

オレキシン2受容体選択的作動薬の設計と合成
ナルコレプシー患者の治療を目指して

東レ株式会社

永原 崇志

目次

1. 序論	1
2. 本論	
(1) オレキシン 2 受容体選択的作動薬の設計と合成およびその in vitro 評価結果	9
(2) マウス睡眠・覚醒試験における薬理作用	23
(3) オレキシン 2 受容体選択的作動薬の活性発現についての予測	26
3. 総括	30
4. 実験の部	32
引用文献	96
文献目録	101
謝辞	103

略語表

本文中の略語は以下に示す一覧に従う。

BBB: blood-brain barrier

Bn: benzyl

Boc: *tert*-butoxycarbonyl

BOP: (benzotriazol-1-yloxy)-tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate

CHO: chinese hamster ovary

DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene

DKO: double knock-out

DME: 1,2-dimethoxyethane

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMF: *N,N*-dimethylformamide

dppf: 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene

EEG: electroencephalograph

EMG: electromyography

GABA: 4-aminobutanoic acid

HEK: human embryonic kidney

HPLC: high performance liquid chromatography

HRMS: high resolution mass spectrometry

HTS: high-throughput screening

ICV: intracerebroventricular

IP₃: inositol 1,4,5-trisphosphate

IR: infrared absorption spectrometry

LC: locus coeruleus

LC-MS: liquid chromatography - mass spectrometry

LDT: laterodorsal tegmental nucleus

LHA: lateral hypothalamic area

MM-GBSA: molecular mechanics - generalized Born surface area

Mp: melting point

mRNA: messenger ribonucleic acid

NFAT: nuclear factor of activated T-cells

NMR: nuclear magnetic resonance

NREM: non rapid eye movement

OXA: orexin A

OXB: orexin B

OX1R: orexin receptor 1

OX2R: orexin receptor 2

PKC: protein kinase C

PLC: phospholipase C

PMB: *p*-methoxybenzyl

POP: proof of principle

PPT: pedunculo pontine tegmental nucleus

Raphe: raphe nucleus

REM: rapid eye movement

RMSDs: root mean square deviations

SOREMP: sleep onset REM period

TBAI: *n*-tetrabutylammonium iodide

TFA: trifluoroacetic acid

TLC: thin-layer chromatography

TM: transmembrane helix

TMN: tuberomammillary nucleus

VTA: ventral tegmental area

UV: ultraviolet

ZT: zeitgeber time

1. 序論

オレキシン (orexin) は視床下部外側野およびその周辺領域に特異的に発現する2種の内因性神経ペプチドであり、orexin-A (OXA) および orexin-B (OXB) がある¹⁾ (図1)。これらは1998年に柳沢らにより発見されたが、同時期に de Lecea らが視床下部特異的に発現する mRNA を同定し、それにコードされる2つの神経ペプチド (ヒポクレチン1およびヒポクレチン2) を推定した^{2),3)}。その後、オレキシンとヒポクレチンは同一の神経ペプチドであることが判明し、現在、同一の分子を示す名称として用いられている。

オレキシンは共通の前駆体であるプロプレオレキシンから生成され、2種のGタンパク質共役受容体であるオレキシン1受容体 (OX1R) とオレキシン2受容体 (OX2R) に結合する。OX1R は G_q に特異的に共役しており、OX2R は G_q および $G_{i/o}$ に共役している。OXA は33個のアミノ酸からなる2対のジスルフィド架橋を有するペプチドであり、OX1R と OX2R に対する親和性はほぼ同等である。一方で、OXB は28個のアミノ酸からなる直線型のペプチドであり、OX1R より10倍程高い OX2R 親和性を持つ。

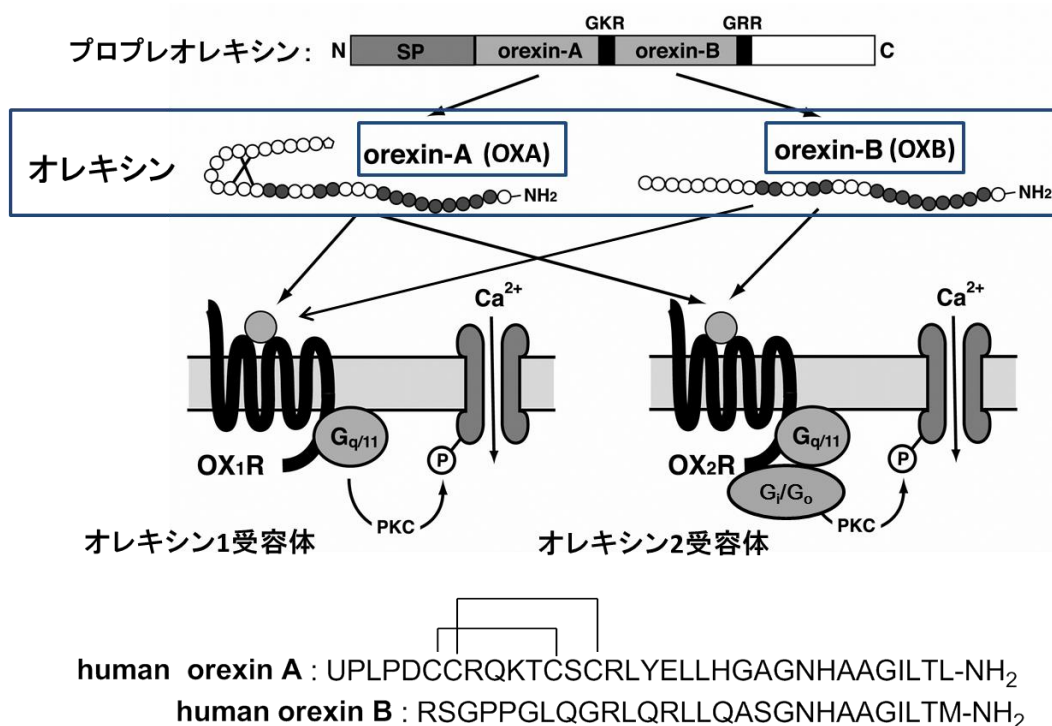
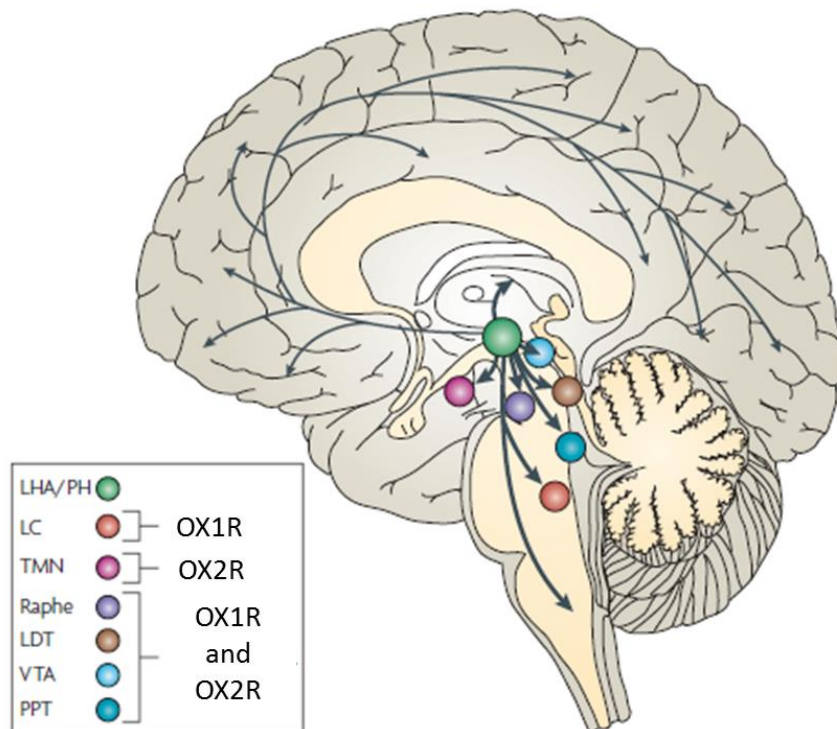


図1 オレキシンとオレキシン受容体の関係図



LHA (lateral hypothalamic area, 視床下部外側野)
 LC (locus coeruleus, 青斑核)
 TMN (tuberomammillary nucleus, 結節乳頭体核)
 Raphe (raphe nucleus, 縫線核)
 LDT (laterodorsal tegmental nucleus, 外背側被蓋核)
 VTA (ventral tegmental area, 腹側被蓋野)
 PPT (pedunculopontine tegmental nucleus, 脚橋被蓋核)

図2 オレキシン産生神経系の投射経路⁴⁾

オレキシンは視床下部外側野 (lateral hypothalamic area, LHA) にある神経細胞に特異的に発現し、小脳を除く中枢神経全域に投射され、睡眠・覚醒サイクルおよび摂食行動を制御することが判明している⁵⁾ (図2)。オレキシンは視床下部では摂食行動の制御に関わる弓状核および腹内側核等に密に投射される。一方、視床下部外ではモノアミン作動性神経系の起始核である青斑核 (locus coeruleus, LC)、縫線核 (raphe nucleus, Raphe) および結節乳頭体核 (tuberomammillary nucleus, TMN)、アセチルコリン作動性神経の起始核である外背側被蓋核 (laterodorsal tegmental nucleus, LDT) および脚橋被蓋核 (pedunculopontine tegmental nucleus, PPT) に密に投射される。OX1R はノルアドレナリン作動性神経の起始核である青斑核、OX2R はヒスタミン作動性神経の起始核で

ある結節乳頭体核に強く発現している。セロトニン作動性神経の起始核である縫線核、およびドーパミン作動性神経の起始核である腹側被蓋野 (vental tegmental area, VTA) には OX1R および OX2R の両方が発現している。

電気生理学的実験 (in vitro 試験) において、オレキシンがオレキシン受容体 (OX1R および OX2R) を介し、ノルアドレナリン作動性神経、ヒスタミン作動性神経、ドーパミン作動性神経およびセロトニン作動性神経を強く活性化することが示されている⁶⁾⁻⁸⁾。青斑核のノルアドレナリン作動性神経、縫線核のセロトニン作動性神経および結節乳頭体核のヒスタミン作動性神経は覚醒時に強く活性化し、ノンレム (NREM) 睡眠時に弱まり、さらにレム (REM) 睡眠時には活動がほぼ停止する。これらの3つの核は視床および大脳皮質に投射し、覚醒の維持に関わる。これらのことから、オレキシン産生神経は3つの神経に対し、興奮性の影響を与えることが推察されている。また、外背側被蓋核および脚橋被蓋核においても覚醒に関係する神経が局在する。これら2つの核は覚醒時およびREM睡眠時に活性化されるものとREM睡眠時にのみ活性化されるものが存在し、REM睡眠の制御に関与する。オレキシン産生神経はアセチルコリン作動性神経 (外背側被蓋核および脚橋被蓋核) に対し、興奮性の影響を与えると共に、GABA を介した抑制性の影響を与え、複雑な制御を行っている⁹⁾。

オレキシンには動物の脳室内投与により、摂食量の増加¹⁾、覚醒時間の延長⁶⁾、自発運動量の亢進⁸⁾、常同行動の亢進⁸⁾、飲水量の増加¹⁰⁾、交感神経の活性化を介した肝での糖産生および骨格筋の糖取込みの調節¹¹⁾⁻¹⁴⁾等の薬理作用が認められている。

オレキシンに関しては、多くの製薬企業や研究機関がオレキシン受容体拮抗性を有する低分子化合物の研究を進めている¹⁵⁾⁻¹⁷⁾。既に、強力な OX1R 選択的拮抗薬、OX2R 選択的拮抗薬および OX1R / OX2R dual 拮抗薬が複数見出されている。これらの化合物の中で、OX2R 選択的、OX1R / OX2R dual 拮抗薬が覚醒レベルを抑制し、睡眠を誘起することで主に不眠症治療薬として医薬開発が進められている。なお、OX1R 選択的拮抗薬は睡眠には直接的な関与は認められていない¹⁸⁾。世界中で研究開発された拮抗薬の中で、代表的な化合物を図3に示す。OX1R / OX2R dual 拮抗薬である Almorexant は安全性の問題のため、Phase III で開発中止となった¹⁹⁾。一方、OX1R / OX2R dual 拮抗薬である Suvorexant は2014年8月に不眠症治療薬(中途覚醒および入眠障害に有効)として承認された²⁰⁾。E2006 も OX1R / OX2R dual 拮抗薬であるが、不眠症治療薬の開発を目指し、2015年に Phase III に進階している²¹⁾。これらの拮抗薬の研究からも、オレキシン系はヒトの睡眠・覚醒を制御することが実証されたこととなった。

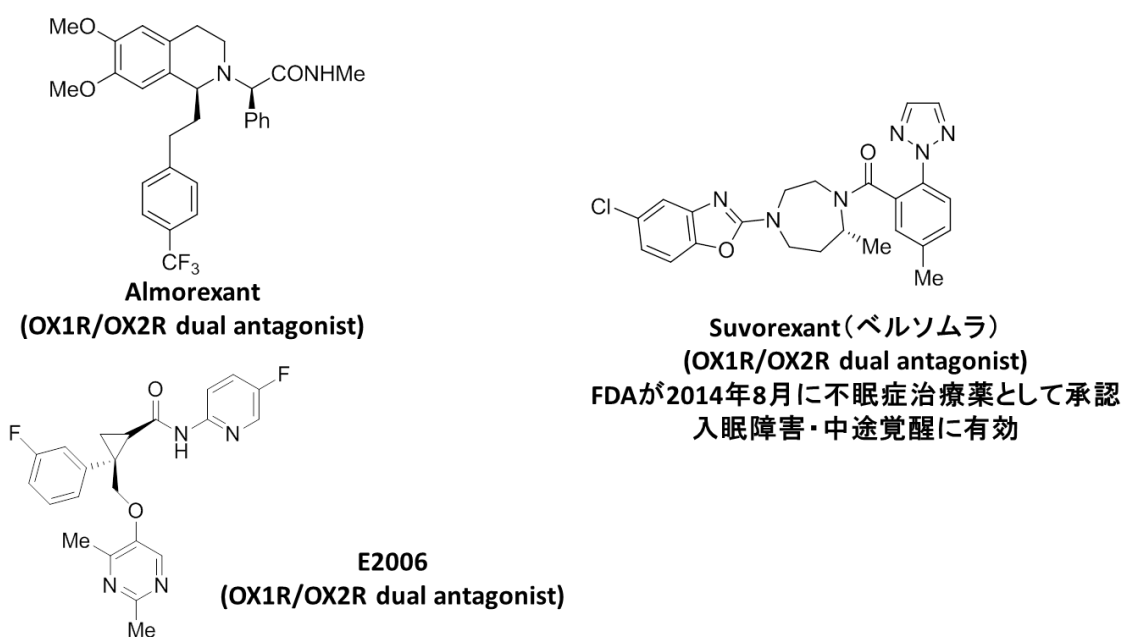


図3 代表的なオレキシン受容体拮抗薬の構造

一方、オレキシンの作動性についても、オレキシンを用いた研究が盛んに行われており、オレキシンとナルコレプシーに強い関係性があることが明らかとなっている。

ナルコレプシーは日中、繰り返し出現する発作的な尋常ならざる眠気と居眠りを特徴とする慢性の過眠疾患である^{22), 23)} (図 5)。その眠気とは通常の人が3日間全く眠らなかった場合に襲われるものと同程度であると言われる。居眠りはほとんどの場合、10~20分程度であり、1日3回以上、多い場合は10回程度繰り返す。罹患者は通常考えられないような場所および状況、すなわち、運転や運動、試験中などにおいて、突然の眠気(睡眠発作)により眠ってしまう。ナルコレプシーの有病率は米国で2000人に1人、日本では600~1000人に1人程度であり、決して希少な疾患ではない。

<p>ナルコレプシーとは</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 日中、どんな場所や状況でも尋常ならざる眠気に襲われ、眠ってしまう病気 • ナルコレプシーの有病率は0.05~0.2%(1000人に一人程度)
<p>ナルコレプシーの症状</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 日中の耐え難い眠気・睡眠発作 • レム睡眠関連性疾患(SOREMPの発現)およびカタプレキシー • 入眠時幻覚(鮮明な悪夢を見る) • 入眠時における麻痺(金縛り)
<p>ナルコレプシーの治療法</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 医師による生活指導: 眠気水準を正常範囲まで低減不可 • 薬物療法: 眠気の抑制やカタプレキシーをコントロール • 使用される薬剤: 中枢神経刺激薬(モダフィニル、メチルフェニデート、ペモリン)

図 4 ナルコレプシーの特徴およびその治療法

ナルコレプシーの特徴的な症状は、睡眠・覚醒サイクル(覚醒、NREM睡眠、REM睡眠)を適切にコントロールできないことに起因し、睡眠・覚醒の断片化、覚醒相から直接REM睡眠に移る現象(SOREMP(sleep-onset REM period))の発現である(図5)。この特徴に従い、日中の耐え難い眠気および睡眠発作、カタプレキシー(情動性脱力発作)、入眠時幻覚および入眠時における麻痺(睡眠麻痺)を引き起こす。カタプレキシーは強い情動変化(驚き、怒り、笑い、喜び等)を引き金とし、突発的な骨格筋の筋緊張の消失が起こる症状である。これは本来REM睡眠中にのみ起こる強力な錘体路における抑制が覚醒中に生じるREM睡眠解離現象であると推察されている。入眠時幻覚では睡眠開始時に悪夢

を伴う鮮明な夢を見る。多くの場合、自覚的には目覚めていると感じ、幻視や幻聴を現実と思い込む。入眠時における麻痺は金縛り現象であり、これも REM 睡眠解離現象の一つであると考えられている。

ナルコレプシーの治療法は医師による生活指導および薬物療法がある。医師による生活指導法では、眠気を正常レベルまで軽減させることは困難である。一方、薬物療法は眠気およびカタプレキシーを中枢神経刺激薬により抑制する対症療法である²⁴⁾。

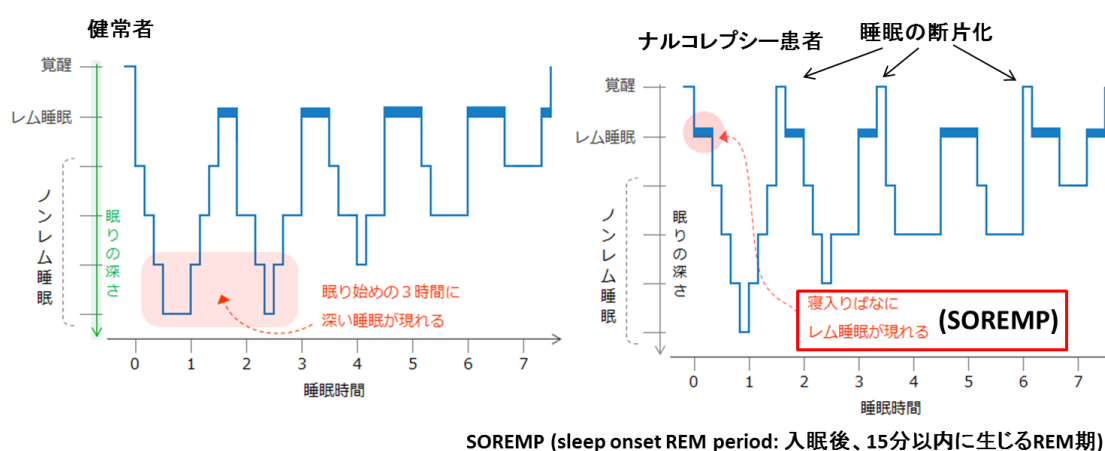


図5 健常者とナルコレプシー患者のヒプノグラム²⁵⁾

ナルコレプシーとオレキシンの関係はヒト、イヌおよびげっ歯類の研究から明らかとなっている。遺伝性ナルコレプシーのイヌは OX2R 遺伝子の欠落が認められている²⁶⁾。プレプロオレキシン欠損マウスおよび OX1R / OX2R 欠損マウスでは重度のナルコレプシー症状 (重度のカタプレキシーおよび睡眠・覚醒の分断化、SOREMP 発現) が発現する²⁷⁾(図6)。OX1R 欠損マウスでは睡眠・覚醒の分断化は軽度であったが、OX2R 欠損マウスでは、カタプレキシーが頻回認められ、睡眠・覚醒の分断化が中等度生じる²⁸⁾。これらのことから、OX1R より OX2R シグナル伝達がナルコレプシーと高い関係性があると考えられる。

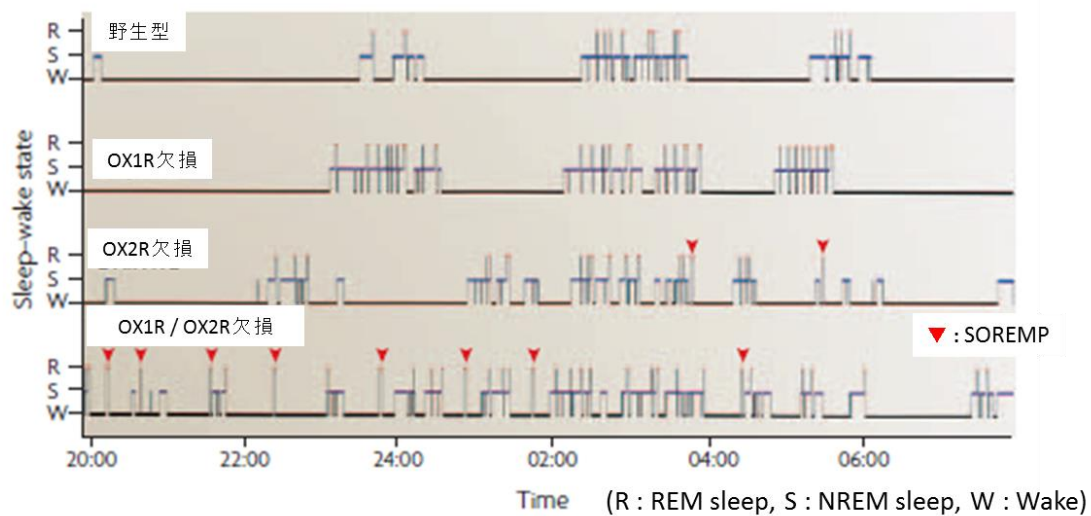


図6 オレキシン受容体欠損マウスの暗期におけるヒプノグラム²⁹⁾

一方、ナルコレプシー患者の90%以上に髄液中のオレキシン濃度の低下が認められている^{30), 31)}。オレキシンの欠乏は視床下部におけるオレキシン産生神経の著しい低下が原因である^{32), 33)}。そして、この現象は自己免疫システムによる後天的なオレキシン神経の破壊によるものと考えられている³⁴⁾。これらの知見から、ヒトのナルコレプシーはオレキシンの欠乏に起因することが示唆される。さらに、オレキシンシグナルの補充がナルコレプシーの治療に効果的である可能性も示唆されている³⁴⁾⁻³⁶⁾。実際にオレキシンの脳室内投与により、マウスのナルコレプシーフェノタイプにおいて、症状を改善した報告がある。このことから、オレキシン補充がナルコレプシー改善に効果があるといったPOP (proof of principle) が確立されている。

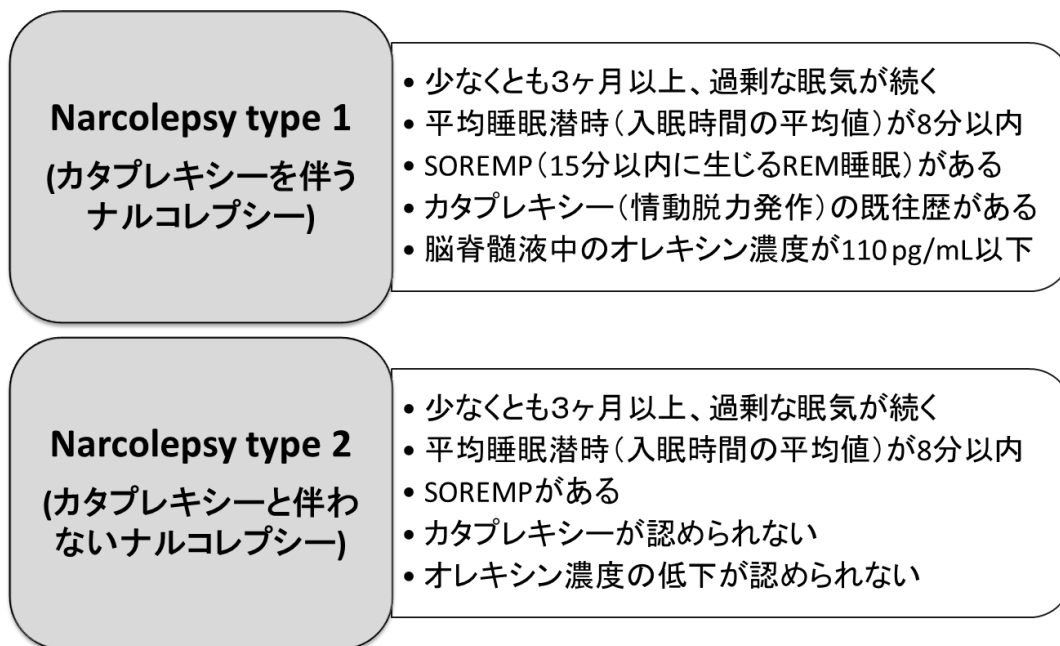


図7 ナルコレプシーの分類および診断方法

ナルコレプシーには2つのタイプが存在する^{22), 23)}。すなわち、カタプレキシーを伴い、髄液中のオレキシン濃度の低下が見られるナルコレプシータイプ1、およびカタプレキシーを伴わず、オレキシン濃度の低下が見られないナルコレプシータイプ2である(図7)。ナルコレプシータイプ2の患者においても、罹患後、カタプレキシーおよびオレキシン濃度低下が認められ、ナルコレプシータイプ1になる場合もあるが、上記のヒト、イヌおよびマウスの知見から、オレキシン補充が有効であると想定されるものはナルコレプシータイプ1である。

以上のことから、ナルコレプシータイプ1の治療にはオレキシンが有効と思われるが、オレキシンはペプチドであるため、血液脳関門(blood-brain barrier, BBB)の透過性が著しく低いため、医薬として用いることは困難である^{37), 38)}。そのため、BBBの透過を期待できるオレキシン受容体(特にOX2R)作動性を有する低分子化合物が望まれる。以上を踏まえ、本論ではOX2R作動性を有する低分子化合物の創出を目的とし、その合成、設計および薬理作用について述べる。

2. 本論

(1) オレキシン 2 受容体選択的作動薬の設計と合成およびその *in vitro* 評価結果

共同研究を行っている柳沢研究室 (筑波大学 WPI III-S) ではヒトオレキシン受容体を発現させた CHO 細胞に対し、化合物の High-Throughput Screening (HTS) を行っている。この HTS システムでは、Ca アッセイと NFAT アッセイの両方で化合物の作動性を評価した (図 8)。

化合物がオレキシン受容体と結合することで受容体と共役する G タンパクサブユニットが特異的なエフェクターを介し、IP₃ 濃度上昇や Ca²⁺ 流入を引き起こすことにより、細胞内の Ca²⁺ 濃度が上昇する。この細胞内シグナル現象を Ca アッセイで評価する。さらに、この細胞内シグナル現象が種々の転写因子を活性化し、転写因子応答配列を有するレポーター遺伝子 (Luciferase) の発現を誘導する。この発現量を NFAT アッセイで評価する。

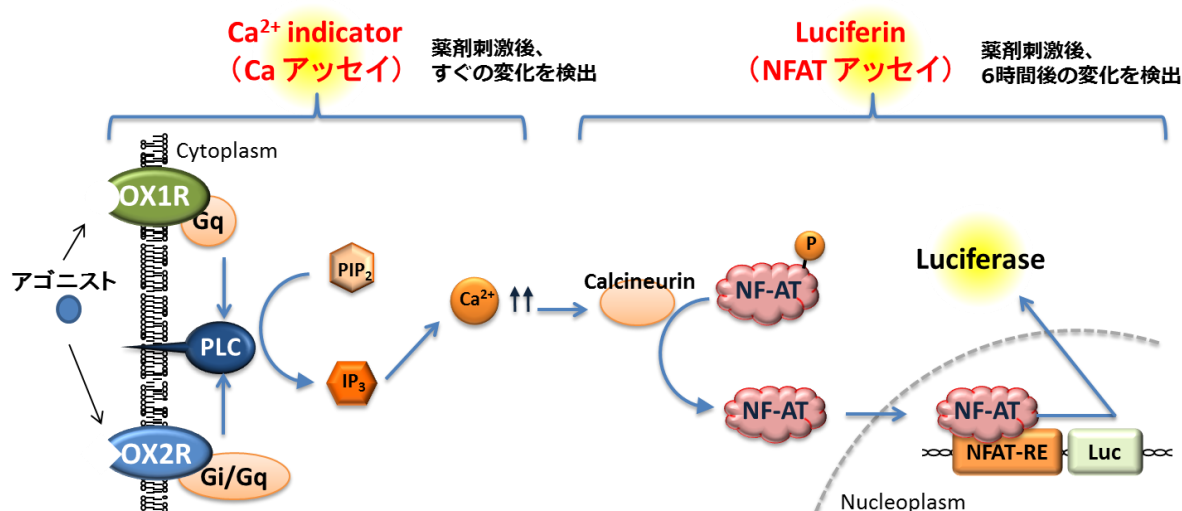


図 8 *In vitro* 評価システム

オレキシンの *in vitro* アッセイでは、Ca アッセイおよび NFAT アッセイの双方で活性が認められる。このことから、目標とするオレキシン受容体 (特に OX2R) 作動性を有する低分子化合物の創出においても、両方のアッセイで活性が発現することが非常に重要となる。

これまでに 25 万化合物の HTS を実施し、4 つのヒット化合物が見出された。オレキシン受容体拮抗薬の中で、構造的特徴としてスルホンアミドを持つ化合物群があることから、4 つのヒット化合物の中で、特にスルホンアミドを有するヒット化合物 **1** に着目した³⁹⁾ (図 9)。拮抗薬と作動薬が同じ結合部位で受容体と相互作用すれば、両者は共通の鍵官能基や構造を持つ場合があるためである。さらに、オレキシン受容体拮抗薬の一つの構造的特徴であるカルボキシアミド基では、カルボニル基と窒素原子が共役し、平面構造をとりやすいのに対し、スルホンアミド基はスルホニル基と窒素間での回転自由度が高いため、受容体内のファーマコフォアと相互作用する確率が高いと推定し、ヒット率が上がることを期待したためでもある。

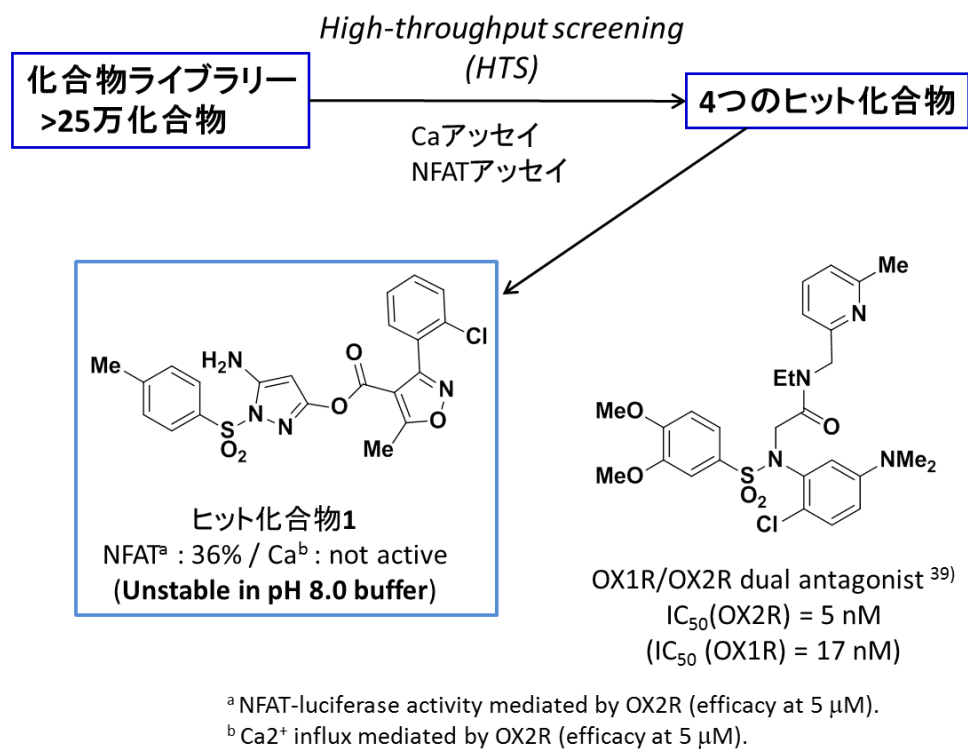


図 9 ヒット化合物 **1** とスルホンアミドを有するオレキシン受容体拮抗薬の構造

ヒット化合物 **1** は NFAT アッセイで 5 μM で 36%の活性を持つが、Ca アッセイでは活性が認められていなかった。さらに、エステルが弱い塩基性条件下

