

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5722883号
(P5722883)

(45) 発行日 平成27年5月27日 (2015. 5. 27)

(24) 登録日 平成27年4月3日 (2015. 4. 3)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 213/64 (2006. 01)
A 6 1 K 31/4412 (2006. 01)
A 6 1 K 31/5377 (2006. 01)
A 6 1 K 31/4545 (2006. 01)
A 6 1 K 31/496 (2006. 01)

C O 7 D 213/64 C S P
 A 6 1 K 31/4412
 A 6 1 K 31/5377
 A 6 1 K 31/4545
 A 6 1 K 31/496

請求項の数 6 (全 31 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-512189 (P2012-512189)
 (86) (22) 出願日 平成22年5月24日 (2010. 5. 24)
 (65) 公表番号 特表2012-527488 (P2012-527488A)
 (43) 公表日 平成24年11月8日 (2012. 11. 8)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2010/073131
 (87) 国際公開番号 W02010/135976
 (87) 国際公開日 平成22年12月2日 (2010. 12. 2)
 審査請求日 平成25年5月23日 (2013. 5. 23)
 (31) 優先権主張番号 200910043502.1
 (32) 優先日 平成21年5月25日 (2009. 5. 25)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 510116820
 中南大学
 Central South University
 中華人民共和国410013湖南省長沙市
 桐梓坡路172号
 172 Tongzipo Road, Changsha, Hunan, 410013, P. R. China
 (74) 代理人 110000659
 特許業務法人広江アソシエイツ特許事務所
 (72) 発明者 胡 高云
 中華人民共和国 湖南省▲長▼沙市桐梓坡
 路172号

最終頁に続く

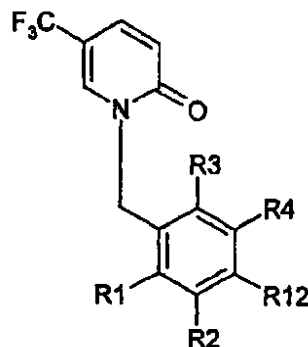
(54) 【発明の名称】 1 - (置換ベンジル) - 5 - トリフルオロメチル - 2 - (1 H) ピリドン化合物及びその塩、並びにその製造方法及びその用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (X I I I) の構造を有する、1 - 置換ベンジル - 5 - トリフルオロメチル - 2 - (1 H) ピリドン化合物及びその製薬上許容される塩。

【化 1】

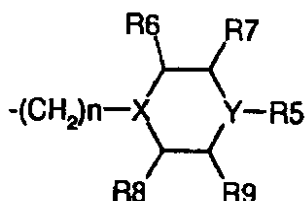


X I I I

式中、 $R^1 \sim R^4$ 、 R^{12} はH、 NO_2 、ヒドロキシ基、アミノ基、ハロゲン原子、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $NR^{10}R^{11}$ 、 OR^{13} 、 $C(O)R^{14}$ 、 $O-C(O)R^{14}$ 、 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ ハロゲン置換アルキル基、 $C_2 - C_6$ アルケニル基、カルボキシル基、カルボン酸エステルから選択される。； $R^1 \sim R^4$ 、 R^{12} は同時にHではなく、 R^{14} は $C_1 - C_6$ アルキル基から選択される； $NR^{10}R^{11}$ の構造において、 R^{10} 及び R^{11} はH、 $C_1 - C_6$ ヒドロキシアリル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシアリル基、又は構造式XIVから選択され、且つ R^{10} と R^{11} は同時にHではない。； R^{13} はヒドロキシアリル基、アルコキシアリル基から選択される； $R^1 \sim R^4$ 、 R^{12} の少なくとも1つは $NR^{10}R^{11}$ である；

【化2】

10



構造式XIV

20

構造式XIV中、 R^5 はH、 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ ハロゲン置換アルキル基、 $C_1 - C_6$ ヒドロキシアリル基、 $C_2 - C_6$ アルケニル基から選択される。； $R^6 \sim R^9$ はH、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $=O$ 、 $C_1 - C_4$ アルキル基、 $C_1 - C_4$ ハロゲン置換アルキル基、 $C_1 - C_4$ ヒドロキシアリル基、 $C_2 - C_4$ アルケニル基から選択される。；XはN、CHから選択される。；YはN、O、CHから選択される（但し、YがOの場合、 R^5 は存在しない。）。；nは1～6である。

【請求項2】

塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、過塩素酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタン
スルホン酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、マイレン酸塩、コハク酸塩、
トリフルオロ酢酸塩、コハク酸塩、サリチル酸塩、DL-アスパラギン酸塩、D-アスパ
ラギン酸塩、L-アスパラギン酸塩、DL-グルタミン酸塩、D-グルタミン酸塩、L-グ
ルタミン酸塩、グリセリン酸塩、コハク酸塩、ステアリン酸塩、DL-酒石酸塩、D-酒
石酸塩、L-酒石酸塩、(±)マンデル酸塩、(R)-(−)マンデル酸塩、(S)-(+)マン
デル酸塩、クエン酸塩、粘液酸塩、マロン酸塩、安息香酸塩、DL-リンゴ酸
塩、D-リンゴ酸塩、L-リンゴ酸塩、半リンゴ酸塩、1-アダマンタン酢酸塩、1-ア
ダマンタンカルボン酸塩、フラビアン酸塩、スルホ酢酸塩、(±)-乳酸塩、L-(+)-
乳酸塩、D-(−)-乳酸塩、パモ酸塩、D-α-ガラクトツロン酸塩、グリセリン酸塩
、DL-シスチン塩、D-シスチン塩、L-シスチン塩、DL-ホモシスチン塩、D-ホ
モシスチン塩、L-ホモシスチン塩、DL-システイン塩、D-システイン塩、L-シス
테인塩、(4S)-ヒドロキシー-L-プロライン、シクロプロパン-1, 1-ジカルボ
ン酸塩、2, 2-メチルマロン酸塩、チロシン塩、プロライン塩、フマル酸塩、1-ヒド
ロキシー-2-ナフタレンカルボン酸塩、ホスホノ酢酸塩、炭酸塩、炭酸水素塩、3-ホス
ホノプロピオン酸塩、DL-ピログルタミン酸塩、D-ピログルタミン酸塩及びL-ピログ
ルタミン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、
(±)カンファースルホン酸塩、ナフタリンスルホン酸塩、1R-(−)-カンファースル
ホン酸塩、1S-(+)-カンファースルホン酸塩、1, 5-ナフタレンジスルホン酸塩
、1, 2-エタンジスルホン酸塩、1, 3-プロパニスルホン酸塩、3-(N-モル
フォリノ)プロパニスルホン酸塩、ビフェニルスルホン酸塩、イセチオン酸塩及び1-ヒド
ロキシー-2-ナフタレンスルホン酸塩、リン酸二水素塩、リン酸二水素カリウム塩、リン
酸二カリウム塩、リン酸カリウム塩、リン酸水素ナトリウム塩、リン酸二ナトリウム塩、

30

40

50

リン酸ナトリウム塩、リン酸二水素ナトリウム塩、リン酸カルシウム塩、第三リン酸カルシウム塩及びヘキサフルオロリン酸塩、ビニルホスホン酸塩、2-カルボキシエチルホスホン酸塩及びフェニルホスホン酸塩である、請求項1に記載の1-置換ベンジル-5-トリフルオロメチル-2-(1H)ピリドン化合物の製薬上許容できる塩。

【請求項3】

R¹~R⁴、R¹²の1つがNR¹⁰R¹¹である場合に、残りの置換基がHである、請求項1に記載の1-置換ベンジル-5-トリフルオロメチル-2-(1H)ピリドン化合物。

【請求項4】

化合物は、

1-(4-(3-モルホリノプロピル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(3-(ピペリジン-1-イル)プロピルアミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オン；

1-(4-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロピル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-ヒドロキシエチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-(ピペリジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-モルホリノエチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-(ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-(4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(4-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(2-(2-ヒドロキシエチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(2-(2-(ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(2-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(2-(2-モルホリノエチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

である、請求項1に記載の1-置換ベンジル-5-トリフルオロメチル-2-(1H)ピリドン化合物。

【請求項5】

1-(4-(アセチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

1-(2-アセチルアミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；又は

1-(4-(2-(2-ヒドロキシエトキシ)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン；

である、1-置換ベンジル-5-トリフルオロメチル-2-(1H)ピリドン化合物。

【請求項6】

請求項1~5のいずれかに記載の1-置換ベンジル-5-トリフルオロメチル-2-(

10

20

30

40

50

1 H) ピリドン化合物又は該化合物及びその製薬上許容される添加剤を含む、抗線維化薬物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、1-置換ベンジル-5-トリフルオロメチル-2-(1H)ピリドン系化合物に関する。また、本発明は、それらの製造方法及び医薬用途に関する。

【背景技術】

【0002】

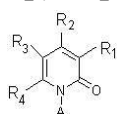
線維化 (f i b r o s i s) は、様々な臓器又は組織で発生し、臓器又は組織内実質細胞の減少及び繊維性結合組織の増加を引き起こし、最終的に臓器又は組織構造の損傷及び機能減退を招き、更には臓器不全を招く。現在までに、臓器又は組織の線維化の発症機序、診断方法及び予防策について、広範囲な研究が行われている。従来技術において、ある面で大きな進歩をもたらしたが、いくつかの重要な問題が未解決のままである。

【0003】

米国特許US3839346A、US4052509A、US4042699は、29個の下記構造式Iを有するピリドン系化合物を開示する。

【0004】

【化1】



構造式 I

【0005】

また、このようなピリドンが抗炎症、解熱、血清尿酸レベルの低減、止痛などの効果を持つことを開示する。中でも、1-フェニル-5-メチル-2-(1H)ピリドン (5-methyl-1-phenyl-2(1H)-pyridone, Pirfenidone) は最も良い活性及び低い毒性を持つものである。

