

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3802050号
(P3802050)

(45) 発行日 平成18年7月26日(2006.7.26)

(24) 登録日 平成18年5月12日(2006.5.12)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 513/10 (2006.01)
A 6 1 K 31/438 (2006.01)
A 6 1 P 25/02 (2006.01)
A 6 1 P 25/14 (2006.01)
A 6 1 P 25/16 (2006.01)

C O 7 D 513/10
 A 6 1 K 31/438
 A 6 1 P 25/02
 A 6 1 P 25/14
 A 6 1 P 25/16

請求項の数 24 (全 82 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-504995
 (86) (22) 出願日 平成6年7月15日(1994.7.15)
 (65) 公表番号 特表平9-503491
 (43) 公表日 平成9年4月8日(1997.4.8)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB1994/001543
 (87) 国際公開番号 W01995/003303
 (87) 国際公開日 平成7年2月2日(1995.2.2)
 審査請求日 平成13年7月13日(2001.7.13)
 (31) 優先権主張番号 08/094,855
 (32) 優先日 平成5年7月20日(1993.7.20)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者
 イスラエル国
 イスラエル 70450 ネス ジオーナ
 ビーオーボックス 19
 (74) 代理人
 弁理士 中村 稔
 (74) 代理人
 弁理士 大塚 文昭
 (74) 代理人
 弁理士 穴戸 嘉一
 (74) 代理人
 弁理士 竹内 英人
 (74) 代理人
 弁理士 今城 俊夫

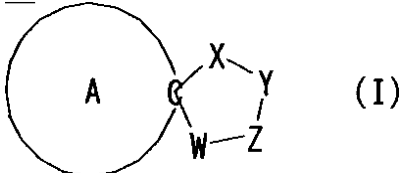
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ムスカリン様アゴニスト活性を有するコリン作用系に作用するアザスピロ化合物

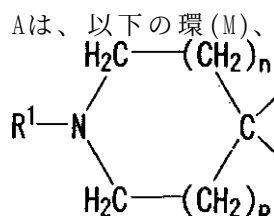
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下式(I)で示される化合物又はその医薬的に許容される塩、前記化合物から構造上誘導される三級窒素原子における四級化合物、鏡像異性体もしくはそのラセミ化合物を使用する、哺乳類の中樞神経系又は末梢神経系疾患の治療に使用される薬剤の調製方法。



(式中、Xは、-S-、Yは、-CRR'-、Zは、-C(=O)-及びWは、-N(R⁰)-であって、
 Rは、H、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₂₋₆ヒドロキシアルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、フェニル及び1、2又は3個のフェニル基で置換されたC₁₋₆アルキルから選択され、
 R'は、H、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₂₋₆ヒドロキシアルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、フェニル及び1、2又は3個のフェニル基で置換されたC₁₋₆アルキルから選択され、
 R⁰は、H、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₂₋₆ヒドロキシアルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、フェニル、1、2又は3個のフェニル基で置換されたC₁₋₆アルキル、及びC₁₋₆アルカノイルから選択され、及び



で示され、該環は、環炭素原子に結合されたH原子がR¹によって置換されていてもよく、かつ該環中、n及びpは、n+pが1～3であることを条件として、それぞれ0、1、2又は3であり、かつR¹は、H、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₃₋₇シクロアルキル、1～6個のハロゲン原子により置換されたC₁₋₆アルキル、ヒドロキシ-C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルチオ、C₁₋₆アルコキシ-C₁₋₆アルキル、カルボキシ-C₁₋₆アルキル、(C₁₋₆アルコキシ)カルボニル-C₁₋₆アルキル、アミノ-C₁₋₆アルキル、モノ(C₁₋₆アルキル)アミノ-C₁₋₆アルキル、ジ-(C₁₋₆アルキル)アミノ-C₁₋₆アルキル、2-オキシノ-ピロリジン-1-イル-メチル、アリール、ジアリールメチロール、1又は2個のアリール基により置換されたC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルカノイル及びアリールカルボニルから選択され、かつアリールは、未置換フェニル又はハロゲン、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ及びCF₃から選択される1～3個の置換基により置換されたフェニルを表す。但し、n=1及びp=1の場合、R=エチル、R¹=H、R¹=メチル、及びR⁰はH及びメチルからなる群から選択される。)

10

【請求項2】

20

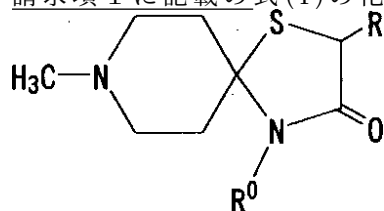
前記薬剤が、ムスカリン様受容体を活性化するための薬剤である、請求項1に記載の調製方法。

【請求項3】

前記薬剤が、アミロイド前駆体タンパク質(APP)の分泌とβ-アミロイドの低下とを活性化するための薬剤である、請求項1に記載の調製方法。

【請求項4】

請求項1に記載の式(I)の化合物が、下式

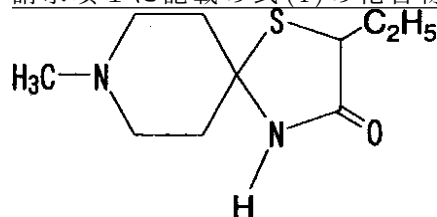


30

(式中、Rは、エチル、及びR⁰は、H及びメチルから選択される。)で示される化合物、又はその医薬的に許容される塩、三級窒素原子を有する前記式(I)の化合物から構造上誘導される四級化合物、鏡像異性体もしくはそのラセミ化合物である、請求項1に記載の調製方法。

【請求項5】

請求項1に記載の式(I)の化合物が、下式：



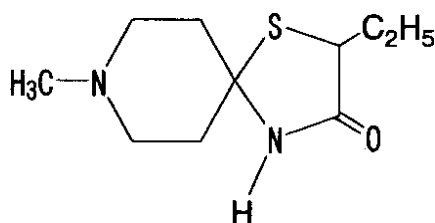
40

で示される化合物、又はその医薬的に許容される塩、三級窒素原子を有する前記式(I)の化合物から構造上誘導される四級化合物、鏡像異性体もしくはそのラセミ化合物である、請求項1に記載の調製方法。

【請求項6】

請求項1に記載の式(I)の化合物が、下式：

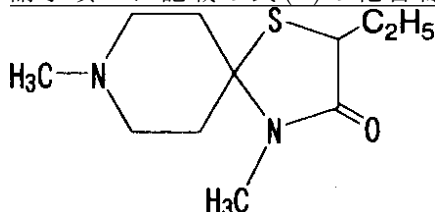
50



で示される化合物の塩酸塩である、請求項 1 に記載の調製方法。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物が、下式：



10

で示される化合物、又はその医薬的に許容される塩、三級窒素原子を有する前記式 (I) の化合物から構造上誘導される四級化合物、鏡像異性体もしくはそのラセミ化合物である、請求項 1 に記載の調製方法。

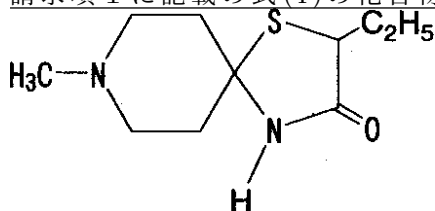
【請求項 8】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物が、鏡像異性体の形態である請求項 1 乃至 10 のいずれかに記載の調製方法。

20

【請求項 9】

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物が、下式：

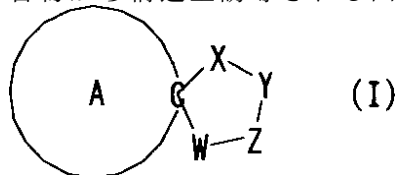


で示される化合物の (-) 鏡像異性体である、請求項 5 に記載の調製方法。

30

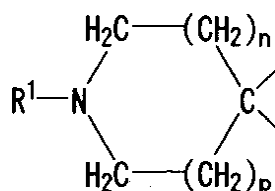
【請求項 10】

下式 (I) の化合物又は、その医薬的に許容される塩もしくは三級窒素原子を有する前記化合物から構造上誘導される四級化合物



(式中、Xは、-S-、Yは、-CRR'-、Zは、-C(=O)-及びWは、-N(R⁰)-であって、
Rは、H、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₂₋₆ヒドロキシアルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、フェニル及び1、2又は3個のフェニル基で置換されたC₁₋₆アルキルから選択され、
R'は、H、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₂₋₆ヒドロキシアルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、フェニル及び1、2又は3個のフェニル基で置換されたC₁₋₆アルキルから選択され、
R⁰は、H、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₂₋₆ヒドロキシアルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、フェニル、1、2又は3個のフェニル基で置換されたC₁₋₆アルキル、及びC₁₋₆アルカノイルから選択され、及び
Aは、環(M)

40



で示され、式中、 n 及び p は、 $n+p$ が1～3であることを条件として、それぞれ0、1、2又は3であり、かつ R^1 は、H、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} シクロアルキル、1～6個のハロゲン原子により置換された C_{1-6} アルキル、ヒドロキシ- C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} アルキルチオ、 C_{1-6} アルコキシ- C_{1-6} アルキル、カルボキシ- C_{1-6} アルキル、(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル- C_{1-6} アルキル、アミノ- C_{1-6} アルキル、モノ(C_{1-6} アルキル)アミノ- C_{1-6} アルキル、ジ-(C_{1-6} アルキル)アミノ- C_{1-6} アルキル、2-オキソ-ピロリジン-1-イル-メチル、アリール、ジアリールメチロール、1又は2個のアリール基により置換された C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルカノイル及びアリールカルボニルから選択され、かつアリールは、未置換フェニル又はハロゲン、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ及び CF_3 から選択される1～3個の置換基により置換されたフェニルを表す。但し、 $n=1$ 及び $p=1$ の場合、 R =エチル、 R^1 =H、 R^1 =メチル、及び R^0 はH及びメチルからなる群から選択される。)

10

【請求項11】

請求項10に記載の化合物の鏡像異性体。

【請求項12】

ヒト又は動物体の治療に使用する請求項11に記載の鏡像異性体。

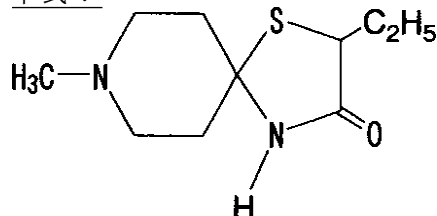
20

【請求項13】

哺乳類の中枢又は末梢神経系疾患の治療に使用される請求項11に記載の鏡像異性体。

【請求項14】

下式：

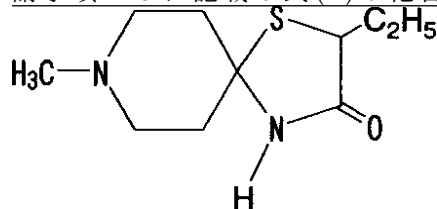


30

で示される化合物の(-)鏡像異性体である、請求項11に記載の鏡像異性体。

【請求項15】

請求項10に記載の式(I)の化合物が、

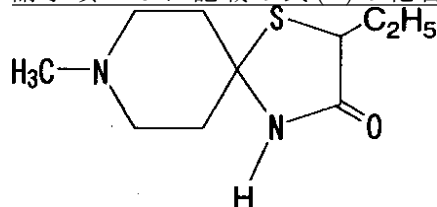


40

である、請求項10に記載の化合物。

【請求項16】

請求項10に記載の式(I)の化合物が、

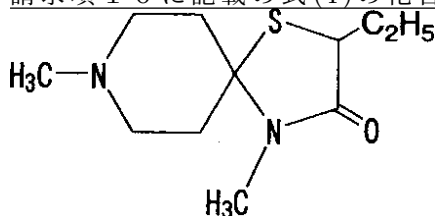


の化合物の塩酸塩である、請求項10に記載の化合物。

50

【請求項 17】

請求項 10 に記載の式 (I) の化合物が、



である、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 18】

10

医薬的に許容される希釈剤、担体又はアジュバンドと一緒に請求項 10～17 のいずれか一つに記載の化合物を含む、中枢神経系及び末梢神経系疾患の治療用の医薬組成物。

【請求項 19】

フィゾスチグミン、テトラヒドロアミノアクリジン、コリン、レシチン、ピラセタム、アニラセタム、プラミラセタム、オキシラセタム、4-アミノピリジン、3,4-ジアミノピリジン、ソマトスタチン、ピレンゼピン、N-メチルアトロピン、N-ブチルスコポラミン、スコポラミン、クロニジン、クアンファミシン、プロパンセリン、メタンセリン、グリコピロレート、トロペンジリウム、ノルトリプチリン、アミトリプチリン、イミプラミン、ミナプリン、セコベリン、AFDX-116、ニコチン、アラプロクラート、ジメリジン、デプレニル及び神経成長因子からなる群から選択される少なくとも一種の薬理活性化合物を更に伴う

20

【請求項 20】

経口投与、直腸投与、非経口投与又は経皮投与、又はガス注入又は鼻内スプレーによる投与に適した形態であって、経皮投与の場合は追加成分として低分子量脂肪酸を含んでもよい請求項 18 又は 19 に記載の医薬組成物。

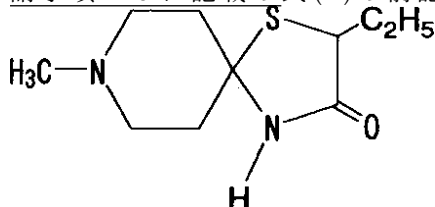
【請求項 21】

哺乳類の中枢神経系及び末梢神経系疾患の治療に使用する請求項 18 に記載の医薬組成物であって、前記疾患の治療に使用するため、少なくとも 1 種の医薬的に許容する希釈剤、担体又はアジュバンドと一緒に請求項 10 乃至 17 のいずれかに定義されているように効果量の少なくとも一種の化合物、かつ前記少なくとも一種の化合物が、神経成長因子の神経成長活性を促進する量存在することを条件に、さらに医薬活性化合物、神経成長因子、を含む組成物。

30

【請求項 22】

請求項 10 に記載の式 (I) の前記化合物が、

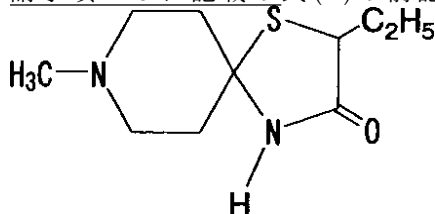


40

である、請求項 18 乃至 21 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

【請求項 23】

請求項 10 に記載の式 (I) の前記化合物が、



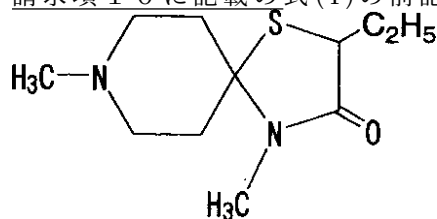
の化合物の (-) 鏡像異性体である、請求項 18 乃至 21 のいずれか一つに記載の医薬組成

50

物。

【請求項 2 4】

請求項 1 0 に記載の式 (I) の前記化合物が、



である、請求項 1 8 乃至 2 1 のいずれか一つに記載の医薬組成物。

10

【発明の詳細な説明】

発明の分野及び背景

本発明は1993年7月20日に出願された米国特許出願第08/094,855号の一部継続出願であり、その米国特許出願から優先権を主張する。

本発明は、本明細書に示された5員環にスピロ結合されている環が1個又は2個の窒素原子を含む飽和されたブリッジされ、又はブリッジされていない環であるスピロ5員環化合物；そのスピロ化合物を含む医薬組成物並びにこのようなスピロ化合物又は医薬組成物を使用する中枢神経系及び末梢神経系の疾患の治療方法に関する。

オキサチオラン環がキヌクリジン環とスピロ様式で結合された新規なスピローキヌクリジン化合物が、例えば、1986年12月17日に公表された欧州特許出願第0205247 A2号、及び米国特許第4,855,290号(1989年8月8日に登録)、同第4,981,858号(1991年1月1日に登録)、同第4,900,830号(1990年2月13日に登録)及び同第4,876,260号(1989年10月24日に登録)に記載されていた。同様に、幾つかのスピローオキサゾリンが米国特許第5,053,412号(5,053,412号として10月に登録)に記載されており、一方、幾つかのスピローオキサゾリン及び幾つかのスピローチアゾリンが米国特許出願第07/685,397号に記載されていた。上記特許及び米国特許出願第07/685,397号、並びに本件特許出願に記載されたその他の特許及び文献の全ての内容が参考として本明細書に含まれることが理解されるべきである。上記特許の新規化合物は中枢神経系活性を有する。2-メチル基がキヌクリジン環窒素原子とオキサチオラン環の同じ側(シス)又はキヌクリジン環窒素原子の他方の側(トランス)に配置されるのかに応じて幾何シス異性体及びトランス異性体として存在する2-メチルスピロ(1,3-オキサチオラン-5,3'-キヌクリジン)の生物活性が特に徹底的に研究され、そしてシス化合物(コード番号AF102B)がアルツハイマー型の老人性痴呆(SDAT)の制御に特に有望であることが予備臨床試験に基いてわかった。また、シス異性体及びトランス異性体の夫々が光学分割し得ることが重要であり、光学異性体の生物活性がまた幾つかの症例において研究された。

20

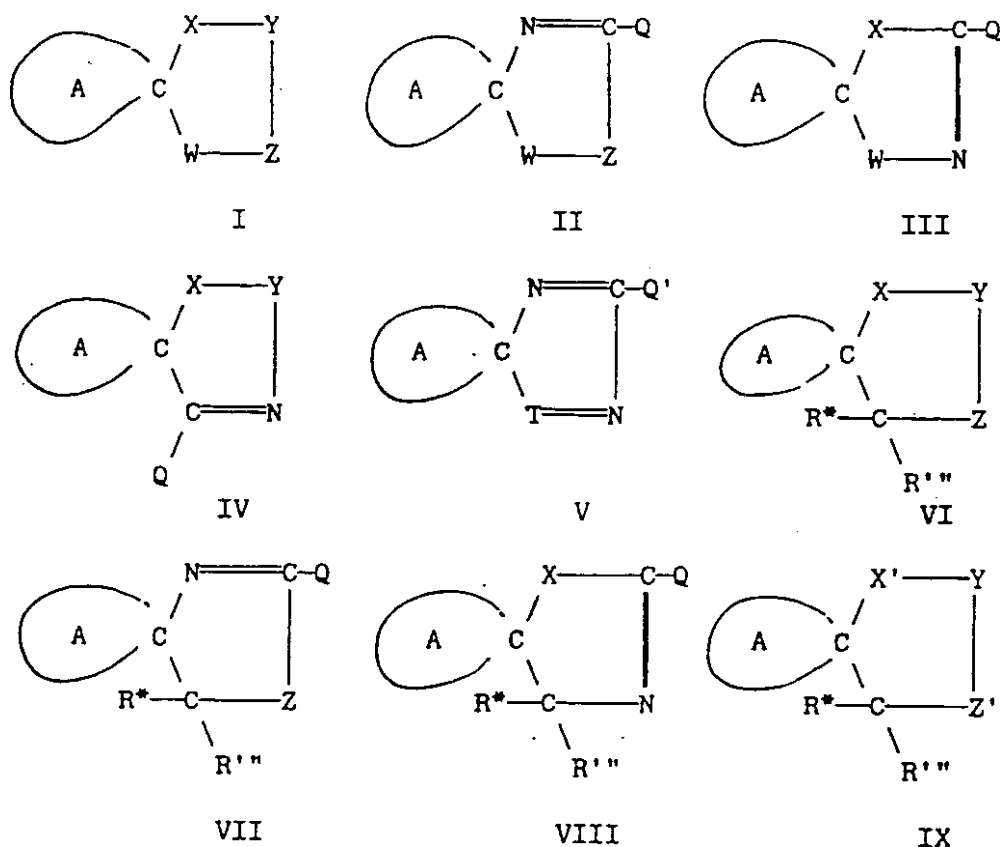
30

本発明の主目的は新規なスピロー化合物を提供することである。本発明の更に別の目的、そして特に有益な医薬組成物及び疾患の治療方法の提供に関する本発明の目的が、以下の説明から明らかであろう。

発明の説明

本発明は、一つの局面において、式 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII及びIXの新規化合物

40



10

20

並びにそれらの医薬上許される塩、鏡像体及びラセミ体を提供する。

(式中、環Aはスピロ炭素原子と一緒に1個又は2個の環窒素原子を含むブリッジされ、又はブリッジされていない環を構成し；Xは $>O$ 、 $>S$ 又は $>NR^0$ であり；Tは $-C(Q)=$ 又は $-N=$ であり；Yは $>C=O$ 、 $>C=S$ 、 $>C=NR^0$ 、 $>C=CR R'$ 、 $>CRR'$ 、 $>CHOR''$ 、 $>O$ 、 $>S$ 又は $>NR^0$ であり；Zは $>O$ 、 $>S$ 、 $>C=O$ 、 $>C=S$ 、 $>C=NR^0$ 、 $>C=CR R'$ 、 $>CRR'$ 、 $>CHOR''$ 又は $>NR^0$ であり；Wは $>O$ 、 $>S$ 、 $>C=O$ 、 $>C=S$ 、 $>C=NR^0$ 、 $>C=CR R'$ 、 $>CHOR''$ 又は $>NR^0$ であり；Q及びQ'は夫々独立にOR、SR、 $NR R'$ 及びRから選ばれ；X'及びZ'は夫々独立に $>C=O$ 、 $>C=S$ 及び $>C=CR R'$ から選ばれ；かつR、R'、R''、R⁰、R*及びR''は夫々独立にH、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{2-6} ヒドロキシアルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、フェニル及び1個、2個又は3個のフェニルにより置換された C_{1-6} アルキルから選ばれ、またR''及びR⁰は独立に C_{1-6} アルカノイルから選ばれてもよく、但し、示された5員環がスピロ炭素原子の他に少なくとも1個の環炭素原子を含むこと、二つの隣接環原子が同時に酸素原子ではないこと、かつ(ia)式Iにおいて、 $-W-Z-Y-X-$ が $-C(=O)-NH-C(=O)-N$ (アルキル)-、 $-C(=O)-NH-C(=O)-NH-$ 、 $-O-C(=O)-CRR'-O-$ 、又は $-O-C(=O)-CRR'-S-$ ではないこと、(Ib)式Iにおいて、環AがN-置換されていてもよいピペリジン環である場合、 $-W-Z-Y-X-$ が $-NR^0-CRR'-CRR'-O-$ 、 $-NR^0-C(=O)-CRR'-O-$ 、 $-NR^0-CRR'-CRR'-S-$ 、又は $-NR^0-C(=O)-CRR'-S-$ ではないこと、(Ic)式Iにおいて、 $-W-Z-Y-X-$ が $-C(=O)-NH-C(=O)-$ である場合、環Aがキヌクリジン環ではないこと、(ii)式Iにおいて、 $-W-Z-Y-X-$ が $-NH-C(=O)-N(Ph)-NH-$ 、 $-NH-N(Ph)-C(=O)-NH-$ 、 $-NR^0-NR^0-C(=O)-NR^0-$ 、又は $-NR^0-NR^0-C(=S)-NR^0-$ である場合、環AがN-メチルピペリジン環ではなく、そして $-W-Z-Y-X-$ が $-NR^0-NR^0-C(=S)-NR^0-$ である場合、環Aがまた未置換ピペリジン環ではないこと、(iiia)式IIIにおいて、環Aは二つのフェニル基により置換されていなくてもよいこと、(iiib)式IIIにおいて、Qが $NR R'$ であり、かつWが $C=O$ である場合、XはOではないこと

30

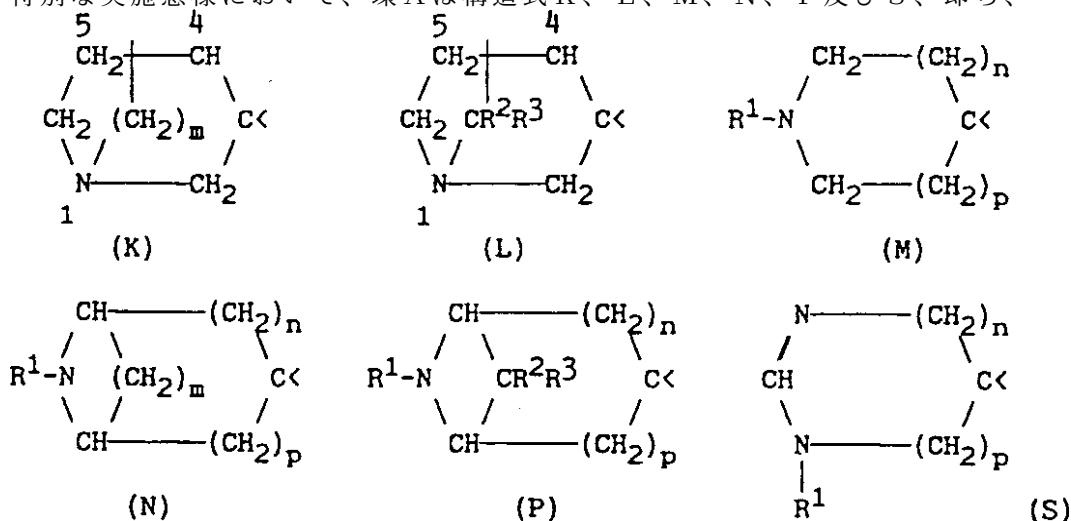
40

50

、(iv)式VIにおいて、YがCRR'であり、かつX=Z=O又はS、又はX及びZの一方がOであり、かつ他方がSである場合、R^{*}及びR'の少なくとも一つがHではないこと、(v)式VIにおいて、YがCRR'であり、XがO又はSであり、かつ環AがN-置換されていてよいピペリジン環である場合、ZがN-CHO以外のNR⁰であること、(vi)式VIにおいて、XがOであり、YがNR⁰であり、かつZがC=O又はC=Sである場合、環Aがブリッジされた環であり、又はR^{*}及びR'の少なくとも一つがHではないこと、(vii)式VIにおいて、-X-Y-Z-が-O-C(=O)-NH-、-O-C(=S)-NH-、-O-NR⁰-C(=O)-又は-O-NR⁰-C(=S)-であり、かつR⁰がH又はアルキルである場合、環Aがピペリジン環ではないこと、(viii)式VIIにおいて、ZがOである場合、QがSR又はNRR'であり、又はR^{*}及びR'の少なくとも一つがHではないこと、(ix)式VIIIにおいて、XがO又はSである場合、QがSRであり、又はR^{*}及びR'の少なくとも一つがHではないこと、また(x)式IXにおいて、-X'-Y-Z'-が-C(=O)-NR⁰-C(=O)-であり、かつR⁰がH又はアルキルである場合、環Aがピペリジン環ではないことを条件とする)

10

特別な実施態様において、環Aは構造式K、L、M、N、P及びS、即ち、



20

の群の中から選ばれてもよい。

30

(式中、夫々のこのような構造は置換されておらず、又はC₁₋₆アルキル及びヒドロキシルから選ばれた1~3個の置換基により置換されており、構造式K及びLにおいて、そのブリッジは一端で1位に結合され、かつ他端で4位又は5位に結合されており(即ち、部分CH₂-CHはCH₂-CH又はCH-CH₂を意味する)、mは1、2又は3であり、かつn及びpは、n+pが1~3であることを条件として、夫々独立に0、1、2又は3であり、R¹は水素、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₃₋₇シクロアルキル、1~6個のハロゲン原子により置換されたC₁₋₆アルキル、ヒドロキシ-C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆アルキルチオ、C₁₋₆アルコキシ-C₁₋₆アルキル、カルボキシ-C₁₋₆アルキル、(C₁₋₆アルコキシ)カルボニル-C₁₋₆アルキル、アミノ-C₁₋₆アルキル、モノ-(C₁₋₆アルキル)アミノ-C₁₋₆アルキル、ジ-(C₁₋₆アルキル)アミノ-C₁₋₆アルキル、2-オキソ-ピロリジン-1-イル-メチル、アリール、ジアリールメチロール、1~2個のアリール基により置換されたC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルカノイル及びアリールカルボニルから選ばれ;かつアリールは未置換フェニル又はハロゲン、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ及びCF₃から選ばれた1~3個の置換基により置換されたフェニルを表し、かつR²及びR³は独立にC₁₋₄アルキルから選ばれる)

40

更に、本発明は式I~IXの化合物、並びに上記のこれらの塩、四級化合物、鏡像体及びラセミ体を提供し、この場合、更に、又は別に、部分CRR'において、R及びR'は、それらが結合されている炭素原子と一緒に、3~6個の環員を有する飽和炭素環を形

50

成してもよく、また構造式(K)、(L)、(M)、(N)、(P)及び(S)において、環炭素原子に結合されたH原子はR¹（これはHを除いて先に定義されたとおりである）により置換されていてもよい。

本発明の例示化合物は、1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(1'-アセチルヒダントイン)；ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチルヒダントイン)；ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-プロパルギルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2', 5'-ビス(メチルチオ)-4'-H-イミダゾール)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-4'-チオヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(4'-メチルチオ-3'-イミダゾリン-2'-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジチオヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-2', 4'-ジチオヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(4'-エチルチオ-3'-イミダゾリン-2'-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオ-4'-β-ヒドロキシエチルイミノヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(オキサゾリン-2'-チオン)；N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-(3'-メチルヒダントイン)；N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルオキサゾリン-2'-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(3'-エチルオキサゾリン-2'-チオン)；2-N-メチルスピロ(1, 3-スクシンイミド4, 3')キヌクリジン；2-N-エチルスピロ(1, 3-スクシンイミド4, 3')キヌクリジン；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(オキサゾリン-2', 4'-ジオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルオキサゾリン-2', 4'-ジオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチル-2'-チアゾリン)；N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-ヒダントイン；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5')-(2'-メチル-2'-イミダゾリン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン-4'-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5')-[2'-メチル-4'-H(5'H)-イミダゾール-5'-(4')-チオン]；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-メトキシ-4'-H-イミダゾール)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-アミノ-4'-H-イミダゾール)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-アミノメチル-4'-H-イミダゾール)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-[2', 5'-ビス(アミノメチル)-4'-H-イミダゾール]；並びに1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオン-3'-エチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオン-3'-テブチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-テブチルヒダントイン)；1-プロパルギルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-[3'-(4'-ピロリジノ-2-ブチニル)ヒダントイン]；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-[3'-(2-ブチニル)-ヒダントイン]；ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-プロパルギルヒダントイン)；2-メチル-1, 4-チアゾリン-3-チオン-スピロ[5, 3']-キヌクリジン；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5')-(2'-メチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-(4')-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-チオン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-イミダゾリン-5'-チオン)である。

10

20

30

40

50

更に、本発明は、哺乳類の中樞神経系及び末梢神経系の疾患を治療するのに使用される医薬組成物を提供するものであり、その組成物は少なくとも一種の医薬上許される希釈剤、担体又はアジュバントと一緒に、前記疾患を治療するのに使用されるのに有効な量の上記の式 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII及びIXの一つを有する少なくとも一種の化合物（それらの医薬上許される塩、鏡像体及びラセミ体を含む）を含む。このような組成物は、経口投与、直腸投与、非経口投与もしくは経皮投与（この場合、組成物は低分子量の脂肪酸を更に含んでもよい）、又はガス注入もしくは鼻スプレーによる投与に適した形態であることが好ましく、また単位投薬形態であってもよい。上記の本発明の少なくとも一種の化合物は、例えば、約0.5～約100mg、好ましくは約5～約100mg、更に好ましくは約10～約50mgの範囲の量で単位投薬中に存在してもよい。

10

本発明の特別な実施態様によれば、先の文節に記載された医薬組成物はフィゾスチグミン、テトラヒドロアミノアクリジン、コリン、レシチン、ピラセタム、アニラセタム、プラミラセタム、オキシラセタム、4-アミノピリジン、3, 4-ジアミノピリジン、ソマトスタチン、ピレンゼピン、N-メチルアトロピン、N-ブチルスコポラミン、スコポラミン、クロニジン、クアンファミシン、プロパンセリン、メタンセリン、グリコピロレート、トロベンジリウム、ノルトリプチリン、アミトリプチリン、イミプラミン、ミナプリン、セコベリン、AFDX-116、ニコチン、アラプロクレート、ジメリジン、デブレニル及び神経成長因子から選ばれた少なくとも一種の更に別の薬理活性化化合物を更に含んでもよい。

哺乳類の中樞神経系又は末梢神経系の疾患は、前記疾患を治療するのに使用するのに有効な量の上記の式 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII及びIXの一つを有する少なくとも一種の化合物（それらの医薬上許される塩、鏡像体、互変異性体及びラセミ体を含む）を哺乳類に投与することを特徴とする方法により治療し得る。勿論、このような化合物は、上記の本発明の医薬組成物の形態でこの目的に使用し得る。

20

また、本発明は、特別な実施態様において、下記の分子寸法を有する本明細書に特定された式 I のいずれかの化合物を提供するものであり、この場合、 r はその最も安定な配座のこのような化合物中の環 A（又は A'）の N^* として特定される非二重結合窒素原子のカチオン形態に相当するアニオンの位置により特定される基準点であり、 X^* は式 I～IX、又は X～XIII のいずれかを有する示された 5 員環中の環ヘテロ原子を特定し、このような環ヘテロ原子はスピロ炭素原子に隣接する位置にあり、 Z^* は示された 5 員環中の X^* から一つおいてその隣の環原子を特定し、かつ Q^* は下記の 5 員環中の原子 X^* と Z^* の間の環原子に結合された側鎖の末端 C 原子又は N 原子を特定し、側鎖水素原子はこの目的のために無視され、このような分子寸法は実質的に下記の値、即ち、二面角 $r-X^*-Q^*-Z^* = -54^\circ \sim -170^\circ$ ；かつ分子距離 $r-N^* = 3.0 \text{ \AA}$ （基準距離）、 $r-X^* = 5.7 \sim 6.75 \text{ \AA}$ 、 $r-Q^* = 7.9 \sim 8.90 \text{ \AA}$ 、 $x-Q^* = 2.4 \sim 2.8 \text{ \AA}$ ；こうして特定された分子寸法を有するこのような化合物はムスカリン様アゴニスト活性を有することを特徴とする。分子寸法に基くこの特定は、生物試験により支持される。特に下記の表 1 を参照のこと。

30

別の実施態様において、本発明は、本明細書に特定された式 I～IX のいずれかの少なくとも一種の化合物と更に神経成長因子 (NGF) とを含む医薬組成物を提供するものであり、本発明の一種以上の化合物は NGF の神経成長活性を促進する量で存在する。本発明の化合物の殆どは、中樞神経系活性又は末梢神経系活性を有する或る既知の化合物と違って、NGF の不在下で神経成長活性をそれ自体で促進せず、こうして、神経成長促進が治療において所望される場合に、良好な調節を可能にする。しかしながら、本発明の化合物のうちの最も活性なものの幾つかは NGF とは独立に神経成長活性を促進する。更に、本発明の化合物は、通常、ムスカリン様アゴニスト活性、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) 分泌活性及び β -アミロイド低下活性、並びに脱リン酸化 T タンパク質の比率を増大する活性から選ばれた活性を有する。本発明の化合物の生物活性を確かめるために行った試験を以下に詳述する。

