(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公表特許公報(A)　　(11)公表番号
特表2023-535071
(P2023-535071A)
(43)公表日　令和5年8月15日(2023.8.15)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｑ	*1/02 (2006.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/02	４Ｂ０６３
Ａ６１Ｋ	*31/4045(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4045	４Ｃ０５５
Ａ６１Ｋ	*31/416(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/416	４Ｃ０６３
Ａ６１Ｋ	*31/415(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/415	４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*31/44 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/44	４Ｃ０８６

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全39頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-504597(P2023-504597)
(86)(22)出願日　令和3年7月23日(2021.7.23)
(85)翻訳文提出日　令和5年3月8日(2023.3.8)
(86)国際出願番号　PCT/US2021/043012
(87)国際公開番号　WO2022/020742
(87)国際公開日　令和4年1月27日(2022.1.27)
(31)優先権主張番号　63/056,211
(32)優先日　令和2年7月24日(2020.7.24)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　510073187
ザ ユニバーシティ オブ タルサ
アメリカ合衆国，オクラホマ ７４１０４，タルサ，サウス タッカー ドライブ ８００
(74)代理人　100083806
弁理士　三好 秀和
(74)代理人　100111235
弁理士　原 裕子
(74)代理人　100195257
弁理士　大渕 一志
(72)発明者　ラマ―、 アンガス エー.
アメリカ合衆国 ７４１３７ オクラホマ州 タルサ サウス エリー アベニュー ８６３３
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　Ｎ－ベンジルスルホンアミドの合成と使用

(57)【要約】

N-ベンジルスルホンアミドを調製する方法が開示される。がんの治療用の組成物も開示される。この組成物は、N-ベンジルスルホンアミドおよび代謝阻害剤を含む。代謝阻害剤の有無にかかわらずN-ベンジルスルホンアミドを含む組成物の、細胞ATPレベルに対する影響を決定するための方法も開示される。

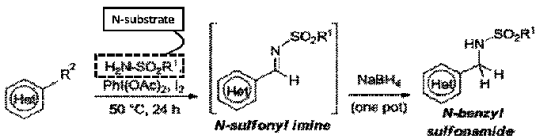
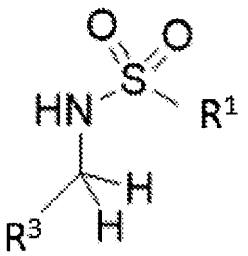


FIG. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
目的化合物の細胞毒性を決定する方法であって、
第１の試験ウェルに生細胞の第１のサンプルを提供すること；
第２の試験ウェルに生細胞の第２のサンプルを提供すること；
生細胞の前記第１のサンプルを前記目的化合物で処理すること；
生細胞の前記第２のサンプルを適切な対照化合物で処理すること；
発光検出剤を選択し、前記選択された発光検出剤に基づいて、生細胞の前記第１のサンプルと生細胞の前記第２のサンプルに前記選択された発光検出剤を添加する前に経過しなければならない、前記目的化合物へ生細胞の前記第１のサンプルを曝露する時間を決定すること；
前記選択された発光検出剤により決定される時間にわたり、生細胞の前記第１のサンプルに前記発光検出剤を添加し、前記選択された発光検出剤により決定される時間にわたり、生細胞の前記第２のサンプルに前記発光検出剤を添加すること；
生細胞の前記第１のサンプルによって結果として生成された発光を測定すること；
生細胞の前記第２のサンプルによって結果として生成された発光を測定すること；
生細胞の前記第１のサンプルの発光と生細胞の前記第２のサンプルの発光との差が、生細胞の前記第１のサンプルにおけるＡＴＰレベルの低下を反映し、それが前記目的化合物の細胞毒性を示すこと；および、
生細胞の前記第１のサンプルを前記目的化合物で処理する前記ステップは、細胞死をもたらさないこと
を含む、方法。
【請求項２】
生細胞の前記第１のサンプルおよび生細胞の前記第２のサンプルに代謝阻害剤を添加するステップをさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
生細胞の前記第１のサンプルおよび生細胞の前記第２のサンプルに代謝阻害剤を添加するステップをさらに含み、生細胞の前記第１のサンプルに前記代謝阻害剤を添加するステップは、前記目的化合物の添加の前に起こり、生細胞の前記第１のサンプルに前記目的化合物を添加する前記ステップは、前記代謝阻害剤の添加の約３０分～約４時間後に起こり、前記適切な対照化合物を添加する前記ステップは、前記代謝阻害剤の添加の約３０分～約４時間後に起こる、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
生細胞の前記第１のサンプルおよび生細胞の前記第２のサンプルに代謝阻害剤を添加するステップをさらに含み、前記代謝阻害剤を添加するステップは、前記目的化合物および前記適切な対照化合物の添加と同時に起こる、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
選択された代謝阻害剤に基づいて、前記目的化合物によって影響を受ける代謝経路を決定するステップをさらに含む、請求項２、３または４に記載の方法。
【請求項６】
前記目的化合物がインドールヘテロ芳香族基を有するＮ-ベンジルスルホンアミドである、請求項１、２、３または４に記載の方法。
【請求項７】
前記代謝阻害剤が、2-デオキシグルコース、ロテノン、ロニダミン、3-ブロモピルビン酸、イマチニブ、オキシチアミン、および6-アミノニコチンアミド　グルタミナーゼ阻害剤９６８、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、アミタール、アンチマイシンA、アジ化ナトリウム、シアン化物、オリゴマイシン、ＦＣＣＰ、フロレチン、クェルセチン、３ＢＰ、３ＰＯ、ＤＣＡ、ＮＨＩ-1およびオキサム酸、フィセチン、ミリセチン、アピゲニン、ゲニステイン、シアニジン、ダイゼイン、ヘスペレチン、ナリンゲニン、およびカテキンからなる群から選択される、請求項２、３または４に記載の方法。

【請求項８】
生細胞の前記第１のサンプルおよび生細胞の前記第２のサンプルは膵臓がん細胞株である、請求項１、２、３または４に記載の方法。
【請求項９】
前記適切な対照化合物は、前記目的化合物を溶解することに適した溶媒である、請求項１、２、３または４に記載の方法。
【請求項１０】
前記適切な発光検出剤は、ＡＴＰ依存性ルシフェラーゼおよびルシフェラーゼ誘導体の群から選択される、請求項１、２、３または４に記載の方法。
【請求項１１】
前記適切な発光検出剤がレサズリンであり、生細胞の前記第１のサンプルを前記目的化合物に曝露する時間および前記適切な対照化合物に曝露する時間が約24時間であり、生細胞の前記第１のサンプルにレサズリンを添加する時間が約1時間～約4時間であり、生細胞の前記第２のサンプルにレサズリンを添加する時間が約1時間～約4時間である、請求項１、２、３または４に記載の方法。
【請求項１２】
前記適切な発光検出剤がルシフェラーゼまたはルシフェラーゼ誘導体であり、生細胞の前記第１のサンプルを前記目的化合物に曝露する時間および前記適切な対照化合物に曝露する時間が約30分間～約4時間であり、生細胞の前記第１のサンプルにルシフェラーゼまたはルシフェラーゼ誘導体を添加する時間が約3分間～約7分間であり、生細胞の前記第２のサンプルにルシフェラーゼまたはルシフェラーゼ誘導体を添加する時間が約3分間～約7分間である、請求項１、２、３または４に記載の方法。
【請求項１３】
下記式Iの構造を有するN-ベンジルスルホンアミド：



式Ｉ

を含む組成物であって、
式中、
R^1は芳香族基、ヘテロ芳香族基、または脂肪族アルキル基であり、
R^3はヘテロ芳香族成分である、
組成物。
【請求項１４】
さらに代謝阻害剤を含む、請求項１３に記載の組成物。
【請求項１５】
前記代謝阻害剤が、ロテノン、2-デオキシグルコース、ロニダミン、3-ブロモピルビン酸、イマチニブ、オキシチアミン、および6-アミノニコチンアミド　グルタミナーゼ阻害剤968、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、アミタール、アンチマイシンA、アジ化ナトリウム、シアン化物、オリゴマイシン、ＦＣＣＰ、フロレチン、クェルセチン、3ＢＰ、3ＰＯ、ＤＣＡ、ＮＨＩ-1およびオキサム酸、フィセチン、ミリセチン、アピゲニン、ゲニステイン、シアニジン、ダイゼイン、ヘスペレチン、ナリンゲニン、およびカテキンからなる群から選択される、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１６】

式Iの構造を有するN-ベンジルスルホンアミド 対 代謝阻害剤のモル比が、約1:50～約1:1500である、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１７】
前記代謝阻害剤が、最終組成物の約75重量％～約99.999重量％を構成する、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１８】
式Iの構造を有するN-ベンジルスルホンアミドが、最終組成物の約0.001重量％～約25重量％を構成する、請求項１４に記載の組成物。
【請求項１９】
R^1が芳香族基、ヘテロ芳香族基、複素環基、または脂肪族基のうちのいずれか１つから選択され、ここで各基は置換型または非置換型であってもよい、請求項１３に記載の組成物。
【請求項２０】
R^1成分がさらに、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、シクロヘキシル、フェニル、置換フェニル、ベンジル、フルオロ、クロロ、ブロモ、ヨード、ヒドロキシ、メトキシ、エトキシ、フェノキシ、イソプロポキシ、トリフルオロメトキシ、トリフルオロメチル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ニトロ、ニトロソ、シアノ、カルボン酸、スルホン酸、アセチル、メチルエステル、エチルエステル、チオール、およびメチルチオエーテルからなる群から選択される官能基を有する、請求項１９に記載の組成物。
【請求項２１】
R^3ヘテロ芳香族成分が、インドール、インダゾール、ピラゾール、6員環N-ヘテロアレーン、キノリン、ピリミジン、ピラジン、ベンジル型アミン、ベンジル型アルコール、チアゾール、オキサゾール、およびフランからなる群から選択され、ここで各ヘテロ芳香族成分は置換型または非置換型であってもよい、請求項１３に記載の組成物。
【請求項２２】
N-ベンジルスルホンアミドを調製する方法であって、
アルデヒドまたはカルボキシアルデヒド官能性を有するヘテロ芳香族化合物を提供すること；
N-スルホンアミド基質を提供すること；
元素状ヨウ素と酸化剤の存在下で、前記ヘテロ芳香族化合物をN-スルホンアミド基質と反応させて、非酸性条件下で前記ヘテロ芳香族化合物のヘテロ芳香族足場上にN-スルホニルイミンを形成すること；
還元剤の添加により前記N-スルホニルイミンをN-ベンジルスルホンアミドに変換すること
を含む方法。
【請求項２３】
約20℃～約60℃の温度において完全な反応時間が約8時間～約48時間にわたって起こる、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
N-ベンジルスルホンアミドを調製する方法であって、
アルデヒドまたはケトン官能性を有するヘテロ芳香族化合物を提供すること；
イミノヨージナン試薬の形態でN-スルホンアミド基質を提供すること；
前記ヘテロ芳香族化合物をイミノヨージナン試薬と反応させること；
反応混合物に還元剤を加えて、目的のN-ベンジルスルホンアミドを得ること
を含む方法。
【請求項２５】
約20℃～約60℃の温度において完全な反応時間が約8時間～約48時間にわたって起こる、請求項２４に記載の方法。
【発明の詳細な説明】

【背景技術】
【０００１】
［関連出願へのクロスリファレンス］
本願は、２０２０年７月２４日に出願された米国仮出願第６３/０５６,２１１号に基づく優先権を主張し、その出願は参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
［背景］
スルホンアミドは、広範な医薬品に広く存在する生物学的アイソステアの重要なクラスである。残念ながら、ヘテロアリールアルデヒド試薬から直接スルホンアミドを製造する能力は限られたままである。特に、ヘテロアレーン足場にスルホンアミド官能基を直接設置する方法が必要とされている。本開示は、市販で利用可能なアルデヒドから穏やかな条件下で生成される中間体N-ヘテロアレーン含有N-スルホニルイミンのワンポット還元を介した、広範囲のN-ベンジルスルホンアミドを製造するための新しい方法を提供する。さらに、以下の開示は、ヘテロアレーン足場へのスルホンアミドユニットの位置選択的組み込みのための新しいアプローチを提供する。
【発明の概要】
【０００３】
一側面において、本開示はN-ベンジルスルホンアミドを調製する方法を提供する。この方法は、スルホンアミドと、アルデヒド、アルコール、ケトンまたはアミン等の官能基を有するヘテロ芳香族化合物とを単一の反応容器に加える工程を含む。反応は、非酸性条件下で元素状ヨウ素（elemental iodine）と超原子価ヨウ素化合物のような酸化剤とを該反応容器に加えることによって開始される。生成される化合物はイミンであり、その後所望のスルホンアミドに還元される。
【０００４】
また、N-ベンジルスルホンアミドと代謝阻害剤とを含む癌治療用化合物も提供される。
【０００５】
また、代謝阻害剤とN-ベンジルスルホンアミドとで処理した後の細胞のＡＴＰレベルを測定する方法も提供される。
【図面の簡単な説明】
【０００６】
【図１】図１は、第一級N-ベンジルスルホンアミドの二工程生成を示す。
【０００７】
【図２】図２は、インドール-3-カルボキシアルデヒド足場上でのスルホンアミド形成の例を示す。
【０００８】
【図３】図３は、本方法での使用に適したイミノヨージナン（iminoiodinane）試薬の非限定的な例を示す。
【０００９】
【図４】図４は、図１のR^2がアルデヒドまたはカルボキシアルデヒドである、本方法での使用に適したヘテロ芳香族化合物の非限定的な例を示す。
【００１０】
【図５】図５は、図１のR^2がアルデヒドの前駆体および他のカルボニル含有官能基を含む、本方法での使用に適したヘテロ芳香族化合物の非限定的な例を示す。
【００１１】
【図６】図６は、ヘテロ芳香族化合物にスルホンアミド官能基を結合させる理論的メカニズムを示す。
【００１２】
【図７】図７Ａ～７Ｌは、図１０で同定されたN-ベンジルスルホンアミドおよび他のN-ベンジルスルホンアミドの化学構造を示す。
【００１３】

【図８】図８は、図７の化合物2、5-9、11-12、14、16、18-22のスクリーニングのための最初の細胞生存性試験結果を示し、各化合物は500μMおよび100μMの濃度で試験された。

【００１４】

【図９】図９は、細胞毒性を決定するための先行技術の方法に従って実施された、図７の化合物2、5-9、11-12、14、16、18-22の細胞毒性スクリーニングの結果を示す。

【００１５】

【図１０】図１０は、2成分組成による処理後のATPレベルの決定についての、2つの既知抗がん化合物ABT-751およびIndisulamと比較した、開示された方法に従って調製された図７～９からの表示化合物のIC_{50}結果を示す。

【００１６】

【図１１】図１１はロテノンの構造を示す。

【００１７】

【図１２】図１２は2-デオキシグルコースの構造を示す。

【００１８】

【図１３】図１３は、ホタルルシフェラーゼの存在下でのD-ルシフェリンの発光反応を示す。

【００１９】

【図１４】図１４はN-ベンジルスルホンアミドの構造と成分を示す。

【００２０】

【図１５】図１５は、R^3基がインドールでありスルホンアミド成分がインドール上の異なる位置に結合しているN-ベンジルスルホンアミドの４つの非限定的な例を示す。

【００２１】

【図１６】図16は、N-基質の非限定的な例を示す。

【発明を実施するための形態】

【００２２】

本開示全体を通して、用語「約」、「およそ」、およびそのバリエーションは、値が、その値を決定するために利用されている装置、システム、方法に固有の変動もしくは誤差、または研究対象間に存在する変動を含むことを示すために使用される。

【００２３】

[ヘテロアリールアルデヒドからスルホンアミドを調製する方法]

一実施形態では、開示された方法は、図4および図5に反映されているようにアルデヒドまたはアルデヒド前駆体のような官能基を有するヘテロ芳香族化合物を、元素状ヨウ素（I_2）および超原子価ヨウ素化合物のような酸化剤の存在下で、スルホンアミドの形態にあるN-基質、すなわち窒素含有基質と反応させて、ヘテロ芳香族化合物のヘテロ芳香族足場上に非酸性条件下でN-スルホニルイミンを形成させる。N-基質は、芳香族、ヘテロ芳香族または脂肪族基であり得る官能基R^1を含む。官能基R^1は、最終的なN-ベンジルスルホンアミドのものとなる。ヨウ素とイミノヨージナン試薬の組合せは、ヘテロ芳香族化合物上の元のR^2官能基を、ヘテロ芳香族足場上でスルホンアミドからの中間的な不活性化イミンに置き換えることを誘導する。その後、該中間体の不活性化イミンは還元剤によってスルホンアミドに変換される。このアプローチにより、塩基性部位を有するヘテロ芳香族足場上にスルホンアミドを付加することができる。当業者に知られているように、塩基性部位を有するヘテロ芳香族足場は、伝統的な酸依存的反応経路の発生を妨げる。図14は、得られるN-ベンジルスルホンアミドの主要成分を示し、図15は、ヘテロアレーンへのベンジル型スルホンアミドの結合のために適した異なる位置、すなわちR^3ヘテロ芳香族基上の結合点の一般的構造例を示す。

