

S-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレアの新規合成法の開発と
ヒスタミン H₃受容体アンタゴニストの創製に関する研究

米山 弘樹

目次

謝辞	・ ・ ・	1
序論	・ ・ ・	2
本論		
第一章 アミノテトラヒドロピラニルイミダゾールの合成研究と その薬理学的評価		
第一節 OUP-153 の合成研究	・ ・ ・	10
第二章 新規 S -アルキル- N -アルキルイソチオウレア合成法の開発		
第一節 非イミダゾール系 H₃R アンタゴニストのデザイン	・ ・ ・	17
第二節 SCN 導入試薬としての アシルイソチオシアネートの開発	・ ・ ・	21
第三節 一級アミンとアシルイソチオウレア試薬との反応	・ ・ ・	29
第四節 光延試薬を用いるアシルチオウレアの S -アルキル化の検討	・ ・ ・	33
第五節 ヒドラジンによるイソチオウレア合成	・ ・ ・	35

第六節	分子内環化反応による選択的脱アシル化反応	・・・ 38
第七節	新規非イミダゾール系 H ₃ R リガンド候補化合物の合成	・・・ 45
第三章	H ₃ R アンタゴニスト候補化合物の薬理活性評価	
第一節	<i>in vitro</i> H ₃ R アンタゴニストの機能活性評価	・・・ 53
第二節	<i>in vivo</i> ラット脳マイクロダイアリシスの評価	・・・ 57
第三節	<i>in vitro</i> H ₄ R 機能活性評価	・・・ 61
第四節	OUP 化合物と hH ₃ R/rH ₃ R との <i>in silico</i> 解析	・・・ 62
結語		・・・ 66
実験の部		・・・ 68
引用文献		・・・ 134

謝 辞

本研究に際し、終始ご指導ご鞭撻下さいました 春沢 信哉 教授に深く感謝いたします。本研究の進行に当たり、有益なご討論、ご助言をいただいた 箕浦 理佐 博士に深く感謝いたします。本研究の進行ならびに論文作成に当たり、有益なご討論、ご助言をいただいた 宇佐美 吉英 准教授に深く感謝いたします。また、ヒスタミン H₃ 及び H₄ 受容体についてのご教示、ならびに薬理活性試験を行っていただきました大阪大学医学部 大和谷 厚 教授、山本 浩一 助教、波多野 浩太 修士、澤田 紘一 修士に心から御礼申し上げます。マスペクトルを測定していただいた 藤嶽 美穂代 講師、高分解能 NMR スペクトルを測定していただいた 箕浦 克彦 准教授に深く感謝いたします。また、本研究にあたり、有益なご教示ならびに *in silico* 結合研究を実施された、大阪医科大学・故 山本 大助 准教授に深謝すると共に、ご冥福をお祈りいたします。本研究の進行に当たり、ご助言、ご協力いただいた 川村 誠 修士、下田 綾子 修士、曲田 拓司 修士、ならびに実験にご協力いただいた大阪薬科大学旧第一薬品製造学教室、旧薬品合成化学研究室、有機薬化学研究室員の方々に感謝いたします。

最後に、機会あるごとに励ましていただいた 栗原 拓史 名誉教授にお礼申し上げます。

平成 27 年 初夏

米山 弘樹

序 論

本論文は、新規非イミダゾール系ヒスタミン H_3 受容体(H_3R)アンタゴニスト **OUP-186** の発見に至るまでの合成化学的研究と薬理学的評価に関してまとめたものである。それに先立ち、①ヒスタミン受容体、②受容体選択性、③ H_3R リガンドについて順に説明する。

①ヒスタミン受容体

ヒスタミンは、必須アミノ酸であるヒスチジンから脱炭酸されて合成され、生体組織内に広く分布しているオータコイドである。ヒスタミン受容体は 7 回膜貫通型の G タンパク共役型受容体(GPCR)に属し、現在までに H_1 、 H_2 、 H_3 、 H_4 の 4 つのサブタイプが知られている。

ヒスタミン H_1 受容体(H_1R)は、Gq タンパク質に共役し、ホスホリパーゼ C の活性化を行う。アレルギーに深く関与することが知られており、血管拡張や気管支収縮などを引き起こす。そのため、 H_1R アンタゴニストは抗アレルギー薬として広く用いられている。

ヒスタミン H_2 受容体(H_2R)は、Gs タンパク質に共役し、アデニル酸シクラーゼと共役して細胞内 cAMP 生産量の上昇を引き起こす。胃酸分泌に深く関与することから、 H_2R アンタゴニストは胃酸分泌を抑制し、消化性潰瘍治療薬として医療に多大な貢献をしている。

H_1R と H_2R は良く知られており、数多くの治療薬が創られている。一方、20 世紀後半になって新たに見つかったサブタイプとして H_3R とヒスタミン H_4 受容体(H_4R)がある。

H₃R¹⁾は、1983 年に Arrang らにより同定され^{1a)}、1999 年にクローニングされた^{1e)}。H₃R は、Gi タンパク質に共役し、アデニル酸シクラーゼを抑制して細胞内 cAMP 濃度を減少させる。H₃R は、後部視床下部の結節乳頭核から脳全体に投射されたヒスタミン神経線維に存在する軸索瘤(バリコシティー)に在り、ヒスタミン遊離を調節するオートレセプターとして脳内に高密度に存在して脳全体の賦活化と調節を司り、睡眠、摂食、記憶など多くの生理機能に関与している。H₃R は、受容体が内因性ヒスタミンや H₃R アゴニストによって活性化されると負のフィードバックによってヒスタミンの生合成や遊離を抑制する。さらに、H₃R はヘテロレセプター²⁾としてアセチルコリン、ドパミン³⁾、GABA、ノルアドレナリン、セロトニン⁴⁾などのアミン作動性神経伝達物質の遊離調節にも関与している(Fig. 1)。H₃R アンタゴニストは、H₃R を阻害するため、ヒスタミンの遊離量を増加させることから、アルツハイマー病や注意欠陥多動性障害(ADHD : Attention Deficit Hyperactivity Disorder)⁵⁾、肥満症⁶⁾、統合失調症⁷⁾、ナルコレプシー⁸⁾などの中枢神経系治療薬として現在その開発が盛んに行われている。

H₄R⁹⁾は、1994 年にその存在が Raible らにより指摘され、2000 年にドラフトヒトゲノムに基づきクローニングされたオーファン GPCR の一つがこれと一致したことから、この年に H₄R と命名された^{11c)}。H₄R は、末梢血白血球や骨髄に強い発現が認められ、特に末梢血白血球の好中球や好酸球に強く発現している。脾臓、胸腺、小腸、大腸での発現が知られているために造血や免疫機能への関与が発見当初から指摘され、新たな抗アレルギー剤として現在期待されている(Fig. 2)。

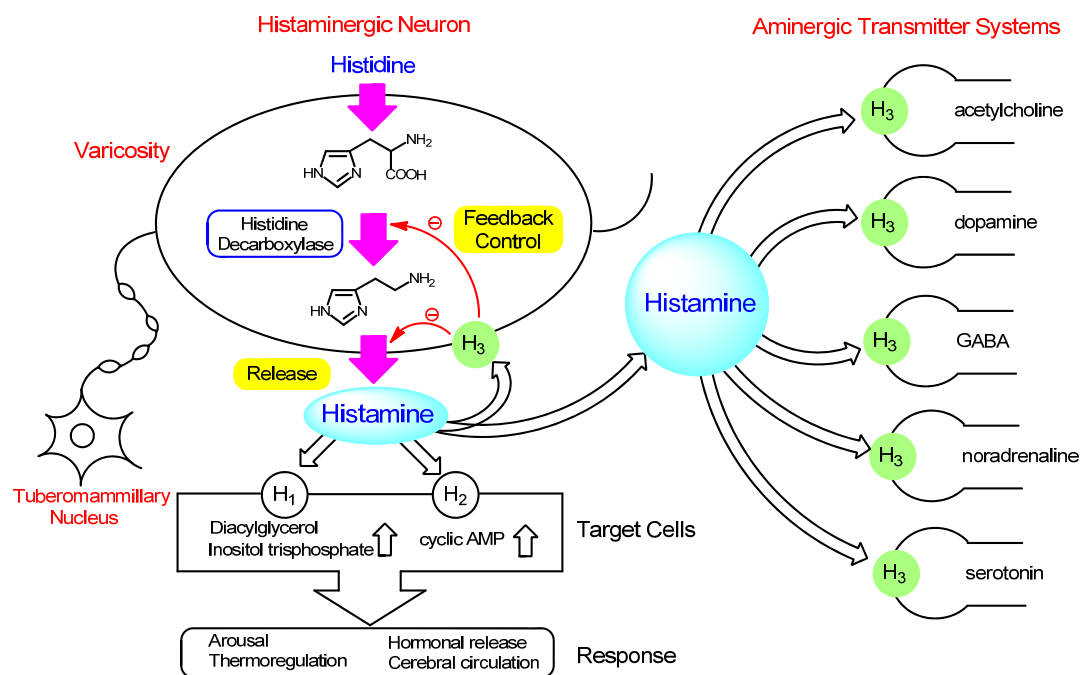


Fig. 1. H₃R auto- and heteroreceptors

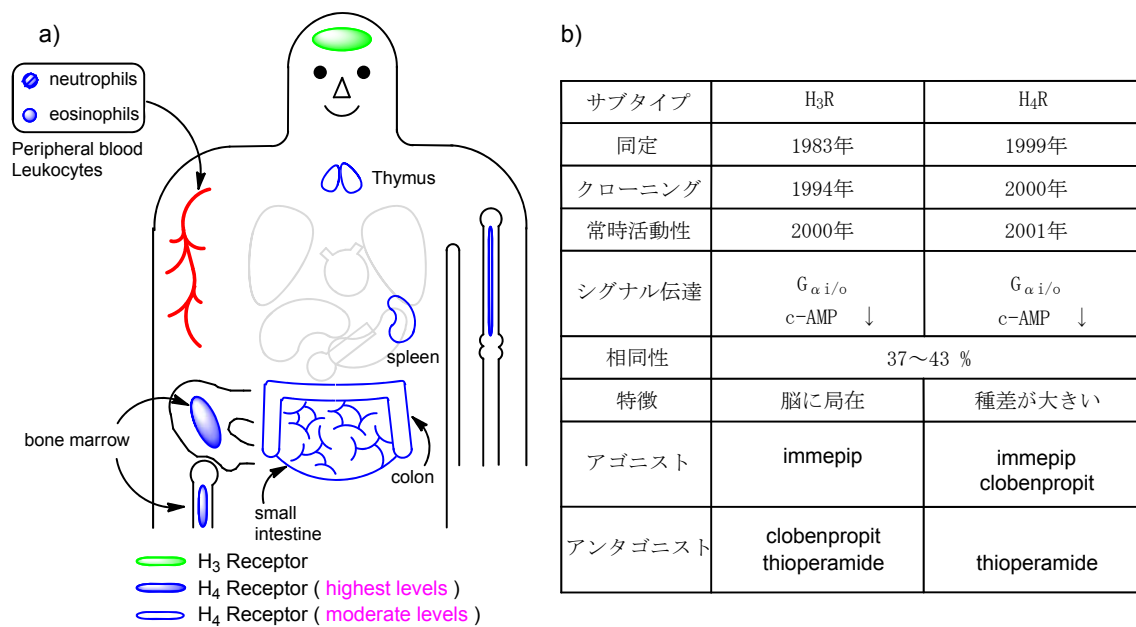


Fig. 2. Histamine hH₃R and hH₄R receptors

②受容体選択性

1) 受容体サブタイプ選択性

H₃R と H₄R のアミノ酸配列¹⁰⁾は酷似しており全体で約 40%、膜貫通部では約 60%の相同性を有しているため、H₃R に作用するリガンドのほとんどは H₄R にも作用する。¹¹⁾ そのため、いかに H₃R 又は H₄R に高い選択性を示すヒスタミンリガンドを開発するかが重要な課題となっている。

2) 種選択性

ヒスタミン受容体の中で H₁R のみが、ごく最近になって X 線結晶構造解析¹²⁾がなされたため、現在では、他のサブタイプ受容体のホモロジー解析は、H₁R の構造に基づいて行われるようになった。

Fig. 3 に、ヒト H₁R(hH₁R)とヒト H₃R(hH₃R)、ラット H₃R(rH₃R)のアミノ酸配列を示しているが、hH₃R と rH₃R のアミノ酸配列の異なる点は、全体で十三ヶ所しかなく、さらに、ヒト-ラットの膜貫通部位(TM 領域)に限って見ると、異なる部位は、119 番目(Thr-Ala)と 122 番目(Ala-Val)のたった二ヶ所のみである。¹³⁾このように、hH₃R と rH₃R は非常に高い相同性を持つことから、これまで H₃R リガンド創薬研究において種差はほとんど問題にならないとされてきた。

一方、H₄R は動物種間の差が大きいという特徴を持つ。

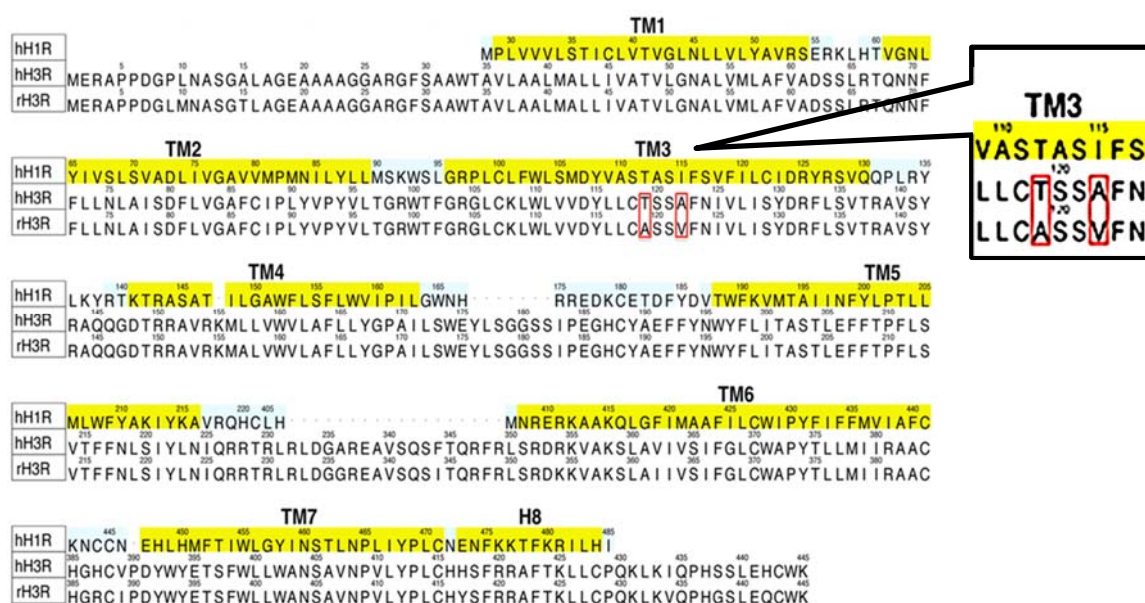


Fig. 3. Alignment table of hH₃R and rH₃R sequences

③ H₃R リガンド

ヒスタミンから始まった初期の H₃R リガンド開発においては、末端塩基性部位にイミダゾールが用いられていた。強力な H₃R アゴニストとしては R- α -メチルヒスタミン(RAMH) やイメピップ¹⁴⁾、イメティットなどが知られ、H₃R アンタゴニストのプロトタイプとしてイモブロキシファンやチオペラミド¹⁵⁾、そして Timmerman らによって合成されたクロベンプロピット¹⁶⁾ などがある。これらはいずれも末端塩基にイミダゾールが用いられている (Fig. 4)。

また、前述の通り、H₃R と H₄R は高い相同性を有している^{10,11)}ため、H₃R アンタゴニストであるチオペラミドは、H₄R においてもアンタゴニスト活性を示し¹⁷⁾、H₃R アンタゴニストのクロベンプロピットは、逆に H₄R アゴニストとして作用するなど、H₃R に作用するリガンドのほとんどは H₄R に対しても活性を示す。

