

博士学位論文

新規 ROR γ アンタゴニストの創薬研究

2020 年

平田 和之

目次

略語集.....	3
序論.....	6
本論	
第1章 リード化合物の創製.....	19
第1節 緒言.....	19
第2節 HTS ヒット化合物のプロファイルと課題.....	19
第3節 各部位の合成展開.....	22
3-1. チオアセチルアミド部位 (A) の変換.....	22
3-2. インダニル基 (R ¹) の変換.....	23
3-3. ナフチル基 (R ²) の変換.....	24
3-4. トリアゾール環 (B) の変換.....	25
第4節 リード化合物のプロファイル.....	26
第2章 化合物 9 の複合体 X 線結晶構造解析.....	27
第1節 緒言.....	27
第2節 結果考察.....	27
第3章 リード化合物の最適化.....	31
第1節 緒言.....	31
第2節 各部位の最適化.....	31
2-1. エチル基 (R ³) の最適化.....	31
2-2. シクロヘキシルエチル基 (R ¹) の最適化.....	32
2-3. エチレン基 (A') の最適化.....	33
2-3-1. モデル化合物を用いた <i>cis</i> -オレフィン構造の導入検討.....	33

2-3-2. モデル化合物を用いた環状構造の導入検討	34
2-3-3. 環状構造導入による活性コンフォメーションの固定化検討.....	35
第3節 化合物 42 のプロファイル	37
第4節 ROR α , ROR β との選択性についての考察	39
第5節 化合物 42 の合成	40
第6節 化合物 42 の <i>in vivo</i> 評価.....	43
6-1. 薬物動態試験	43
6-2. 薬効薬理試験	44
結論	45
実験の部	
1. 化合物の合成	46
第1章の実験	46
第3章の実験	79
2. 薬効薬理試験	136
3. 薬物動態試験	138
4. 複合体 X 線結晶構造解析	139
謝辞	141
参考文献.....	143
本論文内容の誌上発表.....	151

略語集

Ac	Acetyl
AF-1	Ligand-independent activation function 1
AF-2	Ligand-dependent activation function 2
Arg	Arginine
AUC _{0-inf.}	Area under the blood concentration time curve from 0 h to infinity
BA	Bioavailability
BEI	Binding efficiency index
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
brs	Broad singlet
Bu	Butyl
C _{5min}	Concentration at 5 min
calcd	Calculated
cat.	Catalyst or catalytic amount
CL _{tot}	Total clearance
C _{max}	Maximum concentration
CoA	Co-activator peptide
CYP	Cytochrome P450
Cys	Cysteine
d	Doublet
Da	Dalton
DBD	DNA binding domain
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamine
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
DME	1,2-Dimethoxyethane
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamide
DMSO	Dimethylsulfoxide
DMSO- <i>d</i> ₆	Deuterodimethylsulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
EC ₅₀	Half maximal effective concentration
ED ₅₀	Half maximal effective dose
Et	Ethyl
FDA	Food and drug administration
Fsp ³	Fraction of sp ³ carbon atoms
FXR	Farnesoid X receptor

Glu	Glutamic acid
GR	Glucocorticoid receptor
h	Human
HAC	Heavy atom counts
HATU	2-(7-Aza-1 <i>H</i> -benzotriazole-1-yl)-1, 1, 3, 3-tetramethyluronium hexafluorophosphate
HOBt · H ₂ O	1-Hydroxybenzotriazole monohydrate
HPLC	High performance liquid chromatography
HRMS	High resolution mass spectrum
HTS	High throughput screening
IC ₅₀	Half maximal inhibitory concentration
IL-17	Interleukin 17
IL-23	Interleukin 23
Ile	Isoleucine
iv	Intravenous
<i>J</i>	Coupling constant
LBD	Ligand binding domain
LE	Ligand efficiency
Leu	Leucine
LXR	Liver X receptor
M	Molar concentration (= mol/dm ³)
m	Multiplet
MC	Methylcellulose
Me	Methyl
Met	Methionine
MeOH- <i>d</i> ₄	Deuteromethanol
mpk	Milligram per kilogram
MRT	Mean residence time
MW	Molecular weight
m/z	Mass-to-charge ratio
N	Normality
NMR	Nuclear magnetic resonance
PBS	Phosphate-buffered saline
PDB	Protein data bank
Phe	Phenylalanine
PK	Pharmacokinetics

po	Per os
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
q	Quartet
quant	Quantitative
quin	Quintet
RAR	Retinoic acid receptor
ROR	Retinoic acid receptor-related orphan receptor
PR	Progesterone receptor
rt	Room temperature
RXR	Retinoid X receptor
s	Singlet
SAR	Structure-activity relationships
sep	Septet
SF1	Steroidogenic factor 1
t	Triplet
T _{1/2}	Elimination half-life
TBAF	Tetrabutylammonium fluoride
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TFA	Trifluoroacetic acid
Th1	T helper 1 cell
Th2	T helper 2 cell
Th17	T helper 17 cell
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Thin-layer chromatography
T _{max}	Time to maximum concentration
TMDS	1, 1, 3, 3-Tetramethyldisilazane
Tyr	Tyrosine
<i>p</i> -Ts	<i>p</i> -Toluenesulfonyl
Val	Valine
VDR	Vitamin D receptor
Vdss	Apparent volume of distribution of a drug at steady state
WSC · HCl	1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride
y	Yield
δ	Chemical shift (ppm)

序論

自己免疫疾患について

自己免疫疾患は、外来の異物、例えばウイルス、細菌、寄生虫、カビ、粉塵等から生体防御を担う免疫系が正常に機能しなくなり、自己の細胞（による産物）を非自己と認識した免疫細胞が自己組織を攻撃してしまう病気である。攻撃された自己の組織は、炎症と損傷を引き起こしてしまうことになる。自己免疫疾患は、全身に影響が及ぶ全身性自己免疫疾患と特定の臓器だけに影響が及ぶ臓器特異的自己免疫疾患の 2 種に大きく分けることができる。患者数は、全身性自己免疫疾患である関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis: RA) や全身性エリテマトーデス (Systemic Lupus Erythematosus: SLE) においてそれぞれ 60 万～100 万人、6 万～10 万人、臓器特異的自己免疫疾患である乾癬、炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) や多発性硬化症においてそれぞれ 50 万～60 万人、21 万人、1.3 万人（いずれも日本）にもものぼる。しかし、医薬品が効果を示す病型が限られていることから、多発性硬化症、全身性エリテマトーデスや乾癬の治療満足度が 50% を下回るという報告があるように多くの人々がこれらの病気で苦しんでいる¹⁾。

1999 年、自己免疫疾患のひとつである関節リウマチ患者の関節液中から炎症性サイトカインである IL-17 (Interleukin 17) が過剰量検出され、破骨細胞の分化を促進することが報告された²⁾。さらに、2003 年、IL-17 欠損マウスにおいて関節リウマチの動物モデルとされるコラーゲン関節炎 (Collagen Induced Arthritis: CIA) モデルの炎症が減弱することが報告された³⁾。これら結果より、自己免疫疾患を引き起こす主要な因子は IL-17 であると考えられた。

その後、2005 年に IL-17 を産生する第三のヘルパー T 細胞として Th17 細胞 (T helper 17 cell : IL-17 を産生することから命名) の存在が報告された^{4) 5)}。これは、1986 年に Mosmann らが提唱した Th1 / Th2 仮説⁶⁾から 20 年近く経ての大きな発見であった。Th17 細胞が発見されるまでは臓器特異的自己免疫疾患は Th1 細胞、全身性自己免疫疾患は Th2 細胞が担うとされていたが、Th17 細胞の発見により、自己免疫疾患に深く関与するのは Th17 細胞であると考えられるようになった。近年、IL-17 抗体であるセクキヌマブ (Secukinumab)⁷⁻⁹⁾やイクセキズマブ (Ixekizumab)¹⁰⁾、IL-17 受容体抗体であるブロダルマブ (Brodalumab)¹¹⁾が乾癬、関節リウマチ、ぶどう膜炎等の自己免疫疾患を対象とした臨床試験で有効性が確認された。また、Th17 細胞の増殖や生存には IL-23 が重要な役割を果たしていることが報告され¹²⁾、その IL-23 の抗体であるウステキヌマブ (Ustekinumab) やグセルクマブ (Guselkumab) においても、乾癬等を対象とした臨床試験で有効性が確認された¹³⁾。これらの結果からも、自己免疫疾患は Th17 細胞が担っていることが強く示唆されている。

この Th17 細胞が IL-17 を産生するためには、ナイーブ T 細胞から Th17 細胞への「分化」の過程と、その後の「活性化」の過程が必要である。その「分化」と「活性化」の両者をコントロールするマスターレギュレーターが核内受容体である ROR γ (Retinoic acid receptor-related orphan receptor-gamma)であることが Ivanov らにより 2006 年に報告された¹⁴⁾。

それ以降、IL-17 の産生抑制には核内受容体である ROR γ を阻害することが最も効果的であると考えられ、極めて有望な創薬ターゲットとして注目を集めている (図 1)。そして、国内外の多くの製薬メーカーや研究機関による創薬活動が行われている。

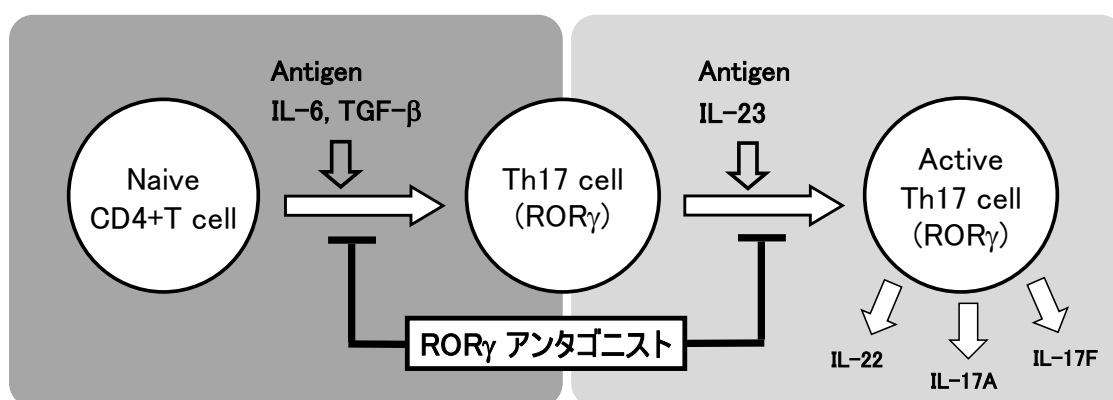


図 1. ROR γ アンタゴニストの作用メカニズム

核内受容体 ROR γ について

ROR γ を含む核内受容体は、細胞核内での DNA (Deoxyribonucleic acid) 転写を調節する受容体であり、細胞の増殖や分化、代謝などに関与する遺伝子の発現をコントロールしている。強い抗炎症作用を有するステロイド剤に端を発した「核内受容体を標的とした創薬」は重要視されており、FDA (Food and Drug Administration) 承認薬の約 13% を占めるといふ報告がある (図 2)¹⁵⁾。

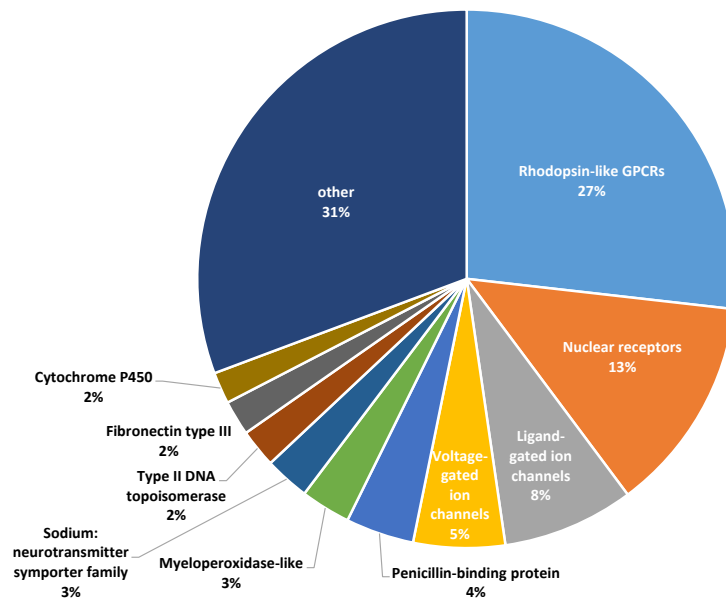


図 2. FDA 承認薬における標的の割合 (引用文献¹⁵⁾より改変)

現在, ヒトの核内受容体は 48 種類見い出されており¹⁶⁾, レチノイド関連オーファン受容体のひとつとして ROR γ の存在が報告されたのは 1994 年である¹⁷⁾. レチノイド関連オーファン受容体には他に ROR α (Retinoic acid receptor-related orphan receptor-alpha)¹⁸⁾ と ROR β (Retinoic acid receptor-related orphan receptor-beta)¹⁹⁾ の 2 つのサブタイプが存在する。ROR α は, 肝臓, 筋肉, 皮膚, 肺, 脂肪組織, 腎臓, 胸腺, 脳などの多くの組織に発現しているのに対し^{20, 21)}, ROR β は中枢, 網膜のみに発現している^{22, 23)}. リガンド結合領域 (後述) は, アミノ酸レベルにおいて ROR γ とそれぞれ 50%, 51% の相同性を有している。また, ROR γ には, N 末側のアミノ酸が 24 個少ない ROR γ t というアイソフォームが知られており²⁴⁾, ROR γ は胸腺, 肝臓, 脂肪組織, 骨格筋, 腎臓に, ROR γ t は胸腺にそれぞれ発現している^{25, 26)}. これらレチノイド関連オーファン受容体は, 免疫以外の働きとして, 脂質代謝, 概日リズム等に関与していることが知られている。そして, ROR α あるいは ROR β が欠損したマウスにそれぞれ重度の運動失調 (ataxia) と運動障害 (motor defects) が認められるという報告があることから, これらを阻害しない高選択的な ROR γ アンタゴニストを創製する必要がある²⁵⁾。

核内受容体 ROR γ は 518 アミノ酸残基と 2 つの亜鉛原子から構成されている。亜鉛原子を除く質量は 58,195 Da である。他の核内受容体と同様に, N 末側から順に, AF-1 (ligand-independent activation function 1)を含む A/B, DNA 結合領域 (DBD: DNA Binding Domain) である C, ヒンジ領域である D, AF-2 (ligand-dependent activation function 2) を有するリガンド結合領域 (LBD: Ligand Binding Domain) である E/F の大きく 4 つの領域から構成されている (図 3)。核内受容体の主たる機能である転写促進能は, AF-1 と

AF-2 が担っている。AF-1 の転写促進機能は恒常的であるのに対し、AF-2 の転写促進機能はリガンド結合誘導的である。ただ、AF-1 のみでは転写促進せず、リガンドが結合した AF-2 の存在が必要である。核内受容体固有の DNA 配列を認識し結合するのが C 領域であり、DNA 二重らせんへの強固な結合に必要な亜鉛フィンガー構造を 2 個有している。この DNA 結合領域とヒンジ領域を介して繋がっているのがリガンド結合領域であり、転写促進に必須であるリガンドが結合するためのポケットを形成する重要な領域となる。なお、ヒトとマウスのリガンド結合領域を比較すると、アミノ酸レベルでの相同性は 88% である²⁶⁾。



図 3. 核内受容体 ROR γ の構造

核内受容体 ROR γ の内因性リガンドは未だ同定されていないが、種々のリガンドが報告されている。天然物のうち ROR γ アゴニストには、20 α -ヒドロキシコレステロール²⁷⁾、22(R)-ヒドロキシコレステロール²⁷⁾、25-ヒドロキシコレステロール²⁷⁾が、ROR γ アンタゴニストには、ウルソール酸²⁸⁾、ジゴキシン^{29, 30)}が報告されている (図 4)。それらは、ステロイドやトリテルペノイドである。

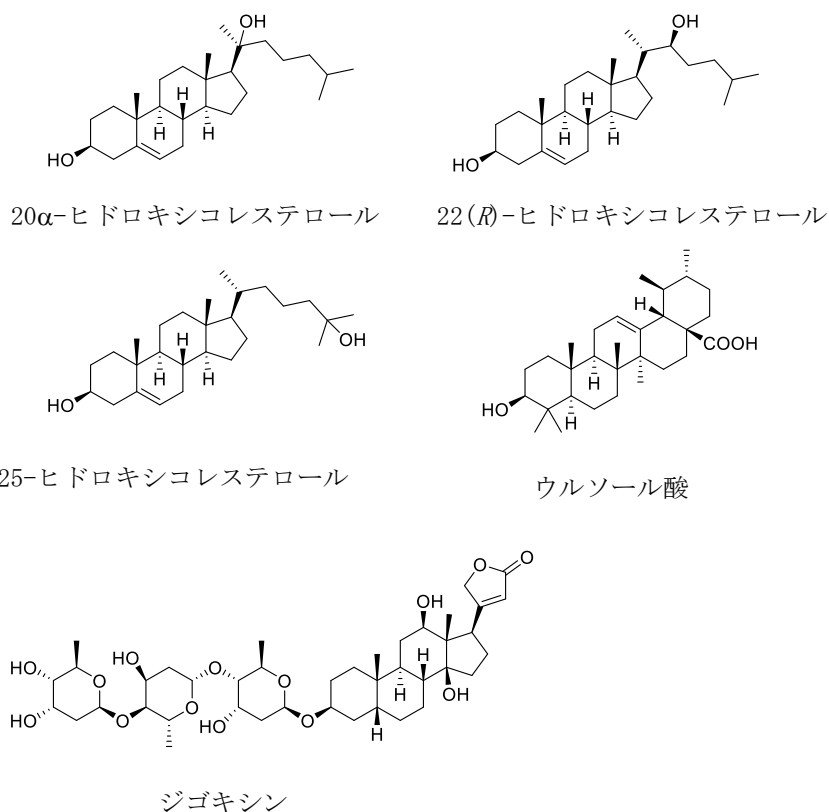


図 4. 天然物の ROR γ リガンド

一方、合成低分子については、核内受容体 LXR (Liver X Receptor) のアゴニストである T0901317 (図 5) が ROR γ と ROR α のアンタゴニスト作用を有するという Scripps 研究所の 2010 年の報告³¹⁾をきっかけに、国内外の多くの製薬メーカーや研究機関から毎年のように新規なアンタゴニストが報告されている。

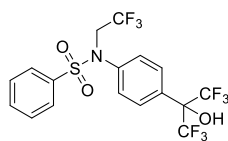


図 5. 化合物 T0901317 の構造

Vitae Pharmaceuticals 社³²⁾, GlaxoSmithKline 社³³⁾, Arrien Pharmaceuticals 社³⁴⁾, AstraZeneca 社³⁵⁾, Genentech 社^{36, 37)}, 武田薬品^{38, 39)}, Biogen 社^{40 - 42)}, Scripps 研究所⁴³⁾, Pfizer 社^{44, 45)}, Merck 社⁴⁶⁾, Bristol-Myers Squibb 社^{47, 48)}, 塩野義製薬^{49, 50)}等から報告された以下のアンタゴニストはその一例である (図 6)。

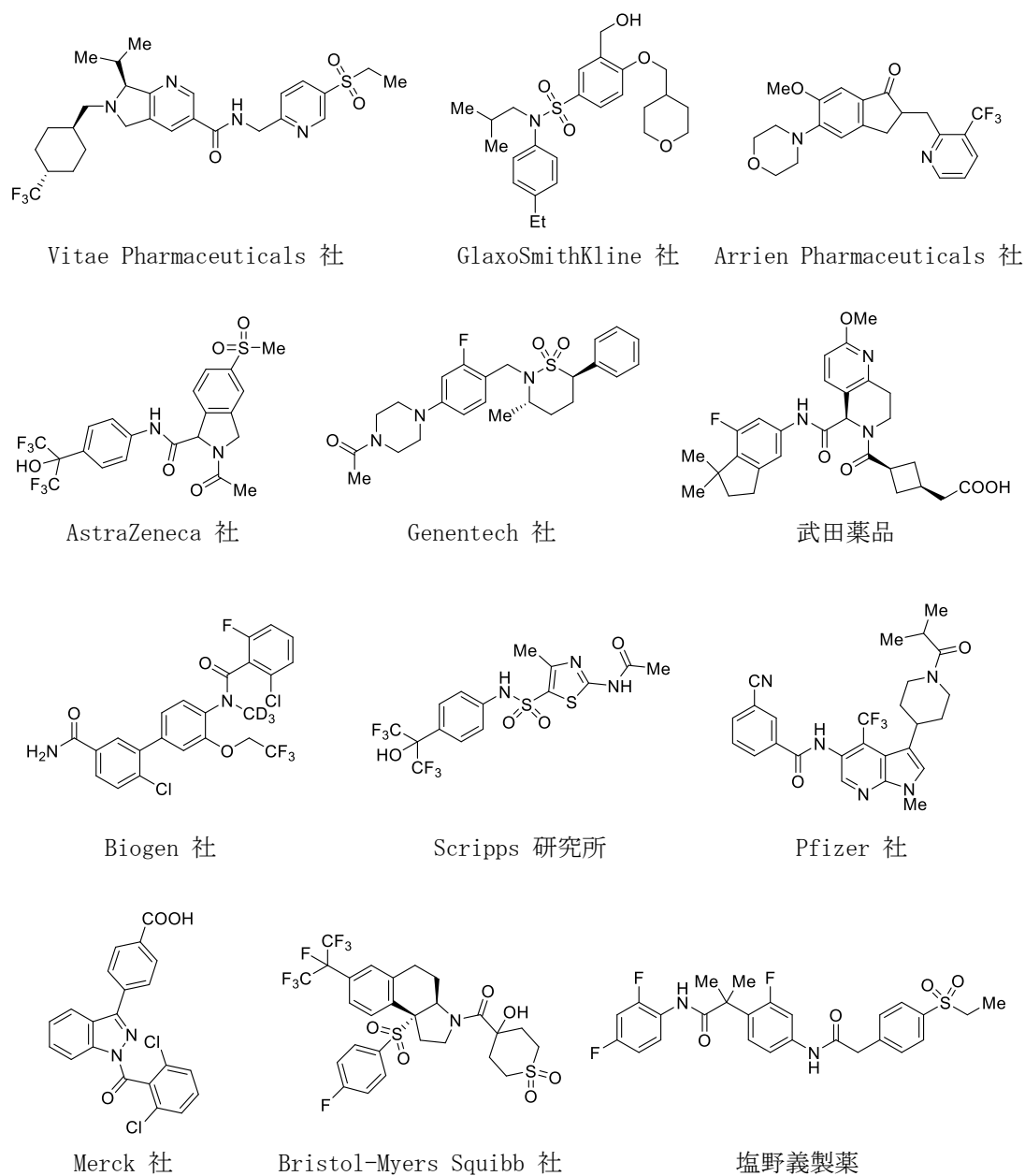


図 6. 報告されている ROR γ 合成低分子アンタゴニスト

アンタゴニストとして報告されている化合物は、総じて分子量が大きく疎水性が高い。図 6 の 12 化合物においても、分子量の平均値は 501 (Bristol-Myers Squibb 社の化合物が 675 と最も大きい) であり、疎水性の指標である clogP (計算によるオクタノール/水分配係数) 値の平均も 3.81 (Biogen 社の化合物が 5.58 と最も大きい) といずれも大きい値を示している。これらは、核内受容体である ROR γ の LBD ポケットの疎水性が高いことに起因すると考えられる。また、化合物の構造式に目を向けると、スルホニル基を有するものが多い。図 6 の 12 化合物においても、半数に近い 4 化合物が部分構造として

スルホニル基を有している。2012 年に GlaxoSmithKline 社がスルホニル基を含むアンタゴニストを初めて報告して以来、多くの製薬メーカーや研究機関が導入を検討している (図 7)⁵¹⁾。塩野義製薬のアンタゴニストもそのうちのひとつであり、そのスルホニル基と ROR γ との極性相互作用を報告している⁵⁰⁾。また、アンタゴニスト活性を発現する化合物の骨格は多岐に渡っており、標的タンパク質である ROR γ の LBD における化合物許容度の高さがうかがわれる。

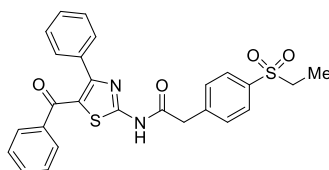


図 7. GlaxoSmithKline 社から報告された初めてのスルホニル化合物

次に、著者が SAR (Structure-Activity Relationships) を進めるに当たって用いた特徴的な指標 LE (Ligand Efficiency) 値および Fsp³ (Fraction of sp³ carbon atoms) 値について説明する。

LE (Ligand Efficiency) 値について

1999 年に Kuntz らは、リガンドの HAC (Heavy Atom Counts : 重原子数) が 15 以上の時には、受容体との結合において一原子あたりの結合エネルギーはほとんど増加しないという考えを示した⁵²⁾。Hopkins らはその考えを取り入れ、2004 年に LE という新しい指標を発表した⁵³⁾ (式 1)。

$$LE = -\Delta G/HAC \approx -RT \ln(IC_{50})/HAC \quad (\text{式 1})$$

(注 : ΔG は自由エネルギー, R は気体定数, T は絶対温度)

LE 値は、1 重原子あたりの活性強度を表しており、その値が大きい化合物は、概ね小さい分子量で強い活性を発現していることを意味する。そのため、「薬らしさ (Drug-likeness)」の指標として現在広く使われており、その目安となる LE 値は 0.29 であると Hopkins らは報告している⁵³⁾。この 0.29 という数値は、分子量 500 の化合物が 10 nM の活性を示した時の数値である。Lipinski の Rule of Five より経口吸収性を示す化合物の分子量の目安が 500 であることと、FDA に承認された低分子薬の活性値の分布を見ると 10 nM 付近 (図 8 中の -Log₁₀ affinity 値 7.3, 7.8, 8.3 は、それぞれ 50.1 nM, 15.8 nM, 5.0 nM に相当する) が多いことから、経口剤の開発において目標にすべき数値であると考えられる^{54, 55)}。

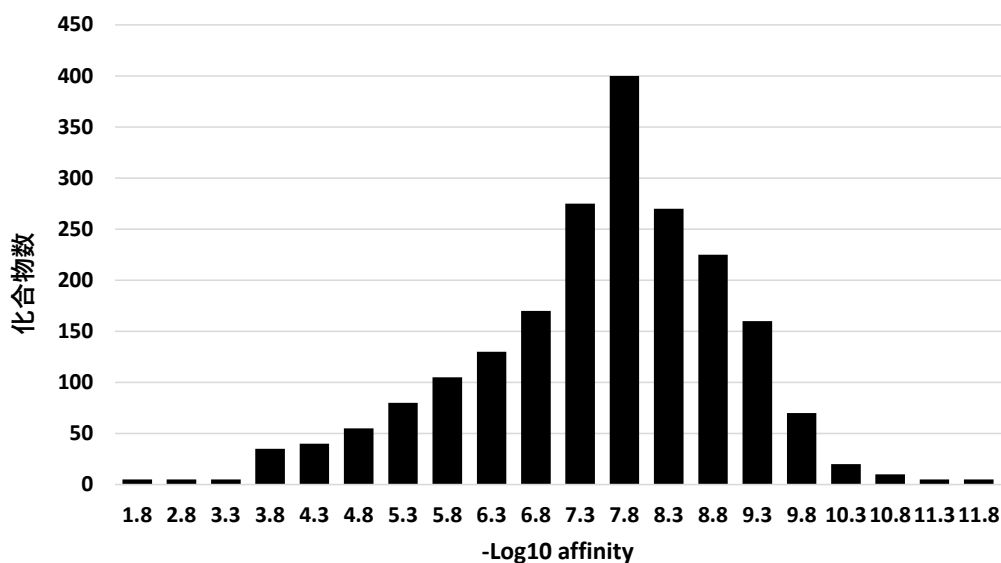


図 8. FDA 承認低分子薬の薬理活性値の分布 (引用文献¹⁵⁾より改変)

Perola の 2010 年の報告によると⁵⁵⁾, 実際に 60 個の市販薬で検証した結果, LE 値が 0.274 ~ 0.365 (図 9 における BEI 値の 15 ~ 20 に相当) であった割合が最も高く, そして全体の 90%にあたる 54 個の市販薬の LE 値は 0.268 (相当する BEI 値は 14.7 である) 以上であったことが報告されている (BEI 値を, 下記の注に基づいて LE 値に換算した)。

(注: 上述した「Perola が報告した LE 値」とは, 図 9 とその引用文献⁵⁵⁾中の BEI (Binding Efficiency Index) 値を用いて, 下記の計算式に基づいて算出した値である。

$$\begin{aligned}
 \text{BEI} &= (\text{pIC}_{50} / \text{MW}) \times 1000 \\
 &= (-\log(\text{IC}_{50}) / (\text{MW} / 13.286)) \times 1 / 13.286 \times 1000 \\
 &= (-RT \ln(\text{IC}_{50}) / (\text{MW} / 13.286)) \times 1 / (2.303 RT) \times 1 / 13.286 \times 1000 \\
 &= (-RT \ln(\text{IC}_{50}) / \text{HAC}) \times 1 / (2.303 RT) \times 1 / 13.286 \times 1000 \\
 &= \text{LE} \times 1 / (2.303 RT) \times 1 / 13.286 \times 1000
 \end{aligned}$$

↓

$$\therefore \text{LE} = 0.01824 \times \text{BEI}$$

但し, 上市薬の分子量 (MW) を 13.286 で除した数値を便宜上 HAC (重原子数) として用いた。13.286 という数字は, 「1 重原子あたりの平均分子量が 13.286」という Hopkins らの解析結果に基づいた⁵³⁾。R は気体定数, T は絶対温度である。)

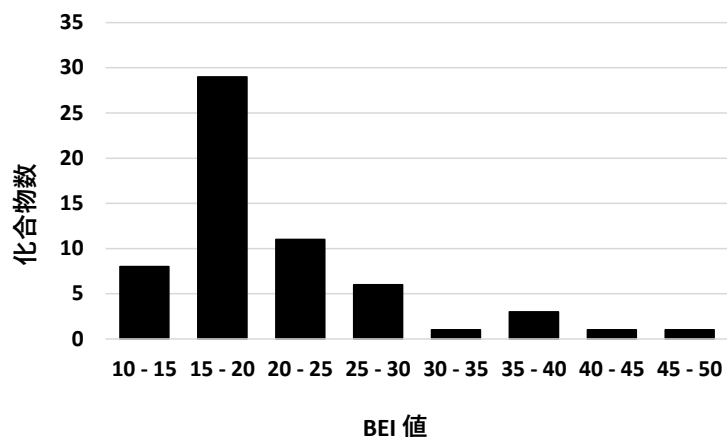


図 9. 上市薬の BEI 値の分布 (引用文献⁵⁵⁾ より改変)

上記より，本研究においては Hopkins らが唱えた 0.29 を目指すべき LE 値とした。

Fsp³ (Fraction of sp³ carbon atoms) 値について

2009 年に Lovering らにより「薬らしさ (Drug-likeness)」の指標として Fsp³ 値が提唱された⁵⁶⁾。これは，化合物に含まれる総炭素数のうち飽和炭素 (sp³ 炭素) が占める割合を示す値であり，定義は以下の通りである (式 2)。

$$F_{sp^3} = (\text{化合物の } sp^3 \text{ 炭素数}) / (\text{化合物の全炭素数}) \quad (\text{式 2})$$

Fsp³ の値が大きい化合物は芳香環等を形成する sp² 炭素が少ないことから，Fsp³ の値が大きいほど化合物は三次元性の高い立体的な特性を有することを意味している。この Fsp³ 値を用いた解析が種々行われている。例えば，前臨床段階，第一相臨床試験，第二相臨床試験，第三相臨床試験，上市薬の 5 段階における各化合物群の Fsp³ の平均値を比較したところ，開発ステージが上がるにつれて値は大きくなり，上市薬の平均値は 0.47 であることを報告している⁵⁶⁾。これは，Fsp³ 値が大きい化合物ほど上市まで到達できる可能性が高いことを意味すると同時に，前臨床段階で目指すべき Fsp³ 値は 0.47 であることを示している (図 10)。

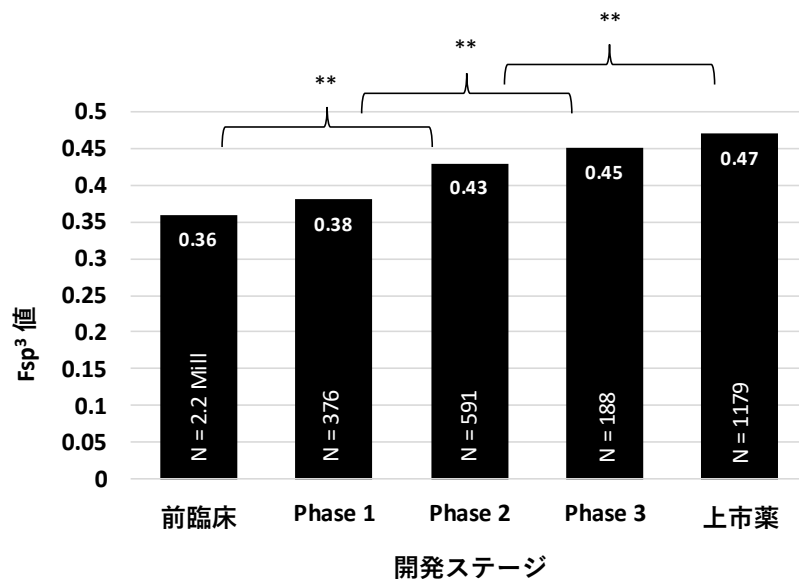


図 10. 各開発段階における化合物群の Fsp³ 値の平均 (**P value<0.001) (引用文献⁵⁶⁾より改変)

また、オフターゲットに対する選択性や水への溶解性についての解析も行われており、いずれも Fsp³ 値が大きいほど「薬らしい」化合物であるという結果が得られている。

具体的には、Fsp³ 値の異なる 3 つの化合物群(①市販の試薬群: Fsp³ の平均値は 0.27 ②アカデミアで合成された化合物群: Fsp³ の平均値は 0.40 ③天然物群: Fsp³ の平均値は 0.55) における 100 個の標的タンパク質に対する選択性を評価すると、Fsp³ 値が大きい化合物群ほど選択性が高い傾向 (化合物が結合する標的タンパク質の数が少ない傾向) であることが報告されている(図 11)⁵⁷⁾。

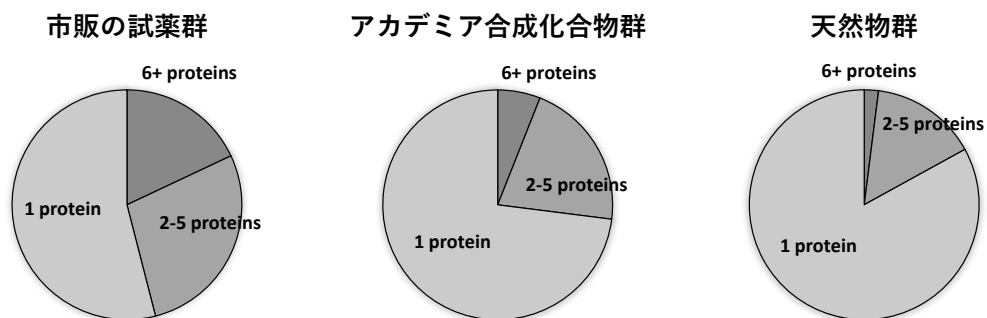


図 11. 各化合物群における結合タンパク質数の割合 (引用文献⁵⁷⁾より改変)

100 個のタンパク質に対する結合試験を実施し、結合したタンパク質の数により 3 つのグループに分類。各化合物群において各グループが占める割合を表示。

さらに、代表的なオフターゲットのひとつである CYP (CYP1A2, CYP3A4, CYP2C8, CYP2C9, CYP2D6 の 5 種) に着目した解析でも同様の結果が得られており、Fsp³ 値が大きい化合物群ほど CYP 阻害活性が減弱する傾向 (CYP に対する選択性が向上する傾向) が認められている (縦軸は、化合物濃度 3 μM で評価した際に 30% 以上阻害した化合物の割合を表す。) (図 12) ⁵⁸⁾。

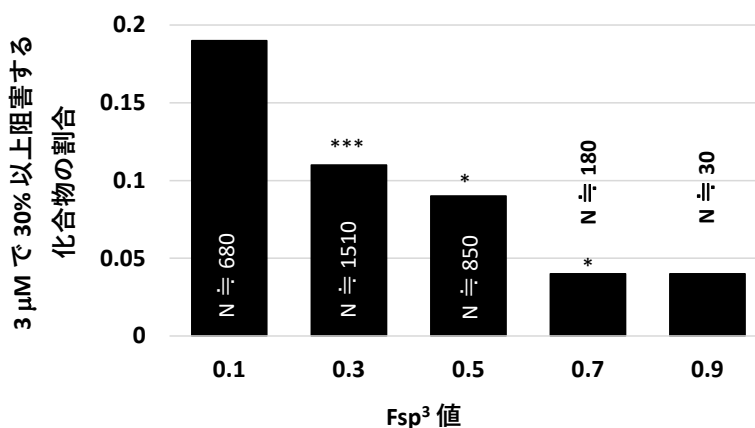


図 12. 各 Fsp³ 値を示す化合物が CYP 阻害作用を示す割合 (引用文献 ⁵⁸⁾ より改変)
 (**P* value<0.05, ***P* value<0.001, ****P* value<0.0001)

また、溶解性について行われた解析では、Fsp³ 値が大きい化合物群ほど水に対する溶解性が高い (LogS の値が大きいほど水に対する溶解性が高い) 傾向であることが報告されている (図 13) ⁵⁶⁾。経口医薬品の場合、消化管表面の粘膜を通過して体内に吸収されるためには、必ず消化管内の水に溶けなければならない。そのため、脂溶性である化合物に水溶性をいかに付加するか (脂溶性と水溶性をいかに両立させるか) が成否の鍵となると言っても過言ではない。通常はヘテロ原子の導入を最初に検討するが、薬理活性が減弱する場合が極めて多い。これは、標的であるタンパク質が脂溶性であるためヘテロ原子を許容しないことが大きな理由である。ところが、図 13 の結果はこのような課題を解決する有用な方法を示唆している。つまり、ヘテロ原子を導入せずとも三次元性の高い立体的な構造に導くことで水溶性が向上する可能性を示している。溶解性が重要な医薬品では、この知見はとても大きな意義を持つと考えられる。

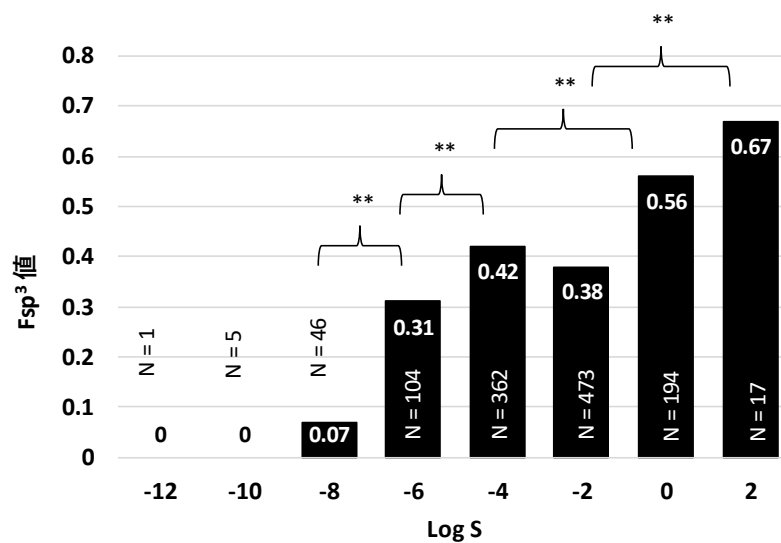


図 13. 各 LogS 値を示す化合物群の Fsp³ 値の平均 (引用文献⁵⁶⁾ より改変)
 (**P* value<0.01, ***P* value<0.001)

上記より、Fsp³ 値は重要な指標であると考え、これをガイドに合成展開を行った。そして、本研究においては、上市薬の平均値である 0.47 を目指すべき Fsp³ 値とした。

本論文の研究目的および論文の構成

低分子化合物である ROR γ アンタゴニストは、新規メカニズムの自己免疫疾患治療薬になることが期待されている。核内受容体 ROR γ という有望な創薬標的であるが故に、大手メガファーマを含めた多くの研究機関においてファーストインクラスを目指した創薬研究が盛んに行われているが、未だ上市された薬剤は無い。

著者は、自己免疫疾患の苦しみを解放すべく、またその先駆けとなるべく ROR γ アンタゴニストの創薬研究を行い *in vivo* 評価で効果を示す化合物の創製に成功した⁵⁹⁾。ROR γ アンタゴニストとして世界で初めて臨床試験 (First in Human) を実施した JTE-151 (構造は非開示) は、本研究で得られた知見を基に創製された新規低分子化合物である。

本論文の第 1 章では、ハイスループットスクリーニング (HTS) により見出されたヒット化合物が有する課題を抽出し、それらを解決しながらリード化合物を創製した過程について論述する。

第 2 章では、前章で見出した化合物 **9** を用いて取得した複合体 X 線結晶構造解析の結果について考察を行い、そこから得られたリード化合物最適化に向けての重要な知見について論述する。

第 3 章では、リード化合物からの最適化を第 2 章の考察に基づいて行い、*in vivo* 評価で有効性を示した化合物を創製するまでの過程について論述する。

本論

第 1 章 リード化合物の創製

第 1 節 緒言

合成展開の起点となる化合物としては、多数の化合物を無差別に評価する（ランダムスクリーニング）ことで見出された化合物や、同じあるいは類似（相同性が高いサブタイプ、等）の作用点を有する既知の化合物等が考えられる。研究開始当時、低分子化合物のリガンド報告が全く無かったために、ランダムスクリーニングを自動化、微量化、高速化した HTS（ハイスループットスクリーニング）を行うことにした。そして、著者は、そこから得られたヒット化合物を本論文の起点とした。HTS ヒット化合物が、そのままリード化合物になることは極めて稀であり、通常は、得られた HTS ヒット化合物が有する課題の解決とポテンシャル把握を目的に誘導体合成を行い、求めるプロファイルに近い化合物（リード化合物）を獲得する Hit-to-Lead を行うことになる。第 1 章では、HTS により得られたヒット化合物が有していた複数の問題点を解決し、リード化合物を創製するに至った過程（Hit-to-Lead）について述べる。

第 2 節 HTS ヒット化合物のプロファイルと課題

核内受容体 ROR γ を標的としたアンタゴニスト探索を目的に、細胞評価系であるルシフェラーゼレポーターアッセイ (LUC と表記) を用いた HTS を、米国 Orphagen Pharmaceuticals 社で実施した⁶⁰⁾。その結果、ヒット化合物の 1 つとして化合物 1 を見出した (図 14)。

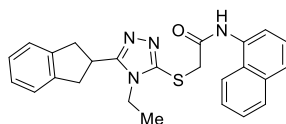
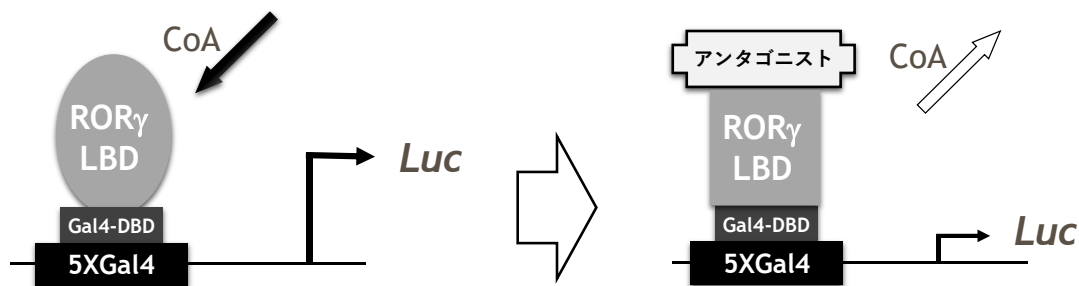


図 14. HTS ヒット化合物 1

本論文中で *in vitro* 薬理評価に用いたルシフェラーゼレポーターアッセイは、導入したルシフェラーゼ遺伝子に基づいて転写・翻訳された酵素であるルシフェラーゼにより発せられる化学発光を測定することにより ROR γ の転写活性を測定する細胞評価系である。この評価は、共同研究者である米国 Orphagen Pharmaceuticals 社が実施した (図 15)。

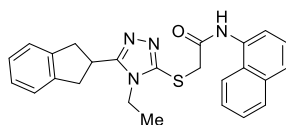


CoA = co-activator peptide
 RORγ LBD = ligand-binding domain of RORγ
 Gal4-DBD = DNA binding domain of yeast transcriptional factor Gal4
 5XGal4 = 5-repeated Gal4 response element

図 15. RORγ ルシフェラーゼレポーターアッセイ (LUC)

以下に、このルシフェラーゼレポーターアッセイの結果を含めた化合物 1 のプロファイルを示す (表 1)。

表 1. HTS ヒット化合物 1 のプロファイル



RORγ-LUC EC ₅₀ (μM)		LE	F _{sp} ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)	Solubility	MW
human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μM)	PBS (μM)	
1.7	0.70	0.25	0.24	18	0	4	16.6	428.56

まず、化合物の構造の面から課題の抽出を行った。その結果、2つの問題点があると考えた。1点目は、スルフィド構造を有する点である (図 16 の①)。アルキルチオ基で置換されたトリアゾール環は求核置換反応を受ける可能性があり、これは生体内のタンパク質と共有結合するリスクがあることを意味する。すなわち非特異的な反応が生体分子と起こることにより、タンパク質の機能不全による重篤な毒性発現につながってしまう恐れがある。よって、当該硫黄原子の変換は必須であると考えた。2点目は、ナフタレン構造を有する点である (図 16 の②)。縮合多環芳香族化合物の中には、代謝を経て DNA の塩基対間に挿入し結合するインターカレーターとなる例があることは広く知られている^{61, 62})。DNA の複製、転写、ひいては細胞増殖の障害を引き起こし、重篤な遺伝毒性の発現につながってしまう可能性がある。また、芳香環が縮合していることで結晶性が高くなり、溶解性の低下を招く可能性もある。生体内が水で満たされていることを考えると、水溶性の乏しい化合物が生体内で効果を発揮することはあまり期待できない。これらのことから、ナフタ

レン構造の変換も必須であると考えた。

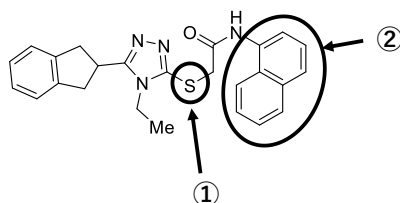


図 16. HTS ヒット化合物 1 における化学構造上の課題

次に、*in vitro* 評価によるプロファイリングから課題の抽出を行った。まず解決すべき課題は、ROR γ アンタゴニスト活性 (LUC) の向上であった。さらに、他のパラメータにも着目すると、代謝安定性の向上が課題であると考えた。肝 S9 を用いた代謝安定性試験において、60 分後には未変化体がほとんど無くなることがわかった。このままでは生体内に吸収された後に即座に酵素による酸化代謝を受けるために、薬理作用が短時間で消失してしまい用量の増加にもつながることが予想された。また、CYP3A4 (シトクロム P450 3A4) を強く阻害 (IC₅₀ 値が 4 μ M) することから、CYP 阻害作用の低減も課題であると考えた。代謝酵素である CYP を阻害することで併用薬の薬物動態に影響を与え、思わぬ毒性発現を招くリスクが想定された。なお、5 種の他の核内受容体 (hROR α , hFXR, hRXR α , hPR, hPPAR γ) に対しては 20 倍以上の選択性を有していた。

これら複数の課題解決に向けて、次のような戦略を立てた。まず、化合物のリスク構造については代替構造を最優先で探索することにした。次に、ROR γ アンタゴニスト活性については、LE 値を指標に合成展開を行うことにした。化合物が結合すると考えられる核内受容体の LBD は脂溶性が高く広いポケットであることから、*in vitro* 活性のみを指標に合成展開を行うと脂溶性が高く、かつ分子量の大きい化合物になってしまうことが十分予想された。そのため、LE 値を指標に合成展開を行うことにより、過度な脂溶性と分子量を削減することが可能になると考えた。また、代謝安定性と CYP 阻害作用の課題については、化合物の疎水性と平面性の高さが要因になっていると考え、Fsp³ 値を指標に合成展開を行うことにした。立体特性の高い化合物は、代謝酵素である CYP との立体反発効果が期待できることから、代謝安定性と CYP 阻害作用の両方の課題を同時に解決できる可能性があると考えた。

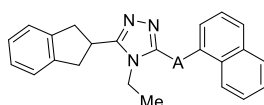
HTS ヒット化合物 1 の LE 値と Fsp³ 値はそれぞれ 0.25, 0.24 であった。これらは、drug-like な化合物の目安として報告され、そして本研究における目標として設定した値 (LE: 0.29, Fsp³: 0.47) をいずれも下回っていた。そこで、これら目標値を目指した合成展開を行った。

第 3 節 各部位の合成展開

3-1. チオアセチルアミド部位 (A) の変換

まず初めに、リスク構造の一つと考えたスルフィド構造を含むチオアセチルアミド部位 (リンカー部 A) の変換を行った (表 2)。

表 2. チオアセチルアミド部位 (A) の変換



compd	A	ROR _γ -LUC EC ₅₀ (μM)		LE	Fsp ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μM)
1		1.7	0.70	0.25	0.24	18	0	4
2		1.0	0.4	0.26	0.27	43	7	9
3		>20	>20	-	0.24	85	47	N.T. ^{b)}
4		14	3.7	0.21	0.3	73	23	12
5 ^{a)}		1.7	1.1	0.25	0.3	57	16	27
6 ^{a)}		1.3	0.67	0.25	0.3	68	26	33
7		>20	>20	-	0.27	74	20	N.T. ^{b)}

a) Racemic. b) Not tested.

