

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4097194号
(P4097194)

(45) 発行日 平成20年6月11日(2008.6.11)

(24) 登録日 平成20年3月21日(2008.3.21)

(51) Int.Cl.		F I	
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A
C O 7 K	14/38	(2006.01)	C O 7 K 14/38
C O 7 K	14/39	(2006.01)	C O 7 K 14/39
C O 7 K	14/395	(2006.01)	C O 7 K 14/395
C O 7 K	14/40	(2006.01)	C O 7 K 14/40

請求項の数 11 (全 118 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-509480 (P2002-509480)	(73) 特許権者	506137147 エーザイ・アール・アンド・ディー・マネ ジメント株式会社 東京都文京区小石川四丁目6番10号
(86) (22) 出願日	平成13年7月6日(2001.7.6)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(86) 国際出願番号	PCT/JP2001/005899	(74) 代理人	100128048 弁理士 新見 浩一
(87) 国際公開番号	W02002/004626	(72) 発明者	塚原 克平 茨城県つくば市二の宮4-4-24
(87) 国際公開日	平成14年1月17日(2002.1.17)	(72) 発明者	畑 桂 茨城県つくば市松代1-14-11 サン ヒルズ松代405
審査請求日	平成16年6月29日(2004.6.29)		
(31) 優先権主張番号	特願2000-206968 (P2000-206968)		
(32) 優先日	平成12年7月7日(2000.7.7)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		
(31) 優先権主張番号	特願2000-316027 (P2000-316027)		
(32) 優先日	平成12年10月17日(2000.10.17)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		
早期審査対象出願			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 真菌の細胞壁合成遺伝子

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

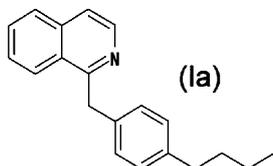
真菌における過剰発現により、真菌に対し下記式(Ia)で示される化合物に対する耐性を付与する作用を有する蛋白質をコードする、下記(a)から(d)のいずれかに記載のDNA。

(a) 配列番号：2、4、または6に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

(b) 配列番号：1、3、または5に記載の塩基配列を含むDNA。

(c) 配列番号：1、3、または5に記載の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

(d) 配列番号：2、4、または6に記載のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が付加、欠失、置換および/または挿入されたアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。



【請求項2】

その機能の欠損により真菌の細胞壁におけるGPIアンカー蛋白質量を減少させる作用を有する蛋白質をコードする、下記(a)から(d)のいずれかに記載のDNA。

(a) 配列番号：2、4、または6に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

(b) 配列番号：1、3、または5に記載の塩基配列を含むDNA。

(c) 配列番号：1、3、または5に記載の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

(d) 配列番号：2、4、または6に記載のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が付加、欠失、置換および/または挿入されたアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

10

【請求項3】

請求項1または2に記載のDNAによりコードされる蛋白質。

【請求項4】

請求項1または2に記載のDNAが挿入されたベクター。

【請求項5】

請求項1または2に記載のDNAまたは請求項4に記載のベクターを保持する形質転換体。

【請求項6】

請求項3に記載の蛋白質が過剰発現している真菌である、請求項5に記載の形質転換体。

20

【請求項7】

請求項3に記載の蛋白質をコードする遺伝子に欠失あるいは変異を導入し、請求項3に記載の蛋白質の機能が欠損している真菌。

【請求項8】

請求項5に記載の形質転換体を培養し、該形質転換体またはその培養上清から発現させた蛋白質を回収する工程を含む、請求項3に記載の蛋白質の製造方法。

【請求項9】

請求項3に記載の蛋白質に結合する抗体。

【請求項10】

抗真菌作用を有する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項3に記載の蛋白質に被検試料を接触させる工程、

(b) 該蛋白質と被検試料との結合活性を検出する工程、

(c) 該蛋白質に結合する活性を有する化合物を選択する工程、を含む方法。

【請求項11】

抗真菌作用を有する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項3に記載の蛋白質が過剰発現している真菌に被検試料を接触させる工程、

(b) 該真菌におけるGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送量を検出する工程、

(c) 請求項3に記載の蛋白質が過剰発現していない真菌に被検試料を接触させた場合と比較して、工程(b)において検出されるGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送量を減少させる化合物を選択する工程、を含む方法。

40

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、真菌の細胞壁合成に関与する蛋白質をコードするDNA、該DNAがコードする蛋白質、ある化合物がGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を及ぼすか否かを検定する方法、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を及ぼす抗真菌剤に関する。

発明の背景

近年、高度な化学療法等により免疫機能の低下した患者や高齢者の増加により、日和見感染に対する対策は益々重要性を増してきている。カンジダ、アスペルギルス、クリプトコッカス等による内臓真菌感染症はこうした日和見感染症の一部を占め、その割合は年々増

50

加している。異なる弱毒菌による日和見感染が次々と起こっている事実は、患者の抵抗力が低下するような基礎疾患がある限り感染症の問題は後を絶たないことを示している。近い将来確実に訪れる高齢化社会においては、耐性菌の問題を含めた新たな感染症対策が重要な課題の一つとなるにもかかわらず、現状では有効な治療薬がきわめて少ない。

これまでの真菌感染症治療剤は既知の骨格に化学修飾し新規化合物を開発するストラテジーが中心であったが、耐性菌の問題もあり新規メカニズムに基づく新薬の開発が切望されている。

このような現状を踏まえ、発明者らは、未だ十分な治療薬が揃っていない抗真菌剤領域において「病原体が病原性を発揮できないようにすることにより、感染症の発症・進展・持続に対して効果を示す」という新たなアプローチを試みた。感染を成立・進展させないためには、感染成立の第一段階である宿主への付着、およびその後のコロニゼーションの進展を抑えることが最も効果的であると考えた。そして、「付着因子自体の発現を阻害する」というこれまで行われていない新たなアプローチを実施することにした。

付着因子の発現を阻害するために、発明者らは、「付着因子等の細胞壁表層糖蛋白質は、一度細胞膜に GPI (Glycosylphosphatidylinositol) アンカリングした後、細胞壁表層に輸送される(図1)。」という仮説に着目した。現在までに付着リガンドを含む30種類以上の細胞壁表層糖蛋白質が、GPIアンカリングを介して輸送される(GPIアンカー蛋白質と称す)ことが明らかになっており、この輸送の段階を阻害すれば、付着因子および主要細胞壁構成蛋白の細胞壁表層での発現が阻害される可能性が高いと考えられた。(Hamada K et al, Mol. Gen. Genet., 258: 53-59, 1998)。また、病原性真菌であるカンジダにおいても GPIアンカー蛋白質の存在が報告されていた(Kapteyn JC et al, Eur. J. Cell Biol., 65: 402-407, 1994)。

発明者らは、真菌において細胞膜に存在する GPIアンカー蛋白質が、細胞壁に輸送される過程を阻害することにより、細胞壁合成の阻害による新規抗真菌剤が創出できると考えて、研究に着手した。

発明の開示

本発明の課題は、細胞壁表層糖蛋白質の発現を阻害し、細胞壁 assembly を阻害するとともに細胞への付着を阻害して、病原体が病原性を発揮できないようにすることにより、感染症の発症・進展・持続に対して効果を示す、抗真菌剤を開発することにある。

GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する化合物をスクリーニングするため、本発明者らは、GPIアンカー蛋白質の一つ CWP2 (Van Der Vaat JM et al, J. Bacteriol., 177: 3104-3110, 1995) の C 末端にある輸送シグナルとレポータ酵素の融合蛋白質によるレポータ系の作製を試みた。

分泌シグナル遺伝子+レポータ酵素遺伝子+CWP2のC末端遺伝子(有りor無し)から成るDNAを構築し、融合蛋白質を *Saccharomyces cerevisiae* (以下 *S. cerevisiae*) に発現させたところ、レポータ酵素の活性が、CWP2のC末端が有る場合は細胞壁に、無い場合は培養上清中に見出されることが明らかとなった。この結果より、もし被検試料によって GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程が阻害されれば、細胞壁のレポータ酵素の活性が減少する、あるいはレポータ酵素の活性が培養上清中に見出されることが予想され、本レポータ系による GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する化合物のスクリーニングを開始した。

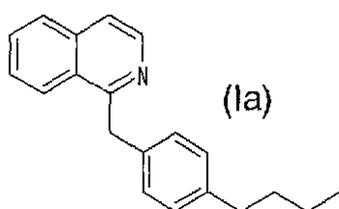
本レポータ系によるスクリーニングより、幾つかの GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する化合物が見出された。その代表的な例が、式(Ia)で表される化合物である。

10

20

30

40



前記式 (I a) で表される化合物は、*S. cerevisiae* 及び *Candida albicans* (以下 *C. albicans*) の増殖を抑制し、前記式 (I a) で表される化合物存在下で培養した *C. albicans* は、細胞への付着能が弱く、前記式 (I a) で表される化合物は、GPI アンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害することにより、付着因子の発現を抑制して真菌の付着を阻害するという、当初目的としていた化合物であることが確認された。更に透過型電子顕微鏡による観察により、前記式 (I a) で表される化合物存在下で培養した *C. albicans* は、細胞壁の合成に異常があることも確認された。

10

前記式 (I a) に記載の化合物により、本発明者らは「GPI アンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する」というメカニズムによる抗真菌剤が可能であることを証明した。本発明者らは、更に前記式 (I a) で表される化合物が作用している標的蛋白質を特定するため、前記式 (I a) で表される化合物に対し耐性を付与する遺伝子の探索を行った。*S. cerevisiae* に、*S. cerevisiae* 遺伝子のプラスミドライブラリーを導入し、過剰発現により、前記式 (I a) で表される化合物に対して耐性を示すようになった *S. cerevisiae* よりプラスミドを回収して、耐性遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定して、同遺伝子を *GWT1* と命名した (配列番号 1)。 *GWT1* 遺伝子産物を過剰発現させた *S. cerevisiae* では、前記式 (I a) で表される化合物存在下でも、前述の GPI アンカー蛋白質の C 末端を有するレポート酵素は、細胞壁へ輸送された。また、前記式 (I a) で表される化合物存在下でも、細胞壁が正常であることが透過型電子顕微鏡観察において確認された。

20

更に、*S. cerevisiae* のゲノム DNA 上にランダムに点突然変異を導入し、前記式 (I a) で表される化合物特異的に耐性を示すようになった変異株 R1, R5 を単離したところ、R1 変異株では *GWT1* 遺伝子の 405 番目のコドンが GTC から ATC に、また R5 変異株では 140 番目のコドンが GGG から AGG に変化する点突然変異が見出された。これら変異 *GWT1* 遺伝子を *GWT1* 遺伝子破壊株に導入すると前記式 (I a) で表される化合物に対して耐性を示すことから、この化合物に対する耐性は *GWT1* 遺伝子のみで説明可能なことが明らかとなった。これらのことから、前記式 (I a) で表される化合物は、*GWT1* 遺伝子産物に直接作用して、*GWT1* タンパク質の機能を阻害していることが示唆された。

30

同様な方法により、*C. albicans* の耐性遺伝子 (配列番号 3、及び 5) もクローニングし塩基配列を決定し、同遺伝子を *CaGWT1* と命名した。

また、データベースからの *GWT1* とのホモロジー検索により、*Schizosaccharomyces pombe* (以下 *S. pombe*) のホモログ (配列番号 27) が見出された。更に、*S. cerevisiae*, *S. pombe*, *C. albicans* の *GWT1* 遺伝子のコードする蛋白において、高度に保存されている領域の配列を基にプライマーを設定して PCR を行うことにより *Aspergillus fumigatus* (以下 *A. fumigatus*) ホモログ (配列番号 39、41) が見出された。また、データベースからの *GWT1* とのホモロジー検索により見出された配列を基に PCR を行って、*Cryptococcus neoformans* (以下 *C. neoformans*) ホモログ (配列番号 54、58) が見出された。

40

すなわち本発明は、

1. 真菌における過剰発現により、真菌に対し下記式 (I a) で示される化合物に対する耐性を付与する作用を有する蛋白質をコードする、下記 (a) から (e) のいずれかに記載の DNA。

50

(a) 配列番号：2、4、6、28、40または59に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

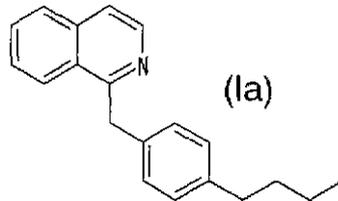
(b) 配列番号：1、3、5、27、39、41、54または58に記載の塩基配列を含むDNA。

(c) 配列番号：1、3、5、27、39、41、54または58に記載の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

(d) 配列番号：2、4、6、28、40または59に記載のアミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が付加、欠失、置換および/または挿入されたアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

(e) 配列番号：29及び31あるいは配列番号：29及び30をプライマーとして増幅されるDNA。

10



2. その機能の欠損により真菌の細胞壁におけるGPIアンカー蛋白質量を減少させる作用を有する蛋白質をコードする、下記(a)から(e)のいずれかに記載のDNA。

(a) 配列番号：2、4、6、28、40または59に記載のアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

20

(b) 配列番号：1、3、5、27、39、41、54または58に記載の塩基配列を含むDNA。

(c) 配列番号：1、3、5、27、39、41、54または58に記載の塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA。

(d) 配列番号：2、4、6、28、40または59に記載のアミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が付加、欠失、置換および/または挿入されたアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA。

(e) 配列番号：29及び31あるいは配列番号：29及び30をプライマーとして増幅されるDNA。

30

ここでストリンジェントな条件とは、例えば65℃ 4xSSCにおけるハイブリダイゼーション、次いで65℃で1時間0.1xSSC中での洗浄である。また別法としてストリンジェントな条件は、50%ホルムアミド中42℃ 4xSSCである。また、PerfectHybTM (TOYOBO) 溶液中65℃ 2.5時間ハイブリダイゼーション、次いで1) 0.2xSSC, 0.05% SDS溶液：25分、2) 0.2xSSC, 0.05% SDS溶液：25分、3) 0.1xSSC, 0.1% SDS溶液50分20分の洗浄といった条件も許される。

また該DNAを欠失するとは、機能を持った該DNAの遺伝子産物の発現が無い、あるいは発現が減少することを意味し、例えば相同組換えの技術を使って、該DNAのコード領域に無関係なDNA、例えば選択マーカー等を挿入することにより、該DNAを欠失させることを意味する。

40

真菌細胞壁でのGPIアンカー蛋白質由来の蛋白質は、1) GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を反映したレポータ系、2) 細胞壁中のGPIアンカー蛋白質の一種類を定量するELISA、3) 動物細胞への付着といったGPIアンカー蛋白質の活性、4) 透過型電子顕微鏡による菌体最外層の綿状線維構造の観察、により定量が可能であり、これらの方法を単独あるいは組合わせて用いることにより、該蛋白質が減少することが確認できる。

3. 1または2に記載のDNAによりコードされる蛋白質。

4. 1または2に記載のDNAが挿入されたベクター。

5. 1または2に記載のDNAまたは4に記載のベクターを保持する形質転換体。

50

6. 3に記載の蛋白質が過剰発現している真菌である、5に記載の形質転換体。
 7. 3に記載の蛋白質の機能が欠損している真菌
 8. 5に記載の形質転換体を培養し、該形質転換体またはその培養上清から発現させた蛋白質を回収する工程を含む、3に記載の蛋白質の製造方法。
 9. 3に記載の蛋白質に結合する抗体。

10. 抗真菌作用を有する化合物をスクリーニングする方法であって、

- (a) 3に記載の蛋白質に被検試料を接触させる工程、
 (b) 該蛋白質と被検試料との結合活性を検出する工程、
 (c) 該蛋白質に結合する活性を有する化合物を選択する工程、を含む方法。

11. 抗真菌作用を有する化合物をスクリーニングする方法であって、

- (a) 3に記載の蛋白質が過剰発現している真菌に被検試料を接触させる工程、
 (b) 該真菌におけるGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送量を検出する工程、
 (c) 3に記載の蛋白質が過剰発現していない真菌に被検試料を接触させた場合と比較して、工程(b)において検出されるGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送量を減少させる化合物を選択する工程、を含む方法。

10

ここで被検試料によるGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送量の減少は、例えば増殖速度の低下、膨化、温度感受性、細胞壁でのGPIアンカー蛋白質由来の蛋白質の減少等により検出することが可能であるが、好ましくは、細胞壁でのGPIアンカー蛋白質由来の蛋白質の減少により検出することが望ましい。

GPIアンカー蛋白質由来の蛋白質の減少は、1) . GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を反映したレポータ系、2) . 細胞壁中のGPIアンカー蛋白質の一種類を定量するELISA、3) . 動物細胞への付着といったGPIアンカー蛋白質の活性、4) . 透過型電子顕微鏡による菌体最外層の綿状線維構造の観察、により定量が可能であり、これらの方法を単独であるいは組合わせて用いることにより、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送量の減少が検定できる。

20

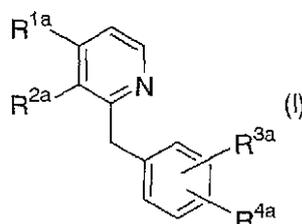
12. 前記10または11に記載のスクリーニングにより単離しうる、抗真菌作用を有する化合物。

13. 真菌においてGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送を阻害する化合物を有効成分とする抗真菌剤。

14. 9に記載の抗体または前記12に記載の化合物を有効成分とする、抗真菌剤。

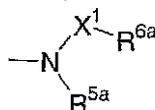
30

15. 一般式(I)



[式中R^{1a}およびR^{2a}は同一または相異なってそれぞれ水素原子、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、トリフルオロメトキシ基、置換されてもよいC₁₋₆アルキル基、C₂₋₆アルケニル基、C₂₋₆アルキニル基、置換されてもよいC₁₋₆アルコキシ基、または式

40



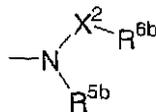
(式中X¹は単結合、カルボニル基、または式-S(O)₂-で表わされる基を意味する；

R^{5a}およびR^{6a}は同一または相異なって、水素原子、または置換されていてもよいC₁₋₆アルキル基を意味する)で表わされる基を示す。また、R^{1a}とR^{2a}は一緒になって、置換されていてもよいベンゼン環、置換されていてもよいピリジン環、置換されていてもよいピロール環、置換されていてもよいチオフェン環、置換されていてもよいフラ

50

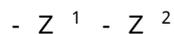
ン環、置換されていてもよいピリダジン環、置換されていてもよいピリミジン環、置換されていてもよいピラジン環、置換されていてもよいイミダゾール環、置換されていてもよいオキサゾール環、置換されていてもよいチアゾール環、置換されていてもよいピラゾール環、置換されていてもよいイソオキサゾール環、置換されていてもよいイソチアゾール環、置換されていてもよいシクロヘキサン環、および置換されていてもよいシクロペンタン環からなる群から選ばれる縮合環を形成してもよい；

R^{3a} 、および R^{4a} は同一または相異なってそれぞれ、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、カルボキシル基、ホルミル基、ヒドロキシイミノ基、トリフルオロメチル基、トリフルオロメトキシ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニル基、 C_{2-6} アルキニル基、式 $-C(O)NR^{7a}R^{7b}$ (式中、 R^{7a} および R^{7b} は同一または相異なってそれぞれ水素原子、または C_{1-6} アルキル基を意味する)、式 $-CO_2R^{7a}$ (式中、 R^{7a} は前記定義と同意義を意味する)、式 $-S(O)_nR^{7a}$ (式中、 n は 0 ないし 2 の整数を意味する。 R^{7a} は前記定義と同意義を意味する)、式 $-S(O)_2NR^{7a}R^{7b}$ (式中、 R^{7a} および R^{7b} は前記定義と同意義を意味する)、式



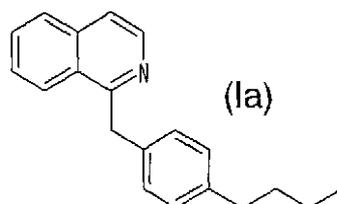
(式中 X^2 は単結合、カルボニル基、または式 $-S(O)_2-$ で表わされる基を意味する；

R^{5b} および R^{6b} は同一または相異なっていて、水素原子、置換されていてもよい C_{1-6} アルキル基、または置換されていてもよい C_{6-14} アリール基を意味する) で表わされる基、または式



(式中、 Z^1 は単結合、酸素原子、ビニレン基、またはエチニレン基を意味する； Z^2 は単結合、または 0 ないし 4 個の置換基で置換されてもよい C_{1-6} アルキル基を意味する) で表わされる基を意味する。 R^{3a} と R^{4a} は一緒になって、メチレンジオキシ基、または 1,2-エチレンジオキシ基を意味してもよく、また R^{3a} と R^{4a} は一緒になって、置換されていてもよいベンゼン環、置換されていてもよいピリジン環、置換されていてもよいピロール環、置換されていてもよいチオフェン環、置換されていてもよいフラン環、置換されていてもよいピリダジン環、置換されていてもよいピリミジン環、置換されていてもよいピラジン環、置換されていてもよいイミダゾール環、置換されていてもよいオキサゾール環、置換されていてもよいチアゾール環、置換されていてもよいピラゾール環、置換されていてもよいイソオキサゾール環、置換されていてもよいイソチアゾール環、置換されていてもよいシクロヘキサン環および置換されていてもよいシクロペンタン環からなる群から選ばれる縮合環の形成を意味してもよい。ただし、 R^{1a} および R^{2a} がともに水素原子を意味する場合は除く。) で示される化合物もしくはその塩またはそれらの水和物を有効成分とする前記 13 に記載の抗真菌剤。

16. 式



で表される化合物 (Ia) を有効成分とする前記 13 に記載の抗真菌剤。

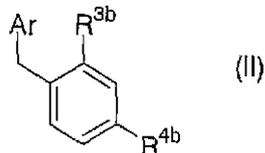
17. 一般式 (II)

10

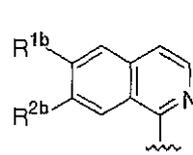
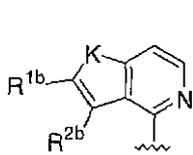
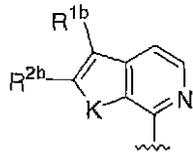
20

30

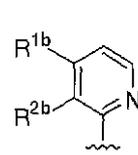
40



(式中 Ar は下記式 (IIIa) - (IIIf) からなる群

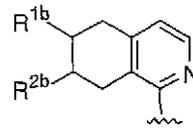
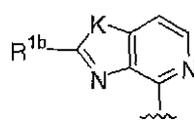


(IIId)

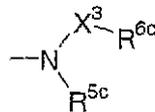


(IIIe)

(IIIf)



(式中、K は硫黄原子、酸素原子、または式 - NH - で表わされる基を意味する；
R^{1b}、R^{2b} は同一または相異なってそれぞれ水素原子、ハロゲン原子、水酸基、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、トリフルオロメトキシ基、式



(式中 X³ は単結合、カルボニル基、または式 - S(O)₂ - で表わされる基を意味する；

R^{5c} および R^{6c} は同一または相異なっていて、水素原子、置換されていてもよい C₁ -
6 アルキル基を意味する) で表わされる基、または式 - X⁴ - R^{8a} (式中、X⁴ は、
単結合、酸素原子、または硫黄原子を意味する； R^{8a} は C₁ - 6 アルキル基、C₂ - 6
アルケニル基、C₂ - 6 アルキニル基、C₃ - 8 シクロアルキル基、または C₃ - 8 シク
ロアルケニル基を意味する) で表わされる基を示す。また、R^{1b}、R^{2b} は一緒になっ
てメチレンジオキシ基、または 1, 2 - エチレンジオキシ基を形成してもよい。) から選
ばれる置換基を意味する；

R^{3b}、および R^{4b} は同一または相異なってそれぞれ、水素原子、ハロゲン原子、水酸
基、ニトロ基、シアノ基、カルボキシ基、ホルミル基、ヒドロキシイミノ基、トリフル
オロメチル基、トリフルオロメトキシ基、C₁ - 6 アルキル基、C₁ - 6 アルコキシ基、
C₂ - 6 アルケニル基、C₂ - 6 アルキニル基、または式、
- Z^{1b} - Z^{2b}

(式中、Z^{1b} は単結合、ビニレン基、またはエチニレン基を意味する；

Z^{2b} は単結合、または 0 ないし 4 個の置換基で置換されてもよい C₁ - 6 アルキル基を
意味する) で表わされる基を意味する。；

ただし (1) Ar が、R^{1b} および R^{2b} がともに水素原子である前記式 (III d) で
表わされる場合、(2) R^{3b} または R^{4b} の少なくとも一方が水素原子を示し、もう一
方が水素原子、メトキシ基、水酸基、メチル基、ベンジルオキシ基、またはハロゲン原子
であり、Ar が、R^{1b} および R^{2b} がともに水素原子またはメトキシ基を意味する前記
式 (III c) で表わされる場合、(3) R^{3b} または R^{4b} の少なくとも一方が水素原
子を示し、もう一方が水素原子、水酸基、メトキシ基、またはベンジルオキシ基であり、
Ar が、R^{1b} および R^{2b} がともに水酸基またはベンジルオキシ基を意味する前記式 (I
III c) で表わされる場合、または (4) Ar が、R^{1b} が水素原子で R^{2b} がホルミ

10

20

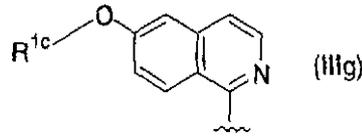
30

40

50

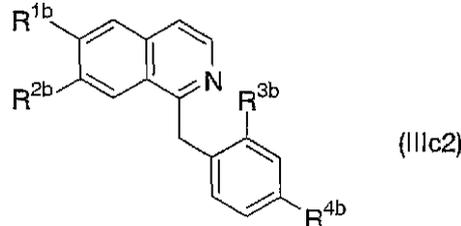
ル基、ヒドロキシメチル基またはメトキシカルボニル基である前記式 (I I I d) で表わされる場合を除く。) で示される化合物もしくはその塩またはそれらの水和物

18. Ar が式、



(式中、 R^{1c} が水素原子、置換されてもよい C_{1-6} アルキル基、ベンジル基を意味する) で表わされ、かつ R^{3b} が水素原子を意味する場合を除いた、17. 記載の化合物もしくはその塩またはそれらの水和物

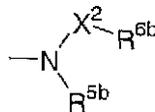
19. 一般式 (I I I c 2)



(式中 R^{1b} 、 R^{2b} は前記定義と同意義を意味する。ただし、(1) R^{1b} が式 $R^{1c} - O -$ (式中、 R^{1c} は前記定義と同意義を意味する) で表わされる基であり、 R^{2b} が水素原子であり、 R^{3b} が水素原子を意味する場合、(2) R^{3b} または R^{4b} の少なくとも一方が水素原子を示し、もう一方が水素原子、メトキシ基、水酸基、メチル基、ベンジルオキシ基、またはハロゲン原子であり、 R^{1b} および R^{2b} がともに水素原子またはメトキシ基を意味する場合、または (3) R^{3b} または R^{4b} の少なくとも一方が水素原子を示し、もう一方が水素原子、水酸基、メトキシ基、またはベンジルオキシ基であり、 R^{1b} および R^{2b} がともに水酸基またはベンジルオキシ基を意味する場合を除く。) で表される化合物もしくはその塩またはそれらの水和物

20. 抗真菌作用を有する前記 17. 記載の抗真菌剤

21. R^{3a} 、および R^{4a} のうち少なくとも 1 つが、式 $-C(O)NR^{7a}R^{7b}$ (式中、 R^{7a} および R^{7b} は前記定義と同意義を意味する)、式 $-CO_2R^{7a}$ (式中、 R^{7a} は前記定義と同意義を意味する)、式 $-S(O)_nR^{7a}$ (式中、 n は 0 ないし 2 の整数を意味する。 R^{7a} は前記定義と同意義を意味する)、式 $-S(O)_2NR^{7a}R^{7b}$ (式中、 R^{7a} および R^{7b} は前記定義と同意義を意味する)、式



(式中 X^2 、 R^{5b} および R^{6b} は前記定義と同意義を意味する) で表わされる基、または 0 ないし 4 個の置換基で置換されてもよい C_{1-6} アルコキシ基を意味し、または R^{3a} と R^{4a} は一緒になって、メチレンジオキシ基、または 1, 2 - エチレンジオキシ基を意味する前記 15. 記載の抗真菌剤

22. 抗真菌作用を有する化合物が、(1) 1 - ベンジルイソキノリン、(2) 1 - (4 - プロモベンジル) イソキノリン、(3) 1 - (4 - クロロベンジル) イソキノリン、(4) 1 - (4 - フルオロベンジル) イソキノリン、(5) 1 - (4 - ヨードベンジル) イソキノリン、(6) 1 - (3 - メチルベンジル) イソキノリン、(7) 1 - (4 - メチルベンジル) イソキノリン、(8) 1 - (3, 4 - ジメチルベンジル) イソキノリン、(9) 1 - (3 - メトキシベンジル) イソキノリン、(10) 1 - (4 - メトキシベンジル) イソキノリン、(11) 1 - (3, 4 - メチレンジオキシベンジル) イソキノリン、(12) 1 - (4 - ベンジルオキシベンジル) イソキノリン、(13) 1 - (4 - シアノベンジル) イソキノリン、(14) 1 - (4 - ニトロベンジル) イソキノリン、(15) 1 - (4 - アミノベンジル) イソキノリン、(16) 1 - (4 - メトキシベンジル) - 6, 7 - ジクロロ - イソキノリン、(17) 1 - (4 - メトキシ - 2 - ニトロ - ベンジル) - イ

10

20

30

40

50

ソキノリン、(18)1-(4-メトキシベンジル)-6,7-メチレンジオキシ-イソキノリン、(19)1-(2-アミノ-4-メトキシ-ベンジル)イソキノリン、(20)1-(4-メトキシベンジル)-7-ヒドロキシ-6-メトキシ-イソキノリン、(21)1-(4-ベンジルオキシベンジル)-6,7-ジメトキシ-イソキノリン、(22)1-(4-メトキシベンジル)-6,7-ジメトキシ-イソキノリン、(23)1-(4-メトキシ-2-ニトロ-ベンジル)-イソキノリン、(24)3-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]プロピルシアニド、(25)1-[4-(2,2,3,3-テトラフルオロプロポキシ)ベンジル]イソキノリン、(26)1-[4-(2-ピペリジノエトキシ)ベンジル]イソキノリン、(27)4-(1-イソキノリルメチル)フェニル(2-モルフォリノエチル)エーテル、(28)1-[4-(2-メトキシエトキシ)ベンジル]イソキノリン、(29)N-{2-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]エチル}-N,N-ジメチルアミン、(30)1-[4-(フェネチルオキシ)ベンジル]イソキノリン、(31)1-{4-[2-メチルアリル]オキシ}ベンジル}イソキノリン、(32)1-(4-イソブトキシベンジル)イソキノリン、(33)1-[4-(2-フェノキシエトキシ)ベンジル]イソキノリン、(34)メチル2-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]アセテート、(35)2-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]-1-エタノール、(36)t-ブチルN-{2-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]エチル}カーバメート、(37)1-{4-[3-(テトラヒドロ-2H-2-ピラニルオキシ)プロポキシ]ベンジル}イソキノリン、(38)2-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]-1-エタンアミン、(39)1-[4-(3-ピペリジノプロポキシ)ベンジル]イソキノリン、(49)3-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]-1-プロパノール、(41)1-[4-(2-エチルブトキシ)ベンジル]イソキノリン、(42)4-[4-(1-イソキノリルメチル)フェノキシ]ブタノイックアシッド、(43)1-(4-{3-[4-(4-ベンジルピペラジノ)スルフォニル]プロポキシ}ベンジル)イソキノリン、(44)1-(4-{3-[4-(4-クロロフェニル)ピペラジノ]プロポキシ}ベンジル)イソキノリン、(45)4-(1-イソキノリルメチル)アニリン、(46)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]ブタンアミド、(47)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]プロパンアミド、(48)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-1-エタンスルフォンアミド、(49)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-N-メチル-エタンスルフォンアミド、(50)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-N-メチルアミン、(51)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-N-プロピルアミン、または(52)N-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-N-メチル-N-プロピルアミンである前記15.記載の抗真菌剤

10

20

30

23. 治効量の請求項13から22のいずれかに記載の抗真菌剤を哺乳動物に投与することを含む、真菌感染症の治療方法、に関する。

以下に、本願明細書において記載する用語、記号等の意義を説明し、本発明を詳細に説明する。

なお、本願明細書中においては、化合物の構造式が便宜上一定の異性体を表すことがあるが、本発明には化合物の構造上生ずる総ての幾何異性体、不斉炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体等の異性体および異性体混合物を含み、便宜上の式の記載に限定されるものではなく、いずれか一方の異性体でも混合物でもよい。従って、分子内に不斉炭素原子を有し光学活性体およびラセミ体が存在することがあり得るが、本発明においては特に限定されず、いずれの場合も含まれる。さらに結晶多形が存在することもあるが同様に限定されず、いずれかの結晶形単一または混合物であってもよく、また、無水物であっても水和物であってもどちらでもよい。

40

また本発明化合物が、生体内で酸化、還元、加水分解、または抱合などの代謝を受けて抗真菌作用を示す化合物も含有する。またさらに、本発明は生体内で酸化、還元、加水分解などの代謝を受けて本発明化合物を精製する化合物をも含有する。

50

本明細書中において表される「 C_{1-6} アルキル基」とは、炭素数1ないし6個の直鎖状または分枝鎖状のアルキル基を意味し、具体的には例えばメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*i*-ペンチル基、ネオペンチル基、*n*-ヘキシル基、1-メチルプロピル基、1,2-ジメチルプロピル基、2-エチルプロピル基、1-メチル-2-エチルプロピル基、1-エチル-2-メチルプロピル基、1,1,2-トリメチルプロピル基、1-メチルブチル基、2-メチルブチル基、1,1-ジメチルブチル基、2,2-ジメチルブチル基、2-エチルブチル基、1,3-ジメチルブチル基、2-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基等があげられる。

本明細書中において表される「 C_{2-6} アルケニル基」とは、炭素数2ないし6個の直鎖状または分枝鎖状のアルケニル基を意味し、具体的には例えばビニル基、アリル基、1-プロベニル基、イソプロベニル基、1-ブテン-1-イル基、1-ブテン-2-イル基、1-ブテン-3-イル基、2-ブテン-1-イル基、2-ブテン-2-イル基等があげられる。

本明細書中において表される「 C_{2-6} アルキニル基」とは、炭素数2ないし6個の直鎖状または分枝鎖状のアルキニル基を意味し、具体的には例えば、エチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基、ブチニル基、ペンチニル基、ヘキシニル基等があげられる。

本明細書中において表される「 C_{1-6} アルコキシ基」とは前記定義の「 C_{1-6} アルキル基」が結合したオキシ基であることを意味し、具体的には、例えばメトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、*i*-プロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*i*-ブトキシ基、*sec*-ブトキシ基、*t*-ブトキシ基、*n*-ペンチルオキシ基、*i*-ペンチルオキシ基、*sec*-ペンチルオキシ基、*t*-ペンチルオキシ基、ネオペンチルオキシ基、1-メチルブトキシ基、2-メチルブトキシ基、1,1-ジメチルプロポキシ基、1,2-ジメチルプロポキシ基、*n*-ヘキシルオキシ基、*i*-ヘキシルオキシ基、1-メチルペンチルオキシ基、2-メチルペンチルオキシ基、3-メチルペンチルオキシ基、1,1-ジメチルブトキシ基、1,2-ジメチルブトキシ基、2,2-ジメチルブトキシ基、1,3-ジメチルブトキシ基、2,3-ジメチルブトキシ基、3,3-ジメチルブトキシ基、1-エチルブトキシ基、2-エチルブトキシ基、1,1,2-トリメチルプロポキシ基、1,2,2-トリメチルプロポキシ基、1-エチル-1-メチルプロポキシ基、1-エチル-2-メチルプロポキシ基などが挙げられる。

本明細書中において表される「 C_{6-14} アリール基」とは、炭素数6ないし14の芳香族環基をいい、具体的には例えば、フェニル基、1-ナフチル基、2-ナフチル基、*as*-インダセニル基、*S*-インダセニル基、アセナフチレニル基などが挙げられる。

本明細書中において表わされる「ハロゲン原子」とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を意味する。

本明細書中において表わされる「置換されていてもよい」とは、「置換可能な部位に、任意に組み合わせて1または複数個の置換基を有してもよい」と同意義であり、置換基は具体的には例えば、水素原子、ハロゲン、ニトロ基、シアノ基、ヒドロキシル基、メルカプト基、ヒドロキシアルキル基、カルボキシル基、 C_{1-6} アルコキシカルボニル基、 C_{2-7} アシルアミノ基、 C_{1-6} アルキルアミノ基、ピリジル基、 C_{1-6} アルキルスルフィニル基、 C_{1-6} アルキルスルフォニル基、 C_{1-6} アルキルスルファモイル基、 C_{1-6} アルキルスルフィナモイル基、 C_{1-6} アルキルスルフェナモイル基、テトラヒドロピラニル基、 C_{1-6} アルキルカルバモイル基、または式 $-X^4-R^{8a}$ (式中、 X^4 は、単結合、酸素原子、または硫黄原子を意味する； R^{8a} は C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルケニル基、 C_{2-6} アルキニル基、 C_{6-14} アリール基、 C_{3-8} シクロアルキル基、または C_{3-8} シクロアルケニル基を意味する)などが挙げられる。

本明細書中において表わされる「0ないし4個の置換基で置換されていてもよい」とは、「置換可能な部位に、任意に組み合わせて1または4個の置換基を有してもよい」と同意義であり、置換基は前記定義と同意義である。

本発明における「塩」とは薬理学的に許容される塩を示し、本発明化合物と付加塩を形成

10

20

30

40

50

したものであれば特に限定されないが、好ましい例としては、フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩などのハロゲン化水素酸塩；硫酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、リン酸塩、炭酸塩、重炭酸塩などの無機酸塩；酢酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩などの有機カルボン酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩などの有機スルホン酸塩；アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩などのアミノ酸塩；トリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、プロカイン塩、ピリジン塩、フェネチルベンジルアミン塩などのアミンとの塩；ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；マグネシウム塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属塩等があげられる。以下に本発明に記載された、1. 細胞壁合成に關与する蛋白質をコードするDNAを得る方法、2. 被検試料がGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を及ぼすか否かを検定する方法、3. 前記式(Ia)の化合物を得る方法について開示する。

10

1. 真菌の細胞壁合成に關与する蛋白質をコードするDNAを得る方法

以下に、(1). 真菌に過剰発現することにより、前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を獲得する蛋白質をコードするDNAを得る方法、(2). 配列番号1、配列番号3あるいは配列番号5に記載のDNAとストリンジェントな条件でハイブリダイズするDNAを得る方法、(3). ホモロジー検索を基に、真菌の細胞壁合成に關与する蛋白質をコードするDNAを得る方法、(4). 前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を獲得する蛋白質を過剰発現、あるいは欠失した真菌を得る方法について述べる。

(1). 真菌に過剰発現することにより、前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を獲得する蛋白質をコードするDNAを得る方法

20

ここで真菌とは、接合菌・子囊菌・担子菌・不完全菌門に属すもので、好ましくは病原性真菌、*Mucor*・*Saccharomyces*・*Candida*・*Cryptococcus*・*Trichosporon*・*Malassezia*・*Aspergillus*・*Trichophyton*・*Microsporum*・*Sporothrix*・*Blastomyces*・*Coccidioides*・*Paracoccidioides*・*Penicillium*・*Fusarium*であり、更に好ましくは*C. albicans*・*C. glabrata*、*C. neoformans*及び*A. fumigatus*である。遺伝的な解析の容易な*S. cerevisiae*及び*S. pombe*も好ましい菌種である。

30

真菌に、当該真菌遺伝子のプラスミドライブラリーを導入する。*S. cerevisiae*及び*S. pombe*のプラスミドライブラリーはATCC(Information for ATCC Number: 37323)から入手可能であり、*C. albicans*のプラスミドライブラリーはNavarro-Garcia *et al*, *Mol. Cell. Biol.*, 15: 2197-2206, 1995に記載の方法により作製可能である。得られたプラスミドライブラリーは、Gietz *et al*, *Nucleic Acids Res.* 20: 1425, 1992に記載の方法により真菌に導入する。あるいは、YEASTMAKERTM Yeast Transformation System(ClonTech)等のキットを使うことも許される。

プラスミドライブラリーを導入した真菌は、前記式(Ia)に記載の化合物の存在下で培養する。具体的には、前記式(Ia)に記載の化合物を1.56 µg/mlから25 µg/ml、好ましくは1.56 µg/mlから6.25 µg/ml、更に好ましくは3.125 µg/mlの濃度を含む寒天培地上にプラスミドライブラリーを導入した真菌を接種し、適当な時間、30 から42 で2日から5日、好ましくは37 で3日間培養する。増殖してきたコロニーを、前記式(Ia)に記載の化合物を含む培地中で更に培養し、増殖させた菌体よりプラスミドを精製する。プラスミドの精製は、例えばMETHODS IN ENZYMOLOGY, Vol, 194: 169-182(1991)に記載の方法に行うことができる。

40

得られたプラスミドは、好ましくは直接塩基配列を決定するが、必要であれば、適当なベクター、例えば塩基配列の決定に適したpBluescript II、pUC19等に

50

リクローニングを行い、塩基配列を決定する。塩基配列の決定は、例えばABI 377 system (PE Applied Biosystems社製) マニュアルに記載の方法で行うことができる。

本発明の実施例においては、*S. cerevisiae*では独立に取得した27コロニーの全てが、*C. albicans*では30コロニー中28コロニーが、本発明に記載のDNAを含んでいた。前記式(Ia)に記載の化合物に対して耐性を付与する遺伝子は、該真菌にただ一つ存在し、上記の方法により取得することが可能である。

(2) . 配列番号1、配列番号3あるいは配列番号5に記載のDNAとストリンジェントな条件でハイブリダイズするDNAを得る方法

本発明に記載の、真菌の細胞壁合成に関与する蛋白質をコードするDNAを得る方法としては、例えば*S. cerevisiae*の遺伝子DNAを鋳型とし、配列番号1に記載の塩基配列の情報よりプライマーを設計して、あるいは*C. albicans*の遺伝子DNAを鋳型とし、配列番号3あるいは配列番号5に記載の塩基配列の情報よりプライマーを設計して、PCRを行い、増幅されたDNAを適当なベクター、例えばpBlueScript等にクローニングすることにより得る方法が挙げられる。プライマーは増幅したい領域に応じて適宜設計するが、好ましくは15bp以上、更に好ましくは20bp以上の長さが望ましく、場合によっては制限酵素部位等、後のDNA構築に必要な配列を付加しても構わない。PCRの条件はプライマーの長さ、増幅する領域の長さ、用いる鋳型DNAの量等に合わせ適宜決定できる。例えば*C. albicans*の遺伝子DNA 200ngを鋳型とし、配列番号21及び配列番号22をプライマーとして94 4分 (94 30秒 68 5分) x 35サイクル 72 4分の条件で、真菌の細胞壁合成に関与する蛋白質をコードするDNAを得ることができる。

PCRで得られたDNAは、細胞壁合成に関与する蛋白質をコードするDNAとホモロジーのある、他類の真菌のDNAを得るためのプローブとしても使用することができる。具体的には、例えば*S. cerevisiae*の細胞壁合成に関与する蛋白質をコードする、*C. albicans*の相同遺伝子を得るために、*C. albicans*の遺伝子ライブラリーあるいはc-DNAライブラリーから、*S. cerevisiae*の遺伝子DNAを鋳型としてPCRで得られたDNAをプローブとし、ストリンジェントな条件で、ハイブリダイズするDNAをクローニングを行うことができる。ここでストリンジェントな条件とは、例えば65 4 x SSCにおけるハイブリダイゼーション、次いで65 1時間0.1 x SSC中での洗浄である。また別法としてストリンジェントな条件は、50%ホルムアミド中42 4 x SSCである。また、PerfectHybTM (TOYOBO) 溶液中65 2.5時間ハイブリダイゼーション、次いで1) . 2 x SSC, 0.05% SDS溶液: 25 5分、2) . 2 x SSC, 0.05% SDS溶液: 25 15分、3) . 0.1 x SSC, 0.1% SDS溶液50 20分の洗浄といった条件も許される。

本発明の実施例では、サザンブロット解析により、*C. albicans*には配列番号1に記載するDNAとハイブリダイズする遺伝子が1つだけ存在することが明らかとなり、更に該遺伝子をクローニングしたことが示されている。上記方法により、配列番号1あるいは配列番号3とハイブリダイズするDNAを取得することが可能である。

(3) . ホモロジー検索を基に、真菌の細胞壁合成に関与する蛋白質をコードするDNAを得る方法

本発明により、*S. cerevisiae*, *C. albicans*, *S. pombe*, *A. fumigatus*及び*C. neoformans*のGWT1ホモログが明らかとなっている。これら遺伝子の間で保存されている領域は、GWT1遺伝子産物が機能を発揮するために重要であると考えられ、これ以外の真菌においても保存されている可能性が高い。

そこで、保存されている領域のアミノ酸配列を基に、プローブを作製してハイブリダイズを行う、あるいはプライマーを設定してPCRを行うことにより、真菌の細胞壁合成に関与する蛋白質をコードするDNAを得ることができる。PCRのプライマーは、保存され

10

20

30

40

50

ている領域をコードするように設定されれば、如何なる配列も許されるが、好ましくは配列番号29及び31あるいは配列番号29及び30が望ましい。

また別法としては、データベースに登録された遺伝子断片から、GWT1とホモロジーを示す塩基配列を探し出し、その塩基配列を基にプライマーを設定して、cDNAより、あるいはゲノムDNAよりPCRを行うことにより、真菌の細胞壁合成に關与する蛋白質をコードするDNAを得ることができる。

得られた配列を基に、全長遺伝子を得るPCRの方法としては、3' RACE・5' RACE・inverse PCR等の手法が挙げられ、またハイブリダイズにより隣接した配列を含むクローンを選択することも可能である。これらの手法を組み合わせることにより、全長遺伝子を得ることができる。

(4) . 前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を獲得する蛋白質を過剰発現、あるいは欠失した真菌を得る方法

