

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5080260号  
(P5080260)

(45) 発行日 平成24年11月21日(2012.11.21)

(24) 登録日 平成24年9月7日(2012.9.7)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 335/12	(2006.01)	C07C 335/12	C S P
A61K 31/63	(2006.01)	A61K 31/63	
A61P 29/00	(2006.01)	A61P 29/00	
A61P 25/04	(2006.01)	A61P 25/04	
A61P 43/00	(2006.01)	A61P 43/00	1 1 1

請求項の数 7 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-537190 (P2007-537190)  
 (86) (22) 出願日 平成17年10月18日 (2005.10.18)  
 (65) 公表番号 特表2008-517884 (P2008-517884A)  
 (43) 公表日 平成20年5月29日 (2008.5.29)  
 (86) 國際出願番号 PCT/EP2005/011206  
 (87) 國際公開番号 WO2006/045498  
 (87) 國際公開日 平成18年5月4日 (2006.5.4)  
 審査請求日 平成20年10月15日 (2008.10.15)  
 (31) 優先権主張番号 M12004A002042  
 (32) 優先日 平成16年10月26日 (2004.10.26)  
 (33) 優先権主張国 イタリア (IT)

(73) 特許権者 506416846  
 ファルメステ・エス、アール、エル、  
 PHARME STE S. R. L.  
 イタリア国、イ-441OO フェッラー  
 ラ、ヴィア・サーラガト 1  
 (74) 代理人 100078662  
 弁理士 津国 肇  
 (74) 代理人 100113653  
 弁理士 東田 幸四郎  
 (74) 代理人 100116919  
 弁理士 斎藤 房幸  
 (72) 発明者 バラルディ、ピエル・ジョヴァンニ  
 イタリア国、イ-441OO フェッラー  
 ラ、ヴィア・フォッサート・ディ・モルタ  
 ーラ、17/19  
 最終頁に続く

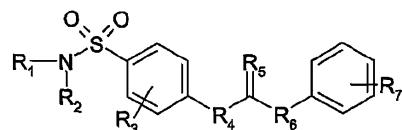
(54) 【発明の名称】バニロイドTRPV1受容体に拮抗するスルホンアミド化合物

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

式(I) :

## 【化1】



(I)

10

(式中、

R<sub>1</sub>は、水素であり；R<sub>2</sub>は、2-ヨード-4-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンジルであり；R<sub>3</sub>は、水素であり；R<sub>4</sub>は、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH基であり、ここで、nは、0又は2であり；R<sub>5</sub>は、Sであり；R<sub>6</sub>は、-NHCH<sub>2</sub>-であり；R<sub>7</sub>は、4-t-ブチル又は4-トリフルオロメチルである)で示される化合物。

## 【請求項2】

R<sub>4</sub>基において、nが0である、請求項1記載の化合物。

20

## 【請求項 3】

$R_4$  基において、 $n$  が 2 である、請求項 1 記載の化合物。

## 【請求項 4】

医薬としての使用のための、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に定義の式 (I) の化合物。

## 【請求項 5】

炎症状態の治療用の医薬組成物を調製するための、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に定義の式 (I) の化合物の使用。

## 【請求項 6】

炎症状態が、慢性疼痛又は炎症性痛覚過敏である、請求項 5 記載の使用。

## 【請求項 7】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に定義の式 (I) の化合物を、適切な賦形剤及び / 又はビピクルとの混合物で含有する医薬組成物。

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、バニロイド受容体の拮抗薬に関し、特に、TRPV1受容体に拮抗するスルホンアミド誘導体に関するものである。

## 【背景技術】

## 【0002】

最近の実験的証拠により、炎症状態においては、バニロイド TRPV1 受容体（一過性受容体電位チャネル）の発現が上昇することが示された。それにより、炎症過程、例えば慢性疼痛又は炎症性痛覚過敏の治療に、TRPV1 拮抗薬が有用であり得ることが仮定された。

20

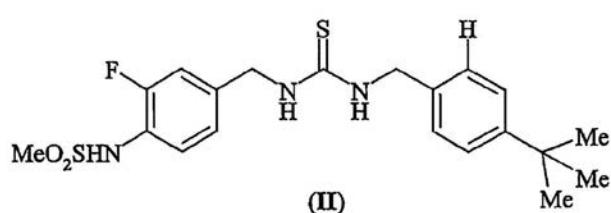
## 【0003】

多数のバニロイド受容体拮抗薬が公知であり、その数種はカプサイシンから誘導され、カプサイシノイド拮抗薬と称されている。特に、Wrigglesworth, R. ら (J. Med. Chem. 1996, 39, 4941-4951) は、式 (II) :

## 【0004】

## 【化2】

30



## 【0005】

で示されるチオ尿素を開示した。

## 【発明の開示】

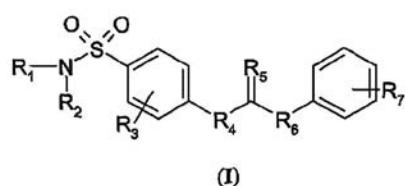
## 【0006】

40

本発明は、一般式 (I) :

## 【0007】

## 【化3】



## 【0008】

50

(式中、

$R_1$  は、水素であり；

$R_2$  は、ベンジル又は2-フェニルエチルであり、ここで、芳香環は、場合により、ハロゲン、ヒドロキシ及びメトキシから選択される一つ又はそれ以上の基で置換されており；

$R_3$  は、水素、ハロゲン又はアルコキシ基であり；

$R_4$  は、 $-(CH_2)_nNH-$  基であり、ここで、 $n$  は、0～3 の範囲にあり；

$R_5$  は、S 又はO であり；

$R_6$  は、 $-NHCH_2-$  であり；

$R_7$  は、t-ブチル又はトリフルオロメチルである) で示される化合物に関する。 10

#### 【0009】

本発明の目的において、ハロゲンは、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素を意味する。

#### 【0010】

式(I)の好ましい化合物は、 $R_5$  がS であり、 $R_6$  が $-NHCH_2-$  基である化合物であり、特に、 $R_3$  が水素であり、 $R_7$  が4-t-ブチル及び4-トリフルオロメチルから選択される化合物である。

#### 【0011】

中でも、好ましい化合物の第一の群は、 $R_4$  において $n$  が0 である化合物である。

#### 【0012】

好ましい化合物の第二の群は、 $R_4$  基において、 $n$  が2 である化合物であり；中でも、特に好ましくは、 $R_1$  が水素であり、 $R_2$  が、場合により上述したように置換された、ベンジル又は2-フェニルエチルである化合物である。 20

#### 【0013】

$R_2$  がベンジル又は2-フェニルエチルであり、ここで、芳香環が置換されている式(I)の化合物において、 $R_2$  が、2-ヨード-4-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンジルである化合物が好ましい。

#### 【0014】

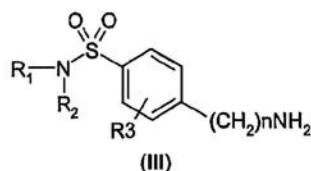
式(I)の化合物は、バニロイドTRPV1受容体の阻害剤として活性であることが証明されており、したがって、炎症状態、例えば慢性疼痛及び炎症性痛覚過敏の治療のための医薬組成物の調製に使用され得る。これらの製剤は、従来の方法及び賦形剤、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences Handbook, XVII Ed. Mack Pub., N.Y., U.S.A.に開示されているようなものを用いて調製されるであろう。 30

