

博士論文

サブタイプ選択的 $\kappa$ オピオイド作動薬および $\alpha_{1L}$ 作動薬の探索研究

本論文は静岡県立大学大学院薬学研究院博士論文である。

2018年3月

鈴木 紳也

Discovery of subtype selective  $\kappa$ -opioid receptor agonists and  $\alpha_{1L}$ -adrenoceptor agonists

March 2018

Shinya Suzuki

## 略語一覽

Ac : Acetyl

ACD : Advanced Chemistry Development

AUC : Area Under the Blood Concentration-Time Curve

BA : Bioavailability

BBB : Blood-Brain Barrier

Boc : *t*-Butoxycarbonyl

Bn : Benzyl

b/p : Brain/Plasma

Bu : Butyl

cAMP : Cyclic Adenosinemonophosphate

CAN : Ceric Ammonium Nitrate

CHO : Chinese Hamster Ovarian

CL : Clearance

Cs : Caesium

DCE : 1,2-Dichloroethane

DIPEA : Diisopropylethylamine

DMF : *N,N*-Dimethylformamide

DMSO : Dimethyl Sulfoxide

Dppf : 1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocene

EC<sub>50</sub> : Half Maximal Effective Concentration

ED<sub>50</sub> : Half Maximal Effective Dose

ESI : Electrospray Ionization

Et : Ethyl

GPCR : G Protein-Coupled Receptor

GTP : Guanosine Triphosphate

HATU : 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxide  
Hexafluorophosphate

His : Histidine

ICR : Institute of Cancer Research

i.p. : Intrapertoneal Administration

i.v. : Intravenous

KOR : κ-Opioid Receptor

LAH : Lithium Aluminum Hydride

LC/MS : Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

Leu : Leucine  
Me : Methyl  
Met : Methionine  
MOR :  $\mu$ -Opioid Receptor  
MRT : Mean Residence Time  
Ms : Methanesulfonyl  
NA : Noradrenaline  
NBS : *N*-Bromosuccinimide  
NMR : Nuclear Magnetic Resonance  
Pd : Palladium  
Ph : Phenyl  
PK : Pharmacokinetics  
PMB : *p*-Methoxybenzyl  
p.o. : Per Os (oral)  
PPTS : Pyridinium *p*-Toluenesulfonate  
Pr : Propyl  
Pt : Platinum  
S. D. : Standard Deviation  
Tf : Trifluoromethanesulfonyl  
TFA : Trifluoroacetic Acid  
THF : Tetrahydrofuran  
THP : Tetrahydropyran  
Ti : Titanium  
TLC : Thin Layer Chromatography  
TM : Transmembrane  
TMS : Trimethylsilyl  
TosMIC : Tosylmethyl Isocyanide  
Ts : *p*-Toluenesulfonyl  
Tyr : Tyrosine  
Zn : Zinc

## 目次

第一章	序論	1
第二章	$\kappa$ オピオイド受容体作動薬	5
	第一節 TRK-820 を基にしたリガンド設計	5
	第二節 10 $\alpha$ 位水酸基誘導体の合成	7
	第三節 17 位水酸基誘導体の合成	13
	第四節 <i>In vitro</i> 薬理試験結果と考察	17
	第五節 薬物動態試験結果と考察	23
	第六節 <i>In vivo</i> 薬理試験結果	26
	第七節 小括	27
第三章	$\alpha_{1L}$ アドレナリン作動薬	28
	第一節 MK017 を基にしたリガンド設計	28
	第二節 二環性誘導体の合成	29
	第三節 <i>In vitro</i> 薬理試験結果と考察	34
	第四節 マグヌス試験結果	37
	第五節 小括	38
	結論および結語	39
	実験の部	40
	主論文	71
	引用文献	72
	謝辞	75

## 第一章 序論

ヘテロ三量体 G タンパク質共役型受容体(GPCR)は、神経伝達物質が作用することで様々な生理活性を示すため、これまで多くの医薬標的として研究が行われてきた。GPCR にはオピオイド受容体やアドレナリン受容体など様々な種類が存在し、各受容体においても遺伝子の違いから複数のサブタイプに分類されている。さらに、それらによって薬理作用が異なるため、医薬研究においてサブタイプ選択的なりガンドの取得は非常に重要な課題である。

オピオイド受容体は、強力な鎮痛作用を示すモルヒネが作用する受容体として、古くから研究が行われてきた(Fig. 1)。

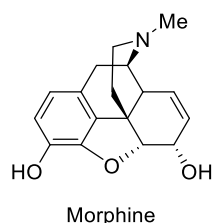


Figure 1. Structure of morphine

モルヒネ等の化合物群はケシを原料とするアヘン（オピウム）から得られるため、そのオピウムにちなんでオピエートと総称された。これら化合物に放射性同位体元素を骨格に導入した合成オピエートを用いた実験により、それらが特異的に結合する部位が中枢神経系に存在することが見出され、オピエート受容体と命名された<sup>1)</sup>。その後、多くの内因性ペプチドのオピエート受容体への作用が研究され、エンドルフィン類、エンケファリン類、ダイノルフィン類が発見された<sup>2)</sup>。これらをオピオイド（モルヒネ様物質）と総称し、これらが特異的に作用するタンパク質を、オピオイド受容体と命名することが提唱され、今日に至っている。さらにオピオイド受容体の存在が明らかになってからサブタイプについての詳細な薬理研究が行われ、代表的なりガンドである、**Morphine**、**Ketocyclazocine**、**SKF10047**の頭文字をギリシャ文字表記した $\mu$ 、 $\kappa$ 、 $\sigma$ の三つに分類された(Fig. 2)<sup>3)</sup>。

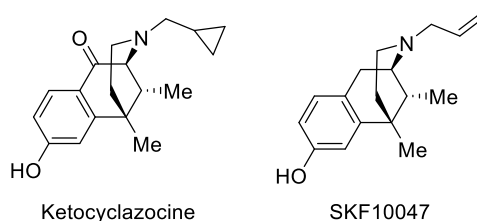


Figure 2. Structures of Ketocyclazocine and SKF10047

その後、マウス輸精管(Mouse Vas Deferens)に存在し、内因性オピオイドのエンケファリン類が親和性を有する受容体として $\delta$ 受容体が提唱された<sup>4)</sup>。現在はオピオイド受容体として $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\kappa$ の三種のサブタイプに分類され、 $\sigma$ 受容体は非オピオイドとして分類されている<sup>5,6)</sup>。

$\mu$ 作動薬は強力な鎮痛作用を有するため、臨床で鎮痛薬として広く使用されている。しかしながら $\mu$ 作動薬は便秘、嘔吐、呼吸抑制等の副作用、さらに薬物依存性を示すことから、これら副作用や依存性のない鎮痛薬の開発が望まれている<sup>7)</sup>。一方、 $\kappa$ 受容体は $\mu$ 作動薬にみられる副作用の発現にほとんど関与しないと考えられている<sup>8)</sup>。また、 $\kappa$ 受容体は、脳、脊髄、一次感覚求心路の中核および末梢、ならびに免疫細胞など全身に存在しており、強力な鎮痛薬となり得ると期待されていたが、鎮痛作用と鎮静や不快感などの副作用との分離が課題であった<sup>9)</sup>。近年、末梢に存在する $\kappa$ 受容体は、鎮静や不快感などの副作用と関連がなく、活性化により鎮痛作用を示すことが報告された<sup>10-13)</sup>。

このような状況下、製薬企業による末梢 $\kappa$ 作動薬の開発が行われている。ナルブフィン<sup>14)</sup>は $\kappa$ 作動薬として、既に米国で術後疼痛とがん性疼痛に対する鎮痛薬（注射薬）として承認されているものの、 $\mu$ 受容体に対する親和性が高い(Fig. 3)<sup>14)</sup>。さらに臨床では約36%の患者で鎮静作用が報告されており、中枢性の副作用が問題となっている<sup>15)</sup>。アシマドリンはモルヒナン骨格を持たない低分子化合物であり、現在、掻痒症を適応にフェーズIIを実施中である(Fig. 3)。しかし痛みを適応とした臨床試験を中断しており、この原因はアシマドリンの末梢選択性不十分(b/p比0.73)による中枢性副作用によるものではないかと推測される<sup>16)</sup>。またペプチドのCR-845は $\mu$ 受容体に対する $\kappa$ 選択性が高く、その構造から中枢への分布が限られた末梢選択性の高い分子であることが推測される(Fig. 3)<sup>17)</sup>。しかし、臨床試験は静脈投与による術後疼痛、変形性関節症の痛みに対して先行しており、経口投与による効果は今後の課題であると考えられる。

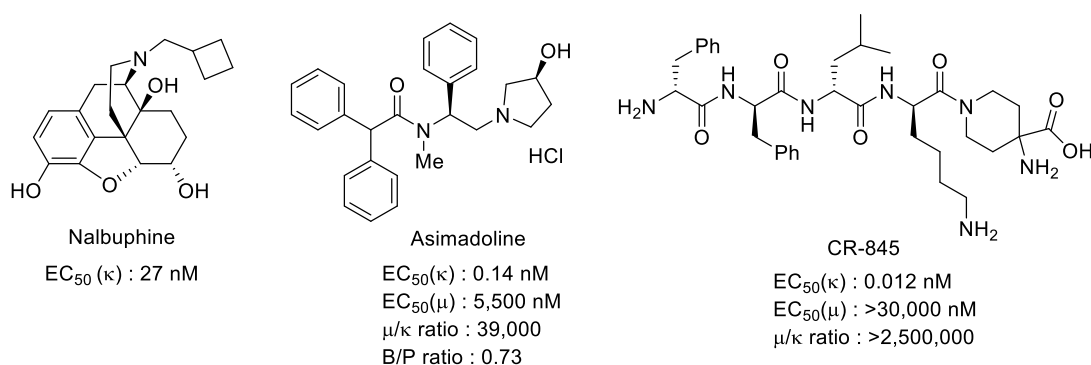


Figure 3. Structures of Nalbuphine, Asimadoline, and CR-845

私の所属する研究室では、血液透析患者および慢性肝疾患患者における、抗ヒスタミン薬や抗アレルギー薬に抵抗性を示す掻痒症に有効な選択的 $\kappa$ 作動薬、ナルフラフィン塩酸塩(TRK-820)を創出している(Fig. 4)<sup>18-21)</sup>。TRK-820は中枢の $\kappa$ 受容体を介して止痒作用を示す

め、ごく一部の患者において鎮静や不快感などの副作用の発現が報告されている。そこで私は TRK-820 の誘導化により、末梢選択的な化合物を取得することができれば、これら中枢性副作用のない鎮痛薬が創出できると考え、末梢選択的 $\kappa$ 作動薬による経口鎮痛薬の開発を目的に研究を開始した。

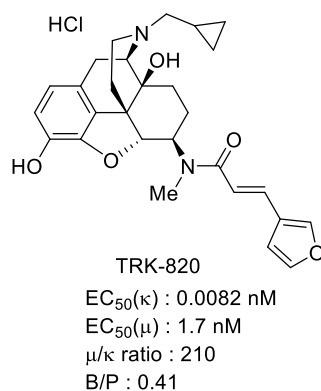


Figure 4. Structure of TRK-820

一方、アドレナリン受容体は、心筋や平滑筋に存在し古くから薬理作用の研究が行われている<sup>22)</sup>。アドレナリン受容体は主に血管や前立腺収縮に関与する $\alpha_1$ 受容体<sup>23)</sup>、様々な神経作用に関与する $\alpha_2$ 受容体、心筋の収縮に関与する $\beta_1$ 受容体、気管支収縮に関与する $\beta_2$ 受容体、膀胱平滑筋収縮に関与する $\beta_3$ 受容体に分類される。さらに、 $\alpha_1$ 受容体は $\alpha_{1A}$ 、 $\alpha_{1B}$ 、 $\alpha_{1D}$ のサブタイプに分類され、サブタイプ選択的な医薬品の研究開発が行われている<sup>24)</sup>。なかでも $\alpha_{1A}$ 受容体は尿道平滑筋に存在し、作動薬は尿道を収縮することから腹圧性尿失禁の治療薬になり得ると考えられている<sup>24)</sup>。腹圧性尿失禁とは、老化、過度の肥満または出産後の骨盤底筋の減弱により尿道を締め付ける力が低下し、くしゃみ等により中程度の腹圧がかかることで不随意的尿漏れが起こる疾患である<sup>25)</sup>。これまでに $\alpha_{1A}$ 受容体をターゲットとした腹圧性尿失禁治療薬の研究が複数の製薬企業で行われてきたがいまだに承認には至っていない<sup>26, 27)</sup>。ロシュ社のR450は $\alpha_{1A}$ 受容体の部分作動薬として臨床開発を行ったものの、フェーズIIで効果が得られず中断しており、ヒトでの薬効発現が課題であった (Fig. 5)<sup>28, 29)</sup>。

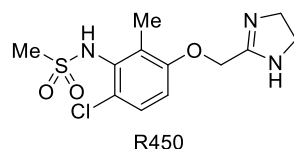


Figure 5. Structure of R450



そのような状況下、ヒトの尿道収縮には  $\alpha_{1L}$  受容体が関与しているという興味深い内容が報告された<sup>30, 31)</sup>。 $\alpha_{1L}$  受容体は、 $\alpha_1$  拮抗薬のプラゾシンに対する親和性が低い(Low)ため、親和性の高い(High)  $\alpha_{1H}$  ( $\alpha_{1A}$ 、 $\alpha_{1B}$ 、 $\alpha_{1D}$ ) 受容体と区別されている<sup>32-34)</sup>。 $\alpha_{1L}$  受容体は  $\alpha_{1A}$  受容体と同一遺伝子からなるものの、修飾タンパク質との相互作用により  $\alpha_{1A}$  受容体とは異なる表現型として存在していると推測されているが<sup>35, 36)</sup>、その存在は議論されている。私は  $\alpha_{1L}$  受容体を提唱している村松郁延教授へのヒアリングを行うことで  $\alpha_{1L}$  受容体存在の可能性を精査し、 $\alpha_{1L}$  作動薬による腹圧性尿失禁治療薬の開発を目的に研究を開始した。

第二章では末梢選択的な  $\kappa$  作動薬の取得に向けた研究内容について各節で詳細を記す。第一節では末梢選択的かつ  $\mu$  受容体に対する  $\kappa$  選択的 なリガンドの取得戦略について、第二節と第三節では設計した化合物の合成について、第四節では合成した化合物の *in vitro* 試験結果について、第五節では *in vitro* 試験において強い  $\kappa$  作動性または高い  $\kappa$  選択性を示した化合物の薬物動態試験について、第六節では鎮痛作用を確認する *in vivo* 試験結果についてそれぞれ記す。

第三章では  $\alpha_{1L}$  作動薬の取得に向けた研究内容について各節で詳細を記す。第一節では  $\alpha_{1L}$  作動薬の取得戦略について、第二節では化合物の合成について、第三節では合成した化合物の *in vitro* 試験結果について、第四節では尿道収縮を確認するマグヌス試験結果についてそれぞれ記す。

## 第二章 $\kappa$ オピオイド作動薬

### 第一節 TRK-820 を基にしたリガンド設計

私の所属する研究室では、中枢の $\kappa$ 受容体に作用することで止痒作用を示す、難治性掻痒症治療薬の TRK-820 を創出している。当初、TRK-820 は鎮痛薬としての開発を目指していたが、臨床試験において中枢の $\kappa$ 受容体を介した鎮静作用との分離が不十分であったため断念した経緯がある。そこで、これまでのオピオイド研究のノウハウを活用し、TPK-820へ極性基を導入して末梢選択性の向上した化合物を取得することができれば、中枢性副作用のない鎮痛薬が創出できると考えた。一般的に化合物は、分子の極性が高いほど、また活性プロトン（水素結合ドナー）の数が多いほど血液脳関門(BBB)を通過しにくくなり末梢選択性が向上する<sup>37,38</sup>。そこで極性向上と活性プロトンを増やすために TRK-820 へ水酸基の導入を行い、末梢選択的な化合物の取得を試みることにした。一方で、水酸基の導入位置は TRK-820 の強い $\kappa$ 作動性を維持（または向上）するためには非常に重要な要素である。そこで TRK-820 と $\kappa$ 受容体（アンタゴニストフォーム）の X 線結晶構造(PBDId : 4DJH)<sup>39</sup>のドッキングモデルを作成し、水酸基を導入可能な部位の調査を行った。ドッキングモデルから TRK-820 の 10 $\alpha$  位と 17 位シクロプロピルメチル基周辺に水酸基導入可能な空間があると推測された（黒点線）(Fig. 6)。

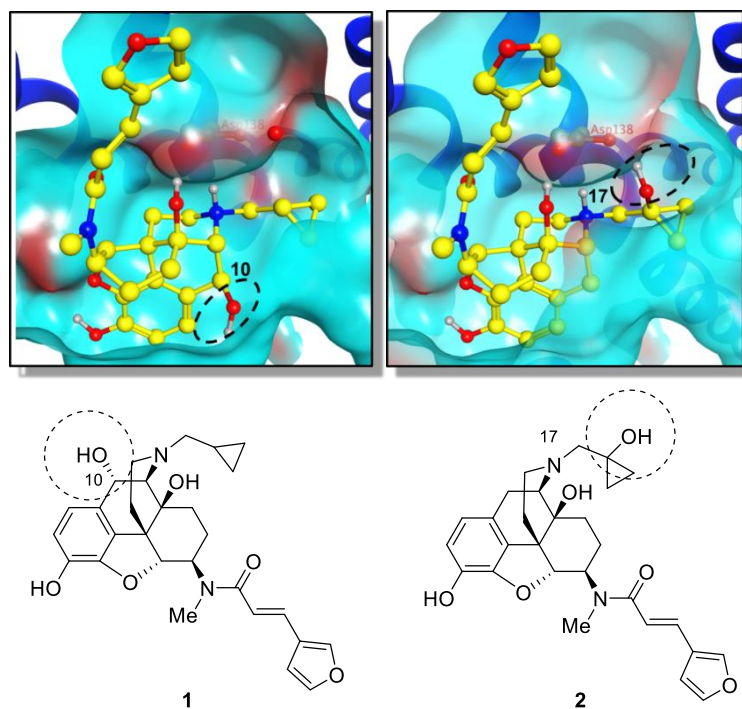


Figure 6. Docking models of crystal structure of KOR with 10 $\alpha$ -hydroxy TRK-820 (**1**) (Left) and 17-hydroxy-cyclopropylmethyl TRK-820 (**2**) (Right)

また、TRK-820 は $\mu$ 受容体に対する $\kappa$ 選択性が200倍程度であり、 $\mu$ 作動性  $EC_{50} = 1.7 \text{ nM}$  を示す (Fig. 4)。そのため、 $\mu$ 作動性を示さない $\kappa$ 選択的な化合物を取得することができれば、 $\mu$ 作動薬で懸念される副作用のない鎮痛薬が創出できると考えた。オピオイドリガンドの選択性について、サブタイプに共通なメッセージ部分と、選択性に寄与するアドレス部分に分けて考えるメッセージアドレスコンセプトが提唱されている<sup>40-42)</sup>。このコンセプトを4,5-エポキシモルヒナン骨格に適応した場合、中心骨格がメッセージ部分、6位の側鎖がアドレス部分に相当するため、サブタイプ選択性は6位のアドレス部位を変換することで制御可能であると考えられる。そのため、水酸基誘導体の6位側鎖の最適化を行うことで $\kappa$ 選択的な化合物を取得することとした (Fig. 7)。

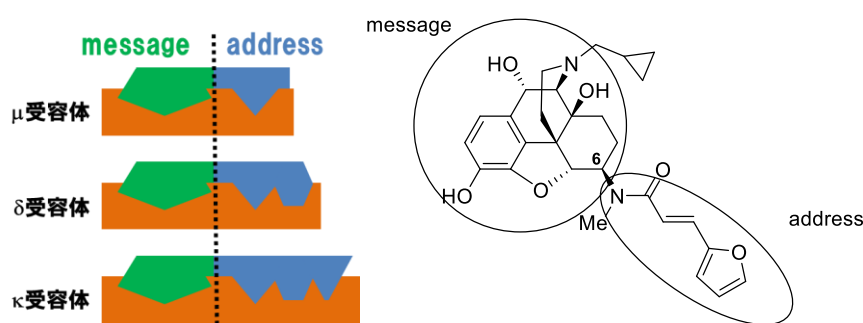


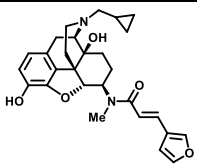
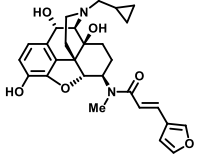
Figure 7. Message-address concept

Fig. 6 のドッキングモデルを参考にした水酸基の導入と6位側鎖の変換により、末梢選択性と $\kappa$ 選択性の向上を期待した誘導体の合成について第二節と第三節に記す。

## 第二節 10 $\alpha$ 位水酸基誘導体の合成

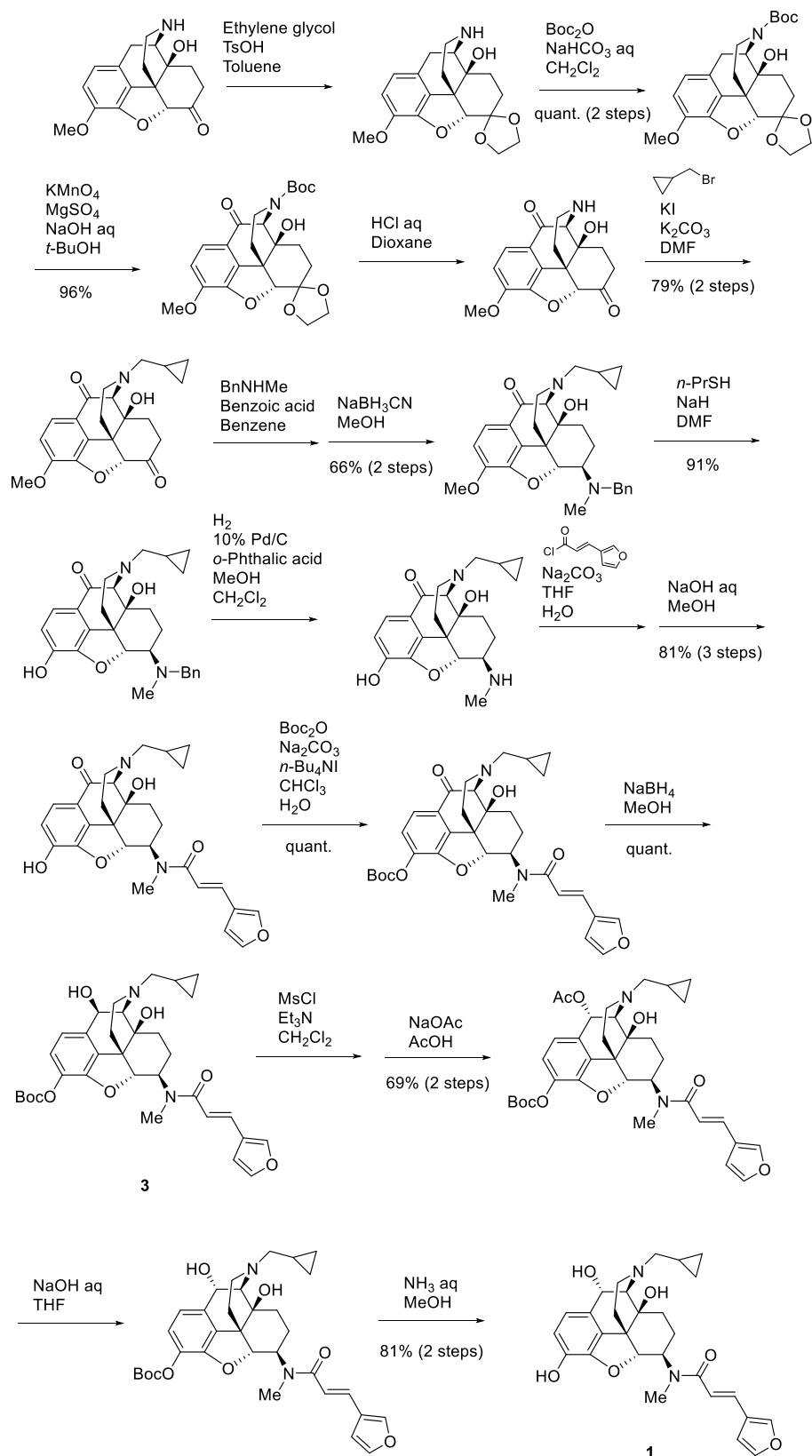
これまでに私の所属する研究室では TRK-820 の製剤中分解物として 10 $\alpha$  位に水酸基を有する **1** を同定している (空気中の酸素により酸化されたと推測している)。そこで **1** のオピオイド作動性を確認したところ  $\kappa$  作動性  $EC_{50} = 0.025$  nM、 $\mu$  作動性  $EC_{50} = 1,100$  nM であり TRK-820 と比較し  $\kappa$  作動性は約 3 倍低下するものの、 $\kappa$  選択性が向上することが明らかになった (Table 1)。