本発明に記載の、前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を獲得する蛋白質を過剰発現した真菌、好ましくは*S. cerevisiae*は、該蛋白質を発現する発現ベクター、例えば真菌で強制発現が可能なプロモーター、好ましくは出芽酵母エノラーゼ遺伝子(ENO1)のプロモーターの下流に、配列番号1に記載のDNAをつないだ発現ベクターを、真菌染色体上のある特定の位置に挿入する方法により得られる。

挿入する方法は、例えばpRS304(Sikorski RS et al, Genetics. 122(1):19-27, 1989)のマルチクローニングサイトに挿入したい配列を挿入し、インテグレーション用ベクターを作製して、真菌に導入することにより行うことができる。詳しい方法はMETHODS IN ENZYMOLOGY Vol. 194:281-301(1991)を参照できる。

また*C. albicans*の過剰発現株は、*C. albicans*用発現ベクター、例えばpCAR1、pRM1等(Plajet al, Yeast 12:1677-1702, 1996)に配列番号3あるいは配列番号5に記載の遺伝子を組み込んで*C. albicans*に形質転換する(Sanglard D et al, Antimicrobiol. Agents Chemother. 40:2300-2305, 1996)ことにより得られる。

本発明に記載の、前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を獲得する遺伝子を欠失した真菌、好ましくは*S. cerevisiae*は、以下の方法により得ることができるが、この例示によって本発明は限定されない。

マーカー遺伝子、好ましくは*S. pombe*の*his5*遺伝子を鋳型とし、両端に30bp以上好ましくは40bp以上の欠失したい遺伝子、*S. cerevisiae*の場合配列番号1に記載の遺伝子の配列を含んだPCR産物が得られるように設計したプライマーを用いPCR増幅を行う。PCR産物を精製し、真菌に導入後、マーカー遺伝子に対応した選択、*his5*であれば*his⁻*の培地で培養して、欠失株を得ることができる。

また、*C. albicans*の欠失株は、配列番号3あるいは配列番号5に記載の塩基配列情報を基に、*hisG-URA3-hisG*カセットを用いた常法(Fonzi WA et al, Genetics 134:717-728, 1993)により得られる。

2. 被検試料がGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を及ぼすか否かを検定する方法

被検試料が、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害するか否か、あるいはGPIアンカー蛋白質の真菌表層への発現を阻害するか否かは、(1). レポータ酵素を用いる方法、(2). 真菌細胞壁の表層糖蛋白質と反応する抗体を用いる方法、(3). 動物細胞に対する付着能により検定する方法、(4). 真菌を光学顕微鏡あるいは電子顕微鏡で観察する方法により検定できる。

以下に説明する(1)~(4)の方法により、好ましくは(1)~(4)の方法を組み合わせるにより、被検試料がGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する、あるいはGPIアンカー蛋白質の真菌表層への発現を阻害すると判断され、しかも

10

20

30

40

50

本件発明に記載のDNAがコードする蛋白質を、真菌に過剰発現させることにより、その阻害の程度が減弱する、あるいは阻害が見られなくなる場合に、被検試料は、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与えたと判断される。

以下、(1)～(4)の方法を説明する。

(1) レポータ酵素を用いる方法

GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程は、例えばGPIアンカー蛋白質を放射性同位元素で標識し、真菌細胞壁画分を分画後、GPIアンカー蛋白質に対する抗体による免疫沈降を行うといったトレーサー実験により定量することが可能である。また、より容易には、GPIアンカー蛋白質に共通して見られ、輸送のシグナルとして働いていると考えられるC末端配列を、測定の容易な酵素との融合蛋白質(レポータ酵素)として発現させ、真菌細胞壁画分を分画後、各画分の酵素活性を測定するレポータ系により定量することが可能である(Van Berkel MAA et al, F E B S L e t t e r s , 3 4 9 : 1 3 5 - 1 3 8 , 1 9 9 4)。以下にレポータ酵素を用いた方法について説明するが、これは本発明を限定するものではない。

まず、レポータ遺伝子を構築し真菌に導入する。レポータ遺伝子は、真菌で働くプロモータ配列に続き、それぞれシグナル配列・レポータ酵素・GPIアンカー蛋白質C末端配列をコードするDNAを、reading frameを合わせてつなぎ合わせて構築する。プロモータ配列としては、例えばGAL10、ENO1のプロモータの配列等が挙げられる。シグナル配列としては、例えば -ファクター、インペルターゼ、リゾチームのシグナル配列等が挙げられる。レポータ酵素としては、例えば ラクタマーゼ・リゾチーム・アルカリホスファターゼ・ガラクトシダーゼ等が挙げられる。酵素活性は持たないが容易に検出が可能なGreen Fluorescence Protein(GFP)を用いても良い。GPIアンカー蛋白質C末端配列としては、例えば -agglutinin C末端配列・CWP2 C末端配列等が挙げられる。また、構築したレポータ遺伝子を含むベクター中に、適当な選択マーカ、例えばLEU2、URA3等を挿入しておくことが好ましい。

構築したレポータ遺伝子を適当な方法、例えば酢酸リチウム法(Gietz D et al, Nucl. Acids Res. 20:1425, 1992)により真菌に導入し、必要であれば選択マーカに適した方法、LEU2であればLeu⁻の培地、URA3であればUra⁻の培地で培養し、DNAが導入された真菌を選択する。

被検試料がGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与えるか否かは、以下の方法により検定する。

レポータ遺伝子を導入した真菌を、被検試料の存在下、適当な条件、例えば30℃で48時間培養する。培養後、培養上清を遠心分離し、培養上清画分のレポータ酵素の活性を測定する。残された菌体画分は、洗浄後、適当な方法例えばグルカナーゼで細胞壁グルカンを分解することにより、細胞壁成分を分離し、細胞壁画分及び細胞質画分のレポータ酵素の活性を測定する。なおアッセイを簡便に行うため、遠心分離後、菌体の洗浄は行わずに、菌体画分中に残る培養上清画分由来のレポータ酵素量を比例計算により求め、菌体画分のレポータ酵素量から差し引いて菌体画分中のレポータ酵素量とすることも許される。

被検試料に、一細胞当たりの培養上清画分中のレポータ酵素活性を上昇させる、あるいは一細胞当たりの細胞壁画分中のレポータ酵素活性を低下させる活性が認められれば、該被検試料はGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与えたと判断される。

(2) 真菌細胞壁の表層糖蛋白質と反応する抗体を用いる方法

被検試料がGPIアンカー蛋白質の真菌表層での発現に影響を与えるか否かは、真菌細胞壁中のGPIアンカー蛋白質を、該蛋白質と反応する抗体によって定量することにより検出が可能である。

抗体としては、例えばGPIアンカー蛋白質例えば -agglutinin・Cwp2p・Als1p等のアミノ酸配列より抗原決定基を予想して(Chen MH et al, J. Biol. Chem., 270:26168-26177, 1995, Van Der Vaat JM et al, J. Bacteriol., 177:3104-

10

20

30

40

50

3110, 1995, Hoyer LL et al Mol. Microbiol., 15: 39-54, 1995)、その領域のペプチドを合成し、抗原性のある物質例えば異種蛋白質等に結合させて、家兎等に免疫してポリクローナル抗体を、マウス等に免疫してモノクローナル抗体を得ることが可能である。また、好ましくは、A1s1pペプチドに対する家兎ポリクローナル抗体が望ましい。

また別法として真菌、好ましくはGPIアンカー蛋白質例えば - agglutinin・Cwp2p・A1s1p等を過剰発現させた真菌を、場合によっては更に部分精製したGPIアンカー蛋白質を、マウス等に免疫し、融合後得られたクローンを、その産生する抗体をELISA・Western blot解析等で選択することにより、GPIアンカー蛋白質に対するモノクローナル抗体を得ることが可能である。

10

被検試料がGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与え、細胞壁中のGPIアンカー由来蛋白質の量を減少させるか否かは、以下の方法により検定できる。

真菌を、被検試料の存在下、適当な条件、例えば30、48時間培養する。培養した真菌を遠心により集菌し、菌体を好ましくはガラスビーズを用いて破碎する。洗浄した破碎菌体を、好ましくはSDSで抽出遠心後、沈殿を洗浄する。抽出後の破碎菌体を、グルカンを分解する酵素、好ましくはグルカナーゼで処理し、その遠心上清をGPIアンカー蛋白質サンプルとする。

抗A1s1pペプチド抗体を、96wellプレートに4、overnightでコーティングする。洗浄液好ましくは0.05% Tween 20含有PBS (PBST)で洗浄後、96wellプレートの非特異的吸着部位をブロックする試薬、好ましくはBSA・ゼラチン等の蛋白質、更に好ましくはブロックエースでブロッキングする。再度洗浄液好ましくはPBSTで洗浄後、場合によっては適当に希釈したGPIアンカー蛋白質サンプルを加え、適当な時間例えば室温で2時間反応させる。洗浄液好ましくはPBSTで洗浄後、酵素標識したC. albicansに対する抗体、好ましくはHRP標識抗カンジダ抗体を、適当な時間例えば室温で2時間反応させる。標識の方法は酵素標識であっても、放射性同位元素による標識であっても許される。洗浄液好ましくはPBSTで洗浄後、標識に適した方法、酵素標識であれば基質溶液を加え、反応停止後490nmの吸光度を測定することにより、GPIアンカー蛋白質サンプル中のA1s1p量を算出する。

20

(3) . 動物細胞に対する付着能により検定する方法

被検試料がGPIアンカー蛋白質の真菌表層での発現に影響を与えるか否かは、真菌細胞壁中のGPIアンカー蛋白質の活性、好ましくは真菌の動物細胞への付着能等を測定することにより、検定が可能である。GPIアンカー蛋白質の活性としては、動物細胞への付着に關与するA1s1p、Hwp1等の他に、matingに關与する - agglutinin、酵母の凝集に關与するFlo1p等が知られている。以下に、真菌の動物細胞への付着能により検定する方法について具体的に記載するが、本発明はこれにより限定されるものではない。

30

真菌としては、細胞に対する付着能を有する真菌を使用し、好ましくは真菌はC. albicansであることが望ましい。哺乳類細胞としては真菌が接着する性質を有する細胞を使用し、好ましくは細胞は腸管上皮細胞であることが望ましい。哺乳類細胞を培養し、適当な方法例えばエタノール固定により固定する。そこへ被検試料と適当な時間、例えば30で48時間インキュベートした真菌を接種し、一定時間例えば30で1時間培養後、培養上清を除去しバッファーで洗浄して寒天培地、例えばサブロー・デキストロース寒天培地(Difco)を重ねる。30一晚培養後、コロニー数をカウントし、付着率を計算する。

40

被検試料に、化合物処理を行わなかった真菌と比較して、細胞に付着することにより形成されたコロニー数を低下させる活性が認められれば、該被検試料はGPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与えたと判断される。

(4) . 真菌を電子顕微鏡あるいは光学顕微鏡で観察する方法

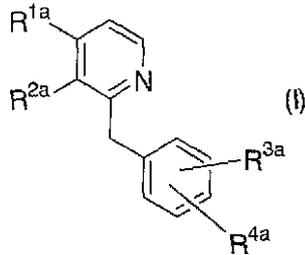
被検試料がGPIアンカー蛋白質の真菌表層での発現に影響を与えるか否かは、真菌細胞壁の構造を電子顕微鏡により観察することにより検定が可能である。

50

被検試料の存在下で、真菌例えば *C. albicans* を、一定時間例えば 30 で 48 時間培養し、透過型電子顕微鏡を用いて超微形態学的構造を観察する。ここで、透過型電子顕微鏡による観察は、例えば電子顕微鏡チャートマニュアル（医学出版センター）に記載の方法により行うことができる。透過型電子顕微鏡像で見られる、電子密度の高い菌体最外層の綿状線維構造は、GPIアンカー蛋白質を構成成分とする表層糖蛋白質層であると考えられ、既存の他の抗真菌剤では影響を受けない。無処置菌体と比較し、この電子密度の高い菌体最外層の綿状線維構造が、僅かな高電子密度の層を残して消失している場合は、該被検試料が、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与えたと判断される。

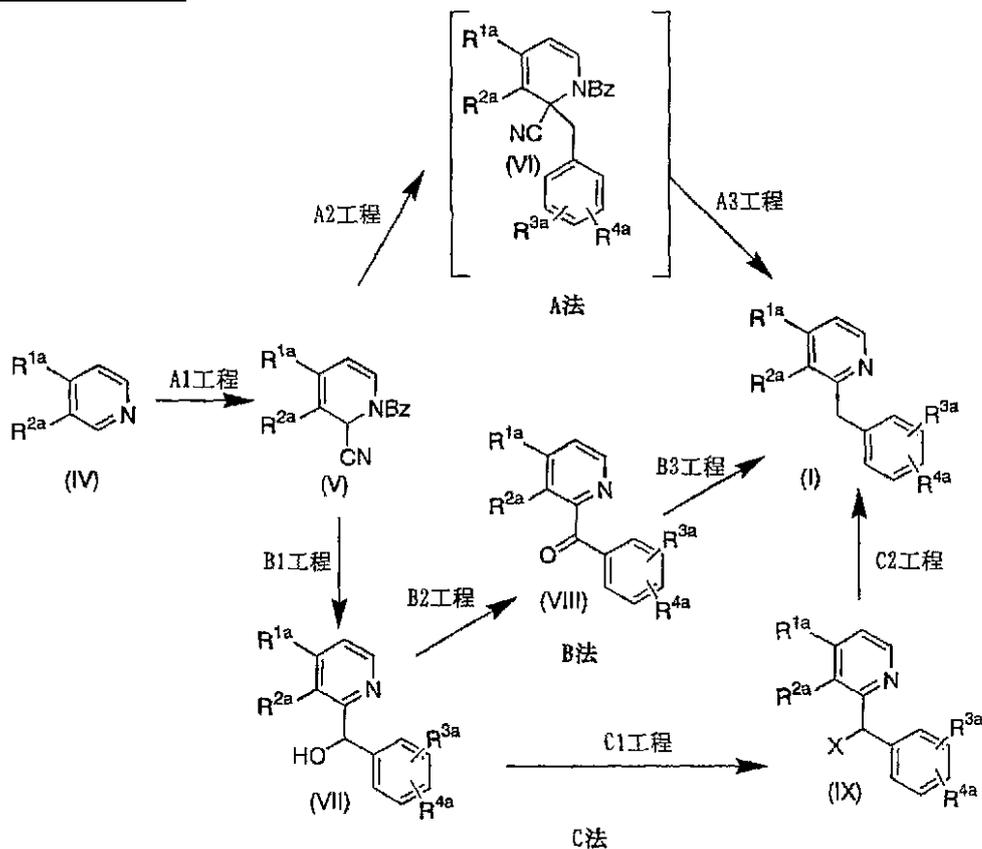
また透過型電子顕微鏡に併せ、光学顕微鏡下による観察で、真菌細胞が大きく膨化し出芽（分裂）が阻害されている像が観察される場合、該被検試料が細胞壁に対して影響を与えていると判断される。

式（I）



（式中の記号は前記定義に同意義を意味する。）で表わされる本発明化合物は、これまでに知られている通常の有機化学反応などを利用して合成することができるが、例えば以下の方法で合成することができる。

一般製造方法（1）



（式中、Xはハロゲン基、アシル基などの脱離基を表す。R^{3c}は、R^{3a}と同意義を示す。式中のその他の記号は前記定義と同意義を意味する。）

A1工程 ライセルト（Reissert）化合物（V）を製造する反応である。Org. Synth., VI, 115（1988）、Heterocycles, 36（11

10

20

30

40

50

), 2489 (1993)、J. Chem. Soc. (C), 666 (1969)、または J. Heterocycl. Chem., 29 (5), 1165 (1992) などの文献に記載の反応条件に基づいて製造することができる。用いる試薬としては具体的には、例えばベンゾイルクロリドとシアン化カリウムの組み合わせの条件等があげられる。

A 2 工程 アルキル化の工程である。化合物 (V) と置換基を有するベンジルハライド誘導体や置換基を有するベンジルメタンスルフォナート誘導体などと塩基存在下反応させることにより化合物 (VI) を製造することができる。塩基としては具体的には、例えば水素化ナトリウム、水酸化ナトリウムなどを挙げることができる。

A 3 工程 加水分解反応の工程である。化合物 (VI) を塩基存在下、加水分解することにより化合物 (I) を製造することができる。

A 法とは、A 1 工程、A 2 工程そして A 3 工程を経由して化合物 (I) を製造する方法である。

B 1 工程 化合物 (V) から化合物 (VII) への工程である。化合物 (V) と置換基を有するベンズアルデヒドを塩基と相間移動触媒の存在下、反応させることにより化合物 (VII) を製造することができる。例えば、塩基としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどが挙げられる。相間移動触媒としては、トリエチルベンジルアンモニウムクロリドなどが挙げられる。

B 2 工程 アルコールからケトンへの酸化の工程である。アルコールからケトンへの酸化反応で一般に用いられる酸化剤、条件を用いることによりケトン体 (VIII) を製造することができる。酸化剤としては具体的には、例えば二酸化マンガン、二酸化クロムまたはベンゾキノンなどが挙げられる。

B 3 工程 ケトンからメチレンへの還元工程である。ケトン体 (VIII) からメチレン体 (I) への還元反応で一般に用いられる還元剤の条件を用いることによりメチレン体 (I) を製造することができる。例えば、還元剤としては、ヒドラジン水和物と水酸化ナトリウムあるいは水酸化カリウム、トリエチルシランとボロントリフルオライドあるいはトリフルオロメタンスルホン酸などが挙げられる。

B 法とは、A 1 工程、B 1 工程、B 2 工程そして B 3 工程を経由して化合物 (I) を製造する方法である。

C 1 工程 水酸基のハロゲン化あるいはアシル化の工程である。化合物 (VII) をハロゲン化剤あるいはアシル化剤を用いて化合物 (IX) を製造することができる。ハロゲン化剤としては、例えば塩化チオニル、濃塩酸、三臭化リンなどがあげられる。また、アシル化剤としては、例えばアセチルクロリドなどの酸ハライド、無水酢酸などの酸無水物などが挙げられる。

C 2 工程 ハロゲン基あるいはアシル基の還元的脱離反応の工程である。化合物 (IX) を触媒などを用いて水素化脱離することにより化合物 (I) を製造することができる。例えば、触媒としては、パラジウム - 炭素などが挙げられる。

C 法とは、A 1 工程、B 1 工程、C 1 工程そして C 2 工程を経由して化合物 (I) を製造する方法である。

一般製造方法 (2)

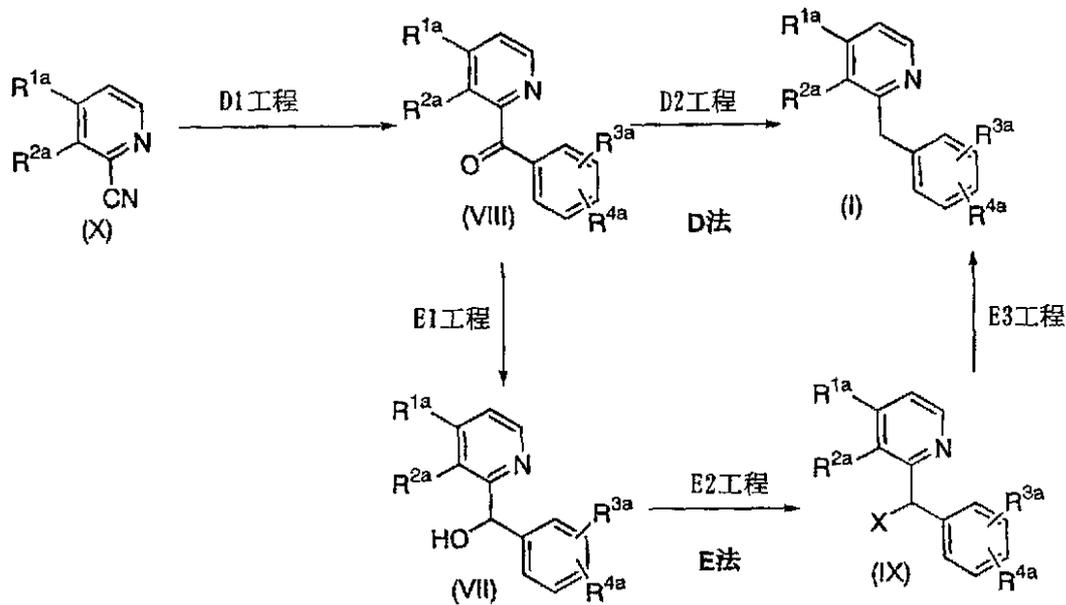
一般式 (I) で表わされる本発明化合物は、以下の方法でも合成することができる。

10

20

30

40



10

(式中、Xはハロゲン基、アシル基などの脱離基を表す。式中のその他の記号は前記定義と同意義を意味する。)

D1工程 グリニヤール反応とそれに続く酸加水分解反応の工程である。化合物(X)と置換基を有していてもよいフェニルグリニヤール試薬を反応させ、続いて酸存在下加水分解することにより化合物(VIII)を製造することができる。

20

D2工程 B3工程と同様な条件により、ケトン体(VIII)からメチレン体(I)を製造することができる。

D法とは、D1工程とD2工程を経由して化合物(I)を製造する方法である。

E1工程 ケトンからアルコールへの還元反応の工程である。ケトンからアルコールへの還元反応で一般に用いられる還元剤、条件を用いて化合物(VIII)から化合物(VII)を製造することができる。用いる還元剤としては具体的には、例えば水素化ホウ素ナトリウム、水素化アルミニウムリチウムなどが挙げられる。

E2工程 C1工程と同様な条件により、アルコール体(VII)からハロゲン化あるいはアシル化体(IX)を製造することができる。

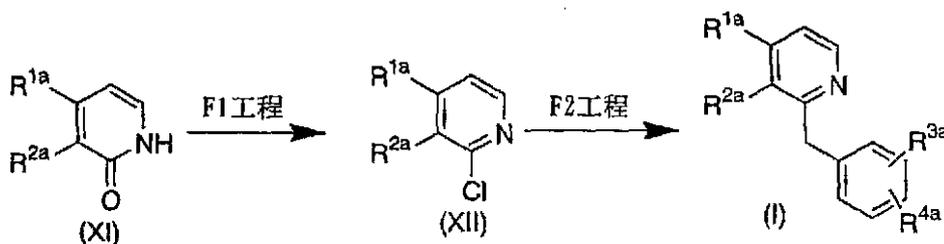
30

E3工程 C2工程と同様な還元的脱離反応の条件で、化合物(IX)から化合物(I)を製造することができる。

E法とは、D1工程、E1工程、E2工程そしてE3工程を経由して化合物(I)を製造する方法である。

一般製造方法(3)

一般式(I)で表わされる本発明化合物は、以下の方法でも合成することができる。



40

F法

(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

F1工程 塩素化反応の工程である。化合物(XI)を塩素化剤を用いることにより化合物(XII)を製造することができる。塩素化剤としては、例えばオキシ塩化リン、塩化チオニルなどが挙げられる。

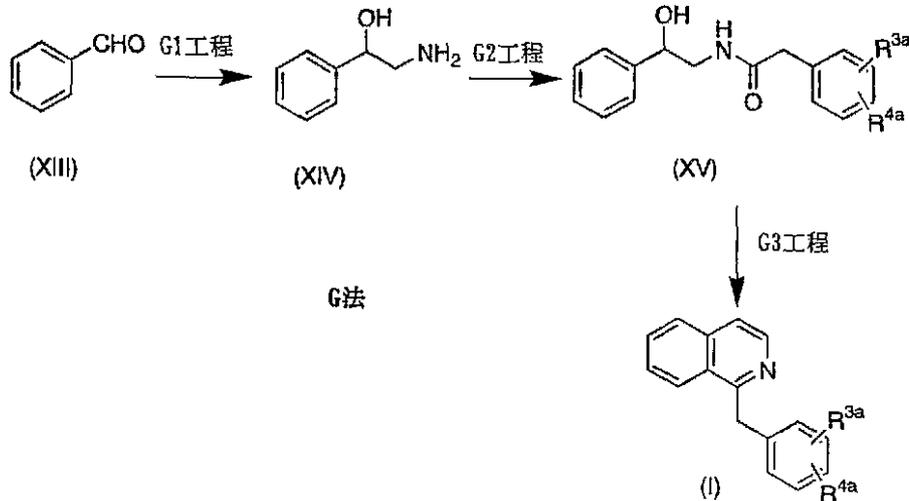
F2工程 グリニヤール試薬とのカップリング反応の工程である。Arch. Phar

50

m, 314, 156 (1981)などの文献に記載の反応条件に基づいて、化合物(XI I)に置換基を有していても良いベンジルグリニャール試薬を触媒存在下反応させることにより化合物(I)を製造することができる。触媒としては、例えば、[1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロニッケル(II)などが挙げられる。F法とは、F1工程とF2工程を経由して化合物(I)を製造する方法である。

一般製造方法(4)

本発明化合物、一般式(1)のうち、 R^{1a} と R^{2a} が一緒になってベンゼン環、ピリジン環、ピロール環、チオフェン環、フラン環、シクロヘキサン環、またはシクロペンタン環などの縮合環を形成する場合、以下の方法で合成することができる。



(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

製造方法の例としてイソキノリン環を形成する場合の製造方法を示す。

G1工程 縮合反応とそれに続く還元反応の工程である。置換基を有していてもよいベンズアルデヒド誘導体(XIII)とニトロメタンとの縮合反応後、ニトロ基の還元を行うことにより化合物(XIV)を製造することができる。例えば、ニトロ基の還元を用いられる試薬としては、パラジウム-炭素とギ酸アンモニウム、水素化アルミニウムリチウムなどの組み合わせが挙げられる。

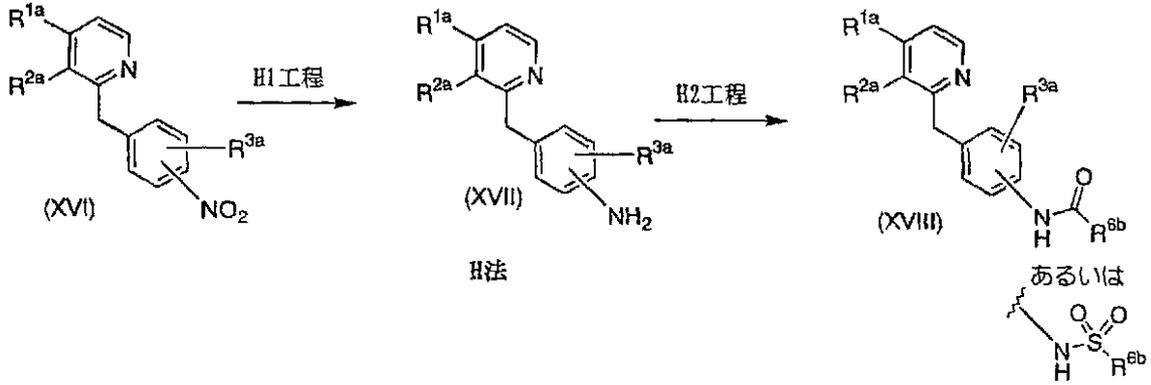
G2工程 アミド結合形成反応である。化合物(XIV)と置換基を有していてもよいフェニル酢酸クロリドをアミド結合生成反応に用いるカップリング試薬を用いることにより化合物(XV)を製造することができる。例えば、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドとN-ヒドロキシスクシンイミド、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドとN-ヒドロキシベンゾトリアゾール、1, 1'-カルボニルジイミダゾールなどが挙げられる。

G3工程 環化反応の工程である。化合物(XV)をOrganic Reaction, 6, 74 (1951)、J. Heterocyclic Chem., 30, 1581 (1993)などの文献に記載の反応条件に基づいて、製造することができる。例えば、試薬としてはオキシ塩化リン、ポリリン酸などが挙げられる。

G法とは、G1工程、G2工程そしてG3工程を経由して化合物(I)を製造する方法である。

一般製造方法(5-1)

前記の一般製造方法で合成した化合物(I)の R^{3a} 、 R^{4a} の置換基変換(5-1)アミノ基、アミド基、スルホンアミド基等への置換基の変換



10

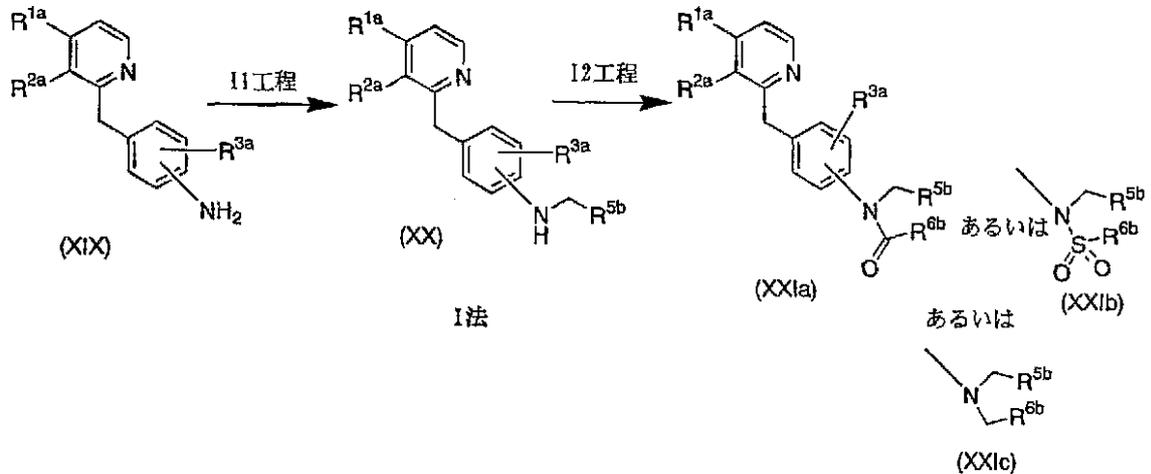
(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

H 1 工程 ニトロ基の還元反応である。化合物 (X V I) を一般的に利用されるニトロ基の還元法で還元することにより化合物 (X V I I) を製造することができる。例えば、ニトロ基の還元法としては、パラジウム - 炭素、水酸化パラジウムによる接触水素化還元、鉄 - 塩化アンモニウム、鉄 - 塩酸、鉄 - 酢酸などによる還元が挙げられる。

H 2 工程 アシル化あるいはスルフォニル化反応の工程である。化合物 (X V I I) を酸クロリドあるいは酸無水物を用いることにより化合物 (X V I I I) を製造することができる。

H 法とは、H 1 工程と H 2 工程を経由して化合物 (X V I I I) を製造する方法である。

20



30

(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

I 1 工程 還元的アミノ化反応の工程である。化合物 (X I X) と置換基を有していても良いアルデヒドを J . A m . C h e m . S o c . , 9 3 , 2 8 9 7 (1 9 7 1) 、 C o m p r e h e n s i v e O r g a n i c S y n t h e s e , 8 , 2 5 (1 9 9 1) 、 T e t r a h e d r o n , 4 0 , 1 7 8 3 (1 9 8 4) として T e t r a h e d r o n , 4 1 , 5 3 0 7 (1 9 8 5) などの文献に記載の反応条件に基づいて、化合物 (X X) を製造することができる。例えば、還元的アミノ化試薬としては、トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム、シアン水素化ホウ素ナトリウム、ボラン - ピリジン錯体、パラジウム - 炭素 / 水素等が挙げられる。

40

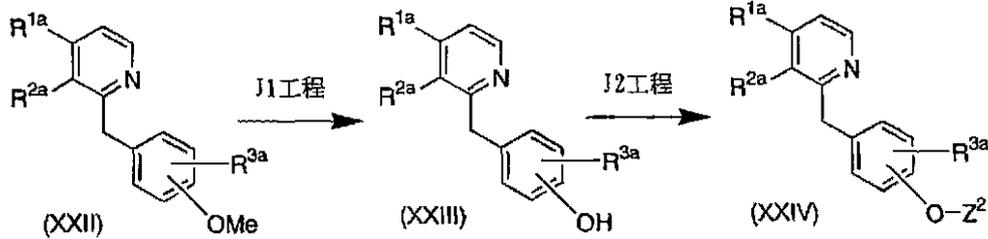
I 2 工程 アシル化、スルフォニル化あるいは還元的アミノ化反応の工程である。化合物 (X X) を酸クロリドあるいは酸無水物を用いることにより化合物 (X X I a) あるいは化合物 (X X I b) を製造することができる。または、還元的アミノ化反応を I 1 工程と同様に行うことにより化合物 (X X I c) を製造することができる。

I 法とは、I 1 工程と I 2 工程を経由することにより化合物 (X X I a) 、化合物 (X X I b) あるいは化合物 (X X I c) を製造する方法である。

一般製造方法 (5 - 2)

前記の一般製造方法で合成した化合物 (I) の R ^{3 a} 、 R ^{4 a} の置換基変換 (5 - 2) 水酸基、アルコキシ基等への置換基の変換

50



J法

(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

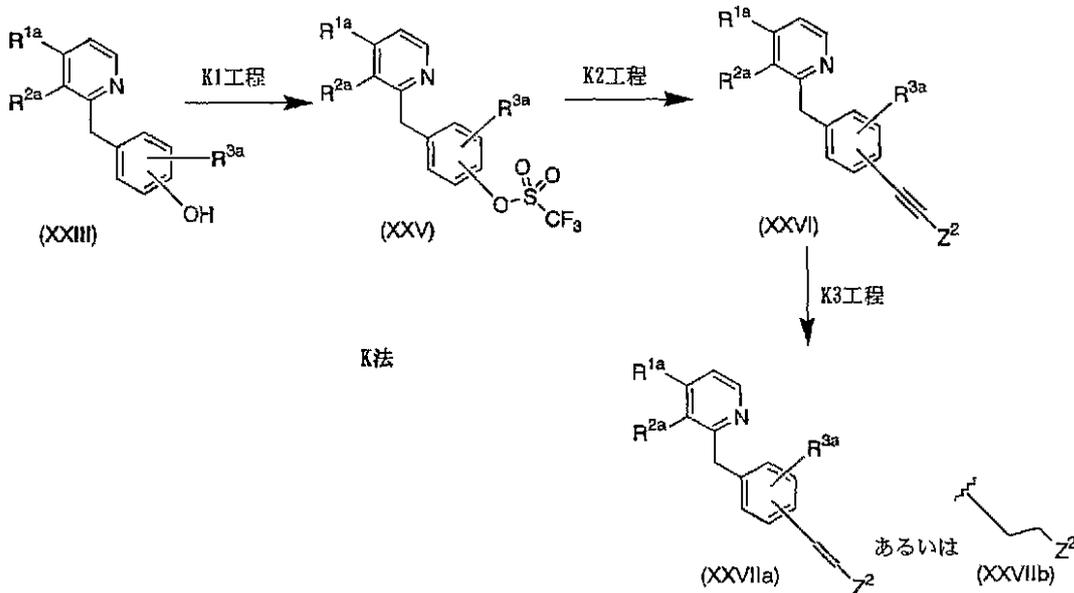
J1工程 脱メチル化反応で、Bull. Chem. Soc., Jpn., 44, 1986 (1971)、Org. Synth., Collect. Vol. V, 412 (1973)、J. Am. Chem. Soc., 78, 1380 (1956)、または J. Org. Chem., 42, 2761 (1977) などの文献に記載の反応条件に基づいて、化合物(XXII)から化合物(XXIII)を製造することができる。例えば、脱メチル化反応に使用される試薬としては、47%臭化水素酸水溶液、ポロントリブロミド、ピリジン塩酸塩そしてヨードトリメチルシランなどが挙げられる。

J2工程 アルキル化反応の工程である。化合物(XXIII)を塩基存在下置換基されていても良いアルキルハライドあるいは置換基されていてもよいアルキルメタンスルフォネートなどと反応させることにより化合物(XXIV)を製造することができる。

J法とは、J1工程とJ2工程を経由して化合物(XXIV)を製造する方法である。

一般製造方法(5-3)

前記の一般製造方法で合成した化合物(I)のR^{3a}、R^{4a}の置換基変換(5-3)ピニレン基またはエチニレン基、アルキル基等への置換基の変換



K法

(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

K1工程 トリフラート化反応の工程である。化合物(XXIII)を塩基存在下トリフルオロメタンスルホン酸無水物と反応させることにより化合物(XXV)を製造することができる。

K2工程 アルキンとのカップリング反応の工程である。化合物(XXV)とアルキン誘導体をパラジウムのホスフィン錯体、ヨウ化銅そして塩基存在下、カップリングすることにより化合物(XXVI)を製造することができる。例えば、パラジウムのホスフィン錯体を系中で生成させる試薬としては、パラジウム-炭素とトリフェニルホスフィン、テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(0)とトリフェニルホスフィン、ジクロロビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)、酢酸パラジウム(II)とトリ(ortho-トリル)ホスフィン、酢酸パラジウム(II)と1,1'-ビス(ジフェニルフォスフィ

10

20

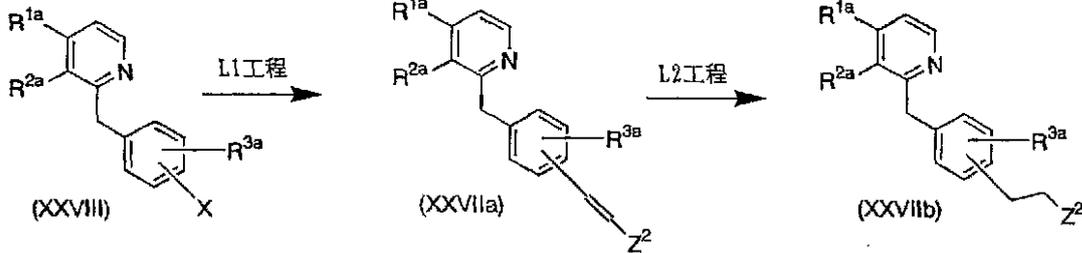
30

40

50

ノ) フェロセンなどが挙げられる。塩基としては、トリエチルアミン、ピペリジン、ピリジン、炭酸カリウムなどが挙げられる。反応により塩化リチウムを使用することがある。

K3工程 不飽和炭化水素の還元反応の工程である。化合物(XXVI)を触媒を用いた接触水素化還元などにより化合物(XXVIIa)あるいは化合物(XXVIIb)を製造する方法である。例えば、触媒として用いられるものとしてはパラジウム-炭素、水酸化パラジウム、酸化白金、パラジウム-炭素-炭酸カルシウムなどが挙げられる。



10

Xはハロゲン原子、トリフルオロスルホネートなどの脱離基を表す。

L法

(式中の記号は前記定義に同意義を意味する。)

L1工程 アルケンとのカップリング反応(ヘック(Heck)反応)の工程である。J. Org. Chem., 37, 2320(1972)、Org. Reactions, 27, 345(1982)、Comprehensive Organic Synthesis, Vol. 4, 833(1991)、Palladium Reagents and Catalysts, 125(1995)、Chem. Commun., 1287(1984)、Tetrahedron Lett, 26, 2667(1985)そしてTetrahedron Lett, 31, 2463(1990)などの文献に記載の反応条件に基づいて、触媒(パラジウム錯体と配位子など)を用いて、化合物(XXVII)から化合物(XXVIIa)を製造することができる。この反応に用いる触媒(パラジウム錯体と配位子)の組み合わせとしては、例えば酢酸パラジウム(II)と1, 1'-ビス(ジフェニルフォスフィノ)フェロセン、酢酸パラジウム(II)とトリ(オトリル)フォスフィンなどが挙げられる。用いられる3級塩基としてはトリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミンそして1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセンなどが挙げられる。化合物(XXVII)は脱離基を意味し、例えばハロゲン基、トリフルオロメタンスルフォニルオキシ基などを挙げることができる。

20

30

L2工程 K3工程と同様な不飽和炭化水素の還元反応の条件により、化合物(XXVIIa)から化合物(XXVIIb)を製造することができる。

L法とは、L1工程により化合物(XXVIIa)、続いてL2工程により化合物(XXVIIb)を製造する方法である。

本発明にかかる前記式(I)で表わされる化合物について得られる種々の異性体は、通常の方法(例えば再結晶、クロマトグラフィー等)を用いることにより精製し、単離することができる。

本発明にかかる化合物もしくはその塩またはそれらの水和物は、それ自体を哺乳動物(好ましくはヒト)に投与することもできるが、慣用されている方法により錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、被覆錠剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、眼軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤、ローション剤等として製剤化して投与することもできる。製剤化には通常用いられる製剤化助剤(例えば賦形剤、結合剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤や、および必要により安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、pH調製剤、防腐剤、抗酸化剤など)を使用することができ、一般に医薬品製剤の原料として用いられる成分を配合して常法により製剤化される。例えば経口製剤を製造するには、本発明にかかる化合物またはその薬理的に許容される塩と賦形剤、さらに必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤などを加えた後、常法により散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、被覆錠剤、カプセル剤等とする。これらの成分としては例

40

50

えば、大豆油、牛脂、合成グリセライド等の動植物油；流動パラフィン、スクワラン、固形パラフィン等の炭化水素；ミリスチン酸オクチルドデシル、ミリスチン酸イソプロピル等のエステル油；セトステアリルアルコール、ベヘニルアルコール等の高級アルコール；シリコン樹脂；シリコン油；ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ひまし油、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックポリマー等の界面活性剤；ヒドロキシエチルセルロース、ポリアクリル酸、カルボキシビニルポリマー、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、メチルセルロースなどの水溶性高分子；エタノール、イソプロパノールなどの低級アルコール；グリセリン、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、ソルビトールなどの多価アルコール；グルコース、ショ糖などの糖；無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、ケイ酸アルミニウムなどの無機粉体、精製水などがあげられる。賦形剤としては、例えば乳糖、コーンスターチ、白糖、ブドウ糖、マンニトール、ソルビット、結晶セルロース、二酸化ケイ素などが、結合剤としては、例えばポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、メチルセルロース、エチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、シェラック、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリプロピレングリコール・ポリオキシエチレン・ブロックポリマー、メグルミンなどが、崩壊剤としては、例えば澱粉、寒天、ゼラチン末、結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、クエン酸カルシウム、デキストリン、ペクチン、カルボキシメチルセルロース・カルシウム等が、滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ、硬化植物油等が、着色剤としては医薬品に添加することが許可されているものが、矯味矯臭剤としては、ココア末、ハッカ脳、芳香散、ハッカ油、竜脳、桂皮末等が用いられる。これらの錠剤・顆粒剤には糖衣、その他必要により適宜コーティングすることはもちろん差支えない。また、シロップ剤や注射用製剤等の液剤を製造する際には、本発明にかかる化合物またはその薬理的に許容される塩にpH調整剤、溶解剤、等張化剤などと、必要に応じて溶解補助剤、安定化剤などを加えて、常法により製剤化する。外用剤を製造する際の方法は限定されず、常法により製造することができる。すなわち製剤化にあたり使用する基剤原料としては、医薬品、医薬部外品、化粧品等に通常使用される各種原料を用いることが可能である。使用する基剤原料として具体的には、例えば動植物油、鉱物油、エステル油、ワックス類、高級アルコール類、脂肪酸類、シリコン油、界面活性剤、リン脂質類、アルコール類、多価アルコール類、水溶性高分子類、粘土鉱物類、精製水などの原料が挙げられ、さらに必要に応じ、pH調整剤、抗酸化剤、キレート剤、防腐防黴剤、着色料、香料などを添加することができるが、本発明にかかる外用剤の基剤原料はこれらに限定されない。また必要に応じて分化誘導作用を有する成分、血流促進剤、殺菌剤、消炎剤、細胞賦活剤、ビタミン類、アミノ酸、保湿剤、角質溶解剤等の成分を配合することもできる。なお上記基剤原料の添加量は、通常外用剤の製造にあたり設定される濃度になる量である。

本発明にかかる化合物もしくはその塩またはそれらの水和物を投与する場合、その形態は特に限定されず、通常用いられる方法により経口投与でも非経口投与でもよい。例えば錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、眼軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤、ローション剤などの剤として製剤化し、投与することができる。本発明にかかる医薬の投与量は、症状の程度、年齢、性別、体重、投与形態・塩の種類、疾患の具体的な種類等に応じて適宜選ぶことができる。

本発明にかかる抗真菌剤は、患者に対して治効量投与される。ここで「治効量」とは、意図される薬理学的結果を生じさせ、処置されるべき患者の症状を回復または軽減するために有効な薬剤の量である。投与量は、患者の体重、疾患の種類、症状の程度、患者の年齢、性差、薬剤に対する感受性差などにより著しく異なるが、通常成人として1日あたり、約0.03 - 1000mg、好ましくは0.1 - 500mg、さらに好ましくは0.1 - 100mgを1日1 - 数回、または数日に1 - 数回に分けて投与する。注射剤の場合は、通常約1μg/kg - 3000μg/kgであり、好ましくは約3μg/kg - 1000

10

20

30

40

50

$\mu\text{g}/\text{kg}$ である。

発明を実施するための最良の形態

[実施例 A]

以下の実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を制限するものではない。

実施例 A 1 レポータ遺伝子の構築と *S. cerevisiae* への導入

(1) . リゾチームをレポータ酵素とするレポータ遺伝子の構築

ENO1プロモーター+分泌シグナル+リゾチーム遺伝子を含むプラスミド pESH (Ichikawa K et al, Biosci. Biotech. Biochem., 57(10), 1686-1690, 1993) を鋳型に、配列番号8及び配列番号9に記載のオリゴヌクレオチドをプライマーとして、プロモーター配列を含むリゾチーム遺伝子をPCRにより増幅し、pCR-Script SK(+)のSalI-EcoRI siteにサブクロニングした(a)。また、*S. cerevisiae*染色体DNAを鋳型に、配列番号10及び配列番号11に記載のオリゴヌクレオチドをプライマーとしてCWP2遺伝子をPCR増幅し、pUC19のEcoRI-HindIII siteにサブクロニングした(b)。同様に、pYES2(INVITROGEN)を鋳型に、配列番号12及び配列番号13に記載のオリゴヌクレオチドをプライマーとしてCYC1ターミネーターをPCR増幅し、pUC19の新たに導入したNotI-KpnI siteサブクロニングした(c)。

次に、pESHのSalI-HindIII切断部分にSalI-EcoRIで切り出したリゾチーム遺伝子(a)およびEcoRI-HindIIIで切り出したCWP2遺伝子(b)を挿入した。最後に、ENO1プロモーター+分泌シグナル+リゾチーム遺伝子+CWP2遺伝子を含む遺伝子をBamHI-HindIIIで切り出し、インテグレーション用ベクターpRS306(Sikorski RS et al, Genetics. 122(1):19-27, 1989)に挿入後、HindIII-KpnI切断部分にHindIII-KpnIで切り出したCYC1ターミネーター(c)を挿入し、pRLW63Tを作製した。