【0006】

米国特許US5,310,562は、1994年に初めて1-フェニル-5-メチル-2-(1H)ピリドン (5-methyl-1-phenyl-2(1H)-pyridone, Pirfenidone及びPFDともいう) が抗線維化の生物活性を持つことを公表した。その後、米国特許US5,518,729及びUS5,716,632は、構造式Iとして記載したN-置換-2-(1H)-ピリドン [N-substituted-2-(1H)pyridone] 及びN-置換-3-(1H)-ピリドン [N-substituted-3-(1H)pyridone] もピルフェニドン (Pirfenidone) と同様な抗線維化効果を持つことを公表した。44個の化合物が列挙され、その大部分は米国特許US4,052,509に由来する化合物として知られ、これらの化合物において、R₁、R₂、R₃、R₄はメチル基又はエチル基に限られている。

【0007】

ピルフェニドン (pirfenidone, PFD) の抗線維化の面での有効性が、より多くの体外実験及び動物実験で証明された。実験によると、ピルフェニドンが腎線維化、肺線維化の動物実験及び特異性肺線維化患者の臨床治療において、ECM集積を抑制し、さらに逆転する効果及び線維化の発生と瘢痕形成を抑制し、さらに逆転する効果を持つことを示す。(Shimizu T, Fukagawa M, Kuroda T, et al. Pirfenidone prevents collagen accumulation in the remnant kidney in rats With partial nephrectomy. Kidney Int, 1997, 52 (Suppl 63) : S239-243; Raghu G, Johnson WC, Lockhart D, et al. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis With a new antifibrotic agent, pirfenidone. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 159: 1061-1069)。

【0008】

本出願人は中国特許ZL02114190.8を出願し、ピリドン化合物類を提供し、

10

20

30

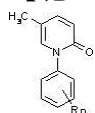
40

50

それら化合物は次のような構造式 I I を有する。

【0009】

【化2】



構造式 I I

【0010】

n = 1 の場合、前記の置換基 R は、F、Br、I を表す。n = 2 の場合、前記の置換基 R は、F、Cl、Br、I、飽和の直鎖アルキル基、酸素置換された飽和の直鎖アルキル基、ハロゲン置換された飽和の直鎖アルキル基を表す。前記の置換基 R のベンゼン環における位置は、オルト位、メタ位、パラ位などがある。

10

【0011】

ピルフェニドンは、すでに2008年に日本で治療肺線維化の適応症で発売されている。但し、ピルフェニドン及びその誘導体の効力は強くない。ピルフェニドンの臨床の1日用量は2400mgに達する。

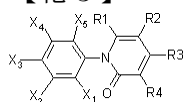
【0012】

WO2007053685、WO2006122154には、p38キナーゼ抑制活性をもつ化合物類を開示し、これらの化合物が線維化疾病の治療に用いることができる。その構造は構造式 I I I を参照する：

20

【0013】

【化3】



構造式 I I I

【0014】

式中、R1～4はH、アルキル基、置換アルキル基、アルケニル基、ハロゲン置換アルキル基、ニトロアルキル基、ヒドロキシアルキル基、アルコキシ基、フェニル基、置換フェニル基、ハロゲン、ヒドロキシ基、アルコキシアルキル基、カルボキシ基、アルコシカルボニル基などである。X1～5はH、ハロゲン、アルコキシ基、ヒドロキシ基である。

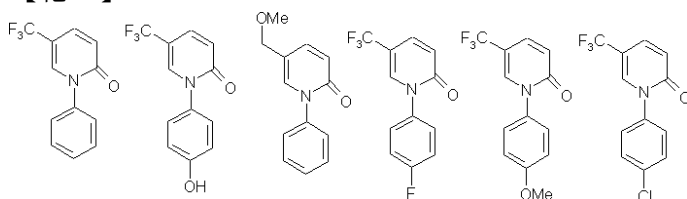
30

【0015】

WO2007062167にもいくつかのp38キナーゼ抑制活性を持つ化合物が開示され、これらの化合物も種々線維化の治療に用いることができる。その中のいくつかの構造は次の通りである。

【0016】

【化4】



40

【0017】

これらの化合物のベンゼン環には、いくつかの簡単な置換基がある。

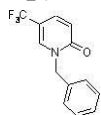
【0018】

中国特許出願200710034357も、いくつかの上記構造を有する類似の化合物が抗線維化活性を持つことを開示し、同時に構造式 I V の化合物が抗線維化活性を持つことを開示する。

【0019】

50

【化 5】



構造式 I V

【0 0 2 0】

式中、ベンジルのベンゼン環には、その他の置換基がない。

【0 0 2 1】

これらの化合物は、ピリドン環の5位にトリフルオロメチル基を導入することにより、ピルフェニドンの効力が弱いという欠点を改善することができる。

10

【0 0 2 2】

ドイツ特許 D E 4 3 4 3 5 2 8 は、次のような構造式 V を有し、農業において殺虫活性を持つ化合物類を報告している。

【0 0 2 3】

【化 6】



構造式 V

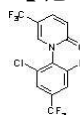
【0 0 2 4】

構造式 V において、A、B は種々の複素環、例えば、フラン環、イミダゾール、ピリジン、ピリドン置換である。中でも、構造式 V I のような化合物を含む。

20

【0 0 2 5】

【化 7】



構造式 V I

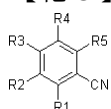
【0 0 2 6】

欧州特許 E P 2 5 9 0 4 8、E P 3 6 7 4 1 0、E P 3 9 8 4 9 9 は、次のような構造式 V I I を有し、農業において殺虫活性を持つ化合物類を報告している。

30

【0 0 2 7】

【化 8】



構造式 V I I

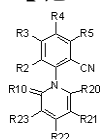
【0 0 2 8】

中でも、R 1 がピリドンであり、構造式 V I I I を有する化合物を含む。

【0 0 2 9】

【化 9】

40



構造式 V I I I

【0 0 3 0】

式中、R 1 0 は O 又は S である。

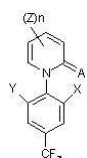
【0 0 3 1】

欧州特許 E P 2 1 6 5 4 1 は、次のような構造式 I X を有し、農業において殺虫活性を持つ化合物類を報告している。

50

【0032】

【化10】



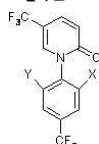
構造式IX

【0033】

中でも、構造式Xを有する化合物類を含む。

【0034】

【化11】



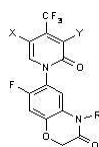
構造式X

【0035】

欧州特許EP488220は、次のような構造式XIを有し、除草活性を持つ化合物類を報告している。

【0036】

【化12】



構造式XI

【0037】

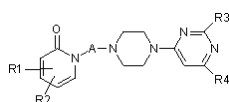
上記化合物の構造中、上記のような化合物は、構造においてピリジン環とピリジン環の1位のベンゼン環には種々複数の置換基があり、構造が複雑であり、しかも抗線維化の報告がない。また、分子中にフッ素原子の数がより多いので、化合物の脂溶性がより強い。

【0038】

DE102004027359は、次のような構造式XIIを有し、ドーパミン3受容体を調節することができる化合物類と、これらの化合物がパーキンソン病及び統合失調症の治療に用いることができることを報告している。

【0039】

【化13】



構造式XII

【0040】

式中、Aは原子数が4～6の炭化水素鎖であり、炭素鎖中、1～2個のメチル基が置換されてもよい。炭素鎖には1～2個の炭素原子が酸素、カルボニル基、硫黄及びその他の原子に置換されてもよい。R1及びR2はH、CN、NO₂、ハロゲン原子、OR⁵、NR⁶R⁷、C(O)_NR⁶R⁷、O-C(O)_NR⁶R⁷、C₁～C₆アルキル基、C₁～C₆ハロゲン置換アルキル基などである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0041】

【特許文献1】米国特許第3,839,346号公報

10

20

30

40

50

【特許文献2】米国特許第4,052,509号公報
 【特許文献3】米国特許第4,042,699号公報
 【特許文献4】米国特許第5,310,562号公報
 【特許文献5】米国特許第5,518,729号公報
 【特許文献6】米国特許第5,716,632号公報
 【特許文献7】国際公開WO2006/122154号公報
 【特許文献8】国際公開WO2007/053685号公報
 【特許文献9】国際公開WO2007/062167号公報
 【特許文献10】中国特許200710034357号公報
 【特許文献11】ドイツ特許DE4343528号公報
 【特許文献12】欧州特許259048号公報
 【特許文献13】欧州特許367410号公報
 【特許文献14】欧州特許398499号公報
 【特許文献15】欧州特許216541号公報
 【特許文献16】欧州特許488220号公報
 【特許文献17】DE102004027359号