硫黄原子を炭素原子に置換した化合物 **2** のルシフェラーゼレポーターアッセイを実施した結果、化合物 **1** と比較して同等以上の阻害活性が認められた。LE 値は、表面上同等かわずかな向上ではあるが、硫黄原子を炭素原子に変換することで分子量が低減することを考えると、炭素原子へ変換できることの意義は数字以上に大きい。化合物 **2** の構造が化合物 **1** の代替となることがわかったことにより、化合物の構造上の課題をひとつ解決することができた。

次にリンカー部 A に関して、炭素鎖長が異なる化合物 **3**, **4** を合成したところ、2 炭素 (エチレン鎖, 化合物 **2**) の場合が最も高い LE 値を示した。さらにエチレン鎖周辺の空間の有無を把握する目的で置換基導入を検討した結果、トリアゾール環の α 位または β 位へのメチル基導入は、いずれも許容されることがわかった (化合物 **5**, **6**)。このことか

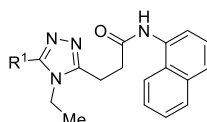
ら、エチレン鎖部分の周辺には空間が存在し、しかもその空間は、化合物 **2** と化合物 **5**, **6** の活性差がほぼ無いことから、メチル基よりも大きいことが示唆された。一方、アミド結合部位におけるアミド窒素とカルボニル基を逆にした逆アミド化合物 **7** では活性が大幅に減弱し、化合物 **2** のアミド結合は活性発現に重要であることがわかった。

以上より、チオアセチルアミド部位は硫黄原子を炭素原子に置換した化合物 **2** の構造を基に、以降の合成展開を実施することにした。

3-2. インダニル基 (R¹) の変換

化合物 **2** を基にインダニル基 (R¹ 部分) の変換を行った (表 3)。

表 3. インダニル基 (R¹) の変換



compd	R ¹	ROR _γ -LUC EC ₅₀ (μM)		LE	F _{sp} ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μM)
2		1.0	0.40	0.26	0.27	43	7	9
8		2.5	0.63	0.25	0.24	13	0	N.T. ^{b)}
9		0.82	0.30	0.28	0.48	18	0	15
10		14	2.6	0.23	0.46	17	0	N.T. ^{b)}
11		>20	>20	-	0.43	71	20	N.T. ^{b)}
12		13	1.4	0.25	0.41	61	12	N.T. ^{b)}
13		6.7	0.83	0.25	0.43	42	0	N.T. ^{b)}

b) Not tested.

5員環部分を開環した化合物 **8** では活性値、ならびに LE 値がわずかに低下した。化合物 **8** のベンゼン環をシクロヘキサン環に変換した化合物 **9** では、化合物 **2** と比較して重原子数が減っているにも関わらず、活性値、LE 値が共に向上した。次に、シクロヘキサン環とトリアゾール環を結ぶ炭素鎖の長さについて検討する目的で、化合物 **10**, **11** を合成した。その結果、2炭素鎖 (エチレン鎖) である化合物 **9** が高い LE 値を示した (化合物 **9**~**11**)。さらに、シクロヘキサン環を開環した化合物 **12**, **13** を合成し検討したところ、

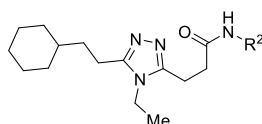
いずれも LE 値が大きく低下した。これら結果より、トリアゾール環から数原子離れた位置に立体的な脂溶性構造を配置することで活性が向上することがわかった。

以上より、化合物の立体性の向上を意図した合成展開を行った結果、高い LE 値 (0.28) を示し、かつ R¹ 部分に芳香環を含まない化合物 **9** を見出した。Fsp³ 値も化合物 **2** と比較して 0.48 と大幅に改善し、LE 値が低下することなく目標 Fsp³ 値 (0.47) に到達する化合物へ導くことができた。

3-3. ナフチル基 (R²) の変換

前述の化合物 **9** を基に、毒性発現と溶解性低下の点でもう一つのリスク構造と考えたナフチル基 (R² 部分) の変換を行った (表 4)。

表 4. ナフチル基 (R²) の変換



compd	R ²	RORγ-LUC EC ₅₀ (μM)		LE	Fsp ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m) IC ₅₀ (μM)
		human	mouse			10 min	60 min	
9		0.82	0.30	0.28	0.48	18	0	15
14		0.96	0.64	0.29	0.59	N.T. ^{b)}		36
15		0.90	0.60	0.30	0.61	36	0	12
16		2.9	3.1	0.27	0.61	N.T. ^{b)}		N.T. ^{b)}

b) Not tested.

ナフチル基と同じ置換様式である 2 位と 3 位の 2 置換体 (化合物 **14**)、また、酸化的代謝を受けやすいと考えられるフェニル基のパラ位の保護を意図した 2 位と 4 位の 2 置換体 (化合物 **15**) あるいは 3 位と 5 位の 2 置換体 (化合物 **16**) を合成した。

その結果、2 位と 3 位の 2 置換体である化合物 **14** でわずかに LE 値が向上した。このことから、ナフチル基のもうひとつのベンゼン環は活性発現に重要ではないことがわかった。3,5-ジメチルフェニル基に変換した化合物 **16** においては LE 値が低下しており、2 つ目のメチル基の場所には大きな空間が無いことが示唆された。また、パラ位を直接保護した 2,4-ジメチルフェニル基に変換した化合物 **15** が最も大きい LE 値 (0.29) を示したことから、ナフチル基を回避すると同時に高い LE 値を示すコンパクトな構造を見出すこ

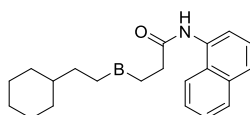
とに成功した。これにより、研究開始当初に目標として掲げた LE 値 (0.29) にも到達することができた。

以上、ナフチル基の変換に成功したことで、最初に挙げた化合物の構造上の 2 つの課題 (硫黄原子とナフタレン環の回避) を全て解決することができた。

3-4. トリアゾール環 (B) の変換

アゾール環はアミド結合の生物学的等価体 (Bioisostere) として用いることから、化合物 **9** を基に、母格であるトリアゾール環 (B 部分) をアミド結合へ変換した (表 5) ⁶³⁾。

表 5. トリアゾール環 (B) の変換



compd	B	RORγ-LUC EC ₅₀ (μM)		LE	Fsp ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μM)
9		0.82	0.30	0.28	0.48	18	0	15
17		2.1	0.72	0.27	0.52	11	0	8
18		16	4.6	0.23	0.52	14	0	N.T. ^{b)}

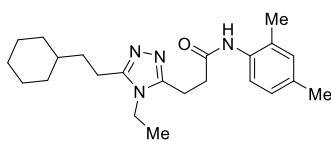
b) Not tested.

その結果、化合物 **17** への変換が可能であることがわかった。一方で、カルボニル基の位置が異なる化合物 **18** は大幅な活性低下が認められた。以上より、トリアゾール環 1 位の窒素原子が活性発現に寄与していることが示唆された。

第 4 節 リード化合物のプロファイル

HTS により見出したヒット化合物 **1** が有する複数の課題を抽出し、それら課題の解決を図りながら化合物 **1** からの合成展開を行った結果、リード化合物 **15** を見出すことに成功した (表 6)。リード化合物 **15** にはリスクを伴う構造因子が除去され、同時に、指標として用いた LE 値, Fsp³ 値のいずれも「薬らしさ (Drug-likeness)」の目安となる値に到達することができた。以上より、リード化合物 **15** は、HTS ヒット化合物 **1** よりも「薬らしい」プロファイルを有した化合物であると言える。

表 6. リード化合物 **15** のプロファイル



ROR γ -LUC EC ₅₀ (μ M)		LE	Fsp ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)	Solubility
human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μ M)	PBS (μ M)
0.90	0.60	0.30	0.61	36	0	12	31.6

第 2 章 化合物 9 の複合体 X 線結晶構造解析

第 1 節 緒言

三次元構造が未知である ROR γ と、そのリガンドである化合物 9 との相互作用様式を明らかにする目的で、複合体 X 線結晶構造の取得を計画し共同研究者（日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 探索研究所）に依頼した。その結果、化合物 9 をリガンドとした ROR γ の最初の三次元構造を取得することができた。

次章での化合物最適化を的確かつ効率的に行うために、得られた複合体 X 線結晶構造の結果を考察し、それを踏まえた方策を立案することにした。

第 2 節 結果考察

前章で得られた化合物 9 のタンパク複合体の結晶構造に関する相互作用について示す（図 17）。

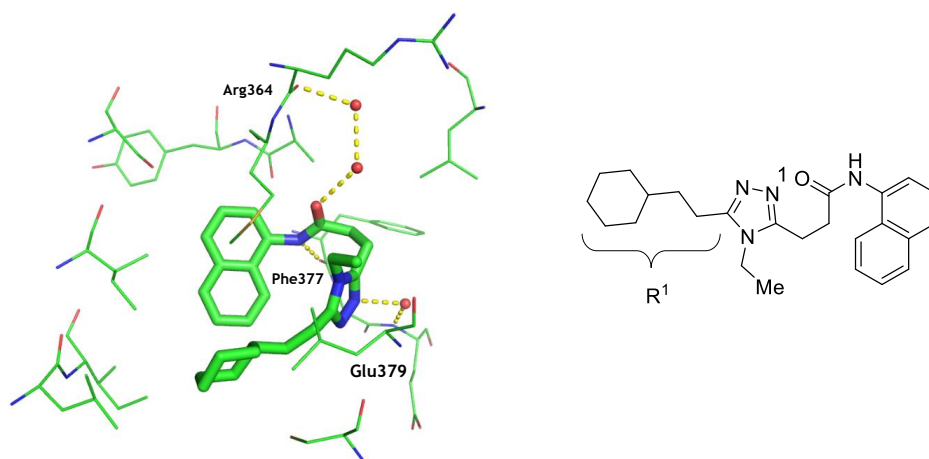


図 17. 化合物 9 の複合体 X 線結晶構造 (PDB code: 5AYG)⁵⁹⁾

大きな特徴として、U 字形のユニークな活性コンフォメーションをとっている点が挙げられる。この時、トリアゾール環とアミド結合の間のエチレン鎖は、タンパク質の LBD ポケット入り口付近に位置していることが観察された。また、R¹ 部分のシクロヘキサン環は、トリアゾール環から直線的な場所に位置し、タンパク質の疎水性領域での疎水相互作用による活性への寄与が示唆された（シクロヘキサン環と 4Å 以内の距離にあるアミノ酸残基は、Cys320, Leu324, Leu396, Ile397, Ile400 である）。さらに、化合物 9 のアミド結合

の窒素原子は Phe377 の主鎖のカルボニル酸素原子と水素結合を形成しており (2.97 Å), カルボニル酸素とトリアゾール環 1 位窒素原子は水分子を介してそれぞれ Arg364 の主鎖のカルボニル酸素原子, Glu379 の主鎖のアミド窒素原子と水素結合を形成していることも観察された。

これら結果は、以下の通り前章の Hit-to-lead で得られた SAR を支持していると考えた。

- ① 複合体 X 線結晶構造解析において、化合物のアミド結合の窒素原子とカルボニル酸素原子は、それぞれタンパク質と直接あるいは水を介して水素結合していることが観察された。これは、化合物のリンカー部 A の変換を実施した際に合成した化合物 **2**, **3**, **4**, **7** の評価結果より得られた「アミド結合が活性発現に寄与しており、その窒素原子とカルボニル酸素原子の位置が重要である」という SAR の知見を支持する結果であった (表 2)。
- ② 複合体 X 線結晶構造解析において、トリアゾール環 1 位の窒素原子は、タンパク質と水を介して水素結合していることが観察された。これは、トリアゾール環からアミド結合構造への変換を実施した際に合成した化合物 **17** と **18** の評価結果より得られた「トリアゾール環 1 位の窒素原子が活性発現に寄与している」という SAR の知見を支持する結果であった (表 5)。
- ③ 複合体 X 線結晶構造解析において、トリアゾール環とアミド結合の間のエチレン鎖は、タンパク質の LBD ポケット入り口付近に位置していることが観察された。これは、化合物のリンカー部 A の変換を実施した際の化合物 **5** と **6** の評価結果より得られた「エチレン鎖周辺には、メチル基よりも大きい空間が存在する」という SAR の知見を支持する結果であった (表 2)。

以上より、複合体 X 線結晶構造解析から得られた知見は、今後の SAR 研究に有効活用できると判断した。

また、化合物 **9** の結果が得られたのとほぼ同じ時期に、トリアゾール環を開環した化合物 **17** の複合体 X 線結晶構造の取得にも成功した (図 18)。これを、先の化合物 **9** の複合体 X 線結晶構造と重ね合わせを行うと、ほぼ一致することがわかった (図 19)。

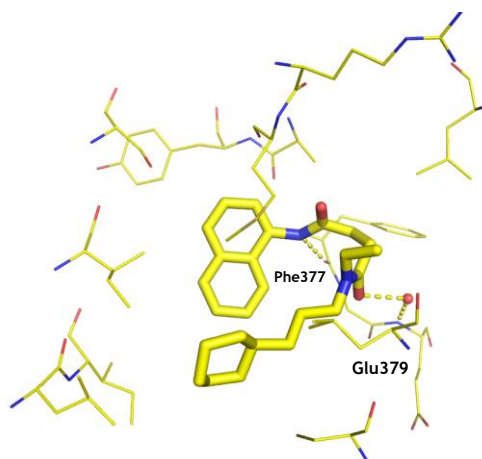


図 18. 化合物 17 の複合体 X 線結晶構造

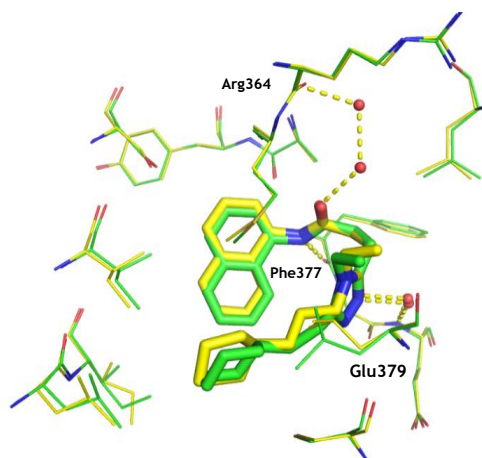


図 19. 化合物 9 (緑色), 化合物 17 (黄色) の X 線結晶構造の重ね合わせ

化合物 9 において水素結合が認められていた「トリアゾール環の 1 位の窒素原子」と「ナフチル基に隣接するアミド結合」においても、それぞれ化合物 17 の「カルボニル酸素原子」や「ナフチル基に隣接するアミド結合」とよく重なっていることが観察された。これら結果から、化合物 9 と化合物 17 の間の SAR は大きく異なることが予想されたため、合成がより簡便な化合物 17 はモデル化合物として用いることができるのではないかと考えた。

以上より、リード化合物の最適化は、配座固定を基本戦略とすることとした。リード化合物 15 はフレキシビリティの高い部分構造をトリアゾール環の左右隣接位に有しており、複合体 X 線結晶構造解析で得られた活性コンフォメーションで固定できれば活性向上が期待できると考えた。また、このフレキシビリティの高さは、オフターゲット (CYP 等) との選択性を乏しくしている可能性もあると考えた。そこで、活性コンフォメーションの安定化と想定代謝部位 (芳香環の α 位) の修飾効果を狙い、トリアゾール環隣接位への環構

造導入を検討することにした。さらに、これら検討は、必要に応じて化合物 17 をモデル化合物として活用することにより、効率的な SAR 取得が可能になると考えた。

第 3 章 リード化合物の最適化

第 1 節 緒言

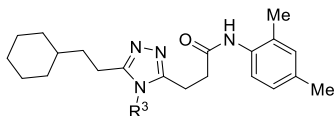
in vivo モデルで薬効を発現する化合物を得ることを目的に、複合体 X 線結晶構造解析から得られた知見を活用したリード化合物 **15** からの最適化検討（リードオプティマイゼーション）を実施した。*in vivo* 評価で効果を発揮するためには、強い ROR γ アンタゴニスト活性と良好な PK (Pharmacokinetics) プロファイルの両立が必須となる。第 3 章では、ROR γ アンタゴニスト活性、ならびに代謝安定性の向上を図り、*in vivo* 評価で有効性を示す化合物の創製に至ったプロセスについて述べる。

第 2 節 各部位の最適化

2-1. エチル基 (R³) の最適化

第 2 章で立案した合成戦略に基づいてエチル基をシクロアルキル基へ変換したところ、いずれの化合物においても代謝安定性の改善が認められた (表 7)。環構造導入による立体的な要因で、酸化的代謝を受けにくくなったと考えられる。LE 値については、環サイズが大きくなるほど低下した。最も環サイズが小さいシクロプロピル基を導入した化合物 **19** は、化合物 **15** よりわずかに LE 値が低下したものの化合物 **19**~**21** の中では最も大きい LE 値を示した。そこで、以降の合成展開は、この部分をシクロプロピル基で固定して行うことにした。なお、フルオロ基を導入した化合物 **21** は、ラセミ体であることから化合物 **19** と LE 値は同等であったが、その原料である 2,2-ジフルオロシクロプロパンアミンのコストと入手性の観点から優位性が乏しいと考え選択しなかった。

表 7. エチル基 (R³) の最適化



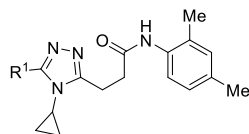
compd	R ³	RORγ-LUC EC ₅₀ (μM)		LE	F _{sp} ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μM)
15	Et	0.90	0.60	0.30	0.61	36	0	12
19		0.98	0.45	0.28	0.63	55	23	4
20		9.5	1.8	0.23	0.64	49	27	N.T. ^{b)}
21 ^{a)}		0.92	0.50	0.27	0.63	75	59	1

a) Racemic. b) Not tested.

2-2. シクロヘキシルエチル基 (R¹) の最適化

次に、化合物 **19** を基にシクロヘキシルエチル基 (R¹ 部分) の最適化検討を行った (表 8)。まっすぐ直線状に伸ばすことを意図しトリアゾール環の α 位と γ 位を結んだシクロブタン環を導入し、かつ、化合物 **19** と全く同じ分子量であるスピロ化合物 **22** を合成した結果、LE 値の向上が認められた。さらに、メチレン基の挿入や開環等の変換によるシクロブタン誘導体を種々合成し、末端メチル基の最適な位置について探索した (化合物 **23**~**27**)。その結果、LE 値と代謝安定性が共に向上した化合物 **25** を見出すことができた。化合物 **25** は、その立体異性体である化合物 **26** と比較し LE 値、代謝安定性共に優れていた。シクロブタン環をベンゼン環に変換した化合物 **28** の LE 値が大幅に低下したことからも、コンパクトな構造を見出すことができたと言える。

表 8. シクロヘキシルエチル基 (R¹) の最適化



compd	R ¹	ROR _γ -LUC EC ₅₀ (μM)		LE	F _{sp} ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μM)
19		0.98	0.45	0.28	0.63	55	23	4
22		0.48	0.091	0.30	0.63	78	44	3
23		0.19	0.082	0.30	0.65	55	17	5
24		0.10	0.043	0.31	0.65	67	34	3
25		0.14	0.035	0.32	0.63	70	39	5
26		0.40	0.053	0.30	0.63	68	31	6
27		0.38	0.11	0.29	0.64	51	8	N.T. ^{b)}
28		1.8	0.12	0.25	0.42	84	55	5

b) Not tested.

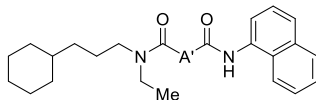
2-3. エチレン基 (A') の最適化

最後に、分子全体が U 字形のコンフォメーションをとるための鍵となるトリアゾール環とアミド結合の間のエチレン鎖 (A' 部分) について検討した。

2-3-1. モデル化合物を用いた *cis*-オレフィン構造の導入検討

複合体 X 線結晶構造解析で、化合物 **9** と **17** は U 字形の活性コンフォメーションをとっていた。そこで、まず配座固定を目的として、シス体のオレフィン構造の導入を検討した。合成が簡便なモデル化合物 **17** を用いて、シス体のオレフィン化合物 **29** を合成し評価した結果、LE 値の低下が認められた (表 9)。オレフィンに結合している 2 つのアミド結合の安定コンフォメーションが、複合体 X 線結晶構造中で得られたものとは異なっていることが原因のひとつと考察された。

表 9. モデル化合物 17 を用いた *cis*-オレフィン体構造の導入検討



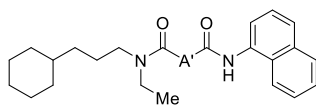
compd	A'	ROR γ -LUC EC ₅₀ (μ M)		LE	Fsp ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μ M)
17		2.1	0.72	0.27	0.52	11	0	8
29		8.0	4.0	0.24	0.44	7	0	N.T. ^{b)}

b) Not tested.

2-3-2. モデル化合物を用いた環状構造の導入検討

cis-オレフィン構造導入による効果が得られなかったために、次に環状構造を導入することによる活性コンフォメーションの固定化を検討した。合成が簡便なモデル化合物 17 を用いてシス体とトランス体それぞれ 3 員環から 6 員環まで合成した(すべてラセミ体)(表 10)。その結果、化合物 17 と比較して、トランス体の 5 員環化合物 34 で ROR γ アンタゴニスト活性が向上し 10⁻⁷ M オーダーの EC₅₀ 値を示した。このときの LE 値は、化合物 34 がラセミ体であることを考えると同等以上であった。

表 10. モデル化合物 17 を用いた環状構造の導入検討



compd	A'	ROR γ -LUC EC ₅₀ (μ M)		LE	F _{sp} ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m) IC ₅₀ (μ M)
		human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	
17		2.1	0.72	0.27	0.52	11	0	8
30 ^{a)}		>20	>20	-	0.54	17	4	N.T. ^{b)}
31 ^{a)}		13	7.4	0.22	0.54	21	8	5
32 ^{a)}		>20	>20	-	0.56	41	6	N.T. ^{b)}
33 ^{a)}		>20	>20	-	0.56	23	0	N.T. ^{b)}
34 ^{a)}		0.86	0.61	0.26	0.57	20	3	N.T. ^{b)}
35 ^{a)}		>20	>20	-	0.57	13	0	N.T. ^{b)}
36 ^{a)}		1.3	1.1	0.24	0.59	41	5	8
37 ^{a)}		>20	>20	-	0.59	27	9	N.T. ^{b)}

a) Racemic. b) Not tested.

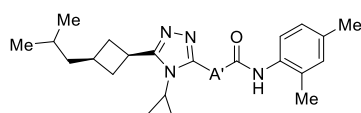
2-3-3. 環状構造導入による活性コンフォメーションの固定化検討

コンフォメーション固定としてトランス体の 5 員環構造の導入が有効であることがわかったため、これまでの最適化検討により見出されてきた化合物 **25** にこの知見を適用した。その際に、環構造を導入するこのエチレン鎖部分は、複合体 X 線結晶構造解析の結果よりタンパク質の LBD のポケット入り口付近に位置することが観察されていることから、許容されるであろうフッ素原子あるいはヘテロ原子を組み込むことで、代謝安定性の向上についても併せて期待できると考えた。

その結果、ROR γ アンタゴニスト活性の EC₅₀ 値が 0.034 μ M と大幅に向上したピロリジン化合物 **42** (光学活性体: *R, R* 体) を見出すことに成功した。さらに代謝安定性の大幅な改善 (化合物 **25** と比較して 60 min 後の未変化体の残存率が、39% から 61% に改善)

も認められた (表 11)。一方, このエナンチオマーである化合物 **43** (光学活性体: *S, S* 体) は, ROR γ アンタゴニスト活性の EC₅₀ 値は >20 μ M と大幅に低減し, 代謝安定性も化合物 **42** と比較し著しく乏しかった。

表 11. 環状構造導入による活性コンフォメーションの固定化検討



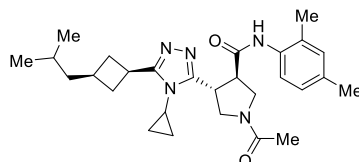
compd	A'	ROR γ -LUC EC ₅₀ (μ M)		LE human_LUC	Fsp ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m) IC ₅₀ (μ M)
		human	mouse			10 min	60 min	
25		0.14	0.035	0.32	0.63	70	39	5
38		0.71	0.40	0.25	0.67	66	25	N.T. ^{b)}
39 ^{a)}		1.2	0.50	0.23	0.69	99	80	N.T. ^{b)}
40		0.13	0.036	0.27	0.69	93	65	N.T. ^{b)}
41		0.098	0.038	0.29	0.67	87	76	3
42		0.034	0.029	0.29	0.64	86	61	>50
43		>20	>20	-	0.64	47	7	>50

a) Racemic. b) Not tested.

第 3 節 化合物 42 のプロフィール

ROR γ アンタゴニスト活性が向上し、かつ代謝安定性も改善したピロリジン化合物 42 のプロフィールを以下に示す (表 12) (図 20)。

表 12. 化合物 42 のプロフィール



ROR γ -LUC EC ₅₀ (μ M)		LE	F _{sp} ³	MS in liver S9 (remaining %)		CYP3A4 (m)	Solubility	MW
human	mouse	human_LUC		10 min	60 min	IC ₅₀ (μ M)	PBS (μ M)	
0.034	0.029	0.29	0.64	86	61	>50	83.3	477.66

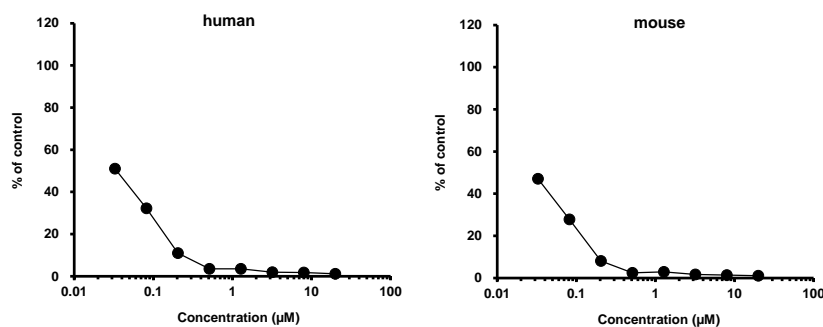


図 20. 化合物 42 の ROR γ -LUC 阻害曲線

LE 値を指標に合成展開を進めてきたことで、化合物 42 (分子量: 477.66) は、分子量を 500 以下に抑えながら HTS ヒット化合物 1 と比較して約 50 倍の ROR γ アンタゴニスト活性の向上に成功した。また、代謝安定性も大幅に改善した。その要因としては次の 2 点が挙げられる。ひとつは、分子量の増加を抑えられたことで、過度な脂溶性の増加を回避できた点である。もうひとつは、F_{sp}³ 値を指標に合成展開を行ったことと、活性コンフォメーションの固定化の方法を見出したことにより、化合物の三次元性が増強され、その結果、代謝酵素である CYP との結合能が減弱された可能性がある点である。これは、CYP 阻害活性の大幅な減弱にも貢献していると考えられる。PBS (リン酸緩衝生理食塩水) に対する溶解度も大幅に向上し、HTS ヒット化合物 1 と比較して優れたプロフィールを有する化合物に仕上げることができた。他の核内受容体に対しても高い選択性を示し、14 種の核内受容体 (hROR α , hROR β , hSF1, mGR, hRXR α , hVDR, hFXR, mLXR α , hPPAR α , hPPAR δ , hPPAR γ , hPR, hRAR α , hRAR β) に対する化合物 42 の活性はいずれも > 20 μ M であった。

化合物 **42** と ROR γ の複合体 X 線結晶構造解析の結果を以下に示す (図 21) ⁶⁴⁾。これを化合物 **9** と重ね合わせてみると、トリアゾール環からベンゼン環までほぼ一致していた (図 22)。トランス体のピロリジン環を導入することにより、活性コンフォメーションの固定化に成功し U 字形を再現できていたことがわかった。

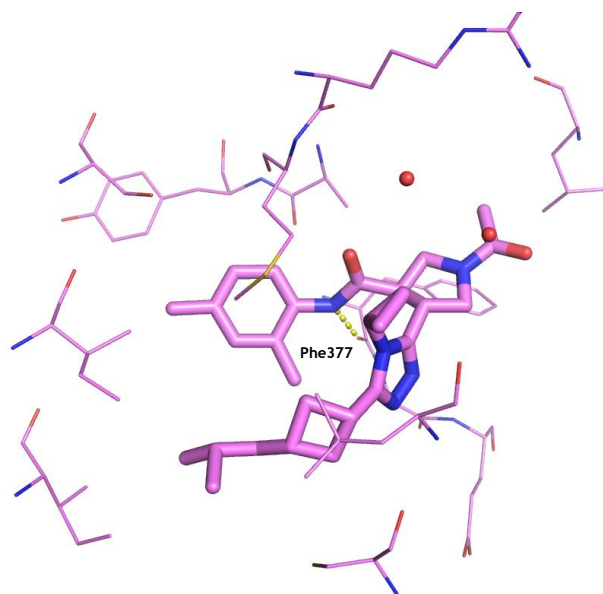


図 21. 化合物 **42** の複合体 X 線結晶構造 (PDB code: 5X8X) ⁶⁴⁾

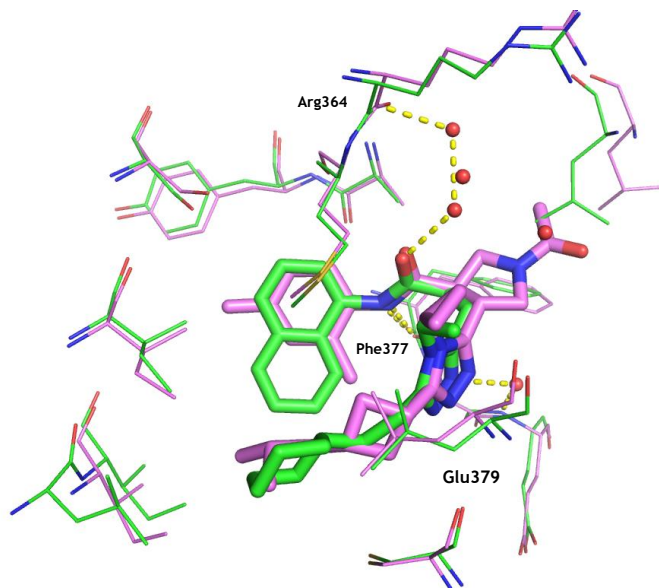


図 22. 化合物 **42** (紫色), 化合物 **9** (緑色) の X 線結晶構造の重ね合わせ

第 4 節 ROR α , ROR β との選択性についての考察

化合物 **42** は, ROR α と ROR β に対して高い選択性を有している。その理由について, 複合体 X 線結晶構造解析の結果を用いて考察した。PDB (Protein Data Bank) に登録されているヒト活性型 ROR α (PDB code: 1N83) とラット不活性型 ROR β (PDB code: 1NQ7) から作成したヒトホモロジーモデルと, 前節で示した化合物 **42** のヒト ROR γ との複合体 X 線結晶構造 (PDB code: 5X8X)⁶⁴を重ね合わせた結果より, 以下の理由により選択性が発現していると考えた。図 23 には関与している可能性があると考えたアミノ酸残基のみを抜粋した。なお, タンパク質の動的構造変化は考慮せず, 複合体 X 線結晶構造解析で確認されたアミノ酸の位置のみで考察した。

- ① タンパク質 ROR γ の Val1376 と Met365 に相当する ROR α と ROR β におけるアミノ酸残基が, 共に化合物の近くに位置している。そのため, それら ROR α と ROR β のアミノ酸残基が化合物の 2,4-ジメチルフェニル基と衝突している可能性がある。
- ② タンパク質 ROR γ のアミノ酸残基 Phe377 は, 化合物のアミド結合の窒素原子と水素結合していることが観察されているが, この Phe377 に相当する ROR α と ROR β のアミノ酸残基が, 化合物の近くに位置している。そのため, ROR α , ROR β と化合物は水素結合していない可能性がある。
- ③ タンパク質 ROR γ のアミノ酸残基 Leu287 が, ROR α と ROR β においては立体的に嵩高い Tyr である。そのため, ROR α と ROR β の Tyr が化合物のアセチル基と衝突している可能性がある。

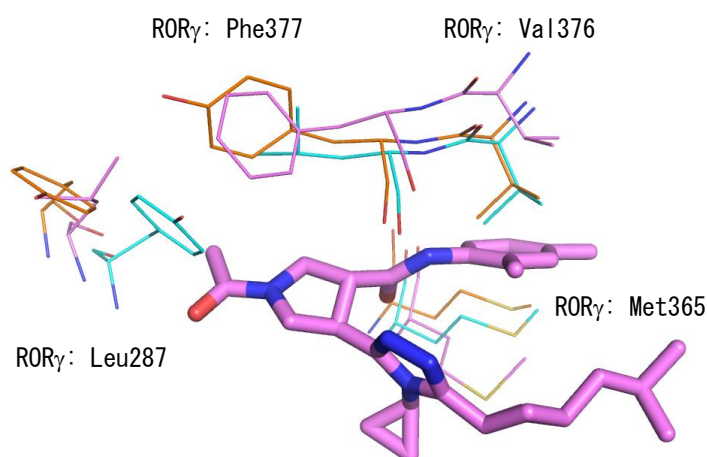
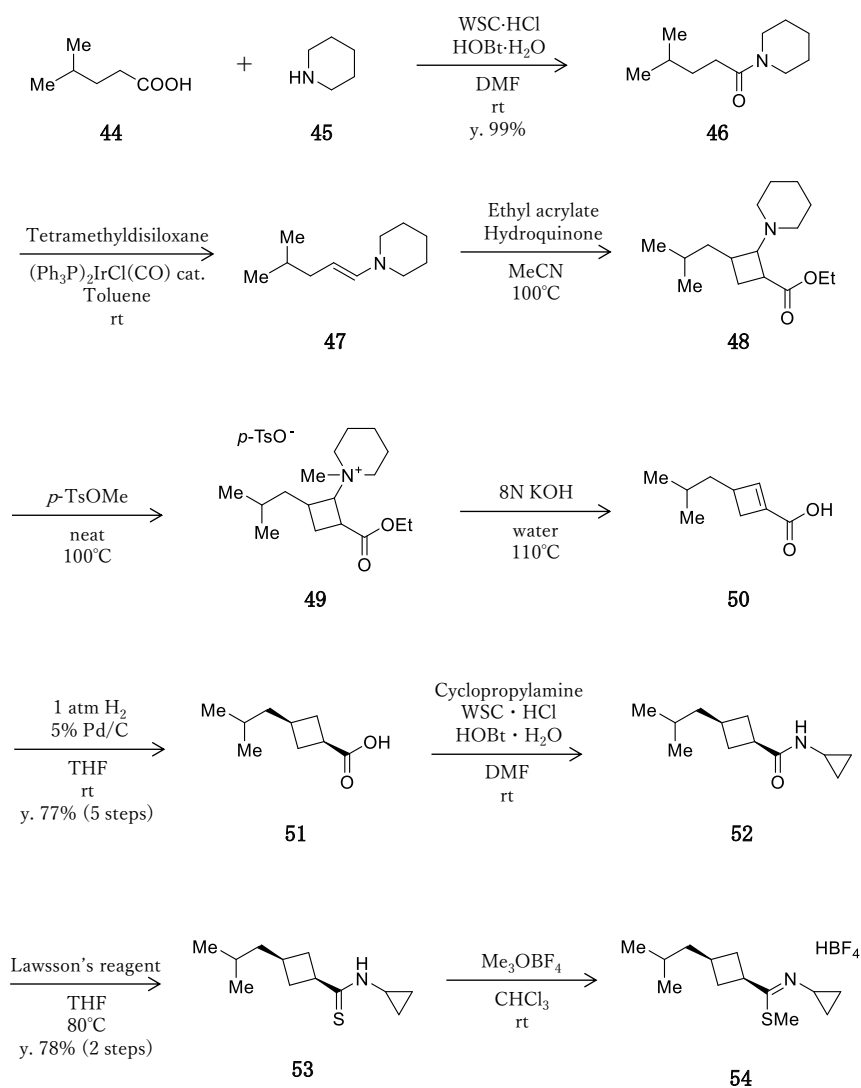


図 23. ROR γ -化合物 **42** 複合体 (紫色), ROR α (橙色), ROR β (青色) の X 線結晶構造の重ね合わせ

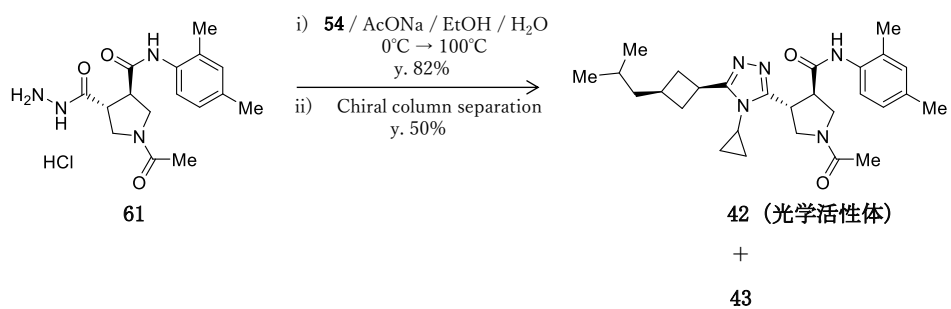
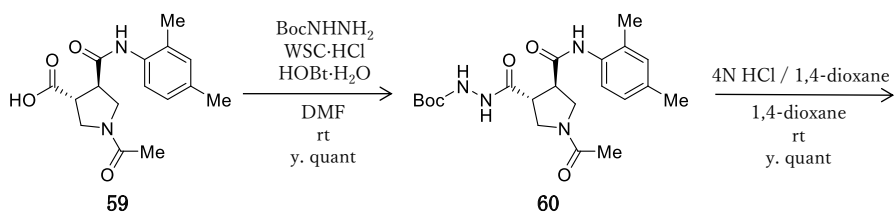
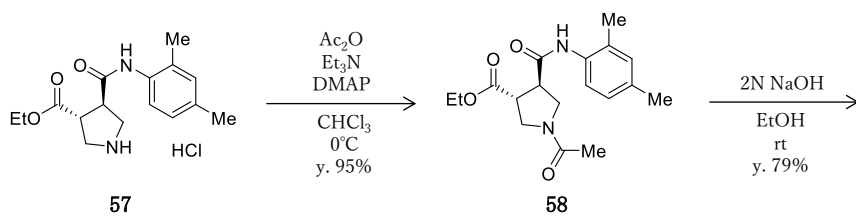
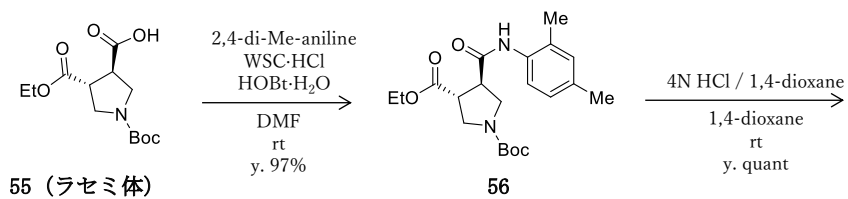
第 5 節 化合物 42 の合成

化合物 42 の中間体であるチオイミデート 54 の合成ルートを Scheme 1 に示す。カルボン酸 44 とアミン 45 を縮合し 99% の収率でアミド 46 を合成した。そのアミド 46 を Ir (イリジウム) 触媒存在下 1,1,3,3-テトラメチルジシロキサンを用いた還元及び脱水反応によりエナミン 47 に誘導した後, アクリル酸エチルを作用させてシクロブタン 48 を合成した。48 に *p*-トルエンスルホン酸メチルを作用させ 4 級アミンにした後, ホフマン脱離反応によりシクロブテン 50 を合成した。シクロブテン 50 に接触水素化反応によりシス体のシクロブタンカルボン酸 51 に導いた (5 工程の全収率は, 77%) 後に, シクロプロピルアミンを作用させアミド 52 を合成した。アミド 52 にローソン試薬を作用させてチオアミド 53 に変換 (2 工程の全収率は, 78%) 後, メーヤワイン試薬を作用させることでチオイミデート 54 を合成した。54 は精製せずにそのまま次工程に用いた。



Scheme 1. 中間体 54 の合成

化合物 42 は、Scheme 1 で合成したチオイミデート 54 を用いた下記の Scheme 2 に従い合成した。市販品であるラセミ体 55 に 2,4-ジメチルアニリンを作用させてアミド 56 を合成した後、酸性条件下で保護基を除去しアミン 57 を塩酸塩で単離した (2 工程の全収率は、97%)。57 に無水酢酸を作用させてアミド 58 に誘導した後に、アルカリ加水分解反応によりカルボン酸 59 を合成した (2 工程の全収率は、75%)。59 にヒドラジン誘導体を作用させてアミド 60 に変換した後、酸性条件下で保護基を除去しヒドラジド 61 に導いた。そして、Scheme 1 で合成したチオイミデート 54 を作用させてトリアゾール環を構築し (3 工程の全収率は、82%)、得られたラセミ体をキラルカラムを用いた HPLC 分取により光学異性体を分離することで、光学活性体 42 と 43 を得た。全 17 工程のトータル収率は、18% であった。



Scheme 2. 化合物 **42** の合成

第 6 節 化合物 42 の *in vivo* 評価

6-1. 薬物動態試験

化合物 42・HCl を用いたマウス薬物動態試験を、共同研究者（日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 薬物動態研究所）に依頼し実施した。0.5% MC 懸濁液で 30, 100 mg/kg の用量を経口投与した結果, BA (Bioavailability) はそれぞれ 78, 130% であった (AUC_{0-inf} はそれぞれ 18, 100 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ であった)。化合物 42・HCl は良好な経口吸収性を有し, 十分な血中濃度の確保が可能であることがわかった (図 24) (表 13)。

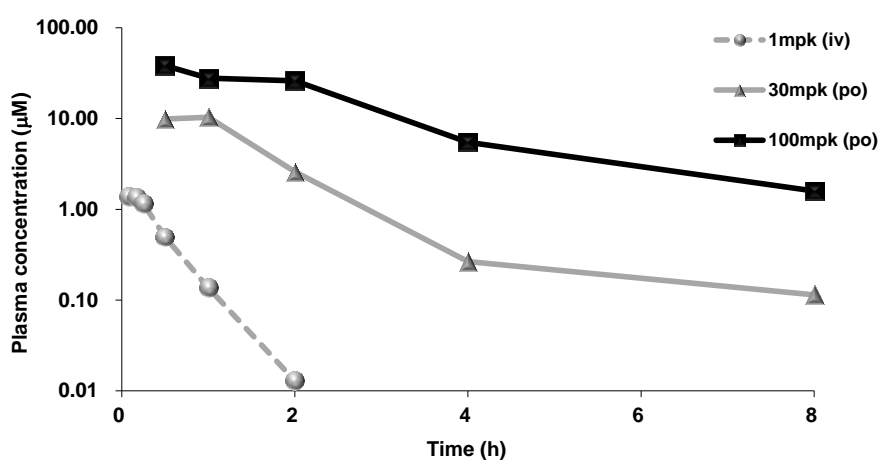


図 24. 化合物 42・HCl を経口投与した時の濃度推移

表 13. 化合物 42・HCl の PK プロファイル

Route	Dose (mg/kg)	Vehicle	C_{5min} (h)	$T_{1/2\beta}$ (h)	AUC_{0-inf} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	CL_{tot} (L/h/Kg)	MRT (h)	V_{dss} (L/Kg)
iv	1	DMSO	1.0	0.3	0.8	2.5	0.4	1.0
Route	Dose (mg/kg)	Vehicle	T_{max} (h)	C_{max} (μM)	AUC_{0-inf} ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	$T_{1/2}$ (h)	MRT (h)	BA (%)
po	30	MC	1.0	10	18	3.3	1.6	78
po	100	MC	0.5	38	100	2.2	2.5	130

6-2. 薬効薬理試験

良好な経口吸収性を有することが確認できたため、次に、経口投与によるマウス CD3 チャレンジモデルを用いた *in vivo* 薬理評価を共同研究者（日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 生物研究所）に依頼し実施した。MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein), CFA (Complete Freund's Adjuvant) および PTX (Pertussis Toxin) で 5 日間感作したマウスに化合物 42・HCl を経口投与し、3 時間後と 8 時間後の血中 IL-17 濃度を測定した。薬物動態試験と同じ 30, 100 mg/kg の 2 用量で行った結果、Vehicle に対し用量依存的に IL-17 産生を抑制し、その ED₅₀ 値はそれぞれ 42, 30 mg/kg であった (図 25)。*in vivo* 薬理評価で有効性を示す化合物を見出すことに成功した。

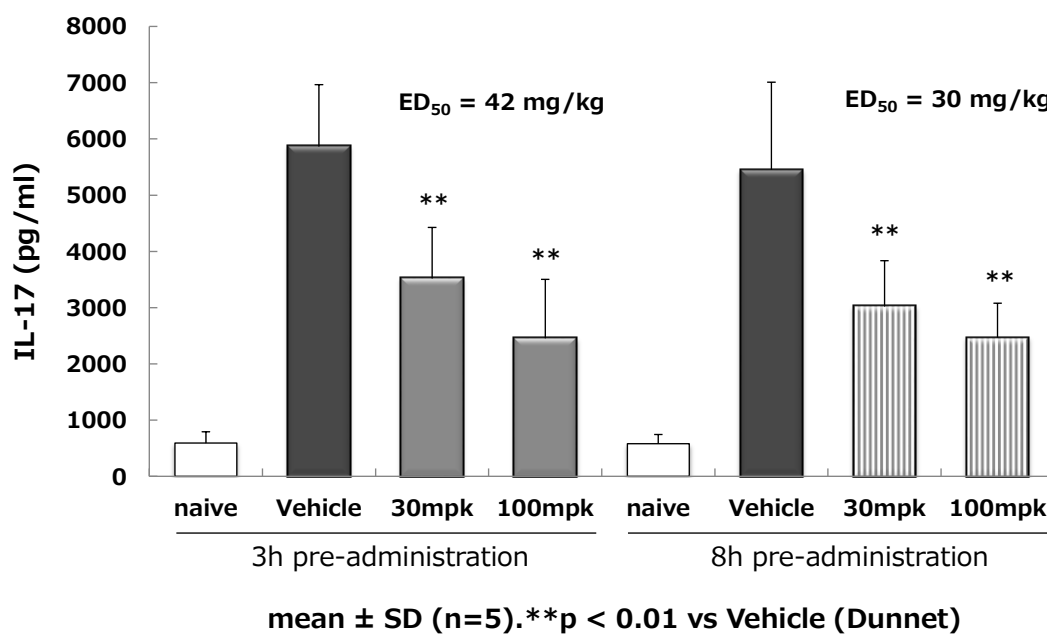


図 25. 化合物 42・HCl のマウス CD3 チャレンジモデルでの *in vivo* 評価結果

結論

本研究では、自己免疫疾患の苦しみを解放すべく、全く新しいメカニズムである低分子 ROR γ アンタゴニストの創製に向けた創薬研究に着手した。

第 1 章では、HTS により見出されたヒット化合物からリード化合物を創製したプロセス（リードジェネレーション）について述べた。HTS ヒット化合物が有する複数の課題を抽出し、LE 値と Fsp³ 値を指標とした合成展開を実施した結果、それら課題を解決することができリード化合物の創製に成功した。

第 2 章では、複合体 X 線結晶構造解析の結果を踏まえ、リード化合物の最適化検討に向けて行った考察について述べた。化合物 **9** がとてもユニークな U 字形の活性コンフォメーションをとっていることが観察されたことから、コンフォメーションを固定し三次元性の高い化合物へと導くことで ROR γ アンタゴニスト活性のみならず代謝安定性の改善も期待できることを示した。

第 3 章では、リード化合物の最適化検討（リードオプティマイゼーション）について述べた。合成が比較的簡便なモデル化合物を用いることで、効率よく最適化検討を実施することができた。環状構造を導入し、ユニークな活性コンフォメーションを固定化することで、代謝酵素である CYP との親和性を低下することもできた。結果、*in vivo* 評価で効果を示し、「薬らしい」化合物 **42** を見出すことに成功した。

本研究では、*in vivo* 試験で薬理効果が認められた新規 ROR γ アンタゴニストを見出すことに成功した。本研究で得られた知見を基に創製された新規化合物 JTE-151（構造は非開示）は、低分子 ROR γ アンタゴニストとして世界で初めて臨床試験（First in Human）を実施するに至った。本研究成果は、自己免疫疾患治療薬の新しい選択肢につながるものと期待される。また、探索研究の過程で「薬らしさ」を表現する LE 値と Fsp³ 値を指標に用いることで、HTS ヒット化合物から *in vivo* 試験で有効な化合物を効率良く導き出す方法を示すこともできた。本方法は、これからの創薬研究のモデルケースとなるものと期待する。

実験の部

1. 化合物の合成

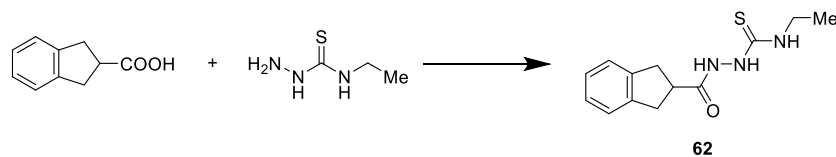
General Experimental Procedures

試薬は全て購入したものを使用し、それらは精製せずにそのまま使用した。薄層クロマトグラフィーには、Merck の silica gel 60 F₂₅₄ plates を用いた。カラムクロマトグラフィーには、SiliCycle のシリカゲル (230-400 mesh, 40-63 μm) あるいは 関東化学のシリカゲル 60N (spherical, neutral, 40-50 mesh) を用いた。分取用 HPLC は、日本分析工業の LC-908 型リサイクル分取 HPLC を用いた。分析用 HPLC は、SHIMADZU Prominence を用いた。¹H NMR スペクトルは、JEOL JNM-AL400 (400 MHz), Bruker AVANCE III 400 (400 MHz), Varian MERCURYplus 400 (400 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。¹³C NMR スペクトルは、Agilent 400-MR (100 MHz), Agilent DD2 500 (125 MHz), Bruker AVANCE II 800 US2 (200 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。高分解能マススペクトルは、Agilent 1290 Infinity LC と Thermo Fisher LTQ-Orbitrap Velos から構成された LC-MS を用いて測定した。旋光度は、Rudolph Research Analytical Autopol V を用い、25 °C で測定した。薬理評価を実施した化合物の化学純度は、HPLC [Column: SHIMADZU Shim-pack XR-ODS (3 × 50 mm, 2.2 μm); Mobile phase A: 0.1% TFA in water; Mobile phase B: 0.1% TFA in MeCN; Gradient: 10% B to 90% B from 0 to 5 min, 90% B from 5 to 7 min, 90% B to 10% B from 7 to 7.5 min, 10% B from 7.5 to 10 min; Flow rate: 8.0 mL/min; Detection wavelength: 220 nm] を用いて測定した。

第 1 章の実験

化合物 1 の合成

2-(2,3-Dihydro-1*H*-indene-2-carbonyl)-*N*-ethylhydrazine-1-carbothioamide (62)

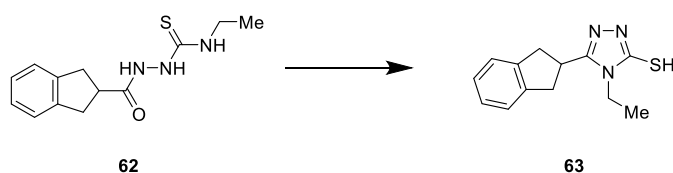


2,3-Dihydro-1*H*-indene-2-carboxylic acid (500 mg, 3.08 mmol) の CH₂Cl₂ (7.5 mL) 溶液に、HATU (1.17 g, 3.08 mmol) を室温で加えた。室温で 20 分間攪拌した後、

N-ethylhydrazinecarbothioamide (404 mg, 3.39 mmol) と DIEA (0.644 mL, 3.70 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を EtOAc と THF に溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **62** (1.53 g, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.07 (t, *J* = 7.12 Hz, 3H), 3.06-3.16 (m, 4H), 3.47 (t, *J* = 6.68 Hz, 2H), 3.58-3.66 (m, 1H), 7.10-7.15 (m, 2H), 7.18-7.22 (m, 2H), 7.87 (t, *J* = 5.12 Hz, 1H), 9.09 (s, 1H), 9.76 (s, 1H).