40

更に、本発明は、(a) ムスカリン様アゴニスト活性、(b) 神経栄養様活性又は NGF との相乗活性、(c) アミロイド前駆体タンパク質 (APP) 分泌活性及び β -アミロイド低下活性、(d)

50

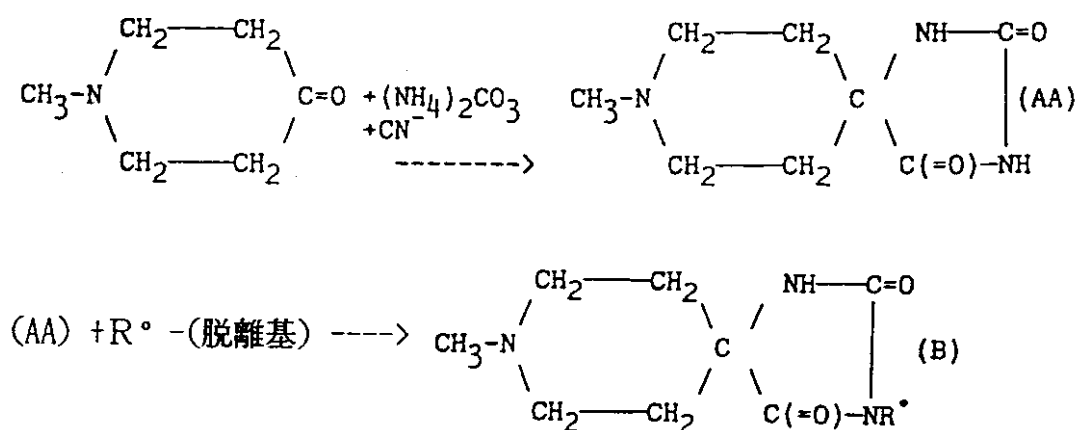
脱リン酸化Tタンパク質の比率を増大する活性、及び(e)NGF様活性から選ばれた生物活性を有する医薬品の製造に使用するための医薬上許される塩、四級窒素原子を有する前記化合物から構造上誘導される四級化合物、これらの鏡像体及びラセミ体を含む先に示された式(I)の化合物を提供するものであり、この場合、 $-W-Z-Y-X-$ は $-NR^0-CRR'-CRR'-O-$ 、 $-O-C(=O)-CRR'-O-$ 、 $-O-C(=O)-CRR'-S-$ 、 $-NR^0-C(=O)-CRR'-O-$ 、 $-NR^0-CRR'-CRR'-S(=O)_q-$ 、又は $-NR^0-C(=O)-CRR'-S(=O)_q-$ であり、 q は0、1又は2であり、かつ R 、 R' 及び R^0 は上記の意味を有する。例示のこのような化合物は、

1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-オキサゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジメチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-4-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン)；ピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-3'-オキソ-1', 4'-チアゾリジン-1'-オキシド)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(5'-メチル-1', 3'-オキサゾリジン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(4'-エチル-1', 3'-オキサゾリジン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(5'-メチル-1', 3'-ジオキソラン-4'-オン)；1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-チオン)；並びに鏡像体 d-及び l-1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) 及び d-及び l-1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) である。

こうして、本発明のこのような化合物は、有効量（上記の活性a-eの関係において）の一種以上の化合物による治療を受け易いと診断された哺乳類の疾患を治療するのに使用でき、また有効量の一種以上のこのような化合物を含む医薬組成物の形態で使用し得るが、その他の点において上記のとおりである。

本発明の化合物を調製するのに使用される方法は、実質的には5員環の形成、環置換、環飽和／不飽和の程度の変化、塩と塩基の相互変換、四級塩生成、等につき有機化学者に知られている方法である。こうして、本発明の或る化合物を調製する例示方法が説明されるが、その他の方法が、当業者に明らかであるように、それらの調製にまた適用し得る。

所望の5員環が、例えば、ヒダントインである場合、この環は相当する飽和N-複素環ケトン（例えば、1-メチルピペリジン-4-オン）を $(NH_4)_2CO_3 + CN^-$ と反応させることにより生成され、次いで3'-N原子が既知の方法で置換し得る。こうして、これらの反応は以下に示し得る。



10

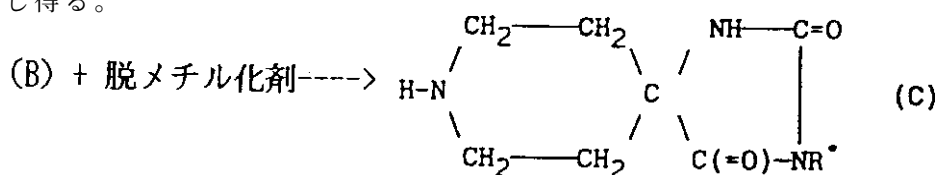
例えば、AF160、 $\text{R}^\circ = \text{Et}$; AF178、 $\text{R}^\circ = \text{Me}$; AF185、 $\text{R}^\circ = \text{プロパルギル}$;
 AF167、 $\text{R}^\circ = \text{Me}$ 、類縁体* ; 及びAF168、 $\text{R}^\circ = \text{Et}$ 、類縁体* (* この場合、
 N-メチルピペリジン部分が2, 6-エチレンブリッジを含む、即ち、N-メチ
 ルノルトロパン類縁体)。

20

“ $\text{R}^\circ\text{-(脱離基)}$ ”中の脱離基は、例えば、臭化物、塩化物又はp-トルエンスルホネート
 であってもよく、また R° はH、アルコキシ及びアルカノイルを除いて本明細書に定義さ
 れたとおりである。この置換反応は実質的に知られている条件のもとに、例えば、エタノ
 ールの如き溶媒を使用してKOHの如きアルカリの存在下で3'-未置換ヒダントインを反
 応させることにより行い得る。相当する1', 3'-二置換化合物が、過剰の“ $\text{R}^\circ\text{-(脱離基)}$ ”試薬を使用することにより、又は化合物(B)を“ $\text{R}^\circ\text{-(脱離基)}$ ”と反応させること
 により得られる。

構造式(B)中の1-メチル基は、 $\text{CH}_3\text{CH}(\text{Cl})\text{OCOC}\text{Cl}$ の如き脱メチル化剤との反応により除去
 し得る。

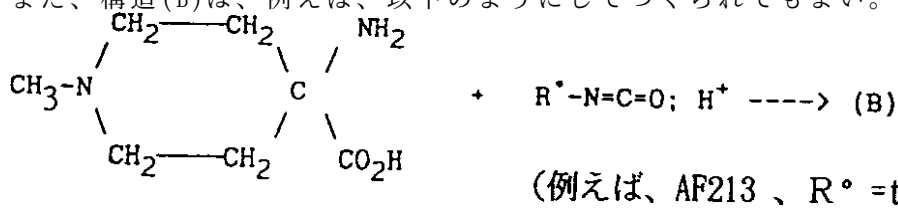
30



例えば、AF160(Des)、 $\text{R}^\circ = \text{Et}$; AF179、 $\text{R}^\circ = \text{Me}$

また、構造(B)は、例えば、以下のようにしてつくられてもよい。

40

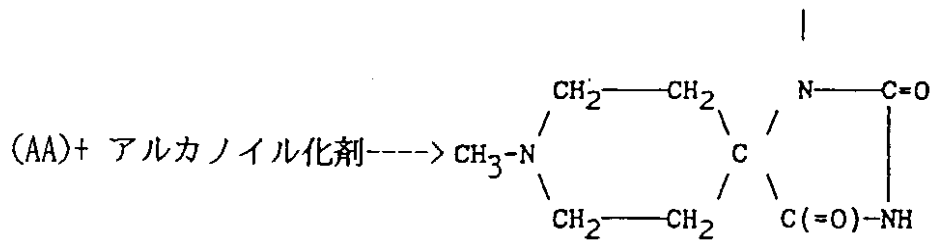


同様の反応における $\text{R}^\circ\text{---N=C---S}$ による置換は(B)-3-チオン、例えば、AF181 ($\text{R} = \text{Et}$)、AF184 ($\text{R} = \text{tert. - ブチル}$)を生じる。

通常のアノイル化条件下の化合物(AA)とアノイルハライド又は無水アノイル酸との反応は、こうして、1'位の置換を行う。

50

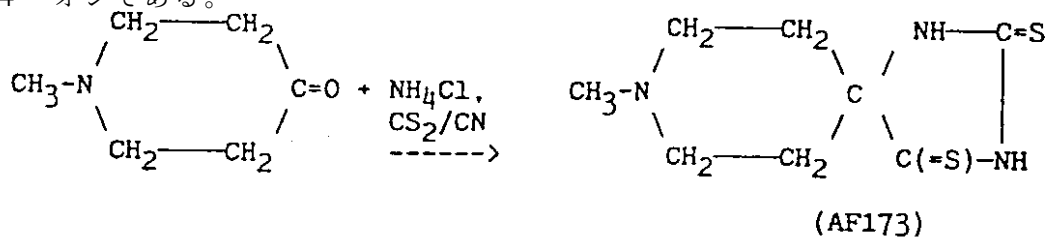
アルカノイル



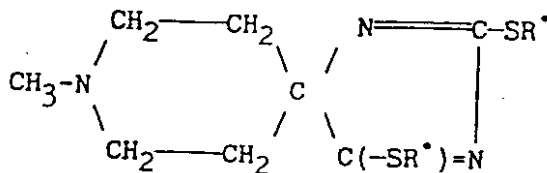
例えば、AF164、アルカノイル=アセチル

10

所望の5員環がジチオヒダントインである場合、このような化合物は、例えば、相当する飽和N-複素環ケトンとCN⁻、NH₄Cl及びCS₂と反応させることによりこの環を形成することにより調製し得る。ヒダントインがN原子で置換する場合（例えば、アルキル化による）、チオヒダントインはN-置換生成物及び／又はS-置換生成物を生じる。下記の実施例は、異なる生成物、又は分離し得る生成物の混合物を生じる反応条件を示す。これらの反応は以下のように示され、この場合、N-複素環ケトンは、例えば、1-メチルピペリジン-4-オンである。

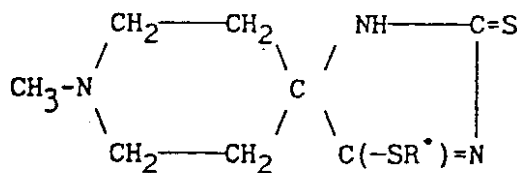


20

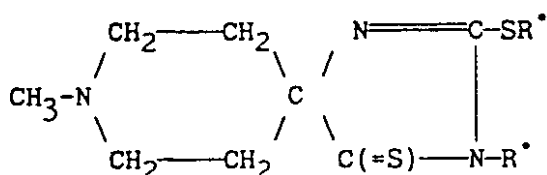
+ R^o-(脱離基) ---->例えば、AF177、R^o=Me

30

及び／又は

(D) 例えば、AF183、R^o=Me;AF176、R^o=Et

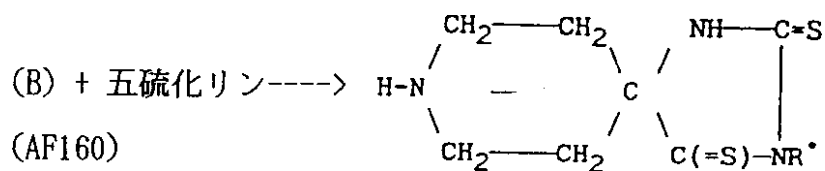
及び／又は

(E) 例えば、AF170、R^o=Et

40

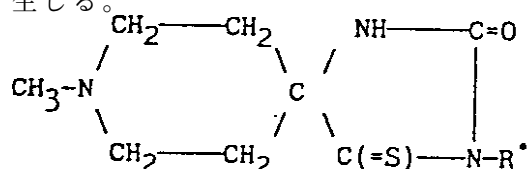
“R^o-(脱離基)”中の脱離基及びR^oの意味はヒダントインにつき上記されたとおりであってもよい。置換反応は実質的に知られている条件下で行い得る。

また、ジチオヒダントインはこうして一般に相当するヒダントインを、例えば、P₂S₅と反応させることにより得られる。



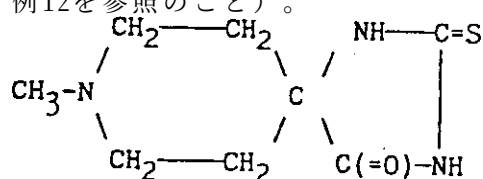
例えば、AF163、 $R^0 = Et$

化合物(E)が20%のHClと反応させられる場合、 $S-R^0$ が加水分解されて下記の化合物を生じる。



例えば、AF182、 $R^0 = Et$

化合物(D)と20%のHClの同様の反応は下記の構造を有する化合物を生じる（例えば、実施例12を参照のこと）。

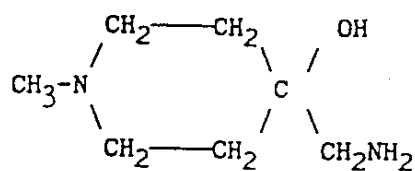


また、この化合物は、 $O=$ に代えて $=NR^0$ を含む類縁体を加水分解することにより生成される。 $=NR^0$ 類縁体は化合物AF173を R^0NH_2 と反応させることにより調製し得る（例えば、実施例13（この場合、 $R^0 = \beta$ -ヒドロキシエチル）を参照のこと）。

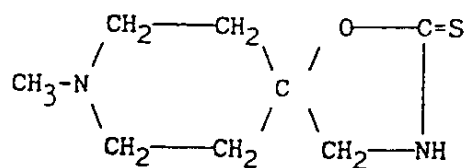
オキソ置換オキサゾリジン又はチオノ置換オキサゾリジンである本発明の化合物は、例えば、以下のようにして調製し得る。

10

20

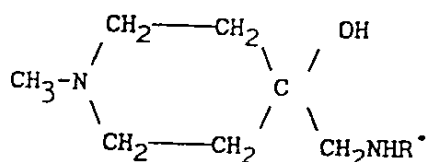


+ CS₂ / アルカリ ---->

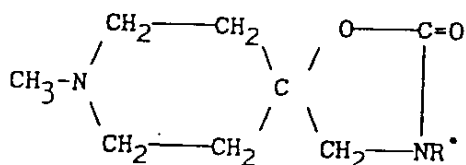


(AF165)

10

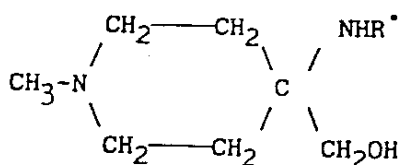


+ N, N' -カルボニルジイミダゾール ---->

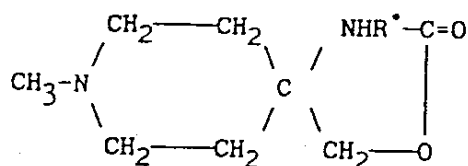


例えば、AF172、R* = Et

20

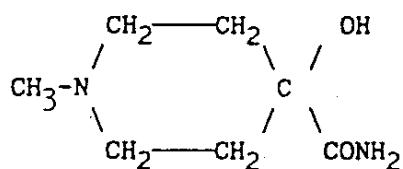


+ N, N' -カルボニルジイミダゾール ---->

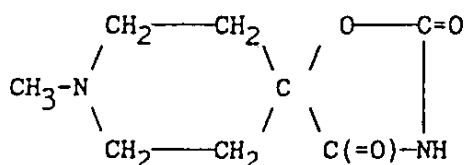


例えば、AF174、R* = Et

30

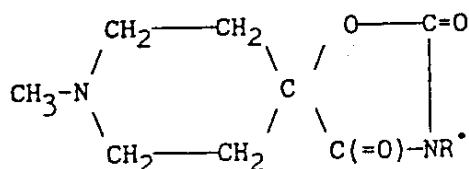


+ Et₂CO₃/KOME/EtOH ---->



(AF169) R⁰ - (脱離基) ---->

40



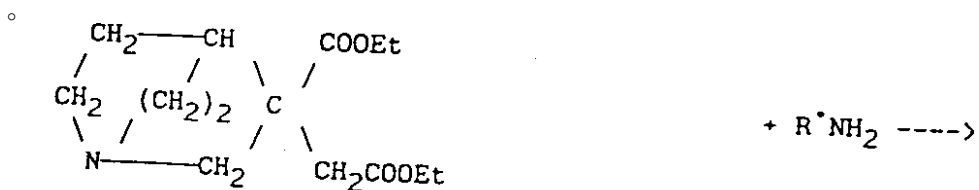
例えば、AF180、R* = Et

“R⁰ - (脱離基)” 中の脱離基は、R⁰ の意味のようにヒダントインにつき先に記載された

50

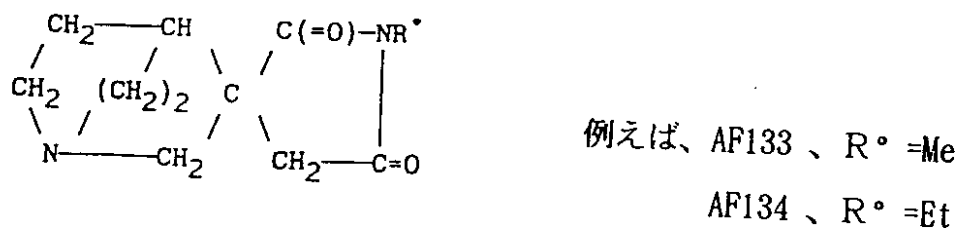
とおりであってもよい。置換反応は実質的に知られている条件下で行い得る。

5員環がスクシンイミドである本発明の化合物は、例えば、以下のようにして調製し得る。

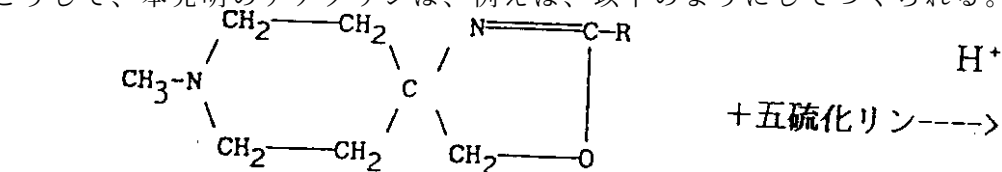


3-カルボエトキシ-3-カルボエトキシメチルキヌクリジン

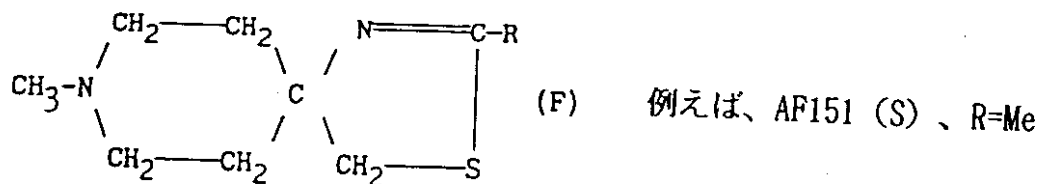
10



こうして、本発明のチアゾリンは、例えば、以下のようにしてつくられる。

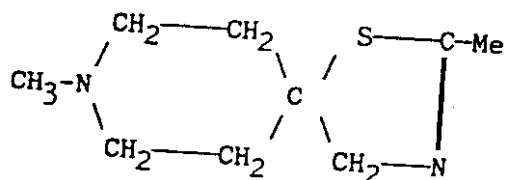


20



30

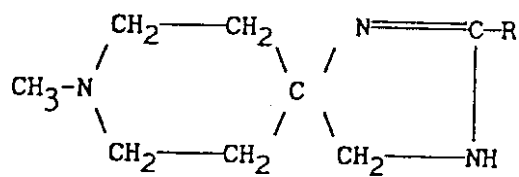
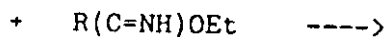
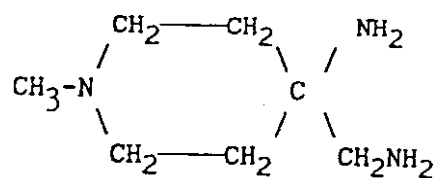
AF150 (S) と称される化合物



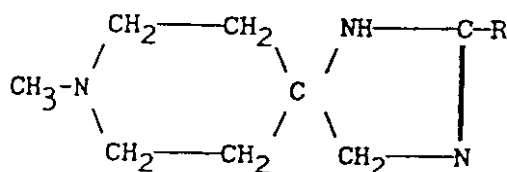
は本発明者らの米国特許出願第07/685,397号明細書に記載されていたが、一方、式(F)の化合物はその米国特許出願明細書に特別に例示されていなかったことが付随的に言及される。しかしながら、驚くことに、化合物AF151 (S) により例示される式(F)の化合物はAF150 (S) により例示される化合物のクラスよりも薬理活性の観点から極めて有望であることが驚くことに今見出された。

40

本発明のイミダゾリンは、例えば、下記のスキームに従って調製し得る。



(G)

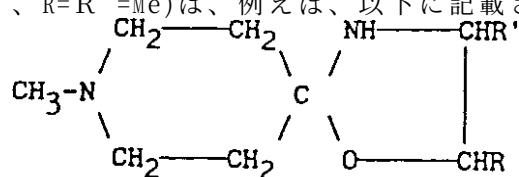


(H)

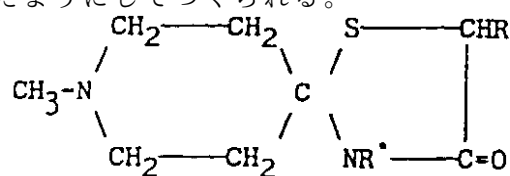
10

この場合、生成物、例えば、AF190、R=Meは構造式(G)及び(H)の互変異性体混合物として存在し得る。

本発明のオキサゾリジン及びチアゾリジン、例えば、構造(J)(例えば、AF264、R=Me、R'=H; AF268、R=H、R'=Et)及び(K)(例えば、AF261、R=Me、R⁰=H; AF267、R=Et、R⁰=H; AF266、R=R⁰=Me)は、例えば、以下に記載されたようにしてつくられる。



(J)

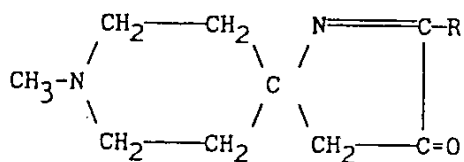


(K)

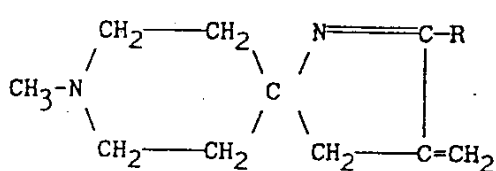
20

例示として、化合物(J)及び(K)は、N-メチルピペリドンがHOCHRCHR'NH₂又はHSCHRCO₂H+R⁰NH₂と夫々反応させられる場合に調製される。

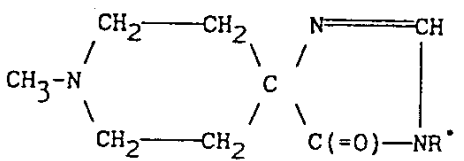
R及びR⁰が本明細書に定義されたとおりであるが、夫々が、例えば、Me又はEtであることが好ましい下記の化合物がまた本発明の好ましい化合物を構成する。



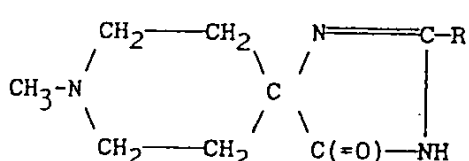
AF200



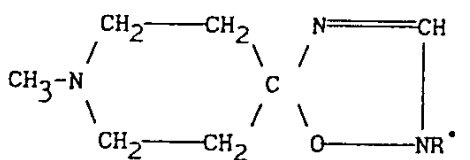
AF210



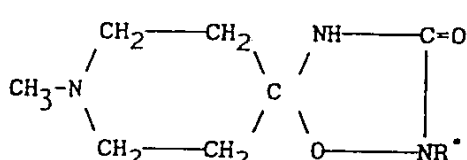
AF220



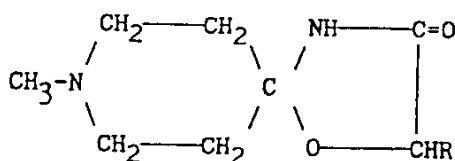
AF230



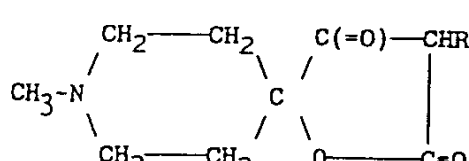
AF240



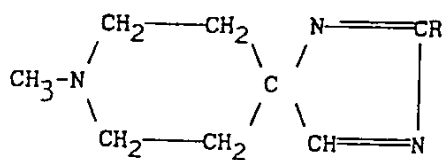
AF250



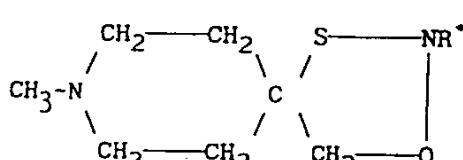
AF260



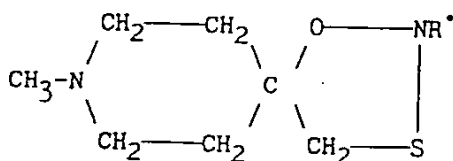
AF270



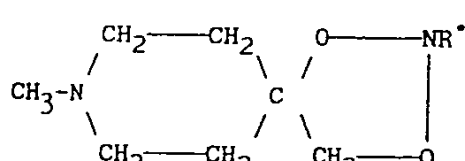
AF280



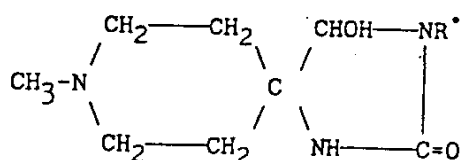
AF290



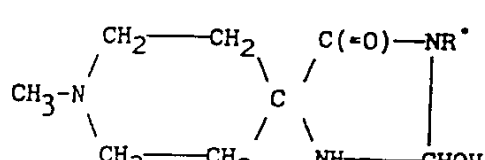
AF300



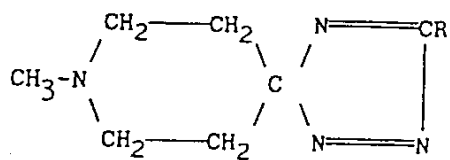
AF310



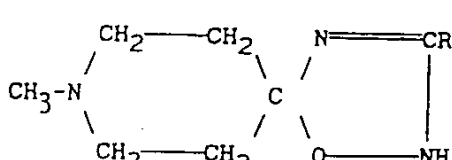
AF320



AF330



AF390



AF370

ジン環を示したが、示されたスピロ5員環を含むスピロ配置に適するものとして本明細書に特定されたようなあらゆる窒素複素環が、それ故、置換されていてもよいことが理解されるべきである。同様の見解が実用的な例に当てはまり、これらは単に例示にすぎず、限定ではない。

本発明のスピロ化合物は一般に初老及び老人の痴呆、アルツハイマー型の老人性痴呆(SDAT)、非定型アルツハイマー病(Perryら, Advance in Neurology, R.J. Wurtmanら編集, 51:41, 1990)、合併型マルチインフラクト(multiinfract)痴呆及びアルツハイマー病、年齢関連記憶障害(AAMI)、急性錯乱障害、情緒及び注意障害、躁病、晩期ジスキネジー、運動亢進症、混合アルツハイマー及びパーキンソン病、失語症、幻覚妄想性状態、脳炎後の健忘症候群、アルコール禁断症状症候群、ハンチントン舞蹈病、ピック病、フリードリック運動失調、ジル・ド・ラ・ツレット病及びダウン症候群の治療に潜在的に有益である。何となれば、これらの疾患の全ては、中枢コリン作用性機能低下が少なくとも或る程度示された障害であるからである。更に、本発明の化合物は進行性核上麻痺の治療に潜在的に有益である。また、それらは潜在的に鎮痛剤であり、こうしてリウマチ、関節炎及び終末の病気の如きひどい痛みの症状の治療に有益であり得る。

先に簡単に示されたように、本発明のスピロ化合物は、少なくとも一種の更に別の薬理活性化合物、例えば、アセチルコリンエステラーゼインヒビター、例えば、フィゾスチグミン又はテトラヒドロアミノアクリジンと組み合わせて；アセチルコリン前駆体、例えば、コリン又はレシチンと組み合わせて；“ノートロピック(nootropic)”薬、例えば、ピラセタム、アニラセタム、オキシラセタム、又はプラミラセタムに加えて； Ca^{2+} チャンネルと相互作用する化合物、例えば、4-アミノピリジン又は3, 4-ジアミノピリジンに加えて；又はアセチルコリン放出につき調節効果を有し得るペプチド、例えば、ソマトスタチンに加えて；高投薬量で予想し得る末梢副作用、例えば、唾液過多、下痢、胃液分泌又は嘔吐に対抗するための末梢抗ムスカリン薬（例えば、ピレンゼピン、N-メチルアトロピン、N-ブチルスコポラミン、プロパンセリン、メタンセリン、グリコピロレート、又はトロベンジリウム）と組み合わせて、又ははきけ及び／又は嘔吐に対抗するための経皮スコポラミン、例えば、スコボデルム（商標）と組み合わせて；しばしばSDAT、AAMI、混合SDAT/パーキンソン病(PD)と関連する認識障害及び抑うつ症候群の両方を軽減するための抗鬱剤、例えば、ノルトリプチリン、アミトリプチリン、イミプラミン、ミナプリンと組み合わせて；高投薬量の化合物で予想し得る末梢副作用に対抗し、M2型の中枢抑制性の前シナプスレセプター及び後シナプスレセプターでこのようなアゴニストの抑制効果に対抗し、かつ無傷の末端でM2型の抑制性オートレセプターの抑制によりアセチルコリンの放出を増進するためのM2抗ムスカリン薬、例えば、セコベリン、AFDX-116 (Hammerら, 1986 Life Sci. 38:1653を参照のこと)と組み合わせて；脳中のニコチンレセプター及びムスカリンレセプターの両方を刺激するためのニコチンアゴニスト、例えば、ニコチンと組み合わせて；SDATにおける混合コリン作用性-ノルアドレナリン作用性不全と関連する認識障害及びその他の障害の両方を軽減するためのアドレナリン作用性アゴニスト（クロニジン又はクオンファミシン）と組み合わせて；SDATにおける認識機能及びその他の運動機能の両方を軽減するための神経セロトニン再摂取のインヒビター、例えば、アラプロクレート、ジメリジンと組み合わせて；SDAT/PDの如き混合状態と関連する認識障害及びその他の運動障害の両方を軽減するためのデプレニルのようなモノアミンオキシダーゼ-Bインヒビターと組み合わせて；神経成長因子(NGF、これは鼻内スプレーにより投与又は脳室内投与される)と組み合わせて使用し得る。

本発明のスピロ化合物は、上記の更に別の活性物質とともに、又はこれらの物質を使用しないで、例えば、適当な希釈剤又は担体中で注射により、経口で、座薬の形態で直腸に、ガス注入又は鼻内スプレーにより、フィゾスチグミン又はテトラヒドロアミノアクリジンとともに、又はこれらを使用しないで適当なビヒクル中で注入又は経皮により投与し得る。

また、本発明のスピロ化合物は、軽度の局所活性の長く持続するコリン作用剤の適用を必要とする疾患の治療に潜在的な用途がある。このような薬剤は、その化合物がアセチルコ

10

20

30

40

50

リンを失活する酵素、即ち、アセチルコリンエステラーゼ及びブチリルコリンエステラーゼにより分解されないので緑内障の如き疾患に必要とされ、また末梢コリン作用障害、例えば、重症筋無力症、膀胱機能不全、アディー病及びイートン・ランペルト病の治療に使用し得る。また、これらの化合物は、コリン作用性低活性が薬剤により誘発される障害に使用し得る。

本発明のスピロ化合物が抗コリン作用薬（これは当業者により容易に決定し得る）である場合、それらはコリン作用機能亢進（これが自発性であるか、又は薬剤誘発されるかを問わない）による障害の治療に潜在的に使用し得る。更に、本発明の化合物は、種々の疾患、例えば、PD、偽PD、混合AD/PD、原発性ジストニー、痙性斜頸、頭部ジストニー、鬱病、乗物酔い、静座不能（神経弛緩薬禁断症状後の）、中枢性高血圧、ヒトの頭部外傷、混合晩期ジスキネジー及びPD、躁鬱病の治療に、またアセチルコリンエステラーゼの抑制のような過剰のアセチルコリンによる中毒における、アトロピン、スコポラミン、等に代わる手術の補助薬として潜在的な用途がある。また、それらは、延長され、又は短期の瞳孔散大が必要とされる時に眼科において使用し得る。

また、本発明のスピロ化合物は、過度の末梢様の活性を特徴とする疾患、例えば、喘息、慢性閉塞性肺疾患、消化性潰瘍疾患の治療に潜在的に使用し得る。これらの末梢障害につき、本発明の化合物の四級塩を使用することが特に推奨される。

四級アンモニウム塩が現在治療に広く使用される。こうして、このようなコリン作用アゴニストの例は、アセチルコリンクロリド、ベサネコールクロリド及びカルバコールである（例えば、Goodman & Gilmanの“治療薬の薬理学的基礎”，第7編，マクミリアン印刷会社，1985，104頁を参照のこと）。四級抗コリンエステラーゼ薬は、例えば、ネオスチグミンブロミド、アムベノニウムクロリド、ピリドスチグミンブロミド、エドロフォニウムクロリド、デメカリウムブロミド、及びエコチフェートヨージドである。プラリドキシムがコリンエステラーゼリアクチベーターとして使用される（Goodman & Gilmanの上記引例文献、122～123頁を参照のこと）。

ベラドンナアルカロイドの四級誘導体、例えば、メタスコポラミンブロミド及びホマトロピンメチルブロミド、並びに合成四級化合物、例えば、メタンセリンブロミド、及びプロパンセリンブロミドが胃腸障害を治療するのに使用される（Goodman & Gilmanの上記引例文献、139～140頁を参照のこと）。

Alfred Burger著“医療化学”，第2編，Interscience Publisjers，1960，497頁には、四級アンモニウムイオンは、それらの化学構造にもかかわらず、クラーレ様作用の麻痺を生じるという予測、及びこの予測のその後の確証が記載されている。四級化合物のこの性質が麻酔に利用され、例えば、骨格筋の弛緩を得るための外科麻酔における補助薬として利用される（Goodman & Gilmanの上記引例文献、“神経筋のブロッキング剤”という標題の11章222～235頁を参照のこと）。

上記の四級化合物の神経筋のブロッキング剤は、その後何年にもわたって治療における四級化合物の開発及び臨床上の適用を妨げなかった。当業者は、多くの因子、例えば、意図される目的に関する有効性、安全性、可能な副作用及び治療インデックスが臨床治療における適用に関していずれかの化合物（四級化合物を含む）の選択に影響することを知っているであろう。こうして、熟練した受信人は、三級窒素原子を有する本発明の化合物から構造上誘導される“医薬上許される四級化合物”という表現を如何に解釈するかを良く理解するであろう。何となれば、この表現は、当業界で利用できる妥当な知識に鑑みて、本明細書及び請求の範囲に使用されるからである。

