向上が見られたため、胃での良好な溶解性が期待された。

Table 7. Comparison of Aqueous Solubility Between **17f** and **35b**



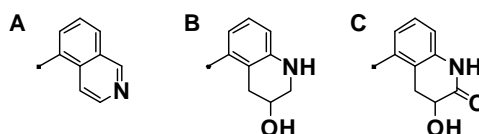
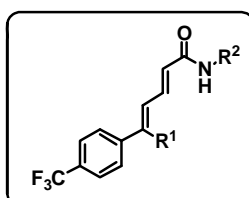
Compd.	R	JP1 <sup>a)</sup>	JP2 <sup>b)</sup>	PBS <sup>c)</sup>	FeSSIF <sup>d)</sup>
<b>17f</b>		14	0.11	0.25	3.4
<b>35b</b>		>500	0.10	0	4.5

- a) First solution of Japanese Pharmacopoeia (pH 1.2).  
 b) Second solution of Japanese Pharmacopoeia (pH 6.8).  
 c) Phosphate buffered saline.  
 d) Fed state simulated intestinal fluid.

## 第2項 アミド部位を変換した誘導体の評価結果と考察

続いて、アミド部位の最適化を検討した。水溶性の向上を期待してヒドロキシル基を導入<sup>15)</sup>するため、5-イソキノリン基を表中 B, C の構造に変換し、TRPV1 拮抗活性、動態、hERG 阻害作用に及ぼす影響を検討した。結果を Table 8 に示す。

Table 8. In Vitro TRPV1 Activities, Pharmacokinetic and Toxicity Profile



Compd.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	h IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat fu(%)	h CLint (L/h/kg)	fuCmax <sup>a)</sup> /IC <sub>50</sub>	hERG <sup>b)</sup> inhibition% @1μmol/L	CYP3A4 <sup>c)</sup> inhibition% @50μmol/L	clogP <sup>d)</sup>
17b		A	0.07	0.30	0.09	NT <sup>e)</sup>	5.3	76	4	6.88
35g		B	0.30	1.3	0.11	NT	0.17	19	11	5.30
35h		C	0.11	0.78	0.14	30	1.4	NT	3	4.66
17f		A	3.3	7.4	0.11	92	1.9	79 <sup>f)</sup>	30	5.91
35i		B	10	35	0.48	15	NT	NT	NT	4.34
35j		C	6.4	15	0.25	22	0.021	NT	12	3.70
35b		A	0.36	0.63	0.05	620	0.34	NT	NT	6.90
35k		B	1.1	3.2	0.16	220	0.71	NT	55	5.32
35l		C	1.4	3.1	0.15	230	0.29	NT	51	4.69

a) Converted to 10 mg/kg.

b) hERG = Human ether-a-gogo related gene K<sup>+</sup> channels.

c) CYP = Cytochrome P450.

d) clogP = Hydrophobicity partition coefficient.

e) NT = Not tested.

f) @10 μmol/L

化合物 17b, 17f, 35b において、アミド部位のイソキノリンを B の構造に変換すると TRPV1 拮抗活性(h IC<sub>50</sub>, rat IC<sub>50</sub>)が 1/3~1/5 倍減弱した。C の構造への変換においても、同様に活性の減弱傾向が見られた。しかし、代謝安定性(h CLint)においては改善が見られ、この変換による脂溶性(clogP)の低減が寄与しているものと思われる。さらに、イソキノリンを有する 17b, 17f で見られた hERG 阻害作用は、35g では大幅に減弱していることが判明した。これらの結果から、代謝安定性の改善や心毒性回避にはイソキノリン構造の変換が不可欠と考えられた。

一方、ジメチルアミノ基の導入により水溶性が向上した **35b** に対してイノキノリンを変換した **35k**, **35l** は、代謝安定性の改善が見られるものの、いずれも 50  $\mu\text{mol/L}$  で 50%以上の CYP 不可逆阻害作用を有することが判明した。また、**35h**, **35j** においては、**17f** と比べて代謝安定化されているにもかかわらず、血漿中曝露( $\text{fuC}_{\text{max}}$ )の向上は確認できなかった。

そこで、芳香環をベンゼン環から、ピリジン、ピリミジン環へと変換して脂溶性の低減、水溶性の向上を図り、薬物動態改善の糸口を見出そうと考えた。しかしながら、Table 6 の結果から、この展開では、TRPV1 拮抗活性の低下が懸念されるため、再度ピリジン、ピリミジン環上の置換基の最適化を行い、活性向上に寄与する置換基を見出す必要があった。

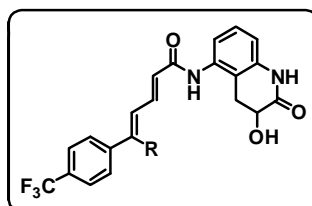
なお、以後の 5 位の最適化においては、合成の容易さから、アミド部位が C の構造の誘導体を優先的に合成し、良好な結果を与えた 5 位の置換基に対して、アミド部位の変換による組み合わせを再検討することとした。

### 第3項 アミノ基を導入した誘導体の評価結果と考察

ジメチルアミノ基を導入した **35l** の TRPV1 拮抗活性(h IC<sub>50</sub>, rat IC<sub>50</sub>)は、無置換体 **35m** と比べて 1/3 程度であるが、Table 6 と同様に、環状のピペリジンを導入した **35n** は、**35m** と同程度の活性を示した(Table 9)。ベンゼン環をピリジン環に変換した誘導体においても、ジメチルアミノ基を環状のピロリジン、ピペリジンとすると活性が増強した(**35o** vs **44a**, **44b**)。ピリミジン誘導体においても同様にピペリジンを置換することで活性の向上が達成できた(**44c**)。この展開により、高活性を保持したまま脂溶性の低減が可能となり、問題となっていた CYP 不可逆阻害作用が改善された。しかし、これらの誘導体は、いずれも十分な中枢移行性(KpBrain)を示さず、強薬効は期待できなかった。以上の結果から、窒素置換基の変換による薬効増強は困難であると判断し、この展開を断念した。

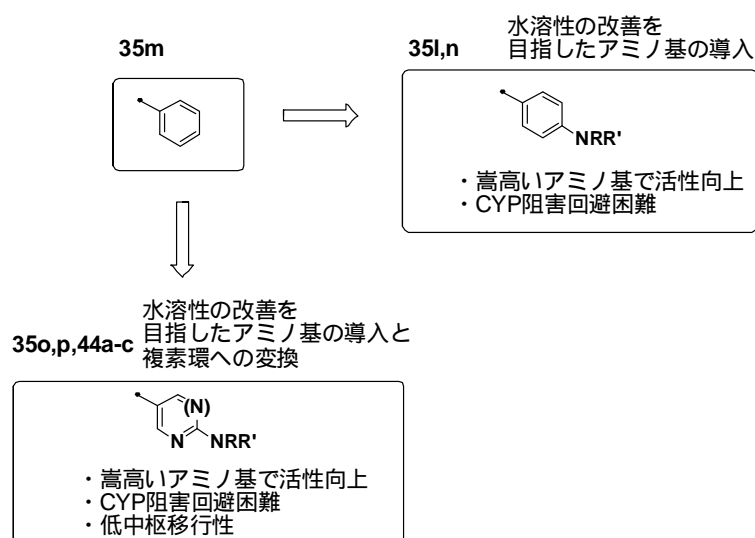


Table 9. In Vitro TRPV1 Activities and Pharmacokinetic Profile of Tertiary Amine Substituted Analogues



Compd.	R	h IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	hCLint (L/h/kg)	KpBrain <sup>a)</sup>	CYP3A4 inhibition% @50μmol/L	clogP
35m		0.38	1.1	<9	NT <sup>b)</sup>	NT	4.52
35l		1.4	3.1	230	NT	51	4.69
35n		0.26	0.97	530	NT	40	5.36
35o		6.5	9.6	77	0.086	21	3.74
44a		2.2	7.3	NT	0.065	13	3.85
44b		0.65	0.92	360	0.053	37	4.41
35p		26	28	30	0.056	15	2.97
44c		0.43	1.8	39	0.087	24	3.65

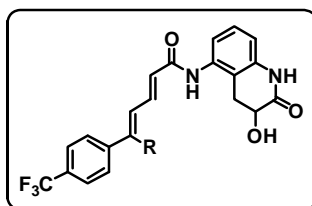
a) Brain to plasma concentration ratio of TRPV1 antagonists at 7.5-8.3 h after oral administration at a dose of 10 or 30 mg/kg to male rats. b) NT = Not tested.



#### 第4項 アルコキシ基を導入した誘導体の評価結果と考察

続いて、アルコキシ基の導入を検討した(Table 10)。ヒドロキシル基を有する **35q** は、第2章で示したアミド部位にイソキノリンを有する誘導体 **17c** (Table 4)と同様に TRPV1 拮抗活性(h IC<sub>50</sub>, rat IC<sub>50</sub>)は減弱した。しかし、メトキシ基を導入した **35r** においては、活性が回復し、アミノ基を導入した Table 9 に示す誘導体と比べて、中枢移行性(KpBrain)の向上が見られた。アルコキシ基の導入により脂溶性(clogP)が増大していることから、**35w** と **47f** を除く全ての誘導体で、アミノ基を導入した誘導体以上の中枢移行性が認められた。また、拮抗活性、血漿中曝露をさらに向上させることで、in vivo 薬効の増強が期待できると考え、側鎖変換を継続したところ、末端を嵩高くした **35s** や、炭素鎖を伸長した **35t** において、中枢移行性の改善と薬効(ED<sub>T6</sub>)の増強が確認された。さらに、アミノ基を導入した場合と同様に、これらの誘導体では、CYP 不可逆阻害も回避できていることが判明した。エトキシ基を導入した位置異性体 **35t**, **35u**, **35v** の活性の比較から、置換基の位置はパラ位が最適であると判断できた。また、脂溶性低減を期待してピリジン環へと変換した **35w** においては、代謝安定性(h CLint)は良好であったが、拮抗活性、中枢移行性は低下した。さらに嵩高い置換基を有する **47a**, **47b**, **47c** などは、いずれも良好な血漿中曝露(fuCmax)と中枢移行性を示し、側鎖の伸長に伴って TRPV1 拮抗活性の向上が確認された。これらの誘導体では、脂溶性の増加が認められるが、良好な血漿中曝露が保たれており、アルコキシ基の動態面における重要性が確認された。しかしながら、環状のアルキル鎖を有する **47d**, **47e** では、拮抗活性は保持されるが、代謝安定性が低下し、in vivo において弱活性であった。従って、5 位右側芳香環(B パート)末端を嵩高くすることで、拮抗活性が向上するが、最適なサイズを超えると代謝不安定化が促進されるという構造活性相関が明らかとなった。実際に、置換基の嵩高さと低脂溶性を兼ね備えたオキセタン、テトラヒドロピランを導入した **54**, **47f** では、フリー体分率(fu)や代謝安定性の向上が見られ、**54** は in vivo で強薬効を示した。シアノメチル基を有する **57** においても、良好な動態特性が保持され、強薬効を示したが、CYP 不可逆阻害率が増大した。以上の結果から、アルコキシ基の導入は、TRPV1 拮抗活性を保持したまま、血漿中曝露、中枢移行性の改善を可能とし、CYP 不可逆阻害の回避においても良好な結果をもたらすことが判明した。

Table 10. Potency and Pharmacokinetic Behavior of Alkoxy-Substituted Analogues

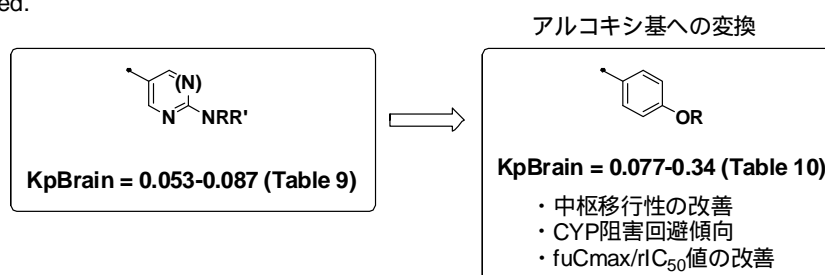


Compd.	R	h IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	h CLint (L/h/kg)	fuCmax <sup>a)</sup> /rIC <sub>50</sub>	Kp Brain	CYP3A4 inhibition% @50μmol/L	ED <sub>T6</sub> <sup>b)</sup> (mg/kg)	clogP
35q		33	160	<9	NT <sup>c)</sup>	NT	-4	NT	3.85
35r		0.25	0.75	24	5.4	0.19	11	>10	4.44
35s		0.14	0.32	86	11	0.29	21	5.2	5.55
35t		0.39	0.67	<35	5.6	0.33	2	4.9	4.97
35u		1.6	2.9	34	0.12	0.19	NT	NT	4.97
35v		0.90	1.6	170	1.4	0.19	25	NT	4.97
35w		3.9	9.1	<7	NT	0.077	25	>10	4.37
47a		0.080	0.23	240	6.9	0.34	16	4.6	5.50
47b		0.14	0.35	<50	20	0.17	12	2.2	5.28
47c		0.091	0.33	<53	9.0	0.23	8	3.9	5.68
47d		0.041	0.29	170	NT	NT	NT	>10	5.35
47e		0.13	0.36	150	1.5	0.16	NT	>10	5.41
54		1.1	2.6	<7	NT	NT	17	<10	4.04
47f		0.58	1.1	<12	1.9	0.086	21	NT	4.07
57		1.4	2.8	8	0.63	NT	49	<10	3.42

a) Converted to 10 mg/kg.

b) ED<sub>T6</sub> = 50% thresholds of paw withdrawal at 6 g.

c) NT = Not tested.



## 第5項 5位左側芳香環(Aパート)上の置換基変換に対する評価結果と考察

左側芳香環(Aパート)上のトリフルオロメチル基は、高分子量、高脂溶性の一因となっており、この部位の変換は、物性や動態の改善をめざす上で、不可欠な展開と考えられた。しかし、第2章において、Ar<sup>1</sup>(Aパート)上の修飾に対する活性面での許容性はAr<sup>2</sup>(Bパート)と比べて著しく低いことを確認している。一方、Amgen社の報告<sup>18)</sup>においては、4-(トリフルオロメチル)フェニル基をFigure 8に示すようなアミノピリジル基に変換して活性を保持している例が散見される。

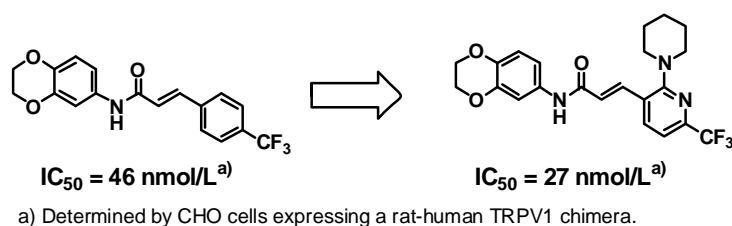
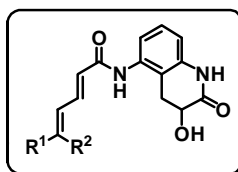


Figure 8. Amgen's Compounds.

そこで、この構造変換を参考に、左側芳香環(Aパート)の変換を行った。結果をTable 11に示す。ベンゼン環をピリジン環へと変換し、ジメチルアミノ基を導入した**67a**は、中程度のTRPV1拮抗活性(h  $IC_{50}$ , rat  $IC_{50}$ )を示した。より嵩高いピペリジンで置換された**67b**では、拮抗活性の向上が見られ、4-(トリフルオロメチル)フェニル基を有する**35h**と比べて遜色ない活性を示した。しかしながら、脂溶性(clogP)が**35h**と同程度であるものの、代謝安定性(h  $CL_{int}$ )や血漿中曝露( $fuC_{max}$ )は大幅に低下したことから、この展開による動態の改善は困難であると予想された。一方、トリフルオロメチル基の代替として、クロロ基(**35x**)、メチル基(**35y**)を導入した誘導体はいずれも強い拮抗活性を保持し、代謝安定性も良好であった。なかでも、**35t**と同程度の曝露を示した**35x**は、in vivoにおいても**35t**と同様、強力な薬効( $ED_{T6}$ )を示した。これらの変換は、分子量の低減が可能となる点にも魅力がある。

Table 11. Potency and Pharmacokinetic Behavior: Variations to the Left Aryl Portion



Compd.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	h IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	h CLint (L/h/kg)	fuCmax <sup>a)</sup> /rIC <sub>50</sub>	ED <sub>T6</sub> <sup>b)</sup> (mg/kg)	clogP
35h			0.11	0.78	30	1.4	NT <sup>c)</sup>	4.66
67a			1.0	8.4	84	0.12	NT	4.03
67b			0.61	2.1	3800	0.17	NT	4.70
35t			0.39	0.67	<35	5.6	4.9	4.97
35x			0.24	0.84	35	5.0	5.8	4.80
35y			0.40	1.6	48	2.4	>10	4.59

a) Converted to 10 mg/kg.

b) ED<sub>T6</sub> = 50% thresholds of paw withdrawal at 6 g.

c) NT = Not tested.

