

選択的経口 Factor Xa 阻害薬の創薬研究

上野, 弘資

<https://hdl.handle.net/2324/2236340>

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (創薬科学), 論文博士
バージョン :
権利関係 :

選択的経口 Factor Xa 阻害薬の
創薬研究

2019 年

上野 弘資

目次

緒言	1
本論	
第 1 章 ベンズイミダゾール型化合物の合成展開	7
第 1 節 ベンズイミダゾール型化合物のデザイン	7
第 2 節 ベンズイミダゾール化合物の合成	9
第 3 節 ベンズイミダゾール化合物の構造活性相関	13
第 2 章 テトラヒドロイソキノリン型化合物の合成展開	19
第 1 節 テトラヒドロイソキノリン型化合物のデザイン	19
第 2 節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の合成 1	21
第 3 節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の初期構造変換	26
第 3 章 JTV-803 の創製	30
第 1 節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の合成 2	30
第 2 節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の最適化検討	34
第 3 節 JTV-803 の開発形態検討及び薬理評価	36
結論	41
主論文	42
謝辞	43
実験の部	44
第 1 章の実験	44
第 2 章の実験	55
第 3 章の実験	70
引用文献	82

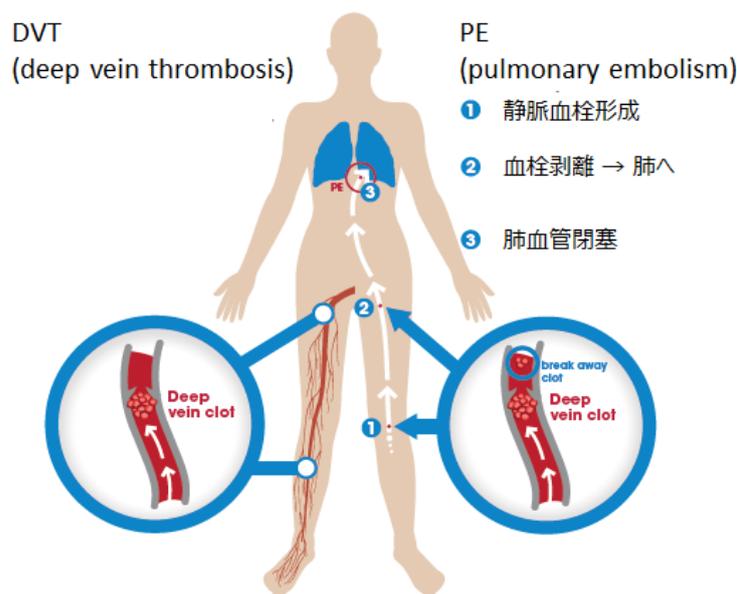
緒言

【研究の背景】

血栓症とは、多様な要因で血液が凝固し、血栓を形成、血管を塞ぐことによってその下流の組織に閉塞による障害を与える疾患である。この疾患は、脳梗塞や心筋梗塞に代表される動脈内の血栓形成によるものと、エコノミークラス症候群を含む静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism; VTE) に代表される静脈内の血栓形成によるものの2つに大別される。

そのVTE (Figure 1) は欧米で広く見られる疾患で、米国では年間およそ10万人に100人の割合で発症し^{1b)}、全患者の32%が死亡すると報告されており²⁾、その死亡率は高い。また、患者数は増加傾向で2050年までに成人182万人が罹患すると推定されている³⁾。我が国においても、人口の高齢化、食生活の欧米化、エコノミークラス症候群の報告等による疾患認知度の向上により、患者数は増加傾向で、死亡数は20年前の約9倍⁴⁾、発症数も15年前の4.6倍と報告されている⁵⁾。

Figure 1. VTE (venous thromboembolism)^{1a)}



Boehringer-Ingelheim社 homepage^{1a)}より一部改変

血栓形成の要因としては、19世紀にVirchow (ウィルヒョウ) が提唱したVirchow triad (ウィルヒョウの3要素) が広く受け入れられており、VTEに代表される静脈血栓形成には、“血液凝固能亢進”が深く関与しているとされている⁶⁾ (Figure 2)。そのため、VTEの治療には抗凝固薬が有効であり、標準薬として、急性期にはヘパリンが、慢性期にはワーファリンが長きにわたり使われてきた⁴⁾。

ヘパリンは、アンチトロンビンの作用を増強し抗凝固作用を示す薬剤であるが、注射薬であるため、苦痛や通院等の患者への負担が大きく、長期投与に向いていない。また、出血作用を伴うため、時間、コストがかかる血液凝固能の厳密なモニタリングが必要である。ワーファリンは、肝臓でのビタミン K 依存性血液凝固因子（第 VII 因子、第 IX 因子、第 X 因子、プロトロンビン）の生合成を阻害することによって血液凝固能を抑制する。唯一の経口抗凝固薬として使用されている一方で、高頻度の出血作用による狭い治療域、標的分子 VKORC1 の遺伝子多型を原因とした薬効の個人差⁷⁾やビタミン K を含む食物や他剤と相互作用を示す⁸⁾という複数の欠点を有している。また、ヘパリンと同様、血液凝固能のモニタリングが必須である⁹⁾。以上のことから、患者数の増加が予想される VTE 治療において、ヘパリンやワーファリンに代わる新たな選択肢、すなわちより安全で使いやすい薬剤の開発が望まれてきた。

ファクターXa はトリプシン様のセリンプロテアーゼで、血液凝固カスケード¹⁰⁾において内因系と外因系の合流点にある重要な酵素として知られる (Figure 3)。この酵素は、血小板や血管内皮細胞のリン脂質表面で、コファクターVa、カルシウムイオンと一緒にプロトロンビナーゼ複合体を形成する。そしてその複合体の働きでプロトロンビンをトロンビンに変換することにより、血栓形成、血液凝固のプロセスを開始させる。ファクターXa はトロンビンより凝固カスケードの上流に位置し、1 分子で 1000 分子のトロンビンを産生するため、この酵素の阻害はより効率的な抗凝固作用に繋がると考えられる⁹⁾。また、その選択的阻害は、トロンビンへの直接作用がないためトロンビンを介した血小板活性化には影響せず、ワーファリンやヘパリンが有する重大な副作用である出血を回避できる可能性が高い。

Figure 2. Virchow's triad⁶⁾

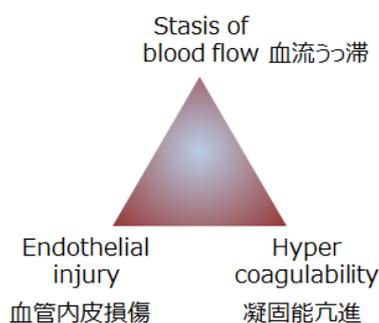
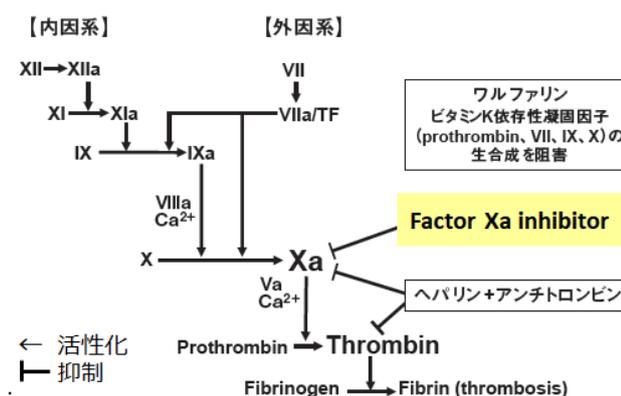


Figure 3. 血液凝固カスケード¹⁰⁾

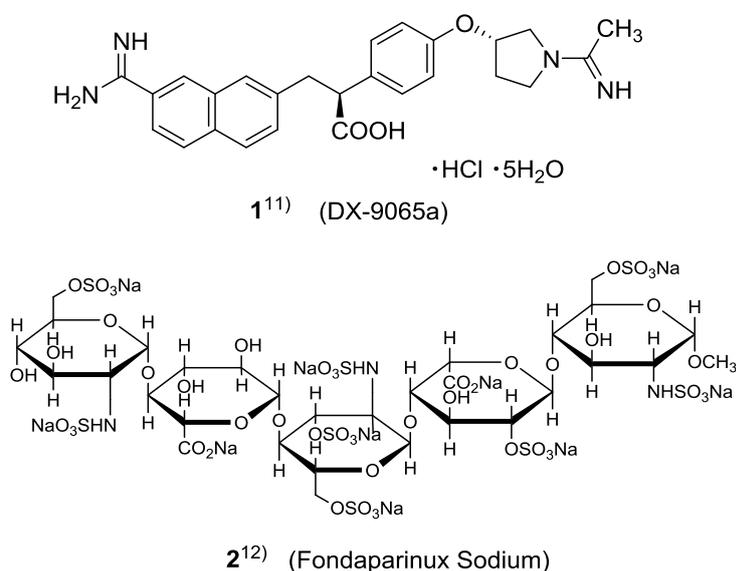


引用文献10より一部改変

そのような背景の下、第一製薬(現第一三共)より選択的ファクターXa 阻害剤 DX-9065a (化合物 1)¹¹⁾、グラクソ・スミスクライン (GSK) よりフォンダパリヌクス (化合物 2)

が発表され¹²⁾ (Figure 4), 新規作用メカニズムの抗凝固薬として期待が高まった¹³⁾。さらに経口投与可能なファクターXa 阻害薬¹⁴⁾が開発できれば, ヘパリンやワーファリンの欠点を全て克服した新たな抗凝固薬になり得ると考えられた。なお, 2011年よりVTE初期治療に適用され始めたフォンダパリヌクスは, 非経口剤(皮下注射)ではあるものの, 薬効個人差が少なく, 血液凝固能のモニタリングの必要がなく, 安定した効果が認められた。それにより, 選択的なファクターXa 阻害剤の臨床現場における有用性が証明された¹⁵⁾。

Figure 2. Structure of Factor Xa inhibitors



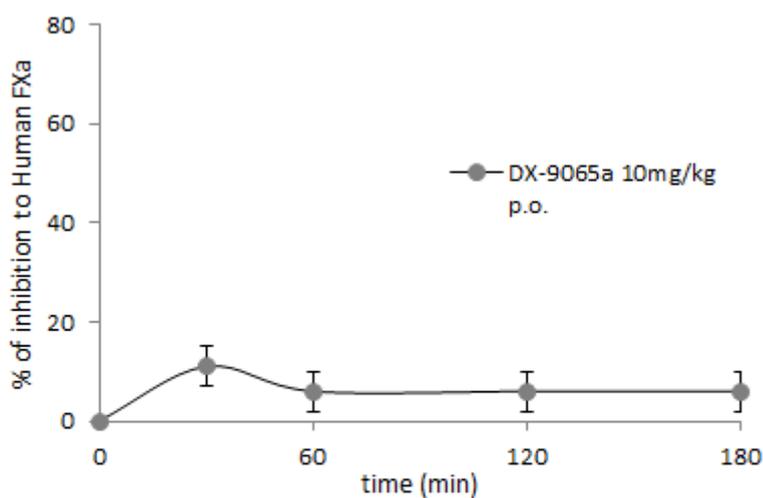
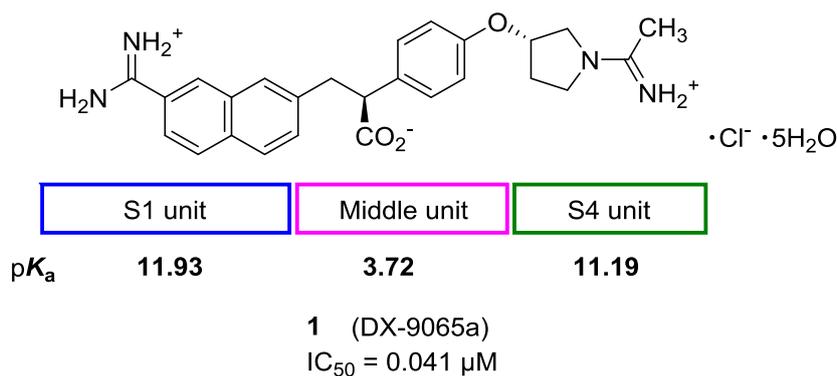
【研究概要】

先に述べたように研究開始時に既に, ファクターXa 阻害薬として化合物 **1** (DX-9065a) の報告がされていた¹¹⁾。本化合物は, 強いファクターXa 阻害活性を有し, かつ他のセリンプロテアーゼに対する高い選択性を有する化合物であったが, 経口投与時の薬剤吸収性が悪く, 経口剤として十分な効果が認められていない¹⁶⁾。一方, 本化合物は当時唯一の低分子阻害剤であり, 構造変換により物性プロファイルを変化させることで, 経口剤へ発展できる可能性があると考えられた。そこで, 著者は, この化合物 **1** (DX-9065a) をリード化合物とし, 経口吸収性改善を主目的に新規ファクターXa 阻害薬の開発研究に着手した。

化合物 **1** (DX-9065a) の有する低経口吸収性という性質は, 化合物の有する低脂溶性 (=高イオン性) によるものと推察した。すなわち DX-9065a は2つのアミジノ基という

強塩基性基と 1 つのカルボキシル基という酸性基を有しているため、生体内では各々が電離し 3 つのイオンとして存在していると考えられる。1 つの分子内に複数のイオンが存在するというこの性質により、脂溶性の脂質 2 重膜の透過性が悪くなり、低い経口吸収性の原因となっていると推察した。

Figure 3. Physical and Biological property of DX-9065a



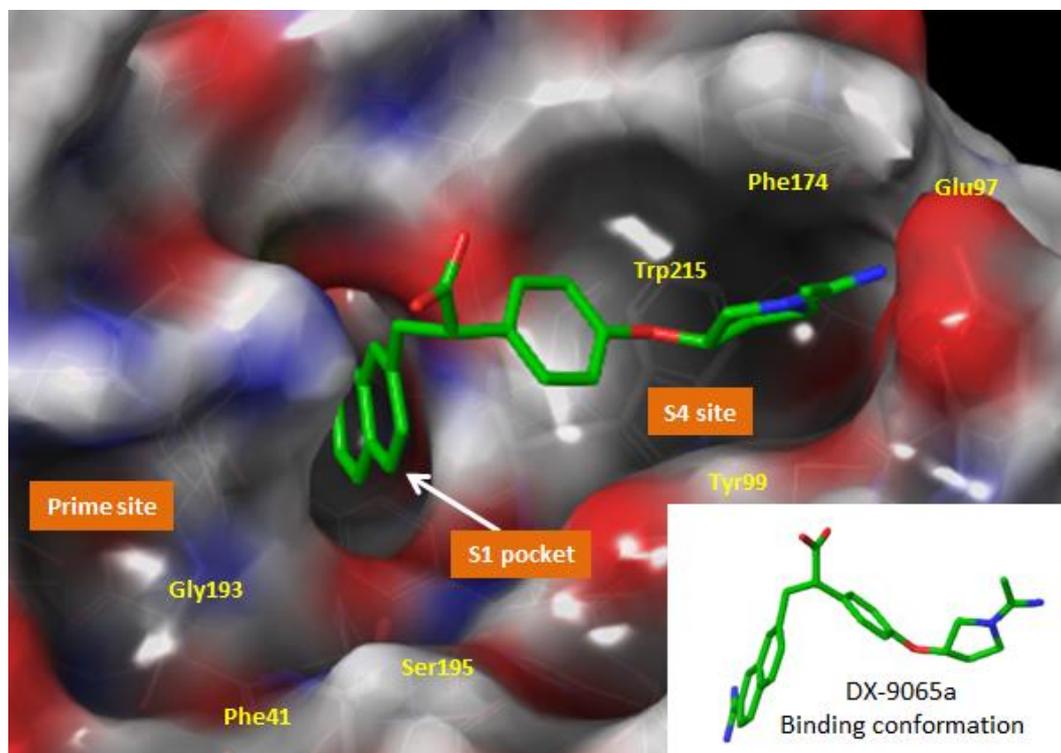
Percent of inhibition of human FXa after oral administration of DX-9065a in mice.
Data represent mean ± SD (n=3)

本性質改善を目指し構造変換を行うにあたり、まず、ファクターXa と化合物 **1** (DX-9065a) の X 線結晶構造^{17a)}の解析 (Figure 4) を実施した。

S1 サイトに位置するアミジノ置換ナフタレン構造 (S1 ユニット) は、そのアミジノ基でファクターXa の Asp189 と酸塩基イオン対を形成していた。また、ナフタレン環はファクターXa の S1 ポケットに入り、水を除去する効果すなわち疎水相互作用に寄与して

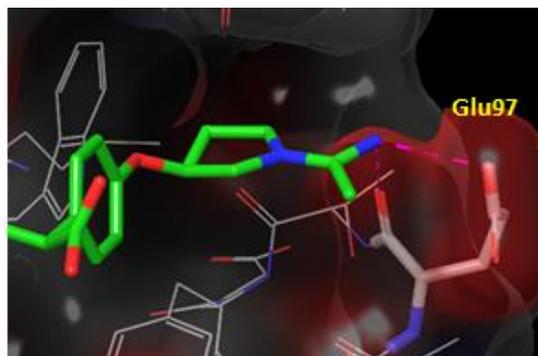
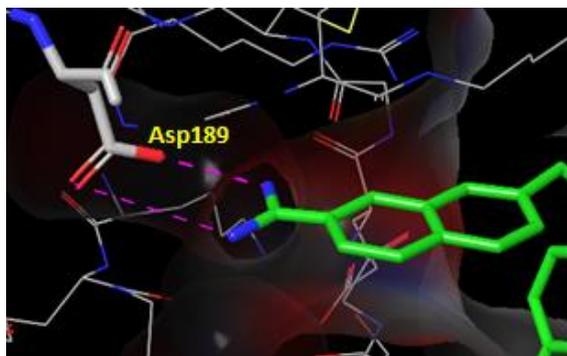
いと考えられた。S4 サイトでは、そこに位置するアセトアミジノ基 (S4 ユニット) がファクターXa の Glu97 と酸塩基イオン対を形成していた。分子両端に存在するこれら 2 つの強塩基性基が、各々ファクターXa の酸性アミノ酸と相互作用していることが確認され、それらが高活性発現に重要であると考察した。一方、中間部分は、それ自体の相互作用への寄与は小さいと考えられた。ただ、中間部分の 2 つのメチレン鎖がゴーシュ配座をとることで、分子全体を折れ曲がった構造にし (Figure 4)、先に述べた 2 つの酸塩基相互作用を形成するためのリンカーの役割をしていると推察した。これらの解析から、化合物 **1** (DX-9065a) は 3 つのパートすなわち、酸塩基相互作用を形成する S1 及び S4 ユニットとそれらを至適な位置に配する中間部位より成り立っていることが分かった。

Figure 4. 化合物 **1** (DX-9065a) の複合体 X 線結晶構造 (PDB code 1fax) ^{17a)}



S1 pocket 拡大図

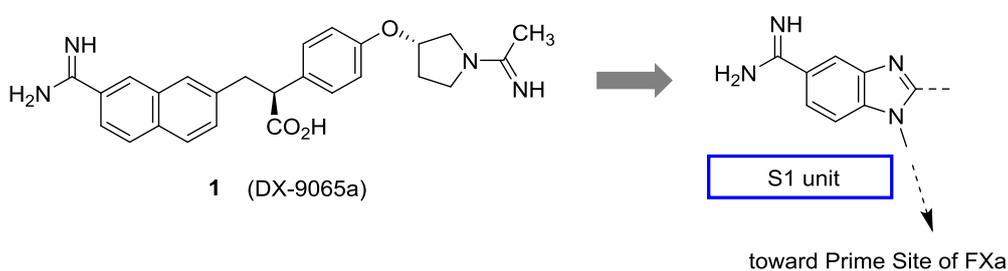
S4 site 拡大図



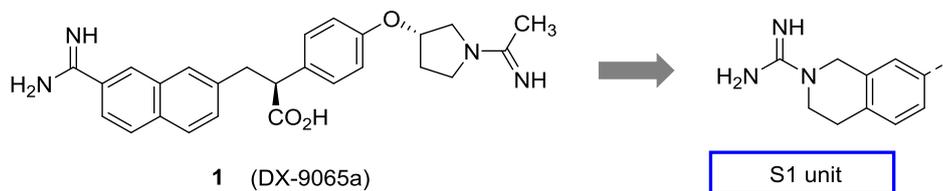
これらの解析結果を基に、下記の2つの構造変換方針を立案した。

- 1) S1 ポケット近傍に存在するプライムサイトへ構造を伸長し、新たな相互作用を獲得する。その後、S4 ユニットの簡略化し、強塩基性基の除去を図る。
- 2) S1 ユニット及び中間部位を変換し、各々の相互作用を最大化し、S4 ユニットの脱アミノ化すなわち弱塩基性を図る。

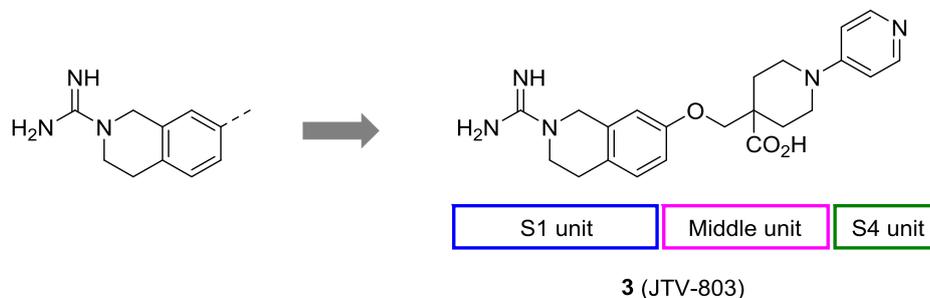
第1章では、1) の戦略に基づき、ベンズイミダゾールをS1 ユニットに利用した構造変換、合成法検討、そしてその結果・考察を示す¹⁸⁾。



第2章では、2) の戦略に基づき、S1 ユニットにテトラヒドロイソキノリン構造を利用した構造変換、合成法検討、そしてその結果・考察を示す^{19), 20)}。



第3章では、第2章で見出した基本構造を基にした、構造最適化の結果と動物モデルを用いた *in vivo* 有効性評価、及び開発形態検討の結果を示す^{19), 20)}。



本論

第1章 ベンズイミダゾール型化合物の合成展開¹⁸⁾

第1節 ベンズイミダゾール型化合物のデザイン

先に述べたファクターXaと既知阻害剤である化合物**1** (DX-9065a)とのX線複合体結晶構造^{17a)}を利用した解析・考察から、分子両端の2つの強塩基性基は高活性発現に重要であることが明らかとなった。しかしながら分子の高イオン性という性質を改善し、経口吸収性を獲得するには、イオン性の強塩基性基を少なくする必要がある。そのため、強塩基性以外の構造で新たな相互作用を獲得することを試みることにした。再度ファクターXaの構造を見直し、S1サイトの近傍に存在するプライムサイトに着目し、本部位での相互作用獲得を検討した。

化合物**1** (DX-9065a)とファクターXaのX線複合体結晶構造^{17a)}の観察から、プライムサイトへ構造を伸長させるにはナフタレン環4位近傍へ置換基導入をすることが適切と考えた (Figure 5)。また、化合物**1** (DX-9065a)のナフタレン環をベンゾフランに置き換えた化合物**4**が $IC_{50} = 0.6 \mu M$ のファクターXa阻害活性を有することが報告されており^{11a)}、ナフタレン環の変換は可能と考えられた。これらのことから、より簡便にプライムサイトへの構造導入を行うべく、S1ユニットにベンズイミダゾール環を用いた基本骨格Aをデザインした (Figure 5)。

Figure 5. Design concept of benzimidazole derivatives

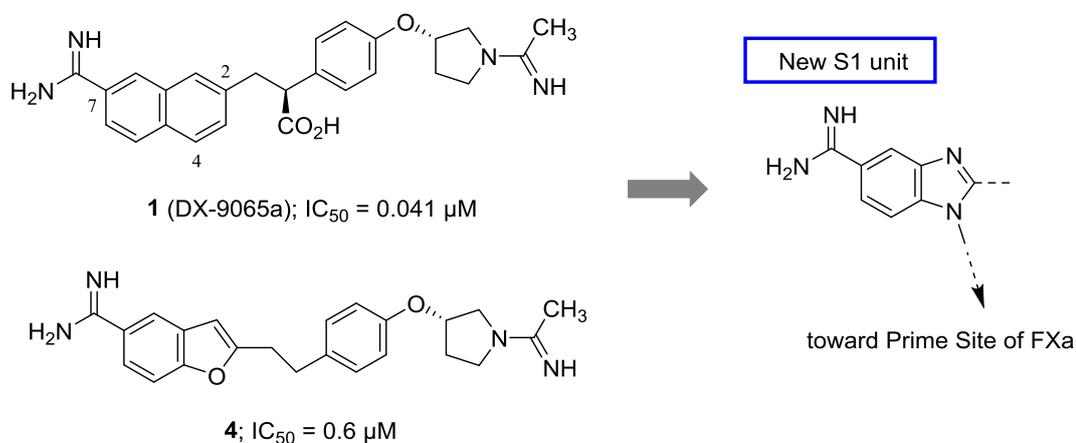
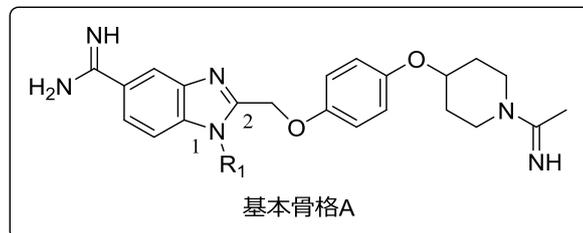
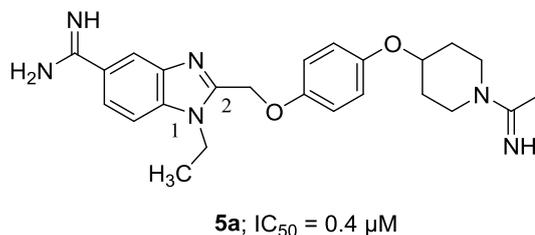


Figure 5. (continued)



まず、ベンズイミダゾールの *N*-エチル体 (化合物 **5a**) を合成した。その結果、化合物 **5a** は、 $IC_{50} = 0.4 \mu M$ と元のベンゾフラン体 (化合物 **4**) と同程度のファクターXa 阻害活性を示し、SAR study を行うに十分なポテンシャルを有していた。同時に、本位置への置換基導入が可能であることが確認できた (Figure 6)。

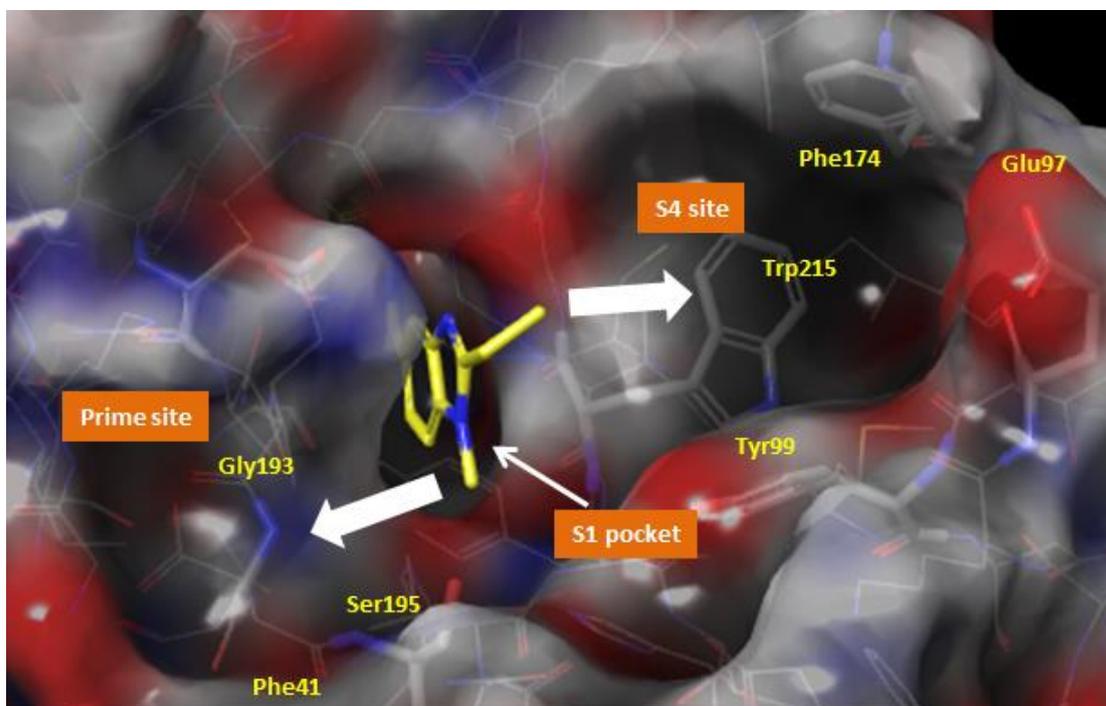
Figure 6.



次に、ベンズイミダゾール 1 位窒素上置換基についてデザインを試みた。ファクター Xa の X 線結晶構造から、本部位に相当するプライムサイトの構造は下記に示す特徴を有することが分かった (Figure 7)。

- ベンズイミダゾール環に近い領域には、オキシアニオンホールがあり、タンパクの NH が豊富に存在する親水性の領域であった。それら NH のうち、Gly193 の NH はベンズイミダゾールの 1 位窒素上置換基と相互作用可能と推察した。
- ベンズイミダゾール環からやや離れた領域には、Phe41 が存在する疎水的な領域であった。ベンゼン環やシクロアルカン等の疎水基が機能すると推察した。

Figure 7. Benzimidazole 型化合物ーファクターXa 結合想定図

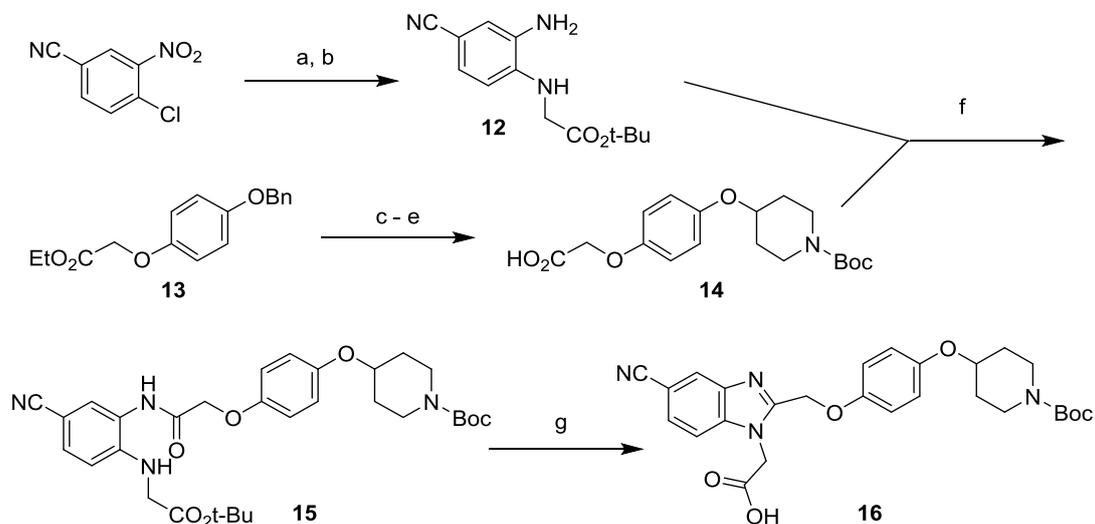


これらの観察に基づき、合成化合物は、ベンズイミダゾール近傍に親水基を、またやや遠位に疎水基を配置できるようデザインした。具体的には、Gly193 と水素結合しうるアミドカルボニル基を有し、かつアミド窒素上に疎水相互作用を獲得し得る置換基すなわちシクロアルカンやベンゼン環を配置した。

第2節 ベンズイミダゾール化合物の合成

ベンズイミダゾール骨格は、Scheme 1 に示すルートで合成した。4-クロロ-3-ニトロベンズニトリルを原料に、塩基存在下 S_NAr 反応でグリシンエステルを導入後、そのニトロ基を Fe 還元し、フェニレンジアミン体 **12** へ誘導した。また、化合物 **13** より、Pd-C を触媒とした接触水素還元、続く diethyl azodicarboxylate (DEAD) とトリフェニルホスフィン (PPh₃) を用いた光延反応、加水分解を経てカルボン酸体 **14** を得た。得られた化合物 **14** とフェニレンジアミン体 **12** を 1-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) 存在下で縮合しアミド体 **15** へ変換した後、酢酸中加熱することで脱水環化させ、ベンズイミダゾール環を構築し、重要中間体 **16** を取得した。

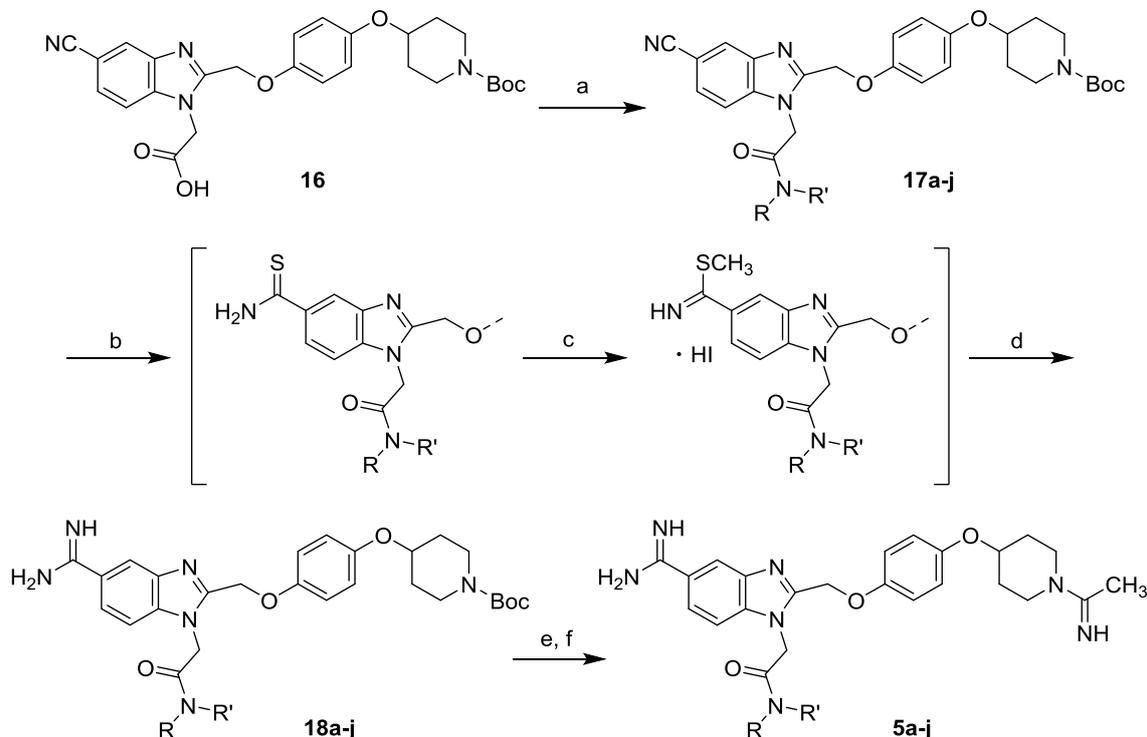
Scheme 1. Synthesis of Benzimidazole intermediate



Reagents and conditions: (a) Gly-O^tBu (1.8 eq), Et₃N (3.0 eq), EtOH, rt -50 °C, 18 h (74 %); (b) H₂, 7.5 % Pd/C, THF, 1 atm, rt, 2 h (54 %); (c) H₂, 7.5 % Pd/C, THF, 3 atm, rt, 7 h (93 %); (d) *N*-Boc-4-piperidinol (1.2 eq), DEAD (1.2eq), PPh₃ (1.2 eq), THF, rt, 5 h (49 %); (e) NaOH (1.1eq), THF-EtOH, rt, 0.5 h (87 %); (f) 1-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) (1.1 eq), CHCl₃, rt, 3 h (80 %); (g) AcOH, 75 °C, 12 h, then Boc₂O (1.0 eq), Na₂CO₃ (3.0 eq), THF-H₂O, rt, 12 h (88 %).