#### 【0015】

式(I)の化合物は、従来公知の方法、例えば式(III)：

#### 【0016】

#### 【化4】



#### 【0017】

(式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  及び $n$  は、上記に定義したとおりである) で示されるスルホンアミドを、式(IV)

#### 【0018】

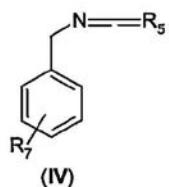
10

20

30

40

## 【化5】



## 【0019】

で示されるイソシアナート又はイソチオシアナートと反応させることにより、都合よく調製され得る。

10

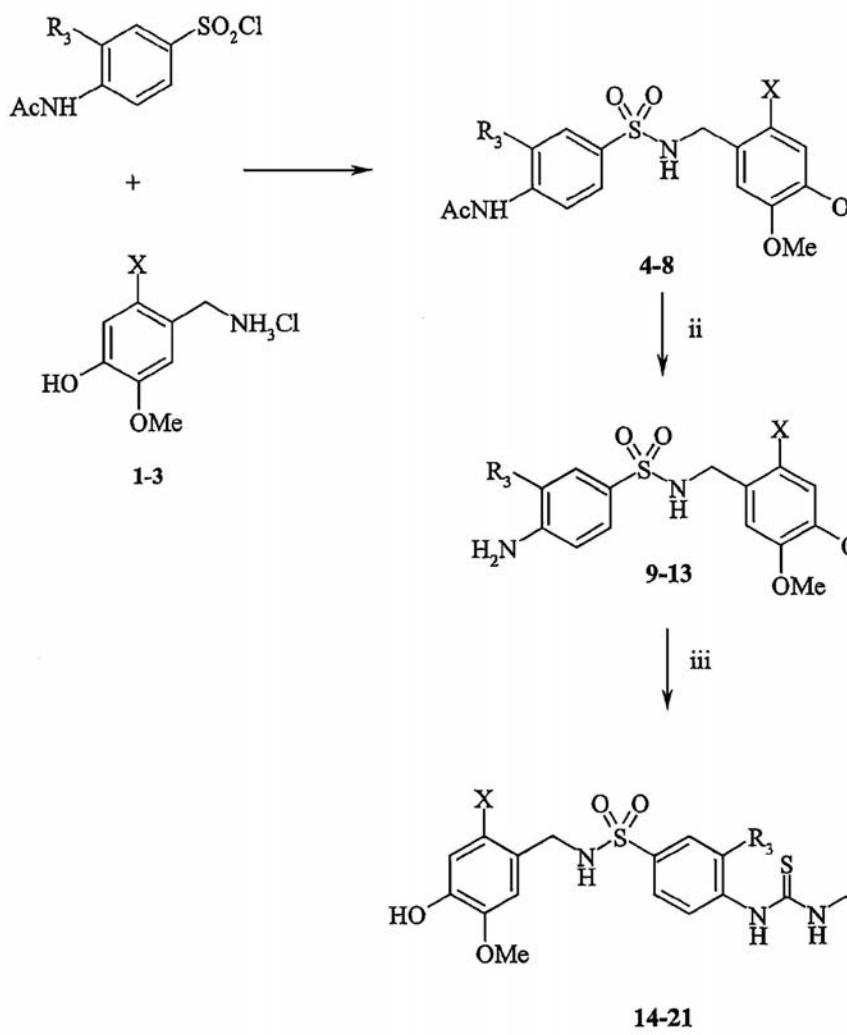
## 【0020】

式(I)の数種の化合物の合成を、スキーム1~3に示し、以下の実施例にてより詳細に説明する。

## 【0021】

## 【化6】

スキーム1



## 【0022】

試薬：(i) ジオキサン、TEA、80；(ii) 20% HCl水溶液、ジオキサン；(iii) 4-tert-ブチルベンジルイソチオシアナート又は4-トリフルオロメチルベンジルイソチオシアナート、エタノール、還流。

R<sub>3</sub> = H、F、OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>；X = I、Cl、Br；R<sub>7</sub> = t-ブチル、トリフルオロメチ