第一世代の H_3R アンタゴニストは、イミダゾールを有するため、シトクロム P450 に高い親和性を示すこと¹⁸⁾、親水性のイミダゾールによる血液-脳関門の透過性の低下¹⁹⁾、経口バイオアベイラビリティの減少など創薬開発上の問題が存在した。そのため近年では臨床応用に向けて、イミダゾールを環状アミンに置換した第二世代の非イミダゾール系 H_3R アンタゴニストの開発に注目が集まっており、CEP-26401²⁰⁾やABT-239²¹⁾など強力な H_3R アンタゴニストの臨床試験が実施されている。中でも、Schwartz らによって開発された BF 2649(ピトリサント)²²⁾は、世界初の H_3R アンタゴニストによるナルコレプシー治療薬として今年フランスで承認され、 H_3R 治療薬開発の先駆けとなった。

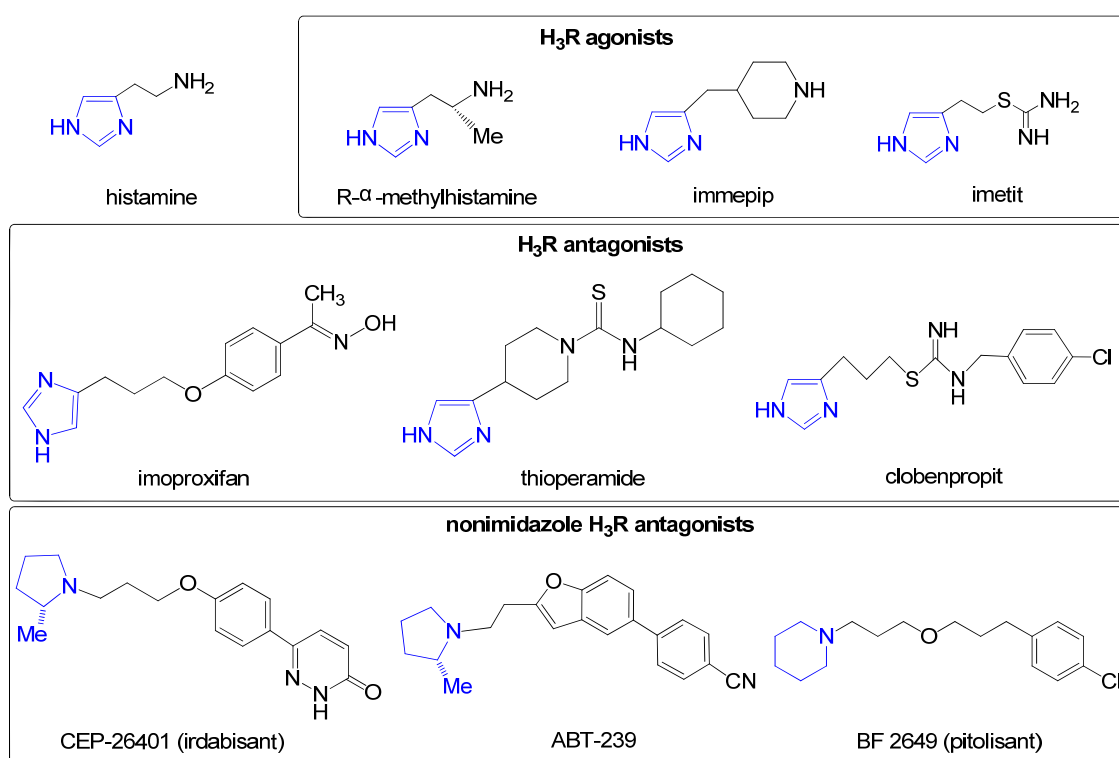


Fig. 4. Structures of imidazole or nonimidazole H_3R ligands

大阪薬科大学・春沢信哉教授らのグループは、H₃R 及び H₄R リガンドの開発について合成化学的研究を進めた結果、1999 年に新規 H₃R アゴニストのイミフラミンを報告し²³⁾、さらに 2003 年には、世界初の H₄R 選択的アゴニストとして、イミフラミンのメチルシアノグアニジン誘導体 **OUP-16** 及び異性体の **OUP-13** を発表した (Fig. 5)。²⁴⁾

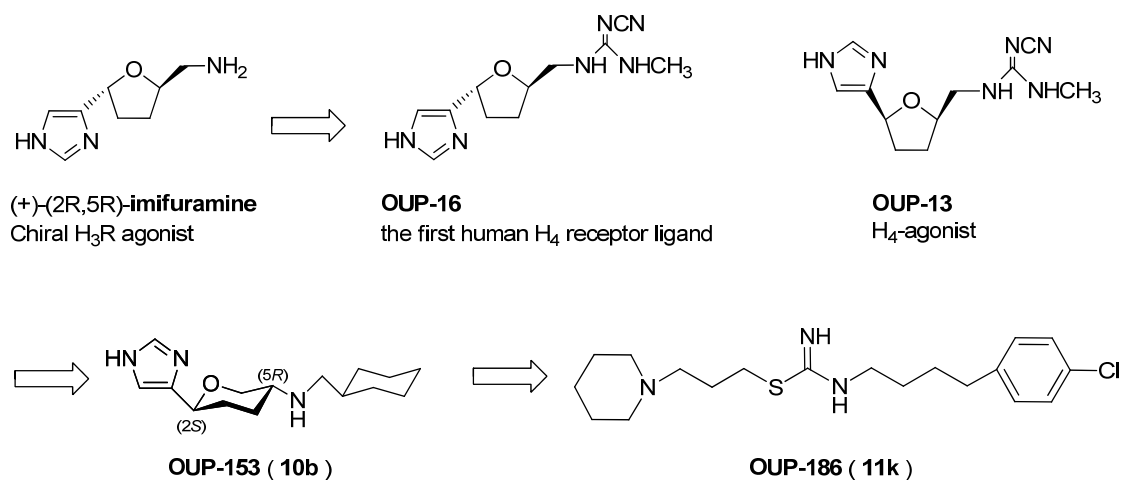


Fig. 5. Developed histamine H₃R and H₄R ligands

本論文は、第一世代の新規 H₃R アンタゴニスト **OUP-153** の開発²⁵⁾、続いて、第二世代の非イミダゾール系 H₃R アンタゴニスト **OUP-186** を創製した合成化学的研究^{26,27)}と、その薬理学的特徴²⁸⁾について述べるものである。最初に、キラル H₃R アゴニストのイミフラミンの構造を基に、自由度の高い 5 員環テトラヒドロフラン環から、立体配座固定型の 6 員環テトラヒドロピラン誘導体をデザイン、合成を行った。さらに、アミン末端部位に疎水性基を導入した OUP 化合物を種々合成し、それらの中から (2*S*,5*R*) 配置の **OUP-153 (10b)** に高い H₃R アンタゴニスト活性を見出した (Fig. 5)。²⁵⁾

次に、イミダゾールを含有する第一世代の中で最強の H₃R アンタゴニストであるクロベンプロピットを基にデザインした、*S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア構造を持つ第二世代の非イミダゾール系 H₃R アンタゴニスト(**OUP** 化合物)の合成研究を行った。そのために、*S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレアの新規合成法の開発²⁶⁾、及びその改良²⁷⁾について詳細に検討した。この合成法の開発は、筆者の修士論文^{26b)}で報告した合成法を基盤とし、その合成法に一般性を持たせるためより多くの化合物を合成し、さらにその合成法の改善を行った経緯を本論文に記す。

続いて、これらの合成法から得られた **OUP** 化合物の H₃R に対する生理活性を *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した後、hH₃R アンタゴニストとして有望ないくつかの化合物に対しては、hH₄R に対する作用も *in vitro* 機能活性で評価した。²⁸⁾

これらの結果、本研究の中から、クロベンプロピットに匹敵する hH₃R アンタゴニスト活性を持つ **OUP-186 (11k)**を発見することに成功した(Fig. 5)。**OUP-186** は、hH₄R に不活性であり、rH₃R に対しても全く作用を示さない受容体サブタイプ選択的かつ種選択性を有する特異的 H₃R アンタゴニストであった。²⁸⁾そこで、MOE (Molecular Operating Environment)による *in silico* 実験を行い、**OUP-186** のヒトとラットの種選択性は、H₃R の 122 番目の Ala と Val の相違によるものであることを強く示唆する結果を得たのでここに報告する。

なお、**OUP-186** の様に明瞭な選択性を持つ、ヒト H₃R アンタゴニストの報告例はこれまでに無く、非常に特異な例である。

本 論

第一章 アミノテトラヒドロピラニルイミダゾールの合成研究と その薬理学的評価

第一節 OUP-153 の合成研究

春沢信哉教授のグループが開発した H_3R アゴニスト、(2*R*,5*R*)-イミフラミンは、二つのキラル中心を有しており、その立体配置によって H_3R に対する作用発現が明確に異なることを報告している。²³⁾しかし、基本骨格の 5 員環構造は自由度が高く、安定な立体配座を保持していない。そこで、既知の H_3R アゴニストの中から、イメピップの構造を考慮し、イミフラミンのテトラヒドロフラン環を 6 員環のテトラヒドロピラン環に置き換えた構造 **1** を新たな基盤としてデザインした (Fig. 6)。

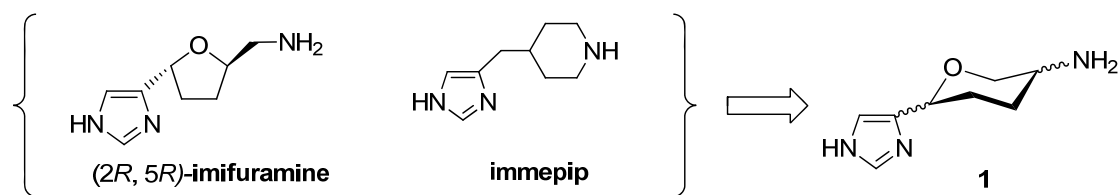


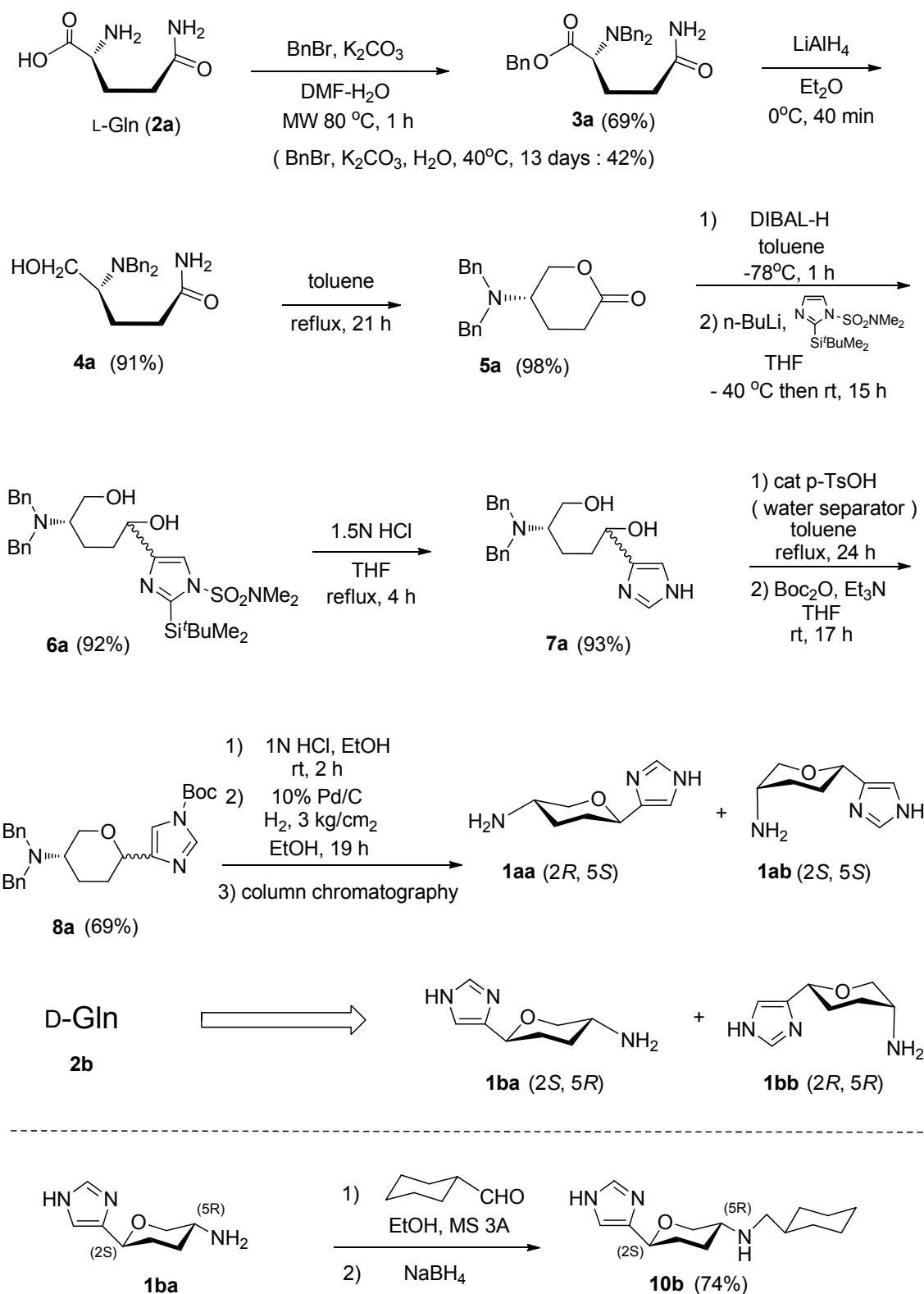
Fig. 6. Chiral 4(5)-(5-aminotetrahydropyran-2-yl)imidazoles (ATPIs1)

テトラヒドロピランの構築は、L-グルタミン(**2a**)を出発原料とし、Gmeiner らの方法²⁹⁾に従い、最初にベンジル化を行った (Scheme 1)。**2a** を水中で炭酸カリウムとベンジルブロマイドと共に 40℃で 13 日間

反応させ続けることで、収率 40%程度でベンジル保護体 **3a** が得られた。一度に数十グラムを反応させ、収量を確保していたが、撹拌効率で収率が左右されること、また、13 日もかかるという欠点を持つ反応であった。そこで、マイクロウェーブ(MW)反応装置を用いてベンジル化の再検討を行った。MW 反応装置は、近年、有機合成の分野でも広く利用されるようになった反応装置の一つである。MW 加熱は、溶媒又は基質がマイクロ波によって生じる電場の波に合わせて分子運動を起こしながらマイクロ波を吸収し、溶媒そのものが発熱するため、通常の加熱とは逆に、反応内部から温度が上昇するのが特徴である。

L-グルタミン (**2a**) のベンジル化反応に MW を適用した結果、DMF-H₂O(1:1)混合溶媒中で炭酸カリウムとベンジルブロマイドの反応を MW 照射下 80℃で 1 時間反応させると、収率 69%でトリベンジル体 **3a** が得られる大幅な時間短縮に成功した。続けて、エステル部位を LiAlH₄ で還元して **4a** を得た後、トルエン中、還流すると脱アンモニア-環化で 6 員環ラクトン **5a** が生成した。これを DIBAL-H で処理した後に、二置換イミダゾールのリチウム塩³⁰⁾とカップリングさせてジオール体 **6a**³¹⁾を生成後、塩酸で脱保護することで **7a** を得た。次に **7a** をトルエン中、トシル酸触媒存在下、Dean-Stark 装置による脱水反応を行うと、イミダゾール窒素上の水素と 1 位の水酸基との間で脱水が起こりフルベンを形成後、5 位の水酸基がフルベンを攻撃することにより環化反応がおこる。^{25,31)}その後、イミダゾールの *N*-Boc 化により、基本骨格の整ったテトラヒドロピラン環体 **8a** (69%)を得ることが出来た。最後に、**8a** の塩酸処理と接触還元で脱保護を行い、カラムクロマ

トにてトランスアミノ体 **1aa** とシスアミノ体 **1ab** の分離を行った。一方、対掌体の出発原料 D-グルタミン **2b** から上述の反応を行うことで、それぞれのトランスエナンチオマー **1ba** とシス体 **1bb** を合成し、4 異性体全てを得ることに成功した。²⁵⁾



Scheme 1. Synthesis of ATPIs **1** and **10b** (OUP-153)

さらに、テトラヒドロピランに関する 4 つのジアステレオマーアミン **1** の還元的アミノ化反応によって、アンタゴニスト活性に必要な疎水性アルキル基をアミン部位へ導入した、2 級アミン **9**, **10** を合成した (Table 1,2)。強い活性の見られた **OUP-153 (10b)** の合成を例にすると、アミン **1ba** のエタノール溶液に 10 当量のシクロヘキサナルデヒドとモレキュラーシーブ 3 Å を入れ、室温で 5 時間攪拌後、水素化ホウ素ナトリウム 20 当量を追加して室温で一晩攪拌し、収率 74% で **10b** を合成した (Scheme 1, 下)。