化合物 **5a - 5j** は、Scheme 1 で得た重要中間体 **16** と各種アミンとの 1-(3-dimethylamino-propyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC) を用いた縮合により、プライムサイトに相当するベンズイミダゾール 1 位にアミドを有する化合物 **17** へ変換後、S1 ユニットに相当するシアノ基をアミジノ基に誘導し合成した (Scheme 2)。すなわち、シアノ体 **17** をピリジーン-トリエチルアミンの混合溶媒中 H₂S ガスを作用させることでチオアミドへ変換し、次に過剰量のヨウ化メチルと反応させチオメチル体へ、最後に酢酸アンモニウムとの置換反応でアミジノ体 **18** へと誘導した。さらに得られた化合物 **18** の *tert*-butoxycarbonyl (Boc) 基を trifluoroacetic acid (TFA) で除去後、アセトイミデートと反応させることにより、目的の化合物 **5** を合成した。極めて極性が高い化合物 **5** に代表されるビスアミジン化合物は、逆相 HPLC 後、塩酸塩として結晶化することにより精製した。

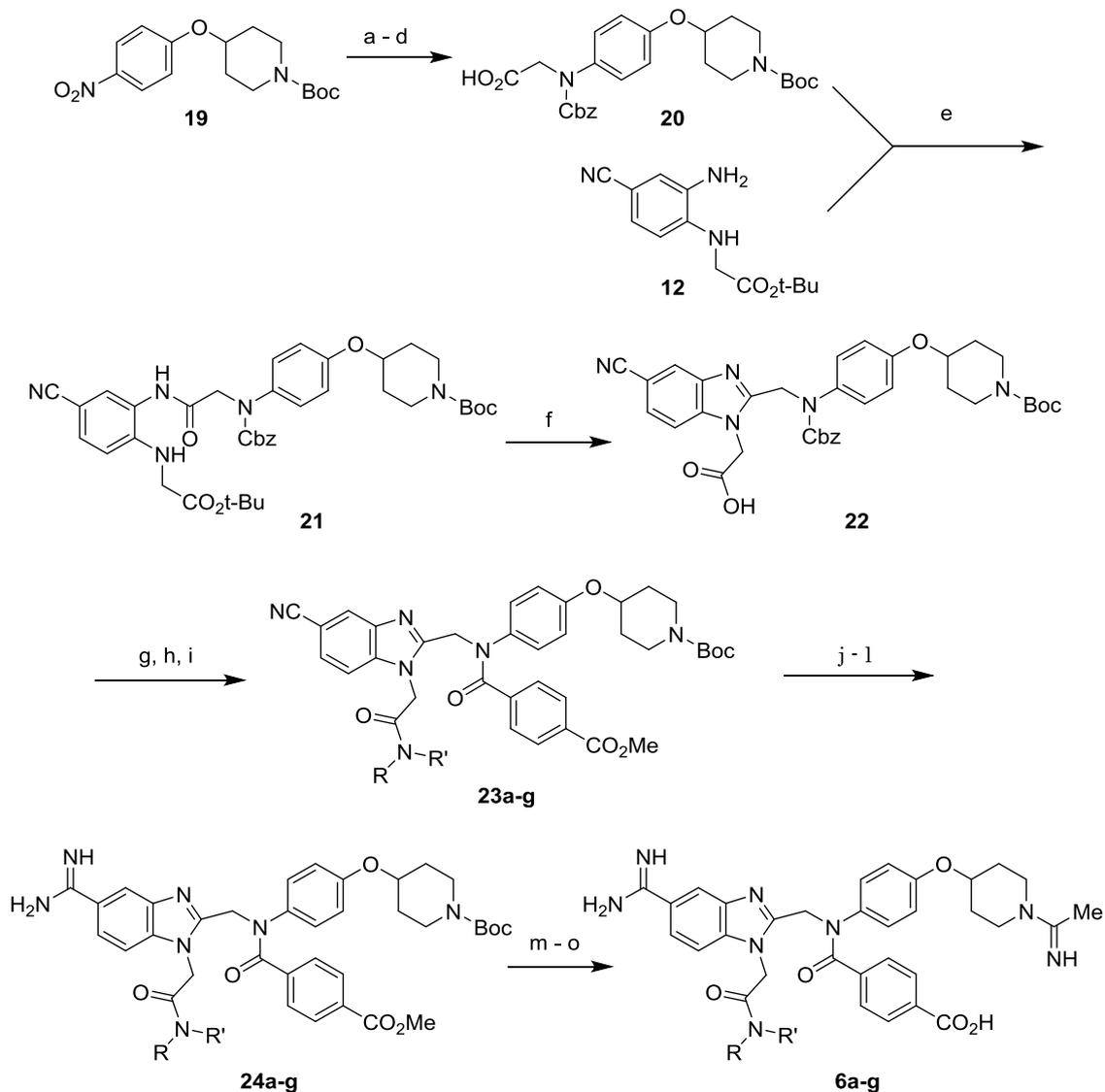
Scheme 2. Synthesis of Compound **5a - 5j**



Reagents and conditions: (a) $RR'NH$ (1.0 eq), EDC (1.1 eq), HOBT (1.1 eq), DMF, rt, 15 h (64-96 %); (b) H_2S , pyridine- Et_3N , rt, 12 h; (c) MeI (excess), acetone-MeOH, reflux, 2 h; (d) NH_4OAc (1.5 eq), EtOH, 75 °C, 2 h (40-94 % 3steps); (e) TFA, $CHCl_3$, rt, 5 min (77 %-quant.); (f) ethyl acetoimidate (5.0 eq), Et_3N (10 eq), rt, 18 h (20-60 %).

また、化合物 **6a-6g** は、重要中間体 **16** の代わりに化合物 **22** を用いて Scheme 2 と同様の方法で合成した (Scheme 3)。出発原料の化合物 **19** は、4-フルオロニトロベンゼンより、 S_NAr 反応で Boc-ピペリジノールを導入し調製した。得られた **19** を接触水素還元、benzyloxycarbonyl (Cbz)化、NaH 存在下でブromo酢酸エステル導入後、TFA 処理することで化合物 **20** へ誘導した。この化合物 **20** をフェニレンジアミン体 **12** と Scheme 1 と同様に、EEDQ を用いて縮合し、酢酸中で脱水環化させ重要中間体 **22** を得た。この中間体 **22** のベンズイミダゾール 1 位側鎖に *N*-置換アミド構造を導入し、脱 Cbz 化、4 位置換ベンゾイルクロリドとの縮合を経て化合物 **23** へ誘導した。得られた **23** より、Scheme 2 と同様の方法でシアノ基をアミジノ基へ変換し化合物 **24** へ導き、最後にアセトアミジノ基を導入することで化合物 **6** を合成した。高極性である化合物 **6** の精製は、Scheme 2 の化合物 **5** と同様、逆相 HPLC 分取と塩酸塩の結晶化で行った。

Scheme 3. Synthesis of Compounds **6a - 6g**

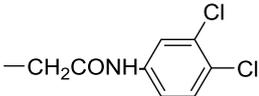
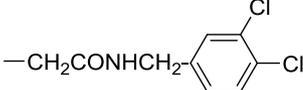
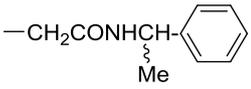
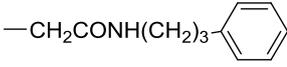


Reagents and conditions: (a) H₂, 7.5 % Pd/C, THF-EtOH, 3 atm, rt, 3 h (86 %); (b) CbzCl (1.0 eq), NaHCO₃ (1.1 eq), THF-H₂O, rt, 1 h (74 %); (c) NaH (1.5eq), BrCH₂CO₂Et (1.5 eq), DMF, rt, 2 h (98 %); (d) NaOH (1.1eq), THF-EtOH, 50 °C, 1 h (quant.); (e) EEDQ (1.1 eq), CHCl₃, rt, 3 h (72 %); (f) AcOH, 90 °C, 4 d, then Boc₂O (1.0 eq), Na₂CO₃ (3.0eq), THF-H₂O, rt, 12 h (59 %); (g) RR'NH (1.0 eq), EDC (1.1 eq), HOBT (1.1 eq), DMF, rt, 15 h; (h) H₂, 7.5 % Pd/C, THF, 3 atm, rt, 7 h; (i) (4-MeOCO)PhCOCl (1.0 eq), Et₃N (1.5 eq), CHCl₃, rt, 18 h (15-74 % 3steps); (j) H₂S, pyridine-Et₃N, rt, 12 h; (k) MeI (excess), acetone-MeOH, reflux, 2 h; (l) NH₄OAc (1.5 eq), EtOH, 75 °C, 2 h (39-63 % 3steps); (m) TFA, CHCl₃, rt, 5 min; (n) NaOH (5.0 eq), H₂O, rt, 5 h; (o) ethyl acetoimidate (5.0 eq), Et₃N (10 eq), rt, 18 h (27-81 % 3steps).

第3節 ベンズイミダゾール化合物の構造活性相関

Scheme 1, 2 で合成した化合物は、想定通り化合物 **5a** ($R^1 = Et$) と比較し、より強いファクターXa 阻害活性を示した (Table 1)。これら化合物の酢酸アミド構造は、オキシアニオンホールを形成する Gly193 と相互作用するようにデザインしたものであるため、ファクターXa による加水分解すなわち活性型セリン (Ser195) をアシル化することにより高活性を発現している可能性があった。そのため、2時間のプレインキュベート後に再度阻害活性を評価したが、その活性に変化は認められなかった。この結果は、Table 1 に示した化合物が Ser195 による加水分解を受けず活性を発現していることを示唆しており、活性向上の要因はベンズイミダゾール近傍 (=プライムサイト入口) での Gly193 との水素結合、及び遠位での疎水相互作用の獲得によるものと考察した。

Table 1. Enzyme inhibitory activity for FXa and FIIa (thrombin)

Compound	R^1	FXa IC_{50} (μM) ^b	FIIa IC_{50} (μM) ^b
5a	$-CH_2CH_3$	0.4	> 10
5b		0.1	> 10
5c		0.06	> 10
5d		0.1	> 10
5e		0.03	> 10
5f ^{a)}		0.03	> 10
5g		0.2	> 10

a) racemic form b) IC_{50} values are the mean of two independent determinations.

Table 1. (continued)

Compound	R ¹	FXa IC ₅₀ (μM) ^{b)}	FIIa IC ₅₀ (μM) ^{b)}
5h		3	> 10
5i		0.04	> 10
5j		0.3	> 10
5k		0.3	> 10

a) racemic form b) IC₅₀ values are the mean of two independent determinations.

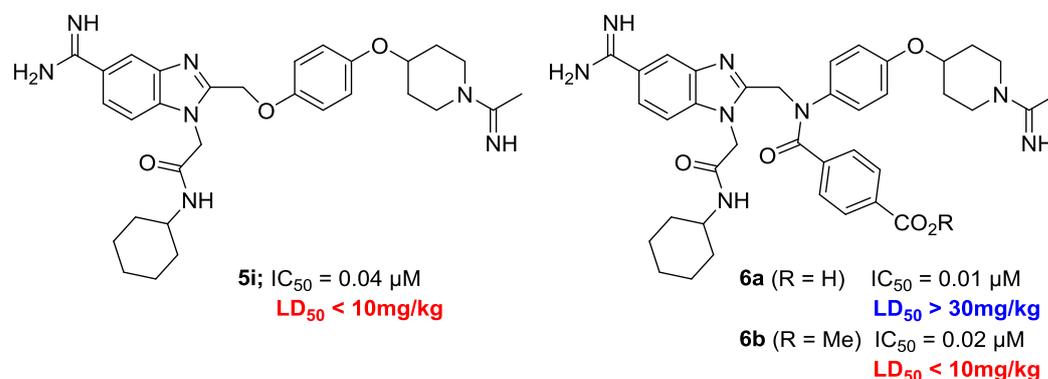
特に、アミド窒素の α 炭素で分岐した構造を有する化合物 **5f**, **5i**, 及びベンゼン環上にクロロ基を置換した化合物 **5c**, **5e** は 10⁻⁸ M オーダー前半の阻害活性を示した。これらの疎水構造がファクターXa の Phe41 近傍疎水領域での相互作用獲得に適切であったためと考えられ、本プライムサイトでは疎水相互作用が主たる活性向上要因と考察した。

これら Table 1 に示した化合物について、*in vivo* でのファクターXa 阻害評価を行う目的で、10 mg/kg をマウスに静脈内投与した。しかし、ファクターXa 阻害活性の強弱を問わず、いずれの化合物にも致死性の急性毒性が認められた。一方、比較対象として用いた化合物 **1** (DX-9065a) では、同様の所見が認められなかった。化合物 **1** (DX-9065a) との構造比較から、この急性毒性の原因は、カルボキシル基がないことにより別ターゲットに対する極性反発が低減したためか、もしくは異なる S1 ユニット導入により別ターゲットに対する親和性が向上したためと推察した。

そのため本毒性を回避すべく、分子内にカルボキシル基を導入した化合物を合成することを計画した (Scheme 3)。導入位置は、ファクターXa との衝突のない溶媒方向へ配置するため、ベンズイミダゾール 2 位置換基の β 位を選択した。また、導入置換基としては、別ターゲットに対し、カルボキシル基の極性的な反発効果に加え、立体的な反発効果を期待し、サイズの大きな 4-カルボキシベンゾイル基を選択した。最初に化合物 **6a** を合成し、急性毒性の評価を実施した (Figure 8)。その結果、30 mg/kg をマウスに静脈内投与しても、致死性の急性毒性は確認されなかった。一方、化合物 **6a** のメチルエステルアナログ **6b** をマウスに静脈内投与 (10 mg/kg) したところ、Table 1 に示した化合物と同様の

急性毒性が認められた。この結果より、本毒性は立体的な要因よりも極性的な要因で回避可能であることを明らかにできた。

Figure 8.



また、化合物 **6a** は、カルボキシル基を持たない化合物 **5i** と比較し、より強いファクター-Xa 阻害活性 ($IC_{50} = 0.01 \mu M$) を示した。そのため、再度プライムサイトの変換を実施し、Table 2 に示す化合物を合成した。その結果、Table 1 で示した結果と同様の構造活性相関が認められ、その内化合物 **6c**、**6g** においては、Table 1 の化合物 **5f**、**5e** と比較しより強力な、 $10^{-9} M$ オーダーのファクター-Xa 阻害活性が認められた ($IC_{50} = 0.003 \mu M$, $0.006 \mu M$)。カルボキシル基を導入するため、ベンズイミダゾール 2 位置置換基の β 位を sp^2 性の窒素原子に置き換えたことにより、S4 ユニットのアセトアミジノ基が Glu97 との相互作用により適した位置に配置された可能性があると推察した。

Table 2. Enzyme inhibitory activity for FXa and FIIa (thrombin)

Compound	R ²	FXa IC_{50} (μM) ^{a)}	FIIa IC_{50} (μM) ^{a)}
1 DX-9065a		0.06	> 10
6a		0.01	> 10
6b	 methyl ester of 6a	0.01	-

Table 2. (continued)

Compound	R ²	FXa IC ₅₀ (μM) ^{a)}	FIIa IC ₅₀ (μM) ^{a)}
6c		0.003	> 10
6d		0.08	> 10
6e		0.2	> 10
6f		0.2	> 10
6g		0.006	> 10

a) IC₅₀ values are the mean of two independent determinations.

Table 2 に示した化合物のうち、化合物 **6a** を用いて経口投与時の血漿中ファクターXa 阻害活性を評価した (*ex vivo* assay, Figure 9)。化合物 **6a** と比較対象の化合物 **1** (DX-9065a) を各々マウスに 10 mg/kg の用量を経口投与し、その後経時的に採血、時間毎のファクターXa 阻害活性を測定した。その結果、化合物 **6a** のファクターXa 阻害活性は、化合物 **1** (DX-9065a) と比較しやや強かった。一方、1 mg/kg の静脈内投与と比較するとかなり弱いものであった。この結果は、経口投与時の阻害活性改善の要因が、*in vitro* 活性の増強 (0.01 μM; **6a** vs 0.041 μM; **1** (DX-9065a)) によるものであり、目的の経口吸収性改善によるものではないことを示唆していると考察した。当初想定したように経口吸収性の改善には、分子のイオン性を低下すべく、少なくとも一方の強塩基性基を除去する必要があると考えた。

Figure 9. *ex vivo* assay of Compound 6a

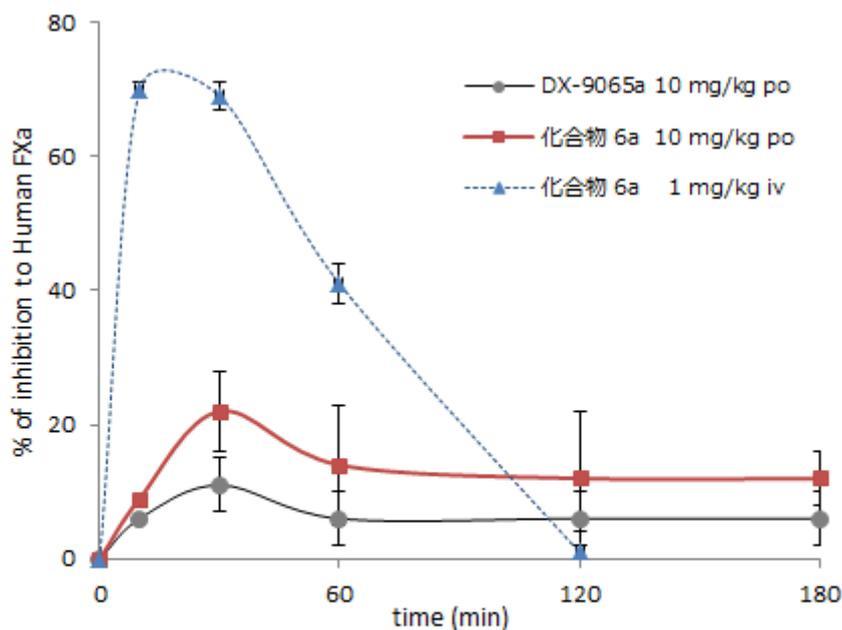
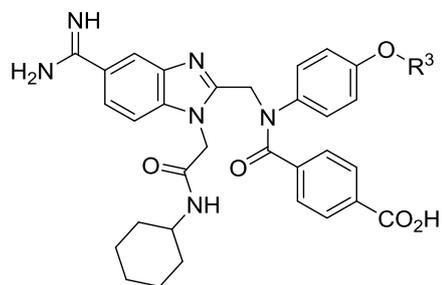


Figure 9. Percent of inhibition of human FXa after intravenous and oral administration of DX-9065a or compound 6a in mice. Data represent mean \pm SD (n=3)

そのため、化合物 6a を基に右端の塩基性置換基の変換を実施し、Table 3 に示す化合物を合成したが、いずれの変換でも活性低下が認められた。特に本部位構造をダウンサイズした化合物 7c では、化合物 6a と比較し 30 倍の活性減弱が認められた。分子が小さくなったことで、S4 サイトの Glu97 との距離が長くなり酸塩基相互作用の強度低下を引き起こしたためと考察した。この S4 サイトでの酸塩基相互作用は極めて重要であることが示唆され、更なるダウンサイズや塩基性基の除去は、大幅な活性低下を招くと推察できた。当初計画した方針 1) すなわちベンズイミダゾール型化合物を用いたプライムサイトへの伸長による S4 ユニットの除去、簡略化は困難と結論づけた。

本ベンズイミダゾール型化合物は、分子の端に位置する S1, S4 の強塩基性基とプライムサイトの脂溶性基で相互作用を獲得しており、中間部位での活性への寄与が比較的小さい。本章での結果は、強塩基性基の除去、減弱化には、中間部位の最適化、すなわち中間部位での活性向上が必要であることを示唆するものと考えられ、方針 2) を実施する上で有用な知見を得ることができた。加えて、急性の致死毒性の回避方法も確立でき、以後に繋がる重要な構造変換情報も得ることができた。

Table 3. Enzyme inhibitory activity for FXa and FIIa (thrombin)



Compound	R ³	FXa IC ₅₀ (μM) ^{b)}	FIIa IC ₅₀ (μM) ^{b)}
6a		0.01	> 10
7a		0.02	> 10
7b ^{a)}		0.1	> 10
7c ^{a)}		0.3	> 10

a) racemic form

b) IC₅₀ values are the mean of two independent determinations.

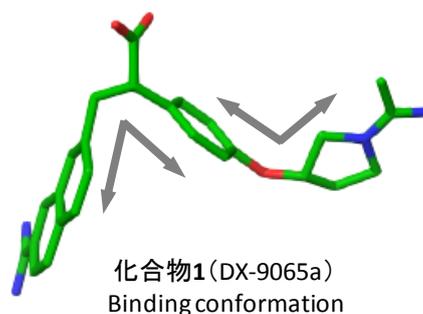
第2章 テトラヒドロイソキノリン型化合物の合成展開^{19),20)}

第1節 テトラヒドロイソキノリン型化合物のデザイン

第1章のベンズイミダゾール型化合物では、プライムサイトで新たな相互作用を獲得し、S4ユニットの塩基性基を除去することを試みた。この第2章では、緒言の研究概要の項で述べたようにS1ユニット及び中間部位を変換し、相互作用を最大化することで、S4ユニットの弱塩基性を試みることにした。

S1ユニット及び中間部位での相互作用最大化のため、下記のことを計画した。

- ・化合物**1** (DX-9065a) のS1ユニットであるナフタレン環の平面性を解除し、すなわちsp³性の高い構造を導入することによりS1ポケットの充填度を向上させる。
- ・中間部位では、ベンゼン環に比べ、より立体的な環に変換し相互作用を獲得する。また、右に示すように化合物**1** (DX-9065a) は、中間部位の2か所で分子を曲げており、エントロピックなロスがあると推察された。そのため、よりダイレクトにS4サイトへ置換基伸長可能な構造へ変換し、エントロピックなロスを減少させる。



本計画に基づき、S1ユニットはナフタレン環よりsp³性に富んだテトラヒドロイソキノリン環を用いることとした。分子をS4方向へ曲げるべく、中間部分は化合物**1** (DX-9065a)と同様“2原子+環”のパターンで検討し、4-ピペリジニルメチルオキシ基を選択した。

まず、化合物**8a**とファクターXaの複合体モデルをSchrödinger社のGlideを用いて作成し^{17b)}、その可能性を検討した(Figure 10)。その結果、化合物**8a**は、化合物**1** (DX-9065a)と類似したモードでファクターXaに結合することが期待できた。すなわち、テトラヒドロイソキノリン環はS1ポケットを充填し、中間部分で分子は曲がり、またピペリジン環の窒素原子はファクターXaのS4サイト方向を向くことが分かった。これらの検討結果を受け、化合物**8a**、**8b**を合成し阻害活性を確認した(Figure 11)。その結果、化合物**8a**、**8b**は各々IC₅₀ = 3.34, 4.06 μMのファクターXa阻害活性を示した。この活性は、SAR studyを実施するにあたり十分なものであり、またDX-9065aの部分構造類縁体の阻害活性(IC₅₀ > 10 μM)と比較しより強力であった。S1ユニット及び中間部位で、より効

率的な相互作用獲得ができていると考えられ、化合物 **8a** は新たな基本骨格になりうると判断した。

Figure 10. 複合体モデル Factor Xa+Compound **8a**^{17b)}

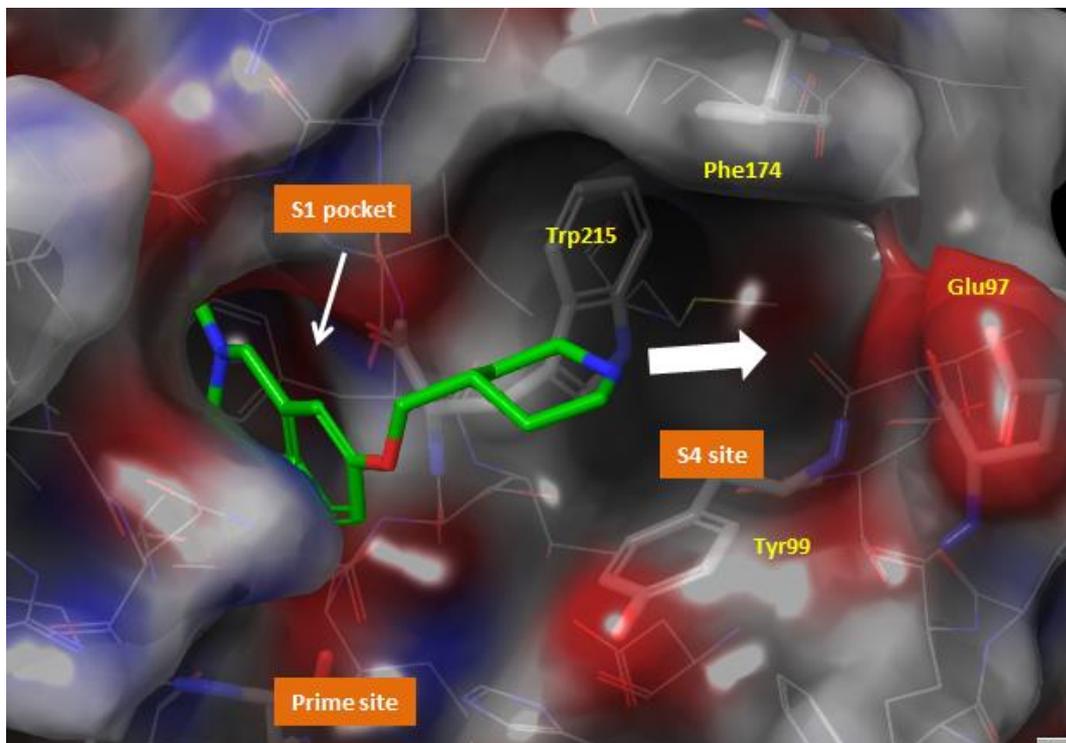
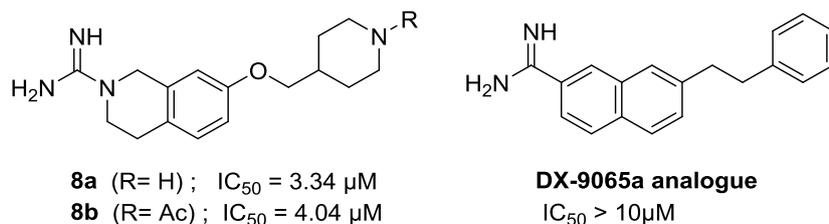


Figure 11.

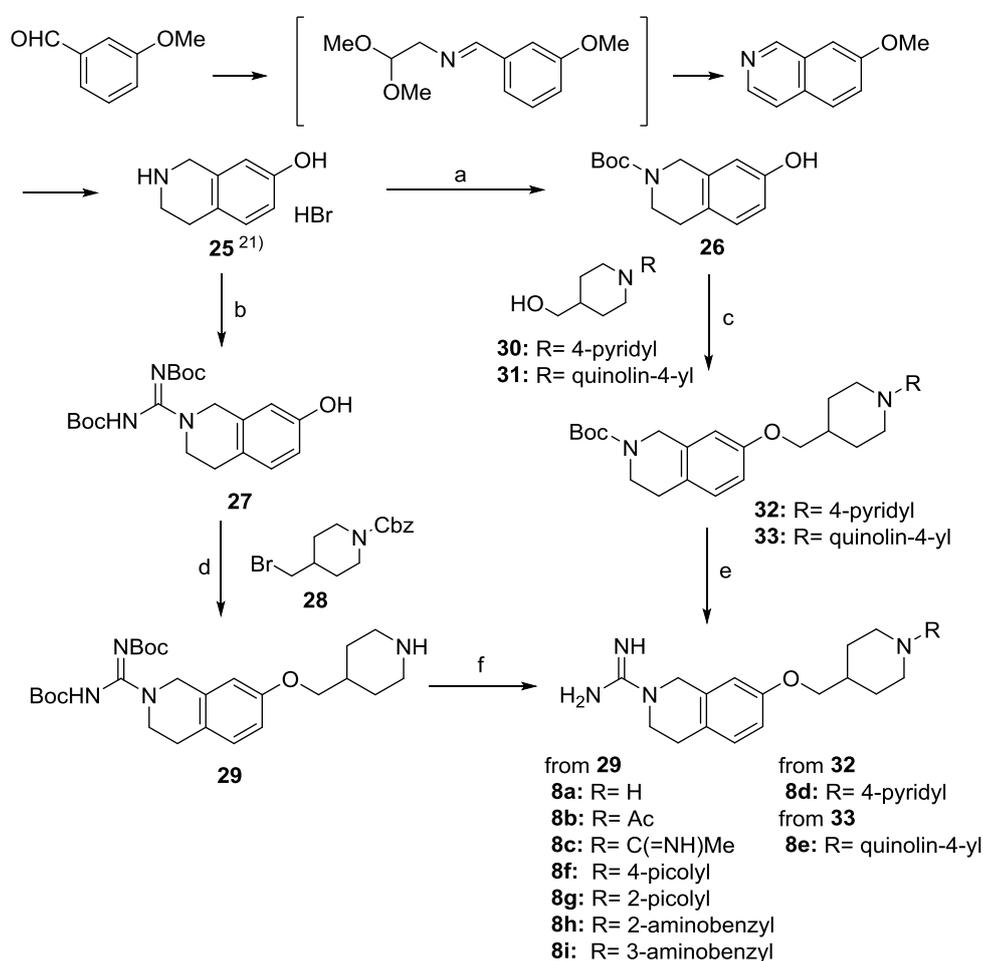


次に、化合物 **8a** のピペリジン N 上置換基、すなわち S4 ユニットのデザインを行った。ファクターXa の S4 サイトは、以下の構造的特徴を有する。1) Phe174, Trp215, Tyr99 の芳香環に囲まれた疎水的な領域²⁷⁾、2) 最遠部は Glu97 が存在する極性もしくは溶媒領域である。これらの観察から、ピペリジン環窒素原子上には、Phe174, Trp215, Tyr99 との相互作用獲得と Glu97 との酸塩基相互作用を期待して、塩基性の含窒素ヘテロ環、芳香族アミンを導入することとした。

第2節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の合成1

化合物 **8a**, および **8a** に S4 ユニットを導入した化合物 **8b-8i** は, Scheme 4 に示すルートで合成した。まず, 出発原料として用いた化合物 **26**, **27** を, 化合物 **25** より調製した。化合物 **25** は, 文献報告の方法²¹⁾に準じ, 7-メトキシイソキノリンの PtO₂ を用いた核還元と続く HBr 水溶液を用いた脱メチル化によって取得した。化合物 **26** は, **25** と Boc₂O を反応させることにより, また化合物 **27** は, 化合物 **25** と 1*H*-pyrazole-1-(*N,N'*-bis-*tert*-butoxycarbonyl)-carboxamidine²²⁾ とを塩基存在下で縮合させることにより調製した。

Scheme 4. Synthesis of compounds **8a - 8i**



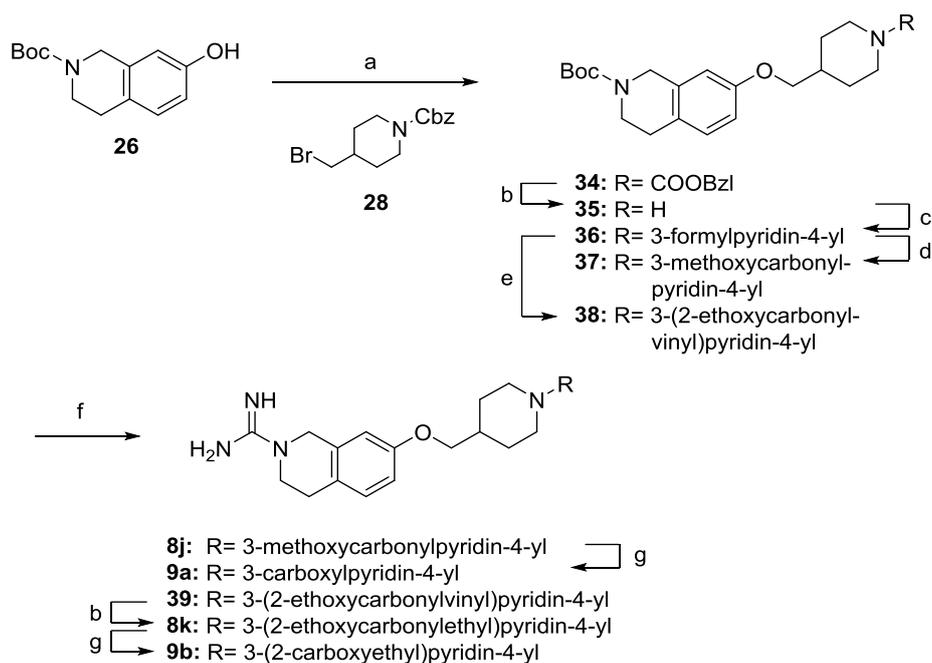
Reagents and conditions: (a) Boc₂O, NaOH, dioxane-H₂O, rt (93 %); (b) 1*H*-pyrazole-1-(*N,N'*-bis-*tert*-butoxycarbonyl) carboxamidine²²⁾, DMF, rt (82 %); (c) **30** or **31**, diisopropyl azodicarboxylate (DIPAD), PPh₃, THF-CH₂Cl₂, rt (**32**: 76 %, **33**: 71 %); (d) (i) **28**, NaOH, DMSO, rt; (ii) H₂, 7.5 % Pd/C, THF, EtOH, rt (68 % 2steps); (e) (i) TFA, CHCl₃, rt; (ii) 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride, DIPEA, DMF, rt (**8d**: 61 %, **8e**: 89 %); (f) TFA, CHCl₃, rt (**8a**: 85 %); Ac₂O, pyridine, THF, rt, then TFA, CHCl₃, rt (**8b**: 81 %); MeC(=NH)OEt, Et₃N, THF-EtOH, rt, then TFA, CHCl₃, rt (**8c**: 83 %); 4-picolyl chloride or 2-picolyl chloride, NaOH, THF-DMF, 50 °C, then TFA, CHCl₃, rt (**8f**: 71 %, **8g**: 63 %); 2-nitrobenzyl bromide or 3-nitrobenzyl bromide, NaOH, DMF-THF, rt, then TFA, CHCl₃, rt then H₂/7.5% Pd-C, MeOH (**8h**: 68 %, **8i**: 58 %).