本発明が下記の非限定実施例により今説明される。

実施例 1： 1-メチルペリジン-4-スピロ-5'-（3'-エチルヒダントイン）AF 160

a) 1-メチルペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン

エタノール(150ml)中の1-メチルペリジン-4-オン(36.44g、0.322モル)の溶液、水(400ml)中の炭酸アンモニウム(93.0g、0.968モル)の溶液及び水(82ml)中のシアン化カリウム(25.8g、0.396モル)の溶液の混合物を2.5時間にわたって60℃で加熱し、次いで室温

10

20

30

40

50

で一夜放置した。沈殿した 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントインを濾別し、少量の冷水、エタノールそしてエーテルで洗浄して結晶性粉末(27.0g)を得た。濾液を濃縮し、洗浄して第二クロップ(20.0g)を得た。生成物をメタノールで結晶化した。m.p.265-276 (分解)。

IR (KBr) 3170 (NH); 1700 (C=O)cm⁻¹

質量スペクトルm/e 183 (M⁺, 38 %); 71 (100%)

¹H-NMR (D₂O) 1.8 (2H); 2.06 (6重線, 2H); 2.49 (s, -CH₃); 2.58 (t, 2H); 3.14 (t, 1H); 3.20 (t, 1H) ppm

10

b) 4-アミノ-1-メチルピペリジン-4-カルボン酸

水(150ml)中の 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン(9.75g、0.0533モル)及び水酸化バリウム 8 水和物(28.8g、0.0913モル)をボンベ中で 3 時間にわたって 160°Cで加熱した。4つのこのようなバッチの内容物を合わせ、沈殿した炭酸バリウムを濾別した。濾液を固体CO₂で中和し、沈殿を濾過により除去した。濾液を濃縮して 4-アミノ-1-メチルピペリジン-4-カルボン酸(32.0g、95%)を得た。mp.275-280°C (分解)。

IR (KBr) 3300, 1655, 1580 cm⁻¹

質量スペクトルm/e 158 (M⁺, 90 %); 141 (98%, M-OH); 113 (12%, M-CO₂H); 96 (100 %); 71 (52 %)

20

¹H-NMR (C₅D₅N+D₂O) 1.2 (m, 2H); 1.48 (s, CH₃N-); 1.7 (m, 2H); 1.9 (m, 2H); 2.0 (m, 2H) ppm

c) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン) AF160

無水エタノール100ml中の 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン(5g、27ミリモル)及び水酸化カリウム(2.08g、37ミリモル)の混合物にエチルブロミド(15g、137ミリモル)を添加した。その混合物を80°Cで加熱し、試料を0.5時間間隔で採取し、内部標準物質(ジフェニルメタン)に対してGLCによりチェックした。塩基度を滴定(HCl 1N)続いて水酸化カリウムの添加(合計2.1g)により監視した。最大収率(2.5時間)を得た後、その溶液を蒸発させ、水(50ml)を添加し、水溶液をクロロホルムで抽出し、溶離系としてクロロホルム/メタノール/アンモニア水(80:20:1)を使用してシリカゲルでクロマトグラフィーにかけた。生成物をエーテルに溶解し、イソプロパノール中のHClの添加により塩酸塩として沈殿させた。m.p.278-280°C

30

質量スペクトルm/e 211 (M⁺, 45 %); 71 (100%)

¹H-NMR (遊離塩基, CDCl₃) 1.2(t, J=6Hz, 3H); 1.6-1.7(m, 2H); 1.9-1.95(m, 2H); 2.1-2.2(m, 2H); 2.34(s, 3H); 2.85-2.95(m, 2H); 3.5(q, J=6Hz, 2H);

40

¹H-NMR (HCl 塩, D₂O) 1.1(t, J=6Hz, 3H); 1.95-2.05(m, 2H); 2.2-2.3(m, 2H); 2.85(s, 3H); 3.0-3.2(m, 2H); 3.4-3.5(m, 2H); 3.5(q, J=6Hz, 2H)ppm

¹³C-NMR (遊離塩基, CDCl₃) 14.0; 33.0; 33.1; 46.0; 52.8; 59.9; 157.0; 177.0 ppm

UV (遊離塩基, H₂O) λ_{max} 208nm(ε 3500)

実施例 2: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(1'-アセチルヒダントイン)

50

AF164

a) AF164A. 無水酢酸(50ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン(3.25g)の混合物を還流下に3時間にわたって加熱した。過剰の試薬を減圧で除去して固体を残し、これをエーテル中に分散させ、濾過して白色の固体(3.75g)を得、メタノール-ジクロロメタンで結晶化させた。m.p.250-254(分解) AF164A

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) 1.89 (m, 2H); 2.44(s, $\text{CH}_3\text{CO-}$); 2.86(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.98(m, 2H); 3.41 (m, 2H); 3.67(m, 2H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O 、内部標準物質としてジオキサン) 26.6 (C_3 & C_5); 26.9($\text{C-CH}_3\text{CO-}$); 43.8($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.4(C_2 & C_6); 62.0 (C_4); 67.3(ジオキサン); 166.0 (C_2); 173.8($\text{CH}_3\text{CO-}$); 189.2(C_4) ppm

10

MS m/e 225 (M^+); 210; 166; 155; 123; 95; 71 (100%); 70

b) AF164B. AF164Aの一部(1.10g)を飽和 Na_2CO_3 水溶液で塩基性にし、メタノール-ジクロロメタンの混合物で抽出し、抽出液を蒸発させ、残渣を同溶媒混合物で再度抽出し、抽出液を濾過し、濾液を蒸発させ、残渣(1.0g)をアセトンですり碎いて白色の固体AF164Bを得た。m.p.225-230°C(分解) (CH_2Cl_2 - CH_3OH - CH_3CN で結晶化した)。

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) 1.53 (m, 2H); 2.21(s, $\text{CH}_3\text{CO-}$); 2.39(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.65-2.80(m, 6H) ppm

20

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O 、内部標準物質としてジオキサン) 26.9 ($\text{CH}_3\text{CO-}$); 28.3 (C_3 & C_5); 45.0($\text{CH}_3\text{N-}$); 50.9(C_2 & C_6); 64.9 (C_4); 67.3(ジオキサン); 168.8 (C_2); 173.6($\text{CH}_3\text{CO-}$); 193.9(C_4) ppm

MS m/e 225 (M^+); 183 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$); 166; 154; 123; 95; 71 (100%)

c) AF164 (HCl塩). AF164のHCl塩を、pHが酸性(pH1-2)になるまでメタノール中のAF164 A又はAF164Bの溶液をイソプロパノールに溶解したHClで処理することにより調製した。塩AF164 (HCl塩)はしばらくした後白色の固体として沈殿した。m.p.301-302°C(分解)

30

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) 2.17 (m, 2H); 2.50(s, $\text{CH}_3\text{CO-}$); 2.93(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 3.10(m, 2H); 3.48-3.71(m, 4H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O 、内部標準物質としてジオキサン) 26.7 (C_3 & C_5); 26.9($\text{C-CH}_3\text{CO-}$); 43.9($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.1(C_2 & C_6); 61.8 (C_4); 67.3(ジオキサン); 154.8 (C_2); 173.4($\text{CH}_3\text{CO-}$); 176.0(C_4) ppm

40

AF164の加水分解

AF164A及びAF164Bを0.2NのNaOH水溶液中で還流(1-2時間)させることにより加水分解して1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントインを得、真正試料に対するそのTLC及び $^1\text{H-NMR}$ の比較により同定した。

実施例3: ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン) AF160(Des)ジクロロエタン(25ml、モレキュラーシーブで乾燥したもの)中の乾燥AF160(2.0g、9.5ミリモル)の溶液に、 α -クロロエチルクロロホルメート(1.0ml、9.3ミリモル)を室温で添加し、その混合物を1時間にわたって60°Cに加熱した。ジクロロエタンを真空中で除去し、得られた固体をメタノール20mlに溶解し、その溶液を更に30分間にわたって60°Cで加熱した。メタノールを真空中で除去し、得られた油状固体を炭酸ナトリウム水溶液に溶解し、エ

50

ーテルで洗浄した。水層をクロロホルムで抽出し、抽出液を蒸発させて粗油を得、これをシリカゲルカラムによるカラムクロマトグラフィーにより更に精製した。クロロホルム：メタノール：アンモニア水(4:1:0.1)で溶離してAF160(Des)(1.12g、収率60%)を白色粉末として得た。m.p.225-227°C

MS m/e 197 (M^+ ベースピーク); 57

^1H NMR ($CDCl_3$) 1.17 (t, $J=6Hz$, 3H); 1.65-1.7 (m, 2H); 1.85-2.0 (m, 2H); 2.75-2.85 (m, 2H); 3.05-3.15 (m, 2H); 3.5(q, $J=6Hz$, 2H)ppm

実施例 4：1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチルヒダントイン) AF 10
178

メタノール120ml中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン(5.0g、27.3ミリモル)及び水酸化ナトリウム(2.0g、50ミリモル)の混合物に、メチルトシレート(11.2g、60ミリモル)を添加した。その反応混合物を室温で一夜攪拌し、メタノールを蒸発により除去し、油状残渣を炭酸カリウム水溶液に溶解し、クロロホルムで抽出した。有機抽出液を蒸発させ、得られた粗生成物をシリカゲルによるカラムクロマトグラフィーにより更に精製し、クロロホルム/メタノール/アンモニア水(9:1:0.1)で溶離して白色の固体1.2g(22%)を得た。m.p.229-231°C

MS m/e 197 (M^+ , 30%); 71 (100%)

^1H NMR (遊離塩基、 $CDCl_3$) 1.6-1.7(m, 2H); 2.1-2.3(m, 4H); 2.34(s, 3H); 2.85-2.95(m, 2H); 3.02(s, 3H) ppm

実施例 5：ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチルヒダントイン) AF179

実施例 3 と同様にして得た白色の粉末生成物をイソプロパノールに溶解し、塩酸を使用して酸性にして白色の沈殿を得た。

m.p.320°Cより高い(分解)

MS m/e 183 (M^+ ベースピーク); 57

^1H NMR (HCl 塩、 D_2O) 2.0(m, 2H); 2.2(m, 2H); 2.96(s, 3H); 3.3(m, 2H); 3.6 (m, 2H)

実施例 6：1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-プロパルギルヒダントイン) (AF185)の合成

KH (11g、0.1モル; 鉱油中35%w/wの分散液) 及び1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン (P_2O_5 で乾燥したもの、25g、0.13モル) の懸濁液を乾燥DMF(500ml)中で室温で攪拌した。塩化プロパルギル(15g、0.2モル)を添加し、その反応混合物を20分間にわたって50°Cに加熱した。その混合物を冷却し、pH約3に酸性にし(塩酸水溶液で)、DMFを石油エーテル-エーテル1:1の混合物次いでエーテルによる抽出により除去した。水相を炭酸ナトリウムによりpH約10に塩基性にし、クロロホルムで2回抽出した。クロロホルム抽出液を合わせ、乾燥させ、蒸発させて粗油(27g)を得、これをシリカゲルカラムによるクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム/メタノール/アンモニア(80:19:1)で溶離して純粋なAF185 3.0g及び少量の不純物を含む幾つかの画分(合計10g)を得た。遊離塩基をHCl塩として沈殿させた。白色の非吸湿性塩3.2gをメタノールによる結晶化により得た。

^1H NMR (D_2O 、HCl 塩) δ 2.0-2.35(m, 4H); 2.64(t, 1H, $J=3.5\text{Hz}$); 2.91(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 3.1-3.2(m, 2H); 3.5-3.7(m, 2H); 4.27(bs, 2H)ppm

^1H NMR (D_2O 、過剰の炭酸ナトリウム) δ 1.65-1.75(m, 2H); 1.9-2.05(m, 2H); 2.25(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.2-2.3(m, 4H); 2.8-2.9(m, 4H); 4.25(s, 2H)ppm

^1H NMR (CDCl_3 、遊離塩基) δ 1.85-1.95(m, 4H); 2.2(m, 2H); 2.23(t, 1H, $J=3.5\text{Hz}$); 2.4(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.9-2.95(m, 2H); 4.3(d, 2H, $J=3.5\text{Hz}$); 6.4(bs, 1H)ppm

MS m/e 221 (M^+ ベースピーク); 206($M-15$); 149

実施例 7: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2', 5'-ビス(メチルチオ)-4'-H-イミダゾール) AF177

メタノール(15ml)中の 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジチオヒダントイン) (1.00g、4.65ミリモル、実施例 11を参照のこと)の溶液に、NaOH(0.30g、7.50ミリモル)次いで徐々にメタノール(3.0ml)中のヨウ化メチル(1.00g、7.04ミリモル)溶液を添加し、その混合物を室温で 1.5時間攪拌した。NaBrが沈殿し、濾過し、メタノールで洗浄した。濾液及び洗浄液を合わせ、溶媒を除去した。残渣を K_2CO_3 水溶液で塩基性にし、エーテルで抽出した。有機抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を除去して残渣を残し、これをシリカゲルのカラムでクロマトグラフィーにかけた。エーテル/クロロホルム/メタノール/アンモニア水の 78:18:3:1の溶媒混合物で溶離して、ヘキサンによる結晶化後に AF177、mp 101-102°C (465mg)を得た。

^1H -NMR (CDCl_3) 1.33 (m, 2H); 1.98 (m, 2H); 2.39 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.56 (s, $\text{CH}_3\text{S}-$); 2.59 (s, $\text{CH}_3\text{S}-$); 2.48-2.64 (m, 2H); 2.82 (m, 2H) ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3) 14.1 ($\text{CH}_3\text{S}-$); 14.2 ($\text{CH}_3\text{S}-$); 34.9 (C_3 & C_5); 46.1 ($\text{CH}_3\text{N}-$); 52.2 (C_2 & C_6); 83.0 (C_4); 171.6 (C_2); 203.5 (C_5) ppm.

MS m/e 244 (M^++1); 185; 149; 93; 75

IR (KBr) 2920; 2797; 1535; 1477; 1465; 1452; 1378; 1316; 1286;

1210; 1108; 1054; 1000; 965; 942; 900; 776; 696 cm^{-1} .

UV (EtOH) λ_{max} 257nm (ϵ 16100)

実施例 8: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-4'-チオヒダントイン) AF182

1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-チオン) AF170 (100mg、実施例 12を参照のこと)の試料を 20%の HCl (1ml)に溶解し、その溶液を 1.5時間にわたって還流させた。その反応混合物を NaOH の濃溶液で pH 14 に塩基性にし、次いでジクロロメタンで抽出した。有機抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を蒸発させて 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-4'-チオヒダントイン)を石油エーテル-ジクロロメタンで結晶化させて白色の固体 (74mg)として得た。m.p. 176-178°C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.25 (t, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 1.54 (m, 2H); 2.10 (m, 2H); 2.36 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.41 (m, 2H); 2.96 (m, 2H); 3.94 (q, $J=7.2\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 7.23 (NH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 11.8 (CH_3CH_2-); 36.9 (C_3 & C_5); 37.4 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 46.1 ($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.2 (C_2 & C_6); 68.1 (C_4); 157.1 (C_2); 208.1 (C_4) ppm.

MS m/e 227 (M^+); 211 (M^+-O); 194 (M^+-SH); 170 ($\text{M}^+-\text{C}_3\text{H}_7\text{N}$); 71; 70

(100%).

UV (EtOH) λ_{max} 280nm (ϵ 13600)、229nm (ϵ 4400)

実施例 9: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(4'-メチルチオ-3'-イミダゾリン-2'-チオン) AF183

当量のヨウ化メチル、水酸化ナトリウム及びジチオヒダントインを使用した以外は実施例 7 を繰り返して、ビス-(メチルチオ)誘導体 AF177 に加えて、1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(4'-メチルチオ-3'-イミダゾリン-2'-チオン) AF183、m.p. 218-220°C (分解) (CH_2Cl_2 -アセトンから)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1.74 (m, 2H); 2.07 (m, 2H); 2.37 (m, 2H); 2.39 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.69 (s, $\text{CH}_3\text{S-}$); 2.95 (m, 2H); 10.3 (brs. $-\text{NH-}$) ppm

MS m/e 229 (M^+); 182 ($\text{M}^+-\text{CH}_3\text{S}$); 123; 122; 70

UV (EtOH) λ_{max} 312nm (ϵ 12000)、280nm (ϵ 15300)

実施例 10: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-2', 4'-ジチオヒダントイン) AF163

1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン) (0.570g) 及び五硫化リン (0.570g) の粉末を緊密に混合し、テトラリン (15ml) 中で 2 時間還流させた。その反応混合物を室温に冷却した後、褐色の硬い沈殿が生成した。テトラリンを減圧で除去し、沈殿を碎き、石油エーテルで洗浄した。それを濃 NaOH 水溶液で塩基性にし、ジクロロメタンで抽出した。抽出液を乾燥させ (Na_2SO_4)、蒸発させて残渣 (0.250g) を得、これをシリカゲル (メルク) (60.15g) のカラムでクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム/エーテル/メタノール/アンモニア水の 77:18:4:1 の混合物で溶離して純粋な AF163 (50mg) を得、 CH_2Cl_2 -エーテルで結晶化した。m.p. 223-225°C (分解)

10

20

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.27(t, J=7.2Hz; CH_3CH_2-); 1.55-1.67(m; 2H); 2.03-2.19(m, 2H); 2.26-2.46(m, 2H); 2.36(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.89-3.04(m, 2H); 4.27(q, J=7.2Hz; $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 8.25(brs. -NH-) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6) 11.6 (CH_3CH_2-); 36.9($\text{C}_3\&\text{C}_5$); 39.9($-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 45.9(CH_3N); 49.9($\text{C}_2\&\text{C}_6$); 72.9(C_4); 179.8(C_2); 207.8(C_4) ppm.

MS m/e 243(M^+); 186($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7\text{N}$); 149; 71; 70(100%); 57.

IR (KBr) 3177(NH); 2930; 2778; 1513; 1434; 1357; 1231; 1116;

1090; 1070; 1040; 961; 801; 780; 626; 546; 457 cm^{-1} .

UV (EtOH) λ_{max} 302nm (ϵ 34200), 226nm (ϵ 7700)

AF163の酒石酸塩の合成

塩化メチレン(15ml)－メタノール(5ml)中のAF163遊離塩基(0.735g、3.025ミリモル)の溶液に、メタノール(2.0ml)中のL(+)酒石酸(0.214g、1.427ミリモル)の溶液を添加した。その混合物を室温で0.5時間攪拌し、次いで溶媒を蒸発させ、残渣をエーテル－塩化メチレン中で懸濁させ、濾過し、同溶媒混合物で洗浄して黄色の固体AF163(酒石酸塩)を得た。
m.p. 221-225°C (分解; 0.923g、収率96%)

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) 1.27 (t, J=7.2Hz, CH_3CH_2-); 2.08 (m, 2H); 2.49 (m, 2H); 3.01 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 3.31 (m, 2H); 3.76 (m, 2H); 4.26 (q, J=7.2Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.37 (s, $-\text{CHOH}$) ppm

実施例11: 1－メチルピペリジン－4－スピロ－5'－(2', 4'－ジチオヒダントイン) AF173

エタノール(200ml)－水(50ml)中の1－メチル－4－ピペリドン(29.35g、0.260モル)、KCN(26.57g、0.408モル)、 NH_4Cl (21.00g、0.393モル)及び CS_2 (26ml)の溶液を8時間にわたって還流下で加熱した(50～55°C)。その反応混合物を室温で一夜放置し、得られた沈殿を濾過し、水次いでエタノールで洗浄して黄色の固体(26.3g; 収率47.0%) m.p. 250-253°C (分解)を得、メタノールで結晶化させた。m.p. 252-254°C (分解)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) 1.43-1.56(m, 2H); 1.89-2.05(m, 2H); 2.21(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.26-2.40(m, 2H); 2.64-2.79(m, 2H); 11.14(br. s., -NH-) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6) 36.2($\text{C}_3\&\text{C}_5$); 45.5($\text{CH}_3\text{N}-$); 49.9($\text{C}_2\&\text{C}_6$); 74.8(C_4); 181.5(C_2); 212.0(C_4) ppm.

MS m/e 215(M^+); 183($\text{M}^+ - \text{S}$); 182($\text{M}^+ - \text{SH}$); 181; 158($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7\text{N}$); 123; 102; 77; 71; 70(100%).

IR (KBr) 3130 (NH); 1484; 1449; 1350; 1295; 1231; 1198; 1176;

1145; 1083; 1062; 957; 721; 545; 504 cm^{-1} .

UV (0.01N のHCl) λ_{max} 298nm (ϵ 32000), 220nm (ϵ 8000)

実施例12: 1－メチルピペリジン－4－スピロ－5'－(3'－エチル－2', 4'－ジチオヒダントイン) AF163; 1－メチルピペリジン－4－スピロ－5'－(4'－エチルチオ－3'－イミダゾリン－2'－チオン) AF176; 1－メチルピペリジン－4－スピロ－4'－(1'－エチル－2'－エチルチオ－2'－イミダゾリン－5'－チオン) AF170

10

20

30

40

50

乾燥DMF(30ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジチオヒダントイン) AF173 (3.30g、15.3ミリモル)の懸濁液に、NaH (0.760g、鉍油中60%、19.0ミリモル)を添加し、その混合物を50℃で1.5時間攪拌した。DMF(6ml)中のEtBr(1.85g、17.0ミリモル)の溶液を上記混合物に徐々に添加し、それを75~80℃で4時間攪拌した。室温で一夜放置した後、生成した沈殿(NaBr)を濾過し、エーテルで洗浄した。濾液及び洗浄液を合わせ、蒸発させて油を得、これからジクロロメタンに不溶性の固体(1.5g)を分離し、これは出発物質であることがわかった(同一のNMR及びTLC)。残渣をシリカゲルのカラムでクロマトグラフィーにかけた。エーテル/クロロホルム/メタノール/アンモニア水68:27:4:1の溶媒混合物で溶離して、AF160とP₂S₅の反応から先に得られた生成物と同一である1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチル-2', 4'-ジチオヒダントイン) AF163 (0.95g)を最初に得た。溶離を続けて1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(4'-エチルチオ-3'-イミダゾリン-2'-チオン) AF176 (0.15g)を得た。ヘキサン-CH₂Cl₂で結晶化させた。m.p.212-215℃(分解)

¹H-NMR (CDCl₃) 1.42 (t, J=7.2Hz, CH₃CH₂-); 1.73 (m, 2H); 2.06

(m, 2H); 2.31 (m, 2H); 2.38 (s, CH₃N-); 2.95 (m, 2H); 3.33 (q,

J=7.2Hz, -CH₂CH₃); 10.0 (br. -NH-) ppm.

¹³C-NMR (DMSO-d₆) 14.2 (CH₃CH₂-); 25.6 (-CH₂CH₃); 35.0 (C₃&C₅);

45.8 (CH₃N-); 50.5 (C₂&C₆); 74.3 (C₄); 192.1 (C₂'), 198.1 (C₄')

ppm.

MS m/e 243 (M⁺); 182 (M⁺-EtS, 100%); 156 (M⁺-EtSCN); 123; 124; 96;

71; 70; 57.

IR (KBr) 3135 (NH); 2930; 2788; 1476; 1463; 1446; 1281; 1257;

1232; 1158; 1141; 1121; 1096; 958; 711; 674; 535 cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{max} 314nm(ε 5400) inf., 282nm(ε 6700)

AF173に対し1.5モル過剰のEtBrとの上記反応を繰り返して、上記モノエチル誘導体の他にジエチル誘導体1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-チオン) AF170を得た。m.p.66-67℃(ヘキサンで結晶化させた)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.24 (t, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 1.24 (m, 2H); 1.44 (t, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 2.27 (m, 2H); 2.39 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.52 (m, 2H); 2.81 (m, 2H); 3.24 (q, $J=7.2\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.93 (q, $J=7.2\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 12.2 (CH_3CH_2-); 13.9 (CH_3CH_2-); 25.7 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 36.8 ($\text{C}_3\&\text{C}_5$); 39.0 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 46.1 ($\text{CH}_3\text{N}-$); 51.5 ($\text{C}_2\&\text{C}_6$); 82.2 (C_4); 158.5 (C_2); 216.7 (C_5) ppm.

10

MS m/e 271(M^+); 242(M^+-Et); 214($\text{M}^+-\text{C}_3\text{H}_7\text{N}$); 185; 162; 75; 71; 70(100%); 57.

IR (KBr) 1574 ($\text{C}=\text{N}$); 1446; 1372; 1354; 1212; 1071; 1060; 936 cm^{-1} .

UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) 296(22000); 252(17700)nm

AF176の加水分解

AF176 (48mg) に、HCl水溶液 (1ml、20%) を添加した。メルカプタンの臭いが直ちに認められた。得られた溶液を室温で1時間攪拌し、次いで減圧で50°Cで蒸発させて、1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン) HCl塩(X)を白色の固体として得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) 2.10-2.43 (m, 4H); 2.94 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 3.20 (m, 1H); 3.47-3.78 (m, 3H) ppm.

MS m/e 199 (M^+); 181; 171 (M^+-CO); 156 (M^+-HNCO); 142 ($\text{M}^+-\text{C}_3\text{H}_7\text{N}$); 111; 96; 71; 70; 57.

30

UV (H_2O) λ_{max} 264nm(ϵ 20400)、224nm(ϵ 8600)

実施例13: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン) AF195

(a) エタノールアミン(40ml)-水(75ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジチオヒダントイン) AF173 (10.0g) の溶液を1.75時間還流させた。溶媒及び過剰の試薬を減圧で除去した。アセトニトリル-ジクロロメタン、アセトン、そしてエタノール-アセトニトリルで残渣を繰り返して結晶化させて純粋な1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオ-4'-(8 β -ヒドロキシエチルイミノヒダントイン) m.p. 230-231°C (分解) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) 11.74 (m, 2H); 1.94 (m, 2H); 2.26 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.17-2.34 (m, 2H); 2.92 (m, 2H); 3.54 (t, $J=5.4\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$); 3.74 (t, $J=5.4\text{Hz}$, $=\text{NCH}_2-$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6) 33.7 (C_3 & C_5); 45.4 ($-\text{CH}_2-$); 45.9 ($\text{CH}_3\text{N-}$); 50.6 (C_2 & C_6); 59.2 ($-\text{CH}_2-$); 66.3 (C_4); 182.5 ($-\text{C}=\text{S}$); 195.0 ($-\text{C}=\text{N-}$) ppm.

10

MS m/e 242 (M^+); 224 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$); 199; 185; 172 ($\text{M}^+ - 70$); 154 ($\text{M}^+ - 70 - \text{H}_2\text{O}$); 71; 70

UV (0.01N のHCl) λ_{max} 227nm (ϵ 22200)、242nm (ϵ 10200)

そのイミノヒダントイン誘導体(1.40g)をHCl水溶液(5.0ml、1:1)に溶解し、1時間還流させた。その反応混合物を減圧で蒸発させ、残渣をメタノールで結晶化させて、AF176の加水分解(実施例12を参照のこと)から得られた生成物と同一の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン)塩酸塩(0.756g)を得た。

(b)エタノール(80ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジチオヒダントイン)(AF173)(10.0g、0.0465モル)及びn-ブチルアミン(17.0g、0.233モル)の溶液を還流下に1.5時間加熱した。冷却反応混合物から分離した結晶性固体を濾過し、少量のエタノール、エーテルそして石油エーテルで洗浄して1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオ-4'-エチルイミノヒダントイン)(AF189)(11.1g、0.0437モル)を収率94%で得た。生成物をジクロロメタン-メタノールで結晶化させて針状体m.p.236-239°C(分解)を得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) 0.94 (t, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 1.38 (m, 2H); 1.60 (m, 2H); 1.69 (m, 2H); 1.89 (m, 2H); 2.40 (m, 2H); 2.41 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.91 (m, 2H); 3.47 (t, $J=7.2\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{N=}$) ppm.

30

MS m/e 254(M^+); 197($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_9$); 184($\text{M}^+ - 70$); 149; 128; 71; 70; 57(C_4H_9^+).

そのイミノヒダントイン誘導体AF189(10.45g)を塩酸水溶液(15ml、16%)に溶解し、1時間還流させた。その反応混合物を、少量の液体のみが残るまで蒸留した。エタノール(50ml)を残渣に添加し、冷却して固体を得、これを濾過し、少量のエタノールそしてエーテルで洗浄して、先に得られた生成物と同一の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン)塩酸塩(AF195)(8.42g、収率87%)m.p.>295°C(分解)を得た。

40

実施例14: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(オキサゾリジン-2'-チオン) AF165

少量のKOH粉末を含む無水DMSO(10ml)に、4-アミノメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(0.595g、4.13ミリモル)を攪拌しながら添加し、続いて二硫化炭素(0.340g、4.47ミリモル)を添加した。その反応混合物を50°Cで2時間加熱した。溶媒を真空で除去し、残渣をメタノール、アセトンそして CH_2Cl_2 で数回結晶化させて結晶性固体m.p.190-195°C(211mg)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.80-1.98 (m, 2H); 2.03-2.16 (m, 2H); 2.32 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.44-2.72 (m, 4H); 3.51 (s- $\text{CH}_2\text{N-C=S}$) ppm.
 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6) 35.1 (C_3Cl_5); 45.7 ($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.5 (C_2Cl C_6); 53.1 ($-\text{CH}_2\text{NH-}$); 86.4 (C_4); 187.2 ($-\text{C=S}$) ppm.

実施例15: N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-(3'-メチルヒダントイン) AF167、及びN-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン) AF168

a) N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-ヒダントイン
 エタノール(160ml)中のトロピノン(45g、0.32モル)、水(400ml)中の炭酸アンモニウム(93g、0.96モル)、及び水(84ml)中のKCN(25.8g、0.40モル)の混合物を60°Cで2時間加熱し、次いで室温に16時間保った。N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-ヒダントイン(61.33g、0.29モル、収率92%)が分離し、デシケーター中で乾燥させた。m.p.330°C。

質量スペクトルm/e 209 (M^+)

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3COOD) 2.1(m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\alpha)$), 2.3(m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\beta)$), 2.4 (m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\alpha)$), 2.7 (m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\beta)$), 2.9 (s, 3H), 3.0 (bs, NH) 4.1 (bs, 2H, $\text{H}_1=\text{H}_5$) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (DCI , D_2O) 2.3 (m, 4H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\alpha)$ 及び $\text{H}_2=\text{H}_4(\beta)$), 2.5 (m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\alpha)$), 2.7 (m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\beta)$), 2.9(s, 3H), 4.15(bs, 2H, $\text{H}_1=\text{H}_5$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (DCI , D_2O) 25.5 ($\text{C}_6=\text{C}_7$, t), 33.5 ($\text{C}_2=\text{C}_4$, t), 39.7 (CH_3 , q), 59.3 ($\text{C}_3-\text{C}_5'$, s), 63.0 ($\text{C}_1=\text{C}_5$, d), 159.3 (C_2' , s), 180.2 (C_4' , s) ppm.

b) AF167及びAF168

N-メチルノルトロパン-3-スピロ-5'-ヒダントイン(1当量)及びKOH(1当量)を水中で室温で二三分間混合した。メタノール又はエタノール中のヨウ化メチル又は臭化エチル(2当量)をその水溶液に滴下して添加した。その反応混合物をクロロホルムで抽出し、蒸発前に硫酸マグネシウムで乾燥させた。生成物AF167及びAF168を約10%の収率で得た。

AF167

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) 1.65 (m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\alpha)$), 1.8 (m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\beta)$), 2.2 (m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\alpha)$), 2.4 (m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\beta)$), 2.55 (s, 3H), 2.85 (s, 3H), 3.25 (bs, 2H, $\text{H}_1=\text{H}_5$) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.55 (m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\alpha)$), 1.75 (m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\beta)$), 2.2 (m, 2H, $\text{H}_2=\text{H}_4(\alpha)$), 2.4 (s, 3H), 2.45 (m, 2H, $\text{H}_6=\text{H}_7(\beta)$), 3.0 (s, CH_3), 3.3 (bs, 2H, $\text{H}_1=\text{H}_5$), 6.3 (bs, NH) ppm

質量スペクトルm/e 223 (M^+)

AF168

10

20

30

40

50

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , CD_3OD) 1.1(t, 3H), 1.6 (m, 2H, H6=H7(α)), 1.75 (m, 2H, H2=H4(β)), 2.2(m, 2H, H2=H4(α)), 2.35(s, 3H), 2.4(m, 2H, H6=H7(β)), 3.3(bs, 2H, H1=H5), 3.55(q, 2H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.2 (t, 3H), 1.6 (m, 2H, H6=H7(α)), 1.75 (m, 2H, H2=H4(β)), 2.2 (m, 2H, H2=H4(α)), 2.4 (s, 3H), 2.45 (m, 2H, H6=H7(β)), 3.3 (bs, 2H, H1=H5), 3.55 (q, 2H), 6.3 (bs, NH) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ) 13(CH_3CH_2), 25($\text{C6}=\text{C7}$), 35($\text{C2}=\text{C4}$), 40($\text{N}-\text{CH}_3$), 40.5($\text{N}-\text{CH}_2$), 59($\text{C3}-\text{C5}'$), 60($\text{C1}=\text{C5}$), 159($\text{C2}'$), 180($\text{C4}'$) ppm.

10

質量スペクトル m/e 237 (M^+)

実施例16: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルオキサゾリジン-2'-オン) AF172

a) 4-アセトアミドメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン
メタノール中の4-アミノメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(2.95g、0.02モル)、炭酸カリウム(6.5g、0.047モル)及び無水酢酸(8.5g、0.08モル)を室温で2時間混合した。水酸化ナトリウムを中和のために添加し、その溶液をクロロホルムで抽出した。蒸発後、黄色の油を得、これを4-アセトアミドメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(3.4g、0.018モル、収率91%)として同定した。

20

b) 4-エチルアミノメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン
乾燥THF中の4-アセトアミドメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(3.4g、0.018モル)を水素化リチウムアルミニウム(4g)の存在下で還流させた。3日後に、その混合物を氷-水浴に注ぎ、セライトで濾過した。溶媒を蒸発させ、水の添加後に、その溶液をクロロホルムで抽出し、抽出液を硫酸マグネシウムで乾燥させ、蒸発させて粗物質1.03g(収率33%)を得た。こうして得られた生成物4-エチルアミノメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジンを更に精製しないで使用した。

30

c) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルオキサゾリジン-2'-オン) AF172

4-エチルアミノメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(16.8g、0.1モル)及びN, N'-カルボニルジイミダゾール(32g、0.2モル)をクロロホルム400cc中で窒素雰囲気下で混合した。蒸発させて粗物質50gを得、これをヘキサンで十分に洗浄し、蒸発後に生成物、1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルオキサゾリジン-2'-オン) AF172を黄色の油(16.8g、0.085モル、収率85%)として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.15(t, 3H), 1.8(m, 2H), 1.95(m, 2H), 2.3(s, 3H), 2.55(m, 2H), 3.28(s, 2H), 3.32(q, 2H) ppm.

40

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 13(CH_3CH_2), 22(CH_3CH_2), 37($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}$), 39(CH_2NEt), 52(NCH_2CH_2), 55(C-O), 157.5 (C=O) ppm.

