

博士論文

ベンゾイミダゾール骨格を有する 新規 CRF₁ 受容体拮抗薬の創製

本論文は
静岡県立大学大学院薬食生命科学総合学府
博士論文である

2017 年 9 月

望月 倫代

Discovery of a Novel Series of CRF₁ Receptor Antagonists with a Benzimidazole Core

September 2017

Michiyo Mochizuki

目次

序論	7
本論	
第一章 ベンゾアゾール系 CRF ₁ 受容体拮抗薬のリード化合物の創出	15
第一節 ベンゾアゾール系 CRF ₁ 受容体拮抗薬の分子設計	15
第二節 ベンゾアゾール系 CRF ₁ 受容体拮抗薬の合成	17
第三節 ベンゾアゾール系 CRF ₁ 受容体拮抗薬の <i>in vitro</i> CRF ₁ 結合活性 および細胞障害性	21
第四節 本章のまとめ	26
第二章 ベンゾイミダゾール系 CRF ₁ 受容体拮抗薬の最適化研究	27
第一節 ベンゾイミダゾール誘導体の 7 位置換基の探索	27
第一項 7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の分子設計	27
第二項 7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の合成	28
第三項 7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の <i>in vitro</i> CRF ₁ 受容体結合活性	36
第四項 7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の <i>ex vivo</i> CRF ₁ 受容体結合活性	39
第五項 本節のまとめ	39
第二節 ベンゾイミダゾール誘導体の 4 位置換基の探索	40
第一項 4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の分子設計	40
第二項 4 位または 6 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の合成	41
第三項 4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の <i>in vitro</i> CRF ₁ 受容体結合活性	42

第四項 4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の <i>ex vivo</i> CRF ₁ 受容体結合活性 および <i>in vivo</i> ACTH 分泌阻害活性	43
第五項 本節のまとめ	46
第三節 本章のまとめ	46
第三章 ベンゾイミダゾール系 CRF ₁ 受容体拮抗薬の臨床試験候補化合物の創出	47
第一節 7-ジアルキルアミノベンゾイミダゾール体の代謝安定性および 代謝物予測解析	47
第二節 ベンゾイミダゾール 7 位および 2 位変換体の合成	47
第三節 ベンゾイミダゾール 7 位変換体の <i>in vitro</i> CRF ₁ 受容体結合活性および 代謝安定性	53
第四節 7-アルキルベンゾイミダゾール 7 位変換体の <i>ex vivo</i> CRF ₁ 受容体結合活性	54
第五節 7-アルキルベンゾイミダゾール 2 位変換体の <i>in vitro</i> CRF ₁ 受容体結合活性 および代謝安定性	56
第六節 7-アルキルベンゾイミダゾールの代謝物予測解析	57
第七節 7-アルキルベンゾイミダゾールの生物学的データ	58
第八節 本章のまとめ	61
総括	63
謝辞	66
実験の部	68
第一章に関する実験	69
第二章第一節に関する実験	80
第二章第二節に関する実験	105

第三章に関する実験	113
生物学的試験	128
引用文献	132

略語

Ac	acetyl
ACTH	adrenocorticotrophic hormone
AIBN	2,2'-azobisisobutyronitrile
Ar	aryl
ATP	adenosine 5'-triphosphate
AUC	area under the concentration-time curve
BA	bioavailability
BSA	bovine serum albumin
Bu	butyl
cAMP	cyclic adenosine monophosphate
CDI	<i>N,N'</i> -carbodiimidazole
CHAPS	3-((3-cholamidopropyl)dimethylammonio)propanesulfonate
CHO	chinese hamster ovary
CRF	corticotropin-releasing factor
dba	dibenzylideneacetone
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
DIC	<i>N,N'</i> -diisopropylcarbodiimide
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
EDC	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
Et	ethyl
FCS	fetal calf serum
FC	frontal cortex

HBA	hydrogen-bonding acceptor
HBTU	<i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl- <i>O</i> -(benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate
HEPES	2-(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl)ethanesulfonic acid
HMPA	hexamethylphosphoric triamide
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPA	hypothalamus-pituitary-adrenocortical
HPLC	high-performance liquid chromatography
IC ₅₀	50% inhibition concentration
LC/MS	liquid chromatography–mass spectrometry
log <i>D</i>	logarithm of distribution coefficient at pH 7.4
Me	methyl
MOE	molecular operating environment
MPBH ₃ CN	macroporous polystyrene-bound cyanoborohydride
mRNA	messenger ribonucleic acid
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NCS	<i>N</i> -chlorosuccinimide
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidone
OB	olfactory bulb
PBS	phosphate buffered saline
Ph	phenyl
Pit	pituitary
PMSF	phenylmethylsulfonyl fluoride
Pr	propyl
PSBH ₃ CN	polymer supported cyanoborohydride
rt	room temperature
SAR	structure-activity relationship

SNPs	single nucleotide polymorphisms
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethane

序論

抗うつ薬とその治療

精神疾患は、全世界で3億5000万人以上のうつ病患者に代表される世界で最も罹患率の高い疾患の一つであり、厚生労働省の調査によると、日本においても2009年にはうつ病の受療者数が100万人を越えて社会問題となりつつある。^{1,2)} 特に、自殺者の約40%がうつ病であり、うつ病の15%が自殺で亡くなっている点は憂慮すべき問題である。うつ病は病因・病態において多様で複雑であり、未だ十分には解明されていない。²⁾ これに対し、薬物治療としては約半世紀もの間、モノアミン仮説に基づいた治療法が採用されている。³⁾ 現在、主に用いられている選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI) およびセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (serotonin-noradrenaline reuptake inhibitor: SNRI) は従来の三環系および四環系抗うつ薬と比較すると安全性が改善され副作用の軽減は認められるものの、投与初期の不安・焦燥、攻撃性および中止後の症状として、ふらつき、不眠、吐き気、頭痛に注意が必要である。^{2,4)} また、約30%が治療抵抗性であり慢性化しやすく、治療処置後も再発、自殺などのリスクにさらされている。^{2,4,5)} さらに、治療効果発現までに数週間を要し、作用発現の速さにおいても満足できるものではない。⁴⁾ したがって、モノアミン仮説に基づいた従来の治療方法とは異なる新規治療法の開発が必要である。

CRF とその生理作用

副腎皮質放出刺激ホルモン放出因子 (Corticotropin-releasing factor: CRF) は41 アミノ酸からなる神経ペプチドであり、1981年に Wylie Vale により報告された。⁶⁾ CRF messenger ribonucleic acid (mRNA) およびCRFは中枢に広く分布し、特に、視床下部、脳幹、扁桃体、海馬、大脳皮質に発現が多い。CRFはCRF₁受容体に親和性が高く、CRF₁受容体を介してhypothalamus-pituitary-adrenocortical (HPA) 軸を制御し、神経伝達物質としてストレス応答に対して重要な役割を担っている。^{7,8,9)} ストレスを受けた後、CRFは視床下部傍室核の神

経で増加し、下垂体前葉からの副腎皮質ホルモン（adrenocorticotrophic hormone : ACTH）の分泌を促進する。分泌された ACTH は、副腎からのコルチゾールの分泌を誘導する。コルチゾールはグルココルチコイド受容体とミネラルコルチコイド受容体を活性化し、生体のストレス反応に対して応答する。すなわち、健常人ではコルチゾールは視床下部からの CRF の分泌を制御し、HPA 軸亢進に対して負のフィードバックをかける。一方、ストレス性疾患を有する患者ではこの負のフィードバック機構が破綻しており、視床下部から CRF が分泌され続ける。また、CRF は脳内の CRF₁ 受容体に作用して活性化し、病状に直接関与していると考えられている。実際に、CRF₁ 受容体の欠如したマウスでは不安行動の減弱およびストレス反応の欠如が認められ、CRF アンチセンスオリゴヌクレオチドを脳内投与されたラットでは、ストレス反応が低下した。CRF 脳室内投与されたげっ歯類では不安様行動が誘発され、CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物によって症状が改善されることが分かっている。¹⁰⁾

CRF 受容体

CRF 受容体は、7 回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体（GPCR）であり、CRF₁ および CRF₂ 受容体が存在する。両者の相同性は約 70% である。CRF は CRF₁ 受容体に高い親和性を有するものの、CRF₂ 受容体への親和性は低い。CRF₁ 受容体には種々のバリエント（CRF₁α, β, c-h, i）が報告されている。それぞれのバリエントの機能は未だ明確にはなっていないが、中でも、生体が活性化できる CRF₁ 受容体は CRF₁α 受容体のみと考えられている。CRF 受容体は種々の G タンパク質との共役が報告されているが、主に Gs 共役型受容体と共役している。CRF₁ 受容体の生体内分布は、リガンドである CRF のそれとよく一致しており、下垂体前葉、海馬、大脳、扁桃体などの脳内に広く分布している。^{3, 7)} 一方、CRF₂ 受容体の機能は未だ詳細は不明であるが、CRF₂ 受容体ノックアウトマウスでは不安様行動を示すことが報告されている。CRF₂ 受容体拮抗活性が CRF₁ 受容体とは逆の作用を示す可能性が示唆されることから、CRF₁ 受容体拮抗薬は CRF₂ 受容体との選択性を有する方が望ましい。³⁾

新規 CRF₁ 受容体拮抗薬開発の意義

先述のように、既存の抗うつ薬は有効率が低く、効果発現までの時間が長く、副作用も発現することから、モノアミン仮説とは異なる治療方法が望まれている。神経ペプチドである CRF は、うつ病患者において脳脊髄液中の濃度が高く、その含量は抗うつ薬または通電療法などの治療により症状が改善された患者において低下する。^{3, 9)} また、うつ病患者の死後脳において、視床下部傍室核および青斑核での CRF mRNA の発現が高い。さらに、自殺者の大脳皮質での CRF mRNA の発現が高く、過剰の CRF にさらされた結果として CRF₁ 受容体の減少が報告されている。最近の CRF₁ 遺伝子関連の研究では、CRF₁ の一塩基変異多型 (single nucleotide polymorphisms : SNPs) とうつ病との関連が報告されている。³⁾ 以上の結果および先述の CRF の生理作用から、脳内 CRF₁ 受容体の活性化および HPA 軸の機能不全がうつ病発症の原因の一つであると考えられている。また、CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物はストレスレベルの高いモデルにおいて顕著な効果を示すが、ストレスレベルの低い定常状態における効果は弱いことから、より発症原因に着目したターゲットといえる。⁴⁾

うつ病患者に対して実施された世界最初の小規模フェーズ II 試験では、CRF₁ 受容体拮抗活性を示す R121919 の経口投与 10 日後に、ハミルトンうつ病評価尺度 (HAM-D) およびハミルトン不安尺度 (HAM-A) スコアが減少した。¹¹⁾ これとは別の臨床試験において健常人での肝酵素の上昇が認められたため R121919 の開発は中止となったが、別の CRF₁ 受容体拮抗活性を示す CP-316,311 の臨床試験においては、R121919 で観察されたような肝毒性は認められなかった。¹²⁾ したがって、本毒性所見は CRF₁ 受容体拮抗活性ではなく R121919 の構造に由来すると推測されている。¹³⁾

CRF₁ 受容体拮抗薬はうつ病のみならず、不安、心的外傷後ストレス障害 (PTSD)、アルコール依存症、過敏性腸症候群、拒食症など種々のストレス性疾患に適用可能と考えられる。

3, 14)

CRF₁受容体拮抗活性を示す化合物の臨床成績

約 25 年間、CRF₁ 受容体拮抗活性を示す非ペプチド性低分子がストレス性疾患に対する動物モデルを用いた試験において効果を示すことが報告されてきた。これまでに臨床試験が実施された低分子化合物の構造を図 1 に示す。先述のように、R121919 が CRF₁ 受容体拮抗薬を目指した初めての臨床試験において抗うつ・抗不安作用を示すことが報告された。¹¹⁾ また、NBI-31041 の 14 日間投与、二重盲検試験において、ストレス誘発の ACTH およびコルチゾールの上昇をプラセボ群と比較して有意に抑制、すなわち、HPA 軸亢進を有意に抑えた。¹⁵⁾ 一方、CP-316,311、¹²⁾ SSR125543、¹⁶⁾ pexacerfont、^{17,18)} emicerfont¹⁹⁾ および verucerfont^{20,21)} においては、うつ、不安、過敏性腸症候群、アルコール依存症などのストレス性疾患に対する効果が認められなかった。

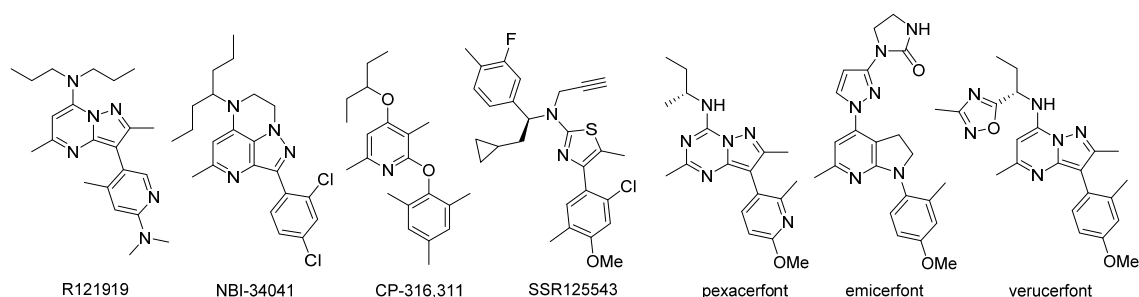


図 1. CRF₁ 受容体拮抗薬としての臨床試験実施化合物

CRF₁受容体拮抗薬と今後の期待

先述のように、脳内での CRF₁ 受容体の過剰な活性化とストレス性疾患との関連性は深い。しかしながら、CRF₁ 受容体拮抗薬としての臨床成績は芳しくない。この理由の 1 つとして、脳脊髄液での CRF 濃度が通常レベルと同等の精神疾患患者も多いにも関わらず、臨床試験において患者の層別化を実施していない点が挙げられる。^{22, 23)} CRF 濃度の高い患者では CRF₁ 受容体が過活性化されていると考えられ、このような患者への CRF₁ 受容体拮抗薬の投与が必要である。また、CRF₁ SNPs を有する患者では体内で CRF シグナルが増強されている可能性があることから、CRF₁ 受容体拮抗薬へのレスポnderであることが期待できる。³⁾ 精神疾患

治療薬のアンメットニーズが、モノアミン仮説に基づく薬剤では難治性である約 30%の患者にあることから、患者層別化による臨床試験が望まれる。臨床成績が芳しくないその他の理由として、CRF₁ 受容体拮抗薬の投与量、脳内 CRF₁ 受容体占有率、薬効発現に対する関係が不明瞭であり、投与量設定が困難である点が挙げられる。³⁾ 受容体からの解離速度の遅い化合物の方が臨床効果を示すのに有利と期待できることから、⁴⁰⁾ このような薬剤の創製も望まれる。

研究計画と概要

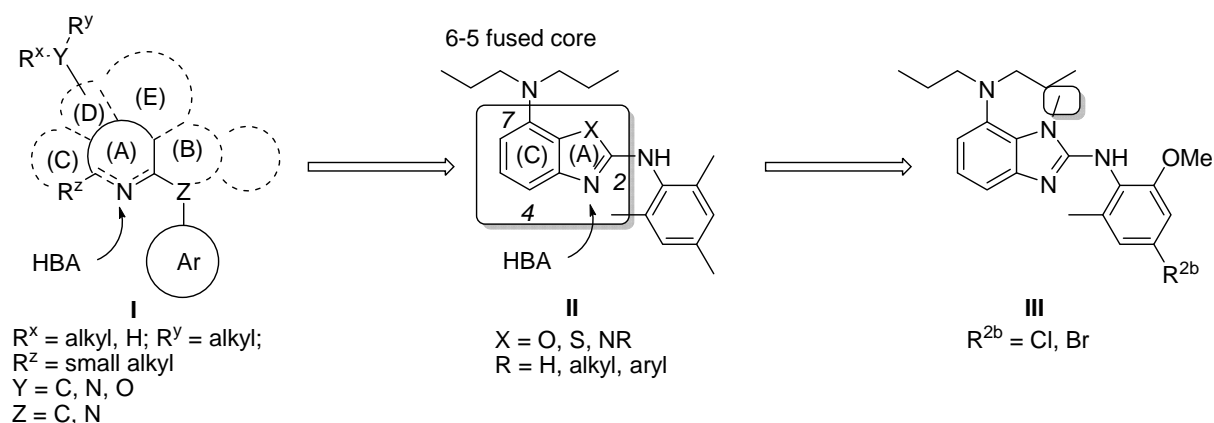
既存の多くの CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物の構造は drug likeness が高くなく、それらは臨床開発の障害になる可能性がある。そのため、新規な CRF₁ 受容体拮抗薬を創製するにあたり物性値向上、優れた薬効および毒性回避を期待して、コンホメーションが固定されにくい分子構造が好ましいと考えた。また、構造的に特徴のある CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物をリード化合物として創出できれば、最適化研究において構造変換の多様性が広がると期待できる。一方、先述のように先行薬 R121919 の臨床試験結果で肝酵素が上昇したことから、スクリーニング的に調べることでできる細胞障害性の懸念を少なくとも払拭しておく必要がある。そこで著者は、分子のコンホメーションが固定されにくく毒性懸念の低い新規構造の設計を最初の目標として研究を開始した。また、最終的により解離速度が遅い化合物の創出を念頭におき、より強い CRF₁ 受容体結合活性を目指した。

新規 CRF₁ 受容体拮抗薬を目指した分子設計から最適化研究を経て臨床候補化合物創出を目指し、以下の成果を得た。

1. 新規 CRF₁ 受容体拮抗薬の創製を目指して、一原子 Z を介して芳香族置換基を有する 6-5 縮合環であるベンゾアゾール骨格 II を設計した (Scheme 1)。一原子を介することによって、直接置換したビアリール型と比較して分子のコンホメーションが固定されにくいと期待した。本設計は既存の CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物と比較して、水素結合受容部位 (hydrogen-bonding acceptor: HBA) を含む環 A から環 B を除し、環 A からの小さい

アルキル置換基 R^Z を含む環 C を縮合した構造に特徴を有する。ベンゾオキサゾール、ベンゾチアゾールおよびベンゾイミダゾール誘導体を合成した結果、1-メチルベンゾイミダゾール誘導体が高い CRF_1 受容体結合活性を示すことが分かった。構造と活性の相関 (structure-activity relationship : SAR) 研究の結果、 N^7, N^7 -ジアルキル- N^2 -(4-ブromo (またはクロロ)-2-メトキシ-6-メチルフェニル)-1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミン **III** が高い CRF_1 受容体結合活性 (IC_{50} 値 12–14 nM) を示し、細胞障害性の懸念が低いと期待できた。これらの詳細を第一章で述べる。

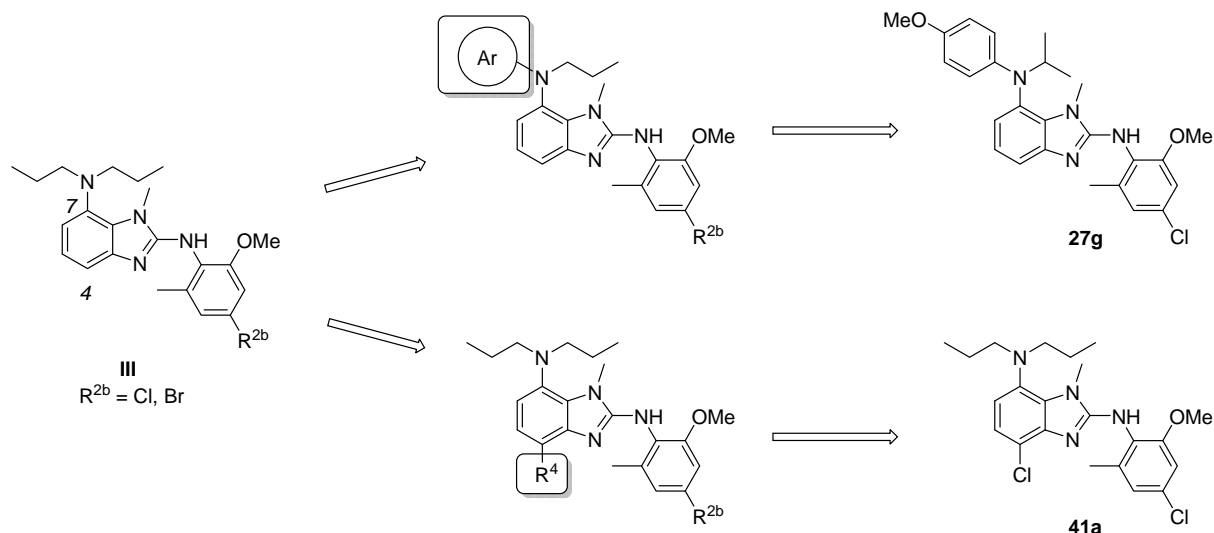
Scheme 1. ベンゾアゾール骨格を有する新規 CRF_1 受容体拮抗薬を指向した分子設計



- 第一章で分子設計した新規化合物について、 CRF_1 受容体ポケットが許容できる分子構造の広がりを探るべく、ベンゾイミダゾールの 7 位および 4 位の最適化研究を行った (**Scheme 2**)。 CRF_1 受容体拮抗活性を示す化合物として典型的な構造である R121919 とリード化合物 **III** との重ね合わせより、ベンゾイミダゾール 7 位および 4 位に相当する CRF_1 受容体にある程度の大きさのポケットが存在し、多様な分子構造を許容できると期待した。7 位においては多様なアリール基を導入し、その研究の過程で、2,7-ジアリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の合成法を確立した。7 位および 4 位の最適化研究の結果、本系統化合物の多様な変換に対する CRF_1 受容体の高い許容性が示唆された。また、強い CRF_1 受容体結合活性を示す化合物 **27g** および **41a** を見出し、両化合物共に *in vitro* CRF_1 受容体拮抗活性およびマウス *ex vivo* 試験における脳内での CRF_1 受容体結合活性を

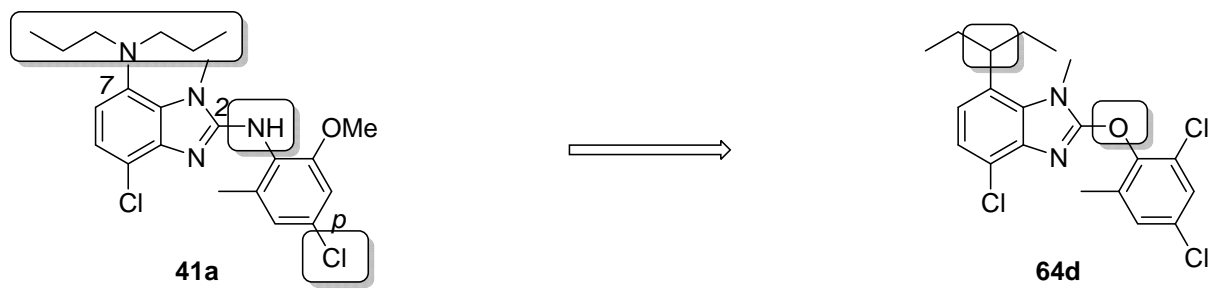
示した。特に、化合物 **41a** はマウスストレス誘発 ACTH の上昇に対して抑制作用を示し、*in vivo* においても CRF₁ 受容体拮抗活性が認められた。これらの詳細を第二章で述べる。

Scheme 2. 7-アリールアミノ誘導体および4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の分子設計



- 第二章で見出した化合物 **41a** は *in vivo* において CRF が関与する生体内反応に対して拮抗作用を示したものの、ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験において不安定であることが判明した。その主な代謝物は7 位での脱アルキル化体および2 位アニリノ基パラ位での酸化体と予想された。そのため、CRF₁ 受容体結合活性および代謝安定性を指標として7 位および2 位に注力した最適化研究を実施した (**Scheme 3**)。その結果、代謝安定性の改善した7-アルキル-2-フェノキシ体 **64d** を見出した。本化合物はラット *ex vivo* 試験において脳内 CRF₁ 受容体結合作用およびラット *in vivo* 試験において CRF₁ 受容体拮抗活性を示すと共に、CRF₁ 受容体からの解離速度が遅いことも示唆された。本化合物はストレス性疾患患者に対して効果を示すことのできる CRF₁ 受容体拮抗薬として期待できる。これらの詳細を第三章で述べる。

Scheme 3. 7-アルキル-2-フェノキシベンゾアゾール誘導体の分子設計



本論

第一章 ベンゾアゾール系 CRF₁ 受容体拮抗薬のリード化合物の創出

第一節 ベンゾアゾール系 CRF₁ 受容体拮抗薬の分子設計

序論で述べたように、約 25 年前より CRF₁ 受容体拮抗活性を示す非ペプチド性低分子が多くの研究機関より報告されてきた。しかし、その構造は非常に類似しており、図 2 のように模式化できる。^{25,26,27)} すなわち、図 2 の模式図 I に示すように、母核となる単環または縮合環は HBA である sp² 窒素原子を有する環 A を含み、母核は芳香族置換基 Ar (bottom) およびアルキル置換基 R_x、R_y、R_z を有する。芳香族置換基 Ar は中心骨格の窒素原子の隣接位に位置し、母核との二面角は直行している。アルキル置換基 R_x および R_y は母格の上部 (top) に位置し、CRF₁ 受容体の脂溶性ポケットを占有していると考えられる。一方、R_z は sp² 窒素原子の隣接位に位置する小さなアルキル基である。また、既存のほとんどの CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物は構造的に 2 つに分類される。Ar が母核に直接結合している場合および環 B が欠如した母核に一原子 Z を介して結合している場合である。²⁸⁾ 既存の CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物は物性および安全性の観点で drug likeness の高くない構造が多く、それらは臨床開発の障害になる可能性がある。²⁹⁾ そのため、溶解性などの物性値向上およびより優れた薬効および毒性回避を期待して、直結型よりもコンホメーションが固定されにくい構造である一原子を介する型での分子設計を行った。^{29,30)} さらに、母核として環 D および環 E との縮合環は報告例が多いが、環 C との 6-5 縮合環はより独自性が高い。そこで著者は、環 C と環 A との 6-5 縮合環を設計し、環 C 上に脂溶性置換基 R_x および R_y の導入を計画した。CRF₁ 受容体拮抗薬として新規な母核が機能すれば、従来よりも幅の広い変換が可能と期待できる。CRF₁ 受容体拮抗活性を示す R121919 は臨床試験で肝酵素を上昇させ、著者の実験では細胞障害性を示したことから、化合物評価に細胞障害性試験を組み込んだ。臨床試験での肝酵素上昇が細胞障害性に起因するか否かは不明であるが、細胞障害性の懸念がより低い分子を設計することができれば、薬剤開発における成功確率を向上できる。

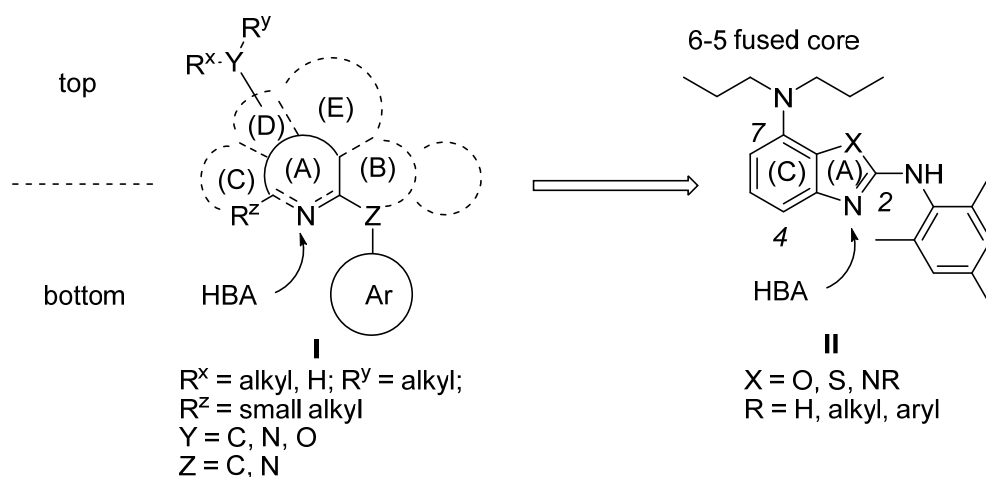


図2. 新規CRF₁受容体拮抗薬の分子設計

多数のCRF₁受容体拮抗活性を示す化合物の中でも構造式**II**は新規であり、著者はベンゾオキサゾール、ベンゾチアゾールおよびベンゾイミダゾールに代表されるベンゾアゾール骨格を設計した。著者の設計した7-ジプロプルアミノベンゾオキサゾール**1**およびCRF₁受容体拮抗活性を示す化合物として典型的な構造であるR121919をmolecular operating environment (MOE)³¹⁾を用いて重ね合わせた(図3)。その結果、CRF₁受容体拮抗活性に鍵となる部分であるHBA、ジアルキルアミノ基、芳香族置換基について、設計した化合物**1**とR121919がよく重なった。この重ね合わせ実験より、著者の設計した新規化合物が強いCRF₁受容体拮抗薬活性を示すと期待できた。

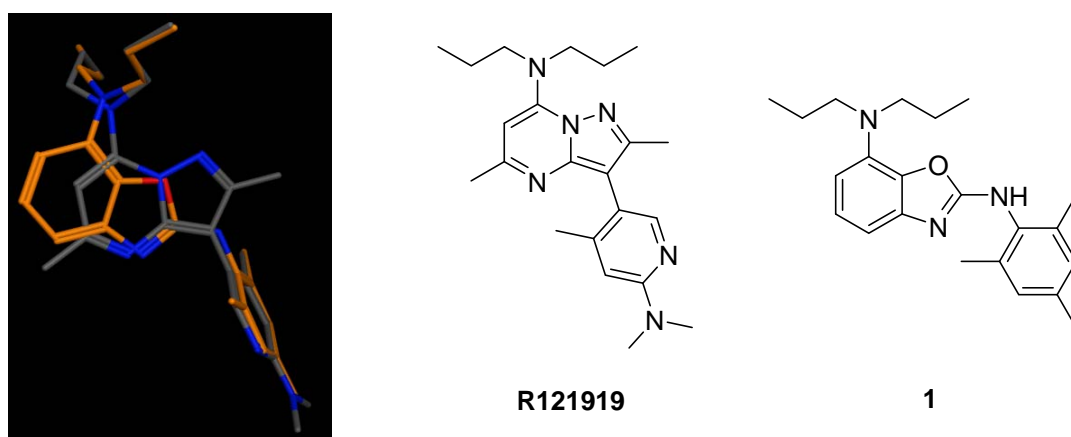


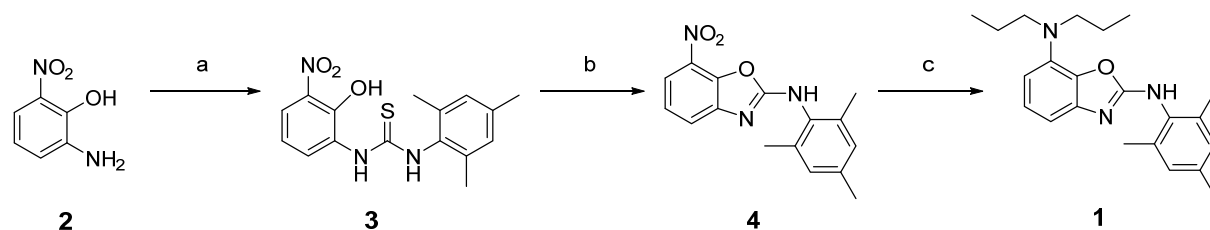
図3. 化合物**1**（橙）およびR121919（灰）との重ね合わせ

本章では、CRF₁受容体拮抗薬として新規なベンゾアゾール系化合物の合成、SAR および生物学的活性ならびにリード化合物創出について述べる。

第二節 ベンゾアゾール系 CRF₁受容体拮抗薬の合成

7-アルキルアミノ-2-アニリノベンゾアゾール誘導体の合成を **Scheme 4-8** に示す。ベンゾオキサゾール誘導体 **1** は、**Scheme 4** に従って合成した。チオウレア **3** は市販のアミノフェノール **2** および (2,4,6-トリメチルフェニル) イソチオシアナートから調製した。塩化水銀 (II) を用いてチオウレア **3** を環化し、得られた 7-ニトロベンゾオキサゾール **4** を水素添加反応、続く還元的アルキル化反応に付し、ベンゾオキサゾール誘導体 **1** を合成した。

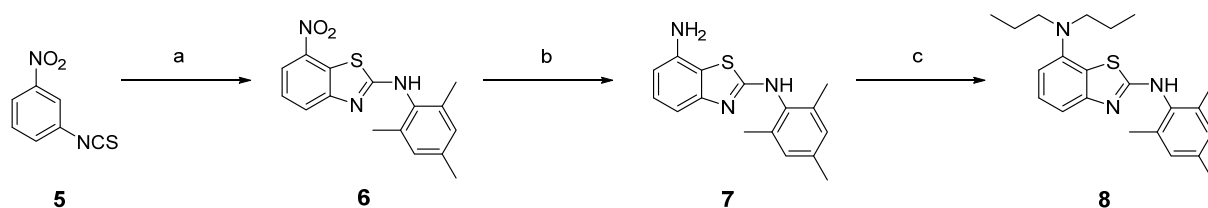
Scheme 4. ベンゾオキサゾール誘導体の合成^a



^aReagents and conditions: (a) (2,4,6-trimethylphenyl)isothiocyanate, Na₂CO₃, EtOH, reflux, 80%; (b) HgCl₂, MeCN, rt, 90%; (c) (i) H₂, Pd/C, MeOH, rt; (ii) EtCHO, NaBH₃CN, AcOH, rt, 90%.

ベンゾチアゾール誘導体 **8** は、(3-ニトロフェニル) イソチオシアナート **5** から、**Scheme 5** に従って合成した。最初に化合物 **5** およびメシチルアミンを縮合反応に付し、臭素を用いて環化した。得られた環化体 **6** を鉄還元反応に付し、7-アミノベンゾチアゾール **7** を得、還元的アルキル化反応によりベンゾチアゾール誘導体 **8** を合成した。

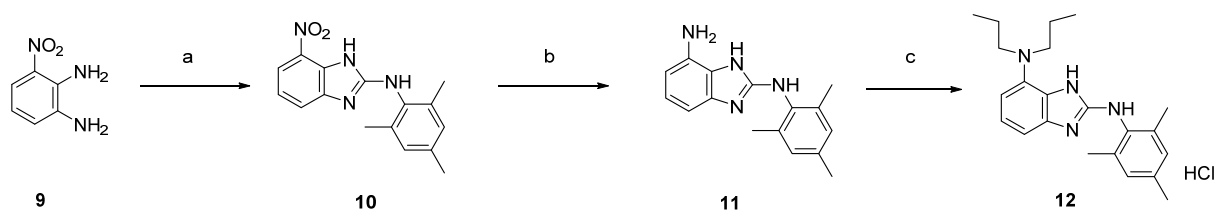
Scheme 5. ベンゾチアゾール誘導体の合成^a



^aReagents and conditions: (a) (i) mesitylamine, MeOH, rt; (ii) Br₂, AcOH, reflux, 11%; (b) Fe, AcOH, EtOH, reflux, 55%; (c) EtCHO, NaBH(OAc)₃, AcOH, ClCH₂CH₂Cl, 50°C, 10%.

ベンゾイミダゾール誘導体 **12** の合成は、ベンゾオキサゾール誘導体 **1** およびベンゾチアゾール誘導体 **8** と類似の方法により実施した (Scheme 6)。3-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン **9** と (2,4,6-トリメチルフェニル) イソチオシアナートを縮合し、続いて DIC を用いて環化反応を行った。得られた 7-ニトロベンゾイミダゾール **10** にパラジウム触媒を用いて水素添加し、得られたアミノ体 **11** を還元的アルキル化反応に付してベンゾイミダゾール誘導体 **12** を合成した。

Scheme 6. ベンゾイミダゾール誘導体の合成^a



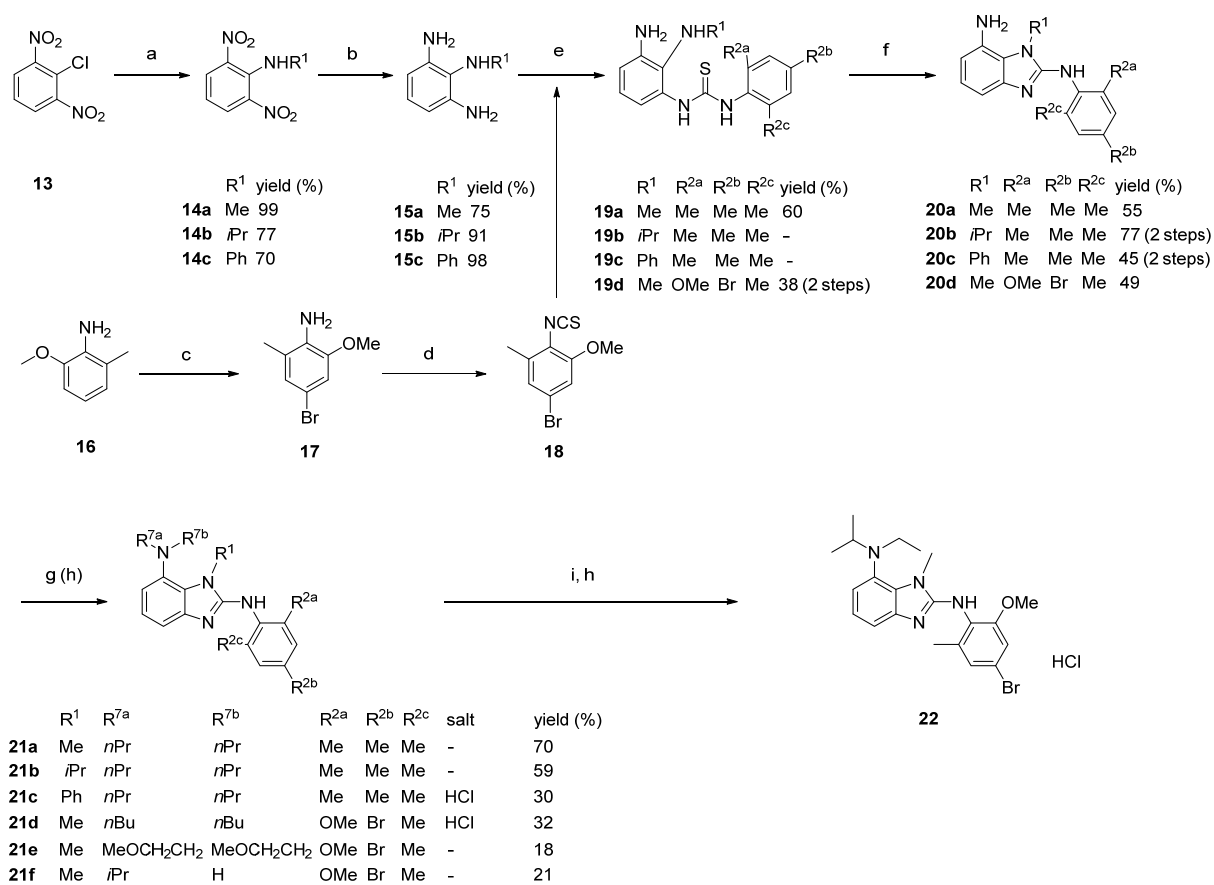
^aReagents and conditions: (a) (i) (2,4,6-trimethylphenyl)isothiocyanate, Na₂CO₃, EtOH, reflux; (ii) DIC, reflux, 54%; (b) H₂, Pd-C, MeOH, rt, 86%; (c) (i) EtCHO, MPBH₃CN, AcOH, MeOH, rt; (ii) conversion to HCl salt, 16%.