(pH = 8) 、速やかに加水分解を受けるため、血中における安定性に難点があると予想される。そのため、ヒット化合物 **1** を誘導化する際、エステルをより安定な官能基に変換し、さらに Ca アッセイと NFAT アッセイの両方で活性を向上させる必要がある。これらの点を踏まえ、ヒット化合物 **1** の側鎖変換、芳香環上の置換基検討、およびエステル基の変換を行った。しかしながら、種々の微細な変換では活性を向上させることはできなかった。

そのため、構造の大幅な変換を行うことを目的に、化合物設計の指針を立てた。オレキシン受容体拮抗薬は多くの研究機関や製薬企業で探索研究が進められ、既に多くの強力な拮抗性を有する低分子化合物が見出されている。そのため、弱いながらも作動性を有する化合物がすでに見出されている可能性を考え、文献および特許を調査した。しかし、調査時点において、作動性を有する低分子化合物に関する情報を見出すことはできなかった。

一方、作動性を有するペプチドのオレキシン受容体についての構造活性相関に関する文献はいくつかの報告がある⁴⁰⁾。その中で、OXA および OXB のアミノ酸配列置換研究により、赤字で示すアミノ酸が作動性に重要であることが示唆されている^{40(a)} (図 10)。そして、その 2 次元的視点から、この重要なアミノ酸配列は「横に広がっている」と見なすことができる。従って、オレキシン受容体と相互作用する「横の長さ」、すなわち相互作用する範囲が広いことが作動性の発現の鍵の一つとなるという仮説を立てた。

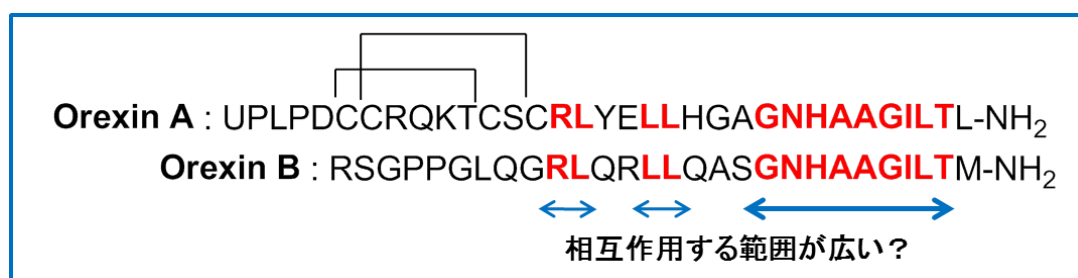


図 10 オレキシンのアミノ酸配列置換研究による示唆された重要なアミノ酸

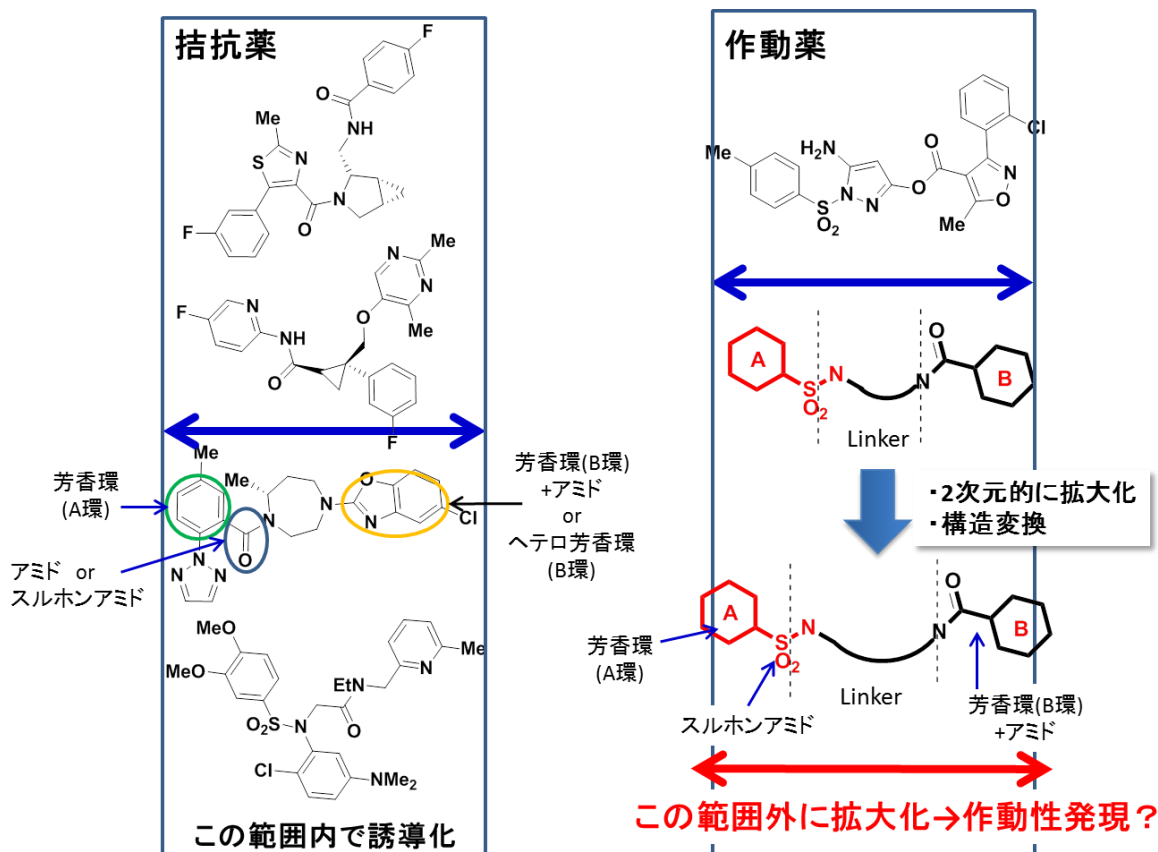


図 11 オレキシン拮抗薬の構造範囲とその構造範囲の拡大による
作動薬の設計

この仮説を基にオレキシン受容体拮抗薬の2次元的な横の長さを調べた結果、多く場合、図 11 の矢印の範囲内に納まる。従って、この範囲より広い長さを持つ化合物を設計する方針を立てた。

オレキシン受容体拮抗薬が有する特徴的なファーマコフォアは①芳香環 (A環)、②A環と結合するアミドあるいはスルホンアミド、③アミドと結合する芳香環あるいはヘテロ芳香環である。拮抗薬と作動薬がオレキシン受容体の同じ相互作用部位に結合すると仮定し、作動薬の設計においても、拮抗薬のファーマコフォアを活用することとした。すなわち、スルホン基と結合する芳香環 (A環)、スルホンアミド、およびアミドと結合する芳香環 (B環) を基本構造とした。次に、この基本構造の中心部にあるリンカーを様々なサイズおよび構造に変換することにより作動性の発現を期待した。

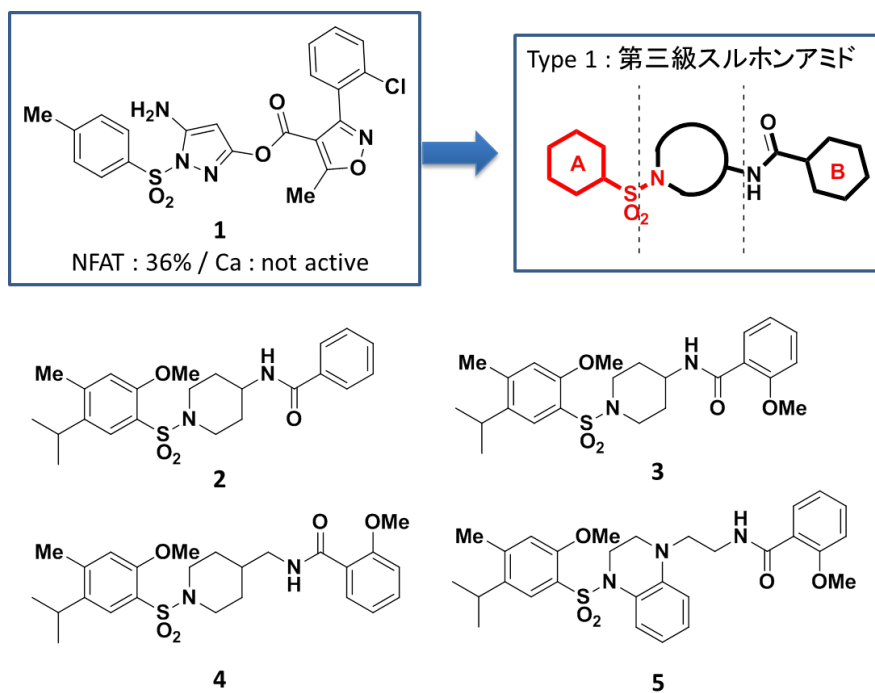


図 12 合成した代表的な第三級スルホンアミド誘導体の構造

まず、スルホンアミド基の置換パターンとして、種々の第三級スルホンアミド誘導体を合成した。中心部の環構造のサイズやリンカーの長さを変えた化合物を合成したが、活性が認められなかった (図 12)。

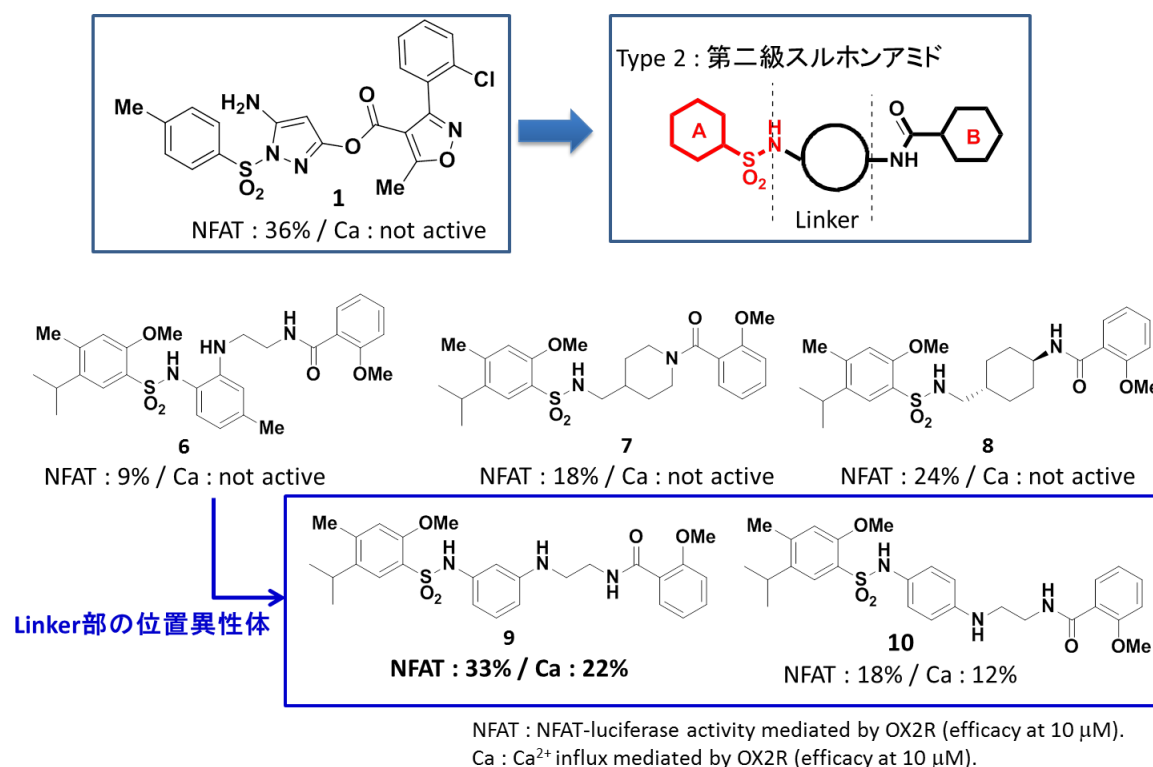


図 13 合成した代表的な第二級スルホンアミド誘導体の構造

次に、スルホンアミド基の窒素上の水素が受容体との水素結合に関与すると推定し、第二級スルホンアミド誘導体を合成した。その結果、推定を裏づけるように NFAT アッセイで第二級スルホンアミド **6-8** に活性が認められた (図 13)。そこで、これらの化合物を種々変換したところ、**6** のフェニレンジアミン部分構造の位置異性体である **9** および **10** で活性の向上が見られた。興味深いことにこれらの化合物は NFAT、および Ca アッセイの両方で活性が発現した。さらに、塩基性条件下 (pH = 9) においても安定であった。そのため、最も活性が高かった *m*-フェニレンジアミン誘導体 **9** の構造を変換し、さらなる活性向上を目指すこととした。その際に、B 環の置換基は **9** と同様、2-メトキシ基に固定して構造変換を実施した。

表 1 化合物 9 の R¹ 探索研究

compd	R ¹	NFAT assay ^{a, b, c}		Ca assay ^{a, b, c}	
		Efficacy (%) at 1 μM	Efficacy (%) at 10 μM	Efficacy (%) at 1 μM	Efficacy (%) at 10 μM
9	<i>i</i> -Pr	<5	33	<5	22
11	H	<5	<5	<5	<5
12		9	41	15	48
13		13	38	21	57
14		15	29	16	41
15		16	30	44	73
16		56	68	78	104
			(EC ₅₀ =0.800μM, E _{max} =54%) ^{a, d}		
17		11	36	<5	18

^a All values are averages of n = 3. ^b % response of 1 μM of test compound relative to OXA.

^c % response of 10 μM of test compound relative to OXA. ^d The value is the average of n = 5. OXA EC₅₀(OX2R) = 1.0 nM. E_{max} expressed as a percentage of OXA maximum.

構造変換の結果を表 1 に示す。合成法の簡便化のため、9 の A 環上のメチル基を除去し、まず R¹ 部分を変換することとした。また、このアッセイでは 1 μM および 10 μM の化合物濃度で活性を調べ、化合物の陽性/偽陽性を判別することとした。まず、イソプロピル基を除去した化合物 11 を合成したが、活性が消失した。ベンゼン環を導入した化合物 12 では、NFAT および Ca アッセイで活性が向上したため、以後はこのビフェニル構造に注力し、まずはそのベンゼン環の 2'位に置換基を導入した化合物 13-15 を合成した。置換基として、クロロ

基を導入した場合、活性に変化はなかったが、フルオロ基およびメトキシ基を導入した場合、Ca アッセイで活性が向上した。次に、**R¹** のベンゼン環上でのメトキシ基の最適な位置を探索したところ (化合物 **15-17**)、3'位に導入した化合物 **16** が、最も高い活性を持つことが明らかとなった ($EC_{50} = 0.800 \mu\text{M}$, $E_{\text{max}} = 54\%$)。これらの検討結果から、**R¹** に芳香環を導入した誘導体 **12-17** では、NFAT および Ca アッセイの両方で活性が見られるようになった。中でも、電子供与性基であるメトキシ基の 3'-位置異性体が最も高い活性を示した。このメトキシ基は水素結合受容基として作用しているものと考えられる。さらに、未報告ではあるが、共同研究を行っている柳沢・入鹿山らによる電気生理学的実験において、OXA と同様に、**18** ($EC_{50} = 2.5 \mu\text{M}$, $E_{\text{max}} = 25\%$) によるヒスタミン神経細胞の発火現象を確認している (**18** は表 1 の **R¹** 探索研究の過程で得た **14** の類縁体である) (図 14)。この実験事実は、見出したスルホンアミド誘導体を基本構造として活性を向上させた場合、オレキシンと同様に神経細胞が活性化されると予想できる。このような神経細胞の活性化により、動物試験においてもオレキシンと同等の薬理作用を示すことが期待できる。以上の結果から、後述の探索研究において、*in vitro* 試験の効率化のために、まず短時間で評価可能な Ca アッセイを最初に実施し、次に活性が高い化合物について、NFAT アッセイを行い、活性を確認することとした。

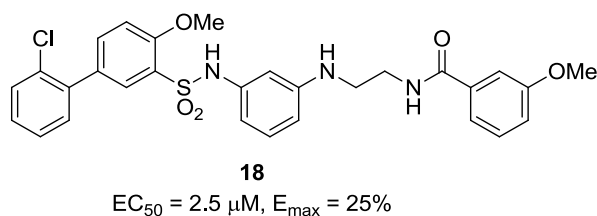


図 14 化合物 **14** の類縁体であるスルホンアミド誘導体 **18** の構造

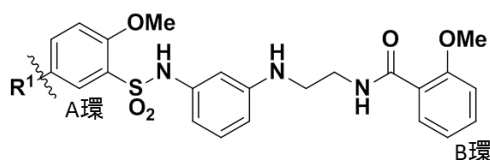
表 2 R^1 の構造活性相関研究 (水素結合受容基の導入)

compd	R^1	Ca assay ^a		compd	R^1	Ca assay ^a	
		EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%) ^b			EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%) ^b
16		0.800	54	22		0.182	98
19		> 10	47 ^c	23		0.050	74
20		> 1.0	73 ^c	24		0.268	88
21		> 10	49 ^c	25		> 10	34 ^c
				26		> 1.0	52 ^c

^a All values are averages of n = 5. ^b E_{max} expressed as a percentage of OXA maximum. ^c % response of 10 μM of test compound relative to OXA (EC₅₀(OX2R) = 1.0 nM).

表 1 の検討結果から、 R^1 に導入した芳香環の 3'位の置換基の中で水素結合受容基として考えられるメトキシ基を有する化合物が最も活性が高かったため、3'位に様々な水素結合受容基を導入することとした (表 2)。フルオロ、アミノおよびメトキシカルボニル基を導入した場合 (化合物 **19-21**)、potency が低下した。カルバモイル基を導入した場合 (**22**, EC₅₀ = 0.182 μM, E_{max} = 98% および **23**, EC₅₀ = 0.050 μM, E_{max} = 74%)、potency が飛躍的に向上し、さらに efficacy も向上した。中でも第二級アミド基に比べ第三級アミド基の場合、最も高い potency を示した。芳香環の 3'位に孤立電子対を有する **24** (EC₅₀ = 0.268 μM, E_{max} = 88%) は、**16** (EC₅₀ = 0.800 μM, E_{max} = 54%) と比較し、potency が向上したが、カルバモイル基を導入した **22** および **23** には及ばなかった。**23** のジメチルカルバモイル基の置換位置を 2'および 4'位に変えた場合 (化合物 **25** および **26**)、potency が大きく低下した。これらのことから、次に 3'位に種々の第三級カルバモイル基の導入を検討することとした。

表3 3'位への第三級アミド基の導入による活性向上検討結果 ～カルバモイル基の検討～

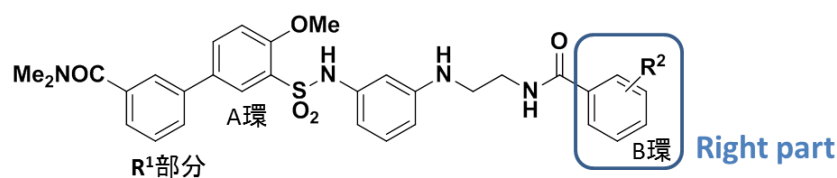


compd	R ¹	Ca assay ^a		compd	R ¹	Ca assay ^a	
		EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%) ^b			EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%) ^b
23		0.050	74	29		> 1.0	91 ^c
27		0.235	85	30		> 1.0	98 ^c
28		0.077	87	31		> 1.0	82 ^c

^a All values are averages of n = 5. ^b E_{max} expressed as a percentage of OXA maximum. ^c % response of 10 μM of test compound relative to OXA (EC₅₀(OX2R) = 1.0 nM).

ジメチルアミド以外の第三級アミドの導入を検討した結果を表3に示す。アゼチジン、ピロリジンおよびピペリジンアミドを導入した場合(化合物27-29)、いずれにおいても potency が低下した。ジメチルアミドのメチル基をかさ高い *tert*-ブチル基に変換した30およびメトキシエチル基に変えた31は、いずれも potency が低下した。これらの結果から、ジメチルアミド周辺のかさ高さは potency の低下を招くことが示された。そのため、R¹部分を3'-(ジメチルカルバモイル)フェニル基(23)に固定し、次に、芳香環(B環)の置換基の検討を行うこととした。

表 4 芳香環 (B 環) の置換基検討



Ca assay ^a

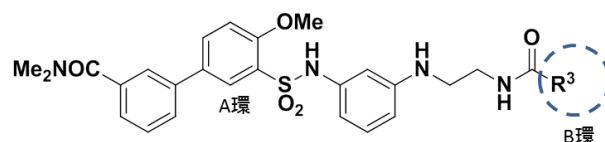
compd	R ²	OX2R		OX1R		selectivity
		EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%)	OX1R/OX2R ^e
32	H	> 10	ND ^b	NT ^c	NT ^c	NC ^d
23	2-OMe	0.050	74	5.227	46	105
33	3-OMe	0.033	54	9.248	49	280
34	4-OMe	1.047	94	NT ^c	NT ^c	NC ^d
35	2-Me	0.800	85	NT ^c	NT ^c	NC ^d
36	3-Me	0.023	98	1.616	100	70
37	2-Cl	0.031	90	6.134	50	198
38	3-Cl	0.094	78	5.720	73	60

(36の結合親和性: OX2R; K_i = 0.14 μM, OX1R; K_i = 0.77 μM)

^a The value is the average of n = 5. OXA EC₅₀(OX1R) = 1.5 nM. EC₅₀(OX2R) = 1.0 nM. E_{max} expressed as a percentage of OXA maximum. ^b ND = not detected. ^c NT = not tested. ^d NC = not calculated. ^e EC₅₀(OX1R) / EC₅₀(OX2R).

B 環上の置換基検討の結果を表 4 に示す。B 環上のメトキシ基を除去した場合 (化合物 **32**)、活性がまったく消失した。メトキシ基を B 環の 3 位に導入した場合 (**33**, EC₅₀ = 0.033 μM, E_{max} = 54%)、2 位にメトキシ基のある場合と potency はほぼ同等であったが、4 位に導入した場合 (**34**, EC₅₀ = 1.047 μM, E_{max} = 94%)、potency が大きく低下した。そこで、B 環の 2 および 3 位の置換基が作動性発現に重要と考え、2 位および 3 位にメチル基、あるいはクロロ基を導入した (化合物 **35-38**)。その結果、3 位にメチル基を導入した **36** (EC₅₀ = 0.023 μM, E_{max} = 98%) が最も高い potency、かつ完全作動性を持つことがわかった。次に、OX1R に対する OX2R への選択性を評価したところ、70 倍の OX2R 選択性があった。結合親和性は OX2R について K_i = 0.14 μM、OX1R について K_i = 0.77 μM であった。**36** は世界初の高い OX2R 選択的完全作動性を示す低分子化合物となった。しかし、**36** は難水溶性であるため、in vivo 試験 (マウス睡眠・覚醒試験) の実施が不可能であった。そこで、**36** と同等の活性を持ち、さらに水溶性が向上した化合物を得る検討を行った。

表 5 水溶性向上を目指した B 環の変換



compd	R ³	Ca assay ^a		compd	R ³	Ca assay ^a	
		EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%) ^b			EC ₅₀ (μM)	E _{max} (%) ^b
36		0.023	98	42		> 1.0	91 ^c
39		> 1.0	85 ^c	43		0.100	91
40 (YNT-185)		0.028	94	44		0.360	87
41		0.144	87	45		> 1.0	88 ^c

^a All values are averages of n = 5. ^b E_{max} expressed as a percentage of OXA maximum. ^c % response of 10 μM of test compound relative to OXA (EC₅₀(OX2R) = 1.0 nM).

水溶性向上のため、塩形成可能な官能基を導入することを試みた。候補官能基として B 環上にアミノ基を導入、またはベンゼン環をピリジン環に変換した (表 5)。B 環上の 3 位にジメチルアミノ基を導入した場合 (39) には、potency が低下したが、2 位に導入した場合 (40, EC₅₀ = 0.028 μM, E_{max} = 94%, OX1R / OX2R = 98) は、potency と efficacy 共に 36 と同等の活性を持つことが明らかとなった。40 (YNT-185) は二塩酸塩化することで、36 と比較し、水溶性が格段に向上しており、in vivo 試験の実施が可能となった。一方、ピリジン環を導入した化合物 (41-45) は、いずれの化合物においても、potency が低下した。そのため、YNT-185 を用い、in vivo 試験を行った。その結果は「2. (2) 節」で記述する。

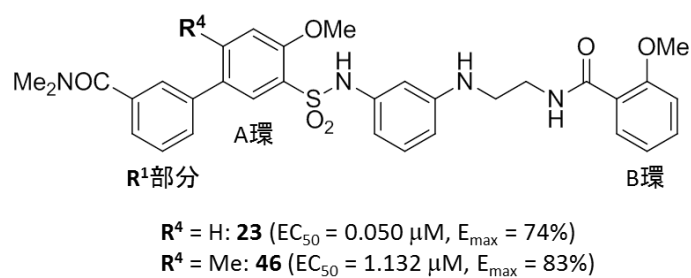


図 15 A 環上のメチル基の効果

最後に、リード化合物 **9** を誘導化する際、合成法の簡便化のため、除去した A 環上のメチル基の効果調べるために、**23** の A 環にメチル基を導入した化合物を合成した (**46**, $EC_{50} = 1.132 \mu M$, $E_{max} = 83\%$)。その結果、potency が大きく低下した。このことから、ヒット化合物 (**6-8, 10**) やリード化合物 **9** を取得する時点においては活性に対する影響が少なかったが、 R^1 部分に芳香環を導入した場合、 R^4 のメチル基が A 環と R^1 の芳香環の立体配座に影響を与えることで活性を低下させる可能性が示唆される。

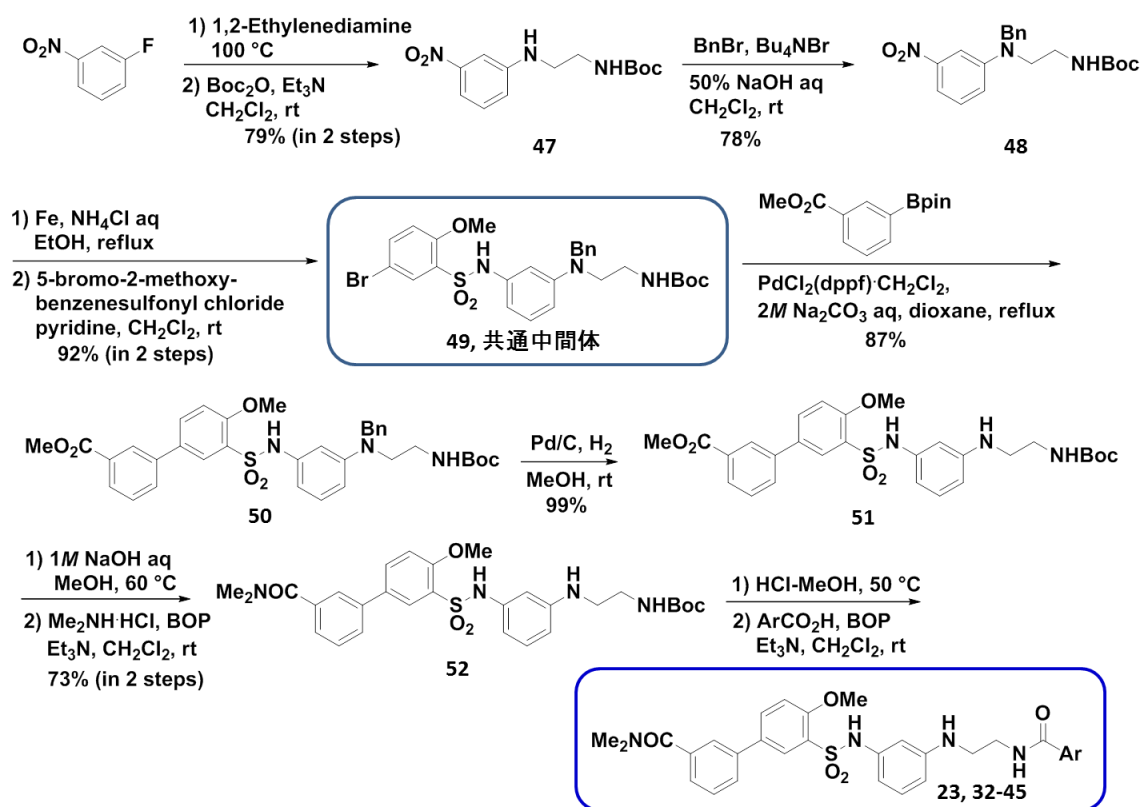


図 15 OX2R 選択的作動薬 (スルホンアミド誘導体) の合成ルート

これまでに合成した OX2R 選択的作動薬 (スルホンアミド誘導体) の合成を図 15 に示す。1-Fluoro-3-nitrobenzene のフルオロ基を 1,2-エチレンジアミンでイプソ置換し、末端の第一級アミンを Boc 基で保護し、**47** を得た。次に、**47** のアニリン窒素をベンジル基で保護する際、炭酸カリウム等の無機塩基や水素化ナトリウムや DBU 等の強塩基を用いた場合、目的の **48** が低収率であったため、二相系の反応条件でベンジル化することにより、**48** を良好な収率で得ることができた。得られた **48** のニトロ基を還元し、生成したアニリンをスルホン化することで共通中間体 **49** を得た。**49** を誘導化の拠点とすれば、種々の化合物を容易に、さらに確実に合成することができる。次に、**49** を鈴木カップリングし、**50** とした後、ベンジル基を脱保護し、**51** を得た。得られた **51** のエステルを加水分解した後、ジメチルアミンでアミド化し、**52** とした。さらに、**52** の Boc 基を脱保護し、カルボン酸をアミド化することにより、最終目的物 (**23**, **32-45**) に変換した。

