

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5010089号
(P5010089)

(45) 発行日 平成24年8月29日(2012.8.29)

(24) 登録日 平成24年6月8日(2012.6.8)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 233/24	(2006.01)	C07C 233/24	C S P
C07C 235/32	(2006.01)	C07C 235/32	
C07C 271/28	(2006.01)	C07C 271/28	
C07C 271/30	(2006.01)	C07C 271/30	
C07D 207/34	(2006.01)	C07D 207/34	

請求項の数 11 (全 114 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-534280 (P2002-534280)
 (86) (22) 出願日 平成13年9月19日 (2001.9.19)
 (65) 公表番号 特表2004-511466 (P2004-511466A)
 (43) 公表日 平成16年4月15日 (2004.4.15)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2001/029160
 (87) 國際公開番号 WO2002/030894
 (87) 國際公開日 平成14年4月18日 (2002.4.18)
 審査請求日 平成20年9月16日 (2008.9.16)
 (31) 優先権主張番号 09/666,160
 (32) 優先日 平成12年9月19日 (2000.9.19)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 506049792
 スピロジエン リミテッド
 イギリス国 ピーオー33 2ジェイエフ
 アイル オブ ワイト ライド ジョー
 ジ ストリート 79
 (74) 代理人 100065215
 弁理士 三枝 英二
 (74) 代理人 100076510
 弁理士 掛樋 悠路
 (74) 代理人 100099988
 弁理士 斎藤 健治
 (72) 発明者 リー モーゼス
 アメリカ合衆国 29609 サウスカロ
 ライナ グリーンビル クレストウッド
 ドライブ 208

最終頁に続く

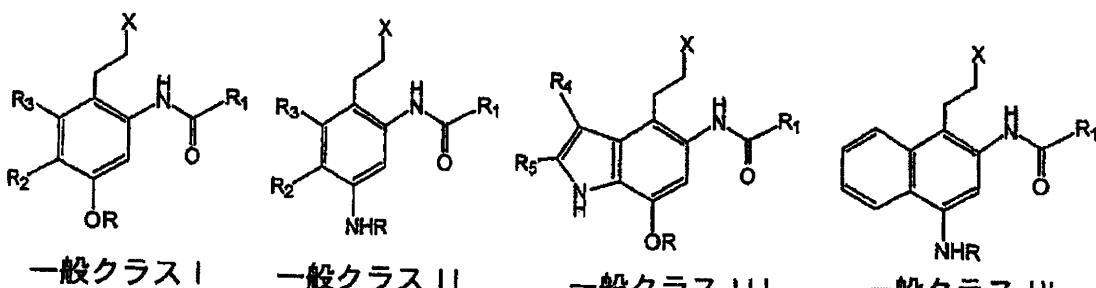
(54) 【発明の名称】 CC-1065 およびデュオカルマイシンのアキラルアナログの組成物およびその使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

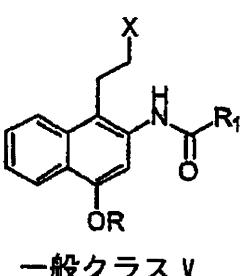
【請求項1】

以下の式の化合物

【化1】



10

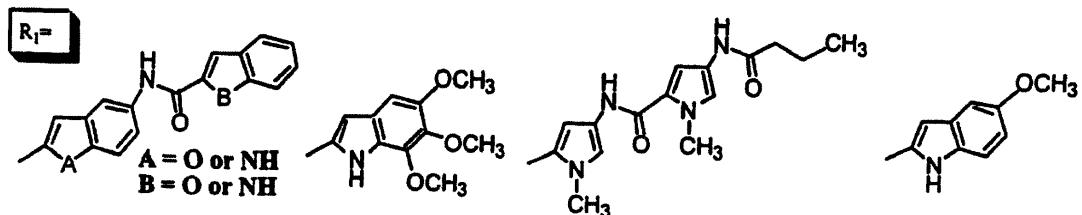


20

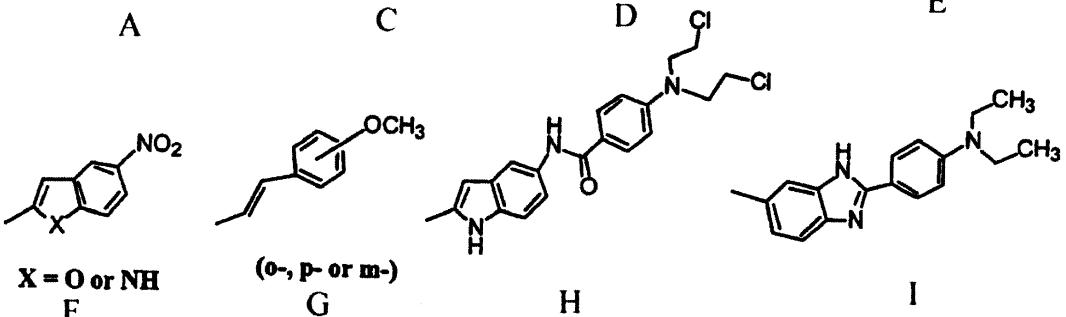
ここでXは、クロロ、ブロモ、ヨード、メルカプト、第四級アンモニウム部分、メシレート、トシレート、アセテート、アルキルスルホキシリ、およびアルキルスルホニルからなる群より選択される脱離基であり、

R₁は、t-ブトキシ、ベンジルオキシ、9-フルオレニルメチルオキシ、および次の式に示される基A、C、D、E、F、G、H、I、J、KおよびLからなる群より選択される適切な副溝結合剤であり、

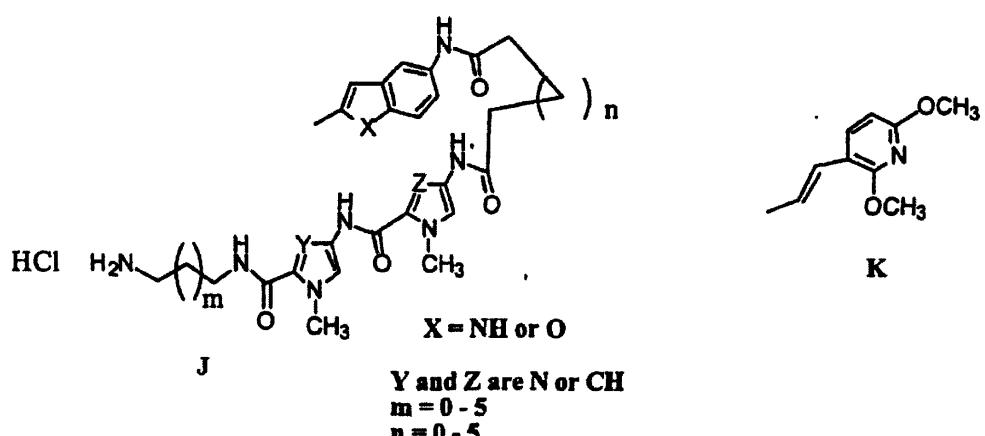
【化2】



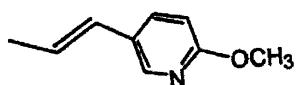
10



20



30



40

R₂およびR₃は、水素および(C₁-C₆)アルキル基からなる群より選択され、R₄およびR₅は、水素原子、トリフルオロメチル部分、およびアルコキカルボニル基からなる群より選択され、

Rは、ベンジル、ベンジルオキシカルボニル、水素原子、4-ニトロベンジルオキシカルボニル、およびN'-メチルピペラジニル-N-カルボニルからなる群から選択される。

【請求項2】

Xがクロロ、ブロモまたはヨードである、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

50

R_2 および R_3 が両方とも水素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

R_4 および R_5 が独立してメトキシカルボニルまたはトリフルオロメチルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

請求項 1 の化合物およびその薬学的に許容される担体を含む、アルキル化剤療法に感受性のガンの処置に適する、薬学的組成物。

【請求項 6】

以下からなる群より選択される化合物である、請求項 1 に記載の化合物：

- N - (2 - (2 - クロロエチル) - 5 - ヒドロキシフェニル) - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタシアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミド； 10
 N - (2 - (2 - プロモエチル) - 5 - ヒドロキシフェニル) - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタシアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミド；
 N - [2 - (2 - プロモエチル) - 5 - (4 - ニトロベンジルカルボナート) フェニル] - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタシアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミド；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - [4 - (ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール； 20
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - ニトロインドール - 2 - カルボキサミド) フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 0 - (4 - ニトロベンジルオキシカルボニル) - 3 - [5 - [4 - (ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール；
 4 - (2 - プロモエチル) - 3 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 0 - (4 - ニトロベンジルオキシカルボニル) - 3 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 0 - (N - メチルピペラジン - N ' - カルボニル) - 3 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール； 30
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [2 - (4 - (N , N - ジエチルアミノ) フェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキサミド] フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) フェノール； 40
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (2 - メトキシンナモイルアミド) フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - メトキシンナモイルアミド) フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (4 - メトキシンナモイルアミド) フェノール；
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (2 , 6 - ジメトキシ - 5 - ピリジル) - E - エテン - 1 - イルカルボキサミド) フェノール；
 ジメチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 5 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 , 3 - ジカルボキシレート；
 ジメチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 5 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] インドール - 2 , 3 - ジカルボキシレート； 50

メチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 2 - トリフルオロメチル - 5 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) インドール - 3 - カルボキシレート ;
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) アニリン ;
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフチルアミン ;
 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド] グルタロジアミド ハイドロクロライド ;
 10
 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルイミダゾール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド] グルタロジアミド ハイドロクロライド ;
 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルイミダゾール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド] グルタロジアミド ハイドロクロライド ;
 20
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - アザ - 4 - メトキシンナモイルアミド) - 1 - ナフチルアミン ;
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) - 1 - ナフチルアミン ;
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] - 1 - ナフチルアミン ;
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフチルアミン ;
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフトール ; 及び
 O - ベンジル - 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (プトキシカルボキサミド) フェノール 。
 30

【請求項 7】

該化合物が 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフチルアミンである、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

該化合物が 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) フェノールである、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 9】

抗ガン、アルキル化剤を調製するための請求項 1 に記載の化合物の使用。

【請求項 10】

該抗ガン、アルキル化剤が約 0 . 1 ~ 約 1 0 0 m g / 患者体重の k g の量で投与される、請求項 9 に記載の使用。

【請求項 11】

請求項 1 - 8 のいずれか 1 項に記載のアキラル s e c o - アルキル化ファーマコフォアを in vitro で D N A の選択配列へ送達する方法であって、該方法が、該ファーマコフォアを D N A 副溝結合剤へ複合体化させ、複合体を形成すること、および該選択配列への複合体の結合を達成させるのに十分な時間該選択配列を該複合体と接触させること、を包含する、方法。

【発明の詳細な説明】**【 0 0 0 1 】**

関連出願

本出願は、米国特許出願シリアル番号第09/666,160の一部継続であり、その内容は全体として本明細書中において参考として援用される。

【0002】

発明の分野

本発明は、(+) - CC1065およびデュオカルマイシン (duocarmycins) のアキラル seco - アナログならびに前記アキラルアナログを含む薬学的組成物に関する。(+) - CC1065およびデュオカルマイシンのアキラルアナログは、抗ガン剤として有用である。

【0003】

10

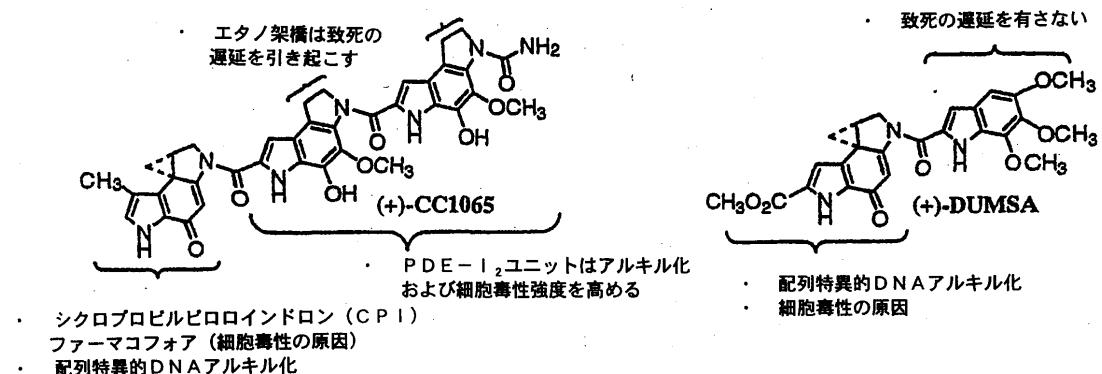
発明の背景

最近多くの注目を受けてきている化合物の1つのクラスは、DNAの特定の配列をアルキル化することによって抗ガン活性を発揮するDNA副溝結合剤 (DNA minor groove binders) である(1a)。副溝は、概して水和の背 (spine of hydration) によってふさがれているだけであり、それゆえ抗ガン剤に対してより接近できることから、副溝相互作用剤は、インターラート剤 (intercalating agent) および主溝結合剤よりも魅力的である。さらに、副溝内の共有結合修飾は一般的に、タリムスチン (talimustine) 対L-フェニルアラニンマスター (1b) のように、それらの主溝アルキル化等価物よりも細胞に対してより細胞毒性である。強力な抗ガン活性を有する副溝およびAT配列選択性アルキル化剤の例は、(+) - CC - 1065 (1c, d, e, 2) およびデュオカルマイシン (2, 3) である。CC - 1065 およびデュオカルマイシン ((+) - デュオカルマイシンSA (またはDUMSA) (2) によって例示され、また第1表に図示される) は、信じられないほど強力な細胞毒性特性を有する一群の天然産物に属する (ca. 表1において、マウスL1210白血病細胞の増殖に対してpM範囲におけるIC₅₀値)。

20

【0004】

【表1】



30

【0005】

第1表 . (+) - CC1065 およびデュオカルマイシンSA (DUMSA) の構造および生物学的特性の要約

40

これらの化合物 (これらはそれぞれ、Streptomyces zelensis (4) およびStreptomyces sp. (5) の両方の発酵物から単離された) は、DNAの特定配列の副溝内のアデニン-N3基と主に反応することによって、それらの抗ガン活性を誘導する。アデニン-N3共有結合反応の確認は、熱的に開裂されるDNA-薬物付加物からのアデニン-CC1065付加物 (6) およびアデニン-デュオカルマイシンSA付加物 (7) の単離から達成された。(+) - CC1065は、5' - A または5' - T 残基の側面に位置するアデニン-N3基をアルキル化することに対して優先傾向を示す。3 - 塩基AT - リッチアルキル化部位に対する配列優先性は以下の順序に従う: 5' - AAA = 5' - TTA > 5' - TAA > 5' - ATA (アルキル化部位は、下線部の

50

塩基により示される)。さらに、この化合物は、AまたはT残基である4番目の5' - 塩基に対してより強い優先性、AまたはT塩基である5番目の5' - 塩基に対してより弱い優先性、そしてプリンであるアルキル化部位より前の3' 塩基に対して弱い優先性を示した。(+) - C C - 1 0 6 5についてのコンセンサス配列5' - P U N T T A - 3' および5' - A A A A A - 3' が示唆される(6、8)。(+) - C C 1 0 6 5および(+) - D U M S Aは概して類似する配列選択性を有するが、いくつかの微細な相違(特にC C 1 0 6 5による5' - G C A A Aでのアルキル化の欠如)が観察された(2、3、7)。

【0006】

C C 1 0 6 5およびデュオカルマイシンがD N Aの特定配列と反応するメカニズムは、依然として激しい論争の主題である(9)。それらの配列選択性D N Aアルキル化に対する2つのモデルが提唱されてきている。Boogerのグループ(9)によって提唱される「非共有結合モデル」は、D N Aアルキル化を安定化する力が、C C 1 0 6 5のシクロプロピピロロインドロン(cyclopropopyrroloindolone)(CPI)サブユニットとD N Aのアデニン-N3との間の立体電子的に制御される共有結合形成、ならびにC C 1 0 6 5についてのPDE-Iサブユニット、およびD U M S AのTMI(トリメトキシインドール)ユニットの疎水性およびファンデルワールス接触(contact)に由来する安定化非共有結合相互作用の組合せであることを提唱した。Hurelおよび共同研究者ら(10)によって提唱される「アルキル化部位モデル」において、(+) - C C 1 0 6 5によって例示される化合物の共有結合配列特異性は、コンセンサス配列の独特なコンフォーメーション特性(これにおいて、この配列は、薬物分子の認識のための一時的に折り曲げられるコンフォーメーションをとるのに十分フレキシブルである)にあるとされてきた。さらに、この独特なコンフォーメーションは、一般酸触媒によってCPI系を活性化し得るホスフェート上の酸性プロトンを提供する。いずれの場合においても、¹H - N M R研究によって、(+) - C C 1 0 6 5が二重鎖

【0007】

【化2】



【0008】

(イタリック体の配列中の下線部のA残基でのアルキル化)のアデニン-N3を効率的にアルキル化し、TTA配列で17 - 22°の折り曲げを誘導することが示された(11)。同様に、d - (G A C T A A T T G A C) . d - (G T C A T T A G T C)を有するD U M S Aの¹H - N M R研究はまた、薬物が副溝への結合時に顕著なコンフォーメーション変化(これは、引き続きその共有結合反応性を高める)を受けることを明らかにしてきた(11d)。D N A上のこのようなコンフォーメーション変化は、遺伝子発現および複製の生物学的制御に重要であるかも知れないD N Aにおける構造を捕捉すると仮定されてきた(12)。D N Aアルキル化のためのデュオカルマイシンSAファーマコフォア(pharmacophore)の活性化に関する最近の密度機能的および最初からの研究が報告された(13)。この研究において著者らは、インドリン-アミド-N結合(X₂)のひねり(twisting)が加溶媒分解(solvolyysis)に比べて百万倍高いD N Aアルキル化を十分には説明していないことを見出した。

【0009】

(+) - C C 1 0 6 5は強力な細胞毒性特性を有するけれども、抗ガン薬としてのその有用性は、治療用量でのマウスにおける遅延性致死という毒性制限(limiting toxicity)によって妨げられる(4b)。興味深いことに、D U M S Aにはこの有毒な副作用が無く(2a)、そしてこれは、このクラスの化合物において最も加溶媒分解的に安定であり且つ最も強力である(2, 14)。Upjohn科学者によって合成されたC C 1 0 6 5のアナログの広範囲な整列(array)によって促進されるように(1a, b, 4c)、構造 - 活性相関が明瞭に定義され(10b, 11)、そしてエタノ架橋

10

20

30

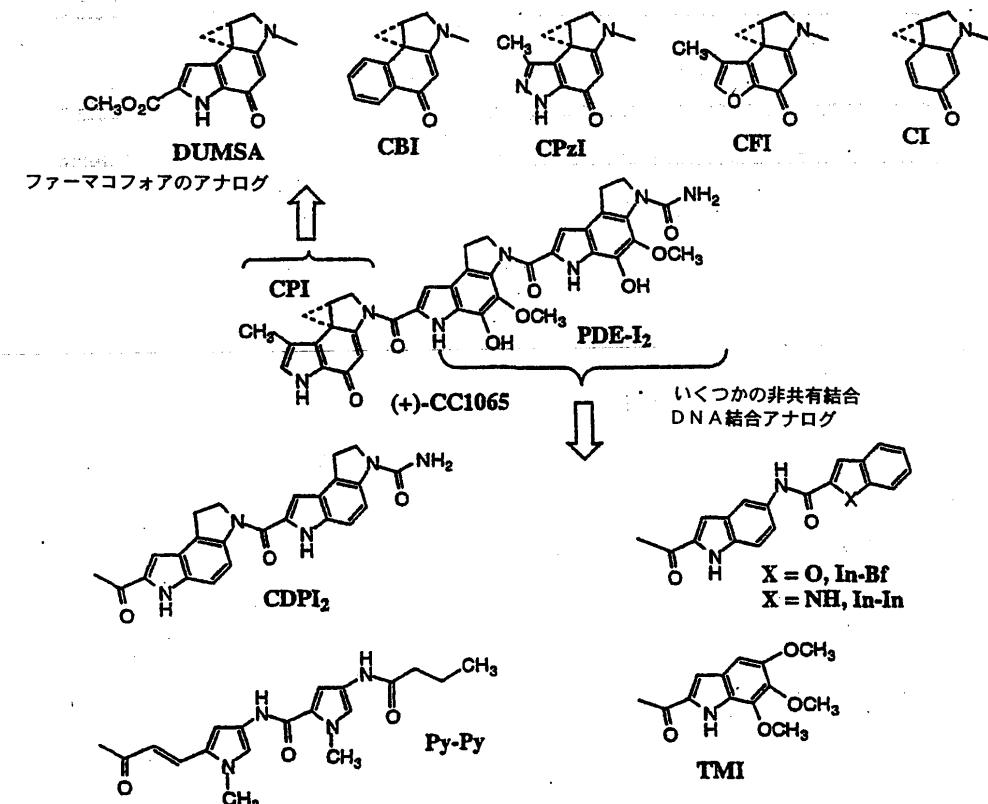
40

50

(ethano bridges) (図1を参照のこと)が所望されない遅延致死性の原因であることが見出された。これらのエタノ基は、薬物-DNA複合体(11a、b)を安定化する副溝の床上のアデニン-H₂原子との好ましいファンデルワールスおよび疎水性相互作用へ加わる。これによって(+)-CC1065およびそのCDPI₂アナログ(第2表を参照のこと)の遅延致死性が、それらの「可逆的に」DNAをアルキル化する能力を有さないこと(inability)の結果であると示唆された(7、15)。エタノ基に起因するこれらの化合物の強力な非共有結合は、アルキル化が起こった後の可逆反応を防ぎ得るか(7、15a)、または同じ部位を再アルキル化するために薬物結合を維持する(15b)。この示唆と一致して、アドゼレシン(adozelesin)(15b)およびDUMSA(15a、16)のようなエタノ架橋を欠くCC1065アナログには遅延毒性の問題が無く、そのうえそれらは強力な抗ガン活性を示す。

$\begin{bmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$

【表2】



[0 0 1 1]

第2表 . (+) - C C 1 0 6 5 およびデュオカルマイシの報告される構造アナログ。C B I はシクロプロピルベンゾインドロン (cyclopropylbenzoindolone)、C P z I はシクロプロピルピラゾロインドロン (cyclopropylpyrazoloindolone)、C F I はシクロプロピルフラノインドロン (cyclopropylfuranoindolone)、そして C I はシクロプロピルインドロン (cyclopropylindolone) である。

[0 0 1 2]

アドゼレシン (adozelisin) (1b、4c、17、特許1) カルゼレシン (carzelisin) (18)、ビゼレシン (bizelesin) (19、特許2)、およびKW2189 (20、特許3) は、ガンの処置のための臨床試験を現在受けている (+) - C C 1 0 6 5 およびデュオカルマイシンのアナログの例である。アドゼレシンのフェーズI 臨床試験は、黒色腫患者において部分的な応答を示していた (17e)。カルゼレシンは、カルバメート加水分解の際に sec o - プロドラッグ U 7 6 0 7 3 (これは、対応するシクロプロパン含有 CPI 「薬物 (drug)」 U 7 6 0 7 4 へ容易に環化す

る)を提供するプロドラッグである(18)。カルゼレシンがアドゼレシンよりもL12
10白血病に対する高いin-vivo抗ガン活性を有する($150 \pm 8\%$ ILS, 2
/6生存 対 $90 \pm 11\%$, 0/6生存)ことに留意することは価値のあることである
(18)。この結果は、カルゼレシンのより低い毒性に起因しているようであり、そして
結果としてこれはより高い用量(アドゼレシンに対して $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 対 $400 \mu\text{g}/\text{kg}$)で投与され得る(18)。ビゼレシンは、2つのseco-CPIアルキル化
ユニットを結合するDNA鎖間架橋剤であり、そして(+)-CC1065自体よりも約
20-30倍強力である(IC₅₀(L1210) = 1 pM 対 20 pM)(19)。KW2189(半合成デュオカルマイシンB2誘導体)(これは改良された抗ガン活性、水
溶性、及び安定性を有する)は、日本における臨床評価に選ばれてきた(20)。その活性化のメカニズムはまた、カルバメート基の加水分解を含み、環化し、実際のシクロプロパン含有薬物を生産するseco-プロドラッグ、またはDC-86を放出する。
10

【0013】

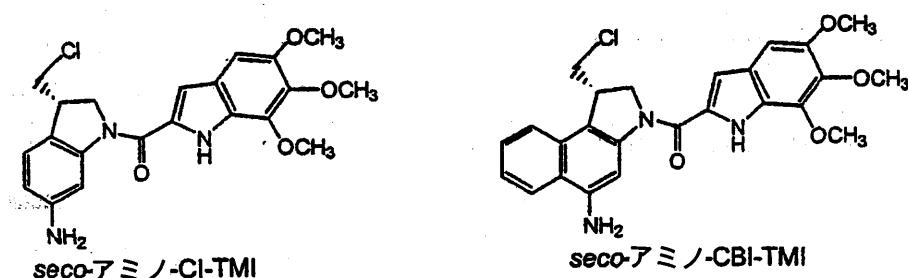
これらの臨床的に研究された化合物の生物学的特性によって、seco-プロドラッグが
それらのシクロプロパン含有CPI対応物と同程度活性であるけれども(+)-CC10
65によって示される遅延性毒性を引き起こさないことが示される。seco-プロドラ
ッグはまた、薬物自体よりも安定であり且つ取り扱い易いので、この型のファーマコフォア
アを有する化合物がこの開示において記載される。さらに、インドール-ベンゾフラン(I
n-Bf)(4c)、インドール-インドール(I n-I n)(4c)、トリメトキシ
インドール(TMI)(3)、および第2表中に与えられるジピロール(Py-Py)(
21)非共有結合ユニットによって例示されるようなジスタマイシンのアナログが、本発
明の化合物の構造に結合されるであろう。これらのDNA結合ユニットは、それらがこの
クラスの化合物の細胞毒性強度を高めることができておらず、且つそれらが遅延性毒
性の問題を有さないので、選択される。
20

【0014】

CC1065の非共有結合部分における系統的な修飾の他に、このクラスの化合物がそれ
らの活性を発揮するメカニズムを解明するためにファーマコフォアの改変がまた行われた
。CBI(シクロプロピルベンゾインドロン)(2,3,22)、CFI(シクロプロピル
フラノインドロン)(23)、CPzI(シクロプロピルピラゾロインドロン)(24)
、およびCI(シクロプロピルインドロン)(2,3,25)のような、第2表に表さ
れるデュオカルマイシンSA(DUMSA)およびCC1065のCPIユニットのアナ
ログ(1-4)が設計および調製されてきた。これらのファーマコフォアの構造-活性相
関の研究は、最も大きな加溶媒分解安定性を有するアナログがまた最も強力な抗ガン活性
を示すことを実証してきた(9b, 14)。さらに、第3表に中に示されるアミノ-含有
seco-CIおよびCBIアナログはまた、ガン細胞の増殖を阻害することにおいても
とのseco-CIおよびCBI化合物と同程度に強力であることが示されてきた(26)
)。

【0015】

【表3】



【0016】

第3表.CIおよびCBIのseco-アミノアナログの構造

このクラスの化合物の生物学的活性に及ぼすキラル中心の影響もまた、研究されてきた。DUMSAの非天然(-)-(R)鏡像異性体は、DNAをアルキル化することにおいて天然(+)-(S)鏡像異性体よりも10倍低く有効であり、そしてこのことは(-)-鏡像異性体についての細胞毒性において10倍低いのと矛盾しない(2、7)。(+)-CC1065に類似して、(+)-DUMSAの結合方向は、AT-リッチ3'-5'塩基対部位に渡って3' -> 5'であり、反対の鏡像異性体は5' -> 3'方向に向く。(-)-CC1065が(+)-鏡像異性体よりも遅いDNAアルキル化速度を示す一方、DNAアルキル化の全体的な有効性は同じであり、さらにそれらのin-vitroおよびin-vivo抗ガン活性も同じであることは、注目に値する(27)。CPI-CDP₁およびCPI-PDE-I₁(一般構造については第2表を参照のこと)の両鏡像異性体に關するさらなる詳細な研究により、それらの細胞毒性が天然(+)-異性体に有利に約150倍だけ異なることが明らかにされた(2a、27b)。CPI-In-Inの鏡像異性体について、天然(+)-異性体が約250倍細胞毒性が大きい(27c)。

【0017】

それゆえ、光学異性的に純粋な化合物が調製され、そして臨床薬に開発され得る前に生物学的に評価されなければならないことは決定的に重要である(28a)。現在では、光学的に純粋な形態のこのクラスの化合物の合成は、HPLCによるキラルカラム上の分離(29)またはそれぞれ順相HPLCおよび再結晶化法を用いる中間体のジアステレオメリックマンデレート(diastereomeric Mandelate)(2、21、30a、b)またはN-BOC-L-トリプトファンエステル(30c)の分離のいずれかによる化学的分割工程を必要とする。光学的に活性なCPIを合成するためにラセミアルコール中間体を分割するためのリバーゼ触媒エステル化反応を用いる報告もまた存在する(31)。これらの方法は少なくともスモールスケールにおいて実行可能であるが、一方それらは、化学的分割工程において所望されない鏡像異性体の全てが廃棄されなければならないので、非効率的である。さらに、CFI(23)、CBI(32)、およびデュオカルマイシンA(29)の調製における唯一の適切な不斉誘導(それぞれ不斉ハイドロボレーションまたはシャープレスジヒドロキシレーション(Sharpless dihydroxylation)法のいずれかを用いる)の報告がなされてきた。

【0018】

それゆえ本発明に記載されるCC-1065およびデュオカルマイシンのアキラルアナログは、ガンのような疾患の処置における使用のためのこのクラスの副溝結合剤の開発において、現在の状況に顕著な改善を表すであろう。この開示に記載されるアキラルアナログの合成は、化学的分割工程を軽減するだけではないであろう(それらのDNAとの相互作用は単純化され得、そしてそれらの細胞毒性強度および抗ガン活性が保持される)。本発明に記載される標的化合物(target compounds)の設計は、4-(2-ハロエチル)フェノール(ハライド=C1、BrおよびI)がDNAアルキル化および細胞毒性活性を生み出し得るという報告に基づく(28b)。4-(2-ハロエチル)フェノールはまた、HXを容易に脱離し、最終的にDNAをアルキル化するスピロ(2,5)オクタ-1,4-ジエン-3-オン中間体を生成することが示された(28c)。

【0019】

この開示において、デュオカルマイシン、CC-1065およびアドゼレシンの一連のアキラルsecоアナログの調製並びに生物学的およびDNA相互作用特性の評価が記載される。この発明のsecо-アキラル化合物の構造は、一般クラスI、II、IIIおよびIVとして表される。このアキラル化合物は、多数の非-共有結合的DNA結合サブユニット(インドール-インドール、インドール-ベンゾフラン、ピロール-ピロール、トリメトキシインドール、N-マスター(=H)および第4表に示されるような「ヘアピン」(J)基が挙げられるが、これらに限定されない)に複合体化されるアキラルファーマコフォアから構成される。該「ヘアピン」サブユニットは、デュオカルマイシンAおよびジスタマイシン(33a、b)またはレキシトロプシン(lexitropsins)(33c、d)の1:1且つ隣接する(slide-by-slide)化合物が高度のDNA

10

20

30

40

50

配列アルキル化特異性を示すという最近の知見に基づいて設計された。さらに、ジスタマイシンおよびレキシトロプシンに関する「ヘアピン」デュオカルマイシン・オリゴペプチド複合体は、予測可能且つ高レベルな配列特異性を表すことが示されてきた(34)。またさらに、レキシトロプシン由来の隣接し且つヘアピンのオリゴペプチドが広範囲に研究されてきた。この研究は、隣接するピロール-ピロール対合がA/TまたはT/A塩基対のいずれかを認識することを明らかにした。それぞれ、ピロール-イミダゾール対合はC/G塩基対を特異的に認識し、一方イミダゾール-ピロール対合はG/C塩基対に特異的に結合する(35)。最近、本発明者らはまた、イミダゾール-イミダゾール対合が特定のDNA配列内のG/CまたはC/Gのいずれかを認識するであろうことを実証してきた(36)。さらに、隣接するイミダゾール-イミダゾール対合は、ミスマッチT/G塩基対に結合することに対してよりいっそう選択的であることが見出され、このようなミスマッチDNA塩基対を標的化する分子を開発する特別な機会をもたらした(37)。

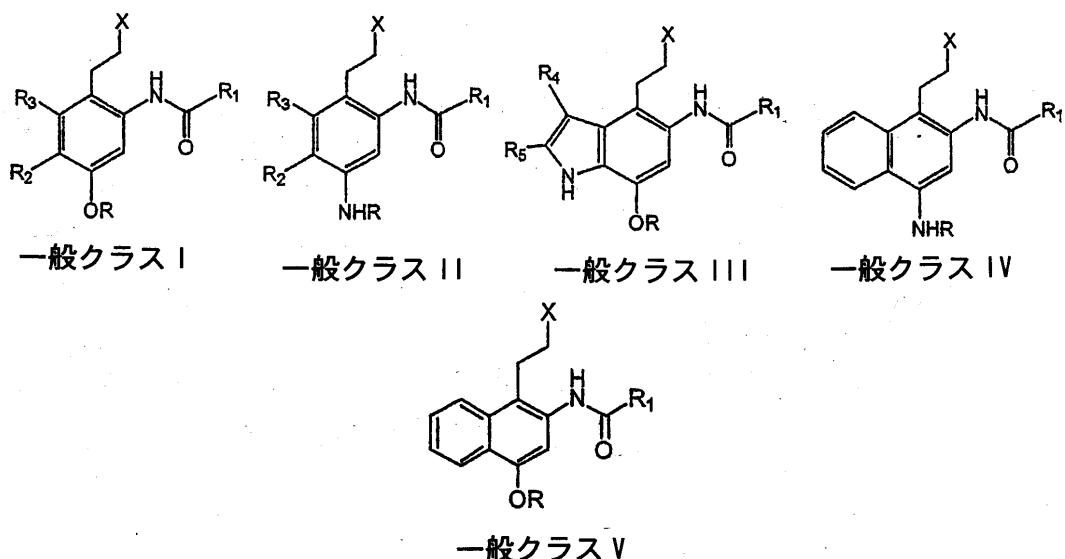
【0020】

本発明の要旨

本発明は、DNA副溝アルキル化剤(+)-CC1065およびデュオカルマイシンの新規アキラルアナログ(一般クラスI、II、III、IVおよびVとして示される)に関する:

【0021】

【化3】



【0022】

ここでXは良い脱離基(クロライド、プロマイド、ヨージド(iodide)、メシレート(mesylate)、トシレート(tosylate)、アセテート、第四級アンモニウム部分(quaternary ammonium moiety)、メルカプタン、アルキルスルホキシル、またはアルキルスルホニル基、好ましくは、クロライド、プロマイド、またはヨージド基のような)である。

【0023】

R₁は、DNAの特定配列とのアキラルsec-o-シクロプロパンインドール(CI)またはアキラルsec-o-デュオカルマイシンの相互作用を増強するための適切な副溝結合剤である。DNA結合剤の例は第4表に示される。好ましいDNA結合剤は、基A、C、D、E、F、G、H、I、J、KおよびLである。R₁としてはまた、以下が挙げられ得る:t-ブトキシ、ベンジルオキシ、9-フルオレニルメチルオキシまたはアミンに対する他の一般的な保護基。

【0024】

【表4】

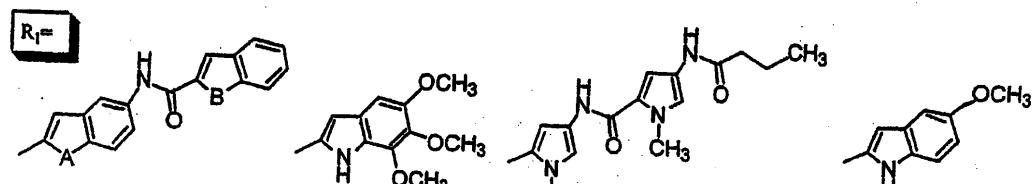
10

20

30

40

50

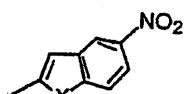


A=O又はNH
B=O又はNH

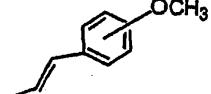
C

D

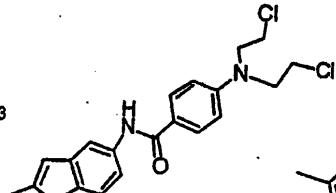
E



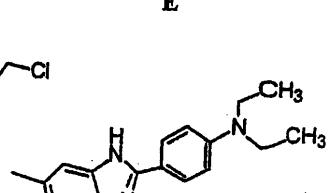
F, X=O又はNH



G (o-, p-又はm-)

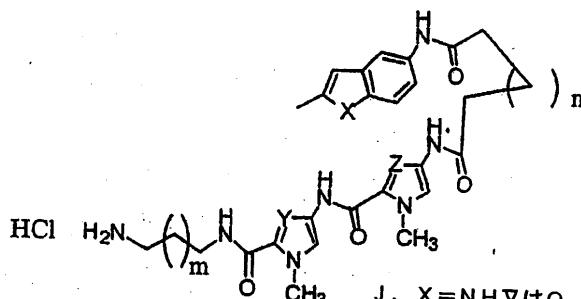


H



I

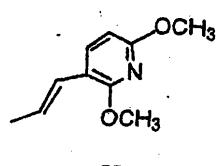
10



YおよびZはNまたはCHである

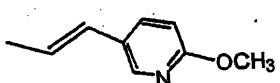
m=0-5

n=0-5



K

20



L

30

【0025】

第4表. 本発明に記載される化合物中の副構結合コンポーネントの例

R₂およびR₃は、水素または短鎖アルキル(C1-C5)基であり得、好ましくは両方とも水素原子である。該アルキル基は直鎖または分岐鎖であり得、そしてエチル、プロピル、ブチル、ペンチルおよびヘキシルのような基を含む。

【0026】

R₄およびR₅は、水素原子、短いアルキル基、トリフルオロメチル部分、およびアルキルオキシカルボニル基であり得る。好ましいR₄およびR₅基は、メトキシカルボニルおよびトリフルオロメチルである。

40

【0027】

Rは、ベンジル、ベンジルオキシカルボニル、水素原子、4-ニトロベンジルオキシカルボニル、またはN'-メチルピペラジニル-N-カルボニル基のいずれかであり得る。

【0028】

本発明の別の局面は、ガンの増殖の阻害をもたらすのに十分な時間のあいだおよび条件下で本発明の化合物を患者に投与することによるガンの処置方法に向けられる。

【0029】

本発明の別の局面は、疾患原因遺伝子の制御領域内の配列を含む特定のDNA配列への本発明に記載される化合物の認識および標的化のための方法に向けられる。このような薬剤は、ゲノムに特有な配列の同定および潜在的な遺伝子制御特性としての使用への適用を有

50

し得る(38)。

【0030】

本発明のさらに別の局面は、薬学的担体と組み合わされた本発明の化合物を含む薬学的組成物を提供する。

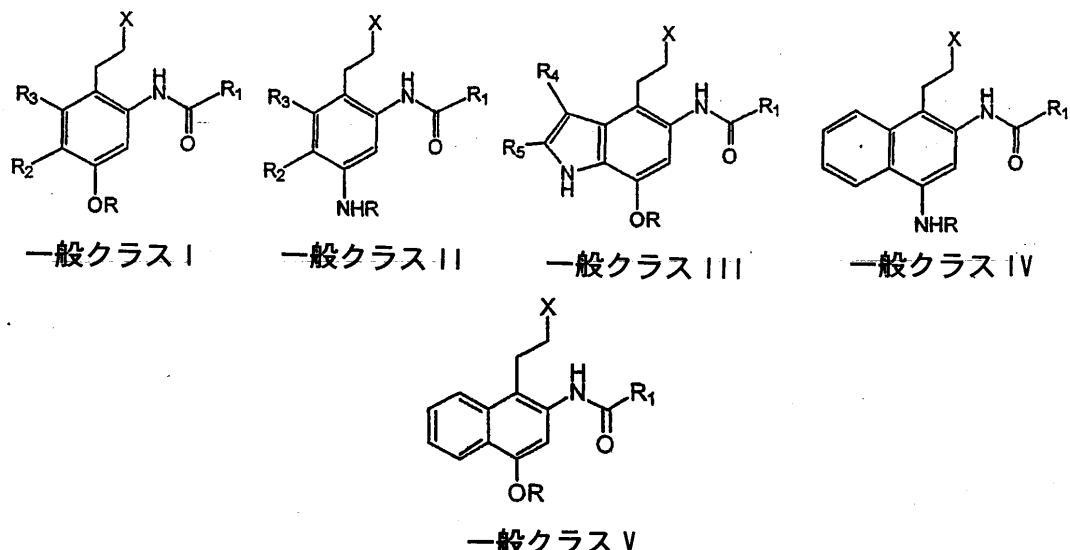
【0031】

本発明の詳細な説明

本発明は、DNA副溝および配列選択的アルキル化剤(+)-CC1065およびデュオカルマイシン(一般クラスI、II、III、IVおよびVとして表される)の新規アキラルアナログに関する:

【0032】

【化4】



10

20

【0033】

ここでXは良い脱離基(クロライド、プロマイド、ヨージド、メシレート、トシレート、アセテート、第四級アンモニウム部分、メルカプタン、アルキルスルホキシル、またはアルキルスルホニル基、好ましくは、クロライド、プロマイド、またはヨージド基のような)である。

30

【0034】

R₁は、DNAの特定配列とアキラルsec-o-シクロプロパンインドール(CI)またはアキラルsec-o-デュオカルマイシンとの相互作用を増強するための適切な副溝結合剤である。DNA結合剤の例は第4表中に与えられる。好ましいDNA結合剤は、基A、C、D、E、F、G、HおよびIである。R₁としてはまた、以下が挙げられ得る:t-ブトキシ、ベンジルオキシ、9-フルオレニルメチルオキシまたはアミンに対する他の一般的な保護基。

30

【0035】

本発明の好ましい化合物が以下に列挙される。

40

【0036】

N-(2-(2-クロロエチル)-4-ヒドロキシフェニル)-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタシアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミド

N-(2-(2-ブロモエチル)-4-ヒドロキシフェニル)-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタシアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミド

N-[2-(2-ブロモエチル)-O-(4-ニトロベンジルカルボナート)フェニル]-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタシアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミド

50

4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - ニトロインドール - 2 - カルボキサミド) フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - [5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 0 - (4 - ニトロベンジルカルボナート) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール 10
 4 - (2 - ブロモエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 0 - (4 - ニトロベンジルカルボナート) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 0 - (N - メチルピペラジン - N' - カルバメート) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール 20
 4 - (クロロエチル) - 3 - [2 - (4 - N , N - (ジエチル) アミノフェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキサミド] フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (2 - メトキシンナモイルアミド) フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - メトキシンナモイルアミド) フェノール
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (4 - メトキシンナモイルアミド) フェノール 30
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (2 , 6 - ジメトキシ - 5 - ピリジル) - E - エテン (ethen) - 1 - イルカルボキサミド] フェノール
 ジメチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 5 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 , 3 - ジカルボキシレート
 ジメチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 5 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] インドール - 2 , 3 - ジカルボキシレート
 メチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 2 - トリフルオロメチル - 5 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) インドール - 3 - カルボキシレート 40
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) アニリン
 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフチルアミン
 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミド ハイドロクロライド
 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルイミダゾール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエ 50

チル)フェノール-3-イル)ベンゾフラン-2-カルボキサミド)]グルタロジアミドハイドロクロライド

N-[N-(4-アミノブチル)-N-メチルイミダゾール-4-(N-メチルピロール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド]-N-[5-(4-(2-クロロエチル)フェノール-3-イル)ベンゾフラン-2-カルボキサミド]グルタロジアミドハイドロクロライド

4-(2-クロロエチル)-3-(3-アザ-4-メトキシンナモイルアミド)-1-ナフチルアミン

4-(2-クロロエチル)-3-(3-アザ-2,4-ジメトキシンナモイルアミド)-1-ナフチルアミン

4-(2-クロロエチル)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]-1-ナフチルアミン

4-(2-クロロエチル)-3-(5-メトキシンドール-2-カルボキサミド)-1-ナフチルアミン

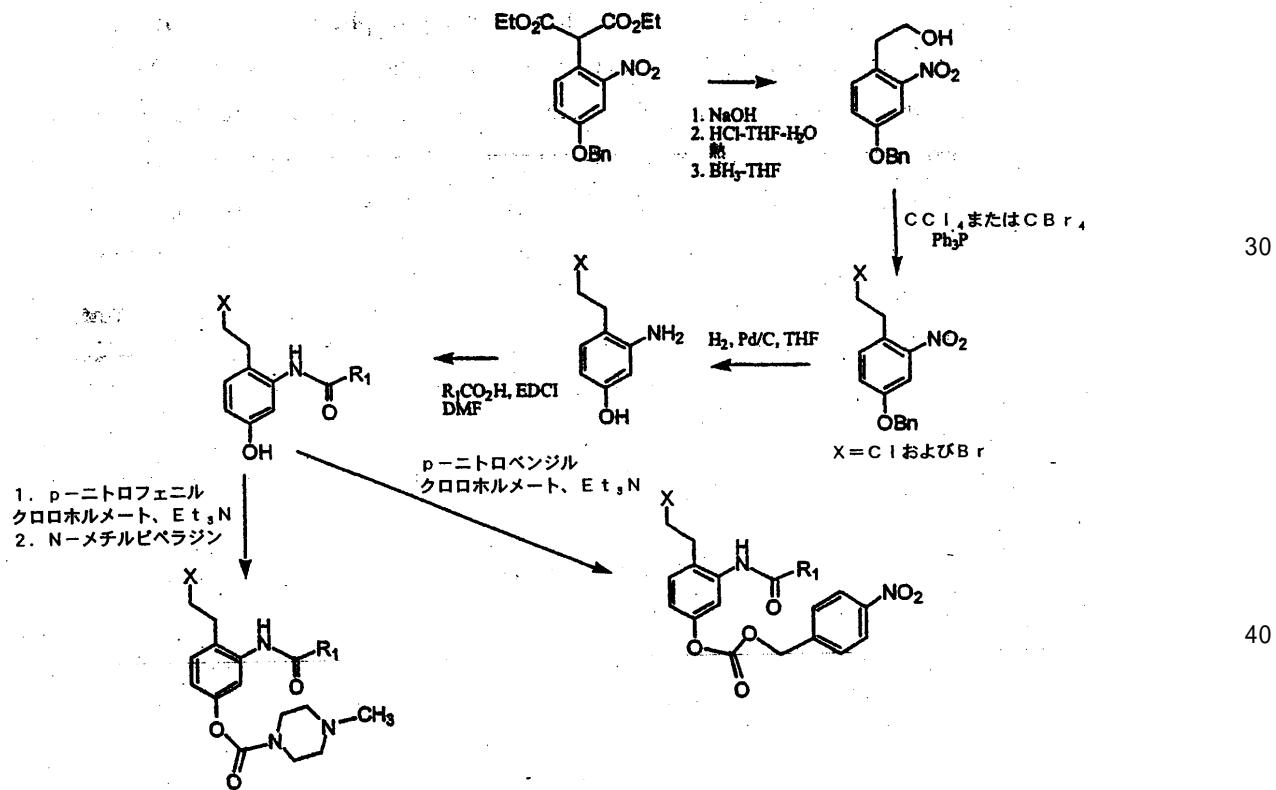
N-(ブトキカルボニル)-4-(2-クロロエチル)-3-ニトロ-1-ナフチルアミン

4-(2-クロロエチル)-3-(5,6,7-トリメトキシンドール-2-カルボキサミド)-1-ナフトール

O-ベンジル-4-(2-クロロエチル)-3-(ブトキカルボキサミド)フェノール
本発明の一般クラスIに属する化合物は、当該分野で認められる方法によって調製され得る。一般的な合成方法は、スキーム1において記載され且つ図解される。

【0037】

【化5】



【0038】

スキーム1. 一般クラスIに属する本発明の化合物の合成

提案されるアキラルsecocyclic化合物のための合成方法は、容易に入手可能なジエチル2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)マロネート(4c)から出発する。

エタノール中のNaOHを用いたジエチル2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)マロネート(4c)の水解。

10

20

30

40

50

ル) マロネートの処理(25-80)は、好ましくは還流し、次いで酸性化および緩やかな加温(25-100)(好ましくは還流しながら)を行い、この溶液は所望の4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル酢酸を95%収率で与えた。THF中で0-50にて(好ましくは室温にて)ボランを用いるカルボン酸の選択的還元は、2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エタノールを95%の収率で生成した。次いでアルコールは、CH₂Cl₂中でトリフェニルホスフィンおよびカーボンテトラクロライドを用いて、0-50にて(好ましくは室温にて)塩素化され、2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルクロライドを97%収率で与えた。2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルプロマイドは、2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エタノールをアセトニトリル中でトリフェニルホスフィンおよびカーボンテトラブロマイドと反応させた後、92%の収率で得られた。2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルクロライドおよび2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルプロマイドの触媒的還元は、大気圧にて、また0-50にて(好ましくは室温にて)、THF中で10%Pd/Cを用いて、それぞれ2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルクロライドおよび2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルプロマイドを与える。2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルプロマイドは、0-50にて(好ましくは室温にて)、EDCI[1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドハイドロクロライド]およびDMFの存在下において、5-(ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボン酸と直接的に結合され、化合物4-(2-プロモエチル)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]フェノールをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製後の2工程に対して2%の低い収率で与えた。同様に、2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルクロライドの5-(ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボン酸とのEDCIの存在下におけるカップリングは、4-(2-クロロエチル)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]フェノールをカラムクロマトグラフィーの後に2工程に対して28%の収率で与えた。

【0039】

0-50での(好ましくは5での)トリエチルアミンの存在下における4-(2-クロロエチル)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]フェノールの4-ニトロベンジルクロロホルメートとの反応は、所望されるプロドラッグ4-(2-クロロエチル)-O-(4-ニトロベンジルカルボナート)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]フェノールを84%の収率で与えた。さらに、4-(2-クロロエチル)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]フェノールの4-ニトロフェニルクロロホルメートとの反応後、0-50での(好ましくは5で、その後室温まで徐々に加温する)N-メチルビペラジンおよびトリエチルアミンとの反応は、カルバメートプロドラッグ4-(2-クロロエチル)-O-(N-メチルビペラジン-N'-カルバメート)-3-[5-(5-ベンゾフラン-2-カルボキサミド)インドール-2-カルボキサミド]フェノールを、シリカゲルカラム精製後、37%の収率で与えた。