Table 1. *In vitro* KOR and MOR agonist activities of TRK-820 and **1**

No.	structure	$EC_{50}$ ( $\kappa$ ) nM	$EC_{50}$ ( $\mu$ ) nM	$\mu/\kappa$
TRK-820		0.0082	1.7	210
<b>1</b>		0.025	1,100	44,000

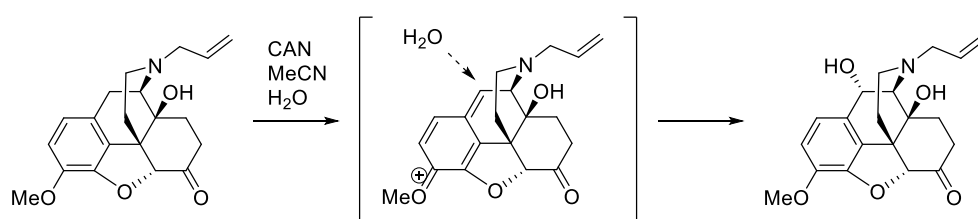
そこで、**1** のサンプル供給を行い末梢選択性評価と *in vivo* 評価を行うとともに、さらなる  $\kappa$  選択性向上を目的とした誘導体合成を行うこととした。

これまでに、10 $\alpha$  位水酸基誘導体 **1** と 10 $\beta$  位水酸基誘導体の構造確認を目的とした合成法について報告されている<sup>43)</sup>。本合成ルートでは、過マンガン酸カリウムを用いて 10 位にカルボニル基を導入し、その後、6 位側鎖の構築を含む 10 工程をかけて 10 $\beta$  体 **3** を得ている。さらにその後、3 工程かけて立体化学を反転させた 10 $\alpha$  体へと変換しており、全 17 工程で化合物 **1** を合成している (Scheme 1)。そのため、過去の合成ルートを用いたサンプル供給や誘導体合成は好ましくないと判断した。



Scheme 1. Previous synthesis route

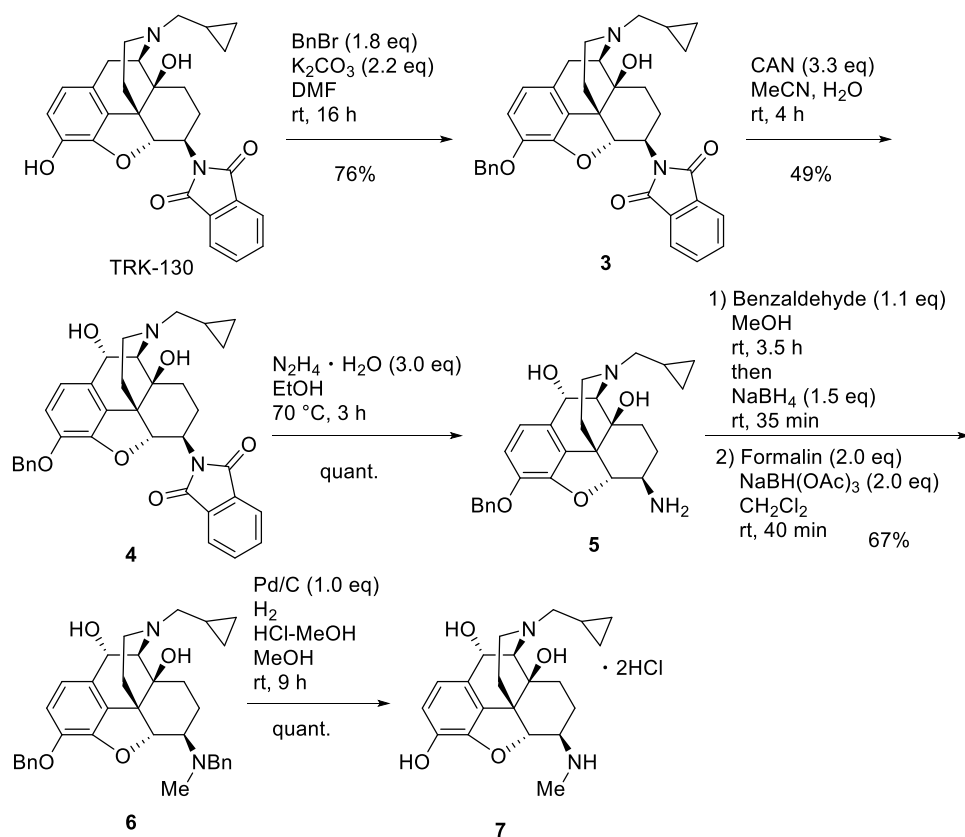
新たな合成ルートを構築するうえで①10 $\alpha$ 位への簡便な水酸基の導入、②ルート後半で6位側鎖の変換、③サンプル量の供給の三点がポイントとしてあげられる。過去のモルヒナン誘導体研究において、CANを用いてモルヒナン骨格の10 $\alpha$ 位に水酸基を導入した例が報告されている(Scheme 2)<sup>44)</sup>。CANによる一電子酸化によりラジカルが生じ、続く一電子酸化によりカチオンが生じる。このカチオンに対し、立体的に空いている bicyclo[3,3,1]骨格の後方 ( $\alpha$ 面) から水が付加することで2級アルコールが生成する。生成した第二級アルコールのベンジル位は立体的に非常に混み合っているため、それ以上の酸化を受けず第二級アルコールが主生成物として得られる。



Scheme 2. Oxidation with CAN

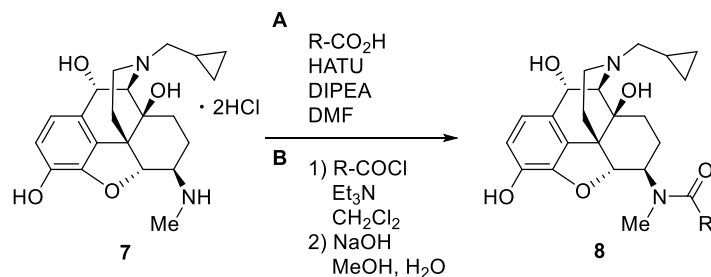
私は本報告に着目し、10 $\alpha$ 位の酸化にCANを用いることとした。また出発物質はルート後半で6位の誘導化が見込める6位1級アミノ基のフタルイミド保護体であるTRK-130を選択した<sup>45, 46)</sup>。TRK-130は私の所属する研究室における開発化合物であり、キログラムスケールの合成法が確立されており研究室に大量のサンプルが存在するため、サンプル供給の観点からも対応可能であると考えた。

TRK-130の3位水酸基をベンジル基で保護し、続いてCANを用いた酸化反応を行ったところ49%で目的の10 $\alpha$ 水酸基誘導体**4**を得た。原料は消失しているものの、複数の微量副生成物の存在や、反応後のCANの除去の際に、一部目的物を回収できなかったため、中程度の収率であった。次にヒドラジン・一水和物を用いてフタルイミドの脱保護を行い、生じた第一級アミン**5**にベンズアルデヒド、続くホルムアルデヒドを用いた二段階の還元的アミノ化反応を行い、*N, O*-ジベンジル体**6**を得た。その後、加水素分解反応により二つのベンジル基の脱保護を行い共通中間体**7**を得た(Scheme 3)。



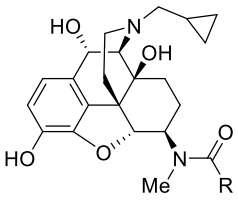
Scheme 3. Synthesis of intermediate **7**


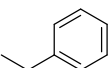
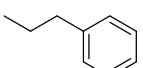
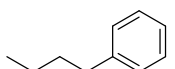
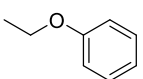
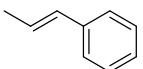
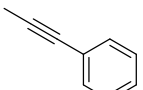
共通中間体 **7** と種々のカルボン酸または酸クロリドとのアミド化反応により 10 $\alpha$  位水酸基誘導体 **8** の合成を行った(Scheme 4)。過去の研究から 6 位側鎖のファーマコフォアとして  $\pi$ - $\pi$  相互作用が推定されていたため<sup>21)</sup>、芳香環の導入と、アミド基と芳香環の距離について検討を行うこととした。まず最初に芳香環をベンゼンに固定し、アミドとの距離を炭素原子数 0~3 の誘導体を合成した。さらに炭素数 2 の **8c** が最も強い  $\kappa$  作動性を示したことから (後述、Table 4)、原子数を 2 に固定し、エーテル(**8e**)、オレフィン(**8f**)、アルキン(**8g**)誘導体を合成した(Table 2)。



Scheme 4. Amidation reactions of **7**

Table 2. Synthesis of 10 $\alpha$ -hydroxy derivatives **8**



No.	R	Yield
<b>8a</b>		91% <sup>b)</sup>
<b>8b</b>		91% <sup>b)</sup>
<b>8c</b>		41% <sup>a)</sup>
<b>8d</b>		56% <sup>a)</sup>
<b>8e</b>		74% <sup>b)</sup>
<b>8f</b>		40% <sup>a)</sup>
<b>8g</b>		9% <sup>a)</sup>

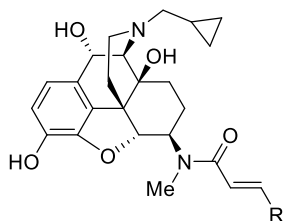
<sup>a)</sup> Synthesized by method A

<sup>b)</sup> Synthesized by method B

次に、Table 2 で最も $\kappa$ 作動性の強かった **8f** を基に芳香環上置換基、芳香環の種類について検討を行った。ドラッグデザインの定法である Topliss tree に従い、ベンゼンの 4 位にクロロ、メチル基の導入を行った<sup>47)</sup>。また末梢選択性を考慮し、オルト位、メタ位、パラ位それぞれに水酸基の導入を行い、また芳香環の種類については、ベンゼンに比べ極性の高いピリジン、チオフェン、フランの導入を行った (Table 3)。また芳香環の効果を確認する目的でシクロヘキサン誘導体の合成を行った。これら誘導体はすべて HATU を用いたアミド化反応により合成した<sup>48)</sup>。



Table 3. Synthesis of 10 $\alpha$ -hydroxy derivatives **9**

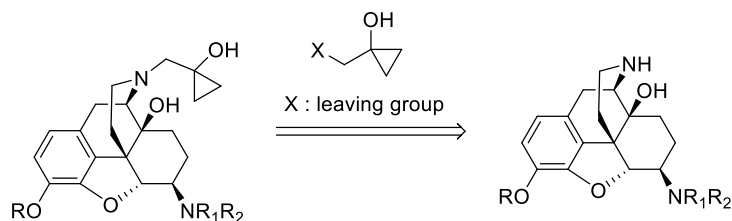


No.	R	Yield	No.	R	Yield
<b>9a</b>		40%	<b>9g</b>		6%
<b>9b</b>		19%	<b>9h</b>		69%
<b>9c</b>		43%	<b>9i</b>		50%
<b>9d</b>		31%	<b>9j</b>		70%
<b>9e</b>		45%	<b>9k</b>		28%
<b>9f</b>		13%	<b>9l</b>		55%

All compounds were synthesized by method A

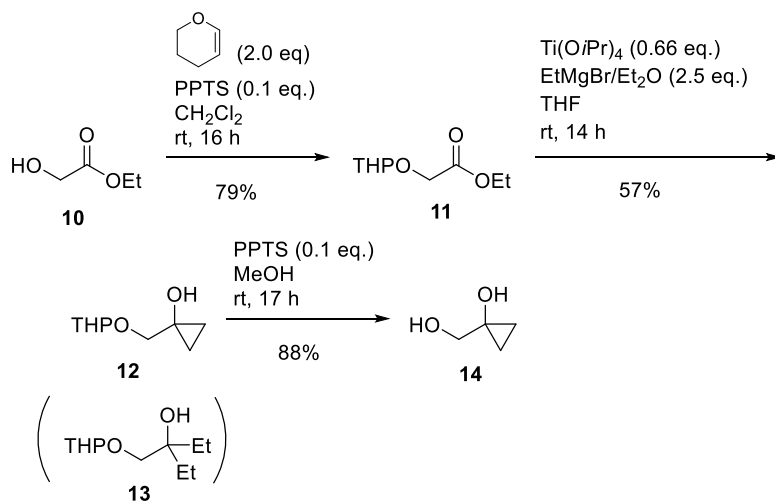
### 第三節 17位水酸基誘導体の合成

17位水酸基誘導体 **2** は、17位二級アミンと対応するアルキル化剤の反応により合成可能と考え、アルキル化による合成検討を行った(Scheme 5)。



Scheme 5. Alkylation route

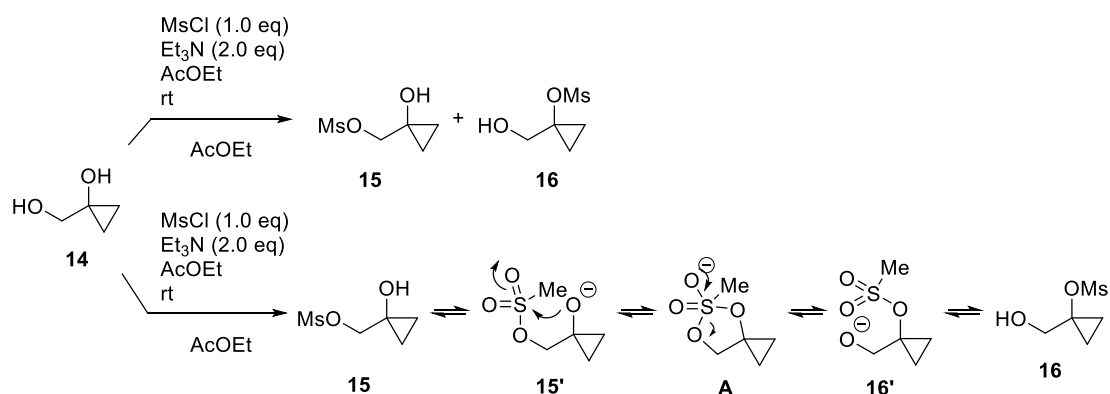
アルキル化剤の前駆体となるジオールは、Kulinkovich 反応を鍵とするルートで合成した<sup>49)</sup>。まず、グリコール酸エチル(**10**)の水酸基を THP 基で保護し **11** を得た。次に、Kulinkovich 反応によりシクロプロパン環を構築し **12** を得た。臭化エチルマグネシウムのジエチルエーテル溶液をシリンジポンプを用いて 2 時間かけて滴下したが、エチル基が導入された化合物 **13** が目的物 **12** と約 2:1 の比で生成した。最後に、PPTS 触媒を用いて THP 基の除去を行い目的とするジオール **14** を得た(Scheme 6)。



Scheme 6. Synthesis of diol **14**

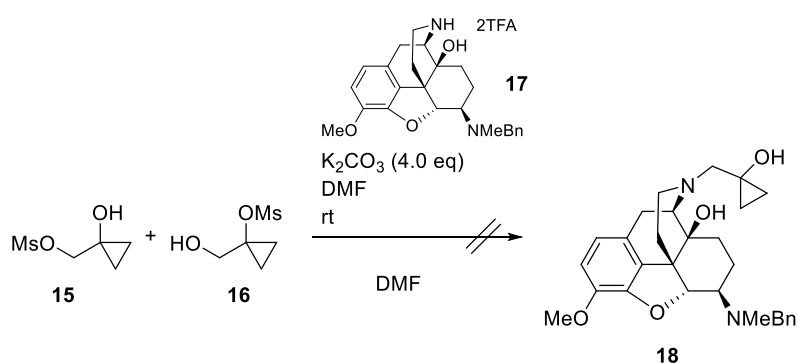
次に、ジオール **14** のメシル化反応を試みたが<sup>50)</sup>、得られたのは目的物 **15** とシクロプロピルアルコールがメシル化された副生成物 **16** の混合物であった。これら混合物が得られた理由として、第一級アルコールまたはシクロプロピルアルコールのそれぞれに対して直接メシル化が進行した (Scheme 7 上段)、もしくは、反応性の高い第一級アルコールへのメシ

ル化が進行した後、塩基性条件下、Baldwin 則に従いメシル体 **15'**は 5-exo 型の反応により分子内求核反応により中間体 **A** を経てメシル体 **16'**へと転位した可能性が考えられる (Scheme 7 下段)。



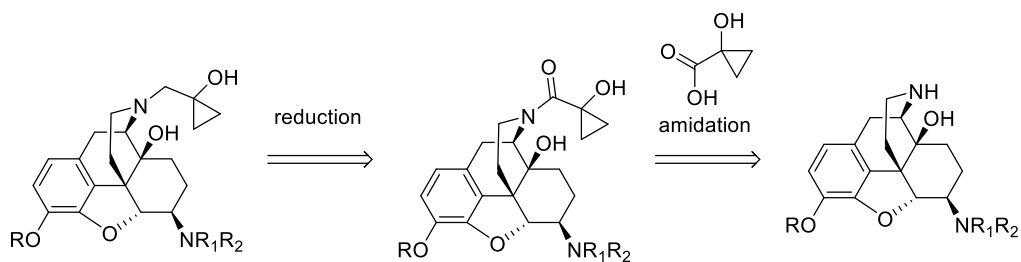
Scheme 7. Synthesis of Mesylate **15** and **16**

続いて、当研究室の保有するモルヒナン中間体 **17** を用いてアルキル化の検討を行った。**17** と炭酸カリウムの DMF 溶液に、メシル体 **15** と **16** の混合物を加えて室温で攪拌したが、アルキル化は進行しなかった (Scheme 8)。反応点がネオペンチル位であるため立体障害が大きく、求核剤との反応性は低いと考えられる。また、塩基性条件下では第一級アルコールとシクロプロピルアルコールにおける安定性の差により平衡がメシル体 **16'**に偏ることで (Scheme 7 下段)、アルキル化反応が進行しなかった可能性が考えられる。そのためアルキル化による合成は中断し、別ルートの検討を行うこととした。



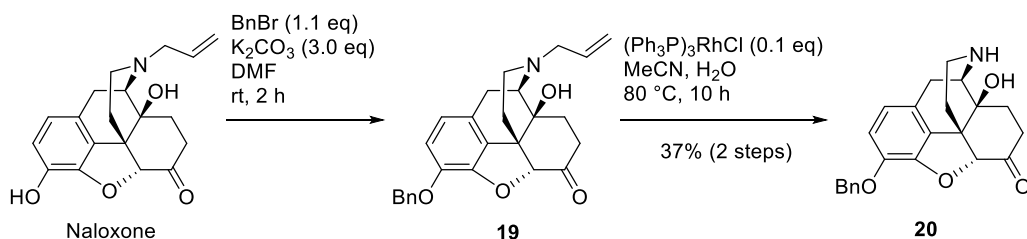
Scheme 8. Alkylation trial

次に 1-ヒドロキシシクロプロパン-1-カルボン酸とのアミド化、続くアミド基の還元反応により合成するルートの検討を行った (Scheme 9)。



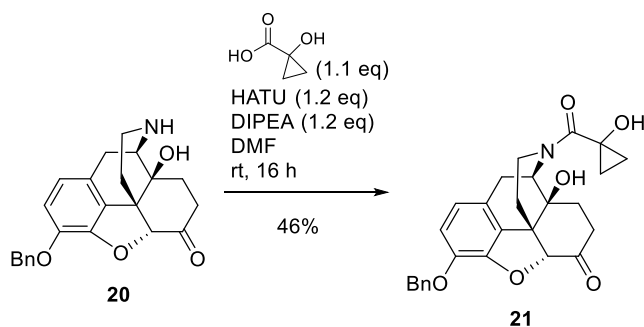
Scheme 9. Amidation and reduction route

アミド化の基質である第二級アミン **20** はナロキソンを出発物質とし<sup>51)</sup>、フェノール性水酸基をベンジル保護し、Wilkinson 触媒を用いたイミン-エナミンへの異性化、続く水の付加反応により合成した(Scheme 10)。



Scheme 10. Synthesis of amine **20**

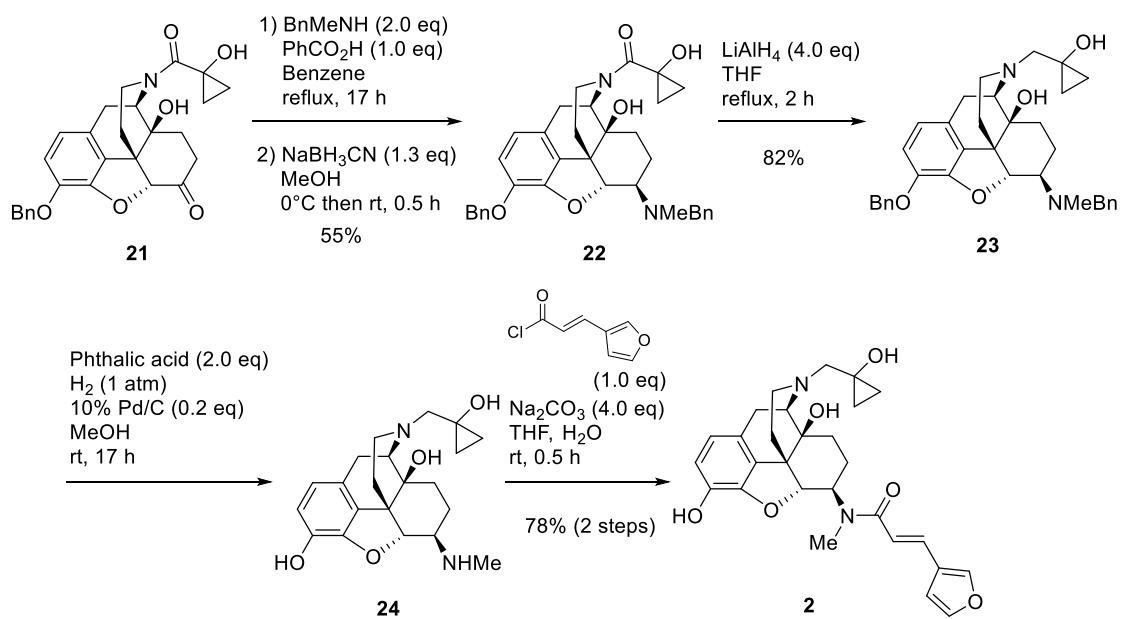
続いて HATU を用いたアミド化を行ったところ、46%の収率でアミド **21** を得た(Scheme 11)<sup>48)</sup>。原料は消失しているものの TLC で副生成物が観測されたため、中程度の収率であった。