【００２４】

あるいは、スルホンアミドをin situでイミノヨージナンに変換する工程を省略することもできる。この場合、イミノヨージナン化合物が適切な位置に窒素分子を含んでいることを条件として、反応に先立ってイミノヨージナン試薬を調製し、図2に示すようにN-基

質として使用することができる。そのような化合物の例を図3に示す。N-基質としてイミノヨージナン試薬を用いる場合、別途の酸化剤は必要ない。しかし、一般的には、好ましい方法はN-基質としてスルホンアミドを用いて、還元剤を使用する前にスルホンアミドをイミンに変換することである。

【００２５】

本方法での使用に適した超原子価ヨウ素試薬の非限定的なリストは、以下のものを含む：フェニルヨード(III)ジアセテート（phenyliodine(III) diacetate）（$PhI(OAc)_2$）、フェニルヨードビス(トリフロロアセテート)（phenyliodine bis(trifloroacetate)）（PIFA）、ヨードシルベンゼン（PhIO）、[ヒドロキシル(トシルオキシ)ヨード]ベンゼン（HTIB、Koser試薬）、$PhICl_2$、$TolIF_2$、ジアリールヨードニウム塩、Togni試薬、μ-オキソビス(トリフルオロアセトキシヨードベンゼン)（μ-オキソBTI）、デス-マーチン・ペルヨージナン、2-ヨードキシ安息香酸（IBX）、シアノ(トリフルオロメチルスルホニルオキシ)ヨードベンゼン（Stang試薬）、1-フェニル-2-(フェニル-λ^3-ヨーダネイリデン)-2-((トリフルオロメチル)スルホン-イル)エタン-1-オン（柴田試薬II）、ヨードソジラクトン。一般に、いずれの超原子価ヨウ素化合物も、スルホンアミド試薬と組み合わせて中間体イミノヨージナンを形成するための酸化剤として作用することを条件として、本明細書に記載される反応において機能する。

【００２６】

以下の方法における使用に適したヘテロ芳香族化合物の非限定的なリストには、図4および図5で特定された構造が含まれるが、これらに限定されない。一般に、スルホンアミドへの変換に適したヘテロ芳香族化合物は、アルデヒド官能性またはカルボキシアルデヒド官能性を有する。この方法における使用のために特に望ましいヘテロ芳香族化合物はインドールである。スルホンアミドの形成に適した他のヘテロ芳香族化合物としては、インダゾールとピラゾールのコアを有するカルボキシアルデヒド；ピリジン、キノリン、ピリミジン、ピラジン等の6員環N-ヘテロアレーンを含有するアルデヒド基質；ベンジル型アミン；ベンジル型アルコール；ならびにチアゾール、オキサゾール、およびフラン足場が挙げられるが、これらに限定されない。加えて、本明細書に開示される方法は、アルデヒドおよびカルボキシアルデヒド官能性の代わりに、アリールハライド、アミド、スルホンアミド、アリールエーテル、ベンジル型C-H結合、ならびにカルボニルおよびヘテロ原子に隣接するC-H結合のような官能性を用いて実施することができる。

【００２７】

下記の方法における使用に適した還元剤には、水素化ホウ素ナトリウム、水素化アルミニウムリチウム、水素化ホウ素リチウム、水素化ジイソブチルアルミニウム、シアノ水素化ホウ素ナトリウム、トリアセトキシ水素化ほう素ナトリウム、9-ボラビシクロ(3.3.1)ノナン(9-BBN)、およびハンチュエステルが含まれるが、これらに限定されない。当業者は、スルホニルイミンをスルホンアミドに還元するための他のアプローチに精通しているであろう。例えば、水素の存在下での接触還元は満足のいく結果をもたらす。

【００２８】

図1および図2は、官能基（R^2）を有するR^3ヘテロ（Het）芳香族化合物をスルホンアミドに変換する方法の例を示している。図2において、R^2官能基はインドール-3-カルボキシアルデヒドのアルデヒド部分である。しかしながら、R^2はケトン、またはアルデヒドもしくはケトンの前駆体であってもよい。アルデヒドまたはケトンの前駆体としてのR^2を有するヘテロ芳香族化合物を使用する場合、最初の段階は、該前駆体をアルデヒドまたはケトンに変換して、スルホンアミドがヘテロ芳香族化合物上の所望の位置で反応するようにすることである。下記の方法に従って反応を行うと、アルデヒドまたはケトン官能基がイミンに変換され、それから、スルホンアミド官能基に還元される。ほとんどの場合、N-基質は、イミンに変換された後に目的の化合物に還元されるスルホンアミドである。しかしながら、前述のように、図3に示されたようなイミノヨージナン化合物を使用してもよく、その場合は酸化剤は必要とされない。以下の論述では、N-基質としてスルホンアミドを使用する2段階法に焦点を当てる。本方法における使用に適した多種多様なス

ルホンアミドを、ヘテロ芳香族化合物上のアルデヒドまたはケトン官能性を置換した図7における官能基として見出すことができる。

【００２９】

前述のように、２段階法では、N-基質のN-スルホンアミド成分と反応することができる官能基R^2を有するヘテロ芳香族化合物R^3を利用する。図４および図５に、好適なヘテロ芳香族化合物の非限定的な例を示す。ヘテロ芳香族化合物（R^3）がR^2としてアルデヒドまたはケトン官能性を有する場合、反応の第一段階は、選択されたヘテロ芳香族化合物と選択されたN-基質とを、超原子価ヨウ素試薬および元素状ヨウ素とともに溶媒中で組み合わせることを含む。図５において、R^4およびR^5は、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、フェニル、ベンジルであるがこれらに限定されないアルキル基またはアリール基であり得る。適切な溶媒には、クロロホルム、ジクロロメタン、またはジクロロエタンが含まれるがこれらに限定されない。使用される溶媒の量は、すべての反応物を溶解または懸濁するのに十分な量である。典型的な組合せは、以下の成分比率を含む：２～５当量のヘテロ芳香族化合物；１当量のN-基質（すなわちスルホンアミド）；２当量の超原子価酸化試薬；および１当量の元素状ヨウ素。

【００３０】

反応物に対して不活性な雰囲気下、約２０℃から約６０℃の温度で撹拌または混合しながら、約８時間から約４８時間にわたって反応が行われる。典型的には反応は、アルゴンガス下約４０℃から約６０℃の温度で撹拌または混合しながら約１８時間から２６時間にわたって行われる。この方法における使用に適した他のガスとしては窒素または空気が挙げられる。反応時間後、反応生成物は典型的には室温、例えば約１７℃～約２２℃の温度に冷まされ、その後、残った液体成分が除去される。残りの固形物質は、メタノールとジクロロメタンの混合物に溶解され、室温、例えば約１７℃～約２２℃に冷まされる。この段階における使用のための代替溶媒としては、エタノール、イソプロピルアルコール、クロロホルム、酢酸エチル、ジエチルエーテル、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、およびジクロロエタンが挙げられるがこれらに限定されない。この段階で使用される溶媒の量は重要ではない。一般的には、反応生成物を完全に溶解するのに十分な量が使用される。中間体イミン生成物が形成すると、反応プロセスの最初の段階は完了である。スルホニルイミン生成物の存在は、核磁気共鳴（1H NMR、13C NMR）および質量分析によって確認することができる。

【００３１】

最初の反応産物を溶媒に溶解した後、還元反応によってスルホニルイミン中間体からスルホンアミドへの変換が起こる。ほとんどの場合、スルホニルイミン中間体の還元は最初の段階と同じ反応容器内で起こり得る。したがって、ヘテロ芳香族足場上でのスルホンアミドの調製は「ワンポット」法と呼ぶことができる。イミンからスルホンアミドへの還元は、反応容器が４０℃未満の温度にある間に反応容器に水素化ホウ素ナトリウムなどの還元剤を段階的に添加することによって行われる。約５当量の水素化ホウ素ナトリウムを１～５分間かけて添加し、その後１０分間かき混ぜる。次に５当量の水素化ホウ素ナトリウムの第二の部分を１～５分間かけて添加し、その後さらに１０分間かき混ぜる。還元剤添加中の望ましい温度は、生成物の分解の可能性を防ぐ温度である。およそ１０分から約４５分の後、撹拌または混合を続けながら溶液を室温または約２０℃の温度にまで温める。残った還元剤は水を加えることで中和される。得られたスルホンアミドは、溶媒抽出法を用いて単離され、その後真空下で硫酸ナトリウムでの処理により乾燥される。スルホンアミドの最終精製は、フラッシュクロマトグラフィーによって、または例えば再結晶化などの他の簡便な方法で行われ得る。典型的なフラッシュクロマトグラフィーでは、溶離液としてヘキサンと酢酸エチルの混合物を使用する。有利なことに、本方法の反応経路は、C-H活性化を介したベンジル型アミド化の下で起こるような副産物の生成を防止する。

【００３２】

理論に拘束されることは意図せず、単にここで記述された反応のよりよい理解を提供するために、図６はヘテロ芳香族足場へのスルホンアミド官能基の結合についての妥当と思

われる機序を示している。図6に概説されているように、フェニルヨード(III)ジアセテート（$PhI(OAc)_2$）、元素状ヨウ素、およびスルホンアミドからの、N-ベンジルスルホンアミドの形成は、以下のステップに従って進行すると考えられる。1）過剰のアルデヒド基質（例えば2～5等量）を、2）化学量論量または触媒量のヨウ素と使用した場合、生成物収率の増強がもたらされる。求電子性の「I+」源である次亜ヨウ素酸アセチル（AcOI）の形成が、$PhI(OAc)_2$と元素状ヨウ素との組み合わせから起こることが知られている。スルホンアミドの存在下では、AcOIはN-ヨードスルホンアミド（A）を生成する。ヨウ素の添加は、スルホンアミド窒素の求核強度を低下させる作用をする。スルホンアミドのマスキングと過剰のアルデヒド基質の使用により、ヘテロ芳香族基R^3のアルデヒド酸素原子（B）が$PhI(OAc)_2$の求電子中心に配位することが可能になる。次に、官能基R^1を有するスルホンアミド（A）が電子不足のカルボニル炭素（C）を攻撃し、中間体（D）がもたらされる。ヨードシルベンゼン（PhIO）とアセテートの離脱による中間体（E）の生成が、アルデヒドC-H結合を完全に保持しながら起こる。イミン（F）の形成においてヨウ素分子が再生され、これにより、触媒量の元素状ヨウ素を用いて反応が遂行される能力が説明される。得られたN-スルホニルイミン（F）は、次に$NaBH_4$で還元されてN-ベンジルスルホンアミド生成物（G）を形成し、ここでR^3は前述のヘテロ芳香族基を表す。

【実施例】

【００３３】

［図7に示される実施例化合物1～139の調製］

以下の例は、N-ベンジル-スルホンアミドの製造のためのR^3足場材料としての様々なヘテロ芳香族化合物、および官能基R^1を有する様々なN-基質の使用を実証する。最終生成物は図7の化合物1～30として示されている。これらの化合物は上記で概説された方法と同定された材料とを用いて調製された。化合物の標題の後に示されている括弧内の数字は、図7における対応する構造を識別している。

● N-[(1H-インドール-3-イル)メチル]-4-メチルベンゼンスルホンアミド （1）。

一般的手順に従って標題化合物を調製した。赤褐色固体（24 mg、61%）：m.p. 140-144℃; 精製（ヘキサン:EtOAc, 60:40）、R_f = 0.42. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.06 (bs, 1H), 7.79 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.40 (dd, J = 8.0, 1.0 Hz, 1H), 7.35-7.29 (m, 3H), 7.20 (ddd, J= 8.2, J = 7.0, J = 1.2 Hz, 1H), 7.08 (ddd, J= 8.2, J = 7.0, J = 1.2 Hz, 1H), 7.05 (d, J= 2.3 Hz, 1H), 4.47 (bt, J = 5.5 Hz, 1H), 4.32 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 143.4, 136.7, 136.2, 129.7, 127.3, 126.1, 123.3, 122.7, 120.0, 118.6, 111.3, 111.0, 39.0, 21.6 ppm. IR (neat): ν = 3377, 3275, 3059, 2921, 1724, 1596, 1287, 1153, 1021, 744 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{17}N_2O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z301.10108, found m/z 301.06378.

● N-[(1H-インドール-3-イル)メチル]-4-クロロベンゼンスルホンアミド （2）。

標題化合物は、$CHCl_3$（3 mL）中の1H-インドール-3-カルボアルデヒド（1.25 mmol、5当量）、4-クロロベンゼンスルホンアミド（0.25 mmol、1当量）、ヨードベンゼンジアセテート（0.5 mmol、2当量）、I_2（0.25 mmol、1当量）から一般的手順に従ってで調製された。赤褐色固体 (48 mg, 60%): m.p. 154-158℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 70:30), R_f = 0.22. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.05 (bs, 1H), 7.79 (dt, J = 8.6 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.47-7.39 (m, 3H), 7.34 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.21 (ddd, J = 8.2, J = 7.4, J = 1.2 Hz, 1H), 7.10 (ddd, J = 7.8, J = 7.0, J = 0.8 Hz, 1H), 7.05 (d, J= 2.3 Hz, 1H), 4.56 (bt, J = 5.5 Hz, 1H), 4.36 (d, J = 5.5 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 139.0, 138.4, 136.2, 129.2, 128.6, 126.0, 123.4, 122.8, 120.2, 118.5, 111.4, 110.7, 39.1 ppm. IR (neat): ν = 3406, 3281, 3093, 2918, 2849, 1699, 1418, 1317, 1157, 1014, 824, 742 cm^{-1}. HRMS (ESI): calcul

ated for $C_{15}H_{14}N_2O_2S_1Cl_1[M + H]^+$ requires m/z321.04645, found m/z 321.04547.

● N-[(1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (3)。

一般的手順に従って標題化合物を調製した。黄褐色固体 (22 mg, 60%): m.p. 132-140℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.33. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.05 (bs, 1H), 7.93-7.89 (m, 2H), 7.62-7.57 (m, 1H), 7.55-7.49 (m, 2H), 7.39 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.20 (ddd, J = 8.2 Hz, J = 7.4 Hz, J = 1.2 Hz, 1H), 7.08 (ddd, J = 8.2 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.2 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 4.51 (bt, J = 5.1 Hz, 1H), 4.35 (d, J = 5.1 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 139.8, 136.2, 132.6, 129.1, 127.2, 126.1, 123.3, 122.7, 120.1 118.6, 111.3, 110.9, 39.0 ppm. IR (neat): ν = 3394, 3242, 2918, 1700, 1447, 1423, 1333, 1224, 1153, 730 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{15}H_{15}N_2O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z287.08543, found m/z 287.08429.

● N-[(1-アセチル-1H-インドール-3-イル)メチル]-4-クロロベンゼンスルホンアミド (4)。

一般的手順に従って標題化合物を調製した。オフホワイト固体(30 mg, 64%): m.p. 176-180℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.29. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.36 (bd, J = 8.2 Hz, 1H), 7.78 (dt, J = 8.6 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.44 (dt, J= 8.6 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.41 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.36 (ddd, J = 8.3 Hz, J = 7.1 Hz, J = 1.4 Hz, 1H), 7.28-7.23 (m, 2H), 4.80 (bt, J = 5.5 Hz, 1H), 4.31 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.55 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 168.3, 139.4, 138.2, 135.9, 129.4, 128.6, 128.5, 125.9, 123.9, 118.7, 117.2, 116.8, 38.8, 23.9 ppm. IR (neat): ν = 3222, 3112, 2924, 1676, 1451, 1158, 752 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{17}H_{16}N_2O_3S_1Cl_1[M + H]^+$ requires m/z363.05702, found m/z 363.05640.

● N-[(4-ブロモ-1H-インドール-3-イル)メチル]-4-メチルベンゼンスルホンアミド (5)。

一般的手順に従って標題化合物を調製した。褐色固体 (16 mg, 34%): m.p. 117-122℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.22. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.21 (bs, 1H), 7.64 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (dd, J = 8.2 Hz, J = 0.8 Hz, 1H), 7.20 (dd, J= 8.2 Hz, J = 0.8 Hz, 1H), 7.15-7.12 (m, 3H), 6.98 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 4.99 (bt, J = 5.9 Hz, 1H), 4.49 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 142.9, 137.5, 137.2, 129.2, 126.9, 126.0, 124.9, 124.0, 123.2, 113.1, 111.5, 110.8, 39.3, 21.4 ppm. IR (neat): ν = 3326, 2916, 2848, 1639, 1511, 1387, 1294, 1151, 731 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{16}N_2O_2S_1Br_1[M + H]^+$ requires m/z379.01159, found m/z 379.01059.