質量スペクトル m/e 198 (M^+)

実施例17: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(3'-エチルオキサゾリジン-2'-オン) AF174

a) 4-アセトアミド-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン
メタノール中の4-アミノ-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン(2.95g、0.02モル)

50

モル)、炭酸カリウム(6.5g、0.047モル)及び無水酢酸(8.5g、0.08モル)を室温で2時間混合した。水酸化ナトリウムを中和のために添加し、その溶液をクロロホルムで抽出した。蒸発後、得られた白色の固体を温かいアセトンで結晶化させて4-アセトアミド-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン(1.67g、0.009モル、収率45%)を得た。

b) 4-エチルアミノ-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン

乾燥THF中の4-アセトアミド-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン(1.6g、8.6ミリモル)を水素化リチウムアルミニウム(3g)の存在下で還流させた。4時間後に、その混合物を氷-水浴に注ぎ、セライトで濾過した。溶媒を蒸発させ、水の殆どの蒸発後に、その溶液をクロロホルムで抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、蒸発させて非常に純粋な物質1.13g(収率77%)を得た。こうして得られた生成物4-エチルアミノ-4-ヒドロ

10

c) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(3'-エチルオキサゾリジン-2-オン)AF174

4-エチルアミノ-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン(172mg、1ミリモル)及びN, N'-カルボニルジイミダゾール(486mg、3ミリモル)をクロロホルム中で窒素雰囲気下で3時間混合した。蒸発させた後、粗物質を得、これをヘキサンで十分に洗浄し、蒸発後に生成物、1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(3'-エチルオキサゾリジン-2-オン)AF174を白色の固体(140mg、0.71ミリモル、収率71%)として得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.10 (t, 3H), 1.6(m, 2H), 1.95(m, 4H), 2.25(s, 3H), 2.85(m, 2H), 3.2(q, 2H), 4.1(s, 2H)ppm

20

質量スペクトルm/e 198 (M^+)

実施例18: 2-N-メチルスピロ-(1, 3-スクシンイミド-4, 3')キヌクリジンAF133

a) エチル(3-キヌクリジリデン)-シアノアセテート

3-キヌクリジノン(30g、0.24モル)、エチルシアノアセテート(40g、0.35モル)、酢酸アンモニウム(3.8g)、酢酸(11g)及びベンゼン120mlの混合物を還流下に加熱し、水を共沸蒸留により除去した(合計4mlの水)。ベンゼン溶液を冷却し、水120ml中の炭酸カリウム(30g)を添加し、その混合物をトルエン(3x500ml)で抽出した。トルエン抽出液を合わせ、乾燥

30

TLCシリカアート5735(メルク)によるメタノール中2%v/vの水酸化アンモニウム(水中25%) R_f 0.67

生成物をエタノール又はイソプロパノール中の結晶化により更に精製し得る。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 -TMS)遊離塩基: 1.29(t, 3H, CH_3); 4.2(q, 2H, CH_2); 1.7-1.9, 2.8-

3.2(m, キヌクリジン骨格)

$^{13}\text{C-NMR}$ δ (CDCl_3 -TMS): 14(CH_3); 62(CH_2O); 189(C=O); 162 (C=N); 115 (C-CN); 100 (C=C); 33.7 (C-H)

40

b) 3-カルボエトキシ-3-カルボエトキシメチルキヌクリジン

水25mlに溶解したエチル(3-キヌクリジリデン)-シアノアセテート(64g、0.24モル)及びシアン化カリウム(17g、0.26モル)をエタノール125mlに溶解した。その混合物を20分間還流させ、冷却し、塩化カリウムからデカントし、残りの塩化カリウムをエタノール50mlずつで2回洗浄した。合わせたアルコール溶液を蒸発させ、油状残渣を濃塩酸250mlに溶解し、24時間還流させた。次いでその溶液を蒸発させ、残渣をアセトンで数回洗浄し、乾燥させた。乾燥した固体を塩化水素で飽和されたエタノール中で20時間還流させた。次いでエタノールを除去し、炭酸ナトリウムを使用して残渣を慎重に塩基性にし、クロロホルムで抽出した。クロロホルム溶液を乾燥させ、蒸発させ、粗ジエステルを、溶離系としてクロロホルム中2%のメタノールを使用してカラムクロマトグラフィーにより更に精製

50

した。

MS m/e 2.69 (M^+); ベースピーク m/e 196 ($M-C-OEt$)

^1H NMR δ ($CDCl_3$ -TMS) 1.2(dt, 6H, CH_3); 4.2-4.3 (dt, 4H, CH_2O); 1.3-1.6,

2.6-3.1(m, キヌクリジン骨格)

c) 2-N-メチルスピロー (1, 3-スクシンイミド 4, 3') キヌクリジン (AF133) 3-カルボエトキシ-3-カルボエトキシメチルキヌクリジン (3.35g, 12ミリモル) をメチルアミン 4.5g に溶解し、加圧下に 190°C で加熱した (90 時間)。その反応混合物を冷却し、蒸発させ、溶離系として 0.2 のアンモニアを含むクロロホルム中 2 % のメタノールを使用して固体残渣をシリカによるカラムクロマトグラフィーにより精製した。AF133 を白色の固体、 $m.p.$ 94-96°C 1.2g (5.7ミリモル) として得た。

MS M^+ 209

^1H NMR δ ($CDCl_3$ -TMS) 3.4(d, 1H) (H_2); 2.96(s, 3H) (CH_3); 2.5(d, 1H) (H_2); 1.5-

1.9(m, キヌクリジン骨格)

実施例 19: 2-N-エチルスピロー (1, 3-スクシンイミド 4, 3') キヌクリジン AF 134

粗 3-カルボエトキシ-3-カルボエトキシメチルキヌクリジン (20g) を 70% のエチルアミン水溶液に溶解し、加圧下に 140°C で数時間加熱した。その反応を G.C. により監視した。粗生成物をクロロホルムで抽出し、次いでこれを乾燥させ、蒸発させた。クロロホルム/石油エーテル/エタノール/アンモニア水 17/13/3/0.4 を使用して油状残渣をシリカによるカラムクロマトグラフィーにより精製した。遊離塩基を塩酸塩として沈殿させて、白色の固体 6.6g を得た。 $m.p.$ 270-272°C TLC シリカアート 5735 メルクによるメタノール中 2 % v/v の水酸化アンモニウム (水中 25%) R_f 0.47

MS M^+ 222

^1H NMR δ ($CDCl_3$ -TMS) 遊離塩基: 1.5 (t, 3H, CH_3); 3.5 (q, 2H, $N-CH_2$); 1.6-

3.3 (m, キヌクリジン骨格)

実施例 20: 1-メチルピペリジン-4-スピロー 5'-(オキサゾリジン-2', 4'-ジオン) AF169 及び 1-メチルピペリジン-4-スピロー 5'-(3'-エチルオキサゾリジン-2', 4'-ジオン) AF180

a) 4-ヒドロキシ-4-シアノ-1-メチルピペリジン

水 (200cc) 中の新たに蒸留した 1-メチルピペリジン-4-オン (81.72g, 0.72モル) に、約 100cc の HCl 37% を添加して pH 3 にした。その反応混合物を氷浴中で冷却し、水 (200cc) 中のシアン化カリウム (49g, 0.75モル) を、約 10°C の内部温度を保つために充分な速度で添加した。その反応を添加後更に 2 時間攪拌し、次いで濾過した。水洗し、乾燥させた後、生成物 4-ヒドロキシ-4-シアノ-1-メチルピペリジンを白色の粉末として収率 67 % で得た (67g, 0.48モル、 $mp.$ 135°C)。

^1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.9 (m, 2H), 2.2 (m, 2H), 2.4 (s, 3H), 2.45 (m, 2H), 2.75 (m, 2H), 2-3.5 (bm, 1H, OH) ppm

b) 4-ヒドロキシ-4-カルバモイル-1-メチルピペリジン

化合物 4-ヒドロキシ-4-シアノ-1-メチルピペリジン (36.4g, 0.26モル) を外部冷却しながら硫酸 (80ml) に徐々に添加した。その混合物を 41 時間にわたって室温に保ち、次いで粉碎した氷 (30g) に添加した。得られた溶液を炭酸バリウム (376g) で pH 8-9 に中和し、水の添加後に、得られた硫酸バリウムを分離し、メタノールで洗浄した。濾液を減圧で濃縮した。生成物 4-ヒドロキシ-4-カルバモイル-1-メチルピペリジン (28.16g, 0.1

10

20

30

40

50

8モル、収率69%)がエタノールによる白色の固体(mp.180°C)として結晶化した。

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD) δ 1.51 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.4 (m, 2H), 2.7 (m, 2H) ppm

質量スペクトル m/e 158 (M^+)

c) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'- (オキサゾリジン-2', 4'-ジオン) AF169

乾燥エタノール(60ml)中のカリウムメトキシド(9.8g、0.14モル)の溶液に、エタノール(300ml)中の4-ヒドロキシ-4-カルボキサミド-N-メチルピペリジン(27.5g、0.17モル)及び炭酸ジエチル(26.23g、0.22モル)の溶液を添加した。得られた混合物を60時間にわたって80°Cで還流させた。その反応混合物を蒸発させ、残渣を冷水(70ml)とともに振とうし、HCl(2N)でpH7に中和した。その溶液を半分の容積に濃縮し、白色の沈殿を濾過した。エタノールですり碎いて70%の収率で1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'- (オキサゾリジン-2', 4'-ジオン) AF169 (22g、0.12モル)を白色の固体(mp.285°C (分解))として得た。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O 、pH7) 2.07 (m, 2H), 2.27 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 3.30 (m, 2H),

3.60 (m, 2H) ppm

質量スペクトル (その化合物のpHは7である) m/e 185 及び184 ($\text{M}^+ +1$ 及び $\text{M}^+ +$)

d) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'- (3'-エチルオキサゾリジン-2', 4'-ジオン) AF180

乾燥DMF (100cc) 中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'- (オキサゾリジン-2', 4'-ジオン) (2.8g、0.015モル)の溶液に、水素化カリウム(油中65%)を、反応が温度上昇を停止するまで徐々に添加した(4.9gを使用した)。白色の懸濁液を1時間還流させ、冷却した。臭化エチル(4.6g、0.042モル)を滴下して添加した。反応が自然に温度上昇した。その混合物が室温に冷却した後、それを2時間還流させた。冷却後、白色の固体を分離し、エタノールで洗浄した。溶媒の蒸発後、クロロホルム及びメタノールを溶離剤として使用して粗生成物をシリカゲルカラムでクロマトグラフィーにかけた。生成物を含む画分を蒸発させた。生成物を単離し、遊離塩基形態で同定した。実用的な取扱いのために、それをHCl/エーテル/エタノール溶液で塩酸塩に変換し、これからそれは1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'- (3'-エチルオキサゾリジン-2', 4'-ジオン) 塩化水素塩として沈殿した(0.746g、0.003モル、収率21%) (mp.305°C (分解))。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 、遊離塩基) δ 1.2(t, 3H), 1.75 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 2.3 (s,

3H), 2.32 (m, 2H), 2.80 (m, 2H), 3.55 (q, 2H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 、遊離塩基) δ 13 ($\text{C}_\text{H}_3\text{CH}_2$), 32 ($\text{C}_\text{H}_2\text{CH}_3$), 35 ($\text{CH}_2-\text{C}_\text{H}_2-\text{C}$,

46 ($\text{N}-\text{C}_\text{H}_3$), 50 ($\text{C}_\text{H}_2-\text{N}-\text{CH}_3$), 85 ($\text{C}_\text{スピロ}$), 155 ($\text{O}-\text{C}=\text{O}$), 175 ($\text{C}-\text{C}=\text{O}$)

ppm

質量スペクトル (遊離塩基) m/e 212 (M^+)

実施例21: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'- (2'-メチル-2'-チアゾリン) AF151(S)

a) キシレン(70ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'- (2'-メチル-2'-オキサゾリン) AF151 (1.85g、11.01ミリモル)、五硫化リン(1.83g、8.23ミリモル)及びp-トルエンスルホン酸一水和物(4.20g、22.08ミリモル)の混合物を磁気攪拌し、3時間還流させた。溶媒を共沸蒸留し、残った残渣をNaOHの濃厚な水溶液で塩基性にし、次い

10

20

30

40

50

でジクロロメタンで抽出した。有機抽出液を乾燥させ (Na_2SO_4)、溶媒を除去して褐色の油 (2.10g) を得、シリカゲルカラム (キーゼルゲル S、0.032-0.063mm、リーデル・デハエン、70g) でクロマトグラフィーにかけた。10M のアンモニアを含むクロロホルム (97%) - メタノール (3%) の溶媒混合物で溶離して、純粋な AF151(S) (0.90g) を含む画分を得た。

b) 4-アセトアミド-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン (8.00g、0.043モル) 及び五硫化リン (6.10g、0.0275モル) の緊密な混合物をキシレン (120ml) 中で懸濁させ、磁気攪拌し、6時間還流させた。その反応混合物を室温で一夜放置し、得られた沈殿を濾過し、石油エーテル (40-60°C) で洗浄して灰色の粉末 (13.0g) を得た。得られた粉末を冷却し、NaOH の濃厚な水溶液で塩基性にし、次いでジクロロメタンで数回抽出した。合わせた抽出液を乾燥させ (Na_2SO_4) 蒸発させた。残った残渣をヘキサンで抽出し、ヘキサンを除去して赤色の油 (3.53g) を得、これを蒸留して無色の油 b.p. 60-68°C (0.4mm) (2.40g) を得、これをシリカゲル 60 (メルク、100g) のカラムでクロマトグラフィーにかけた。CHCl₃ : Et₂O : MeOH : NH₄OH (70:25:4:1) の溶媒混合物で溶離して純粋な AF151(S) (1.71g) を得た。

¹H-NMR (CDCl₃) 1.65-1.78 (m, 2H); 1.90-2.04 (m, 2H); 2.19 (s, CH₃C=N-);

2.32 (s, CH₃N-); 2.30-2.43 (m, 2H); 2.60-2.75 (m, 2H); 3.11 (s, CH₂S-) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃) 19.9 (CH₃C=N-); 35.8 (C₃&C₅); 43.1 (-CH₂S-);

45.6 (CH₃N-); 52.1 (C₂&C₆); 78.5 (C₄); 161.0 (S-C=N-) ppm.

MS m/e 184 (M⁺, 100%); 110 (26%); 109 (56%); 72 (93%); 71 (24%).

実施例 22: 1-メチルピペリジン-4-スピロ 4' (5)' - (2'-メチルーイミダゾリン) AF190

a) 4-アミノ-4-シアノ-1-メチルピペリジン

1-メチルピペリジン-4-オン (33.0g、0.292モル)、シアン化カリウム (19.5g、0.299モル) 及び塩化アンモニウム (16.5g、0.308モル) をメタノール (225ml) 及び水 (150ml) 中で懸濁させ、その混合物を室温で12日間攪拌した。得られた沈殿を濾過し、濾液を減圧で蒸発させた。残渣中に残存し得る水を除去するために、エタノールをそれに添加し、次いで共沸蒸留した。エタノールを再度残渣に添加し、これは無機固体を一部溶解し、無機固体を残し、これを濾過し、エタノールで洗浄した。濾液及び洗浄液を合わせ、溶媒を除去して粘稠な油 (35.5g) を残し、これは TLC (クロロホルム : メタノール : 水酸化アンモニウム水溶液 17:2:1-シリカゲル) で二つのスポットを示した。それをエーテルで結晶化させて固体を得、これを同溶媒で更に結晶化させて 4-シアノ-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジンを結晶 m.p. 130-133°C として得た。母液は濃縮されると結晶性固体の第二クロップを析出し、これは主として 4-アミノ-4-シアノ-1-メチルピペリジンであった。

¹H NMR (CDCl₃) 1.72-1.88 (m, 2H); 2.01 (m, 2H); 2.25-2.37

(m, 2H); 2.32 (s, CH₃N-); 2.74-2.83 (m, 2H) ppm

MS m/e 139 (M⁺) ; 112 (M⁺ - HCN); 71; 70

4-アミノ-4-シアノ-1-メチルピペリジンを無水酢酸及びピリジンでアセチル化して 4-アセトアミド-4-シアノ-1-メチルピペリジンを得、これを石油エーテル-ジクロロメタンで結晶化させた。m.p. 143-144°C

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1.78-1.96 (m, 2H); 2.04 (s, $\text{CH}_3\text{CON-}$); 2.32 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.35-2.50 (m, 4H); 2.66-2.84 (m, 2H); 6.22 (s, $-\text{NHCO-}$) ppm

MS m/e 181(M^+) ; 122 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CONH}_2$)

IR(CHCl_3) 3438, 3303, 2940, 2804; 2242 ($\text{C}\equiv\text{N}$); 1670 (アミド) cm^{-1}

4-アミノ-4-シアノ-1-メチルピペリジンを酸加水分解 (H_2SO_4) して4-アミノ-4-カルバモイル-1-メチルピペリジンを得、これを酢酸エチル-ジクロロメタンで結晶化させた。m.p.145-147°C。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1.44 (m, 2H); 1.68 (br- NH_2); 2.12-2.34 (m, 4H); 2.30 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.70-2.82 (m, 2H); 5.47 (br- NH-); 7.39 (br, $-\text{NH-}$) ppm

MS m/e 158($\text{M}^+ + 1$); 157 (M^+); 140($\text{M}^+ - \text{NH}_3$, 100 %); 113 ($\text{M}^+ - \text{CONH}_2$), 96; 71

b) 4-アミノ-4-アミノメチル-1-メチルピペリジン

乾燥ジメトキシエタン中の4-アミノ-4-シアノ-1-メチルピペリジン(3.60g)の溶液を、その温度が50°C以上に上昇しないような速度で、窒素雰囲気下で乾燥ジメトキシエタン中の LiAlH_4 (3.0g)の機械攪拌した懸濁液に添加した。添加の終了時に、その混合物を還流下に6時間加熱した。低温(0°C)の攪拌反応混合物に、窒素雰囲気下で、4Mの NaOH (10ml)、水(3ml)、飽和 NaOH 溶液(10ml)そして水(5ml)を添加することにより過剰の LiAlH_4 を分解した。有機溶媒を蒸発させ、水相を熱THFで数回抽出した。分離した有機溶媒及びTHF抽出液を合わせ、乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を除去して標題化合物を粘稠な油(3.17g)として得、これを蒸留により精製した。b.p.60-62°C(0.8mm)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1.43 (m, 2H); 1.58 (m, 2H); 2.15 (br- NH_2) 2.30 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.30 (m, 2H); 2.56 (s, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$); 2.56 (m, 2H) ppm

得られたジアミンをアセチル化してジアセトアミドを固体m.p.175-176°C (アセトニトリルから)として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.74 (m, 2H); 1.96-2.10 (m, 2H); 1.99 (s, $\text{CH}_3\text{CON-}$); 2.02 ($\text{CH}_3\text{CON-}$); 2.21 (m, 2H); 2.28 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.51-2.61 (m, 2H); 3.50 (d, $J=5.7$ Hz, $-\text{CH}_2\text{NH-}$); 5.62 (s, $-\text{NHCO-}$); 7.18 (t, $-\text{CH}_2\text{NHCO-}$) ppm.

MS m/e 227 (M^+); 184 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CO}$); 169 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CONH}$); 168 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CONH}_2$); 167; 155; 112; 109 (100%); 96; 71; 70.

また、触媒としてラネーニッケルを使用して4-アミノ-4-シアノ-1-メチルピペリジンを、酢酸ナトリウムを含む高温(60°C)の無水酢酸中で水素(50psi)で水素化することによりジアセトアミドを得た。

c) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5)'-(2'-メチル-イミダゾリン) AF190

ジクロロメタン(5ml)中のb) 4-アミノ-4-アミノメチル-1-メチルピペリジン(0.248g、1.734ミリモル)の溶液に、エチルアセトイミデート塩酸塩(0.282g、2.282ミリモル)を添加し、その混合物を室温で3時間攪拌した。溶媒を減圧で除去し、残渣を濃 Na_2CO_3 水溶液で塩基性にし、次いでジクロロメタンで抽出した。抽出液を乾燥させ(Na_2CO_3)、溶媒を除去して無色の油(191mg)を得、これをシリカゲルのカラムでクロマトグラフィーに

10

20

30

40

50

かけた。メタノール含量を10%から99%まで上昇させながら、メタノール：クロロホルム：1%の水酸化アンモニウム水溶液の溶媒混合物で溶離して純粋な生成物AF190を油として得、これは冷却後に固化した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.57-1.84 (m, 4H); 1.93 (s, $\text{CH}_3\text{C}=\text{N}-$) 2.17-2.33 (m, 2H); 2.29 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.56 (m, 2H); 3.37 (s, $-\text{CH}_2-\text{N}-$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 15.2 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{N}-$); 37.3 (C_3 & C_5); 46.1 ($\text{CH}_3\text{N}-$); 52.5 (C_2 & C_6); 59.7 (C_4); 63.7 ($-\text{CH}_2\text{N}-$); 162.1 ($-\text{C}=\text{N}-$) ppm.

MS m/e 167 (M^+); 152 ($\text{M}-\text{CH}_3$); 138; 109(100%); 97; 96; 72; 71; 70.

10

IR (ニート) 3260; 2933; 2852; 1620 ($-\text{C}=\text{N}-$) cm^{-1}

実施例23: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5')-[2'-メチル-4'-H(5'-H)-イミダゾール-5'-(4')-オン] AF230

4-アセトアミド-4-シアノ-1-メチルピペリジン(1.03g)を濃硫酸(4.0ml)に溶解し、室温で4日間放置した。その反応混合物を冷水(10ml)に添加し、次いで反応が明白ではなくなるまで炭酸バリウムを添加した。沈殿した硫酸バリウムを濾別し、水洗し、エタノールで洗浄した。合わせた濾液及び洗浄液のpHを濃NaOH溶液で13に調節し、溶媒を減圧で除去した。残渣をエタノールで抽出し、抽出液を蒸発させ、残渣をジクロロメタンで抽出し、抽出液を蒸発させて油(0.75g)を得、これをシリカゲル60(メルク0.040-0.063mm、32g)のカラムでクロマトグラフィーにかけた。1:9のメタノール(15%w/wの NH_3 を含む)-クロロホルムで溶離して純粋なAF230(0.185g)を得、ジクロロメタン-エーテルで結晶化させた。m.p.231-234°C.

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.49(m, 2H), 1.97(m, 2H), 2.20(s, CH_3-),

2.34(s, CH_3-), 2.48(m, 2H), 2.80(m, 2H), 9.83(br, $-\text{NH}-$) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) δ 1.55(m, 2H), 1.88(m, 2H), 2.22(s, CH_3-), 2.29(s, CH_3-),

2.33(m, 2H), 2.90(m, 2H) ppm.

30

MS m/e 181 (M^+); 111 (M^+-70); 104; 94; 77; 71(100%); 70.

UV (EtOH) λ_{max} 224nm(ϵ 4650)、248nm(ϵ 2450)

IR (KBr) 3140; 2795; 2540; 1665; 1540 cm^{-1}

また、4-アセトアミド-4-シアノ-1-メチルピペリジンの環化を塩基性媒体中で行うことができた。こうして、1Nのエタノール性KOH又は1NのNaOH水溶液中のこの化合物の還流がまたAF230を生じた。後の場合、4-アセトアミド-4-カルバモイル-1-メチルピペリジンが得られ、ジクロロメタン-メタノールで結晶化させた。m.p.207-208°C(分解)。

40

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 2.05($\text{CH}_3\text{CO}-$), 2.08-2.30 (m, 6H); 2.28 ($\text{CH}_3\text{N}-$), 2.63 (m, CH_2-), 5.40(brs, $-\text{NH}-$), 5.56 (brs, $-\text{NH}-$), 7.04 (brs, $-\text{NH}-$) ppm

MS m/e 199 (M^+); 181 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$); 155 (M^+-CONH_2); 140 ($\text{M}^+-\text{CH}_2\text{CONH}_2$);

122; 112; 111; 96; 71 (100%); 70

AF230は、標題により示されるように、互変異性体の形態で存在し得る。

実施例24: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-オキサゾリジン-4'-オン)、AF238

(a) 4-アセトアミドカルボニル-4-アセトキシ-1-メチルピペリジン

50

三口フラスコ中の4-シアノ-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(2.55g、18ミリモル)及び無水酢酸(11ml、108ミリモル)の混合物に、過塩素酸(HClO₄)の60%溶液5.1g(2当量)を滴下して添加した。発熱反応が起こったが、温度が20分後に低下した。その溶液を2時間攪拌し、室温で一夜放置した。白色の沈殿を濾別し、エーテルそして石油エーテルで洗浄した。4-アセトアミドカルボニル-4-アセトキシ-1-メチルピペリジンの過塩素酸塩をほぼ定量的な収率で得た。

¹H NMR [過塩素酸塩] (D₂O) δ 2.2-2.4(m, 2H), 2.26(s, 3H), 2.27(s, 3H), 2.5

(m, 2H), 2.95(s, 3H), 3.32(m, 2H), 3.58(m, H) ppm

¹H NMR [遊離塩基] (CDCl₃) δ 2.05-2.27(m, 4H), 2.13(s, 3H), 2.28(s, 3H),

10

2.67-2.75(m, 4H), 8.4(bs, 1H, NH) ppm

MS m/e 242 (M⁺) ; 182, 167, 139, 123(100%), 114, 96, 82, 70, 60

UV (H₂O) λ_{max} 206nm(ε 20400)

IR (KBr) 3380, 3020, 1740, 1670(sh), 1550, 1400, 1380, 1250cm⁻¹

(b) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン-4'-オン)、AF238

キシレン中の4-アセトアミドカルボニル-4-アセトキシ-1-メチルピペリジンの過塩素酸塩(70mg、0.25ミリモル)を172°C(シリコーン油浴温度)に加熱し、その後白色の懸濁した固体が黄色に変化した。酢酸の強い臭気を反応の過程で認めた。TLCは1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン-4'-オン)、AF238への完全な変換を示し、これを過塩素酸塩として特性決定した。

20

¹H NMR (D₂O) δ 2.2(m, 3H), 2.25(m, 2H), 2.45(m, 2H), 2.8(s, 3H), 3.25(m, 2H),

3.5(m, 2H) ppm

MS m/e 182 (M⁺) ; 140, 123, 112, 104, 96, 77, 70(100%)

実施例25: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(1'-メチル-3'-エチルヒダントイン)、AF161

30

DMF5ml中のAF160(100mg、0.47ミリモル)及びKH(100mg、鉍油中35%w/w)の混合物に、p-トルエンスルホン酸メチル(0.4g、1ミリモル)を添加し、その溶液を室温で10分間攪拌し、エーテル中のシュウ酸で酸性にした。沈殿を水に溶解し、塩基性にし、石油エーテルで抽出し、抽出液を濃縮し、90:10:1のクロロホルム/メタノール/アンモニア水を使用してシリカでクロマトグラフィーにかけた。純粋な画分を合わせ、蒸発させ、残渣をエーテルに溶解し、HCl塩として沈殿させた(85mg、収率72%)。

¹H-NMR (遊離塩基, CDCl₃) δ 1.2(t, J=6Hz, 3H), 1.6-1.65(m, 2H), 2.0-

2.1(m, 2H), 2.39(s, 3H), 2.75-2.85(m, 4H), 2.86(s, 3H),

40

3.55(q, J=6Hz, 2H) ppm.

¹H-NMR (HCl 塩, D₂O) δ 1.2(t, J=6Hz, 3H), 2.1-2.15(m, 2H), 2.3-

2.4(m, 2H), 2.95(s, 3H), 3.0(s, 3H), 3.5(q, J=6Hz, 2H) ppm.

MS m/e 225 (M⁺ 18%); 71(100%).

実施例26: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(1', 3'-ジエチルヒダントイン) AF162

DMF3ml中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン(110mg、0.6ミリモ

50

ル)及びKH(0.2g、鉱油中35%w/w)の混合物に、臭化エチル(0.5g、4.6ミリモル)を添加し、その溶液を室温で30分間攪拌し、エーテルで希釈し、過剰のシュウ酸で酸性にした。沈殿を水に溶解し、塩基性にし、クロロホルムで数回抽出し、抽出液を合わせ、濃縮し、クロロホルム及び90:10:1のクロロホルム/メタノール/アンモニア水の勾配を使用してシリカゲルでクロマトグラフィーにかけて純粋なAF162(60mg、収率42%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (遊離塩基, CDCl_3) δ 1.2(t, J=6Hz, 6H), 1.65-1.7(m, 2H),

1.96-2.15(m, 2H), 2.4(s, 3H), 2.5-2.6(m, 4H), 3.3(q, J=6Hz, 2H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (HCl 塩, D_2O) δ 1.15(t, J=6Hz, 6H), 2.05-2.15(m, 2H), 2.25-

2.35(m, 2H), 2.9(s, 3H), 3.3(q, J=6Hz, 3H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (HCl 塩, D_2O) δ 14.0; 28.6; 35.0; 44.0; 52.7; 59.2;

157.0; 177.0 ppm.

MS m/e 239 (M^+ 75%); 71(100%).

実施例27: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-メトキシ-4'-H-イミダゾール) AF191

1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2', 5'-ジメチルチオ-4'-H-イミダゾール) AF177 (0.700g、2.881ミリモル) 及びナトリウムメトキシド(0.360g、6.667ミリモル)をメタノール(15ml)中で3.5時間にわたって還流下に加熱した。ガスの発生を観察した。溶媒を反応混合物から除去し、残渣をジクロロメタンで抽出した。有機抽出液を蒸発させて固体残渣(0.613g)を得、これを熱石油エーテルで抽出した。溶媒を抽出液から蒸発させて残渣(0.263g)を残し、石油エーテルで結晶化させて純粋なAF191を得た。m.p. 84-85°C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.40(m, 2H); 1.97 (m, 2H); 2.36(s, $\text{CH}_3\text{N-}$);

2.52(s, $\text{CH}_3\text{S-}$); 2.53(m, 2H); 2.70-2.80(m, 2H); 4.10(s, $\text{CH}_3\text{O-}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 13.6($\text{CH}_3\text{S-}$); 32.3(C_3); 46.2($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.9(C_2);

57.9($\text{CH}_3\text{O-}$); 74.2(C_4); 171.6($-\text{N}=\text{C}-\text{SCH}_3$); 196.0($-\text{N}=\text{C}-\text{OCH}_3$) ppm.

MS m/e 228 $\text{M}^+ + 1$).

実施例28: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-アミノ-4'-H-イミダゾール) AF192

アンモニアをメタノールに溶解(15%w/w)することにより調製した試薬(15ml)中のAF177(0.411g)の溶液を室温で3日間攪拌した。その反応混合物を蒸発させ、試薬の新しい15ml部分を残渣に添加し、その反応をもう2回繰り返した。最後にその反応混合物を減圧で蒸発させ、固体残渣をアセトンで洗浄して白色の固体(0.266g)であるAF192を得た。m.p. >240°C(分解)(エタノールから)。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) 1.48(m, 2H); 1.89 (m, 2H); 2.29(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.46 (m, 2H); 2.48

(s, $\text{CH}_3\text{S-}$); 2.86(m, 2H) ppm

MS m/e 212 M^+); 142 ($\text{M}^+ - 70$); 70

実施例29: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-アミノメチル-4'-H-イミダゾール) AF193及び1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2', 5'-ビス(アミノメチル)-4'-H-イミダゾール) AF194

メチルアミン水溶液(5.0ml、35%)中のAF177(0.338g)の溶液を80°Cで2時間加熱した。水及び過剰の試薬を減圧で蒸発により除去し、残渣をシリカゲル(メルク60、0.040-0.06mm

10

20

30

40

50

）のカラムでクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム／メタノール／アンモニア水の80:20:1の溶媒混合物で溶離してAF193を白色の固体(0.061g)として得た。アセトニトリルで結晶化させてm.p.193-194°Cを得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1.44(m, 2H); 1.85 (m, 2H); 2.38(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.52 (s, $\text{CH}_3\text{S-}$);

2.66(m, 2H); 2.81(m, 2H); 3.06(s, $\text{CH}_3\text{NH-}$); 6.47(-NH-) ppm

MS m/e 226 M^+); 179 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{S}$); 170 ($\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{NHCN}$); 169; 156($\text{M}^+ - 70$)

クロロホルム／メタノール／アンモニア水の50:50:1の溶媒混合物で溶離してAF194を白色の固体(0.130g)として得た。アセトニトリルで結晶化させてm.p.113-114°Cを得た。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) 1.44(m, 2H); 1.81 (m, 2H); 2.37(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.57(m, 2H);

2.80(m, 2H); 2.95(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.96(m, $\text{CH}_3\text{NH-}$) ppm

MS m/e 209 M^+); 152; 139($\text{M}^+ - 70$)

AF177 1モルに対して2モルのメチルアミンを使用した以外は上記反応を繰り返した時、得られた主生成物はAF193であり、わずかに痕跡量のAF194を含んでいた。

実施例30: 1-メチルピペリジーン-4-スピロ-4'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン) AF150

(a) 1-メチル-4-ニトロメチルピペリジーン-4-オール塩酸塩

この出発物質を、A.D.Cale (米国特許第4,746,655号、1988)の方法のわずかな改良を使用して調製した。N-メチルピペリジノン(142g、1.28モル)及びニトロメタン(78.1g、1.28モル)の混合物を、内部温度を5-8°Cに保って、エタノール中20%のナトリウムエトキシド(1.28モル)の良く攪拌した溶液に添加した。白色の固体が沈殿し、その攪拌を20分間続け、室温で更に40分間続ける。得られた溶液をイソプロピルアルコール中の7.2NのHCl500mlで酸性にした。塩酸塩及び無機塩を CH_3OH (3x200ml)で抽出し、溶媒を真空で除去して標題化合物を得た。m.p.180-182°C (非吸湿性)。

m/z: 174 (遊離塩基の M^+ 、100%), 157 (M-OH , 20%), 127 (M-H-NO_2 , 25%), 113 ($\text{M-NO}_2 - \text{CH}_3$, 40%)

(b) 4-アミノメチル-1-メチルピペリジーン-4-オール塩酸塩

パラジウム／活性炭(10%、4g)をメタノール(1500ml)中の1-メチル-4-ニトロメチルピペリジーン-4-オール(133.5g)の溶液に滴下して添加した。その化合物を室温で48時間にわたって55psiの圧力でパール中で水素化した。その溶液を慎重に濾過し、活性炭で処理し、溶媒を除去し、残渣をエタノール(200ml)ですり碎いて標題化合物を得た。m.p.177-179°C。

m/z: 144 (遊離塩基の M^+ 、15%), 127 (M-OH , 25%), 114 ($\text{M-CH}_2\text{NH}_2$, 100%)

(c) 1-メチルピペリジーン-4-スピロ-4'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン) AF150

メタノール(50ml)中のKOH (1.43g、86%)の溶液を無水メタノール(50ml)中の4-アミノメチル-1-メチルピペリジーン-4-オール塩酸塩(3.61g、0.02モル)の溶液に添加した。10分間攪拌した後、無水メタノール20ml中のエチルアセトイミデート塩酸塩(2.7g)の溶液を添加し、攪拌を室温で30分間続けた。溶媒を除去し、残留固体を水50ml中の Na_2CO_3 2.8gの溶液に溶解し、これを濃縮し、真空乾燥させた。白色の固体をクロロホルム2x50mlで抽出し、活性炭で処理し、乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を除去して標題化合物(収率62.5%)、m.p.45°C (40°C/0.05mmHgで昇華)を得、これは CH_3OH 中2%の NH_3 で溶離してシリカTLCで単一スポットを生じた。Rf=0.4。

m/z: 168 (遊離塩基の M^+ 、7.5eVで100%)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 3.56 (2H, q, $J=1.5$ Hz), 2.53 (4H, m), 2.34 (3

H, s), 1.96 (3H, t, $J=1.5$ Hz), 1.82 (4H, m)

この実施例で使用したKOHを当量のNaOH又はEt₃Nで置換して、同様の結果を得た。

(d) AF150-ジベンゾイル-D-酒石酸塩

トルエン500ml中のジベンゾイル-D-酒石酸(5.4g、15ミリモル)の熱溶液を乾燥トルエン200mlに溶解したAF150(5.5g、32ミリモル)に攪拌しながら添加した。沈殿を沈降させ、上澄み液をデカントして除いた。残留固体を乾燥トルエン3x100mlで洗浄し、減圧で乾燥させて白色のわずかに吸湿性の固体8.4g(収率80%)を得た。

TLCクロロホルム/アルミナ(メルクアート5581) R_f=0.4

m/z: 168 (M⁺)

¹H NMR (300 MHz, 1.5mgのNa₂CO₃/0.5mlのD₂Oを含むD₂O): δ 1.95 (s, 6H, CH₃-C), 2.35 (s, 6H, CH₃-N), 3.5 (s, 4H, CH₂), 5.7 (s, 2H), 7.5-8.2 (m, 10H,

芳香族水素)

実施例31: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-エチル-2'-オキサゾリン)(AF150の2'-エチル類縁体)

エチルアセトイミデート塩酸塩に代えて、当量のエチルプロピオンイミデート塩酸塩を使用して、実施例31の化合物と同様にしてこの化合物を調製した。生成物を液体として得た。b.p. 53°C/0.03mmHg、収率60.5%。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3.52 (2H, t, J=1.5 Hz), 2.47 (4H, m), 2.30 (3H, s), 2.26 [2H, 四重線 (J=7 Hz), 三重線 (J=1.5 Hz)], 1.86 (2H, m), 1.72 (2H, m), 1.18 (3H, t)

実施例32: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン) AF151

(a) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン

エタノール(150ml)中の1-メチルピペリジン-4-オン(36.44g、0.322モル)の溶液、水(400ml)中の炭酸アンモニウム(93.0g、0.968モル)の溶液及び水(82ml)中のシアン化カリウム(25.8g、0.396モル)の溶液の混合物を60°Cで2.5時間加熱し、次いで室温で一夜放置し、その時1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントインが分離した。それを濾別し、少量の冷水、エタノールそしてエーテルで洗浄して結晶性粉末(27.0g)を得た。濾液及び洗浄液を濃縮して第二クロップ(20.0g)を得た。生成物をメタノールで結晶化させた。m.p. 265-276°C(分解)。

IR (KBr) 3170 (NH); 1700 (C=O)cm⁻¹

m/z: 183 (M⁺, 38%); 71 (100%)

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 1.8 (2H), 2.06 (六重線, 2H), 2.49 (s, -CH₃), 2.58 (t, 2H), 3.14 (t, 1H), 3.20 (t, 1H)

(b) 4-アミノ-1-メチルピペリジン-4-カルボン酸

水(150ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-ヒダントイン(9.75g、0.0533モル)及び水酸化バリウム8水和物(28.8g、0.00913モル)をオートクレーブ中で3時間にわたって160°Cで加熱した。4つのこのようなバッチの内容物を合わせ、沈殿した炭酸バリウムを濾別した。濾液を固体二酸化炭素で中和し、沈殿を濾過により除去した。濾液を小さい容積まで濃縮して4-アミノ-1-メチルピペリジン-4-カルボン酸(32.0g、収率95%)を得た。m.p. 275-280°C(分解)。

IR (KBr) 3300, 1655, 1580 cm^{-1}

m/z 158 (M^+ , 90%); 141 (98%, M-OH); 113 (12%, M- CO_2H); 96 (100%);

71 (52%)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N} + \text{D}_2\text{O}$): δ 1.2 (m, 2H), 1.48 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$),

1.7 (m, 2H), 1.9 (m, 2H), 2.0 (m, 2H).