ベンゾイミダゾール骨格の 1 位に置換基を有する 7-ジアルキルアミノベンゾイミダゾール誘導体 **21a-e**、**22** および **26a-f** の合成を Scheme 7 および Scheme 8 に従って行った。中間体 **20a-d** は市販の 2-クロロ-1,3-ジニトロベンゼン **13** からアミノ基の置換反応、ニトロ基へ

の水素添加、イソチオシアナート **18** の縮合、環化反応を経て合成された。プロピオンアルデヒドまたは *n*-ブチルアルデヒドを用いた化合物 **20a-d** の還元的アルキル化反応によって、7-ジプロピルまたは7-ジブチルアミノベンゾイミダゾール **21a-d** を合成した。メトキシエチルアミノ体 **21e** は塩化鉄 (III) を用いて 1,1,2-トリメトキシエタンから調製したメトキシアセトアルデヒドを用いた還元的アルキル化反応によって、7-イソプロピルアミノ体 **21f** は化合物 **20d** およびアセトンとの還元的アルキル化反応によって得た。エチル (イソプロピル) アミノ体 **22** は化合物 **21f** からアセトアルデヒドを用いた再度の還元的アルキル化反応によって合成した。トリアミン **15a** との反応に用いたイソチオシアナート **18** は、アニリン **16** を臭素化したブロモ体 **17** のアミノ基を二硫化炭素で処理することによって調製した。

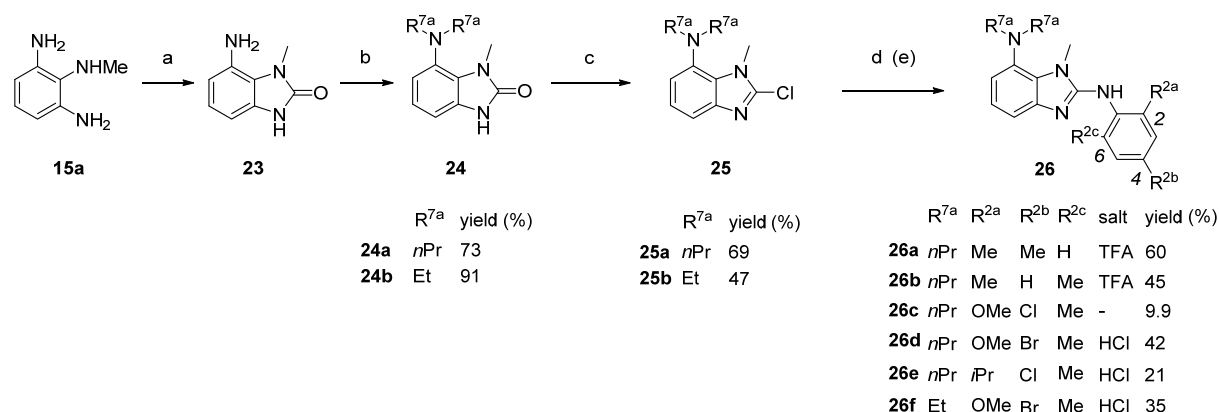
7-ジアルキルアミノ-1-メチルベンゾイミダゾール誘導体 **26a-f** の合成を **Scheme 8** に従って行った。本合成ルートは **Scheme 7** の代替であり、フェニルイソチオシアナート **18** を用いることなく最終工程で2位にアニリノ基を導入可能な点において、より優れたルートである。ベンゾイミダゾール骨格 **23** は、トリアミン **15a** を CDI を用いて縮合することによって良好な収率で構築できた。アミノ基に対する還元的アルキル化反応は、先述と同様の方法で実施した。得られたジアルキルアミノ体 **24a** および **24b** の2位をオキシ塩化リンを用いてクロロ化し、対応するアニリンとの置換反応に付すことによって、目的物 **26a-f** を合成した。

Scheme 7. ベンゾイミダゾール 1 位および 7 位変換体の合成^a



^aReagents and conditions: (a) R¹NH₂, MeOH or THF, rt or reflux; (b) H₂ or cyclohexene, Pd-C, MeOH, rt or reflux; (c) Br₂, AcOH, MeOH, rt, 53%; (d) CS₂, Et₃N, DCC, pyridine, -10°C, >99%; (e) (2,4,6-trimethylphenyl)isothiocyanate or (4-bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)isothiocyanate **18**, (Na₂CO₃), EtOH or MeOH, reflux; (f) HgCl₂, (Et₃N), MeCN, rt or DIC, EtOH reflux; (then, PSBH₃CN, MeOH, rt); (g) EtCHO or *n*-PrCHO or acetone, NaBH₃CN or NaBH(OAc)₃ or MPBH₃CN, (AcOH), MeOH or CH₂Cl₂, rt to 55°C; or MeOCH₂CH(OMe)₂, FeCl₃, MPBH₃CN, AcOH, MeOH, rt; (h) conversion to HCl salt; (i) MeCHO, NaBH(OAc)₃, AcOH, CH₂Cl₂, 50°C, 98%.

Scheme 8. ベンゾイミダゾール 2 位変換体の合成^a



^aReagents and conditions: (a) CDI, THF, rt, 81%; (b) EtCHO or MeCHO, NaBH₃CN or NaBH(OAc)₃, AcOH, MeOH or CH₂Cl₂, rt; (c) POCl₃, 100°C; (d) ArNH₂, 70–100°C; (e) conversion to HCl salt.

第三節 ベンゾアゾール系 CRF₁ 受容体拮抗薬の *in vitro* CRF₁ 結合活性および細胞障害性

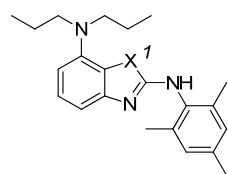
第二節において合成された化合物 **1**, **8**, **12**, **21a–e**, **22** および **26a–f** について、チャイニーズハムスター卵巣 (Chinese hamster ovary : CHO) 細胞膜画分に発現したヒト CRF₁ 受容体へのヒツジ ¹²⁵I-CRF 結合に対する阻害活性および HepG2 細胞でのアデノシン三リン酸 (adenosine 5'-triphosphate : ATP) 濃度を指標とした細胞障害性を測定した。臨床実績のある R121919 を対照化合物として用いた。まず、最適な母核について検討した。結果を表 1 に示す。

ベンゾオキサゾール **1** は図 3 での R121919 との重ね合わせで期待されるように、マイクロモルオーダー以下の CRF₁ 受容体結合活性に対する IC₅₀ 値を示した。ベンゾチアゾール **8** においては、CRF₁ 受容体結合活性の IC₅₀ 値が 77 nM と強い活性であるのに対し、ベンゾイミダゾール **12** はベンゾチアゾール **8** と比較して 30 分の 1 の活性であった。これらの結果は、ベンゾアゾール骨格の 1 位に位置するヘテロ原子が CRF₁ 受容体結合活性に影響を与えることを示唆している。実際、MOE³¹⁾ を用いたこれら 3 化合物の重ね合わせの結果、図 4 に示すように、ベンゾチアゾール **8** の硫黄原子がベンゾオキサゾール **1** の酸素原子およびベンゾイミダゾール **12** の窒素原子よりも外側へ張り出していることが分かった。したがって、ベンゾイミダゾール **12** の 1 位への置換基導入によって、CRF₁ 受容体ポケットをより効果的に占有できると考えられた。1-メチル体 **21a** をデザインし評価したところ、R121919 と同等の

IC₅₀ 値 15 nM と強い活性を示した。加えて、1-メチル体 **21a** はベンゾオキサゾール **1**、ベンゾチアゾール **8** および無置換ベンゾイミダゾール **12** と比較して細胞障害性が低いと示唆された。したがって、以後の合成研究のリード化合物として、一原子 Z を介した芳香族置換基を有する 1 位置換型ベンゾイミダゾールを選出した。許容される 1 位置換基の大きさを検討すべく、メチル基よりも嵩高い置換基を有するイソプロピル体 **21b** およびフェニル体 **21c** について測定したところ、メチル体 **21a** と比較して結合活性が極端に減弱した上、強い細胞障害性を示した。イソプロピル基およびフェニル基は CRF₁ 受容体ポケットに対して大き過ぎ、高い脂溶性が細胞障害性に起因すると予想された。メチル体 **21a**、イソプロピル体 **21b**、フェニル体 **21c** の pH 7.4 における log D 値はそれぞれ、5.23、5.90、6.31 であった。³²⁾

7-ジプロピルアミノ-1-メチルベンゾイミダゾール誘導体の 2-アニリノ基の置換基効果について検討した。その結果を表 2 に示す。まず、フェニル基のオルト位またはパラ位へメチル基を導入し、好ましい置換型について検討した。その結果、2,4,6-三置換体 **21a** が、2,4-二置換体 **26a** または 2,6-二置換体 **26b** と比較して強い CRF₁ 受容体結合活性を示した。続いて、多様性を考慮して種々の三置換アニリノ体について検討した結果、4-クロロ-2-メトキシ-6-メチルアニリノ体 **26c** がトリメチル体 **21a** と同等の CRF₁ 受容体結合活性を示した。4 位のクロロ基をブロモ基に変換した化合物 **26d** は、クロロ体 **26c** と同等の活性であった。また、2 位をメトキシ体からイソプロピル体に変換した化合物 **26e** においても、同等の活性を示した。本結果は、CRF₁ 受容体ポケットがオルト位 (2 位) が占有する空間において分岐状置換基を許容することを示している。一方、イソプロピル体 **26e** はメトキシ体 **26d** と比較して強い細胞障害性を示した。イソプロピル体 **26e** およびメトキシ体 **26d** の pH 7.4 における log D 値はそれぞれ 5.96 および 5.39 であり、イソプロピル体 **26e** の脂溶性がメトキシ体 **26d** よりも高いことが原因と考えられる。

表 1. ベンゾアゾール誘導体のヒト CRF₁ 受容体結合活性および細胞障害性



Compound No.	X	Salt	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a	Cytotoxicity (%@30 μM) ^b
1	O	-	990 (710–1400)	65
8	S	-	77 (61–98)	75
12	NH	HCl	2500 (1500–4200)	41
21a	NMe	-	15 (11–21)	89
21b	Ni-Pr	-	97 (77–120)	10
21c	NPh	HCl	2200 (1500–3200)	32
R121919	-	-	8.5 (5.7–13)	51

^aIC₅₀ values and 95% confidential intervals were calculated from the concentration–response curves.

^bThe values are rates of ATP content relative to that for 100% with only DMSO and no compound.

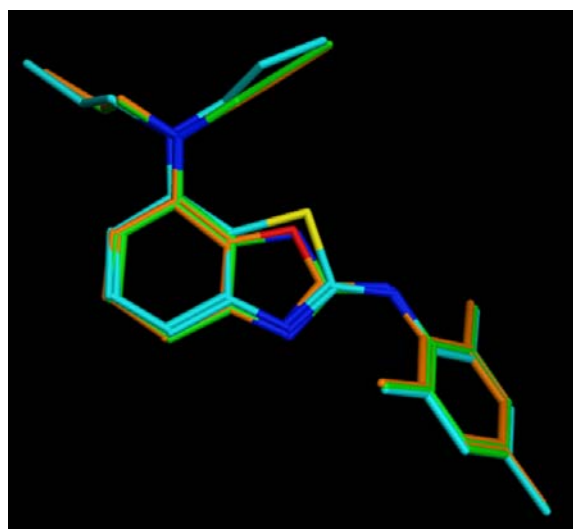
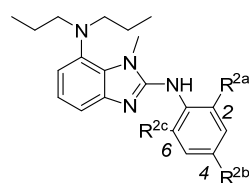


図 4. 化合物 **1** (橙)、化合物 **8** (水色) および化合物 **12** (黄緑) の重ね合わせ

表 2. ヒト CRF₁ 受容体結合活性および細胞障害性に対する 1-メチルベンゾイミダゾール誘導体の 2-アニリノ基の置換基効果



Compound	R ^{2a}	R ^{2b}	R ^{2c}	Salt	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a	Cytotoxicity
No.	(%@30 μM) ^b					
21a	Me	Me	Me	-	15 (11–21)	89
26a	Me	Me	H	TFA	84 (67–100)	79
26b	Me	H	Me	TFA	140 (100–200)	72
26c	OMe	Cl	Me	-	14 (10–19)	ND ^c
26d	OMe	Br	Me	HCl	12 (7.7–17)	82
26e	<i>i</i> -Pr	Cl	Me	HCl	22 (16–31)	28
R121919	-	-	-	-	8.5 (5.7–13)	51

^aIC₅₀ values and 95% confidential intervals were calculated from the concentration–response curves.

^bThe values are rates of ATP content relative to that for 100% with only DMSO and no compound. ^cNot determined.

ベンゾイミダゾール骨格7位のジアルキルアミノ基変換体の結果について、表3に示した。ジエチルアミノ体 **26f** およびジブチルアミノ体 **21d** は、ジプロピルアミノ体 **26d** と同等の CRF₁ 受容体結合活性を示した。さらに、エチルイソプロピルアミノ体 **22** も活性を維持した。これらの結果より、CRF₁ 受容体は、7 位置換基の長さおよび嵩高さに対して許容度が高いと示唆された。一方、ブチル基をメトキシエチル基に変換した化合物 **21e** では活性が減弱した。

脂溶性の低下が原因と考えられ、既報 CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物に対する SAR と同様の結果である。これらの 7 位置換基の変換は、細胞障害性の程度には影響しなかった。

表 3. ヒト CRF₁ 受容体結合活性および細胞障害性に対する 1-メチルベンゾイミダゾール誘導体の 7 位の置換基効果

Compound	R ^{7a}	R ^{7b}	Salt	Binding	Cytotoxicity
No.				(IC ₅₀ , nM) ^a	(%@30 μM) ^b
26d	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Pr	HCl	12 (7.7–17)	82
26f	Et	Et	HCl	13 (11–17)	93
21d	<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Bu	HCl	14 (11–19)	90
22	<i>i</i> -Pr	Et	HCl	11 (8.4–15)	87
21e	MeOCH ₂ CH ₂	MeOCH ₂ CH ₂	-	65 (53–79)	92
R121919	-	-	-	8.5 (5.7–13)	51

^aIC₅₀ values and 95% confidential intervals were calculated from the concentration–response curves.

^bThe values are rates of ATP content relative to that for 100% with only DMSO and no compound.

以上の結果より、新規ベンゾアゾール系化合物の CRF₁ 受容体結合活性は既報の SAR 研究と同様であり、ファーマコホアが類似していると示唆された。また、1-メチルベンゾイミダゾールが、その他のベンゾイミダゾール系骨格と比較して環 B の除去および固定化されていない芳香族置換基の導入に対して優位性の高い骨格であった。さらに、環 C、すなわちベン

ゾイミダゾール骨格のベンゼン環部分の導入は CRF₁ 受容体結合活性を維持できることが分かった。ベンゾイミダゾール誘導体の SAR 研究の結果、細胞障害性の懸念の低い *N*⁷,*N*⁷-ジアルキル-*N*²- (4-ブロモ (クロロ) -2-メトキシ-6-メチルフェニル) -1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミンをリード化合物として見出した。

第四節 本章のまとめ

著者は、新規 CRF₁ 受容体拮抗薬の創製を目指し、一原子を介して芳香族置換基を有する 6-5 縮合環、ベンゾアゾール骨格を設計した。本骨格は既存の CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物と比較して、HBA を含む環 A から環 B を除し、環 A からの小さいアルキル置換基 R² を含む環 C を縮合した構造が特徴である。設計したベンゾアゾール骨格を有する誘導体、すなわち、ベンゾオキサゾール体 **1**、ベンゾチアゾール体 **8**、ベンゾイミダゾール体 **12** の中で、ベンゾチアゾール体が最も強い CRF₁ 受容体結合活性を示した。この理由は図 4 に示すように、分子の外側に張り出した硫黄原子が CRF₁ 受容体結合活性に寄与しているためと考えた。ベンゾイミダゾール体 **12** の相当する位置、すなわち 1 位にメチル基を導入した化合物 **21a** では、期待通りに活性が向上した。本化合物 **21a** を中心とした SAR 研究の結果、1-メチルベンゾイミダゾール骨格は CRF₁ 受容体結合活性を十分に期待できる新規な 6-5 縮合環であると共に、細胞障害性の懸念の低い化合物を創製可能であることが分かった。新規骨格の発見によって、著者の研究を含む今後の CRF₁ 受容体拮抗薬を目指した分子設計および最適化研究における構造変換の自由度が広がると期待できる。本章でのベンゾイミダゾール誘導体の SAR 研究の結果、CRF₁ 受容体結合活性が強く (IC₅₀ 値 12–14 nM)、細胞障害性の懸念の低い *N*⁷,*N*⁷-ジアルキル-*N*²- (4-ブロモ (クロロ) -2-メトキシ-6-メチルフェニル) -1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミンをリード化合物として見出した。

第二章 ベンゾイミダゾール系 CRF₁ 受容体拮抗薬の最適化研究

第一章で述べたように、一原子を介して芳香族置換基を有する構造に特徴を有する 6-5 縮合環、ベンゾイミダゾール系化合物を新規に分子設計したところ、一連の誘導体が CRF₁ 受容体への結合活性を示すことが分かった。この芳香族置換基は、母核であるベンゾイミダゾール上の HBA として機能する sp² 窒素原子の隣接位に一原子を介して置換している。初期 SAR 研究の結果、強い CRF₁ 受容体結合活性 (IC₅₀ 値 12–14 nM) を示す *N*⁷,*N*⁷-ジアルキル-*N*²-(4-ブロモ (またはクロロ) -2-メトキシ-6-メチルフェニル) -1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミンを創出した。本章では、CRF₁ 受容体結合活性を指標とし、第一章で見出したリード化合物からベンゾイミダゾール骨格の 7 位および 4 位の最適化研究について述べる。

第一節 ベンゾイミダゾール誘導体の 7 位置換基の探索

第一項 7-アリアルアミノベンゾイミダゾール誘導体の分子設計

第一章で述べたように、*N*⁷,*N*⁷-ジプロピル-*N*²-(4-ブロモ-2-メトキシ-6-メチルフェニル) -1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミン **26d** が CRF₁ 受容体結合活性 (IC₅₀ 値 12 nM) を示すことを見出した。本化合物は 1-メチルイミダゾール骨格の HBA に対してパラ位方向にジアルキルアミノ基を有し、本置換基が CRF₁ 受容体の脂溶性ポケットを占有していると考えられる。著者は、このアルキル基をアリアル基に変換することによって、更に効率よく CRF₁ 受容体の脂溶性ポケットを占有できるのではないかと考えた。また、第一章で述べた SAR 研究の結果、ノルマルプロピル基のイソプロピル基への変換体 **22** も同等の結合活性を示すことが分かり、分岐状アルキル基が脂溶性ポケットを効率的に占有できる可能性が示唆された。実際、MOE³¹⁾ を用いて CRF₁ 受容体の結晶構造の低分子結合部位に化合物 **26d** (ピンク) およびイソプロピルフェニルアミノ体 **27** (黄緑) を重ね合わせたところ、図 5 に示すように CRF₁ 受容体拮抗薬としての活性発現に鍵と考えられる白丸破線部分、すなわち HBA および母核から一原子を介した芳香族置換基と共にノルマルプロピルアミノ基とフェニルアミノ基が黄色破線部分に示すようによく重なった。さらに、黄色矢印で示すようにフ

エニル基およびイソプロピル基はノルマルプロピル基よりもポケットを効率よく占有可能であることが示唆された。したがって、アリールイソプロピルアミノベンゾイミダゾール誘導体は CRF₁ 受容体結合活性を示すと期待できる。

本節では、大きさの異なる電子供与および求引性置換基を有する多様なアリールアミノ体の合成および SAR 研究について述べる。第一章で述べたように、ベンゾイミダゾール骨格の 2 位に 4-クロロまたは 4-ブromo-2-メトキシ-6-メチルアニリンを有する 7-ジアルキルアミノ-1*H*-ベンゾイミダゾール誘導体が強い CRF₁ 受容体結合活性を示した。したがって、本研究では 2 位の芳香族置換基を 4-クロロまたは 4-ブromo-2-メトキシ-6-メチルアニリンに固定して実施した。

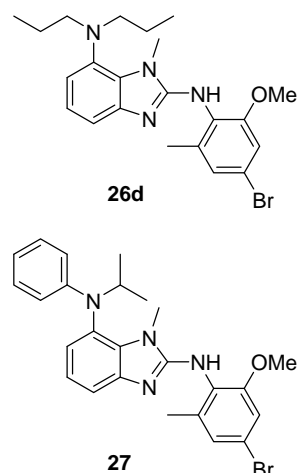
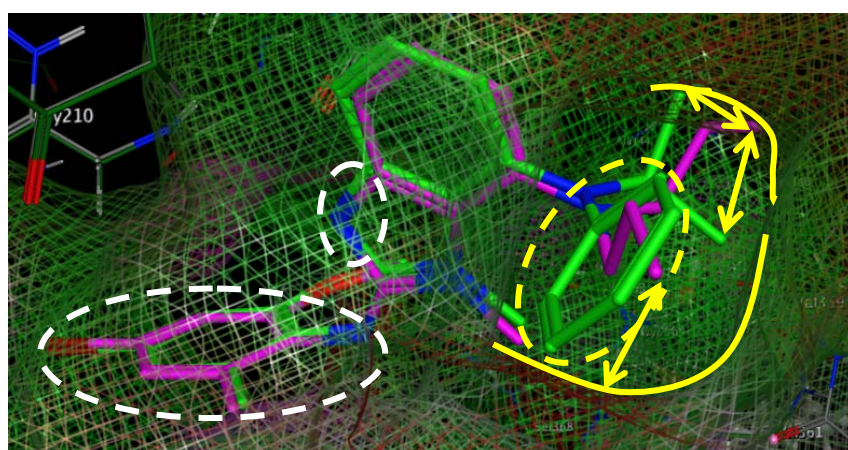


図 5. 化合物 **26d** (ピンク) および化合物 **27** (黄緑) の重ね合わせ

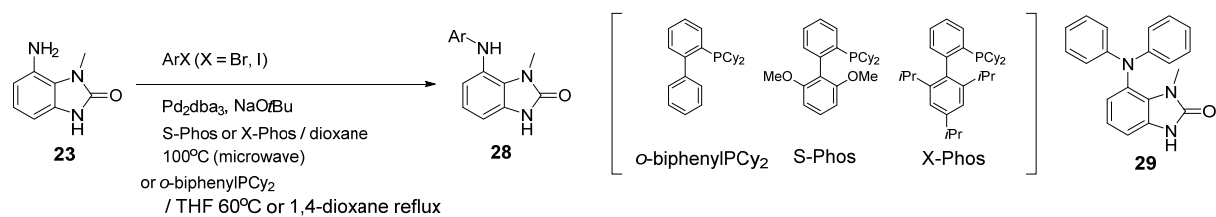
第二項 7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の合成

7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の合成は **Scheme 9-13** および表 4 に従って行った。最初に、鍵中間体である 7-アリールアミノベンゾイミダゾール **28** を合成すべく、第一章で合成した 7-アミノベンゾイミダゾール **23** とアリールハライドとのパラジウムを用いたカップリング反応を検討した。その結果を表 4 にまとめた。化合物 **28a**、**28e** および **28k** は、*o*-ビフェニル (ジシクロヘキシル) ホスフィン (*o*-ビフェニル PCy₂) を用いたカップリング反応によって、それぞれ *p*-ブromoアニソール、*p*-クロロブromoベンゼン、2-ブromo

-5-メチルピリジンから合成できた (順に entry 2, 7, 16)。一方、*p*-ブロモフェニルメチルスルホンおよび *p*-ブロモベンゾニトリルを用いた反応では目的物が得られなかった (順に、entry 8, 11)。嵩高いビフェニル基を有するホスフィンリガンド、例えば 2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',6'-ジメトキシビフェニル (S-Phos) および 2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2',4',6'-トリイソプロピルビフェニル (X-Phos) を用いたカップリング反応では 2-ジシクロヘキシルホスフィノ-2'-メチルビフェニルと比較して、触媒サイクルの活性化と安定化が報告されている。^{33,34)} 今回、S-Phos を用いて同反応を行ったところ、目的物であるメチルスルホニル体 **28f** およびシアノ体 **28h** を得ることができた (順に、entry 9, 12)。*p*-ブロモアニソールを用いた反応においても、X-Phos を用いた場合に *o*-ビフェニル PCy₂ と比較して収率が向上した (entry 2, 3)。これらの結果から、より嵩高いホスフィンリガンドである S-Phos および X-Phos は、*o*-ビフェニル PCy₂ を用いた場合と比較して、電子豊富および電子不足のいずれのアリールハライドを用いた場合もより良い結果を与えることが分かった。特に、*o*-ビフェニル PCy₂ と電子不足のアリールハライドとのカップリング反応では目的物が得られない場合に、特に有用である。種々のメタ置換アリールハライドを用いたカップリング反応においても目的物が取得でき、例えば、アルコキシ、アルキル、スルホニル体 (**28b**, **28d**, **28g**, **28j**) に加え、ピリジン誘導体 (**28l**) も 20–67%の収率で得られた (順に、entry 4, 6, 10, 15, 17)。一方、無置換体を与えるブロモベンゼンと X-Phos との反応では主にジフェニル体 **29** を与えた (entry 1)。*p*-シアノ体においてはアリールハライドのハライドとしてヨウ素体を用いた場合に目的物の収率が向上したものの (entry 12, 13)、*m*-シアノ体の場合はヨウ化アリールを用いた場合にも目的物が単離できなかった (entry 14)。従って、7-アミノベンゾイミダゾール **23** のアミノ基をブロモ基に変換した化合物 **30** とアリールアミノ体とのカップリング反応を検討した。7-ブロモベンゾイミダゾールは 7-アミノ体 **23** から臭化銅 (II) および *tert*-ブチルナイトラートを用いた Sandmeyer 反応によって合成した。ブロモイミダゾール **30** およびアリールアミノ体、X-Phos を用いたマイクロウェーブ条件下でのカップリング反応を行ったところ、目的とする一置換フェニル体 **28m** を良好な収率で得た。本条件を用いることによって、ブロモイミダゾール **30** および *m*-シアノアニリンから目的とする化合物を 37%の収率で得ることができ

た。先述の条件では目的物がほぼ得られていないことから (entry 14)、本条件は7-アリアル
アミノ体 **28** の合成において鍵となった。

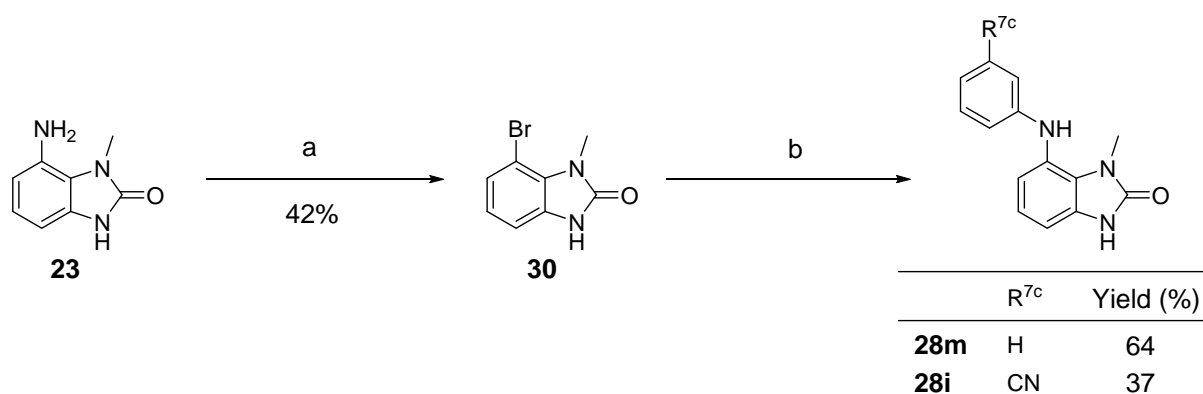
表 4. 7-アミノ-1-メチルイミダゾール-2-オンおよびアリアルハライドのパラジウム触媒カッ
プリング反応におけるホスフィンリガンドの効果



Entry	Ar	Phosphine ligand	6 Yield (%)	Cmpd No.
1	C ₆ H ₅	X-Phos	- ^b	29
2	<i>p</i> -MeOC ₆ H ₄	<i>o</i> -biphenylPCy ₂	42	28a
3	<i>p</i> -MeOC ₆ H ₄	X-Phos	61	28a
4	<i>m</i> -MeOC ₆ H ₄ ^a	X-Phos	57	28b
5	<i>p</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄	X-Phos	22	28c
6	<i>m</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄	X-Phos	20	28d
7	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	<i>o</i> -biphenylPCy ₂	44	28e
8	<i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄	<i>o</i> -biphenylPCy ₂	- ^b	-
9	<i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄	S-Phos	61	28f
10	<i>m</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄	S-Phos	65	28g
11	<i>p</i> -NCC ₆ H ₄	<i>o</i> -biphenylPCy ₂	- ^b	-
12	<i>p</i> -NCC ₆ H ₄	S-Phos	19	28h
13	<i>p</i> -NCC ₆ H ₄ ^a	S-Phos	74	28h
14	<i>m</i> -NCC ₆ H ₄ ^a	S-Phos	<5	28i
15	<i>m</i> -NCMe ₂ CC ₆ H ₄	X-Phos	67	28j
16	5-Me-2-pyridyl	<i>o</i> -biphenylPCy ₂	41	28k
17	6-MeO-3-pyridyl	X-Phos	32	28l

^aX = I. ^bNo identification of desired compounds.

Scheme 9. 7-ブロモ-1-メチルベンゾイミダゾール-2-オンおよびアニリン体のパラジウム触媒カップリング反応^a

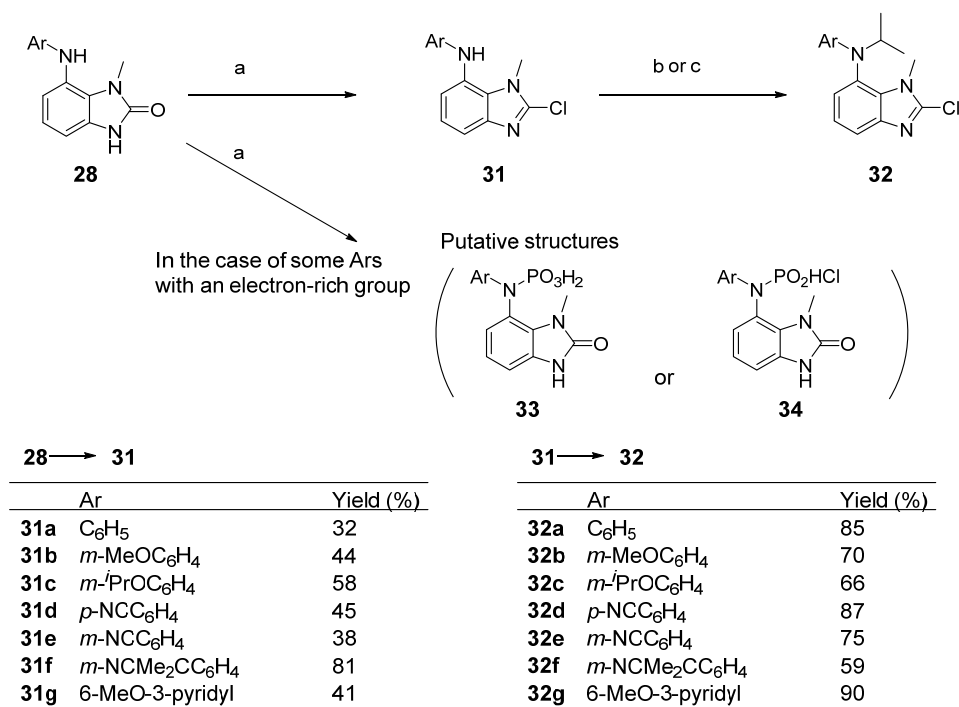


^aReagents and conditions: (a) CuBr₂, *t*BuONO, DMF, rt; (b) aniline or 3-cyanoaniline, Pd₂dba₃, S-Phos or X-Phos, NaOtBu, 1,4-dioxane, microwave irradiation, 100–120°C.

電子供与および電子求引性置換基を有するカップリング体 **28** は、双方共にオキシ塩化リンとの反応により 2 位にクロロ基を導入できた。続いて、2-クロロ体 **31** にイソプロピルブロミドを作用させることによって問題無くアルキル化反応が進行した (**Scheme 10**)。しかし、電子豊富な芳香族置換基を有する化合物 **28** のクロロ化反応では、芳香環状の置換位置によって目的物 **31** が得られない場合があった。電子豊富となったベンゾイミダゾールとリン試薬が安定な複合体 **33** または **34** を形成したと考えられる。そこで、7-アルキルアミノ-2-クロロベンゾイミダゾールの別途合成法を検討した (**Scheme 11**)。鍵となるのは、最初の工程での保護基の選択であった。ここで採用される保護基は、7 位のアルキル化またはアシル化反応に安定、3 位への選択的導入が可能、脱保護が容易でなければならない。*p*-メトキシベンジル (PMB) 基を選択し、PMB クロリドおよび炭酸カリウムを反応させることによって、ベンゾイミダゾール 3 位への選択的な PMB 基導入に成功した。パラアルコキシ体のような電子豊富なベンゾイミダゾール誘導体 **35b** および **35c** をアルキル化およびアシル化反応に付した結果、7 位アミノ基に目的とする官能基を導入できた (**36b**、**36c**)。続く PMB 基の脱保護は、TFA を用いて加熱することによって達成した。得られた化合物 **37** にオキシ塩化リンを作用させることによって、目的とする 2-クロロ体 **32** を合成した。本ルートはスルホニル

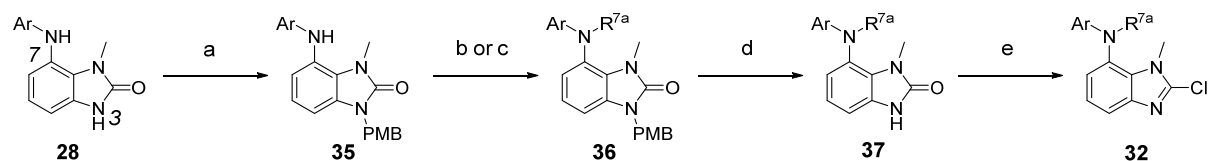
体 **28f** および **28g** のような電子不足なものおよびヘテロ芳香環を有する **28k** にも適用でき、
Scheme 10 のルートと比較して工程数が長いものの適用範囲が広いことが示唆された。

Scheme 10. 2-クロロ-*N*-アリール-*N*-アルキルベンゾイミダゾールの合成^a



^aReagents and conditions: (a) POCl₃, 100°C; (b) *i*PrBr or *i*PrI, NaH, (*n*Bu₄NI), DMF, rt; (c) *i*PrI, NaH, DMF, rt.

Scheme 11. 2-クロロ-*N*-アリール-*N*-アルキルベンゾイミダゾールの別途合成法^a



28 → 35

Ar	Yield (%)
35a <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	>99
35b <i>p</i> -MeOC ₆ H ₄	95
35c <i>p</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄	67
35d <i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄	49
35e <i>m</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄	71
35f 5-Me-2-pyridyl	87

35 → 36

Ar	R ^{7a}	Yield (%)
36a <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	<i>i</i> Pr	62
36b <i>p</i> -MeOC ₆ H ₄		80
36c <i>p</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄		71
36d <i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄		84
36e <i>m</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄		73
36f 5-Me-2-pyridyl		74
36g <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	CH ₂ CMe ₃	32
36h	COMe	89
36i	CH ₂ CH ₂ OMe	81
36j	CH ₂ -3-tetrahydrofuranyl	60

36 → 37

Ar	R ^{7a}	Yield (%)
37a <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	<i>i</i> Pr	88
37b <i>p</i> -MeOC ₆ H ₄		>99
37c <i>p</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄		-
37d <i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄		75
37e <i>m</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄		-
37f 5-Me-2-pyridyl		39
37g <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	CH ₂ CMe ₃	80
37h	COMe	73
37i	CH ₂ CH ₂ OMe	71
37j	CH ₂ -3-tetrahydrofuranyl	91

37 → 32

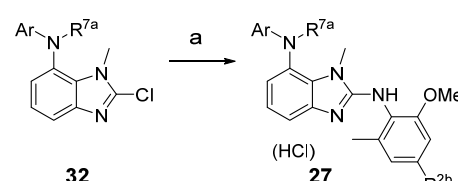
Ar	R ^{7a}	Yield (%)
32l <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	<i>i</i> Pr	72
32m <i>p</i> -MeOC ₆ H ₄		78
32n <i>p</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄		18 (2 steps)
32o <i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄		47
32p <i>m</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄		23 (2 steps)
32q 5-Me-2-pyridyl		64
32r <i>p</i> -ClC ₆ H ₄	CH ₂ CMe ₃	73
32s	COMe	69
32t	CH ₂ CH ₂ OMe	80
32u	CH ₂ -3-tetrahydrofuranyl	56

^aReagents and conditions: (a) PMBCl, K₂CO₃, (*n*Bu₄NI), DMF, rt–70°C; (b) R^{7a}Br or R^{7a}I or R^{7a}OMs, K₂CO₃ or NaH, (*n*Bu₄NI), DMF, rt–70°C; (c) Ac₂O, pyridine, 120°C; (d) TFA, 65–70°C; (e) POCl₃, 80–100°C.

2つの方法で得られた2-クロロベンゾイミダゾール**32**および4-ハロゲン-2-メチル-6-メトキシアニリンを加熱反応またはマイクロウェーブ照射することにより、目的物**27**を得た。

(Scheme 12)

Scheme 12. 2,7-ビス (アリールアミノ) ベンゾイミダゾールの合成^a

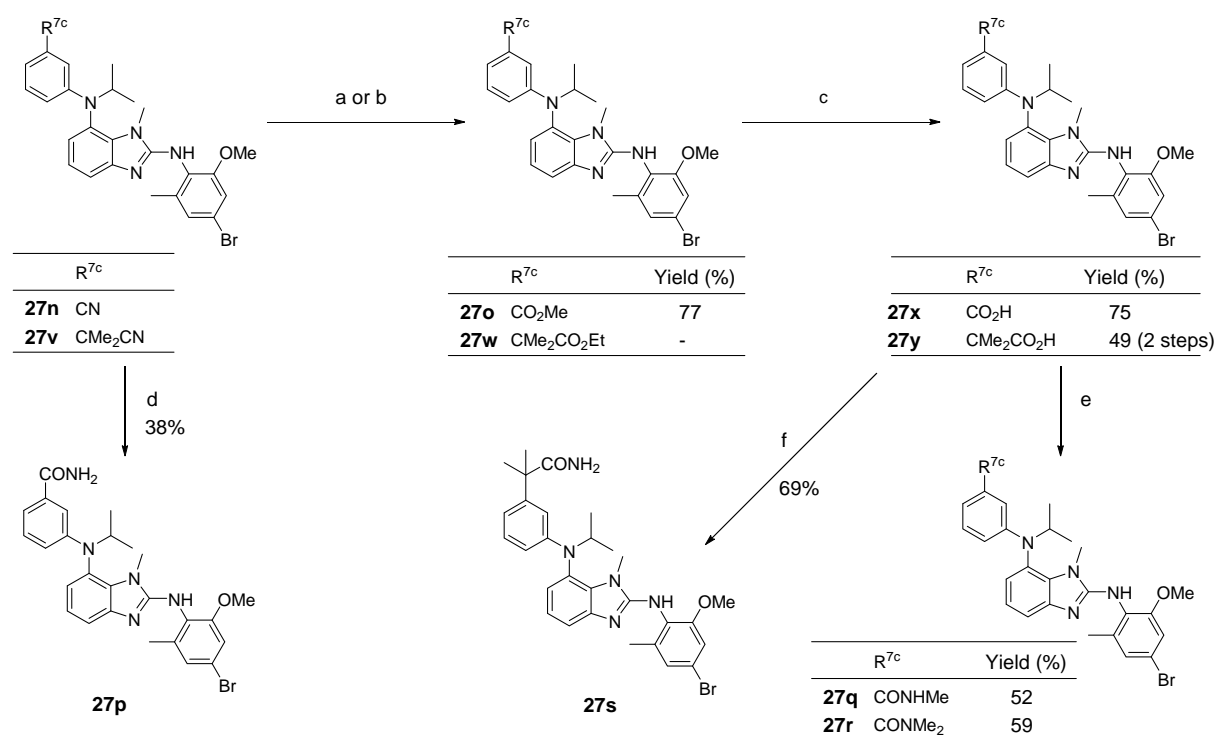


	Ar	R ^{7a}	HCl	R ^{2b}	Yield (%)
27a	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	<i>i</i> Pr		Cl	53
27b		CH ₂ CMe ₃	HCl	Cl	22
27c		COMe	HCl	Cl	53
27d		CH ₂ CH ₂ OMe	HCl	Cl	33
27e		CH ₂ -3-tetrahydrofuranyl		Cl	53
27f	C ₆ H ₅	<i>i</i> Pr		Cl	27
27g	<i>p</i> -MeOC ₆ H ₄			Cl	65
27h	<i>m</i> -MeOC ₆ H ₄			Br	10
27i	<i>p</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄			Cl	36
27j	<i>m</i> - <i>i</i> PrOC ₆ H ₄			Cl	26
27k	<i>p</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄			Br	36
27l	<i>m</i> -MeSO ₂ C ₆ H ₄			Br	64
27m	<i>p</i> -NCC ₆ H ₄			Br	9.5
27n	<i>m</i> -NCC ₆ H ₄			Br	69
27t	6-MeO-3-pyridyl			Cl	32
27u	5-Me-2-pyridyl			Cl	41
27v	<i>m</i> -NCMe ₂ CC ₆ H ₄			Br	74

^aReagents and conditions: (a) i) 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline or 4-bromo-2-methoxy-6-methylaniline, (NMP), (microwave irradiation), 100–120°C, (ii) conversion to HCl salt).

化合物 **27n** のシアノ基は、塩基性条件下、過酸化水素を用いた酸化反応によってカルボキサミド (**27p**) に変換された。メチルエステル体 **27o** は、酸性条件下、化合物 **27n** およびメタノールから合成され、カルボン酸 **27x** へ加水分解後、メチルアミンまたはジメチルアミンと作用させることによって、それぞれ **27q** および **27r** へ導いた。これらアミド体 **27q** および **27r** と同様の方法を用い、シアノ体 **27v** から 2-カルバモイル-2-プロピル体 **27s** を合成した。

Scheme 13. 7位アリール基上置換基の変換^a



^aReagents and conditions: (a) i) HCl, MeOH, rt; ii) H₂O, THF; (b) EtOH, H₂SO₄, reflux; (c) NaOH, THF, (MeOH,) H₂O, rt-70°C; (d) H₂O₂, NaOH, EtOH, H₂O, reflux; (e) MeNH₂ or Me₂NH, HBTU, *i*Pr₂NEt, THF, rt; (f) NH₄OH, EDC, HOBT, DMF, rt.