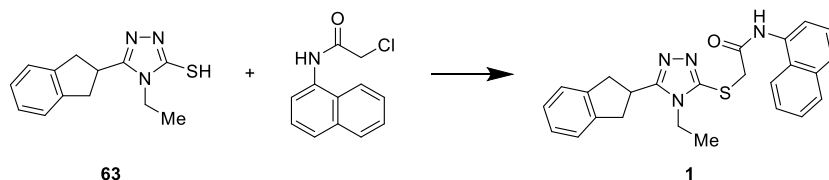
5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol (**63**)



化合物 **62** (3.08 mmol) の 1*N* 水酸化ナトリウム水溶液 (3.7 mL, 3.7 mmol) の懸濁液を、100 °C で 1 時間攪拌した。反応混合物に、氷冷下で 1*N* 塩酸を加え中和した後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、希塩酸、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣にジイソプロピルエーテル (8 mL), CHCl₃ (8 mL) を加え、析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **63** (707 mg, 94%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.28 (t, *J* = 7.20 Hz, 3H), 3.17 (dd, *J* = 15.60, 8.00 Hz, 2H), 3.36 (dd, *J* = 15.60, 8.80 Hz, 2H), 3.82 (quin, *J* = 8.40 Hz, 1H), 4.04 (q, *J* = 7.20 Hz, 2H), 7.17 (dd, *J* = 5.60, 3.20 Hz, 2H), 7.25 (dd, *J* = 5.20, 3.20 Hz, 2H), 13.50 (s, 1H).

2-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-ylthio)-*N*-(naphthalen-1-yl)acetamide (**1**)



化合物 **63** (100 mg, 0.408 mmol) と 2-chloro-*N*-(naphthalen-1-yl)acetamide (90 mg, 0.41 mmol) の MeOH (2 mL) 溶液に、室温で NaOAc (37 mg, 0.45 mmol) と K₂CO₃ (56 mg, 0.41 mmol) を加えた。70 °C で 1 時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を EtOAc と THF に溶解し、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 : EtOAc = 67 : 33) で精製し、化合物 **1** (145 mg, 83%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.44 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 3.37 (dd, $J = 15.20, 8.80$ Hz, 2H), 3.50 (dd, $J = 15.20, 8.80$ Hz, 2H), 3.71 (quin, $J = 8.80$ Hz, 1H), 3.99 (q, $J = 7.20$ Hz, 2H), 4.15 (s, 2H), 7.21-7.28 (m, 4H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.65 (d, $J = 8.40$ Hz, 1H), 7.81-7.83 (m, 1H), 8.11-8.15 (m, 2H), 10.62 (s, 1H).

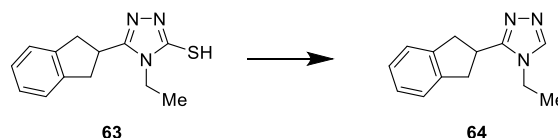
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.37, 35.80, 36.32, 38.13 (2C), 39.15, 119.49, 121.77, 124.39 (2C), 125.28, 125.61, 125.87, 126.32, 126.78, 126.93 (2C), 128.36, 133.21, 134.03, 141.20 (2C), 151.50, 158.47, 167.67.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{OS}$, 429.1744; found, 429.1739.

Purity: 98.3%.

化合物 2 の合成

3-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazole (64)



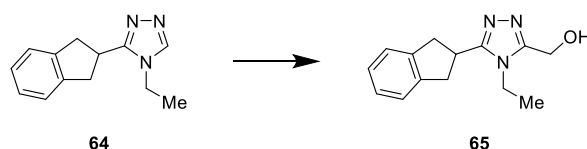
文献の方法に準じて合成した⁶⁵⁾。

化合物 **63** (2.48 g, 10.1 mmol) の CH_2Cl_2 (12.0 mL) 溶液に、氷冷下で、過酸化水素水 (30%) (2.3 mL, 22 mmol) と酢酸 (8.7 mL, 0.15 mol) の混合溶液を滴下した。室温で終夜攪拌した後、4*N* 水酸化ナトリウム水溶液 (38.0 mL, 152 mmol) で中和し、 CHCl_3 で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 : EtOAc = 97:3) で精製し、化合物 **64** (1.60 g, 74%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.51 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 3.36 (dd, $J = 15.20, 8.40$ Hz, 2H), 3.50 (dd, $J = 15.60, 9.60$ Hz, 2H), 3.72 (quin, $J = 8.80$ Hz, 1H), 4.02 (q, $J = 7.20$ Hz, 2H), 7.18-7.21 (m, 2H), 7.24-7.26 (m, 2H), 8.15 (s, 1H).

(文献より、化合物 **64** はスルフィン酸を経由して生成したと推定⁶⁶⁾。)

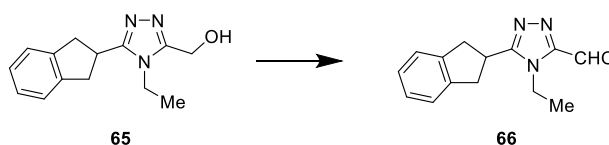
(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)methanol (65)



化合物 **64** (210 mg, 0.985 mmol) と 37% ホルムアルデヒド液 (0.8 mL, 9.85 mmol) を混合し、100 °Cで終夜攪拌した。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 (CHCl_3 : MeOH = 40:1) で精製し、化合物 **65** (187 mg, 78%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.45 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 3.33 (dd, $J = 15.28, 8.56$ Hz, 2H), 3.47 (dd, $J = 15.04, 9.24$ Hz, 2H), 3.67 (quin, $J = 9.00$ Hz, 1H), 4.13 (q, $J = 7.40$ Hz, 2H), 4.80 (s, 2H), 7.17-7.21 (m, 2H), 7.22-7.26 (m, 2H).

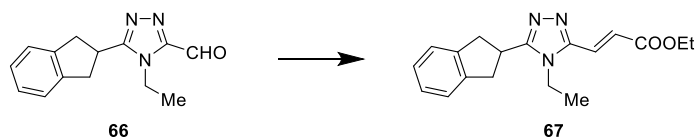
5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-carbaldehyde (66)



化合物 **65** (185 mg, 0.760 mmol) の THF (3.0 mL), CHCl_3 (1.5 mL) 溶液に, 二酸化マンガ (661 mg, 7.60 mmol) を加え室温で 4 時間攪拌した。反応混合液に, 室温で CHCl_3 とセライトを加えた後, 固体をろ過することで取り除いた。得られたろ液の溶媒を減圧下留去し, 化合物 **66** (157 mg, 86%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.43 and 1.51 (each t, $J = 7.36$ Hz, total 3H), 3.32-3.41 (m, 2H), 3.46-3.60 (m, 2H), 3.67-3.80 (m, 1H), 4.02 and 4.38 (each q, $J = 7.36$ Hz, total 2H), 7.18-7.22 (m, 2H), 7.23-7.28 (m, 2H), 8.15 and 10.09 (each s, total 1H).

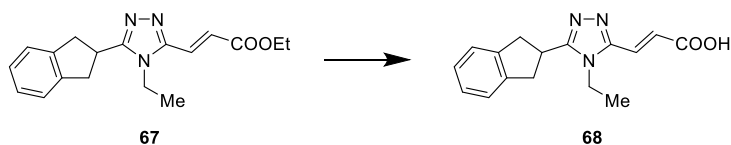
Ethyl 3-(5-(2,3-dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)acrylate (67)



水素化ナトリウム (29.8 mg, 0.746 mmol) の THF (1.5 mL) 懸濁液に, ethyl 2-(diethoxyphosphoryl)acetate (0.148 mL, 0.746 mmol) の THF (1.5 mL) 溶液を氷冷下で滴下した。氷冷下で 0.5 時間攪拌した後, 化合物 **66** (150 mg, 0.622 mmol) の THF (1.5 mL) 溶液を氷冷下で滴下した。室温で 1.5 時間攪拌した後, 5% 硫酸水素カリウム水溶液と EtOAc を氷冷下で反応混合液に加え, 有機層を分離した。得られた有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 飽和食塩水で順に洗浄, 無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 = 1 : 1) で精製し, 化合物 **67** (139 mg, 72%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.35 (t, $J = 7.16$ Hz, 3H), 1.43 (t, $J = 7.16$ Hz, 3H), 3.36 (dd, $J = 15.52, 8.80$ Hz, 2H), 3.55 (dd, $J = 15.28, 9.48$ Hz, 2H), 3.72 (quin, $J = 9.04$ Hz, 1H), 4.09 (q, $J = 7.40$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 15.52$ Hz, 1H), 7.19-7.23 (m, 2H), 7.24-7.27 (m, 2H), 7.45 (d, $J = 15.76$ Hz, 1H).

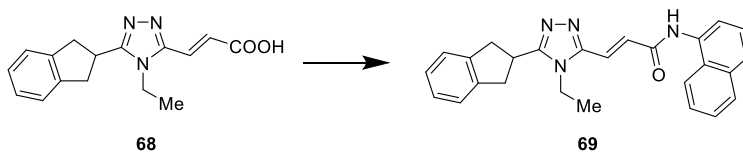
3-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)acrylic acid (68)



化合物 **67** (134 mg, 0.430 mmol) の EtOH (1.3 mL) 溶液に, 2*N* 水酸化ナトリウム水溶液 (0.473 mL, 0.946 mmol) を加え 85 °C で 1.5 時間攪拌した。氷冷下で, 2*N* 塩酸 (0.473 mL, 0.946 mmol) を加え, EtOAc で抽出した。得られた残渣を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄, 無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去し, 化合物 **68** (103 mg, 84%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.28 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 3.25-3.40 (m, 4H), 3.89 (quin, *J* = 8.72 Hz, 1H), 4.21 (q, *J* = 7.12 Hz, 2H), 6.75 (d, *J* = 15.84 Hz, 1H), 7.15-7.20 (m, 2H), 7.25-7.28 (m, 2H), 7.62 (d, *J* = 15.80 Hz, 1H).

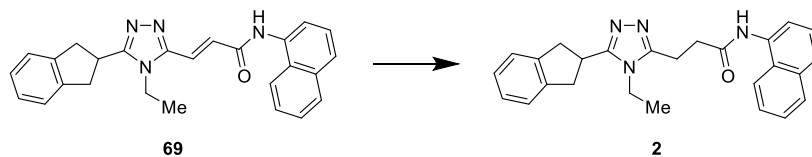
3-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)acrylamide (69)



化合物 **68** (75.0 mg, 0.265 mmol) の DMF (1.5 mL) 溶液に, 氷冷下で, HOBt · H₂O (48.6 mg, 0.318 mmol), naphthalen-1-amine (41.7 mg, 0.291 mmol), WSC · HCl (60.9 mg, 0.318 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え, EtOAc と THF の混合溶媒で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄, 無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣に EtOAc (3 mL) を加え, 析出した固体をろ取し, 減圧下乾燥して化合物 **69** (87.0 mg, 81%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.33 (t, *J* = 7.16 Hz, 3H), 3.26-3.43 (m, 4H), 3.91 (quin, *J* = 8.72 Hz, 1H), 4.25 (q, *J* = 7.12 Hz, 2H), 7.17-7.21 (m, 2H), 7.27-7.30 (m, 2H), 7.50-7.62 (m, 5H), 7.80 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 7.92-7.98 (m, 2H), 8.18 (d, *J* = 7.60 Hz, 1H), 10.40 (s, 1H).

3-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (2)



化合物 **69** (30.0 mg, 0.0734 mmol) の THF (0.6 mL) , EtOH (0.6 mL) 溶液に, 10% パラジウム炭素 (10.0 mg) を加え, 水素雰囲気下で室温で 7 時間攪拌した。パラジウム炭素をろ過することで取り除き, 得られたろ液の溶媒を減圧下留去し, 化合物 **2** (28.0 mg, 93%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.34 (t, $J = 7.28$ Hz, 3H), 3.12 (t, $J = 6.62$ Hz, 2H), 3.21 (dd, $J = 15.22, 8.38$ Hz, 2H), 3.34 (dt, $J = 14.45, 8.45$ Hz, 4H), 3.58 (dd, $J = 17.97, 9.15$ Hz, 1H), 3.94 (q, $J = 7.28$ Hz, 2H), 7.16 (s, 4H), 7.40 (t, $J = 7.83$ Hz, 3H), 7.64 (d, $J = 8.16$ Hz, 1H), 7.79 (t, $J = 10.03$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J = 9.26$ Hz, 1H), 9.60 (s, 1H).

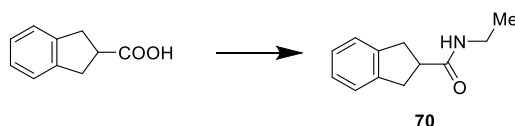
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.84, 21.47, 33.93, 35.82, 38.17, 38.28 (2C), 120.50, 121.57, 124.34 (2C), 125.56, 125.57, 125.92, 126.33, 126.80 (2C), 127.23, 128.40, 132.82, 134.08, 141.47 (2C), 153.84, 156.93, 171.10.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}$, 411.2179; found, 411.2177.

Purity: 98.9%.

化合物 **3** の合成

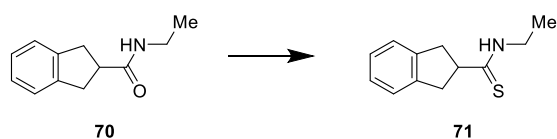
N-Ethyl-2,3-dihydro-1*H*-indene-2-carboxamide (**70**)



2,3-Dihydro-1*H*-indene-2-carboxylic acid (2.00 g, 12.3 mmol) の DMF (20 mL) 溶液に, 氷冷下で, HOBt \cdot H_2O (2.27 g, 14.8 mmol), Et_3N (3.42 mL, 24.7 mmol), $\text{EtNH}_2 \cdot \text{HCl}$ (2.01 g, 24.7 mmol), WSC \cdot HCl (2.84 g, 14.8 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, EtOAc を加えた後, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去して化合物 **70** (1.97 g, 85%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.16 (t, $J = 7.16$ Hz, 3H), 3.13-3.19 (m, 4H), 3.22-3.27 (m, 1H), 3.31-3.37 (m, 2H), 5.54 (brs, 1H), 7.15-7.18 (m, 2H), 7.19-7.22 (m, 2H).

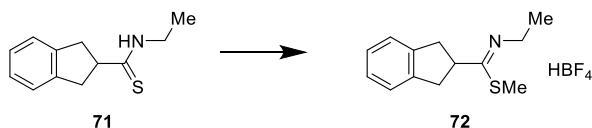
N-Ethyl-2,3-dihydro-1*H*-indene-2-carbothioamide (**71**)



化合物 **70** (850 mg, 4.49 mmol) の THF (8.5 mL) 溶液に、ローソン試薬 (1.18 g, 2.92 mmol) を加え、80 °C で 2 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 10 : 1) で精製し、化合物 **71** (852 mg, 92%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.27 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 3.22 (dd, *J* = 15.84, 8.72 Hz, 2H), 3.43 (dd, *J* = 15.84, 8.24 Hz, 2H), 3.57 (quin, *J* = 8.48 Hz, 1H), 3.69-3.76 (m, 2H), 7.15-7.23 (m, 4H).

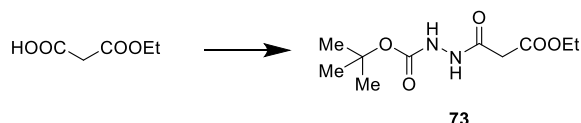
Methyl *N*-ethyl-2,3-dihydro-1*H*-indene-2-carbimidothioate tetrafluoroborate (**72**)



化合物 **71** (850 mg, 4.14 mmol) の CH₂Cl₂ (5 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (680 mg, 4.14 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **72** (1.48 g, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.38 and 1.50 (each t, *J* = 7.36 Hz, total 3H), 2.73 and 2.80 (each s, total 3H), 3.26-3.37 (m, 2H), 3.43-3.53 (m, 2H), 3.73 (quin, *J* = 7.32 Hz, 1H), 3.97 (q, *J* = 7.36 Hz, 2H), 7.21-7.28 (m, 4H), 9.85 and 10.25 (each brs, total 1H).

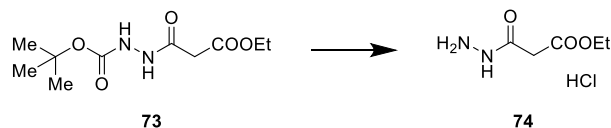
tert-Butyl 2-(3-ethoxy-3-oxopropanoyl)hydrazine-1-carboxylate (**73**)



3-Ethoxy-3-oxopropanoic acid (1.00 g, 7.57 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT · H₂O (1.28 g, 8.33 mmol), *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (1.05 g, 7.95 mmol), WSC · HCl (1.60 g, 8.33 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **73** (1.26 g, 72%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.18 (t, *J* = 7.12 Hz, 3H), 1.39 (s, 9H), 3.22 (s, 2H), 4.08 (q, *J* = 7.12 Hz, 2H), 8.85 (s, 1H), 9.76 (s, 1H).

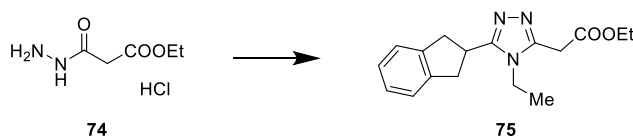
Ethyl 3-hydrazineyl-3-oxopropanoate hydrochloride (74)



化合物 **73** (1.24 g, 5.34 mmol) の 1,4-ジオキサン (6 mL) 溶液に, 4N 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (6 mL, 24 mmol) を加え, 室温で 6 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した。得られた残渣に ジエチルエーテル (8 mL) を加え, 析出した固体をろ取り, 減圧下乾燥して化合物 **74** (752 mg, 84%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.20 (t, $J = 7.16$ Hz, 3H), 3.45 (s, 2H), 4.11 (q, $J = 7.12$ Hz, 2H), 10.55 (brs, 3H), 11.37 (brs, 1H).

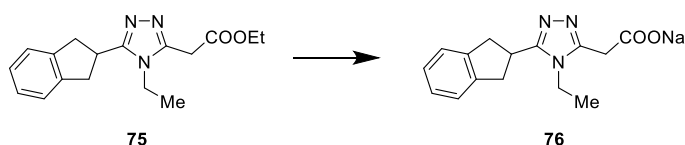
Ethyl 2-(5-(2,3-dihydro-1H-inden-2-yl)-4-ethyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)acetate (75)



化合物 **74** (54.9 mg, 0.326 mmol) と化合物 **72** (100 mg, 0.326 mmol) の 1,4-ジオキサン (1 mL), 水 (0.2 mL) 溶液に, 酢酸ナトリウム (66.8 mg, 0.814 mmol) を加え, 100 °C で終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 (CHCl_3 : MeOH = 10 : 1) で精製し, 化合物 **75** (78.3 mg, 80%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.29 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.39 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 3.34 (dd, $J = 15.60, 8.04$ Hz, 2H), 3.52 (dd, $J = 15.60, 9.80$ Hz, 2H), 3.69 (quin, $J = 8.24$ Hz, 1H), 3.91 (s, 2H), 4.02 (q, $J = 7.36$ Hz, 2H), 4.21 (q, $J = 7.36$ Hz, 2H), 7.17-7.21 (m, 2H), 7.23-7.26 (m, 2H).

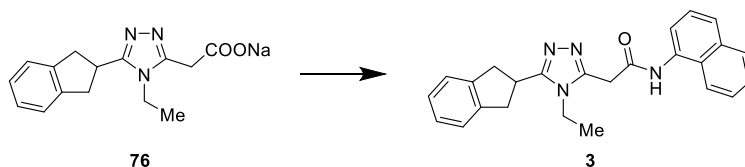
Sodium 2-(5-(2,3-dihydro-1H-inden-2-yl)-4-ethyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)acetate (76)



化合物 **75** (40.0 mg, 0.134 mmol) の EtOH (0.4 mL) 溶液に, 2N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.080 mL, 0.160 mmol) を加え, 室温で 4 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し, 化合物 **76** (49.3 mg, quant) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に

用いた。

2-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)acetamide (3)



化合物 **76** (49.3 mg, 0.134 mmol) と naphthalen-1-amine (21.0 mg, 0.147 mmol) の DMF (0.4 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT・H₂O (24.6 mg, 0.160 mmol), Et₃N (0.0224 mL, 0.16 mmol), WSC・HCl (30.7 mg, 0.160 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、氷冷下で飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc と THF の混合溶媒で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して得られた残渣に EtOAc (1 mL) を加え、析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **3** (31.0 mg, 58%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.34 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 3.24-3.45 (m, 4H), 3.80-3.88 (m, 1H), 4.10-4.12 (m, 2H), 4.15 (s, 2H), 7.15-7.19 (m, 2H), 7.25-7.28 (m, 2H), 7.51 (t, *J* = 7.80 Hz, 1H), 7.54-7.61 (m, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.68 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.48 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 7.60 Hz, 1H), 8.17 (d, *J* = 8.00 Hz, 1H), 10.42 (s, 1H).

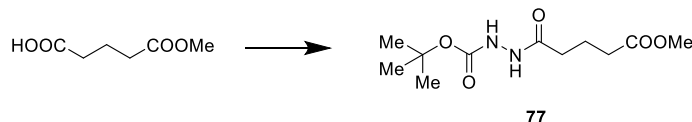
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 15.99, 33.87, 35.79, 38.28 (2C), 38.53, 119.54, 121.25, 124.37 (2C), 125.53, 125.58, 126.03, 126.65, 126.74, 126.92 (2C), 128.50, 132.56, 134.06, 141.26 (2C), 149.94, 157.23, 164.48.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₄N₄O, 397.2023; found, 397.2020.

Purity: 95.0%.

化合物 4 の合成

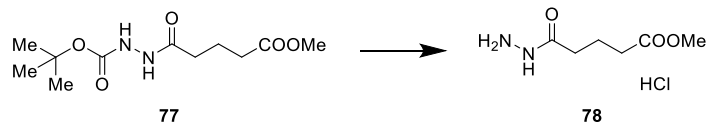
tert-Butyl 2-(5-methoxy-5-oxopentanoyl)hydrazine-1-carboxylate (77)



5-Methoxy-5-oxopentanoic acid (1.00 g, 6.84 mmol) の DMF (7 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT・H₂O (1.26 g, 8.21 mmol), *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (0.995 g, 7.53 mmol), WSC・HCl (1.57 g, 8.21 mmol), Et₃N (1.14 mL, 8.21 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **77** (1.62

g, 91%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

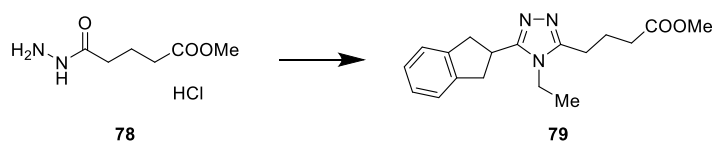
Methyl 5-hydrazineyl-5-oxopentanoate hydrochloride (78)



化合物 **77** (1.62 g, 6.22 mmol) の 1,4-ジオキサン (10 mL) 溶液に、4N 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (10 mL, 40 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した。得られた残渣に ジエチルエーテル (10 mL) を加え、析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **78** (1.03 g, 84%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.78 (quin, $J = 7.32$ Hz, 2H), 2.27 (t, $J = 7.36$ Hz, 2H), 2.34 (t, $J = 7.36$ Hz, 2H), 3.59 (s, 3H), 10.42 (brs, 3H), 11.09 (s, 1H).

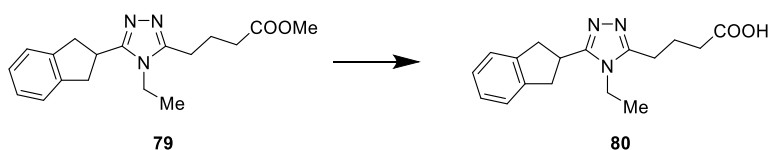
Methyl 4-(5-(2,3-dihydro-1H-inden-2-yl)-4-ethyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butanoate (79)



化合物 **78** (70.4 mg, 0.358 mmol) と化合物 **72** (100 mg, 0.326 mmol) の 1,4-ジオキサン (1 mL), 水 (0.2 mL) 溶液に、酢酸ナトリウム (66.8 mg, 0.814 mmol) を加え、110 °C で 5 時間攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **79** (78.1 mg, 77%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.38 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 2.12-2.20 (m, 2H), 2.53 (t, $J = 7.12$ Hz, 2H), 2.80 (t, $J = 7.56$ Hz, 2H), 3.32 (dd, $J = 15.56, 8.88$ Hz, 2H), 3.50 (dd, $J = 15.36, 9.60$ Hz, 2H), 3.60-3.70 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.95 (q, $J = 7.36$ Hz, 2H), 7.14-7.21 (m, 2H), 7.22-7.26 (m, 2H).

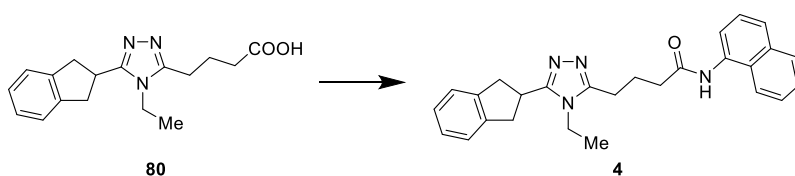
4-(5-(2,3-Dihydro-1H-inden-2-yl)-4-ethyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)butanoic acid (80)



化合物 **79** (75.0 mg, 0.239 mmol) の MeOH (1.5 mL) 溶液に、2N 水酸化ナトリウム水溶

液 (0.179 mL, 0.359 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合液に 1N 塩酸 (0.406 mL, 0.406 mmol) を加え、EtOAc と CHCl₃ の混合溶媒で抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 : AcOH = 10 : 1 : 0.05) で精製し、化合物 **80** (40.1 mg, 56%) を得た。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.38 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 2.08-2.15 (m, 2H), 2.48 (t, *J* = 6.92 Hz, 2H), 2.87 (t, *J* = 7.56 Hz, 2H), 3.32 (dd, *J* = 15.60, 8.72 Hz, 2H), 3.46 (dd, *J* = 15.60, 9.36 Hz, 2H), 3.66 (quin, *J* = 8.68 Hz, 1H), 3.97 (q, *J* = 7.36 Hz, 2H), 6.11 (brs, 1H), 7.15-7.19 (m, 2H), 7.21-7.24 (m, 2H).

4-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)butanamide (4)



化合物 **80** (40.1 mg, 0.134 mmol) と naphthalen-1-amine (21.0 mg, 0.147 mmol) の DMF (2 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (24.6 mg, 0.160 mmol), WSC · HCl (30.7 mg, 0.160 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、氷冷下で飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **4** (28.9 mg, 28%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.37 (t, *J* = 7.12 Hz, 3H), 2.29 (tt, *J* = 6.68, 6.68 Hz, 2H), 2.74 (t, *J* = 6.72 Hz, 2H), 2.93 (t, *J* = 6.72 Hz, 2H), 3.31 (dd, *J* = 15.16, 8.48 Hz, 2H), 3.62 (dd, *J* = 15.40, 9.30 Hz, 2H), 3.65 (m, 1H), 3.95 (q, *J* = 7.36 Hz, 2H), 7.15-7.25 (m, 3H), 7.41-7.52 (m, 3H), 7.65 (d, *J* = 7.92 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.36 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 7.36 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.04 Hz, 1H), 9.17 (s, 1H).

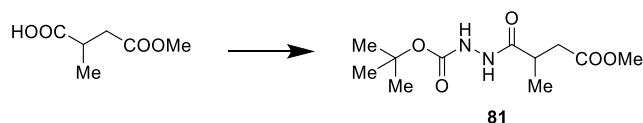
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 16.12, 23.38, 23.45, 35.80, 35.92, 38.15, 38.26 (2C), 120.40, 121.61, 124.33 (2C), 125.40, 125.63, 125.87, 126.22, 126.79 (2C), 127.24, 128.47, 133.00, 134.13, 141.50 (2C), 153.83, 156.53, 171.88.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₂₈N₄O, 425.2336; found, 425.2333.

Purity: 98.7%.

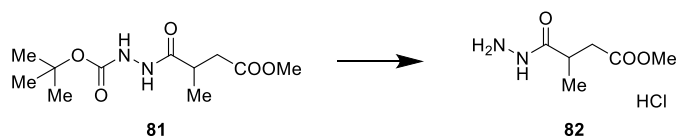
化合物 **5** の合成

tert-Butyl 2-(4-methoxy-2-methyl-4-oxobutanoyl)hydrazine-1-carboxylate (**81**)



4-Methoxy-2-methyl-4-oxobutanoic acid (2.03 g, 13.9 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (3.20 g, 20.8 mmol), *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (1.65 g, 12.5 mmol), WSC · HCl (3.98 g, 20.8 mmol) を順に加え、室温で 5 時間攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 50 : 1) で精製し、化合物 **81** (2.5 g, 69%) を得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.25 (d, *J* = 6.72 Hz, 3H), 1.47 (s, 9H), 2.39-2.47 (m, 1H), 2.76-2.83 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 6.47 (brs, 1H), 7.50 (brs, 1H).

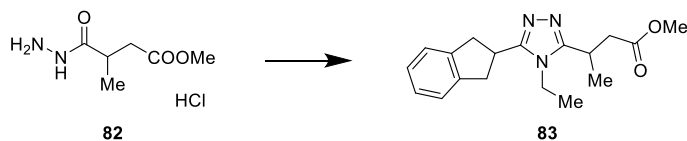
Methyl 4-hydrazineyl-3-methyl-4-oxobutanoate hydrochloride (**82**)



化合物 **81** (2.2 g, 8.45 mmol) に 4N 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (20 mL, 80 mmol) を加え、室温で 40 分間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **82** (1.70 g, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.23 (d, *J* = 7.16 Hz, 3H), 2.43 (dd, *J* = 16.92, 5.76 Hz, 1H), 2.83 (dd, *J* = 16.92, 8.68 Hz, 2H), 3.67 (s, 3H), 10.73 (brs, 3H), 11.53 (brs, 1H).

Methyl 3-(5-(2,3-dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butanoate (**83**)

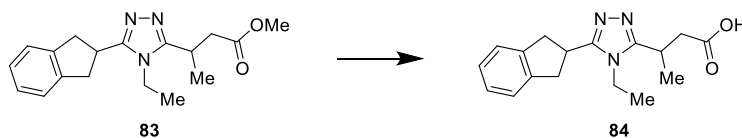


化合物 **82** (150 mg, 0.77 mmol) と化合物 **72** (169 mg, 0.77 mmol) の 1,4-ジオキサン (2 mL), 水 (0.5 mL) 溶液に、酢酸ナトリウム (156 mg, 1.91 mmol) を加え、110 °C で 6 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene : EtOAc = 1 : 4) で精製し、化合物 **83** (52 mg, 22%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.37 (d, *J* = 7.60 Hz, 3H), 1.43 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 2.73 (dd, *J* = 17.16, 6.00 Hz, 1H), 2.94 (dd, *J* = 17.60, 8.92 Hz, 2H), 3.16 (dd, *J* = 17.16,

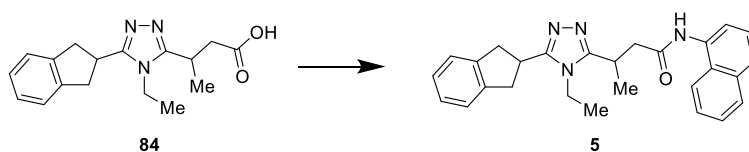
8.72 Hz, 1H), 3.27-3.38 (m, 2H), 3.46-3.56 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.64-3.69 (m, 2H), 7.14-7.27 (m, 4H).

3-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)butanoic acid (84)



化合物 **83** (52 mg, 0.17 mmol) の EtOH (1.0 mL) 溶液に, 2*N* 水酸化ナトリウム水溶液 (0.085 mL, 0.17 mmol) を加え, 80 °C で 7.5 時間攪拌した。反応混合液に 1*N* 塩酸 (0.17 mL, 0.17 mmol) を加え, EtOAc と CHCl₃ の混合溶媒で抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去し, 化合物 **84** を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)butanamide (5)



化合物 **84** (51 mg, 0.17 mmol) と naphthalen-1-amine (29 mg, 0.20 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に, HOBT · H₂O (40 mg, 0.26 mmol),WSC · HCl (49 mg, 0.26 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, 氷冷下で飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 = 10 : 1) で精製し, 化合物 **5** (3.0 mg, 4%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.34 (m, 6H), 2.94 (s, 1H), 3.33-3.90 (m, 9H), 7.17 (t, *J* = 2.65 Hz, 2H), 7.25 (s, 2H), 7.46-7.58 (m, 4H), 7.75 (d, *J* = 9.26 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.28 Hz, 2H), 10.04 (s, 1H).

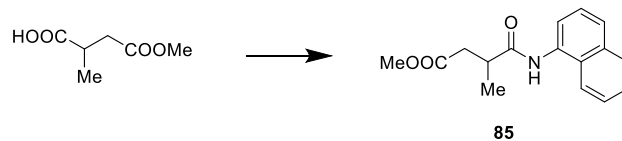
¹³C NMR (200 MHz, CDCl₃) δ : 15.87, 20.26, 27.83, 35.37, 37.72, 38.08, 39.75, 41.63, 121.31, 122.11, 124.34, 124.45, 125.30, 126.11, 126.28, 126.58, 127.13, 127.20, 127.68, 128.23, 132.30, 134.08, 140.27, 140.55, 156.68, 158.04, 169.84.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₂₈N₄O, 425.2336; found, 425.2334.

Purity: 97.7%.

化合物 **6** の合成

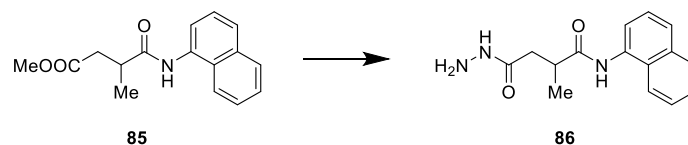
Methyl 3-methyl-4-(naphthalen-1-ylamino)-4-oxobutanoate (85)



4-Methoxy-2-methyl-4-oxobutanoic acid (1.01 g, 6.94 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt・H₂O (1.59 g, 10.4 mmol), naphthalen-1-amine (0.992 g, 6.94 mmol), WSC・HCl (1.99 g, 10.4 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 : EtOAc = 10 : 1 → 1 : 1) で精製し、化合物 **85** (1.25 g, 62%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.39 (d, *J* = 6.92 Hz, 3H), 2.55 (dd, *J* = 17.40, 3.80 Hz, 1H), 2.92 (dd, *J* = 17.40, 9.60 Hz, 1H), 3.05-3.15 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 7.45-7.56 (m, 3H), 7.69 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 7.80 Hz, 1H), 7.95 (t, *J* = 8.24 Hz, 1H), 8.04 (brs, 1H).

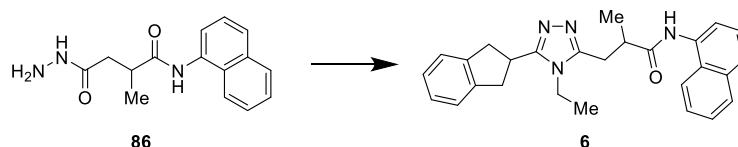
4-Hydrazineyl-2-methyl-*N*-(naphthalen-1-yl)-4-oxobutanamide (86)



化合物 **85** (500 mg, 1.85 mmol) の EtOH (5.0 mL) 溶液に、ヒドラジーン水和物 (0.447 mL, 9.23 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **86** (300 mg, 40%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.19 (d, *J* = 6.88 Hz, 3H), 2.20 (dd, *J* = 14.72, 7.36 Hz, 1H), 2.46-2.52 (m, 1H), 3.12-3.21 (m, 1H), 4.19 (brs, 2H), 7.46-7.56 (m, 3H), 7.63 (d, *J* = 7.12 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 7.90-7.93 (m, 1H), 8.07-8.10 (m, 1H), 9.04 (s, 1H), 9.94 (s, 1H).

3-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-2-methyl-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (6)



化合物 **86** (265 mg, 0.98 mmol) と化合物 **72** (215 mg, 0.98 mmol) の 1,4-ジオキサン (3

mL), 水 (0.5 mL) 溶液に, 酢酸ナトリウム (200 mg, 2.45 mmol) を加え, 110 °C で 5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 = 25 : 1) で精製し, 化合物 **6** (25 mg, 11%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.28-1.37 (m, 3H), 1.50 (t, *J* = 9.81 Hz, 3H), 2.85 (dd, *J* = 16.10, 3.53 Hz, 1H), 3.09-3.69 (m, 7H), 3.83-4.02 (m, 2H), 7.21 (dt, *J* = 19.92, 4.74 Hz, 4H), 7.39-7.44 (m, 3H), 7.64 (d, *J* = 8.16 Hz, 1H), 7.83 (tt, *J* = 14.67, 5.77 Hz, 3H), 8.86 (s, 1H).

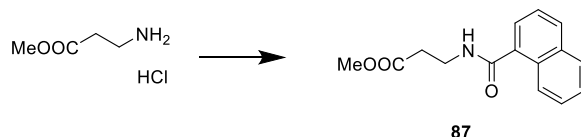
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 15.87, 18.53, 29.83, 35.76, 38.12, 38.19, 38.24, 39.18, 120.37, 121.47, 124.31, 124.35, 125.50, 125.92, 126.36 (2C), 126.77 (2C), 127.30, 128.35, 132.90, 133.60, 141.47 (2C), 153.36, 156.70, 174.50.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₂₈N₄O, 425.2336; found, 425.2334.

Purity: 95.4%.

化合物 **7** の合成

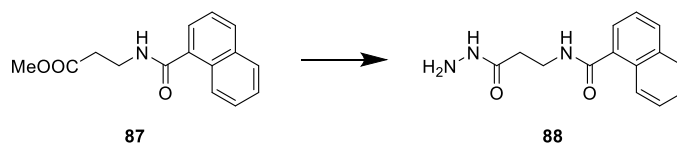
Methyl 3-(1-naphthamido)propanoate (**87**)



Methyl 3-aminopropanoate hydrochloride (500 mg, 3.58 mmol) と 1-naphthoic acid (617 mg, 3.58 mmol) の DMF (3.5 mL) 溶液に, 氷冷下で, HOBt · H₂O (604 mg, 3.94 mmol), Et₃N (0.547 mL, 3.94 mmol), WSC · HCl (755 mg, 3.94 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, EtOAc を加えた後, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去して化合物 **87** (942 mg, quant) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

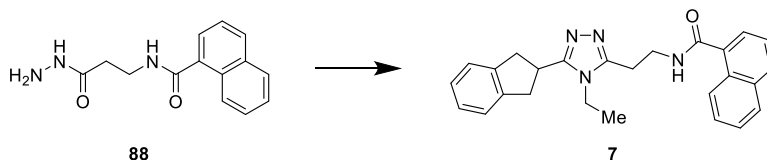
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.73 (t, *J* = 6.04 Hz, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.81 (dt, *J* = 7.56, 5.56 Hz, 2H), 6.61 (brs, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.48, 7.12 Hz, 1H), 7.49-7.59 (m, 3H), 7.86 (dd, *J* = 7.80, 1.80 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 8.29-8.31 (m, 1H).

N-(3-Hydrazineyl-3-oxopropyl)-1-naphthamide (**88**)



化合物 **87** (942 mg, 3.58 mmol) の EtOH (6.0 mL) 溶液に、ヒドラジニー水和物 (0.868 mL, 17.9 mmol) を加え、80 °Cで終夜攪拌した。析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **88** (758 mg, 82%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

***N*-(2-(5-(2,3-Dihydro-1*H*-inden-2-yl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl)-1-naphthamide (7)**



化合物 **88** (125 mg, 0.487 mmol) と化合物 **72** (150 mg, 0.487 mmol) の EtOH (1.5 mL) , 水 (0.75 mL) 溶液に、酢酸ナトリウム (59.9 mg, 0.731 mmol) を加え、100 °Cで終夜攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 20 : 1) で精製し、化合物 **7** (140 mg, 70%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.40 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 3.06 (t, *J* = 5.80 Hz, 2H), 3.31 (dd, *J* = 15.16, 8.24 Hz, 2H), 3.47 (dd, *J* = 15.40, 9.36 Hz, 2H), 3.61-3.70 (m, 1H), 3.98 (dt, *J* = 7.36, 7.36 Hz, 2H), 4.11 (q, *J* = 6.00 Hz, 2H), 7.17-7.20 (m, 2H), 7.21-7.24 (m, 2H), 7.39-7.43 (m, 2H), 7.47-7.53 (m, 2H), 7.60 (dd, *J* = 7.12, 1.12 Hz, 1H), 7.82-7.85 (m, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 8.32-8.36 (m, 1H).

化合物 **8** の合成

***tert*-Butyl 2-(4-(naphthalen-1-ylamino)-4-oxobutanoyl)hydrazine-1-carboxylate (89)**

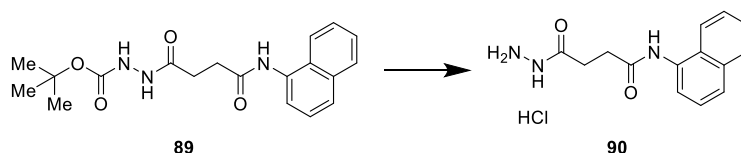


4-(2-(*tert*-Butoxycarbonyl)hydrazineyl)-4-oxobutanoic acid (2.32 g, 10 mmol) の DMF (10 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (2.30 g, 15 mmol), naphthalen-1-amine (1.36 g, 9.5 mmol), WSC · HCl (2.87 g, 15 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) で精製し、化合物 **89** (676 mg, 20%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.41 (s, 9H), 2.66-2.71 (m, 2H), 2.79-2.83 (m, 2H), 6.85-

6.88 (m, 1H), 7.30-7.35 (m, 1H), 7.40-7.42 (m, 2H), 7.60 (d, $J = 8.28$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 7.56$ Hz, 1H), 7.76-7.78 (m, 1H), 7.89-7.91 (m, 1H), 8.62 (brs, 1H), 8.75 (brs, 1H).

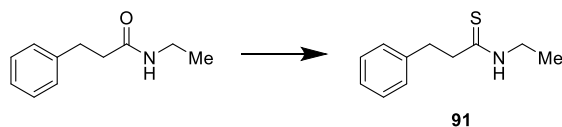
4-Hydrazineyl-*N*-(naphthalen-1-yl)-4-oxobutanamide hydrochloride (90)



化合物 **89** (676 mg, 1.89 mmol) に 4N 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (5 mL, 20 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **90** (532 mg, 95%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.62 (t, $J = 6.92$ Hz, 2H), 2.83 (t, $J = 6.68$ Hz, 2H), 7.48 (t, $J = 7.80$ Hz, 1H), 7.51-7.56 (m, 2H), 7.66 (d, $J = 7.32$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 8.48$ Hz, 1H), 7.92-7.94 (m, 1H), 8.10-8.13 (m, 1H), 10.05 (s, 1H), 10.56 (brs, 3H), 11.10 (s, 1H).

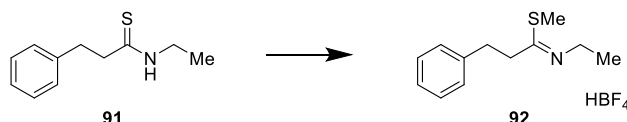
N-Ethyl-3-phenylpropanethioamide (91)



N-Ethyl-3-phenylpropanamide (589 mg, 3.33 mmol) の THF (10 mL) 溶液に、ローソン試薬 (861 mg, 2.13 mmol) を加え、80 °C で 4.5 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 5 : 1) で精製し、化合物 **91** (572 mg, 89%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.11 (t, $J = 7.32$ Hz, 3H), 2.91 (t, $J = 7.56$ Hz, 3H), 3.11 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 3.55-3.62 (m, 2H), 6.82 (brs, 1H), 7.19-7.23 (m, 3H), 7.26-7.31 (m, 2H).

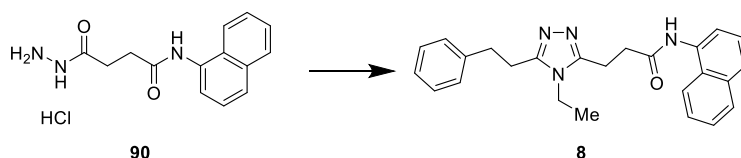
Methyl *N*-ethyl-3-phenylpropanimidothioate tetrafluoroborate (92)



化合物 **91** (150 mg, 0.78 mmol) の CH₂Cl₂ (2 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (114 mg, 0.78 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **92** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.25 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 2.63 (s, 3H), 3.00 (t, $J = 7.32$ Hz, 2H), 3.19 (t, $J = 7.16$ Hz, 2H), 3.46-3.53 (m, 2H), 7.19-7.30 (m, 5H), 10.10 (brs, 1H).

3-(4-Ethyl-5-phenethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (8)



化合物 **92** (0.78 mmol) と化合物 **90** (228 mg, 0.78 mmol) の CHCl_3 (1 mL), THF (1 mL) 溶液に Et_3N (0.108 mL, 0.78 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を 1,4-ジオキサン (2 mL) と水 (1 mL) に溶解し、酢酸ナトリウム (200 mg, 2.45 mmol) を加え、110 $^\circ\text{C}$ で 4 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、 EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 (CHCl_3 : $\text{MeOH} = 50 : 1$) で精製し、化合物 **8** (70 mg, 23%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.20 (t, $J = 7.28$ Hz, 3H), 2.96 (t, $J = 8.05$ Hz, 2H), 3.09-3.16 (m, 4H), 3.24 (t, $J = 6.18$ Hz, 2H), 3.73 (q, $J = 7.35$ Hz, 2H), 7.15-7.25 (m, 5H), 7.49 (tt, $J = 19.74, 6.36$ Hz, 3H), 7.66 (d, $J = 7.94$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 7.94$ Hz, 1H), 7.97 (dd, $J = 17.64, 8.16$ Hz, 2H), 9.13 (s, 1H).

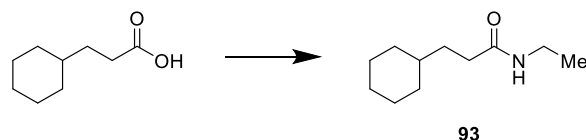
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.42, 21.28, 27.15, 33.68, 33.89, 37.90, 120.84, 121.78, 125.59, 125.61, 125.90, 126.24, 126.50, 127.51, 128.35 (2C), 128.40, 128.61 (2C), 133.00, 134.13, 140.46, 153.36, 153.98, 171.17.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}$, 399.2179; found, 399.2176.

Purity: 99.8%.

化合物 **9** の合成

3-Cyclohexyl-*N*-ethylpropanamide (93)

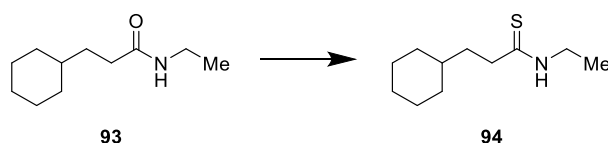


3-Cyclohexylpropanoic acid (500 mg, 3.21 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、 $\text{HOBT} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (737 mg, 4.82 mmol), Et_3N (0.893 mL, 6.42 mmol), $\text{EtNH}_2 \cdot \text{HCl}$ (520 mg, 6.42 mmol),

WSC・HCl (919 mg, 4.82 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **93** (962 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.84-0.94 (m, 2H), 1.13 (t, $J = 7.32$ Hz, 3H), 1.17-1.24 (m, 5H), 1.49-1.55 (m, 2H), 1.62-1.72 (m, 4H), 2.15-2.19 (m, 2H), 3.23-3.30 (m, 2H), 6.30 (brs, 1H).

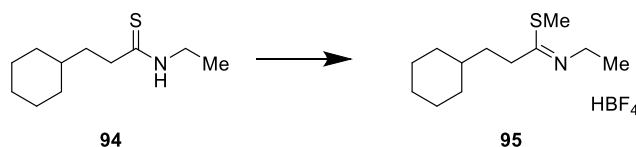
3-Cyclohexyl-*N*-ethylpropanethioamide (**94**)



化合物 **93** (3.21 mmol) の THF (10 mL) 溶液に、ローソン試薬 (829 mg, 2.05 mmol) を加え、80 °C で 3.5 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 5 : 1) で精製し、化合物 **94** (520 mg, 81%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.87-0.97 (m, 2H), 1.08-1.25 (m, 4H), 1.27 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.63-1.72 (m, 7H), 2.63-2.67 (m, 2H), 3.66-3.73 (m, 2H), 7.07 (brs, 1H).