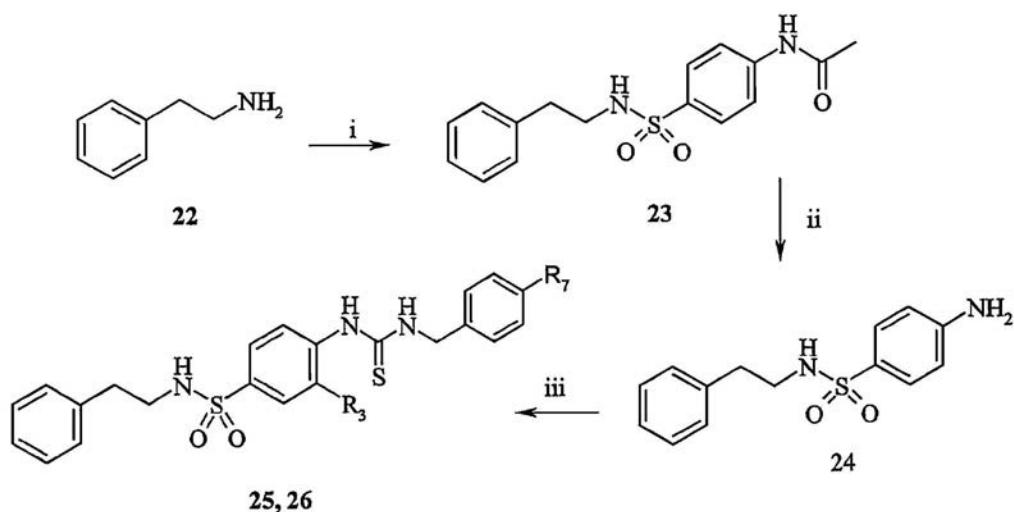
50

ル。

【0023】

【化7】

スキーム2



【0024】

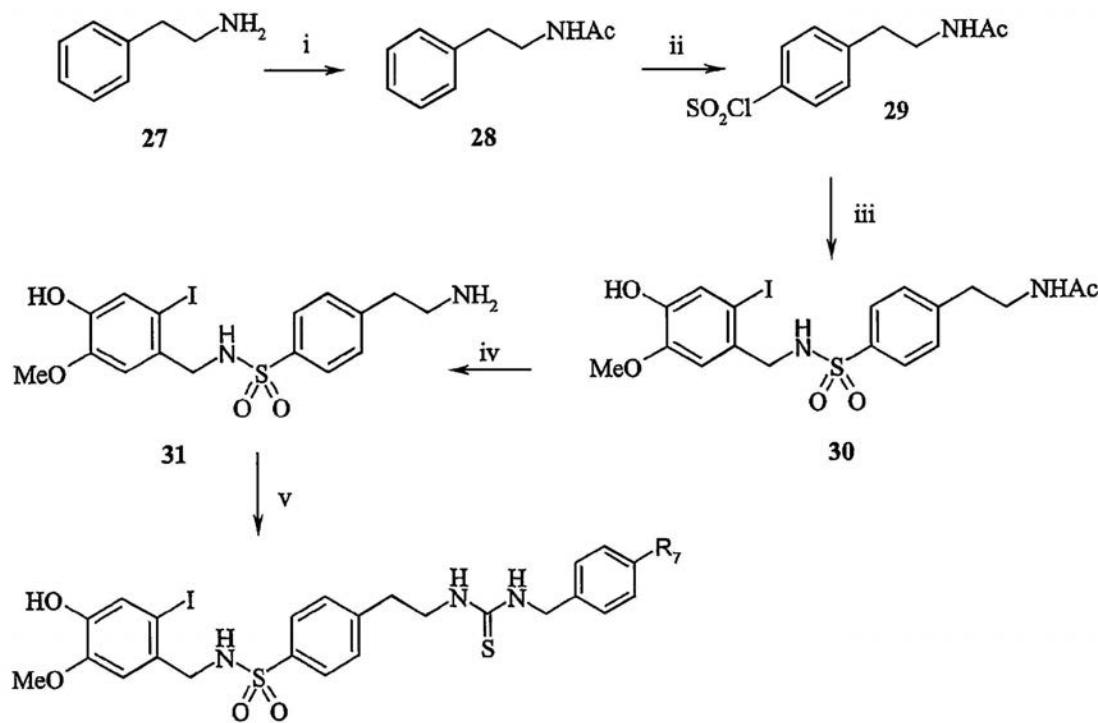
試薬：(i) 4 - アセトアミドベンゼンスルホニルクロリド、ジオキサン；(ii) 20% NaOH 水溶液；(iii) 4 - t - ブチルベンジルイソチオシアナート又は 4 - トリフルオロメチルベンジルイソチオシアナート。

R<sub>7</sub> = t - ブチル、トリフルオロメチル。

【0025】

【化8】

スキーム3



## 【0026】

試薬：(i) 無水酢酸、(ii) クロロスルホン酸、0；(iii) 塩酸2-ヨード(クロロ、ブロモ)-5-メトキシ-4-ヒドロキシベンジルアミン、ジオキサン；(iv) 20% NaOH水溶液；(v) 4-tert-ブチルベンジルイソチオシアナート又は4-トリフルオロメチルベンジルイソチオシアナート、エタノール、還流。

R<sub>7</sub> = t-ブチル、トリフルオロメチル。

## 【0027】

## 1 実施例

反応を、シリカゲル上の薄層クロマトグラフィー(TLC)(プレコートされたF<sub>245</sub> Merckプレート)により定期的に監視し、生成物は、ヨウ素又は過マンガン酸カリウム溶液で視覚化した。<sup>1</sup>H NMRスペクトルは、CDCl<sub>3</sub>、CF<sub>3</sub>COOD、又はDMSO-d<sub>6</sub>中で、Varian VXR 200分光計を用いて記録した。ピーク位置は、内部基準としてのテトラメチルシランから低磁場への百万分の一( )にて提供し、J値はHzにて提供する。IRスペクトルは、KBr Wafer法を使用して、Pye Unicam SP 300分光計上で記録した。質量スペクトルは、Shimadzu QP5050 DI 50分光計により獲得した。表現「軽油エーテル」は、40~60で沸騰する石油留分を指す。融点(M.p.)は、Buchi-Tottoli機器上で測定され、未修正である。クロマトグラフィーは、Merckの60~200メッシュのシリカゲルを使用して行なった。合成した化合物の<sup>1</sup>H NMRスペクトルは、割り当て構造と一致した。元素分析は、C、H及びNの理論値の±0.4%以内であった。

## 【0028】

1 塩酸2-(置換)-4-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンジルアミン1~3の調製  
1.1 4-アセチルオキシ-3-メトキシ-N-アセチル-ベンジルアミンの合成

無水酢酸(1mL、10.5mmol)を、塩酸4-ヒドロキシ-3-メトキシ-ベンジルアミン(0.5g、2.63mmol)のピリジン(5mL)溶液に加え、混合物を室温で6時間攪拌した。溶媒を減圧除去し、残留物を水(100mL)中に懸濁させた。水性層を酢酸乙チル(3×20mL)で抽出し、一緒にした有機相を乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、減圧下で蒸発させて、表題の化合物を白色固体(0.45g、収率75%)として得た。

## 【0029】

## 【表1】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.38 (d, 2H, J=6, CH<sub>2</sub>), 5.90 (bs, 1H, NH), 6.90 (m, 3H, 芳香族).

MS: m/z 238.1 (M<sup>+</sup> C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>).

## 【0030】

## 1.2 2-ヨード-4-アセチルオキシ-5-メトキシ-N-アセチルベンジルアミンの合成

実施例1.1のジアセチル誘導体と、触媒量のトリフルオロメタンスルホン酸(5~6滴)を、IPy<sub>2</sub>BF<sub>4</sub><sup>-1/2</sup>(0.69g、6.9mmol)のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(40mL)溶液に加えた。得られた混合物を室温で5時間攪拌した後、混合物が完全に透明になるまで、10%チオ硫酸ナトリウム水溶液を加えた。水性層をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3×25mL)で抽出し、有機相を乾燥し(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、真空下で蒸発させた。残留物をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>Oの混合物から再結晶させて、表題の化合物を淡黄色固体(0.38g、収率65%)として得た。

## 【0031】

## 【表2】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 2.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.41 (d, 2H, J=5.6, CH<sub>2</sub>), 6.0 (t, 1H, NH), 7.04 (s, 1H, 芳香族), 7.44 (s, 1H, 芳香族).

## 【0032】

二次元NOESY(CDCl<sub>3</sub>) : 7.44 ppmの一重項と、2.33 ppmの一重項との間のカップリングは、ヨウ素が、芳香環の2位に存在することを裏付ける。

MS : m/z 364 (M<sup>+</sup> C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>INO<sub>4</sub>).

10

## 【0033】

1.3 2 - クロロ - 4 - アセチルオキシ - 5 - メトキシ - N - アセチルベンジルアミンの合成

N - クロロスクシンイミド(3.15 mmol、0.42 g)を、実施例1.1の4 - アセチルオキシ - 3 - メトキシ - N - アセチル - ベンジルアミン(0.5 g、2.1 mmol)の乾燥DMF(6 mL)溶液に加え、混合物を0で30分間攪拌した後、室温で16時間攪拌した。

反応物(40 mL)に水を加えた際に、白色沈殿の形成が観察された。

固体を濾過により分離し、冷水(2×20 mL)で2回洗浄した後、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>上で乾燥して、表題の化合物を白色固体(0.45 g、収率83%)として得た。

20

## 【0034】

## 【表3】

<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1.89 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.27 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=8), 7.09 (s, 1H, 芳香族), 7.25 (s, 1H, 芳香族), 8.35 (t, 1H, NH).

## 【0035】

二次元NOESY(DMSO-d<sub>6</sub>) : 2.24 ppmの一重項と、7.25 ppmの一重項との間のカップリングは、塩素が、芳香環の2位に存在することを裏付ける。

MS : m/z 272.1 (M<sup>+</sup> C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>INO<sub>4</sub>).