以上、著者は2つの鍵となる方法を含む新規な2,7-ジアミノベンゾイミダゾールの合成法を確立した。1つ目の鍵は、7-アミノまたは7-ブロモベンゾイミダゾールとのカップリング反応の際に、嵩高いホスフィンリガンドである **S-Phos** または **X-Phos** の選択である。2つ目は、2-クロロベンゾイミダゾール **32** の合成の際に、ベンゾイミダゾールの電子状態によって2つの合成ルートを使い分けることであり、電子豊富である場合には **Scheme 11** 記載のルートが好ましい。

第三項 7-アリアルアミノベンゾイミダゾール誘導体の *in vitro* CRF₁ 受容体結合活性

第一章記載と同様の方法を用い、第二項で合成した化合物 **27a-u** のヒト CRF₁ 受容体結合活性を測定した。本系統の最初の SAR 研究は、ベンゾイミダゾールの 7 位置換基を *p*-クロロアニリノ基に固定して実施した。アニリンのアミノ基のパラ位が酸化代謝されることが知られており、パラ位置換基が代謝安定性向上に寄与できることが報告されている。³⁵⁾ *p*-クロロアニリノ誘導体の CRF₁ 受容体結合活性の結果を表 5 に示す。イソプロピル体 **27a** は IC₅₀ 値が 25 nM であり、7-ジアルキルアミノベンゾイミダゾール **26d** と同等であった。この結果より、*p*-クロロフェニル基は CRF₁ 受容体の脂溶性ポケットを占有し、**26d** のアルキル基を芳香環に変換できることが判明した。イソプロピル基を変換したメトキシエチル体 **27d** は CRF₁ 受容体結合活性の IC₅₀ 値が 50 nM であり、イソプロピル体 **27a** とほぼ同等の活性であった。第一章の結果から、ジアルキルアミノ誘導体においては種々のアルキル体が活性を示すことが分かっているが、ジアルキルアミノ基の片方のアルキル基を芳香環に変換した場合にもアルキル基を同様に変換可能であることが示唆された。ネオペンチル体 **27b** および (テトラヒドロフラニル) メチル体 **27e** は、それぞれイソプロピル体 **27a** およびメトキシエチル体 **27d** と比較して活性が低下した。本結果より、置換基の嵩高さはベンゾイミダゾール 7 位の窒素原子に近いほど許容されることが分かった。アセチル体 **27c** はイソプロピル体 **27a** と比較して、活性が 6 倍減弱した。置換基 R^{7a} は、脂溶性置換基の方が好ましいと示唆された。

ベンゾイミダゾール 7 位の芳香環について、大きさと電子的効果に対する CRF₁ 受容体結合活性への効果を表 6 に示した。クロロ体 **27a**、メトキシ体 **27g** および **27h** の活性は IC₅₀ 値が 10⁻⁸ 前半であり、無置換体 **27f** およびリード化合物であるアルキル体 **26d** と同等の活性を示した。メタ位により嵩高い置換基を有する化合物は、パラ位置換体と比較して 3-12 倍強い結合活性を示した。例えば、イソプロピルオキシ体 **27i** および **27j**、メチルスルホニル体 **27k** および **27l** の比較である。一方、メトキシ体 **27g** および **27h**、シアノ体 **27m** および **27n** のような小さい置換基の場合にほぼ同等の活性値を示した。以上の結果より、パラ位置換基が占有する CRF₁ 受容体ポケットはメタ位置換基のそれと比較して小さいことが示唆された。メタ位置換体について、メトキシ基のような電子供与性置換基 (**27h**: IC₅₀ 52 nM)、メチルス

表 5. ヒト CRF₁ 受容体結合活性に対する 7-*N*-アリールベンゾイミダゾール誘導体の 7-*N*-アルキル基の置換基効果

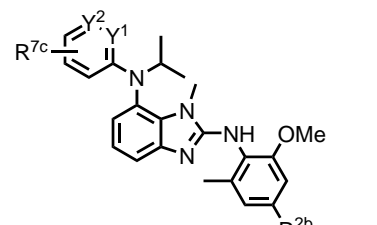
Compound No.	Additive	R ^{7a}	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a
27a			25 (20–31)
27b	HCl		4400 (2600–7200)
27c	HCl		160 (100–240)
27d	HCl		50 (30–85)
27e			220 (160–310)
<hr/>			
26d	HCl		12 (7.7–17)

^aIC₅₀ values and 95% confidential intervals were calculated from the concentration-response curves.

ルホニル基 (**27l**: IC₅₀ 90 nM) およびシアノ基 (**27n**: IC₅₀ 69 nM) のような電子求引性置換基のいずれを有する場合も強い CRF₁ 受容体結合活性を示した。これらの中間の性質であるカルボキサミド体 **27p**、アミド体 **27q** および **27r**、アルキル体 **27s** においても、IC₅₀ 値 53–120 nM の CRF₁ 受容体結合活性を示した。これらの結果より、イソプロピルオキシ体 **27j** においては CRF₁ 受容体結合活性が減弱するものの、活性はメタ位置置換基の電子的性質および大きさにはほぼ依存しないこと、メタ位に相当する CRF₁ 受容体のポケットでは、極性基を許容できることが明らかとなった。ピリジル体 **27t** および **27u** はそれぞれ IC₅₀ 値 25 nM および 69 nM の CRF₁ 受容体結合活性を示し、フェニル体 **27f** およびメトキシフェニル体 **27g** と同等の活

性であった。

表 6. ヒト CRF₁ 受容体結合活性に対する 7-*N*-アリール基の置換基効果



Compound No.	R ^{7c}	Y ¹	Y ²	R ^{2b}	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a
27a	<i>p</i> -Cl	CH	CH	Cl	25 (20–31)
27f	H	CH	CH	Cl	13 (8.7–20)
27g	<i>p</i> -MeO	CH	CH	Cl	27 (18–39)
27h	<i>m</i> -MeO	CH	C	Br	52 (38–69)
27i	<i>p</i> -iPrO	CH	CH	Cl	1800 (920–3500)
27j	<i>m</i> -iPrO	CH	C	Cl	580 (280–1200)
27k	<i>p</i> -MeSO ₂	CH	CH	Br	1100 (570–2200)
27l	<i>m</i> -MeSO ₂	CH	C	Br	90 (62–130)
27m	<i>p</i> -NC	CH	CH	Br	84 (63–110)
27n	<i>m</i> -NC	CH	C	Br	69 (48–100)
27p	<i>m</i> -H ₂ NCO	CH	C	Br	120 (84–160)
27q	<i>m</i> -MeHNCO	CH	C	Br	53 (41–69)
27r	<i>m</i> -Me ₂ NCO	CH	C	Br	75 (56–101)
27s	<i>m</i> -H ₂ NCOCMe ₂	CH	C	Br	120 (76–190)
27t	6-MeO	CH	N	Cl	25 (18–33)
27u	5-Me	N	CH	Cl	69 (50–94)
26d					12 (7.7–17)

^aIC₅₀ values and 95% confidential intervals were calculated from the concentration-response curves.

以上の結果より、7 位アルキル基のアリール基への変換によって、アルキル体 **26d** と同等の CRF₁ 受容体結合活性を示すことが分かった。SAR 研究の結果より、活性はベンゾイミダゾール 7 位の芳香環の電子密度およびメタ位置換基の大きさに影響を受けないことが分かった。一方、パラ位置換基が占有する CRF₁ 受容体ポケットはメタ位置換基が占有する部分と比較して小さいことが示唆された。ピリジル基およびアミド基のような極性基への変換によ

っても CRF₁ 受容体結合活性を維持できることが分かった。7 位アルキル基については、嵩高く極性の高いアルキル基よりも小さく脂溶性の高いアルキル基の方が活性発現に有利である。

本系統化合物の中で、化合物 **27g** が *ex vivo* 評価の動物種であるマウスの代謝により安定で強い CRF₁ 受容体結合活性を示した。また、化合物 **27g** はヒト CRF による *in vitro* 環状アデノシンーリン酸 (cyclic adenosine monophosphate : cAMP) の上昇を IC₅₀ 値 56 nM (95% 信頼区間 : 40–77 nM) の強さで抑制し、本化合物 **27g** の CRF₁ 受容体拮抗活性が確認された。

第四項 7-アリールアミノベンゾイミダゾール誘導体の *ex vivo* CRF₁ 受容体結合活性

脳内移行性および脳内での CRF₁ 受容体結合活性を調べる目的で、化合物 **27g** のマウスへの 20 mg/kg 経口投与 1 時間後の *ex vivo* 試験を実施した。化合物の CRF 結合阻害率は組織中での CRF₁ 受容体占有率であり、その結果を表 7 に示す。化合物 **27g** の経口投与は、CRF₁ 受容体が高発現している前頭葉 (frontal cortex : FC)、嗅球 (olfactory bulb : OB) および下垂体 (pituitary : Pit) においてヒツジ ¹²⁵I-CRF の結合を約 80% 阻害し、リード化合物 **26d** と同等であった。前頭葉および嗅球での結合阻害活性は、脳内での CRF₁ 受容体占有率の指標となる。これらの結果より、化合物 **27g** は経口投与による生体内への吸収性に優れ、脳内においても強い結合阻害活性を示すことが分かった。

第五項 本節のまとめ

新規 7-アリールアミノ-1*H*-ベンゾイミダゾール誘導体の合成と評価を行った。新規な 2,7-ジアリールアミノベンゾイミダゾールの合成法を確立すべく検討を行った結果、ベンゾイミダゾール骨格の 7 位へのアリールアミノ基の導入は、S-Phos および X-Phos のような嵩高いホスフィンリガンドの存在下、7-アミノベンゾイミダゾール **23** または 7-ブロモベンゾイミダゾール **30** へのパラジウム触媒を用いたカップリング反応によって達成できることが分かった。また、2-クロロベンゾイミダゾール **32** の合成については、ベンゾイミダゾール骨格の電子密度によって合成経路を使い分けることが有効であった。合成された化合物について、*in*

表 7. 7-アリールアミノベンゾイミダゾール **27g** および 7-ジアルキルアミノベンゾイミダゾール **26d** のマウス *ex vivo* ^{125}I -CRF 結合阻害活性^a

Compound No.	CRF binding inhibition (%)		
	Pit	OB	FC
Vehicle	0	0	0
27g	89	82	80
26d	65	72	79

^aThe values are % inhibition of ovine ^{125}I -CRF binding to mouse pituitary (Pit), olfactory bulb (OB) and frontal cortex (FC) homogenates. Tissues were collected by decapitation 1 h after oral administration of 20 mg/kg of test compounds, respectively. Homogenates of each brain area were prepared from 10 brains for each compound.

vitro CRF₁ 受容体結合活性における SAR 研究を行った。その結果、7 位アリール基上は多様な置換基が許容され、7 位アルキル基は嵩高いものよりも小さいものがより強い CRF₁ 受容体結合活性を示した。リード化合物 **26d** のジアルキルアミノ基の一方のアルキル基をアリール基へ変換可能であり、このアリール基は想定どおりに CRF₁ 受容体の脂溶性ポケットを占有していることが示唆された。合成された化合物の中でも強い CRF₁ 受容体結合活性を示した化合物 **27g** は、cAMP 蓄積を指標とした CRF₁ 受容体拮抗活性を示した。本化合物はマウス前頭葉および嗅球において *ex vivo* CRF 受容体結合阻害活性を示したことから、経口吸収性に優れ、脳内へも問題なく到達できることが示唆された。CRF₁ 受容体拮抗薬としてアルキル基からアリール基への変換が許容されたことから、ベンゾイミダゾール誘導体が幅広く構造変換可能であることが分かった。

第二節 ベンゾイミダゾール誘導体の 4 位置換基の探索

第一項 4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の分子設計

第一章で述べたように、*N*⁷,*N*⁷-ジプロピル-*N*²-(4-クロロ-2-メトキシ-6-メチルフェニル)-1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミン **26c** が CRF₁ 受容体結合活性 (IC₅₀ 値 14 nM) を示すことを見出した。本化合物と CRF₁ 受容体拮抗活性発現に対して典型的な構造である R121919 を MOE⁵⁷⁾ を用いて重ね合わせた結果、図 6 の黄色丸枠で示すように、ベンゾイミ

ダゾール骨格の4位方向に CRF₁ 受容体ポケットの空間の存在が示唆された。そこで、4位への置換基導入の効果を探索することとした。

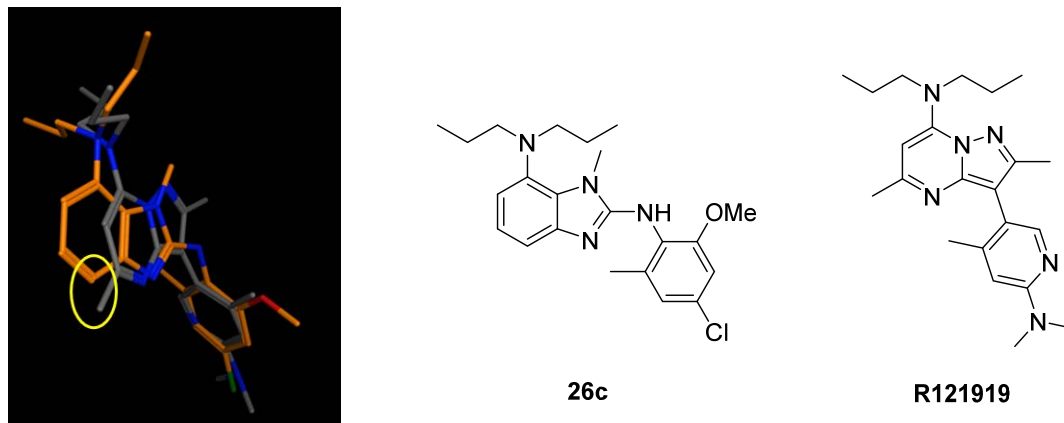
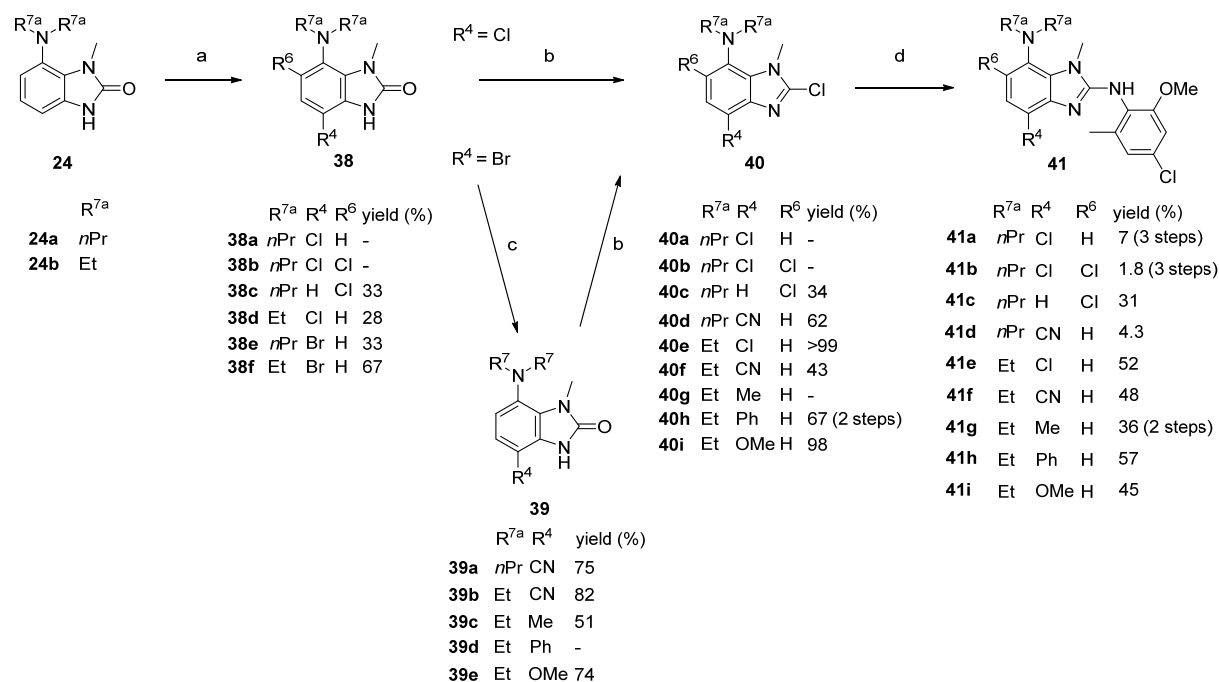


図 6. 化合物 **26c** (橙) および R121919 (灰) との重ね合わせ

第二項 4位または6位置換ベンゾイミダゾール誘導体の合成

4位または6位置換ベンゾイミダゾール誘導体 **41a-i** は、第一章 第二項 **Scheme 8** において合成した化合物 **24a** および **24b** より合成した (**Scheme 14**)。ジプロピルアミノ体 **24a** に NCS を反応させると、4-クロロ体 **38a** および 4,6-ジクロロ体 **38b** の混合物と 6-クロロ体 **38c** が得られた。これら 4位および6位置換体 **38a-c** の目的誘導体 **41a-c** は、**Scheme 8** と同様の方法、すなわちオキシ塩化リンを作用させて 2-クロロベンゾイミダゾール **40a-c** とし、4-クロロ-2-メチル-6-メトキシアニリンと反応させて合成した。4-クロロ体 **38a** および 4,6-ジクロロ体 **38b** は混合物のまま最終工程へ導き、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて分離した。一方、ジエチルアミノ体 **24b** の2位を同様の方法でクロロ化して得られた化合物 **38d** は単一化合物として分離でき、ジプロピルアミノ体の場合と同様の方法を用いて目的物 **41e** へ導いた。その他の4位置換体は、NBS と反応させて得られた 4-ブロモ体 **38e** および **38f** を経由して得た。シアノ基は、シアニ化銅と反応させることによって導入した (**39a** および **39b**)。メチル体 **39c** およびフェニル体 **39d** は対応するスズ試薬を用いたカップリング反応により、メトキシ体 **39e** はヨウ化銅存在下、ナトリウムメトキシドを用いた反応により合成した。最終物 **41d** および **41f-i** は、先述と同様の方法で得た。

Scheme 14. ベンゾイミダゾール 4 位および 6 位変換体の合成^a



^aReagents and conditions: (a) NCS or NBS, (AIBN,) CCl₄ or MeCN, rt to reflux; (b) POCl₃, 100–110°C; (c) CuCN, NMP, 180°C or 170°C, microwave; or Me₄Sn or Ph₄Sn, Pd(PPh₃)₄, HMPA, reflux; or NaOMe, CuI, MeOH, DMF, 100°C; (d) 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline, NMP, 110–130°C.

第三項 4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の *in vitro* CRF₁ 受容体結合活性

第一章記載と同様の方法を用い、第二項で合成した化合物 **41a–i** の CRF₁ 受容体結合活性を測定した。結果を表 8 に示す。ベンゾイミダゾール骨格 4 位クロロ置換体 **41a** は、無置換体 **26c** と比較してほぼ同等の CRF₁ 受容体結合活性を示した。一方、4,6-ジクロロ体 **41b** は約 20 倍活性が減弱し、6-クロロ体 **41c** は 10 μM において活性を示さなかった。これらの結果より、ベンゾイミダゾール 6 位置換基は CRF₁ 受容体活性に対して好ましくないことが分かった。図 6 に示したように、CRF₁ 受容体ポケットは 4 位方向へのスペースの存在が示唆されるものの、6 位方向については R121919 の外側をベンゾイミダゾール骨格自身が占有しており、更なるスペースはほとんど無いと考えられる。さらに、6 位置換基は 7 位アルキル基の配置に影響を及ぼしている可能性もある。また、既報の SAR 情報からもベンゾイミダゾール 6

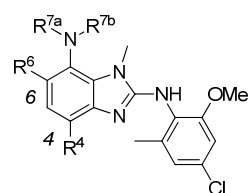
位相当位置への置換基導入は好ましくないことが示唆されている。²⁸⁾ 4 位置換基の多様性を調べる目的で電子求引性置換基であるシアノ基、電子供与性置換基であるメチル基およびメトキシ基へ変換したところ、いずれも CRF₁ 受容体結合活性を保持した（順に、**41d**、**41g**、**41i**）。しかしながら、フェニル体 **41h** では活性が劇的に減弱した。CRF₁ 受容体結合活性においては 4 位置換基の電子的性質の影響は低い、置換基の大きさは影響を与えることが分かった。一方、メトキシ体 **41i** に強い細胞障害性が認められた（化合物非添加に対する ATP 含有率：5%@30 μM）。

合成した化合物の中で、化合物 **41a** が細胞障害性の懸念が低く（化合物非添加に対する ATP 含有率：83%@30 μM）、強い CRF₁ 受容体結合活性を示した（IC₅₀ 値 9.5 nM）。また、化合物 **41a** はヒト CRF による *in vitro* cAMP の上昇を IC₅₀ 値 88 nM (95% 信頼区間:39–198 nM) の強さで抑制し、本化合物 **41a** の CRF₁ 受容体拮抗活性が確認された。さらに、10 μM の濃度においてヒト CRF_{2α} および CRF_{2β} への結合活性が認められず、本化合物は選択性の高い CRF₁ 受容体拮抗薬であることが分かった。

第四項 4 位置換ベンゾイミダゾール誘導体の *ex vivo* CRF₁ 受容体結合活性および *in vivo* ACTH 分泌阻害活性

本化合物の脳内移行性および脳内での CRF₁ 受容体結合活性を調べる目的で、経口投与でのマウス *ex vivo* 試験を実施した（表 9）。その結果、化合物 **41a** のマウスへの 60 mg/kg 経口投与 1 時間後において、前頭葉、嗅球および下垂体での CRF の結合を強く阻害した。化合物 **41a** の経口投与はマウス生体内への吸収性に優れ、臨床試験実施化合物である R121919 の 20 mg/kg 投与時と同等に脳内組織での CRF₁ 受容体結合活性を示すことが分かった。

表 8. ヒト CRF₁ 受容体結合活性に対する 1-メチルベンゾイミダゾールの 4 位および 6 位の置換基効果



Compound No.	R ^{7a}	R ^{7b}	R ⁴	R ⁶	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a
26c	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Pr	H	H	14 (10–19)
41a	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Pr	Cl	H	9.5 (6.0–15)
41b	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Pr	Cl	Cl	170 (110–280)
41c	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Pr	H	Cl	>10000
41d	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Pr	CN	H	14 (11–18)
41e	Et	Et	Cl	H	24 (20–30)
41f	Et	Et	CN	H	13 (8.4–19)
41g	Et	Et	Me	H	7.6 (5.4–11)
41h	Et	Et	Ph	H	>10000
41i	Et	Et	OMe	H	13 (8.3–20)
R121919	-	-	-	-	8.5 (5.7–13)

^aIC₅₀ values and 95% confidential intervals are calculated from the concentration–response curves.

表 9. 化合物 **41a** のマウス *ex vivo* ^{125}I -CRF 結合阻害活性 ^a

Compound No.	CRF binding inhibition (%)		
	Pit	OB	FC
41a	101	83	86
R121919	98	95	96

^aThe values are % inhibition of ovine ^{125}I -CRF binding to mouse pituitary (Pit), olfactory bulb (OB), and frontal cortex (FC) homogenates. Tissues were collected by decapitation 1 h after oral administration of 60 mg/kg or 20 mg/kg of compound **41a** or R121919 (n = 5), respectively. Homogenates of each brain area were prepared from 5 brains for each compound.

化合物 **41a** の HPA 軸亢進に対する作用を調べる目的で、ストレス誘発のマウス血中 ACTH 増加に対する作用を試験した。図 7 に示すように、化合物 **41a** の 60 mg/kg 経口投与 1 時間後に血中 ACTH レベルが減少し、HPA 軸亢進の抑制作用が認められた。本用量は、表 9 に示した *ex vivo* 試験における脳内での結合活性に対する有効用量と同じであり、化合物 **41a** はマウスにおいて CRF が関与する生体内反応に対して拮抗することが分かった。

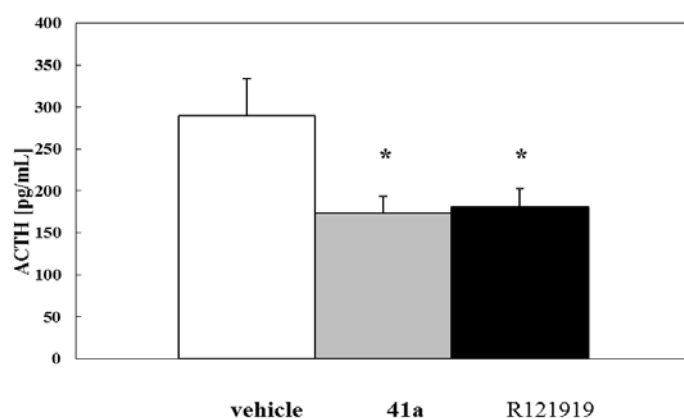


図 7. マウス ACTH 分泌に対する化合物 **41a** の抑制効果 ^a

^aACTH concentration in blood was measured 1 h after oral administration of mice with 60 mg/kg of compound **41a** or 20 mg/kg of R121919. Data are indicated as the mean \pm standard error of the mean (SEM) (n = 10). *p < 0.05, parametric Dunnett's test compared with vehicle.

第五項 本節のまとめ

ベンゾイミダゾール骨格の4位変換体を合成し、*in vitro* CRF₁受容体結合活性を指標として SAR 研究を行った。その結果、4位置換基によるベンゾイミダゾール骨格の電子状態は活性にはほとんど影響を与えず、置換基の大きさは影響を与えることが分かった。CRF₁受容体結合活性を指標として選択された化合物 **41a** はストレス誘発の HPA 軸亢進に対して抑制作用を示し、*in vivo* において CRF₁受容体拮抗作用を示すことが示唆された。

第三節 本章のまとめ

第一章で見出した化合物 **26c** および **26d** をリードとして、ベンゾイミダゾール7位および4位の変換を行った。最適化研究の結果、期待通りに多様な変換体が CRF₁受容体結合活性を示すことが分かった。すなわち、7位および4位に相当する CRF₁受容体にある程度の大きさのポケットが存在し、多様な分子構造を許容できることが示唆された。中でも、強い CRF₁受容体結合活性を示す化合物 **27g** および **41a** は、*in vitro* CRF₁受容体拮抗活性およびマウス *ex vivo* 試験における脳内での CRF₁受容体結合活性を示した。特に、化合物 **41a** はマウスストレス誘発 ACTH の上昇に対して抑制作用を示し、*in vivo* においても CRF₁受容体拮抗活性を有することが分かった。化合物 **41a** は臨床候補として期待でき、更なる検討を進める化合物として選定された。

第三章 ベンゾイミダゾール系 CRF₁ 受容体拮抗薬の臨床試験候補化合物の創出

第一節 7-ジアルキルアミノベンゾイミダゾール体の代謝安定性および代謝物予測解析

第一章および第二章で述べてきたように、著者は、新規な CRF₁ 受容体拮抗薬として一原子を介して芳香族置換基を有する構造を特徴とするベンゾイミダゾール誘導体をデザインし、*in vitro* および *in vivo* において CRF₁ 受容体拮抗活性を示す化合物 **41a** を見出した。本化合物は *ex vivo* CRF 結合阻害試験の結果より、経口吸収性および脳内移行性に優れた化合物であることが示唆された。しかしながら、ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験において、クリアランス値が 182 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ と不安定であることが判明した。また、その代謝物は、図 8 に示すように 7 位での脱アルキル化体 (**42a**, **42b**, **42d**) および酸化体 (**42e**, **42f**)、2 位アニリノ基のパラ位での酸化体 (**42c**, **42d**) が LC/MS/MS 解析により予測された。通常、生体内での代謝が速い場合、親化合物の暴露時間が短くなり、親化合物由来の薬効が減弱する。そこで、化合物 **41a** のジプロピルアミノ基およびアニリノ基の変換によって、*in vitro* および *in vivo* 活性が強かつ代謝により安定な化合物の創製を計画した。本章では、これら変換体の合成および *in vitro* CRF₁ 受容体結合活性とヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性を指標とした SAR 研究について述べる。

第二節 ベンゾイミダゾール 7 位および 2 位変換体の合成

ベンゾイミダゾール 7 位および 2 位変換体の合成法を Scheme 15–18 に示す。7-アミノベンゾイミダゾールへの 2 位、4 位および 7 位への置換基導入について Scheme 15 に示した。モノアルキルアミノベンゾイミダゾール **43a** および **43b**、ジアルキルアミノベンゾイミダゾール **44a** および **44b** は、無置換アミノベンゾイミダゾール **23** への還元的アルキル化反応により合成した。ジアルキルアミノベンゾイミダゾール **44a** および **44b** について、NBS を用いた 4 位へのブロモ化、オキシ塩化リンによる 2 位のクロロ基への変換によって、最終中間体 **48c** および **48d** へ導いた。ペンチル誘導体 **48a** は、対応するモノアルキル体 **43a** からオキシ塩化リンおよび NCS を順に作用させて、それぞれ 2 位および 4 位をクロロ化して合成した。

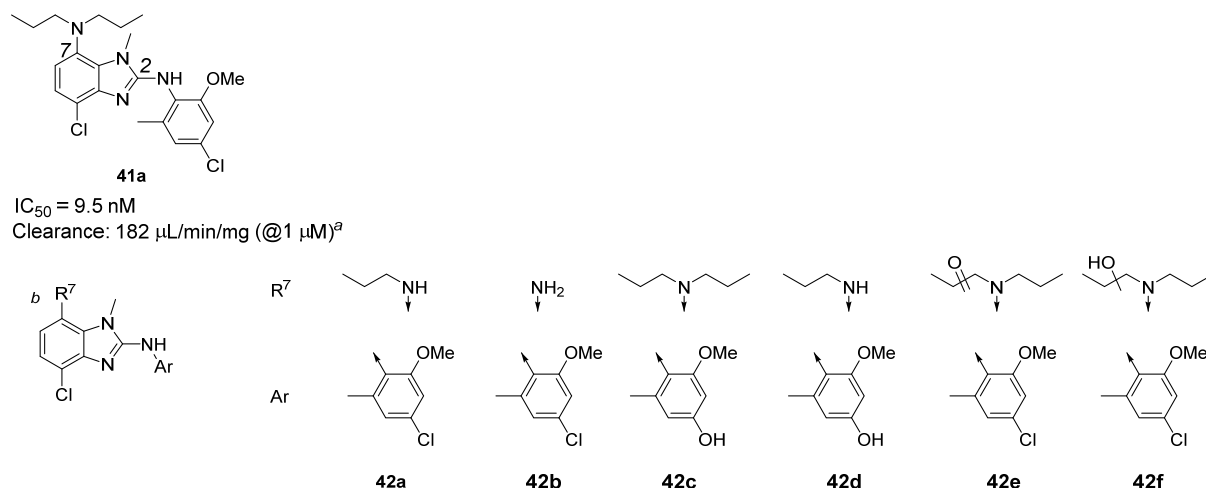
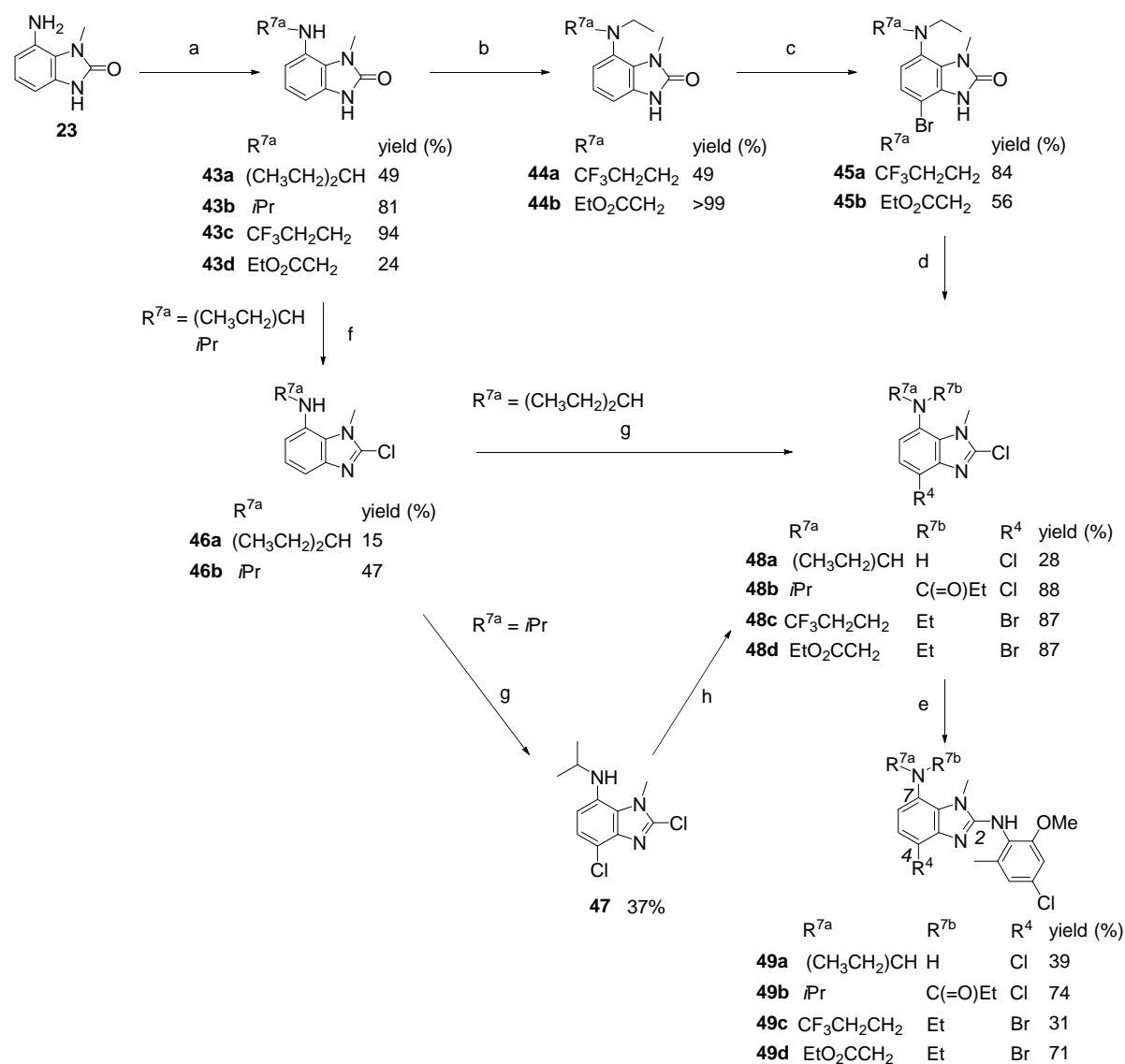


図 8. ヒト肝ミクロソームにおける化合物 **41a** の *in vitro* 代謝物解析^a

^a*In vitro* metabolic clearance in human hepatic microsomes. ^bThe structures of the metabolites were elucidated using LC/MS/MS.

イソプロピル体もペンチル体と同様に、最初に前駆体 **43b** の 2 位を、次に 4 位をクロロ化して化合物 **47** を合成し、7 位アミノ基をアシル化して化合物 **48b** を得た。2-クロロ-7-モノアルキルアミノベンゾイミダゾール **46a** および **46b** からの NCS を用いたクロロ化反応は、6 位クロロ体が主生成物であるため、4 位クロロ化が低収率である（化合物 **47** : 37%、化合物 **48a** : 28%）。この理由は、図 9 に示すように、7 位アミノ基の水素原子が NCS の酸素原子に配位することによって 8 員環遷移状態を経由し、6 位へのクロロ基の置換がより容易になるためと考えられる。最後に、2-クロロ体 **48a-d** と 4-クロロ-2-メトキシ-6-メチルアニリンを加熱することにより目的化合物 **49a-d** へ導いた。

Scheme 15.4 位置換ベンゾイミダゾール7位アルキルアミノ基変換体の合成^a



^aReagents and conditions: (a) 3-pentanone or acetone or CF₃CH₂CHO or EtO₂CCHO, NaBH₃CN, AcOH, MeOH, rt; (b) MeCHO, NaBH₃CN, AcOH, MeOH or EtOH, rt; (c) NBS, MeCN, rt; (d) POCl₃, 90–100°C; (e) 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline, NMP, 110°C; (f) POCl₃, 70°C; (g) NCS, MeCN, rt; (h) i) NaH, DMF, 60°C, ii) propionyl chloride, rt.

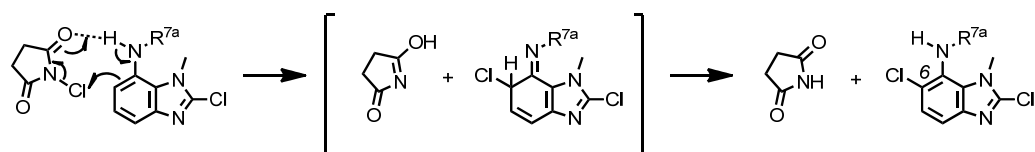
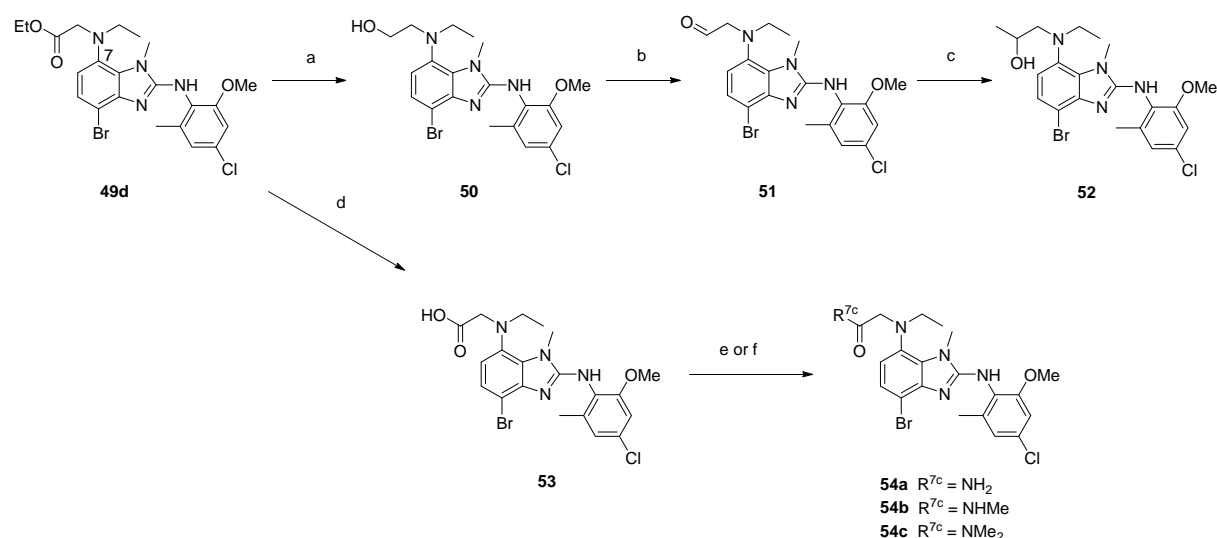


図9. ベンゾイミダゾール6位クロロ置換体生成について想定される反応機構

7位アルキルアミノ基の変換を **Scheme 16** に示した。化合物 **49d** のエステルを水素化ホウ素リチウムを用いて還元し、良好な収率でヒドロキシ体 **50** を得、Swern 酸化反応に付してアルデヒド (化合物 **51**)、メチルマグネシウムブロミドを用いた Grignard 反応を行い2-ヒドロキシ体 **52** へ導いた。一方、化合物 **49d** のエステルをアルカリ加水分解してカルボン酸 (化合物 **53**) とし、対応するアミンと縮合してそれぞれアミド体 **54a-c** を得た。

Scheme 16. ベンゾイミダゾール7位アルキルアミノ基の変換^a



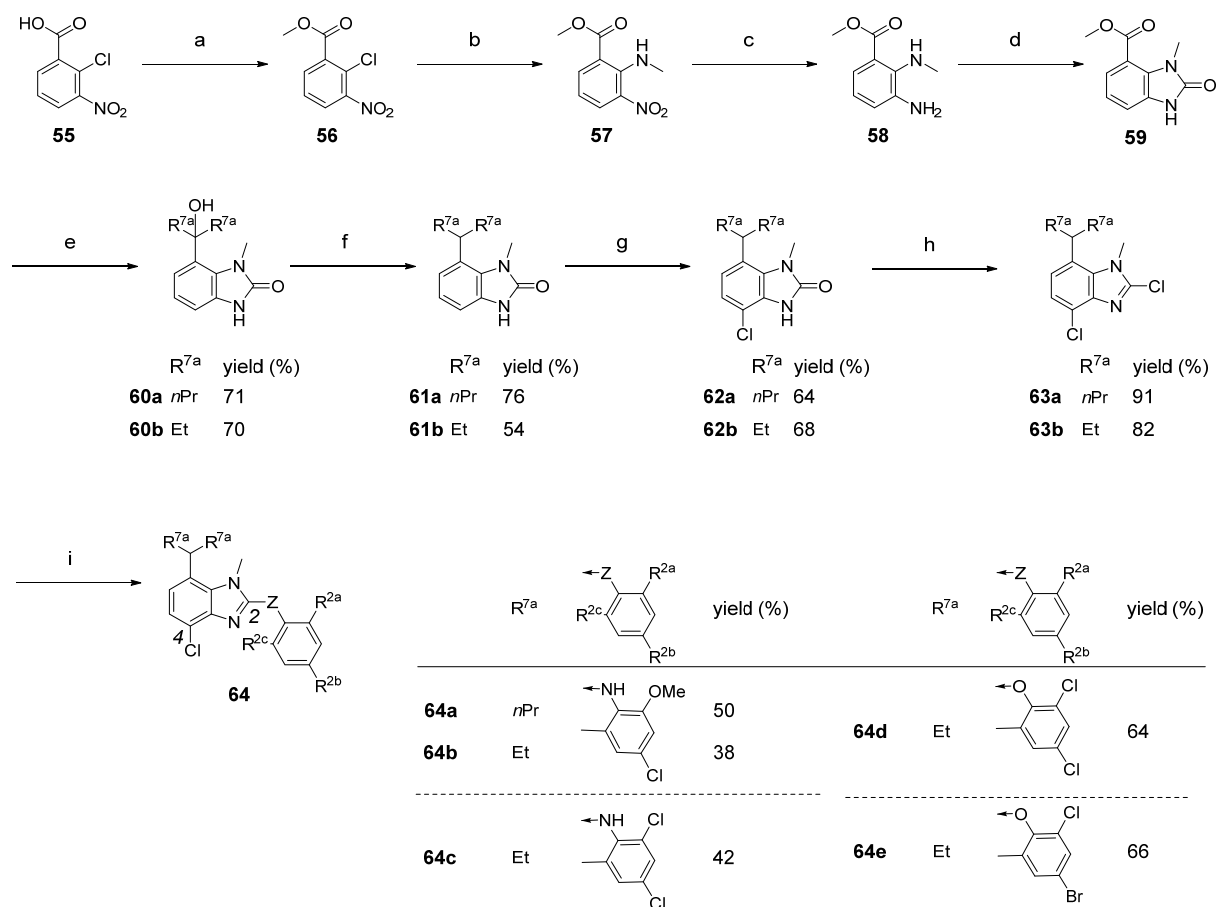
^aReagents and conditions; (a) $LiBH_4$, THF, reflux, 90%; (b) $(COCl)_2$, DMSO, Et_3N , CH_2Cl_2 , $-65^\circ C$, 51%; (c) $MeMgBr$, Et_2O , rt, 31%; (d) $NaOH$ aq, $EtOH$, rt, 93%; (e) $HOBt \cdot NH_3$, EDC, Et_3N , DMF, rt, 52%; (f) $MeNH_2$ or Me_2NH , EDC, $HOBt$, THF, DMF, rt, 70% or 62%, respectively.