(2) マウス睡眠・覚醒試験における薬理作用

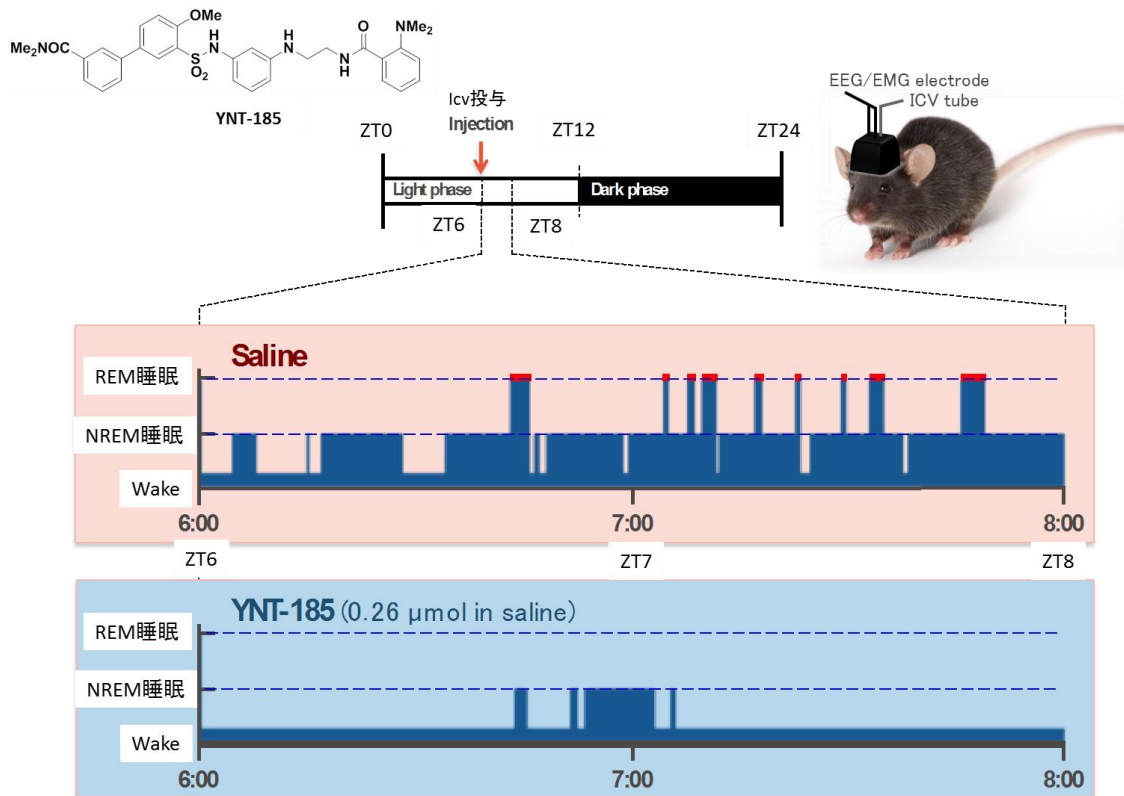


図 16 YNT-185 を用いたマウス睡眠・覚醒試験におけるヒプノグラム (YNT-185 投与群では Saline 投与群と比較し、REM 睡眠 (赤い突起の付いたグラフ) の消失と NREM 睡眠の著しい減少が見られる。)

共同研究を行っている柳沢研究室でマウス睡眠・覚醒試験を行った。マウスは夜行性であるため、明るい時間帯 (Light phase: 明期) では眠り (睡眠期)、暗い時間帯 (Dark phase: 暗期) に活動する (覚醒期)。そのため、マウスの睡眠・覚醒試験では、明期開始 (ZT0) から 6 時間後 (ZT6, マウスの活動が最も停滞する時間)、脳室内に生理食塩水または YNT-185 を投与し、2 時間 (ZT8 まで) 脳波および筋電を測定した。その結果をヒプノグラムに示す (図 16)。生理食塩水 (0.9%食塩水) を投与した場合、マウスは睡眠を継続し、REM 睡眠と NREM 睡眠の両方が確認された。一方、YNT-185 (0.26 μmol in saline) を投与した群では、マウスは顕著に覚醒し、その覚醒状態を継続した。NREM 睡眠は短時間あったが、REM 睡眠は確認されておらず、生理食塩水を投与した場合と

比較し、深い睡眠状態に至っていないと推察される。これらのことから、YNT-185 はマウスに対し覚醒を亢進し、覚醒状態を維持させる薬理作用があることが示された。

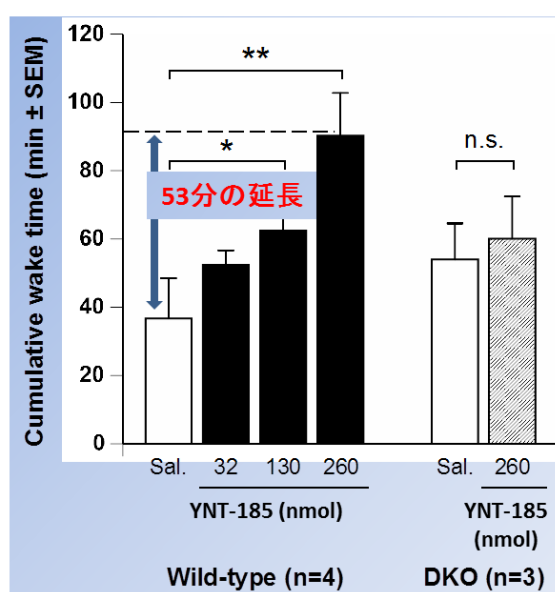
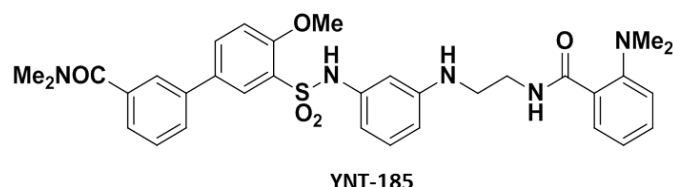


図 17 YNT-185 を用いたマウス睡眠・覚醒試験 (用量別) 結果

図 17 に YNT-185 の二塩酸塩の用量に依存したマウスの睡眠期における覚醒時間を示す。縦軸が覚醒時間、横軸が YNT-185 二塩酸塩の用量を示す。生理食塩水を脳室内投与した場合、マウスは 2 時間の測定中、40 分弱覚醒している。一方、YNT-185 二塩酸塩を脳室内投与すると、用量依存的に覚醒時間が延長し、0.260 μmol 投与した場合には、生理食塩水投与群と比較し、覚醒時間は 53 分まで延長した。オレキシン (3.0 nmol) を脳室内投与した場合、生理食塩水投与群と比較し、58 分の覚醒時間の延長が確認されたことから、OX2R 選択的作動薬である YNT-185 二塩酸塩はオレキシンと同等の覚醒効果を有することが示された³⁴⁾。一方、OX1R / OX2R 欠損 (DKO) マウスでは YNT-185 二塩酸塩の覚

醒時間の延長効果は見られなかった。この実験事実により、YNT-185 はオレキシン受容体 (特に OX2R) を介し、覚醒を亢進させていることが支持された。

なお、未報告であるが、柳沢・入鹿山らによる YNT-185 二塩酸塩の腹腔内投与試験においても、同様の睡眠時間の延長を確認できた。さらに、OX1R / OX2R 欠損マウスにチョコレートを投与した際に発現する SOREM (Sleep on set REM period (ナルコレプシー患者に特有の覚醒相から直接 REM 睡眠に移る現象) も YNT-185 二塩酸塩の脳室内、および腹腔内投与で改善することも確認している。

(3) オレキシン 2 受容体選択的作動薬の活性発現についての予測

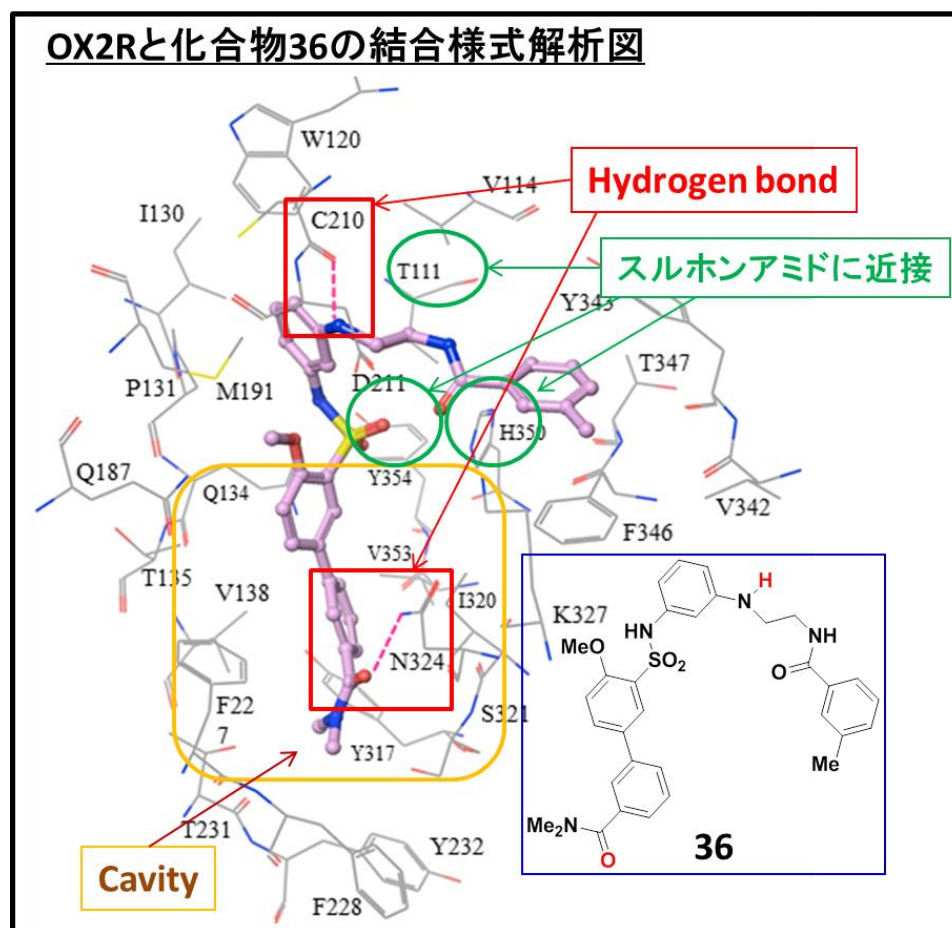


図 18 OX2R と OX2R 選択的作動薬 **36** の Docking study

2015 年の Nature 誌に OX2R とオレキシン受容体拮抗薬 (Suvorexant) との複合体共結晶 X 線構造解析が報告された⁴¹⁾。そこで、この X 線構造を用い、見出した OX2R 選択的作動薬 **36** ($EC_{50} = 0.023 \mu\text{M}$, $E_{\text{max}} = 98\%$) と OX2R の Docking study を行うこととした。尚、この Docking study は合田研究室 (昭和大学) で実施した。図 18 に示すように、**36** は V 字に似た形で OX2R 奥深くに位置しており、**36** のカルバモイル基の酸素の孤立電子対 (**36** の構造式中の赤字の酸素原子) が N324 (膜貫通ヘリックス 5, TM5) と水素結合し、さらに **36** のアニリン上にある水素 (**36** の構造式中赤字の水素原子) が C210 (TM3) の主鎖と水素結合し

ている。**36** のビフェニル構造は OX2R の V138 (TM3)、F227 (TM5)、Y317 (TM6)、I320 (TM6) および V352 (TM7) が形成する疎水性ポケット中に位置している。

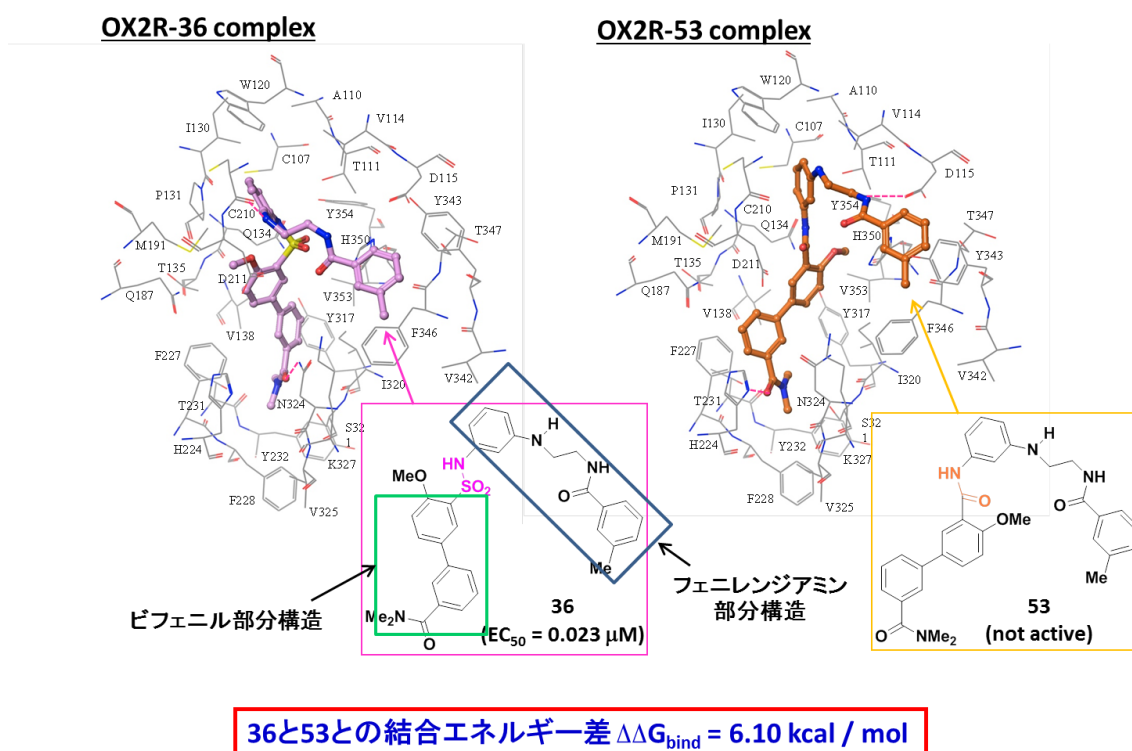


図 19 OX2R とスルホンアミド **36** およびアミド **53** の Docking study

次にスルホンアミドの役割を確認するため、**36** のスルホンアミドをカルボキシアミドに変換した **53** を合成し、in vitro の評価を行った (図 19)。その結果、**53** は全く活性が認められなかった。この実験事実は、探索開始時に予想した仮説を支持している。すなわち、**36** のスルホンアミド基はスルホニル基とアミノ基間の自由回転のため、カルボキシアミド基と比較して屈折構造が可能で OX2R との結合の確率を向上する官能基であり、このスルホンアミド基を鍵官能基として選択したことが YNT-185 (**40**) の設計・合成の成功に繋がったといえる。

この考察はスルホンアミド誘導体、YNT-185 (**40**) とカルボキシアミド誘導体 **53** 間の OX2R との結合の自由エネルギー差が 6.10 kcal/mol であることから支

持される。これらのことから、スルホンアミドは屈折配座を取ることで、OX2Rと水素結合するビフェニル部分構造とフェニレンジアミン部分構造を適切に配置していることが推察される。

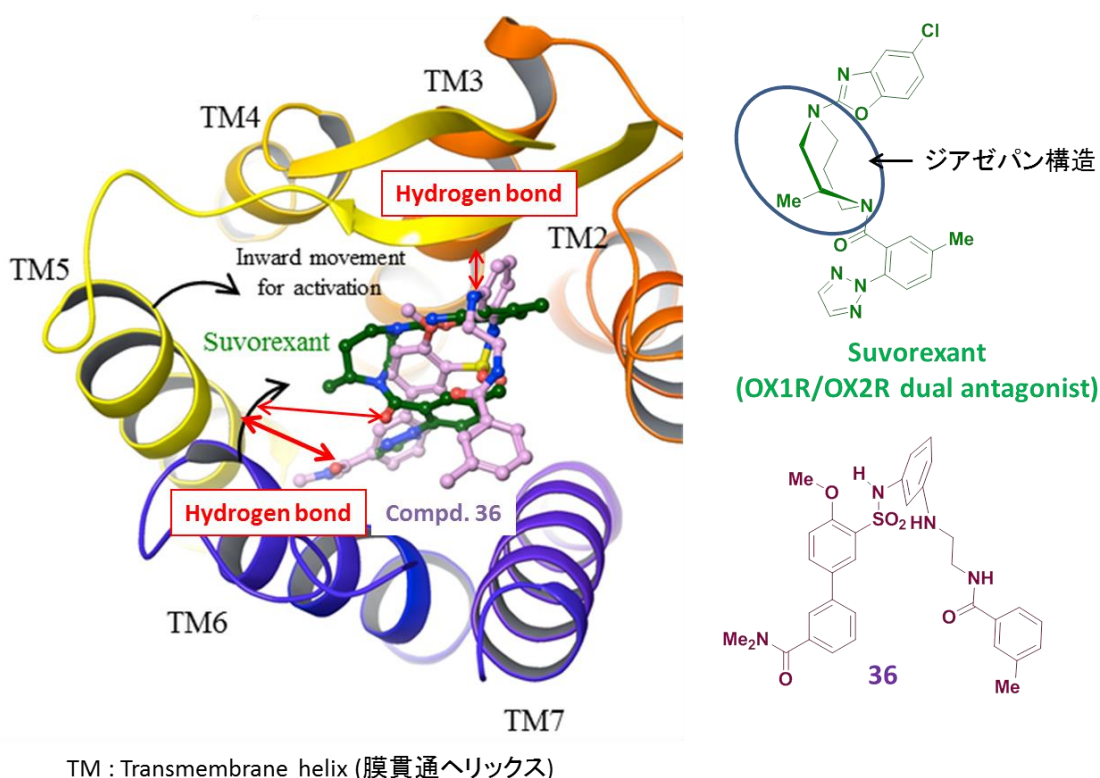


図 20 OX2R 選択的作動薬 **36** と OX1R / OX2R 拮抗薬 suvorexant の重ね合わせ図 (緑字が suvorexant であり、メチル基を有するジアゼパン構造が TM5 および TM6 方面に張り出している。紫字が **36** であり、suvorexant のような TM5 および TM6 方面の張り出しが見られない。)

最後にオレキシン受容体拮抗薬である suvorexant と **36** の重ね合わせを行った (図 20)。以前の報告と同様に、suvorexant は馬の蹄鉄のような形で OX2R の結合部位に位置し、ジアゼパン構造が TM5 および TM6 方面に立体的に張り出し、TM5 および TM6 の内向きの接近を阻害している。このことが、拮抗性につながるものであることが以前の報告で推察されている。一方、**36** は OX2R に結合する際に、TM5 および TM6 方面にある程度の空間が見られる。この適度な空

間が存在することで TM5 および TM6 の内向きの接近が可能となり、この内向きの接近が生じることで作動性が発現すると考えられる。

3. 総括

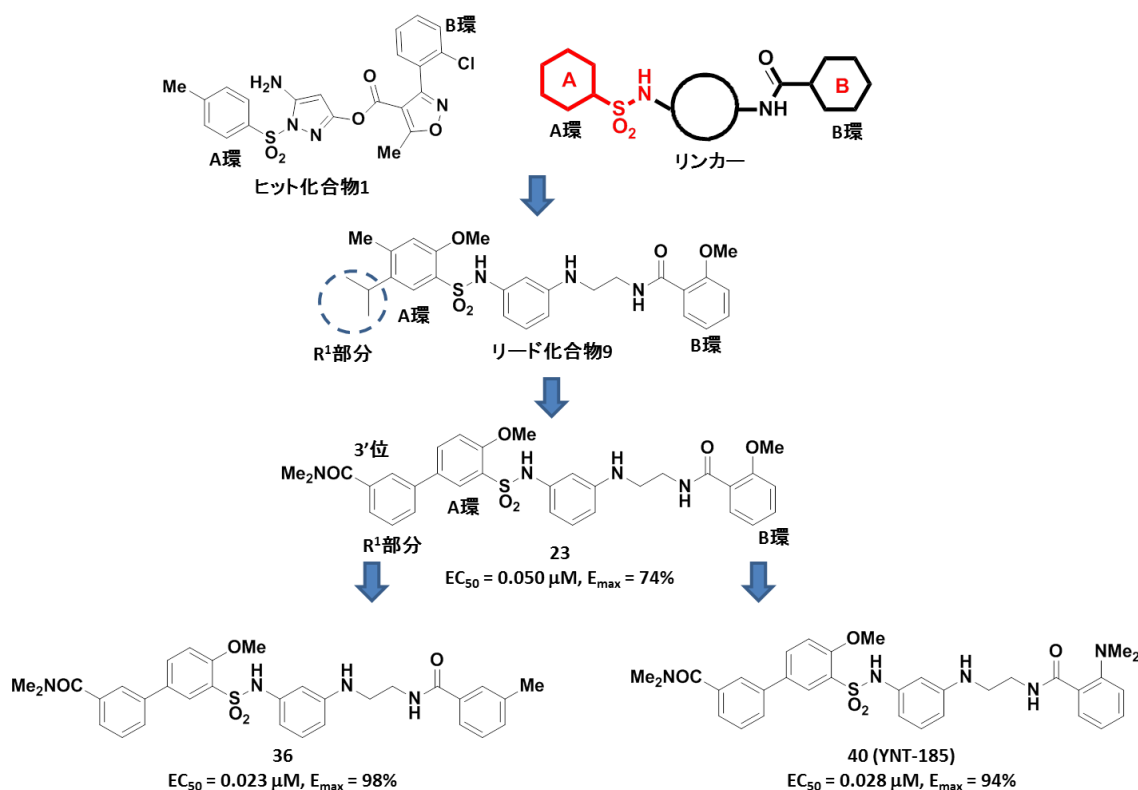


図 21 OX2R 選択的作動薬創出の流れ

当初、オレキシン受容体作動薬と拮抗薬がオレキシン受容体の同じ作用部位に結合すると仮定し、オレキシン受容体拮抗薬において、重要なファーマコフォアとなる A 環、スルホンアミドおよび B 環を基本構造として、作動薬を設計した。さらに、オレキシンのアミノ酸配列置換研究結果から得た着想を基に、リンカーにより分子の 2 次元的な「横の長さ」を拮抗薬よりやや広げた分子を設計することで活性向上させる方針を立て、種々の設計化合物を合成した。これらの化合物をヒト OX1R および OX2R を発現させた CHO 細胞を用い、*in vitro* 試験 (NFAT アッセイおよび Ca アッセイ) を実施し、リード化合物 9 を得た。この 9 のイソプロピル基 (R¹ 部分) を芳香環に置換することにより活性が向上し、R¹ 部分の芳香環の 3' 位にジメチルカルバモイル基を導入することで、さらに活性が向上した (23, EC₅₀ = 0.050 μM, E_{max} = 98%)。R¹ 部分の芳香環の 2' 位および 4' 位へのジメチルカルバモイル基の導入では活性が向上しなかったことは、適切な方向に分子の「横の長さ」を広げることも重要であることを示唆している。R¹ 部分の芳香環の 3' 位において、最も活性を向上させた置換基はカルバモ

イル基であった。メトキシ基、フルオロ基、アミノ基、エステルと比較し、カルバモイル基は極性が高い官能基であるため、受容体との親和性が高くなり、活性が向上した可能性がある。このように、**23** の B 環部分を変換することにより、強力な OX2R 選択的完全作動薬 **36** ($EC_{50} = 0.023 \mu\text{M}$, $E_{\text{max}} = 98\%$, OX1R / OX2R = 70) を見出した。さらに、**36** の活性を維持しつつ、水溶性が向上した **40** (YNT-185, $EC_{50} = 0.028 \mu\text{M}$, $E_{\text{max}} = 94\%$) を創出した。この YNT-185 を塩酸塩化することにより得た YNT-185 二塩酸塩をマウスに脳室内、腹腔内投与することで、オレキシンと同等の覚醒時間の延長を確認できた。また、未報告であるが、この作動薬をマウスのナルコレプシーフェノタイプ (OX1R / OX2R 欠損マウスにチョコレートを投与したもの) でも、SOREMP の改善が確認できたことを柳沢研究室 (柳沢・入鹿山ら) にて確認している。このことから、世界初のオレキシン作動薬である YNT-185 は覚醒期にナルコレプシータイプ 1 (カタプレキシーを伴うナルコレプシー) の症状を抑制できることが期待できる。

最後に OX2R 選択的作動薬 **36** と OX2R の Docking study を実施した (合田研究室により実施)。結合様式の予測は今後の OX2R 作動薬の創出に向け、貴重な情報となると期待される。

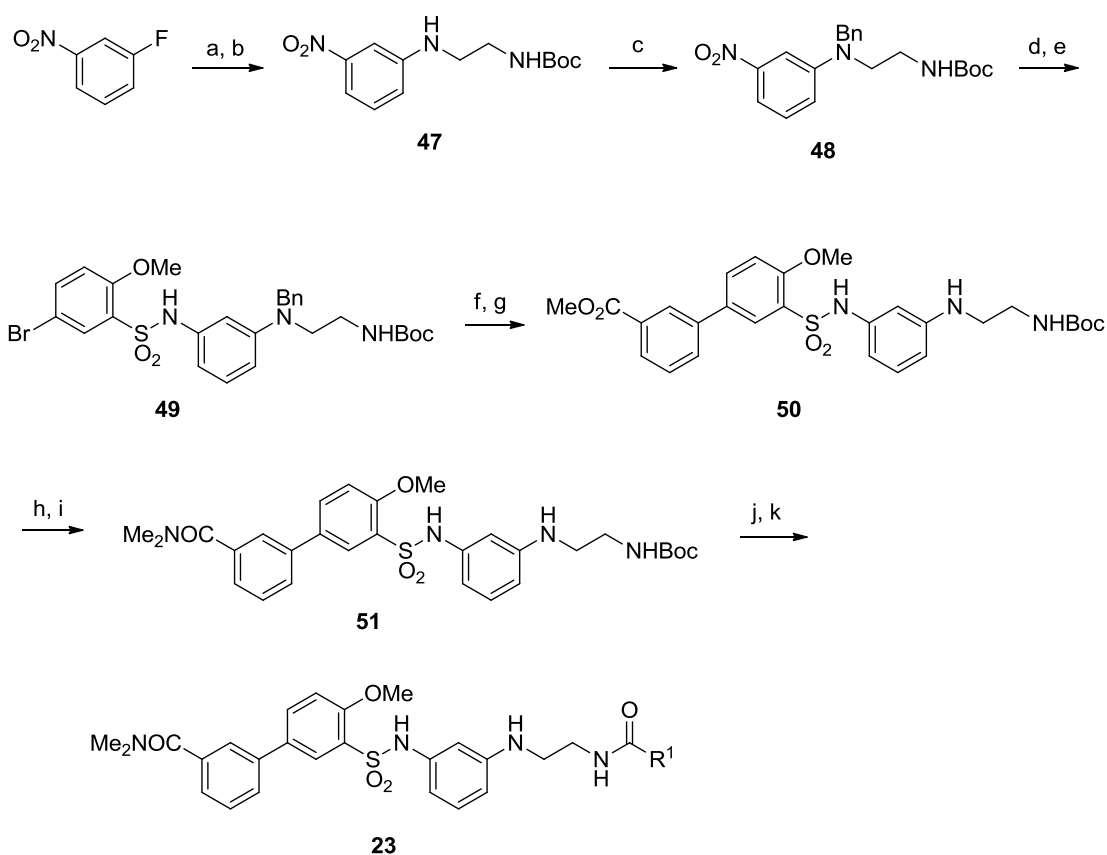
以上の結果、我々の見出した OX2R 選択的作動薬は、ナルコレプシーの治療に向かう大きな道を切り開いたものと考えられる。本論の引用論文の発表を受け、世界中のナルコレプシー患者から、希望を感じた等の感謝の返事を頂いている。この期待に沿えるようナルコレプシー治療薬開発に邁進したい。

実験の部

核磁気共鳴スペクトル (Nuclear magnetic resonance, NMR) は、Agilent 社製 VXR-400NMR を用いた。 ^1H NMR のケミカルシフトは、テトラメチルシラン (TMS) を基準にして δ (単位 : ppm) にて示し、カップリング様式については、s : 一重線、d : 二重線、t : 三重線、m : 多重線、br : ブロード、あるいはその組み合わせにより表記した。 ^{13}C NMR のケミカルシフトでは、重水素化クロロホルム (CDCl_3) を基準とし、 δ (単位 : ppm) として記載した。赤外吸収スペクトル (Infrared spectroscopy, IR) は日本分光社製 FT/IR-460Plus で臭化カリウム錠剤法を用い、測定した。質量分析は LC-MS では、日本電子 JMS-AX505HA、JMS-700 を用い、HRMS (High-resolution mass spectrometry) では、S-AX505HA、JMS-700 MStationJ、あるいは MS-100LP を用い、いずれも ESI 法で測定した。HPLC 分析は Shimadzu LC-2010C を用い、カラムは Kinetex C18 100A 2.6 μm 、4.6 x 150 mm を用い、25 $^\circ\text{C}$ において 254 nm 波長の紫外可視光 (UV) で測定した。融点はヤナコ社製 Yanaco-500P を用い、測定した。TLC (thin layer chromatography) プレートは Merck 社製 Art 5715 (シリカゲル)、Merck 社製 F254S (アミンシリカゲル)、シリカゲルは、Yamazen 社製のシリカゲルおよびアミンシリカゲルを用いた。

本試験において用いた試薬、溶媒は市販品 (東京化成、シグマアルドリッチ、関東化学、和光純薬 およびナカライテスク) をそのまま用いた。脱水溶媒については、関東化学、あるいは和光純薬社製の有機合成用脱水溶媒を用いた。反応の進行は TLC を用い、UV、または発色試薬 (リンモリブデン酸-硫酸溶液) により明瞭なスポットとして確認できるまでホットプレート上で焼き、そのスポットにより確認した。減圧濃縮は、ロータリーエバポレーターを使用した。

特に記載のない限り、操作は室温で行った。

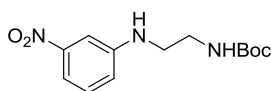


23 : R¹ = 2-methoxyphenyl
32 : R¹ = phenyl
33 : R¹ = 3-methoxyphenyl
34 : R¹ = 4-methoxyphenyl
35 : R¹ = 2-methylphenyl
36 : R¹ = 3-methylphenyl
37 : R¹ = 2-chlorophenyl
38 : R¹ = 3-chlorophenyl

39 : R¹ = 3-dimethylaminophenyl
40 : R¹ = 2-dimethylaminophenyl
41 : R¹ = 6-methylpicolinoyl
42 : R¹ = 4-methylpicolinoyl
43 : R¹ = 2-methoxynicotinoyl
44 : R¹ = 6-methoxypicolinoyl
45 : R¹ = 5-methoxynicotinoyl

Scheme 1. Synthesis of the compounds **23** and **32–45**. Reagents and conditions: (a) 1,2-ethylenediamine, 100 °C; (b) Boc₂O, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 78% (in 2 steps); (c) benzyl bromide, 50% NaOH aq, TBAI, CH₂Cl₂, rt, 78%; (d) Fe, NH₄Cl, EtOH-H₂O, reflux; (e) 5-bromo-2-methoxybenzenesulfonyl chloride, pyridine, CH₂Cl₂, rt, 92% (in 2 steps); (f) 3-methoxycarbonylphenylboronic acid pinacol ester, PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂, 2 M Na₂CO₃ aq, 1,4-dioxane, reflux; (g) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 87% (in 2 steps); (h) 1 M NaOH aq, MeOH, 60 °C; (i) Me₂NH·HCl, Et₃N, BOP, CH₂Cl₂, rt, 73% (in 2 steps); (j) HCl-MeOH, 50 °C; (k) R¹CO₂H, Et₃N, BOP, CH₂Cl₂, rt (in 2 steps).