【0040】

ネトロプシン部分を含むアキラルsec-o-化合物の調製において、2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルクロライドは、0-50にて(好ましくは室温にて)、DMF中でEDCIの存在下においてN-メチル-4-(N-メチル-4-ブタンアミドピロール-2-カルボキサミド)-ピロール-2-カルボン酸と反応され、シリカゲルカラム精製後、所望される化合物N-(2-(2-クロロエチル)-4-ヒドロキシフェニル)-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタンアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミドを6%の収率で与えた。同様に、2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルプロマイドのN-メチル-4-(N-メチル-4-ブタ

ンアミドピロール - 2 - カルボキサミド) - ピロール - 2 - カルボン酸とのカップリングは、N - (2 - (2 - プロモエチル) - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタンアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミドを40%の収率で与えた。トリメチルアミンの存在下における0 - 50 での(好ましくは5 での)4 - ニトロベンジルクロロホルメートとのN - (2 - (2 - プロモエチル) - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタンアミド - ピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミドの続く反応は、プロドラッグN - [2 - (2 - プロモエチル) - O - (4 - ニトロベンジルカルボナート) フェニル] - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタンアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミドを12%の収率で与えた。

10

【0041】

0 - 50 での(好ましくは室温での)2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル)エチルクロライドの2 - (4 - (N, N - ディエチル)アミノフェニル)ベンゾイミダゾール - 6 - カルボン酸または5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸とのEDCIを用いる反応は、カラムクロマトグラフィーの後、所望の化合物4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [2 - (4 - N, N - (ジエチル)アミノフェニル)ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキサミド] フェノールおよび4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノールをそれぞれ11および13%の収率で与えた。

【0042】

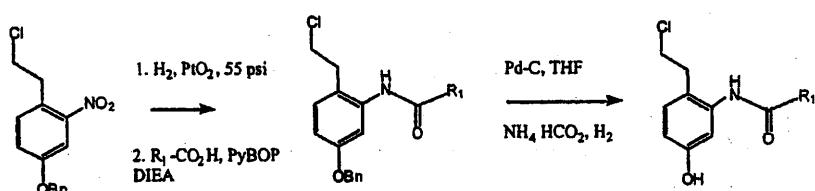
20

本発明の化合物の代替的な合成経路がスキーム2に示される。例えば、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノールはまた、10 - 100 psi(好ましくは55 psi)、0 - 35(好ましくは室温)での酸化白金上における接触水素化により2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル)エチルクロライドのニトロ基のアミノ基への選択的還元によって、調製された。生じるアミンは、0 - 50(好ましくは室温)にて、PyBOP(ベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート)およびジイソプロピルエチルアミンの存在下において、5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸と直接的にカップリングされ、ベンジル 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェニルエーテルを66%の収率で与えた。ベンジル基は、大気圧で、0 - 50(好ましくは室温)における10%Pd-C上の接触水素化によって取り除かれ、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノールを50%の収率で与えた。

30

【0043】

【化6】



40

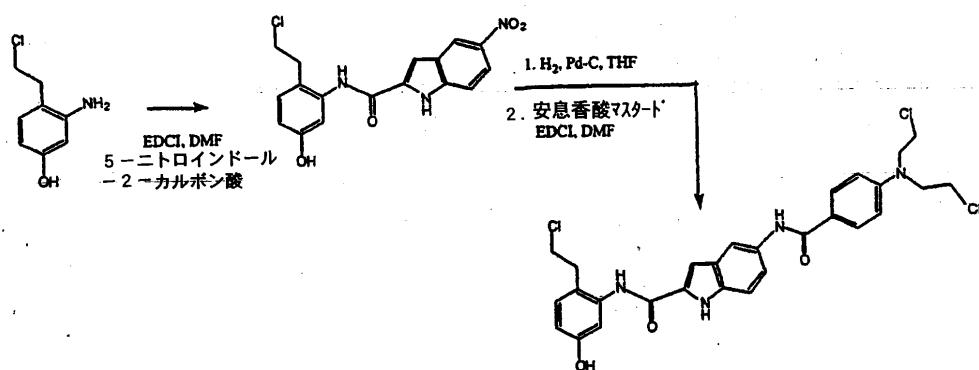
【0044】

スキーム2. アキラルsecocCI誘導体の合成

本発明の一般クラスI化合物のアナログを含む安息香酸マスターの調製は、スキーム3に図示される。

【0045】

【化7】



10

【0046】

スキーム3. 本発明の一般クラスI化合物のアナログを含む安息香酸マスター (benzoic acid mustard) の調製

2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライドは、 E D C I を用いて 0 - 50 (好ましくは室温) にて D M F 中で 5 - ニトロインドール - 2 - カルボン酸とカップリングされ、 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - ニトロインドール - 2 - カルボキサミド) フェノールを 14 % の収率で与えた。 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - ニトロインドール - 2 - カルボキサミド) フェノールの 0 - 50 (好ましくは室温) での T H F 中で 5 % P d - C を用いる続く接触水素化はアミンを与え、これを 0 - 50 (好ましくは室温) で安息香酸マスター (p - N , N - ビス (2 - クロロエチル) アミノ安息香酸) および E D C I と直接的に反応させて、所望される化合物 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールを 24 % の収率で与えた。 0 - 50 (好ましくは 5) での 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールの 4 - ニトロベンジルクロロホルメートおよびトリエチルアミンとの反応は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製後、プロドラッグ 4 - (2 - クロロエチル) - O - (4 - ニトロベンジルカルボナート) - 3 [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールを 13 % の収率で与えた。 調製されたすべての化合物の構造は、 I R 、 ¹H - N M R (¹H および ¹³C) スペクトロスコピーおよび F A B マススペクトロメトリー (正確な質量測定を含む) を用いて確かめられた。

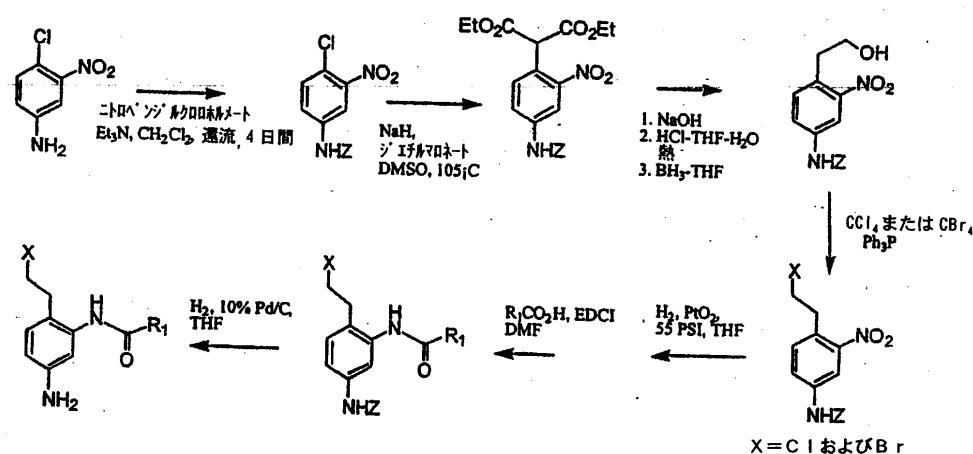
20

【0047】

本発明に記載される一般クラスIIに属する化合物は、当該分野で認められる方法によって合成され得る。一般合成スキームは、スキーム4に示される。

【0048】

【化8】



40

【0049】

50

スキーム4. 一般クラスIIの化合物の合成

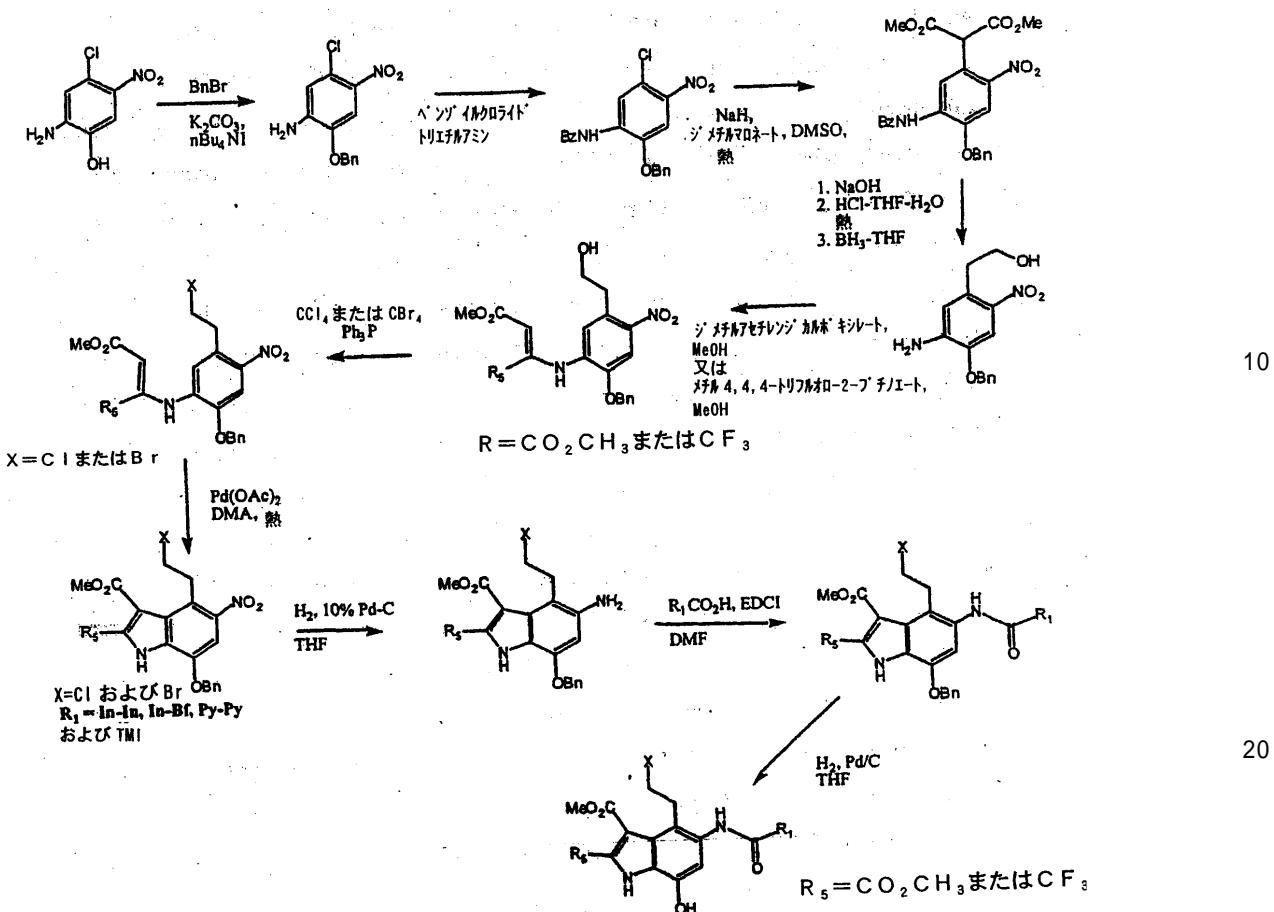
一般クラスIIの化合物を合成する際に、4-クロロ-3-ニトロアニリンが出発物質として使用された。そのアミノ部分は、ベンジルオキシカルボニルまたは「Z」保護基で保護された。所望される黄色固体生成物は、溶媒としての蒸留ジクロロメタンと共にベンジルクロロホルメートおよびトリエチレンアミンを用いて、アニリンを乾燥管（dry ing tube）のもとで30-100にて、好ましくは還流しながら加温することによって、46%の收率で与えられる。50-150、好ましくは110での窒素雰囲気下における乾燥ジメチルスルホキシド中における保護クロライドのジエチルマロネートおよび水素化ナトリウムとの反応は、所望されるジエステルを63%收率で与えた。このジエステルの酢酸部分への変換は、このジエステルをエタノールおよび水性10%水酸化ナトリウム中で4時間50-100にて、好ましくは還流しながら加温することによって、91%收率で達成された。酸ワークアップ後に、該酸は粘性黄色オイルを提供した。カルボン酸は、蒸留THFを溶媒として用いる窒素雰囲気下における0-50（好ましくは5、その後徐々に室温まで加温）でのボラン/THFを用いる還元を介して、第一級アルコールへ変換された。無色油性アルコールが93%收率で得られた。次いでこのアルコールは、トリフェニルホスフィン、溶媒としてカーボンテトラクロライドおよび蒸留ジクロロメタンを用いる0-50（好ましくは室温）での窒素雰囲気下における反応を介して、対応する第一級クロライドへ変換された。オレンジ色/黄色油性クロライド（chlide）が81%收率で得られた。このクロライドのニトロ部分は、10-100psi（好ましくは55psi）で0-35（好ましくは室温）におけるPtO₂上での水素化によって、アミンに還元された。この不安定なアミンは直ぐに、0-50（好ましくは室温）にて、溶媒としての蒸留ジクロロメタンと共にトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（PyBOP）および蒸留N,N-ジイソプロピルエチルアミンの存在下において、5,6,7-トリメトキシンドールカルボン酸（TMI）へカップリングされた。透明泡沫状生成物が36%收率で生産された。Z保護基は、0-35（好ましくは室温）におけるTHF中の炭素上10%Pd上における水素化によって、取り除かれた。アキラルアミノsec-CITMI化合物は、粘性無色オイルとして80%の收率で与えられた。

【0050】

本発明の一般クラスIIに属する化合物はまた、当該分野で認められる方法によって調製され得る。一般的な合成方法は、スキーム5において記載され且つ図解される。

【0051】

【化9】



【0052】

スキーム5. 一般クラスI II Iに属する本発明の化合物の合成

一般クラスI II Iの化合物の合成は、0-500（好ましくは室温）における2-アミノ-4-クロロ-5-ニトロフェノールの、DMF中の炭酸カリウムおよびテトラ-N-ブチルアンモニウムヨージドの存在下における臭化ベンジルとの反応で始まり、2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロアニリンを56%収率で与える。2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロアニリン（25-80）の、好ましくは還流しながら、トリエチルアミン存在下におけるベンジルクロライドとの続く反応は、N-(2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロフェニル)ベンズアミドを85%収率で提供した。80-150（好ましくは110）におけるDMSO溶液中における一晩中のN-(2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロフェニル)ベンズアミドのナトリウムジメチルマロネートアニオン（DMSO中における水素化ナトリウムとのジメチルマロネートの反応によって生成される）との反応は、ジメチル2-(5-ベンズアミド-4-ベンジルオキシ-2-ニトロ)フェニルマロネートを36%収率で与えた。ジメチル2-(5-ベンズアミド-4-ベンジルオキシ-2-ニトロ)フェニルマロネートが25-100における、好ましくは還流しながら、エタノール中のNaOHで処理され、次いでHClを用いる酸性化および25-100での穏やかな加温（好ましくは還流しながら）が行われ、所望される化合物2-(5-アミノ-4-ベンジルオキシ-2-ニトロ)フェニル酢酸が93%の収率で提供された。THF中ボランを用いる0-500（好ましくは5で、次いで徐々に室温まで加温）での2-(5-アミノ-4-ベンジルオキシ-2-ニトロ)フェニル酢酸の処理は、選択的にこのカルボン酸基を、52%収率でアルコール、2-(5-アミノ-4-ベンジルオキシ-2-ニトロ)フェニルエタノールに還元した。

【0053】

2-(5-アミノ-4-ベンジルオキシ-2-ニトロ)フェニルエタノールは、メタノール中、ジメチルアセチレンジカルボキシレートと共に25-100にて加温され、好ま

30

40

50

しくは還流しながら、ジメチル 2 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] マレートを 9 6 % 収率で与えた。メチレンクロライド中における四塩化炭素およびトリフェニルホスフィンを用いる 0 - 5 0 °C 、好ましくは室温でのジメチル 2 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] マレートの続く処理は、ジメチル 2 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] マレートを 8 5 % 収率で提供した。次いで、ジメチル 2 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] マレートは、4 0 - 1 2 0 °C (好ましくは 7 0 °C) にて N,N-ジメチルアセトアミド中のパラジウム (II) アセテートで処理され、ジメチル 7 - ベンジルオキシ - 4 - (2 - クロロエチル) - 5 - ニトロインドール - 2 , 3 - ジカルボキシレートを 2 3 % 収率で与えた。水素の大気圧における 0 - 3 5 °C (好ましくは室温) での THF 中の 1 0 % パラジウム上炭素 (palladium-on-carbon) を用いるジメチル 7 - ベンジルオキシ - 4 - (2 - クロロエチル) - 5 - ニトロインドール - 2 , 3 - ジカルボキシレートの処理はアミン中間体を与え、これは 0 - 5 0 °C (好ましくは室温) で、3 日間室温にて DMF 中の EDCI の存在下において 5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸および 5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボン酸と直接的にカップリングされ、目的のアキラル - sec - デュオカルマイシンアナログジメチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 5 - [5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] インドール - 2 , 3 - ジカルボキシレートをそれぞれ 2 0 % および 1 6 % 収率で与えた。
10
20

【 0 0 5 4 】

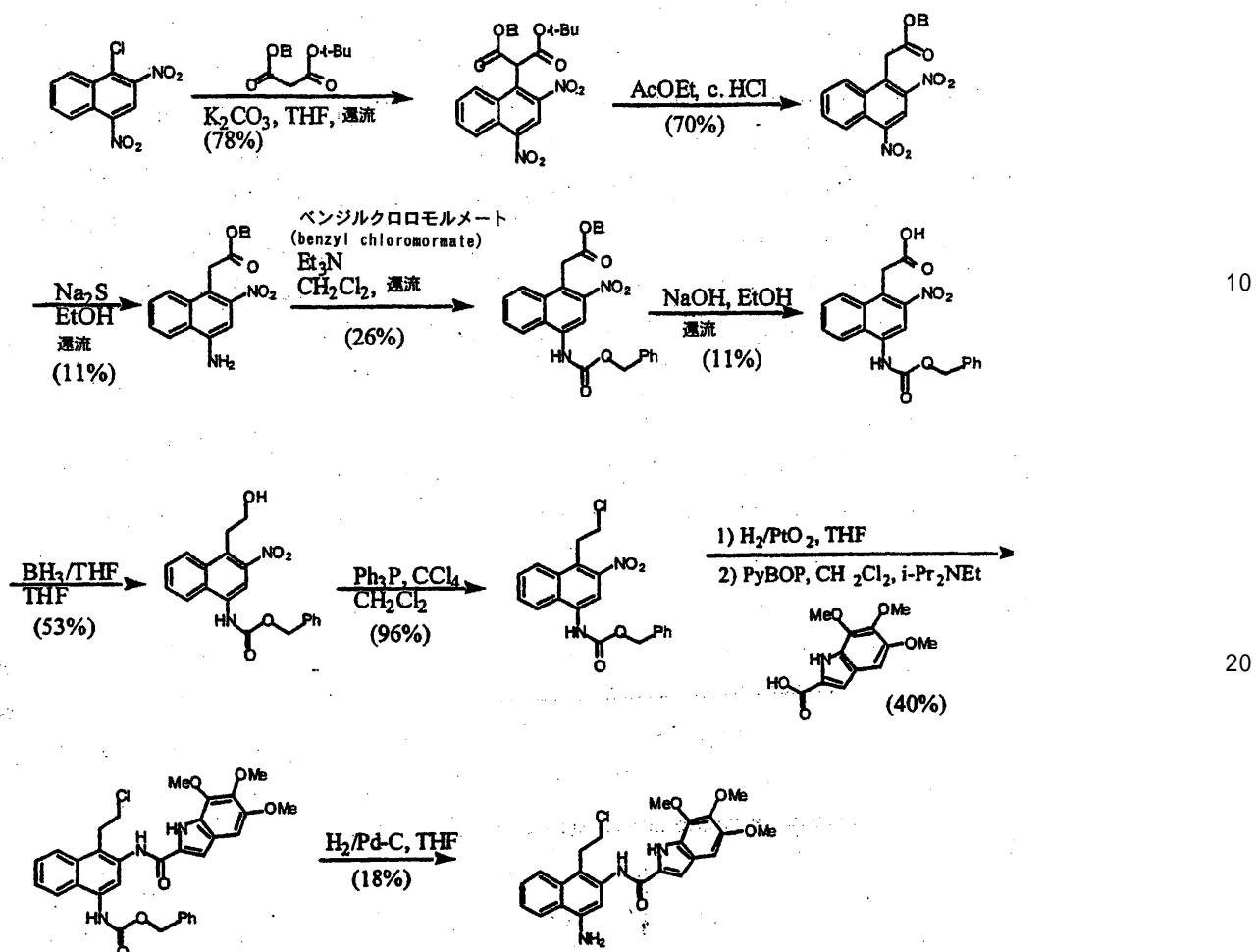
トリフルオロメチル - 含有アナログの合成において、2 - (5 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロ) フェニルエタノールは、3 0 - 7 5 °C にて、好ましくは還流しながら、メタノール中におけるメチル 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエート (butyronoate) と反応され、メチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエートを 8 7 % の収率で与えた。塩化メチレン中の四塩化炭素およびトリフェニルfosfinとの 0 - 5 0 °C (好ましくは室温) におけるメチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエートの処理は、メチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - クロロエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエートを 5 7 % の収率で与えた。次いで、メチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - クロロエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエートは、5 0 - 1 2 0 °C (好ましくは 7 0 °C) にて、N,N-ジメチルアセトアミド中でパラジウム (II) アセテートで処理され、メチル 7 - ベンジルオキシ - 4 - (2 - クロロエチル) - 2 - トリフルオロメチル - 5 - ニトロインドール - 3 - カルボキシレートを 2 9 % の収率で与えた。水素大気圧における 0 - 3 5 °C (好ましくは室温) での THF 中の 1 0 % パラジウム上炭素でのメチル 7 - ベンジルオキシ - 4 - (2 - クロロエチル) - 5 - ニトロインドール - 2 - トリフルオロメチル - 3 - カルボキシレートの処理は、アミン中間体を与え、このアミン中間体は、3 日間室温における DMF 中の EDCI の存在下において、5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸と 0 - 5 0 °C 、好ましくは室温において直接的にカップリングされ、目的のアキラル - sec - デュオカルマイシンアナログジメチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 2 - トリフルオロメチル - 5 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) インドール - 3 - カルボキシレートを 2 % 収率で与えた。
30
40

【 0 0 5 5 】

本発明に記載される一般クラス IV の化合物はまた、当該分野で認められる方法を用いて調製され、また一般スキームはスキーム 6 において与えられる。

【0056】

【化10】



【0057】

スキーム6. 一般クラス I V の化合物の調製

D M S O 中の水素化ナトリウムを用いる 2 0 - 1 5 0 (好ましくは 1 1 0) における t - プチルエチルマロネートとの 1 - クロロ - 2 , 4 - ジニトロナフタレン (3 9) の反応は、ジエステルを 7 8 % 収率で与えた。塩酸を用いる 0 - 1 0 0 (好ましくは室温) での非対称的な (u n s y n m e t r i c a l) ジエステルの処理は、エチルエステルを 7 0 % の収率で与えた。硫化ナトリウムとの 2 0 - 1 0 0 、好ましくは還流しながらの 4 - ニトロ基の還元、続くベンジルオキシカルボニル「 Z 」基を用いる 0 - 7 0 、好ましくは 0 でのアミノ基の保護は、保護エステルをそれぞれ 1 1 % および 2 6 % で与えた。 0 - 1 0 0 、好ましくは還流温度におけるエステルの加水分解、続くボランを用いる 0 - 5 0 、好ましくは室温におけるカルボン酸の還元は、所望されるアルコールをそれぞれ 1 1 % および 5 8 % で与えた (g a c e) 。四塩化炭素およびトリフェニルfosfin を用いる 0 - 5 0 、好ましくは室温におけるこのアルコールの処理は、クロライドを 9 6 % 収率で与えた。 1 0 - 1 0 0 p s i 、好ましくは 5 5 p s i での 0 - 3 5 、好ましくは室温における P t O 2 上での水素化によるこのニトロ基の還元は、アミン中間体を与えた。このアミンは、 P y B O P および H u n i g ' s 塩基の存在下において、 0 - 5 0 、好ましくは室温にてトリメトキシインドール - 2 - カルボン酸とカップリングされ、所望されるアミドを 4 0 % 収率で与えた。大気圧における 0 - 3 5 、好ましくは室温での 1 0 % P d / C 上での水素化による Z 保護基の除去は、所望されるアキラル s e c o - アミノ C I - T M I 生成物を 1 8 % 収率で与えた。

【0058】

本発明の化合物は抗ガン剤として有用である。

50

【 0 0 5 9 】

共有結合付加物の形成は、当該分野で認められる方法によって測定され得る。例えば、D N A の副溝内のプリン - N 3 のアルキル化は、熱的に誘導される D N A 鎖切断の形成を介して測定され得(40)、また本発明の化合物の共有結合配列特異性は、T a q ポリメラーゼストップアッセイを使用して測定され得る(41)。

【 0 0 6 0 】

本発明の化合物は、抗ガン剤として有用であり得る。これらは特に、腫瘍細胞に対する細胞増殖抑制特性を示し、その結果例えば様々なガン(例えば、癌腫(carcinoma)(乳房の癌腫、肺の癌腫、膀胱の癌腫、膵臓の癌腫、結腸の癌腫)、卵巣、結腸、直腸、前立腺、および子宮内膜癌(cancer)のような)の増殖を抑制するのに有用であり得る。本発明の化合物が適用を見出しえる他のガンは、例えば、肉腫(例えば、軟組織および骨肉腫)、および血液学的悪性疾患(白血病のような)である。10

【 0 0 6 1 】

本発明の化合物は、通常の経路(例えば、非経口に(paren tally)(例えば、注入の静脈内注射(可溶性の場合)、筋肉内、鼻腔内、皮内、皮下、腸管外(paren teral)、腸内など)によって投与され得る。投与の経路に依存して、この薬学的組成物は保護コーティングを必要とする。

【 0 0 6 2 】

本発明の薬学的組成物は通常、慣用的方法に従って調製され、そして薬学的に適切な形態で投与される。例えば、注入の静脈注射のための溶液は、担体として例えば滅菌水を含み得、または好ましくは、それらは滅菌水性等張生理食塩水または糖溶液の形態をとり得る。20

【 0 0 6 3 】

筋肉内注射のための懸濁液または溶液は、活性化合物と共に、薬学的に許容される担体(例えば、滅菌水、オリーブオイル、エチルオレエート、グリコール類、および所望の場合適切な量の塩酸リドカイン)を含み得る。

【 0 0 6 4 】

適用のための局所的な形態(例えば、皮膚科学的処置における使用のためのクリーム、ローションまたはペースト)において、有効成分が慣用的な油脂性(oleaginous)または乳化性賦形剤と混合され得る。30

【 0 0 6 5 】

固体経口形態(例えば、タブレットおよびカプセル)は、有効成分と共に、希釈剤(例えば、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプン);滑沢剤(例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸(stearic acid)、マグネシウムまたはカルシウムストレアート(streate)、および/またはポリエチレングリコール);結合剤(例えば、デンプン、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン);解離剤(disaggregating agent)(例えば、デンプン、アルギン酸、アルギネット、ソジウムスターチグリコレート);飽和剤(effervescent mixtures);色素、甘味料;湿潤剤(例えば、レシチン、ポリソルベート、ラウリルサルフェート;および一般的に、薬学的処方に於いて使用される無毒且つ薬理学的に不活性な物質を含み得る。上記薬学的製剤は、公知の方法(例えば、混合、顆粒化、タブレット化、糖コーティング、またはフィルムコーティングによる)で製造され得る。40

【 0 0 6 6 】

その用量は患者の年齢、体重、および状態および投与経路に依存する。例えば、成人ヒトへの投与に適切な用量は、一日に1-4回用量で、約0.1から約200-250mgまでの範囲をとり得る。

【 0 0 6 7 】

以下の実施例は本発明を例示するが、限定しない。

【 0 0 6 8 】

10

20

30

40

50

実施例 1

2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルプロマイドおよび 2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライドの調製
 ジエチル 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) マロネート (4 c) (2 . 0
 0 g, 5 . 17 mmol) を含む丸底フラスコへ、 EtOH (45 mL) および 10 %
 NaOH (60 mL) を添加し、暗褐色溶液を生成した。この溶液を 3 時間還流し、そして TLC (CHCl₃) によってチェックした（このとき、この溶液はわずかに黄色がかかった透明であった）。EtOH を減圧下において取り除き、黄色懸濁液を形成し、そして十分な THF (30 mL) を添加し、透明黄色溶液を作製し、これを氷浴中に置き、そしてかき混ぜた。6 M HCl (30 mL) を pH 1 に達するまでこの溶液へゆっくり添加した。この淡橙色溶液をさらに 1 時間還流し、このとき 2 つの層が形成された。上部 THF 層を回収し、そしてこの水溶液を CHCl₃ (100 mL) で抽出した。有機層を混合し、無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥した。次いでこの溶液を濾過し、そしてこの濾液を濃縮し、4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル酢酸を橙色固体として作製した。次いでこの固体を高真空に置き、そして乾燥した (1 . 41 g, 4 . 91 mmol, 95 %)
 。

【 0069 】

【 数 1 】

Mp 145-152 °C;

TLC (CHCl₃) R_f = 0.15; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) 7.76 (d, 2.7, 1H), 7.41 (m, 5H),
 7.26 (d, 8.7, 1H), 7.21 (dd, 2.7, 8.7, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.00 (s, 2H); IR (CHCl₃ cast)
 3400-2600 (br), 3100, 1698, 1601, 1526, 1523, 1453, 1376, 1349, 1240, 1180, 1022, 848,
 815, 760, 712; EI-MS m/z (relative intensity) 287 (M⁺, 10). Accurate mass (EI-MS) for
 C₁₅H₁₃NO₅: calcd. 287.0794, obsd. 287.0799.

【 0070 】

4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル酢酸 (6 . 38 g, 22 . 2 mmol) を新たに蒸留された乾燥 THF (60 mL) に溶解し、N₂ 下において氷浴中で攪拌した。5 分後、カニューレを用いてボラン (55 . 6 mL, 55 . 5 mmol, 1 M THF 溶液) を攪拌溶液上に置かれた滴下漏斗へ移した。次いで BH₃ - THF 溶液をこの溶液へゆっくりと添加し、多くの起沸を生じさせた。この赤色溶液を 10 分間氷浴中で攪拌しまま放置し、次いで 4 h の間、室温にて攪拌させた。この反応を TLC (10 % MeOH / CHCl₃) によってチェックした。起沸が生じなくなるまで、水 (150 mL) をこのフラスコにゆっくりと添加した。無水硫酸ナトリウムを用いて有機層を乾燥し、そして重力濾過した。次いでこの溶液を濃縮し、褐色オイルを生産した。カラムクロマトグラフィー (溶解度 / ヘキサン勾配溶出のための SiO₂, 10 - 60 % EtOAc / 5 % CHCl₃) は、2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エタノール (5 . 72 g, 21 . 0 mmol, 95 %) を帶褐色固体として与えた。

【 0071 】

【 数 2 】

Mp 48-52 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.61; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 7.54 (d, 2.5, 1H), 7.42 (m, 5H), 7.31 (d, 8.5, 1H), 7.17 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.91 (br q, 6.5, 2H), 3.65 (br t, 6.5, OH), 3.10 (t, 6.5, 2H); IR (neat) 3400, 3050, 2965, 2921, 2858, 1622, 1523, 1453, 1344, 1240, 1039, 804. EI-MS m/z (relative intensity) 273 (M⁺, 14). Accurate mass (EI-MS) for C₁₅H₁₅NO₄: calcd. 273.1001, obsd. 273.0992.

10

【0072】

トリフェニルホスフィン (1.98 g、7.55 mmol) および乾燥 CH₂Cl₂ (13.7 mL) を丸底フラスコ中の 2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エタノール (1.03 g、3.77 mmol) へ添加した。桃色沈殿物を含む赤色溶液が形成されたが、30分後に溶解した。この溶液を窒素の正圧下において一晩中攪拌させた。この溶液を TLC (20% エチルアセテート/石油エーテル) によってチェックし、次いで回転エバポレーターを用いて濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび 10% エチルアセテート、5% CHCl₃、および 85% 石油エーテル溶媒系を用いて、褐色油性残渣を精製した。2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルクロライドは、冷蔵庫の中に置くと凝固する濃厚な帯黄色オイルとして単離された (1.06 g、3.64 mmol、97% 収率)。

20

【0073】

【数3】

Mp 38-40 °C; TLC (20% ethyl acetate/hexane) R_f = 0.53; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 7.51 (d, 2.5, 1H), 7.33 (m, 5H), 7.23 (d, 8.5, 1H), 7.10 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 5.02 (s, 2H), 3.70 (t, 7.0, 2H), 3.20 (t, 7.0, 2H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 158.1, 149.5, 135.7, 143.0, 128.7, 128.4, 127.5, 125.1, 120.4, 110.7, 70.6, 44.0, 35.8; IR (neat) 3092, 3038, 2962, 2919, 2865, 1618, 1570, 1532, 1499, 1451, 1343, 1294, 1197, 1160, 1062, 1019, 906, 847, 809, 739, 696, 652; EI-MS m/z (relative intensity) 291 (M⁺, 10); isotope pattern of M⁺ and M⁺ + 2 agrees with the presence of one chlorine atom. Accurate mass (EI-MS) for C₁₅H₁₄³⁵ClNO₃: calcd. 291.0662, obsd. 291.0667.

30

【0074】

40

Pd/C 10% (4.5 mg) を 2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルクロライド (13.2 mg、0.453 mmol) へ添加した。次いでこの混合物をフリーザー冷却 THF (3.0 mL) 中で懸濁した。この懸濁液を脱気し、そして水素を用いて 3 回バージし、そして室温で大気圧下において還元する。3 h 後、その溶液を TLC (10% MeOH/CHCl₃) によってチェックし、そしてこの溶液をセライト上で吸引 (suction) 濾過した。この濾過残渣をさらなる CH₂Cl₂ で洗浄し、そしてその濾液を減圧下において濃縮し、2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルクロライドを白色固体として得た (6.0.7 mg、0.354 mmol、78%)。

【0075】

【数4】

50

Mp 96-100 °C; TLC (10%

MeOH/CHCl₃) R_f = 0.34; ¹H-NMR (CDCl₃ in 1 drop DMSO-d₆, 500 MHz) 8.20 (br s, 1H), 6.85 (d, 8.0, 1H), 6.27 (dd, 2.5, 8.0, 1H), 6.26 (d, 2.5, 1H), 4.00 (br s, 2H), 3.66 (t, 8.5, 2H), 2.90 (t, 8.5, 2H); IR (neat) 3139, 3020, 2954, 1622, 1594, 1513, 1464, 1560, 1306, 1265, 1246, 1197, 1175, 1079, 1049, 973, 848, 793, 722, 596, 646; EI-MS m/z (relative intensity) 171 (M⁺, 28); isotope pattern of M⁺ and M⁺ + 2 agrees with the presence of one chlorine atom. Accurate mass (EI-MS) for C₈H₁₀ClNO: calcd. 171.0451, obsd. 171.0444.

10

【 0 0 7 6 】

2 - (2 - アミノ - 4 - ベンジルオキシフェニル) エチルクロライド (448 mg、1.71 mmol)、D M A P (21 mg、0.17 mmol)、ジ - t - ブチルジカルボナート (447 mg、2.05 mmol) を乾燥アセトニトリル (5 mL) 中に溶解した。この溶液を 60 時間室温にて乾燥管の下で攪拌した。溶媒の除去の際に、その残渣をクロロホルム (30 mL) および水 (10 mL) に分配した。この有機層を 0.1 M HCl (5 mL) で洗浄し、次いで乾燥した。有機抽出物の濃縮によって、シリカゲルクロマトグラフィー (クロロホルム) によって精製される油性残渣を得、所望の生成物 O - ベンジル - 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (プトキシカルボキサミド) フェノールを白色固体として得た (213 mg、34.5%)。

20

【 0 0 7 7 】

【 数 5 】

TLC (CHCl₃) R_f = 0.60; ¹H-NMR (CDCl₃) 7.48 (s br, 1H), 7.43 (d, 7.5, 2H), 7.38 (t, 7.5, 2H), 7.37 (d, 2.5, 1H), 7.32 (t, 7.5, 1H), 7.06 (d, 8.5, 1H), 6.71 (dd, 2.5, 8.5), 5.05 (s, 2H), 3.69 (t, 7.0, 2H), 2.99 (t, 7.0, 2H), 1.53 (s, 9H).

30

【 0 0 7 8 】

トリフェニルホスフィン (1.92 g、7.33 mmol)、CBr₄ (7.28 g、2.1.96 mmol) および乾燥 CH₃CN (16.6 mL) を 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エタノール (1.00 g、3.66 mmol) を含む丸底フラスコへ添加した。窒素の正圧下で一晩中攪拌させ、赤色溶液を生じた。この溶液を TLC (20% EtOAc / ヘキサン) によってチェックし、回転エバポレーターで濃縮した。過剰な CBr₄ を真空 kugelrohr 蒸留 (vacuum kugelrohr distillation) (60 、 0.25 mmHg) によって取り除いた。カラムクロマトグラフィー (SiO₂、10% EtOAc / 5% CHCl₃ / 85% 石油エーテル勾配溶出) は、 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルプロマイドを帶褐色固体 (1.33 g、3.56 mmol、92%) として与えた。

40

【 0 0 7 9 】

【 数 6 】

Mp 30-34 °C; TLC (20% EtOAc/hexane) $R_f = 0.48$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) 7.52 (d, 2.5, 1H), 7.34 (m, 5H), 7.24 (d, 8.5, 1H), 7.11 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.57 (t, 7.0, 2H), 3.30 (t, 7.0, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) 158.0, 149.4, 135.6, 133.8, 128.7, 128.4, 127.5, 125.8, 120.5, 110.8, 70.6, 35.9, 32.0; IR (neat) 3070, 3027, 2919, 2855, 1618, 1570, 1526, 1499, 1451, 1408, 1381, 1343, 1289, 1262, 1240, 1149, 1025, 842, 804, 733, 695; EI-MS m/z (relative intensity) 335 (M^+ , 9); isotope pattern of M^+ and $M^+ + 2$ agrees with the presence of one bromine atom. Accurate mass (EI-MS) for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}_3\text{Br}$: calcd. 335.0157, obsd. 335.0160.

10

【0080】

Pd/C 10% (270 mg) および 2-(4-ベンジルオキシ-2-ニトロフェニル)エチルプロマイド (540 mg, 1.6 mmol) を丸底フラスコ中で共に混合した。その混合物をフリーザー冷却 THF (15 mL) 中に懸濁した。次いでこの溶液を脱気し、そして3回およびバージし、そして大気圧および室温下において還元させた (24 h)。この溶液を TLC (10% MeOH/CHCl₃) によってチェックし、そしてセライト上で吸引濾過した。この濾過パッドを CH₂Cl₂ で洗浄し、そしてその濾液を真空において濃縮し沈殿物を得、これを乾燥 CH₂Cl₂ (5 mL) を用いて2回コエバボレートさせた。2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルプロマイド (オフホワイト色固体) を、さらなる使用まで高真空に置いた (540 mg, 2.50 mmol, 100%)。

20

【0081】

【数7】

Mp 160-

166 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) $R_f = 0.27$; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 in 1 drop DMSO, 500 MHz) 7.21 (br s, 1H), 7.14 (d, 8.0, 1H), 7.10 (d, 2.0, 1H), 6.87 (dd, 2.0, 8.0), 3.83 (t, 7.5, 2H), 3.17 (t, 7.5, 2H); IR (neat) 3335, 3008, 2921, 1622, 1561, 1502, 1464, 1442, 1289, 1191, 1137, 1082, 847, 820; EI-MS m/z (relative intensity) 135 ($M^+ - \text{HBr}$, 85). Accurate mass (EI-MS) for $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$: calcd. 135.0684, obsd. 135.0678.

30

【0082】

実施例2

N-(2-(2-クロロエチル)-4-ヒドロキシフェニル)-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタンアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミドおよびその誘導体の調製
冷メタノール (100 mL) をメチル N-メチル-4-(N-メチル-4-ニトロピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキシレート (3.00 g, 9.8 mmol) および 5% Pd/C (1.2 g) の混合物へ添加した。この反応混合物を 18 h の間水素化し、そして TLC (10% MeOH/CHCl₃) によってチェックした。完全な還元の後、このアミンをセライトおよび焼結漏斗上で吸引濾過し、そしてその濾液を乾燥するまで rotary evaporation 留去し (rotary evaporation), そして 2 回コエバボレートさせた (coevaporated)。

40

【0083】

50

蒸留メチレンクロライド (30 mL) およびブチリルクロライド (1.00 mL、10.8 mmol) を、シリングによって、セプタム (septum) を通して滴下漏斗へ添加した。次いで、このアミンを乾燥 THF (75 mL) 中に溶解し、そして Et₃N (1.5 mL、10.8 mmol) を添加した。このアミン混合物を氷浴中にて5分間攪拌し、そして次いでこのブチリルクロライド混合物をゆっくり滴下した。淡桃色混合物が生じ、そしてこれをドライライト (drierite) 乾燥管の下一晩中 (18 h) 攪拌させた。次いでこのフラスコに水 (100 mL) およびクロロホルム (100 mL) を添加し、そしてその内容物を攪拌した。この溶液を分液漏斗へ加えた。2すくい (scoops) の塩を添加し、そしてその分液漏斗を振り混ぜ、空気抜きした (vented)。有機層を回収し、そして水層をクロロホルム (50 mL) を用いてさらに抽出した。次いで無水硫酸ナトリウムを用いて、この混合させたクロロホルム抽出物を乾燥した。この溶液を500 mL 丸底フラスコ中へ重力濾過し、そして乾燥するまで rotovap 留去し、淡黄褐色泡沢を形成した。カラムクロマトグラフィー (SiO₂、0-2% MeOH / CHCl₃ グラディエント溶出) によって、メチルN-メチル-4-(N-メチル-4-ブタニアミドピロール-2-カルボキサミド) ピロール-2-カルボキシレートをオフホワイト色泡沢として得た (6.51 g、18.8 mmol、82%)。

【0084】

【数8】

Mp 85-95 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.48; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 7.43 (br s, 1H), 7.41 (d, 1.5, 1H), 7.08 (d, 2.0, 1H), 6.99 (br s, 1H), 6.72 (d, 2.5, 1H), 6.62 (d, 2.0, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.30 (t, 4.5, 2H), 1.75 (sextet, 4.5, 2H), 1.00 (t, 4.5, 3H); IR (KBr) 3292, 3126, 2954, 1709, 1658, 1578, 1556, 1442, 1404, 1251, 1197, 1153, 1109, 1060, 749; MS (FAB) m/z (relative intensity) 347 (M + H⁺, 50), 346 (M⁺, 50). Accurate mass (FAB-MS) for C₁₇H₂₃N₄O₇: calcd. 347.1719, obsd. 347.1736.

【0085】

化合物メチルN-メチル-4-(N-メチル-4-ブタニアミドピロール-2-カルボキサミド) ピロール-2-カルボキシレート (2.00 g, 5.78 mmol) をメタノール (70 mL) および 10% NaOH (70 mL) 中に溶解し、そしてこの溶液を加温し、3 h の間還流した。還流後、メタノール層を rotovap 留去了 (rotovap ped down)。次いで、氷および水 (40 mL) をこの溶液へ添加した。次いで 3 モル HCl (約 50 mL) を、この溶液が pH 1 に達するまでゆっくり添加した。この反応液を氷浴中で冷却した後、沈殿した N-メチル-4-(4-ブタニアミドピロール-2-カルボキサミド) ピロール-2-カルボン酸を吸引濾過によって回収し、そして真空オーブン (0.2 mmHg にて 50°) 中で一晩中乾燥し、ベージュ色粉末 (1.58 g, 4.76 mmol, 82%) を生成した。

【0086】

【数9】

Mp

130-142 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.21; ¹H-NMR (CDCl₃ and 3 drops DMSO, 300 MHz) 11.0 (br s, 1H), 7.85 (br s, 1H), 7.59 (br s, 1H), 7.45 (d, 1.7, 1H), 7.14 (d, 1.7, 1H), 6.79 (d, 1.7, 1H), 6.68 (d, 1.7, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 2.30 (t, 6.9, 2H), 1.75 (sextet, 6.9, 2H), 1.00 (t, 6.9, 3H); IR (KBr) 3433, 3124, 2954, 1649, 1572, 1436, 1403, 1256, 1201, 1164, 1109, 1054; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 333 (M + H⁺, 60), 332 (M⁺, 72). Accurate mass (FAB-MS) for C₁₆H₂₁N₄O₄: calcd. 333.1563, obsd. 333.1559.

10

【 0 0 8 7 】

N - (2 - (2 - クロロエチル) - 4 - ヒドロキシフェニル) - 1 - メチル - 4 - (1 - メチル - 4 - ブタニアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボキサミド

2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライド (250 mg, 1.46 mmol) を含む反応フラスコへ EDCI (838 mg, 4.37 mmol), N - メチル - 4 - (N - メチル - 4 - ブタニアミドピロール - 2 - カルボキサミド) ピロール - 2 - カルボン酸 (485 mg, 1.46 mmol), および乾燥 DMF (10 mL) を添加した。この溶液を N₂ 霧囲気下室温にて 48 h の間攪拌させた。40 および 0.1 mm Hg において kugelrohr 装置を用いて溶媒を取り除いたところ、褐色オイルが残った。この油性残渣を、CHCl₃ (100 mL) および水 (25 mL) を用いて分配した。その水層を CHCl₃ (各 70 mL) で 3 回抽出し、そして混合された有機層を 5 % 水性重炭酸ナトリウムで洗浄し、次いで乾燥した (Na₂SO₄)。この濾液の濃縮は残渣を与える、これは 10 % エチルアセテート / CHCl₃ 溶媒系を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製され、ここで、EtOAc のパーセンテージは 50 mL ごとに 10 % 増加で 100 % EtOAc になるまで増大され、これに対して MeOH は 50 mL ごとに 10 % 増加で添加された。所望の化合物は、白色固体として得られた (41.6 mg, 0.084 mmol, 6 %)。

20

【 0 0 8 8 】

【 数 1 0 】

Mp 130-134 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f =

0.16; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) 8.10 (br s, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.04 (d, 8.0, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.08 (dd, 2.0, 8.0, 1H), 6.45 (d, 1.5, 1H), 4.25 (t, 7.7, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.01 (t, 7.7, 2H), 2.33 (t, 7.5, 2H), 1.77 (sextet, 8.0, 2H), 1.00 (t, 8.0, 3H); IR (neat) 3390, 2965, 2921, 1638, 1572, 1447, 1404, 1256, 1197, 1153, 1093, 1044, 864, 793, 679; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 450 (M + H⁺ - HBr, 8), 449 (450 - H⁺, 8). Accurate mass (FAB-MS) for C₂₄H₂₇N₅O₄: calcd. 449.2063, obsd. 449.2080.

40

【 0 0 8 9 】

2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルプロマイド (250 mg, 1.15 mmol) を含む反応フラスコへ EDCI (1.49 g, 7.5 mmol), N - メチル - 4 - (N - メチル - 4 - ブタニアミドピロール - 2 - カルボキサミド) - ピロール - 2

50

-カルボン酸(830mg, 2.50mmol)および乾燥DMF(12mL)を添加した。この溶液をN₂の雰囲気下に保ち、そして攪拌させた(48h)。kugelrohr装置を用いてDMFを取り除いた。次いで、残った油性残渣を、CHCl₃(100mL)および水(25mL)を使用して分配した。EtOAc(100mL)を用いてこの水層を抽出し、NaHCO₃で洗浄し、そして乾燥した(Na₂SO₄)。この濾液の濃縮は残渣を与える、これは20%EtOAc/CHCl₃溶媒系を用いるカラムクロマトグラフィーによって精製され(ここで、エチルアセテートは50mLごとに10%増加で100%EtOAcに達するまで増大され、これに対してMeOHは50mLごとに10%増加で添加された)、N-(2-(2-プロモエチル)-4-ヒドロキシフェニル)-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタンアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミドをオフホワイト色泡沫として与えた(230mg, 0.462mmol, 40%)。

【0090】

【数11】

Mp 138-150°C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.13; ¹H-NMR (CDCl₃ in 1 drop DMSO-d₆, 500 MHz) 9.85 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 7.39 (br s, 1H), 7.33 (d, 2.0, 1H), 7.14 (d, 2.0, 1H), 7.02 (d, 8.0, 1H), 6.87 (d, 2.0, 1H), 6.69 (d, 2.0, 1H), 6.41 (dd, 2.5, 8.0, 1H), 4.22 (t, 8.5, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 2.99 (t, 8.0, 2H), 2.21 (t, 7.0, 2H), 1.59 (sextet, 7.5, 2H), 0.895 (t, 7.5, 3H); IR (Nujol) 3368, 3270, 3125, 1632, 1600, 1262, 1202, 1153, 1093, 1039, 864, 804, 728; FAB-MS (NBA) m/z relative intensity 450 (M + H⁺ -HBr, 10), 449 (450 - H⁺, 10). Accurate mass (FAB-MS) for C₂₄H₂₈N₅O₄: calcd. 450.2141, obsd. 450.2147, for C₂₄H₂₇N₅O₄: calcd. 449.2063, obsd. 449.2082.

【0091】

p-ニトロベンジルクロロホルメート(60.9mg, 0.282mmol)をN-(2-(2-プロモエチル)-4-ヒドロキシフェニル)-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタンアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミド(60mg, 0.113mmol)の溶液へ添加し、そして乾燥CH₂Cl₂(6mL)中に溶解した。この混合物を溶解するために、この溶液を少し加温しなければならなかった。トリエチルアミン(32μL)を、窒素下冰浴中で攪拌しながらゴムセプタム(rubber septum)で密封された溶液へ添加した。この溶液を一晩中攪拌させ、そしてその反応液をTLC(10%MeOH/CHCl₃)によってチェックした。この反応混合物をCHCl₃(150mL)で希釈し、そして5%NaHCO₃(30mL)およびブライン(30mL)を用いて洗浄した。この有機層を回収し、そして無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥した。この溶液を重力濾過し、そしてその濾液を濃縮して黄色固体を生成し、これをプレパラティブTLC(10%CHCl₃)によって精製し、N-[2-(2-プロモエチル)-O-(4-ニトロベンジルカルボナート)フェニル]-1-メチル-4-(1-メチル-4-ブタンアミドピロール-2-カルボキサミド)ピロール-2-カルボキサミドを白色粉末(8.4mg, 0.013mmol, 12%)として生成した。

【0092】

【数12】

Mp 115-120 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.55; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 8.25 (d, 9.0, 2H), 7.78 (br s, 1H), 7.59 (d, 8.5, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.27 (d, 1.5, 1H), 7.26 (br s, 1H), 7.19 (d, 8.5, 1H), 7.04 (d, 2.0, 1H), 7.02 (br s, 1H), 6.82 (dd, 2.0, 8.0, 1H), 6.67 (d, 1.5, 1H), 6.52 (d, 2.0, 1H), 5.33 (s, 2H), 4.35 (t, 8.0, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.14 (t, 8.0, 3H), 2.30 (t, 7.5, 2H), 1.75 (sextet, 7.5, 2H), 1.00 (t, 7.5, 3H); IR (neat) 3412, 3126, 2954, 1758, 1658, 1643, 1583, 1523, 1440, 1402, 1348, 1320, 1239, 1156, 1099, 1060, 1017, 804, 771, 735; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 629 (M + H⁺ - HBr, 2). Accurate mass (FAB-MS) for C₃₂H₃₃N₆O₈: calcd. 628.2281, obsd. 628.2277.