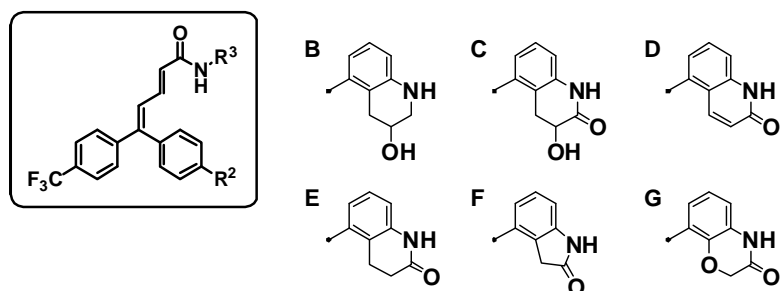
## 第6項 アミド部位を変換した誘導体の評価結果と考察2

暫定的にアミド部位を Table 8 に示す C の構造に固定して展開を継続した結果、5 位の変換において、良好なプロファイルを与える側鎖が見出された。そこで、これらを用いて、再度アミド部位の検討を行った。Table 12 に示すように、R<sup>2</sup> にエトキシ基を導入した誘導体においては、アミド部位の側鎖を C から B, D, E の構造に変えても TRPV1 拮抗活性(h IC<sub>50</sub>, rat IC<sub>50</sub>)は保持された。なかでも、**35z**(R<sup>3</sup>=B)と **35ab**(R<sup>3</sup>=E)は、**35t**(R<sup>3</sup>=C)を上回る中枢移行性(KpBrain)を示し、in vivo 薬効(ED<sub>T6</sub>)も強力であった。一方、F, Gの構造へと変換すると活性は減弱した。

R<sup>2</sup> にイソプロポキシ基を導入した誘導体においても、同様に **47g**(R<sup>3</sup>=B), **47h**(R<sup>3</sup>=E)は強力な拮抗活性を示した。しかし、**47g** は血漿中曝露(fuCmax)が十分でなく、in vivo 薬効は減弱した。

in vivo 薬効評価において ED<sub>T6</sub> < 10 mg/kg を示した **35z**, **35ab** は、**35t**, **47b** とともに、高次評価のサル PK 試験へ進めた。

Table 12. Potency and Pharmacokinetic Behavior: Variations to the Amide Portion



Compd.	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	h IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	fuCmax <sup>a)</sup> /rlC <sub>50</sub>	Kp Brain	ED <sub>T6</sub> <sup>b)</sup> (mg/kg)
<b>35z</b>	OEt	B	0.14	0.46	6.9	0.91	<10
<b>35t</b>	OEt	C	0.39	0.67	5.6	0.33	4.9
<b>35aa</b>	OEt	D	0.22	0.90	NT <sup>c)</sup>	0.12	NT
<b>35ab</b>	OEt	E	0.25	0.91	2.4	0.61	<10
<b>35ac</b>	OEt	F	1.3	9.7	NT	NT	NT
<b>35ad</b>	OEt	G	15	57	NT	NT	>10
<b>47g</b>	O <sup>i</sup> Pr	B	0.16	0.55	2.5	0.38	>10
<b>47b</b>	O <sup>i</sup> Pr	C	0.14	0.35	20	0.17	2.2
<b>47h</b>	O <sup>i</sup> Pr	E	0.46	0.76	NT	NT	6.2

a) Converted to 10 mg/kg.

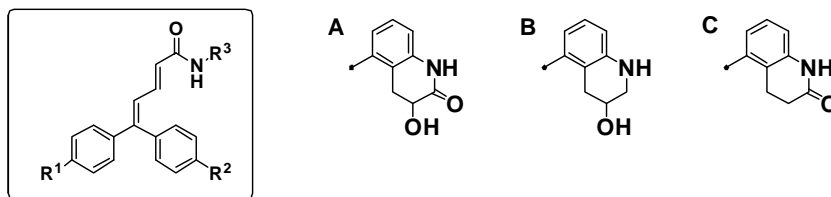
b) ED<sub>T6</sub> = 50% thresholds of paw withdrawal at 6 g.

c) NT = Not tested.

## 第7項 開発候補化合物の選択

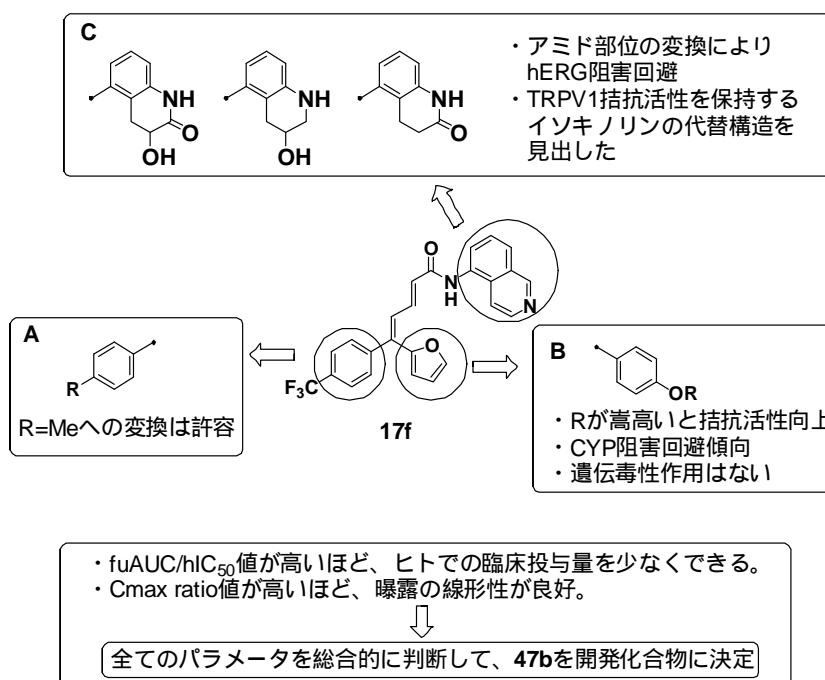
ラット M&K 試験において、 $ED_{T6} < 10 \text{ mg/kg (p.o.)}$  の薬効を示した誘導体に対して、サル PK 評価を行った。本評価で求めた AUC (area under the blood concentration time curve) を  $hIC_{50}$  値で除した値は、ヒト臨床推定用量と関連すると思われるため、この値を比較することで、高次評価へと進める化合物の絞り込みを行った。カセット投与のリファレンス化合物として **35t** を用い、**35t** の  $fuAUC/hIC_{50}$  値を超える化合物として、6 化合物が見出された (Table 13)。アミド部位を変換した **35z**, **35ab** は、サルで十分な曝露を示さなかった。

Table 13. Potency, Pharmacokinetic Behavior and Toxicity Profile of Selected Compounds



Compd.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	h IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	ED <sub>T6</sub> (mg/kg)	fuAUC/hIC <sub>50</sub> <sup>a)</sup> ratio (monkey)	Cmax <sup>b)</sup> ratio (rat)	hERG <sup>c)</sup> inhibition% @10μmol/L	CYP3A4 <sup>d)</sup> inhibition% @50μmol/L	umu <sup>e)</sup> test
35t	CF <sub>3</sub>	OEt	A	0.39	0.67	4.9	1.0	4.7	NT <sup>f)</sup>	2	NT
35s	CF <sub>3</sub>	OCF <sub>3</sub>	A	0.14	0.32	5.2	11	5.9	-3.3	21	(-)
47a	CF <sub>3</sub>	Or-Pr	A	0.080	0.23	4.6	6.3	8.7	-5.8	16	(-)
47b	CF <sub>3</sub>	O <i>i</i> -Pr	A	0.14	0.35	2.2	4.4	11	-2.3	12	(-)
47c	CF <sub>3</sub>	O <i>t</i> -Bu	A	0.091	0.33	3.9	24	4.3	7.1	8	(-)
54	CF <sub>3</sub>	O-	A	1.1	2.6	<10	2.7	NT	49	17	NT
35x	Me	OEt	A	0.24	0.84	5.8	1.5	NT	9.7	11	NT
35z	CF <sub>3</sub>	OEt	B	0.14	0.46	<10	0.35	NT	NT	19	NT
35ab	CF <sub>3</sub>	OEt	C	0.25	0.91	<10	0.71	NT	NT	3	NT

a) Ratios to **35t** (AUC was determined by the plasma exposure after oral cassette dosing (0.5 mg/kg, p.o.) to cynomolgus monkeys). b) Cmax (30 mg/kg) / Cmax (ED<sub>T6</sub>). c) hERG = human ether-a-gogo related gene K<sup>+</sup> channels. d) Inhibition percentages of TRPV1 antagonists for CYP3A4 activity in human liver microsomes. e) Tested at the concentration of 125 ~ 1000 μg/mL with or without liver S9 mix (rat, human). The relative β-galactosidase activities (RGA; OD620 nm/OD570 nm) were calculated in a negative control group and the test substance groups. The criterion for the DNA damage, which is categorized as "negative" (-), was that the RGA in the test substance group was 2-fold lower than the RGA of the negative control. f) NT = Not tested.





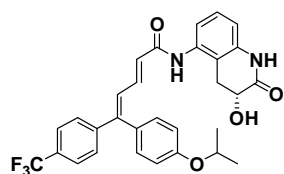
これら 6 化合物のうち、APC (Automated Patch Clamp) hERG 試験において、**54** は 49% (@10  $\mu\text{mol/L}$ )の阻害を示したが、他の 5 化合物では問題となる作用は認められなかった。また、**35s**, **47a**, **47b**, **47c** は、簡易変異原性試験の umu 試験および薬物による脂質代謝異常症(リピドーシス)発症の指標となるリン脂質代謝異常試験においても陰性であった(**35x** は未評価)。一方、ラットに 30 mg/kg 投与後の  $C_{\text{max}}$  を  $ED_{T_6}$  値投与後の  $C_{\text{max}}$  で割った値( $C_{\text{max}}$  ratio)を用いて、曝露の線形性を比較した結果、**47b** が最も良好な結果を与えた。以上の結果から、薬効、薬物動態、曝露の線形性( $C_{\text{max}}$  ratio)、毒性を総合的に判断し、**47b** を最も優れた誘導体であると判断した。

これらの誘導体はいずれも不斉点を有することから、両エナンチオマーの優劣を決定する必要があるため、**35t**, **47b** の光学分割体を含む有望化合物の  $IC_{50}$  値や各種 PK パラメータの詳細な比較を行った。Table 14 に示すように、**35t**, **47b** とともに  $IC_{50}$  値、動態、薬効に関して、いずれも *R* 体に若干の優位性があり、**47b** の *R* 体(*R*)-**47b** を開発候補化合物に決定した。

Table 14. In Vitro and In Vivo Parameters of Selected TRPV1 Antagonists

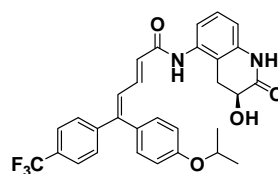
Compound	human IC <sub>50</sub> (nmol/L)	rat IC <sub>50</sub> (nmol/L)	Cmax <sup>a)</sup> (ng/mL)	T <sub>1/2</sub> <sup>a)</sup> (h)	AUC <sub>0-∞</sub> <sup>a)</sup> (ng·h/mL)	K <sub>p</sub> <sup>b)</sup> Brain	ED <sub>T6</sub> (mg/kg)
<b>35s</b>	<b>0.136±0.014</b>	<b>0.320±0.031</b>	<b>111</b>	<b>45</b>	<b>8250</b>	<b>0.29</b>	<b>21</b>
<b>35t</b>	<b>0.389±0.034</b>	<b>0.673±0.135</b>	<b>141</b>	<b>23</b>	<b>5640</b>	<b>0.33</b>	<b>1.5</b>
<b>(R)-35t</b>	<b>0.125±0.048</b>	<b>0.302±0.078</b>	<b>164</b>	<b>22</b>	<b>5900</b>	<b>NT<sup>c)</sup></b>	<b>9</b>
<b>(S)-35t</b>	<b>0.141±0.034</b>	<b>0.877±0.134</b>	<b>97</b>	<b>16</b>	<b>2800</b>	<b>NT</b>	<b>13</b>
<b>35z</b>	<b>0.142±0.008</b>	<b>0.459±0.104</b>	<b>101</b>	<b>4.7</b>	<b>1090</b>	<b>0.91</b>	<b>19</b>
<b>35ab</b>	<b>0.246±0.024</b>	<b>0.910±0.292</b>	<b>158</b>	<b>22</b>	<b>6010</b>	<b>0.61</b>	<b>2.6</b>
<b>47a</b>	<b>0.080±0.020</b>	<b>0.231±0.117</b>	<b>123</b>	<b>47</b>	<b>8110</b>	<b>0.34</b>	<b>16</b>
<b>47b</b>	<b>0.142±0.033</b>	<b>0.353±0.071</b>	<b>170</b>	<b>34</b>	<b>10400</b>	<b>0.18</b>	<b>12</b>
<b>(R)-47b</b>	<b>0.206±0.041</b>	<b>0.322±0.067</b>	<b>225</b>	<b>30</b>	<b>12000</b>	<b>0.20</b>	<b>10</b>
<b>(S)-47b</b>	<b>0.311±0.083</b>	<b>0.769±0.234</b>	<b>176</b>	<b>20</b>	<b>6230</b>	<b>NT</b>	<b>13</b>
<b>47c</b>	<b>0.091±0.028</b>	<b>0.325±0.045</b>	<b>118</b>	<b>29</b>	<b>6020</b>	<b>0.23</b>	<b>7.9</b>

a) Pharmacokinetic parameters of TRPV1 antagonists after oral administration at a dose of 1 mg/kg to male rats. b) Brain to plasma concentration ratio of TRPV1 antagonists at 7.5-8.3 h after oral administration at a dose of 10 or 30 mg/kg to male rats. c) NT = Not tested.



**(R)-47b**

hIC<sub>50</sub> = 0.21 nmol/L  
 rIC<sub>50</sub> = 0.32 nmol/L  
 M&K (rat)  
 ED<sub>T6</sub> = 2.4 mg/kg, po  
 rat fuAUC = 20.1 nmolh/L



**(S)-47b**

hIC<sub>50</sub> = 0.31 nmol/L  
 rIC<sub>50</sub> = 0.77 nmol/L  
 M&K (rat)  
 ED<sub>T6</sub> = 4.0 mg/kg, po  
 rat fuAUC = 9.1 nmolh/L

・全てのパラメータにおいて、R体の方が良好  
 ・エトキシ基を有する35tでも同様の結果

#### 第4節 開発候補化合物の薬物動態試験結果

開発候補化合物(*R*)-47b に対して、イヌ、サルにおける薬物動態の確認を行った(Table 15)。いずれの種においても、低クリアランス(CL)で長い半減期( $t_{1/2}$ )を示すことが分かり、特にサルにおいては半減期が長く極めて良好なバイオアベイラビリティ(F)を示すことが判明した。

Table 15. Pharmacokinetic Parameters for Compound (*R*)-47b Following i.v. and p.o. Administration in Different Species

Species	CL <sup>a)</sup> (L/h/kg) (iv)	V <sub>dss</sub> <sup>a)</sup> (L/kg) (iv)	C <sub>max</sub> <sup>b)</sup> (ng/mL) (po)	t <sub>1/2</sub> <sup>b)</sup> (h) (po)	F (%)
rat	0.0455±0.0017	2.05±0.18	225	29.8	54.5
dog	0.0301±0.0026	1.61±0.26	402±82	37.2±4.9	72.2±6.7
monkey	0.0297±0.0061	2.13±0.83	312±46	75.0±3.9	95.0±11.3

a) 0.1 mg/kg in DMSO/PEG-400/saline = 5/50/45 (rat, dog) or in DMSO/Tween-80/saline = 0.4/1/98.6 (monkey), n = 3. b) 1 mg/kg in 0.5 w/v% methylcellulose, n = 2 (rat) or 3 (dog, monkey).

## 第5節 開発候補化合物のラットにおける鎮痛作用

開発候補化合物(*R*)-47b の神経因性疼痛に対する薬効を2種類の坐骨神経損傷ラットモデルを用いて確認した。Figure 9 に示すように、機械刺激としてフィラメントを押し当てて逃避反応の有無を観察したところ、(*R*)-47b (1, 3, 10 mg/kg) は、用量の増加に伴って機械刺激性アロディニアを改善した。1 mg/kg では投与後 3 および 5 時間において、3 mg/kg では投与後 3、5 および 7 時間において有意な改善が認められた。10 mg/kg では、投与後 1、3、5 および 7 時間において有意な改善が認められた。

また、Figure 10 に示すように、48°Cの温度に保たれたプレート上に置き、処置側の足を上げる、振る、舐める等の疼痛反応を示すまでの時間を測定したところ、(*R*)-47b (3, 10 mg/kg) は、用量の増加に伴って温熱性痛覚過敏を改善した。3 mg/kg では投与後 3 時間において、10 mg/kg では投与後 2、3、4 および 5 時間において有意な改善が認められた。なお、10 mg/kg での改善作用は、臨床で神経因性疼痛治療目的でも使用されている gabapentin (100 mg/kg) を上回っていた。

以上のように、ラット坐骨神経損傷モデルにおいて、(*R*)-47b は機械刺激性アロディニアおよび温熱性痛覚過敏を抑制したことから、(*R*)-47b は新しい神経因性疼痛治療薬として期待されることが明らかとなった。

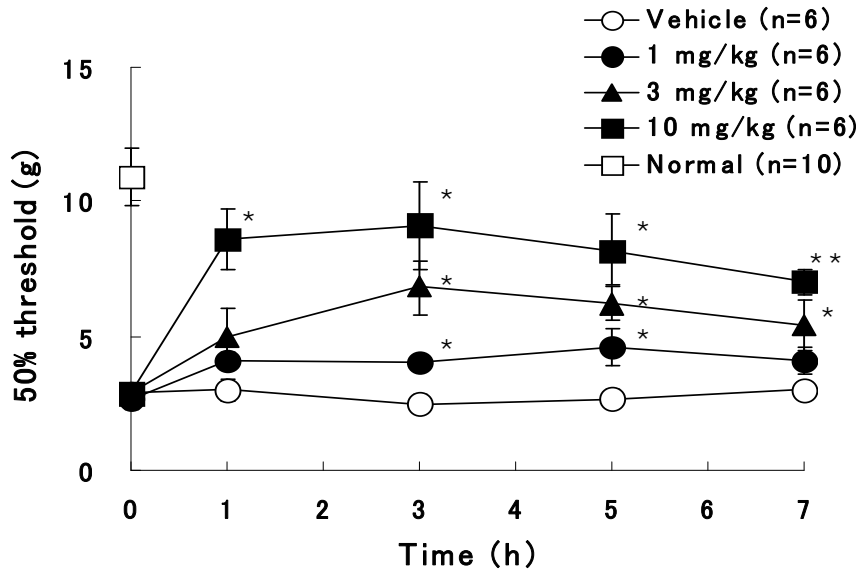


Figure 9. Effect of (*R*)-47b on mechanical allodynia in rats with sciatic nerve injury. (*R*)-47b was orally administered to rats. Data indicate means±SE. \*p<0.05, \*\*p<0.01 compared with the vehicle-treated group (Steel test).