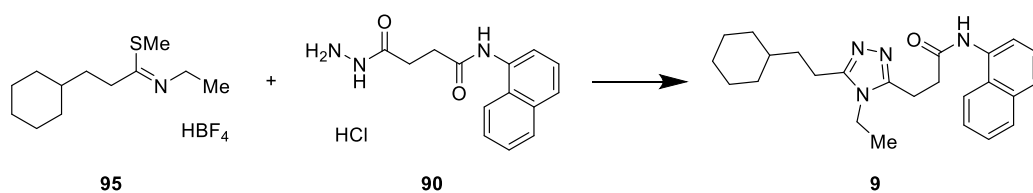
Methyl 3-cyclohexyl-*N*-ethylpropanimidothioate tetrafluoroborate (**95**)



化合物 **94** (150 mg, 0.75 mmol) の CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (110 mg, 0.75 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **95** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.92-1.02 (m, 2H), 1.12-1.24 (m, 4H), 1.26 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.55-1.77 (m, 7H), 2.80 (s, 3H), 2.93-2.98 (m, 2H), 3.59-3.68 (m, 2H), 10.30 (brs, 1H).

3-(5-(2-Cyclohexylethyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (**9**)



化合物 **95** (0.75 mmol) と化合物 **90** (219 mg, 0.75 mmol) の CHCl_3 (1 mL), THF (1 mL) 溶液に Et_3N (0.104 mL, 0.75 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を 1,4-ジオキサン (2 mL) と水 (0.5 mL) に溶液し、酢酸ナトリウム (200 mg, 2.45 mmol) を加え、110 °C で 4.5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、 EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 (CHCl_3 : MeOH = 50 : 1) で精製し、化合物 **9** (68 mg, 22%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.73-0.82 (m, 2H), 1.09-1.22 (m, 4H), 1.27 (dt, J = 18.38, 5.13 Hz, 3H), 1.47-1.53 (m, 2H), 1.65 (dt, J = 30.07, 13.12 Hz, 5H), 2.56 (dd, J = 9.26, 7.28 Hz, 2H), 3.08 (t, J = 6.84 Hz, 2H), 3.32 (t, J = 6.84 Hz, 2H), 3.84 (q, J = 7.28 Hz, 2H), 7.42 (ddd, J = 17.31, 8.60, 5.18 Hz, 3H), 7.65 (d, J = 8.16 Hz, 1H), 7.78-7.81 (m, 2H), 7.93-7.99 (m, 1H), 9.97 (s, 1H).

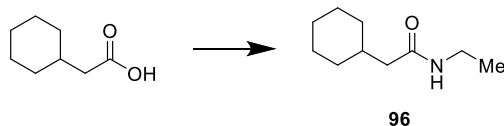
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.58, 21.28, 22.46, 26.15 (2C), 26.49, 32.93 (2C), 33.87, 34.83, 37.32, 38.01, 120.98, 121.92, 125.57 (2C), 125.85, 126.19, 127.64, 128.33, 133.07, 134.13, 153.33, 154.96, 171.30.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}$, 405.2649; found, 405.2646.

Purity: 99.3%.

化合物 **10** の合成

2-Cyclohexyl-*N*-ethylacetamide (**96**)

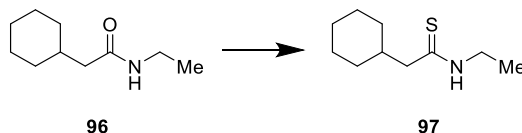


2-Cyclohexylacetic acid (500 mg, 3.52 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、 $\text{HOBT} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (807 mg, 5.28 mmol), Et_3N (0.979 mL, 7.04 mmol), $\text{EtNH}_2 \cdot \text{HCl}$ (574 mg, 7.04 mmol), $\text{WSC} \cdot \text{HCl}$ (1.01 g, 5.28 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、 EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **96** (614 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89-0.99 (m, 2H), 1.14 (t, J = 7.36 Hz, 3H), 1.17-1.32

(m, 3H), 1.62-1.84 (m, 6H), 2.05 (d, $J = 7.16$ Hz, 2H), 3.23-3.31 (m, 2H), 6.55 (brs, 1H).

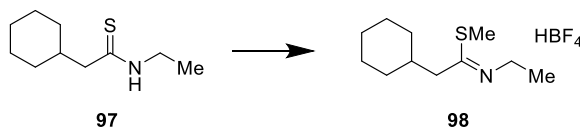
2-Cyclohexyl-*N*-ethylethanethioamide (97)



化合物 **96** (3.52 mmol) の THF (10 mL) 溶液に、ローソン試薬 (910 mg, 2.25 mmol) を加え、80 °C で 6 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 7 : 1) で精製し、化合物 **97** を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.87-0.96 (m, 2H), 1.07-1.19 (m, 1H), 1.22-1.33 (m, 2H), 1.28 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.64-1.77 (m, 5H), 1.92-2.03 (m, 1H), 2.49 (d, $J = 7.12$ Hz, 2H), 3.67-3.73 (m, 2H), 7.06 (brs, 1H).

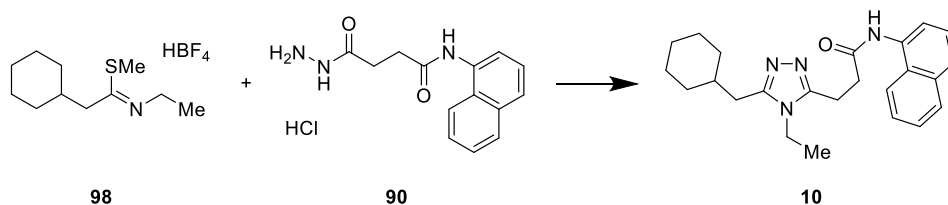
Methyl 2-cyclohexyl-*N*-ethylethanimidothioate tetrafluoroborate (98)



化合物 **97** (150 mg, 0.81 mmol) の CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (119 mg, 0.81 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **98** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.17-1.31 (m, 5H), 1.46 (dt, $J = 7.32, 0.88$ Hz, 3H), 1.69-1.79 (m, 6H), 2.78 (s, 3H), 2.91 (d, $J = 6.88$ Hz, 2H), 3.62-3.69 (m, 2H), 10.55 (brs, 1H).

3-(5-(Cyclohexylmethyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (10)



化合物 **98** (0.81 mmol) と化合物 **90** (50 mg, 0.17 mmol) の CHCl_3 (1 mL), THF (1 mL) 溶液に Et_3N (0.224 mL, 1.62 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を 1,4-ジオキサン (2 mL) に溶解し、酢酸ナトリウム (100 mg, 1.22

mmol) を加え、110 °Cで 4 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 50 : 1) で精製し、化合物 **10** (2.8 mg, 4%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.90-0.99 (m, 2H), 1.06-1.21 (m, 3H), 1.26-1.34 (m, 3H), 1.60-1.80 (m, 6H), 2.56 (dd, *J* = 12.24, 7.17 Hz, 2H), 3.12 (t, *J* = 6.51 Hz, 2H), 3.27 (t, *J* = 6.51 Hz, 2H), 3.83-3.91 (m, 2H), 7.47 (tt, *J* = 14.34, 6.36 Hz, 3H), 7.65 (d, *J* = 8.16 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J* = 18.53, 7.50 Hz, 2H), 7.96 (d, *J* = 7.94 Hz, 1H), 9.47 (s, 1H).

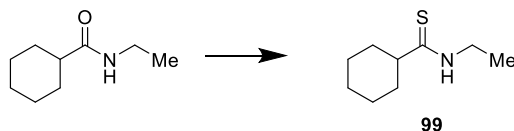
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 15.62, 21.59, 26.02 (2C), 26.20, 32.46, 33.28 (2C), 33.97, 36.83, 38.09, 120.37, 121.59, 125.47, 125.57, 125.90, 126.34, 127.22, 128.40, 132.91, 134.11, 153.08, 153.84, 171.15.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₀N₄O, 391.2492; found, 391.2492.

Purity: 98.5%.

化合物 **11** の合成

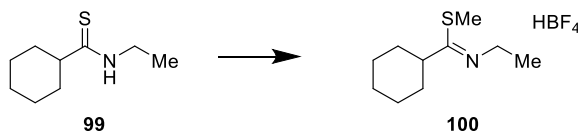
N-Ethylcyclohexanecarbothioamide (**99**)



N-Ethylcyclohexanecarboxamide (363 mg, 2.34 mmol) の THF (15 mL) 溶液に、ローソン試薬 (614 mg, 1.52 mmol) を加え、80 °Cで 2.5 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 10 : 1) で精製し、化合物 **99** (309 mg, 77%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.19-1.35 (m, 3H), 1.27 (t, *J* = 7.36 Hz, 3H), 1.57-1.72 (m, 3H), 1.79-1.89 (m, 4H), 2.48-2.55 (m, 1H), 3.66-3.73 (m, 2H), 7.56 (brs, 1H).

Methyl *N*-ethylcyclohexanecarbimidothioate tetrafluoroborate (**100**)

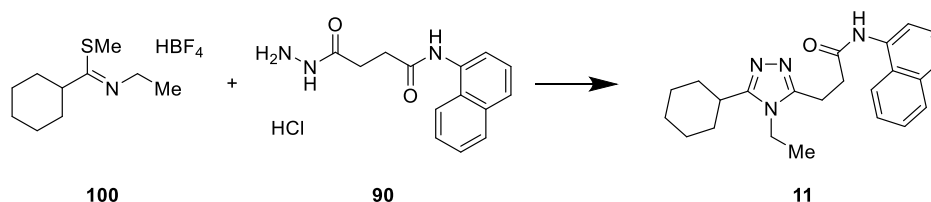


化合物 **99** (150 mg, 0.88 mmol) の CH₂Cl₂ (2 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (128 mg, 0.88 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **100** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.38 (t, *J* = 6.68 Hz, 3H), 1.40-1.99 (m, 9H), 2.80 (s,

3H), 2.92-3.03 (m, 1H), 3.66-3.74 (m, 3H), 9.75 (brs, 1H).

3-(5-Cyclohexyl-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide
(11)



化合物 **100** (0.88 mmol) と化合物 **90** (257 mg, 0.88 mmol) の CHCl₃ (2 mL), THF (2 mL) 溶液に Et₃N (0.306 mL, 2.2 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を 1,4-ジオキサン (2 mL) と水 (0.5 mL) に溶解し、酢酸ナトリウム (100 mg, 1.22 mmol) を加え、110 °C で 6 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 50 : 1) で精製し、化合物 **11** (3.6 mg, 1%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.32-1.34 (m, 6H), 1.74-1.77 (m, 3H), 1.87-1.90 (m, 4H), 2.57 (t, *J* = 12.02 Hz, 1H), 3.12 (t, *J* = 6.18 Hz, 2H), 3.24 (t, *J* = 6.18 Hz, 2H), 3.89 (q, *J* = 7.35 Hz, 2H), 7.47 (ddd, *J* = 24.92, 13.23, 5.51 Hz, 3H), 7.65 (d, *J* = 7.94 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.16 Hz, 1H), 7.94 (dd, *J* = 13.56, 8.05 Hz, 2H), 9.25 (s, 1H).

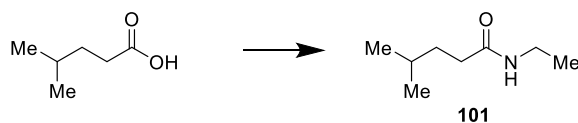
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 15.97, 21.59, 25.67, 26.24 (2C), 31.85 (2C), 34.00, 34.85, 37.84, 120.39, 121.66, 125.45, 125.58, 125.89, 126.32, 127.23, 128.39, 132.94, 134.10, 152.86, 158.64, 171.19.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₈N₄O, 377.2336; found, 377.2334.

Purity: 99.7%.

化合物 **12** の合成

***N*-Ethyl-4-methylpentanamide (101)**

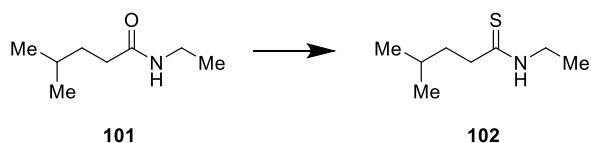


4-Methylpentanoic acid (500 mg, 4.31 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (989 mg, 6.47 mmol), Et₃N (1.19 mL, 8.62 mmol), EtNH₂ · HCl (698 mg, 8.62 mmol),

WSC・HCl (1.23 g, 6.47 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **101** (730 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (d, $J = 6.24$ Hz, 6H), 1.13 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.49-1.65 (m, 3H), 2.14-2.18 (m, 2H), 3.25-3.32 (m, 2H), 5.39 (brs, 1H).

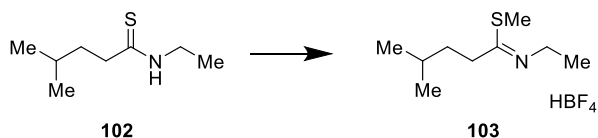
N-Ethyl-4-methylpentanethioamide (**102**)



化合物 **101** (4.31 mmol) の THF (10 mL) 溶液に、ローソン試薬 (1.13 g, 2.80 mmol) を加え、80 °C で 3.5 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 10 : 1) で精製し、化合物 **102** (525 mg, 76%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (d, $J = 6.48$ Hz, 6H), 1.28 (t, $J = 7.56$ Hz, 3H), 1.60-1.69 (m, 3H), 2.63-2.69 (m, 2H), 3.66-3.77 (m, 2H), 7.07 (brs, 1H).

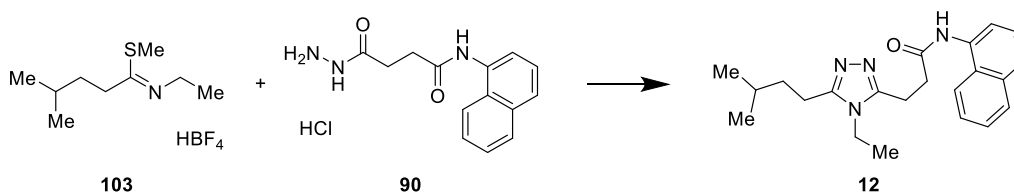
Methyl *N*-ethyl-4-methylpentanimidothioate tetrafluoroborate (**103**)



化合物 **102** (150 mg, 0.94 mmol) の CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (138 mg, 0.94 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **103** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.96 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 1.41 (t, $J = 7.32$ Hz, 3H), 1.54-1.60 (m, 2H), 1.69-1.79 (m, 1H), 2.78 (s, 3H), 2.91-2.95 (m, 2H), 3.58-3.66 (m, 2H), 10.11 (brs, 1H).

3-(4-Ethyl-5-isopentyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (**12**)



化合物 **103** (0.94 mmol) と化合物 **90** (275 mg, 0.94 mmol) の CHCl_3 (2 mL), THF (2 mL) 溶液に Et_3N (0.326 mL, 2.35 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を 1,4-ジオキサン (2 mL) と水 (0.5 mL) に溶解し、酢酸ナトリウム (200 mg, 2.44 mmol) を加え、110 °C で 5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、 EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 (CHCl_3 : MeOH = 50 : 1) で精製し、化合物 **12** (75 mg, 33%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.95 (d, J = 6.40 Hz, 6H), 1.33 (t, J = 7.28 Hz, 3H), 1.67 (t, J = 5.95 Hz, 3H), 2.68 (t, J = 7.83 Hz, 2H), 3.13 (t, J = 5.95 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 6.18 Hz, 2H), 3.88 (q, J = 7.35 Hz, 2H), 7.48 (tt, J = 17.64, 6.65 Hz, 3H), 7.65 (d, J = 7.94 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.16 Hz, 1H), 7.94 (t, J = 8.49 Hz, 2H), 9.14 (s, 1H).

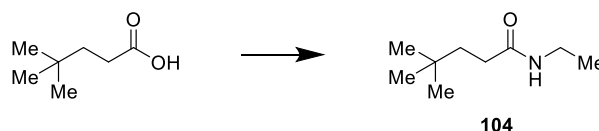
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.58, 21.37, 22.25 (2C), 22.94, 27.83, 33.89, 36.23, 38.05, 120.63, 121.65, 125.56, 125.58, 125.90, 126.29, 127.36, 128.40, 132.90, 134.10, 153.26, 154.90, 171.16.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}$, 365.2336; found, 365.2335.

Purity: 99.8%.

化合物 **13** の合成

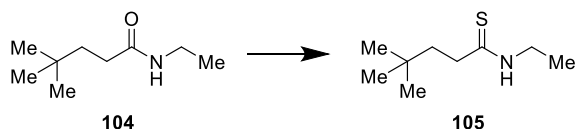
N-Ethyl-4,4-dimethylpentanamide (**104**)



4,4-Dimethylpentanoic acid (500 mg, 3.85 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、氷冷下で、 $\text{HOBT} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (881 mg, 5.76 mmol), Et_3N (0.80 mL, 5.76 mmol), $\text{EtNH}_2 \cdot \text{HCl}$ (469 mg, 5.76 mmol), $\text{WSC} \cdot \text{HCl}$ (1.10 g, 5.76 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、 EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **104** (604 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (s, 9H), 1.15 (t, $J = 7.40$ Hz, 3H), 1.52-1.56 (m, 2H), 2.12-2.16 (m, 2H), 3.26-3.33 (m, 2H), 5.45 (brs, 1H).

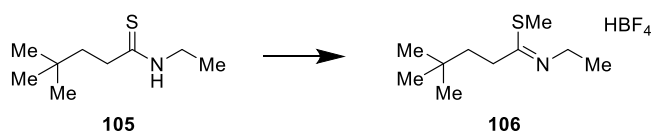
N-Ethyl-4,4-dimethylpentanethioamide (105)



化合物 **104** (3.85 mmol) の THF (10 mL) 溶液に、ローソン試薬 (1.01 g, 2.50 mmol) を加え、80 °C で 5.5 時間攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 5 : 1) で精製し、化合物 **105** (505 mg, 76%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.93 (s, 9H), 1.28 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.64-1.68 (m, 2H), 2.61-2.65 (m, 2H), 3.66-3.73 (m, 2H), 7.11 (brs, 1H).

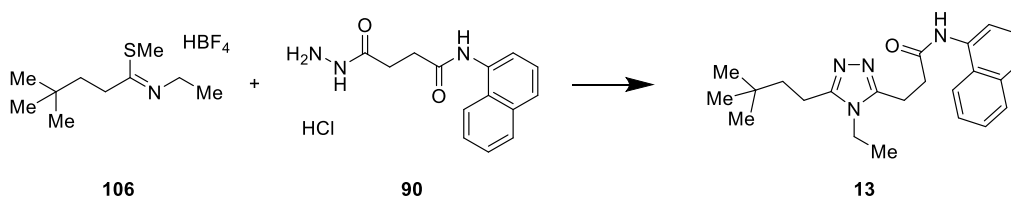
Methyl *N*-ethyl-4,4-dimethylpentanimidothioate tetrafluoroborate (106)



化合物 **105** (200 mg, 1.16 mmol) の CH_2Cl_2 (2 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (169 mg, 1.16 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **106** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.97 and 1.00 (each s, total 9H), 1.45 (t, $J = 7.36$ Hz, 1.5H), 1.46 (t, $J = 7.36$ Hz, 1.5H), 1.56-1.60 (m, 1H), 1.65-1.69 (m, 1H), 2.18 (s, 1.5H), 2.76 (s, 1.5H), 2.93-2.99 (m, 2H), 3.59-3.72 (m, 2H), 10.62 (brs, 1H).

3-(5-(3,3-Dimethylbutyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(naphthalen-1-yl)propanamide (13)



化合物 **106** (1.16 mmol) と化合物 **90** (339 mg, 1.16 mmol) の CHCl_3 (1 mL), THF (1 mL) 溶液に Et_3N (0.403 mL, 2.9 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を 1,4-ジオキサン (2 mL) と水 (0.5 mL) に溶解し、酢酸ナトリウム (200 mg, 2.44 mmol) を加え、110 °C で 3.5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナ

トリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 50 : 1) で精製し、化合物 **13** (15.1 mg, 3%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.94 (t, *J* = 13.78 Hz, 9H), 1.33 (t, *J* = 7.28 Hz, 3H), 1.64-1.68 (m, 2H), 2.61-2.66 (m, 2H), 3.13 (t, *J* = 6.40 Hz, 2H), 3.24 (t, *J* = 6.29 Hz, 2H), 3.88 (q, *J* = 7.28 Hz, 2H), 7.48 (ddd, *J* = 26.91, 14.22, 6.29 Hz, 3H), 7.66 (d, *J* = 8.16 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.94 Hz, 1H), 7.93 (dd, *J* = 13.23, 7.94 Hz, 2H), 9.22 (s, 1H).

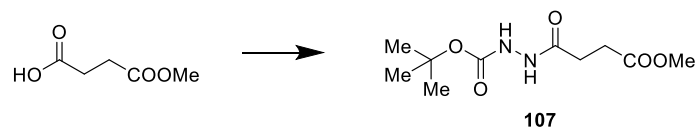
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 15.58, 20.40, 21.28, 28.95 (3C), 30.24, 33.93, 38.02, 41.24, 120.95, 121.85, 125.58 (2C), 125.86, 126.21, 127.60, 128.35, 133.01, 134.13, 153.38, 155.13, 171.25.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₀N₄O, 379.2492; found, 379.2491.

Purity: 99.6%.

化合物 **14** の合成

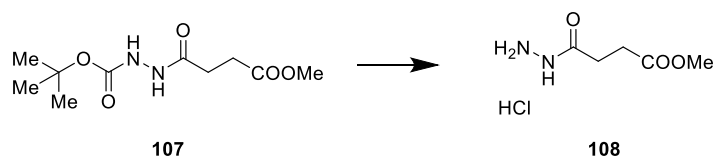
tert-Butyl 2-(4-methoxy-4-oxobutyl)hydrazine-1-carboxylate (**107**)



4-Methoxy-4-oxobutanoic acid (3.00 g, 22.7 mmol) の DMF (15 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT · H₂O (5.22 g, 34.1 mmol), *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (2.84 g, 21.6 mmol), WSC · HCl (6.51 g, 34.1 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **107** (5.68 g, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.47 (s, 9H), 2.54 (t, *J* = 6.68 Hz, 2H), 2.71 (t, *J* = 6.68 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 6.50 (brs, 1H), 7.60 (brs, 1H).

Methyl 4-hydrazineyl-4-oxobutanoate hydrochloride (**108**)

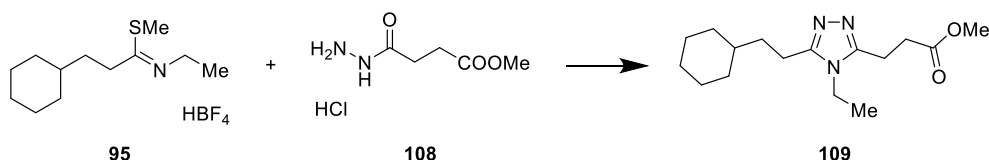


化合物 **107** (21.6 mmol) に 4N 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (20 mL, 80 mmol) を加え、室

温で 3.5 時間攪拌した。析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **108** (2.38 g, 61%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 2.48-2.52 (m, 2H), 2.56-2.60 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 10.51 (brs, 3H), 11.14 (s, 1H).

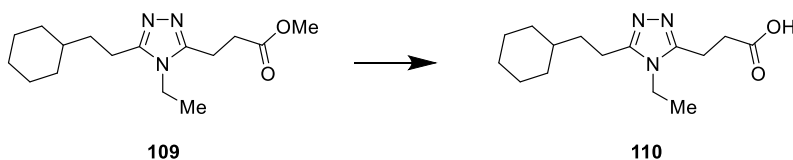
Methyl 3-(5-(2-cyclohexylethyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)propanoate (**109**)



化合物 **95** (213 mg, 1.00 mmol) と化合物 **108** (229 mg, 1.00 mmol) の 1,4-ジオキサン (4 mL), 水 (1 mL) 溶液に, 酢酸ナトリウム (205 mg, 2.50 mmol) を加え, 110 °C で 4.5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 (CHCl_3 : MeOH = 10 : 1) で精製し, 化合物 **109** (510 mg, quant) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.91-1.00 (m, 2H), 1.11-1.31 (m, 3H), 1.35 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H), 1.65-1.78 (m, 8H), 2.68-2.72 (m, 2H), 2.97-3.03 (m, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.88-3.94 (m, 2H).

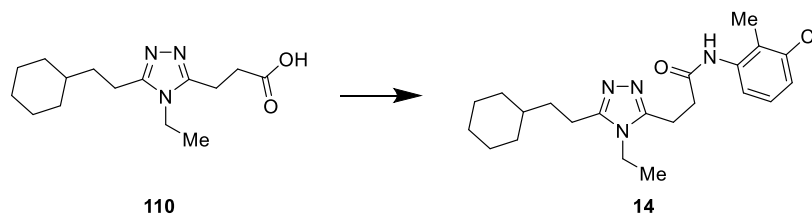
3-(5-(2-Cyclohexylethyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)propanoic acid (**110**)



化合物 **109** (1.00 mmol) の EtOH (5 mL) 溶液に, 2N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.50 mL, 1.00 mmol) を加え, 80 °C で 3 時間攪拌した。反応混合液に 1N 塩酸 (1.00 mL, 1.00 mmol) を加え, EtOAc と CHCl_3 の混合溶媒で抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去し, 化合物 **110** (540 mg, quant) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.91-1.00 (m, 2H), 1.13-1.32 (m, 3H), 1.35 (t, $J = 7.60$ Hz, 3H), 1.65-1.78 (m, 8H), 2.67-2.71 (m, 2H), 3.00-3.03 (m, 4H), 3.91 (t, $J = 7.36$ Hz, 3H).

N-(3-Chloro-2-methylphenyl)-3-(5-(2-cyclohexylethyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)propanamide (**14**)



化合物 **110** (30 mg, 0.107 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (18 mg, 0.118 mmol), 3-chloro-2-methylaniline (10 mg, 0.107 mmol), WSC · HCl (23 mg, 0.118 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **14** (6.8 mg, 16%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.92 (dt, *J* = 27.86, 7.11 Hz, 2H), 1.09-1.34 (m, 7H), 1.67 (ddt, *J* = 30.21, 13.45, 5.98 Hz, 7H), 2.25 (d, *J* = 16.76 Hz, 3H), 2.65-2.69 (m, 2H), 3.09 (dt, *J* = 34.92, 6.18 Hz, 4H), 3.88 (q, *J* = 7.28 Hz, 2H), 7.08 (t, *J* = 7.94 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 7.72 Hz, 1H), 7.55 (t, *J* = 9.26 Hz, 1H), 9.15 (s, 1H).

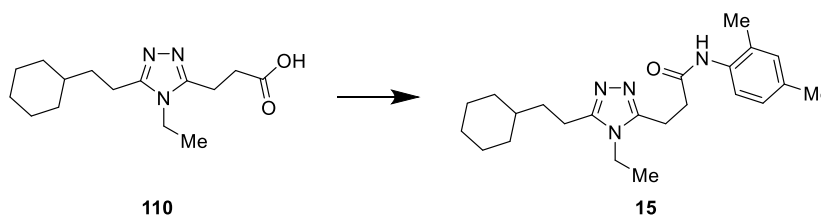
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 14.93, 15.58, 21.31, 22.47, 26.19 (2C), 26.51, 33.01 (2C), 33.64, 34.87, 37.36, 38.02, 122.43, 126.12, 126.63, 129.08, 134.86, 137.31, 153.06, 155.00, 170.86.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₃₁ClN₄O, 403.2259; found, 403.2256.

Purity: 97.7%.

化合物 **15** の合成

3-(5-(2-Cyclohexylethyl)-4-ethyl-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (**15**)



化合物 **110** (30 mg, 0.107 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (18 mg, 0.118 mmol), 3-chloro-2-methylaniline (10 mg, 0.107 mmol), WSC · HCl (23 mg, 0.118 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **15** (8.9 mg, 22%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.90-0.99 (m, 2H), 1.10-1.38 (m, 7H), 1.62-1.78 (m, 7H), 2.17 (s, 3H), 2.28 (t, $J = 9.15$ Hz, 3H), 2.68 (dt, $J = 7.87, 3.58$ Hz, 2H), 3.07 (ddd, $J = 15.82, 10.20, 3.58$ Hz, 4H), 3.84-3.92 (m, 2H), 6.98 (d, $J = 15.88$ Hz, 2H), 7.56 (dd, $J = 15.44, 11.03$ Hz, 1H), 8.36 (s, 1H).

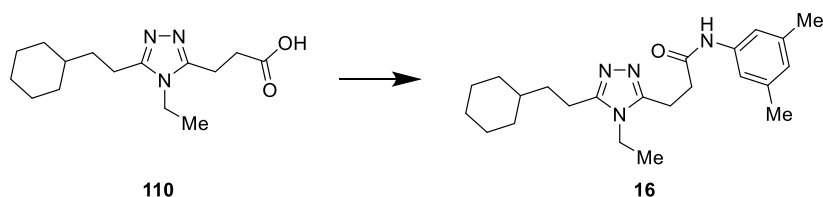
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.62, 17.96, 20.84, 21.33, 22.47, 26.20 (2C), 26.53, 33.03 (2C), 33.77, 34.93, 37.38, 37.98, 123.20, 126.99, 129.80, 131.13, 133.33, 134.69, 153.06, 154.91, 170.47.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}$, 383.2805; found, 383.2802.

Purity: 95.8%.

化合物 16 の合成

3-(5-(2-Cyclohexylethyl)-4-ethyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(3,5-dimethylphenyl)propanamide (16)



化合物 110 (30 mg, 0.107 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt \cdot H_2O (18 mg, 0.118 mmol), 3-chloro-2-methylaniline (10 mg, 0.107 mmol), WSC \cdot HCl (23 mg, 0.118 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 (CHCl_3 : MeOH = 10:1) で精製し、化合物 16 を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.86-0.95 (m, 2H), 1.07-1.38 (m, 7H), 1.53-1.76 (m, 7H), 2.16-2.25 (m, 6H), 2.63-2.69 (m, 2H), 2.83 (dd, $J = 16.43, 9.81$ Hz, 2H), 2.92 (t, $J = 6.84$ Hz, 2H), 3.91 (q, $J = 7.20$ Hz, 2H), 6.66 (s, 1H), 7.21 (t, $J = 19.19$ Hz, 2H), 9.90 (d, $J = 18.97$ Hz, 1H).

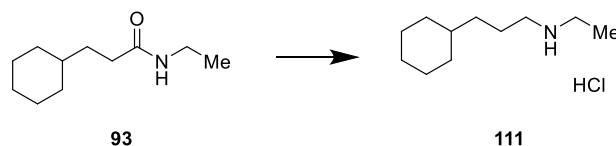
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 15.58, 21.10, 21.36 (2C), 22.49, 26.18 (2C), 26.51, 33.01 (2C), 33.97, 34.80, 37.39, 38.03, 117.65 (2C), 125.75, 138.14, 138.46 (2C), 153.20, 154.87, 170.28.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}$, 383.2805; found, 383.2803.

Purity: 99.5%.

化合物 17 の合成

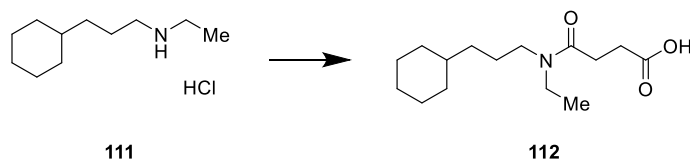
3-Cyclohexyl-*N*-ethylpropan-1-amine hydrochloride (111)



化合物 **93** (300 mg, 1.64 mmol) の THF (3 mL) 溶液に、氷冷下で、ボラン・THF 錯体 (1.0M THF solution) (3.27 mL, 3.27 mmol) を滴下し、室温で 8 時間攪拌した。反応混合液に、氷冷下で、4N 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (1.64 mL, 6.56 mmol) を加えた後、室温で終夜攪拌した。溶媒を減圧下留去して、得られた残渣に EtOAc を加え、析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **111** (140 mg, 42%) を得た。

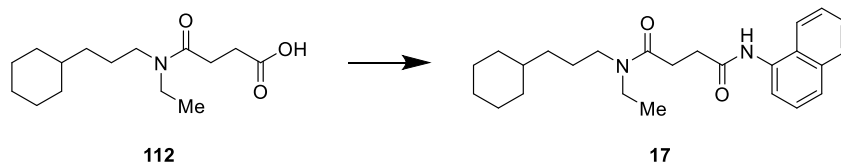
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.86-0.91 (m, 2H), 1.07-1.26 (m, 6H), 1.48 (t, *J* = 7.32 Hz, 3H), 1.62-1.71 (m, 7H), 1.86-1.94 (m, 2H), 2.84-2.92 (m, 2H), 3.00-3.06 (m, 2H), 9.52 (brs, 2H).

4-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl)amino)-4-oxobutanoic acid (112)



化合物 **111** (50.0 mg, 0.243 mmol) の THF (1 mL) 溶液に、氷冷下で、Et₃N (0.438 mL, 0.316 mmol) と無水こはく酸 (26.7 mg, 0.267 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **112** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

N'-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*'-ethyl-*N*'-(naphthalen-1-yl)succinamide (17)



化合物 **112** (0.243 mmol) と naphthalen-1-amine (34.8 mg, 0.243 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt・H₂O (41.0 mg, 0.267 mmol), WSC・HCl (51.2 mg, 0.267 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、希塩酸、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 50 : 1) で精製し、化合物 **17** (45.2 mg, 47%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.75-0.93 (m, 2H), 1.07-1.25 (m, 9H), 1.49-1.74 (m, 7H), 2.81-2.85 (m, 2H), 2.89-2.92 (m, 2H), 3.21-3.25 (m, 1H), 3.23-3.37 (m, 2H), 3.43-3.48 (m, 1H), 7.42-7.55 (m, 3H), 7.64 (d, $J = 8.36$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 7.40$ Hz, 1H), 8.06-8.09 (m, 2H), 9.39 (d, $J = 4.64$ Hz, 1H).

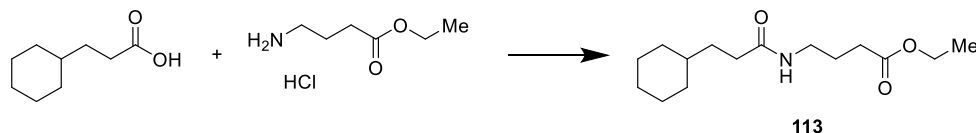
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 13.07, 13.98, 25.28, 26.25, 26.27, 26.34, 26.53, 26.62, 29.74, 29.87, 33.29 (3C), 34.55, 34.71, 37.45, 37.50, 41.22, 42.46, 46.40, 48.04, 119.27, 119.36, 121.25, 124.81, 125.76 (2C), 126.05, 126.65, 126.68, 128.51, 133.19, 134.08, 171.63, 171.82.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2$, 395.2693; found, 395.2690.

Purity: 97.4%.

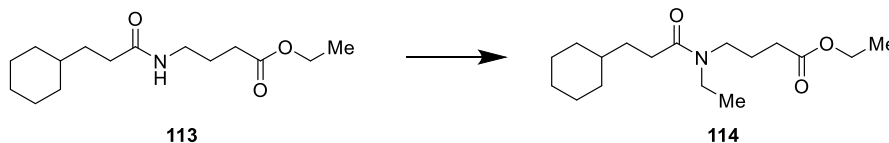
化合物 18 の合成

Ethyl 4-(3-cyclohexylpropanamido)butanoate (113)



3-Cyclohexylpropanoic acid (300 mg, 1.92 mmol) と ethyl 4-aminobutanoate hydrochloride (322 mg, 1.92 mmol) の DMF (3 mL) 溶液に、氷冷下で、 Et_3N (0.347 mL, 2.50 mmol), $\text{HOBT} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (383 mg, 2.50 mmol), $\text{WSC} \cdot \text{HCl}$ (479 mg, 2.50 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、 EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 113 (532 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

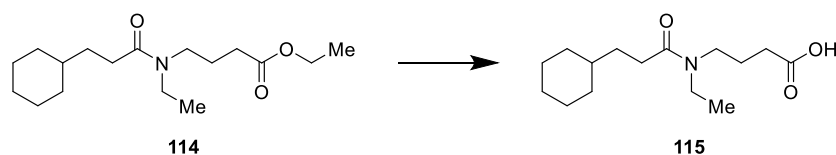
Ethyl 4-(3-cyclohexyl-*N*-ethylpropanamido)butanoate (114)



化合物 113 (200 mg, 0.742 mmol) と iodoethane (0.891 mL, 11.1 mmol) の DMF (2 mL) 溶液に、氷冷下で、水素化ナトリウム (32.7 mg, 0.817 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合液を 5% 硫酸水素カリウム水溶液に注ぎ、 EtOAc で抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 114 (69.8 mg, 32%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

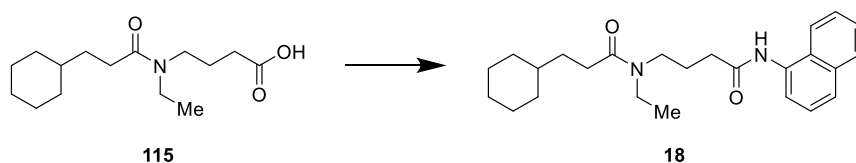
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.83-0.96 (m, 2H), 1.08-1.30 (m, 10H), 1.50-1.56 (m, 2H), 1.62-1.73 (m, 5H), 1.78-1.92 (m, 2H), 2.27-2.35 (m, 4H), 3.26-3.40 (m, 4H), 4.10-4.18 (m, 2H).

4-(3-Cyclohexyl-*N*-ethylpropanamido)butanoic acid (115)



化合物 **114** (65 mg, 0.218 mmol) の EtOH (1.3 mL) 溶液に、2N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.131 mL, 0.262 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に 2N 塩酸 (0.218 mL, 0.436 mmol) を加え、溶媒を減圧下留去し、化合物 **115** を得た。本化合物は、精製せずそのまま次工程に用いた。

4-(3-Cyclohexyl-*N*-ethylpropanamido)-*N*-(naphthalen-1-yl)butanamide (18)



化合物 **115** (0.218 mmol) と naphthalen-1-amine (34.3 mg, 0.240 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt \cdot H₂O (43.5 mg, 0.283 mmol), WSC \cdot HCl (54.3 mg, 0.283 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、希塩酸、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 40 : 1) で精製し、化合物 **18** (55.1 mg, 64%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.83-0.92 (m, 2H), 1.11-1.26 (m, 6H), 1.51-1.57 (m, 2H), 1.63-1.70 (m, 6H), 1.97-2.04 (m, 2H), 2.34 (t, J = 8.04 Hz, 2H), 2.47-2.51 (m, 2H), 3.35 (dt, J = 5.68, 5.68 Hz, 2H), 3.55 (t, J = 6.24 Hz, 2H), 7.43-7.53 (m, 3H), 7.66 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.56 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 7.56 Hz, 1H), 8.18 (d, J = 8.28 Hz, 1H), 9.35 (s, 1H).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.13, 24.81, 26.29 (2C), 26.57, 30.63, 32.99, 33.18 (2C), 34.75, 37.55, 42.27, 44.00, 120.44, 121.73, 125.31, 125.68, 125.80, 126.02, 127.32, 128.48, 133.27, 134.21, 172.08, 174.50.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2$, 395.2693; found, 395.2689.

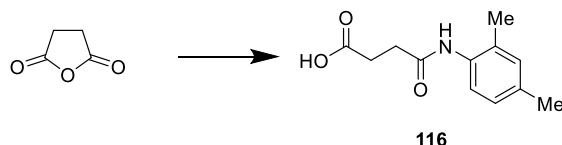
Purity: 98.5%.

第 3 章の実験

化合物 19 の合成

tert-Butyl

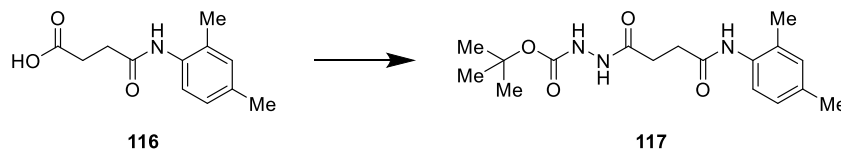
2-(4-((2,4-dimethylphenyl)amino)-4-oxobutanoyl)hydrazine-1-carboxylate (116)



無水こはく酸 (500 mg, 5.00 mmol) と 2,4-dimethylaniline (0.618 mL, 5.00 mmol) の CHCl_3 (20 mL) 溶液を室温で 7 時間攪拌した。得られた化合物 116 の CHCl_3 溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

tert-Butyl

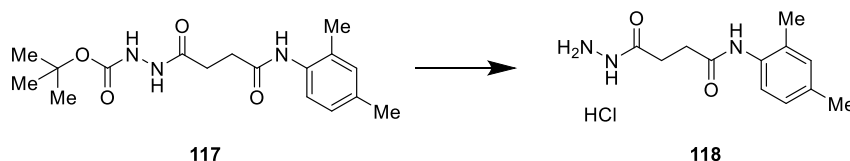
2-(4-((2,4-dimethylphenyl)amino)-4-oxobutanoyl)hydrazine-1-carboxylate (117)



化合物 116 (5.00 mmol) の CHCl_3 (20 mL) 溶液に、HATU (1.90 g, 5.00 mmol), DIEA (1.05 mL, 6.00 mmol), *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (661 mg, 5.00 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を EtOAc に溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた残渣に EtOAc (10 mL) とジエチルエーテル (10 mL) を加え、析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 117 (1.49 g, 89%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOH}-d_4$) δ : 1.46 (s, 9H), 2.19 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.59 (t, J = 7.12 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 7.16 Hz, 2H), 6.96 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.16 (d, J = 8.24 Hz, 1H).

N-(2,4-Dimethylphenyl)-4-hydrazineyl-4-oxobutanamide hydrochloride (118)

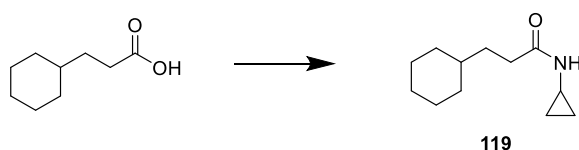


化合物 117 (1.47 g, 4.38 mmol) の 1,4-ジオキサン (14 mL) 溶液に、4N 塩酸 (1,4-ジオ

キサン溶液) (14 mL, 56 mmol) を加え, 室温で終夜攪拌した。析出した固体をろ取し, 減圧下乾燥して化合物 **118** (1.14 g, 96%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.15 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.56 (d, $J = 10.92$ Hz, 2H), 2.66 (d, $J = 10.04$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.21 (d, $J = 8.28$ Hz, 2H), 9.32 (s, 1H), 10.47 (brs, 3H), 11.07 (s, 1H).

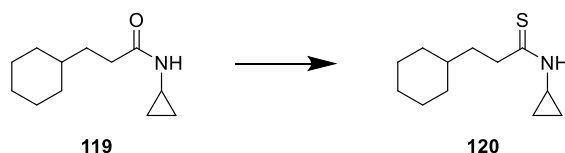
3-Cyclohexyl-*N*-cyclopropylpropanamide (119)



3-Cyclohexylpropanoic acid (3.00 mL, 19.2 mmol) と cyclopropanamine (1.60 mL, 23.0 mmol) の DMF (30 mL) 溶液に, 氷冷下で, HOBt \cdot H₂O (3.24 g, 21.1 mmol), WSC \cdot HCl (4.05 g, 21.1 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, EtOAc を加えた後, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去して化合物 **119** (3.57 g, 95%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

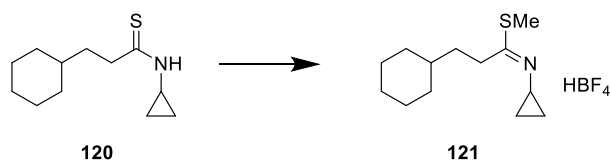
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 0.32-0.36 (m, 2H), 0.55-0.59 (m, 2H), 0.79-0.87 (m, 2H), 1.08-1.21 (m, 4H), 1.36 (dt, $J = 6.72, 6.72$ Hz, 2H), 1.58-1.66 (m, 5H), 1.99 (t, $J = 7.56$ Hz, 2H), 2.54-2.61 (m, 1H), 7.79 (s, 1H).

3-Cyclohexyl-*N*-cyclopropylpropanethioamide (120)



化合物 **119** (1.40 g, 7.17 mmol) の THF (14 mL) 溶液に, ローソン試薬 (1.88 g, 4.66 mmol) を加え, 80 °C で 3 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した後, 得られた残渣を *n*-hexane と EtOAc の混合溶媒 (*n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) に溶解した。シリカゲルを加え, 室温で攪拌した後, シリカゲルをろ過することで取り除き, 得られたろ液の溶媒を減圧下留去し, 化合物 **120** (980 mg, 64%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

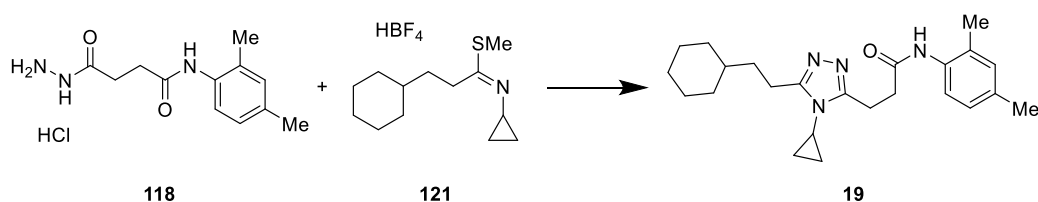
Methyl 3-cyclohexyl-*N*-cyclopropylpropanimidothioate tetrafluoroborate (121)



化合物 **120** (500 mg, 2.37 mmol) の CHCl_3 (10 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (389 mg, 2.37 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **121** (815 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.91-1.00 (m, 2H), 1.10-1.30 (m, 7H), 1.34-1.45 (m, 1H), 1.52-1.58 (m, 2H), 1.63-1.76 (m, 5H), 2.78 (s, 3H), 2.85-2.99 (m, 3H), 10.31 (brs, 1H).

3-(5-(2-Cyclohexylethyl)-4-cyclopropyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (**19**)



化合物 **121** (31.3 mg, 0.100 mmol) と化合物 **118** (27.2 mg, 0.100 mmol) の EtOH (0.6 mL) , 水 (0.3 mL) 溶液に、酢酸ナトリウム (20.5 mg, 0.250 mmol) を加え、90 °C で 7 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 (CHCl_3 : MeOH = 20 : 1) で精製し、化合物 **19** (20.2 mg, 51%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.94 (dt, $J = 10.44, 5.62$ Hz, 4H), 1.13-1.27 (m, 6H), 1.61-1.76 (m, 7H), 2.18 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.78 (t, $J = 8.16$ Hz, 2H), 2.94-2.98 (m, 1H), 3.06 (t, $J = 6.18$ Hz, 2H), 3.16 (t, $J = 6.06$ Hz, 2H), 6.96 (s, 2H), 7.57 (d, $J = 8.82$ Hz, 1H), 8.51 (s, 1H).

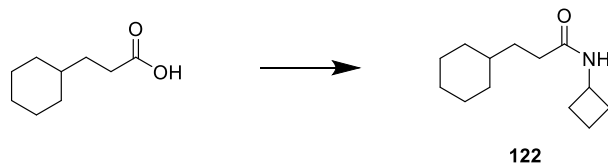
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 7.00 (2C), 17.97, 20.83, 22.12, 23.17, 24.39, 26.23 (2C), 26.55, 33.05 (2C), 33.77, 34.74, 37.45, 123.26, 126.96, 129.87, 131.12, 133.39, 134.66, 155.27, 157.05, 170.65.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}$, 395.2805; found, 395.2803.

Purity: 99.0%.

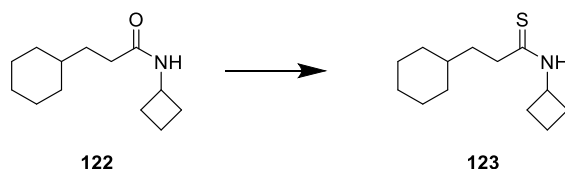
化合物 **20** の合成

N-Cyclobutyl-3-cyclohexylpropanamide (122)



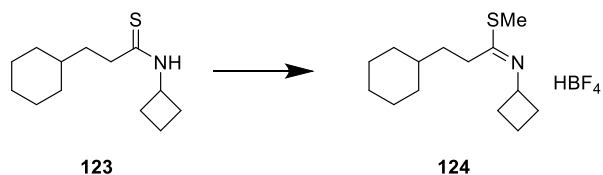
3-Cyclohexylpropanoic acid (1.00 g, 6.40 mmol) と cyclobutanamine (0.656 mL, 7.68 mmol) の DMF (10 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (1.08 g, 7.04 mmol), WSC · HCl (1.35 g, 7.04 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、EtOAc を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **122** (1.32 g, 99%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

N-Cyclobutyl-3-cyclohexylpropanethioamide (123)



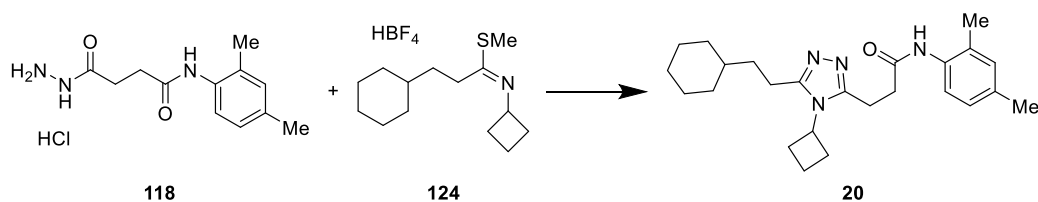
化合物 **122** (200 mg, 0.955 mmol) の THF (2 mL) 溶液に、ローソン試薬 (251 mg, 0.621 mmol) を加え、80 °C で 3 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を *n*-hexane と EtOAc の混合溶媒 (*n*-hexane : EtOAc = 12 : 1) に溶解した。シリカゲルを加え、室温で攪拌した後、シリカゲルをろ過することで取り除き、得られたろ液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **123** (224 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

Methyl *N*-cyclobutyl-3-cyclohexylpropanimidothioate tetrafluoroborate (124)



化合物 **123** (224 mg, 0.955 mmol) の CHCl₃ (4.5 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (157 mg, 0.955 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **124** (330 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(4-Cyclobutyl-5-(2-cyclohexylethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (20)



化合物 **124** (31.3 mg, 0.100 mmol) と化合物 **118** (27.2 mg, 0.100 mmol) の EtOH (0.6 mL) , 水 (0.3 mL) 溶液に, 酢酸ナトリウム (20.5 mg, 0.250 mmol) を加え, 90 °C で終夜攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 = 20 : 1) で精製し, 化合物 **20** (28.4 mg, 69%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.92 (d, *J* = 11.69 Hz, 2H), 1.20 (dd, *J* = 22.05, 10.37 Hz, 4H), 1.57-1.75 (m, 7H), 1.86-1.96 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.55 (dd, *J* = 18.86, 8.49 Hz, 4H), 2.73 (t, *J* = 8.16 Hz, 2H), 3.11 (dd, *J* = 18.75, 6.18 Hz, 4H), 4.53 (t, *J* = 8.71 Hz, 1H), 6.95 (s, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.60 Hz, 1H), 8.58 (s, 1H).