10

【0093】

実施例3

4-(2-クロロエチル)-3-[5-(4-ビス-(2-クロロエチル)アミノ)ベンズアミド]インドール-2-カルボキサミド]フェノールおよびその誘導体の調製
乾燥THF(10mL)中、2-(2-アミノ-4-ヒドロキシフェニル)エチルクロライド(310mg, 1.81mmol)、10% Pd-C(233mg)の懸濁液を、室温および大気圧にて水素化した。濾過による触媒の除去、および濾液の濃縮によって、アミンを白色固体として得た。5-ニトロインドール-2-カルボン酸(372mg, 1.81mmol)、EDCI(1.04g, 5.42mmol)および乾燥DMF(10mL)を添加した。この反応混合物を、窒素雰囲気下および室温にて2日間攪拌した。Kugelrohr装置(0.1mmHg, 60°)を用いてこの溶媒を除去し、そしてその残渣をCHCl₃および水中において分配した。エチルアセテートを用いてこの水層を抽出した(二回)。この混合された有機抽出物を乾燥した(Na₂SO₄)。褐色油性残渣をシリカゲルクロマトグラフィー(0->50%エチルアセテート:クロロホルム50mLごと)によって精製し、そして4-(クロロエチル)-3-(5-ニトロインドール-2-カルボキサミド)フェノールを黄色固体(70mg, 14%)として単離した。

20

【0094】

【数13】

Mp 290-300 °C (dec. then melt); TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f=0.43; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 10.98 (s br, 1H, indole-NH), 8.87 (s br, 1H, amido-NH), 8.67 (d, 2.0, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.17 (dd, 2.0, 9.0, 1H), 7.55 (d, 9.0, 1H), 7.20 (d, 2.5, 1H), 7.11 (d, 8.5, 1H), 6.77 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 3.78 (t, 7.5, 2H), 3.08 (t, 7.5, 2H). IR (neat) 3391, 3261, 2929, 2858, 1658, 1616, 1545, 1462, 1379, 1326, 1249, 1154, 1071, 804, 739; FAB-MS (NBA) m/z (rel. intensity) 360 (M + H⁺, 4). Accurate mass for C₁₇H₁₅N₃O₄³⁵Cl: calcd. 360.0751, obsd. 360.0762.

30

【0095】

4-(2-クロロエチル)-3-(5-ニトロインドール-2-カルボキサミド)フェノール(250mg, 0.69mmol)および10% Pd-C(187mg)の新たに蒸留されたTHF(20mL)懸濁液を、大気圧および室温にて一晩中水素化した。セライトのパッド上でのこの懸濁液の吸引濾過および真空中におけるこの濾液の濃縮は、アミンを黄色固体として与えた。この固体へp-N,N-ビス-(2-クロロエチル)アミノ安息香酸(219mg, 0.84mmol), EDCI(436mg, 2.28mmol)

40

50

) および新たに蒸留された乾燥 D M F (1 0 m L) を添加した。この反応混合物を、窒素下および室温にて 2 日間攪拌した。K u g e l r o h r 装置 (0 . 1 m m H g , 6 0 °) を用いて、この反応混合物を濃縮し、そしてその残渣をクロロホルムおよび水に分配した。この水層を、エチルアセテートでさらに二回抽出した。この混合された有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、そして濃縮した。この残渣をカラムクロマトグラフィー (0 - > クロロホルム中の 1 0 % メタノール ; シリカゲル) によって精製した。4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールを白色固体 (9 6 m g , 2 4 %) として得た。

【 0 0 9 6 】

【 数 1 4 】

10

Mp 80-90°C; TLC (10% MeOH/ CHCl₃) R_f=0.52; ¹H-NMR (DMSO-d6, 500 MHz) 11.65 (d, 1.0, 1H, indole-NH), 9.84 (s, 1H, amido-NH), 9.49 (S, 1H, phenolic-OH), 8.12 (d, 2.0, 1H), 7.90 (d, 9.0, 2H), 7.51 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.39 (d, 9.0, 1H), 7.30 (d, 1.0, 1H), 7.17 (d, 8.5, 1H), 6.85 (d, 9.0, 2H), 6.78 (d, 2.5, 1H), 6.68 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 3.78 (m, 8H), 3.75 (t, 7.5, 2H), 2.97 (t, 7.5, 2H); IR (neat) 3390, 3019, 2965, 2921, 2856, 1643, 1600, 1539, 1513, 1464, 1447, 1256, 1229, 1180, 1153, 1093, 1044, 1017, 870, 799; Uv-vis (ethanol) 220 (=1.1 × 10⁶ M⁻¹cm⁻¹), 310 (e =3.8 × 10⁴ M⁻¹cm⁻¹); FAB-MS (NBA) m/z (rel. intensity) 573(M + H⁺, 1). Accurate mass for C₂₈H₂₈N₄O₃³⁵Cl₃: calcd. 573.1227, obsd. 573.1232.

20

【 0 0 9 7 】

0 および乾燥管の下において、乾燥 T H F (5 m L) および乾燥トリエチルアミン (1 7 . 5 μ L , 0 . 1 2 m m o l) 中の 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール (3 6 m g , 0 . 0 6 3 m m o l) 溶液へ、ニトロベンジルクロロホルメート (2 0 . 3 m g , 0 . 0 9 4 m m o l) を添加した。この溶液を窒素雰囲気下において保ち、そして室温に一晩中加温した。その後、さらなる量のニトロベンジルクロロホルメート (1 0 . 2 m g , 0 . 0 4 7 m m o l) を添加した。0 . 5 時間後、この反応混合液を濃縮し、そしてその残渣をエチルアセテート中に溶解し、そしてその溶液を 5 % N a H C O₃ で洗浄し、次いで乾燥した (N a₂S O₄) 。この残渣をプレパラティブ T L C (1 0 % MeOH : C H C l₃) によって精製し、4 - (クロロエチル) - O - (4 - ニトロベンジルカルボナート) - 3 - [[5 - (4 - ビス - (2 - クロロエチル) アミノ) ベンズアミド] インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールをオフホワイト色固体 (6 . 1 m g , 1 3 %) として得た。

30

【 0 0 9 8 】

【 数 1 5 】

40

Mp 192-98 °C; TLC (10%

MeOH:CHCl₃) R_f = 0.51; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 9.11 (s br, 1H, indole-NH), 8.34 (s br, 1H, amido-NH), 8.27 (d, 8.5, 2H), 8.17 (d, 2.0, 1H), 7.90 (d, 2.0, 1H), 7.84 (d, 8.5, 2H), 7.73 (s, 1H), 7.62 (d, 8.5, 2H), 7.44 (d, 8.5, 1H), 7.39 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.28 (d, 8.5, 1H), 7.07 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 6.75 (d, 9.0, 2H), 5.37 (s, 2H), 3.83 (t, 7.0, 2H), 3.69 (t, 7.0, 2H); IR (neat) 3379, 3019, 2954, 2922, 2856, 1736, 1643, 1605, 1513, 1453, 1376, 1261, 1218, 1066, 1017, 897, 788; FAB-MS (NBA) m/z (rel. intensity) 752 (M+H⁺, 1).

10

Accurate mass for C₃₆H₃₃N₅O₇³⁵Cl₃: calcd. 752.1446, obsd. 752.1391.

【 0 0 9 9 】

実施例 4

4 - (2 - プロモエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールおよび 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールおよびその誘導体の調製

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェノール) エチルブロマイド (300 mg, 0.893 mmol) を冷 T H F (20 mL) 中に溶解した。その溶液へ 10 % P d / C (0.150 g) を添加し、次いで真空下において H₂ を用いて 3 回パージした。この溶液を、H₂ 下において 16 時間、室温および大気圧にて攪拌した。焼結漏斗 (c i n t e r funnel) 中の C e l l i t e パッドを介してこの溶液を濾過し、そして C H₂C l₂ で洗浄した。この濾液を減圧下にて濃縮し、そして乾燥 C H₂C l₂ を用いて 2 回コエバボレートした。このアミンへ 5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボン酸 (0.286 g, 0.894 mmol) および E D C I (0.514 g, 2.68 mmol) を添加し、そして乾燥 D M F (10 mL) 中に溶解した。この溶液を N₂ 正圧下および室温にて 3 日間攪拌した。K u g e l r o h r 装置 (40 , 0.1 mm Hg) を用いて D M F を取り除いた。この油性溶液をクロロホルム (200 mL) 、エチルアセテート (50 mL) 中に溶解し、そして水 (50 mL) および 5 % 重炭酸ナトリウム (20 mL) を用いて洗浄した。この有機層を回収し、硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そして減圧下において濃縮した。4 - (2 - プロモエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールをシリカゲルカラム上で精製した。この生成物は、オフホワイト色固体 (8.1 mg, 0.016 mmol, 2 %) であった。

【 0 1 0 0 】

【 数 1 6 】

Mp = 285-290°C; TLC

(10% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.50; ¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) 11.70 (s, 1H), 10.45 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.18 (d, 1.5, 1H), 7.83 (d, 8.0, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.73 (dd, 1.0, 8.0, 1H), 7.60 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.51 (dt, 1.0, 8.0, 1H), 7.47 (d, 8.5, 1H), 7.38 (dt, 1.0, 8.0, 1H), 7.15 (d, 2.0 1H), 7.07 (d, 8.0, 1H), 6.47 (dd, 2.0, 8.0, 1H), 4.52 (t, 7.5, 2H), 3.12 (t, 7.5, 2H); IR (neat) 3346, 3120, 2943, 1660, 1616, 1589, 1512, 1423, 1414, 1305, 1251, 1153, 1049, 810, 739, 619; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 438 (M+H⁺-HBr, 3). Accurate mass for C₂₆H₂₀N₃O₄: calcd 438.1454, obsd 438.1440.

40

【 0 1 0 1 】

50

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド (0 . 4 0 6 8 g , 1 . 4 0 m m o l) を冷 T H F (- 2 0) 中に溶解した。その溶液へ 1 0 % P d / C (0 . 2 0 0 g) を添加し、次いで H₂ を用いて真空下において 3 回バージした。この溶液を、 H₂ 下において室温および大気圧にて 4 5 時間攪拌した。この溶液をシンター漏斗中の C e l i t e パッドを介して濾過し、 C H₂C l₂ を用いて洗浄した。この濾液を減圧下において濃縮し、そして乾燥 C H₂C l₂ を用いて 2 回コエバポレートし、白色固体を生成した。このアミンへ 5 - (ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボン酸 (0 . 3 6 g , 1 . 1 2 m m o l) および E D C I (0 . 8 1 g , 4 . 2 0 m m o l) を添加し、次いで乾燥 D M F 中に溶解した。この溶液を N₂ 正圧下および室温にて、 4 日間攪拌した。 K u g e l r o h r 装置 (4 0 , 0 . 1 m m H g) を用いて D M F を取り除いた。この油性残渣をクロロホルム (2 0 0 m L) 中に溶解し、そして水 (5 0 m L) および 5 % 重炭酸ナトリウム (5 0 m L) を用いて洗浄した。有機層を回収した。クロロホルム (2 0 0 m L) を用いて、この水層を 3 回抽出した。この有機層を回収し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして減圧下において濃縮した。この生成物をシリカゲルカラムで精製した。このカラムは、 1 0 0 % クロロホルムおよびエチルアセテートグラディエントにおいて操作された (r u n) 。 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールをオフホワイト色固体として得た。この生成物は、 C H₂C l₂ / 石油エーテル (2 9 9 m g , 0 . 6 3 2 m m o l , 2 8 %) から沈殿され得た。

【 0 1 0 2 】

【 数 1 7 】

Mp = 233-235°C; TLC (10%

MeOH/CHCl₃) R_f = 0.37; ¹H-NMR (DMSO-d6, 500 MHz) 11.74 (d, 1.5, 1H, indole-NH), 10.44 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.17 (d, 1.0, 1H), 7.83 (d, 8.0, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.73 (d, 8.5, 1H), 7.58 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.51 (dt, 1.0, 8.0, 1H), 7.44 (d, 8.0, 1H), 7.38 (t, 8.0, 1H), 7.33 (d, 1.0, 1H), 7.17 (d, 9.0, 1H), 6.79 (d, 2.5, 1H), 5.67 (dd, 2.5, 9.0 1H), 3.75 (t, 7.5, 2H), 2.98 (t, 7.5, 2H); IR (neat) 3401, 3259, 3041, 2965, 2921, 1643, 1594, 1534, 1446, 1301, 1256, 1230, 1094, 1051, 804, 739; UV-vis (ethanol) 218 (ε = 1.1x10⁶ M⁻¹ cm⁻¹), 290 (ε = 1.7x10⁴ M⁻¹ cm⁻¹); FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 474 (M+H⁺, 2). Accurate mass for C₂₆H₂₁N₃O₄³⁵Cl: calcd. 474.1221, obsd. 474.1219.

【 0 1 0 3 】

乾燥トリエチルアミン (0 . 0 4 5 m L , 0 . 3 2 2 m m o l) を 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール (7 4 . 1 m g , 0 . 1 5 6 m m o l) へ添加し、そして蒸留 C H₂C l₂ (2 0 m L) 中に溶解し、 N₂ 下としながら、次いで氷浴中に置いた。 4 - ニトロベンジルクロロホルメート (0 . 0 8 7 g , 0 . 4 0 2 5 m m o l) をこの溶液へ添加し、そして N₂ 下において氷浴中で攪拌した。乾燥 T H F (2 m L) を添加し、そしてその内容物を超音波処理し、この混合物を完全に溶解した。その溶液を氷浴において 4 0 分間、次いで室温にて 2 0 時間、攪拌した。 2 0 時間後、 T L C によるとこの反応は完了しておらず、そしてさらに 4 - ニトロベンジルクロロホルメート (0 . 0 8 7 g) をこの混合物へ添加し、そして 3 時間攪拌した。その混合物をクロロホルム (5 0 m L) で希釈し、そして飽和 N a C l および 5 % 重炭酸ナトリウムを用いて抽出した。水性洗浄液 (w a s h) をエチルアセテートで抽出した。有機層を混合し (c o m b i n e d) 、そして硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして減圧下において黄 - 褐色固体になるまで濃縮した。この生成物を、 1 % メタノール、 9 9 % クロロホルムにおけるシリカゲルカラム 40

10

20

30

40

50

操作 (run) で精製した。4 - (2 - クロロエチル) - O - (4 - ニトロベンジルカルボナート) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールをオフホワイト色固体 (85.7 mg, 0.131 mmol, 84%) として得た。

【0104】

【数18】

Mp = 192-195°C; TLC (5% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.50; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 9.25 (s br, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.26 (d, 8.5, 1H), 7.91 (d, 2.0, 1H), 7.72 (d, 8.0, 1H), 7.614 (s, 1H), 7.612 (d, 8.5, 1H), 7.58 (d, 8.0, 1H), 7.47 (m, 3H), 7.34 (dt, 1.0, 8.0, 1H), 7.29 (d, 8.5, 1H), 7.08 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 5.37 (s, 2H), 3.89 (t, 6.0, 2H), 3.20 (t, 6.0, 2H); IR (neat) 3401, 3281, 2959, 2871, 1758, 1660, 1643, 1594, 1523, 1442, 1344, 1229, 1169, 1055, 804, 739; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 653 (M+H⁺, 3). Accurate mass for C₃₄H₂₆N₄O₈³⁵Cl: calcd. 653.1439, obsd. 653.1428.

10

【0105】

トリエチルアミン (0.113 mL, 0.810 mmol) を 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノール (191.8 mg, 0.405 mmol) へ添加し、そして乾燥 C₆H₆C₂H₅ (5.0 mL) 中に溶解した。p - ニトロフェニルクロロホルムエート (0.204 mmol, 1.013 mL) をこの溶液へ添加した。この溶液を N₂ 正圧下にて攪拌し、そして氷浴上で 20 分間攪拌した。この溶液を室温にて 2 時間攪拌した。次いでこの溶液を氷浴中で再冷却し、そして N - メチルピペラジン (0.11 mL, 1.215 mmol) をこの溶液へ添加した。この溶液を室温にて 22 時間攪拌し、次いで 1 時間還流した。この溶液をクロロホルム (5.0 mL) で希釈し、そして飽和 NaCl を用いて洗浄した。有機層を回収し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして減圧下で濃縮した。この生成物を、クロロホルムを用いて開始し、5.0 mL の溶媒ごとに 1% の増加率のメタノールを用いるクロロホルムメタノールグラディエントのシリカゲルカラム精製した。この回収された分画を混合し、そして濃縮し、4 - (2 - クロロエチル) - O - (N - メチルピペラジン - N' - カルバマート (carbamato)) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] フェノールを白色泡沫 (90 mg, 0.15 mmol, 37%) として得た。

20

【0106】

【数19】

Mp = 208-210°C; TLC (5% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.13; ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 9.34 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.719 (d, 7.0, 1H), 7.719 (d, 1.5, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.58 (d, 8.5, 1H), 7.46 (m, 3H), 7.34 (t, 8.0, 1H), 7.23 (d, 8.0, 1H), 7.02 (dd, 2.5, 8.0, 1H), 3.84 (t, 6.5, 2H), 3.70 (s br, 2H), 3.60 (s br, 2H), 3.15 (t, 6.5, 2H), 2.46 (s br, 4H), 2.34 (s, 3H); IR (Neat) 3389, 3270, 3124, 2965, 1711, 1662, 1648, 1592, 1537, 1423, 1261, 1232, 864, 799, 749, 668; FAB-MS (NBA) m/z (relative Intensity) 600 (M+H⁺, 18). Accurate mass for C₃₂H₃₁N₅O₅³⁵Cl: calcd. 600.2014, obsd. 600.2009.

30

【0107】

50

実施例 5

4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [2 - (4 - N , N - (ジエチル) アミノフェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキサミド] フェノールの調製

3 , 4 - ジニトロ安息香酸 (5 . 0 1 g , 2 3 . 6 m m o l) 、 C H₃O H (1 5 0 m L) 、 および H₂S O₄ (2 0 m L) を加温し、 2 2 . 5 h の間還流した。 H₂O (5 0 m L) の添加後すぐに白色固体が形成された。次いでこの生成物を C H C l₃ (3 × 1 0 0 m L) で抽出し、そして混合された有機層を飽和 N a H C O₃ (2 7 m L) および H₂O (8 0 m L) の混合物で洗浄した。無水 N a₂S O₄ を用いてこの有機層を乾燥し、そして減圧下における溶媒の除去によって、メチル 3 , 4 - ジニトロベンゾエートを白色固体 (4 . 7 7 g , 8 9 . 4 %) として得た。

10

【 0 1 0 8 】

【 数 2 0 】

Mp 85-86 °C; TLC (2.5 % MeOH?CHCl₃) Rf = 0.76; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) 8.58 (d, 8.3, 1H), 8.45 (d, 8.3, 1H), 8.42 (d, 8.3, 1H), 4.00 (s, 3H); IR (Nujol) v_{max} 1731, 1600, 1553, 1461, 1376, 1292.

【 0 1 0 9 】

メチル 3 , 4 - ジニトロベンゾエート (1 g , 4 . 4 2 m m o l) および 1 0 % P d / C (2 5 0 m g) を C H₃O H (6 0 m L) 中に溶解し、そして H₂ 下において、一晩中攪拌させた。次いで、 C e l i t e を通してこの反応混合物を真空濾過し、そしてロータリーエバポレーターで濃縮し、ジアミンを得た。乾燥 C H₂C l₂ を用いてこの残渣を 2 回コエバポレートした後 (それぞれ 1 0 m L) 、これを次の工程に直接使用した。

20

【 0 1 1 0 】

メチル 3 , 4 - ジアミノベンゾエート (0 . 7 3 g , 4 . 4 2 m m o l) 、 4 - (ジエチルアミノ) ベンズアルデヒド (3 . 0 g , 1 6 . 9 m m o l) をニトロベンゼン (3 0 m L) 中に溶解し、そして 1 4 5 油浴において一晩中還流した。次いでこのニトロベンゼンを、真空中において K u g e l r o h r 装置 (6 0 , 0 . 1 m m H g) を使用して除去した。残った油性残渣を C H C l₃ 中に溶解し、そして水 (3 × 5 0 m L) で洗浄した。混合された有機層を乾燥し (N a₂S O₄) 、濾過し、そして濃縮した。次いでこの粗製のオイルを、 1 % M e O H / C H C l₃ の溶媒系を用いるカラムクロマトグラフィーを介して精製し、メチル 2 - (4 - (N , N - ジエチル) アミノフェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキシレートを帶黄色固体として得た (1 . 1 7 g , 8 2 % 収率) 。

30

【 0 1 1 1 】

【 数 2 1 】

TLC (2.5 % MeOH/CHCl₃) Rf = 0.26; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 9.87 (s br, 1H), 8.30 (s br, 1H), 7.94 (dd, 1.5, 8.5, 1H), 7.91 (d, 8.5, 2H), 7.60 (s br, 1H), 6.72 (d, 8.5, 2H), 3.42 (q, 7.0, 4H), 1.21 (t, 7.0, 6H); IR (neat) 3508, 2063, 2920, 1712, 1611, 1504, 1434, 1360, 1307, 1269, 1205, 1157, 1082, 1008, 821, 751.

40

【 0 1 1 2 】

メチル 2 - (4 - (N , N - ジエチル) アミノフェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキシレート (0 . 5 0 0 g , 1 . 5 4 m m o l) へ 1 0 % N a O H (7 . 0 m L) および E t O H (3 0 m L) を添加した。この混合物を 4 h の間還流した。この混合物を冷却し、そしてそのエタノールを留去した。次いで 6 M H C l を p H 1 (この点で黄色結晶が溶液から沈殿する) になるまでこの混合物へ添加した。この懸濁液を冷却するため氷浴に放置した。次いでオフホワイト色固体 2 - (4 - (N , N - ジエチル) アミノフェニ

50

ル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボン酸を吸引濾過し、真空中にて一晩中 60 にて乾燥させた (0.37 g, 77.8 % 収率)。

【0113】

【数22】

Mp = 300-

304 °C; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 and 3 drops of DMSO-d6) 8.33 (d, 1.0, 1H), 8.20 (d, 9.3, 2H), 8.03 (dd, 1.0, 8.7, 1H), 7.72 (d, 8.7, 1H), 6.77 (d, 9.3, 2H), 3.46 (q, 7.2, 4H), 1.24 (t, 7.2, 6H); IR (nujol) 3477, 1712, 1606, 1296, 1269, 1157, 767, 724.

10

【0114】

2 - (4 - (N, N - ジエチル) アミノフェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボン酸 (0.350 g, 1.13 mmol)、2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライド (0.300 g, 1.75 mmol)、EDCI (0.592 g, 3.08 mmol) を乾燥 DMF (15 mL) 中に溶解し、そして室温にて 3 日間 N_2 下において攪拌させた。次いでこの DMF を Kugelrohr 装置 (0.1 mmHg, < 70) によって除去し、そして残った粗生成物を CHCl_3 中に溶解し、そして水 (3×40 mL) で洗浄した。この有機層を回収し、乾燥し (Na_2SO_4)、濾過し、そして濃縮した。精製は、溶媒グラディエントとして 10 - 50% EtOAc / CHCl_3 を用いるカラムクロマトグラフィーを介し、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [2 - (4 - N, N - (ジエチル) アミノフェニル) ベンゾイミダゾール - 6 - カルボキサミド] フェノールを白色固体 (0.07 g, 13 % 収率) として得た。

20

【0115】

【数23】

Mp = 223 °C; TLC (10 %

$\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ Rf = 0.43; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 and 2 drops of DMSO-d6) d 8.78 (s br, 1H), 8.65 (s br, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.14 (d, 9.0, 2H), 7.83 (d, 8.5, 1H), 6.76 (d, 9.0, 2H), 6.73 (dd, 2.0, 8.0, 1H), 3.77 (t, 6.5, 2H), 3.45 (q, 7.5, 4H), 3.07 (t, 7.5, 2H), 1.23 (t, 7.5, 6H); IR (nujol) 3408, 1607, 1493, 1379, 1306, 1254, 1202, 1156, 1093, 1021, 798, 663, 616; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 463 ($\text{M}+\text{H}^+$, 5). Accurate mass for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2^{35}\text{Cl}_2$: calcd. 463.1901, obsd. 463.1901.

30

【0116】

実施例 6

4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノールおよびそのアナログの調製

40

2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライド (449 mg, 1.72 mmol) を、既に報告されている手順によって合成した。かなり不安定なこれを、5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸 (429.0 mg, 1.71 mmol)、および DMF (15 mL) で素早く処理した。この溶液を窒素下において 3 日間攪拌した。Kugelrohr 装置 (60, 1 mmHg) を用いて DMF を除去し、そしてその油性残渣を CHCl_3 (200 mL) および H_2O (75 mL) の間で分配した。その有機層を乾燥し (Na_2SO_4)、濾過し、そして濃縮した。カラムクロマトグラフィーによる精製 (1.5% MeOH / CHCl_3 グラディエント溶出) によって、4 - (クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキシアミノ) フェノールをオフホワイト色固

50

体 (77.8 mg , 11% 収率) として得た。

【 0 1 1 7 】

【 数 2 4 】

10

Mp = 48-50 °C; TLC (10 % MeOH/CHCl₃) Rf = 0.43; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 9.71 (s br, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.99 (d, 2.5, 1H), 7.18 (s br, 1H), 7.09 (d, 8.5, 1H), 6.95 (d, 2.0, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.72 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 4.11 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.83 (t, 6.0, 2H), 3.09 (t, 6.0, 2H); IR (KBr) 3362, 3062, 2958, 2916, 2854, 1649, 1540, 1503, 1457, 1410, 1374, 1306, 1259, 1239, 798, 756; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 404 (M⁺, 2), 405 (M+H⁺, 3). Accurate mass for C₂₀H₂₂N₂O₅³⁵Cl₂: calcd. 405.1217, obsd. 405.1216. Anal. Calcd. For C₂₀H₂₁N₂O₅Cl: C, 59.33; H, 5.23; N, 6.92. Found: C, 59.56; H, 5.33; N, 7.13.

【 0 1 1 8 】

水素化フラスコへ 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド (1.005 g, 3.44 mmol) 、酸化白金 (Pt O₂ (200 mg) およびフリーザー冷却 THF (50 mL) を添加した。次いでこのチャンバー (chamber) を真空にし、H₂を用いて 3 回バージし、さらに 55 psi にて 1 時間振とうさせた。次いでこの溶液を Celite 上で濾過し、rotovap で濃縮し、そしてその残渣を乾燥 CH₂Cl₂ (各 5 mL) を用いてコエバポレートした。真空下に置かれるオフホワイト色の薄片状固体が生じた。得られた 2 - (2 - アミノ - 4 - ベンジルオキシフェニル) エチルクロライドを乾燥 CH₂Cl₂ (50 mL) 中に溶解し、次いでセプタムを介して 5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸 (961 mg, 3.83 mmol) およびベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシ - トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PyBOP) (2.00 g, 3.84 mmol) の乾燥 CH₂Cl₂ (440 mL) 中攪拌懸濁液へ添加した。この反応混合物を N₂ でフラッシュし (flushed) 、そして室温にて 10 分間攪拌させた。シリングを用いて、新たに蒸留された乾燥 N,N - デイソプロピルエチルアミン (1.5 mL, 8.6 mmol) を添加し、そしてこの時点でこの懸濁液は黄色溶液になった。一晩中室温にて N₂ 下において、この溶液を攪拌させた。この反応を TLC (16 : 1 CH₂Cl₂ / EtOAc) によってチェックした後、この溶液を 100 mL の CH₂Cl₂ で希釈し、そして水 (100 mL) を用いて 1 回、10% HCl (1 M) (100 mL) を用いて 1 回、飽和水性 NaHCO₃ (100 mL) を用いて 1 回、および飽和 NaCl (100 mL) を用いて 1 回洗浄した。有機層を回収し、無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、そして濃縮した。この生成物を、16 : 1 CH₂Cl₂ / EtOAc シリカゲルカラムを用いて精製した。次いでこの生成物を回収し、そして 10% NaOH (100 mL) を用いて、さらに水 (100 mL) を用いて 1 回素早く洗浄した。この有機層を回収し、そして無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、そして濃縮し、ベンジル - 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェニルエーテルを淡黄色泡沫として得た (1.13 g, 2.29 mmol, 66%) 。

【 0 1 1 9 】

【 数 2 5 】

10

20

30

40

TLC (16:1 CH₂Cl₂/EtOAc) R_f = 0.38; ¹H-NMR (500 MHz CDCl₃) 9.19 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.62 (d, 3.0, 1H), 7.45 (d, 7.5, 2H), 7.39 (t, 7.5, 2H), 7.33 (t, 7.5, 1H), 7.15 (d, 8.5, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.85 (dd, 3.0, 8.5, 1H), 6.84 (s, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.08 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.83 (t, 6.5, 2H), 3.10 (t, 6.5, 2H); IR (neat) 3296, 3073, 2970, 2924, 2850, 1751, 1709, 1644, 1579, 1537, 1499, 1467, 1411, 1304, 1261, 1234, 1099, 1025, 914, 797, 732; EI-MS (relative intensity) 494 (M⁺, 20), 458 (M⁺-HCl, 100).

【0120】

ベンジル 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェニルエーテル (2 . 17 g , 4 . 38 mmol) を含むフラスコへ、 25 % NH₄HCO₃ (17 . 60 mL , 0 . 0697 mmol) および THF (100 mL) の水溶液を添加した。この溶液を氷浴中で 10 分間攪拌させた。この冷溶液へ Pd / C 10 % (450 mg) を添加した。次いでこのフラスコを H₂ 下において一晩中攪拌させた。この反応混合物の TLC 分析 (2 . 5 % MeOH / CHCl₃) は、脱ベンジル化が完了したことを示した。この溶液を Celite 上で濾過し、そして rote vap にて濃縮した。生じるオイルを CHCl₃ (100 mL) 中に溶解し、そして水 (100 mL) を用いて 1 回、そしてブライン (100 mL) を用いて 1 回洗浄した。この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そして rote vap にて濃縮した。生じる帶黄色オイルを、 0 . 5 % MeOH / CHCl₃ から始めるシリカゲルカラムを用いて精製した。MeOH のパーセンテージは、 100 mL ごとに 0 . 5 % 増加で増大された。この生成物を回収し、そして濃縮において濃縮し、 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキシアミノ) フェノールを白色泡沫として生成した (880 mg , 2 . 17 mmol , 50 %)。

【0121】

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド (250 mg , 0 . 856 mmol) 、 10 % Pd / C (75 mg) を冷 (- 20) THF (30 mL) 中に懸濁した。このフラスコを真空にし、そして H₂ を用いて 3 回バージし、そして大気圧にて室温で 24 時間攪拌させた。この溶液を Celite 上で濾過し、そして濃縮した。生じる緑色油性残渣を CH₂Cl₂ (5 mL) を用いて 2 回コエバポレートし、淡緑色の薄片状固体を生産した。次いで生じる 2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライドを高 - 真空下に置いた。フレーム乾燥された (flame dried) 100 mL 丸底フラスコへ、 5 - メトキシインドール - 2 カルボン酸 (180 mg , 0 . 941 mmol) 、および EDCI (495 mg , 2 . 56 mmol) を添加した。このフラスコをセプタムで密封し、そして N₂ を用いてフラッシュした。セプタムを介して、乾燥 DMF (10 mL) を添加した。この溶液を 10 分間攪拌させた。乾燥 DMF (3 mL) 中に溶解したアミンを、この反応混合物へ添加した。透明淡黄褐色懸濁液を室温にて N₂ 下において 3 日間攪拌させた。この溶液を EtOAc (50 mL) で希釈し、そしてブフナー漏斗を介して濾過した。この濾液を分液漏斗へ加え、そして水 (100 mL) を用いて 3 回洗浄した。次いでこの有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そして rote vap にて濃縮し、暗褐色オイルを得た。この粗生成物を、 1 % MeOH / CHCl₃ を用いるシリカゲルカラムで精製し、 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミノ) フェノールをオフホワイト色残渣として生成した (29 mg , 0 . 0842 mmol , 10 %)。

【0122】

【数26】

10

20

30

40

Mp = 64-70 °C; TLC (1%)

MeOH/CHCl₃) Rf = 0.42; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 9.08 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.56 (d, 2.5, 1H), 7.36, (d, 9.0, 1H), 7.12 (d, 8.5, 1H), 7.10 (d, 2.0, 1H), 7.01 (dd, 3.0, 8.0, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.73 (dd, 3.0, 8.0, 1H), 5.38 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (t, 6.5, 2H), 3.11 (t, 6.5, 2H); IR (neat) 3290, 3050, 2957, 2916, 1653, 1618, 1534, 1508, 1472, 1451, 1223, 1093, 1026, 907, 798, 715; EI-MS (relative intensity) 344 (M⁺, 20), 308 (M⁺-HCl, 100); Accurate mass for C₁₈H₁₇N₂O₃³⁵Cl: calcd. 334.0928, obsd. 344.0914.

10

【 0 1 2 3 】

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド (250 mg, 0.856 mmol)、10% Pd / C (75 mg) を冷 (- 20) THF (30 mL) 中に懸濁した。このフラスコを真空にし、そして H₂ を用いて 3 回パージし (purge d)、そして大気圧にて、室温において 24 時間攪拌させた。この溶液を Celite 上で濾過し、そして濃縮した。結果生じる緑色油性残渣を CH₂Cl₂ (5 mL) と共に 2 回コエバポレートし、淡緑色、薄片状固体を生産した。次いで、生じる 2 - (2 - アミノ - 4 - ヒドロキシフェニル) エチルクロライドを高 - 真空下に置いた。フレーム乾燥されたフラスコへ、2 - メトキシケイ皮酸 (168 mg, 0.942 mmol)、および EDC I (492 mg, 2.57 mmol) を添加した。このフラスコをセプタムで密封し、N₂ を用いてフラッシュした。セプタムを介して、乾燥 DMF (10 mL) を添加した。この溶液を 10 分間攪拌させた。乾燥 DMF (3 mL) 中に溶解したアミンを、この反応混合物へ添加した。透明淡黄褐色懸濁液を室温にて N₂ 下において 3 日間攪拌させた。この溶液を EtOAc (100 mL) で希釈し、ブフナー漏斗を介して濾過した。この濾液を分液漏斗へ加え、そして水 (100 mL) を用いて 4 回洗浄した。次いでこの有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そして rotovap にて濃縮し、淡褐色油性残渣を生産した。この粗生成物を、0.5% MeOH / CHCl₃ シリカゲルカラムを用いて精製した。このグラディエント溶媒系は、0.5% MeOH / CHCl₃ から始めて使用された。MeOH のパーセンテージは 50 mL の後 1%まで増大され、次いでさらなる 50 mL ごとに 1%ずつ増大され、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (2 - メトキシシンナモイルアミド) フェノールをオフホワイト色泡沫として生成した (70.4 mg, 0.213 mmol, 25%)。

【 0 1 2 4 】

【 数 2 7 】

Mp = 70 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) Rf = 0.61; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 8.01 (d, 16.0, 1H), 7.53 (d, 6.5, 1H), 7.49 (s br, 1H), 7.36 (t, 7.0, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.08 (d, 8.0, 1H), 6.98 (t, 7.5, 1H), 6.93 (d, 7.5, 1H), 6.69 (dd, 2.0, 6.5, 1H), 6.68 (d, 16.0, 1H), 5.35 (s br, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.76 (t, 6.5, 2H), 3.05 (t, 6.5, 2H); IR (neat) 3253, 3071, 3011, 2925, 2839, 1648, 1614, 1541, 1485, 1459, 1248, 1209, 1162, 1101, 1028, 753; EI-MS (relative intensity) 331 (M⁺, 2), 295 (M⁺-HCl, 35); Accurate mass for C₁₈H₁₈NO₃³⁵Cl: calcd. 331.0975, obsd. 331.0970.

30

40

【 0 1 2 5 】

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド (250 mg, 0.856 mmol)、10% Pd / C (75 mg) を冷 (- 20) THF (30 mL) 中に懸濁した。このフラスコを真空にし、そして H₂ を用いて 3 回パージし、そして大氣

50

圧にて室温において24時間攪拌させた。この溶液をCelite上で濾過し、そして濃縮した。生じる緑色油性残渣をCH₂Cl₂(5mL)を用いて2回コエバポレートし、淡緑色の薄片状固体を生産した。フレーム乾燥させたフラスコへ、4-メトキシケイ皮酸(168mg, 0.942mmol)、およびEDCI(492mg, 2.57mmol)を添加した。このフラスコをセプタムで密封し、N₂を用いてフラッシュした。セプタムを介して、乾燥DMF(10mL)を添加した。この溶液を数分間攪拌させた。乾燥DMF(3mL)中に溶解したアミンを、この反応混合物へ添加した。透明淡黄色懸濁液を室温にてN₂下において3日間攪拌させた。この溶液をEtOAc(100mL)で希釈し、ブフナー漏斗を介して濾過した。この濾液を分液漏斗へ加え、そして水(100mL)を用いて4回洗浄した。次いでこの有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そしてrotovapにて濃縮し、淡黄色固体を得た。この固体を0.5%MeOH/CHCl₃中に懸濁し、そしてHirsch漏斗を介して濾過し、淡黄褐色固体(50.9mg)を生産した。次いでこの濾液を0.5%MeOH/CHCl₃シリカゲルカラムで精製した。このグラディエント溶媒系は、0.5%MeOH/CHCl₃から始めて使用された。MeOHのパーセンテージは、50mLの後1%まで増大され、次いでさらなる50mLごとに1%ずつ増大され、4-(2-クロロエチル)-3-(4-メトキシシンナモイルアミド)フェノールを淡黄褐色/黄色固体として生成した(23.3mg; 総収量74.2mg, 0.22mmol, 26%)。

〔 0 1 2 6 〕

【数28】

$M_p = 210 - 213^\circ\text{C}$;

TLC (10% MeOH/CHCl₃) R_f 0.60; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 8.60 (s br, 1H), 8.08 (s br, 1H), 7.58 (d, 16.0, 1H), 7.48 (m, 2H), 6.97 (d, 8.0, 1H), 6.84 (m, 2H), 6.62 (d br, 7.0, 1H), 6.49 (d br, 16.0, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.62 (t, 7.5, 2H), 2.95 (t, 7.5, 2H); IR (nujol) 3295, 3183, 3063, 1644, 1588, 1545, 1511, 1282, 1265, 1226, 1175, 1020, 968, 856, 826; EI-MS (relative intensity) 331 (M⁺, 3), 295 (M⁺, 29).

[0 1 2 7]

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド (250 mg, 0.856 mmol)、10% Pd/C (75 mg) を冷 (-20) THF (30 mL) 中に懸濁した。このフラスコを真空にし、そして H₂ を用いて 3 回バージし、そして大気圧にて室温において 24 時間攪拌させた。この溶液を *Celite* 上で濾過し、そして濃縮した。生じた緑色油性残渣を、CH₂Cl₂ (5 mL) を用いて 2 回コエバポレートし、淡緑色の薄片状固体を生産した。フレーム乾燥したフラスコへ、3 - メトキシケイ皮酸 (3 - methoxycinnamic acid) (168 mg, 0.942 mmol, 25%)、および EDCI (492 mg, 2.57 mmol) を添加した。このフラスコをセプタムで密封し、N₂ を用いてフラッシュした。セプタムを介して、乾燥 DMF (10 mL) を添加した。この溶液を数分間攪拌させた。乾燥 DMF (3 mL) 中に溶解したアミンを、この反応混合物へ添加した。透明淡黄色懸濁液を室温にて N₂ 下において 3 日間攪拌させた。この溶液を EtOAc (100 mL) で希釈し、ブフナー漏斗を介して濾過した。この濾液を分液漏斗へ加え、そして水 (100 mL) を用いて 4 回洗浄した。次いでこの有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そして濃縮し、冷却すると凝固する淡褐色油性残渣を得た。この生成物を 0.5% MeOH / CHCl₃ に懸濁し、そして Hirsch 漏斗を介して濾過し、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - メトキシシンナモイルアミド) フェノールを黄色固体 (54.7 mg) として生産した。次いでこの濾過物を 0.5% MeOH / CHCl₃ 中に溶解し、そして 0.5% MeOH / CHCl₃ シリカゲルカラムで精製した。MeOH のパーセンテージは、50 mL の後 1% まで増大され、次いでさらなる 50 mL ごとに 1% 増加で増大され、4 - (2 - クロ

口エチル) - 3 - (3 - メトキシンナモイルアミド) フェノールを淡黄色固体として生成した(45.9mg; 総収量100.6mg, 0.303mmol, 35%).

【0128】

【数29】

MP = 220 °C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) Rf = 0.64; ; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 7.73 (d, 16.0, 1H), 7.48 (s br, 1H), 7.32 (t, 8.0, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.22 (d, 8.0, 1H), 7.10 (d, 8.5, 1H), 7.08 (d, 2.0, 1H), 6.94 (dd, 2.0, 8.0, 1H), 6.70 (d, 7.0, 1H), 6.53 (d, 16.0, 1H), 4.90 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.77 (t, 6.5, 2H), 3.05 (t, 6.5, 2H); IR (nujol) 3356, 3252, 2727, 1709, 1640, 1597, 1541, 1295, 1244, 1200, 1162, 1045, 959, 856, 718; EI-MS (relative intensity) 331 (M⁺, 5), 295 (M⁺-HCl, 32).

10

【0129】

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド(250mg, 0.856mmol)、10% Pd / C (75mg) を冷(-20) THF (30mL) 中に懸濁した。このフラスコを真空にし、そしてH₂を用いて3回バージし、そして大気圧にて室温において24時間攪拌させた。この溶液をCelestite上で濾過し、そして濃縮した。生じる緑色油性残渣を、CH₂Cl₂ (5mL) を用いて2回コエバポレートし、淡緑色薄片状固体を生産した。フレーム乾燥したフラスコへ、3 - (2, 6 - ジメトキシ - 5 - ピリジル) アクリル酸(245mg, 1.09mmol)、およびEDCI (570mg, 2.97mmol) を添加した。このフラスコをセプタムで密封し、N₂を用いてフラッシュした。セプタムを介して、乾燥DMF (15mL) を添加した。この溶液を数分間攪拌させた。乾燥DMF (3mL) 中に溶解したアミンを、この反応混合物へ添加した。透明淡黄色懸濁液を室温にてN₂下において3日間攪拌させた。この溶液をEtOAc (100mL) で希釈し、そしてブフナー漏斗を介して濾過した。この濾液を分液漏斗へ加え、そして水(100mL) を用いて4回洗浄した。次いでこの有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、重力濾過し、そしてrotovapにて濃縮し、オイル(これは、0.5% MeOH / CHCl₃シリカゲルカラムで精製される)を生産した。このグラディエント溶媒系は、0.5% MeOH / CHCl₃から始めて使用された。MeOHのパーセンテージは、50mLの後1%まで増大され、次いでさらなる50mLごとに1%ずつ増大され、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (2, 6 - ジメトキシ - 5 - ピリジル) - E - エテン - 1 - イルカルボキサミド) フェノールを淡黄色固体(39.7mg, 0.10mmol, 12%)として生成した。

20

【0130】

【数30】

MP = 153 - 155°C; TLC (10% MeOH/CHCl₃) Rf 0.55; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 7.80 (d, 15.5, 1H), 7.69 (d, 8.0, 1H), 7.53 (s br, 1H), 7.44 (s br, 1H), 7.08 (d, 8.5, 1H), 6.68 (dd, 1.0, 8.0, 1H), 6.61 (d, 15.5, 1H), 6.36 (d, 8.0, 1H), 5.91 (s br, 1H), 4.05 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.75 (t, 7.5, 2H), 3.04 (t, 7.5, 2H); IR (nujol) 3273, 3180, 1652, 1594, 1483, 1386, 1319, 1261, 1213, 1097, 1018, 800.

30

【0131】

実施例7

ヘアピン化合物 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミドおよびアナログの合成

40

50

アキラル 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロフェニル) エチルクロライド化合物 (0 . 5 0 0 g , 1 . 7 1 m m o l) をフリーザー - 冷却した T H F (3 0 m L) 中に溶解し、そして P t O₂ (0 . 1 5 0 g) を添加した。この反応液を真空下において脱気しながら攪拌し、続いて水素ガスに暴露した。この脱気 / 水素暴露サイクルを 3 回繰り返し、その時点での反応液を、 5 0 p s i の水素下において、室温にて 1 時間攪拌させた。このアミン溶液を C e l i t e 上で濾過し、そして減圧下において濃縮した。次いで、乾燥 C H₂C l₂ (5 m L) を用いて 3 回コエバボレートした (coevaporated)。黄褐色オイルが生じ、そして高真空下に置かれ、 3 0 分間ホイルで覆われた。次いで、 5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボン酸 (0 . 3 9 4 g , 1 . 9 0 m m o l) および P y B O P (0 . 9 9 9 g , 1 . 9 2 m m o l) を乾燥 C H₂C l₂ (2 2 0 m L) 中に懸濁した。次いでこのアミンを乾燥 C H₂C l₂ (3 0 m L) 中に溶解し、そしてセプタムを通るシリングを介してこの懸濁液へ添加した。この反応液を 1 0 分間攪拌させ、その時点で乾燥 N , N - ディソプロピルエチルアミン (0 . 7 5 m L , 4 . 2 9 m m o l) をこの懸濁液へ添加した。この溶液は透明黄色へ変化した。これをホイルで覆い、そしてこの溶液を窒素下において室温にて 2 日間攪拌した。この溶液を真空濾過し、そしてその濾液を水 (1 × 7 5 m L) 、 1 0 % H C l (1 × 7 5 m L) 、飽和重炭酸ナトリウム (1 × 7 5 m L) およびブライン (1 × 7 5 m L) で洗浄した。その有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、真空濾過し、そして減圧下において濃縮し、黄色固体を生成した。その残渣を、 5 - 2 0 % E t O A c / ヘキサン溶媒系を用いるシリカゲルカラムで精製し、所望の生成物 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) フェニル) エチルクロライドを黄色固体 (0 . 1 7 3 g , 2 2 % 収率) として得た。

【 0 1 3 2 】

【 数 3 1 】

$$R_f = 0.22$$

(20% EtOAc/hexane) M.p. 109-113°C. IR (neat) 3370, 3088, 3032, 2945, 2858, 1690, 1531, 1337, 1270, 1168, 1101, 1025, 753, 610 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 8.67 (d, 2.0, 1H), 8.64 (s br, 1H), 8.39 (dd, 2.0, 9.0, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.70 (d, 9.0, 1H), 7.65 (d, 2.5, 1H), 7.45 (d, 8.0, 2H), 7.40 (t, 8.0, 2H), 7.36 (t, 8.0, 1H), 7.19 (d, 8.5, 1H), 6.89 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.83 (t, 6.5, 2H), 3.14 (t, 6.5, 2H). FAB-MS (NBA) 451 (M+H⁺, 11). Accurate mass for C₂₄H₁₉N₂O₅Cl + H: calcd. 451.1060; obs. 451.1050.

【 0 1 3 3 】

アキラル 2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) フェニル) エチルクロライド (0 . 0 9 9 g , 0 . 2 2 0 m m o l) の P t O₂ (0 . 0 3 0 g) との混合物をフリーザー冷却した T H F (2 5 m L) 中に懸濁し、さらにこの懸濁液を 5 0 p s i において室温にて 4 5 分間水素化 (振とうさせながら) した。この懸濁液を C e l i t e 上において濾過し、そしてその濾液を減圧において濃縮した。このアミン中間体は不安定であるので、直接使用された。

【 0 1 3 4 】

上記のアミンへ N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] グルタルアミドモノカルボン酸 (0 . 1 3 2 g , 0 . 2 5 6 m m o l) 、 E D C I (0 . 0 8 4 g , 0 . 4 3 9 m m o l) および 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物 [H O B T] (0 . 0 3 0 g , 0 . 2 2 0 m m o l) を添加し、次にこれを D M F (7 . 5 m L) 中に溶解した。超音波処理によって溶解を助け、そしてフラスコをホイルで覆い、この懸濁液を窒素下において室温にて 3 日間攪拌した。そこで、 k u g e l r o h r 装置 (0 . 1 m m H g , 6 0) を介して、 D M F を取り除いた。その残渣を、 C H C l₃ から 7 % M e O H /

10

20

30

40

50

C H C 1₃溶媒系を用いるシリカゲルで精製し、所望の生成物 N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (3 - ベンジルオキシ - 2 - (2 - クロロエチル) フェニル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミドを黄褐色固体 (0 . 1 0 8 g 、 5 2 % 収率) として得た。

【 0 1 3 5 】

【 数 3 2 】

Rf = 0.08 (5% MeOH/CHCl₃). M.p. 80-84°C. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) 10.21 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 5.09 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.78 (s, 3H). FAB-MS (NBA) 949 (M+H⁺, 1). FAB-MS (NBA+K⁺) 987 (M+K⁺, 1). Accurate mass calculated for C₅₀H₅₇N₈O₉Cl +Na: calcd. 971.3835, obs. 971.3821.