(c) 4-アミノ-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン

乾燥テトラヒドロフラン (THF) (600ml) 中の水素化リチウムアルミニウム粉末 (15.62g, 0.4 10
12モル) を還流下で15分間加熱し、その後乾燥粉末の形態の4-アミノ-1-メチルピペ
リジン-4-カルボン酸 (31.0g, 0.196モル) を窒素雰囲気下で効率良く攪拌しながら滴下
して添加した。添加を完結した後、反応混合物を還流下で4時間加熱し、効率良く攪拌し
ながら窒素雰囲気下で0℃に冷却し、水 (20ml)、15%のNaOH水溶液 (20ml) をして再度水 (1
0ml) の慎重な徐々の添加により処理した。反応混合物を濾過し、沈殿を沸騰THF (3x150ml
) で抽出した。THF濾液及び抽出液を合わせ、溶媒を25mmで除去して黄色の粘稠な油 (28.0
g、収率98.9%) を得た。

IR (ニート) 3320 (NH), 3200 (br. OH), 1587 (NH_2), 1468, 1448 cm^{-1}

m/z 144 (M^+ , 15%); 127 (M-OH); 113 (M- CO_2H); 96 (100%); 70 (41%).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 1.41 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 2.24 (s,

$\text{CH}_3\text{-N}$), 2.29 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 2.50 (br., $-\text{NH}_2$), 3.29 (s, -

CH_2OH).

(d) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-オキサゾリン) A
F151

4-アミノ-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン (1.80g) と酢酸 (20ml) 及びキ
シレン (20ml) の混合物を28時間にわたって共沸蒸留した。残っている酢酸及びキシレンを
減圧 (25mmHg) で除去して残留粘稠油を残し、これを K_2CO_3 の水溶液で pH11 に塩基性にした 30
。クロロホルムで抽出し、抽出液を蒸発させて少量の残留褐色油 (0.27g) を得た。クロロ
ホルム抽出後に残っている水溶液を蒸発させて水を除去し、残留固体をクロロホルムで抽
出し、抽出液を乾燥させ (Na_2SO_4)、蒸発させて非常に吸湿性の固体 (3.0g) を残渣として
得た。TLCは、これが主として一つのスポットを与えることを示し、これは出発アミノア
ルコールよりも極性であった。150-160℃で溶解した吸湿性の固体の一部を真空下で加熱
し、ほぼ直ちに45℃/0.15mmHgで無色の油として蒸留し始めた。この油は、冷蔵庫中で保
存すると、室温で融解する結晶性針状体を形成した。蒸留物は標題化合物の酢酸塩であっ
た。

IR (ニート) 1664 ($\text{C}=\text{N}$); 1565 & 1398 (CO_2^{--}); 1256 (C-O) cm^{-1}

m/z 168(遊離塩基の M^+); 109; 70

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.77 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), 1.98 (s, CH_3-), 2.0 (s, CH_3-), 2.49 (s, $\text{CH}_3\text{-N-}$), 2.91 (m, 4H), 3.95 (s, $-\text{CH}_2\text{O-}$), 9.30 (br. s, $-\text{CO}_2\text{H}$)

^{13}C -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 14.0 (CH_3CO_2-), 22.9 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{N-}$), 35.6 (C_3 及び C_5), 44.4 (CH_3N^+), 51.1 (C_2 及び C_6), 67.0 (C_4), 77.4 (C_5), 164.3 ($\text{C}=\text{N}$), 176.7 ($-\text{CO}_2-$)

遊離塩基の ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.64 (m, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.98 (s, CH_3-), 2.26 (m, 2H), 2.30 (s, CH_3-), 2.69 (m, 2H), 3.94 (s, $-\text{CH}_2-$)

実施例33: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-2'-オキサゾリン)(AF151の2'-エチル類縁体)

4-アミノ-4-ヒドロキシメチル-1-メチルピペリジン(3.0g)とプロピオン酸(50ml)及びキシレン(90ml)の混合物を5時間にわたって共沸蒸留した。残渣(7ml)を K_2CO_3 の水溶液でpH11-12に塩基性にした。クロロホルムで抽出し、抽出液を蒸発させて非極性化合物の混合物(0.80)を得た。クロロホルム抽出後に残っている水溶液を蒸発させて水を除去し、残留固体をクロロホルムで抽出し、抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、蒸発させて吸湿性の固体(3.6g)を残渣として得た。TLCは、これが主として一つのスポットを与えることを示し、これは出発アミノアルコールよりも極性であった(シリカゲル、溶媒40:58:2のメタノール-クロロホルム-アンモニウム水)。吸湿性の固体の一部(1.5g)を真空下で加熱し、ほぼ直ちに $50^\circ\text{C}/0.1\text{mmHg}$ で粘稠な無色の油として蒸留し始めた。蒸留物は標題化合物のプロピオン酸塩であった。

m/z 182(遊離塩基の M^+ , 14%); 167 (5%), 154 (71%), 125 (9%), 109(100%), 96 (45%), 81 (30%), 74 (57%), 70 (89%), 57 (64%)

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.12 (t, $J=7.5$ Hz, CHCH_2-), 1.17 (t, $J=7.6$ Hz, CH_3CH_2-), 1.75 (m, 2H), 2.00 (m, 2H), 2.29 (q, $J=7.5$, CH_3CH_2-), 2.30 (q, $J=7.6$, CH_3CH_2-), 2.56 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$), 3.02 (m, 2 $-\text{CH}_2-$), 3.95 (s, $-\text{CH}_2\text{O-}$), 7.52 (br. $-\text{CO}_2\text{H}$).

CHCl_3 中の上記プロピオン酸塩(700mg)の攪拌溶液に、 CO_2 の発生が停止するまで K_2CO_3 の飽和水溶液を添加した。次いでその混合物を0.5時間攪拌し、相を分離した。水相を CHCl_3 で抽出し、合わせた分離した CHCl_3 相及び抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を蒸発させて標題化合物(遊離塩基)を残留無色油(550mg)として得、これはTLCで単一スポットを示した。

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.17 (t, $J=7.6$ Hz, CH_3CH_2-), 1.61 (m, $-\text{CH}_2-$), 1.86 (m, $-\text{CH}_2-$), 2.18 (m, $-\text{CH}_2-$), 2.29 (q, $J=7.6$, CH_3CH_2-), 2.30 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$), 2.71 (m, $-\text{CH}_2-$), 3.94 (s, $-\text{CH}_2\text{O-}$).

m/z 182(M^+ 25%), 167 (9%), 154 (78%), 125 (17%), 109 (100%), 96 (65%), 81 (54%), 70 (96%), 57 (77%).

10

20

30

40

50

AF150及びAF151の如き化合物への別の経路は適当なアミドの環化脱水に依存する。脱水剤、例えば、 P_2O_5 、硫酸、 BF_3 -エーテラート、 $CaCl_2$ 、及びモレキュラーシーブが上記反応に使用し得る。オキサゾリンに代えて相当するチアゾリンが P_2S_5 を使用する同様の反応により得られる。

実施例34: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-チアゾリン) AF150(S)

(a) 4-アセトアミドメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン

4-アミノメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(0.83g、5.7ミリモル)を $CHCl_3$ 10mlに溶解し、無水酢酸(0.58g、5.7ミリモル)を添加した。その反応混合物は自然に40-50°Cまで温まった。30分後に、溶媒を蒸発させ、粗残渣を、溶離剤として33:67の2%アンモニア水-メタノールを使用してシリカゲルカラム(メルク7734)でクロマトグラフィーにかけた。

m/z 186 (M^+)

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1.60 (多重線, 4H, H3及びH4), 2.01 (一重線, 3H, CH_3 -C), 2.29 (一重線, 3H, CH_3 -N), 2.38 (多重線, 2H, H1), 2.55 (多重線, 2H, H2), 2.98 (多重線, 1H, NH), 3.26 (二重線, 2H, H5) ppm

^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 1.42 (多重線, 4H, H3及びH4), 1.81 (一重線, 3H, CH_3 -C), 2.08 (一重線, 3H, CH_3 -N), 2.27 (多重線, 2H, H1), 2.46 (多重線, 2H, H2), 3.03 (一重線, 2H, H) ppm

不純物は3.44ppmでピークを生じる。

(b) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-2'-チアゾリン) AF150(S)

4-アセトアミドメチル-4-ヒドロキシ-1-メチルピペリジン(6.5g、35ミリモル)と五硫化リン(10g、22モル)の混合物を30分間にわたって220°Cで加熱し、冷却し、濃HCl水溶液30mlに溶解した。その溶液を冷却した濃NaOH水溶液100mlと混合し、 $CHCl_3$ 2 x 100mlで抽出し、合わせた抽出液を乾燥させ、蒸発させて黒色の油状残渣5gを得、これを75°C/1 mmHgで蒸留により精製して透明な液体1.8gを得た。

m/z 184 (M^+)

^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1.8-2.0 (m, 4H), 2.17 (t, 3H, CH_3 -C), 2.2 (s, 3H, CH_3 -N), 3.9 (q, 2H, CH_2 -チアゾリン環)

実施例35: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオン-3'-エチルヒダントイン) AF181

水(3.0ml)中の4-アミノ-1-メチルピペリジン-4-カルボン酸(1.78g、0.0113モル)及び水酸化ナトリウム(0.47g、0.0118モル)の溶液に、エチルイソチオシアネート(1.00g、0.0111モル)を添加し、その混合物を6.5時間にわたって還流下に加熱した。その反応混合物を濃塩酸でpH1に酸性にし、還流を更に1.5時間続けた。室温で放置すると、反応混合物が固体(0.61g)を析出し、これをメタノールで結晶化させて結晶(83mg)を得た。 $m.p.$ > 260°C。この固体の ^1H NMRスペクトルは、それがAF181の塩酸塩であることを示す。

^1H NMR (D_2O) δ 1.16(t, $j=7.2$ Hz, CH_3CH_2 -); 2.0-2.4(m, 4H); 2.94(s, CH_3N -);

3.20(m, 1H); 3.4-3.74(m, 3H); 3.80(q, $j=7.2$ Hz, CH_3CH_2 -) ppm

上記塩の単離及び結晶化後に残った母液を合わせ、濃水酸化ナトリウム水溶液でpH13に塩基性にし、次いでジクロロメタンで抽出した。抽出液を乾燥させ(Na_2CO_3)、蒸発させて黄

10

20

30

40

50

色の固体を得、これをシリカゲルカラム（メルク60 0.04-0.06mm）でクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム／メタノール／水酸化アンモニウム水溶液96:3:1で溶離して1, 3-ジエチル-2-チオ尿素(0.287g)m.p.76-78°C（エーテルからの結晶）を最初に得、その後8-メチル-3-エチル-1, 3, 8-トリアザスピロ[4. 5]デカン-4-オン-2-チオン(AF181) (135mg)を遊離塩基として得た。それをエーテル-ジクロロメタンで結晶化させて針状体m.p.180°Cを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.24(t, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 1.69(m, 2H); 2.05-2.30(m, 4H); 2.35(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.90(m, 2H); 3.87(q, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-)

ppm.

MS m/e 227(M^+); 71; 70.

実施例36: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオン-3'- α -ブチルヒダントイン) AF184

水(3.0ml)中の4-アミノ-1-メチルピペリジン-4-カルボン酸(1.80g, 0.0114モル)及び α -ブチルイソチオシアネート(1.00g, 0.0087モル)の混合物を5時間にわたって80°Cで加熱した。TLCにより反応が完結されなかったので、エタノール(4.0ml)を添加し、その反応混合物を還流下に更に1時間加熱した。それを濃塩酸でpH1に酸性にし、還流を更に1時間続けた。室温で一夜放置した後、沈殿が分離し、それを濾過して出発アミノ酸(0.60g)を得た。母液を蒸発させ、残渣を濃水酸化ナトリウム水溶液で塩基性にし、次いでジクロロメタンで抽出した。有機抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を除去して結晶性固体(0.101g)エーテル-ジクロロメタンからの針状体、m.p.200-201°Cを得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.63(m, 2H); 1.81 [s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}-$]; 2.00-2.21(m, 4H); 2.33(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.87(m, 2H); 7.82(bs, $-\text{NH}-$) ppm

MS m/e 255 (M^+); 199($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_8$); 96; 71; 70; 57

実施例37: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'- α -ブチルヒダントイン) AF213

標題化合物をAF181と同様の方法で合成した。生成物を1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'- α -ブチルヒダントイン) AF213の塩酸塩として得、メタノールで結晶化させた。m.p.300-303°C（分解）。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 1.55 [s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}-$]; 2.01(m, 2H); 2.22(m, 2H); 2.92(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.97-3.5(m, 2H); 3.62(m, 2H) ppm

得られた遊離塩基をエーテル-ジクロロメタンで結晶化させ、これはm.p.221-223°Cを有していた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.57(m, 2H); 1.60[s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}-$]; 2.01-2.18(m, 4H); 2.31(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.88(m, 2H); 4.77(bs, $-\text{NH}-$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 28.6[$(\text{CH}_3)_3\text{C}-$]; 33.5($\text{C}_6\&\text{C}_{10}$); 46.2($\text{CH}_3\text{N}-$); 51.0($\text{C}_7\&\text{C}_9$); 57.5 及び 58.1[C_5 & $(\text{CH}_3)_3\text{C}-$]; 158.4(C_2); 177.4(C_4) ppm.

MS m/e 239(M^+); 237; 224($\text{M}^+ - \text{CH}_3$); 194; 181; 155; 110; 104; 71; 56; 43.

実施例38: 1-プロパルギルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン) AF196

ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-エチルヒダントイン)(AF160)DES(40.9mg、0.21ミリモル)及び臭化プロパルギル(24.7mg、0.21ミリモル、トルエン中80%w/w)の混合物をメタノール(1.0ml)中で25°Cで24時間攪拌した。メタノールを窒素の流れにより除去し、得られた物質を炭酸ナトリウム水溶液により塩基性にし、クロロホルムで抽出した。クロロホルム抽出液を蒸発させ、残渣を分取シリカゲルプレート(クロロホルム/メタノール/アンモニア水90/10/1)で精製し、過剰のシュウ酸により沈殿させて結晶性固体(29mg)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O 、シュウ酸塩) δ 1.12(t, 3H, $J=6\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 2.1-2.35(m, 6H);

3.12(t, 1H, $J=3.5\text{Hz}$); 3.5(q, $J=6\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 3.7-3.85(m, 2H); 4.12(d, $J=$

3.5Hz) ppm

MS m/e 235 (M^+); 196($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_3$); 95; 80; 67; 56

実施例39: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-[3'-(4-ピロリジノ-2-ブチニル)ヒダントイン] AF197

1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-プロパルギルヒダントイン)(AF185)(204mg、0.92ミリモル)、ピロリジン(88mg、1.23ミリモル)、パラホルムアルデヒド(52mg、1.7ミリモル)及び塩化第一銅(4.2mg)の混合物をジオキサン(10ml)中で室温で70時間攪拌した。ジオキサンを窒素の流れにより除去し、得られた物質を炭酸カリウム水溶液により塩基性にし、クロロホルムで抽出した。クロロホルム抽出液を蒸発させ、残渣の50重量%を分取シリカゲルプレート(クロロホルム/メタノール/エーテル/アンモニア水150/20/100/6)で精製し、エーテルで2回結晶化させて結晶性固体(25mg)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 、遊離塩基) δ 1.12(m); 2.1-2.2(m); 2.35(s, 3H); 2.6(m); 2.9-2.95

(m); 3.4(t, 2H, $J=3.5\text{Hz}$); 4.15(t, 2H, $J=3.5\text{Hz}$); 5.9(bs, 1H) ppm

MS m/e 304 (M^+); 234($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_8\text{N}$); 71($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}^+$)

実施例40: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-オキサゾリジン-3'-オン) AF260

トルエン(100ml)中の1-メチル-4-ピペリドン(5.0g、44.2ミリモル)、エチル-(s)-ラクテート(5.75g、48.8ミリモル)、炭酸アンモニウム(6.38g)およびp-トルエンスルホン酸(2.1g)の混合物をステンレス鋼圧力容器中でシールし、107°Cで24時間にわたって攪拌しながら加熱した。トルエンを蒸留により反応混合物から除去し、残渣をシリカゲル(メルク60)のカラムでクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム/メタノール/アンモニア92:7:1の溶媒混合物で溶離して画分(1.01g)を得、これをシリカゲルカラムによるクロマトグラフィーにより更に分離した。クロロホルム/エーテル/メタノール/水酸化アンモニウム54:37:7:2の溶媒混合物で溶離して粗生成物(0.441g)を得、これをエーテル-石油エーテルそしてトルエンで結晶化させて1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-オキサゾリジン-3'-オン)(AF260)を針状体(85mg)として得た。m.p.148-150°C。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.42(d, $j=6.6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}-$); 1.85(m, 4H); 2.31(s,

$\text{CH}_3\text{N}-$); 2.52(m, 4H); 4.40(q, $j=6.6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}-$); 7.64(bs, -NH-)

ppm.

MS m/e 184(M^+); 156, 126, 114, 84; 71; 70; 43(100%).

10

20

30

40

50

実施例41: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF261及び実施例42: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジメチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF266

a)ベンゼン(150ml)中の1-メチル-4-ピペリドン(5.65g、0.050モル)、チオ乳酸(6.37g、0.060モル)及び炭酸アンモニウム(7.20g)の混合物を還流下に16時間加熱し、固体が昇華した時(炭酸アンモニウム)これを反応フラスコの外部で凝縮させた。しばらくしてこの固体を新しい炭酸アンモニウムの追加部分と一緒に反応フラスコに再度添加した(合計6.2g)。最後に、ベンゼンを蒸留により除去し、残渣をエーテルで洗浄してエーテル可溶性物質(0.76g)と不溶性物質(12.9g)を得、これを少量のメタノールに溶解し、メタノール中のアンモニアの溶液で塩基性にした。それを蒸発させ、シリカゲル(メルク60)のカラムでクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム/メタノール/アンモニア89:10:1の溶媒混合物で溶離して画分(0.61g)を得、これを1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジメチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF266として同定した。それは低融点の低湿性固体である。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.53(d, $j=7\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 1.69(m, 2H); 2.16-

2.44(m, 4H); 2.32(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.87(m, 2H); 2.90(s, $\text{CH}_3\text{NCO-}$);

3.79(q, $j=7\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$) ppm. $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 19.7($\text{CH}_3\text{CH-}$);

27.2($\text{CH}_3\text{NCO-}$); 36.0 及び 37.3($\text{C6\&C10}$); 39.7(C2); 45.3($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.8

及び 52.2 ($\text{C7\&C9}$); 68.5(C5); 172.8(C3) ppm.

AF266の塩酸塩を、エーテル中の遊離塩基の溶液をイソプロピルアルコール中の塩酸の溶液で処理して吸湿性固体を得ることにより得、これをイソプロピルアルコールで結晶化させた。m.p.238-240°C (分解)。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O 、HCl 塩) δ 1.48(d, $j=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 2.05(m, 2H); 2.57(m, 2H); 2.89 及び 2.91(2s, CH_3N^+ - 及び $\text{CH}_3\text{NCO-}$); 3.31(m, 2H); 3.61(m, 2H); 4.04(q, $j=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$)

ppm MS m/e 214 (M^+) ; 181; 156; 125; 124; 96; 71; 70; 57(100%); 43

クロロホルム/メタノール/アンモニア85:14:1の溶媒混合物によるカラムの溶離を続けて画分(3.50g)を得、これをエーテル-ジクロロメタンで結晶化させて1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF261を針状体(1.83g)m.p.133-134°Cとして得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.53(d, $j=7\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 1.9-2.20(m, 4H); 2.20-

2.42(m, 2H); 2.30(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.68(m, 2H); 3.85(q, $j=7\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$);

6.90(bs, $-\text{NH-}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 19.9($\text{CH}_3\text{CH-}$); 41.0 及び 41.3($\text{C6\&C10}$); 41.3(C2);

45.7($\text{CH}_3\text{N-}$); 52.5 及び 52.8 ($\text{C7\&C9}$); 63.6(C5); 176.3(C3) ppm

MS m/e 214 (M^+) ; 167, 140($\text{M}^+-\text{CH}_3\text{CHS-}$); 91; 71; 70; 69; 57

AF261の塩酸塩を、エーテル中の遊離塩基の溶液をイソプロピルアルコール中の塩酸の溶液で処理することにより得た。m.p.285-287°C。

$^1\text{H NMR}$ (HCl 塩、 D_2O 中) δ 1.50(d, $j=7.1\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 2.17-2.44(m, 4H);

2.89(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 3.24(m, 2H); 3.59(m, 2H); 4.10(q, $j=7.1\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$) ppm

b)ベンゼン(100ml)中の1-メチル-4-ピペリドン(5.65g、0.050モル)、チオ乳酸(6.37g、0.060モル)及び炭酸アンモニウム(7.20g)の混合物をステンレス鋼圧力容器中でシール

10

20

30

40

50

し、磁気攪拌しながら95℃で一夜加熱した。溶媒を反応混合物から除去し、残渣を少量のメタノールに溶解し、シリカゲル(メルク60、200g)の乾燥カラムに装填した。クロロホルム／メタノール／アンモニア水94:5:1の溶媒混合物で溶離して最初にAF266(0.71g)を得、その後AF261(3.02g)を得た。

c) トルエン(60ml)中の1-メチル-4-ピペリドン(2.50g、22.1ミリモル)、チオ乳酸(2.81g、26.5ミリモル)及びメチルアミン(0.90g、29.0ミリモル)の混合物をステンレス鋼圧力容器中でシールし、攪拌しながら96℃で24時間加熱した。その反応混合物は粘稠な油であり、これから沈殿及びトルエン溶液を分離した。溶液を分離し、溶媒を蒸留により除去した。残渣(1.68g)を減圧で蒸留して純粋な1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2', 4'-ジメチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン)AF266 b.p.100℃(0.3 10 5mmHg)を固体(1.02g)m.p.43-45℃として得た。

実施例43: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF267及び実施例44: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-4-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF272

標題化合物AF267を、2-メルカプトプロピオン酸(チオ乳酸)に代えて2-メルカプト酪酸を使用して、AF261の調製につき記載されたようにして調製した。それをアセトンで結晶化させた。m.p.140-141℃。

¹H-NMR (CDCl₃) δ 1.02(t, j=7.2Hz, CH₃CH₂-); 1.75 及び 2.06(m, CH₃CH₂-); 1.98(m, 4H); 2.30(s, CH₃N-); 2.32(m, 2H); 2.67(m, 2H); 3.81(dd, -CHS-); 6.35(bs, -NH-) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃) δ 11.4(CH₃CH₂-); 27.1(CH₃CH₂-); 41.5(C6&C10); 45.8(CH₃N-); 49.0(C2); 52.7 及び 52.9(C7&C9); 63.7(C5); 175.5(C3) ppm.

MS m/e 214(M⁺); 181; 140; 71; 57.

AF267の塩酸塩はm.p.267-269℃(分解)を有していた。

副生物として、1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-4-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF272を粘稠な油として得た。 30

¹H-NMR (CDCl₃) δ 1.00(t, j=7.4Hz, CH₃CH-); 1.67(m, 2H); 1.58-1.78(m) 及び 2.13(m) (CH₃CH₂-); 2.20-2.42(m, 4H); 2.32(s, CH₃N); 2.89(s, CH₃NCO-); 2.90(m, 2H); 3.76(dd, j₁=3.6Hz, j₂=9.0Hz, CH₃CH₂CH-) ppm.

MS m/e 228(M⁺); 195; 170; 138; 125; 96; 71; 70; 57.

実施例45: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(1'-スルホキシ-4'-アザ-2'-メチル-3'-オン) AF262 40

酢酸2.0ml中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) (AF261)(48.4mg、0.24ミリモル)及び過酸化水素水溶液(32%)0.5mlの混合物を25℃で20分間攪拌した。その反応混合物を過剰の塩酸の添加により酸性にし、20mlの石油エーテル／エーテル4/1で希釈した。沈殿を炭酸ナトリウム水溶液に溶解し、その溶液をクロロホルムで抽出した。クロロホルム抽出液を乾燥させ、蒸発させ、得られた物質を分取シリカゲルプレート(クロロホルム／メタノール／アンモニア水80/20/1)でクロマトグラフィーにかけて油3.3mgを得、これをシュウ酸によりエーテルから沈殿させて結晶性固体の一種の異性体(純度>90%)を得た。

^1H NMR (CDCl_3 、遊離塩基) δ 1.52(d, 3H, $J=6\text{Hz}$) $\text{CH}_3\text{CH}-$; 1.85-2.7 [m, 8H];
2.36(s, 3H) CH_3-N ; 3.55(q, $J=6\text{Hz}$) $\text{CH}_3\text{CH}-$; 7.0(bs, 1H) ppm

MS m/e 216 (M^+); 199; 167; 149; 125; 111

実施例46: ピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF263

1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) (AF261) (250mg, 1.25ミリモル) 及び α -クロロエチルクロロホルム (0.15ml, 1.4ミリモル) の混合物をジクロロエタン 5ml 中で 60°C で 90 分間加熱した。ジクロロエタンを窒素の流れの下で除去し、油状残渣をメタノールに溶解し、 60°C で 1 時間加熱した。メタノールを蒸発させ、残渣を炭酸ナトリウム水溶液に溶解し、クロロホルムで抽出し、分取シリカゲルプレート (クロロホルム/メタノール/アンモニア水 80/20/1) で分離して遊離塩基 20mg を得、これを結晶性シュウ酸塩として沈殿させた。

^1H NMR (D_2O 、シュウ酸塩) δ 1.51(d, 3H, $J=6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}-$); 2.2-2.35 (m, 4H);

3.1-3.6 (m, 4H); 4.1 (q, $J=6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}-$) ppm

MS m/e 186 (M^+); 153; 126; 57

実施例47: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン) AF265

アセトニトリル中の 1-メチルピペリドン (11.3g, 0.1モル)、チオ乳酸 (15ml) 及び p-トルエンスルホン酸の溶液を 24 時間還流させ、TLC (シリカ-クロロホルム中 20% のメタノール) で追跡した。次いで、その溶液を蒸発させ、クロロホルムに溶解し、重炭酸ナトリウムの溶液で洗浄し、次いで水洗した。有機相を硫酸ナトリウムで乾燥させ、蒸発させた。生成物をシリカゲルカラム (メルク 60) で精製した。クロロホルム/メタノール/アンモニアの溶媒混合物で溶離して油 10.27g を得、これは室温で放置すると結晶化した。それを 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン) (AF265) として同定した。mp. 92°C 。

^1H NMR (CDCl_3) δ 11.6(d, 3H), 1.98-2.12 (m, 2H), 2.13-2.3 (m, 2H), 2.34-

2.55 (m, 2H), 2.55-2.72 (m, 2H), 2.30 (s, 2H), 4.06 (q, 1H) ppm

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 18 (CH_3CH , 四重線), 39 (C6 及び C10 , 一つの三重線), 40

(CH_3CH , 二重線), 45.5 (CH_3-N , 四重線), 51.8 及び 52 (C7 及び C9 , 二つの別の

三重線), 87 (C5 , 一重線), 175 (C=O) ppm

MS m/e 201 (M^+)

化合物 AF265 (遊離塩基) をアセトンに溶解し、シュウ酸を添加した (遊離塩基 2 モルに対し 1 モル)。白色の固体が数秒後に沈殿した。それを濾過し、アセトン、クロロホルムそしてエーテルで洗浄し、デシケーター中で乾燥させた。それを AF265 のシュウ酸塩として同定した。この塩の安定性は検討中である。その一部はおそらくラク톤の加水分解により水中で分解し、開環により得られた生成物によるシグナルが ^{13}C -NMR スペクトルで見られ、これを少なくとも 3 時間のスキャン累積につき D_2O 中で記録した。溶解直後に測定した ^1H NMR スペクトルにおいて、スピロ化合物のみが見られる。水中の AF265 の溶液は 1 週間後に開環の約 1/3 を示すことがわかった。m.p. 120°C 。

^1H NMR (D_2O) δ 1.55 (d, 3H), 2.3-2.6 (m, 4H), 2.9(s, 3H), 3.2-3.4 (m, 2H), 3.4-3.7(m, 2H), 4.4 (q, 1H) ppm

^{13}C -NMR (D_2O) δ 17.5 (CH_3CH), 36及び36.5 (C6 及び C10), 41.5 (CH_3CH), 43 ($\text{CH}_3\text{-N}$), 51 (C7 及び C9), 84(C5), 167 (シュウ酸の C0), 177 (C=O) ppm

実施例48: ピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン) AF269

出発物質 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン) (AF265) (80mg) をベンゼンに溶解し、その溶液を蒸発、乾燥させて、水分が存在しないことを確実にした。窒素雰囲気下で、モレキュラーシーブで乾燥したジクロロメタンを添加し(約 4 ml)、続いて 1-クロロエチルクロロホルム (56mg) を添加した。その反応混合物を約 1 時間にわたって 100°C に加熱し、次いで蒸発させた。クロロホルムを添加し、白色の固体を濾別し、クロロホルムそして四塩化炭素で洗浄し、次いで乾燥させた。生成物をピペリジン-4-スピロ-5'-(3'-メチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン) (AF269) の塩酸塩として同定した。

^1H NMR (D_2O) δ 1.55 (d, CH_3CH), 2.25-2.55 (m, 4H), 3.3-3.42 (m, 4H), 4.4 (q, CH_3CH) ppm

MS m/e 187 (M^+)

実施例49: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(5'-メチル-1', 3'-オキサゾリジン) AF264

1-メチル-4-ピペリドン (11.30g, 0.10モル) 及び DL-1-アミノ-2-プロパノール (9.75g, 0.13モル) の混合物を還流下に 1.5 時間加熱した。その反応混合物を減圧で蒸留した。 30 - 110°C (18mmHg) で蒸留し、水、過剰のアミノアルコール及び生成物を含んだ画分の除去後に、純粋な生成物 1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(5'-メチル-1', 3'-オキサゾリジン) (AF264) を 110 - 115°C (18mmHg, 10.70g) で蒸留した。

^1H -NMR (CDCl_3) δ 1.22(d, $j=6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CHO-}$); 1.75 (m, 4H); 2.30(s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.49(m, 4H); 2.70(dd) 及び 3.27(dd) ($j_1=6.6\text{Hz}$, $j_2=12\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{NH-}$); 4.04(m, $j_1=6.6\text{Hz}$, $j_2=6\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CHO-}$) ppm.

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 20.3($\text{CH}_3\text{CHO-}$); 35.3 及び 36.7(C6 & C10); 45.5($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.7($-\text{CH}_2\text{NH-}$); 52.8(C7 & C9); 71.8($\text{CH}_3\text{CHO-}$); 93.3(C5) ppm.

MS m/e 170(M^+); 169(M^+-1); 123; 112; 85; 83(100%); 71; 70; 58.