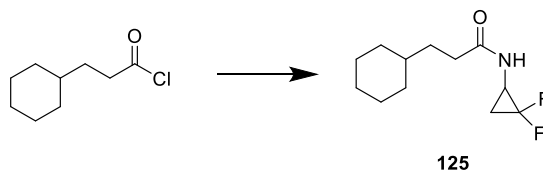
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 15.43, 18.02, 20.84, 23.21, 23.76, 26.21 (2C), 26.52, 30.26 (2C), 33.05 (2C), 33.83, 35.19, 37.45, 49.25, 123.19, 126.93, 129.84, 131.10, 133.45, 134.58, 153.66, 155.62, 170.70.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₃₆N₄O, 409.2962; found, 409.2955.

Purity: 96.8%.

化合物 **21** の合成

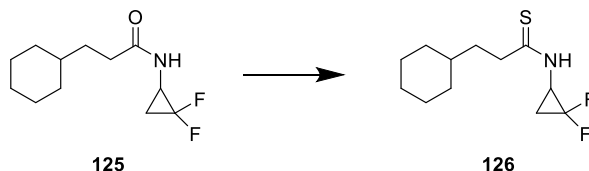
3-Cyclohexyl-*N*-(2,2-difluorocyclopropyl)propanamide (**125**)



2,2-Difluorocyclopropan-1-amine hydrochloride (500 mg, 3.86 mmol) の EtOAc (10 mL), 水 (5 mL) 溶液に, 氷冷下で, 3-cyclohexylpropanoyl chloride (0.652 mL, 3.86 mmol), 1N 水酸化ナトリウム水溶液 (7.72 mL, 7.72 mmol) を順に加え, 氷冷下で 15 分間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 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 : EtOAc = 4 : 1) で精製し, 化合物 **125** (741 mg, 83%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88-0.95 (m, 2H), 1.09-1.34 (m, 5H), 1.51-1.56 (m, 2H), 1.67-1.73 (m, 5H), 1.77-1.86 (m, 1H), 2.22 (t, J = 11.92 Hz, 2H), 3.32-3.41 (m, 1H), 5.64 (s, 1H).

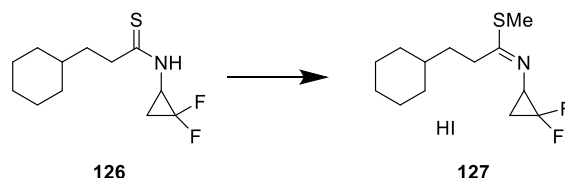
3-Cyclohexyl-*N*-(2,2-difluorocyclopropyl)propanethioamide (126)



化合物 **125** (500 mg, 2.16 mmol) の THF (5 mL) 溶液に、ローソン試薬 (481 mg, 1.19 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 7 : 1) で精製し、化合物 **126** (521 mg, 98%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89-0.97 (m, 2H), 1.09-1.33 (m, 5H), 1.37-1.46 (m, 1H), 1.63-1.73 (m, 6H), 1.91-2.01 (m, 1H), 2.67-2.71 (m, 2H), 3.73-3.82 (m, 1H), 7.17 (s, 1H).

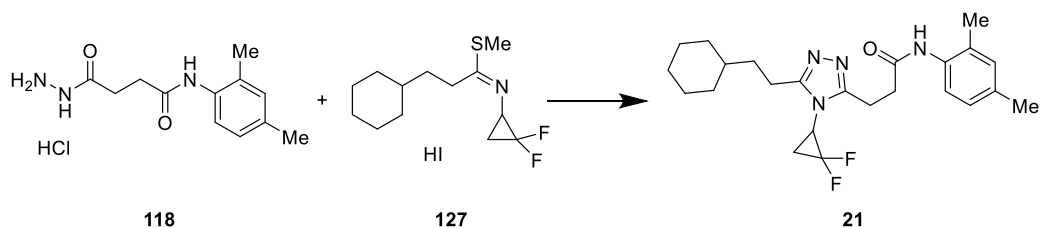
Methyl 3-cyclohexyl-*N*-(2,2-difluorocyclopropyl)propanimidothioate hydroiodide (127)



化合物 **126** (220 mg, 0.889 mmol) の DMF (2 mL) 溶液に、氷冷下で、水素化ナトリウム (43 mg, 1.07 mmol) と iodomethane (0.072 mL, 1.16 mmol) を順に加え、氷冷下で 30 分間撹拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。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 **127** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85-0.98 (m, 2H), 1.10-1.33 (m, 5H), 1.47-1.84 (m, 8H), 2.24 (s, 2H), 2.44-2.48 (m, 2H), 2.49 (s, 1H), 3.49-3.58 (m, 1H).

3-(5-(2-Cyclohexylethyl)-4-(2,2-difluorocyclopropyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (21)



化合物 **127** (0.889 mmol) と化合物 **118** (217 mg, 0.800 mmol) の EtOH (4.8 mL) , 水 (2.4 mL) 溶液に, 酢酸ナトリウム (164 mg, 2.00 mmol) を加え, 90 °C で終夜攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 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 = 20 : 1) で精製し, 化合物 **21** (134 mg, 34%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.86-0.99 (m, 2H), 1.10-1.37 (m, 4H), 1.61-1.79 (m, 7H), 1.90-2.00 (m, 1H), 2.16 (s, 3H), 2.18-2.32 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.71-2.79 (m, 2H), 2.97-3.15 (m, 4H), 3.57-3.67 (m, 1H), 6.93-7.00 (m, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.82 Hz, 1H), 7.84 (brs, 1H).

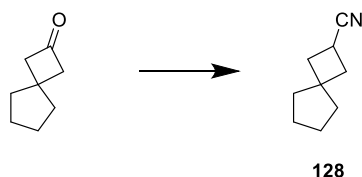
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 17.86, 18.52 (t, *J* = 11.38 Hz), 20.84, 21.44, 22.76, 22.78, 26.20, 26.52, 31.67 (dd, *J* = 18.00, 9.50 Hz), 32.97, 33.00, 33.91, 34.43, 37.38, 108.65 (t, *J* = 281.63 Hz), 123.39, 127.06, 129.93, 131.18, 133.08, 134.96, 154.77, 156.47, 170.18.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₂F₂N₄O, 431.2617; found, 431.2612.

Purity: 98.0%.

化合物 **22** の合成

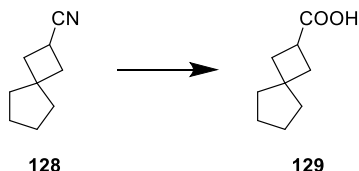
Spiro[3.4]octane-2-carbonitrile (**128**)



Spiro[3.4]octan-2-one (1.62 g, 13.2 mmol) と *p*-toluenesulfonylmethyl isocyanide (2.84 g, 14.6 mmol) の DME (10 mL) 溶液に, 氷冷下で, *tert*-BuOK (2.79 g, 24.9 mmol) の DME (12 mL) と *tert*-BuOH (10 mL) の溶液を滴下した。室温で終夜攪拌した後, 反応混合液に水を加え, ジエチルエーテルで抽出した。得られた有機層を, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 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 : Et₂O = 50 : 1 → 10 : 1) で精製し, 化合物 **128** (663 mg, 37%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.55-1.69 (m, 8H), 2.22-2.32 (m, 4H), 3.00 (quin, $J = 8.68$ Hz, 1H).

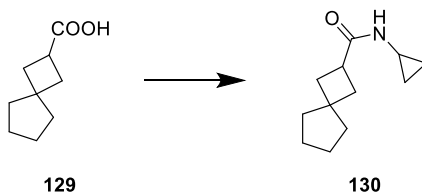
Spiro[3.4]octane-2-carboxylic acid (**129**)



化合物 **128** (311 mg, 2.3 mmol) の EtOH (3 mL) 溶液に, 8N 水酸化カリウム水溶液 (2.3 mL, 18.4 mmol) を加え, 90 °C で終夜攪拌した。反応混合液に, 氷冷下で, 6N 塩酸 (3.06 mL, 18.4 mmol) を加え, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 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 (CHCl_3 : MeOH = 24 : 1 \rightarrow 12 : 1) で精製し, 化合物 **129** (203 mg, 57%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.46-1.61 (m, 8H), 1.96-2.06 (m, 4H), 2.95 (quin, $J = 8.92$ Hz, 1H), 11.97 (s, 1H).

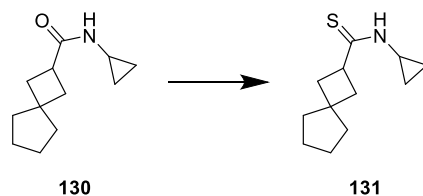
N-Cyclopropylspiro[3.4]octane-2-carboxamide (**130**)



化合物 **129** (188 mg, 1.22 mmol) の MeCN (2 mL) 溶液に, HOBt \cdot H_2O (205 mg, 1.34 mmol), WSC \cdot HCl (257 mg, 1.34 mmol), cyclopropanamine (0.103 mL, 1.46 mmol) を順に加え, 氷冷下で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し, 水を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 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 : EtOAc = 20 : 1 \rightarrow 3 : 1) で精製し, 化合物 **130** (137 mg, 58%) を得た。

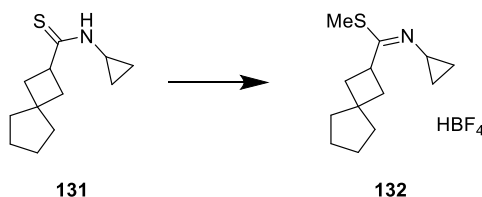
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.44-0.48 (m, 2H), 0.73-0.78 (m, 2H), 1.50-1.76 (m, 8H), 1.96-2.01 (m, 2H), 2.12-2.17 (m, 2H), 2.67-2.73 (m, 1H), 2.82 (quin, $J = 8.68$ Hz, 1H), 5.42 (s, 1H).

N-Cyclopropylspiro[3.4]octane-2-carbothioamide (**131**)



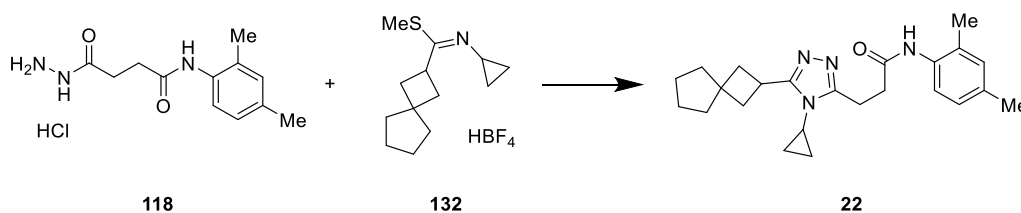
化合物 **130** (135 mg, 0.698 mmol) の THF (2 mL) 溶液に、ローソン試薬 (147 mg, 0.36 mmol) を加え、60 °C で 50 分間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 30 : 1 → 5 : 1) で精製し、化合物 **131** (120 mg, 82%) を得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.62-0.66 (m, 2H), 0.92-0.97 (m, 2H), 1.51-1.70 (m, 8H), 2.11-2.16 (m, 2H), 2.21-2.26 (m, 2H), 3.17-3.27 (m, 2H), 7.03 (s, 1H).

Methyl *N*-cyclopropylspiro[3.4]octane-2-carbimidothioate tetrafluoroborate (**132**)



化合物 **131** (65 mg, 0.31 mmol) の 1,4-ジオキサン (1 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (51 mg, 0.34 mmol) を加え、氷冷下で 2 時間攪拌した。得られた化合物 **132** の 1,4-ジオキサン溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(4-Cyclopropyl-5-(spiro[3.4]octan-2-yl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (**22**)



化合物 **132** (0.31 mmol) の 1,4-ジオキサン (1 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **118** (77 mg, 0.28 mmol) の EtOH (1 mL) 溶液と酢酸ナトリウム (58 mg, 0.70 mmol) の水 (0.5 mL) 溶液を加え、100 °C で 2.5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、クロロホルムで抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **22** (50.4 mg, 46%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88-0.92 (m, 2H), 1.11-1.16 (m, 2H), 1.53-1.66 (m, 5H), 1.73-1.76 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.24-2.29 (m, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.39-2.44 (m, 2H), 2.85-2.91 (m, 1H), 3.04 (t, $J = 6.84$ Hz, 2H), 3.15 (t, $J = 6.84$ Hz, 2H), 3.48-3.57 (m, 1H), 6.95-6.97 (m, 2H), 7.62 (d, $J = 8.48$ Hz, 1H), 8.24 (brs, 1H).

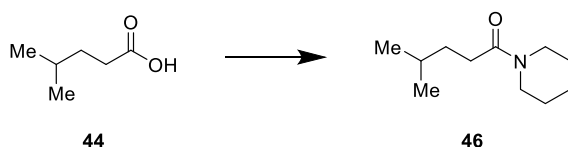
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 6.90 (2C), 17.99, 20.84, 22.17, 23.74, 24.07, 24.16, 25.55, 33.82, 38.72 (2C), 39.18, 39.89, 43.19, 123.23, 126.97, 129.84, 131.11, 133.37, 134.66, 155.35, 159.75, 170.67.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}$, 393.2649; found, 393.2645.

Purity: 97.7%.

化合物 51 の合成

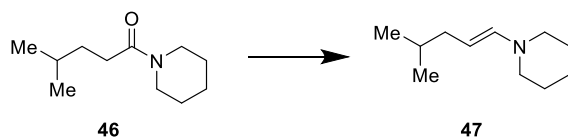
4-Methyl-1-(piperidin-1-yl)pentan-1-one (46)



4-Methylpentanoic acid (化合物 44) (229 g, 1.97 mol) の DMF (1000 mL) 溶液に、氷冷下で、piperidine (233 mL, 2.36 mol), HOBT \cdot H_2O (361 g, 2.36 mol), WSC \cdot HCl (452 g, 2.36 mol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に水 (2000 mL) を加えた後、toluene で抽出した。得られた有機層を、10% 炭酸ナトリウム水溶液、水、1N 塩酸、水、10% 食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 46 (357 g, 99%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.92 (d, $J = 6.24$ Hz, 6H), 1.49-1.68 (m, 9H), 2.30-2.34 (m, 2H), 3.39-3.41 (m, 2H), 3.54-3.56 (m, 2H).

1-(4-Methylpent-1-en-1-yl)piperidine (47)

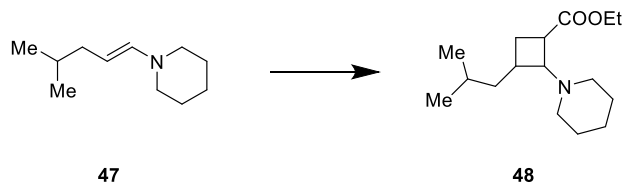


化合物 46 (357 g, 1.95 mol) の toluene (920 mL) 溶液に、 $(\text{PPh}_3)_2\text{IrCl}(\text{CO})$ (762 mg, 0.98 mol) を加えた。その混合溶液に、水冷下で、内温を 20 $^\circ\text{C}$ 前後に保ちながら TMS (604 mL, 3.42 mol) を少量ずつ滴下した (発泡が認められた)。室温で 5 時間攪拌した後、反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 47 (850 g, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.82 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 1.39-1.50 (m, 7H), 1.76 (dt,

$J = 6.94, 0.92$ Hz, 2H), 2.66-2.69 (m, 4H), 4.22 (dt, $J = 13.64, 7.44$ Hz, 1H), 5.75 (d, $J = 13.64$ Hz, 1H).

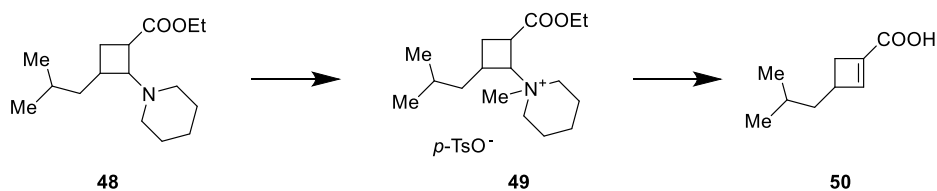
Ethyl 3-isobutyl-2-(piperidin-1-yl)cyclobutane-1-carboxylate (48)



化合物 **47** (1.95 mol) の MeCN (590 mL) 溶液に、室温でアクリル酸エチル (426 mL, 3.90 mol), hydroquinone (2.15 g, 0.0195 mol) を加え、85 °C で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **48** (1033 g, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.80-0.85 (m, 6H), 1.12-1.24 (m, 4H), 1.30-1.56 (m, 9H), 2.05-2.14 (m, 2H), 2.20-2.34 (m, 4H), 2.56-2.78 (m, 2H), 3.99-4.07 (m, 2H).

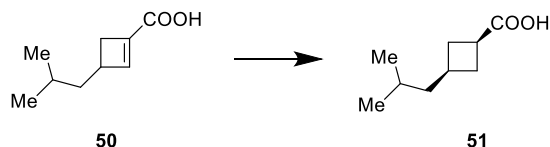
3-Isobutylcyclobut-1-ene-1-carboxylic acid (50)



上記で得られた化合物 **48** (1.95 mol) に、methyl 4-methylbenzenesulfonate (324 mL, 2.15 mol) を加え、95 °C で 2 時間攪拌した。反応混合液に、水 (1200 mL), *tert*-BuOMe (590 mL), *n*-heptane (590 mL) を加え分層した後、水 (300 mL) で抽出した。得られた水層 (化合物 **49** の水溶液) を合わせ、そこに水酸化カリウム (580 g, 6.78 mol) を加え、100 °C で 3 時間攪拌した。反応混合液を *tert*-BuOMe で洗浄した。得られた水層に氷冷下で濃塩酸を加え酸性 (pH 1) にした後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、10% 食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **50** (249 g, 83%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (d, $J = 6.85$ Hz, 6H), 1.25-1.42 (m, 2H), 1.56-1.67 (m, 1H), 2.11 (d, $J = 12.09$ Hz, 1H), 2.66-2.76 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 12.31 (brs, 1H).

cis-3-Isobutylcyclobutane-1-carboxylic acid (51)

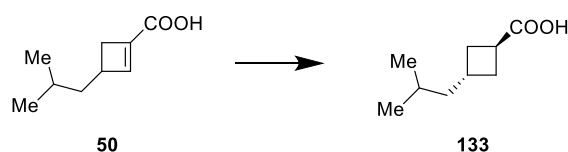


化合物 **50** (249 g, 1.61 mol) の THF (1200 mL) 溶液に、5% パラジウム炭素 (25 g) を加え、水素雰囲気下で室温で 8 時間攪拌した。パラジウム炭素をろ過することで取り除き、得られたろ液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **51** (234 g, 93%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 (d, $J = 6.80$ Hz, 6H), 1.30 (dd, $J = 6.80, 6.80$ Hz, 2H), 1.53 (sep, $J = 6.80$ Hz, 1H), 1.83-1.95 (m, 2H), 2.26-2.38 (m, 3H), 2.96-3.05 (m, 1H).

化合物 **133** の合成

trans-3-Isobutylcyclobutane-1-carboxylic acid (**133**)

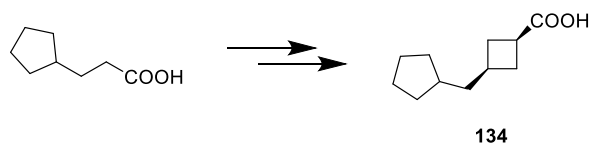


化合物 **50** (8 g, 52 mmol) の THF (80 mL) 溶液に、6N 塩酸 (80 mL, 480 mmol) を加えた後、氷冷下で、亜鉛粉末 (16 g, 245 mmol) を少量ずつ加え、65 °C で終夜攪拌した。固体をろ過することで取り除き、得られたろ液を EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 : MeOH = 40 : 1) で精製し、化合物 **133** (5.37 g, 66%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.82 (d, $J = 6.62$ Hz, 6H), 1.31 (dd, $J = 7.28, 7.28$ Hz, 2H), 1.43-1.54 (m, 1H), 1.75-1.85 (m, 2H), 2.18-2.27 (m, 2H), 2.31-2.39 (m, 1H), 2.91-3.02 (m, 1H), 12.01 (brs, 1H).

化合物 **23** の合成

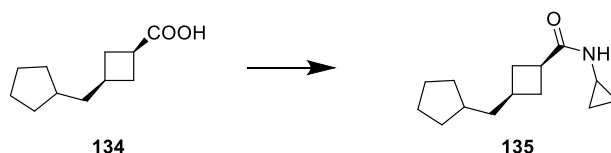
cis-3-(Cyclopentylmethyl)cyclobutane-1-carboxylic acid (**134**)



化合物 **51** と同様の方法で合成した。原料として、4-methylpentanoic acid の代わりに 3-cyclopentylpropanoic acid を用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.98-1.06 (m, 2H), 1.32-1.84 (m, 11H), 2.11-2.33 (m, 3H), 2.81-3.00 (m, 1H), 12.00 (brs, 1H).

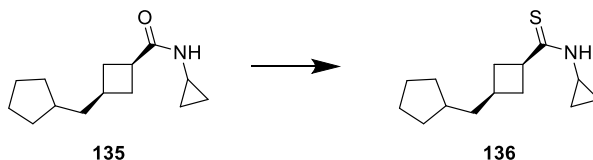
***cis*-3-(Cyclopentylmethyl)-*N*-cyclopropylcyclobutane-1-carboxamide (135)**



化合物 **134** (853 mg, 4.68 mmol) と cyclopropanamine (0.419 mL, 6.09 mmol) の CHCl_3 (20 mL) 溶液に、室温で、DMAP (686 mg, 5.62 mmol), WSC \cdot HCl (1.08 g, 5.62 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 10 : 1 \rightarrow 2 : 1) で精製し、化合物 **135** (916 mg, 88%) を得た。

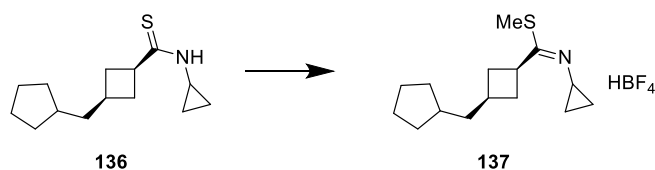
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.46-0.50 (m, 2H), 0.75-0.79 (m, 2H), 1.00-1.09 (m, 2H), 1.44-1.62 (m, 6H), 1.65-1.75 (m, 3H), 1.79-1.86 (m, 2H), 2.30-2.46 (m, 3H), 2.69-2.75 (m, 1H), 2.82-2.89 (m, 1H), 5.44 (s, 1H).

***cis*-3-(Cyclopentylmethyl)-*N*-cyclopropylcyclobutane-1-carbothioamide (136)**



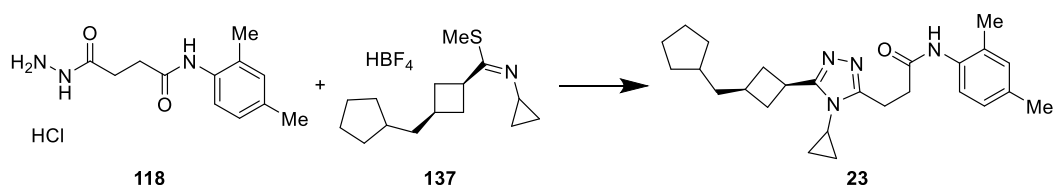
化合物 **135** (485 mg, 2.19 mmol) の THF (7.3 mL) 溶液に、ローソン試薬 (576 mg, 1.42 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を *n*-hexane と EtOAc の混合溶媒 (*n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) に溶解した。シリカゲルを加え、室温で攪拌した後、シリカゲルをろ過することで取り除き、得られたろ液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **136** (487 mg, 94%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

Methyl *cis*-3-(cyclopentylmethyl)-*N*-cyclopropylcyclobutane-1-carbimidothioate tetrafluoroborate (137)



化合物 **136** (72 mg, 0.30 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.36 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (50 mg, 0.34 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。得られた化合物 **137** の 1,4-ジオキサン溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(5-(*cis*-3-(Cyclopentylmethyl)cyclobutyl)-4-cyclopropyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (**23**)



化合物 **137** (0.30 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.36 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **118** (80 mg, 0.28 mmol) の EtOH (0.72 mL) 溶液と酢酸ナトリウム (57 mg, 0.70 mmol) の水 (0.36 mL) 溶液を加え、100 °C で終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、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 = 20 : 1) で精製し、化合物 **23** (79.7 mg, 69%) を得た。

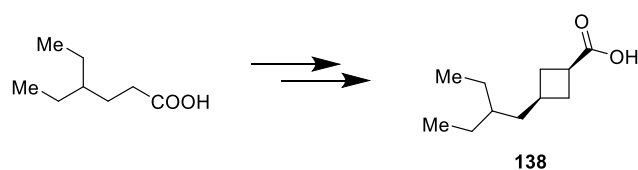
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.88-0.94 (m, 2H), 1.04-1.10 (m, 2H), 1.11-1.18 (m, 2H), 1.45-1.51 (m, 4H), 1.54-1.61 (m, 2H), 1.67-1.76 (m, 3H), 2.04-2.14 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.36 (dd, *J* = 16.93, 7.65 Hz, 1H), 2.50 (ddd, *J* = 16.12, 7.77, 2.55 Hz, 2H), 2.86-2.92 (m, 1H), 3.04 (t, *J* = 6.96 Hz, 2H), 3.16 (t, *J* = 6.96 Hz, 2H), 3.38-3.47 (m, 1H), 6.94-6.99 (m, 2H), 7.63 (d, *J* = 8.80 Hz, 1H), 8.25 (brs, 1H).
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 6.90 (2C), 18.01, 20.84, 22.14, 24.12, 25.08 (2C), 27.47, 32.13, 32.74 (2C), 33.87, 34.14 (2C), 38.45, 43.05, 123.27, 126.95, 129.89, 131.10, 133.40, 134.63, 155.26, 159.48, 170.68.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₃₆N₄O, 421.2962; found, 421.2958.

Purity: 98.2%.

化合物 **24** の合成

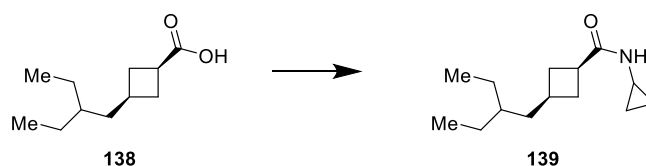
cis-3-(2-Ethylbutyl)cyclobutane-1-carboxylic acid (**138**)



化合物 **51** と同様の方法で合成した。原料として、4-methylpentanoic acid の代わりに 4-ethylhexanoic acid を用いた。

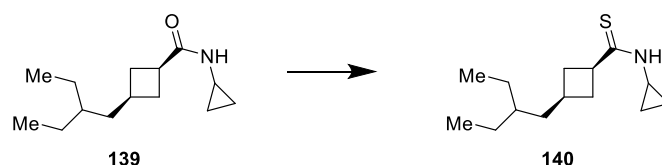
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.83 (t, $J = 7.20$ Hz, 6H), 1.10-1.18 (m, 1H), 1.21-1.29 (m, 4H), 1.33-1.40 (m, 2H), 1.88-1.95 (m, 2H), 2.25-2.55 (m, 3H), 2.95-3.14 (m, 1H).

***cis-N*-Cyclopropyl-3-(2-ethylbutyl)cyclobutane-1-carboxamide (139)**



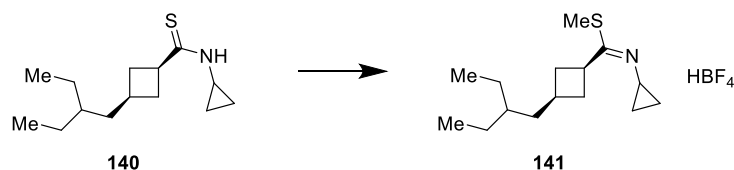
化合物 **138** (767 mg, 4.16 mmol) と cyclopropanamine (0.372 mL, 5.41 mmol) の CHCl_3 (20 mL) 溶液に、室温で、DMAP (610 mg, 4.99 mmol), WSC \cdot HCl (957 mg, 4.99 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を EtOAc に溶解した後、1N 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して化合物 **139** (780 mg, 84%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

***cis-N*-Cyclopropyl-3-(2-ethylbutyl)cyclobutane-1-carbothioamide (140)**



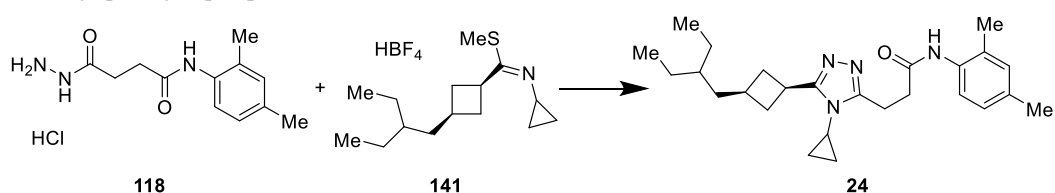
化合物 **139** (340 mg, 1.52 mmol) の THF (5.1 mL) 溶液に、ローソン試薬 (400 mg, 0.989 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を *n*-hexane と EtOAc の混合溶媒 (*n*-hexane : EtOAc = 20 : 1) に溶解した。シリカゲルを加え、室温で攪拌した後、シリカゲルをろ過することで取り除き、得られたろ液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **140** (335 mg, 92%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

Methyl *cis-N*-cyclopropyl-3-(2-ethylbutyl)cyclobutane-1-carbimidothioate tetrafluoroborate (141)



化合物 **140** (58 mg, 0.24 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.30 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (36 mg, 0.24 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。得られた化合物 **141** の 1,4-ジオキサン溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-(2-ethylbutyl)cyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (**24**)



化合物 **141** (0.24 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.30 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **118** (60 mg, 0.22 mmol) の EtOH (0.60 mL) 溶液と酢酸ナトリウム (45 mg, 0.55 mmol) の水 (0.30 mL) 溶液を加え、100 °C で終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣にジエチルエーテルを加え、析出した固体をろ取り、減圧下乾燥して化合物 **24** (45.8 mg, 49%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.83 (t, $J = 7.40$ Hz, 6H), 0.89-0.93 (m, 2H), 1.12-1.30 (m, 7H), 1.39 (t, $J = 6.84$ Hz, 2H), 2.04-2.12 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.36-2.53 (m, 3H), 2.87-2.92 (m, 1H), 3.04 (t, $J = 6.72$ Hz, 2H), 3.16 (t, $J = 6.92$ Hz, 2H), 3.37-3.47 (m, 1H), 6.94-6.99 (m, 2H), 7.62 (d, $J = 8.80$ Hz, 1H), 8.27 (brs, 1H).

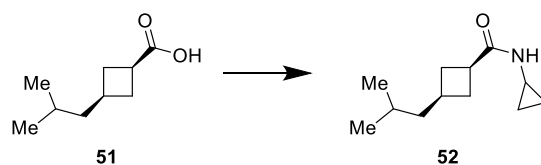
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 6.90 (2C), 10.87 (2C), 18.00, 20.84, 22.18, 24.12, 25.46 (2C), 27.57, 30.71, 33.90, 34.33 (2C), 38.76, 40.10, 123.14, 126.97, 129.73, 131.11, 133.38, 134.62, 155.25, 159.46, 170.64.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}$, 423.3118; found, 423.3114.

Purity: 99.2%.

化合物 **25** の合成

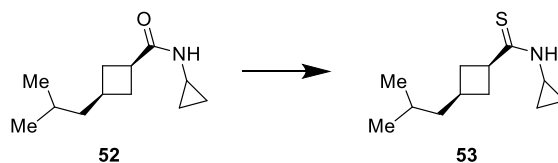
cis-*N*-Cyclopropyl-3-isobutylcyclobutane-1-carboxamide (**52**)



化合物 **51** (668 mg, 4.28 mmol) と cyclopropanamine (0.360 mL, 5.13 mmol) の MeCN (3.5 mL) 溶液に、室温で、HOBt · H₂O (786 mg, 5.13 mmol), WSC · HCl (980 mg, 5.13 mmol) を順に加え、室温で終夜撹拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、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 : EtOAc = 3 : 1) で精製し、化合物 **52** (697 mg, 83%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.44-0.48 (m, 2H), 0.73-0.78 (m, 2H), 0.83 (t, *J* = 6.68 Hz, 6H), 1.26-1.30 (m, 2H), 1.51 (sep, *J* = 6.72 Hz, 1H), 1.76-1.85 (m, 2H), 2.17-2.25 (m, 3H), 2.66-2.77 (m, 2H), 5.41 (s, 1H).

cis-*N*-Cyclopropyl-3-isobutylcyclobutane-1-carbothioamide (**53**)



化合物 **52** (355 mg, 1.82 mmol) の THF (4 mL) 溶液に、ローソン試薬 (383 mg, 0.946 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 8 : 1) で精製し、化合物 **53** (361 mg, 94%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.62-0.66 (m, 2H), 0.84 (t, *J* = 6.68 Hz, 6H), 0.91-0.96 (m, 2H), 1.26-1.30 (m, 2H), 1.52 (sep, *J* = 6.72 Hz, 1H), 1.85-1.93 (m, 2H), 2.18-2.25 (m, 1H), 2.34-2.41 (m, 2H), 3.05-3.14 (m, 1H), 3.18-3.25 (m, 1H), 6.99 (s, 1H).

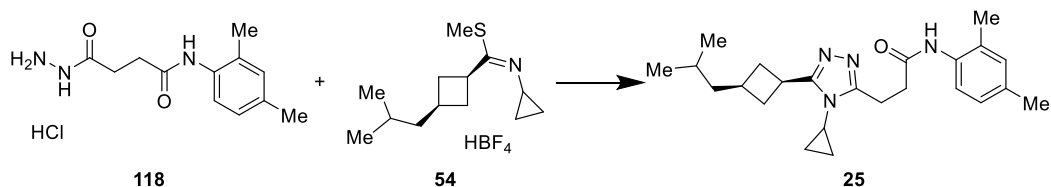
Methyl *cis*-*N*-cyclopropyl-3-isobutylcyclobutane-1-carbimidothioate tetrafluoroborate (**54**)



化合物 **53** (361 mg, 1.71 mmol) の 1,4-ジオキサン (1.0 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (253 mg, 1.71 mmol) を加え、室温で 2 時間撹拌した。得られた化合物 **54** の 1,4-ジオ

キサン溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (25) **2,**



化合物 **54** (1.71 mmol) の 1,4-ジオキサン (1.0 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **118** (456 mg, 1.57 mmol) の EtOH (4.5 mL) 溶液と酢酸ナトリウム (320 mg, 3.90 mmol) の水 (2.4 mL) 溶液を加え、100 °C で終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 99 : 1 → 19 : 1) で精製し、化合物 **25** (452 mg, 73%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.86 (d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 0.87-0.93 (m, 2H), 1.09-1.17 (m, 2H), 1.34 (dd, *J* = 7.12, 6.73 Hz, 2H), 1.49-1.60 (m, 1H), 2.01-2.12 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.34-2.59 (m, 3H), 2.89 (tt, *J* = 7.12, 4.35 Hz, 1H), 3.00-3.09 (m, 2H), 3.11-3.19 (m, 2H), 3.43 (tt, *J* = 9.50, 7.92 Hz, 1H), 6.93-7.00 (m, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.60 Hz, 1H), 8.31 (s, 1H).

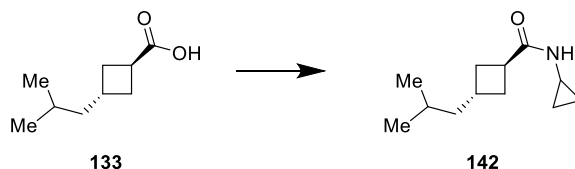
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 6.90 (2C), 18.01, 20.84, 22.15, 22.72 (2C), 24.11, 26.48, 27.56, 30.96, 33.89, 34.25 (2C), 46.07, 123.26, 126.96, 129.87, 131.10, 133.41, 134.62, 155.27, 159.46, 170.67.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₄N₄O, 395.2805; found, 395.2803.

Purity: 98.0%.

化合物 **26** の合成

***trans*-*N*-Cyclopropyl-3-isobutylcyclobutane-1-carboxamide (142)**

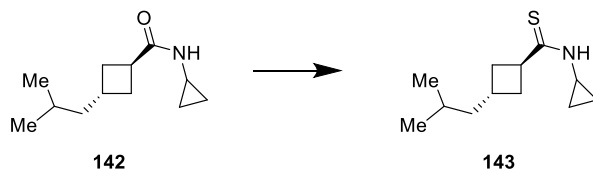


化合物 **133** (455 mg, 2.91 mmol) と cyclopropanamine (0.231 mL, 3.30 mmol) の CHCl₃ (4.5 mL) 溶液に、室温で、DMAP (403 mg, 3.30 mmol), WSC · HCl (633 mg, 3.30 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 9 : 1 → 11 : 9) で精製し、化

化合物 **142** (323 mg, 60%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.45-0.49 (m, 2H), 0.74-0.77 (m, 2H), 0.84 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 1.31-1.34 (m, 2H), 1.52 (sep, $J = 6.68$ Hz, 1H), 1.77-1.84 (m, 2H), 2.30-2.36 (m, 2H), 2.39-2.48 (m, 1H), 2.68-2.75 (m, 1H), 2.82-2.89 (m, 1H), 5.45 (s, 1H).

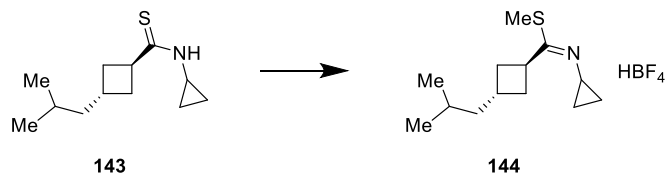
***trans*-*N*-Cyclopropyl-3-isobutylcyclobutane-1-carbothioamide (143)**



化合物 **142** (158 mg, 0.81 mmol) の THF (2 mL) 溶液に、ローソン試薬 (210 mg, 0.52 mmol) を加え、80 °C で終夜撹拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 9 : 1 \rightarrow 4 : 1) で精製し、化合物 **143** (169 mg, 99%) を得た。

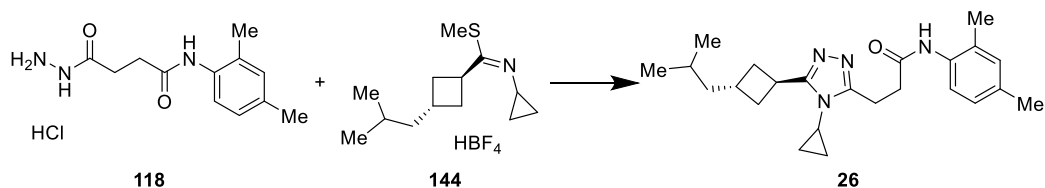
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.62-0.65 (m, 2H), 0.85 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 0.91-0.97 (m, 2H), 1.24-1.30 (m, 2H), 1.52 (sep, $J = 6.68$ Hz, 1H), 1.85-1.98 (m, 2H), 2.33-2.41 (m, 2H), 2.43-2.50 (m, 1H), 3.05-3.26 (m, 2H), 7.02 (s, 1H).

Methyl *trans*-*N*-cyclopropyl-3-isobutylcyclobutane-1-carbimidothioate tetrafluoroborate (144)



化合物 **143** (56.7 mg, 0.27 mmol) の 1,4-ジオキササン (0.35 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (44 mg, 0.27 mmol) を加え、室温で 2 時間撹拌した。得られた化合物 **144** の 1,4-ジオキササン溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(4-Cyclopropyl-5-(*trans*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (26)



化合物 **144** (0.27 mmol) の 1,4-ジオキササン (0.35 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **118** (70 mg, 0.24 mmol) の EtOH (0.7 mL) 溶液と酢酸ナトリウム (50 mg, 0.61 mmol) の水 (0.35

mL) 溶液を加え、100 °Cで終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **26** (73.3 mg, 77%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.83-0.91 (m, 2H), 0.87 (d, *J* = 6.85 Hz, 6H), 1.08-1.15 (m, 2H), 1.43 (dd, *J* = 6.80, 7.20 Hz, 2H), 1.50-1.63 (m, 1H), 2.00-2.12 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.48-2.63 (m, 3H), 2.88 (tt, *J* = 7.20, 4.00 Hz, 1H), 3.05 (t, *J* = 6.35 Hz, 2H), 3.16 (t, *J* = 6.35 Hz, 2H), 3.55-3.66 (m, 1H), 6.92-6.99 (m, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.87 Hz, 1H), 8.30 (brs, 1H).

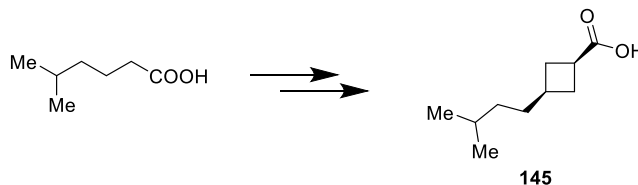
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 6.77 (2C), 18.00, 20.84, 22.22, 22.79 (2C), 24.20, 26.43, 27.39, 30.02, 32.34 (2C), 33.85, 45.84, 123.23, 126.97, 129.83, 131.10, 133.40, 134.63, 155.53, 159.90, 170.69.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₄N₄O, 395.2805; found, 395.2803.

Purity: 99.2%.

化合物 **27** の合成

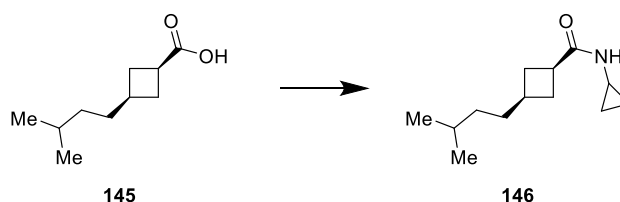
cis-3-Isopentylcyclobutane-1-carboxylic acid (**145**)



化合物 **51** と同様の方法で合成した。原料として、4-methylpentanoic acid の代わりに 5-methylhexanoic acid を用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.86 (d, *J* = 6.68 Hz, 6H), 1.03-1.08 (m, 2H), 1.33-1.39 (m, 2H), 1.47-1.52 (m, 1H), 1.74-1.82 (m, 2H), 2.06-2.16 (m, 1H), 2.21-2.27 (m, 2H), 2.80-2.89 (m, 1H).

cis-*N*-Cyclopropyl-3-isopentylcyclobutane-1-carboxamide (**146**)

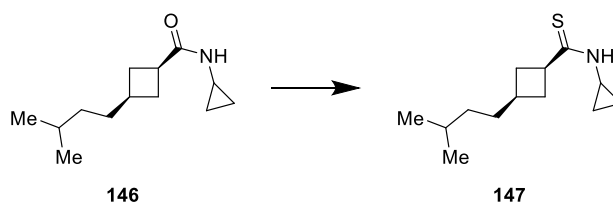


化合物 **145** (248 mg, 1.46 mmol) と cyclopropanamine (0.164 mL, 2.34 mmol) の MeOH (5.6 mL) 溶液に、室温で、4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium

chloride (DMT-MM) (606 mg, 2.19 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、1N 塩酸、水、飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 1 : 1) で精製し、化合物 **146** (330 mg, quant) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.45-0.49 (m, 2H), 0.73-0.78 (m, 2H), 0.85 (d, *J* = 6.48 Hz, 6H), 1.02-1.08 (m, 2H), 1.33-1.39 (m, 2H), 1.43-1.53 (m, 1H), 1.76-1.84 (m, 2H), 2.05-2.31 (m, 3H), 2.67-2.74 (m, 2H), 5.43 (s, 1H).

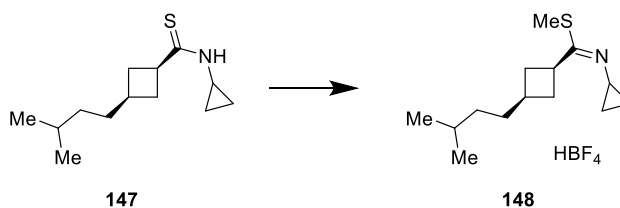
***cis*-*N*-Cyclopropyl-3-isopentylcyclobutane-1-carbothioamide (147)**



化合物 **146** (1.46 mmol) の THF (5 mL) 溶液に、ローソン試薬 (421 mg, 1.04 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 20 : 1 → 10 : 1) で精製し、化合物 **147** (267 mg, 81%) を得た。

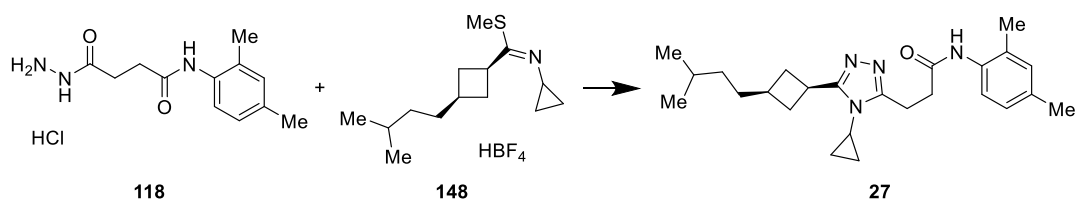
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.63-0.67 (m, 2H), 0.85 (d, *J* = 6.72 Hz, 6H), 0.92-0.97 (m, 2H), 1.04-1.09 (m, 2H), 1.33-1.52 (m, 3H), 1.84-1.92 (m, 2H), 2.05-2.11 (m, 1H), 2.33-2.40 (m, 2H), 3.05-3.14 (m, 1H), 3.19-3.24 (m, 1H), 7.00 (s, 1H).

Methyl *cis*-*N*-cyclopropyl-3-isopentylcyclobutane-1-carbimidothioate tetrafluoroborate (148)



化合物 **147** (87 mg, 0.386 mmol) の 1,4-ジオキササン (0.5 mL) 溶液に、メーヤワイン試薬 (57 mg, 0.386 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。得られた化合物 **148** の 1,4-ジオキササン溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

3-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isopentylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (27)



化合物 **148** (0.386 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.5 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **118** (101 mg, 0.349 mmol) の EtOH (1.0 mL) 溶液と酢酸ナトリウム (71.5 mg, 0.871 mmol) の水 (0.5 mL) 溶液を加え、100 °C で終夜撹拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣にジイソプロピルエーテルを加え、析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **27** (89.5 mg, 49%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 (d, $J = 6.72$ Hz, 6H), 0.89-0.93 (m, 2H), 1.06-1.17 (m, 4H), 1.40-1.54 (m, 3H), 2.02-2.11 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.24-2.32 (m, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.46-2.57 (m, 2H), 2.87-2.93 (m, 1H), 3.04 (t, $J = 6.96$ Hz, 2H), 3.16 (t, $J = 6.48$ Hz, 2H), 3.39-3.48 (m, 1H), 6.94-6.99 (m, 2H), 7.61 (d, $J = 8.56$ Hz, 1H), 8.28 (brs, 1H).

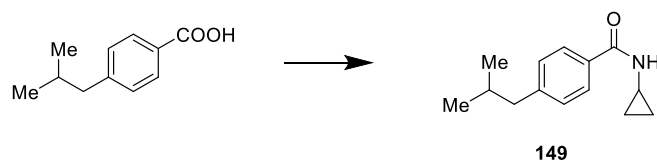
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 6.91 (2C), 18.01, 20.84, 22.08, 22.65 (2C), 24.18, 27.27, 27.91, 32.78, 33.69 (2C), 33.79, 34.46, 36.17, 123.36, 126.94, 130.00, 131.11, 133.38, 134.68, 155.31, 159.49, 170.64.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}$, 409.2962; found, 409.2958.

Purity: 98.8%.

化合物 **28** の合成

N-Cyclopropyl-4-isobutylbenzamide (**149**)

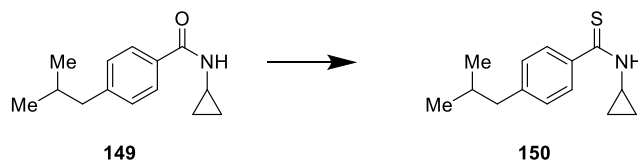


4-Isobutylbenzoic acid (1.00 g, 5.61 mmol) と cyclopropanamine (0.472 mL, 6.73 mmol) の DMF (7.0 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt \cdot H₂O (1.03 g, 6.73 mmol),WSC \cdot HCl (1.29 g, 6.73 mmol) を順に加え、室温で終夜撹拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **149** (1.20 g, 98%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.59-0.63 (m, 2H), 0.84-0.90 (m, 2H), 0.89 (d, $J = 6.92$

Hz, 6H), 1.87 (sep, $J = 6.68$ Hz, 1H), 2.51 (d, $J = 7.16$ Hz, 2H), 2.87-2.93 (m, 1H), 6.18 (s, 1H), 7.18 (d, $J = 8.24$ Hz, 2H), 7.64 (d, $J = 8.24$ Hz, 2H).

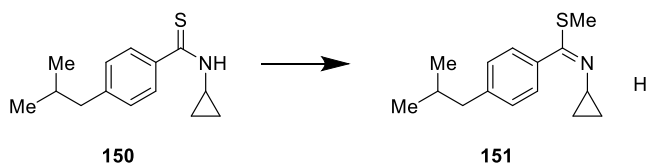
N-Cyclopropyl-4-isobutylbenzothioamide (150)



化合物 **149** (1.20 g, 5.52 mmol) の THF (12 mL) 溶液に、ローソン試薬 (1.16 g, 2.87 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 8 : 1) で精製し、化合物 **150** (1.23 g, 95%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.74-0.78 (m, 2H), 0.89 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 1.01-1.05 (m, 2H), 1.86 (sep, $J = 6.92$ Hz, 1H), 2.49 (d, $J = 7.16$ Hz, 2H), 3.35-3.42 (m, 1H), 7.14 (d, $J = 8.24$ Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 8.48$ Hz, 2H).