● N-[(7-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (6)。

一般的手順に従って標題化合物を調製した。オフホワイト固体(23 mg, 58%): m.p. 176-179℃; 精製 (ヘキサン: EtOAc, 60:40), R_f = 0.38. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.02 (bs, 1H), 7.77 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 4.55 (bt, J = 5.5 Hz, 1H), 4.30 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.44 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 143.4, 136.7, 135.8, 129.7, 127.3, 126.5, 125.7, 123.1, 120.5, 120.2, 116.3, 111.4, 39.1, 21.5, 16.6 ppm. IR (neat): ν = 3386, 3269, 3053, 2917, 1597, 1412, 1300, 1153, 1091, 1041, 909, 810, 736, 668, 540 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{17}H_{19}N_2O_2S_1[M+H]^+$ requires m/z315.11673, found m/z 31

5.10825.

● N-[(4-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (7)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。茶色固体(24 mg, 63%): m.p. 130-136℃; 精製(ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.34. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.06 (bs, 1H), 7.92-7.88 (m, 2H), 7.62-7.56 (m, 1H), 7.55-7.48 (m, 2H), 7.16 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.07 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.86-6.82 (m, 1H), 4.51 (m, 1H), 4.41 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 2.54 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 141.9, 139.6, 136.7, 132.6, 130.4, 129.1, 127.2, 126.4, 124.9, 122.6, 121.5, 111.1, 109.3, 40.4, 19.7 ppm. IR (neat): ν = 3271, 1701, 1446, 1413, 1310, 1154, 1090, 1028, 747, 686 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{17}N_2O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z301.10108, found m/z 301.09982.

● 4-メチル-N-[(1-メチル-1H-インダゾール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (8)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(26 mg, 66%): m.p. 129-131℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.26. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.74 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.66 (dt, J= 8.2 Hz, J = 1.0 Hz, 1H), 7.38 (ddd, J = 8.2 Hz, J = 6.7 Hz, J = 0.8 Hz, 1H), 7.29 (dt, J = 8.2 Hz, J = 0.8 Hz, 1H), 7.25-7.22 (m, 2H), 7.12 (ddd, J = 8.0 Hz, J = 6.7 Hz, J = 0.8 Hz, 1H), 5.14 (bt, J= 5.9 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.39 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 143.4, 140.9, 139.2, 136.5, 129.6, 127.2, 126.7, 121.7, 120.6, 120.2, 109.0, 40.1, 35.3, 21.5 ppm IR (neat): ν = 3087, 2868, 1599, 1441, 1322, 1153, 1078, 1048, 800, 656 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{18}N_3O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z316.11197, found m/z 316.11053.

● 4-メチル-N-[(1-メチル-1H-インダゾール-5-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (9)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(26 mg, 60%): m.p. 147-150℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.21. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.88 (s, 1H), 7.77 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.33-7.24 (m, 4H), 4.74 (bt, J = 5.9 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 4.05 (s, 3H), 2.43 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 143.5, 139.5, 136.9, 132.6, 129.7, 128.4, 127.2, 126.7, 123.9, 120.4, 109.4, 47.5, 35.6, 21.5 ppm. IR (neat): ν = 3166, 2931, 1512, 1327, 1156, 1055, 800, 750, 660 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{18}N_3O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z316.11197, found m/z 316.11096.

● 4-クロロ-N-[(1-メチル-1H-インダゾール-5-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (10)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(15 mg, 36%): m.p. 148-150℃; 精製 (ヘキサン: EtOAc, 60:40), R_f = 0.19. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.91 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 7.79 (dt, J = 8.6 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.53-7.51 (m, 1H), 7.45 (dt, J = 8.6 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.23 (dd, J = 8.6 Hz, J = 1.6 Hz, 1H), 4.69 (bt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.26 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 4.06 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 139.5, 139.2, 138.6, 132.7, 129.4, 128.6, 128.0, 126.5, 123.9, 120.5, 109.5, 47.6, 35.7 ppm. IR (neat): ν = 3300, 2923, 2851, 1514, 1326, 1150, 1091, 817, 750, 620 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{15}H_{15}N_3O_2S_1Cl_1[M + H]^+$ requires m/z336.05735, found m/z 336.05640.

● 4-クロロ-N-[(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (11)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(19 mg, 51%): m.p. 125-127℃; 精製 (ヘキサン: EtOAc, 60:40), R_f = 0.06. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.78 (dt, J = 8.6 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.48 (dt, J= 8.6 Hz, J

= 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 4.90 (bt, J = 5.5 Hz, 1H), 4.03 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 139.2, 138.6, 138.5, 129.5, 129.4, 128.6, 116.7, 39.0, 37.8 ppm. IR (neat): ν = 3148, 3054, 2936, 2856, 2782, 1741, 1585, 1566, 1473, 1340, 1159, 1059, 997, 846, 758, 612 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{11}H_{13}Cl_1N_3O_2S_1[M+H]^+$ requires m/z286.04170, found m/z 286.03979.

● N-[(2-メトキシピリジン-3-イル)メチル]-4-メチルベンゼンスルホンアミド (12)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。追加の精製（カラムクロマトグラフィーの後）として、生成物アミンとスルホンアミド出発物質の混合物を分液漏斗中で5M HCl 5 mLと共にEtOAc 5 mLに溶解した。酸水溶液（プロトン化ピリジニウム生成物を含有する）を有機相から分離し、約3～4 mLの50% w/w NaOH溶液で塩基化した。次に、脱プロトン化生成物をEtOAc（3×5 mL）で水性部分から抽出し、Na_2SO_4で乾燥させ、真空下で溶媒を除去した。白色固体(13 mg, 36%): m.p. 95-96℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 50:50), R_f = 0.66. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.01 (dd, J = 5.1 Hz, J = 2.0 Hz, 1H), 7.64 (dt, J= 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.37 (dd, J = 7.4 Hz, J = 2.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 6.74 (dd, J = 7.0 Hz, J = 5.1 Hz, 1H), 5.15 (t, J= 6.7 Hz, 1H), 4.11 (d, J = 6.7 Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.39 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 161.4, 146.2, 143.3, 137.8, 137.2, 129.5, 127.0, 118.9, 116.7, 53.4, 43.2, 21.5 ppm. IR (neat): ν = 3275, 2951, 1596, 1466, 1412, 1321, 1153, 1092, 1018, 812, 776, 660 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{14}H_{17}N_2O_3S_1$ $[M + H]^+$ requires m/z293.09599, found m/z 293.09415.

● N-[(2-メトキシピリジン-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (13)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。追加の精製（カラムクロマトグラフィー後）は、生成物アミンとスルホンアミド出発物質の混合物を、分液漏斗中で5 M HCl 5 mLと共にEtOAc 5 mLに溶解することを含んだ。酸水溶液（プロトン化ピリジニウム生成物を含む）を有機相から分離し、約3～4 mLの50% w/w NaOH溶液で塩基化した。脱プロトン化生成物を次にEtOAc（3 x 5 mL）で水性部分から抽出し、Na_2SO_4で乾燥させ、真空下で溶媒を除去した。白色固体(12 mg, 32%): m.p. 116-118℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 50:50), R_f = 0.47. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.97 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.75 (m, 2H), 7.42-7.34 (m, 3H), 6.71 (dd, J = 7.0 Hz, 5.1 Hz, 1H), 5.40 (bs, 1H), 4.12 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 161.3, 146.2, 140.1, 137.7, 132.5, 128.8, 126.8, 118.7, 116.7, 53.3, 43.1 ppm. IR (neat): ν = 3057, 2917, 2850, 1601, 1589, 1468, 1411, 1363, 1334, 1250, 1158, 1080, 1012, 105, 749, 693, 579, 528 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{13}H_{15}N_2O_3S_1$ $[M+H]c^+$ requires m/z 279.08034, found m/z 279.07294.

● 4-クロロ-N-(ピリミジン-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (14)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(9 mg, 26%): m.p. 154-160 ℃; 精製 (100% EtOAc), R_f = 0.46; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.14 (s, 1H), 8.64 (s, 2H), 7.79 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.7 (x2) Hz, 2H), 7.51 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.7 (x2) Hz, 2H), 5.01 (bs, 1H), 4.22 (s, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 158.3, 156.5, 139.8, 138.0, 130.0, 129.7, 128.5, 42.5 ppm. IR (neat): ν = 3047, 2852, 1567, 1411, 1321, 1155, 822, 722, 608 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{11}H_{11}N_3O_2S_1Cl_1[M + H]^+$ requires m/z284.02605, found m/z 284.02499.

● N-(ピリミジン-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (15)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(8 mg, 26%): m.p. 54-60℃; 精製 (100% EtOAc), R_f= 0.34. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.11 (s, 1H), 8.62 (s, 2H), 7.88-7.84 (m, 2H), 7.64-7.59 (m, 1H), 7.56-7.51 (m, 2H), 5.11 (bs, 1H), 4

.22 (s, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 158.3, 156.4, 139.5, 133.2, 130.1, 129.4, 127.0, 42.5 ppm. IR (neat): ν = 3084, 2876, 1675, 1569, 1445, 1410, 1313, 1154, 1074, 1043, 688 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{11}H_{12}N_3O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z250.06502, found m/z 250.06349.

● 4-メチル-N-(ピラジン-2-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (16)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(14 mg, 42%): m.p. 87-92 °C; 精製 (100% EtOAc), R_f = 0.54. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.50-8.41 (m, 3H), 7.74 (d, J= 8.2 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.56 (bt, J = 5.5 Hz, 1H), 4.32 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.40 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 143.9, 143.8, 143.7, 143.6, 136.4, 129.8, 129.7, 127.2, 45.5, 21.5 ppm. IR (neat): ν = 3130, 2916, 1599, 1458, 1406, 1329, 1187, 1091, 1018, 870, 816, 707, 663 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{12}H_{14}N_3O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z264.08067, found m/z 264.07947.

● 4-メチル-N-(1,3-チアゾール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (17)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(15 mg, 44%): m.p. 119-122℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.18. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.68 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.67 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.25-7.21 (m, 2H), 7.11-7.09 (m, 1H), 5.65 (bt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.32 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 2.39 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 153.6, 152.3, 143.4, 136.9, 129.6, 127.1, 115.7, 42.9, 21.5 ppm. IR (neat): ν = 3070, 2863, 1600, 1458, 1412, 1314, 1258, 1146, 1093, 1072, 812, 730, 662 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{11}H_{13}N_2O_2S_2$ $[M + H]^+$requires m/z 269.04185, found m/z 269.04280.

● 4-クロロ-N-(1,3-チアゾール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (18)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(13 mg, 35%): m.p. 130-132℃; 精製 (100% EtOAc), R_f = 0.86. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.68 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.70 (dt, J= 9.0 Hz, J = 2.4 (x2) Hz, 2H), 7.39 (dt, J = 9.0 Hz, J = 2.4 (x2) Hz, 2H), 7.10 (m, 1H), 5.82 (bt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.35 (d, J= 6.3 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 153.8, 152.0, 139.0, 138.5, 129.2, 128.5, 116.0, 42.9 ppm. IR (neat): ν = 3257, 3109, 1586, 1476, 1325, 1313, 1278, 1158, 1092, 1047, 933, 878, 828, 756, 662, 615, 507 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{10}H_{10}Cl_1N_2O_2S_2[M + H]^+$ requires m/z288.98722, found m/z 288.97977.

● 4-メチル-N-(1,3-チアゾール-2-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (19)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。オフホワイト油(17 mg, 51%): 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.15. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.76 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.65 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.31-7.25 (m, 3H), 5.56 (bt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 2.42 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 165.9, 143.8, 142.5, 136.5, 129.8, 127.2, 119.9, 44.4, 21.5 ppm. IR (neat): ν = 3084, 2850, 1504, 1329, 1159, 1090, 1058, 736, 658 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{11}H_{13}N_2O_2S_2[M + H]^+$ requires m/z269.04185, found m/z 269.04013.

● 4-クロロ-N-(フラン-2-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (20)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(18 mg, 52%): m.p. 118-120℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.65. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.75 (dt, J = 9.0 Hz, J = 2.4 (x2) Hz, 2H), 7.44 (dt, J = 9.0 Hz, J = 2.4 (x2) Hz, 2H), 7.23 (m, 1H), 6.22 (dd, J = 3.3 Hz, J = 1.8 Hz, 1H), 6.10 (m, 1H), 4.79 (bt, J = 5.9 Hz, 1H), 4.22 (d, J= 5.9 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 149.1, 142.6, 139.1, 138.5, 129.2, 128.5, 110.4, 108.5, 40.

1 ppm. IR (neat): ν = 3260, 1586, 1476, 1433, 1320, 1158, 1148, 1091, 1012, 922, 881, 824, 724 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{11}H_{11}N_1O_3S_1Cl_1[M + H]^+$ requires m/z272.01482, found m/z 272.01401.

● 4-メチル-N-[(2-メチル-1,3-オキサゾール-4-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (21)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(19 mg, 57%): m.p. 156-158℃; 精製 (ヘキサン:EtOAc, 60:40), R_f = 0.06. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.71 (dt, J = 8.2 Hz, J = 2.0 (x2) Hz, 2H), 7.31 (t, J = 1.2 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 5.14 (bt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.03 (dd, J = 6.3 Hz, J = 1.2 Hz, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.35 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 162.0, 143.5, 136.7, 135.9, 135.2, 129.6, 127.2, 39.1, 21.5, 13.7 ppm. IR (neat): ν = 3102, 2959, 2928, 2873, 1725, 1578, 1461, 1322, 1275, 1153, 1072, 930, 766, 660 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{12}H_{15}N_2O_3S_1[M + H]^+$ requires m/z267.08034, found m/z 267.07907.

● 4-メチル-N-(キノリン-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (22)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(12 mg, 31%). m.p. 148-150℃. 精製 (EtOAc). R_f= 0.51. ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.90 (dd, J = 4.1 Hz, J = 1.8 Hz, 1H), 8.07 (dd, J = 7.8 Hz, J = 1.2 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.77 (m, 2H), 7.65 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.52, (dd, J = 8.6 Hz, J = 2.2 Hz, 1H), 7.40 (dd, J= 8.6 Hz, J = 4.1 Hz, 1H), 7.29 (m, 2H), 4.84 (bt, J = 6.3 Hz, 1H), 4.34 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 2.41 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ150.6, 147.7, 143.7, 136.9, 135.9, 134.7, 129.9, 129.8, 129.2, 128.0, 127.2, 126.4, 121.5, 47.0, 21.5 ppm. IR (neat): ν = 3097, 2924, 2841, 1595, 1313, 1152, 885, 837, 658, 540 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{17}H_{17}N_2S_1O_2[M + H]^+$ requires m/z313.10108, found m/z 313.10080.

● N-(1H-インドール-3-イルメチル)-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (23)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。淡黄色固体(25 mg, 63%). m.p. 170-173℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 50:50). R_f= 0.43. ^1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ = 10.08 (bs, 1H), 7.84 (dt, J= 8.6 Hz, J = 3.1 Hz, 2H), 7.51 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.09 (m, 3H), 6.99 (m, 1H), 6.42 (bt, J = 6.3 (x2) Hz, 1H), 4.26 (d, J = 6.3 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 163.5, 137.7, 133.7, 130.0, 127.7, 124.8, 122.4, 119.8, 119.6, 114.9, 112.2, 111.8, 56.0, 39.6 ppm. IR (neat): ν = 3385, 3290, 3003, 2837, 1594, 1261, 1154, 1022, 538 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{16}N_2S_1O_3[M + Na]^+$ requires m/z339.07794, found m/z 339.07790.

● N-(1 H-インドール-3-イルメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド (24)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(18 mg, 41%). m.p. 199-201℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 60:40). R_f = 0.37. ^1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 10.08 (bs, 1H), 8.01 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.79 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.49 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.31 (dd, J = 8.2 Hz, J = 0.78 Hz, 1H), 7.19 (d, J= 1.6 Hz, 1H), 7.08 (t, J = 7.6 (x2) Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 4.38 (d, J = 5.9 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ 146.0, 137.6, 133.7, 133.4, 128.5, 127.5, 126.6, 125.2, 122.5, 119.8, 119.4, 112.2, 111.4, 39.7 ppm. IR (neat): ν = 3394, 3312, 1404, 1358, 1158, 846, 744 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{13}N_2S_1O_2F_3[M + Na]^+$ requires m/z377.05475, found m/z 377.05430.