実施例50: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(4'-エチル-1', 3'-オキサゾリジン) AF268

1-メチル-4-ピペリドン (5.65g, 0.05モル) 及び DL-2-アミノ-1-ブタノール (6.24g, 0.07モル) の混合物を還流下に 3 時間にわたって加熱した。その反応混合物を減圧で蒸留した。 30 - 128°C (19mmHg, 5.65g) で蒸留し、主として生成物及び少量の水及び反応体を含んだ画分の除去後に、純粋な生成物 1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(4'-エチル-1', 3'-オキサゾリジン) (AF268) を 129 - 130°C (19mmHg, 4.5g) で蒸留した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 0.97(t, $j=7.5\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 1.45 及び 1.69(m, CH_3CH_2-); 1.70-1.89(m, 4H); 2.30(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.32-2.62(m, 4H); 3.25 及び 3.96(m, $-\text{CH}_2\text{O}-$); 3.29(m, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 10.7(CH_3CH_2-); 26.1(CH_3CH_2-); 34.9 and 36.3(C6&C10); 45.3($\text{CH}_3\text{N}-$); 52.5 及び 52.7(C7&C9); 58.5(C3); 69.5(C2); 93.1(C5) ppm.

10

実施例51: 1-メチルピペリジン-4-ースピロ-5'--(3'-エチル-1', 4'-オキサチオラン-2'-オン) (AF271)

アセトニトリル中の1-メチル-4-ピペリドン(1.921g、0.017モル)、2-メルカプト酪酸(2g、0.0167モル)及びp-トルエンスルホン酸(300mg)の溶液を36時間還流させた。次いでその溶液を蒸発させ、メタノールに溶解し、生成物を、溶離剤としてクロロホルム/メタノール/アンモニア(97:2.5:0.5)を用いてシリカゲルカラムで分離した。溶離剤としてクロロホルム/メタノール(95:5)を用いて更なる精製をシリカゲルカラムで行った。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.0(t, CH_3CH_2), 1.6(m, 3H), 2.1(m, 1H, CH_3CH_2), 2.25-2.4 (m, 4H), 2.3(s, 3H), 2.8-2.95(m, 2H), 3.75(dd, CH_2CH) ppm

20

MS m/e 215 (M^+)

実施例52: ピペリジン-4-ースピロ-5'--(3'-プロパルギルヒダントイン) (AF186) の合成

化合物AF185を、AF160(Des)につき開発した操作(実施例3を参照のこと)に従って脱メチル化し、シリカゲルカラム(クロロホルム/メタノール/アンモニア80:19:1)によるクロマトグラフィーにより更に精製した。その遊離塩基を白色の非吸湿性塩酸塩として沈殿させた。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{D}_2\text{O HCl 塩}$) δ 2.0-2.15(m, 2H); 2.2-2.35(m, 2H); 2.68(t, 1H, $J=3.5\text{Hz}$); 2.91(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 3.25-3.35(m, 2H); 3.55-3.65(m, 2H), 4.3(d, 2H, $J=3.5\text{Hz}$) ppm

30

MS m/e 207 (M^+ 、ベースピーク); 179; 151; 113

実施例53: 1-メチルピペリジン-4-ースピロ-5'-[3'-((2-ブチニル)ヒダントイン)] (AF199) の合成

化合物AF199をAF185につき開発した操作(実施例50を参照のこと)に従って合成し、シリカゲルカラム(クロロホルム/メタノール/アンモニア80:19:1)によるクロマトグラフィーにより更に精製した。その遊離塩基を白色の非吸湿性塩酸塩として沈殿させた。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 、遊離塩基) δ 1.65-1.8(m, 2H); 1.78(t, 3H, $J=1.7\text{Hz}$); 1.9-2.25 (m, 4H); 2.33(s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.8-2.95(m, 2H); 4.22(q, 2H, $J=1.7\text{Hz}$); 6.7(bs, 1H) ppm

40

MS m/e 235 (M^+); 165; 154; 71(ベースピーク)

実施例54: 1-メチルピペリジン-4-ースピロ-5'-((2'-メチル1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF261、及びその光学異性体(+)AF261&(-)AF261

遊離塩基としての化合物AF261(3.23g、16ミリモル)及びジ-p-トルオイル-D-酒石酸(5.8g、15ミリモル)を250mlのフラスコに入れ、イソアミルアルコール28g及びトルエン130gを添加し、その混合物を5分間還流させた。透明な溶液を、わずかな濁りの形成まで N_2 の流れにより還流下に部分蒸発させ、一夜放置した。得られた沈殿を濾別し、98%以上の鏡像体純度(GC及びNMRによる)が得られるまでイソアミルアルコール-トルエンで数回再

50

結晶した。固体生成物を塩基性にし、塩酸塩として沈殿させて白色の非吸湿性固体 $[\alpha]^{25}_D = -54.8^\circ$ （メタノール中の塩酸塩）207mgを得た。

母液を蒸発させ、塩基性にし、ジ- p -トルオイル- L -酒石酸で処理し、98%以上の鏡像体純度(GC及びNMRによる)を得るまで4回結晶化させた。固体生成物を塩基性にし、塩酸塩として沈殿させて白色の非吸湿性固体 $[\alpha]^{25}_D = +55.7^\circ$ （メタノール中の塩酸塩）207mgを得た。

光学純度の測定を、分解剤として(R)-(-)-2, 2, 2-トリフルオロ-1-(9-アンスリル)エタノールを使用してNMRにより行った。C6D6中の7.5mgのそれ対2.5mgの夫々の鏡像体は、単一鏡像体の存在を示す。塩酸塩のNMRスペクトルは(±)AF261のNMRスペクトルと同一であった。

10

夫々の鏡像体の純度を、キャピラリーカラムクロムパックXE-60-S-Val-S- α -PEA、WCOTヒューズドシリカ50m、内径0.26mm、外径0.35mm、流量0.9mlのN₂、オープン温度175°C、保持時間64分、及び65分を使用してGCにより測定した。塩酸塩のNMRスペクトルは(±)AF269のNMRスペクトルと同一であった。

実施例55: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-エチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-オン) AF267、及びその光学異性体(+)AF267&(-)AF267

遊離塩基としての化合物AF267及びジ- p -トルオイル- D -酒石酸を、90%以上の鏡像体純度(GCによる)が得られるまで、AF261につき開発された操作（実施例53を参照のこと）に従って処理した。固体生成物を塩基性にし、塩酸塩として沈殿させて白色の非吸湿性固体 $[\alpha]^{25}_D = -67.0^\circ$ （メタノール中の塩酸塩、>90%の光学純度）207mgを得た。母液を蒸発させ、塩基性にし、同じ方法でジ- p -トルオイル- L -酒石酸で処理した。4回の再結晶後に、得られた生成物(>90% ee)を塩基性にし、HCl塩、 $[\alpha]^{25}_D = +70.8^\circ$ （メタノール中の塩酸塩、>95%の光学純度）として沈殿させた。

20

夫々の鏡像体の純度を、キャピラリーカラムクロムパックXE-60-S-Val-S- α -PEA、WCOTヒューズドシリカ50m、内径0.26mm、外径0.35mm、流量0.9mlのN₂、オープン温度175°C、保持時間83分、及び88分を使用してGCにより測定した。塩酸塩のNMRスペクトルは(±)AF267のNMRスペクトルと同一であった。

実施例56: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(5'-メチル-1', 3'-ジオキサラン-4'-オン) AF274の合成

乳酸(8ml)をベンゼンで共沸して乾燥させた。乾燥し、未だ熱い乳酸に、更に乾燥ベンゼンを添加し、続いてp-トルエンスルホン酸(300mg)及び1-メチルピペリドン(5.00g、0.027mol)を添加した。その混合物を、追加の水が分離しなくなるまで還流させた。次いでその溶液を蒸発させ、残渣をクロロホルムに溶解し、飽和重炭酸ナトリウム溶液(25ml)で洗浄した。水相をクロロホルム(25ml)で洗浄し、合わせた有機相を再度水(2x10cc)で洗浄した。有機相を活性炭と混合した硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させて油状粗生成物8.7gを得た。ヘキサン、エーテル及び石油エーテル(40-60)で合わせてすり碎いた後、残っている油をアセトンに溶解し、次いでシュウ酸(1当量)をそれに添加した。しばらくした後、白色の固体が沈殿し、これを1-メチルピペリジン-4-スピロ-2'-(5'-メチル-1', 3'-ジオキサラン-4'-オン)AF274のシュウ酸塩として同定した。

30

40

¹H NMR (シュウ酸塩、CDCl₃+DMSO-d₆) δ 1.5(d, 3H, J=7Hz), 2.15(m, 4H), 2.63(s, 3H), 2.9(m, 2H), 3.05(m, 2H), 4.55(q, 1H, J=7Hz) ppm

¹H NMR (遊離塩基、CDCl₃) δ 1.5(d, 3H, J=7Hz), 1.95(m, 4H), 2.32(s, 3H), 2.5(m, 2H), 2.6(m, 2H), 4.5(q, 1H, J=7Hz) ppm

質量スペクトルm/e 185 (M⁺)

実施例57: 2-メチル-1, 4-チアゾリジン-3-オン-スピロ[5, 3']-キヌクリジン AF273

50

トルエン(100ml)中の3-キヌクリジノン(2.50g、20.0ミリモル)、チオ乳酸(2.55g、24.0ミリモル)、及び炭酸アンモニウム(2.9g)の混合物をステンレス鋼圧力容器中でシールし、28時間にわたって攪拌しながら108℃で加熱した。油が反応混合物から分離し、それを除去し、残ったトルエン溶液を蒸発させて残渣(2.5g)を得た。それをアセトンで結晶化させて結晶性固体(0.460g)を得、これは主としてAF273の一種の鏡像体の対を含む。それをアセトニトリル次にジクロロメタンで再度結晶化させて一種の鏡像体の対(±)AF273A(0.210g)を得た。m.p.201-202℃

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1.53(d, $j=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 1.65(m, 2H); 1.92(m, 2H); 2.03(m, 1H); 2.83(m, 4H); 3.18 及び 3.32(dd, $j=15\text{Hz}$, -NCH₂CNH-); 3.89(q, $j=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 8.58(bs, -NH-) ppm.

MS m/e 212(M^+); 155; 142(M^+-70); 123; 96; 71; 70(100%); 58.

その他の鏡像体の対に富む最初の結晶化からの母液をシリカゲル(メルク60)、のカラムでクロマトグラフィーにかけた。クロロホルム/メタノール/アンモニア水96:3:1の溶媒混合物で溶離して最初に第二の純粋な鏡像体の対(±)AF273B(0.106g)を得た。m.p.181-182℃ (アセトニトリルから)。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.52(d, $j=7\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 1.64(m, 2H); 1.93(m, 2H); 2.03(s, 1H); 2.70-2.98(m, 4H); 3.19(s, -NCH₂CNH-); 3.85(q, $j=7\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 8.60 (bs, -NH-) ppm

MS (±) AF273Aと同じ

次に、全ての異性体の混合物を得、最後にその他の純粋な鏡像体の対(±)AF273Aを得た。

実施例58: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-チオン) (AF275)

乾燥トルエン(25ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-チオン) (AF261)(1.00g、5.00ミリモル)及びラウエッセン試薬(1.40g、3.46ミリモル)の懸濁液を攪拌し、3時間にわたって100℃に加熱した。溶媒を反応混合物から除去し、残渣を乾燥シリカゲルカラム(メルク60、0.040-0.065)で分離した。クロロホルム、メタノール、水酸化アンモニウム96:3:1(v/v)の溶媒混合物で溶離して純粋な1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-メチル-1', 4'-チアゾリジン-3'-チオン) (AF275)(0.81g)を得た。アセトンからの針状体、m.p.171-172℃ (分解)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.69(d, $J=7.1\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 2.00 (m, 2H); 2.00-2.35 (m, 4H); 2.30 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.80 (m, 2H); 4.26 (q, $J=7.1\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH-}$); 8.74 (bs, -NH-) ppm.

MS m/e 216(M^+); 156; 98; 97; 96(100%); 70.

実施例59: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5')-(2'-メチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-(4')-チオン) (AF187)

(a) 1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン) (AF195)塩酸塩(1.00g、4.25ミリモル)をメタノール(30ml)中の攪拌水酸化ナトリウム(0.36g、9.00ミリモル)溶液に添加した。沈殿を生成した(NaCl)。ヨウ化メチル(0.664g、4.68ミリモル)を室温で上記混合物に添加し、攪拌を1.3時間続けた。その反応混合物を減圧で蒸発させ、残渣を熱ジクロロメタンで抽出した。ジクロロメタンを除去して残渣(0.58g)を得、これをシリカゲル(メルク60、0.040-0.065)のカラムで分離した。クロロホルム、メタノール

10

20

30

40

50

ル、水酸化アンモニウム89:10:1(v/v)の溶媒混合物で溶離して1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(5')-(2'-メチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-(4')-オン)(AF187)(0.23g)を得た。m.p.176-177°C(アセトンから)。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.57 (m, 2H); 2.00 (m, 2H); 2.35 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.52 (m, 2H); 2.56 (s, $\text{CH}_3\text{S-}$); 2.84 (m, 2H); 6.73 (bs, $-\text{NH-}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 12.6 ($\text{CH}_3\text{S-}$); 32.7 (C_3); 45.8 ($\text{CH}_3\text{N-}$); 50.8 (C_2); 68.3 (C_4); 163.8 ($-\text{C-SCH}_3$); 188.1 ($-\text{C=O}$) ppm.

MS m/e 213(M^+); 198(M^+-CH_3); 143(M^+-70); 71.

10

UV (EtOH) λ_{max} 236nm(ϵ 7800)、255nm(肩部、(8ϵ 4300))

(b)塩酸水溶液(0.5ml、16%)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(2'-メチルチオ-5'-アミノメチル-4'-H-イミダゾール) AF193(30mg)の溶液を室温で3日間放置した。溶媒を減圧で除去し、残渣を濃水酸化ナトリウム水溶液で塩基性にし、次いでジクロロメタン-メタノールで抽出した。その抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を除去して残渣を得、これを薄層シリカゲルプレート(メルクキーゼルゲル60F₂₅₄)で分離し、クロロホルム、メタノール、アンモニア水79:20:1(v/v)で展開して、真正試料と同一の AF187(8mg)を得た。

20

実施例60: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-オン) (AF188)

エタノール(100ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-5'-(2'-チオヒダントイン)塩酸塩(AF195)(4.04g、0.0172モル)、及び水酸化カリウム(3.85g、0.0686モル)の懸濁液に、臭化エチル(5.60g、0.0514モル)を添加し、その混合物を攪拌しながら還流させた。2時間還流させた後、主生成物は未だモノエチル誘導体であり、それ故、更に水酸化カリウム(0.95g、0.0169モル)及び臭化エチル(2.00g、0.0184モル)を反応混合物に添加し、還流を更に3時間続けた。溶媒を減圧で蒸発させ、水(20ml)を残渣に添加し、それをエーテルで抽出した。抽出液を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を除去して残渣(0.973g)を得、これを石油エーテルで結晶化させて純粋な1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-オン)(AF188)を得た。m.p.95-96°C。溶媒の除去後に、母液を乾燥シリカゲルカラム(20g、メルク60、0.040-0.065mm)でクロマトグラフィーにかけ、クロロホルム、メタノール、アンモニア水84:5:1の溶媒混合物で溶離して追加量の純粋なAF188(0.310g)を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.19 (t, $\text{J}=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$); 1.40 (t, $\text{J}=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S-}$); 1.43 (m, 2H); 1.99 (m, 2H); 2.36 (s, $\text{CH}_3\text{N-}$); 2.51 (m, 2H); 2.77 (m, 2H); 3.18 (q, $\text{J}=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S-}$); 3.49 (q, $\text{J}=7.2\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$) ppm.

40

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) 14.1 ($2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-}$); 24.4($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{S-}$); 33.0 (C_6); 35.1 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N-}$); 46.2 ($\text{CH}_3\text{N-}$); 51.0 (C_7); 68.6 (C_5); 158.8 ($-\text{N=C-}$); 183.9($-\text{C=O}$) ppm.

MS m/e 255(M^+); 226(M^+-Et); 185(M^+-70); 71; 70.

実施例61: 1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-イミダゾ

50

リン-5'-オン)(AF220)

ラネーニッケル(0.30g)をエタノール(10ml)中の1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-エチルチオ-2'-イミダゾリン-5'-オン)(AF188)(0.214g)の溶液に添加し、その混合物を4時間還流させた。反応が完結していなかったため、更にラネーニッケル(0.30g)を添加し、還流を更に4時間続けた。反応混合物を濾過し、触媒をメタノールそしてジクロロメタンで洗浄した。濾液及び洗浄液を合わせ、蒸発させて1-メチルピペリジン-4-スピロ-4'-(1'-エチル-2'-イミダゾリン-5'-オン)(AF220)(0.160g)を油として得た。

^1H NMR (CDCl_3) 1.27 (t, $J=7.3\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 1.46 (m, 2H); 2.03 (m, 2H);

2.36 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.48 (m, 2H); 2.82 (m, 2H); 3.53 (q, $J=7.3\text{Hz}$, CH_3CH_2-);

7.72 (s, $-\text{CH}=\text{N}-$) ppm

^{13}C -NMR (CDCl_3) 13.9 ($\text{C}_\text{H}_3\text{CH}_2-$); 32.2 (C_6); 35.3 ($\text{CH}_3\text{C}_\text{H}_2-$); 45.7 ($\text{CH}_3\text{N}-$);

50.5 (C_7); 68.2 (C_5); 151.6 ($-\text{N}=\text{CH}-$); 183.9 ($-\text{C}=\text{O}$) ppm

生成物を乾燥シリカゲルカラム(20g、メルク60、0.040-0.065mm)によるクロマトグラフィーにより精製し、クロロホルム、エチル、メタノール、アンモニア水(25:17:3:1)(v/v)の溶媒混合物で溶離して開環加水分解生成物を主生成物として得た。1-メチルピペリジン-4-ホルミルアミノ-4-N-エチルカルボキサミド(AF221)をエーテル-ジクロロメ

タンで結晶化させた。m.p.108-109°C。

^1H -NMR (CDCl_3) 1.13 (t, $J=7.2\text{Hz}$, CH_3CH_2-); 2.04-2.32 (m, 6H);

2.28 (s, $\text{CH}_3\text{N}-$); 2.65 (m, 2H); 3.28 (dq, CH_3CH_2-); 5.73 (s,

$\text{HCONH}-$); 6.97 (bs, $\text{EtNHCO}-$); 8.18 (s, $\text{HCON}-$) ppm.

MS m/e 213(M^+); 195($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$); 168(M^+-EtNH_2); 141(M^+-EtNHCO); 98;

97; 96; 71; 70.

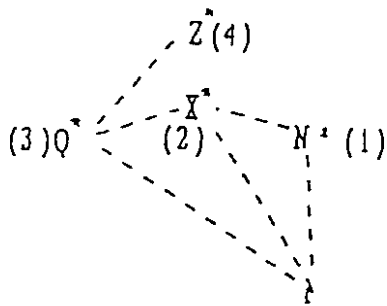
加水分解生成物AF221を真空中で加熱(150°C)することによりそれを閉環してAF220にすることができ

る。本発明の化合物は薬理活性を示し、それ故、例えば、治療用の医薬品として有益である。更に特別には、本発明により提供されたスピロ化合物は神経系に対し中枢活性及び末梢活性(又はその両方)を有する。一つの共通の特徴的な活性は、化合物がムスカリンレセプターのリガンド(例えば、アゴニスト又はアンタゴニスト)である場合にコリン作用系に対するものである。

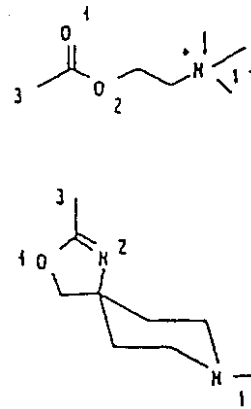
化合物のアゴニストプロファイル又はアンタゴニストプロファイルを、コンピュータ補助分子評価、試験管内及び生体内の生物試験を含む幾つかの試験で評価した。

コンピュータ補助分子評価

ムスカリン様アゴニスト活性につき、多数のアゴニストの試験に基く薬作用発生団モデルをつくった。そのモデルは、活性に必須であるアゴニストの構造中のこれらの部分の特定、それらの相互の空間配向そして或る程度であるが、リガンドがアゴニストであることを可能にする最大体積を含む。



一般式



例

上記式において、位置はアゴニストのカチオンヘッドと相互作用する負の電荷である。窒素に対するその位置がモデルにおいて特定される。重要な距離(D)は以下のとおりである。 $D(r-N^+)=3.0$; $D(r-X^+)=6.50$; $D(r-Q^+)=8.70$; $D(X^+-Q^+)=2.45$ 。最適の二面角 $r-X^+-Q^+-Z^+=-85$ 。或る限度内のこれらの最適モデルパラメーターからのずれは、活性を無効にしない(表1)。

このモデルの或る重要な特徴が以下にリストされる。

1. モデルは完全ムスカリン様アゴニストと部分ムスカリン様アゴニストを区別させる。その区別は距離 $r-X^+$ とアゴニスト効力の相関関係に基いている。
2. アセチルコリン中のカルボニル酸素に相当する位置4の原子の性質だけでなく、二面角 $r-X^+-Q^+-Z^+$ がムスカリン様アゴニストのクラス内でかなり変化し得る。
3. 距離 $r-Q^+$ がアゴニスト活性につき大きくなり過ぎる場合、弱い結合アゴニストが得られる。

このモデルから、ムスカリン様アゴニストのレセプターサブタイプ特異性に関する予測が、アゴニスト構造の剛性; Z^+ の性質及びモデルパラメーターに基いてなし得る。

薬作用発生団モデルは、下記の方法で潜在的なムスカリン様活性につき新規化合物のスクリーニングに使用し得る。a: 新規構造がその低エネルギー型を決定するように最適にされる; b: これらの型が薬作用発生要素の適当な配置につき調べられる。また、新規構造は誘導フィットルーチンの一つを使用することにより薬作用発生配座に強制し得る。次いで、得られる配座が同構造の低エネルギー配座と比較される。これらの操作の適用が、試験した全ての場合に信頼できる回答を生じた(表1)。ムスカリン様活性がこのモデルに合致する化合物のみにより発現されるか否かを予測する方法はないが、フィットする化合物がアゴニストとして活性である。

ムスカリン様アゴニストに関するカチオンヘッドの体積の制限は、妥当な構造(表1に示されるような)の実験をm1ムスカリン様レセプターのトランスメンブランドメインの分子モデルにドッキングすることから推定される。キヌクリジン誘導体より大きい化合物は巨大分子結合部位により収容し得ない。

表1にリストされた化合物は4つのグループに分けられる。第一グループは幾つかの公知のムスカリン様アゴニストを含む。それらの構造は最適の薬作用発生パラメーターを特徴とする。第二グループは最適以下の薬作用発生パターンを示すアゴニストを含み、それ故、主として部分アゴニストである。第三グループ中の化合物の構造は、先のグループにより特定されたムスカリン様活性に関する薬作用発生パターンから逸脱する。それ故、これらの化合物はアンタゴニストであるか、又はムスカリン様活性を欠いている。グループ4はそれらの薬作用発生パラメーターに基いて潜在的なムスカリン様アゴニストの幾つかをリストする。

表1：ムスカリン様アゴニストに関する薬作用発生パラメーター

アゴニスト	選択性	$r-X^*$ (A)	$r-Q^*$ (A)	$X^* - Q^*$ (A)	$r-X^* - Q^* - Z^*$
(グループ1)					
ACh	M2>M1	6.40	8.44	2.40	-86
ジオキサラン	M2>M1	6.51	8.71	2.42	-85
ムスカリン	M2>M1	6.50	8.53	2.44	-75
メチルfurmt+	M1>M2	6.40	8.54	2.43	-59
オキサソラン	M1>M2	6.55	8.90	2.43	-25
(グループ2)					
AF102B	M1>M2	5.93	8.24	2.45	-173
AF150	M1>M2	5.78	7.91	2.45	-118
AF151	M1>M2	5.82	8.20	2.45	-170
AF150(S)	M1>M2	5.72	8.35	2.81	-84
AF151(S)	M1>M2	5.88	8.15	2.38	-177
AF160	M1>M2	5.80	8.26	2.72	-96
AF160 (Des)	M1>M2	5.78	8.26	2.70	-95
(グループ3)					
AF133		5.98	8.33	2.96	34
AF134		6.00	8.58	2.62	9
AF168		6.69	9.10	2.72	-44
AF172		5.71	9.64	4.00	-101

+ メチルフルメチド

10

20

30

表1 (続き)

アゴニスト	選択性	$r-X^*$ (A)	$r-Q^*$ (A)	$X^* - Q^*$ (A)	$r-X^* - Q^* - Z^*$
(グループ4)					-
AF170		6.07	8.62	3.01	-60
AF181		5.92	8.35	2.75	-88
AF184		5.93	8.44	2.65	-87
AF185		5.96	8.21	3.13	-105
AF196		5.92	8.40	2.73	-87
AF202		5.78	8.10	2.42	-170
AF210		5.89	8.20	2.43	-170
AF215		5.94	7.93	2.44	-108
AF216		5.72	8.32	2.84	-96
AF260		5.75	8.02	2.45	-132
AF261		5.91	7.80	2.37	-107
AF264		5.77	8.07	2.46	-128
AF265		5.82	7.72	2.38	-94
AF267		5.91	7.84	3.25	-105
AF270		5.79	8.27	2.73	-93

生物試験

試験番号1. 単離されたモルモット回腸調製

本発明の化合物をモルモット回腸調製 (Fisherら, J.Pharm.Exp.Therap.257:392-403(1991)により記載されたようにして使用された方法) におけるそれらのアゴニスト活性及びアンタゴニスト活性につき試験した。表2はこれらの化合物の幾つかで得られた結果を要約する。

表 2 : モルモット回腸調製に関する効果

化合物	EC ₅₀ (μM)	備考
AF102B*	3.5	部分アゴニスト
AF134 ♡		6 μM でアンタゴニスト
AF151 (S)	7.3	完全アゴニスト
AF160	3.2	完全アゴニスト
AF160 (Des)		0.1 mMで部分アゴニスト カルバコールの80%の最高収縮
AF177		0.25mMで弱いアンタゴニスト
AF178	100	部分アゴニスト(AChの80%)
AF179	100	部分アゴニスト(AChの80%)
AF180	100	部分アゴニスト(AChの80%)
AF182		0.1 mMでアンタゴニスト ; 0.2 mMで完全アンタゴニスト

* シス-2-メチルスピロ (1, 3-オキサチオラン-5, 3') キヌクリジン
(米国特許第4,855,290号) ; ACh 誘導収縮の弱いアンタゴニスト

♡モルモット回腸調製においてムスカリン様アンタゴニストとして挙動した ; 驚くことに、それはACh 誘導収縮をブロックするよりも良好にそれはAF102B誘導収縮を抑制した。こうして、この調製においてAF102Bにより誘導された収縮が主としてM3レセプターにより媒介される場合、AF134 はこの調製において選択的M3アンタゴニストであることが明らかである。

試験番号 2 . 脳中のムスカリン様レセプターへの結合 ; ラット皮質及び小脳から調製された膜中の [³H]QNB、 [³H]NMS及び [³H]OXO-Mとの競合
リガンド [³H]NMS、 [³H]ピレンゼピン及び [³H]オキソトレモリンを使用するラット脳皮質及び小脳膜調製を、新規化合物を評価するのに使用した (表 3 及び 4) 。

10

20

30

40

表3：夫々、 $[^3\text{H}]$ PZ、 $[^3\text{H}]$ QNB 又は $[^3\text{H}]$ NMS（ラット皮質）、及び
 $[^3\text{H}]$ QNB 又は $[^3\text{H}]$ NMS（小脳）との試験化合物の競合

皮質

化合物	$[^3\text{H}]$ PZ				$[^3\text{H}]$ QNB				$[^3\text{H}]$ NMS			
	K_H	$\mu\text{M}(\%)$	K_L	μM	K_H	$\mu\text{M}(\%)$	K_L	μM	K_H	$\mu\text{M}(\%)$	K_L	μM
カルバコール	0.06(38)		18.6		6.8 (18)		980		0.1 (41)		11	
オキソトレモリン							2.4					
McN-A-343							7.9					
AF102B			1				7.1				1.1, 1.5	
AF133			2.7									
AF134			0.13									
AF151(S)	0.75(11)		20		24(44)		459					
AF160	1.4 (34)		19				58		0.45(31)		12	
AF160(Des)	1.3 (36)		9				40				7	
AF178	17 (58)		90									
AF180			5.4									
AF177	0.06(10)		7						0.1 (14)		13	
AF182	0.06(27)		8.3						0.12(23)		9.2	
AF183					0.06(14)		100				260	
AF185							4.8				9	

10

20

30

表 3 : (続き)

皮質

化合物	[³ H] PZ				[³ H] NMS			
	K _H	μM(%)	K _L	μM	K _H	μM(%)	K _L	μM
AF181			3.6					
AF184			0.64					
AF196			>1000					
AF197			48					
AF213			5.7					
AF264			294					
AF260	0.2 (36)		16		0.014(12)		32	
AF261	0.03(26)		25		8.6 (33)		100	
AF261A			18				20	
AF261B	0.13(34)		6.7		0.032(31)		4.2	
AF263	0.33(14)		10		0.19(23)		13	
AF265	0.93(12)		49		0.18(27)		39	
AF267 *			2.8*				5.88	
AF267A							10.9	
AF267B							4.3	

*Cu²⁺処理後に、 [³H] PZによる競合アッセイはAF267 につき 2 部位結合部位を露出した (K_H =22nM (18 %); K_L =2.5μM)。この観察は、AF267 がアゴニストとしてラット脳皮質中のムスカリン様レセプターに結合することを示す(Fisherら, J.Pharmacol.Exptl.Therap. 257: 392-403 (1991))。

表3：(続き)

小脳

化合物	[³ H] QNB				[³ H] NMS			
	K _H	μM(%)	K _L	μM	K _H	μM(%)	K _L	μM
ガバコール	1.5	(54)	52		0.02	(56)	6	
オキソトレモリン			0.8					
McN-A-343			24.4					
AF102B			18.1				1.4, 0.4	
AF133			5.1					
AF134			3.8					
AF151(S)			45					
AF160			61		0.56	(46)	19	
AF160(Des)	5	(36)	86				2.4	
AF178			200					
AF180			350					
AF177							20	
AF182							21	
AF183							310	
AF185							7	
AF181							5	
AF184							2.9	
AF197							18	
AF260					0.46	(58)	87	
AF261					0.83	(45)	23	
AF261A							18	
AF261B					0.29	(53)	24	
AF267							2.3	
AF267A							6.9	
AF267B					0.15	(26)	3.2	

計算された K_i^{PZ}/K_i^{NMS} 又は K_i^{PZ}/K_i^{QNB} の比 (表3) はムスカリン様リガンドのM1選択性に普通に使用される指標であり、低い比が良好なM1選択性を示す。加えて、ラット脳皮質vs小脳膜調製からの K_i^{PZ}/K_i^{QNB} の比がまたムスカリン様リガンドのM1選択性を示し、1より低い比がM1選択性を示す (Fisherら, J.Pharmacol.Exptl.Therap.257:392-403(1991))。こ

10

20

30

40

50

これらのアッセイを使用して、本発明者らは、本発明の化合物の幾つかがM1ムスカリン様レセプターに対する比較的高い優先性を示すことを検出できた。このようなものは、AF133、AF134、AF160、AF160(Des)、AF177、AF178、AF181-AF185、AF261、AF265、AF267である。

例えば、AF185は $[^3\text{H}]$ NMS結合部位に対するその競合と較べて $[^3\text{H}]$ PZと競合につき3倍高いアフィニティーを示した(夫々、 $K_i=1.4\pm 0.15\mu\text{M}$ vs $5\pm 1\mu\text{M}$ 、表3)。これはAF102B(米国特許)と著しく対照的であり、これは両方のリガンドとの競合につき殆ど同様のアフィニティーを示した(夫々、 $K_i=1.43\pm 0.2\mu\text{M}$ vs $1.86\pm 0.43\mu\text{M}$ 、表3)。 $[^3\text{H}]$ PZはラット脳皮質膜中のM1AChRを特異的に標識すると考えられるので、本発明者らの新しいデータは、AF185がAF102Bと較べて更にM1選択性リガンドであることを示し得る。

10

脳皮質膜中の新規化合物の幾つかの $[^3\text{H}]$ NMS結合曲線は二つの部位との相互作用を示した。結合部位の約1/4がこれらの化合物に対して高いアフィニティーを示した。これはこの調製における高いアゴニスト効力を示し得る。このような化合物はAF260、AF261、AF263及びAF265である。

驚くことに、新規化合物の幾つかはラット脳皮質中の $[^3\text{H}]$ PZとの2部位競合曲線を示した(表3)。これらとして、AF160、AF160(Des)、AF260、AF261、AF265が挙げられる。 $[^3\text{H}]$ PZとのこれらの化合物の2部位競合曲線を安定なGTP類縁体、GppNHp(示されていない)の存在下の単一物質作用曲線に変換した。GppNHp感受性に関する同様の観察が $[^3\text{H}]$ NMSとの競合につき観察された(示されていない)。これは、これらの化合物がラット脳皮質中のM1レセプターの効力のあるアゴニストとして挙動することを示す。これは、典型的に物質作用曲線を生じるAF102B競合アッセイと対照的である。これらの観察は、AF102B及びこれらの新規化合物によるラット皮質M1レセプターの認識の幾つかの相違を示唆し得る。

20

AF267はラット脳皮質膜中の $[^3\text{H}]$ NMS及び $[^3\text{H}]$ PZの両方と単一部位競合曲線を示した。以下に記載されるホスホイノシチド(PI)加水分解及びアラキドン酸放出の研究は、この化合物が部分アゴニストであることを示した。それ故、物質作用結合パターンはこの調製におけるムスカリン様レセプターに対するM1選択的アゴニストAF102Bに関するデータと同様であった。本発明者らは、0.1 mMの CuSO_4 によるラット脳皮質膜の処理がAF102Bの陰性アゴニスト結合特性を暴露し得ることを先に実証した(Fisherら, JPET 257:392-403, 1991; 公表されたデータは $[^3\text{H}]$ QNBとのAF102Bの競合を使用した)、 $[^3\text{H}]$ NMS及び $[^3\text{H}]$ PZを使用して同様の観察が得られた)。また、このような処理は或るアゴニストに対する高いアフィニティー部位の比率を増大でき、これらのアゴニストは Cu^{2+} 処理によらずに高いアフィニティーを既に示す(例えば、AF160)。それ故、本発明者らは Cu^{2+} 処理後のAF267の結合特性を研究した。このような処理、続いて $[^3\text{H}]$ PZとの競合アッセイは、低いアフィニティー部位を殆ど変化させないで、AF267につき18%の高いアフィニティー部位を露出した($K_H=22\text{nM}$ 、即ち、 $K_L=2.5\mu\text{M}$ と較べて約100倍高いアフィニティー)。この観察は、AF267がAF102Bと同様にラット脳皮質中のムスカリン様レセプターに結合し得ることを示唆する。或る部分アゴニストに対する高いアフィニティー部位を露出する Cu^{2+} 処理の能力は金属イオンとこれらの巨大分子の重要なスルフヒドリルの配位錯体によるレセプター/G-プロテイン相互作用の安定化に関係し得る(Gurwitzら, BBRC 1984, 120:271-277)。対照膜において、この相互作用は部分アゴニストの存在下で有利ではないことが明らかであり、こうしてこれは標識アンタゴニストとの競合アッセイにおいて高アフィニティー部位を示さない。