(2) . セファロスポリナーゼをレポータ酵素とするレポータ遺伝子の構築

上述のpESHを鋳型にして、ENO1プロモーターC末+分泌シグナル部分(d)を鋳型にし、配列番号14及び配列番号15に記載のオリゴヌクレオチドをプライマーとして、プロモーター配列・分泌シグナル部分を含むDNAをPCRにより増幅し、pUC19の新たに導入したBamHI-NotI siteにサブクロニングした(d)。また、*Citrobacter freundii*染色体DNAを鋳型にし、配列番号16及び配列番号17に記載のオリゴヌクレオチドをプライマーとして、セファロスポリナーゼ遺伝子をPCR増幅し、pUC19の新たに導入したNspV-XbaI siteにサブクロニングした(e)。同様に*S. cerevisiae*染色体DNAを鋳型にし、配列番号18及び配列番号19に記載のオリゴヌクレオチドをプライマーとして、CWP2遺伝子PCR増幅し、pUC19のXbaI-HindIII siteにサブクロニングした(f)。

(d)を挿入したプラスミドのBamHI-SalI切断部分にpESHのBamHI-SalI断片を挿入し、ENO1プロモーター全長+分泌シグナル部分を作製後、NspV-HindIII切断部分にNspV-XbaIで切り出したセファロスポリナーゼ遺伝子およびXbaI-HindIIIで切り出したCWP2遺伝子を挿入した。次いで、EcoRI-HindIIIで切り出し、上述のpRS306に挿入後、HindIII-KpnI切断部分にCYC1ターミネーターを挿入して、pRCW63Tを作製した。

(3) . レポータ遺伝子の *S. cerevisiae* への導入

S. cerevisiae G2-10株を、10mlのYPD培地にて30℃で振とう培養し、対数増殖後期($2 \sim 5 \times 10^7$ cells/ml)の時点で集菌した。滅菌水で洗浄後、YEASTMAKERTM Yeast Transformation System(Clontech)を用いた酢酸リチウム法(YEASTMAKERTM

10

20

30

40

50

Yeast Transformation System User Manualに記載)によって上述したpRLW63TおよびpRCW63Tを導入した。pRLW63TはEcoRVで、pRCW63TはApaIでURA3遺伝子を切断したものをを用いた。SD(Ura⁻)培地で30、3日間培養後、増殖したコロニーをYPD培地で培養した。

リゾチームおよびセファロsporinase活性の局在を確認したところ、両活性共に主として細胞壁に局在し、CWP2のC端配列が細胞壁への輸送シグナルとして働いていることが確認された。

実施例A2 *S. cerevisiae* レポータ系による薬剤のスクリーニング リゾチームと比較して、セファロsporinaseの方が酵素反応の感度が良いことから、化合物のスクリーニングには、pRCW63Tを導入した*S. cerevisiae* (*S. cerevisiae* CW63株)を用いた。

10

YPD液体培地に30、48時間静置培養後、YPD液体培地で100倍希釈した菌液($3 \sim 5 \times 10^5$ cells/ml)75 μ l/wellを、被検試料希釈液25 μ l/wellが入ったV底96wellプレートに接種し、30で48時間静置培養した。プレートを遠心後、上清25 μ lを96well平底プレートにサンプリングし、培養上清画分とした。

沈殿した菌を懸濁し、2.4Mソルビトールで調整したザイモリエース(生化学工業)溶液75 μ l/wellを加え、30、1時間作用させた。プレートを遠心後、上清10 μ lを96well平底プレートにサンプリングし、15 μ lのリン酸バッファーを加え、細胞壁画分とした。

20

プールしたサンプルに200 μ Mニトロセフィン溶液を加え、一定時間後にクエン酸バッファーで反応停止後、490nmの吸光度を測定することにより、培地および細胞壁画分中のセファロsporinase活性を測定した。

また、被検試料存在下での菌の増殖は、肉眼による観察で判定した。

図2には、前記式(Ia)に記載の化合物の存在下では、0.39~1.56 μ g/mlの濃度で培養上清画分中のセファロsporinase活性が上昇し、細胞壁画分中の活性が低下することを示した。この様に、培養上清画分中のセファロsporinase活性を上昇させ、かつ細胞壁画分中のセファロsporinase活性を減少させる化合物を、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する化合物とした。

30

実施例A3 カンジダの動物細胞への付着を指標とした薬剤のスクリーニング

6穴マルチウェルプレートの各穴に、10%牛胎児血清および2mMグルタミンを含むD-MEM培地(日水製薬)で 1×10^5 個/mlに調整したIEC-18細胞を、3mlずつ分注した。該プレートを炭酸ガスインキュベータ内で37、3日間培養後、培養上清を除去し、エタノール固定した。

各濃度の被検試料を含有したサブロー・デキストロース液体培地で30・48時間培養した*C. albicans*を 4×10^2 個/mlに調整し、固定したIEC-18細胞を培養したプレートの各穴に、1ml接種した。30・1時間培養後、培養上清を除去し、PBSで洗浄後、サブロー・デキストロース寒天培地(Difco)を2ml重層した。30、一夜培養後、増殖してきたコロニー数(CFU)をカウントし、付着率を算出した。

40

図3には前記式(Ia)に記載の化合物で、増殖抑制の見られない1.56 μ g/mlの濃度でも、*C. albicans*の動物細胞への付着が半分程度にまで抑制されたことを示した。処理しない*C. albicans*と比較して、細胞に付着したCFUを減少させた被検試料を、*C. albicans*の動物細胞への付着を抑制する化合物とした。

実施例A4 ELISAによるGPIアンカー蛋白質の定量値を指標とした薬剤のスクリーニング

(1) .抗A1s1pペプチド抗体の作製

配列番号20に記載の合成ペプチドをKLHとコンジュゲートし、家兎に免疫した。得られた抗血清をアフィニティ精製し、IgG画分を抗A1s1pペプチド抗体とした。

50

(2) . 抗 *Als1p* ペプチド抗体を用いた ELISA による薬剤のスクリーニング
C. albicans を、各濃度の被検薬剤を含有したサブロー・デキストロース液体培地中 (5 ml) で 30 ・ 48 時間培養し、遠心による集菌、洗浄後、300 μ l のトリス塩酸バッファーに懸濁した。懸濁した菌体を、ガラスビーズを入れたマイクロチューブに移し、1 分間の攪拌、1 分間の氷冷を 10 回繰り返すことにより破碎した。洗浄した破碎菌体を 2% SDS で 95 ・ 10 分間抽出し、遠心後、沈殿をリン酸バッファーで 5 回洗浄した。その沈殿に 5 μ g/ml のザイモリース溶液 0.5 ml を加え 37 ・ 1 時間反応後、その遠心上清を GPI アンカー蛋白質サンプルとした。

50 μ l の抗 *Als1p* ペプチド抗体 (40 μ g/ml) を、96 well プレートに 4 ・ overnight コーティングした。0.05% Tween 20 含有 PBS (PBST) で 5 回洗浄後、25% ブロックエースで室温、2 時間ブロッキングした。PBST で 3 回洗浄後、2 倍階段希釈した GPI アンカー蛋白質サンプル 50 μ l を室温、2 時間反応させた。PBST で 5 回洗浄後、1000 倍希釈した HRP 標識抗カンジダ抗体 (*Virostat*) 100 μ l を室温、2 時間反応させ、PBST で 5 回洗浄後、基質溶液 75 μ l を加えた。反応停止後、490 nm の吸光度を測定した。

図 4 には、前記式 (Ia) に記載の化合物の存在下では、0.1 ~ 0.39 μ g/ml の濃度で、培養上清画分中の *Als1p* 抗原量が上昇し、細胞壁画分中の抗原量が低下していることを示した。この様に、化合物で処理しない *C. albicans* と比較して、ELISA で定量した培養上清画分中の *Als1p* 量を上昇させ、あるいは胞壁画分中の *Als1p* 量を減少させた化合物を、*C. albicans* の GPI アンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害する化合物とした。

実施例 A5 被検試料の存在下で培養した *C. albicans* 細胞壁の電子顕微鏡による観察

各濃度の被検薬剤を含有したサブロー・デキストロース液体培地中 (5 ml) で 30 ・ 48 時間培養後、遠心、集菌した *C. albicans* を過マンガン酸カリ固定法により固定し、透過型電子顕微鏡像を観察した。

菌体最外層に電子密度の高い綿状線維構造が観察され、GPI アンカー蛋白質を構成成分とする表層糖蛋白質層であると考えられた。この綿状線維構造は既存の他の抗真菌剤では影響を受けなかった。

前記式 (Ia) に記載の化合物の存在下で培養した *C. albicans* は、無処置菌体と比較し、電子密度の高い菌体最外層の綿状線維構造が、僅かな高電子密度の層を残して消失していた。この様に、電子密度の高い菌体最外層の綿状線維構造が消失している場合に、被検試料を GPI アンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に影響を与える化合物とした。

実施例 A6 *S. cerevisiae* の前記式 (Ia) に記載の化合物に対する耐性遺伝子のスクリーニング

S. cerevisiae 遺伝子のプラスミドライブラリーは、ATCC (Information for ATCC Number: 37323) から入手した。

S. cerevisiae G2-10 株を、10 ml の YPD 培地にて 30 で振とう培養し、対数増殖後期 (1 ~ 2 $\times 10^7$ cells/ml) の時点で集菌した。滅菌水で洗浄後、YEASTMAKERTM Yeast Transformation System (Clontech) を用いた酢酸リチウム法 (YEASTMAKERTM Yeast Transformation System User Manual に記載) によって、*S. cerevisiae* 遺伝子のプラスミドライブラリーを導入し、SD (Leu-) プレート上に撒いて、約 80000 個のコロニーを得た。コロニーを回収・希釈し、前記式 (Ia) に記載の化合物を 1.56 μ g/ml 及び 3.125 μ g/ml の濃度で含む SD (Leu-) プレートに、プレート当たり 57 万コロニーになるように撒いた。その後、37 で 72 時間インキュベートして耐性クローンを獲得した。

27 個のクローンをピックアップし、METHODS IN ENZYMOLOGY, Vol. 194: 169-182 (1991) に記載の方法によりプラスミドを回収して、

10

20

30

40

50

インサートを解析したところ、27個全てが同一のフラグメントを含んでいた。

ABI377 system (PE applied Biosystems社製)を用いて塩基配列を決定した結果、配列番号1に記載のDNAが、前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性を付与するDNAであることが明らかとなりGWT1と命名した。

実施例A7 *S. cerevisiae* GWT1遺伝子の、*C. albicans* ホモログのサザンプロット解析

25 µgの*C. albicans*ゲノムDNAを、EcoRI (TaKaRa)、HindIII (TaKaRa)、BamHI (TOYOBO)、PstI (New England Biolabs) (2種類の酵素の組み合わせも含む)で16時間処理後、エタノール沈殿により濃縮し、25 µlの滅菌水に溶解してサンプルとした。制限酵素消化した25 µgのgenome DNAを、0.75%アガロースゲル電気泳動法により分離し、ナイロンメンブレン (GeneScreen PLUS/NEN)へトランスファーした。

プローブは、配列番号1に記載の約1.5 kbのDNAフラグメント20 ngを、ランダムプライマー法によりalpha33P-dCTPでラベルし、GeneQuantカラム (Amersham-Pharmacia)を用いて精製し作製した。

ハイブリダイゼーションは、メンブレンを、10 mlのPerfectHybTM (TOYOBO)溶液に浸し65 °Cで1時間プレインキュベーションをおこなった後、ラベルした上記プローブを添加し、65 °Cで更に2.5時間インキュベーションした。洗浄は、1) 2xSSC, 0.05% SDS溶液: 25 5分、2) 2xSSC, 0.05% SDS溶液: 25 15分、3) 0.1xSSC, 0.1% SDS溶液 50 20分で行った。洗浄後のメンブレンをサララップで包み、Imaging Plate (FUJI)と室温で12時間接触させ、Imaging Plateに転写されたイメージをBAS2000 (FUJI)を用いて取り込み、画像解析をおこなった。

その結果、EcoRIで6.5 kb、HindIIIで4.0 kb、EcoRI-HindIIIで2.0 kb、EcoRI-PstIで2.5 kbの単一のバンドが観察され(図5)、*C. albicans*の前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性遺伝子のホモログは、単一の遺伝子として存在することが予想された。

実施例A8 *C. albicans*の前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性遺伝子のスクリーニング

*C. albicans*のゲノムライブラリーは、Navarro-Garcia *et al*, *Mol. Cell. Biol.*, 15: 2197-2206, 1995に記載の方法により作製した。具体的には、*C. albicans*のゲノムDNAをSau3AIで部分消化した後、3~5 kb前後のDNAフラグメントを回収し、YEp352シャトルベクターのBamHIサイトに挿入した。

S. cerevisiae G2-10株を、10 mlのYPD培地にて30 °Cで振とう培養し、対数増殖後期(2~5 x 10⁷ cells/ml)の時点で集菌した。滅菌水で洗浄後、YEASTMAKERTM Yeast Transformation System (Clontech)を用いた酢酸リチウム法(YEASTMAKERTM Yeast Transformation System User Manualに記載)によって、*C. albicans*のゲノムライブラリーを導入し、SD(Ura⁻)プレート上に撒いて、約25000個のコロニーを得た。コロニーを回収・希釈し、前記式(Ia)に記載の化合物を1.56 µg/mlの濃度で含むSDプレートに、プレート当たり50万コロニーになるように撒いた。その後、30 °Cで6時間、37 °Cへ移して66時間インキュベートして耐性クローンを獲得した。

30個のクローンをピックアップし、METHODS IN ENZYMOLOGY, Vol. 194: 169-182 (1991)に記載の方法によりプラスミドを回収して、インサートを解析したところ、30個のうち28個が同一のフラグメントを含んでいた。ABI377 system (PE applied Biosystems社製)を用いて、塩基配列を決定した結果、配列番号3に記載のDNAが、前記式(Ia)に記載の

10

20

30

40

50

化合物に対する耐性を付与するDNAであることが明らかとなった。

実施例A9 *C. albicans* 臨床分離株からの前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性遺伝子ホモログのクローニング

発明者らが保存する*C. albicans* 臨床分離株より精製した、ゲノムDNAを鋳型とし、配列番号21及び配列番号22をプライマーとしてPCRによる増幅を行った。独立した3本のPCRサンプルから、いずれも約1.6kbのDNAフラグメントが増幅され、増幅されたフラグメントを精製し、pT7-Blueベクター(Novagen)にサブクローニングして塩基配列を決定したところ、配列番号5に示すDNA配列が見いだされた。実施例A7に記載のDNA(配列番号3)との間で3箇所の配列が異なっていた。

10

また、Stanford大のsequenceセンター(<http://sequence-www.stanford.edu/>)で決定された*C. albicans* 遺伝子塩基配列中にも、実施例A7に記載のDNAのホモログが見出され(配列番号7)、実施例A7に記載のDNA(配列番号3)との間で4箇所の配列が異なっていた。

実施例A10 GWT1遺伝子産物を過剰発現した*S. cerevisiae*の作製

実施例A6で得られた前記式(Ia)に記載の化合物に対する耐性クローンより精製したプラスミドを鋳型とし、配列番号23及び配列番号24をプライマーとして、PCR増幅を行った。PvuIIで切断したPCR産物を、実施例A1で作製したpRLW63TのSalI-HindIII切断部分に挿入した。BamHI-KpnIでインサート全体を切り出し、pRS304(Sikorski RS et al, Genetics, 122(1):19-27, 1989)のMCSに挿入し、インテグレーション用ベクターを作製した。

20

セファロsporinaゼ遺伝子をレポータ遺伝子として持つ、*S. cerevisiae* CW63株を実施例A1に記載の方法で培養し、インテグレーション用ベクターのTRP1をEcoRVで切断後、実施例A1に記載の方法で形質転換した。SD(Trp⁻)培地で30、3日間培養することによりGWT1過剰発現株を得た(*S. cerevisiae* CW63/GWT1株)。

GWT1過剰発現株は、前記式(Ia)に記載の化合物に対して耐性を示す以外に、野生株との差異は見られず、他の抗真菌剤シクロヘキシミド、ベノミル、アンホテリシンBに対して感受性であった。

30

実施例A11 GWT1遺伝子を欠失した*S. cerevisiae*の作製

*S. pombe*のhis5遺伝子(Longtine MS et al, Yeast, 14:953-961, 1998)を鋳型とし、配列番号25及び配列番号26をプライマーとして、両端にGWT1配列を含むhis5カセットをPCRで増幅した。

S. cerevisiae G2-10を実施例A1に記載の方法で培養、集菌し、上述のPCR産物を実施例A1に記載の方法で形質転換した。SD(His⁻)培地で30、5~7日間培養することによりGWT1欠失株を得た。

GWT1欠失株は生育が非常に遅いものの、その生育は前記式(Ia)に記載の化合物の影響を受けず、GWT1遺伝子産物が該化合物の標的であることが示唆された。また、GWT1欠失株は、高温で生育できない、細胞が膨化しているといった特徴を示し、透過型電子顕微鏡による観察では、電子密度の高い菌体最外層の綿状線維構造が、消失していた。

40

実施例A12 GWT1遺伝子産物を過剰発現した*S. cerevisiae*における前記式(Ia)に記載の化合物の活性

S. cerevisiae CW63株及びGWT1遺伝子を導入した*S. cerevisiae* CW63/GWT1を用い、実施例A2に記載した方法に準じた方法で、前記式(Ia)に記載の化合物の活性を検討した。

その結果、*S. cerevisiae* CW63株では、培養上清画分中のセファロsporinaゼ活性が上昇し、細胞壁画分中の活性が低下している前記式(Ia)に記載の化合物濃度(0.39~1.56 µg/ml)でも、*S. cerevisiae* CW63/

50

GWT1株では影響が見られず、また*S. cerevisiae* CW63株では増殖が抑制される前記式(Ia)に記載の化合物濃度(>3.13 μg/ml)でも、*S. cerevisiae* CW63/GWT1株では増殖抑制が見られなかった(図6)。

実施例A13 (4-ブチルフェニル)(1-イソキノリル)ケトンの合成

窒素雰囲気下、マグネシウム338mg(13.9ミリモル)とテトラヒドロフラン6.5mlの混合溶液に、1-ブロモ-4-ブチルベンゼン2.29ml(13.0ミリモル)と開始剤として触媒量の1,2-ジブロモエタンを加え、10分間還流下撹拌した。この溶液を0℃まで冷却し、1-イソキノリンカルボニトリル1.0g(6.49ミリモル)のテトラヒドロフラン溶液を加え、さらに室温で1時間、70℃で3時間撹拌した。その後、再度0℃に冷却し、濃塩酸2.56mlそしてメタノール11mlを加えた後、2時間加熱還流した。濃縮後残渣を5規定水酸化ナトリウムとトルエンに溶解し、セライトで濾過した。濾液のトルエン層を分配し、水洗、硫酸マグネシウムで乾燥、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物1.72gを得た。

¹H-NMR(CDCl₃) (ppm): 0.93(3H, t), 1.32-1.43(2H, m), 1.58-1.66(2H, m), 2.68(2H, t), 7.28(2H, d), 7.61(1H, td), 7.74(1H, td), 7.80(1H, d), 7.87(2H, d), 7.92(1H, d), 8.20(1H, d), 8.60(1H, d)

実施例A14 前記式(Ia)に記載の化合物{1-(4-ブチルベンジル)イソキノリン}の合成

実施例A13の化合物1.72g(5.95ミリモル)、ヒドラジン1水和物836mg(16.7ミリモル)そして水酸化カリウム769mg(13.7ミリモル)をジエチレングリコール8.5mlに加え、80℃で1時間、160℃で3時間半そして200℃で1時間撹拌した。室温まで冷却後、氷水を加え酢酸エチルで抽出した。これを水洗後、硫酸マグネシウムで乾燥、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、前記式(Ia)に記載の化合物を914mgを得た。

¹H-NMR(CDCl₃) (ppm): 0.89(3H, t), 1.26-1.36(2H, m), 1.50-1.59(2H, m), 2.53(2H, t), 4.64(2H, s), 7.06(2H, d), 7.19(2H, d), 7.53(1H, td), 7.56(1H, d), 7.64(1H, td), 7.81(1H, d), 8.18(1H, dd), 8.50(1H, d)

実施例A15 前記式(Ia)に記載の化合物{1-(4-ブチルベンジル)イソキノリン}の製造方法の別法

60%水素化ナトリウム16mg(0.40ミリモル)のジメチルホルムアミド(1.8ml)溶液に窒素雰囲気下-16℃で、Org. Synth., VI, 115(1988)の文献に基づいて合成した1-シアノ-2-ベンゾイル-1,2-ジヒドロイソキノリン100mg(0.38ミリモル)と4-n-ブチルベンジルクロリド70mg(0.38ミリモル)のジメチルホルムアミド(3.6ml)溶液を滴下し、さらに室温で30分間撹拌した。水を加え、濃縮し、残渣にトルエンと水を加えた。トルエン層を水洗後、炭酸カリウムで乾燥後、濃縮した。残渣のエタノール(1.6ml)溶液に50%水酸化ナトリウム水溶液(0.63ml)を加え、2時間加熱還流した。濃縮後、トルエンと水を加えた。トルエン層を水洗後、炭酸カルシウムで乾燥後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、前記式(Ia)に記載の化合物18mgを得た。

実施例A16 *S. cerevisiae* GWT1遺伝子の、*C. albicans* ホモログのクローニング

HindIII(Takara)で16時間処理した25 μgの*C. albicans* ゲノムDNAを、0.75%アガロースゲル電気泳動法により分離し、約3.5から4.5 kbの大きさのDNAフラグメントをゲルから回収した。回収したDNAフラグメントをpKF3ベクター(Takara)のHindIIIサイトに挿入して、カンジダゲノムライブラリを作製した。

10

20

30

40

50

作製したライブラリを用いて約1万個のコロニーをLB/Ampicillinプレートにdisplayした後、Colony/Plaque Screen (NEN)メンブレンを用いてコロニーリフトを行いハイブリダイゼーションに供した。プローブは、配列番号1に記載の約1.5 kbのDNAフラグメント20ngを、ランダムプライマー法によりalpha33P-dCTPでラベルし、GeneQuantカラム (Amersham-Pharmacia) を用いて精製し作製した。

ハイブリダイゼーションは、メンブレンをPerfectHybTM (TOYOBO) 溶液に浸し65℃で1時間プレインキュベーションをおこなった後、ラベルした上記プローブを添加し、65℃で更に2.5時間インキュベーションした。洗浄は、1) .2xSSC, 0.05% SDS溶液: 25℃ 5分、2) .2xSSC, 0.05% SDS溶液: 25℃ 15分、3) .0.1xSSC, 0.1% SDS溶液50℃ 20分で行った。洗浄後のメンブレンをサララップで包み、X-RAY FILM (KONICA) に室温で24時間接触させた後現像した。感光したスポットに相当する大腸菌コロニーを分離して、2次スクリーニングに供した。分離したコロニーをLB/Ampicillinプレートに約200個づつdisplayし、1次スクリーニング同様にコロニーリフトをおこないハイブリダイゼーションに供した。ハイブリダイゼーションの条件は1次スクリーニングと同一の条件でおこなった。

その結果、プローブと強く反応する大腸菌の単一なコロニーが分離された。このコロニーからプラスミドを回収し、含有する配列を決定したところ、実施例A9で見出された配列 (配列番号5) と同一の新規配列が見いだされ (カンジダGWT1の配列)、C. albicansホモログであることが予想された。

実施例A17 S. cerevisiae GWT1遺伝子の、S. Pombeホモログデータベース検索により、S. cerevisiae GWT1遺伝子とホモロジーを示すS. Pombe遺伝子 (配列番号27、及びその遺伝子産物のアミノ酸配列: 配列番号28) が見出され、GWT1のS. Pombeホモログであると考えられた。

実施例A18 S. cerevisiae GWT1遺伝子の、Aspergillus fumigatusホモログのクローニング

発明者らは遺伝子配列解析により、S. cerevisiae, S. pombe, C. albicansのGWT1遺伝子のコードする蛋白において高度に保存されている領域を2カ所見いだした (図7)。この保存領域のアミノ酸をコードするDNAの予測から、配列番号29、配列番号30及び配列番号31のプライマーを設計した。STRATAGENE社から購入したライブラリ (Aspergillus fumigatus cDNA library: #937053) 1μlを鋳型に用いて、配列番号29および配列番号31のプライマーを用いてPCR増幅をおこなった。さらにこの増幅サンプル1μlを鋳型に、配列番号29および配列番号30のプライマーでnested-PCRをおこなった結果、約250bpの単一フラグメントの増幅が確認された。このフラグメントの配列を決定したところ配列番号32に示す、S. cerevisiaeのGWT1遺伝子と同一性を有する新規の配列が得られ、これがA. fumigatusのホモログであることが予想された。

全長のcDNAを獲得するために、増幅フラグメントの配列をもとに配列番号33および配列番号34のプライマーを設計した。また、ライブラリの遺伝子挿入部位の外側のプライマー配列番号35および配列番号36を設計した。A. fumigatus cDNAライブラリを鋳型にして、配列番号33および配列番号35のプライマーセット、または配列番号34および配列番号36のプライマーセットを用いてPCRをおこなった結果、両者から約1kbのDNAフラグメントの増幅が確認された。これらのフラグメントの塩基配列を決定した結果、配列番号1に示すS. cerevisiaeのGWT1遺伝子と高い同一性を有する新規の配列が得られた。同配列はS. cerevisiae, S. pombe, C. albicansのGWT1遺伝子と全体を通じて高い同一性を有することから、この配列がA. fumigatusのホモログであることが強く示唆された。

A. fumigatusのホモログ全体をクローニングするために、得られた配列をもと

10

20

30

40

50

に、開始コドン上流に相当する配列番号37に示すプライマーおよび終止コドン下流に相当するプライマー配列番号38を新たに設計した。A. fumigatus cDNAライブラリ (STRATAGENE社) および A. fumigatus ゲノムライブラリ (STRATAGENE社) を鋳型に、配列番号37および配列番号38のプライマーで35サイクルのPCRをおこなった結果、両方の鋳型から約1.6 kbの単一な増幅フラグメントが検出された。このフラグメントの塩基配列をダイレクトシーケンスによって決定した結果、cDNAライブラリからは配列番号39に示す塩基配列が見いだされ、配列番号40に示す501アミノ酸からなる蛋白をコードしていることが示唆された。また、ゲノムライブラリからは配列番号41に示す塩基配列が見いだされ、77塩基対からなるイントロンを1カ所有していることが判った。

10

実施例A19 S. cerevisiae GWT1遺伝子の、Cryptococcus ホモログのクローニング

1) . データベースサーチ

データベースサーチによってS. cerevisiae GWT1遺伝子と相同性のある遺伝子を検索した結果、スタンフォード大学のゲノムセンターのサーバー (<http://baggage.stanford.edu/cgi-misc/cneoformans/>) から、502042C05.x1の配列を見いだした。また、米国オクラホマ大学のサーバー (http://www.genome.ou.edu/cneo__blast.html) から、b6e06cn.f1の配列を見いだした。

20

2) . ゲノムDNAを鋳型としたPCR

502042C05.x1の配列をもとに配列番号42のプライマーを作製し、またb6e06cn.f1の配列をもとに配列番号43のプライマーを作製した。クリプトコッカス (Cryptococcus neoformans) のゲノムDNAを鋳型にして、配列番号42のプライマーおよび配列番号43のプライマーを用いてPCR増幅を行ったところ、約2 kbの増幅フラグメントが検出された。このフラグメントの塩基配列を決定したところ、配列番号44に示す、S. cerevisiaeのGWT1遺伝子と相同性を有する新規の配列が得られた。

クリプトコッカスGWT1遺伝子の開始コドン上流の配列を獲得するために、502042C05.x1の配列をもとに配列番号45のプライマーを設計し、また配列番号44の配列をもとに配列番号46のプライマーを設計した。クリプトコッカスのゲノムDNAを鋳型にして、配列番号45のプライマーおよび配列番号46のプライマーを用いてPCR増幅を行ったところ、約500 bpの増幅フラグメントが検出された。このフラグメントの塩基配列を決定したところ、配列番号47に示す配列が得られ、配列番号44とオーバーラップすることが判った。

30

3) . 3' - RACE

クリプトコッカスGWT1遺伝子の3'末端の配列を得るために、3' - RACEをおこなった。クリプトコッカスから抽出した16 µgのtotal RNAをもとに配列番号48で示すadaptor-primerでプライミングし、SuperScript II Reverse Transcriptase (GIBCO/BRL社製) を用いて逆転写反応をおこない、以降のRT-PCRの鋳型となる1本鎖cDNAを作製した。1本鎖cDNAを鋳型に、配列番号49および配列番号50に示すプライマーで35サイクルのPCRをおこなった結果、約1.2 kbの増幅フラグメントが検出された。このフラグメントの塩基配列をDirect-Sequence法によって解析したところ、配列番号51に示す、S. cerevisiaeのGWT1遺伝子と相同性を有する新規の配列が得られた。

40

4) . 全長ゲノムDNAのPCR

配列番号47をもとに設計した配列番号52のプライマーおよび、配列番号51をもとに設計した配列番号53のプライマーを用いて、クリプトコッカスのゲノムDNAを鋳型に独立した3本のpreparationで35サイクルのPCRをおこなった。その結果、独立した3本のtubeからはいずれも約2 kbの増幅フラグメントが検出されたので

50

、それぞれ個別に *Direct - Sequence* に供し、全塩基配列を決定した。その結果、3つの独立した配列は完全に一致し、配列番号54に示すクリプトコッカスの *GW T 1* 遺伝子ホモログ全長を含む配列が得られた。

5) . *cDNA* 配列の決定

配列番号54に示すゲノム由来のクリプトコッカス *GW T 1* 遺伝子配列を、3' - *RACE* によって得られた *cDNA* 配列51と比較することにより、2カ所のイントロンの存在が示唆された。また、開始 *ATG* 以降の *Open Reading Frame* が通っていないことから、さらにもう1カ所のイントロンの存在が示唆された。そこで、予想されるアミノ酸配列およびプライミング・ドナー/アクセプター配列から、*cDNA* 構造を予測し、エクソン間のジャンクションと予想される部位に、配列番号55および配列番号56で示すプライマーを設計した。クリプトコッカス由来の一本鎖 *cDNA* をテンプレートに上記プライマーを用いて35サイクルの *PCR* をおこなった結果、約1.4 kbの増幅フラグメントが確認された。同フラグメントを *Direct - Sequence* に供し塩基配列の決定をおこなった結果、配列番号57に示す配列が得られ、配列番号54と照合することにより、クリプトコッカスの *GW T 1* 遺伝子の *cDNA* 配列が配列番号58に示す構造であることが示唆された。同配列は *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *C. albicans*, *A. fumigatus* の *GW T 1* 遺伝子と部分的に高い相同性を有することから、この配列がクリプトコッカスのホモログであることが強く示唆された。

実施例 A20 前記式 (I a) で表される化合物に対し耐性を付与する遺伝子変異 *pRLW63T* を導入することによりリゾチーム遺伝子をレポータ遺伝子として持つ、*S. cerevisiae* *LW63* 株をメタンスルホン酸エチルで処理した後、前記式 (I a) で表される化合物を1.56, 3.13, 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で含む *SD* 培地で37、3日間培養することにより耐性変異株を5株得た (*R1* ~ *R5*)。この内、*R1* 変異株および *R5* 変異株は、一遺伝子変異により前記式 (I a) で表される化合物に対する特異的な耐性形質を獲得していることがわかった。この2つの突然変異株が *GW T 1* 遺伝子上に変異を持っているかどうかを確かめるために、両変異株からゲノム *DNA* を抽出し、*GW T 1* 遺伝子部分について塩基配列決定を行った。この結果、*R1* 変異株では1213番目のグアニンがアデニンに変異していた。また *R5* 変異株では418番目のグアニンからアデニンに変異していた。これにより *R1* 変異株では405番目のアミノ酸であるイソロイシンがバリンに、また *R5* 変異株では140番目のアミノ酸であるグリシンがアルギニンに変わっていることが判明した。

次にこれらの変異が前記式 (I a) で表される化合物に対する特異的な耐性形質獲得の原因となっているかを確かめるために、両変異株由来ゲノム *DNA* を鋳型として配列番号60及び61に記載のプライマーを用いて変異 *GW T 1* 遺伝子 (*R1* または *R5*) を単離した。同時に *GW T 1* のプロモータ領域 (配列番号62)、およびターミネーター領域 (配列番号63) を単離し、*GW T 1* 遺伝子プロモータ、変異 *GW T 1* 遺伝子 *ORF*、および *GW T 1* 遺伝子ターミネーターを *pRS316* ベクターに挿入して、変異 *GW T 1* 遺伝子を1コピー発現するプラスミドを構築した (*pRS316 GW T 1 - R1*, *pRS316 GW T 1 - R5*)。これを *GW T 1* 遺伝子が1コピーのみ破壊されている2倍体株 (*WDG1*) に導入した。このコロニーを孢子形成培地上で培養することにより孢子を形成させ、四分子分析を行うことにより、上記プラスミドを持ち、かつ染色体上の *GW T 1* 遺伝子が破壊されているクローンを得た。これを前記式 (I a) で表される化合物を含む培地で培養したところ、もとの *R1* 変異株、*R5* 変異株と同様に、前記式 (I a) で表される化合物に対して耐性を示した。以上のことから、*GW T 1* 遺伝子上に起こったアミノ酸変異を伴う点突然変異により前記式 (I a) で表される化合物に対する特異的な耐性形質が付与されることが明らかとなり、この化合物が *GW T 1* タンパク質に直接結合してその機能を阻害していることが強く示唆された。

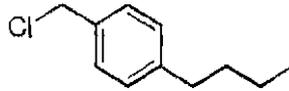
[実施例 B]

本発明にかかる化合物は、例えば以下の実施例に記載した方法により製造することができ

る。ただし、これらは例示的なものであって、本発明にかかる化合物は如何なる場合も以下の具体例に制限されるものではない。

実施例 B 1

1 - (クロロメチル) - 4 - n - ブチルベンゼン

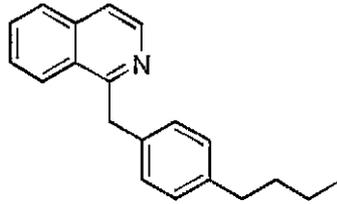


4 - n - ブチルベンジルアルコール 2 . 0 g (1 2 ミリモル) のエーテル (2 5 m l) 溶液に、塩化チオニル 2 . 5 m l (3 4 ミリモル) を加え、室温で 3 時間攪拌した。濃縮後、ベンゼンによる共沸により過剰の塩化チオニルを除去し、表題化合物 2 . 3 g を得た。この化合物は精製することなく次の反応に用いた。

10

実施例 B 2

1 - (4 - ブチルベンジル) イソキノリン



6 0 % 水素化ナトリウム 1 6 m g (0 . 4 0 ミリモル) のジメチルホルムアミド (1 . 8 m l) 溶液に窒素雰囲気下 - 1 6 ° C で、Org . Synth . , VI , 1 1 5 (1 9 8 8) の文献に基づいて合成した 1 - シアノ - 2 - ベンゾイル - 1 , 2 - ジヒドロイソキノリン 1 0 0 m g (0 . 3 8 ミリモル) と 4 - n - ブチルベンジルクロリド 7 0 m g (0 . 3 8 ミリモル) のジメチルホルムアミド (3 . 6 m l) 溶液を滴下し、さらに室温で 3 0 分間攪拌した。水を加え、減圧濃縮し、残渣にトルエンと水を加えた。トルエン層を水洗後、炭酸カリウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣のエタノール (1 . 6 m l) 溶液に 5 0 % 水酸化ナトリウム水溶液 (0 . 6 3 m l) を加え、2 時間加熱還流した。濃縮後、トルエンと水を加えた。トルエン層を水洗後、炭酸カルシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 8 m g を得た。

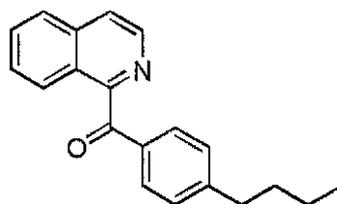
20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 6 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 5 0 - 1 . 5 9 (2 H , m) , 2 . 5 3 (2 H , t) , 4 . 6 4 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 9 (2 H , d) , 7 . 5 3 (1 H , td) , 7 . 5 6 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , td) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 1 8 (1 H , dd) , 8 . 5 0 (1 H , d)

30

実施例 B 3

(4 - ブチルフェニル) (1 - イソキノリル) ケトン



40

窒素雰囲気下、マグネシウム 3 3 8 m g (1 4 ミリモル) とテトラヒドロフラン 6 . 5 m l の混合溶液に、1 - ブロモ - 4 - ブチルベンゼン 2 . 2 9 m l (1 3 ミリモル) と開始剤として触媒量の 1 , 2 - ジブromoエタンを加え、1 0 分間還流下攪拌した。この溶液を 0 ° C まで冷却し、1 - イソキノリンカルボニトリル 1 . 0 g (6 . 5 ミリモル) のテトラヒドロフラン溶液を加え、さらに室温で 1 時間、7 0 ° C で 3 時間攪拌した。その後、再度 0 ° C に冷却し、濃塩酸 2 . 6 m l そしてメタノール 1 1 m l を加えた後、2 時間加熱還流した。濃縮後、残渣を 5 規定水酸化ナトリウムとトルエンに溶解し、セライトで濾過した。濾液のトルエン層を分離し、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し

50

た。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1.7 g を得た。
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.93 (3H, t), 1.32 - 1.43 (2H, m), 1.58 - 1.66 (2H, m), 2.68 (2H, t), 7.28 (2H, d), 7.61 (1H, td), 7.74 (1H, td), 7.80 (1H, d), 7.87 (2H, d), 7.92 (1H, d), 8.20 (1H, d), 8.60 (1H, d)

実施例 B 4

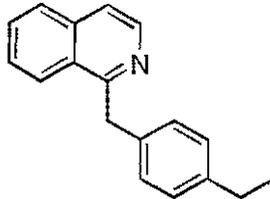
1 - (4 - プチルベンジル) イソキノリンの製造方法の別法

実施例 B 3 の化合物 1.7 g (6.0 ミリモル)、ヒドラジン 1 水和物 836 mg (17 ミリモル) そして水酸化カリウム 769 mg (14 ミリモル) をジエチレングリコール 8.5 ml に加え、80 で 1 時間、160 で 3 時間半そして 200 で 1 時間攪拌した。室温まで冷却後、氷水を加え酢酸エチルで抽出した。これを水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 914 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.26 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.59 (2H, m), 2.53 (2H, t), 4.64 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.53 (1H, td), 7.56 (1H, d), 7.64 (1H, td), 7.81 (1H, d), 8.18 (1H, dd), 8.50 (1H, d)

実施例 B 5

1 - (4 - エチルベンジル) イソキノリン

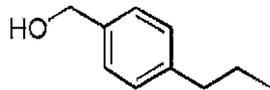


p - エチルベンジルクロリドを用いて実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.18 (3H, t), 2.57 (2H, q), 4.64 (2H, s), 7.08 (2H, d), 7.20 (2H, d), 7.50 - 7.55 (2H, m), 7.61 - 7.65 (1H, m), 7.80 (1H, d), 8.16 - 8.18 (1H, m), 8.49 (1H, d)

実施例 B 6

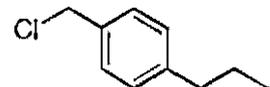
(4 - プロピルフェニル) メタノール



0 まで冷却した p - n - プロピルベゾイックアシッド 5.0 g (32 ミリモル) のテトラヒドロフラン (20 ml) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム 2.9 g (76 ミリモル) と濃硫酸のエーテル (エーテル 4.0 ml に濃硫酸 2.0 ml を加えて調製した。) 溶液を反応系内の温度が 20 以上に上昇しないように滴下し、室温で 3 時間攪拌した。氷冷後、メタノールと 1 規定水酸化ナトリウムを加え酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、表題化合物を 4.33 g 得た。この化合物は精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 7

1 - (クロロメチル) - 4 - プロピルベンゼン



実施例 B 6 の化合物を実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。この化合物はさらに精

10

20

30

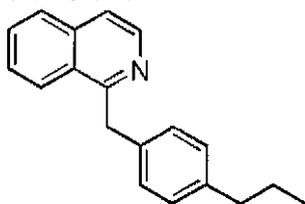
40

50

製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 8

1 - (4 - プロピルベンジル) イソキノリン



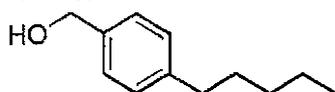
実施例 B 7 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.55 - 1.61 (2H, m), 2.51 (2H, t), 4.64 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.51 - 7.55 (2H, m), 7.61 - 7.65 (1H, m), 7.81 (1H, d), 8.17 (1H, dd), 8.49 (1H, d)

実施例 B 9

(4 - ペンチルフェニル) メタノール

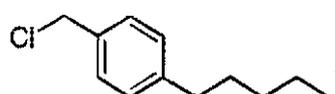


4 - n - アミルベンゾイックアシッドを実施例 B 6 と同様に還元して表題化合物を得た。

20

実施例 B 10

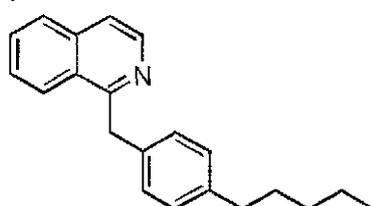
1 - (クロロメチル) - 4 - ペンチルベンゼン



実施例 B 9 の化合物を実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。この化合物はさらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 11

1 - (4 - ペンチルベンジル) イソキノリン



30

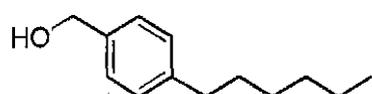
実施例 B 10 を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.86 (3H, t), 1.26 - 1.33 (4H, m), 1.52 - 1.59 (2H, m), 2.52 (2H, t), 4.64 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.50 - 7.55 (2H, m), 7.61 - 7.65 (1H, m), 7.80 (1H, d), 8.17 (1H, dd), 8.49 (1H, d)

40

実施例 B 12

(4 - ヘキシルフェニル) メタノール

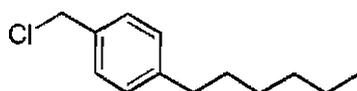


4 - n - ヘキシルベンゾイックアシッドを実施例 B 6 と同様に還元して表題化合物を得た。この化合物はさらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 13

1 - (クロロメチル) - 4 - ヘキシルベンゼン

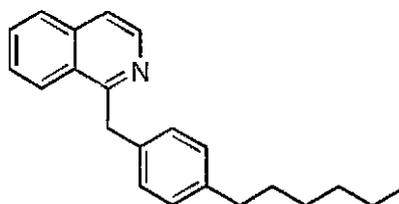
50



実施例 B 1 2 の化合物を実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。この化合物はさらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 1 4

1 - (4 - ヘキシルベンジル) イソキノリン



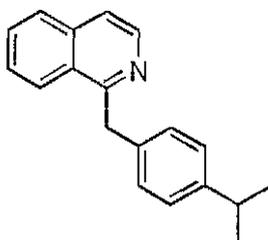
10

実施例 B 1 3 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 6 (3 H , t) , 1 . 2 6 - 1 . 3 1 (6 H , m) , 1 . 5 1 - 1 . 5 8 (2 H , m) , 2 . 5 2 (2 H , t) , 4 . 6 3 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 8 (2 H , d) , 7 . 5 0 - 7 . 5 5 (2 H , m) , 7 . 6 1 - 7 . 6 5 (1 H , m) , 7 . 8 0 (1 H , d) , 8 . 1 7 (1 H , d d) , 8 . 4 9 (1 H , d)

実施例 B 1 5

1 - (4 - イソプロピルベンジル) イソキノリン



20

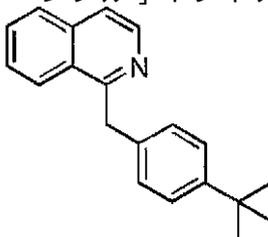
p - イソプロピルベンジルクロリドを実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 1 9 (6 H , d) , 2 . 8 0 - 2 . 8 7 (1 H , m) , 4 . 6 4 (2 H , s) , 7 . 1 1 (2 H , d) , 7 . 2 1 (2 H , d) , 7 . 5 1 - 7 . 5 6 (2 H , m) , 7 . 6 1 - 7 . 6 5 (1 H , m) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 1 9 (1 H , d d) , 8 . 5 0 (1 H , d)

30

実施例 B 1 6

1 - [4 - (tert - ブチル) ベンジル] イソキノリン



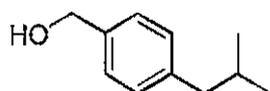
40

4 - tert - ブチルベンジルクロリドを実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 2 6 (9 H , s) , 4 . 6 4 (2 H , s) , 7 . 2 2 (2 H , d) , 7 . 2 7 (2 H , d) , 7 . 5 2 - 7 . 5 6 (2 H , m) , 7 . 6 2 - 7 . 6 6 (1 H , m) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 1 9 (1 H , d d) , 8 . 5 0 (1 H , d)

実施例 B 1 7

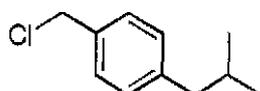
(4 - イソブチルフェニル) メタノール



4 - イソブチルベンゾイックアシッドを実施例 B 6 と同様に還元して表題の化合物を得た。さらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 1 8

1 - (クロロメチル) - 4 - イソブチルベンゼン

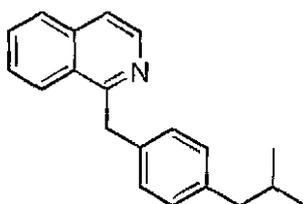


10

実施例 B 1 7 の化合物を実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。さらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 1 9

1 - (4 - イソブチルベンジル) イソキノリン



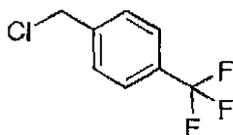
20

実施例 B 1 8 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.86 (6H, d), 1.75 - 1.83 (1H, m), 2.39 (2H, d), 4.66 (2H, s), 7.02 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.52 - 7.58 (2H, m), 7.63 - 7.67 (1H, m), 7.82 (1H, d), 8.18 (1H, d), 8.50 (1H, d)