Scheme 11. Amidation reaction

安息香酸存在下、アミド **21** とベンジルメチルアミンを用いた還元的アミノ化反応を行い **22** を合成し<sup>52)</sup>、続く LAH を用いた還元反応により目的の側鎖へと変換した。その後、加水分解反応により二つのベンジル基の除去を行い、(*E*)-3-(フラン-3-イル)アクリルクロリ

ドを用いたアミド化反応により **2** を得た(Scheme 12)。



Scheme 12. Synthesis of **2**

#### 第四節 *In vitro* 薬理評価結果と考察

ヒト KOR 遺伝子を CHO-K1 細胞に導入し、ヒト KOR 安定発現細胞を作製した。また、ヒト MOR 遺伝子を CHO-dhfr(-)細胞に導入し、ヒト MOR 安定発現細胞を作製した。被験物質のヒトオピオイド受容体作動性の評価は、上記のヒトオピオイド受容体安定発現細胞を用いて、Forskolin 誘発 cAMP 産生に対する抑制作用を指標に行った(Fig. 8)。

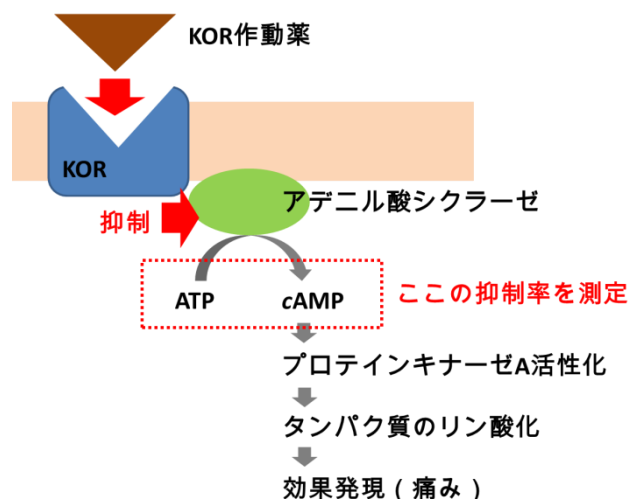


Figure 8. cAMP regulation mechanism with KOR agonist

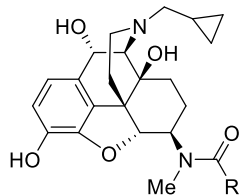
各被験物質の評価は、公比 10 の濃度で各濃度につき N = 2 で実施した。被験物質非添加ウェルの cAMP 濃度を抑制率 0%とした。また、ヒト KOR 作動性試験においては、ヒト KOR 作動性を示す U-69593(Sigma、#U103 (最終濃度 10  $\mu\text{mol/L}$ ) を被験物質の代わりに添加したときの cAMP 濃度を抑制率 100%とした。ヒト MOR 作動性試験においては、ヒト MOR 作動性を示す DAMGO (Sigma、#E7384 (最終濃度 10  $\mu\text{mol/L}$ ) を被験物質の代わりに添加したときの cAMP 濃度を抑制率 100%とした。各被験物質の Forskolin 誘発 cAMP 産生に対する抑制率(%)を求め、抑制率 50%を挟む 2 点回帰により、各被験物質の  $\text{EC}_{50}$  を算出した結果を Table 4、5、Fig. 9 に示す。


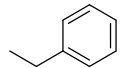
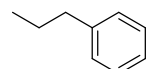
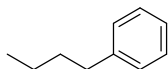
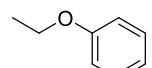
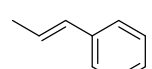
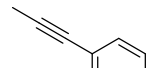
また $\mu$ 受容体 (アゴニストフォーム) の X 線結晶構造(PBDId : 5c1m)<sup>53</sup>と化合物のドッキングモデル、さらに $\mu$ 受容体の X 線結晶構造と $\kappa$ 受容体のアミノ酸配列から作製した $\kappa$ 受容体モデルを参考に考察を行った(Fig. 9)。

アミド基と芳香環の距離について検討を行った結果について Table 4 に示す。10 $\alpha$  位水酸基誘導体において、アミド側鎖がフェニル(8a)またはベンジル(8b)では $\kappa$ 作動性を示さないが、フェネチル(8c)にすることで  $\text{EC}_{50}$  が約 1 nM の $\kappa$ 作動性を示し、フェニルプロピル(8d)へと増炭することで作動性が低下した。 $\kappa$ 受容体ドッキングモデルから炭素鎖をプロピルまで伸ばすことで膜貫通ヘリックス TM2 と立体障害になるため、C2 側鎖が良いと推測できる

(Fig. 9)。次に **8c** と同様にカルボニルと芳香環との間を 2 原子とした誘導体について比較した。フェノキシメチレン(**8e**)では約 5 倍 $\kappa$ 作動性が低下した。一方で不飽和誘導体である *trans*-オレフィン体(**8f**)、アルキン体(**8g**)は $\kappa$ 作動性がそれぞれ 45 倍、13 倍向上した。側鎖の自由度が低下したことにより受容体のポケットと相互作用が有利になったことで $\kappa$ 作動性が向上したと考えられる。これら不飽和誘導体では $\kappa$ 作動性と同様に $\mu$ 作動性も向上する傾向がみられた。

Table 4. *In vitro* KOR and MOR agonist activities



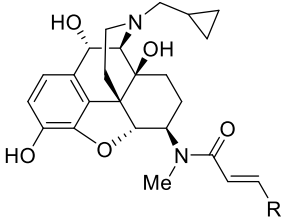
No.	R	KOR EC <sub>50</sub> : nM (Emax: %)	MOR EC <sub>50</sub> : nM (Emax: %)
<b>8a</b>		>100 (23)	>30,000 (44)
<b>8b</b>		>100 (18)	>30,000 (43)
<b>8c</b>		1.04 (100)	18,300 (57)
<b>8d</b>		7.51 (96)	12,900 (99)
<b>8e</b>		5.04 (97)	>30,000 (17)
<b>8f</b>		0.0222 (101)	209 (107)
<b>8g</b>		0.0799 (102)	904 (95)

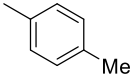

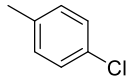

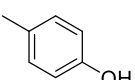

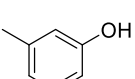

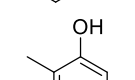

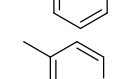

KOR,  $\kappa$ -opioid receptor, MOR,  $\mu$ -opioid receptor

次に、Table 4 で最も $\kappa$ 作動性の強い **8f** を基に、芳香環上への置換基導入、または異なる環種の誘導体の評価結果について Table 5 に示す。ベンゼン環のパラ位にメチル(**9a**)、塩素(**9b**)、パラ位、メタ位、オルト位それぞれにヒドロキシ(**9c**、**9d**、**9e**)を導入することで $\kappa$ 作動性は 1.3~4.3 倍低下した。一方で $\mu$ 作動性は **9a**、**9b**、**9d**、**9e** で数十~数百 nM であったが、パラ位に水酸基を導入した **9c** は>30,000 nM まで作動性を示さなかった。 $\mu$ 受容体の X

線結晶構造から TM1 の Tyr75 と TM7 の His319 が水素結合 (Fig. 9 中の赤点線) することで受容体のコンホメーションが固定されていると推測された。また、**9c** とのドッキングモデルから、**9c** のフェノールと His319 が相互作用し、Tyr75 との水素結合が解消され、TM1 が外に広がる配座をとることで $\mu$ 作動性を示さなかった可能性が考えられる(Fig. 9)。今回は作動性評価のみであり、化合物のアンタゴニスト活性 (結合活性) は分かっていないが、アミド側鎖のベンゼン環パラ位に水酸基があることで、 $\mu$ 受容体の作動性に必要なコンホメーション変化が起こらなくなり $\mu$ 作動性が低下したと考えられる。一方で $\kappa$ 受容体モデルからは $\mu$ 受容体の His319 の位置に Tyr434 が配置されており、Tyr 間の相互作用が観測されないため基質の結合により受容体の構造変化が起こらないと推測される(Fig. 9)。

Table 5. *In vitro* KOR and MOR agonist activities



No.	R	KOR EC <sub>50</sub> : nM (Emax: %)	MOR EC <sub>50</sub> : nM (Emax: %)	No.	R	KOR EC <sub>50</sub> : nM (Emax: %)	MOR EC <sub>50</sub> : nM (Emax: %)
9a		0.0494 (101)	308 (72)	9g		0.291 (101)	3,760 (86)
9b		0.0288 (99)	48.8 (92)	9h		0.0283 (99)	2,880 (89)
9c		0.0953 (98)	>30,000 (49)	9i		0.00466 (101)	4,870 (58)
9d		0.0204 (101)	177 (103)	9j		0.028 (101)	110 (96)
9e		0.0325 (102)	540 (61)	9k		0.122 (102)	14,200 (55)
9f		0.0257 (99)	12,100 (62)	9l		0.0592 (101)	921 (90)

KOR,  $\kappa$ -opioid receptor, MOR,  $\mu$ -opioid receptor



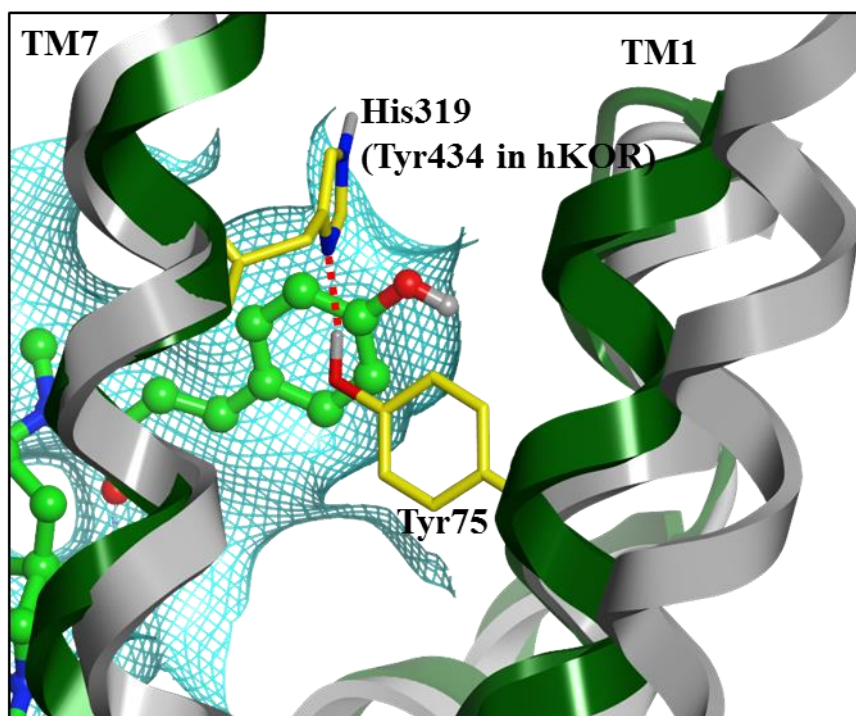
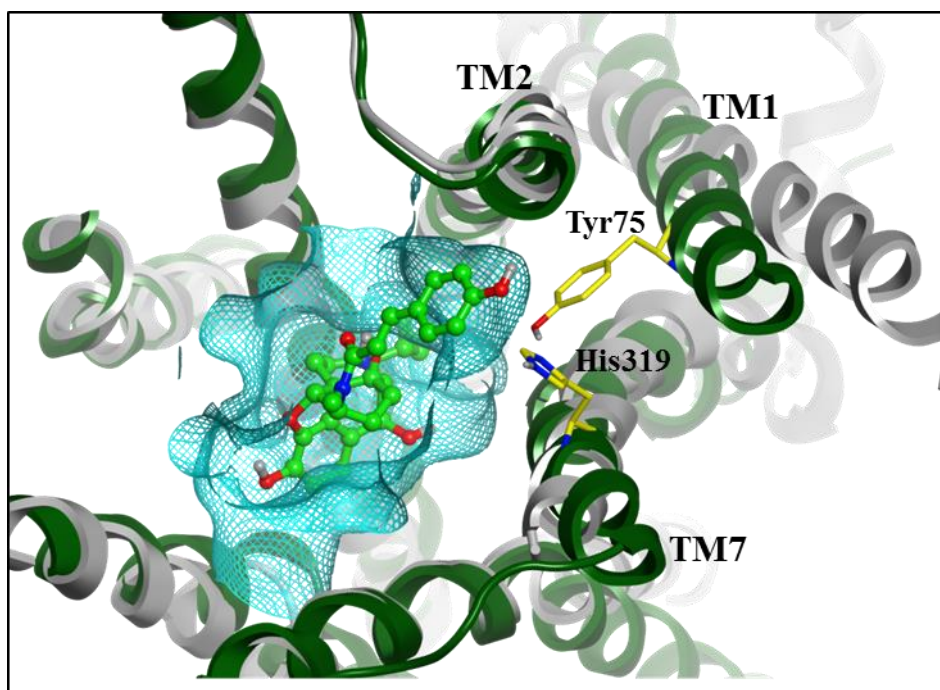


Figure 9. Docking model of **9c** and MOR (green ribbon) or KOR (gray ribbon). Ligand binding pocket viewed from the extracellular side (up). Side view of the ligand binding pocket (down).

ベンゼンをピリジンに置換することでパラ位(**9f**)、オルト位(**9h**)は $\kappa$ 作動性が1.1~1.3倍低下し、メタ位(**9g**)では約13倍 $\kappa$ 作動性が低下した。一方で $\mu$ 作動性は十倍以上低下し、塩基性を示すことで $\mu$ 受容体と相互作用しにくくなったと考えられる。ベンゼンをフランまたは

チオフェンに置換した 3-チエニル体 **9j**、2-フラニル体 **9k** では $\kappa$ 作動性が低下したが、2-チエニル体 **9i** では約 5 倍向上し、TRK-820 と同程度の  $\kappa$  作動性を示した。**9i** ではチオフェンの C-S $\sigma^*$ 軌道と $\kappa$ 受容体の Tyr434 の水酸基の相互作用により作動性が向上した可能性が考えられる。さらに **9i** では受容体に対する $\mu$ 作動性が低下したため、 $\kappa$ 選択性が向上した。フラン誘導体とチオフェン誘導体では 3 位置換体に比べ 2 位置換体で $\mu$ 作動性が低下する傾向がみられたため、孤立電子対の位置が重要であると考えられる。ベンゼンをシクロヘキサンに置換したシクロヘキシル体 **9l** の $\kappa$ 作動性、 $\mu$ 作動性はともに低下した。シクロヘキサンのコンホメーションが、受容体結合時に一方のイス型に制御されエントロピー的に不利になることが若干の作動性低下につながったと推測される。

17 位シクロプロピルメチル基に水酸基を導入した **2** は TRK-820 と同等の $\kappa$ 作動性を示し、30,000 nM まで $\mu$ 作動性を示さなかった(Fig. 10)。

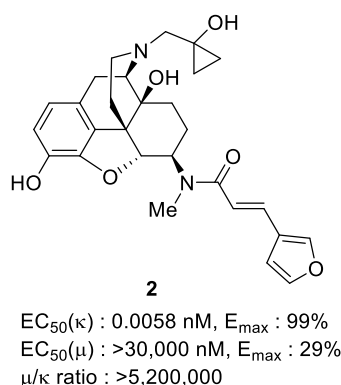


Figure 10. *In vitro* KOR and MOR agonist activity

$\mu$ 受容体 (アゴニストフォーム) の X 線結晶構造(PBDid : 5c1m)<sup>53)</sup>と **2** のドッキングモデルを作成し、受容体とリガンドとの相互作用について考察を行った(Fig. 11)。 $\mu$ 受容体は膜貫通ヘリックス TM2 の Leu121 の影響により、TM7 の Tyr326 が内側に寄った構造をとることで、リガンド結合部のポケットが小さくなっている。そのため **2** の水酸基が立体障害となるため、 $\mu$ 作動性を示さなかったと推測される。一方で、 $\kappa$ 受容体ではこの位置が Met112 であるため、ポケットがわずかに大きくなり、水酸基の導入が許容されたと考えられる。

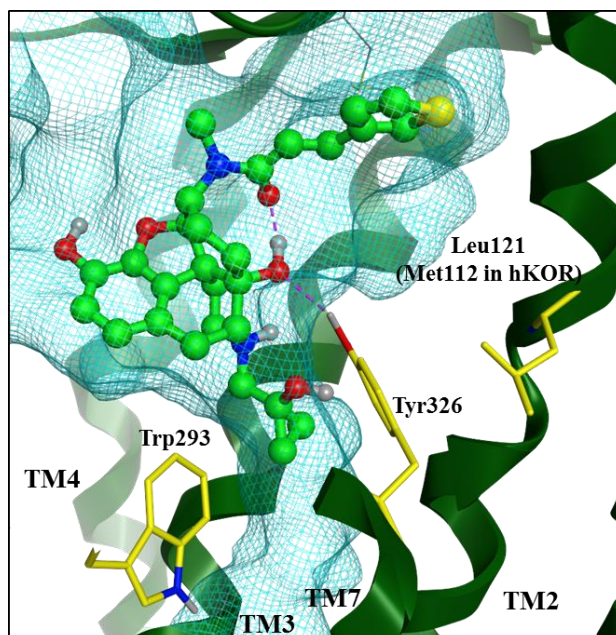


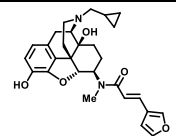
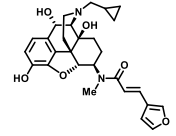
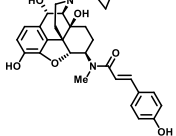
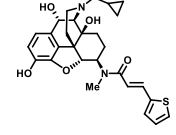
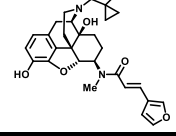
Figure 11. Docking model of **2** and MOR (green ribbon).

## 第五節 薬物動態試験結果と考察

第四節において、強い $\kappa$ 作動性または高い $\kappa$ 選択性を示した **9c**、**9i**、**2** についてマウスを用いた中枢末梢比の検討を行った。マウスに化合物を静脈内投与した後の血漿中濃度及び脳濃度を測定し、脳移行性を評価した。実験には、7週齢の Crl:CD1(ICR)系又は Crlj:CD1(ICR)系雄性マウスを使用した。

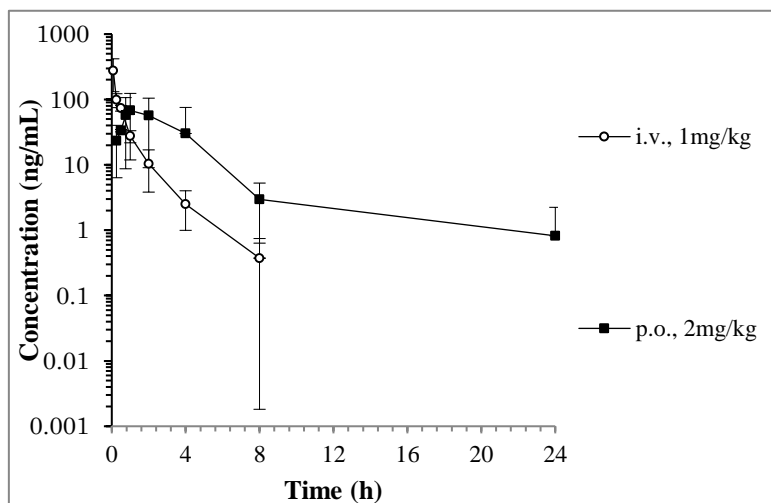
被験物質は3種の化合物を1つのグループとし、それぞれ 0.33 mg/kg (各被験物質のグループにつき合計 1.0 mg/kg) の用量で単回カセット静脈内投与した。静脈内投与 15分後に、マウスの後大静脈又は心臓からイソフルラン麻酔下で採血した。なお、各被験物質のグループにつき、3匹のマウスに投与した。また、採血を終えたマウスを放血安楽死させた後、脳を摘出した。採取した脳に対し、脳重量の2~3倍量の蒸留水を加え、ビーズ式組織破碎装置(株式会社バイオメディカルサイエンス Shake Master Neo)を用いて脳ホモジネートを調製した。得られた分析用試料を LC/MS/MS 分析した。各被験物質について、投与した被験物質の血漿中濃度(ng/mL)及び脳濃度(ng/g 組織)(平均値 $\pm$ 標準偏差、N = 3)を算出した。また、各被験物質の脳中濃度/血漿中濃度比( $K_{p, \text{brain}}$ )を算出した。その結果を Table 6 に示す。

Table 6. Brain-Plasma concentration ratio ( $K_{p, \text{brain}}$ ) of compounds at 15 min after i.v. administration to male ICR mice and calculated LogP values.