【 0 1 3 6 】

N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (3 - ベンジルオキシ - 2 - (2 - クロロエチル) フェニル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミド (0 . 1 0 8 g , 0 . 1 1 4 mmol) をフリーザー冷却した THF (2 0 mL) 中に溶解した。この溶液へ (t w o t h i s s o l u t i o n) 1 0 % Pd / C (0 . 0 7 0 g) を添加した。この反応液を真空下において脱気しながら攪拌し、その後水素ガスへ暴露した。脱気 / 水素暴露サイクルを 3 回繰り返し、その時点でこの反応液を水素雰囲気下において室温にて 1 日間攪拌し続けた。この時点では、 TLC 分析がこの還元が完了していないことを示し、それゆえ上記の脱気手順を繰り返し、そして再びこの反応液を窒素雰囲気下においてさらに 1 日間攪拌した。この時点で TLC は、この反応が完了したことを示した。この反応液を C e l i t e 上で濾過した。THF を用いて C e l i t e を洗浄し、そしてこの溶媒を真空下において取り除いた。結果はオフホワイト色油性フィルム (f i l m) N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミド (0 . 0 8 0 g , 8 2 % 収率) であった。

【 0 1 3 7 】

【 数 3 3 】

Rf = 0.31 (10% MeOH/CHCl₃).
IR (neat) 3630, 3308, 3058, 2965, 2910, 1634, 1516, 1424. ¹H-NMR (500 MHz, MDSO-d6) 10.10 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.19 (d, 1.5, 1H), 7.96 (t, 6.0, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.62 (d, 9.0, 1H), 7.54 (dd, 2.0, 9.0, 1H), 7.15 (m, 2H), 6.85 (d, 2.0, 1H), 6.82 (d, 1.5, 1H), 6.77 (t br, 6.0, 1H), 6.76 (d, 2.0, 1H), 6.67 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 6.62 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.73 (t, 6.5, 2H), 3.13 (q, 6.5, 2H), 2.93 (t, 6.5, 2H), 2.90 (t, 6.5, 2H), 2.39 (t, 6.5, 2H), 2.32 (t, 6.5, 2H), 1.91 (quintet, 6.5, 2H), 1.71 (m, 2H), 1.43 (m, 2H), 1.45 (s, 9H). FAB-MS (NBA) 859 (M+H⁺, 1).

【 0 1 3 8 】

N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミド (0 . 0 8 0 g , 0 . 0 9 3 mmol) を、超音波処理しながら乾燥エチルアセテー

10

20

30

40

50

ト(モレキュラーシーブ3上)(20mL)中に溶解した。窒素雰囲気下および室温において、無水3M塩酸/エチルアセテート(10mL)を透明淡黄色(pale yellow)溶液へ添加すると、これは直ぐに濁った。この反応液を3-4時間攪拌させた後、攪拌を停止し、そしてその沈殿物を冷凍庫の中で1時間置いた(sit)。バスツールピペットを用いて、HCl/EtOAcのいくらかを吸い出した。沈殿物の残留溶液を、予め重量測定した試験管中で遠心分離した。次いで、試験管中の回収された固体を乾燥エチルアセテート(6mL)で再び洗浄した。このエチルアセテートを可能な限り吸い出した。これを3回繰り返し、次いでこの試験管を1枚の紙およびゴムバンドで覆った。次に、この覆われた試験管及び内容物を真空オーブン中で一晩中乾燥し(0.1mmHg, 40)、オフホワイト色の帯黄色固体N-[N-(4-アミノブチル)-N-メチルピロール-4-(N-メチルピロール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド]-N-[5-(4-(2-クロロエチル)フェノール-3-イル)ベンゾフラン-2-カルボキサミド]グルタロジアミドハイドロクロライド(0.038g, 52%収率)を得た。

【0139】

【数34】

M.p. 220-224°C IR (Nujol) 3288, 3114, 1654, 1572, 1193, 1143, 1091, 810, 707. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) 10.04 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.17 (d, 1.5, 1H), 8.02 (t, 6.0, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.62 (d, 9.0, 1H), 7.52 (dd, 2.0, 9.0, 1H), 7.53-7.67 (m, 3H, -NH₃⁺), 7.14 (m, 3H), 7.06 (d, 8.5, 1H), 6.85 (d, 1.5, 1H), 6.83 (d, 1.5, 1H), 6.68 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.73 (t, 7.0, 2H), 3.18 (q, 6.5, 2H), 3.08 (t, 7.0, 2H), 2.93 (t, 6.5, 2H), 2.79 (t, 6.5, 2H), 2.39 (t, 6.5, 2H), 2.31 (t, 6.5, 2H), 1.91 (quintet, 6.5, 2H), 1.52 (m, 4H). FAB-MS (NBA) 759 (M⁺, 1). Accurate mass for C₃₉H₄₄N₈O₇Cl₂: calcd. 759.3021, obs. 759.2997.

【0140】

2-(4-ベンジルオキシ-2-(5-ニトロベンゾフラン-2-カルボキサミド)フェニル)エチルクロライド(0.219g, 0.486mmol)のPtO₂(0.060g)との混合物をフリーザー冷却したTHF(25mL)中に懸濁し、そしてその懸濁液を50psiにて室温において1時間水素化(振とうさせながら)した。この懸濁液をCellite上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。このアミンを2つのフラスコへ均等に分けた。このアミン中間体は不安定であるので、直接使用された。

【0141】

2-(4-ベンジルオキシ-2-(5-アミノベンゾフラン-2-カルボキサミド)フェニル)エチルクロライド(0.243mmol)へN-[N-(N-BOC-(4-アミノブチル)-N-メチルイミダゾール-4-(N-メチルピロール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド]グルタルアミドモノカルボン酸(0.133g, 0.258mmol), EDCI(0.093g, 0.486mmol)および1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物[HOBT](0.033g, 0.244mmol)を添加し、次いでこれをDMF(15mL)中に溶解した。溶解を超音波処理によって助け、そしてフラスコをホイルで覆い、その懸濁液を窒素下において室温にて2日間攪拌した。その時点で、kugelrohr装置(0.1mmHg, 60°)を介して、DMFを取り除いた。生じるオイルをCHCl₃中に溶解し、水(1×75mL)に続いてブライン(1×75mL)で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。次いでこれを濾過し、そして減圧下において濃縮し、生成物N-[N-(N-BOC-(4-アミノブチル)-N-メチルイミダゾール-4-(N-メチルピロール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド)]-N-[5-(3-ベンジルオキシ-2-(2-クロロエチル)フェニル)ベンゾフラン-2-カ

10

20

30

40

50

ルボキサミド]] グルタロジアミドを褐色オイル (0.125 g, 51% 収率) として生成した。

【0142】

【数35】

$$R_f = 0.40 \text{ (10%)}$$

MeOH/CHCl₃) IR (Nujol) 3309, 3190, 1685, 1644, 1536, 1260, 1168, 1096, 1014, 809, 723. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) 10.24 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 10.04 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 8.19 (d, 1.5, 1H), 7.90 (t, 6.5, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.62 (d, 8.5, 1H), 7.55 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.44 (d, 8.0, 2H), 7.39 (t, 8.0, 2H), 7.33 (t, 8.0, 1H), 7.30 (d, 8.5, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.02 (d, 1.5, 1H), 6.94 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 6.90 (d, 1.5, 1H), 6.79 (t br, 1H), 5.09 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.76 (t, 6.5, 2H), 3.21 (q, 6.5, 2H), 2.98 (t, 6.5, 2H), 2.90 (t, 6.5, 2H), 2.38 (t, 6.5, 2H), 2.32 (t, 6.5, 2H), 1.91 (quintet, 6.5, 2H), 1.45 (quintet, 6.5, 2H), 1.35 (s, 9H).

【0143】

N - [(N - BOC - (4 - アミノブチル) - N - メチルイミダゾール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (3 - ベンジルオキシ - 2 - (2 - クロロエチル) フェニル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミド (0.125 g, 0.132 mmol) をフリーザー冷却した THF (20 mL) 中に溶解した。この溶液へ (two this solution) 10% Pd / C (0.100 g) を添加した。この反応液を真空下において脱気しながら攪拌し、その後水素ガスへ暴露した。脱気 / 水素暴露サイクルを3回繰り返し、その時点での反応液を水素雰囲気下において室温にて1日間攪拌し続けた。この時点で、TLC分析はこの反応が完了したことを示した。この反応液を Celite 上で濾過した。THFを用いて Celite を洗浄し、そしてこの溶媒を真空下において取り除いた。この結果生じたオイルを、10% MeOH / CHCl₃ の溶媒系を用いる調製用 TLC によって精製した。上部のバンドを取り除き、所望の生成物 N - [(N - BOC - (4 - アミノブチル) - N - メチルイミダゾール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミドを無色油性フィルム (0.050 g, 44% 収率) として生成した。

【0144】

【数36】

$$R_f = 0.30$$

(10% MeOH/CHCl₃). IR (neat) 3283, 3114, 2919, 2852, 1654, 1526, 1465, 1245, 1107, 799, 743, 610. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) 9.83 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.92 (t, 6.5, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.63 (d, 8.0, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.54 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.22 (d, 8.5, 1H), 7.00 (d, 8.5, 1H), 6.89 (d, 1.5, 1H), 6.79 (t br, 1H), 6.76 (d, 1.5, 1H), 6.67 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.73 (t, 6.5, 2H), 3.22 (q, 6.5, 2H), 3.08 (t, 6.5, 2H), 2.93 (t, 6.5, 2H), 2.91 (t, 6.5, 2H), 2.38 (t, 6.5, 2H), 2.32 (t, 6.5, 2H), 1.91 (quintet, 6.5, 2H), 1.45 (quintet, 6.5, 2H), 1.35 (s, 9H). FAB-MS (NBA) 860 (M+H⁺, 1).

【0145】

10

20

30

40

50

N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルイミダゾール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミド (0 . 0 5 0 g , 0 . 0 5 8 mmol) を、超音波処理しながら乾燥エチルアセテート (2 0 mL) 中に溶解した。窒素雰囲気下において無水 3 M 塩酸 / エチルアセテート (1 5 mL) を透明淡黄色溶液へ添加すると、これは直ぐに濁った。この反応液を 2 . 5 時間攪拌させた後、攪拌を停止し、そしてその沈殿物を 1 時間沈降 (settle) させた。ピペットを介して、 H C l / E t O A c (1 0 mL) のいくらかを吸い出した。乾燥 E t O A c (1 0 mL) を用いてこの固体を 2 回洗浄し、各回ピペットを用いて E t O A c を取り除いた。残りの溶媒を窒素の穏やかな流れによって取り除いた。この固体を、
10 高真空下 (0 . 1 mmHg) において室温にてさらに乾燥した。その結果、白色固体 N - [(N - (4 - アミノブチル) - N - メチルイミダゾール - 4 - (N - メチルピロール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (4 - (2 - クロロエチル) フェノール - 3 - イル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]] グルタロジアミドハイドロクロライド生成物 (0 . 0 3 6 g , 8 1 % 収率) を生じた。

【 0 1 4 6 】

【 数 3 7 】

M.p. 190-210°C. IR (Nujol) 3247, 3149, 1659, 1542, 1306, 1255, 1199, 1096, 809, 727, 610. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) 10.18 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 9.84 (s, 1H), 9.49 (s br, 1H), 8.19 (d, 1.5, 1H), 8.01 (t, 6.5, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.67 (s br, 3H, - NH₃⁺), 7.62 (d, 8.5, 1H), 7.55 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.25 (d, 1.5, 1H), 7.15 (d, 8.5, 1H), 6.92 (d, 1.5, 1H), 6.77 (d, 2.5, 1H), 6.66 (dd, 2.5, 8.5, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.73 (t, 6.5, 2H), 3.25 (q, 6.5, 2H), 2.93 (t, 6.5, 2H), 2.80 (m, 2H), 2.40 (t, 6.5, 2H), 2.33 (t, 6.5, 2H), 1.91 (quintet, 6.5, 2H), 1.52 (m, 4H). FAB-MS (NBA) 760 (M⁺, 1).

Accurate mass for C₃₇H₄₃N₉O₇Cl₂: calcd. 760.2974, obs. 760.2971.

【 0 1 4 7 】

2 - (4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 - アミノベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) フェニル) エチルクロライド (0 . 2 4 3 mmol) へ N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルイミダゾール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] グルタルアミドモノカルボン酸 (0 . 1 3 3 g , 0 . 2 5 8 mmol) , E D C I (0 . 0 9 3 g , 0 . 4 8 6 mmol) および 1 - ヒドロキシベンゾトリニアゾール水和物 [H O B T] (0 . 0 3 3 g , 0 . 2 4 4 mmol) を添加し、次いでこれを D M F (1 5 mL) 中に溶解した。超音波処理によって溶解を助け、そしてフラスコをホイルで覆い、その懸濁液を窒素下において室温にて 2 日間攪拌した。その時点で、 k u g e l r o h r 装置 (0 . 1 mmHg , 6 0) を介して、 D M F を取り除いた。生じたオイルを C H C l ₃ 中に溶解し、水 (1 × 7 5 mL) に続いてブライン (1 × 7 5 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。次いでこれを濾過し、そして減圧下において濃縮し、生成物 N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルイミダゾール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (3 - ベンジルオキシ - 2 - (2 - クロロエチル) フェニル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド] グルタロジアミドを褐色オイル (0 . 1 6 6 g , 6 8 % 収率) として生成した。 R f = 0 . 4 0 (1 0 % M e O H / C H C l ₃).
40

【 0 1 4 8 】

N - [(N - B O C - (4 - アミノブチル) - N - メチルピロール - 4 - (N - メチルイミダゾール - 2 - カルボキサミド) - 2 - カルボキサミド)] - N - [5 - (3 - ベンジルオキシ - 2 - (2 - クロロエチル) フェニル) ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド]]

10

20

30

40

50

グルタロジアミド (0.166 g, 0.175 mmol) をフリーザー冷却した THF (20 mL) 中に溶解した。この溶液へ (two this solution) 10% Pd/C (0.100 g) を添加した。この反応液を真空下において脱気しながら攪拌し、その後水素ガスへ暴露した。脱気 / 水素暴露サイクルを 3 回繰り返し、その時点でこの反応液を水素雰囲気下において室温にて 1 日間攪拌し続けた。この時点で、TLC はこの反応が完了したことを示した。この反応液を Celite 上で濾過した。THF を用いて Celite を洗浄し、そしてこの溶媒を真空下において取り除いた。生じたオイルを、10% MeOH / CHCl₃ の溶媒系を用いる調製用 TLC によって精製した。上部のバンドを取り除き、所望の生成物 N-[(N-BOC-(4-アミノブチル)-N-メチルピロール-4-(N-メチルイミダゾール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド] - N-[5-(4-(2-クロロエチル)フェノール-3-イル)ベンゾフラン-2-カルボキサミド]] グルタロジアミドを黄褐色残渣 (0.076 g, 50% 収率) として生成した。R_f = 0.28 (10% MeOH / CHCl₃)。

【0149】

N-[(N-BOC-(4-アミノブチル)-N-メチルピロール-4-(N-メチルイミダゾール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド] - N-[5-(4-(2-クロロエチル)フェノール-3-イル)ベンゾフラン-2-カルボキサミド]] グルタロジアミド (0.076 g, 0.088 mol) を、超音波処理しながら乾燥エチルアセテート (20 mL) 中に溶解した。窒素雰囲気下において無水 3 M 塩酸 / エチルアセテート (15 mL) を透明淡黄色溶液へ添加すると、これは直ぐに濁った。この反応液を 2.5 時間攪拌させた後、攪拌を停止し、そしてその沈殿物を沈降させた。ピペットを介して、HCl / EtOAc (10 mL) のいくらかを吸い出した。乾燥 EtOAc (10 mL) を用いてこの固体を 2 回洗浄し、各回ピペットを用いて EtOAc を取り除いた。残った溶媒を窒素の流れで取り除いた。この固体を高真空下において (0.1 mmHg) 室温にてさらに乾燥した。その結果、白色固体 N-[(N-(4-アミノブチル)-N-メチルピロール-4-(N-メチルイミダゾール-2-カルボキサミド)-2-カルボキサミド] - N-[5-(4-(2-クロロエチル)フェノール-3-イル)ベンゾフラン-2-カルボキサミド]] グルタロジアミドハイドロクロライド (0.062 g, 91% 収率) を生成した。

【0150】

【数38】

M.p. 172-182°C (dec.) IR (Nujol) 3370, 3175, 1700, 1654, 1527, 1296, 1224, 1153, 968, 712, 600. ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) 10.23 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 9.88 (s, 1H), 9.48 (s br, 1H), 8.19 (d, 1.5, 1H), 8.03 (t, 6.5, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.68 (s br, 3H, -NH₃⁺), 7.64 (d, 8.0, 1H), 7.56 (dd, 2.0, 8.0, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.14 (d, 8.5, 1H), 6.88 (d, 1.5, 1H), 6.74 (d, 2.5, 1H), 6.68 (d, 2.5, 8.0, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.73 (t, 6.5, 2H), 3.18 (m, 2H), 2.94 (t, 6.5, 2H), 2.80 (q br, 5.5, 2H), 2.39 (t, 6.5, 2H), 2.38 (t, 6.5, 2H), 1.91 (quintet, 6.5, 2H), 1.51 (m, 4H). FAB-MS (NBA) 760 (M⁺, 1).

Accurate mass for C₃₇H₄₃N₉O₇Cl₂: calcd. 760.2974, obs. 760.2980.

【0151】

実施例 8

ジメチル 4-(2-クロロエチル)-7-ヒドロキシ-5-(5,6,7-トリメトキシインドール-2-カルボキサミド)インドール-2,3-ジカルボキシレートおよびそのアナログの合成

2-アミノ-4-クロロ-5-ニトロフェノール (20.03 g, 0.133 mol)、無水炭酸カリウム (20.0 g, 0.145 mol) およびテトラブチルアンモニウムヨ

10

20

30

40

50

ージド (0.025 g, 0.068 mmol) を乾燥 500 mL へ添加し、そしてセプタムで覆った。新たに蒸留した乾燥 DMF (90 mL) を添加し、次いで臭化ベンジル (13.8 mL, 0.116 mol)、そしてこの反応を一晩中室温にて N₂ 下において攪拌した。次いでこの溶液を、Kugelrohr 装置 (50, 0.25 mmHg) で DMF を取り除くことによって濃縮した。この油性残渣を CHCl₃ 中に溶解し、過剰な炭酸カリウムを取り除くために吸引濾過し、そして水を用いて洗浄した。濾液を、黄色固体が残るまで rotovap で濃縮した。その粗生成物を先ず、クロロホルムシリカゲルカラムを用いて精製した。生成物 (2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロアニリン) を最初のわずかな画分から回収した。次いでその生成物を、20% エチルアセテート / ヘキサン溶出液を用いるシリカゲルカラムで精製した。その生成物を回収し、rotovap で濃縮し、そして高真空中において乾燥し、2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロアニリンを黄色固体 (13.44 g, 48.34 mmol, 56%) として得た。
10

【0152】

【数39】

Mp 98-103°C.

TLC (20% ethyl acetate/hexane) R_f = 0.38; 500 MHz ¹H-NMR (CDCl₃) 7.68 (s, 1H), 7.42 (m, 5H), 6.72 (s, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.52 (s br, 2H); IR (nujol) 3469, 3378, 3355, 1613, 1567, 1522, 1483, 1464, 1377, 1217, 1126; EI-MS m/z (relative intensity) 278 (M⁺, 11).
20
Accurate mass for C₁₃H₁₁N₂O₃Cl: calcd. 278.0458, obsd. 278.0468.

20

【0153】

2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロアニリン (31.63 g, 0.0828 mmol) を乾燥 250 mL 丸底中の 300 mL の乾燥メチレンクロライド中に溶解し、そしてセプタムで密封した。次いでトリエチルアミン (13.2 mL, 0.0947 mol, 1.1 当量) を添加した。次にベンゾイルクロライド (31.1 mL, 0.268 mol, 3 当量)、自動平衡化滴下漏斗 (self-equilizing dropping funnel) 中の乾燥メチレンクロライド (100 mL) へ添加し、次いで乾燥管で覆った。そのベンゾイルクロライド溶液を丸底へ滴下した。この反応混合物を、ベンゾイルクロライド溶液の添加後 15 分間攪拌させた。次いでこの溶液を一晩中乾燥管の下において還流した。この溶液をクロロホルム (100 mL) で希釈し、そして 5% 重炭酸ナトリウム (100 mL) および水 (100 mL) を用いて洗浄した。無水硫酸ナトリウムを用いて有機層を乾燥し、重力濾過し、そして rotovap で濃縮した。エチルエーテル (150 mL) をこの固体へ添加し、懸濁液 (これは、次いで吸引濾過される) を形成し、N-(2-ベンジルオキシ-5-クロロ-4-ニトロフェニル)ベンズアミドを桃色固体 (31.63 g, 0.0828 mol, 85%) として生成した。
30

【0154】

【数40】

Mp 158-160°C; TLC (chloroform) R_f = 0.62; 500 MHz ¹H-NMR (CDCl₃) 8.89 (s, 1H), 8.74 (s br, 1H), 7.80 (d, 8.0, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.58 (t, 8.0, 1H), 7.48 (t, 8.0, 2H), 7.44 (m, 5H), 5.25 (s, 2H); IR (nujol) 3416, 3378, 1670, 1586, 1529, 1517, 1499, 1335, 1259, 1194. EI-MS m/z (relative intensity) 382 (M⁺, 7). Accurate mass for C₂₀H₁₅N₂O₄Cl: calcd. 382.0720, obsd. 382.0712.
40

40

【0155】

全てのガラス器具をオープンの中で終夜乾燥したか、またはフレーム乾燥した。ミネラルオイル中の 60% 分散物の NaH (0.632 g, 15.6 mmol) および乾燥ヘキサ
50

ン (5 mL) を、 N₂ 下において 250 mL 丸底へ添加した。この懸濁液を 10 分間攪拌し、そして沈降させた。シリングを用いて、ヘキサンをこのフラスコから注意深く取り除いた。乾燥および新たに蒸留された DMSO (20 mL) を NaH へ添加した。この混合物を攪拌し、そして氷浴中に置いた。乾燥および新たに蒸留されたジメチルマロネート (1.92 mL, 16.4 mmol) を、シリングを介してゆっくり添加した。ジメチルマロネートを添加する間、 H₂ が生成され、小さな針をセプタムに挿入することによって過剰な圧力を放出した。次いでこの溶液を室温まで加温した。乾燥 N - (2 - ベンジルオキシ - 5 - クロロ - 4 - ニトロフェニル) ベンズアミド (2.00 g, 5.24 mmol) を、セプタムで覆われた 100 mL 丸底フラスコ中に置き、そして N₂ でフラッシュした。
乾燥 DMSO (20 mL) を N₂ 下においてこの桃色固体へ添加した。この固体を、 10
0.0 に設定された油浴中において数分間攪拌することによって、 DMSO 中に溶解した。次いでこの橙色溶液を、シリングを介して、ジメチルマロネートアニオン溶液へ移した。針を用いて、反応フラスコ中の過剰な N₂ および H₂ ガスを排気した。暗橙色溶液を油浴 (100) 中に置き、そして一晩中攪拌した。Kugelrohr 装置で DMSO を取り除いた。次いで、残った褐色スラッジをクロロホルム (200 mL) 中に溶解し、そして水 (3 × 75 mL) を用いて洗浄した。このエマルジョンを、エタノール (15 mL) の添加によって破壊した (break up) 。次に有機層をブライン (3 × 75 mL) で洗浄した。硫酸ナトリウムを用いてこの有機層を乾燥し、重力濾過し、そして rotovap にて濃縮した。その内容物をクロロホルム中に溶解し、そして 5 % クロロホルム / 15 % エチルアセテート / 80 % ヘキサンシリカゲルカラムで精製した。回収された生成物を出発物質と混合し、そしてそれゆえに 100 % クロロホルム中のシリカゲルカラムで再び精製し、ジメチル 2 - (5 - ベンズアミド - 4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロ) フェニルマロネートを、冷凍庫中で置くと凝固する黄色オイル (0.88 g, 1.90 mmol, 36 %) として生成した。

【 0156 】

【 数 41 】

Mp = 140-

143°C; TLC (20% ethyl acetate/hexane) R_f = 0.34. 500 MHz ¹H-NMR (CDCl₃) 8.80
(s, 1H), 8.75 (s br, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.79 (d, 7.5, 2H), 7.57 (t, 7.5, 1H), 7.47 (t, 7.5,
2H), 7.45 (m, 5H), 5.37 (s, 1H), 5.27 (s, 2H), 3.84 (s, 6H); IR (neat) 3424, 3036, 2952,
2922, 2845, 1753, 1689, 1586, 1540, 1510, 1480, 1453, 1434, 1415, 1335, 1259, 1198, 1156,
1099, 1072, 1057, 1027. EI-MS m/z (relative intensity) 478 (M⁺, 15). Accurate mass
for C₂₅H₂₂N₂O₈: calcd. 478.1376, obsd. 478.1374.

【 0157 】

250 mL 丸底フラスコ中で、ジメチル 2 - (5 - ベンズアミド - 4 - ベンジルオキシ - 3 - ニトロ) フェニルマロネート (1.59 g, 3.41 mmol) をメタノール (40 mL) 中に溶解し、そして 10 % NaOH (24 mL) をゆっくり添加し、暗褐色溶液を生成した。この溶液を 3 時間還流し、黄色溶液を生成した。このメタノールを回転蒸気化機 (rotovaporator) で取り除き、黄色懸濁液を得た。 THF (50 mL) を添加し、透明黄色溶液を生成し、これは、氷浴上に置かれ、5 分間攪拌された。 pH ~ 1 に達するまで、6 M HCl (13 mL) をゆっくり添加した。この反応液は鮮明な黄色へ変化し、そして 1 時間還流された。この丸底を室温まで冷却し、そしてその溶液をクロロホルム (75 mL) で希釈した。この混合液を分液漏斗へ加え、そしてその有機層を回収した。次いで水層を、クロロホルム (3 × 50 mL) を用いて抽出した。有機層を混合し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして rotovap で濃縮し、2 - (5 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロ) フェニル酢酸を黄色固体 (1.25 g, 50

, 4 . 1 4 m m o l e s , 9 3 %) として生成した。

【 0 1 5 8 】

【 数 4 2 】

Mp = 191-194 °C; TLC (5%

MeOH:CHCl₃) R_f = 0.20; 500 MHz ¹H-NMR (CDCl₃) 11.50 (s br, 1H), 8.08 (d, 8.0, 2H), 7.83 (s, 1H), 7.61 (t, 8.0, 1H), 7.47 (t, 8.0, 2H), 7.43 (m, 5H), 6.52 (s, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.97 (s, 2H); IR (nujol) 3500, 3401, 1704, 1681, 1616, 1597, 1533, 1290, 1263, 1236; EI-MS m/z (relative intensity) 302 (M⁺, 15), 258 (M⁺-CO₂, 16). Accurate mass for C₁₅H₁₄N₂O₅: calcd. 302.0903, obsd. 302.0894.

10

【 0 1 5 9 】

全てのガラス器具をフレーム乾燥するか、または一晩中オーブンの中で乾燥した。2 - (5 - アミノ - 4 ベンジルオキシ - 2 - ニトロ) フェニル酢酸 (5 . 7 0 g , 1 8 . 8 m m o l) を乾燥および新たに蒸留された THF (1 2 0 m L) 中に溶解し、そして氷浴中に おいて 5 分間 N₂ 下にて攪拌した。シリنجを介して、ボラン (4 5 . 2 m L , 4 5 . 2 m m o l , 1 M THF 溶液) を、攪拌している溶液上に置いた滴下漏斗へ移した。次いでこの BH₃ - THF 溶液をこの溶液へゆっくり添加し、多くの泡立ち (e f f e r v e s c e n c e) を生じさせた。暗橙色溶液を氷浴中において 1 0 分間攪拌したまま放置し、次に室温にて 6 時間攪拌させた。この反応を TLC (5 . 0 % MeOH / CHCl₃) によってチェックした。水 (1 5 0 m L) を、泡立ちが生じなくなるまで、フラスコへゆっくり注意深く添加した。次いでこの溶液を、エチルアセテート (それぞれ 1 0 0 m L) を用いて 3 回抽出した。有機層を回収し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして濃縮し、2 - (5 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロ) フェニルエタノールを橙色固体として得た。この固体を、シリカゲルクロロホルムカラムを用いて精製した。(2 . 8 2 g , 9 . 7 9 m m o l , 5 2 %)。

20

【 0 1 6 0 】

【 数 4 3 】

TLC (5% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.33. M.p. = 114-116°C. 500 MHz ¹H-

30

NMR (CDCl₃) 7.73 (s, 1H), 7.43 (m, 5H), 6.56 (s, 1H), 5.13 (s, 2H), 4.49 (s, 2H), 3.93 (t, 5.5, 2H), 3.18 (t, 5.5, 2H). IR (neat) 3470, 3375, 3080, 2925, 2852, 1620, 1576, 1524, 1488, 1296, 1263, 1226. EI-MS m/z (relative intensity) 288 (M⁺, 20). Accurate mass for C₁₅H₁₆N₂O₄, calcd. 288.1110, obsd. 288.1111.

30

【 0 1 6 1 】

2 - (5 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロ) フェニルエタノール (0 . 0 5 1 g , 0 . 1 7 4 m m o l) を、5 0 m l 丸底フラスコ中に置き、真空オーブン (5 0 , 0 . 2 5 m m Hg) 中で乾燥した。一旦乾燥したら、その丸底フラスコをセプタムで密封し、N₂ でフラッシュし、メタノール (2 m L) 中に溶解し、黄色溶液を生成した。次いでジメチルアセチレンジカルボキシレート (0 . 1 1 m L , 0 . 8 7 m m o l) を添加した。次いでセプタムを冷却器および乾燥管と置き換え、そして緩やかに一晩中還流した。次いでその溶液を、減圧下において黄色オイルになるまで濃縮した。次にこの黄色オイルを CHCl₃ におけるシリカゲルカラム操作で精製し、ジメチル 2 - N - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] マレートを黄色固体 (0 . 0 7 3 g , 0 . 1 7 0 m m o l , 9 6 %) として生成した。

40

【 0 1 6 2 】

【 数 4 4 】

50

M_p = 100-105°C; TLC (2.5% MeOH/ CHCl₃) R_f = 0.40; 500 MHz

¹H-NMR (CDCl₃) 9.88 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.49 (d, 7.0, 2H), 7.41 (t, 7.0, 2H), 7.35 (t, 7.0, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.90 (q, 6.0, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.10 (t, 6.0, 2H), 1.80 (d, 6.0, 1H); IR (neat) 3300, 2921, 2855, 1738, 1684, 1609, 1584, 1529, 1454, 1437, 1383, 1333, 1283, 1220, 1133, 1066, 1028. EI-MS m/z (relative intensity) 430 (M⁺, 32). Accurate mass for C₂₁H₂₂N₂O₈: calcd. 430.1376, obsd.

430.1369.

10

【 0 1 6 3 】

トリフェニルホスフィン (0.610 g, 2.32 mmol)、CCl₄ (0.67 mL, 6.96 mmol)、および乾燥CH₂Cl₂ (20 mL) を、丸底フラスコ中のジメチル2-N-[2-ベンジルオキシ-5-(2-ヒドロキシエチル)-4-ニトロアニリノ]マレート (0.50 g, 1.16 mmol) へ添加した。この黄色溶液をN₂でフラッシュし、そして一晩中攪拌した。この溶液を、TLC (30%エチルアセテート/石油エーテル) によってチェックし、次に減圧下において濃縮した。この残渣を、30%エチルアセテート/石油エーテル溶媒系におけるシリカゲルカラムの操作で精製し、ジメチル2-N-[2-ベンジルオキシ-5-(2-クロロエチル)-4-ニトロアニリノ]マレートを黄色固体 (0.44 g, 0.98 mmol, 85%) として得た。

【 0 1 6 4 】

【 数 4 5 】

M.p. = 93-96°C; TLC

(20% ethyl acetate/petroleum ether) R_f = 0.70; 500 MHz ¹H-NMR (CDCl₃) 9.83 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.49 (d, 7.5, 2H), 7.41 (t, 7.5, 2H), 7.35 (t, 7.5, 1H), 6.59 (s, 1H), 5.70 (s, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.80 (t, 6.5, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.30 (s, 6.5, 2H); IR (neat) 3280, 3102, 2953, 2851, 1741, 1681, 1606, 1583, 1532, 1453, 1438, 1387, 1331, 1285, 1220, 1183, 1131, 1066, 1024, 787, 740, 694. EI-MS m/z (relative intensity) 448 (M⁺, 20).

Accurate mass for C₂₁H₂₁N₂O₇³⁵Cl: calcd. 448.1037, obsd. 448.1031.

【 0 1 6 5 】

ジメチル2-N-[2-ベンジルオキシ-5-(2-ヒドロキシエチル)-4-ニトロアニリノ]マレート (0.519 g, 1.16 mmol) を、高真空中において丸底フラスコ中で乾燥した。パラジウムIIアセテート (0.52 g, 2.32 mmol) を添加し、次いでそのフラスコをセプタムで覆い、そしてN₂でフラッシュした。次いで、乾燥ジメチルアセトアミド (60 mL) を、N₂下においてシリングを介して添加した。次いで、この溶液を真空中において3回脱気し、そしてN₂でバージした。次いでこの溶液を、70 °C の油浴中で3時間半攪拌した。次いで、この溶液をCHCl₃ (200 mL) で希釈し、そして水 (50 mL) を用いて3回洗浄した。有機層を、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そしてrotovapで濃縮した。ジメチルアセトアミドを、高真空中Kugelrohr蒸留 (50 °C, 0.25 mmHg) 下において取り除いた。この残渣を、5%クロロホルム/15%エチルアセテート/80%石油エーテル溶媒系におけるシリカゲルカラムで精製し、ジメチル7-ベンジルオキシ-4-(2-クロロエチル)-5-ニトロインドール-2,3-ジカルボキシレートを黄色固体 (0.119 g, 0.267 mmol, 23%) として生成した。

【 0 1 6 6 】

40

50

【数46】

M.p. = 122-128 °C; TLC (30% ethyl acetate/petroluem ether) R_f = 0.35; 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 9.39 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.47 (m, 5H), 5.26 (s, 2H), 4.07 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.81 (t, 8.0, 2H), 3.47 (t, 8.0, 2H); IR (neat) 3282, 3103, 3080, 2959, 2923, 2851, 1726, 1623, 1583, 1534, 1458, 1336, 1260, 1171, 1077, 1018, 803. EI-MS m/z (relative intensity) 446 (M^+ , 6), 415 (2).

Accurate mass for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_7\text{Cl}$: calcd. 446.0881, obsd. 446.0873.

10

【0167】

10% Pd/C (0.035 g) を、ジメチル7-ベンジルオキシ-4-(2-クロロエチル)-5-ニトロインドール-2,3-ジカルボキシレート (0.0718 g, 0.161 mmol) へ添加し、そして冷却 THF (5 mL) をフラスコへ素早く添加した。この混合液を減圧下に置き、そして H_2 で 3 回バージした。TLC 分析によって示されるように出発物質が残らなくなるまで、この反応物を H_2 下において室温および大気圧にて攪拌した。この溶液を、シンター漏斗 (cinter funnel) 中の Celite パッドを介して濾過し、そして THF を用いて洗浄した。このアミン溶液を減圧下において濃縮し、そしてその残渣を、乾燥 CH_2Cl_2 (それぞれ 3 mL) を用いて 2 回コエバボレートした。このアミンへ EDCI (0.0617 g, 0.322 mmol) および 5,6,7-トリメトキシインドール-2-カルボン酸 (0.0404 g, 0.161 mmol) を添加した。このフラスコをセプタムで密封し、そして N_2 でフラッシュした。次いでこの混合物を乾燥 DMF (6 mL) 中に溶解し、そして N_2 下において 3 日間攪拌した。次いでその黄色溶液をエチルアセテート (150 mL) で希釈し、水 (3 回) (それぞれ 100 mL) および 5% NaHCO₃ (50 mL) で洗浄した。有機層を回収し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして減圧下において濃縮した。この化合物を、クロロホルムシリカゲルカラム (溶媒系が、25 mL 溶媒ごとに 0.5% MeOH / クロロホルム増大する) で精製し、ジメチル 4-(2-クロロエチル)-7-ヒドロキシ-5-(5,6,7-トリメトキシインドール-2-カルボキサミド)インドール-2,3-ジカルボキシレートをオフホワイト色固体 (17.8 mg, 0.032 mmol, 20% 収率) として得た。

【0168】

【数47】

Mp = 166 °C (dec); TLC (2.5% MeOH/CHCl₃) R_f = 0.23; 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 9.24 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 8.50 (s br, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.10 (s br, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.09 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (t, 7.0, 2H), 3.31 (t, 7.0, 2H); IR (neat) 3282, 3090, 2954, 2918, 2851, 1730, 1713, 1685, 1610, 1535, 1510, 1476, 1415, 1376, 1307, 1262, 1204, 1096, 1050, 1030, 802. FAB-MS m/z (relative intensity) 560 ($\text{M}+\text{H}^+$, 3), 559 (M^+ , 2). Accurate mass for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_9^{35}\text{Cl}$: calcd. 559.1358, obsd. 559.1350.

20

30

30

40

【0169】

10% Pd/C (0.035 g) を、ジメチル7-ベンジルオキシ-4-(2-クロロエチル)-5-ニトロインドール-2,3-ジカルボキシレート (0.0708 g, 0.159 mmol) へ添加し、そして冷 THF (7 mL) をフラスコへ素早く添加した。この混合液を減圧下に置いて、そして H_2 で 3 回バージした。TLC 分析によって示される

50

ように出発物質が残らなくなるまで、この反応物を、H₂下において室温および大気圧下にて攪拌した。この溶液を、シンター漏斗（c i n t e r f u n n e l）中のC e l i t eパッドを介して濾過し、そしてT H Fを用いて洗浄した。このアミン溶液を減圧下において濃縮し、そしてその残渣を乾燥C H₂C l₂（それぞれ3m l）を用いて2回コエバポレートした。このアミンへE D C I（0 . 0 9 1 4 g , 0 . 4 7 7 m m o l）および5 - (ベンゾフラン-2-カルボキサミド) インドール-2-カルボン酸（0 . 0 5 1 g , 0 . 1 5 9 m m o l）を添加した。このフラスコを覆い、そしてN₂でフラッシュし、次いで乾燥D M F（6m L）を添加した。この溶液を室温にて3日間N₂下において攪拌した。次いでその黄色溶液をエチルアセテート（150m L）で希釈し、水（3回）（それぞれ100m L）および5% N a H C O₃（50m L）で洗浄した。有機層を回収し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして減圧下において濃縮した。メチレンクロライド（20m L）を添加すると、生成物が沈殿した。この懸濁液を遠心分離し、そして有機層を沈殿生成物から取り除いた。母液をクロロホルムカラム（溶媒系が25m Lごとに1% MeOH / クロロホルム増大する）で精製し、ジメチル4 - (2 - クロロエチル)-7 - ヒドロキシ-5 - [5 - (5 - ベンゾフラン-2-カルボキサミド) インドール-2-カルボキサミド] インドール-2, 3 - ジカルボキシレートをオフホワイト色固体（0 . 0 1 5 5 g , 0 . 0 2 4 7 m m o l , 1 6 %）として得た。
10

【0170】

【数48】

Mp = 174 - 180 °C (dec); TLC

20

(5%MeOH/CHCl₃) Rf = 0.25; 500 MHz ¹H-NMR (CDCl₃ + a drop of DMSO-d₆) 10.95 (s, 1H), 10.92 (s, 1H), 10.18 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.72 (d, 8.5, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.59 (d, 8.5, 1H), 7.499 (s, 1H), 7.492 (s, 1H), 7.64 (t, 8.5, 1H), 7.35 (s, 3H), 7.32 (t, 8.5, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.01 (d, 1.5, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.80 (t, 7.5, 2H), 3.29 (t, 7.5, 2H); IR (neat) 3331, 3121, 2956, 1735, 1722, 1675, 1595, 1545, 1478, 1365, 1256, 1231, 1205, 1159, 1109; FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 629 (M+H⁺, 3), 628 (M⁺, 2). Accurate mass C₃₂H₂₅N₄O₈³⁵Cl: calcd. 628.1361, obsd. 628.1349.

30

【0171】

2 - (3 - アミノ - 4 - ベンジルオキシ - 6 - ニトロ) フェニルエタノール（0 . 1 0 0 g , 0 . 3 4 7 m m o l）を25m l丸底中に置き、そして真空オープン（50 , 0 . 2 5 m m H g）中で乾燥した。この丸底を密封し、N₂でフラッシュし、そして乾燥メタノール（6m L）を添加し、黄色溶液を生成した。次いでメチル4, 4, 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエート（b u t y n o a t e）（0 . 2 6 g , 1 . 7 4 m m o l）を添加した。セプタムを冷却器（c o n d e n s o r）および乾燥管と置き換え、そして7時間緩やかに還流した。次いでこの溶液を、減圧下において黄色オイルになるまで濃縮した。次いでこの黄色オイルを、C H C l₃におけるシリカゲルカラム操作で精製し、メチル3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブチノエート（b u t e n o a t e）を、冷却すると結晶化される黄色オイルとして生成した。総収量：0 . 1 3 3 g (0 . 3 0 2 m m o l , 8 7 %)。

40

【0172】

【数49】

M.p. = 72 -74 °C. TLC (5 % methanol/ chloroform) R_f = 0.60. 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 9.94 (s br, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.48 (d, 7.0, 2H), 7.40 (t, 7.0, 2H), 7.35 (t, 7.0, 1H), 7.14 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 5.22 (s, 2H), 3.92 (t, 6.0, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.14 (t, 6.0, 2H). IR (neat) 3431, 3040, 2957, 1743, 1686, 1642, 1616, 1581, 1528, 1296, 1260, 1217, 1142, 1020, 805, 739, 696. FAB-MS (NBA) m/z (relative intensity) 441 ($\text{M}+\text{H}^+$, 4), 440 (M^+ , 4). Accurate mass for $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_6\text{F}_3$: calcd. 440.1195, obsd. 440.1198.

10

【0173】

トリフェニルホスフィン (2.57 g, 9.77 mmol)、 CCl_4 (2.83 mL, 29.3 mmol)、および乾燥 CH_2Cl_2 (55 mL) を丸底フラスコ中のメチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブテノエート (2.10 g, 4.89 mmol) へ添加した。この黄色溶液を N_2 でフラッシュし、そして一晩中攪拌した。この溶液を、TLC (20 % エチルアセテート / 石油エーテル) によってチェックし、次に減圧下において濃縮した。この残渣を、10 % エチルアセテート / 石油エーテル溶媒系におけるシリカゲルカラム操作で精製し、メチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - クロロエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブテノエートを得た。総収率 : 1.25 g (2.71 mmol, 57 %)。

20

【0174】

【数50】

M.p. = 105-110 °C. TLC (20 % ethyl acetate / petroleum ether) R_f = 0.69. 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 10.04 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.48 (d, 7.5, 2H), 7.41 (t, 7.5, 2H), 7.35 (t, 7.5, 1H), 7.14 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.23 (s, 2H), 3.80 (t, 6.5, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.33 (t, 6.5, 2H). IR (neat) 2415, 3050, 2956, 1730, 1687, 1640, 1615, 1585, 1530, 1334, 1296, 1215, 1143, 1024, 815, 739, 696. EI-MS (relative intensity) 458 (M^+ , 6).

30

Accurate mass for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2^{35}\text{ClF}_3$: calcd. 458.0856, obsd. 458.0853.

【0175】

メチル 3 - [2 - ベンジルオキシ - 5 - (2 - クロロエチル) - 4 - ニトロアニリノ] - 4 , 4 , 4 - トリフルオロ - 2 - ブテノエート (0.035 g, 0.0763 mmol) を高真空中において丸底フラスコ中で乾燥した。パラジウム I I アセテート (0.034 g, 0.153 mmol) を添加し、次いでそのフラスコをセプタムで覆い、そして N_2 でフラッシュした。次いで、乾燥ジメチルアセトアミド (20 mL) を、 N_2 下においてシリングを介して添加した。次いで、この溶液を真空中において 30 分間 3 回脱気し、そして N_2 でバージした。次いでこの溶液を、68 度油浴中で 6 時間 15 分攪拌した。次いで、この溶液を CHCl_3 (100 mL) で希釈し、そして水 (100 mL) を用いて 3 回洗浄した。有機層を、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして rotovap で濃縮した。ジメチルアセトアミドを、高真空 Kugelrohr 蒸留 (50 , 0.25 mmHg) 下において取り除いた。この残渣を、メチレンクロライドを溶媒として用いるシリカゲルカラムにて精製し、メチル 7 - ベンジルオキシ - 4 - (2 - クロロエチル) - 5 - ニトロ - 2 - トリフルオロメチルインドール - 3 - カルボキシレートを黄色固体として生成した。総収率 : 0.010 g (0.022 mmol, 29 %)

40

【0176】

50

【数51】

TLC (methylene chloride) $R_f = 0.75$. 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 9.24 (s br, 1H), 7.46 (m, 5H), 7.44 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.82 (t, 7.5, 2H), 3.63 (t, 7.5, 2H). IR (neat) 3036, 2952, 2915, 2850, 1732, 1713, 1695, 1576, 1534, 1503, 1451, 1337, 1259, 865, 802. EI-MS (relative intensity) 456 (M^+ , 3), 420 ($M^+-\text{HCl}$, 3). Accurate mass for $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_9\text{N}_2^{35}\text{ClF}_3$: calcd. 456.0700, obsd. 456.0695

【0177】

10 % Pd / C (0.023 g) を、メチル7 - ベンジルオキシ - 4 - (2 - クロロエチル) - 5 - ニトロ - 2 - トリフルオロメチルインドール - 3 - カルボキシレート (0.0468 g, 0.102 mmol) へ添加し、そして冷THF (7 mL) をフラスコへ素早く添加した。この混合液を減圧下に置き、そして H_2 で 3 回バージした。TLC により完了されるまで、この反応物を H_2 下において室温および大気圧にて攪拌した。この溶液を、焼結漏斗 (sinter funnel) 中の Celite パッドを介して濾過し、そして THF を用いて洗浄した。次いでこのアミンを減圧下において濃縮し、そして乾燥 CH_2Cl_2 (2 mL) を用いて 2 回コエバポレートした。このアミンへ EDCI (0.040 g, 0.208 mmol) および 5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボン酸 (0.026 g, 0.104 mmol) を添加した。このフラスコを覆い、そして N_2 でフラッシュした。次いでこのアミンを乾燥 DMF (10 mL) 中に溶解し、そして N_2 下において 4 日間攪拌した。次いでその黄色溶液をエチルアセテート (100 mL) で希釈し、水 (3 回) (100 mL) および 5 % NaHCO₃ (75 mL) で洗浄した。有機層を回収し、硫酸ナトリウムを用いて乾燥し、重力濾過し、そして減圧下において濃縮した。次いでこの残渣を、2.5 % メタノールクロロホルムにおけるプレパラティブ TLC で精製し、粗生成物を生成した。この生成物をメチレンクロライドにおけるプレパラティブ TLC でさらに精製し、メチル 4 - (2 - クロロエチル) - 7 - ヒドロキシ - 2 - トリフルオロメチル - 5 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) インドール - 3 - カルボキシレートを黄色固体として生成した。総収率: 0.001 g (0.002 mmol, 2 %)。

【0178】

【数52】

TLC (methylene chloride) $R_f = 0.56$. 500 MHz $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 9.53 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 9.07 (s, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.12 (s, 3H), 4.00 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.87 (t, 8.0, 2H), 3.72 (t, 8.0, 2H). IR (Neat) 3018, 2965, 2922, 2847, 1729, 1531, 1472, 1344, 1253, 1227, 1178, 1109, 1002, 799.

【0179】

実施例 9

アキラルアミノ seco - CI アナログの合成

4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) アニリンの合成
4 - クロロ - 3 - ニトロアニリン (それぞれ 20.0 g, 0.116 mol) の 2 つの等しいバッチを、ドライライト乾燥管の下において、新たに蒸留されたジクロロメタン (P_2O_5 上) (それぞれ 150 mL) および乾燥トリエチルアミン (それぞれ 1.1 eq., 18 mL, 0.128 mol) 中に別々に溶解した。この反応混合物の各々を氷浴中で冷却し、そしてベンジルクロロホルムート (それぞれ 50 mL, 0.348 mol) をゆっくり添加した。生じる溶液を加温し、4 日間還流し、次いで混合し、そして濃縮した。そ

10

20

30

40

50

の残渣をさらに、kugelrohr装置(0.1mmHg, 60°)を用いて真空下において濃縮し、濃厚なオイルを得た。この油性物質をクロロホルム(300mL)中に溶解し、ブライン(100mL)を用いて洗浄した。この有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、そして真空下において濃縮した。この粗生成物を、2.5%メタノール/クロロホルムを溶媒として使用するシリカゲルカラムで精製した。総収量32.2g(46%収率)のN-ベンジルオキシカルボニル-4-クロロ-3-ニトロアニリンを、冷凍すると凝固する黄色オイルとして単離した。

【0180】

【数53】

Rf = 0.61 (20% ethyl acetate/hexane). IR (neat) 3424, 3100, 3060,
3025, 2918, 2865, 1603, 1528, 1493, 1448, 1395, 1351, 1231, 1204, 1146, 1071, 1027, 960,
894, 841, 805, 734, 694. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl₃) 7.28 (t, 9.0, 2H), 7.24(s br, 1H),
7.22 (t, 9.0, 1H), 7.16 (d, 8.0, 1H), 7.13 (d, 9.0, 2H), 6.98 (d, 3.0, 1H), 6.73 (dd, 3.0, 8.0,
1H), 4.60 (s, 2H).

【0181】

水素化ナトリウム(1.5gの60%ミネラルオイル懸濁物, 0.038mol)を、窒素雰囲気下に保たれる乾燥反応フラスコ中で、乾燥ヘキサンを用いて洗浄した。ヘキサンを取り除き、そして乾燥ジメチルスルホキシド(15mL)を添加した。この反応混合物を氷浴中において冷却し、そしてジエチルマロネート(4.0mL, 0.0325mol)をゆっくり添加した。分液フラスコ(separate flask)中において、N-ベンジルオキシカルボニル-4-クロロ-3-ニトロアニリン(1.0g, 3.3mmol)を乾燥ジメチルスルホキシド(15mL)中に溶解し、そしてそれを冷水素化物(hydride)/マロネート反応混合物へゆっくり添加した。生じる溶液を油浴中で105-115°にて64時間加温した。その溶媒を、Kugelrohr装置(0.1mmHg, 60°)を使用する蒸留によって取り除き、粘性残渣を得、これは、クロロホルム(300mL)を用いて溶解された。その有機層を、水(それぞれ150mL)を用いて2回洗浄し、次いで硫酸ナトリウム上で乾燥した。有機層の濃縮は、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(5-10%エチルアセテート/ヘキサンジエント溶媒系を用いる)によって精製される油性残渣を与えた。所望される生成物ジエチル((N-ベンジルオキシカルボニル)-3-ニトロアニリン-4-イル)マロネートを、冷却すると固化する橙色オイル(0.88g, 63%)として単離した。

【0182】

【数54】

Rf = 0.44
(20% ethyl acetate/hexane). IR (neat) 3400, 3061, 3030, 2978, 2937, 1732, 1623, 1534,
1446, 1394, 1358, 1301, 1228, 1150, 1000. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl₃) 7.13-7.30 (m,
8H), 6.84 (dd, 3.0, 8.0, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.16 (q, 6.5, 4H), 3.39 (s, 1H), 1.20 (t, 6.5, 6H).