市販の安息香酸 **55** から 7-アルキルベンゾイミダゾール **64a-e** の合成について、**Scheme 17** に示した。安息香酸 **55** を塩化オキザリルおよびメタノールを用いてメチルエステル (化合物 **56**) とし、メチルアミンを用いたクロロ基の変換によって定量的な収率で 2-メチルアミノメチルエステル体 **57** を合成した。パラジウム触媒を用いた水素添加により、ニトロ基を還元して良好な収率でジアミノ体 **58** を得、CDI を用いて環構築し、共通中間体であるベンゾイミダゾール **59** とした。エチルマグネシウムブロミドを用いて Grignard 反応を行い、良好な収率で R^{7a} をエチル基とした化合物 **60b** を得た。一方、*n*-プロピルマグネシウムブロミド

を用いた反応では、ジアルキル体 **60a** およびモノアルキル体の混合物を与えた。そこで、*n*-プロピルブロミドおよびリチウムから調製した *n*-プロピルリチウムを求核剤として用いたところ、目的物 **60a** が良好な収率で得られた。次いで、アルコール体 **60a** および **60b** を酸触媒によりオレフィンとし、パラジウム触媒を用いた水素添加反応によって化合物 **61a** および **61b** を得た。ベンゾイミダゾール 4 位への NCS を用いた選択的なクロロ化反応、続くオキシ塩化リンを用いた 2 位でのクロロ化反応によってジクロロ体 **63a** および **63b** へ導いた。最後に、2 位クロロ基をアニリンまたはフェノール誘導体と反応させて目的化合物 **64a-e** を合成した。

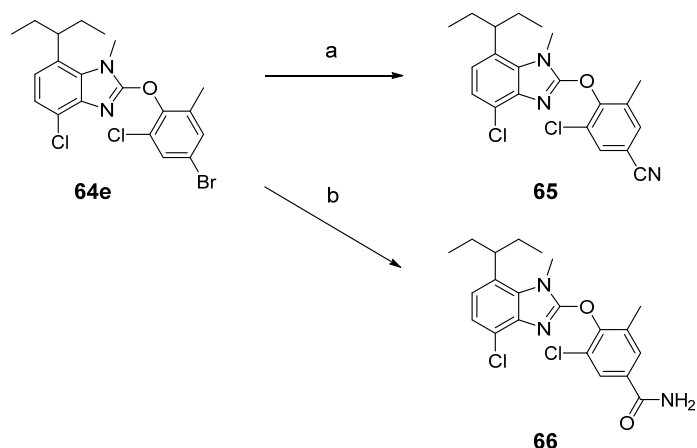
フェノキシ基のパラ位の変換について、**Scheme 18** に示した。化合物 **64e** のブロモ基をシアン化銅 (I) を用いてマイクロウェーブ照射によってシアノ基へ変換した (化合物 **65**)。カルボキサミド誘導体 **66** は、化合物 **64e** のリチオ化、二酸化炭素導入、アンモニアとの縮合を経て合成した。

Scheme 17. 7-アルキルベンゾイミダゾールの合成^a



^aReagents and conditions: (a) i) (COCl)₂, DMF, CH₂Cl₂, rt; ii) MeOH, rt, >99%; (b) MeNH₂, THF, rt, >99%; (c) H₂, Pd-C, MeOH, rt, 99%; (d) CDI, THF, rt to 50°C, 78%; (e) *n*PrBr, Li, Et₂O, THF, -78°C to rt, or EtMgBr, Et₂O, THF, 35–40°C; (f) i) HCl, H₂O, EtOH, 50–70°C; ii) H₂, Pd-C, EtOH, rt; (g) NCS, (AIBN,) CCl₄, 70°C; (h) POCl₃, 90°C; (i) ArNH₂, NMP, 130°C; or ArOH, K₂CO₃, DMF, 100°C.

Scheme 18. 7-アルキルベンゾイミダゾールの2位フェノキシ基上パラ位置換基の変換^a



^aReagents and conditions: (a) CuCN, NMP, 150°C, microwave, 21%; (b) i) *n*BuLi, hexane, THF, -78°C; ii) CO₂, rt; (iii) EDC, HOBt·NH₃, DMF, rt, 23%.

第三節 ベンゾイミダゾール7位変換体の *in vitro* CRF₁受容体結合活性および代謝安定性

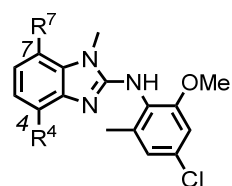
第二節で合成した化合物 **49a-c**, **50**, **52**, **54a-c**, **64a-d**, **65**, **66** のヒト CRF₁ 受容体結合活性およびヒト肝ミクロソームでの代謝安定性について測定した。ヒト CRF₁ 受容体結合活性は第一章記載と同様の方法を用いて行った。代謝安定性についてはクリアランス値で示し、この値が小さいほど安定である。第一節で述べたように、肝ミクロソームにおいてベンゾイミダゾール7位での窒素-炭素結合切断およびアルキル基の酸化が進むことが分かっている。そこで、まず7位での置換基変換に対する効果を検討した。すなわち、窒素-炭素結合切断回避の目的として分岐状アルキル基の導入、酸化代謝回避としてアルキル基上への酸素またはフッ素の導入を行った。結果を表 10 に示す。イソプロピルアシルアミノ誘導体 **49b** はジプロピルアミノ誘導体 **41a** と比較して CRF₁ 受容体結合活性が 10 倍弱くなり、クリアランス値も増加した (217 μL/min/mg)。3-ペンチル基を導入したモノアルキルアミノ誘導体 **49a** ではクリアランス値が 75 μL/min/mg であり、ジプロピルアミノ誘導体 **41a** と比較して代謝安定性が向上したものの、CRF₁ 受容体結合活性がイソプロピルアシルアミノ誘導体 **49b** と同程度に低下した。アルキル基上の酸化を防ぐべく、末端にフッ素を導入した化合物 **49c** ではプロピルアミノ誘導体 **41a** と比較して同等の CRF₁ 受容体結合活性を示したものの、クリアラ

ンス値には全く影響しなかった。極性基を導入した化合物 **49b**, **50**, **52**, **54a-c** の中では、カルボキサミド誘導体 **54a** のクリアランス値がジプロピルアミノ誘導体 **41a** と比較して小さく代謝安定性の向上が認められた。しかしながら、CRF₁ 受容体結合活性は 15 倍減弱した。これらの酸化様化合物は末端の嵩高さと CRF₁ 受容体結合活性が逆相関し、一級アルコール体 **50** の活性が最も強く、*N,N*-ジメチルカルボキサミド体 **54c** が最も弱かった。7 位をアミノ基からアルキル基へ変換した化合物 **64a** では最も強い活性を示し (IC₅₀ 値 : 7.4 nM)、その上代謝クリアランス値が減少した。アルキル基の炭素-炭素結合はジアルキルアミノ基の窒素-炭素結合よりも切断されにくい。化合物 **64a** よりも炭素鎖の短い化合物 **64b** は、対応する鎖数のジアルキルアミノ体 **41e** と比較して活性および代謝安定性共に向上する傾向であった。

第四節 7-アルキルベンゾイミダゾール 7 位変換体の *ex vivo* CRF₁ 受容体結合活性

アルキル誘導体 **64a** および **64b** の脳内移行性を調べる目的で、ラット下垂体、嗅球および前頭葉についての *ex vivo* CRF 結合阻害試験を実施した (表 11)。その結果、20 mg/kg 経口投与 1 時間後の下垂体での CRF₁ 受容体への結合活性は同等であった。一方、3-ペンチル体 **64b** の方が前頭葉においてより強い活性を示した。これらの結果は、両化合物共に経口投与によって生体内で活性を示し、脳内では 3-ペンチル体 **64b** 投与の方が CRF₁ 受容体への結合活性がより高いことを示唆している。したがって、ベンゾイミダゾール 2 位の SAR 研究については、7 位を 3-ペンチル基に固定して行った。

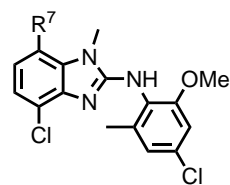
表 10. ヒト CRF₁ 受容体結合活性およびヒト肝ミクロソームにおける代謝安定性に対する 2-アニリノ-4-ハロゲンベンゾイミダゾール誘導体の 7 位の置換基効果



Compound No.	R ⁷	R ⁴	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a	Clearance (μL/min/mg, @ 1 μM) ^b
41a		Cl	9.5 (6.0–15)	182
49a		Cl	110 (87–140)	75
49b		Cl	110 (93–140)	217
49c		Br	18 (9.8–32)	189
50		Br	48 (34–67)	227
52		Br	53 (42–67)	202 ^c
54a		Br	140 (110–170)	155
54b		Br	150 (110–210)	230
54c		Br	270 (220–330)	244
41e		Cl	24 (20–30)	222
64a		Cl	7.4 (4.5–12)	132
64b		Cl	15 (10–21)	198

^aIC₅₀ values and 95% confidence intervals were calculated from the concentration–response curves. ^b*In vitro* metabolic clearance in human hepatic microsomes. ^c40%–70% of the collection rate.

表 11. 7-アルキルベンゾイミダゾールのラット *ex vivo* ^{125}I -CRF 結合阻害活性^a



Compound No.	R ⁷	CRF binding inhibition (%)		
		Pit	OB	FC
64a		61	32	15
64b		69	41	60

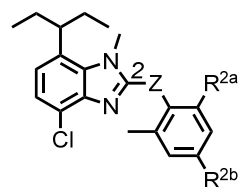
^aThe values represent the average % inhibition of ovine ^{125}I -CRF binding to homogenates of rat pituitary (Pit), olfactory bulb (OB), and frontal cortex (FC). Tissues were collected after decapitating the rats 1 h after oral administration of 20 mg/kg of **64a** and **64b** (n = 3), respectively, and homogenates of each brain tissue were prepared from three brains for each compound.

第五節 7-アルキルベンゾイミダゾール 2 位変換体の *in vitro* CRF₁ 受容体結合活性および代謝安定性

4-クロロ-7- (3-ペンチル) ベンゾイミダゾール誘導体の 2 位の変換を行った結果を表 12 に示す。化合物 **64b** 2 位アニリノ基のオルト位をメトキシ基からクロロ基へ変換することによって、クリアランス値が低下した (化合物 **64c**)。メトキシ基からクロロ基への変換によるクリアランス値の低下は既に報告されており、今回の変換においても適用可能であった。³⁶⁾ また、アニリノ基のフェノキシ基への変換によって、クリアランス値が更に低下した (化合物 **64d** : 87 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$)。さらに、化合物 **64d** は化合物 **64b** と比較して CRF₁ 受容体結合活性も約 4 倍増強した。先述の代謝物予測解析結果 (図 8) より、ベンゾイミダゾール 2 位アニリノ基のパラ位への求核置換が示唆されたため、化合物 **64d** のクロロ基の変換を行った。シアノ基への変換は代謝安定性にほとんど寄与しなかったが (化合物 **65**)、カルボキサミド体 **66** では安定性の向上が認められた。これら安定性向上は、ベンゼン環の電子密度低下による酸化代謝回避への寄与も考えられる。しかしながら、化合物 **66** の CRF₁ 受容体結合活性は化

化合物 **64d** と比較して、5 倍減弱した。

表 12. ヒト CRF₁ 受容体結合活性およびヒト肝ミクロソームにおける代謝安定性に対する 4-クロロ-7-(3-ペンチル) ベンゾイミダゾール誘導体の 2 位の置換基効果



Compound No.	Z	R ^{2a}	R ^{2b}	Binding (IC ₅₀ , nM) ^a	Clearance (μL/min/mg, @ 1 μM) ^b
64b	NH	OMe	Cl	15 (10–21)	198
64c	NH	Cl	Cl	7.9 (5.5–11)	120
64d	O	Cl	Cl	4.1 (2.7–6.1)	87
65	O	Cl	CN	8.6 (5.7–13)	84
66	O	Cl	CONH ₂	22 (17–28)	29

^aIC₅₀ values and 95% confidence intervals were calculated from the concentration–response curves. ^b*In vitro* metabolic clearance in human hepatic microsomes.

以上の SAR 研究の結果より、7-アルキル誘導体は対応する鎖数の 7-アルキルアミノ誘導体と比較して同等の CRF₁ 受容体結合活性を示し、代謝安定性に優れることが分かった。窒素–炭素結合を有する 7-アルキルアミノ誘導体と異なり、炭素–炭素結合のみの 7-アルキル誘導体は窒素–炭素結合切断の懸念が無い。また、ベンゾイミダゾール骨格と 2 位アリアル基とのリンカーである Z の窒素から酸素への変換によって、代謝安定性の向上が認められた。さらに、フェノキシ基パラ位へのカルボキサミド導入によって代謝安定性が向上した。

第六節 7-アルキルベンゾイミダゾールの代謝物予測解析

合成した化合物の中で最も強い活性を示した化合物 **64d** のヒト肝ミクロソームを用いた代謝物予測解析を第一節記載と同様の方法で行った。結果を図 10 に示す。化合物 **41a** において主代謝経路であった窒素–炭素結合切断とは異なり、化合物 **64d** では炭素–炭素切断に

よる代謝物は認められなかった。さらに、フェノキシ基のパラ位における代謝物も認められず、クリアランス値 (87 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$) は化合物 **41a** と比較して低下した。

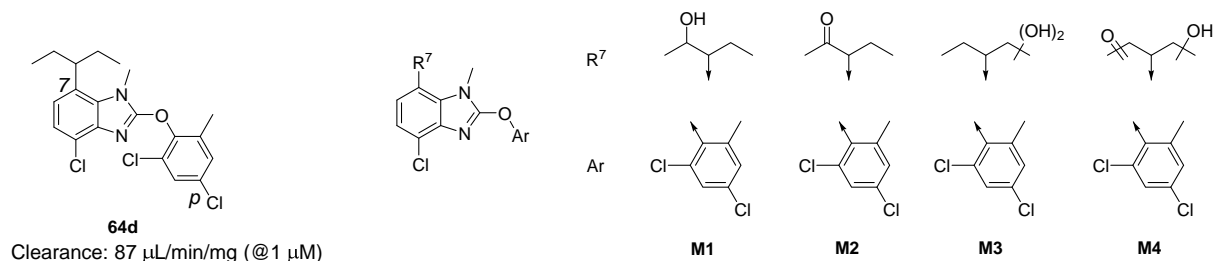


図 10. ヒト肝ミクロソームにおける化合物 **64d** の *in vitro* 代謝物解析^a

^a*In vitro* analysis was carried out in a manner similar to that of compound **41a** (図 8).

第七節 7-アルキルベンゾイミダゾールの生物学的データ

強い *in vitro* CRF₁ 受容体結合活性を有し代謝安定性に優れた化合物 **64d** について、種々の生物学的試験によってそのプロファイルを検討した。

CRF₁ 受容体拮抗活性について、ヒト CRF による *in vitro* cAMP の上昇に対する抑制作用を指標とした。化合物 **64d** は本作用を IC₅₀ 値 44 nM (95% 信頼区間 : 21–90 nM) の強さで抑制したことから、CRF₁ 受容体拮抗活性を示すことが確認された。先述のように、本化合物の CRF₁ 受容体結合活性は IC₅₀ 値 4.1 nM であり、拮抗活性とは約 10 倍解離している。この理由として、結合試験で用いている膜画分と細胞では受容体構造が異なるため、すなわち、結合試験ではグアノシン三リン酸 (GTP) が含まれないことから活性型コンホメーションに平衡がずれているためと考察できる。また、10 μM の濃度においてヒト CRF_{2 α} および CRF_{2 β} に対する結合活性が認められず、CRF₁ 受容体に対して選択性高く拮抗活性を示すことが分かった。加えて、本化合物はラット 1 mg/kg 経口投与において優れた体内動態を示した (area under the concentration-time curve (AUC) po : 94.6 ng·h/ml、bioavailability (BA) : 30.8%)。ラット (10, 30, 1000 mg/kg/day) およびイヌ (3, 10, 400 mg/kg/day) の 13 週間経口投与毒性試験ではヒトへの使用において問題となるような毒性所見はみられなかった。

生体内での CRF₁ 受容体拮抗作用を見積もるべく、リガンドの解離速度と *in vitro* および *in*

vivo 薬効の相関について報告されているが、興味深いことに、CRF₁受容体からの解離速度が遅い化合物ほど薬効の持続が期待できる。³⁷⁻³⁹⁾ すなわち、解離の遅い化合物ほど臨床において薬効を示す薬物と期待できる。化合物 **64d**、R121919 および pexacerfont について、CRF₁受容体とのインキュベーション後の洗浄有無に対する CRF₁受容体結合活性を表 13 に示す。化合物 **64d** および R121919 は洗浄有無に対してほぼ同等の強い活性を示したが、pexacerfont は洗浄前では活性を示すものの洗浄後においては 10 μ M の濃度においても活性を示さなかった。化合物 **64d** および R121919 は pexacerfont よりも CRF₁受容体からの解離が遅いことから、活性がより発現しやすいと考えられる。

表 13. ヒト CRF₁受容体からの解離速度の比較^a

Compound	Washout (IC ₅₀ , nM) ^a	No washout (IC ₅₀ , nM) ^a	Ratio (washout/no washout)
64d	32 (23–45)	22 (12–40)	1.5
R121919	67 (42–110)	17 (9.8–29)	3.9
Pexacerfont	>10000	340 (170–670)	>29

^aIC₅₀ values and 95% confidence intervals were calculated from the concentration–response curves.

化合物 **64d** の脳内移行性を調べるため、ラット経口投与 2 時間後の下垂体、嗅球および前頭葉におけるヒツジ CRF 結合阻害活性を *ex vivo* にて測定した。その結果、2.5, 5, 10 mg/kg の用量において強い CRF 結合阻害活性を示し、十分量の化合物 **64d** の脳内移行が示唆された (図 11)。

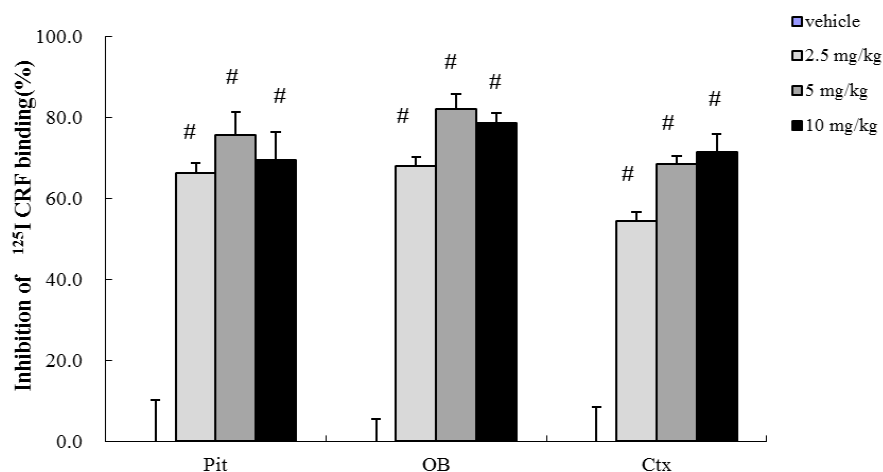


図 11. 化合物 **64d** のラット *ex vivo* ^{125}I -CRF 結合阻害活性^a

^aInhibition of ovine ^{125}I -CRF binding by compound **64d** in homogenates of rat pituitary (Pit), olfactory bulb (OB), and frontal cortex (Ctx). Tissues were collected after decapitation of rats 2 h after oral administration of 2.5, 5, or 10 mg/kg of compound **64d**. Data represent the mean \pm standard error of the mean (SEM) (n = 3). Statistical analysis was performed using the Williams test (#: p < 0.025).

ストレス誘発の HPA 軸亢進に対する化合物 **64d** の抑制作用を血中 ACTH 量を指標として評価した。化合物 **64d** を 1.25–10 mg/kg の用量でラットへ経口投与したところ、強制水泳によるストレス誘発の ACTH の分泌を、対照群と比較して 2.5, 5, 10 mg/kg の用量で用量依存的に有意に抑制した (図 12)。これらの有効用量は、先述の *ex vivo* 試験において CRF₁ 受容体への結合を確認できた用量と同じである。この *in vivo* 評価の結果は、ストレス条件下において化合物 **64d** が CRF₁ 受容体拮抗薬として機能していることを示す。

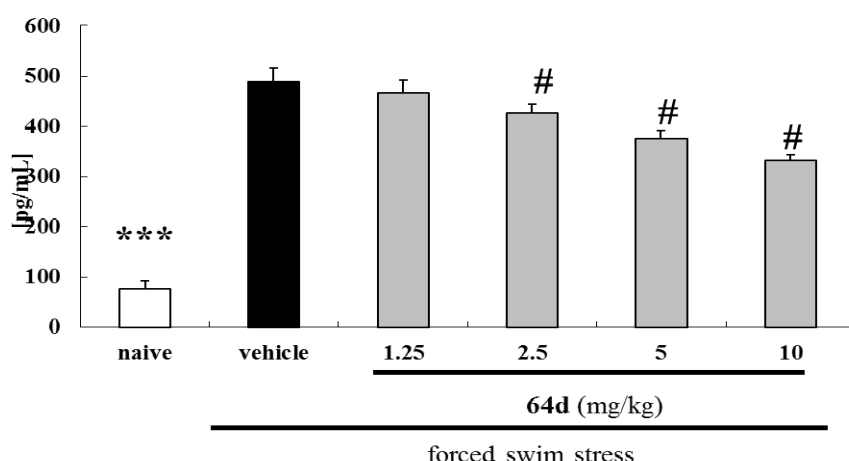


図 12. ラット強制水泳ストレス誘発の ACTH 分泌に対する化合物 **64d** の抑制効果^a

^aCompound **64d** (1.25–10 mg/kg) was orally administered 2 h before the 90-s forced swim stress test. Blood samples were collected by decapitating the rats 5 min after the test was terminated. The results are expressed as the mean ACTH (pg/mL) concentration. Data are indicated as the mean \pm SEM (n = 10–12). #: $p < 0.025$, parametric Williams test, and ***: $p < 0.001$, Student's t-test, compared with vehicle.

第八節 本章のまとめ

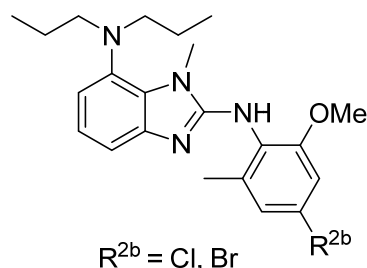
化合物 **41a** よりも代謝安定性の優れた化合物を探索した結果、ベンゾイミダゾール 7 位をアミノ基からアルキル基へ、2 位をアニリノ基からフェノキシ基へ変換した化合物 **64d** を見出した。本化合物は、7-アルキルアミノ体 **41a** と異なり窒素－炭素結合をもたず、*in vitro* 肝ミクロソームを用いた試験において炭素－炭素結合の切断が確認されていない。また、フェノキシ基パラ位への置換体も検出していない。さらに、強い *in vitro* CRF₁ 受容体結合活性および高選択的に CRF₁ 受容体拮抗活性を示すことも判明した。以上の結果より、著者の分子設計が目的に合った妥当性の高いものであったことが示唆された。ラット *ex vivo* 試験結果より化合物 **64d** の良好な経口吸収性が確認され、優れた脳移行性も示唆された。ストレス誘発ラット血中 ACTH 量の上昇を *ex vivo* 試験と同じ有効量で有意に抑制し、*in vivo* においても CRF₁ 受容体拮抗薬としての機能を確認できた。本化合物 **64d** は CRF₁ 受容体からの解離

速度が遅いことも分かり、ストレス性疾患患者に対して効果を示すことのできる CRF₁ 受容体拮抗薬として期待できる。以上、述べてきたように、著者は CRF₁ 受容体拮抗薬としての臨床試験候補化合物の発見に成功した。

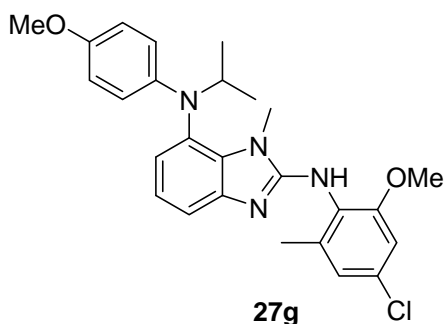
総括

本研究で著者は、コンホメーションが固定されにくく毒性懸念の少ない新規な CRF₁ 受容体拮抗薬の創製を目的に合成研究を行った。そのために、母核から一原子を介して芳香族置換基を有する分子を設計し、細胞障害性の懸念の低いリード化合物創出を最初の目標として研究を開始した。リード化合物創出後、最適化研究を経て CRF₁ 受容体からの解離速度の遅い臨床候補化合物創出を目指すことによって得られた本研究での知見を以下にまとめる。

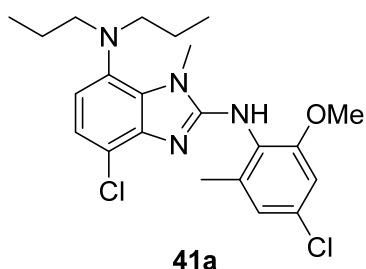
1. 新規 CRF₁ 受容体拮抗薬の創製を目指して、一原子を介して芳香族置換基を有する 6-5 縮合環であるベンゾアゾール骨格を設計した。ベンゾオキサゾール、ベンゾチアゾールおよびベンゾイミダゾール誘導体を合成した結果、1-メチルベンゾイミダゾール誘導体が強い CRF₁ 受容体結合活性を示すことを見出した。本誘導体についての SAR 研究の結果、強い CRF₁ 受容体結合活性 (IC₅₀ 値 12–14 nM) を示し、細胞障害性の懸念の低い *N*⁷,*N*⁷-ジプロピル-*N*²-(4-ブロモ (またはクロロ) -2-メトキシ-6-メチルフェニル) -1-メチル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2,7-ジアミンをリード化合物として見出した。(第一章)



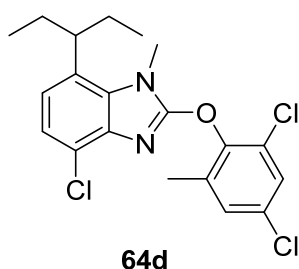
2. リード化合物のベンゾイミダゾール7位アルキル基のうちの1つを多様なアリアル基へ変換した結果、CRF₁ 受容体の高い許容性が示唆された。研究の過程で、2,7-ジアリアルアミノベンゾイミダゾール誘導体の合成法を確立した。代表化合物 **27g** は *in vitro* CRF₁ 受容体拮抗活性およびマウス経口投与 *ex vivo* 試験における脳内での CRF₁ 受容体結合活性を示した。(第二章 第一節)



3. リード化合物のベンゾイミダゾール 4 位が占有する CRF₁ 受容体ポケットの許容性を探索した結果、強い CRF₁ 受容体結合活性を示す化合物 **41a** を見出した (IC₅₀ 値 9.5 nM)。化合物 **41a** は *in vitro* CRF₁ 受容体拮抗活性およびマウス経口投与 *ex vivo* 試験における脳内での CRF₁ 受容体結合活性に加えて、マウスストレス誘発 ACTH の上昇に対して抑制作用を示した。本結果は、*in vivo* において CRF₁ 受容体拮抗活性を有することを支持する結果である。(第二章 第二節)



4. 化合物 **41a** のヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝物予想解析の結果、7 位での脱アルキル化体および 2 位アニリノ基パラ位での酸化体が主代謝物と推定された。本知見を基に構造変換を行った結果、代謝安定性を向上させ、合成化合物の中で最も強い CRF₁ 受容体結合活性を示す化合物 **64d** を創出した (IC₅₀ 値 4.1 nM)。(第三章 第一節～第六節)



5. 化合物 **64d** はラット経口投与2時間後の *ex vivo* 試験において脳内 CRF₁ 受容体結合活性を示した。また、ラット *in vivo* 試験の結果、*ex vivo* 結合試験での有効用量において CRF₁ 受容体拮抗活性を示した。さらに、化合物 **64d** は CRF₁ 受容体からの解離速度が遅いと示唆された。すなわち、本化合物はストレス性疾患患者に対し、脳内 CRF₁ 受容体結合活性に応じて効果を示すことのできる CRF₁ 受容体拮抗薬として期待できる。著者は、新たに設計した分子構造から臨床試験候補化合物の創出に成功した。患者の層別化を的確に行なった臨床試験をデザインできれば、化合物 **64d** は CRF₁ 受容体拮抗作用に基づく新たな抗うつ薬になると期待できる。(第三章 第七節～第八節)

謝辞

本論文の発表及び作成にあたり、終始御懇切なる御指導と御鞭撻を賜りました静岡県立大学薬学研究院教授 浅井章良博士に深く感謝いたします。

本論文の審査にあたり、御指導ならびに御助言を賜りました静岡県立大学薬学研究院教授 眞鍋敬博士、静岡県立大学薬学研究院教授 鈴木隆博士、ならびに静岡県立大学薬学研究院 尾上誠良博士に深謝申し上げます。

本研究の機会を与えてくださいました、元武田薬品工業取締役 大川滋紀博士に深謝申し上げます。

本研究は Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社 研究本部 化学ヘッド 麻生和義博士、元ファーマシューティカル・サイエンス P S A戦略企画・プロマネG主席部員 郡正城博士のご指導のもと行われたものであり、ここに厚くお礼申し上げます。

化合物合成にご協力頂きましたリサーチイノベーション&アントレ主席研究員 小林克己博士、リサーチ中枢疾患創薬ユニットドラッグディスカバリーケミストリー研究所主任研究員 小島拓人氏、元ファーマシューティカル・サイエンスプロセスケミストリー主任研究員 小谷悦郎氏、Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社 研究本部 化学主任研究員 石地雄二博士、リサーチ中枢疾患創薬ユニットドラッグディスカバリーケミストリー研究所主任研究員 高野光功氏、元 Array BioPharma 社 Albert C. Gyorkos 博士、元 Array BioPharma 社 Christopher P. Corrette 博士、元 Array BioPharma 社 Suk Young Cho 博士、元 Array BioPharma 社 Scott A. Pratt 氏に深謝いたします。本研究の薬理試験をご担当頂いた元医薬研究本部中枢疾患創薬ユニット主席研究員 矢野孝彦博士、リサーチ中枢疾患創薬ユニット主任研究員 佐子優氏、リサーチ中枢疾患創薬ユニットリサーチマネジャー 田中麻衣子氏、元リサーチ主席研究員 神崎直之氏、J P B U J M A部MR C Gリスクマネジメント課長代理 中川秀行博士、リサーチ中枢疾患創薬ユニット主任研究員 清水裕二氏に深謝いたします。本研究の薬物動態試験をご担当頂いたリサーチ薬剤安全性研究所リサーチマネジャー 奥田照明博士、リサーチ薬物動態研究所主席研究員 小杉洋平博士に深謝いたします。本研

究の薬物安全性試験をご担当頂いたリサーチ薬剤安全性研究所アソシエイトサイエンティフィックフェロー 栗崎泰行博士に深謝いたします。

本論文の作成にあたり、適切なご助言とご配慮を頂きました元医薬研究本部化学研究所所長 内川治博士、リサーチ中枢創薬ユニットドラッグディスカバリーケミストリー研究所付主席研究員 黒板孝信博士、リサーチ中枢疾患創薬ユニットドラッグディスカバリーケミストリー研究所所長 一川隆史博士、リサーチ中枢疾患創薬ユニットドラッグディスカバリーケミストリー研究所リサーチマネジャー 吉田雅都博士に深謝いたします。

最後に本研究にご協力頂きましたすべての方々に感謝いたします。

実験の部

全ての反応は、市販の原料、試薬および溶媒から開始し、これらはさらに精製することなく使用した。マイクロウェーブを用いた反応はバイオタージ社の Emrys Optimizer を用いて行った。反応追跡は薄層クロマトグラフィー (TLC) または LC/MS 分析を用いた。TLC は、Merck 社の 60 F₂₅₄ プレートまたは富士シリシア社の NH シリカゲルプレートを用いた。LC/MS (ESI+) 分析は、Micromass ZMD、Finnigan LCQ Duo Ion Trap MS、Shimadzu LCMS-2020 または Waters ZQ-2000 を用い、移動相にはアセトニトリル／水を用いた。抽出後の有機相は、硫酸マグネシウムまたは硫酸ナトリウムを用いて乾燥した。クロマトグラフィーによる精製はシリカゲルカラム 60 (0.063-0.2 mm、Merck 社)、塩基性シリカゲル (ChromatorexNH, 100-200 mesh, 富士シリシア社) または Purif-Pack (SI 60 μ M or NH 60 μ M, 富士シリシア社) を用いて行った。分取 HPLC は、YMC ODS-A カラム (50 mm \times 20 mm I.D.) を用い Gilson HPLC システムで 0.1% の TFA を含む水／アセトニトリルを移動相として用いた。塩酸塩は、特記しない限り、対応するフリー体から 4 M 塩化水素／酢酸エチル溶液、10% 塩化水素／メタノール溶液、2 M 塩化水素／ジエチルエーテル溶液、4 M 塩化水素／1,4-ジオキサン溶液のいずれかを使用して調製した。合成した化合物のデータは以下に示す方法で取得した。マスイオンピークは LC/MS 分析により、先述の方法で検出した。¹H 核磁気共鳴スペクトル (NMR) は Varian Mercury 300 (300 MHz)、Bruker DPX (300 MHz) または Varian INOVA-400 (400 MHz) を用いて測定した。化学シフトはテトラメチルシランを内部標準として用い、 δ 値 (ppm) で示した。多重線は以下のように表現した: s, シングレット; d, ダブルレット; t, トリプレット; q, カルテット; quin, クインテット; sxt, セクテット; m, マルチプレット; dd, ダブルダブルレット; br s, ブロードシングレット; br, ブロード。結合定数 (*J* 値) はヘルツ (Hz) で表記した。¹³C NMR は Bruker Avance III 400 (400 MHz) または Bruker Avance II+ 600 (600 MHz) を用いて測定した。化学シフトはテトラメチルシランを内部標準として用い、 δ 値 (ppm) で示した。合成した化合物の純度は元素分析または HPLC 分析によって測定した。元素分析 (Anal. と略す) は武田分析研究所または住化分析センターで実施した。HPLC 分析

は、YMC ODS-AQ (4.6 × 150 mm I.D.) を用い Varian ProStar システムで 1% *i*-PrOH and 10 mM NH₄OAc を含む水／アセトニトリルを移動相として、または L-column2 ODS (3.0 × 50 mm, I.D.) を用い Shimadzu UFLC instrument で 0.1% の TFA を含む水／アセトニトリルを移動相として実施した。融点 (mp) は Büchi 社の融点測定機を用いて測定し、未補正である。

第一章に関する実験

N-Mesityl-7-nitro-1,3-benzoxazol-2-amine (4)

化合物 **2** (0.10 g, 0.65 mmol) と炭酸ナトリウム (0.14 g, 1.3 mmol) のエタノール混合液に (2,4,6-トリメチルフェニル) イソチオシアナート (0.14 g, 0.78 mmol) を加え、終夜で加熱還流した。室温へ冷却後、反応混合物をろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20% 酢酸エチル／ジクロロメタン) により精製し、化合物 **3** を (0.17 g, 80%) を得た。MS Calcd. for C₁₆H₁₈N₃O₃S ([M+H]⁺): 332; Found: 332. 化合物 **3** (0.06 g, 0.18 mmol) とアセトニトリルの混合液に塩化水銀 (II) (0.10 g, 0.36 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチル (2 mL) を加え、セライトろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20% 酢酸エチル／ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **4** を (0.047 g, 90%) を得た。MS Calcd. for C₁₆H₁₆N₃O₃ ([M+H]⁺): 298; Found: 298. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 2.29 (6H, s), 2.32 (3H, s), 6.99 (2H, s), 7.30 (1H, t, *J* = 8.2 Hz), 7.77 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.78 (1H, d, *J* = 8.6 Hz).

*N*²-Mesityl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1,3-benzoxazole-2,7-diamine (1)

化合物 **4** (0.10 g, 0.34 mmol) とメタノール (40 mL) の入ったフラスコにパラジウム炭素 (10%, 0.01 g) を加え、2.5 気圧の水素圧において 1 時間攪拌した。反応混合物をろ過し、ろ液にプロピオンアルデヒド (0.1 mL, 1.7 mmol)、NaBH₃CN (0.1 g, 1.7 mmol) および AcOH (1 mL) を加えた。混合液を終夜攪拌し、酢酸エチルと水を加えた。有機相を乾燥し、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 (5% メタノール／ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 (0.11 g, 90%) を得た。MS Calcd. for C₂₂H₃₀N₃O ([M+H]⁺): 352; Found: 352. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 0.74 (6H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.47–1.53 (4H, m), 2.27 (6H, s), 2.29 (3H, s), 3.18

(4H, t, $J = 7.8$ Hz), 6.34 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.70 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 6.93 (2H, s), 6.98 (1H, t, $J = 8.1$ Hz).

***N*²-Mesityl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1,3-benzothiazole-2,7-diamine (8)**

化合物 **5** (2.25 g, 12.5 mmol)、メシチルアミン (1.4 mL, 10 mmol) およびメタノール (10 mL) の混合液を室温で2時間攪拌した。析出物をろ取し、1-(mesityl)-3-(3-nitrophenyl)thiourea を得た。得られたチオウレア (1.26 g, 4.0 mmol) の酢酸 (20 mL) 混合液に臭素 (0.22 mL, 4.2 mmol) を加え、1時間加熱還流した。冷却後、反応混合物を減圧濃縮した。得られた固体をメタノールに溶解し、不溶物をろ取した。ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (25% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **6** (0.14 g, 11%) を得た。MS Calcd. for C₁₆H₁₆N₃O₂S ([M+H]⁺): 314; Found: 314. 得られた化合物 **6** (1.8 g, 5.7 mmol)、酢酸 (7.2 mL) およびエタノール (25 mL) の混合液に鉄粉 (1.8 g, 32 mmol) を加え、18時間加熱還流した。冷却後、反応混合物をろ過し、ろ液を減圧濃縮した。得られた固体を水に懸濁、ろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (33% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **7** (0.9 g, 55%) を黄褐色固体として得た。MS Calcd. for C₁₆H₁₈N₃S ([M+H]⁺): 284; Found: 284. 得られた化合物 **7** (0.125 g, 0.44 mmol)、プロピオンアルデヒド (0.16 mL, 2.2 mmol) および 1,2-dichloroethane (5 mL) に酢酸 AcOH (one drop) および NaBH(OAc)₃ (0.28 g, 1.3 mmol) を加え、混合物を 50°C で1時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **8** (0.016 g, 10%) を黄褐色固体として得た。MS Calcd. for C₂₂H₃₀N₃S ([M+H]⁺): 368; Found: 368. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 0.73 (6H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.31–1.40 (4H, m), 2.23 (6H, s), 2.26 (3H, s), 2.94–2.98 (4H, m), 6.67 (1H, t, $J = 2.7$ Hz), 6.92 (2H, s), 7.14–7.17 (2H, m).