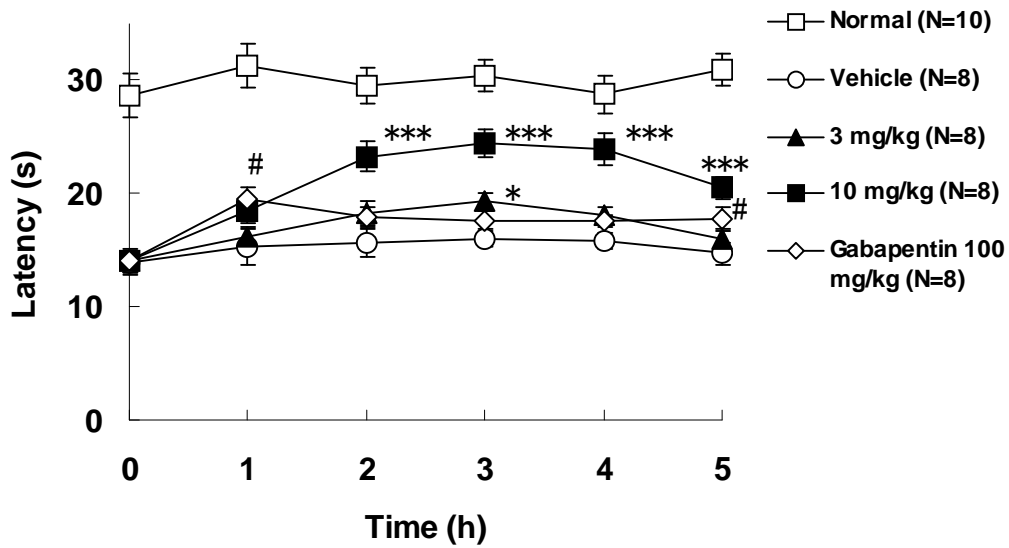


Figure 10. Effect of (*R*)-47b on thermal hyperalgesia in rats with sciatic nerve injury. (*R*)-47b or gabapentin was orally administered to rats. Data indicate means±SE. \*p<0.05, \*\*\*p<0.001 (Dunnett test), #p<0.05 (Student's t-test) compared with the vehicle-treated group.

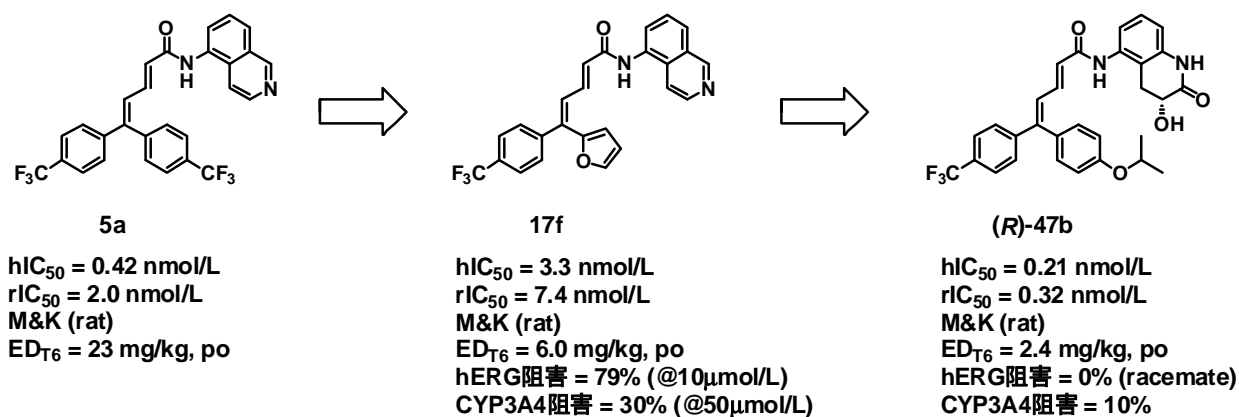
## 第4章 総括

TRPV1 は炎症性疼痛、神経因性疼痛などにおいて重要な役割を担っていると考えられ、新規な疼痛治療薬の開発を目指して、TRPV1 拮抗薬の探索研究を行った。

第2章では、ランダムヒット化合物からの誘導体展開により見いだされた TRPV1 拮抗薬 **5a** をリード化合物として、5,5-ジアリールペンタジエナミド誘導体の初期誘導体展開について述べた。その研究の過程で、リード化合物の高脂溶性に基づく代謝不安定性、低溶解性が明らかになり、経口剤としての開発は困難と思われた。しかし、5 位に異なる置換基を導入する合成法を確立し、拮抗活性への影響が大きい部分の変換による物性の調節が可能となった。この方法によって、幅広い置換基の検討を行った結果、タンパク結合率、代謝安定性が改善され、薬効の増強を果たした。なかでも、活性と物性が最適化された化合物 **17b**, **17f** は、良好な動態プロファイルを示し、*in vivo* で強力な薬効を示した。しかしながら、化合物 **17b**, **17f** は、十分な TRPV1 拮抗活性を示すものの、CYP3A4 不可逆阻害作用、hERG 阻害作用を有することが判明した。また、水溶性、代謝安定性、中枢移行性などにも改善の余地があった。

そこで、第3章においては、化合物 **17f** を新たなリード化合物に設定し、5 位の芳香環とアミド側鎖の探索を継続した。第2章の検討において把握された構造活性相関情報を基に、5 位芳香環へ脂溶性低減が期待できる官能基の導入や、水溶性向上が期待できるアミノ基の導入を行った。その結果、アミノ基の導入に対しては、水溶性の改善が見られたが、CYP 不可逆阻害作用の回避は困難だった。しかし、アルコキシ基の導入においては、物性、動態の改善が見られ、中枢移行性が向上したことから、薬効の増強も認められた。さらに、嵩高いアルコキシ基へと展開することで、TRPV1 拮抗活性が向上することが分かり、拮抗活性と動態のバランスに優れた誘導体が見出された。一方、アミド部位のイソキノリル基を 3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル基や 3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル基へ変換すると、hERG 阻害作用は大幅に減弱した。

これら各パートの検討結果を組み合わせた誘導体の中から、ラット *in vivo* 評価で強薬効を示す誘導体を抽出し、ヒト臨床推定用量との相関が高いサルカセット PK 試験結果と  $hIC_{50}$  値で誘導体間の優劣を判定した。これらの結果を総合的に判断し、化合物 **47b** を選択した。さらに、**47b** の各エナンチオマーを合成したところ、拮抗活性、動態ともに *R* 体に優位性があることが判明したため、(*R*)-**47b** を開発候補化合物に決定した。



第1章で述べたように、ジエン構造を分子内に有する化合物は、化学的、代謝的不安定性から低分子創薬の候補化合物としては、従来ほとんど顧みられることはなかった。しかしながら、ジエナミド構造の有する適度な脂溶性による良好な中枢移行性とカップリング反応による構造変換の容易性に注目して、構造活性相関の綿密な検討を行った結果、従来までに合成された TRPV1 拮抗薬の中でも最強の拮抗活性を有し、優れた薬物動態プロファイルと心毒性、遺伝毒性作用の回避を達成した有望な新規 TRPV1 拮抗薬の開発候補品の創製に成功した。

## 第5章 実験項

### 第1節 薬理作用および薬物動態の評価方法

合成した 5,5-ペンタジエナミド誘導体の TRPV1 拮抗活性や種々の動態プロファイル、in vivo 薬効評価は、以下の評価系を用いて測定した。

#### 1) Capsaicin 刺激による細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 測定

10 mmol/L HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) (pH7.2~7.5), 10 vol% FBS(Fetal bovine serum), 100 unit/mL penicillin, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  streptomycin を含む DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)を用いて 1 mL あたり  $1.25 \times 10^6$  個の細胞が含まれるよう調整した後、384 ウェルプレートに 20  $\mu\text{L}$  播種し一晩培養した。FLIPR Calcium 3 Assay Kit を loading buffer [20 mmol/L HEPES/NaOH (pH7.4), 3 mg/mL brilliant black を含む Hanks' buffered salt solution] にてキット指定の濃度の半分に調製し、1 ウェルあたり 20  $\mu\text{L}$  添加し、37°C で 1 時間インキュベートした。

被験薬物は 1 vol% DMSO、1 w/v% BSA を含む phosphate-buffered saline (PBS) にて終濃度の 10 倍濃度に調製し、5  $\mu\text{L}$  をプレートに添加して 37°C で 30 分間インキュベートした。1 w/v% BSA を含む PBS にて終濃度の 10 倍濃度に調製した capsaicin を 5  $\mu\text{L}$  プレートに添加し、Fluorometric image plate reader (FLIPR: Molecular Devices, Sunnyvale CA, USA) にて蛍光変化を測定した。

#### 2) ヒト肝ミクロソーム中代謝安定性

10 mmol/L の化合物 ジメチルスルホキシド(DMSO)溶液を、水:アセトニトリル(1:1)混液で 100 倍希釈し、さらに水で 2 倍希釈した。この溶液を 0.1% ethylenediamine tetraacetic acid, trisodium salt (EDTA)含有 0.1 mol/L リン酸緩衝液(pH 7.4)で 20 倍希釈し、2.5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  の化合物溶液とした。この溶液 40  $\mu\text{L}$  を 96-well プレートに移し、10  $\mu\text{L}$  の 10 mmol/L  $\beta$ -NADPH 60 mol/L 塩化マグネシウム溶液および 50  $\mu\text{L}$  の 0.4 mg/mL ヒト肝ミクロソーム懸濁液を添加した。攪拌後、プレートを約 37°C の水浴中におき、反応を開始した(各 2 例)。 $\beta$ -



NADPH を添加した試料における化合物のピーク面積を、HSA 添加により反応を開始した試料における化合物のピーク面積で除し、100 を乗ずることで残存率(%)とした。2 例の値を平均した。0 分での残存率が 100%と仮定し、実測の 30 分の残存率と共に自然対数変換し、反応時間に対してプロットした時の傾きを消失速度定数( $k_e$ )とした。この値を用い、以下の式により実測の肝代謝固有クリアランス( $CL_{int}$ )を算出した。

$$CL_{int} (L/h/kg) = k_e (h^{-1}) \times \frac{1}{\text{肝Ms蛋白濃度 (mg protein/mL)}} \times \frac{\text{肝Ms蛋白量 (mg)}}{\text{肝重量 (g)}} \times \frac{\text{肝重量 (g)}}{\text{体重 (kg)}} \times \frac{1}{1000}$$

$\frac{\text{肝Ms蛋白量}}{\text{肝重量}}$  は 32.3 mg/g<sup>19)</sup>、 $\frac{\text{肝重量}}{\text{体重}}$  はヒト 25.7 g/kg<sup>20)</sup> を用いた。

### 3) 薬物速度論解析

静脈内投与後の各個体の薬物動態パラメータは、最終実測時点を含む連続した 3 点を消失相、それ以外を分布相として残差法<sup>21)</sup>により算出した。

$$C(t) = A \cdot \exp(-\alpha \cdot t) + B \cdot \exp(-\beta \cdot t) \quad (\alpha > \beta)$$

$\alpha$  および  $\beta$  は分布相および消失相の速度定数とし、A および B は分布相および消失相の縦軸との切片とした。分布相および消失相の半減期( $t_{1/2\alpha}$  および  $t_{1/2\beta}$ )は、 $\ln 2$  を  $\alpha$  および  $\beta$  で除することにより算出した。最終実測時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積( $AUC_{0-t}$ )は、投与後 0 時間に外挿した血漿中濃度(A+B)および実測値を用いて台形法により求めた。無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積( $AUC_{0-\infty}$ )は、最終実測時点以降の AUC を最終実測時点の理論濃度と  $\beta$  を用いた外挿法により算出し、これと  $AUC_{0-t}$  との和として算出した。全身クリアランス( $CL_{tot}$ )は、投与量を  $AUC_{0-\infty}$  で除することにより算出した。平均滞留時間(MRT)はモーメント解析法<sup>22)</sup>により算出した。定常状態における分布容積( $V_{dss}$ )は、 $CL_{tot}$  に MRT を乗ずることにより算出した。

経口投与後の最高血漿中濃度を  $C_{max}$  とし、最高血漿中濃度到達時間を  $t_{max}$  とした。時間に対して血漿中濃度の対数をプロットし、最終実測時点を含む連続した 3 または 4 点を用いて、線形最小二乗法により消失速度定数( $k_e$ )を算出した。 $t_{1/2}$  は、 $\ln 2$  を  $k_e$  で除することにより算出した。 $AUC_{0-t}$  は、実測値を用いて台形法により算出した。 $AUC_{0-\infty}$  は、最終実測時点以降の

AUC を最終実測時点の理論濃度と  $k_e$  を用いた外挿法により算出し、これと  $AUC_{0-t}$  との和として算出した。MRT はモーメント解析法により算出した。生物学的利用率(B.A.)は、1 mg/kg 経口投与したときの  $AUC_{0-\infty}$  を用量補正後、静脈内投与後の  $AUC_{0-\infty}$  で除すことにより算出した。

#### 4) 脳脊髄液中濃度/血漿中濃度比 ( $C_{CSF}/C_{plasma}$ )

披検化合物をメノウ乳鉢で粉碎した後、0.5 w/v% MC 溶液を加え 6 mg/mL の懸濁液を調製し、ラット胃内に 5 mL/kg 強制投与した(投与量: 30 mg/kg)。投与後 5 時間に軽度ジエチルエーテル麻酔下、大腿部動静脈をヘパリン存在下で切開し、血液を得た。インスリン用シリンジマイJECTA(29G、テルモ)を用いて脳脊髄液を得た後、アセトニトリルにより 2 倍希釈した。血液を遠心分離(4°C、2123 x g、10 分)して血漿を採取し、脳脊髄液とともに-20°Cで冷凍保存した。例数は 2 とした。脳脊髄液試料および血漿試料中の被検化合物濃度を用いて、 $C_{CSF}$  および  $C_{plasma}$  を算出した。

#### 5) 血漿中非結合型分率 ( $f_u$ )

コントロール血漿を 0.067 mol/L の等張化リン酸緩衝液(PB、pH 7.4)により 5 倍希釈した希釈血漿 700  $\mu$ L に 1 mmol/L の被検化合物メタノール溶液 1.4  $\mu$ L を添加し、2  $\mu$ mol/L の血漿を調製した。透析膜(分画分子量 12000~14000、HTDialysis)を平衡透析装置(HTD96b、HTDialysis)で挟み込み、セル内の片側に PB(pH 7.4) 200  $\mu$ L を加え、反対側のセルに被験物質を添加した血漿試料 200  $\mu$ L を加えた。この装置を  $CO_2$  インキュベータ(MCO-17A1、三洋電機)内のシェイカー(mini-shaker 3D、Biosan Laboratories)上で 37°C、18 時間インキュベートした。例数は 3 とした。血漿添加側試料および緩衝液添加側試料のピーク面積の I.S.比を用いて、 $f_u$  を下式より算出した。

$$f_u = \text{緩衝液添加側試料のピーク面積の I.S.比} / \text{血漿添加側試料のピーク面積の I.S.比}$$

#### 6) 機械刺激性アロディニアの測定

術後 2~3 週間のラットをアクリルケージ (W390×L210×H145 mm、ラット 4 室ケージ、Ugo Basile、Comerio、VA、Italy) に入れて 15-20 分間、周囲の環境に慣れさせた。機械刺激性アロディニアの測定は、Chaplan らの方法<sup>23)</sup>に従って、von Frey filament (touch test、model58011、室町機械、東京) を用いて行った。すなわち、ラットの左後肢足裏真中へ von Frey filament (bending force:0.4、0.6、1、2、4、6、10、15 g、2 g から開始) を、filament が曲がるまで垂直に約 4 秒間押し当て、逃避反応 (足を引っ込める) の有無を観察した。逃避反応を示す 50%閾値の算出には、Dixon の up-down 法を用いた。薬物投与前値の逃避反応の 50%閾値が 4 g 未満を示すラットをアロディニアが発症したものとみなした。なお、薬物評価には逃避反応の 50%閾値が 1 g 以上かつ 4 g 未満を示す動物を用いた。薬物投与前値測定 1 時間後に、溶媒あるいは薬物を投与した。薬物投与 1、3、5 時間後に逃避反応の 50%閾値を測定した。溶媒および薬物投与群は 5~6 例、正常動物群は 10 例とした。ED<sub>50</sub> 値は、逃避反応の 50%閾値が 6 g となるときの薬物投与濃度を示す。

#### 7) hERG チャネル発現 HEK293 細胞における tail current に対する作用<sup>14)</sup>

ヒト胎児腎細胞 (HEK293 細胞) に発現させた hERG チャネルの tail current に対する作用についてパッチクランプ法により検討した。電圧プロトコールの生成とデータ取得はパッチクランプ増幅器 (EPC10<sup>®</sup>、Software: Patch Master<sup>®</sup>、HEKA Electronics) およびオートパッチクランプシステム (NPC<sup>®</sup>-1、Port-a-Patch<sup>®</sup>コンプリートシステム、Software: Patch Control<sup>®</sup>、nanion technologies) が導入されたコンピューターシステム (Dimension 1100、Dell Inc.) で制御した。