実施例 B 2 0

1 - (クロロメチル) - 4 - (トリフルオロメチル) ベンゼン

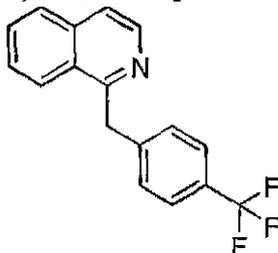


30

4 - トリフルオロメチルベンジルアルコールを実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。さらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 2 1

1 - [4 - (トリフルオロメチル) ベンジル] イソキノリン



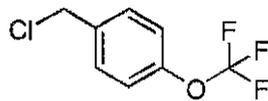
40

実施例 B 2 0 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.73 (2H, s), 7.39 (2H, d), 7.51 (2H, d), 7.54 - 7.60 (2H, m), 7.65 - 7.69 (1H, m), 7.84 (1H, d), 8.09 - 8.10 (1H, m), 8.51 (1H, d)

実施例 B 2 2

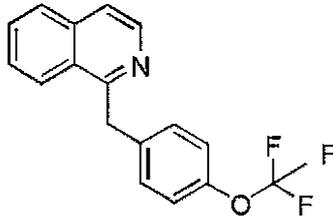
1 - (クロロメチル) - 4 - (トリフルオロメトキシ) ベンゼン



4 - トリフルオロメトキシベンジルアルコールを実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。さらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 2 3

1 - [4 - (トリフルオロメトキシ) ベンジル] イソキノリン



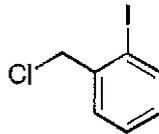
10

実施例 B 2 2 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4 . 6 7 (2 H , s) , 7 . 1 0 (2 H , d) , 7 . 2 7 (2 H , d) , 7 . 5 4 - 7 . 5 9 (2 H , m) , 7 . 6 4 - 7 . 6 8 (1 H , m) , 7 . 8 4 (1 H , d) , 8 . 1 1 (1 H , dd) , 8 . 5 0 (1 H , d)

実施例 B 2 4

1 - (クロロメチル) - 2 - ヨードベンゼン

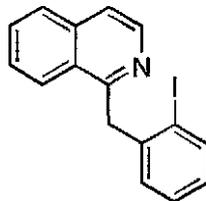


20

0 に冷却した *o* - ヨードベンジルアルコール 5 . 0 g (2 1 ミリモル) の塩化メチレン (5 0 m l) 溶液に、メタンスルフォニルクロリド 2 . 0 m l (2 9 ミリモル) とトリエチルアミン 3 . 6 m l (2 6 ミリモル) を加え、その温度で 1 9 時間攪拌した。5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、塩化メチレンで抽出した。塩化メチレン層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、表題化合物を 5 . 3 4 g 得た。

実施例 B 2 5

1 - (2 - ヨードベンジル) イソキノリン



30

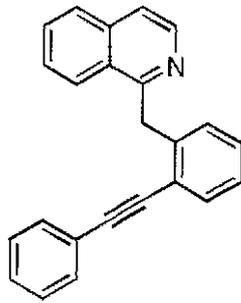
実施例 B 2 4 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4 . 7 4 (2 H , s) , 6 . 8 1 - 6 . 8 4 (1 H , m) , 6 . 8 7 - 6 . 9 2 (1 H , m) , 7 . 1 1 - 7 . 1 5 (1 H , m) , 7 . 5 5 - 7 . 5 7 (1 H , m) , 7 . 6 0 (1 H , d) , 7 . 6 4 - 7 . 6 8 (1 H , m) , 7 . 8 3 - 7 . 8 6 (1 H , m) , 7 . 8 9 - 7 . 9 1 (1 H , m) , 8 . 0 0 - 8 . 0 2 (1 H , m) , 8 . 5 0 (1 H , d)

40

実施例 B 2 6

1 - [2 - (2 - フェニル - 1 - エチニル) ベンジル] イソキノリン



窒素雰囲気下、実施例 B 2 5 の化合物 3 4 5 m g (1 . 0 7 ミリモル) のピロリジン (1 . 5 m l) 溶液に、テトラキストリフェニルフォスフィンパラジウム 5 8 m g (0 . 0 5 ミリモル) とエチルベンゼン 2 0 4 m g (2 . 0 ミリモル) のピロリジン (1 . 5 m l) 溶液を加え、8 0 °C で 3 時間攪拌した。室温まで冷却後、酢酸エチルで希釈後、飽和塩化アンモニウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2 8 0 m g を得た。

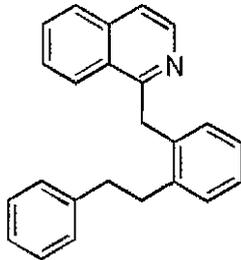
10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4 . 9 5 (2 H , s) , 6 . 9 8 - 7 . 0 6 (2 H , m) , 7 . 1 0 - 7 . 2 1 (2 H , m) , 7 . 3 1 - 7 . 3 5 (3 H , m) , 7 . 4 8 - 7 . 5 1 (3 H , m) , 7 . 5 7 - 7 . 6 5 (2 H , m) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 2 5 (1 H , d) , 8 . 5 2 (1 H , d)

実施例 B 2 7

1 - (2 - フェニルエチルベンジル) イソキノリン

20



実施例 B 2 6 の化合物 2 8 0 m g (0 . 8 8 ミリモル) のテトラヒドロフラン (3 0 m l) 溶液に、パラジウム - 炭素 (1 0 %) 2 3 0 m g を加え、室温で水素雰囲気下 (1 a t m) で 3 時間攪拌した。触媒を濾去し、得られた濾液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 6 2 m g を得た。

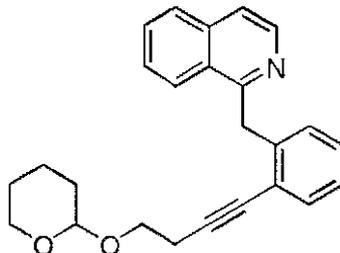
30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2 . 9 0 - 2 . 9 4 (2 H , m) , 3 . 0 7 - 3 . 1 0 (2 H , m) , 4 . 6 7 (2 H , s) , 6 . 8 0 (1 H , d) , 7 . 0 2 - 7 . 0 6 (1 H , m) , 7 . 1 5 - 7 . 3 0 (7 H , m) , 7 . 4 9 - 7 . 5 3 (1 H , m) , 7 . 5 8 (1 H , d) , 7 . 6 4 - 7 . 6 8 (1 H , m) , 7 . 8 4 (1 H , d) , 7 . 9 5 (1 H , d) , 8 . 5 0 (1 H , d)

実施例 B 2 8

1 - { 2 - [4 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] ベンジル } イソキノリン

40



窒素雰囲気下、実施例 B 2 5 の化合物 3 4 5 m g (1 . 0 7 ミリモル) のピロリジン (1 . 5 m l) 溶液に、テトラキストリフェニルフォスフィンパラジウム 5 8 m g (0 . 0 5 ミリモル) と 2 - (3 - ブチニルオキシ) - テトラヒドロ - 2 H - ピラン 2 0 8 m g (2 . 0 ミリモル) のピロリジン (1 . 5 m l) 溶液を加え、4 日間室温で攪拌し、さらに 8

50

0 で30分間攪拌した。室温まで冷却後、酢酸エチルで希釈後、飽和塩化アンモニウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、表題化合物277mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.42 - 1.60 (4H, m), 1.64 - 1.68 (1H, m), 1.75 - 1.81 (1H, m), 2.76 - 2.80 (2H, m), 3.46 - 3.51 (1H, m), 3.60 - 3.66 (1H, m), 3.85 - 3.95 (2H, m), 4.64 - 4.66 (1H, m), 4.85 (2H, s), 6.95 - 6.98 (1H, m), 7.05 - 7.13 (2H, m), 7.44 - 7.46 (1H, m), 7.49 - 7.53 (1H, m), 7.56 (1H, d), 7.60 - 7.65 (1H, m), 7.80 - 7.82 (1H, m), 8.15 - 8.18 (1H, m), 8.49 - 8.51 (1H, m)

10

実施例 B 2 9

4 - [2 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 3 - ブチン - 1 - オール



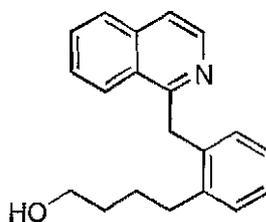
20

実施例 B 2 8 の化合物 200 mg (0 . 5 4 ミリモル) を 0 まで冷却した後、塩酸 - メタノール溶液 (10 %) を 5 ml 加え、15分間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、表題化合物86mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.72 (2H, t), 3.53 - 3.60 (1H, brs), 3.85 (2H, t), 4.85 (2H, s), 7.12 - 7.15 (2H, m), 7.22 - 7.24 (1H, m), 7.42 - 7.44 (1H, m), 7.55 - 7.59 (2H, m), 7.63 - 7.67 (1H, m), 7.81 (1H, d), 8.30 (1H, m), 8.46 (1H, m)

実施例 B 3 0

4 - [2 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 1 - ブタノール



30

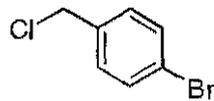
実施例 B 2 9 の化合物 44 mg (0 . 1 5 ミリモル) のテトラヒドロフラン (5 ml) 溶液に、パラジウム - 炭素 (10 %) 10 mg を加え、室温で水素雰囲気下 (1 atm) 1時間攪拌した。触媒を濾去後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、表題化合物18mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.61 - 1.75 (4H, m), 2.33 (1H, brs), 2.77 (2H, t), 3.67 (2H, t), 4.70 (2H, s), 6.91 (1H, d), 7.02 - 7.06 (1H, m), 7.12 - 7.16 (1H, m), 7.19 - 7.21 (1H, m), 7.50 - 7.55 (1H, m), 7.57 (1H, d), 7.63 - 7.67 (1H, d), 7.83 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.47 (1H, d)

40

実施例 B 3 1

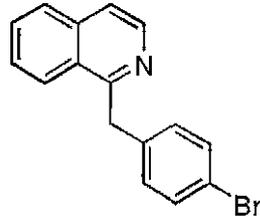
1 - プロモ - 2 - (クロロメチル) ベンゼン



p - プロモベンジルアルコールを実施例 B 1 と同様にして表題化合物を得た。

実施例 B 3 2

1 - (4 - プロモベンジル) イソキノリン



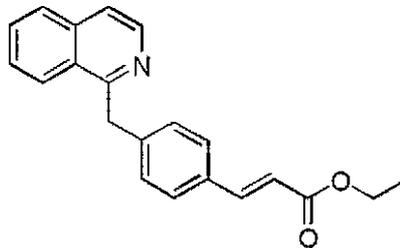
10

実施例 B 3 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4 . 6 1 (2 H , s) , 7 . 1 4 - 7 . 1 6 (2 H , m) , 7 . 3 5 - 7 . 3 9 (2 H , m) , 7 . 5 2 - 7 . 5 8 (2 H , m) , 7 . 6 3 - 7 . 6 7 (1 H , m) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 0 7 - 8 . 1 0 (1 H , m) , 8 . 4 9 (1 H , d)

実施例 B 3 3

エチル (E) - 3 - [4 - (イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロパノエート



20

窒素雰囲気下、実施例 B 3 2 の化合物 1 0 0 m g (0 . 3 4 ミリモル) とプロピオン酸ビニルエステル 7 3 μ l (0 . 6 7 ミリモル) のジメチルホルムアミド 1 . 0 m l 溶液に、トリス (2 - メチルフェニル) ホスフィン 2 0 m g (0 . 0 6 7 ミリモル) 、パラジウム (II) アセテート 7 . 5 m g (0 . 0 3 4 ミリモル) としてトリエチルアミン 7 0 μ l (0 . 5 0 ミリモル) を加え、4 時間 1 0 0 で加熱攪拌した。この溶液を室温まで戻した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 7 4 m g を得た。

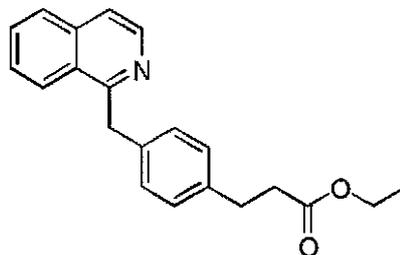
30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 3 2 (3 H , t) , 4 . 2 4 (2 H , q) , 4 . 6 9 (2 H , s) , 6 . 3 6 (1 H , d) , 7 . 2 9 (2 H , d) , 7 . 4 2 (2 H , d) , 7 . 5 3 - 7 . 6 7 (4 H , m) , 7 . 8 3 (1 H , d) , 8 . 1 1 - 8 . 1 3 (1 H , m) , 8 . 5 0 (1 H , d)

実施例 B 3 4

エチル 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロパノエート

40



実施例 B 3 3 の化合物 7 1 m g (0 . 2 2 ミリモル) のメタノール (5 . 0 m l) 溶液に、パラジウム - 炭素 (1 0 % 、 2 0 m g) を加え、室温で常圧水素雰囲気下、5 時間半攪拌した。反応液より触媒を濾別した後、濾液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムク

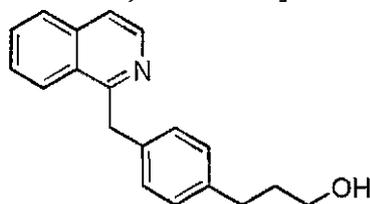
50

ロマトグラフィーで精製し、表題化合物 52 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.20 (3H, t), 2.56 (2H, t), 2.88 (2H, t), 4.09 (2H, q), 4.64 (2H, s), 7.09 (2H, d), 7.20 (2H, d), 7.51 - 7.57 (2H, m), 7.62 - 7.66 (1H, m), 7.82 (1H, d), 8.15 (1H, dd), 8.50 (1H, d)

実施例 B 3 5

3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 1 - プロパノール



10

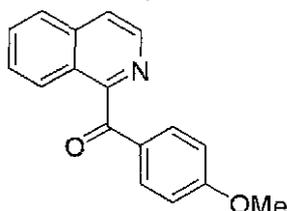
窒素雰囲気下、0 に冷却したテトラヒドロフラン 1.0 ml にリチウムアルミニウムヒドリド 6 mg (0.16 ミリモル) を加えた。この溶液に実施例 B 3 4 の化合物 46 mg (0.14 ミリモル) のテトラヒドロフラン (1.0 ml) 溶液を加え、その温度で 3 時間攪拌した。反応液にメタノールと水 (9 : 1, 1.0 ml) の混合液を加え、さらに飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた後、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 22 mg を得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.30 - 1.35 (1H, brs), 1.81 - 1.88 (2H, m), 2.64 (2H, t), 3.62 - 3.65 (2H, m), 4.64 (2H, s), 7.09 (2H, d), 7.20 (2H, d), 7.51 - 7.57 (2H, m), 7.62 - 7.66 (1H, m), 7.81 (1H, d), 8.16 - 8.18 (1H, m), 8.49 (1H, d)

実施例 B 3 6

1 - イソキノリル (4 - メトキシフェニル) ケトン



30

窒素雰囲気下、マグネシウム 3059 mg (125.8 ミリモル) とテトラヒドロフラン (20 ml) の混合溶液に、4 - ブロモアニソール 15.3 ml (122 ミリモル) と開始剤として触媒量の 1, 2 - ジブromoエタンを加え、加熱還流下 45 分間攪拌した。この溶液を 0 まで冷却し、1 - イソキノリンカルボニトリル 10.78 g (69.9 ミリモル) のテトラヒドロフラン溶液 (30 ml) を滴下後、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物を氷冷し、濃塩酸 24 ml とメタノール 120 ml を加え、1.5 時間加熱還流した。氷冷後、水酸化ナトリウム水溶液を加え pH 8 とした後、エーテルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 15.87 g を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.88 (3H, s), 6.95 (2H, d), 7.61 (1H, dd), 7.74 (1H, dd), 7.76 (1H, d), 7.85 (2H, d), 8.17 (1H, dd), 8.60 (1H, d)

実施例 B 3 7

1 - イソキノリル (4 - メトキシフェニル) メタノール



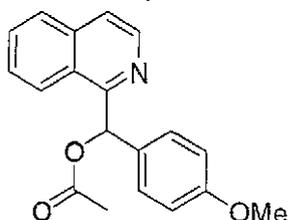
氷冷した実施例 B 3 6 の化合物 8 6 0 8 m g のエタノール (1 7 0 m l) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム 1 8 5 5 m g を加え、室温で 3 5 分間攪拌した。さらに水素化ホウ素ナトリウム 9 5 7 m g を加え 4 0 で 4 0 分間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、水を加えエーテルで抽出した。有機層を水と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた表題化合物 7 8 8 1 m g はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (D M S O - d 6) (p p m) : 3 . 6 6 (3 H , s) , 6 . 3 0 - 6 . 3 2 (1 H , b r s) , 6 . 8 1 (2 H , d) , 7 . 2 8 (2 H , d) , 7 . 5 4 (1 H , d d) , 7 . 6 8 (1 H , d d) , 7 . 7 6 (1 H , d) , 7 . 9 4 (1 H , d) , 8 . 3 7 (1 H , d) , 8 . 4 7 (1 H , d) .

水酸基のプロトンは、NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 3 8

1 - イソキノリル (4 - メトキシフェニル) メチルアセテート

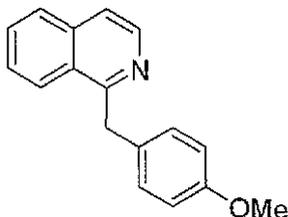


実施例 B 3 7 の化合物 7 8 8 1 m g のピリジン (1 0 0 m l) 溶液に、無水酢酸 2 0 m l を加え、5 0 で 4 時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮後、さらにトルエン共沸した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 8 . 7 9 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (C D C l 3) (p p m) : 2 . 2 2 (3 H , s) , 3 . 7 6 (3 H , s) , 6 . 8 4 (2 H , d) , 7 . 3 9 (2 H , d) , 7 . 5 4 (1 H , d d) , 7 . 5 6 (1 H , s) , 7 . 6 0 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , d d) , 7 , 8 2 (1 H , d) , 8 . 1 9 (1 H , d) , 8 . 5 7 (1 H , d) .

実施例 B 3 9

1 - (4 - メトキシベンジル) イソキノリン

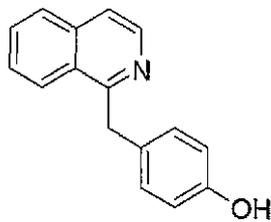


実施例 B 3 8 の化合物 8 . 7 9 g のメタノール (1 5 0 m l) 溶液に、1 0 % パラジウム - 炭素 4 . 0 g を加え、室温で常圧水素雰囲気下 5 . 5 時間攪拌した。触媒をセライトで濾去し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 4 . 4 8 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (C D C l 3) (p p m) : 3 . 7 4 (3 H , s) , 4 . 6 1 (2 H , s) , 6 . 7 9 (2 H , d) , 7 . 2 1 (2 H , d) , 7 . 5 3 (1 H , d d) , 7 . 5 6 (1 H , d) , 7 . 6 3 (1 H , d d) , 7 . 8 0 (1 H , d) , 8 . 1 6 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

実施例 B 4 0

4 - (1 - イソキノリルメチル) フェノール

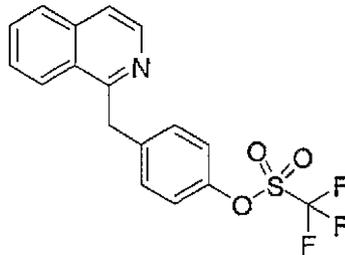


実施例 B 39 の化合物 2185 mg に 47% 臭化水素酸水溶液 40 ml を加え、14 時間加熱還流した。室温まで戻した後、さらに氷冷し 50% 水酸化ナトリウム水溶液で中和し、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた粉末を石油エーテルで洗浄し、表題化合物 1822 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (ppm): 4.48 (2H, s), 6.61 (2H, d), 7.07 (2H, d), 7.60 (1H, dd), 7.68 (1H, d), 7.71 (1H, dd), 7.92 (1H, d), 8.27 (1H, d), 8.41 (1H, d), 9.19 (1H, br s).

実施例 B 41

4-(1-イソキノリルメチル)フェニルトリフルオロメタンスルホネート

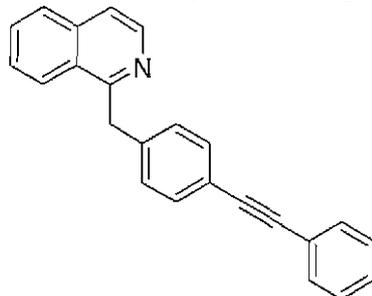


氷冷した実施例 B 40 の化合物 513 mg のピリジン (10 ml) 溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸無水物 0.55 ml を滴下し、その温度で 45 分間攪拌した。その反応溶液に氷を加えエーテルで抽出した。有機層を水と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物を 546 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) (ppm): 4.69 (2H, s), 7.16 (2H, d), 7.35 (2H, d), 7.57 (1H, dd), 7.60 (1H, d), 7.68 (1H, dd), 7.85 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.50 (1H, d)

実施例 B 42

1-[4-(2-フェニル-1-エチニル)ベンジル]イソキノリン



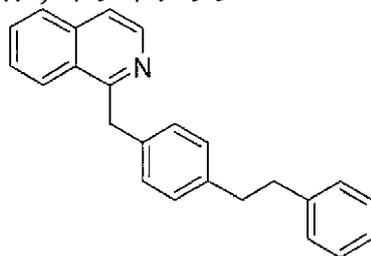
脱気した後、窒素置換した実施例 B 41 の化合物 88 mg の N,N-ジメチルホルムアミド (2.0 ml) 溶液に、フェニルアセチレン 53 μ l、酢酸パラジウム 9 mg、1,1'-ビス(ジフェニルフォスフィノ)フェロセン 67 mg、ヨウ化銅 (I) 3 mg、塩化リチウム 20 mg そして トリエチルアミン 50 μ l を加え、80 °C で 8 時間攪拌した。室温まで戻した後、水を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を水と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 53 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) (ppm): 4.69 (2H, s), 7.12 - 7.32

(3 H, m), 7.25 (2 H, d), 7.42 (2 H, d), 7.43 - 7.52 (2 H, m), 7.54 (1 H, dd), 7.58 (1 H, d), 7.65 (1 H, dd), 7.83 (1 H, d), 8.10 (1 H, d), 8.51 (1 H, d).

実施例 B 4 3

1 - (4 - フェネチルベンジル) イソキノリン



10

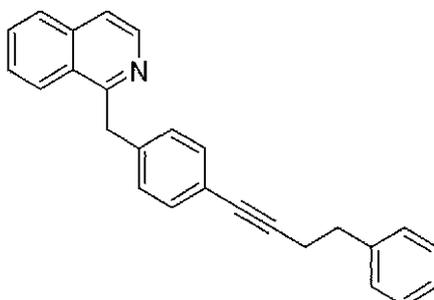
実施例 B 4 2 の化合物 45 mg のテトラヒドロフラン (2 ml) 溶液に、10%パラジウム-炭素触媒 20 mg を加え、室温で常圧水素雰囲気下 2 時間攪拌した。触媒をセライトで濾去し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 23 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 2.78 - 2.90 (4 H, m), 4.64 (2 H, s), 7.07 (2 H, d), 7.10 - 7.20 (5 H, m), 7.22 (2 H, d), 7.53 (1 H, dd), 7.55 (1 H, d), 7.63 (1 H, dd), 7.80 (1 H, d), 8.15 (1 H, d), 8.49 (1 H, d).

20

実施例 B 4 4

1 - [4 - (4 - フェニル - 1 - ブチニル) ベンジル] イソキノリン



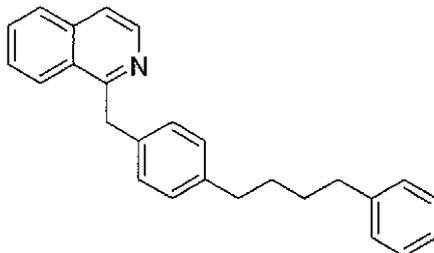
30

実施例 B 4 1 の化合物と 4 - フェニル - 1 - ブチンを用い、実施例 B 4 2 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 2.65 (2 H, t), 2.88 (2 H, t), 4.68 (2 H, s), 7.12 - 7.40 (9 H, m), 7.50 - 7.70 (3 H, m), 7.80 - 7.88 (1 H, m), 8.00 - 8.10 (1 H, m), 8.48 - 8.51 (1 H, m).

実施例 B 4 5

1 - [4 - (4 - フェニル - 1 - ブチル) ベンジル] イソキノリン



40

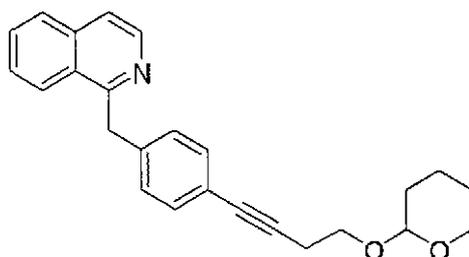
実施例 B 4 4 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 1.55 - 1.80 (4 H, m), 2.50 - 2.65 (4 H, m), 4.68 (2 H, s), 7.00 - 7.30 (9 H, m), 7.52 (1 H, dd), 7.56 (1 H, d), 7.63 (1 H, dd), 7.81 (1 H, d), 8.15 (1 H, d), 8.50 (1 H, d).

50

実施例 B 4 6

1 - { 4 - [4 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] ベンジル } イソキノリン



10

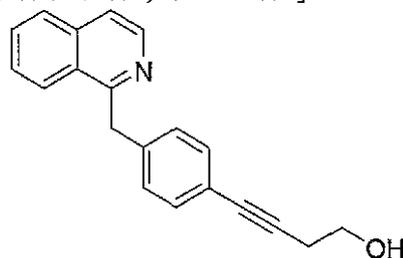
実施例 B 4 1 の化合物と 2 - (3 - ブチニルオキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピランを用い、実施例 B 4 2 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 4 8 - 1 . 9 0 (6 H , m) , 2 . 6 7 (2 H , t) , 3 . 4 9 - 3 . 5 5 (1 H , m) , 3 . 6 0 (1 H , d d) , 3 . 6 5 - 3 . 9 4 (2 H , m) , 4 . 6 6 (2 H , s) , 4 . 6 5 - 4 . 7 0 (1 H , m) , 7 . 1 4 - 7 . 2 0 (2 H , m) , 7 . 2 3 - 7 . 3 0 (2 H , m) , 7 . 5 3 (1 H , d d) , 7 . 5 8 (1 H , d) , 7 . 6 5 (1 H , d d) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 1 0 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

実施例 B 4 7

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 3 - ブチン - 1 - オール

20



実施例 B 4 6 の化合物 1 0 4 8 m g を 1 0 % 塩酸 - メタノール溶液 5 0 m l に溶解し、室温で 1 . 5 時間攪拌した。反応混合物を氷冷し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 6 6 6 m g を得た。

30

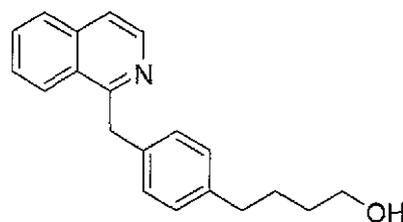
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2 . 6 5 (2 H , t) , 3 . 7 7 (2 H , t) , 4 . 6 5 (2 H , s) , 7 . 1 8 (2 H , d) , 7 . 2 9 (2 H , d) , 7 . 5 2 (1 H , d d) , 7 . 5 7 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , d d) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 0 7 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

水酸基のプロトンは、 NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 4 8

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 1 - ブタノール

40



実施例 B 4 7 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理して表題化合物を得た。

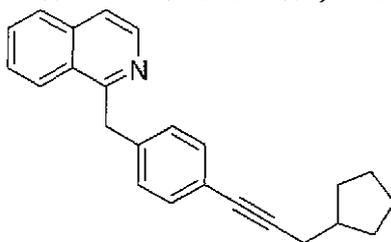
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 5 0 - 1 . 7 0 (4 H , m) , 2 . 5 7 (2 H , t) , 3 . 6 2 (2 H , t) , 4 . 6 4 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 8 (2 H , d) , 7 . 5 3 (1 H , d d) , 7 . 5 5 (1 H , d) , 7 . 6 3 (1 H , d d) , 7 . 8 0 (1 H , d) , 8 . 1 6 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

50

水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 4 9

1 - [4 - (3 - シクロペンチル - 1 - プロピニル) ベンジル] イソキノリン



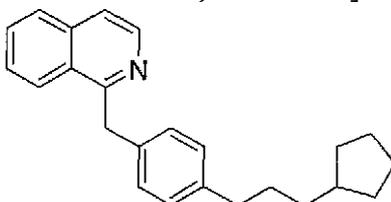
10

実施例 B 4 1 と 3 - シクロペンチル - 1 - プロピニルを用い、実施例 B 4 2 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.25 - 1.35 (2H, m), 1.45 - 1.70 (6H, m), 1.75 - 1.85 (2H, m), 2.05 - 2.13 (1H, m), 4.65 (2H, s), 7.17 (2H, d), 7.27 (2H, d), 7.51 (1H, dd), 7.56 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.81 (1H, d), 8.08 (1H, d), 8.49 (1H, d).

実施例 B 5 0

1 - [4 - (3 - シクロペンチルプロピル) ベンジル] イソキノリン



20

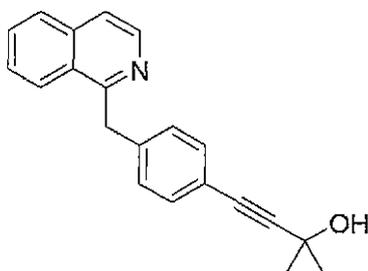
実施例 B 4 9 を実施例 B 4 3 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.25 - 1.74 (13H, m), 2.49 - 2.54 (2H, m), 4.64 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.55 (1H, d), 7.63 (1H, dd), 7.80 (1H, d), 8.17 (1H, d), 8.49 (1H, d).

30

実施例 B 5 1

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - メチル - 3 - ブチン - 2 - オール



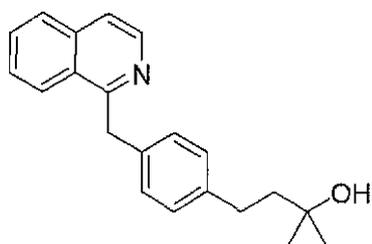
40

実施例 B 4 1 の化合物と 2 - メチル - 3 - ブチン - 2 - オールを用いて実施例 B 4 2 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm) : 1.35 (1H, s), 1.40 (6H, s), 4.62 (2H, s), 7.20 - 7.30 (4H, m), 7.61 (1H, dd), 7.71 (1H, d), 7.69 - 7.76 (1H, m), 7.95 (1H, d), 8.26 (1H, d), 8.42 (1H, d).

実施例 B 5 2

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - メチル - 2 - ブタノール



実施例 B 5 1 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理して表題化合物を得た。

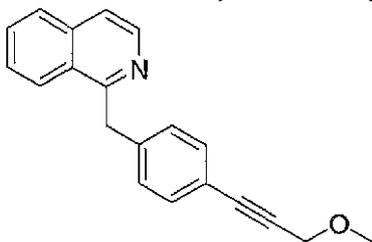
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.25 (6H, s), 1.70 - 1.77 (2H, m), 2.60 - 2.67 (2H, m), 4.64 (2H, s), 7.08 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.55 (1H, d), 7.63 (1H, dd), 7.80 (1H, d), 8.16 (1H, d), 8.49 (1H, d).

10

水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 5 3

1 - [4 - (3 - メトキシ - 1 - プロピニル) ベンジル] イソキノリン



20

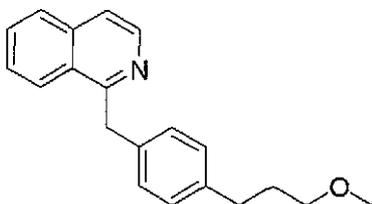
実施例 B 4 1 の化合物とメチルプロパルギルエーテルを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 3.42 (3H, s), 4.29 (2H, s), 4.66 (2H, s), 7.21 (2H, d), 7.34 (2H, d), 7.54 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.65 (1H, dd), 7.82 (1H, d), 8.10 (1H, d), 8.49 (1H, d).

30

実施例 B 5 4

1 - [4 - (3 - メトキシプロピル) ベンジル] イソキノリン



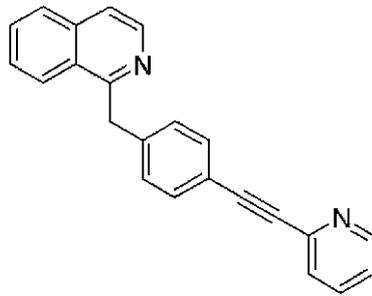
実施例 B 5 3 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.78 - 1.87 (2H, m), 2.06 (2H, t), 3.31 (3H, s), 3.35 (2H, t), 4.64 (2H, s), 7.07 (2H, d), 7.22 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.55 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.81 (1H, d), 8.17 (1H, d), 8.49 (1H, d).

40

実施例 B 5 5

1 - { 4 - [2 - (2 - ピリジル) - 1 - エチニル] ベンジル } イソキノリン



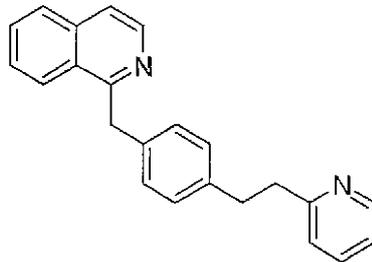
実施例 B 4 1 の化合物と 2 - エチニルピリジンを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.71 (2H, s), 7.20 - 7.25 (2H, m), 7.29 (2H, d), 7.48 - 7.53 (1H, m), 7.51 (2H, d), 7.57 (1H, dd), 7.61 (1H, d), 7.67 (1H, dd), 7.85 (1H, d), 8.13 (1H, d), 8.53 (1H, d), 8.59 - 8.63 (1H, m).

実施例 B 5 6

1 - { 4 - [2 - (2 - ピリジル) エチル] ベンジル } イソキノリン



20

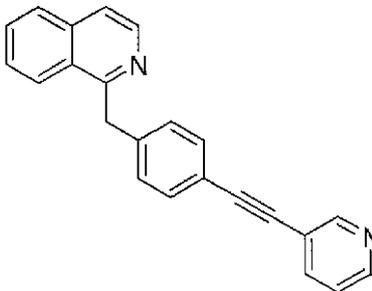
実施例 B 5 5 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2.94 - 3.06 (4H, m), 4.64 (2H, s), 7.04 (1H, d), 7.09 (1H, dd), 7.09 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.53 (1H, ddd), 7.54 (1H, dd), 7.55 (1H, d), 7.64 (1H, d), 7.81 (1H, d), 8.15 (1H, d), 8.49 (1H, d), 8.53 (1H, dd).

30

実施例 B 5 7

1 - { 4 - [2 - (3 - ピリジル) - 1 - エチニル] ベンジル } イソキノリン



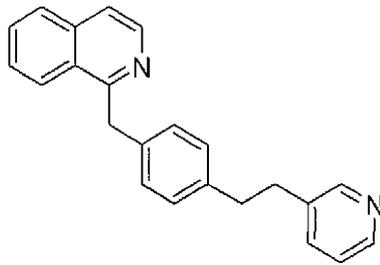
40

実施例 B 4 1 の化合物と 3 - エチニルピリジンを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.69 (2H, s), 7.27 (2H, d), 7.31 (1H, dd), 7.43 (2H, d), 7.55 (1H, dd), 7.59 (1H, d), 7.66 (1H, dd), 7.82 (1H, ddd), 7.83 (1H, d), 8.10 (1H, d), 8.51 (1H, d), 8.60 (1H, dd), 8.77 (1H, d).

実施例 B 5 8

1 - { 4 - [2 - (3 - ピリジル) エチル] ベンジル } イソキノリン



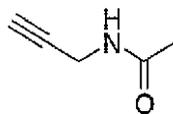
実施例 B 5 7 を実施例 B 4 3 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.80 - 2.90 (4 H, m), 4.65 (2 H, s), 7.04 (2 H, d), 7.15 (1 H, dd), 7.19 (2 H, d), 7.39 (1 H, dd), 7.54 (1 H, dd), 7.56 (1 H, d), 7.64 (1 H, dd), 7.81 (1 H, d), 8.15 (1 H, d), 8.40 (1 H, d), 8.42 (1 H, d), 8.49 (1 H, d).

10

実施例 B 5 9

N-(2-プロピニル)アセトアミド



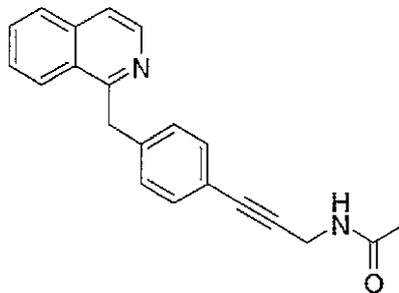
氷冷したプロパルギルアミン 3023 mg の塩化メチレン (30 ml) 溶液に、ピリジン 16.3 ml と無水酢酸 10.4 ml を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を氷に注ぎ、酢酸エチルで抽出し、1 規定塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液そして飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲルを用いて濾過した。減圧濃縮し、表題化合物 743 mg を得た。得られた化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

20

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 1.79 (3 H, s), 3.07 (1 H, t), 3.81 (2 H, d), 8.25 (1 H, br s).

実施例 B 6 0

N-{3-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-2-プロピニル}アセトアミド



30

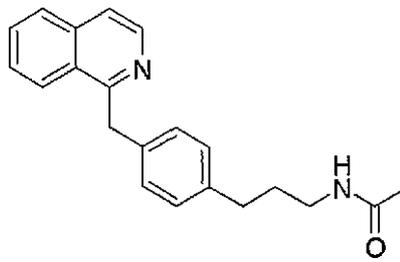
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 5 9 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 1.79 (3 H, s), 4.04 (2 H, s), 4.61 (2 H, s), 7.45 - 7.68 (4 H, m), 7.68 - 7.75 (2 H, m), 7.90 - 8.00 (1 H, m), 8.25 - 8.38 (2 H, m), 8.40 - 8.45 (1 H, m).

40

実施例 B 6 1

N-{3-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]プロピル}アセトアミド



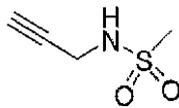
実施例 B 6 0 を実施例 B 4 3 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.95 (3H, s), 1.74 - 1.84 (2H, m), 2.55 (2H, t), 3.25 (2H, dt), 4.68 (2H, s), 7.10 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.20 - 7.28 (1H, m), 7.50 - 7.58 (2H, m), 7.60 - 7.68 (1H, m), 7.75 - 7.85 (1H, m), 8.10 - 8.16 (1H, m), 8.45 - 8.50 (1H, m).

10

実施例 B 6 2

N - (2 - プロピニル) メタンスルホンアミド



氷冷したプロパルギルアミン 3023 mg の塩化メチレン (30 ml) 溶液に、トリエチルアミン 9.77 ml を加え、メタンスルホニルクロリド 5.19 ml を滴下した後、その温度で 3 時間攪拌し、その後室温に昇温し、さらに 2 時間攪拌した。反応混合物に氷を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。残渣をメタノール 120 ml に溶解し、炭酸カリウム 11.7 g を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、氷冷下希塩酸で中和した後、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 6.67 g を得た。

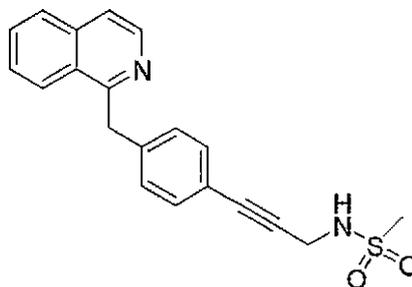
20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.39 (1H, t), 3.10 (3H, s), 3.99 (2H, dd), 4.60 (1H, brs).

実施例 B 6 3

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピニル } メタンスルホンアミド

30



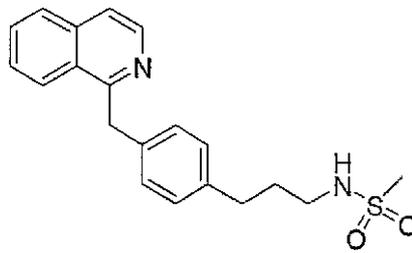
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 6 2 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 2.97 (3H, s), 4.00 (2H, d), 4.63 (2H, s), 7.25 - 7.37 (4H, m), 7.57 (1H, t), 7.62 (1H, dd), 7.71 (1H, d), 7.73 (1H, dd), 7.94 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.42 (1H, d).

実施例 B 6 4

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロピル } メタンスルホンアミド



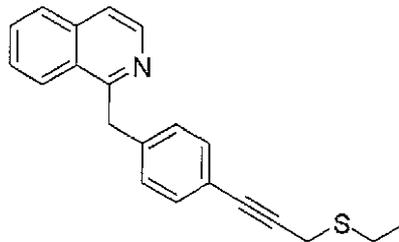
実施例 B 6 3 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.80 - 1.90 (2H, m), 2.62 (2H, t), 2.89 (3H, s), 3.11 (2H, dt), 4.25 (1H, br s), 4.64 (2H, s), 7.05 (2H, d), 7.20 (2H, d), 7.50 (1H, dd), 7.56 (1H, d), 7.63 (1H, dd), 7.81 (1H, d), 8.15 (1H, d), 8.49 (1H, d).

10

実施例 B 6 5

1 - { 4 - [3 - (エチルスルファニル) - 1 - プロピニル] ベンジル } イソキノリン



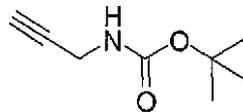
20

実施例 B 4 1 の化合物とプロパルギルエチルスルフィドを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.30 (3H, t), 2.73 (2H, q), 3.47 (2H, s), 4.67 (2H, s), 7.20 - 7.32 (4H, m), 7.52 (1H, dd), 7.57 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.81 (1H, d), 8.08 (1H, d), 8.49 (1H, d).

実施例 B 6 6

t - ブチル N - (2 - プロピニル) カルバメート



30

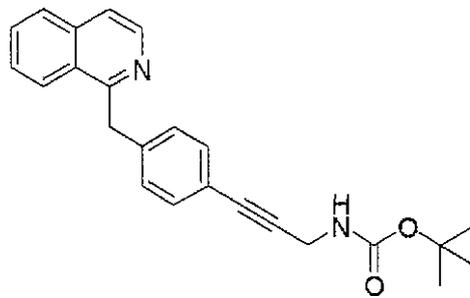
氷冷したプロパルギルアミン 3040 mg のテトラヒドロフラン (20 ml) 溶液に、ジ - t - ブチル - ジカルボナート 10.84 g のテトラヒドロフラン溶液 (20 ml) を滴下し、徐々に室温まで昇温し、20 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、表題化合物 9.34 g を得た。得られた化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm) : 1.36 (9H, s), 3.04 (1H, t), 3.62 - 3.70 (2H, m), 7.20 - 7.30 (1H, m)

40

実施例 B 6 7

tert - ブチル N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピニル } カルバメート



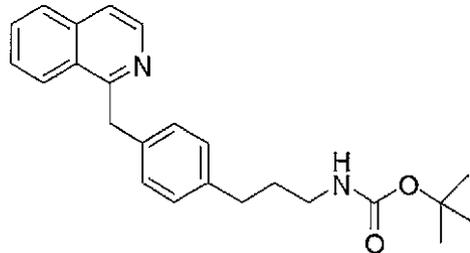
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 6 6 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.45 (9H, s), 4.06 - 4.13 (2H, m), 4.66 (2H, s), 7.19 (2H, d), 7.20 - 7.28 (1H, m), 7.29 (2H, d), 7.52 (1H, dd), 7.57 (1H, d), 7.65 (1H, dd), 7.82 (1H, d), 8.08 (1H, d), 8.49 (1H, d).

実施例 B 6 8

tert-ブチル N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロピル } カルバメート



20

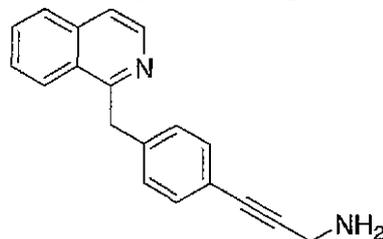
実施例 B 6 7 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.43 (9H, s), 1.70 - 1.81 (2H, m), 2.54 - 2.60 (2H, m), 3.01 - 3.20 (2H, m), 4.47 - 4.57 (1H, m), 4.65 (2H, s), 7.07 (2H, d), 7.21 (2H, d), 7.55 (1H, dd), 7.57 (1H, d), 7.65 (1H, dd), 7.83 (1H, d), 8.18 (1H, d), 8.51 (1H, d).

30

実施例 B 6 9

3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピン - 1 - アミン



40

氷冷した実施例 B 6 7 の化合物 4 mg の塩化メチレン (0 . 6 ml) 溶液に、トリフルオロ酢酸 0 . 3 ml を加え、その温度で 1 時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物を 4 mg を得た。

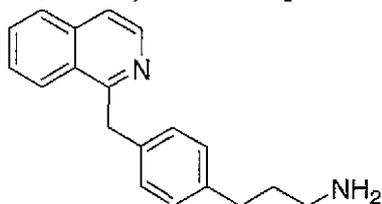
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.60 - 3.68 (2H, m), 4.66 (2H, s), 7.19 (2H, d), 7.29 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.56 (1H, d), 7.63 (1H, dd), 7.82 (1H, d), 8.10 (1H, d), 8.49 (1H, d).

アミンのプロトンは、NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 7 0

50

3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 1 - プロパンアミン



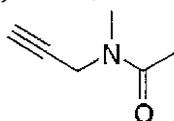
実施例 B 6 8 の化合物を実施例 B 6 9 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 2 0 - 1 . 3 0 (2 H , m) , 1 . 7 8 - 1 . 8 8 (2 H , m) , 2 . 4 5 - 2 . 5 2 (2 H , m) , 2 . 7 3 - 2 . 8 1 (2 H , m) , 4 . 5 5 (2 H , s) , 6 . 9 4 (2 H , d) , 7 . 0 8 (2 H , d) , 7 . 5 0 (1 H , dd) , 7 . 5 1 (1 H , d) , 7 . 6 1 (1 H , dd) , 7 . 7 6 (1 H , d) , 8 . 1 0 (1 H , d) , 8 . 3 8 (1 H , d) .