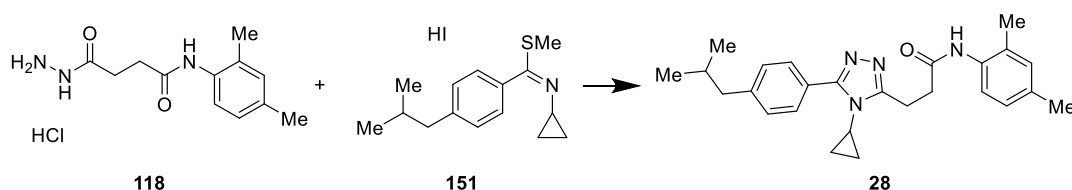
Methyl *N*-cyclopropyl-4-isobutylbenzimidothioate hydroiodide (151)



化合物 **150** (1.23 g, 5.27 mmol) の MeCN (5 mL) 溶液に、iodomethane (1.01 mL, 15.8 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣に、*n*-hexane と EtOAc の混合溶媒 (*n*-hexane : EtOAc = 1 : 1) を加え、析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **151** (1.94 g, 98%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.73-0.77 (m, 2H), 0.87 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 1.00-1.09 (m, 2H), 1.83-1.91 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.54 (d, $J = 7.12$ Hz, 2H), 3.28-3.32 (m, 1H), 7.39 (d, $J = 8.44$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J = 8.00$ Hz, 2H).

3-(4-Cyclopropyl-5-(4-isobutylphenyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)propanamide (28)

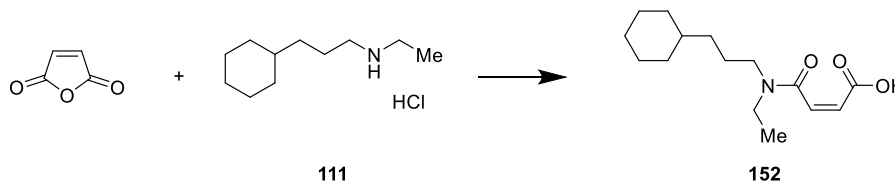


化合物 **118** (90 mg, 0.331 mmol) の EtOH (3.0 mL) 溶液に、化合物 **151** (137 mg, 0.364

mmol), 酢酸ナトリウム (68 mg, 0.828 mmol) の水 (1.5 mL) 溶液を順に加え, 110 °C で 5 時間攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 15 : 1) で精製し, 化合物 **28** (75 mg, 54%) を得た。
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.63-0.68 (m, 2H), 0.92 (d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 1.02-1.09 (m, 2H), 1.86-1.96 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.54 (d, *J* = 7.28 Hz, 2H), 3.10-3.15 (m, 2H), 3.20-3.30 (m, 3H), 6.95-6.99 (m, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.16 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 8.38 Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.82 Hz, 1H), 8.17 (brs, 1H).
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 8.80 (2C), 17.93, 20.80, 22.14, 22.30 (2C), 25.51, 30.12, 33.77, 45.25, 123.25, 124.88, 126.96, 128.52 (2C), 129.16 (2C), 129.86, 131.10, 133.33, 134.67, 143.60, 155.70, 156.24, 170.53.
 HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₃₂N₄O, 417.2649; found, 417.2645.
 Purity: 99.2%.

化合物 **29** の合成

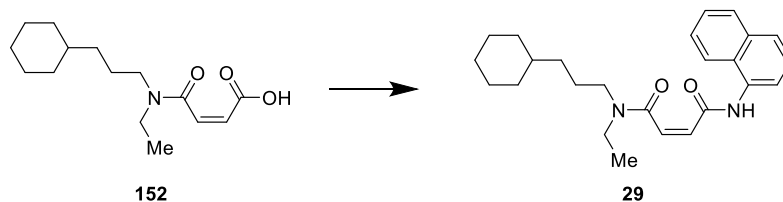
(*Z*)-4-((3-Cyclohexylpropyl) ethyl)amino)-4-oxobut-2-enoic acid (**152**)



化合物 **111** (32.0 mg, 0.155 mmol) と無水マレイン酸 (15.2 mg, 0.155 mmol) の CHCl₃ (1 mL) 溶液に, Et₃N (0.0238 mL, 0.171 mmol) を加え, 室温で 3 時間攪拌した。反応混合液に 1% 塩酸を加え, CHCl₃ で抽出した。得られた有機層を, 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 = 10 : 1) で精製し, 化合物 **152** (30.7 mg, 74%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.87-0.95 (m, 2H), 1.12-1.24 (m, 6H), 1.29 (t, *J* = 7.24 Hz, 3H), 1.58-1.71 (m, 7H), 3.35-3.42 (m, 1H), 3.46-3.52 (m, 1H), 6.41 and 6.42 (each d, *J* = 12.88 Hz, total 1H), 6.58 and 6.60 (each d, *J* = 12.88 Hz, total 1H).

N-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*-ethyl-*N*-(naphthalen-1-yl)maleamide (**29**)



化合物 **152** (29.0 mg, 0.109 mmol) と naphthalen-1-amine (15.5 mg, 0.109 mmol) の DMF (0.5 mL) 溶液に、室温で、HOBt · H₂O (24.9 mg, 0.163 mmol), WSC · HCl (31.3 mg, 0.163 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、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 = 1 : 1) で精製し、化合物 **29** (39.9 mg, 93%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.71-0.85 (m, 2H), 1.02-1.19 (m, 10H), 1.44-1.66 (m, 7H), 3.16-3.30 (m, 3H), 6.44 (d, *J* = 12.08 Hz, 1H), 6.66 (dd, *J* = 12.08, 12.08 Hz, 1H), 7.47-7.52 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.44 Hz, 1H), 7.82 (dd, *J* = 8.84, 8.84 Hz, 1H), 7.93-7.96 (m, 1H), 8.09-8.12 (m, 1H), 10.29 (d, *J* = 7.68 Hz, 1H).

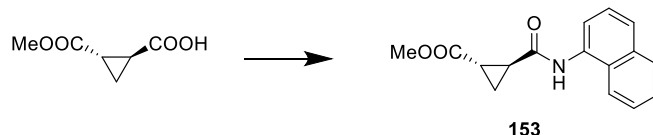
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 12.86, 14.10, 25.08, 26.27, 26.54, 26.56, 33.16, 33.30, 34.37, 34.58, 37.37, 37.42, 40.82, 43.49, 45.92, 48.94, 119.40, 119.62, 121.76, 121.79, 125.22, 125.25, 125.69, 125.71, 125.81, 126.16, 126.73, 126.85, 128.21, 128.46, 133.17, 134.13, 134.15, 134.23, 134.46, 163.50, 163.55, 166.40, 166.45.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₃₂N₂O₂, 393.2537; found, 393.2533.

Purity: 97.2%.

化合物 **30** の合成

Methyl (1*S**, 2*S**)-2-(naphthalen-1-ylcarbamoyl)cyclopropane-1-carboxylate (**153**)

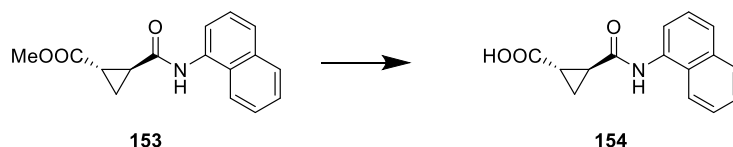


(1*S**, 2*S**)-2-(Methoxycarbonyl)cyclopropane-1-carboxylic acid (1.70 g, 11.8 mmol) と naphthalen-1-amine (1.69 g, 11.8 mmol) の DMF (5 mL) 溶液に、室温で、HOBt · H₂O (2.71 g, 17.7 mmol), WSC · HCl (3.38 g, 17.7 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **153** (2.99 g, 94%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.35-1.44 (m, 2H), 2.04-2.09 (m, 1H), 2.66-2.71 (m, 1H),

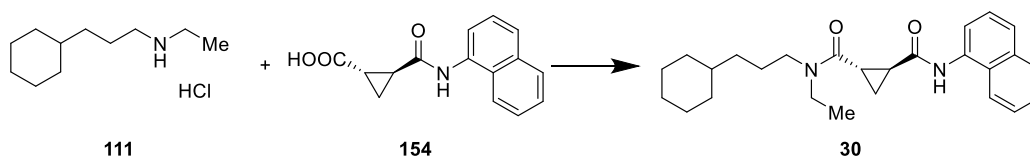
3.69 (s, 3H), 7.40 (t, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.52-7.59 (m, 2H), 7.73-7.77 (m, 2H), 7.94 (dd, $J = 7.36, 2.24$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 7.80$ Hz, 1H), 10.36 (s, 1H).

(1*S, 2*S**)-2-(Naphthalen-1-ylcarbamoyl)cyclopropane-1-carboxylic acid (154)**



化合物 **153** (200 mg, 0.74 mmol) の MeOH (3 mL) 溶液に, 1N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.74 mL, 0.74 mmol) を加え, 80 °C で 2 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し, 1N 塩酸を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去し, 化合物 **154** を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*S, 2*S**)-*N*-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*-ethyl-*N*-(naphthalen-1-yl)cyclopropane-1,2-dicarboxamide (30)**



化合物 **154** (0.74 mmol) と化合物 **111** (151 mg, 0.74 mmol) の DMF (1 mL) 溶液に, 室温で, Et₃N (0.102 mL, 0.74 mmol), HOBt · H₂O (136 mg, 0.89 mmol), WSC · HCl (169 mg, 0.89 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄, 無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 = 50 : 1) で精製し, 化合物 **30** (120 mg, 40%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.72-0.90 (m, 2H), 0.97-1.20 (m, 12H), 1.24-1.35 (m, 2H), 1.41-1.51 (m, 2H), 1.57-1.71 (m, 3H), 2.27-2.32 (m, 1H), 3.21-3.31 (m, 2H), 3.34-3.46 (m, 1H), 3.49-3.57 (m, 1H), 7.45-7.55 (m, 3H), 7.71-7.78 (m, 2H), 7.92-7.94 (m, 1H), 8.08-8.32 (m, 1H), 10.29 (d, $J = 12.96$, 1H).

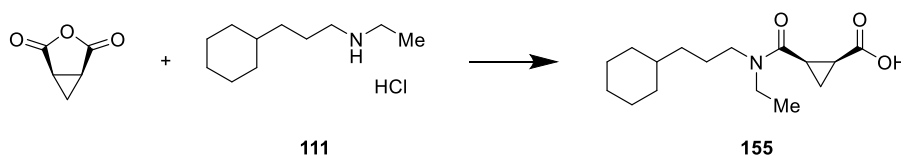
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 13.04, 14.83, 15.62, 20.99, 21.12, 24.49, 24.67, 25.37, 26.27, 26.37, 26.56, 26.65, 27.03, 33.30, 34.51, 34.56, 37.51, 41.65, 42.87, 46.99, 48.28, 120.72, 120.78, 120.88, 125.68, 125.76, 125.99, 126.29, 127.01, 127.12, 128.71, 132.43, 132.45, 134.16, 170.27, 170.34, 170.41.

HRMS m/z : [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₃₄N₂O₂, 407.2693; found, 407.2688.

Purity: 93.2%.

化合物 31 の合成

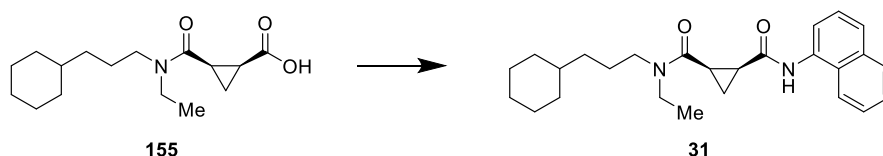
(1*S**, 2*R**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) ethyl) carbamoyl cyclopropane-1-carboxylic acid (155)



(1*R*, 5*S*)-3-Oxabicyclo[3.1.0]hexane-2,4-dione (200 mg, 1.79 mmol) と化合物 **111** (366 mg, 1.79 mmol) の CHCl₃ (2 mL) 溶液に、室温で、Et₃N (0.273 mL, 1.96 mmol) を加え、室温で 4.5 時間攪拌した。反応混合液に、飽和食塩水を加え、CHCl₃ で抽出した。得られた有機層を、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **155** (127 mg, 25%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.85-0.91 (m, 1H), 1.14-1.30 (m, 8H), 1.54-1.76 (m, 8H), 2.10-2.19 (m, 2H), 2.78-2.81 (m, 1H), 3.34-3.55 (m, 6H).

(1*R**, 2*S**)-*N*'-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*'-ethyl-*N*'-(naphthalen-1-yl) cyclopropane-1,2-dicarboxamide (31)



化合物 **155** (127 mg, 0.45 mmol) と naphthalen-1-amine (64 mg, 0.45 mmol) の DMF (2 mL) 溶液に、室温で、HOBt · H₂O (82 mg, 0.54 mmol), WSC · HCl (103 mg, 0.54 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 = 50 : 1) で精製し、化合物 **31** (120 mg, 66%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.55-0.82 (m, 2H), 0.92 (t, *J* = 7.16 Hz, 3H), 0.96-1.18 (m, 5H), 1.27-1.31 (m, 1H), 1.41-1.47 (m, 1H), 1.53-1.63 (m, 6H), 2.16-2.27 (m, 1H), 2.41-2.47 (m, 1H), 2.90-2.96 (m, 1H), 3.10-3.18 (m, 1H), 3.28-3.39 (m, 2H), 3.55-3.62 (m, 1H), 3.74-3.83 (m, 1H), 7.41-7.46 (m, 1H), 7.51-7.55 (m, 2H), 7.67-7.72 (m, 2H), 7.90-7.93 (m, 1H), 8.10-8.14 (m, 1H), 10.01 (d, *J* = 6.68 Hz, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 13.16, 13.66, 13.96, 14.45, 21.73, 21.79, 25.38, 26.30, 26.56, 26.68, 27.03, 27.13, 33.08, 33.12, 33.34, 34.60, 37.39, 37.46, 41.83, 43.05,

47.06, 48.54, 119.99, 120.34, 121.76, 121.85, 125.07, 125.15, 125.62, 125.66, 125.72, 125.75, 125.98, 127.17, 127.40, 128.39, 133.13, 133.17, 134.14, 134.15, 169.48, 169.65, 169.86, 169.96.

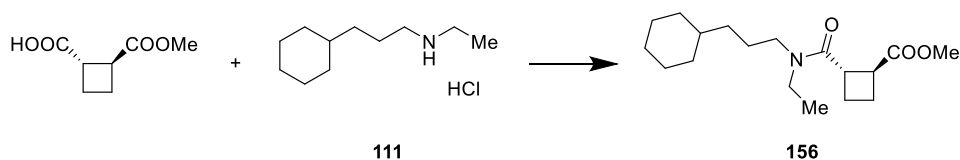
HRMS m/z : $[M+H]^+$ calcd for $C_{26}H_{34}N_2O_2$, 407.2693; found, 407.2690.

Purity: 99.9%.

化合物 32 の合成

Methyl

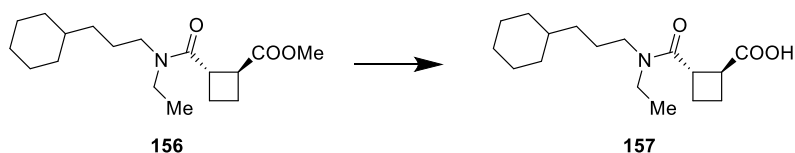
(1*S**, 2*S**)-2-((3-cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclobutane-1-carboxylate (156)



(1*S**, 2*S**)-2-(Methoxycarbonyl)cyclobutane-1-carboxylic acid (310 mg, 1.96 mmol) と化合物 **111** (401 mg, 1.96 mmol) の $CHCl_3$ (2.0 mL) 溶液に、室温で、DIEA (0.866 mL, 4.90 mmol), HATU (193 mg, 1.96 mmol) を加え、終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 (*n*-hexane : EtOAc = 1 : 1) で精製し、化合物 **156** (107 mg, 18%) を得た。

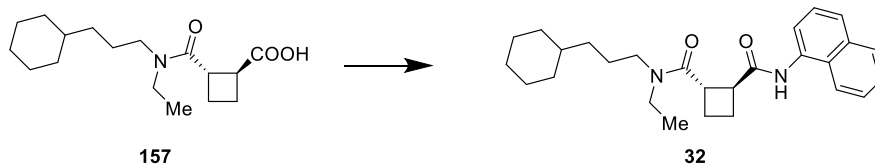
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.80-0.90 (m, 2H), 1.06-1.26 (m, 6H), 1.46-1.54 (m, 2H), 1.60-1.69 (m, 6H), 2.06-2.20 (m, 6H), 3.08-3.43 (m, 6H), 3.65 (s, 3H).

(1*S**, 2*S**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclobutane-1-carboxylic acid (157)



化合物 **156** (107 mg, 0.35 mmol) の MeOH (1 mL) 溶液に、1N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.35 mL, 0.35 mmol) を加え、60 °C で 3 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、1N 塩酸を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **157** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*S**, 2*S**)-*N*-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*-ethyl-*N*-(naphthalen-1-yl) cyclobutane-1, 2-di
carboxamide (32)



化合物 **157** (0.35 mmol) と naphthalen-1-amine (50 mg, 0.35 mmol) の CHCl₃ (2.0 mL) 溶液に、室温で、DIEA (0.096 mL, 0.53 mmol), HATU (133 mg, 0.35 mmol) を加え、終夜攪拌した。反応混合液の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 : EtOAc = 1 : 1) で精製し、化合物 **32** (30 mg, 20%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.83-0.91 (m, 2H), 1.11-1.24 (m, 10H), 1.63-1.72 (m, 6H), 1.97-2.04 (m, 1H), 2.14-2.27 (m, 2H), 2.41-2.49 (m, 1H), 3.09-3.14 (m, 1H), 3.18-3.57 (m, 4H), 3.76-3.84 (m, 1H), 7.43-7.52 (m, 3H), 7.59 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 7.82 (dd, *J* = 7.80, 1.76 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 8.28 (ddd, *J* = 7.68, 4.88, 1.12 Hz, 1H), 9.44 (d, *J* = 3.80 Hz, 1H).

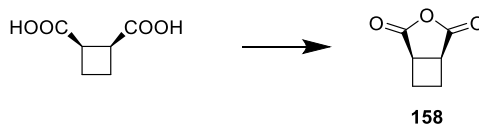
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 12.91, 14.12, 18.89, 18.92, 24.70, 24.99, 26.27, 26.37, 26.55, 26.65, 33.25, 33.34, 33.38, 33.43, 34.61, 34.75, 37.50, 37.59, 40.74, 41.65, 42.76, 42.80, 44.63, 44.70, 45.75, 47.46, 117.80, 120.94, 124.07, 125.67, 125.91, 125.97, 128.55, 133.44, 133.47, 134.05, 172.06, 173.35, 173.39.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₃₆N₂O₂, 421.2850; found, 421.2845.

Purity: 99.7%.

化合物 33 の合成

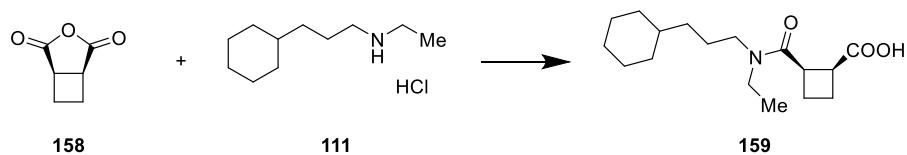
(1*R*, 5*S*)-3-Oxabicyclo[3.2.0]heptane-2,4-dione (158)



(1*R*, 2*S*)-Cyclobutane-1,2-dicarboxylic acid (300 mg, 2.08 mmol) に酢酸クロリド (0.446 mL, 6.25 mmol) を加え、50 °C で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **158** (275 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

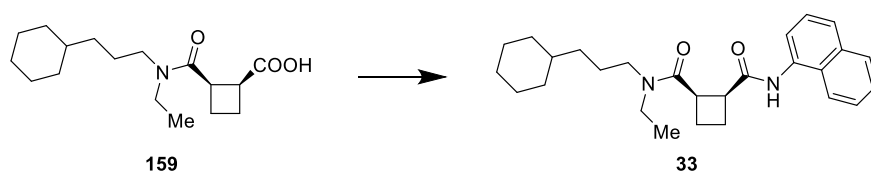
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.18-2.25 (m, 2H), 2.56-2.64 (m, 2H), 3.47-3.55 (m, 2H).

(1*S**, 2*R**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclobutane-1-carboxylic acid (159)



化合物 **158** (31 mg, 0.24 mmol) と化合物 **111** (50 mg, 0.24 mmol) の CHCl_3 (1.0 mL) 溶液に、室温で、 Et_3N (0.033 mL, 0.24 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。得られた化合物 **159** の CHCl_3 溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*R, 2*S**)-*N*-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*-ethyl-*N*-(naphthalen-1-yl)cyclobutane-1, 2-dicarboxamide (**33**)**



化合物 **159** (0.24 mmol) の CHCl_3 (1.0 mL) 溶液に、室温で、HATU (91 mg, 0.24 mmol), naphthalen-1-amine (34 mg, 0.24 mmol), DIEA (0.051 mL, 0.29 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、 EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 (*n*-hexane : EtOAc = 1 : 1) で精製し、化合物 **33** (25 mg, 25%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.51-0.61 (m, 1H), 0.85 (t, J = 7.16 Hz, 3H), 0.89-1.67 (m, 15H), 1.99-2.12 (m, 2H), 2.24-2.32 (m, 1H), 2.40-2.46 (m, 1H), 2.76-3.07 (m, 2H), 3.35-3.38 (m, 1H), 3.49-3.54 (m, 1H), 3.60-3.75 (m, 2H), 7.38-7.53 (m, 3H), 7.67-7.74 (m, 2H), 7.87-7.91 (m, 1H), 8.09 (d, J = 6.28 Hz, 1H), 9.57 (d, J = 10.16 Hz, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 12.95, 14.42, 22.36, 22.68, 24.39, 24.48, 25.14, 26.30, 26.56, 26.68, 33.07, 33.32, 33.34, 34.58, 34.67, 37.32, 37.44, 39.74, 39.77, 41.01, 42.43, 44.77, 44.96, 46.29, 48.01, 119.80, 120.31, 121.22, 121.41, 125.26, 125.42, 125.66, 125.69, 125.85, 125.87, 126.20, 126.23, 126.94, 127.30, 128.49, 128.52, 132.77, 132.84, 134.11, 171.19, 171.43, 172.45, 172.55.

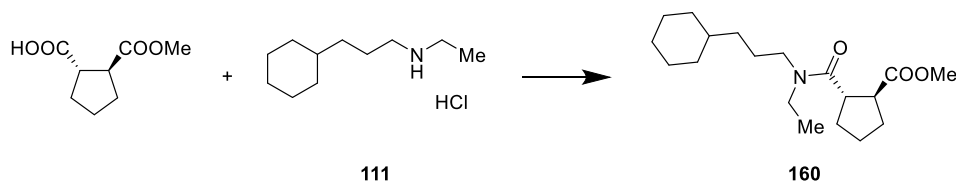
HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$, 421.2850; found, 421.2848.

Purity: 99.5%.

化合物 **34** の合成

Methyl

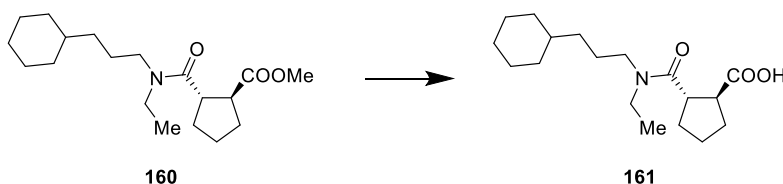
(1*S**, 2*S**)-2-((3-cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclopentane-1-carboxylate
(160)



(1*S**, 2*S**)-2-(Methoxycarbonyl)cyclopentane-1-carboxylic acid (51.7 mg, 0.30 mmol) の DMF (1.0 mL) 溶液に、室温で、HATU (114 mg, 0.30 mmol), DIEA (0.115 mL, 0.66 mmol), 化合物 **111** (61.7 mg, 0.30 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 (*n*-hexane : EtOAc = 12 : 1) で精製し、化合物 **160** (29.0 mg, 30%) を得た。

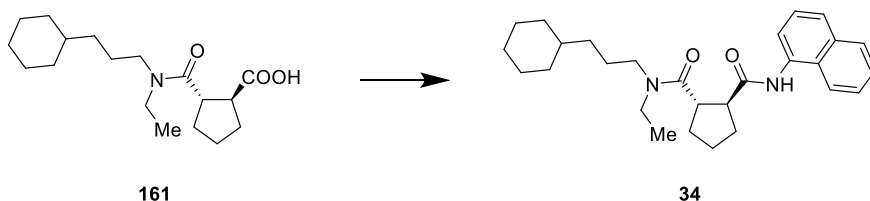
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.80-0.93 (m, 2H), 1.10 (t, *J* = 7.12 Hz, 3H), 1.13-1.28 (m, 6H), 1.48-1.84 (m, 11H), 1.96-2.05 (m, 1H), 2.10-2.16 (m, 1H), 3.14-3.47 (m, 6H), 3.66 (s, 3H).

(1*S**, 2*S**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclopentane-1-carboxylic acid
(161)



化合物 **160** (29.0 mg, 0.0897 mmol) の MeOH (0.60 mL) 溶液に、2N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.134 mL, 0.268 mmol) を加え、65 °C で 3 時間攪拌した。氷冷下で、2N 塩酸 (0.134 mL, 0.268 mmol) を加え、溶媒を減圧下留去し、化合物 **161** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*S**, 2*S**)-*N*'-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*'-ethyl-*N*'-(naphthalen-1-yl) cyclopentane-1, 2-dicarboxamide (34)



化合物 **161** (0.0897 mmol) の CHCl₃ (0.60 mL) 溶液に、室温で、HATU (34.1 mg, 0.0897 mmol),

naphthalen-1-amine (12.8 mg, 0.0897 mmol), DIEA (0.0203 mL, 0.117 mmol) を順に加え、室温で終夜撹拌した。析出した固体をろ過することで取り除き、得られたろ液の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 **34** (29.9 mg, 77%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.63-0.80 (m, 2H), 1.03-1.14 (m, 10H), 1.45-1.61 (m, 6H), 1.72-1.90 (m, 3H), 2.04-2.27 (m, 3H), 3.05-3.66 (m, 6H), 7.42-7.52 (m, 3H), 7.62 (d, $J = 8.44$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 7.56, 1.80$ Hz, 1H), 7.96 (dd, $J = 8.28, 0.88$ Hz, 1H), 8.12 (dd, $J = 7.56, 7.56$ Hz, 1H), 8.68 (d, $J = 7.32$ Hz, 1H).

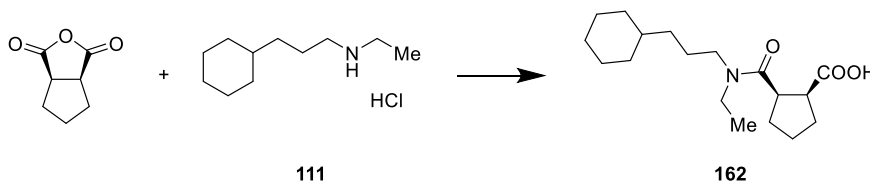
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 13.03, 14.58, 24.08, 24.12, 25.20, 26.23, 26.33, 26.34, 26.47, 26.60, 27.78, 27.84, 31.37, 31.40, 33.12, 33.25, 33.29, 34.39, 34.70, 37.36, 37.47, 40.77, 42.12, 45.87, 47.62, 48.10, 49.41, 49.51, 118.93, 118.95, 120.85, 120.89, 124.58, 124.67, 125.75, 125.79, 126.00, 126.02, 126.25, 126.34, 128.59, 133.03, 134.04, 134.06, 172.88, 172.96, 174.27, 174.29.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_2$, 435.3006; found, 435.3001.

Purity: 100%.

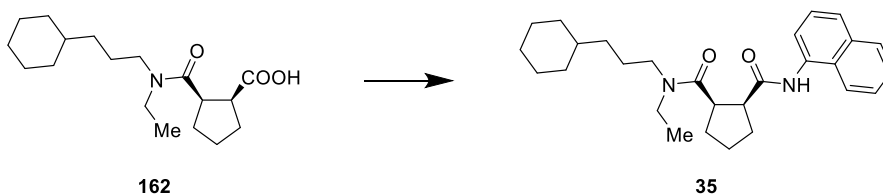
化合物 **35** の合成

(1*S**, 2*R**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclopentane-1-carboxylic acid (**162**)



(3*aR*, 6*aS*)-Tetrahydro-1*H*-cyclopenta[*c*]furan-1,3(3*aH*)-dione (11.2 mg, 0.0800 mmol) と化合物 **111** (16.5 mg, 0.0800 mmol) の CHCl_3 (0.40 mL) 溶液に、氷冷下で、DIEA (0.0153 mL, 0.0880 mmol) を加え、室温で 30 分間撹拌した。得られた化合物 **162** の CHCl_3 溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*R**, 2*S**)-*N*'-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*'-ethyl-*N*'-(naphthalen-1-yl) cyclopentane-1,2-dicarboxamide (**35**)



化合物 **162** (0.0800 mmol) の CHCl_3 (0.40 mL) 溶液に、室温で、HATU (30.4 mg, 0.0800 mmol), naphthalen-1-amine (11.5 mg, 0.0800 mmol), DIEA (0.0153 mL, 0.0880 mmol) を順に加え、室温で終夜撹拌した。析出した固体をろ過することで取り除き、得られたろ液の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 = 2 : 1) で精製し、化合物 **35** (22.6 mg, 65%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.53-0.65 (m, 1H), 0.77-0.89 (m, 1H), 0.93-1.41 (m, 11H), 1.53-1.69 (m, 5H), 1.73-1.83 (m, 1H), 2.01-2.18 (m, 3H), 2.20-2.28 (m, 1H), 2.42-2.54 (m, 1H), 3.04-3.22 (m, 2H), 3.25-3.55 (m, 4H), 7.41-7.56 (m, 3H), 7.64 (dd, J = 8.24, 4.22 Hz, 1H), 7.83 (dd, J = 8.04, 0.68 Hz, 1H), 7.98-8.09 (m, 2H), 8.61 (d, J = 4.68 Hz, 1H).

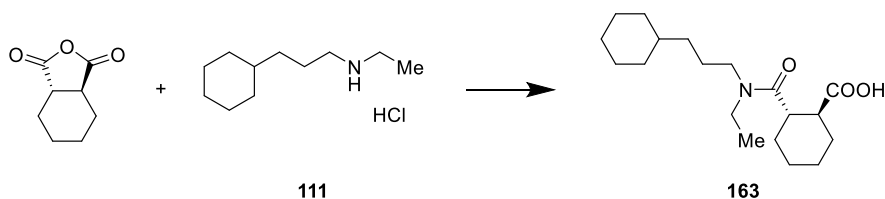
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 12.98, 14.70, 24.64, 24.74, 25.28, 26.30, 26.59, 26.93, 30.59, 30.68, 30.86, 33.11, 33.33, 33.35, 34.62, 34.68, 37.37, 37.43, 41.15, 42.90, 42.96, 43.02, 46.46, 48.53, 52.99, 53.19, 119.73, 120.12, 121.32, 121.47, 125.08, 125.22, 125.70, 125.72, 125.81, 125.83, 126.13, 127.02, 127.26, 128.47, 128.50, 132.99, 133.04, 134.11, 134.13, 172.28, 172.38, 174.95.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_2$, 435.3006; found, 435.3002.

Purity: 97.4%.

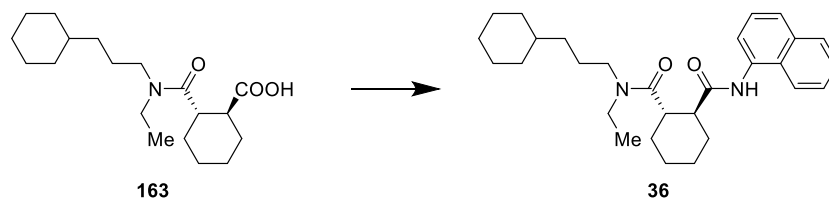
化合物 **36** の合成

(1*S**, 2*S**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclohexane-1-carboxylic acid (**163**)



(3a*S**, 7a*S**)-Hexahydroisobenzofuran-1,3-dione (25.0 mg, 0.163 mmol) と化合物 **111** (33.4 mg, 0.163 mmol) の CHCl_3 (0.50 mL) 溶液に、氷冷下で、DIEA (0.0339 mL, 0.195 mmol) を加え、室温で 3 時間撹拌した。得られた化合物 **163** の CHCl_3 溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*S**, 2*S**)-*N*'-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*'-ethyl-*N*'-(naphthalen-1-yl) cyclohexane-1,2-dicarboxamide (**36**)



化合物 **163** (0.163 mmol) の CHCl_3 (0.50 mL) 溶液に、室温で、HATU (61.7 mg, 0.162 mmol), naphthalen-1-amine (23.2 mg, 0.162 mmol), DIEA (0.0339 mL, 0.195 mmol) を順に加え、室温で終夜撹拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、 CHCl_3 で抽出した。得られた有機層を、希塩酸、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 (*n*-Hexane : EtOAc = 4 : 1) で精製し、化合物 **36** (16.5 mg, 23%) を得た。

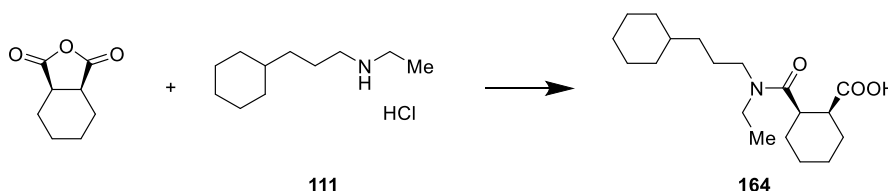
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.58-0.76 (m, 2H), 0.81-1.18 (m, 9H), 1.24-1.64 (m, 10H), 1.74-1.89 (m, 4H), 2.04-2.08 (m, 1H), 2.80-2.89 (m, 1H), 2.98-3.05 (m, 1H), 3.11-3.54 (m, 4H), 7.39-7.52 (m, 3H), 7.62 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 7.82 (dd, J = 7.60, 1.56 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 7.60 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 7.56, 1.80 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H).
 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 12.92, 14.85, 24.92, 25.26, 25.36, 25.37, 26.30, 26.33, 26.56, 26.59, 26.83, 28.00, 28.05, 30.33, 33.13, 33.17, 33.23, 34.39, 34.59, 37.21, 37.36, 41.11, 42.63, 43.85, 43.90, 46.30, 47.48, 47.74, 47.91, 119.52, 119.69, 121.18, 121.26, 124.96, 124.97, 125.68, 125.69, 125.81, 126.03, 126.07, 126.76, 126.82, 128.48, 128.51, 132.83, 132.86, 134.07, 134.09, 173.72, 173.83, 174.90, 174.93.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_2$, 449.3163; found, 449.3160.

Purity: 90.0%.

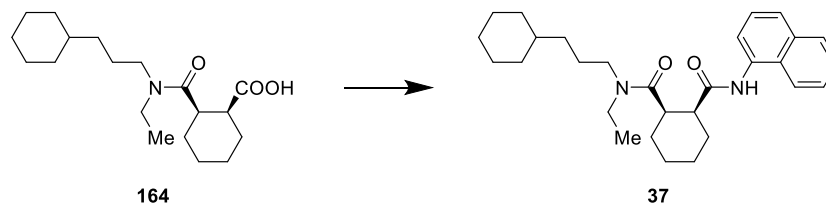
化合物 **37** の合成

(1*S**, 2*R**)-2-((3-Cyclohexylpropyl) (ethyl) carbamoyl) cyclohexane-1-carboxylic acid (**164**)



(3*aR*, 7*aS*)-Hexahydroisobenzofuran-1,3-dione (25.0 mg, 0.162 mmol) と化合物 **111** (33.4 mg, 0.162 mmol) の CHCl_3 (0.50 mL) 溶液に、氷冷下で、DIEA (0.0339 mL, 0.195 mmol) を加え、室温で 3 時間撹拌した。得られた化合物 **164** の CHCl_3 溶液は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*R**, 2*S**)-*N*'-(3-Cyclohexylpropyl)-*N*'-ethyl-*N*'-(naphthalen-1-yl) cyclohexane-1, 2-di
carboxamide (37)



化合物 **164** (0.162 mmol) の CHCl_3 (0.50 mL) 溶液に、室温で、HATU (61.7 mg, 0.162 mmol), naphthalen-1-amine (23.2 mg, 0.162 mmol), DIEA (0.0339 mL, 0.195 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、 CHCl_3 で抽出した。得られた有機層を、希塩酸、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 (*n*-hexane : EtOAc = 4 : 1) で精製し、化合物 **37** (65.0 mg, 89%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.63-0.82 (m, 2H), 0.93-1.19 (m, 9H), 1.37-1.78 (m, 11H), 1.87-2.00 (m, 3H), 2.71-2.76 (m, 1H), 2.80-2.89 (m, 1H), 3.12-3.61 (m, 5H), 7.42-7.49 (m, 2H), 7.52 (dd, $J = 6.88, 6.88$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.24$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 8.00, 1.36$ Hz, 1H), 8.02 (dd, $J = 7.60, 4.68$ Hz, 1H), 8.09 (ddd, $J = 8.72, 8.72, 0.68$ Hz, 1H), 9.17 (d, $J = 65.52$ Hz, 1H).

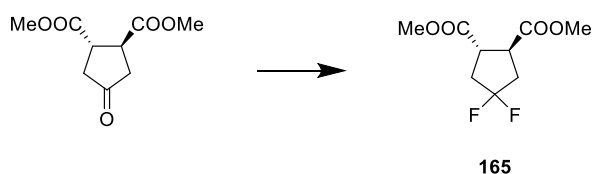
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 13.07, 14.70, 21.71, 21.96, 24.96, 25.07, 25.38, 26.27, 26.31, 26.37, 26.54, 26.60, 26.68, 26.77, 28.92, 29.11, 33.22, 33.26, 34.50, 34.69, 37.34, 37.46, 38.12, 38.33, 40.85, 42.78, 45.97, 48.25, 49.06, 49.10, 119.79, 119.87, 121.48, 121.56, 124.94, 124.99, 125.72, 125.77, 125.78, 126.03, 126.07, 127.16, 127.17, 128.46, 128.48, 133.23, 133.33, 134.13, 134.15, 173.35, 173.48, 174.84, 174.90.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_2$, 449.3163; found, 449.3160.

Purity: 99.2%.

化合物 38 の合成

Dimethyl (1*S**, 2*S**)-4, 4-difluorocyclopentane-1, 2-dicarboxylate (165)

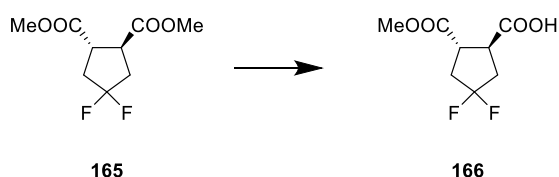


Dimethyl (1*S**, 2*S**)-4-oxocyclopentane-1, 2-dicarboxylate (300 mg, 1.50 mmol) と

bis(2-methoxyethyl)aminosulfur trifluoride (Deoxo-Fluor®) (1.05 mL, 5.99 mmol) を混合し、60 °Cで 3 時間攪拌した。反応混合液にトルエンを加え、その溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液中に注いだ。EtOAc で抽出し、得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。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 (*n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) で精製し、化合物 **165** (225 mg, 68%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.30-2.45 (m, 2H), 2.48-2.60 (m, 2H), 3.33-3.41 (m, 2H), 3.74 (s, 6H).

(1*S, 2*S**)-4, 4-Difluoro-2-(methoxycarbonyl)cyclopentane-1-carboxylic acid (166)**

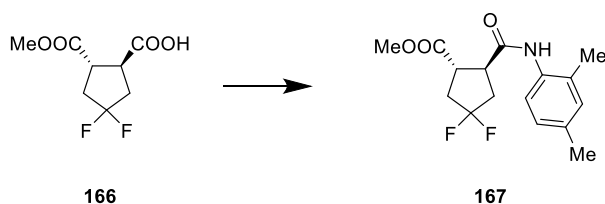


化合物 **165** (225 mg, 1.01 mmol) の THF (1.60 mL), 水 (16 mL) 溶液に、氷冷下で、0.25N 水酸化ナトリウム水溶液 (4.0 mL, 1.01 mmol) を滴下し、室温で終夜攪拌した。氷冷下で、反応混合液に 1N 塩酸 (1.52 mL, 1.52 mmol) を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃ : MeOH = 20 : 1) で精製し、化合物 **166** (154 mg, 73%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.35-2.61 (m, 4H), 3.33-3.47 (m, 2H), 3.76 (s, 3H).

Methyl

(1*S, 2*S**)-2-((2, 4-dimethylphenyl) carbamoyl)-4, 4-difluorocyclopentane-1-carboxylate (167)**

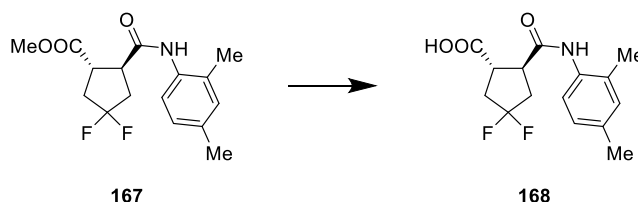


化合物 **166** (145 mg, 0.697 mmol) と 2,4-dimethylaniline (0.0947 mL, 0.766 mmol) の DMF (3.0 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT · H₂O (128 mg, 0.836 mmol), WSC · HCl (160 mg, 0.836 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、氷冷下で飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **167** (192 mg, 88%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.21 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.32-2.49 (m, 2H), 2.55-2.79

(m, 2H), 3.26-3.35 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 6.99-7.00 (m, 2H), 7.67 (d, $J = 8.92$ Hz, 1H), 7.84 (s, 1H).

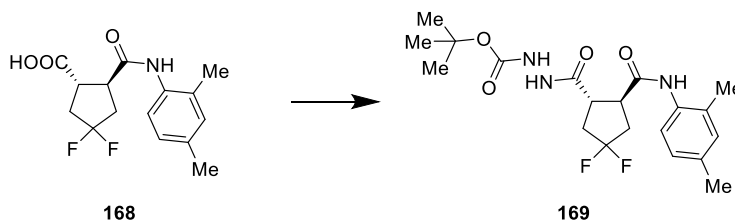
(1*S, 2*S**)-2-((2,4-Dimethylphenyl) carbamoyl)-4,4-difluorocyclopentane-1-carboxylic acid (168)**



化合物 **167** (190 mg, 0.610 mmol) の MeOH (2.0 mL), THF (1.0 mL) 溶液に、氷冷下で、2N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.458 mL, 0.916 mmol) を滴下し、室温で 7 時間攪拌した。氷冷下で、反応混合液に 2N 塩酸 (0.620 mL, 1.22 mmol) を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **168** (176 mg, 97%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

tert-Butyl

2-((1*S, 2*S**)-2-((2,4-dimethylphenyl) carbamoyl)-4,4-difluorocyclopentane-1-carboxyl)hydrazine-1-carboxylate (169)**

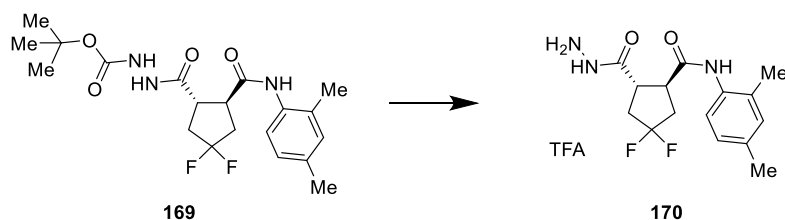


化合物 **168** (140 mg, 0.471 mmol) と *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (62.2 mg, 0.471 mmol) の DMF (1.5 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt · H₂O (72.2 mg, 0.471 mmol), WSC · HCl (90.3 mg, 0.471 mmol) を順に加え、室温で 5.5 時間攪拌した。反応混合液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc と THF の混合溶媒で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **169** (141 mg, 73%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.68 (s, 9H), 2.24 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.30-2.85 (m, 4H), 3.06-3.16 (m, 1H), 3.36-3.47 (m, 1H), 6.95-6.98 (m, 2H), 7.30-7.45 (m, 2H), 7.68-7.70 (m, 1H), 8.26-8.29 (m, 1H).

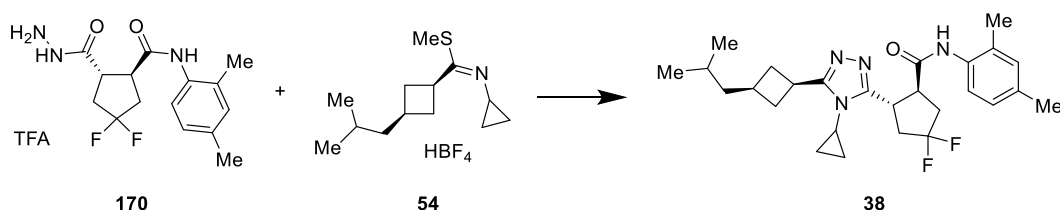
(1*S, 2*S**)-*N*-((2,4-Dimethylphenyl)-4,4-difluoro-2-(hydrazinecarbonyl)cyclopentane-**

1-carboxamide 2,2,2-trifluoroacetate (170)



化合物 **169** (140 mg, 0.340 mmol) の CHCl_3 (1.4 mL) 溶液に、氷冷下で、TFA (0.28 mL, 3.77 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **170** (160 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

(1*S*, 2*S*)-2-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1, 2, 4-triazol-3-yl)-*N*-(2, 4-dimethylphenyl)-4, 4-difluorocyclopentane-1-carboxamide (**38**)



化合物 **54** (0.165 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.10 mL) 溶液に、EtOH (1.4 mL), 化合物 **170** (70 mg, 0.165 mmol), 酢酸ナトリウム (20.3 mg, 0.248 mmol) の水 (0.70 mL) 溶液を順に加え、90 °C で終夜攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 = 30 : 1) で精製し、化合物 **38** を含むラセミ体 (29.4 mg, 38%) を得た。得られたラセミ体を、キラル分取 HPLC (Column: DAICEL CHIRALPAK OD (20 × 250 mm, 10 μm); Mobile phase: EtOH; Flow rate: 7.0 mL/min; Detection wavelength: 220nm) で 2 種の光学異性体に分離し、化合物 **38** (高極性化合物) (14.7 mg, 19%) と、その光学異性体 *ent*-**38** (低極性化合物) (10.1 mg, 13%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 (d, J = 6.62 Hz, 6H), 1.11 (s, 1H), 1.30-1.38 (m, 5H), 1.51-1.54 (m, 1H), 2.17 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.27-2.35 (m, 2H), 2.44-2.58 (m, 4H), 2.76-2.89 (m, 3H), 3.33 (s, 1H), 3.63 (t, J = 8.05 Hz, 1H), 4.15-4.24 (m, 2H), 6.91-6.93 (m, 2H), 7.36 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 9.09 (s, 1H).

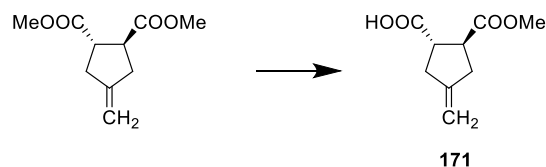
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 6.85, 7.53, 18.16, 20.83, 22.68 (2C), 25.44, 26.42, 27.27, 31.08, 34.15, 34.31, 36.62, 39.16 (t, J = 27.50 Hz), 41.77 (t, J = 26.55 Hz), 45.82, 46.74, 123.30, 126.91, 129.30 (t, J = 248.48 Hz), 130.30, 131.25, 132.92, 135.12, 155.95, 160.00, 169.35.

HRMS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}$, 471.2930; found, 471.2927.

Purity: 99.1%.

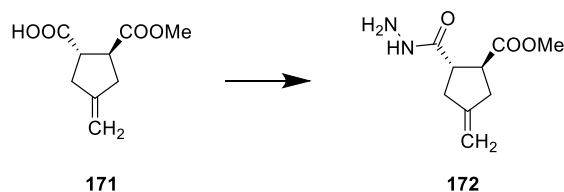
化合物 39 の合成

(1*S**, 2*S**)-2-(Methoxycarbonyl)-4-methylenecyclopentane-1-carboxylic acid (171)



Dimethyl (1*S**, 2*S**)-4-methylenecyclopentane-1,2-dicarboxylate (1.73 g, 8.71 mmol) の MeOH (15 mL) 溶液に、氷冷下で、1*N* 水酸化ナトリウム水溶液 (8.71 mL, 8.71 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を水に溶解し、EtOAc で洗浄した。得られた水層に、1*N* 塩酸 (8.71 mL, 8.71 mmol) を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **171** (1.40 g, 87%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.52-2.65 (m, 2H), 2.75-2.86 (m, 2H), 3.16-3.27 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 4.92-4.95 (m, 2H).

Methyl (1*S**, 2*S**)-2-(hydrazinecarbonyl)-4-methylenecyclopentane-1-carboxylate (172)

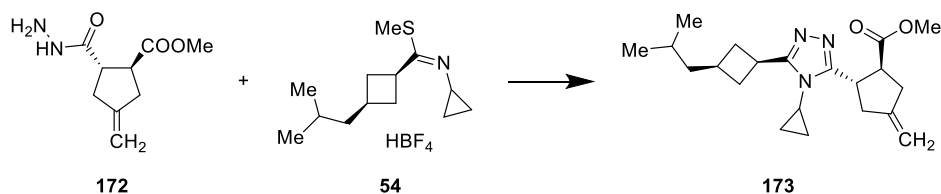


化合物 **171** (1.40 g, 7.57 mmol) の MeCN (14 mL) 溶液に、室温で、HOBt · H₂O (1.39 g, 9.08 mmol), WSC · HCl (1.74 g, 9.08 mmol) を順に加え、室温で 2 時間攪拌した。この反応混合液を、氷冷下で、ヒドラジン-水和物 (0.734 mL, 15.1 mmol) とシクロヘキセン (0.10 mL, 0.987 mmol) の MeCN (5.0 mL) 溶液に加えた。室温で 4 時間攪拌した後、反応混合液に水を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 99 : 1) で精製し、化合物 **172** (622 mg, 41%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.45-2.54 (m, 1H), 2.58-2.64 (m, 1H), 2.69-2.77 (m, 1H), 2.81-2.94 (m, 2H), 3.11-3.18 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.91 (s, 2H), 4.89-4.92 (m, 2H), 7.12 (s, 1H).