【0183】

ジエチル((N-ベンジルオキシカルボニル)-3-ニトロアニリン-4-イル)マロネート(0.500g's, 1.16mmol)のエタノール(15mL)および10%NaOH(aq)(18mL)溶液を4時間還流した。その時点で、真空下においてエタノールを取り除き、そしてTHF(20mL)を添加した。この溶液を氷浴中において冷却したときに、この溶液を6M HClでpH1に調整した。次いでこの溶液を1時間還流した。この2相性混合物からTHFを(ピペットを用いて)取り除いた後に、水相をクロ

10

20

30

50

40

50

クロロホルム（ $2 \times 100 \text{ mL}$ ）で抽出した。混合した有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、次いで真空下において暗褐色オイルになるまで濃縮した。その粗生成物を、クロロホルムを用いるシリカゲルでクロマトグラフィーし、（（N-ベンジルオキシカルボニル）-3-ニトロアニリン-4-イル）酢酸を濃厚な黄色オイル残渣（0.35 g, 91%）として得た。

【0184】

【数55】

$R_f = 0.29$ (10% methanol/ chloroform). Purified product IR (neat) 3025,
 2927, 1714, 1630, 1532, 1453, 1399, 1351, 1297, 1235, 1199, 1071, 965, 903, 734, 694. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) 7.95 (s, 1H), 7.42 (d, 3.0, 1H), 7.27 (t, 8.0, 2H), 7.21 (t, 7.5, 1H), 7.16 (d, 7.0, 2H), 7.01 (d, 8.5, 1H), 6.84 (dd, 3.0, 8.0, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.82 (s, 2H).

【0185】

（（N-ベンジルオキシカルボニル）-3-ニトロアニリン-4-イル）酢酸（0.35 g, 1.06 mmol）を乾燥 THF（5 mL）中に溶解し、そして窒素下に保ち、次いでその溶液を氷浴中で冷却した。ボラン-THF複合体の溶液（3.6 mL の 1.0 M 溶液, 3.6 mmol）をゆっくり添加し、そしてその混合物を室温にて 2.5 時間攪拌した。その反応混合物を、水でゆっくりクエンチした（quenched）。THF 層を取り除き、そして水相をジクロロメタン（ $3 \times 100 \text{ mL}$ ）で抽出した。混合した有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥し、次いで真空下においてオイルになるまで濃縮した。その粗生成物を、グラディエント溶媒系（クロロホルムから 5% メタノール/クロロホルム）を用いるシリカゲルでクロマトグラフィーし、2-（（N-ベンジルオキシカルボニル）-3-ニトロアニリン-4-イル）エタノールを濃厚な無色オイル（0.33 g, 93%）として得た。

【0186】

【数56】

$R_f = 0.59$ (10% methanol/chloroform). IR (neat) 3565, 3352, 3060, 3024, 2927, 2856, 1621, 1528, 1453, 1395, 1351, 1302, 1235, 1199, 1156, 1036, 960, 894, 845, 810, 734, 699. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) 7.27 (t, 7.5, 2H), 7.22 (t, 7.0, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.19 (d, 3.0, 1H), 7.16 (d, 7.5, 2H), 7.07 (d, 8.5, 1H), 6.83 (dd, 3.0, 8.5, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.80 (t, 6.5, 2H), 2.93 (t, 6.5, 2H).

【0187】

窒素下に保たれる 2-（（N-ベンジルオキシカルボニル）-3-ニトロアニリン-4-イル）エタノール（0.33 g, 1.04 mmol）およびトリフェニルホスフィン（0.55 g, 2.09 mmol）の新たに蒸留されたジクロロメタン（15 mL）溶液中へ、四塩化炭素（0.6 mL, 3.85 mmol）を添加した。この反応混合物を室温にて 1 日間攪拌した後、これをオイルになるまで濃縮した。クロロホルムを用いるシリカゲルカラムでの油性残渣の精製によって、2-（（N-ベンジルオキシカルボニル）-3-ニトロアニリン-4-イル）エチルクロライドを濃厚な橙色/黄色オイル（0.27 g, 81%）として得た。

【0188】

【数57】

Rf = 0.80

(5% methanol/ chloroform). IR (neat) 3344, 3060, 3025, 2963, 2927, 2865, 1626, 1528, 1493, 1453, 1399, 1346, 1262, 1235, 1076, 1027, 965, 898, 805, 734, 699, 668. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 7.27 (t, 8.0, 2H), 7.25 (d, 3.0, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.21 (t, 8.5, 1H), 7.16 (d, 7.5, 2H), 7.07 (d, 8.5, 1H), 6.82 (dd, 3.0, 8.5, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.68 (t, 7.0, 2H), 3.11 (t, 7.0, 2H).

10

【 0 1 8 9 】

2 - ((N - ベンジルオキシカルボニル) - 3 - ニトロアニリン - 4 - イル) エチルクロライド (1.01 g) の PtO₂ (250 mg) との混合物を冷THF (60 mL) 中に懸濁し、そしてその懸濁液を、55 psi および室温において1時間水素化した(振とうしながら)。その懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。その油性残渣を、乾燥 CH₂Cl₂ (2回) を用いてコエバポレートし、次いで高真空下において保った。このアミン中間体は不安定であるので、直接使用された。

【 0 1 9 0 】

3 - アミノ - 2 - ((N - ベンジルオキシカルボニル) アニリン - 4 - イル) エチルクロライド (169 mg, 0.55 mmol) のサンプルを乾燥 CH₂Cl₂ (20 mL) 中に溶解した。次いでこの溶液を、窒素下において保たれる 5, 6, 7 - トリメトキシ - 2 - カルボン酸 (150 mg, 0.60 mmol) およびベンゾトリニアゾール - 1 - イルオキシ - トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PyBOP) (296 mg, 0.57 mmol) の乾燥 CH₂Cl₂ (55 mL) 中の攪拌懸濁液へ添加した。新たに蒸留した N, N - デイソプロピルエチルアミン (0.22 mL, 1.28 mmol) を添加し、そして生じた透明溶液を一晩中室温にて攪拌した。その時点で、その反応混合物を CH₂Cl₂ (100 mL) で希釈し、次いで水 (50 mL)、1 M HCl (50 mL)、飽和 NaHCO₃ (50 mL)、その後ブライン (50 mL) で洗浄した。次いでその有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥し、そして濃縮した。残渣を、2.5% EtOAc / CH₂Cl₂ 溶媒系を用いるシリカゲルカラムで精製し、2 - (N - ベンジルオキシカルボニル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) アニリン - 4 - イル) エチルクロライドを透明無色泡沫 (106 mg, 36%) として得た。

20

【 0 1 9 1 】

【 数 5 8 】

M.p.

70-74 °C. Rf = 0.55 (16:1 CH₂Cl₂:EtOAc). IR (neat) 3291, 3060, 3007, 2936, 2829, 1776, 1621, 1577, 1537, 1497, 1461, 1448, 1408, 1364, 1235, 1111, 1049, 991, 832, 747. ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) 9.11 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.26-7.14 (m, 7H), 6.94 (d, 8.5, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.66 (s br, 1H), 6.50 (dd, 3.0, 8.5, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.69 (t, 6.5, 2H), 2.95 (t, 6.5, 2H). Analysis for C₂₈H₂₈N₃O₆Cl: calcd. C, 62.51, H, 5.25, N, 7.81; obsd. C, 72.77, H, 5.01, N, 8.02.

30

【 0 1 9 2 】

2 - (N - ベンジルオキシカルボニル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) アニリン - 4 - イル) エチルクロライド (187 mg, 0.35 mmol) を 10% Pd / C (95 mg) と混合し、次いで THF (20 mL、冷却) 中に懸濁した。この懸濁液をページし (3回)、そして水素下において大気圧および室温に

40

50

て3日間保った。初日後、さらなる量のTHF(6mL)を添加した。この懸濁液をCelite上で濾過し、そしてその黄色溶液を真空下において濃縮した。この黄色・褐色残渣をMeOH-CHCl₃グラディエント(0-6%)溶媒系を用いるシリカゲルカラムによって精製し、4-(2-クロロエチル)-3-(5,6,7-トリメトキシインドール-2-カルボキサミド)アニリン(117mg, 80%)を透明且つ濃厚な無色オイルとして得た。

【0193】

【数59】

Rf = 0.21 (32:1, CH₂Cl₂: EtOAc). ¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz) 9.80 (1H, s), 8.22 (1H, s), 7.11 (1H, s), 6.87 (1H, d, 8.5 Hz), 6.85 (1H, s), 6.72 (1H, s), 6.42 (1H, dd, 8.5, 3.0 Hz), 4.42 (2H, s br), 3.93 (3H, s), 3.84 (3H, s), 3.80 (3H, s), 3.64 (2H, t, 6.5 Hz), 2.90 (2H, t, 6.5 Hz). Analysis for C₂₀H₂₂N₃O₄Cl·H₂O: calcd. C, 56.94, H, 5.73, N, 9.96; obsd. C, 56.55, H, 6.01, N, 10.22.

10

【0194】

実施例10

アキラルアミノseco-CBIアナログの合成

4-(2-クロロエチル)-3-(5,6,7-トリメトキシインドール-2-カルボキサミド)-1-ナフチルアミンおよびアナログの調製
K₂CO₃(4.04g, 29.22mmol)を1-クロロ-2,4-ジニトロナフタレン(6.04g, 23.91mmol)およびt-ブチルエチルマロネート(5.0g, 26.50mmol)のTHF(50mL)溶液へ添加し、この混合物を加温し、一晩中還流した。この混合物を冷却および濾過し、次いでその濾液を減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー(20-50% AcEt-石油エーテルグラディエント溶出)によって、t-ブチルエチル(2,4-ジニトロナフタレン-1-イル)マロネート(7.6g, 54%)を淡赤色固体として得た。

20

【0195】

【数60】

30

M.p.

86-88 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.65 (s, 1H), 8.55 (dd, 0.5, 8.5, 1H), 8.36 (dd, 0.5, 9.0, 1H), 7.89 (dt, 1.0, 8.0, 1H), 7.81 (dt, 1.5, 9.0, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.26 (q, 7.0, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.24 (t, 7.0, 3H); IR (neat) 2980, 1745, 1537, 1368, 1346, 1306, 1253, 1147, 1027, 850, 832, 801, 774, 761 cm⁻¹. FABMS (NBA) m/z 405 (M+H⁺, 5).

【0196】

濃縮HCl(1.5mL)を、t-ブチルエチル(2,4-ジニトロナフタレン-1-イル)マロネート(0.60g, 1.48mmol)のAcEt(6mL)溶液へ添加し、そしてこの混合物を一晩中攪拌した。この混合物をAcEt(30mL)で希釈し、H₂O(10mL)、飽和水性NaHO₃(10mL)、および飽和水性NaCl(10mL)で洗浄した。この有機層を乾燥し(Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮した。再結晶化(エーテル)によって、エチル(2,4-ジニトロナフタレン-1-イル)アセテート(0.31g, 69%)を淡橙色固体として得た。

40

【0197】

【数61】

M.p. 132-134 °C;

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.71 (s, 1H), 8.61 (d, 8.5, 1H), 8.30 (d, 8.5, 1H), 7.92 (dt, 1.0, 8.5, 1H), 7.86 (dt, 1.5, 8.5, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.22 (q, 7.5, 2H), 1.27 (t, 7.5, 3H); 304 (M⁺); IR (neat) 3087, 2989, 1732, 1528, 1422, 1355, 1204, 1169, 1027, 889, 832, 779 cm⁻¹. FABMS (NBA) m / z 305 (M + H⁺).

【 0 1 9 8 】

Na₂S (60%, 4.27 g, 32.87 mmol) をエチル(2,4-ジニトロナフタレン-1-イル)アセテート(10.0 g, 32.87 mmol)のEtOH(200 mL)還流溶液へ添加し、そして0.5 h攪拌した。その混合物を水(200 mL)へ注ぎ込み、濃縮し、そしてAcOEt(300 mL)で抽出した。その有機層をH₂O(100 mL)および飽和水性NaCl(50 mL)で洗浄した。各水層をAcOEt(100 mL)で抽出した。混合した有機層を飽和水性NaCl(50 mL)、で洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー(20% AcOEt-石油エーテル)によって、エチル(4-アミノ-2-ニトロナフタレン-1-イル)アセテート(1.0 g, 11%)を暗紫色固体として得た。

【 0 1 9 9 】

【 数 6 2 】

M.p. 93-100 °C

(decomp.); ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.08 (d, 8.0, 1H), 7.86 (d, 7.5, 1H), 7.66 (t, 7.0, 1H), 7.62 (t, 7.0, 1H), 7.20 (s, 1H), 4.40 (brs, 2H), 4.26 (s, 2H), 4.20 (q, 7.0, 2H), 1.26 (t, 7.0, 3H); IR (neat) 3459, 3379, 3255, 2980, 1728, 1634, 1590, 1515, 1466, 1439, 1368, 1337, 1249, 1200, 1156, 1027, 841, 756 cm⁻¹. FABMS (NBA) m / z 274 (M⁺).

【 0 2 0 0 】

ベンジルクロロホルメート(1.56 mL, 10.94 mmol)を、0にてN₂雰囲気下であるエチル(4-アミノ-2-ニトロナフタレン-1-イル)アセテート(1.0 g, 3.65 mmol)およびEt₃N(0.56 mL, 4.01 mmol)の乾燥CH₂C₁₂(20 mL)溶液へ、ゆっくり添加した。この混合物を3日間加熱還流し、そして濃縮した。その残渣をAcOEt(50 mL)中に溶解し、そしてH₂O(10 mL)および飽和水性NaCl(25 mL)で洗浄した。有機層を乾燥し(Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー(CHCl₃に対して20% AcOEt-石油エーテル)によって、エチル[4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル]アセテート(0.39 g, 26%)を橙色固体として得た。

【 0 2 0 1 】

【 数 6 3 】

M.p. 160-164 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.09 (d, 8.5, 1H), 7.88 (d, 8.0, 1H), 7.66 (t, 8.0, 1H), 7.60 (t, 7.0, 1H), 7.46 (d, 7.5, 2H), 7.41 (t, 7.5, 2H), 7.35 (t, 7.5, 1H), 7.07 (s, 1H), 4.92 (brs, 1H), 4.52 (d, 4.0, 2H), 4.24 (s, 2H), 4.19 (q, 7.0, 2H), 1.26 (t, 7.5, 3H); IR (neat) 3397, 2927, 1723, 1594, 1537, 1515, 1439, 1333, 1200, 1124, 1027, 823, 752, 703 cm⁻¹.

【 0 2 0 2 】

10

20

30

40

50

NaOH (0.17 g, 4.31 mmol) の H2O (20 mL) 溶液を、エチル [4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル] アセテート (0.8 g, 1.96 mmol) の EtOH (20 mL) 懸濁液へ添加し、その混合物を加温し、2 hr 加熱還流した。EtOH を留去し、そして Et2O (10 mL) で洗浄した。その水層を、6 M HCl を用いて酸性 (pH 1) にした。生じる沈殿物を濾過し、そして一晩中放置し (left out)、[4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル] 酢酸 (0.66 g, 89%) を橙色固体として得た。

【0203】

【数64】

10

M.p. 170-172 °C (decomp.); ^1H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 8.40 (d, 8.5, 1H), 8.13 (d, 9.0, 1H), 7.67 (m, 2H), 7.55 (m, 1H), 7.41 (d, 7.5, 2H), 7.32 (t, 7.0, 2H), 7.22 (t, 8.0, 1H), 6.71 (s, 1H), 4.55 (d, 5.5, 2H), 4.04 (s, 2H); ESMS m/z 337 (M - CO₂ + H⁺), 673 ((M - CO₂) X 2 + H⁺); IR (nujol) 3405, 2652, 1696, 1590, 1515, 1461, 1439, 1377, 1333, 1249, 1120, 929, 832, 792, 752, 699 cm⁻¹. FABMS (NBA) m/z 336 (M - CO₂⁺).

20

【0204】

BH3 - THF 複合体 (1.0 M sol., 0.13 mL, 0.13 mmol) を、[4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル] 酢酸 (40.0 mg, 0.11 mmol) の THF (5 mL) 溶液へ N₂ 霧囲気下において添加し、一晩中攪拌した。この反応混合物を、飽和水性 NH4Cl (1 mL) で処理し、そして AcEt (20 mL) で抽出した。この有機層を飽和水性 NaCl (5 mL) で洗浄し、乾燥し (Na2SO4)、そして減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (25% AcEt - 石油エーテル) によって、2-[4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル] エタノール (21.2 mg, 53%) を暗赤色固体として得た。

【0205】

【数65】

30

M.p. 128-130 °C; ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.24 (d, 9.0, 1H), 7.88 (d, 8.0, 1H), 7.66 (t, 7.5, 1H), 7.60 (t, 7.5, 1H), 7.45 (d, 7.5, 2H), 7.41 (t, 7.5, 2H), 7.35 (t, 7.5, 1H), 6.92 (s, 1H), 4.87 (brs, 1H), 4.50 (d, 5.0, 2H), 4.05 (t, 8.5, 2H), 3.40 (t, 7.0, 2H), 1.84 (brs, 1H); IR (neat) 3406, 2936, 2892, 1594, 1519, 1435, 1342, 1124, 1036, 912, 823, 752, 699 cm⁻¹. FABMS (NBA) m/z 322 (M - CO₂⁺), ESMS m/z 323 (M - CO₂ + H⁺), 645 ((M - CO₂) X 2 + H⁺).

40

【0206】

CCl4 (0.2 mL, 2.18 mmol) を、2-[4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル] エタノール (0.1 g, 0.27 mmol) および Ph3P (0.29 g, 1.09 mmol) の CH2Cl2 (5 mL) 溶液へ N₂ 霧囲気下において添加し、3 h の間攪拌した。フラッシュクロマトグラフィー (10% AcEt - 石油エーテル) によって、2-[4-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン-1-イル] エチルクロライド (0.1 g, 96%) を橙色固体として得た。

50

【0207】

【数66】

M.p. 122-124 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.18 (d, 8.5, 1H), 7.89 (d, 8.5, 1H), 7.70 (t, 7.0, 1H), 7.62 (t, 7.0, 1H), 7.45 (d, 7.0, 2H), 7.41 (t, 7.5, 2H), 7.35 (t, 7.5, 1H), 6.95 (s, 1H), 4.93 (brs, 1H), 4.51 (d, 5.0, 2H), 3.86 (t, 8.0, 2H), 3.56 (t, 8.5, 2H); IR (neat) 3087, 3033, 2927, 2856, 1594, 1519, 1439, 1342, 1124, 752, 699 cm^{-1} . FABMS (NBA) m / z 340 (M - CO_2^+), ESMS m / z 341 (M - $\text{CO}_2 + \text{H}^+$).

10

【0208】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 1 g, 0 . 26 mmol) の THF (10 mL) 溶液を Pd/C (50 mg) の冷 THF (10 mL) 溶液へ添加し、そしてこの懸濁液を 55 psi および室温において 1 時間水素化した (振とうしながら)。その懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮し、淡黄色固体 (90 . 0 mg) として得た。

【0209】

この還元された化合物 (90 . 0 mg, 0 . 25 mmol) の CH_2Cl_2 (15 mL) 溶液を、5, 6, 7 - トリメトキシ - 2 - カルボン酸 (71 . 78 mg, 0 . 29 mmol) およびベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシ - トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PyBOP) (0 . 14 g, 0 . 27 mmol) の CH_2Cl_2 (25 mL) 懸濁液へ N_2 霧囲気下において添加した。次いで、蒸留 N, N - デイソプロピルエチルアミン (0 . 1 mL, 0 . 60 mmol) をこの混合物へ添加した。この透明溶液を一晩中攪拌した。この反応混合物を濃縮し、そして AcOEt (20 mL) で希釈し、そして 10% HCl (5 mL)、飽和水性 NaHCO_3 (5 mL)、飽和水性 NaCl (5 mL) で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (5% AcOEt - CH_2Cl_2) によって、2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (62 . 0 mg, 41%) を淡黄色泡沫として得た：

【0210】

【数67】

mp 58-62 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.31 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.85 (d, 8.0, 1H), 7.83 (d, 7.5, 1H), 7.30-7.54 (m, 8H), 7.15 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.68 (brs, 1H), 4.07 (s, 3H), 3.96 (t, 6.0, 2H), 3.95 (s, 5H), 3.91 (s, 3H), 3.52 (t, 6.5, 2H); IR (neat) 3406, 3308, 2936, 1772, 1648, 1590, 1532, 1493, 1466, 1413, 1306, 1240, 1226, 1107, 1049, 996, 907, 827, 756, 734, 699 cm^{-1} . FABMS (NBA) m / z 544 (M - CO_2^+), ESMS m / z 544 (M - CO_2^+).

20

30

40

【0211】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (60 . 0 mg, 0 . 10 mmol) の THF (10 mL) 溶液を 10% Pd/C (50 mg) の冷 THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を H_2 霧囲気下において室温にて 3 日間水素化した。この懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。プレパラティブ TLC (50% AcOEt - 石油エーテル) によって、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキ

50

サミド) - 1 - ナフチルアミン (8.2 mg, 18%) を淡黄色固体として得た。

【0212】

【数68】

M.p. 182 °C (decomp.); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.40 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.85 (d, 8.5, 1H), 7.83 (d, 8.0, 1H), 7.53 (t, 7.5, 1H), 7.46 (t, 8.5, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.25 (brs, 2H) 4.08 (s, 3H), 3.98 (t, 6.5, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.54 (t, 6.5, 2H); IR (neat) 3326, 2927, 2856, 1626, 1590, 1536, 1501, 1466, 1408, 1302, 1240, 1107, 1049, 1000, 907, 832, 756 cm^{-1} . FAB HRMS (NBA) m/z 454.1549 (M + H⁺, $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_4$ requires 454.1534). Anal. Calcd. For $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4\text{Cl} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$: C, 62.20; H, 5.40; N, 9.07. Found: C, 62.39; H, 5.71; N, 8.68.

【0213】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0.1 g, 0.16 mmol) の THF (10 mL) 溶液を 10% Pd / C (0.1 g) の冷 THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を H_2 霧囲気下において室温にて 3 日間水素化した。この懸濁液を Celeste 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。この残渣を、ジイソプロピルエーテルを用いて結晶化し、2 - [4 - アミノ - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0.064 g, 84%) を白色固体として得た：

【0214】

【数69】

mp 182-186 °C (decomp.); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.40 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 7.94 (d, 8.5, 1H), 7.86 (d, 8.5, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.55 (t, 8.0, 1H), 7.46 (t, 8.0, 1H), 7.19 (brs, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.39 (t, 7.0, 2H), 4.23 (brs, 2H), 4.10 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.41 (t, 7.0, 2H), 2.10 (s, 1.5, 3H); FABMS (NBA) m/z 478 (M + H⁺), IR (neat) ν_{max} 3341, 1727, 1639, 1591, 1536, 1505, 1466, 1410, 1304, 1243, 1106, 1046, 758 cm^{-1} .

【0215】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0.14 g, 0.25 mmol) の THF (10 mL) 溶液を 10% Pd / C (0.1 g) の冷 THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を H_2 霧囲気下において室温にて 3 日間水素化した。この懸濁液を Celeste 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。この残渣を、ジイソプロピルエーテルを用いて結晶化し、2 - [4 - アミノ - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0.083 g, 76%) を淡黄色固体として得た：

【0216】

【数70】

mp 172-180 °C (decomp.); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.85 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 7.86 (d, 8.5, 1H), 7.86 (d, 8.0, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.50 (t, 8.0, 1H), 7.43 (t, 8.5, 1H), 7.03 (d, 2.0, 1H), 6.84 (s, 1H), 4.18 (t, 5.5, 2H), 4.09 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.33 (t, 7.0, 2H); FABMS (NBA) m / z 435 ($M + \text{H}^+$), IR (neat) ν_{max} 3291, 2936, 1638, 1595, 1541, 1509, 1464, 1432, 1410, 1305, 1264, 1106, 1047, 996, 909, 833, 757, 731 cm^{-1} .

【0217】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - アミノナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 3 g , 0 . 79 \text{ mmol}) のビリジン (3 mL) 溶液へ、 5 - メトキシ - 2 - カルボン酸 (0 . 23 g , 1 . 19 \text{ mmol}) 、 1 - ヒドロキシ - ベンゾトリシアゾール (0 . 16 g , 1 . 19 \text{ mmol}) および 1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドハイドロクロライド (0 . 23 g , 1 . 19 \text{ mmol}) を N_2 霧囲気下室温にて添加し、次いでその混合物を 2 日間攪拌し、そして 60 °C にて 2 日間加温した。この反応混合物を AcOEt (50 mL) で希釈し、そして 10 % HCl (10 mL) 、飽和水性 NaHCO_3 (10 mL) 、飽和水性 NaCl (20 mL) で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4) 、そして減圧下において濃縮し、褐色泡沫として 2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 52 g , 定量的) を生成した：

【0218】

【数71】

mp 98-

110 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.41 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.96 (d, 8.5, 1H), 7.85 (d, 8.0, 1H), 7.55 (t, 7.0, 1H), 7.47 (d, 8.0, 2H), 7.43 (t, 9.0, 1H), 7.39 (t, 7.5, 2H), 7.34 (m, 2H), 7.20 (brs, 1H), 7.13 (d, 1.5, 1H), 6.99 (dd, 9.0, 1.0, 1H), 6.99 (dd, 9.0, 1.5, 1H), 4.69 (brs, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.41 (t, 7.0, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.42 (t, 7.0, 2H), 2.15 (s, 3H); FABMS (NBA) m / z 507 ($M - \text{CO}_2^+$), IR (neat) ν_{max} 3272, 1728, 1647, 1592, 1530, 1476, 1453, 1236, 1213, 1162, 1030, 909, 841, 807, 759, 733, 699 cm^{-1} .

【0219】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 5 g , 0 . 91 \text{ mmol}) のメタノール : テトラヒドロフラン = 1 : 1 溶液 (10 mL) へ、室温にて炭酸カリウム (0 . 13 g , 0 . 91 \text{ mmol}) を室温にて添加し、一晩中攪拌した。この反応混合物を AcOEt (100 mL) で希釈し、そして H_2O (20 mL) 、飽和水性 NaCl (20 mL) で洗浄し、次いで有機層を乾燥し (Na_2SO_4) 、そして減圧下において濃縮し、褐色泡沫として 2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 42 g , 9.4 %) を生成した：

【0220】

【数72】

10

20

30

40

mp 198 °C
 (decomp.) ; ^1H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 10.18 (s, 1H), 8.26 (d, 8.5, 1H), 7.97 (d, 8.5, 1H), 7.51 (t, 7.0, 1H), 7.43 (d, 8.5, 1H), 7.39 (d, 7.5, 2H), 7.33 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.28 (t, 7.5, 2H), 7.18 (t, 7.5, 1H), 7.11 (brs, 1H), 7.08 (d, 2.5, 1H), 6.91 (t, 6.0, 1H), 6.86 (dd, 9.0, 2.5, 1H), 6.81 (s, 1H), 5.35 (t, 4.5, 1H), 4.47 (d, 5.5, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.69 (m, 2H), 3.11 (t, 6.0, 2H) ; ; FABMS (NBA) m / z 465 (M - CO₂⁺), IR (neat) ν_{max} 3272, 2945, 2874, 1646, 1594, 1528, 1479, 1453, 1422, 1404, 1261, 1213, 1162, 1030, 841, 805, 758, 734, 699 cm⁻¹.

10

【0221】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 4 g , 0 . 78 mmol) およびトリエチルアミン (0 . 44 mL , 3 . 14 mmol) の THF (20 mL) 溶液へ、メタンスルホニルクロライド (0 . 24 mL , 3 . 14 mmol) を添加し (氷浴を用いる)、そして 1 h 攪拌した。この反応混合物を CH₂Cl₂ (50 mL) で希釈し、そして H₂O (10 mL) および飽和水性 NaCl (20 mL) で洗浄し、次いで有機層を乾燥 (Na₂SO₄) し、そして減圧下において濃縮した。その残渣をシリカゲルカラム (30 % AcOEt - 石油エーテル) によって精製し、黄色泡沫として 2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 28 g , 61 %) を生じた：

20

【0222】

【数73】

: mp 160 °C (decomp.) ; ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 9.09 (brs, 1H), 8.36 (brs, 1H), 7.89 (d, 9.0, 1H), 7.87 (d, 9.0, 1H), 7.57 (t, 8.5, 1H), 7.48 (d, 7.5, 2H), 7.40 (t, 7.5, 2H), 7.34 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.00 (d, 8.5, 1H), 7.00 (d, 9.0, 1H), 4.70 (brs, 2H), 4.61 (t, 6.0, 2H), 4.50 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.54 (t, 6.0, 2H), 2.84 (s, 3H) ; ; FABMS (NBA) m / z 543 (M - CO₂⁺), IR (neat) ν_{max} 3400, 1643, 1591, 1530, 1479, 1453, 1351, 1231, 1213, 1173, 1142, 1076, 1031, 974, 947, 841, 805, 761, 734, 699 cm⁻¹.

30

【0223】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 27 g , 0 . 46 mmol) の乾燥 DMF (3 mL) 溶液へ、LiCl (0 . 39 g , 9 . 19 mmol) を室温にて N₂ 雰囲気下において添加し、3日間攪拌した。この反応混合物を AcOEt (100 mL) で希釈し、H₂O (20 mL) および飽和水性 NaCl (5 mL) で洗浄し、次いで有機層を乾燥し (Na₂SO₄) 、減圧下において濃縮した。フラッショクロマトグラフィー (30 % AcOEt - 石油エーテル) によって、2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 16 g , 66 %) を黄色泡沫として得た：

40

【0224】

【数74】

mp 182 °C (decomp.) ; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.28 (brs, 1H), 8.55 (brs, 1H), 7.87 (d, 8.5, 2H), 7.55 (dt, 1.0, 7.5, 1H), 7.46 (d, 7.5, 2H), 7.39 (t, 7.5, 2H), 7.33 (t, 7.0, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.11 (d, 2.5, 1H), 6.98 (d, 9.0, 1H), 6.98 (d, 8.5, 1H), 4.68 (brs, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.00 (t, 6.5, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.57 (t, 6.5, 2H); FABMS (NBA) m / z 484 ($\text{M} - \text{CO}_2^+$); IR (neat) ν_{max} 3406, 3282, 1645, 1591, 1529, 1475, 1453, 1422, 1399, 1249, 1213, 1164, 1029, 758, 733, 701 cm^{-1} .

10

【0225】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (6.8 mg, 0.13 mol) の THF (10 mL) 溶液を 10 % Pd / C (100 mg) の冷 THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を、 H_2 霧囲気下において室温にて一晩中水素化した。この懸濁液を *Celite* 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。この残渣を、ジエチルエーテルを用いて結晶化し、 4 - (2 - クロロエチル) 3 - (5 - メトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフチルアミン (4.0 mg, 7.8 %) を白色固体として生成した：

【0226】

20

【数75】

mp 228 °C (decomp.); ^1H NMR (DMSO-d_6 , 500 MHz) δ 9.95 (s, 1H), 8.11 (d, 8.5, 1H), 7.96 (d, 8.0, 1H), 7.52 (t, 7.0, 1H), 7.41 (t, 7.0, 1H), 7.35 (d, 9.0, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.89 (d, 9.0, 1H), 6.67 (s, 1H), 5.83 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.73 (t, 8.0, 2H), 3.37 (t, 8.0, 2H); FABMS (NBA) m / z 394 ($\text{M} + \text{H}^+$); IR (nujol) ν_{max} 3296, 1652, 1592, 1533, 1462, 1260, 1094, 1020, 800 cm^{-1} .

【0227】

30

無水酢酸 (4.0 mL, 42.39 mmol) を、 2 - [4 - アミノ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] エタノール (3.3 g, 14.21 mmol) の乾燥ピリジン (33 mL) 溶液へ室温にて添加し、そして 2 h の間攪拌した。その混合物を Acet (100 mL) で希釈した。有機層を H_2O (30 mL) 、飽和水性 NaHCO_3 (30 mL) 、飽和水性 NaCl (30 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na_2SO_4) 、そして減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (33 % Acet - 石油エーテル) によって、 2 - [4 - アミノ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (1.0 g, 2.6 %) を橙色固体として得た。；

【0228】

【数76】

40

mp 108-110 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.33 (d, 8.5, 1H), 7.84 (dd, 8.0, 0.5, 1H), 7.70 (dt, 7.5, 0.5, 1H), 7.64 (dt, 8.5, 1.5, 1H), 7.11 (s, 1H), 4.44 (t, 8.0, 2H), 4.38 (brs, 2H), 3.49 (t, 8.0, 2H), 2.06 (d, 0.5, 3H); FABMS (NBA) m / z 274 (M^+), IR (neat) 3381, 1728, 1636, 1589, 1516, 1469, 1437, 1342, 1241, 1041, 754 cm^{-1} .

【0229】

ジ - t - ブチルジカルボナート (3.18 g, 14.57 mmol) を、 2 - [4 - アミ

50

ノ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (1.0 g, 3.65 mmol) の乾燥ピリジン (10 mL) 溶液へ室温にて添加し、そして一晩中攪拌した。その混合物を濃縮し、そして AcOEt (100 mL) で希釈した。有機層を H₂O (30 mL) および飽和水性 NaCl (30 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (25% AcOEt - 石油エーテル) によって、2-[4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (1.0 g, 73%) を黄色固体として得た。;

【0230】

【数77】

10

mp 122-124 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.40 (d, 8.0, 2H), 7.94 (d, 8.0, 1H), 7.73 (t, 7.0, 1H), 7.70 (t, 7.5, 1H), 7.00 (brs, 1H), 4.45 (t, 7.5, 2H), 3.55 (t, 7.5, 2H), 2.05 (s, 3H), 1.58 (s, 9H); FABMS (NBA) m/z 374 (M⁺), FABHR (NBA) m/z 374.1487 (M⁺, C₁₉H₂₂N₂O₆ requires 374.1478) IR (neat) 1735, 1598, 1527, 1367, 1342, 1234, 1156, 1040, 893, 760 cm⁻¹.

【0231】

2-[4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-ニトロナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (1.0 g, 2.67 mmol) の THF (40 mL) 溶液を 10% Pd-C (0.1 g) の冷THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を、55 psi において室温にて 1 時間水素化した (振とうしながら)。この懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮し、2-[2-アミノ-4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテートを橙色泡沫として得た。この化合物をジイソプロピルエーテルで洗浄し、淡黄色固体 (0.48 g, 52%) として与えた。;

【0232】

【数78】

20

: mp 138-140 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 7.86 (d, 9.0, 1H), 7.72 (d, 8.5, 1H), 7.56 (brs, 1H), 7.46 (t, 7.0, 1H), 7.27 (m, 1H), 6.85 (brs, 1H), 4.26 (t, 8.0, 2H), 4.22 (brs, 2H), 3.24 (t, 7.5, 2H), 2.10 (s, 3H), 1.56 (s, 9H); FABMS (NBA) m/z 344 (M⁺), IR (neat) ν_{max} 3379, 2977, 1727, 1626, 1534, 1504, 1456, 1391, 1367, 1238, 1158, 1043, 894, 758, 730 cm⁻¹.

1.

【0233】

2-[2-アミノ-4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0.23 g, 0.67 mmol) のピリジン (4 mL) 溶液へ、(2E)-3-[6-メトキシ(3-ピリジル)]プロプ (prop)-2-エノイックアシッド (0.18 g, 1.00 mmol)、1-ヒドロキシ-ベンゾトリアゾール (0.14 g, 1.00 mmol) および 1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミドハイドロクロライド (0.19 g, 1.00 mmol) を N₂ 霧囲気下にて室温において添加し、次いでこの混合物を 2 日間攪拌し、そして 60 °C にて 3 日間加温した。この反応混合物を AcOEt (50 mL) で希釈し、H₂O (10 mL) および飽和水性 NaCl (20 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮した。この残渣をジエチルエーテルで洗浄し、白色固体として 2-[4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(3-アザ-4-メトキシシンナモ

40

50

イルアミド)ナフタレン-1-イル]エチルアセテート(0.19g, 56%)を得た:
 【0234】
 【数79】

mp 208-212°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.62 (brs, 2H),
 8.38 (s, 1H), 7.95 (d, 8.0, 1H), 7.92 (d, 8.5, 1H), 7.87 (dd, 8.5, 2.5, 1H), 7.79 (d, 15.5, 1H),
 7.55 (t, 7.5, 1H), 7.49 (t, 7.5, 1H), 6.81 (m, 3H), 4.27 (t, 7.5, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.40 (t, 8.0,
 2H), 2.19 (s, 3H), 1.55(s, 9H); FABMS (NBA) m/z 506 ($M + H^+$), FABHR (NBA) m/
 z 506.2300 ($M + H^+$, $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_6$ requires 506.2291); IR (neat) ν_{max} 3256, 2980, 1736,
 1688, 1661, 1601, 1537, 1497, 1384, 1287, 1236, 1161, 1026, 830, 756, 732 cm⁻¹.

10

【0235】

2-[2-アミノ-4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)ナフタレン-1-イル]エチルアセテート(0.23g, 0.67 mmol)のピリジン(4 mL)溶液へ、(2E)-3-[2,6-ジメトキシ(3-ピリジル)]プロピ(prop)-2-エノイックアシッド(0.21g, 1.00 mmol)、1-ヒドロキシ-ベンゾトリアゾール(0.14g, 1.00 mmol)および1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミドハイドロクロライド(0.19g, 1.00 mmol)をN₂雰囲気下にて室温において添加し、次いでこの混合物を2日間攪拌し、そして60にて3日間加温した。この反応混合物をAcEt(50 mL)で希釈し、H₂O(10 mL)および飽和水性NaCl(20 mL)で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し(Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮した。この残渣をジエチルエーテルで洗浄し、白色固体として2-[4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(3-アザ-2,4-ジメトキシシンナモイルアミド)ナフタレン-1-イル]エチルアセテート(0.22g, 61%)を得た:

20

【0236】

【数80】

mp 228-230°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.56 (s br,
 1H), 8.45 (s br, 1H), 7.98 (d, 8.0, 1H), 7.91 (d, 8.0, 1H), 7.87 (d, 15.5, 1H), 7.75 (d, 8.0,
 1H), 7.54 (t, 7.0, 1H), 7.48 (t, 7.5, 1H), 6.94 (d, 15.5, 1H), 6.77 (brs, 1H), 6.37 (d, 8.0,
 1H), 4.30 (t, 8.0, 2H), 4.07 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.41 (t, 7.5, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.55(s, 9H);
 FABMS (NBA) m/z 536 ($M + H^+$), FABHR (NBA) m/z 536.2392 ($M + H^+$,
 $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_7$ requires 536.2397); IR (neat) ν_{max} 3252, 2979, 1736, 1688, 1656, 1620,
 1595, 1537, 1503, 1484, 1455, 1422, 1387, 1366, 1321, 1280, 1241, 1162, 1098, 1040, 1014,
 903, 812, 756, 732 cm⁻¹.

30

【0237】

2-[4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(3-アザ-4-メトキシンナモイルアミド)ナフタレン-1-イル]エチルアセテート(0.19g, 0.38 mmol)のメタノール(4 mL)およびテトラヒドロフラン(10 mL)溶液へ、炭酸カリウム(0.06g, 0.45 mmol)を室温にて添加し、一晩中攪拌した。この反応混合物をAcEt(100 mL)で希釈し、H₂O(20 mL)、飽和水性NaCl(20 mL)で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し(Na₂SO₄)、そして減圧下において濃縮し、2-[4-(N-t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-(3-アザ-4-メトキシンナモイルアミド)ナフタレン-1-イル]エタノールを淡褐色泡沫(0.17g, 50)

40

97%) を生成した :

【 0 2 3 8 】

【 数 8 1 】

mp 116-120°C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 9.21 (brs, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.83 (brs, 2H), 7.68 (d, 8.0, 1H), 7.54 (d, 15, 1H), 7.40 (m, 2H), 6.81 (brs, 1H), 6.72 (d, 8.5, 1H), 6.36 (d, 15.5, 1H), 4.02 (brs, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.25 (brs, 2H), 2.88 (brs, 1H), 1.55 (s, 9H); FABMS (NBA) m / z 464 (M + H⁺), IR (neat) ν_{max} 3271, 2979, 1694, 1662, 1601, 1538, 1497, 1384, 1311, 1288, 1231, 1160, 1026, 909, 830, 732 cm⁻¹.

10

【 0 2 3 9 】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 2 2 g , 0 . 4 1 mmol) のメタノール (4 mL) およびテトラヒドロフラン (1 0 mL) 溶液へ、炭酸カリウム (0 . 0 7 g , 0 . 4 9 mmol) を室温にて添加し、一晩中攪拌した。この反応混合物を AcOEt (1 0 0 mL) で希釈し、H₂O (2 0 mL) 、飽和水性 NaCl (2 0 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na₂SO₄) 、そして減圧下において濃縮し、淡褐色泡として 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 2 0 g , 9 9 %) を生成した :

【 0 2 4 0 】

【 数 8 2 】

mp 164-168 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.92 (brs, 1H), 8.27 (brs, 1H), 7.90 (d, 8.0, 1H), 7.80 (d, 15, 1H), 7.68 (d, 8.0, 1H), 7.47 (m, 2H), 6.73 (brs, 1H), 6.59 (d, 15.5, 1H), 6.33 (d, 8.0, 1H), 4.08 (brs, 2H), 4.03 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.33 (t, 5.5, 2H), 1.55 (s, 9H); FABMS (NBA) m / z 494 (M + H⁺), IR (neat) ν_{max} 3272, 1692, 1656, 1594, 1484, 1457, 1422, 1388, 1321, 1280, 1248, 1160, 1040, 1015, 761, 730 cm⁻¹.

20

30

【 0 2 4 1 】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 4 - メトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 1 6 g , 0 . 3 5 mmol) およびトリエチルアミン (0 . 2 mL , 1 . 4 3 mmol) の CH₂Cl₂ : THF = 1 : 1 (6 mL) 溶液へ、メタンスルホニルクロライド (0 . 1 mL , 1 . 2 9 mmol) を氷浴を用いて添加し、そして 1 h の間攪拌した。この反応混合物を AcOEt (5 0 mL) で希釈し、H₂O (1 0 mL) および飽和水性 NaCl (1 0 mL) で洗浄し、次いで有機層を乾燥し (Na₂SO₄) そして減圧下において濃縮した。その残渣をジエチルエーテルで洗浄し、白色固体として 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 4 - メトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 1 7 g , 9 0 %) を生成した :

【 0 2 4 2 】

【 数 8 3 】

40

mp

224°C (decomp.) ; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.34 (s, 1H), 8.29 (brs, 1H), 8.10 (brs, 1H), 7.92 (d, 8.0, 1H), 7.88 (d, 8.0, 1H), 7.84 (d, 8.5, 1H), 7.79 (d, 16.0, 1H), 7.56 (t, 7.0, 1H), 7.52 (t, 6.5, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.79 (d, 8.5, 1H), 6.65 (d, 15.5, 1H), 4.55 (t, 6.5, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.54 (t, 6.5, 2H), 2.94 (s, 3H), 1.56 (s, 9H) ; FABMS (NBA) m / z 542 (M + H⁺), IR (neat) ν_{max} 3248, 2980, 1688, 1660, 1626, 1601, 1532, 1497, 1384, 1356, 1288, 1249, 1229, 1173, 1023, 974, 953, 828, 756, 733 cm⁻¹.

10

【0243】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 17 g , 0 . 34 mmol) およびトリエチルアミン (0 . 2 mL , 1 . 43 mmol) の CH_2Cl_2 : THF = 1 : 1 (6 mL) 溶液へ、メタンスルホニルクロライド (0 . 1 mL , 1 . 29 mmol) を氷浴を用いて添加し、そして 1 h の間攪拌した。この反応混合物を AcOEt (50 mL) で希釈し、 H_2O (10 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄し、次いで有機層を乾燥し (Na_2SO_4) そして減圧下において濃縮した。その残渣をジエチルエーテルで洗浄し、黄色固体として 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 18 g , 93 %) を生成した：

20

【0244】

【数84】

mp 200 °C (decomp.) ; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.27 (s br, 1H), 7.91 (d, 8.5, 2H), 7.84 (d, 15.5, 1H), 7.72 (d, 8.0, 1H), 7.56 (t, 9.0, 1H), 7.51 (t, 7.5, 1H), 7.28 (m, 1H), 6.84 (s br, 1H), 6.79 (d, 15.5, 1H), 6.36 (d, 8.0, 1H), 4.55 (t, 6.5, 2H), 4.06 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 3.55 (t, 6.5, 2H), 2.92 (s, 3H), 1.55 (s, 9H) ; FABMS (NBA) m / z 572 (M + H⁺), IR (neat) ν_{max} 3388, 3246, 2980, 1688, 1656, 1594, 1532, 1485, 1457, 1422, 1388, 1355, 1321, 1280, 1249, 1226, 1173, 1098, 1040, 1014, 952, 814, 761, 725 cm⁻¹.

30

【0245】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 4 - メトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 15 g , 0 . 28 mmol) の乾燥 DMF (3 mL) 溶液へ、 LiCl (0 . 69 g , 16 . 28 mmol) を室温にて N_2 霧囲気下において添加し、そして 3 日間攪拌した。この反応混合物は H_2O (20 mL) を添加され、そしてその沈殿物が濾過された。この固体を MeOH で洗浄し、 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 4 - メトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 12 g , 91 %) を白色固体として得た：

40

【0246】

【数85】

mp 220 °C (decomp.) ; ^1H NMR
 (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.31 (s, 1H), 8.05 (brs, 1H), 7.89 (brs, 1H), 7.82 (d, 8.5, 1H), 7.72
 (m, 2H), 7.48 (m, 2H), 6.94 (s, 1H), 6.78 (d, 7.0, 1H), 6.58 (d, 16.0, 1H), 3.99 (s, 3H),
 3.74(brs, 2H), 3.49 (brs, 2H), 3.40 (brs, 1H), 1.57 (s, 9H); FABMS (NBA) m / z 482 (M
 + H⁺), FABHR (NBA) m / z 482.1841 (M + H⁺, C₂₆H₂₉ClN₃O₄ requires 482.1847); IR
 (neat) ν_{max} 3224, 2997, 1715, 1687, 1652, 1617, 1602, 1544, 1501, 1402, 1384, 1310, 1289,
 1242, 1165, 1024, 979, 831, 754, 734 cm⁻¹.

10

【 0 2 4 7 】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキ
 シシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 1 6 g
 , 0 . 2 8 mmol) の乾燥 DMF (3 mL) 溶液へ、 LiCl (0 . 7 2 g , 1 7 . 0
 0 mmol) を室温にて N₂ 霧囲気下において添加し、そして 4 日間攪拌した。その反応
 混合物は、 AcOEt (1 0 mL) および H₂O (2 0 mL) を添加され、そしてその沈
 残物が濾過され、 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ -
 2 , 4 - ジメトキシシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0
 . 1 2 g , 8 4 %) を白色固体として生成した。 :

20

【 0 2 4 8 】

【 数 8 6 】

mp 202 °C (decomp.) ; ^1H NMR
 (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.14 (brs, 1H), 7.93 (t, 7.5, 2H), 7.85 (d, 15.5, 1H), 7.72 (d, 8.5, 1H),
 7.69 (brs, 1H), 7.57 (t, 7.5, 1H), 7.53 (t, 8.0, 1H), 6.83 (brs, 1H), 6.68 (d, 15, 1H), 6.36 (d,
 7.5, 1H), 4.06 (brs, 3H), 3.97(s, 3H), 3.88 (t, 7.0, 2H), 3.57 (t, 7.0, 2H), 1.55 (s, 9H);
 FABMS (NBA) m / z 512 (M + H⁺), FABHR (NBA) m / z 512.1965 (M + H⁺,
 C₂₇H₃₁ClN₃O₅ requires 512.1952); IR (neat) ν_{max} 3219, 1688, 1656, 1621, 1594, 1541,
 1501, 1484, 1453, 1404, 1386, 1320, 1284, 1250, 1162, 1098, 1075, 1016, 810, 752 cm⁻¹.

30

【 0 2 4 9 】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 4 - メトキシシン
 ナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 1 2 g , 0 . 2 5 mm
 o l) の乾燥 CH₂Cl₂ (1 0 mL) 懸濁液へ、 AcOEt (3 mL , 9 mmol) 中の
 3 N HCl を室温にて添加し、そして生じる溶液を一晩中攪拌した。その沈殿物を濾過
 し、 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - アザ - 4 - メトキシシンナモイルアミド) -
 1 - ナフチルアミンジハイドロクロライド (0 . 1 1 g , 1 0 0 %) を淡黄色固体として
 生成した :

40

【 0 2 5 0 】

【 数 8 7 】

mp 230 °C (decomp.) ; ^1H

NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 10.20 (s, 1H), 8.45 (d, 2.5, 2H), 8.19 (d, 8.0, 1H), 8.08 (d, 8.0, 1H), 8.03 (dd, 8.5, 2.5, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.62 (d, 15.5, 1H), 7.05 (d, 15.5, 1H), 6.93 (d, 8.5, 1H), 5.27 (brs, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.81 (t, 8.5, 2H), 3.59 (t, 8.5, 2H); FABMS (NBA) m / z 382 (M + H⁺), FABHR (NBA) m / z 382.1334 (M + H⁺, C₂₁H₂₁ClN₃O₂ requires 382.1322); IR (nujol) ν_{max} 3370, 1671, 1636, 1606, 1556, 1511, 1461, 1377, 1329, 1233, 1186, 1008, 974, 839, 764, 721 cm⁻¹.

10

【 0 2 5 1 】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 1 2 g , 0 . 2 3 mmol) の乾燥 C₆H₅Cl₂ (1 0 mL) 懸濁液へ、 AcOEt (3 mL , 9 mmol) 中の 3 N HCl を室温にて添加し、そして生じる溶液を一晩中攪拌した。その沈殿物を濾過し、 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (3 - アザ - 2 , 4 - ジメトキシンナモイルアミド) - 1 - ナフチルアミンジハイドロクロライド (0 . 1 1 g , 9 7 %) を黄色固体として生成した。 :

【 0 2 5 2 】

【 数 8 8 】

20

mp 150-160 °C

(decomp.) ; ^1H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 9.93 (s, 1H), 8.13 (d, 8.5, 1H), 8.05 (d, 7.5, 1H), 7.95 (d, 8.5, 1H), 7.66 (d, 16.0, 1H), 7.66 (m, 1H), 7.60 (t, 7.0, 1H), 7.53 (brs, 1H), 6.97 (d, 16.0, 1H), 6.50 (d, 7.5, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.92 (m, 5H), 3.77 (t, 7.5, 2H), 3.52 (t, 8.0, 2H); FABMS (NBA) m / z 412 (M + H⁺), FABHR (NBA) m / z 412.1413 (M + H⁺, C₂₂H₂₃ClN₃O₃ requires 412.1428); IR (nujol) ν_{max} 1594, 1543, 1461, 1385, 1322, 1250, 1097, 1018, 751 cm⁻¹.