10

【非特許文献】

【0042】

【非特許文献1】Kidney Int, 1997, 52 (Suppl 63) : S239-243

【非特許文献2】Am J Respir Crit Care Med, 1999, 159: 1061-1069

20

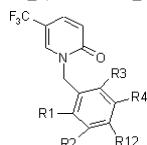
【発明の概要】

【0043】

本発明は、式(VIII)(XIII)の構造を有する1-置換ベンジルー5-トリフルオロメチルー2-(1H)ピリドン化合物及びその製薬上許容される塩を提供する。

【0044】

【化14】



30

構造式XXIII

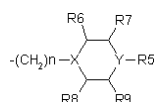
【0045】

式中、R1～R4、R12はH、CN、NO₂、ヒドロキシ基、アミノ基、ハロゲン原子、C₁～C₆アルコキシ基、NR¹⁰R¹¹、OR¹³、C(O)R¹⁴、O-C(O)R¹⁴R¹⁵、C₁～C₆アルキル基、C₁～C₆ハロゲン置換アルキル基、C₂～C₆アルケニル基、カルボキシ基、カルボン酸エステルから選択される。中でも、R1～R4、R12は同時にHではなく、R¹⁴及びR¹⁵はC₁～C₆アルキルから選択される。NR¹⁰R¹¹及びOR¹³の構造において、R¹⁰及びR¹¹はH、C₁～C₆ヒドロキシアルキル基、エステル化されたC₁～C₆ヒドロキシアルキル基、C₁～C₆アルコキシアルキル基、又は構造式XIVから選択され、且つR¹⁰とR¹¹は同時にHではない。OR¹³はヒドロキシアルキル基、アルコキシアルキル基から選択される。

40

【0046】

【化15】



構造式XIV

【0047】

構造式XIVにおいて、R5はH、C₁～C₆アルキル基、C₁～C₆ハロゲン置換アルキル基、C₁～C₆ヒドロキシアルキル基、C₂～C₆アルケニル基から選択される。

50

R 6 ~ R 9 は H、C₁ - C₆ アルコキシ基、=O、C₁ - C₄ アルキル基、C₁ - C₄ ハロゲン置換アルキル基、ヒドロキシアルキル基、C₂ - C₄ アルケニル基；X は N、C H₂ から選択される。Y は N、O、C から選択される。n は 1 ~ 6 である。

【0048】

前記の塩としては、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、過塩素酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、ギ酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、マイレン酸塩、コハク酸塩、トリフルオロ酢酸塩、コハク酸塩、サリチル酸塩、D L - アスパラギン酸塩、D - アスパラギン酸塩、L - アスパラギン酸塩、D L - グルタミン酸塩、D - グルタミン酸塩、L - グルタミン酸塩、グリセリン酸塩、コハク酸塩、ステアリン酸塩、D L - 酒石酸塩、D - 酒石酸塩、L - 酒石酸塩、(±) マンデル酸塩、(R) - (−) マンデル酸塩、(S) - (+) - マンデル酸塩、クエン酸塩、粘液酸塩、マイレン酸塩、マロン酸塩、安息香酸塩、D L - リンゴ酸塩、D - リンゴ酸塩、L - リンゴ酸塩、半リンゴ酸塩、1 - アダマンタン酢酸塩、1 - アダマンタンカルボン酸塩、フラビアン酸塩、スルホ酢酸塩、(±) - 乳酸塩、L - (+) - 乳酸塩、D - (−) - 乳酸塩、パモ酸塩、D - α - ガラクツロン酸塩、グリセリン酸塩、D L - シスチン塩、D - シスチン塩、L - シスチン塩、D L - ホモシスチン塩、D - ホモシスチン塩、L - ホモシスチン塩、D L - システイン塩、D - システイン塩、L - システイン塩、(4 S) - ヒドロキシー L - プロライン、シクロプロパン-1, 1 - ジカルボン酸塩、2, 2 - メチルマロン酸塩、チロシン塩、プロライン塩、フマル酸塩、1 - ヒドロキシー 2 ナフタレンカルボン酸塩、ホスホノ酢酸塩、炭酸塩、炭酸水素塩、3 - ホスホノプロピオン酸塩、D L - ピログルタミン酸塩、D - ピログルタミン酸塩及び L - ピログルタミン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、(±) カンファースルホン酸塩、ナフタリンスルホン酸塩、1 R - (−) - カンファースルホン酸塩、1 S - (+) - カンファースルホン酸塩、1, 5 - ナフタレンジスルホン酸塩、1, 2 - エタレンジスルホン酸塩、1, 3 - プロパニスルホン酸塩、3 - (N - モルフォリノ) プロパニスルホン酸塩、ビフェニルスルホン酸塩、イセチオン酸塩及び 1 - ヒドロキシー 2 - ナフタリンスルホン酸塩、リン酸二水素塩、リン酸二水素カリウム塩、リン酸二カリウム塩、リン酸カリウム塩、リン酸水素ナトリウム塩、リン酸二ナトリウム塩、リン酸ナトリウム塩、リン酸二水素ナトリウム塩、リン酸カルシウム塩、第三リン酸カルシウム塩及びヘキサフルオロリン酸塩、ビニルホスホン酸塩、2 - カルボキシエチルホスホン酸塩及びフェニルホスホン酸塩が挙げられる。

【0049】

本発明に提供された化合物において、R 1 ~ R 4、R 1 2 の一つが N R^{1 0} R^{1 1} 又は O R^{1 3} であることが好ましい。

【0050】

本発明の実施例によって、R 1 ~ R 4、R 1 2 の一つが N R^{1 0} R^{1 1} 又は O R^{1 3} である場合、残りの置換基が H であることがより好ましい。

【0051】

本発明において、具体的に以下の下化合物が好ましい：

- 1 - (4 - ニトロベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 (1 H) - オン；
- 1 - (4 - アミノベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 (1 H) - オン；
- 1 - (4 - ((3 - モルホリノプロピル) アミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 (1 H) - オン；
- 1 - (4 - ((3 - (ピペリジン-1 - イル) プロピルアミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 - (1 H) - オン；
- 1 - (4 - ((3 - (4 - メチルピペラジン-1 - イル) プロピル) アミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 (1 H) - オン；
- 1 - (4 - ((2 - ヒドロキシエチル) アミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 (1 H) - オン；
- 1 - (4 - ((2 - (ピペリジン-1 - イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン-2 (1 H) - オン；

1- (4- ((2- モルホリノエチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- ((4- ((2- (4- メチルピペラジン- 1- イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (4- ((2- (ピペラジン- 1- イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (4- ((2- (4- (2- ヒドロキシエチル) ピペラジン) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (4- ((2- (4- メチルピペラジン- 1- イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- ((4- (アセチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2, 6- ジクロロベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (4- フルオロベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- ニトロベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- アミノベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (3- クロロベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (4- メトキシベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- フルオロベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- ((2- ヒドロキシエチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- ((2- (ピペラジン- 1- イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- ((2- (4- メチルピペラジン- 1- イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- アセチルアミノ) ベンジル- 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

1- (2- ((2- モルホリノエチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

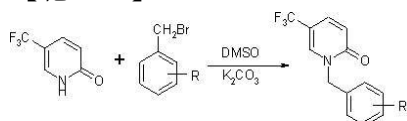
1- (4- ((2- (2- ヒドロキシエトキシ) エチル) アミノ) ベンジル) - 5- トリフルオロメチルピリジン- 2 (1H) - オン;

【0052】

更に、本発明は上記化合物の製造方法を提供する。製造方法の経路図は、下の通りである。合成出発物質であるトリフルオロメチルピリドン市販原料である。ベンジルベンゼン環に簡単な置換基がある化合物は、5-トリフルオロメチル-2(1H)ピリドンを使用して置換臭化ベンジルと反応させ、DMSOを溶剤とし、炭酸カリウムを酸結合剤とする。反応式Iを参照する。

【0053】

【化16】



反応式I

【0054】

簡単なアミノ置換化合物の場合は、反応式Iに従ってニトロ置換体を得た後、塩酸存在下で鉄粉による還元をすることによりアミノ置換体を得て、その後、対応する反応試薬と反応させて目的化合物を得る。反応式IIを参照する。

【0055】

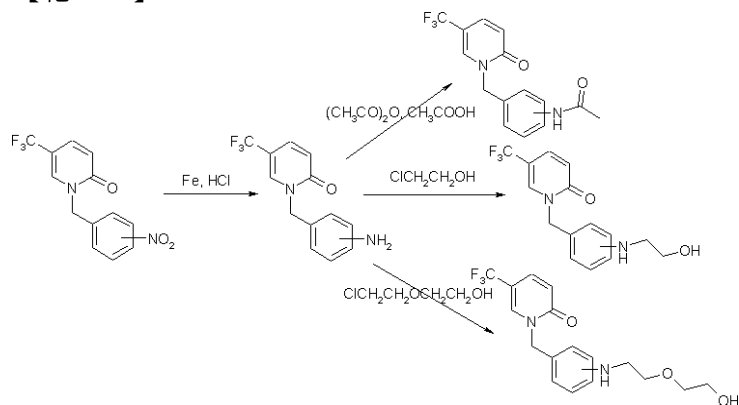
10

20

30

40

【化 17】



10

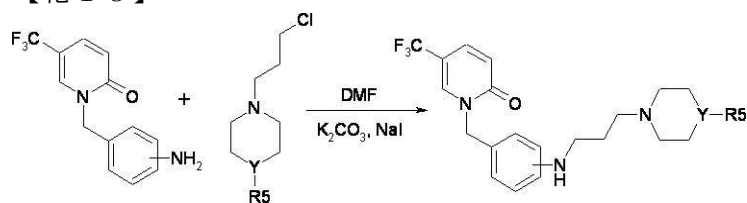
反応式II

【0056】

アミノ基が脂肪族側鎖を介して複素環と結合する化合物は、反応式 I I に従ってアミノ置換物を得た後、DMFを溶剤とし、炭酸カリウムを酸結合剤とし、ヨウ化ナトリウムを触媒として、ハロゲン置換アルキル側鎖を有する複素環化合物と反応させて得る。反応式 I I I を参照する。