化合物 **8a - 8i** は下記のように合成した (Scheme 4)。化合物 **27** を原料にブロモ体 **28** と反応させ、さらに水素添加反応で Cbz 基を除去することにより化合物 **29** を得た。化合物 **8a** は、得られた **29** を TFA 処理することにより、また化合物 **8b** 及び **8c** は、化合物 **29** と無水酢酸またはエチルアセトイミデートとの縮合後、TFA で処理することにより合成した。また、化合物 **8f, 8g** は NaOH 存在下 **29** とピコリルクロリドとの縮合、続く TFA を用いた脱保護を行うことで合成した。同様の方法で、化合物 **8h, 8i** も合成した。

化合物 **8d, 8e** は光延反応を適用し、下記のように合成した (Scheme 4)。化合物 **26** をアルコール体 **30** または **31** と diisopropyl azodicarboxylate (DIPAD), PPh₃ 存在下で反応させ、化合物 **32, 33** を得た後、TFA を用いた脱 Boc 化, 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine との縮合により合成した。最終化合物は全て、逆相 HPLC もしくは塩酸塩の結晶化で精製した。

分子内にエステルまたはカルボキシル基を有する化合物 **8j, 8k, 9a, 9b** は下記のように合成した (Scheme 5)。

Scheme 5. Synthesis of compounds **8j, 8k, 9a, 9b**



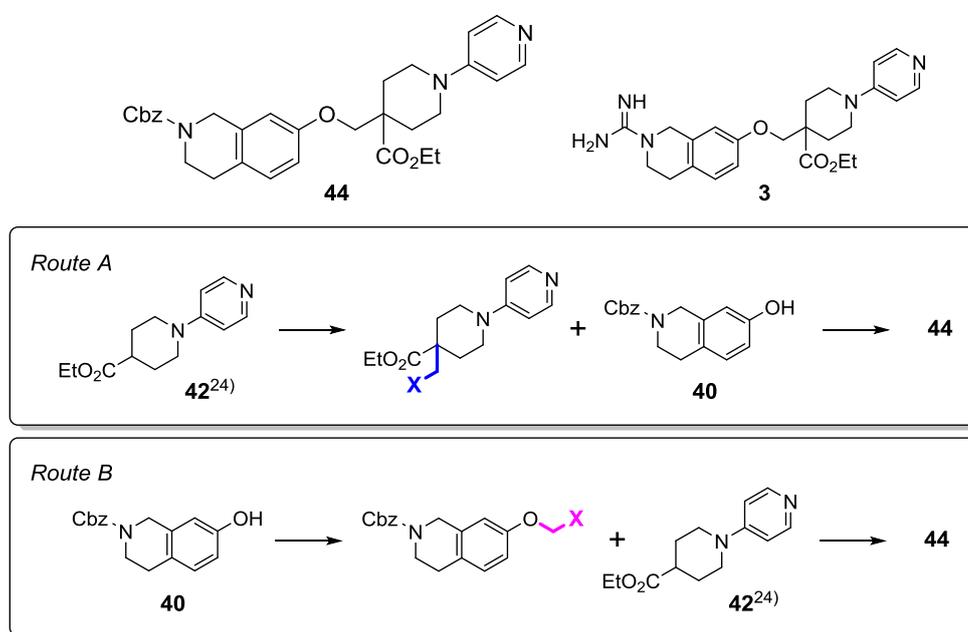
Reagents and conditions: (a) **26**, NaH, DMF, rt (79 %); (b) H₂/ 7.5% Pd-C, EtOH, rt (**35**: 87 %, **8k**: 86 %); (c) 4-chloro-3-formylpyridine²³, Et₃N, EtOH, reflux (90 %); (d) MnO₂, NaCN, CHCl₃-MeOH, rt (93 %); (e) triethyl phosphonoacetate, NaH, THF, rt (91 %); (f) (i) TFA, CHCl₃, rt; (ii) 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride, DIPEA, DMF, rt (**8j**: 39 %, **39**: 49 %); (g) NaOH, MeOH-H₂O, rt (**9a**: 36 %, **9b**: 85 %).

フェノール体 **26** とブロモ体 **28** との縮合、続く Cbz 基の脱保護により化合物 **35** を得た後、4-クロロ-3-ホルミルピリジン²³と反応させることにより化合物 **36** へ誘導した。化合物 **36** を二酸化マンガン存在下、メタノール中シアン化ナトリウムと反応させることによ

りメチルエステル体 **37** を、また化合物 **36** をホーナーエモンズ試薬と反応させ、 α, β -不飽和エステル体 **38** を得た。化合物 **37** より、TFA を用いた脱 Boc 化、1*H*-pyrazole-1-carboxamidine との縮合により化合物 **8j** を得た後、加水分解して化合物 **9a** を合成した。また、化合物 **9a** と同様の方法で、化合物 **38** より化合物 **39** へ誘導した後、Pd-C を触媒とした水素添加反応で化合物 **8k** を、さらに加水分解して化合物 **9b** を合成した。

後述の Scheme 7 に示す化合物 **3** の合成は、4級炭素をいかに合成するかがポイントと考えた。化合物 **40**, **42**²⁴⁾ を用い、先に4級炭素を構築後、S1, S4 の2つのユニットを繋ぐ Route A と、最後に4級炭素を構築する Route B の2種を検討した (Scheme 6)。

Scheme 6. Synthesis of Intermediate **44** for compound **3**

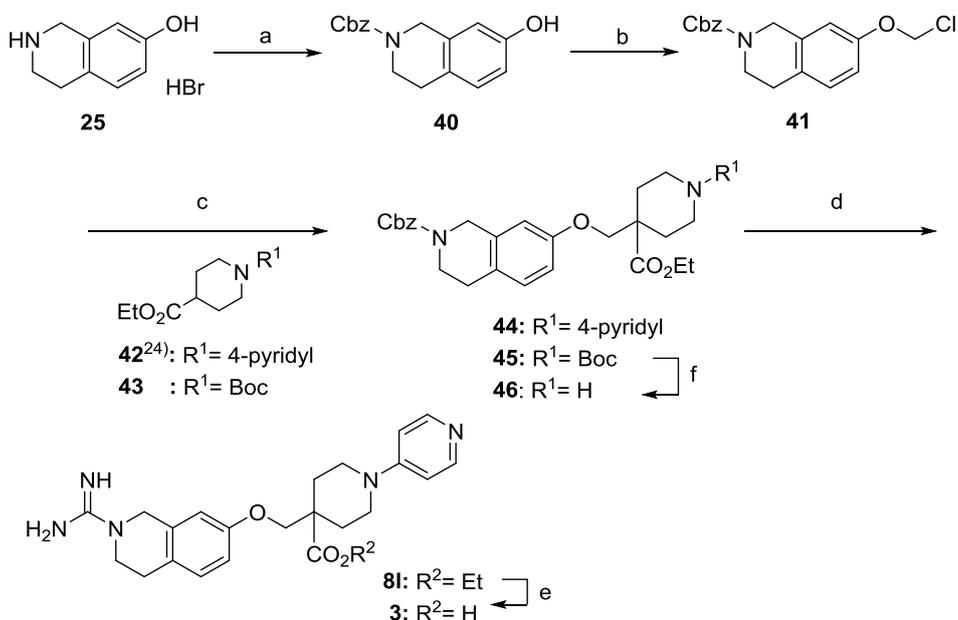


Run 1			DEAD, PPh ₃ / THF r.t.	No reaction
Run 2			K ₂ CO ₃ / DMF 90 °C	65 %
Run 3			LDA / THF -70 °C	92 %

まず、Route A では、化合物 **42²⁴** のエノラートアニオンと BOM-Cl (BOM= benzyloxymethyl) もしくは CH_2Br_2 を反応させ、1 炭素増炭した化合物 **42-1**, **42-2** を調製した。得られた **42-1**, **42-2** を各々フェノール体 **40** と反応させたところ、Run 1 の光延反応では反応が進行せず、Run 2 の $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応では、化合物 **42-2** の自己縮合も同時に起こり、満足のいく収率が得られなかった。Run 1, 2 共にネオペンチル位での置換反応が、その立体障害のためにスムーズに進行しなかったためと考察した。次に、Route B について検討した。先に化合物 **40** から 1 炭素増炭した化合物 **41** を合成した。得られた **41** を化合物 **42²⁴** のエノラートアニオンと反応させたところ、低温 ($-70\text{ }^\circ\text{C}$) でも速やかに進行し、高収率で化合物 **44** を与えることが分かった。

これらの検討結果より化合物 **81, 3** を Scheme 7 に示すルートで合成した。化合物 **41** は、化合物 **25** より調製した化合物 **40** を、NaH 存在下で MTM-Cl (MTM= methylthiomethyl) と反応させメチルチオメチルエーテル体へ変換後、スルフリルクロリドを作用させ調製した²⁵⁾。Scheme 6 Run 3 の方法を適用し、得られた **41** をエステル体 **42²⁴** のエノラートアニオンと反応させ、化合物 **44** を得た。(化合物 **41** は未精製で次工程に使用した。反応副生成物であるメチルスルフィニルクロリド MeS-Cl が残留していたため、エステル体 **42** のエノラートアニオンは 2 当量以上使用する必要があった。)

Scheme 7. Synthesis of compounds **81, 3**

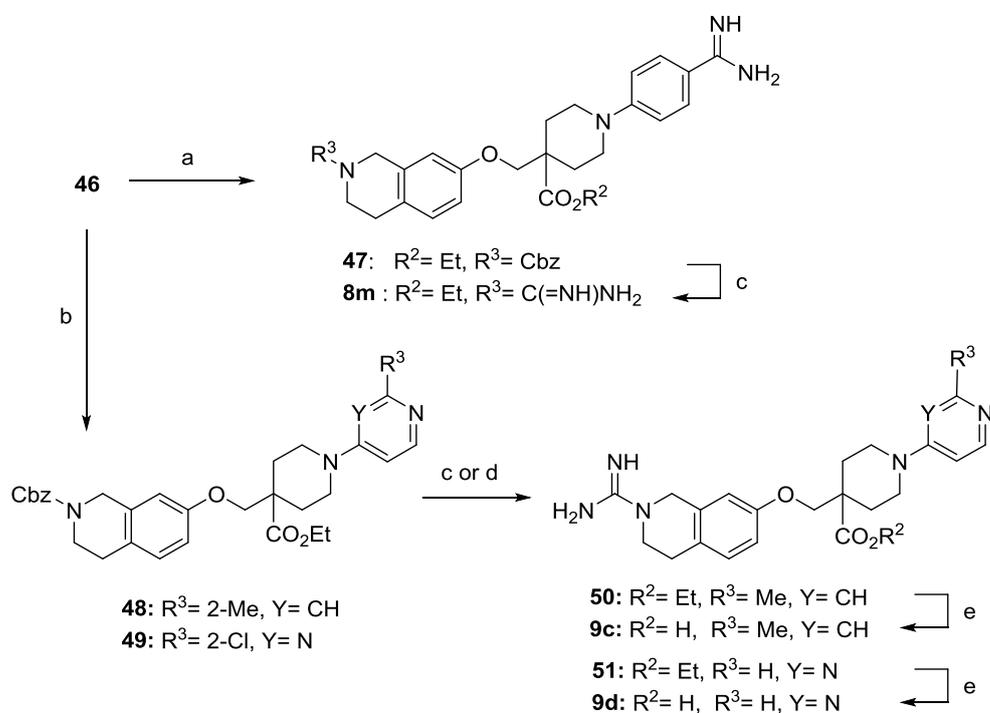


Reagents and conditions: (a) CbzCl, NaOH aq., THF, rt (86 %); (b) (i) ClCH_2SMe , NaH, DMF, $0\text{ }^\circ\text{C}$ -rt; (ii) SO_2Cl_2 , CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$ (85 % 2steps); (c) **42** or **43** (2 eq), LDA (2 eq), THF, $-70\text{ }^\circ\text{C}$ -rt (**44**: 92 %, **45**: 48 %); (d) (i) 30 % HCl- EtOH, $80\text{ }^\circ\text{C}$; (ii) 1*H*-pyrazole-1-carboxamide, $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$, DMF, rt (92 % 2steps); (e) c-HCl, reflux (91 %); (f) TFA, CHCl_3 , rt (99 %).

化合物 **8l** は、化合物 **44** の 30% 塩化水素-エタノールを用いた脱保護、続く 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine との縮合により合成した。化合物 **3** は化合物 **8l** を濃塩酸で加水分解することにより合成した。

化合物 **9c, 9d** は、Scheme 8 に示すルートで合成した。すなわち、化合物 **45** の脱保護体 **46** とアリアルハライドを塩基存在下 S_NAr 反応させることにより化合物 **48, 49** に誘導後、酸もしくは接触水素還元による脱 Cbz 化、続く 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine との縮合、塩酸加熱による加水分解により合成した。

Scheme 8. Synthesis of compounds **9c, 9d**



Reagents and conditions: (a) (i) 4-fluorobenzonitrile, K₂CO₃, DMSO, 120 °C; (ii) H₂S, Et₃N-Pyridine, rt; (iii) MeI, acetone, reflux; (iv) NH₄OAc, EtOH, 75 °C (36 % 4steps); (b) from **46** to **48**: 4-chloro-2-methylpyridine²⁶⁾, Et₃N, EtOH, 150 °C (88 %); from **46** to **49**: 2,4-dichloropyrimidine, Et₃N, EtOH, 150 °C (47 %); (c) from **48** to **50**: 25 % HBr-AcOH, rt, then 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine, ⁱPr₂NEt, DMF, rt (90 %); (d) from **49** to **51**: 7.5 % Pd/C, HCO₂NH₄, reflux, then 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine, ⁱPr₂NEt, DMF, rt; (e) c-HCl, reflux (**9c**: 89 %, **9d**: 21 % 2steps).

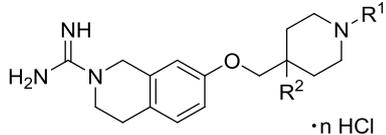
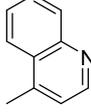
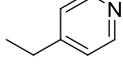
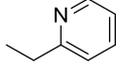
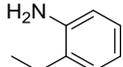
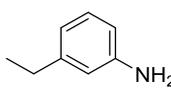
化合物 **8m** は、まず化合物 **46** を 4-フルオロベンゾニトリルと反応させ、その後 2 つのアミジノ基を構築する方法で合成した (Scheme 8)。化合物 **46** を塩基存在下で 4-フルオロベンゾニトリルと反応させた後、シアノ基をピリジーン-トリエチルアミンの混合溶媒中 H₂S ガスを作用させることでチオアミドへ変換し、次に過剰量のヨウ化メチルと反応させチオメチル体へ、最後に酢酸アンモニウムとの置換反応でアミジノ体 **47** へ誘導した。

得られた **47** から、接触水素還元による脱 Cbz 化, 続いて 1*H*-pyrazole-1- carboxamide と縮合させることにより化合物 **8m** を合成した。

第3節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の初期構造変換

第1節でデザインした化合物は, Table 4-1 に示すファクターXa 阻害活性を示した。その内, ピリジン環を導入した化合物 **8d** が, 化合物 **1** (DX-9065a) と同等の良好なファクターXa 阻害活性 (IC₅₀=0.056 μM) を示した。一方, 化合物 **8e–8i** では, 化合物 **8d** と比較し 10 倍以上活性が弱かった。

Table 4-1. Enzyme inhibitory activity for FXa and FIIa and Acute Toxicity in Mice

Compd ^{a)}	R ¹	R ²				FIIa IC ₅₀ (μM) ^{b)}	mortality ^{d)} (10 mg/kg <i>iv</i>)
			FXa IC ₅₀ (μM) ^{b)}				
8a	H	H	3.34	>10	NT ^{c)}		
8b		H	4.06	>10	NT ^{c)}		
8c		H	0.51	>10	3/3 ^{d)}		
8d		H	0.056	>10	3/3		
8e		H	0.42	>10	3/3		
8f		H	0.80	>10	3/3		
8g		H	1.35	>10	3/3		
8h		H	3.25	>10	NT ^{c)}		
8i		H	4.06	>10	NT ^{c)}		

a) Compounds **8a**, **8c–8e**: 2HCl salt. Compounds **8f–8i**: 3HCl salt. Compounds **8b**: HCl salt.

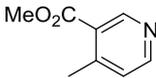
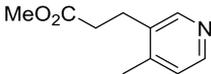
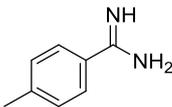
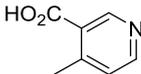
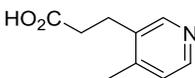
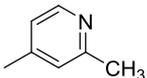
b) IC₅₀ values are the mean of three independent determinations. c) Not tested.

d) Number of death / Number of animals tested.

化合物**8d**のピリジン環は、他の置換基と比較し、ファクターXaのGlu97およびPhe174, Trp215, Tyr99との相互作用獲得に十分な塩基性を有し、かつ適切な位置に配置されたため高活性を示したと推察した。

この化合物**8d**について、*in vivo*でのファクターXa阻害評価を行う目的で、10 mg/kgをマウスに静脈内投与した。しかし、第1章のベンズイミダゾール型化合物と同様の致死的急性毒性が認められた。そのため、前章で得られた知見を適用するべく、カルボキシル基導入を計画し、中間部位及びS4ユニットにカルボキシル基を導入した化合物**3**, **9a**, **9b**を合成した。

Table 4-2. Enzyme inhibitory activity for FXa and FIIa and Acute Toxicity in Mice

Compd ^{a)}	R ¹	R ²	FXa IC ₅₀ (μM) ^{b)}	FIIa IC ₅₀ (μM) ^{b)}	mortality ^{d)} (10 mg/kg <i>iv</i>)
8j		H	0.27	>10	3/3
8k		H	0.19	>10	3/3
8l		CO ₂ Et	0.074	>10	3/3
8m		CO ₂ Et	0.40	>10	NT ^{c)}
9a		H	1.98	>10	0/3
9b		H	0.16	>10	0/3
3		CO ₂ H	0.026	>10	0/3
9c		CO ₂ H	0.23	>10	0/3
9d		CO ₂ H	0.12	>10	0/3

a) Compounds **3**, **8j-8l**: 2HCl salt. Compounds **8m**: 3HCl salt.

b) IC₅₀ values are the mean of three independent determinations. c) Not tested.

d) Number of death / Number of animals tested.

S4 ユニットにカルボキシル基を導入した化合物 **9a**, **9b** では、ファクターXa 阻害活性は低下したが、中間部位に導入した化合物 **3** では元化合物 **8d** と比較し、同等以上 (IC₅₀ = 0.026 μM) の阻害活性を示した (Table 4-2)。化合物 **3** のカルボキシル基は溶媒方向を向いており、化合物とファクターXa との結合に無影響であったためと考察した。

急性毒性の回避を評価すべく、カルボキシル基を有する化合物 **3**, **9a**, **9b** と比較対象としてそのエステル体 (化合物 **8l**, **8j**, **8k**) をマウスに静脈内投与 (10 mg.kg *i.v.*) した。その結果、エステル体ではいずれの化合物においても急性毒性が観察されたが、カルボキシル基を有する化合物では全く観察されなかった (Table 4-2)。前章の結果も含め、カルボキシル基の導入が急性毒性回避に有効であることを再度確認した。

急性毒性がなく、かつ強いファクターXa 阻害活性を有する化合物 **3** を基に、S4 ユニットの最適化検討を継続した。また、化合物 **3** とファクターXa の複合体モデルを Schrödinger 社の Glide を用いて作成し^{17b)}、考察も併せて実施した (Figure 12)。

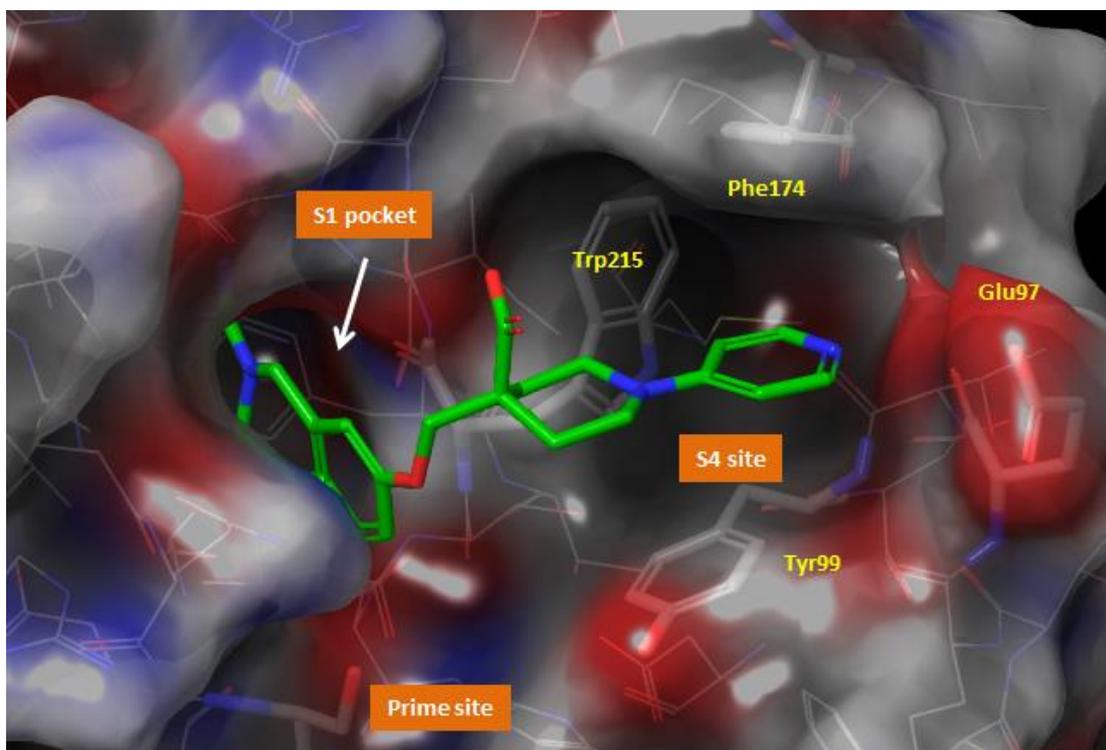
複合体モデルより、ピリジン環窒素原子と Glu97 との距離は 4.4 Å とやや長く (DX-9065a では 2.9 Å である)、当初想定していた酸塩基相互作用は弱い可能性が示唆された。一方、S4 サイトに複数ある芳香環 Phe174, Trp215, Tyr99 とのカチオン-π 相互作用、π-π 相互作用が獲得できている²⁷⁾と推察され、それら新たな相互作用獲得により、弱塩基性基であるピリジン環 (pK_a=8.7) でもアセトアミジノ基 (pK_a=11.2) と同等以上の活性が得られたものと考えた。更に、化合物 **3** の S4 ユニットは rigid な構造であるため、エントロピックなロスも小さく、前述の相互作用を最大化していると考察した。

Table 4-2 に示した SAR 結果は、複合体モデルより合理的に説明できた。

- ・《塩基性とその位置》 S4 ユニットの塩基性はピリジン環 (化合物 **3**) より弱塩基性でも、強塩基性でも活性低下を引き起こした。すなわち、ピリジン環より弱塩基性であるピリミジン環を導入した化合物 **9d** では、その塩基性低下により、形成されるカチオンが不安定になり、カチオン-π 相互作用や酸塩基相互作用が減弱するためと考えた。一方、ピリジン環より強塩基性であるアミジノ置換ベンゼンを導入した化合物 **8m** では、形成されるカチオンが S4 サイトの芳香族アミノ酸残基とやや離れたため、もしくは Glu97 に近くなり過ぎたため、カチオン-π、及び酸塩基の各相互作用が減弱したことによると考察できた。
- ・《コンフォメーション・芳香環の位置》 複合体モデルでは、ピペリジン環とピリジン環はほぼ同一平面上に位置していた。このモデルから、ピリジン環 3 位に置換基を導入し、2 つの環の成す 2 面角に影響を与えた化合物 **9a**, **9b** に活性低下が認められたことは妥当であった。また、ピリジン環 2 位へ置換基導入した化合物 **9c** にも活性低下が認められ、ピリジン環のいずれの位置への置換基導入も困難であることが分かった。

以上の SAR 結果と複合体モデルを用いた考察から，S4 ユニットに必要な要素は，1) 安定なカチオンを形成する適度な塩基性と，2) 芳香族性アミノ酸と相互作用しうる適切な位置への塩基性基，芳香環の配置であることが明らかとなり，結果として S4 ユニットは 4-アミノピリジン構造が最適であるとの判断に至った。

Figure 12. 複合体モデル Factor Xa + Compound **3**^{17b)}



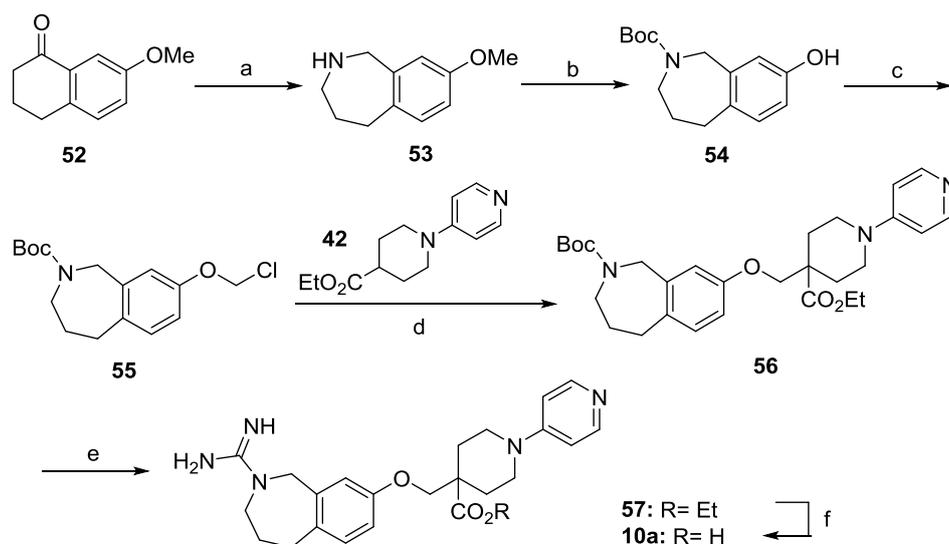
第3章 JTV-803 の創製^{19), 20)}

第1節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の合成2

化合物 **3** を基に各部位の最適化を行うべく、S1 ユニット及び中間部位の変換体を合成した。

S1 ユニット変換体である化合物 **10a** は Scheme 9 に示すルートで合成した。フェノール体 **54** より、類縁のテトラヒドロイソキノリン型化合物 **3** と同様の Scheme 7 に示した方法を適用し合成した。出発原料であるフェノール体 **54** は、置換テトラロン **52** より酸性条件下アジ化ナトリウムを作用させることでシュミット転位体のラクタム体へ変換後、リチウムアルミニウムヒドライド (LiAlH_4) で還元、Boc 化して調製した。

Scheme 9. Synthesis of compound **10a**

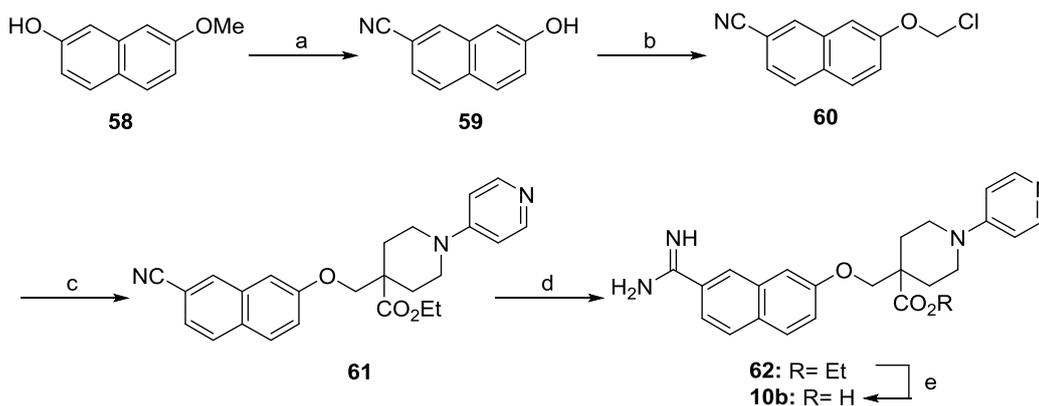


Reagents and conditions: (a) (i) NaN_3 , c-HCl, 0 °C-rt; (ii) LiAlH_4 , THF-dioxane, reflux (81 % 2steps); (b) (i) 48 % HBr aq., reflux; (ii) Boc_2O , NaOH, dioxane- H_2O , rt (75 % 2steps); (c) (i) ClCH_2SMe , NaH, DMF, 0 °C-rt; (ii) SO_2Cl_2 , CH_2Cl_2 , 0 °C (85 % 2steps); (d) **42** (2 eq), LDA (2 eq), THF, -70 °C-rt (54 %); (e) (i) TFA, CHCl_3 , rt; (ii) 1*H*-pyrazole-1-carboxamide, $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$, DMF, rt (78 % 2steps); (f) c-HCl, reflux (97 %)

また、化合物 **10b** は Scheme 10 に示すルートで合成した。まず、化合物 **58** をトリフルレート体へ変換し、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ を触媒に $\text{Zn}(\text{CN})_2$ と反応させた後、塩化アルミニウムで脱メチル化することでフェノール体 **59** へ誘導した。得られた **59** より、化合物 **3** と同様の Scheme 7 に示した方法を適用し、化合物 **60** を経て化合物 **42** のエノラートアニオンとカ

カップリングさせ化合物 **61** を得た。化合物 **10b** は、得られた **61** よりベンズイミダゾール型化合物と同様の方法 (Scheme 2,3) を適用してシアノ基をアミノ基に変換後、酸加水分解して合成した。

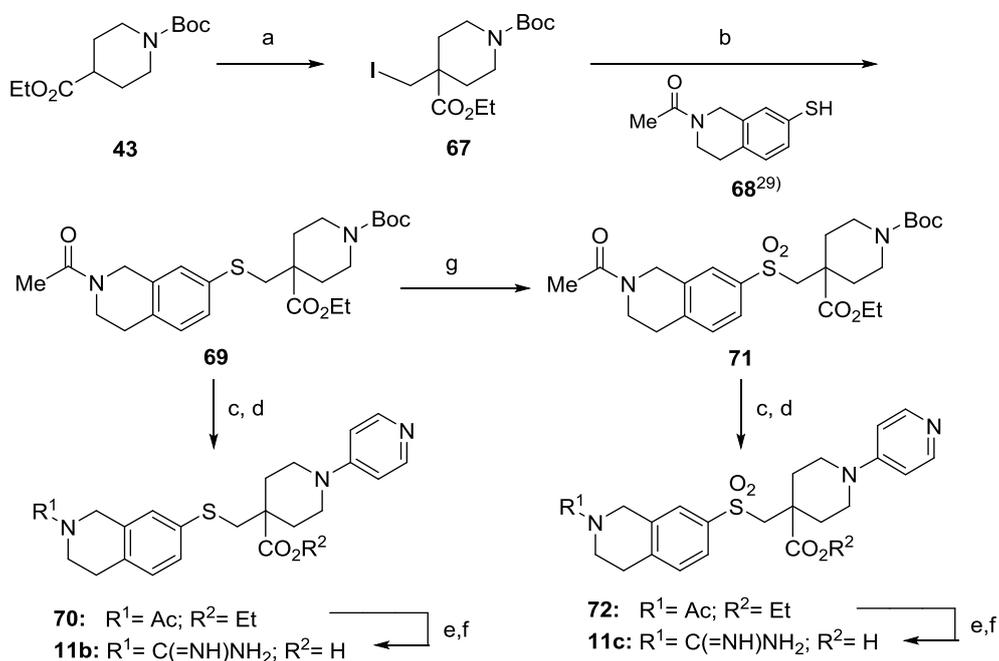
Scheme 10. Synthesis of compound **10b**



Reagents and conditions: (a) (i) TiF_2O , Et_3N , CHCl_3 , 0°C ; (ii) $\text{Zn}(\text{CN})_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, DMF , 80°C ; (iii) AlCl_3 , chlorobenzene, reflux (42 % 3steps); (b) (i) ClCH_2SMe , NaH , DMF , 0°C -rt; (ii) SO_2Cl_2 , CH_2Cl_2 , 0°C (39 % 2steps); (c) **42** (2 eq), LDA (2 eq), THF , -70°C -rt (72 %); (d) (i) H_2S , Pyr , Et_3N , rt; (ii) HCl - EtOH then MeI , acetone- MeOH , reflux; (iii) NH_4OAc , EtOH , 75°C (69 % 3steps); (e) c-HCl , reflux (51 %).