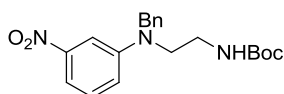
tert-Butyl (2-((3-nitrophenyl)amino)ethyl)carbamate (**47**)



アルゴン雰囲気下、1-fluoro-3-nitrobenzene (2.13 mL, 20.0 mmol) に 1,2-エチレンジアミン (15.0 mL, excess) を加え、100 °C で終夜撹拌した。反応液を室温まで放冷し、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、水で3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより、*N*'-(3-nitrophenyl)ethane-1,2-diamine を含む残渣を茶色オイルとして得た。アルゴン雰囲気下、この残渣のジクロロメタン溶液 (30 mL) にトリエチルアミン (3.07 mL, 33.0 mmol) 、di-*tert*-butyl dicarbonate (4.58 g, 21.0 mmol) を 0 °C で加え、室温で終夜撹拌した。反応液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、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン=1/3) により精製し、目的物 **47** を橙色アモルファスとして得た (4.40 g, 78% in 2 steps) 。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.46 (9H, s), 3.27–3.31 (2H, m), 3.40–3.44 (2H, m), 4.60–4.70 (1H, brs), 4.76–4.86 (1H, brs), 6.65–6.72 (1H, m), 7.24–7.29 (1H, m), 7.37 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 7.51 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₃H₁₉N₃O₄Na: 304.1273; found: 304.1288. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

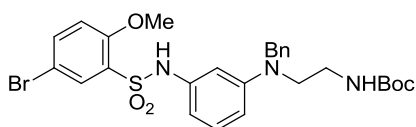
tert-Butyl (2-(benzyl(3-nitrophenyl)amino)ethyl)carbamate (**48**)



アルゴン雰囲気下、**47** (4.40 g, 15.9 mmol) のジクロロメタン溶液 (30 mL) に 50% 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) 、臭化ベンジル (2.84 mL, 23.9 mmol) 、ヨウ化テトラブチルアンモニウム (587 mg, 1.59 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液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、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン=1/6→1/4) により精製し、目的物 **48** を黄色固体として得た (4.62 g, 78%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 3.36–3.40 (2H, m), 3.62–3.66 (2H, m), 4.64 (2H, s), 4.65–4.74 (1H, m), 7.01–7.06 (1H, m), 7.16–7.20 (2H, m), 7.26–7.34 (4H, m), 7.49–7.52 (1H, m), 7.55 (1H, brs); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{Na}$: 394.1743; found: 394.1760. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

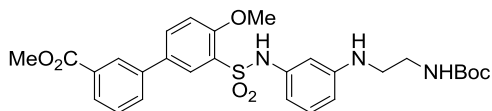
tert-Butyl (2-(benzyl(3-(5-bromo-2-methoxyphenylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl) carbamate (**49**)



アルゴン雰囲気下、**48** (4.62 g, 12.4 mmol) のエタノール/水 (50 mL / 20 mL) の懸濁液に鉄粉 (4.86 g, 87.1 mmol)、塩化アンモニウム (6.69 g, 124 mmol) を加え、3 時間加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過した。ろ液をクロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 10 / 1) により精製し、茶色オイルの残渣を得た。この残渣のジクロロメタン溶液 (50 mL) にピリジン (1.19 mL, 14.8 mmol)、5-bromo-2-methoxybenzenesulfonylchloride (3.83 g, 13.4 mmol) を 0 °C で加え、室温で終夜撹拌した。反応液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、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン = 2 / 1) により精製し、目的物 **49** を白色固体として得た (6.74 g, 92% in 2 steps)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.41 (9H, s), 3.23–3.30 (2H, m), 3.44–3.52 (2H, m), 4.03 (3H, s), 4.50 (2H, s), 4.58–4.69 (1H, m), 6.55–6.58 (2H, m), 6.62 (1H, s), 6.85 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.12 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.22–7.31 (3H, m), 7.59 (1H, dd, $J = 8.8, 2.8$ Hz), 7.85 (1H, d, $J = 2.8$ Hz). ESI-MS (m/z): 590 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

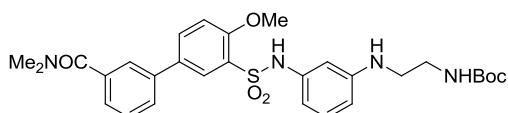
Methyl 3'-(*N*-(3-((2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-carboxylate (**50**)



アルゴン雰囲気下、**49** (2.36 g, 4.00 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (4.0 mL) に 3-methoxycarbonylphenylboronic acid pinacol ester (1.26 g, 4.80 mmol)、2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (4.0 mL, 8.00 mmol)、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocene-palladium(II)dichloride dichloromethane complex (163 mg, 0.20 mmol) を加え、脱気操作 (真空ポンプで溶媒を泡立たせた後、アルゴンガスを封入する作業を 3 回繰り返した) し、18 時間加熱還流した。反応液を放冷し、セライトろ過した後、濃縮することにより得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン=1/2→1/1) で精製し、黄色固体として残渣を得た。この残渣をメタノール (20 mL) に溶解し、10% パラジウム/炭素 (675 mg) を加え、水素雰囲気下、室温で終夜攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=10/1) により精製し、目的物 **50** を黄色アモルファスとして得た (1.94 g, 87% in 2 steps)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 3.13–3.19 (2H, m), 3.27–3.35 (2H, m), 3.95 (3H, s), 3.97–4.05 (1H, m), 4.08 (3H, s), 4.73–4.82 (1H, m), 6.28–6.33 (2H, m), 6.46 (1H, s), 6.49 (1H, brs), 6.95 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.49 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.70 (1H, ddd, $J = 8.0, 2.0, 1.2$ Hz), 7.73 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.00 (1H, td, $J = 8.0, 1.2$ Hz), 8.09 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 8.16 (1H, t, $J = 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 556 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

tert-Butyl (2-((3-(3'-(dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**51**)



アルゴン雰囲気下、**50** (1.94 g, 3.49 mmol) のメタノール溶液 (30 mL) に 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (10.5 mL, 10.5 mmol) を加え、60 °C で 3 時間攪拌した。

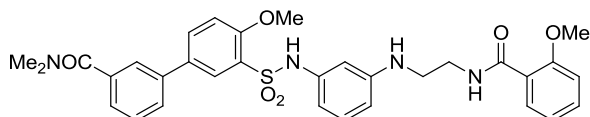
反応液に 1 M 塩酸を加え、クロロホルム/メタノール (= 10 / 1) 混合溶媒で抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた白色アモルファスをジクロロメタン (30 mL) に溶解し、トリエチルアミン (1.59 mL, 11.4 mmol)、ジメチルアミン塩酸塩 (533 mg, 6.54 mmol)、BOP 試薬 (1.59 g, 3.60 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン = 10 / 1 → 1 / 0) により精製し、目的物 **51** を無色アモルファスとして得た (1.45 g, 73% in 2 steps)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.43 (9H, s), 3.01 (3H, brs), 3.12–3.16 (5H, m), 3.27–3.33 (2H, m), 4.07 (3H, s), 4.08–4.15 (1H, m), 4.88–4.94 (1H, m), 6.28–6.32 (2H, m), 6.44 (1H, brs), 6.87 (1H, brs), 6.95 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.07 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.34–7.38 (1H, m), 7.44 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.52–7.55 (2H, m), 7.70 (1H, dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz), 8.07 (1H, d, $J = 2.4$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 591.2253; found: 591.2238. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

一般的合成法 1 (アミド化)

アルゴン雰囲気下、**51** (1.0 eq.) に 10% 塩化水素-メタノール溶液 (10 mL) を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮することにより得られた残渣をアミン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 = 1 / 0 → 10 / 1) で精製し、目的の第一級アミンを茶色アモルファスとして得た。アルゴン雰囲気下、この第一級アミン (1.0 eq.) のジクロロメタン溶液 (0.5 M) にカルボン酸 (1.0 eq.)、トリエチルアミン (3.3 eq.)、BOP 試薬 (1.1 eq.) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、目的物を得た。

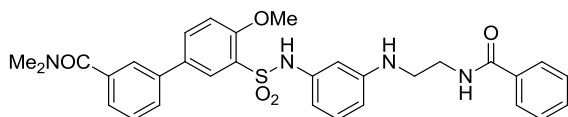
4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**23**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **23** を得た (88% in 2 steps)。

Mp 95–97 °C; IR (KBr) 3376, 2934, 1602, 1503, 1335, 1150 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.98 (3H, brs), 3.12 (3H, brs), 3.30 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.63–3.67 (2H, m), 3.82 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.31 (1H, brs), 6.31–6.36 (2H, m), 6.47 (1H, t, *J* = 2.4 Hz), 6.88 (1H, brs), 6.92–6.97 (2H, m), 7.04–7.09 (2H, m), 7.33–7.46 (3H, m), 7.51–7.54 (2H, m), 7.68 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz), 8.05 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.08–8.14 (1H, m), 8.18 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₃₄N₄O₆SNa: 625.2097; found: 625.2087. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

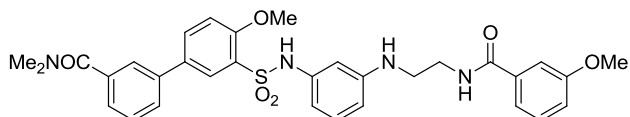
3'-(*N*-(3-((2-Benzamidoethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**32**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **32** を得た (80% in 2 steps)。

Mp 152–154 °C; IR (KBr) 3249, 2933, 1606, 1506, 1333, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.02 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.19–3.24 (2H, m), 3.57–3.65 (2H, m), 4.04 (3H, s), 4.20–4.38 (1H, m), 6.22 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 6.30–6.34 (1H, m), 6.47 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.86 (1H, s), 6.92 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.03 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.30–7.38 (4H, m), 7.40–7.47 (2H, m), 7.53–7.59 (2H, m), 7.69 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz), 7.72–7.75 (2H, m), 8.12 (1H, d, *J* = 2.4 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₂N₄O₅SNa: 595.1991; found: 595.1998. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

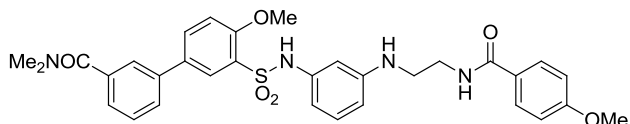
4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(3-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamideide (**33**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **33** を得た (85% in 2 steps)。

Mp 85–87 °C; IR (KBr) 3368, 2932, 1607, 1504, 1280, 1152 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.02 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.21 (2H, t, $J = 5.2$ Hz), 3.58–3.63 (2H, m), 3.79 (3H, s), 4.04 (3H, s), 4.48 (1H, brs), 6.21 (1H, dd, $J = 7.6, 1.6$ Hz), 6.31 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.47 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.87 (1H, brs), 6.92 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 6.97–7.05 (2H, m), 7.18–7.28 (3H, m), 7.30–7.36 (2H, m), 7.42 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.54–7.57 (2H, m), 7.67 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 8.11 (1H, d, $J = 2.4$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 625.2097; found: 625.2102. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

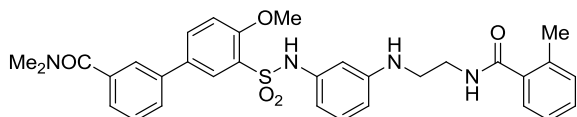
4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(4-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**34**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **34** を得た (98% in 2 steps)。

Mp 71–74 °C; IR (KBr) 3350, 2933, 1606, 1504, 1398, 1180 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.02 (3H, brs), 3.14 (3H, brs), 3.20 (2H, t, $J = 5.6$ Hz), 3.57–3.62 (2H, m), 3.82 (3H, s), 3.86 (1H, brs), 4.04 (3H, s), 4.50 (1H, brs), 6.22 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz), 6.31 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.45 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.84–6.95 (4H, m), 7.04 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.09–7.17 (1H, m), 7.32–7.34 (1H, m), 7.43 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.54–7.57 (2H, m), 7.67–7.79 (2H, m), 8.12 (1H, d, $J = 2.4$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 625.2097; found: 625.2102. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

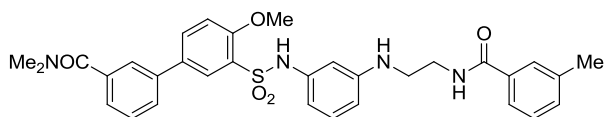
4'-Methoxy-*N,N*-dimethyl-3'-(*N*-(3-((2-(2-methylbenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**35**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **35** を得た (99% in 2 steps)。

Mp 117–119 °C; IR (KBr) 3353, 2928, 1604, 1503, 1336, 1149 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.35 (3H, s), 2.99 (3H, brs), 3.07 (3H, brs), 3.21–3.24 (2H, m), 3.59–3.61 (2H, m), 4.07 (3H, s), 4.39 (1H, brs), 6.26 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.32 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.45–6.47 (1H, m), 6.62–6.70 (1H, m), 6.92–6.96 (2H, m), 7.04–7.16 (3H, m), 7.22–7.28 (3H, m), 7.40 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.52–7.55 (2H, m), 7.69 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.0 Hz), 8.10 (1H, d, *J* = 2.0 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₃₄N₄O₅SNa: 609.2148; found: 609.2137. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

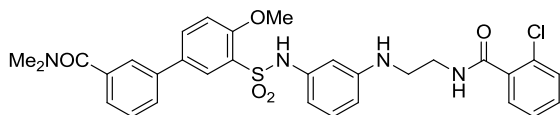
4'-Methoxy-*N,N*-dimethyl-3'-(*N*-(3-((2-(3-methylbenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**36**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **35** を得た (99% in 2 steps)。

Mp 137–139 °C; IR (KBr) 3408, 2919, 1605, 1502, 1281, 1151 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 2.34 (3H, s), 3.02 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.19–3.22 (2H, m), 3.58–3.63 (2H, m), 4.04 (3H, s), 4.47 (1H, brs), 6.22 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 6.32 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 6.45 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.88 (1H, brs), 6.92 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.13–7.18 (1H, m), 7.21–7.34 (3H, m), 7.42 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.50–7.58 (4H, m), 7.68 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz), 8.12 (1H, d, *J* = 2.4 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 21.3, 35.4, 39.3, 39.6, 44.9, 56.6, 103.7, 109.2, 110.3, 112.7, 124.1, 125.6, 125.7, 126.5, 127.7, 127.8, 128.3, 128.8, 129.6, 129.8, 132.2, 132.7, 133.0, 134.1, 137.0, 137.7, 138.2, 139.4, 149.1, 155.9, 168.8, 171.3; HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₃₄N₄O₅SNa: 609.2148; found: 609.2134. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

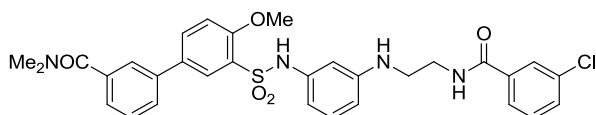
3'-(*N*-(3-((2-(2-Chlorobenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**37**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **37** を得た (81% in 2 steps)。

Mp 85–87 °C; IR (KBr) 3386, 2929, 1607, 1502, 1398, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.99 (3H, brs), 3.08 (3H, brs), 3.28 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.61–3.65 (2H, m), 4.06 (3H, s), 4.28 (1H, brs), 6.27 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.33 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.47 (1H, t, *J* = 1.6 Hz), 6.85–6.87 (2H, m), 6.92 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.07 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.23–7.43 (5H, m), 7.50–7.55 (3H, m), 7.69 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz), 8.09 (1H, d, *J* = 2.4 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₁ClN₄O₅SNa: 629.1601; found: 629.1601. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

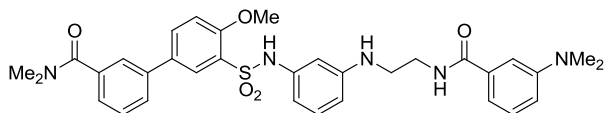
3'-(*N*-(3-((2-(3-Chlorobenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**38**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **38** を得た (99% in 2 steps)。

Mp 101–103 °C; IR (KBr) 3366, 2933, 1608, 1505, 1399, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.04 (3H, brs), 3.10–3.20 (5H, m), 3.50–3.63 (2H, m), 4.03 (3H, s), 4.44–4.62 (1H, m), 6.14–6.20 (1H, m), 6.27–6.33 (1H, m), 6.44 (1H, brs), 6.83 (1H, s), 6.92 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 7.28–7.34 (1H, m), 7.38–7.46 (3H, m), 7.54–7.59 (2H, m), 7.60–7.71 (3H, m), 7.77 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 8.15 (1H, d, *J* = 2.0 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₁ClN₄O₅SNa: 629.1601; found: 629.1601. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

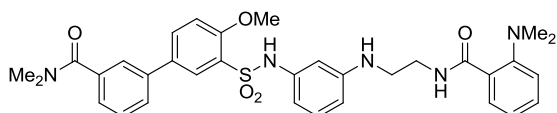
3'-(*N*-(3-((2-(3-(Dimethylamino)benzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**39**)



一般的合成法 1 に従い、黄色固体として目的物 **39** を得た (99% in 2 steps)。

Mp 131-133°C; IR (KBr) 3388, 2930, 1606, 1504, 1399, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.53 (6H, s), 2.92 (3H, brs), 3.08 (3H, brs), 3.23-3.30 (2H, m), 3.63-3.70 (2H, m), 4.07 (3H, s), 4.20-4.28 (1H, m), 6.25 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.31 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.40 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.91-7.10 (3H, m), 7.13-7.23 (2H, m), 7.34 (1H, dt, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 7.38-7.52 (4H, m), 7.60 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz), 8.01 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.07 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 8.48 (1H, m). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₃H₃₇N₅O₅SNa: 638.2387; found: 638.2397. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

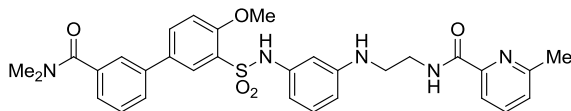
3'-(*N*-(3-((2-(2-(Dimethylamino)benzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**40**, YNT-185)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **40** を得た (99% in 2 steps)。

Mp 132-133 °C; IR (KBr) 3395, 1638, 1607, 1502, 1279, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.55 (6H, s), 2.96 (3H, s), 3.11 (3H, s), 3.26 (2H, brd, *J* = 7.8 Hz), 3.63 (2H, q, *J* = 5.9 Hz), 4.05 (3H, s), 4.29 (1H, brs), 6.27-6.35 (2H, m), 6.42 (1H, t, *J* = 2.1 Hz), 6.88-6.96 (2H, m), 7.02 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.11-7.21 (2H, m), 7.32 (1H, dt, *J* = 7.6, 1.4 Hz), 7.35-7.45 (2H, m), 7.46-7.54 (2H, m), 7.63 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.4 Hz), 8.03 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.08 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz), 9.89 (1H, t, *J* = 5.5 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 14.1, 35.3, 38.8, 39.6, 44.2, 45.1, 56.5, 105.1, 109.6, 109.7, 112.6, 119.7, 124.1, 125.3, 125.8, 126.9, 127.1, 127.7, 128.9, 129.1, 129.9, 131.2, 132.0, 132.8, 133.0, 137.0, 137.6, 139.1, 149.0, 152.3, 155.7, 167.6, 171.2; HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₃H₃₇N₅O₅SNa: 638.2387; found: 638.2413. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

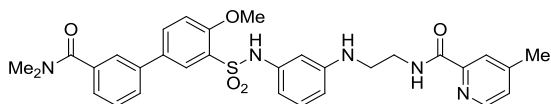
N-(2-((3-(3'-(Dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)-amino)ethyl)-6-methylpicolinamide (**41**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **41** を得た (90% in 2 steps)。

Mp 120-122 °C; IR (KBr) 3367, 2932, 1607, 1505, 1398, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.54 (3H, s), 2.99 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.28-3.33 (2H, m), 3.63-3.70 (2H, m), 4.07 (3H, s), 4.20-4.29 (1H, m), 6.32-6.37 (3H, m), 6.45 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.86 (1H, s), 6.96 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.07 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.32-7.36 (1H, m), 7.42 (1H, td, *J* = 8.0, 0.8 Hz), 7.50-7.55 (2H, m), 7.68-7.74 (2H, m), 7.97 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.06 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.28-8.37 (1H, m). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₃N₅O₅SNa: 610.2100; found: 610.2109. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

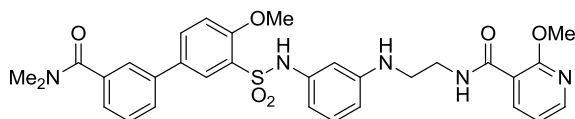
N-(2-((3-(3'-(Dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)-amino)ethyl)-4-methylpicolinamide (**42**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **42** を得た (90% in 2 steps)。

Mp 124-126 °C; IR (KBr) 3253, 2930, 1605, 1506, 1333, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.43 (3H, s), 2.99 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.27-3.33 (2H, m), 3.62-3.68 (2H, m), 4.07 (3H, s), 4.18-4.26 (1H, m), 6.33-6.37 (2H, m), 6.44 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.86 (1H, s), 6.96 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.07 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.23 (1H, ddd, *J* = 4.8, 1.6, 0.8 Hz), 7.32-7.36 (1H, m), 7.42 (1H, td, *J* = 8.0, 0.8 Hz), 7.50-7.55 (2H, m), 7.68 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 8.01 (1H, t, *J* = 0.8 Hz), 8.07 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.23-8.31 (1H, m), 8.36-8.38 (1H, m). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₃N₅O₅SNa: 610.2100; found: 610.2092. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

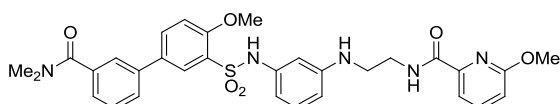
N-(2-((3-(3'-(Dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)-amino)ethyl)-2-methoxynicotinamide (**43**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **43** を得た (97% in 2 steps)。

Mp 128-130 °C; IR (KBr) 3398, 2933, 1604, 1507, 1404, 1154 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.99 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.31 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.62-3.68 (2H, m), 3.97 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.28-4.34 (1H, m), 6.31 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz), 6.35 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.2 Hz), 6.50 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.92-6.98 (2H, m), 7.03-7.08 (2H, m), 7.32-7.36 (1H, m), 7.42 (1H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.50-7.56 (2H, m), 7.69 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 8.07 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.14-8.21 (1H, m), 8.26 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.0 Hz), 8.48 (1H, dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₃N₅O₆SNa: 626.2049; found: 626.2059. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

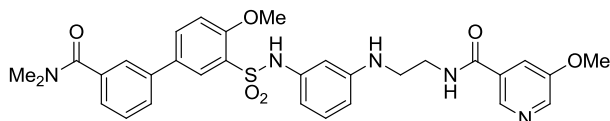
N-(2-((3-(3'-(Dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)-amino)ethyl)-6-methoxypicolinamide (**44**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体として目的物 **44** を得た (87% in 2 steps)。

Mp 93-95 °C; IR (KBr) 3377, 2947, 1607, 1505, 1398, 1153 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.99 (3H, brs), 3.13 (3H, brs), 3.31 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.63-3.70 (2H, m), 3.86 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.26-4.36 (1H, m), 6.30 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.35 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 6.48 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.86-6.70 (2H, m), 6.95 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.05 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.32-7.35 (1H, m), 7.44 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.51-7.56 (2H, m), 7.67-7.73 (2H, m), 7.77 (1H, dd, *J* = 7.6, 1.2 Hz), 8.07 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.07-8.13 (1H, m). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₃N₅O₆SNa: 626.2049; found: 626.2038. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

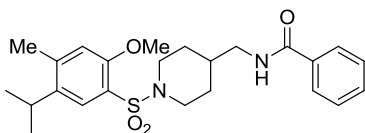
N-(2-((3-(3'-(Dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)-amino)ethyl)-5-methoxynicotinamide (**45**)



一般的合成法 1 に従い、無色固体 **45** として目的物を得た (74% in 2 steps)。

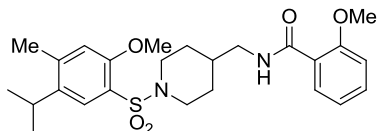
Mp 99-101 °C; IR (KBr) 3368, 2963, 1607, 1503, 1459, 1151 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.04 (3H, brs), 3.14 (3H, brs), 3.14-3.20 (2H, m), 3.56-3.63 (2H, m), 3.82 (3H, s), 4.02 (3H, s), 4.48-4.56 (1H, m), 6.16 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz), 6.30 (1H, dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz), 6.48 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.88-6.95 (2H, m), 7.03 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.25-7.32 (2H, m), 7.42 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.54-7.57 (2H, m), 7.63-7.70 (2H, m), 8.15 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.35 (1H, d, $J = 2.8$ Hz), 8.53 (1H, d, $J = 1.6$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_6\text{SNa}$: 626.2049; found: 626.2046. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-((1-((5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenyl)sulfonyl)piperidin-4-yl)methyl)benzamide (**2**)



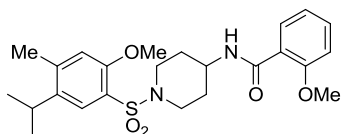
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.19 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.31-1.38 (2H, m), 1.74-1.88 (3H, m), 2.38 (3H, s), 2.67-2.76 (2H, m), 2.98-3.07 (1H, m), 3.26-3.33 (2H, m), 3.82-3.89 (2H, m), 3.96 (3H, s), 6.73 (1H, s), 7.27-7.39 (3H, m), 7.53-7.59 (2H, m), 7.68 (1H, s), 7.87-7.95 (1H, m). ESI-MS (m/z): 467 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-((1-((5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenyl)sulfonyl)piperidin-4-yl)methyl)-2-methoxybenzamide (**3**)



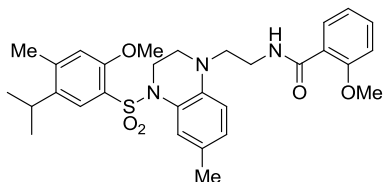
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.20 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.33-1.39 (2H, m), 1.72-1.82 (3H, m), 2.37 (3H, s), 2.58-2.63 (2H, m), 3.00-3.10 (1H, m), 3.30-3.37 (2H, m), 3.86 (3H, s), 3.86-3.91 (2H, m), 3.97 (3H, s), 6.74 (1H, s), 6.97 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.07 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 7.44 (1H, td, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 7.70 (1H, s), 7.92-8.00 (1H, m), 8.17 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz). ESI-MS (m/z): 497 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

N-(1-((5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenyl)sulfonyl)piperidin-4-yl)-2-methoxybenzamide (**4**)

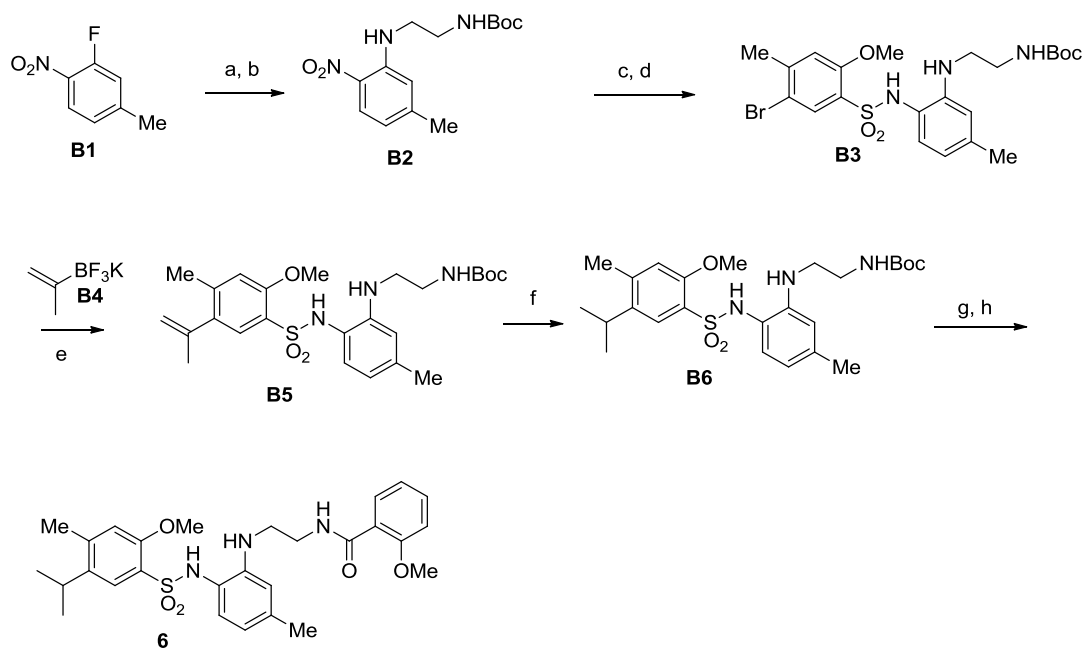


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.20 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.56-1.67 (2H, m), 2.05-2.12 (2H, m), 2.36 (3H, s), 2.77-2.88 (2H, m), 3.02-3.08 (1H, m), 3.79-3.85 (2H, m), 3.91 (3H, s), 3.94 (3H, s), 4.00-4.11 (1H, m), 6.75 (1H, s), 6.98 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.07 (1H, td, $J = 8.0, 1.2$ Hz), 7.44 (1H, td, $J = 6.8, 2.0$ Hz), 7.67 (1H, s), 7.80-7.87 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 483 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-(4-((5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenyl)sulfonyl)-3,4-dihydroquinoxalin-1-(2*H*)-yl)ethyl)-2-methoxybenzamide (**5**)

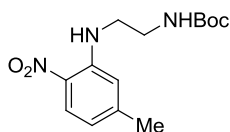


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.19 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.18 (3H, s), 2.34 (3H, s), 3.03-3.09 (1H, m), 3.19-3.24 (2H, m), 3.48-3.53 (2H, m), 3.59 (3H, s), 3.59-3.63 (2H, m), 3.75-3.80 (2H, m), 3.79 (3H, s), 6.42 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz), 6.59 (1H, s), 6.65 (1H, s), 6.93 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.08 (1H, td, $J = 8.0, 0.8$ Hz), 7.21 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.45 (1H, td, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 7.76 (1H, s), 8.04-8.12 (1H, m), 8.21 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 574 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 2. Synthesis of the compound **6**. Reagents and conditions: (a) 1,2-ethylenediamine, K_2CO_3 , MeCN, 70 °C; (b) Boc_2O , Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 82% (in 2 steps); (c) Pd/C, H_2 , MeOH, rt; (d) 5-bromo-2-methoxy-4-methylbenzenesulfonyl chloride, pyridine, CH_2Cl_2 , rt, 88% (in 2 steps); (e) **B4**, $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$, Et_3N , *n*-PrOH, reflux, 70%; (f) Pd/C, H_2 , MeOH, rt, 96%; (g) HCl-MeOH, 50 °C; (h) 2-anisic acid, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 66% (in 2 steps).