30

## 【0036】

1.4 2 - ブロモ - 4 - アセチルオキシ - 5 - メトキシ - N - アセチルベンジルアミンの合成

N - ブロモスクシンイミド(3.15 mmol、0.42 g)を、実施例1.1の4 - アセチルオキシ - 3 - メトキシ - N - アセチル - ベンジルアミン(0.5 g、2.1 mmol)の乾燥DMF(6 mL)溶液に加え、混合物を0で30分間攪拌した後、室温で16時間攪拌した。

反応物(40 mL)に水を加えた際に、白色沈殿の形成が観察された。

固体を濾過により分離し、冷水(2×20 mL)で2回洗浄した後、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>上で乾燥して、表題の化合物を白色固体(0.46 g、収率81%)として得た。

40

## 【0037】

## 【表4】

<sup>1</sup>H NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ 1.90 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.26 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=8), 7.093 (s, 1H, 芳香族), 7.39 (s, 1H, 芳香族), 8.36 (t, 1H, NH).

## 【0038】

50

二次元NOESY(DMSO-d<sub>6</sub>)：2.49 ppmの一重項と、7.39 ppmの一重項との間のカップリングは、臭素が、芳香環の2位に存在することを裏付ける。

MS : m/z 315.1 (M<sup>+</sup> C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>BrNO<sub>4</sub>)。

#### 【0039】

1.5 塩酸2-ヨード(クロロ、プロモ)-4-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンジルアミン 1~3の合成

37% 塩酸(0.2mL)を、2-ヨード(クロロ、プロモ)-4-アセチルオキシ-5-メトキシ-N-アセチル-ベンジルアミン(0.1g、0.27mmol)の絶対エタノール(5mL)溶液に加え、混合物を12時間還流した。冷却した後、溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物を乾燥アセトンから再結晶させて、表題の化合物を淡黄色固体として、定量的収率を得た。  
10

#### 【0040】

2 - [(2-置換-4-ヒドロキシ-5-メトキシ)-ベンジル]アミノスルホニルベンゼン-3-R<sub>3</sub>-4-アセトアミド 4~8の調製

3-(置換)-スルホニルクロリド(2.1mmol)のジオキサン(50mL)溶液に、TEA(2mol等量)及び塩酸2-置換-4-ヒドロキシ-5-メトキシベンジルアミン(2mol等量)を加えた。混合物を3時間加熱還流し、溶媒を減圧除去し、残留物に水(50mL)を加えた。形成された固体を濾過により分離し、乾燥し、エタノールから再結晶させて、所望の生成物を白色固体として得た。  
20

#### 【0041】

2.1 N - [(2-ヨード-4-ヒドロキシ-5-メトキシ)-ベンジル]アミノスルホニルベンゼン-4-アセトアミド 4

#### 【0042】

#### 【表5】

収率 80%; 融点: 123°C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3.11 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.88 (d, 2H, J=8), 6.61 (d, 2H, J=4)), 6.80 (s, 1H), 7.11 (t, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.23 (bs, 1H), 7.53 (d, 2H, J=4), 8.80 (bs, 1H).

30

#### 【0043】

2.2 N - [(2-クロロ-4-ヒドロキシ-5-メトキシ)-ベンジル]アミノスルホニルベンゼン-4-アセトアミド 5

#### 【0044】

#### 【表6】

収率 68%; 融点: 132°C; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2.08 (s, 3H), 3.37 (s, 3H), 4.04 (d, 2H, J=8), 6.72 (s, 1H)), 6.83 (s, 1H), 7.72 (s, 4H), 7.92 (t, 1H), 9.47 (bs, 1H), 10.30 (s, 1H).  
40

40

#### 【0045】

2.3 N - [(2-プロモ-4-ヒドロキシ-5-メトキシ)-ベンジル]アミノスルホニルベンゼン-4-アセトアミド 6

#### 【0046】

## 【表7】

収率 72%; 融点: 129°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 2.07 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3.99 (d, 2H,  $J=8$ ), 6,76 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6.95 (t, 1H), 7,66 (s, 4H), 8.44 (bs, 1H), 9.71 (bs, 1H).

## 【0047】

2 . 4 N - [ ( 2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ ) - ベンジル ] アミノスルホニルベンゼン - 3 - フルオロ - 4 - アセトアミド 7 10

## 【0048】

## 【表8】

収率 96%; 融点: 211°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3.57 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.98 (d, 2H,  $J=7.8$ ), 7.06 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.51 (m, 1H), 7.82 (m, 2H), 8.35 (bs, 2H), 10.08 (bs, 1H).

## 【0049】

2 . 5 N - [ ( 2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ ) - ベンジル ] アミノスルホニルベンゼン - 3 - メトキシ - 4 - アセトアミド 8 20

## 【0050】

## 【表9】

収率 81%; 融点: 208°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3.42 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 4.01 (d, 2H,  $J=7.8$ ), 7.16 (s, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.80 (m, 2H), 8.44 (bs, 2H), 9.98 (bs, 1H).

## 【0051】

3 実施例2のN - アセチル官能基の加水分解のための一般的手順 30

実施例2のアセチル誘導体 (1 g) のジオキサン (1 5 mL) 溶液に、20% HCl (2 0 mL) 水溶液を加え、混合物を1時間加熱還流した。溶媒を減圧除去し、残留物に水を加えた。得られた溶液を、20% NaOH水溶液で中和し、形成された固体を濾過により分離し、冷水 (3 0 mL) で洗浄した。沈殿を乾燥し、絶対エタノールから再結晶させて、遊離アミノ化合物を固体として、定量的収率を得た。

## 【0052】

3 . 1 N - ( 2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル ) - 4 - アミノベンゼンスルホンアミド 9

## 【0053】

## 【表10】 40

淡黄色の固体、融点: 111°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3,74 (s, 3H), 3,90 (d, 2H), 5,10 (bs, 2H), 6,61 (d, 2H,  $J=4$ ), 6,83 (s, 1H), 7,00 (t, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,50 (d, 2H,  $J=5$ ), 8,80 (s, 1H).

## 【0054】

3 . 2 N - ( 2 - クロロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル ) - 4 - アミノベンゼンスルホンアミド 10

## 【0055】 50

## 【表 1 1】

淡黄色の固体、融点：111°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3,69 (s, 3H), 3,87 (d, 2H), 5,93 (bs, 2H), 6,56 (d, 2H,  $J=4$ ), 6,73 (s, 1H), 6,85 (t, 1H), 7,41 (d, 2H), 7,56 (t, 1H), 9.22 (s, 1H).

## 【0 0 5 6】

3 . 3 N - (2 - プロモ - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル) - 4 - アミノベンゼンスルホンアミド 11 10

## 【0 0 5 7】

## 【表 1 2】

淡黄色の固体、融点：115°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3,69 (s, 3H), 3,90 (d, 2H), 5,41 (bs, 2H), 6,63 (d, 2H,  $J=6$ ), 6,87 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 7,46 (d, 2H,  $J=7$ ), 7,64 (bt, 1H), 8,90 (bs, 1H).

## 【0 0 5 8】

3 . 4 N - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル) - 3 - フルオロ - 4 - アミノベンゼンスルホンアミド 12 20

## 【0 0 5 9】

## 【表 1 3】

淡黄色の固体、融点：113°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3,72 (s, 3H), 3,88 (d, 2H), 5,88 (bs, 2H), 6,63 (d, 1H,  $J=4$ ), 6,91 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,81 (m, 2H), 7,69 (t, 1H), 9.05 (bs, 1H).