#### 8) umu 試験<sup>24)</sup>

DNA 損傷誘発作用については、ウムラック (umulac AT<sup>®</sup>、JIMRO) を用いて検討した。

#### 9) カニクイザルにおける TRPV1 拮抗薬のカセット経口投与時の血漿中曝露

リファレンス化合物である **35t** と 3 つの披検化合物 (各 0.5 mg/kg) を混合し、カニクイザルに経口投与した。化合物 **35t** に対する各化合物の血漿中非結合型濃度－時間曲線下面積 ( $f_u \cdot AUC_{0-\infty}$ ) 比を算出した。

## 第2節 化合物合成の実験項

融点 (mp) は Büchi 社製 510 型融点測定装置、または柳本製作所製モデル MP(MICRO MELTING POINT APPARATUS)を用いて測定し補正は行っていない。プロトン核磁気共鳴スペクトル( $^1\text{H}$  NMR)は日本電子社製 AL 300(300 MHz, FT)または同社製 JNM-EX270(270 MHz, FT) NMR スペクトロメーターを用いて測定し、内部標準としてテトラメチルシランを用いケミカルシフト値は  $\delta$  値で示した。元素分析値(EA)は Perkin-Elmer 社製 Series II CHNS/O analyzer 2400 あるいは、GE instruments 社製 FLASH EA 1122 series CHNS-O analyzer 型元素分析装置を用いて測定した。質量分析(Mass)は Waters 社製 Waters 2795 を用いて測定した。化合物の純度は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)日立社製 D-7000, D-7100, D-7200, D-7400 を用いて測定した。カラムは YMC 社 AS302 (4.6 mm  $\phi$   $\times$  150 mm)を用い、移動相は水、アセトニトリル、トリフルオロ酢酸の混合溶媒(80:20:0.05)を用いた。検出波長は 254 nm であり、流速は 1.0 mL/min である。光学純度は、ダイセル社製カラム OD-H(4.6 mm  $\phi$   $\times$  250 mm)を用い、移動相はヘキサン、エタノール、トリフルオロ酢酸の混合溶媒(80:20:0.02)を用いた。検出波長は 254nm であり、流速は 0.75 mL/min である。対応する塩酸塩は、各実験項に記載の方法で得た化合物を 4 mol/L 塩酸/酢酸エチル溶液に溶解後、濃縮し、ジエチルエーテルでリスラリーすることにより合成した。

### (E)-5,5-ジブromo-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 7)

四臭化炭素 (51.8 g, 156 mmol)のジクロロメタン (300 mL)溶液に、0 °Cにてトリフェニルホスフィン (90.1 g, 343 mmol)を加え、さらに市販の(E)-4-オキソ-2-ブテン酸エチル (10.0 g, 78.0 mmol)のジクロロメタン (70 mL)溶液を注意深く加え、2.5 時間攪拌した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=5:1)で精製することにより、化合物 7 (17.0 g, 77%)を薄橙色結晶として得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.31 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H), 4.23 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 6.04 (d,  $J$  = 15.2 Hz, 1H), 7.08 (d,  $J$  = 10.7 Hz, 1H), 7.29 (dd,  $J$  = 10.7, 15.2 Hz, 1H).

(E)-5,5-ビス[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 8a)

化合物 7 (8.58 g, 30.0 mmol)、市販の 4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸 (14.3 g, 75.0 mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム (1.73 g, 1.50 mmol)、炭酸ナトリウム (9.54 g, 90.0 mmol)、ジオキサン (100 mL)および水 (50 mL)の混合物をアルゴン気流下、5 時間加熱還流した。室温まで放冷後、反応混合物に水と酢酸エチルを加え、水層と有機層を分離し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製し、化合物 8a (10.1 g, 81%)を淡黄色結晶として得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.28 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 4.19 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 6.15 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 11.6, 15.0 Hz, 1H), 7.33–7.39 (m, 4H), 7.59 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H).

(E)-5,5-ビス[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸 (化合物 9a)

化合物 8a (10.1 g, 24.4 mmol)を THF (50 mL)およびメタノール (50 mL)に溶解し、1 mol/L 水酸化リチウム水溶液 (50 mL)を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮後、水 (1000 mL)に溶解し、6 mol/L 塩酸にて pH を 5 に調整した。析出した結晶をろ過後、水で洗浄し、化合物 9a (9.41 g, 100%)を淡黄色結晶として得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 6.14 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 7.30–7.39 (m, 4H), 7.35 (dd, *J* = 11.6, 15.2 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.72 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H).

(E)-N-(イソキノリン-5-イル)-5,5-ビス[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 5a)

化合物 9a (2.32 g, 6.00 mmol)を DMF (30 mL)に溶解し、5-アミノイソキノリン (720 mg, 5.00 mmol)、EDC 塩酸塩 (1.92 g, 10.0 mmol)および 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール・一水和物 (1.15 g, 7.50 mmol)を加え、60 °Cで 7 時間攪拌した。放冷後、反応混合物に飽和重曹水を

加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=1:1)で精製し、イソプロピルエーテル/ヘキサンで再結晶することにより、化合物 **5a** (1.34 g, 52%)を得た。

mp: 164–166 °C

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 6.38 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.46 (dd, *J* = 11.6, 14.7 Hz, 1H), 7.58–7.64 (m, 3H), 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.83–7.85 (m, 1H), 8.20 (br s, 1H), 8.56–8.58 (m, 1H), 9.27 (s, 1H).

APCIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 513.

Anal. Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O: C, 65.63; H, 3.54; N, 5.47. Found: C, 65.57; H, 3.54; N, 5.20.

(*E*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5,5-ジフェニル-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **5b**)

4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、市販のフェニルホウ酸を用い、化合物 **5a** と同様な方法で化合物 **5b** を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 6.29 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 7.22–7.25 (m, 2H), 7.32 (s, 5H), 7.38–7.42 (m, 3H), 7.53 (dd, *J* = 11.5, 14.8 Hz, 1H), 7.56–7.62 (m, 3H), 7.79–7.82 (m, 1H), 8.20–8.22 (m, 1H), 8.54–8.56 (m, 1H), 9.25 (s, 1H)

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 377.

(*E*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5,5-ビス[4-(トリフルオロメトキシ)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド  
(化合物 **5c**)

4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、市販の 4-(トリフルオロメトキシ)フェニルホウ酸を用い、化合物 **5a** と同様な方法で化合物 **5c** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 6.33 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H), 6.83 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H), 7.17–7.20 (m, 2H), 7.27–7.33 (m, 6H), 7.49 (dd,  $J = 11.8, 14.9$  Hz, 1H), 7.56–7.64 (m, 3H), 7.82–7.85 (m, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.56–8.58 (m, 1H), 9.27 (s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  545.

(*E*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5,5-ビス[3-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド

(化合物 5d)

4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、市販の 3-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸を用い、化合物 5a と同様な方法で化合物 5d を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 6.39 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H), 7.36–7.47 (m, 4H), 7.42 (dd,  $J = 11.6, 15.0$  Hz, 1H), 7.56–7.63 (m, 6H), 7.68–7.71 (m, 1H), 7.82–7.85 (m, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.55–8.58 (m, 1H), 9.26 (s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  513.

(*E*)-5,5-ビス(4-*tert*-ブチルフェニル)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-2,4-ペンタジエナミド (化合物

5e)

4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、市販の 4-*tert*-ブチルフェニルホウ酸を用い、化合物 5a と同様な方法で化合物 5e を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.33 (s, 9H), 1.36 (s, 9H), 6.26 (d,  $J = 14.5$  Hz, 1H), 6.81 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 7.15–7.18 (m, 2H), 7.25–7.43 (m, 6H), 7.54–7.63 (m, 3H), 7.59 (dd,  $J = 11.7, 14.5$  Hz, 1H), 7.79–7.82 (m, 1H), 8.22–8.24 (m, 1H), 8.54–8.56 (m, 1H), 9.25 (s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  489.

(*E*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5,5-ビス[6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-2,4-ペンタジ

エナミド (化合物 5f)



4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、市販の[6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]ホウ酸を用い、化合物 **5a** と同様な方法で化合物 **5f** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.94 (d,  $J = 14.8$  Hz, 1H), 7.12 (dd,  $J = 11.4, 14.8$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 7.67 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.90–7.98 (m, 5H), 8.09–8.13 (m, 3H), 8.56 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.92 (s, 1H), 9.33 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  515.

(2E,4Z)-5-ブromo-5-(4-トリフルオロメチルフェニル)-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 **10**)

化合物 **7** (8.64 g, 30.4 mmol)、トリ(2-フリル)ホスフィン (1.07 g, 4.59 mmol)、4-(トリフルオロメチル)フェニルボロン酸 (6.07 g, 32.0 mmol)、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0) (699 mg, 0.764 mmol)と炭酸ナトリウム (6.45 g, 60.9 mmol)を1,4-ジオキサン (152 mL)と水 (61 mL)に溶解し、70°Cで7時間攪拌した。放冷後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで3度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=19:1)で精製することにより、標記化合物 **10** (5.24 g, 49%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.34 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.27 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 6.20 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 7.00 (d,  $J = 10.8$  Hz, 1H), 7.64 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.70–7.78 (m, 3H).

(E,E)-5-フェニル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル

(化合物 **15a**)

化合物 **10** (1.98 g, 5.68 mmol)、トリ(2-フリル)ホスフィン (203 mg, 0.875 mmol)、フェニルホウ酸 (1.04 g, 8.53 mmol)、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0) (133 mg, 0.145 mmol)と炭酸ナトリウム (1.21 g, 11.4 mmol)を1,4-ジオキサン (28 mL)と水 (11 mL)に溶解し、70°Cで4.5時間攪拌した。放冷後、反応液に水を加え、酢酸エチルで3度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去して得られた残渣

をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=19:1)で精製することにより、標記化合物 **15a** (1.79 g, 91%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.27 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.18 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 6.11 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 6.82 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 7.18–7.21 (m, 2H), 7.38–7.45 (m, 6H), 7.57 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H).

(*E,E*)-5-フェニル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸 (化合物 **16a**)

化合物 **15a** (1.79 g, 5.18 mmol)と水酸化リチウム・一水和物 (761 mg, 18.1 mmol)をテトラヒドロフラン (41 mL)、メタノール (16 mL)と水 (16 mL)に溶解し、室温で4時間攪拌した。反応液を濃縮後、水 (80 mL)と1 mol/L塩酸 (20 mL)を加え、0°Cで30分間攪拌した。析出した結晶をろ過後、乾燥することにより、標記化合物 **16a** (1.63 g, 99%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.20 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 7.06 (dd,  $J = 11.5, 14.7$  Hz, 1H), 7.17–7.23 (m, 3H), 7.48–7.54 (m, 5H), 7.74 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H).

(*E,E*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-フェニル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **17a**)

化合物 **16a** (1.63 g, 5.12 mmol)をDMF (33 mL)に溶解し、5-アミノイソキノリン (673 mg, 4.66 mmol)、EDC塩酸塩 (1.80 g, 9.39 mmol)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール・一水和物 (1.44 g, 9.38 mmol)を加え、60°Cで11時間攪拌した。放冷後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (100 mL)を加え、酢酸エチルで3度抽出した。有機層を飽和食塩水 (100 mL  $\times$  2)で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=3:1)で精製し、ジエチルエーテル/ヘキサンで再結晶することにより、標記化合物 **17a** (742 mg, 36 %)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.81 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 7.16–7.26 (m, 4H), 7.49–7.58 (m, 5H), 7.66 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.75 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.94 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.98 (d,

$J = 6.0$  Hz, 1H), 8.12 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.29 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  445.

Anal. Calcd for  $C_{27}H_{19}F_3N_2O$ : C, 72.96; H, 4.31; N, 6.30. Found: C, 72.76; H, 4.42; N, 6.12.

(2E,4Z)-5-(4-フルオロフェニル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17b)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 4-フルオロフェニルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17b を合成した。

mp: 142–143 °C

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.82 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 7.13–7.40 (m, 6H), 7.56 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.66 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.76 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.93–7.99 (m, 2H), 8.12 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.30 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  463.

(塩酸塩)

Anal. Calcd for  $C_{27}H_{18}F_4N_2O \cdot HCl \cdot 0.5 H_2O$ : C, 63.85; H, 3.97; N, 5.52. Found: C, 63.89; H, 3.60; N, 5.46.

(2E,4Z)-5-(4-ヒドロキシフェニル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17c)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 4-ヒドロキシフェニルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17c を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.77 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H), 6.88 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.03–7.08 (m, 3H), 7.32 (dd,  $J = 11.7, 14.9$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.67 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.74 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.94 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.99 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 8.14

(d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 9.78 (br s, 1H), 10.24 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  461.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(4-メトキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17d)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 4-メトキシフェニルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17d を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 3.83 (s, 3H), 6.79 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.06–7.11 (m, 1H), 7.17 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.29 (dd,  $J = 11.7, 14.7$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.67 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.75 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.94 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.99 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 8.13 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.27 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  475.

(2E,4Z)-5-(3-シアノフェニル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17e)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 3-シアノフェニルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17e を合成した。

mp: 118–119 °C

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.85 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 7.08 (dd,  $J = 11.5, 15.0$  Hz, 1H), 7.35 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 7.55–7.78 (m, 8H), 7.94–7.99 (m, 3H), 8.11 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  470.

(2E,4Z)-5-(フラン-2-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル

(化合物 15f)

化合物 10 (8.86 g, 25.4 mmol)をトルエン (177 mL)に溶解し、トリブチル(2-フリル)すず (18.2 g, 50.9 mmol)とテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0) (2.94 g, 2.54 mmol)を加えて、100°Cで 5 時間攪拌した。放冷後、セライトでろ過し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製することにより、標記化合物 15f (7.44 g, 87%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.32 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 4.25 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 6.08 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.39 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 6.50 (dd,  $J = 1.8, 3.3$  Hz, 1H), 7.49 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.61–7.65 (m, 3H), 8.18 (dd,  $J = 11.7, 15.3$  Hz, 1H).

(2E,4Z)-5-(フラン-2-イル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17f)

化合物 15a の代わりに、化合物 15f を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17f を合成した。

mp: 195–196°C

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.55 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 6.69–6.84 (m, 3H), 7.64 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.70 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.81 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.92–8.03 (m, 4H), 8.19 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.32 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  435.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$ : C, 69.12; H, 3.94; N, 6.45. Found: C, 68.90; H, 3.85; N, 6.38.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(5-メチルフラン-2-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17g)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 3-メチル-2-フリルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17g を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.36 (s, 3H), 6.31 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 1H), 6.41 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 1H), 6.64 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 6.77 (d,  $J$  = 15.0 Hz, 1H), 7.64 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.69 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.80 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.96 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.01–8.10 (m, 2H), 8.20 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 8.56 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.29 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  449.

(2E,4Z)-5-(フラン-3-イル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17h)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 3-フリルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17h を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.50 (s, 1H), 6.81 (d,  $J$  = 14.1 Hz, 1H), 7.12 (d,  $J$  = 11.4 Hz, 1H), 7.54 (dd,  $J$  = 11.4, 14.1 Hz, 1H), 7.67–7.69 (m, 3H), 7.78 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 7.90–8.01 (m, 4H), 8.16 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 8.56 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.30 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  435.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(チオフェン-2-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17i)

トリブチル(2-フリル)すずの代わりに、市販のトリブチル(2-チエニル)すずを用い、化合物 17f と同様な方法で化合物 17i を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.86 (d,  $J$  = 15.0 Hz, 1H), 7.13 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 7.18 (dd,  $J$  = 1.1, 3.5 Hz, 1H), 7.25 (dd,  $J$  = 3.5, 5.1 Hz, 1H), 7.58 (dd,  $J$  = 11.7, 15.0 Hz, 1H), 7.64–7.71 (m, 3H), 7.79 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.82 (dd,  $J$  = 0.9, 5.1 Hz, 1H), 7.96 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 8.16 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 8.56 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.34 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  451.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(チオフェン-3-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17j)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 3-チエニルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17j を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.81 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 7.16 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 7.41 (dd,  $J = 11.5, 15.0$  Hz, 1H), 7.58–7.61 (m, 3H), 7.65–7.78 (m, 4H), 7.95 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.99 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 8.14 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.30 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  451.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(ピリジン-4-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17k)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 4-ピリジルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17k を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.86 (d,  $J = 16.4$  Hz, 1H), 7.11 (dd,  $J = 12.7, 16.4$  Hz, 1H), 7.31 (dd,  $J = 1.6, 4.9$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 7.66 (t,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.77 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 7.94–7.98 (m, 2H), 8.11 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 8.74 (dd,  $J = 1.6, 4.9$  Hz, 2H), 9.32 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  446.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(ピリジン-3-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17l)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 3-ピリジルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17l を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.87 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 7.14 (dd,  $J = 11.6, 14.9$  Hz, 1H), 7.37 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H), 7.55–7.60 (m, 3H), 7.16–7.72 (m, 2H), 7.78 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H),

7.94–7.99 (m, 2H), 8.12 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.49 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 8.70 (dd,  $J = 1.7, 4.7$  Hz, 1H), 9.33 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  446.

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-(ピリミジン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17m)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 5-ピリミジルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17m を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.89 (d,  $J = 14.8$  Hz, 1H), 7.10 (dd,  $J = 11.6, 14.8$  Hz, 1H), 7.47 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H), 7.62–7.70 (m, 3H), 7.79 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.96 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 8.11 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.1$  Hz, 1H), 8.78 (s, 2H), 9.32–9.33 (m, 2H), 10.37 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  447.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O} \cdot 0.1 \text{H}_2\text{O}$ : C, 66.99; H, 3.87; N, 12.50. Found: C, 66.84; H, 3.83; N, 12.21.