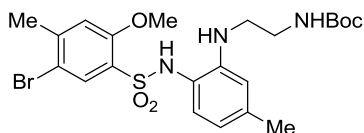
tert-Butyl (2-((5-methyl-2-nitrophenyl)amino)ethyl)carbamate (**B2**)



アルゴン雰囲気下、**B1** (776 mg, 5.00 mmol) のアセトニトリル溶液 (20 mL) に1,2-エチレンジアミン (0.668 mL, 10.0 mmol)、炭酸カリウム (1.52 g, 11.0 mmol)を加え、70 °C で3時間攪拌した。反応液を室温まで放冷した後、食塩水を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン=1/2) で精製し、橙色固体を得た。この固体をジクロロメタン (30 mL) に溶解し、トリエチルアミン (0.761 mL, 5.46 mmol)、*di-tert*-butyl dicarbonate (1.14 g, 5.21 mmol) を加え、室温で2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、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン=1/3→クロロホルム) で精製し、目的物 **B2** を黄色固体として得た (1.20 g, 82% in 2 steps)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.45 (9H, s), 2.35 (3H, s), 3.42-3.49 (4H, m), 4.72-4.85 (1H, m), 6.48 (1H, dd, *J* = 8.4, 1.6 Hz), 6.69 (1H, s), 8.06 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.14-8.24 (1H, m). ESI-MS (*m/z*): 296 [M+H]⁺. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

tert-Butyl (2-((2-(5-bromo-2-methoxy-4-methylphenyl)sulfonamido)-5-methylphenyl)amino)ethyl)carbamate (**B3**)

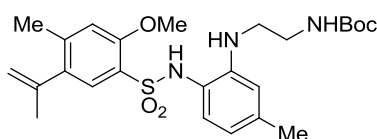


アルゴン雰囲気下、**B2** (1.20 g, 4.06 mmol) のメタノール溶液 (20 mL) に10%パラジウム/炭素 (240 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で終夜攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製し、黄色固体として得られた残渣をジクロロメタン (5.0 mL) に溶解した。この溶液に5-bromo-2-methoxy-4-methylbenzenesulfonyl chloride (1.15 g, 3.83 mmol)、ピリジ

ン (0.327 mL, 4.01 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより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/ヘキサン=1/2) により精製し、目的物 **B3** を無色アモルファスとして得た (1.87 g, 88%, in 2 steps)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (9H, s), 2.05-2.18 (1H, m), 2.20 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.30-3.40 (2H, m), 3.64-3.71 (2H, m), 3.92 (3H, s), 4.72-4.81 (1H, m), 6.18 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz), 6.27 (1H, s), 6.37 (1H, dd, $J=8.0$ Hz), 6.45 (1H, s), 6.89 (1H, s), 7.87 (1H, s). ESI-MS (m/z): 528 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

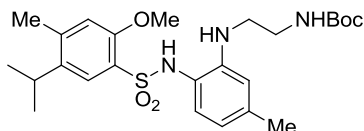
tert-Butyl (2-((2-(2-methoxy-4-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)phenyl)sulfonamido)-5-methylphenyl)amino)ethyl)carbamate (**B5**)



アルゴン雰囲気下、**B3** (1.87 g, 3.54 mmol) の1-プロパノール溶液 (20 mL) に potassium isopropenyltrifluoroborate (**B4**, 629 mg, 4.25 mmol)、トリエチルアミン (1.48 mL, 10.6 mmol)、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocenepalladium(II)-dichloride dichloromethane complex (87 mg, 0.11 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより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/ヘキサン=1/2) により精製し、目的物 **B5** を黄色アモルファスとして得た (1.21 g, 70%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (9H, s), 1.93 (3H, dd, $J=1.2, 0.8$ Hz), 2.20 (3H, s), 2.34 (3H, s), 3.26-3.38 (4H, m), 4.07 (3H, s), 4.77 (1H, dd, $J=2.0, 1.2$ Hz), 4.88-4.98 (1H, m), 5.14-5.19 (2H, m), 6.20 (1H, dd, $J=8.0, 1.2$ Hz), 6.29 (1H, s), 6.35 (1H, d, $J=7.6$ Hz), 6.49 (1H, s), 6.89 (1H, s), 7.45 (1H, s). ESI-MS (m/z): 490 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

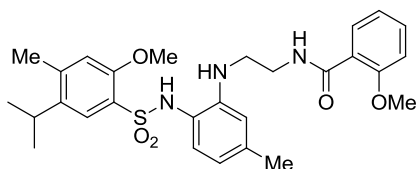
tert-Butyl (2-((3-(5-isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)phenyl)amino)-ethyl)carbamate (**B6**)



アルゴン雰囲気下、**B5** (1.21 g, 2.47 mmol) のメタノール溶液 (20 mL) に 10% パラジウム/炭素 (242 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で終夜攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製し、目的物 **B6** を黄色アモルファスとして得た (1.08 g, 96%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.11 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.44 (9H, s), 2.13 (3H, s), 2.41 (3H, s), 2.99-3.06 (1H, m), 3.38-3.44 (2H, m), 3.65-3.74 (2H, m), 4.06 (3H, s), 4.80-4.91 (1H, m), 6.17 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.32 (1H, s), 6.38 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.83 (1H, s), 6.98 (1H, s), 7.44 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.20-8.31 (1H, m). ESI-MS (m/z): 492 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((2-(5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)-5-methylphenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**6**)

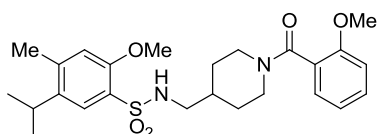


アルゴン雰囲気下、**B6** (24 mg, 0.050 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液 (2.0 mL) を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣をジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (7 mg, 0.050 mmol) 、トリエチルアミン (0.024 mL, 0.17 mmol) 、BOP 試薬 (23 mg, 0.055 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム) により精製し、目的物を淡黄色固体として得た (15 mg, 66% in 2 steps) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.11 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.15 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.00-3.07 (1H, m), 3.40-3.55 (2H, m), 3.64-3.76 (2H, m), 3.90 (3H, s), 4.02 (3H, s),

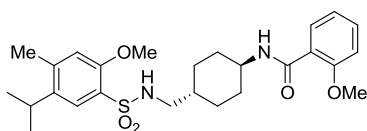
4.99–5.12 (1H, m), 6.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.31 (1H, brs), 6.35 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.56 (1H, brs), 6.84–6.87 (1H, m), 6.94 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.04–7.09 (1H, m), 7.41–7.46 (1H, m), 7.53 (1H, s), 8.20 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 8.25–8.38 (1H, m). ESI-MS (m/z): 548 $[M+Na]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

5-Isopropyl-2-methoxy-*N*-((1-(2-methoxybenzoyl)piperidin-4-yl)methyl)-4-methylbenzenesulfonamide (**7**)

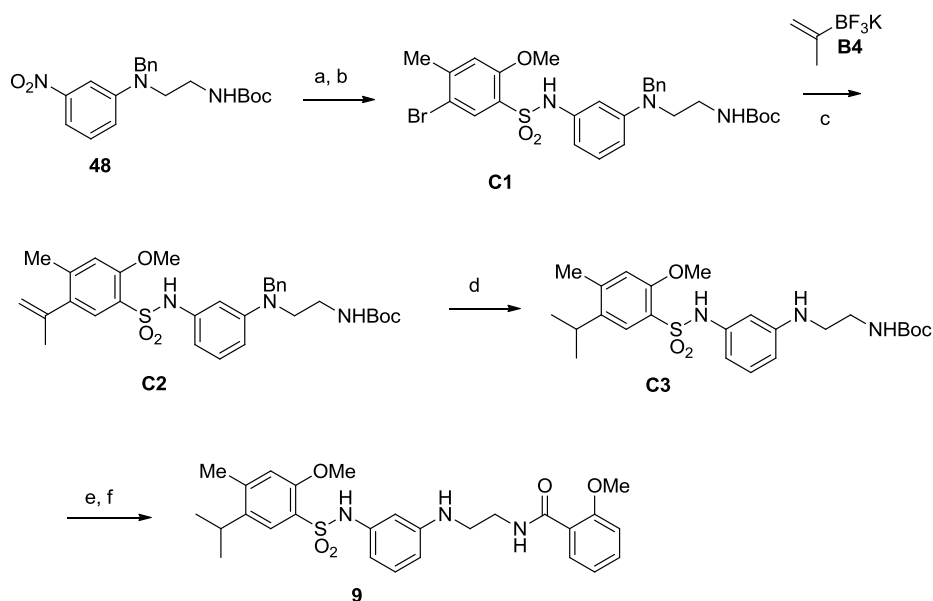


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.10–1.16 (2H, m), 1.22 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.61–1.80 (3H, m), 2.39 (3H, s), 2.40–2.96 (4H, m), 3.05–3.12 (1H, m), 3.42–3.51 (1H, m), 3.81 (3H, s), 3.93 (3H, s), 4.70–4.80 (1H, m), 4.90–4.99 (1H, m), 6.79 (1H, brs), 6.90 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.97 (1H, td, $J = 7.6, 0.8$ Hz), 7.15–7.21 (1H, m), 7.30–7.38 (1H, m), 7.69–7.73 (1H, m). ESI-MS (m/z): 497 $[M+Na]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-((1*R*,4*R*)-4-((5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)methyl)cyclohexyl)-2-methoxybenzamide (**8**)

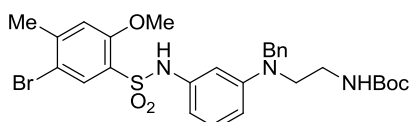


^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.22 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.25–1.34 (2H, m), 1.52–1.69 (6H, m), 1.80–1.87 (2H, m), 2.39 (3H, s), 2.75–2.82 (2H, m), 3.05–3.15 (1H, m), 3.93 (3H, s), 3.99 (3H, s), 4.25–4.32 (1H, m), 4.82–4.92 (1H, m), 6.79 (1H, s), 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.04–7.11 (1H, m), 7.40–7.48 (1H, m), 7.73 (1H, s), 8.19 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 511 $[M+Na]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 2. Synthesis of the compound **9**. Reagents and conditions: (a) Fe, NH₄Cl, EtOH-H₂O, reflux; (b) 5-bromo-2-methoxy-4-methylbenzenesulfonyl chloride, pyridine, CH₂Cl₂, rt, 76% (in 2 steps); (c) **B4**, PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂, Et₃N, *n*-PrOH, reflux, 59%; (d) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 95%; (g) HCl-MeOH, 50 °C; (h) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 66% (in 2 steps).

tert-Butyl (2-(benzyl(3-(5-bromo-2-methoxy-4-methylphenyl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**C1**)

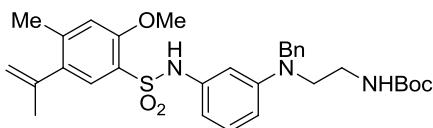


アルゴン雰囲気下、**48** (238 mg, 0.64 mmol) のエタノール/水 (3.0 mL / 1.0 mL)の懸濁液に鉄粉 (250 mg, 4.48 mmol)、塩化アンモニウム (342 mg, 6.40 mmol) を加え、3 時間加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過した。ろ液をクロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=10/1) により精製し、橙色オイルとして残渣を得た。アルゴン雰囲気下、この残渣のジクロロメタン溶液 (6.0 mL) に 5-bromo-2-methoxy-4-methylbenzenesulfonyl chloride (220 mg, 0.64 mmol)、ピリジン (0.057 mL, 0.71 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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／ヘキサン＝1／3→1／2）により精製し、目的物 **C1** を無色アモルファスとして得た (294 mg, 76%, in 2 steps)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 2.39 (3H, s), 3.23-3.30 (2H, m), 3.45-3.51 (2H, m), 3.83 (3H, s), 4.48 (2H, s), 4.60-4.71 (1H, m), 6.37 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 6.41 (1H, s), 6.48 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 6.76 (1H, s), 6.77-6.81 (1H, m), 7.00 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.07-7.12 (2H, m), 7.23-7.31 (3H, m), 7.88 (1H, s). ESI-MS (m/z): 604 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

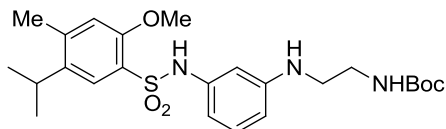
tert-Butyl (2-(benzyl(3-(2-methoxy-4-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)phenylsulfonamido)-phenyl)amino)ethyl)carbamate (**C2**)



アルゴン雰囲気下、**C1** (77 mg, 0.15 mmol) の1-プロパノール溶液 (3.0 mL) に potassium isopropenyltrifluoroborate (27 mg, 0.18 mmol)、トリエチルアミン (0.063 mL, 0.45 mmol)、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (4 mg, 0.045 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー（アンモニア飽和クロロホルム）により精製し、目的物 **C2** を黄色アモルファスとして得た (50 mg, 59%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 1.95 (3H, s), 2.31 (3H, s), 3.21-3.29 (2H, m), 3.42-3.49 (2H, m), 3.84 (3H, s), 4.47 (2H, s), 4.58-4.65 (1H, m), 4.76 (1H, dd, $J = 2.0, 0.8$ Hz), 5.19 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.38 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 6.42-6.46 (2H, m), 6.69 (1H, s), 6.76 (1H, s), 6.99 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.09-7.12 (2H, m), 7.22-7.30 (3H, m), 7.53 (1H, s). ESI-MS (m/z): 566 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

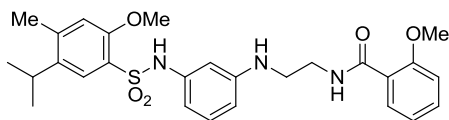
tert-Butyl (2-((3-(5-isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**C3**)



アルゴン雰囲気下、**C2** (50 mg, 0.088 mmol) のメタノール溶液 (2.0 mL) に 10% パラジウム/炭素 (20 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で終夜撹拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により精製し、目的物を紫色アモルファスとして得た (41 mg, 95%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.11 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.42 (9H, s), 2.32 (3H, s), 2.96-3.07 (1H, m), 3.14-4.22 (2H, m), 3.26-3.35 (2H, m), 3.96 (3H, s), 4.68-4.78 (1H, m), 6.25-6.32 (2H, m), 6.41 (1H, s), 6.72-6.74 (1H, m), 6.77 (1H, s), 6.94 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.26-7.29 (1H, m), 7.66 (1H, s). ESI-MS (m/z): 478 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

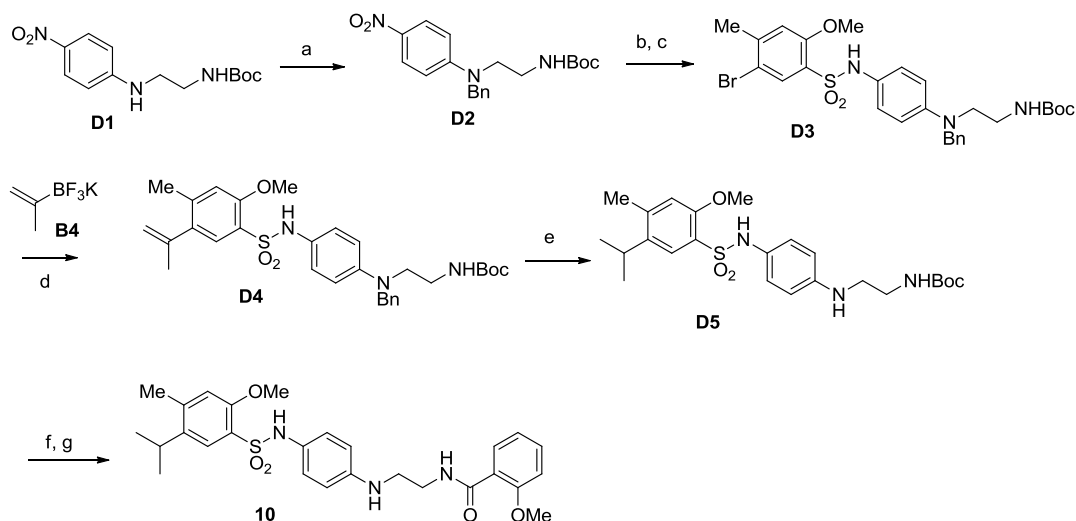
N-(2-((3-(5-isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**9**)



アルゴン雰囲気下、**C3** (24 mg, 0.050 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間撹拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣にジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (7 mg, 0.050 mmol)、トリエチルアミン (0.024 mL, 0.17 mmol)、BOP 試薬 (23 mg, 0.055 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液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、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール = 80/1) により精製し、目的物 **9** を無色アモルファスとして得た (17 mg, 66% in 2 steps)。

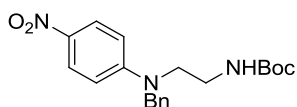
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.12 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.31 (3H, s), 2.97-3.03 (1H, m), 3.29-3.33 (2H, m), 3.62-3.69 (2H, m), 3.87 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.12-4.28 (1H,

m), 6.27–6.34 (2H, m), 6.45 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.71 (1H, s), 6.76 (1H, brs), 6.91–6.97 (2H, m), 7.06–7.11 (1H, m), 7.43–7.48 (1H, m), 7.66 (1H, s), 8.05–8.15 (1H, m), 8.20 (1H, dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 534 $[M+Na]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 3. Synthesis of the compound **10**. Reagents and conditions: (a) BnBr, TBAI, 50% NaOH aq, CH_2Cl_2 , rt, 89%; (b) Fe, NH_4Cl , EtOH- H_2O , reflux; (c) 5-bromo-2-methoxy-4-methylbenzenesulfonyl chloride, pyridine, CH_2Cl_2 , rt, 89% (in 2 steps); (d) **B4**, $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$, Et_3N , n -PrOH, reflux, 68%; (e) Pd/C, H_2 , MeOH, rt, 84%; (f) HCl-MeOH, 50 °C; (g) 2-anisic acid, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 99% (in 2 steps).

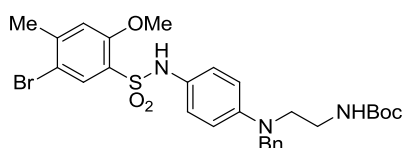
tert-Butyl (2-(benzyl(4-nitrophenyl)amino)ethyl)carbamate (**D2**)



アルゴン雰囲気下、*tert*-butyl (2-((4-nitrophenyl)amino)ethyl)carbamate (**D1**, 281 mg, 1.00 mmol) のジクロロメタン溶液 (10 mL) に 50% 水酸化ナトリウム水溶液 (1.0 mL)、臭化ベンジル(0.178 mL, 1.5 mmol)、ヨウ化テトラブチルアンモニウム (37 mg, 0.10 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/ヘキサン=1/4)により精製し、目的物 **D2** を黄色固体として得た (331 mg, 89%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 3.20-3.28 (2H, m), 3.38 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 4.55-4.64 (1H, m), 4.64 (2H, s), 6.89 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.14 (2H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.25-7.35 (3H, m), 7.87 (2H, d, $J = 7.2$ Hz). ESI-MS (m/z): 372 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

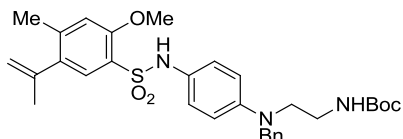
tert-Butyl (2-(benzyl(4-(5-bromo-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**D3**)



アルゴン雰囲気下、**D2** (331 mg, 0.89 mmol) のエタノール/水 (3.0 mL / 1.0 mL) の懸濁液に鉄粉 (348 mg, 6.24 mmol)、塩化アンモニウム (477 mg, 8.91 mmol) を加え、3 時間加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過した。ろ液をクロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をアミン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 = 10 / 1) により精製し、橙色オイルとして残渣を得た。アルゴン雰囲気下、この残渣のジクロロメタン溶液 (5.0 mL) に 5-bromo-2-methoxy-4-methylbenzenesulfonyl chloride (261 mg, 0.89 mmol)、ピリジン (0.077 mL, 0.96 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン = 1 / 3 \rightarrow 1 / 1) により精製し、目的物 **D3** を淡黄色アモルファスとして得た (480 mg, 89%, in 2 steps)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 2.42 (3H, s), 3.24-3.32 (2H, m), 3.45-3.52 (2H, m), 4.02 (3H, s), 4.49 (2H, s), 4.55-4.65 (1H, m), 6.55-6.63 (3H, m), 6.85 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.89 (1H, s), 7.10-7.14 (2H, m), 7.20-7.30 (3H, m), 7.85 (1H, s). ESI-MS (m/z): 604 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

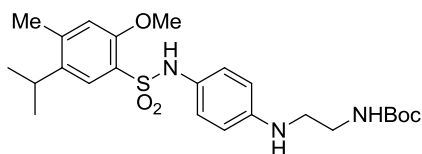
tert-Butyl (2-(benzyl(4-(2-methoxy-4-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)phenylsulfonamido)-phenyl)amino)ethyl)carbamate (**D4**)



アルゴン雰囲気下、**D3** (77 mg, 0.15 mmol) の1-プロパノール溶液 (3.0 mL) に potassium isopropenyltrifluoroborate (27 mg, 0.18 mmol)、トリエチルアミン (0.063 mL, 0.45 mmol)、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (4 mg, 0.045 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム) により精製し、目的物 **D4** を黄色アモルファスとして得た (66 mg, 68%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.41 (9H, s), 1.92 (3H, t, $J = 1.2$ Hz), 2.33 (3H, s), 3.22-3.30 (2H, m), 3.43-3.50 (2H, m), 4.01 (3H, s), 4.48 (2H, s), 4.55-4.65 (1H, m), 4.74 (1H, dd, $J = 2.0, 1.2$ Hz), 5.16 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.56 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.62 (1H, s), 6.80 (1H, s), 6.87 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.11 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.21-7.29 (3H, m), 7.45 (1H, s). ESI-MS (m/z): 566 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

tert-Butyl (2-((4-(5-isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)phenyl)amino)-ethyl)carbamate (**D5**)

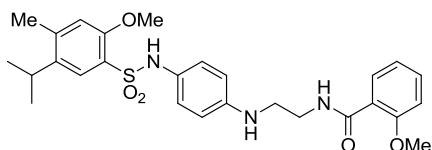


アルゴン雰囲気下、**D4** (50 mg, 0.089 mmol) のメタノール溶液 (2.0 mL) に 10% パラジウム/炭素 (20 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で終夜攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン = 1 / 1) により精製し、目的物 **D5** を無色オイルとして得た (41 mg, 84%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.11 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.42 (9H, s), 2.34 (3H, s), 2.95-3.03 (1H, m), 3.12-3.17 (2H, m), 3.27-3.33 (2H, m), 3.90-4.00 (1H, m), 4.03 (3H,

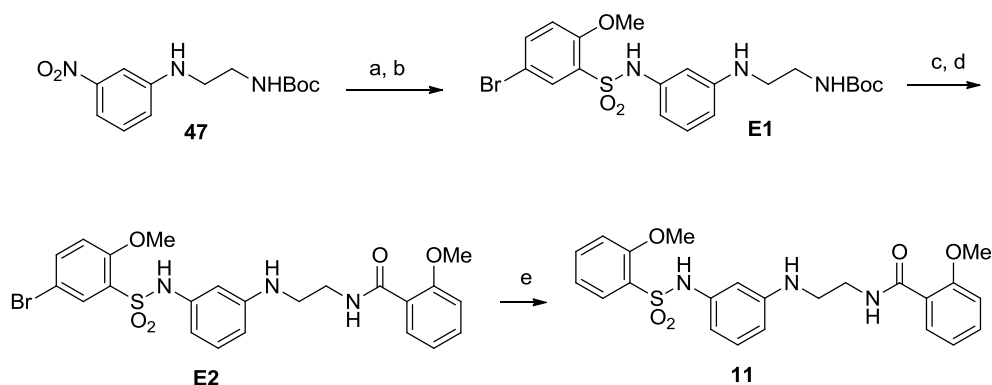
s), 4.69-4.78 (1H, m), 6.38-6.44 (2H, m), 6.63 (1H, s), 6.77 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), 6.84-6.90 (2H, m), 7.54 (1H, s). ESI-MS (m/z): 478 $[M+H]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((4-(5-Isopropyl-2-methoxy-4-methylphenylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**10**)



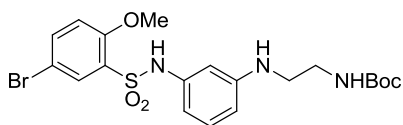
アルゴン雰囲気下、**D5** (21 mg, 0.044 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣にジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (7 mg, 0.044 mmol)、トリエチルアミン (0.013 mL, 0.096 mmol)、BOP 試薬 (21 mg, 0.048 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール = 80/1) により精製し、目的物 **10** を無色アモルファスとして得た (24 mg, 99% in 2 steps)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.12 (6H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.35 (3H, s), 2.98–3.03 (1H, m), 3.36–3.40 (2H, m), 3.65–3.70 (2H, m), 3.86 (3H, s), 4.00 (3H, s), 4.58–4.69 (1H, m), 6.56 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.62–6.66 (1H, m), 6.77–6.83 (2H, m), 6.93 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.04–7.10 (2H, m), 7.42–7.48 (2H, m), 7.55 (1H, s), 8.05–8.16 (1H, m), 8.20 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 534 $[M+Na]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 4. Synthesis of the compound **11**. Reagents and conditions: (a) Pd/C, H₂, MeOH, rt; (b) 5-bromo-2-methoxybenzenesulfonyl chloride, pyridine, CH₂Cl₂, rt, 53% (in 2 steps); (c) HCl-MeOH, 50 °C; (d) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 93% (in 2 steps); (e) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 99%.

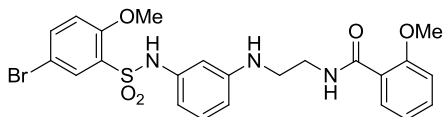
tert-Butyl (2-((3-(5-bromo-2-methoxyphenylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**E1**)



アルゴン雰囲気下、**47** (1.07 g, 3.80 mmol) のメタノール溶液 (15 mL) に 10% パラジウム/炭素 (321 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で終夜攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製し、紫色オイルとして得られた残渣をジクロロメタン (5.0 mL) に溶解した。この溶液に 5-bromo-2-methoxybenzenesulfonyl chloride (1.09 g, 3.80 mmol)、ピリジン (1.01 mL, 12.5 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン = 1/1) により精製し、目的物 **E1** を黄色固体として得た (1.01 g, 53%, in 2 steps)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.45 (9H, s), 3.12-3.21 (2H, m), 3.28-3.36 (2H, m), 4.01 (3H, s), 4.73-4.83 (1H, m), 6.26 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 6.32 (1H, dd, *J* = 7.6, 2.4 Hz), 6.41 (1H, s), 6.82 (1H, s), 6.88 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.96 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.57 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz), 7.94 (1H, d, *J* = 2.4 Hz). ESI-MS (*m/z*): 500 [M+H]⁺. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

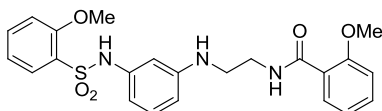
N-(2-((3-(5-bromo-2-methoxyphenyl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**E2**)



アルゴン雰囲気下、**E1** (18 mg, 0.036 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣をジクロロメタン (1.0 mL) に溶解し、2-anisic acid (6 mg, 0.036 mmol)、トリエチルアミン (0.017 mL, 0.12 mmol)、および BOP 試薬 (18 mg, 0.040 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン=1/4)により精製し、目的物 **E2** を無色アモルファスとして得た (18 mg, 93% in 2 steps)。

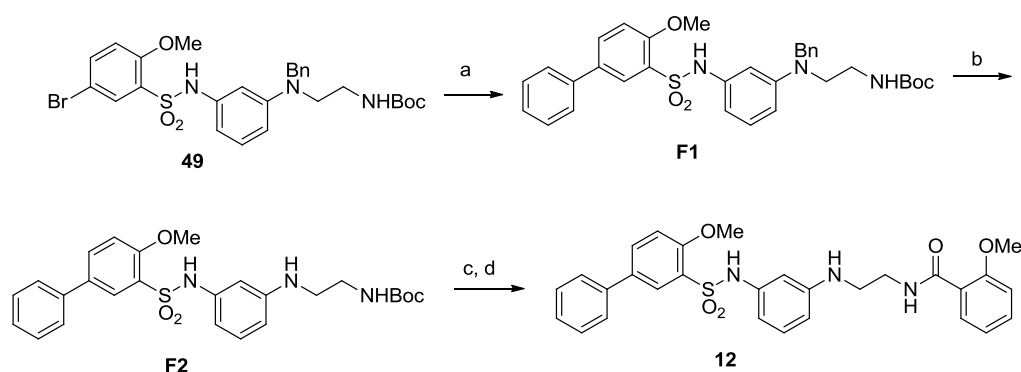
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.28-3.35 (2H, m), 3.63-3.71 (2H, m), 3.88 (3H, s), 4.01 (3H, s), 4.25-4.35 (1H, m), 6.28 (1H, dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz), 6.37 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 6.43 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.82 (1H, s), 6.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.94-7.00 (2H, m), 7.09 (1H, td, $J = 7.6, 1.2$ Hz), 7.46 (1H, ddd, $J = 8.4, 6.8, 1.6$ Hz), 7.53 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 7.93 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.08-8.18 (1H, m), 8.20 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 556 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

2-Methoxy-*N*-(2-((3-(2-methoxyphenyl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)benzamide (**11**)



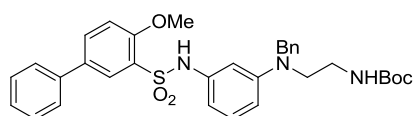
アルゴン雰囲気下、**E2** (12 mg, 0.022 mmol) のメタノール溶液 (1.0 mL) に 10% パラジウム/炭素 (4 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で 1 時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/ヘキサン=1/4)により精製し、目的物 **11** を淡黄色固体として得た (11 mg, 99%)。

Mp 70-72 °C; IR (KBr) 3388, 2941, 1639, 1482, 1435, 1157 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.27-3.34 (2H, m), 3.63-3.70 (2H, m), 3.87 (3H, s), 4.02 (3H, s), 4.19-4.28 (1H, m), 6.28 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 6.36 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.45 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.81 (1H, s), 6.90-6.99 (4H, m), 7.09 (1H, td, $J = 7.6, 1.2$ Hz), 7.43-7.50 (2H, m), 7.81 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 8.07-8.14 (1H, m), 8.20 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5\text{SNa}$: 478.1413; found: 478.1403. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 5. Synthesis of the compound **12**. Reagents and conditions: (a) phenylboronic acid, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 2 M Na_2CO_3 aq, DME, reflux, 23%; (b) Pd/C , H_2 , MeOH, rt, 93%; (c) HCl -MeOH, 50 °C; (d) 2-anisic acid, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 62% (in 2 steps).

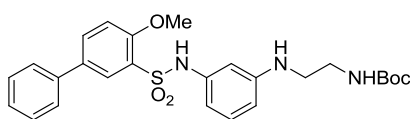
tert-Butyl (2-(benzyl(3-(4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**F1**)



アルゴン雰囲気下、**49** (118 mg, 0.20 mmol) の DME 溶液 (4.0 mL) に phenylboronic acid (34 mg, 0.28 mmol) 、 2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.200 mL, 0.40 mmol) 、 および tetrakis(triphenylphosphine)palladium (12 mg, 0.010 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマト (アンモニア飽和クロロホルム/酢酸エチル = 3 / 1) により精製し、目的物 **F1** を黄色アモルフラスとして得た (28 mg, 23%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.40 (9H, s), 3.20–3.27 (2H, m), 3.42–3.48 (2H, m), 3.91 (3H, s), 4.45 (2H, s), 4.48–4.57 (1H, m), 6.40–6.48 (3H, m), 6.82–6.88 (1H, m), 6.96–7.01 (2H, m), 7.05–7.10 (2H, m), 7.16–7.24 (4H, m), 7.31–7.37 (1H, m), 7.40–7.65 (3H, m), 7.69 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 8.00 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 588 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC.

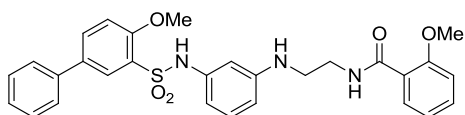
tert-Butyl (2-((3-(4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-carbamate (**F2**)



アルゴン雰囲気下、**F1** (28 mg, 0.047 mmol) のメタノール溶液 (2.0 mL) に 10% パラジウム/炭素 (14 mg) を加え、水素で系内を置換し、室温で 1 時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより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 = 10/1) で精製し、目的物 **F2** を淡黄色アモルファスとして得た (22 mg, 93%)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 3.14–3.18 (2H, m), 3.26–3.32 (2H, m), 4.06 (3H, s), 4.68–4.80 (1H, m), 6.28–6.34 (2H, m), 6.44 (1H, s), 6.92–7.99 (2H, m), 7.07 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.31–7.35 (1H, m), 7.39–7.45 (3H, m), 7.46–7.52 (2H, m), 7.70 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 8.07 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 498 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

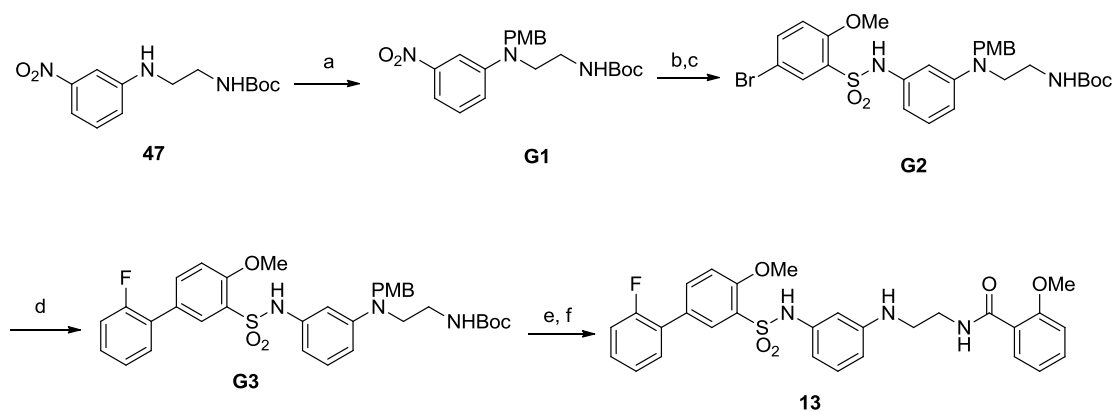
2-Methoxy-*N*-(2-((3-(4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)benzamide (**12**)



アルゴン雰囲気下、**F2** (22 mg, 0.043 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール = 1/0 → 20/1) により精製し、黄色固体として残渣を得た。その残渣

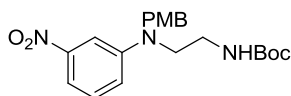
にジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (7.0 mg, 0.043 mmol)、トリエチルアミン (0.021 mL, 0.15 mmol)、BOP 試薬 (21 mg, 0.047 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/ヘキサン=2/1)により精製し、目的物 **12** を淡黄色固体として得た (14 mg, 62% in 2 steps)。

Mp 80–82 °C; IR (KBr) 3388, 2939, 1606, 1482, 1395, 1151 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.62–3.66 (2H, m), 3.80 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.15 (1H, brs), 6.32–6.36 (2H, m), 6.48 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.84–7.10 (7H, m), 7.28–7.32 (3H, m), 7.42–7.46 (1H, m), 7.66 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.05 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 8.06–8.12 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5\text{SNa}$: 554.1726; found: 554.1733. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 6. Synthesis of the compound **13**. Reagents and conditions: (a) *p*-methoxybenzyl chloride, K_2CO_3 , NaI, DMF, 60 °C, 99%; (b) Pd/C, H_2 , MeOH, rt; (c) 5-bromo-2-methoxybenzenesulfonyl chloride, pyridine, CH_2Cl_2 , rt, 66% (in 2 steps); (d) 2-fluorophenylboronic acid, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 2 M Na_2CO_3 aq, DME, reflux, 70%; (e) TFA, CH_2Cl_2 , rt; (f) 2-anisic acid, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 47% (in 2 steps).