***N*²-Mesityl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (12)**

化合物 **9** (5.0 g, 33 mmol)、炭酸ナトリウム (10.0 g, 98 mmol) およびエタノールの混合物に (2,4,6-trimethylphenyl)isothiocyanate (5.79 g, 32.6 mmol) を加え、12時間加熱還流した。反応混合物に DIC を加え、48時間加熱還流した。冷却後、反応溶媒を減圧濃縮した。残渣をシリ

カゲルカラムクロマトグラフィー (30% 酢酸エチル/ジクロロメタン) により精製し、化合物 **10** (5 g, 54 %) を得た。MS Calcd. for $C_{16}H_{17}N_4O_2$ ($[M+H]^+$): 297; Found: 297. 化合物 **10** (0.078 g, 0.263 mmol) をメタノールに溶解し、パラジウム炭素 (0.028 g) を加え、水素雰囲気下、室温で 30 分間攪拌した。触媒をろ取り、ろ液を減圧濃縮して化合物 **11** (0.06 g, 86%) を得た。MS Calcd. for $C_{16}H_{19}N_4$ ($[M+H]^+$): 267; Found: 267. 化合物 **11** (0.089 g, 0.334 mmol)、プロピオンアルデヒド (0.097 g, 1.70 mmol) および 5% 酢酸/メタノール混合物を室温で 10 分間攪拌した。反応混合物に $MPBH_3CN$ (Sigma-Aldrich) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物をろ過し、ろ取物を飽和炭酸水素ナトリウムで洗浄後、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30% 酢酸エチル/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **12** のフリー体 (0.05 g, 43%) を得た。フリー体を塩酸塩 (0.02 g, 16%) へ変換した。MS Calcd. for $C_{22}H_{31}N_4$ ($[M+H]^+$): 351; Found: 351. 1H NMR ($DMSO-d_6$, 400 MHz) δ 0.82 (6H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.42 (4H, d, $J = 7.6$ Hz), 2.02–2.23 (6H, m), 2.23–2.38 (3H, m), 3.25 (4H, br s), 6.97 (2H, br s), 7.02–7.25 (3H, m), 9.70 (1H, br s), 12.30 (1H, br s). HPLC : 98% purity.

***N*-Methyl-2,6-dinitroaniline (14a)**

化合物 **13** (200 g, 987 mmol) およびメタノール (300 mL) の混合物にメチルアミン (40%メタノール溶液; 314 mL, 2.96 mol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。溶媒を減圧留去、残渣を酢酸エチルに溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。水相を分離し、酢酸エチルで抽出した。有機相を水および飽和食塩水で洗浄、セライトろ過、乾燥、減圧濃縮して標題化合物 **14a** (192 g, 99%) を黄色固体として得た。 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.89 (3H, d, $J = 5.4$ Hz), 6.76 (1H, t, $J = 8.1$ Hz), 8.18 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.49 (1H, br s).

***N*²-Methylbenzene-1,2,3-triamine (15a)**

化合物 **15a** (12.2 g, 0.122 mmol) パラジウム炭素 (10%, 4.30 g) およびメタノール (450 mL) を水素雰囲気下、室温で 2 時間攪拌した。触媒をろ取り、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (50–100% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **15a** (12.6 g, 75%) を得た。 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.71 (3H, br s), 3.73 (5H, br s), 6.22 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.75 (1H, d, $J = 7.8$ Hz).

4-Bromo-2-methoxy-6-methylaniline (17)

化合物 **16** (25.0 g, 182 mmol)、酢酸 (30 mL) およびメタノール (60 mL) の混合物に臭素 (9.34 mL, 182 mmol) の酢酸 (60 mL) 溶液を氷冷下に加え、室温で2時間攪拌した。沈殿物をろ取、ジエチルエーテルで洗浄後、酢酸エチルに溶解し、炭酸水素ナトリウムで洗浄した。有機相を分離し、水相を酢酸エチルで抽出した。有機相を合わせて飽和食塩水での洗浄、乾燥、減圧濃縮し、標題化合物 **17** (20.7 g, 53%) を茶色固体として得た。MS Calcd. for $C_8H_{11}BrNO$ ($[M+H]^+$): 216; Found: 216. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.14 (3H, s), 3.83 (3H, s), 6.80 (1H, s), 6.84 (1H, s).

(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)isothiocyanate (18)

トリエチルアミン (0.65 mL, 4.63 mmol) およびピリジン (3 mL) の混合物に、二硫化炭素 (0.70 mL, 11.6 mmol) を滴下し、化合物 **17** (1.00 g, 4.63 mmol) のピリジン (5 mL) 溶液を $-10^\circ C$ で加え、 $-10^\circ C$ で1時間攪拌した。反応混合物に DCC (0.955 g, 4.63 mmol) を $-10^\circ C$ で加え、 $-10^\circ C$ で3時間、室温で終夜攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣にヘキサンを加え、超音波分解した。得られた固体をろ取、ろ液を減圧濃縮し、標題化合物 (1.20 g, >99%) を橙固体として得た。 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.32 (3H, s), 3.89 (3H, s), 6.88 (1H, s), 6.95 (1H, s).

1-(3-Amino-2-methylaminophenyl) 3-mesitylthiourea (19a)

化合物 **15a** (0.25 g, 1.82 mmol)、炭酸ナトリウム (0.40 g, 3.7 mmol) およびエタノールの混合物に (2,4,6-trimethylphenyl)isothiocyanate (0.32 g, 1.86 mmol) を加え、加熱還流した。冷却後、溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20% 酢酸エチル/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **19a** (0.34 g, 60%) を得た。MS Calcd. for $C_{17}H_{23}N_4S$ ($[M+H]^+$): 315; Found: 315. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 2.19 (6H, s), 2.26 (3H, s), 3.68 (3H, s), 3.85 (4H, s), 6.20 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.87 (2H, s), 6.95 (1H, t, $J = 8.1$ Hz), 7.07 (1H, s).

1-(3-Amino-2-methylaminophenyl) 3-(4-bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)thiourea (19d)

化合物 **14a** (1.00 g, 5.07 mmol) およびメタノール (40 mL) の混合物に cyclohexene (5 mL, 30.4 mmol) およびパラジウム炭素 (10%, 1.35 g) を加え、3時間加熱還流した。パラジウム炭素

(10%, 0.300 g) を反応混合物に加え、1.5 時間加熱還流した。触媒をろ取することにより除去した。ろ液に炭酸ナトリウム (0.645 g, 6.09 mmol) および化合物 **18** (1.30 g, 5.07 mmol) を加え、2 時間加熱還流した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、シリカゲルを用いてろ過した。ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (35% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **19d** (0.76 g, 38%) を固体として得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 2.12 (3H, s), 3.42 (3H, s), 3.71 (3H, s), 4.68 (4H, br s), 6.05 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.76 (1H, t, *J* = 7.9 Hz), 6.99 (2H, s), 7.62 (1H, br s).

***N*²-Mesityl-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (20a)**

化合物 **19a** (0.25 g, 0.79 mmol) およびアセトニトリルの混合物に、塩化水銀 (II) (0.52 g, 1.6 mmol) を加え、1 時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチルを加え、セライトろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (20% 酢酸エチル/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **20a** (0.12 g, 55 %) を得た。MS Calcd. for C₁₇H₂₁N₄ ([M+H]⁺): 281; Found: 281. ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 2.27 (6H, s), 2.36 (3H, s), 4.13 (3H, s), 7.13 (2H, s), 7.24-7.26 (2H, m), 7.33 (1H, t, *J* = 8.1 Hz).

***N*²-Mesityl-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (21a)**

化合物 **20a** (0.05 g, 0.18 mmol) およびメタノール (5 mL) の混合物に、プロピオンアルデヒド (0.03 mL, 0.54 mmol)、NaBH₃CN (0.03 g, 0.54 mmol) および酢酸 (0.1 mL) を加え、終夜攪拌した。反応混合物に酢酸エチルを加え、水で洗浄、乾燥し、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 (5% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **21a** (0.04 g, 70 %) を得た。MS Calcd. for C₂₃H₃₃N₄ ([M+H]⁺): 365; Found: 365. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 0.85 (6H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.46–1.53 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.28 (3H, s), 2.98 (4H, s), 3.94 (3H, s), 6.86 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.92 (2H, s), 6.99 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 7.20 (1H, s).

1-Isopropyl-*N*²-mesityl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (21b)

化合物 **12** (1.0 g, 4.90 mmol) および THF の混合物にイソプロピルアミン (0.58 g, 9.90 mmol) を加え、12 時間攪拌した。反応混合物にジクロロメタンを加え、グラスフィルターを用いてろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10% 酢酸エチ

ル／ジクロロメタン) により精製し、化合物 **14b** (0.85 g, 77%) を得た。化合物 **14b** (0.90 g, 4.00 mmol) のメタノール溶液にパラジウム炭素 (10%, 0.043 g) を加え、水素雰囲気下、室温で 30 分間攪拌した。パラジウムをろ取り、ろ液を減圧濃縮して化合物 **15b** (0.60 g, 91%) を得た。MS Calcd. for $C_9H_{16}N_3$ ($[M+H]^+$): 166; Found: 166. 化合物 **15b** (0.70 g, 4.2 mmol)、炭酸ナトリウム (1.10 g, 11 mmol) およびエタノール (20 mL) の混合物に (2,4,6-Trimethylphenyl)isothiocyanate (0.75 g, 4.2 mmol) を加え、2 時間加熱還流した。反応混合物に DIC を加え、12 時間加熱還流した。室温冷却後、反応混合物を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、化合物 **20b** (1.0 g, 77%) を得た。MS Calcd. for $C_{19}H_{25}N_4$ ($[M+H]^+$): 309; Found: 309. 化合物 **20b** (0.2 g, 0.65 mmol)、プロピオンアルデヒド (0.15 g, 2.6 mmol) および 5% 酢酸／メタノール (8M solution) の混合物を室温で 10 分間攪拌した。反応混合物に $MPBH_3CN$ を加え、12 時間攪拌した。反応混合物をろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、標題化合物 **21b** (0.15 g, 59%) を得た。MS Calcd. for $C_{25}H_{37}N_4$ ($[M+H]^+$): 393; Found: 393. 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 0.86 (6H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.45–1.55 (4H, m), 1.64 (6H, d, $J = 7.0$ Hz), 2.24 (6H, s), 2.28 (3H, s), 2.90–3.05 (4H, m), 6.57–6.65 (1H, m), 6.89 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.93 (2H, s), 6.98 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.23 (1H, d, $J = 7.8$ Hz). HPLC : 95% purity.

***N*²-Mesityl-1-phenyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (21c)**

化合物 **13** (1.0 g, 4.9 mmol) および THF の混合物にアニリン (0.69 g, 7.4 mmol) を加え、48 時間加熱還流した。冷却後、反応混合物を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10% 酢酸エチル／ジクロロメタン) により精製し、化合物 **14c** (0.9 g, 70%) を得た。化合物 **14c** (0.2 g, 0.77 mmol) およびメタノールの混合物にパラジウム炭素 (0.0082 g) を加え、室温で 30 分間攪拌した。触媒をろ取り、ろ液を減圧濃縮して化合物 **15c** (0.15 g, 98%) を得た。MS Calcd. for $C_{12}H_{14}N_3$ ($[M+H]^+$): 200; Found: 200. 化合物 **16c** (0.178 g, 1.00 mmol)、炭酸ナトリウム (0.27 g, 2.5 mmol) およびエタノール (20 mL) の混合物に (2,4,6-trimethylphenyl)isothiocyanate (0.20 g, 1.00 mmol) を加え、2 時間加熱還流した。反応混合物に DIC (0.127 g, 1.00 mmol) を加え、48 時間加熱還流した。冷却後、反応混合物を減圧濃縮

した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、化合物 **20c** (0.17 g, 45%) を得た。化合物 **20c** (0.05 g, 0.146 mmol) および 5% 酢酸／メタノール (8M solution) の混合物にプロピオンアルデヒド (0.034 g, 0.58 mmol) を加え、室温で 10 分撹拌した。反応混合物に NaBH₃CN (0.028 g, 0.44 mmol) を加え、12 時間撹拌した。反応混合物をろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、標題化合物 **21c** のフリー体を得た。フリー体は塩酸塩 (0.020 g, 30%) へ変換した。MS Calcd. for C₂₈H₃₅N₄ ([M+H]⁺): 427; Found: 427. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 0.56–0.76 (6H, m), 0.99–1.19 (4H, m), 1.96–2.13 (6H, m), 2.17 (3H, s), 2.45 (4H, br s), 6.61 (2H, br s), 6.81–7.04 (2H, m), 7.09 (2H, br s), 7.19–7.30 (4H, m), 7.32 (1H, br s), 13.79 (1H, br s). HPLC : 94% purity.

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷,*N*⁷-dibutyl-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (**21d**)**

化合物 **19d** (0.760 g, 1.92 mmol) およびアセトニトリル (150 mL) の混合物に Et₃N (2.41 mL, 17.3 mmol) および塩化水銀 (II) (0.522 g, 1.92 mmol) を加え、室温で 1 時間撹拌した。反応混合物に塩化水銀 (II) (1.06 g, 3.90 mmol) を加え、室温で 1 時間撹拌した。塩化水銀 (II) (1.33 g, 4.90 mmol) をさらに加え、室温で 1 時間撹拌、塩化水銀 (II) (0.620 g, 2.28 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣に水を加え、酢酸エチルで洗浄した。有機相をシリカゲルろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣にメタノールおよび PSBH₃CN を加えた。不溶物をセライトろ過により除き、ろ液を減圧濃縮し、化合物 **20d** (0.340 g, 49%) を得た。酢酸 (0.1 mL)、*n*-ブチルアルデヒド (0.0399 g, 0.554 mmol) および NaBH(OAc)₃ (0.176 g, 0.830 mmol) の混合物に化合物 **20d** (0.100 g, 0.277 mmol) およびジクロロメタン (10 mL) を加え、55°C で 3 時間撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣に水を加え、炭酸カリウムを用いて塩基性とし、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。得られた標題化合物 **21d** のフリー体を塩酸塩 (0.045 g, 32%) とした。mp: 116–117°C. MS Calcd. for C₂₄H₃₄BrN₄O ([M+H]⁺): 473; Found: 473. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 0.87 (6H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.13–1.37 (4H, m), 1.37–1.53 (4H, m), 2.19 (3H, s), 3.01 (4H, br s), 3.83 (3H, s), 4.04 (3H, s), 6.81–6.97 (2H, m), 6.97–7.13 (2H, m), 7.26 (2H, s). HPLC : 97% purity.

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷,*N*⁷-bis(2-methoxyethyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (21e)**

1,1,2-Trimethoxyethane (0.209 mL, 1.66 mmol) および CDCl₃ の混合液に塩化鉄 (III) (5%, 5.39 g, 1.66 mmol) を加え、室温で数時間攪拌した。不溶物をシリカゲルろ過により除去し、ろ液を 5 mL になるまで減圧濃縮した。化合物 **20d** (0.200 g, 0.554 mmol)、メタノール (10 mL) および酢酸 (1 mL) の混合液に MPBH₃CN (1.15 g, 2.27 mmol) および上記で調製したアルデヒドを加え、室温で終夜攪拌した。再度調製したアルデヒドおよび MPBH₃CN を反応混合物に加え、室温で終夜攪拌した。同じ操作を再度行い、混合物を室温で終夜攪拌した。反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2% 水酸化アンモニウム含有 40% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **21e** (0.048 g, 18%) を得た。mp : 206–208°C. MS Calcd. for C₂₂H₂₉BrN₄O₃ ([M+H]⁺): 477; Found: 477. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 2.19 (3H, s), 3.15–3.30 (6H, m), 3.33 (4H, br s), 3.41 (4H, br s), 3.82 (3H, s), 4.06 (3H, s), 5.85 (1H, s), 6.77–7.00 (2H, m), 7.00–7.09 (2H, m), 7.30 (1H, d, *J* = 7.8 Hz). HPLC : 98% purity.

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-isopropyl-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (21f)**

化合物 **20d** (1.00 g, 2.77 mmol)、アセトン (2.03 mL, 1.61 mmol)、NaBH(OAc)₃ (2.35 g, 11.1 mmol) およびジクロロメタン (20 mL) の混合物を 55°C で 2 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を乾燥し、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 (3% メタノール 含有 50% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **21f** (0.233 g, 21%) を得た。MS Calcd. for C₁₉H₂₄BrN₄O ([M+H]⁺): 403; Found: 403. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 1.19–1.28 (6H, m), 1.95–2.10 (1H, m), 2.16 (3H, s), 3.45–3.61 (1H, m), 3.79 (3H, s), 3.89 (3H, d, *J* = 0.8 Hz), 6.51 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.91 (1H, s), 6.93–7.10 (3 H, m).

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-ethyl-*N*⁷-isopropyl-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (22)**

化合物 **21f** (0.066 g, 0.164 mmol)、アセトアルデヒド (0.101 mL, 1.80 mmol)、NaBH(OAc)₃ (0.10 g, 0.49 mmol)、酢酸 (1 drop) およびジクロロメタン (5 mL) の混合物を 50°C で 2 時間

撈拌した。反応混合物に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を乾燥し、減圧濃縮した。得られたフリー体を塩酸塩に変換し、標題化合物 **22** (0.075 g, 98%) を得た。mp : 177–178°C. MS Calcd. for $C_{21}H_{28}BrN_4O$ ($[M+H]^+$): 431; Found: 431. 1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 0.78–0.98 (3H, m), 0.98–1.06 (3H, m), 1.06–1.35 (3H, m), 2.18–2.39 (3H, m), 3.09 (2H, br s), 3.29–3.43 (1H, m), 3.74–3.93 (3H, m), 4.11 (3H, s), 6.95–7.10 (1H, m), 7.10–7.25 (2H, m), 7.30 (2H, dd, J = 17.8, 1.8 Hz), 10.21 (1H, s), 12.61 (1H, s). HPLC : 98% purity.

7-Amino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**23**)

化合物 **15a** (12.6 g, 91.9 mmol) および THF (260 mL) の混合物に CDI (15.6 g, 96.2 mmol) を加え、室温で 16 時間撈拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣をジクロロメタンで洗淨し、標題化合物 (12.2 g, 81%) を無色粉末として得た。 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 3.50 (3H, br s), 4.84 (2H, s), 6.29 (1H, dd, J = 7.8, 0.9 Hz), 6.34 (1H, dd, J = 7.8, 0.9 Hz), 6.67 (1H, t, J = 8.1 Hz).

7-Dipropylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**24a**)

化合物 **23** (4.90 g, 30.0 mmol) およびメタノール (200 mL) の混合物にプロピオンアルデヒド (21.6 mL, 300 mmol) を加え、室温で 1 時間撈拌した。反応混合物に $NaBH_3CN$ (18.9 g, 300 mmol) および AcOH (5.15 mL) を加え、室温で 48 時間撈拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウムを加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗淨、感蒸し、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 (20–60% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **24a** (5.42 g, 73%) を得た。MS Calcd. for $C_{14}H_{22}N_3O$ ($[M+H]^+$): 248; Found: 248. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84 (6H, t, J = 7.5 Hz), 1.35–1.50 (4H, m), 2.93 (4H, t, J = 7.5 Hz), 3.75 (3H, s), 6.85–7.05 (3H, m), 9.95 (1H, s).

7-Diethylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**24b**)

化合物 **23** (15.7 g, 96.4 mmol)、 $NaBH(OAc)_3$ (102 g, 482 mmol)、酢酸 (22 mL) およびジクロロメタン (450 mL) の混合物にアセトアルデヒド (30.4 mL, 621 mmol) を 0°C で加え、室温で 2 時間撈拌した。反応混合物に冷水を加え、飽和炭酸水素ナトリウムを用いて中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を分離し、飽和食塩水で洗淨、乾燥し、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 (75–100% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化

化合物 **24b** (19.2 g, 91%) を無色固体として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.99 (6H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.03 (4H, q, *J* = 7.2 Hz), 3.58 (3H, br s), 6.88–7.02 (3H, m), 9.96 (1H, s).

2-Chloro-7-dipropylamino-1-methyl-1*H*-benzimidazole (25a)

化合物 **24a** (3.55 g, 14.4 mmol), *N,N*-dimethylaniline (2.7 mL, 21.5 mmol) およびオキシ塩化リン (44 mL) の混合物を 100°C で 4.5 時間撹拌した。室温へ冷却後、オキシ塩化リンを減圧留去した。残渣に氷水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を減圧濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、得られた固体をシリカゲルろ過により除去した。ろ液を減圧濃縮し、標題化合物 (3.62 g, 69%) を油状物として得た。MS Calcd. for C₁₄H₂₁ClN₃ ([M+H]⁺): 266; Found: 266. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.79 (6H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.39 (4H, sxt, *J* = 7.4 Hz), 2.97 (4H, br s), 4.04–4.15 (3H, m), 7.02–7.22 (2H, m), 7.31 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz).

2-Chloro-7-diethylamino-1-methyl-1*H*-benzimidazole (25b)

化合物 **24b** (2.73 g, 12.4 mmol) およびオキシ塩化リン (23 mL) の混合物を 100°C で 4.5 時間撹拌した。室温へ冷却後、オキシ塩化リンを減圧留去した。残渣に飽和炭酸水素ナトリウムを加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (10% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **25b** (1.40 g, 47%) を無色固体として得た。MS Calcd. for C₁₂H₁₇ClN₃ ([M+H]⁺): 238; Found: 238. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.87–1.10 (6H, m), 3.08 (4H, q, *J* = 6.9 Hz), 3.96–4.20 (3H, m), 7.07 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.0 Hz), 7.18 (1H, td, *J* = 7.9, 1.6 Hz), 7.38–7.52 (1H, m).

***N*²-(2,4-Dimethylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine trifluoroacetate (26a)**

化合物 **25a** (0.050 g, 0.188 mmol) および 2,4-dimethylaniline (0.0702 mL, 0.564 mmol) の混合物を 100°C で終夜撹拌した。冷却後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を減圧濃縮した。残渣を HPLC により精製し、化合物 **26a** (0.052 g, 60%) を得た。mp : 90–91°C. MS Calcd. for C₂₂H₃₁N₄ ([M+H]⁺): 351; Found: 351. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.57–0.93 (6H, m), 1.20–1.55 (4H, m), 2.26 (3H, s), 2.36 (3H, s), 3.01 (4H, br s), 4.08 (3H, s), 7.03 (1H, dd, *J* = 7.2, 1.9 Hz), 7.08–7.26 (3H, m), 7.27 (1H, s), 7.34 (1H, d, *J* = 7.9 Hz), 10.23 (1H, br s), 12.49 (1H, br s). Anal.

Calcd for $C_{22}H_{30}N_4 \cdot CF_3CO_2H \cdot 0.5H_2O$: C, 60.87; H, 6.81; N, 11.83. Found: C, 60.58; H, 6.65; N, 11.60.

HPLC : 96% purity.

***N*²-(2,6-Dimethylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine**

trifluoroacetate (26b)

化合物 **26b** (0.039 g, 45%) は、化合物 **25a** (0.050 g, 0.188 mmol) および 2,6-dimethylaniline (0.070 g, 0.579 mmol) を用いて化合物 **26a** と同様の方法で合成した。mp : 100–102°C. MS Calcd. for $C_{22}H_{31}N_4$ ($[M+H]^+$): 351; Found: 351. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.58–0.97 (6H, m), 1.19–1.58 (4H, m), 2.25 (6H, s), 3.01 (4H, br s), 4.12 (3H, s), 7.01 (1H, dd, *J* = 7.2, 1.5 Hz), 7.10–7.24 (2H, m), 7.24–7.44 (3H, m), 10.24 (1H, br s), 12.55 (1H, br s). HPLC: 95% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (26c)**

化合物 **25a** (1.00 g, 3.76 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (1.29 g, 7.52 mmol) の混合物を 70°C で終夜攪拌した。冷却後、反応混合物にヘキサンを加え、不溶物をろ取した。ろ取物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (2% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **26c** (0.150 g, 9.9%) を得た。MS Calcd. for $C_{22}H_{30}ClN_4O$ ($[M+H]^+$): 401; Found: 401. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.82 (6H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.31–1.57 (4H, m), 2.10 (3H, s), 2.95 (4H, br s), 3.75 (3H, s), 3.96 (3H, s), 6.79 (1H, d, *J* = 3.9 Hz), 6.87 (2H, d, *J* = 4.7 Hz), 6.95 (1H, s), 7.00 (1H, s), 7.85 (1H, s).

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (26d)**

化合物 **26d** (0.250 g, 42%) は、化合物 **25a** (0.328 g, 1.23 mmol) および化合物 **17** (0.797 g, 3.69 mmol) を用いて化合物 **26a** と同様の方法で合成した。mp : 133–135°C. MS Calcd. for $C_{22}H_{30}BrN_4O$ ($[M+H]^+$): 445; Found: 445. ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 0.90 (6H, t, *J* = 7.4 Hz), 1.43–1.64 (4H, m), 2.34 (3H, s), 3.08 (4H, br s), 3.84 (3H, s), 4.22 (3H, s), 7.05 (1H, dd, *J* = 6.5, 2.2 Hz), 7.17–7.41 (4H, m). HPLC : 99% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-isopropyl-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (26e)**

化合物 **26e** (0.052 g, 21%) は、化合物 **25a** (0.150 g, 0.564 mmol) および 4-chloro-2-isopropyl-6-methylaniline (0.311 g, 1.69 mmol) を用いて化合物 **26a** と同様の方法で合成した。mp : 137–139°C. MS Calcd. for C₂₄H₃₄ClN₄ ([M+H]⁺): 413; Found: 413. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.84 (6H, t, *J* = 7.4 Hz), 1.13 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.19 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.31–1.67 (4H, m), 2.22 (3H, s), 3.01 (4H, br s), 3.05–3.36 (1H, m), 4.17 (3H, s), 7.01 (1H, dd, *J* = 7.2, 1.9 Hz), 7.09–7.33 (2H, m), 7.41 (2H, s), 10.72 (1H, s), 12.55 (1H, s). HPLC : >99% purity.

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-diethyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine hydrochloride (26f)**

化合物 **26f** (0.620 g, 35%) は、化合物**25b** (1.0 g, 4.21 mmol) および 化合物 **17** (1.82 g, 8.41 mmol) を用いて化合物 **29a** と同様の方法で合成した。mp : 196–197°C. MS Calcd. for C₂₀H₂₆BrN₄O ([M+H]⁺): 417; Found: 417. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.96 (6H, t, *J* = 7.0 Hz), 2.09 (3H, s), 3.03 (4H, q, *J* = 6.7 Hz), 3.69 (1H, d, *J* = 3.5 Hz), 3.75 (3H, s), 3.95 (3H, s), 6.71–6.83 (1H, m), 6.83–6.94 (2H, m), 7.09 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.84 (1H, s).

第二章第一節に関する実験

7-((4-Methoxyphenyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (28a) (entry 2)

化合物 **23** (0.183 g, 1.12 mmol)、*o*-biphenylPCy₂ (0.037 g, 0.11 mmol)、sodium *tert*-butoxide (0.237 g, 2.47 mmol)、tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0.041 g, 0.045 mmol) および THF (6 mL) の混合物に 4-bromoanisole (0.14 mL, 1.12 mmol) を加え、60°C で 18 時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチルを加え、セライトろ過した。ろ液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (97% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、表題化合物 (0.126 g, 42%) を黄褐色粉末として得た。

7-((4-Methoxyphenyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (28a) (entry 3)

化合物 **23** (2.00 g, 12.3 mmol)、X-Phos (0.292 g, 0.613 mmol)、sodium *tert*-butoxide (2.94 g, 30.6

mmol)、tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0.224 g, 0.245 mmol) および 1,4-dioxane (25 mL) の混合物に 4-bromoanisole (1.6 mL, 12.9 mmol) を加え、100°C で2時間攪拌した。反応混合物を水に加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、減圧濃縮した。残渣にジエチルエーテルを加え、表題化合物 **28a** (2.02 g, 61%) を得た。MS Calcd. for C₁₅H₁₆N₃O₂ ([M+H]⁺): 270; Found: 270. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 3.29 (3H, s), 3.66 (3H, s), 6.62 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 6.70–6.83 (4H, m), 6.91 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.30 (1H, s), 10.85 (1H, s).

7-((3-Methoxyphenyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (28b)

化合物 **28b** (0.283 g, 57%) は、3-iodoanisole (0.230 mL, 1.93 mmol) を用いて化合物 **28a** (entry 3) と同様の方法で合成した。固体。¹H NMR (CDCl₃) δ 3.27 (3H, s), 3.65 (3H, s), 6.15–6.19 (2H, m), 6.25–6.28 (1H, m), 6.77–6.84 (2H, m), 6.96 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.02 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.67 (1H, s), 10.93 (1H, s).

1-Methyl-7-((4-(1-methylethyl)oxyphenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (28c)

化合物 **28c** (0.370 g, 22%) は、1-bromo-4-(1-methylethoxy)benzene (0.801 mL, 6.43 mmol) を用いて化合物 **28a** (entry 3) と同様の方法で合成した。固体。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.20 (6H, d, *J* = 6.3 Hz), 3.30 (3H, s), 4.34–4.44 (1H, m), 6.58–6.62 (2H, m), 6.71–6.81 (4H, m), 6.88–6.94 (1H, m), 7.33 (1H, s).

1-Methyl-7-((3-(1-methylethyl)oxyphenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (28d)

化合物 **28d** (0.370 g, 20%) は、1-bromo-3-[(1-methylethyl)oxy]benzene (1.38 g, 6.44 mmol) を用いて化合物 **28a** (entry 3) と同様の方法で合成した。固体。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.29 (6H, d, *J* = 6.4 Hz), 3.49 (3H, s), 4.42–4.52 (1H, m), 5.32 (1H, br s), 6.15–6.17 (1H, m), 6.22–6.27 (1H, m), 6.34–6.39 (1H, m), 6.85–6.90 (1H, m), 6.94–7.12 (3H, m), 9.37 (1H, br s).

7-((4-Chlorophenyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (28e)

化合物 **23** (5.00 g, 30.6 mmol)、*o*-biphenylPCy₂ (0.537 g, 1.53 mmol)、sodium *tert*-butoxide (7.40 g, 2.50 mmol)、tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0.56 g, 0.61 mmol) および 1,4-dioxane (80 mL) の混合物に 4-chlorobromobenzene (6.16 g, 32.2 mmol) を加え、22時間加熱還流した。冷却後、反応混合物を水 (200 mL) に入れ、飽和塩化アンモニウム水溶液を用いて pH 8 とした。得ら

れた不溶物をろ取し、水で洗浄した。得られた固体をエタノールから再結晶し、標題化合物 **28e** (3.69 g, 44 %) を黄褐色結晶として得た。MS Calcd. for $C_{14}H_{13}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 274; Found: 274.

1-Methyl-7-((4-methylsulfonyl)phenylamino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (28f)

化合物 **23** (0.300 g, 1.84 mmol)、S-Phos (0.0377 g, 0.0919 mmol)、sodium *tert*-butoxide (0.350 g, 3.70 mmol)、tris(dibenzylideneacetone)dipalladium (0.170 g, 0.180 mmol) および 1,4-dioxane (0.5 mL) の混合物に 4-bromophenylmethylsulfone (0.520 g, 2.20 mmol) を加え、4 時間加熱還流した。冷却後、反応混合物を水に加え、酢酸エチルおよび酢酸エチル/THF で抽出した。有機相を減圧濃縮した。得られた結晶を酢酸エチルで洗浄し、標題化合物 **28f** (0.357 g, 61%) を結晶として得た。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.09 (3H, s), 3.25 (3H, s), 6.70 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.93 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.02 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.64 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 8.53 (1H, s), 11.01 (1H, s).

1-Methyl-7-((3-methylsulfonyl)phenylamino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (28g)

化合物 **28g** (0.545 g, 65%) は、3-bromophenylmethylsulfone (0.590 g, 1.35 mmol) を用いて化合物 **28f** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 3.13 (3H, s), 3.29 (3H, s), 6.82–6.91 (3H, m), 7.01 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.13 (1H, s), 7.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.38 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 8.23 (1H, s), 11.00 (1H, br s).

4-((1-Methyl-2-oxo-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-7-yl)amino)benzonitrile (28h) (entry 13)

化合物 **28h** (0.036 g, 74%) は、4-iodobenzonitrile (0.051 g, 0.22 mmol) を用いて化合物 **28f** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 3.23 (3H, s), 6.69 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.82 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.93 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.02 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.52 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.55 (1H, s), 11.01 (1H, s).

3-((1-Methyl-2-oxo-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-7-yl)amino)benzonitrile (28i)

化合物 **28i** (0.043 g, 37%) は、化合物 **30** (0.100 g, 0.44 mmol) および 3-aminobenzonitrile (0.062 g, 0.53 mmol) を用いて化合物 **28f** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.45 (3H, s), 5.53 (1H, s), 6.84–6.89 (3H, m), 7.02–7.10 (4H, m), 9.03 (1H, s).

2-Methyl-2-(3-((3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzimidazol-4-yl)amino)phenyl)propanenitrile (28j)

化合物 **28j** (0.930 g, 67%) は、2-(3-bromophenyl)-2-methylpropanenitrile (1.11 g, 4.95 mmol) を用いて化合物 **28a** (entry 3) と同様の方法で合成した。固体。MS Calcd. for C₁₈H₁₉N₄O ([M+H]⁺): 307; Found: 307. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.70 (6H, s), 3.50 (3H, s), 5.47 (1H, s), 6.52 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz), 6.80–6.95 (2H, m), 6.95–7.15 (2H, m), 7.17 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 9.37 (1H, s).

1-Methyl-7-(5-methylpyridin-2-ylamino)-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (28k)

化合物 **28k** (1.29 g, 41%) は、2-bromo-5-methylpyridine (2.21 g, 12.0 mmol) を用いて化合物 **28e** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for C₁₄H₁₅N₄O ([M+H]⁺): 255; Found: 255. ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.13 (3H, s), 3.32 (3H, s), 6.44 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.75–6.90 (2H, m), 6.90–7.00 (1H, m), 7.33 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.83 (1H, s), 8.20 (1H, s), 10.88 (1H, s).

7-((6-Methoxypyridin-3-yl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (28l)

化合物 **28l** (0.525 g, 32%) は、5-bromo-2-methoxypyridine (0.833 mL, 6.43 mmol) を用いて化合物 **28a** (entry 3) と同様の方法で合成した。固体。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 3.34 (3H, s), 3.76 (3H, s), 6.67–6.72 (2H, m), 6.77 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 6.92 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.10–7.13 (1H, m), 7.43 (1H, s), 7.60–7.61 (1H, m), 10.92 (1H, br s).

7-Anilino-1-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (28m)

化合物 **28m** (0.402 g, 64%) は、化合物 **30** (0.600 g, 2.64 mmol) およびアニリン (0.253 mL, 2.77 mmol) を用いて化合物 **28a** (entry 3) と同様の方法で合成した。MS Calcd. for C₁₄H₁₄N₃O ([M+H]⁺): 240; Found: 240. ¹H NMR (CDCl₃) δ 3.48 (3H, s), 5.35 (1H, s), 6.64–6.67 (2H, m), 6.83 (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 6.85–6.89 (1H, m), 6.97 (1H, t, *J* = 6.6 Hz), 7.03 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.17–7.23 (2H, m), 9.23 (1H, br s).

7-Bromo-1-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (30)

化合物 **23** (6.10 g, 37.4 mmol)、臭化銅 (4.20 g, 19.0 mmol) および DMF (30 mL) の混合物に *tert*-butyl nitrite (5.43 mL, 41.1 mmol) を 0°C で加え、室温で 8 時間攪拌した。反応混合物をセライトろ過し、ろ液を酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄し、減圧濃縮した。

得られた固体をエタノール／ジエチルエーテル洗浄し、化合物 **30** (3.53 g, 42%) 得た。¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 3.56 (3H, s), 6.91 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 6.98 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.15 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 11.17 (1H, s).

4-((2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)amino)benzonitrile (31d)

化合物 **28h** (0.137 g, 0.518 mmol) およびオキシ塩化リン (1.5 mL) の混合物を3時間加熱還流した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣を飽和炭酸ナトリウム水溶液で中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄し、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 (25% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **31d** (0.066 g, 45%) を得た。MS Calcd. for C₁₅H₁₂ClN₄ ([M+H]⁺): 283; Found: 283. ¹H NMR (CDCl₃) δ 3.79 (3H, s), 5.97 (1H, s), 6.62 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.09 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.28 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.46 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.66 (1H, d, *J* = 7.8 Hz).

2-Chloro-1-methyl-*N*-phenyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (31a)

化合物 **31a** (0.138 g, 32%) は、化合物 **28m** (0.400 g, 1.67 mmol) を用いて化合物 **31d** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for C₁₄H₁₃ClN₃ ([M+H]⁺): 258; Found: 258. ¹H NMR (CDCl₃) δ 3.81 (3H, s), 5.20 (1H, br s), 6.61–6.65 (2H, m), 6.82–6.87 (1H, m), 7.04 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.16–7.25 (3H, m), 7.57 (1H, t, *J* = 7.5 Hz).

2-Chloro-*N*-(3-methoxyphenyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (31b)

化合物 **31b** (0.336 g, 44%) は、化合物 **28b** (0.715 g, 2.66 mmol) を用いて化合物 **31d** と同様の方法で合成した。油状物。¹H NMR (CDCl₃) δ 3.73 (3H, s), 3.82 (3H, s), 5.48 (1H, br s), 6.15–6.17 (1H, m), 6.21–6.24 (1H, m), 6.38–6.42 (1H, m), 7.03–7.13 (2H, m), 7.22 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.57–7.60 (1H, m).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(3-(1-methylethyl)oxyphenyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (31c)

化合物 **31c** (0.180 g, 58%) は、化合物 **28d** (0.295 g, 0.992 mmol) を用いて化合物 **31d** と同様の方法で合成した。油状物。¹H NMR (CDCl₃) δ 1.27 (6H, d, *J* = 6.0 Hz), 3.82 (3H, s), 4.39–4.49 (1H, m), 5.43 (1H, br s), 6.12–6.14 (1H, m), 6.19–6.22 (1H, m), 6.37–6.40 (1H, m), 7.03–7.11 (2H, m), 7.22 (1H, t, *J* = 8.4 Hz), 7.56–7.59 (1H, m).

3-((2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)amino)benzonitrile (31e)

化合物 **31e** (0.557 g, 38%) は、化合物 **28i** (1.38 g, 5.22 mmol) を用いて化合物 **31d** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{15}H_{12}ClN_4$ ($[M+H]^+$): 283; Found: 283. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.83 (3H, s), 5.76 (1H, s), 6.83–6.86 (2H, m), 7.07–7.12 (2H, m), 7.26–7.30 (2H, m), 7.65 (1H, dd, $J = 8.0, 0.8$ Hz).

2-(3-((2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)amino)phenyl)-2-methylpropanenitrile (31f)

化合物 **31f** (0.789 g, 81%) は、化合物 **28j** (0.920 g, 3.00 mmol) を用いて化合物 **31d** と同様の方法で合成した。油状物。MS Calcd. for $C_{18}H_{18}ClN_4$ ($[M+H]^+$): 325; Found: 325. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.69 (6H, s), 3.83 (3H, s), 5.58 (1H, s), 6.46 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz), 6.85–6.95 (1H, m), 7.00–7.12 (2H, m), 7.16 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.20–7.30 (1H, m), 7.59 (1H, d, $J = 8.1$ Hz).

2-Chloro-*N*-(6-methoxypyridin-3-yl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (31g)

化合物 **31g** (0.228 g, 41%) は、化合物 **28l** (0.520 g, 1.92 mmol) を用いて化合物 **31d** と同様の方法で合成した。油状物。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.86 (3H, s), 3.88 (3H, s), 5.45 (1H, br s), 6.63–6.66 (1H, m), 6.93–6.95 (1H, m), 7.01–7.05 (1H, m), 7.17 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 7.47–7.50 (1H, m), 7.64–7.65 (1H, m).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-*N*-phenyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (32a)

化合物 **31a** (0.130 g, 0.504 mmol) および DMF (2.5 mL) の混合物に水素化ナトリウム (60% dispersion in oil; 0.202 g, 5.04 mmol) を $0^\circ C$ で加え、室温で 5 分間攪拌した。反応混合物に 2-iodopropane (0.504 mL, 5.04 mmol) を $0^\circ C$ で加え、室温で 15 分間攪拌した。反応混合物を水に加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を水および飽和食塩水で洗浄し、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 (20% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **32a** (0.128 g, 85%) を油状物として得た。MS Calcd. for $C_{17}H_{19}ClN_3$ ($[M+H]^+$): 300; Found: 300. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.96 (3H, br s), 1.40 (3H, br s), 3.63 (3H, s), 4.35–4.44 (1H, m), 6.49 (2H, dd, $J = 8.7, 0.9$ Hz), 6.68–6.73 (1H, m), 7.05 (1H, dd, $J = 7.5, 0.9$ Hz), 7.13–7.18 (2H, m), 7.30 (1H, t, $J = 8.1$ Hz), 7.69 (1H, dd, $J = 8.1, 0.9$ Hz).

2-Chloro-*N*-(3-methoxyphenyl)-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32b)

化合物 **32b** (0.368 g, 70%) は、化合物 **31b** (0.336 g, 1.17 mmol) を用いて化合物 **32a** と同様の方法で合成した。油状物。¹H NMR (CDCl₃) δ 0.83–0.94 (3H, m), 1.36–1.44 (3H, m), 3.64 (3H, s), 3.71 (3H, s), 4.26–4.39 (1H, m), 6.06–6.12 (2H, m), 6.26–6.29 (1H, m), 7.01–7.15 (2H, m), 7.28 (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 7.67 (1H, d, *J* = 6.9 Hz).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-*N*-(3-(1-methylethyl)oxyphenyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32c)

化合物 **32c** (0.0690 g, 66%) は、化合物 **31c** (0.0930 g, 0.294 mmol) を用いて化合物 **32a** と同様の方法で合成した。油状物。¹H NMR (CDCl₃) δ 0.93 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.27 (6H, d, *J* = 6.0 Hz), 1.40 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.65 (3H, s), 4.30–4.40 (1H, m), 4.37–4.47 (1H, m), 6.01–6.06 (2H, m), 6.25–6.28 (1H, m), 7.00–7.06 (2H, m), 7.28 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.66–7.69 (1H, m).