## 【0 0 6 0】

3 . 5 N - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル) - 3 - メトキシ - 4 - アミノベンゼンスルホンアミド 13 30

## 【0 0 6 1】

## 【表 1 4】

黄色の固体、融点：120°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3,44 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 3,94 (d, 2H), 6,01 (bs, 2H), 6,72 (d, 1H,  $J=4$ ), 6,92 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 7,83 (m, 2H), 7,72 (t, 1H), 9.02 (bs, 1H).

## 【0 0 6 2】

4 N - (4 - R<sub>7</sub> - ベンジル) - N - [4 - (2 - 置換) - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル) - 3 - R<sub>3</sub> - アミノスルホニル] フェニルチオ尿素誘導体 14 ~ 21 の合成のための一般的手順 40

化合物 9 ~ 13 (0 . 23 mmol) の無水エタノール (10 mL) 溶液に、4 - t - プチルベンジルイソチオシアナート又は 4 - トリフルオロメチルベンジルイソチオシアナート (1 . 2 mol 等量、Wrigglesworth, R. et al. J. Med. Chem. 1996, 39, 4942-4951) を加え、混合物を 16 時間加熱還流した。溶媒を減圧除去し、残留物をフラッシュクロマトグラフィー (E t O A c : 石油エーテル (etero petrolio) 1 : 1) で精製して、誘導体 14 ~ 21 を固体として与えた。

## 【0 0 6 3】

4 . 1 N - (4 - t - プチル - ベンジル) - N - [4 - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジル) アミノスルホニル] フェニルチオ尿素 14 50

【0064】

【表15】

淡黄色の固体、収率42%、融点：95°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,31 (s, 9H), 3,79 (s, 3H), 4,14 (d, 2H,  $J=4$ ), 4,85 (d, 2H,  $J=4,2$ ), 5,11 (t, 1H), 5,52 (bs, 1H), 6,75 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 7,27 (m, 4H), 7,41 (d, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,86 (bs, 1H), 8,36 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  640,6 ( $\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{IN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ).IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 1548 (C=S).分析 C, H, N, ( $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{IN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ): 計算値 C, 48,83; H, 4,73; N, 6,57.

実測値 C, 48,80; H, 4,69; N, 6,55.

【0065】

4 . 2 N - (4 - トリフルオロメチル - ベンジル) - N - [4 - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル) アミノスルホニル] フェニルチオ尿素 15

【0066】

【表16】

淡黄色の固体、収率38%、融点：102°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3,69 (s, 3H), 3,88 (d, 2H,  $J=4$ ), 4,76 (d, 2H,  $J=4$ ), 6,51 (t, 1H), 6,69 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 7,36 (d, 2H), 7,44 (d, 2H), 7,55 (d, 2H), 7,63 (m, 3H), 7,81 (t, 1H), 9,37 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  651,4 ( $\text{M}^+ \text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{IN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ).IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 1550 (C=S).分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{IN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ): 計算値 C, 42,40; H, 3,25; N,

6,45; F, 8,75. 実測値 C, 42,35; H, 3,22; N, 6,43; F, 8,76.

【0067】

4 . 3 N - (4 - t - プチル - ベンジル) - N - [4 - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル) - 3 - フルオロ - アミノスルホニル] フェニルチオ尿素 16

【0068】

【表17】

白色の固体、41% 収率、融点：105°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 1.29 (s, 9H), 3.62 (s, 3H), 3.83 (d, 2H,  $J=4$ ), 4.13 (d, 2H,  $J=4.1$ ), 6.44 (bt, 1H), 6.83 (s, 1H), 7.25 (m, 3H), 7.39 (m, 5H), 7.6 (bs, 1H), 7.80 (bs, 1H), 8.21 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  658.5 ( $\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{FIN}_3\text{O}_4\text{S}$ ).分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{FIN}_3\text{O}_4\text{S}$ ): 計算値 C, 47.49; H, 4.45; N,

6.39. 実測値 C, 47.41; H, 4.44; N, 6.36.

【0069】

4 . 4 N - ( 4 - t - プチルベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル ) - 3 - メトキシ - アミノスルホニル ] フェニルチオ尿素 1  
7

## 【 0 0 7 0 】

## 【表 18】

淡黄色の固体, 31% 収率, 融点: 103°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 1.27  
(s, 9H), 3.82 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 4.07 (d, 2H), 4.81 (m, 2H), 6.41 (bs, 1H),  
6.85 (m, 2H), 7.16 (s, 1H), 7.26 (m, 6H), 7.52 (m, 2H), 8.05 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  670.4 ( $\text{M}^+ \text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{IN}_3\text{O}_5\text{S}_2$ ).

分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{IN}_3\text{O}_5\text{S}_2$ ): 計算値 C, 48.43; H, 4.82; N,  
6.28. 実測値 C, 48.40; H, 4.84; N, 6.25.

## 【 0 0 7 1 】

4 . 5 N - ( 4 - t - プチル - ベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - クロロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル ) アミノスルホニル ] フェニルチオ尿素 1 8

## 【 0 0 7 2 】

## 【表 19】

淡黄色の固体, 48% 収率, 融点: 124°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 1.27  
(s, 9H), 3.67 (s, 3H), 3.96 (m, 2H), 4.18 (d, 2H,  $J=6$ ), 6.31 (t, 1H), 6.72  
(s, 1H), 6.86 (s, 1H), 7.18 (d, 2H), 7.31 (m, 4H), 7.65 (s, 2H), 8.40 (t, 1H),  
9.46 (s, 1H), 9.85 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  549.4 ( $\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ).

分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ): 計算値 C, 56.97; H, 5.52; N,  
7.67. 実測値 C, 56.92; H, 5.50; N, 7.62.

## 【 0 0 7 3 】

4 . 6 N - ( 4 - トリフルオロメチル - ベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - クロロ - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル ) アミノスルホニル ] フェニルチオ尿素 1 9

## 【 0 0 7 4 】

## 【表 20】

黄色の固体, 45% 収率, 融点: 122°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3.69  
(s, 3H), 3.95 (d, 2H,  $J=6$ ), 4.27 (d, 2H,  $J=6.1$ ), 6.60 (t, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.92  
(m, 3H), 7.48 (d, 2H), 7.68 (m, 4H), 7.85 (t, 1H), 8.22 (bs, 1H), 9.41 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  561.4 ( $\text{M}^+ \text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ).

分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ): 計算値 C, 49.33; H, 3.78; N,  
7.50; F, 10.18. 実測値 C, 49.30; H, 3.74; N, 7.45; F, 10.11.

## 【 0 0 7 5 】

4 . 7 N - ( 4 - t - プチル - ベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - プロモ - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル ) アミノスルホニル ] フェニルチオ尿素 2 0

10

20

30

40

50

## 【0076】

## 【表21】

淡黄色の固体、51% 収率、融点: 118°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 1.29 (s, 9H), 3.58 (s, 3H), 3.81 (m, 2H), 4.19 (d, 2H,  $J=6$ ), 6.22 (t, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.91 (s, 1H), 7.23 (d, 2H), 7.40 (m, 4H), 7.69 (s, 2H), 8.43 (t, 1H), 9.49 (s, 1H), 10.01 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  598.3 ( $\text{M}^+ \text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{BrN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ).

10

分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{BrN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ): 計算値 C, 52.70; H, 5.10; N, 7.09. 実測値 C, 52.66; H, 5.08; N, 7.12.