30

【 0 2 5 3 】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - アミノナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 3 g , 0 . 7 9 mmol) のピリジン (3 mL) 溶液へ、カルボン酸 (0 . 3 8 g , 1 . 1 9 mmol) , 1 - ヒドロキシ - ベンゾトリアゾール (0 . 1 6 g , 1 . 1 9 mmol) および 1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロビル] - 3 - エチルカルボジイミドハイドロクロライド (0 . 2 3 g , 1 . 1 9 mmol) を N₂ 霧囲気下において室温にて添加し、次いでその混合物を 3 日間攪拌した。この反応混合物へ 1 M HCl (1 0 mL) を添加し、次いでその沈殿物を濾過し、そして水および MeOH で洗浄し、淡褐色固体 2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 6 4 g , 定量的 (quant.)) を生成した：

40

【 0 2 5 4 】

【 数 8 9 】

mp 150-156 °C; ^1H NMR
 $(\text{CDCl}_3, 500 \text{ MHz}) \delta 9.52 (\text{s}, 1\text{H}), 8.74 (\text{s}, 1\text{H}), 8.44 (\text{s}, 1\text{H}), 8.31 (\text{s}, 1\text{H}), 7.97 (\text{d}, 8.5, 1\text{H}), 7.85 (\text{d}, 8.5, 1\text{H}), 7.72 (\text{d}, 8.0, 1\text{H}), 7.62 (\text{s}, 1\text{H}), 7.59 (\text{d}, 8.5, 1\text{H}), 7.55 (\text{t}, 7.5, 1\text{H}), 7.31-7.49 (\text{m}, 11\text{H}), 7.22 (\text{s}, 1\text{H}), 4.52 (\text{s}, 1\text{H}), 4.40 (\text{t}, 7.0, 2\text{H}), 3.49 (\text{s}, 2\text{H}), 3.42 (\text{t}, 7.0, 2\text{H}), 2.16 (\text{s}, 3\text{H}); \text{FABMS (NBA)} m/z (M - CO_2^+), \text{IR (neat)} \nu_{\text{max}} 3402, 1728, 1654, 1592, 1534, 1475, 1448, 1426, 1302, 1245, 1142, 1076, 1031, 881, 810, 739, 699 \text{ cm}^{-1}$.

10

【0255】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 64 g, 0 . 94 mmol) のメタノール : テトラヒドロフラン = 1 : 1 (40 mL) 溶液へ、室温にて炭酸カリウム (0 . 13 g, 0 . 94 mmol) を添加し、一晩中攪拌した。この沈殿物を濾過し、そして MeOH で洗浄し、2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 32 g, 53 %) を淡黄色固体として生成した：

【0256】

【数90】

mp 180-185 °C; ^1H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 8.26 (d, 8.5, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.97 (d, 8.5, 1H), 7.82 (d, 7.5, 1H), 7.74 (t, 8.0, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.49 (t, 7.5, 2H), 7.34-7.41 (m, 9H), 7.29 (t, 7.5, 2H), 7.19 (t, 7.0, 2H), 6.88 (brs, 1H), 4.47 (s, 2H), 3.96 (brs, 2H), 3.69 (brs, 2H); FABMS (NBA) m/z (M - CO₂⁺), IR (nujol) ν_{max} 3263, 1642, 1595, 1542, 1456, 1404, 1377, 1330, 1267, 1231, 1169, 1138, 1029, 872, 827, 805, 740, 704, 668 cm^{-1} .

20

30

【0257】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 3 g, 0 . 47 mmol) のピリジン (3 mL) 溶液へ、メタンスルホニルクロライド (0 . 15 mL, 1 . 88 mmol) を氷浴を用いながら添加し、そして 1 h の間攪拌した。この反応混合物を Acet (50 mL) で希釈し、次いでその有機層を 1 M HCl (10 mL) 、飽和水性 NaHCO₃ (10 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄した。この有機層を乾燥し (Na₂SO₄) 、そして減圧下において濃縮し、2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 32 g, 95 %) を褐色オイルとして生成した；

【0258】

【数91】

40

¹H NMR

(CDCl₃, 500 MHz) δ 9.33 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.90 (d, 9.0, 1H), 7.87 (d, 8.5, 1H), 7.71 (d, 8.5, 1H), 7.44-7.60 (m, 9H), 7.39 (t, 7.5, 2H), 7.22-7.35 (m, 4H), 7.12 (s, 1H), 4.60 (t, 6.5, 2H), 4.48 (s, 2H), 3.54 (t, 6.0, 2H), 2.88 (s, 3H); FABMS (NBA) m / z (M - CO₂⁺), IR (neat) ν_{max} 3202, 1639, 1590, 1536, 1404, 1351, 1258, 1231, 1171, 1076, 1045, 969, 947, 748 cm⁻¹.

10

【0259】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0 . 3 g , 0 . 4 2 mmol) の乾燥 DMF (6 mL) 溶液へ、 LiCl (0 . 35 g , 8 . 37 mmol) を室温にて N₂ 霧囲気下において添加し、そして 3 日間攪拌した。この反応混合物を AcOEt (100 mL) で希釈し、 H₂O (20 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄し、そしてその有機層を乾燥し (Na₂SO₄) 、さらに減圧下において濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (30 % AcOEt - 石油エーテル) によって、 2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (84 mg , 30 %) を黄色固体として生成した。 :

【0260】

【数92】

mp 180 °C (decomp.); ¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 10.43 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.31 (d, 8.5, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.00 (d, 8.5, 1H), 7.82 (d, 8.0, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.72 (d, 8.5, 1H), 7.58 (t, 8.5, 2H), 7.49 (t, 7.0, 2H), 7.43 (d, 8.5, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.37 (d, 7.0, 2H), 7.28 (t, 8.0, 2H), 7.20 (d, 7.0, 1H), 7.06 (t, 5.5, 1H), 6.37 (s, 1H), 4.48 (d, 5.5, 2H), 3.74 (t, 7.5, 2H), 3.33 (t, 7.5, 2H); FABMS (NBA) m / z (M - CO₂⁺); IR (nujol) ν_{max} 3365, 3206, 3022, 1609, 1639, 1516, 1406, 1403, 1260, 748 cm⁻¹.

20

【0261】

2 - [4 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (70 mg , 0 . 11 mmol) の THF (10 mL) 溶液を 10 % Pd / C (50 mg) の冷 THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を、 H₂ 霧囲気下において室温にて一晩中水素化した。この懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。この残渣をジエチルエーテルで結晶化し、 4 - (2 - クロロエチル) - 3 - [5 - (5 - ベンゾフラン - 2 - カルボキサミド) インドール - 2 - カルボキサミド] - 1 - ナフチルアミン (16 mg , 29 %) を淡黄色固体として生成した：

30

【0262】

【数93】

40

mp 216 °C (decomp.); ^1H NMR
 (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 10.44 (s, 1H), 10.01 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.11 (d, 8.5, 1H), 7.97
 (d, 8.5, 1H), 7.83 (d, 7.5, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.72 (d, 8.5, 1H), 7.58 (dd, 2.0, 8.5, 1H), 7.53
 (t, 8.0, 1H), 7.50 (t, 7.5, 1H), 7.35-7.46 (m, 5H), 6.68 (s, 1H), 5.83 (brs, 1H), 3.75 (t, 7.5,
 2H), 3.38 (t, 7.5, 2H); FABMS (NBA) m / z (M + H⁺); IR (nujol) ν_{max} 3434, 1707,
 1593, 1534, 1462, 1378, 1260, 1122, 1074, 1022, 953, 914, 861, 801, 743 cm⁻¹.

10

【0263】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - アミノナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (1 . 5 g , 7 . 2 4 mmol) のピリジン (3 0 mL) 溶液へ、 5 - ニトロ - 2 - ベンゾフランカルボン酸 (2 . 2 5 g , 1 0 . 8 6 mmol), N , N - ジイソプロピルエチルアミン (1 . 9 mL), 1 - ヒドロキシ - ベンゾトリアゾール (1 . 4 7 g , 1 0 . 8 6 mmol) および 1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドハイドロクロライド (2 . 0 8 g , 1 0 . 8 6 mmol) を N₂ 霧囲気下において室温にて添加し、そしてこの混合物を 2 日間攪拌し、さらに 6 0 ℃ で 3 日間加温した。この反応混合物を濃縮し、そしてその残渣へ H₂O (5 0 mL) を添加した。沈殿物を濾過し、淡褐色固体として 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (2 . 1 g , 5 4 %) を生成した：

【0264】

【数94】

mp 199-200°C; ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 10.63 (s, 1H), 9.32
 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.38 (d, 9.0, 1H), 8.20 (d, 8.0, 1H), 8.12 (d, 8.0, 1H), 7.98 (s, 2H),
 7.62 (s, 2H), 7.57 (t, 7.5, 1H), 4.22 (t, 6.5, 2H), 1.92 (d, 2.0, 3H), 1.49 (d, 2.0, 9H);
 TOFMS 534 (M + H⁺), TOFHR m / z 534.1864 (M + H⁺, C₂₈H₂₈N₃O₈ requires 30
 534.1876); IR (neat) ν_{max} 3285, 3102, 2977, 2873, 1731, 1683, 1622, 1598, 1530, 1498,
 1446, 1392, 1366, 1345, 1274, 1235, 1159, 1069, 1044, 1004, 953, 896, 824, 804, 750, 731,
 684 cm⁻¹.

20

【0265】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (2 . 1 g , 3 . 9 4 mmol) のメタノール (4 0 mL) およびテトラヒドロフラン (4 0 mL) 溶液へ、炭酸カリウム (0 . 6 5 g , 4 . 7 2 mmol) を室温にて添加し、一晩中攪拌した。この反応混合物を濾過し、そしてその濾液をエバポレートした。この残渣をシリカ - ゲルカラム A c O E t / 石油エーテル = 1 / 2 によって精製し、淡褐色固体として 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (0 . 7 g , 3 6 %) を生成した：

【0266】

【数95】

40

mp 200 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 10.25 (s, 1H), 8.51 (d, 2.0, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.32 (dd, 2.0, 9.0, 1H), 7.89 (d, 8.5, 1H), 7.81 (d, 8.5, 1H), 7.60 (d, 9.0, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.49 (d, 7.0, 1H), 7.46 (d, 8.0, 1H), 6.78 (s, 1H), 4.15 (brs, 2H), 3.49 (dq, 3.0, 7.0, 2H), 2.75 (s, 1H), 1.58 (s, 9H); TOFMS 492 ($M + H^+$); IR (neat) ν_{max} 3295, 1670, 1601, 1527, 1498, 1392, 1344, 1277, 1238, 1158, 1070, 894, 821, 732, 684, 668 cm^{-1} .

【0267】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (1 . 5 g , 3 . 0 5 mmol) およびトリエチルアミン (0 . 8 5 mL , 6 . 1 0 mmol) の THF (3 0 mL) 溶液へメタンスルホニルクロライド (0 . 5 mL , 6 . 4 7 mmol) を添加し (氷浴を用いて) 、そして 0 . 5 h の間攪拌した。この反応混合物を AcOEt (5 0 mL) で希釈し、そして H_2O (1 0 mL) および飽和水性 NaCl (1 0 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na_2SO_4) 、さらに減圧下において濃縮し、黒色オイルとして 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (1 . 8 g , 定量的 (quant)) を生成した；

【0268】

【数96】

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.91 (s, 1H), 8.67 (t, 2.0, 1H), 8.40 (t, 2.0, 1H), 8.38 (t, 2.0, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.96 (t, 8.5, 2H), 7.79 (d, 9.0, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.62 (t, 7.5, 1H), 7.58 (t, 7.0, 1H), 6.96 (s, 1H), 4.62 (t, 6.0, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.61 (t, 5.0, 2H), 1.56 (d, 2.5, 9H); TOFMS 570 ($M + H^+$); IR (neat) ν_{max} 2979, 1719, 1623, 1597, 1528, 1498, 1346, 1274, 1232, 1173, 1070, 952, 898, 822, 749, 684, 668 cm^{-1} .

【0269】

2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (1 . 8 g , 3 . 0 5 mmol) の乾燥 DMF (6 0 mL) 溶液へ LiCl (5 . 1 7 g , 0 . 1 2 mol) を室温にて N_2 露囲気下において添加し、そして 3 日間攪拌した。この反応混合物は H_2O (2 0 mL) を添加され、その沈殿物は濾過され、 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 5 2 g , 混合物) を生成した。 THF (1 0 mL) 中の 2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - ニトロベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (0 . 5 2 g , 混合物) を、 1 0 % Pd - C (0 . 5 g) の冷 THF (1 0 mL) 懸濁液へ添加し、その懸濁液を 5 5 ps i において室温にて 1 時間水素化した (振とうしながら)。その懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮した。この残渣を MeOH で洗浄し、白色固体として生成した (2 - [4 - (N - t - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - (5 - アミノベンゾフラン - 2 - カルボザミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライドから 5 . 5 % 、 8 0 mg)。

【0270】

【数97】

mp 240 °C (decomp.); ^1H NMR

(CDCl_3 , 500 MHz) δ 10.35 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.12 (t, 10.0, 2H), 7.62 (t, 7.5, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.56 (t, 8.5, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.38 (d, 9.0, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.81 (d, 9.0, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.82 (t, 7.5, 2H), 3.51 (t, 7.5, 2H); TOFMS 480 ($M + H^+$); IR (neat) ν_{\max} 3369, 2962, 2927, 2865, 1718, 1624, 1580, 1540, 1500, 1466, 1394, 1366, 1237, 1259, 860, 756, 668 cm^{-1} .

【0271】

10

実施例 1 1

アキラル sec - CBI アナログの合成

4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフトールの調製

35% H_2SO_4 (50 mL) へエチル 2 - [4 - アミノ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] アセテート (1.0 g, 3.65 mmol) を室温にて添加し、そして一晩中攪拌し、塩を完全に作製した。この懸濁液へ + 3 以下の冷却水 (1 mL) の NaNO_2 (0.33 g, 4.74 mmol) の溶液を添加し、そしてその混合物を 5 分間攪拌した。尿素のわずかな結晶をこの混合物へ添加し、すべての過剰な NaNO_2 を分解した。この氷冷混合物へ + 10 以下の $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (14.09 g, 58.33 mmol) 水溶液 (総体積は 140 mL である) を添加した。勢い良く攪拌しながら、この混合物へ Cu_2O (0.48 g, 3.35 mmol) を添加し、3 h の間攪拌した。

【0272】

20

この混合物を AcEt (200 mL) で抽出した。有機層を水 (50 mL) および飽和水性 NaCl (50 mL) で洗浄し、次いで乾燥し (Na_2SO_4)、そしてエバポレートした。この残渣をシリカゲルカラム (AcEt : 石油エーテル = 1 : 6) によって精製し、エチル 2 - [4 - ヒドロキシ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] アセテート (0.42 g, 42%) を黄色固体として生成した。

【0273】

【数98】

30

Mp 96-100 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 7.99 (d, 8.5, 1H), 7.86 (d, 8.0, 1H), 7.66 (t, 7.0, 1H), 7.55 (t, 7.5, 1H), 6.90 (s, 1H), 4.34 (q, 7.0, 2H), 4.29 (s, 2H), 1.38 (t, 7.5, 3H); IR (neat) ν_{\max} 3351, 2983, 1708, 1595, 1517, 1430, 1374, 1338, 1251, 1215, 1156, 1081, 1023, 847, 772, 757 cm^{-1} .

【0274】

無水 K_2CO_3 (0.50 g, 3.68 mmol) をエチル 2 - [4 - ヒドロキシ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] アセテート (0.42 g, 1.53 mmol) および臭化ベンジル (0.44 mL, 3.68 mmol) のアセトン (4 mL) 溶液へ室温にて添加し、その混合物を一晩中攪拌した。この反応混合物を濾過し、そしてその濾液を濃縮した。その残渣を AcEt (50 mL) で希釈し、そしてその混合物へ N - メチルピペラジン (3 mL) を添加し、すべての過剰な臭化ベンジルを取り除いた。この混合物を水 (10 mL)、1 M HCl (10 mL)、飽和水性 NaHCO_3 (10 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄し、次いで乾燥し (Na_2SO_4)、さらにエバポレートし、エチル 2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] アセテート (0.35 g, 63%) を黄色固体として生成した。

40

【0275】

【数99】

50

Mp 128-130 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.44 (dd, 0.5, 8.0, 1H), 8.10 (d, 8.5, 1H), 7.71 (t, 7.0, 1H), 7.66 (t, 7.0, 1H), 7.54 (d, 7.0, 2H), 7.46 (t, 7.5, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.40 (t, 7.0, 1H), 5.32 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 4.21 (q, 7.0, 2H), 1.27 (t, 7.0, 3H); EIMS m / z 365 (M^+); IR (neat) ν_{max} 2980, 1725, 1592, 1524, 1512, 1469, 1451, 1426, 1371, 1331, 1252, 1202, 1159, 1111, 1022, 842, 770, 756, 724, 690 cm^{-1} .

【0276】

DIBAL-H (1.0 M, 3.84 mL, 3.84 mmol) をエチル 2-[4-ベンジルオキシ-2-ニトロナフタレン-1-イル]アセテート (0.35 g, 0.96 mmol) の THF (4 mL) 溶液へ N_2 霧囲気下において 0 にてゆっくり添加し、そして 15 分間攪拌した。この混合物を冷 1N HCl (10 mL) へゆっくり注ぎ込み、そしてその混合物を AcEt (50 mL) で抽出した。有機層を 1M HCl (10 mL) 、飽和水性 NaHCO_3 (10 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na_2SO_4) 、さらにエバポレートし、2-[4-ベンジルオキシ-2-ニトロナフタレン-1-イル]エタノール (0.33 g, 定量的 (quant.)) を暗褐色固体として生成した。

【0277】

【数100】

Mp 82-90 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.43 (d, 8.5, 1H), 8.25 (d, 9.0, 1H), 7.71 (t, 7.0, 1H), 7.65 (t, 7.0, 1H), 7.54 (d, 8.0, 2H), 7.45 (t, 7.5, 2H), 7.40 (t, 7.0, 1H), 7.19 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.08 (t, 6.5, 2H), 3.49 (t, 6.5, 2H); EIMS m / z 323 (M^+); IR (neat) ν_{max} 3368, 2929, 1593, 1526, 1513, 1463, 1423, 1363, 1337, 1271, 1240, 1161, 1103, 1039, 829, 755, 697 cm^{-1} .

【0278】

無水酢酸 (0.35 mL, 3.71 mmol) を 2-[4-ベンジルオキシ-2-ニトロナフタレン-1-イル]エタノール ((0.3 g, 0.93 mmol) の乾燥ピリジン (3 mL) 溶液へ室温において添加し、一晩中攪拌した。この混合物を濃縮し、そして AcEt (50 mL) 中に溶解した。この有機層を 1M HCl (10 mL) 、飽和水性 NaHCO_3 (10 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄し、次いでこの有機層を乾燥し (Na_2SO_4) 、さらに濃縮した。この残渣をシリカ-ゲルカラム (AcEt : 石油エーテル = 1 : 6) によって精製し、2-[4-ベンジルオキシ-2-ニトロナフタレン-1-イル]エチルアセテート ((0.21 g, 62 %) を黄色固体として生成した。

【0279】

【数101】

Mp 82-87 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 8.43 (d, 8.5, 1H), 8.33 (d, 8.5, 1H), 7.33 (dt, 1.0, 7.5, 1H), 7.66 (dt, 1.0, 7.0, 1H), 7.54 (d, 7.5, 2H), 7.45 (t, 7.5, 2H), 7.40 (t, 7.0, 1H), 7.28 (s, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.47 (t, 7.0, 2H), 3.55 (t, 7.0, 2H), 2.06 (s, 3H); EIMS m / z 388 ($\text{M} + \text{Na}^+$); IR (neat) ν_{max} 1738, 1593, 1527, 1514, 1466, 1424, 1365, 1337, 1235, 1104, 1043, 770, 752, 698 cm^{-1} .

【0280】

10

20

30

40

50

2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - ニトロナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 2 g , 0 . 5 5 mmol) の T H F (3 0 mL) 溶液を、 P t O₂ (1 0 0 mg) の T H F (1 0 mL) 懸濁液へ添加し、そしてその懸濁液を 5 5 p s i にて室温において 1 h の間水素化した (振とうしながら)。この懸濁液を C e l i t e 上で濾過し、そしてその濾液を減圧下において濃縮し、2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - アミノナフタレン - 1 - イル] エチルアセテートを褐色固体 (0 . 1 8 g , 9 7 . 5 8 %) として生成した。

【 0 2 8 1 】

【 数 1 0 2 】

Mp 76-82 °C; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 8.24 (d, 8.0, 1H), 7.80 (d, 8.5, 1H), 7.22-7.53 (m, 7H), 6.41(s, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.25 (t, 8.0, 2H), 3.21 (t, 8.0, 2H), 2.11 (s, 3H); EIMS m / z 335 (M⁺); IR (neat) ν_{max} 3378, 2927, 1731, 1624, 1600, 1516, 1454, 1410, 1366, 1239, 1158, 1133, 1028, 827, 759, 698 cm⁻¹.

10

【 0 2 8 2 】

2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - アミノナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 1 6 g , 0 . 4 8 mmol) のピリジン (3 mL) 溶液へ、5 , 6 , 7 - トリメトキシ - 2 - カルボン酸 (0 . 1 8 g , 0 . 7 2 mmol) 、1 - ヒドロキシ - ベンゾトリニアゾール (0 . 1 0 g , 0 . 7 2 mmol) および 1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドハイドロクロライド (0 . 2 7 g , 1 . 4 3 mmol) を N₂ 霧囲気下において室温にて添加し、次いでこの混合物を 3 日間攪拌し、さらに 2 日間加温した。この反応混合物を A c O E t (5 0 mL) で希釈し、そして 1 0 % H C l (1 0 mL) 、飽和水性 Na H C O₃ (1 0 mL) 、飽和水性 Na C l (1 0 mL) で洗浄し、乾燥し (Na₂S O₄) 、減圧下において濃縮した。この残渣をシリカゲルカラム (A c O E t : 石油エーテル = 1 : 4) によって精製し、橙色泡沫として 2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 1 0 g , 3 7 %) を生成した：

【 0 2 8 3 】

【 数 1 0 3 】

20

30

mp 55-65 °C; ¹H NMR

(CDCl₃, 500 MHz) δ 9.40 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.39 (d, 8.0, 1H), 7.93(d, 8.5, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.71 (dd, 3.5, 5.5, 1H), 7.57 (d, 7.5, 2H), 7.54 (dd, 3.5, 5.8, 1H), 7.44 (t, 7.5, 2H), 7.37 (t, 7.5, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 5.31 (s, 2H), 4.42 (t, 7.0, 2H), 4.10 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.44 (t, 7.0, 2H), 2.17 (s, 3H); FABMS (NBA) m / z 569 (M + H⁺), FABHR (NBA) m / z 568.2204 (M + H⁺, C₃₃H₃₂N₂O₇ requires 568.2210); IR (neat) ν_{max} 3293, 2963, 2933, 1731, 1634, 1593, 1538, 1503, 1465, 1409, 1370, 1306, 1239, 1111, 1075, 1048, 999, 909, 832, 761, 736, 699 cm⁻¹.

40

【 0 2 8 4 】

2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルアセテート (0 . 1 0 g , 0 . 1 8 mmol) の M e O H (2 mL) 溶液へ、炭酸カリウム (2 9 . 1 5 mg , 0 . 2 1 mmol) を室温にて添加し、そして一晩中攪拌した。この反応混合物を A c O E t (5 0 mL) で希釈し、そして H₂O (1 0 mL) 、飽和水性 Na C l (2 0 mL) で洗浄し、次いでその有機層を乾燥し (Na₂S O₄) 、減圧下において濃縮し、黄色オイルとして 2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレ

50

ン - 1 - イル] エタノール (82 mg, 87%) を生成した。;

【0285】

【数104】

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 9.96 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 8.39 (d, 8.0, 1H), 7.85 (d, 8.5, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.71 (dd, 3.5, 5.8, 1H), 7.57 (d, 7.5, 2H), 7.53 (m, 1H), 7.43 (t, 7.5, 2H), 7.36 (t, 7.0, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.21 (t, 6.0, 2H), 4.08 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.37 (t, 5.0, 2H); EIMS m / z 527 (M + H⁺); IR (neat) ν_{max} 3272, 2932, 1726, 1644, 1594, 1540, 1505, 1464, 1409, 1370, 1263, 1236, 1127, 1103, 1049, 997, 831, 760, 701 cm⁻¹.

10

【0286】

2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エタノール (80 mg, 0.15 mmol) およびトリエチルアミン (0.09 mL, 0.61 mmol) の CH₂Cl₂ (2 mL) 溶液へ、メタンスルホニルクロライド (0.05 mL, 0.61 mmol) を添加し (氷浴を用いて)、次いでこの混合物を 1 h の間攪拌した。この反応混合物を CH₂Cl₂ (50 mL) で希釈し、次いで H₂O (10 mL) および飽和水性 NaCl (20 mL) で洗浄し、次いで有機層を乾燥し (Na₂SO₄)、さらに減圧下において濃縮し、褐色オイルとして 2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0.11 g, 定量的 (quant)) を生成した。;

20

【0287】

【数105】

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 9.24 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.41 (d, 8.0, 1H), 7.85 (d, 8.5, 1H), 7.71 (dd, 3.5, 5.5, 1H), 7.60 (t, 7.0, 1H), 7.48-7.56 (m, 3H), 7.44 (t, 8.0, 2H), 7.37 (t, 7.5, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 5.28 (s, 2H), 4.63 (t, 6.5, 2H), 4.09 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.56 (t, 6.5, 2H), 2.86 (s, 3H); EIMS m / z 509 (M - CH₃SO₃H⁺); IR (neat) ν_{max} 3330, 3099, 2933, 2874, 1725, 1649, 1592, 1537, 1502, 1466, 1411, 1369, 1306, 1238, 1174, 1127, 1076, 1048, 998, 972, 951, 833, 796, 751, 702 cm⁻¹.

30

【0288】

2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルメタンスルホネート (0.11 g, 0.17 mmol) の乾燥 DMF (2 mL) 溶液へ LiCl (0.29 g, 6.94 mmol) を室温にて N₂ 霧囲気下において添加し、3日間攪拌した。この反応混合物を AcOEt (100 mL) で希釈し、H₂O (20 mL) および飽和水性 NaCl (10 mL) で洗浄し、次いで乾燥し (Na₂SO₄) さらに減圧下において濃縮した。この残渣をシリカゲルカラム (AcOEt : 石油エーテル = 1 : 4) によって精製し、白色固体として 2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5, 6, 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (75 mg, 81%) を生成した；

40

【0289】

【数106】

mp 180-184 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.23 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.42 (d, 7.5, 1H), 7.84 (d, 8.5, 1H), 7.53-7.60 (m, 4H), 7.49 (t, 8.0, 1H), 7.44 (t, 7.0, 2H), 7.38 (t, 7.5, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 5.29 (s, 2H), 4.10 (s, 3H), 4.05 (t, 6.0, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.60 (t, 6.0, 2H); EIMS m / z 545 (M^+); IR (neat) ν_{max} 3271, 2932, 1722, 1634, 1592, 1537, 1503, 1464, 1409, 1370, 1306, 1258, 1237, 1111, 1076, 1050, 998, 910, 830, 761, 736, 700 cm^{-1} .

10

【0290】

2 - [4 - ベンジルオキシ - 2 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) ナフタレン - 1 - イル] エチルクロライド (70 mg , 0 . 13 mmol) の THF (10 mL) 溶液を 10 % Pd / C (50 mg) の冷 THF (10 mL) 懸濁液へ添加し、そしてこの懸濁液を H_2 霧囲気下において室温にて一晩中水素化した。この懸濁液を Celite 上で濾過し、そしてその濾液を減圧にて濃縮した。この残渣をジエチルエーテルで結晶化し、4 - (2 - クロロエチル) - 3 - (5 , 6 , 7 - トリメトキシインドール - 2 - カルボキサミド) - 1 - ナフトール (54 mg , 91 %) を白色固体として生成した。：

【0291】

20

【数107】

mp 212 °C (decomp.); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 9.55 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.33 (d, 8.0, 1H), 7.82 (d, 8.5, 1H), 7.78 (brs, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.57 (t, 7.0, 1H), 7.48 (t, 7.5, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.13 (s, 3H), 4.06 (t, 6.0, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.61 (t, 6.0, 2H); FABMS (NBA) m / z 455 ($\text{M} + \text{H}^+$), FABHR (NBA) m / z 454.1290 ($\text{M} + \text{H}^+$, $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_5$ requires 454.1296); IR (neat) ν_{max} 3416, 3193, 3149, 2936, 1621, 1592, 1524, 1435, 1411, 1383, 1328, 1267, 1244, 1197, 1126, 1096, 1054, 852, 821, 758, 743 cm^{-1} .

30

【0292】

実施例 1 2

ヒト慢性骨髄性白血病細胞における細胞毒性研究

培養物中のガン細胞の増殖に対する本発明の化合物の細胞毒性を研究し、そしてその結果をテーブル 1 において提供する。細胞毒性を、MTT テトラゾリウム染色アッセイ (42) を使用して測定した。K562 ヒト慢性骨髄性白血病細胞を、10 % ウシ胎児血清および 2 mM グルタミンを補足した RPMI 1640 培地において、37 °C にて、5 % CO_2 を含む湿潤霧囲気において維持し、そして特定用量の薬物と共に、1 時間または連続的に 3 日間、37 °C にて暗所中でインキュベートした。このインキュベーションを遠心分離 (5 分間、300 g) によって終了し、そしてこの細胞を、薬物を含まない (drug-free) 培地で 1 回洗浄した。適切な薬物処理の後に、この細胞を 96 - ウエルマイクロタイタープレートへ移した (1 ウエル当たり 10^4 細胞、1 サンプル当たり 8 ウエル)。次いでプレートを、5 % CO_2 を含む湿潤霧囲気において 37 °C にて暗所中で保った。このアッセイは、生存細胞の黄色可溶性テトラゾリウム塩 (3 - 4 , 5 - ジメチルチアゾール - 2 , 5 - ジフェニルテトラゾリウムプロマイド (MTT, Sigma Chemical Co.)) を不溶性紫色ホルマザン沈殿物へ還元する能力に基づく。このプレートの 4 日間のインキュベーション後 (コントロール細胞を数において 10 倍増加させるため)、20 μL の 5 mg / mL の MTT のリン酸緩衝生理食塩水溶液を各ウェルへ添加し

40

50

、そしてそのプレートをさらに5時間インキュベートした。次いでこのプレートを5分間300gで遠心分離し、そして1ウェル当たり10-20μLを残して、培地の大部分を細胞ペレットからピペットで取った(pipetted)。200μL DMSOを各ウェルへ添加し、そして完全な混合を確実にするために、そのサンプルをかき混ぜた(aggregate)。次いで光学密度はタイターテックマルチスキャン(Titertek Multiscan)ELISAプレートリーダー上の550nmの波長で読み取られ、さらにその用量・応答曲線が作成された。各曲線について、最終光学密度をコントロール値の50%まで減少させるのに必要とされる用量として、IC₅₀値を読み取った。

【0293】

テーブル1 本発明の化合物についてのK562細胞に対する
in-vitro細胞毒性データ IC₅₀(μM)

【0294】

【表5】

化合物	1時間暴露	連続的暴露(3日間)	
1	12.1±1.8	1.47±0.8	
2	23.8±9.7	1.6±0.9	
3	8.76±3.8	0.37±0.15	
6	>30	測定されず	20
7	>100	3.64±0.05	
8	36.9	1.81	
9	14.9±7.3	2.7±1.1	
10	19.0±3.8	2.6±0.9	
11	12.6±3.1	1.5±0.34	
12	13.1±5.9	1.4±0.05	
13	24.4±21.1	1.75±0.35	
14	29.1±14.6	2.03±0.84	30
16	>30	1.97±1.0	
22	0.31±0.22	0.25±0.096	
24		1.30±0.3	
25	0.018	0.045	
26	0.017	0.15	

【0295】

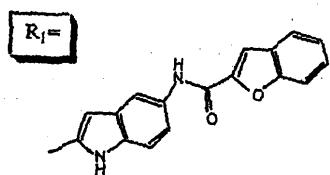
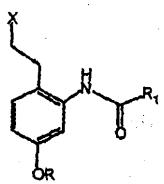
【化11】

10

20

30

40

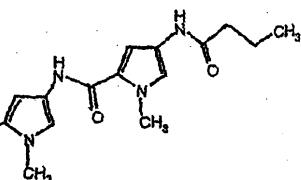


$X = Cl, R = H, 1$
 $X = Br, R = H, 2$
 $X = Cl, R = 4\text{-nitrobenzylidene}-$
 カルボナート, 13

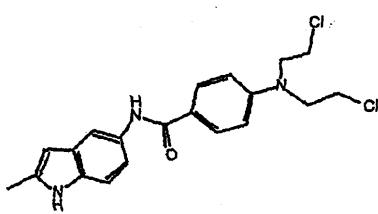
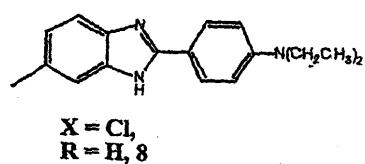
$X = Cl, R = N\text{-methyl-}N\text{-phenyl-}$
 カルボマート, 14

$X = Cl, R = H, 3$
 $X = Br, R = H, 4$
 $X = I, R = H, 5$

$X = Cl, R = H, 6$
 $X = Br, R = H, 7$
 $X = Br, R = 4\text{-nitrobenzylidene}-$
 カルボナート, 15

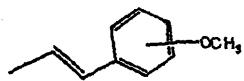


10

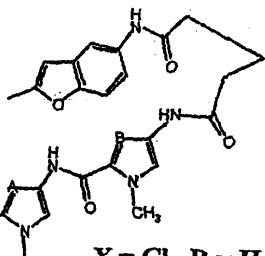


20

$X = Cl, R = 4\text{-nitrobenzylidene}-$
 カルボナート, 16



$X = Cl, R = H, o\text{-OMe}, 10$
 $X = Br, R = H, m\text{-OMe}, 11$
 $X = I, R = H, p\text{-OMe}, 12$

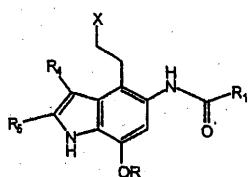


30

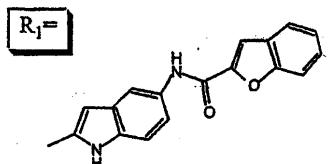
$X = Cl, R = H, A=B=CH, 17$
 $X = Cl, R = H, A=CH, B=N, 18$
 $X = I, R = H, A=N, B=CH, 19$

【0296】

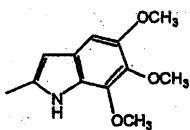
【化12】



一般クラス III

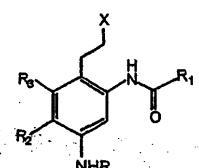


$X = Cl, R = H, R_4 = R_5 = CO_2CH_3, 20$
 $X = Cl, R = H, R_4 = CO_2CH_3, R_5 = CF_3, 21$



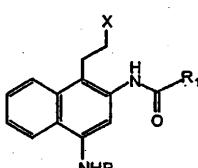
10

$X = Cl, R = H, R_4 = R_5 = CO_2CH_3, 22$
 $X = Cl, R = H, R_4 = CO_2CH_3, R_5 = CF_3, 23$



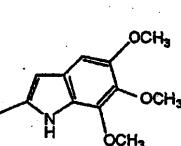
一般クラス II

$X = Cl, R = R_2 = R_3 = H$
 24

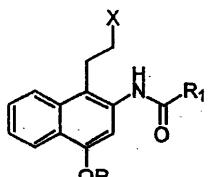


一般クラス IV

$X = Cl, R = H$
 25



20



一般クラス V

$X = Cl, R = H$
 26

30

【0297】

細胞毒性研究からの結果は、培養物中のヒト白血病細胞の増殖を阻害することにおいて本発明の化合物が有意な活性を有することを示す。このデータはまた、細胞の上記薬物への長引く暴露が活性にいくらかの増強を導くことを実証する。

【0298】

実施例 13

ヒト結腸 (colon)、前立腺、および乳ガン細胞における細胞毒性研究

ヒト結腸腺癌細胞系 (LS 174T) を European Collection of Animal Cell Cultures, CAMR, Porton Down, U.K. から入手した。LS 174T 細胞を、1% 非必須アミノ酸、10% 熱不活性型ウシ胎児血清、2 mM L-グルタミン、50 IU/ml ペニシリン、50 mg/ml ストレプトマイシンで補足した Eagle's MEMにおいて、37℃にて、5% CO₂、95% 空気 - 湿潤インキュベーター中で、慣用的な手順によって培養した。細胞を 96 - ウエルマイクロタイプレート中に 1000 細胞 / ウエルの密度でシーディングした (seeded)。実験期間を通してコンロトールウェルにおける指標関数的な増殖を確実にするため、またスルホローダミン B (SRB) アッセイ (43) により分析する際に 492 nm における吸光度と細胞数との間の直線関係を得るために、最適なシーディング濃度 (seeding density) を決定した。シーディングの 24 時間

40

50

後、細胞を、1時間または連続的に3日間薬物（濃度範囲0.01～500μM）と共にインキュベートした。細胞を1回洗浄し、次いで薬物を含まない（drug free）培地の中で6日間インキュベートした。インキュベーションの終了時に、細胞増殖をSRBアッセイ（これは、生存細胞を、それらの総細胞タンパク質含有量を測定することによって定量する）によって測定した。IC₅₀（in-vitroにおいて50%の生存を与える薬物の濃度）は、阻害のパーセンテージ対10gモル薬物濃度をプロットすることによって得られる用量-応答曲線（三次スプラインによって補間される（interpolated））から計算された。PC3（ヒト前立腺ガン細胞）およびMCF-7（ヒト乳ガン細胞）の増殖に対して、同様の研究を行った。

【0299】

10

テーブル2. 本発明の化合物についてのin-vitro細胞毒性データ

IC₅₀ (μM)

【0300】

【表6】

化合物	1時間暴露				連続的暴露		20
	LS174T		PC3	MCF-7	LS174T	PC3	
	MCF-7						
1	18.0	82.4	>50.0	2.27	3.0	3.43	20
3	3.6	7.09	20.42	0.39	0.46	0.94	
7	236.6			nd			
9	2.9			nd			
10	>10			3.51			
11	>10			7.28			
12	>10			1.43			
13	487.3			nd			30
15	224.7			nd			
16	45.4			nd			
22	1.86	0.35	0.97	4.0 nM	0.05	0.13	

【0301】

これらの細胞毒性研究からの結果はさらに、培養物中におけるガン細胞の増殖に対する本発明の化合物の活性を実証する。1時間の暴露に続いて、アキラルsecocaprodragger 1および9は、K562細胞のように、LS174T細胞に対して同様に活性を示した。同様に、1時間の暴露を行うと、K562およびLS174T細胞の両方について化合物7（プロモ含有化合物）は活性でなかった。これは、固有の高反応性およびそれによる水溶液中の低安定性に帰する可能性がある。4-ニトロベンジルカルボナート誘導体（化合物13-15）の有意に低い細胞毒性はさらに、化合物が強力な活性を表すためには遊離C4-ヒドロキシ基を有する必要性があることを示した。この結果は、secocaprocyclitol 1065およびデュオカルマイシンが、それらの対応するシクロプロパン-含有薬物の形成を介してDNAと反応するという報告された証拠と矛盾しない。本発明者らの場合、4-ニトロベンジルカルボナート基がHC1の迅速な放出を妨げ、活性なシクロプロパン-含有薬物を形成する。

40

【0302】

実施例14

50

マウスL1210白血病およびP815肥満細胞腫細胞についての
細胞毒性研究

P815およびL1210細胞系を、American Type Tissue Culture Collection (ATCC)より入手した。この細胞系を、10%ウシ胎児血清、Hepes緩衝液(2 mM、Mediatech Cellgro, 25-060-CI)、L-グルタミン(2 mM、Mediatech Cellgro)およびペニシリン/ストレプトマイシン(50,000ユニットペニシリン、50,000 mgストレプトマイシン、Atlanta Biologicals)で補足したDeibel ecco's Modified Eagle培地(DMEM, Atlanta Biologicals)において増殖させた。細胞を37にて5%湿潤CO₂雰囲気において維持した。培養細胞を、ヘモサイトメーター(hemocytometer)を使用してカウントし、新しいDMEM中に8×10⁵細胞/mLの濃度で再懸濁した。この細胞懸濁液(100 μL)を96ウェル平底細胞培養プレートへ加えた。この濃度で、80,000細胞を各ウェルにシードした(seeded)。薬物溶液(DMSO中に溶解し、そしてDMEM中に希釈した)を各ウェル(5 μL/ウェル)へ添加し、1×10⁻⁴から1×10⁻¹²Mの範囲の最終濃度にした。各薬物濃度に対して4つの同じ(quadruplicate)ウェルを調製した。このプレートを72 hrの間37にて5%CO₂雰囲気においてインキュベートした。MTT(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロマイド)をPBS(5 mg/ml)中に溶解した。所定の細胞インキュベーション時間の後、このストックMTT溶液の10 μLを各ウェルへ添加し、そしてそのプレートをさらに4 hの間37にて5%CO₂雰囲気においてインキュベートした。この最終インキュベーションの後、100 μL酸イソプロパノール溶液(5 mLイソプロパノール中に16 μLの12.1N HCl)を各ウェルへ添加した。この細胞懸濁液を上下にピッティングすることによってウェルの内容物を混合し、そして紫色の完全な顕色(development)を可能にするために、このプレートを室温にて15分間放置させた。このプレートを、570 nmの試験波長(test wavelength)および630 nmの基準波長(reference wavelength)を用いて、Dynex Revelation 3.2ソフトウェアを使用するDynatech Plate Readerで読み取った。50%増殖を阻害する用量(IC₅₀)を、吸光度データの平均(4点/濃度)に基づいて生成される曲線から外挿した(extrapolated)。

テーブルA3. アキラルな薬剤についてのIC₅₀値(μM)

【0303】

【表7】

化合物	P815	L1210
1	43	23
3	5.6	1.5
17	61	64
18	>100	>100
19	>100	>100
22	5.4	4.2
25	0.068	0.18
26		0.055

【0304】

10

20

30

40

50

実施例 1 5

N C I in-vitro 細胞毒性スクリーン

National Cancer Institute, Bethesda, MD (44)にて、本発明の化合物をまた60のヒトガン細胞系のパネルに対して試験した。この細胞毒性研究は、48時間の暴露を用い且つスルホローダミンB-由来の色の光学密度を測定して行われた。用量-応答曲線が $G I_{50}$ (50%増殖を阻害するのに必要な薬物濃度)、 $T G I$ (総増殖阻害)、および $L C_{50}$ (細胞の50%を殺すのに必要な濃度)について生成された。化合物1、3、7、9、22、25および26をNCIへ付託し、そして化合物1、3、22、25および26についての結果を以下に示す。

【 0 3 0 5 】

【表8】

10

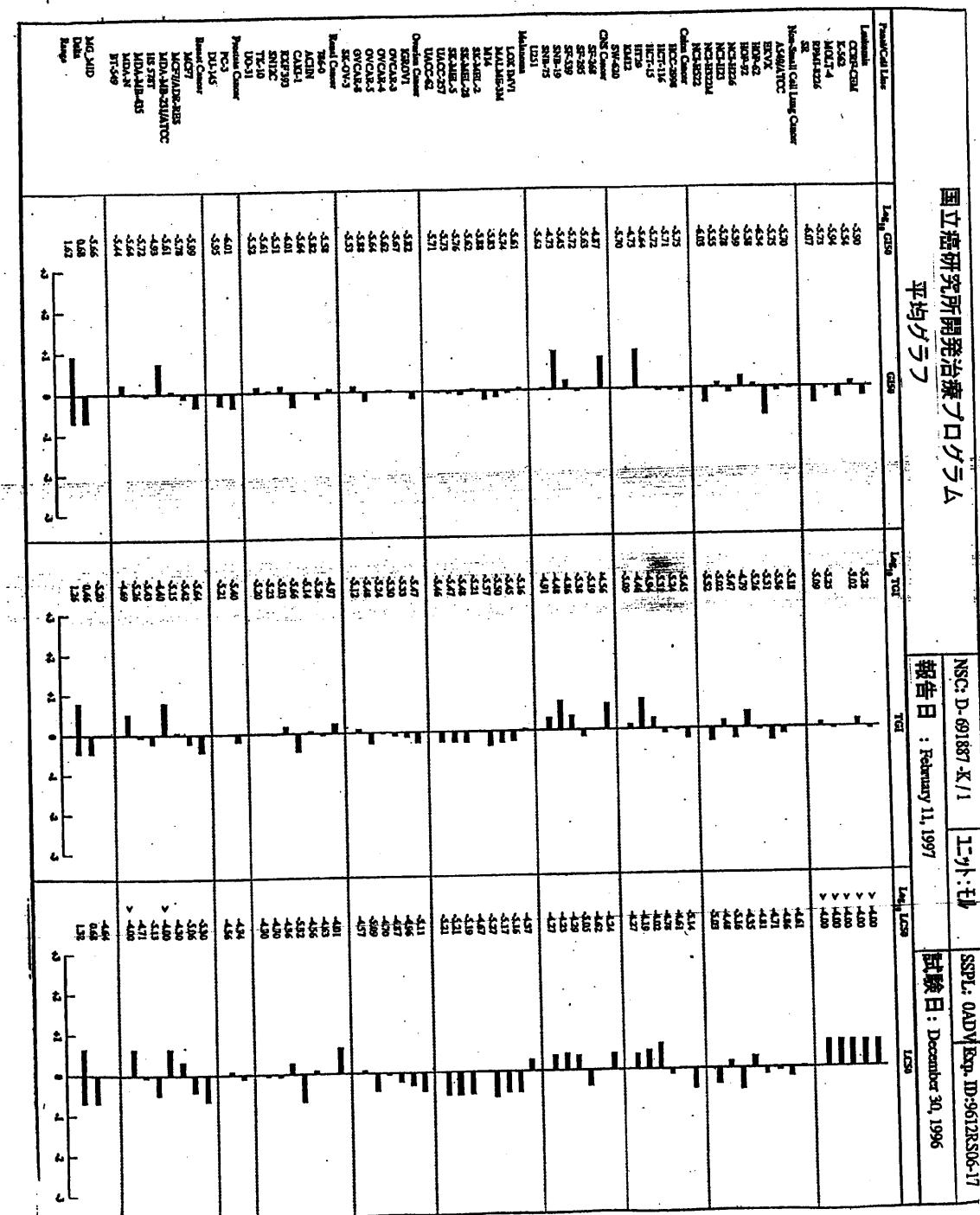
In-vitro 試験結果												
NSC: D-691887-K/1			実験番号 : 9612RS06-17			試験型 : 08			ユニット: 手			
報告日 : February 11, 1997			試験日: December 30, 1996			QNS:			MC:			
COMI: SK-II-149			染色試薬 : Dual-Pass			SSPL: OADV						
Log10 Concentration												
Panel/Cell Line	Time	Zero	Ctrl	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-3.0	-2.0	-1.0	
				Mean	Optical	Densities			Percent	Growth		
Leukemia												
CCRF-CEM	0.308	1.031	1.015	1.048	0.728	0.240	0.266	98	92	58	-22 -13	
K-562	0.370	1.799	1.749	1.748	0.364	0.352	96	94	-2	-5	2.48E-06	
MO5-5	0.313	1.586	1.515	1.433	0.994	0.284	0.363	94	87	52	-4	1.14E-06
RPMI-8226	1.054	2.279	2.449	2.266	2.030	0.775	0.622	112	97	79	-24 -42	1.65E-06
EK-1	0.315	1.317	1.318	1.298	0.780	0.301	0.294	100	98	46	-7	4.92E-06
Non-Small Cell Lung Cancer												
A549/ATCC	0.227	1.186	1.151	1.177	0.978	0.188	-0.004	96	99	78	-17 -100	1.98E-06
EKVX	0.343	0.810	0.785	0.790	0.725	0.188	0.069	95	96	82	-45 -80	1.78E-06
HOP-62	0.412	1.102	1.008	1.034	0.612	0.287	0.008	86	90	29	-30 -98	4.53E-07
HOP-92	0.532	0.698	0.686	0.738	0.725	0.309	0.039	94	121	115	-40 -92	2.62E-06
NCI-H226	0.802	3.148	3.157	3.041	2.937	1.365	0.079	100	95	91	-24 -90	4.09E-06
NCI-H23	0.578	1.530	1.704	1.672	1.402	0.133	0.224	118	115	86	-77 -61	1.67E-06
NCI-H322M	0.572	1.467	1.492	1.477	1.400	0.563	0.629	103	101	93	-2 -95	2.83E-06
NCI-H322	0.358	0.771	0.761	0.768	0.580	0.168	0.072	98	99	48	-30 -80	3.00E-06
Colon Cancer												
HCC-2998	0.303	1.137	1.106	1.109	1.053	0.082	0.010	96	97	90	-73 -97	1.76E-06
HCO-116	0.248	2.199	1.171	2.103	1.827	0.232	0.022	95	81	26	-89	1.84E-06
HCO-15	0.665	1.398	1.252	1.615	1.223	0.264	0.023	87	119	85	-38 -91	1.91E-06
HT29	0.185	1.245	1.202	1.159	0.995	0.218	0.091	96	82	76	-3 -51	2.29E-06
KM12	0.205	1.222	1.152	1.103	1.042	1.230	0.632	93	88	62	101 -85	1.88E-05
SN-620	0.225	1.240	1.199	1.151	0.985	0.209	0.077	96	91	75	-7 -66	2.01E-06
CNS Cancer												
SF-268	0.454	1.240	1.144	1.143	0.987	0.108	0.053	88	88	68	70 -88	1.34E-05
SF-295	0.468	1.745	1.673	1.673	1.431	0.366	0.020	92	94	91	-21 -96	2.32E-06
SF-539	0.168	0.698	0.657	0.695	0.459	0.073	-0.003	92	120	92	-51 -100	1.15E-06
SNB-19	0.288	0.943	0.970	0.981	0.514	0.369	0.072	104	104	95	12 -92	3.53E-06
SNB-75	0.471	0.611	0.552	0.602	0.554	0.166	0.011	95	82	65	104 -96	1.86E-05
U251	0.265	1.262	1.279	1.277	1.029	0.335	0.077	102	101	77	7 -71	2.41E-06
Melanoma												
LOX IMVI	0.246	1.413	1.485	1.428	1.324	0.203	0.075	106	101	92	-17 -70	2.43E-06
ML-MC3	0.540	0.887	0.893	0.893	0.785	0.116	0.027	102	92	79	-95	1.84E-06
M14	0.233	0.878	0.831	0.818	0.724	0.058	0.003	93	91	76	-75 -99	1.49E-06
SK-NELL-2	0.508	0.937	0.852	0.942	0.801	0.035	0.017	80	101	69	-93 -97	1.32E-06
SK-NELL-28	0.481	1.411	1.437	1.448	1.382	0.354	0.010	103	104	97	-27 -98	2.40E-06
SK-NELL-5	0.274	0.823	0.851	0.844	0.777	0.045	0.001	103	104	92	-83 -97	1.73E-06
UACC-257	0.481	1.149	1.161	1.177	1.165	0.048	0.016	102	104	103	-83 -97	1.12E-06
UO-32	0.503	1.384	1.386	1.386	1.419	0.445	0.040	100	104	103	-92 -99	1.97E-06
Ovarian Cancer												
IGROV1	0.332	1.178	1.121	1.164	0.963	0.115	0.019	93	98	75	-65 -94	1.50E-06
OVCA-4	0.705	1.729	1.666	1.752	1.711	0.266	0.010	94	102	98	-48 -99	2.13E-06
OVCA-4	0.399	0.705	0.785	0.752	0.723	0.219	0.072	128	118	101	-45 -82	2.39E-06
OVCA-5	0.412	0.850	0.823	0.828	0.825	0.292	0.006	94	95	94	-29 -99	5.80E-06
OVCA-8	0.488	1.785	1.713	1.703	1.335	0.188	0.179	94	94	65	-61 -63	1.32E-06
SK-OV-3	0.746	1.478	1.492	1.492	1.442	0.342	0.010	91	102	104	-14 -93	2.33E-06
Renal Cancer												
A498	0.266	1.299	1.382	1.410	1.227	0.283	0.132	98	101	85	2 -50	2.62E-06
ACHN	0.282	0.887	0.853	0.820	0.818	0.116	0.010	95	102	67	-23 -96	1.53E-06
CAKI-1	0.380	1.087	1.052	0.959	0.993	0.325	0.020	95	82	87	-14 -95	2.30E-06
EKV-393	0.552	1.005	1.022	0.989	0.771	0.015	0.034	104	74	50	-97 -94	9.82E-07
SN12C	0.437	1.410	1.418	1.429	1.419	0.425	0.102	101	102	101	-3 -77	3.10E-06
TK-10	0.697	1.617	1.650	1.603	1.628	0.483	0.032	104	98	101	-31 -95	2.45E-06
UO-31	0.761	1.472	1.510	1.481	1.631	0.534	0.026	105	102	123	-30 -97	3.00E-06
Prostate Cancer												
PC-3	0.424	1.359	1.326	1.339	0.885	0.245	0.004	95	98	49	-33 -99	9.68E-07
DU-145	0.330	0.854	0.859	0.873	0.610	0.283	0.013	101	104	53	-14 -96	1.12E-06
Breast Cancer												
MCF7	0.137	0.624	0.677	0.693	0.389	0.068	-0.002	111	114	52	-94 -100	1.03E-06
MDA-MB-436/ATCC	0.645	1.694	1.652	1.681	1.484	0.669	0.288	93	97	80	-58 -55	1.65E-06
MDA-MB-331/ATCC	0.353	0.911	0.875	0.894	0.864	0.297	0.124	94	97	82	-65	2.43E-06
RS-578T	0.290	0.714	0.682	0.699	0.531	0.179	0.077	77	92	89	-57 -38	1.16E-05
MDA-MB-435	0.313	1.378	1.454	1.407	1.338	0.080	0.019	107	103	96	-71 -94	1.88E-06
MDA-N	0.198	1.178	1.175	1.203	1.151	0.130	0.026	100	103	97	-35 -87	2.28E-06
BT-549	0.573	1.413	1.495	1.439	1.422	0.650	0.457	110	103	101	9 -20	3.40E-06