【0057】

【化 18】



20

反応式III

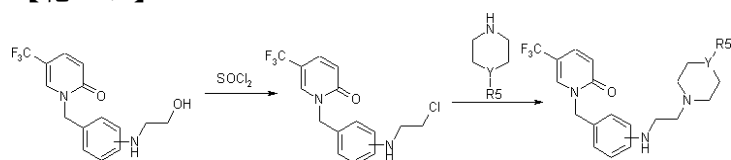
【0058】

あるいは、反応式 I I に従ってヒドロキシエチルアミノ置換物を得た後、塩化チオニルと反応させてクロロエチルアミノ置換物を得て、複素環化合物と反応させて目的化合物を得る。反応式 I V を参照する。

30

【0059】

【化 19】



反応式IV

【0060】

上記化合物は、広域スペクトル抗線維化薬物類の製造に用いることができる。

40

【0061】

本発明では、上記の従来技術に基づいて、ピリドン環の1位のベンジル基のベンゼン環上に置換基を導入し、アルキル鎖を介して一つの複素環を上記アミノ基に導入することにより、新規ピリドン系化合物類及びそれらの塩を得た。ベンゼン環に置換基を導入したので、これらの化合物の活性が大幅に増加する。

【0062】

本出願者は、1-ベンジル-5-トリフルオロメチルピリドン为基础に、置換基であるアミノ基でフェニル基を再修飾することにより、予想外の効果を獲得し、得た化合物が既知のピリドン化合物より相対的に高い薬効を持つことを発見した。また、このような複素環含有化合物は、種々の塩とすることができ、種々の液体製剤を製造するに役立つ。

50

【図面の簡単な説明】

【0063】

【図1】実施例28における腎病理HE染色（×200）の写真を示す図である。

【図2】実施例28における腎病理Masson染色（×200）の写真を示す図である。

。

【発明を実施するための形態】

【実施例】

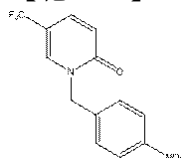
【0064】

実施例1

1-(4-ニトロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オンの製造 10

【0065】

【化20】



(化合物1)

【0066】

5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オン8.2g(0.050mol)を DMSO100mLに溶解し、パラ-ニトロ臭化ベンジル16.2g(0.075mol)、炭酸カリウム11.0g(0.080mol)を加え、攪拌しながら85℃で4時間反応させた。反応終了後、40℃に冷却し、12%アンモニア水100mLを加え、析出した大量の沈殿物をろ過し、残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭で脱色してろ過し、ろ液を無水硫酸ナトリウムで一夜乾燥した。硫酸ナトリウムをろ過して取り除き、部分の溶剤を回収し、析晶し、ろ過し、反応産物である1-(4-ニトロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オンを11.4gを棕黄色固体として得た。m.p.: 121~123℃。EI-MS(m/z): 288 [M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz) δ ppm: 5.240(s, 2H, -CH₂-), 6.694~6.726(d, 1H, J=9.6Hz, Ar-H), 7.466~7.482(d, 2H, J=4.8Hz, Ar-H), 7.495(s, 1H, Ar-H), 7.514~7.522(d, 1H, J=2.4Hz, Ar-H), 7.705(s, 1H, Ar-H), 8.222~8.251(d, 1H, J=8.7Hz, Ar-H)。 30

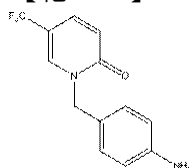
【0067】

実施例2

1-(4-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オンの製造

【0068】

【化21】



(化合物2)

【0069】

1-(4-ニトロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オン11.4g(0.037mol)を50%エタノール200mLに溶解し、還元鉄粉6.28g(0.112mol)を加え、加熱還流し、徐々に0.42mL(0.004mol)の濃HCl(50%エタノール5mLで希釈した後滴下)を滴下して、攪拌しながら4 50

時間還流反応させた。反応終了後、15% KOH エタノール溶液で pH 10 に調整し、ろ過し、残渣を 95% エタノールで洗浄し (2 × 10 mL)、ろ液のエタノールを蒸発乾固した後、酢酸エチル (50 mL × 3) で抽出し、有機相を無水硫酸ナトリウムで一夜乾燥した。ろ過し、ろ液を蒸発乾固し、反応産物である 1-(4-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 9.9 g を棕黄色固体として得た。m. p. : 97~98 °C。ESI-MS (m/z) : 291 [M+Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 4.255 (br, 2H, -NH₂), 5.023 (s, 2H, -CH₂-), 6.629~6.661 (d, 1H, J=9.6 Hz, Ar-H), 6.713~6.740 (d, 2H, J=8.1 Hz, Ar-H), 7.137~7.164 (d, 2H, J=8.1 Hz, Ar-H), 7.393~7.433 (dd, 1H, J=2.4 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.627 (s, 1H, Ar-H)。

10

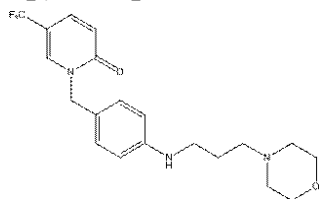
【0070】

実施例 3

1-(4-(3-モルホリノプロピル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0071】

【化 22】



20

(化合物 3)

【0072】

1-(4-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 2.01 g (0.0075 mol) を DMF 20 mL に溶解し、炭酸カリウム 0.69 g (0.005 mol)、クロロプロピルモルホリン 0.42 g (0.0025 mol) と触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、攪拌しながら 130 °C で 48 時間反応させた。反応終了後、ろ過し、溶剤を減圧蒸発させ、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル=1:1 (2% トリエチルアミン) で溶出し、黄色油状物 0.5 g を得た。EI-MS (m/z) : 396 [M+H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 1.662~1.750 (m, 2H, -CH₂-), 2.398~2.569 (m, 6H, -CH₂-), 3.103~3.143 (t, 2H, -CH₂-), 3.665~3.756 (t, 4H, -CH₂-), 4.780 (br, 1H, -NH-), 4.934 (s, 2H, -CH₂-), 6.438~6.607 (m, 3H, Ar-H), 7.065~7.092 (2H, Ar-H), 7.314~7.373 (1H, Ar-H), 7.553 (s, 1H, Ar-H)。

30

【0073】

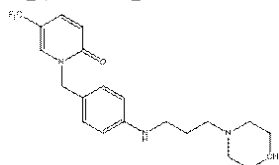
実施例 4

1-(4-(3-(ピペリジニル-1-イル)プロピルアミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

40

【0074】

【化 23】



(化合物 4)

50

【0075】

1-(4-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 1.28 g (0.0048 mol) をアセトニトリル 20 mL に溶解し、炭酸カリウム 1.10 g (0.008 mol)、クロロプロピルピペリジン 0.64 g (0.004 mol) 及び触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、攪拌しながら 48 時間還流反応させた。反応終了後、ろ過し、溶剤を減圧蒸発させ、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 2 (1% トリエチルアミン) で溶出し、不十分な白色 (off-white) の固体 0.22 g を得た。m. p. : 168 ~ 170 °C。ESI-MS (m/z) : 394 [H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 1.582 (br, 2H-CH₂-), 1.859 ~ 1.875 (m, 4H, CH₂-), 2.009 ~ 2.071 (m, 4H, -CH₂-), 2.806 ~ 2.851 (t, 6H, -CH₂-), 3.247 ~ 3.286 (t, 2H, -CH₂-), 4.252 (br, 1H, -NH-), 5.002 (s, 2H, -CH₂-), 6.581 ~ 6.609 (d, 2H, J = 8.4 Hz, Ar-H), 6.620 ~ 6.653 (d, 1H, J = 9.9 Hz, Ar-H), 7.126 ~ 7.154 (d, 2H, J = 8.4 Hz, Ar-H), 7.385 ~ 7.424 (dd, 1H, J = 2.1 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.553 (s, 1H, Ar-H)。

10

【0076】

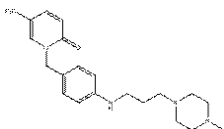
実施例 5

1-(4-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロピル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

20

【0077】

【化 24】



(化合物 5)

【0078】

1-(4-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.402 g (0.0015 mol) をエタノール 3 mL に溶解し、1-クロロプロピル-4-メチルピペラジン 0.088 g (0.0005 mol) 及び触媒量のヨウ化カリウムを加え、110 °C でマイクロ波反応を行った。反応終了後、ろ過し、溶剤を減圧蒸発させ、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 2 (1% トリエチルアミン) で溶出し、黄色油状物 0.13 g を得た。ESI-MS (m/z) : 409 [M+H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 1.696 ~ 1.802 (m, 2H, -CH₂-), 2.264 (s, 3H, -CH₃), 2.427 ~ 2.470 (m, 10H-CH₂-), 3.094 ~ 3.136 (t, 2H, -CH₂-), 4.936 (s, 2H-CH₂-), 6.488 ~ 6.516 (d, 2H, J = 8.4 Hz, Ar-H), 6.552 ~ 6.583 (d, 1H, J = 9.3 Hz, Ar-H), 7.061 ~ 7.091 (d, 2H, J = 9.0 Hz, Ar-H), 7.312 ~ 7.352 (dd, 1H, J = 2.4 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.551 (s, 1H, Ar-H)。

30

40

【0079】

実施例 6

1-(4-(2-ヒドロキシエチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0080】

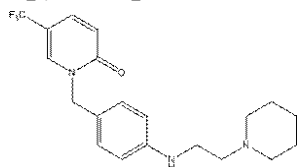
【 0 0 8 1 】

10

20

1-(4-((2-(ピペリジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2-(1H)-オンの製造

【化 2 6】



30

【 0 0 8 4 】

A 1 - (4 - ((2 - クロロエチル) アミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピ
リジン - 2 (1H) - オン の 製 造