● N-(1H-インドール-3-イルメチル)-3-ニトロベンゼンスルホンアミド (25)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。黄色固体(8 mg, 19%). m.p. 182-184℃. 精製(ヘキサン: EtOAc, 50:50). R_f = 0.46. ^1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 1

0.05 (bs, 1H), 8.40 (m, 1H), 8.20 (dt, J = 8.2 Hz, J = 0.78 Hz, 1H), 8.05 (dt, J= 7.8 Hz, J = 0.78 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 8.0 (x2) Hz, 1H), 7.48 (d, J= 7.8 Hz, 1H), 7.26-7.17 (m, 3H), 7.01 (t,J = 7.6 (x2) Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 4.43 (d, J = 5.9 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 144.0, 137.5, 133.2, 130.8, 127.3, 126.8, 125.5, 125.3, 122.5, 122.4, 119.8, 119.4, 112.0, 111.3, 39.7 ppm. IR (neat): ν = 3386, 3303, 3105, 2923, 1522, 1346, 1159, 748 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{15}H_{14}N_3S_1O_4[M + Na]^+$ requires m/z354.05245, found m/z 354.05190.

● N-(1H-インドール-3-イルメチル)メタンスルホンアミド (26)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。褐色固体(9 mg, 34%). m.p. 133-135℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 50:50). R_f = 0.28. ^{1}H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 10.20 (bs, 1H), 7.73 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.13 (t, J = 7.4 (x2) Hz, 1H), 7.06 (t, J = 7.4 (x2) Hz, 1H), 6.20 (bs, 1H), 4.49 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 2.82 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 137.8, 127.7, 124.9, 122.5, 119.9, 119.6, 112.4, 112.3, 40.3, 39.5 ppm. IR (neat): ν = 3394, 3270, 3016, 2929, 2527, 1140, 738, 505, 428 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{10}H_{12}N_2S_1O_2[M + Na]^+$ requires m/z247.05172, found m/z 247.05120.

● N-[(4-ブロモ-1H-インドール-3-イル)メチル]-4-クロロベンゼンスルホンアミド (27)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(7 mg, 25%). M.p. 186-188℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 50:50). R_f = 0.53. ^{1}H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ = 10.48 (bs, 1H), 7.83 (dt, J_1 = 8.6 Hz, J_2= 2.3 Hz, 2H), 7.51 (dt, J_1 = 8.2 Hz, J_2 = 2.3 Hz, 2H), 7.38 (d, J_1 = 8.2 Hz, 1H), 7.34 (d, J_1 = 1.6 Hz, 1H), 7.16 (d, J_1 = 7.4 Hz, 1H), 6.98 (t, J_1 = 7.4 X (2) Hz, 1H), 6.61 (t, J_1 = 5.5 X (2) Hz, 1H), 4.55 (d, J_1= 5.1 Hz, 2H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ 140.2, 138.1, 128.8, 128.72, 128.70, 126.9, 124.9, 123.2, 122.5, 112.9, 111.12, 111.07, 39.1 ppm. IR (neat): ν = 3355, 1704, 1334, 1189, 1092, 747 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{15}H_{11}BrClN_2O_2S$ $[M-H]^+$ requires m/z396.94131, found m/z 396.94183.

● 4-クロロ-N-[(7-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (28)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。黄褐色固体(17 mg, 42%). M.p. 204-206℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 50:50). R_f = 0.59. ^{1}H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ = 10.06 (bs, 1H), 7.81 (dt, J_1 = 9.0 Hz, J_2= 2.3 Hz, 2H), 7.51 (dt, J_1= 10.2 Hz, J_2 = 3.1 Hz, 2H), 7.34 (t, J_1 = 4.5 X (2) Hz, 1H), 7.16 (d, J_1 = 2.0 Hz, 1H), 6.90 (d, J_1 = 4.7 Hz, 2H), 6.76 (t, J_1 = 4.7 X (2) Hz, 1H), 4.32 (d, J_1 = 5.9 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ 140.1, 137.4, 136.2, 128.7, 128.6, 126.3, 123.8, 122.1, 120.5, 119.2, 116.3, 111.0, 38.9, 15.9 ppm. IR (neat): ν = 3402, 3282, 3093, 2917, 1318, 1158, 1093, 1024, 484 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{14}ClN_2O_2S$ $[M-H]^+$ requires m/z333.04645, found m/z 333.04688.

● 4-クロロ-N-[(1-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (29)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。白色固体(14 mg, 32%). m.p. 184-187℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 50:50). R_f = 0.70. ^{1}H NMR (400 MHz, $(CDCl_3)$): δ = 7.75 (dt, J = 9.4 Hz, J = 2.7 Hz, 2H), 7.43-7.36 (m, 3H), 7.28-7.21 (m, 2H), 7.08 (ddd, J = 8.0 Hz, J = 6.5 Hz, J = 1.6 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 4.61 (bt, J = 5.5 (x2) Hz, 1H), 4.33 (d, J= 5.5 Hz, 2H), 3.70 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CDCl_3)$): δ = 138.9, 138.5, 137.1, 129.1, 128.6, 128.1, 126.5, 122.3, 119.7, 118.5, 109.5, 108.9, 38.9, 32.7 ppm. IR (neat): ν = 3303, 3058, 1473, 1311, 1157, 1041, 826, 736, 544 cm^{-1}.

HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{15}N_2S_1O_2Cl_1[M + Na]^+$ requires m/z357.04405, found m/z 357.04210.

● 4-クロロ-N-[(4-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (30)。一般的手順に従って標題化合物を調製した。黄褐色固体(16 mg, 37%). m.p. 160-162℃. 精製 (ヘキサン: EtOAc, 60:40). R_f = 0.43. ^{1}H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 10.12 (bs, 1H), 7.91 (dt, J= 9.0 Hz, J = 2.0 Hz, 2H), 7.61 (dt, J = 9.0 Hz, J = 2.0 Hz, 2H), 7.18 (d, J= 8.2 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.96 (dd, J = 8.2, J = 7.0 Hz, 1H), 6.74 (dt, J = 7.0 Hz, J = 1.0 (x2) 1H), 6.62 (bt, J= 5.5 Hz, 1H), 4.38 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H) ppm. ^{13}C NMR (100 MHz, $(CD_3)_2CO$): δ = 140.7, 138.6, 138.1, 130.9, 129.9, 129.7, 126.3, 126.0, 122.6, 121.5, 111.6, 110.2, 41.2, 20.1 ppm. IR (neat): ν = 3390, 3273, 2923, 1336, 1150, 1093, 752 cm^{-1}. HRMS (ESI): calculated for $C_{16}H_{16}Cl_1N_2O_2S_1[M + H]^+$ requires m/z335.0621, found m/z 335.0610.

【００３４】

上記のN-ベンジルスルホンアミドに加えて、上述の方法を用いて以下の化合物も生成した。上記および以下の各化合物は、化合物名の後の括弧内の数字で識別されるように図7に示されている。

・4-メチル-N-[(2-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (31)
・4-クロロ-N-[(2-メチル-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (32)
・4-クロロ-N-[(2-クロロ-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (33)
・4-クロロ-N-[(5-メトキシ-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド (34)
・4-クロロ-N-[(5-フルオロ-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド(35)
・4-クロロ-N-[(5-ニトロ-1H-インドール-3-イル)メチル]ベンゼンスルホンアミド(36)
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (37)
・4-ブロモ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (38)
・4-クロロ-N-(キノリン-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (39)
・3-ブロモ-N-(1H-インドール-3-イルメチル) ベンゼンスルホンアミド (40)
・4-クロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (41)
・4-クロロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (42)
・4-クロロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (43)
・4-クロロ-N-{[1-(フェニルスルホニル)-1H-インドール-2-イル]メチル}ベンゼンスルホンアミド (44)
・3-クロロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (45)
・3-フルオロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (46)
・2-フルオロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (47)
・2-ブロモ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (48)
・N-(1H-インドール-3-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド (49)
・3,5-ジクロロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (50)
・3,5-ジフルオロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (51)
・2,3-ジクロロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (52)
・2,4-ジフルオロ-N-(1H-インドール-3-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (53)
・N-(1H-インドール-3-イルメチル)-2-ニトロベンゼンスルホンアミド (54)
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)ピリジン-3-スルホンアミド (55)
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)ビフェニル-4-スルホンアミド (56)
・5-クロロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)チオフェン-2-スルホンアミド (57)
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-4-メチルベンゼンスルホンアミド (58)
・4-ブロモ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド (59)

・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-4-メトキシベンゼンスルホンアミド（60）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-4-フェノキシベンゼンスルホンアミド（61）
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（62）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-4-ニトロベンゼンスルホンアミド（63）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド（64）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-4-メチルベンゼンスルホンアミド（65）
・3-クロロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（66）
・3-フルオロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（67）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-3-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド（68）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-3-ニトロベンゼンスルホンアミド（69）
・2-クロロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（70）
・2-フルオロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（71）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド（72）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)-2-ニトロベンゼンスルホンアミド（73）
・2,4-ジクロロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（74）
・3,5-ジクロロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（75）
・2,6-ジフルオロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（76）
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（77）
・5-フルオロ-N-(1H-インドール-6-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（78）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)チオフェン-2-スルホンアミド（79）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)キノリン-8-スルホンアミド（80）
・N-(1H-インドール-6-イルメチル)モルホリン-4-スルホンアミド（81）
・4-ブロモ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（82）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)ビフェニル-4-スルホンアミド（83）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-4-フェノキシベンゼンスルホンアミド（84）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-4-メトキシベンゼンスルホンアミド（85）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-4-ニトロベンゼンスルホンアミド（86）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド（87）
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（88）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-3-ニトロベンゼンスルホンアミド（89）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-3-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド（90）
・3-フルオロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（91）
・3-クロロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（92）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-2-ニトロベンゼンスルホンアミド（93）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド（94）
・2-フルオロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（95）
・2-クロロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（96）
・2,4-ジクロロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（97）
・3,5-ジクロロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（98）
・2,6-ジフルオロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（99）
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（100）
・5-フルオロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（101）

・N-(1H-インドール-5-イルメチル)チオフェン-2-スルホンアミド（102）
・5-クロロ-N-(1H-インドール-5-イルメチル)チオフェン-2-スルホンアミド（103）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)ピリジン-3-スルホンアミド（104）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)キノリン-8-スルホンアミド（105）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)モルホリン-4-スルホンアミド（106）
・N-(1H-インドール-5-イルメチル)-4-メチルピペリジン-1-スルホンアミド（107）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-4-メチルベンゼンスルホンアミド（108）
・4-ブロモ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（109）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)ビフェニル-4-スルホンアミド（110）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-4-フェノキシベンゼンスルホンアミド（111）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-4-ニトロベンゼンスルホンアミド（112）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-4-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド(113)
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-4-メトキシベンゼンスルホンアミド（114）
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（115）
・3-フルオロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（116）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-3-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド(117)
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-3-ニトロベンゼンスルホンアミド（118）
・3-クロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（119）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド(120)
・2-フルオロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（121）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-2-(トリフルオロメチル)ベンゼンスルホンアミド(122)
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-2-ニトロベンゼンスルホンアミド（123）
・2-クロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（124）
・2,4-ジクロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（125）
・3,5-ジクロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（126）
・2,6-ジフルオロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（127）
・4-フルオロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（128）
・5-フルオロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（129）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)チオフェン-2-スルホンアミド（130）
・5-クロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)チオフェン-2-スルホンアミド（131）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)ピリジン-3-スルホンアミド（132）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)キノリン-8-スルホンアミド（133）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-2-メチルベンゼンスルホンアミド（134）
・N-(1H-インドール-4-イルメチル)-2-(トリフルオロメトキシ)ベンゼンスルホンアミド(135)
・2-ブロモ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（136）
・3-ブロモ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（137）
・2,3-ジクロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（138）
・2,4,6-トリクロロ-N-(1H-インドール-4-イルメチル)ベンゼンスルホンアミド（139）

【００３５】

図4～5は、N-ベンジルスルホンアミドの製造のためのヘテロ芳香族足場として使用され得る様々なヘテロ芳香族化合物（R^3）を示している。図4は、図1のR^2官能基がアルデヒドまたはカルボキシアルデヒドであるヘテロ芳香族を示している。図5は、R^2官能基がケトンであるかまたはアルデヒドもしくはケトンの前駆体であるヘテロ芳香族を示している。すなわち、該官能基はアルコール、カルボン酸、無水物、酸塩化物、およびジア

ルキルアセタールであってもよい。インドール基質は中程度から良好までの収率を提供することが見出された一方、インダゾールおよびピラゾールのコアを持つカルボキシアルデヒドも効率的にN-ベンジルスルホンアミドを形成した。ピリジン、キノリン、ピリミジン、およびピラジン等の6員環N-ヘテロアレーンを含有するアルデヒド基質は中程度の収率でN-ベンジルスルホンアミドを生成した。最後に、N-基質として用いられたチアゾール、オキサゾール、およびフラン系化合物は良好な収率を生じた。

【００３６】

上記の方法により得られたN-ベンジルスルホンアミドの多くは薬理学的性質を有する。特に、多くの化合物は有効な抗がん化合物となる。どの化合物が抗がん化合物として有効であるかを決定するために新しい方法が必要となる。

【００３７】

[in vitro細胞毒性スクリーニングの方法]

N-ベンジルスルホンアミドの新規な調製方法を提供することに加えて、本開示は、得られたN-ベンジルスルホンアミドの薬理学的化合物としての有効性を決定する方法も提供する。足場上のスルホンアミド官能基の位置およびスルホンアミド官能基の種類に応じて、得られたN-ベンジルスルホンアミドは、がんの治療における有効性を有するはずである。以下の方法は、得られた化合物を代謝阻害剤と組み合わせた場合のin vitroでの有効性を評価するために開発された。

【００３８】

図7の化合物のN-ベンジルスルホンアミドライブラリーを、最初に標準的な細胞毒性試験を用いて生物学的活性についてスクリーニングした。該細胞毒性試験は、蛍光値に依存して、選択された細胞に対する選択された化合物の細胞毒性的影響を決定する。図8の表は、化合物2、5～9、11～12、14、16、18～22がDMSO対照と比較して細胞において活性であったことを示している。続いて、これらの化合物を、バージニア州ManassasのAmerican Type Culture Collection（ATCC）から入手した以下のがん細胞株に対して試験した：H293=腎臓がん；BxPC3=膵臓がん；HeLa=子宮頸がん；MCF7、SkBr3、T47D、MDA-MB=乳がん；MCF10A=非がん性乳房；PC3=前立腺がん；NCI-H196=肺がん。これらの化合物は、正常細胞（HDF）に対しても試験された。

【００３９】

以下の態様で細胞毒性試験を実施した。生きた細胞はレサズリンを蛍光化合物レゾルフィンに変換することが知られている。この反応に依存する試験系が市販されている。そのような試験の1つが、Promega社のCell Titer Blue Cell Viabilityテストアッセイにおいて知られている。特定された各がん株の細胞培養物をATCCから入手し、10%ウシ胎仔血清（FBS）とpen/strepとを添加したダルベッコの修正イーグル培地（DMEM）中で維持した。当業者に知られているように、DMEMは典型的には下記に特定される成分を含む。

成分	mg/L
無機塩	
塩化カルシウム二水和物	265.000
硝酸鉄(III)九水和物	0.100
無水硫酸マグネシウム	97.720
塩化カリウム	400.000
塩化ナトリウム	6400.000
アミノ酸	
グリシン	30.000
L-アルギニン塩酸塩	84.000
L-シスチン二塩酸塩	62.570
L-グルタミン	584.000
L-ヒスチジン塩酸塩一水和物	42.000
L-イソロイシン	105.000

L-ロイシン	105.000
L-リジン塩酸塩	146.000
L-メチオニン	30.000
L-フェニルアラニン	66.000
L-セリン	42.000
L-トレオニン	95.000
L-トリプトファン	16.000
L-チロシン二ナトリウム塩	103.790
L-バリン	94.000
ビタミン	
塩化コリン	4.000
D-Ca-パントテン酸塩	4.000
葉酸	4.000
ニコチンアミド	4.000
ピリドキサール塩酸塩	4.000
リボフラビン	0.400
チアミン塩酸塩	4.000
i-イノシトール	7.200
その他	
D-グルコース	4500.000
フェノールレッドナトリウム塩	15.900

【００４０】

当業者に知られているように、pen/strepは、哺乳類細胞培養物の細菌および真菌コンタミネーションを防止するために使用されるペニシリンとストレプトマイシンの組合せである。pen/strep溶液は、活性塩基として作用するペニシリンG（ナトリウム塩）5,000単位と、5,000マイクログラムのストレプトマイシン（硫酸塩）（塩基／ミリリットル）とを0.85%生理食塩水中に製剤化されて含む。