(2E,4E)-5-(シクロヘキセン-1-イル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17n)

フェニルホウ酸の代わりに、市販の 1-シクロヘキセン-1-イルホウ酸 ピナコールエステルを用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17n を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.68–1.70 (m, 4H), 1.92–1.94 (m, 2H), 2.24–2.26 (m, 2H), 5.75–5.77 (m, 1H), 6.73 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 6.89 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 7.58 (dd,  $J = 11.4, 15.0$  Hz, 1H), 7.66–7.79 (m, 5H), 7.96 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 8.00 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 8.18 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.27 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  449.



(2E,4E)-5-(3,6-ジヒドロ-2H-ピラン-4-イル)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 17o)

フェニルホウ酸の代わりに、3,6-ジヒドロ-2H-ピラン-4-イルホウ酸 ピナコールエステル<sup>25)</sup>を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 17o を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 2.03–2.05 (m, 2H), 3.81 (t,  $J = 5.1$  Hz, 2H), 4.29–4.31 (m, 2H), 5.87–5.89 (m, 1H), 6.77 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H), 7.59 (dd,  $J = 11.6, 15.0$  Hz, 1H), 7.67–7.80 (m, 5H), 7.96 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 8.00 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 8.18 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 9.34 (s, 1H), 10.29 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 451.

3-フェニルプロピオン酸エチル (化合物 19)

市販のフェニルアセチレン(18) (1.00 g, 9.79 mmol)をテトラヒドロフラン (10 mL)に溶解し、-78 °Cで *n*-ブチルリチウム (10.0 mL, 15.8 mmol)を滴下した。反応液を 45 分間攪拌した後、クロロギ酸エチル (1.30 mL, 13.6 mmol)を滴下した。20 時間後、反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=19:1)で精製することにより、化合物 19 (1.06 g, 62%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 4.30 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.34–7.48 (m, 3H), 7.57–7.61 (m, 2H).

(Z)-3-ヨード-3-フェニルアクリル酸エチル (化合物 20)

化合物 19 (513 mg, 2.94 mmol)とヨウ化ナトリウム (1.42 g, 9.48 mmol)を酢酸 (2.2 mL)に溶解し、110 °Cで 4.5 時間攪拌した。放冷後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和重曹水、チオ硫酸ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去することにより、化合物 20 (853 mg, 96%)を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.34 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.29 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 6.63 (s, 1H), 7.34–7.37 (m, 3H), 7.52–7.55 (m, 2H).

(Z)-3-フェニル-3-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]アクリル酸エチル (化合物 21)

化合物 20 (406 mg, 1.34 mmol)、トリ(2-フリル)ホスフィン (47.7 mg, 0.205 mmol)、4-(トリフルオロメチル)フェニルボロン酸 (384 mg, 2.02 mmol)、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0) (31.7 mg, 0.0346 mmol)と炭酸ナトリウム (286 mg, 2.70 mmol)を 1,4-ジオキサン (6.8 mL)と水 (2.7 mL)に溶解し、70 °Cで 17 時間攪拌した。放冷後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=19:1)で精製することにより、化合物 21 (240 mg, 56%)を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.12 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 4.06 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 6.44 (s, 1H), 7.25–7.41 (m, 7H), 7.65 (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H).

(Z)-3-フェニル-3-(トリフルオロメチル)フェニル-2-プロペン-1-オール (化合物 22)

化合物 21 (240 mg, 0.748 mmol)を THF (4.0 mL)に溶解し、1.01 mol/L 水素化ジイソブチルアルミニウム-トルエン溶液 (2.75 mL, 2.78 mmol)を加えて、-78 °Cで 5 時間攪拌した。昇温後、反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去することにより、化合物 22 (201 mg, 97%)を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.20 (d,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 6.32 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 7.16–7.30 (m, 7H), 7.64 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H).

(Z)-3-フェニル-3-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]プロペナール (化合物 23)

化合物 **22** (201 mg, 0.723 mmol)をジクロロメタン (4.0 mL)に溶解し、二酸化マンガン(630 mg, 7.25 mmol)を加えて、室温で 4 時間攪拌した。反応混合物をろ過後、溶媒を減圧留去することにより、化合物 **23** (194 mg, 97%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 6.67 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.31–7.47 (m, 7H), 7.74 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 9.50 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H).

(2E,4Z)-5-フェニル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸メチル

(化合物 **24**)

化合物 **23** (194 mg, 0.702 mmol)をジクロロメタン (2.0 mL)に溶解し、(トリフェニルホスホルアニリデン)酢酸メチル (290 mg, 0.868 mmol)を加えて、室温で 24 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=19:1)で精製することにより、化合物 **24** (191 mg, 82%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 3.72 (s, 3H), 6.10 (dd,  $J = 0.7, 15.2$  Hz, 1H), 6.86 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 7.23–7.35 (m, 8H), 7.69 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H).

(2E,4Z)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-フェニル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **26**)

化合物 **15a** から化合物 **17a** を得たのと同様な方法で、化合物 **24** より化合物 **26** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.79 (d,  $J = 14.0$  Hz, 1H), 7.11 (dd,  $J = 11.7, 14.0$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 7.33–7.42 (m, 5H), 7.47 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.66 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.88 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.94 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 6.1$  Hz, 1H), 8.11 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  445.

(E)-3-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]アクリル酸エチル (化合物 **28a**)

市販の 4-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド(**27a**) (1.52 g, 8.75 mmol)をジクロロメタン (15 mL)に溶解し、(トリフェニルホスホルアニリデン)酢酸メチル (3.66 g, 11.0 mmol)を加えて、室温で 20 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製することにより、化合物 **28a** (1.97 g, 98%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 3.83 (s, 3H), 6.52 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 7.61–7.74 (m, 5H).

(2E,4E)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド  
(化合物 **31a**)

化合物 **21** から化合物 **26** を合成したのと同様な方法で、化合物 **28a** より化合物 **31a** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.73 (d,  $J = 14.1$  Hz, 1H), 7.18 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 7.31–7.51 (m, 2H), 7.70 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.75 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.84 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.97 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 8.01 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 8.19 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.57 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 9.34 (s, 1H), 10.30 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  369.

(2E,4E)-N-(イソキノリン-5-イル)-5-メチル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **31b**)

化合物 **31a** と同様な方法で、市販の 4'-(トリフルオロメチル)アセトフェノン(**27b**)より化合物 **31b** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.32 (s, 3H), 6.71 (d,  $J = 15.0$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 11.1$  Hz, 1H), 7.68–7.78 (m, 4H), 7.84 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.95–8.01 (m, 2H), 8.17 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.34 (s, 1H), 10.28 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  383.

### 1-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]ペンタン-1-オン (化合物 27c)

#### (工程 1)

市販の 4-(トリフルオロメチル)安息香酸 (2.00 g, 10.5 mmol)を DMSO (40 mL)に溶解し、*N,O*-ジメチルヒドロキシルアミン・一塩酸塩 (2.06 g, 21.1 mmol)、EDC 塩酸塩 (4.05 g, 21.1 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール・一水和物 (3.21 g, 21.0 mmol)およびトリエチルアミン (2.90 mL, 20.8 mmol)を加え、室温で 15.5 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去することにより、*N*-メトキシ-*N*-メチル-4-(トリフルオロメチル)ベンズアミド (2.52 g, 100%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 3.38 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 7.67 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.79 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H).

#### (工程 2)

工程 1 で得た *N*-メトキシ-*N*-メチル-4-(トリフルオロメチル)ベンズアミド (509 mg, 2.18 mmol)を THF (15 mL)に溶解し、 $-78^\circ\text{C}$ で *n*-ブチルリチウム (1.58 mol/L ヘキサン溶液) (3.0 mL, 4.74 mmol)を加え、40 分攪拌した。反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製することにより、化合物 27c (504 mg, 100%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 0.96 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.42 (sext,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 1.74 (quint,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.00 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 8.06 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H).

### (2*E*,4*E*)-5-ブチル-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 31c)

化合物 31a と同様な方法で、化合物 27c より化合物 31c を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 0.87–0.89 (m, 3H), 1.34–1.35 (m, 4H), 3.13–3.15 (m, 2H), 6.72 (d,  $J$  = 14.5 Hz, 1H), 6.79 (d,  $J$  = 11.9 Hz, 1H), 7.68–7.83 (m, 6H), 7.98 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 8.02 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 8.20 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 8.58 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 9.36 (s, 1H), 10.30 (br s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  425.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-アミノフェニル)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35a**)

フェニルハウ酸の代わりに、4-アミノフェニルハウ酸を用い、化合物 **17a** と同様な方法で化合物 **35a** を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 5.45 (br s, 2H), 6.63 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 6.72 (d,  $J$  = 15.0 Hz, 1H), 6.85–6.92 (m, 3H), 7.41 (dd,  $J$  = 11.6, 15.0 Hz, 1H), 7.55 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.66 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.92 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 8.15 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 8.54 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 9.31 (s, 1H), 10.21 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  460.

(2*E*,4*Z*)-5-[4-(ジメチルアミノ)フェニル]-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35b**)

フェニルハウ酸の代わりに、4-(ジメチルアミノ)フェニルハウ酸を用い、化合物 **17a** と同様な方法で化合物 **35b** を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.98 (s, 6H), 6.75 (d,  $J$  = 15.1 Hz, 1H), 6.81 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 6.97 (d,  $J$  = 11.6 Hz, 1H), 7.04 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 7.41 (dd,  $J$  = 11.6, 15.1 Hz, 1H), 7.56 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.67 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.74 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.94 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.00 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 8.15 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 8.55 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.23 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  488.

(2*E*,4*Z*)-5-[6-(ジメチルアミノ)ピリジン-3-イル]-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35c**)

フェニルホウ酸の代わりに、6-[(ジメチルアミノ)ピリジン-3-イル]ホウ酸を用い、化合物 **17a** と同様な方法で化合物 **35c** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 3.10 (s, 6H), 6.73–6.82 (m, 2H), 7.07 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 7.30–7.42 (m, 2H), 7.59 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.68 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.76 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.93–8.01 (m, 3H), 8.16 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 9.33 (s, 1H), 10.28 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  489.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(ピロリジン-1-イル)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35d**)

フェニルホウ酸の代わりに、4-(ピロリジン-1-イル)フェニルホウ酸を用い、化合物 **17a** と同様な方法で化合物 **35d** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.00–1.04 (m, 4H), 1.96–1.99 (m, 4H), 6.52–6.78 (m, 3H), 6.93–7.17 (m, 3H), 7.38–7.58 (m, 3H), 7.62–8.03 (m, 5H), 8.17 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.56 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 9.34 (s, 1H), 10.24 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  514.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(ピペリジン-1-イル)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・二塩酸塩 (化合物 **35e**)

フェニルホウ酸の代わりに、4-(ピペリジン-1-イル)フェニルホウ酸を用い、化合物 **17a** と同様な方法で化合物 **35e** を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.64–1.66 (m, 2H), 1.91–1.94 (m, 4H), 3.48–3.52 (m, 4H), 6.94 (d,  $J$  = 13.8 Hz, 1H), 7.20–7.48 (m, 5H), 7.56 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.76–7.78 (m, 3H), 7.99 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 8.33 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.46 (dd,  $J$  = 4.5, 6.9 Hz, 1H), 8.62 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 8.73 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 9.90 (s, 1H), 10.91 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  528.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}\cdot 2\text{HCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : C, 60.38; H, 5.38; N, 6.60. Found: C, 60.09; H, 5.26; N, 6.95.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(モルホリン-4-イル)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35f)

フェニルホウ酸の代わりに、4-(モルホリン-4-イル)フェニルホウ酸を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 35f を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 3.18–3.23 (m, 4H), 3.74–3.77 (m, 4H), 6.77 (d,  $J$  = 14.9 Hz, 1H), 7.03–7.11 (m, 5H), 7.36 (dd,  $J$  = 11.6, 14.9 Hz, 1H), 7.56 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.67 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.94 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.99 (d,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.14 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.55 (d,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.25 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  530.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-フルオロフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35g)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン<sup>26)</sup>を用い、化合物 17b と同様な方法で化合物 35g を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.36 (dd,  $J$  = 8.5, 16.2 Hz, 1H), 2.72 (dd,  $J$  = 4.8, 16.2 Hz, 1H), 2.80–2.87 (m, 1H), 3.17–3.20 (m, 1H), 3.82–3.86 (m, 1H), 4.88 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 1H), 5.69 (br s, 1H), 6.31 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.56–6.64 (m, 2H), 6.81 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H),



7.02–7.19 (m, 2H), 7.25–7.38 (m, 4H), 7.53 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H),  
9.34 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  483.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-フルオロフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリ  
ル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35h)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリ  
ン(70)<sup>26)</sup>を用い、化合物 17b と同様な方法で化合物 35h を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.62 (dd,  $J = 11.8, 15.9$  Hz, 1H), 3.01 (dd,  $J = 6.2, 15.9$  Hz,  
1H), 4.02–4.10 (m, 1H), 5.45 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.61–6.71 (m, 2H), 7.05–7.38 (m, 8H),  
7.54 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.76 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  497.

(2*E*,4*Z*)-5-(フラン-2-イル)-*N*-(3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフル  
オロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35i)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン<sup>26)</sup>を用  
い、化合物 17f と同様な方法で化合物 35i を合成した。

mp: 184–186°C

<sup>1</sup>H NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.39 (dd,  $J = 8.6, 16.5$  Hz, 1H), 2.68–2.89 (m, 2H), 3.19 (d,  
 $J = 10.2$  Hz, 1H), 3.78–3.91 (m, 1H), 4.88 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 6.31 (d,  $J =$   
7.8 Hz, 1H), 6.50 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H), 6.54–6.73 (m, 4H), 6.82 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.60 (d,  
 $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.77 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.83 (dd,  $J = 11.9, 14.9$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J =$   
1.7 Hz, 1H), 9.34 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  455.

(2*E*,4*Z*)-5-(フラン-2-イル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35j)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン<sup>26)</sup>を用い、化合物 17f と同様な方法で化合物 35j を合成した。

mp: 273–274°C

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 2.64 (dd,  $J = 11.7, 15.9$  Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J = 6.1, 15.9$  Hz, 1H), 4.02–4.12 (m, 1H), 5.44 (s, 1H), 6.51 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H), 6.61 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 6.66 (dd,  $J = 1.9, 3.4$  Hz, 1H), 6.68–6.73 (m, 2H), 7.13 (d,  $J = 5.0$  Hz, 2H), 7.61 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.78 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.88 (dd,  $J = 11.9, 15.3$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 9.75 (s, 1H), 10.16 (s, 1H).

APCIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 469.

(2*E*,4*Z*)-5-[4-(ジメチルアミノ)フェニル]-*N*-(3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・二塩酸塩 (化合物 35k)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン<sup>26)</sup>を用い、化合物 35b と同様な方法で化合物 35k を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 2.63–2.65 (m, 1H), 2.84–2.86 (m, 1H), 3.03 (s, 6H), 3.10–3.17 (m, 1H), 3.27–3.31 (m, 1H), 4.17–4.18 (m, 1H), 6.63 (d,  $J = 15.1$  Hz, 1H), 6.89–7.32 (m, 9H), 7.54 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 9.65 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 508.

Anal. Calcd for C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>·2HCl·0.5H<sub>2</sub>O: C, 59.09; H, 5.30; N, 7.13. Found: C, 59.08; H, 5.13; N, 7.09.

(2*E*,4*Z*)-5-[4-(ジメチルアミノ)フェニル]-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35l)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)<sup>26)</sup>を用い、化合物 35b と同様な方法で化合物 35l を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 2.62 (dd,  $J = 11.7, 15.8$  Hz, 1H), 2.98–3.06 (m, 1H), 3.02 (s, 6H), 4.00–4.10 (m, 1H), 6.60 (d,  $J = 14.6$  Hz, 1H), 6.68–6.72 (m, 1H), 6.97–7.12 (m, 7H), 7.22–7.32 (m, 1H), 7.54 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.73 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 522.

(2*E*,4*E*)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-フェニル-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35m)

5-アミノイソキノリンの代わりに、5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)<sup>26)</sup>を用い、化合物 17a と同様な方法で化合物 35m を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 2.62 (dd,  $J = 11.9, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.3, 15.9$  Hz, 1H), 4.03–4.11 (m, 1H), 5.45 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 6.61–6.72 (m, 2H), 7.08–7.25 (m, 6H), 7.45–7.55 (m, 5H), 7.74 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 9.74 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 479.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(ピペリジン-1-イル)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩

(化合物 35n)

フェニルホウ酸の代わりに、4-(ピペリジン-1-イル)フェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35n を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.61–1.67 (m, 2H), 1.91–2.01 (m, 4H), 2.63 (dd,  $J = 12.0, 15.8$  Hz, 1H), 3.01 (dd,  $J = 6.3, 15.8$  Hz, 1H), 3.53–3.57 (m, 4H), 3.96–4.07 (m, 1H), 6.66–6.73 (m, 2H), 7.06–7.22 (m, 4H), 7.40 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.53 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.75 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.89 (d,  $J = 5.1$  Hz, 2H), 9.88 (s, 1H), 10.19 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  562.

Anal. Calcd for  $C_{32}H_{30}F_3N_3O_3 \cdot HCl \cdot 2.5H_2O$ : C, 59.76; H, 5.64; N, 6.53. Found: C, 59.70; H, 5.37; N, 6.64.