Methyl

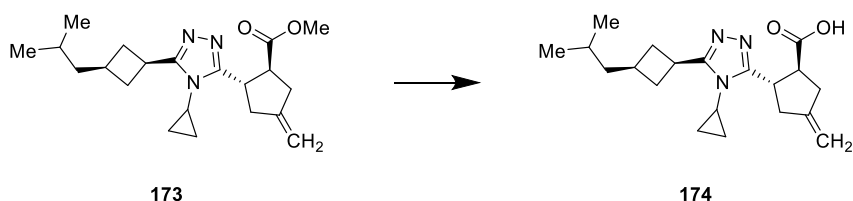
(1*S**, 2*S**)-2-(4-cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-4-methylenecyclopentane-1-carboxylate (173)



化合物 **54** (0.85 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.50 mL) 溶液に, EtOH (7.0 mL), 化合物 **172** (168 mg, 0.85 mmol), 酢酸ナトリウム (100 mg, 1.2 mmol) の水 (3.5 mL) 溶液を順に加え, 90 °C で終夜撹拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 49 : 1 \rightarrow 24 : 1) で精製し, 化合物 **173** (289 mg, 95%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.83-0.89 (m, 2H), 0.86 (d, J = 6.72 Hz, 6H), 1.01-1.07 (m, 1H), 1.11-1.17 (m, 2H), 1.23-1.30 (m, 1H), 1.50-1.58 (m, 1H), 2.08-2.16 (m, 2H), 2.46-2.67 (m, 4H), 2.81-2.87 (m, 1H), 2.89-2.99 (m, 2H), 3.39-3.48 (m, 1H), 3.61-3.82 (m, 3H), 3.63 (s, 3H), 4.92-4.98 (m, 2H).

(1*S**, 2*S**)-2-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-4-methylenecyclopentane-1-carboxylic acid (174)

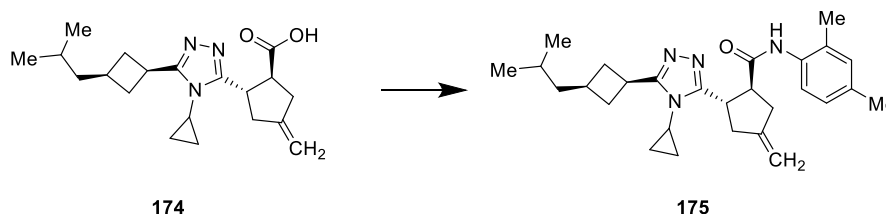


化合物 **173** (222 mg, 0.622 mmol) の MeOH (5 mL) 溶液に, 室温で, 1N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.653 mL, 0.653 mmol) を加え, 50 °C で 1.5 時間撹拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し, 得られた残渣を水に溶解し, EtOAc で洗浄した。得られた水層に, 1N 塩酸 (0.933 mL, 0.933 mmol) を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 無水硫酸マグネシウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去し, 化合物 **174** (197 mg, 92%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.87 (d, J = 6.84 Hz, 6H), 0.89-1.03 (m, 2H), 1.15-1.23 (m, 1H), 1.36 (t, J = 7.24 Hz, 3H), 1.52-1.57 (m, 1H), 2.08-2.14 (m, 2H), 2.41-2.55

(m, 4H), 2.80-2.88 (m, 1H), 2.95-3.00 (m, 2H), 3.12-3.20 (m, 1H), 3.43-3.50 (m, 2H), 3.56-3.60 (m, 1H), 4.94 (brs, 1H), 5.01 (brs, 1H).

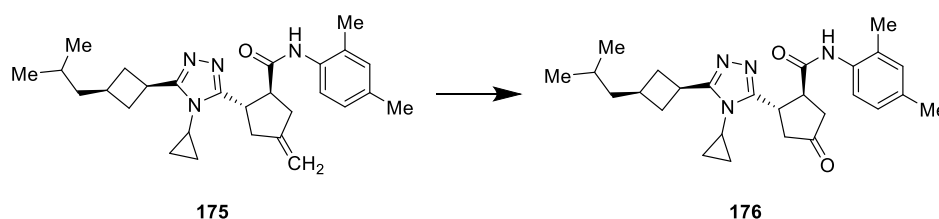
(1*S**, 2*S**)-2-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-4-methylenecyclopentane-1-carboxamide (175)



化合物 **174** (197 mg, 0.574 mmol) と 2,4-dimethylaniline (0.085 mL, 0.689 mmol) の CHCl_3 (2.0 mL) 溶液に、室温で, DIEA (0.12 mL, 0.689 mmol), HATU (262 mg, 0.689 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の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 (CHCl_3 : MeOH = 99 : 1 \rightarrow 24 : 1) で精製し、化合物 **175** (245 mg, 95%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 (d, J = 6.68 Hz, 6H), 0.88-0.95 (m, 2H), 1.10-1.16 (m, 2H), 1.35 (t, J = 7.12 Hz, 2H), 1.50-1.60 (m, 1H), 2.01-2.08 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.34-2.53 (m, 4H), 2.73-2.88 (m, 2H), 2.97-3.12 (m, 2H), 3.38-3.57 (m, 2H), 3.76-3.84 (m, 1H), 4.92 (brs, 1H), 5.00 (brs, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.94 (d, J = 8.44 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 8.39 (s, 1H).

(1*S**, 2*S**)-2-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-4-oxocyclopentane-1-carboxamide (176)

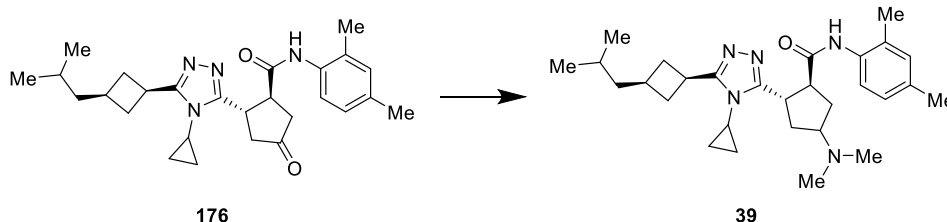


化合物 **175** (125 mg, 0.28 mmol) の MeOH (2.5 mL), CHCl_3 (2.5 mL) 溶液に、 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ で、オゾンガスを 10 分間吹き込んだ。 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ で Me_2S (0.2 mL, 2.7 mmol) を加えた後、室温までゆっくり昇温した。室温で Me_2S (0.2 mL, 2.7 mmol) を加えた後、水を加え CHCl_3 で抽出した。得られた有機層を、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl_3 : MeOH = 10 : 1) で精製し、化合物 **176** (67 mg, 53%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.87 (d, J = 6.88 Hz, 6H), 0.89-1.01 (m, 2H), 1.09-1.19 (m, 2H), 1.36 (t, J = 7.24 Hz, 2H), 1.52-1.59 (m, 1H), 2.01-2.09 (m, 2H), 2.11 (s,

3H), 2.25 (s, 3H), 2.29-2.55 (m, 4H), 2.69-2.76 (m, 1H), 2.82-2.87 (m, 1H), 2.91-3.00 (m, 1H), 3.09-3.16 (m, 1H), 3.40-3.47 (m, 1H), 3.71-3.79 (m, 1H), 4.08-4.16 (m, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.96 (d, $J = 8.04$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 8.04$ Hz, 1H), 8.54 (s, 1H).

(1*S**, 2*S**)-2-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-4-(dimethylamino)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)cyclopentane-1-carboxamide (39)



化合物 **176** (23 mg, 0.050 mmol) の MeOH (1.5 mL) 溶液に、室温でジメチルアミンの 2M THF 溶液 (0.25 mL, 0.50 mmol) を加えた。更に、10% パラジウム炭素 (22 mg) を加え、水素雰囲気下で室温で 2 時間攪拌した。パラジウム炭素をろ過することで取り除き、得られたろ液の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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **39** (14 mg, 60%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.86 (d, $J = 6.84$ Hz, 6H), 0.88-0.94 (m, 2H), 1.04-1.18 (m, 2H), 1.32-1.39 (m, 2H), 1.50-1.61 (m, 1H), 1.95-2.09 (m, 4H), 2.11 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.29 (s, 6H), 2.30-2.34 (m, 3H), 2.35-2.57 (m, 2H), 2.75-2.93 (m, 2H), 3.34-3.49 (m, 1H), 3.56-3.74 (m, 2H), 6.88-6.98 (m, 2H), 7.75 (d, $J = 8.04$ Hz, 1H), 8.59 (brs, 1H).

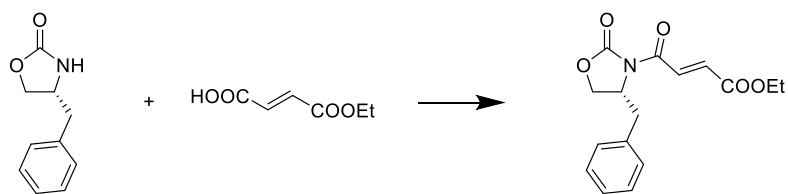
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 6.61, 7.30, 17.91, 20.73, 22.68 (2C), 24.46, 26.45, 27.56, 30.89, 33.99, 34.19, 34.29, 36.25, 38.73, 43.78 (2C), 46.06, 48.81, 65.57, 122.31, 126.88, 128.69, 130.96, 133.65, 134.01, 158.26, 159.93, 171.57.

HRMS m/z : [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₄₃N₅O, 478.3540; found, 478.3532.

Purity: 74.7%.

化合物 **40** の合成

Ethyl (*R*, *E*)-4-(4-benzyl-2-oxooxazolidin-3-yl)-4-oxobut-2-enoate (177)



177

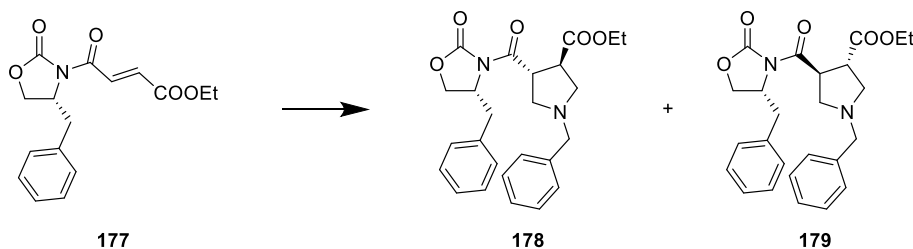
(*E*)-4-Ethoxy-4-oxobut-2-enoic acid (10 g, 69.4 mmol) と (*R*)-4-benzylloxazolidin-2-one (13.5 g, 76.2 mmol) の CHCl₃ (200 mL) 溶液に、室温で、2-chloro-1-methylpyridinium iodide (21.4 g, 83.3 mmol), Et₃N (23.2 mL, 152 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) で精製し、化合物 177 (17.6 g, 84%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.34 (t, *J* = 7.12 Hz, 3H), 2.83 (dd, *J* = 13.60, 9.60 Hz, 1H), 3.35 (dd, *J* = 13.60, 3.32 Hz, 1H), 4.21-4.29 (m, 2H), 4.29 (q, *J* = 7.12 Hz, 2H), 4.72-4.78 (m, 1H), 6.99 (d, *J* = 15.60 Hz, 1H), 7.20-7.23 (m, 2H), 7.27-7.37 (m, 3H), 8.15 (d, *J* = 15.80 Hz, 1H).

Ethyl

(3*R*, 4*R*)-1-benzyl-4-((*R*)-4-benzyl-2-oxoxazolidine-3-carbonyl)pyrrolidine-3-carboxylate (178) and ethyl

(3*S*, 4*S*)-1-benzyl-4-((*R*)-4-benzyl-2-oxoxazolidine-3-carbonyl)pyrrolidine-3-carboxylate (179)



177

178

179

化合物 177 (17.6 g, 58.0 mmol) の CHCl₃ (180 mL) 溶液に、氷冷下で、*N*-benzyl-*N*-methoxymethyl-*N*-(trimethylsilyl)methylamine (17.1 mL, 66.7 mmol), TFA (0.89 mL, 11.6 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、CHCl₃ で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。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 178 (高極性化合物) (8.36 g, 33%) と化合物 179 (低極性化合物) (10.9 g, 43%) を得た。

化合物 178;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.27 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 2.74-2.78 (m, 2H), 2.82 (dd, $J = 13.44, 9.48$ Hz, 1H), 3.04 (dd, $J = 9.28, 9.28$ Hz, 1H), 3.11 (dd, $J = 8.80, 8.80$ Hz, 1H), 3.30 (dd, $J = 13.40, 3.00$ Hz, 1H), 3.63 (dd, $J = 13.20, 13.20$ Hz, 2H), 3.81 (dd, $J = 7.40, 7.40$ Hz, 1H), 4.11-4.22 (m, 4H), 4.43-4.48 (m, 1H), 4.67-4.71 (m, 1H), 7.22-7.37 (m, 10H).

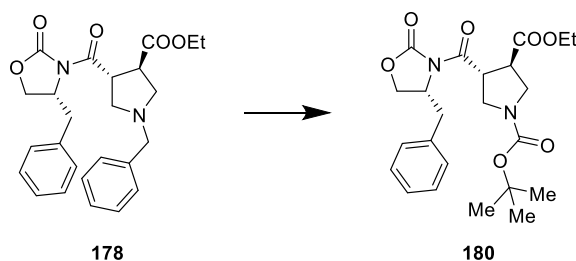
化合物 **179**;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.24 (t, $J = 7.12$ Hz, 3H), 2.70-2.82 (m, 3H), 3.05 (dd, $J = 9.60, 9.60$ Hz, 1H), 3.14 (dd, $J = 8.92, 8.92$ Hz, 1H), 3.22 (dd, $J = 13.60, 3.36$ Hz, 1H), 3.59 (d, $J = 13.16$ Hz, 1H), 3.69 (d, $J = 13.12$ Hz, 1H), 3.79-3.85 (m, 1H), 4.14 (q, $J = 7.36$ Hz, 2H), 4.16-4.19 (m, 1H), 4.24 (dd, $J = 9.16, 9.16$ Hz, 1H), 4.31-4.36 (m, 1H), 4.68-4.74 (m, 1H), 7.16-7.18 (m, 2H), 7.22-7.35 (m, 8H).

1-(*tert*-Butyl)

3-ethyl

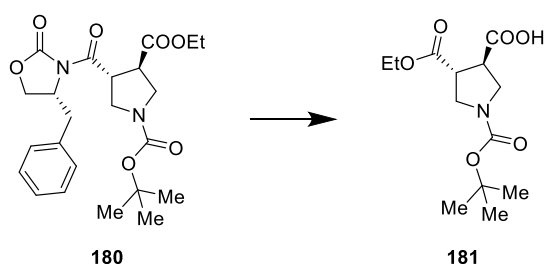
(3*R*, 4*R*)-4-((*R*)-4-benzyl-2-oxooxazolidine-3-carbonyl)pyrrolidine-1,3-dicarboxylate (**180**)



化合物 **178** (8.36 g, 19.0 mmol) の EtOH (90 mL) 溶液に、室温で、水酸化パラジウム (1.26 g) と di-*tert*-butyl dicarbonate (4.98 g, 22.8 mmol) を加え、水素雰囲気下で室温で終夜撹拌した。水酸化パラジウムをろ過することで取り除き、得られたろ液の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 = 5 : 1 \rightarrow 3 : 2) で精製し、化合物 **180** (8.41 g, 99%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.24 (t, $J = 7.12$ Hz, 3H), 1.53 (s, 9H), 2.74-2.82 (m, 1H), 3.32-3.35 (m, 2H), 3.55-3.76 (m, 2H), 3.87-3.91 (m, 2H), 4.17-4.27 (m, 4H), 4.53 (dd, $J = 7.60, 7.60$ Hz, 1H), 4.65-4.73 (m, 1H), 7.22-7.37 (m, 5H).

(3*R*, 4*R*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-(ethoxycarbonyl)pyrrolidine-3-carboxylic acid (**181**)



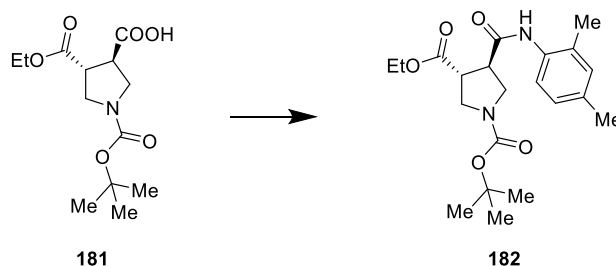
化合物 **180** (8.4 g, 18.8 mmol) の MeCN (60 mL), 水 (25 mL) 溶液に, 室温で, DMAP (0.23 g, 1.88 mmol), Et₃N (10.5 mL, 75.3 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 0.5N 塩酸, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 2 : 1 → 1 : 1) で精製し, 化合物 **181** (3.76 g, 33%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.28 (t, *J* = 7.12 Hz, 3H), 1.46 (s, 9H), 3.41-3.61 (m, 4H), 3.72-3.85 (m, 2H), 4.17-4.23 (m, 2H).

1-(*tert*-Butyl)

3-ethyl

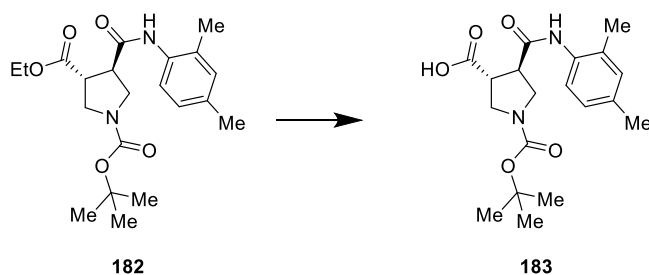
(3*R*, 4*R*)-4-((2, 4-dimethylphenyl) carbamoyl)pyrrolidine-1, 3-dicarboxylate (**182**)



化合物 **181** (3.28 g, 11.4 mmol) と 2,4-dimethylaniline (1.56 mL, 12.6 mmol) の DMF (35 mL) 溶液に, 氷冷下で, HOBT · H₂O (2.10 g, 13.7 mmol), WSC · HCl (2.62 g, 13.7 mmol) を順に加え, 室温で終夜攪拌した。反応混合液に, 氷冷下で飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。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 **182** (4.65 g, quant) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.29 (t, *J* = 7.40 Hz, 3H), 1.48 (s, 9H), 2.23 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 3.38-3.46 (m, 3H), 3.78-4.00 (m, 3H), 4.21-4.24 (m, 2H), 7.00-7.02 (m, 2H), 7.69-7.72 (m, 1H), 7.88 (s, 1H).

(3*R*, 4*R*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-((2, 4-dimethylphenyl) carbamoyl)pyrrolidine-3-carboxylic acid (**183**)

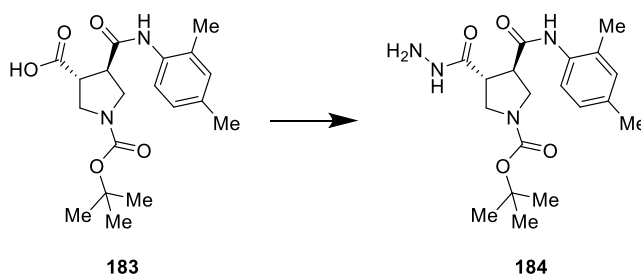


化合物 **182** (4.65 g, 11.4 mmol) の EtOH (51 mL) 溶液に、氷冷下で、2N 水酸化ナトリウム水溶液 (11.4 mL, 22.8 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を水に溶解し、ジエチルエーテルで洗浄した。得られた水層に、1N 塩酸を加え酸性 (pH 3) にした後、EtOAc と THF の混合溶媒で抽出した。得られた有機層を、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **183** を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.41 (s, 9H), 2.13 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.30-3.45 (m, 3H), 3.57-3.69 (m, 3H), 6.96 (d, J = 7.80 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.20 (d, J = 8.04 Hz, 1H), 9.46 (s, 1H), 12.70 (brs, 1H).

tert-Butyl

(3*R*, 4*R*)-3-((2, 4-dimethylphenyl) carbamoyl)-4-(hydrazinecarbonyl)pyrrolidine-1-carboxylate (**184**)

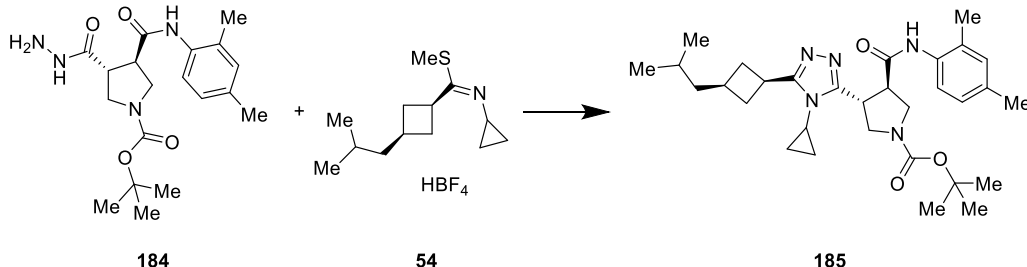


化合物 **183** (11.4 mmol) の MeCN (70 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT · H₂O (2.10 g, 13.7 mmol),WSC · HCl (2.62 g, 13.7 mmol), ヒドラジンー水和物 (1.11 mL, 22.8 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、氷冷下で飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃ : MeOH = 40 : 1) で精製し、化合物 **184** (3.48 g, 81%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.40 (s, 9H), 2.11 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.11-3.25 (m, 2H), 3.33-3.37 (m, 1H), 3.39-3.47 (m, 1H), 3.59 (dd, J = 9.70, 7.56 Hz, 1H), 3.70 (dd, J = 9.12, 9.12 Hz, 1H), 4.27 (s, 2H), 6.95 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.21 (d, J = 8.24 Hz, 1H), 9.22 (brs, 1H), 9.37 (s, 1H).

tert-Butyl

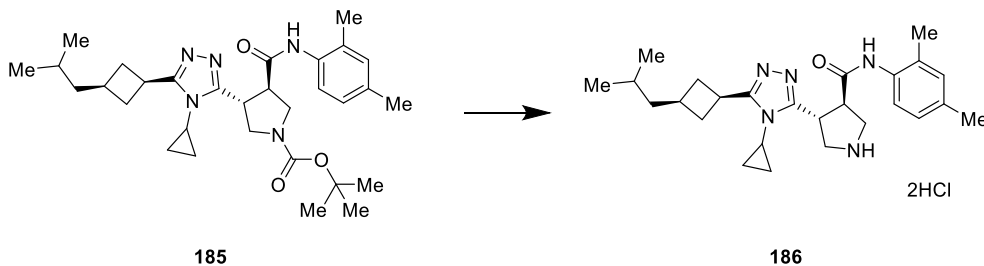
(3*R*, 4*R*)-3-(4-cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-4-(2,4-dimethylphenyl)carbamoylpyrrolidine-1-carboxylate (185)



化合物 54 (2.66 mmol) の 1,4-ジオキササン (1.5 mL) 溶液に, EtOH (5.0 mL), 化合物 184 (1.00 g, 2.66 mmol), 酢酸ナトリウム (436 mg, 5.32 mmol) の水 (2.5 mL) 溶液を順に加え, 100 °C で終夜撹拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去した後, 得られた残渣に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。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 = 35 : 1) で精製し, 化合物 185 (877 mg, 62%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.87 (d, *J* = 17.84 Hz, 6H), 0.89-0.97 (m, 2H), 1.18-1.20 (m, 2H), 1.36 (dd, *J* = 6.96, 6.96 Hz, 2H), 1.49 (s, 9H), 1.52-1.59 (m, 1H), 2.02-2.11 (m, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.38-2.46 (m, 1H), 2.49-2.55 (m, 2H), 2.85-2.92 (m, 1H), 3.26-3.31 (m, 1H), 3.39-3.49 (m, 1H), 3.69-4.23 (m, 5H), 6.94-6.97 (m, 2H), 7.72 (d, *J* = 8.12 Hz, 1H), 8.74 (s, 1H).

(3*R*, 4*R*)-4-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)pyrrolidine-3-carboxamide dihydrochloride (186)

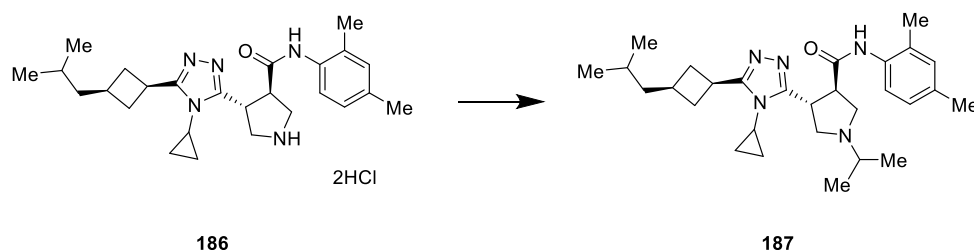


化合物 185 (875 mg, 1.63 mmol) の 1,4-ジオキササン (2.0 mL) 溶液に, 4*N* 塩酸 (1,4-ジオキササン溶液) (6.0 mL, 24 mmol) を加え, 室温で 5.5 時間撹拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し, 化合物 186 (757 mg, 91%) を得た。本化合物は, 精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 0.85 (d, *J* = 6.72 Hz, 6H), 0.98-1.17 (m, 4H), 1.29-1.32 (m, 2H), 1.49-1.55 (m, 1H), 1.97-2.03 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.40-2.50

(m, 3H), 3.15-3.22 (m, 1H), 3.43-4.20 (m, 7H), 6.96 (d, $J = 7.84$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 7.88$ Hz, 1H), 9.49 (brs, 1H), 9.79 (brs, 3H).

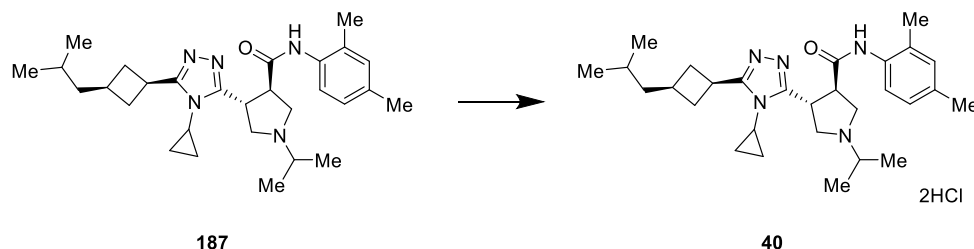
(3*R*, 4*R*)-4-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-1-isopropylpyrrolidine-3-carboxamide (187)



化合物 **186** (60 mg, 0.118 mmol) の MeOH (1.0 mL) 溶液に、室温で、Et₃N (0.033 mL, 0.237 mmol), 10% パラジウム炭素 (67 mg) とアセトン (0.176 mL, 2.4 mmol) を加え、水素雰囲気下で室温で終夜攪拌した。パラジウム炭素をろ過することで取り除き、得られたろ液の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 = 10 : 1) で精製し、化合物 **187** (52 mg, 92%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.77-0.84 (m, 1H), 0.86 (d, $J = 6.68$ Hz, 6H), 0.94-1.05 (m, 1H), 1.11-1.14 (m, 2H), 1.18 (d, $J = 6.44$ Hz, 6H), 1.23-1.45 (m, 2H), 1.50-1.60 (m, 1H), 2.07-2.17 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.34-2.54 (m, 3H), 2.65-2.71 (m, 1H), 2.81-2.86 (m, 1H), 2.93-3.04 (m, 2H), 3.40-3.52 (m, 4H), 3.70-3.81 (m, 1H), 6.97 (s, 3H), 6.84 (d, $J = 8.48$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.24$ Hz, 1H), 9.26 (s, 1H).

(3*R*, 4*R*)-4-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-1-isopropylpyrrolidine-3-carboxamide dihydrochloride (40)



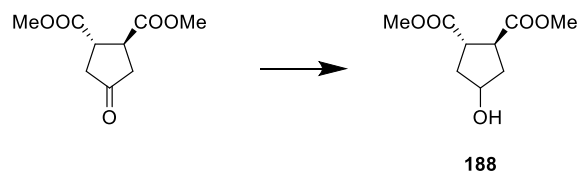
化合物 **187** (41.8 mg, 0.088 mmol) のジエチルエーテル (1.0 mL) 溶液に、室温で、4*N* 塩酸 (EtOAc 溶液) (0.066 mL, 0.26 mmol) を加え、室温で 20 分間攪拌した。析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **40** (39.7 mg, 82%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.78-0.89 (m, 12H), 1.16-1.30 (m, 1H), 1.46-1.57 (m, 3H), 2.11-2.23 (m, 4H), 2.23-2.29 (m, 3H), 2.37-2.63 (m, 4H), 3.29-3.43 (m, 1H), 3.52-3.75 (m, 4H), 4.13-4.31 (m, 2H), 4.47-4.60 (m, 4H), 4.80-4.90 (m, 1H), 6.85-6.97 (m,

3H), 7.29 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 10.19 (brs, 1H), 12.22-12.44 (m, 1H).

化合物 41 の合成

Dimethyl (1*S**, 2*S**)-4-hydroxycyclopentane-1,2-dicarboxylate (188)

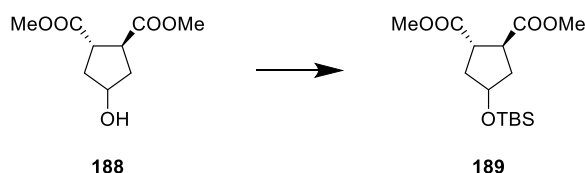


Dimethyl (1*S**, 2*S**)-4-oxocyclopentane-1,2-dicarboxylate (5.0 g, 25 mmol) の MeOH (200 mL) 溶液に、氷冷下で、水素化ホウ素ナトリウム (1.14 g, 30 mmol) を加え、氷冷下で 1 時間攪拌した。氷冷下で、反応混合液に飽和食塩水を加えた後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣に水を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃ : EtOAc = 4 : 1 → 2 : 1) で精製し、化合物 **188** (2.87 g, 57%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.89-2.08 (m, 2H), 2.08-2.20 (m, 2H), 2.20-2.30 (m, 1H), 3.21-3.30 (m, 1H), 3.37-3.47 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 4.35-4.45 (m, 1H).

Dimethyl

(1*S**, 2*S**)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)cyclopentane-1,2-dicarboxylate (189)

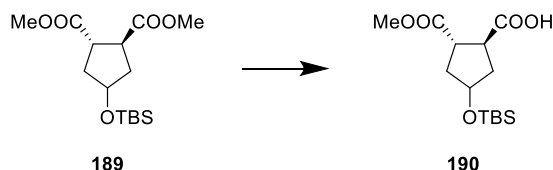


化合物 **188** (2.81 g, 13.9 mmol) の DMF (20 mL) 溶液に、氷冷下で、イミダゾール (1.23 g, 18.1 mmol), *tert*-butylchlorodimethylsilane (2.52 g, 16.7 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) で精製し、化合物 **189** (4.46 g, quant) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : -0.01 (s, 3H), 0.00 (s, 3H), 0.81 (s, 9H), 1.79-1.90 (m, 1H), 1.90-2.03 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 1H), 3.07-3.18 (m, 1H), 3.44-3.53 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 4.22-4.31 (m, 1H).

(1*S**, 2*S**)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-(methoxycarbonyl)cyclopentane-1-car

boxylic acid (190)

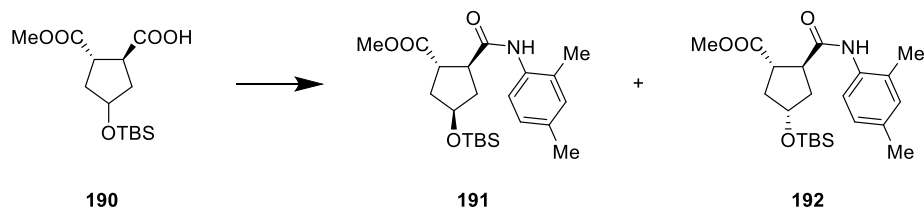


化合物 **189** (4.46 g, 13.9 mmol) の MeOH (32 mL) 溶液に、室温で、2N 水酸化ナトリウム水溶液 (7.5 mL, 15.0 mmol) を加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、6N 塩酸 (2.5 mL, 15.0 mmol) を加えた後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を水に溶解し、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **190** (3.95 g, 96%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 (s, 3H), 0.04 (s, 3H), 0.85 (s, 9H), 1.90-1.97 (m, 1H), 2.00-2.10 (m, 2H), 2.14-2.22 (m, 1H), 3.12-3.27 (m, 1H), 3.47-3.58 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 4.29-4.39 (m, 1H).

Methyl

(1*S**, 2*S**, 4*R**)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)cyclopentane-1-carboxylate (**191**) and methyl (1*S**, 2*S**, 4*S**)-4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)cyclopentane-1-carboxylate (**192**)



化合物 **190** (2.03 g, 6.72 mmol) と 2,4-dimethylaniline (0.83 mL, 6.72 mmol) の DMF (15 mL) 溶液に、室温で、HOBt \cdot H₂O (1.23 g, 8.06 mmol), WSC \cdot HCl (1.54 g, 8.06 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、室温で水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、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 : EtOAc = 40 : 1 \rightarrow 4 : 1) で精製し、化合物 **191** (高極性化合物) (0.223 g, 8%) と化合物 **192** (低極性化合物) (1.86 g, 68%) を得た。

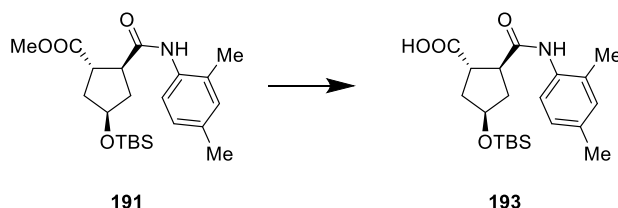
化合物 **191**;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.05-0.08 (m, 6H), 0.86 (s, 9H), 1.95-2.13 (m, 2H), 2.18-2.25 (m, 5H), 2.29 (s, 3H), 3.06-3.17 (m, 1H), 3.34-3.44 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 4.32-4.42 (m, 1H), 6.94-7.02 (m, 2H), 7.57-7.61 (m, 1H), 7.86 (brs, 1H).

化合物 **192**;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.05 (s, 3H), 0.06 (s, 3H), 0.86 (s, 9H), 1.87-1.94 (m, 1H), 2.02-2.08 (m, 1H), 2.16-2.22 (m, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 3.03-3.09 (m, 1H), 3.44-3.50 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 4.35-4.39 (m, 1H), 6.96-7.01 (m, 2H), 7.76 (dd, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.82 (brs, 1H).

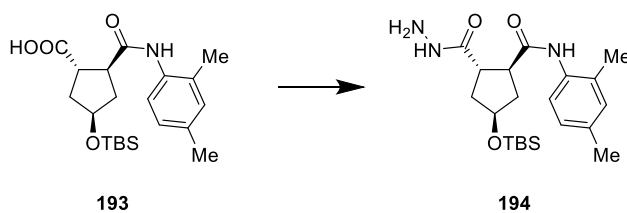
(1*S**, 2*S**, 4*R**)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)cyclopentane-1-carboxylic acid (**193**)



化合物 **191** (197 mg, 0.486 mmol) の MeOH (3.0 mL) 溶液に、室温で、1N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.58 mL, 0.58 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応混合液に、2N 塩酸 (0.29 mL, 0.58 mmol) と水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **193** (182 mg, 95%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 0.03-0.06 (m, 6H), 0.85 (s, 9H), 1.60-1.72 (m, 1H), 1.77-1.87 (m, 1H), 1.91-2.03 (m, 1H), 2.11 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.28-2.37 (m, 1H), 2.99-3.11 (m, 1H), 3.20-3.28 (m, 1H), 4.23-4.38 (m, 1H), 6.91-6.97 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 7.13-7.23 (m, 1H), 9.15 (s, 1H), 12.26 (brs, 1H).

(1*S**, 2*S**, 4*R**)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-2-(hydrazinocarbonyl)cyclopentane-1-carboxamide (**194**)

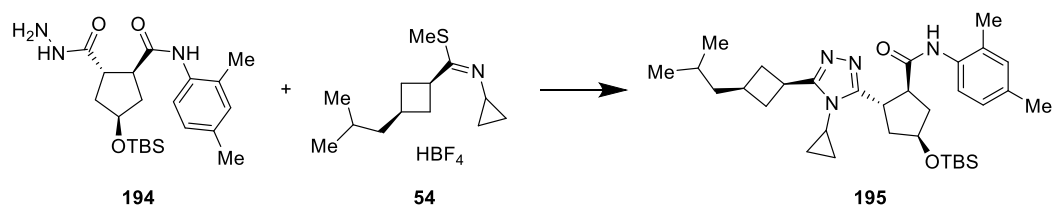


化合物 **193** (179 mg, 0.458 mmol) の MeCN (6.0 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBT · H₂O (84 mg, 0.549 mmol), WSC · HCl (105 mg, 0.549 mmol) を順に加え、室温で 2 時間撹拌した。この反応混合液を、氷冷下で、ヒドラジンー水和物 (0.043 mL, 0.916 mmol) とシクロヘキセン (0.010 mL, 0.0987 mmol) の MeCN (2.0 mL) 溶液に加えた。室温で 4 時間撹拌した後、反応混合液に水を加え、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、水、飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **194** (179 mg,

97%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 0.02-0.06 (m, 6H), 0.85 (s, 9H), 1.65-1.88 (m, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.28-2.38 (m, 1H), 3.06-3.14 (m, 2H), 4.31-4.42 (m, 1H), 6.89-6.96 (m, 1H), 6.99 (brs, 1H), 7.17-7.24 (m, 1H), 9.05-9.11 (m, 2H).

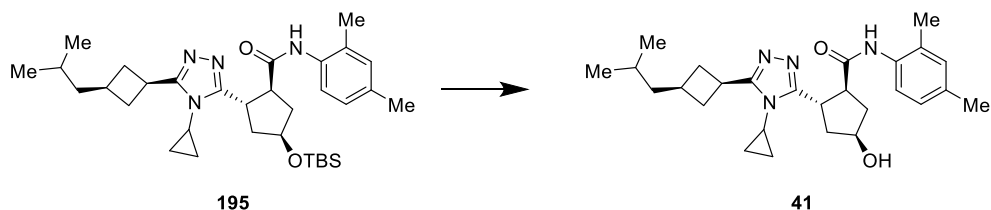
(1*S, 2*S**, 4*S**)-4-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-2-(4-cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)cyclopentane-1-carboxamide (195)**



化合物 **54** (0.484 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.30 mL) 溶液に, EtOH (2.0 mL), 化合物 **194** (179 mg, 0.44 mmol), 酢酸ナトリウム (99 mg, 1.21 mmol) の水 (1.0 mL) 溶液を順に加え, 90 °C で 4 時間攪拌した。反応混合液に, 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後, CHCl_3 で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 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 : EtOAc = 9 : 1 \rightarrow 1 : 1) で精製し, 化合物 **195** (44.2 mg, 18%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.05-0.12 (m, 6H), 0.83-0.88 (m, 9H), 0.90 (s, 9H), 1.06-1.17 (m, 1H), 1.31-1.40 (m, 2H), 1.46-1.55 (m, 1H), 1.88-2.03 (m, 1H), 2.03-2.15 (m, 5H), 2.19-2.27 (m, 4H), 2.32-2.45 (m, 3H), 2.45-2.57 (m, 2H), 2.83-2.93 (m, 1H), 3.35-3.47 (m, 1H), 3.59-3.71 (m, 1H), 3.71-3.83 (m, 1H), 4.41-4.52 (m, 1H), 6.88-6.99 (m, 2H), 7.64-7.75 (m, 1H), 8.30-8.38 (m, 1H).

(1*S*, 2*S*, 4*S*)-2-(4-Cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-4-hydroxycyclopentanecarboxamide (41)



化合物 **195** (43.1 mg, 0.076 mmol) の THF (1.0 mL) 溶液に, 室温で, TBAF の 1M THF 溶液 (0.30 mL, 0.30 mmol) を加え, 60 °C で 10 分間攪拌した。反応混合液に, 水を加えた後, EtOAc で抽出した。得られた有機層を, 水, 飽和食塩水で順に洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し, 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

イー (CHCl₃ : MeOH = 9 : 1) で精製し、化合物 **41** を含むラセミ体 (34.3 mg, 99%) を得た。得られたラセミ体 (16 mg, 0.036 mmol) を、キラル分取 HPLC (Column: DAICEL CHIRALPAK AD (20 × 250 mm, 10 μm); Mobile phase: EtOH; Flow rate: 8.0 mL/min; Detection wavelength: 220nm) で 2 種の光学異性体に分離し、化合物 **41** (低極性化合物) (8.0 mg) と、その光学異性体 **ent-41** (高極性化合物) (8.0 mg) を得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.83-0.99 (m, 8H), 1.11-1.20 (m, 2H), 1.31-1.39 (m, 2H), 1.48-1.61 (m, 1H), 1.78-1.90 (m, 1H), 2.01-2.17 (m, 5H), 2.26 (s, 3H), 2.28-2.34 (m, 2H), 2.35-2.46 (m, 1H), 2.46-2.56 (m, 3H), 2.85-2.92 (m, 1H), 3.38-3.50 (m, 2H), 3.69-3.81 (m, 1H), 3.97-4.05 (m, 1H), 4.46-4.53 (m, 1H), 6.92-7.00 (m, 2H), 7.65-7.72 (m, 1H), 8.32 (brs, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ : 7.10, 7.81, 17.87, 20.82, 22.74, 24.76, 26.51, 27.69, 30.95, 34.30, 34.34, 37.67, 40.23, 42.78, 46.14, 47.86, 73.20, 122.62, 127.05, 129.19, 131.15, 133.20, 134.72, 157.86, 160.40, 174.51.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₃₈N₄O₂, 451.3068; found, 451.3063.

Optical purity: >99% ee [HPLC condition; Column: DAICEL CHIRALPAK AD (4.6 × 250 mm, 10 μm); Mobile phase: EtOH; Flow rate: 0.5 mL/min; Detection wavelength: 220nm; Retention time: **41** 10.8 min, **ent-41** 36.3 min].

Purity: 98.0%.

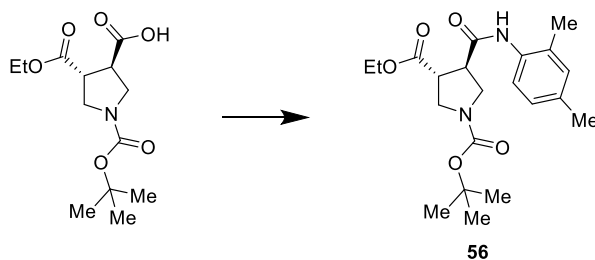
[α]_D²⁵ 55.6 (*c* 0.09, MeOH).

化合物 **42** と化合物 **43** の合成

1-(*tert*-Butyl)

3-ethyl

(3*R**, 4*R**)-4-((2, 4-dimethylphenyl) carbamoyl)pyrrolidine-1, 3-dicarboxylate (**56**)

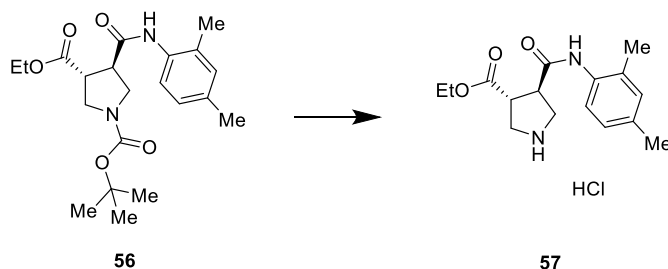


(3*R**, 4*R**)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-(ethoxycarbonyl)pyrrolidine-3-carboxylic acid (500 mg, 1.74 mmol) と 2,4-dimethylaniline (0.215 mL, 1.74 mmol) の DMF (2.5 mL) 溶液に、室温で、HOBT · H₂O (320 mg, 2.09 mmol), WSC · HCl (401 mg, 2.09 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、10% 炭酸ナトリウム水溶液を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、10% 炭酸ナトリウム水溶液、水、5% 硫酸水素カリウム水溶液、10% 食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、

化合物 **56** (656 mg, 97%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.28 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 1.47 (s, 9H), 2.22 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 3.34-3.45 (m, 3H), 3.73-3.97 (m, 3H), 4.20-4.22 (m, 2H), 6.99-7.01 (m, 2H), 7.66-7.68 (m, 1H), 7.86 (brs, 1H).

Ethyl (3*R, 4*R**)-4-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)pyrrolidine-3-carboxylate hydrochloride (57)**

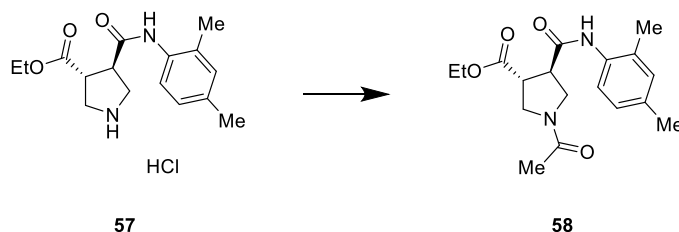


化合物 **56** (650 mg, 1.67 mmol) の 1,4-ジオキサン (3.5 mL) 溶液に、4*N* 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (3.5 mL, 14.0 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。反応混合液の溶媒を減圧下留去し、化合物 **57** (546 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.21 (t, $J = 7.20$ Hz, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 3.39-3.61 (m, 6H), 4.15 (q, $J = 7.60$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.21 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 9.28 (brs, 1H), 9.69 (s, 1H).

Ethyl

(3*R, 4*R**)-1-acetyl-4-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)pyrrolidine-3-carboxylate (58)**

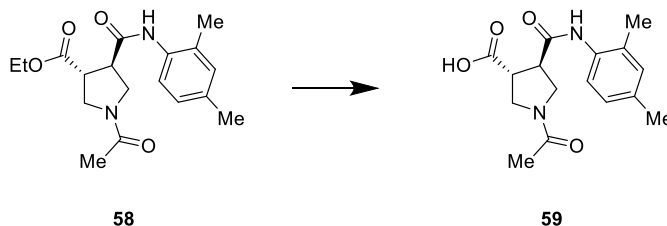


化合物 **57** (544 mg, 1.66 mmol) の CHCl_3 (5.5 mL) 溶液に、氷冷下で、 Et_3N (0.698 mL, 5.01 mmol), DMAP (10 mg, 0.083 mmol), 無水酢酸 (0.205 mL, 2.17 mmol) を順に加え、氷冷下で 1 時間攪拌した。反応混合液に、5% 硫酸水素カリウム水溶液を加えた後、 CHCl_3 で抽出した。得られた有機層を、5% 硫酸水素カリウム水溶液、水、10% 炭酸ナトリウム水溶液、水、10% 食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **58** (527 mg, 95%) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.29 and 1.30 (each t, $J = 7.60$ and 7.20 Hz, total 3H),

2.08 and 2.09 (each s, total 3H), 2.22 and 2.27 (each s, total 3H), 2.29 (s, 3H), 3.33-4.27 (m, 8H), 7.00-7.02 (m, 2H), 7.50 and 8.04 (each brs, total 1H), 7.60 and 7.69 (each d, each $J = 8.80$ Hz, total 1H).

(3*R, 4*R**)-1-Acetyl-4-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)pyrrolidine-3-carboxylic acid (59)**

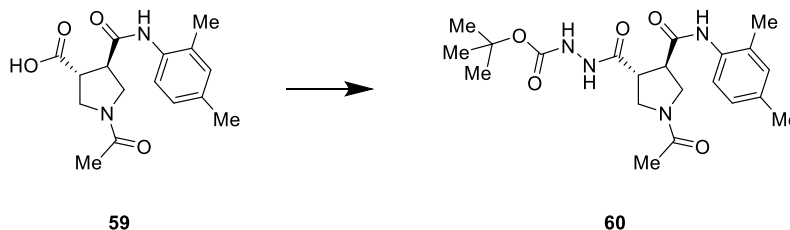


化合物 **58** (522 mg, 1.57 mmol) の EtOH (2.5 mL) 溶液に、氷冷下で、2N 水酸化ナトリウム水溶液 (2.0 mL, 4.0 mmol) を滴下し、室温で 4 時間攪拌した。反応混合液に、氷冷下で、水 (5.0 mL) と 2N 塩酸 (2.0 mL, 4.0 mmol) を加えた。析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **59** (376 mg, 79%) を得た。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.95 (s, 3H), 2.13 (d, $J = 5.20$ Hz, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.38-3.87 (m, 6H), 6.95 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.20 (dd, $J = 7.20, 7.20$ Hz, 1H), 9.52 (s, 1H), 12.73 (s, 1H).

***tert*-Butyl**

2-((3*R, 4*R**)-1-acetyl-4-((2,4-dimethylphenyl)carbamoyl)pyrrolidine-3-carbonyl)hydrazine-1-carboxylate (60)**

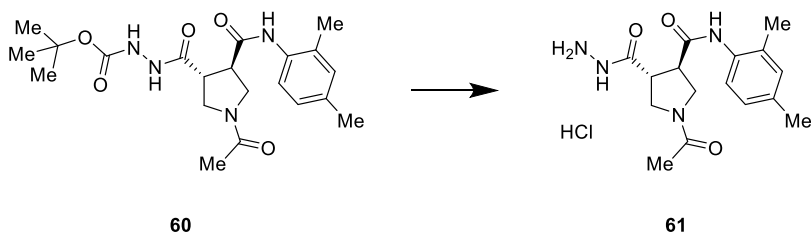


化合物 **59** (373 mg, 1.23 mmol) と *tert*-butyl hydrazinecarboxylate (194 mg, 1.47 mmol) の DMF (1.9 mL) 溶液に、氷冷下で、HOBt \cdot H $_2$ O (225 mg, 1.47 mmol),WSC \cdot HCl (282 mg, 1.47 mmol) を順に加え、室温で終夜攪拌した。反応混合液に、水を加えた後、EtOAc で抽出した。得られた有機層を、10% 炭酸ナトリウム水溶液、5% 硫酸水素カリウム水溶液、水、10% 食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去し、化合物 **60** (515 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

^1H NMR (400 MHz, CDCl $_3$) δ : 1.45 and 1.46 (each s, total 9H), 2.05 (s, 3H), 2.18 and 2.20 (each s, total 3H), 2.29 and 2.30 (each s, total 3H), 3.19 (dd, $J = 19.20, 10.40$ Hz, 0.5H), 3.33 (dd, $J = 18.80, 10.00$ Hz, 0.5H), 3.50-3.64 (m, 2H), 3.77 (dd, $J =$

10.40, 8.40 Hz, 0.5H), 3.81 (dd, $J = 8.20, 8.20$ Hz, 0.5H), 3.93 (dd, $J = 10.00, 10.00$ Hz, 0.5H), 3.98 (dd, $J = 10.00, 10.00$ Hz, 0.5H), 4.15 (dd, $J = 11.60, 9.20$ Hz, 0.5H), 4.24 (dd, $J = 11.20, 8.40$ Hz, 0.5H), 6.47 (d, $J = 14.40$ Hz, 1H), 6.98-7.02 (m, 2H), 7.35 and 7.55 (each d, $J = 8.00$ Hz, total 1H), 7.82 and 8.25 (each s, total 1H), 8.42 and 8.51 (each s, total 1H).