40

【 0 0 8 5 】

B 1 - (4 - ((2 - (ピペリジン - 1 - イル) エチル) アミノ) ベンジル) - 5 - トリフルオロメチルピリジン - 2 (1H) - オンの製造

50

し、ピペリジン0.37g(4.2mmol)を加え、攪拌しながら27時間還流反応させた。反応終了後、ろ過し、減圧で溶剤を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、酢酸エチル：メタノール=10：1で溶出し、黄色固体0.27gを得た。m.p.：83.6～85.5℃。EI-MS(m/z)：379[M]⁺。¹H-NMR(CDC1₃, 300MHz) δ ppm：1.672(s, 2H, -CH₂-), 1.872(s, 4H, -CH₂-), 2.817～3.112(br, 6H, -CH₂-), 3.542(s, 2H, -CH₂-), 5.012(s, 2H, -CH₂-), 5.174(br, 1H, -NH-), 6.618～6.649(d, 1H, J=9.3Hz, Ar-H), 6.698～6.726(d, 2H, J=8.4Hz, Ar-H), 7.152～7.181(d, 1H, J=8.7Hz, Ar-H), 7.386～7.427(dd, 1H, J=2.7Hz, 9.6Hz, Ar-H), 7.627(s, 1H, Ar-H)。

10

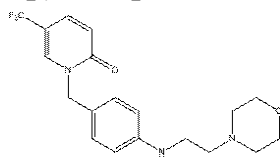
【0086】

実施例8

1-(4-(2-モルホリノエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0087】

【化27】



(化合物8)

20

【0088】

1-(4-(2-(クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン0.26g(0.79mmol)をアセトニトリル30mLに溶解し、モルホリン0.41g(4.7mmol)を加え、攪拌しながら46時間還流反応させた。反応終了後、ろ過し、減圧で溶剤を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、酢酸エチル：メタノール=10：1で溶出し、棕黄色の油状物0.29gを得た。EI-MS(m/z)：381[M]⁺。¹H-NMR(CDC1₃, 300MHz) δ ppm：2.471～2.484(br, 4H, -CH₂-), 2.614～2.653(t, 2H, -CH₂-), 3.142～3.181(t, 2H, -CH₂-), 3.704～3.735(t, 4H, -CH₂-), 4.439(br, 1H, -NH-), 5.012(s, 2H, -CH₂-), 6.597～6.650(m, 3H, Ar-H), 7.150～7.178(d, 2H, Ar-H), 7.137～7.417(dd, 1H, J=2.7Hz, 9.6Hz, Ar-H), 7.620(s, 1H, Ar-H)。

30

【0089】

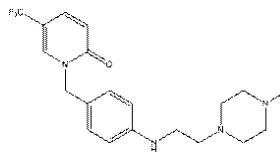
実施例9

1-(4-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

40

【0090】

【化28】



(化合物9)

【0091】

1-(4-(2-(クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン0.33g(1.0mmol)をアセトニトリル30mLに溶

50

解し、メチルピペラジン 0.60 g (6.0 mmol) を加え、攪拌しながら 38 時間還流反応させた。反応終了後、ろ過し、減圧で溶剤を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、酢酸エチル：メタノール = 10 : 1 で溶出し、黄色の油状物 0.31 g を得た。EI-MS (m/z) : 394 $[M]^+$ 。 ^1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ ppm : 2.314 (s, 3H, $-CH_3$), 2.512 (br, 8H, $-CH_2-$), 2.622~2.661 (t, 2H, $-CH_2-$), 3.152 (s, 2H, $-CH_2-$), 4.436 (br, 1H, $-NH-$), 5.011 (s, 2H, $-CH_2-$), 6.592~6.650 (t, 3H, Ar-H), 7.147~7.175 (d, 2H, Ar-H), 7.377~7.417 (dd, 1H, $J=2.4$ Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.622 (s, 1H, Ar-H)。

10

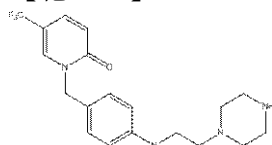
【0092】

実施例 10

1-(4-((2-(ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0093】

【化 29】



20

(化合物 10)

【0094】

1-(4-((2-クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.39 g (1.2 mmol) をアセトニトリル 30 mL に溶解し、ピペラジン 0.82 g (9.6 mmol) を加え、攪拌しながら 18 時間還流反応させた。反応終了後、ろ過し、減圧で溶剤を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、酢酸エチル：メタノール = 1 : 1 で溶出し、無色油状物 0.37 g を得た。EI-MS (m/z) : 380 $[M]^+$ 。 ^1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ ppm : 2.445 (br, 4H, $-CH_2-$), 2.593~2.632 (t, 2H, $-CH_2-$), 2.855~2.915 (t, 4H, $-CH_2-$), 3.132~3.170 (t, 2H, $-CH_2-$), 4.438 (br, 1H, $-NH-$), 5.011 (s, 2H, $-CH_2-$), 6.595~6.650 (t, 3H, Ar-H), 7.147~7.175 (d, 2H, Ar-H), 7.377~7.417 (dd, 1H, $J=2.4$ Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.625 (s, 1H, Ar-H)。

30

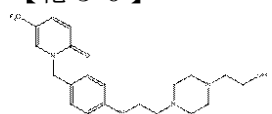
【0095】

実施例 11

1-(4-((2-(4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0096】

【化 30】



40

(化合物 11)

【0097】

1-(4-((2-クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.83 g (2.5 mmol) をアセトニトリル 30 mL に溶解し、ヒドロキシエチルピペラジン 2.60 g (20 mmol) 及び触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、攪拌しながら 29 時間還流反応させ、ろ過し、減圧で溶剤を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、酢酸エチル：メタノール = 10 : 1 で溶出し、黄

50

色油状物 0.60 g を得た。EI-MS (m/z): 424 $[M]^+$ 。 ^1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ ppm: 2.572~2.268 (m, 12H, $-CH_2-$), 3.151~3.150 (t, 2H, $-CH_2-$), 3.638~3.673 (t, 2H, $-CH_2-$), 5.011 (s, 2H, $-CH_2-$), 6.593~6.649 (t, 3H, Ar-H), 7.148~7.176 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, Ar-H), 7.377~7.418 (dd, 1H, $J=2.7$ Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.620 (s, 1H, Ar-H)。

【0098】

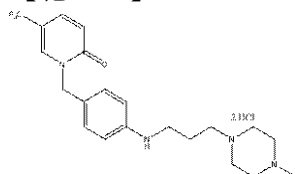
実施例 12

1-(4-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン二塩酸塩の製造

10

【0099】

【化 31】



(化合物 12)

【0100】

20

1-(4-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.12 g (1.1 mmol) をエタノール 20 mL に溶解し、濃塩酸 0.075 mL を加え、40 分間攪拌した。溶剤を乾燥まで回収し、1-(4-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン二塩酸塩 0.09 g を黄色固体として得た。EI-MS (m/z): 394 $[M]^+$ 。 ^1H -NMR (D_2O) δ ppm: 2.961 (s, 3H, $-CH_3$), 3.182~3.236 (t, 2H, $-CH_2-$), 3.299 (s, 2H, $-H$), 3.389~3.438 (t, 2H, $-CH_2-$), 3.565 (br, 8H, $-CH=$), 5.216 (s, 2H, $-CH_2-$), 6.700~6.731 (d, 1H, Ar-H), 7.229~7.257 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, Ar-H), 7.340~7.368 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, Ar-H), 7.792~7.823 (d, 1H, $J=9.3$ Hz, Ar-H), 8.275 (s, 1H, Ar-H)。

30

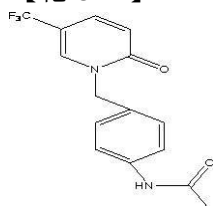
【0101】

実施例 13

1-(4-(アセチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0102】

【化 32】



40

(化合物 13)

【0103】

無水酢酸 1.1 mmol 及び 1-(4-(アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.268 g (1 mmol) を酢酸 20 mL に溶解し、2 時間還流反応させた。水 20 mL で洗浄し、ジエチルエーテル (20 mL * 2) で洗浄し

50

、エーテル層 15% を取り出し、炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、エーテル層を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶剤を蒸発した。カラムクロマトグラフィーにより分離し、クロロホルム：メタノール＝50：1 で溶出し、白い固体 0.20 g を得た。
 m. p. : 225.3 ~ 227.2 °C。ESI-MS (m/z) : 333 [+Na]⁺。
¹H-NMR (DMSO) δ ppm : 3.513 (s, 3H, -CH₃), 5.098 (s, 2H, -CH₂-), 6.566 ~ 6.598 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar-H), 7.269 ~ 7.296 (d, 2H, J = 8.1 Hz, Ar-H), 7.524 ~ 7.551 (d, 2H, J = 8.1 Hz, Ar-H), 7.678 ~ 7.704 (d, 1H, J = 8.4 Hz, Ar-H), 8.5124 (s, 1H, Ar-H), 10.009 (s, 1H, -NH)。

10

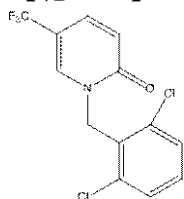
【0104】

実施例 14

1-(2,6-ジクロロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0105】

【化33】



(化合物 14)