(2*E*,4*Z*)-5-[6-(ジメチルアミノ)ピリジン-3-イル]-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩

(化合物 35o)

フェニルホウ酸の代わりに、[6-(ジメチルアミノ)ピリジン-3-イル]ホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35o を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.63 (dd,  $J = 11.7, 16.0$  Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J = 6.1, 16.0$  Hz, 1H), 3.28 (s, 6H), 4.02-4.10 (m, 1H), 6.71-6.75 (m, 2H), 7.06-7.29 (m, 5H), 7.63 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.72-7.79 (m, 3H), 7.88 (d,  $J = 1.8$  Hz, 1H), 9.93 (br s, 1H), 10.21 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  523.

Anal. Calcd for  $C_{28}H_{25}F_3N_4O_3 \cdot HCl \cdot 1.9H_2O$ : C, 56.69; H, 5.06; N, 9.44. Found: C, 56.85; H, 5.04; N, 9.04.

(2*E*,4*Z*)-5-[2-(ジメチルアミノ)ピリミジン-5-イル]-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35p)

フェニルホウ酸の代わりに、[2-(ジメチルアミノ)ピリミジン-5-イル]ホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35p を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.63 (dd,  $J = 12.2, 15.9$  Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J = 6.1, 15.9$  Hz, 1H), 3.19 (s, 6H), 4.05-4.09 (m, 1H), 5.45 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.64 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 6.69-6.72 (m, 1H), 7.09-7.27 (m, 4H), 7.62 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.20 (s, 2H), 9.77 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  524.

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-ヒドロキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35q)

フェニルホウ酸の代わりに、4-ヒドロキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35q を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.62 (dd,  $J = 12.0, 16.0$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.2, 16.0$  Hz, 1H), 4.03-4.11 (m, 1H), 5.42 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.58 (d,  $J = 14.8$  Hz, 1H), 6.68-6.72 (m, 1H), 6.87 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.00-7.12 (m, 5H), 7.23 (dd,  $J = 11.7, 14.7$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.72 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.69 (br s, 1H), 9.75 (br s, 1H), 10.16 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  495.

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-メトキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35r)

フェニルホウ酸の代わりに、4-メトキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35r を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.63 (dd,  $J = 12.2, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.2, 15.9$  Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 4.03-4.11 (m, 1H), 5.44 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.61 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 6.69-6.72 (m, 1H), 7.05-7.25 (m, 8H), 7.54 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 9.72 (s, 1H), 10.17 (s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  509.

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-トリフルオロメトキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35s)

フェニルホウ酸の代わりに、4-トリフルオロメトキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35s を合成した。

mp: 129°C

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.63 (dd,  $J = 12.0, 15.8$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.1, 15.8$  Hz, 1H), 4.03–4.11 (m, 1H), 5.45–5.47 (m, 1H), 6.64–6.73 (m, 2H), 7.04–7.15 (m, 3H), 7.23 (d,  $J = 11.3$  Hz, 1H), 7.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.53 (d,  $J = 14.6$  Hz, 4H), 7.75 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 9.78 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  563.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$ : C, 59.22; H, 3.66; N, 4.93. Found: C, 59.04; H, 3.31; N, 5.11.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35t)

フェニルホウ酸の代わりに、4-エトキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35t を合成した。

mp: 198–200°C

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H), 2.62 (dd,  $J = 12.0, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.3, 15.9$  Hz, 1H), 4.03–4.11 (m, 1H), 4.10 (q,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 5.46 (d,  $J = 3.9$  Hz, 1H), 6.61 (d,  $J = 14.4$  Hz, 1H), 6.70 (dd,  $J = 3.1, 5.9$  Hz, 1H), 7.03–7.24 (m, 8H), 7.54 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 9.73 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  523.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0.2\text{H}_2\text{O}$ : C, 66.20; H, 4.87; N, 5.32. Found: C, 66.12; H, 4.73; N, 5.26.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-[(3*R*)-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 (*R*)-35t)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)の代わりに、化合物(*R*)-70を用い、化合物 35t と同様な方法で化合物(*R*)-35t を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 3H), 2.62 (dd,  $J$  = 12.1, 16.0 Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J$  = 6.3, 16.0 Hz, 1H), 4.03–4.13 (m, 3H), 5.44 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 6.60 (d,  $J$  = 14.8 Hz, 1H), 6.70 (dd,  $J$  = 3.1, 5.7 Hz, 1H), 7.03–7.14 (m, 7H), 7.20 (dd,  $J$  = 11.7, 14.3 Hz, 1H), 7.54 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  523.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-[(3*S*)-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物(*S*)-35t)

化合物(*R*)-70 の代わりに、化合物(*S*)-70 を用い、化合物(*R*)-35t と同様な方法で化合物(*S*)-35t を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 2.62 (dd,  $J$  = 11.9, 15.8 Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J$  = 5.9, 15.8 Hz, 1H), 4.03–4.13 (m, 3H), 5.43 (d,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 6.60 (d,  $J$  = 14.4 Hz, 1H), 6.70 (dd,  $J$  = 3.3, 5.5 Hz, 1H), 7.03–7.15 (m, 7H), 7.20 (dd,  $J$  = 11.5, 14.4 Hz, 1H), 7.53 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 9.71 (br s, 1H), 10.16 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  523.

(2*E*,4*Z*)-5-(2-エトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35u)

フェニルホウ酸の代わりに、2-エトキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35u を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 0.91 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 2.60 (dd,  $J$  = 11.9, 15.9 Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J$  = 6.2, 15.9 Hz, 1H), 3.86–3.90 (m, 2H), 4.01–4.09 (m, 1H), 5.41 (d,  $J$  = 4.6 Hz, 1H), 6.58 (d,  $J$  = 14.6 Hz, 1H), 6.69 (dd,  $J$  = 2.3, 6.9 Hz, 1H), 6.97–7.18 (m, 7H), 7.40–

7.47 (m, 1H), 7.49 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.68 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 9.70 (br s, 1H), 10.15 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  523.

(2*E*,4*Z*)-5-(3-エトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35v)

フェニルホウ酸の代わりに、3-エトキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35v を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.32 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H), 2.62 (dd,  $J = 12.0, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.2, 15.9$  Hz, 1H), 4.00-4.11 (m, 3H), 5.45 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.60-6.78 (m, 4H), 7.01-7.17 (m, 5H), 7.42 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.55 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.75 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  523.

(2*E*,4*Z*)-5-(6-エトキシピリジン-3-イル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35w)

フェニルホウ酸の代わりに、6-エトキシピリジン-3-イルホウ酸を用い、化合物 35m と同様な方法で化合物 35w を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.29-1.38 (m, 3H), 2.57-2.67 (m, 1H), 2.96-3.05 (m, 1H), 4.03-4.08 (m, 1H), 4.28-4.42 (m, 2H), 5.44-5.46 (m, 1H), 6.56-6.71 (m, 2H), 6.80-6.94 (m, 1H), 7.06-7.23 (m, 4H), 7.45-7.58 (m, 3H), 7.73-7.76 (m, 1H), 7.86-7.89 (m, 1H), 8.04-8.06 (m, 1H), 9.77 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  524.

(2*E*,4*E*)-5-(4-クロロフェニル)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35x)



4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、4-クロロフェニルホウ酸を用い、化合物 **35t** と同様な方法で化合物 **35x** を合成した。

mp: 122°C

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 1.36 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 2.61 (dd, *J* = 11.8, 15.9 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 6.4, 15.9 Hz, 1H), 4.06–4.13 (m, 1H), 4.09 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H), 5.44 (br s, 1H), 6.54 (d, *J* = 14.6 Hz, 1H), 6.68–6.71 (m, 1H), 6.96–7.12 (m, 7H), 7.16 (dd, *J* = 11.5, 14.6 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 9.67 (br s, 1H), 10.16 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 489.

Anal. Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·0.8H<sub>2</sub>O: C, 66.81; H, 5.33; N, 5.57. Found: C, 66.69; H, 5.26; N, 5.91.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-メチルフェニル)-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35y**)

4-(トリフルオロメチル)フェニルホウ酸の代わりに、4-トリルホウ酸を用い、化合物 **35t** と同様な方法で化合物 **35y** を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 1.36 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.61 (dd, *J* = 11.9, 15.9 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 6.3, 15.9 Hz, 1H), 4.02–4.13 (m, 1H), 4.09 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 5.42 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 6.67–6.70 (m, 1H), 6.88–7.23 (m, 12H), 9.62 (br s, 1H), 10.15 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 469.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩 (化合物 **35z**)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)<sup>26)</sup>の代わりに、5-アミノ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン-3-オール<sup>26)</sup>を用い、化合物 35t と同様な方法で化合物 35z を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 2.50–2.55 (m, 1H), 2.79–2.85 (m, 1H), 3.02–3.10 (m, 1H), 3.24–3.28 (m, 1H), 4.06–4.14 (m, 1H), 4.10 (q,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 6.59–6.72 (m, 2H), 7.02–7.24 (m, 8H), 7.53 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 9.55 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 509.

Anal. Calcd for C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·HCl·0.1H<sub>2</sub>O: C, 63.70; H, 5.20; N, 5.12. Found: C, 63.51; H, 4.87; N, 5.04.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(2-オキソ-1,2-ジヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35aa)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)<sup>26)</sup>の代わりに、5-アミノキノリン-2(1*H*)-オン<sup>26)</sup>を用い、化合物 35t と同様な方法で化合物 35aa を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 3H), 4.10 (q,  $J$  = 7.0 Hz, 2H), 6.51 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 6.67 (d,  $J$  = 14.6 Hz, 1H), 7.03–7.14 (m, 6H), 7.25 (dd,  $J$  = 11.7, 14.2 Hz, 1H), 7.38–7.48 (m, 2H), 7.54 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.74 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.98 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1H), 10.13 (br s, 1H), 11.79 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ : [M+H]<sup>+</sup> 505.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 35ab)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)<sup>26)</sup>の代わりに、5-アミノ-3,4-ジヒドロキノリン-2(1*H*)-オン<sup>26)</sup>を用い、化合物 35t と同様な方法で化合物 35ab を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.36 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 2.36–2.41 (m, 2H), 2.71–2.76 (m, 2H), 4.09 (q,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 6.57 (d,  $J$  = 14.3 Hz, 1H), 6.70 (dd,  $J$  = 2.0, 6.9 Hz, 1H), 7.02–7.24 (m, 8H), 7.53 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 9.68 (br s, 1H), 10.09 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  507.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(2-オキソ-2,3-ジヒドロ-4(1*H*)-インドリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35ac**)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(**70**)<sup>26)</sup>の代わりに、4-アミノインドリン-2-オン<sup>26)</sup>を用い、化合物 **35t** と同様な方法で化合物 **35ac** を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.37 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 3H), 3.42 (s, 2H), 4.10 (q,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 6.57 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H), 6.61–6.62 (m, 1H), 7.03–7.34 (m, 8H), 7.53 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.38 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  493.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-エトキシフェニル)-*N*-(3-オキソ-3,4-ジヒドロ-2*H*-ベンゾ[*b*][1,4]オキサジン-8イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 **35ad**)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(**70**)<sup>26)</sup>の代わりに、8-アミノ-2*H*-ベンゾ[*b*][1,4]オキサジン-3(4*H*)-オン<sup>26)</sup>を用い、化合物 **35t** と同様な方法で化合物 **35ad** を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.37 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 4.11 (q,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 6.46 (d,  $J$  = 14.6 Hz, 1H), 6.88 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.03–7.21 (m, 7H), 7.37 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 7.53 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 7.73 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H), 10.15 (br s, 1H), 10.77 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  509.

(2E,4Z)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-[1,3,2]ジオキサボロラン-2-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 36)

化合物 32a (167 mg, 0.479 mmol)、ビス(ピナコラト)ニホウ素 (147 mg, 0.579 mmol)、[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロパラジウム(II) (19.8 mg, 24.2 mmol)、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0) (699 mg, 0.764 mmol)と酢酸カリウム (141 mg, 1.44 mmol)を 1,4-ジオキサン (3.3 mL)に溶解し、100°Cで 4.5 時間攪拌した。放冷後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製することにより、標記化合物 36 (76.7 mg, 40%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 1.39 (s, 12H), 4.24 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 6.06 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 7.51-7.60 (m, 4H), 8.07 (dd, *J* = 11.7, 15.1 Hz, 1H).

(2E,4E)-5-(4-ホルミルフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 38)

4-フルオロフェニルホウ酸の代わりに、4-ホルミルフェニルホウ酸を用い、化合物 15a と同様な方法で化合物 38 を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 4.19 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.16 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 7.28 (dd, *J* = 3.7, 11.4 Hz, 1H), 7.34-7.41 (m, 4H), 7.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 10.09 (s, 1H).

(2E,4Z)-5-[4-(イソキノリン-5-イルイミノメチル)フェニル]-N-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 39)

化合物 15a から化合物 17a を合成したのと同様な方法で、化合物 38 より化合物 39 を合成した。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.87 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 7.28 (q,  $J = 13.5$  Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.47 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.57–7.81 (m, 7H), 7.93–8.04 (m, 3H), 8.12–8.15 (m, 2H), 8.23 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 8.55 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 8.57 (d,  $J = 2.9$  Hz, 1H), 8.86 (s, 1H), 9.34 (d,  $J = 9.7$  Hz, 2H), 10.34 (s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  599.

(2*E*,4*E*)-5-(4-ホルミルフェニル)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 40)

化合物 39 (321 mg, 0.536 mmol)に、THF (6.4 mL)と 1.0 mol/L 塩酸 (6.4 mL)を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 度抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル)で精製することにより、標記化合物 40 (154 mg, 61%)を得た。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 6.85 (d,  $J = 14.6$  Hz, 1H), 7.16 (dd,  $J = 11.5, 14.6$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 7.50 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.57 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.66 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.77 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.93–7.98 (m, 2H), 8.06 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.11 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 10.32 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  473.

(2*E*,4*E*)-*N*-(イソキノリン-5-イル)-5-[4-(モルホリン-4-イルメチル)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 41)

化合物 40 (61.8 mg, 0.131 mmol)をジクロロメタン (2.0 mL)に溶解し、モルホリン (54.7 mg, 0.628 mmol)とトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム (58.3 mg, 0.275 mmol)を加え、室温で 6.5 時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去

して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール=19:1)で精製し、ジエチルエーテルで再結晶することにより、標記化合物 **41** (28.9 mg, 41%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.41–2.42 (m, 4H), 3.55 (s, 2H), 3.60–3.62 (m, 4H), 6.81 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 7.19–7.29 (m, 4H), 7.45 (d,  $J = 7.9$  Hz, 2H), 7.56 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.66 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.75 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.93–7.99 (m, 2H), 8.11 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 8.55 (d,  $J = 6.1$  Hz, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.29 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  544.

(2*E*,4*Z*)-5-(6-クロロピリジン-3-イル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 **42a**)

4-フルオロフェニルホウ酸の代わりに、6-クロロピリジン-3-ホウ酸を用い、化合物 **15a** と同様な方法で化合物 **42a** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.29 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 4.21 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 6.17 (d,  $J = 15.1$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 7.25 (dd,  $J = 11.5, 15.1$  Hz, 1H), 7.36–7.52 (m, 4H), 7.61 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 8.26 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H).

(2*E*,4*Z*)-5-[6-(ピロリジン-1-イル)ピリジン-3-イル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 **43a**)

化合物 **42a** (150 mg, 0.393 mmol)、*N,N*-ジイソプロピルエチルアミン (0.200 mL, 1.15 mmol)とピロリジン (0.160 mL, 1.92 mmol)をDMF (3 mL)に溶解し、130°Cで1時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで3回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=5:1)で精製することにより、標記化合物 **43a** (93.7 mg, 57%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.28 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 2.03–2.08 (m, 4H), 3.50–3.55 (m, 4H), 4.17 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 6.08 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 6.39 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 6.68 (d,  $J =$

11.6 Hz, 1H), 7.22 (dd,  $J = 2.4, 9.7$  Hz, 1H), 7.43 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.48 (dd,  $J = 3.8, 15.3$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 8.02 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H).

(2*E*,4*Z*)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[6-(ピロリジン-1-イル)ピリジン-3-イル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩

(化合物 44a)

化合物 33m から化合物 35m を合成したのと同様な方法で、化合物 43a より化合物 44a を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.99–2.05 (m, 4H), 2.63 (dd,  $J = 12.0, 16.0$  Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J = 6.2, 16.0$  Hz, 1H), 3.60–3.62 (m, 4H), 4.03–4.09 (m, 1H), 6.71–6.75 (m, 2H), 7.03–7.29 (m, 5H), 7.63 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.72–7.79 (m, 3H), 7.87 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 9.93 (br s, 1H), 10.20 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  549.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\cdot\text{HCl}\cdot 1.7\text{H}_2\text{O}$ : C, 58.53; H, 5.14; N, 9.10. Found: C, 58.58; H, 4.95; N, 9.02.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[6-(ピペリジン-1-イル)ピリジン-3-イル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩

(化合物 44b)

ピロリジンの代わりに、ピペリジンを用い、化合物 44a と同様な方法で化合物 44b を合成した。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.58–1.60 (m, 6H), 2.57–2.67 (m, 1H), 2.97–3.06 (m, 1H), 3.60–3.62 (m, 4H), 4.02–4.07 (m, 1H), 5.45 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H), 6.61 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 6.69–6.72 (m, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1H), 7.11–7.13 (m, 2H), 7.23–7.32 (m, 2H), 7.57 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.75 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.95 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 9.73 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  563.