【００４１】

試験方法は、細胞培養物を37℃でインキュベートすることを規定する。加えて、細胞培養物は5% CO_2を含有する雰囲気下で維持される。細胞を増殖させた後、100μL～のDMEMと10% FBSを含有する複数の試験セルに細胞を分散させ、セルの表面に付着させた。通常、付着には約12時間から約18時間を要する。付着後細胞は、溶媒対照、または適切な溶媒（例えばDMSOであるがこれに限定されない）に溶解された対象N-ベンジルスルホンアミド化合物のいずれかで処理された。通常、細胞の生存性に対する対象N-ベンジルスルホンアミド化合物の効果を決定するに約18時間から約36時間を要する。N-ベンジルスルホンアミドまたは対照で細胞を処理した後、CellTiter-Blue試薬すなわちレサズリン10μlを添加することによって、細胞に対する化合物の毒性を決定する。通常、レサズリンは、N-ベンジルスルホンアミドまたは対照で細胞を処理した後約18時間～約36時間のあいだに添加される。約1時間から4時間、細胞にレサズリンを消費させてレゾルフィンに変換させる。その後、蛍光強度を測定するように構成された装置内で560 nmにおける励起および590 nmにおいて発光を記録することによって、レサズリンの蛍光が測定される。BioTek Cytation 5プレートリーダーとPromega Glomax Multi+検出システムは、2つの市販されているシステムである。細胞毒性を示す化合物については、Graph-Prismソフトウェアでの非線形回帰分析を使用して半最大阻害濃度（IC_{50}）値を決定した。IC_{50}値を決定する方法は当該技術分野ではよく知られておりこれ以上は説明しない。当業者には知られているように、IC_{50}は、所定の生物学的プロセスまたは生物学的成分をin vitroで50%阻害するために特定の阻害物質（例えば薬剤）がどれだけの量必要であるかを示す定量的尺度である。従って、各N-ベンジルスルホンアミドは或る濃度範囲にわたって試験される。典型的には、濃度範囲は6.25μM、12.5μM、25μM、50μM、および100μMである。この方法における対照は、通常、試験対象の化

合物を溶解するのに適したジメチルスルホンアミド（ＤＭＳＯ）その他の溶媒である。図８は、図７に示された表示化合物についての細胞生存率％を示している。

【００４２】

［二成分組成物による処理後のＡＴＰレベルを決定する方法］

上記の従来型細胞毒性スクリーニング法は、単独で細胞生存性を低下させる化合物を同定することができる。しかし、上記の方法は、細胞死を引き起こさない生物学的活性化合物を見逃すことになる。上記の方法では、化合物の生物学的標的や作用機序に関する情報が得られない。従って、本発明の一側面は、選ばれた経路によってＡＴＰ代謝を直接阻害する化合物を同定することに適したスクリーニング方法を含む。さらに、以下の方法は、阻害された経路の同定を可能にする。さらに、迅速な該試験法は、目的化合物（ｃｏｍｐｏｕｎｄ ｏｆ ｉｎｔｅｒｅｓｔ）への細胞の曝露の際に細胞死を必要としない。

【００４３】

このような化合物を同定するための改良された方法は、任意のＡＴＰ依存性ルシフェラーゼまたは改変ルシフェラーゼ（すなわちルシフェラーゼ誘導体）によって放出される光の関数としてＡＴＰレベルを測定する。この方法は、従来の発光アッセイを使用して培養物中の生細胞数を決定する。この方法によって提供される改善は、目的化合物による処理に先立って、アッセイに使用される細胞を代謝阻害剤で前処理することによってもたらされる。細胞毒性を測定するための発光アッセイはこの技術分野でよく知られている。ＡＴＰレベルを測定するためのアッセイ、キットおよび方法が、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第７,７４１,０６７号および米国特許第７,０８３,９１１号によって開示されている。Ｐｒｏｍｅｇａ社からＣｅｌｌＴｉｔｅｒ-Ｇｌｏ（登録商標）およびＣｅｌｌＴｉｔｅｒ-Ｂｌｕｅ（登録商標）として売られている市販のアッセイは、以下に説明する方法を実施するために特に適している。しかしながら、他の同様の発光または蛍光アッセイも、説明される方法において同じく好適に機能する。

【００４４】

市販されているアッセイは、細胞の生存率を測定する目的で構成されている。通常の使用では、該試験は未処理の細胞（すなわち対照）におけるＡＴＰレベルを決定する。対応する細胞が、細胞の生存率を低下させることが疑われる対象薬剤で処理される。一般的な実務では、結果として得られるデータは、処理された細胞と未処理の細胞とのＡＴＰレベルの比較として表され、ＡＴＰレベルの低下はその薬剤の有効性の指標となる。データは、アッセイ出力レベルの直接比較として、または、未処理の対照細胞のＡＴＰレベルを１００％とするパーセンテージとして表され得る。

【００４５】

ほとんどの場合、処理時間の後、市販のアッセイは溶解バッファーを使用して細胞を壊し、ＡＴＰを放出する。放出剤には、発光反応を触媒する酵素も含有されている。典型的にはこの酵素はルシフェラーゼでありその基質はＤ-ルシフェリンである。ＡＴＰの存在下では、ルシフェラーゼは光を発する反応を触媒する（図１３参照）。結果として生じる発光は、対照のＡＴＰレベルと処理された試験細胞のＡＴＰレベルとに対応する。従って、光強度発光の減少を使用して、処理された試験細胞に存在するＡＴＰのレベルを決定することができる。ほとんどの場合、発光はフォトルミネメータを使用して定量される。従来の試験では、化合物で細胞を処理することで細胞の生存率が低下する場合、それらのＡＴＰレベルも未処理細胞と比較して低下する（死んでいるため、それ以上ＡＴＰを産生できない）。従って、Ｐｒｏｍｅｇａ社から市販されている従来のＣｅｌｌＴｉｔｅｒ-Ｇｌｏ法は、細胞生存率の間接的な測定法ということができる。しかしながら、それが実際に測定しているのは、特定の条件下で細胞生存率を示すＡＴＰレベルである。これらの条件は、典型的に、目的化合物で細胞を１２～７２時間処理した後、試薬を使用して発光を生成させて分析することが関わる。

【００４６】

本願の方法では、利用可能なアッセイを使用する方法を改変して、細胞内のＡＴＰレベルに対する目的化合物の短期的な影響を測定するようにした。本方法は細胞死はもたらさ

ず、細胞の生存率も測定しない。該改変された方法では、対照細胞と試験細胞は最初に代謝阻害剤で約30分～約4時間処理される。典型的には、代謝阻害剤による細胞の処理は、抗がん特性についてスクリーニングされる化合物を添加する前の1時間にわたり行われる。しかしながら、代謝阻害剤とスクリーニング対象化合物とによる同時処理も満足な果を提供するはずである。従って、該改変ルミネセンスアッセイは、ATP代謝を直接阻害する化合物についてのスクリーニングに適応された。細胞中のATP合成は、複数の生化学的経路を介して起こる。これらの経路は、代謝阻害剤および／または利用可能な栄養素における変化に非常によく反応する。特定の経路に影響を与えることが知られている代謝阻害剤を組み入れることにより、開示された方法は、細胞中でATP合成に利用可能な残りの代謝経路に対する化合物の直接的作用の測定を提供する。

【００４７】

がんは代謝経路の調節不全を示すため、開示された方法で同定された化合物は潜在的な抗がん治療薬である。このスクリーニング方法論では、アッセイに使用される細胞が2-デオキシグルコース（2-DG）（解糖を介したATP産生を阻害する）またはロテノン（ミトコンドリアによるATP産生を阻害する）等の代謝阻害剤で前処理される。代謝阻害剤による前処理の結果として、細胞は、細胞内ATPレベルを維持するために残された非阻害経路を利用しなければならない。図11と図12はロテノンと2-DGの構造を示している。

【００４８】

対照細胞と試験細胞を代謝阻害剤で処理した後、この方法は、抗がん特性についてスクリーニングされる化合物を細胞に添加する。目的化合物の添加後、約1時間から約4時間、あるいは発光剤によっては18時間に至るまで、アッセイが継続される。しかしながら、細胞に対するスクリーニング対象化合物のATP阻害効果を決定するには、約60分間で十分である。選択された時間の経過後、細胞内のATPレベルが決定される。ATPレベルは、標準的な測定手順に従って発光によって決定することができる。すなわち、2つの成分組成で処理された生細胞からのアッセイの発光レベルが、該2つの成分組成で処理されていない生細胞からのアッセイ（すなわち対照実験）の発光レベルと比較される。従って、目的化合物の存在下での細胞のインキュベーションの際に細胞を殺すことなくATPレベルが決定される。結果として、ATPレベルの測定された低下は、代謝遮断剤によって阻害されなかった代謝経路の阻害に直接対応する。

【００４９】

従って、本方法は、阻害されずにATP生成のために使用されている経路を特異的に標的化する能力について、化合物をスクリーニングする能力を提供する。さらに、第１の既知経路を標的とする代謝阻害剤で前処理された細胞は、ATPレベルを維持するために、阻害されていない別の既知経路を使用することを強いられるため、該スクリーニング方法は、活性化合物の作用機序に関する直接的な機序情報を提供する。これらの結果は、約90分～約5時間という比較的短い時間で提供される。

【００５０】

多種多様なATP発光検出試薬が市販されている。その試薬がATPの存在下で発光する限り、本方法での使用に適するであろう。適切な試薬には、ATP依存性ルシフェラーゼ（例えばホタルルシフェラーゼであるがそれに限定されない）、他の改変ルシフェラーゼに基づく試薬、すなわちルシフェラーゼ誘導体が含まれるが、これらに限定されない。化合物の抗がん活性を測定するためのこの迅速な方法によれば、生きた細胞のサンプルが多数の試験ウェルに分散される。典型的には96ウェルプレートが使用される。しかしながら、本方法にとってウェルの数は重要ではない。96ウェルプレートを使用する場合、生細胞の数は一般的には約2万である。サンプルウェルには、細胞の健康と成長を促進するための細胞増殖培地と、ウェルの細菌コンタミネーションを防ぐための添加剤が含まれる。細胞増殖培地の一般的な例の1つは、前述のように10％ FBSを伴うDMEMである。細菌コンタミネーションを防ぐための添加剤の1つの例は、一般的にPen-Strepと呼ばれるペニシリンGとストレプトマイシンの溶液である。Pen-Strep溶液は典型的に、5000単位のペニシリンGと5000マイクログラムのストレプトマイシンを含む。従って、抗がん

化合物の迅速な測定は、以下の方法を使用して行うことができる。
●任意でPen-Strepを含む100μLのDMEM＋10% FBSを含有する96ウェルプレートに、所望の数の細胞を分布させる。
●24時間後、目的化合物または対照としての5%ジメチルスルホキシド（DMSO）水溶液で細胞を処理する。
●目的化合物およびDMSO対照への曝露時間は、発光検出試薬によって異なる。しかし、レサズリン（プロメガから市販されているCellTiter Blue）、またはルシフェラーゼもしくはルシフェラーゼ誘導体（プロメガから市販されているCellTiter Glo）などの市販試薬を使用する場合、その時間は販売会社の文献を参照して容易に決定できる。他の発光検出剤も、望ましい化合物曝露時間を決定するための最小限の実験を伴って使用され得る。
●目的化合物またはDMSOへの曝露の時間が完了したら、10μLの発光検出試薬を添加し、細胞は、発光検出試薬と共に加えられた界面活性剤によって溶解される。
・CellTiter-Blueに見られるように試薬がレサズリンである場合、目的化合物およびDMSOへの曝露の時間は約24時間となる。
・CellTiter-Gloに見られるように試薬がルシフェラーゼまたはルシフェラーゼ誘導体である場合、目的化合物およびDMSOへの曝露の時間は約30分～4時間となる。
●一定時間かけて発光検出試薬が添加される。
・レサズリンを使用する場合、10μl体積の添加のための時間は約1時間～4時間の時間にわたる。
・ルシフェラーゼまたはルシフェラーゼ誘導体を使用する場合、時間は約3分～約7分であり、典型的には約5分間である。
●発光検出試薬を添加する時間のあいだ、結果として生じる発光は、従来の方法および装置を使用して測定される。発光を測定するための適切な装置には、光度計、発光マイクロプレートリーダー、または光電子増倍管を備えたその他の装置が含まれるが、これらに限定されない。
●目的化合物が細胞に与える影響は、発光の減少によって決定される。目的化合物が細胞を不活性化するならば、細胞はATP産生を減少または喪失する。その結果、目的化合物で処理されたウェルの細胞は、DMSOで処理されたウェルの細胞と比較して、低い発光値を持つことになる。
●目的化合物で処理された細胞についての値は、「対照のパーセント」（POC：percent of control）値として報告される。POCの決定は、目的化合物で処理された細胞を含有する重複ウェルからの平均応答を、細胞とDMSOのみを含有する重複コントロールウェル（言い換えれば、ブランクの対照実験）の平均応答で割ることによって計算される。

【００５１】
表1は、様々な目的化合物のPOC値を報告している。表1の左端列の数字は、図7A～7Cに示されている化合物の化合物番号に対応している。各化合物が上述の方法に従って試験された。さらに、各化合物は、代謝阻害剤と組み合わせて試験された。代謝阻害剤を使用する場合、代謝阻害剤は、目的化合物の前に添加されるか、または目的化合物と同時に添加され得る。目的化合物によって影響を受ける代謝経路を決定しようとする場合に最良の結果を得るためには、目的化合物の添加の前の約30分から約4時間の時間にわたって代謝阻害剤が添加されるべきである。

【００５２】
下記の表1に報告されているように、アッセイの一グループは目的化合物のみを含んだ。アッセイの別グループには2-デオキシグルコースと組み合わされた目的化合物が含まれ、アッセイの三番目のグループにはロテノンと共に目的化合物が含まれていた。開示された方法における使用に適した他の代謝阻害剤としては、2-デオキシグルコース、ロテノン、ロニダミン、3-ブロモピルビン酸、イマチニブ、オキシチアミン、および6-アミノニコチンアミド　グルタミナーゼ阻害剤968、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、

アミタール、アンチマイシンA、アジ化ナトリウム、シアン化物、オリゴマイシン、FCCP、フロレチン、クェルセチン、3BP、3PO、DCA、NHI-1およびオキサム酸、フィセチン、ミリセチン、アピゲニン、ゲニステイン、シアニジン、ダイゼイン、ヘスペレチン、ナリンゲニン、およびカテキンが挙げられるがこれらに限定されない。

●2-デオキシグルコース（2-DG）を含むアッセイのためには、1 Mのストック水溶液液が調製された。分析を行うにあたり、100μLの細胞、DMEMおよび10% FBSを含むウェルに1～2μLの1 M 2-DGを直接加えた。結果として得られた2-DGの希釈により、ウェル内に約10～20 mMの2-DGの濃度が提供される。目的化合物は100μM溶液としてウェルに加えられる。

●ロテノンを含むアッセイのためには、DMSO中にロテノンの30 mMストック溶液を調製し、水で希釈してロテノンの最終濃度125μMを得る。分析を行うにあたり、100μLの細胞、DMEM、および10% FBSを含むウェルに1μLのこのストックロテノン溶液を加える。結果として得られたロテノンストック溶液の希釈により、ウェル内に約1.25μMのロテノン濃度が提供される。目的化合物が100μM溶液としてウェルに加えられる。

【００５３】

下記の表1では、試験された細胞株が表の最上段にわたって報告されている。POC値は、2DGまたはロテノンと組合せにおいて、各目的化合物および各組合せについて報告されている。50未満のPOC値は、目的化合物による、または示された代謝阻害剤と目的化合物との組合せによる細胞株の阻害の可能性の高さを反映する。特に化合物2は多くの細胞株にわたって、細胞によるATP活性の低下に対応する発光の低下を示した。2-DG化合物と組み合わされると、2は各細胞株に対して有効性を示し、膵臓癌細胞株であるBxPC3に対して顕著な値を示した。化合物2は他の膵臓癌細胞株に対しても有効性を有することが予測される。

【００５４】

［癌の治療のための相乗的組成］

上述の方法によって得られたN-ベンジルスルホンアミドは、選択された癌細胞株に対してin vitroである程度の有効性を示しているが、癌細胞に対するさらなる毒性が望まれる。この目的のために、本開示はまた、in vitroで癌細胞に対して相乗的効果を示した二成分組成物を提供する。

【００５５】

該二成分組成物は、N-ベンジルスルホンアミドと代謝阻害剤からなる。一実施形態では、代謝阻害剤は2-デオキシグルコース（2-DG）である。別の実施形態では、代謝阻害剤はロテノンである。二成分組成物における使用に適した他の代謝阻害剤は、ロニダミン、3-ブロモピルビン酸、イマチニブ、オキシチアミン、および6-アミノニコチンアミドグルタミナーゼ阻害剤968、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、アミタール、アンチマイシンA、アジ化ナトリウム、シアン化物、オリゴマイシン、FCCP、フロレチン、クェルセチン、3BP、3PO、DCA、NHI-1およびオキサム酸、フィセチン、ミリセチン、アピゲニン、ゲニステイン、シアニジン、ダイゼイン、ヘスペレチン、ナリンゲニン、およびカテキンである。後のin vivo試験がN-ベンジルスルホンアミド対代謝阻害剤の比のより狭い範囲を決定し得るが、下表に示されているように、がん株に対する有効性が実証されている現在の比は、約1:50から約1:1500の範囲にある。従って、代謝阻害剤は、該代謝阻害剤に対するN-ベンジルスルホンアミドの両方を含む組成物の約75重量%～約99.99重量%を構成し得、ここでN-ベンジルスルホンアミドは図14に示されている構造を有する。従って、この二部分の組成は、N-ベンジルスルホンアミドが約0.001重量%ほどまで少ない場合から約25重量%に至る場合まで有効であり得る。