合成した候補化合物の薬理評価は、*in vivo* ラット脳マイクロダイアリシス法 (微量脳透析法)³²⁾ を用い、生きたラットの脳内に半透膜プローブを差し込み、脳内の人工透析によってヒスタミン遊離量の変化を継続的に確認することによって行った (Fig. 7)³³⁾。H₃R はオートレセプターとして脳内ヒスタミン遊離を調節しており、化合物の投与により定常時に比べて脳内ヒスタミン遊離量が増加すれば、H₃R アンタゴニスト活性を持つ事が支持される。実験の結果、(2*S*,5*R*) 配位を持つ **9ba** の化合物群にのみ脳内ヒスタミン遊離促進作用があることが判明した (Table 1)。さらに、(2*S*,5*R*) 配位に固定し、疎水性部位をアルキルシクロヘキサンに修飾し、アルキル鎖の長さを順次延長した化合物群 **10** に同様の実験を行ったところ、**10b (OUP-153)** に、脳内ヒスタミン遊離量を約 2 倍に増加させる、高い H₃R アンタゴニスト活性があることを見出した (Fig. 8, Table 2)。²⁵⁾

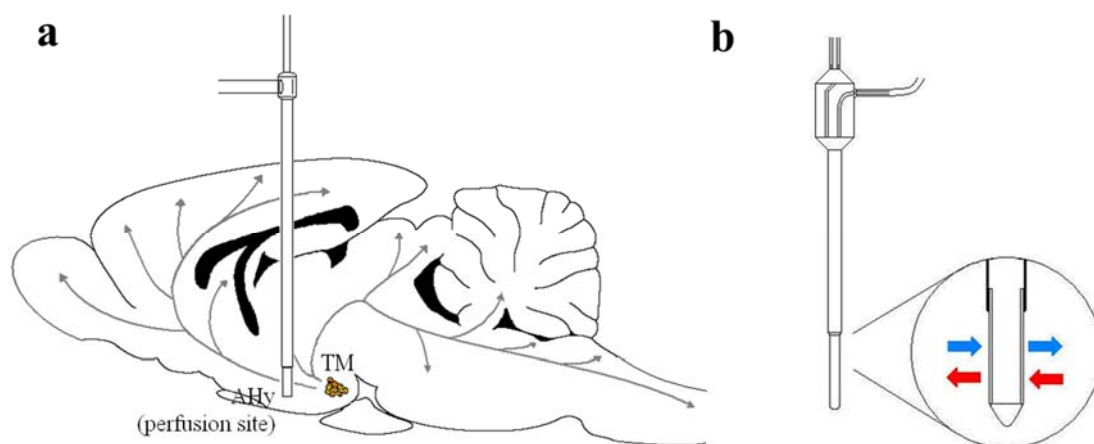
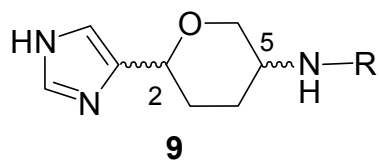

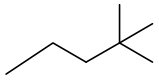


Fig. 7. A schematic presentation of the microdialysis

Table 1. Configuration of ATPIs and histamine release



entry	R	configuration	histamine release (%) ^{a)}
1		2 <i>R</i> , 5 <i>S</i> (9aa-a)	N.A.
2		2 <i>S</i> , 5 <i>S</i> (9ab-a)	N.A.
3		2 <i>S</i> , 5 <i>R</i> (9ba-a)	120-130
4		2 <i>R</i> , 5 <i>R</i> (9bb-a)	N.A.
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>			
5		2 <i>R</i> , 5 <i>S</i> (9aa-b)	N.A.
6		2 <i>S</i> , 5 <i>S</i> (9ab-b)	N.A.
7		2 <i>S</i> , 5 <i>R</i> (9ba-b)	180-190
8		2 <i>R</i> , 5 <i>R</i> (9bb-b)	N.A.

a) N.A.: not active

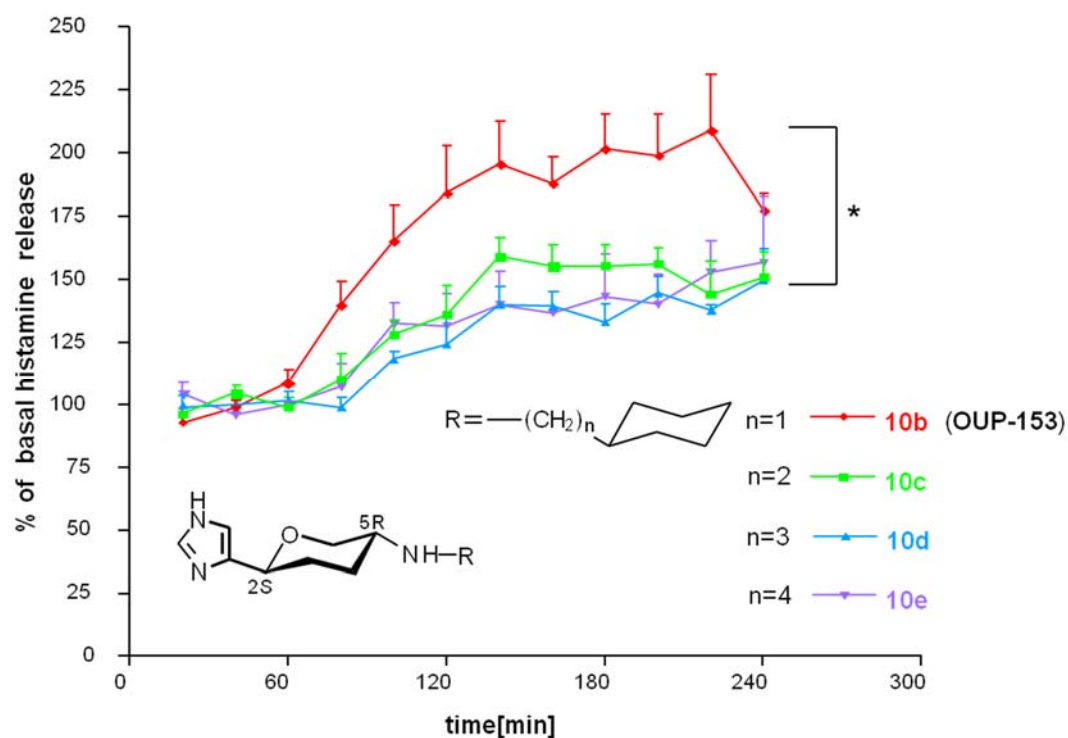


Fig. 8. Effects of **10** on *in vivo* histamine release in rat

Table 2. Histamine release of **10** on *in vivo* histamine release in rat

<chem>Nc1ccn(c1)[C@H]2O[C@@H](C[C@H]3O[C@H](NC(=O)R)[C@@H](O)[C@H]3O)[C@H](O)[C@H]2O</chem> 10			
entry	n		histamine release (%) ^{a)}
1	0	(10a)	N.A.
2	1	(10b)	180-200 (OUP-153)
3	2	(10c)	150-160
4	3	(10d)	120-150
5	4	(10e)	130-150

a) N.A.: not active

第二章 新規 *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア合成法の開発

第一節 非イミダゾール系 H₃R アンタゴニストのデザイン

前章の **OUP-153** に高い H₃R アンタゴニスト活性があることを見出したが、²⁵⁾イミダゾールを含むため、序章で述べたような臨床応用への展開が難しいという問題がある。

そこで、強力かつ実用化に向けた H₃R アンタゴニスト開発を目指し、*S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア構造を持つ強力なプロトタイプの H₃R アンタゴニスト、クロベンプロピット¹⁶⁾を基盤にした非イミダゾール系 H₃R アンタゴニスト **11** を考案した(Fig. 9)。^{26,27,28)}

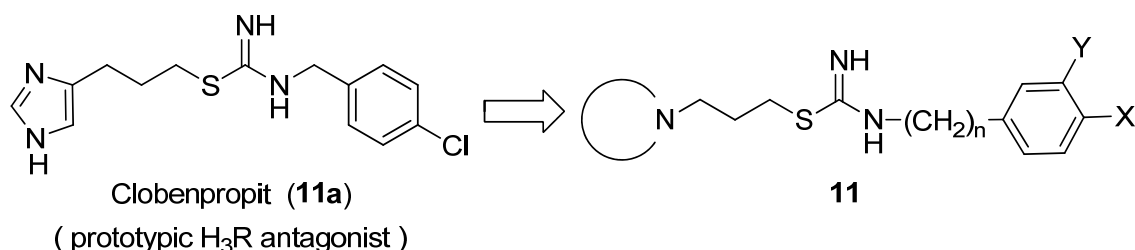


Fig. 9. Development of nonimidazole H₃R antagonists

まず、クロベンプロピットの主要構造であるイソチオウレアの生理活性と合成法について調べてみた。イソチオウレア化合物は、NO 合成酵素阻害薬³⁴⁾、Na⁺/Ca²⁺交換系阻害薬³⁵⁾、遺伝子型選択的抗腫瘍剤³⁶⁾、抗 HIV 活性³⁷⁾、そしてヒスタミンリガンドなど、多様な生理活性を示す多くの化合物が知られている。さらに、イソチオウレアは、グ

アニジン³⁸⁾やチオール³⁹⁾のような強い生理活性を持つ化合物への変換のための重要合成中間体としても知られている。通常、イソチオウレアにアミンを反応させるとグアニジンが生成し、アルカリ等で処理するとチオールが発生する点においてもイソチオウレアの *S*-アルキル部位は優れた脱離基として働くことから、*S*-C 結合は非常に開裂しやすいことが分かる (Fig. 10)。

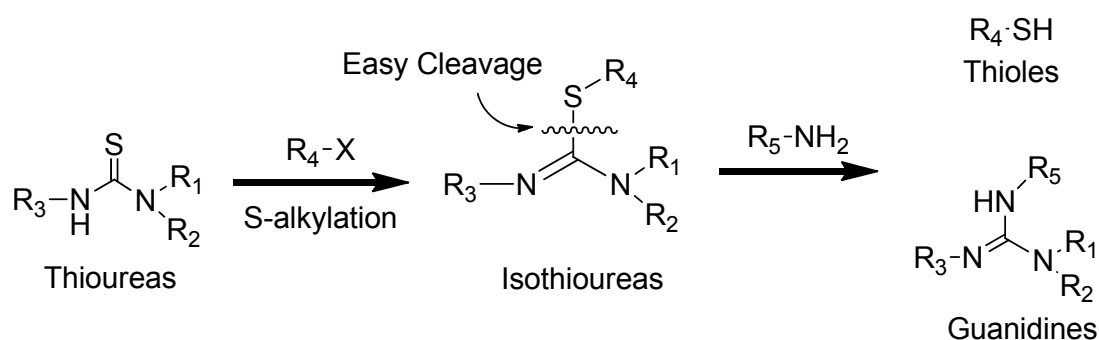


Fig. 10. Formation of isothioureas and their delivatives

一般的なイソチオウレア合成法は、チオウレアとアルキルハライドを直接反応させて行われる。⁴⁰⁾ヨウ化メチルでのメチル化⁴¹⁾や末端イソチオウレア合成⁴²⁾は、比較的高い収率で反応が進行するものの (Scheme 2-C)、クロベンプロピットの様な *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア合成では、反応性は著しく低下している。Timmerman らによるクロベンプロピット合成^{16a)}では、4-クロロベンジルアミン (12a) と、ベンゾイルイソチオシアネイトを反応させ、アシルチオウレア 13a を得た後に、炭酸カリウムと加熱還流し、脱ベンゾイル化して生成したチオウレア体 14 とプロピルイミダゾールを直接 *S*-アルキル

化させている。しかしこの反応では、6 日間還流しても目的のクロベ
ンプロピット **2** 臭化水素塩の収率はわずか **26%**しか得られず、効率の
悪い合成法である (**Scheme 2-A**)。さらに、イミダゾールの代わりにピ
ペリジンを持つ第二世代の H₃R アンタゴニスト候補化合物 **FUB661** の
合成にいたっても、ヨウ化カリウム共存下、同様に反応させても **11b**
の収率はわずか **8%**であった。⁴³⁾このことも、低い反応性を良く示し
ている (**Scheme 2-B**)。

そこで、新たな候補化合物を合成するため、**S**-アルキル-**N**-アルキル
イソチオウレアの新規合成法の開発を行うことにした。

12a $\xrightarrow{\text{SCN-C(=O)Ph}}$ **13a** (quant) $\xrightarrow[\text{EtOH-H}_2\text{O, reflux, 2 h}]{\text{K}_2\text{CO}_3}$ **14** (73%) $\xrightarrow[\text{reflux, 6 days, EtOH}]{\text{Br-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Imidazole} \cdot \text{HBr}}$ **11a** \cdot 2HBr (26%) + clobenpropit \cdot 2HBr (26%)

CCNC(=S)NCCCCC $\xrightarrow[\text{THF, rt, 6 h}]{\text{Me-I}}$ CCNC(=S)NCCCCCSCC (100%)

NC(=S)N $\xrightarrow[\text{EtOH, reflux, 8 h}]{\text{Br-(CH}_2)_8\text{-Br}}$ NC(=S)NSCCCCCCCCCSC(=N)N (93%)

Scheme 2. Reaction of thioureas with alkyl halide

第二節 SCN 導入試薬としてのアシルイソチオシアネートの開発

従来の *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア合成の多くは、チオウレアを直接ハロゲン化アルキルで *S*-アルキル化をしてきたが⁴⁰⁾、*S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア中間鎖を有する化合物の合成効率は著しく低いものであった^{16a,43)}。その原因として、基質の *N,N'*-アルキルチオウレアの反応性が低いために、ハロゲン化アルキルとの *S*-アルキル化反応が進行し難いのではないかと考えた。

そこで、チオウレアの酸性度に注目し、類似化合物の DMSO 中の酸性度を調べた。尿素の pK_a は 26.9 であるが、O が S に置換したチオウレアでは pK_a が 21.0 となり、 pK_a が 6 程度下がる。⁴⁴⁾また、二つのカルボニルに挟まれたフタリイミドの pK_a は 15 であることを考慮すると、アシルチオウレアの C=O と C=S に挟まれた N-H は、フェノール程度の酸性度を示し、反応性が大きく上がると予想した(Fig. 11)。

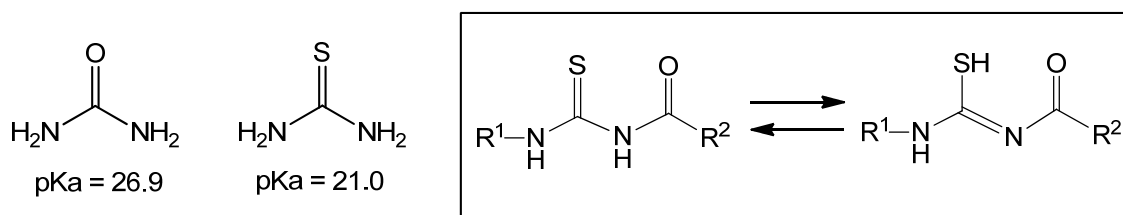
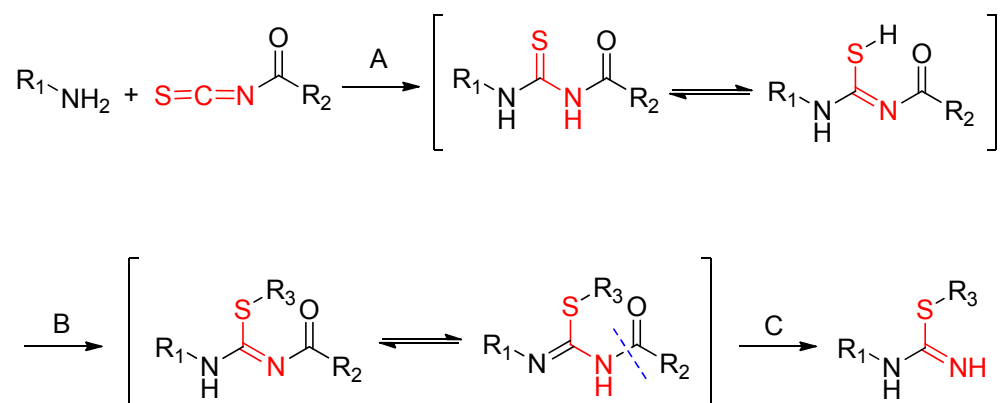