Anal. Calcd for  $C_{31}H_{29}F_3N_4O_3 \cdot HCl \cdot 1.3H_2O$ : C, 59.82; H, 5.28; N, 9.00. Found: C, 59.80; H, 5.18; N, 8.75.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[2-(ピペリジン-1-イル)ピリミジン-5-イル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩

(化合物 44c)

6-クロロピリジン-3-ホウ酸の代わりに、2-クロロピリミジン-5-ホウ酸を用い、化合物 44b と同様な方法で化合物 44c を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.57–1.64 (m, 6H), 2.64 (dd,  $J = 11.6, 15.8$  Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J = 6.0, 15.8$  Hz, 1H), 3.81–3.83 (m, 4H), 4.07 (dd,  $J = 6.0, 11.6$  Hz, 1H), 6.63–6.73 (m, 2H), 7.09–7.16 (m, 3H), 7.23 (dd,  $J = 11.5, 14.2$  Hz, 1H), 7.63 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.76 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 8.21 (s, 2H), 9.83 (br s, 1H), 10.19 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  564.

Anal. Calcd for  $C_{30}H_{28}F_3N_5O_3 \cdot HCl \cdot 0.8H_2O$ : C, 58.64; H, 5.02; N, 11.40. Found: C, 58.68; H, 4.88; N, 11.01.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-ヒドロキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 45)

フェニルホウ酸の代わりに、4-ヒドロキシフェニルホウ酸を用い、化合物 15a と同様な方法で化合物 45 を合成した。

$^1H$  NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  ppm): 1.29 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.21 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 5.70 (br s, 1H), 6.10 (d,  $J = 15.4$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 6.87 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.07 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.41 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.48 (dd,  $J = 11.5, 15.4$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H).



(2E,4Z)-5-(4-プロポキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 46a)

化合物 45 (205 mg, 0.566 mmol)、1-プロパノール (75.3 mg, 1.25 mmol)、トリフェニルホスフィン (306 mg, 1.17 mmol) とアゾジカルボン酸ジエチル (0.510 mL, 1.12 mmol) をトルエン (4.1 mL) に溶解し、室温で 13 時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=8:2) で精製することにより、標記化合物 46a (204 mg, 89%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.07 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.28 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.85 (sext,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.98 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 4.19 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 6.08 (dd,  $J = 0.7, 15.3$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H), 6.94 (dd,  $J = 2.8, 8.8$  Hz, 2H), 7.11 (d,  $J = 2.8, 8.8$  Hz, 2H), 7.41 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.46 (dd,  $J = 11.6, 15.3$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H).

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-プロポキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 47a)

化合物 33m から化合物 35m を合成したのと同様な方法で、化合物 46a より化合物 47a を合成した。

mp: 138°C

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.00 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.76 (sext,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.62 (dd,  $J = 11.9, 16.0$  Hz, 1H), 3.01 (dd,  $J = 6.2, 16.0$  Hz, 1H), 4.00 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 4.02-4.06 (m, 1H), 5.44 (br s, 1H), 6.60 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 6.69 (dd,  $J = 3.3, 5.6$  Hz, 1H), 7.03-7.19 (m, 8H), 7.53 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  537.

Anal. Calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$ : C, 67.16; H, 5.07; N, 5.22. Found: C, 66.95; H, 4.82; N, 5.36.

(2*E*,4*Z*)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-イソプロポキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 47b)

1-プロパノールの代わりに、2-プロパノールを用い、化合物 47a と同様な方法で化合物 47b を合成した。

mp: 138°C

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 1.31 (d, *J* = 6.0 Hz, 6H), 2.62 (dd, *J* = 12.0, 15.9 Hz, 1H), 3.02 (dd, *J* = 6.2, 15.9 Hz, 1H), 4.03-4.11 (m, 1H), 4.68 (sept, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.44 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 6.68-6.72 (m, 1H), 7.01-7.13 (m, 7H), 7.21 (dd, *J* = 11.6, 14.8 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 9.71 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 537.

Anal. Calcd for C<sub>30</sub>H<sub>27</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·0.7H<sub>2</sub>O: C, 65.61; H, 5.21; N, 5.10. Found: C, 65.53; H, 5.22; N, 5.04.

(2*E*,4*Z*)-*N*-[(3*R*)-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル]-5-(4-イソプロポキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物(*R*)-47b)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(70)の代わりに、化合物(*R*)-70 を用い、化合物 47b と同様な方法で化合物(*R*)-47b を合成した。

mp: 140°C

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 1.31 (d, *J* = 6.0 Hz, 6H), 2.62 (dd, *J* = 12.0, 15.9 Hz, 1H), 3.02 (dd, *J* = 6.2, 15.9 Hz, 1H), 4.03-4.11 (m, 1H), 4.68 (sept, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.44 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 6.68-6.72 (m, 1H), 7.01-7.13 (m, 7H), 7.21 (dd, *J* = 11.6, 14.8 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 9.71 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 537.

Anal. Calcd for  $C_{30}H_{27}F_3N_2O_4 \cdot 1.0H_2O$ : C, 64.97; H, 5.27; N, 5.05. Found: C, 64.82; H, 5.19; N, 4.85.

(2*E*,4*Z*)-*N*-[(3*S*)-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル]-5-(4-イソプロポキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物(*S*)-47b)

化合物(*R*)-70 の代わりに、化合物(*S*)-70 を用い、化合物(*R*)-47b と同様な方法で化合物(*S*)-47b を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.31 (d,  $J = 6.0$  Hz, 6H), 2.62 (dd,  $J = 12.0, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.4, 15.8$  Hz, 1H), 4.02–4.10 (m, 1H), 4.68 (sept,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 5.46 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 14.6$  Hz, 1H), 6.68–6.71 (m, 1H), 7.01–7.13 (m, 7H), 7.21 (dd,  $J = 11.4, 14.6$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 9.73 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  537.

Anal. Calcd for  $C_{30}H_{27}F_3N_2O_4 \cdot 0.5H_2O$ : C, 66.05; H, 5.17; N, 5.13. Found: C, 65.85; H, 5.07; N, 5.08.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-*tert*-ブトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 47c)

1-プロパノールの代わりに、*tert*-ブタノールを用い、化合物 47a と同様な方法で化合物 47c を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.37 (s, 9H), 2.62 (dd,  $J = 11.9, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.2, 15.9$  Hz, 1H), 4.03–4.09 (m, 1H), 5.44 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.61 (d,  $J = 14.0$  Hz, 1H), 6.70 (dd,  $J = 3.4, 5.5$  Hz, 1H), 7.07–7.24 (m, 8H), 7.54 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  551.

Anal. Calcd for  $C_{31}H_{29}F_3N_2O_4 \cdot 0.2H_2O$ : C, 67.19; H, 5.35; N, 5.06. Found: C, 66.99; H, 5.09; N, 5.12.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-シクロブトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 47d)

1-プロパノールの代わりに、シクロブタノールを用い、化合物 47a と同様な方法で化合物 47d を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.60–1.71 (m, 1H), 1.74–1.86 (m, 1H), 2.02–2.17 (m, 2H), 2.45–2.67 (m, 3H), 3.02 (dd,  $J = 6.3, 15.8$  Hz, 1H), 4.02–4.11 (m, 1H), 4.75 (quint,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 5.44 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 6.70 (dd,  $J = 3.1, 5.8$  Hz, 1H), 6.96 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.05–7.24 (m, 6H), 7.53 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  549.

(2*E*,4*Z*)-5-(4-シクロプロピルメトキシフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 47e)

1-プロパノールの代わりに、シクロプロピルメタノールを用い、化合物 47a と同様な方法で化合物 47e を合成した。

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ,  $\delta$  ppm): 0.32–0.38 (m, 2H), 0.56–0.62 (m, 2H), 1.23–1.28 (m, 1H), 2.62 (dd,  $J = 11.9, 16.0$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.3, 16.0$  Hz, 1H), 3.88 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 4.03–4.11 (m, 1H), 5.44 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 14.3$  Hz, 1H), 6.68–6.72 (m, 1H), 7.02–7.25 (m, 8H), 7.53 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[M+H]^+$  549.

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(テトラヒドロピラン-4-イルオキシ)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド

(化合物 47f)

1-プロパノールの代わりに、テトラヒドロ-2H-ピラン-4-オールを用い、化合物 47a と同様な方法で化合物 47f を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 1.56–1.69 (m, 2H), 1.99–2.05 (m, 2H), 2.62 (dd, *J* = 11.9, 15.9 Hz, 1H), 3.02 (dd, *J* = 6.3, 15.9 Hz, 1H), 3.47–3.54 (m, 2H), 3.87 (td, *J* = 4.6, 11.6 Hz, 2H), 4.02–4.11 (m, 1H), 4.61–4.70 (m, 1H), 5.44 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 6.70 (dd, *J* = 3.1, 6.1 Hz, 1H), 7.05–7.15 (m, 7H), 7.21 (dd, *J* = 11.6, 14.8 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 9.72 (br s, 1H), 10.17 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 579.

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-(4-イソプロポキシフェニル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド・一塩酸塩 (化合物 47g)

4-エトキシフェニルホウ酸の代わりに、4-イソプロポキシフェニルホウ酸を用い、化合物 35z と同様な方法で化合物 47g を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 1.31 (d, *J* = 6.1 Hz, 6H), 2.59 (dd, *J* = 5.4, 17.0 Hz, 1H), 2.87 (dd, *J* = 4.5, 17.0 Hz, 1H), 3.12 (dd, *J* = 6.6, 11.7 Hz, 1H), 3.26–3.30 (m, 1H), 4.15–4.17 (m, 1H), 4.68 (sept, *J* = 6.1 Hz, 1H), 6.65 (d, *J* = 14.6 Hz, 1H), 6.88–6.91 (m, 1H), 7.01–7.27 (m, 8H), 7.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 9.67 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 523.

Anal. Calcd for C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·HCl·0.9H<sub>2</sub>O: C, 62.64; H, 5.57; N, 4.87. Found: C, 62.62; H, 5.41; N, 4.78.

(2E,4Z)-5-(4-イソプロポキシフェニル)-N-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 47h)

4-エトキシフェニルホウ酸の代わりに、4-イソプロポキシフェニルホウ酸を用い、化合物 **35ab** と同様な方法で化合物 **47h** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.31 (d,  $J = 6.0$  Hz, 6H), 2.36–2.41 (m, 2H), 2.71–2.76 (m, 2H), 4.68 (sept,  $J = 6.0$  Hz, 1H), 6.57 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 6.70 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.01–7.13 (m, 7H), 7.20 (dd,  $J = 11.7, 14.7$  Hz, 1H), 7.54 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.70 (br s, 1H), 10.10 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  521.

#### 2-(4-ブロモフェノキシ)-1,3-ジアセトキシプロパン (化合物 **49**)

4-ブロモフェノール(**48**) (5.17 g, 29.9 mmol)、ジアセチン (7.96 g, 45.2 mmol)、トリフェニルホスフィン (11.8 g, 45.1 mmol) とアゾジカルボン酸ジエチル (20.0 mL, 44 mmol) をトルエン (100 mL) に溶解し、室温で 5.5 時間攪拌した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=7:3)で精製することにより、標記化合物 **49** (4.89 g, 49%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.07 (s, 6H), 4.28 (d,  $J = 4.3$  Hz, 4H), 5.23–5.27 (m, 1H), 6.88 (td,  $J = 2.9, 8.2$  Hz, 2H), 7.39 (td,  $J = 2.9, 8.2$  Hz, 2H).

#### 2-(4-ブロモフェノキシ)-1,3-ジヒドロキシプロパン (化合物 **50**)

化合物 **49** (4.89 g, 14.8 mmol) と水酸化リチウム・一水和物 (4.34 g, 104 mmol) をテトラヒドロフラン (118 mL)、メタノール (44 mL) と水 (44 mL) に溶解し、室温で 28 時間攪拌した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル)で精製することにより、標記化合物 **50** (2.32 g, 64%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 3.87–3.92 (m, 4H), 4.39 (quint,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 6.87 (td,  $J = 3.0, 8.1$  Hz, 2H), 7.39 (td,  $J = 3.0, 8.1$  Hz, 2H).

#### 2-(4-ブロモフェノキシ)-3-トシルオキシ-1-プロパノール (化合物 **51**)

化合物 **50** (2.62 g, 10.6 mmol) をテトラヒドロフラン (50 mL) に溶解し、水素化ナトリウム (60%) (448 mg, 11.2 mmol) とトシルクロリド (2.14 g, 11.2 mmol) を加えて、0°C で 10 分間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=1:1) で精製することにより、標記化合物 **51** (2.35 g, 55%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.45 (s, 3H), 4.11–4.24 (m, 4H), 4.45–4.54 (m, 1H), 6.74 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.28–7.35 (m, 4H), 7.72 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H).

### 3-(4-ブロモフェノキシ)オキセタン (化合物 52)

化合物 **51** (470 mg, 1.17 mmol) をテトラヒドロフラン (18.8 mL) に溶解し、水素化ナトリウム (60%) (56.3 mg, 1.41 mmol) を加えて、40°C で 23 時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル=7:3) で精製することにより、標記化合物 **52** (72.0 mg, 27%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 4.74 (dd,  $J = 5.2, 6.7$  Hz, 2H), 4.93–4.98 (m, 2H), 5.16 (quint,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 6.58 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.38 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H).

### (2E,4Z)-5-[4-(オキセタン-3-イルオキシ)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエン酸エチル (化合物 53)

化合物 **36** (424 mg, 1.07 mmol)、化合物 **52** (244 mg, 1.07 mmol)、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0) (186 mg, 0.161 mmol) と炭酸ナトリウム (232 mg, 2.19 mmol) をテトラヒドロフラン (5.3 mL) と水 (2.1 mL) に溶解し、70°C で 6 時間攪拌した。放冷後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロ

マトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=6:4)で精製することにより、標記化合物 **53** (246 mg, 55%) を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.28 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.19 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.80–4.84 (m, 2H), 4.98–5.03 (m, 2H), 5.26 (quint,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 6.09 (d,  $J = 15.2$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 6.76 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 7.12 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.39 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.41 (dd,  $J = 11.5, 15.2$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H).

(2E,4Z)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(オキセタン-3-イルオキシ)フェニル]-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 54)

化合物 **33m** から化合物 **35m** を合成したのと同様な方法で、化合物 **53** より化合物 **54** を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.60 (dd,  $J = 11.9, 15.9$  Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J = 6.3, 15.9$  Hz, 1H), 4.01–4.09 (m, 1H), 4.60 (dd,  $J = 5.5, 7.5$  Hz, 2H), 4.92–4.96 (m, 2H), 5.35 (quint,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 5.43 (d,  $J = 4.5$  Hz, 1H), 6.59 (d,  $J = 14.1$  Hz, 1H), 6.69 (dd,  $J = 2.6, 6.5$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.05–7.20 (m, 6H), 7.51 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.72 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 9.71 (br s, 1H), 10.16 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  551.

(2E,4Z)-5-(4-シアノメトキシフェニル)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[4-(トリフルオロメチル)フェニル]-2,4-ペンタジエナミド (化合物 57)

化合物 **35q** (110 mg, 0.222 mmol)、クロロアセトニトリル (0.0150 mL, 0.245 mmol) と炭酸カリウム (34.0 mg, 0.245 mmol) を DMF (2.0 mL) に溶解し、室温で 3 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:メタノール=5:1)で精製することにより、標記化合物 **57** (57.0 mg, 48%) を得た。



$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.62 (dd,  $J = 12.0, 15.9$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 6.2, 15.9$  Hz, 1H), 4.02–4.11 (m, 1H), 5.25 (s, 2H), 5.44 (d,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 6.60–6.72 (m, 2H), 7.09–7.26 (m, 8H), 7.54 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 9.73 (br s, 1H), 10.16 (br s, 1H).

ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  534.

#### 2-(ジメチルアミノ)-6-(トリフルオロメチル)ニコチン酸 (化合物 59a)

市販の 2-クロロ-6-(トリフルオロメチル)ニコチン酸(58)(506 mg, 2.24 mmol)をジメチルアミン(50%水溶液)(1.32 g, 14.7 mmol)に溶解し、室温で 25 時間攪拌した。反応混合物に 1.0 mol/L 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去することにより、標記化合物 59a(506 mg, 96%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 3.03 (s, 6H), 7.34 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 8.46 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H).

#### 2-(ジメチルアミノ)-*N*-メトキシ-*N*-メチル-6-(トリフルオロメチル)ニコチンアミド (化合物 60a)

化合物 59a(506 mg, 2.16 mmol)を DMF(10 mL)に溶解し、*N,O*-ジメチルヒドロキシルアミン・塩酸塩(436 mg, 4.47 mmol)、EDC 塩酸塩(842 mg, 4.39 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール・一水和物(663 mg, 4.33 mmol)とトリエチルアミン(440 mg, 4.35 mmol)を加え、室温で 14 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで 3 度抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=1:1)で精製することにより、標記化合物 60a(581 mg, 97%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 3.08 (s, 6H), 3.30 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 6.92 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.56 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H).

#### 2-(ジメチルアミノ)-3-(4-フルオロベンゾイル)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン (化合物 61a)

化合物 **60a** (581 mg, 2.10 mmol) を THF (12 mL) に溶解し、1.00 mol/L 臭化 4-フルオロフェニルマグネシウム-THF 溶液 (10.0 mL, 10.0 mmol) を加え、室温で 29 時間攪拌した。反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製することにより、標記化合物 **61a** (479 mg, 73%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.95 (s, 6H), 6.97 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.14–7.20 (m, 2H), 7.65 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.87–7.92 (m, 2H).

(E)-3-[2-(ジメチルアミノ)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-3-(4-フルオロフェニル)アクリル酸エチル (化合物 **62a**)

化合物 **61a** (479 mg, 1.54 mmol) とホスホノ酢酸トリエチル (3.00 mL, 15.1 mmol) をトルエン (20 mL) に溶解し、水素化ナトリウム (60%) (623 mg, 15.6 mmol) を加え、100°C で 5 日間攪拌した。放冷後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=9:1)で精製することにより、標記化合物 **62a** (125 mg, 21%) を得た。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 1.15 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 2.88 (s, 6H), 4.11 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 6.36 (s, 1H), 7.01–7.06 (m, 3H), 7.24–7.35 (m, 3H).