4-((2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzonitrile (32d)

化合物 **31d** (0.064 g, 0.226 mmol)、tetrabutylammonium iodide (0.0084 g, 0.023 mmol)、水素化ナトリウム (90% dry; 0.0181 g, 0.679 mmol) および DMF (0.5 mL) の混合物に 2-bromopropane (0.0723 mL, 0.679 mmol) を加え、室温で 12 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄し、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 (50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **32d** (0.064 g, 87%) を得た。MS Calcd. for C₁₈H₁₈ClN₄ ([M+H]⁺): 325; Found: 325. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.96 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.43 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.58 (3H, s), 4.30–4.43 (1H, m), 6.49 (2H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.02 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.34 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.42 (2H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz).

3-((2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzonitrile (32e)

化合物 **32e** (0.480 g, 75%) は、化合物 **31e** (0.556 g, 1.97 mmol) を用いて化合物 **32d** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for C₁₈H₁₈ClN₄ ([M+H]⁺): 325; Found : 325. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.97 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 1.41 (3H, d, *J* = 6.4 Hz), 3.61 (3H, s), 4.30–4.38 (1H, m), 6.62 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.78 (1H, s), 6.98 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.01 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.20 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.33 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.74 (1H, d, *J* = 8.0 Hz).

2-(3-((2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)phenyl)-2-methylpropane nitrile (32f)

化合物 **32f** (0.520 g, 59%) は、化合物 **31f** (0.780 g, 2.13 mmol) を用いて化合物 **32a** と同様の方法で合成した。固体。mp : 105–106°C. MS Calcd. for C₂₁H₂₄ClN₄ ([M+H]⁺): 367; Found: 367. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.97 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 1.42 (3H, d, *J* = 7.2 Hz), 1.66 (6H, s), 3.64 (3H, s), 4.35–4.50 (1H, m), 6.24 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 6.76 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 6.78 (1H, s), 7.05 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.10 (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 7.31 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.70 (1H, d, *J* = 8.0 Hz).

2-Chloro-*N*-(6-methoxypyridin-3-yl)-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32g)

化合物 **32g** (0.221 g, 90%) は、化合物 **31g** (0.228 g, 0.790 mmol) を用いて化合物 **32a** と同様の方法で合成した。油状物。¹H NMR (CDCl₃) δ 0.98–1.43 (6H, m), 3.72 (3H, s), 3.85 (3H, s), 4.24–4.34 (1H, m), 6.58 (1H, dd, *J* = 9.0, 0.9 Hz), 6.79 (1H, dd, *J* = 9.0, 3.3 Hz), 7.05 (1H, dd, *J* = 7.5, 0.9 Hz), 7.28 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 7.53 (1H, d, *J* = 3.3 Hz), 7.67 (1H, dd, *J* = 7.5, 0.9 Hz).

4-((4-Chlorophenyl)amino)-1-(4-methoxybenzyl)-3-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (35a)

化合物 **28e** (0.270 g, 1.00 mmol)、4-methoxybenzyl chloride (0.17 mL, 1.20 mmol)、炭酸カリウム (0.210 g, 1.50 mmol) および DMF (1 mL) の混合物を 70°C で 100 分間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、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 (15% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **35a** (0.39 g, >99%) を粉末として得た。MS Calcd. for C₂₂H₂₁ClN₃O₂ ([M+H]⁺): 394; Found: 394. ¹H NMR (CDCl₃) δ 3.49 (3H, s), 3.78 (3H, s), 5.02 (2H, s), 5.30 (1H, s), 6.56 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.80–6.95 (4H, m), 6.97 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.13 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.30 (2H, d, *J* = 8.0 Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-4-((4-methoxyphenyl)amino)-3-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (35b)

化合物 **28a** (1.53 g, 5.68 mmol)、4-methoxybenzyl chloride (0.924 mL, 6.82 mmol)、炭酸カリウム (1.57 g, 11.4 mmol)、tetrabutylammonium iodide (0.0315 mg, 0.085 mmol) および DMF (20 mL)

の混合物を室温で24時間攪拌した。反応混合物を水に加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を水で洗浄し、減圧濃縮した。残渣をジエチルエーテルから粉末化し、標題化合物 **35b** (2.10 g, 95%) を粉末として得た。MS Calcd. for $C_{23}H_{24}N_3O_3$ ($[M+H]^+$): 390; Found: 390. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.53 (3H, s), 3.75 (3H, s), 3.77 (3H, s), 5.01 (2H, s), 5.20 (1H, br s), 6.64–6.68 (2H, m), 6.71–6.70 (4H, m), 6.84–6.95 (3H, m), 7.28–7.31 (2H, m).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-((4-(1-methylethyl)oxyphenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (35c)

化合物 **35c** (0.860 g, 67%) は、化合物 **28c** (0.920 g, 3.09 mmol) を用いて化合物 **35b** と同様の方法で合成した。固体。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.29 (6H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.53 (3H, s), 3.76 (3H, s), 4.34–4.46 (1H, m), 5.01 (2H, s), 5.19 (1H, br s), 6.62–6.66 (2H, m), 6.71–6.95 (7H, m), 7.28–7.31 (2H, m).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-(((4-methylsulfonyl)phenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (35d)

化合物 **35d** (0.595 g, 49%) は、化合物 **28f** (0.887 g, 2.80 mmol) から化合物 **35b** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.00 (3H, s), 3.47 (3H, s), 3.77 (3H, s), 5.01 (2H, s), 6.31 (1H, s), 6.69 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.84–6.89 (4H, m), 7.01 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.29 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.69 (2H, d, $J = 8.8$ Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-(((3-methylsulfonyl)phenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (35e)

化合物 **35e** (0.980 g, 71%) は、化合物 **28g** (1.00 g, 3.15 mmol) から化合物 **35b** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.03 (3H, s), 3.50 (3H, s), 3.78 (3H, s), 5.03 (2H, s), 5.63 (1H, s), 6.81–6.87 (5H, m), 7.00 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.29–7.35 (5H, m).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-(5-methylpyridin-2-ylamino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (35f)

化合物 **35f** (1.60 g, 87%) は、化合物 **28k** (1.25 g, 4.92 mmol) から化合物 **35b** と同様の方法で合成した。油状物。MS Calcd. for $C_{22}H_{23}N_4O_2$ ($[M+H]^+$): 375; Found: 375. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.21

(3H, s), 3.52 (3H, s), 3.78 (3H, s), 5.02 (2H, s), 6.22 (1H, s), 6.28 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.80–6.90 (2H, m), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.98 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.30 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.25–7.35 (1H, m), 7.98 (1H, s).

4-((4-Chlorophenyl)(1-methylethyl)amino)-1-(4-methoxybenzyl)-3-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36a)

化合物 **35a** (0.118 g, 0.30 mmol)、2-bromopropane (0.056 mL, 0.60 mmol)、tetrabutylammonium iodide (one spatula) および DMF (2 mL) の混合物に水素化ナトリウム (90% dry; 0.016 g, 0.60 mmol) を加え、60°C で 6 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た。有機相を水で洗浄し、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 (20–33 % 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **36a** (0.0806 g, 62%) を油状物として得た。MS Calcd. for $C_{25}H_{27}ClN_3O_2$ ($[M+H]^+$): 436; Found: 436. 1H NMR($CDCl_3$) δ 0.96 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.33 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.30 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.20–4.35 (1H, m), 5.02 (2H, s), 6.40 (2H, d, $J = 9.2$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.92 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.05 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.09 (2H, d, $J = 9.2$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.4$ Hz).

4-((4-Chlorophenyl)(2,2-dimethylpropyl)amino)-1-(4-methoxybenzyl)-3-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36g)

化合物 **35a** (0.118 g, 0.300 mmol)、neopentyl iodide (0.119 g, 0.600 mmol) および DMF (3 mL) の混合物に水素化ナトリウム (90% dry; 0.016 g, 0.600 mmol) を加え、60°C で 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た。有機相を水で洗浄し、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 (20% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **36g** (0.045 g, 32%) を得た。MS Calcd. for $C_{27}H_{31}ClN_3O_2$ ($[M+H]^+$): 464; Found: 464. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.95 (9H, s), 3.28 (3H, s), 3.37 (1H, d, $J = 14.8$ Hz), 3.79–3.82 (4H, m), 4.95–5.10 (2H, m), 6.52 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.80–6.90 (3H, m), 6.95–7.05 (2H, m), 7.05 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.31 (2H, d, $J = 8.4$ Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-4-(4-(methoxyphenyl)(1-methylethyl)amino)-3-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36b)

化合物 **36b** (1.80 g, 80%) は、化合物 **35b** (2.02 g, 1.35 mmol) および 2-iodopropane (7.18 mL) から化合物 **36g** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{26}H_{30}N_3O_3$ ($[M+H]^+$): 432; Found: 432. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.80–1.30 (6H, m), 3.36 (3H, s), 3.73 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.20–4.35 (1H, m), 5.02 (2H, s), 6.46 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.75 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.80 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.85–6.95 (3H, m), 7.01 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.8$ Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-((1-methylethyl)(4-(1-methylethyl)oxyphenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36c)

化合物 **36c** (0.674 g, 71%) は、化合物 **35c** (0.860 g, 2.06 mmol) および 2-iodopropane (2.06 mL, 20.6 mmol) から化合物 **36g** と同様の方法で合成した。固体。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.04–1.33 (6H, m), 1.27 (6H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.35 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.19–4.29 (1H, m), 4.29–4.39 (1H, m), 5.02 (2H, s), 6.41–6.45 (2H, m), 6.70–6.76 (2H, m), 6.79–6.82 (1H, m), 6.85–6.89 (3H, m), 7.00 (1H, t, $J = 7.5$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.7$ Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-((1-methylethyl)(4-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36d)

化合物 **36d** (0.545 g, 84%) は、化合物 **35d** (0.590 g, 1.35 mmol) から化合物 **36a** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.99 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.26 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 3.01 (3H, s), 3.25 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.32–4.39 (1H, m), 5.01 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 5.06 (1H, d, $J = 15.4$ Hz), 6.56 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.84–6.89 (2H, m), 6.98 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.08 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.68 (2H, d, $J = 8.8$ Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-((1-methylethyl)(3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36e)

化合物 **36e** (0.782 g, 73%) は、化合物 **35e** (0.977 g, 2.23 mmol) から化合物 **36a** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.98 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 1.37 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 3.03 (3H, s), 3.28 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.34–4.39 (1H, m), 5.04 (2H, s), 6.57 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz),

6.89 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 6.96 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.06 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.18–7.29 (3H, m), 7.32 (2H, d, $J = 8.6$ Hz).

1-(4-Methoxybenzyl)-3-methyl-4-((1-methylethyl)(5-methylpyridin-2-yl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36f)

化合物 **36f** (0.254 g, 74%) は、化合物 **35f** (0.310 g, 0.828 mmol) および 2-bromopropane (1.31 mL, 1.66 mmol) から化合物 **36g** と同様の方法で合成した。油状物。MS Calcd. for $C_{25}H_{29}N_4O_2$ ($[M+H]^+$): 417; Found: 417. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.94 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.35 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.17 (3H, s), 3.27 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.95–5.10 (1H, m), 5.02 (2H, s), 5.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.93 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.06 (1H, t, $J = 8.4$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.04 (1H, s).

N-(4-Chlorophenyl)-N-(1-(4-methoxybenzyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-4-yl)acetamide (36h)

化合物 **35a** (0.393 g, 1.00 mmol)、ピリジン (0.1 mL) および無水酢酸 (10 mL) の混合物を 120°C で 4 日間撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、飽和炭酸ナトリウムで洗浄し、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 (40–50% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **36h** (0.388 g, 89%) を油状物として得た。MS Calcd. for $C_{24}H_{23}ClN_3O_3$ ($[M+H]^+$): 436; Found: 436. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.05 (3H, s), 3.47 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.99 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 5.05 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 6.87 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.80–6.90 (1H, m), 6.90–7.10 (2H, m), 7.31 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.20–7.40 (4H, m).

4-((4-Chlorophenyl)(2-methoxyethyl)amino)-1-(4-methoxybenzyl)-3-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36i)

化合物 **36i** (0.560 g, 81%) は、化合物 **35a** (0.601 g, 1.53 mmol) および 2-bromoethyl methyl ether (0.215 mL, 2.29 mmol) から化合物 **36a** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{25}H_{27}ClN_3O_3$ ($[M+H]^+$): 452; Found: 452. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.29 (6H, s), 3.55–3.65 (2H, m), 3.79 (3H, s), 3.70–4.00 (2H, m), 4.95–5.10 (2H, m), 6.49 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.80–6.95 (4H, m), 7.04 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.10 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.4$ Hz).

4-((4-Chlorophenyl)(tetrahydrofuran-3-ylmethyl)amino)-1-(4-methoxybenzyl)-3-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (36j)

化合物 **36j** (0.220 g, 60%) は、化合物 **35a** (0.300 g, 0.762 mmol) および (tetrahydrofuran-3-yl)methyl methanesulfonate (0.310 g, 1.50 mmol) から化合物 **36a** と同様の方法で合成した。油状物。MS Calcd. for $C_{27}H_{29}ClN_3O_3$ ($[M+H]^+$): 478; Found: 478. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.50–1.65 (1H, m), 1.95–2.10 (1H, m), 2.60–2.75 (1H, m), 3.26 (3H, s), 3.20–3.60 (2H, m), 3.79 (3H, s), 3.65–3.95 (4H, m), 4.95–5.10 (2H, m), 6.48 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.80–6.95 (4H, m), 7.02 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.11 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.32 (2H, d, $J = 8.8$ Hz).

7-((4-Methoxyphenyl)(1-methylethyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37b)

化合物 **36b** (1.80 g, 4.17 mmol) および TFA (45 mL) の混合物を 65°C で4日間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、飽和炭酸水素ナトリウムおよび水で洗浄し、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 (50% 酢酸エチル/ヘキサン) および HPLC 精製により、標題化合物 **37b** (0.408 g, 31%) を油状物として得た。MS Calcd. for $C_{18}H_{22}N_3O_2$ ($[M+H]^+$): 312; Found: 312. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.90–1.20 (6H, br), 3.33 (3H, s), 3.73 (3H, s), 4.23–4.28 (1H, m), 6.47–6.69 (2H, m), 6.75–6.80 (3H, m), 6.71–7.07 (2H, m), 8.94 (1H, s).

7-((4-Chlorophenyl)(1-methylethyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37a)

化合物 **37a** (0.558 g, 88%) は、化合物 **36a** (0.880 g, 2.03 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。油状物。MS Calcd. for $C_{17}H_{19}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 316; Found: 316. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.98 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 1.36 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 3.28 (3H, s), 4.20–4.35 (1H, m), 6.43 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.78–6.85 (1H, m), 7.05–7.20 (4H, m), 9.09 (1H, s).

1-Methyl-7-((1-methylethyl)(4-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37d)

化合物 **37d** (0.333 g, 75%) は、化合物 **36d** (0.590 g, 1.23 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.98 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 1.41 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 3.01 (3H, s), 3.21 (3H, s), 4.33–4.39 (1H, m), 6.56 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.80–6.83 (1H, m), 7.14–7.26 (2H, m), 7.69 (2H, d,

$J = 8.8$ Hz), 9.67 (1H, s).

1-Methyl-7-((1-methylethyl)(5-methylpyridin-2-yl)amino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37f)

化合物 **37f** (0.070 g, 39%) は、化合物 **36f** (0.250 g, 0.600 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{17}H_{21}N_4O$ ($[M+H]^+$): 297; Found: 297. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.96 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.37 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.16 (3H, s), 3.26 (3H, s), 5.00–5.15 (1H, m), 5.90 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.87 (1H, t, $J = 4.0$ Hz), 7.00–7.15 (3H, m), 8.06 (1H, s), 9.58 (1H, s).

7-((4-Chlorophenyl)(2,2-dimethylpropyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37g)

化合物 **37g** (0.052 g, 80%) は、化合物 **36g** (0.088 g, 0.190 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{19}H_{23}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 344; Found: 344. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.96 (9H, s), 3.25 (3H, s), 3.40 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 3.83 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 6.54 (2H, d, $J = 8.2$ Hz), 6.96 (1H, d, $J = 6.0$ Hz), 7.04 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.10–7.20 (3H, m), 8.06 (1H, s).

N-(4-Chlorophenyl)-N-(3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-4-yl)acetamide (37h)

化合物 **37h** (0.200 g, 73%) は、化合物 **36h** (0.380 g, 0.872 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.07 (3H, s), 3.44 (3H, s), 6.85–6.95 (1H, m), 7.05–7.15 (2H, m), 7.25–7.30 (4H, m), 9.25 (1H, br s).

7-((4-Chlorophenyl)(2-methoxyethyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37i)

化合物 **37i** (0.404 g, 71%) は、化合物 **36i** (0.550 g, 1.22 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{17}H_{19}ClN_3O_2$ ($[M+H]^+$): 332; Found: 332. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.26 (3H, s), 3.30 (3H, s), 3.55–3.70 (2H, m), 3.70–4.00 (2H, m), 6.51 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.05–7.20 (3H, m), 8.81 (1H, s).

7-((4-Chlorophenyl)(tetrahydrofuran-3-ylmethyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (37j)

化合物 **37j** (0.150 g, 91%) は、化合物 **36j** (0.220 g, 0.460 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{19}H_{21}ClN_3O_2$ ($[M+H]^+$): 358; Found: 358. 1H NMR ($CDCl_3$) δ

1.80–2.00 (2H, m), 2.60–2.80 (1H, m), 3.25 (3H, s), 3.45–3.60 (2H, m), 3.60–4.00 (4H, m), 5.50 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.80–7.00 (1H, m), 7.05 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.05–7.20 (3H, m), 9.68 (1H, s).

2-Chloro-*N*-(4-chlorophenyl)-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32l)

化合物 **37a** (0.042 g, 0.130 mmol) およびオキシ塩化リン (1.5 mL) の混合物を 80°C で 1.5 時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、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 (17% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **32l** (0.032 g, 72 %) を油状物として得た。MS Calcd. for $C_{17}H_{18}Cl_2N_3$ ($[M+H]^+$): 334; Found: 334. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.95 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.39 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.63 (3H, s), 4.30–4.40 (1H, m), 6.40 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.03 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.09 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.30 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

2-Chloro-*N*-(4-methoxyphenyl)-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32m)

化合物 **32m** (0.394 g, 78%) は、化合物 **37b** (0.480 g, 1.54 mmol) から化合物 **32l** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{18}H_{21}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 330; Found: 330. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.20–1.22 (6H, m), 3.69 (3H, s), 3.73 (3H, s), 4.28–4.37 (1H, m), 6.43–6.49 (2H, m), 6.72–6.78 (2H, m), 7.04–7.07 (1H, m), 7.28 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.64–7.67 (1H, m).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-*N*-[4-(1-methylethyl)oxyphenyl]-1*H*-benzimidazol-7-amine (32n)

化合物 **32n** (0.0943 g, 18% in two steps)、化合物 **36c** (0.674 g, 1.47 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した化合物 **37c** から、化合物 **32l** と同様の方法で合成した。油状物。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.00–1.38 (6H, m), 1.28 (6H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.68 (3H, s), 4.30–4.39 (2H, m), 6.40–6.45 (2H, m), 6.71–6.77 (2H, m), 7.04–7.07 (1H, m), 7.27 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.64–7.67 (1H, m).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-*N*-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32o)

化合物 **32o** (0.148 g, 47%) は、化合物 **37d** (0.300 g, 0.835 mmol) から化合物 **32l** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.97 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.45 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 3.02 (3H, s),

3.60 (3H, s), 4.38–4.46 (1H, m), 6.55–6.57 (2H, m), 7.02–7.05 (1H, m), 7.34–7.38 (1H, m), 7.65–7.79 (3H, m).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-*N*-(3-(methylsulfonyl)phenyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32p)

化合物 **37e** は、化合物 **36e** (0.780 g, 1.63 mmol) から化合物 **37b** と同様の方法で合成した。化合物 **37e** は、粗生成物のまま次の反応に用いた。MS Calcd. for $C_{18}H_{22}N_3O_3S$ ($[M+H]^+$): 360; Found: 360. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.99 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.39 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 3.03 (3H, s), 3.24 (3H, s), 4.33–4.40 (1H, m), 6.58 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.81–6.83 (1H, m), 7.12–7.29 (5H, m), 9.54 (1H, s). 化合物 **32p** (0.153 g, 23% in two steps) は、化合物 **37w** から化合物 **32l** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{18}H_{21}ClN_3O_2S$ ($[M+H]^+$): 378; Found: 378. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.97 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.42 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 3.05 (3H, s), 3.62 (3H, s), 4.40–4.47 (1H, m), 6.46–6.49 (1H, m), 7.03 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.24–7.27 (3H, m), 7.33 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.74 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(1-methylethyl)-*N*-(5-methylpyridin-2-yl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32q)

化合物 **32q** (0.048 g, 64%) は、化合物 **37f** (0.070 g, 0.236 mmol) から化合物 **32l** と同様の方法で合成した。結晶。MS Calcd. for $C_{17}H_{20}ClN_4$ ($[M+H]^+$): 315; Found: 315. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 1.40 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 2.17 (3H, s), 3.61 (3H, s), 5.10–5.20 (1H, m), 5.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.08 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.31 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.07 (1H, s).

2-Chloro-*N*-(4-chlorophenyl)-*N*-(2,2-dimethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (32r)

化合物 **32r** (0.053 g, 73%) は、化合物 **37g** (0.050 g, 0.145 mmol) から化合物 **32l** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{19}H_{22}Cl_2N_3$ ($[M+H]^+$): 362; Found: 362. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.95 (9H, s), 3.47 (1H, d, $J = 14.8$ Hz), 3.62 (3H, s), 3.93 (1H, d, $J = 14.8$ Hz), 6.51 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.08 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.20–7.40 (2H, m), 7.60 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

***N*-(2-Chloro-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)-*N*-(4-chlorophenyl)acetamide (32s)**

化合物 **32s** (0.146 g, 69%) は、化合物 **37h** (0.200 g, 0.633 mmol) から化合物 **32l** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{16}H_{14}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 334; Found: 334. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.05 (3H, s), 3.78 (3H, s), 7.05–7.25 (1H, m), 7.25–7.45 (5H, m), 7.75 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

2-Chloro-*N*-(4-chlorophenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (32t)

化合物 **32t** (0.240 g, 80%) は、化合物 **37i** (0.285 g, 0.859 mmol) から化合物 **32i** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{17}H_{18}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 350; Found: 350. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.27 (3H, s), 3.50–3.65 (2H, m), 3.62 (3H, s), 3.80–4.00 (2H, m), 6.50 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.05–7.20 (3H, m), 7.31 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

2-Chloro-*N*-(4-chlorophenyl)-1-methyl-*N*-(tetrahydrofuran-3-ylmethyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (32u)

化合物 **32u** (0.089 g, 56%) は、化合物 **37j** (0.150 g, 0.419 mmol) から化合物 **32i** と同様の方法で合成した。油状物。MS Calcd. for $C_{19}H_{20}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 376; Found: 376. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.50–1.70 (1H, m), 1.95–2.10 (1H, m), 2.60–2.75 (1H, m), 3.59 (3H, s), 3.50–3.65 (2H, m), 3.65–3.80 (2H, m), 3.80–4.00 (2H, m), 6.49 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.05–7.20 (3H, m), 7.32 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

4-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzonitrile (27m)

化合物 **32d** (0.050 g, 0.154 mmol) および 4-bromo-2-methoxy-6-methylaniline (0.100 g, 0.460 mmol) の混合物を 120°C で 3 日間撹拌した。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および水で洗浄し、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 (33% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、必要な画分を減圧濃縮した。得られた個体をジエチルエーテル/ヘキサンで洗浄し、標題化合物 **27m** (0.0074 g, 9.5%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{26}H_{27}BrN_5O$ ($[M+H]^+$): 504; Found: 504. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.03 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.42 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 2.18 (3H, s), 3.49 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.34–4.40 (1H, m), 5.82 (1H, s), 6.55 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 6.80 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.93 (1H, s), 7.06 (1H, s), 7.16 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.42 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.55 (1H, d, $J = 7.8$ Hz). HPLC : >99% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(4-chlorophenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27a)**

化合物 **27a** (0.148 g, 53%) は、化合物 **32i** (0.200 g, 0.598 mmol) および

4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.310 g, 1.80 mmol) から化合物 **27m** と同様の方法で合成した。固体。MS Calcd. for $C_{25}H_{27}Cl_2N_4O$ ($[M+H]^+$): 469; Found: 469. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.02 (3H, d, $J = 4.5$ Hz), 1.39 (3H, d, $J = 4.5$ Hz), 2.19 (3H, s), 3.55 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.25–4.40 (1H, m), 5.81 (1H, s), 6.47 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.78 (1H, s), 6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.90 (1H, s), 7.10 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.13 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(4-chlorophenyl)-*N*⁷-(2,2-dimethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine Hydrochloride (27b)**

化合物 **32r** (0.039 g, 0.106 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.055 g, 0.320 mmol) の混合物を 120°C で 26 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および水で洗浄し、減圧濃縮した。残渣を HPLC により精製し、必要な画分を減圧濃縮した。残渣にメタノールを加え、2M 塩化水素／ジエチルエーテルを用いて標題化合物 **27b** (0.012 g, 22%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{27}H_{31}Cl_2N_4O$ ($[M+H]^+$): 497; Found: 497. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.93 (9H, s), 2.38 (3H, s), 3.10 (3H, s), 3.42 (1H, d, $J = 14.8$ Hz), 3.62 (3H, s), 3.90 (1H, d, $J = 14.8$ Hz), 6.51 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.73 (1H, s), 6.87 (1H, s), 7.10 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.20–7.40 (1H, m), 7.42 (1H, s), 10.47 (1H, s), 13.35 (1H, s).

***N*-(2-((4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)-*N*-(4-chlorophenyl)acetamide Hydrochloride (27c)**

化合物 **27c** (0.116 g, 53%) は、化合物 **32s** (0.145 g, 0.434 mmol) から化合物 **27b** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 176–178°C. MS Calcd. for $C_{24}H_{23}Cl_2N_4O_2$ ($[M+H]^+$): 469; Found: 469. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.11 (3H, s), 2.37 (3H, s), 3.48 (3H, s), 3.65 (3H, s), 6.76 (1H, s), 6.82 (1H, s), 7.00–7.20 (1H, m), 7.20–7.30 (2H, m), 7.30–7.45 (3H, m), 7.50–7.65 (1H, m), 10.80 (1H, s). HPLC : 96% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(4-chlorophenyl)-*N*⁷-(2-methoxyethyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine Hydrochloride (27d).**

化合物 **27d** (0.059 g, 33%) は、化合物 **32t** (0.120 g, 0.343 mmol) から化合物 **27b** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 131–133°C. MS Calcd. for $C_{25}H_{27}Cl_2N_4O_2$ ($[M+H]^+$): 485; Found: 485.

^1H NMR (CDCl_3) δ 2.38 (3H, s), 3.07 (3H, s), 3.25 (3H, s), 3.50–3.60 (2H, br), 3.61 (3H, s), 3.80–4.00 (2H, m), 6.49 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.71 (1H, s), 6.86 (1H, s), 7.12 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.35–7.50 (2H, m), 10.59 (1H, s). HPLC : 98% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(4-chlorophenyl)-1-methyl-*N*⁷-(tetrahydrofuran-3-ylmethyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27e)**

化合物 **27e** (0.061 g, 53%) は、化合物 **32u** (0.085 g, 0.226 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.12 g, 0.680 mmol) から化合物 **27m** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 212–214°C. MS Calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 511; Found: 511. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.50–1.70 (1H, m), 2.00–2.15 (1H, m), 2.18 (3H, s), 2.65–2.80 (1H, m), 3.51 (3H, s), 3.50–3.70 (2H, m), 3.81 (3H, s), 3.65–4.00 (4H, m), 5.81 (1H, s), 6.56 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.79 (1H, s), 6.85–7.00 (2H, m), 7.13 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.10–7.20 (1H, m), 7.47 (1H, d, $J = 6.8$ Hz). Anal. Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}_2$: C, 63.41; H, 5.52; N, 10.95. Found: C, 63.28; H, 5.57; N, 10.68.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(4-methoxyphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27g)**

化合物 **32m** (0.291 g, 0.881 mmol)、4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.454 g, 2.64 mmol) および NMP (0.3 mL) の混合物を 120°C で 18 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を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、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 (50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、必要な画分を減圧濃縮した。残渣をジエチルエーテルから粉末化し、標題化合物 **27g** (0.359 g, 65%) を無色粉末として得た。mp : 213–214°C. MS Calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{ClN}_4\text{O}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 465; Found: 465. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.21–1.27 (6H, m), 2.18 (3H, s), 3.61 (3H, s), 3.74 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.25–4.35 (1H, m), 5.82 (1H, br s), 6.50–6.54 (2H, m), 6.74–6.78 (3H, m), 6.83–6.89 (2H, m), 7.11 (1H, t, $J = 7.5$ Hz), 7.47 (1H, d, $J = 7.2$ Hz). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 155.4, 153.3, 150.8, 144.1, 142.9, 137.9, 132.7, 129.9, 126.5, 126.0, 122.0, 121.7, 121.0, 114.7, 114.6, 109.6, 55.9, 55.1, 48.2, 29.9, 20.6, 17.7. HPLC : 97% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-*N*⁷-phenyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27f)**

化合物 **27f** (0.0427 g, 27%) は、化合物 **32a** (0.111 g, 0.367 mmol) から化合物 **27g** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 230–231°C. MS Calcd. for C₂₅H₂₈ClN₄O ([M+H]⁺): 435; Found: 435. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.03 (3H, br s), 1.39 (3H, br s), 2.18 (3H, s), 3.56 (3H, s), 3.80 (3H, s), 4.32–4.42 (1H, m), 5.82 (1H, br s), 6.56 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.67–6.71 (1H, m), 6.77–6.78 (1H, m), 6.84 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 6.88–6.89 (1H, m), 7.10–7.19 (3H, m), 7.49 (1H, d, *J* = 7.5 Hz). Anal. Calcd for C₂₅H₂₇N₄OCl·0.3H₂O: C, 68.19; H, 6.32; N, 12.72. Found: C, 68.19; H, 6.22; N, 12.51. HPLC : 96% purity.

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(3-methoxyphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27h)**

化合物 **32b** (0.100 g, 0.303 mmol)、4-bromo-2-methoxy-6-methylaniline (0.197 g, 0.910 mmol) および NMP (1.0 mL) の混合物を 120°C で 2 時間マイクロウエーブ照射した。反応混合物を水に加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、減圧濃縮した。残渣を HPLC により精製し、必要な画分を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、減圧濃縮した。残渣をジエチルエーテルから結晶化し、標題化合物 **27h** (0.0155 g, 10%) を固体として得た。MS Calcd. for C₂₆H₃₀BrN₄O₂ ([M+H]⁺): 509; Found: 509. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.00 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.39 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.17 (3H, s), 3.56 (3H, s), 3.72 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.30–4.36 (1H, m), 5.85 (1H, br s), 6.14–6.16 (2H, m), 6.26–6.28 (1H, m), 6.83 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.91–6.92 (1H, m), 7.04–7.15 (2H, m), 7.26 (1H, s), 7.48–7.61 (1H, m).

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-*N*⁷-(4-(1-methylethyl)oxyphenyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27i)**

化合物 **27i** (0.0266 g, 36%) は、化合物 **32n** (0.0543 g, 0.152 mmol) から化合物 **27g** と同様の方法で合成した。固体。mp : 202–203°C. MS Calcd. for C₂₈H₃₄ClN₄O₂ ([M+H]⁺): 493; Found: 493. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.09–1.28 (6H, m), 1.29 (6H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.18 (3H, s), 3.60 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.25–4.41 (2H, m), 5.82 (1H, br s), 6.48–6.51 (2H, m), 6.72–6.78 (3H, m), 6.84–6.89 (2H, m), 7.11 (1H,

t, $J = 7.8$ Hz), 7.47 (1H, d, $J = 7.8$ Hz).

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-*N*⁷-(3-(1-methylethyl)oxyphenyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27j)**

化合物 **27j** (0.0237 g, 26%) は、化合物 **32c** (0.0670 g, 0.187 mmol) から化合物 **27g** と同様の方法で合成した。固体。mp : 192–193°C. MS Calcd. for C₂₈H₃₄ClN₄O₂ ([M+H]⁺): 493; Found: 493. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.25–1.29 (6H, m), 1.39 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 2.18 (3H, s), 3.56 (3H, s), 3.80 (3H, s), 4.28–4.47 (2H, m), 5.82 (1H, br s), 6.10–6.13 (2H, m), 6.23–6.26 (1H, m), 6.77–6.78 (1H, m), 6.84 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.88–6.89 (1H, m), 7.07 (1H, t, $J = 9.0$ Hz), 7.11 (1H, t, $J = 8.1$ Hz), 7.48 (1H, d, $J = 8.1$ Hz).

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-*N*⁷-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27k)**

化合物 **27k** (0.0555 g, 36%) は、化合物 **32o** (0.104 g, 0.275 mmol) から化合物 **27m** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 154–155°C. MS Calcd. for C₂₆H₃₀BrN₄O₃S ([M+H]⁺): 557; Found: 557. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.04 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 1.44 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 2.19 (3H, s), 3.01 (3H, s), 3.49 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.38–4.46 (1H, m), 5.83 (1H, s), 6.61 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.80 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.93 (1H, s), 7.06 (1H, s), 7.17 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.55 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.69 (2H, d, $J = 8.8$ Hz). Anal. Calcd for C₂₆H₂₉N₄O₃SBr: C, 56.01; H, 5.24; N, 10.05. Found: C, 56.18; H, 5.49; N, 9.68.

***N*²-(4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-*N*⁷-(3-(methylsulfonyl)phenyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27l)**

化合物 **27l** (0.143 g, 64%) は、化合物 **32p** (0.150 g, 3.97 mmol) から化合物 **27m** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 240–242°C. MS Calcd. for C₂₆H₃₀BrN₄O₃S ([M+H]⁺): 557; Found: 557. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.03 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.42 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 2.18 (3H, s), 3.05 (3H, s), 3.53 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.39–4.45 (1H, m), 5.83 (1H, s), 6.58 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.80 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 6.92 (1H, s), 7.05 (1H, s), 7.16 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.22–7.29 (3H, m), 7.53 (1H, d, $J = 7.8$ Hz). Anal. Calcd for C₂₆H₂₉N₄O₃SBr: C, 56.01; H, 5.24; N, 10.05. Found: C, 55.96; H, 5.31; N, 9.87. HPLC : >99% purity.

3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzonitrile (27n)

化合物 **27n** (0.507 g, 69%) は、化合物 **32e** (0.475 g, 1.46 mmol) から化合物 **27m** と同様の方法で合成した。紫固体。mp : 248–250°C. MS Calcd. for C₂₆H₂₇BrN₅O ([M+H]⁺): 504; Found: 504. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.03 (3H, t, *J* = 6.4 Hz), 1.40 (3H, t, *J* = 6.4 Hz), 2.20 (3H, s), 3.52 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.29–4.35 (1H, m), 5.84 (1H, s), 6.71 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 6.79 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 6.83 (1H, s), 6.93 (1H, s), 6.96 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.06 (1H, s), 7.14–7.22 (2H, m), 7.54 (1H, d, *J* = 7.6 Hz). Anal. Calcd for C₂₆H₂₆N₅OBr·0.5H₂O: C, 60.82; H, 5.30; N, 13.64. Found: C, 61.03; H, 5.20; N, 13.29.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-(6-methoxypyridin-3-yl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27t)**

化合物 **27t** (0.0319 g, 32%) は、化合物 **32g** (0.070 g, 0.212 mmol) から化合物 **27g** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 215–216°C. MS Calcd. for C₂₅H₂₉ClN₅O₂ ([M+H]⁺): 466; Found: 466. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.10–1.35 (6H, m), 2.19 (3H, s), 3.63 (3H, s), 3.81 (3H, s), 3.86 (3H, s), 4.21–4.33 (1H, m), 5.83 (1H, br s), 6.57–6.60 (1H, m), 6.78–6.91 (4H, m), 7.11 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 7.47 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.58–7.59 (1H, m). HPLC : 97% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(1-methylethyl)-*N*⁷-(5-methylpyridin-2-yl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (27u)**

化合物 **27u** (0.028 g, 41%) は、化合物 **32q** (0.047 g, 0.149 mmol) および 4-bromo-2-methoxy-6-methylaniline (0.077 g, 0.449 mmol) から化合物 **27m** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 245–246°C. MS Calcd. for C₂₅H₂₉ClN₅O ([M+H]⁺): 450; Found: 450. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.00 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 1.39 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 2.18 (6H, s), 3.53 (3H, s), 3.80 (3H, s), 5.10–5.20 (1H, m), 5.91 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 5.90 (1H, br s), 6.78 (1H, s), 6.87 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 6.89 (1H, s), 7.11 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.16 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.51 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.07 (1H, s). Anal. Calcd for C₂₅H₂₈N₅OCl: C, 66.73; H, 6.27; N, 15.56. Found: C, 66.51; H, 6.36; N, 15.40.

2-(3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methyl ethyl)amino)phenyl)-2-methylpropanenitrile (27v)

化合物 **27v** (0.270 g, 74%) は、化合物 **32f** (0.250 g, 0.680 mmol) および 4-bromo-2-methoxy-6-methylaniline (0.440 g, 2.04 mmol) から化合物 **27g** と同様の方法で合成した。固体。mp : 227–229°C. MS Calcd. for $C_{29}H_{33}BrN_5O$ ($[M+H]^+$): 546; Found: 546. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.04 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.42 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.65 (3H, s), 1.67 (3H, s), 2.16 (3H, s), 3.55 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.35–4.50 (1H, m), 5.82 (1H, s), 6.35 (1H, d, $J = 6.9$ Hz), 6.75–6.80 (2H, m), 6.83 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.92 (1H, s), 7.09 (1H, s), 7.05–7.20 (2H, m), 7.52 (1H, d, $J = 8.1$ Hz).

Methyl

3-((2-((4-bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzoate (27o)

化合物 **27n** (0.337 g, 0.668 mmol) およびメタノール (5 mL) の混合物に塩化水素ガスを 10 分間吹き込み、室温で 15 分間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣に THF および水を加え、室温で 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄し、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 (3% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **27o** (0.359 g, 77%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{27}H_{30}BrN_4O_3$ ($[M+H]^+$): 537; Found: 537. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.03 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.41 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 2.18 (3H, s), 3.54 (3H, s), 3.81(3H, s), 3.88 (3H, s), 4.41–4.47 (1H, m), 5.81 (1H, s), 6.56 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.92 (1H, s), 7.05 (1H, s), 7.13–7.17 (2H, m), 7.37 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.42 (1H, s), 7.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz). Anal. Calcd for $C_{27}H_{29}N_4O_3Br$: C, 60.34; H, 5.44; N, 10.42. Found: C, 60.34; H, 5.40; N, 10.57.

3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzamide (27p)

化合物 **27n** (0.090 g, 0.178 mmol) およびエタノール (1 mL) の混合物に30% 過酸化水素水溶液 (0.064 mL, 0.624 mmol) および 10N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.00428 mL, 0.0428 mmol) を加え、24 時間加熱還流した。再度 30% 過酸化水素水溶液 (0.064 mL, 0.624 mmol) および

10N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.00428 mL, 0.0428 mmol) を加え、60 時間加熱還流した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄し、減圧濃縮した。得られた個体をろ取し、ジクロロメタンで洗浄し、標題化合物 **27p** (0.016 g) を得た。ろ液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、得られた固体をジクロロメタンで洗浄し、標題化合物 **27p** (0.014 g) を得た。ろ液を減圧濃縮し、残渣をジクロロメタンから結晶化し、標題化合物 **27p** (0.006 g) を結晶として得た。Total: 0.035 g, 38%. MS Calcd. for $C_{26}H_{29}BrN_5O_2$ ($[M+H]^+$): 522; Found: 522. 1H NMR (DMSO- d_6) δ 0.93 (3H, d, $J = 5.8$ Hz), 1.31 (3H, d, $J = 5.8$ Hz), 2.08 (3H, s), 3.47 (3H, s), 3.74 (3H, s), 4.43–4.48 (1H, m), 5.95 (1H, s), 6.49 (1H, d, $J = 6.8$ Hz), 6.69 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.03–7.19 (6H, m), 7.25 (1H, s), 7.84 (1H, s), 7.93 (1H, s). Anal. Calcd for $C_{26}H_{28}N_5O_2Br \cdot 0.3H_2O$: C, 59.16; H, 5.46; N, 13.27. Found: C, 59.40; H, 5.43; N, 12.89.

3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)benzoic acid (27x)

化合物 **27o** (0.266 g, 0.495 mmol)、1N 水酸化ナトリウム水溶液 (3 mL) および THF (3 mL) の混合物を室温で 24 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、塩酸で pH 4.5 とした。水相を酢酸エチルで抽出し、有機相を飽和食塩水で洗浄し、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 (10% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **27x** (0.195 g, 75%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{26}H_{28}BrN_4O_3$ ($[M+H]^+$): 523; Found: 523. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.94 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.32 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 2.08 (3H, s), 3.47 (3H, s), 3.73 (3H, s), 4.40–4.45 (1H, m), 6.70–6.74 (2H, m), 6.92–7.10 (4H, m), 7.10–7.23 (3H, m), 7.95 (1H, s), 12.72 (1H, s).