Fig. 11. The acidity of urea or thiourea

そこで次のような、1 級アミンを出発原料とし、3 工程で *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレアを合成する合成計画を考案した (Scheme 3)。

- A) 最初に、SCN 源であるアシルイソチオシアネイト試薬に一級アミンを付加させアシルチオウレアを生成する。
- B) 次に、アシルチオウレアを *S*-アルキル化し、*S*-アルキル-*N*-アシル-*N'*-アルキルイソチオウレアとする。
- C) 最後に、脱アシル化を行うことにより目的の *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレアを合成する。

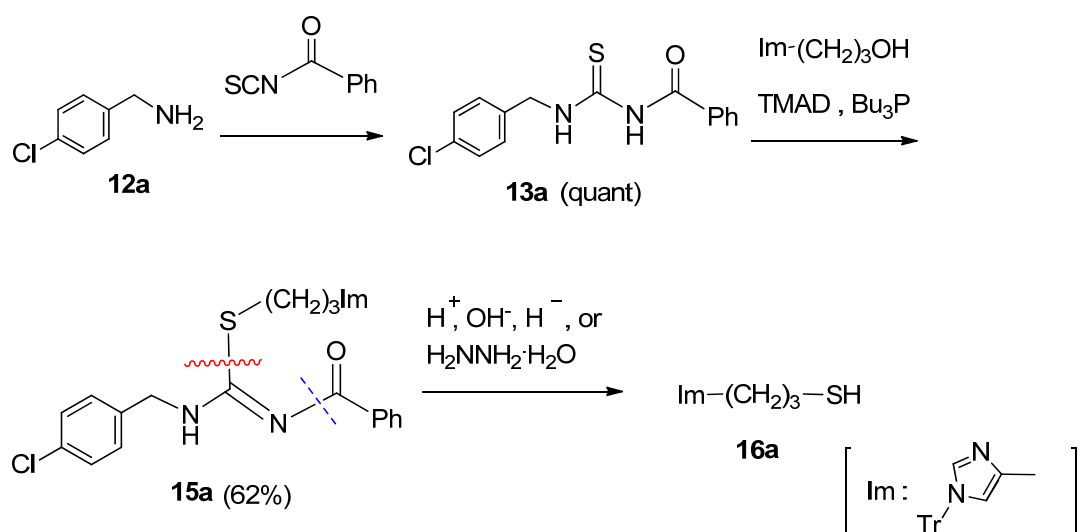


Scheme 3. Formation of isothioureas from amines

そこで、クロベンプロピット合成でこの方法を検討することとした。

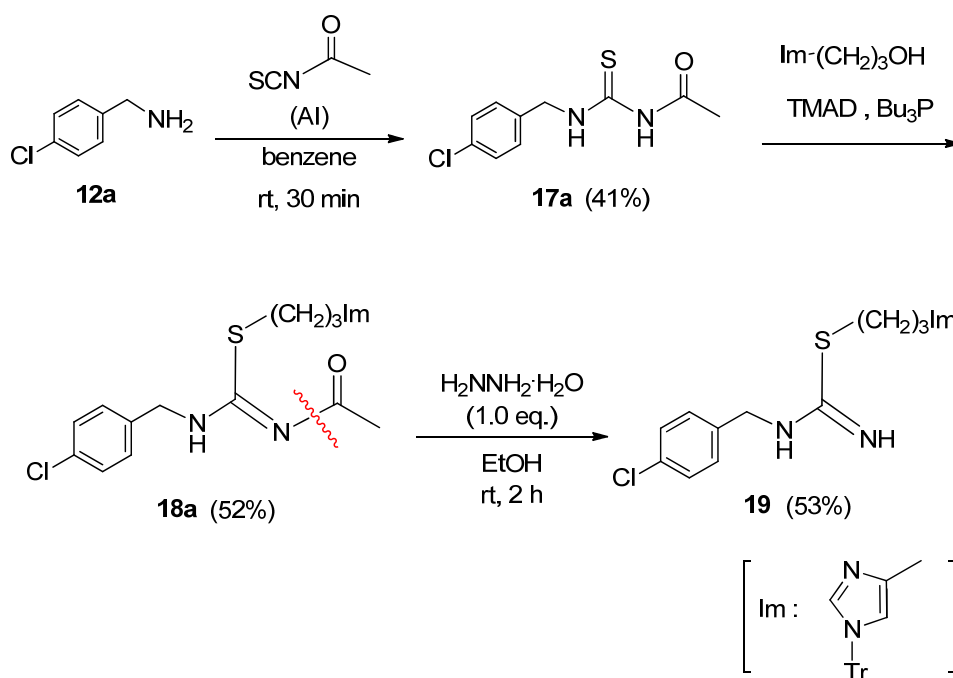
4-クロロベンジルアミン **12a** を出発原料とし、ベンゼン中、ベンゾイルイソチオシアネイトと室温で反応させるとアシルチオウレア **13a** を定量的に得ることが出来た。さらに、想定した通りアシルチオウレアの酸性度は高くなったため、*N,N,N',N'*-tetramethylazodicarboxamide (TMAD) と Bu₃P の組合せ⁴⁵⁾による光延反応により、アルコールを活性化することでアシルチオウレア **13a** の *S*-アルキル化反応が進行し、基本骨格の揃った *S*-アルキル-*N*-アシル-*N'*-アルキルイソチオウレア **15a** (62%) の合成に成功した (Scheme 4)。^{26b)}

次に、不要なベンゾイル基を選択的に除去することで目的のイソチオウレア体への変換を試みた。しかし、前述の通りイソチオウレアの *S*-アルキル側鎖は脱離性が高く、脱ベンゾイル化より、*S*-C 結合の開裂が優先した。この脱ベンゾイル化反応に対して、酸、塩基、ヒドラジン⁴⁶⁾、還元剤⁴⁷⁾などを種々試したが、いずれも、*S*-C 結合の切断が起こり、チオール **16a** の不快臭を確認した。また、カラムクロマトグラフ精製により、チオールから酸化されたジスルフィド体を得る結果となった。²⁶⁾



Scheme 4. Sensitivity of the C-S bond of *N*-benzoyl isothiourethane **15a**

共鳴安定化したベンゾイル基の除去が困難であったため、次にアセチル基を脱離基とすることを考えた。市販のアセチルイソチオシアネイト(**AI**)を **SCN** 源として用い、4-クロロベンジルアミン **12a** と反応させたところ低収率ながらも *N*-アセチルチオウレア体 **17a** (41%)が生成した。続いて *S*-アルキル化を行い、*N*-アセチルイソチオウレア体 **18a** (52%)を得た。ここで脱アセチル化に、メチルアミンを用いると、*S*-C結合の開裂と共にジスルフィド体 **16a** が生成したが、目的の *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア体 **19** も低収率ながら生成することが分かった。そこで、アミンよりも求核性が高いヒドラジンを用いて種々検討した結果、エタノール溶媒中、ヒドラジン水和物 1 当量を用いる事により、目的化合物 **19** (53%)を主生成物として得ることが出来ると分かった(Scheme 5)。



Scheme 5. Synthesis of isothiurea **19** with AI

AI の使用は、アトムエコノミーの観点から最良であるが、毒性の高い試薬であり、水と激しく反応するうえ、強い悪臭を放つため、取扱困難であった。そのため、多くの化合物を合成するには、適当でないと判断した。そこで改めて **SCN** 源となるアシルイソチオシアネイト試薬を検討した (Fig. 12)。

悪臭を抑えるために蒸気圧を抑えようと、分子量を増やすことを考え、**AI** にフェニル基を導入したフェニルアセチルイソチオシアネイト (**PAI**)⁴⁸⁾ を用いたが、**PAI** にも強い悪臭があったため、さらに炭素鎖を一つ伸ばしたフェニルプロピオニルイソチオシアネイト (**PPI**)⁴⁹⁾ を合成した。**PPI** は、イソチオシアネイト特有の甘い臭いは残るが、試薬として取り扱うことが充分出来るものであった。そこで、**PPI** をイソチオウレア合成のための新しい **SCN** 源として用いることとした。^{26,27)}

また、後述する *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア合成法の最終工程において、分子内還元-環化反応を利用した脱アシル化反応を行うにあたり、アミン前駆体としてニトロ基をそれぞれ **PAI**、**PPI** に導入したニトロフェニルアセチルイソチオシアネイト(**NPAI**)、ニトロフェニルプロピオニルイソチオシアネイト(**NPPI**)をそれぞれ新たに合成した。^{26,27)}

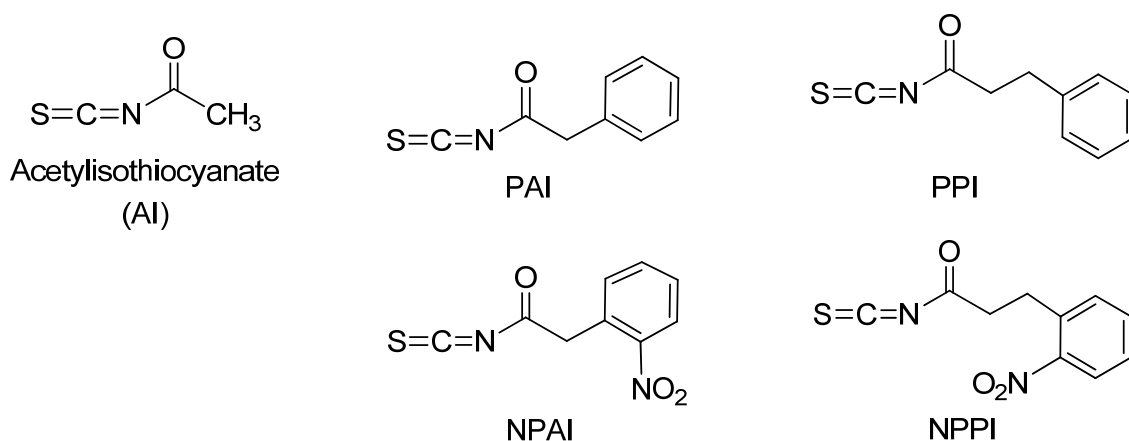


Fig. 12. Structures of acyl isothiocyanate reagents

NPAI は、褐色油状物質で不安定な化合物であり、90℃に加温すると発煙し、分解したため、蒸留による単離精製は行わなかった。そのため、カラムクロマトで精製単離後、冷凍庫(-20℃)で保管したが、2週間後には NMR 上で分解を確認した。そこで、種々検討の結果、1M トルエン溶液として調製すると、冷蔵庫(3℃)で 2 ヶ月保管後も、NMR 上での分解は見られず、反応剤として用いる事に支障がないことが判明した。²⁷⁾

一方、**NPPI** は黄色粉末状物質で単離精製後は冷蔵保管で十分維持できる安定性を有していたが、合成工程が長いため、大量合成に問題があった。**NPPI** と **NPAI** は、特別強い悪臭もなく扱いやすいため、アシルイソチオシアネイト試薬として **PPI** と共にクロベンプロピット合成で反応条件の検討を行った (Table 3)。

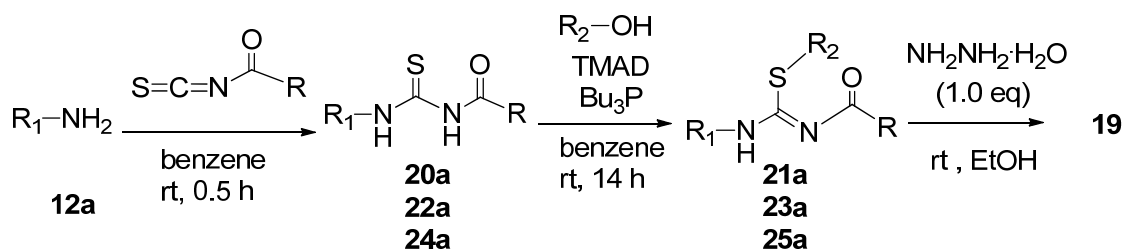
PPI を用いた場合 (entry 1)、アミン **12a** の **PPI** への付加によりアシルチオウレア体 **20a** を 78% で生成し、続く光延反応による *S*-アルキル化は問題なく進行し、*N*-アシルイソチオウレア体 **21a** を 94% で得た。次のヒドラジン水和物による脱アシル化の工程においては、反応時間 2 時間では目的のイソチオウレア **19** の収率は 29% と少なかったものの、反応時間を 17 時間に延ばすと収率 69% と良好な結果が得られた。

また、**NPAI** を用いた時も同様に (entry 3)、アシルチオウレア体 **22a** を 71%、*S*-アルキル化体 **23a** を 85% で得たが、最後の脱アシル化は、17 時間反応しても **19** の収率が 53% にとどまった。

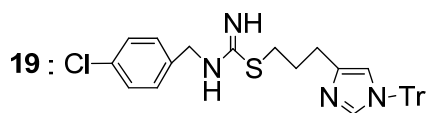
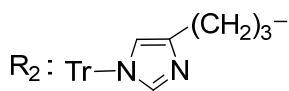
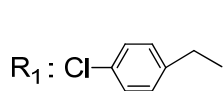
一方、**NPPI** を用いた場合には (entry 5)、アミン **12a** との付加反応においてアシルチオウレア体 **24a** の収率が 54% と低下したが、**25a** の脱アシル化の工程においては、反応時間 1 時間で収率 63% と反応性が上がっているのが確認できた。

アミン **12a** を出発原料とした時の 3 工程での総収率を比較すると、**PPI** を用いた時が最もよかったため、これを新規 *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア合成のための **SCN** 源として用いる事とした。²⁶⁾

Table 3. Synthesis of isothiurea **19** with acyl isothiocyanate reagents



entry	R	yield (%)	yield (%)	time (h) - 19 (%)	total yield (%)
1	 (PPI)	20a : 78	21a : 94	2 - 29	21
2				17 - 69	51
3	 (NPAI)	22a : 71	23a : 85	2 - 34	21
4				17 - 53	32
5	 (NPPI)	24a : 54	25a : 72	1 - 63	24

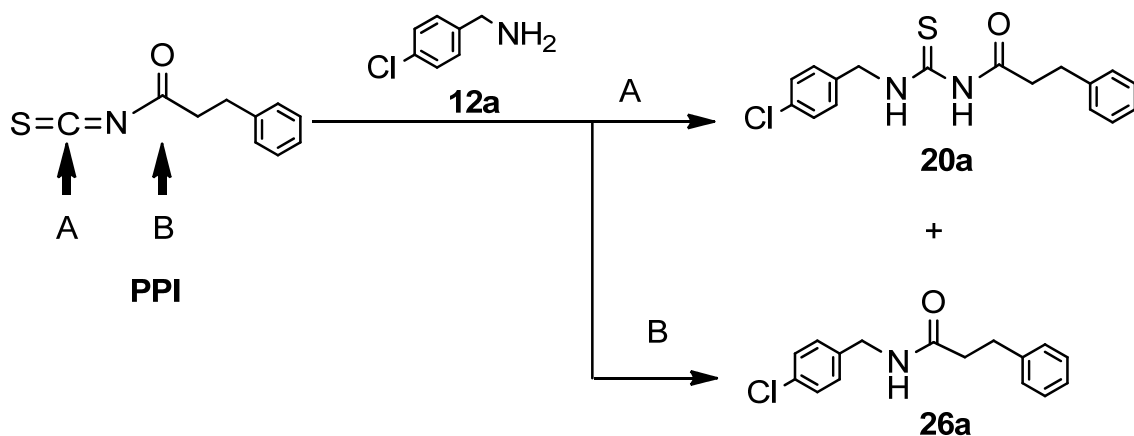


第三節 一級アミンとアシルイソチオウレア試薬との反応

一級アミン **12** とアシルイソチオウレアとの反応は、アシルイソチオウレアが持つ二つの反応点のため、副生成物が得られるという問題点があった。²⁶⁾

Scheme 6 のように、PPI とアミン **12a** との反応では、イソチオシアネートの中心炭素を攻撃した場合(A)は、アミン **12a** が付加し、目的のアシルチオウレア **20a** が生成する。

一方、カルボニル炭素に攻撃した場合(B)では、チオシアン酸が脱離し、アミド体 **26a** が副成する。この反応点は、第三工程の脱アシル化反応における反応点となるものだが、最初の工程であるアミンの付加反応の段階での収率低下の原因となった。