No.	structure	$K_{p, \text{brain}}$	Calculated LogP
<b>TRK-820</b>		<b>0.41</b>	<b>2.4</b>
<b>1</b>		<b>0.065</b>	<b>1.7</b>
<b>9c</b>		<b>0.063</b>	<b>1.8</b>
<b>9i</b>		<b>0.17</b>	<b>2.1</b>
<b>2</b>		<b>0.11</b>	<b>1.2</b>

TRK-820 と比較し、10 $\alpha$  位水酸基誘導体 **1** は約 6.3 倍末梢選択性が向上した。また、ベンゼン環パラ位に水酸基を導入した **9c** は **1** と同程度の末梢選択性を示した。**1** のアミド側鎖をフランからチオフェンに変換した **9i** は末梢選択性が低下した。一方で、17 位水酸基誘導体 **2** は TRK-820 と比較し、約 3.7 倍末梢選択性が向上した。ACD/Percepta (物性パラメーター予測モデル : Fujitsu Japan) を用いて化合物の calculated LogP (ClogP) を計算したところ (Table 6)、水酸基を導入した誘導体は TRK-820 と比較して ClogP 値が低下した。分子の極性が高くなり、さらに活性プロトン数が増加したことで血液脳関門を通過しにくくなり、末梢選択性が向上したと考えられる。この結果、TRK-820 の基本骨格に対し、10 $\alpha$  位または 17 位への水酸基の導入やアミド側鎖の変換により末梢型の $\kappa$ 作動薬の創出が可能であると考えられる。

次に 10 $\alpha$  位水酸基誘導体 **1** の PK 試験を行った。投与前 16 時間絶食下、6 週齢の Crlj:CD1(ICR)系雄性マウスに、1.0 mg/kg (溶媒: DMSO : Tween (界面活性剤) : 蒸留水 = 1 : 1 : 8) の用量で静脈投与、2.0 mg/kg (溶媒: 0.5%メチルセルロール溶液) の用量で経口投与し、投与後 0.25、0.5、1、4、8 および 24 時間に採血を行い、血漿中濃度を測定した (Fig. 12)。経口投与により投与後 1~2 時間後に最高血中濃度に到達し、AUC ベースで十分な曝露が観察された。生物学的利用率 (Bioavailability : BA) は 98% と高く、良好な経口吸収が確認され、経口薬としての可能性が示唆された。



Pharmacokinetic parameters (i.v.)			Pharmacokinetic parameters (p.o.)		
Parameters	Unit		Parameters	Unit	
$C_{5min}$	(ng/mL)	275	$C_{max}$	(ng/mL)	67.9
$AUC_{0-24h}$	(h·ng/mL)	149	$T_{max}$	(h)	1.00
$AUC_{0-\infty}$	(h·ng/mL)	147	$AUC_{0-24h}$	(h·ng/mL)	283
$MRT_{0-\infty}$	(h)	0.792	$AUC_{0-\infty}$	(h·ng/mL)	288
$V_{d,ss}$	(mL/kg)	5398	$MRT_{0-\infty}$	(h)	3.90
$CL_{tot}$	(mL/h/kg)	6814	$t_{1/2}$	(h)	3.87
$t_{1/2}$	(h)	1.28	BA*	(%)	98.0

\*:BA=(AUC<sub>0-∞,po</sub>/Dose<sub>po</sub>)/(AUC<sub>0-∞,iv</sub>/Dose<sub>iv</sub>)

Figure 12. Plasma concentrations of unchanged form after i.v. and p.o. administration of **1** to male mouse. Each point and bar is represented as mean  $\pm$  S.D. (n = 3)

## 第六節 *In vivo* 薬理評価結果

酢酸ライジングモデルマウスを用いて末梢における鎮痛作用の評価を行った。実験には5-6週齢の雄性 ddy マウスを使用した。マウスに被験化合物溶液もしくは溶媒を5 mL/kgの投与容量で尾静脈内 (i.v.) 投与し、その直後に0.6%酢酸溶液を10 mL/kgの投与容量で腹腔内 (i.p.) 投与した。酢酸溶液の投与後10分を目安とし、その後10分間に生じるライジング反応(身体を細長く伸ばす、後肢を伸展させる、躯幹をねじるなど)の回数を計測した。各個体のライジング反応回数から各群の平均値と標準誤差、および溶媒投与群の平均値を100%とした場合の各個体の反応率(%)を算出した(Fig. 13)。さらに被験化合物投与個体の反応率を用いた線形回帰分析からED<sub>50</sub>を算出した。**1**と**2**のED<sub>50</sub>値はそれぞれ0.31 mg/kg、0.12 mg/kgであり、溶媒群と比較し、有意にライジング反応を抑制しており、1.0 mg/kg以下の用量で鎮痛効果が確認された。行動観察は、被験化合物 i.v.投与直後から約20分間行動観察を実施し、被験物質非処置個体と比較して明らかに異なる行動が認められた場合に所見として記録した。これら試験用量において中枢作用による挙動は観察されなかった。

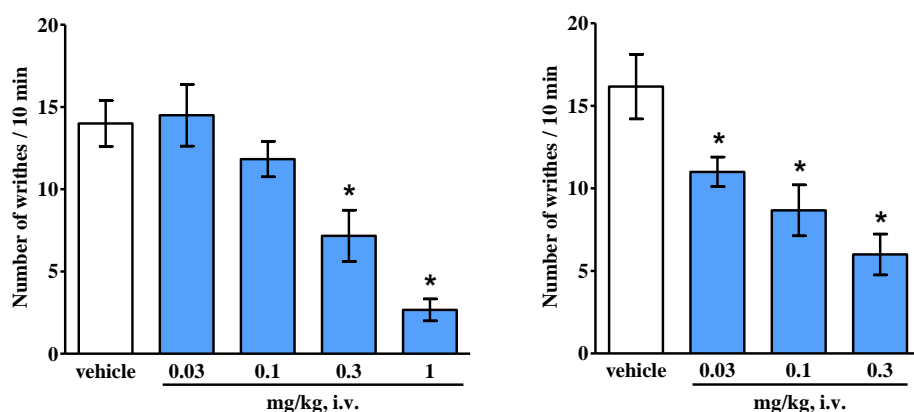


Figure 13. Anti-allodynic effects of **1** (Left) and **2** (Right) in Acetic acid-induced writhing in mice  
\*:  $P < 0.025$  versus vehicle-treated group (Williams' test)

## 第七節 小括

末梢選択的 $\kappa$ 作動薬による経口鎮痛薬の開発を目的に研究を行った。末梢選択性向上を目的に、TRK-820 と $\kappa$ 受容体のドッキングモデルを作成し、水酸基導入可能な空間の探索を行った。TRK-820 のモルヒナン骨格 10 $\alpha$  位または 17 位に水酸基を導入した誘導体 **1** および **2** を合成した。これら誘導体は期待通り TRK-820 と比較しそれぞれ 6.3 倍、3.7 倍末梢選択性が向上した。また $\mu$ 受容体に対する $\kappa$ 選択性の向上を目的に、6 位側鎖の最適化を行った。その結果、30,000 nM まで $\mu$ 作動性を示さないフェノール誘導体導入 **9c** を見出した。さらに、10 $\alpha$  水酸基誘導体 **1** と 17 位水酸誘導体 **2** は、マウス酢酸ライジングモデルへの静脈投与において 1.0 mg/kg 以下の用量で鎮痛作用を示した。本研究により、中枢性副作用を回避した鎮痛薬として期待できる $\kappa$ 作動薬の取得を達成した。



### 第三章 $\alpha_{1L}$ アドレナリン作動薬

#### 第一節 MK017 を基にしたリガンド設計

$\alpha_{1L}$  受容体の存在については議論されているため、研究報告例はごくわずかである。ノルアドレナリン(NA)はアドレナリン受容体の内因性リガンドの一つであるが、 $\alpha_{1L}$  作動活性が低く、さらに  $\beta_1$  受容体にも作用するため、合成展開の起点化合物として好ましくないと考えられる。唯一、合成リガンドとして、日本ケミファ社の特許化合物 MK017 が  $\alpha_{1L}$  作動性を示すことが報告されている(Fig. 14)<sup>54</sup>。

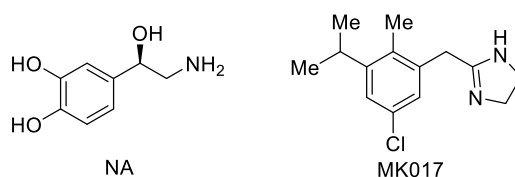


Figure 14. Structure of NA and MK017

しかしながら MK017 の誘導化研究についての報告例はなく、周辺化合物の  $\alpha_{1L}$  作動活性については全くわかっていない。私は MK017 を基に、立体配座を固定することでより強力な  $\alpha_{1L}$  作動性を示す化合物の取得が可能ではないかと考え、2'位と 1'、3'、3''のそれぞれの位置で環化したインダンおよびテトラリン誘導体を設計した(Fig. 15)。

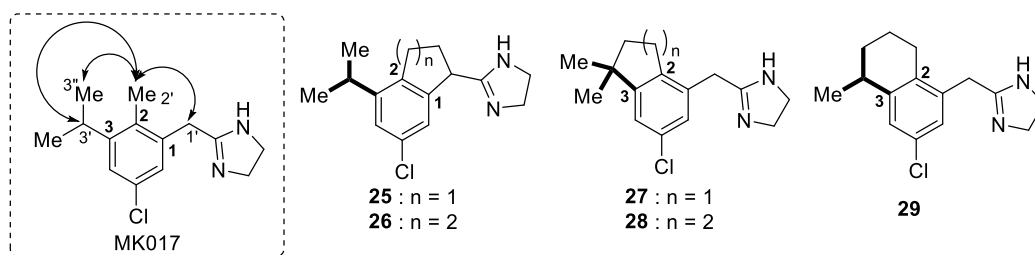
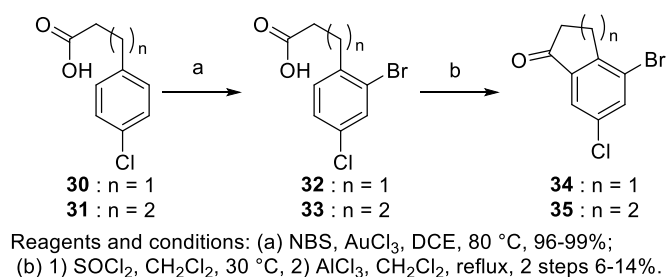


Figure 15. Designed compounds. Various indane and tetraline derivatives were designed to serve as  $\alpha_{1L}$ -adrenoceptor agonists.

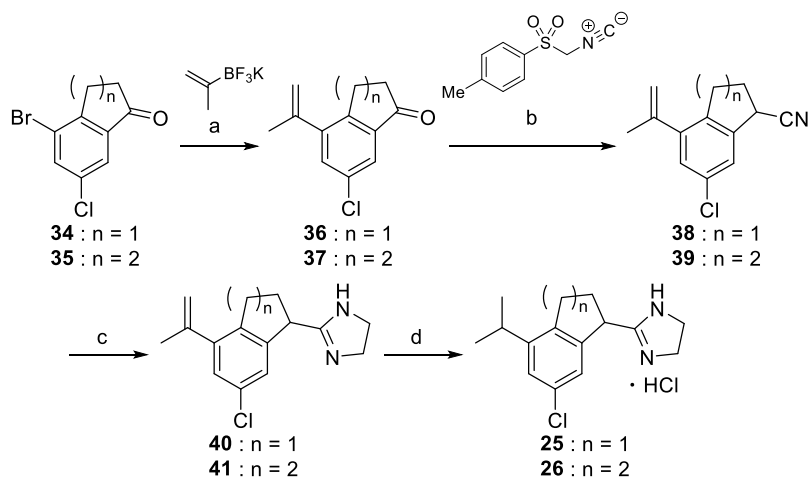
## 第二節 二環性誘導体の合成

2'位と1'、3'、3''のそれぞれで環化した誘導体は、ブロモインダノン **34** またはブロモテトラロン **35** を鍵中間体として合成した(Scheme 13)。これら中間体は、ケトンにはジメチル基とイミダゾリンへ、臭素はイソプロピル基とメチレンイミダゾリンへとそれぞれ変換可能である。カルボン酸 **30**、**31** に対し触媒量の AuCl<sub>3</sub> 存在下、NBS を用いて臭素を導入し<sup>55)</sup>、その後、分子内 Friedel-Crafts アシル化反応により中間体 **34** と **35** を得た。低収率の原因として、複数の臭素の位置異性体が生成したことがあげられる。



Scheme 13. Synthesis of intermediates **34** and **35**

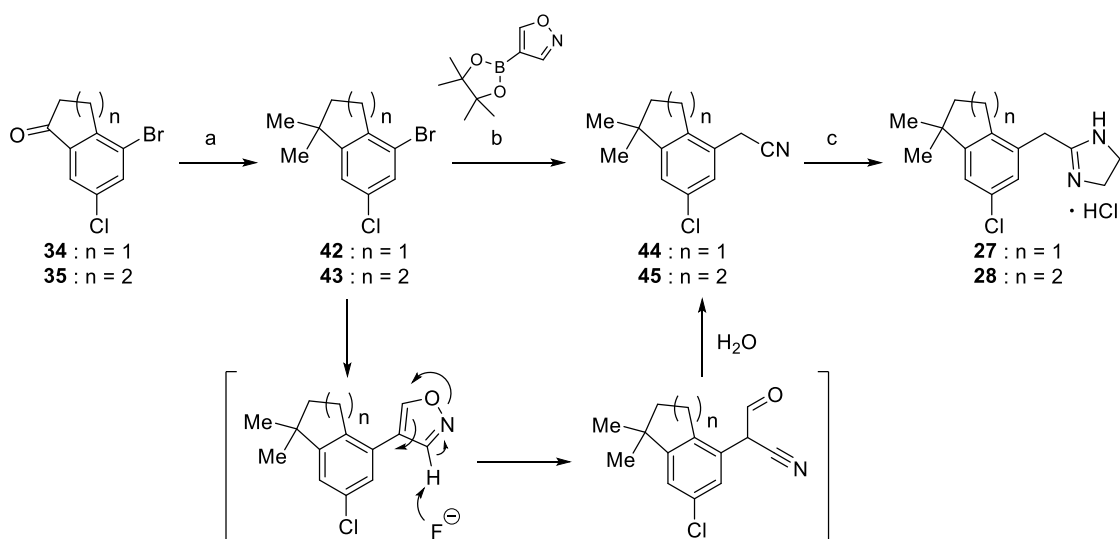
2'位と1'で環化した誘導体 **25**、**26** の合成を行った(Scheme 14)。**34** または **35** とカリウムイソプロペニルトリフルオロボレートを用いた Suzuki-Miyaura カップリング反応を行いイソプロペニル基を導入し、TosMIC を用いてニトリル **38** および **39** へと変換した。その後、ニトリルを触媒量の五硫化二リン存在下、エチレンジアミンを用いてイミダゾリンへと変換し、酸化白金を用いた水素添加反応により **25** (ラセミ体) と **26** (ラセミ体) をそれぞれ合成した。



Reagents and conditions: (a) Pd(OAc)<sub>2</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PPh<sub>3</sub>, THF, H<sub>2</sub>O, 70 °C, 79-89%; (b) KOtBu, THF, -78 °C, then MeOH, 60 °C, 31-56%; (c) P<sub>2</sub>S<sub>5</sub> (cat.), ethylenediamine, 100 °C, 28-76%; (d) 1) PtO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, MeOH, rt, 2) HCl-MeOH, MeOH, rt, 50-64%

Scheme 14. Synthesis of indane **25** and tetraline **26**

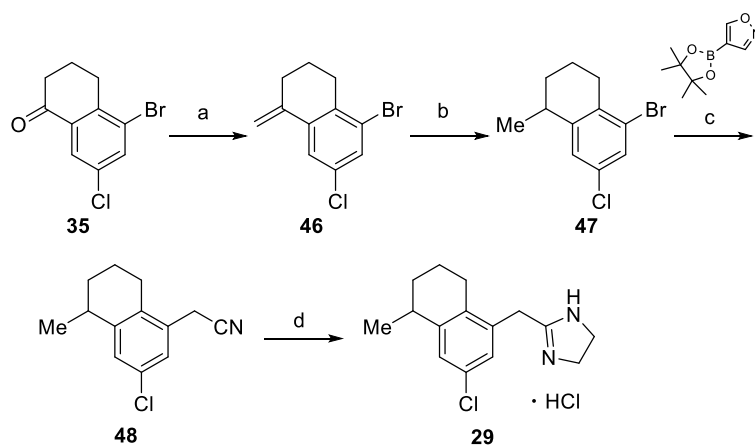
2'位と3'で環化した誘導体 **27**、**28** の合成を行った(Scheme 15)。**34** または **35** のケトンを、四塩化チタン存在化、ジメチル亜鉛を用いてジメチル基へと変換し<sup>56)</sup>、イソオキサゾールボラン試薬を用いた Suzuki-Miyaura カップリング反応を行いベンジルニトリル体 **44** および **45** へと変換した<sup>57)</sup>。本反応は、生じたイソオキサゾール体の3位のプロトンがフッ素アニオンが引き抜くことで開環し、その後、ホルミル基の加水分解反応により目的物が生じると推定される。イソオキサゾールの加水分解が進行しにくいため低収率であった。その後、ニトリルを触媒量の五硫化二リン存在下、エチレンジアミンを用いてイミダゾリンへと変換し **27** と **28** をそれぞれ合成した。



Reagents and conditions: (a) dimethylzinc,  $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78$  to  $0$  °C, 83-88%; (b)  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ , KF, DMSO,  $\text{H}_2\text{O}$ , 3-11%; (c) 1)  $\text{P}_2\text{S}_5$  (cat.), ethylenediamine,  $100$  °C, 2) HCl-MeOH, MeOH, rt, 87%-quant.

Scheme 15. Synthesis of indane **27** and tetraline **28**

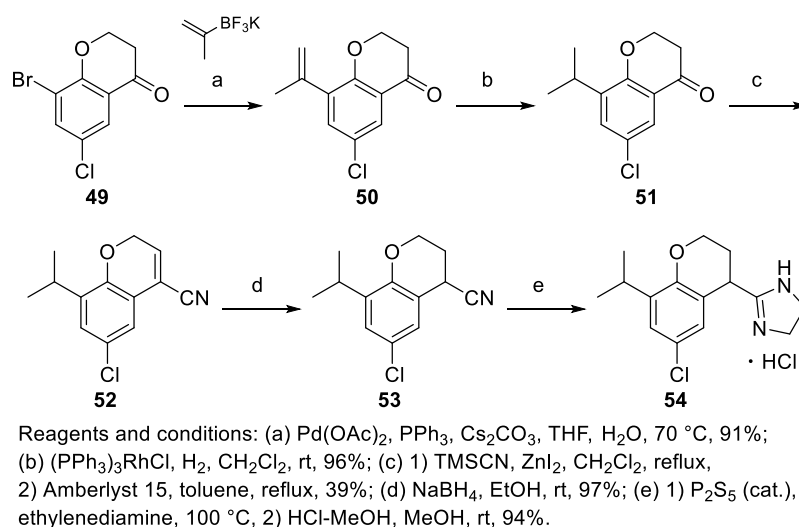
2'位と3''で環化した誘導体 **29** の合成を行った(Scheme 16)。 **35** を Wittig 反応によりエキソメチレン体 **46** とし、酸化白金を用いた水素添加反応により **47** を得た。その後、イソオキサゾールボラン試薬を用いた Suzuki-Miyaura カップリング反応を行いメチレンニトリル体 **48** へと変換し、ニトリルを触媒量の五硫化二リン存在下、エチレンジアミンを用いてイミダゾリンへと変換することで **29** (ラセミ体) を合成した。



Reagents and conditions: (a)  $\text{MePPh}_3\text{Br}$ ,  $t\text{BuOK}$ , THF, rt, 97%; (b)  $\text{PtO}_2$ ,  $\text{H}_2$ , MeOH, rt, 88%; (c)  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ , KF, DMSO,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $130$  °C, 3%; (d) 1)  $\text{P}_2\text{S}_5$  (cat.), ethylenediamine,  $100$  °C, 2) HCl-MeOH, MeOH, rt, quant.

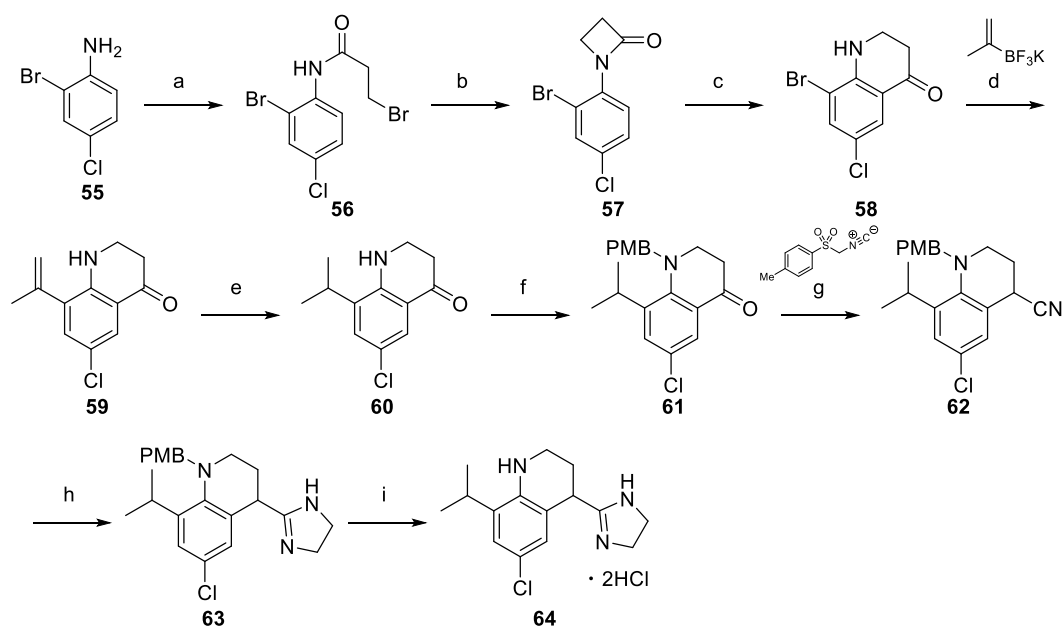
Scheme 16. Synthesis of tetraline **29**

次に、Table 7 (後述) で最も強い  $\alpha_{1L}$  作動性を示した **26** を基に 2 位にヘテロ原子を導入した誘導体合成を検討した。ヘテロ原子を導入することで  $\alpha_{1L}$  受容体との水素結合による親和性向上を期待した。クロマン誘導体 **54** はクロマノン **49** を出発物質として合成した (Scheme 17)。クロマノン **49** とカリウムイソプロペニルトリフルオロボレートを用いた Suzuki-Miyaura カップリング反応を行いイソプロペニル基を導入し、Wilkinson 触媒を用いた水素添加反応により **51** を得た。その後、TMSCN を用いたシアノシリル化反応、続く酸性条件下での脱シリノール化により不飽和ニトリル **52** を得た。不飽和ニトリル **52** を水素化ホウ素ナトリウムを用いて 1,4-還元し、ニトリルを触媒量の五硫化二リン存在下、エチレンジアミンを用いてイミダゾリンへと変換することで **54** (ラセミ体) を合成した。



Scheme 17. Synthesis of chromane **54**

テトラヒドロキノリン誘導体 **64** はアニリン **55** を出発物質として合成した (Scheme 18)。アニリン **55** と 3-ブロモプロパノイルクロリドを用いたアミド化反応、続くラクタム化、転位反応によりジヒドロキノリノン **58** へと変換した<sup>58)</sup>。次に、カリウムイソプロペニルトリフルオロボレートを用いた Suzuki-Miyaura カップリング反応を行いイソプロペニル基を導入し、Wilkinson 触媒を用いた水素添加反応により **60** を得た。その後、窒素原子を PMB 基で保護し、TosMIC を用いてケトンをもニトリル **62** へと変換した。ニトリルを触媒量の五硫化二リン存在下、エチレンジアミンを用いてイミダゾリンへと変換し、酸を用いて PMB 基の脱保護を行い **64** (ラセミ体) を合成した。



Reagents and conditions: (a) 3-bromopropanoyl chloride,  $K_2CO_3$ ,  $CH_2Cl_2$ , rt, (b)  $NaOtBu$ , DMF, rt, 2 steps 72%; (c)  $TfOH$ , DCE, rt, 34%; (d)  $Pd(OAc)_2$ ,  $PPh_3$ ,  $Cs_2CO_3$ ,  $70^\circ C$ , 85%; (e)  $(PPh_3)_3RhCl$ ,  $H_2$ ,  $CH_2Cl_2$ , rt, 99%; (f)  $PMBCl$ ,  $K_2CO_3$ ,  $NaI$ , DMF,  $50^\circ C$ , 47%; (g)  $KOtBu$ , THF,  $-78^\circ C$ , then MeOH,  $60^\circ C$ , 60%; (h)  $P_2S_5$  (cat.), ethylenediamine,  $100^\circ C$ , 91%; (i) 1) TFA,  $CH_2Cl_2$ , rt, 2) HCl-MeOH, MeOH, rt, quant..