【００５６】

図9の表は、24時間の化合物インキュベーション時間を伴うCellTiter-Blueアッセイを用いた、100μM濃度の図7の化合物2、5～9、11～12、14、16、18～22の、示されたがん細胞株に対する細胞毒性試験の結果を示している。図9は、示されたがん細胞

株を示された化合物で処理した結果としての細胞生存率の低下のパーセントを反映している。図9の枠で囲んだ値で示されているように、化合物2、5、6はH293に対して有効であると考えられる。さらに、化合物5はHeLa、NCI-H196、MCF10Aに対して有効性を示した。このように、がん細胞株に対するある程度の有効性が示された。図10の表は、図7から選択された化合物のIC_{50}値と、2つの既知の抗がんスルホンアミドであるABT-751およびIndisulamのIC_{50}値との比較を示している。図10に示されているように、同定された化合物は、既知の抗がん剤よりも著しく良好に機能した。従って、同定された化合物は、より大きな抗がん能力を持つことが予測される。

【００５７】

下記の表1は、図7に示される30種類の異なるN-ベンジルスルホンアミドを、単独で、および代謝阻害剤と組み合わせて、試験した結果を示している。試験は、前のセクションで説明した二成分組成で処理した後2時間のインキュベーションを使用する改良された方法に従ってCellTiter-Glo試薬を用いてATPレベルを決定する方法を使用して行われた。下記の表において、溶媒DMSOを使用して生成された対照値の50%未満の値（太字および下線）は、概して示されたがん細胞株に対する有効性を反映している。さらに、表に報告された結果は、試験されたがん細胞株に対する二成分組成の一般的な相乗的効果を示している。

【００５８】

N-ベンジルスルホンアミドとロテノン（rotenone）の二成分組成物はいくつかの細胞株に対して有効性を示した一方、図7で同定されたN-ベンジルスルホンアミド化合物番号2　100μMと2-DG　10 Mmとの組合せは、試験されたすべてのがん細胞株に対して顕著な有効性を示した。特に、この組合せは、非常に治療が困難な膵臓細胞株に対して有効性を示した。下記表の2行目と、BxPC3と特定された列を参照。さらなる重要なものとして、大部分の細胞株に対してほとんど効果がなかったが、膵臓がん細胞株BxPC3に対しては有意な効果を示した化合物（1、3、4、22、23など）がある。2-DGの存在下でのこの選択性の発現は重要である。なぜならそれは、改変されたスクリーニング方法論で同定された化合物が、既知の薬剤と組み合わせてがん細胞を特異的に標的化し殺すことができることを示しているからである。このスクリーニング方法論を用いて同定された化合物は、より伝統的なアプローチでは完全に見逃されていたであろうことに注意することが重要である。

【表１】

All 100 uM	HDF	H293	BxPC3	HeLa	MCF7	MCF10A	MDA-MB	NCI-H196	PC3	SkBr3	T47D
1	98.5	92.8	97.1	95	102.7	73.3	78.1	90.8	91.7	97.7	53.2
1 + 2DG	85	**48.2**	**27.4**	66.3	86.8	86.7	62	68.8	57.3	72.9	**43.2**
1 + rotenone	107.7	69	86.6	78.7	79.6	69	80.5	83.2	72.6	91.2	76.6
2	**49.3**	**43.8**	69	64.6	70.1	**42.9**	**48.1**	50.9	**30.9**	72.6	**22.2**
2 + 2DG	**37.5**	**20**	**13.7**	**30.8**	**25.1**	**23.7**	**37.8**	**22.9**	**16.7**	**38**	**16.6**
2 + rotenone	57.6	**47.6**	86.4	57.5	56.9	58.7	55.7	**23.5**	**36.6**	72.6	**30.8**
3	84.5	74.3	96.8	99.2	104.8	62.5	92.4	89.6	85	72.8	**34.9**
3 + 2DG	72.7	**42.8**	**26.1**	67.6	74.5	72.7	81.8	55	59.4	79.4	**37.1**
3 + rotenone	91.9	69.3	84.5	85.5	97.3	110.5	102.7	89.2	65.1	97.1	58.7
4	88.1	88.6	88.4	90.6	108.3	59.7	94.7	72.5	93.7	79.1	**48.9**
4 + 2DG	66.8	60	**21.2**	67.4	82.2	84.8	63.6	**49.6**	61.9	87.5	**36.3**
4 + rotenone	88.6	65.8	71.1	84.3	79.2	89.8	71.9	61.5	61.3	96.8	**45.8**
5	70.5	**49.7**	54.3	76.1	86.4	55.3	54.4	**47.7**	68.3	71.1	**36.6**
5 + 2DG	**16.1**	**17.2**	**10.5**	**22.3**	**18.7**	**15.8**	**24.7**	**4.2**	**4.8**	**37.1**	**13.8**
5 + rotenone	83.5	**41.2**	**36.5**	**31.9**	55.6	**45**	**24.6**	**9.1**	**18.3**	60	**36**
6	**48.8**	62.6	68.9	75.3	72	52.3	57.2	64.3	**38.3**	97	**23.7**
6 + 2DG	**37.7**	**31.6**	**33.4**	**47.3**	**41**	**41.3**	58.5	**34.3**	**35.9**	55.9	**19.7**
6 + rotenone	61.3	**49.6**	69.7	66.9	63.4	87.8	67.3	**23.7**	54.3	79.4	**39.1**
7	87.7	93.2	86.3	91	107.4	66	85.6	84.9	95	108.5	**46.5**
7 + 2DG	60.8	60.9	60.9	70.6	91.6	64.5	81.2	70.1	59.4	76.2	**40.1**
7 + rotenone	77.9	65.3	79.1	79.5	75.9	97.9	102.4	77.7	82	88.2	66
8	99	111.6	106.3	105.6	140.3	94.6	93.9	91.1	109.3	88.8	64.1
8 + 2DG	91.3	83.5	87.1	80.8	86.2	77.9	91.7	99.2	87.9	97.1	94.6
8 + rotenone	88.3	87.1	93.5	99.1	116.7	94.4	86.2	95.1	108.3	103.7	101.2
9	86.4	83.3	114.5	97.3	117.2	89.6	95.6	93.1	90.4	74.1	50.3
9 + 2DG	88.5	76.6	57.6	80.5	75.8	88.3	91.7	86.1	89.3	89.9	58.9
9 + rotenone	107.6	88.5	118.5	89.8	95.1	123.7	114	117.7	101.7	115.5	103.5
10	88.6	105.6	66.3	106.3	115	92	94.1	105.5	115.3	90.8	63.5
10 + 2DG	92.7	84	62.9	91.3	121.2	100.4	86.7	90.8	97.8	98	76.6
10 + rotenone	82.2	70.8	54.4	85.5	89.4	83.5	87.4	103.7	98.7	107.3	91.4
11	77.4	92.8	99.2	103.1	117.7	95.4	95.3	95.2	113.4	100.8	59.3
11 + 2DG	101.3	87.4	83.8	117.6	98.4	95.8	82.4	114.7	94.6	99.7	90.4
11 + rotenone	89.8	88.3	78	96.4	94.6	93.7	97.9	88.9	96.1	95.3	99.6
12	77.8	94.4	79.8	98	97.3	98.6	87.2	83.5	82.1	91.6	59.8
12 + 2DG	90.9	85	57	78.5	90.8	88.1	83.9	117	89.9	73.5	58.1
12 + rotenone	70.4	74.9	61	87.6	92.1	86.1	105.7	81.8	80.3	85.1	95.2
13	96.5	101.1	91.2	94.6	126.7	94.8	101.1	87.6	82.2	101.1	84.3
13 + 2DG	104.2	69.4	74.1	90.7	89.7	96.1	81.9	127.4	97.3	87.2	88.8
13 + rotenone	98.3	81.1	55.3	94.1	116.5	84	103.8	99.7	101.2	96.5	90

14	96.1	84.9	93.8	98.3	125.8	102.9	105.2	86.9	110.9	107.1	86.7
14 + 2DG	96.3	82.1	95.4	106.4	109.8	119.1	86	107.3	101.7	96.9	106.4
14 + rotenone	90.9	82.4	60.9	102.1	94.4	94.3	87.5	109	101.7	98.3	114.8
15	89.2	99.8	98.8	102.8	148	105.2	108.4	92.3	109	116.6	89.6
15 + 2DG	100.2	74.7	70.8	113.9	103.4	122	91.2	115.4	117.6	123.3	82.5
15 + rotenone	91.1	84.4	88.9	102.2	96.4	98.4	90.8	104.5	106.4	93	109.4
16	94.3	80.1	103	96.8	123.4	113.1	105.5	110.5	108.8	91.9	91.1
16 + 2DG	95.6	80.7	95.4	106.8	93.3	118.9	104.5	99.2	113.1	81.4	111.6
16 + rotenone	98.3	81.6	72.7	102.3	107.5	86.2	92.7	97.6	95.1	104	99.3
17	90.7	80.4	91.4	90.3	145.3	92.4	104.8	96.8	112.8	90.1	83
17 + 2DG	98	85.8	101.4	118.8	114.6	97.1	89.8	103.8	93.7	88.8	89.1
17 + rotenone	84.1	74.9	75.7	110.3	90.6	91.6	98.1	89.4	90.9	95.4	104.6
18	96.1	67.3	100.2	99.5	109.8	118.6	102.2	97.4	74	112.5	95.7
18 + 2DG	93	96.3	85.4	100	137.3	92.2	86.1	108.3	94	107.2	82.8
18 + rotenone	95.7	67.4	94.3	97.3	82	86.9	100	87.3	97.2	96.6	100.6
19	92.5	82.2	96.2	104	133.5	83.9	104.1	117.2	108	119.2	91.5
19 + 2DG	98.9	87.2	98.4	94.8	104	95.8	89.5	107.3	127.1	105.9	87.4
19 + rotenone	87.3	79.1	107.2	109.3	92.1	119.8	112	94.3	98.9	108.6	86.7
20	90.9	104.1	95.8	103.2	138.5	101.6	97.4	100.4	91.1	103.5	73.9
20 + 2DG	88.1	84.4	86.4	91.7	87.3	78.1	82.9	90.6	83.8	96.7	69.7
20 + rotenone	103.1	69.4	94.8	117.2	124.6	102.9	98.5	102.1	100.4	102.5	101.6
21	87.9	115.1	112.4	100.8	189.4	108.1	101	107.9	93.3	102	88.7
21 + 2DG	97.4	87.8	106.8	105.8	121.1	92.8	100.7	107.4	131.7	108.5	99.4
21 + rotenone	113.6	87	114.8	109.4	111	120	121.5	130.5	110.9	106.9	86.4
22	89.7	121.9	99.1	100.8	113.1	104.9	96.7	116.8	93	106	85.3
22 + 2DG	76.3	69.9	**42.9**	94.5	107.1	70.2	86.5	94.6	94.5	83.5	62.5
22 + rotenone	85.5	90.9	70.8	105.2	96.4	96.9	87.1	94.2	108.2	93.5	109.3
23	74.6	92.1	95.9	84.1	96.3	85	98.6	93	77.3	85.9	54
23 + 2DG	90.6	**47.4**	**34.9**	86.9	93.6	82.8	85.9	83.5	92.9	75.5	**46.6**
23 + rotenone	119.9	65.3	78.5	93.7	121.1	85.1	83	85.6	87.9	87.7	71.7
24	57.2	62.6	59	78.9	82.9	85.1	96.4	172	54.6	93.4	70.6
24 + 2DG	65.6	**42.1**	**43.1**	80.4	55.7	56.8	**41.5**	54.6	52.5	66.5	**49.7**
24 + rotenone	95.7	**47.6**	**38.6**	96.1	66.5	59.1	**49.7**	73.3	**47.5**	67.2	65.5
25	79.2	99.7	85.1	89.4	112.2	95.7	103	305	60.2	112.5	94.4
25 + 2DG	93.6	79.6	71.5	90.8	92.9	98.3	86.2	92.9	96.8	88.2	88.9
25 + rotenone	95.5	68.8	78.2	95.6	104.2	80.4	88.8	83	80.1	104.1	86.7
26	106.1	109.7	99.1	90.4	113.6	106	90.2	220	92.3	108.9	93.3
26 + 2DG	91.1	72.9	86.6	106.9	95.9	99.9	87.6	91.3	111.5	95.7	101
26 + rotenone	86.9	72	88.8	96.3	119.8	81	79.2	80.8	89.6	97.1	90.8

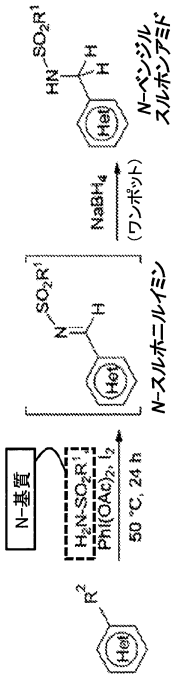
27	65	67	**42.8**	58.3	82.9	58.9	62.6	150	**43.1**	95.6	**33.9**
27 + 2DG	**38**	**30.4**	**14.2**	104.3	50.2	**27.1**	**27.3**	117.2	**15.2**	62.4	103.1
27 + rotenone	66.6	**27.3**	**15.8**	73.3	61.1	**30.2**	**37.3**	**16.7**	**27.2**	66	103.8
28	74.9	**43.2**	**40.4**	57.7	79	72.8	77.4	129	**31.8**	102.3	66.1
28 + 2DG	56.1	**49**	**41.8**	65.6	60.7	**29.5**	**45.5**	**40.4**	56.5	79.6	**33.7**
28 + rotenone	62.2	**43.3**	**44.6**	96.1	53.5	81.1	78.1	60.6	64.8	87.3	62.2
29	95.8	91.2	80.8	80.9	104.7	78.9	81.1	192	77.8	102.3	90
29 + 2DG	73	55	51.7	83.9	90.9	**46.2**	64.7	51.3	67.5	72.5	60.7
29 + rotenone	81.5	50.5	52.7	93.1	98	62.7	69.7	100.3	67	78.6	77.6
30	**28.2**	**14**	**15.8**	**28.5**	**37.4**	**30**	**38.6**	**48**	**7.1**	64.1	**16.1**
30 + 2DG	**28.4**	**12.8**	**6.3**	**17.8**	**11.3**	**8.4**	**41.5**	**18.7**	**10.6**	**41.3**	**13.2**
30 + rotenone	66.2	**9.5**	**45.7**	58.4	**36**	**34.6**	**48.3**	**18.4**	**21.7**	58.2	**28**

【００５９】

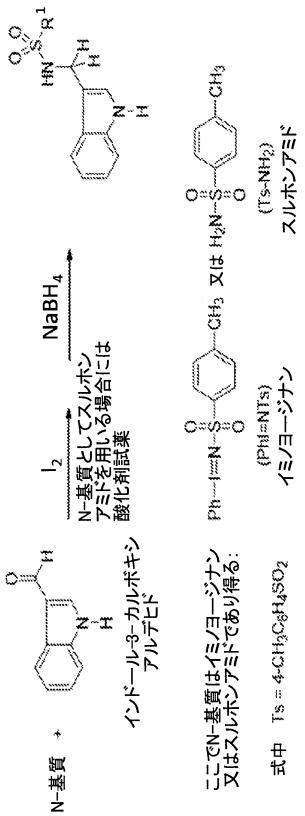
本発明の他の実施形態は当業者には明らかとなる。従って、上記の説明は、本発明の一般的な使用および方法を実施可能にし、説明しているにすぎない。従って、特許請求の範囲が本願発明の真の範囲を規定する。