## 【0077】

4 . 8 N - (4 - トリフルオロメチル - ベンジル) - N - [4 - (2 - ブロモ - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル) アミノスルホニル] フェニルチオ尿素 21

## 【0078】

## 【表22】

淡黄色の固体、49% 収率、融点: 120°C;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 3.62 (s, 3H), 4.01 (d, 2H,  $J=6$ ), 4.35 (d, 2H,  $J=6.1$ ), 6.63 (t, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.90 (m, 3H), 7.55 (d, 2H), 7.72 (m, 4H), 8.01 (t, 1H), 8.42 (bs, 1H), 9.81 (bs, 1H).

MS:  $m/z$  605.3 ( $\text{M}^+ \text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{BrF}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ).

20

分析 C, H, N, F ( $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{BrF}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_2$ ): 計算値 C, 45.70; H, 3.50; N, 6.95; F, 9.43. 実測値 C, 45.63; H, 3.52; N, 6.92; F, 9.46.

## 【0079】

30

5 N - (2 - フェニルエチル) - 4 - アセトアミドベンゼンスルホンアミド 23 の合成

塩化スルホニル (0 . 5 g) の無水ジオキサン (30 mL) 溶液に、2 - フェニルエチル - アミン (1 . 6 等量、0 . 43 mL) を加え、混合物を約1時間還流する。溶媒を減圧除去し、残留物を水 (35 mL) と一緒にする。得られた固体を減圧濾過し、乾燥し、エタノールから結晶化させて、化合物 23 の白色固体 (0 . 61 g、収率 84%) を得る。

## 【0080】

## 【表23】

融点: 98°C.

40

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}_{d_6}$ )  $\delta$ : 2.88 (s, 3H), 3.01 (t, 2H,  $J=8$ ), 3.22 (q, 2H,  $J=8$ ), 6.25 (t, 1H), 6.42 (d, 2H,  $J=6$ ), 6.80 (m, 5H), 6.91 (bs, 1H), 7.01 (d, 2H,  $J=6$ ).

## 【0081】

6 N - (2 - フェニルエチル) - 4 - アミノベンゼンスルホンアミド 24 の合成  
23 (0 . 6 g、1 . 7 mmol) のジオキサン (8 mL) 溶液に、20% NaOH (13 mL) を加え、混合物を1 . 5 時間還流する。溶媒を減圧濃縮し、水性相に20% NaOH を加えて、pH = 7 とする。得られた固体を減圧濾過し、水で洗浄し、乾燥して、化合物 24 を白色固体 (0 . 43 g、収率 83%) として与える。

50

## 【0082】

## 【表24】

融点: 114°C.

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO<sub>d</sub>6) δ: 2.2,75 (t, 2H, J=8), 3.3,20 (q, 2H, J=8), 4.4,18 (bs, 2H), 6.6,68 (d, 2H, J=6), 7.7,09 (d, 2H, J=5), 7.7,24 (m, 4H), 7.7,59 (d, 2H, J=6).

## 【0083】

10

7 . N - ( 4 - R , - ベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - フェニルエチル - アミノ ) スルホニル ] フェニルチオ尿素 25、26 の合成のための一般的手順

化合物 24 ( 150 mg ) の無水エタノール ( 12 mL ) 溶液に、t - プチル - ベンジルイソチオシアナート ( Wrigglesworth, R. et al. J. Med. Chem. 1996, 39, 4942-4951 ) 又は 4 - トリフルオロメチルベンジルイソチオシアナート ( 1 . 2 等量 ) を加え、溶液を約 16 時間還流する。溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物をクロマトグラフィー ( A c O E t : 石油エーテル 1 : 1 ) により精製して、化合物 25、26 を固体として与える。

## 【0084】

7 . 1 N - ( 4 - t - プチル - ベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - フェニルエチル - アミノ ) - スルホニル ] フェニルチオ尿素 25

20

## 【0085】

## 【表25】

白色の固体, 40% 収率, 融点: 97°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.30 (s, 9H), 2.77 (t, 2H, J=8), 3.22 (q, 2H, J=8), 4.61 (bs, 2H), 4.82 (d, 2H), 6.20 (bs, 1H), 7.08 (d, 2H), 7.25 (m, 5H), 7.37 (d, 2H), 7.77 (d, 2H), 7.82 (bs, 1H), 8.40 (bs, 1H).

MS: m/z 481.1,1 (M<sup>+</sup> C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>).

30

分析 C, H, N, S (C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>): 計算値 C, 64.83; H, 6.49; N, 8.72; S, 13.31. 実測値 C, 64.80; H, 6.42; N, 8.69; S, 13.29.

## 【0086】

7 . 2 N - ( 4 - トリフルオロメチル - ベンジル ) - N - [ 4 - ( 2 - フェニルエチル - アミノ ) スルホスルホニル ] フェニルチオ尿素 26

## 【0087】

## 【表26】

白色の固体、70% 収率、融点: 102°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.77 (t, 2H, J=6), 3.21 (q, 2H, J=6), 4.51 (t, 1H), 4.90 (d, 2H), 6.63 (d, 2H), 7.09 (d, 2H), 7.20 (m, 5H), 7.35 (d, 2H), 7.58 (d, 2H), 7.92 (bs, 1H), 8.32 (bs, 1H).

MS: m/z 494.4,3 (M<sup>+</sup> C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>).

分析 C, H, N, F (C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>): 計算値 C, 55.97; H, 4.49; N, 8.51; F, 1.1,55. 実測値 C, 55.94; H, 4.47; N, 8.48; F, 11.52.

10

## 【0088】

## 8 N - アセチル - 2 - フェニルエチルアミン 28 の合成

市販されている 2 - フェニルエチルアミン (2 mL, 1.5 . 8 mmol) のピリジン (5mL) 溶液に、無水酢酸 (2 等量、3 mL) を加え、溶液を室温で 12 時間攪拌する。溶媒を減圧除去し、残留物を水 (40 mL) と一緒にし、水性相を E t O A c (4 × 25 mL) で抽出する。有機抽出物を貯め、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥し、減圧下で蒸発させる。残留物を石油エーテルから結晶化させて、化合物 28 を白色固体 (2.56 g、定量的収率) として与える。

20

## 【0089】

## 【表27】

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.93 (s, 3H), 2.81 (t, 2H, J=8), 3.51 (t, 2H, J=8), 5.61 (bs, 1H), 7.18 (m, 5H).

## 【0090】

## 9 4 - アセトアミドエチルベンゼンスルホニルクロリド 29 の合成

化合物 28 (0.5 g, 3 mmol) に、HSO<sub>3</sub>Cl (1.1 mL) を 1 滴ずつ加え、温度を 0 に保持する。添加の終わりに、反応混合物を 100 °C で約 1 時間加熱し、次いで冷却し、破碎氷上に注ぐ。得られた沈殿を濾過し、水で洗浄して、化合物 29 を白色固体 (0.51 g、収率 65 %) として与える。

30

## 【0091】

## 【表28】

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO<sub>d6</sub>) δ: 1.94 (s, 3H), 2.79 (t, 2H), 3.40 (m, 2H), 7.19 (d, 2H, J=4), 7.72 (d, 2H, J=4), 8.08 (bs, 1H).