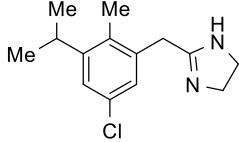
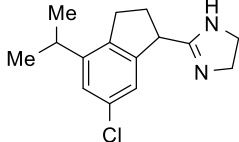
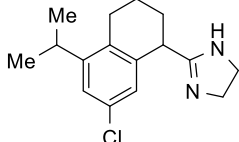
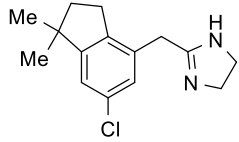
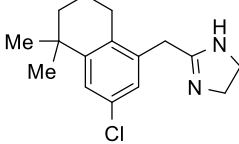
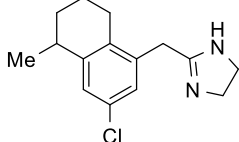
Scheme 18. Synthesis of tetrahydroquinoline **64**

### 第三節 *In vitro* 薬理試験結果と考察

ヒト  $\alpha_{1L}$  受容体作動性評価には、CHO 細胞に  $\alpha_{1A}$  遺伝子及び CRELD1 $\alpha$  遺伝子を安定的に共発現させることで  $\alpha_{1L}$  受容体を優位に発現させた細胞を用いた。化合物評価時は、 $\alpha_{1A}$  受容体を介する作用を遮断するために、10 nM プラゾシンによる前処理を行い、細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) を指標に被験化合物の  $\alpha_{1L}$  受容体作動性を評価した。結果は、実験間誤差を考慮し、ポジティブコントロールとしてノルアドレナリン (NA) 10  $\mu$ M の反応値を 100% と設定し、被験物質を 0.3 nM-10  $\mu$ M の濃度範囲で作用させた際の Ca 濃度を triplicate で測定した平均値を、NA の最大反応に対する割合 (%) として示した。また NA の 100% 反応に対する 50% を挟む 3 点間から得られる直線回帰により EC<sub>50</sub> 値を求めた。なお実験プレート間誤差を考慮し NA の EC<sub>50</sub> 値比として  $\alpha_{1L}$  作動活性を示す。

インダン、テトラリン誘導体の評価結果を Table 7 に示す。2'位と 1'または 3'位で環化したインダン誘導体 **25** と **27** は MK017 と比較し、ともに  $\alpha_{1L}$  作動性が低下した。側鎖を五員環で固定したことで 1 位と 3 位の相対的な位置がずれたことで受容体と相互作用しにくくなった可能性が考えられる。一方で 2'位と 1'または 3'位で環化したテトラリン誘導体 **26** と **28** は MK017 と比較し、ともに  $\alpha_{1L}$  作動性が向上した。イミダゾリンまたはイソプロピル基の配座を固定することで受容体との相互作用に適した分子の存在確率が向上した可能性が考えられる。2'位と 3''で環化したテトラリン誘導体 **29** は MK017 と比較し、 $\alpha_{1L}$  作動性が低下する傾向がみられた。イソプロピル基の一方のメチル基が環のメチレン鎖に組み込まれているため、受容体との疎水性相互作用が低下したことが要因であると推測される。

Table 7. *In vitro*  $\alpha_{1L}$ -adrenoceptor agonist activity of indane and tetraline derivatives

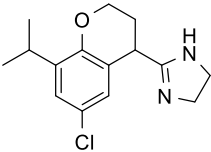
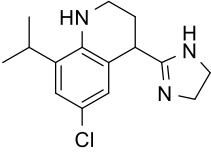
	Compound	Ratio of NA EC <sub>50</sub>
MK017		0.043
25		0.08
26		0.024
27		0.12
28		0.028
29		0.063

\* NA EC<sub>50</sub> = 1019 ± 247 nM

次に、クロマン、テトラヒドロキノリン誘導体の評価結果を Table 8 に示す。クロマン誘導体 **54** とテトラヒドロキノリン誘導体 **64** はテトラリン誘導体 **26** と比較し、ともに  $\alpha_{1L}$  作動性が向上した。ヘテロ原子を導入したことでベンゼンの電子密度が向上し、 $\alpha_{1L}$  受容体との相互作用に有利に働いた可能性が考えられる。さらにテトラヒドロキノリン誘導体 **64** は、窒素上のプロトンが  $\alpha_{1L}$  受容体と水素結合することで強い作動性を示した可能性も考えられる。



Table 8. *In vitro*  $\alpha_{1L}$ -adrenoceptor agonist activity of chromane and tetrahydroquinoline derivatives

	Compound	Ratio of NA EC <sub>50</sub>
54		0.014
64		0.0028

\* NA EC<sub>50</sub> = 1029 ± 247 nM

#### 第四節 マグヌス試験結果

ラット摘出膀胱頸部の収縮反応の検討を行った。雄性 Wistar ラットから摘出した膀胱頸部の両端をマグヌス管に、初期張力 0.3 g を目安として懸架した。標準薬として NA 0.1 mmol/L を添加し、NA の最大収縮反応を確認した。その後、マグヌス管内の栄養液を置換することで NA を洗い流し、張力が平衡に達した後、被験物質を累積投与した。第三節で強い  $\alpha_{1L}$  作動性を示したテトラヒドロキノリン誘導体 **64** は NA と比較し、低濃度で収縮作用が観測された(Fig. 16)。

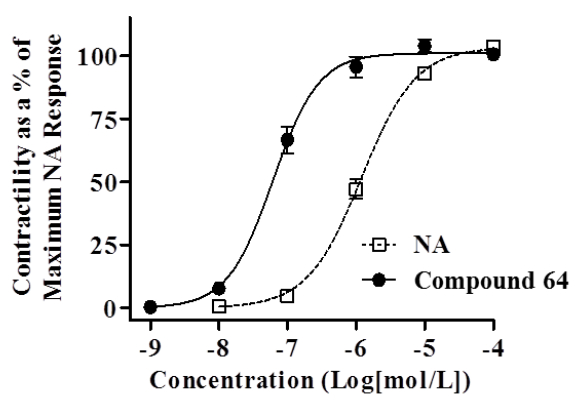


Figure 16. Log concentration-response curve in isolated rat bladder neck. Compound **64** induced contraction of isolated rat bladder neck dose-dependently and showed stronger potency than NA.

## 第五節 小括

$\alpha_{1L}$  作動薬による腹圧性尿失禁治療薬の開発を目的に研究を行った。 $\alpha_{1L}$  作動性の向上を目的に、MK017 を基に立体配座を固定したインダンおよびテトラリン誘導体を設計、合成した。さらにベンジル位にヘテロ原子を導入することで MK017 と比較し 10 倍以上  $\alpha_{1L}$  作動性が向上し、ラット摘出膀胱軽侮において収縮作用を示すテトラヒドロキノリン誘導体 **64** の取得を達成した。本研究により見出された  $\alpha_{1L}$  作動薬は、ヒトでの効果が期待される。

## 結論および結語

GPCR は様々な生理作用を示すため魅力的な医薬ターゲットである。一方で副作用の観点から、サブタイプ選択的なリガンドの取得は医薬研究において非常に重要な課題である。

第二章では、オピオイド受容体に関して $\kappa$ 作動薬による鎮痛薬の創出を目指して研究を行った。中枢性 $\kappa$ 受容体を介した副作用と $\mu$ 受容体を介した副作用の回避が課題であった。研究の結果、一つ目の課題に対し、中枢性 $\kappa$ 作動薬の TRK-820 と $\kappa$ 受容体のドッキングモデルから、極性基導入可能な空間の探索を行い、モルヒナン骨格の  $10\alpha$  位と 17 位に水酸基を導入した TRK-820 誘導体を合成することで達成した。もう一つの課題である $\kappa$ 選択性向上は、サブタイプ選択性に寄与する 6 位側鎖の最適化を行い、 $\kappa$ 作動性を維持したまま $\mu$ 作動性を示さないフェノール誘導体を見出すことで達成した。さらにこれら水酸基誘導体はマウス酢酸ライジング試験において鎮痛作用を示し、安全性の高い鎮痛薬になり得ると期待される。

第三章では、アドレナリン受容体に関して  $\alpha_{1L}$  作動薬による腹圧性尿失禁治療薬の創出を目指して研究を行った。 $\alpha_{1A}$  作動薬は臨床試験で効果が得られず、ヒトでの薬効発現が課題であった。この背景として、ヒトの尿道収縮は  $\alpha_{1A}$  受容体と同じ遺伝子からなる異なる表現型の  $\alpha_{1L}$  受容体に関与しているためであると推測されている。研究の結果、課題である  $\alpha_{1L}$  作動薬の創出は、唯一  $\alpha_{1L}$  受容体に作用することが報告されている MK017 を基に、立体配座を固定したインダンおよびテトラリン誘導体を設計し、合成することで達成した。さらに、ベンジル位にテロ原子を導入することで MK017 と比較し 10 倍以上  $\alpha_{1L}$  作動性が向上し、ラット摘出膀胱頸部において収縮作用を示すテトラヒドロキノリン誘導体の取得を達成した。これら誘導体はヒトでの効果が期待される。

以上、新規な末梢選択的 $\kappa$ オピオイド作動薬と  $\alpha_{1L}$  アドレナリン作動薬の創出を達成した。本研究により見出した誘導体は副作用の回避や、ヒトでの効果が期待されるものであり、医薬の創出や GPCR を標的とした医薬研究のツールとして有用である。今後、これら化合物またはさらなる誘導体が医薬として患者に届くことを期待したい。

## 実験の部

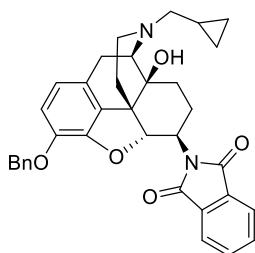
<sup>1</sup>H Nuclear magnetic resonance spectra were determined on JEOL JNM-ECZ400 and JEOL JNM-ECS400 instrument. Chemical shifts for <sup>1</sup>H NMR were reported in part per million (ppm) downfield from tetramethylsilane ( $\delta$ ) as the internal standard and coupling constants are in hertz (Hz). The following abbreviations are used for spin multiplicity : s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, br = broad. Mass spectra (MS) were obtained on a Agilent Technologies 6130 Quadrupole LC/MS (ESI).

Analytical thin layer chromatography (TLC) and preparative TLC were performed on Merck 60F254 analytical plates. Flash chromatography separations were performed on Yamazen Smart Flash W-Prep 2XY, Hi-Flash Column silicagel 40 $\mu$ m 60 $\text{\AA}$ .

Reagents and solvents were used commercial grades.

All reactions sensitive to oxygen or moisture were conducted under an argon atmosphere.

### Synthesis of Benzyl Ether **3**

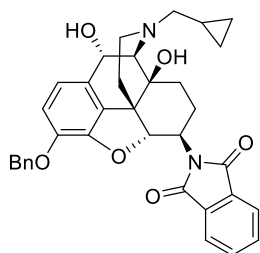


To a solution of TRK-130 (10 g, 21 mmol) in DMF (100 mL) were added  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (6.4 g, 47 mmol) and benzyl bromide (4.5 mL, 38 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16 h.  $\text{H}_2\text{O}$  was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was washed with MeOH to afford **3** (9.1 g, 79% yield) as a white solid and used the next reaction without further purification.

<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.84 (2H, dd,  $J = 5.4, 3.2$  Hz), 7.71 (2H, dd,  $J = 5.4, 2.7$  Hz), 7.43 (2H, d,  $J = 7.2$  Hz), 7.34 (2H, t,  $J = 7.2$  Hz), 7.29-7.25 (1H, m), 6.76 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.61 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 5.28 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 5.20-5.08 (3H, m), 4.20-4.13 (1H, m), 3.12 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz), 3.05 (1H, d,  $J = 18.6$  Hz), 2.84-2.73 (1H, m), 2.69-2.61 (2H, m), 2.40-2.32 (3H, m), 2.11 (1H, td,  $J = 12.1, 3.9$  Hz), 1.74-1.69 (1H, m), 1.57 (1H, dd,  $J = 13.1, 3.2$  Hz), 1.52-1.46 (2H, m), 0.89-0.81 (1H, m), 0.56-0.51 (2H, m), 0.15-0.11 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  563 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

### Synthesis of Alcohol **4**

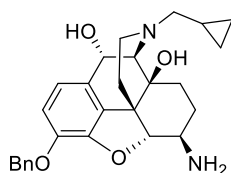


To a solution of benzyl ether **3** (8.9 g, 16 mmol) in MeCN (500 mL) and water (42 mL) at 0 °C was added CAN (29 g, 52 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h. H<sub>2</sub>O and saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> were added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane : EtOAc = 4 : 1 to 1 : 2) to afford pure **4** (4.5 g, 49% yield) as a pale yellow solid.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.85 (2H, dd, *J* = 5.4, 2.7 Hz), 7.72 (2H, dd, *J* = 5.4, 3.2 Hz), 7.44 (2H, d, *J* = 6.8 Hz), 7.35 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 7.30-7.27 (1H, m), 6.92 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 6.88 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 5.30 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 5.22 (1H, d, *J* = 11.8 Hz), 5.14 (1H, d, *J* = 11.8 Hz), 5.02-4.99 (2H, m), 4.21-4.14 (1H, m), 3.17 (1H, s), 2.78 (1H, ddd, *J* = 24.8, 13.3, 4.6 Hz), 2.66 (1H, dd, *J* = 12.2, 5.0 Hz), 2.56 (1H, dd, *J* = 12.7, 6.8 Hz), 2.48 (1H, dd, *J* = 12.7, 6.3 Hz), 2.36 (1H, td, *J* = 12.7, 5.4 Hz), 2.06-1.99 (1H, m), 1.90-1.80 (2H, m), 1.62 (1H, m), 1.53-1.46 (2H, m), 0.96-0.87 (1H, m), 0.63-0.53 (2H, m), 0.24-0.12 (2H, m).

LC/MS (ESI): *m/z* 579 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Synthesis of Amine **5**



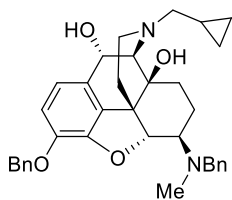
To a solution of alcohol **4** (4.4 g, 7.6 mmol) in EtOH (60 mL) was added hydrazine monohydrate (0.72 mL, 23 mmol), and the reaction mixture was stirred at 70 °C for 3 h. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and filtrate was added to water. Aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure to afford the crude product **5**, which was used in the next reaction without further purification.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.44-7.41 (2H, m), 7.36 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 7.32-7.28 (1H, m), 6.88-6.83 (2H, m), 5.23 (1H, d, *J* = 12.2 Hz), 5.18 (1H, d, *J* = 12.2 Hz), 4.94 (1H, s), 4.31 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 3.10

(1H, s), 2.63-2.51 (3H, m), 2.43 (1H, dd,  $J = 12.7, 6.3$  Hz), 2.20 (1H, td,  $J = 12.7, 5.4$  Hz), 1.98 (1H, td,  $J = 12.1, 3.9$  Hz), 1.82-1.74 (1H, m), 1.68-1.64 (2H, m), 1.56-1.50 (1H, m), 1.44 (1H, dd,  $J = 12.7, 2.7$  Hz), 0.94-0.84 (1H, m), 0.60-0.51 (2H, m), 0.21-0.10 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  449 ( $[M+H]^+$ ).

### Synthesis of Amine **6**

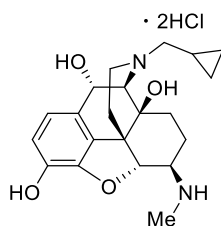


To a solution of the crude material including **5** (3.4 g) in MeOH (15 mL) was added benzaldehyde (0.89 g, 8.3 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h. Then  $\text{NaBH}_4$  (0.43 g, 11 mmol) was added to the reaction mixture, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 0.5 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. To the residue in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) were added 35% formalin (1.3 mL, 15 mmol) and  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$  (3.2 g, 15 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 0.67 h. Water was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with  $\text{CHCl}_3$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel ( $\text{CHCl}_3$  to  $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 20 : 1) to afford pure **6** (2.8 g, 67% yield over 2 steps) as a white amorphous.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.45 (2H, d,  $J = 6.8$  Hz), 7.40-7.29 (5H, m), 7.27-7.23 (2H, m), 7.21-7.16 (1H, m), 6.87-6.82 (2H, m), 5.27-5.21 (2H, m), 4.96 (1H, s), 4.94 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz), 4.78 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 3.81 (1H, d,  $J = 13.6$  Hz), 3.71 (1H, d,  $J = 13.6$  Hz), 3.11 (1H, s), 2.67-2.59 (2H, m), 2.53 (1H, dd,  $J = 12.7, 6.8$  Hz), 2.46 (1H, dd,  $J = 12.7, 6.8$  Hz), 2.35 (3H, s), 2.23 (1H, td,  $J = 12.7, 5.4$  Hz), 2.07-1.96 (2H, m), 1.76-1.70 (1H, m), 1.65-1.59 (2H, m), 1.53 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz), 1.49 (1H, dd,  $J = 13.1, 2.7$  Hz), 0.95-0.85 (1H, m), 0.62-0.52 (2H, m), 0.23-0.11 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  553 ( $[M+H]^+$ ).

### Synthesis of Amine **7**

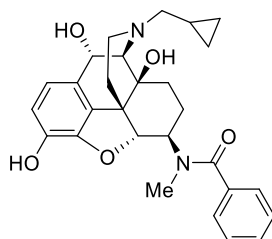


To a solution of amine **6** (2.8 g, 5.1 mmol) in MeOH (25 mL) and 10% HCl-MeOH (5.0 mL) was added 10% Pd/C, 50% wet (0.54 g) under Ar atmosphere, and the reaction mixture was stirred under 1 atm of hydrogen for 9 h. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford the crude product **7**, which was used in the next reaction without further purification.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.03 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 6.88 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 5.49 (1H, s), 5.29 (1H, s), 4.81 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 3.86 (1H, s), 3.49-3.42 (1H, m), 3.34 (2H, s), 3.08-3.02 (2H, m), 2.95 (1H, dd, *J* = 13.8, 7.5 Hz), 2.82 (3H, s), 2.66-2.55 (2H, m), 2.06-1.98 (2H, m), 1.94-1.83 (2H, m), 1.69-1.63 (1H, m), 1.23-1.16 (1H, m), 0.91-0.74 (2H, m), 0.62-0.53 (2H, m).

LC/MS (ESI): *m/z* 373 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Synthesis of Amide **8a**



To a solution of amine **7** (60 mg, 0.13 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.5 mL) were added Et<sub>3</sub>N (0.082 mL, 0.59 mmol) and benzoyl chloride (0.034 mL, 0.30 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 17 h. Water was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. To the residue in MeOH (1.0 mL) was added 1N NaOH solution (0.27 mL, 0.27 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h. Water was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub> to CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 20 : 1) to afford pure **8a** (58 mg, 91% yield) as a white solid.

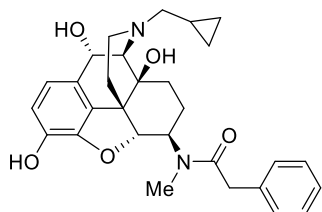
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.43-7.33 (3.2H, m), 7.29-7.21 (2H, m), 6.92-6.86 (0.8H, m), 6.75 (0.5H, d, *J* = 8.2 Hz), 6.69 (0.5H, d, *J* = 8.2 Hz), 5.02-4.88 (2H, m), 4.73-4.62 (1.4H, m), 3.61-3.55 (0.6H, m),



3.15-3.12 (2H, m), 3.04 (0.6H, s), 2.96 (1.4H, s), 2.68-2.40 (3H, m), 2.32-2.17 (2H, m), 2.13-1.91 (1H, m), 1.86-1.75 (1H, m), 1.61-1.51 (2H, m), 1.47-1.40 (1H, m), 0.92-0.84 (1H, m), 0.61-0.53 (2H, m), 0.24-0.10 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  477 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **8b**

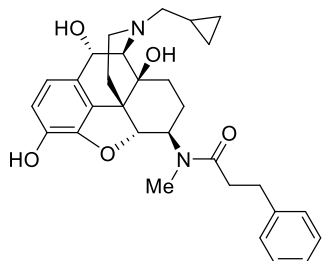


The title compound (100 mg) was prepared in 91% yield as a white solid according to the same procedure as **8a** by using 2-phenylacetyl chloride (78 mg, 0.50 mmol) as the carboxylic acid chloride.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.36-7.27 (2.4H, m), 7.16-7.12 (1.6H, m), 6.99-6.93 (1.2H, m), 6.87 (0.7H, s), 6.84-6.81 (1.1H, m), 4.98-4.88 (1.8H, m), 4.61-4.54 (1.5H, m), 3.77-3.72 (1.4H, m), 3.64-3.58 (0.7H, m), 3.55-3.51 (0.7H, m), 3.11 (0.5H, s), 3.05 (0.6H, s), 2.96 (1.2H, s), 2.93 (1.6H, s), 2.63 (1H, dd,  $J = 11.8, 4.5$  Hz), 2.56-2.44 (2H, m), 2.22 (1H, td,  $J = 12.6, 5.3$  Hz), 2.10-1.92 (2H, m), 1.77-1.69 (1H, m), 1.54-1.46 (2H, m), 1.38-1.23 (1H, m), 0.94-0.82 (1H, m), 0.62-0.52 (2H, m), 0.24-0.10 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  491 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **8c**



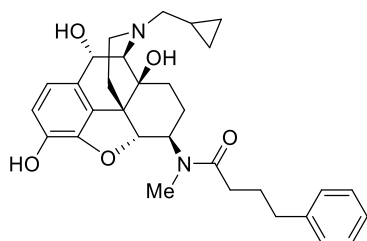
To a solution of amine **7** (48 mg, 0.11 mmol) and 3-phenylpropanoic acid (22 mg, 0.14 mmol) in DMF (1 mL) were added DIPEA (0.075 mL, 0.43 mmol) and HATU (69 mg, 0.18 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 13 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel ( $\text{CHCl}_3$  to  $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 10 : 1$ ) to afford pure **8c** (22 mg, 41% yield) as a white solid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.31-7.27 (1.2H, m), 7.24-7.17 (2.6H, m), 7.15-7.11 (0.5H, m), 7.09-7.07 (0.8H,

m), 6.92 (0.4H, d,  $J = 8.6$  Hz), 6.86 (0.4H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.80-6.75 (1.1H, m), 4.97-4.95 (1H, m), 4.68-4.62 (0.5H, m), 4.55 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 3.51-3.44 (0.5H, m), 3.10 (1H, d,  $J = 4.5$  Hz), 3.01-2.94 (1.5H, m), 2.92-2.91 (3H, m), 2.88-2.79 (0.5H, m), 2.74-2.58 (3H, m), 2.56-2.40 (2H, m), 2.24-2.16 (1H, m), 2.13-1.97 (2H, m), 1.91-1.84 (1H, m), 1.78-1.36 (4H, m), 0.94-0.84 (1H, m), 0.63-0.51 (2H, m), 0.23-0.10 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  505 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **8d**

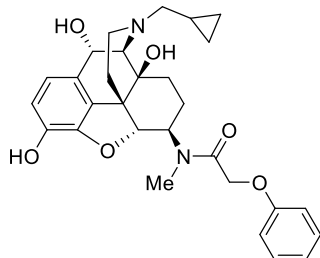


The title compound (31 mg) was prepared in 56% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using 4-phenylbutanoic acid (27 mg, 0.16 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 9.46 (0.7H, s), 9.17 (0.3H, s), 7.30-7.09 (5H, m), 6.84 (0.7H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.77 (0.3H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.74 (0.7H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.64 (0.3H, d,  $J = 8.2$  Hz), 5.29 (0.7H, d,  $J = 4.5$  Hz), 5.20 (0.3H, d,  $J = 4.5$  Hz), 4.83-4.72 (2H, m), 4.64 (0.3H, d,  $J = 8.2$  Hz), 4.56 (0.7H, d,  $J = 7.7$  Hz), 3.51-3.44 (1H, m), 3.41-3.37 (0.6H, m), 3.32 (0.6H, s), 2.92-2.87 (1.8H, m), 2.76 (2.4H, s), 2.61-2.46 (2.6H, m), 2.39-2.28 (2H, m), 2.20-2.00 (3H, m), 1.93-1.85 (1H, m), 1.80-1.61 (3H, m), 1.49-1.40 (1H, m), 1.33-1.23 (2H, m), 0.95-0.85 (1H, m), 0.53-0.44 (2H, m), 0.23-0.09 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  519 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **8e**