Scheme 6. Reaction of **12a** with PPI

このアミドの副成は、アミン **12a** と他のアシルイソチオシアネイト試薬との反応の際にも見られた (Table 4)。PPI とベンジルアミン **12a** との反応では、目的のチオウレア体 **20a** が 78%、副生成物のアミド体 **26a** が 16% で得られ、NPAI を用いた場合にはチオウレア体 **22a** が 71%、副生成物のアミド体 **27a** が 29% で生成した。NPPI の場合にはチオウレア体 **24a** の収率が 54% と低かったものの、PPI や NPAI ではベンジルアミン **12a** を用いると比較的高い収率でチオウレアの合成が可能であった。²⁶⁾

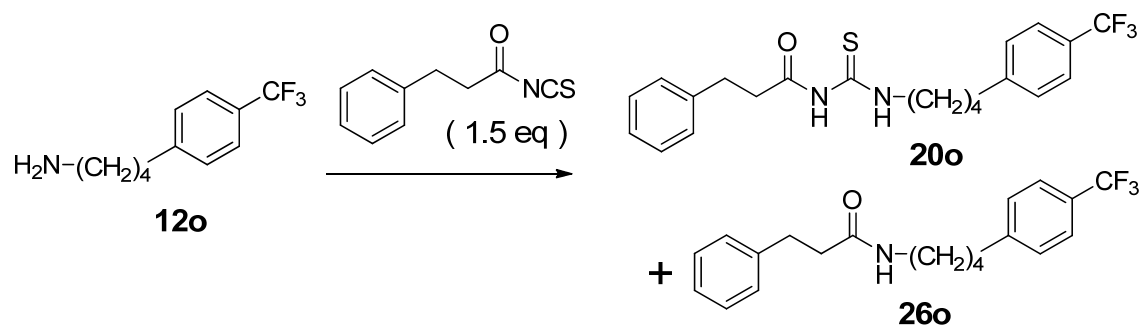
Table 4. Reaction of **12a** with acylisothiocyanate

entry	R	thiourea (%)	amide (%)
1	(PPI)	20a 78	26a 16
2	(NPAI)	22a 71	27a 29
3	(NPPI)	24a 54	28a 29

しかし、類似体の合成を進めてゆく中で、アミンの炭素鎖が伸びるにつれ、収率の低下が顕著になった。特に炭素鎖 4 の **12o** 場合、チオウレア **20o** の収率は 30% にまで低下した (Table 5, entry 1)。そこで、PPI に対するアミンの付加反応を再検討することとした。

まず、THF や MeOH などの極性溶媒では副生成物のアミド **26o** の方が多くなるため (entry 2,3)、非極性溶媒のトルエンの方が良いことが分かった (entry 5)。次に、トルエンを溶媒として、反応温度の検討を行った。その結果、反応温度が高くなるにつれ、目的物の収率は向上した (entry 5-8)。さらに、還流時間が長くなるにつれ収率はさらに良くなり、副生成物も減少した (entry 8-10)。特に、室温 30 分の段階では目的化合物 39%、副生成物 32% だったものが (entry 5)、室温 30 分攪拌後に続けて 1 時間還流すると、目的の **20o** が 78%、副生成物 **26o** は 11% の収率となった (entry 11)。以上の結果より、アシルイソチオシアネイト試薬とアミンとの付加反応においては、トルエン中で還流する反応条件が高い収率を与えることが判明した。²⁷⁾

Table 5. Reaction of **12o** with PPI



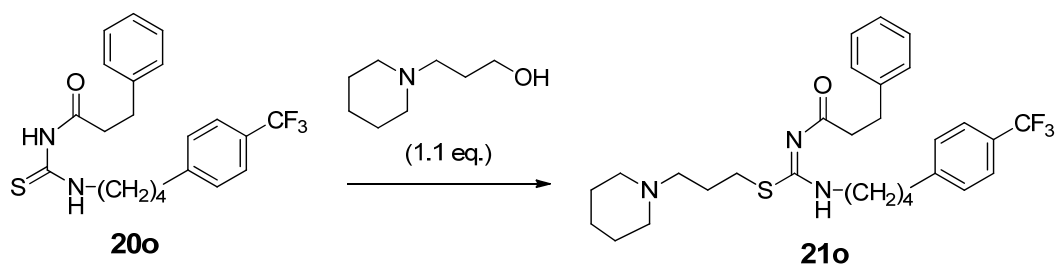
entry	solvent	temp (°C)	time (h)	20o : yield (%)	26o : byproduct (%)
1	benzene	rt	0.5	30	not isolated
2	THF	rt	0.5	15	54
3	MeOH	rt	0.5	0	52
4	CH ₂ Cl ₂	rt	0.5	32	26
5	toluene	rt	0.5	39	32
6	toluene	-20	0.5	29	23
7	toluene	60	0.5	49	49
8	toluene	reflux	0.5	72	20
9	toluene	reflux	1	78	20
10	toluene	reflux	3	82	14
<hr/>					
11	toluene	rt, 0.5 h → reflux, 1 h		78	11

第四節 光延試薬を用いるアシルチオウレアの *S*-アルキル化の検討

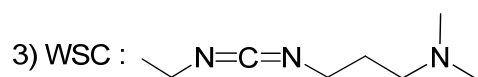
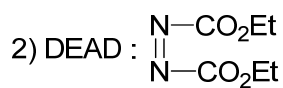
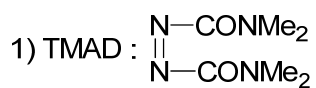
アシルチオウレアの *S*-アルキル化反応は、アシルチオウレアの酸性度の予想から、最初を選択した TMAD と Bu₃P の組合せによる光延反応⁴⁵⁾が良い結果をもたらした、修士論文にてこれを報告した。そのため、それ以上の条件検討を行っていなかった。^{26b)}

改めて、チオウレア **20o** とピペリジンプロパノールをモデルとして、*S*-アルキル化反応の検討を行った (Table 6)。まず、検討を行うにあたり、ベンゼンに対して溶解し難い基質があるため、THF を溶媒として用いることにした。THF 中、TMAD-Bu₃P の組合せによる光延反応では、室温 16 時間で *S*-アルキル体 **21o** が 68% で生成した (entry 1)。²⁶⁾ 一方、DMF 溶媒中、MW 照射下反応を行っても、収率の改善は見られなかった (entry 2)。TMAD-Bu₃P の光延試薬の組合せを TMAD-Ph₃P や、一般的な DEAD-Ph₃P⁵⁰⁾ に替えても収率の改善には繋がらなかった (entry 4,5)。また、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide・hydrochloride (Water Soluble Carbodiimide; WSC)⁵¹⁾ などの他の脱水縮合剤を試してみたが、*S*-アルキル化反応は進行しなかった (entry 6-8)。DEAD や TMAD などのアゾ試薬を用いる反応は一般的に、0℃～室温で行われるが、THF 溶媒中、TMAD-Bu₃P の組合せによる *S*-アルキル化反応では、THF 中、3 時間還流で **21o** が 72% で生成可能なことが判明した (entry 3)。²⁷⁾

Table 6. *S*-Alkylation with *N*-acylthiourea **20o**



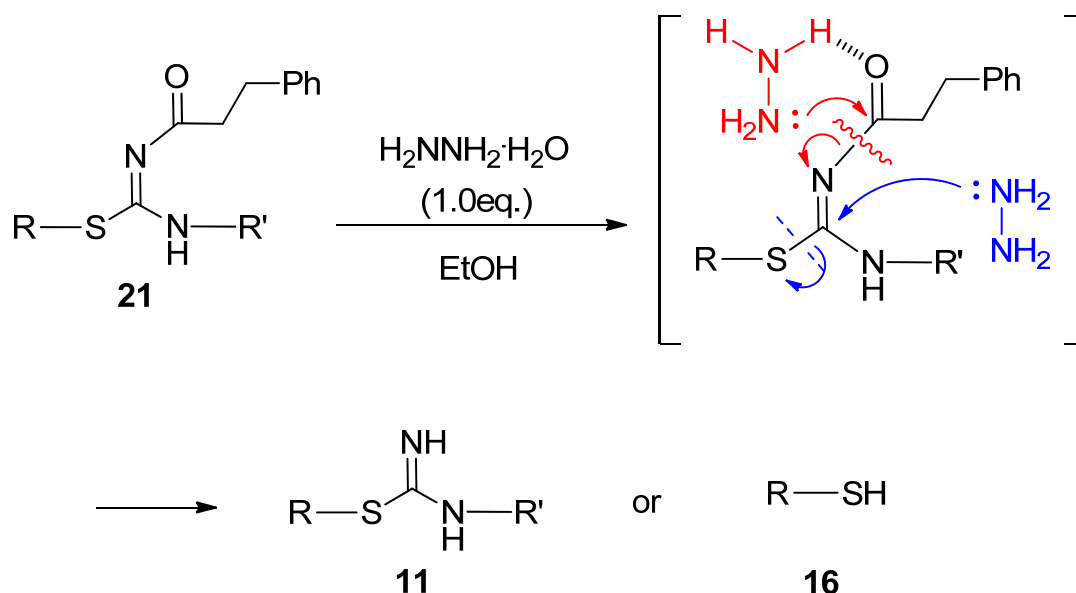
entry	reagent (1.5 eq.)			solvent	temp (°C)	time (hr)	yield (%)
1	TMAD ¹⁾	Bu ₃ P		THF	rt	16	68
2	TMAD	Bu ₃ P		DMF	MW, 100	0.3	41
3	TMAD	Bu ₃ P		THF	reflux	3	72
4	TMAD	Ph ₃ P		THF	rt	16	44
5	DEAD ²⁾	Ph ₃ P		THF	rt	16	40
6	Ph ₃ P=O	Tf ₂ O	Et ₃ N	CH ₂ Cl ₂	rt	2	0
7		WSC ³⁾		THF	rt	16	0
8		WSC		THF	reflux	4	0



第五節 ヒドラジンによるイソチオウレア合成

前述の通り、*S*-アルキル-*N*-アルキル-*N'*-アシルイソチオウレア **21** には、切断されやすい **C-S** 結合と、目的化合物 **11** を得るために選択的に切断する必要がある **N-CO** 結合の 2 か所の切断ポイントがある。

N-アシルイソチオウレア **21** に対し、ヒドラジン水和物 1 当量を用いる事により、**N-CO** 結合が優先的に切断され、目的の *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア **11** が得られる方法を見出し、修士論文にて報告した。^{26b)} この有利な選択性は、ヒドラジンの高い求核性と、カルボニルの酸素との間に水素結合を持つことにより、生じたものと考えている (Scheme 7)。

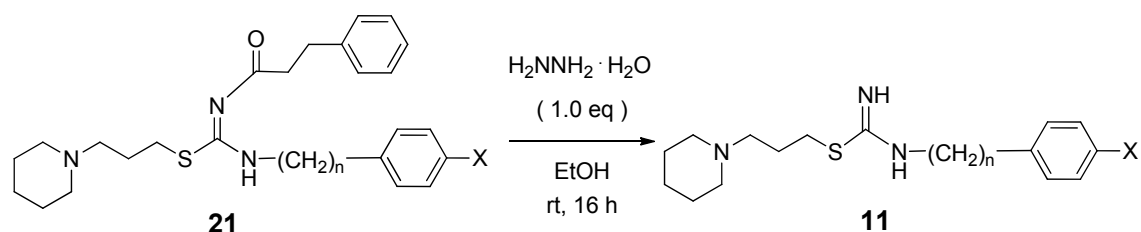


Scheme 7. Deacylation from acylisothiureas

しかし、この方法によってイソチオウレア候補化合物の合成を進めてゆくと、疎水性基質のフェニル基とイソチオウレア NH 間の炭素鎖が伸びるにつれ、ヒドラジン水和物の N-CO 結合への切断反応の選択性は低下し、収率の減少が顕著に現れていった(**Table 7, entry 1-5**)。特に、炭素鎖 **4** の場合には **11k** の収率が 52% にまで低下した(**entry 4**)。

さらに、フェニル基のパラ位をより疎水性の高いフッ素置換基に変更すると、**11** の収率は 50% 以下となり、選択性が大きく下がる結果になった(**entry 6-9**)。

Table 7. Treatment of *N*-acylisothioureas **21** with hydrazine



entry	n	X	yield (%)	entry	n	X	yield (%)
1	1	Cl	11b 76	6	4	CF ₃	11o 47
2	2	Cl	11g 64	7	4	F	11r 46
3	3	Cl	11j 58	8	4	OCF ₃	11s 49
4	4	Cl	11k 52	9	4	SCF ₃	11t 45
5	5	Cl	11l 44				

そのため、ヒドラジン水和物に代わる求核剤の再検討を行ったが (Table 8)、アミンやアシルヒドラジン、メチルヒドラジンでは目的物 **11k** を得ることは出来ず (entry 2-4)、エチレンジアミンでは **11k** の収率はわずか 14%に過ぎなかった (entry 5)。

求核剤をヒドラジンとし、過剰分を分解する目的で Pd 触媒共存下、4 当量のヒドラジンを滴下してみたが、収率は 25%にとどまった (entry 6)。さらに、ヒドラジン水素と N-CO 結合の酸素との間の水素結合をより強くする目的で弱酸の塩を添加した場合 (entry 7)、あるいはヒドラジン塩酸塩の使用 (entry 8) も、収率の改善は見られなかった。

Table 8. Deacylation from acylisothiureas **21k**

Clc1ccc(cc1)NNC(=S)SCCN2CCCCN2C(=O)CCc3ccccc3
 $\xrightarrow[\text{EtOH, rt, 16 h}]{\text{reagent (1.0eq)}}$
Clc1ccc(cc1)NNC(=N)SCCN2CCCCN2

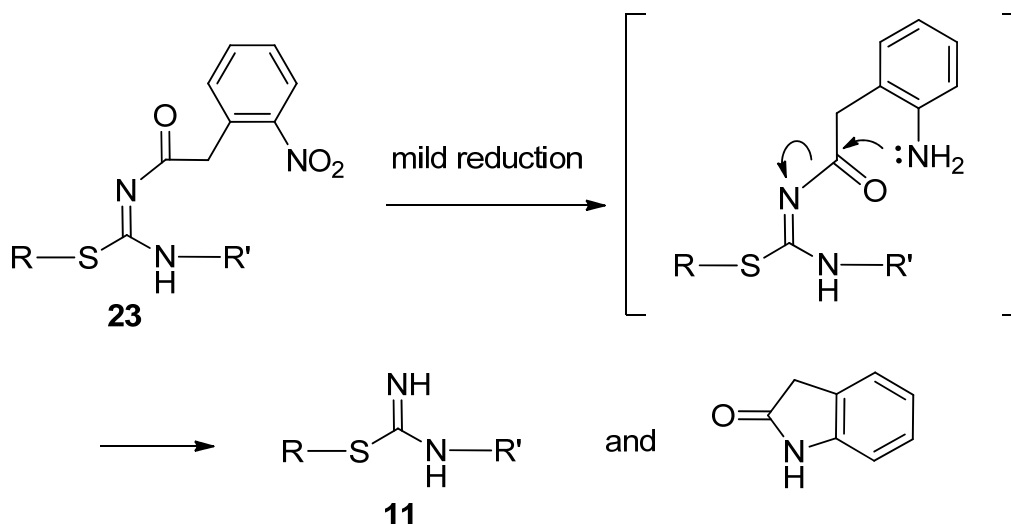
21k **11k**

entry	reagent	yield (%)	entry	reagent	yield (%)
1	H ₂ NNH ₂ · H ₂ O	52	5	H ₂ NCH ₂ CH ₂ NH ₂ , NH ₄ Br	14
2	<i>i</i> Pr ₂ NEt	0	6	H ₂ NNH ₂ · H ₂ O (4eq), Pd/C	25
3	H ₂ NNHCOCH ₃	0	7	H ₂ NNH ₂ · H ₂ O, NH ₄ Cl	19
4	H ₂ NNHCH ₃	0	8	H ₂ NNH ₂ ·2HCl	45

第六節 分子内環化反応による選択的脱アシル化反応

N-アシルイソチオウレアの **N-CO** 結合を分子間反応で選択的に切断する手法は、先の検討(**Table 8**)の結果、改善が難しいと判断した。そこで、分子間反応ではなく分子内でアミンを生成し、これを求核攻撃させれば、**N-CO** 結合を選択的に切断させることが出来るのではないかと考えた。

まず、前述のニトロ基を導入したイソチオシアネイト試薬 **NPAI** を用いて合成した *S*-アルキル-*N*-アルキル-*N'*-アシルイソチオウレア **23** に対し、緩和な還元反応を行えばニトロ基がアミンに変換されると同時に、分子内でカルボニルを求核攻撃し、環化-**N-CO** 結合の開裂を起こし、2-オキシインドールを脱離することで、一挙に *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア体 **11** が生成すると考えた(**Scheme 8**)。