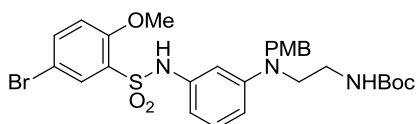
tert-Butyl (2-((4-methoxybenzyl)(3-nitrophenyl)amino)ethyl)carbamate (**G1**)



アルゴン雰囲気下、**47** (1.89 g, 6.73 mmol) の DMF 溶液 (30 mL) に炭酸カリウム (1.21 g, 8.75 mmol) 、ヨウ化ナトリウム (1.01 g, 6.73 mmol) 、*p*-methoxybenzyl chloride (1.00 mL) を加え、60 °C で終夜攪拌した。反応液を室温まで放冷し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、有機層を水で 3 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより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/ヘキサン=1/3→1/1) により精製し、目的物 **G1** を橙色オイルとして得た (2.78 g, 99%) 。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.42 (9H, s), 3.32-3.42 (2H, m), 3.67-3.74 (2H, m), 4.01 (3H, s), 4.74 (2H, s), 4.80-4.90 (1H, m), 7.00-7.08 (1H, m), 7.15-7.19 (2H, m), 7.25-7.31 (3H, m), 7.50 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 7.57 (1H, s). ESI-MS (*m/z*): 402 [M+H]⁺. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

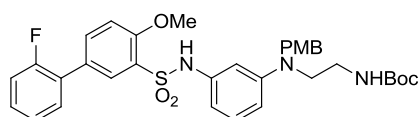
tert-Butyl (2-((3-(5-bromo-2-methoxyphenyl)sulfonamido)phenyl)(4-methoxybenzyl)amino)ethyl)carbamate (**G2**)



アルゴン雰囲気下、**G1** (1.13 g, 2.81 mmol) のメタノール溶液 (20 mL) に 10% パラジウム/炭素 (339 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で 1 時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた濃青色オイルの残渣にジクロロメタン (30 mL) 、ピリジン (0.202 mL, 2.51 mmol) 、5-bromo-2-methoxybenzenesulfonyl chloride (651 mg, 2.28 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン=2/3→1/1) により精製し、目的物 **G2** を黄色アモルファスとして得た (1.15 g, 66%, in 2 steps) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 3.20-3.29 (2H, m), 3.40-3.48 (2H, m), 3.79 (3H, s), 3.87 (3H, s), 4.41 (2H, s), 4.62-4.71 (1H, m), 6.39 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.42 (1H, s), 6.48 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.77-6.84 (3H, m), 6.96-7.03 (3H, m), 7.04-7.15 (1H, m), 7.54 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.90 (1H, s). ESI-MS (m/z): 620 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

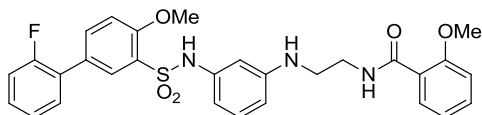
tert-Butyl (2-((3-(2'-fluoro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)(4-methoxybenzyl)amino)ethyl)carbamate (**G3**)



アルゴン雰囲気下、**G2** (93 mg, 0.15 mmol) の DME 溶液 (4.0 mL) に 2-fluorophenylboronic acid (29 mg, 0.21 mmol)、2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.150 mL, 0.30 mmol)、tetrakis(triphenylphosphine)palladium (9 mg, 0.0075 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム) により精製し、目的物 **G3** を紫色アモルファスとして得た (67 mg, 70%)。

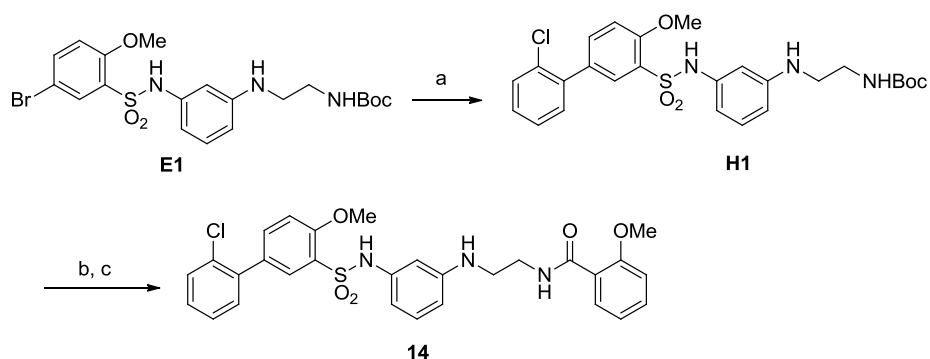
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.40 (9H, s), 3.18-3.26 (2H, m), 3.38-3.44 (2H, m), 3.76 (3H, s), 3.95 (3H, s), 4.39 (2H, s), 4.48-4.60 (1H, m), 6.40-6.47 (3H, m), 6.76-6.80 (2H, m), 6.82 (1H, s), 6.97-7.03 (4H, m), 7.10-7.22 (2H, m), 7.82-7.87 (2H, m), 7.69 (1H, td, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 7.98-8.00 (1H, m). ESI-MS (m/z): 634 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((3-(2'-Fluoro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**13**)



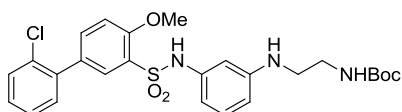
アルゴン雰囲気下、**G3** (34 mg, 0.055 mmol) のジクロロメタン溶液 (1.0 mL) に TFA (0.200 mL, excess) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた紫色オイルの残渣のジクロロメタン懸濁液 (2.0 mL) に 2-anisic acid (8 mg, 0.050 mmol)、トリエチルアミン (0.008 mL)、BOP 試薬 (24 mg, 0.055 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン = 2/1) により精製し、目的物 **12** を淡黄色アモルファスとして得た (15 mg, 47%, in 2 steps)。

Mp 77-79 °C; IR (KBr) 3388, 2940, 1607, 1508, 1396, 1152 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.31 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.62-3.65 (2H, m), 3.81 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.25 (1H, brs), 6.31-6.36 (2H, m), 6.48 (1H, t, $J = 2.4$ Hz), 6.86 (1H, brs), 6.91-6.98 (2H, m), 7.04-7.18 (4H, m), 7.25-7.37 (2H, m), 7.44 (1H, td, $J = 7.6, 2.0$ Hz), 7.68 (1H, td, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.08-8.16 (1H, m), 8.20 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{FN}_3\text{O}_5\text{SNa}$: 572.1631; found: 572.1625. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 7. Synthesis of the compound **14**. Reagents and conditions: (a) 2-chlorophenylboronic acid, Pd(PPh₃)₄, 2 M Na₂CO₃ aq, DME, reflux, 63%; (b) HCl-MeOH, 50 °C; (c) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 78% (in 2 steps).

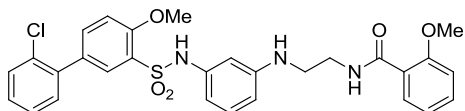
tert-Butyl (2-((3-(2'-chloro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**H1**)



アルゴン雰囲気下、**E1** (79 mg, 0.16 mmol) の DME 溶液 (2.0 mL) に 2-chlorophenylboronic acid (34 mg, 0.22 mmol)、2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.160 mL, 0.32 mmol)、tetrakis(triphenylphosphine)palladium (9 mg, 0.0079 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=40/1) により精製し、目的物 **H1** を黄色オイルとして得た (54 mg, 63%)。

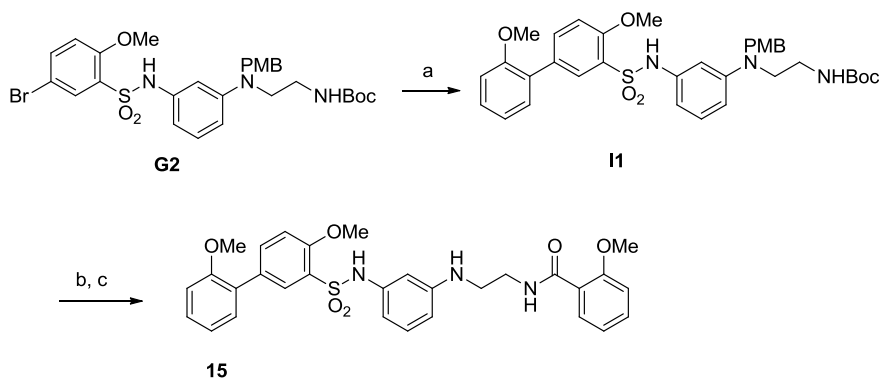
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.44 (9H, s), 3.13-3.17 (2H, m), 3.27-3.32 (2H, m), 4.06 (3H, s), 4.68-4.80 (1H, m), 6.30-6.34 (2H, m), 6.43 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.92 (1H, s), 6.95 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.25-7.31 (1H, m), 7.42-7.50 (2H, m), 7.52-7.60 (1H, m), 7.64-7.70 (2H, m), 7.93 (1H, d, *J* = 2.4 Hz). ESI-MS (*m/z*): 532 [M+H]⁺. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((3-(2'-Chloro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**14**)



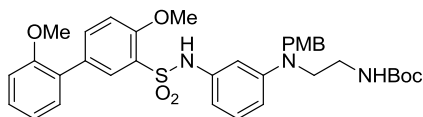
アルゴン雰囲気下、**H1** (24 mg, 0.046 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液 (1.0 mL) を加え、50 °C で 3 時間攪拌した。反応液を濃縮することにより得られた残渣のジクロロメタン懸濁液 (1.0 mL) に 2-anisic acid (7 mg, 0.046 mmol)、トリエチルアミン (0.021 mL, 0.15 mmol)、BOP 試薬 (22 mg, 0.050 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール=400/1) により精製し、目的物 **14** を無色固体として得た (20 mg, 78%, in 2 steps)。

Mp 62-64 °C; IR (KBr) 3387, 2934, 1607, 1501, 1396, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.31 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.62-3.67 (2H, m), 3.83 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.25 (1H, brs), 6.31 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.35 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.47 (1H, t, *J* = 2.4 Hz), 6.83 (1H, brs), 6.92-7.10 (4H, m), 7.21-7.26 (3H, m), 7.37-7.39 (1H, m), 7.44 (1H, td, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 7.55 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 7.92 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 8.08-8.12 (1H, m), 8.20 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₉H₂₈ClN₃O₅SNa: 588.1336; found: 588.1320. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 8. Synthesis of the compound **15**. Reagents and conditions: (a) potassium 2-methoxyphenyl-trifluoroborate, PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂, Et₃N, *n*-PrOH, reflux, 90%; (b) TFA, CH₂Cl₂, rt; (c) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 40% (in 2 steps).

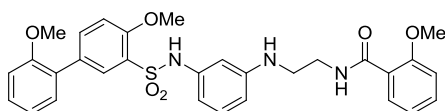
tert-Butyl (2-((3-(2',4-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)(4-methoxybenzyl)amino)ethyl)carbamate (**II**)



アルゴン雰囲気下、**G2** (124 mg, 0.20 mmol) の1-プロパノール溶液 (2.0 mL) に potassium 2-methoxyphenyltrifluoroborate (51 mg, 0.24 mmol) 、トリエチルアミン (0.084 mL, 0.60 mmol) 、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (5 mg, 0.006 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより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/ヘキサン = 1 / 1) により精製し、目的物 **II** を黄色オイルとして得た (116 mg, 90%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.40 (9H, s), 3.16-3.24 (2H, m), 3.38-3.44 (2H, m), 3.76 (6H, s), 3.94 (3H, s), 4.39 (2H, s), 4.48-4.59 (1H, m), 6.43-6.46 (3H, m), 6.76-6.80 (2H, m), 6.84 (1H, s), 6.94-7.02 (6H, m), 7.21 (1H, dd, $J = 7.6, 1.6$ Hz), 7.30 (1H, td, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 7.68 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.99 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 648 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

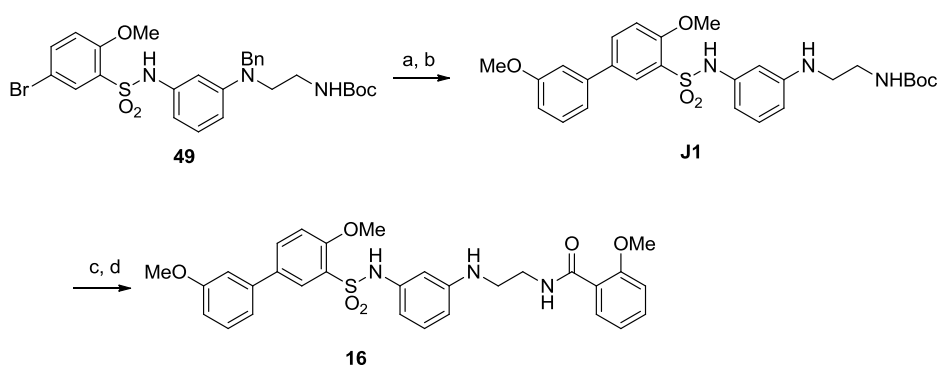
N-(2-((3-(2',4-Dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**15**)



アルゴン雰囲気下、**II** (77 mg, 0.12 mmol) のジクロロメタン溶液 (3.0 mL) に TFA (1.00 mL, excess) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた紫色オイルの残渣のジクロロメタン懸濁液 (2.0 mL) に 2-anisic acid (18 mg, 0.12 mmol) 、トリエチルアミン (0.020 mL) 、BOP 試薬 (62 mg, 0.14 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をシリカゲルカラムクロマト

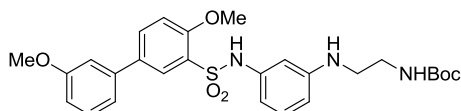
グラフィー（酢酸エチル／ヘキサン＝2／1→1／0）により精製し、目的物 **15** を淡黄色アモルファスとして得た (20 mg, 40%, in 2 steps)。

Mp 77-79 °C; IR (KBr) 3386, 2939, 1606, 1509, 1393, 1155 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.31 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.61-3.65 (2H, m), 3.81 (6H, s), 4.08 (3H, s), 6.34 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.47-6.48 (1H, m), 6.80-6.84 (1H, m), 6.90-7.10 (6H, m), 7.21-7.31 (4H, m), 7.44 (1H, td, $J = 7.6, 2.0$ Hz), 7.66 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 5.6, 2.4$ Hz), 8.06-8.13 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6\text{SNa}$: 584.1831; found: 584.1818. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 9. Synthesis of the compound **16**. Reagents and conditions: (a) 3-methoxyphenylboronic acid, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 2 M Na_2CO_3 aq, DME, reflux; (b) Pd/C , H_2 , MeOH, rt, 41% (in 2 steps); (c) HCl -MeOH, 50 °C; (d) 2-anisic acid, Et_3N , BOP, CH_2Cl_2 , rt, 22% (in 2 steps).

tert-Butyl (2-((3-(3',4-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)-ethyl)carbamate (**J1**)

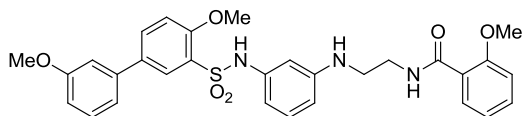


アルゴン雰囲気下、**49** (118 mg, 0.20 mmol) の DME 溶液 (4.0 mL) に 3-methoxyphenylboronic acid (43 mg, 0.28 mmol)、2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.200 mL, 0.40 mmol)、tetrakis(triphenylphosphine)palladium (12 mg, 0.010 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー（アンモニア飽和クロロホルム）により精製し、紫色アモルファスの残渣を得た。

アルゴン雰囲気下、この残渣のメタノール溶液 (2.0 mL) に 10% パラジウム／炭素 (28 mg) を加え、反応系内を水素に置換し、室温で 2 時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより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／ヘキサン = 1 / 1) により精製し、目的物 **J1** を黄色アモルファスとして得た (43 mg, 41%, in 2 steps)。

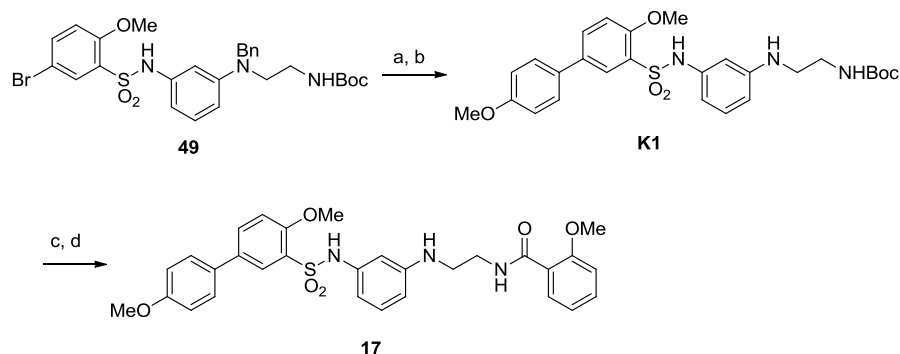
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.43 (9H, s), 3.13-3.20 (2H, m), 3.25-3.30 (2H, m), 3.85 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.06-4.11 (1H, m), 4.71-4.81 (1H, m), 6.27-6.33 (2H, m), 6.43 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.86-6.90 (2H, m), 6.94 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.01 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 7.04-7.10 (2H, m), 7.33 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.69 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 8.06 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 528 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((3-(3',4-Dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**16**)



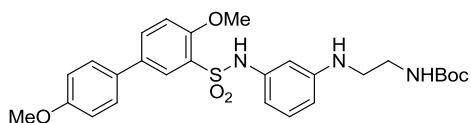
アルゴン雰囲気下、**J1** (17 mg, 0.033 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣をジクロロメタン (2.0 mL) に溶解し、2-anisic acid (5.0 mg, 0.033 mmol)、トリエチルアミン (0.015 mL, 0.11 mmol)、BOP 試薬 (16 mg, 0.036 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル／ヘキサン = 2 / 1) により精製し、目的物 **16** を淡黄色固体として得た (4 mg, 22% in 2 steps)。

Mp 70–72 °C; IR (KBr) 3389, 2941, 1608, 1507, 1389, 1152 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.62–3.66 (2H, m), 3.80 (3H, s), 3.88 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.15 (1H, brs), 6.32–6.36 (2H, m), 6.48 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.84–7.10 (7H, m), 7.28–7.32 (2H, m), 7.42–7.46 (1H, m), 7.66 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 8.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.06–8.12 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6\text{SNa}$: 584.1831; found: 584.1816. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 10. Synthesis of the compound **17**. Reagents and conditions: (a) 4-methoxyphenylboronic acid, Pd(PPh₃)₄, 2 M Na₂CO₃ aq, DME, reflux; (b) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 33% (in 2 steps); (c) HCl-MeOH, 50 °C; (e) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 99% (in 2 steps).

tert-Butyl ((3-(4,4'-dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl carbamate (**K1**)

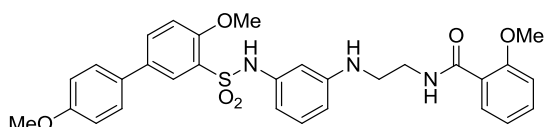


アルゴン雰囲気下、**49** (118 mg, 0.20 mmol) の DME 溶液 (4.0 mL) に 4-methoxyphenylboronic acid (43 mg, 0.28 mmol) 、 2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.200 mL, 0.40 mmol) 、 tetrakis(triphenylphosphine)palladium (12 mg, 0.010 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン=1/2) により精製し、紫色アモルファスの残渣を得た。アルゴン雰囲気下、この残渣のメタノール溶液 (2.0 mL) に 10% パラジウム/炭素 (74 mg) を加え、反応系内を水素に置換し、室温で 2 時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール=40/1) により精製し、目的物 **K1** を黄色アモルファスとして得た (34 mg, 33%, in 2 steps) 。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.43 (9H, s), 3.10-3.18 (2H, m), 3.25-3.31 (2H, m), 3.84 (3H, s), 4.05 (3H, s), 4.65-4.75 (1H, m), 6.29 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.32 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 6.43 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.90 (1H, s), 6.92-6.97 (4H, m), 7.04 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.43 (2H, dd, *J* = 6.8, 2.0 Hz), 7.64 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz), 8.01 (1H,

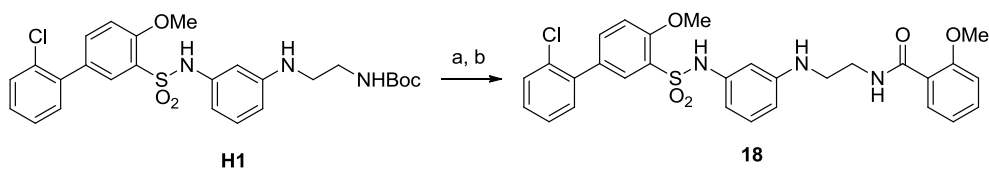
d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 528 $[M+H]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((3-(4,4'-Dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**17**)



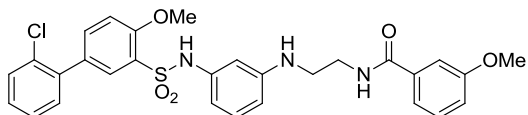
アルゴン雰囲気下、**K1** (15 mg, 0.028 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間撹拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣にジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (4 mg, 0.028 mmol)、トリエチルアミン (0.013 mL, 0.092 mmol)、BOP 試薬 (14 mg, 0.031 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/ヘキサン = 3 / 1 → 1 / 0)により精製し、目的物 **17** を淡黄色固体として得た (16 mg, 99% in 2 steps)。

Mp 71–73 °C; IR (KBr) 3386, 2963, 1639, 1488, 1388, 1150 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.27–3.32 (2H, m), 3.60–3.70 (2H, m), 3.80 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.05 (3H, s), 4.20–4.38 (1H, m), 6.31–6.36 (2H, m), 6.48 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.86 (1H, s), 6.88–6.97 (4H, m), 7.02 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.05–7.10 (1H, m), 7.39–7.47 (3H, m), 7.62 (1H, dd, $J = 8.8, 2.0$ Hz), 8.00 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.04–8.14 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[M+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6\text{SNa}$: 584.1831; found: 584.1819. Purity was $> 98\%$ as assessed by HPLC (254 nm).



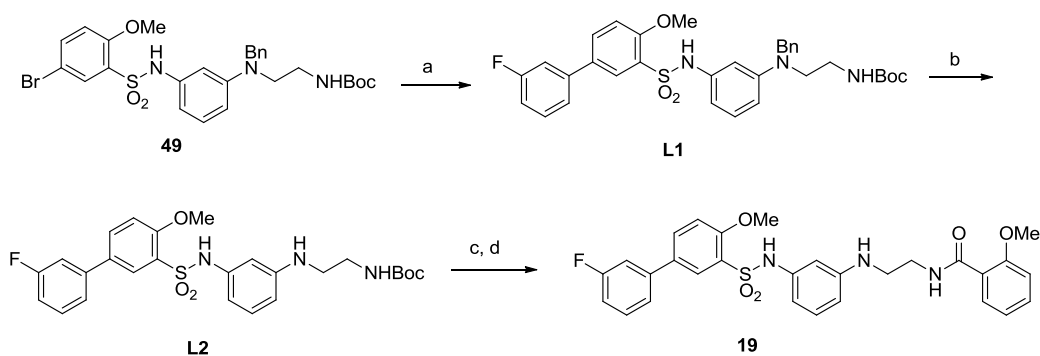
Scheme 11. Synthesis of the compound **18**. Reagents and conditions: (a) HCl-MeOH, 50 °C; (b) 3-anisic acid, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 94% (in 2 steps).

N-(2-((3-(2'-Chloro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-3-methoxybenzamide (**18**)



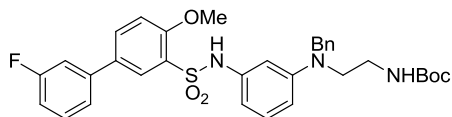
アルゴン雰囲気下、**H1** (24 mg, 0.046 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液 (1.0 mL) を加え、50 °C で 3 時間攪拌した。反応液を濃縮することにより得られた残渣のジクロロメタン懸濁液 (1.0 mL) に 3-anisic acid (7 mg, 0.046 mmol)、トリエチルアミン (0.021 mL, 0.15 mmol)、BOP 試薬 (22 mg, 0.050 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール=400/1) により精製し、目的物 **18** を無色アモルファスとして得た (25 mg, 94%, in 2 steps)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.20-3.28 (2H, m), 3.64-3.69 (2H, m), 3.86 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.20-4.30 (1H, m), 6.32 (1H, dd, *J* = 7.2, 1.6 Hz), 6.41-6.44 (2H, m), 6.54 (1H, s), 6.99-7.06 (2H, m), 7.22-7.35 (8H, m), 7.63 (1H, ddd, *J* = 8.0, 2.0, 1.2 Hz), 7.66 (1H, ddd, *J* = 8.0, 2.0, 0.8 Hz), 7.94 (1H, t, *J* = 2.0 Hz). ESI-MS (*m/z*): 588 [M+Na]⁺. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 12. Synthesis of the compound **19**. Reagents and conditions: (a) potassium 3-fluorophenyltrifluoroborate, PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂, Et₃N, *n*-PrOH, reflux, 56%; (b) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 50%; (c) HCl-MeOH, 50 °C; (d) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 43% (in 2 steps).

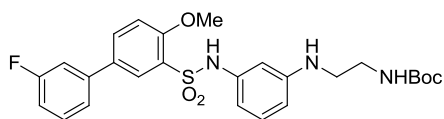
tert-Butyl (2-(benzyl(3-(3'-fluoro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)-amino)ethyl)carbamate (**L1**)



アルゴン雰囲気下、**49** (118 mg, 0.20 mmol) の1-プロパノール溶液 (4.0 mL) に potassium 3-fluorophenyltrifluoroborate (51 mg, 0.24 mmol) 、トリエチルアミン (0.084 mL, 0.60 mmol) 、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (5 mg, 0.006 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー(アンモニア飽和クロロホルム)により精製し、目的物 **L1** を黄色アモルファスとして得た (68 mg, 56%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 3.20-3.28 (2H, m), 3.42-3.48 (2H, m), 3.91 (3H, s), 4.46 (2H, s), 4.54-4.62 (1H, m), 6.39-6.48 (3H, m), 6.83 (1H, s), 6.94-7.11 (4H, m), 7.16-7.31 (6H, m), 7.35-7.42 (1H, m), 7.67 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 7.98 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 606 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was $> 98\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

tert-Butyl (2-((3-(3'-fluoro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**L2**)

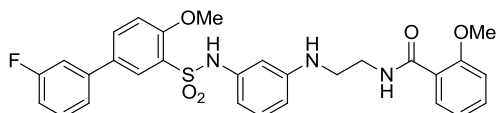


アルゴン雰囲気下、**L1** (68 mg, 0.11 mmol) のメタノール溶液 (2.0 mL) に10%パラジウム/炭素 (20 mg) を加え、反応系内を水素に置換し、室温で2時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム)により精製し、目的物 **L2** を黄色オイルとして得た (29 mg, 50%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (9H, s), 3.13-3.20 (2H, m), 3.27-3.33 (2H, m), 4.08 (3H, s), 4.65-4.74 (1H, m), 6.26-6.42 (2H, m), 6.54 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.91-7.09 (6H, m), 7.18 (1H, td, $J = 10.0, 2.0$ Hz), 7.34-7.41 (1H, m), 7.68 (1H, d, $J = 8.4, 2.4$ Hz).

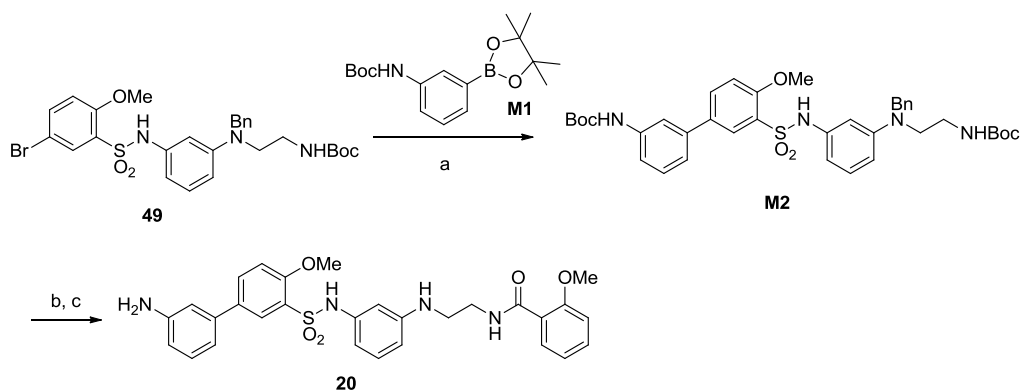
Hz), 8.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz). ESI-MS (m/z): 516 $[M+H]^+$. Purity was $> 98\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((3-(3'-Fluoro-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**19**)



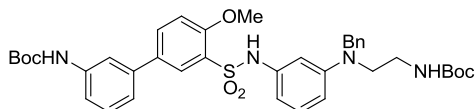
アルゴン雰囲気下、**L2** (29 mg, 0.055 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣にジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (8 mg, 0.055 mmol)、トリエチルアミン (0.025 mL, 0.18 mmol)、BOP 試薬 (27 mg, 0.061 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム) により精製し、目的物 **19** を淡黄色固体として得た (13 mg, 43% in 2 steps)。

Mp 89–91 °C; IR (KBr) 3388, 2939, 1607, 1507, 1391, 1154 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.28–3.32 (2H, m), 3.62–3.67 (2H, m), 3.83 (3H, s), 4.02 (3H, s), 4.25 (1H, brs), 6.31–6.36 (2H, m), 6.45–6.47 (1H, m), 6.83–7.10 (6H, m), 7.17 (1H, dt, $J = 10.0, 2.4$ Hz), 7.25–7.27 (1H, m), 7.32–7.37 (1H, m), 7.42–7.47 (1H, m), 7.65 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 8.04 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.06–8.17 (1H, m), 8.18–8.22 (1H, m); HRMS-ESI: m/z $[M+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{FN}_3\text{O}_5\text{SNa}$: 572.1631; found: 572.1619. Purity was $> 98\%$ as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 13. Synthesis of the compound **20**. Reagents and conditions: (a) **M1**, PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂, Et₃N, *n*-PrOH, reflux, 99%; (b) Pd/C, H₂, HCl-MeOH, rt; (c) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 88% (in 2 steps).