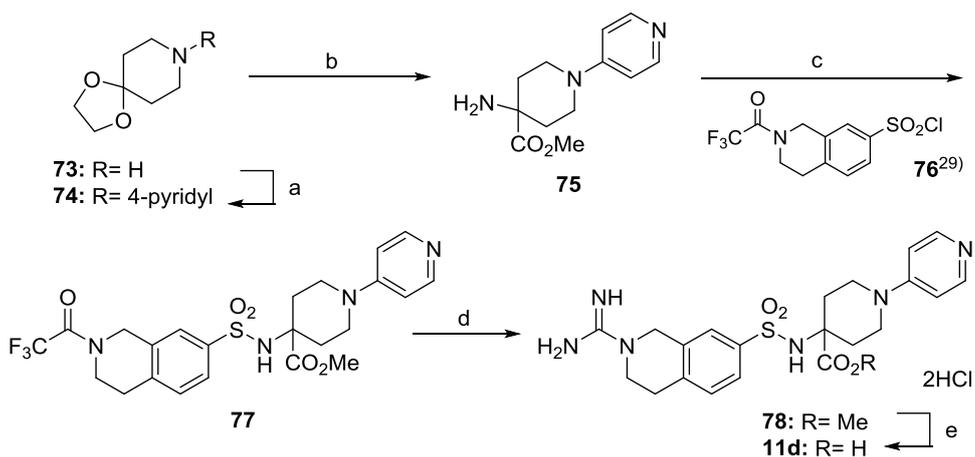
化合物 **3** の中間部分を 1 原子増炭した化合物 **11a** は、Scheme 11 に示すルートで合成した。前述の化合物 **40** と 2-ヨードエタノールとの光延反応によりヨード体 **63** へ誘導後、テトラヒドロイソキノリン型化合物 **9c**, **9d** と同様の Scheme 7, 8 に示した方法を適用した。すなわち、得られたヨード体 **63** を化合物 **43** のエノラートアニオンと反応させ化合物 **64** へ変換後、 TFA による脱 Boc 化、続く 4-クロロピリジンとの縮合により化合物 **65** を得た。化合物 **11a** は、得られた **65** の Cbz 基を HBr - AcOH で除去し、その後 1H-pyrazole-1-carboxamidine と縮合させることにより合成した。

Scheme 12. Synthesis of compounds **11b**, **11c**



Reagents and conditions: (a) LDA, CH₂I₂, THF, -78 °C-rt (79 %); (b) K₂CO₃, DMF, 100 °C (88 %); (c) TFA, rt; (d) 4-chloropyridine hydrochloride, Et₃N, EtOH, 150 °C (**70**: 30 % 2steps, **72**: 62 % 2steps); (e) c-HCl, 90 °C; (f) (i) 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride, NaOH, acetone, rt; (ii) HCl aq. (**11b**: 67 % 3steps, **11c**: 55 % 3steps); (g) *m*-CPBA, CH₂Cl₂, rt (75 %).

Scheme 13. Synthesis of compound **11d**



Reagents and conditions: (a) (i) 4-chloropyridine hydrochloride, Et₃N, EtOH, 150 °C; (ii) c-HCl, reflux (52 % 2steps); (b) (i) NH₄OAc, NaCN, MeOH, rt; (ii) HCl, MeOH, rt, then H₂O (57 % 2steps); (c) pyridine, CHCl₃, rt (74 %); (d) (i) NaOH, MeOH; (ii) 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride, ⁱPr₂NEt, DMF, rt (88 %, 2steps); (e) HCl aq., reflux (90 %).

第2節 テトラヒドロイソキノリン型化合物の最適化検討

化合物 **3** をベースに各部位の最適化検討を実施した。まず、S1 ユニットについて検討した (Table 5)。テトラヒドロイソキノリンを7員環にサイズアップしたベンズアゼピン体 (化合物 **10a**) やナフタレン環に変換した化合物 **10b** では活性低下が認められた。特に、活性消失が認められた化合物 **10a** では、サイズが大きくなり、S1 ポケットに収まらないためと考察した。S1 ユニットは、化合物 **3** が有するテトラヒドロイソキノリン構造が最適と結論づけた。

Table 5. Enzyme Inhibitory Activity for FXa and FIIa (thrombin)

Compd ^{a)}	R	FXa	FIIa
		IC ₅₀ (μM) ^{b)}	IC ₅₀ (μM) ^{b)}
3		0.026	> 10
10a		>10	> 10
10b		0.51	> 10

a) Compounds **3**, **10a**, **10b**: 2HCl salt.

b) IC₅₀ values are the mean of three independent determinations.

中間部分では、長さ、種類の異なる化合物 **11a** - **11d** を合成したが、化合物 **3** の -OCH₂- 構造が最適であった (Table 6)。

Table 6. Enzyme Inhibitory Activity for FXa and FIIa (thrombin)

Compd ^{a)}	R	FXa	FIIa
		IC ₅₀ (μM) ^{b)}	IC ₅₀ (μM) ^{b)}
3	-OCH ₂ -	0.026	> 10
11a	-OCH ₂ CH ₂ -	0.23	>10
11b	-SCH ₂ -	0.39	>10
11c	-SO ₂ CH ₂ -	5.44	>10
11d	-SO ₂ NH-	2.90	> 10

a) Compounds **3** and **11a** - **11d**: 2HCl salt.

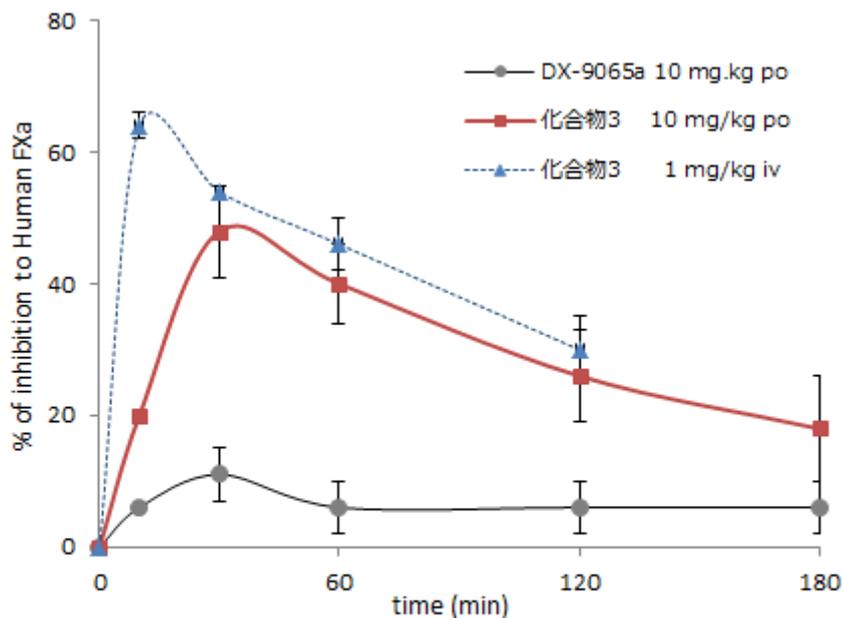
b) IC₅₀ values are the mean of three independent determinations.

以上のことから、化合物**3**を代表化合物として選択し、経口吸収性の評価を実施した。化合物**3**と比較対象の化合物**1** (DX-9065a) を各々マウスに経口投与し、経時的なファクターXa 阻害活性を評価した。その結果、化合物**3**の *ex vivo* ファクターXa 阻害活性に、化合物**1** (DX-9065a) と比較し大幅な改善が認められた (Figure 13)。化合物**3**は化合物**1** (DX-9065a) に比べ、S4 ユニットでの塩基性低下、加えてS1 ユニットおよび中間部位での効率的な相互作用獲得により分子をダウンサイズできたためと考察した。

また、化合物**3**は、カニクイザルでもマウスと同程度の吸収性が確認でき²⁸⁾、本化合物は種差のない良好な経口吸収性を有することが分かった (Figure 14)。さらに、カニクイザルへの経口投与では、投与後8時間でもファクターXa 阻害活性を維持しており、良好な作用持続性も有していた。

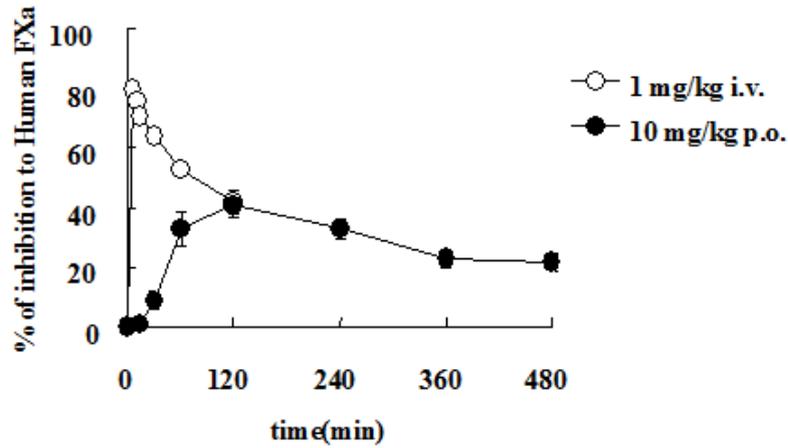
この化合物**3**は強いファクターXa 阻害活性と経口吸収性の両方の性質を有することが明らかとなり、新規なファクターXa 経口阻害剤になりうると期待できた。

Figure 13. *ex vivo* assay of Compound **3** in mice



Percent of inhibition of human FXa after intravenous and oral administration of DX-9065a or compound **3** in mice. Data represent mean \pm SD (n=3)

Figure 14. *ex vivo* assay of Compound **3** in cynomolgus monkey²⁸⁾



Percent of inhibition of human FXa after intravenous and oral administration of compound **3** in cynomolgus monkey. Data represent mean \pm SD (n=6)

第3節 化合物**3** (JTV-803) の開発形態検討及び薬理評価

第2節で良好な活性、経口吸収性を示した化合物**3**の開発形態検討を実施した。結晶形、また水和の状態が変わると、経口吸収性が変化し、そのため薬効の減弱や予期しない毒性発現等が懸念される。つまり開発形態に必要な要件は、安定に製造可能なことと安定に保存可能なことである。化合物**3**は、2塩基1酸の化合物であるため、分子全体としては塩基性を示す。塩基性化合物は空气中炭酸ガスを吸収し、炭酸塩を形成するため安定に保存することが困難である。これら理由から、1酸性塩を検討することとした。

まず、1 塩酸塩の取得を検討した (Table 8)。2 塩酸塩を原料に用い、中和滴定の要領で水酸化ナトリウムを加えていき中和点を確認した後、冷却し、結晶を取得した。これら結晶を、水及び有機溶媒 (EtOH) で洗浄後、乾燥した。通常の減圧乾燥 (5 mmHg) をしたところ、全ての結晶で常温常湿度下において吸湿性が認められた。再吸湿させ安定化を試みたが、洗浄溶媒により異なる結晶パターンを示した。この現象は洗浄、乾燥により、水和水が一部脱離し、その後異なる数の水和水を有する結晶へと再吸湿するためと考察した。乾燥条件を検討したところ、40 °C の送風乾燥では常温常湿度下で吸湿性のない結晶が得られた。しかしながら、加湿条件で異なる結晶へと変化し、すなわち湿度変化により水和水数が変化することが分かった。これらの結果から 1 塩酸塩は、水和水のコントロールが難しく、安定した製造、保存が困難であると考察した。

Table 8. 造塩検討 -mono hydrochloride-

結晶化	1) 2塩酸塩水溶液にNaOH aq. を添加 2) 中和点を確認後, 3 mol%の塩酸添加 3) 冷却, 晶析				
洗浄	cold H ₂ O				EtOH
乾燥	条件	5 mmHg 12 hr	40 °C 送風乾燥	5 mmHg 12 hr	
	吸湿性 (重量変化)	有	無	有	
再吸湿	条件	室温開放 3d	飽和水蒸気 2d	室温開放 3d	飽和水蒸気 2d
	吸湿性 (重量変化)	無	無	無	無
	EA	14 % (4 H ₂ O)	14 % (4 H ₂ O)	14 % (4 H ₂ O)	18 % (5 H ₂ O)
	XRD	パターン3	パターン3	パターン1	パターン4
					パターン2

次に、1 メシル酸塩の取得を検討した。化合物 3 フリー体の水懸濁液に、小過剰のメシル酸を加え溶解した後、貧溶媒 (各種有機溶媒 ; アルコール, アセトン, テトラヒドロフラン) を加え晶析させ、取得した。通常の減圧乾燥 (5 mmHg) 条件下では、1 塩酸塩と同様の吸湿性が確認されたものの、再吸湿したところ塩酸塩の場合と異なり、全て 3 つの水和水を有し、かつ同一の粉末 X 線パターンを示す結晶を得た。また、低減圧度乾燥 (100 mmHg) では吸湿性のない結晶が得られ、加湿条件でも結晶パターンの変化は認められな

かった。1メシル酸塩は、水和水のコントロールが可能であり、安定した製造性、保存性を有することが分かった。これらの結果から、1メシル酸塩は開発形態として適切であると考えられ、1メシル酸3水和物を化合物**3** (JTV-803) の開発形態として選択した。

Table 9. 造塩検討 -mono mesylate-

結晶化	1) フリー体水懸濁液に1.1 eqのメシル酸添加 2) 溶解後, 有機溶媒を添加 3) 冷却, 晶析					
洗浄	H ₂ O-acetone (1:3)		H ₂ O-EtOH (1:12)		H ₂ O-THF (1:7)	
乾燥	条件	5 mmHg 12 hr	100 mmHg 12h	5 mmHg 12 hr	100 mmHg 12h	100 mmHg 12h
	吸湿性 (重量変化)	有	無	有	無	無
再吸湿	条件	飽和水蒸気 2d	飽和水蒸気 2d	飽和水蒸気 2d	飽和水蒸気 2d	飽和水蒸気 2d
	吸湿性 (重量変化)	無	無	無	無	無
	EA	10 % (3 H ₂ O)				
	XRD	パターンA	パターンA	パターンA	パターンA	パターンA

化合物**3** (JTV-803) は、Table 10 に示すようにファクターXa に対し高い選択性を示した。トロンビンに対する極めて高い選択性は、S4 サイトでの相互作用の有無によるものと考えた。すなわち、ファクターXa では Glu97 と化合物**3** (JTV-803) のピリジン環が酸塩基相互作用を獲得しているのに対し、トロンビンでは同位置が Arg97 となっておりイオン反発が生じ、相互作用を獲得できないためと考察した。また、トリプシンに対する選択性が化合物**1** (DX-9065a) よりも優れていた原因は、S1 ポケットの空間サイズによるものと考えた³⁰⁾。すなわち、S1 ポケット奥にある残基がファクターXa は Ala190 であるのに対し、トリプシンでは Ser190 となっており、トリプシンの方が S1 ポケット奥の空間が小さい³⁰⁾。(190番残基：化合物**3** (JTV-803) の S1 ユニットのテトラヒドロピペリジン辺りに存在) そのため、トリプシンに対しては、S1 ユニットとして平面構造を用いた化合物**1** (DX-9065a) の方が、より sp³ 性の高い構造を用いた化合物**3** (JTV-803) よりも適切であったためと考察した。

Table 10. Selectivity of Compound **3** for Serine Protease Enzyme inhibitory activity (K_i value, μM) against Factor Xa, Thrombin, Plasmin and Trypsin

Compd	K_i (μM) ^a			
	Factor Xa	Thrombin	Plasmin	Trypsin
3 (JTV-803)	0.019	>100	78.2	13.6
1 (DX9065a)	0.041	>100	23.0	0.62

a) The K_i value for each enzyme were determined from Dixon's plot constructed at two concentrations of substrate. Data represent the mean; $n = 6$.

化合物 **3** (JTV-803) の動物モデルを用いた薬効評価を実施した。静脈血栓塞栓症モデル³¹⁾では、化合物 **3** (JTV-803) の静脈内持続注入により用量依存的な血栓重量の低下が認められた (Figure 15)。この有効性は、0.3 mg/kg/hr 以上の用量で有意な効果であった。

また、中大脳動脈閉塞モデル³²⁾では、0.1 mg/kg/hr の用量から有意な脳梗塞層の減少が確認された (Figure 16)。サルを用いた AV シヤントモデルでは、経口投与においても 10 mg/kg の用量から有意な効果が確認した³³⁾。

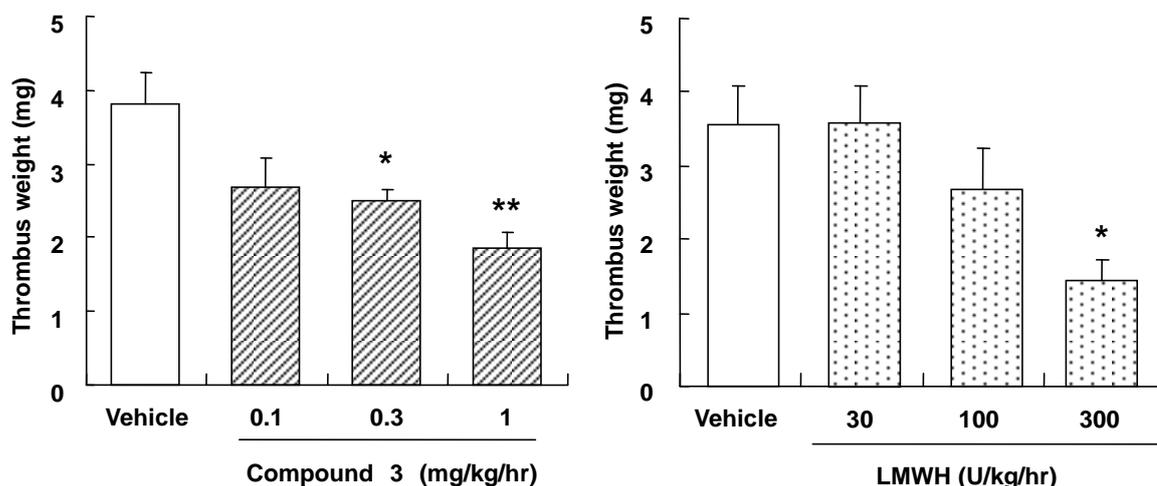


Figure 15. Effect of compound **3** and LMWH on venous thrombosis in rats³¹⁾. Data represent the mean \pm SEM: (**) $P < 0.01$, (*) $P < 0.05$, Dunnett test ($n = 5-7$)

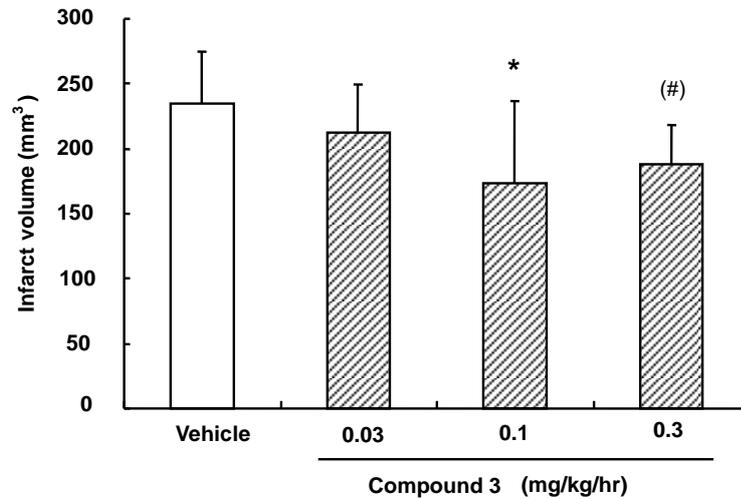


Figure 16. Effect of compound **3** on the infarct volume induced by middle cerebral artery occlusion with PIT methods in rat³².

Data represent the mean \pm SEM: (*) $P < 0.05$, (#) $P < 0.1$, Dunnett's test ($n = 8-10$)

これらの結果から、化合物 **3** (JTV-803) は、静脈内投与および経口投与の両方で抗凝固作用³⁴)を示す選択的ファクターXa 阻害剤あることが明らかとなった。また同時に、化合物 **3** (JTV-803) は、血栓症の標準薬であるヘパリン及びワーファリンの欠点を克服した新たな経口抗凝固薬になり得ると期待できた。

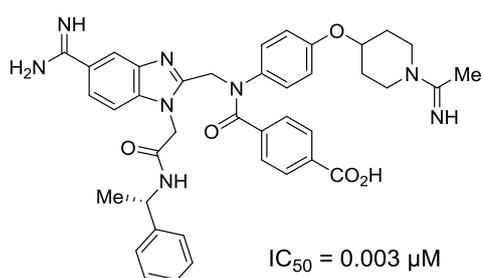
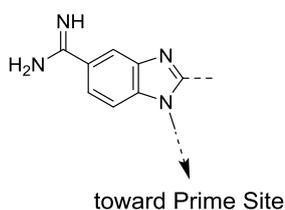
以上の結果、高次の薬効評価での有効性³⁴)、および重篤な毒性も認められなかったことから、化合物 **3** (JTV-803) は臨床試験実施に値する化合物であると結論づけた。

結論

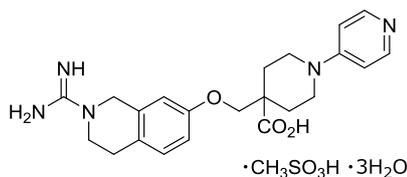
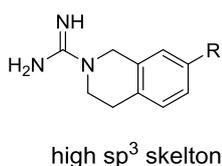
著者はファクターXaの経口阻害剤の創製を目的に本研究を行い、下記の成果を得た。

1. 複合体モデリングスタディを利用し、効率的に化合物デザインを行った。すなわち、
 - 1) 新たな相互作用獲得が期待されたプライムサイトへ置換基を導入したベンズイミダゾール型化合物、
 - 2) S1 ユニットおよび中間部位をより3次元的な構造へ変換し、疎水相互作用増強を志向したテトラヒドロイソキノリン型化合物、を設計した。その結果、先行化合物 (DX-9065a) と比較し、優れた阻害活性を有する2種の新規ファクターXa阻害剤創出に成功した。
2. 1で見出した2種の新規ケモタイプに対しS4ユニットの最適化検討を実施した。その結果、アミジン構造と比較しドラッグライクネスの観点で勝る構造(ピリジン環)への変換に成功した。また、弱塩基性化(=弱イオン性化)により、経口吸収性が大幅に改善することを明らかとし、経口吸収性を有する新規ファクターXa阻害剤(JTV-803)の創出に成功した。
3. JTV-803はファクターXaに対し、極めて高い選択性を示すとともに、病態動物を用いた *in vivo* 試験において優れた抗凝固作用を示すことを明らかとした。
4. 臨床試験を見据え、JTV-803について製造検討を行い、大量かつ安定的な製造に耐え、かつ安定に保存可能な最終形態として JTV-803 · 1MsOH · 3H₂O を見出した。

Benzimidazole Type



Tetrahydroisoquinoline Type



JTV-803 IC₅₀ = 0.019 μM

Potent, selective and orally available Factor Xa inhibitor

主論文

Hiroshi Ueno, Susumu Katoh, Katsuyuki Yokota, Jun-ichi Hoshi, Mikio Hayashi, Itsuo Uchida, Kazuo Aisaka, Yasunori Hase, and Hidetsura Cho. Structure-activity relationships of potent and selective factor Xa inhibitors: benzimidazole derivatives with the side chain oriented to the prime site of factor Xa. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4281-4286.

Hiroshi Ueno, Katsuyuki Yokota, Jun-ichi Hoshi, Katsutaka Yasue, Mikio Hayashi, Itsuo Uchida, Kazuo Aisaka, Yasunori Hase, Susumu Katoh, and Hidetsura Cho. Discovery of novel tetrahydro isoquinoline derivatives as potent and selective factor Xa inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 185-189.

Hiroshi Ueno, Katsuyuki Yokota, Jun-ichi Hoshi, Katsutaka Yasue, Mikio Hayashi, Yasunori Hase, Itsuo Uchida, Kazuo Aisaka, Susumu Katoh, and Hidetsura Cho. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Novel Selective Factor Xa Inhibitors with a Tetrahydroisoquinoline Ring. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3586-3604.

謝辞

本稿を纏めるに際し、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました九州大学大学院薬学研究院 大嶋孝志 教授に心より厚く御礼申し上げます。

本研究を遂行する機会を与えて下さいました日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所 坪島正巳 前所長、同化学研究所 内田逸郎 前所長に深く感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、終始多大なる御指導、御鞭撻を賜りました日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所生産技術研究所 長秀連 前所長、同化学研究所 加藤晋 前副所長に謹んで感謝いたします。

本研究の遂行に際し、終始多大なる御協力、御助言を頂きました日本たばこ産業株式会社生産技術研究所 横田克行 研究員、星淳一 元研究員、同化学研究所 安江克尚 研究員、長谷康德 研究員に深く感謝いたします。

本研究の遂行に際し、薬理試験を担当された日本たばこ産業株式会社生物研究所 相坂一雄 前副所長、浜田 淳 前グループリーダー、林三樹夫 副所長、粉末 X 線データの測定をして頂きました同生産技術研究所 青戸剛彦 研究員、ならびに本研究にご協力頂きました全ての方々に深く感謝いたします。

本稿を纏める機会を与えて下さいました日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所 大川滋紀 所長、同化学研究所 橋本宏正 所長、同化学研究所 塩崎真 副所長、宮崎将 副所長に深く感謝いたします。

最後に著者の家族に対し感謝いたします。

実験の部

融点は (mp) は全て未補正であり, 柳本微量融点測定器 (HK-10D) を用いて測定した。核磁気共鳴 (^1H NMR) スペクトルは JEOL JNMA 300 (300 MHz) を用い, テトラメチルシランを内部標準物質として測定した。質量分析 (MS) は, Finnigan TSQ-700 を用い FAB 法で測定した。赤外吸収スペクトルは, Perkin Elmer FT 1650 を用いて測定した。HPLC は 島津 LC-6A を用いて測定し, 薄層シリカゲルクロマトグラフィーは, Merck シリカゲルプレート (60F-254) を用いた。カラムクロマトグラフィーには Merck シリカゲル (70-230 mesh) を使用した。

第 1 章の実験

Scheme 1 の化合物

***N*-(2-Amino-4-cyanophenyl)glycine *tert*-butyl ester (12)**

4-Chloro-3-nitrobenzotrile (33.87 g, 0.19 mol) と glycine *tert*-butyl ester hydrochloride (55.98 g, 0.33 mol) の EtOH (400 mL) 溶液に, Et_3N (77.6 mL, 0.56 mol) を加え, 室温で 15 時間, 50°C で 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去して得られた残渣に酢酸エチルを加え, 10 %クエン酸水溶液及び飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥, 溶媒を減圧下留去して得られた固体をろ取, IPE で洗浄し, *N*-(4-cyano-2-nitrophenyl)glycine *tert*-butyl ester (38.42 g, 74 %) を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.53 (9H, s), 4.03 (2H, d, $J = 5.0$ Hz), 6.75 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.64 (1H, dd, $J = 2.0, 8.9$ Hz), 8.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 8.81 (1H, brs).

N-(4-Cyano-2-nitrophenyl)glycine *tert*-butyl ester (17.34 g, 62.54 mmol) の THF (173 mL) 溶液に, 7.5 %パラジウム炭素 (1.73 g) を加え, 水素雰囲気下で 3 時間攪拌した。触媒をセライトでろ去後, 溶媒を減圧下留去して得られた固体をろ取, IPE で洗浄し, 化合物 **12** (8.32 g, 54 %) を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.51 (9H, s), 3.84 (2H, s), 6.45 (1H, m), 6.95 (1H, m), 7.15 (1H, m).

Ethyl 4-benzyloxyphenoxyacetate (13)

4-Benzyloxyphenol (18.34 g, 91.59 mmol) の THF (150 mL) 溶液に, 氷冷下で NaH (4.76 g of a 60 % dispersion in mineral oil, 0.12 mol) を加え, 15 分攪拌した。反応液に ethyl bromoacetate (14.2 mL, 0.13 mol) を滴下し, 室温で 16 時間攪拌した。5 % HCl を加え, *n*-hexane で抽出した。有機層を水洗, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥, 溶媒を減圧下留去して得られた固体をろ取, *n*-hexane で洗浄し, 化合物 **13** (21.78 g, 83 %) を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.29 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 4.26 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.56 (2H, s), 5.01 (2H, s), 6.84-6.92 (4H, m), 7.26-7.43 (5H, m).

4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyacetic acid (14)

化合物 **13** (21.78 g, 76.07 mmol)の THF (220 mL)溶液に、7.5 %パラジウム炭素 (3.2 g)を加え、水素雰囲気 (3 atm)下で7時間攪拌した。触媒をセライトでろ去後、溶媒を減圧下留去して得られた固体をろ取、IPE で洗浄し、ethyl 4-hydroxyphenoxyacetate (13.88 g, 93 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.19 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 4.14 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 4.61 (2H, s), 6.63-6.76 (4H, m), 8.95 (1H, s).

tert-Butyl 4-hydroxypiperidine-1-carboxylate (35.59 g, 0.18 mol), ethyl 4-hydroxyphenoxyacetate (25 g, 0.13 mol)及び PPh₃ (46.4 g, 0.18 mol)の THF (500 mL)溶液に、diethyl azodicarboxylate (27.8 mL, 0.18 mol)を氷冷下で滴下し、室温で16時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られたものをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、ethyl 4-(1-*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyacetate (23.71 g, 49 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.30 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.47 (9H, s), 1.73 (2H, m), 1.88 (2H, m), 3.30 (2H, m), 3.70 (2H, m), 4.27 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 4.33 (1H, m), 4.56 (2H, s), 6.85 (4H, s).

Ethyl 4-(1-*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyacetate (23.71 g, 62.49 mmol)の THF (34 mL)と EtOH (34 mL)の混合溶液に、氷冷下で 1N NaOH (68.7 mL, 68.7 mmol)水溶液を加え、室温で20分攪拌した。溶媒を減圧下留去して得られた残渣に、10%クエン酸水溶液を加え、AcOEt で抽出した。有機層を水洗、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、溶媒を減圧下留去し、化合物 **14** (19.09 g, 87 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.40 (9H, s), 1.49 (2H, m), 1.83 (2H, m), 3.15 (2H, m), 3.63 (2H, m), 4.40 (1H, m), 4.58 (2H, s), 6.83 (2H, d, *J* = 9.2 Hz), 6.91 (2H, d, *J* = 9.2 Hz).

***N*-{4-Cyano-2-[4-(1-*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyacetamido]phenyl}glycine *tert*-butyl ester (15)**

化合物 **14** (12.94 g, 36.82 mmol)と化合物 **12** (9.11 g, 36.84 mmol)の CHCl₃ (200 mL)溶液に、1-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) (11.3 g, 45.70 mmol)を加え、室温で3時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane:AcOEt = 2:3) で精製し、化合物 **15** (17.11 g, 80 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.47 (9H, s), 1.50 (9H, s), 1.71 (2H, m), 1.88 (2H, m), 3.31 (2H, m), 3.71 (2H, brd), 4.37 (1H, m), 4.66 (2H, s), 4.99 (1H, brt), 6.58 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 6.89 – 6.97 (1H, m), 7.45 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.57 (1H, s), 8.07 (1H, brs).

5-Cyano-2-[4[(1-*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]benzimidazole-1-carboxylic acid (16)

化合物 **15** (16.91 g, 29.12 mmol)の酢酸 (500 mL)溶液を、75 °C で12時間攪拌した。溶媒を減圧下留去して得られた残渣に、TFA (100 mL)を加え、室温で30分攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣に水と水酸化ナトリウム水溶液を加えた。析出した固体を

ろ取，水及び酢酸エチルで洗浄し，*N*-{4-Cyano-2-[4-(piperidin-4-yloxy)phenoxyacetamido]phenyl}glycine (8.64 g, 73 %)を得た。得られた化合物 (8.64 g, 21.26 mmol)の 1,4-dioxane (25 mL)溶液に，1N NaOH 水溶液 (23.4 mL, 23.4 mmol)と di-*tert*-butyldicarbonate (6.96 g, 31.98 mmol)を加え，室温で終夜攪拌した。反応液を Et₂O で 2 回洗浄後，反応液に 1N HCl (25 mL)を加え，酢酸エチルで抽出した。有機層を水洗，飽和食塩水で洗浄，無水硫酸ナトリウムで乾燥し，溶媒を減圧下留去し，化合物 **16** (9.51 g, 88 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.46 (9H, s), 1.64 (2H, m), 1.79 (2H, m), 3.25 (2H, m), 3.63 (2H, m), 4.28 (1H, m), 5.12 (2H, s), 5.33 (2H, s), 6.77 (2H, d, *J*=9.1 Hz), 6.88 (2H, d, *J*=9.1 Hz), 7.43 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 7.59 (1H, dd, *J*=1.2, 8.4 Hz), 8.10 (1H, d, *J*=1.2 Hz).

Scheme 2 の化合物

2-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-5-cyano-1-(*trans*-4-methoxycarbonylcyclohexylmethyl)benzimidazole (17k)

化合物 **16** (1.1 g, 2.17 mmol)と 1-hydroxybenzotriazole hydrate (350 mg, 2.28 mmol)の DMF (10 mL)溶液に，methyl *trans*-4-aminomethylcyclohexane-1-carboxylate hydrochloride (452 mg, 2.18 mmol)，1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC) (437 mg, 2.28 mmol)及び *N*-methylmorpholine (0.263 mL, 2.39 mmol)を加え，室温で 15 時間攪拌した。反応液に水を加え，酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液，10 % クエン酸水溶液，飽和食塩水で順に洗浄，無水硫酸ナトリウムで乾燥，溶媒を減圧下留去した。得られた残渣に IPE を加え，析出した結晶をろ取，減圧下乾燥して化合物 **17k** (1.37 g, 96 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 0.79 (2H, m), 1.27 (3H, m), 1.46 (9H, s), 1.55 (2H, m), 1.72 (2H, m), 1.85 (4H, m), 2.09 (1H, m), 3.02 (2H, m), 3.30 (2H, m), 3.64 (3H, s), 3.67 (2H, m), 4.35 (1H, m), 4.97 (2H, s), 5.37 (2H, s), 5.66 (1H, m), 6.87 (2H, d, *J*=9.0 Hz), 6.95 (2H, d, *J*=9.0 Hz), 7.48 (1H, m), 7.61 (1H, m), 8.14 (1H, s).