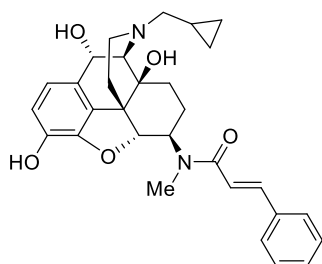
The title compound (30 mg) was prepared in 74% yield as a white solid according to the same procedure as **8a** by using 2-phenoxyacetyl chloride (30 mg, 0.18 mmol) as the carboxylic acid chloride.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.32-7.28 (1H, m), 7.22-7.18 (1H, m), 7.02-6.78 (5H, m), 4.95 (1.1H, dd,  $J = 10.6, 4.8$  Hz), 4.74 (0.8H, s), 4.63-4.58 (2.1H, m), 4.49-4.42 (0.5H, m), 3.64-3.58 (0.5H, m),

3.12-3.08 (2.3H, m), 2.98 (1.7H, s), 2.63 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.8$  Hz), 2.57-2.44 (2H, m), 2.27-1.96 (3H, m), 1.80-1.73 (1H, m), 1.65-1.58 (2H, m), 1.52-1.42 (2H, m), 0.94-0.85 (1H, m), 0.63-0.53 (2H, m), 0.24-0.11 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  507 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **8f**

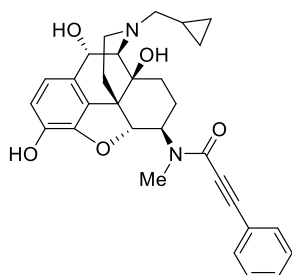


The title compound (19 mg) was prepared in 40% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using cinnamic acid (18 mg, 0.12 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.69 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.52 (0.7H, dd,  $J = 7.2, 1.8$  Hz), 7.43 (0.6H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.38-7.36 (1H, m), 7.33-7.30 (1.3H, m), 7.23-7.21 (2H, m), 6.98-6.93 (1.4H, m), 6.89 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 6.85-6.83 (0.6H, m), 6.62 (0.6H, d,  $J = 15.4$  Hz), 4.99 (1H, t,  $J = 5.4$  Hz), 4.71-4.64 (0.4H, m), 4.60 (1H, t,  $J = 7.9$  Hz), 3.83-3.77 (0.6H, m), 3.16-3.12 (2H, m), 3.04 (2H, s), 2.64 (1H, td,  $J = 12.1, 4.7$  Hz), 2.58-2.44 (2H, m), 2.30-2.18 (2H, m), 2.14-2.02 (1H, m), 1.86-1.72 (3H, m), 1.53-1.42 (2H, m), 0.94-0.86 (1H, m), 0.62-0.53 (2H, m), 0.24-0.12 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  503 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **8g**



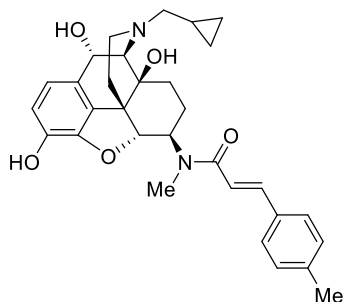
The title compound (5.0 mg) was prepared in 9% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using 3-phenylpropionic acid (20 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.58-7.53 (0.6H, m), 7.46-7.36 (1.5H, m), 7.31-7.25 (3H, m), 6.91-6.87 (1.2H, m), 6.64 (0.7H, d,  $J = 8.2$  Hz), 5.01-4.98 (2.3H, m), 4.66-4.62 (1H, m), 4.57-4.50 (0.3H, m), 4.35-4.27 (0.7H, m), 3.30 (0.8H, s), 3.15-3.14 (0.9H, m), 3.03 (2H, s), 2.66 (1H, dd,  $J = 11.8, 4.5$  Hz), 2.56 (1H, dd,  $J = 12.7, 6.8$  Hz), 2.48 (1H, dd,  $J = 12.7, 6.8$  Hz), 2.32-1.99 (3H, m), 1.86-1.78 (2H, m), 1.69 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz), 1.57-1.46 (2H, m), 0.95-0.87 (1H, m), 0.64-0.54 (2H, m),

0.24-0.12 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  501 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9a**

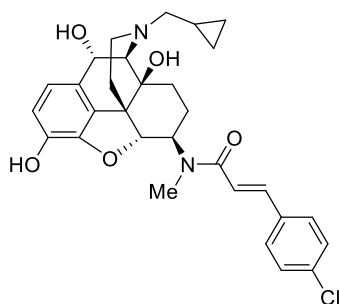


The title compound (22 mg) was prepared in 40% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(*p*-tolyl)acrylic acid (23 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.66 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.40 (1.4H, dd,  $J = 11.8, 3.6$  Hz), 7.19 (2H, dd,  $J = 12.9, 7.9$  Hz), 7.01 (1.3H, d,  $J = 7.7$  Hz), 6.97 (0.6H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.93 (0.6H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.85-6.81 (1H, m), 6.57 (0.7H, d,  $J = 15.4$  Hz), 5.00-4.96 (1H, m), 4.73-4.65 (0.4H, m), 4.58 (1H, t,  $J = 8.6$  Hz), 3.83-3.76 (0.6H, m), 3.16-3.11 (2H, m), 3.02 (2H, s), 2.67-2.44 (3H, m), 2.37 (1.5H, s), 2.29 (1.5H, s), 2.28-2.00 (3H, m), 1.95-1.71 (3H, m), 1.53-1.39 (2H, m), 0.96-0.87 (1H, m), 0.64-0.55 (2H, m), 0.24-0.14 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  517 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9b**



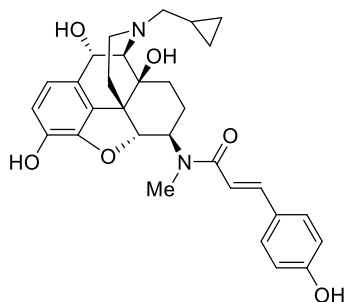
The title compound (11 mg) was prepared in 19% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(4-chlorophenyl)acrylic acid (26 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.63 (0.5H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.46 (0.7H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.41-7.34 (1.4H, m), 7.25-7.19 (2.5H, m), 6.96 (1.4H, s), 6.89-6.85 (0.8H, m), 6.57 (0.7H, d,  $J = 15.4$  Hz), 5.01-4.97 (1.7H, m), 4.68-4.58 (1.5H, m), 3.81-3.72 (0.8H, m), 3.17-3.13 (2H, m), 3.05 (2H, s), 2.66 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.8$  Hz), 2.58-2.46 (2H, m), 2.33-2.02 (3H, m), 1.85-1.77 (2H, m), 1.68-1.65 (1H, m),

1.55-1.42 (2H, m), 0.95-0.87 (1H, m), 0.64-0.55 (2H, m), 0.24-0.13 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  538 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9c**

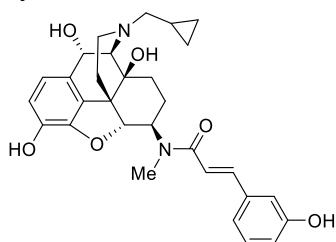


The title compound (24 mg) was prepared in 43% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(4-hydroxyphenyl)acrylic acid (23 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 9.86 (0.4H, s), 9.80 (0.6H, s), 9.66 (0.6H, s), 9.21 (0.4H, s), 7.54 (0.6H, d,  $J = 8.6$  Hz), 7.38-7.32 (1.7H, m), 7.20 (0.7H, d,  $J = 15.4$  Hz), 6.94 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 6.87-6.75 (3.7H, m), 6.65 (0.3H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.49 (0.6H, d,  $J = 15.9$  Hz), 5.26-5.22 (1.1H, m), 4.81-4.70 (2.5H, m), 4.63 (0.8H, d,  $J = 8.2$  Hz), 4.28-4.19 (0.6H, m), 3.66-3.56 (1H, m), 3.09 (1H, s), 2.92 (1H, s), 2.84 (2H, s), 2.61-2.53 (1H, m), 2.40-2.32 (1H, m), 2.22-1.99 (2H, m), 1.94-1.84 (1H, m), 1.82-1.73 (1H, m), 1.49-1.43 (1H, m), 1.32-1.19 (2H, m), 0.95-0.87 (1H, m), 0.54-0.44 (2H, m), 0.24-0.10 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  519 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9d**



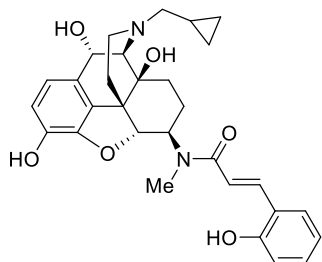
The title compound (17 mg) was prepared in 31% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(3-hydroxyphenyl)acrylic acid (23 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 9.60-9.46 (1.6H, m), 9.22 (0.4H, bs), 7.35 (0.4H, d,  $J = 15.0$  Hz), 7.22-7.05 (2.9H, m), 6.98 (0.6H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.85-6.78 (2.5H, m), 6.74 (0.6H, dd,  $J = 7.9, 2.0$  Hz), 6.66-6.60 (1H, m), 5.24 (1.1H, s), 4.80-4.71 (2.5H, m), 4.64 (0.7H, d,  $J = 8.2$  Hz), 4.25-4.18 (0.7H, m), 3.64-3.55 (1H, m), 3.10 (1.1H, s), 2.92 (1.2H, s), 2.86 (1.7H, s), 2.61-2.55 (1H, m), 2.41-2.32

(1H, m), 2.23-2.00 (2H, m), 1.96-1.72 (2H, m), 1.50-1.43 (1H, m), 1.34-1.18 (2H, m), 0.95-0.86 (1H, m), 0.53-0.45 (2H, m), 0.22-0.10 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  519 ( $[M+H]^+$ )

#### Synthesis of Amide **9e**

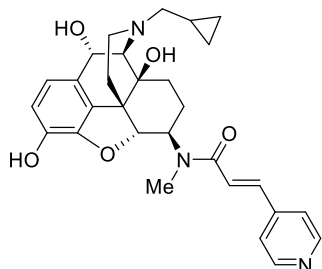


The title compound (25 mg) was prepared in 45% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(2-hydroxyphenyl)acrylic acid (23 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 10.04-9.63 (1.6H, m), 9.22 (0.4H, bs), 7.72 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.66-7.62 (1H, m), 7.45 (0.6H, d,  $J = 7.7$  Hz), 7.21-7.09 (1.4H, m), 6.89-6.78 (3.6H, m), 6.66 (0.4H, d,  $J = 8.6$  Hz), 6.59 (0.6H, d,  $J = 15.9$  Hz), 5.23 (1.1H, s), 4.81-4.70 (2.5H, m), 4.65 (0.8H, d,  $J = 8.2$  Hz), 4.26-4.20 (0.6H, m), 3.67-3.59 (1H, m), 3.09 (1.1H, s), 2.92 (1H, s), 2.86 (1.9H, s), 2.61-2.53 (1H, m), 2.40-2.33 (1H, m), 2.23-2.01 (2H, m), 1.94-1.84 (1H, m), 1.82-1.74 (1H, m), 1.50-1.44 (1H, m), 1.33-1.20 (2H, m), 0.95-0.88 (1H, m), 0.53-0.44 (2H, m), 0.22-0.09 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  519 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9f**

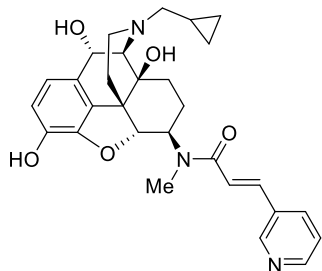


The title compound (7 mg) was prepared in 13% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(pyridin-4-yl)acrylic acid (21 mg, 0.11 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 9.71 (0.7H, s), 9.23 (0.3H, s), 8.61 (0.6H, d,  $J = 5.9$  Hz), 8.56 (1.4H, d,  $J = 5.9$  Hz), 7.69 (0.6H, d,  $J = 5.9$  Hz), 7.45-7.39 (2H, m), 7.23 (0.7H, d,  $J = 15.9$  Hz), 6.92 (0.7H, d,  $J = 15.9$  Hz), 6.87-6.78 (1.7H, m), 6.66 (0.3H, d,  $J = 8.2$  Hz), 5.27 (0.7H, d,  $J = 4.5$  Hz), 5.23 (0.3H, d,  $J = 4.5$  Hz), 4.82-4.73 (2H, m), 4.65 (0.7H, d,  $J = 7.7$  Hz), 4.26-4.06 (0.6H, m), 3.63-3.56 (0.7H, m), 3.33 (0.8H, s), 3.17 (0.5H, d,  $J = 5.0$  Hz), 3.13 (0.7H, s), 2.92 (1H, s), 2.88 (2H, s), 2.60-2.52 (1H,

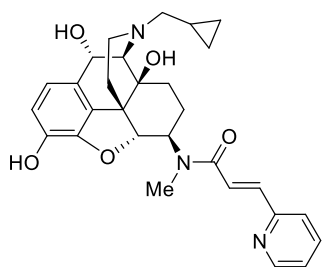
m), 2.37 (1H, dd,  $J = 12.7, 6.8$  Hz), 2.23-2.03 (2H, m), 1.94-1.85 (1H, m), 1.82-1.73 (1H, m), 1.49-1.44 (1H, m), 1.37-1.21 (2H, m), 0.96-0.87 (1H, m), 0.53-0.44 (2H, m), 0.23-0.09 (2H, m).  
LC/MS (ESI):  $m/z$  504 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9g**



The title compound (3 mg) was prepared in 6% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(pyridin-3-yl)acrylic acid (21 mg, 0.11 mmol) as the carboxylic acid.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.81-8.76 (0.7H, m), 8.69-8.64 (0.3H, m), 8.60-8.56 (0.3H, m), 8.41 (0.7H, d,  $J = 5.0$  Hz), 7.83-7.78 (0.4H, m), 7.68 (0.7H, d,  $J = 7.7$  Hz), 7.61 (0.3H, d,  $J = 16.3$  Hz), 7.54 (0.3H, d,  $J = 10.0$  Hz), 7.46 (0.7H, d,  $J = 15.9$  Hz), 7.35-7.31 (0.3H, m), 6.99-6.87 (3H, m), 6.54 (0.3H, d,  $J = 15.9$  Hz), 5.03-4.99 (0.9H, m), 4.67-4.63 (1H, m), 3.84-3.76 (0.7H, m), 3.18-3.14 (1.4H, m), 3.05 (2H, s), 2.69-2.63 (1H, m), 2.58-2.47 (2H, m), 2.39-2.24 (2H, m), 2.14-2.02 (1H, m), 1.88-1.45 (5H, m), 0.94-0.84 (1H, m), 0.63-0.55 (2H, m), 0.26-0.13 (2H, m).  
LC/MS (ESI):  $m/z$  504 ( $[M+H]^+$ ).

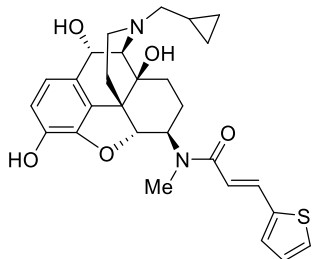
#### Synthesis of Amide **9h**



The title compound (37 mg) was prepared in 69% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(pyridin-2-yl)acrylic acid (21 mg, 0.11 mmol) as the carboxylic acid.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.70 (1H, dd,  $J = 4.8, 1.1$  Hz), 7.78 (1H, td,  $J = 7.7, 1.4$  Hz), 7.52 (1H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.36-7.30 (3H, m), 7.07 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.93 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 5.01 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz), 4.94 (1H, s), 4.65 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 3.81-3.74 (1H, m), 3.13 (1H, s), 3.05 (3H, s), 2.68 (1H, dd,  $J = 12.2, 5.0$  Hz), 2.57-2.48 (2H, m), 2.32-2.24 (2H, m), 2.09 (1H, td,  $J = 12.1, 3.8$  Hz), 1.78-1.71 (2H, m), 1.67-1.61 (2H, m), 1.49-1.41 (1H, m), 0.95-0.87 (1H, m), 0.65-0.54 (2H, m), 0.23-0.13 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  504 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9i**

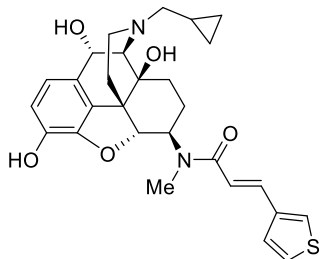


The title compound (27 mg) was prepared in 50% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(thiophen-2-yl)acrylic acid (22 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.82 (0.5H, d,  $J = 15.0$  Hz), 7.65 (0.5H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.33 (0.5H, d,  $J = 5.0$  Hz), 7.28-7.27 (1H, m), 7.22-7.16 (0.8H, m), 7.10 (0.6H, d,  $J = 3.6$  Hz), 7.04 (0.6H, t,  $J = 4.3$  Hz), 6.96-6.93 (1.5H, m), 6.83 (1H, s), 6.68 (0.5H, d,  $J = 15.4$  Hz), 6.39 (0.5H, d,  $J = 15.0$  Hz), 5.02-4.97 (1H, m), 4.71-4.64 (0.5H, m), 4.59 (1H, dd,  $J = 8.2, 4.5$  Hz), 3.79-3.72 (0.5H, m), 3.15-3.13 (2.4H, m), 3.03 (1.6H, s), 2.64 (1H, td,  $J = 11.2, 4.7$  Hz), 2.58-2.45 (2H, m), 2.32-2.18 (2H, m), 2.15-2.00 (2H, m), 1.90-1.72 (2H, m), 1.53-1.42 (2H, m), 0.95-0.86 (1H, m), 0.65-0.53 (2H, m), 0.25-0.12 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  509 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9j**



The title compound (38 mg) was prepared in 70% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(thiophen-3-yl)acrylic acid (22 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

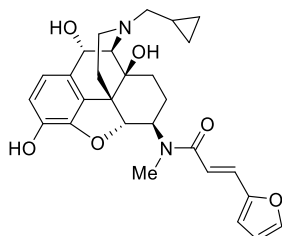
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 9.65 (0.6H, s), 9.18 (0.4H, s), 7.84 (0.3H, t,  $J = 1.8$  Hz), 7.69 (0.7H, d,  $J = 2.7$  Hz), 7.58 (0.7H, d,  $J = 2.3$  Hz), 7.51 (0.7H, dd,  $J = 5.0, 3.2$  Hz), 7.43 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 7.30-7.26 (1.3H, m), 6.98 (0.4H, d,  $J = 15.4$  Hz), 6.84-6.75 (1.6H, m), 6.62 (0.3H, d,  $J = 8.2$  Hz), 6.49 (0.6H, d,  $J = 15.4$  Hz), 5.24-5.19 (1H, m), 4.80-4.68 (2.3H, m), 4.62 (0.7H, d,  $J = 7.7$  Hz), 3.61-3.52 (1H, m), 3.07 (1H, s), 2.90 (1H, s), 2.82 (2H, s), 2.58-2.52 (2H, m), 2.38-2.30 (1H, m),



2.21-1.97 (2H, m), 1.92-1.82 (1H, m), 1.79-1.70 (1H, m), 1.46-1.40 (1H, m), 1.30-1.19 (2H, m), 0.93-0.83 (1H, m), 0.50-0.41 (2H, m), 0.21-0.06 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  509 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9k**

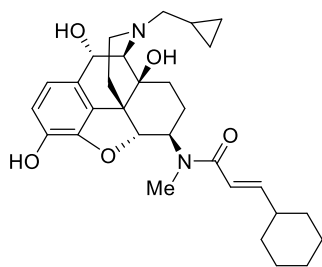


The title compound (15 mg) was prepared in 28% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-(furan-2-yl)acrylic acid (19 mg, 0.11 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.47-7.43 (1.2H, m), 7.39 (0.4H, s), 7.35 (0.5H, d,  $J = 15.4$  Hz), 6.93 (0.8H, q,  $J = 7.9$  Hz), 6.82 (1H, s), 6.79 (0.6H, d,  $J = 15.0$  Hz), 6.55 (0.8H, d,  $J = 3.6$  Hz), 6.51 (0.6H, t,  $J = 3.2$  Hz), 6.46 (0.7H, dd,  $J = 3.2, 1.8$  Hz), 6.39 (0.4H, dd,  $J = 3.6, 1.8$  Hz), 5.01-4.97 (1H, m), 4.73-4.67 (0.6H, m), 4.59 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz), 3.86-3.78 (0.4H, m), 3.15-3.12 (2.6H, m), 3.02 (1.4H, s), 2.67-2.60 (1H, m), 2.59-2.44 (2H, m), 2.32-2.01 (4H, m), 1.91-1.72 (4H, m), 1.52-1.42 (2H, m), 0.95-0.86 (1H, m), 0.64-0.53 (2H, m), 0.24-0.12 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  493 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amide **9l**

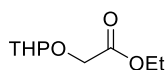


The title compound (30 mg) was prepared in 55% yield as a white solid according to the same procedure as **8c** by using (*E*)-3-cyclohexylacrylic acid (22 mg, 0.14 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.95-6.73 (2.9H, m), 6.20 (0.5H, d,  $J = 15.0$  Hz), 5.90 (0.6H, d,  $J = 15.4$  Hz), 5.01 (0.6H, d,  $J = 4.5$  Hz), 4.97 (0.6H, s), 4.67-4.57 (1.6H, m), 3.78-3.71 (0.5H, m), 3.12-3.08 (2.6H, m), 2.97 (1.1H, s), 2.68-2.44 (3H, m), 2.28-1.96 (5H, m), 1.88-1.62 (7H, m), 1.51-1.42 (2H, m), 1.32-1.02 (7H, m), 0.92-0.85 (1H, m), 0.63-0.53 (2H, m), 0.24-0.11 (2H, m).

LC/MS (ESI):  $m/z$  509 ( $[M+H]^+$ ).

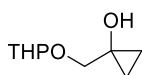
#### Synthesis of Ester **11**



To a solution of ethyl 2-hydroxyacetate **10** (14 g, 130 mmol) and 3,4-dihydro-2*H*-pyran (23 g, 270 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (280 mL) was added PPTS (3.4 g, 14 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16 h. Saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue (20 g / 35 g) was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane : EtOAc = 4 : 1 to 3 : 1) to afford pure **11** (12 g, 79% yield in total quantity) as a colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 4.75 (t, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.21 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.21 (s, 2H), 3.90-3.83 (m, 1H), 3.56-3.49 (m, 1H), 1.93-1.68 (m, 3H), 1.67-1.48 (m, 3H), 1.28 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

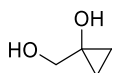
### Synthesis of Alcohol 12



To a solution of ester **11** (4.0 g, 21 mmol) and Ti(OiPr)<sub>4</sub> (4.1 mL, 14 mmol) in THF (72 mL) at under 20 °C was added 3.1 M EtMgBr/ether (17 mL, 53 mmol) with a syringe pump for 2 h, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 14 h. Saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane : EtOAc = 4 : 1 to 3 : 1) to afford pure **12** (2.1 g, 57% yield) as a colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 4.66 (dd, *J* = 2.8, 5.2 Hz, 1H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.85 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.81 (s, 1H), 3.60-3.53 (m, 1H), 3.53 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 1.93-1.75 (m, 2H), 1.72-1.50 (m, 4H), 0.89-0.77 (m, 2H), 0.70-0.60 (m, 1H), 0.59-0.50 (m, 1H).