10

実施例 B 7 1

N - メチル - N - (2 - プロピニル) アセトアミド



N - メチル - N - (2 - プロピニル) アミンを実施例 B 5 9 と同様に処理し、表題化合物を得た。

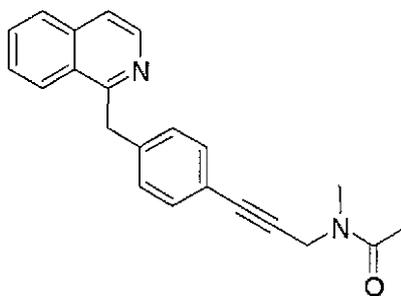
20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2 . 1 1 (2 . 1 H , s) , 2 . 1 7 (0 . 9 H , s) , 2 . 2 1 (0 . 7 H , t) , 2 . 3 1 (0 . 3 H , t) , 3 . 0 0 (0 . 9 H , s) , 3 . 0 8 (2 . 1 H , s) , 4 . 0 4 (0 . 6 H , d) , 4 . 2 3 (1 . 4 H , d) .

なお、この化合物はアミド幾何異性体の 7 : 3 の混合物である。

実施例 B 7 2

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピニル } N - メチルアセトアミド



30

実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 7 1 の化合物を実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

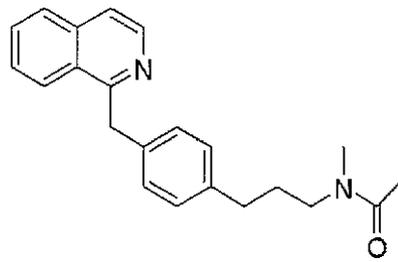
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2 . 1 0 (1 . 8 H , s) , 2 . 1 1 (1 . 2 H , s) , 3 . 0 1 (1 . 2 H , s) , 3 . 1 0 (1 . 8 H , s) , 4 . 2 1 (1 . 2 H , s) , 4 . 4 1 (0 . 8 H , s) , 4 . 6 7 (2 H , s) , 7 . 1 8 - 7 . 2 3 (2 H , m) , 7 . 2 9 - 7 . 3 2 (2 H , m) , 7 . 5 3 (1 H , dd) , 7 . 5 8 (1 H , d) , 7 . 6 5 (1 H , dd) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 0 9 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

40

なお、この化合物はアミド幾何異性体の 3 : 2 の混合物である。

実施例 B 7 3

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロピル } - N 1 - メチルアセトアミド



実施例 B 7 2 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に処理し、表題化合物を得た。

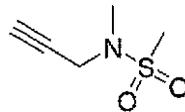
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.70 - 1.90 (2 H, m), 1.89 (1.5 H, s), 2.03 (1.5 H, s), 2.50 - 2.59 (2 H, m), 2.88 (1.5 H, s), 2.91 (1.5 H, s), 3.20 - 3.25 (1 H, m), 3.36 - 3.40 (1 H, m), 4.66 (2 H, s), 7.03 - 7.10 (2 H, m), 7.18 - 7.30 (2 H, m), 7.53 (1 H, dd), 7.58 (1 H, d), 7.66 (1 H, dd), 7.82 (1 H, d), 8.17 (1 H, d), 8.50 (1 H, d).

10

なお、この化合物はアミド幾何異性体の 1 : 1 の混合物である。

実施例 B 7 4

N - メチル - N - (2 - プロピニル) メタンサルホンアミド



20

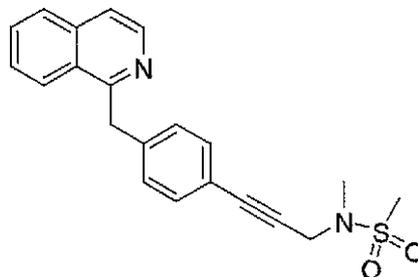
氷冷した N - メチル - N - (2 - プロピニル) アミン 2 6 0 3 m g の塩化メチレン (2 5 m l) 溶液に、トリエチルアミン 6 . 5 5 m l を加えた後、メタンサルホニルクロリド 3 . 5 0 m l を滴下後、その温度で 1 時間攪拌し、さらに室温で 2 時間攪拌した。反応混合物に氷を加え、酢酸エチルで抽出し、1 規定塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液そして飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、シリカゲル濾過した。濾液を減圧濃縮し、表題化合物 4 5 2 2 m g を得た。得られた化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.41 (1 H, t), 2.93 (3 H, s), 2.96 (3 H, s), 4.09 (2 H, d).

30

実施例 B 7 5

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピニル } - N - メチルメタンサルホンアミド



40

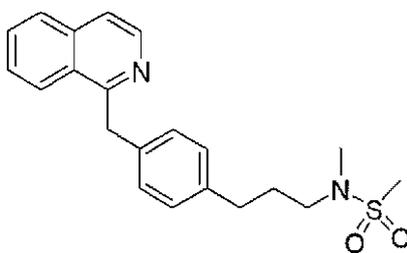
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 7 4 の化合物を実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.95 (3 H, s), 2.97 (3 H, s), 4.26 (2 H, s), 4.68 (2 H, s), 7.24 (2 H, d), 7.31 (2 H, d), 7.55 (1 H, dd), 7.59 (1 H, d), 7.66 (1 H, dd), 7.83 (1 H, d), 8.10 (1 H, d), 8.49 (1 H, d).

実施例 B 7 6

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロピル } - N - メチルメタンサルホンアミド

50

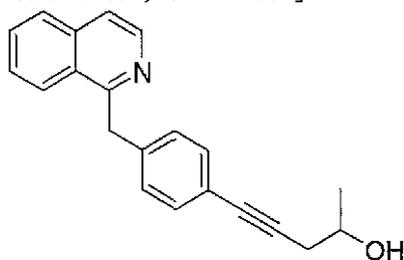


実施例 B 7 5 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に反応させ、残査は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : YMC C o m b i p r e p O D S - A M , 2 0 m m x 5 0 m m (l o n g)] により分離精製し、表題化合物を得た。

MS m / z (E S I : M H +) : 3 6 9 . 2

実施例 B 7 7

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 4 - ペンチン - 2 - オール



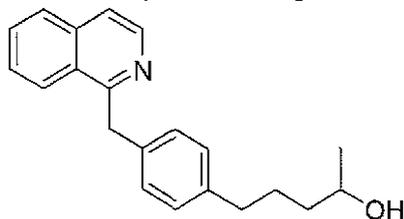
実施例 B 4 1 の化合物と 4 - ペンチン - 2 - オールを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 2 7 (3 H , t) , 2 . 3 8 - 2 . 6 2 (2 H , m) , 3 . 9 5 - 4 . 0 3 (1 H , m) , 4 . 6 5 (2 H , s) , 7 . 1 9 (2 H , d) , 7 . 2 9 (2 H , d) , 7 . 5 2 (1 H , d d) , 7 . 5 7 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , d d) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 0 8 (1 H , d) , 8 . 4 8 (1 H , d) .

水酸基のプロトンは、NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 7 8

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - ペンタノール

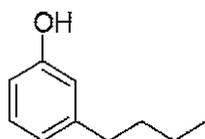


実施例 B 7 7 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に反応させ、残査は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : YMC C o m b i p r e p O D S - A M , 2 0 m m x 5 0 m m (l o n g)] により分離精製し、表題化合物を得た。

MS m / z (E S I : M H +) : 3 0 6 . 2

実施例 B 7 9

3 - ブチルフェノール



10

20

30

40

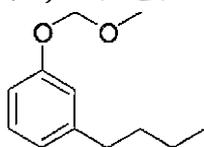
50

1 - ブチル - 3 - メトキシベンゼンを実施例 B 4 0 と同様に処理し表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.94 (3H, t), 1.30 - 1.55 (2H, m), 1.55 - 1.62 (2H, m), 2.56 (2H, t), 4.76 (1H, brs), 6.63 (1H, dd), 6.66 (1H, d), 6.75 (1H, d), 7.12 (1H, dd).

実施例 B 8 0

1 - ブチル - 3 - (メトキシメトキシ)ベンゼン



10

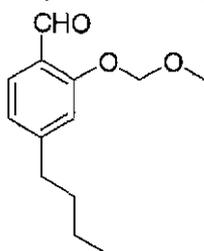
氷冷した実施例 B 7 9 の化合物 3 1 8 mg のジメチルホルムアミド (5 ml) 溶液に、60% 鉱油分散の水素化ナトリウム 1 0 2 mg を加え、室温で 3 0 分間攪拌した。再度氷冷し、クロロメチルメチルエーテル 0.18 ml を加え、室温で 1 2 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲル濾過した。濾液を減圧濃縮し、表題化合物 3 4 1 mg を得た。得られた化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.94 (3H, t), 1.30 - 1.42 (2H, m), 1.55 - 2.04 (2H, m), 2.58 (2H, t), 3.49 (3H, s), 5.17 (2H, s), 6.80 - 6.87 (3H, m), 7.18 (1H, dd).

20

実施例 B 8 1

4 - ブチル - 2 - (メトキシメトキシ)ベンズアルデヒド



30

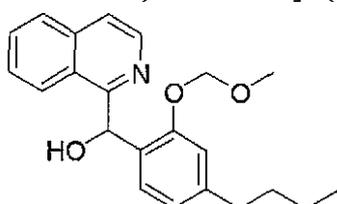
- 2 0 に冷却した実施例 B 8 0 の化合物 2 3 9 6 mg の石油エーテル溶液に、t - ブチルリチウムのペンタン溶液 (1.51 M) 1 0 . 6 ml を滴下し、- 1 0 から 0 の温度範囲で 1 . 5 時間攪拌した。その反応溶液を - 7 0 に冷却し、無水エーテル 1 7 ml、ジメチルホルムアミド 1 . 9 1 ml を加え、その温度で 3 時間攪拌し、室温でさらに 1 時間攪拌した。反応混合物を氷冷し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 8 2 1 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.94 (3H, t), 1.32 - 1.42 (2H, m), 1.57 - 1.65 (2H, m), 2.64 (2H, t), 3.54 (3H, s), 5.29 (2H, s), 6.91 (1H, d), 7.01 (1H, s), 7.76 (1H, d), 10.44 (1H, s).

40

実施例 B 8 2

[4 - ブチル - 2 - (メトキシメトキシ)フェニル] (1 - イソキノリル) メタノール



Org. Synth., IV, 115 (1988) の文献に基づいて合成した 1 - シアノ

50

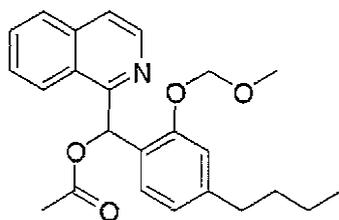
- ベンゾイル - 1, 2 - ジヒドロイソキノリン 815 mg、実施例 B 8 1 の化合物 869 mg としてトリエチルベンジルアンモニウムクロリド 7 mg の塩化メチレン (1.6 ml) 溶液に、50% 水酸化ナトリウム水溶液 1.4 ml を加え、10 分間水浴中で超音波を照射した。反応混合物に塩化メチレン 8.3 ml とエタノール 4.4 ml を加え、さらに 85 分間水浴中で超音波を照射した。反応混合物に水を加え、塩化メチレンで抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1144 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d₆) (ppm): 0.86 (3H, t), 1.22 - 1.31 (2H, m), 1.44 - 1.52 (2H, m), 2.44 - 2.51 (2H, m), 3.16 (3H, s), 5.10 (1H, d), 5.12 (1H, d), 6.72 (1H, s), 6.75 (1H, d), 6.84 (1H, s), 7.21 (1H, d), 7.61 (1H, dd), 7.72 (1H, dd), 7.74 (1H, d), 7.95 (1H, d), 8.31 (1H, d), 8.42 (1H, d).

水酸基のプロトンは、NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 8 3

[4-ブチル-2-(メトキシメトキシ)フェニル](1-イソキノリル)メチルアセテート

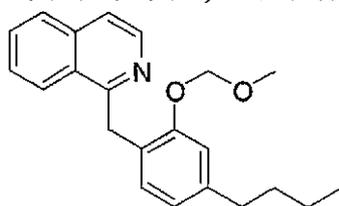


実施例 B 8 2 の化合物を実施例 B 3 8 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.40 (2H, m), 1.50 - 1.60 (2H, m), 2.22 (3H, s), 2.54 (2H, t), 3.41 (3H, s), 5.22 (1H, d), 5.26 (1H, d), 6.77 (1H, d), 6.94 (1H, s), 7.29 (1H, d), 7.55 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.70 (1H, dd), 7.81 (1H, d), 8.05 (1H, s), 8.35 (1H, d), 8.55 (1H, d).

実施例 B 8 4

1-[4-ブチル-2-(メトキシメトキシ)ベンジル]イソキノリン

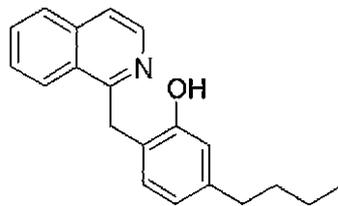


実施例 B 8 3 の化合物を実施例 B 3 9 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.28 - 1.37 (2H, m), 1.50 - 1.58 (2H, m), 2.53 (2H, t), 3.46 (3H, s), 4.65 (2H, s), 5.24 (2H, s), 6.66 (1H, dd), 6.89 (1H, d), 6.92 (1H, d), 7.51 (1H, dd), 7.53 (1H, d), 7.62 (1H, dd), 7.79 (1H, d), 8.23 (1H, d), 8.47 (1H, d).

実施例 B 8 5

5-ブチル-2-(1-イソキノリルメチル)フェノール



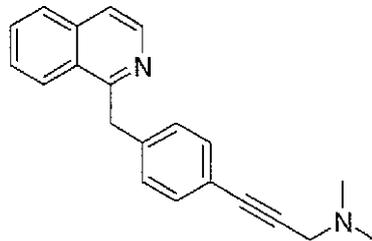
実施例 B 8 4 の化合物 8 8 m g のメタノール (1 . 5 m l) 溶液に、5 規定塩酸 1 . 0 m l を加え、室温で 1 4 時間攪拌した。5 規定水酸化ナトリウム水溶液にて中和した後、リン酸緩衝液で pH を 6 . 8 に調整し酢酸エチルで抽出した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、表題化合物 4 4 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 3 - 1 . 3 7 (2 H , m) , 1 . 4 8 - 1 . 6 0 (2 H , m) , 2 . 5 1 (2 H , t) , 4 . 5 6 (2 H , s) , 6 . 6 5 (1 H , dd) , 6 . 8 2 (1 H , d) , 7 . 2 1 (1 H , d) , 7 . 5 5 (1 H , d) , 7 . 6 8 (1 H , dd) , 7 . 7 2 (1 H , dd) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 3 5 (1 H , d) , 8 . 4 4 (1 H , d) .

水酸基のプロトンは、NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 8 6

N - { 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピニル } - N , N - ジメチルアミン

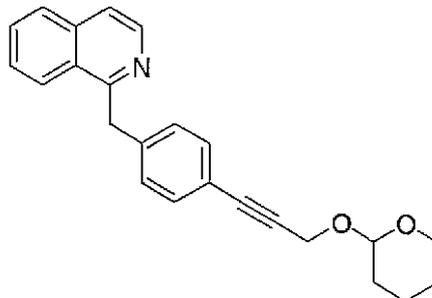


実施例 B 4 1 の化合物と 1 - ジメチルアミノ - 2 - プロピンを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2 . 0 4 (3 H , s) , 2 . 3 4 (3 H , s) , 3 . 4 7 (2 H , s) , 4 . 6 6 (2 H , s) , 7 . 2 0 (2 H , d) , 7 . 3 2 (2 H , d) , 7 . 5 3 (1 H , dd) , 7 . 5 6 (1 H , d) , 7 . 6 5 (1 H , dd) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 1 0 (1 H , d) , 8 . 5 0 (1 H , d) .

実施例 B 8 7

1 - { 4 - [3 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - プロピニル] ベンジル } イソキノリン



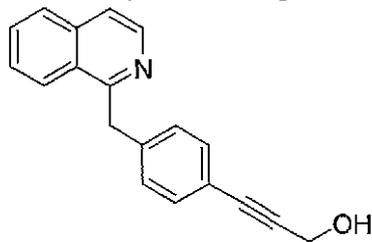
実施例 B 4 1 の化合物とテトラヒドロ - 2 - (2 - プロピニルオキシ) - 2 H - ピランを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 4 5 - 1 . 8 5 (6 H , m) , 3 . 5 0 - 3 . 6 0 (1 H , m) , 3 . 8 4 - 3 . 9 0 (1 H , m) , 4 . 4 2 (1 H , d) , 4 . 4 8 (1 H , d) , 4 . 6 6 (2 H , m) , 4 . 8 7 (1 H , dd) , 7 . 1 5 - 7 . 2 1 (2 H , m) , 7 . 3 3 - 7 . 3 6 (2 H , m) , 7 . 5 0 - 7 . 7 0 (3 H , m) , 7 . 8 1 - 7 . 8 6 (1 H , m) , 8 . 0 7 - 8 . 1 0 (1 H , m) , 8 . 4 8 - 8 .

5 1 (1 H , m) .

実施例 B 8 8

3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロピン - 1 - オール



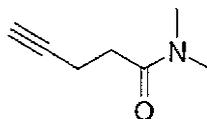
10

実施例 B 8 7 の化合物を実施例 B 4 7 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 2 0 - 1 . 3 0 (1 H , m) , 4 . 4 6 (2 H , s) , 4 . 6 7 (2 H , s) , 7 . 2 3 (2 H , d) , 7 . 3 1 (2 H , d) , 7 . 5 3 (1 H , dd) , 7 . 5 8 (1 H , d) , 7 . 6 5 (1 H , dd) , 7 . 8 3 (1 H , d) , 8 . 0 9 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

実施例 B 8 9

N , N - ジメチル - 4 - ペンチンアミド



20

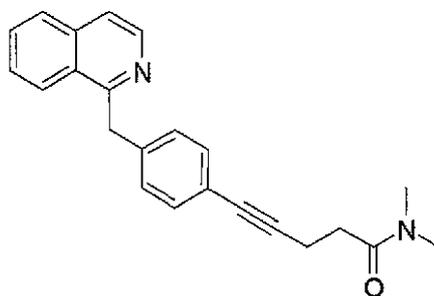
4 - ペンチノイック酸 5 5 2 m g の塩化メチレン (1 5 0 m l) 溶液に、ジメチルアミン (2 M テトラヒドロフラン溶液) 8 . 5 3 m l 、トリエチルアミン 2 . 5 9 m l そして 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド 3 2 2 1 m g を加え、室温で 2 4 時間攪拌した。反応混合物を 1 規定塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水そして飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、表題化合物 1 2 9 m g を得た。得られた化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 9 6 - 1 . 9 9 (1 H , m) , 2 . 5 0 - 2 . 6 0 (4 H , m) , 2 . 9 6 (3 H , s) , 3 . 0 2 (3 H , s) .

実施例 B 9 0

N , N - ジメチル - 5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 4 - ペンチンアミド

30



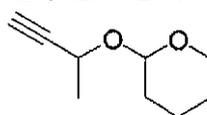
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 8 9 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2 . 5 9 - 2 . 6 4 (2 H , m) , 2 . 7 1 - 2 . 7 5 (2 H , m) , 2 . 9 6 (3 H , s) , 3 . 0 3 (3 H , s) , 4 . 6 6 (2 H , s) , 7 . 1 8 (2 H , d) , 7 . 2 8 (2 H , d) , 7 . 4 3 - 7 . 7 0 (3 H , m) , 7 . 9 0 (1 H , d) , 8 . 0 9 (1 H , d) , 8 . 5 0 (1 H , d) .

実施例 B 9 1

1 - メチル - 2 - プロピニルテトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルエーテル



50

3 - ブチン - 2 - オール 3051 mg のジクロロメタン (150 ml) 溶液に、3, 4 - ジヒドロ - 2 H - ピラン 7.15 ml とピリジニウム p - トルエンスルホン酸 2187 mg を加え、室温で 29 時間攪拌した。

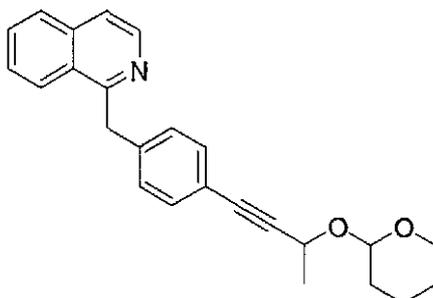
反応混合物を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水そして飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物を 4698 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.45 (1.05 H, d), 1.48 (1.95 H, d), 1.50 - 1.90 (6 H, m), 2.37 (0.65 H, d), 2.43 (0.35 H, d), 3.50 - 3.60 (1.3 H, m), 3.80 - 3.86 (0.7 H, m), 4.4 - 3 - 4.50 (0.35 H, m), 4.52 - 4.60 (0.65 H, m), 4.77 (0.35 H, t), 4.94 (0.65 H, t).

10

実施例 B 9 2

1 - { 4 - [3 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] ベンジル } イソキノリン



20

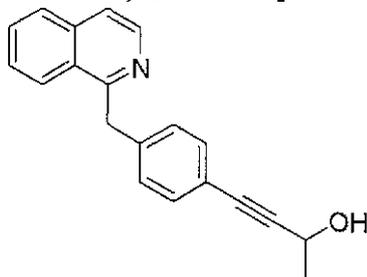
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 9 1 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.40 - 1.80 (6 H, m), 1.49 (1.05 H, d), 1.52 (1.95 H, d), 3.49 - 3.60 (1 H, m), 3.80 - 3.88 (0.65 H, m), 3.99 - 4.06 (0.35 H, m), 4.65 (2 H, s), 4.74 (1 H, q), 4.83 (0.35 H, t), 4.97 (0.65 H, t), 7.18 - 7.22 (2 H, m), 7.32 (2 H, d), 7.54 (1 H, dd), 7.57 (1 H, d), 7.64 (1 H, dd), 7.82 (1 H, d), 8.08 (1 H, d), 8.49 (1 H, d).

30

実施例 B 9 3

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 3 - ブチン - 2 - オール



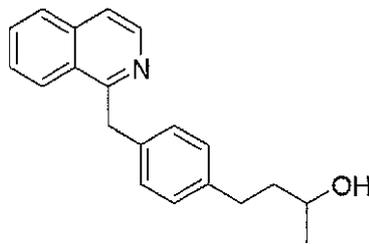
40

実施例 B 9 2 の化合物を実施例 B 4 7 と同様の方法で処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.53 (3 H, d), 2.15 (1 H, br s), 4.68 (2 H, s), 4.72 (1 H, q), 7.21 (2 H, d), 7.31 (2 H, d), 7.54 (1 H, dd), 7.59 (1 H, d), 7.66 (1 H, dd), 7.84 (1 H, d), 8.10 (1 H, d), 8.51 (1 H, d).

実施例 B 9 4

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - ブタノール

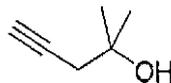


実施例 B 9 3 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に反応させ、残査は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : Y M C C o m b i p r e p O D S - A M , 2 0 m m x 5 0 m m (1 0 n g)] により分離精製し、表題化合物を得た。

MS m / z (E S I : M H ⁺) : 2 9 2 . 2

実施例 B 9 5

2 - メチル - 4 - ペンチン - 2 - オール



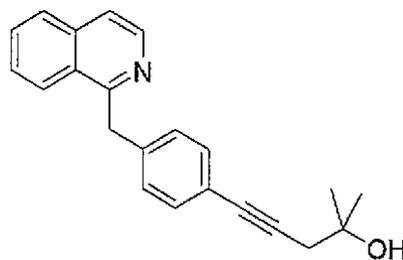
0 に冷却したイソブチレンオキシド 1 8 8 9 m g のテトラヒドロフラン (1 3 m l) とジメチルスルホキシド (2 0 m l) の混合溶液に、リチウムアセチリド - エチレンジアミン錯体を少しずつ加え、0 にて 5 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲルを用いて濾過した。濾液を減圧濃縮し、表題化合物 3 3 1 6 m g を得た。このものはそれ以上精製することなく次反応に用いた。

¹ H - N M R (C D C l ₃) (p p m) : 1 . 3 3 (6 H , s) , 2 . 0 9 (1 H , t) , 2 . 3 8 (2 H , t) .

水酸基のプロトンは、NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 9 6

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - メチル - 4 - ペンチン - 2 - オール

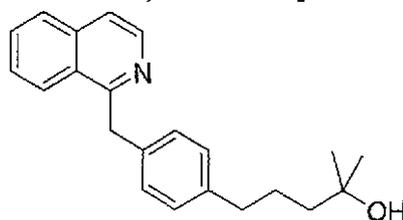


実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 9 5 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

¹ H - N M R (D M S O - d 6) (p p m) : 1 . 1 8 (6 H , s) , 2 . 2 8 (1 H , s) , 2 . 4 2 (2 H , s) , 4 . 6 2 (2 H , s) , 7 . 1 0 - 7 . 3 0 (4 H , m) , 7 . 6 2 (1 H , d d) , 7 . 7 1 (1 H , d) , 7 . 7 2 (1 H , d d) , 7 . 9 4 (1 H , d) , 8 . 2 7 (1 H , d) , 8 . 4 2 (1 H , d) .

実施例 B 9 7

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - メチル - 2 - ペンタノール

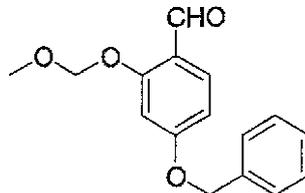


実施例 B 9 6 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に反応させ、残渣は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : Y M C C o m b i p r e p O D S - A M , 2 0 m m x 5 0 m m (l o n g)] により分離精製し、表題化合物を得た。

MS m / z (E S I : M H ⁺) : 3 2 0 . 2

実施例 B 9 8

4 - ベンジルオキシ - 2 - (メトキシメトキシ) ベンズアルデヒド



10

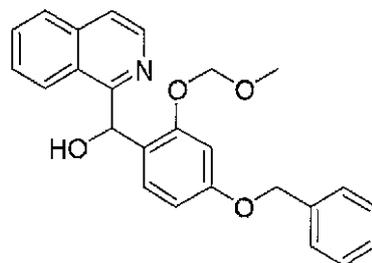
4 - ベンジルオキシ - 2 - ヒドロキシベンズアルデヒド 2 0 7 1 m g のテトラヒドロフラン (3 0 m l) 溶液に、N , N - ジイソプロピルエチルアミン 1 . 9 8 m l とクロロメチルメチルエーテル 0 . 7 6 m l を加え、加熱還流下 1 9 時間攪拌した。この反応溶液に N , N - ジイソプロピルエチルアミン 2 . 7 m l とクロロメチルメチルエーテル 1 . 0 4 m l を加え、加熱還流下さらに 1 0 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和塩化アンモニウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲル及びアルミナを用いて濾過した。濾液を減圧濃縮し、表題化合物 2 4 7 0 m g を得た。この化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

20

¹ H - NMR (C D C l ₃) (p p m) : 3 . 5 2 (3 H , s) , 5 . 1 2 (2 H , s) , 5 . 2 7 (2 H , s) , 6 . 6 8 (1 H , d d) , 6 . 8 0 (1 H , d) , 7 . 3 3 - 7 . 4 5 (5 H , m) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 1 0 . 3 3 (1 H , s) .

実施例 B 9 9

[4 - (ベンジルオキシ) - 2 - (メトキシメトキシ) フェニル] (1 - イソキノリル) メタノール



30

実施例 B 9 8 の化合物を実施例 B 8 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

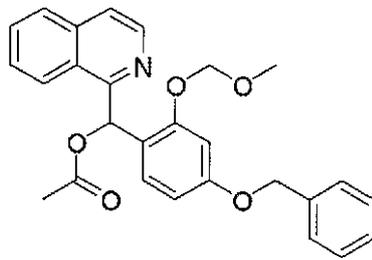
¹ H - NMR (D M S O - d ₆) (p p m) : 3 . 1 6 (3 H , s) , 5 . 0 1 (2 H , s) , 5 . 1 1 (1 H , d) , 5 . 1 4 (1 H , d) , 6 . 5 9 (1 H , d d) , 6 . 6 6 - 6 . 7 0 (2 H , m) , 7 . 1 8 (1 H , d) , 7 . 3 1 (1 H , d) , 7 . 3 4 - 7 . 4 2 (4 H , m) , 7 . 6 1 (1 H , d d) , 7 . 7 1 (1 H , d) , 7 . 7 5 (1 H , d) , 7 . 9 5 (1 H , d) , 8 . 2 8 (1 H , d) , 8 . 4 3 (1 H , d) .

40

水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 1 0 0

[4 - (ベンジルオキシ) - 2 - (メトキシメトキシ) フェニル] (1 - イソキノリル) メチル アセテート



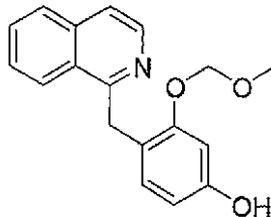
実施例 B 9 9 の化合物を実施例 B 3 8 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.21 (3H, s), 3.42 (3H, s), 4.98 (1H, d), 5.00 (1H, d), 5.21 - 5.27 (2H, m), 6.54 (1H, dd), 6.81 (1H, d), 7.25 (1H, d), 7.30 - 7.41 (5H, m), 7.53 (1H, dd), 7.57 (1H, d), 7.63 (1H, dd), 7.80 (1H, d), 8.00 (1H, s), 8.29 (1H, d), 8.55 (1H, d).

10

実施例 B 1 0 1

4 - (1 - イソキノリルメチル) - 3 - (メトキシメトキシ) フェノール



20

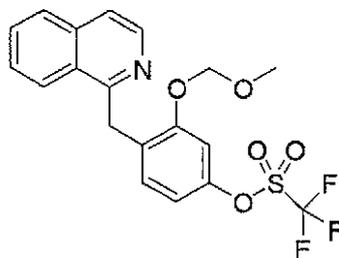
実施例 B 1 0 0 の化合物を実施例 B 3 9 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 3.36 (3H, s), 4.44 (2H, s), 5.17 (2H, s), 6.22 (1H, d), 6.52 (1H, s), 6.67 (1H, d), 7.57 - 7.76 (3H, m), 7.92 (1H, d), 8.22 (1H, d), 8.37 (1H, d), 9.24 (1H, brs).

実施例 B 1 0 2

4 - (1 - イソキノリルメチル) - 3 - (メトキシメトキシ) フェニルトリフルオロメタン
スルホネート

30



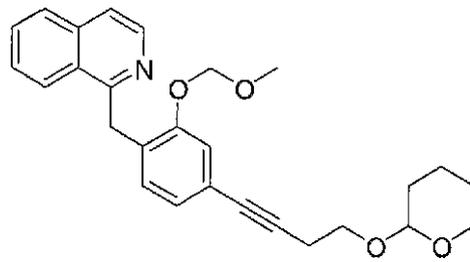
実施例 B 1 0 1 の化合物を実施例 B 4 1 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.43 (3H, s), 4.65 (2H, s), 5.24 (2H, s), 6.77 (1H, dd), 7.04 (1H, d), 7.07 (1H, d), 7.54 - 7.61 (2H, m), 7.67 (1H, dd), 7.84 (1H, d), 8.16 (1H, d), 8.47 (1H, d).

40

実施例 B 1 0 3

1 - { 2 - (メトキシメトキシ) - [4 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] ベンジル } イソキノリン

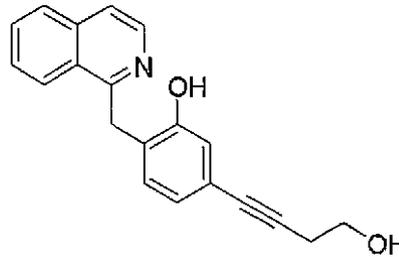


実施例 B 1 0 2 の化合物と 2 - (3 - ブチニルオキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピランを用い、実施例 B 4 2 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 5 1 - 1 . 9 0 (6 H , m) , 2 . 6 8 (2 H , t) , 3 . 5 0 (3 H , s) , 3 . 4 9 - 3 . 5 5 (1 H , m) , 3 . 5 8 - 3 . 6 5 (1 H , m) , 3 . 8 4 - 3 . 9 4 (2 H , m) , 4 . 6 3 - 4 . 6 8 (1 H , m) , 4 . 6 5 (2 H , s) , 5 . 2 3 (2 H , s) , 6 . 7 6 (1 H , d d) , 7 . 0 4 (1 H , d) , 7 . 0 7 (1 H , d) , 7 . 4 9 - 7 . 6 9 (3 H , m) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 1 4 (1 H , d) , 8 . 4 7 (1 H , d) .

実施例 B 1 0 4

5 - (4 - ヒドロキシ - 1 - ブチニル) - 2 - (1 - イソキノリルメチル) フェノール



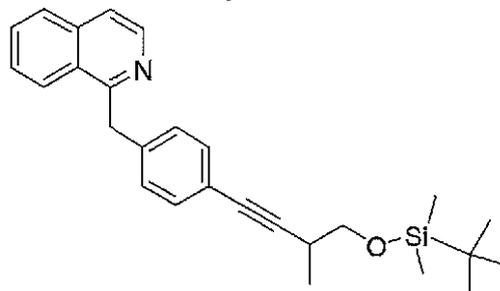
実施例 B 1 0 3 の化合物を実施例 B 8 5 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 8 0 (1 H , b r s) , 2 . 6 6 (2 H , t) , 3 . 7 3 - 3 . 8 2 (2 H , m) , 4 . 5 8 (2 H , s) , 6 . 8 7 (1 H , d) , 7 . 0 4 (1 H , s) , 7 . 2 3 (1 H , d) , 7 . 6 0 (1 H , d) , 7 . 6 9 - 7 . 7 8 (2 H , m) , 7 . 8 6 (1 H , d) , 8 . 3 7 (1 H , d) , 8 . 4 2 (1 H , d) .

フェノール性水酸基のプロトンは、 NMR のチャート上観測されていない。

実施例 B 1 0 5

1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル { 4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - メチル - 3 - ブチニル } エーテル



氷冷した四臭化炭素 1 1 . 1 9 g の塩化メチレン (6 0 m l) 溶液に、トリフェニルフォスフィン 1 8 . 3 7 g を加え、その温度で 1 時間攪拌した。この溶液に Tetrahedron Lett. , 4 3 4 7 (1 9 7 9) の文献に基づいて合成した 3 - { [1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル] オキシ } - 2 - メチルプロパナールの塩化メチレン溶液 (1 4 m l) を滴下し、さらに 1 時間攪拌した。反応混合物を塩化メチレンで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化アンモニウム水溶液そして飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。このものにエーテルを加え不溶物を濾別し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、t - ブチル

10

20

30

40

50

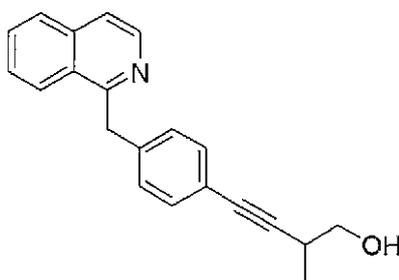
[(4 , 4 - ジブロモ - 2 - メチル - 3 - ブテニル) オキシ] ジメチルシラン 2 3 8 5 m g を得た。

次いで、- 7 0 に冷却した t - ブチル [(4 , 4 - ジブロモ - 2 - メチル - 3 - ブテニル) オキシ] ジメチルシラン 1 3 2 6 m g のテトラヒドロフラン (1 0 m l) 溶液に n - ブチルリチウム 2 . 4 7 M ヘキサン溶液 3 . 1 5 m l を滴下し、その温度で 1 時間撹拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、室温に昇温した。反応混合物に水を加え、エーテルで抽出した。エーテル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲル濾過し、濾液を減圧濃縮した。得られた残渣と実施例 B 4 1 の化合物を実施例 B 4 2 と同様に処理して、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 0 7 (6 H , s) , 0 . 9 0 (9 H , s) , 1 . 1 8 (3 H , d) , 2 . 7 0 - 2 . 8 0 (1 H , m) , 3 . 4 7 (1 H , dd) , 3 . 7 0 (1 H , dd) , 4 . 6 5 (2 H , s) , 7 . 1 6 (2 H , d) , 7 . 2 7 (2 H , d) , 7 . 5 1 (1 H , dd) , 7 . 5 6 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , dd) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 0 7 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

実施例 B 1 0 6

4 - [4 - (1 - - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - メチル - 3 - ブチン - 1 - オール

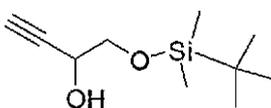


実施例 B 1 0 5 の化合物を実施例 B 4 7 と同様に処理して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm) : 1 . 1 1 (3 H , d) , 2 . 6 0 - 2 . 7 0 (1 H , m) , 3 . 2 8 (1 H , d) , 3 . 4 4 (1 H , d) , 4 . 5 8 (2 H , s) , 4 . 8 5 - 4 . 9 0 (1 H , m) , 7 . 2 3 (4 H , s) , 7 . 6 1 (1 H , dd) , 7 . 7 0 (1 H , d) , 7 . 7 1 (1 H , dd) , 7 . 9 3 (1 H , d) , 8 . 2 5 (1 H , d) , 8 . 4 2 (1 H , d) .

実施例 B 1 0 7

1 - { [1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル] オキシ } - 3 - ブチン - 2 - オール

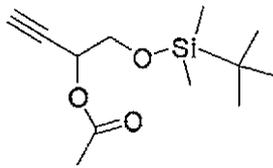


窒素雰囲気下、無水テトラヒドロフラン 2 0 m l を - 7 8 に冷却し、エチニルマグネシウムブロミド 0 . 5 モルのテトラヒドロフラン溶液 9 0 m l を加えた。この溶液に t - ブチルジメチルシロキシアセトアルデヒド 6 0 0 0 m g のテトラヒドロフラン溶液 (3 0 m l) を滴下した。- 7 8 で 4 5 分間、室温に昇温し 1 時間 4 0 分撹拌した。反応混合物を氷冷し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、エーテルで抽出し、水と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲルを用いて濾過した。濾液を減圧濃縮し、表題化合物 8 . 5 5 g を得た。この化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 0 8 (6 H , s) , 0 . 9 1 (9 H , s) , 2 . 4 3 (1 H , d) , 2 . 6 0 - 2 . 6 6 (1 H , m) , 3 . 6 5 - 3 . 7 0 (1 H , m) , 3 . 7 3 - 3 . 8 1 (1 H , m) , 4 . 3 8 - 4 . 4 2 (1 H , m) .

実施例 B 1 0 8

1 - { [1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル] オキシ } メチル) - 2 - プロピニル アセテート

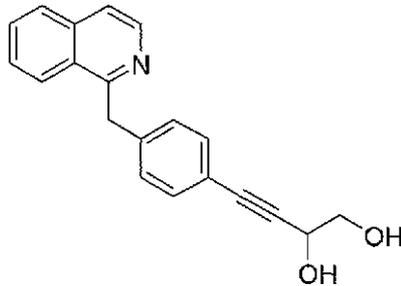


実施例 B 1 0 7 の化合物を実施例 B 3 8 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.08 (6H, s), 0.90 (9H, s), 2.11 (3H, s), 2.44 (1H, d), 3.80 - 3.88 (2H, m), 5.41 - 5.55 (1H, m).

実施例 B 1 0 9

4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 3 - ブチン - 1 , 2 - ジオール

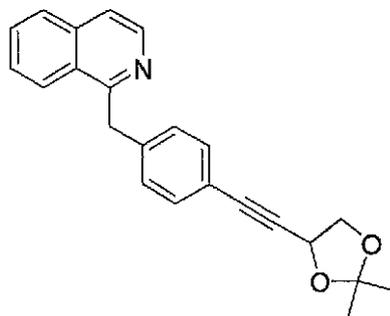


実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 1 0 8 の化合物を用い、実施例 B 4 2 と同様に処理し、カップリング成績体を得た。さらにその成績体を実施例 B 4 7 と同様に水酸基保護基を脱保護し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 3.40 - 3.45 (1H, m), 3.70 - 3.82 (1H, m), 4.30 - 4.35 (1H, m), 4.63 (2H, s), 4.90 (1H, t), 5.46 (1H, d), 7.25 - 7.30 (4H, m), 7.62 (1H, dd), 7.71 (1H, d), 7.73 (1H, dd), 7.94 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.43 (1H, d).

実施例 B 1 1 0

1 - { 4 - [2 - (2 , 2 - ジメチル - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - イル) - 1 - エチニル] ベンジル } イソキノリン

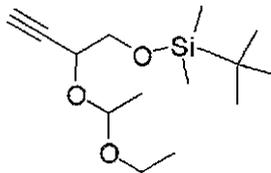


実施例 B 1 0 9 の化合物 3 4 m g のジメチルホルムアミド (2 m l) 溶液に、2 , 2 - ジメトキシプロパン 0 . 3 6 m l 、 1 0 - カンファースルホン酸 4 3 m g そしてモレキュラシーブ 4 を加え、7 5 で 9 時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出し、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物を 1 4 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.40 (3H, s), 1.50 (3H, s), 3.97 (1H, dd), 4.21 (1H, dd), 4.66 (2H, s), 4.91 (1H, dd), 7.19 (2H, d), 7.32 (2H, d), 7.52 (1H, dd), 7.65 - 7.78 (2H, m), 8.08 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.49 (1H, d).

実施例 B 1 1 1

t - ブチル { [2 - (1 - エトキシエトキシ) - 3 - ブチニル] オキシ } ジメチルシラン



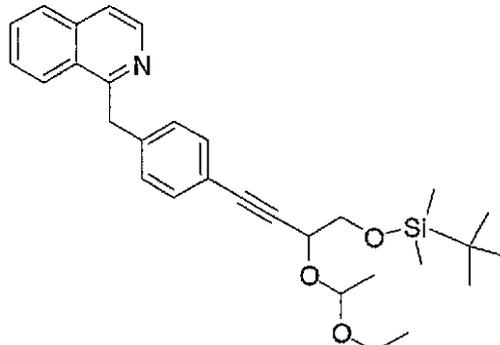
1 - { [1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル] オキシ } - 3 - ブチン - 2 - オール 1 6 8 7 m g の塩化メチレン (9 0 m l) 溶液に、エチルビニルエーテル 1 . 2 1 m l とピリジニウム p - トルエン sulfonate 3 1 7 m g を加え、室温で 1 時間攪拌した。塩化メチレン層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、表題化合物 1 9 6 2 m g を得た。この化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

10

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO - d 6) (ppm) : 0 . 0 0 (6 H , s) , 0 . 8 1 (9 H , s) , 1 . 0 1 - 1 . 0 7 (3 H , m) , 1 . 1 0 - 1 . 2 0 (1 H , m) , 1 . 1 8 (3 H , d) , 3 . 3 5 - 3 . 6 3 (4 H , m) , 4 . 1 8 - 4 . 2 7 (1 H , m) , 4 . 7 4 (0 . 5 H , q) , 4 . 8 1 (0 . 5 H , q) .

実施例 B 1 1 2

1 - { 4 - [4 - { [1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル] オキシ } - 3 - (1 - エトキシエトキシ) - 1 - ブチニル] ベンジル } イソキノリン



20

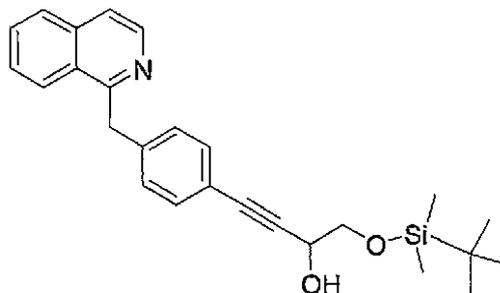
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 1 1 1 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO - d 6) (ppm) : 0 . 0 0 (6 H , s) , 0 . 8 0 (9 H , s) , 1 . 0 1 - 1 . 0 5 (3 H , m) , 1 . 1 9 (3 H , d) , 3 . 3 9 - 3 . 7 0 (4 H , m) , 4 . 4 1 (0 . 5 H , t) , 4 . 4 8 (0 . 5 H , t) , 4 . 5 9 (2 H , s) , 4 . 7 9 (0 . 5 H , q) , 4 . 8 7 (0 . 5 H , q) , 7 . 2 0 - 7 . 3 0 (4 H , m) , 7 . 5 8 (1 H , dd) , 7 . 6 8 (1 H , d) , 7 . 6 9 (1 H , dd) , 7 . 9 1 (1 H , d) , 8 . 2 4 (1 H , d) , 8 . 3 8 (1 H , d) .

30

実施例 B 1 1 3

1 - { [1 - (t - ブチル) - 1 , 1 - ジメチルシリル] オキシ } 4 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 3 - ブチン - 2 - オール



40

実施例 B 1 1 2 の化合物 4 7 4 m g のメタノール (1 5 m l) 溶液に、ピリジニウム p - トルエン sulfonate 4 8 6 m g を加え、室温で 2 4 時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題

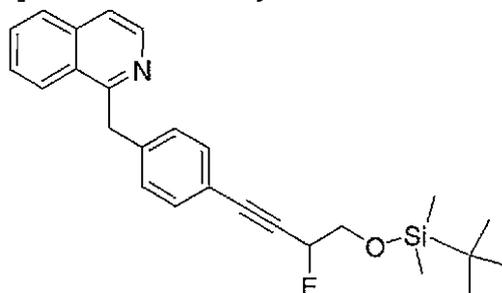
50

化合物 265 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (ppm): 0.01 (6H, s), 0.82 (9H, s), 3.55 - 3.62 (2H, m), 4.30 - 4.39 (1H, m), 4.61 (2H, s), 5.51 (1H, d), 7.20 - 7.27 (4H, m), 7.50 - 7.63 (1H, m), 7.67 - 7.74 (2H, m), 7.92 (1H, d), 8.27 (1H, d), 8.41 (1H, d).