30

40

$[^3\text{H}]$ オキソトレモリン-M ($[^3\text{H}]$ OXO-M) 結合を置換する化合物の能力はレセプターの高アフィニティーアゴニスト状態に関するアフィニティーの目安を与えた。 $[^3\text{H}]$ NMS又は $[^3\text{H}]$ QNB及び $[^3\text{H}]$ OXO-Mの置換に関する K_i 値の比が効力を予測するためにその文献に使用される。100より大きい比が完全アゴニストと関連する。アンタゴニストは1単位に近い比を与え、また中間の値は部分アゴニストを示す(Orlekら, J. Med. Chem. 34:2726, 1991)。新規化合物を、ラット脳皮質膜を使用して、標識された非選択的ムスカリン様アゴニスト、 $[^3\text{H}]$ OXO-Mとの競合アッセイにおいて研究した。AF179及びAF160の強力なアゴニスト特性がそれらの比較的大きい $K_i^{\text{NMS}}/K_i^{\text{OXO-M}}$ 値において反映される(表4)。

表4：ラット脳皮質調製におけるAF160 の同種及び基準ムスカリン様アゴニストによる [^3H] OXO-M との競合

化合物	Ki(μM)	Ki ^{NMS} / Ki ^{OXO-M}		
A. 物質作用曲線 ^a :				
CCh	0.06 ±0.005 (3)	380		
ピロカルピン	0.1			
AF102B	0.6±0.2 (3)	2.1		
AF160	1.8±0.2 (3)	9.4		
AF177	11	1.4		
AF179	1.3±0.3	31		
AF182	14	1		
AF183	>100	-1		
	K _H (μM)	%H	KL (μM)	Ki ^{NMS} / Ki ^{OXO-M}
B: 2 部位競合曲線 ^b				
AF160(Des)実験 1	0.05	36	2.2	
実験 2	0.03	58	1.8	
実験 3	0.02	42	2.1	
平均(1-3)	0.033	45±6	2.0 ±0.1	3.5
	±0.007 (3)			
AF185 実験 1	0.04	53	49	0.18
実験 2	0.01	18	3	3

注； 結合実験を、25°Cで0.5 時間にわたってTRIS/Mn²⁺緩衝液中で洗浄されたラット脳皮質膜を使用して行った。Ki^{NMS} データは表3からの平均値である。データは一般に1 - 4の実験からのものである。

^a データは [^3H] OXO-M との物質作用競合を示す薬剤に関するものである。

^b データは [^3H] OXO-M との2部位競合曲線を示す薬剤に関するものである。

AF160(Des)及びAF185 の場合、物質作用曲線は或る実験において観察された。

驚くことに、AF160(Des)及びAF185は、その競合曲線([^3H]OXO-M及びラット脳皮質膜を使用する)が単一部位物質作用曲線を示さない試験した唯一の薬剤であった(表4)。ラット脳皮質膜中の [^3H]OXO-Mにより標識されたレセプターのサブフラクションとのこれらの薬剤の極めて強力な競合は、これらの薬剤が高度にサブタイプ選択性であることを示し得

る。こうして、計算された K_i^{NMS}/K_i^{OXO-M} の比(表4)は、AF160(Des)がAF160グループのその他の同種及びAF102Bそれ自体と比較してラット脳皮質ムスカリン様レセプターのサブセットの強力なアゴニストであることを示し得る。しかしながら、これは観察されなかった。 $[^3H]$ NMSとのAF160(Des)及びAF185の両方の競合曲線は一貫して単一物質作用曲線を生じた。実際に、 $[^3H]$ NMSとの競合において2部位曲線を示したAF160のみが単一物質作用曲線で $[^3H]$ OXO-Mと競合した。それ故、 $[^3H]$ NMS結合アッセイではなく、 $[^3H]$ OXO-M結合において専ら検出されるレセプターサブタイプ不均一性の説明は、魅力的とは考えられない。別の説明はムスカリン様レセプターのアロステリック部位との可能な相互作用を伴うことができ、これらは $[^3H]$ NMSの如きアンタゴニストを結合するレセプターの状態により検出されないが、アゴニスト $[^3H]$ OXO-Mを使用することによりマスクされない。 $[^3H]$ OXO-M結合アッセイにおける表面的な競合曲線の別の可能な説明は、その系が平衡に達しなかったことである。AF160(Des)又はAF185を使用する競合アッセイにおいて、平衡は30分間で到達されなかった。何となれば、結合データは25℃で60分と比較して30分で異なっていたからである。アッセイを30分間で終了した場合、 $[^3H]$ OXO-Mとの表面的な競合曲線がAF160(Des)又はAF185の両方につき観察された。可能な説明は、AF160(Des)及びAF185がAF102Bと比較して比較的遅い速度論(遅い会合速度及び遅い解離速度の両方)を有することである。これは競合アッセイにおいて平衡への非常に遅い接近をもたらし、非平衡状態のもとに2部位結合等温線の見掛けの検出を生じるであろう。会合速度及び解離速度の両方が比較的遅いことを仮定することは妥当である。AF160(Des)及びAF185の会合速度のみがAF102Bと比較して遅かった場合、それらはAF102Bよりも極めて低いアフィニティーを示していたはずである。一方、それらの解離速度が低かった場合、それらのアフィニティーはAF102Bのアフィニティーより極めて高かったはずである。

ラット小脳は発現されたmAChRサブタイプ(主としてM2)に関して比較的均一である。AF102Bはラット皮質及び小脳の両方において $[^3H]$ OXO-M結合との競合の際に同様の効力を示した。対照的に、AF160(Des)及びAF185は皮質vs小脳膜中で高い効力を示した。これが皮質膜中でのみ2部位競合曲線として反映された(皮質につき表4をまた参照のこと)。再度、これは夫々皮質vs小脳中のこれらの化合物につき異なる速度論を示し得る。

試験番号3. 脳切片及び細胞培養物中の第二メッセンジャー活性化

M1ムスカリン様レセプターに対するアゴニストとしての試験化合物の効力を測定するための操作において、ラット皮質からの脳切片(200 μ Mの立方体)を調製する。ホスホイノシチド(PI)ターンオーバーアッセイにつき、これらの脳切片に、それらを標識リガンドを含むクレブス平衡塩溶液中で37℃で酸素化のもとに1時間インキュベートすることにより $[^3H]$ イノシトール(4 μ Ci/ml)を負荷する。洗浄後に、50 μ lのアリコートを含み、又は含まない新しいクレブス溶液中に10mMのLiClを含む夫々の管に添加する。37℃で20分間のインキュベーション後に、その反応を終了させ、標識生成物をBerridge(Biochem. J. 258, 849-858, 1983)により記載されたようにしてAG-1-X8カラムで分離する。試験化合物の部分アンタゴニストはCCh(完全アンタゴニスト)と比較してPI加水分解の80%未満の活性化を生じた。こうして、例えば、AF160はIP₃の有意な上昇(1.6倍)を生じた。CChと比較して、AF160は基準化合物の50%の効力を有する部分アンタゴニストであった。また、AF160(Des)は活性であったが、AF160よりも小さい程度であった。別のM1アゴニストとしてのAF102BはAF160よりも活性ではなく、一方、AF178はこのアッセイにおいて活性ではなかった。

ムスカリン様レセプターの一つの分集団に富む細胞培養物を試験化合物による第二メッセンジャー活性化を評価するのに使用する。PIターンオーバー研究において、Berridge(Biochem. J. 258, 849-858, 1983)の方法を使用する。アラキドン酸可動化研究につき、細胞をもとの成長培地中で0.2 μ Ci/mlのトリチウム化アラキドン酸で16時間にわたって標識する。アッセイの前に、細胞をHEPES(20mM)及びウシ血清アルミン(1mg/ml)を補給した無血清DMEで合計6回洗浄する。洗浄操作後に、同培地0.5mlを添加して、試験リガンドの添加を確実にする。培地をエッペンドルフ管に移し、6000gで10分間遠心分離することによりアッセイを終了させる。上澄み中の放射能をカウントし、ウェル当たりに放出されたdpmトリ

10

20

30

40

50

チウム化アラキドン酸として示す。無傷細胞中の環状AMP蓄積をPinkas-Kr-amarskiら, *Neurosci.Lett.*108:335-340,1990の方法に従って評価し、一方、単離された膜中のアデニリルシクラーゼ活性をJohnson及びSalomon(*Methods in Enzymology* 195巻, R.A.Johnson及びJ.D. Corbin編集, Academic Press, 3-22頁, 1991)に従って測定する。

25%より高いPIターンオーバー及び／又はアラキドン酸可動化の最高の比率を有する(しかし、アデニリルシクラーゼの有意な活性化を有しない)式I-IXの化合物が好ましい。この活性の幾つかの例がAF160、AF160(Des)、AF178、AF179、AF180、AF185、AF260、AF261、AF263、AF265、AF266、AF267に見られる。これらの化合物はM1ムスカリン様レセプターを活性化できる。

アセチルコリン、CCh、オキソトレモリン-M及びその他の古典的な完全アンタゴニストと違って、これらの化合物はM1(又はM3)ムスカリン様レセプターによる異なるシグナリングの選択的活性化を誘発する。特に、cAMP蓄積の活性化を伴わない(又は最小の活性化を伴う)PI加水分解のムスカリン様アゴニストによる選択的活性化が新規化合物の活性の一般的なパターンである。これらの観察はこれらの選択的ムスカリン様リガンドによりG-プロテインを区別するためのM1ムスカリン様レセプターカップリングの誘発を意味し得る。こうして、M1レセプターの活性化に加えて、これらの化合物はまた異なる二次メッセンジャーのレベルで選択的である。選択的ムスカリン様リガンドを使用する同ムスカリン様レセプターによる異なるG-プロテインのみの選択活性化のこの概念が、ラットm1AChRでトランスフェクトされたCHO細胞を使用して(Fisherら, *Biorganic&Medicinal Chem.Lett.* 2:839-844,1992)そして神経型細胞系、例えば、PC12M1細胞系(*Soc.Neuroci.Abs.Nov.*1993)においてリガンド選択的シグナリングの概念のもとに本発明者らにより最近記載された。アルツハイマー病(AD)のコリン作用置換療法の開発に関するこのシグナリング経路の可能な妥当性がAD患者及び老化した脳中の上昇したGsレベルに関する知見(Harrisonら, *Mol.Brain Res.*10:71,1991;Youngら, *Dev.Brain Res.*,61:243,1991)に鑑みて明らかである。こうして、本発明の化合物はアルツハイマー病の治療に重要であり得る。

化合物の幾つかは完全アゴニストであり、一方、その他の化合物はm1AChRでトランスフェクトされた細胞培養物中でPI加水分解を刺激するのにCChと比較した場合に部分アゴニストである。部分アゴニストはAF160、AF160(Des)、AF178、AF180、AF181、AF265、AF267である。AF260、AF261、AF263及びAF266がこのアッセイにおいて完全アゴニスト活性を有していた。AF260及びAF261に関する濃度応答曲線は、最高の活性が夫々10 μ M及び100 μ Mで得られることを示した。AF265及びAF267は、夫々1 mMのCChに対して75%及び66%の最高活性を有する部分アゴニストとして挙動した。AF181はこのアッセイにおいて弱い部分アゴニスト活性を示した。こうして、1 mMの濃度で、それはPI加水分解を部分活性化したが、部分アゴニストにつき予測されるように、CCh誘発PI加水分解を低下した。AF213及びAF184はアンタゴニスト活性を示した。何となれば、これらの化合物はCChのPI加水分解シグナルをブロックしたからである。AF267の鏡像体のうち、一層活性なものは(-)-鏡像体であるAF267Bである。この化合物は10 μ M(CChの40%)及び100 μ M(CChの80%)でさえもm1レセプターでトランスフェクトされた細胞中でPI加水分解を活性化する。

本発明者らはCCh媒介PI加水分解シグナルの脱感作を誘発する新規化合物の効力を試験した。AF261はCChと較べて小さい脱感作応答を誘発した。100 μ M又は1 mMのAF261への24時間の露出後に、1 mMのCChによる刺激に対するPI加水分解応答は、1 mMのCChと一緒にプレインキュベーション後に60%の低下と較べて45%だけ低下された。PI加水分解を誘発するのに部分アゴニスト活性を示した化合物であるAF267は、それ程脱感作を誘発することができなかった。こうして、1 mMのAF267と一緒に一夜のインキュベーション後に、もとのCCh媒介PI応答はわずかに29%低下されたにすぎなかった。

また、本発明者らは、Pittel及びWess(*Mol.Pharmacol.*45:61-64,1994)により記載されたような平行実験において、ヒトm1AChR、m3AChR又はm5AChRで一時的にトランスフェクトされた細胞中でPI加水分解を誘発する能力につき新規化合物を試験した。AF267はm1AChRサブタイプに対し最高の活性を示し、m3AChRでトランスフェクトされた細胞と較べてm1AChRにつき約100倍強力であった(ED_{50} 値は夫々1.5 μ M及び150 μ Mであった)。これは、10 μ Mの

AF267により誘発されたシグナルと比較する時に特に明らかであり、これはm1AChRでトランスフェクトされた細胞中で既に最高であるが、m3AChRでトランスフェクトされた細胞中の最高のCChシグナルのわずかに15%である。AF265はm3AChRでトランスフェクトされた細胞中よりもm1AChR中で若干強力かつ有効であったが、m5AChR中では活性が極めて小さかった。同様の結果がAF267で得られ、特に、夫々m1AChR及びm3AChRで安定にトランスフェクトされた細胞培養物中で、(-)-鏡像体であるその更に活性な鏡像体につき得られた。

アラキドン酸(AA)放出は、m1AChRのアゴニストにより活性化される別の生化学経路である。この生化学経路はPI加水分解よりも異なるGプロテインによりm1AChRに関連し得るので、本発明者らはまたラットm1AChRで安定にトランスフェクトされた細胞培養物を使用して、このアッセイにおいて新規化合物を試験した。AF263、AF265、AF266及びAF267(1mM)がこのアッセイにおいて部分アゴニスト活性を示した。AF267の鏡像体のうち、活性鏡像体は(-)-鏡像体であるAF267Bであり、これは0.1mM及び1mMでAA放出に関して完全アゴニストである。AF260及びAF261は、同細胞系におけるPI加水分解の観察と一致して、1mMのCChと比較して完全アゴニスト活性を示した。本発明者らは1mMのCChと比較して多いAA放出を誘発するこれらのアゴニストの傾向を観察した。これは、CCh媒介シグナルが既にアッセイ期間(37°Cで20分間)中に脱感作を受けていることを示し得る。この脱感作は試験化合物により更に小さいことがもっともらしい。また、或る試験化合物はM1アゴニスト、即ち、“スーパーアゴニスト”としてCChよりも有効であり得る。その場合、この性質がAF260及びAF261を使用するPI加水分解アッセイで観察されなかったか否かは明らかではない。

3時間にわたる1mMのCChと一緒にm1AChRでトランスフェクトされた細胞培養物のプレインキュベーション、続いてリガンドの徹底的なウォッシュアウト(6x1ml)はAA放出をかなり低下した。基礎AA放出は最小に影響され、残留CChがウォッシュアウト後に存在しないことを示した。比較するに、同実験において、1mMのAF265又はAF102Bと一緒にプレインキュベーションは、1mMのCChに対するAA放出応答を当初の応答のほぼ半分に減少した。更に長いプレインキュベーション期間につき、100µMの薬剤濃度が好ましい。何となれば、1mMの濃度は長期の処理につき生理学的妥当性を有しないからである。24時間にわたる100µMのCChと一緒にプレインキュベーション後に、AA応答がほぼ完全に失われた。本発明者らはCCh媒介AA放出シグナルを脱感作する新規化合物の能力を比較した。驚くことに、24時間にわたる100µMのAF265と一緒にプレインキュベーションはAA応答の減少を何ら生じなかった。これは、この化合物がこのアッセイにおいて部分アゴニストであるという本発明者らの知見を考慮して、特別な注目に値する。対照的に、AF260、AF261及びAF263(全て、24時間で100µM)による刺激はCCh媒介AA放出シグナルをかなり減少した。AF102B又はAF267と一緒に同様のプレインキュベーションは、その後のCCh媒介AA放出シグナルによる比較的小さい干渉を生じ、これらの2種の化合物間の類似性を再度指摘した。

試験4：細胞培養物中の神経栄養様効果

アゴニストによるM1レセプターの活性化は、m1レセプターに富む或る細胞培養物、例えば、ラットm1AChRでトランスフェクトされたPC12(ラットクロム親和細胞腫細胞)(PC12M1細胞)、(Pinkas-Kramarskiら, J.Neurochem.59:2158-2166,1992)中で神経成長因子(NGF)との相乗効果をもたらし得る。

本発明の別の局面によれば、25%より高いPIターンオーバーの最高比率を有する式I-IXの化合物はNGFにより生じた神経突起外殖を相乗作用し得ることが今発見された。化合物の二つのクラスが本発明の化合物中で検出し得る。1)NGFの不在下でCChとほぼ同様に神経突起外殖を誘発したAF260、AF261及びAF263のような化合物;並びに2)オキソトレモリンとは鮮やかに対照的に、NGFの不在下で神経突起外殖を促進せず、又は最小の形態変化のみを誘発する化合物。両クラスがADの治療に重要である。第二クラスにおいて、軸索成長が調節できない程に起こらないであろう。それ故、例えば、ADの治療に有利な薬剤候補は局所で合成され、放出された成長因子、例えば、NGF、脳由来神経因子(BDNF)、NT-3等の厳格な制御のもとでのみ神経突起形成を誘発するであろう。このような特異な活性の幾つかの例がAF160、AF160(Des)、AF185のような化合物で見られ、これらはNGF誘発神経突起外殖を相乗作用するのにAF102Bと少なくとも同等に強力である。NGFとこれらの新規化合物に

よる組み合わせられた治療後に延長された神経突起は培養中に長期にわたって安定であった。それ故、神経突起外殖の誘発のためにこれらの化合物により使用される一つ以上のシグナリング経路は迅速に脱感作していないことが推定し得る。これはNGFそれ自体を非常に連想させ、これはPC12細胞だけでなく、交感ニューロンの一次培養物中で非常に安定かつ長く持続する神経突起促進効果を誘発する。しかしながら、試験細胞の古い未処理の培養物は劣化し、多くの死亡細胞を含み、これらがプレート表面から脱着したことが注目されるべきである。重要なことに、細胞死滅現象は新規化合物とNGFの組み合わせで先に治療された培養物中では少なかった。NGFはプログラミングされた細胞死滅からP12細胞を救済することが公知である(例えば、Rukensteinら, J.Neuroscience 11:2552-2563,1991)。それ故、これらの観察は、同様の生存促進応答が本発明の化合物により媒介されることが可能であることを示す。全てのこれらの性質がアルツハイマー病の患者の潜在的な治療に関してこれらの化合物に付加的な実用性を与える。

10

神経細胞中の本発明のこれらのアゴニストの神経栄養様活性(これはまたNGFの存在に依存する)はおそらくこれらの化合物がNGFレセプターにより媒介される一つ以上の或るシグナルと協力して神経栄養活性を与えることを示す。可能性の一つは、これらの効果が下記のアミロイド前駆体タンパク質(APP)のm1AChR媒介の増大された放出を介して間接的であることである。注目するに、内在性APPは繊維芽細胞の正常な成長に必要であり、また外在性APPはこれらの細胞の増殖を刺激し得る(Saitohら, Cell,58:615,1989;Mattsonら, TINS 16:409-414,1993)。重要なことに、APPの分泌形態は、その他の活性の中でも、神経突起外殖を調節し、かつニューロン生存を促進することが知られている(Mattsonら, TINS 16:409-414,1993により概説されている)。AD中の神経細胞死滅はおそらくノイロトロピンの減少された生産及び／または利用可能性を伴い、これが順にコリン作用性ニューロンの生存を悪化する。M1アゴニストにより誘発された神経栄養様イベントがまた脳中で起こる場合、これは最も重要な臨床上の重要性を有するかもしれず、こうしてADの新規な治療を示し得る。

20

試験5：脳切片及び細胞培養物中のアミロイド前駆体タンパク質(APP)分泌

β-アミロイドがADをもたらす病因プロセスの寄与因子であるという証拠が次第に増えてきている。“アミロイドカスケード仮説”に基いて、ADはアミロイド前駆体タンパク質(APP)の誤代謝に起因する(Mattsonら, TINS 16:409-414,1993)。mAChR、特にm1サブタイプの活性化は試験管内でAPPの分泌を増大する(Nitschら, Science 258:304,1992;Buxbaumら, PNAS US89:10075,1992;Lahiriら, Biochem.Int.28:853,1992)。こうして、本発明の更に別の局面によれば、式I-IXの化合物、特に、選択的m1アゴニスト活性及びAPPの増大された放出を示す化合物は、ADの治療に有益であるだけでなく、その進行を遅延し、又は更にはADを防止するのに有益であり得る。

30

APP分泌の評価に使用された方法はウェスタンイムノブロッティング技術(Nitschら, PNAS 90:5191-5193,1993)である。本発明者らは、APPの検出に広く使用される22C11モノクローナル抗APPを使用した。この抗体はAPPのアミノ末端領域に対し誘導され、そして現在までに報告されているAPPイソ型の全てを同定する。それはアミロイド又はAPP分泌後に形成されたc末端APPフラグメントを検出しない。APP放出に関する新規化合物の効果を評価するために、m1レセプターでトランスフェクトされた細胞系を、Pinkas-Kramarskiら(J.Neurochem.59:2158,1992)により記載されたようにして12ウェルプレート中(幾つかの実験では、6ウェルプレート中)で培養した。リガンドを試験期間にわたって無菌100x原液から添加した。実験を、プレートを無血清培地中で2回洗浄することにより終了した。細胞を冷リン酸／食塩緩衝液(pH=7.4;PBS)中でプレートからこすり落とした。遠心分離(10分間、10000g)後に、上澄みを捨て、プレートを、プロテアーゼインヒビターカクテル(50mMのトリス:HCl(pH=7.4)、150mMのNaCl、5mMのEDTA、1%のトリトンX-100、0.1mMのPMSF、5単位/mlのアプロチニン、5μg/mlのペプスタチンA、5μg/mlのロイペプチン)を含む0.1mlの冷溶解緩衝液中で懸濁させた。次いでペレットを最大セッティング(ブランソンソニケーター、モデル130)で5秒間音波処理し、再度遠心分離した。上澄み(細胞膜エキスを)きれいな管に移した。試料をローリー方法によるタンパク質測定のために採取した

40

50

。

APPアッセイにつき、等しい量のタンパク質(典型的には、100 μ g/レーン)を、0.6%のSDS及び1%の2-メルカプトエタノールを含む試料緩衝液中で希釈し、10%のアクリルアミド/SDSミニゲル(ホフファーサイエンティフィック)に装填した。前染色した分子量標準物質(シグマ)を夫々のゲルに装填した。ゲルを4℃で25mA/P/ゲルの一定電流で運転した。ニトロセルロース膜を使用して、ブロッティングを4℃で16~18時間にわたって100mA/Pで行った。下記の工程を室温で行った。膜を10%の低脂肪ミルクを含むPBS中に浸漬することにより1時間にわたってブロックした。この工程に続いて、0.05%のトゥイン-20及び0.1%のBSA(PBST)を含むPBS中で3x5分間洗浄した。抗APPモノクローナル抗体、即ち、ペーリンガーマンハイムからのクローン# 22C11(カタログ#1285-262)をPBST緩衝液中1:200(0.25 μ g/mlのIgG)の希釈で室温で2時間又は4℃で18時間にわたって添加した。幾つかの実験において、同様のプロットを同様の濃度で対照マウスIgGで探査した。この工程に続いて、PBST中3x5分間の洗浄工程を行った。二次ホースラディッシュペルオキシダーゼ結合ヤギ抗マウスIgG抗体(ジャクソンイムノケミカルズから;カタログ# 115-035-003)を1時間にわたってPBST中1:2000の希釈で使用し、続いて上記のようにして洗浄した。イムノプロットの染色を、4-クロロナフトール(16%のエタノールを含むTBS中0.2mg/ml)及びH₂O₂(0.01%)の新しい溶液を使用して室温で15~30分間にわたって行った。染色したプロットを写真撮影し(コダックTMAXネガチブフィルム)、40 μ mの垂直間隔サイズ及び2.4mmの水平スリット幅にセットしたLKBウルトロスキャンKLレーザーสキャナー中で走査した。夫々のレーンをわずかに異なる位置で3回走査した。得られたデータは平均光学密度値であった。

この方法により、本発明者らは試験化合物と一緒にインキュベーション(典型的には24時間)後に細胞膜フラクション中に残っているAPPの量を測定した。アゴニストと一緒にこのようなインキュベーション後に膜中に残っている小さいAPPレベルを、多くのAPPが細胞により分泌されたことの指標として採用した。この型の測定は、アルツハイマー病の β -アミロイドの蓄積を減少するムスカリン様アゴニストの能力を考慮する時に妥当である。何となれば、膜関連APPのみが、APPの分泌形態と違って、 β -アミロイドを生じ得るからである。細胞培地(“ならし培地”)に分泌されるAPPを測定するために、本発明者らはアミコンマイクロフィルトレーション膜(30kDaカットオフ)を使用してならし培地を濃縮する必要があった。濃縮工程後に、試料中のタンパク質の量を、標準物質としてウシ γ -グロブリンを使用してブラッドフォード方法(バイオラードキット#500-0006)により測定した。等しいタンパク質の量をポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)に装填した。試料中のAPPの量を、上記のようにして22C11モノクローナル抗APP抗体によるイムノブロッティングにより分析した。分子量を、夫々のゲルに入れられた前染色した標準物質(シグマ)から推定した。

125%(100%として採用した基準に対して)より高い細胞培養物中のAPP分泌の最大比率を有する式I-IXの化合物が好ましい。このような活性のこのような例がAF160(Des)、AF179、AF185、AF261、AF263、AF265、AF267に見られる。

多数の試料の同時のプロセッシングを可能にするために、ドット-ブロット技術(96ドットが単一膜で同時に処理し得る)を使用して幾つかの研究を行った。この技術において、刺激されたPC12M1細胞からのならし培地を真空中でニトロセルロース膜に直接適用する(先の濃縮を行わない)。次いで膜をイムノブロッティングプロトコルと同様にして探査した。また、詳細な濃度-応答研究及び時間依存性研究をPAGEによる分泌APPの分離により分析した。これらの研究の結果及びドット-ブロット研究から得られた結果が良く一致している。こうして、m1AChRでトランスフェクトされた細胞によるAPP分泌の研究を、ドット-ブロット技術及び1時間のインキュベーションをまた使用して、新規化合物で行った。化合物の幾つか、例えば、AF261、AF263、AF265及びAF267がこのアッセイにおいて完全アゴニストである。

m1AChR媒介APP分泌の脱感作は、本発明からの部分アゴニストと比較して、CChと一緒に延長されたインキュベーション中に強力である。この説明は、AA放出がAPP分泌の刺激に関

10

20

30

40

50

与するというEmmerlingら(BBRC 197:292-297,1993)の最近の示唆と組み合わせてアラキドン酸(AA)放出の脱感作に関する本発明者らのデータを考慮する時に特に魅力的である。本発明者らのデータは、新規化合物の幾つかが長期にわたって細胞関連APPレベルを低下するための臨床上的使用に高度に有効なアゴニストよりも有利であり得ることを示すであろう。AA放出アッセイにおいて最小の脱感作を示した化合物はAF265及びAF267である。24時間にわたるAF265又はAF267(両方とも100 μ M)と一緒にインキュベーション後の細胞関連APPの測定は減少されたAPPレベルを示し、これらはAF267で一層強く、CChの効果とほぼ同様であり、一方、AF265は弱い効果を有していた。

m1AChRで安定にトランスフェクトされた細胞培養物によるAPP分泌に関するデータは、新規化合物の幾つかがAPP分泌を刺激でき、それ故、生体内のアミロイド蓄積を減少するの10
に寄与し得ることを明らかに示す。しかしながら、生体内の状況への組織培養データの外挿を可能にするためには、化合物はまた脳中のAPP分泌を刺激し得ることが実証されることが好ましい。その目的のために、ラット脳皮質切片によるAPP分泌を研究した。典型的な実験において、ラット脳皮質切片を新たに解剖された組織から直ちに調製し、マックイルワイン組織チョッパーにより二つの垂直方向に細断し(300x300ミクロン)、酸素飽和クレブス緩衝液で、3回すすいだ。洗浄した切片を50分間にわたって37°Cでこの緩衝液で平衡にした。その平衡工程(これはスライシング工程から生じる細胞デブリの除去に必要とされる)後に、緩衝液を50 μ g/mlのBSA(タンパク質キャリアーとして)及びプロテアーゼインヒビターカクテル(0.1mMのPMSF及び5 μ g/mlの夫々のロイペプチン、ペプスタチン及びアプロチニン-A)を含むクレブス緩衝液に交換した。切片をプラスチック管に分配し、320
7°Cで1時間(一つの実験では2時間)にわたって示された濃度の試験化合物で刺激した。インキュベーション期間の終了時に、緩衝液試料を遠心分離により回収し、タンパク質含量につき分析し、そして等しいタンパク質の量を分離し、培養細胞を用いる実験と同様にPAGEを使用して、22C11抗APPモノクローナル抗体によるイムノブロッティングにつき処理した。分泌されたAPPは117kDa(主要バンド)及び90kDa(微量バンド)の見掛け分子量を有する2種のタンパク質バンドとして現れた。これらのAPPバンドはAPP751及びAPP695の分泌形態(APPを含む主要なクニッツ含量形態及びAPPのクニッツ欠乏形態)に相当し得る。また、それらは分泌APP751の成熟形態及び未熟(グリコシル化されていない)形態に相当し得る。現在、これらの可能性を区別するのに十分なデータが入手できない。何となれば、これらの研究に使用した22C11モノクローナル抗体は分泌APPの全ての形態を同定するからである30
。例えば、CCh又はAF267の両方(両方とも0.1mM)は対照APP分泌と比較してラット脳皮質切片によるAPP分泌を2～3倍増大した。これは117kDa及び90kDaのタンパク質バンドの両方につき明らかであった。

脳皮質切片によるAPP分泌の観察は特異である。現在まで、試験管内の脳組織によるAPP分泌の唯一公表された実証はNitschら(PNAS 90:5191-5193,1993)によるものであり、彼らはラット海馬切片の電気刺激がAPP放出を増大することを報告した。注目するに、彼らの研究はレセプターアゴニストによる刺激を含んでいなかった。それ故、本発明者らの観察は革新的かつ新規である。何となれば、それらはあらゆるレセプターリガンド、特に、M1アゴニスト様AF267による脳組織中のAPP分泌の調節の最初の実証であるからである。ラット皮質切片中のAPP分泌を刺激するこれらの化合物が好ましい。このような化合物は、本発40
明において対照より25%多くPIのような第二メッセンジャーを刺激できる全てのアゴニストと考えられる。これらの特異な観察は、アルツハイマー病患者の脳中のA β 4アミロイドペプチドの付着を遅くするための化合物の幾つかの可能性を示し得る。

試験6：m1AChRでトランスフェクトされた細胞培養物及びラット皮質切片中のタウタンパク質リン酸化

タウ(τ)は軸索中に豊富であるニューロン特異性微小管関連タンパク質である。タウは幾つかのイソ型として発現され、これらの全てが単一遺伝子のオルタナティブスプライシングにより誘導される(ヒトタウは352-441のアミノ酸を有する6種のイソ型を有する)。それは神経軸索の微小管の安定化に機能する。微小管へのその結合は異なる部位でそのリン酸化により調節される(Mandelkow及びMandelkow,TIBS 18:480-483,1993)。この結合は、50

順に、軸索成長及び安定性を調節する(Baasら, J.Cell Biol.115:1333-1344,1991;Mattson, Brain Res.582:107-118,1992)。アルツハイマー病の特徴の一つは、プラーク中のアミロイド付着の他に、神経繊維タングル(NFT)中のタウ又はタウ誘導体の蓄積である。これらのタングルはおそらく疾患脳組織中の神経細胞死滅の最終産物を反映する。多数の研究がAD患者の死後の脳試料中のタウタンパク質リン酸化の変化を実証した。この現象はモノクローナル抗体ALZ-50との増大された免疫反応性として最も良く記録され、これはこれらの脳試料中のタウの超リン酸化形態を検出することが示された(Vincent及びDavies,PNAS 87:4840-4844,1990;Vincent及びDavies,Brain Res.531:127-135,1990)。それ故、タウ特異性キナーゼ/ホスファターゼの微妙なバランスの変化がADの神経細胞死滅のプロセスに関与することがあり、それ故、このような可能なインバランスの修正が潜在的な治療上の価値があり得ることが示唆された。

10

それ故、CCh又は試験化合物の一種による刺激後にm1AChRで安定にトランスフェクトされた細胞培養物中のタウタンパク質のリン酸化レベルを研究した。これを、モノクローナル抗体タウ-1を使用することにより行い、この抗体はタウの脱リン酸化されているが、リン酸化されていないイソ型を認識することが示された(Mandelkow及びMandelkow,TIBS 18:480-483,1993)。種々の期間にわたるアゴニストと一緒に細胞又はラット皮質切片のインキュベーション後に、細胞又は切片をPBSで3回洗浄し、0.2mMのEDTAを含むPBS中でこすり落とし、10,000xgで5分間遠心分離した。膜ペレットをタンパク質含量につき分析し、等しいタンパク質の量をタウ-1抗体によるイムノブロットングのためにPAGEに装填した。免疫反応性の測定を、エンハンスド・ケミルミネセンス(ECL)技術(キットRPN-2109;アメルシャム、UK)を使用してペルオキシダーゼにカップリングされた二次抗体を検出した以外は、APPの研究(ビデオデンシトメトリーを使用する)と同様にして行った。

20

注目するに、CCh又は試験アゴニストの両方がタウ-1免疫反応性を増大し、この増加がアトロピンにより完全にブロックされた。CCh媒介タウ-1免疫反応性の顕著な増大が、ムスカリン様リガンドによる刺激の前に3日間にわたってNGF(50ng/ml)で培養された細胞中で観察された。種々の濃度のCCh又は試験アゴニストを使用する同様の実験は、増大されたタウ-1免疫反応性が比較的高いリガンド濃度(10-100 μ M)を必要とすることを示した。

また、本発明の化合物と比較してCChによる刺激後のラット脳皮質切片中のタウリン酸化を測定した。再度、驚くことに、試験したムスカリン様アゴニストはタウリン酸化を減少できる。

30

こうして、ムスカリン様アゴニストは、細胞培養物中、更に重要なことに脳切片中でトランスフェクトされたm1AChRを活性化することによりタウリン酸化を減少できる。また、これらのアゴニストの効果は長く持続すると考えられ、少なくとも3日間にわたって100 μ Mのリガンドと一緒に細胞のインキュベーション後でさえも明らかである。これらの観察は、選択的M1-アゴニストがタウリン酸化を減少できることを示し得る。