(E)-3-[2-(ジメチルアミノ)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-3-(4-フルオロフェニル)-2-プロペン-1-オール (化合物 **63a**)

化合物 **62a** (174 mg, 0.456 mmol) を THF (3.4 mL) に溶解し、-78°C で水素化ジイソブチルアルミニウム-THF 溶液 (6.0 mL, 5.94 mmol) を加え、0°C で 7.5 時間攪拌した。反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマ

トグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=7:3)で精製することにより、標記化合物 **63a**(121 mg, 78%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.90 (s, 6H), 4.05–4.09 (m, 2H), 6.36 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 6.99–7.10 (m, 3H), 7.25–7.38 (m, 3H).

(E)-3-[2-(ジメチルアミノ)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-3-(4-フルオロフェニル)-プロペナール (化合物 **64a**)

化合物 **63a**(121 mg, 0.355 mmol)をジクロロメタン(2.4 mL)に溶解し、二酸化マンガン(573 mg, 6.59 mmol)を加え、室温で6時間攪拌した。反応混合物をろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=7:3)で精製することにより、標記化合物 **64a**(102 mg, 85%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.89 (s, 6H), 6.57 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.07–7.13 (m, 3H), 7.25–7.45 (m, 3H), 9.62 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H).

(2E,4E)-5-[2-(ジメチルアミノ)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-5-(4-フルオロフェニル)-2,4-ペンタジエン酸メチル (化合物 **65a**)

化合物 **64a**(102 mg, 0.301 mmol)をジクロロメタン(2.0 mL)に溶解し、(トリフェニルホスホルアニリデン)酢酸メチル(129 mg, 0.389 mmol)を加え、室温で24時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=8:2)で精製することにより、標記化合物 **65a**(110 mg, 92%)を得た。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm): 2.84 (s, 6H), 3.73 (s, 3H), 6.09 (d,  $J = 15.2$  Hz, 1H), 6.79 (d,  $J = 11.5$  Hz, 1H), 6.99–7.40 (m, 7H).

(2E,4E)-5-[2-(ジメチルアミノ)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-5-(4-フルオロフェニル)-N-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-2,4-ペンタジエナミド

(化合物 66a)

化合物 33m から化合物 35m を合成したのと同様な方法で、化合物 65a より化合物 66a を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 2.57–2.66 (m, 1H), 2.97–3.04 (m, 1H), 3.33 (s, 6H), 4.04–4.08 (m, 1H), 5.45 (d,  $J = 4.2$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1H), 6.68–6.71 (m, 1H), 7.04–7.16 (m, 4H), 7.20–7.29 (m, 4H), 7.35–7.40 (m, 2H), 9.76 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).  
ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  541.

(2*E*,4*E*)-5-(4-フルオロフェニル)-*N*-(3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-5-キノリル)-5-[2-(ピペリジン-1-イル)-6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル]-2,4-ペンタジエナミド

(化合物 66b)

ジメチルアミンの代わりに、ピペリジンを用い、化合物 66a と同様な方法で化合物 66b を合成した。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$  ppm): 1.21–1.38 (m, 6H), 2.57–2.73 (m, 1H), 2.99–3.05 (m, 1H), 3.17–3.22 (m, 4H), 4.02–4.08 (m, 1H), 5.45–5.46 (m, 1H), 6.59–6.64 (m, 1H), 6.69–6.71 (m, 1H), 7.10–7.47 (m, 9H), 7.58 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 9.76 (br s, 1H), 10.18 (br s, 1H).  
ESIMS  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{H}]^+$  581.

(3*R*)-5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン (化合物(*R*)-70)

(工程 1)(Table 5, Run 6)

5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン(**70**)<sup>26)</sup>(499 mg, 2.80 mmol)と *L*-(+)-酒石酸(420 mg, 2.80 mmol)をメタノール(50 mL)中に加え、70°Cで1時間攪拌することにより完全に溶解させた。溶媒を減圧留去した後、メタノール(32 mL)を加え、70°Cで1時間攪拌した。ジエチルエーテル(15 mL)を加えて、室温で終夜攪拌後、得られた結晶をろ過することにより、標記化合物(*R*)-70・0.5 酒石酸塩(90%ee)(115 mg, 16%)を得た。

(工程 2)(Table 5, Run 7)

化合物(*R*)-70・0.5 酒石酸塩(90%ee)(178 mg, 0.703 mmol)をメタノール(8.9 mL)中に加え、70°Cで1時間攪拌することに完全に溶解させた。ジエチルエーテル(3.6 mL)を加えて、室温で終夜攪拌後、ろ過することにより得られた結晶を(クロロホルム:2-プロパノール=4:1)溶液に溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。ろ過後、溶媒を減圧留去し、標記化合物(*R*)-70 (99%ee)(25.8 mg, 27%)を得た。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 2.41 (dd, *J* = 12.2, 15.5 Hz, 1H), 3.00 (dd, *J* = 6.8, 15.5 Hz, 1H), 4.05 (dd, *J* = 6.8, 12.2 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 5.28 (s, 1H), 6.09 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.80 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 9.88 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 179.

(3*S*)-5-アミノ-3-ヒドロキシ-2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロキノリン (化合物(*S*)-70)

*L*-(+)-酒石酸の代わりに、*D*-(-)-酒石酸を用い、化合物(*R*)-70と同様な方法で化合物(*S*)-70 (99.9%ee)を合成した。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ ppm): 2.41 (dd, *J* = 12.4, 15.5 Hz, 1H), 3.00 (dd, *J* = 6.8, 15.5 Hz, 1H), 4.01-4.09 (m, 1H), 5.03 (s, 2H), 5.29 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 6.09 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.26 (dd, *J* = 0.9, 7.9 Hz, 1H), 6.80 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 9.88 (br s, 1H).

ESIMS *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> 179.

## 参考文献

1. (a) Cesare, P.; McNaughton, P. A novel heat-activated current in nociceptive neurons and its sensitization by bradykinin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 15435-15439.

(b) Reichling, D. B.; Levine, J. D. Heat transduction in rat sensory neurons by calcium-dependent activation of a cation channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1997**, *94*, 7006-7011.
2. Caterina, M. J.; Schumacher, M. A.; Tominaga, M.; Rosen, T. A.; Levine, J. D.; Julius, D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* **1997**, *389*, 816-824.
3. Jancsó, G.; Kiraly, E.; Jancsó-G, A. Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurones. *Nature* **1977**, *270*, 741-743.
4. (a) Tominaga, M.; Wada, M.; Masu, M. Potentiation of capsaicin receptor activity by metabotropic ATP receptors as a possible mechanism for ATP-evoked pain and hyperalgesia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 6951-6956.

(b) Sugiura, T.; Tominaga, M.; Katsuya, H.; Mizumura, K. Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of vanilloid receptor 1. *J. Neurophysiology* **2002**, *88*, 544-548.

(c) Numazaki, M.; Tominaga, T.; Toyooka, H.; Tominaga, M. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR 1 by protein kinase Cepsilon and identification of two target serine residues. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 13375-13378.
5. Davis, J. B.; Gray, J.; Gunthorpe, M. J.; Hatcher, J. P.; Davey, P. T.; Overend, P.; Harries, M. H.; Latcham, J.; Clapham, C.; Atkinson, K.; Hughes, S. A.; Rance, K.; Grau, E.; Harper, A. J.; Pugh, P. L.; Rogers, D. C.; Bingham, S.; Randall, A.; Sheardown, S. A. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal

- hyperalgesia. *Nature* **2000**, *405*, 183–187.
6. (a) Szallasi, A.; Cortright, D. N.; Blum, C. A.; Eid, S. R. The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. *Nat. Rev. Drug Disc.* **2007**, *6*, 357–372.
- (b) Szallasi, A.; Appendino, G. Vanilloid Receptor TRPV1 Antagonists as the Next Generation of Painkillers. Are We Putting the Cart before the Horse? *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2717–2723.
7. Zhang, Z. Y.; Wong, Y. N. Enzyme kinetics for clinically relevant CYP inhibition. *Curr. Drug. Metabol.* **2005**, *6*, 241–257.
8. (a) Al-Gailany, K. A.; Houston, J. B.; Bridges, J. W. The role of substrate lipophilicity in determining type 1 microsomal P450 binding characteristics. *Biochem. Pharmacol.* **1978**, *27*, 783–788.
- (b) Lewis, D. F.; Dickins, V. M. Baseline lipophilicity relationships in human cytochromes P450 associated with drug metabolism. *Drug Metab. Rev.* **2003**, *35*, 1–18.
- (c) Lewis, D. F.; Lake, B. G.; Ito, Y.; Anzenbacher, P. Quantitative Structure–Activity Relationships (QSARs) within Cytochromes P450 2B (CYP2B) Subfamily Enzymes: the Importance of Lipophilicity for Binding and Metabolism. *Drug Metab. Drug Interact.* **2006**, *21*, 213–232.
9. Wahl, P.; Toged, C.; Soren, T.; Thomsen, C. Iodo-resiniferatoxin, a new potent vanilloid receptor antagonist. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *59*, 9–15.
10. (a) Jordt, S. E.; Julius, D. Molecular basis for species-specific sensitivity to ‘hot’ chili peppers. *Cell* **2002**, *108*, 421–430.
- (b) Johnson, D. M.; Garrett, E. M.; Rutter, R.; Bonnert, T. P.; Gao, Y.-D.; Middleton, R. E.; Sutton, K. G. Functional mapping of the transient receptor potential vanilloid 1 intracellular binding site. *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 1005–1012.

11. (a) McDonnell, M. E.; Zhang, S. P.; Nasser, N.; Dubin, A. E.; Dax, S. L. 7-Hydroxynaphthalen-1-yl-urea and -amide antagonists of human vanilloid receptor 1. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 531–534.
- (b) Yura, T.; Mogi, M.; Ikegami, Y.; Masuda, T.; Kokubo, T.; Urbahns, K.; Lowinger, T.; Yoshida, N.; Freitag, J.; Meier, H.; Wittka-Nopper, B.; Marumo, M.; Shiroo, M.; Tajimi, M.; Takeshita, K.; Moriwaki, T.; Tsukimi, Y. Amine Derivatives. WO 03014064A1, 2003.
- (c) Gomtsyan, A.; Bayburt, E. K.; Schmidt, R. G.; Zheng, G. Z.; Perner, R. J.; Didomenico, S.; Koenig, J. R.; Turner, S.; Jinkerson, T.; Drizin, I.; Hannick, S. M.; Macri, B. S.; McDonald, H. A.; Honore, P.; Wismer, C. T.; Marsh, K. C.; Wetter, J.; Stewart, K. D.; Oie, T.; Jarvis, M. F.; Surowy, C. S.; Faltynek, C. R.; Lee, C.-H. Novel Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Receptor Antagonists for the Treatment of Pain: Structure–Activity Relationships for Ureas with Quinoline, Isoquinoline, Quinazoline, Phthalazine, Quinoxaline, and Cinnoline Moieties. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 744–752.
12. Wang, S. A Modified Suzuki Reaction of 1,1-Dibromo-1-alkenes. *Synlett* **2000**, *5*, 737–739.
13. (a) Bo, Y. Y.; Chakrabarti, P. P.; Chen, N.; Doherty, E. M.; Fotsch, C. H.; Han, N.; Kelly, M. G.; Liu, Q.; Norman, M. H.; Wang, X.; Zhu, J. Vanilloid Receptor Ligands and Their Use in Treatments. WO 03049702A2, 2003.
- (b) Piers, E.; Wong, T.; Coish, P. D.; Rogers, C. A Convenient Procedure for the Efficient Preparation of Alkyl (*Z*)-3-Iodo-2-alkenoates. *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 1816–1819.
14. (a) Roy, M.; Dumaine, R.; Brown, A. M. HERG, a primary human ventricular target of the nonsedating antihistamine terfenadine. *Circulation* **1996**, *94*, 817–823.



- (b) Zhou, Z.; Gong, Q.; Ye, B.; Fan, Z.; Makielski, J. C.; Robertson, G. A.; January, C. T. Properties of HERG channels stably expressed in HEK 293 cells studied at physiological temperature. *Biophys. J.* **1998**, *74*, 230–241.
15. (a) Bouchon, A.; Diedrichs, N.; Hermann, A.; Lustig, K.; Meier, H.; Pernerstorfer, J.; Reissmueller, E.; Mogi, M.; Fujishima, H.; Tajimi, M.; Yamamoto, N. Preparation of 1,2,3,4-tetrahydroquinolinyurea derivatives as vanilloid receptor antagonists. WO 2005044802A2, 2005.
- (b) Masubuchi, K.; Taniguchi, M.; Umeda, I.; Hattori, K.; Suda, H.; Kohchi, Y.; Isshiki, Y.; Sakai, T.; Kohchi, M.; Shirai, M.; Okabe, H.; Sudoh, M.; Yamazaki, T.; Shimma, N.; Synthesis and structure–activity relationships of novel fungal chitin synthase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1459–1462.
16. (a) Baum, K.; Berkowitz, P. T.; Grakauskas, V.; Archibald, T. G. Synthesis of Electron–Deficient Oxetanes. 3–Azidooxetane, 3–Nitrooxetane, and 3,3–Dinitrooxetane. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2953–2956.
- (b) Turner, J. A.; Weimer, M. R.; Jackson, J. L. 1–alkyl–4–benzoyl–5–hydroxypyrazole compounds and their use as herbicides. US6140271 A1, 2000.
- (c) Ryono, D. E.; Cheng, P. T. W.; Chen, S.; Meng, W.; Zhang, H.; Sulsky, R. B.; Tino, J. A.; Shi, Y.; Bolton, S. A. NOVEL GLUCOKINASE ACTIVATORS AND METHODS OF USING SAME. US2008/9465 A1, 2008.
17. Pretlow, L.; Williams, R.; Elliott, M. *Chirality* **2003**, *15*, 674–679.
18. Doherty, E. M.; Fotsch, C.; Bo, Y.; Chakrabarti, P. P.; Chen, N.; Gavva, N.; Han, N.; Kelly, M. G.; Kincaid, J.; Klionsky, L.; Liu, Q.; Ognyanov, V. I.; Tamir, R.; Wang, X.; Zhu, J.; Norman, M. H.; Treanor, J. J. Discovery of potent, orally available vanilloid receptor–1 antagonists. Structure–activity relationship of N–aryl cinnamides. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 71–90.

19. Pacifici, G. M.; Franchi, M.; Bencini, C.; Repetti, F.; Di Lascio, N.; Muraro, G. B. Tissue distribution of drug-metabolizing enzymes in humans. *Xenobiotica*. **1988**, *18*, 849-856.
20. Davies, B.; Morris, T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm. Res.* **1993**, *10*, 1093-1095.
21. 金尾義治. 残余法によるパラメータの求め方. : 後藤茂、金尾義治編. 薬学生のための生物薬剤学. 第2版. 東京: 廣川書店; 1992. p. 245-47.
22. 金尾義治. モーメント解析法. : 後藤茂、金尾義治編. 薬学生のための生物薬剤学. 第2版. 東京: 廣川書店; 1992. p. 328-39.
23. Chaplan, S. R.; Bach, F. W.; Pogre, J. W.; Chung, J. M.; Yaksh, T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J. Neurosci. Methods*. **1994**, *53*, 55-63.
24. Oda, Y.; Yamazaki, H.; Watanabe, M.; Nohmi, T.; Shimada, T. Development of high sensitive umu test system: rapid detection of genotoxicity of promutagenic aromatic amines by *Salmonella typhimurium* strain NM2009 possessing high *O*-acetyltransferase activity. *Mutation Research* **1995**, *334*, 145-156.
25. Murata, M.; Oyama, T.; Watanabe, S.; Masuda, Y. Synthesis of Alkenylboronates via Palladium-catalyzed Borylation of Alkenyl Triflates (or Iodides) with Pinacolborane. *Synthesis* **2000**, *6*, 778.
26. Bouchon, A.; Diedrichs, N.; Lustig, K.; Pernerstorfer, J.; Mogi, M.; Tajimi, M.; Yamamoto, N.; Fujishima, H.; Reissmueller, E.; Meier, H.; Hermann, A. TETRAHYDRO-QUINOLINYLUREA DERIVATIVES. WO2005/44802 A2, 2005.

## 謝辞

本研究をまとめるにあたり、ご指導ご鞭撻を賜りました東京大学大学院薬学系研究科 金井求教授に深く感謝の意を表します。

本論文執筆にあたり、細部に渡り貴重なご助言ご校閲を頂きました東京大学大学院薬学系研究科 大和田智彦教授、井上将行教授、関水久教授、花岡健二郎准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、直接の上司としてご指導ご鞭撻を賜りました協和発酵キリン株式会社創薬化学研究所主任研究員 中里宜資氏に深く感謝致します。また、本研究を行うに当たってご助言およびご協力頂いた創薬化学研究所主任研究員 石田広志博士、本社研究企画部 渥美恵理氏、バイオ医薬研究所主任研究員 杉本義幸氏、探索研究所 小平浩史博士、加藤由充氏、白倉史郎博士、合成技術研究所 齋藤敏一博士、第一ファインケミカル株式会社代表取締役社長 大島悦男博士に厚く御礼申し上げます。

本研究の機会を与え、終始支援していただいた協和発酵キリン株式会社、第一ファインケミカル株式会社の皆様に感謝致します。

研究者としての研究の進め方や考え方についてご指導頂きました Nanyang Technological University 奈良坂紘一教授に心から感謝致します。

末筆ながら著者の研究活動に理解を示し協力してくれた 妻 志保 と 長女 奏美 に感謝致します。