3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)-N-methylbenzamide (27q)

化合物 **27x** (0.080 g, 0.153 mmol) および THF (1 mL) の混合物に HBTU (0.120 g, 0.310 mmol) および diisopropylethylamine (0.027 mL, 0.153 mmol) を加え、室温で 30 分間攪拌した。2 M メチルアミンの THF (0.11 mL, 0.23 mmol) 溶液を加え、室温で 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、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 (10% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、得られた結晶をジクロロメタン/ジエチルエーテルで洗浄し、標題化合物 **27q** (0.043 g, 52%) を無色固体として得た。mp : 261–263°C. MS Calcd. for $C_{27}H_{31}BrN_5O_2$ ($[M+H]^+$): 536; Found: 536. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.01 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 1.40 (3H, d, $J = 6.2$ Hz), 2.18 (3H, s), 2.98 (3H, d, $J = 4.8$ Hz), 3.53 (3H, s), 3.80 (3H, s), 4.42–4.49 (1H, m), 5.86 (1H, br s), 5.98 (1H, br s), 6.53 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.92 (1H, s), 6.96 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.05 (1H, s), 7.12–7.16 (3H, m), 7.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz). Anal. Calcd for $C_{27}H_{30}N_5O_2Br \cdot 0.5H_2O$: C, 59.45; H, 5.73; N, 12.84. Found: C, 59.65; H, 5.56; N, 12.83. HPLC : 96% purity.

3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)-*N,N*-dimethylbenzamide (27r)

化合物 **27x** (0.080 g, 0.153 mmol) および THF (1 mL) の混合物に HBTU (0.120 g, 0.310 mmol) および diisopropylethylamine (0.040 mL, 0.23 mmol) を加え、室温で 30 分間攪拌した。2*M* ジメチルアミンの THF 溶液 (0.11 mL, 0.23 mmol) を加え、室温で 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た。有機相を減圧濃縮した。得られた固体を酢酸エチルで洗浄し、標題化合物 **27r** (0.050 g, 59%) を無色固体として得た。mp : 271–272°C. MS Calcd. for $C_{28}H_{33}BrN_5O_2$ ($[M+H]^+$): 550; Found: 550. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.01 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.39 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 2.19 (3H, s), 2.91 (3H, s), 3.06 (3H, s), 3.56 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.34–4.43 (1H, m), 5.82 (1H, s), 6.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.92 (1H, s), 6.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.82 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.92 (1H, s), 7.04 (1H, s), 7.12 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.16 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz). Anal. Calcd for $C_{28}H_{32}N_5O_2Br$: C, 61.09; H, 5.86; N, 12.72. Found: C, 60.94; H, 5.77; N, 12.65. HPLC : 96% purity.

2-3-((2-((4-Bromo-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(1-methylethyl)amino)phenyl)-2-methylpropanamide (27s)

化合物 **27v** (0.100 g, 0.183 mmol)、エタノール (10 mL) および濃硫酸 (4 mL) の混合物を48時間加熱還流した。反応混合物を炭酸水素ナトリウム水溶液に加え、酢酸エチルで抽出した。

有機相を水で洗浄し、減圧濃縮した。残渣をメタノール (5 mL) および THF (2 mL) に溶解し、8N 水酸化ナトリウム水溶液を (1 mL) を加え、70°C で 3 時間攪拌した。反応混合物を 1N 塩酸を用いて酸性にし、酢酸エチルで抽出した。有機相を水で洗浄し、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 (5% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、化合物 **27y** (0.051 g, 49%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{29}H_{34}BrN_4O_3$ ($[M+H]^+$): 565; Found: 565. 化合物 **27y** (0.047 g, 0.081 mmol) および DMF (0.5 mL) の混合物に EDC (0.029 g, 0.166 mmol) および HOBT (0.029 g, 0.166 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応混合物にジクロロメタンおよびアンモニア水を加え、1 時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチルを加え、有機相を水で洗浄し、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 (5% メタノール/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **27s** (0.032 g, 69%) を無色固体として得た。mp : 234–236°C. MS Calcd. for $C_{29}H_{35}BrN_5O_2$ ($[M+H]^+$): 564; Found: 564. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.04 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 1.40 (3H, d, $J = 6.3$ Hz), 1.58 (6H, s), 2.16 (3H, s), 3.52 (3H, s), 3.81 (3H, s), 4.30–4.45 (1H, m), 5.15–5.30 (2H, m), 5.75–5.90 (1H, m), 6.37 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 6.63 (1H, s), 6.73 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.83 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 6.92 (1H, s), 7.04 (1H, s), 7.05–7.20 (2H, m), 7.50 (1H, d, $J = 7.8$ Hz). Anal. Calcd for $C_{29}H_{34}N_5O_2Br$: C, 61.70; H, 6.07; N, 12.41. Found: C, 61.35; H, 6.02; N, 12.17.

第二章第二節に関する実験

4-Chloro-7-dipropylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (38a),

4,6-dichloro-7-dipropylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (38b) and

6-chloro-7-dipropylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (38c)

化合物 **24a** (5.00 g, 20.2 mmol)、NCS (3.29 g, 24.2 mmol)、AIBN (0.166 g, 1.01 mmol) およびテトラクロロエタン (400 mL) の混合物を 18 時間加熱還流した。反応混合物に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (10–60% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物である **38a** および **38b** の混合物 (1.64 g) および

38c (1.89 g, 33%) を得た。化合物 **38a** および **38b** の混合比は LC/MS 解析より 2:1 であった。化合物 **38a**: MS Calcd. for $C_{14}H_{21}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 282; Found: 282. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.83 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.35–1.50 (4H, m), 2.90 (4H, t, $J = 7.5$ Hz), 3.72 (3H, s), 6.85 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.00 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.91 (1H, br s). 化合物 **38b**: MS Calcd. for $C_{14}H_{20}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 316; Found: 316. 化合物 **38c**: MS Calcd. for $C_{14}H_{21}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 282; Found: 282. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.30–1.60 (4H, m), 3.00–3.10 (2H, m), 3.01–3.20 (2H, m), 3.74 (3H, s), 6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.00 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 10.07 (1H, br s).

4-Chloro-7-diethylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (38d) 化合物 **24b** (13.0 g, 59.2 mmol) およびアセトニトリル (450 mL) の混合物に NCS (8.30 g, 62.2 mmol) を加え、60°C で 12 時間攪拌した。反応混合物を飽和炭酸ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (25–60% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **38d** (4.15 g, 28%) を得た。 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.98 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.00 (4H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.72 (3H, br s), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.97 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 9.18 (1H, br s).

4-Bromo-7-diethylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (38f)

化合物 **24b** (35.8 g, 163 mmol) およびアセトニトリル (1400 mL) の混合物に NBS (30.4 g, 171 mmol) を加え、室温で 40 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た。得られた不溶物をろ取し、水および酢酸エチルで洗浄し、標題化合物 **38f** (32.5 g, 67%) を得た。 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.98 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.00 (4H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.72 (3H, s), 6.80 (1H, dd, $J = 8.7, 1.5$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 9.85 (1H, br s).

7-(Dipropylamino)-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-4-carbonitrile (39a)

化合物 **24a** (1.50 g, 6.06 mmol) および四塩化炭素 (100 mL) の混合物に NBS (1.62 g, 9.09 mmol) を加え、48 時間加熱還流した。冷却後、反応混合物に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (10–50% 酢酸エチル/hexane) により精製し、化合物 **38e** (0.660 g, 33%) を得た。MS Calcd. for $C_{14}H_{21}BrN_3O$ ($[M+H]^+$): 326; Found: 326. 化合物 **38e** (0.840 g, 2.57 mmol) およ

び NMP (20 mL) の混合物にシアン化銅 (I) (0.461 g, 5.14 mmol) を加え、180°C で 18 時間攪拌した。冷却後、反応混合物に酢酸エチルを加え、水で洗浄した。有機相を乾燥し、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 (5–50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **39a** (0.522 g, 75%) を得た。MS Calcd. for $C_{15}H_{21}N_4O$ ($[M+H]^+$): 273; Found: 273. NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.85 (6H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.40–1.55 (4H, m), 2.98–3.02 (4H, m), 3.70 (3H, s), 6.88 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.21 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 9.39 (1H, br s).

7-(Diethylamino)-1-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-4-carbonitrile (**39b**)

化合物 **38f** (2.02 g, 6.77 mmol) および NMP (10 mL) の混合物にシアン化銅 (I) (0.910 g, 10.2 mmol) を加え、170°C で 10 分間マイクロウェーブを照射した。冷却後、反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、標題化合物 **39b** (1.35 g, 82%) を得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{17}N_4O$ ($[M+H]^+$): 245; Found: 245. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.02 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.09 (4H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.71 (3H, s), 6.90 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.23 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 9.68 (1H, br s).

7-(Diethylamino)-1,4-dimethyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**39c**)

化合物 **26f** (0.100 g, 0.34 mmol)、tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0.0774 g, 0.067 mmol)、tetramethyltin (0.5 mL, 3.60 mmol) および HMPA (2 mL) を終夜で加熱還流した。冷却後、反応混合物に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を乾燥し、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 (酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **39c** (0.040 g, 51%) を得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{20}N_3O$ ($[M+H]^+$): 234; Found: 234. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.98 (6H, t, $J = 6.9$ Hz), 2.40 (3H, s), 2.99 (4H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.75 (3H, s), 6.79–6.86 (2H, m), 11.01 (1H, br s).

7-(Diethylamino)-4-methoxy-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**39e**)

化合物 **38f** (0.400 g, 1.34 mmol)、無水ヨウ化銅 (I) (0.306 g, 1.60 mmol)、ナトリウムメトキシド (28% メタノール溶液 : 10 mL) および DMF (10 mL) の混合物を 100°C で 1 時間攪拌した。冷却後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を乾燥し、減圧濃縮した。残渣をメタノールから結晶化し、標題化合物 **39e** (0.246 g, 74%) を得た。 1H NMR ($CDCl_3$,

300 MHz) δ 0.97 (6H, t, $J = 6.9$ Hz), 2.97 (4H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.71 (3H, s), 3.87 (3H, s), 6.56 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.85 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.77 (1H, br s).

2,4-Dichloro-1-methyl-*N,N*-dipropyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (40a) and

2,4,6-trichloro-1-methyl-*N,N*-dipropyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (40b)

化合物 **40a** および **40b** の混合物 (1.21 g, the ratio: 62:37 by LCMS analysis) は、化合物 **38a** および **38b** の混合物 (1.64 g, 混合比: 2:1 by LCMS analysis) から化合物 **25b** と同様の方法で合成した。化合物 **40a**: MS Calcd. for $C_{14}H_{20}Cl_2N_3$ ($[M+H]^+$): 300; Found: 300. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.35–1.48 (4H, m), 2.97 (4H, m), 4.13 (3H, s), 7.00 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.18 (1H, d, $J = 8.7$ Hz). 化合物 **40b**: MS Calcd. for $C_{14}H_{19}Cl_3N_3$ ($[M+H]^+$): 334; Found: 334.

2,6-Dichloro-1-methyl-*N,N*-dipropyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (40c)

化合物 **40c** (0.55 g, 34%) は、化合物 **38c** (0.148 g, 0.525 mmol) から化合物 **25b** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{14}H_{20}Cl_2N_3$ ($[M+H]^+$): 300; Found: 300. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.84 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.30–1.55 (4H, m), 3.00–3.15 (2H, m), 3.18–3.30 (2H, m), 4.12 (3H, s), 7.18 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.41 (1H, d, $J = 8.7$ Hz).

2-Chloro-4-cyano-1-methyl-*N,N*-dipropyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (40d)

化合物 **39a** (0.520 g, 1.91 mmol) およびオキシ塩化リン (5.3 mL) の混合物を 110°C で 18 時間攪拌した。冷却後、反応混合物を氷水に注ぎ、ジクロロメタンで抽出した。有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄、乾燥し、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 (5–50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **40d** (0.343 g, 62%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for $C_{15}H_{20}ClN_4$ ($[M+H]^+$): 291; Found: 291. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.85 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.40–1.55 (4H, m), 3.00–3.10 (4H, m), 4.10 (3H, s), 7.01 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.49 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

2,4-Dichloro-7-(diethylamino)-1-methyl-1*H*-benzimidazole (40e)

化合物 **40e** (3.56 g, >99%) は、化合物 **38d** (0.148 g, 0.525 mmol) から化合物 **40d** と同様の方法で合成した。 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.99 (6H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.05 (4H, q, $J = 6.9$ Hz), 4.13 (3H, s), 6.99 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.19 (1H, d, $J = 8.1$ Hz).

2-Chloro-7-(diethylamino)-1-methyl-1*H*-benzimidazole-4-carbonitrile (40f)

化合物 **40f** (0.220 g, 43%) は、化合物 **39b** (0.472 g, 1.93 mmol) から化合物 **40d** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{13}H_{16}ClN_4$ ($[M+H]^+$): 263; Found: 263. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.04 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.17 (4H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.11 (3H, s), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.52 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

2-Chloro-*N,N*-diethyl-1-methyl-4-phenyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (40h)

化合物 **39d** は化合物 **38f** (0.100 g, 0.335 mmol) から化合物 **39c** と同様の方法で合成した。化合物 **39d** は粗生成物のまま次の反応に使用した。化合物 **40h** (0.071 g, 67%) は、化合物 **39d** から化合物 **40d** と同様の方法で合成した。 1H NMR($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.04 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.11 (4H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.16 (3H, s), 7.13 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.30–7.35 (2H, m), 7.43–7.48 (2H, m), 7.88–7.91 (2H, m).

2-Chloro-*N,N*-diethyl-4-methoxy-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (40i)

化合物 **40i** (0.210 g, 98%) は、化合物 **39e** (0.200 g, 0.803 mmol) から化合物 **40d** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for $C_{13}H_{19}ClN_3O$ ($[M+H]^+$): 268; Found: 268. 1H NMR($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.96 (6H, t, $J = 6.9$ Hz), 3.01 (4H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.97 (3H, s), 4.11 (3H, s), 6.62 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 8.7$ Hz).

4-Chloro-*N*²-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-

benzimidazole-2,7-diamine (41a) および

4,6-dichloro-*N*²-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (41b)

混合物 **40a** および **40b** (1.20 g) および NMP (5 mL) の混合物に 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (2.05 g, 11.9 mmol) を加え、120°C で 48 時間攪拌した。冷却後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。残渣を HPLC により精製し、目的物を含む画分を減圧濃縮した。残渣を酢酸で溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄、乾燥して減圧濃縮した。得られた固体を酢酸エチルから再結晶し、標題化合

物 **41a** (0.619 g, 7.0% in 3 steps) を得た。標題化合物 **41b** (0.174 g, 1.8% in 3 steps) も同様の方法で単離した。化合物 **41a**: mp : 204–205°C. MS Calcd. for C₂₂H₂₉Cl₂N₄O ([M+H]⁺): 435; Found: 435. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.82 (6H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.35–1.50 (4H, m), 2.13 (3H, s), 2.87–3.05 (4H, br), 3.77 (3H, s), 3.96 (3H, s), 6.79 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.93 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.98 (1H, s), 7.03 (1H, s), 8.09 (1H, br s). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz) δ 155.5, 154.0, 140.3, 138.1, 134.8, 130.4, 130.1, 126.1, 121.8, 120.1, 115.2, 114.6, 109.8, 56.0, 55.9, 30.6, 19.3, 17.8, 11.6. Anal. Calcd for C₂₂H₂₈Cl₂N₄O: C, 60.69; H, 6.58; N, 12.87; Cl, 16.29. Found: C, 60.35; H, 6.35; N, 12.89; Cl, 16.13. HPLC : 96% purity. 化合物 **41b**: mp : 217–219°C. MS Calcd. for C₂₂H₂₈Cl₃N₄O ([M+H]⁺): 469; Found: 469. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 0.85 (6H, t, *J* = 7.5 Hz), 1.35–1.55 (4H, m), 2.21 (3H, s), 3.00–3.11 (2H, m), 3.15–3.25 (2H, m), 3.80 (3H, s), 3.97 (3H, s), 6.00–6.10 (1H, m), 6.77 (1H, s), 6.89 (1H, s), 7.09 (1H, s). Anal. Calcd for C₂₂H₂₇Cl₃N₄O·0.3H₂O: C, 55.60; H, 5.85; N, 11.79. Found: C, 55.62; H, 5.88; N, 11.65. HPLC : 95% purity.

6-Chloro-*N*²-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (41c)

化合物 **41c** (0.0245 g, 31%) は、化合物 **40c** (0.055 g, 0.183 mmol) から化合物 **41a** および **41b** と同様の方法で合成した。mp : 234–235°C. MS Calcd. for C₂₂H₂₉Cl₂N₄O ([M+H]⁺): 435; Found: 435. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.86 (6H, t, *J* = 7.5 Hz), 1.30–1.55 (4H, m), 2.19 (3H, s), 3.00–3.15 (2H, m), 3.15–3.25 (2H, m), 3.82 (3H, s), 4.06 (3H, s), 5.95–6.10 (1H, m), 6.78 (1H, d, *J* = 1.6 Hz), 6.89 (1H, d, *J* = 1.6 Hz), 7.02 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.22 (1H, d, *J* = 8.7 Hz). Anal. Calcd for C₂₂H₂₈Cl₂N₄O·0.5H₂O: C, 59.46; H, 6.58; N, 12.61. Found: C, 59.73; H, 6.46; N, 12.57.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-4-cyano-1-methyl-*N*⁷,*N*⁷-dipropyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (41d)**

化合物 **41d** (0.012 g, 4.3%) は、化合物 **40d** (0.020 g, 0.0688 mmol) から化合物 **41a** および **41b** と同様の方法で合成した。MS Calcd. for C₂₃H₂₉ClN₅O ([M+H]⁺): 426; Found: 426. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.85 (6H, t, *J* = 7.5 Hz), 1.40–1.55 (4H, m), 2.25 (3H, s), 3.05 (4H, t, *J* = 7.5 Hz), 3.80 (3H,

s), 3.90 (3H, s), 6.25–6.40 (1H, m), 6.75 (1H, s), 6.80 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.90 (1H, s), 7.30 (1H, d, $J = 8.0$ Hz).

4-Chloro- N^2 -(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)- N^7,N^7 -diethyl-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (41e)

化合物 **40e** (0.101 g, 0.371 mmol)、4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.191 g, 1.11 mmol) および NMP (4 drops) の混合物を 110°C で終夜撹拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を乾燥し、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 (酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、目的物を含む画分を減圧濃縮した。残渣をメタノール／水から結晶化し、標題化合物 **41e** (0.078 g, 52%) を得た。mp : 208–209°C. MS Calcd. for $C_{20}H_{25}Cl_2N_4O$ ($[M+H]^+$): 407; Found: 407. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 0.99 (6H, t, $J = 6.9$ Hz), 2.22 (3H, s), 3.04 (4H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.79 (3H, s), 3.95 (3H, s), 6.03 (1H, br s), 6.76 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.87 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 7.03 (1H, d, $J = 8.4$ Hz). Anal. Calcd for $C_{20}H_{24}N_4OCl_2$: C, 58.97; H, 5.94; N, 13.75; Cl, 17.41. Found: C, 58.84; H, 5.88; N, 13.82; Cl, 17.36. HPLC : >99% purity.

2-((4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-7-(diethylamino)-1-methyl-1*H*-benzimidazole-4-carbonitrile (41f)

化合物 **40f** (0.220 g, 0.837 mmol)、4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline hydrochloride (0.208 g, 1.00 mmol) および NMP (1 mL) の混合物を 130°C で 1 時間撹拌した。反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を乾燥し、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 (酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **41f** (0.160 g, 48%) を得た。mp : 185–186°C. MS Calcd. for $C_{21}H_{25}ClN_5O$ ($[M+H]^+$): 398; Found: 398. 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1.03 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.25 (3H, s), 3.14 (4H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.81 (3H, s), 3.94 (3H, s), 6.11 (1H, br s), 6.78 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.91 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.32 (1H, d, $J = 8.4$ Hz). Anal. Calcd for $C_{21}H_{24}ClN_5O \cdot 0.5H_2O$: C, 61.99; H, 6.19; N, 17.21. Found: C, 62.13; H, 6.04; N, 17.08. HPLC : 95% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷,*N*⁷-diethyl-1,4-dimethyl-1*H*-benzimidazol-2,7-diamine (41g)**

化合物 **40g** は、化合物 **39c** (0.200 g, 0.857 mmol) から化合物 **40d** と同様の方法で合成した。化合物 **40g** は粗生成物のまま次の反応に用いた。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0.99 (6H, t, *J* = 6.9 Hz), 2.57 (3H, s), 3.06 (4H, q, *J* = 6.9 Hz), 4.13 (3H, s), 6.99 (2H, s). 化合物 **41g** (0.119 g, 36%) は化合物 **40g** から化合物 **41e** と同様の方法で合成した。mp : 200–201°C. MS Calcd. for C₂₁H₂₈ClN₄O ([M+H]⁺): 387; Found: 387. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1.01 (6H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.18 (3H, s), 2.44 (3H, s), 3.04 (4H, q, *J* = 7.2 Hz), 3.82 (3H, s), 3.97 (3H, s), 6.01 (1H, br s), 6.78 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.77–6.91 (3H, m). Anal. Calcd for C₂₁H₂₇ClN₄O·0.5H₂O: C, 63.71; H, 7.13; N, 14.15. Found: C, 63.85; H, 7.01; N, 14.12.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷,*N*⁷-diethyl-1-methyl-4-phenyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (41h)**

化合物 **41h** (0.058 g, 57%) は、化合物 **40h** (0.071 g, 0.227 mmol) から化合物 **41e** と同様の方法で合成した。mp : 198–200°C. MS Calcd. for C₂₆H₃₀ClN₄O ([M+H]⁺): 449; Found: 449. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1.06 (6H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.28 (3H, s), 3.12 (4H, q, *J* = 7.2 Hz), 3.79 (3H, s), 4.02 (3H, s), 6.07 (1H, br s), 6.74 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.88 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.96 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.22 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.23–7.39 (3H, m), 7.92–7.94 (2H, m). Anal. Calcd for C₂₆H₂₉ClN₄O·H₂O: C, 66.87; H, 6.69; N, 12.00. Found: C, 67.02; H, 6.39; N, 11.88. HPLC : 98% purity.

***N*²-(4-Chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷,*N*⁷-diethyl-4-methoxy-1-methyl-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (41i)**

化合物 **41i** (0.145 g, 45%) は、化合物 **40i** (0.220 g, 0.803 mmol) から化合物 **41e** と同様の方法で合成した。mp : 186–188°C. MS Calcd. for C₂₁H₂₈ClN₄O₂ ([M+H]⁺): 403; Found: 403. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1.00 (6H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.16 (3H, s), 3.03 (4H, q, *J* = 7.2 Hz), 3.80 (3H, s), 3.90 (3H, s), 4.01 (3H, s), 5.87 (1H, br s), 6.54 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 6.74 (1H, d, *J* = 1.8 Hz), 6.83 (1H, d, *J* = 6.0 Hz), 6.84 (1H, d, *J* = 1.8 Hz). Anal. Calcd for C₂₁H₂₇N₄O₂Cl: C, 62.60; H, 6.75; N, 13.91; Cl, 8.80. Found: C, 62.90; H, 6.80; N, 13.89; Cl, 8.77. HPLC : 98% purity.

第三章に関する実験

7-Isopropylamino-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (43b)

化合物 **23** (6.06 g, 37.1 mmol) およびメタノール (60 mL) の混合物に AcOH (2.12 mL, 37.1 mmol)、アセトン (8.18 mL, 111 mmol) および NaBH₃CN (6.98 g, 111 mmol) を加え、室温で 15 時間攪拌した。反応溶媒を減圧留去した。残渣に水を加え、得られた個体をろ取、水で洗浄して標題化合物 **43b** (1.25 g, 16%) を得た。ろ液に水を加え、得られた固体をろ取、水で洗浄して標題化合物 **43b** (4.95 g, 65%) を得た。合計 : 6.20 g, 81%。MS Calcd. for C₁₁H₁₆N₃O ([M+H]⁺): 206; Found: 206. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 1.07 (6H, d, *J* = 6.3 Hz), 3.43–3.54 (1H, m), 3.55 (3H, s), 4.47 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 6.38–6.41 (1H, m), 6.77–6.93 (2H, m), 10.63 (1H, s).

1-Methyl-7-((3,3,3-trifluoro)propylamino)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (43c)

化合物 **43c** (1.95 g, 94%) は、化合物 **23** (1.30 g, 7.97 mmol) および 3,3,3-trifluoropropionaldehyde (3.43 mL, 39.8 mmol) から化合物 **43b** と同様の方法で合成した。無色固体。MS Calcd. for C₁₁H₁₃F₃N₃O ([M+H]⁺): 260; Found: 260. ¹H NMR (CDCl₃) δ 2.41–2.57 (2H, m), 3.47 (2H, q, *J* = 6.3 Hz), 3.69 (3H, s), 3.95–4.00 (1H, br), 6.44 (1H, dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz), 6.62 (1H, dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz), 6.95 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 8.83 (1H, s).

Ethyl N-(3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-4-yl)glycinate (43d)

化合物 **43d** (1.83 g, 24%) は、化合物 **23** (50% in toluene, 4.97 g, 30.5 mmol) および ethyl glyoxylate (12.1 mL, 60.9 mmol) から化合物 **43b** と同様の方法で合成した。無色固体。MS Calcd. for C₁₂H₁₆N₃O₃ ([M+H]⁺): 250; Found: 250. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.20 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.56 (3H, s), 3.92 (2H, d, *J* = 6.0 Hz), 4.13 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 5.46 (1H, t, *J* = 6.0 Hz), 6.17 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.40 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.77 (1H, t, *J* = 7.8 Hz).

7-(Ethyl(3,3,3-trifluoropropyl)amino)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (44a)

化合物 **43c** (0.058 g, 3.31 mmol) およびメタノール (11 mL) の混合物にアセトアルデヒド (0.93 mL, 16.6 mmol)、NaBH₃CN (0.624 g, 9.93 mmol) および AcOH (0.38 mL, 6.62 mmol) を加え、室温で 15 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (25–60% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **44a** (0.462 g, 49%) を無色油状物として得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{17}F_3N_3O$ ($[M+H]^+$): 288; Found: 288. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.03 (3H, t, $J = 6.9$ Hz), 2.15–2.31 (2H, m), 3.05 (2H, q, $J = 6.9$ Hz), 3.20–3.35 (2H, br), 3.71 (3H, s), 6.89–6.94 (2H, m), 7.02 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 9.70 (1H, s).

Ethyl *N*-ethyl-*N*-(3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzimidazol-4-yl)glycinate (44b)

化合物 **43d** (7.24 g, 29.0 mmol) およびエタノール (50 mL) の混合物に AcOH (1.66 mL, 29.0 mmol)、アセトアルデヒド (4.89 mL, 87.1 mmol) および $NaBH_3CN$ (3.64 g, 58.0 mmol) を加え、室温で攪拌した。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／THF で抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (35–100% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **44b** (10.6 g, >99%) を黄色油状物として得た。MS Calcd. for $C_{14}H_{20}N_3O_3$ ($[M+H]^+$): 278; Found: 278. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.03 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.20 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.16 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.79 (3H, s), 3.81 (2H, s), 4.12 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 6.85–7.01 (3H, m), 8.75–8.90 (1H br).

4-Bromo-7-[ethyl(3,3,3-trifluoropropyl)amino]-1-methyl-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one (45a)

化合物 **44a** (0.460 g, 1.60 mmol) およびアセトニトリル (5 mL) の混合物に NBS (0.285 g, 1.60 mmol) を加え、室温で 15 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (10–25% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **45a** (0.491 g, 84%) を無色固体として得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{16}BrF_3N_3O$ ($[M+H]^+$): 366; Found: 366. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.02 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 2.14–2.30 (2H, m), 3.03 (2H, q, $J = 7.0$ Hz), 3.23–3.27 (2H, m), 3.68 (3H, s), 6.81 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.40 (1H, br s).

Ethyl 7-bromo-*N*-ethyl-*N*-(3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzimidazol-4-yl)glycinate (45b)

化合物 **45b** (3.46 g, 56%) は、化合物 **44b** (4.80 g, 17.3 mmol) から化合物 **45a** と同様の方法で合成した。無色固体。MS Calcd. for $C_{14}H_{19}BrN_3O_3$ ($[M+H]^+$): 356; Found: 356. 1H NMR ($CDCl_3$) δ

1.03 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.21 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.50 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.77 (3H, s), 3.79 (2H, s), 4.12 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 6.88 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.09 (1H, d, $J = 8.7$ Hz).

2-Chloro-*N*-isopropyl-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (46b)

化合物 **43b** (4.94 g, 24.1 mmol) およびオキシ塩化リン (25 mL) の混合物を 70°C で 20 時間攪拌した。冷却後、オキシ塩化リンを減圧留去した。残渣を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (5–25% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製した。得られた固体をヘキサンで洗浄することにより標題化合物 **46b** (2.53 g, 47%) を無色固体として得た。MS Calcd. for $C_{11}H_{15}ClN_3$ ($[M+H]^+$): 224; Found: 224. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.26 (6H, d, $J = 6.0$ Hz), 3.44 (1H, br s), 3.53–3.66 (1H, m), 4.08 (3H, s), 6.59 (1H, dd, $J = 7.5, 1.0$ Hz), 7.09 (1H, dd, $J = 8.1, 7.5$ Hz), 7.16 (1H, dd, $J = 8.1, 1.0$ Hz).

2-Chloro-1-methyl-*N*-(3-pentyl)-1*H*-benzimidazol-7-amine (46a)

化合物 **43a** (0.831 g, 49%) は、化合物 **23** (1.18 g, 7.23 mmol) および 3-pentanone (2.10 mL, 19.8 mmol) から化合物 **43b** と同様の方法で合成した。化合物 **46a** (0.128 g, 15%) は、化合物 **43b** (0.820 g, 3.51 mmol) から化合物 **46b** と同様の方法で合成した。無色固体。MS Calcd. for $C_{13}H_{19}ClN_3$ ($[M+H]^+$): 252; Found: 252. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.97 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.50–1.70 (4H, m), 3.22–3.34 (1H, m), 3.50–3.80 (1H, br), 4.07 (3H, s), 6.47–6.54 (1H, m), 7.04–7.10 (2H, m).

2,4-Dichloro-*N*-isopropyl-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-amine (47)

化合物 **46a** (2.57 g, 11.5 mmol) およびアセトニトリル (25 mL) の混合物に NCS (1.53 g, 11.5 mmol) を加え、室温で 4 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (10–50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **47** (1.10 g, 37%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{11}H_{14}Cl_2N_3$ ($[M+H]^+$): 258; Found: 258. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.18–1.90 (6H, m), 3.20–3.40 (2H, m), 4.06 (3H, s), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.28 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

2,4-Dichloro-1-methyl-N-(3-pentyl)-1H-benzimidazol-7-amine (48a)

化合物 **48a** (0.040 g, 28%) は、化合物 **46a** (0.125 g, 0.497 mmol) から化合物 **47** と同様の方法で合成した。固体。MS Calcd. for $C_{13}H_{18}Cl_2N_3$ ($[M+H]^+$): 286; Found: 286. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.97 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.49–1.70 (4H, m), 3.21–3.28 (1H, m), 3.57 (1H, br s), 4.08 (3H, s), 6.43 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.07 (1H, d, $J = 8.7$ Hz).

N-(2,4-Dichloro-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)-N-isopropylpropamide (48b)

化合物 **47** (0.202 g, 0.708 mmol) および DMF (2 mL) の混合物に水素化ナトリウム (0.028 g, 0.779 mmol) を加え、60°C で 30 分間撹拌した。Propionyl chloride (0.31 mL, 3.54 mmol) を 0°C で加え、室温で 2 時間撹拌した。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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (20–60% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **48b** (0.196 g, 88%) を固体として得た。MS Calcd. for $C_{14}H_{18}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 314; Found: 314. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.81 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 1.03 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 1.33 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.78–2.05 (2H, m), 3.78 (3H, s), 4.84–4.96 (1H, m), 6.98 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.32 (1H, d, $J = 8.2$ Hz).

2-Chloro-4-bromo-N-ethyl-1-methyl-N-(3,3,3-trifluoropropyl)-1H-benzimidazol-7-amine (48c)

化合物 **45a** (0.452 g, 1.23 mmol) および オキシ塩化リン (2 mL) の混合物を 100°C で 2 時間撹拌した。冷却後、オキシ塩化リンを減圧留去した。残渣を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (5–20% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、標題化合物 **48c** (0.410 g, 87%) を無色固体として得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{15}BrClF_3N_3$ ($[M+H]^+$): 384; Found: 384. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.03 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.11–2.35 (2H, m), 3.00–3.20 (2H, br), 3.20–3.40 (2H, br), 4.09 (3H, s), 6.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.40 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

Ethyl N-(4-bromo-2-chloro-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)-N-ethylglycinate (48d)

化合物 **45b** (1.84 g, 5.17 mmol) およびオキシ塩化リン (10 mL) の混合物を 90°C で 3 時間撹拌した。冷却後、オキシ塩化リンを減圧留去した。残渣を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。得ら

れた固体を酢酸エチル／ヘキサンから結晶化し、標題化合物 **48d** (1.69 g, 87%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for $C_{14}H_{18}BrClN_3O_2$ ($[M+H]^+$): 374; Found: 374. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.02 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.20 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 3.10–3.25 (2H, br), 3.84 (2H, s), 4.11 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 4.19 (3H, s), 7.01 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.36 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

4-Chloro-*N*²-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-*N*⁷-(pentan-3-yl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (49a)

化合物 **48a** (0.035 g, 0.122 mmol)、4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.063 g, 0.367 mmol) および NMP (0.15 mL) の混合物を 110°C で 3.5 日間撹拌した。冷却後、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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (5–35% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製し、目的物を含む高純度の画分を減圧濃縮した。得られた固体をジイソプロピルエーテルで洗浄し、標題化合物 **49a** (0.020 g, 39%) を淡黄色固体として得た。mp : 211–214°C. MS Calcd. for $C_{21}H_{27}Cl_2N_4O$ ($[M+H]^+$): 421; Found: 421. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.95 (6H, t, $J = 7.4$ Hz), 1.47–1.67 (4H, m), 2.14 (3H, s), 3.07–3.30 (1H, m), 3.20–3.50 (1H, br), 3.80 (3H, s), 3.86 (3H, s), 6.02 (1H, br s), 6.35 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.80 (1H, s), 6.86 (1H, s), 6.95 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

***N*-(4-Chloro-2-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)-*N*-isopropylpropanamide (49b)**

化合物 **49b** (0.201 g, 74%) は、化合物 **48b** (0.191 g, 0.608 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.313 g, 1.82 mmol) から化合物 **49a** と同様の方法で合成した。無色固体。mp : 217–218°C. MS Calcd. for $C_{22}H_{27}Cl_2N_4O_2$ ($[M+H]^+$): 449; Found: 449. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.86 (3H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.04 (3H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.31 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.86–2.12 (2H, m), 2.23 (3H, s), 3.56 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.81–4.94 (1H, m), 6.07 (1H, s), 6.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 6.78 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.91 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 8.2$ Hz). Anal. Calcd for $C_{22}H_{26}N_4O_2Cl_2$: C, 58.80; H, 5.83; N, 12.47. Found: C, 58.85; H, 5.85; N, 12.44.

4-Bromo-*N*²-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-*N*⁷-ethyl-1-methyl-*N*⁷-(3,3,3-trifluoropropyl)-1*H*-benzimidazole-2,7-diamine (49c)

化合物 **49c** (0.061 g, 31%) は、化合物 **48c** (0.143 g, 0.372 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.191 g, 1.12 mmol) から化合物 **49a** と同様の方法で合成した。無色結晶。mp : 180–182°C. MS Calcd. for C₂₁H₂₄BrClF₃N₄O ([M+H]⁺): 519; Found: 519. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.04 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.15–2.32 (2H, m), 2.23 (3H, s), 3.00–3.15 (2H, br), 3.18–3.35 (2H, br), 3.80 (3H, s), 3.88 (3H, s), 6.09 (1H, br s), 6.75 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.77 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.90 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 7.23 (1H, d, *J* = 8.4 Hz). Anal. Calcd for C₂₁H₂₃N₄OBrClF₃: C, 48.52; H, 4.46; N, 10.78. Found: C, 48.64; H, 4.60; N, 10.89. HPLC : 99% purity.

Ethyl

***N*-(4-bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)-*N*-ethylglycinate (49d)**

化合物 **49d** (0.586 g, 71%) は、化合物 **48d** (0.609 g, 1.63 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.837 g, 4.88 mmol) から化合物 **49a** と同様の方法で合成した。無色結晶。MS Calcd. for C₂₂H₂₇BrClN₄O₃ ([M+H]⁺): 509; Found: 509. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.03 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 1.21 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.23 (3H, s), 3.10–3.25 (2H, m), 3.81 (3H, s), 3.83 (2H, s), 4.00 (3H, s), 4.12 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 6.09 (1H, s), 6.77 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.80 (1H, d, *J* = 8.1 Hz), 6.90 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.20 (1H, d, *J* = 8.1 Hz).

2-((4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)(ethyl)amino)ethanol (50)

化合物 **49d** (1.18 g, 2.31 mmol) および THF (10 mL) の混合物に lithium tetrahydroborate (0.151 g, 6.94 mmol) を加え、50°C で 15 時間攪拌し、24 時間加熱還流した。冷却後、反応混合物に氷水および酢酸エチルを加えた。得られた結晶をろ取、水および酢酸エチルで洗浄し、標題化合物 **50** (0.331 g) を無色固体として得た。ろ液を酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。得られた固体をジエチルエーテル／ヘキサンで洗浄し、標題化合物 **50** (0.645 g) を無色結晶として得た。合計 : 0.976 g, 90%. mp : 178–180°C. MS Calcd. for

$C_{20}H_{25}BrClN_4O_2$ ($[M+H]^+$): 467; Found: 467. 1H NMR (DMSO- d_6) δ 0.93 (3H, t, $J = 6.3$ Hz), 2.13 (3H, s), 3.02–3.09 (4H, m), 3.44 (2H, q, $J = 6.3$ Hz), 3.76 (3H, s), 3.95 (3H, s), 4.49 (1H, $J = 5.1$ Hz), 6.75 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz), 6.98 (1H, s), 7.02 (1H, s), 7.07 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz), 8.09 (1H, s).

((4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)(ethylamino)acetaldehyde (51)

オキザリルクロリド (0.27 mL, 3.12 mmol) およびジクロロメタン (2 mL) の混合物に DMSO (0.22 mL, 3.12 mmol) を $-65^\circ C$ で加え、同温で2分間攪拌した。反応混合物に、化合物 **50** (0.584 g, 1.25 mmol) のジクロロメタン (30 mL) 溶液を $-65^\circ C$ で加え、15 分後に triethylamine (1.74 mL, 12.5 mmol) を加え、室温まで徐々に昇温しながら2時間攪拌した。反応混合物に氷水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (20–70% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **51** (0.294 g, 51 %) をアモルファスとして得た。MS Calcd. for $C_{20}H_{23}BrClN_4O_2$ ($[M+H]^+$): 465; Found: 465. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.04 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.23 (3H, s), 3.12 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.79 (3H, s), 3.87 (2H, s), 3.98 (3H, s), 6.15 (1H, br s), 6.72 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.76 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 6.89 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.19 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 9.70 (1H, s).

1-((4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)(ethylamino)propan-2-ol (52)

化合物 **51** (0.281 g, 0.603 mmol) およびジエチルエーテル (3 mL) の混合物に 3M methylmagnesium bromide/ジエチルエーテル溶液 (1.00 mL, 3.02 mmol) を $0^\circ C$ で加え、室温で2時間攪拌した。3M methylmagnesium bromide/ジエチルエーテル溶液 (0.50 mL, 1.51 mmol) を加え、室温で2.5時間攪拌した。反応混合物に氷水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (25–60% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **52** を油状物として得た。油状物を酢酸エチル/ヘキサンから結晶化し、標題化合物 **52** (0.089 g, 31%) を無色結晶として得た。mp : $103-105^\circ C$. MS Calcd. for $C_{21}H_{27}BrClN_4O_2$ ($[M+H]^+$): 481; Found: 481. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.95–1.08 (3H, br), 1.16 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.26 (1H, s), 2.16 (1H, s), 2.23 (3H, s),

2.70–3.05 (1H, br), 3.10 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.10–3.40 (1H, br), 3.81 (3H, s), 3.93 (3H, s), 6.10 (1H, s), 6.77 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.90 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).
HPLC : 99% purity.

1-((4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)(ethyl)amino)acetic acid (53)

化合物 **49d** (0.496 g, 1.65 mmol) およびエタノール (4 mL) の混合物に 8N 水酸化ナトリウム水溶液 (0.5 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を 6N 塩酸を用いて pH 5 とし、水を加えた。得られた固体をろ取、水で洗浄し、標題化合物 **53** (0.435 g, 93%) を無色固体として得た。MS Calcd. for $C_{20}H_{23}BrClN_4O_3$ ($[M+H]^+$): 481; Found: 481. 1H NMR (DMSO- d_6) δ 0.96 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.13 (3H, s), 3.11 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.77 (3H, s), 3.80 (2H, s), 3.99 (3H, s), 6.79 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.04 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.07 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.13 (1H, s), 12.38 (1H, s).