2-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(*trans*-4-methoxycarbonylcyclohexylmethyl)benzimidazole-5-carboxamide (18k)

化合物 **17k** (1.1 g, 1.67 mmol)の pyridine-Et₃N (5:1, 30mL)溶液に，氷冷下で H₂S ガスを 10 分バブリングした。室温で 12 時間攪拌後，溶媒を減圧下留去して得られた残渣に toluene を加え，析出した結晶をろ取した。得られた結晶に acetone (30 mL)と MeI (1.3 mL)を加え，1 時間加熱還流後，溶媒を減圧下留去した。得られた残渣 (1.819 g)の内 606 mg を EtOH (10 mL)に溶解し，酢酸アンモニウム (80 mg, 1.04 mmol)を加え，75 °C で 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 95:5–93:7)で精製し，化合物 **18k** (341 mg, 0.51 mmol, 91 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.91 (2H, m), 1.20-1.55 (14H, m), 1.70 (2H, m), 1.86 (4H, m), 2.18 (1H, m),

2.94 (2H, m), 3.15 (2H, m), 3.58 (3H, s), 3.62 (2H, m), 4.40 (1H, m), 5.10 (2H, s), 5.30 (2H, s), 6.91 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 6.99 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.70 (1H, m), 7.78 (1H, m), 8.21 (1H, brs), 8.35 (1H, brs), 8.79 (1H, brs), 9.26 (1H, brs).

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phoxymethyl]-1-(trans-4-methoxycarbonylcyclohexylcarbamoylmethyl)benzimidazole-5-carboxamide (5k)

化合物 **18k** (341 mg, 0.50 mmol) の CHCl_3 (5 mL) 溶液に TFA (5 mL) を加えた。室温で 10 分攪拌後、溶媒を減圧下留去して得られた残渣に HCl-MeOH を加えた。室温で 10 分攪拌後、溶媒を減圧下留去して得られた残渣を、MeOH (5 mL) に溶解し、 Et_3N (0.40 mL, 2.87 mmol) と ethyl acetimidate hydrochloride (171 mg, 1.38 mmol) を加えた。室温で 15 時間攪拌後、溶媒を減圧下留去して得られた残渣を、逆相 HPLC (0.05 % TFA aq.:MeOH = 6:4) で精製した。目的物を含むフラクションに塩酸を加え、減圧下濃縮した。得られた残渣に IPA を加え、析出固体をろ取、乾燥して化合物 **5k** (185 mg, 53 %) を 2 塩酸塩として得た。 ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 0.82-1.00 (2H, m), 1.10-1.40 (3H, m), 1.65-1.80 (4H, m), 1.80-1.93 (2H, m), 1.93-2.10 (2H, m), 2.10-2.30 (1H, m), 2.29 (3H, s), 2.90-3.00 (2H, m), 3.45-3.60 (2H, m), 3.58 (3H, s), 3.65-3.85 (2H, m), 4.57 (1H, m), 5.13 (2H, s), 5.33 (2H, s), 6.93-7.04 (4H, m), 7.73-7.83 (2H, m), 8.23 (1H, s), 8.50 (1H, m), 8.75 (1H, brs), 9.09 (2H, brs), 9.32 (3H, brs); MS (FAB) m/z 618 (M+1) $^+$.

Table 1 に示す化合物 **5a** – **5j** は、上述の化合物 **5k** と同様の方法 (Scheme2) で合成した。

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phoxymethyl]-1-ethyl-benzimidazole-5-carboxamide (5a) 化合物 **5a**; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 1.19 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 1.60-1.81 (2H, m), 1.91-2.08 (2H, m), 2.28 (3H, s), 3.43-3.62 (2H, m), 3.62-3.82 (2H, m), 4.35-4.65 (3H, m), 5.43 (2H, s), 6.95-7.08 (4H, m), 7.80 (1H, dd, $J = 1.8, 8.7$ Hz), 7.92 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.26 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 8.77 (1H, brs), 9.14 (2H, brs), 9.28-9.44 (3H, m); MS (FAB) m/z 435 (M+1) $^+$.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phoxymethyl]-1-(phenylcarbamoylmethyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5b)

化合物 **5b**; 工程 a) 82 %, 工程 b)-d) 76 %, 工程 e)-f) 42 %. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 1.60-1.79 (2H, m), 1.90-2.05 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.40-3.60 (2H, m), 3.63-3.80 (2H, m), 4.53 (1H, m), 5.34 (2H, s), 5.39 (2H, s), 6.86-6.98 (4H, m), 7.02-7.10 (1H, m), 7.31 (2H, t, $J = 8.1$ Hz), 7.56 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.72-7.56 (1H, m), 7.87 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.23 (1H, m), 8.64 (1H, brs), 8.94 (2H, brs), 9.15-9.35 (3H, m), 10.6 (1H, brs); MS (FAB) m/z 540 (M+1) $^+$.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phoxymethyl]-1-(3,4-dichlorophenylcarbamoylmethyl)benzimidazole-5-carboxamide (5c)

化合物 **5c**; 工程 a) 91 %, 工程 b)-d) 40 %, 工程 e)-f) 28 %. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 1.60-1.80 (2H, m), 1.90-2.10 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.40-3.60 (2H, m), 3.60-3.80 (2H, m), 4.53 (1H, m), 5.37

(2H, s), 5.39 (2H, s), 6.85-6.95 (4H, m), 7.48 (1H, dd, $J = 2.4, 9.0$ Hz), 7.58 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.74 (1H, dd, $J = 1.8, 8.7$ Hz), 7.88 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.93 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 8.23 (1H, s), 8.60-8.75 (1H, m), 9.15-9.40 (5H, m), 11.12 (1H, s); MS (FAB) m/z 608 (M+1)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(phenylmethylcarbamoylmethyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5d)

化合物 **5d**; 工程 a) 74 %, 工程 b)-d) 64 %, 工程 e)-f) 49 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.60-1.81 (2H, m), 1.92-2.09 (2H, m), 2.28 (3H, s), 3.40-3.80 (4H, m), 4.31 (2H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.57 (1H, m), 5.18-5.40 (4H, m), 6.91-7.00 (5H, m), 7.24-7.35 (5H, m), 7.72-7.90 (2H, m), 8.23 (1H, s), 8.68-9.40 (6H, m); MS (FAB) m/z 554 (M+1)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(3,4-dichlorophenylmethyl)-carbamoylmethyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5e)

化合物 **5e**; 工程 a) 64 %, 工程 b)-d) 94 %, 工程 e)-f) 37 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.62-1.80 (2H, m), 1.95-2.07 (2H, m), 2.28 (3H, s), 3.45-3.60 (2H, m), 3.65-3.80 (2H, m), 4.30 (2H, d, $J = 5.4$ Hz), 4.56 (1H, m), 5.20 (2H, s), 5.33 (2H, s), 6.88-7.00 (5H, m), 7.23-7.27 (1H, m), 7.52-7.56 (2H, m), 7.78-7.85 (2H, m), 8.22 (1H, s), 8.80-9.40 (6H, m); MS (FAB) m/z 622 (M+1)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(1-phenylethylcarbamoylmethyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5f)

化合物 **5f**; 工程 a) 93 %, 工程 b)-d) 82 %, 工程 e)-f) 48 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.36 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 1.60-1.80 (2H, m), 1.95-2.10 (2H, m), 2.28 (3H, s), 3.45-3.60 (2H, m), 3.65-3.85 (2H, m), 4.57 (1H, m), 4.85-4.95 (1H, m), 5.18 (2H, s), 5.31 (2H, s), 6.90-6.99 (4H, m), 7.20-7.40 (5H, m), 7.72-7.81 (2H, m), 8.21 (1H, s), 8.76 (1H, brs), 9.03-9.10 (3H, m), 9.32 (3H, brs); MS (FAB) m/z 568 (M+1)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(3-phenylpropylcarbamoylmethyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5g)

化合物 **5g**; 工程 a) 75 %, 工程 b)-d) 40 %, 工程 e)-f) 35 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.60-1.80 (4H, m), 1.90-2.06 (2H, m), 2.27 (3H, s), 2.43-2.60 (4H, m), 3.04-3.18 (2H, m), 3.42-3.90 (2H, m), 4.50-4.60 (1H, m), 5.11 (2H, s), 5.34 (2H, s), 6.90-7.02 (4H, m), 7.12-7.30 (5H, m), 7.70-7.82 (2H, m), 8.22 (1H, s), 8.51 (1H, m), 8.70 (1H, brs), 8.98 (2H, brs), 9.20-9.35 (3H, m); MS (FAB) m/z 582 (M+1)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(1-piperidinecarbonylmethyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5h)

化合物 **5h**; 工程 a) 73 %, 工程 b)-d) 89 %, 工程 e)-f) 20 %. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.35-1.80 (8H, m), 1.90-2.08 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.30-3.80 (8H, m), 4.56 (1H, m), 5.30 (2H, s), 5.40 (2H, s), 6.93-7.01 (4H, m), 7.69-7.80 (2H, m), 8.20 (1H, s), 8.66 (1H, brs), 8.95 (2H, brs), 9.20-9.30 (3H, m); MS (FAB) m/z 532 (M+1)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(cyclohexylcarbamoylmethyl)-

benzimidazole-5-carboxamide (5i)

化合物 **5i**; 工程 a) 89 %, 工程 b)-d) 47 %, 工程 e)-f) 59 %. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ 1.08-1.32 (6H, m), 1.45-1.80 (6H, m), 1.90-2.10 (2H, m), 2.28 (3H, s), 3.40-3.93 (5H, m), 4.56 (1H, m), 5.08 (2H, s), 5.33 (2H, s), 6.92-7.03 (4H, m), 7.72-7.80 (2H, m), 8.21 (1H, s), 8.42 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 8.75 (1H, brs), 9.10 (2H, brs), 9.32 (3H, brs); MS (FAB) m/z 546 ($M+1$)⁺.

2-[4-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-yloxy)phenoxyethyl]-1-(cyclohexylmethylcarbamoyl-methyl)-benzimidazole-5-carboxamide (5j)

化合物 **5j**; 工程 a) 93 %, 工程 b)-d) 70 %, 工程 e)-f) 41 %. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ 0.78-0.98 (2H, m), 1.02-1.27 (3H, m), 1.30-1.50 (1H, m), 1.53-1.80 (7H, m), 1.92-2.10 (2H, m), 2.28 (3H, s), 2.92 (2H, t, $J = 6.3$ Hz), 3.42-3.60 (2H, m), 3.62-3.82 (2H, m), 4.56 (1H, m), 5.12 (2H, s), 5.32 (2H, s), 6.92-7.02 (4H, m), 7.72-7.80 (2H, m), 8.22 (1H, s), 8.45 (1H, m), 8.62-8.83 (1H, m), 9.00-9.45 (5H, m); MS (FAB) m/z 560 ($M+1$)⁺.

Scheme 3 の化合物

***tert*-Butyl 4-(4-nitrophenoxy)piperidine-1-carboxylate (19)**

窒素雰囲気下, *tert*-butyl 4-hydroxypiperidine-1-carboxylate (38.28 g, 0.19 mol) と 4-fluoro-nitrobenzene (26.84 g, 0.19 mol) の DMSO (326 mL) 溶液に, 氷冷下で NaH (7.99 g of a 60 % dispersion in mineral oil, 0.20 mol) を加えた。室温で 1 時間攪拌後, 反応液に水を加え, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水洗, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥, 溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n -hexane : $\text{AcOEt} = 10 : 1$) で精製し, 化合物 **19** (52.38 g, 86 %) を得た。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.48 (9H, s), 1.80 (2H, m), 1.96 (2H, m), 3.39 (2H, m), 3.70 (2H, m), 4.61 (1H, m), 6.96 (2H, d, $J = 9.3$ Hz), 8.20 (2H, d, $J = 9.3$ Hz).

***N*-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenyl-*N*-benzyloxycarbonylaminoacetic acid (20)**

化合物 **19** (53.69 g, 0.17 mol) の THF (215 mL) と EtOH (215 mL) の混合溶液に, 7.5 % Pd-C (8.05 g) を加え, 水素雰囲気下 (3 atm) で 3 時間攪拌した。不溶物をセライトろ過し, ろ液を減圧下濃縮して得られた固体をろ取した。 n -hexane で洗浄, 減圧下乾燥して *tert*-butyl 4-(4-aminophenoxy)piperidine-1-carboxylate (42.16 g, 86 %) を得た。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.46 (9H, s), 1.71 (2H, m), 1.86 (2H, m), 3.27 (2H, m), 3.71 (2H, m), 4.26 (1H, m), 6.63 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.76 (2H, d, $J = 8.7$ Hz).

tert-Butyl 4-(4-aminophenoxy)piperidine-1-carboxylate (6.63 g, 22.68 mmol) と炭酸水素ナトリウム (2.1 g, 25.00 mmol) の THF (100 mL) と水 (100 mL) の混合溶液に, benzyl chloroformate (3.24 mL, 22.70 mmol) を加えた。室温で 1 時間攪拌後, 酢酸エチルで抽出した。有機層を

水洗，飽和食塩水で洗浄，無水硫酸ナトリウムで乾燥，溶媒を減圧下留去し得られた固体をろ取した。IPE で洗浄，減圧下乾燥して，*tert*-butyl 4-(4-benzyloxycarbonylamino-phenoxy) piperidine-1-carboxylate (7.19 g, 74 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.47 (9H, s), 1.74 (2H, m), 1.88 (2H, m), 3.31 (2H, m), 3.69 (2H, m), 4.39 (1H, m), 5.19 (2H, s), 6.54 (1H, brs), 6.86 (2H, m), 7.26-7.42 (7H, m).

tert-Butyl 4-(4-benzyloxycarbonylamino-phenoxy)piperidine-1-carboxylate (42.28 g, 99.13 mmol) の DMF (254 mL) 溶液に，NaH (3.97 g of a 60 % dispersion in mineral oil, 99.25 mmol) を加え，室温で 20 分攪拌した。反応液を氷冷し，ethyl bromoacetate (12.1 mL, 0.11 mol) を滴下した。室温で 15 時間攪拌後，NaH (3.97 g of a 60 % dispersion in mineral oil, 99.25 mmol) と ethyl bromoacetate (12.1 mL, 0.11 mol) を追加し，室温で 4 時間攪拌した。反応液に水を加え，酢酸エチルで抽出した。有機層を水洗，飽和食塩水で洗浄，無水硫酸ナトリウムで乾燥，溶媒を減圧下留去し得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : AcOEt = 7 : 3) で精製し，*tert*-butyl 4-[4-(*N*-benzyloxycarbonyl-*N*-ethoxycarbonylmethylamino)phenoxy] piperidine-1-carboxylate (49.92 g, 98 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.28 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.47 (9H, s), 1.75 (2H, m), 1.89 (2H, m), 3.31 (2H, m), 3.68 (2H, m), 4.19 (2H, d, *J* = 7.2 Hz), 4.30 (2H, brs), 4.43 (1H, m), 5.17 – 5.19 (2H, m), 6.86 (2H, m), 7.13 – 7.35 (7H, m).

tert-Butyl 4-[4-(*N*-benzyloxycarbonyl-*N*-ethoxycarbonylmethylamino)phenoxy] piperidine-1-carboxylate (49.92 g, 97.39 mmol) の EtOH (102 mL) 溶液に，1N NaOH 水溶液 (102 mL, 102 mmol) と THF (102 mL) を加えた。室温で 10 分，50 °C で 1 時間攪拌後，反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を 10 % クエン酸水溶液と飽和食塩水で洗浄，無水硫酸ナトリウムで乾燥，溶媒を留去して化合物 **20** (47.18 g, quant.) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.47 (9H, s), 1.76 (2H, m), 1.89 (2H, m), 3.34 (2H, m), 3.68 (2H, m), 4.35 (2H, s), 4.44 (1H, m), 5.16 (2H, brs), 6.86 (2H, m), 7.15-7.45 (7H, m).

***tert*-Butyl 4-{4-[*N*-benzyloxycarbonyl-*N*-(2-*tert*-butoxycarbonylmethylamino-5-cyanophenyl)carbamoylmethylamino]phenoxy} piperidine-1-carboxylate (**21**)**

化合物 **12** (21.53 g, 87.06 mmol) と化合物 **20** (42.18 g, 87.05 mmol) の CHCl₃ (300 mL) 溶液に，1-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) (23.68 g, 95.76 mmol) を加え，室温で 3 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : AcOEt = 2 : 3) で精製し，化合物 **21** (44.48 g, 72 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.47 (9H, s), 1.76 (2H, m), 1.90 (2H, m), 3.34 (2H, m), 3.67 (2H, m), 3.78 (2H, brd), 4.36 (2H, s), 4.45 (1H, m), 5.10-5.25 (1H, m), 5.20 (2H, s), 6.53 (1H, m), 6.89 (2H, m), 7.20-7.31 (7H, m), 7.40 (2H, m), 7.96 (1H, brs).

2-{*N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-[4-(*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenyl]aminomethyl}-5-cyanobenzimidazol-1-acetic acid (22**)**

化合物 **21** (44.48 g, 62.31 mmol)の酢酸 (600 mL)溶液を 90 °C で 4 日間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣 (51 g)の 1,4-dioxane (500 mL)と水 (500 mL)の混合溶液に、Na₂CO₃ (19.8 g, 0.19 mol)と di-*tert*-butyl dicarbonate (13.6 g, 62.31 mmol)を加えた。室温で 3 時間攪拌後、1,4-dioxane を減圧下濃縮して得られた水溶液をジエチルエーテルで洗浄した。水層に 1N HCl を加えて酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水洗、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃ : MeOH = 9:1)で精製し、化合物 **22** (23.55 g, 59 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.46 (9H, s), 1.67 (2H, m), 1.81 (2H, m), 3.27 (2H, m), 3.63 (2H, m), 4.35 (1H, m), 5.05 (6H, brs), 6.75 (2H, m), 7.02-7.27 (7H, m), 7.30 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.50 (1H, dd, *J* = 1.1, 8.4 Hz), 7.99 (1H, d, *J* = 1.1 Hz).

(S)-2-{N-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenyl]-N-(4-methoxycarbonylbenzoyl)aminomethyl}-5-cyano-1-(1-phenylethylcarbamoymethyl)benzimidazole (23c**)**

化合物 **22** (583 mg, 0.91 mmol)と 1-hydroxybenzotriazole (154 mg, 1.01 mmol)の DMF (5 mL)溶液に、(*S*)-phenethylamine (0.12 mL, 0.95 mmol)と 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC) (193 mg, 1.01 mmol)を加えた。室温で 15 時間攪拌後、炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を 10 % クエン酸水溶液と飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣に IPE を加え、析出した固体をろ取、IPE で洗浄、減圧下乾燥して(*S*)-2-{N-benzyloxycarbonyl-N-[4-(1-*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenyl]aminomethyl}-5-cyano-1-(1-phenylethylcarbamoymethyl) benzimidazole (623 mg, 92 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.46-1.48 (12H, s), 1.70 (2H, m), 1.86 (2H, m), 3.30 (2H, m), 3.65 (2H, m), 4.38 (1H, m), 4.95-5.05 (3H, m), 5.14 (2H, s), 5.21 (2H, s), 6.81 (2H, m), 7.10-7.30 (12H, m), 7.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.63 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.06 (1H, s).

(*S*)-2-{N-Benzyloxycarbonyl-N-[4-(1-*tert*-butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenyl]aminomethyl}-5-cyano-1-(1-phenylethylcarbamoymethyl) benzimidazole (623 mg, 0.84 mmol)の THF (6 mL)溶液に、7.5 % Pd-C (310 mg)を加えた。水素雰囲気下 (3atm)で 7 時間攪拌後、触媒をセライトでろ去し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣の CHCl₃ (6 mL)溶液に、Et₃N (0.176 mL, 1.26 mmol), methyl 4-chloroformylbenzoate (167 mg, 0.84 mmol), 及び 4-dimethylaminopyridine (10 mg, 0.082 mmol)を加えた。室温で 18 時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : AcOEt = 3 : 7)で精製し、化合物 **23c** (284 mg, 44 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.36 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 1.46 (9H, s), 1.70 (2H, m), 1.86 (2H, m), 3.30 (2H, m), 3.69 (2H, m), 3.87 (3H, s), 4.36 (1H, m), 5.02-5.09 (3H, m), 5.15-5.28 (2H, m), 5.21 (2H, s), 6.73 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.11 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.15-7.23 (6H, m), 7.30 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.40 (1H, m), 7.51 (1H, m), 7.82 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.04 (1H, m).

2-*N*-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-yloxy)phenyl]-*N*-(4-methoxycarbonylbenzoyl)aminomethyl}-1-cyclohexylcarbamolmethyl-5-cyanobenzimidazole (23a)

化合物 **22** より，化合物 **23c** で記載した方法に準じて化合物 **23a** (333 mg, 79%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.09-1.23 (7H, m), 1.46 (9H, s), 1.50-1.94 (7H, m), 3.29 (2H, m), 3.69 (3H, m), 3.87 (3H, s), 4.36 (1H, m), 5.07 (2H, s), 5.25 (1H, s), 6.38 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.72 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.08 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.34 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.48 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.57 (1H, dd, *J* = 1.2, 8.6 Hz), 7.84 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.06 (1H, d, *J* = 1.2 Hz).

(S)-2-*N*-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-loxy)phenyl]-*N*-(4-methoxycarbonylbenzoyl)aminomethyl}-1-(1-phenylethylcarbamoymethyl)benzimidazole-5-carboxamidine (24c)

化合物 **23c** (284 mg, 0.37 mmol)の pyridine-Et₃N (5:1, 10 mL)溶液に，氷冷下で H₂S ガスを 15 分バブリングした。室温で 12 時間攪拌後，反応液を減圧下濃縮した。得られた残渣に HCl-EtOH を加え，再度減圧下濃縮した。得られた残渣を acetone (6 mL)と MeOH (6 mL)に溶解し，MeI (0.23 mL)を加え，2 時間加熱還流した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を MeOH (12 mL)に溶解し，酢酸アンモニウム (43 mg, 0.56 mmol)を加え，75 °C で 2 時間加熱攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 95 : 5 - 90 : 10) で精製し，化合物 **24c** (113 mg, 39%)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.30-1.45 (14H, m), 1.76 (2H, m), 3.07 (2H, m), 3.57 (2H, m), 3.80 (3H, s), 4.40 (1H, m), 4.92 (1H, m), 5.21-5.38 (4H, m), 6.75 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.14 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.21-7.33 (7H, m), 7.3-7.70 (2H, m), 7.75 (2H, m), 8.14 (1H, s), 8.96 (1H, brs).

2-*N*-[4-(1-*tert*-Butoxycarbonylpiperidin-4-loxy)phenyl]-*N*-(4-methoxycarbonylbenzoyl)aminomethyl}-1-cyclohexylcarbamoymethyl-benzimidazole-5-carboxamidine (24a)

化合物 **23a** より，化合物 **24c** で記載した方法に準じて化合物 **24a** (201 mg, 59%)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.08 (3H, m), 1.23 (2H, m), 1.46 (9H, s), 1.52-1.80 (7H, m), 1.86 (2H, m), 3.29 (2H, m), 3.67 (3H, m), 3.87 (3H, s), 4.36 (1H, m), 5.07 (2H, s), 5.25 (2H, s), 6.41 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 6.72 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.08 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.34 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.47 (1H, m), 7.56 (1H, m), 7.84 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 8.05 (1H, m).

(S)-4-*N*-[5-Amidino-1-(1-phenylethylcarbamoymethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-*N*-(1-acetimidoypiperidin-4-yloxy)phenyl}carbamoymethylbenzoic acid dihydrochloride (6c)

化合物 **24c** (113 mg, 0.14 mmol)の CHCl₃ (2 mL)溶液に，TFA (1 mL)を加え，室温で 5 分攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣に 4N NaOH 水溶液(1.1 mL, 4.4 mmol)を加え，室温で 5 時間攪拌した。反応液に 2 N HCl 水溶液 (2.2 mL, 4.4 mmol)加え，溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を EtOH (2 mL)に溶解し，Et₃N (0.2 mL, 1.44 mmol)と ethyl

acetimidate hydrochloride (89 mg, 0.72 mmol)を加え、室温で18時間攪拌した。析出した不溶物をろ去し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣を逆相 HPLC (0.05% aqueous TFA: MeOH = 1:1)で精製した。目的物を含むフラクションを塩酸処理し、化合物 **6c** (78 mg, 69%) を2塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.38 (3H, d, *J* = 7.0 Hz), 1.54-1.72 (2H, m), 1.89-2.04 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.36-3.53 (2H, m), 3.62-3.83 (2H, m), 4.50-4.61 (1H, m), 4.85-5.00 (1H, m), 5.20-5.45 (4H, m), 6.81 (2H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.14-7.41 (9H, m), 7.70-7.80 (4H, m), 8.18 (1H, s), 8.74 (1H, brs), 9.11 (2H, brs), 9.19-9.25 (1H, m), 9.33 (3H, brs); MS (FAB) *m/z* 715 (M+1)⁺.

HPLC purity: 99.05 % (UV 254 nm).

HPLC condition; column: YMC ODS AM-302 (4.6 x150 mm), flow rate: 1 mL/min, temp: 40 °C, eluent: 0.05 % TFA aq. : CH₃CN = 78 : 22, retention time: 7.82 min.

***N*-[5-Amidino-(1-cyclohexylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-*N*-[4-(1-acetimidoyl-piperidin-4-yloxy)phenyl]carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (6a)**

化合物 **24a** より、化合物 **6c** で記載した方法に準じて化合物 **6a** (28 mg, 26 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.10-1.30 (6H, m), 1.50-1.75 (6H, m), 1.90-2.05 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.40-3.60 (4H, m), 4.57 (1H, m), 5.17 (2H, s), 5.34 (2H, s), 6.82 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.20 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.37 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.72-7.82 (4H, m), 8.19 (1H, s), 8.55-8.60 (1H, m), 8.75 (1H, brs), 9.11 (2H, brs), 9.33 (3H, brs); MS (FAB) *m/z* 693 (M+1)⁺.

HPLC purity: 99.22 % (UV 254 nm).

HPLC condition; column: YMC ODS AM-302 (4.6 x150 mm), flow rate: 1 mL/min, temp: 40 °C, eluent: 0.05 % TFA aq. : CH₃CN = 78 : 22, retention time: 8.15 min.

Table 2 及び 3 に示す化合物 **6b**, **6d-6g**, **7a-7c** は、上述の化合物 **6c** と同様の方法 (Scheme 3) で合成した。

***N*-[5-Amidino-(1-cyclohexylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-*N*-[4-(1-acetimidoyl-piperidin-4-yloxy)phenyl]carbamoylbenzoic acid methyl ester dihydrochloride (6b)**

化合物 **6b**; 工程 g)-i) 35 %, 工程 j)-l) 59 %, 工程 m)-o) 32 %。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.05-1.30 (6H, m), 1.45-1.80 (6H, m), 1.90-2.05 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.40-3.60 (4H, m), 3.81 (3H, s), 4.58 (1H, m), 5.19 (2H, s), 5.35 (2H, s), 6.82 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.21 (2H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.41 (2H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.75-7.82 (4H, m), 8.20 (1H, s), 8.60-8.68 (1H, m), 8.80 (1H, brs), 9.17 (2H, brs), 9.36 (3H, brs); MS (FAB) *m/z* 707 (M+1)⁺.

(*R*)-4-{*N*-[5-Amidino-1-(1-phenylethylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-*N*-(1-acetimidoylpiperidin-4-yloxy)phenyl}carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (6d)

化合物 **6d**; 工程 g)-i) 74 %, 工程 j)-l) 41 %, 工程 m)-o) 52 %。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.38 (3H,

d, $J = 7.0$ Hz), 1.54-1.72 (2H, m), 1.89-2.04 (2H, m), 2.27 (3H, s), 3.36-3.53 (2H, m), 3.62-3.83 (2H, m), 4.50-4.61 (1H, m), 4.85-5.00 (1H, m), 5.20-5.45 (4H, m), 6.81 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.14-7.41 (9H, m), 7.70-7.80 (4H, m), 8.18 (1H, s), 8.74 (1H, brs), 9.11 (2H, brs), 9.19-9.25 (1H, m), 9.33 (3H, brs); MS (FAB) m/z 715 (M+1)⁺.

4-{N-[5-Amidino-1-(2-phenyl-2-propylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-N-(1-acetimidoylpiperidin-4-yloxy)phenyl}carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (6e)

化合物 **6e**; 工程 g)-i) 73 %, 工程 j)-l) 63 %, 工程 m)-o) 81 %. ¹H NMR (DMSO- d_6) δ 1.48-1.70 (2H, m), 1.59 (6H, s), 1.85-2.02 (2H, m), 2.25 (3H, s), 3.35-3.85 (4H, m), 4.54 (1H, m), 5.29 (4H, brs), 6.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.09-7.40 (9H, m), 7.70-7.84 (4H, m), 8.18 (1H, s), 8.78 (1H, brs), 9.07 (1H, brs), 9.18 (2H, brs), 9.36 (3H, brs); MS (FAB) m/z 729 (M+1)⁺.

4-{N-[5-Amidino-1-(3,4-dichlorophenylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-N-(1-acetimidoylpiperidin-4-yloxy)phenyl}carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (6f)

化合物 **6f**; 工程 g)-i) 15 %, 工程 j)-l) 41 %, 工程 m)-o) 70 %. ¹H NMR (DMSO- d_6) δ 1.53-1.74 (2H, m), 1.90-2.06 (2H, m), 2.26 (3H, s), 3.36-3.86 (4H, m), 4.57 (1H, m), 5.30-5.59 (4H, m), 6.82 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.13 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.27 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.50-7.79 (6H, m), 7.88-7.96 (2H, m), 8.19 (1H, s), 8.70 (1H, brs), 9.06 (2H, brs), 9.21-9.38 (3H, m); MS (FAB) m/z 755 (M+1)⁺.

4-{N-[5-Amidino-1-(3,4-dichlorophenylmethylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-N-(1-acetimidoylpiperidin-4-yloxy)phenyl}carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (6g)

化合物 **6g**; 工程 g)-i) 41 %, 工程 j)-l) 44 %, 工程 m)-o) 67 %. ¹H NMR (DMSO- d_6) δ 1.52-1.73 (2H, m), 1.89-2.07 (2H, m), 2.26 (3H, s), 2.43-2.59 (2H, m), 3.35-3.60 (2H, m), 4.35 (2H, d, $J = 5.5$ Hz), 4.56 (1H, m), 5.34 (4H, brs), 6.81 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.17 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.27-7.33 (3H, m), 7.53-7.55 (2H, m), 7.72-7.80 (4H, m), 8.19 (1H, s), 8.73 (1H, brs), 9.10 (2H, brs), 9.22-9.40 (4H, m); MS (FAB) m/z 769 (M+1)⁺.

4-{N-[5-Amidino-1-(cyclohexylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-N-(1-carbamimidoylpiperidin-4-yloxy)phenyl}carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (7a)

化合物 **7a**; ¹H NMR (DMSO- d_6) δ 1.05-1.30 (5H, m), 1.45-1.75 (7H, m), 1.85-1.98 (2H, m), 3.20-3.35 (2H, m), 3.50-3.70 (3H, m), 4.51 (1H, m), 5.17 (2H, s), 5.33 (2H, s), 6.80 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.18 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.36 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.52 (4H, brs), 7.70-7.77 (4H, m), 8.18 (1H, s), 8.55 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 9.10 (2H, brs), 9.32 (3H, brs); MS (FAB) m/z 694 (M+1)⁺.

4-{N-[5-Amidino-1-(cyclohexylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-N-(1-acetimidoylpyrrolidin-4-yloxy)phenyl}carbamoylbenzoic acid dihydrochloride (7b)

化合物 **7b**; ¹H NMR (DMSO- d_6) δ 1.05-1.30 (5H, m), 1.45-1.75 (5H, m), 2.03-2.30 (2H, m), 2.20 (1.5H, s), 2.25 (1.5H, s), 2.99-3.08 (1H, m), 3.35-3.75 (4H, m), 5.00-5.15 (1H, m), 5.18 (2H, s), 5.34 (2H, s), 6.75-6.85 (2H, m), 7.12-7.46 (4H, m), 7.70-7.82 (4H, m), 8.19 (1H, s), 8.45-8.63 (2H, m), 9.16 (2H, brs), 9.29-9.40 (3H, m); MS (FAB) m/z 679 (M+1)⁺.

4-{N-[5-Amidino-1-(cyclohexylcarbamoylmethyl)benzimidazol-2-ylmethyl]-N-(pyrrolidin-4-

xyloxy)phenyl}carbamoylebenzoic acid dihydrochloride (7c) 化合物 **7c**; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ 1.08-1.30 (5H, m), 1.47-1.75 (5H, m), 1.90-2.20 (2H, m), 3.10-3.30 (3H, m), 3.30-3.60 (2H, m), 4.99 (1H, m), 5.16 (2H, s), 5.33 (2H, s), 6.78 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.21 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.36 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.72-7.80 (4H, m), 8.17 (1H, s), 8.54 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 9.07 (2H, s), 9.25-9.45 (3H, m), 9.45-9.65 (1H, m); MS (FAB) m/z 638 ($\text{M}+1$) $^+$.