【図面】

【図１】



【図２】



【図３】

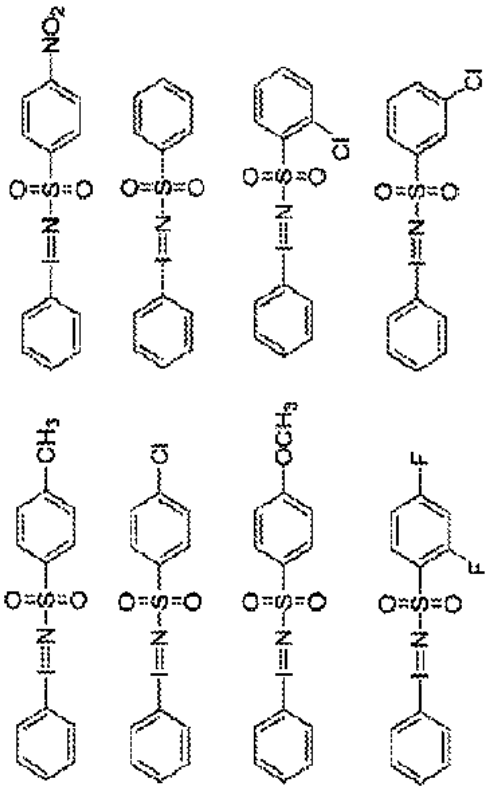


FIG. 3

【図４】

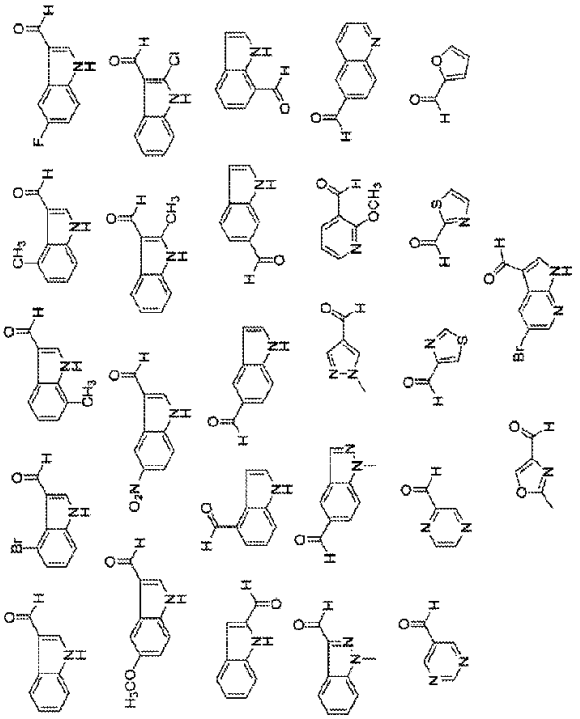


FIG. 4

【図５】

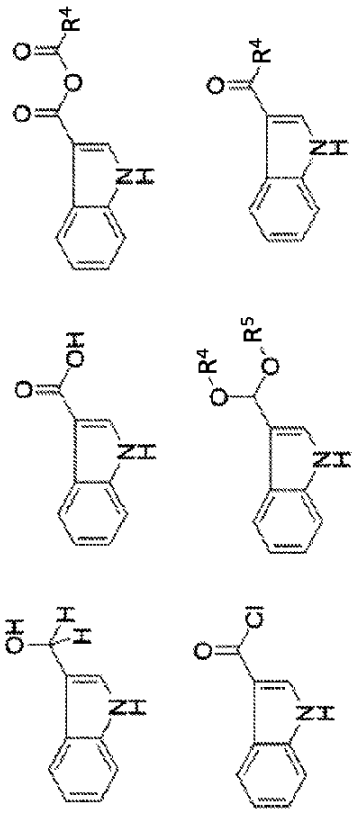


FIG. 5

【図６】

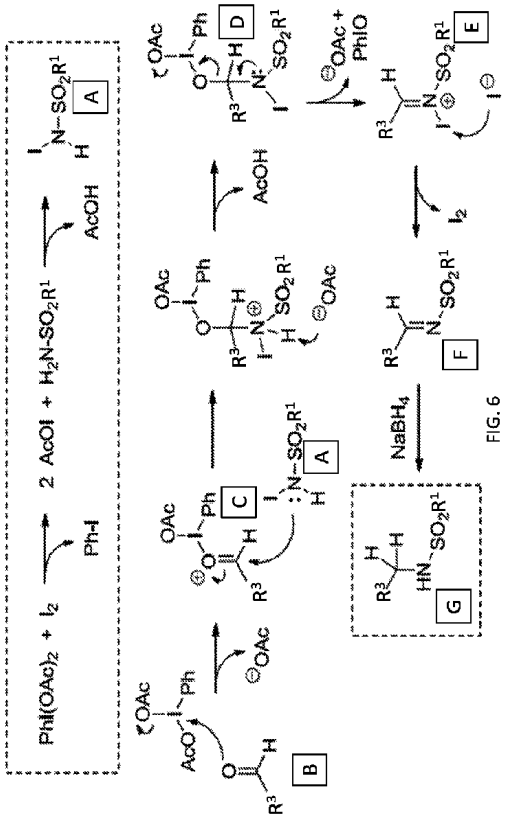


FIG. 6

【図７Ａ】

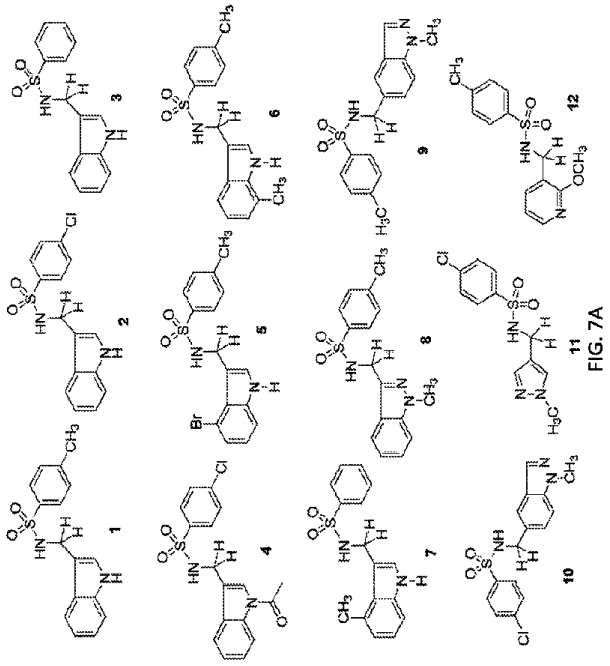


FIG. 7A

【図７Ｂ】

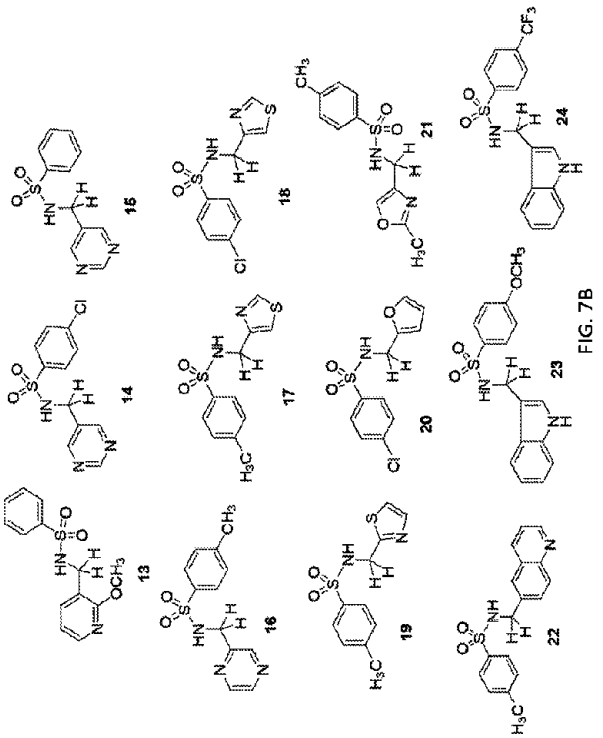


FIG. 7B

【図７Ｃ】

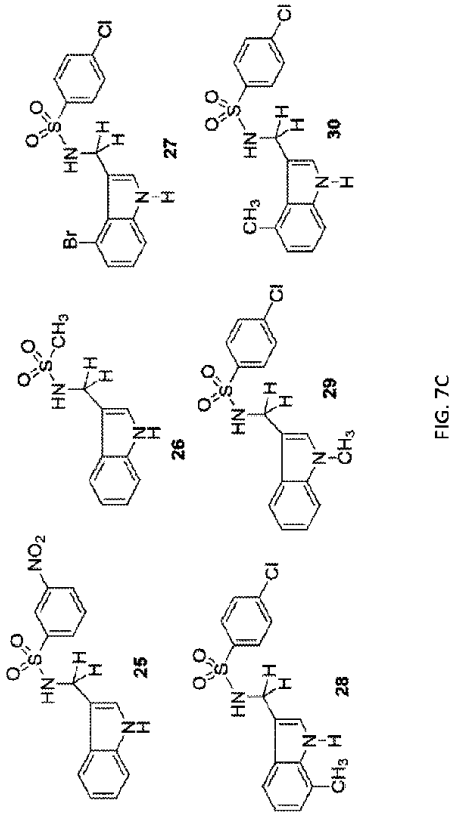


FIG. 7C

【図７Ｄ】

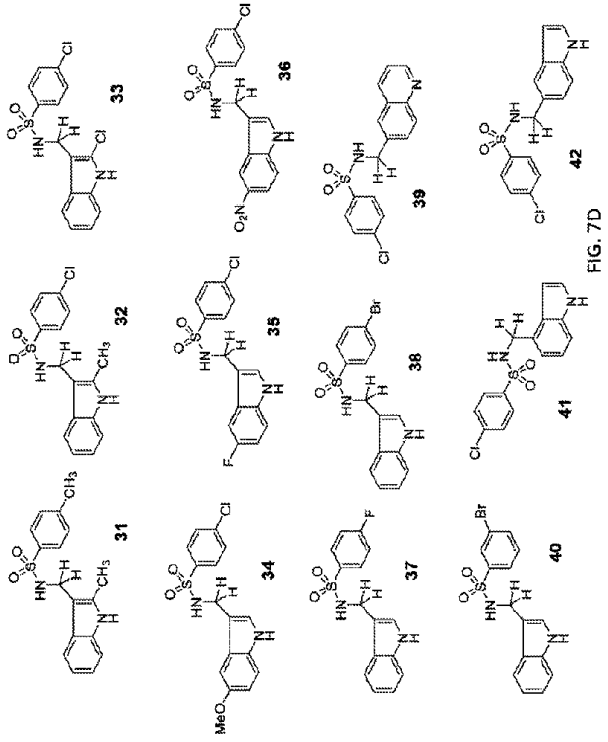


FIG. 7D

【図７Ｅ】

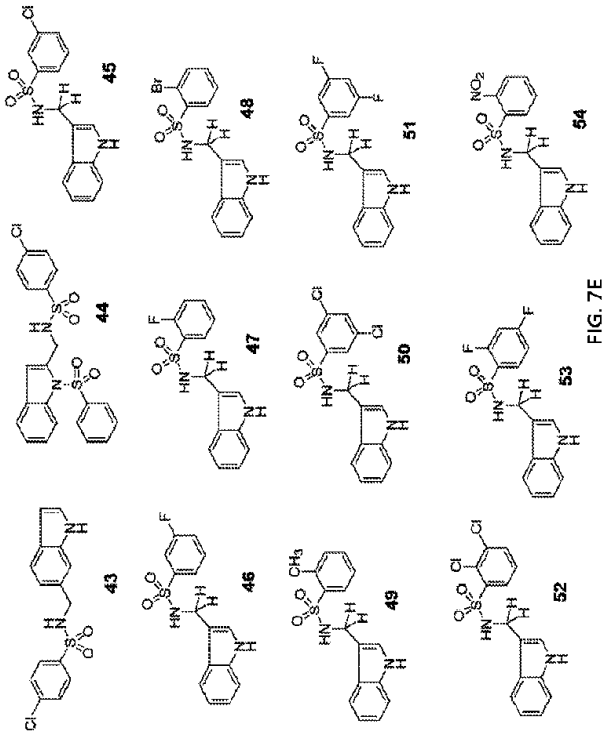


FIG. 7E

【図７Ｆ】

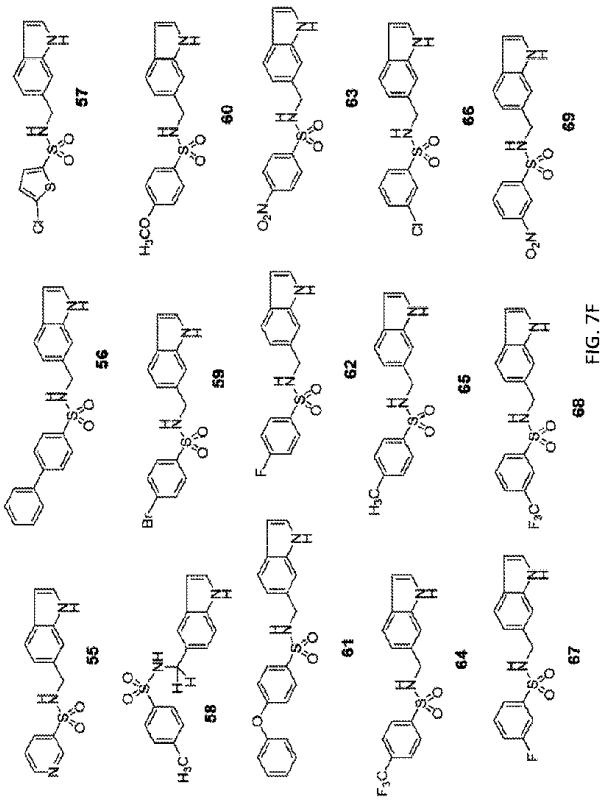


FIG. 7F

【図７Ｇ】

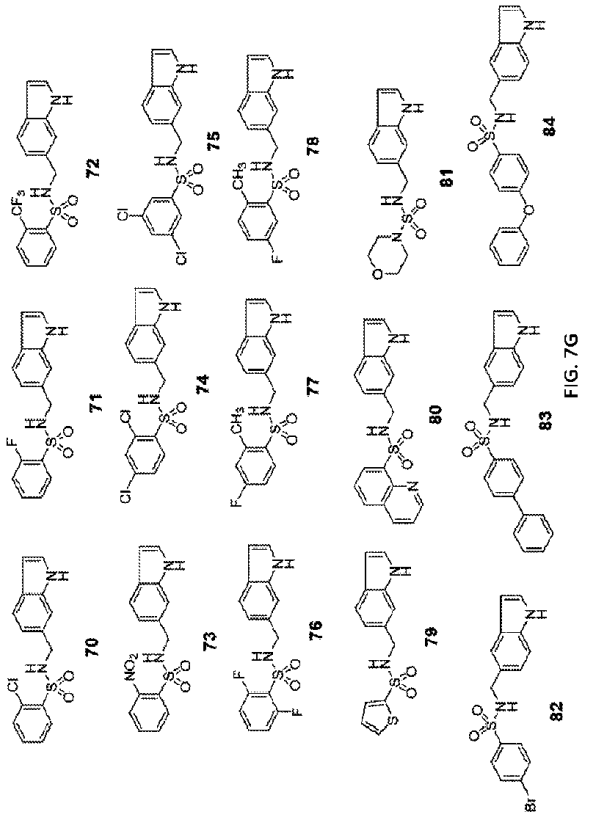


FIG. 7G

【図７Ｈ】

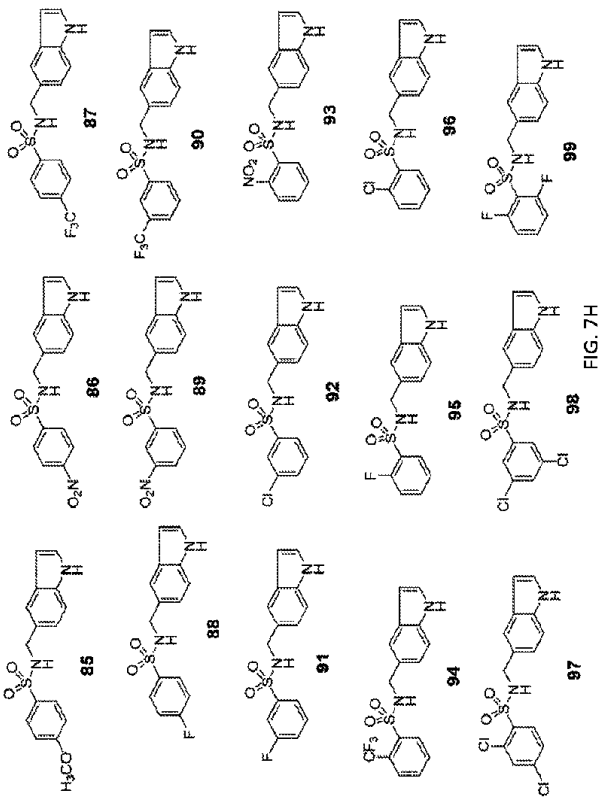


FIG. 7H

【図７Ｉ】

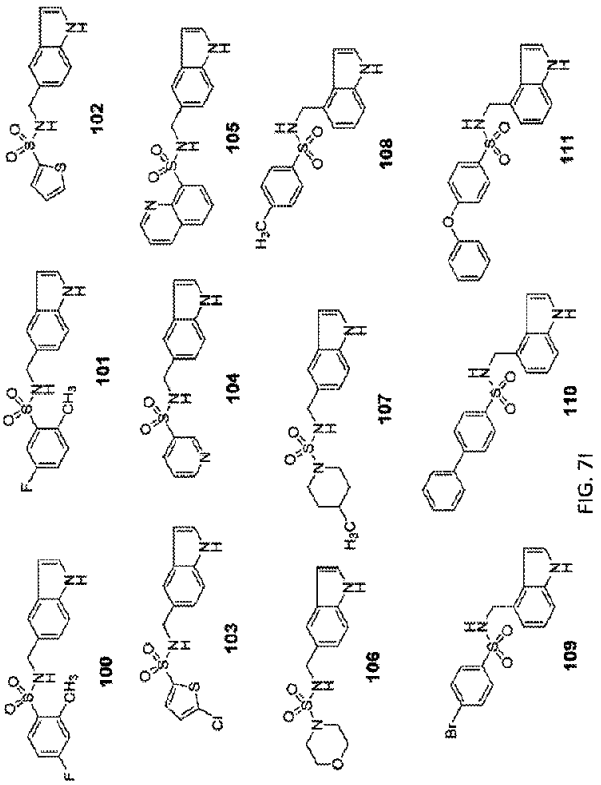


FIG. 7I

【図７Ｊ】

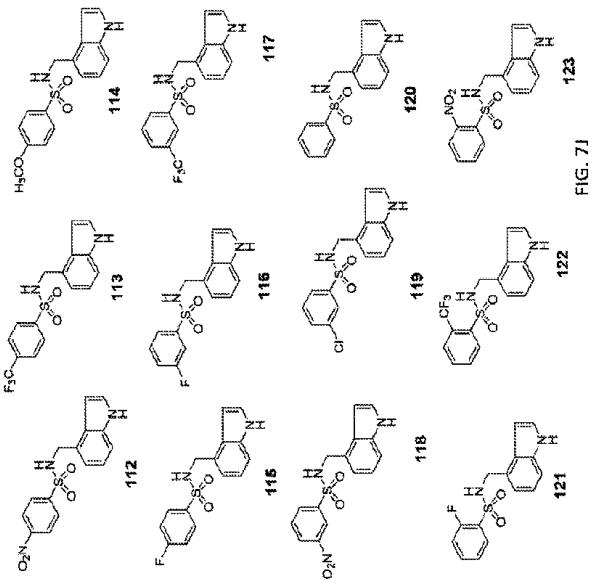


FIG. 7J

【図７Ｋ】

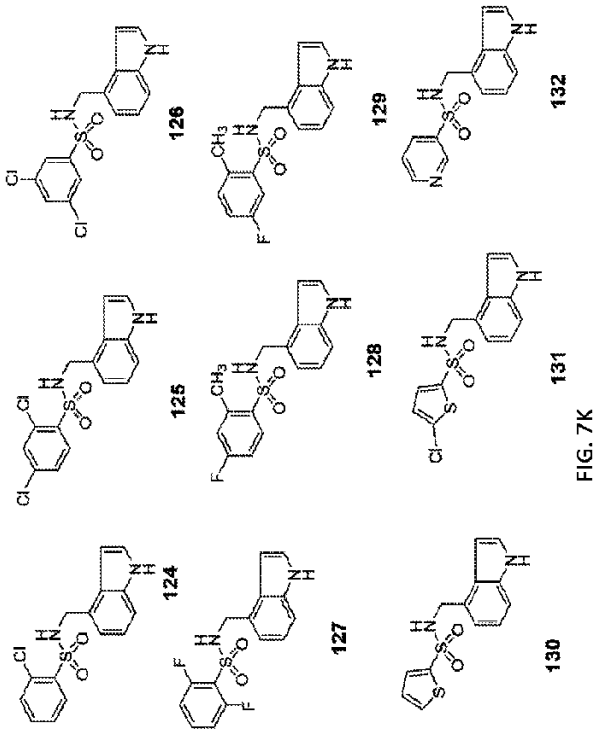


FIG. 7K

【図７Ｌ】

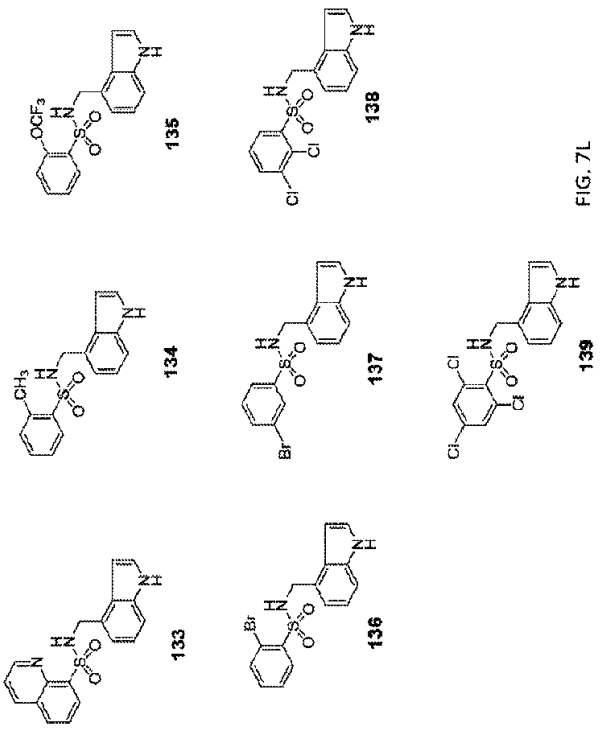
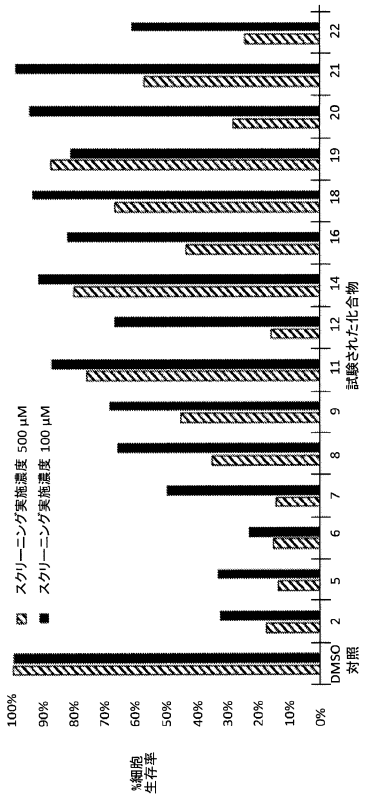


FIG. 7L

【図８】

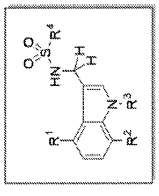


【図９】

様々な細胞株のPOC（DMSO対照に対するパーセント）

化合物	HDF	H293	PC3	BxPC3	HeLa	NCI-H196	DMS-114	MCF10A	MCF7	T47D	SkBr3	MDA-MB
2	57.7	32.9	65.1	45.6	64.3	48.8	84.3	46.5	40.8	60.9	45.8	50.6
5	42.1	33.5	75.1	47.7	25.1	18.2	51.0	25.1	48.2	69.2	40.2	53.6
6	42.2	23.3	49.1	51.4	42.2	12.4	72.2	27.2	55.2	51.3	43.6	43.9
7	69.3	50.2	65.2	67.3	82.4	56.5	81.1	80.2	65.4	91.0	60.4	55.6
8	78.1	66.1	74.9	81.8	89.1	70.1	82.0	112.5	87.4	91.2	75.1	72.1
9	76.7	68.7	79.9	69.7	87.9	80.8	87.9	99.8	69.3	88.4	60.2	68.2
11	90.8	87.7	87.3	85.2	95.3	73.7	94.6	116.7	95.5	95.1	87.1	72.7
12	82.5	66.9	69.3	52.4	84.8	70.7	77.2	120.6	69.6	85.5	65.0	58.1
14	91.2	91.7	85.5	72.4	94.5	77.1	85.9	126.5	88.5	93.7	88.4	65.6
16	87.6	82.2	77.9	66.7	90.1	78.9	91.9	138.5	82.3	92.6	77.0	58.8
18	94.8	93.7	77.2	61.6	103.3	85.0	86.8	122.2	86.9	90.7	77.7	59.6
19	88.9	81.5	66.4	57.2	87.5	83.5	84.4	130.4	83.0	88.1	75.8	54.6
20	94.9	94.6	82.6	54.8	89.2	82.2	76.4	119.6	81.0	88.0	71.4	55.9
21	98.5	99.2	68.3	60.3	102	87.7	87.1	121.9	90.5	89.6	82.7	68.5
22	54.2	61.4	79.1	77.4	77.7	73.6	69.4	83.4	68.3	62.8	76.5	79.5

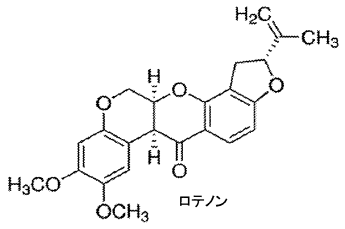
【図１０】



Entry	R^1	R^2	R^3	R^4	化合物	% Yld[a]	IC_{50} (μM)[b] H293	HeLa	NCI-H196
1	H	H	Ac	4-ClC$_6$H$_4$	**4**	64			
2	H	H	CH_3	4-ClC$_6$H$_4$	**29**	32			
3	H	H	H	4-ClC$_6$H$_4$	**2**	60	56.9	83.2	57.3
4	Br	H	H	4-CH$_3$C$_6$H$_4$	**5**	34	60.5	67.3	44.5
5	H	CH_3	H	4-CH$_3$C$_6$H$_4$	**6**	58	50.5	60.6	47.3
6	CH_3	H	H	C_6H_5	**7**	63	95.6	96.3	95.9
7	CH_3	H	H	4-ClC$_6$H$_4$	**30**	37	**47.8**	**53.5**	**43.5**
8					ABT-751		209.1	117.5	139.7
9					Indisulam		229.1	100.6	155.8

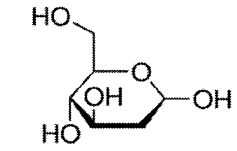
化合物番号は図7に対応する

【図１１】



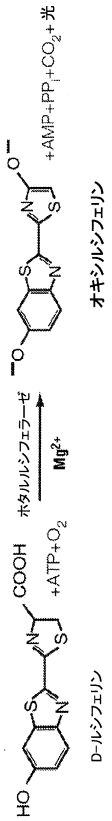
ロテノン

【図１２】

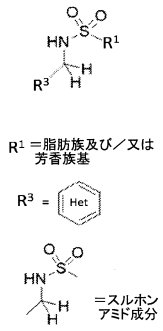


2-デオキシグルコース (2DG)

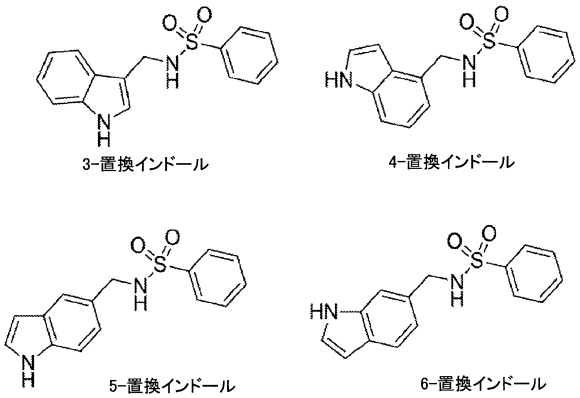
【図１３】



【図１４】



【図１５】



【図１６】

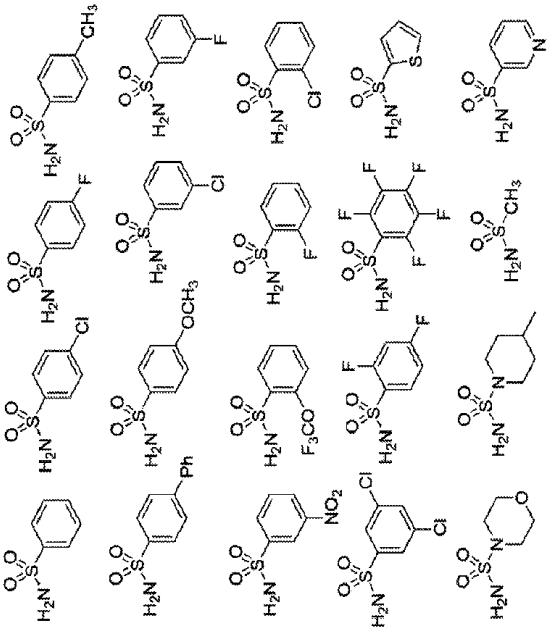


FIG. 16

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/43012

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - C12Q 1/04; C12Q 1/48; C12M 1/34 (2021.01)
CPC - C12Q 1/18; C12Q 1/04; Y02A 90/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2013/0252270 A1 (CEETOX, INC.) 26 September 2013 (26.09.2013); para [0132], [0138], [0174], [0234]-[0235], [0237], [0268]-[0269], [0286], [0300], [0305], [0468], Figure 44	1-12
A	US 6,558,916 B2 (Veerapandian et al.) 06 May 2003 (06.05.2003) entire document especially figure 1; col 5, ln 44-48; col 7, ln 11-16	1-12
A	US 7,338,778 B2 (Pitner et al.) 04 March 2008 (04.03.2008); abstract, col 2, ln 26-31	1-12
A	US 7,732,128 B2 (Wood et al.) 08 June 2010 (08.06.2010); entire document	1-12
A	US 8,802,411 B2 (Zegzouti et al.) 12 August 2014 (12.08.2014); entire document	1-12
A	US 2008/0050762 A1 (Corey et al.) 28 February 2008 (28.02.2008); entire document	1-12

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 November 2021 (30.11.2021)	DEC 30 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/43012

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(see supplemental page)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-12