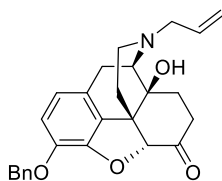
### Synthesis of Diol 14



To a solution of ester **12** (2.1 g, 12 mmol) in MeOH (150 mL) was added PPTS (0.30 g, 1.2 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 17 h. Reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 2 : 1) to afford pure **14** (0.94 g, 88% yield) as a colorless oil.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 3.93 (brs, 1H), 3.62 (s, 2H), 3.30 (brs, 1H), 0.86-0.81 (m, 2H), 0.60-0.55 (m, 2H).

### Synthesis of Benzyl Ether 19

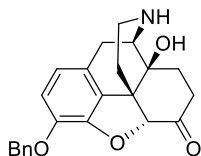


To a solution of Naloxone (8.2 g, 25 mmol) and  $K_2CO_3$  (10 g, 75 mmol) in DMF (40 mL) was added benzyl bromide (3.3 mL, 28 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $Na_2SO_4$  and concentrated under reduced pressure to afford the crude product **19**, which was used in the next reaction without further purification.

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7.45 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.35 (dd,  $J = 7.2, 7.2$  Hz, 2H), 7.29 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 6.72 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.58 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 5.82 (ddt,  $J = 10.4, 17.2, 6.4$  Hz, 1H), 5.29 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 5.21 (d,  $J = 17.2$  Hz, 1H), 5.21 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 5.19 (d,  $J = 10.4$  Hz, 1H), 5.04 (brs, 1H), 4.69 (s, 1H), 3.15 (d,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.08 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H), 3.08-2.97 (m, 2H), 2.62-2.52 (m, 2H), 2.44-2.34 (m, 1H), 2.34-2.27 (m, 1H), 2.18-2.09 (m, 1H), 1.91-1.83 (m, 1H), 1.69-1.53 (m, 2H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  418 ( $[M+H]^+$ ).

### Synthesis of Amine 20

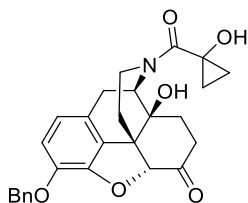


To a solution of the crude material including **19** (8.2 g) in MeCN (250 mL) and water (50 mL) was added tris(triphenylphosphine)rhodium(I) chloride (2.3 g, 2.5 mmol), and the reaction mixture was stirred at 80 °C for 10 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $Na_2SO_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel ( $CHCl_3$  : MeOH = 20 : 1 to  $CHCl_3$  : 10% $NH_3$ -MeOH = 10 : 1) to afford pure **20** (3.5 g, 37% yield over 2 steps) as a colorless oil.

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7.44 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.35 (dd,  $J = 7.2, 7.6$  Hz, 2H), 7.29 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 6.77 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.63 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 5.28 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 5.21 (d,  $J = 12.0$  Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.78-3.66 (m, 1H), 3.29 (d,  $J = 18.8$  Hz, 1H), 3.16-2.99 (m, 3H), 2.82-2.73 (m, 1H), 2.67-2.56 (m, 1H), 2.35-2.27 (m, 1H), 2.11-2.00 (m, 1H), 1.70-1.58 (m, 2H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  378 ( $[M+H]^+$ ).

### Synthesis of Amide 21

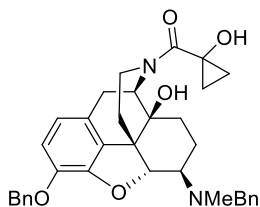


To a solution of amine **20** (6.8 g, 18 mmol) and 1-hydroxy-1-cyclopropanecarboxylic acid (2.0 g, 20 mmol) in DMF (16 mL) were added DIPEA (3.8 mL, 22 mmol) and HATU (8.2 g, 22 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16 h. Water was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub> : EtOAc = 10 : 1 to 2 : 1) to afford pure **21** (3.8 g, 46% yield) as a white amorphous.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.46 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.36 (dd, *J* = 7.2, 7.6 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.61 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.31 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 5.23 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.90 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.60-4.30 (m, 1H), 4.00-3.85 (m, 1H), 3.20-3.09 (m, 1H), 3.09-2.96 (m, 1H), 2.96-2.81 (m, 1H), 2.70-2.50 (m, 1H), 2.36-2.28 (m, 1H), 1.98-1.90 (m, 2H), 1.80-1.70 (m, 1H), 1.66-1.59 (m, 1H), 1.30-0.80 (m, 4H).

LC/MS (ESI): *m/z* 462 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Synthesis of Amine **22**



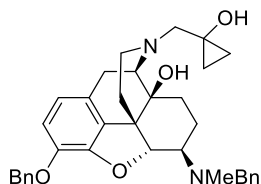
To a solution of amide **21** (3.7 g, 8.0 mmol) and benzoic acid (0.97 g, 8.0 mmol) in benzene (100 mL) was added *N*-benzyl-*N*-methylethylenediamine (2.1 mL, 16 mmol), and the reaction mixture was stirred under reflux for 17 h. Then, to the reaction mixture was added sodium cyanoborohydride (0.65 g, 10 mmol) in MeOH (14 mL), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 0.5 h. Water and saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel (CHCl<sub>3</sub> to CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1) to afford pure **22** (2.5 g, 55% yield) as a white amorphous.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7.44 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.40-7.15 (m, 8H), 6.80 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 5.24-5.10 (m, 2H), 5.00-4.65 (m, 2H), 4.45-4.20 (m, 1H), 3.90-3.60 (m,

2H), 3.30-3.02 (m, 1H), 3.02-2.68 (m, 2H), 2.68-2.60 (m, 1H), 2.55-2.30 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.02-1.84 (m, 1H), 1.75-1.60 (m, 1H), 1.60-1.35 (m, 3H), 1.35-0.60 (m, 4H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  567 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amine **23**

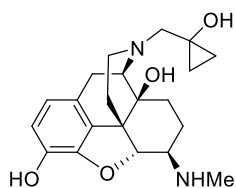


To a solution of LAH (0.67 g, 18 mmol) in THF (75 mL) at 0 °C was added amine **22** (2.5 g, 4.4 mmol) in THF (75 mL), and the reaction mixture was stirred under reflux for 2 h. Water (0.7 mL), 20% NaOH solution (0.70 mL) and water (2.1 mL) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel ( $\text{CHCl}_3$  to  $\text{CHCl}_3$  : MeOH = 10 : 1) to afford pure **23** (2.0 g, 82% yield) as a white amorphous.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7.50-7.15 (m, 10H), 6.74 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 6.53 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.77 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 3.81 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H), 3.72 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H), 3.08-2.97 (m, 2H), 2.82-2.72 (m, 1H), 2.75 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 1H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.53 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.32-2.15 (m, 2H), 2.08-1.95 (m, 1H), 1.70-1.30 (m, 4H), 0.87-0.82 (m, 2H), 0.48-0.43 (m, 2H).

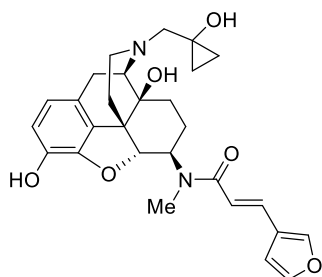
LC/MS (ESI):  $m/z$  553 ( $[M+H]^+$ ).

#### Synthesis of Amine **24**



To a solution of amine **23** (2.0 g, 3.6 mmol) and phthalic acid (1.2 g, 7.2 mmol) in MeOH (200 mL) was added 10% Pd/C, 50% wet (1.5 g, 0.72 mmol) under Ar atmosphere, and the reaction mixture was stirred under 1 atm of hydrogen gas for 17 h. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford the crude product **24**, which was used in the next reaction without further purification.

#### Synthesis of Amide **2**

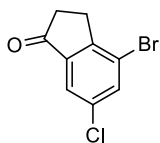


To a solution of the crude material including **24** (1.4 g) and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.5 g, 15 mmol) in THF (35 mL) and water (20 mL) was added (*E*)-3-(furan-3-yl)acryloyl chloride (0.57 g, 3.6 mmol) in THF (20 mL), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 0.5 h. 2N NaOH solution (5.5 mL) and MeOH (13 mL) was added to the reaction mixture, and stirred for 0.5 h. Water and saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel (CHCl<sub>3</sub> to CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1) to afford pure **2** (1.3 g, 78% yield over 2 steps) as a white solid.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz): δ 9.39 (brs, 0.65H), 8.98 (brs, 0.35H), 8.03 (s, 0.35H), 7.92 (s, 0.65H), 7.72 (s, 0.35H), 7.66 (s, 0.65H), 7.36 (d, *J*=14.8 Hz, 0.35H), 7.21 (d, *J*= 15.6 Hz, 0.65H), 7.00 (s, 0.35H), 6.90 (d, *J*= 14.8 Hz, 0.35H), 6.71 (d, *J*= 8.0 Hz, 0.65H), 6.65 (d, *J*= 8.0 Hz, 0.65H), 6.58 (d, *J*= 8.0 Hz, 0.65H), 6.57 (d, *J*= 8.0 Hz, 0.35H), 6.51 (d, *J*= 8.0 Hz, 0.35H), 6.41 (d, *J*= 15.6 Hz, 0.65H), 5.25 (s, 1H), 5.15 (s, 0.65H), 5.12 (s, 0.35H), 4.72 (d, *J*= 7.6 Hz, 0.35H), 4.63 (d, *J*= 7.6 Hz, 0.65H), 4.10-4.25 (m, 0.35H), 3.52-3.67 (m, 0.65H), 3.09 (s, 1.05H), 2.86 (s, 1.95H), 2.85-3.00 (m, 1.65H), 2.65-2.80 (m, 2H), 2.45-2.60(m, 1.35H), 1.90-2.35 (m, 4H), 1.15-1.53 (m, 4H), 0.48-0.53 (m, 2H), 0.27-0.42 (m, 2H).

LC/MS (ESI): *m/z* 493 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Synthesis of Indanone **34**

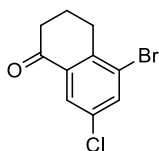


To a solution of 3-(4-chlorophenyl)propanoic acid **30** (3.0 g, 16 mmol) in 1,2-dichloroethane (50 mL) were added NBS (2.9 g, 16 mmol) and AuCl (0.16 g, 0.54 mmol), and the reaction mixture was stirred at 80°C for 24 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. To a solution of crude material including **32** in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL) was added SOCl<sub>2</sub> (3.9 g, 32 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature

for 23 h. Solution was concentrated under reduced pressure. To a solution of crude material in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 mL) was added  $\text{AlCl}_3$  (2.2 g, 16 mmol), and the reaction mixture was stirred reflux for 2 h. Ice and cool water were added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) to afford pure **34** (0.54 g, 14% yield over 2 steps) as a white solid.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.76 (d, 1H,  $J = 1.7$  Hz), 7.68 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz), 3.05 (t, 2H,  $J = 6.0$  Hz), 2.76-2.79 (m, 2H).

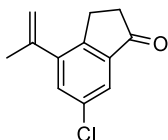
### Synthesis of Tetralone **35**



The title compound (74 mg) was prepared in 6% yield as a pale yellow solid according to the same procedure as **34** by using 4-(4-chlorophenyl)butanoic acid (1000 mg, 5.2 mmol) as the carboxylic acid.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.99 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 7.74 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz), 2.98 (t, 2H,  $J = 6.2$  Hz), 2.65 (t, 2H,  $J = 6.7$  Hz), 2.19-2.13 (m, 2H).

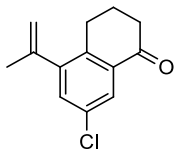
### Synthesis of Indanone **36**



To a solution of indanone **34** (100 mg, 0.41 mmol) and potassium isopropenyltrifluoroborate (130 mg, 0.90 mmol) in THF (4.0 mL) and water (0.40 mL) were added  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (14 mg, 0.061 mmol) and  $\text{PPh}_3$  (32 mg, 0.12 mmol) and  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (360 mg, 1.1 mmol), and the reaction mixture was stirred at  $70^\circ\text{C}$  for 17 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) to afford pure **36** (75 mg, 89% yield) as a yellow oil.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.64 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz), 7.45 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz), 5.35-5.33 (m, 1H), 5.13 (dd, 1H,  $J = 1.3, 0.9$  Hz), 3.13 (t, 2H,  $J = 5.9$  Hz), 2.72 (t, 2H,  $J = 5.9$  Hz), 2.13 (dd, 3H,  $J = 1.5, 1.0$  Hz).

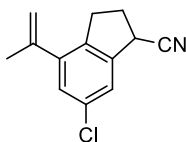
### Synthesis of Tetralone **37**



The title compound (27 mg) was prepared in 79% yield as a yellow oil according to the same procedure as **36** by using tetralone **35** (40 mg, 0.15 mmol) as the substrate.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.95 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz), 7.30 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz), 5.28-5.27 (m, 1H), 4.90 (dd, 1H,  $J = 1.7, 1.0$  Hz), 2.88 (t, 2H,  $J = 6.1$  Hz), 2.65 (t, 2H,  $J = 6.6$  Hz), 2.12-2.05 (m, 2H), 2.03 (dd, 3H,  $J = 1.5, 1.0$  Hz).

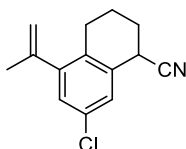
### Synthesis of Nitrile **38**



To a solution of  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (42 mg, 0.38 mmol) in THF (1.0 mL) was added TosMIC (48 mg, 0.25 mmol) at  $-78$  °C, and the reaction mixture was stirred at  $-78$  °C for 25 min. Then indanone **36** (30 mg, 0.15 mmol) was added to the reaction mixture at  $-78$  °C, and the reaction mixture was stirred at  $-78$  °C for 80 min. Next, MeOH (0.18 mL) was added to the reaction mixture at  $-78$  °C, and the reaction mixture was stirred at  $60$  °C for 80 min. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) to afford pure **38** (18 mg, 56% yield) as a brown oil.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.33 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 5.26-5.25 (m, 1H), 5.02-5.01 (m, 1H), 4.10 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz), 3.14-3.04 (m, 1H), 2.97-2.89 (m, 1H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.40-2.30 (m, 1H), 2.07-2.07 (m, 3H).

### Synthesis of Nitrile **39**



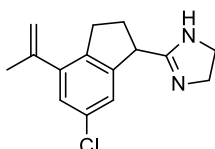
The title compound (8.7 mg) was prepared in 31% yield as a pale yellow oil according to the same



procedure as **38** by using tetralone **37** (27 mg, 0.12 mmol) as the substrate.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.28 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 7.06 (d, 1H,  $J = 2.4$  Hz), 5.22-5.21 (m, 1H), 4.83 (dd, 1H,  $J = 2.0, 1.0$  Hz), 3.97 (t, 1H,  $J = 6.2$  Hz), 2.77-2.68 (m, 2H), 2.15-2.05 (m, 4H), 1.98 (dd, 3H,  $J = 1.6, 0.9$  Hz).

#### Synthesis of Indane **40**

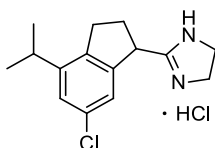


To a solution of nitrile **38** (17 mg, 0.078 mmol) in ethylenediamine (1.0 mL) was added  $\text{P}_2\text{S}_5$  (8.7 mg, 0.039 mmol), and the reaction mixture was stirred at 100 °C for 50 min.  $\text{H}_2\text{O}$  was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with  $\text{CHCl}_3$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (ASC to ACS : MeOH = 10 : 1) to afford pure **40** (15 mg, 76% yield) as a white solid.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.16 (s, 1H), 7.11 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz), 5.22 (t, 1H,  $J = 1.6$  Hz), 5.02 (s, 1H), 4.09 (t, 1H,  $J = 8.2$  Hz), 3.62 (bs, 4H), 3.03 (dq, 1H,  $J = 16.1, 4.4$  Hz), 2.94-2.86 (m, 1H), 2.49-2.40 (m, 1H), 2.27-2.18 (m, 1H), 2.07 (s, 3H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  261 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

#### Synthesis of Indane **25**

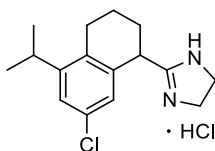


To a solution of indane **40** (14 mg, 0.054 mmol) in MeOH (1.0 mL) was added  $\text{PtO}_2$  (2.4 mg, 0.011 mmol), and the reaction mixture was stirred under 1 atm of hydrogen gas for 20 min. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (ASC to ACS : MeOH = 10 : 1) to afford pure indane (9.0 mg) as a white solid. To a solution of indane in MeOH (1.0 mL) was added 10% HCl-MeOH (0.035 mL), and concentrated under reduced pressure to afford the indane **25** (8.1 mg, 64% yield) as a white solid

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :  $\delta$  10.05 (2H, bs), 7.23 (2H, s), 4.36 (1H, t,  $J = 8.2$  Hz), 3.86 (4H, s), 3.10-2.87 (3H, m), 2.25-2.16 (1H, m), 1.20 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz), 1.18 (3H, d,  $J = 7.1$  Hz).

LC/MS (ESI):  $m/z$  263 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

### Synthesis of Tetralin 26

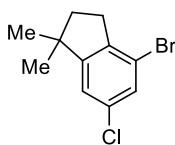


The title compound (1.0 mg) was prepared in 14% yield in 2 steps as a white solid according to the same procedure as **40** and **25** by using nitrile **39** (6.0 mg, 0.026 mmol) as the substrate.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.16 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 6.94 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 4.24 (1H, t,  $J = 6.1$  Hz), 3.83-3.76 (6H, m), 3.15-3.08 (1H, m), 2.76-2.72 (1H, m), 2.15-2.12 (2H, m), 1.88-1.82 (2H, m), 1.20 (6H, dd,  $J = 6.7, 5.2$  Hz).

LC/MS (ESI):  $m/z$  277 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

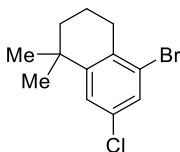
### Synthesis of Indane 42



To a solution of  $\text{TiCl}_4$  (460 mg, 2.4 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.4 mL) was added 1.0 M  $\text{Me}_2\text{Zn}$  hexane solution (230 mg, 2.4 mmol) at  $-78$  °C, and the reaction mixture was stirred at  $-78$  °C for 15 min. Then indanone **34** (100 mg, 0.41 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.0 mL) was added to the reaction mixture at  $-78$  °C, and the reaction mixture was stirred at  $-20$  °C for 3 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on amino silica gel ( $n$ -hexane to  $n$ -hexane : EtOAc = 3 : 1) to afford pure **42** (88 mg, 83% yield) as a clear oil.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.31 (d, 1H,  $J = 2.0$  Hz), 7.02 (d, 1H,  $J = 1.7$  Hz), 2.86 (t, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.95 (t, 2H,  $J = 7.3$  Hz), 1.24 (s, 6H).

### Synthesis of Tetralin 43

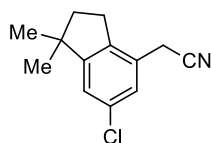


The title compound (74 mg) was prepared in 88% yield as a clear oil according to the same

procedure as **42** by using tetralone **35** (80 mg, 0.31 mmol) as the substrate.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.37 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 7.27-7.26 (1H, m), 2.70 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 1.84-1.78 (2H, m), 1.63-1.60 (2H, m), 1.27 (6H, s).

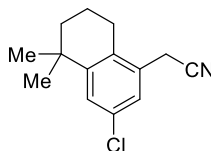
#### Synthesis of Nitrile **44**



To a solution of indane **42** (85 mg, 0.33 mmol) and isoxazole-4-boronic acid pinacol ester (77 mg, 0.39 mmol) in DMSO (3.2 mL) and water (0.98 mL) were added KF (57 mg, 0.98 mmol) and  $\text{PdCl}_2\text{dppf}\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (24 mg, 0.033 mmol), and the reaction mixture was stirred at  $130^\circ\text{C}$  for 13 h. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and filtrate was added to water. Aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) to afford pure **44** (1.9 mg, 3% yield) as a clear oil.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.16 (d, 1H,  $J = 1.7$  Hz), 7.08 (d, 1H,  $J = 1.7$  Hz), 3.61 (s, 2H), 2.82 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.98 (t, 2H,  $J = 7.2$  Hz), 1.25 (s, 6H).

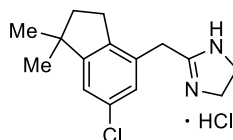
#### Synthesis of Nitrile **45**



The title compound (7.0 mg) was prepared in 11% yield as a clear oil according to the same procedure as **44** by using tetralin **43** (73 mg, 0.27 mmol) as the substrate.

$^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.32 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 7.19 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 3.59 (2H, s), 2.60 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 1.89-1.82 (2H, m), 1.66-1.63 (2H, m), 1.28 (6H, s).

#### Synthesis of Indane **27**



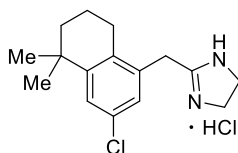
To a solution of nitrile **44** (1.5 mg, 0.0068 mmol) in ethylenediamine (1.0 mL) was added  $\text{P}_2\text{S}_5$  (1.5 mg, 0.0068 mmol), and the reaction mixture was stirred at  $100^\circ\text{C}$  for 2 h.  $\text{H}_2\text{O}$  was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with  $\text{CHCl}_3$ . The combined organic layers were

washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (ASC to ASC : MeOH = 10 : 1) to afford pure imidazoline (2.5 mg) as a clear oil. To a solution of imidazoline in MeOH (1.0 mL) was added 10% HCl-MeOH (0.010 mL), and concentrated under reduced pressure to afford the indane **27** (3.7 mg, quant.) as a white solid

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :  $\delta$  7.23 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 7.21 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 3.83 (4H, m), 3.82 (2H, s), 2.80 (2H, t,  $J = 7.2$  Hz), 1.90 (2H, t,  $J = 7.3$  Hz), 1.22 (6H, s).

LC/MS (ESI):  $m/z$  263 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

### Synthesis of Tetralin **28**

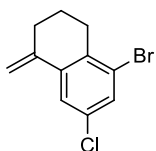


The title compound (11 mg) was prepared in 87% yield as a white solid according to the same procedure as **27** by using nitrile **45** (13 mg, 0.056 mmol) as the substrate.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) :  $\delta$  9.90 (2H, s), 7.44 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz), 7.19 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz), 3.86 (2H, s), 3.83 (4H, s), 2.55-2.51 (2H, m), 1.78-1.73 (2H, m), 1.60-1.57 (2H, m), 1.25 (6H, s).

LC/MS (ESI):  $m/z$  277 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

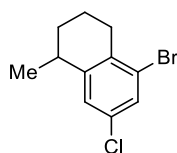
### Synthesis of Olefin **46**



To a solution of  $\text{MePPh}_3\text{Br}$  (910 mg, 2.5 mmol) in THF (8.0 mL) was added  $\text{KO}t\text{Bu}$  (290 mg, 2.5 mmol) at 0 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. Then tetralone **35** (220 mg, 0.85 mmol) in THF (3.0 mL) was added to the reaction mixture at 0 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 50 min. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) to afford pure **46** (210 mg, 97% yield) as a clear oil.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.55 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 7.46 (d, 1H,  $J = 2.2$  Hz), 5.45 (s, 1H), 5.04 (s, 1H), 2.79 (t, 2H,  $J = 6.5$  Hz), 2.46 (t, 2H,  $J = 6.2$  Hz), 1.86-1.93 (m, 2H).