第 2 章の実験

Scheme 4 の化合物

7-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline hydrobromide²¹⁾ (25)

7-Methoxyisoquinoline ²¹⁾ (1.43 g, 8.96 mmol)の酢酸 (20 mL)溶液に PtO₂ (50 mg)を加え、水素雰囲気 (3 atm)下で 3 時間攪拌した。反応混合物をセライトでろ過し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣を 48 % HBr aq. (35 mL)に溶解させ、3 時間加熱還流した。反応混合物を減圧下濃縮して得られた結晶を EtOH と Et₂O の混合溶媒で洗浄し、化合物 **25** (1.80 g, 87 %)を得た。 $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ 2.84-2.90 (2H, m), 3.25-3.38 (2H, m), 4.17 (2H, brs), 6.58 (1H, d, $J = 2.7$ Hz), 6.67 (1H, dd, $J = 2.7, 8.4$ Hz), 7.00 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.96 (2H, brs), 9.40 (1H, s). Anal. (C₉H₁₂BrNO) Calcd: C, 46.98; H, 5.26; N, 6.09, Found: C, 47.05; H, 5.46; N, 5.92

2-tert-Butoxycarbonyl-7-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (26)

化合物 **25** (370 mg, 1.61 mmol)の 1 N 水酸化ナトリウム水溶液 (4 mL)と 1,4-dioxane (8 mL)の混合溶液に、Boc₂O (386 mg, 1.77 mmol)を加えた。室温で 12 時間攪拌後、反応混合物を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **26** (385 mg, 93 %)を得た。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1.49 (9H, s), 2.75 (2H, t, $J = 5.7$ Hz), 3.62 (2H, t, $J = 5.7$ Hz), 4.52 (2H, brs), 6.60-6.70 (2H, m), 6.99 (1H, d, $J = 8.4$ Hz). Anal. (C₁₄H₁₉NO₃) Calcd: C, 67.45; H, 7.68; N, 5.62, Found: C, 67.26; H, 7.46; N, 5.92

N,N'-Di-tert-butoxycarbonyl-7-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (27)

化合物 **25** (500 mg, 2.17 mmol)のアセトニトリル(5 mL)懸濁液に、0 °C で Et₃N (0.3 mL, 2.15 mmol)を加え、室温で 1 時間攪拌した。析出した結晶をろ取後、DMF (5 mL)に溶解し、1H-pyrazole-1-(N, N'-di-tert-butoxycarbonyl)carboxamide ²²⁾ (742 mg, 2.39 mmol)を加えた。室温で 2 時間攪拌後、反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカ

ラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:EtOAc = 3:1)で精製し、化合物 **27** (700 mg, 82 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.50 (18H, s), 2.87 (2H, m), 3.73 (2H, m), 4.62 (2H, m), 6.53 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 6.66 (1H, dd, *J* = 2.5, 8.2 Hz), 6.97 (1H, d, 1H, *J* = 8.2 Hz). Anal. (C₂₀H₂₉N₃O₅) Calcd: C, 61.36; H, 7.47; N, 10.73, Found: C, 61.06; H, 7.66; N, 10.67

Benzyl 4-bromomethylpiperidine-1-carboxylate (**28**)

1-Benzyloxycarbonylpiperidine-4-carboxylic acid (10.0 g, 37.98 mmol) の THF (100 mL)溶液に、アルゴン雰囲気下、-15 °C で Et₃N (5.56 mL, 39.89 mmol) と isobutyl chloroformate (IBCF) (5.1 mL, 39.32 mmol)を順に滴下した。-15 °C で 20 分攪拌後、析出した不溶物をろ去した。ろ液を 0 °C 下で、NaBH₄ (4.3 g, 0.11 mmol) 水溶液に滴下した。0 °C で 15 分、室温で 2 時間攪拌後、不溶物をろ去し、有機溶媒を減圧下留去した。水層より酢酸エチルで抽出後、有機層を 1 N 水酸化ナトリウム水溶液で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して benzyl 4-hydroxymethyl piperidine-1-carboxylate (7.2 g, 76 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.05-1.30 (2H, m), 1.55-1.80 (3H, m), 2.70-2.85 (2H, m), 3.50 (2H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.10-4.30 (2H, m), 5.13 (2H, s), 7.26-7.40 (5H, m).

上記で得られた hydroxymethyl 体(5.5 g, 22.06 mmol)の CH₂Cl₂ (55 mL)溶液に、CBR₄ (8.85 g, 26.68 mmol) と PPh₃ (7.0 g, 26.68 mmol)を加えた。室温で 5 時間攪拌後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:acetone = 10:1)で精製し、化合物 **28** (6.25 g, 91 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.05-1.30 (2H, m), 1.70-1.90 (3H, m), 2.70-2.90 (2H, m), 3.29 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.10-4.30 (2H, m), 5.13 (2H, s), 7.26-7.38 (5H, m). Anal. (C₁₄H₁₈BrNO₂) Calcd: C, 53.86; H, 5.81; N, 4.49, Found: C, 54.05; H, 5.96; N, 4.20

N,N'-Di-*tert*-Butoxycarbonyl-7-(piperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (**29**)

化合物 **27** (50 mg, 0.13 mmol)と化合物 **28** (120 mg, 0.38 mmol)の DMSO (1 mL)溶液に、4 N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.13 mL)を加えた。室温で 17 時間攪拌した後、反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane : acetone = 5:1)で精製し、benzyl 4-[2-(*N,N'*-di-*tert*-butoxycarbonylamidin)- 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylloxymethyl]piperidine-1-carboxylate (55 mg, 68 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.20-1.35 (2H, m), 1.51 (18H, s), 1.75-2.05 (3H, m), 2.70-2.95 (4H, m), 3.65-3.80 (4H, m), 4.15-4.35 (2H, m), 4.67 (2H, brs), 5.14 (2H, s), 6.61 (1H, d, *J* = 2.7 Hz), 6.71 (1H, dd, *J* = 2.7, 8.4 Hz), 7.03 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.30-7.40 (5H, m).

上記で得られた化合物(50 mg, 0.081 mmol)の THF (0.5 mL)と EtOH (10 mL)の混合溶液に、7.5 % Pd/C (15 mg)を加え、水素雰囲気下(3 atm)で 3 時間攪拌した。触媒をセライトで除去し、ろ液を減圧下濃縮して化合物 **29** (38 mg, 96 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.20-1.40 (2H,

m), 1.56 (18H, s), 1.75-2.00 (3H, m), 2.60-2.70 (2H, m), 2.85-2.95 (2H, m), 3.10-3.20 (2H, m), 3.65-3.85 (4H, m), 4.67 (2H, s), 6.62 (1H, d, $J=2.7$ Hz), 6.72 (1H, dd, $J=2.7, 8.4$ Hz), 7.03 (1H, $J=8.4$ Hz). Anal. (C₂₆H₄₀N₄O₅) Calcd: C, 63.91; H, 8.25; N, 11.47, Found: C, 64.05; H, 8.46; N, 11.22

4-Hydroxymethyl-1-(pyridin-4-yl)piperidine (30)

1-(Pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid²³⁾ (500 mg, 2.42 mmol)の THF (5 mL)溶液に, 1M BH₃ の THF 溶液 (14.5 mL, 14.5 mmol)を滴下した。室温で 12 時間攪拌後, 反応液を氷水に空け, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を 12% 塩酸に溶解し, 50°Cで 1 時間加熱した。反応液を 4 N 水酸化ナトリウム水溶液で中和後, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去して化合物 **30** (400 mg, 86 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.24-1.38 (2H, m), 1.70-1.90 (3H, m), 2.86 (2H, m), 3.53 (2H, d, $J=6.2$ Hz), 3.92 (2H, m), 6.66 (2H, d, $J=5.1$ Hz), 8.22 (2H, d, $J=5.1$ Hz). Anal. (C₁₁H₁₆N₂O₂) Calcd: C, 68.72; H, 8.39; N, 14.57, Found: C, 68.55; H, 8.46; N, 14.38

4-Hydroxymethyl-1-(quinoline-4-yl)piperidine (31)

4-Chloroquinoline (2.0 g, 12.22 mmol), ethyl isonipecotinate (2.8 mL, 18.16 mmol)と Et₃N (3.4 mL, 24.39 mmol)のエタノール (7.5 mL)溶液を sealed tube に入れ, 150 °Cで 5 日間加熱した。反応液に水を加え, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane:acetone = 3:1)で精製して, ethyl 1-(quinolin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (3.2 g)を得た。この化合物 (3.0 g, 10.55 mmol)を THF (30 mL)に溶解し, アルゴン雰囲気下, LiAlH₄ (800 mg, 21.08 mmol)の THF (30 mL)懸濁液に 0 °Cで滴下した。反応混合物を 0 °Cで 2 時間攪拌後, 飽和硫酸ナトリウム水溶液を加え, 不溶物をセライトでろ去した。ろ液を減圧下濃縮して得られた結晶をジイソプロピルエーテルで洗浄して, 化合物 **31** (2.25 g, 88 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.57-1.90 (3H, m), 1.93-2.05 (2H, m), 2.85(2H, m), 3.64-3.68 (4H, m), 6.84 (1H, d, $J=4.8$ Hz), 7.47 (1H, m), 7.65 (1H, m), 8.01 (1H, m), 8.67 (1H, d, $J=4.8$ Hz). Anal. (C₁₅H₁₈N₂O) Calcd: C, 74.35; H, 7.49; N, 11.56, Found: C, 74.05; H, 7.46; N, 11.49

tert-Butyl 7-[(pyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (32)

化合物 **26** (389 mg, 1.56 mmol)と化合物 **30** (300 mg, 1.56 mmol)の THF (15 mL)と CH₂Cl₂ (4 mL)の混合溶液に, PPh₃ (450 mg, 1.72 mmol)と diisopropyl azodicarboxylate (DIPAD) (0.34 mL, 1.73 mmol)を加えた。反応混合物を室温で 24 時間攪拌後, 減圧下濃縮して得られた残渣

をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:acetone=3:2-1:1)で精製して、化合物 **32** (500 mg, 76 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.36-1.50 (11H, m), 1.92-2.15 (3H, m), 2.76 (2H, brt), 2.90 (2H, brt), 3.62 (2H, brt), 3.80 (2H, d, *J* = 6.3 Hz), 3.90-3.96 (2H, m), 4.53 (1H, s), 6.62-6.74 (4H, m), 7.04 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 8.20-8.25 (2H, m). Anal. (C₂₅H₃₃N₃O₃) Calcd: C, 70.89; H, 7.85; N, 9.92, Found: C, 70.77; H, 7.99; N, 9.92

tert-Butyl 7-[1-(quinolin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (33)

化合物 **33** (280 mg, 71 %)は、化合物 **26** (206 mg, 0.83 mmol), 化合物 **31** (200 mg, 0.83 mmol), DIPAD (0.18 mL, 0.91 mmol)と PPh₃ (238 mg, 0.91 mmol)を化合物 **32** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.50 (9H, s), 1.65-1.85 (2H, m), 2.00-2.15 (3H, m), 2.78 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 2.85-2.95 (2H, m), 3.60-3.70 (4H, m), 3.92 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.56 (2H, s), 6.68 (1H, d, *J* = 2.7 Hz), 6.77 (1H, dd, *J* = 2.7, 8.4 Hz), 6.86 (1H, d, *J* = 5.1 Hz), 7.06 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.45-7.50 (1H, m), 7.62-7.68 (1H, m), 8.00-8.06 (2H, m), 8.72 (1H, d, *J* = 5.1 Hz). Anal. (C₂₉H₃₅N₃O₃) Calcd: C, 73.54; H, 7.45; N, 8.87, Found: C, 73.35; H, 7.46; N, 8.92

7-(1-Acetylpiperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (8b)

Step 1. 化合物 **29** (100 mg, 0.21 mmol)の THF (1.5 mL)溶液に、Ac₂O (0.021 mL, 0.22 mmol)と pyridine (0.025 mL, 0.31 mmol)を加えた。室温で2時間攪拌後、反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、*N,N'*-di-*tert*-butoxycarbonyl-7-(1-acetylpiperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (100 mg, 90 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.20-1.40 (2H, m), 1.45-1.65 (20H, m), 1.80-2.10 (6H, m), 2.50-2.65 (1H, m), 2.85-2.95 (2H, m), 3.00-3.20 (2H, m), 3.85-3.90 (4H, m), 4.67 (2H, brs), 6.62 (1H, d, *J*=2.4 Hz), 6.72 (1H, dd, *J*=2.4, 8.4 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 8.4 Hz).

Step 2. Step1 で得られた化合物(94 mg, 0.18 mmol)の CHCl₃ (1.0 mL)溶液に、TFA (0.5 mL)を加えた。室温で5時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮した。得られた残渣に、HCl-EtOHを添加、減圧下留去して化合物 **8b** (60 mg, 91 %)を塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.00-1.30 (2H, m), 1.75-1.85 (2H, m), 1.98 (4H, m), 2.52 (1H, m), 2.81 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.18-3.25 (1H, m), 3.57 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.57-3.90 (3H, m), 4.53 (2H, s), 6.69 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.82 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz), 7.13 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.57 (4H, brs); MS (FAB) *m/z* 331 (M+1)⁺. Anal. (C₁₈H₂₆N₄O₂ · HCl · 2.2 H₂O) Calcd: C, 53.18; H, 7.79; N, 13.78, Found: C, 53.02; H, 7.61; N, 14.03

7-(1-Acetoimidoylpiperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (8c)

化合物 **29** (100 mg, 0.21 mmol) の THF (1.5 mL) と EtOH (1.5 mL) の混合溶液に、Et₃N (0.086 mL, 0.62 mmol) と ethyl acetoimidate hydrochloride (38 mg, 0.31 mmol) を加えた。室温で 18 時間攪拌後、反応液に EtOAc と Et₂O を加え、析出した不溶物をろ去した。ろ液を減圧下濃縮して *N,N'*-di-*tert*-butoxycarbonyl-7-(1-acetoimidoylpiperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (105 mg, 94 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.43-1.54 (20H, m), 2.00-2.20 (3H, m), 2.46 (3H, s), 2.85-2.95 (2H, m), 3.05-3.15 (2H, m), 3.70-3.95 (5H, m), 4.67 (2H, brs), 4.80-4.90 (1H, m), 6.60 (1H, s), 6.70 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 8.4 Hz).

上記で得られた化合物(100 mg, 0.19 mmol)を、化合物 **8b** の Step 2 に記載した方法で処理して、化合物 **8c** (67 mg, 88 %) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.28-1.48 (2H, m), 1.86-1.90 (2H, m), 2.12 (1H, m), 2.29 (3H, s), 2.83 (2H, t, *J* = 4.4 Hz), 3.00-3.29 (2H, m), 3.59 (2H, t, *J* = 4.4 Hz), 3.85 (2H, m), 3.92-4.20 (2H, m), 4.56 (2H, s), 6.72 (1H, d, *J* = 1.7 Hz), 6.84 (1H, dd, *J* = 1.7, 6.3 Hz), 7.15 (1H, d, *J* = 6.3 Hz), 7.65 (4H, brs), 8.77 (1H, brs), 9.33 (1H, brs); MS (FAB) *m/z* 330 (M+1)⁺. Anal. (C₁₈H₂₇N₅O · 2.1 HCl · 2.4 H₂O) Calcd: C, 48.12; H, 7.61; N, 15.59, Found: C, 47.82; H, 7.54; N, 15.87

7-[1-(Pyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (8d)

化合物 **32** (500 mg, 1.18 mmol) の CHCl₃ (5 mL) 溶液に、TFA (2.5 mL) を加えた。室温で 1 時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮した。得られた残渣に炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、7-[1-(pyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (350 mg, 92 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.30-1.49 (2H, m), 1.91-2.15 (3H, m), 2.72 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 2.85-2.95 (2H, m), 3.11 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.79 (2H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.90-3.98 (4H, m), 6.54 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.66-6.72 (3H, m), 6.99 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.25 (2H, m).

上記で得られた化合物(300 mg, 0.92 mmol)の DMF (0.5 mL) 溶液に、diisopropylethylamine (DIPEA, 0.16 mL, 0.92 mmol) と 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (140 mg, 0.96 mmol) を加えた。室温で 1 時間攪拌後、反応液に Et₂O を加え、析出した不溶物をろ去した。ろ液を減圧下濃縮して得られた残渣に、HCl-EtOH を添加、減圧下留去して化合物 **8d** (265 mg, 66 %) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.20-1.45 (2H, m), 1.88-1.93 (2H, m), 2.17 (1H, m), 2.81 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.20 (2H, m), 3.57 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.85 (2H, m), 4.23-4.28 (2H, m), 4.54 (2H, s), 6.70 (1H, d, *J* = 2.7 Hz), 6.82 (1H, dd, *J* = 2.7, 8.4 Hz), 7.13 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.19 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.64 (4H, brs), 8.19 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 13.68 (1H, brs); MS (FAB) *m/z* 366 (M+1)⁺. Anal. (C₂₁H₂₇N₅O · 2 HCl · 2.6 H₂O) Calcd: C, 51.98; H, 7.10; N, 14.43, Found: C, 51.82; H, 7.02; N, 14.57

7-[1-(Quinolin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide

(8e)

化合物 **8e** (65 mg, 89 %)は、化合物 **33** (70 mg, 0.15 mmol), 1*H*-pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride (28 mg, 0.19 mmol)と DIPEA (0.033 mL, 0.19 mmol)を、化合物 **8d** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.55-1.66 (2H, m), 1.96-2.02 (2H, m), 2.22 (1H, m), 2.82 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.49 (2H, m), 3.58 (2H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.92 (2H, m), 4.17-4.23 (2H, m), 4.56 (2H, s), 6.73 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.85 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.1 Hz), 7.15 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.20 (1H, d, *J* = 6.9 Hz), 7.64 (4H, brs), 7.69 (1H, m), 7.96 (1H, m), 8.12 (2H, m), 8.63 (1H, d, *J* = 6.9 Hz); MS (FAB) *m/z* 416 (M+1)⁺. Anal. (C₂₅H₂₉N₅O · 2.1 HCl · 2.5 H₂O) Calcd: C, 55.90; H, 6.77; N, 13.04, Found: C, 55.85; H, 6.70; N, 13.05

7-[1-(Pyridin-4-ylmethyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamidine (8f)

化合物 **29** (100 mg, 0.20 mmol)の THF (1 mL)と DMF (1 mL)の混合溶液に、9.1 N NaOH (0.068 mL, 0.62 mmol)と 4-picolyl chloride hydrochloride (51 mg, 0.31 mmol)を順に加えた。50 °C で 5 時間攪拌した後、反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水洗、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃: MeOH = 20:1) で精製し、*N,N'*-di-*tert*-butoxy-carbonyl-7-[1-(pyridin-4-ylmethyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamidine (93 mg, 80 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.50 (18H, s), 1.40-1.90 (5H, m), 2.00-2.10 (2H, m), 2.85-2.95 (4H, m), 3.51 (2H, s), 3.70-3.85 (4H, m), 4.67 (2H, brs), 6.62 (1H, s), 6.72 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.03 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.28 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 8.54 (2H, d, *J* = 6.0 Hz).

上記で得られた化合物 (88 mg, 0.15 mmol) を、化合物 **8b** の Step2 で記載した方法で処理し、化合物 **8f** (65 mg, 89 %) を 3 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.70-2.00 (5H, m), 2.81 (2H, m), 3.00 (2H, m), 3.38 (2H, m), 3.57 (2H, m), 3.81 (2H, m), 4.48-4.54 (4H, m), 6.71 (1H, s), 6.82 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.13 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.60 (4H, brs), 8.19 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 8.88 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 11.63 (1H, brs); MS (FAB) *m/z* 380 (M+1)⁺. Anal. (C₂₂H₂₉N₅O · 3.1 HCl · 2.2 H₂O) Calcd: C, 49.65; H, 6.91; N, 13.16, Found: C, 49.72; H, 6.98; N, 12.90

7-[1-(Pyridin-2-ylmethyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamidine (8g)

化合物 **8g** (65 mg, 63 %)は、化合物 **29** (110 mg, 0.225 mmol), 2-picolyl chloride hydrochloride (44 mg, 0.270 mmol)と 9 N NaOH (0.060 mL, 0.541 mmol)を反応させた後、化合物 **8f** で記載した方法に準じて Boc 基を TFA を用い脱保護することで得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.75 (2H, m), 2.00 (2H, m), 2.10 (1H, m), 2.88 (2H, m), 3.16 (2H, m), 3.49 (2H, m), 3.63 (2H, m), 3.91 (2H, m), 4.51 (2H, s), 4.60 (2H, s), 6.77 (1H, d, *J* = 2.3 Hz), 6.89 (1H, dd, *J* = 2.3, 8.4 Hz), 7.21 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.55 (1H, m), 7.63 (4H, brs), 7.69 (1H, m), 7.99 (1H, m), 8.74 (1H, m), 10.35

(1H, brs); MS (FAB) m/z 380 (M+1)⁺. Anal. (C₂₂H₂₉N₅O · 3.1 HCl · 2.5 H₂O) Calcd: C, 49.15; H, 6.96; N, 13.03, Found: C, 48.89; H, 6.89; N, 13.30

7-[1-(2-Aminobenzyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (8h)

化合物 **29** (100 mg, 0.205 mmol)の DMF (1 mL)と THF (1 mL)の混合溶液に, 9 N NaOH (0.027 mL, 0.246 mmol) と 2-nitrobenzyl bromide (53 mg, 0.246 mmol)を加えた。室温で1時間攪拌後, 反応液に水を加え, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:acetone = 7:1)で精製し, *N,N'*-di-*tert*-butoxy-carbonyl-7-[1-(2-nitro-phenylmethyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (90 mg, 70 %)を得た。

得られたニトロ体(90 mg, 0.144 mmol)を, 化合物 **8b** の Step2 に記載した方法に準じて TFA で処理し, 7-[1-(2-nitro-phenylmethyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroiso-quinoline-2-carboxamide (70 mg, 98 %)を 2 塩酸塩として得た。

得られた塩酸塩(70 mg, 0.141 mmol)の 1 N HCl (1 mL) と MeOH (1 mL)の混合溶液に, 7.5 % Pd/C (15 mg)を加え, 水素雰囲気(3 atm)下で2時間攪拌した。触媒をセライトでろ去後, ろ液を減圧下濃縮して化合物 **8h** (70 mg, 99 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.71 (2H, m), 1.97 (3H, m), 2.81 (2H, m), 3.12 (2H, m), 3.57 (2H, m), 3.83 (2H, m), 4.38 (2H, s), 4.54 (2H, s), 6.71 (1H, s), 6.83 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.02 (1H, m), 7.13 (2H, m), 7.34 (1H, m), 7.51 (1H, m), 7.64 (4H, brs); MS (FAB) m/z 394 (M+1)⁺. Anal. (C₂₃H₃₁N₅O · 3 HCl · 2.5 H₂O) Calcd: C, 50.41; H, 7.17; N, 12.78, Found: C, 50.38; H, 6.99; N, 12.97

7-[1-(3-Aminobenzyl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxamide (8i)

化合物 **8i** (60 mg, 58 %)は, 化合物 **29** (100mg, 0.205 mmol), 3-nitrobenzyl bromide (53 mg, 0.246 mmol) と 9 N NaOH (0.027 mL, 0.246 mmol)を, 化合物 **8h** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.67(2H, m), 1.95 (3H, m), 2.81 (2H, m), 2.96 (2H, m), 3.34 (2H, m), 3.56 (2H, m), 3.86 (2H, m), 6.70 (1H, s), 6.81 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.07-7.37 (5H, m), 7.56 (4H, brs), 10.52 (1H, brs); MS (FAB) m/z 394 (M+1)⁺. Anal. (C₂₃H₃₁N₅O · 3 HCl · 2.4 H₂O) Calcd: C, 50.58; H, 7.16; N, 12.82, Found: C, 50.32; H, 6.97; N, 12.92

Scheme 5 の化合物

Benzyl 4-(2-*tert*-butoxycarbonyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidine-1-carboxylate (34)

化合物 **26** (1.2 g, 4.81 mmol) の DMF (15 mL) 溶液に、0 °C で NaH (230 mg of a 60 % dispersion in mineral oil, 5.75 mmol) を少しずつ加えた。室温で 30 分攪拌後、化合物 **28** (1.80 g, 5.77 mmol) を加えた。反応混合物を室温で 1 時間攪拌後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane:acetone = 6:1) で精製して、化合物 **34** (1.82 g, 79 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.20-1.35 (2H, m), 1.48 (9H, s), 1.75-2.05 (3H, m), 2.70-2.90 (4H, m), 3.62 (2H, m), 3.77 (2H, d, *J* = 6.3 Hz), 4.10-4.35 (2H, m), 4.53 (2H, s), 5.14 (2H, s), 6.67 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 6.71 (1H, dd, *J* = 2.5, 8.3 Hz), 7.29 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.26-7.38 (5H, m). Anal. (C₂₈H₃₆N₂O₅) Calcd: C, 69.98; H, 7.55; N, 5.83, Found: C, 70.25; H, 7.46; N, 5.92

***tert*-Butyl 7-(piperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (35)**

化合物 **34** (1.3 g, 2.70 mmol) の THF (10 mL) とメタノール (20 mL) の混合溶液に、7.5 % Pd/C (300 mg) を加え、水素雰囲気下 (3 atm) で 3 時間攪拌した。反応混合物をセライトでろ過し、ろ液を減圧下濃縮して化合物 **35** (815 mg, 87 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.20-1.35 (2H, m), 1.49 (9H, s), 1.75-2.00 (4H, m), 2.62-2.76 (4H, m), 3.10-3.20 (2H, m), 3.62 (2H, m), 3.76 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.53 (2H, s), 6.63 (1H, s), 6.71 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.03 (1H, 8.4 Hz). Anal. (C₂₀H₃₀N₂O₃) Calcd: C, 69.33; H, 8.73; N, 8.09, Found: C, 69.45; H, 8.90; N, 7.92

***tert*-Butyl 7-[1-(3-formylpyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (36)**

化合物 **35** (442 mg, 1.28 mmol) のエタノール (3 mL) 溶液に、4-chloro-3-formylpyridine²³⁾ (150 mg, 1.06 mmol) と Et₃N (0.3 mL, 2.15 mmol) を加え、27 時間加熱還流した。反応液に THF と Et₂O を加え、不溶物をろ去した。ろ液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 100:1) で精製し、化合物 **36** (430 mg, 90 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.49 (9H, m), 1.60-1.70 (2H, m), 1.95-2.15 (3H, m), 2.76 (2H, m), 3.07 (2H, m), 3.60-3.65 (4H, m), 3.86 (2H, d, *J* = Hz), 4.54 (2H, s), 6.65 (1H, s), 6.73 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.84 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.05 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.42 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 8.74 (1H, s), 10.02 (1H, s).

***tert*-Butyl 7-[1-(3-methoxycarbonylpyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (37)**

化合物 **36** (400 mg, 0.89 mmol) の CHCl₃ (4 mL) と MeOH (1.5 mL) の混合溶液に、NaCN (65 mg, 1.33 mmol), MnO₂ (2 g, 11.5 mmol) 及び AcOH (0.025 mL, 0.44 mmol) を加え、室温で 12 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 15:1) で精製し、化合物 **37** (400 mg, 93 %) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.49-1.70 (11H, m), 1.90-2.10 (3H, m), 2.76 (2H, m), 2.97 (2H, m), 3.50-3.68 (4H, m), 3.83 (2H, d,

$J = 6.3$ Hz), 3.91 (3H, s), 4.54 (2H, s), 6.64 (1H, s), 6.72 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.78 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.35 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 8.73 (1H, s). Anal. ($C_{27}H_{35}N_3O_5$) Calcd: C, 67.34; H, 7.33; N, 8.73, Found: C, 67.19; H, 7.52; N, 8.66

Ethyl 3-{4-[4-(2-*tert*-butoxycarbonyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidin-1-yl]-pyridin-3-yl}-2-propenate (38)

Triethyl phosphonoacetate (0.05 mL, 0.252 mmol)と NaH (12 mg of 60 % dispersion in mineral oil, 0.300 mmol)の THF(1 mL)スラリーに、室温で化合物 **36** (95 mg, 0.210 mmol) の THF (1mL)溶液を滴下した。反応混合物を室温で2時間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー($CHCl_3:MeOH = 20:1$)で精製し、化合物 **38** (100 mg, 91 %)を得た。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.35 (3H, t, $J = 6.4$ Hz), 1.49 (9H, s), 1.50-1.80 (2H, m), 1.95-2.10 (3H, m), 2.75-2.95 (4H, m), 3.40-3.50 (2H, m), 3.63 (2H, m), 3.86 (2H, d, $J = 6.3$ Hz), 4.27 (2H, q, $J = 6.4$ Hz), 4.54 (2H, s), 6.45 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 6.65 (1H, s), 6.74 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.83 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.76 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 8.38 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 8.55 (1H, s). Anal. ($C_{30}H_{39}N_3O_5$) Calcd: C, 69.07; H, 7.54; N, 8.06, Found: C, 70.25; H, 7.66; N, 7.92

Methyl 4-[4-(1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidin-1-yl]pyridin-3-carboxylate (8j)

化合物 **8j** (15 mg, 39 %)は、化合物 **37** (37 mg, 0.077 mmol), 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (13 mg, 0.092 mmol) と DIPEA (0.016 mL, 0.092 mmol)を化合物 **8d**に記載した方法に準じて合成した。 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 1.34-1.54 (2H, m), 1.87-1.93 (2H, m), 2.15 (1H, m), 2.82 (2H, m), 3.29 (2H, m), 3.57 (2H, m), 3.76-3.87 (7H, m), 4.54 (2H, s), 6.71 (1H, s), 6.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.40 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 7.59 (4H, brs), 8.30 (1H, d, $J = 7.2$ Hz), 8.58 (1H, s); MS (FAB) m/z 424 ($M+1$)⁺. Anal. ($C_{23}H_{29}N_5O_3 \cdot 2 HCl \cdot 2.8 H_2O$) Calcd: C, 50.51; H, 6.75; N, 12.81, Found: C, 51.35; H, 6.66; N, 13.02

4-[4-(1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidin-1-yl]pyridin-3-carboxylic acid (9a)

化合物 **8j** (43 mg, 0.087 mmol) の MeOH (0.2 mL)溶液に、1N NaOH (0.3 mL)を加え、3時間加熱還流した。反応液を1N HClで中和後、減圧下濃縮して得られた残渣を逆相 HPLC (0.1% aqueous TFA: $CH_3CN = 6:4$)で精製した。目的物を含むフラクションを塩酸処理し、化合物 **9a** (15 mg, 36 %)を2塩酸塩として得た。 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 1.38-1.58 (2H, m), 1.85-1.95 (2H, m), 2.15 (1H, m), 2.82 (2H, m), 3.56 (2H, m), 3.80-3.95 (4H, m), 4.51 (2H, s), 6.70 (1H, m), 6.82 (1H, m), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.34(1H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.44 (4H, brs), 8.27 (1H,

d, $J = 7.4$ Hz), 8.59 (1H, s); MS (FAB) m/z 410 (M+1)⁺. Anal. (C₂₂H₂₇N₅O₃ · 2 HCl · 2.6 H₂O) Calcd: C, 49.93; H, 6.51; N, 13.23, Found: C, 49.75; H, 6.44; N, 13.36

Ethyl 3-[4-[4-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidin-1-yl]-pyridin-3-yl]-2-propionate (39)

化合物 **39** (50 mg, 49 %)は、化合物 **38** (100 mg, 0.191 mmol), 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (27 mg, 0.184 mmol) と DIPEA (0.032 mL, 0.184 mmol)を化合物 **8d** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.25 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 1.40-1.55 (2H, m), 1.82-2.05 (3H, m), 2.76-2.96 (4H, m), 3.42 (2H, m), 3.57 (2H, m), 3.90 (2H, m), 4.18 (2H, q, $J = 7.3$ Hz), 4.53 (2H, s), 6.63 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 6.73 (1H, s), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.04 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.51 (4H, brs), 7.60 (1H, d, $J = 16.1$ Hz), 8.35 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 8.64 (1H, s). Anal. (C₂₆H₃₃N₅O₃ · 2 HCl · 2.4 H₂O) Calcd: C, 53.87; H, 6.92; N, 12.08, Found: C, 53.58; H, 6.82; N, 12.19

Ethyl 3-[4-[4-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidin-1-yl]-pyridin-3-yl]-2-propanoate (8k)

化合物 **39** (35 mg, 0.056 mmol) の EtOH (2 mL)溶液に、7.5 % Pd/C (10 mg)を加え、水素雰囲気(3 atm)下で3時間攪拌した。触媒をセライトでろ去後、ろ液を減圧下濃縮して化合物 **8k** (30 mg, 86 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.14 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.44 (2H, m), 1.91 (2H, m), 2.09 (1H, m), 2.72-2.84 (4H, m), 2.95 (2H, m), 3.15 (2H, m), 3.57 (2H, m), 3.76 (2H, m), 3.88 (2H, m), 4.04 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.54 (2H, s), 6.72 (1H, s), 6.83 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.26 (1H, m), 7.60 (4H, brs), 8.33 (2H, m); MS (FAB) m/z 466 (M+1)⁺. Anal. (C₂₆H₃₅N₅O₃ · 2 HCl · 2.1 H₂O) Calcd: C, 54.18; H, 7.21; N, 12.15, Found: C, 54.47; H, 7.42; N, 11.87

3-[4-[4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidin-1-yl]pyridin-3-yl]-2-propionic acid (9b)

化合物 **9b** (20 mg, 85 %)は、化合物 **8k** (25 mg, 0.046 mmol) と 1 N NaOH (0.2 mL)を化合物 **9a** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.46 (2H, m), 1.90 (3H, m), 2.59-2.87 (8H, m), 3.57 (2H, m), 3.88 (2H, m), 4.53 (2H, s), 6.72 (1H, s), 6.84 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.97 (1H, m), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.51 (4H, brs), 8.25 (2H, m); MS (FAB) m/z 438 (M+1)⁺. Anal. (C₂₄H₃₁N₅O₃, 2.1 HCl, 2.5 H₂O) Calcd: C, 51.55; H, 6.87; N, 12.53, Found: C, 51.38; H, 6.88; N, 12.78

Scheme 7 の化合物

Benzyl 7-chloromethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (41)

化合物 **40** (2.5 g, 8.82 mmol)の DMF (25 mL)溶液に, NaH (390 mg of a 60 % dispersion in mineral oil, 9.75 mmol)を 0 °C で加え, 30 分攪拌した。続いて MeSCH₂Cl (0.96 mL, 11.46 mmol)を加え, 室温で 12 時間攪拌した。反応液に水を加え, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane:EtOAc = 8:1) で精製し, benzyl 7-methylthiomethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (2.7 g, 89 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 2.24 (3H, s), 2.79 (2H, brs), 3.71 (2H, m), 4.62 (2H, s), 5.11 (2H, s), 5.18 (2H, s), 6.69 (1H, brs), 6.79 (1H, dd, *J* = 2.7, 8.4 Hz), 7.06 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.26-7.38 (5H, m).

得られたメチルチオメチル体(2.0 g, 5.82 mmol)の CH₂Cl₂ (40 mL)溶液に, SO₂Cl₂ (0.52 mL, 6.47 mmol)を 0 °C で加え, 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して化合物 **41** (1.85 g, 96 %)を得た。本化合物はそのまま次工程に用いた。¹H NMR (CDCl₃) δ 2.82 (2H, m), 3.72 (2H, m), 4.65 (2H, s), 5.18 (2H, s), 5.87 (2H, s), 6.84 (1H, brs), 6.91 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.11 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.26-7.39 (5H, m).