実施例 B 114

1-(*t*-ブチル)-1,1-ジメチルシリル{2-フルオロ-4-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-3-ブチニル}エーテル



10

窒素雰囲気下、 -78°C に冷却した(ジエチルアミノ)サルファートリフルオリド $44\ \mu\text{l}$ の塩化メチレン(2 ml)溶液に、実施例 B 113 の化合物 $116\ \text{mg}$ の塩化メチレン溶液(2 ml)を滴下し、15分間攪拌後、室温でさらに8時間攪拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、塩化メチレンで抽出した。塩化メチレン層を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 $42\ \text{mg}$ を得た。

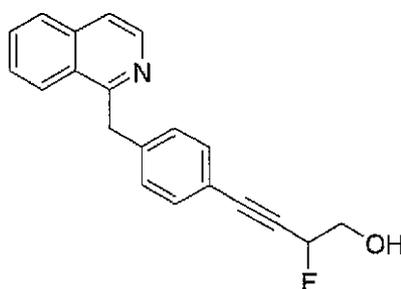
20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) (ppm): 0.10 (6H, s), 0.91 (9H, s), 3.83 - 4.00 (2H, m), 4.67 (2H, s), 5.17 (1H, ddd), 7.22 (2H, d), 7.34 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.65 (1H, dd), 7.83 (1H, d), 8.08 (1H, d), 8.50 (1H, d).

実施例 B 115

2-フルオロ-4-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-3-ブチン-1-オール

30



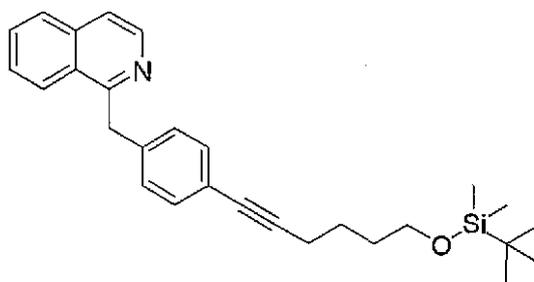
実施例 B 114 の化合物を実施例 B 47 と同様に処理し、表題化合物を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) (ppm): 1.31 (1H, brs), 3.77 - 3.95 (2H, m), 4.67 (2H, s), 5.35 (1H, ddd), 7.22 (2H, d), 7.35 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.65 (1H, dd), 7.83 (1H, d), 8.07 (1H, d), 8.50 (1H, d).

実施例 B 116

1-(*t*-ブチル)-1,1-ジメチルシリル{6-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-5-ヘキシニル}エーテル



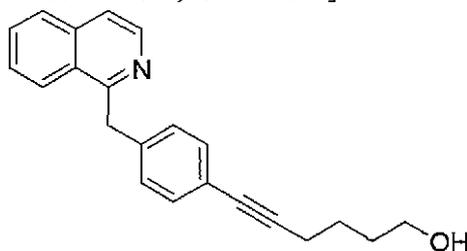
実施例 B 4 1 の化合物と t - ブチル (5 - ヘキシニルオキシ) ジメチルシランを用いて、
実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 0 4 (6 H , s) , 0 . 8 8 (9 H , s) , 1 . 5 5 - 1 . 7 0 (4 H , m) , 2 . 3 9 (2 H , t) , 3 . 6 4 (2 H , t) , 4 . 6 5 (2 H , s) , 7 . 1 7 (2 H , d) , 7 . 2 7 (2 H , d) , 7 . 5 1 (1 H , dd) , 7 . 5 5 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , dd) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 0 8 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

実施例 B 1 1 7

6 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 5 - ヘキシニ - 1 - オール



20

実施例 B 1 1 6 の化合物実施例 B 4 7 と同様に処理し、表題化合物を得た。

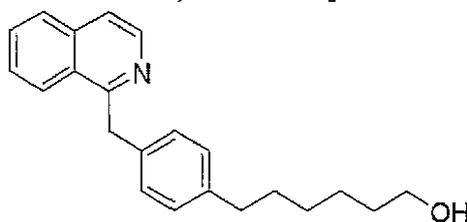
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1 . 6 0 - 1 . 8 0 (4 H , m) , 2 . 4 2 (2 H , t) , 3 . 6 9 (2 H , t) , 4 . 6 5 (2 H , s) , 7 . 1 7 (2 H , d) , 7 . 2 7 (2 H , d) , 7 . 5 2 (1 H , dd) , 7 . 5 7 (1 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , dd) , 7 . 8 1 (1 H , d) , 8 . 0 8 (1 H , d) , 8 . 4 9 (1 H , d) .

水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

30

実施例 B 1 1 8

6 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 1 - ヘキサノール



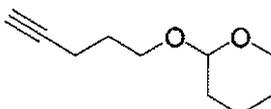
実施例 B 1 1 7 の化合物を実施例 B 4 3 と同様に反応させ、残査は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 ml / 分、カラム : YMC Combiprep ODS - AM , 2 0 mm x 5 0 mm (long)] により分離精製し、表題化合物を得た。

40

MS m / z (ESI : MH^+) : 3 2 0 . 2

実施例 B 1 1 9

2 - (4 - ペンチニルオキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン



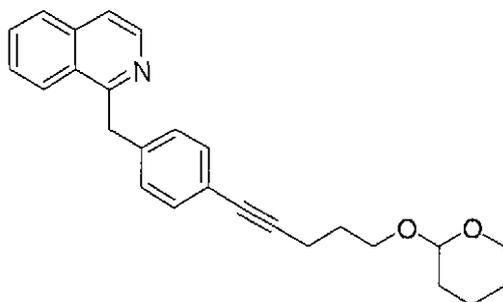
4 - ペンチン - 1 - オールを実施例 B 9 1 と同様に処理し、表題化合物を得た。

50

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.50 - 1.90 (8H, m), 1.95 (1H, t), 2.30 - 2.35 (2H, m), 3.46 - 3.54 (2H, m), 3.80 - 3.90 (2H, m), 4.60 (1H, dd).

実施例 B 1 2 0

1 - { 4 - [5 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ペンチニル] ベンジル } イソキノリン



10

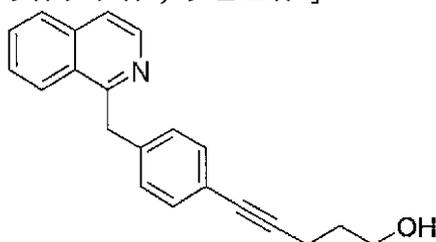
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 1 1 9 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.49 - 1.90 (8H, m), 2.49 (2H, t), 3.47 - 3.54 (2H, m), 3.82 - 3.90 (2H, m), 4.60 (1H, dd), 4.65 (2H, s), 7.17 (2H, d), 7.27 (2H, d), 7.52 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.82 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.49 (1H, d).

20

実施例 B 1 2 1

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 4 - ペンチン - 1 - オール



30

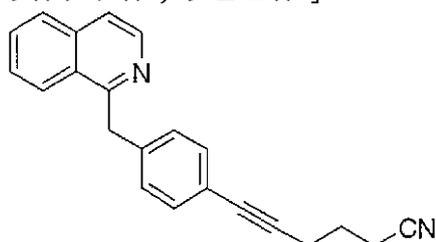
実施例 B 1 2 0 の化合物を実施例 B 4 7 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.80 - 1.88 (2H, m), 2.51 (2H, t), 3.80 (2H, t), 4.65 (2H, s), 7.18 (2H, d), 7.29 (2H, d), 7.52 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.65 (1H, dd), 7.82 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.49 (1H, d).

水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 1 2 2

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 4 - ペンチニルシアニド



40

実施例 B 4 1 の化合物と 5 - シアノ - 1 - ペンチンを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

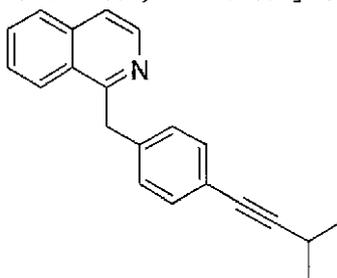
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.85 - 1.98 (2H, m), 2.40 - 2.60 (4H, m), 4.66 (2H, s), 7.20 (2H, d), 7.28 (2H, d), 7.53 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.65 (1H, dd),

50

7.83 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.50 (1H, d).

実施例 B 1 2 3

1 - [4 - (3 - メチル - 1 - ブチニル) ベンジル] イソキノリン



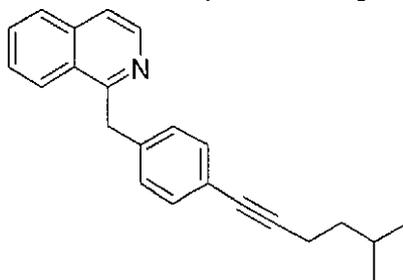
10

実施例 B 4 1 の化合物と 3 - メチル - 1 - ブチンを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.23 (6 H , d) , 2.70 - 2.78 (1 H , m) , 4.65 (2 H , s) , 7.18 (2 H , d) , 7.28 (2 H , d) , 7.51 (1 H , dd) , 7.58 (1 H , d) , 7.64 (1 H , dd) , 7.82 (1 H , d) , 8.08 (1 H , d) , 8.50 (1 H , d) .

実施例 B 1 2 4

1 - [4 - (5 - メチル - 1 - ヘキシニル) ベンジル] イソキノリン



20

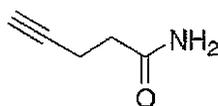
実施例 B 4 1 の化合物と 5 - メチル - 1 - ヘキシニルを用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.91 (6 H , d) , 1.47 (2 H , dt) , 1.68 - 1.77 (1 H , m) , 2.37 (2 H , t) , 4.65 (2 H , s) , 7.17 (2 H , d) , 7.28 (2 H , d) , 7.52 (1 H , dd) , 7.57 (1 H , d) , 7.64 (1 H , dd) , 7.81 (1 H , d) , 8.09 (1 H , d) , 8.49 (1 H , d) .

30

実施例 B 1 2 5

4 - ペンチンアミド



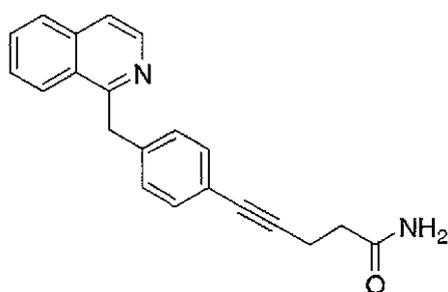
4 - ペンチノイック酸 2 4 4 6 m g のクロロホルム (7 5 m l) 溶液に、1 - エトキシカルボニル - 2 - エトキシ - 1 , 2 - ジヒドロキノリン 6 7 7 5 m g と炭酸水素アンモニウム 5 9 0 5 m g を加え、室温で 1 7 . 5 時間攪拌した。反応混合物をセライトを用いて濾過し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物を 2 4 9 m g を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm) : 2.21 (2 H , t) , 2.29 - 2.33 (2 H , m) , 2.73 (1 H , t) , 6.78 - 6.88 (1 H , m) , 7.28 - 7.38 (1 H , m) .

実施例 B 1 2 6

5 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 4 - ペンチンアミド



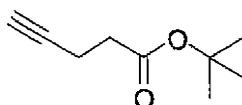
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 1 2 5 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) (ppm): 2.51 (2H, t), 2.85 (2H, t), 3.70 (2H, br s), 4.59 (2H, s), 7.05 (2H, d), 7.23 (2H, d), 7.61 (1H, dd), 7.70 (1H, d), 7.72 (1H, dd), 7.94 (1H, d), 8.30 (1H, d), 8.43 (1H, d).

実施例 B 1 2 7

t-ブチル 4-ペンチノエート



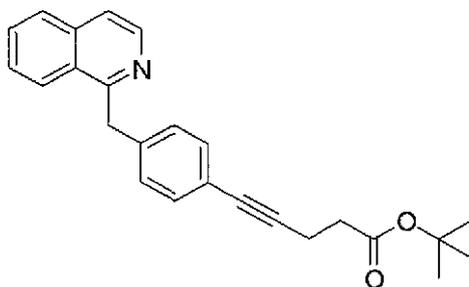
4-ペンチノイックアシッド 2550 mg の N,N-ジメチルアセトアミド (230 ml) 溶液に、ベンジルトリエチルアンモニウムクロリド 5.92 g、炭酸カリウム 93.4 g そして t-ブチルブロミド 143 ml を加え、55 にて 24 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出し、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、シリカゲルを用いて濾過した。濾液を減圧濃縮し、表題化合物 2.10 g を得た。この化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 1.46 (9H, s), 1.96 - 1.97 (1H, m), 2.45 - 2.47 (4H, m).

実施例 B 1 2 8

t-ブチル 5-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-4-ペンチノエート



30

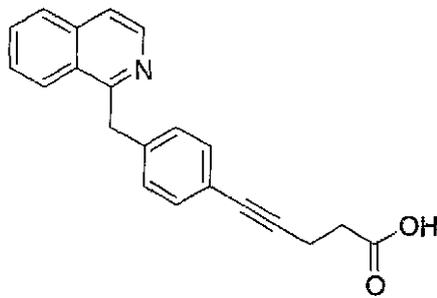
実施例 B 4 1 の化合物と実施例 B 1 2 7 の化合物を用いて、実施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 1.45 (9H, s), 2.49 (2H, t), 2.64 (2H, t), 4.64 (2H, s), 7.21 (2H, d), 7.26 (2H, d), 7.52 (1H, dd), 7.57 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.82 (1H, d), 8.09 (1H, d), 8.49 (1H, d).

40

実施例 B 1 2 9

5-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-4-ペンチノイック酸



実施例 B 1 2 8 の化合物を実施例 B 6 9 と同様に反応させ、残査は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : Y M C C o m b i p r e p O D S - A M , 2 0 m m x 5 0 m m (l o n g)] により分離精製し、表題化合物を得た。

10

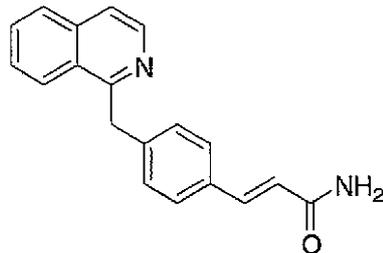
MS m/z (ESI : MH^+) : 316 . 1

以下の実施例の化合物は次の様に合成した。即ち実施例 B 3 3 に従い、実施例 B 4 1 の化合物と以下の各種反応剤を反応させ表題化合物を得た。各種反応剤とはアクリルアミド、N , N - ジメチルアクリルアミド、アクリル酸 t - ブチルエステル、メチルビニルスルホンである。またその様にして得られたカップリング成績体を実施例 B 3 9 に従い還元するか、または実施例 B 4 0 に従い t - ブチルエステルを脱保護するか、またはその両方を行った。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィーもしくは LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : Y M C C o m b i p r e p O D S - A M , 2 0 m m x 5 0 m m (l o n g)] により行った。

20

実施例 B 1 3 0

(E) - 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロパンアミド

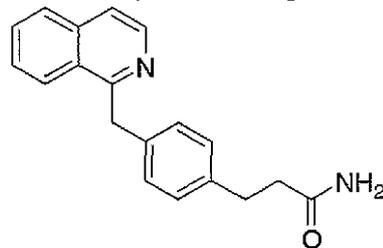


30

MS m/z (ESI : MH^+) : 289 . 3

実施例 B 1 3 1

3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロパンアミド

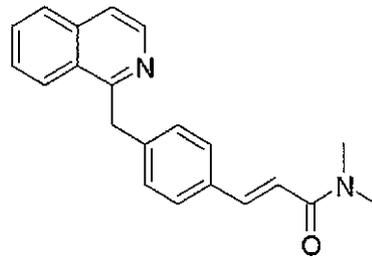


40

MS m/z (ESI : MH^+) : 291 . 2

実施例 B 1 3 2

N , N - ジメチル - (E) - 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロパンアミド

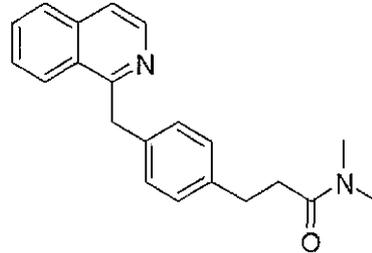


MS m/z (ESI: MH^+): 317.3

実施例 B 1 3 3

N, N - ジメチル 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロパンアミド

10

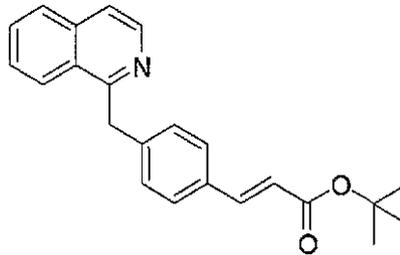


MS m/z (ESI: MH^+): 319.1

実施例 B 1 3 4

t - ブチル (E) - 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロペノエート

20

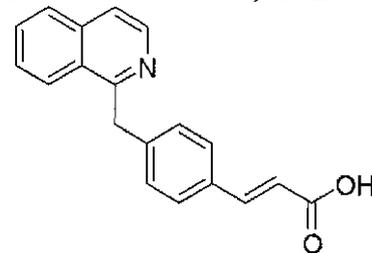


1H - NMR ($CDCl_3$) (ppm) : 1 . 5 1 (9 H , s) , 4 . 6 8 (2 H , s) , 6 . 2 8 (1 H , d) , 7 . 2 7 (2 H , d) , 7 . 3 9 (2 H , d) , 7 . 4 9 - 7 . 6 0 (3 H , m) , 7 . 6 5 (1 H , dd) , 7 . 8 2 (1 H , d) , 8 . 1 1 (1 H , d) , 8 . 5 0 (1 H , d) .

30

実施例 B 1 3 5

(E) - 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 2 - プロペノイック酸

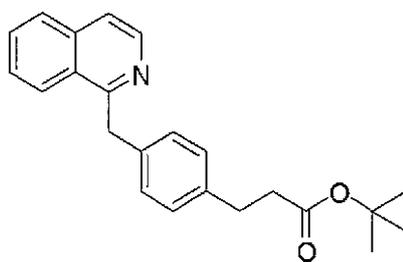


40

MS m/z (ESI: MH^+): 290.2

実施例 B 1 3 6

t - ブチル 3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロパノエート

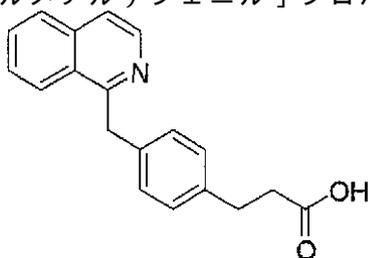


$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.37 (9H, s), 2.47 (2H, t), 2.83 (2H, t), 4.64 (2H, s), 7.07 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.52 (1H, dd), 7.56 (1H, d), 7.63 (1H, dd), 7.81 (1H, d), 8.14 (1H, d), 8.49 (1H, d).

10

実施例 B 1 3 7

3 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] プロパノイック酸

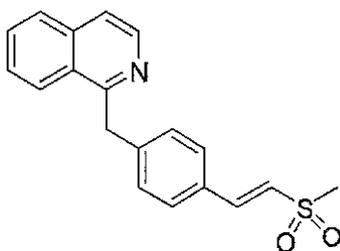


20

MS m/z (ESI: MH^+): 292.1

実施例 B 1 3 8

(E) - 2 - [4 - (1 - イソキノリルメチル) フェニル] - 1 - エテニルメチルスルホン

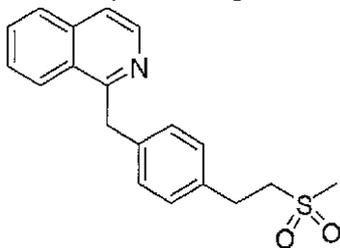


30

MS m/z (ESI: MH^+): 324.1

実施例 B 1 3 9

1 - { 4 - [2 - (メチルスルホニル) エチル] ベンジル } イソキノリン

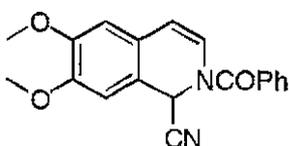


40

MS m/z (ESI: MH^+): 326.1

実施例 B 1 4 0

2 - ベンゾイル - 6 , 7 - ジメトキシ - 1 , 2 - ジヒドロ - 1 - イソキノリンカルボニトリル



Tetrahedron, 37 (23), 3977 (1981) に基づいて合成した 6 ,

50

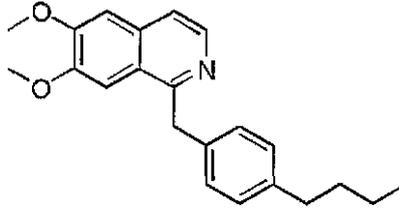
7 - ジメトキシイソキノリン 1.0 g (5.3 ミリモル) の塩化メチレン (6.0 ml) 溶液にシアン化カリウム 1.0 g (16 ミリモル) 水溶液 (2.3 ml) と塩化ベンゾイル 1.1 ml (9.5 ミリモル) を加え、加熱還流下 2 時間攪拌した。室温まで戻した後、セライトを用いて濾過を行い、塩化メチレンと水で洗浄した。得られた濾液を分離し、塩化メチレン層を水、2 規定塩酸、水そして 2 規定水酸化ナトリウムで洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 573 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.92 (3H, s), 3.94 (3H, s), 5.99 (1H, d), 6.51 - 6.55 (2H, m), 6.73 (1H, s), 6.85 (1H, s), 7.45 - 7.49 (2H, m), 7.53 - 7.56 (1H, m), 7.58 - 7.61 (2H, m)

10

実施例 B 1 4 1

1 - (4 - プチルベンジル) - 6, 7 - ジメトキシイソキノリン



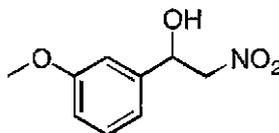
実施例 B1 4 0 の化合物と実施例 B 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.51 - 1.58 (2H, m), 2.54 (2H, t), 3.88 (3H, s), 4.01 (3H, s), 4.57 (2H, s), 7.05 (1H, s), 7.07 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.32 (1H, s), 7.43 (1H, d), 8.37 (1H, d)

実施例 B 1 4 2

1 - (3 - メトキシフェニル) - 2 - ニトロ - 1 - エタノール



30

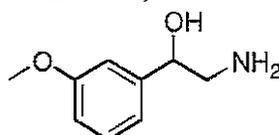
m - アニスアルデヒド 5.0 g (37 ミリモル) とニトロメタン 4.0 ml (73 ミリモル) のメタノール (50 ml) 溶液に、水酸化ナトリウム水溶液 (水酸化ナトリウム 1.5 g (37 ミリモル) を水 15 ml に溶解した。) を、溶液の温度が 30 を越えないように滴下した。その後、室温で 4 時間攪拌した。氷冷後、酢酸水溶液 (氷酢酸 (37 ミリモル) を水 250 ml に溶解した。) を反応溶液に加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を、水と 5% 炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 6.09 g を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.83 (3H, s), 4.52 (1H, dd), 4.61 (1H, dd), 4.76 - 4.78 (1H, m), 5.44 - 5.48 (1H, m), 6.90 (1H, dd), 6.96 - 6.98 (2H, m), 7.25 - 7.34 (1H, m)

実施例 B 1 4 3

2 - アミノ - 1 - (3 - メトキシフェニル) - 1 - エタノール

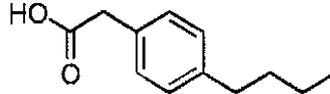


50

実施例 B 1 4 2 の化合物 3 . 0 g (1 5 ミリモル) のテトラヒドロフラン (4 3 m l) とメタノール (4 3 m l) の混合溶液に、パラジウム - 炭素 (1 0 %) 0 . 6 4 g とギ酸アンモニウム 4 . 8 g を加え、室温で 1 8 時間攪拌した。触媒を濾去した後、濾液をエーテルで希釈し析出物を濾去し、得られた濾液を濃縮し、表題化合物を 1 . 8 2 g 得た。この化合物はさらに精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 1 4 4

2 - (4 - ブチルフェニル) アセティックアシッド



10

4 - n - ブチルベンジルアルコール 9 . 6 g (5 9 ミリモル) のエーテル (1 2 0 m l) 溶液に塩化チオニル 4 . 7 m l (6 6 ミリモル) を滴下し、室温で 2 時間攪拌した。減圧下、溶媒を除去し、過剰の塩化チオニルをベンゼンで共沸することにより除去した。残渣のジメチルスルフォキシド (5 0 m l) 溶液に、シアン化ナトリウム 8 6 g (1 . 8 モル) とヨウ化 n - テトラブチルアンモニウム 2 . 2 g (5 . 9 ミリモル) を加え、室温で 1 6 時間攪拌した。水を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を、水と飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、n - ブチルフェニルアセトニトリル 8 . 2 g を黄色油状物として得た。次に、水 5 8 m l に濃硫酸 4 8 m l を滴下し、その温度を 5 0 まで冷却した。その溶液に、上記で得られた n - ブチルフェニルアセトニトリル 8 . 2 g を滴下し、加熱還流下 1 6 時間攪拌した。室温まで冷却後、析出した結晶をろ取り、水で洗浄した。その結晶を 0 . 1 規定の水酸化ナトリウム水溶液 (2 0 0 m l) に溶解し、Norit 5 g を加え、還流下 2 時間攪拌した。セライトを用いて Norit を濾去し、濾液を室温まで冷却後、1 規定塩酸を用いて濾液を酸性にすることにより、結晶が析出した。析出した結晶をろ取り、水で洗浄し、結晶を乾燥後、表題化合物 3 . 5 g を得た。

20

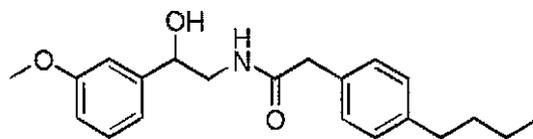
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 3 (3 H , t) , 1 . 3 0 - 1 . 4 0 (2 H , m) , 1 . 5 3 - 1 . 6 2 (2 H , m) , 2 . 5 9 (2 H , t) , 3 . 6 2 (2 H , s) , 7 . 1 5 (2 H , d) , 7 . 2 0 (2 H , d)

但し、カルボキシル基の OH は NMR のチャート上は見えていない。

実施例 B 1 4 5

N - [2 - ヒドロキシ - 2 - (3 - メトキシフェニル) エチル] - 2 - (4 - ブチルフェニル) アセタミド

30



実施例 B 1 4 4 の化合物 1 . 0 g (5 . 2 ミリモル) のベンゼン (1 0 m l) 溶液に、塩化チオニル 0 . 7 6 m l (1 0 ミリモル) を加え、還流下 2 時間攪拌した。濃縮後、さらにベンゼンと共沸させることにより過剰の塩化チオニルを除去した。得られた残渣と実施例 B 1 4 3 の化合物 0 . 8 7 g (5 . 2 ミリモル) のエーテル (5 m l) 溶液に、水酸化ナトリウム水溶液 (水酸化ナトリウム 0 . 2 1 g を水 4 . 2 m l に溶解した。) を加え室温で 3 0 分間激しく攪拌した。エーテル層を分離後、減圧濃縮し、表題化合物 6 0 0 m g を得た。

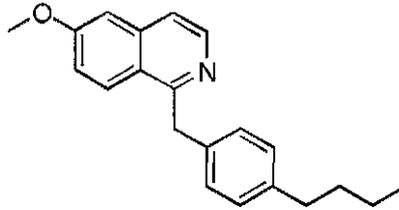
40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 4 (3 H , t) , 1 . 3 1 - 1 . 4 0 (2 H , m) , 1 . 5 7 - 1 . 6 3 (2 H , m) , 2 . 6 0 (2 H , m) , 3 . 3 0 - 3 . 3 7 (1 H , m) , 3 . 5 6 (2 H , s) , 3 . 6 0 - 3 . 6 6 (1 H , m) , 3 . 8 0 (3 H , s) , 3 . 8 1 (1 H , d) , 4 . 7 9 - 4 . 8 1 (1 H , m) , 6 . 8 0 - 6 . 8 9 (3 H , m) , 7 . 1 0 (2 H , d) , 7 . 1 6 (2 H , d) , 7 . 2 0 - 7 . 2 5 (1 H , m)

実施例 B 1 4 6

50

1 - (4 - ブチルベンジル) - 6 - メトキシイソキノリン



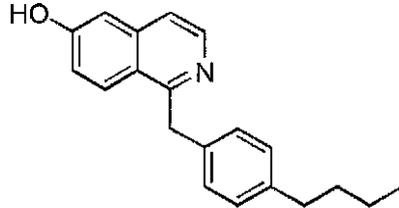
実施例 B 1 4 5 の化合物 6 0 0 m g (1 . 7 ミリモル) のアセトニトリル (1 5 m l) 溶液に、オキシ塩化リン 1 . 6 m l を加え、還流下 1 時間 3 0 分間攪拌した。氷冷後、5 % 炭酸水素ナトリウム水溶液を用いてアルカリ性にした後、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸

10

マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 8 2 m g を得た。
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 7 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 5 0 - 1 . 5 8 (2 H , m) , 2 . 5 3 (2 H , t) , 3 . 9 2 (3 H , s) , 4 . 5 7 (2 H , s) , 7 . 0 5 - 7 . 0 7 (3 H , m) , 7 . 1 3 - 7 . 1 8 (3 H , m) , 7 . 4 5 (1 H , d) , 8 . 0 6 (1 H , d) , 8 . 4 1 (1 H , d)

実施例 B 1 4 7

1 - (4 - ブチルベンジル) - 6 - イソキノリノール



20

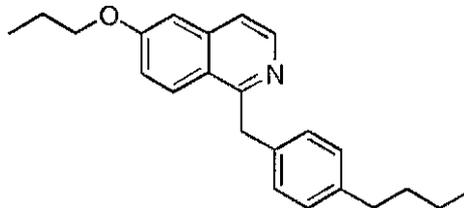
実施例 B 1 4 6 の化合物 8 2 m g に 4 7 % 臭化水素水を加え、還流下 1 9 時間攪拌した。減圧濃縮した後、水を加え、炭酸ナトリウムで中和することにより結晶を析出させた。得られた結晶をろ取り、水で洗浄後、結晶を乾燥し、表題化合物 7 4 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 5 - 1 . 3 4 (2 H , m) , 1 . 4 9 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 5 2 (2 H , t) , 4 . 6 3 (2 H , s) , 7 . 0 3 - 7 . 1 3 (6 H , m) , 7 . 4 9 (1 H , d) , 8 . 1 0 (1 H , d) , 8 . 1 8 (1 H , d)

30

実施例 B 1 4 8

1 - (4 - ブチルベンジル) - 6 - プロポキシイソキノリン



実施例 B 1 4 7 の化合物 2 0 m g (0 . 0 6 9 ミリモル) と 1 - ヨードプロパン 0 . 4 m l (4 . 1 ミリモル) のトルエン (1 . 0 m l) 溶液に炭酸銀 4 0 m g (0 . 1 4 ミリモル) を加え、遮光下 5 0 で 4 時間攪拌した。室温まで冷却後、セライトを用いて濾過し、トルエン - メタノール (9 : 1) 混合溶液で洗浄した。得られた濾液を減圧濃縮した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 3 m g を得た。

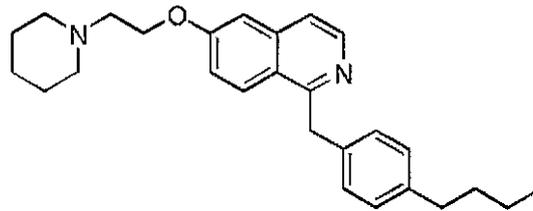
40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 0 (3 H , t) , 1 . 0 8 (3 H , t) , 1 . 3 0 - 1 . 3 3 (2 H , m) , 1 . 5 1 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 1 . 8 6 - 1 . 9 1 (2 H , m) , 2 . 5 4 (2 H , t) , 4 . 0 5 (2 H , t) , 4 . 5 8 (2 H , s) , 7 . 0 5 - 7 . 0 7 (3 H , m) , 7 . 1 4 - 7 . 1 8 (3 H , m) , 7 . 4 3 - 7 . 4 4 (1 H , m) , 8 . 0 5 - 8 . 0 7 (1 H , m) , 8 . 4 0 - 8 . 4 1 (1 H , m)

50

実施例 B 1 4 9

1 - (4 - ブチルベンジル) - 6 - (2 - ピペリジノエトキシ) イソキノリン



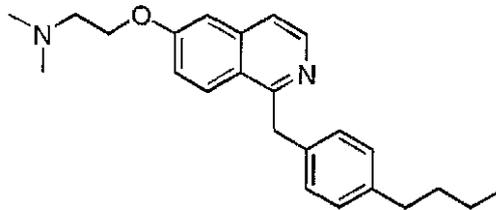
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 6 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 4 6 - 1 . 5 7 (8 H , m) , 2 . 5 0 - 2 . 5 4 (6 H , m) , 2 . 8 3 - 2 . 8 6 (2 H , m) , 4 . 2 3 (2 H , t) , 4 . 5 6 (2 H , s) , 7 . 0 4 - 7 . 0 6 (3 H , m) , 7 . 1 3 - 7 . 1 7 (3 H , m) , 7 . 4 3 (1 H , d) , 8 . 0 4 (1 H , d) , 8 . 4 0 (1 H , d)

10

実施例 B 1 5 0

N - (- { [1 - (4 - ブチルベンジル) - 6 - イソキノリル] オキシ } エチル) - N , N - ジメチルアミン



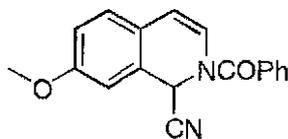
20

実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 6 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 4 9 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 3 7 (6 H , s) , 2 . 5 2 (2 H , t) , 2 . 8 0 (2 H , t) , 4 . 1 9 (2 H , t) , 4 . 5 7 (2 H , s) , 7 . 0 4 - 7 . 0 6 (3 H , m) , 7 . 1 5 - 7 . 1 9 (3 H , m) , 7 . 4 3 (1 H , d) , 8 . 0 5 (1 H , d) , 8 . 4 0 (1 H , d)

実施例 B 1 5 1

2 - ベンゾイル - 7 - メトキシ - 1 , 2 - ジヒドロ - 1 - イソキノリンカルボニトリル



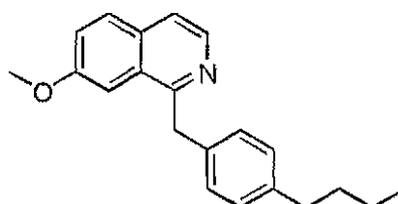
Tetrahedron, 27, 1253 (1971) に基づいて合成した 7 - メトキシイソキノリンを実施例 B 1 4 0 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 3 . 8 7 (3 H , s) , 6 . 0 3 (1 H , b r d) , 6 . 5 6 - 6 . 5 4 (2 H , m) , 6 . 9 0 (1 H , s) , 6 . 9 5 (1 H , d d) , 7 . 1 7 (1 H , d) , 7 . 4 6 - 7 . 5 0 (2 H , m) , 7 . 5 4 - 7 . 6 2 (3 H , m)

40

実施例 B 1 5 2

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - メトキシイソキノリン



実施例 B 1 の化合物と実施例 B 1 5 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得

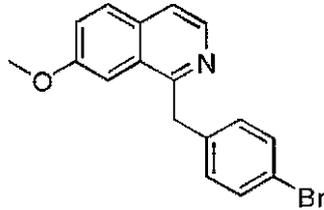
50

た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.56 - 1.58 (2H, m), 2.55 (2H, t), 3.82 (3H, s), 4.59 (2H, s), 7.07 (2H, d), 7.20 (2H, d), 7.26 - 7.29 (1H, m), 7.35 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.70 (1H, d), 8.38 - 8.40 (1H, m)

実施例 B 1 5 3

1 - (4 - ブロモベンジル) - 7 - メトキシイソキノリン



10

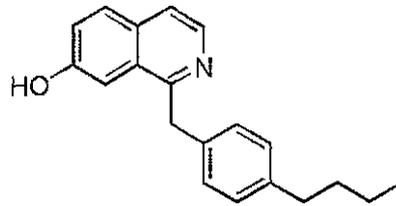
実施例 B 3 1 の化合物と実施例 B 1 5 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.84 (3H, s), 4.57 (2H, s), 7.14 - 7.16 (2H, m), 7.26 (1H, s), 7.29 - 7.32 (1H, m), 7.37 - 7.39 (2H, m), 7.51 (1H, d), 7.73 (1H, d), 8.39 (1H, d)

20

実施例 B 1 5 4

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - イソキノリノール



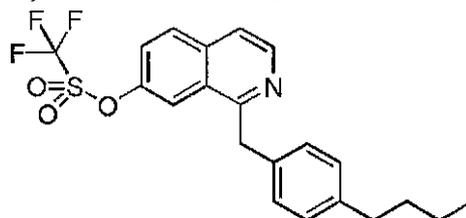
実施例 B 1 5 2 の化合物を実施例 B 1 4 7 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 0.83 (3H, t), 1.21 - 1.26 (2H, m), 1.44 - 1.48 (2H, m), 4.68 (2H, s), 7.11 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.59 - 7.62 (2H, m), 8.10 - 8.17 (2H, m), 8.38 (1H, d), 10.9 (1H, br s) (但し、ブチル基のメチレンプロトン 2 個分が DMSO のシグナルに重なって見えない。)

30

実施例 B 1 5 5

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - イソキノリル トリフルオロメタン sulfonate



40

実施例 B 1 5 4 の化合物 1.0 g (2.7 ミリモル) のジメチルホルムアミド (30 ml) 溶液に *J. Org. Chem.*, 64, 7638 (1999) に基づいて合成した 4 - ニトロフェノールトリフラート 0.72 g (2.7 ミリモル) と炭酸カリウム 1.1 g (8.1 ミリモル) を加え、室温で 2 時間攪拌した。水を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を 1 規定水酸化ナトリウムと飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1.0 g を得た。

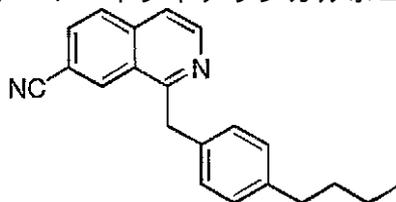
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.27 - 1.37

50

(2 H , m) , 1 . 5 1 - 1 . 5 9 (2 H , m) , 2 . 5 4 (2 H , t) , 5 . 1 0 (2 H , s) , 6 . 3 8 (1 H , s) , 6 . 9 5 (2 H , d) , 7 . 0 4 (2 H , d) , 7 . 4 4 (1 H , d) , 7 . 5 5 (1 H , d) , 7 . 7 5 (1 H , d) , 8 . 4 5 (1 H , d)

実施例 B 1 5 6

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - イソキノリンカルボニトリル



10

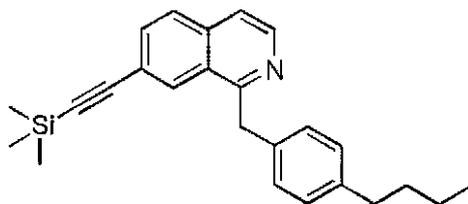
窒素雰囲気下、実施例 B 1 5 5 の化合物 4 0 0 m g (0 . 9 5 ミリモル) のジメチルホルムアミド (2 m l) 溶液に、シアン化亜鉛 2 1 5 m g (1 . 8 ミリモル)、テトラキストリフェニルフォスフィンパラジウム 4 1 m g (0 . 0 3 5 ミリモル) そして塩化リチウム 1 2 0 m g (2 . 8 ミリモル) を加え 1 2 0 で 2 時間攪拌した。室温まで冷却後、飽和炭酸水素ナトリウムを加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 7 1 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 6 - 1 . 3 5 (2 H , m) , 1 . 4 7 - 1 . 5 5 (2 H , m) , 2 . 5 0 (2 H , t) , 4 . 9 1 (2 H , s) , 6 . 9 7 (2 H , d) , 7 . 0 7 (2 H , d) , 7 . 2 8 - 7 . 3 1 (1 H , m) , 7 . 4 2 (1 H , d) , 7 . 5 1 (1 H , d) , 7 . 7 4 (1 H , d) , 8 . 3 4 (1 H , d)

20

実施例 B 1 5 7

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - [2 - (1 , 1 , 1 - トリメチルシリル) - 1 - エチニル] イソキノリン



30

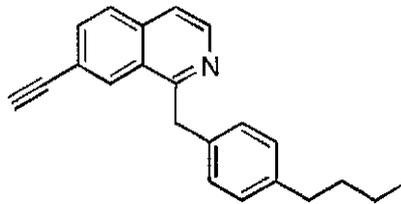
実施例 B 1 5 5 の化合物 1 0 0 m g (0 . 2 4 ミリモル) とトリメチルシリルアセチレン 6 5 μl (0 . 4 7 ミリモル) のジメチルホルムアミド (3 . 0 m l) 溶液に、酢酸パラジウム 1 1 m g (0 . 0 4 7 ミリモル)、1 , 1 - ビスジフェニルフォスフィノフェロセン 7 2 m g (0 . 1 3 ミリモル) そして塩化リチウム 2 5 m g (0 . 5 9 ミリモル) を加え窒素置換した。この溶液にトリエチルアミン 5 9 μl (0 . 4 3 ミリモル) とヨウ化銅 2 m g (0 . 0 1 8 ミリモル) を加え、8 0 で 2 1 時間攪拌した。室温まで冷却後、水と酢酸エチルを加え分配した。酢酸エチル層を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 7 . 0 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 2 8 - 0 . 3 2 (9 H , m) , 0 . 9 2 (3 H , t) , 1 . 3 2 - 1 . 3 8 (2 H , m) , 1 . 5 4 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 5 7 (2 H , t) , 4 . 6 3 (2 H , s) , 7 . 1 0 (2 H , d) , 7 . 2 0 (2 H , d) , 7 . 5 2 (1 H , d) , 7 . 6 7 - 7 . 6 9 (1 H , m) , 7 . 7 5 (1 H , d) , 8 . 3 4 (1 H , d) , 8 . 5 1 (1 H , d)

40

実施例 B 1 5 8

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - (1 - エチニル) イソキノリン

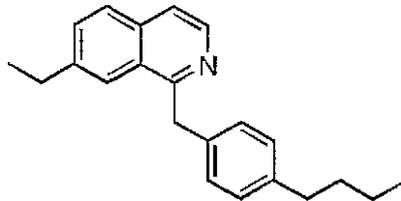


実施例 B 1 5 7 の化合物 6 m g (0 . 0 1 6 ミリモル) のメタノール (1 . 0 m l) 溶液に、炭酸カリウム 1 3 m g (0 . 0 9 4 ミリモル) を加え室温で 1 時間攪拌した。減圧濃縮した後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 3 . 0 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 1 (3 H , t) , 1 . 2 9 - 1 . 3 8 (2 H , m) , 1 . 5 2 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 5 5 (2 H , t) , 3 . 1 9 (1 H , s) , 4 . 6 2 (2 H , s) , 7 . 0 9 (2 H , d) , 7 . 2 0 (2 H , d) , 7 . 5 3 (1 H , d) , 7 . 6 7 - 7 . 6 9 (1 H , m) , 7 . 7 7 (1 H , d) , 8 . 3 6 (1 H , s) , 8 . 5 2 (1 H , d)

実施例 B 1 5 9

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - エチルイソキノリン

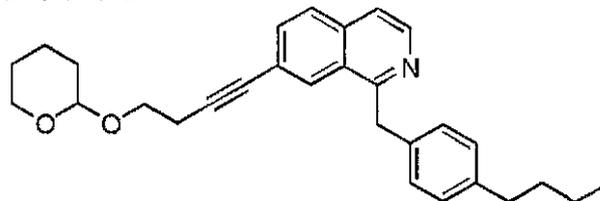


実施例 B 1 5 8 の化合物 2 . 0 m g のテトラヒドロフラン (2 . 0 m l) 溶液に、パラジウム - 炭素 5 . 0 m g (1 0 %) を加え、室温で窒素雰囲気下 (1 a t o m) 1 時間攪拌した。触媒を濾去し、濾液を濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 0 . 2 1 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (6 H , t) , 1 . 2 5 - 1 . 3 2 (2 H , m) , 1 . 4 8 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 5 3 (2 H , t) , 2 . 8 0 (2 H , q) , 4 . 6 2 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 2 0 (2 H , d) , 7 . 4 9 - 7 . 5 2 (2 H , m) , 7 . 7 3 (1 H , d) , 7 . 9 5 (1 H , s) , 8 . 4 3 (1 H , d)

実施例 B 1 6 0

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - [4 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] イソキノリン

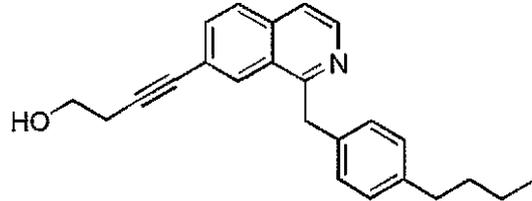


実施例 B 1 5 5 の化合物 1 0 0 m g (0 . 2 4 ミリモル) と 2 - (3 - ブチニルオキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピラン 7 3 m g (0 . 4 7 ミリモル) のジメチルホルムアミド (3 . 0 m l) 溶液に、酢酸パラジウム 1 1 m g (0 . 0 4 7 ミリモル) 、 1 , 1 - ビスジフェニルフォスフィノフェロセン 7 2 m g (0 . 1 3 ミリモル) そして塩化リチウム 2 5 m g (0 . 5 9 ミリモル) を加え系内を窒素置換した。さらに、トリエチルアミン 5 9 μl (0 . 4 3 ミリモル) とヨウ化銅 2 m g (0 . 0 1 8 ミリモル) を加え、8 0 で 2 4 時間攪拌した。室温まで冷却後、水を加え酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2 5 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.38 (2H, m), 1.52 - 1.67 (6H, m), 1.72 - 1.79 (1H, m), 1.79 - 1.88 (1H, m), 2.54 (2H, t), 2.78 (2H, t), 3.53 - 3.56 (1H, m), 3.66 - 3.72 (1H, m), 3.91 - 3.99 (2H, m), 4.60 (2H, s), 4.71 - 4.73 (1H, m), 7.08 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.50 (1H, d), 7.59 - 7.62 (1H, m), 7.72 (1H, d), 8.24 (1H, s), 8.48 (1H, d)

実施例 B 1 6 1

4 - [1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - イソキノリル] - 3 - ブチン - 1 - オール



10

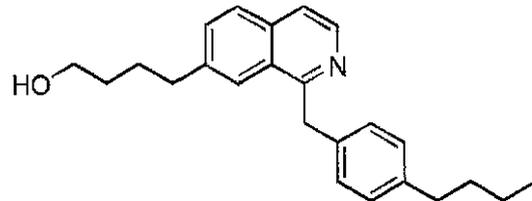
実施例 B 1 6 0 の化合物を 実施例 B 2 9 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.39 (2H, m), 1.51 - 1.57 (2H, m), 1.83 (1H, brs), 2.55 (2H, t), 2.75 (2H, t), 3.84 - 3.89 (2H, m), 4.60 (2H, s), 7.08 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.50 (1H, d), 7.60 - 7.62 (1H, m), 7.73 (1H, d), 8.25 (1H, s), 8.48 (1H, d)