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 21/43012

--continued from Box No. III--

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-12, directed to a method for determining the cytotoxicity of a compound of interest.

Group II: Claims 13-21, directed to a N-benzyl sulfonamide having the structure of Formula I.

Group III: Claims 22-25, directed to a method of preparing an N-benzyl sulfonamide.

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I includes the technical feature of a method for determining the cytotoxicity of a compound of interest, which is not required by any other invention of Group II or III.

Group II includes the technical feature of a N-benzyl sulfonamide having the structure of Formula I, which is not required by any other invention of Group I or III.

Group III includes the technical feature of a method of preparing an N-benzyl sulfonamide, which is not required by any other invention of Group I or II.

Common technical features:

The inventions of Groups II and III share the technical feature of a N-benzyl sulfonamide.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by US 2008/0161187 A1 to Grammenos et al. (hereinafter Grammenos). Grammenos discloses a N-benzyl sulfonamide having the structure of Formula I wherein R1 is aromatic and R3 is a heteroaromatic component (para [0344]).

As said compound was known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions of Groups I, II or III. The inventions of Group I, II and III thus lack unity under PCT Rule 13.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/505(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/505		
Ａ６１Ｋ	*31/4965(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4965		
Ａ６１Ｋ	*31/426(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/426		
Ａ６１Ｋ	*31/341(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/341		
Ａ６１Ｋ	*31/421(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/421		
Ａ６１Ｋ	*31/47 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/47		
Ａ６１Ｋ	*31/4439(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4439		
Ａ６１Ｋ	*31/4709(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4709		
Ａ６１Ｋ	*31/5377(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/5377		
Ａ６１Ｋ	*31/454(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/454		
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｋ	*31/35 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/35		
Ａ６１Ｋ	*31/7004(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7004		
Ｃ０７Ｄ	*209/14 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	209/14		
Ｃ０７Ｄ	*231/12 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	231/12	Ａ	
Ｃ０７Ｄ	*231/56 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	231/56	Ａ	
Ｃ０７Ｄ	*213/64 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	213/64		
Ｃ０７Ｄ	*239/26 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	239/26		
Ｃ０７Ｄ	*241/12 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	241/12		
Ｃ０７Ｄ	*277/28 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	277/28		
Ｃ０７Ｄ	*307/52 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	307/52		
Ｃ０７Ｄ	*263/32 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	263/32		
Ｃ０７Ｄ	*215/12 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	215/12		
Ｃ０７Ｄ	*209/30 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	209/30		
Ｃ０７Ｄ	*209/32 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	209/32		
Ｃ０７Ｄ	*401/12 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	401/12		
Ｃ０７Ｄ	*409/12 (2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	409/12		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者　シーフ、 ロバート ジェイ.
アメリカ合衆国 ７４０５５ オクラホマ州 オワッソ ノース １７７ス イースト アベニュー １００１９

Ｆターム（参考）
4B063 QA05 QA06 QA20 QQ08 QQ22 QQ61 QQ98 QR02 QR77 QS02 QX02
4C055 AA01 BA02 BA42 BB02 CA02 CA27 CB09 DA01 FA15 FA32
4C063 AA01 BB07 CC12 CC92 DD06 EE01
4C084 AA19 MA02 NA14 ZB26 ZC75
4C086 AA01 AA02 BA03 BC13 BC17 BC28 BC36 BC42 BC48 BC69 BC73 BC82 CA01 EA01 GA04 GA07 GA08 GA12 MA01 MA02 MA04 NA14 ZB26 ZC75