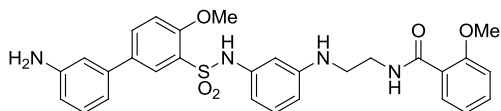
tert-Butyl (2-(benzyl(3-((3'-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl])-3-sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**M2**)



アルゴン雰囲気下、**49** (162 mg, 0.27 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (3.0 mL) に(3-(*tert*-butoxycarbonyl)amino)phenylboronic acid pinacol ester (**M1**, 122 mg, 0.38 mmol)、2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.28 mL, 0.55 mmol)、1,1'-bis(di-phenyl-phosphono)ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (11 mg, 0.014 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより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/ヘキサン = 1/2) により精製し、目的物 **M2** を黄色固体として得た (192 mg, 99%)。

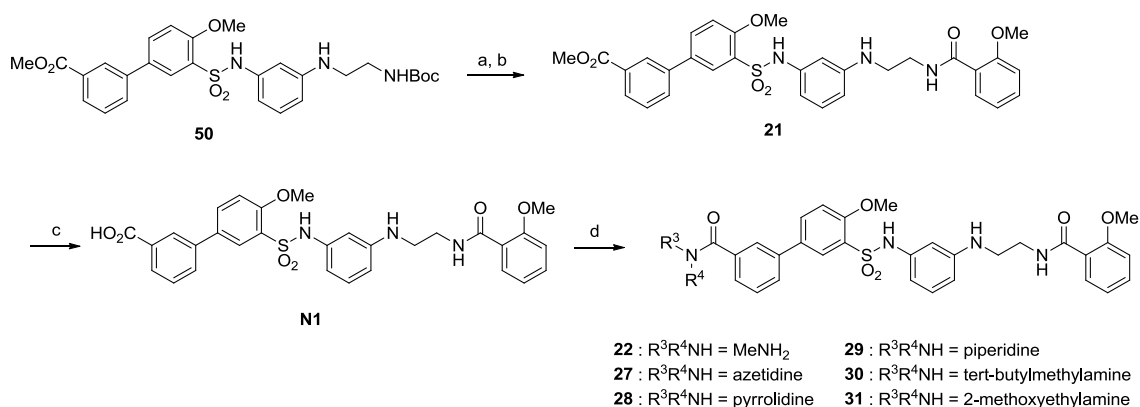
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.43 (9H, s), 1.46 (9H, s), 3.23-3.29 (2H, m), 3.44-3.52 (2H, m), 4.06 (3H, s), 4.24-4.34 (1H, m), 4.48 (2H, s), 4.59-4.67 (1H, m), 6.40-6.45 (2H, m), 6.47 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 6.82 (1H, s), 6.91-7.09 (5H, m), 7.14-7.28 (5H, m), 7.35-7.42 (1H, m), 7.67 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 8.01 (1H, d, *J* = 2.0 Hz). ESI-MS (*m/z*): 703 [M+H]⁺. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

N-(2-((3-(3'-Amino-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**20**)



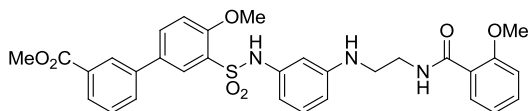
アルゴン雰囲気下、**M2** (77 mg, 0.11 mmol) の 10% 塩化水素-メタノール溶液 (2.0 mL) に 10% パラジウム/炭素 (30 mg) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた紫色アモルファスの残渣にジクロロメタン (2.0 mL)、2-anisic acid (17 mg, 0.11 mmol)、トリエチルアミン (0.077 mL, 0.55 mmol)、BOP 試薬 (53 mg, 0.12 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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) で精製し、目的物 **20** を茶色アモルファスとして得た (53 mg, 88% in 2 steps)。

IR (KBr) 3375, 2932, 1609, 1487, 1278, 1151 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.62–3.67 (2H, m), 3.76 (2H, brs), 3.80 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.21 (1H, brs), 6.29–6.35 (2H, m), 6.49 (1H, t, $J = 1.6$ Hz), 6.63 (1H, ddd, $J = 8.0, 2.4, 0.8$ Hz), 6.80–7.10 (7H, m), 7.16 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.44 (1H, ddd, $J = 8.8, 5.2, 1.6$ Hz), 7.66 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 8.03 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.07–8.10 (1H, m), 8.19 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$: 547.2015; found: 547.1999. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 14. Synthesis of the compounds **22** and **27-31**. Reagents and conditions: (a) HCl-MeOH , 50 °C; (b) 2-anisic acid, Et_3N , BOP, CH_2Cl_2 , rt, 88% (in 2 steps); (c) 1 M NaOH aq, MeOH , 60 °C, 93%; (d) $\text{R}^3\text{R}^4\text{NH}$, Et_3N , BOP, CH_2Cl_2 , rt.

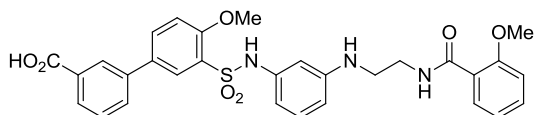
Methyl 4'-methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-[1,1'-biphenyl]-3-carboxylate (**21**)



アルゴン雰囲気下、**50** (189 mg, 0.34 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液 (6.0 mL) を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣にジクロロメタン (4.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (52 mg, 0.34 mmol)、トリエチルアミン (0.155 mL, 1.11 mmol)、BOP 試薬 (164 mg, 0.37 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン = 2/1 → 1/0) により精製し、目的物 **21** を無色固体として得た (176 mg, 88% in 2 steps)。

Mp 79–81 °C; IR (KBr) 3388, 2948, 1606, 1505, 1282, 1152 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.26–3.33 (2H, m), 3.60–3.69 (2H, m), 3.81 (3H, s), 3.93 (3H, s), 4.08 (3H, s), 4.20–4.30 (1H, m), 6.31–6.37 (2H, m), 6.48 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.84 (1H, brs), 6.90–6.98 (2H, m), 7.05–7.10 (2H, m), 7.41–7.48 (2H, m), 7.66–7.70 (2H, m), 7.72 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.4 Hz), 7.98 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 8.08–8.10 (1H, m), 8.16 (1H, t, *J* = 1.6 Hz), 8.19 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz); HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₁H₃₁N₃O₇SNa: 612.1780; found: 612.1788. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-[1,1'-biphenyl]-3-carboxylic acid (**N1**)



アルゴン雰囲気下、**21** (176 mg, 0.30 mmol) のメタノール溶液 (3.0 mL) に 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (0.900 mL, 0.30 mmol) を加え、60 °C で 3 時間攪拌した。反応液に 1 M 塩酸を加え、反応液を pH < 2 にした後、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残

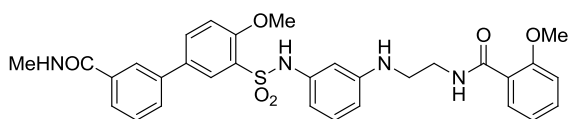
渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム／メタノール＝10／1）により精製し、目的物 **N1** を白色固体として得た（161 mg, 93%）。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.03-3.09 (2H, m), 3.36-3.42 (2H, m), 3.77 (3H, s), 3.95 (3H, s), 5.73-5.83 (1H, m), 6.24 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 6.33 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.43 (1H, s), 6.88 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.01 (1H, t, $J = 7.2$ Hz), 7.05 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.28 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.45 (1H, td, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 7.57 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.75 (1H, dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz), 7.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.89-7.93 (2H, m), 7.99 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.09 (1H, s), 8.25 (1H, t, $J = 5.6$ Hz), 9.81 (1H, s), 13.15 (1H, brs). ESI-MS (m/z): 574 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).

一般的合成法 2 (アミド化)

アルゴン雰囲気下、**N1** のジクロロメタン懸濁液 (0.5 M) にアミン (1.0 eq.) (塩酸塩の場合、2.2 eq.)、トリエチルアミン (1.1 eq.) (アミンが塩酸塩の場合、3.3 eq.)、BOP 試薬 (1.1 eq.) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、目的物を得た。

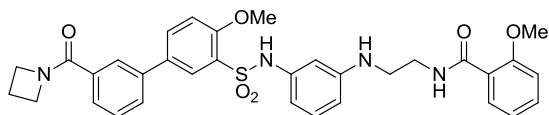
4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N*-methyl-*N*-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**22**)



一般的合成法 2 に従い、無色固体として目的物 **22** を得た (99%)。

Mp 79–81 °C; IR (KBr) 3377, 2940, 1605, 1481, 1288, 1151 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.01 (3H, d, $J = 4.8$ Hz), 3.24–3.28 (2H, m), 3.55–3.60 (2H, m), 3.80 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.22–4.33 (1H, m), 6.30–6.35 (2H, m), 6.46–6.48 (2H, m), 6.87 (1H, brs), 6.91–6.98 (2H, m), 7.04–7.08 (2H, m), 7.41–7.46 (2H, m), 7.58–7.60 (1H, m), 7.68–7.71 (2H, m), 7.88 (1H, t, $J = 1.6$ Hz), 8.09–8.12 (2H, m), 8.13 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz); HRMS-ESI: m/z [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 611.1940; found: 611.1925. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).

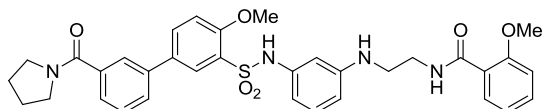
N-(2-((3-(3'-(Azetidine-1-carbonyl)-4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)-2-methoxybenzamide (**27**)



一般的合成法 2 に従い、無色固体として目的物 **27** を得た (58%)。

Mp 91–93 °C; IR (KBr) 3378, 2946, 1605, 1504, 1279, 1152 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.32–3.36 (2H, m), 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.62–3.67 (2H, m), 3.81 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.21–4.31 (5H, m), 6.31 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.34 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.47 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.85 (1H, brs), 6.91–6.97 (2H, m), 7.05–7.09 (2H, m), 7.39–7.46 (2H, m), 7.51–7.58 (2H, m), 7.69 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz), 7.76 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 8.05 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 8.08–8.13 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz); HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 637.2097; found: 637.2081. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).

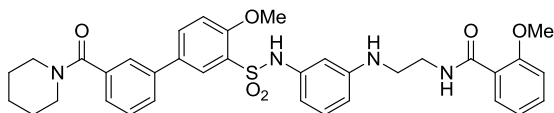
2-Methoxy-*N*-(2-((3-(4-methoxy-3'-(pyrrolidine-1-carbonyl)-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)benzamide (**28**)



一般的合成法 2 に従い、無色固体として目的物 **28** を得た (58%)。

Mp 70–72 °C; IR (KBr) 3376, 2943, 1605, 1505, 1451, 1151 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.85–1.89 (2H, m), 1.95–1.99 (2H, m), 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.40–3.44 (2H, m), 3.62–3.67 (4H, m), 3.81 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.38 (1H, brs), 6.32–6.36 (2H, m), 6.47 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.90–6.97 (3H, m), 7.04–7.09 (2H, m), 7.40–7.46 (3H, m), 7.52 (1H, dt, $J = 7.2, 1.6$ Hz), 7.63 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 7.69 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz), 8.06 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.09–8.15 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 651.2253; found: 651.2251. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

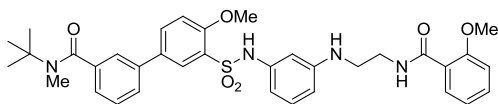
2-Methoxy-*N*-(2-((3-(4-methoxy-3'-(piperidine-1-carbonyl)-[1,1'-biphenyl]-3-ylsulfonamido)phenyl)amino)ethyl)benzamide (**29**)



一般的合成法 2 に従い、無色固体として目的物 **29** を得た (62%)。

Mp 94-96 °C; IR (KBr) 3386, 2938, 1606, 1504, 1465, 1153 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.52-1.68 (6H, m), 3.10 (1H, brs), 3.28-3.35 (4H, m), 3.63-3.72 (4H, m), 3.82 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.29 (1H, brs), 6.31-6.36 (2H, m), 6.46-6.49 (1H, m), 6.92-7.00 (2H, m), 7.05-7.09 (2H, m), 7.30-7.32 (1H, m), 7.38-7.47 (2H, m), 7.50-7.53 (2H, m), 7.68 (1H, dd, $J = 7.6, 2.4$ Hz), 8.06 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.11-8.16 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 665.2410; found: 665.2421. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).

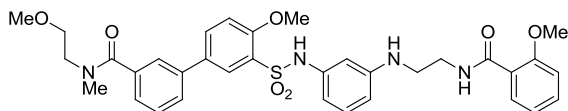
N-(*tert*-Butyl)-4'-methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**30**)



一般的合成法 2 に従い、無色固体として目的物 **30** を得た (96%)。

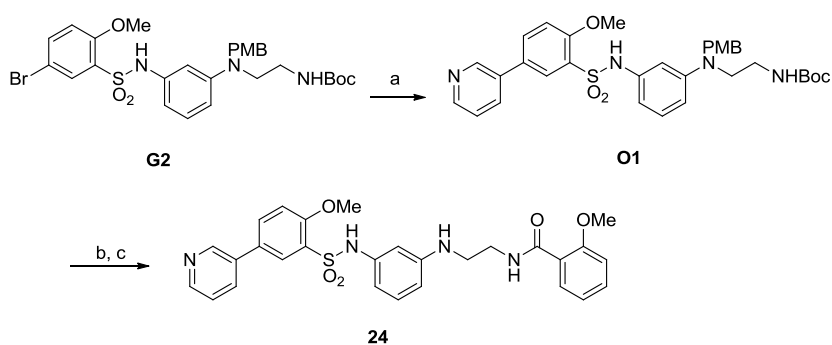
Mp 94-96 °C; IR (KBr) 3385, 2964, 1606, 1504, 1381, 1153 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.52 (9H, s), 2.87 (3H, s), 3.28-3.31 (2H, m), 3.62-3.67 (2H, m), 3.81 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.36 (1H, brs), 6.31-6.36 (2H, m), 6.47 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.89 (1H, brs), 6.91-6.95 (2H, m), 7.04-7.09 (2H, m), 7.32-7.50 (4H, m), 7.54 (1H, d, $J = 1.2$ Hz), 7.68 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 8.06 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.11-8.14 (1H, m), 8.18 (1H, dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz). HRMS-ESI: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_6\text{SNa}$: 667.2566; found: 667.2561. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).

4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N*-(2-methoxyethyl)-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**31**)



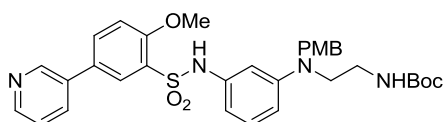
一般的合成法 2 に従い、淡黄色固体として目的物 **31** を得た (94%)。

Mp 107-109 °C; IR (KBr) 3379, 2933, 1605, 1504, 1402, 1153 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.03-3.13 (3H, m), 3.30-3.49 (7H, m), 3.64-3.73 (4H, m), 3.82 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.30 (1H, brs), 6.32-6.36 (2H, m), 6.47 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.86 (1H, d, *J* = 4.8 Hz), 6.92-6.97 (2H, m), 7.04-7.09 (2H, m), 7.35-7.52 (5H, m), 7.67 (1H, dd, *J* = 8.4, 1.6 Hz), 8.06 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 8.09-8.16 (1H, m), 8.19 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₄H₃₈N₄O₇SNa: 669.2359; found: 669.2362. Purity was > 98% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 15. Synthesis of the compound **24**. Reagents and conditions: (a) pyridin-3-ylboronic acid, PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂, 2 M Na₂CO₃ aq, dioxane, 90 °C, 45%; (b) TFA, 80 °C; (c) 2-anisic acid, BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, rt, 73% (in 2 steps).

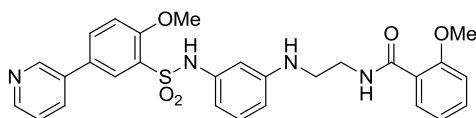
tert-Butyl (2-((3-(2-methoxy-5-(pyridin-3-yl)phenyl)sulfonamido)phenyl)(4-methoxybenzyl)amino)ethyl carbamate (**O1**)



アルゴン雰囲気下、**G2** (310 mg, 0.50 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (2.0 mL) に pyridin-3-ylboronic acid (74 mg, 0.75 mmol)、2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.500 mL, 1.00 mmol)、1,1'-bis(diphenylphosphono)ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (4 mg, 0.0050 mmol) を加え、脱気操作し、90 °C で終夜撹拌した。反応液を室温まで冷却し、セライトろ過し、濃縮することにより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/ヘキサン = 1 / 1) により精製し、目的物 **O1** を黄色アモルファスとして得た (139 mg, 45%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.41 (9H, s), 3.20-3.26 (2H, m), 3.39-3.45 (2H, m), 3.77 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.39 (2H, s), 4.58-4.67 (1H, m), 6.44-6.50 (3H, m), 6.74-6.80 (2H, m), 6.82 (1H, s), 6.97-7.02 (3H, m), 7.32-7.36 (1H, m), 7.68-7.79 (3H, m), 8.02 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.58 (1H, dd, $J = 4.4, 1.2$ Hz), 8.75 (1H, d, $J = 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 619 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

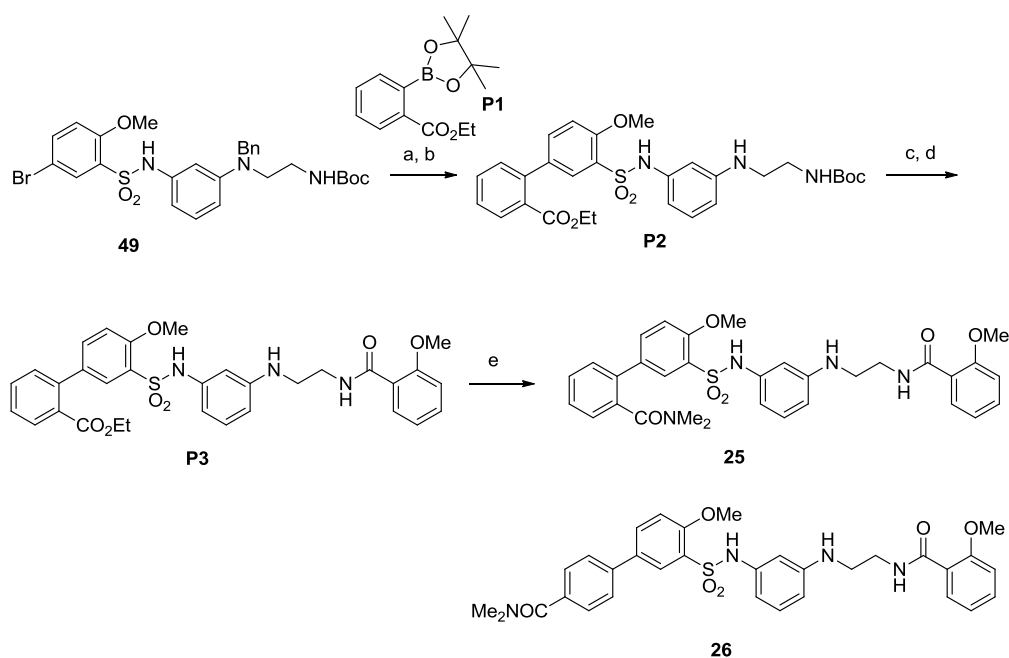
2-Methoxy-*N*-(2-((3-(2-methoxy-5-(pyridin-3-yl)phenyl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)benzamide (**24**)



アルゴン雰囲気下、**O1** (62 mg, 0.10 mmol) に TFA (3.0 mL) を加え、90 °C で終夜撹拌した。反応液を室温まで放冷し、濃縮することにより得られた紫色オイルの残渣にジクロロメタン (2.0 mL)、2-anisic acid (15 mg, 0.10 mmol)、トリエチルアミン (0.077 mL, 0.55 mmol)、BOP 試薬 (49 mg, 0.11 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液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、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム/メタノール = 40 / 1) により精製し、目的物 **21** を無色固体として得た (39 mg, 73% in 2 steps)。

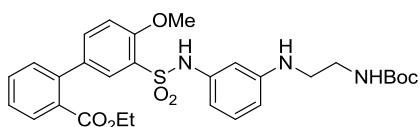
Mp 89–91 °C; IR (KBr) 3375, 2934, 1605, 1498, 1283, 1150 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.63–3.67 (2H, m), 3.85 (3H, s), 4.08 (3H, s), 4.29–4.37 (1H, m), 6.33–6.36 (2H, m), 6.47 (1H, s), 6.93–6.98 (3H, m), 7.07–7.11 (2H, m), 7.32 (1H, dd, $J = 8.0, 4.8$ Hz), 7.43–7.47 (1H, m), 7.67 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 7.77 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 8.04 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.05–8.14 (1H, m), 8.18 (1H,

dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz), 8.55 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), 8.74 (1H, s); HRMS-ESI: m/z $[M+Na]^+$ calcd for $C_{28}H_{28}N_4O_5SNa$: 555.1679; found: 555.1674. Purity was $> 97\%$ as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 16. Synthesis of the compounds **25** and **26**. Reagents and conditions: (a) **P1**, $PdCl_2(dppf) \cdot CH_2Cl_2$, 2 M Na_2CO_3 aq, dioxane, reflux; (b) Pd/C, H_2 , MeOH, rt, 84% (in 2 steps); (c) HCl-MeOH, 50 °C; (h) 2-anisic acid, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 98% (in 2 steps); (e) 1 M NaOH aq, MeOH, 60 °C; (f) $Me_2NH \cdot HCl$, Et_3N , BOP, CH_2Cl_2 , rt, 73% (in 2 steps).

Ethyl 3'-(*N*-(3-((2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-4'-methoxy-[1,1'-biphenyl]-2-carboxylate (**P2**)

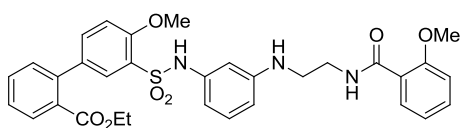


アルゴン雰囲気下、**49** (118 mg, 0.20 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (4.0 mL) に 2-ethoxycarbonylphenylboronic acid pinacol ester (**P1**, 66 mg, 0.24 mmol) 、 2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.200 mL, 0.40 mmol) 、 1,1'-bis(diphenylphosphono)-ferrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (4 mg, 0.045 mmol) を加え、脱気操作し、終夜加熱還流した。反応液を室温まで放冷し、セライトろ過し、濃縮することにより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／ヘキサン＝1／2→1／1)により精製し、得られた無色アモルファスとして残渣を得た。アルゴン雰囲気下、この残渣のメタノール溶液 (5.0 mL) に 10% パラジウム／炭素 (40 mg) を加え、反応系内を水素で置換し、室温で終夜攪拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をアミンシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) により精製し、目的物 **P2** を無色アモルファスとして得た (95 mg, 84% in 2 steps)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.43 (9H, s), 3.12-3.19 (2H, m), 3.26-3.32 (2H, m), 3.95 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.05 (3H, s), 4.11-4.22 (1H, m), 4.78-4.86 (1H, m), 6.29 (2H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz), 6.44 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.85 (1H, brs), 6.96 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.25-7.29 (1H, m), 7.39-7.46 (2H, m), 7.51 (1H, td, $J = 7.6, 1.2$ Hz), 7.80-7.85 (2H, m). ESI-MS (m/z): 570 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Purity was > 97% as assessed by HPLC (254 nm).

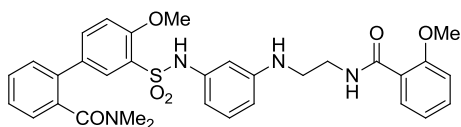
Ethyl 4'-methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-[1,1'-biphenyl]-2-carboxylate (**P3**)



アルゴン雰囲気下、**P2** (95 mg, 0.17 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣にジクロロメタン (4.0 mL) を加え、2-anisic acid (25 mg, 0.17 mmol)、トリエチルアミン (0.077 mL, 0.55 mmol)、BOP 試薬 (81 mg, 0.18 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム／メタノール＝80／1) により精製し、目的物 **P3** を無色固体として得た (98 mg, 98% in 2 steps)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.91 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.30 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.61-3.38 (2H, m), 3.83 (3H, s), 3.95 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.06 (3H, s), 4.38-4.48 (1H, m), 6.28-6.37 (2H, m), 6.46 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.82 (1H, brs), 6.91-7.02 (4H, m), 7.08 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 7.36-7.50 (4H, m), 7.78-7.83 (2H, m), 8.07-8.13 (1H, m), 8.19 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 604 $[\text{M} + \text{H}]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

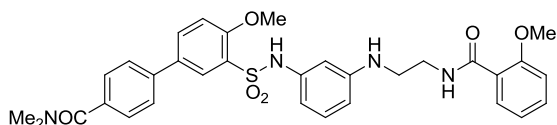
4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-2-carboxamide (**25**)



アルゴン雰囲気下、**P3** (30 mg, 0.050 mmol) のメタノール溶液 (2.0 mL) に 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (0.100 mL) を加え、60 °C で 1 時間攪拌した。反応液に 1 M 塩酸を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮することにより得られた無色アモルファスの残渣にジクロロメタン (2.0 mL) 、ジメチルアミン塩酸塩 (12 mg, 0.15 mmol) 、トリエチルアミン (0.23 mL, 0.17 mmol) 、BOP 試薬 (24 mg, 0.055 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣を分取薄相クロマトグラフィー (アンモニア飽和クロロホルム) により精製し、目的物 **25** を無色アモルファスとして得た (22mg, 73% in 2 steps) 。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.80 (3H, s), 2.97 (3H, s), 3.26–3.36 (2H, m), 3.60–3.69 (2H, m), 3.83 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.32–4.50 (1H, m), 6.28–6.37 (2H, m), 6.46 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 6.82 (1H, brs), 6.91–7.04 (4H, m), 7.07 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 7.36–7.50 (4H, m), 7.78–7.84 (2H, m), 8.05–8.15 (1H, m), 8.19 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz). ESI-MS (m/z): 625 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

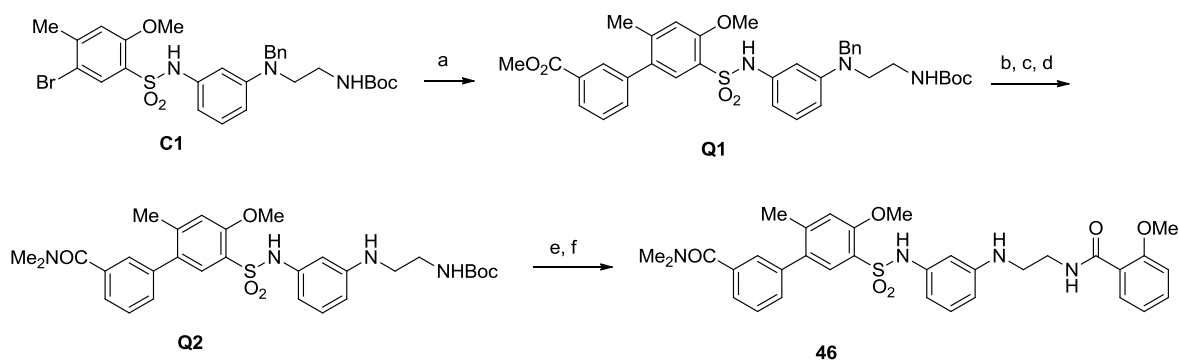
4'-Methoxy-3'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N,N*-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide (**26**)



25 と同様の合成法に従い、淡黄色アモルファスとして目的物 **26** を得た。

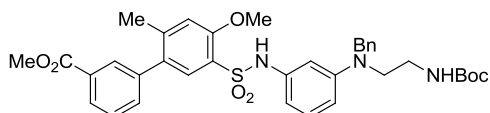
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 2.97 (3H, s), 3.10 (3H, s), 3.26 (2H, t, $J = 5.8$ Hz), 3.61 (2H, q, $J = 5.9$ Hz), 3.79 (3H, s), 4.04 (3H, s), 4.34 (1H, brs), 6.33 (2H, t, $J = 8.3$ Hz), 6.46 (1H, t, $J = 1.8$ Hz), 6.92 (2H, q, $J = 8.0$ Hz), 7.00–7.10 (3H, m), 7.37–7.45 (3H,

m), 7.48 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.65 (1H, dd, $J = 8.6, 2.4$ Hz), 8.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 8.09 (1H, t, $J = 5.5$ Hz), 8.16 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz). ESI-MS (m/z): 625 $[M+H]^+$. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).



Scheme 17. Synthesis of the compound **46**. Reagents and conditions: (a) 3-methoxycarbonylphenylboronic acid pinacol ester, $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 2 M Na_2CO_3 aq, dioxane, reflux, 98%; (b) Pd/C , H_2 , MeOH, rt; (c) 1 M NaOH aq, 60 °C; (d) $\text{Me}_2\text{NH}\cdot\text{HCl}$, BOP, Et_3N , CH_2Cl_2 , rt, 74% (in 3 steps); (e) $\text{HCl}\cdot\text{MeOH}$, 50 °C; (f) 2-anisic acid, Et_3N , BOP, CH_2Cl_2 , rt, 43% (in 2 steps).

Methyl 5'-(*N*-(3-(benzyl(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)amino)phenyl)-sulfamoyl)-4'-methoxy-2'-methyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxylate (**Q1**)

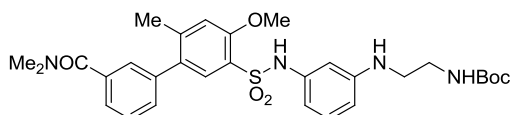


アルゴン雰囲気下、**C1** (424 mg, 0.70 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (7.0 mL) に 3-methoxycarbonylphenylboronic acid pinacol ester (220 mg, 0.84 mmol) 、 2.0 M 炭酸ナトリウム水溶液 (0.700 mL, 1.40 mmol) 、 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrrocenepalladium(II)dichloride dichloromethane complex (29 mg, 0.035 mmol) を加え、脱気操作し、18 時間加熱還流した。反応液を放冷し、セライトろ過した後、濃縮することにより得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン = 2/3) で精製し、目的物 **Q1** を無色アモルファスとして得た (461 mg, 98%) 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.42 (9H, s), 2.28 (3H, s), 3.20-3.38 (2H, m), 3.43-3.50 (2H, m), 3.89 (3H, s), 3.93 (3H, s), 4.48 (2H, s), 4.58-4.66 (1H, m), 6.40 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.45-6.50 (2H, m), 6.80 (1H, s), 7.00 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.06-7.10 (2H, m), 7.15-7.40 (4H, m), 7.39 (1H, dt, $J = 7.6, 1.6$ Hz), 7.47 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 7.63 (1H, s),

7.90 (1H, t, $J = 1.6$ Hz), 8.03 (1H, dd, $J = 6.8, 1.6$ Hz). ESI-MS (m/z): 660 $[M+H]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

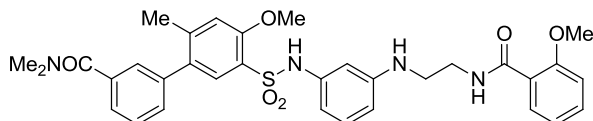
tert-Butyl 2-((3-(3'-(dimethylcarbamoyl)-4-methoxy-6-methyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)sulfonamido)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**Q2**)



アルゴン雰囲気下、**Q1** (128 mg, 0.19 mmol) をメタノール (7.0 mL) に溶解し、10% パラジウム/炭素 (40 mg) を加え、水素雰囲気下、室温で終夜撹拌した。反応液をセライトろ過し、濃縮することにより得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=10/1) により精製し、無色アモルファスとして残渣を得た。この残渣をメタノール (3.0 mL) に溶解し、1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (0.500 mL) を加え、60 °C で3時間撹拌した。反応液を室温まで放冷し、1 M 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により得られた残渣にジクロロメタン (5.0 mL)、ジメチルアミン塩酸塩 (113 mg, 0.38 mmol)、トリエチルアミン (0.337 mL, 2.42 mmol)、BOP 試薬 (336 mg, 0.76 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウムを加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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/ヘキサン=3/1) により精製し、目的物 **Q2** を無色アモルファスとして得た (299 mg, 74% in 3 steps)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.43 (9H, s), 2.28 (3H, s), 3.01 (3H, brs), 3.12 (3H, brs), 3.12-3.18 (2H, m), 3.26-3.34 (2H, m), 4.04 (3H, s), 4.70-4.90 (1H, m), 6.27-6.33 (3H, m), 6.43 (1H, s), 6.82 (1H, s), 6.87 (1H, s), 6.96 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.36-7.44 (4H, m), 7.70 (1H, s). ESI-MS (m/z): 583 $[M+H]^+$. Purity was $> 99\%$ as assessed by HPLC (254 nm).