Scheme 8. Selective deacylation from acylisothioureas

そこで、クロベンプロピット **11a** をモデル化合物とし、この分子内環化反応によるイソチオウレア合成法の作業仮説を検証することとした。ニトロ基還元の方法は、共存する二重結合の還元及び **C-Cl** 結合の開裂が生じないような緩和な還元を必要とするため、ホスフィン酸ナトリウムを水素発生源とする **Pd/C** との組み合わせによる方法⁵²⁾を用いた(Scheme 9)。

S-アルキル-*N*-アルキル-*N'*-アシルイソチオウレア体 **23a** に対し、THF 溶媒中、**Pd/C** 存在下、ホスフィン酸ナトリウム水溶液を滴下したところ、ニトロ基の還元と同時に分子内で **N-CO** 結合の切断が生じ、90%の高収率でイソチオウレア体 **19** が生成した。一方で、脱離して得られてきたのは、予想していた *1H*-2-オキシインドールではなく、*N*-ヒドロキシル-2-オキシインドール⁵³⁾であった。このことから、反応機構はニトロ基がアミノ基にまで還元されることなく、求核性の高いヒドロキシルアミンの段階でカルボニルを攻撃し、環化反応と同時に **N-CO** 結合を切断したものと考えられる。最後に、イソチオウレア体 **19** のイミダゾール *N*-トリチル基を塩酸で定量的に除去し、クロベンプロピット **11a** の高能率合成を達成した。²⁶⁾

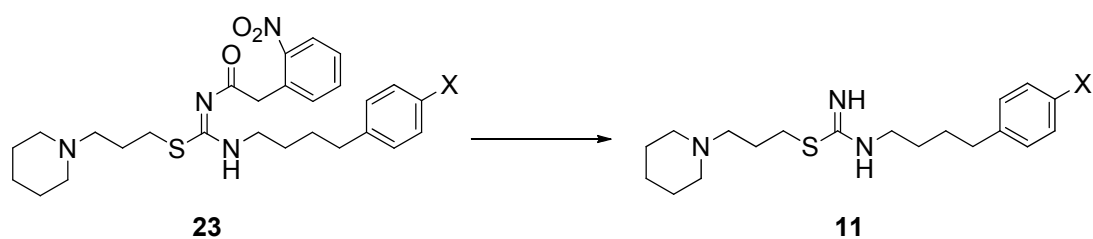
この還元的脱アシル化は非常にきれいな反応で、TLC 上に現れるスポットは原料の *S*-アルキル-*N*-アルキル-*N'*-アシルイソチオウレア **23a** と生成物の *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア **19** と脱離したインドールのみであり、**S-C** 結合切断は全く観察されなかった。この合成法の基礎は修士論文にて報告した。^{26b)}

そこで、還元反応の再検討を行った(**Table 9**)。ホスフィン酸ナトリウムの水溶液では、反応の再現性が乏しいことから、水溶液を用いずに、水和物の結晶をそのまま用いてみたが、プロトン性、非プロトン性極性溶媒共に、全く反応の進行が確認出来なかった(**entry 3-5**)。鉄-塩酸を用いる還元法では、反応は進行したものの、単離精製が困難で収率の低下を招いた(**entry 6-8**)。

一方、**Pd-C** を触媒として用い、風船中の水素ガス雰囲気下で室温 2 時間、反応させると、高収率で目的のイソチオウレア体 **11**(83%)が得られた(**Table 7, entry 9**)。また、この方法は、反応スケールを 10 倍にしても高収率を維持した。

フェニル基の *p* 位トリフルオロメチル基をクロルに替えたものでも、**C-Cl** の還元的開裂は起こらず(**entry 10**)、さらに、強力な電子吸引性と高い脂溶性を持つことから、医薬品や農薬、機能性材料の分野で優れたビルディングブロックとして最近注目されているペンタフルオロスルファニル基(**SF₅**)⁵⁴⁾を導入した場合も、効率よく **11** を生成させることに成功した(**entry 11**)。²⁷⁾

Table 9. Reductive N-CO bond cleavage



entry	X	reductive reagent		solvent	temp (°C)	time (h)	yield (%)
1 ¹⁾	CF ₃	Pd/C	aq NaPH ₂ O ₂	THF	rt	0.5	quant
2 ¹⁾	CF ₃	Pd/C	aq NaPH ₂ O ₂	THF	rt	1	51
3	CF ₃	Pd/C	NaPH ₂ O ₂ ·H ₂ O	THF	rt	4	0
4	CF ₃	Pd/C	aq NaPH ₂ O ₂	MeOH	rt	1.5	25
5	CF ₃	Pd/C	NaPH ₂ O ₂ ·H ₂ O	MeOH	rt	4	0
6	CF ₃	Fe (2 eq)	NH ₄ Cl	MeOH / H ₂ O	50	4	23
7	CF ₃	Fe (2 eq)	Et ₃ N·HCl	MeOH / H ₂ O	50	4	23
8	CF ₃	Fe (20eq)	NH ₄ Cl	MeOH / H ₂ O	50	1	23
9	CF ₃	Pd/C	H ₂ (balloon)	MeOH	rt	2	83
10	Cl	Pd/C	H ₂ (balloon)	MeOH	rt	2	87
11	SF ₅	Pd/C	H ₂ (balloon)	MeOH	rt	2	63

1) The reaction of entry 2 was carried out at 10 fold-scale compared to that of entry 1.

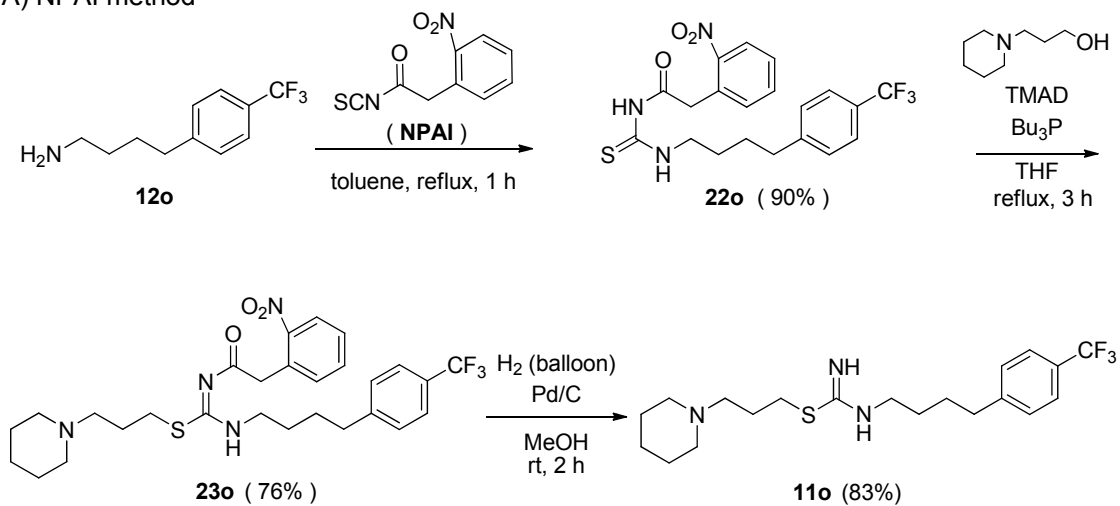
この段階で、これまでの検討から得られた、**NPAI** または **PPI** を用いる、アミン **12** から 3 工程で *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア **11** を合成する方法を、**11o** の合成例でまとめると、**Scheme 10** に示すようになる。

NPAI を用いる合成法では、出発原料のアミン **12o** と **NPAI** をトルエン中 1 時間反応させチオウレア **22o** (90%) を合成し、続く **TMAD-Bu₃P** を用いる *S*-アルキル化反応で、THF 中、3 時間還流すると、アシルイソチオウレア **23o** が収率 76% で生成される。最後に、メタノール溶媒中、**Pd-C** 触媒存在下、水素ガス雰囲気下で室温、2 時間攪拌するだけで、目的化合物 **11o** (83%) を高収率で得ることが出来た。アミン **12o** からの 3 工程の総収率 57%、総反応時間は 6 時間であり、高能率な *S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレアの合成を達成した。²⁷⁾

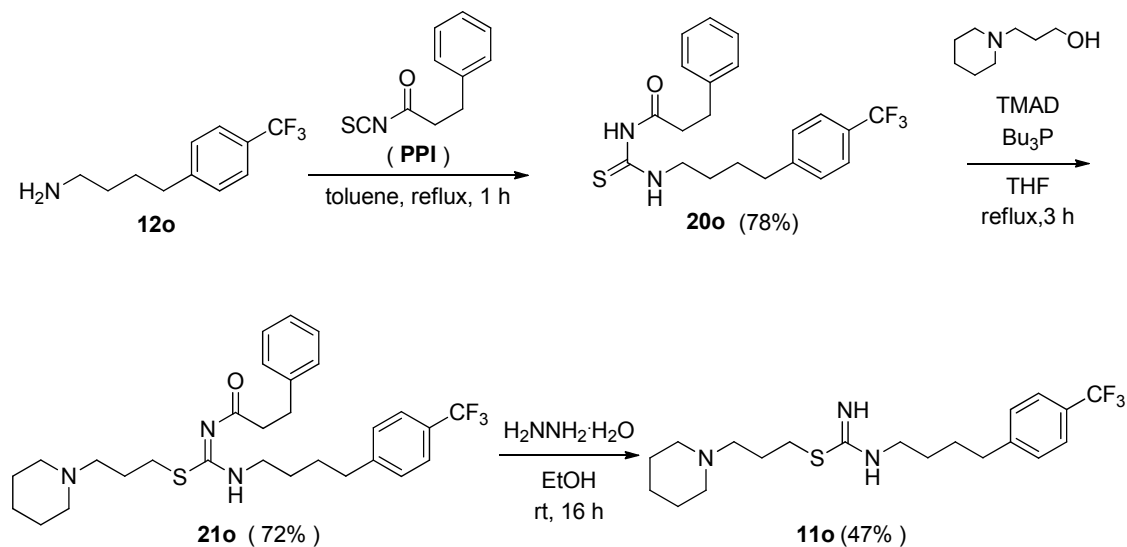
もう一方の、**PPI** を用いる合成法は、同じアミン **12o** を出発原料とし、**PPI** を付加させてチオウレア **20o** (78%) を合成後、*S*-アルキル化により、アシルイソチオウレア **21o** が収率 72% で得た後、**23o** をエタノール溶媒中、ヒドラジン水和物 1 当量を加え、室温で 16 時間反応させると、目的化合物 **11o** を収率 47% で得るものである。²⁶⁾ アミン **12o** から **11o** への 3 工程の総収率は 26%、総反応時間が 20 時間となった。

S-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレアの合成において、**NPAI** を用いる合成法は、**PPI** を用いる方法に比べ、反応時間は 1/3 に短縮され、総収率は 2 倍以上に改善された。

A) NPAI method



B) PPI method



Scheme 10. Modified synthesis of isothiurea **11o**

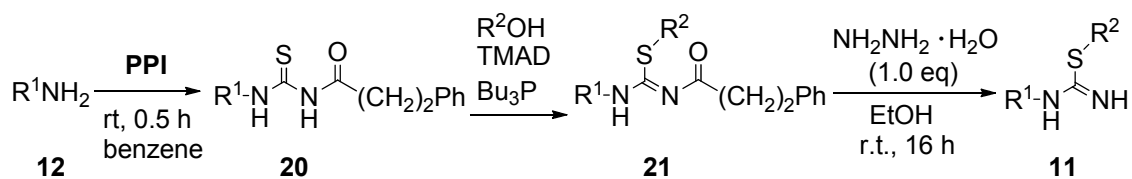
第七節 新規非イミダゾール系 H_3R リガンド候補化合物の合成

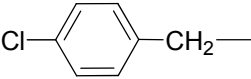
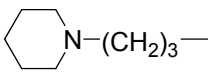
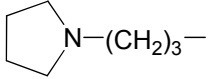
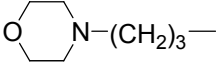
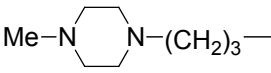
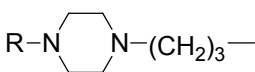
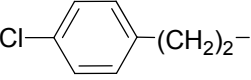
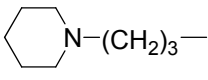
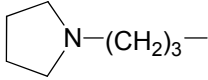
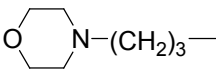
クロベンプロピットを基盤化合物とした新規非イミダゾール系 H_3R アンタゴニストの合成研究では、**PPI** の改良法として **NPAI** 法を研究の中で開発したため、薬理評価を行った化合物の多くは **PPI** 法を用いて合成した。

まず、イミダゾールに替わる塩基性部位を確定させるため、クロベンプロピットのイミダゾールを代表的な環状 2 級アミンのピペリジン、ピロリジン、モルホリン、ピペラジン、メチルピペラジンに変換した化合物を合成し(**Table 10, entry 1-5**)、次いで、イソチオウレア中間鎖とフェニル基末端の間の炭素鎖を一つ伸ばした C_2 タイプの化合物を合成した(**Table 10, entry 6-8**)。Table 10 の合成結果は、修士論文にある結果を改めてここに示すものである。^{26b)}

後述する薬理評価の結果から、環状アミンはピペリジン環に固定し、イソチオウレアとフェニル基との間の炭素鎖の長さによる構造活性相関を見るため、炭素鎖をさらに C_3 から C_5 に延長した化合物も合成した(**Table 11, entry 1-7**)。そして、炭素鎖の長さによる構造活性相関の結果から、イソチオウレア部位とフェニル環の間の炭素鎖数を 4 に固定し、最後に、フェニル基の疎水性をより高めるために、パラ位置換基を種々変更した化合物(**Table 11, entry 7-10**)、さらに、トリフルオロメチル基(CF_3)の位置をメタ位、オルト位に変更したもの(**Table 12, entry 1,2**)、二置換 CF_3 にしてより疎水性を高めたもの(**Table 12, entry 3-5**)を順次合成した。

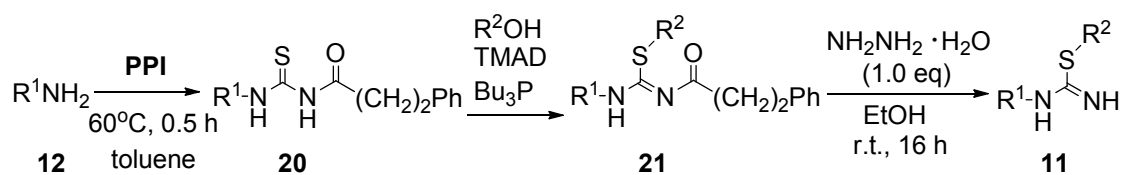
Table 10. Synthesis of cyclic-amine-containing isothioureas

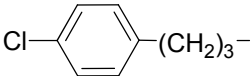
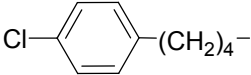
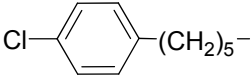
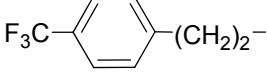
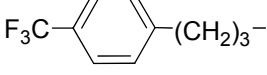
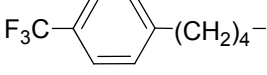
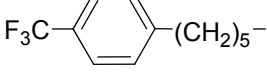
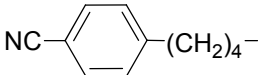
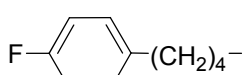
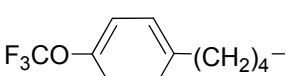
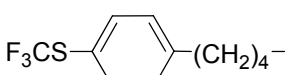


entry	R ¹	R ²	20	21	11	yield (%)
1			78 (20b)	64 (21b)	76 (11b)	
2			78 (20c)	51 (21c)	76 (11c)	
3			78 (20d)	62 (21d)	52 (11d)	
4			78 (20e)	51 (21e)	66 (11e)	
5			78 (20f)	43 (21f) ^a	43 (11f) ^b	
<hr/>						
6			40 (20g)	34 (21g)	64 (11g)	OUP-181
7			40 (20h)	64 (21h)	32 (11h)	
8			40 (20i)	57 (21i)	50 (11i)	

a) R = Boc b) R = H; 2 step yield; deprotection by HCl

Table 11. Synthesis of piperidine-containing isothioureas 1



entry	R ¹	20	yield (%) 21	11
1		40 (20j)	46 (21j)	58 (11j)
2		46 (20k)	76 (21k)	52 (11k) OUP-186
3		49 (20l)	76 (21l)	44 (11l)
4		68 (20m)	57 (21m)	41 (11m)
5		53 (20n)	71 (21n)	51 (11n)
6		50 (20o)	68 (21o)	47 (11o)
7		40 (20p)	74 (21p)	56 (11p)
8		34 (20q)	68 (21q)	39 (11q)
9		41 (20r)	75 (21r)	46 (11r)
10		33 (20s)	61 (21s)	49 (11s)
11		86 (20t)	61 (21t)	50 (11t)