【 0 3 0 6 】

50

テーブル 5 . 6 0 のガン細胞系に対する化合物 1 からの G I₅₀、T G I および L C₅₀の値
【 0 3 0 7 】

【表9】



[0 3 0 8]

【図表】
テーブル6 . 6 0 のガン細胞系に対する化合物1のG I₅₀、T G I およびL C₅₀の値のグラフ図

[0 3 0 9]

【表10】

国立癌研究所開発治療プログラム

In-vitro 試験結果

NSC: D-698038-U/1	実験番号 : 9709RS89-18	試験型 : 08	ユニット: モル
報告日 : November 3, 1997	試験日 September 8, 1997	QNS:	MC:
COMI: SC-III-147	染色試薬 : SRB Dual-P	SSPL: OADV	

Panel/Cell Line	Time	Mean Optical Density ₆₂₀				Log ₁₀ Concentration				G _{I50}	T _{G1}	L _{C50}
	Zero	Ctrl	-8.0	-7.0	-6.0	-4.0	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	
Leukemia												
CCRF-CEN	0.184	0.579	0.573	0.431	0.281	0.322	0.271	98	62	25	35	>1.00E-04 >1.00E-04
HL-60 (TB)	0.548	2.582	2.457	2.480	1.273	0.528	0.398	94	95	36	-4	>1.00E-04
K-562	0.163	1.643	1.758	0.955	0.249	0.210	0.150	108	54	6	-8	1.19E-07 1.93E-05 >1.00E-04
MOLT-4	0.155	0.893	0.743	0.662	0.387	0.369	0.365	80	69	31	29	3.17E-07 >1.00E-04 >1.00E-04
RPNI-B226	0.484	1.951	1.883	1.822	0.689	0.509	0.391	93	69	14	2	>1.00E-04 >1.00E-04
SR	0.236	1.178	0.981	0.890	0.302	0.454	0.381	79	69	23	15	2.05E-07 >1.00E-04 >1.00E-04
Non-Hodgkin Cell-Lung Cancer												
A549/ATCC	0.140	0.948	0.950	0.924	0.100	0.259	0.202	100	98	-32	14	>1.00E-04
SK-N-MB	0.149	0.218	0.200	0.163	0.090	0.100	0.093	104	123	-53	-11	>1.00E-04
HOP-42	0.559	1.572	1.567	1.554	0.620	0.583	0.227	100	96	5	-60	2.30E-07 1.05E-05 6.83E-05
HOP-92	0.320	0.623	0.689	0.664	0.339	0.319	0.177	125	113	6	-45	3.90E-07 8.36E-06 >1.00E-04
NCI-H226	0.762	1.669	1.590	1.730	1.686	0.263	0.652	91	107	102	-65	>1.00E-04
NCI-H23	0.503	1.847	1.714	1.729	0.992	0.375	0.388	90	91	36	-26	5.64E-07 3.87E-05 >1.00E-04
NCI-H322M	0.474	1.521	1.594	1.560	1.408	0.493	0.423	107	104	89	2	>1.00E-04 >1.00E-04
NCI-H460	0.195	1.568	1.592	1.500	0.487	0.251	0.114	102	95	21	-42	4.08E-07 1.23E-05 >1.00E-04
NCI-H522	0.417	0.651	0.491	0.432	0.175	0.204	0.111	32	6	-58	-73	<1.00E-06 1.26E-07 7.50E-07
Colon Cancer												
COLO-205	0.159	1.082	1.008	1.070	0.352	0.021	0.010	92	99	21	-87	>1.00E-04
HCC-2396	0.177	0.772	0.752	0.690	0.150	0.080	0.005	97	86	-55	-97	2.28E-07 7.11E-07 7.38E-06
HCT-116	0.230	2.232	2.303	2.023	0.924	0.478	0.142	103	89	33	-51	4.93E-07 1.44E-05 9.22E-05
HT-27	0.151	0.567	1.171	0.730	0.204	0.042	0.002	94	87	11	-1	5.45E-07 >1.00E-04 >1.00E-04
HTX-29	0.092	0.805	0.763	0.730	0.216	0.168	0.059	94	90	27	11	>1.00E-04 >1.00E-04
KR-12	0.155	0.859	0.859	0.855	0.108	0.211	0.025	105	94	-31	8	2.64E-07 4.24E-05
SW-420	0.121	0.891	0.762	0.728	0.059	0.140	0.036	83	79	-51	2	>1.00E-04
CNS Cancer												
SF-268	0.367	1.427	1.398	1.373	0.674	0.652	0.426	97	94	12	-25	3.45E-07 1.92E-05 >1.00E-04
SF-295	0.413	1.467	1.467	1.385	0.263	0.301	0.203	100	92	-36	-27	2.13E-07 5.21E-07 9.10E-05
SF-539	0.197	0.898	0.795	0.851	0.084	0.058	0.018	85	93	-52	-71	1.94E-07 4.15E-07 8.80E-05
SNB-19	0.380	1.186	1.147	1.242	0.571	0.517	0.024	95	107	24	17	4.83E-07 1.42E-05 4.03E-05
SNB-75	0.392	1.900	0.915	0.904	0.406	0.203	0.024	103	101	42	-46	7.36E-07 2.93E-05 1.10E-05
SUZ-1	0.098	0.637	0.608	0.598	0.044	0.124	0.001	91	73	5	-93	1.52E-07
Melanoma												
LOX IMVI	0.051	0.853	0.836	0.723	0.128	0.138	0.068	98	84	10	11	2.86E-07 >1.00E-04 >1.00E-04
LOX-M34	0.955	1.247	0.922	1.102	0.416	0.158	0.116	-3	51	-56	-84	8.70E-07
M14	0.236	1.349	1.310	1.578	0.613	0.034	0.020	97	121	34	-86	>1.00E-04
SK-MEL-2	0.466	1.199	1.226	1.153	0.714	0.098	0.063	104	94	34	-79	5.36E-07 1.99E-05 5.53E-05
SK-MEL-28	0.281	1.010	0.946	1.018	0.682	0.043	0.019	91	101	55	-84	1.09E-06 2.49E-05 5.69E-06
SK-MEL-5	0.016	0.909	0.869	0.692	0.038	0.044	0.004	95	76	2	-75	2.25E-07 1.10E-05 4.79E-05
UACC-257	0.363	1.300	1.311	1.333	0.561	0.057	0.034	101	103	21	-84	4.46E-07 1.59E-05 4.73E-06
UACC-62	0.284	1.210	1.196	1.215	0.564	0.053	0.032	99	101	30	-82	5.25E-07 1.87E-05 5.23E-06
OVARIAN Cancer												
ZOROV-1	0.216	0.634	0.578	0.496	0.077	0.167	0.093	87	67	-23	-54	1.35E-07 3.23E-07
OVCAR-3	0.603	0.858	0.851	0.771	0.116	0.210	0.034	113	66	-61	-65	2.82E-07 6.17E-07
OVCAR-4	0.374	0.960	0.17	0.964	0.650	0.520	0.105	110	101	47	-12	8.80E-07 6.25E-06 4.32E-05
OVCAR-5	0.267	0.784	0.804	0.864	0.415	0.350	0.111	104	115	29	-56	5.66E-07 1.64E-05 7.67E-05
OVCAR-8	0.188	1.050	0.966	0.910	0.481	0.230	0.095	90	87	34	6	5.00E-07 1.27E-05 >1.00E-04
SK-OV-3	0.713	1.374	1.414	1.388	0.673	0.754	0.052	106	102	-6	-93	3.05E-07 3.70E-05
Renal Cancer												
766-0	0.186	1.032	0.973	0.958	0.096	0.245	0.062	93	91	-49	7	-67
A498	0.783	1.363	1.457	1.465	0.381	0.166	0.024	112	114	112	-57	2.42E-06 4.91E-05 9.98E-06
CHAK-1	0.122	1.320	1.300	0.941	0.307	0.156	0.014	97	92	-72	8	2.75E-07
RK-39	0.454	1.130	1.528	1.553	0.778	0.205	0.094	108	112	5	-15	2.17E-07
SN12C	0.608	1.166	1.202	1.203	0.271	0.121	0.008	106	107	-55	-60	2.24E-07 6.06E-06 3.19E-05
TK-10	0.429	1.123	1.220	1.278	0.974	0.285	0.096	114	122	79	-34	1.38E-05 6.76E-05
UO-31	0.349	1.306	1.255	1.360	0.167	0.442	0.367	95	106	-57	6	2.21E-07
Prostate Cancer												
PC-3	0.251	1.146	1.067	0.978	0.447	0.303	0.072	91	81	22	6	-71
DU-145	0.252	0.551	0.533	0.393	0.148	0.140	0.010	94	47	-41	-45	8.43E-08 3.42E-07 1.27E-05
Breast Cancer												
NCI/MDA-RES	0.857	1.009	0.833	0.861	0.722	0.189	0.151	82	88	-68	-68	4.68E-07 2.63E-06 6.51E-06
MDA-MB-231/ATCC	0.375	0.863	0.829	0.860	0.527	0.417	0.256	93	89	31	-9	3.30E-07 1.63E-05 >1.00E-04
HS 578T	0.746	1.459	1.524	1.507	1.362	0.741	0.637	110	107	86	-15	2.61E-06 9.81E-06 >1.00E-04
MDA-MB-435	0.142	0.926	1.043	0.891	0.083	0.066	0.002	115	96	-56	-39	2.60E-07 4.27E-07
MDA-H	0.211	1.360	1.253	1.363	0.236	0.072	0.047	91	100	2	-66	-77
BT-549	0.613	1.744	1.683	1.714	1.425	0.787	0.315	95	97	72	15	-49

10

30

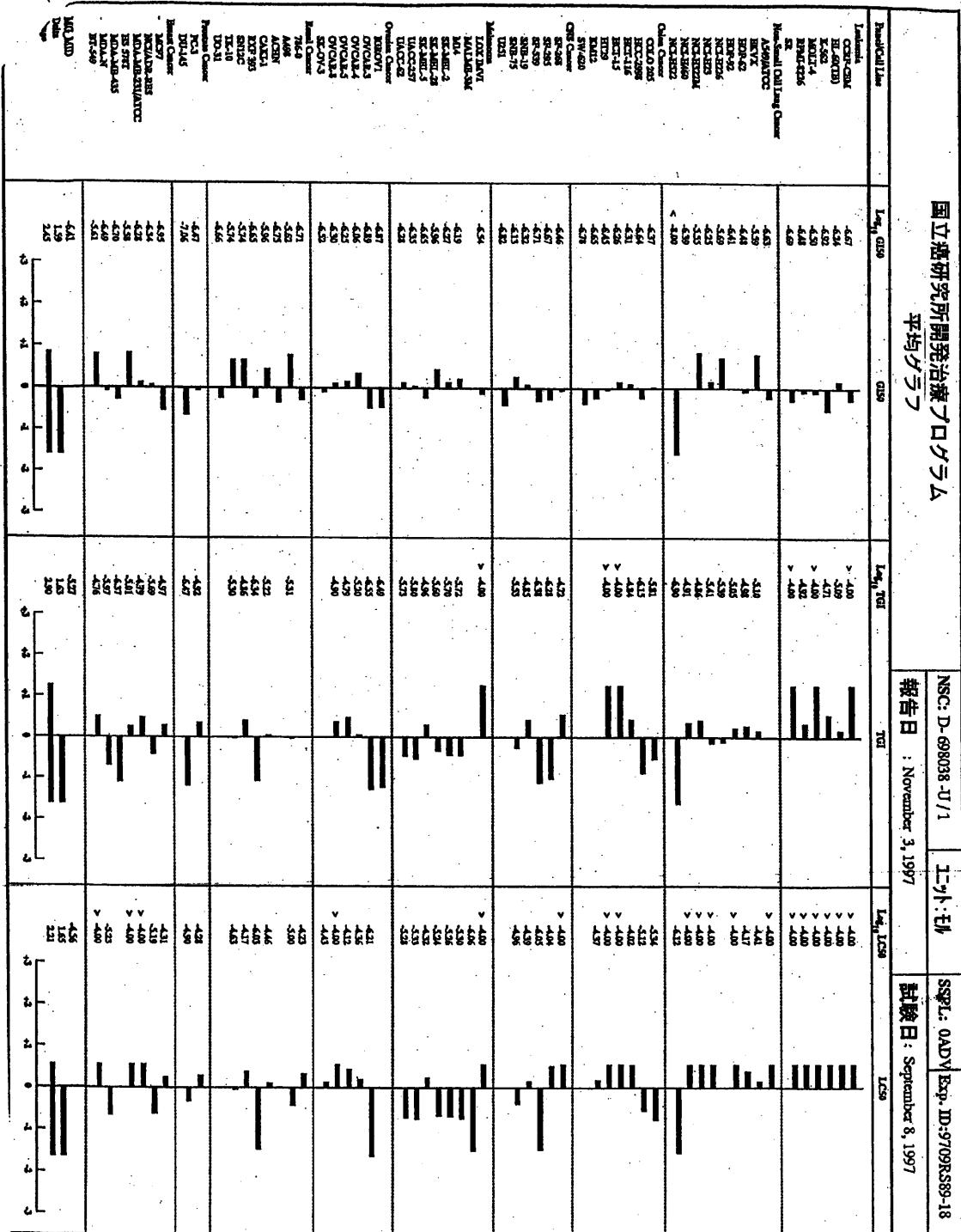
【0310】

テーブル7. 60のガン細胞系に対する化合物3からのG_{I50}、T_{G1}およびL_{C50}の値

40

【0311】

【表11】



国立癌研究所開発治療プログラム In-vitro 試験結果														
NSC: D-702842-R/1			実験番号 : 9805RC37-29						試験型 : 08			ユニット : モル		
報告日 : June 17, 1998			試験日 : May 18, 1998						QNS:			MC:		
COMI: KD-II-93			染色試薬 : SRB Dual-P						SSPL: OADV					
Panel/Cell Line	Time		Mean Optical Densities						Log10 Concentration			G150	TGI	LC50
Leukemia	Zero	Ctrl	-8.3	-7.3	-6.3	-5.3	-4.3	-3.3	-2.3	-1.3	-0.3			
CCRF-CEM	0.172	1.590	1.269	0.786	0.447	0.425	0.406	77	43	19	18	17	3.18E-08	>5.00E-05
HL-60 (TB)	0.274	0.937	0.838	0.429	0.341	0.265	0.287	85	54	30	9	3	6.04E-08	>5.00E-05
K-562	0.037	0.816	0.767	0.635	0.374	0.302	0.320	94	77	43	34	36	3.15E-07	>5.00E-05
MOLT-4	0.107	1.531	0.969	0.503	0.408	0.396	0.424	61	28	21	20	22	1.05E-07	>5.00E-05
REPMI-2226	0.254	2.010	1.892	1.780	0.658	0.525	0.482	93	87	23	15	13	1.90E-07	>5.00E-05
SR	0.193	1.140	0.631	0.393	0.315	0.376	0.311	51	28	21	27	20	5.60E-07	>5.00E-05
Non-small Cell Lung Cancer														
A549/ARCC	0.497	0.796	0.855	0.745	0.691	0.180	0.130	108	93	-6	12	5	1.35E-07	>5.00E-05
BEVX	0.385	0.790	0.797	0.800	0.388	0.148	0.055	102	102	1	-62	-83	1.64E-07	5.14E-07
BOP-62	0.321	0.800	0.764	0.703	0.212	0.197	0.039	92	80	-34	-39	-88	9.14E-07	2.51E-07
BOP-92	0.386	0.916	0.922	0.902	0.449	0.368	0.240	101	97	12	-5	-38	1.79E-07	2.57E-07
NCI-H226	0.687	0.849	0.856	0.798	0.428	0.309	0.167	104	65	-38	-55	-76	7.48E-07	2.24E-07
NCI-H23	0.425	1.458	1.280	1.006	0.516	0.439	0.320	83	56	5	-1	-25	6.75E-08	>5.00E-05
NCI-H226M	0.162	1.470	1.410	1.434	0.793	0.611	0.520	93	96	14	-4	-22	1.77E-07	>5.00E-05
NCI-H446	0.261	1.557	1.347	1.213	0.369	0.310	0.081	84	73	-69	-69	-148	5.64E-07	2.74E-05
NCI-H522	0.412	0.648	0.600	0.560	0.141	0.058	0.015	74	58	-66	-86	-95	8.77E-08	1.47E-07
Colon Cancer														
COLO-205	0.103	0.841	0.801	0.753	0.332	0.276	0.250	95	88	31	23	20	2.33E-07	>5.00E-05
HTC-2998	0.326	0.932	0.880	0.844	0.262	0.245	0.044	91	85	-27	-31	-88	1.02E-07	2.89E-07
HCT-116	0.308	0.358	1.237	0.964	0.175	0.281	0.127	88	62	-43	-9	-59	6.56E-08	1.85E-07
HCT-15	0.310	1.391	1.323	1.275	0.666	0.299	0.208	93	89	35	-4	-33	2.59E-07	4.00E-06
HTX-9	0.162	0.641	0.565	0.463	0.110	0.067	0.073	84	63	-32	-58	-55	6.81E-08	2.28E-07
HTX-12	0.343	1.617	0.965	0.903	0.161	0.132	0.072	93	83	-53	-62	-79	8.74E-08	2.03E-07
HTX-620	0.156	0.984	0.871	0.745	0.231	0.285	0.139	86	71	9	16	-11	1.09E-07	>5.00E-05
CNS Cancer														
BT-268	0.619	1.255	1.126	0.697	0.358	0.227	0.258	80	12	-42	-63	-55	1.38E-08	8.40E-08
HT-295	0.190	1.172	1.234	0.918	0.331	0.301	0.201	106	74	14	1	1	1.26E-07	>5.00E-05
HT-295	0.144	0.489	0.451	0.403	0.077	0.024	0.014	89	75	-47	-84	-80	8.04E-08	2.07E-07
SNB-19	0.350	1.658	1.533	1.475	0.748	0.628	0.513	89	83	21	7	7	1.73E-07	1.64E-05
SNB-75	0.359	0.787	0.735	0.697	0.314	0.048	0.275	77	60	-44	-84	-51	6.28E-08	1.90E-07
U251	0.162	1.113	1.011	0.867	0.271	0.275	0.097	89	74	11	12	-40	1.20E-07	8.44E-07
Melanoma														
LIM-1MV1	0.316	1.155	0.995	0.859	0.289	0.242	0.124	81	66	-9	-23	-61	8.17E-08	8.40E-08
ME-4	0.162	0.529	0.547	0.445	0.050	0.017	0.013	105	77	-69	-90	-92	7.64E-08	1.68E-07
SK-MEL-2	0.493	1.019	0.963	0.951	0.109	0.129	0.066	89	87	-78	-74	-87	8.39E-08	1.69E-07
SK-MEL-28	0.160	0.605	0.567	0.568	0.223	0.143	0.091	91	92	14	-11	-43	1.72E-07	1.82E-06
SK-MEL-5	0.217	0.779	0.707	0.451	0.213	0.265	0.177	86	42	2	-18	-18	3.22E-08	>5.00E-05
UACC-257	0.191	0.850	0.865	0.855	0.285	0.317	0.172	101	99	6	-19	-20	1.70E-07	2.25E-05
UACC-62	0.505	1.588	1.455	1.311	0.213	0.110	0.054	90	76	-58	-72	-89	7.62E-08	1.85E-07
Ovarian Cancer														
IGROV1	0.260	0.884	0.709	0.650	0.115	0.182	0.056	71	61	-59	-35	-80	6.21E-08	1.62E-07
OVCAR-3	0.184	0.417	0.400	0.734	0.220	0.273	0.035	97	87	4	13	-82	1.39E-07	6.80E-06
OVCAR-3	0.228	0.780	0.702	0.585	0.155	0.080	0.082	86	65	-32	-65	-64	7.98E-08	2.33E-07
SK-OV-3	0.183	0.890	0.812	0.817	0.434	0.307	0.085	103	90	35	17	-54	2.69E-07	8.81E-07
Renal Cancer														
786-0	0.246	0.823	0.789	0.722	0.245	0.182	0.124	94	82	-1	-26	-50	1.23E-07	4.92E-07
A498	0.334	1.628	1.569	1.607	0.395	0.348	0.061	95	98	5	-82	-82	1.64E-07	5.15E-06
ACHN	0.202	1.015	0.859	0.590	0.204	0.229	0.122	93	46	0	3	10	1.48E-08	3.95E-06
CAKI-1	0.115	0.543	0.529	0.472	0.164	0.159	0.063	97	63	12	10	-40	1.47E-07	8.01E-06
EMT-393	0.102	0.472	0.449	0.313	0.167	0.077	0.016	84	57	18	-25	-65	7.47E-08	1.31E-06
SN12C	0.205	0.809	0.750	0.714	0.345	0.211	0.103	90	84	22	9	-50	1.79E-07	7.17E-06
TK-10	0.263	1.847	1.845	1.879	0.789	0.687	0.394	100	102	31	22	8	2.72E-07	>5.00E-05
UU-31	0.231	1.008	0.981	0.935	0.123	0.274	0.290	96	91	-47	5	8	9.68E-08	>5.00E-05
Prostate Cancer														
PC-3	0.328	0.822	0.730	0.598	0.347	0.223	0.039	81	55	4	-32	-88	6.17E-08	6.40E-07
Breast Cancer														
MCF-7	0.117	0.877	0.654	0.415	0.160	0.161	0.057	70	39	6	6	-51	2.24E-08	6.31E-06
MCF-7RES	0.456	0.851	0.834	0.836	0.534	0.193	0.269	97	77	16	-38	-41	1.37E-07	5.00E-05
MDA-MB-231/ARCC	0.261	0.827	0.822	0.767	0.351	0.328	0.319	99	85	15	12	10	1.71E-07	5.00E-05
HS 578T	0.706	0.917	0.982	0.964	0.416	0.189	0.326	130	122	-11	-73	-54	1.36E-07	2.00E-07
MDA-MB-435	0.243	1.328	1.288	1.300	0.216	0.176	0.166	96	77	21	-32	-32	1.50E-07	3.05E-07
MDA-MB	0.188	0.971	0.893	0.897	0.230	0.183	0.259	90	81	5	-3	8	1.50E-07	>5.00E-05
BT-549	0.355	1.309	1.225	1.170	0.757	0.591	0.218	91	85	42	25	-39	3.29E-07	1.23E-07
T-47D	0.116	0.437	0.436	0.354	0.209	0.221	0.160	100	74	29	33	14	1.71E-07	>5.00E-05

30

【0314】

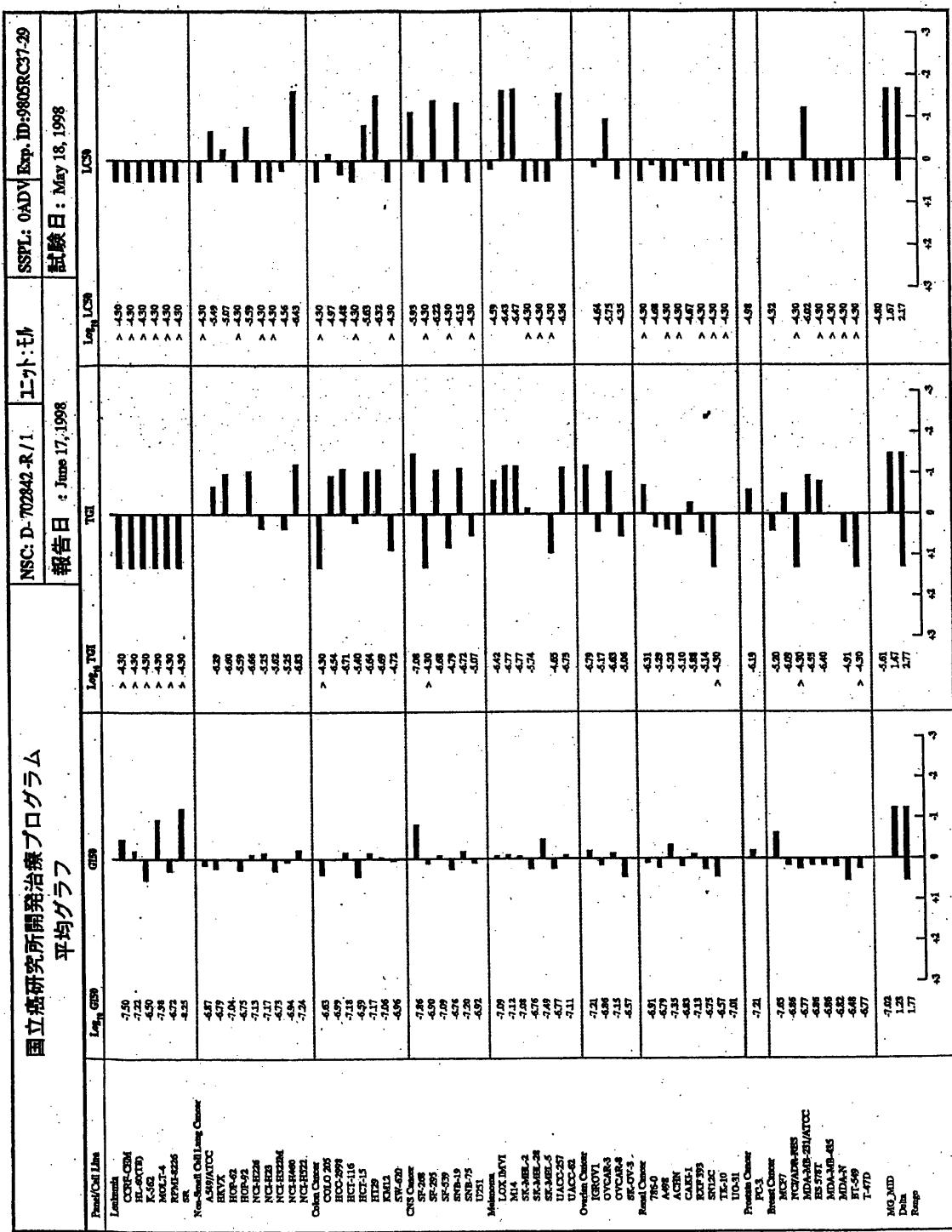
テーブル9. 60のガン細胞系に対する化合物22からのG150、TGIおよびLC50の

40

値

【0315】

【表13】

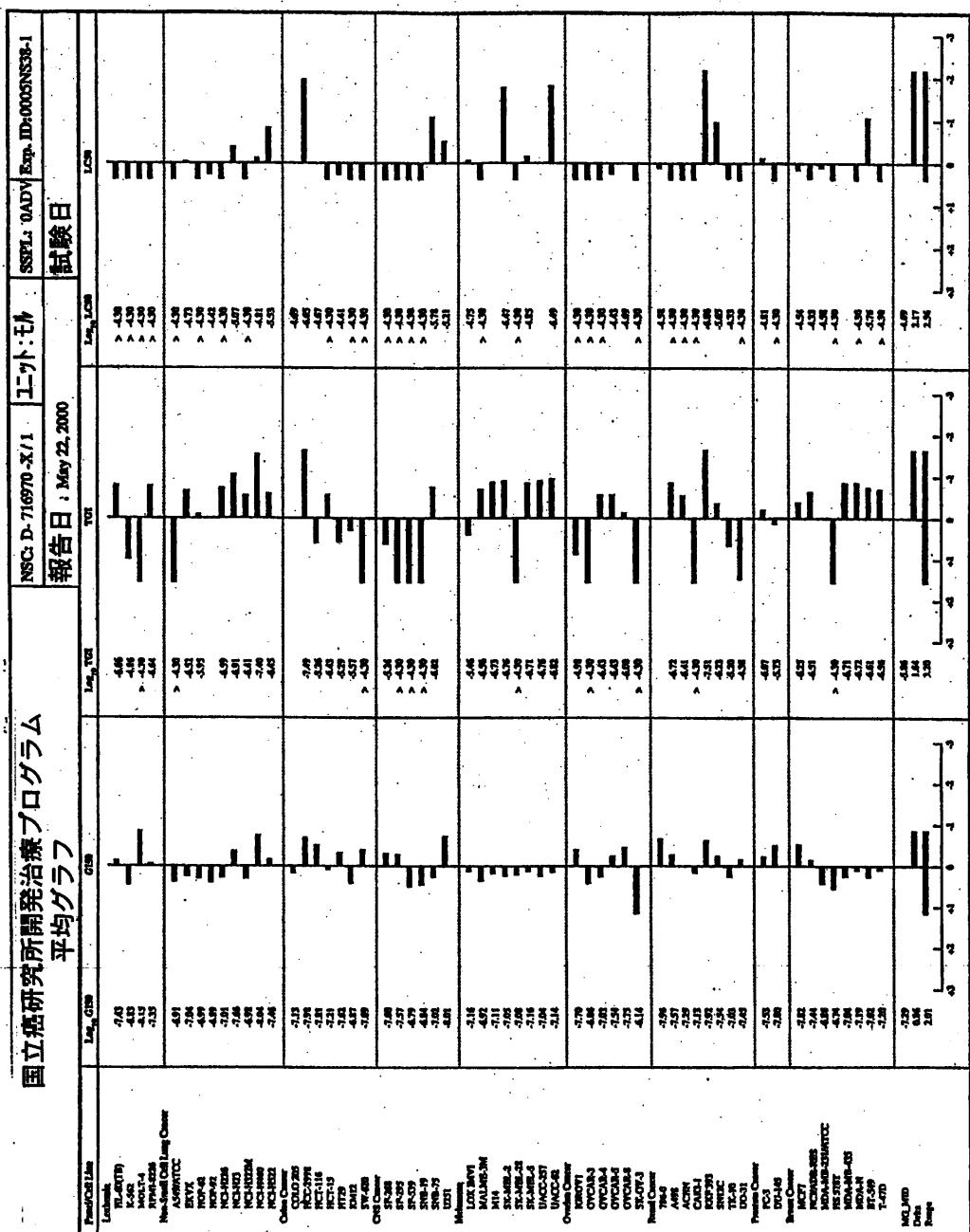


【0316】

テープル10.60のガン細胞系に対する化合物22のG I₅₀、T G IおよびL C₅₀の値のグラフ図

【0317】

【表14】

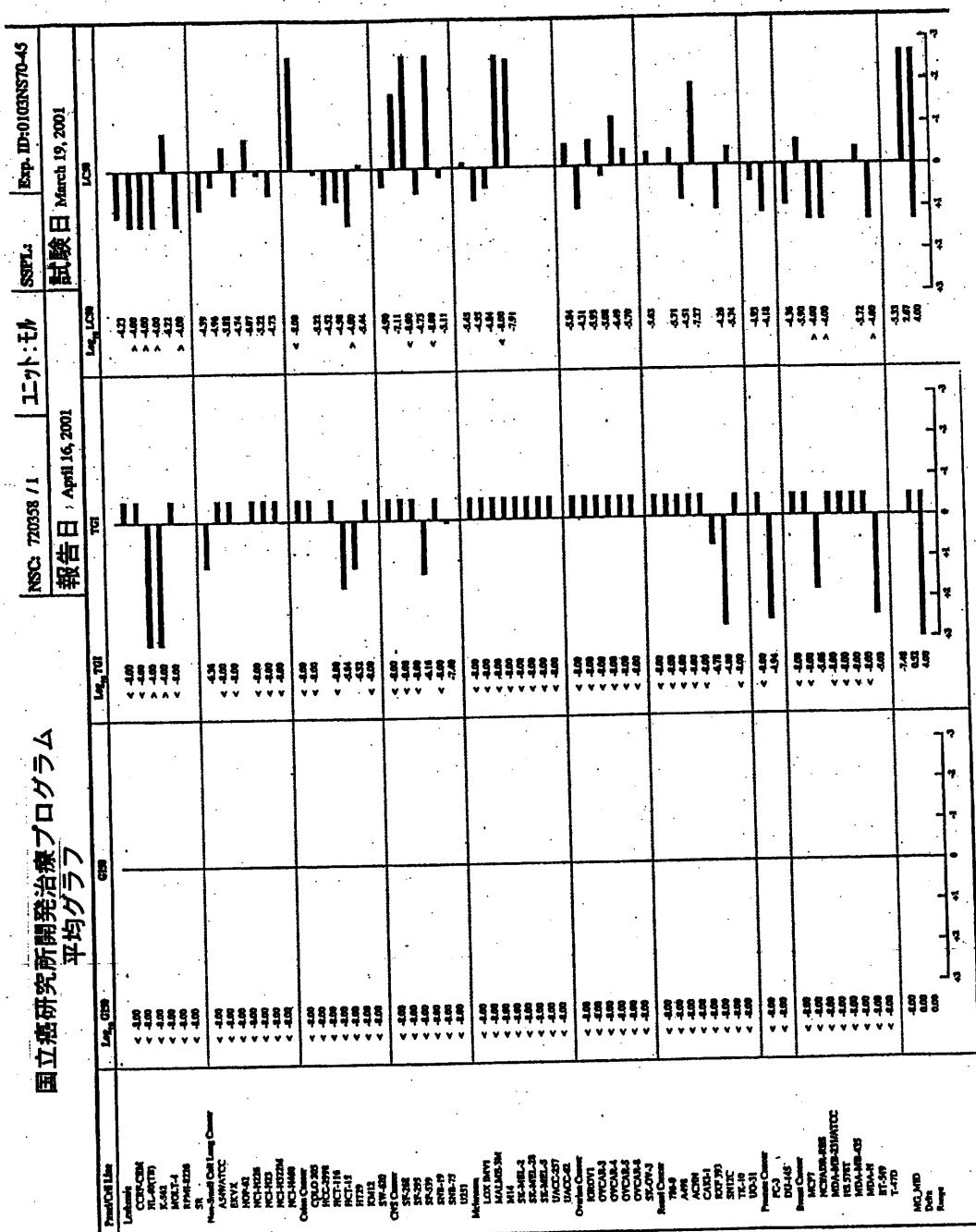


【 0 3 1 8 】

テーブル11. NCIによる化合物25のin-vitro抗ガンスクリーニング

【 0 3 1 9 】

【表 1 5】



【 0 3 2 0 】

テーブル2 . NCIによる化合物26のin-vitro抗ガスクリーニング NCI細胞毒性スクリーンからの結果は、本発明の化合物が広範囲のヒトガン細胞に渡り有意な細胞毒性効力を有することを明白に実証する。化合物1、3、22、25および26はかなり異なる構造を有するけれども、いずれの化合物(both compounds)も多くの類似する生物学的特性を示した。第1に、これらはマイクロモルの範囲において活性を示した。第2に、これらの化合物のいずれも白血病細胞に対して多くの活性を示さなかつたのに、それらは固形腫瘍細胞に対して強い活性を示した。第3に、それらは、黒色腫細胞、さらにある程度乳房、卵巣および肺細胞に対しても活性であった。これらの化合物の新規構造およびこれらの化合物の特有の生物学的プロフィールに基づいて、これらは、biological evaluation committeeによって、in-vitroホローファイバーアッセイ(hollow fiber assay)(45)のために選択されてきた。

【 0 3 2 1 】

10

20

30

40

50

実施例 16

予備 *in vivo* 試験のためのホローファイバーアッセイ

The Biological Testing Branch of the Developmental Therapeutics Programは、ラージ・スケール *in vitro* 細胞スクリーンによって同定された化合物の潜在的な抗ガン活性を評価するために、予備 *in vivo* スクリーニング手段を採用した。これらのアッセイのために、ヒト腫瘍細胞をポリビニリデンフルオリド (PVDF) ホローファイバーにおいて培養し、そして各細胞系のサンプルをマウスにおける 2 つの生理学的コンパートメント（腹腔内および皮下）の各々へ移植した。各試験マウスは、3 つの異なるガン細胞系を代表する計 6 ファイバー（3 つが腹腔内に、3 つが皮下に）を受容する。3 匹のマウスを、2 種類の試験用量の各々での潜在的な抗腫瘍化合物を用い、腹腔内経路によって、QD × 4 処理スケジュールを用いて、処理する。ビヒクルコントロールは、化合物希釈剤のみを受容する 6 匹のマウスからなる。処理の最終日の次の日に、ファイバー培養物（culture）を回収した。抗ガン効果を評価するために、細胞系の各々について、ホルマザン染色 (MTT) 変換アッセイ (conversion assay) を用いて、生存細胞マスを測定する。これより、ビヒクルコントロールの平均光学密度によって割り算した化合物処理サンプルの平均光学密度を用いることによって、%T/C が計算され得る。さらに、マウスへの移植の日にファイバー培養物のサンプルが生存細胞マスについて評価されるのと同様に、各サンプルについて細胞マスにおける正味の増加 (net increase) が測定され得る。それゆえに、試験化合物の細胞増殖抑制および細胞破壊の能力が評価され得る。

10

20

【0322】

概して、各化合物は、最低 12 のヒトガン細胞系に対して試験された。各々の実験が 3 細胞系を含むので、これは合計 4 の実験を表す。データは、腹腔内および皮下サンプルについて計算される異なる値を用いて、細胞系の各々に対する 2 つの化合物用量の各々についての %T/C として報告される。

【0323】

いくつかのホローファイバーアッセイ判定基準に基づく標準的な皮下異種移植モデルにおけるさらなる *in vivo* 試験のために、化合物が選択される。これらとしては、以下の (1) 48 の可能な試験的組み合わせ (12 細胞系 × 2 部位 × 2 化合物用量) の 10 において 50 以下の %T/C ; (2) 24 の可能な組み合わせの最低 4 つにおける少し離れた距離 (腹腔内薬物 / 皮下培養物) での活性および / または (3) 各移植部位における 1 つ以上の細胞系の正味の細胞殺傷 (net cell kill) が挙げられる。評価を単純化するために、所与の化合物の活性の迅速な観察を可能にするポイントシステム (point system) を採用してきた。これのために、生存細胞マスにおいて 50 % 以上の減少をもたらす各化合物用量に対して 2 の値が割り当てられる (assigned)。腹腔内および皮下サンプルは別々にスコアをつけられ、それによって判定基準 (1) および (2) が評価され得る。IP + SC スコア 20, SC スコア 8 または 1 つ以上の細胞系の正味の細胞殺傷の組み合わせを伴う化合物が異種移植試験に適用される (REFERRED)。これらの判定基準は、ホローファイバーアッセイおよび異種移植試験における > 80 のランダムに選択される化合物の活性結果を比較することによって、統計的に実証された。この比較は、ホローファイバーアッセイが最初の *in vivo* スクリーニング手段として使用されるならば、活性化合物を見逃す可能性が非常に低いことを示した。これらの判定基準に加えて他のファクター（例えば、特有の構造、作用のメカニズム）も、これらの判定基準を満たす化合物を有さない標準的な異種移植試験について、化合物の適用をもたらし得る。

30

40

【0324】

化合物 3 についての実験は今なお進行中である。しかしながら、化合物 1 の研究は完了し、そしてその結果は以下のようである：ヒト H522 肺ガンについては、8 の IP スコア、10 の SC スコア (18 の IP + SC スコアを与える) であり、また有意な細胞殺傷を観察した。これらの結果に基づいて、化合物 1 は、NCI's biological

50

evaluation committeeによって、ヌードマウスにおいてヒト腫瘍異種移植を使用する *in vivo* 試験についてさらに選択された。この計画は、少なくとも 3 つの異なる固体腫瘍を調べる (H522 肺ガンであるものを含む) ことである。化合物 25 について行われたホローファイバー研究では、54 (IP = 46、および SC = 8) の複合スコアが得られ、細胞殺傷が観察された。この化合物は現在、2 つの乳ガン (MDA-MB-231 および MDA-MB-435) および肺ガン (NCI-H23) に対して NCI で異種移植試験を受けている。

【0325】

実施例 17

pBR322 鎮ニッキングアッセイ (nicking assay)

10

化合物が DNA の副溝内のプリン - N3 へ共有結合すると、その付加物は熱的に不安定である。これは容易に加水分解され、DNA 鎮を生み出す (2)。結果的に、アデニン - N3 (またはグアニン - N3) アルキル化付加物の形成が、単鎖破壊の形成の結果として、スーパーコイル pBR322 DNA (I型) のニックオープン閉環DNA (nicked open closed-circular DNA) (II型) への熱的変換によって検出され得る。次いで、pBR322 DNA のこれらの 2 つの異なる型をアガロースゲル電気泳動によって分離し得、メチレンブルー染色ゲルのデンシトメトリーによって各型の相対的な量を測定し得る (39)。pBR322 DNA のスーパーコイル型は、閉環型よりコンパクトであり、その結果として陽極の方向へゲルをさらに下方へ移動する。

【0326】

20

N,N-ジメチルアセトアミド (DMA) 中に溶解した薬物の溶液を、0.10 mM 濃度で作製し、そして常に冷蔵庫の中で保存した。

【0327】

pH 7.4 で 25 および 0.010 M における Tris 緩衝溶液を、蒸留水で 100 mL 体積に希釈した Tris HCl (0.661 g)、Tris ベース (0.097) から作製した。次いで EDTA-Na₂-2H₂O (0.186 g) および KCl (3.72 g) をこの Tris HCl 溶液へ添加し、そして蒸留水で 500 mL 体積になるまで希釈した。TBE 溶液を、脱イオン水で 3 リットルの体積になるまで希釈した Carolina Lot # 4020602 Electrophoresis buffer 20 × TBE から調製した。アガロースゲルを、TBE 緩衝液 (40 mL) 中に溶解し、さらに電子レンジ中で溶解するまで加温した agarose low EEO (0.32 g) から調製した。

30

【0328】

Pharmacia Biotech からの pBR322 DNA (100 µg / 100 µL) は緩衝液 (10 mM Tris-HCl pH 7.5、および 1 mM EDTA) 中に存在した。この DNA は *E. coli* HB101 からアルカリ溶解法によって単離されたプラスミド DNA から調製され、そして Sepharose S-100 クロマトグラフィーによって精製された後、CsCl-エチジウムプロマイド遠心分離された。

【0329】

DNA (10 µL)、Tris-EDTA-KCl 緩衝液 (18 µL)、および化合物 (2 µL) を 100 µM の濃度でエッペンドルフチューブ (Eppendorf tube s) へ添加することによって、アルキル化サンプルを調製した。このサンプルを 40 で 40 時間インキュベートした。このサンプル移動し (remove)、次いで 1 分間遠心分離した。10% SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) (2 µL)、50% グリセロール (5 µL)、およびプロモフェノールブルー (2 µL) をこのサンプルへ添加した。このチューブの内容物を、ボルテックスミキサー (Vortex mixer) を用いて混合し、次いでこのサンプルを固めるために遠心した。アガロースゲルを、チャンバー (chamber) 中において TBE - 緩衝液で覆った。このサンプルをアガロースゲル上へロードし、そして 40 V にて 3 時間 (すなわち、そのバンドがゲルの下方約 3/4 になるととき) 泳動した。

40

50

【0330】

ゲルを移し、そしてメチレンブルーで染色した(45 min)。その時点で、染色ゲルをウォーターチャンバー中に一晩中置いた。各バンド(すなわち、I型およびII型)の強度を、デンシトメトリーを用いて測定した。アキラル化合物1、3および9をこの研究に供し、その結果をテーブル4に示した。

テーブルA4. 本発明の化合物におけるDNAアルキル化研究。

【0331】

【表16】

化合物1	I型DNA(%)	II型DNA(%)	10
コントロール pBR322	87±2	13±1	
0.1 mM	73±2	27±4	
化合物3	I型DNA(%)	II型DNA(%)	
コントロール pBR322	79±1	21±1	
0.1 mM	51±3	49±4	
化合物9	I型DNA(%)	II型DNA(%)	20
コントロール pBR322	78±4	22±4	
0.1 mM	48±4	52±4	
化合物(1.0mM)	I型DNA(%)	II型DNA(%)	
コントロール pBR322	32.7±5	67.3±5	
17		定量的	
18		定量的	
19		定量的	
化合物24	I型DNA(%)	II型DNA(%)	30
コントロール pBR322	86±5	14±6	
0.1 mM		定量的	
化合物25	I型DNA(%)	II型DNA(%)	
コントロール pBR322	64±4	36±5	
0.1 mM		定量的	
化合物26	I型(%)	II型(%)	40
コントロール pBR322	46	54	
0.1 mM	0	定量的	

【0332】

テーブルA4からの結果は、DNA鎖の破壊が薬物-DNA溶液の40にて40時間のインキュベーション後に生成されることを示す。この鎖切断は、付加物A-N3またはG-N3部位の熱的開裂反応の結果として形成され、それゆえこれらの化合物が副溝へ優先的に結合し、そしてその中においてアルキル化することの証拠が提供される。

【0333】

実施例 18

Taq ポリメラーゼトップアッセイ

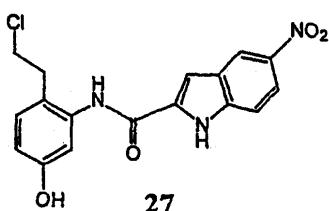
本発明の化合物の特定配列でDNAをアルキル化する能力を、Taq ポリメラーゼトップアッセイを用いて研究した。使用した手順は、Pontiら(41)によって以前に記載された。薬物 / DNA インキュベーションより前に、プラスミド pBR322 DNA を適切な制限酵素で直線化し、プライマーから下流の Taq について停止させた。T4 ポリヌクレオチドキナーゼおよび[³²-P] - ATP (5000 Ci / mmol, Amersham, UK) を用いる増幅の前に、オリゴデオキシヌクレオチドプライマーを 5' - 末端標識した。この標識プライマーを、Bio-Rad スピンカラムを通す溶出によって精製した。合成プライマー 5' - G C A G C A G A T T A C G C G C A G A A - 3' (SCAとして同定される) は、位置 3090 - 3109 で相補鎖に結合し、そしてボトム鎖 (bottom strand) におけるアルキル化を調べるために使用された。プライマー 5' - G C A T T G G T A A C T G T C A G A C C - 3' (SRMとして同定される) は、配列 3303 - 3284において結合し、そして上部鎖 (top strand) を調べるために使用された。DNA の直線的増幅を、0.5 μg のテンプレートDNA、50 pmol の標識プライマー、250 μM の各 dNTP、1U「Red Hot」Taq ポリメラーゼ、20 mM (NH₄)₂SO₄、75 mM Tris-HCl (pH 9.0)、0.01% Tween、2.5 mM MgCl₂、および 0.01% ゼラチンを含む総体積 100 μl 中で行った。94 にて 4 分間の最初の変性の後、サイクル条件を以下のようにした：計 30 サイクルについて、94 で 1 分間、60 で 1 分間、および 72 で 1 分間。増幅した後、このサンプルをエタノール沈殿し、そして 70% エタノールで洗浄した。サンプルをホルムアミドローディング染色剤 (loading dye) 中に溶解し、2 分間 90 にて加温し、氷上で冷却し、そして 2500 - 3000 V にて 3 h の間 80 cm × 20 cm × 0.4 mm 6% アクリルアミド変性シーケンシングゲル (Sequagel, National Diagnostics) 上で電気泳動した。このゲルを乾燥し、そして x-線フィルムをこのゲルに曝露した (exposed) (Hyperfilm, Amersham, UK)。Bio-Rad GS-670 イメージングデンシトメーターでデンシトメトリーを行った。