20

【0106】

5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.49 g (3.0 mmol) を DMF 30 mL に溶解し、炭酸カリウム 0.5 g (3.6 mmol) 及び 2,6-ジクロロベンジルクロライド 0.88 g (4.5 mmol) を加え、3 時間還流反応させ、ろ過し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテルで溶出し、1-(2,6-ジクロロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.72 g を淡黄色固体として得た。
 m. p. : 74.0 ~ 76.0 °C。EI-MS (m/z) : 321 [M-1]⁺。
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 5.442 (s, 2H, -CH₂-), 6.665 ~ 6.697 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar-H), 7.266 (1H, Ar-H), 7.318 ~ 7.431 (dd, 1H, J = 7.2 Hz, 9.3 Hz, Ar-H), 7.413 ~ 7.460 (m, 3H, Ar-H)。

30

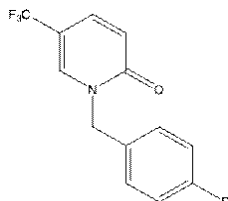
【0107】

実施例 15

1-(4-フルオロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0108】

【化34】



(化合物 15)

40

【0109】

5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.49 g (3.0 mmol) を DMF 30 mL に溶解し、炭酸カリウム 0.5 g (3.6 mmol) 及び 4-フルオロベンジルブロミド 0.85 g (4.5 mmol) を加え、3 時間還流反応し、ろ過し、カ

50

ムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテルで溶出し、1-(4-フルオロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン0.72gを白い固体として得た。m. p. : 70.1~72.0℃。ESI-MS (m/z) : 294 [M+Na]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz) δ ppm: 5.112 (s, 2H, -CH₂-), 6.658~6.690 (d, 1H, J=9.6Hz, Ar-H), 7.035~7.093 (m, 2H, Ar-H), 7.299~7.345 (m, 2H, Ar-H), 7.423~7.464 (dd, 1H, J=2.7Hz, 9.6Hz, Ar-H), 7.649 (s, 1H, Ar-H)。

【0110】

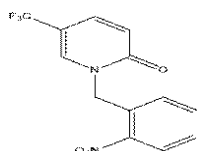
実施例16

10

1-(2-ニトロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0111】

【化35】



(化合物16)

【0112】

20

5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン12.3g (0.075mol)をDMF 200mLに溶解し、炭酸カリウム16.6g (0.12mol)及び2-ニトロベンジルブロミド24.5g (0.113mol)を加え、4時間還流反応させ、40℃に冷却し、15%アンモニア水400mLを加え、酢酸エチル(200+150+100mL)で抽出し、活性炭で脱色後、硫酸ナトリウムで乾燥し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、1-(2-ニトロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン12.2gを白い固体として得た。m. p. : 100.0~102.0℃。EI-MS (m/z) : 298 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300MHz) δ ppm: 5.547 (s, 2H, -CH₂-), 6.698~6.730 (d, 1H, J=9.6Hz, Ar-H), 7.179~7.204 (d, 1H, J=7.5Hz, Ar-H), 7.494~7.553 (m, 2H, Ar-H), 7.600~7.655 (m, 1H, Ar-H), 7.794 (s, 1H, Ar-H), 8.136~8.168 (dd, 1H, J=1.5Hz, 8.4Hz, Ar-H)。

30

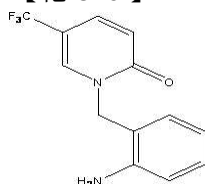
【0113】

実施例17

1-(2-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0114】

【化36】



(化合物17)

【0115】

40

1-(2-ニトロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン11.7g (0.039mol)及び還元鉄粉6.6g (0.118mol)に50%エタノール400mLを加え、加熱還流で50%エタノール塩酸溶液5mL (0.5→5)を滴下し、2時間還流反応させ、50℃に冷却し、15%水酸化カリウムのエタノール溶液

50

でpH8に調整した。ろ過し、ろ液を母液の半分まで濃縮し、酢酸エチル（100+100+50mL）で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶剤を20mLまで回収し、析晶し、1-（2-アミノベンジル）-5-トリフルオロメチルピリジン-2（1H）-オンを淡黄色固体として得た。m. p. : 83.4~85.3℃。EI-MS（m/z）: 268 [M]⁺。¹H-NMR（CDCl₃, 300MHz）: δ ppm 5.098（s, 2H, -CH₂-）, 6.656~6.687（d, 1H, J=9.3Hz, Ar-H）, 6.724~6.749（d, 1H, J=7.5Hz, Ar-H）, 6.770~6.795（d, 1H, J=7.5Hz, Ar-H）, 7.164~7.208（m, 2H, Ar-H）, 7.431~7.472（dd, 1H, J=2.7Hz, 9.6Hz, Ar-H）, 7.755（s, 1H, Ar-H）。

10

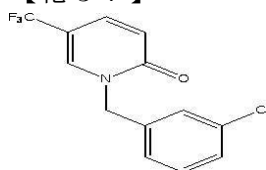
【0116】

実施例18

1-（3-クロロベンジル）-5-トリフルオロメチルピリジン-2（1H）-オンの製造

【0117】

【化37】



20

（化合物18）

【0118】

5-トリフルオロメチルピリジン-2（1H）-オン0.49g（3.0mmol）をDMF20mLに溶解し、炭酸カリウム0.66g（4.8mmol）及び3-クロロベンジルブロミド0.93g（4.5mmol）を加え、3時間還流反応し、15%アンモニア水40mLで希釈し、酢酸エチル（30+20+20mL）で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル=6：1で溶出し、1-（3-クロロベンジル）-5-トリフルオロメチルピリジン-2（1H）-オン0.70gを無色油状物として得た。EI-MS（m/z）: 287 [M]⁺。¹H-NMR（CDCl₃, 300MHz）δ ppm: 5.098（s, 2H, -CH₂-）, 6.656~6.687（d, 1H, J=9.3Hz, Ar-H）, 7.186~7.210（m, 1H, Ar-H）, 7.307~7.324（m, 3H, Ar-H）, 7.442~7.482（dd, 1H, J=2.4Hz, 9.6Hz, Ar-H）, 7.650（s, 1H, Ar-H）。

30

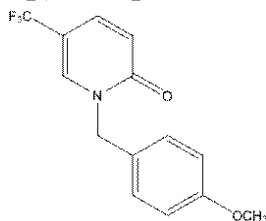
【0119】

実施例19

1-（4-メトキシベンジル）-5-トリフルオロメチルピリジン-2（1H）-オンの製造

【0120】

【化38】



40

（化合物19）

【0121】

5-トリフルオロメチルピリジン-2（1H）-オン0.50g（3.0mmol）を

50

DMF 20 mL に溶解し、炭酸カリウム 0.66 g (4.8 mmol) 及び 4-メトキシベンジルブロミド 0.91 g (4.5 mmol) を加え、3 時間還流反応させ、15%アンモニア水 40 mL で希釈し、酢酸エチル (30 + 20 + 20 mL) で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 8 : 1 で溶出し、白い固体である 1-(4-メトキシベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.79 g を得た。m. p. : 84.2 ~ 86.1 °C。EI-MS (m/z) : 283 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ ppm : 3.806 (s, 3H, -CH₃), 5.077 (s, 2H, -CH₂-), 6.638 ~ 6.670 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar-H), 6.885 ~ 6.891 (d, 1H, J = 1.8 Hz, Ar-H), 6.907 ~ 6.914 (d, 1H, J = 2.1 Hz, Ar-H), 7.259 ~ 7.287 (m, 3H, Ar-H), 7.398 ~ 7.439 (dd, 1H, J = 2.7 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.633 (s, 1H, Ar-H)。

10

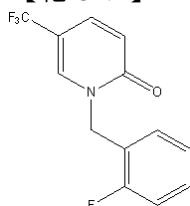
【0122】

実施例 20

1-(2-フルオロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0123】

【化39】



20

(化合物 20)

【0124】

5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.49 g (3.0 mmol) を DMF 20 mL に溶解し、炭酸カリウム 0.66 g (4.8 mmol) 及び 2-フルオロベンジルブロミド 0.85 g (4.5 mmol) を加え、3 時間還流反応させ、15%アンモニア水 40 mL で希釈し、酢酸エチル (30 + 20 + 20 mL) で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥した。ろ過し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 6 : 1 で溶出し、1-(2-フルオロベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.65 g を無色油状物として得た。EI-MS (m/z) : 271 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ ppm : 5.176 (s, 2H, -CH₂-), 6.623 ~ 6.655 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar-H), 7.074 ~ 7.178 (m, 2H, Ar-H), 7.301 ~ 7.377 (m, 1H, Ar-H), 7.410 ~ 7.505 (m, 2H, Ar-H), 7.795 (s, 1H, Ar-H)。

30

【0125】

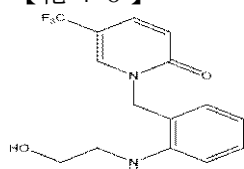
40

実施例 21

1-(2-((2-ヒドロキシエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0126】

【化40】



50

(化合物 21)

【0127】

1-(2-アミノベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.9 g (0.034 mol) を n-ブタノール 100 mL に溶解し、炭酸カリウム 4.69 g (0.034 mol) 及び 2-クロロエタノール 4.1 g (0.05 mol) を加え、100℃で18時間反応させ、ろ過し、ろ液をカラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル=5：1で溶出し、1-(2-((2-ヒドロキシエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.5 g を白い固体として得た。m. p. : 114.0~115.0℃。EI-MS (m/z) : 312 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ ppm : 2.822 (s, 1H, -OH), 3.228~3.261 (t, 2H, -CH₂-), 3.878 (s, 2H, -CH₂-), 5.109 (s, 2H, -CH₂-), 5.843 (br, 1H, -NH-), 6.620~6.647 (d, 1H, Ar-H), 6.686~6.736 (m, 2H, Ar-H), 7.206~7.303 (m, 2H, Ar-H), 7.458~7.499 (dd, 1H, J=2.7 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.802 (s, 1H, Ar-H)。