4'-Methoxy-5'-(*N*-(3-((2-(2-methoxybenzamido)ethyl)amino)phenyl)sulfamoyl)-*N,N*,2'-trimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-carboxamide (**46**)



アルゴン雰囲気下、**Q2** (20 mg, 0.035 mmol) に 10% 塩化水素-メタノール溶液 (1.0 mL) を加え、50 °C で 2 時間攪拌した。反応液を濃縮し、得られた残渣をジクロロメタン (2.0 mL) を加え、さらに 2-anisic acid (6 mg, 0.035 mmol)、トリエチルアミン (0.017 mL, 0.12 mmol)、BOP 試薬 (17 mg, 0.039 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過、続いて濃縮により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) により精製し、目的物 **46** を無色固体として得た (9 mg, 43% in 2 steps)。

Mp 94-96 °C; IR (KBr) 3379, 2932, 1604, 1500, 1395, 1149 cm⁻¹, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.27 (3H, s), 2.98 (3H, brs), 3.10 (3H, brs), 3.29-3.33 (2H, m), 3.63-3.68 (2H, m), 3.85 (3H, s), 4.04 (3H, s), 4.31 (1H, brs), 6.31 (1H, dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz), 6.36 (1H, dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz), 6.47 (1H, t, *J* = 2.0 Hz), 6.81 (1H, brs), 6.86 (1H, s), 6.93-6.99 (2H, m), 7.06-7.10 (1H, m), 7.23-7.26 (2H, m), 7.35-7.47 (3H, m), 7.68 (1H, s), 8.08-8.14 (1H, m), 8.18 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz). HRMS-ESI: *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₃H₃₆N₄O₆SNa: 639.2253; found: 639.2263. Purity was > 99% as assessed by HPLC (254 nm).

Biological Information (柳沢研究室により実施)

DNA construction

ヒト OX1R、または OX2R の Open reading frame に FLAGTM エピトープ cDNA 配列を持つバイシストロン性発現ベクターである pMX-IRES-puro (pMXs-IP)⁴² を導入した。

Cell line and Cell culture

Promega 社の取扱書に従い、FuGENE 6 (Promega) を用いたトランスフェクションから 48 時間後、レトロウイルス液を採取した。OX1R、または OX2R 発現

細胞作成のため、CHO (Chinese Hamster Ovary) K1 細胞をレトロウイルス上清で感染させた。感染から 24 時間後、感染させた細胞を puromycin (10 µg/mL, Sigma-Aldrich) で選定した。安定指標細胞株作成のため、OX1R、または OX2R を恒常的に発現させた細胞株に NFAT 応答性ルシフェラーゼレポータープラスミド (pNFAT-TA-Luc) と FuGENE 6 を用い、抗生物質耐性遺伝子を搭載した pSV2neo を共にトランスフェクションした。24 時間後、トランスフェクションした細胞を G418 (1 mg/mL, Invitrogen) により選定した。G418 耐性細胞を 5% ウシ胎仔血清 (FBS, Thermo Specific) 、1 x 非必須アミノ酸溶液 (Invitrogen) 、penicilin (100 U/mL) 、streptomycin (100 µg/mL, Invitrogen) 、puromycin (10 µg/mL) 、および G418 (1 mg/mL) を含むダブルベッコ・フォークト変法イーグル最小必須培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) に播種し、単クローンを単離することにより、ヒト OX1R、あるいは OX2R cDNA と NFAT 応答性ルシフェラーゼレポーターでトランスフェクションした細胞株を得た。

Ca²⁺ imaging (Ca アッセイ)

ヒト OX1R あるいは OX2R 発現 CHO K1 細胞を 96 ウェルプレート (10,000 cells/well) に播種し、5% FBS 添加 DMEM 培地において 37 °C で 48 時間培養した。それらの細胞を蛍光性カルシウム指示薬である Fura 2-AM (5µM, Cayman Chemical) を HEPES (20 mM, Sigma-Aldrich) 、Probenecid (1.5 mM, WAKO) 、5% CremophorEL (Fluka) 、0.1% BSA (Sigma-Aldrich) を含む HBSS ハンクス平衡塩溶液 (GIBCO) において、1 時間蛍光標識した。細胞を洗浄後、HBSS バッファー (75 µL) を加え、被験化合物 (25 µL) または OXA (PBS/0.1% BSA 溶液, Peptide Institute Inc.) を加え、FDSS 3000 (Hamamatsu Photonics) により蛍光強度変化を測定した。EC₅₀ 値は Graph Pad Prism 5J (MDF) により計算した。

Luciferase assay (NFAT アッセイ)

ヒト OX1R または OX2R 発現細胞を 96 ウェルプレート (10,000 cells/well) に播種し、24 時間コンフルエンスまで増殖させた。被験化合物 (25 µL) または OXA (PBS/0.1% BSA 溶液, Peptide Institute Inc.) を加え、6 時間後、培地を吸引除去した。細胞単層に Steay-Glo ルシフェラーゼ試薬 (75 µL, Promega) を加え、ルシフェラーゼ活性を ARVO x5 (PerkinElmer) により測定した。Steay-Glo 試薬は 25 mM Tris (pH 7.5)/10% Glycerol/1% triton X-100 により 10 倍希釈した。

In vitro binding assays for K_i value evaluation (結合親和性試験)^{43, 44)}

ヒト OX1R 結合親和性試験⁴³⁾

ヒト OX1R 発現 CHO K1 細胞 (20 µg protein) の細胞表面ホモジネートに 0.1 nM [¹²⁵I]OXA (被験化合物あり、またはなし) を含むバッファー (Hepes/NaOH (25 mM, pH 7.4), EDTA (0.5 mM), CaCl₂ (2.5 mM) および MgCl₂ (2.5 mM)) を加え、22 °C で 60 分培養した。非特異的結合試験は SB-334867 (1 µM) を用いた。培養後、96-サンプルセルハーベスター (Unifilter, Packard) を用い、サンプルをあらかじめ 0.3% PEI で浸したガラスファイバーフィルター (GF/B, Packard) で吸引ろ過し、Tris-HCl (50 mM) 、NaCl (150 mM) を含む氷冷バッファーで数回洗浄した。ろ過物を乾燥し、シンチレーションカクテル (Microscint 0, Packard) を用い、シンチレーション計数器 (Topcount, Packard) により放射線を測定した。

評価結果は放射性物質の特異的結合をコントロールとし、阻害率 (%) を算出した。標準物質を OXA とし、competition curve を得るため、様々な濃度で実験を行った。

$$\text{Inhibition\%} = 100 - \left(\frac{\text{measured specific binding}}{\text{control specific binding}} \times 100 \right)$$

ヒト OX2R 結合親和性試験⁴⁴⁾

ヒト OX2R 発現 HEK-293 細胞 (20 µg protein) の細胞表面ホモジネートに 0.04 nM [¹²⁵I]OXA (被験化合物あり、またはなし) を含むバッファー (Hepes/NaOH (25 mM, pH 7.4), CaCl₂ (2.5 mM), MgCl₂ (1.0 mM) および 0.5% BSA) を加え、22 °C で 180 分培養した。非特異的結合試験は OXB (1 µM) を用いた。培養後、96-サンプルセルハーベスター (Unifilter, Packard) を用い、サンプルをあらかじめ 0.3% PEI で浸したガラスファイバーフィルター (GF/B, Packard) で吸引ろ過し、Tris-HCl (50 mM) を含む氷冷バッファーで数回洗浄した。ろ過物を乾燥し、シンチレーションカクテル (Microscint 0, Packard) を用い、シンチレーション計数器 (Topcount, Packard) により放射線を測定した。評価結果は放射性物質の特異的結合をコントロールとし、阻害率 (%) を算出した。標準物質を OXB とし、competition curve を得るため、様々な濃度で実験を行った。

$$\text{Inhibition\%} = 100 - \left(\frac{\text{measured specific binding}}{\text{control specific binding}} \times 100 \right)$$

In vivo experiment

実験室マウスを単独飼育し、無菌状態において、室温 (23 ± 1 °C) で 12 時間明期および 12 時間暗期のスケジュールに調整した。8-12 週齢の C57BL/6 雄性マウスをイソフルラン (4%) で麻酔し、さらにイソフルラン (2%) で麻酔し、左側脳室に脳室内 (intracerebroventricular (ICV)) 投与のためのガイドカニューレを手術的処置し、同時に脳波計 (electroencephalograph, EEG) および筋電図電極 (electromyography, EMG) を埋め込んだ。2 つの EEG 電極を脳右半球 (座標) に埋め込み、さらに 2 つの EMG 電極を両側の僧帽筋に埋め込んだ。全てのマウスを少なくとも一週間回復させ、実験の一週間前に計測テザーに慣れさせた。その後、EEG および EMG のベースラインを 1 日計測し、翌日 ZT6 において、オイルシリンジ (Hamilton) およびシリンジポンプ (Harvard) を用い、一時的なイソフルラン麻酔した後、被験化合物、および生理食塩水の ICV 投与を実施した。マウスに対し、5.0 μ L を 10 分かけ、投与した。マウスを個別にホームケージに戻し、EEG および EMG を測定した。生理食塩水を投与後、**40** (YNT-185, 32 μ L, 130 μ L, 260 μ L) をそれぞれ別の日に投与した。EEG および EMG シグナルは半自動計測法を使用した。ICV 投与から 2 時間覚醒時間を測定した。測定値は全て mean \pm SEM で示した。野生マウスにおいて、データは一元配置反復測定分散分析 (one way repeated measures ANOVA) で解析し、Bonferroni の方法を用い、多重比較を行った。 $P < 0.05$, $P < 0.001$ を統計学的有意水準とした。OX1R / OX2R 欠損マウスにおいては、データは対応のある t 検定で解析した。

Computational calculation (合田研究室により実施)

Modeling of binding mode of **36** with OX2R

全ての計算実験は Schrödinger suite 2013-2 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2013) を用いた。最初に LigPrep2.7 プログラムを用い、**36** の 2 次元構造を 3 次元構造に変換した。Epik2.5 プログラム⁴⁵⁾を用い、**36** の protonation state を予測した。ConfGen2.5 プログラム⁴⁶⁾を用い、配座探索を行い、その配座をその後の Docking study 実験に用いた。Docking の受容体として、OX2R と suvorexant (PDB ID: 4S0V) の X 線共結晶構造を用いた⁴¹⁾。Protein Preparation Wizard in Maestro9.5 を用い、構造を用意した。Prime3.3 プログラム⁴⁷⁾を用い、PDB で欠損している側鎖の原子を補った。最後に、force-field OPLS 2005 を用い、構造を最小化した。OX2R の結合部位に存在する水分子 HOH4021 および HOH4025 を除き、ドッキング計算前に水分子を除去した。HOH4021 は OX2R 側鎖の N324 と R328 の間

に水分子を介した水素結合ネットワークを形成し、さらに HOH4025 は OX2R の H350 と suvorexant の間に水分子を介した水素結合ネットワークを形成するため、これらの水分子はリガンドとの結合部位や結合認識の構造安定性にとって重要であると推察されるためである。Schrödinger suite 2013-2⁴⁸⁾を用いた IFD 2006 プロトコールに従い、OX2R に対する 36 のドッキング計算を行った。Receptor Grid Generation プロトコールの box center を OX2R に結合する suvorexant の重心にセッティングした。タンパク質とリガンドの van der Waals 半径のスケール因子を 0.8 とし、最初の Glide docking を行い、配座の最大ポーズ数を 2 までとした。Prime プログラムを用い、リガンドポーズの 5.0 Å 以内の残基を精密化し、Glide の標準設定を用い、再ドッキングした。得られたポーズを IFDScore によりランキングし、上位から 10% のドッキング複合体を選出した。Prime プログラムを用い、molecular mechanics generalized Born surface area (MM-GBSA) 法により、複合体の自由エネルギー (G_{complex}) を推定し、最後に、最も低い G_{complex} を有するドッキング複合体を結合様式解析モデルとして採用した。この解析手順を用い、suvorexant と OX2R 複合体の適用を試みた結果を図 22 に示す。モデルは最上位ランクのポーズであり、suvorexant と OX2R 間の全ての結合様式を再現し、さらに結晶構造で確認された HOH4025 を介した suvorexant と OX2R 間の水素結合も再現できた。位置に関する root mean square deviations (RMSDs) は 1.30 Å、構造に関する RMSDs は 0.99 Å であった。従って、この結合様式解析手順は有用であることが示された。

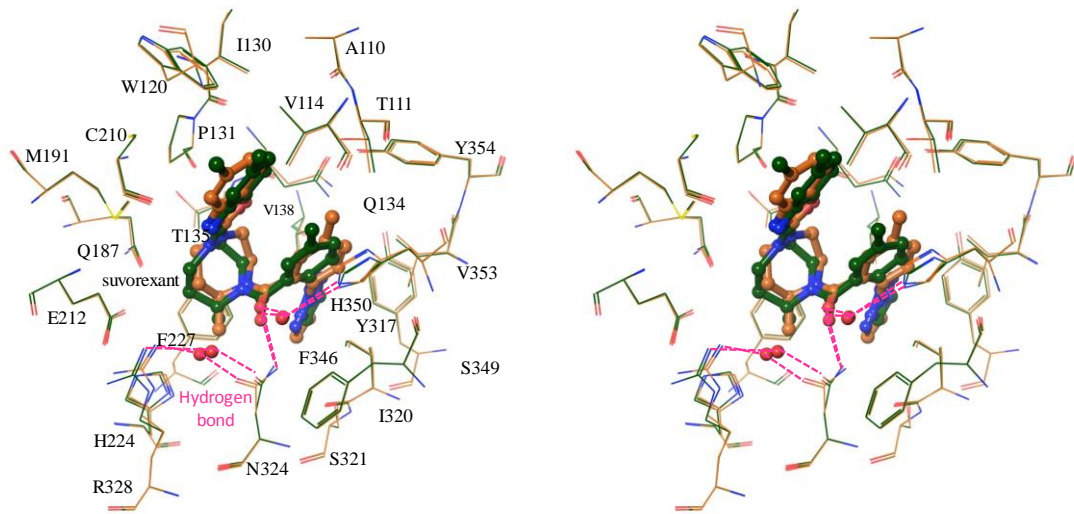


図 22 X線構造における suvorexant と OX2R 結合様式 (green) と結合様式解析手順によるベストポーズ (orange)

引用文献

- 1) Sakurai, T.; Amemiya, A.; Ishii, M.; Matsuzaki, I.; Chemelli, R. M.; Tanaka, H.; Williams, S. C.; Richardson, J. A.; Kozłowski, G. P.; Wilson, S.; Arch, J. R.; Buckingham, R. E.; Haynes, A. C.; Carr, S. A.; Annan, R. S.; McNulty, D. E.; Liu, W. S.; Terrett, J. A.; Elshourbagy, N. A.; Bergsma, D. J.; Yanagisawa, M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* **1998**, *92*, 573–585.
- 2) de Lecea, L.; Kilduff, T. S.; Peyron, C.; Gao, X.; Foye, P. E.; Danielson, P. E.; Fukuhara, C.; Battenberg, E. L.; Gautvik, V. T.; Bartlett, F. S., 2nd; Frankel, W. N.; van den Pol, A. N.; Bloom, F. E.; Gautvik, K. M.; Sutcliffe, J. G. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 322–327.
- 3) Sakurai, T. Orexin and orexin receptors. In *Hypocretins: Integrators of Physiological Functions*; de Lecea, L., Sutcliffe, J. G., Eds.; Springer: New York, **2005**, 13–23.
- 4) Sakurai, T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nature Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 171-181.
- 5) Marcus, J. N.; Aschkenasi, C. J.; Lee, C. E.; Chemelli, R. M.; Saper, C. B.; Yanagisawa, M.; Elmquist, J. K. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the brain. *J. Comp. Neurol.* **2001**, *435*, 6-25.
- 6) Hagan, J. J.; Leslie, R. A.; Patel, S.; Evans, M. L.; Wattam, T. A.; Holmes, S.; Benham, C. D.; Taylor, S. G.; Routledge, C.; Hemmati, P.; Munton, R. P.; Ashmeade, T. E.; Shah, A. S.; Hatcher, J. P.; Hatcher, P. D.; Jones, D. N.; Smith, M. I.; Piper, D. C.; Hunter, A. J.; Porter, R. A.; Upton, N. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 10911-10916.
- 7) Yamanaka, A.; Tsujino, N.; Funahashi, H.; Honda, K.; Guan, J. L.; Wang, Q. P.; Tominaga, M.; Goto, K.; Shioda, S.; Sakurai, T. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, *290*, 1237-1245.
- 8) Nakamura, T.; Uramura, K.; Nambu, T.; Yada, T.; Goto, K.; Yanagisawa, M.; Sakurai, T. Orexin-induced hyperlocomotion and stereotypy are mediated by the dopaminergic system. *Brain Res.* **2000**, *873*, 181-187.
- 9) Takakusaki, K.; Takahashi, K.; Saitoh, K.; Harada, H.; Okumura, T.; Kayama, Y.;

- Koyama, Y.; Orexinergic projections to the cat midbrain mediate alternation of emotional behavioral states from locomotion to cataplexy. *J. Physiol.* **2005**, *568*, 1003-1020.
- 10) Kunii, K.; Yamanaka, A.; Nambu, T.; Matsuzaki, I.; Goto, K.; Sakurai, T. Orexins/hypocretins regulate drinking behaviour. *Brain Res.* **1999**, *842*, 256-261.
 - 11) Shirasaka, T.; Nakazato, M.; Matsukura, S.; Takasaki, M.; Kannan, H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am. J. Physiol.* **1999**, *277*, 1780-1785.
 - 12) Tsuneki H.; Wada, T.; Sasaoka, T. Role of orexin in the central regulation of glucose and energy homeostasis. *Endocr. J.* **2012**, *59*, 365-374.
 - 13) Nattie E.; Li, A. Respiration and autonomic regulation and orexin. *Prog. Brain Res.* **2012**, *198*, 25-46.
 - 14) Kalsbeek, A.; Scheer, F. A.; Perreau-Lenz, S.; La Fleur, S. E.; Yi, C. X.; Fliers, E.; Buijjs, R. M. Circadian disruption and SCN control of energy metabolism. *FEBS Lett.* **2011**, *585*, 1412-1426.
 - 15) Boss, C.; Brisbare-Roch, C.; Jenck, F. Biomedical application of orexin/hypocretin receptor ligands in neuroscience. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 891-903.
 - 16) Lebold, T. P.; Bonaventure, P.; Shireman, B. T. Selective orexin receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *23*, 4761-4769.
 - 17) Boss, C.; Roch, C. Recent trends in orexin research - 2010 to 2015. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2875-2887.
 - 18) (a) Dugovic, C.; Shelton, J. E.; Yun, S.; Bonaventure, P.; Shireman, B. T.; Lovenberg, T. W. Orexin-1 receptor blockade dysregulates REM sleep in presence of orexin-2 receptor antagonism. *Frontier in Neuroscience* **2014**, *8*, 124-131. (b) Dugovic, C.; Shelton, J. E.; Aluisio, L. E.; Fraser, I. C.; Jiang, X.; Lord, B.; Dvorak, C. A.; Carruthers, N. I.; Lovenberg, T. W. Blockade of Orexin-1 Receptors Attenuates Orexin-2 Receptor Antagonism-Induced Sleep Promotion in Rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *330*, 142-151.
 - 19) Neubauer, D. N. Almorexant, a dual orexin receptor antagonist for the treatment of insomnia. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2010**, *11*, 101-110.
 - 20) (a) Bennett, T.; Bray, D.; Neville, M. W. Suvorexant, a dual orexin receptor antagonist for the management of insomnia. *P T.* **2014**, *39*, 264-266. (b) Cox, C. D.; Breslin, M. J.; Whitman, D. B.; Schreier, J. D.; McGaughey, G. B.; Bogusky, M. J.; Roecker, A. J.; Mercer, S. P.; Bednar, R. A.; Lemaire, W.; Bruno, J. G.; Reiss, D. R.; Harrell, C. M.; Murphy, K. L.; Garson, S. L.; Doran, S. M.; Prueksaritanont, T.; Anderson, W. B.; Tang, C.; Roller, S.; Cabalu, T. D.; Cui, D.; Hartman, G. D.;

- Young, S. D.; Koblan, K. S.; Winrow, C. J.; Renger, J. J.; Coleman, P. J. Discovery of the dual orexin receptor antagonist [(7*R*)-4-(5-chloro-1,3-benzoxazol-2-yl)-7-methyl-1,4-diazepan-1-yl][5-methyl-2-(2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)phenyl]methanon (MK-4305) for the treatment of insomnia. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5320–5332.
- (c) Winrow, C. J.; Gotter, A. L.; Cox, C. D.; Doran, S. M.; Tannenbaum, P. L.; Breslin, M. J.; Garson, S. L.; Fox, S. V.; Harrell, C. M.; Stevens, J.; Reiss, D. R.; Cui, D.; Coleman, P. J.; Renger, J. J. Promotion of sleep by suvorexant – A novel dual orexin receptor antagonist. *J. Neurogenet.* **2011**, *25*, 52–61.
- 21) Yoshida, Y.; Naoe, Y.; Terauchi, T.; Ozaki, F.; Doko, T.; Takemura, A.; Tanaka, T.; Sorimachi, K.; Beuckmann, C. T.; Suzuki, M.; Ueno, T.; Ozaki, S.; Yonaga, M. Discovery of (1*R*,2*S*)-2-[[2,4-Dimethylpyrimidin-5-yl]oxy]methyl}-2-(3-fluorophenyl)-*N*-(5-fluoropyridin-2-yl)cyclopropanecarboxamide (E2006): A Potent and Efficacious Oral Orexin Receptor Antagonist. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 4648–4664.
- 22) American Academy of Sleep Medicine: Narcolepsy With Cataplexy. American Academy of Sleep Medicine, ed.: International classification of sleep disorders, 2nd ed.: Diagnostic and coding manual, Westchester, Illinois, **2005**, 81–86.
- 23) Dauvilliers, Y.; Arnulf, I.; Mignot, E. Narcolepsy with cataplexy. *Lancet* **2007**, *369*, 499–511.
- 24) Kryger, M. H.; Roth, T.; Dement, W. C. Principle and Practice of Sleep Medicine 4th Edition. Elsevier Saunders, Philadelphia, USA. **2005**.
- 25) 睡眠障害のことが分かるサイト. <http://suimin-shougai.net/>
- 26) Lin, L.; Faraco, F.; Li, R.; Kadotani, H.; Rogers, W.; Lin, X.; Qiu, X.; de Jong, P. J.; Nishino, S.; Mignot, E. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin receptor 2 gene. *Cell* **1999**, *98*, 365–376.
- 27) Willie, J. T.; Chemelli, R. M.; Sinton, C. M.; Tokita, S.; Williams, S. C.; Kisanuki, Y. Y.; Marcus, J. N.; Lee, C.; Elmquist, J. K.; Kohlmeier, K. A.; Leonard, C. S.; Richardson, J. A.; Hammer, R. E.; Yanagisawa, M. Distinct narcolepsy syndromes in orexin receptor 2 and orexin null mice: molecular genetic dissection of non-REM and REM sleep regulatory processes. *Neuron* **2003**, *38*, 715–730.
- 28) Hasegawa, E.; Yanagisawa, M.; Sakurai, T.; Mieda, M. Orexin neurons suppress narcolepsy via 2 distinct efferent pathways. *J. Clin. Invest.* **2014**, *124*, 604–616.
- 29) Sakurai, T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 171–181.
- 30) Nishino, S.; Ripley, B.; Overeem, S.; Lammers, G. J.; Mignot, E. Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *Lancet* **2000**, *355*, 39–40.
- 31) Kubota, H.; Kanbayashi, T.; Tanabe, Y.; Ito, M.; Takanashi, J.; Kohno, Y.; Shimizu,

- T. Decreased cerebrospinal fluid hypocretin-1 levels near the onset of narcolepsy in 2 prepubertal children. *Sleep* **2003**, *26*, 555–557.
- 32) Peyron, C.; Faraco, J.; Rogers, W.; Ripley, B.; Overeem, S.; Charnay, Y.; Nevsimalova, S.; Aldrich, M.; Reynolds, D.; Albin, R.; Li, R.; Hungs, M.; Pedrazzoli, M.; Padigaru, M.; Kucherlapati, M.; Fan, J.; Maki, R.; Lammers, G. J.; Bouras, C.; Kucherlapati, R.; Nishino, S.; Mignot, E. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat. Med.* **2000**, *6*, 991–997.
- 33) Thannickal, T. C.; Moore, R. Y.; Nienhuis, R.; Ramanathan, L.; Gulyani, S.; Aldrich, M.; Cornford, M.; Siegel, J. M. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* **2000**, *27*, 469–474.
- 34) Mieda, M.; Willie, J. T.; Hara, J.; Sinton, C. M.; Sakurai, T.; Yanagisawa, M. Orexin peptides prevent cataplexy and improve wakefulness in an orexin neuron-ablated model of narcolepsy in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 4649–4654.
- 35) Liu, M.; Thankachan, S.; Kaur, S.; Begum, S.; Blanco-Centurion, C.; Sakurai, T.; Yanagisawa, M.; Neve, R.; Shiromani, P. J. Orexin (hypocretin) gene transfer diminishes narcoleptic sleep behavior in mice. *Eur. J. Neurosci.* **2008**, *28*, 1382–1393.
- 36) Blanco-Centurion, C.; Liu, M.; Konadhode, R.; Pelluru, D.; Shiromani, P. J. Effects of orexin gene transfer in the dorsolateral pons in orexin knockout mice. *Sleep* **2013**, *36*, 31–40.
- 37) Kastin, A. J.; Akerstrom, V. Orexin A but not orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *289*, 219–223.
- 38) Fujiki, N.; Yoshida, Y.; Ripley, B.; Mignot, E.; Nishino, S. Effects of IV and ICV hypocretin-1 (orexin A) in hypocretin receptor-2 gene mutated narcoleptic dogs and IV hypocretin-1 replacement therapy in a hypocretin-ligand-deficient narcoleptic dog. *Sleep* **2003**, *26*, 953–959.
- 39) Aissaoui, H.; Koberstein, R.; Zumbunn, C.; Gatfield, J.; Brisbare-Roch, C.; Jenck, F.; Treiber, A.; Boss, C. *N*-Glycine-sulfonamides as potent dual orexin 1/orexin 2 receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5279–5733.
- 40) (a) Lang, M.; Söll, R. M.; Dürrenberger, F.; Dautzenberg, F. M.; Beck-Sickinger, A. G. Structure-Activity Studies of Orexin A and Orexin B at the Human Orexin 1 and Orexin 2 Receptors Led to Orexin 2 Receptor Selective and Orexin 1 Receptor Preferring Ligands. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1153–1160. (b) Asahi, S.; Egashira, S.; Matsuda, M.; Iwaasa, H.; Kanatani, A.; Ohkubo, M.; Ihara, M.; Morishima, H.

- Development of an Orexin-2 Receptor Selective Agonist, [Ala¹¹, D-Leu¹⁵]orexin-B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *13*, 111-113.
- 41) Yin, J.; Mobarec, J. C.; Kolb, P.; Rosenbaum, D. M. Crystal structure of the human OX2 orexin receptor bound to the insomnia drug suvorexant. *Nature* **2015**, *519*, 247–250.
- 42) Kitamura, T.; Koshino, Y.; Shibata, F.; Nakajima, H.; Nosaka, T.; Kumagai, H. Retrovirus-mediated gene transfer and expression cloning, powerful tools in functional genomics. *Exp. Hematol.* **2003**, *31*, 1007-1014.
- 43) Langmead, C. J.; Jerman, J. C.; Brough, S. J.; Scott, C.; Porter, R. A.; Herdon, H. J. Characterization of the binding of [³H]-SB-674042, a novel nonpeptide antagonist to the human orexin-1 receptor. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *141*, 340-346.
- 44) Wieland, H. A.; Soll, R. M.; Doods, H. N.; Stenkamp, D.; Hurnaus, R.; Lammle, B.; Beck-Sickinger, A.G. The SK-N-MC cell line expresses an orexin binding site different from recombinant orexin 1-type receptor. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 1128-1135.
- 45) Greenwood, J. R.; Calkins, D.; Sullivan, A. P.; Shelley, J. C. Towards the comprehensive, rapid, and accurate prediction of the favorable tautomeric states of drug-like molecules in aqueous solution. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2010**, *24*, 591-604.
- 46) Watts, K. S.; Dalal, P.; Murphy, R. B.; Sherman, W.; Friesner, R. A.; Shelley, J. C. ConfGen: A Conformational Search Method for Efficient Generation of Bioactive Conformers. *J. Chem. Inf. Model.* **2010**, *50*, 534-546.
- 47) Jacobson, M. P.; Pincus, D. L.; Rapp, C. S.; Day, T. J. F.; Honig, B.; Shaw, D. E.; Friesner, R. A. A Hierarchical Approach to All-Atom Protein Loop Prediction. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* **2004**, *55*, 351-367.
- 48) Sherman, W.; Day, T.; Jacobson, M. P.; Friesner, R. A.; Farid, R. Novel procedure for modeling ligand/receptor induced fit effects. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 534-553.

文献目録

本博士論文の各章は次のジャーナルおよび特許にて発表された。

Design and Synthesis of Non-Peptide, Selective Orexin Receptor 2 Agonists

Nagahara, T.; Saitoh, T.; Kutsumura, N.; Irukayama-Tomobe, Y.; Ogawa, Y.; Kuroda, D.; Gouda, H.; Kumagai, H.; Fujii, H.; Yanagisawa, M.; Nagase, H. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 7931-7937.

国際特許：「スルホンアミド誘導体またはその薬学的に許容される酸付加塩」

長瀬博、永原崇志 (WO2015088000)

以下は、本博士論文に含まれない論文発表である。

1. Discovery of potent transient receptor potential vanilloid 1 antagonists: Design and synthesis of phenoxyacetamide derivatives

Takahashi, E.; Hirano, N.; Nagahara, T.; Yoshikawa, S.; Momen, S.; Yokokawa, H.; Hayashi, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3154-3156.

2. Chiral molecular recognition by aluminium tris(2,6-diphenylphenoxide) in an asymmetric 1,4-addition

Ito, H.; Nagahara, T.; Ishihara, K.; Saito, S.; Yamamoto, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 994-997.

3. Molecular Recognition of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds Using Aluminium Tris(2,6-diphenylphenoxide) (ATPH): Structural and Conformational Analysis of ATPH Complexes and Application to the Selective Vinylogous Aldol Reaction

Saito, S.; Nagahara, T.; Shiozawa, M.; Nakadai, M.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6200-6210.

4. Efficient dehydration of hydroxyenals and α,β -enones: $\text{HfCl}_4 \cdot (\text{THF})_2$ as an effective catalyst for di-, tri-, and tetraene formation

Saito, S.; Nagahara, T.; Yamamoto, H. *Synlett* **2001**, *11*, 1690-1692.

5. Molecular Recognition of Carbonyl Compounds Using Aluminium Tris(2,6-diphenoxyphenoxide) (ATPH): New Regio- and Selective Alkylation of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds

Saito, S.; Shiozawa, M.; Nagahara, T.; Nakadai, M.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7847-7848.

謝辞

本研究は北里大学薬学部生命薬化学教室にて行われました。

本研究を遂行するにあたり、終始ご懇意なるご指導、ご鞭撻を賜りました筑波大学 WPI-IHIS 長瀬博教授、北里大学薬学部生命薬化学教室 藤井秀明教授に深甚なる謝意を申し上げます。

並びに、終始ご懇意なるご指導、ご鞭撻を賜りました筑波大学 WPI-IHIS 柳沢正史教授に深甚なる謝意を申し上げます。

また、多大なるご指導、ご協力、ご激励を賜りました筑波大学 WPI-IHIS 長瀬研究室 杓村憲樹准教授、斉藤毅助教、筑波大学 WPI-IHIS 柳沢／船戸研究室 入鹿山容子博士、小川靖裕氏に心から感謝の意を申し上げます。

Docking study を行って下さいました昭和大学薬学部 合田浩明教授、黒田大祐助教に心から感謝の意を申し上げます。

NMR 測定を行って下さいました北里大学 佐藤倫子助教、MS 測定を行って下さいました北里大学 長井賢一郎助教に心から感謝の意を申し上げます。

本研究は終始苦勞を共にした北里大学薬学部生命薬化学教室、および筑波大学 WPI-IHIS 長瀬研究室および柳沢／船戸研究室に育てていただきました。この場を借り、心より御礼申し上げます。