N^2 -(4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1H-benzimidazol-7-yl)- N^2 -ethylglycinamide (54a)

化合物 **53** (0.292 g, 0.606 mmol) および DMF (3 mL) の混合物に EDC (0.139 g, 0.727 mmol)、 Et_3N (0.211 mL, 1.52 mmol) および HOBt· NH_3 (0.111 g, 0.727 mmol) を加え、室温で 15 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄し、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 (0–4% メタノール／酢酸エチル) により精製し、目的物を含む画分を減圧濃縮した。得られた固体をジイソプロピルエーテルで洗浄し、標題化合物 **54a** (0.152 g, 52%) を無色固体として得た。mp : 208–210°C. MS Calcd. for $C_{20}H_{24}BrClN_5O_2$ ($[M+H]^+$): 480; Found: 480. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 1.05 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 2.23 (3H, s), 3.14 (2H, q, $J = 7.2$ Hz), 3.75 (2H, s), 3.80 (3H, s), 3.92 (3H, s), 5.74 (1H, br s), 6.10 (1H, br s), 6.26 (1H, s), 6.75 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 6.78 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 6.90 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz). Anal. Calcd for $C_{20}H_{23}N_5O_2BrCl$: C, 49.96; H, 4.82; N, 14.57. Found: C, 50.15; H, 4.93; N, 14.51. HPLC : >99% purity.

***N*²-(4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)-*N*²-ethyl-*N*-methylglycinamide (54b)**

化合物 **53** (0.067 g, 0.139 mmol) および DMF (0.7 mL) の混合物に HOBT (0.023 g, 0.153 mmol)、ジメチルアミンの THF 溶液 (2M; 0.348 mL, 0.695 mmol) および EDC (0.035 g, 0.181 mmol) を 0°C で加え、室温で 3 時間撹拌した。反応混合物に水を加えた。得られた固体をろ取、水で洗浄し、標題化合物 **54b** (0.055 g, 70%) を無色固体として得た。分解点: 255°C. MS Calcd. for C₂₁H₂₆BrClN₅O₂ ([M+H]⁺): 494; Found: 494. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.03 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.23 (3H, s), 2.80 (3H, d, *J* = 1.8 Hz), 3.11 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 3.73 (2H, s), 3.80 (3H, s), 3.93 (3H, s), 6.05–6.15 (1H, br), 6.73 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 6.77 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 6.90 (1H, d, *J* = 2.1 Hz), 7.21 (1H, d, *J* = 8.2 Hz). Anal. Calcd for C₂₁H₂₅N₅O₂BrCl: C, 50.97; H, 5.09; N, 14.15. Found: C, 51.12; H, 5.23; N, 13.77.

***N*²-(4-Bromo-2-((4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)amino)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-7-yl)-*N*²-ethyl-*N,N*-dimethylglycinamide (54c)**

化合物 **54c** (0.037 g, 62%) は、化合物 **53** (0.057 g, 0.118 mmol) および ジメチルアミンの THF 溶液 (2M; 0.295 mL, 0.590 mmol) から化合物 **54b** と同様の方法で合成した。無色アモルファス。MS Calcd. for C₂₂H₂₈BrClN₅O₂ ([M+H]⁺): 508; Found: 508. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.01 (3H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.23 (3H, s), 2.93 (3H, s), 2.94 (3H, s), 3.16 (2H, q, *J* = 7.2 Hz), 3.80 (3H, s), 3.85 (2H, s), 4.04 (3H, s), 6.08 (1H, s), 6.76 (1H, s), 6.79 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 6.88 (1H, s), 7.19 (1H, d, *J* = 8.4 Hz). Anal. Calcd for C₂₂H₂₇N₅O₂BrCl·0.5H₂O: C, 51.03; H, 5.38; N, 13.29. Found: C, 51.26; H, 5.38; N, 13.29.

Methyl 2-chloro-3-nitrobenzoate (56)

化合物 **55** (20 g, 99 mmol) およびジクロロメタン (800 mL) の混合物に DMF (0.40 mL) を 0°C で加え、塩化オキザリル (13.85 g, 109 mmol) を滴下し、室温で 6 時間撹拌した。反応混合物にメタノール (200 mL) を滴下し、室温で終夜撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、標題化合物 **56** (21.5 g, >99%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 3.98 (3H, s), 7.48 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.84 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.95 (1H, d, *J* = 7.8 Hz).

Methyl 2-methylamino-3-nitrobenzoate (57)

化合物 **16** (21.5 g, 99.5 mmol) および THF (300 mL) の混合物にメチルアミンの THF 溶液 (2M; 300 mL, 597 mmol) を滴下し、室温で終夜撹拌した。反応混合物を濃縮、ジクロロメタンに溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄した。有機相を乾燥、減圧濃縮し、標題化合物 **57** (20.8 g, >99%) を得た。MS Calcd. for $C_9H_{11}N_2O_4$ ($[M+H]^+$): 211; Found: 211. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 2.82 (3H, d, $J = 5.5$ Hz), 3.9 (3H, s), 6.65 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.97 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 8.04 (1H, $J = 7.8$ Hz), 8.57 (1H, s).

Methyl 3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazole-4-carboxylate (59)

化合物 **57** (20.7 g, 98 mmol) およびメタノール (1200 mL) の混合物を窒素置換し、10% パラジウム炭素 (50% wet; 5 g, 2.3 mmol) を加えた。水素雰囲気下、室温で7時間撹拌した。触媒をろ取、ろ液を減圧濃縮し、化合物 **58** (17.5 g, 99%) を得た。MS Calcd. for $C_9H_{13}N_2O_2$ ($[M+H]^+$): 181; Found: 181. 化合物 **58** (17.5 g, 97 mmol) および THF (550 mL) の混合物に CDI (20.5 g, 146 mmol) を加え、室温で終夜撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水で洗浄した。有機相を乾燥し、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 (50% 酢酸エチル/ジクロロメタン) により精製し、標題化合物 **59** (7.22 g, 78%) を得た。MS Calcd. for $C_{10}H_{11}N_2O_3$ ($[M+H]^+$): 207; Found: 207. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 3.59 (3H, s), 3.95 (3H, s), 7.08 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.27 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.52 (1H, d, $J = 8.2$ Hz).

7-(1-Hydroxy-1-propylbutyl)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (60a)

リチウム (3.15 g, 15.3 mmol) およびジジエチルエーテル (60 mL) の混合物に 1-bromopropane (9.40 g, 76.4 mmol) のジエチルエーテル (30 mL) 溶液を $-78^\circ C$ で窒素雰囲気下、滴下し、 $0^\circ C$ で2時間撹拌した。調製したリチウム試薬を化合物 **59** (3.15 g, 15.3 mmol) および THF (90 mL) の混合物に $-78^\circ C$ で滴下し、徐々に室温まで昇温させながら撹拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチル/THF で抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。得られた固体をメタノール/ジエチルエーテルより再結晶し、標題化合物 **60a** (2.83 g, 71%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for $C_{15}H_{23}N_2O_2$ ($[M+H]^+$): 263; Found: 263. 1H NMR

(CDCl₃) δ 0.93 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.23–1.41 (4H, m), 1.85–2.04 (4H, m), 3.82 (3H, s), 6.87–6.98 (3H, m), 8.78 (1H, br s).

7-(1-Ethyl-1-hydroxypropyl)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (60b)

化合物 **59** (5.00 g, 24.2 mmol) および THF (50 mL) の混合物にエチルマグネシウム ブロミドのジエチルエチル溶液 (3M; 32 mL, 96 mmol) を 0°C で加え、40°C で終夜撹拌した。反応混合物に水および 1N 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。残渣をメタノール/ジエチルエーテルから結晶化し、標題化合物 **60b** (3.39 g, 70%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for C₁₃H₁₉N₂O₂ ([M+H]⁺): 235; Found: 235. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.90 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.90–2.20 (5H, m), 3.84 (3H, s), 6.90–7.05 (3H, m), 9.10–9.30 (1H, m).

1-Methyl-7-(1-propylbutyl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (61a)

化合物 **60a** (3.24 g, 12.3 mmol)、6N 塩酸 (10 mL) およびエタノール (50 mL) の混合物を 70°C で 6 時間撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣を炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて中和し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。得られた油状物をエタノール (80 mL) に溶解し、パラジウム炭素 (10%, 0.50 g) を加え、5 気圧の水素圧下、8 時間撹拌した。触媒をろ取り、ろ液を減圧濃縮した。残渣をジイソプロピルエーテルから結晶化し、標題化合物 **61a** (2.30 g, 76%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for C₁₅H₂₃N₂O ([M+H]⁺): 247; Found: 247. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.86–0.95 (6H, m), 1.11–1.32 (4H, m), 1.55–1.81 (4H, m), 3.33–3.40 (1H, m), 3.66 (3H, s), 6.91–7.06 (3H, m), 9.88 (1H, br s).

7-(1-Ethylpropyl)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (61b)

化合物 **60b** (6.00 g, 25.6 mmol) 6N 塩酸 (20 mL) およびエタノール (100 mL) の混合物を 50°C で 3 時間撹拌した。反応混合物を減圧濃縮した。得られた結晶を酢酸エチルに溶解し、炭酸カリウム水溶液で洗浄した。有機相を乾燥、減圧濃縮し、淡黄色油状物を得た。MS Calcd. for C₁₃H₁₇N₂O ([M+H]⁺): 217; Found: 217. 得られた粗生成物およびエタノール (150 mL) の混合物にパラジウム炭素 (10%, 1.00 g) を加え、5 気圧の水素圧下、室温で 7 時間撹拌した。触媒をろ取り、ろ液を減圧濃縮した。残渣をメタノール/ジエチルエーテルから結晶化し、標

題化合物 **61b** (3.02 g, 54%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{19}N_2O$ ($[M+H]^+$): 219; Found: 219. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.82 (6H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.60–1.85 (4H, m), 3.15–3.25 (1H, m), 3.65 (3H, s), 6.85–6.98 (2H, m), 7.00–7.10 (1H, m), 10.2–10.5 (1H, m).

4-Chloro-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**62b**)

化合物 **61b** (2.90 g, 13.3 mmol)、NCS (1.95 g, 14.6 mmol) および四塩化炭素 (250 mL) の混合物に AIBN (0.046 g, 0.28 mmol) を加え、70°C で2日間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。残渣をメタノール/イソプロパノールから結晶化し、標題化合物 **62b** (2.28 g, 68%) を無色結晶として得た。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.81 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.60–1.85 (4H, m), 3.10–3.20 (1H, m), 3.64 (3H, s), 6.87 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.03 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.55 (1H, s).

4-Chloro-1-methyl-7-(1-propylbutyl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (**62a**)

標題化合物 (1.66 g, 64%) は、化合物 **61a** (2.29 g, 9.30 mmol) から化合物 **62b** と同様の方法で合成した。無色結晶 (メタノール/イソプロパノール)。MS Calcd. for $C_{15}H_{22}ClN_2O$ ($[M+H]^+$): 281; Found: 281. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.85 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.10–1.30 (4H, m), 1.52–1.79 (4H, m), 3.26–3.33 (1H, m), 3.64 (3H, s), 6.88 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.02 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 9.10 (1H, br s).

2,4-Dichloro-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1H-benzimidazole (**63b**)

化合物 **62b** (1.17 g, 4.63 mmol) およびオキシ塩化リン (28 g) の混合物を 90°C で3時間攪拌した。冷却後、反応混合物を減圧濃縮した。残渣に酢酸エチルを加え、炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄した。有機相を乾燥し、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 (10–50% 酢酸エチル/ヘキサン) により精製し、酢酸エチル/ヘキサンから結晶化することにより標題化合物 **63b** (1.03 g, 82%) を無色結晶として得た。MS Calcd. for $C_{13}H_{17}Cl_2N_2$ ($[M+H]^+$): 271; Found: 271. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.82 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.60–1.90 (4H, m), 3.20–3.30 (1H, m), 4.01 (3H, s), 7.05 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.26 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

2,4-Dichloro-1-methyl-7-(1-propylbutyl)-1H-benzimidazole (**63a**)

標題化合物 (1.60 g, 91%) は、化合物 **62a** (1.65 g, 5.88 mmol) から化合物 **63b** と同様の方法で合成した。無色油状物。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.85–0.93 (6H, m), 1.11–1.30 (4H, m), 1.58–1.80 (4H,

m), 3.34–3.41 (1H, m), 4.01 (3H, s), 7.06 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.25 (1H, d, $J = 8.4$ Hz).

4-Chloro-*N*-(2,4-dichloro-6-methylphenyl)-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-amine (64c)

化合物 **63b** (16.0 g, 59.0 mmol)、2,4-dichloro-6-methylaniline (51.9 g, 295 mmol) および NMP (18 mL) の混合物を 130°C で 96 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。残渣を塩基性シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン) により精製した。得られた結晶をヘキサンで洗浄し、酢酸エチル/ヘキサンから再結晶して標題化合物 **64c** (10.3 g, 42%) を無色結晶として得た。mp : 237–238°C. MS Calcd. for $C_{20}H_{23}Cl_3N_3$ ($[M+H]^+$): 410; Found: 410. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.85 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.57–1.80 (4H, m), 2.17 (3H, s), 3.16–3.20 (1H, m), 3.77 (3H, s), 6.10 (1H, s), 6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.08 (1H, br s), 7.14 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.30 (1H, d, $J = 2.1$ Hz). Anal. Calcd for $C_{20}H_{22}N_3Cl_3$: C, 58.48; H, 5.40; N, 10.23. Found: C, 58.47; H, 5.50; N, 10.28.

4-Chloro-*N*-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-1-methyl-7-(1-propylbutyl)-1*H*-benzimidazol-2-amine (64a)

標題化合物 **64a** (0.146 g, 50%) は、化合物 **63a** (0.200 g, 0.67 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.345 g, 2.01 mmol) から化合物 **64c** と同様の方法で合成した。無色結晶。mp : 204–206°C. MS Calcd. for $C_{23}H_{30}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 434; Found: 434. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 0.86 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.10–1.30 (4H, m), 1.55–1.75 (4H, m), 2.15 (3H, s), 3.25–3.40 (1H, m), 3.75 (3H, s), 3.79 (3H, s), 6.08 (1H, s), 6.77 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 6.80–6.90 (2H, m), 7.10 (1H, d, $J = 8.4$ Hz). HPLC : >99% purity.

4-Chloro-*N*-(4-chloro-2-methoxy-6-methylphenyl)-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-amine (64b)

化合物 **64b** (0.114 g, 38%) は、**63b** (0.200 g, 0.737 mmol) および 4-chloro-2-methoxy-6-methylaniline (0.380 g, 2.21 mmol) から化合物 **64c** と同様の方法で合成した。無色結晶。mp : 219–221°C. MS Calcd. for $C_{21}H_{26}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 406; Found: 406. 1H NMR

(CDCl₃) δ 0.83 (6H, t, J = 7.2 Hz), 1.60–1.85 (4H, m), 2.16 (3H, s), 3.10–3.20 (1H, m), 3.75 (3H, s), 3.79 (3H, s), 6.07 (1H, s), 6.77 (1H, d, J = 2.1 Hz), 6.80–6.90 (2H, m), 7.05–7.20 (1H, m). HPLC : 98% purity.

4-Chloro-2-(2,4-dichloro-6-methylphenoxy)-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazole (64d)

化合物 **63b** (5.5 g, 20.2 mmol)、2,4-dichloro-6-methylphenol (10 g, 56.5 mmol)、炭酸カリウム (8.4 g, 60.8 mmol) および DMF (55 mL) の混合物を 100°C で 9 時間攪拌した。反応混合物に、2,4-dichloro-6-methylphenol (5 g, 28.3 mmol) および炭酸カリウム (4.2 g, 30.4 mmol) を加え、100°C で 16 時間攪拌した。反応混合物に 2,4-dichloro-6-methylphenol (5 g, 28.3 mmol) および炭酸カリウム (4.2 g, 30.4 mmol) をさらに加え、100°C で 9 時間攪拌した。冷却後、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。残渣を塩基性シリカゲルカラムクロマトグラフィー (12.5% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製した。得られた結晶を 10% 酢酸エチル／ヘキサンから再結晶し、標題化合物 **64d** (5.3 g, 64%) を無色結晶として得た。mp : 155–157°C. MS Calcd. for C₂₀H₂₂Cl₃N₂O ([M+H]⁺): 411; Found: 411. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.86 (6H, t, J = 7.2 Hz), 1.64–1.86 (4H, m), 2.31 (3H, s), 3.17–3.28 (1H, m), 3.99 (3H, s), 6.93 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.14 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.20 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.31 (1H, d, J = 2.4 Hz). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.6, 146.3, 136.5, 134.8, 133.5, 130.6, 130.0, 128.5, 127.4, 127.1, 121.6, 120.1, 118.8, 39.8, 32.1, 28.2, 15.9, 11.6. Anal. Calcd for C₂₀H₂₁N₂OCl₃: C, 58.34; H, 5.14; N, 6.80. Found: C, 58.35; H, 5.13; N, 6.86. HPLC : >99% purity.

2-(4-Bromo-2-chloro-6-methylphenoxy)-4-chloro-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazole (64e)

化合物 **64e** (1.11 g, 66%) は、化合物 **63b** (1.00 g, 3.68 mmol) および 4-bromo-2-chloro-6-methylphenol (2.44 g, 11.0 mmol) から化合物 **64d** と同様の方法で合成した。白色粉末。MS Calcd. for C₂₀H₂₂BrCl₂N₂O ([M+H]⁺): 455; Found: 455. ¹H NMR (CDCl₃) δ 0.86 (6H, t, J = 7.2 Hz), 1.68–1.82 (4H, m), 2.31 (3H, s), 3.20–3.24 (1H, m), 3.98 (3H, s), 6.92 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.13 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.35 (1H, d, J = 2.4 Hz), 7.45 (1H, d, J = 2.4 Hz).

3-Chloro-4-((4-chloro-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)oxy)-5-methylbenzonitrile (65)

化合物 **64e** (1.08 g, 2.36 mmol) および NMP (9 mL) の混合物にシアン化銅 (I) (1.34 g, 7.10 mmol) を加え、150°C で 90 分間攪拌した。反応混合物を炭酸水素ナトリウム水溶液および食塩水で洗浄し、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (0–10% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製した。得られた固体をヘキサンで洗浄し、標題化合物 **65** (0.203 g, 21%) を無色固体として得た。mp : 142–144°C. MS Calcd. for $C_{21}H_{22}Cl_2N_3O$ ($[M+H]^+$): 402; Found: 402. 1H NMR δ 0.87 (6H, t, $J = 7.2$ Hz), 1.66–1.83 (4H, m), 2.38 (3H, s), 3.20–3.24 (1H, m), 4.00 (3H, s), 6.94 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.52 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.62 (1H, d, $J = 1.8$ Hz).

3-Chloro-4-((4-chloro-7-(1-ethylpropyl)-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)oxy)-5-methylbenzamide (66)

化合物 **64e** (0.300 g, 0.657 mmol) および THF (6.0 mL) の混合物に *n*-BuLi／ヘキサン (1.60 M, 0.45 mL, 0.720 mmol) 溶液を $-78^\circ C$ で加え、15 分間攪拌した。反応混合物にドライアイスを加え、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液に注ぎ、酢酸エチルで抽出した。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、減圧濃縮した。残渣をメタノールから再結晶し、カルボン酸誘導体 (0.080 g) を得た。カルボン酸体 (0.080 g, 0.189 mmol) および DMF (1.5 mL) の混合物に HOBt·NH₃ (0.042 g, 0.245 mmol) および EDC (0.040 g, 0.208 mmol) を加え、室温で 11 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た。有機相を飽和食塩水で洗浄、乾燥し、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 (10–100% 酢酸エチル／ヘキサン) により精製した。得られた結晶をジイソプロピルエーテルで洗浄し、標題化合物 **66** (0.0632 g, 23%) を無色固体として得た。mp : 294–295°C. MS Calcd. for $C_{21}H_{24}Cl_2N_3O_2$ ($[M+H]^+$): 420; Found: 420. 1H NMR (DMSO-*d*₆) δ 0.82 (6H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.66–1.76 (4H, m), 2.29 (3H, s), 3.28–3.33 (1H, m), 4.00 (3H, s), 7.02 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.17 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.88 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.93 (1H, d, $J = 2.1$ Hz), 7.56 (1H, br s), 8.11 (1H, br s). HPLC : >99% purity.

生物学的試験

CRF₁ 受容体結合阻害試験

受容体結合試験は、ヒト CRF₁ 受容体を発現した CHO 細胞膜画分および ヒツジ CRF, ⁴⁰ ¹²⁵I-Tyr⁰ (¹²⁵I-CRF) を用いて行った。アッセイバッファー [50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 10 mM MgCl₂, 0.05% CHAPS, 0.1% ウシ血清アルブミン (bovine serum albumin : BSA), 0.5 mM PMSF, 0.1 µg/mL pepstatin, and 20 µg/mL leupeptin (pH 7.5)] 中で各種濃度の試験化合物と 1 µg の膜画分、50 pM ¹²⁵I-CRF を混合し、室温で 1.5 時間インキュベートした。セルハーベスター (PerkinElmer) を用いてグラスフィルター (UniFilter plate GF-C/PerkinElmer) に膜画分を吸引ろ過後、冷 Tris-HCl (50 mM, pH 7.5) で洗浄した。グラスフィルターを乾燥後、液体シンチレーション (Microscint; PerkinElmer) を添加し、TopCount (PerkinElmer) を用いてグラスフィルターに残っている ¹²⁵I-CRF の放射活性を測定した。試験化合物の代わりに DMSO を添加した際の放射活性を Total binding (TB)、ラベル化していないヒト urocortin (0.1 µM) を添加した場合の放射活性を Non-specific binding (NSB) とした。%阻害率を以下に示す式を用いて計算した。

$$\% \text{阻害率} = (\text{Bound} - \text{NSB}) / (\text{TB} - \text{NSB}) \times 100$$

Bound は化合物を加えた時の放射活性である。IC₅₀ 値および 95% 信頼区間は、GraphPad Prism software (GraphPad Software Inc.) を用いて計算した (n = 1)。

CRF₁ 受容体拮抗試験

CRF₁ 受容体拮抗活性は CRE-luciferase reporter assay により評価した。ヒト CRF₁ 受容体および CRE-luciferase 遺伝子を発現させた CHO 細胞を 96-well plate (40,000 cells/well) に入れ、24 時間培養した。培養後、培地を除き、アッセイバッファー [20 mM HEPES, Ham F-12, and 0.1% BSA (pH 7.2)] で調製した試験化合物とヒト CRF (1 nM) を細胞に添加した。4 時間反応させた後、Steady-Glo® luciferase assay system (Promega) を用いてルシフェラーゼ活性を測定した。発光強度は ARVO-SX (PerkinElmer) を用いて測定した。IC₅₀ 値および 95% 信頼性区間を GraphPad Prism software (GraphPad Software Inc.) を用いて計算した (n = 1)。

細胞障害性試験

10% fetal bovine serum、penicillin (50 IU/mL) および streptomycin (50 µg/mL) 存在下のダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium : DMEM) で、5% CO₂、37°C で培養した HepG2 細胞を、96-well plate に 2×10^4 cells/well となるように播種し、0.5% fetal bovine serum、1% L-glutamine、1% sodium pyruvate penicillin (50 IU/mL) および streptomycin (50 µg/mL) 存在下の DMEM で試験化合物と共に1日培養した。ATP 濃度は、ATPLiteTM-M (PerkinElmer) を用いて製造業者の説明書に従って測定し、DMSO のみ添加時を 100% として計算した (n = 3)。

ヒト肝ミクロソームでの *in vitro* 代謝クリアランス

ヒト肝ミクロソームは Xenotech, LLC (Lenexa, KS) から購入した。反応容量は 100 µL で、各試薬の反応液中の組成は、ヒト肝ミクロソーム (0.2 mg/mL)、リン酸緩衝液 (pH 7.4, 50 mmol/L)、NADPH 生成系として MgCl₂ (5 mmol/L)、β-NADP⁺ (0.5 mmol/L)、G-6-P (5 mmol/L) および G-6-PDH (1.5 unit/mL) とした。化合物濃度は 1 µmol/L に設定した。反応時間は 20 分に設定し、37°C の水浴でインキュベーションした後、100 µL のアセトニトリルの添加により反応を停止した。反応液中の化合物濃度は、HPLC-UV 検出器を用いて測定し、代謝クリアランスはインキュベーションの有無による親化合物の減少率から算出した。

CRF₁ 受容体からの解離試験⁴¹⁾

ヒト CRF₁ 受容体を発現させた CHO 細胞を、培地 [Ham/F12 (Life technologies)、10% fetal calf serum (FCS) (Ausgene)、penicillin, and streptomycin] 中、 4×10^4 cells/well の密度で 96-well plate に播種し、一晚培養した。培地を除き、アッセイバッファー (Ham/F12、0.5% BSA、20 mM HEPES) を 80 µL 添加した。アッセイバッファーで希釈された化合物を 10 µL 加え、室温で 1 時間インキュベートした。化合物洗浄無しの条件では、2 nM ¹²⁵I-CRF (PerkinElmer) を 10 µL 加え、プレートを室温で 1 時間培養後 200 µL のリン酸緩衝生理食塩水 (phosphate buffered saline : PBS) (Life Technologies) で 2 回洗浄し、Microscint-20 を 100 µL 加え放射活性を測定した。

化合物洗浄ありの条件では、化合物添加 1 時間後に 200 µL の PBS で 1 回洗浄した。その後

アッセイバッファーを 100 μ L 添加し、室温で 2 時間インキュベートした。200 μ L の PBS で 1 回洗浄したのち 90 μ L のアッセイバッファーおよび 10 μ L の 2 nM 125 I-CRF を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。200 μ L の PBS で 2 回洗浄し、Microscint-20 を 100 μ L 加え放射活性を測定した。放射活性は、TopCount liquid scintillation counter (PerkinElmer) を用いて測定した。IC₅₀ 値および 95% 信頼性区間は GraphPad Prism software (GraphPad Software Inc.) を用いて計算した (n = 4)。

***Ex vivo* 結合試験**

試験化合物または vehicle をマウスまたはラットに経口投与し、投与 2 時間後に断頭にて全脳を摘出した。全脳からさらに前頭葉、嗅球、下垂体の部位に分け、直ちにドライアイス上で凍結させ、湿重量を測定した。各サンプルに lysis buffer [50 mM Tris-HCl (pH 7.0), 10 mM MgCl₂, 2 mM EDTA, and 100 KU/mL aprotinin] を適量加えて PHYSCOTRON (MICROTEC) にて 10 秒間 4°C でホモジナイズ後、最終濃度が 5 mg wet tissue/mL となるように lysis buffer を用いて希釈した。

125 I-CRF (ヒツジ) 結合試験には、組織の調製で用いた lysis buffer に 0.1% BSA、0.5% DMSO および 0.05% CHAPS を加えたものを binding buffer として用いた。上記ホモジネートに最終収量が 200 mL となるように 125 I-CRF (ヒツジ) (100 pM)、binding buffer を混合し、室温で 2 時間培養した。あらかじめ 0.3% polyethyleneimine 処理した Whatman GF/C filter (Sigma-Aldrich) にて混合物をろ過し、0.05% CHAPS および 0.01% Triton X-100 を含む PBS を用いて、氷冷下で 6 回洗浄後、乾燥させた。放射活性は、gamma scintillation counter にて自動測定した。選択的 CRF₁ receptor antagonist である R121919 (1 μ M) 存在下での測定値を非特異的結合量として各測定値から差し引くことにより、化合物投与によるヒツジ 125 I-CRF の特異的結合量を算出した。データは vehicle 投与サンプルの 125 I-CRF (ヒツジ) 特異的結合量に対する阻害率 (%) として表記した。統計処理には Preclinical C Package (PCP) (modified from SAS Ver. 8.2 (SAS Institute)) を用い、試験化合物の用量依存性検証のためパラメトリック片側 Williams 検定 ($p < 0.025$) を実施した。

マウスACTH 分泌に対する抑制作用

採血の 1 時間前に試験化合物を経口投与、30 分前に PBS を intracerebroventricular 投与 (5 μ L/mouse) した。断頭にて血液を採取後、全血を遠心分離 (815–20380 G、4°C、10 分間) して血漿を採取し、–20°C で保管した。血漿中の ACTH 濃度は、免疫放射定量測定キット (ACTH: Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Tokyo, Lot No. A521) を用いて測定した。ACTH 濃度は平均値 \pm 標準誤差として表記した。統計処理には PCP を用い、2 群間比較には Student's t-test ($p < 0.05$) または Welch's test ($p < 0.05$) を、用量依存性検証にはパラメトリック片側 Williams 検定 ($p < 0.025$) を実施した。

ラット ACTH 分泌に対する抑制作用

9 週齢のオス Wistar ラット (Japan Clea, Tokyo, Japan) を用いて体重が均等になるように 6 群に分けた ($n = 10-15$)。未処置群は強制水泳を実施せず、0.5% MC 溶液を経口投与し 2 時間後に断頭採血した。薬物投与群は、化合物 **64d** の 0.5% MC 溶液 (1.25, 2.5, 5, 10 mg/kg) を経口投与し、2 時間後に強制水泳を行った。強制水泳試験は 30 cm の高さまで水道水で満たした polyethylene cylinder (特注品 高さ 50 cm、内径 20 cm) にラットを入水させ 90 秒実施した。水泳終了後ラットを元のケージに戻し、5 分後に断頭採血した。血液を 0.5 M EDTA (pH 8.0) (0.2 mL) を含む 試験管に収集し、815 G で 15 分間遠心分離後、血漿を採取した。血漿中の ACTH 濃度は、免疫放射定量測定キット (ACTH: Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Tokyo, Lot No. A521) を用いて測定した。ACTH 濃度は平均値 \pm 標準誤差として表記した。統計処理には PCP を用い、未処置群と強制水泳負荷群の 2 群間比較には Student's t-test ($p < 0.05$) を、化合物投与による用量依存性検証にはパラメトリック片側 Williams 検定 ($p < 0.025$) を実施した。

引用文献

1. Heide, L. If Depression were Cancer. *Nature* **2014**, *515*, 182-184.
2. Higuchi, T. はじめに. 別冊・医学のあゆみ. **2010**, 1-8.
3. Sanders, J.; Nemeroff, C. The CRF System as a Therapeutic Target for Neuropsychiatric Disorders. *Tr. Pharmacol. Sci.* **2016**, *37*, 1045-1054.
4. Chaki, S.; Okuyama, S. 神経ペプチド受容体：抗うつ薬創出の新しいターゲット. *Folia Pharmacol. Jpn.* **2006**, *127*, 196-200.
5. Trivedi, H. M.; Hollander, E.; Nutt, D.; Blier, P. Clinical Evidence and Potential Neurobiological Underpinnings of Unresolved Symptoms of Depression. *J. Clin. Psychiatry* **2008**, *69*, 246-258.
6. Vale, W.; Spiess, J.; Rivier C.; Rivier, J. Characterization of a 41-Residue Ovine Hypothalamic Peptide that Stimulates Secretion of Corticotropin and β -Endorphin. *Science* **1981**, *213*, 1394-1397.
7. Hauger, R. L.; Risbrough, V.; Brauns, O.; Dautzenberg, F. M. Corticotropin Releasing Factor (CRF) Receptor Signaling in the Central Nervous System: New Molecular Targets. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* **2006**, *5*, 453-479.
8. Dzierba, C. D.; Hartz, R. A.; Bronson, J. J. Recent Advances in Corticotropin-Releasing Factor Receptor Antagonists. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2008**, *43*, 3-23.
9. Owen, M. J.; Nemeroff, C. B. Physiology and Pharmacology of Corticotropin-Releasing Factor. *Pharmacol. Rev.* **1991**, *43*, 425-473.
10. Eric, P. Z.; George, F. K. The Therapeutic Potential of CRF₁ Antagonists for Anxiety. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2004**, *13*, 799-828.
11. Zobel, A. W.; Nickel, T.; Künzel, H. E.; Ackl, N.; Sonntag, A.; Ising, M.; Holsboer, F. Effects of the High-Affinity Corticotropin-Releasing Hormone Receptor 1 Antagonist R121919 in Major Depression: The First 20 Patients Treated. *J. Psychiatr. Res.* **2000**, *34*, 171-181.
12. Binneman, B.; Feltner, D.; Kolluri, S.; Shi, Y.; Qiu, R.; Stiger, T. A 6-Week Randomized, Placebo-Controlled Trial of CP-316,311 (a Selective CRH1 Antagonist) in the Treatment of Major

- Depression. *Am. J. Psychiatry* **2008**, *165*, 617-620.
13. Künzel, H. E.; Zobel, A. W.; Nickel, T.; Ackl, N.; Uhr, M.; Sonntag, A.; Ising, M.; Holsboer, F. Treatment of Depression with the CRH-1-Receptor Antagonist R121919: Endocrine Changes and Side Effects. *J. Psychiatr. Res.* **2003**, *37*, 525-533.
 14. Kuriyama, H.; Shibasaki, T. Sexual Differentiation of the Effects of Emotional Stress on Food Intake in Rats. *Neuroscience* **2004**, *124*, 459-466.
 15. Ising, M.; Zimmermann, U. S.; Künzel, H. E.; Uhr, M. Clinical Phase 1 Proof of Concept Data of the High-Affinity CRF1 Receptor Antagonist NBI-34041 Suggest Efficacy in Attenuating Elevated Stress Response. Proceedings of 46th Annual Meeting American College of Neuropsychopharmacology, Boca Raton, FL, December 9-13, 2007 (Boca Raton); American College of Neuropsychopharmacology: Brentwood, TN, 2007.
 16. Sanofi-Aventis press release, Paris, France, April 28, 2011.
<http://www.sanofi.us/l/ca/en/layout.jsp?scat=EA3F7B92-6C21-42C0-BD60-9ACC6ED95AE7>
 17. Coric, V.; Feldman, H. H.; Oren, D. A.; Shekhar, A.; Pultz, J.; Dockens, R. C.; Wu, X.; Gentile, K. A.; Huang, S-P.; Emison, E.; Delmonte, T.; D'Souza, B. B.; Zimbroff, D. L.; Grebb, J. A.; Goddard, A. W.; Stock, E. G. Multicenter, Randomized, Double-Blind, Active Comparator and Placebo-Controlled Trial of a Corticotropin-Releasing Factor Receptor-1 Antagonist in Generalized Anxiety Disorder. *Depress. Anxiety* **2010**, *27*, 417-425.
 18. Sweetser, S. R.; Linker Nord, S. J.; Burton, D. D.; Grudell, A.; Eckert, D. J.; Manini, M. L.; Busciglio, I.; Tong, G.; Dockens, R.C.; Zinsmeister, A.R.; Camilleri, M. Effects of a Novel Corticotrophin Releasing Factor Receptor-1 Antagonist, BMS-562086, On Gastrointestinal and Colonic Transit and Bowel Habits in Patients with Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome (D-IBS). *Gastroenterology* **2008**, *134*, A-548.
 19. Thoua, N. M.; Hobson, A. R.; Dukes, G.E.; Kelleher, D.L.; Hicks, K. J.; Boardley, R. L.; Raeburn, A. J.; Emmanuel, A. V. The Selective CRF-1 Receptor Antagonist GW876008 Attenuates Stress Induced Rectal Hypersensitivity in Patients with Irritable Bowel Syndrome (IBS). Proceedings

from the Gastro 2009, London, U.K., November 21-25, 2009; OP097.

20. Neurocrine Biosciences press release 2010, September 14.
<http://phx.corporate-ir.net/phoenix.zhtml?c=68817&p=irol-newsArticle&ID=1471129>
21. ClinicalTrials.gov (A service of the U.S. National Institutes of Health). <http://clinicaltrial.gov/> (as of August 31, 2015).
22. Nemeroff, C. B.; Widerlov, E.; Bissette, G.; Walleus, H.; Karlsson, I.; Eklund, K.; Kilts, C. D.; Loosen, P. T.; Vale, W. Elevated Concentrations of CSF Corticotropin-Releasing Factor-like Immunoreactivity in Depressed Patients. *Science* **1984**, *226*, 1342-1344.
23. Bremner, J. D.; Licinio, J.; Darnell, A.; Krystal, J. H.; Owens, M. J.; Southwick, S. M.; Nemeroff, C. B.; Charney, D. S. Elevated CSF Corticotropin-Releasing Factor Concentrations in Posttraumatic Stress Disorder. *Am. J. Psychiatry* **1997**, *154*, 624-629.
24. Zorrilla, e.p.; Heilig, M.; Wit, H.; Shaham, Y. Behavioral, Biological, and Chemical Perspectives on Targeting CRF₁ Receptor Antagonists to Treat Alcoholism. *Drug Alcohol Depend.* **2013**, *128*, 175-186.
25. Gilligan, P. J. Corticotropin-Releasing Factor Receptor Antagonists. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2006**, *16*, 913-924.
26. Williams, J. P. Corticotropin-Releasing Factor 1 Receptor Antagonists: A Patent Review. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2013**, *23*, 1057-1068.
27. Gilligan, P. J.; Robertson, D. W.; Zaczek, R. Corticotropin Releasing Factor (CRF) Receptor Modulators: Progress and Opportunities for New Therapeutic Agents. *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 1641-1660.
28. Chen, Y. L.; Braselton, J.; Forman, J.; Gallaschun, R.J.; Mansbach, R.; Schmidt, A. W.; Seeger, T. F.; Sprouse, J. S.; Tingley, F. D.; Winston, E.; Schulz, D. W. Synthesis and SAR of 2-Aryloxy-4-alkoxy-pyridines as Potent Orally Active Corticotropin-Releasing Factor 1 Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1377-1384.
29. Fray, M. J.; Bull, D. J.; Carr, C. L.; Gautier, E. C. L.; Mowbray, C. E.; Stobie, A. Structure-Activity

- Relationships of 1,4-Dihydro-(1H,4H)-quinoxaline-2,3-diones as N-Methyl-D-aspartate (Glycine Site) Receptor Antagonists. 1. Heterocyclic Substituted 5-Alkyl Derivatives. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1951-1962.
30. Nikam, S. S.; Cordon, J. J.; Ortwine, D. F.; Heimbach, T. H.; Blackburn, A. C.; Vartanian, M. G.; Nelson, C. B.; Schwarz, R. D.; Boxer, P. A.; Rafferty, M. F. Design and Synthesis of Novel Quinoxaline-2,3-dione AMPA/GlyN Receptor Antagonists: Amino Acid Derivatives. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2266-2271.
31. Version 2010.1004, Chemical Computing Group: Montreal, Quebec, Canada; www.chemcomp.com.
32. Yamagami, C.; Ogura, T.; Takao, N. Hydrophobicity Parameters Determined by Reverse-Phase Liquid Chromatography I. Relationship Between Capacity Factors and Octanol–Water Partition Coefficients for Monosubstituted Pyrazines and the Related Pyridines. *J. Chromatogr.* **1990**, *514*, 123-136. The values are determined by HPLC analysis.
33. Strieter, R. E.; Blackmond, G. D.; Buchwald, L. S. Insights into the Origin of High Activity and Stability of Catalysts Derived from Bulky, Electron-Rich Monophosphinobiaryl Ligands in the Pd-Catalyzed C-N Bond Formation. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13978-13980.
34. Barder, E. T.; Walker, D. S.; Martinelli, R. J.; Buchwald, L. S. Catalysts for Suzuki-Miyaura Coupling Processes: Scope and Studies of the Effect of Ligand Structure. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4685-4696.
35. Barker, J. A.; Gibson, H. K.; Grundy, W.; Godfrey, A. A.; Barlow, J. J.; Healy, P. M.; Woodburn, R. J.; Ashton, E. S.; Curry, J. B.; Scarlett, L.; Henthorn, L.; Richards, L. Studies Leading to the Identification of ZD1839 (IressaTM): An Orally Active, Selective Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor Targeted to the Treatment of Cancer. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1911-1914.
36. McElroy, W. T.; Tan, Z.; Basu, K.; Yang, S. W.; Smotryski, J.; Ho, G. D.; Tulshian, D.; Greenlee, W. J.; Mullins, D.; Guzzi, M.; Zhang, X.; Bleickardt, C.; Hodgson, R. Pyrazoloquinolines as PDE10A

- Inhibitors: Discovery of a Tool Compound. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1335-1339.
37. Duncan, C. M.; Wolfgang, K.; Alan, D. B. Discovery of Potent, Metabolically Stable Purine CRF-1 Antagonists with Differentiated Binding Kinetic Profiles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6108-6111.
38. Simeon, J. R.; Neil, J. A.; Rebecca, F.; Piet H. G. Quantitative Pharmacological Analysis of Antagonist Binding Kinetics at CRF₁ Receptors *in vitro* and *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *164*, 992-1007.
39. Beth, A. F.; Sam, R. J. H.; Rebecca, R. P.; Margaret, J. B.; Dimitri E. G. Binding Kinetics Redefine the Antagonist Pharmacology of the Corticotropin-Releasing Factor Type 1 Receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, *341*, 518-531.
40. Okuyama, S.; Chaki, S.; Kawashima, N.; Suzuki, Y.; Ogawa, S.; Nakazato, A.; Kumagai, T.; Okubo, T.; Tomisaza, K. Receptor Binding, Behavioral, and Electrophysiological Profiles of Nonpeptide Corticotropin-Releasing Factor Subtype 1 Receptor Antagonists CRA1000 and CRA1001. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *289*, 926-935.
41. Packeu, A.; Wennerberg, M.; Balendran, A.; G Vauquelin. Estimation of the Dissociation Rate of Unlabelled Ligand-receptor Complexes by a 'Two-step' Competition Binding Approach. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *161*, 1311-1328.