10

【0128】

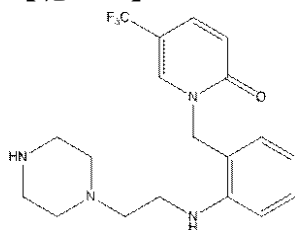
実施例 22

1-(2-((2-((ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

20

【0129】

【化41】



(化合物 22)

【0130】

A 1-(2-((2-クロロエチルアミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

30

1-(4-((2-ヒドロキシエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 2.2 g をジクロロメタン 40 mL に溶解し、塩化チオニル 1.7 g 及びトリエチルアミン 1.2 g を加え、室温で10時間反応させ、カラムクロマトグラフィーにより分離し、白い固体 1.5 g を得た。m. p. : 93.5~95.0℃。EI-MS (m/z) : 330 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ ppm : 3.483~3.543 (t, 2H, -CH₂-), 3.628~3.672 (t, 2H, -CH₂-), 5.089 (s, 2H, -CH₂-), 5.737~5.753 (1H, -NH-), 6.618~6.757 (m, 3H, Ar-H), 7.206~7.235 (dd, 1H, J=1.2 Hz, 7.5 Hz, Ar-H), 7.250~7.307 (dd, 1H, J=8.1 Hz, 9.0 Hz, Ar-H), 7.732 (s, 1H, Ar-H)。

40

【0131】

B 1-(2-((2-((ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

1-(2-((2-クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.33 g (1 mmol) をアセトニトリル 20 mL に溶解し、無水ピペラジン 0.53 g (6 mmol) 及び触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、20時間還流反応させ、ろ過し、ろ液をカラムクロマトグラフィーにより分離し、メタノールで溶

50

出し、1-(2-((2-ピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン0.26gを黄色油状物として得た。ESI-MS(m/z): 380 [M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz): δ ppm: 2.434(s, 4H, -CH₂-), 2.575~2.615(t, 2H, -CH₂-), 2.839~2.853(d, 4H, -CH₂), 3.181~3.200(d, 2H, -CH₂-), 5.153(s, 2H, -CH₂-), 5.275(s, 1H, -NH-), 6.636~6.740(m, 3H, Ar-H), 7.150~7.174(d, 1H, J=7.2Hz, Ar-H), 7.283~7.309(m, 1H, Ar-H), 7.426~7.458(d, 1H, J=9.6Hz, Ar-H), 7.632(s, 1H, Ar-H)。

10

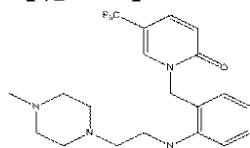
【0132】

実施例23

1-(2-((2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

【0133】

【化42】



(化合物23)

20

【0134】

1-(2-((2-クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン0.33g(1mmol)を20mLアセトニトリルに溶解し、0.55g(5mmol)メチルピペラジン及び触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、20時間還流反応させ、ろ過し、ろ液をカラムクロマトグラフィーにより分離し、酢酸エチル(2%トリエチルアミン)で溶出し、1-(2-((2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン0.28gを黄色油状物として得た。ESI-MS(m/z): 395 [M+H]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 300MHz): δ ppm: 2.308(s, 3H, -CH₃), 2.526(br, 8H, -CH₂-), 2.603~2.645(t, 2H, -CH₂-), 3.159~3.216(m, 2H, -CH₂-), 5.059(s, 2H, -CH₂-), 5.148(s, 1H, -NH-), 6.364~6.742(m, 3H, Ar-H), 7.157~7.175(d, 1H, J=7.2Hz, Ar-H), 7.284~7.301(1H, Ar-H), 7.423~7.462(dd, 1H, J=2.4Hz, 9.3Hz, Ar-H), 7.631(s, 1H, Ar-H)。

30

【0135】

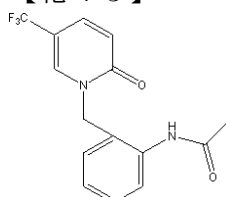
実施例24

1-(2-アセチルアミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オンの製造

40

【0136】

【化43】



(化合物24)

【0137】

無水酢酸1.1mmol及び1-(2-アミノ)ベンジル-5-トリフルオロメチルピ

50

リジン-2 (1H) -オン 0.32 g (1 mmol) を酢酸 20 mL に溶解し、2 時間還流反応させた。水 20 mL で洗浄し、ジエチルエーテルで洗浄し (20 mL * 2)、エーテル層を取り出し、15%炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、エーテル層を水洗した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧で溶剤を蒸発乾固し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 3 : 1 で溶出し、白い固体 0.20 g を得た。
 m. p. : 183.0 ~ 185.0 °C。ESI-MS (m/z) : 333 [+Na]⁺。
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 2.280 (s, 3H-CH₃), 5.113 (s, 2H, -CH₂-), 6.703 ~ 6.735 (d, 1H, J = 9.6 Hz, Ar-H), 7.114 ~ 7.163 (t, 1H, Ar-H), 7.338 ~ 7.424 (m, 2H, Ar-H), 7.516 ~ 7.543 (dd, 1H, J = 2.4 Hz, 9.3 Hz, Ar-H), 7.904 (s, 1H, Ar-H), 8.143 ~ 8.170 (d, 1H, J = 8.1 Hz, Ar-H), 9.975 (s, 1H, -NH-)。

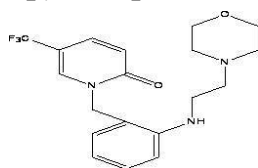
【0138】

実施例 25

1-(2-((2-モルホリノエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2 (1H) -オンの製造

【0139】

【化 44】



(化合物 25)

【0140】

1-(2-((2-クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2 (1H) -オン 0.20 g (0.6 mmol) をアセトニトリル 20 mL に溶解し、モルホリン 1.0 g (11.5 mmol) 及び触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、25 時間還流反応させ、ろ過し、ろ液を回収、溶剤を乾燥まで蒸発させ、酢酸エチルで溶解し水洗、乾燥した。酢酸エチル層をカラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 1 で溶出し、1-(2-((2-モルホリノエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2 (1H) -オン 0.18 g を白まがいの固体として得た。
 m. p. : 101.0 ~ 103.0 °C。EI-MS (m/z) : 381 [+M]⁺。
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) : δ ppm : 2.472 (s, 4H, -CH₂-), 2.616 (s, 2H, -CH₂-), 3.201 (s, 2H, -CH₂-), 3.685 (s, 4H, -CH₂-), 5.071 (s, 2H, -CH₂-), 5.179 (s, 1H, -NH-), 6.633 ~ 6.746 (m, 3H, Ar-H), 7.163 ~ 7.187 (d, 1H, J = 7.2 Hz, Ar-H), 7.285 ~ 7.311 (1H, Ar-H), 7.423 ~ 7.463 (dd, 1H, J = 2.4 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.643 (s, 1H, Ar-H)。

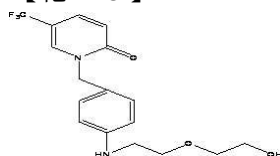
【0141】

実施例 26

1-(4-((2-(2-ヒドロキシエトキシ)エチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2 (1H) -オンの製造

【0142】

【化 45】



10

20

30

40

50

(化合物 26)

【0143】

1-(4-((2-クロロエチル)アミノ)ベンジル)-5-トリフルオロメチルピリジン-2(1H)-オン 0.53 g (1.9 mmol) を n-ブタノール 20 mL に溶解し、クロロエトキシエタノール 0.37 g (3 mmol)、炭酸カリウム 0.28 g (2 mmol) 及び触媒量のヨウ化ナトリウムを加え、攪拌しながら 28 時間還流反応させた。反応終了後、冷却し、水洗し、n-ブタノール層を乾燥し、カラムクロマトグラフィーにより分離し、石油エーテル：酢酸エチル = 2 : 1 で溶出し、黄色油状物 0.20 g を得た。EI-MS (m/z) : 356 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm : 3.312~3.346 (t, 2H, -CH₂-), 3.589~3.619 (t, 2H, -CH₂-), 3.652~3.776 (t, 4H, -CH₂-), 5.019 (s, 2H, -CH₂-), 6.623~6.679 (t, 3H, Ar-H), 7.154~7.182 (d, 2H, Ar-H), 7.384~7.425 (dd, 1H, J = 2.7 Hz, 9.6 Hz, Ar-H), 7.619 (s, 1H, Ar-H)。

10

【0144】

実施例 27

化合物の NIH3T3 線維芽細胞に対する抑制試験

チアゾリルブルー (MTT) 方法を用いた。5% 仔ウシ血清含有 DMEM 培地で細胞を培養し、細胞を 3×10^4 /ml の細胞懸濁液に調製した。96 穴ウェルプレート of ウェル毎に 100 μl 接種した。細胞が壁に付着した後、異なる濃度の化合物とフルオロフェニドン (fluorofenidone, AKF-PD) を含む 1% 仔ウシ血清含有培地に交換した。各濃度毎に 3 個の穴を設置し、それぞれ薬剤を投与する 48、72 時間後、ウェル毎に MTT 溶液 (培地を 5 mg/ml に調製し、ろ過した後、日光を避けて保存した。) 100 μl を加えた。4 時間後、MTT を吸い出し、次いでウェル毎に MTT 溶液が溶解された DMSO 150 μl を加えた。10 分後、MTT が全部溶解してから、マイクロプレートリーダーで OD 値を測定した。抑制率に基づいて、フルオロフェニドン及び試験化合物の IC₅₀ 値を算出した。両者の IC₅₀ 値から、試験化合物の活性及びフルオロフェニドン活性の倍数を算出した。倍数とプレート上のフルオロフェニドンの IC₅₀ 値に基づいて、試験化合物の相対 IC₅₀ 値を算出した。