20

実施例 B 1 6 2

4 - [1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - イソキノリル] - 1 - ブタノール



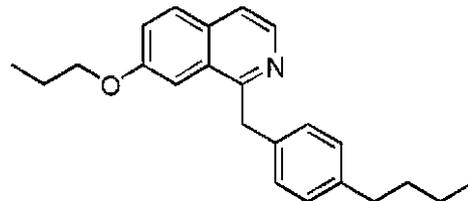
30

実施例 B 1 6 1 の化合物を 実施例 B 3 0 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.28 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.59 (4H, m), 1.67 - 1.77 (3H, m), 2.53 (2H, t), 2.79 (2H, t), 3.63 (2H, t), 4.62 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.47 - 7.52 (2H, m), 7.73 (1H, d), 7.92 (1H, s), 8.43 (1H, d)

実施例 B 1 6 3

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - プロポキシイソキノリン



40

実施例 B 1 5 4 の化合物を 実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

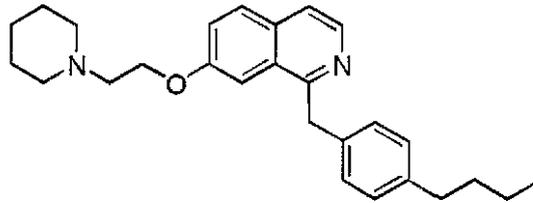
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.05 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.56 (2H, m), 1.76 - 1.84 (2H, m), 2.53 (2H, t), 3.92 (2H, t), 4.58 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.26 - 7.29 (1H, m), 7.34 (1H, d), 7.48 (1H, d), 7.70 (1H, d), 8.38 (1

50

H, d)

実施例 B 1 6 4

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - (2 - ピペリジノエトキシ) イソキノリン



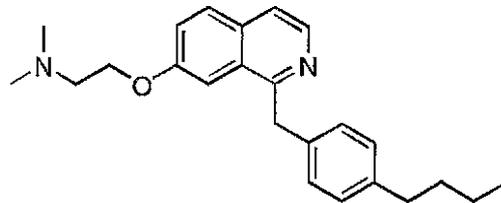
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 7 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 4 3 - 1 . 5 8 (4 H , m) , 1 . 6 1 - 1 . 6 9 (4 H , m) , 2 . 5 1 - 2 . 5 5 (6 H , m) , 2 . 7 9 (2 H , t) , 4 . 1 1 (2 H , t) , 4 . 5 7 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 8 (2 H , d) , 7 . 2 8 - 7 . 3 0 (1 H , m) , 7 . 3 6 (1 H , d) , 7 . 4 8 (1 H , d) , 7 . 7 0 (1 H , d) , 8 . 3 8 (1 H , d)

実施例 B 1 6 5

N - (2 - { [1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - イソキノリル] オキシ } エチル) - N , N - ジメチルアミン



20

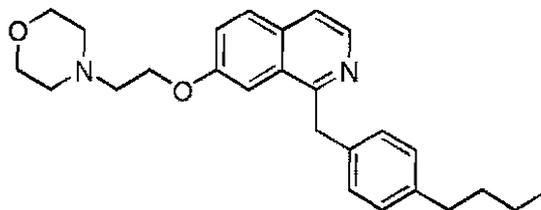
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 7 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 5 0 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 3 5 (6 H , s) , 2 . 5 3 (2 H , t) , 2 . 7 5 (2 H , t) , 4 . 0 6 (2 H , t) , 4 . 5 8 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 8 (2 H , d) , 7 . 3 0 - 7 . 3 3 (1 H , m) , 7 . 3 6 (1 H , d) , 7 . 4 8 (1 H , d) , 7 . 7 0 (1 H , d) , 8 . 3 9 (1 H , d)

30

実施例 B 1 6 6

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - イソキノリル (2 - モルフォリノエチル) エーテル



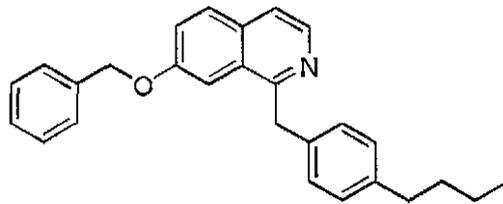
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 7 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 5 0 - 1 . 5 8 (2 H , m) , 2 . 5 1 - 2 . 5 8 (6 H , m) , 2 . 8 1 (2 H , t) , 3 . 7 5 (4 H , t) , 4 . 1 1 (2 H , t) , 4 . 5 8 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 7 (2 H , d) , 7 . 2 8 - 7 . 3 1 (1 H , m) , 7 . 3 5 (1 H , d) , 7 . 4 9 (1 H , d) , 7 . 7 1 (1 H , d) , 8 . 3 9 (1 H , d)

実施例 B 1 6 7

7 - (ベンジルオキシ) - 1 - (4 - ブチルベンジル) イソキノリン



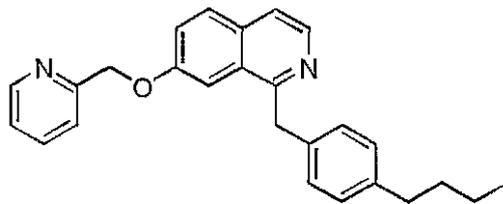
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.54 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.54 (2H, s), 5.06 (2H, s), 7.05 (2H, d), 7.14 (2H, d), 7.34 - 7.43 (7H, m), 7.49 (1H, d), 7.72 (1H, d), 8.39 (1H, d)

10

実施例 B 1 6 8

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - (2 - ピリジルメトキシ) イソキノリン



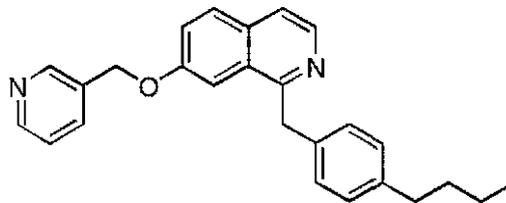
20

実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.49 - 1.57 (2H, m), 2.52 (2H, t), 4.51 (2H, s), 5.25 (2H, s), 7.02 (2H, d), 7.14 (2H, d), 7.24 - 7.27 (1H, m), 7.40 (1H, dd), 7.47 - 7.50 (3H, m), 7.68 - 7.72 (1H, d), 7.74 (1H, d), 8.39 (1H, d), 8.64 - 8.66 (1H, m)

実施例 B 1 6 9

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - (3 - ピリジルメトキシ) イソキノリン



30

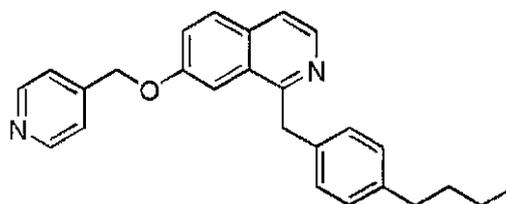
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.58 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.57 (2H, s), 5.06 (2H, s), 7.07 (2H, d), 7.15 (2H, d), 7.31 - 7.36 (2H, m), 7.42 (1H, d), 7.51 (1H, d), 7.74 - 7.76 (2H, m), 8.42 (1H, d), 8.61 - 8.62 (1H, m), 8.69 - 8.70 (1H, m)

40

実施例 B 1 7 0

1 - (4 - ブチルベンジル) - 7 - (4 - ピリジルメトキシ) イソキノリン



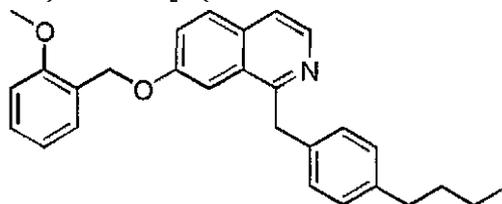
50

実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.56 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.53 (2H, s), 5.09 (2H, s), 7.04 (2H, d), 7.09 (2H, d), 7.33 - 7.39 (4H, m), 7.51 (1H, d), 7.76 (1H, d), 8.41 (1H, d), 8.63 - 8.64 (2H, m)

実施例 B 1 7 1

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - [(2 - メトキシベンジル) オキシ] イソキノリン



10

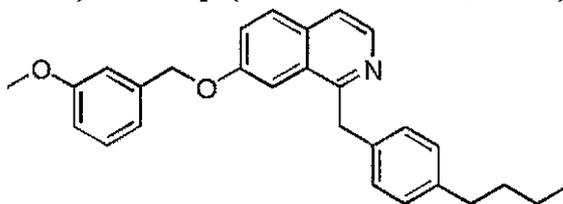
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.57 (2H, m), 2.53 (2H, t), 3.82 (3H, s), 4.52 (2H, s), 5.04 (2H, s), 6.88 - 6.91 (1H, m), 6.99 - 7.02 (2H, m), 7.05 (2H, d), 7.14 (2H, d), 7.32 (1H, t), 7.36 (1H, dd), 7.43 (1H, d), 7.48 (1H, d), 7.72 (1H, d), 8.39 (1H, d)

20

実施例 B 1 7 2

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - [(3 - メトキシベンジル) オキシ] イソキノリン



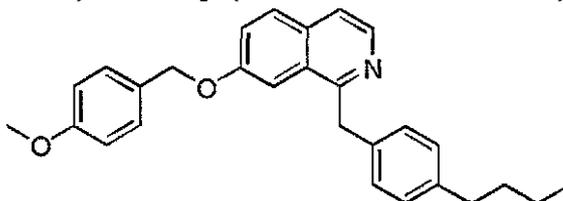
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.56 (2H, m), 2.53 (2H, t), 3.90 (3H, s), 4.53 (2H, s), 5.16 (2H, s), 6.93 - 6.98 (2H, m), 7.03 (2H, d), 7.15 (2H, d), 7.30 - 7.35 (1H, m), 7.37 (1H, dd), 7.41 - 7.43 (1H, m), 7.47 (1H, d), 7.51 (1H, d), 7.71 (1H, d), 8.37 (1H, d)

30

実施例 B 1 7 3

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - [(4 - メトキシベンジル) オキシ] イソキノリン



40

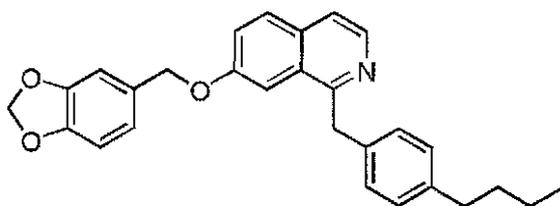
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.37 (2H, m), 1.51 - 1.57 (2H, m), 2.54 (2H, t), 3.83 (3H, s), 4.55 (2H, s), 4.99 (2H, s), 6.93 (2H, d), 7.06 (2H, d), 7.15 (2H, d), 7.32 - 7.36 (3H, m), 7.44 (1H, d), 7.48 (1H, d), 7.71 (1H, d), 8.38 (1H, d)

50

実施例 B 1 7 4

7 - (1 , 3 - ベンゾオキシオール - 5 - イルメトキシ) - 1 - (4 - プチルベンジル)
イソキノリン

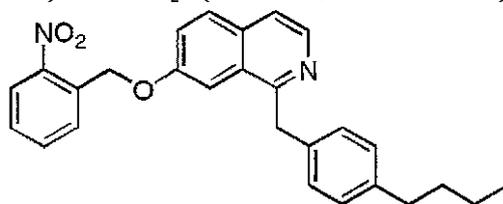


実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 7 - 1 . 3 7 (2 H , m) , 1 . 5 1 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 5 4 (2 H , t) , 4 . 5 5 (2 H , s) , 4 . 9 5 (2 H , s) , 5 . 9 8 (2 H , s) , 6 . 8 2 (1 H , d) , 6 . 8 8 (1 H , d d) , 6 . 9 2 (1 H , d) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 5 (2 H , d) , 7 . 3 3 (1 H , d d) , 7 . 4 2 (1 H , d) , 7 . 4 8 (1 H , d) , 7 . 7 2 (1 H , d) , 8 . 3 9 (1 H , d)

実施例 B 1 7 5

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - [(2 - ニトロベンジル) オキシ] イソキノリン

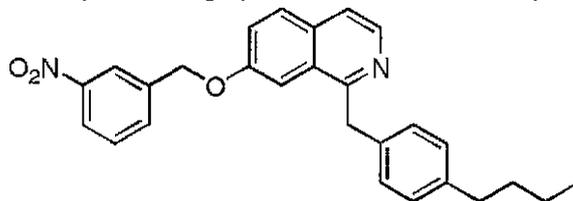


実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 7 (3 H , t) , 1 . 2 6 - 1 . 3 4 (2 H , m) , 1 . 4 8 - 1 . 5 6 (2 H , m) , 2 . 5 1 (2 H , t) , 4 . 5 3 (2 H , s) , 5 . 4 9 (2 H , s) , 7 . 0 3 (2 H , d) , 7 . 1 4 (2 H , d) , 7 . 4 0 (1 H , d d) , 7 . 4 3 0 - 7 . 4 3 4 (1 H , m) , 7 . 4 5 - 7 . 4 9 (1 H , m) , 7 . 5 1 (1 H , d) , 7 . 6 4 - 7 . 6 8 (1 H , m) , 7 . 7 6 (1 H , d) , 7 . 8 5 - 7 . 8 7 (1 H , m) , 8 . 2 2 - 8 . 2 4 (1 H , d) , 8 . 4 1 (1 H , d)

実施例 B 1 7 6

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - [(3 - ニトロベンジル) オキシ] イソキノリン



実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 8 9 (3 H , t) , 1 . 2 7 - 1 . 3 6 (2 H , m) , 1 . 5 0 - 1 . 5 6 (2 H , m) , 2 . 5 4 (2 H , t) , 4 . 5 5 (2 H , s) , 5 . 1 4 (2 H , s) , 7 . 0 5 (2 H , d) , 7 . 1 1 (2 H , d) , 7 . 3 7 - 7 . 4 0 (2 H , m) , 7 . 5 1 (1 H , d) , 7 . 5 5 - 7 . 5 9 (1 H , m) , 7 . 7 3 - 7 . 7 8 (2 H , m) , 8 . 1 9 - 8 . 2 2 (1 H , m) , 8 . 3 2 - 8 . 3 3 (1 H , m) , 8 . 4 2 (1 H , d)

実施例 B 1 7 7

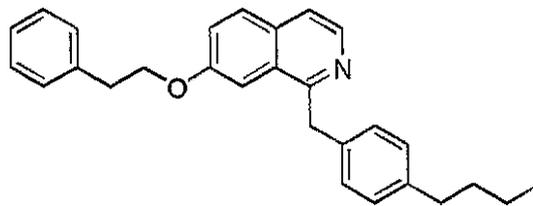
1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - (フェネチルオキシ) イソキノリン

10

20

30

40



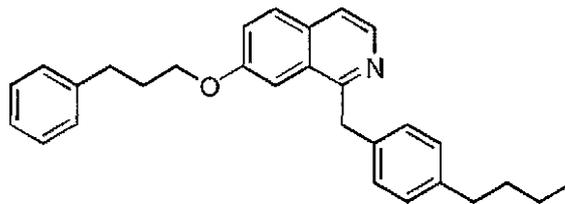
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.26 - 1.36 (2H, m), 1.49 - 1.57 (2H, m), 2.52 (2H, t), 3.10 (2H, t), 4.18 (2H, t), 4.56 (2H, s), 7.04 (2H, d), 7.16 (2H, d), 7.26 - 7.28 (4H, m), 7.33 - 7.35 (3H, m), 7.48 (1H, d), 7.70 (1H, d), 8.38 - 8.39 (1H, m)

10

実施例 B 1 7 8

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - (3 - フェニルプロポキシ) イソキノリン



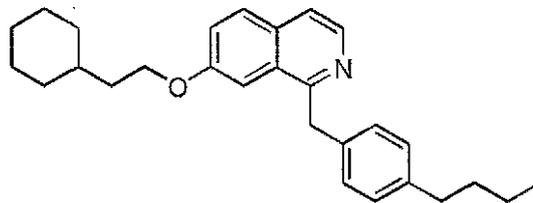
20

実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.49 - 1.57 (2H, m), 2.09 - 2.15 (2H, m), 2.52 (2H, t), 2.82 (2H, t), 3.97 (2H, t), 4.55 (2H, s), 7.04 (2H, d), 7.16 (2H, d), 7.20 - 7.23 (3H, m), 7.27 - 7.33 (4H, m), 7.48 (1H, d), 7.70 (1H, d), 8.38 (1H, d)

実施例 B 1 7 9

1 - (4 - プチルベンジル) - 7 - (2 - シクロヘキシルエトキシ) イソキノリン



30

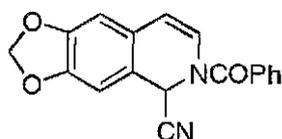
実施例 B 1 4 8 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 0.94 - 1.02 (2H, m), 1.17 - 1.36 (4H, m), 1.36 - 1.57 (4H, m), 1.65 - 1.76 (7H, m), 2.53 (2H, t), 3.98 (2H, t), 4.58 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.25 - 7.28 (1H, m), 7.33 (1H, d), 7.47 (1H, d), 7.69 (1H, d), 8.37 (1H, d)

40

実施例 B 1 8 0

6 - ベンゾイル - 5, 6 - ジヒドロ [1, 3] ジオキソロ [4, 5 - g] イソキノリン - 5 - カルボニトリル



[1, 3] ジオキソロ [4, 5 - g] イソキノリンを実施例 B 1 4 0 と同様にして表題化

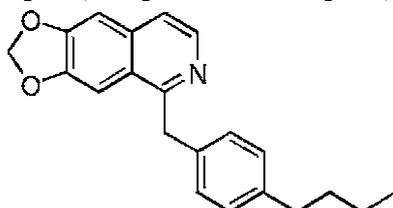
50

化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 5.94 - 5.96 (1H, m), 6.03 (1H, d), 6.04 (1H, d), 6.47 - 6.54 (2H, m), 6.70 (1H, s), 6.83 (1H, s), 7.45 - 7.49 (2H, m), 7.54 - 7.62 (3H, m)

実施例 B 1 8 1

5 - (4 - ブチルベンジル) [1, 3] ジオキソロ [4, 5 - g] イソキノリン



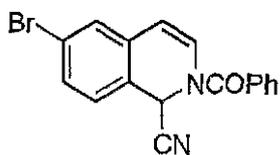
10

実施例 B 1 8 0 の化合物と実施例 B 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.37 (2H, m), 1.51 - 1.57 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.50 (2H, s), 6.05 (2H, s), 7.05 - 7.07 (3H, m), 7.16 (2H, d), 7.38 (7.40 (2H, m), 8.35 (1H, d)

実施例 B 1 8 2

2 - ベンゾイル - 6 - ブロモ - 1, 2 - ジヒドロ - 1 - イソキノリンカルボニトリル



20

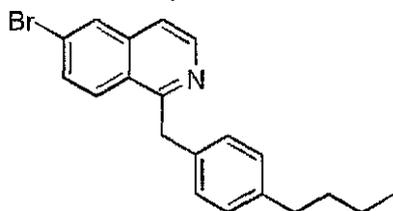
J. Am. Chem. Soc., 183 (1942) に基づいて合成した 6 - ブロモイソキノリンを実施例 B 1 4 0 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 6.01 (1H, d), 6.53 (1H, br s), 6.70 (1H, br d), 7.24 (1H, d), 7.33 (1H, d), 7.47 - 7.51 (3H, m), 7.56 (3H, m)

30

実施例 B 1 8 3

6 - ブロモ - 1 - (4 - ブチルベンジル) イソキノリン



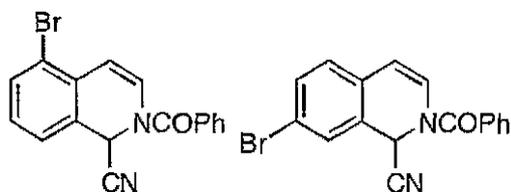
実施例 B 1 8 2 の化合物と実施例 B 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.36 (2H, m), 1.50 - 1.58 (2H, m), 2.53 (2H, t), 4.60 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.15 (2H, d), 7.46 (1H, d), 7.59 (1H, q), 7.98 (1H, d), 8.02 (1H, d), 8.51 (1H, d)

実施例 B 1 8 4

2 - ベンゾイル - 5 - ブロモ - 1, 2 - ジヒドロ - 1 - イソキノリンカルボニトリルと 2 - ベンゾイル - 7 - ブロモ - 1, 2 - ジヒドロ - 1 - イソキノリンカルボニトリルの混合物

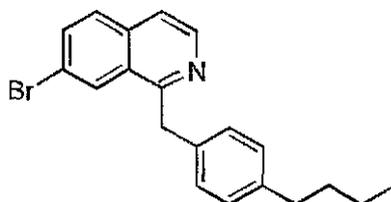


J. Am. Chem. Soc., 61, 183 (1939) に基づいて合成した 5 - または 7 - プロモイソキノリンを実施例 B 140 と同様にして表題化合物を得た。得られた化合物は分離精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 185

7 - プロモ - 1 - (4 - ブチルベンジル) イソキノリン

10



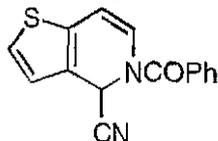
実施例 B 184 の化合物と実施例 B 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.37 (2H, m), 1.51 - 1.58 (2H, m), 2.55 (2H, t), 4.58 (2H, s), 7.09 (2H, d), 7.18 (2H, d), 7.51 - 7.53 (1H, m), 7.69 - 7.70 (2H, m), 8.33 - 8.34 (1H, m), 8.52 (1H, d)

20

実施例 B 186

5 - ベンゾイル - 4, 5 - ジヒドロチエノ [3, 2 - c] ピリジン - 4 - カルボニトリル



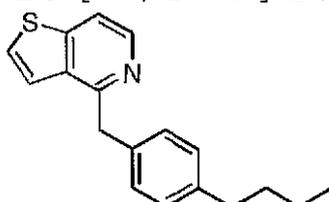
J. Heterocycl. Chem., 30, 183 (1993) に基づいて合成したチエノ [3, 2 - c] ピリジンを実施例 B 140 と同様にして表題化合物を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 6.05 (1H, d), 6.57 (1H, brd), 6.66 (1H, s), 7.07 (1H, d), 7.32 (1H, d), 7.46 - 7.50 (2H, m), 7.54 - 7.62 (3H, m)

実施例 B 187

4 - (4 - ブチルベンジル) チエノ [3, 2 - c] ピリジン



40

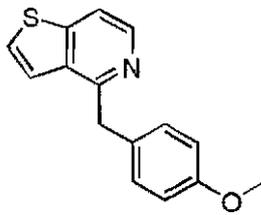
実施例 B 186 の化合物と実施例 B 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.90 (3H, t), 1.27 - 1.37 (2H, m), 1.51 - 1.59 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.47 (2H, s), 7.07 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.42 (1H, d), 7.47 (1H, dd), 7.68 (1H, d), 8.41 (1H, d)

実施例 B 188

4 - (4 - メトキシベンジル) チエノ [3, 2 - c] ピリジン

50



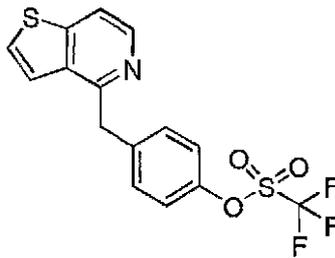
実施例 B 1 8 6 の化合物と 4 - メトキシベンジルクロリドを実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 3.75 (3H, s), 4.44 (2H, s), 6.79 - 6.82 (2H, m), 7.19 - 7.22 (2H, m), 7.43 (1H, d), 7.46 (1H, dd), 7.68 (1H, d), 8.41 (1H, d)

10

実施例 B 1 8 9

4 - (チエノ[3,2-c]ピリジン-4-イルメチル)フェニル トリフルオロメタン スルフォネート



20

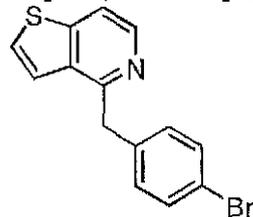
0 に冷却した実施例 B 1 8 8 の化合物 5 1 0 m g (2 . 0 ミリモル) の塩化メチレン (1 0 m l) 溶液に、三臭化ホウ素の塩化メチレン溶液 1 0 m l (1 . 0 M , 1 0 ミリモル) を滴下し、その温度で 1 時間半撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え弱アルカリ性にした後、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をピリジンに溶解し、0 に冷却した後、トリフルオロメタンスルホンイオン交換樹脂 0 . 3 4 m l (2 . 1 ミリモル) を滴下し、その温度で 2 時間撹拌した。氷水に注ぎ、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 3 1 2 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.52 (2H, s), 7.16 - 7.18 (2H, m), 7.36 (2H, m), 7.43 - 7.44 (1H, m), 7.49 (1H, d), 7.73 (1H, d), 8.42 (1H, d)

30

実施例 B 1 9 0

4 - (4 - プロモベンジル) チエノ [3 , 2 - c] ピリジン



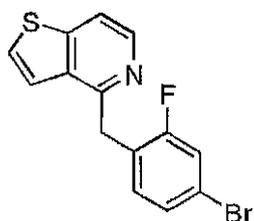
40

実施例 B 1 8 6 の化合物と実施例 B 3 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.45 (2H, s), 7.14 - 7.16 (2H, m), 7.37 - 7.39 (2H, m), 7.41 - 7.43 (1H, m), 7.45 (1H, d), 7.71 (1H, d), 8.41 (1H, d)

実施例 B 1 9 1

4 - (4 - プロモ - 2 - フルオロベンジル) チエノ [3 , 2 - c] ピリジン



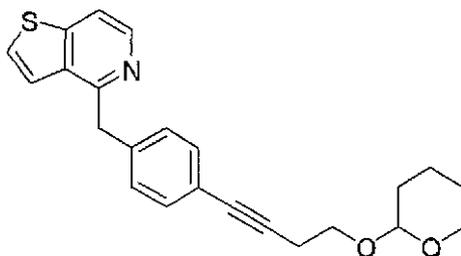
実施例 B 1 8 6 の化合物と 4 - プロモ 2 - フルオロベンジブロミドを実施例 B 2 と同様に
して表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.46 (2H, s), 7.11 (1H, t), 7.15 - 7.18 (1H, m), 7.22 - 7.25 (1H, m), 7.47 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.71 (1H, d), 8.41 (1H, d)

10

実施例 B 1 9 2

4 - { 4 - [4 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] ベンジ
ル } チエノ [3 , 2 - c] ピリジン



20

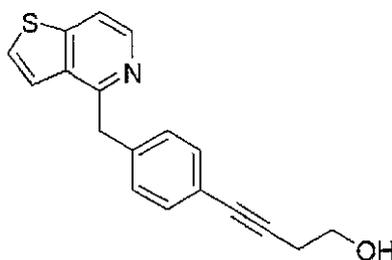
実施例 B 1 8 9 の化合物と 2 - (3 - ブチニルオキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピランを実
施例 B 4 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.40 - 1.90 (6H, m), 2.69 (2H, t), 3.45 - 3.65 (2H, m), 3.78 - 3.95 (2H, m), 4.48 (2H, s), 4.66 - 4.69 (1H, m), 7.18 (2H, d), 7.27 (2H, d), 7.41 (1H, d), 7.44 (1H, d), 7.70 (1H, d), 8.41 (1H, d).

実施例 B 1 9 3

4 - [4 - (チエノ [3 , 2 - c] ピリジン - 4 - イルメチル) フェニル] - 3 - ブチン
- 1 - オール

30



実施例 B 1 9 2 の化合物を実施例 B 4 7 と同様に処理し、表題化合物を得た。

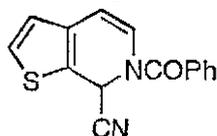
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 2.67 (2H, t), 3.79 (2H, t), 4.50 (2H, s), 7.20 (2H, d), 7.32 (2H, d), 7.41 (1H, d), 7.44 (1H, d), 7.71 (1H, d), 8.42 (1H, d).

40

水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 1 9 4

6 - ベンゾイル - 6 , 7 - ジヒドロチエノ [2 , 3 - c] ピリジン - 7 - カルボニトリル



J. Heterocycl. Chem., 30, 183 (1993) に基づいて合成した

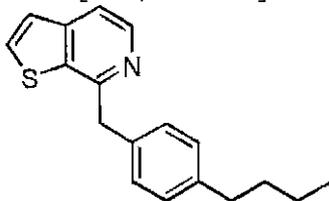
50

チエノ[2,3-c]ピリジンを実施例B140と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 6.07 (1H, d), 6.56 (1H, brd), 6.75 (1H, s), 6.97 (1H, d), 7.37 (1H, d), 7.46 - 7.51 (2H, m), 7.54 - 7.64 (3H, m)

実施例B195

7-(4-ブチルベンジル)チエノ[2,3-c]ピリジン



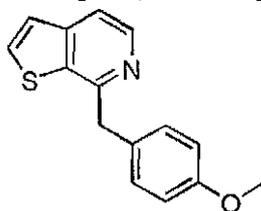
10

実施例B194の化合物と実施例B1の化合物を実施例B2と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.37 (2H, m), 1.51 - 1.59 (2H, m), 2.55 (2H, t), 4.40 (2H, s), 7.09 (2H, d), 7.28 (2H, d), 7.34 (1H, d), 7.57 (1H, d), 7.62 (1H, d), 8.47 (1H, d)

実施例B196

7-(4-メトキシベンジル)チエノ[2,3-c]ピリジン



20

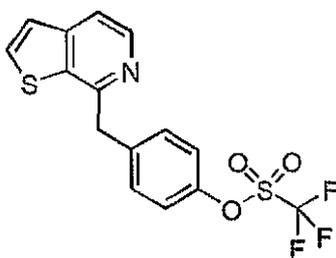
実施例B194の化合物と4-メトキシベンジルクロリドを実施例B2と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.76 (3H, s), 4.38 (2H, s), 6.81 - 6.83 (2H, m), 7.28 - 7.30 (2H, m), 7.35 (1H, d), 7.57 (1H, d), 7.62 (1H, d), 8.47 (1H, d)

30

実施例B197

4-(チエノ[2,3-c]ピリジン-7-イルメチル)フェニル トリフルオロメタン スルフォネート



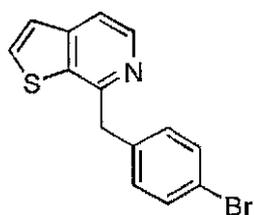
40

実施例B196の化合物を実施例B189と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 4.44 (2H, s), 7.17 - 7.19 (2H, m), 7.38 - 7.40 (1H, m), 7.44 - 7.46 (2H, m), 7.61 (1H, d), 7.65 - 7.67 (1H, m), 8.47 - 8.49 (1H, m)

実施例B198

7-(4-ブromoベンジル)チエノ[2,3-c]ピリジン

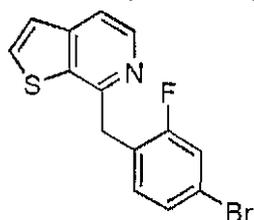


実施例 B 1 9 4 の化合物と実施例 B 3 1 の化合物を実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.37 (2H, s), 7.23 - 7.25 (2H, m), 7.37 (1H, d), 7.39 - 7.41 (2H, m), 7.59 (1H, d), 7.63 - 7.65 (1H, m), 8.47 (1H, d)

実施例 B 1 9 9

7 - (4 - ブロモ - 2 - フルオロベンジル) チエノ [2 , 3 - c] ピリジン

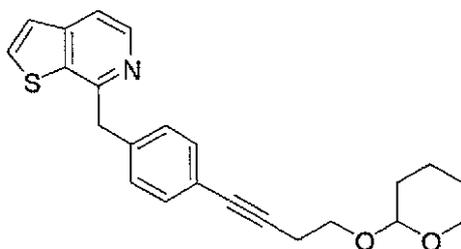


実施例 B 1 9 4 の化合物と 4 - ブロモ 2 - フルオロベンジブロミドを実施例 B 2 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.40 - 4.41 (2H, m), 7.12 - 7.20 (2H, m), 7.23 - 7.26 (1H, m), 7.37 - 7.39 (1H, m), 7.59 - 7.62 (1H, m), 7.65 - 7.67 (1H, m), 8.45 - 8.47 (1H, m)

実施例 B 2 0 0

7 - { 4 - [4 - (テトラヒドロ - 2 H - 2 - ピラニルオキシ) - 1 - ブチニル] ベンジル } チエノ [2 , 3 - c] ピリジン

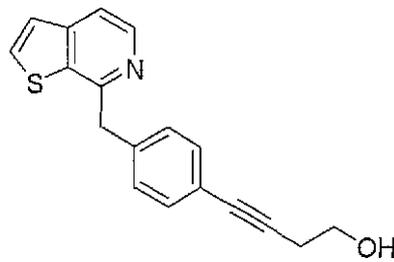


実施例 B 1 9 7 の化合物と 2 - (3 - ブチニルオキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピランを実施例 B 4 2 と同様にして処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 1.50 - 1.90 (6H, m), 2.69 (2H, t), 3.49 - 3.54 (1H, m), 3.58 - 3.65 (1H, m), 3.85 - 3.95 (2H, m), 4.41 (2H, s), 4.68 (1H, t), 7.26 - 7.31 (4H, m), 7.36 (1H, d), 7.58 (1H, d), 7.63 (1H, d), 8.47 (1H, d)

実施例 B 2 0 1

4 - [4 - (チエノ [2 , 3 - c] ピリジン - 7 - イルメチル) フェニル] - 3 - ブチン - 1 - オール



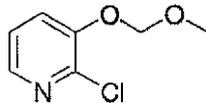
実施例 B 2 0 0 の化合物を実施例 B 4 7 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.99 (1H, brs), 2.67 (2H, t), 3.79 (2H, t), 4.42 (2H, s), 7.27 - 7.34 (4H, m), 7.36 (1H, d), 7.59 (1H, d), 7.64 (1H, d), 8.47 (1H, d).

10

実施例 B 2 0 2

2 - クロロ - 3 - (メトキシメトキシ)ピリジン



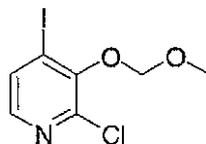
窒素雰囲気下、氷冷した 2 - クロロ - 3 - ヒドロキシピリジン 2.05 g (15.8 ミリモル) のテトラヒドロフラン (30 ml) 溶液に、66% 水素化ナトリウム 633 mg (17.4 ミリモル) を加え、その温度で 15 分間攪拌した。その反応溶液にクロロメチルメチルエーテル 1.32 ml (17.4 ミリモル) を加え、その温度で 30 分間攪拌後、さらに室温で 2 時間攪拌した。水を加え、酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2.44 g を得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.53 (3H, s), 5.28 (2H, s), 7.19 (1H, dd), 7.49 (1H, dd), 8.06 (1H, dd)

実施例 B 2 0 3

2 - クロロ - 4 - ヨード - 3 - (メトキシメトキシ)ピリジン



30

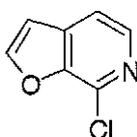
窒素雰囲気下、-78 に冷却した 1.51 M t - ブチルリチウム - n - ペンタン溶液 8.01 ml (12.1 ミリモル) のジエチルエーテル (15 ml) 溶液に、実施例 B 2 0 2 の化合物 1.40 g (8.06 ミリモル) のジエチルエーテル 8 ml 溶液を滴下し、その温度で 15 分間攪拌した。その反応溶液にヨウ素 3.07 g (12.1 ミリモル) を加え、徐々に室温まで昇温させた。チオ硫酸ナトリウム水溶液を加え、ジエチルエーテル層を分配し、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 356 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.73 (3H, s), 5.22 (2H, s), 7.69 (1H, d), 7.80 (1H, d)

40

実施例 B 2 0 4

7 - クロロフロ[2,3-c]ピリジン



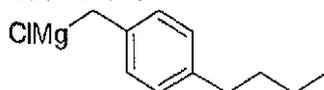
実施例 B 2 0 3 の化合物 36.6 mg (0.143 ミリモル)、テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム 16.5 mg (0.0143 ミリモル) そしてヨウ化第 1 銅 2.7 mg (0.014 ミリモル) のジメチルホルムアミド (1.5 ml) 溶液に、トリメチル

50

シリルアセチレン 28.3 μ l (0.201 ミリモル) とトリエチルアミン 59.8 μ l (0.429 ミリモル) を加え、50 で4時間攪拌した。室温まで放冷後水を加え、酢酸エチルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣のメタノール (5 ml) 溶液に、炭酸カリウム 100 mg (0.724 ミリモル) を加え、室温で1時間攪拌した。水を加え、ジエチルエーテルを用いて抽出し、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 5.5 mg を得た。
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm) : 6.89 (1H, d), 7.51 (1H, d), 7.83 (1H, d), 8.21 (1H, d)

実施例 B 205

4 - プチルベンジルマグネシウムクロリド

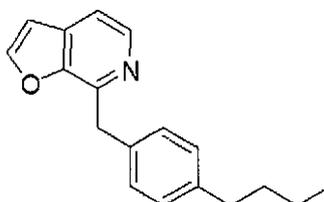


10

実施例 B 1 の化合物 1.04 g (5.69 ミリモル)、マグネシウム 761 mg (31.3 ミリモル) そして触媒量の 1, 2 - ジブプロモエタンのジエチルエーテル (11 ml) の混合液を加熱還流によりイニシエーションした後、熱源を除き、さらに実施例 B 1 の化合物 4.16 g (22.8 ミリモル) のジエチルエーテル 60 ml 溶液を緩やかな還流を保つ速度で滴下し、30 分間加熱還流した。室温まで放冷し表題化合物を 0.4 M ジエチルエーテル溶液として得、そのまま次の反応に用いた。

実施例 B 206

7 - (4 - プチルベンジル) フロ [2 , 3 - c] ピリジン



20

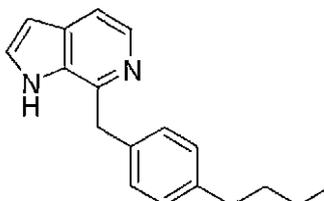
実施例 B 204 の化合物 5.0 mg (0.033 ミリモル) と [1 , 1' - ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン] ジクロロニッケル (II) 4.5 mg (0.0065 ミリモル) のテトラヒドロフラン (1 ml) 溶液に、実施例 B 205 の化合物 300 μ l (0.1 ミリモル) を加え、50 で1時間攪拌した。室温まで放冷後、酢酸エチルを加え、飽和塩化アンモニア水溶液と飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣を NH - シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2.9 mg を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm) : 0.89 (3H, t), 1.29 - 1.35 (2H, m), 1.50 - 1.58 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.40 (2H, s), 6.78 (1H, d), 7.08 (2H, d), 7.30 (2H, d), 7.40 (1H, d), 7.72 (1H, d), 8.34 (1H, d)

実施例 B 207

7 - (4 - プチルベンジル) - 1H - ピロロ [2 , 3 - c] ピリジン



40

氷冷下、2 - クロロ - 3 - アミノピリジンから特開平 7 - 165708 に記載の方法に基づいて合成した 1 - クロロピロロピリジン 19.4 mg (0.127 ミリモル) とジクロロ (ジフェニルホスフィノプロパン) ニッケル 6.9 mg (0.013 ミリモル) のテトラヒドロフラン (1 ml) 溶液に、実施例 B 205 の化合物 800 μ l (0.3 ミリモル) を加え、加熱還流下 4 時間攪拌した。室温まで放冷後、酢酸エチルを加え、飽和塩化ア

50

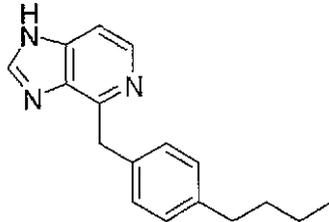
ンモニア水溶液と飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 7.1 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.91 (3H, t), 1.31 - 1.37 (2H, m), 1.55 - 1.59 (2H, m), 2.58 (2H, t), 4.44 (2H, s), 6.50 (1H, d), 7.12 (2H, d), 7.18 (1H, d), 7.22 (2H, d), 7.45 (1H, d), 8.21 (1H, d)

NHのプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 2 0 8

4 - (4 - ブチルベンジル) - 1 - イミダゾ [4 , 5 - c] ピリジン



10

4 - アミノ - 2 - クロロピリジンから J. Heterocycl. chem., 2, 196 (1965) の文献記載の方法に基づいて合成した 1 - クロロイミダゾピリジン 88.6 mg (0.577ミリモル) とジクロロ (ジフェニルホスフィノプロパン) ニッケル 31.3 mg (0.0577ミリモル) のテトラヒドロフラン (2 ml) 溶液に、実施例 B 2 0 5 の化合物 3.45 ml (1.38ミリモル) を加え、加熱還流下 2 時間攪拌した。室温まで放冷後、酢酸エチルを加え、シリカゲルを用いて濾過し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 64.2 mg を得た。

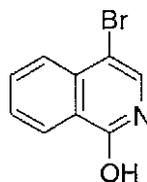
20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.86 (3H, t), 1.23 - 1.32 (2H, m), 1.44 - 1.52 (2H, m), 2.47 (2H, t), 4.56 (2H, s), 7.02 (2H, d), 7.19 (2H, d), 7.34 (1H, d), 8.00 (1H, s), 8.25 - 8.27 (1H, m)

NHのプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 2 0 9

4 - ブロモ - 1 - イソキノリノール



30

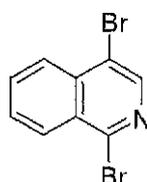
氷冷した 1 - ヒドロキシイソキノリン 5.01 g (34.5ミリモル) の酢酸 (50 ml) 溶液に、臭素 1.78 ml (34.5ミリモル) を加え、室温で 2 時間攪拌した。その反応溶液に水、酢酸エチルそしてテトラヒドロフランを加え、濾紙を用いて濾過した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルとヘキサンを用いて再結晶し、表題化合物 6.19 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) (ppm): 7.56 (1H, s), 7.59 - 7.63 (1H, m), 7.76 - 7.78 (1H, m), 7.84 - 7.89 (1H, m), 8.23 - 8.26 (1H, m), 11.59 (1H, br s)

40

実施例 B 2 1 0

1, 4 - ジブロモイソキノリン



実施例 B 2 0 9 の化合物 1.40 g (8.06ミリモル) と 3 臭化リン 6 ml の混合液を

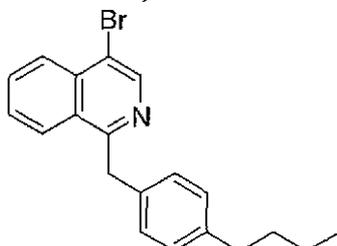
50

150 で1時間攪拌した後、さらに1時間加熱還流した。室温まで放冷後、その反応溶液を氷に注ぎ、室温まで昇温させた。酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物845mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 7.76 - 7.80 (1H, m), 7.86 - 7.90 (1H, m), 8.19 (1H, d), 8.31 - 8.34 (1H, m), 8.48 (1H, s)

実施例B211

4-プロモ-1-(4-ブチルベンジル)イソキノリン



10

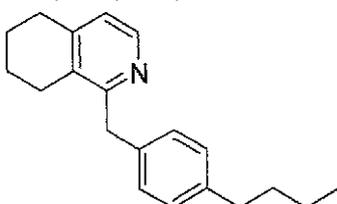
実施例B210の化合物200mg(0.697ミリモル)と[1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン]ジクロロニックル(II)75.6mg(0.139ミリモル)のテトラヒドロフラン(2ml)溶液に、実施例B205の化合物2.5ml(1ミリモル)を加え、室温で30分間攪拌した。酢酸エチルを加え、飽和塩化アンモニア水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液そして飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物98mgを得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.89 (3H, t), 1.29 - 1.34 (2H, m), 1.51 - 1.60 (2H, m), 2.53 (2H, t), 4.59 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.16 (2H, d), 7.57 - 7.61 (1H, m), 7.73 - 7.77 (1H, m), 8.15 - 8.19 (2H, m), 8.69 (1H, s)

実施例B212

1-(4-ブチルベンジル)-5,6,7,8-テトラヒドロイソキノリン



30

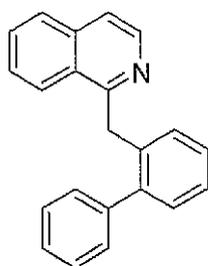
実施例B211の化合物13.0mg(0.0367ミリモル)を酢酸エチルとメタノールの混合液(1:1, 1ml)に溶解し、10%パラジウム-炭素(50%含水)13mgを加え、室温で常圧水素雰囲気下12時間攪拌した。反応系中を窒素置換した後、触媒をセライトを用いて濾去した。得られた濾液を減圧濃縮し、表題化合物8.8mgを得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.38 (2H, m), 1.52 - 1.59 (2H, m), 1.74 - 1.82 (4H, m), 2.55 (2H, t), 2.66 (2H, t), 2.81 (2H, t), 4.26 (2H, s), 7.07 - 7.15 (5H, m), 8.32 (1H, d)

実施例B213

1-[2-(フェニル)ベンジル]イソキノリン



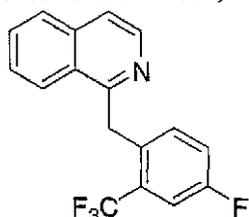
n - ブチルベンジルクロリドの代わりに 2 - フェニルベンジルブロミドを用いて、実施例 B 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.62 (2H, s), 7.05 (1H, d), 7.16 (1H, dd), 7.22 - 7.50 (8H, m), 7.52 (1H, d), 7.58 (1H, dd), 7.65 (1H, d), 7.76 (1H, d), 8.47 (1H, d).

10

実施例 B 2 1 4

1 - [4 - フルオロ - 2 - (トリフルオロメチル) ベンジル] イソキノリン



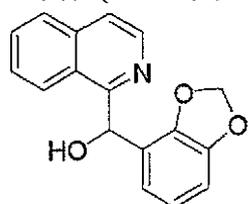
20

n - ブチルベンジルクロリドの代わりに 4 - フルオロ - 2 - (トリフルオロメチル) ベンジルメタンスルホナートを用いて、実施例 B 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 4.83 (2H, s), 6.87 (1H, dd), 7.01 (1H, ddd), 7.43 (1H, dd), 7.54 (1H, dd), 7.61 (1H, d), 7.67 (1H, dd), 7.85 (1H, d), 7.96 (1H, d), 8.49 (1H, d).