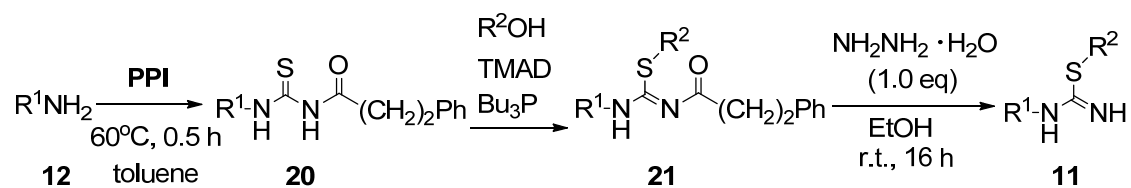
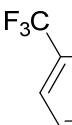
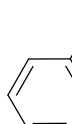
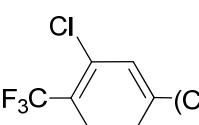
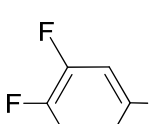
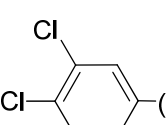
a) R² = N-(CH₂)₃—

Table 12. Synthesis of piperidine-containing isothioureas 2



entry	R ¹	yield (%)	
		20	11
1		65 (20u)	46 (11u)
2		51 (20v)	13 (11v)
3		47 (20w)	52 (11w)
4		33 (20x)	34 (11x)
5		60 (20y)	55 (11y)

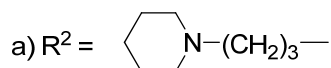
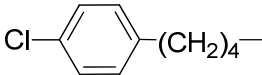
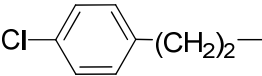
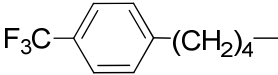
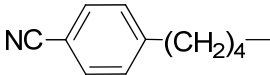
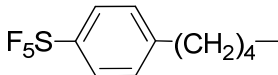
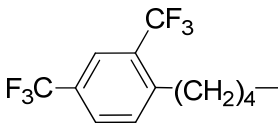
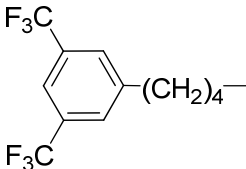


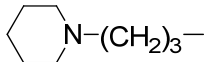
Table 7 で示したように、炭素鎖が長くなるにつれ、収率の低下が見られたことから、前述の通り合成法の改良を行い、**NPAI** を用いる合成法を見出した。この合成法使い、薬理評価の高かった化合物の再合成と、より疎水性の高い置換基を有する化合物の合成を行った(**Table 13**)。²⁷⁾

この改良により、**Table 11, entry 2** にある **PPI** を用いるイソチオウレア **11k** の合成の場合、アミン **12k** からの 3 工程総収率は 18%であったが、**NPAI** を用いるイソチオウレア **11k** の合成においては(**Table 13 entry 1**)、アミン **12k** からの 3 工程総収率が 74%と非常に高い収率で得られるようになった。他のイソチオウレア **11** の合成でも同様に、**11g** の場合は総収率 9% (**Table 10 entry 6**)から 45% (**Table 13 entry 2**)、**11o** の時は総収率 16% (**Table 11 entry 6**)から 57% (**Table 13 entry 3**)、**11q** では総収率 9% (**Table 11 entry 8**)から 32% (**Table 13 entry 4**)と、**NPAI** 法によって総収率がそれぞれ 4~5 倍に大きく改善された。

さらに疎水性の高い置換基を導入した化合物として、強力な電子吸引性と高い脂溶性を有するペンタフルオロスルファニル基を導入したもの(**11z**)や、二置換のトリフルオロメチル基を導入した化合物(**11aa,11ab**)を効率よく合成した(**Table 13, entry 5-7**)。

Table 13. Synthesis of isothioureas with NPAI

$ \begin{array}{c} \text{R}^1\text{NH}_2 \xrightarrow[\text{reflux, 1 h}]{\text{NPAI}} \text{R}^1\text{NH}-\text{C}(=\text{S})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2 \\ \text{12} \qquad \qquad \qquad \text{22} \\ \text{toluene} \end{array} \xrightarrow[\text{Bu}_3\text{P}]{\text{R}^2\text{OH, TMAD}} \text{R}^1\text{NH}-\text{C}(=\text{S}(\text{R}^2))=\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2 $ $ \xrightarrow[\text{MeOH, r.t., 1 h}]{\text{H}_2 \text{ (balloon), 10\% Pd/C}} \text{R}^1\text{NH}-\text{C}(=\text{S}(\text{R}^2))=\text{NH} $ $ \text{23} \qquad \qquad \qquad \text{11} $				
entry	R ¹	22	23	yield (%)
1		92 (22k)	93 (23k)	87 (11k) OUP-186
2		91 (22g)	62 (23g)	79 (11g) OUP-181
3		90 (22o)	76 (23o)	83 (11o)
4		94 (22q)	67 (23q)	50 (11q)
5		95 (22z)	86 (23z)	63 (11z)
6		54 (22aa)	44 (23aa)	70 (11aa)
7		65 (22ab)	69 (23ab)	43 (11ab)

a) R² = 

本研究はここまで、塩基性末端(ピペリジン)-イソチオウレア中間鎖-疎水性末端(フェニル基)を基本構造に合成研究を行ってきたが、一方で、Fig. 13 に示すように、弱いながらも H₃R アンタゴニスト活性を持つジアミン海洋天然物 **Aplysamine**⁵⁵⁾が発見されたことから、Johnson & Johnson 社では、それに基づいて **JNJ-5207852**⁵⁶⁾を発表していた。そこで、本研究においても、両末端とも塩基性部位を持つビス-ピペリジン化合物 **OUP-191 (11ac)**をデザインした。

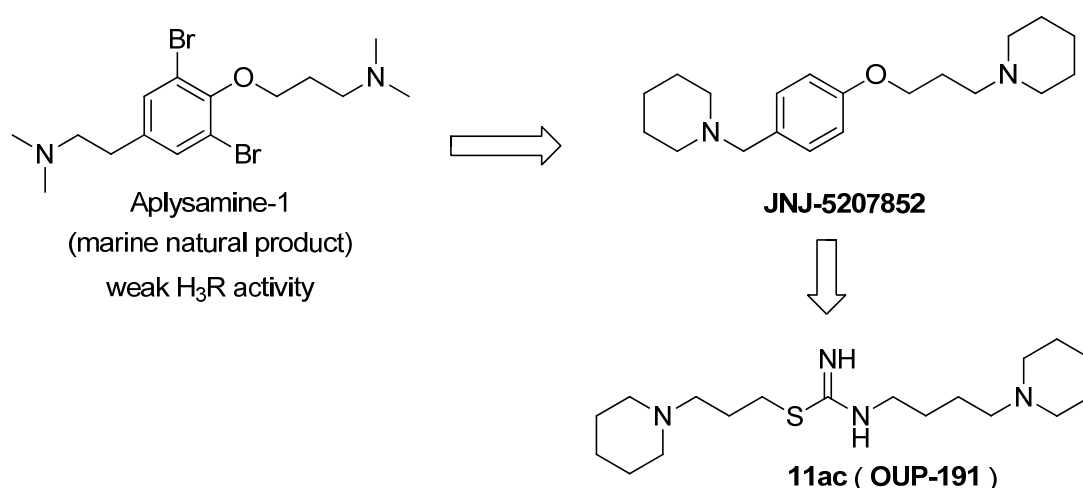
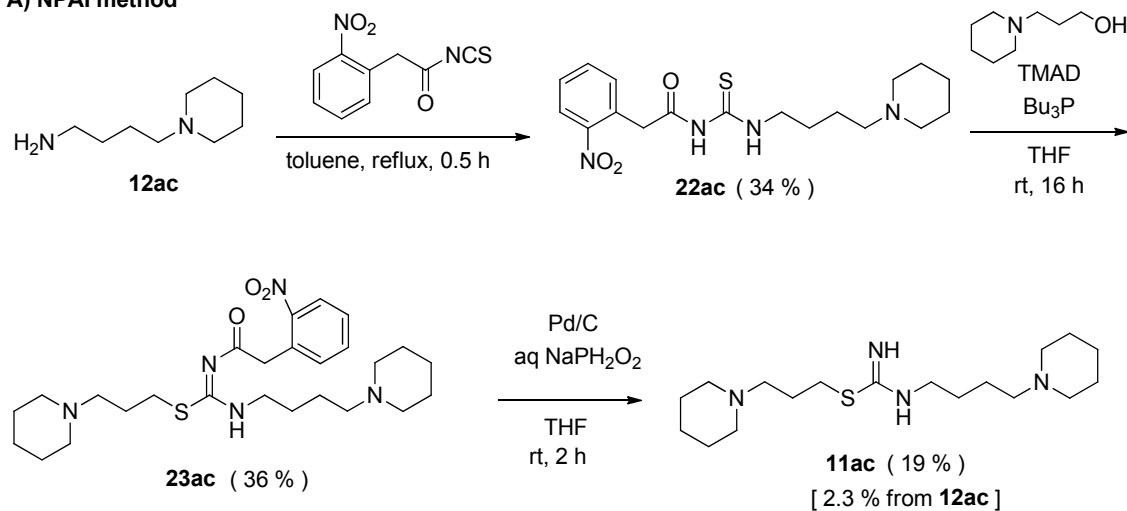


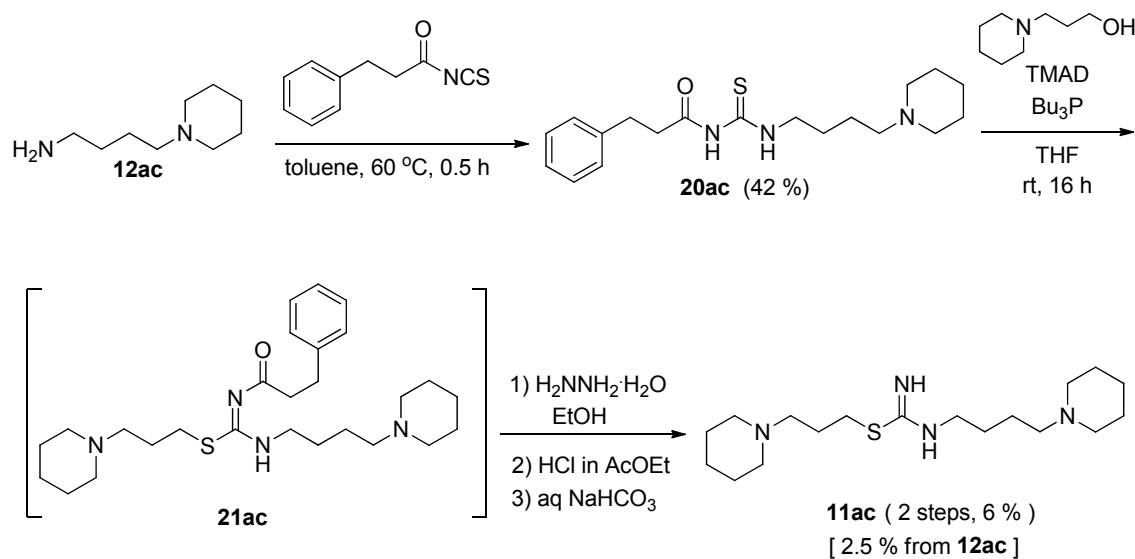
Fig. 13. Structures of bis-piperidine H₃R antagonists

ビス-ピペリジン **11ac** の合成では(Scheme 11)、2つのピペリジン環の影響により極性が強くなり、単離精製が難しくなったことから、収率は全体的に低下した。特に、*N*-アシルイソチオウレア **21ac** においては、ピペリジンプロパノールとの分離が出来ず、混合物のまま次の脱アシル化を行った。そのため、**NPAI** 法、**PPI** 法のいずれにおいても3工程総収率は低くとどまった。

A) NPAI method



B) PPI method



Scheme 11. Synthesis of bis-piperidine isothiurea 11ac

以上、合成したイソチオウレア **11** は、全て塩酸塩とし、水溶性化合物として薬理評価を行った。

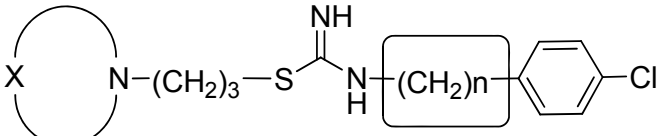
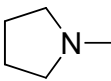
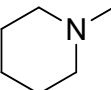
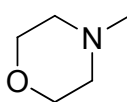
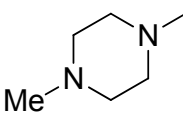
第三章 H₃R アンタゴニスト候補化合物の薬理活性評価

第一節 *in vitro* H₃R アンタゴニストの機能活性評価

合成した非イミダゾール系 H₃R アンタゴニスト候補化合物の薬理評価は、共同研究者の大阪大学医学部保健学科の大和谷厚教授らによって行われた。*in vitro* 機能活性はヒト H₃R(hH₃R)を強制発現させた CHO-K1 細胞を用いて行われた。細胞内の cAMP 濃度を LANCE™ cAMP 384 kit (PerkinElmer)を用いて、製品プロトコールに従って測定が行われた。H₃R アゴニストとして R- α -メチルヒスタミンを用い、アゴニストとの競合阻害活性の指標(potency)である pIC₅₀ 値及び、アンタゴニストとしての親和性(affinity)を示す pA₂ 値をそれぞれ算出し、H₃R アンタゴニストとしての評価を行った。

まず、イミダゾールに代わる環状アミンを探索するため、クロベンプロピットのイミダゾールをそれぞれ、ピロリジン (11c)、ピペリジン (11b)、モルホリン (11d)、メチルピペラジン (11e)、ピペラジン (11f)に置換したもので検討したところ(Table 14, n=1)、ピロリジン (11c)、ピペリジン (11b)に pIC₅₀ > 7 のアンタゴニスト活性が確認できた。さらに、ピロリジン (11c)、ピペリジン (11b)、モルホリン (11d)の 3 種に関してはイソチオウレア中間鎖とフェニル基末端との間の炭素鎖を一つ伸ばし、C₂ (n=2)としたもので検討すると(Table 14, n=2)、ピペリジンにおいて、炭素鎖 1 の 11b (n=1)より炭素数 2 の 11g (n=2 : pIC₅₀=8.1, OUP-181)のアンタゴニスト活性が 10 倍増加することが判明した。そこで、ピペリジン環を塩基性部位とした。²⁸⁾

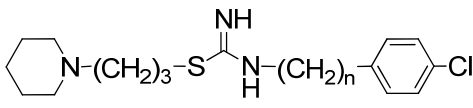
Table 14. Evaluation of OUP compounds against human H₃R

<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <i>in vitro</i> human H₃R pIC₅₀^{a)} </div> </div>			
11			
	11c	n = 1	7.7 ± 0.1
	11h	= 2	7.5 ± 0.1
	11b	= 1	7.1 ± 0.4
	11g (OUP-181)	= 2	8.1 ± 0.2
	11d	= 1	5.8 ± 0.4
	11j	= 2	6.5 ± 0.2
	11e	= 1	5.9
	11f	= 1	5.2

a) *in vitro* functional assay : human H₃R expressed in CHO-K1 cells.