20

【0145】

30

【表 1】

化合物のNIH3T3線維芽細胞に対する抑制活性

試験化合物	48時間		72時間	
	相対 IC ₅₀ (mM)	倍数	相対 IC ₅₀ (mM)	倍数
fluorofenidone	4.43	-----	3.52	-----
構造 IV	1.160	3.82	0.729	4.83
化合物 1	0.552	8.03	0.470	7.50
化合物 2	1.393	3.18	1.511	2.33
化合物 3	0.424	10.46	0.229	15.39
化合物 4	0.957	4.63	0.144	24.43
化合物 5	0.141	31.39	0.098	35.83
化合物 6	1.011	4.38	0.638	5.51
化合物 7	4.179	1.06	0.340	10.36
化合物 8	0.367	12.07	0.229	15.36
化合物 9	0.181	24.53	0.120	29.38
化合物 11	0.526	8.42	0.131	26.88
化合物 13	0.128	34.55	0.068	52.14
化合物 14	0.346	12.81	0.182	19.29
化合物 15	1.078	4.11	1.093	3.22
化合物 16	1.035	4.28	1.032	3.41
化合物 17	1.808	2.45	1.271	2.77
化合物 18	1.457	3.04	1.349	2.61
化合物 19	0.301	14.72	0.384	9.16
化合物 20	0.273	16.25	0.393	8.95
化合物 21	0.664	6.67	0.587	6.00
化合物 22	0.168	26.31	0.291	12.10
化合物 25	0.368	12.04	0.264	13.33

注釈：倍数とは、化合物の IC_{50} 値及びfluorofenidoneの IC_{50} 値である。

【0147】

実施例 28

ラットの一側尿管結紮腎線維化モデルに対する化合物 3 の治療効果の観察

【0148】

一、材料及び方法

1、実験薬品

化合物 3 は、本発明の方法に従って合成した。

【0149】

2、実験動物

体重が 188－213 g の雄 SD ラット 9 匹を、湖南スライク実験動物有限責任会社から購入した。実験動物は毎日 12 時間の光照を与え、飼料は上海スライク実験動物有限責任会社から購入し、飲用水は中南大学の実験動物学部から提供した。

【0150】

3、実験方法

(1) ランダム化：9 匹のラットをランダムに 3 群に分け、それぞれの群は正常群 ($n=3$)、モデル群 ($n=3$)、化合物 3 15 mg/kg 治療群 ($n=3$) であり、ラット 3 匹を一つのケージに入れた。実験動物は 2 日適応性飼養を行った。

【0151】

(2) 一側尿管結紮モデル製作手術：

ラット 1 匹ごとに $0.35\text{ ml}/100\text{ g}$ で 10% 抱水クロラールを腹腔内注射して麻酔し、後にラット固定板に固定した。まず、水で背中中の皮膚を浸潤した後、皮膚を引っ張り、外科用ハサミで皮膚に隣接して脱毛し、普通の消毒を行った。左肋骨縁の下 1.0 cm と脊柱の中線に接した 0.8 cm とが交わった箇所に縦方向に 1.0 cm の切り口を形成し、連続する層を分離して腎左部及び輸尿管左部を暴露し、腎左部下端で 4.0 縫い糸で輸尿管左部を結紮し、更にその下方 1 cm の箇所で再結紮した。結紮点間の輸尿管を分離し、ゲンタマイシンの生理食塩液で腹腔を洗い、漏れ及び出血の有無を検査した後、一層ずつ後腹膜の各層及び背中中の皮膚を縫合した。

【0152】

(3) 薬物介入：モデル製作手術の前日から毎日 1 回、合計 12 日、胃内投与を行った。具体的な方法は、以下の通りである。

(a) CMC-Na 粉末に適度な量の 0.9% 生理食塩水を加え、濃度 0.5% の CMC-Na 溶液を調製した。以下の各群薬物は、0.5% の CMC-Na 溶液を溶剤として調製した。

(b) 正常群： $0.5\% \text{ CMC-Na } 6\text{ ml/kg}$ を毎日 1 回、胃内投与した。

(c) モデル群： $0.5\% \text{ CMC-Na } 6\text{ ml/kg}$ を毎日 1 回、胃内投与した。

(d) 化合物 3 15 mg/kg 治療群： 6 ml/kg を毎日 1 回、胃内投与した。

【0153】

(4) 動物の致死処置及びサンプルの採集：

手術後第 11 日目に、各群ラットに 10% 抱水クロラール ($0.7-0.9\text{ ml}/100\text{ g}$) 麻酔を致死するまで腹腔内注射し、得られた閉塞側腎組織を 4% ホルムアルデヒドで固定し、パラフィン中に埋め込み、 $4\text{ }\mu\text{m}$ 厚スライスを作製し、HE 染色と Masson 染色を行った。

【0154】

(5) HE 染色の評点基準

腎組織の HE 染色スライスについて、腎小管間質の左上側、右上側、左下側、右下側及び中間の 5 箇所の視野を低倍鏡で観察し、腎間質損傷の 8 の指標（腎小管上皮細胞空泡変性、腎小管拡張、腎小管萎縮、紅細胞管型、蛋白管型、間質水腫、間質線維化、間質炎症性細胞浸潤）に基づいて評価し、その平均値を算出して、このサンプルの腎小管間質損傷指数とした。評点基準の参考文献：Radford MG Jr, Donadio JV Jr, Bergstralh EJ, et

10

20

30

40

50

al. Predicting renal outcome in IgA nephropathy . J Am Soc Nephrol, 1997, 8 (2): 199-207。

【0155】

(6) Masson染色の評点基準

腎組織Masson染色スライスを取り、400倍の光学顕微鏡でそれぞれのサンプルについてランダムに20視野を観察し、視野内における青色染色のパーセントを計算した。半定量評点后、平均値を決定した。非陽性染色が0点；＜25％が1点；25－50％が2点；50－75％が3点；＞75％が4点である。評点基準の参考文献：Lin SL, Chen RH, Chen YM, et al. Pentoxifylline Attenuates Tubulointerstitial Fibrosis by Blocking Smad3/4-Activated Transcription and Profibrogenic Effects of Connective Tissue Growth Factor. J Am Soc Nephrol. 2005, 16: 2702-2713。

【0156】

4、統計的方法は一元配置分散分析を使う。

【0157】

二、実験の結果

1. HE染色腎間質損傷の病理評点の結果

【0158】

【表2】

表1 各群ラット閉塞腎臓腎小管間質損傷指数の比較

分群	例数 (匹)	評点 ($\bar{X} \pm S$)
正常群	3	0.33 ± 0.12
モデル群	3	9.00 ± 1.00 ^{***}
化合物3群	3	6.87 ± 1.14 ^{***}

【0159】

注釈：

正常群と比べて、^{*}p < 0.05, ^{**}p < 0.01; ^{***}p < 0.001;

モデル群と比べて、^{*}p < 0.05, ^{**}p < 0.01, ^{***}p < 0.001;

【0160】

2. MASSON染色による腎間質損傷の病理評点の結果：

【0161】

【表3】

表2 各群におけるラット左側腎臓MASSON染色腎間質膠原の評点結果

分群	例数 (匹)	評点 ($\bar{X} \pm S$)
正常群	3	0.25 ± 0.00
モデル群	3	2.45 ± 0.38 ^{**}
化合物3群	3	1.75 ± 0.43 ^{***}

表2 各群におけるラット左側腎臓MASSON染色腎間質膠原の評点結果

【0162】

注釈：

正常群と比べて，☆ $p < 0.05$ ，☆☆ $p < 0.01$ ；☆☆☆ $p < 0.001$ ；

モデル群と比べて，* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ ，*** $p < 0.001$ ；

【0163】

三、結論

化合物3は15mg/kgで有効に腎臓線維化を治療することができる。

【図1】

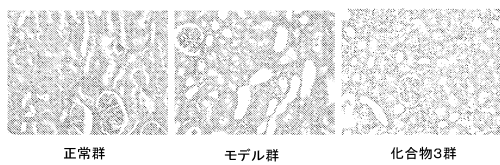


図 1

【図2】

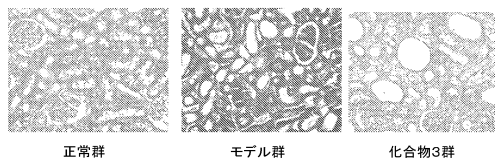


図 2

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 13/12 (2006.01) A 6 1 P 13/12

(72)発明者 陶 立▲堅▼
中華人民共和国 湖南省▲長▼沙市桐梓坡路172号
(72)発明者 ▲陳▼▲軍▼
中華人民共和国 湖南省▲長▼沙市桐梓坡路172号

審査官 小出 直也

(56)参考文献 特表2008-544743 (JP, A)
特表2007-510618 (JP, A)
中国特許出願公開第101235030 (CN, A)
Database STN File Registry [online], 2001年 5月30日, RN 339009-21-1, retrieved
on 12 June 2014
Database STN File Registry [online], 2001年 5月30日, RN 339024-94-1, retrieved
on 12 June 2014
Database STN File Registry [online], 2006年 2月21日, RN 874778-15-1, retrieved
on 12 June 2014
Database STN File Registry [online], 2007年 2月28日, RN 923688-20-4, retrieved
on 12 June 2014

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C 0 7 D 2 0 1 / 0 0 - 5 2 1 / 0 0

CAplus/REGISTRY (STN)