Ethyl 1-*tert*-butoxycarbonylpiperidine-4-carboxylate (43)

Ethyl isonipecotinate (25.5 g, 0.16 mmol)の 1 N NaOH (160 mL) と 1,4-dioxane (100 mL)の混合溶液に, Boc₂O (36.5 g, 0.17 mmol)を加えた。室温で 12 時間攪拌後, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去し, 化合物 **43** (41.4 g)を得た。本化合物はそのまま次工程に用いた。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.60-1.70 (2H, m), 1.80-1.92 (2H, m), 2.38-2.50 (1H, m), 2.78-2.90 (2H, m), 3.90-4.10 (2H, m), 4.14 (2H, q, *J* = 7.1 Hz). Anal. (C₁₃H₂₃NO₄) Calcd: C, 60.68; H, 9.01; N, 5.44, Found: C, 60.65; H, 8.91; N, 5.57

Benzyl 7-[4-ethoxycarbonyl-1-(pyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (44)

化合物 **42**²³⁾ (13.4 g, 57.19 mmol)の THF (300 mL)溶液に, アルゴン雰囲気下 -70 °C で LDA (31 mL of 2 M solution in THF, 62 mmol)を滴下した。-70 °C で 45 分攪拌後, 化合物 **41** (7.4 g, 22.30 mmol) の THF (80 mL)溶液を滴下した。反応液を室温に戻し, 5.5 時間攪拌した後, 塩化アンモニウム水溶液を加え, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 20:1 - 10:1)で精製し, 化合物 **44** (10.87 g, 92 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.65-1.80 (2H, m), 2.30-2.40 (2H, m), 2.77 (2H, m), 3.10-3.20 (2H, m), 3.65-3.80 (4H, m), 3.96 (2H, s), 4.22 (2H, q, *J* = 7.3 Hz), 4.60 (2H, s), 5.17 (2H, s), 6.61 (1H, brs), 6.65-6.71 (3H, m), 7.02 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.26-7.40 (5H, m), 8.25 (2H, m). Anal. (C₃₁H₃₅N₃O₅) Calcd: C, 70.30; H, 6.66; N, 7.93, Found: C, 70.45; H, 6.46; N, 7.92

Benzyl 7-(1-*tert*-butoxycarbonyl-4-ethoxycarbonylpiperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (45)

化合物 **43** (300 mg, 1.17 mmol) の THF (3 mL) 溶液に、アルゴン雰囲気下 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ で LDA (0.97 mL of 1.5 M solution in THF, 1.46 mmol) を滴下した。 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 50 分攪拌後、化合物 **41** (213 mg, 0.64 mmol) の THF (3 mL) 溶液を滴下した。反応液を室温に戻し、2 時間攪拌後、塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane:acetone = 7:1) で精製し、化合物 **45** (170 mg, 48 %) を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.23 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.49 (9H, s), 1.52-1.62 (2H, m), 2.16-2.21 (2H, m), 2.77 (2H, m), 3.04 (2H, m), 3.69 (2H, m), 3.80-4.00 (4H, m), 4.19 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.60 (2H, s), 5.17 (2H, s), 6.60 (1H, brs), 6.69 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.32-7.38 (5H, m). Anal. ($\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_7$) Calcd: C, 67.37; H, 7.30; N, 5.07, Found: C, 67.36; H, 7.30; N, 4.92

7-(1-*tert*-butoxycarbonyl-4-ethoxycarbonylpiperidin-4-ylmethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (46)

化合物 **45** (165 mg, 0.30 mmol) の CHCl_3 (1.5 mL) 溶液に、TFA (0.5 mL) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **46** (135 mg, 99 %) を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.23 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.50-1.65 (2H, m), 2.15-2.25 (2H, m), 2.65-2.90 (4H, m), 2.95-3.05 (2H, m), 3.69 (2H, m), 3.93 (2H, s), 4.19 (2H, q, $J = 7.5$ Hz), 4.60 (2H, s), 5.17 (2H, s), 6.60 (1H, brs), 6.69 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.26-7.38 (5H, m). Anal. ($\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$) Calcd: C, 69.01; H, 7.13; N, 6.19, Found: C, 69.24; H, 7.26; N, 6.12

Ethyl 4-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (81)

化合物 **44** (12.1 g, 22.85 mmol) の 30 % HCl-EtOH (200 mL) 溶液を $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 1 時間加熱攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を DMF (50 mL) に溶解した。1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (3.69 g, 25.17 mmol) と diisopropylethylamine (15.4 mL, 88.38 mmol) を加え、室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を逆相 HPLC (0.05% TFA in $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 6:4$) で精製した。目的物を含むフラクションを塩酸処理し、化合物 **81** (9.2 g, 92 %) を 2 塩酸塩として得た。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1.15 (3H, t, $J = 7.1$ Hz), 1.65-1.80 (2H, m), 2.81 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.30-3.50 (2H, m), 3.56 (2H, t, $J = 6.0$ Hz), 3.95-4.18 (6H, m), 4.53 (2H, s), 6.68 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.81 (1H, dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.19 (2H, d, $J = 7.5$ Hz), 7.58 (4H, bs), 8.22 (2H, d, $J = 7.5$ Hz); MS (FAB) m/z 438 ($\text{M}+1$) $^+$.

Anal. (C₂₄H₃₁N₅O₃ · 2.1 HCl · 2.2 H₂O) Calcd: C, 52.06; H, 6.83; N, 12.65, Found: C, 51.93; H, 6.66; N, 12.89

4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid (3)

化合物 **81** (9.0 g, 20.57 mmol) の c-HCl (50 mL) 溶液を 3 時間加熱還流した。不溶物をろ去後、ろ液を減圧下濃縮して化合物 **3** (9.0 g, 91 %) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.65-1.75 (2H, m), 2.14-2.20 (2H, m), 2.81 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 3.57 (2H, t, *J* = 5.7 Hz), 4.00-4.15 (4H, m), 4.54 (2H, s), 6.70 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.81 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.1 Hz), 7.15 (3H, m), 7.63 (4H, brs), 8.22 (2H, m), 13.71 (1H, brs); MS (FAB) *m/z* 410 (M+1)⁺. Anal. (C₂₂H₂₇N₅O₃ · 2 HCl · 2.8 H₂O) Calcd: C, 49.59; H, 6.54; N, 13.14, Found: C, 49.32; H, 6.42; N, 13.33

4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid monomethanesulfonate (3·MsOH) (JTV-803)

化合物 **3** (10 g, 24.42 mmol) の水 (100 mL) 溶液に、1 N NaOH (75 mL) を加え、析出した結晶をろ取した。この結晶を水 (50 mL) に懸濁し、methanesulfonic acid (1.6 mL, 24.64 mmol) を加え、50 °C に加熱し溶解させた。反応液に acetone (150 mL) を加え、攪拌しながら 1 時間かけて室温に戻した。析出した結晶をろ取し、化合物 **3·MsOH** (11.5 g, 93%) を得た。¹H NMR (D₂O) δ 1.60 (2H, m), 2.19 (2H, m), 2.72 (3H, s), 2.77 (2H, t, *J* = 5.8 Hz), 3.34 (2H, m), 3.45 (2H, t, *J* = 5.8 Hz), 3.84-3.92 (4H, m), 4.38 (2H, s), 6.72 (1H, s), 6.79 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.92 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.09 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.89 (2H, d, *J* = 7.8 Hz); MS (FAB) *m/z* 410 (M+1)⁺. IR (KBr): 2918 cm⁻¹, 1639 cm⁻¹, 1547 cm⁻¹, 1209 cm⁻¹. Anal. (C₂₂H₂₇N₅O₃ · CH₃SO₃H · 3.0 H₂O) Calcd: C, 49.36; H, 6.66; N, 12.51, Found: C, 49.43; H, 6.79; N, 12.43

Scheme 8 の化合物

Benzyl 7-[1-(1-amidinophenyl-4-yl)-4-ethoxycarbonylpiperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (47)

化合物 **46** (120 mg, 0.265 mmol) の DMSO (1 mL) 溶液に、K₂CO₃ (100 mg, 0.723 mmol) と 4-fluorobenzonitrile (68 mg, 0.562 mmol) を加え、120 °C で 12 時間加熱攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を pyridine (2.5 mL) と Et₃N (0.5 mL) に溶解した。反応液に H₂S ガスを 15 分間バブリングした後、室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣に、acetone (2 mL) と MeI (1.0 mL, 16.1 mmol) を加え、2 時間加熱還流した。再度反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を EtOH (2 mL) に溶解した。NH₄OAc (25 mg, 0.324 mmol) を加え、75 °C で 2 時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮し、化合

物 **47** (56 mg, 36 %)を得た。

Ethyl 1-(1-amidinophenyl-4-yl)-4-(2-amidino-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxy-methyl)piperidine-4-carboxylate (8m)

化合物 **8m** (47 mg, 81 %)は、化合物 **50** で記載した方法に準じ、25 % HBr-AcOH による脱Cbz 化、続く 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (30 mg, 0.205 mmol) と diisopropylethyl amine (0.090 mL, 0.517 mmol)を用いたグアニジノ化により合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.14 (3H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.60-1.75 (2H, m), 2.10-2.20 (2H, m), 2.78-2.85 (2H, m), 3.10-3.20 (2H, m), 3.52-3.60 (2H, m), 3.70-3.90 (2H, m), 4.05 (2H, s), 4.14 (2H, q, *J* = 6.9 Hz), 4.52 (2H, s), 6.74 (1H, s), 6.81 (1H, m), 7.07 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.13 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.56 (4H, brs), 7.75 (2H, d, *J* = 9.0 Hz), 8.71 (2H, brs), 8.97 (2H, brs); MS (FAB) *m/z* 479 (M+1)⁺. Anal. (C₂₆H₃₄N₆O₃ · 3 HCl · 3.1 H₂O) Calcd: C, 48.50; H, 6.76; N, 13.05, Found: C, 48.28; H, 6.62; N, 13.31

Benzyl 7-[4-ethoxycarbonyl-1-(2-methylpyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydro isoquinoline-2-carboxylate (48)

化合物 **46** (100 mg, 0.22 mmol)の EtOH (3 mL)溶液に、Et₃N (0.05 mL, 0.36 mmol)と 4-chloro-2-methylpyridine hydrochloride²⁶⁾ (40 mg, 0.24 mmol)を加え、150 °C で 25 時間加熱攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH = 4:1)で精製し、化合物 **48** (105 mg, 88 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (3H, t, *J* = 6.6 Hz), 1.70-1.85 (2H, m), 2.35-2.45 (2H, m), 2.64 (3H, s), 2.78 (2H, m), 3.28-3.37 (2H, m), 3.70 (2H, m), 3.80-3.90 (2H, m), 3.97 (2H, s), 4.24 (2H, q, *J* = 6.6 Hz), 4.60 (2H, s), 5.17 (2H, s), 6.45 (1H, m), 6.60-6.69 (2H, m), 7.04 (1H, m), 7.34-7.38 (5H, m), 8.25 (1H, d, *J* = 7.2 Hz). Anal. (C₃₂H₃₇N₃O₅) Calcd: C, 70.70; H, 6.86; N, 7.73, Found: C, 70.88; H, 6.96; N, 7.52

Benzyl 7-[1-(2-chloropyrimidin-4-yl)-4-ethoxycarbonylpiperidin-4-ylmethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (49)

化合物 **49** (263 mg, 47 %)は、化合物 **46** (550 mg, 1.00 mmol), 2,4-dichloropyrimidine (150mg, 1.01 mmol)と Et₃N (0.15 mL, 1.08 mmol)を化合物 **48** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (3H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.50-1.70 (2H, m), 2.25-2.40 (2H, m), 2.78 (2H, m), 3.18-3.30 (2H, m), 3.70 (2H, m), 3.95 (2H, s), 4.09-4.26 (4H, m), 4.60 (2H, s), 5.17 (2H, s), 6.40 (1H, d, *J* = 6.1 Hz), 6.60 (1H, m), 6.69 (1H, m), 7.03 (1H, m), 7.26-7.38 (5H, m), 8.03 (1H, d, *J* = 6.1 Hz). Anal. (C₃₀H₃₃ClN₄O₅) Calcd: C, 63.77; H, 5.89; N, 9.91, Found: C, 63.66; H, 6.06; N, 9.92

Ethyl 4-(2-amidino-1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)-1-(2-methylpyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (50)

化合物 **48** (100 mg, 0.18 mmol) を 25 % HBr-AcOH (2 mL) に溶解し、室温で 10 分攪拌した。反応液に IPE を加え、析出した固体をろ取した。得られた固体を DMF (1 mL) に溶解し、1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (55 mg, 0.38 mmol) と diisopropylethylamine (0.16 mL, 0.92 mmol) を加え、室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を逆相 HPLC (0.05% TFA in H₂O : MeOH = 6:4) で精製した。目的物を含むフラクションを塩酸処理し、化合物 **50** (85 mg, 90 %) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.16 (3H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.73 (2H, m), 2.14-2.22 (2H, m), 2.83 (2H, m), 3.35-3.60 (4H, m), 4.00-4.10 (4H, m), 4.16 (2H, q, *J* = 6.9 Hz), 4.54 (2H, s), 6.70 (1H, m), 6.80-6.85 (1H, m), 7.05-7.17 (3H, m), 7.58 (4H, brs), 8.13 (1H, m), 13.64 (1H, brs). Anal. (C₂₅H₃₃N₅O₃ · 2 HCl · 2.2 H₂O) Calcd: C, 53.23; H, 7.04; N, 12.41, Found: C, 53.56; H, 6.96; N, 12.59

Ethyl 4-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)-1-(pyrimidin-4-yl)-piperidine-4-carboxylate (51)

化合物 **49** (300 mg, 0.53 mmol) の EtOH (5 mL) 溶液に、7.5 % Pd/C (120 mg) と HCO₂NH₄ (200 mg, 3.17 mmol) を加え、30 分加熱還流した。不溶物をろ去後、ろ液を減圧下濃縮して ethyl 1-(pyrimidin-4-yl)-4-(1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)piperidine-4-carboxylate (210 mg, 99 %) を得た。

得られた化合物 (200 mg, 0.50 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に、1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (154 mg, 1.05 mmol) と DIPEA (0.18 mL, 1.03 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を逆相 HPLC (0.05% TFA in H₂O: MeOH = 6:4) で精製した。目的物を含むフラクションを集め、MeOH を留去して化合物 **51** を含有する水溶液を得た。この水溶液をそのまま次工程に用いた。

4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)-1-(2-methylpyridin-4-yl)-piperidine-4-carboxylic acid (9c)

化合物 **50** (63 mg, 0.12 mmol) の 6 N HCl (1 mL) 溶液を、3 時間加熱還流した。不溶物をろ去後、ろ液を減圧下濃縮して化合物 **9c** (53 mg, 89 %) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.63-1.75 (2H, m), 2.05-2.25 (2H, m), 2.47 (3H, s), 2.83 (2H, m), 3.30-3.70 (4H, m), 3.95-4.10 (4H, m), 4.55 (2H, s), 6.71 (1H, m), 6.83 (1H, m), 7.07-7.16 (3H, m), 7.63 (4H, brs), 8.12 (1H, m), 13.74 (1H, brs); MS (FAB) *m/z* 424 (M+1)⁺. Anal. (C₂₃H₂₉N₅O₃ · 2 HCl · 2.7 H₂O) Calcd: C, 50.68; H, 6.73; N, 12.85, Found: C, 50.55; H, 6.45; N, 13.12

4-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxymethyl)-1-(1,3-pyrimidin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (9d)

上述の化合物 **51** を含む水溶液に c-HCl (5 mL) を加え、2 時間加熱還流した。溶媒を減圧下留去して化合物 **9d** (51 mg, 21 %) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.60-1.80

(2H, m), 2.10-2.25 (2H, m), 2.81 (2H, m), 3.40-3.60 (4H, m), 4.05 (2H, s), 4.05-4.80 (2H, m), 4.54 (2H, s), 6.69 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.81 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.23 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.66 (4H, brs), 8.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 8.81 (1H, s); MS (FAB) m/z 411 (M+1)⁺. Anal. (C₂₁H₂₆N₆O₃ · 2.1 HCl · 2.8 H₂O) Calcd: C, 46.93; H, 6.32; N, 15.64, Found: C, 46.72; H, 6.39; N, 15.93

第 3 章の実験

Scheme 9 の化合物

8-Methoxy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepine (53)

7-Methoxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-one (**52**; 5.21 g, 29.56 mmol) の c-HCl (26 mL) 溶液に, 0 °C で NaN₃ (1.98 g, 30.46 mmol) を少しずつ加え, 室温で 2 時間攪拌した。反応液を 0 °C で炭酸カリウム水溶液にあげ, CHCl₃ で抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(EtOAc)で精製し, 8-methoxy-2,3,4,5-tetrahydrobenz[c]azepin-1-one (4.7 g, 83 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.98 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 2.80 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.13 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.83 (3H, s), 6.96 (1H, dd, $J = 2.7, 8.4$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.26 (1H, d, $J = 2.7$ Hz).

得られた化合物(4.42 g, 23.11 mmol)の 1,4-dioxane (30 mL)溶液を, LiAlH₄ (3.07 g, 80.90 mmol)の THF (60 mL)懸濁液に 0 °C で滴下した。20 時間加熱還流した後, 室温に戻し 20 % NaOH を滴下した。不溶物をろ去後, ろ液を減圧下濃縮して化合物 **53** (4.05 g, 98 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.68 (2H, m), 2.82-2.90 (2H, m), 3.10-3.25 (2H, m), 3.77 (3H, s), 3.88 (2H, s), 6.60-6.70 (2H, m), 7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz). Anal. (C₁₁H₁₅NO) Calcd: C, 74.54; H, 8.53; N, 7.90, Found: C, 74.25; H, 8.46; N, 7.92

2-tert-Butoxycarbonyl-8-hydroxy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepine (54)

化合物 **53** (3.65 g, 20.59 mmol)の c-HBr (36 mL)溶液を, 2 時間加熱還流した。反応液を減圧下濃縮して得られた固体を, EtOH と Et₂O で洗浄し, 8-hydroxy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepine (4.56 g, 91 %)を HBr 塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.80-1.83 (2H, m), 2.85-2.88 (2H, m), 3.22 (2H, m), 4.20-4.22 (2H, m), 6.69 (1H, dd, $J = 2.5, 8.1$ Hz), 6.82 (1H, d, $J = 2.5$ Hz), 7.05 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.80 (2H, brs), 9.42 (1H, brs).

化合物 **54** (2.64 g, 82 %)は, 上記で得られた化合物(3.00 g, 12.29 mmol), Boc₂O (3.20 g, 14.66 mmol)と 2 N NaOH (30 mL, 15 mmol)より化合物 **26** に記載した方法に準じ合成した。¹H

NMR (CDCl₃) δ 1.40 (9H, s), 1.68-1.80 (2H, m), 2.84-2.88 (2H, m), 3.66 (2H, m), 4.28-4.37 (2H, m), 5.19-5.91 (1H, m), 6.63 (1H, m), 6.70-6.85 (1H, m), 6.98 (1H, m). Anal. (C₁₅H₂₁NO₃) Calcd: C, 68.42; H, 8.04; N, 5.32, Found: C, 68.52; H, 8.06; N, 5.32

***tert*-Butyl 8-chloromethoxy-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepine-2-carboxylate (55)**

化合物 **55** (1.07 g, 85 %)は, 化合物 **54** (1.06 g, 4.03 mmol), MeSCH₂Cl (0.41 mL, 4.89 mmol) と NaH (195 mg of 60 % dispersion in mineral oil, 4.88 mmol)より化合物 **41** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.40 (9H, s), 1.75 (2H, m), 2.89-2.93 (2H, m), 3.68 (2H, m), 4.36 (2H, m), 5.88 (2H, s), 6.87-6.95 (1H, m), 7.10-7.20 (2H, m). Anal. (C₁₆H₂₂ClNO₃) Calcd: C, 61.63; H, 7.11; N, 4.49, Found: C, 61.69; H, 7.26; N, 4.22

***tert*-Butyl 8-[4-ethoxycarbonyl-1-(pyridin-4-yl)piperidin-4-ylmethoxy]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepine-2-carboxylate (56)**

化合物 **56** (755 mg, 54 %)は, 化合物 **55** (850 mg, 2.73 mmol)と化合物 **42** (1.60 g, 6.82 mmol)より化合物 **44** で記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27 (3H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.39 (9H, s), 1.64-1.78 (4H, m), 2.30-2.36 (2H, m), 2.85-2.88 (2H, m), 3.01-3.18 (2H, m), 3.62-3.75 (4H, m), 3.98 (2H, s), 4.21 (2H, q, *J* = 6.9 Hz), 4.30-4.38 (2H, m), 6.62-6.67 (3H, m), 6.72-6.84 (1H, m), 7.02 (1H, m), 8.25 (2H, d, *J* = 6.3 Hz). Anal. (C₂₉H₃₉N₃O₅) Calcd: C, 68.35; H, 7.71; N, 8.24, Found: C, 68.25; H, 7.76; N, 7.99

Ethyl 4-(2-amidino-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepin-8-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (57)

化合物 **57** (200 mg, 78 %)は, **56** (250 mg, 0.49 mmol), 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (90 mg, 0.61 mmol)と DIPEA (0.11 mL, 0.63 mmol)を化合物 **8d** で記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.16 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.75 (4H, m), 2.20 (2H, m), 2.89 (2H, m), 3.41 (2H, m), 4.04 (4H, m), 4.16 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 4.58 (2H, s), 6.76 (1H, dd, *J* = 2.6, 8.1 Hz), 7.11-7.22 (4H, m), 7.47 (4H, brs), 8.24 (1H, d, *J* = 6.6 Hz), 13.60 (1H, brs). Anal. (C₂₅H₃₃N₅O₃ · 2 HCl · 2.6 H₂O) Calcd: C, 52.56; H, 7.09; N, 12.26, Found: C, 52.43; H, 6.86; N, 12.39

4-(2-Amidino-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benz[c]azepin-8-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid (10a).

化合物 **10a** (140 mg, 97 %)は, 化合物 **57** (150 mg, 0.29 mmol)と 6 N HCl (2 mL, 12 mmol)より, 化合物 **9c** で記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.56-1.81 (4H, m), 2.12-2.25 (2H, m), 2.88-3.00 (2H, m), 3.42 (2H, m), 4.00-4.13 (4H, m), 4.59 (2H, s), 6.76 (1H, dd, *J* = 2.6, 8.1 Hz), 7.12 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.19-7.23 (3H, m), 7.54 (4H, brs), 8.23 (1H, m), 13.70

(1H, brs); MS (FAB) m/z 424 (M+1)⁺. Anal. (C₂₃H₂₉N₅O₃ · 2 HCl · 2.8 H₂O) Calcd: C, 50.51; H, 6.75; N, 12.81, Found: C, 50.23; H, 6.55; N, 13.03

Scheme 10 の化合物

7-Hydroxynaphthalen-2-carbonitrile (59)

2-Hydroxy-7-methoxynaphthalene (**58**: commercially available; 12.34 g, 70.84 mmol) の CHCl₃ (185 mL)溶液に, Et₃N (9.87 mL, 70.85 mmol)と Tf₂O (20 g, 70.84 mmol)を 0 °C で加えた。0 °C で 30 分攪拌後, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え, CHCl₃ で抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:EtOAc = 9:1)で精製し, 7-methoxy-2-trifluoromethanesulfonyloxynaphthalene (15.36 g, 71 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 3.96 (3H, s), 7.14 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.21 (2H, dd, J = 2.4, 8.9 Hz), 7.64 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.83 (1H, d, J = 8.9 Hz).

得られた化合物(11.15 g, 7.28 mmol)の DMF (8.9 mL)溶液に, Zn(CN)₂ (2.99 g, 5.09 mmol) と Pd(PPh₃)₄ (1.68 g, 0.29 mmol)を加え, 80 °C で 1 時間加熱した。反応液に水を加え, 酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:EtOAc = 19:1)で精製し, 7-methoxynaphthalen-2-carbonitrile (4.82 g, 72 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 3.95 (3H, s), 7.15 (1H, d, J = 2.5 Hz), 7.29 (1H, dd, J = 2.5, 9.0 Hz), 7.47 (1H, dd, J = 1.6, 8.4 Hz), 7.78 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.83 (1H, d, J = 8.4 Hz), 8.11 (1H, d, J = 1.6 Hz).

上記で得られた化合物(4.0 g, 21.83 mmol)の chlorobenzene (40 mL)溶液に, AlCl₃ (10.2 g, 76.50 mmol)を加え, 30 分加熱還流した。反応液を 0 °C に冷却し, 1 N HCl を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた固体を *n*-hexane で洗浄し, 化合物 **59** (3.02 g, 82 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 5.42 (1H, brs), 7.20 (1H, s), 7.25-7.28 (1H, m), 7.46 (1H, J = 8.4 Hz), 7.79-7.85 (2H, m), 8.07 (1H, s). Anal. (C₁₁H₇NO) Calcd: C, 78.09; H, 4.17; N, 8.28, Found: C, 78.24; H, 4.35; N, 8.01

7-Chloromethoxynaphthalen-2-carbonitrile (60)

化合物 **60** (567 mg, 39 %)は, 化合物 **59** (1.12 g, 6.62 mmol), MeSCH₂Cl (0.72 mL, 8.61 mmol) と NaH (318 mg of a 60 % dispersion in mineral oil, 7.94 mmol)より化合物 **41** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 6.01 (3H, s), 7.39 (1H, dd, J = 2.5, 9.0 Hz), 7.51 (1H, d, J = 2.5 Hz), 7.56 (1H, dd, J = 1.5, 8.5 Hz), 7.87 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.89 (1H, d, J = 8.5 Hz), 8.20 (1H, d, J = 1.5 Hz). Anal. (C₁₂H₈ClNO) Calcd: C, 66.22; H, 3.70; N, 6.44, Found: C, 66.25; H, 3.86; N, 6.72

Ethyl 4-(2-cyanonaphthalen-7-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (61)

化合物 **61** (430 mg, 72 %)は、化合物 **60** (314 mg, 1.44 mmol)と化合物 **42** (743 mg, 3.17 mmol)より、化合物 **44** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.75-1.85 (2H, m), 2.35-2.45 (2H, m), 3.10-3.25 (2H, m), 3.70-3.82 (2H, m), 4.14 (2H, s), 4.25 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 6.69 (2H, d, *J* = 6.6 Hz), 7.13 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 7.24-7.28 (1H, m), 7.49 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.4 Hz), 7.78 (1H, d, *J* = 9.0 Hz), 7.84 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.08 (1H, d, *J* = 1.5 Hz). Anal. (C₂₅H₂₅N₃O₃) Calcd: C, 72.27; H, 6.06; N, 10.11, Found: C, 72.35; H, 6.18; N, 9.92

Ethyl 4-(2-amidinonaphthalen-7-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (62)

化合物 **61** (51 mg, 0.12 mmol)の pyridine (1.5 mL)と Et₃N (0.3 mL)の混合溶液に、H₂S ガスを 15 分間バブリングした後、室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣に、acetone (1 mL), MeOH (1 mL) と MeI (0.6 mL, 9.63 mmol)を加え、2 時間加熱還流した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を EtOH (2 mL)に溶解した。NH₄OAc (19 mg, 0.24 mmol)を加え、75 °C で 2 時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl₃:MeOH:c-NH₃ aq. = 100:10:1)で精製した。目的物を含むフラクションを HCl-EtOH で処理し、化合物 **62** (36 mg, 69 %)を得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.14 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.75-1.88 (2H, m), 2.19-2.31 (2H, m), 3.44 (2H, m), 4.00-4.20 (4H, m), 4.27 (2H, s), 7.21 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.48 (1H, s), 7.66 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.98 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 8.07 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 8.24 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 8.32 (1H, s), 9.19 (2H, brs), 9.45 (2H, brs), 13.53 (1H, brs). Anal. (C₂₅H₂₈N₄O₃ · 2 HCl · 2.3 H₂O) Calcd: C, 54.91; H, 6.38; N, 10.24, Found: C, 54.78; H, 6.22; N, 10.52

4-(2-Amidinonaphthalen-7-yloxymethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid (10b)

化合物 **10b** (85 mg, 51 %)は、化合物 **62** (150 mg, 0.35 mmol)と 6 N HCl (3 mL, 18 mmol)より、化合物 **9c** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.75-1.90 (2H, m), 2.20-2.35 (2H, m), 3.47 (2H, m), 4.00-4.15 (2H, m), 4.27 (2H, s), 7.25 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 7.34 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.48 (1H, s), 7.66 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 7.98 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 8.07 (1H, d, *J* = 8.9 Hz), 8.24 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 8.32 (1H, s), 9.25 (2H, brs), 9.45 (2H, brs), 13.6 (1H, brs); MS (FAB) *m/z* 404 (M+1)⁺. Anal. (C₂₃H₂₆N₄O₃ · 2.1 HCl · 2.3 H₂O) Calcd: C, 52.87; H, 5.92; N, 10.72, Found: C, 52.78; H, 5.87; N, 10.99

Scheme 11 の化合物

Benzyl 7-(2-iodoethoxy)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (63)

化合物 **40** (1.21 g, 4.27 mmol)の THF (30 mL)溶液に、2-bromoethanol (0.55 mL, 7.76 mmol),

PPh₃ (2.01 g, 7.76 mmol)と diethyl azodicarboxylate (3.36 mL of 40 % solution in toluene, 7.72 mmol)を順次加えた。室温で 1 時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮した。得られた残渣を DMF (30 mL)に溶解し、NaI (0.96 g, 6.40 mmol)を加え、90 °C で 15 時間加熱した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:EtOAc = 4:1)で精製し、化合物 **63** (1.19 g, 64 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 2.79 (2H, m), 3.40 (2H, t, *J* = 6.9 Hz), 3.70 (2H, m), 4.21 (2H, t, *J* = 6.9 Hz), 4.61 (2H, s), 5.18 (2H, s), 6.63 (1H, m), 6.74 (1H, dd, *J* = 2.6, 8.3 Hz), 7.05 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.26-7.38 (5H, m). Anal. (C₁₉H₂₀INO₃) Calcd: C, 52.19; H, 4.61; N, 3.20, Found: C, 52.05; H, 4.68; N, 3.29

Benzyl 7-[2-(1-*tert*-butoxycarbonyl-4-ethoxycarbonylpiperidin-4-yl)ethoxy]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (64)

化合物 **64** (935 mg, 52 %)は、化合物 **63** (1.4 g, 3.20 mmol)と化合物 **43** (1.81 g, 7.03 mmol)より、化合物 **45** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (3H, t, *J* = 6.9 Hz), 1.60-1.66 (2H, m), 2.01-2.05 (2H, m), 2.10-2.20 (2H, m), 2.73-2.80 (2H, m), 2.85-3.00 (2H, m), 3.65-3.75 (2H, m), 3.80-3.95 (4H, m), 4.18 (2H, q, *J* = 6.9 Hz), 4.60 (2H, s), 5.18 (2H, s), 6.56 (1H, m), 6.67 (1H, dd, *J* = 2.7, 8.4 Hz), 7.02 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.30-7.40 (5H, m). Anal. (C₃₂H₄₂N₂O₇) Calcd: C, 67.82; H, 7.47; N, 4.94, Found: C, 67.97; H, 7.66; N, 5.00

Benzyl 7-{2-[4-ethoxycarbonyl-1-(pyridin-4-yl)piperidin-4-yl]ethoxy}-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-carboxylate (65)

化合物 **65** (680 mg, 76 %)は、化合物 **64** (935 mg, 1.65 mmol), 4-chloropyridine hydrochloride (248 mg, 1.65 mmol)と Et₃N (1.38 mL, 9.90 mmol)より、化合物 **48** に記載した方法に準じて合成した。本化合物はそのまま次工程に用いた。

Ethyl 4-[2-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxy)ethyl]-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (66)

化合物 **66** (208 mg, 63 %)は、化合物 **65** (397 mg, 0.73 mmol), 25 % HBr-AcOH (3 mL), DIPEA (0.64 mL, 3.67 mmol)と 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (214 mg, 1.46 mmol)より、化合物 **50** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.19 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 1.55-1.70 (2H, m), 2.00-2.10 (2H, m), 2.10-2.25 (2H, m), 2.80-2.88 (2H, m), 3.20-3.35 (2H, m), 3.58 (2H, m), 3.97 (2H, m), 4.00-4.10 (2H, m), 4.15 (2H, q, *J* = 7.1 Hz), 4.55 (2H, s), 6.65 (1H, s), 6.75 (1H, m), 7.14 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.19 (2H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.60 (4H, brs), 8.20 (2H, d, *J* = 7.6 Hz). Anal. (C₂₅H₃₃N₅O₃ · 2 HCl · 2.5 H₂O) Calcd: C, 52.72; H, 7.08; N, 12.30, Found: C, 52.89; H, 7.16; N, 12.17

4-[2-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-yloxy)ethyl]-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-

carboxylic acid (11a)

化合物 **11a** (29 mg, 13 %)は、化合物 **66** (200 mg, 0.44 mmol)より、化合物 **9c** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.54-1.68 (2H, m), 1.95-2.22 (4H, m), 2.82 (2H, m), 3.58 (2H, m), 3.92-4.12 (4H, m), 4.55 (2H, s), 6.67 (1H, s), 6.78 (1H, m), 7.14 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.19 (2H, d, *J* = 7.4 Hz), 7.61 (4H, brs), 8.21 (2H, d, *J* = 7.4 Hz); MS (FAB) *m/z* 424 (M+1)⁺. Anal. (C₂₃H₂₉N₅O₃ · 2 HCl · 2.2 H₂O) Calcd: C, 51.53; H, 6.66; N, 13.06, Found: C, 51.68; H, 6.69; N, 12.86

Scheme 12 の化合物

tert-Butyl 4-ethoxycarbonyl-4-iodomethylpiperidine-1-carboxylate (**67**)

化合物 **43** (7.14 g, 27.75 mmol)の THF (140 mL)溶液に、-70 °C で LDA (16.6 mL of 2 M solution in THF, 33.2 mmol)と CH₂I₂ (2.7 mL, 33.52 mmol)を順に滴下した。反応液を室温に戻し、15 時間攪拌した。反応液に 10 %クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:EtOAc = 9:1)で精製し、化合物 **67** (8.68 g, 79 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27-1.33 (3H, m), 1.38-1.45 (10H, m), 1.59-1.64 (1H, m), 2.10-2.22 (2H, m), 2.90-3.10 (2H, m), 3.29 (2H, s), 3.65-3.95 (2H, m), 4.18-4.26 (2H, m). Anal. (C₁₄H₂₄INO₄) Calcd: C, 42.33; H, 6.09; N, 3.53, Found: C, 42.44; H, 6.00; N, 3.41

tert-Butyl 4-(2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylthiomethyl)-4-ethoxycarbonyl-piperidine-1-carboxylate (**69**)