実施例 B 2 1 5

1, 3 - ベンゾジオキサイル - 4 - イル (1 - イソキノリル) メタノール



30

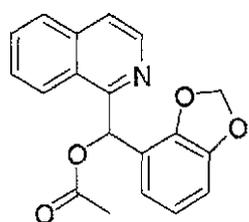
2, 3 - メチレンジオキシベンズアルデヒドを実施例 B 8 2 と様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 5.97 - 5.99 (1H, m), 6.09 (1H, brs), 6.20 - 6.40 (1H, m), 6.54 - 6.60 (2H, m), 6.65 - 6.70 (2H, m), 7.52 (1H, dd), 7.63 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.84 (1H, d), 8.04 (1H, d), 8.53 (1H, d).

40

実施例 B 2 1 6

1, 3 - ベンゾジオキサイル - 4 - イル (1 - イソキノリル) メチル アセテート



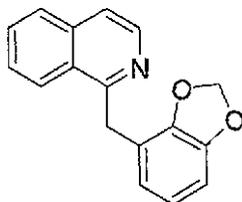
50

実施例 B 2 1 5 の化合物を実施例 B 3 8 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 2.23 (3H, s), 5.98 - 6.02 (2H, m), 6.74 - 6.79 (1H, m), 6.90 - 6.93 (1H, m), 7.15 - 7.19 (1H, m), 7.23 - 7.28 (1H, m), 7.58 (1H, dd), 7.60 (1H, d), 7.66 (1H, dd), 7.83 (1H, d), 8.28 (1H, d), 8.57 (1H, d).

実施例 B 2 1 7

1 - (1, 3 - ベンゾジオキソイル - 4 - イルメチル) イソキノリン



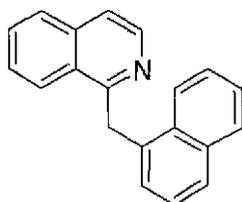
10

実施例 B 2 1 6 の化合物を実施例 B 3 9 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 4.62 (2H, s), 6.02 (2H, s), 6.64 - 6.70 (3H, m), 7.57 (1H, dd), 7.58 (1H, d), 7.66 (1H, dd), 7.83 (1H, d), 8.23 (1H, d), 8.50 (1H, d).

実施例 B 2 1 8

1 - (1 - ナフチルメチル) イソキノリン



20

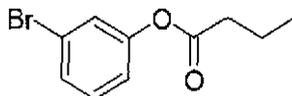
n - ブチルベンジルクロリドの代わりに 1 - (クロロメチル) ナフタレンを用いて、実施例 B 2 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 5.13 (2H, s), 6.96 (1H, d), 7.29 (1H, d), 7.45 - 7.67 (5H, m), 7.72 (1H, d), 7.84 - 7.90 (2H, m), 8.08 (1H, d), 8.26 (1H, d), 8.52 (1H, d).

30

実施例 B 2 1 9

3 - ブロモフェニルブチレート



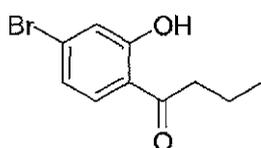
氷冷した 3 - ブロモフェノール 10.0 g のピリジン (50 ml) 溶液に、n - ブチリルクロリド 7.25 ml を加え、その温度で 3 時間攪拌した後、室温でさらに 3.5 時間攪拌した。反応混合物に氷を加え、酢酸エチルで抽出し、1 規定塩酸と水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し表題化合物 12.77 g を得た。

40

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.04 (3H, t), 1.72 - 1.82 (2H, m), 2.54 (2H, t), 7.04 (1H, dd), 7.22 - 7.29 (2H, m), 7.36 (1H, d).

実施例 B 2 2 0

1 - (4 - ブロモ - 2 - ヒドロキシフェニル) - 1 - ブタノン



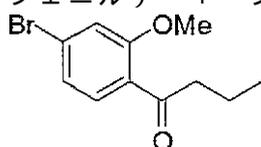
窒素雰囲気下、実施例 B 2 1 9 の化合物 1 2 . 7 7 g のクロロベンゼン (7 0 m l) 溶液に塩化アルミニウム 1 0 . 5 1 g を加え、加熱還流下 9 時間攪拌した。反応混合物を室温に冷却し、氷を加え酢酸エチルで抽出し、水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。この化合物はさらに精製することなく次反応に用いた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 1 (3 H , t) , 1 . 5 3 - 1 . 6 5 (2 H , m) , 3 . 0 0 (2 H , t) , 7 . 0 2 (1 H , d d) , 7 . 1 9 (1 H , d) , 7 . 7 8 (1 H , d) , 1 2 . 5 0 (1 H , s) .

10

実施例 B 2 2 1

1 - (4 - ブロモ - 2 - メトキシフェニル) - 1 - ブタノン



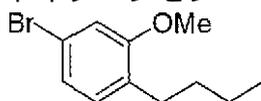
実施例 B 2 2 0 の化合物 1 3 . 3 0 g のアセトン (7 5 m l) 溶液に、炭酸カリウム 9 . 0 7 g とヨウ化メチル 3 . 9 2 m l を加え、加熱還流下 4 時間攪拌した。反応混合物をセライトを用いて濾過し、エーテルを加え不溶物を濾過し、濾液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 9 . 5 2 g を得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 5 (3 H , t) , 1 . 6 4 - 1 . 7 4 (2 H , m) , 2 . 9 1 (2 H , t) , 3 . 9 0 (3 H , s) , 7 . 1 0 (1 H , d) , 7 . 1 4 (1 H , d d) , 7 . 5 4 (1 H , d) .

実施例 B 2 2 2

4 - ブロモ - 1 - ブチル - 2 - メトキシベンゼン



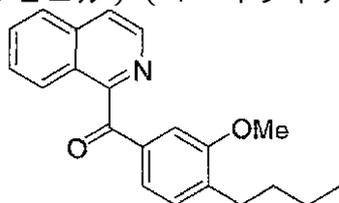
実施例 B 2 2 1 の化合物を実施例 B 3 と同様に還元し、表題化合物を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 2 (3 H , t) , 1 . 2 9 - 1 . 3 9 (2 H , m) , 1 . 4 8 - 1 . 5 6 (2 H , m) , 2 . 5 4 (2 H , t) , 3 . 8 1 (3 H , s) , 6 . 9 5 (1 H , s) , 6 . 9 6 - 7 . 0 2 (2 H , m) .

実施例 B 2 2 3

(4 - ブチル - 3 - メトキシフェニル) (1 - イソキノリル) ケトン



40

実施例 B 2 2 2 の化合物を実施例 B 3 6 と同様に処理し、表題化合物を含む混合物として得た。

この混合物は分離精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 2 2 4

(4 - ブチル - 3 - メトキシフェニル) (1 - イソキノリル) メタノール

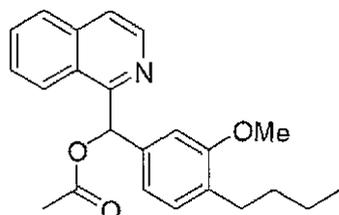


実施例 B 2 2 3 の化合物を実施例 B 3 7 と同様に処理し、表題化合物を含む混合物として得た。

この混合物は分離精製することなく次の反応に用いた。

実施例 B 2 2 5

(4-ブチル-3-メトキシフェニル)(1-イソキノリル)メチル アセテート

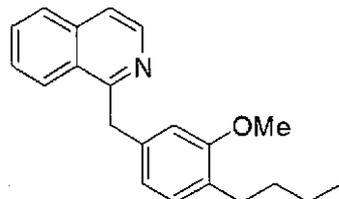


実施例 B 2 2 4 の化合物を実施例 B 3 8 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.24 - 1.38 (2H, m), 1.46 - 1.60 (2H, m), 2.24 (3H, s), 2.54 (2H, t), 3.76 (3H, s), 6.97 (1H, s), 6.98 (1H, d), 7.06 (1H, d), 7.53 - 7.67 (4H, m), 7.83 (1H, d), 8.26 (1H, d), 8.58 (1H, d).

実施例 B 2 2 6

1-(4-ブチル-3-メトキシベンジル)イソキノリン

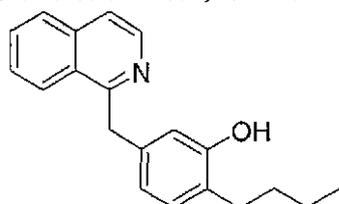


実施例 B 2 2 5 の化合物を実施例 B 3 9 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.27 - 1.38 (2H, t), 1.45 - 1.54 (2H, t), 2.52 (2H, t), 3.72 (3H, s), 4.63 (2H, s), 6.78 (1H, d), 6.79 (1H, s), 6.99 (1H, d), 7.53 (1H, dd), 7.55 (1H, d), 7.64 (1H, dd), 7.80 (1H, d), 8.19 (1H, d), 8.49 (1H, d).

実施例 B 2 2 7

2-ブチル-5-(1-イソキノリルメチル)フェノール



実施例 B 2 2 6 の化合物を実施例 B 4 0 と同様に処理し、表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.91 (3H, t), 1.30 - 1.40 (2H, m), 1.52 - 1.65 (2H, m), 2.55 (2H, t), 4.55 (2H, s), 6.46 (1H, brs), 6.85 (1H, d), 7.03 (1H, d), 7.32 - 7.40 (1H, m), 7.55 (1H, dd), 7.68 (1H, dd),

10

20

30

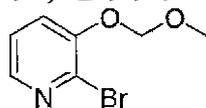
40

50

7.81 (1H, d), 7.94 - 8.05 (1H, m), 8.14 (1H, d).
フェノール性水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 2 2 8

2 - プロモ - 3 - (メトキシメトキシ)ピリジン



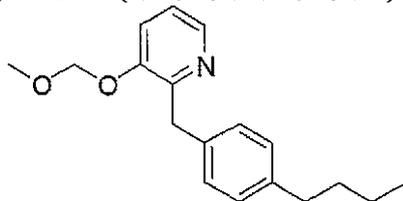
2 - プロモ - 3 - ヒドロキシピリジンを用い、実施例 B 2 0 2 と同様に合成した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 3.53 (3H, s), 5.29 (2H, s), 7.19 - 7.23 (1H, m), 7.42 - 7.45 (1H, m), 8.04 - 8.06 (1H, m)

10

実施例 B 2 2 9

2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 - (メトキシメトキシ)ピリジン



氷冷した実施例 B 2 2 8 の化合物 5 2 4 m g (2 . 4 0 ミリモル) とジクロロ (ジフェニルホスフィノプロパン) ニッケル 6 5 . 0 m g (0 . 1 2 0 ミリモル) のテトラヒドロフラン (1 0 m l) 混合溶液に、実施例 B 2 0 5 の化合物 7 m l (3 ミリモル) を加え、加熱還流下 5 時間攪拌した。室温まで放冷後、酢酸エチルを加え、飽和塩化アンモニア水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液そして飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣を N H - シリカゲルを用いて濾過した。減圧濃縮した後、残渣をメタノール (1 5 m l) に溶解し、トリエチルアミン 5 0 0 μ l (3 . 5 9 ミリモル) と 1 0 % パラジウム - 炭素 (5 0 % 含水) 5 0 m g を加え、室温で常圧水素雰囲気下 3 時間攪拌した。反応系中を窒素置換した後、セライトを用いて触媒を濾去し、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2 8 0 m g を得た。

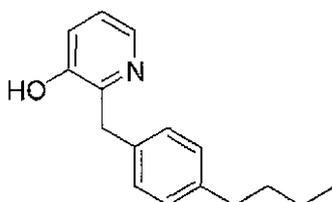
20

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.89 (3H, t), 1.28 - 1.34 (2H, m), 1.52 - 1.58 (2H, m), 2.53 (2H, t), 3.33 (3H, s), 4.16 (2H, s), 5.16 (2H, s), 7.04 - 7.10 (3H, m), 7.20 (2H, d), 7.33 - 7.35 (1H, m), 8.19 - 8.20 (1H, m)

30

実施例 B 2 3 0

2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 - ピリジノール



40

実施例 B 2 2 9 の化合物 2 5 6 m g (0 . 8 4 9 ミリモル) の塩化メチレン (5 m l) 溶液に、トリフルオロ酢酸 1 m l を加え、室温で終夜攪拌した。反応溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 8 2 m g を得た。

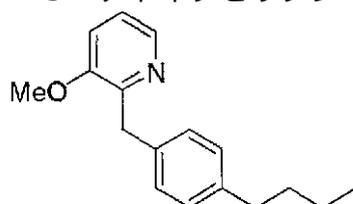
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.90 (3H, t), 1.28 - 1.37 (2H, m), 1.51 - 1.58 (2H, m), 2.54 (2H, t), 4.20 (2H, s), 7.02 - 7.08 (4H, m), 7.22 (2H, d), 8.08 - 8.09 (1H, m)

50

フェノール性水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例 B 2 3 1

2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 - メトキシピリジン

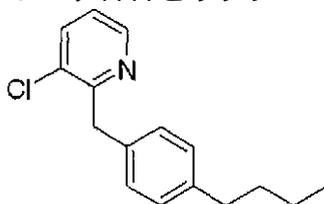


実施例 B 2 3 0 の化合物 1 9 . 2 m g (0 . 0 7 9 6 ミリモル) のアセトン (1 m l) 溶液に、炭酸カリウム 3 3 . 0 m g (0 . 2 3 9 ミリモル) とヨウ化メチル 1 4 . 9 μ l (0 . 2 3 9 ミリモル) を加え、室温で 3 時間攪拌した。その反応溶液に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 . 4 7 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 0 (3 H , t) , 1 . 3 2 - 1 . 3 4 (2 H , m) , 1 . 5 3 - 1 . 5 7 (2 H , m) , 2 . 5 4 (2 H , t) , 3 . 8 2 (3 H , s) , 4 . 1 4 (2 H , s) , 7 . 0 6 (2 H , d) , 7 . 1 0 - 7 . 1 1 (2 H , m) , 7 . 2 1 (2 H , d) , 8 . 1 2 - 8 . 1 4 (1 H , m)

実施例 B 2 3 2

2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 - クロロピリジン

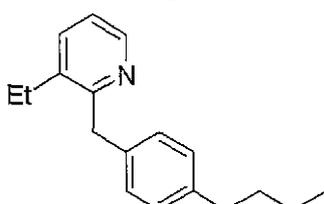


氷冷した 2 , 3 - ジクロロピリジン 5 2 5 m g (3 . 5 5 ミリモル) とジクロロ (ジフェニルホスフィノプロパン) ニッケル 9 6 . 2 m g (0 . 1 7 8 ミリモル) のテトラヒドロフラン (4 m l) 混合液に、実施例 B 2 0 5 の化合物 1 2 m l (5 ミリモル) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、飽和塩化アンモニア水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液そして飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 9 9 m g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0 . 9 1 (3 H , t) , 1 . 2 9 - 1 . 3 8 (2 H , m) , 1 . 5 2 - 1 . 6 0 (2 H , m) , 2 . 5 6 (2 H , t) , 4 . 2 8 (2 H , s) , 7 . 0 8 - 7 . 1 3 (3 H , m) , 7 . 2 1 (2 H , d) , 7 . 6 4 (1 H , dd) , 8 . 4 6 (1 H , dd)

実施例 B 2 3 3

2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 - エチルピリジン



実施例 B 2 3 2 の化合物 1 2 . 9 m g (0 . 0 4 9 6 ミリモル) とジクロロ (ジフェニルホスフィノフェロセン) ニッケル 3 . 4 m g (0 . 0 0 5 0 ミリモル) のテトラヒドロフラン (1 m l) 混合液に、0 . 9 7 M エチルマグネシウムクロリド 1 0 2 μ l (0 . 9 9 3 ミリモル) を加え、5 0 で 1 時間攪拌し、さらに 2 時間加熱還流した。室温まで放冷後、その反応溶液に酢酸エチルを加え、飽和塩化アンモニア水溶液と飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 3 .

29 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.90 - 0.93 (6H, m), 1.30 - 1.37 (2H, m), 1.54 - 1.59 (2H, m), 2.55 - 2.59 (4H, m), 4.12 (2H, s), 7.05 - 7.18 (5H, m), 7.55 - 7.59 (1H, m), 8.53 - 8.55 (1H, m)

実施例 B 2 3 4

tert - ブチル N - (2 - ブロモ - 3 - ピリジル) カルバメート



10

氷冷した 3 - アミノピリジン 3.97 g (42.2 ミリモル) のジメチルホルムアミド (25 ml) 混合液に、N - ブロモコハク酸イミド 7.51 g (42.2 ミリモル) を加え、その温度で 30 分間攪拌した。その反応溶液に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣の塩化メチレン (20 ml) 溶液を氷冷した後、トリエチルアミン 3.74 ml (26.8 ミリモル)、触媒量のジメチルアミノピリジンそしてジ - t - ブチル ジカーボネート 3.08 ml (13.4 ミリモル) を加え、室温で終夜攪拌した。減圧濃縮した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 3 4 4 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.55 (9H, s), 7.03 (1H, br s), 7.25 (1H, dd), 8.03 (1H, dd), 8.46 (1H, d)

20

実施例 B 2 3 5

2 - ブロモ - 3 - (N - t - ブトキシカルボニル - N - メチル) アミノピリジン



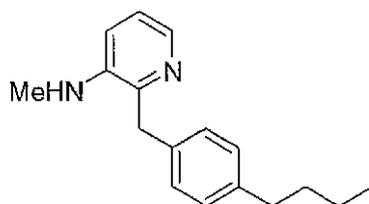
氷冷した実施例 B 2 3 4 の化合物 3 4 4 mg (1.26 ミリモル) のジメチルホルムアミド (5 ml) 溶液に、ヨウ化メチル 157 μl (2.52 ミリモル) と 66% 水素化ナトリウム 91.6 mg (2.52 ミリモル) を加え、その温度で 40 分間攪拌した。その反応溶液に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、シリカゲルを用いて濾過した。有機層を減圧濃縮し、表題化合物 3 5 6 mg を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 1.36 (9H, s), 3.17 (3H, s), 7.30 (1H, dd), 7.55 (1H, d), 8.30 (1H, dd)

実施例 B 2 3 6

N - [2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 - ピリジル] - N - メチルアミン



40

実施例 B 2 3 5 の化合物 6 2.8 mg (0.219 ミリモル) を用い、実施例 B 2 1 1 と同様にして 4 - ブチルベンジル基を導入することにより得られた化合物の塩化メチレン (2 ml) 溶液に、トリフルオロ酢酸 2 ml を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液を炭酸水素ナトリウム水溶液中に滴下し、酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2 9.7 mg を得た。

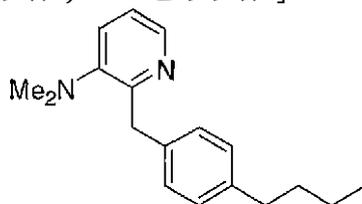
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.91 (3H, t), 1.29 - 1.38 (2H, m), 1.53 - 1.60 (2H, m), 2.56 (2H, t), 2.72 (3

50

H, s), 3.63 (1H, br s), 4.09 (2H, s), 6.86 (1H, d), 7.08 - 7.12 (5H, m), 7.98 (1H, dd)

実施例 B 2 3 7

N - [2 - (4 - ブチルベンジル) - 3 ピリジル] - N , N - ジメチルアミン



10

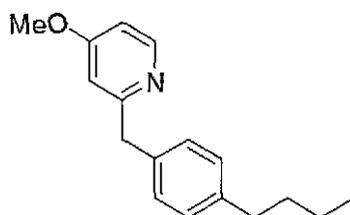
氷冷した実施例 B 2 3 6 の化合物 26.8 mg (0.105 ミリモル) の塩化メチレン (2 ml) 溶液に、酢酸 12.1 μ l (0.211 ミリモル)、37%ホルマリン 15.8 μ l (0.211 ミリモル) そしてトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム 44.7 mg (0.211 ミリモル) を加え、室温で 30 分間攪拌した。酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 23.3 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.91 (3H, t), 1.30 - 1.36 (2H, m), 1.52 - 1.59 (2H, m), 2.55 (2H, t), 2.67 (6H, s), 4.24 (2H, s), 7.06 (2H, d), 7.10 (1H, dd), 7.18 (2H, d), 7.40 (1H, dd), 8.27 (1H, dd)

20

実施例 B 2 3 8

2 - (4 - ブチルベンジル) - 4 - メトキシピリジン



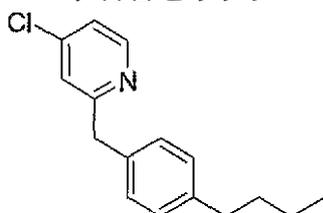
2 - クロロ - 4 - メトキシピリジンを用い、実施例 B 2 1 1 と同様にして表題化合物を得た。

30

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.91 (3H, t), 1.31 - 1.37 (2H, m), 1.53 - 1.59 (2H, m), 2.57 (2H, t), 3.78 (3H, s), 4.06 (2H, s), 6.61 - 6.65 (2H, m), 7.11 (2H, d), 7.17 (2H, d), 8.36 (1H, d)

実施例 B 2 3 9

2 - (4 - ブチルベンジル) - 4 - クロロピリジン



40

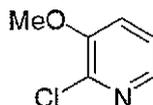
氷冷した実施例 B 2 3 8 の化合物 52.0 mg (0.204 ミリモル) のジメチルホルムアミド (1 ml) 溶液に、オキシ塩化リン 57.0 μ l (0.612 ミリモル) を加え、100 で 8 時間攪拌した。放冷後、その反応溶液を氷に注ぎ、室温まで昇温した後、酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 2.29 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) (ppm): 0.92 (3H, t), 1.31 - 1.38 (2H, m), 1.53 - 1.61 (2H, m), 2.59 (2H, t), 4.10 (2H, s), 7.12 - 7.18 (6H, m), 8.44 (1H, d)

50

実施例 B 2 4 0

2 - クロロ - 3 - メトキシピリジン

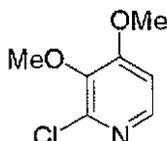


2 - クロロ - 3 - ヒドロキシピリジンを用い、実施例 B 2 3 1 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 3.93 (3H, s), 7.21 - 7.22 (2H, m), 7.99 - 8.01 (1H, m)

実施例 B 2 4 1

2 - クロロ - 3, 4 - ジメトキシピリジン

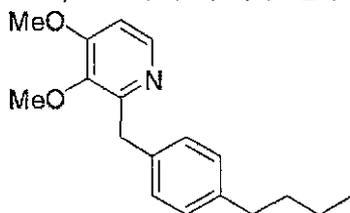


窒素雰囲気下、 -78°C に冷却した 1.06 M フェニルリチウム シクロペンタン - ジエチルエーテル溶液のテトラヒドロフラン (11 ml) 溶液に、ジイソプロピルアミン $84.0\ \mu\text{l}$ (0.599 mmol) と実施例 B 2 4 0 の化合物 860 mg (5.99 mmol) のテトラヒドロフラン 4 ml 溶液を加え、 -40°C で 1 時間攪拌した後、さらに -18°C で 20 分間攪拌した。その反応溶液を -78°C に再冷却した後、トリメトキシボレート 2.04 ml (18.0 mmol) を滴下し、 0°C で 20 分間攪拌した。その温度で 29% アンモニア水溶液 30 ml 、塩化アンモニウム 4.5 g そして 30% 過酸化水素水 12 ml を順次加え、室温で 2 時間攪拌した。飽和チオ硫酸ナトリウム、酢酸そして酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄した。そしてシリカゲルを用いて濾過して得られた酢酸エチル層を、減圧濃縮した。残渣を用い、実施例 B 2 3 1 と同様にして表題化合物 31.3 mg を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 3.89 (3H, s), 3.94 (3H, s), 6.82 (1H, d), 8.05 (1H, d)

実施例 B 2 4 2

2 - (4 - プチルベンジル) - 3, 4 - ジメトキシピリジン

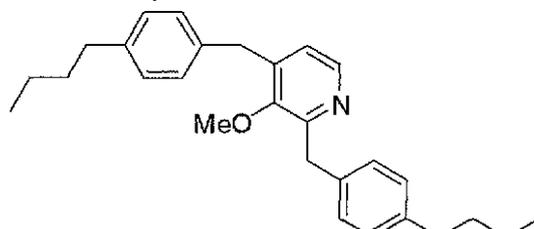


実施例 B 2 4 1 の化合物を用い、実施例 B 2 0 6 と同様にして表題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 0.90 (3H, t), 1.26 - 1.35 (2H, m), 1.53 - 1.57 (2H, m), 2.54 (2H, t), 3.70 (3H, s), 3.89 (3H, s), 4.12 (2H, s), 6.72 (1H, d), 7.06 (2H, d), 7.21 (2H, d), 8.20 (1H, d)

実施例 B 2 4 3

2, 4 - ジ (4 - プチルベンジル) - 3 - メトキシピリジン



窒素雰囲気下、 -78°C に冷却した 1.43 M *t*-ブチルリチウム *n*-ペンタン溶液 2

10

20

30

40

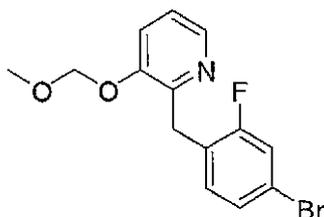
50

76 ml (3.95ミリモル)のジエチルエーテル(5 ml)溶液に、実施例B240の化合物436 mg (3.04ミリモル)のジエチルエーテル(2 ml)溶液を加え、その温度で30分間攪拌した。その反応溶液にテトラメチルエチレンジアミン688 μ l (4.56ミリモル)とヘキサクロロエタン719 mg (3.04ミリモル)のジエチルエーテル3 ml溶液を加え、その温度でさらに1時間攪拌した。徐々に室温まで昇温した後、酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄した。そしてシリカゲルを用いて濾過して得られた酢酸エチル層を減圧濃縮した。残渣を用い、実施例B206と同様にして表題化合物10.1 mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 0.89 - 0.94 (6H, m), 1.31 - 1.37 (4H, m), 1.52 - 1.62 (4H, m), 2.53 - 2.59 (4H, m), 3.74 (3H, s), 4.07 (2H, s), 4.13 (2H, s), 6.84 (1H, d), 6.98 (1H, d), 7.04 - 7.22 (8H, m)

実施例B244

2-(4-ブromo-2-フルオロベンジル)-3-(メトキシメトキシ)ピリジン

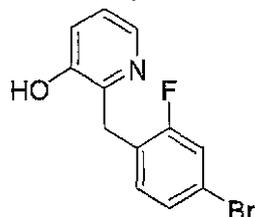


窒素雰囲気下、-78 $^{\circ}$ Cに冷却した2.47 M n-ブチルリチウムn-ヘキサン溶液862 μ l (2.13ミリモル)のテトラヒドロフラン(3 ml)溶液に、実施例B228の化合物422 mg (1.94ミリモル)のテトラヒドロフラン(3 ml)溶液を加え、その温度で1時間攪拌した。その反応溶液に臭化第1銅139 mg (0.968ミリモル)を加え、0 $^{\circ}$ Cで1時間攪拌した後、-78 $^{\circ}$ Cに再冷却し、4-ブromo-2-フルオロベンジルブロミド259 mg (0.968ミリモル)を加え、0 $^{\circ}$ Cで1時間攪拌した。その溶液にテトラメチルエチレンジアミン584 μ l (3.88ミリモル)を加え、その温度でさらに1時間攪拌した。反応液にジエチルエーテルとアンモニア水溶液を加え、有機層を飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物81.0 mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 3.38 (3H, s), 4.17 (2H, s), 5.18 (2H, s), 7.04 (1H, t), 7.11 - 7.22 (3H, m), 7.38 (1H, dd), 8.19 (1H, dd)

実施例B245

2-(4-ブromo-2-フルオロベンジル)-3-ピリジノール



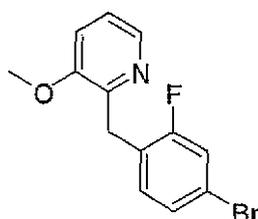
実施例B244の化合物134 mg (0.411ミリモル)の塩化メチレン(4 ml)にトリフルオロ酢酸1 mlを加え、室温で終夜攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて中和後、酢酸エチルを加え、酢酸エチル層を飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し表題化合物97.5 mgを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm): 4.17 (2H, s), 7.10 - 7.24 (5H, m), 8.15 (1H, t)

フェノール性水酸基のプロトンは、NMRのチャート上観測されていない。

実施例B246

2-(4-ブromo-2-フルオロベンジル)-3-メトキシピリジン



実施例 B 2 4 5 の化合物 1 5 . 8 m g (0 . 0 5 6 0 ミリモル) のジメチルホルムアミド (1 m l) 溶液に、炭酸カリウム 3 8 . 7 m g (0 . 2 8 0 ミリモル) とヨウ化メチル 1 0 . 5 μ l (0 . 1 6 8 ミリモル) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄後、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、表題化合物 1 4 . 0 m g を得た。

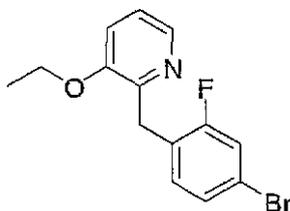
10

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) (ppm) : 3 . 8 2 (3 H , s) , 4 . 1 5 (2 H , s) , 7 . 0 3 (1 H , t) , 7 . 1 2 - 7 . 2 2 (4 H , m) , 8 . 1 3 (1 H , dd)
以下の実施例 B 化合物は、実施例 B 2 4 6 と同様に合成し、精製は LC - MS [溶出溶媒 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水溶液 = 1 : 9 9 ~ 1 0 0 : 0 / 2 0 分サイクル、流速 : 2 0 m l / 分、カラム : YMC Combi prep ODS - AM、2 0 m m x 5 0 m m (Long)] により行った。

実施例 B 2 4 7

2 - (4 - ブロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - エトキシピリジン

20

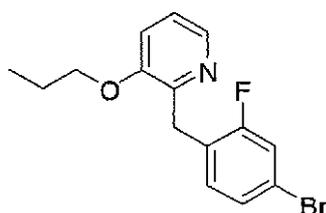


MS m / z (ESI : MH⁺) : 3 1 0 . 0

実施例 B 2 4 8

2 - (4 - ブロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - プロポキシピリジン

30

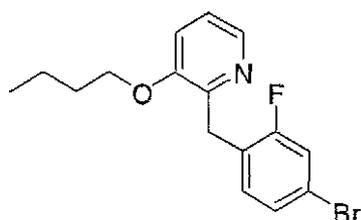


MS m / z (ESI : MH⁺) : 3 2 4 . 0

実施例 B 2 4 9

2 - (4 - ブロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - ブトキシピリジン

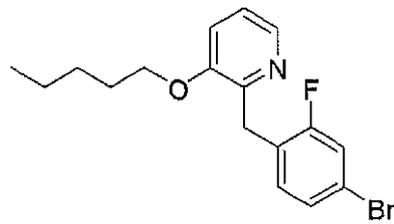
40



MS m / z (ESI : MH⁺) : 3 3 8 . 1

実施例 B 2 5 0

2 - (4 - ブロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - (ペンチルオキシ) ピリジン

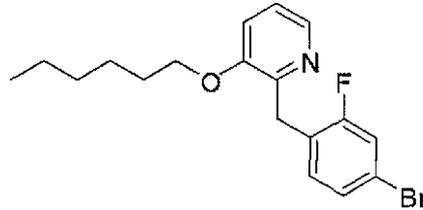


MS m/z (ESI: MH^+): 352.1

実施例 B 2 5 1

2 - (4 - プロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - (ヘキシロキシ) ピリジン

10

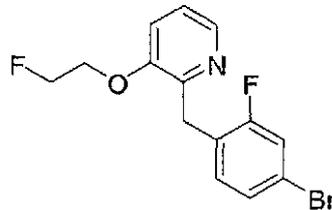


MS m/z (ESI: MH^+): 366.0

実施例 B 2 5 2

2 - (4 - プロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - (2 - フルオロエトキシ) ピリジン

20

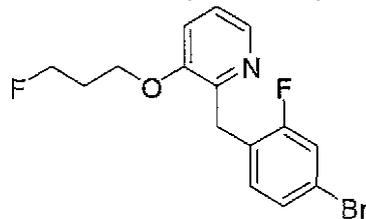


MS m/z (ESI: MH^+): 328.0

実施例 B 2 5 3

2 - (4 - プロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - (3 - フルオロプロポキシ) ピリジン

30

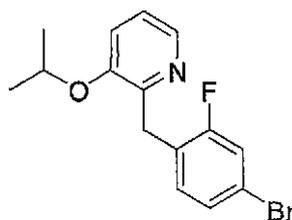


MS m/z (ESI: MH^+): 342.0

実施例 B 2 5 4

2 - (4 - プロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - イソプロポキシピリジン

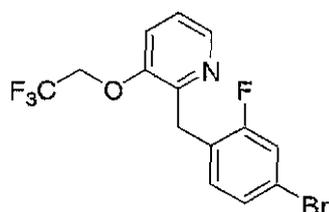
40



MS m/z (ESI: MH^+): 324.0

実施例 B 2 5 5

2 - (4 - プロモ - 2 - フルオロベンジル) - 3 - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエトキシ) ピリジン

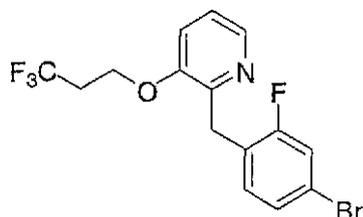


MS m/z (ESI:MH⁺): 364.0

実施例 B 2 5 6

2-(4-ブromo-2-フルオロベンジル)-3-(3,3,3-トリフルオロプロポキシ)ピリジン

10



MS m/z (ESI:MH⁺): 378.0

実施例 B 2 5 7

[実施例 A 2]に記載した *S. cerevisiae* レポーター系を用いて化合物を評価した。細胞壁画分のセファロスポリナーゼ活性が化合物無処理時の 50% 以下になる最小濃度を IC50 値とした。代表的な化合物の効果を表 1 に示す。

20

表 1

化合物	IC50 (μg/ml)
1-(4-ブチルベンジル)イソキノリン (実施例 B 2)	0.39
N1-{3-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]-2-プロピニル}アセトアミド (実施例 B 6 0)	6.25
N1-{3-[4-(1-イソキノリルメチル)フェニル]プロピル}-N1-メチルアセトアミド (実施例 B 7 3)	50
5-ブチル-2-(1-イソキノリルメチル)フェノール (実施例 B 8 5)	0.20
4-(4-ブチルベンジル)チエノ[3,2-c]ピリジン (実施例 B 1 8 7)	0.78
7-(4-ブチルベンジル)チエノ[2,3-c]ピリジン (実施例 B 1 9 5)	0.39
2-(4-ブチルベンジル)-3-メトキシピリジン (実施例 B 2 3 1)	0.78
2-(4-ブチルベンジル)-3,4-ジメトキシピリジン (実施例 B 2 4 2)	0.78

30

産業上の利用の可能性

本発明は、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程に関与する蛋白質をコードする遺伝子を明らかにした。更に本発明は、該蛋白質の活性を阻害する化合物のスクリーニング法も開示し、該阻害活性を持つ代表的な化合物をも開示するものである。

40

本発明は、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程を阻害するという、新規メカニズムの抗真菌剤が可能であることを、新規化合物をもって示した。

【図面の簡単な説明】

図 1 は、GPIアンカー蛋白質の細胞壁への輸送過程の模式図。GPIアンカー蛋白質は、一旦 GPI (Glycosylphosphatidylinositol) にアンカーした後、細胞壁に輸送される。

図 2 は、*S. cerevisiae* レポーター系での前記式 (I a) に記載の化合物の活性を示すグラフ。前記式 (I a) に記載の化合物の存在下では、0.39 ~ 1.56 μg/ml の濃度で培養上清画分中のセファロスポリナーゼ活性が上昇、細胞壁画分中の活性が低下し、3.13 μg/ml 以上の濃度で増殖抑制が見られた。

50

図3は、*C. albicans*の動物細胞付着への前記式(I a)に記載の化合物の影響を示すグラフ。増殖抑制の見られない1.56 μg/mlの濃度でも、*C. albicans*の動物細胞への付着が半分程度にまで抑制された。

図4は、*C. albicans*のAls1p抗原量への前記式(I a)に記載の化合物の影響を示すグラフ。前記式(I a)に記載の化合物の存在下では、0.1~0.39 μg/mlの濃度で、培養上清画分中のAls1p抗原量が上昇し、細胞壁画分中の抗原量が低下した。

図5は、*C. albicans*遺伝子のGWT1遺伝子をプローブとしたサザンブロット解析を示す写真。EcoRIで6.5 kb、HindIIIで4.0 kb、EcoRI-HindIIIで2.0 kb、EcoRI-PstIで2.5 kbの単一のバンドが観察され、*C. albicans*の前記式(I a)に記載の化合物に対する耐性遺伝子のホモログは、単一の遺伝子として存在することが予想された。

図6は、GWT1遺伝子産物を過剰発現した*S. cerevisiae*における前記式(I a)に記載の化合物の活性を示すグラフ。*S. cerevisiae* CW63株(図中の「W/T」)では、培養上清画分中のセファロスポリナーゼ活性が上昇し、細胞壁画分中の活性が低下している前記式(I a)に記載の化合物濃度(0.39~1.56 μg/ml)でも、*S. cerevisiae* CW63/GWT1株では影響が見られず、また*S. cerevisiae* CW63株では増殖が抑制される前記式(I a)に記載の化合物濃度(>3.13 μg/ml)でも、*S. cerevisiae* CW63/GWT1株(図中の「O/E」)では増殖抑制が見られなかった。

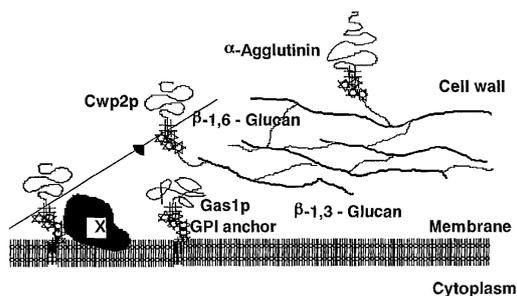
図7は、*S. cerevisiae*, *S. pombe*, *C. albicans*のGWT1遺伝子のコードする蛋白において高度に保存されている領域を整理させた図。

10

20

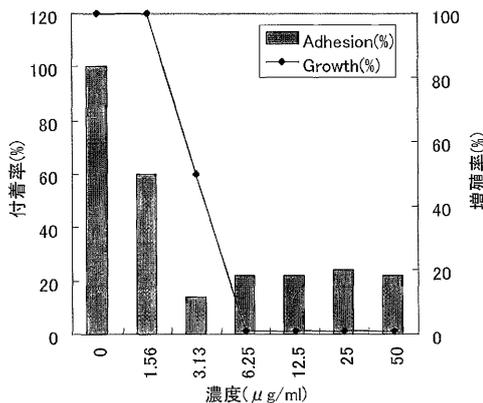
【図1】

図1



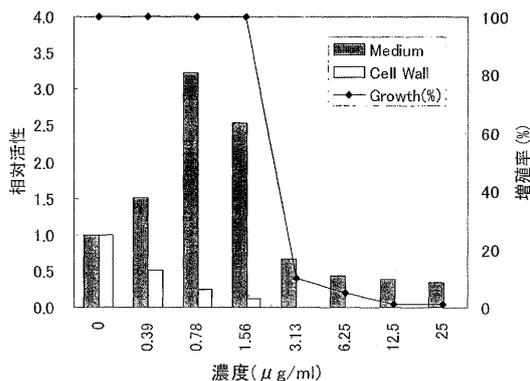
【図3】

図3

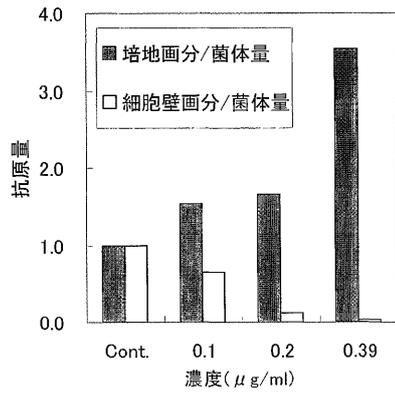


【図2】

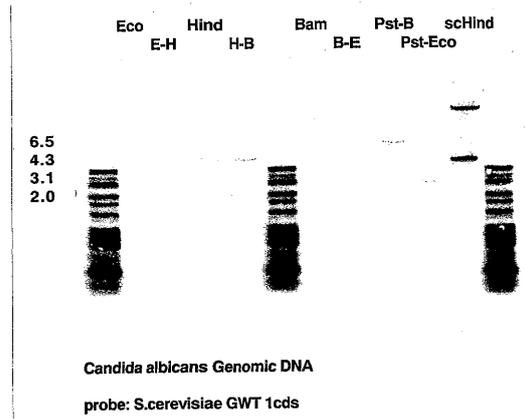
図2



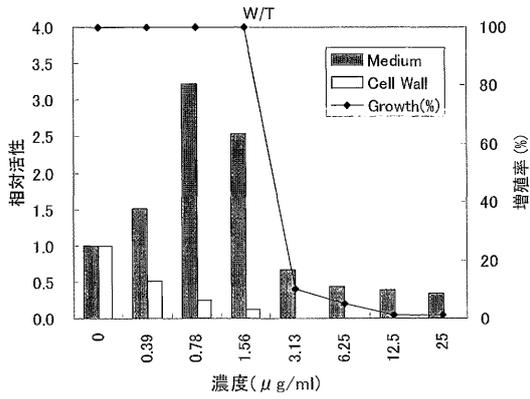
【 図 4 】
図 4



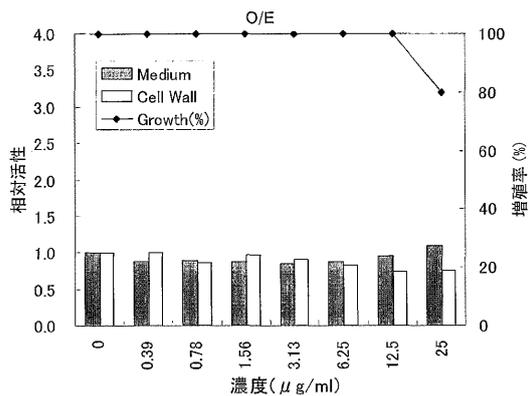
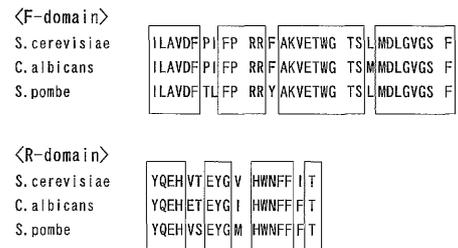
【 図 5 】
図 5



【 図 6 】
図 6



【 図 7 】
図 7



【配列表】

0004097194000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
C 0 7 K	16/14 (2006.01)	C 0 7 K	16/14
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 P	21/02 (2006.01)	C 1 2 P	21/02 C
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08
C 1 2 Q	1/02 (2006.01)	C 1 2 Q	1/02
G 0 1 N	33/50 (2006.01)	G 0 1 N	33/50
G 0 1 N	33/15 (2006.01)	G 0 1 N	33/15
A 6 1 K	31/427 (2006.01)	A 6 1 K	31/427
A 6 1 K	31/4355 (2006.01)	A 6 1 K	31/4355
A 6 1 K	31/4365 (2006.01)	A 6 1 K	31/4365
A 6 1 K	31/44 (2006.01)	A 6 1 K	31/44
A 6 1 K	31/472 (2006.01)	A 6 1 K	31/472
A 6 1 K	31/4725 (2006.01)	A 6 1 K	31/4725
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395 D
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	31/10 (2006.01)	A 6 1 P	31/10
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 1 1
C 0 7 D	213/16 (2006.01)	C 0 7 D	213/16
C 0 7 D	213/61 (2006.01)	C 0 7 D	213/61
C 0 7 D	213/65 (2006.01)	C 0 7 D	213/65
C 0 7 D	213/69 (2006.01)	C 0 7 D	213/69
C 0 7 D	213/74 (2006.01)	C 0 7 D	213/74
C 0 7 D	217/02 (2006.01)	C 0 7 D	217/02
C 0 7 D	217/18 (2006.01)	C 0 7 D	217/18
C 0 7 D	217/20 (2006.01)	C 0 7 D	217/20
C 0 7 D	401/10 (2006.01)	C 0 7 D	401/10
C 0 7 D	405/06 (2006.01)	C 0 7 D	405/06
C 0 7 D	405/12 (2006.01)	C 0 7 D	405/12
C 0 7 D	471/04 (2006.01)	C 0 7 D	471/04 1 0 4 Z
C 0 7 D	491/048 (2006.01)	C 0 7 D	491/048 1 0 7 Z
C 0 7 D	495/04 (2006.01)	C 0 7 D	495/04 1 0 5 A

- (72)発明者 相根 康司
茨城県つくば市稲荷前9 - 7 つくばね第2寮303
- (72)発明者 中本 和孝
茨城県つくば市稲荷前9 - 7 つくばね第2寮304
- (72)発明者 土谷 満美子
茨城県牛久市神谷6丁目22 - 1 シエルヒーブB - 103
- (72)発明者 渡邊 直彰
茨城県つくば市小野川7 - 27
- (72)発明者 大場 史記
東京都練馬区石神井台3 - 1 - 6 - 101
- (72)発明者 塚田 格
茨城県牛久市南3 - 11 - 13
- (72)発明者 上田 教博

- 茨城県つくば市谷田部 1 0 7 7 - 1 4 0
(72)発明者 田中 圭悟
茨城県つくば市松代 1 - 3 0 - 1 2 サンビレッジ松代 F 2 0 2
(72)発明者 甲斐 純子
茨城県新治郡新治村田土部 2 0 8 4 - 2

審査官 斎藤 真由美

- (56)参考文献 国際公開第 0 0 / 0 0 1 3 8 7 (WO, A 1)
McDougall, R. C. et al. 'S. pombe chromosome I cosmid c144', EMBL [online], 27 Oct. 1999, [retrieved on 23 August 2006] EMBL accession no. AL132675

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00-90
C12N 1/00-5/28
C12P 21/00-08
C07K 14/00-16/46
C12Q 1/00-70
G01N 33/00-98
A61K 31/00-48/00
A61P 1/00-43/00
PubMed、MEDLINE(STN)
BIOSIS/WPI(DIALOG)
GenBank/DDBJ/EMBL/GeneSeq
UniProt/GeneSeq