これらの観察は新規である。何となれば、本発明者らが最も良く知る限りでは、アルツハイマー病と疾患の脳に典型的な神経繊維タングル中のリン酸化タウタンパク質イソ型の蓄積の間の関係が現在まで実証されていなかったからである。これらの新規な観察はM1アゴニストによるアルツハイマー病の進行の遅延に妥当性を有し得る。

結論

40

M1-アゴニストは幾つかの効果をもたらし得る。こうして、驚くことに、m1アゴニストの作用の機構は、当初考えられたよりも複雑である。下記の活性が試験管内(そしておそらく生体内)でm1アゴニストと既に関連していた。

- 1.m1レセプターとの結合及びその活性化;
- 2.選択G-プロテイン(例えば、GsではなくGp)の明らかな活性化
- 3.神経栄養様効果及びNGFとの相乗効果;
- 4.アミロイド前駆体タンパク質(APP)の分泌及び β -アミロイドの減少;
- 5.脱リン酸化 τ タンパク質の比率の増大;
- 6.NGF様効果

全てのこれらの効果は、m1AChRの活性化が関連イベントのカスケードをもたらすモデル中

50

で相互に関連し得る。m1アゴニスト活性の基礎となるこれらの複雑な機構は、SDAT及びADにおける異常なAPPプロセッシング、NGF様欠乏及びコリン作用欠乏を説明する一般的なシナリオに関連し得る。それ故、本発明のアゴニストのようなm1アゴニストはセクレターゼプロセッシング経路を選択的かつ積極的に促進することによりアミロイド形成を防止するのに有益であり、またNGFとのそれらの相乗効果のために、AD中のノイロトロピンの作用を促進し得る。こうして、m1アゴニストはコリン作用置換戦略そしてまたADの進行の遅延に有益であり得る。m1アゴニストである本発明の化合物は、(ペプチドと違って)比較的小さな分子であり、これらは神経栄養様効果を有し、かつAPPの放出及び正常なプロセッシングを促進し、かつ脱リン酸化タウタンパク質を増大する(又はリン酸化タウタンパク質を減少する)。こうして、m1アゴニストによる細胞の処理はおそらくAPPのプロセッシングをアミロイド形成リソソーム経路から正常な分泌経路にシフトし、それ故、ADのコリン作用治療がβ-アミロイド付着に対し更に長期の効果を有し得る(また、Lahiriら, Biochem.Int.28:853-860,1992を参照のこと)。更に、本発明のアゴニストの幾つかは制御様式で、特にNGFの存在下でNGF様効果を示すので、このような化合物はAD/SDATの将来の治療にかなり有益であり得る。このように、神経突起外殖が良く調節し得る。更に、本発明者らの化合物は、NGFの存在下で神経突起外殖に対し長く持続する有益な効果を有する。こうして、AD/SDAT患者につきNGFの如き成長因子を使用する将来の可能な治療は、m1アゴニストと一緒に投与される時に成長因子それ自体のそれ程頻繁ではない投与を必要とし得ることが考えられる。注目するに、脳へのNGFの投与は最も困難な仕事である。何となれば、この化合物は血液-脳関門を交差しないからである。この問題が解決されると(例えば、特別な送系により)、それは依然としてNGF様化合物の反復投与を必要とするであろう。これに関して、m1アゴニストはNGFの必要とされる反復投与の回数を減らすことができる。何となれば、このようなアゴニストはNGFの効果を延長するからである(少なくとも、試験管内で)。重要なことに、2人のAD患者におけるNGF(icv)の臨床試験は非常に重大な副作用(ひどい痛み、錯乱、ミニメンタルスコアの低下)を示した(アルツハイマー病の第3回スプリングフィールドシンポジウム、1994年5月11-15日、スプリングフィールド、イリノイ州、米国)。NGFと相乗作用する本発明のアゴニストのようなM1アゴニストの使用は、ヒトのNGFと関連する副作用を減少するのに大いに有益であり得る。何となれば、その後、低投薬量のNGFが使用し得るからである。

試験番号7：薬理学的プロフィール及び毒物学的プロフィール

夫々の物質の3-6の投薬レベルのiv投与もしくは経口投与(マウス)又は経口投与(ラットにつき胃内)後に動物を観察することによりその研究を行った。結果を表5に要約する。

投与後の異なる時間間隔(10、20、30、45、60、120、240分及び24時間)で動物を一般挙動、反射及び自律作用の変化の詳細な観察にかけた。死亡率を試験化合物の投与後24時間で記録した。ラットの体温を、テレサーモメーター(モデル46TUC)を使用して測定した。種々の薬理学的パラメーター及び挙動パラメーターは、唾液過多、鼻及び口のまわりの赤み、血涙症、鎮静、運動失調、チアノーゼ、震え、痙攣、低体温症、強直性発作、呼吸困難症候群、下痢、さしこみ痛、起毛、死亡率、瞳孔直径の変化、ロータロッド(rotarod)、活動低下又は活動過剰及び発声を含んでいた。試験化合物の幾つかは500mg/kg(p.o.、マウス&ラット)まで無毒性である。

表5：マウス又はラットにおける薬理学的プロフィール及び毒物学的プロフィール

化合物 AF-	投薬量 *	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
133 マウス	50▽ 100▽ 200▽ 400														0/5 3/5 5/5 1/5
134 マウス	10▽ 25▽ 50▽ 100▽ 100 200						4/5				2/5 1/5				0/5 0/5 0/5 3/5 0/5 0/5
151 (S) ラット	50 100 200 500	4/4 4/4 4/4 4/4	4/4 4/4 4/4 4/4	3/4 4/4 4/4 4/4	0/4 0/4 2/4 4/4	0/4 0/4 1/4 4/4	0/4 0/4 1/4 4/4	0/4 0/4 1/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4		0/4 0/4 1/4 2/4	0/4 3/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 1/4 2/4
160 マウス	8 16 31 63 125 250 500	0/4 0/4 2/4 4/4 3/4 4/4 4/4	0/4 1/4 3/4 4/4 4/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 4/4 4/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 4/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4 1/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4	NT — — — — — —		0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 1/4 1/4 0/4 2/4 3/4 3/4	NT — — — — — —	NT — — — — — —	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4
ラット	10 25 50 100 200 500	0/4 0/4 4/4 4/4 4/4 4/4	0/4 1/4 4/4 4/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 4/4	0/4 0/4 1/4 0/4 0/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 4/4 4/4 4/4 4/4 4/4		0/4 0/4 0/4 1/4 2/4 0/4	0/4 0/4 4/4 4/4 4/4 4/4	0/4 4/4 4/4 0/4 4/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 2/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4 0/4 0/4
160(Des) ラット	63 125 250 500	0/4 1/4 2/4 3/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 4/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 1/4 1/4 0/4		0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 1/4 1/4 3/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 1/4	0/4 0/4 0/4 0/4
マウス	120 240 500 1000	0/4 0/4 1/4 2/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 1/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 0/4 0/4 4/4	0/4 4/4 4/4 3/4	0/4 0/4 0/4 0/4	0/4 1/4 2/4 3/4			0/4 0/4 0/4 0/4

* 特にことわらない限り、経口投与されたmk/kg

♡静脈内投与

表5 : (続き)

化合物 AF-	投薬量 *	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
163 マウス	25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	NT	0/4	0/4	0/4	NT	NT	0/4
	50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4			0/4
	100	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4			0/4
	200	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4			0/4
	400	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4			0/4
ラット	50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	NT	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	100	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	200	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	400	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
177 マウス	31	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	0/4	0/4	NT	NT	0/4
	62	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	0/4	0/4			1/4
	125	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4	2/4	0/4	0/4	0/4			4/4
	250	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4	1/4	0/4	0/4	0/4			4/4
	500	4/4	0/4	4/4	4/4	0/4	4/4	4/4		0/4	0/4	0/4			4/4
178 マウス	30	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	NT	0/4	0/4	0/4	NT	NT	0/4
	60	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	4/4			0/4
	144	3/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	3/4			0/4
	288	4/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	3/4	2/4			0/4
	500	4/4	4/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4		2/4	0/4	4/4			0/4
ラット	63	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	NT	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	125	4/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4		0/4	4/4	4/4	0/4	0/4
	250	3/4	3/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4		0/4	4/4	3/4	0/4	0/4
	500	4/4	3/4	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4		1/4	4/4	4/4	0/4	0/4
180 マウス	63	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	NT	0/4	0/4	0/4	NT	NT	0/4
	125	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		2/4	0/4	0/4			0/4
	250	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		3/4	0/4	0/4			0/4
	500	4/4	3/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4		4/4	0/4	0/4			0/4
ラット	31	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	NT	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	62	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	125	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	250	2/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

10

20

30

表5：(続き)

化合物 AF-	投薬量 *	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
185 マウス	31.3	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4			0/4
	62.5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4			0/4
	125	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	4/4	0/4			0/4
	250	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4			0/4
	500	3/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4	0/4	0/4			0/4
ラット	6.5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	125	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	250	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	500	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
261 ラット	3.75	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	7.52	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	4/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	15.6	3/4	4/4		4/4	0/4	0/4	0/4	4/4		0/4	3/4	0/4	0/4	0/4
	62.5	4/4	4/4		4/4	0/4	4/4	0/4	4/4		0/4	3/4	3/4	3/4	0/4
	250	4/4	4/4		4/4	0/4	4/4	4/4	4/4		0/4	1/4	4/4	4/4	4/4
265 ラット	125	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	250	1/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	2/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	500	0/4	0/4		0/4	0/4	4/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
マウス	125	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4		0/4		0/4	0/4
	250	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	2/4	2/4		0/4		0/4	0/4
	500	2/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	4/4	4/4		0/4		4/4	0/4

表5の記号解：

1 = 唾液過多

8 = 低体温症

2 = 血涙症 (ラット)

9 = 瞳孔散大

又は流涙 (マウス)

10 = 呼吸困難症候群

3 = 鎮静

11 = 下痢

4 = 運動失調

12 = さしこみ痛

5 = チアノーゼ

13 = 起毛

6 = 震え

14 = 死亡率

7 = 痙攣

結果の検討

AF160

AF160は末梢よりも中枢である比較的強力なムスカリン様アゴニストであり(例えば、低体温症vs唾液過多)、AF102Bと比較した場合少なくとも5倍毒性が低い。この化合物における顕著な知見は最高の試験投薬量(500mg/kg、po)までラットで震えがなかったことであり、また>125mg/kg、p.o.の投薬量でマウスで若干の震えがあったことであった。同様のパターンをAF160のメチル類縁体、即ち、AF178中で検出し、この場合、震えが500mg/kg、p.

10

20

30

40

50

o.までマウス及びラットの両方で検出されなかった。マウスはラットよりもこの化合物に感受性である。何となれば、末梢副作用及び中枢副作用が低投薬量で生じるからである。ラットにおいて、AF160は強力なアゴニストであることがわかった。兆候が25mg/kg程度に低い投薬量で明らかであった。ED₅₀値を低体温症及びさしこみ痛の両方につき得た。症候の程度及び重度は投薬量に関連していた。低体温作用は4時間よりも長く持続した。

4つの特徴がAF160において顕著である。

- 1.明らかにその化合物はPNS活性であるよりもCNS活性である(例えば、低体温症が唾液過多よりも低投薬量で生じる)。
- 2.CNS選択性がある。何となれば、CNS作用の全てが観察されるとは限らないからである(例えば、低体温症vs震えの欠如)。
- 3.観察された作用の期間が長い。
- 4.マウス及びラットの死亡率が最高投薬量、500mg/kgで観察されなかった。

AF160(Des)

ラットにおいて、唾液過多、低体温症及び下痢が125mg/kgの投与後45分で4匹の動物のうちの1匹で観察された。投薬量を500mg/kgまで増やした後、これらの症候そしてその他に起毛及び鎮静を示すグループ当たりの動物の数が目立つようになった。低体温作用は投薬量に関連しなかった。その他の中枢又は自律の作用がこの化合物により生じなかった。その化合物はコリン作用性副作用に関して比較的不活性である。AF160(Des)の場合、副作用がラットにおいて>246mg/kg、p.o.の投薬量で誘発される。

マウスにおいて、流涙、下痢及び瞳孔散大を240mg/kgのAF160(Des)の投与後に観察した。1000mg/kgまでの高投薬量では、唾液過多、鎮静及び低体温症の如き追加の症候が明らかであった。症候の殆ど(流涙を除く)の程度及び重度は投薬量に関連していた。死亡率は最高投薬量、1000mg/kgでさえも観察されなかった。眼へのAF160(Des)1mg(閾値の量)の局所適用は15分間以内に瞳孔散大を生じた。対照的に、その知られている局所の瞳孔散大作用のために基準薬剤として使用したアトロピンは40µg程度に少量で45分間以内に瞳孔散大を生じた。この結果は、AF160(Des)誘発瞳孔散大が本来中枢性であることを明らかに示す。

AF163

ラットにおいて、50~400mg/kgの投薬量範囲で、唾液過多並びに鼻及び口のまわりの赤みが、この化合物により生じた唯一の作用であった。これらの作用は短い発病(10分)及び短期間(20分)であった。唾液過多を示す動物の数は投薬量に関連していたが、鼻のまわりの赤みが100mg/kgの投薬量レベルで1匹の動物のみに見られた。結論すると、自律作用のみがラットにおけるこの化合物の投与後に観察された。

マウスにおいて、試験した最高投薬量(400mg/kg)で1匹の動物で観察された発声を除いて、この化合物はその他の顕在作用がなかった。顕在末梢副作用&中枢副作用が試験した最高投薬量(400mg/kg、p.o.)までマウス中でAF163で検出されなかった。AF163は、RS86のジチオ類縁体(Bolligerら, “アルツハイマー病及びパーキンソン病: R & Dの戦略”, Fisherら編集, Plenum Press, 585頁, 1986を参照のこと)と同様にAF160のプロドラッグと考えられる。

AF177

マウスにおいて、低体温症、活動低下及び震えが310mg/kgの投与後10分で観察された。投薬量を62mg/kgに増やした後、症候の数が増大した。鎮静、運動失調、ストラウブテイル(Straub-tail)及びロータロッドからの落下が4/4のマウスで投与の20分後に観察された。1/4のマウスの死亡率が投与の30分後に生じた。投薬量を125、250そして500mg/kgに増やす時、4/4のマウスの唾液過多、痙攣及び死亡率がまた観察されたが、症候の開始及び期間が次第にひどくなった。計算されたED₅₀値は、AF177が主として中枢作用を有することを示す。AF177は中枢活性の強力なムスカリン様アゴニストのプロドラッグと考えられる。

AF178

マウスにおいて、減少された運動活動、唾液過多、流涙及び下痢が60mg/kgの投与の1時

10

20

30

40

50

間後までに見られた。投薬量を500mg/kgに増やすと、その他に、呼吸困難症候群、ロータロッドに関する性能の低下、震え及び瞳孔散大の如き症候を生じた。症候の殆どの程度及び重度は投薬量に関連していた。一般に、投薬量を増やすと、活性を延長した。例えば、下痢、震え、瞳孔散大等が約4時間持続した。500mg/kgでは、1匹の動物が投与の20分以内に動悸を示し、10分間持続したことを言及することは意義がある。500mg/kgの投薬量が顕著な毒物学的症候を生じたとしても、死亡率は記録されなかった。こうして、推定LD₅₀は500mg/kgよりも高い投薬量であるであろう。

ラットにおいて、唾液過多が62.5mg/kgのAF178の投与後の唯一の顕在兆候であった。投薬量を125mg/kgに増やすと、多くの兆候、例えば、血涙症、低体温症、下痢及びさしこみ痛が明らかであった。これらの症候の程度及び重度は投薬量につれて増大された。呼吸困難症候群が500mg/kgの投薬量で注射の5分後に1匹の動物のみで明らかであった。その化合物は比較的広い安全限界を有し得る。

10

AF180

ラットにおいて、125mg/kgのAF180により生じた唯一の症候は唾液過多であった。それは投与の20分後に明らかになり、40分間持続した。更に投薬量を500mg/kgに増やすと、唾液過多の期間を230分に増大した。この投薬量レベルで、低体温症がまた注射の15～240分後に3匹の動物で記録された。その他の中枢作用又は自律作用がこの投薬量レベルで観察されなかった。

マウスにおいて、低体温症及び瞳孔散大が125mg/kgの投与の20分後に観察された。投薬量を500mg/kgに増やした後、これらの症候を示すグループ当たりの動物の数が増え、その他に、唾液過多、流涙及び鎮静が目立つようになった。更にこれらの症候の期間が500mg/kgの投与の1.5時間後よりも大きかった。その他の中枢作用又は自律作用がこの化合物により生じなかった。

20

AF185

マウスにおいて、瞳孔散大が62.5mg/kgのAF185の投与後に観察された。500mg/kgまでの高投薬量で、追加の症候、例えば、唾液過多及び低体温症がその化合物の投与後に明らかであった。死亡率はその最高投薬量レベル(500mg/kg)でさえも観察されなかった。

ラットにおいて、試験した最高投薬量(500mg/kg)で1匹の動物で観察された鼻及び口のまわりの赤みを除いて、この化合物はその他の顕在作用がなかった。AF185は非常に安全な化合物であることが結論される。

30

AF261

ラットにおいて、7.5mg/kgのAF261により生じた唯一の症候は低体温症(典型的なCNS作用)であった。それは投与の10分後に明らかになり、50分間持続した。投薬量を15.6mg/kgに増やした後、追加の症候、例えば、唾液過多、血涙症、活動低下、運動失調及び下痢が10分以内に明らかであった。250mg/kgまでの高投薬量で、追加の症候、例えば、鼻及び口のまわりの赤み、震え、痙攣、強直性発作、さしこみ痛及び起毛が明らかであった。これらの症候が投与の5～10分後に検出できた。これらの症候の殆どの重度及び程度は投薬量に関連していた。

4/4のラットの死亡率が試験した最高投薬量(250mg/kg)でのみ投与の45分後に生じた。

AF265

40

ラットにおいて、250mg/kgのAF265により生じた唯一の症候は低体温症(典型的なCNS作用)であった。それは投与後の10分以内に明らかになり、110分間持続した。その他の中枢作用又は自律作用がこの化合物の投与後に観察されなかった。こうして、この化合物はそのCNS作用のみのために顕著である。

試験番号8：ナイーブラットにおけるAF134の効果

記憶能及び学習能に関するAF134の効果はナイーブラットにおいてステップスルー受動回避仕事で評価した。挙動パラダイム及び装置はFisherら, Neurosci.Lett.102:325(1989)に記載されたとおりである。ナイーブ雄SDラット、200-300g、生後3～4ヶ月(チャールズリバーブリーディング、英国)の4つのグループ(20匹のラット/グループ)をAF134の下記の投薬量:1、5、10mg/kg腹腔内(ip)の一つで治療し、一つのグループが食塩水(

50

1 mg/kg、ip)を受けた。

AF134治療ラットにおいて、その化合物がショックの30分前に注射されたプレショック治療ラットの保持潜在性とポストショック治療ラット(その化合物がショックの60分後に注射された)の保持潜在性の間に有意差が見られなかった。

別の実験パラダイムにおいて、AF134をナイーブラットにおいて8-アームのラジアルアーム-迷路(Fisherら, Neurosci.Lett.102:325(1989)に記載されたような挙動パラダイム及び装置)でスコポラミン(抗ムスカリン様化合物)と比較した。14匹のナイーブラットのグループを、迷路を走行する20分前にスコポラミン(0.2mg/kg、ip)又は食塩水(1 ml/kg、ip)で処理した。全てのアームが餌付けされた。夫々のラットが処理の間で3日の間隔で両方の処理を受けた(トレーニングの10日に試験の10日が続いた)。同ラットにおける同試験がAF134(5 mg/kg、ip)対食塩水(1 ml/kg、ip)で繰り返された。スコポラミンは、予想されたように、使用した投薬量で典型的な抗コリン作用性の“健忘”作用を示した。しかしながら、AF134はラットの挙動に変化を生じなかった。

M1(結合研究に基いて)及びM3ムスカリン様レセプター(モルモット回腸調製に基いて)に関してアンタゴニスト活性を有するAF134は認識作用の障害を生じず、こうして乗物酔い、パーキンソン病、混合パーキンソン及びアルツハイマー病、躁鬱病、ヒト頭部外傷並びに種々の末梢障害の治療、急性鼻炎、消化性潰瘍及び喘息の治療に有益であり得る。

試験番号9. 動物モデルにおける挙動研究

AF160及びAF102B-ラジアルアーム迷路

AF64A注射ラット(1.5nモル/2 µl/側部)の記憶欠損を反転する際のAF160(3及び5mg/kg、p.o.)及びAF102B(3mg/kg、p.o.)の投薬量の潜在的な有益な効果を調べた。この動物モデルは或る程度までコリン作用性機能低下がSDATであることに模擬する(Fisherら, J.Pharmacol.Expl.Therap.257:392-403,1991)。生後4~6ヶ月(340-580g)の80匹の雄のSDラットをこの研究に使用した。操作と挙動試験の時間間隔は2~3ヶ月であった。挙動試験を始める1週間前に、ラットを個々のケージに移し、それらの自由飼育重量の約85%に達するまで食事制限した。次いでラットはそれらの体重を定常状態に保つために毎日アルトロミンの5~6片(15g)を受けた。ラットは水を自由に摂取した。部屋を1日12時間(6:00-18:00)照明し、挙動試験を朝中に行った。

挙動試験

40匹のAF64A注射ラット及び40匹の食塩水注射ラットをランダムに4つのサブグループに分け、AF160 3mg/kg、AF160 5mg/kg、AF102B 3mg/kg(10ml/kg、p.o.)及びDDWに指定した。挙動試験の最初の2日中に、ラットを迷路及び強化ペレット(精密度45mg)にならすために、それらを8/8RAM-餌付け-操作に従ってトレーニングした。この段階で、ラットを中央アリーナに入れ、全ての8の餌付けアームに自由に接近させた。全ての8のペレットが回収された時又は15分の終了時のいずれか早い方に、夫々の活動期間を終了させた。3日目及び4日目中にペレットをアームの端部にのみ置いた。それ以外は、その他の操作は予備トレーニングと同じであった。試験を実験の第2週中に行った。その時間中に、AF160、AF102B又はDDW(対照として使用した)を5日間にわたって試験の60分前に1日1回投与した。

データ分析

迷路内の全ての移動、経過時間だけでなく、正確な応答及び不正確な応答を記録した。基準性能として使用したトレーニング期間と比較して試験期間中のAF160又はAF102Bの効果を評価するために、反復の可変因子(トレーニングのブロック又は試験日)及び二つの非反復可変因子(AF64A/食塩水の注射、並びに種々の投薬量のAF160及びAF102B又はDDWによる治療)を含む3方アノバ(2x4x2)をつくった。簡単な主要効果の対称を使用してポストホック(Post-hoc)比較を完結した。

結果

往診した8のうちの正確な選択に関して、グループx治療x週の間には有意な相互作用が見られた[F(2/48)=3.95;P<0.025]。更に詳しくは、トレーニング期間及び薬剤投与期間の両方中で、AF64A注射ラットは食塩水注射ラットよりもかなり少ない正確な選択をした(P<

10

20

30

40

50

0.001)。薬剤、AF102B(3mg/kg)及びAF160(3mg/kg)の両方はトレーニング日と較べて第2週中にAF64A注射ラットの性能を改善した(夫々、 $P<0.001$)。第2週中に、両方のグループ、AF160(3mg/kg)及びAF102B(3mg/kg)は、水で処理されたAF64A注射ラットの性能よりもかなり高い性能の同レベルに達した($P<0.05$)。AF160 5mg/kgはこのパラメーターに関して有意な効果を有していなかった。食塩水注射ラットと比較して、水で処理したラットの性能は第1週と較べて第2週中に改善した(5%)($P<0.01$)。同様にまた、改善(7.5%)がAF160(3mg/kg)で治療されたラットで見られた($P<0.001$)。AF102B(3mg/kg)は食塩水注射ラットにおいてこのパラメーターに関して効果を有していなかった。

合計エラーに関して、グループ x 治療 x 週の間には有意な相互作用が見られた [$F(3/64)=3.49$; $P<0.025$]。両方の週において、AF64A注射ラットのエラーの数は食塩水注射ラットのエラーの数よりもかなり高かった($P<0.001$)。AF64A注射ラットの全ての4つのグループのエラーの数は第1週と較べて第2週でかなり減少した。AF64A+水-20% ($P<0.01$)、AF64A+AF160-3mg/kg-16% ($P<0.001$)、AF64A+AF160-5mg/kg-15% ($P<0.02$)及びAF64A+AF102B-3mg/kg-30% ($P<0.001$)。全ての4つのグループはそれらの性能を改善したが、AF102B-3mg/kgの性能のみがAF64A+水グループの性能よりも高かった。食塩水注射ラットにおいて、AF160-3及び5mg/kgが第1週と較べて第2週で性能をかなり改善した(夫々、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$)。AF102B-3mg/kgは性能の低下を生じ、このグループは第1週と較べて第2週で多くのエラーをした($P<0.001$)。

合計時間に関して、グループ x 治療 x 週の間には有意な相互作用が見られた [$F(2/48)=3.29$; $P<0.05$]。時間の改善が、AF64A+AF160-5mg/kgを除くAF64A注射サブグループ:AF64A+水-31% ($P<0.01$)、AF64A+AF160-3mg/kg-(47%)($P<0.001$)及びAF64A+AF102B-3mg/kg-(21%)($P<0.01$)で見られた。食塩水注射ラットにおいて、時間の改善のかなりの効果が食塩水+水-(54%)($P<0.001$)及び食塩水+AF160-3mg/kg-(37%)($P<0.001$)で見られた。AF102Bは、おそらく“フロアー効果”のために、このパラメーターにつき食塩水注射ラットに対し効果を有していなかった。AF160-5mg/kgは食塩水注射ラットの性能に有意に影響しなかったが、改善の傾向が観察し得る。

結論

1. AF64A(1.5nモル/2 μ l/側部)を注射したラットは、食塩水注射ラットと較べて正確な選択、エラーの数及び合計時間のパラメーターにおいてかなりの機能障害を示した。
2. AF160(3mg/kg)は正確な選択及び合計時間のパラメーターにおいて(偽薬治療と較べて)AF64A注射ラットの性能をかなり改善した。5mg/kgの高投薬量が基準線と較べて(偽薬治療と較べてではない)エラーの数のパラメーターのみにおいて有効であることがわかった。

AF160(Des)-モリス水迷路(MWM)仕事

この研究の目的は、Fisherら, J.Pharmacol.Exptl.Therap.257:392-403,1991の方法に従ってMWM仕事を使用してAF64A注射ラットの認識障害を反転する試験物質AF160(Des)の能力を評価することであった。AF160(Des)を二つの投薬量:1及び3mg/kg p.o.を使用して試験した。38匹のAF64A(3nモル/2 μ l/側部)注射ラット及び42匹の食塩水注射ラットをランダムに4つのサブグループに分け、異なる投薬量のAF160(Des)(1及び3mg/kg、p.o.)又はDW(10ml/kg、p.o.)に指定した。薬剤を5日間にわたって試験の60分前に1日1回投与した。

一貫した副作用が挙動試験中に観察されなかった。下記の結果が得られた。

1. AF64A(3nモル/2 μ l/側部)の注射は、回避潜在性及び経路長さの両方のパラメーターにより示されるように、性能のかなりの機能障害を生じた。
2. AF160(Des)-3mg/kgはトレーニングの第3ブロックに関してAF64A注射ラット及び食塩水注射ラットの性能を改善した。

顕著な効果は、学習不足及び記憶不足に関するその可能な有益な効果を試験するためにその化合物を将来種々の投薬量で使用することを示唆する。

AF185-受動回避(PA)

この研究は、AF64A治療ラットにおける受動回避保持に関する種々の投薬量のAF185の効果

10

20

30

40

50

を調べた。

方法

AF64Aを両側に注射(3nモル/2μl/側部、icv)して動物モデルをつくった(Fisherら, J. Pharmacol. Exptl. Therap. 257:392-403, 1991)。操作の4週後に、AF64A注射グループ及び食塩水注射グループを夫々10~11匹のラットの4つのサブグループに分けた。3つのサブグループを異なる投薬量のAF185治療(1、5、10mg/kg、p.o.)に指定し、一つのグループがDDW(10ml/kg)を受けた。AF185をショックの直後に投与し、ラットを72時間後に試験した。実験の詳細につき、Fisherら, J. Pharmacol. Exptl. Therap. 257:392-403, 1991を参照のこと。

結果

初期潜在性及び保持潜在性の測定を2方アノバ(2x4);注射-AF64A/食塩水vs.AF185又はDDWの投薬量により別々に分析した。

初期潜在性に関して、有意差がグループのいずれの間にも初期潜在性に見られなかった。保持潜在性に関して、グループと治療の間の相互作用が見られた($F(3/75)=22.31$; $P<0.001$)。簡単な主要効果対称は、DDWによるAF64Aラットの保持潜在性がDDWで治療された食塩水ラットの保持潜在性よりもかなり短いことを示した($P<0.001$)。AF185-1、5又は10mg/kgで治療されたAF64Aラットの保持潜在性はAF64A+DDWの保持潜在性よりもかなり長かった($P<0.001$)。その他の有意差は見られなかった。

結論

1. AF64A注射ラットは食塩水注射ラットと較べて保持潜在性にかなりの障害を示した。
2. AF185(1、5及び10mg/kg)で治療されたAF64A注射ラットは対照動物と同様の保持能力を示した。
3. AF185はアルツハイマー病で観察された記憶障害のような記憶障害の治療に有望な化合物であり得る。

本発明の特定の化合物の例につき、IUPAC系統的命名法に従って、本明細書に使用されたそれらのコード番号との下記の相関関係が示される。

- 2, 8-ジメチル-1-オキソ-1-チア-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-3-オン(AF262); 3-エチル-8-メチル-1-オキサ-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン(AF268); 2, 8-ジメチル-1-オキサ-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン(AF264); 3, 8-ジメチル-1, 4-ジオキサ-8-アザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF274); 2-エチル-4, 8-ジメチル-1-チア-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-3-オン(AF272); 3-メチル-1-オキサ-4-チア-8-アザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF269); 3-エチル-8-メチル-1-オキサ-4-チア-8-アザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF271); 2-メチル-1-チア-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-3-オン(AF263); 3, 8-ジメチル-1-オキサ-4-チア-8-アザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF265); 2, 8-ジメチル-1-オキサ-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-3-オン(AF260); 2, 4, 8-トリメチル-1-チア-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] -デカン-3-オン(AF266); 2-エチル-8-メチル-1-チア-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-3-オン(AF267); 2, 8-ジメチル-1-チア-4, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-3-オン(AF261); 2, 8-ジメチル-1-オキサ-3, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカ-2-エン-4-オン(AF238); 2, 8-ジメチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-2-エン-4-オン(AF230); 3-エチル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-2-エン-4-オン(AF220); 1-エチル-8-メチル-3-オキサ1, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF174); 8-メチル-1-オキサ-3, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-2-チオン(AF165); 3-エチル1-8-メチル-1-オキサ-3, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF172); 8-メチル-1-オキサ-3, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF169); 3-エチル-8-メチル-1-オキサ-3, 8-ジアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF180); 4-ブチルイミノ-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ

10

20

30

40

50

ロ [4. 5] デカン-2-チオン(AF189); 8, N, N'-トリメチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1, 3-ジエン-2, 4-ジアミン(AF194); メチル- (8-メチル-2-メチルスルファニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1, 3-ジエン-4-イル)-アミン(AF193); 8-メチル-2-メチルスルファニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1, 3-ジエン-4-イルアミン(AF192); 4-メトキシ-8-メチル-2-メチルスルファニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1, 3-ジエン(AF191); 2, 8-ジメチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1-エン(AF190); 3-エチル-2-エチルスルファニル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1-エン-4-チオン(AF170); 3-エチル-2-エチルスルファニル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1-エン-4-オン(AF188); 8-メチル-2-メチルスルファニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1-エン-4-オン(AF187); 8-メチル-2, 4-ビス-メチルスルファニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-1, 3-ジエン(AF177); 8-メチル-4-メチルスルファニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-3-エン-2-チオン(AF183); 4-エチルスルファニル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカ-3-エン-2-チオン(AF176); 3-エチル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジチオン(AF163); 8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジチオン(AF173); 1-アセチル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF164); 3-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF179); 3, 8-ジメチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF178); 3-エチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF160 Des); 3-エチル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF160); 3-エチル-8-メチル-4-チオキソ-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2-オン(AF182); 8-メチル-3-(4-ピロリジン-1-イル-ブタ-2-イニル)-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF197); 3-プロパ-2-イニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF186); 3-tert-ブチル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF213); 8-メチル-3-プロパ-2-イニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF185); 3-tert-ブチル-8-メチル-2-チオキソ-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-4-オン(AF184); 3-エチル-8-メチル-2-チオキソ-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-4-オン(AF181); 3-エチル-8-プロパ-2-イニル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF196); 5-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)-2-チオキソ-イミダゾリジン-4-オン(AF195); 5-メチル-2-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)チアゾリジン-4-チオン(AF275); 3-ブタ-2-イニル-8-メチル-1, 3, 8-トリアザースピロ [4. 5] デカン-2, 4-ジオン(AF199)。

本発明が例示実施態様及びその他の特定の実施態様を特に参考にして本明細書に特別に記載されたが、当業者は多くの変化及び改良がなし得ることを知るであろう。それ故、本発明は特別に記載されたこのような実施態様に限定されるものと見なされるべきではなく、むしろ、その概念、範囲及び精神が下記の請求の範囲に記載されるものと理解されるべきである。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 25/18 (2006.01) A 6 1 P 25/18
A 6 1 P 25/28 (2006.01) A 6 1 P 25/28
A 6 1 P 25/32 (2006.01) A 6 1 P 25/32

(74)代理人
 弁理士 小川 信夫

(74)代理人
 弁理士 村社 厚夫

(74)代理人
 弁理士 浅井 賢治

(72)発明者 フィッシャー エイブラハム
 イスラエル 58481 ホーロン ディヴィッド エラザー ストリート 47-7

(72)発明者 カートン イーシャル
 イスラエル 70400 ネス ジオーナ ベン グリオン ストリート 8

(72)発明者 マルシアーノ ダニエル
 イスラエル 47201 ラマト ハシャロン ユージックキン ストリート 22

(72)発明者 バラク ドヴ
 イスラエル 76502 レホヴォト ユージックキン ストリート 20

(72)発明者 メシュラム ハイム
 イスラエル 59313 バト ヤム ハリショニム ストリート 13

審査官 井上 明子

(56)参考文献 特開平02-247183 (JP, A)
 特開昭63-208590 (JP, A)
 特開昭60-036487 (JP, A)
 特公昭49-028516 (JP, B1)
 特公昭49-007159 (JP, B1)
 特公昭48-034597 (JP, B1)
 特公昭48-026017 (JP, B1)
 特公昭55-003355 (JP, B1)
 特公昭45-025495 (JP, B1)
 特開平04-247082 (JP, A)
 特公昭49-032541 (JP, B1)
 J.Med.Chem., 31 pp486-491 (1988)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D471/00
 C07D487/00
 C07D498/00
 C07D513/00
 A61K 31/438
 CAOLD(STN)
 CAplus(STN)
 REGISTRY(STN)