2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-7-thiol²⁹⁾ (**68**; 1.94 g, 9.36 mmol)の DMF (120 mL)溶液に、K₂CO₃ (4.27 g, 30.90 mmol)と化合物 **67** (3.71 g, 9.34 mmol)を加えた。100 °C で 1 時間攪拌後、不溶物をセライトろ過した。ろ液を減圧下濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(*n*-hexane:EtOAc = 2:8)で精製し、化合物 **69** (3.92 g, 88 %)を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.18-1.24 (3H, m), 1.44-1.51 (11H, m), 2.12-2.18 (5H, m), 2.80-3.05 (4H, m), 3.12 (2H, br), 3.66 (1H, m), 3.72-3.95 (3H, m), 4.01-4.11 (2H, m), 4.57-4.69 (2H, m), 7.03-7.22 (3H, m). Anal. (C₂₅H₃₆N₂O₅S) Calcd: C, 63.00; H, 7.61; N, 5.88, Found: C, 62.88; H, 7.46; N, 5.92

Ethyl 4-(2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylthiomethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (**70**)

化合物 **70** (63 mg, 30 %)は、化合物 **69** (221 mg, 0.46 mmol), 4-chloropyridine hydrochloride (70 mg, 0.47 mmol)と Et₃N (0.39 mL, 2.80 mmol)より、化合物 **48** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.21-1.26 (3H, m), 1.58-1.70 (2H, m), 2.17 (3H, s), 2.25-2.40 (2H,

m), 2.78-2.90 (2H, m), 3.05-3.22 (4H, m), 3.64-3.85 (4H, m), 4.07-4.15 (2H, m), 4.57-4.69 (2H, m), 6.69 (2H, d, $J = 5.4$ Hz), 7.04-7.20 (3H, m), 8.25 (2H, d, $J = 5.4$ Hz). Anal. ($C_{25}H_{31}N_3O_3S$) Calcd: C, 66.20; H, 6.89; N, 9.26, Found: C, 66.40; H, 6.76; N, 9.56

4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylthiomethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid (11b)

化合物 **70** (63 mg, 0.14 mmol) の c-HCl (2 mL) 溶液を, 90 °C で 21 時間加熱攪拌した。溶媒を減圧下濃縮して得られた残渣を acetone (2 mL) と 1N NaOH (0.7 mL) に溶解し, 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (61 mg, 0.42 mmol) を加え, 室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮して得られた残渣を逆相 HPLC (0.05% TFA in $H_2O:MeOH = 6:4$) で精製した。目的物を含むフラクションを塩酸で処理し, 化合物 **11b** (47 mg, 67%) を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.57-1.70 (2H, m), 2.08-2.20 (2H, m), 2.84-2.92 (2H, m), 3.20-3.40 (4H, m), 3.60 (2H, m), 3.95-4.10 (2H, m), 4.57 (2H, s), 7.14-7.20 (5H, m), 7.66 (4H, brs), 8.22 (2H, m); MS (FAB) m/z 426 (M+1)⁺. Anal. ($C_{22}H_{27}N_5O_2S \cdot 2 HCl \cdot 2.5 H_2O$) Calcd: C, 48.62; H, 6.31; N, 12.89, Found: C, 48.32; H, 6.12; N, 13.08

tert-Butyl 4-(2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylsulfonylmethyl)-4-ethoxycarbonylpiperidine-1-carboxylate (71)

化合物 **69** (252 mg, 0.53 mmol) の CH_2Cl_2 (5 mL) 溶液に, *m*-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA) (260 mg of 70 % grade, 1.05 mmol) を加えた。室温で 12 時間攪拌攪拌後, 反応液にチオ硫酸ナトリウム水溶液と炭酸水素ナトリウム水溶液を加え, $CHCl_3$ で抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc) で精製し, 化合物 **71** (203 mg, 75 %) を得た。¹H NMR ($CDCl_3$) δ 1.32 (3H, t, $J = 7.1$ Hz), 1.49 (9H, s), 1.55-1.75 (2H, m), 2.10-2.30 (5H, m), 2.88-3.04 (2H, m), 3.23 (2H, br), 3.43 (2H, m), 3.65-3.78 (3H, m), 3.85 (1H, m), 4.22 (2H, q, $J = 7.1$ Hz), 4.69-4.81 (2H, m), 7.32-7.37 (1H, m), 7.65-7.75 (2H, m). Anal. ($C_{25}H_{36}N_2O_7S$) Calcd: C, 59.04; H, 7.13; N, 5.51, Found: C, 59.32; H, 7.43; N, 5.51

Ethyl 4-(2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylsulfonylmethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (72)

化合物 **72** (120 mg, 62 %) は, 化合物 **71** (203 mg, 0.40 mmol), TFA (1 mL), 4-chloropyridine hydrochloride (72 mg, 0.48 mmol) と Et_3N (0.32 mL, 2.30 mmol) より, 化合物 **48** で記載した方法に準じて合成した。¹H NMR ($CDCl_3$) δ 1.35 (3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.80-2.00 (2H, m), 2.20 (3H, s), 2.40-2.55 (2H, m), 2.90-3.05 (2H, m), 3.40-3.55 (4H, m), 3.70-3.90 (4H, m), 4.20-4.32 (2H, m), 4.70-4.81 (2H, m), 6.80 (2H, d, $J = 6.9$ Hz), 7.30-7.40 (1H, m), 7.65-7.75 (2H, m), 8.28 (2H, d, $J = 6.9$ Hz). Anal. ($C_{25}H_{31}N_3O_5S$) Calcd: C, 61.84; H, 6.43; N, 8.65, Found: C, 61.67; H, 6.13; N,

4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylsulfonylmethyl)-1-(pyridin-4-yl)piperidine 4-carboxylic acid (11c)

化合物 **11c** (120 mg, 55 %)は、化合物 **72** (200 mg, 0.41 mmol), c-HCl (10 mL), 1*H*-pyrazole-1-carboxamide hydrochloride (181 mg, 1.23 mmol)と 1 N NaOH (2.06 mL, 2.06 mmol)より、化合物 **11b** で記載した方法に準じて合成した。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.70-1.90 (2H, m), 2.08-2.20 (2H, m), 3.03 (2H, m), 3.51 (2H, m), 3.67 (2H, m), 3.77 (2H, s), 3.92 (2H, m), 4.72 (2H, s), 7.19 (2H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.54 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.65 (1H, s), 7.72-7.76 (5H, m), 8.23 (2H, d, *J* = 7.5 Hz); MS (FAB) *m/z* 458 (M+1)⁺. Anal. (C₂₂H₂₇N₅O₄S · 2.2 HCl · 2.8 H₂O) Calcd: C, 44.92; H, 5.96; N, 11.91, Found: C, 45.17; H, 6.03; N, 11.74

Scheme 13 の化合物

1-(Pyridin-4-yl)piperidin-4-one (74)

1,4-Dioxo-8-azaspiro[4,5]decane **73** (10 g, 69.8 mmol)の EtOH (10 mL)溶液に、4-chloropyridine hydrochloride (10 g, 66.4 mmol)と Et₃N (29 mL, 210 mmol)を加え、封管中 150 °C で 22 時間加熱攪拌した。反応液を室温に戻し、5 N NaOH (25 mL)を加え、CHCl₃ で抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を c-HCl (30 mL)に溶解し、0 °C で 10 分攪拌した。反応液に NaOH (15 g, 375 mmol)を加え、CHCl₃ で抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH:c-NH₃ = 90:10:1)で精製し、化合物 **74** (6.1 g, 52 %)を得た。 ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.57 (4H, t, *J* = 6.2 Hz), 3.74 (4H, t, *J* = 6.2 Hz), 6.71 (2H, dd, *J* = 1.5, 4.5 Hz), 8.33 (2H, dd, *J* = 1.5, 4.5 Hz). Anal. (C₁₀H₁₂N₂O) Calcd: C, 68.16; H, 6.86; N, 15.90, Found: C, 68.11; H, 6.98; N, 15.72

Methy 4-amino-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylate (75)

化合物 **74** (1 g, 5.67 mmol)の MeOH (10 mL)溶液に、NH₄OAc (880 mg, 11.42 mmol), NaCN (560 mg, 11.43 mmol), c-NH₄OH (5 mL)と AcOH (2 mL)を加え、室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、水を加え、CHCl₃ で抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を MeOH (25 mL)に溶解した。この溶液に HCl ガスを 0 °C で 30 分バブリングした後、室温で 12 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、2N HCl (25 mL)を加え、室温で 2 時間攪拌した。炭酸水素ナトリウムを加え中和した後、CHCl₃ で抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **75** (760 mg, 57 %)を得た。本化合物はそ

のまま次工程に用いた。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.55-1.65 (2H, m), 2.08-2.17 (2H, m), 3.46-3.50 (4H, m), 3.74 (3H, s), 6.66 (2H, dd, *J* = 1.5, 4.5 Hz), 8.25 (2H, dd, *J* = 1.5, 4.5 Hz).

Methyl 1-(pyridin-4-yl)-4-(2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylsulfonylamino) piperidine-4-carboxylate (77)

化合物 **75** (330 mg, 1.40 mmol)の CHCl₃ (5 mL)溶液に, 7-chlorosulfonyl-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline²⁹⁾ (**76**; 500 mg, 1.53 mmol)と pyridine (0.23 mL, 2.84 mmol)を加えた。室温で 12 時間攪拌後, 水を加え CHCl₃ で抽出した。有機層を水, 飽和食塩水で洗浄, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去して化合物 **77** (627 mg, 74 %)を得た。本化合物はそのまま次工程に用いた。¹H NMR (CDCl₃) δ 2.02-2.16 (2H, m), 2.22-2.35 (2H, m), 2.94-3.08 (2H, m), 3.39-3.58 (5H, m), 3.62-3.76 (2H, m), 3.80-3.96 (2H, m), 4.77-4.82 (2H, m), 6.80 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 7.16-7.32 (1H, m), 7.68-7.82 (2H, m), 8.20 (2H, m).

Methyl 4-(2-amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylsulfonylamino)-1-(pyridin-4-yl)-piperidine-4-carboxylate (78)

化合物 **77** (627 mg, 1.04 mmol)の CHCl₃ (5 mL)と MeOH (1 mL)の混合溶液に, 2 N NaOH (1.1 mL, 2.2 mmol)を加えた。室温で 2 時間攪拌後, 2 N HCl (1.1 mL, 2.2 mmol)を加え, 反応液を減圧下濃縮した。得られた残渣を DMF (3 mL)に溶解し, 1*H*-pyrazole-1-carboximidine hydrochloride (305 mg, 2.08 mmol)と DIPEA (0.19 mL, 5.22 mmol)を加えた。室温で 12 時間攪拌後, 不溶物をろ去し, ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣を逆相 HPLC (0.05% TFA in H₂O:MeOH = 6:4)で精製した。目的物を含むフラクションを HCl-EtOH で処理し, 化合物 **78** (480 mg, 88 %)を 2 塩酸塩として得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.86-2.16 (4H, m), 3.00 (2H, m), 3.35-3.42 (5H, m), 3.67 (2H, m), 3.84 (2H, m), 4.74 (2H, s), 7.17 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 7.47 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.56 (1H, s), 7.62 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.82 (4H, brs), 8.22 (2H, d, *J* = 7.1 Hz), 8.56 (1H, s), 13.89 (1H, brs). Anal. (C₂₂H₂₈N₆O₄S · 2 HCl · 2.3 H₂O) Calcd: C, 45.02; H, 5.94; N, 14.32, Found: C, 45.23; H, 5.98; N, 14.25

4-(2-Amidino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-7-ylsulfonylamino)-1-(pyridin-4-yl)piperidine-4-carboxylic acid (11d)

化合物 **11d** (360 mg, 90 %)は, 化合物 **78** (415 mg, 0.878 mmol)より, 化合物 **3** に記載した方法に準じて合成した。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.85-2.10 (4H, m), 2.99 (2H, m), 3.30 (2H, m), 3.67 (2H, m), 3.80-3.95 (2H, m), 4.71 (2H, s), 7.16 (2H, d, *J* = 7.3 Hz), 7.44 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.56 (1H, s), 7.67 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.80 (4H, brs), 8.20 (2H, d, *J* = 7.3 Hz), 8.35 (1H, s); MS (FAB) *m/z* 459 (M+1)⁺. Anal. (C₂₁H₂₆N₆O₄S · 2 HCl · 2.3 H₂O) Calcd: C, 44.03; H, 5.74; N, 14.67, Found: C, 44.27; H, 5.91; N, 14.61

Pharmacological Experiments

Ex vivo Assessment of Anti-Human Factor Xa in Cynomolgus Monkey Plasma

化合物の生理食塩水溶液をオスのカニクイザルに、1 mg/kg の用量を静脈内投与した。投与前及び投与後 5, 10, 15, 30, 60, 120 分に経時的にカニクイザルの伏在静脈より 1500 μ L の血液を採取した。(採血には 3.8% のクエン酸水溶液を 300 μ L 含むシリンジを用いた。) 各血液サンプルの血漿は、4 $^{\circ}$ C 下で 10 分間遠心分離 (2000 G) し、調製した。

化合物の脱イオン水溶液を絶食下でオスのカニクイザルに、10 mg/kg の用量を経口投与した。投与前及び投与後 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480 分に経時的にカニクイザルの伏在静脈より 1500 μ L の血液を採取し、上述と同様の方法で血漿サンプルを調製した。

40 μ L のヒト型ファクターXa (0.5 U/mL) と 40 μ L の 4 倍希釈した血漿サンプルを、40 μ L の緩衝液 (0.1 M Tris-0.2 M NaCl buffer ; pH 8.4) 中、37 $^{\circ}$ C 下 10 分間インキュベートした。その後、0.8 mM に調製した合成基質 S-2222 を 40 μ L 加え、37 $^{\circ}$ C 下 3 分間インキュベートした。60%酢酸を加え反応を停止し、吸光度計 (Model 3550, BIO-RAD, Hercules, USA) で 405 nm の吸光度を測定した。投与前の血漿サンプルを用いた吸光度をコントロールとした。ヒト型ファクターXa 阻害活性は、コントロールに対する阻害%で計算した。

Ex vivo Assessment of Anti-Human Factor Xa in Mice Plasma

上記カニクイザルを用いた *ex vivo* 試験と同様の方法で実施した。

但し、採血は静脈内投与の場合、投与後 10, 30, 60, 120 分で行い、また経口投与の場合は、投与後 10, 30, 60, 120, 180 分で行った。

Assessment of the Inhibitory Effect on Human Factor Xa

40 μ L のヒト型ファクターXa (0.16 U/mL) と 40 μ L の化合物溶液を、40 μ L の緩衝液中、37 $^{\circ}$ C 下 10 分間インキュベートした。その後、基質 S-2222 の溶液 40 μ L を加え、さらに 37 $^{\circ}$ C 下 10 分間インキュベートした。60%酢酸 40 μ L を加え酵素反応を停止し、基質より遊離したパラニトロアニリン (p-NA) 量を、マイクロプレートリーダーを用いて測定した 405 nm の吸光度より算出した。

Assessment of the Inhibitory Effect on Human Thrombin

40 μ L のヒト型トロンビン (0.4 U/mL) と 40 μ L の化合物溶液を、40 μ L の緩衝液中、37 $^{\circ}$ C 下 10 分間インキュベートした。その後、基質 S-2238 の溶液 40 μ L を加え、さらに 37 $^{\circ}$ C 下 10 分間インキュベートした。60%酢酸 40 μ L を加え酵素反応を停止し、基質より遊離したパラニトロアニリン (p-NA) 量を、マイクロプレートリーダーを用いて測定した 405 nm の吸光度より算出した。

Assessment of the Inhibitory Effect on Human Trypsin

40 μL のヒト型トリプシン (5 U/mL) と 40 μL の化合物 **3** の溶液 (終濃度が 50, 100, 200 μM になるよう調製した) を, 40 μL の緩衝液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下 10 分間インキュベートした。その後, 基質 S-2222 の溶液 40 μL を加え, さらに 37 $^{\circ}\text{C}$ 下 10 分間インキュベートした。60%酢酸 40 μL を加え酵素反応を停止し, 基質より遊離したパラニトロアニリン (p-NA) 量を, マイクロプレートリーダーを用いて測定した 405 nm の吸光度より算出した。

Assessment of the Inhibitory Effect on Human Plasmin

40 μL のヒト型プラスミン (0.02 U/mL) と 40 μL の化合物 **3** の溶液 (終濃度が 12.5, 25, 50 μM になるよう調製した) を, 40 μL の緩衝液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下 10 分間インキュベートした。その後, 基質 S-2403 の溶液 40 μL を加え, さらに 37 $^{\circ}\text{C}$ 下 10 分間インキュベートした。60%酢酸 40 μL を加え酵素反応を停止し, 基質より遊離したパラニトロアニリン (p-NA) 量を, マイクロプレートリーダーを用いて測定した 405 nm の吸光度より算出した。

Determination of K_i values

化合物 **3** のファクターXa 阻害様式は, 初速度 [OD 405 nm] と基質濃度 [μM] の Lineweaver-Burk plot により決定した。また, 化合物 **3** のファクターXa と他のセリンプロテアーゼに対する K_i 値は, Dixon plot より決定した。

Survival test used mice

オスの ICR マウスを用いて行った。各化合物 10 mg/kg の用量を尾静脈より投与し, 投与後 1 日間観察し, 1 日後のマウスの生存率を測定した。

Effects of compound **3** in animal models

Animals. Male SD rat were purchased from CRJ (Yokohama, Japan) and used in the study at the age of 7-9 weeks.

Assessment of the effect on rat venous thrombosis³¹⁾.

Rats were anesthetized with urethane (1.3 g/kg *i.p.*). About 1 cm length of an abdominal vein was carefully dissected at a site below the left renal veins, and Parafilm (Parafilm M, ANC) was placed on the dorsal aspect of the abdominal vein. A 2 \times 3 mm piece of filter paper (No. 1, Whatman) containing 25 % FeCl_3 was applied to the detached vein and removed after 20 minutes. Immediately after removing the filter paper, a 5 mm length of the abdominal vein was resected and weighed. The thrombus weight was calculated by subtracting the weight of the venal vessel walls

from the total measured weight. Compound **3** (0.1, 0.3, 1 mg/kg/hr) was administered by continuous intravenous infusion from 1 hour prior to placement of the filter paper.

Assessment of the effect on rat middle cerebral arterial thrombosis³².

PE50 catheters were inserted into animals through the right and left femoral veins (for rose bengal and drug administration) under anesthesia with a mixed gas of halothane, nitrous oxide, and oxygen (nitrous oxide:oxygen = 7:3, halothane concentration: 4 % at introduction, 1.5 % at maintenance phase). During catheterisation, rectal temperature of the animals was maintained above 37 °C with an insulating pad. A hole approximately 2.5 mm in diameter was made with a dental drill in the basal part of the temporal bone, and the intersection of the major trunk of the middle cerebral artery and the olfactory tract was exposed without incising the dura. In addition, a hole approximately 2 mm in diameter was made in the skull, peripheral to the middle cerebral artery. Twenty minutes after starting intravenous infusion of saline or Compound **3** (0.03, 0.1, 0.3 mg/kg/hr), rose Bengal (Sigma) was intravenously administered at a dose of 20 mg/kg. The animals were then irradiated with light for 10 minutes. After completion of irradiation, the surgical site was closed and the animals were aroused. Drug administration under freely moving conditions was continuously performed until 24 hours after occlusion. The study was blinded through all processes including operation, drug administration, and imaging analysis by encoding the drug sample labels. Following decapitation, 24 hours after occlusion, whole brains were isolated and cut into 6 coronal slices at 2 mm intervals (bregma: +4, +2, 0, -2, -4, -6 mm). Specimens were measured for infarction size using an imaging analyzer after staining (37 °C, 20 minutes) with 2 % TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride) in saline solution. “Total infarction volume” was calculated by multiplying slice thickness (2 mm) by the sum of infarction size.

引用文献

1. a) Boehringer Ingerheim 社 Home page <https://www.boehringer-ingenelheim.jp/node/11531>
What is Venous Thromboembolism (VTE)? <https://www.boehringer-ingenelheim.jp/sites/jp/files/Infographics/VTE%20-%20Deep%20Vein%20Thrombosis%20%26%20Pulmonary%20Embolic%20Disease%200.pdf> b) White, R. H. The Epidemiology of Venous Thromboembolism. *Circulation*. **2003**, *107*, 14–18.
2. Heit, J. A. Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors. *J. Thromb. Haemost.* **2005**, *3*, 1611–17.
3. Deitelzweig, S. B.; Johnson, B. H.; Lin, J.; Schulman, K. L. Prevalence of clinical venous thromboembolism in the USA: current trends and future projections. *Am. J. Hematol.* **2011**, *86*, 217–220.
4. 安藤太三, 伊藤正明, 應儀成二 他. 肺血栓症および深部静脈血栓症の診断, 治療予防に関するガイドライン (2009年改訂版). *Circ. J.* **2011**, *75*, 1258–1281.
5. Nakamura, M.; Yamada, N.; Ito, M. Current management of venous thromboembolism in Japan: current epidemiology and advances in anticoagulant therapy. *J. Cardiol.* **2015**, *66*, 451–459.
6. Bagot, CN.; Arya, R. Virchow and his triad: a question of attribution. *Br. J. Haematol.* **2008**, *143*, 180–190.
7. Bodin, L.; Verstuyft, C.; Tregouet, D-A.; Robert, A.; Dubert, L.; Funck-Brentano, C.; Jaillon, P.; Laurent-Puig, P.; Becquemont, L.; Llorca, M-A. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood*. **2005**, *106*, 135-140.
8. Krynetskiy, E.; McDonnell, P. Building individual medicine: prevention of adverse reactions to warfarin therapy. *J. Pharm. Ther.* **2007**, *322*, 427-434.
9. Shimoto, Y.; Kunitada, S. 抗FXa薬の現状と展望. FXa inhibitors: Updates on clinical trial. *血栓止血誌*. **2007**, *20*, 527-533.
10. Morishima, Y.; Shibano, T. 抗血栓薬の研究戦略と経口FXa阻害薬エドキサバンの薬効薬理. *Folia. Pharmacol. Jpn.* **2010**, *136*, 83-87.
11. a) Nagahara, T.; Yokoyama, Y.; Inamura, K.; Katakura, S.; Komoriya, S.; Yamaguchi, H.; Hara, T.; Iwamoto, M. Dibasic (Amidinoaryl)propanoic Acid Derivatives as Novel Blood Coagulation Factor Xa inhibitors. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1200-1207. b) Hara, T.; Yokoyama, A.; Ishihara, H.; Yokoyama, Y.; Nagahara, T. DX-9065a, a new synthetic, potent anticoagulant and selective inhibitor for factor Xa. *Thromb. Haemost.* **1994**, *71*, 314-319.
12. a) Hobbelen, P. M.; van Dinther, T. G.; Vogel, G. M. T.; van Boeckel, C. A. A.; Moelker, H. C. T.; Meuleman, D. G. Pharmacological profile of the chemically synthesized antithrombin III

- binding fragment of heparin (pentasaccharide) in rats. *Thromb. Haemost.* **1990**, *63*, 265-270. b) Reverter, J. C. Fondaparinux sodium. *Drugs Today.* **2002**, *38*, 185-194.
13. Factor Xa inhibitors: a) Betz, A. Recent advances in Factor Xa inhibitors. *Exp. Opin. Ther. Patents*, **2001**, *11*, 1007-1017. b) Rai, R.; Sprengeler, P. A.; Elrod, K. C.; Young, W. B. Perspectives on factor Xa inhibition. *Current Medicinal Chemistry*, **2001**, *8*, 101-119. c) Ewing, W. R.; Pauls, H. W.; Spada, A. P. Progress in the design of inhibitors of coagulation factor Xa. *Drugs Future*, **1999**, *24*, 771-787. d) Zhu, B. Z.; Scarborough, R. M. Factor Xa inhibitors: Recent advances in anticoagulant agents. *Ann Rep. Med. Chem*, **2000**, *35*, 83-102. e) Kuczniierz, R.; Grams, F.; Leinert, H.; Marzenell, K.; Engh, R. A.; von der Saal, W. Tetrahydro-isoquinoline-based factor Xa inhibitors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4983-4994. f) Hirayama, F.; Koshio, H.; Ishihara, T.; Watanuki, S.; Hachiya, S.; Kaizawa, H.; Kuramochi, T.; Katayama, N.; Kurihara, H.; Taniuchi, Y.; Sato, K.; Sakai-Moritani, Y.; Kaku, S.; Kawasaki, T.; Matsumoto, Y.; Sakamoto, S.; Tsukamoto, S. Design, synthesis and biological activity of YM-60828 derivatives: potent and orally-bioavailable factor Xa inhibitors based on naphthoanilide and naphthalensulfonanilide templates. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2597-2610. g) Quan, M. L.; Ellis, C. D.; He, M. Y.; Liauw, A. Y.; Woerner, F. J.; Alexander, R. S.; Knabb, R. M.; Lam, P. Y. S.; Luetzgen, J. M.; Wong, P. C.; Wright M. R.; Wexler, R. R. Nonbenzamidine tetrazole derivatives as factor Xa inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 369-373.
14. Recent Factor Xa inhibitors: a) Patel, N. R.; Patel, D. V.; Murumkar, P. R.; Mange Ram Yadav. Contemporary developments in the discovery of selective factor Xa inhibitors: A review. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *121*, 671-698. b) Yeh, C. H.; Fredenburgh, J. C.; Weitz, J. I. Oral Direct Factor Xa Inhibitors. *Cir. Res.* **2012**, *111*, 1069-1078. c) Pinto, D. J. P.; Smallheer, J. M.; Cheney, D. L.; Knabb, R. M.; Wexler, R. R. Factor Xa Inhibitors: Next-Generation Antithrombotic Agents. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6243-6274. d) Al-Obeidi, F.; Osterm, J. A. Factor Xa inhibitors. *Exp. Opin. Ther. Patents.* **1999**, *9*, 931-953.
15. a) Nakamura, M.; Okano, Y.; Minamiguchi, H. et al. Multidetector-row computed tomography-based clinical assessment of fondaparinux for treatment of acute pulmonary embolism and acute deep vein thrombosis in Japanese patients. *Circ. J.* **2011**, *75*, 1424-1432. b) Sculpher, M. J.; Lozano-Ortega, G.; Sambrook, J.; Palmer, S.; Ormanidhi, O.; Bakhai, A.; Flather, M.; Steg, P. G.; Mehta, S. R.; Weintraub, W. Fondaparinux versus enoxaparin in non-ST-elevation acute coronary syndromes: short-term cost and long-term cost-effectiveness using data from the Fifth Organization to Assess Strategies in Acute Ischemic Syndromes Investigators (OASIS-5) trial. *Am. Heart. J.* **2009**, *157*, 845-852. c) Peters, R. J. G.; Joyner, C.; Bassand, J. P.; Afzal, R.; Chrolavicius, S.; Mehta, S. R.; Oldgrem, J.; Wallentin, L.; Budaj, A.; Fox, K. A.; Yusuf, S. OASIS-6 Investigators. The role of fondaparinux as an adjunct to thrombolytic therapy in acute myocardial infarction: a subgroup analysis of OASIS-6 trial. *Eur. Heart. J.*

- 2008**, *29*, 324-331.
16. 相川直樹. 抗 Xa 薬—臨床試験の現況. 血栓と循環, **2002**, *10*, 455-462.
 17. a) X-ray cocrystal structure of compound **1** (DX-9065a) bound to factor Xa: PDB code 1fax. Brandstetter, H.; Kuhne, A.; Bode, W.; Huber, R.; von der Saal, W.; Wirthensohn, K.; Engh, R. A., X-ray structure of active site-inhibited clotting factor Xa. Implications for drug design and substrate recognition. *J. Biol. Chem.*, **1996**, *271*, 29988-29992. b) The complex model of FXa-compound **3** or **8a** was built by docking compound **3** or **8a** into the S1 and the S4 site (aryl binding site) on FXa crystal structure (PDB code 1fax) using the Glide docking software from Schrödinger.
 18. Ueno, H.; Kato, S.; Yokota, K.; Hoshi, J.; Hayashi, M.; Uchida, I.; Aisaka, K.; Hase, Y.; Cho, H. Structure-activity relationships of potent and selective factor Xa inhibitors: benzoimidazole derivatives with the side chain oriented to the prime site of factor Xa. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14*, 4281-4286.
 19. Ueno, H.; Yokota, K.; Hoshi, J.; Yasue, K.; Hayashi, M.; Uchida, I.; Aisaka, K.; Hase, Y.; Kato, S.; Cho, H. Discovery of novel tetrahydroisoquinoline derivatives as potent and selective factor Xa inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 185-189.
 20. Ueno, H.; Yokota, K.; Hoshi, J.; Yasue, K.; Hayashi, M.; Hase, Y.; Uchida, I.; Aisaka, K.; Kato, S.; Cho, H. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Novel Selective Factor Xa Inhibitors with Tetrahydroisoquinoline Ring. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3586-3604.
 21. Schlittler, E.; Mullar, J. Eine neue modification der isochinolin synthese nach Pomeranz-Fritsch. *Helv. Chim. Acta.* **1948**, *31*, 914-924.
 22. Drake, B.; Patek, M.; Lebl, M. A. Convenient preparation of monosubstituted *N, N'*-di (Boc)-protected guanidines. *Synthesis*, **1994**, 579-582.
 23. Marsais, F.; Trecourt, F.; Breant, P.; Queguiner, G. Directed lithiation of 4-halopyridines: Chemoselectivity, regioselectivity and application to synthesis. *J. Heterocycl. Chem.* **1988**, *25*, 81-87.
 24. Guendouz, F.; Jacquier, R.; Verducci, J. Polymer bound 4-dialkylamino pyridines: Synthesis, characterization and catalytic efficiency. *Tetrahedron.* **1988**, *44*, 7095-7108.
 25. Benneche, T.; Undheim, K. Synthesis of α -haloalkyl aryl ethers from *O,S*-acetals. *Acta. Chem. Scand.* **1983**, *37*, 93-96.
 26. Singh, B.; Leshner, G. Y.; Pennock, P. O. A convenient large scale synthesis of 2,6-dimethyl-4-(trimethylstannyl)pyridine. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 1841-1842.
 27. a) Dougherty, D. A. Cation- π interactions in chemistry and biology: a new view of benzene, Phe, Tyr, and Trp. *Science*, **1996**, *271*, 163-168. b) Salonen, L. M.; Holland, M. C.; Kaib, P. S.; Haap, W.; Benz, J.; Mary, J. L.; Kuster, O.; Schweizer, W. B.; Banner, D. W.; Diederich, F. Molecular recognition at the active site of factor Xa: cation- π interactions, stacking on planar

- peptide surfaces, and replacement of structural water. *Chemistry*. **2012**, *18*, 213-222.
28. Pharmacokinetic parameters in cynomolgus monkeys: C_{max} 0.39 µg/mL, T_{1/2} 3.6 hr, Bioavailability (B.A.) 11.7 % (10mg/kg p.o.), Clearance 0.25 L/hr/kg, Volume of Distribution 0.32 L/kg (1mg/kg i.v.) Hayashi, M.; Hamada, A.; Okaya, Y.; Wakitani, K.; Aisaka, K. Inhibitory effect of JTV-803, a new cyclic guanidine derivatives, on factor Xa *in vitro* and *in vivo*. *Eur. J. Pharmacol.*, **2001**, *428*, 163-168.
 29. Blank, B.; Krog, A. J.; Weiner, G.; Pendleton, R. G. Inhibitors of phenylethanolamine N-methyl transferase and epinephrine biosynthesis 2. 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-7-sulfonanilides. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 837-840.
 30. a) Pruitt, J. R.; Pinto, D. J. P.; Galembo, R. A., Jr; Alexander, R. S.; Rossi, K. A.; Wells, B. L.; Drummond, S.; Bostrom, L. L.; Burdick, D.; Bruckner, R.; Chen, H.; Smallwood, A.; Wong, P. C.; Wright, M. R.; Bai, S.; Luetzgen, J. M.; Knabb, R. M.; Lam, P. Y. S.; Wexler, R. R. Discovery of 1-(2-aminomethylphenyl)-3-trifluoromethyl-N-[3-fluoro-2'-(aminosulfonyl)[1,10-biphenyl]-4-yl]-1H-pyrazole-5-carboxamide (DPC602), a potent, selective, and orally bioavailable factor Xa inhibitor. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5298–5315. b) Alexander, R. S. PDB code 3M36, 2.15 Å. Release date: May 2, 2010. c) Alexander, R. S. PDB code 3M35. Released in year 2010.
 31. Lyle, E. M.; Lewis, S. D.; Lehman, E. D.; Gardell, S. J.; Motzel, S. L.; Lynch, J. J. Assessment of thrombin inhibitor efficacy in a novel rabbit model of simultaneous arterial and venous thrombosis. *Thromb. Haemostasis*. **1998**, *79*, 656-662.
 32. Umemura, K.; Toshima, Y.; Nakashima, M. Thrombolytic efficacy of a modified tissue-type plasminogen activator, SUN9216, in the rat middle cerebral artery thrombosis model. *Eur. J. Pharmacol.* **1994**, *262*, 27-31.
 33. Hayashi, M.; Matsuo, A.; Nakamoto, H.; Aisaka, K. Antithrombotic effects of a synthetic inhibitor of activated factor X, JTV-803, in animals. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *412*, 61-66.
 34. Anti-thrombotic effect of JTV-803: a) Hayashi, M.; Hamada, A.; Okaya, Y.; Wakitani, K.; Aisaka, K. Inhibitory effect of JTV-803, a new cyclic guanidine derivatives, on factor Xa *in vitro* and *in vivo*. *Eur. J. Pharmacol.*, **2001**, *428*, 163-168. b) Hayashi, M.; Uesato, N.; Aisaka, K. Effects of activated factor X inhibitor, JTV-803, in a pig model of hemodialysis. *Thromb. Res.* **2002**, *107*, 351-356. c) Asakura, H.; Ichino, T.; Yoshida, T.; Suga, Y.; Ontachi, Y.; Mizutani, T.; Kato, M.; Ito, T.; Yamazaki, M.; Aoshima, K.; Morishita, E.; Saito, M.; Miyamoto, K.-I.; Nakano, S. Beneficial effect of JTV-803, anew synthetic inhibitor of activated factor X, against both lipopolysaccharide-induced and tissue factor-induced disseminated intravascular coaguration in rat model. *Blood. Coagul.Fibrinolysis*. **2002**, *13*, 233-239.
 35. Katoh, S.; Yokota, K.; Hayashi, M. PCT Int. Appl. WO9952895, 1999.