## 【0092】

40

## 10 N - [ (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ) - ベンジル ] アミノスルホニル - ベンゼン - N - エチル - 4 - アセトアミド 30 の合成

29 (250 mg、0.9 mmol) の無水ジオキサン (20 mL) 溶液に、塩酸 2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシベンジルアミン (1.6 等量、480 mg) 及び TEA (1.8 等量、0.24 mL) を加え、混合物を約 1 時間還流する。添加の終わりに、溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物を水 (40 mL) と一緒にする。得られた沈殿を吸引濾過し、水で洗浄し、乾燥して、化合物 30 を淡黄色固体 (380 mg、収率 84 %) として与える。粗化合物を、以下の脱保護反応に使用する。

## 【0093】

## 11 N - [ (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ) - ベンジル ] - 4 - (2 -

50

エチルアミノ)ベンゼンスルホンアミド 31 の合成

化合物 30 (110 mg, 0.22 mmol) のジオキサン (5 mL) 溶液に、20% NaOH (6 mL) を加え、混合物を 80°C まで約 3 時間かけて加熱する。添加の終わりに、溶媒を減圧除去し、20% HCl により残留物の pH を 7 に調整する。得られた沈殿を減圧濾過し、乾燥し、エチルエーテルから結晶化させて、化合物 31 を淡黄色固体 (90 mg、収率 88%) として与える。

【0094】

【表 29】

融点: 291°C.

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2.48 (s, 3H), 2.67 (m, 2H), 3.52 (t, 2H), 3.67 (bs, 3H), 3.87 (s, 2H), 6.78 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.36 (d, 2H, J=8), 7.66 (d, 2H, J=8).

【0095】

12. N - [4 - (4 - ベンジル) - N - [4 - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル) アミノスルホニル - 2 - フェニルエチル] チオ尿素誘導体 32 及び 33 の合成のための一般的手順

化合物 31 (100 mg, 0.2 mmol) の無水エタノール (12 mL) 溶液に、4-t-ブチル - ベンジルイソチオシアナート (Wrigglesworth, R. et al. J. Med. Chem. 1996, 39, 4942-4951) 又は 4 - トリフルオロメチルベンジルイソチオシアナート (1.2 等量) を加え、溶液を約 16 時間還流する。その後、溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物をクロマトグラフィー (EtOAc : 石油エーテル 1 : 1) により精製して、化合物 32 及び 33 を固体として与える。

【0096】

12.1 N - [4 - t - ブチル - ベンジル) - N - [4 - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル) アミノスルホニル - 2 - フェニルエチル] チオ尿素 32

【0097】

【表 30】

白色の固体、41% 収率、融点: 195°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.31 (s, 9H), 2.85 (t, 2H), 4.71 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 4.14 (d, 2H, J=6), 4.49 (bs, 2H), 5.18 (t, 1H), 5.74 (bs, 1H), 5.91 (bs, 1H), 6.18 (bs, 1H), 6.70 (s, 1H), 7.2 (m, 5H), 7.37 (d, 2H), 7.66 (d, 2H).

MS: m/z 668,5 (M<sup>+</sup> C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>).

分析 C, H, N (C<sub>28</sub>H<sub>34</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>): 計算値 C, 50.37; H, 5.13; N, 6.29.

実測値 C, 50.19; H, 5.11; N, 6.21.

【0098】

12.2 N - [4 - トリフルオロメチル - ベンジル) - N - [4 - (2 - ヨード - 4 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンジル) アミノスルホニル - 2 - フェニルエチル] チオ尿素 33

【0099】

## 【表31】

淡黄色の固体、52% 収率、融点: 186°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.93 (t, 2H), 3.75 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 4.14 (d, 2H, J=8), 4.76 (d, 2H), 5.20 (t, 1H), 5.81 (bs, 1H); 5.92 (bs, 1H), 6.20 (t, 1H), 6.70 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.16 (d, 2H, J=6), 7.42 (d, 2H), 7.63 (m, 4H).

MS: m/z 680,3 (M+ C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>).

分析 C, H, N (C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>): 計算値 C, 44,19; H, 3,71; N, 6,18.

実測値 C, 44,15; H, 3,52; N, 5,99.

10

## 【0100】

## 2 薬理学

材料及び方法

動物及び組織

新生及び成熟Sprague-Dawleyラット (~ 250 g) を使用した (Harlan, イタリア)。全実験は、国のガイドラインに従い、また地方の倫理委員会により承認された。

## 【0101】

20

## 放射性リガンド結合アッセイ

試験時の体重 250 ~ 350 g の雄のSprague-Dawleyラットを使用した。結合アッセイのために、ラットを麻酔下で、断頭により犠牲に供し、脊髄を取り出し、ポリトロン組織ホモジナイザーを用いて、5 mM KCl、5.8 mM NaCl、0.75 mM CaCl<sub>2</sub>、2 mM MgCl<sub>2</sub>、320 mM スクロース、10 mM ヘペスを含有する pH 8.6 (Szalai and Blunberg, 1992; 1993) の氷冷緩衝液中で破壊した。ホモジナイズした組織を、1000 × g で 10 分間、4° にて遠心分離し、上清を再度、35000 × g で 30 分間、4° にて遠心分離した (Beckman Avanti J25)。ペレットを、上記と同一の緩衝液中に再懸濁し、結合実験にて使用した。飽和実験において、膜懸濁液からの 150 μg タンパク質 / サンプルを、[<sup>3</sup>H]-RTX ([<sup>3</sup>H]-レシニフェラトキシン、Perkin Elmer, Boston, MA) (0.003 ~ 3 nM) と共に、0.25 mg/mL 脂肪酸フリーウシ血清アルブミンを含有するアッセイ緩衝液中で、37° にて 60 分間インキュベートした。競合実験において、膜を [<sup>3</sup>H]-RTX (0.4 nM) 及び濃度を 0.1 nM ~ 3 μM の範囲内で増大させた試験化合物と共に、37° で 60 分間インキュベートした。1 μM RTX の存在下で、非特異的結合を規定した。インキュベーションの後、反応混合物を 0° に冷却し、ウシ 1- 酸糖タンパク質 (200 μg / 管) と共に 15 分間インキュベートして、非特異的 RTX 結合を減少させた。膜結合 RTX を、18500 × g で 15 分間のサンプルの遠心分離により、遊離 RTX から分離した。ペレットを含むミクロ遠心分離管の先端を切り取り、シンチレーション計数 (Packard 2500 TR) により放射能を測定した。ウシ血清アルブミンを標準参照 (Bradford, 1976) として、Bio-Rad 法にしたがってタンパク質濃度を決定した。飽和及び競合試験を、プログラム Ligand (Munson and Rodbard, 1980) により解析した。

30

## 【0102】

40

培養ラット三叉神経節ニューロン内の Ca<sup>2+</sup> 蛍光測定

新生ラット (2 日齢) に致命的な麻酔をかけ、断頭した。三叉神経節を取り出して、素早く冷リン酸緩衝溶液 (PBS) 中に配置してから、コラゲナーゼ / ディスパーザー (1 mg / mL、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup> フリー PBS 中に溶解した) に移して、37° で 35 分間保った (Rigoni et al, 2003)。酵素処理後、節を Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup> フリー PBS で 3 回灌ぎ、次いで 10% ウシ胎児血清 (FBS、熱不活性化)、2 mM L-グルタミン、100 U/mL ペニシリン及び 100 mg/mL ストレプトマイシンを補充した冷 DMEM 2 mL 中に配置し