【0334】

化合物 1, 2 および 27 についてのテーブル 13 および 14 に示されるゲルは、それぞれ PvuII フラグメント、および SacI フラグメントについて行われた。これらの化合物の各々は、2 がクロロ脱離基の代わりにプロモを含むという相違のみを有するアキラルな「弾頭 (warhead)」を有する。化合物 27 が 1 および 2 に共通するより大きなインドール-ベンゾフラン基の代わりに 5-ニトロインドール基を含むこと以外は、これらの 3 つ化合物の非共有結合部分はまた、類似している。結果によって示されるようにこれらの特徴は重要であると証明された。化合物 1 および 2 の両方ともが 27 より大きな配列選択性を示す（これは、もし化合物 1 および 2 と DNA とのより大きな非共有結合相互作用に起因するならば、推定できる）。

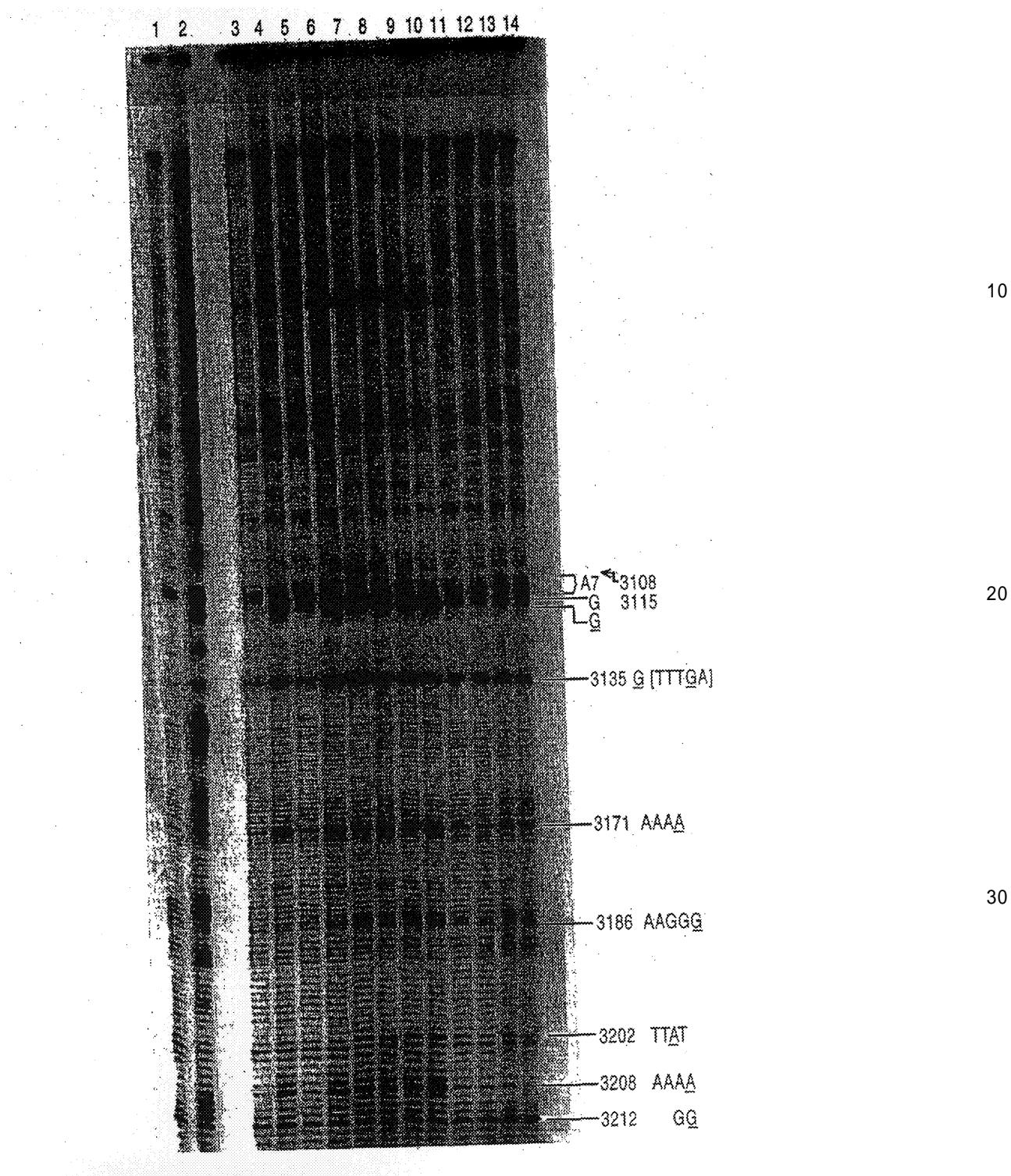
【0335】

【化13】



【0336】

【表17】

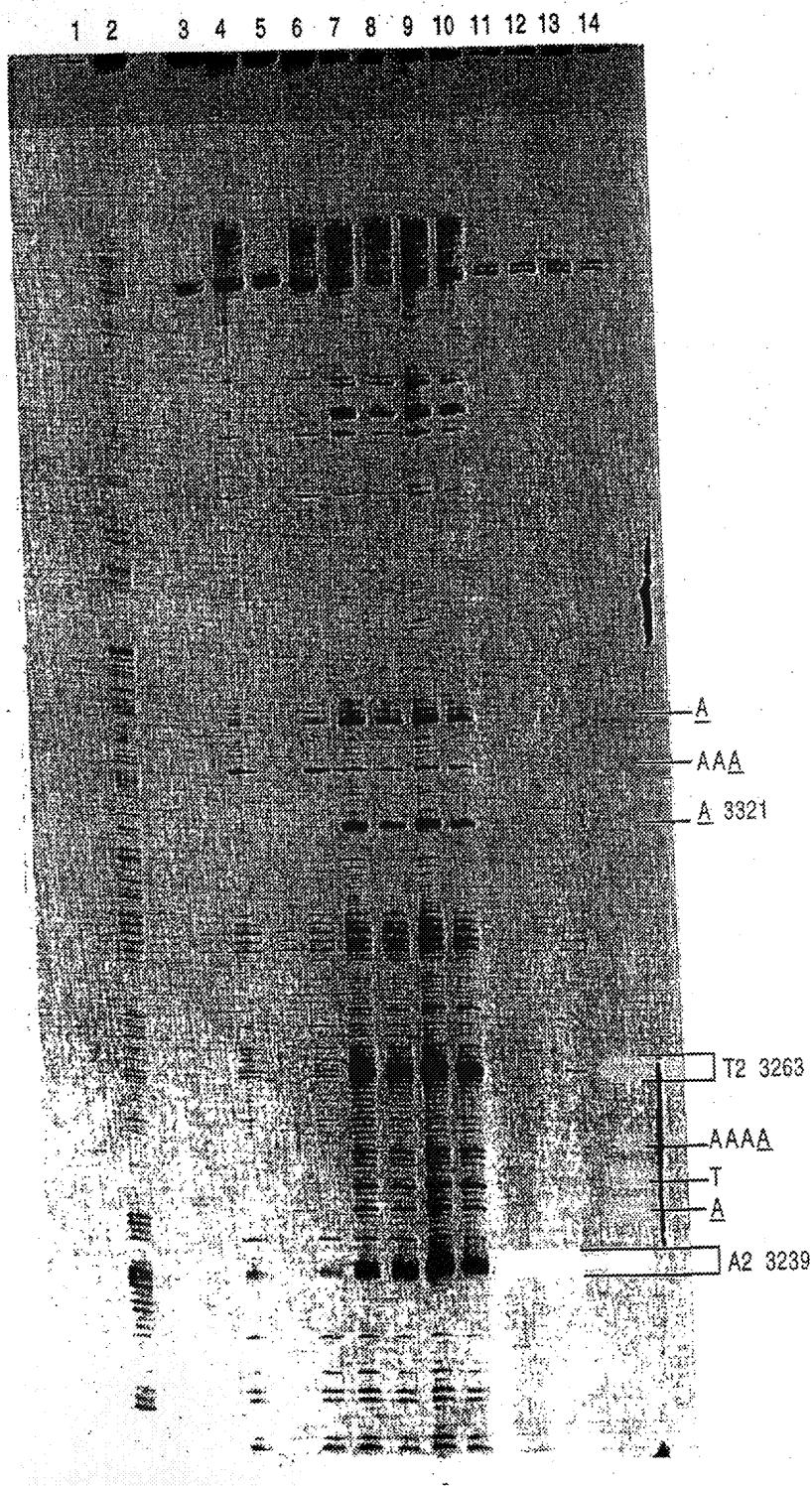


【0337】

テーブル13. PvuIIプライマーを用いるTaqDNAポリメラーゼトップアッセイ；レーン1、コントロールDNA；レーン2、100 μM クロラムブシリ処理；レーン3 化合物27(10 μM、5 h)；レーン4 化合物27(100 μM、5 h)；レーン5 化合物27(10 μM、8 h)；レーン6 化合物27(100 μM、8 h)；レーン7 化合物1(10 μM、5 h)；レーン8 化合物1(100 μM、5 h)；レーン9 化合物1(10 μM、8 h)；レーン10 化合物1(100 μM、8 h)；レーン11 化合物2(10 μM、5 h)； レーン12 化合物2(100 μM、5 h)；レーン13 化合物2(10 μM、8 h)；レーン14 化合物2(100 μM、8 h)。

【0338】

【表18】



10

20

30

40

【0339】

テーブル14. ScallI Iプライマーを用いるTaqDNAポリメラーゼトップアッセイ；レーン1、コントロールDNA；レーン2、100 μM クロラムブシリ処理；レーン3 化合物27(10 μM、5 h)；レーン4 化合物27(100 μM、5 h)；レーン5 化合物27(10 μM、8 h)；レーン6 化合物27(100 μM、8 h)；レーン7 化合物1(10 μM、5 h)；レーン8 化合物1(100 μM、5 h)；レーン9 化合物1(10 μM、8 h)；レーン10 化合物1(100 μM、8 h)；レーン11 化合物2(10 μM、5 h)；レーン12 化合物2(100 μM、5 h)；レーン13 化合物2(10 μM、8 h)；レーン14 化合物2(100 μM、8 h)

50

h)。

【0340】

テーブル13中に表されるPuviフラグメントについて、強力なアルキル化部位が5'-A A A A A(#3207, 3208)、5'-T T A T(#3202)、5'-A A G G G(#3186)、5'-A A A A(#3171)、およびG(#3115)において見出された。SacI DNAフラグメントについては、A A(#3239)、TT(#3263)、およびA(#3321)において見出された。同様のTaqDNAポリメラーゼトップアッセイを両方のPuviとSacIフラグメントについて行い、そしてCC-1065およびアドゼレシンと比較した。結果(データは示さない)は、CC-1065およびアドゼレシンならびに本発明の化合物(ヘアピン化合物(17、18および19)を除く)の共有結合配列選択性の間の類似性を示した。これらのヘアピン化合物は、DNAの異なる配列をアルキル化する優先傾向を示した。具体的には、TaqDNAポリメラーゼトップアッセイから、このヘアピン化合物17-19は、5'-A A A AA配列(CC-1065およびデュオカルマイシンのほとんどのアナログによる主要アルキル化部位)をアルキル化しなかった。その代わり、それらは3'-A T T T-5'配列でアルキル化選択性を示した。化合物18については、さらなる特有の強力なアルキル化部位が3'-G C A A C G-5'において見出された。化合物19については、特有であるけれども弱いアルキル化部位が3'-(G) C A-5'に局在した。本発明において記載される化合物(とりわけ配列特異的認識およびアルキル化の新規モチーフを使用するヘアピン化合物)の特有の配列特異性ゆえに、それらは、遺伝子発現を制御することにおける適用に加え、ゲノム中の特定配列を同定することにおける潜在的な用途を有し得る。
10
20

【0341】

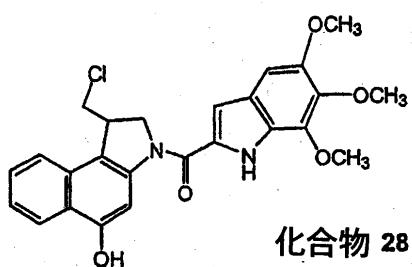
テーブル13および14における結果はまた、プロモ-含有アナログ2が、対応するクロロ-化合物1よりもDNAをアルキル化すること(それゆえTaqDNAポリメラーゼの活性をブロックすること)において非効率的であることを示唆する。これはおそらく、より良い脱離基であり、それゆえにより加溶媒分解反応性であるプロモの結果である。

【0342】

化合物25、26および化合物28(secocBI-トリメトキシインドー基準化合物(secocBI-trimethoxyindole reference compound)について行ったTaqDNAポリメラーゼトップアッセイからの結果をテーブル15に示す。この結果は、テーブル13および14に記載されるような化合物と同様に、共有結合DNA A T配列選択性(優先的に5つの連続的なA(865)AAAA配列における)を表す。
30

【0343】

【化14】



【0344】

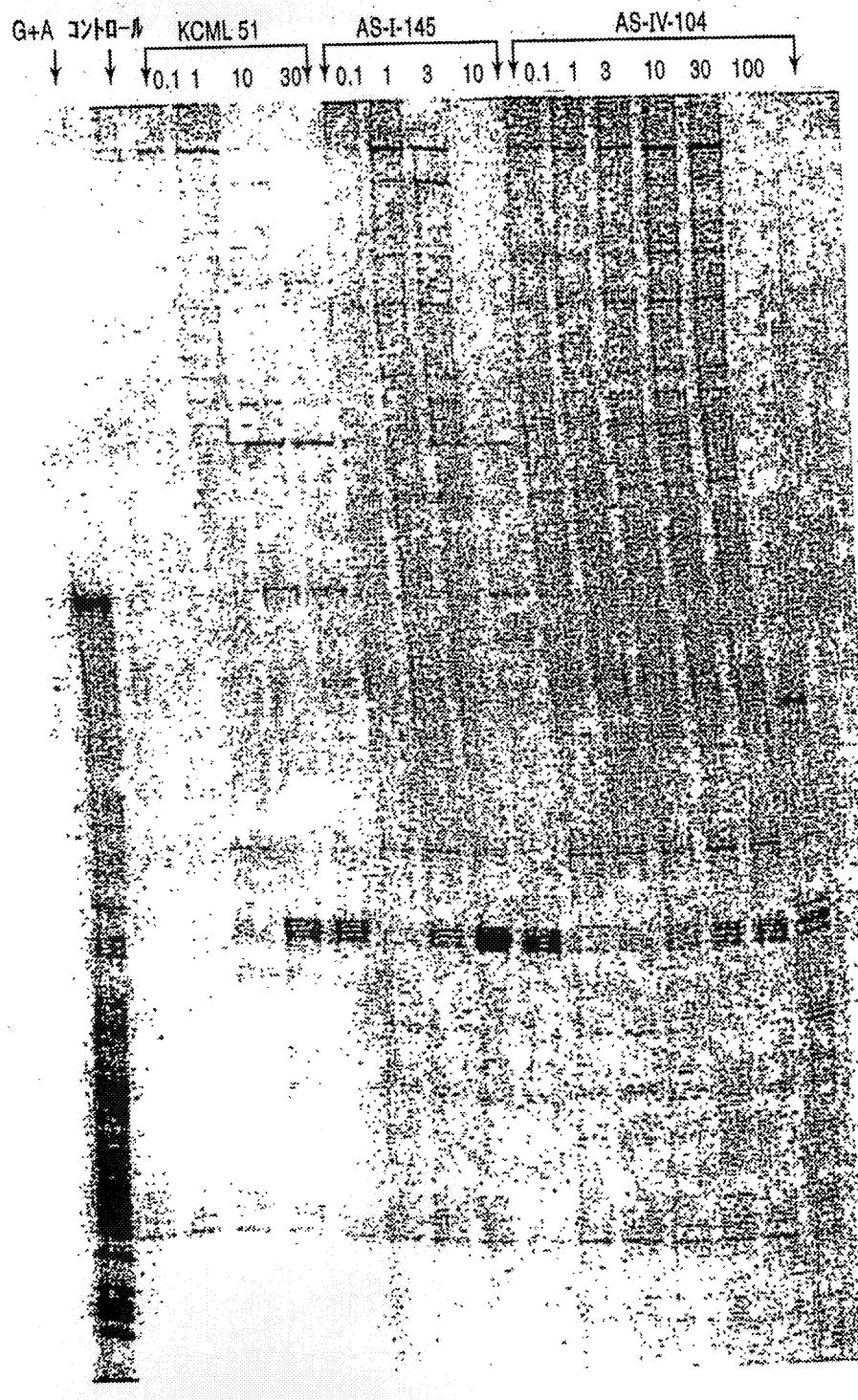
【表19】

10

20

30

40



【0345】

40

テーブル15. 化合物25および26についてのTaq DNAポリメラーゼストップアッセイ。KCMLは基準化合物である；secocobi-トリメトキシンドール（化合物28）。レーンは、これらの化合物の異なる濃度（μMにて）に相当する。

【0346】

特許文献

【0347】

【表20】

1. Kelly, R.C.; Warpehoski, M.A.; Wierenga, W. Analogs of Antibiotic CC-1065, Namely 1,2,8,8a-Tetrahydrocyclopropa[c]pyrrolo[3.2-e]indole-4-(5H)-ones and Related Compounds with Light-absorbing, Antibacterial, and antitumor Activities. March 27, 1990. U.S. Patent No. 4,912,227
2. Aristoff, P.A. CC-1065 Analogs having Two CPI Subunits Useful as Antitumor Agents. March 21, 1990. Eur. Pat. Appl. EP 359,454.
3. Yutaka, K.; Youichi, U.; Hiromitsu, S.; Hiroshi, S.; Eiji, K.; Makoto, M.; Satoru, N. Preparation of DC-88A Derivatives. January 9 1991. Eur. Pat. Appl. EP 406,749.
4. Denny, W.A.; Tercel, M. Preparation of seco precursors of cyclopropylindoles as anticancer drugs. 1998, WO 9707097 A1 970227.

【 0 3 4 8 】

参考文献

【 0 3 4 9 】

【 表 2 1 】

1. a) *Advances in DNA Sequence Specific Agents* Vol. 3, Jones, G.B.; Palumbo, M. Eds., JAI Press Inc., Greenwich, CT, 1998. (b) Arcamone, F.M.; Animati, F.; Barbieri, B.; Conigliacchi, E.; D'Alessio, R.; Geroni, C.; Giuliani, F.G.; Lazzari, E.; Menozzi, M.; Mongelli, N.; Penco, S.; Verini, M.A. Synthesis, DNA-Binding Properties, and Antitumor Activity of Novel Distamycin Derivatives. *J. Med. Chem.* 1989, 32, 774-778. (c) Li, L.H.; Wallace, T.L.; DeKoning, T.F.; Warpehoski, M.A.; Kelly, R.C.; Prairie, M.D.; Drueger, W.C. Structure and Activity Relationship of Several Novel CC-1065 Analogs. *Invest. New Drugs* 1987, 5, 329-337. (d) Li, L.H.; Kelly, R.C.; Warpehoski, M.A.; McGovern, J.P.; Gebhard, I.; DeKoning, T.F. Adozelesin, a Selected Lead among Cyclopropylpyrroleindole Analogs of the DNA-Binding Antibiotic, CC-1065. *Invest. New Drugs* 1991, 9, 137-148. (e) Warpehoski, M. The DNA Sequence Selectivity of CC-1065. in *Advances in DNA Sequence Specific Agents* Vol. 1, Hurley, L.H. Ed., JAI Press, Inc., Greenwich, CT, 1992, 217-245.

2. (a) Boger, D.L.; Johnson, D.S. CC-1065 and the Duocarmycins: Understanding their Biological Function through Mechanistic Studies. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1996, 35, 1438-1474. (b) Boger, D.L.; Johnson, D.S. CC-1065 and the Duocarmycins: Unraveling the Keys to a New Class of Natural Derived DNA Alkylating Agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995, 92, 3642-3649.

3. (a) Boger, D.L. The Duocarmycins: Synthetic and Mechanistic Studies. *Acc. Chem. Res.* 1995, 28, 20-29. (b) Boger, D.L. Duocarmycins: A New Class of Sequence Selective DNA Minor Groove Alkylating Agents. *Chemtracts: Org. Chem.* 1991, 4, 329-349.

4. (a) Hanka, L.J.; Dietz, A.; Gerpheide, S.A.; Kuentzel, S.L.; Martin, D.G. CC-1065 (NSC-298223), a New Antitumor Antibiotic. Production in-vivo Biological Activity, Microbiological Assays, and Taxonomy of the Producing Microorganism. *J. Antibiot.* 1978, 31, 1211-1217. (b) McGovern, J.P.; Clarke, G.L.; Pratte, E.A.; DeKoning, T.F. Preliminary Toxicity Studies with the DNA-Binding Antibiotic, CC-1065. *J. Antibiot.* 1983, 37, 63-70. (c) Warpehoski, M.A.; Gebhard, J.; Kelly, R.C.; Krueger, W.C.; Li, L.H.; McGovern, J.P. Stereoelectronic Factors Influencing the Biological Activity and DNA

【 0 3 5 0 】

【 表 2 2 】

10

20

30

Interaction of Synthetic Antitumor Agents Modeled on CC-1065. *J. Med. Chem.* 1988, 31, 590-603.

5. (a) Ichimura, H.; Ogawa, T.; Takahashi, K.; Kobayashi, E.; Kawamoto, I.; Yasuzawa, T.; Takahashi, I.; Nakano, H. Duocarmycin SA, A New Antibiotic from *Streptomyces* sp. *J. Antibiot.* 1990, 43, 1037-1038. (b) Yasuzawa, T.; Saitoh, Y.; Ichimura, M.; Takahashi, I.; Sano, H. Structure of Duocarmycin SA, A Potent Antitumor Antibiotic. *J. Antibiot.* 1991, 44, 445-447. (c) Yasuzawa, T.; Muroi, K.; Ichimura, M.; Takahashi, I.; Ogawa, T.; Takahashi, K.; Sano, H.; Saitoh, Y. Duocarmycins, Potent Antitumor Antibiotics by *Streptomyces* sp. Structures and Chemistry. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 378-391. (d) Ichimura, M.; Ogawa, T.; Takahashi, K.; Mihara, A.; Takahashi, I.; Nakano, H. Interconversion and Stability of Duocarmycins, a New Family of Antitumor Antibiotics: Correlation to Their Cytotoxic and Antimicrobial Activities In-vitro. *Oncol. Res.* 1993, 5, 165-171. (e) Gomi, K.; Kobayashi, E.; Miyoshi, K.; Ashizawa, T.; Okamoto, A.; Ogawa, T.; Katsumata, S.; Mihara, A.; Okabe, M.; Hirata, T. Anticellular and Antitumor Activity of Duocarmycins. *Jpn. J. Cancer Res.* 1992, 83, 113-120.

6. Hurley, L.H.; Reynolds, V.S.; Swenson, D.H.; Petzold, G.L.; Scahill, T.A. Reaction of the Antitumor Antibiotic CC-1065 with DNA: Structure of a DNA Adduct with DNA Sequence Specificity. *Science* 1984, 226, 843-844.

7. Boger, D.L.; Johnson, D.S.; Yun, W. (+)- and *ent*-(-)-Duocarmycin SA and (+)- and *ent*-(-)-N-BOC-DNA DNA Alkylation Properties. Alkylation Site Models that Accommodate the Offset AT-Rich Adenine N3 Alkylation Selectivity of the Enantiomeric Agents. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 1635-1656.

8. Reynolds, V.L.; Molineux, I.J.; Kaplan, D.J.; Swenson, D.H.; Hurley, L.H. Reaction of the Antitumor Antibiotic CC-1065 with DNA Location of the Site of Thermally Induced Strand Breakage and Analysis of DNA Sequence Specificity. *Biochemistry* 1985, 24, 6228-6237.

9. (a) Schnell, J.R.; Ketcham, R.R.; Boger, D.L.; Chazin, W.J. Binding-Induced Activation of DNA Alkylation by Duocarmycin SA: insights from the structure of an indole derivative-DNA adduct. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 5645-5652. (b) Boger, D.L.; Bollinger, B.; Hertzog, D.L.; Douglas, S.J.; Cai, H.; Mesini, P.; Garbaccio, R.M.; Jin, Q.; Kitos, P.A. Reversed and Sandwiched Analogs of Duocarmycin SA: Establishment of

【 0 3 5 1 】

【 表 2 3 】

10

20

30

the Origin of the Sequence-Selective Alkylation of DNA and New Insights into the Source of Catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 4987-4998 (c) Boger, D.L.; Garbaccio, R.M. Catalysis of the CC-1065 and Duocarmycin DNA Alkylation Reaction: DNA Binding Induced Conformational Change in the Agent Results in Activation. *Bioorg. Med. Chem.* 1997, 5, 263-276. (d) Boger, D.L.; Garbaccio, R.M. Are the duocarmycin and CC-1065 DNA alkylation reactions acid catalyzed? Solvolysis pH-rate profiles suggest they are not. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 5666-5669. (e) Boger, D.L.; Santillan, A. Jr.; Searcey, M.; Jin, Q. Synthesis and evaluation of duocarmycin and CC-1065 analogues containing modifications in the subunit linking amide. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 5241-5244.

10

10. (a) Warpehoski, M.A.; Hurley, L.H. Sequence Selectivity of DNA at Covalent Modification. *Chem. Res. Toxicol.* 1988, 1, 315-333. (b) Lin, C.H.; Sun, D.; Hurley, L.H. (+)-CC-1065 Produces Bending of DNA that Appears to Resemble Adenine/Thymine Tracts. *Chem. Res. Toxicol.* 1991, 4, 21-26. (c) Warpehoski, M.A.; Harper, D.E. Acid-Dependent Electrophilicity of Cyclopropylpyrroloindoles. Nature's Masking Strategy for a Potent DNA Alkylator. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 7573-7580. (d) Shahill, T.A.; Jensen, R.M.; Swenson, D.H. Hatzenbuhler, N.T.; Petzold, G.; Wierenga, W.; Brahme, N.D. An NMR Study of the Covalent and Noncovalent Interaction of CC-1065 and DNA. *Biochemistry* 1990, 29, 2852-2860.

20

11. (a) Hurley, L.H.; Draves, P.H. Molecular Aspects of the Interaction of (+)-CC-1065 with DNA. in *Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Interactions* Vol. 1, Neidle, S.; Waring, M. Eds., CRC Press, Boca Raton, Fl, 1993, 89-133. (b) Lin, C.H.; Hill, C.G.; Hurley, L.H. Characterization of a 12-mer Duplex d(GGCGGAGTTAGG)-(CCTAACTCCGCC) Containing a Highly Reactive (+)-CC-1065 Sequence by ¹H- and ³¹P-NMR, Hydroxyl-Radical Footprinting, and NOESY Restrained Molecular Dynamics Calculations. *Chem. Res. Toxicol.* 1992, 5, 167-182. (c) Powers, R.; Gorenstein, D.G. Two-Dimensional ¹H- and ³¹P-NMR Spectra and Restrained Molecular Dynamics Structure of a Covalent CPI-CDP₁₂-Oligodeoxynucleotide Decamer Complex. *Biochemistry*, 1990, 29, 9994-10008. (d) Eis, P.S.; Smith, J.A.; Rydzewski, J.M.; Case, D.A.; Boger, D.L.; Chazin, W.J. High Resolution Solution Structure of a DNA Duplex Alkylated by the Antitumor Agent Diocarmycin SA. *J. Mol. Biol.* 1997, 272, 237-252.

30

【0 3 5 2】

【表24】

12. (a) Travers, A.A. Why Bend DNA? *Cell* 1990, 60, 177-180. (b) Hurley, L.H.; Sun D. (+)-CC-1065 as a Probe for Intrinsic and Protein-Induced Bending of DNA. *J. Mol. Recog.* 1994, 7, 123-132. (c) Han, F.X.; Hurley, L.H. A Model for the T-Antigen-Induced Structural Alteration of the SV40 Replication Origin Based Upon Experiments with Specific Probes for Bent, Straight and Unwound DNA. *Biochemistry* 1996, 35, 7993-8001.

(d) Sun, D.; Hurley, L.H.; Harshey, R.M. Structure Distortions Induced by Integrated Host Factor (IHF) and the H' Site of Phage λ Probed by (+)-CC-1065, Pluramycin, and KMnO₄ and by DNA Cyclization Studies. (+)-CC-1065 as a Structural Probe for Muy Transposase-Induced Bending of DNA. *Biochemistry* 1996, 35, 10815-10827. (e) Ding, Z.M.; Harshey, R.M.; Hurley, L.H. *Nucl. Acids Res.* 1993, 21, 4281-4287.

13. Kirschner, K.N.; Lee, M.; Stanley, R.C.; Bowen, J.P. Density functional and ab initio studies on N-acetyl duocarmycin SA: insight into its DNA interactions properties. *Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 329-335.

14. Boger, D.L.; McKie, J.A.; Han, N.; Tarbie, C.M.; Riggs, H.W.; Kitos, P.A. A Hammett Correlation for CC-1065 and Duocarmycin Analogs: Magnitude of Substitute Electronic Effects on Functional Reactivity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 659-664, and references therein.

15. (a) Boger, D.L.; Yun, W. Reversibility of the Duocarmycin A and SA DNA Alkylation Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 9872-9873. (b) Warpehoski, M.A.; Harper, E.; Mitchell, M.A.; Monroe, T.J. Reversibility of the Covalent Reaction of CC-12065 and Analogues with DNA. *Biochemistry* 1992, 31, 2502-2508.

16. Asai, A.; Nagamura, S.; Saito, H.; Takahashi, I.; Nakano, H. The Reversible DNA-Alkylating Activity of Duocarmycin and Its Analogues. *Nucl. Acids Res.* 1994, 22, 88-93.

17. (a) Hightower, R.D.; Sevin, B.U.; Pevras, J.P.; Untch, M.; Angioli, R.; Averette, H. In-Vitro Evaluation of the Novel Chemotherapeutic Agents U-73975, U-77779, and U-80244. *Gynecol. Oncol.* 1992, 42, 186-190. (b) Cote, S.; Momparler, R.L. Evaluation of the Antineoplastic Activity of Adozelesin Alone and in Combination with 5-Aza-2'-deoxycytidine and Cytosine-Arabinoside on DLD-1 Human Colon Carcinoma Cells. *Anti-Cancer Drugs* 1993, 4, 327-333. (c) Fleming, G.F.; Ratain, S.M.; O'Brien, R.L.; Schilsky, P.C.; Ramos, R.; Richards, J.M.; Vogelzang, N.J.; Kasunich, D.A.; Earhart, R.H. Phase I Study of Adozelesin Administered by 24-Hour Continuous Intravenous

【 0 3 5 3 】

【 表 2 5 】

10

20

30

Infusion. *J. Natl. Cancer Inst.* 1994, 86, 368-372. (d) Foster, B.J.; Larusso, P.M.; Poplin, E.; Zalupski, M.; Valdivieso, M.; Wozniak, A.; Flaherty, L.; Kasunic, D.A.; Earhart, R.H.; Baker, L.H. Phase I Trial of Adozelesin Using the Treatment Schedule of Daily x5 Every 3 Weeks. *Invest. New Drugs* 1996, 13, 321-326. (e) Burris, H.; Earhart, R.; Kuhn, J.; Shaffer, D.; Smith, L.; Weiss, G.; Kusanic, D.; Radbury, G.; Campbell, L.; Von Hoff, D. A Phase I Trial of Adozelesin, a Novel DNA Sequence-Specific Alkylating Agent. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1992, 33, 265. (f) Burris, H.A.; Dleras, V.C.; Tunca, M.; Earhart, R.H.; Eckardt, J.R.; Rodriguez, G.I.; Shaffer, D.S.; Fields, S.M.; Campbell, E.; Scaaf, L.; Kasunic, D.; Von Hoff, D.D. Phase I study with the DNA sequence specific agent adozelesin. *Anti-cancer Drugs* 1997, 8, 588-596. (g) Foster, B.J.; LoRusso, P.M.; Poplin, E.; Zalupski, M.; Valdivieso, M.; Wozniak, A.; Flaherty, L.; Kasunic, D.A.; Earhart, R.H.; Baker, L.H. Phase I trial of adozelesin using the treatment schedule of daily x5 every 3 weeks. *Invest. New Drugs* 1996, 13, 321-326.

18. (a) Li, L.H.; Dekoning, J.F.; Kelly, R.C.; Krueger, W.C.; McGovern, J.P.; Padbury, G.E.; Petzold, G.L.; Wallace, T.L.; Ouding, R.J.; Praire, M.D.; Gebhard, I. Cytotoxicity and Antitumor Activity of Carzelesin, a Prodrug Cyclopropyrrroloindole Analogue. *Cancer Res.* 1992, 52, 4904-4913. (b) van Tellingen, O.; Punt, C.J.A.; Awada, A.; Wagener, D.J.T.; Piccart, M.J.; Groot, Y.; Scaaf, L.J.; Henrar, R.E.C. Nooijen, W.J.; Beijnen, J.H. A clinical pharmacokinetics study of carzelesin given by short term intravenous infusion in a phase I study. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1998, 41, 377-384.

19. (a) Walker, D.L.; Reid, F.M.; Ames, M.M. Preclinical Pharmacology of Bizelesin, a Potent Bifunctional Analog of the DNA-Binding Antibiotic CC-1065. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1994, 34, 317-322. (b) Volpe, D.A.; Tomaszewski, J.E.; Parchment, R.E.; Garg, A.; Flora, K.P.; Murphy, M.J.; Grieshaber, C.K. Myelotoxic Effects of the Bifunctional Alkylating Agent Bizelesin on Human, Canine and Murine Myeloid Progenitor Cells. *Cancer. Chemother. Pharmacol.* 1996, 39, 143-149. (c) Pitot, H.C.IV; Erlichman, C.; Reid, J.M.; Sloan, J.A.; Ames, M.M.; Bagniewski, P.G.; Atherton-Skaff, P.; Adjei, A.A.; Rubin, J.; Rayson, D.; Goldberg, R.M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 1999, 40, 91.

20. (a) Nagamura, S.; Kobayashi, E.; Gomi, K.; Saito, H. Studies on the Active Metabolite (DU-86) of KW-2189, A Novel Derivative of Duocarmycin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 2147-2150, and references therein. (b) Alberts, S.R.; Erlichman, C.; Reid, J.M.; Ames,

【 0 3 5 4 】

【 表 2 6 】

10

20

30

- M.M.; Sloan, J.A.; Richardson, R.L. Phase I trial of KW2189 in solid tumors using a 50day administration schedule. *Proc. Am. Assoc. cancer Res.* 1996, 37, 393. (c) Abbruzzese, J.L.; Madden, T.; Newman, R.A. Phase I clinical and pharmacokinetic trial of KW2189. *Proc. Am. Assoc. cancer Res.* 1996, 37, 165. (d) Niitani, H.; Horikoshi, N.; Hasegawa, K.; Fukuoka, M.; Kudoh, S.; Hino, M. Phase I study of KW2189, a derivative of new anticancer antibiotic duocarmycin. *Proc. Am. Assoc. cancer Res.* 1995, 36, 243. (e) Amishiro, N.; Nagamura, S.; Murakata, C.; Okamoto, A.; Kobayashi, E.; Asada, M.; Gomi, K.; Tamaoki, T.; Okabe, M.; Yamaguchi, N.; Yamaguchi, K.; Saito, H. Synthesis and antitumor activity of duocarmycin derivatives: modification at C-8 position of A-ring pyrrole compounds bearing the simplified DNA-binding groups. *Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 381-391. (f) Asai, A.; Nagamura, S.; Kobayashi, E.; Gomi, K.; Saito, H. Synthesis and antitumor activity of water-soluble duocarmycin B1 prodrugs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999, 9, 2995-2998. 10
21. (a) Wang, Y.; Gupta, R.; Huang, L.; Luo, W.; Lown, J.W. Design, Synthesis, Cytotoxic Properties and Preliminary DNA Sequencing Evaluation of CPI-N-Methylpyrrole Hybrids. Enhancing Effect of a *Trans* Double Bond Linker and Role of the Terminal Amide Functionality on Cytotoxic Potency. *Anti-Cancer Drug Des.* 1996, 11, 15-34. (b) Fregeau, N.L.; Wang, Y.; Pon, R.T.; Wylie, W.A.; Lown, J.W. Characterization of a CPI-Lexitropsin Conjugate-Oligonucleotide Covalent Complex by ¹H-NMR and Restrained Molecular Dynamics Simulation. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 8917-8925. 20
22. Boger, D.L.; Han, N.; Tarby, C.M.; Boyce, C.W.; Cai, H.; Jin, Q.; Kitos, P.A. Synthesis, Chemical Properties, and Preliminary Evaluation of Substituted CBI Analogs of CC-1065 and the Duocarmycins Incorporating the 7-Cyano-1,2,9,9a-tetrahydrocyclopropa[c]benz[e]indol-4-one Alkylation Subunit: Hammett Quantitation of the Magnitude of Electronic Effects on Functional Reactivity. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 4894-4912. 30
23. Mohamadi, F.; Spees, M.M.; Staten, G.S.; Marder, P.; Kipka, J.K.; Johnson, D.A. Total Synthesis and Biological Properties of Novel Antineoplastic (Chloromethyl)furanoidolines: An Asymmetric Hydroboraton Method Synthesis of the Alkylation Subunits. *J. Med. Chem.* 1994, 37, 232-239.

【 0 3 5 5 】

【 表 2 7 】

24. Baraldi, P.G.; Cacciari, B.; Pinedo de las Infantas, M.J.; Romagnoli, R.; Spatullo, G.; Cozzi, P.; Mongelli, N. Synthesis, Chemical Solvolytic Stability and Preliminary Biological Evaluation of (\pm)-N-BOC-CPzI: A Pyrazole Analog of the Left-Hand Segment of the Antitumor Agent CC-1065. *Anti-Cancer Drug Design* 1997, 12, 67-74.
25. (a) Boger, D.L.; Munk, S.A.; Zarrinmayeh, H.; Ishizaki, T.; Haught, J.; Bina, M. An Alternative and Convenient Strategy for Generation of Substantial Quantities of Singly 5'-³²P-End Labeled Double-Stranded DNA for Binding Studies: Development of a Protocol for Examination of Functional Features of (+)-CC-1065 and the Duocarmycins that Contribute to Their Sequence-Selective DNA Alkylation Properties. *Tetrahedron* 1991, 47, 2661-2682. (b) Boger, D.L.; Ishizaki, T.; Zarrinmayeh, H.; Munk, S.A.; Kitos, P.A.; Suntorwart, O. Duocarmycin-Pyrindamycin DNA Alkylation Properties and Identification, Synthesis, and Evaluation of Agents Incorporating the Pharmacophore of the Duocarmycin-Pyrindamycin Alkylation Subunit. Identification of the CC-1065-Duocarmycin Common Chromophore. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 8961-8971. 10
26. (a) Atwell, G.J.; Tercel, M.; Boyd, M.; Wilson, W.R.; Denny, W.A. Synthesis and cytotoxicity of 5-amino-1-(chloromethyl)-3-[(5,6,7-trimethoxyindol-2-yl)carbonyl]-1,2-dihydro-3H-benz(e)indole (amino-seco-CBI-TMI) and related 5-alkylamino analogues: New DNA minor groove alkylating agents. *J. Org. Chem.* 1998, 63, 9414-9420. (b) Milbank, J.B.J.; Tercel, M.; Atwell, G.J.; Wilson, W.R.; Hogg, A.; Denny, W.A. Synthesis of 1-Substituted 3-(Chloromethyl)-6-aminoineole (6-Amino-seco-Cl) DNA Minor Groove Alkylation Agents and Structure-Activity Relationships for their Cytotoxicity. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 649-658. (c) Tercel, M.; Gieseg, M.A.; Denny, W.A.; Wilson, W.R. Synthesis and cytotoxicity of amino-seco-DSA: an amino analogue of the DNA alkylating agent duocarmycin SA. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 5946-5953. 20
27. (a) Hurley, L.H.; Warpehoski, M.A.; Lee, C.S.; McGovern, J.P.; Scahill, T.A.; Kelley, R.C.; Mitchell, M.A.; Wienieski, N.A.; Gebhard, J.; Johnson, P.D.; Bradford, V.S. Sequence Specificity of DNA Alkylation by the Unnatural Enantiomer of CC-1065 and Its Synthetic Analogs. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 4633-4649. (b) Boger, D.L.; Coleman, R.S.; Invergo, B.J.; Sakya, S.M.; Ishizaki, T.; Munk, S.A.; Zarrinmayeh, H.; Kitos, P.A.; Thompson, S.C. Synthesis and Evaluation of Aborted and Extended CC-1065 Functional Analogues: (+)- and (-)-CPI-PDE₁, (+)- and (-)-CPI-CDPI₁, and (\pm), (+)- 30

[0 3 5 6]

【表 28】

- , and (-)-CPI-CDPIs. Preparation of Key Partial Structures and Definition of an Additional Functional Role of the CC-1065 Central and Right-Hand Subunits. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 4623-4632. (c) Warpehoski, M.A.; McGovern, P.; Mitchell, M.A.; Hurley, L.H. Contrasting Mechanisms for the Sequence Recognition of DNA by (+)- and (-)-CC-1065. In *Molecular Basis of Specificity in Nucleic Acid-Drug Interactions* Pullman, B.; Jortner, J. Eds., Kluwers Academic Publishers, Netherlands, 1990, 531-550.
28. (a) Stinson, S. C. FDA May Confer New Status on Enantiomers. *Chem. & Eng. News* June 2 1997, 28-29. (b) White, R.H.; Parsons, P.G.; Prakash, A.S.; Young, D.J. The In-vitro and DNA Alkylating Ability of the Simplest Functional Analogues of the *seco* CC-1065 Alkylating Subunit. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1995, 5, 1869-1874. (c) Baird, R.; Winstein, S. Neighboring Carbon and Hydrogen. LI. Dienones and Ar1-3 Participation. Isolation and Behavior of Spiro(2,5)octa-1,4-diene-3-one. *J. Am. Chem. Soc.* 1963, 85, 567-578.
29. Boger, D.L.; McKie, J.A.; Nishi, T.; Ogiku, T. Total Synthesis of (+)-Duocarmycin A, *epi*-(+)-Duocarmycin A and Their Unnatural Enantiomers: Assessment of Chemical and Biological Properties. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 311-325.
30. (a) Warpehoski, M.A. Total Synthesis of U-71, 184, A Potent New Antitumor Agent Modeled on CC-1065. *Tetrahedron Lett.* 1986, 27, 4103-4106. (b) Boger, D.L.; McKie, J.A. An Efficient Synthesis of 1,2,9,9a-Tetrahydropropa[c]benzo[e]indol-4-one (CBI): An Enhanced and Simplified Analog of the CC-1065 and Duocarmycin Alkylation Subunits. *J. Org. Chem.* 1995, 60, 1271-1275. (c) Lukhtanov, E.A.; Kutyavin, I.V.; Gorn, V.V.; Reed, M.W.; Adams, A.D.; Lucas, D.D. Meyer, R.B.Jr. Sequence and Structure Dependence of the Hybridization-Triggered Reaction of Oligonucleotides Bearing Conjugated Cyclopropapyrrololoindole. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 6214-6225.
31. Ling, L.; Lown, J.W. Enzymatic Preparation of Optically Active Precursors of CPI, the DNA Alkylation Subunit of the Naturally Occurring Antitumor Antibiotic CC-1065. *J.C.S. Chem. Commun.* 1996, 1559-1560.
32. Aristoff, P.A.; Johnson, P.D. Synthesis of CBI-PDE-I Dimer, the Benzannelated Analogue of CC-1065. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 6234-6239.
33. (a) Sugiyama, H.; Lian, C.; Isomura, M.; Saito, I.; Wang, A.H-J. Distamycin A modulates the sequence specificity of DNA alkylation by duocarmycin A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996, 93, 14405-14410. (b) Fujiwara, T.; Tao, Z-F.; Ozeki, Y.; Saito, I;

【 0 3 5 7 】

【 表 2 9 】

10

20

30

40

Wang, A.H-J.; Lee, M.; Sugiyama, H. Modulation of Sequence specificity of duocarmycin -dependent DNA alkylation by pyrrole-imidazole triamides. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 7706-7707. (c) Tao, Z-F.; Fujiwara, T.; Saito, I.; Sugiyama, H. Sequence-specific DNA alkylation by hybrid molecules between segment A of duocarmycin A and pyrrole/imidazole diamide. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, 38, 650-653. (d) Tao, Z-F.; Saito, I.; Sugiyama, Highly cooperative DNA dialkylation by the homodimer of imidazole-pyrrole diamide-CPI conjugate with vinyl linker. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 1602-1608.

10

34. (a) Tao, Z-F.; Fujiwara, T.; Saito, I.; Sugiyama, H. Rational design of sequence-specific DNA alkylating agents based on duocarmycin A and pyrrole-imidazole hairpin polyamides. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 4961-4967. (b) Tao, Z-F.; Fujiwara, T.; Saito, I.; Sugiyama, H. Sequence -specific alkylation of DNA by duocarmycin A and its novel derivatives bearing Py/Im polyamides. *Nucleosides & Nucleotides* 1999, 18, 1615-1616.

35. (a) White, S.; Szewczyk, J.W.; Turner, J.M.; Baird, E.E.; Dervan, P.B. Recognition of the four Watson-Crick base pairs in the minor groove by synthetic ligands. *Nature* 1998, 391, 468-471. (b) Urbach, A.R.; Szewczyk, J.W.; White, S.; Turner, J.M.; Baird, E.E.; Dervan, P.B. Sequence selectivity of 3-hydroxypyrrrole/Pyrrole ring pairings in the minor groove. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 11621-11629.

20

36. Yang, X-L.; Kaenzig, C.; Lee, M.; Wang, A.H-J. Binding of AR-1-144, a tri-imidazole DNA minor groove binder, to CCGG sequence analyzed by NMR spectroscopy. 1999, *Eur. J. Biochem.* 1999, 263, 646-655.

37. Yang, X-L.; Hubbard IV, R.B.; Lee, M.; Tao, Z-F.; Sugiyama, H.; Wang, A.H-J. Imidazole-imidazole pair as a minor groove recognition motif for T:G mismatched base pairs. *Nucl. Acids Res.* 1999, 27, 4283-4190.

38. (a) Gottesfeld, J.M.; Neely, L.; Trauger, J.W.; Baird, E.E.; Dervan, P.B. Regulation of gene expression by small molecules. *Nature* 1997, 387, 202-205. (b) Mapp, A.K.; Ansari, A.Z.; Ptashne, M.; Dervan, P.B. Activation of gene expression by small molecule transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000, 97, 3930-3935.

30

39. Ullman, F.; Bruck, W. 2,4-Dinitro- α -naphthol. *Ber.* 1909, 41, 3932-3939; *Chem. Abstr.* 1909, 3, 435. Talen, H.W. Replacement of the halogen atom or the alkyl group in 1-

【 0 3 5 8 】

【 表 3 0 】

chloro-, 1-methoxy-, 1-ethoxy-2,4-dinitro-, and -2,4,5-trinitronaphthalenes by various other groups. *Rec. Trav. Chim.* 1928, 47, 346-362.

40. Hartley, J.A.; Webber, J.; Wyatt, M.D.; Bordenick, N.; Lee, M. Novel Cytotoxic DNA Sequence and Minor Groove Targeted Photosensitizers: Conjugates of Pyrene and Netropsin Analogues. *Bioorg. Med. Chem.* 1995, 3, 623-629.

41. Ponti, M.; Forrow, S.M.; Souhami, R.L.; D'Incalci, M.; Hartley, J.A. Measurement of the Sequence Specificity of Covalent DNA Modification by Antineoplastic Agents Using Taq DNA Polymerase. *Nucl. Acids Res.* 1991, 19, 2929-2933.

42. Carmichael, J.; DeGraff, W.G.; Gadzar, A.F.; Minna, J.D.; Mitchell, J.B.; Evaluation of a Tetrazolium-based Semi-automated Colorimetric Assay: Assessment of Chemosensitivity Testing. *Cancer Res.* 1987, 47, 936-946.

43. Skehan, P.; Storeng, R.; Scudiero, D.; Monks, A.; McMahon, J.; Visitica, D.; Warren, J.T.; Bokesch, S.K.; Boyd, M.R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* 1990, 82, 1107-1112.

44. (a) Boyd, R.B. Status of the NCI Preclinical Antitumor Drug Discovery Screen. *Principles & Practices of Oncology* 1989, 3, 1-12. (b) Boyd, R.B. The NCI In Vitro Anticancer Drug Discovery Screen. In *Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval* Teicher, B. Ed.; Humana Press Inc., Totowa, NJ, 1997, 29-42.

45. Hollingshead, M.G.; Alley, M.C.; Camalier, R.F.; Abbott, B.J.; Mayo, J.G.; Malspeis, L.; Grever, M.R. In Vivo Cultivation of Tumor Cells in Hollow Fibers. *Life Sciences* 1995, 57, 131-141.

10

20

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
C 07D 209/42	(2006.01)	C 07D 209/42
C 07D 213/64	(2006.01)	C 07D 213/64
C 07D 213/69	(2006.01)	C 07D 213/69
C 07D 235/18	(2006.01)	C 07D 235/18
C 07D 307/82	(2006.01)	C 07D 307/82
C 07D 405/12	(2006.01)	C 07D 405/12
C 07D 405/14	(2006.01)	C 07D 405/14
A 61K 31/167	(2006.01)	A 61K 31/167
A 61K 31/4025	(2006.01)	A 61K 31/4025
A 61K 31/404	(2006.01)	A 61K 31/404
A 61K 31/4184	(2006.01)	A 61K 31/4184
A 61K 31/496	(2006.01)	A 61K 31/496
A 61P 35/00	(2006.01)	A 61P 35/00

審査官 小久保 敦規

(56)参考文献 特表2000-506168(JP,A)

特表2000-511893(JP,A)

特開2000-159768(JP,A)

Swenton, John S.; Bonke, Brian R.; Chen, Chung Pin; Chou, Chun Tzer, Anodic oxidation studies of p-methoxyanilides. A general method for preparation of acylated quinone ketals, Journal of Organic Chemistry, 米国, 1989年, 54(1), 51-8

T. A. Bryston et al., Cyclopropane Chemistry Related to the Alkaloid CC-1065, Tetrahedron Letters, 英国, 1988年, 29(18), 2167-2170

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07B 31/00-63/04

C07C 1/00-409/44

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)