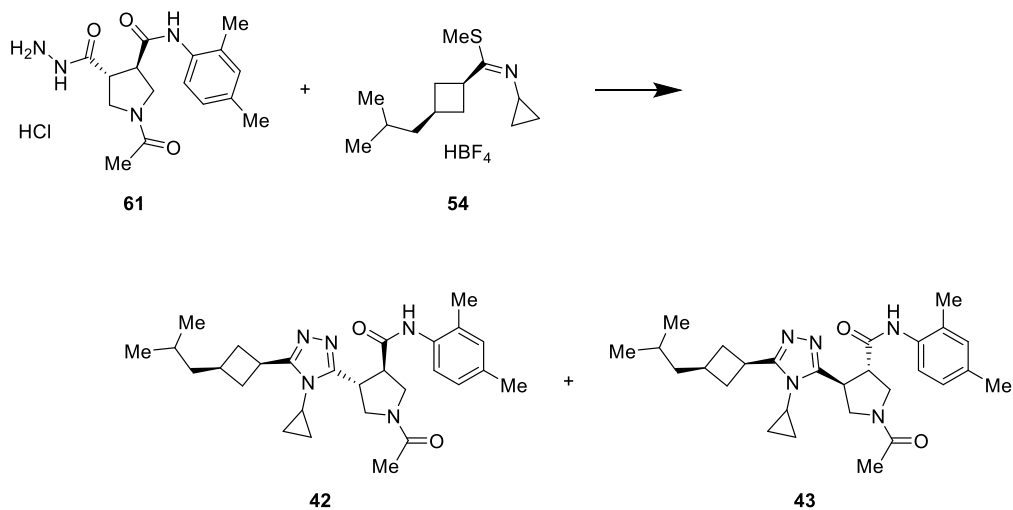
(3*R**, 4*R**)-1-Acetyl-*N*-(2,4-dimethylphenyl)-4-(hydrazinecarbonyl)pyrrolidine-3-carboxamide (61)



化合物 **60** (512 mg, 1.22 mmol) の 1,4-ジオキサン (2.5 mL) 溶液に、氷冷下で、4*N* 塩酸 (1,4-ジオキサン溶液) (2.5 mL, 10.0 mmol) を加え、室温で 15 分間攪拌した。反応混合液に、氷冷下で、2*N* 塩酸 (MeOH 溶液) (2.5 mL, 5.0 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、化合物 **61** (432 mg, quant) を得た。本化合物は、精製せずにそのまま次工程に用いた。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1.96 (d, $J = 4.40$ Hz, 3H), 2.13 (d, $J = 4.80$ Hz, 3H), 2.23 (s, 3H), 3.70-4.03 (m, 6H), 6.95 (d, $J = 8.00$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.17 (dd, $J = 7.60$ Hz, 1H), 9.61 (d, $J = 7.60$ Hz, 1H), 11.40 (d, $J = 11.20$ Hz, 1H).

(3*R*, 4*R*)-1-Acetyl-4-(4-cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)pyrrolidine-3-carboxamide (42) and
(3*S*, 4*S*)-1-acetyl-4-(4-cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)pyrrolidine-3-carboxamide (43)



化合物 **54** (0.28 mmol) の 1,4-ジオキサン (0.45 mL) 溶液に、氷冷下で、化合物 **61** (90 mg, 0.25 mmol) と酢酸ナトリウム (52 mg, 0.63 mmol) の EtOH (1.0 mL), 水 (0.5 mL) 溶液を加え、氷冷下で 1 時間攪拌した。更に、100 °C で 4 時間攪拌した後、反応混合液に、氷冷下で、10% 炭酸ナトリウム水溶液を加え、CHCl₃ で抽出した。得られた有機層を、水、10% 食塩水で順に洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥し、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 **42** と化合物 **43** の混合物 (98 mg, 82%) を得た。得られたラセミ体 (25 mg, 0.052 mmol) を、キラル分取 HPLC (Column: DAICEL CHIRALCEL OD (20 × 250 mm, 10 μm); Mobile phase: EtOH; Flow rate: 7.0 mL/min; Detection wavelength: 220 nm) で 2 種の光学異性体に分離し、化合物 **42** (低極性化合物) (13 mg) と、その光学異性体 **43** (高極性化合物) (12 mg) を得た。

化合物 **42**:

¹H NMR (400 MHz, MeOH-*d*₄) δ : 0.89 (d, *J* = 6.62 Hz, 6H), 0.92-1.39 (m, 6H), 1.45-1.63 (m, 1H), 1.91-2.07 (m, 2H), 2.03 (s, 3H), 2.09 and 2.12 (each s, total 3H), 2.26 (s, 3H), 2.41-2.61 (m, 3H), 3.02-3.11 (m, 1H), 3.41-3.91 (m, 4H), 4.09-4.31 (m, 3H), 6.96 (d, *J* = 7.94 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.10 and 7.13 (each d, *J* = 7.94 and 7.94 Hz, total 1H).

¹³C NMR (126 MHz, MeOH-*d*₄) δ : 7.42, 7.49, 7.85, 7.89, 17.93, 17.95, 20.94, 21.88, 21.98, 23.13, 25.69, 27.69, 28.52, 32.10, 35.25, 35.29, 35.42, 38.45, 39.41, 47.55, 49.69, 49.93, 50.71, 51.25, 51.35, 52.81, 126.63, 126.80, 127.93, 127.95, 132.18, 133.75, 133.77, 133.87, 134.03, 137.59, 137.64, 156.15, 156.33, 161.60, 161.66, 171.13, 171.53, 171.96.

HRMS *m/z*: [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₃₉N₅O₂, 478.3177; found, 478.3173.

Optical purity: >99% ee [HPLC condition; Column: DAICEL CHIRALCEL OD (4.6 × 250 mm, 10 μm); Mobile phase: EtOH; Flow rate: 0.5 mL/min; Detection wavelength: 220 nm;

Retention time: **42** 9.0 min, **43** 10.8 min].

Purity: 95.4%.

$[\alpha]_D^{25}$ 68.9 (*c* 1.02, MeOH).

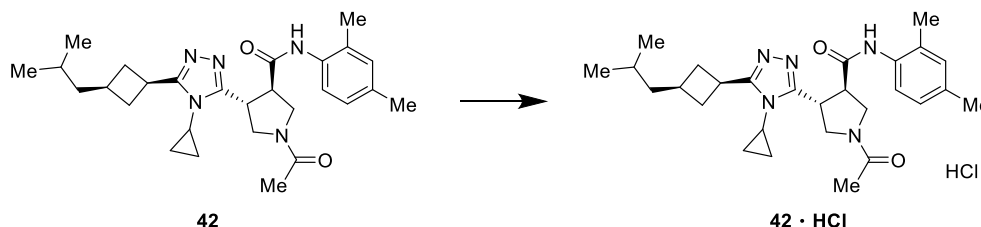
化合物 **43**;

HRMS *m/z*: $[M+H]^+$ calcd for C₂₈H₃₉N₅O₂, 478.3177; found, 478.3179.

Purity: 99.4%.

化合物 **42** · HCl の合成

(3*R*, 4*R*)-1-Acetyl-4-(4-cyclopropyl-5-(*cis*-3-isobutylcyclobutyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)pyrrolidine-3-carboxamide hydrochloride (**42** · HCl)



化合物 **42** (85.2 mg, 0.178 mmol) のジエチルエーテル (3.4 mL) 溶液に、室温で、4*N* 塩酸 (EtOAc 溶液) (0.13 mL, 0.52 mmol) を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。反応混合液に、2*N* 塩酸 (MeOH 溶液) (2.5 mL, 5.0 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。析出した固体をろ取し、減圧下乾燥して化合物 **42** · HCl (83.6 mg, 91%) を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.86 (d, *J* = 6.72 Hz, 6H), 1.02-1.27 (m, 4H), 1.27-1.37 (m, 2H), 1.41-1.60 (m, 1H), 1.93-2.16 (m, 8H), 2.23 (s, 3H), 2.36-2.60 (m, 3H), 3.18-3.30 (m, 1H), 3.32-4.29 (m, 7H), 6.95 (d, *J* = 8.24 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.13-7.24 (m, 1H), 9.57-9.67 (m, 1H).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 6.76, 6.91, 7.44, 7.56, 18.26, 18.38, 20.86, 20.88, 22.12, 22.56, 22.65, 22.78, 25.91, 26.24, 26.33, 26.39, 26.97, 27.10, 31.18, 31.32, 33.76, 34.10, 34.32, 34.77, 37.01, 45.45, 45.68, 47.19, 48.22, 49.88, 50.04, 51.19, 123.97, 124.40, 126.84, 131.04, 131.32, 131.40, 132.70, 132.78, 135.48, 135.51, 154.99, 159.49, 159.97, 168.05, 169.49, 170.07.

2. 薬効薬理試験

Cellular Assay (LUC)

ヒト ROR γ (ジーンバンク (Genbank) 登録番号 NM_005060.3), 並びにマウス ROR γ (ジーン

バンク (Genbank) 登録番号 NM_011281.2) の配列情報を基に、ヒトおよびマウス ROR γ のリガンド結合部位 (Ligand Binding Domain (LBD)) に当たる cDNA を取得した (LBD 配列: ヒト ROR γ の場合, 253 番目セリン残基から 518 番目リジン残基まで; マウス ROR γ の場合, 251 番目イソロイシン残基から 516 番目リジン残基まで)。

ヒトおよびマウス ROR γ の LBD cDNA を GAL4 DNA 結合ドメイン融合タンパク発現ベクターである pFA-CMV ベクター (Stratagene 社) に挿入した。以後, 構築したプラスミドは, それぞれ GAL4-hROR γ プラスミド, GAL4-mROR γ プラスミドと呼ぶ。

GAL4-hROR γ プラスミド, 或いは GAL4-mROR γ プラスミドを, GAL4 依存的にホタルルシフェラーゼを発現するレポータープラスミドである pG5-Luc (Promega 社) と共にチャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) に一過性に導入した。

GAL4-hROR γ プラスミド, 又は GAL4-mROR γ プラスミドと pG5-Luc プラスミドの CHO 細胞への導入は, TransIT (登録商標) CHO transfection reagent (Mirus 社) を用いた。試験前日に, 10% (v/v) ウシ胎児血清を含む HAM F-12 Nutrient 培地で CHO 細胞を懸濁して 6×10^6 細胞ずつ, 175 cm² 細胞培養用フラスコに播種した。15 mL チューブ内で, 54 μ L の TransIT (登録商標) -CHO Reagent を 1.16 mL のウシ胎児血清を含まない HAM F-12 Nutrient 培地に加えた。この溶液をよく混和して, 室温にて 10 分間インキュベーションした。これに, 400 ng の GAL4-hROR γ プラスミド, 9000 ng の pG5-Luc プラスミド, 8600 ng の pcDNA3 プラスミドを含んだプラスミド溶液 36 μ L を加えて穏やかに混和した。なお, マウスアッセイの場合, 250 ng の GAL4-mROR γ プラスミド, 9000 ng の pG5-Luc プラスミド, 8750 ng の pcDNA3 プラスミドを含んだプラスミド溶液を代わりに添加した。混合液を室温 10 分間インキュベーションした。CHO Mojo Reagent を 9 μ L ずつ各チューブに添加して, 穏やかに混和した。チューブを室温 10 分間インキュベーションした。作製したトランスフェクション試薬溶液を細胞に添加した。37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ にて 4 時間培養後, トリプシン処理によって, プラスミド導入 CHO 細胞を回収した。10% (v/v) ウシ胎児血清を含む HAM F-12 Nutrient 培地に細胞を懸濁して, 8000 cells/50 μ L/well ずつ 384 穴白色プレートに播種した。プレートは, 1 時間室温にて静置後, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ にてさらに 3 時間培養した。被験物質は, 10 mM の濃度でジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し, 使用直前に培地で希釈して任意の 8 用量で細胞に添加した。最終の DMSO 濃度は 0.1% (v/v) とした。被験物質添加後, 細胞は 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ にて 2 日間培養した。

細胞生存率は, Resazurin (Invitrogen 社) による蛍光法を用いて測定した。被験物質添 2 日後に, Resazurin を 20 μ M になるように培地で希釈した。希釈した Resazurin 溶液を 10 μ L ずつ 384 穴プレートに添加した。添加後すぐに, 励起波長 570 nm を用いて 615 nm の発光を測定した (0 時間値)。37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ にて 2 時間培養後, 再度, 励起波長 570 nm を用いて 615 nm の発光を測定した (2 時間値)。測定した 2 時間値から 0 時間値を差し引いた発光カウント (2h - 0h) を算出した。なお, 被験物質処理後の細胞生存率は, 0.1% DMSO のみで処理した細胞の発光カウント (2h - 0h) を 100% とした %-of-control で表

現した。70% 以下の細胞生存率を示した場合、被験物質が細胞毒性を有すると判断した。ROR γ 転写活性は、SteadyLite HTS Reporter Gene Assay System (Perkin Elmer 社) を用いて、細胞中のルシフェラーゼ活性を指標に測定した。SteadyLite 試薬を Extension 試薬 (10 mM Tricine, 0.2% (w/v) ウシ血清アルブミン, 0.2% (v/v) Tween-20) で 5 倍希釈してルシフェラーゼ基質溶液を作製した。Resazurin による細胞生存率測定後、プレート内の培地を除去してルシフェラーゼ基質溶液を添加した。室温で 10 分間インキュベーションした後、マイクロプレートリーダーを用いて、各ウェルの発光を測定した。0.1% DMSO のみで処理した溶媒対照ウェルの発光カウントを 100% とし、被験物質処理後のルシフェラーゼ活性を %of-control とし算出した。被験物質の EC₅₀ 値は、GraphPad Prism を用いたカーブフィッティングで算出した。なお、細胞毒性を有する濃度での発光カウントは、データ解析から除外した。

CD3-induced mouse PD model

MOG ペプチド (MOG35-55) を D-PBS (-) に溶解し 3 mg/mL の溶液を調製し、完全フロイントアジュバント (complete Freund's adjuvant) を等量加えた。1 日目に雌性 C57BL/6 マウス (Charles River Laboratories 社) を MOG ペプチド (皮下注射, 75 μ g の MOG35-55 を投与) で免疫し、PTX の D-PBS 溶液 (0.2 μ g / 200 mL) を腹腔内投与した。3 日目に同量の PTX を投与した。5 日目に、CD3 抗体を溶かした生理食塩水 (1 μ g / 200 mL) を静脈注射する 1 時間前と 6 時間前に被験物質を経口投与し、その後、いずれも CD3 抗体を投与した 2 時間後に採血し血中の IL-17 濃度を測定した。

3. 薬物動態試験

Metabolic stability in liver S9

被験物質をヒト肝 S9 (Xenotech 社) とともに 10 分間あるいは 60 分間インキュベーションし、その時の化合物の未変化体の残存率を求めた。

CYP3A4 inhibition assay

文献の方法に従い、CYP3A4 の基質であるミダゾラムとヒト肝ミクロソーム (Xenotech 社) を被験物質存在下でインキュベーションし、その阻害活性を測定した^{67, 68}。

Mouse PK (IV, PO)

雌性 C57BL/6 マウス (Charles River Laboratories 社) に、1 mg/kg (DMSO 溶液) の用量で被験物質を静脈注射した。また、30 mg/kg, あるいは 100 mg/kg (0.5% MC 懸濁液) の用量

で被験物質を経口投与した。投与後、各時点で採血し被験物質の濃度を測定した。

4. 複合体 X 線結晶構造解析

Method

His-tag-hROR γ -LBD (261-518aa)がコードされている pET28 プラスミドを E. Coli BL21 (DE3) へ導入し、His-tag-ROR γ -LBD タンパク質の発現を行った。His タグ融合タンパク質は Ni-NTA superflow アガロースカラムにて精製後、AcTEV プロテアーゼ (Invitrogen 社) にて His タグの除去を行った。さらに Superdex75 (GE healthcare science 社) カラムによりゲルろ過を行い、ROR γ -LBD を得た。3 当量のリガンド存在下 0.2 mg/mL のタンパク質を 4 °C で静置させた後、16 mg/ml に濃縮した。リザーバーに 0.1 M Tris-HCl pH 7.5, 0.5 M Na/K tartrate, 2.5 M MPD を用いた sitting drop 法により結晶が得られた。ROR γ -LBD 結晶の回折データは BL17A beamline of the Photon Factory (高エネルギー加速器研究機構)にて収集した。XDS プログラムによる積分, CCP4 ソフトウェア中の SCALA プログラムによるスケーリングと PHASER プログラムによる分子置換法(鑄型: ROR γ -LBD structure (PDB code: 3BOW))による解析を経て、ROR γ -LBD リガンド複合体の位相の決定を行った。結晶構造モデルの構築は Coot で行い、最適化は REFMAC5 にて行った。得られた構造情報の解析と図の作成は PyMol を用いて行った。

化合物 **9**, **17**, **42** と ROR γ 複合体の回折データ収集と精密化の統計情報をまとめた(表 14)。PDB code は、ROR γ -LBD-**9** 複合体 (5AYG)⁵⁹⁾, ROR γ -LBD-**42** 複合体 (5X8X)⁶⁴⁾である。

表 14. データ収集と精密化の統計情報

	化合物 9			化合物 17			化合物 42		
Space group	$P6_1$			$P6_1$			$P2_1$		
Unit-cell parameters									
a, b, c (Å)	99.24	99.24	127.84	99.30	99.30	126.81	79.30	72.60	99.32
α, β, γ (°)	90.00	90.00	120.00	90.00	90.00	120.00	90.00	89.97	90.00
Resolution range (Å) ^a	85.94–2.60 (2.74–2.60)			86.00–2.60 (2.67–2.60)			29.3–2.60 (2.67–2.60)		
Total reflections	234253			207873			118473		
Unique reflections	22021			21423			33867		
Completeness (%)	100 (100)			98.0 (86.9)			97.2 (97.4)		
Redundancy	10.6 (7.5)			9.7 (1.4)			3.5 (3.5)		
I/σ (%)	29.7 (6.6)			21.7 (1.8)			9.1 (2.0)		
R_{merge} % (%) ^b	5.7 (30.9)			6.6 (32.4)			6.9 (58.8)		
Refinement statistics									
Resolution range (Å)	85.94–2.60			86.00–2.60			29.3–2.60		
No. of reflections	20852			20288			31889		
R_{cryst} (R_{free}) ^c	18.35 (22.67)			19.15 (26.28)			19.86 (23.31)		
No. of atoms									
Protein	3521			3658			7819		
Ligand	60			58			140		
Water	85			56			70		
B-factors									
Protein	57.2			51.85			65.21		
Ligand or Ion	43.9			45.99			44.46		
Water	53.4			56.67			50.80		
R.m.s. deviations									
Bond length (Å)	0.012			0.017			0.013		
Bond angles (°)	2.052			1.678			1.650		

^aValues in parenthesis are for the highest resolution shell.

^b $R_{\text{merge}} = \sum |I_h(I_h) - \langle I_h \rangle| / \sum I_h$, where $\langle I_h \rangle$ is average intensity over symmetry equivalents.

^c $R\text{-factor} = \sum |F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}| / \sum F_{\text{obs}}$. The free R-factor is calculated from 10% of the reflections that are omitted from the refinement. Values in parenthesis are for the highest resolution shell.

謝辞

本論文は、日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 化学研究所において行った研究をまとめたものである。

本研究を執筆するにあたり、終始ご指導、ご鞭撻を賜りました昭和薬科大学 医薬分子化学研究室教授 伊藤俊将 先生に謹んで深謝の意を表します。

本論文の主査として、ご審査賜りました昭和薬科大学 薬化学研究室教授 田村 修 先生に謹んで深謝の意を表します。本論文の副査として、ご審査賜りました昭和薬科大学 薬品化学研究室教授 岡本 巖 先生および昭和薬科大学 薬品分析化学研究室教授 唐澤 悟 先生に謹んで深謝の意を表します。

本論文のご審査を賜りました昭和薬科大学長 山本恵子 先生、昭和薬科大学 薬物治療学研究室教授 水谷颯洋 先生、昭和薬科大学 衛生化学研究室教授 石井 功 先生および昭和薬科大学 天然物化学研究室教授 久保田高明 先生に謹んで深謝の意を表します。

本研究を遂行する機会を与えてくださいました日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 春田純一 前所長、大川滋紀 所長に謹んで深く感謝いたします。

本研究をまとめる機会を与えてくださいました日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 化学研究所 橋本宏正 前所長、佐藤元秀 所長に謹んで深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、終始ご指導、ご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 化学研究所 塩崎 真 副所長に謹んで深く感謝いたします。

本研究は、日本たばこ産業株式会社の各部署の多くの共同研究者と米国 Orphagen Pharmaceuticals 社の共同研究者の力を結集し成し得ることができました。

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 化学研究所 古徳将之 研究員、関 法良 研究員、前場貴樹 研究員、前田克也 研究員、平島新太郎 研究員、坂井孝行 研究員、小比賀真吾 研究員、堀 亜希美 研究員、長谷康徳 前研究員、山中 浩 研究員、池ノ上 拓 研究員、小川直樹 研究員に深く感謝いたします。

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 生物研究所 畑 貴広 副所長、山口尚之 調査役、勝田佳朋 研究員、宮川直樹 研究員、有田好城 研究員に深く感謝いたします。

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 薬物動態研究所 野村幸広 所長、朝比奈幸太 調査役、荒津佑輔 グループリーダーに深く感謝いたします。

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 探索研究所 鎌田雅史 前副所長、安達剛 グループリーダー、野口正人 前研究員、土井郷樹 研究員、山口桂史 研究員、野村明弘 研究員に深く感謝いたします。

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 大野 靖 研究員, 永尾英太 研究員, 岩井隆宏 研究員, 山田淑美 研究員に深く感謝いたします。

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所 研究企画部 仲 裕一 グループリーダーに深く感謝いたします。

Orphagen Pharmaceuticals 社 Scott Thacher 氏, Paul Crowe 氏, Erin Bradley 氏, Ruo Steensma 氏, Haiyan Tao 氏, Morgan Fenn 氏, Robert Babine 氏, Xiaolin Li 氏に深く感謝いたします。

本研究と一緒に取り組んでくださいました全ての方々に深く感謝いたします。

東京大学在学期間中を含め, これまで研究生活を支えてくださいました全ての方々に深く感謝いたします。

最後に, 両親, 家族に心から感謝いたします。

2020 年初夏
平田和之

参考文献

- 1) 公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団. 平成 27 年度 (2015 年度) 国内基盤技術調査報告書「60 疾患の医療ニーズ調査と新たな医療ニーズ II」分析編, **2016**.
- 2) Kotake, S.; Udagawa, N.; Takahashi, N.; Matsuzaki, K.; Itoh, K.; Ishiyama, S.; Saito, S.; Inoue, K.; Kamatani, N.; Gillespie, M. T.; Martin, T. J.; Suda, T. IL-17 in Synovial Fluids from Patients with Rheumatoid Arthritis Is a Potent Stimulator of Osteoclastogenesis. *J. Clin. Invest.* **1999**, *103*, 1345-1352.
- 3) Nakae, S.; Nambu, A.; Sudo, K.; Iwakura, Y. Suppression of Immune Induction of Collagen-Induced Arthritis in IL-17-Deficient Mice. *J. Immunol.* **2003**, *171*, 6173-6177.
- 4) Harrington, L. E.; Hatton, R. D.; Mangan, P. R.; Turner, H.; Murphy, T. L.; Murphy, K. M.; Weaver, C. T. Interleukin 17-Producing CD4⁺ Effector T Cells Develop via a Lineage Distinct from the T Helper Type 1 and 2 Lineages. *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 1123-1132.
- 5) Park, H.; Li, Z.; Yang, X. O.; Chang, S. H.; Nurieva, R.; Wang, Y.; Wang, Y. -H.; Hood, L.; Zhu, Z.; Tian, Q.; Dong, C. A Distinct Lineage of CD4 T Cells Regulates Tissue Inflammation by Producing interleukin 17. *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 1133-1141.
- 6) Mosmann, T. R.; Coffman, R. L. Th1 and Th2 Cells: Different Patterns of Lymphokine Secretion Lead to Different Functional Properties. *Annu. Rev. Immunol.* **1989**, *7*, 145-173.
- 7) Langley, R. G.; Elewski, B. E.; Lebwohl, M.; Reich, K.; Griffiths, C. E. M.; Papp, K.; Puig, L.; Nakagawa, H.; Spelman, L.; Sigurgeirsson, B.; Rivas, E.; Tsai, T. -F.; Wasel, N.; Tying, S.; Salko, T.; Hampele, I.; Notter, M.; Karpov, A.; Helou, S.; Papavassilis, C. Secukinumab in Plaque Psoriasis-Results of Two Phase 3 Trials. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 326-338.
- 8) Baeten, D.; Baraliakos, X.; Braun, J.; Sieper, J.; Emery, P.; van der Heijde, D.; McInnes, I.; van Laar, J. M.; Landewé, R.; Wordsworth, P.; Wollenhaupt, J.; Kellner, H.; Paramarta, J.; Wei, J.; Brachat, A.; Bek, S.; Laurent, D.; Li, Y.; Wang, Y. A.; Bertolino, A. P.; Gsteiger, S.; Wright, A. M.; Hueber, W. Anti-Interleukin-17A Monoclonal Antibody Secukinumab in Treatment of Ankylosing Spondylitis: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Lancet* **2013**, *382*, 1705-1713.
- 9) Hueber, W.; Patel, D. D.; Dryja, T.; Wright, A. M.; Koroleva, I.; Bruin, G.; Antoni, C.; Draelos, Z.; Gold, M. H.; Durez, P.; Tak, P. P.; Gomez-Reino, J. J.; Foster, C. S.; Kim, R. Y.; Samson, C. M.; Falk, N. S.; Chu, D. S.; Callanan, D.; Nguyen,

- Q. D. ; Rose, K. ; Haider, A. ; Di Padova, F. Effects of AIN457, a Fully Human Antibody to Interleukin-17A, on Psoriasis, Rheumatoid Arthritis, and Uveitis. *Sci. Transl. Med.* **2010**, *2*, 52ra72.
- 10) Leonardi, C. ; Matheson, R. ; Zachariae, C. ; Cameron, G. ; Li, L. ; Edson-Heredia, E. ; Braun, D. ; Banerjee, S. Anti-Interleukin-17 Monoclonal Antibody Ixekizumab in Chronic Plaque Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1190-1199.
- 11) Papp, K. A. ; Leonardi, C. ; Menter, A. ; Ortonne, J. -P. ; Krueger, J. G. ; Kricorian, G. ; Aras, G. ; Li, J. ; Russell, C. B. ; Thompson, E. H. Z. ; Baumgartner, S. Brodalumab, an Anti-Interleukin-17-Receptor Antibody for Psoriasis. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1181-1189.
- 12) McGeachy, M. J. ; Cua, D. J. The Link Between IL-23 and IL-17 Cell-Mediated Immune Pathologies. *Semin. Immunol.* **2007**, *19*, 372-376.
- 13) Campa, M. ; Mansouri, B. ; Warren, R. ; Menter, A. A Review of Biologic Therapies Targeting IL-23 and IL-17 for Use in Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis. *Dermatol Ther (Heidelb)* **2016**, *6*, 1-12.
- 14) Ivanov, I. I. ; McKenzie, B. S. ; Zhou, L. ; Tadokoro, C. E. ; Lepelley, A. ; Lafaille, J. J. ; Cua, D. J. ; Littman, D. R. The Orphan Nuclear Receptor ROR γ t Directs the Differentiation Program of Proinflammatory IL-17⁺ T Helper Cells. *Cell* **2006**, *126*, 1121-1133.
- 15) Overington J. P. ; Al-Lazikani B. ; Hopkins A. L. How Many Drug Targets Are There? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 993-996.
- 16) Zhang, Z. ; Burch, P. E. ; Cooney, A. J. ; Lanz, R. B. ; Pereira, F. A. ; Wu, J. ; Gibbs, R. A. ; Weinstock, G. ; Wheeler, D. A. Genomic Analysis of the Nuclear Receptor Family: New Insights into Structure, Regulation, and Evolution from the Rat Genome. *Genome Res.* **2004**, *14*, 580-590.
- 17) Hirose, T. ; Smith, R. J. ; Jetten, A. M. ROR γ : The Third Member of ROR/RZR Orphan Receptor Subfamily That Is Highly Expressed in Skeletal Muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1994**, *205*, 1976-1983.
- 18) Giguère, V. ; Tini, M. ; Flock, G. ; Ong, E. ; Evans, R. M. ; Otulakowski, G. Isoform-Specific Amino-Terminal Domains Dictate DNA-Binding Properties of ROR α a Novel Family of Orphan Hormone Nuclear Receptors. *Genes Dev.* **1994**, *8*, 538-553.
- 19) Carlberg, C. ; van Huijsduijnen R. H. ; Staple J. K. ; DeLamarter J. F. ; Becker-André M. RZR α , a New Family of Retinoid-Related Orphan Receptors That Function as both Monomers and Homodimers. *Mol. Endocrinol.* **1994**, *8*, 757-770.
- 20) Hamilton, B. A. ; Frankel, W. N. ; Kerrebrock, A. W. ; Hawkins, T. L. ; FitzHugh, W. ; Kusumi, K. ; Russell, L. B. ; Mueller, K. L. ; van Berkel, V. ; Birren, B. W. ; Kruglyak,

- L. ; Lander, E. S. Disruption of the Nuclear Hormone Receptor ROR α in Staggerer Mice. *Nature* **1996**, *379*, 736-739.
- 21) Steinmayr, M. ; André, E. ; Conquet, F. ; Rondi-Reig, L. ; Delhay-Bouchaud, N. ; Auclair, N. ; Daniel, H. ; Crépel, F. ; Mariani, J. ; Sotelo, C. ; Becker-André, M. Staggerer Phenotype in Retinoid-Related Orphan Receptor α -Deficient Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 3960-3965.
- 22) Becker-André, M. ; André, E. ; DeLamarter, J. F. Identification of Nuclear Receptor mRNAs by RT-PCR Amplification of Conserved Zinc-Finger Motif Sequences. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *194*, 1371-1379.
- 23) Schaeren-Wiemers, N. ; André, E. ; Kapfhammer, J. P. ; Becker-André, M. The Expression Pattern of the Orphan Nuclear Receptor ROR β in the Developing and Adult Rat Nervous System Suggests a Role in the Processing of Sensory Information and in Circadian Rhythm. *Eur. J. Neurosci.* **1997**, *9*, 2687-2701.
- 24) Villy, I. ; de Chasseval, R. ; de Villartay, J. -P. ROR γ T, a Thymus-Specific Isoform of the Orphan Nuclear Receptor ROR γ / TOR, Is Up-Regulated by Signaling through the Pre-T Cell Receptor and Binds to the TEA Promoter. *Eur. J. Immunol.* **1999**, *29*, 4072-4080.
- 25) Jetten, A. M. Retinoid-Related Orphan Receptors (RORs): Critical Roles in Development, Immunity, Circadian Rhythm, and Cellular Metabolism. *Nucl. Recept. Signal.* **2009**, *7*, e003.
- 26) Medvedev, A. ; Yan Z. -H. ; Hirose, T. ; Giuère, V. ; Jetten A. M. Cloning of a cDNA Encoding the Murine Orphan Receptor RZR / ROR γ and Characterization of its Response Element. *Gene* **1996**, *181*, 199-206.
- 27) Jin, L. ; Martynowski, D. ; Zheng, S. ; Wada, T. ; Xie, W. ; Li, Y. Structural Basis for Hydroxycholesterols as Natural Ligands of Orphan Nuclear Receptor ROR γ . *Mol. Endocrinol.* **2010**, *24*, 923-929.
- 28) Xu, T. ; Wang, X. ; Zhong, B. ; Nurieva, R. I. ; Ding, S. ; Dong, C. Ursolic Acid Suppresses Interleukin-17 (IL-17) Production by Selectively Antagonizing the Function of ROR γ T Protein. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 22707-22710.
- 29) Huh, J. R. ; Leung, M. W. L. ; Huang, P. ; Ryan, D. A. ; Krout, M. R. ; Malapaka, R. R. V. ; Chow, J. ; Manel, N. ; Ciofani, M. ; Kim, S. V. ; Cuesta, A. ; Santori, F. R. ; Lafaille, J. J. ; Xu, H. E. ; Gin, D. Y. ; Rastinejad, F. ; Littman, D. R. Digoxin and its Derivatives Suppress TH17 Cell Differentiation by Antagonizing ROR γ T Activity. *Nature* **2011**, *472*, 486-490.
- 30) Fujita-Sato, S. ; Ito, S. ; Isobe, T. ; Ohyama, T. ; Wakabayashi, K. ; Morishita, K. ; Ando, O. ; Isono, F. Structural Basis of Digoxin That Antagonizes ROR γ T Receptor

- Activity and Suppresses Th17 Cell Differentiation and Interleukin (IL)-17 Production. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 31409-31417.
- 31) Kumar, N.; Solt, L. A.; Conkright, J. J.; Wang, Y.; Istrate, M. A.; Busby, S. A.; Garcia-Ordóñez, R. D.; Burris, T. P.; Griffin, P. R. The Benzenesulfoamide T0901317 [*N*-(2,2,2-Trifluoroethyl)-*N*-(4-[2,2,2-trifluoro-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)ethyl]phenyl)-benzenesulfonamide] Is a Novel Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor- α / γ Inverse Agonist. *Mol. Pharmacol.* **2010**, *77*, 228-236.
- 32) Claremon, D. A.; Dillard, L. W.; Dong, C.; Fan, Y.; Jia, L.; Liu, Z.; Lotesta, S. D.; Marcus, A.; Singh, S. B.; Tice, C. M.; Yuan, J.; Zhao, W.; Zheng, Y.; Zhuang, L. Dihydropyrrrolopyridine Inhibitors of ROR-Gamma. *PCT Patent* W02015116904, **2015**.
- 33) Birault, V.; Campbell, A. J.; Harrison, S.; Le, J.; Shukla, L. Novel Compounds. *PCT Patent* W02013160418, **2013**.
- 34) Hariprasad, V.; Venkatakrishna Reddy, Y. Substituted 2,3-Dihydro-1*H*-inden-1-one Retinoic Acid-Related Orphan Nuclear Receptor Antagonists for Treating Multiple Sclerosis. *U.S. Patent* US20150072980, **2015**.
- 35) Narjes, F.; Olsson, R. I.; Von Berg, S.; Lever, S. Novel Compounds. *U.S. Patent* US20170166527, **2017**.
- 36) Bodil Van Niel, M.; Fauber, B.; Gaines, S.; Gobbi, A.; Rene, O.; Vesey, D.; Ward, S. Aryl Sulfamides as ROR γ Modulators. *PCT Patent* W02014009447, **2014**.
- 37) Fauber, B. P.; René, O.; Deng, Y.; DeVoss, J.; Eidenschenk, C.; Everett, C.; Ganguli, A.; Gobbi, A.; Hawkins, J.; Johnson, A. R.; La, H.; Lesch, J.; Lockey, P.; Norman, M.; Ouyang, W.; Summerhill, S.; Wong, H. Discovery of 1-{4-[3-Fluoro-4-((3*S*,6*R*)-3-methyl-1,1-dioxo-6-phenyl-[1,2]thiazinan-2-ylmethyl)-phenyl]-piperazin-1-yl}-ethanone (GNE-3500): A Potent, Selective, and Orally Bioavailable Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor C (ROR γ or ROR γ) Inverse Agonist. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5308-5322.
- 38) Yamamoto, S.; Shirai, J.; Oda, T.; Kono, M.; Ochida, A.; Imada, T.; Tokuhara, H.; Tomata, Y.; Ishii, N.; Tawada, M.; Fukase, Y.; Yukawa, T.; Fukumoto, S. Heterocyclic Compounds and Their Use as Retinoid-related Orphan Receptor (ROR) Gamma-t Inhibitors. *PCT Patent* W02016002968, **2016**.
- 39) Kono, M.; Ochida, A.; Oda, T.; Imada, T.; Banno, Y.; Taya, N.; Masada, S.; Kawamoto, T.; Yonemori, K.; Nara, Y.; Fukase, Y.; Yukawa, T.; Tokuhara, H.; Skene, R.; Sang, B.-C.; Hoffman, I. D.; Snell, G. P.; Uga, K.; Shibata, A.; Igaki, K.; Nakamura, Y.; Nakagawa, H.; Tsuchimori, N.; Yamasaki, M.; Shirai, J.; Yamamoto, S. Discovery of [*cis*-3-((5*R*)-5-[(7-Fluoro-1,1-dimethyl-2,3-dihydro-1*H*-inden-5-yl)carbonyl]-2-methoxy-7,8-dihydro-1,6-naphthyridin-6(5*H*)-

- yl}carbonyl)cyclobutyl]acetic Acid (TAK-828F) as a Potent, Selective, and Orally Available Novel Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor γ t Inverse Agonist. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 2973-2988.
- 40) Chao, J.; Enyedy, I.; Guertin, K.; Hutchings, R. H.; Jones, J. H.; Powell, N.; Vanvloten K. D. Biaryl-Containing Compounds as Inverse Agonists of ROR-Gamma Receptors. *PCT Patent* WO2014008214, **2014**.
- 41) Wang, T.; Banerjee, D.; Bohnert, T.; Chao, J.; Enyedy, I.; Fontenot, J.; Guertin, K.; Jones, H.; Lin, E. Y.; Marcotte, D.; Talreja, T.; Van Volten, K. Discovery of Novel Pyrazole-Containing Benzamides as Potent ROR γ Inverse Agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2985-2990.
- 42) Chao, J.; Enyedy, I.; Van Volten, K.; Marcotte, D.; Guertin, K.; Hutchings, R.; Powell, N.; Jones, H.; Bohnert, T.; Peng, C. -C.; Silvian, L.; Hong, V. S.; Little, K.; Banerjee, D.; Peng, L.; Taveras, A.; Viney, J. L.; Fontenot, J. Discovery of Biaryl Carboxylamides as Potent ROR γ Inverse Agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2991-2997.
- 43) Griffin P. R.; Roush, W.; Kumar, N.; Nuhant, P.; Burris, T.; Solt, L. Modulators of the Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptors. *PCT Patent* WO2011115892, **2011**.
- 44) Flick, A. C.; Jones, P.; Kaila, N.; Mente, S. R.; Schnute, M. E.; Trzupke, J. D.; Vazquez, M. L.; Xing L.; Zhang, L.; Wennerstal, G. M.; Zamaratski, E. Methyl- and Trifluoromethyl-Substituted Pyrrolopyridine Inhibitors of ROR α 2 and Methods of Use Thereof. *Canadian Patent* CA2905407, **2016**.
- 45) Schnute, M. E.; Wennerstål, M.; Alley, J.; Bengtsson, M.; Blinn, J. R.; Bolten, C. W.; Braden, T.; Bonn, T.; Carlsson, B.; Caspers, N.; Chen, M.; Choi, C.; Collis, L. P.; Crouse, K.; Färnegardh, M.; Fennell, K. F.; Fish, S.; Flick, A. C.; Goos-Nilsson, A.; Gullberg, H.; Harris, P. K.; Heasley, S. E.; Hegen, M.; Hromockyj, A. E.; Hu, X.; Husman, B.; Janosik, T.; Jones, P.; Kaila, N.; Kallin, E.; Kauppi, B.; Kiefer, J. R.; Knafels, J.; Koehler, K.; Kruger, L.; Kurumbail, R. G.; Kyne, R. E. Jr.; Li, W.; Löfstedt, J.; Long, S. A.; Menard, C. A.; Mente, S.; Messing, D.; Meyers, M. J.; Napierata, L.; Nöteberg, D.; Nuhant, P.; Pelc, M. J.; Prinsen, M. J.; Rhönnsstad, P.; Backström-Rydin, E.; Sandberg, J.; Sandström, M.; Shah, F.; Sjöberg, M.; Sundell, A.; Taylor, A. P.; Thorarensen, A.; Trujillo, J. I.; Trzupke, J. D.; Unwalla, R.; Vajdos, F. F.; Weinberg, R. A.; Wood, D. C.; Xing, L.; Zamaratski, E.; Zapf, C. W.; Zhao, Y.; Wilhelmsson, A.; Berstein, G. Discovery of 3-Cyano-*N*-(3-(1-isobutyrylpiperidin-4-yl)-1-methyl-4-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-5-yl)benzamide: A Potent, Selective, and Orally Bioavailable Retinoic

- Acid Receptor-Related Orphan Receptor C2 Inverse Agonist. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 10415-10439.
- 46) Karstens, W. F. J.; Stelt, M. van der; Cals, J.; Azevedo, R. C. R. G.; Barr, K. J.; Zhang, H.; Beresis, R. T.; Zhang, D.; Duan, X. ROR γ Inhibitors. *PCT Patent* W02012106995, **2012**.
- 47) Duan, J.; Dhar, T. G. M.; Marcoux, D.; Shi, Q.; Batt, D. G.; Liu, Q.; Cherney, R. J.; Cornelius, L. A. M.; Srivastava, A. S.; Beaudoin Bertrand, M.; Weigelt, C. A. Tricyclic Sulfones as ROR γ Modulators. *PCT Patent* W02016179460, **2016**.
- 48) Marcoux, D.; Duan, J. J. -W.; Shi, Q.; Cherney, R. J.; Srivastava, A. S.; Cornelius, L.; Batt, D. G.; Liu, Q.; Beaudoin-Bertrand, M.; Weigelt, C. A.; Khandelwal, P.; Vishwakrishnan, S.; Selvakumar, K.; Karmakar, A.; Gupta, A. K.; Basha, M.; Ramlingam, S.; Manjunath, N.; Vanteru, S.; Karmakar, S.; Maddala, N.; Vetrichelvan, M.; Gupta, A.; Rampulla, R. A.; Mathur, A.; Yip, S.; Li, P.; Wu, D. -R.; Khan, J.; Ruzanov, M.; Sack, J. S.; Wang, J.; Yarde, M.; Cvijic, M. E.; Li, S.; Shuster, D. J.; Borowski, V.; Xie, J. H.; McIntyre, K. W.; Obermeier, M. T.; Fura, A.; Stefanski, K.; Cornelius, G.; Hynes, J. Jr.; Tino, J. A.; Macor, J. E.; Salter-Cid, L.; Denton, R.; Zhao, Q.; Carter, P. H.; Dhar, T. G. M. Rationally Designed, Conformationally Constrained Inverse Agonists of ROR γ t-Identification of a Potent, Selective Series with Biologic-Like in Vivo Efficacy. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 9931-9946.
- 49) Takiyama, K.; Ohdan M.; Sasaki, Y.; Kida, S.; Tachibana, Y.; Hata, K.; Katou, M. Compounds Having ROR γ t Inhibitory Effects and Pharmaceutical Compositions Containing the Same. *PCT Patent* W0201701399, **2017**.
- 50) Sasaki, Y.; Odan, M.; Yamamoto, S.; Kida, S.; Ueyama, A.; Shimizu, M.; Haruna, T.; Watanabe, A.; Okuno, T. Discovery of a Potent Orally Bioavailable Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor-Gamma-t (ROR γ t) Inhibitor, S18-000003. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 3549-3553.
- 51) Zhang, W.; Zhang, J.; Fang, L.; Zhou, L.; Wang, S.; Xiang, Z.; Li, Y.; Wisely, B.; Zhang, G.; An, G.; Wang, Y.; Leung, S.; Zhong, Z. Increasing Human Th17 Differentiation through Activation of Orphan Nuclear Receptor Retinoid Acid-Related Orphan Receptor γ (ROR γ) by a Class of Aryl Amide Compounds. *Mol. Pharmacol.* **2012**, *82*, 583-590.
- 52) Kuntz, I. D.; Chen, K.; Sharp K. A.; Kollman, P. A. The Maximal Affinity of Ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 9997-10002.
- 53) Hopkins, A. L.; Groom, C. R.; Alex, A. Ligand Efficiency: A Useful Metric for Lead Selection. *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 430-431.

- 54) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeny, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3-25.
- 55) Perola, E. An Analysis of the Binding Efficiencies of Drugs and their Leads in Successful Drug Discovery Programs. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2986-2997.
- 56) Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6752-6756.
- 57) Clemons, P. A.; Bodycombe, N. E.; Carrinski, H. A.; Wilson, J. A.; Shamji, A. F.; Wagner, B. K.; Koehler, A. N.; Schreiber, S. L. Small Molecules of Different Origins Have Distinct Distributions of Structural Complexity that Correlate with Protein-Binding Profiles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 18787-18792.
- 58) Lovering, F. Escape from Flatland 2: Complexity and Promiscuity. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 515-519.
- 59) Hirata, K.; Kotoku, M.; Seki, N.; Maeba, T.; Maeda, K.; Hirashima, S.; Sakai, T.; Obika, S.; Hori, A.; Hase, Y.; Yamaguchi, T.; Katsuda, Y.; Hata, T.; Miyagawa, N.; Arita, K.; Nomura, Y.; Asahina, K.; Aratsu, Y.; Kamada, M.; Adachi, T.; Noguchi, M.; Doi, S.; Crowe, P.; Bradley, E.; Steensma, R.; Tao, H.; Fenn, M.; Babine, R.; Li, X.; Thacher, S.; Hashimoto, H.; Shiozaki, M. SAR Exploration Guided by LE and Fsp³: Discovery of a Selective and Orally Efficacious ROR γ Inhibitor. *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 23-27.
- 60) Thacher, S.; Li, X.; Babine, R.; Tse, B. Modulators of Retinoid-Related Orphan Receptor Gamma. *U. S. Patent* US8389739, **2013**.
- 61) Blake, A.; Peacocke, A. R. The Interaction of Aminoacridines with Nucleic Acids. *Biopolymers*, **1968**, *6*, 1225-1253.
- 62) Lerman, L. S. Structural Considerations in the Interaction of DNA and Acridines. *J. Mol. Biol.* **1961**, *3*, 18-30.
- 63) Eastwood, P.; González, J.; Gómez, E.; Caturla, F.; Aguilar, N.; Mir, M.; Aiguadé, J.; Matassa, V.; Balagué, C.; Orellana, A.; Domínguez, M. Indole-2-one p38 α Inhibitors III: Bioisosteric Amide Replacement. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6253-6257.
- 64) Noguchi, M.; Nomura, A.; Murase, K.; Doi, S.; Yamaguchi, K.; Hirata, K.; Shiozaki, M.; Hirashima, S.; Kotoku, M.; Yamaguchi, T.; Katsuda, Y.; Steensma, R.; Li, X.; Tao, H.; Tse, B.; Fenn, M.; Babine, R.; Bradley, E.; Crowe, P.; Thacher, S.; Adachi, T.; Kamada, M. Ternary Complex of Human ROR γ Ligand-Binding Domain, Inverse Agonist and SMRT Peptide Shows a Unique Mechanism of Corepressor Recruitment. *Genes Cells* **2017**, *22*, 535-551.

- 65) Ivanova, N. V. ; Sviridov, S. I. ; Shorshnev, S. V. ; Stepanov, A. E. A Convenient Synthesis of 4,5-Disubstituted 1,2,4-Triazoles Functionalized in Position 3. *Synthesis* **2006**, 156-160.
- 66) Chang, J. H. ; Lee, K. W. ; Nam, D. H. ; Kim, W. S. ; Shin, H. Efficient Synthesis of 1-Substituted-5-Hydroxymethylimidazole Derivatives: Clean Oxidative Cleavage of 2-Mercapto Group. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 674-676.
- 67) Dierks, E. A. ; Stams, K. R. ; Lim, H. -K. ; Cornelius, G. ; Zhang, H. ; Ball, S. E. A Method for the Simultaneous Evaluation of the Activities of Seven Major Human Drug-Metabolizing Cytochrome P450 Using in Vitro Cocktail of Probe Substrates and Fast Gradient Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Drug Metab. Dispos.* **2001**, *29*, 23-29.
- 68) Palasek, T. M. ; Miners, J. O. Time-Dependent Inhibition of Human Drug Metabolizing Cytochromes P450 by Tricyclic Antidepressants. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2008**, *65*, 87-97.

本論文内容の誌上発表

1. Kazuyuki Hirata, Masayuki Kotoku, Noriyoshi Seki, Takaki Maeba, Katsuya Maeda, Shintaro Hirashima, Takayuki Sakai, Shingo Obika, Akimi Hori, Yasunori Hase, Takayuki Yamaguchi, Yoshiaki Katsuda, Takahiro Hata, Naoki Miyagawa, Kojo Arita, Yukihiro Nomura, Kota Asahina, Yusuke Aratsu, Masafumi Kamada, Tsuyoshi Adachi, Masato Noguchi, Satoki Doi, Paul Crowe, Erin Bradley, Ruo Steensma, Haiyan Tao, Morgan Fenn, Robert Babine, Xiaolin Li, Scott Thacher, Hiromasa Hashimoto and Makoto Shiozaki. SAR Exploration Guided by LE and Fsp³: Discovery of a Selective and Orally Efficacious ROR γ Inhibitor. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 7, Issue 1, 23–27 (2016).
2. 平田和之, 古徳将之, 平島新太郎, 野口正人, 塩崎 真. 新規 ROR γ アンタゴニストの創製 (Discovery of novel ROR γ antagonists). *MEDCHEM NEWS*, Vol. 27, No. 3, 160–167 (2017).
(第 34 回メディシナルケミストリーシンポジウム 優秀賞受賞 寄稿)

* 本論文の内容は, ACS Medicinal Chemistry Letters の表紙に選出され, 化合物 **9** の複合体 X 線結晶構造がカバーピクチャーとして掲載された。

• *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 7, Issue 1 (2016);

<https://pubs.acs.org/toc/amclct/7/1>

• *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 8, Issue 2 (2017);

<https://pubs.acs.org/toc/amclct/8/2>