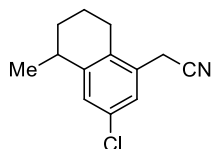
### Synthesis of Tetralin **47**



To a solution of olefin **46** (90 mg, 0.35 mmol) in MeOH (3.0 mL) and CHCl<sub>3</sub> (1.0 mL) was added PtO<sub>2</sub> (7.9 mg, 0.035 mmol), and the reaction mixture was stirred under 1 atm of hydrogen gas for 20 min. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 10 : 1) to afford pure **47** (80 mg, 88% yield) as a clear oil.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.38 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 7.14 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 2.84-2.92 (m, 1H), 2.60-2.77 (m, 2H), 1.73-1.90 (m, 3H), 1.49-1.55 (m, 1H), 1.27 (d, 3H, *J* = 7.1 Hz).

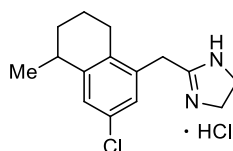
### Synthesis of Nitrile **48**



The title compound (2.2 mg) was prepared in 3% yield as a brown oil according to the same procedure as **44** by using tetralin **47** (80 mg, 0.31 mmol) as the substrate.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.20 (bs, 2H), 3.59 (s, 2H), 2.87-2.94 (m, 1H), 2.55-2.66 (m, 2H), 1.77-1.96 (m, 3H), 1.52-1.58 (m, 1H), 1.28 (d, 3H, *J* = 7.1 Hz).

### Synthesis of Tetralin **29**



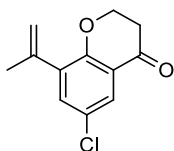
The title compound (2.7 mg) was prepared quantitatively as a white solid according to the same procedure as **27** by using nitrile **48** (2.2 mg, 0.010 mmol) as the substrate.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : δ 7.27 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 7.14 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz), 3.93 (s, 4H), 3.87 (s, 2H), 2.89-2.97 (m, 1H), 2.51-2.65 (m, 2H), 1.86-1.95 (m, 2H), 1.75-1.84 (m, 1H), 1.53-1.62 (m, 1H),

1.29 (d, 3H,  $J = 7.1$  Hz).

LC/MS (ESI):  $m/z$  263 ( $[M+H]^+$ ).

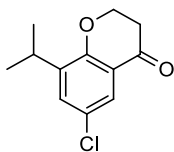
#### Synthesis of Chromanone **50**



The title compound (370 mg) was prepared in 91% yield as a pale yellow oil according to the same procedure as **36** by using chromanone **49** (480 mg, 1.8 mmol) as the substrate.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.80 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 7.35 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 5.24-5.22 (1H, m), 5.13 (1H, dd,  $J = 1.7, 0.7$  Hz), 4.56 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 2.82 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 2.10 (3H, dd,  $J = 1.3, 0.9$  Hz).

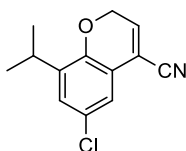
#### Synthesis of Chromanone **51**



To a solution of chromanone **50** (340 mg, 1.5 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 mL) was added Wilkinson's reagent (140 mg, 0.15 mmol), and the reaction mixture was stirred under 1 atm of hydrogen gas for 5 h. Water was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel ( $n$ -hexane to  $n$ -hexane : EtOAc = 10 : 1) to afford pure **51** (370 mg, 96% yield) as a pale yellow solid.

$^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  7.72 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 7.33 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz), 4.55 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 3.30-3.24 (1H, m), 2.81 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz), 1.22 (6H, d,  $J = 7.1$  Hz).

#### Synthesis of Nitrile **52**

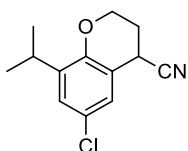


To a solution of chromanone **51** (200 mg, 0.89 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9.0 mL) were added  $\text{ZnI}_2$  (57 mg, 0.18 mmol) and  $\text{TMSCN}$  (120 mg, 1.2 mmol), and the reaction mixture was stirred at 40 °C for 7 h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure to afford crude. To a solution of

crude in toluene (9.0 ml) was added Amberlyst 15(H) (200 mg), and the reaction mixture was stirred reflux for 90 min. The reaction mixture was filtered through a pad of Celite and filtrate was added to water. Aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) to afford pure **52** (81 mg, 39% yield) as a white solid.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.18 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 7.14 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 6.61 (1H, t, *J* = 4.0 Hz), 4.9 (2H, d, *J* = 3.9 Hz), 3.22-3.15 (1H, m), 1.18 (6H, d, *J* = 6.8 Hz).

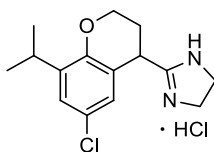
### Synthesis of Nitrile **53**



To a solution of nitrile **52** (76 mg, 0.33 mmol) in EtOH (3.5 mL) was added NaBH<sub>4</sub> (12 mg, 0.33 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 20 min. Water was added to the reaction mixture, and the aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane to *n*-hexane : EtOAc = 3 : 1) to afford pure **53** (75 mg, 97% yield) as a clear oil.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ 7.12-7.10 (2H, m), 4.37-4.31 (1H, m), 4.29-4.24 (1H, m), 3.99 (1H, t, *J* = 6.0 Hz), 3.25-3.18 (1H, m), 2.34-2.30 (2H, m), 1.19-1.16 (6H, m).

### Synthesis of Chromane **54**

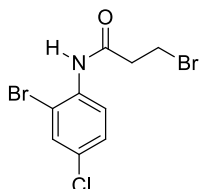


The title compound (90 mg) was prepared in 94% yield as a white solid according to the same procedure as **27** by using nitrile **53** (75 mg, 0.32 mmol) as the substrate.

<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) : δ 10.04 (2H, s), 7.18 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 7.04 (1H, d, *J* = 2.4 Hz), 4.27-4.20 (3H, m), 3.87 (4H, s), 3.22-3.15 (1H, m), 2.30-2.22 (1H, m), 2.20-2.12 (1H, m), 1.17-1.14 (6H, m).

LC/MS (ESI): *m/z* 279 ([M+H]<sup>+</sup>).

### Synthesis of Amide **56**

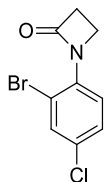


To a solution of aniline **55** (3.6 g, 18 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) were added  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (2.9 g, 21 mmol) and 3-bromopropanoyl chloride (2.1 mL, 21 mmol), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h.  $\text{H}_2\text{O}$  and saturated aqueous  $\text{NH}_4\text{Cl}$  were added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure to afford the crude product **56**, which was used in the next reaction without further purification.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.36-8.26 (m, 2H), 7.69-7.59 (m, 1H), 7.56-7.54 (m, 1H), 3.71 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H), 3.02 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  342 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

### Synthesis of Lactam **57**



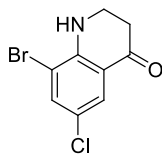
To a solution of crude product **56** (6.2 g) in DMF (3.0 mL) was added  $\text{KO}t\text{Bu}$  (2.0 g, 21 mmol) at  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , and the reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h. Saturated aqueous  $\text{NH}_4\text{Cl}$  was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel ( $n$ -hexane : EtOAc = 3 : 2) to afford pure **57** (3.3 g, 72% yield over 2 steps) as a white solid.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.81 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.32-7.22 (m, 1H), 4.05 (t,  $J = 4.6$  Hz, 2H), 3.15 (t,  $J = 4.6$  Hz, 2H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  259 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

### Synthesis of Dihydroquinolinone **58**



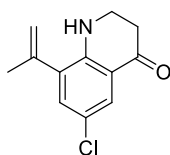


To a solution of lactam **57** (3.2 g) in DCE (20 mL) was added triflic acid (2.2 mL, 25 mmol) at 0 °C, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 6 h. Saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> was added to the reaction mixture at 0 °C, and aqueous layer was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane : EtOAc = 3 : 2) to afford pure **58** (0.72 g, 34%) as a yellow solid.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.64 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 4.84 (brs, 1H), 3.63 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.24 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H).

LC/MS (ESI): *m/z* 259 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Synthesis of Dihydroquinolinone **59**

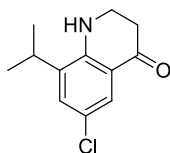


The title compound (430 mg) was prepared in 85% yield as a yellow solid according to the same procedure as **36** by using dihydroquinolinone **58** (630 mg, 2.4 mmol) as the substrate.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.75 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 5.40-5.38 (m, 1H), 5.12-5.10 (m, 1H), 4.84 (brs, 1H), 3.55 (dt, *J* = 7.1, 4.0 Hz, 2H), 2.69 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.07-2.04 (m, 3H).

LC/MS (ESI): *m/z* 222 ([M+H]<sup>+</sup>).

#### Synthesis of Dihydroquinolinone **60**

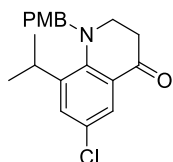


The title compound (450 mg) was prepared in 99% yield as a yellow solid according to the same procedure as **51** by using dihydroquinolinone **59** (450 mg, 2.0 mmol) as the substrate.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.74 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 4.48 (brs, 1H), 3.61 (dt, *J* = 7.0, 3.0 Hz, 2H), 2.81-2.75 (m, 2H), 2.70 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.27 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H).

LC/MS (ESI): *m/z* 224 ([M+H]<sup>+</sup>).

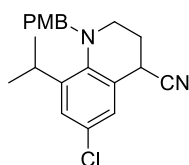
### Synthesis of Dihydroquinolinone **61**



To a solution of dihydroquinolinone **60** (20 mg) in DMF (0.20 mL) were added  $K_2CO_3$  (25 mg, 0.18 mmol), PMBCl (0.018 mL, 0.13 mmol) and NaI (13 mg, 0.089 mmol), and the reaction mixture was stirred at 50 °C for 4 h.  $H_2O$  was added to the reaction mixture, and aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $Na_2SO_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (*n*-hexane : EtOAc = 7 : 3) to afford pure **61** (14 mg, 47%) as a yellow oil.

$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.81 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 6.93 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 4.14 (s, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.52-3.45 (m, 1H), 3.40 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 2.61 (t,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 1.25 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H).

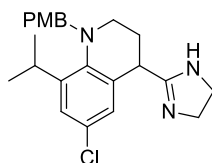
### Synthesis of Nitrile **62**



The title compound (150 mg) was prepared in 60% yield as a yellow oil according to the same procedure as **38** by using dihydroquinolinone **61** (250 mg, 0.72 mmol) as the substrate.

$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7.32 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.20-7.18 (m, 2H), 6.93 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 4.00-3.97 (m, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.46-3.39 (m, 1H), 3.16-3.10 (m, 1H), 3.01-2.95 (m, 1H), 2.14-2.09 (m, 2H), 1.23-1.19 (m, 6H).

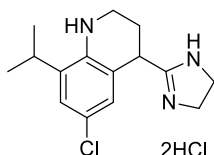
### Synthesis of Tetrahydroquinoline **63**



The title compound (140 mg) was prepared in 91% yield as a white solid according to the same procedure as **40** by using nitrile **62** (140 mg, 0.39 mmol) as the substrate.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.34 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.13 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 6.99 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 3.98 (2H, s), 3.90 (3H, s), 3.83 (s, 4H), 3.08-3.02 (m, 1H), 2.97-2.90 (m, 1H), 2.07-1.94 (m, 1H), 2.07-1.94 (m, 2H), 1.24-1.19 (m, 6H).

#### Synthesis of Tetrahydroquinoline **64**



To a solution of tetrahydroquinoline **63** (140 mg, 0.35 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.0 mL) was added TFA (1.0 mL), and the reaction mixture was stirred at room temperature for 90 min.  $\text{H}_2\text{O}$  and ASC were added to the reaction mixture at  $0^\circ\text{C}$ , and aqueous layer was extracted with  $\text{CHCl}_3$ . The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (ASC to ASC : MeOH = 10 : 1) to afford pure tetrahydroquinoline (99 mg) as a white solid. To a solution of tetrahydroquinoline in MeOH (3.0 mL) was added 10% HCl-MeOH (0.70 mL), and concentrated under reduced pressure to afford the **64** (120 mg, quant.) as a white solid

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  9.92 (s, 1H), 6.97 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 6.81 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 4.14 (dd,  $J = 2.3, 2.3$  Hz, 1H), 3.85 (brs, 4H), 3.31-3.25 (m, 1H), 3.19-3.13 (m, 1H), 2.95-2.88 (m, 1H), 2.08-2.00 (m, 1H), 1.16-2.00 (m, 6H).

LC/MS (ESI):  $m/z$  278 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ).

## 主論文

1. Suzuki S., Sugawara Y., Tsuji R., Tanimura R., Kaneko C., Yuzawa N, Yagi M., Kawai K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, 27, 3920-3924.
2. Suzuki S., Sugawara Y., Inada H., Tsuji R., Inoue A., Tanimura R., Shimozono R., Konno M., Ohyama T., Higashi E., Sakai C., Kawai K., *Chem. Pharm. Bull.*, **2017**, 65, 1085-1088.
3. Suzuki S., Okano T., Horiuchi R., Hareyama N., Amikura K., Yamamoto N., Yoshizawa Y., Yagi M., Serizawa K., Hayashi R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, 25, 3368-3372.

## 引用文献

- 1) Avram G., Louise I. L., Pal B. K., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1971**, 68, 1742-1747.
- 2) Hughes J., Smith W. T., Kosterlits W. H., Lind A. F., Morgan A. B., Morris R. H., *Nature*, **1975**, 258, 577-579.
- 3) Martin R. W., Eades G. C., Thompson A. J., Huppler E. R., Gilbert E. P., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1976**, 197, 517-532.
- 4) Load A. J., Waterfield A. A., Hughes J., Kosterlits H. W., *Nature*, 1977, 267, 495-499.
- 5) Satoh M., Minami M., *Pharmacol. Ther.*, **1995**, 68, 343-364.
- 6) Dhawan B. N., Cesselin F., Raghbir R., Reisine T., Bradley P. B., Portoghese P. S., Hamon M., *Pharmacol. Rev.*, **1996**, 48, 567-592.
- 7) 堀幹夫、岩村樹憲、麻薬性のない鎮痛薬の夢、**1991**, 141-149.
- 8) Millan J. M., *Trends Pharmacol. Sci.*, **1990**, 11, 70-76.
- 9) Pfeiffer A., Brantl V., Herz A., Emrich M. H., *Science*, **1986**, 233, 774-776.
- 10) Riviere P. J., *Br. J. Pharmacol.*, **2004**, 141, 1331-1334.
- 11) DeHaven-Hudkins D.L., Dolle R. E., *Curr. Pharm. Des.*, **2004**, 10, 743-757.
- 12) Stein C., Clark J. D., Oh U., Vasko M. R., Wilcox G. L., Overland A. C., Vanderah T. W., Spencer R. H., *Brain Res. Rev.*, 2009, 60, 90-113.
- 13) Hughes F. M. Jr, Shaner B. E., Brower J. O., Woods R. J., Dix T. A., *Open Med. Chem. J.*, **2013**, 7, 16-22.
- 14) Peng X., Knapp B. I., Bidlack J. M., Neumeyer J. L., *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 2254-2258.
- 15) Ananda B. Krishna P. P., Prithvi M., *Sch. J. App. Med. Sci.*, **2015**, 3, 888-896.
- 16) Jonker J. W., Wagenaar E., van Deemter L., Gottschlich R., Bender H. M., Dasenbrock J., Schinkel A. H., *Br. J. Pharmacol.*, **1999**, 127, 43-50.
- 17) Hughes F. M. Jr, Shaner B. E., Brower J. O., Woods R. J., Dix T. A., *Open Med. Chem. J.*, **2013**, 7, 16-22.
- 18) Nagase H., Hayakawa J., Kawamura K., Kawai K., Takezawa Y., Matsuura H., Tajima C., Endo T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, 46, 366-369.
- 19) Kawai K., Hayakawa J., Miyamoto T., Imamura Y., Yamane S., Wakita H., Fujii H., Kawamura K., Matsuura H., Izumimoto N., Kobayashi R., Endo T., Nagase H., *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 9188-9201.
- 20) Kumada H., Miyakawa H., Muramatsu T., Ando N., Oh T., Takamori K., Nakamoto H., *Hepatol. Res.*, **2016**, 47, 972-982.
- 21) Toray Industries Inc, WO1995/03308.
- 22) Bishop M. J., *Curr. Top. Med. Chem.*, **2007**, 7, 135-145.
- 23) James R. D., *Cell Mol. Life Sci.*, **2010**, 67, 405-417.

- 24) 武田正之、荒木勇雄、*Folia. Pharmacol. Jpn.*, **2003**, *121*, 325-330.
- 25) 増田典之、鈴木雅徳、*Folia. Pharmacol. Jpn.*, **2007**, *129*, 361-367.
- 26) Knepper S. M., Buckner S. A., Brune M. E., DeBernardis J. F., Meyer M. D., Hancock A. A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1995**, *274*, 97-103.
- 27) Whitlock G. A., Conlon K., McMurray G., Roberts L. R., Stobie A., Thurlow R. J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 2930-2934
- 28) Blue D. R., Daniels D. V., Gever J. R., Jett M. F., O'Yang C., Tang H. M., Williams T. J., Ford A. P., *BJU Int.*, **2004**, *93*, 162-170.
- 29) Musselman D. M., Ford A. P., Gennevois D. J., Harbison M. L., Laurent A. L., Mokatrin A. S., Stoltz R. R., Blue D. R., *BJU Int.*, **2004**, *93*, 78-83.
- 30) Morishima S., Suzuki F., Nishimura A., Yoshiki H., Akino H., Yokoyama O., Muramatsu I., *J. Urol.*, **2010**, *183*, 812-819.
- 31) Yoshiki H., Uwada J., Umada H., Kobayashi T., Takahashi T., Yamakawa T., Yamaguchi A., Yokoyama O., Muramatsu I., *Br. J. Pharmacol.*, **2013**, *170*, 1242-1252.
- 32) Su T. H., Morishima S., Suzuki F., Yoshiki H., Anisuzzaman A. S., Tanaka T., Cheng J. T., Muramatsu I., *Br. J. Pharmacol.*, **2008**, *155*, 906-912.
- 33) Muramatsu I., Suzuki F., Nishimune A., Anisuzzaman A. S., Yoshiki H., Su T. H., Chang C. K., Morishima S., *Br. J. Pharmacol.*, **2009**, *158*, 354-360.
- 34) Muramatsu I., Suzuki F., Tanaka T., Yamamoto H., Morishima S., *Yakugaku Zasshi*, **2006**, *126*, 187-198.
- 35) Muramatsu I., Morishima S., Suzuki F., Yoshiki H., Anisuzzaman A. S., Tanaka T., Rodrigo M. C., Myaqmar B. E., Simpson P. C., *Br. J. Pharmacol.*, **2008**, *155*, 1224-1234.
- 36) Gray T. K., Short L. J., Ventura S., *Br. J. Pharmacol.*, **2008**, *155*, 103-109.
- 37) Zoran R., *J. Med. Chem.*, **2017**, *60*, 5943-5954.
- 38) Trvis T. W., Ramalakshmi Y. C., Xinjun H., Matthew D. T., Patrick R. V., Anabella V., Yvonne W., *ACS Chem. Neurosci.*, **2010**, *1*, 420-434.
- 39) Wu H., Wacker D., Mileni M., Katritch V., Han G., W., Vardy E., Liu W., Thompson A. A., Huang X. P., Carroll F. I., Mascarella S. W., Westkaemper R. B., Mosier P. D., Roth B. L., Cherezov V., Stevens R. C., *Nature*, **2012**, *485*, 327-332.
- 40) Portoghese P. S., Lipkowski A. W., *J. Med. Chem.*, **1987**, *30*, 238-239.
- 41) Portoghese P. S., *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, 1757-1762.
- 42) Portoghese P. S., Sultana M., Nagase H., Takemori A. E., *J Med Chem*, **1988**, *31*, 281.
- 43) Horikiri H., Hirano N., Tanaka Y., Oishi J., Hatakeyama H., Kawamura K., Nagase H., *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, *52*, 664-669.
- 44) Gray A. C., Spencer D. Jr, *Synth. Commun.*, **2000**, *30*, 4513-4521.
- 45) Fujimura M., Izumimoto N., Momen S., Yoshikawa S., Kobayashi R., Kanie S., Hirakata M.,

- Komagata T., Okanishi S., Hashimoto T., Yoshimura N., Kawai K., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2014**, *350*, 543-551.
- 46) Toray Industries Inc, WO2004/033457A1.
- 47) John G. T., *J. Med. Chem.*, **1972**, *15*, 1006-1011.
- 48) Zemfira A. B., Flyura S. A., Dimitry V. Z., Alexander A. B., *Tetrahedron : Asymmetry*, **2008**, *19*, 1430-1435.
- 49) Shenzhen Dongyangguang Industrial Development Co., Ltd., US2010/0093727 A1.
- 50) Banyu Pharmaceutical Co., Ltd., WO2008/047544 A1.
- 51) Charles L., Jack F., *J. Med. Chem.*, **1973**, *16*, 553-556.
- 52) Lawrence M. S., Portoghese P. S., *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 3366-3368.
- 53) Huang W., Manglik A., Venkatakrisnan A. J., Laeremans T., Feinberg E. N., Sanborn A. L., Kato H. E., Livingston K. E., Thorsen T. S., Kling R. C., Granier S., Gmeiner P., Husbands S. M., Traynor J. R., Weis W. I., Steyaert J., Dior R. O., Kobilka B. K., *Nature*, **2015**, *524*, 315-321.
- 54) 日本ケミフア株式会社、特許第 4168086 号.
- 55) Fanyang M., Jerry M. Y., Di Q., Fei L., Yan Z., Jianbo W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 2028-2032.
- 56) Maxime R., Louis B., *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 7436-7439.
- 57) Juraj V., Arne S., Roland S., Hans G. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 6948-6951.
- 58) Kevin W. A., Jetze J. T., *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 8475-8481.

## 謝辞

本論文作成にあたり、多大なご指導を頂き、また学位取得に関して親身になって相談に乗って頂きました博士前期課程時代の恩師である静岡県立大学薬学部医薬品製造化学講座教授 菅 敏幸 先生に深く感謝致します。

本論文をご高閲頂きました、静岡県立大学 薬学部 教授 眞鍋 敬 先生、教授 濱島 義隆 先生、教授 橋本 博 先生、准教授 吉村 文彦 先生に深く感謝致します。

本研究は、東レ株式会社 医薬研究所内で行われたものであり、多大なご支援とご指導を賜りました創薬化学研究室室長 河合 孝治 博士をはじめ、 $\kappa$ オピオイド作動薬の研究にご協力頂きました、菅原 雄二 学士、谷村 隆次 博士、稲田英朗 修士、井上 淳 博士、辻 理一郎 博士、金子 ちひろ 修士、下菌 利恵子 修士、今野 光洋 博士、湯沢 夏美 学士、八木 麻衣 学士、大山 倫史 修士、東 恵理子 修士、坂井 知津香 修士、 $\alpha_{1L}$ アドレナリン作動薬の研究にご協力頂きました、林 亮司 博士、岡野 翼 修士、堀内 理江 修士、晴山 菜菜 修士、網蔵 和敏 修士、山本 尚義 学士、吉澤 良隆 学士、芹沢 香奈子 修士に感謝致します。

折に触れてご助言、激励を頂きました静岡県立大学医薬品製造化学講座 講師 稲井 誠 先生に感謝致します。

最後に、学生時代から多大なご支援を頂きました両親、研究生活を多方面から支えてくれた妻をはじめ、家族に心より感謝致します。

2018年3月  
鈴木 紳也