50

た。次いで、節を一連のシリソジ針（23Gから25G）に数回通過させて、個々の細胞に分離した。最後に、培地と節細胞の複合物を、40mmフィルターで篩いにかけて破片を除去し、D MEM 培地8mLをいっぱいに満たし、遠心分離にかけた（200×gで5分間）。最終的な細胞ペレットをD MEM 培地（100ng/mLマウス神経成長因子（マウス-NGF-7S）及びサイトシン- -D-アラビノ-フラノシドフリー塩基（ARA-C）2.5mMを補充した）中に再懸濁した。細胞をポリ-L-リシン（8.3mM）及びラミニン（5mM）を被覆した25mmガラス製カバースリップ上に配置して、5%CO<sub>2</sub>及び空気で満たした加湿インキュベーター内にて、37°で2~5日間保持した。プレートした神経細胞に、以下の組成(mM)：CaCl<sub>2</sub> 1.4、KCl 5.4、MgSO<sub>4</sub> 0.4、NaCl 135、D-グルコース 5、HEPES 10、及びBSA 0.1%のCa<sup>2+</sup>緩衝溶液中のFura-2-AM-エステル(3μM)を、pH 7.4にて37°で40分間負荷し、Ca<sup>2+</sup>緩衝溶液で2回洗浄し、Nikon eclipse TE300顕微鏡のステージ上のチャンバに移した。染料を340及び380nmで励起させて、動的画像分析システム(Laboratory Automation 2.0, RCS, Florence, イタリア)で記録したF<sub>340</sub>/F<sub>380</sub>比によって、相対的な[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>変化を示した。カプサイシン(0.1μM)及びイオノマイシン(5μM)を、チャンバに加えた。Fura-2-AM-エステルと決定濃度の遊離Ca<sup>2+</sup>(Kudo et al., 1986)を含有する緩衝液を用いた較正曲線を使用して、F<sub>340</sub>/F<sub>380</sub>比から得られたデータを、[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>(nM)に変換した。

## 【0103】

20

全化合物の効果を、カプサイシン誘導によるカルシウム動員に対して試験した。拮抗化合物を10分間インキュベートしてから、カプサイシンのチャレンジを行った。TRPV1拮抗薬、カプサゼピンの阻害効果も試験した。

## 【0104】

## ラットの拭い試験

ラットの結膜上にカプサイシン3μg/眼(10μL)を適用して、適用後60秒間、拭いの動作の回数を記録することにより、カプサイシンの刺激効果(拭い動作の誘導)を評価した。別の実験の組では、ラットを様々な投与量の14で腹腔内処置して、カプサイシン誘導による拭いを試験した。

## 【0105】

30

## 薬物及び溶解度

薬物及び試薬を、以下に示す会社より得た：カプサイシン、イオノマイシン、ラミニン、ポリ-L-リシン及びカプサゼピン(シグマ、イタリア)；マウスNGF-7S及びコラゲナーゼ/ディスパーゼ(Roche Diagnostics、イタリア)；Dulbeccoの修正イーグル培地(DMEM)、加熱不活性化ウシ胎児血清(FBS)、L-グルタミン(200mM)、ペニシリン/ストレプトマイシン(10,000IU/mL±10,000UG/mL)、Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>フリーリン酸緩衝溶液(PBS)(ギブコ、イタリア)；Fura-2-AM-エステル(Societa' Italiana Chimici、イタリア)。カプサイシン(10mM)の保存液は、100%エタノール中で調製した。全てのPharmEste化合物(100mM)、Fura-2-AM-エステル(100mM)及びイオノマイシン(100mM)の母液は、DMSO中で調製した。次いで、クレブス緩衝溶液で適切な希釈を行った。

40

## 【0106】

## 結果

## 総括

化合物14、19及び20は、TRPV1受容体に結合し及び該受容体を活性化する能力を示した。

## 【0107】

## 結合アッセイ

[<sup>3</sup>H]-RTXの競合結合実験では、3種の化合物が、ラット脊髄に発現したTRPV1受容体に対して高い親和性を有することを示した(表1)。特に、14は、100nM

50

未満の親和性の値が明らかとなった。これらの化合物の作用強度の順は、14 > 20 > 19であった。

**【0108】**

Ca<sup>2+</sup> 蛍光

大部分(87%)のラット三叉神経細胞において、カプサイシン(0.1 μM)は、[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>を増大させ、したがってこれらは、TRPV1発現神経細胞として同定された。全化合物のIC<sub>50</sub>値については、表1を参照されたい。データは、平均及び95%信頼限界として表される。

**【0109】**

**【表32】**

10

表1：TRPV1拮抗薬の親和性(K<sub>i</sub>、nM)及び作用強度(IC<sub>50</sub>、nM)値

化合物コード	K <sub>i</sub> (nM) (信頼限界)	IC <sub>50</sub> (nM) (信頼限界)
カプサゼピン	NT	2168 (1528-3080)
14	90 (73-110)	60 (43-85)
20	493 (340-716)	212 (90-590)
19	756 (515-1109)	270 (127-574)

20

**【0110】**

親和性(K<sub>i</sub>)及び作用強度(IC<sub>50</sub>)値は、[<sup>3</sup>H]-RTX競合結合アッセイ及び培養したラット三叉神経ニューロン内での細胞内カルシウムアッセイにより獲得した。NT：試験せず。

**【0111】**

ラットの拭い試験

カプサイシンチャレンジの60分前の腹腔内の化合物14は、ラットのカプサイシン誘導による拭いの挙動を、用量依存的に低下させた(用量1mg/kgは、24%阻害を生じた)。

30

**【0112】**

結論

インビトロ及びインビボ試験において、14は、古典的なTRPV1受容体拮抗薬であるカプサゼピンの親和性よりも有意に高い親和性で、TRPV1依存的な応答を阻害することができた。更に、化合物19及び20は、インビトロで、TRPV1受容体に対する高い親和性を示した。上述した全化合物は、疼痛及び神経性炎症モデルにおける今後の研究において、重要な手段であり得る。

**【0113】**

## 【表 3 3】

## 参考文献

- Bradford MM, *Anal Biochem* (1976) 72: 248-254.
- Kudo Y. et al., Japanese Journal of Pharmacology (1986) 41, 345-151.
- Munson PJ et al., *Anal Biochem* (1980) 107: 220-239.
- Rigoni M. et al., British Journal of Pharmacology (2003) 138, 977-985.
- Szallasi A. and Blunberg PM, ed. P.M. Conn (Academic Press, Orlando, FL)  
(1992) vol. 8,.p. 368.
- Szallasi A. and Blunberg PM, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* (1993) 347: 84-91.

10

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 61 K 31/18 (2006.01) A 61 K 31/18

(72)発明者 ボレア, ピエル・アンドレーア  
イタリア国、イ - 44100 フェッラーラ、ヴィア・フォッサート・ディ・モルターラ、17 /  
19  
(72)発明者 ジエペッティ, ピエランジェロ  
イタリア国、イ - 44100 フェッラーラ、ヴィア・フォッサート・ディ・モルターラ、17 /  
19

審査官 水島 英一郎

(56)参考文献 特表2004-506713(JP, A)  
米国特許出願公開第2003/0119876(US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07C 335/12  
C07C 311/00  
CAplus(STN)  
REGISTRY(STN)