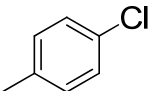
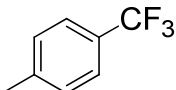
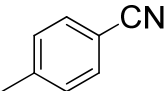
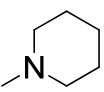
炭素鎖を C_2 とすると強いアンタゴニスト活性が現れたことから、次に炭素鎖の長さと H_3R アンタゴニスト活性との相関を調べるため、イソチオウレア中間鎖とフェニル基の間の炭素数の異なる化合物を用い、その pA_2 値と pIC_{50} 値を測定した (Table 15)。炭素数 n が 1 から 2 に伸びると、 pIC_{50} は 7.1 から 8.1 とアンタゴニスト活性は 10 倍に増えた。アンタゴニストとしての阻害活性を表す pIC_{50} 値は、ここから炭素数を増やしても大きく変化していかなかったが、受容体との親和性を表す pA_2 値では、炭素鎖数が 2 から 3 に伸びると 7.4 から 8.7 へと上昇、さらに、3 から 4 と伸びると 8.7 から 9.6 へと大きく上昇した。炭素鎖数 $n=4$ の **11k (OUP-186)** が最大の pA_2 値 9.6 を示し、クロベンプロピットの 10.0 にほぼ匹敵する強力なアンタゴニストであることが明らかとなった。また、炭素鎖を 5 にすると、 pA_2 値と pIC_{50} 値はいずれも減少し、イソチオウレア中間鎖とフェニル基の間の炭素鎖数は 4 が最適であると判断した。²⁸⁾

Table 15. The influence of elongation of linker

 11		<i>in vitro</i> (hH ₃ R)	
		pA_2	pIC_{50}
11b	$n = 1$	7.4	7.1 ± 0.4
11g (OUP-181)	2	7.4	8.1 ± 0.2
11j	3	8.7	8.2 ± 0.1
11k (OUP-186)	4	9.6	8.2 ± 0.1
11l	5	8.0	7.5 ± 0.1
<hr/>			
Clobenpropit		10.0	9.1 ± 0.2

さらに、フェニル基の *p* 位置換体の比較を行った。疎水性をより上げる目的で、**11k (OUP-186)**のクロルの代わりにトリフルオロメチル基に置き換えた **11o**、シアノ基を導入した **11q** では、**11o** に強いアンタゴニスト活性が見られるものの、 pA_2 値と pIC_{50} 値のいずれも **11k** を超える強いアンタゴニスト作用は見いだせなかった。シアノ置換体 **11q** は、 pA_2 値、 pIC_{50} 値の両方において 8.7 と高いアンタゴニスト活性を示した。さらに、ビス-ピペリジン化合物 **11ac (OUP-191)**にも強いアンタゴニスト活性が確認されたことから、**OUP-191** は、これまでとは異なる H_3R との結合様式を持つ H_3R アンタゴニストであると推定した (Table 16)。²⁸⁾

Table 16. hH_3R Antagonistic potencies of isothioureas

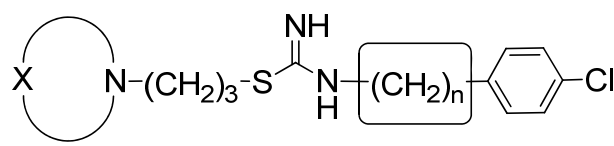
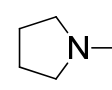
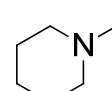
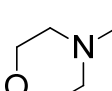
entry	$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{S}-\text{C}(=\text{NH})\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{R}$			<i>in vitro</i> (hH_3R)	
	11	R		pA_2	pIC_{50}
1	11k (OUP-188)			9.6	8.2 ± 0.1
2	11o			7.9	7.8 ± 0.3
3	11q			8.7	8.7 ± 0.1
4	11ac (OUP-191)			8.7	8.2 ± 0.0

第二節 *in vivo* ラット脳マイクロダイアリシスの評価

前節で hH_3R に強いアンタゴニスト活性が見られた **OUP** 化合物に対して、*in vivo* ラット脳マイクロダイアリシス法による、ラットの脳内のヒスタミン遊離動態を調べた。 H_3R は、脳内ヒスタミン遊離量を調節しているため、アンタゴニスト活性があれば、定常時に比べて脳内ヒスタミン遊離量の増加が確認できる。半透膜プローブを H_3R 密度の高い視床下部前部に差し込み、状態が安定してからさらに 60 分経過した時点より化合物の投与を開始し、ヒスタミン遊離量の変化が一定に落ち着いた時点の変化量を数値化して示した。ただし、個体差や季節によってヒスタミン遊離量の変化の程度に差が生じるため、程度の差が小さい場合、アンタゴニスト活性の有無を調べるだけに留めており、その強弱に優劣はつけなかった。なお、この結果は季節差をなくすため、同一時期にまとめて測定した結果より算出している。(Fig. 7)。

イソチオウレア中間鎖とフェニル基の間の炭素鎖を 1 又は 2 とし、塩基性部位をピロリジン **11c,11h**、ピペリジン **11b,11g (OUP-181)**、モルホリン **11d,11i** に置き換えたものを用い、ヒスタミン遊離量の変化を見た。**11c** にはアンタゴニスト活性が確認できなかったが、**11h**、**11b**、**11g (OUP-181)**、**11d**、**11i** には、ヒスタミン遊離量が増加するアンタゴニスト活性が現れた(Table 17)。

Table 17. *In vivo* rat brain microdialysis data for isothioureas containing various cyclic amines

		% of basal histamine release <i>in vivo</i> rat brain microdialysis
11c		n = 1 N. A. ^{a)}
11h		2 150 - 160
11b		1 130 - 140
11g (OUP-181)		2 150 - 160
11d		1 140 - 150
11i		2 140 - 150

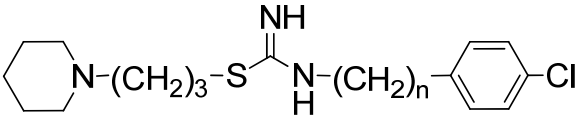
a) N. A. : non active.

次に、前節で hH₃R にアンタゴニスト活性を確認した時と同様に、イソチオウレアと疎水性末端の間の炭素鎖を n=1~5 に伸ばした **11b** (n=1)、**11g** (n=2, **OUP-181**)、**11j** (n=3)、**11k** (n=4, **OUP-186**)、**11l** (n=5) を比較した。

先の *in vitro* での hH₃R のアンタゴニスト活性を確認した場合、受容体との親和性を表す pA₂ 値が、炭素鎖数が 2 から 3 に伸びると 7.4 から 8.7 へと上昇、さらに、3 から 4 と伸びると 8.7 から 9.6 へと大きく上昇し、**11k (OUP-186)** が最大の pA₂ 値 9.6 を示した。そのため、ラットでも同じように炭素鎖 n=4 の時にもヒスタミン遊離量の増加が見られるものと期待していた。しかし、ラット脳マイクロダイアリス実験の場合、炭素鎖 n=1,2 の **11b** や **11g (OUP-181)** では脳内ヒスタミン遊離量の増加が見られアンタゴニスト活性が確認できるものの、炭素鎖をさらに延長した **11j** (n=3)、**11k** (n=4, **OUP-181**)、**11l** (n=5) ではヒスタミン遊離量は基礎遊離量(100%)を維持したままで、アンタゴニスト活性が全く認められなかった。²⁸⁾

これまでの H₃R リガンドに関する多くの報告では、ヒスタミン H₃R におけるヒトとラットの種差はほとんどないものとされ、報告例もほとんどなかった。しかし、**OUP-186** では、hH₃R で、pA₂=9.6 と強力なアンタゴニスト活性を示す一方で、rH₃R では全く作用が見られないという極端な動物間種選択性が見られた。この **OUP-186** の挙動は、筆者の知る限り初めての例である。

Table 18. *In vivo* rat brain microdialysis data for isothioureia homologs

 11			<i>in vivo</i> rat brain microdialysis ^{a)}
11b		n = 1	134.4 ± 4.4
11g	(OUP-181)	2	145.5 ± 3.3
11j		3	102.2 ± 2.1
11k	(OUP-186)	4	101.2 ± 1.4
11l		5	90.5 ± 2.6
Clobenpropit			145.6 ± 6.7

a) % of basal histamine release

第三節 *in vitro* H₄R 機能活性評価

序章でも述べたとおり、H₃R と H₄R の相同性は高く、チオペラミドは、H₃R と H₄R に対してともにアンタゴニストとして作用し、クロベンプロピットは、H₃R でアンタゴニスト、H₄R では逆にアゴニストとして作用するなど、大抵の H₃R リガンドは H₄R に対しても作用を示す (Fig. 4)。H₃R/H₄R リガンドの開発において、この受容体サブタイプ選択性は避けられない課題である。

H₄R に対する *in vitro* 機能活性は、曲田拓司修士および澤田紘一修士の修士論文にその詳細が記載されている。ここでその結果をお借りすると、ラットで強い H₃R アンタゴニスト活性が確認された **11g** (OUP-181)、ヒトで強い H₃R 親和性 pA₂ 値の確認された **11j** と **11k** (OUP-186)、さらに、hH₃R アンタゴニスト活性 pIC₅₀ 値の最も高かった **11q** とビス-ピペリジン化合物の **11ac** (OUP-191)、この 5 つの OUP 化合物はいずれも hH₄R ではアゴニスト作用もアンタゴニスト作用も確認できなかった。つまり、これら OUP 化合物は hH₃R 選択的アンタゴニストである。

第四節 OUP 化合物と hH₃R/rH₃R との *in silico* 解析

序章で述べた通り、hH₃R と rH₃R のアミノ酸配列の相同性は高く、ヒト-ラットの膜貫通(TM)領域内において、119 番目(Thr-Ala)と 122 番目(Ala-Val)のわずかに二か所のアミノ酸配列の違いに過ぎない。¹³⁾そのため、これまでは H₃R における種差はほとんど問題にならないとされていた。ところが、本研究では、**OUP-181** は hH₃R に対して pA₂=7.4 とアンタゴニスト活性を示し、また、rH₃R に対しても脳内ヒスタミン遊離量が増加するアンタゴニスト活性を示した。しかし、**OUP-181** より炭素鎖が二つ長い **OUP-186** は、hH₃R に対して pA₂=9.6、pIC₅₀=8.2 と非常に強い受容体親和性と hH₃R アンタゴニスト活性を示すものの、rH₃R に対しては全く作用を示さないという特異な分子であった。この **OUP-186** の著しい動物間種選択性は、H₃R リガンドとしては初めての例である。

OUP-186 のヒト選択性は、ヒト/ラット TM3 内に存在する、119 番目の Thr-Ala か、122 番目の Ala-Val によって生じてくるものと推定した。薬理評価の結果を基に、共同研究者の山本大助准教授(大阪医科大学)は、統計計算科学システム MOE を用いた *in silico* docking 実験を行った。結合モデリングには、hH₃R と **OUP-186** 及び、rH₃R と **OUP-181** を選び、それぞれの間での結合様式を解析した。

最近、岩田らにより報告された、hH₁R の X-線結晶構造解析¹²⁾を基に、hH₃R と rH₃R のホモロジー解析を行った。まず、リガンドの無い状態の、水溶媒中で脂質膜を含むモデルで分子動力学シミュレーショ

ンを行い、H₃R の受容体ポケットを解析した。次に、OUP 化合物を受容体内の本来ヒスタミンが配位する位置に導入し、再び演算を続けることで、結合様式の最適化を行い、最安定配座を求めた。H₃R-リガンド結合モデルの結果及びそれを模式化した図を Fig. 13 に示した。

それぞれの受容体の大きく異なる点は、ヒトの場合 (Fig. 13, 1)、TM3 内 122 番目が Ala であり、受容体ポケットは細く深いチューブ状になっているが、ラットの場合 (Fig. 13, 2) では 122 番目は Val であるため、イソプロピル基が受容体ポケットの内側に張り出し、ポケットに底を作って浅い井戸状になっている点である。結合様式は、OUP 化合物のピペリジン環窒素は、TM3 内 114 番目の Asp と配位し、イソチオウレアの塩基性部位は TM5 内 206 番目の Glu と配位する様子は、ヒトもラットも共通して見られる。そして、hH₃R-OUP-186 の場合、受容体ポケットの深い位置まで末端疎水性フェニル基が入り込み、OUP-186 が安定している。一方、rH₃R-OUP-181 の場合、受容体ポケットの底付近まで OUP-181 が入り込み、122 番目 Val 側鎖のイソプロピル基と OUP-181 のフェニル基が π -H 相互作用でつながり安定している。しかし、rH₃R に対し OUP-186 の様に長い炭素鎖のものが入ってゆくと、この Val 側鎖に阻まれて結合できなくなる。実際、OUP-186 と rH₃R との結合モデルを演算しても、収束しない結果となった。また、Fig. 4 に示す従来発表されたヒスタミンリガンドのいずれもが OUP-186 より 5Å以上短い分子であることから、122 番目のアミノ酸の違いにより生じる受容体 cavity の差が OUP 化合物のいくつかはヒト選択性という特異な特徴をもたらしたものと推定している。²⁸⁾

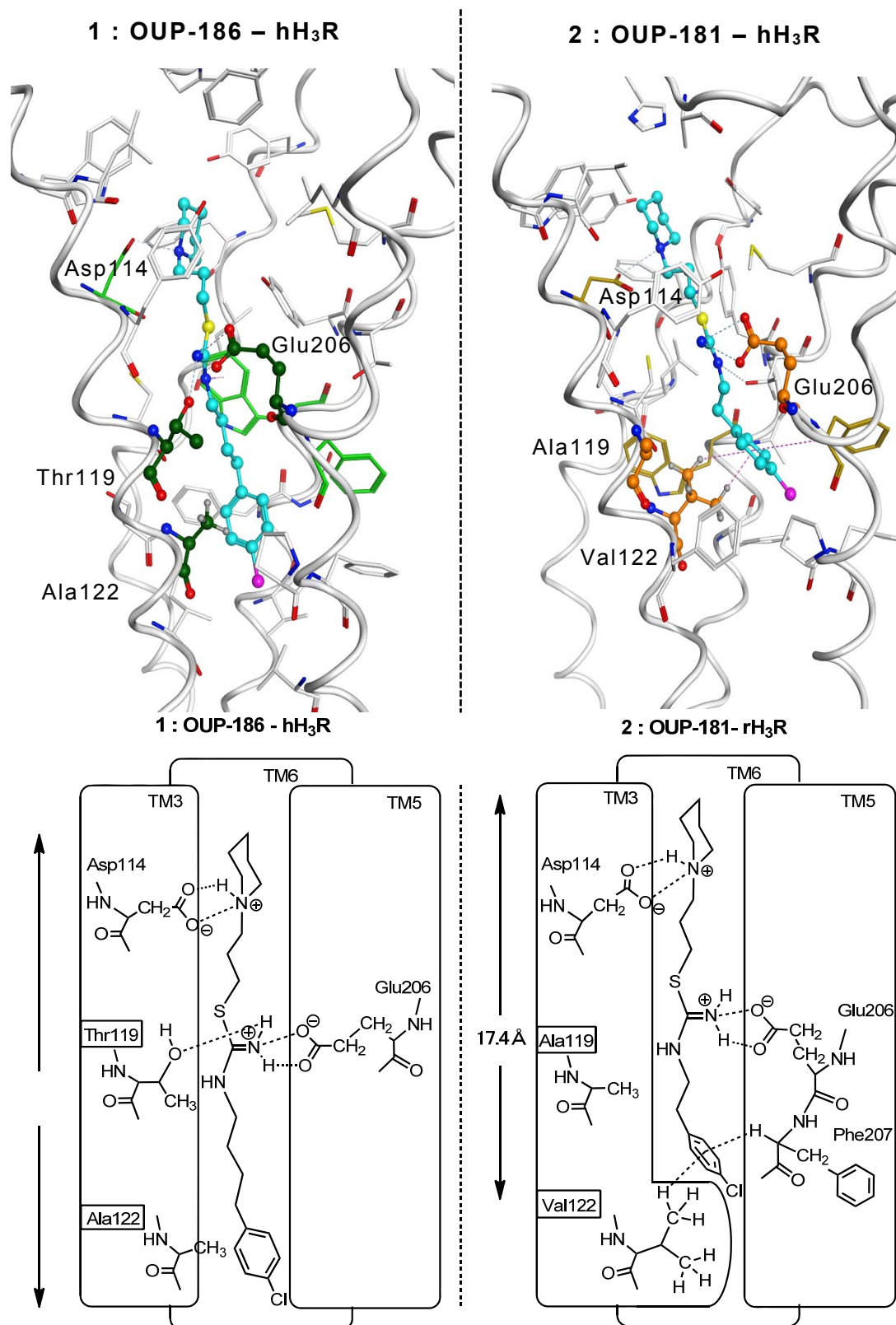


Fig. 13. Predicted molecular structures of antagonists in hH₃R and rH₃R TM models

さらに、ビス-ピペリジン化合物 **OUP-191** でも、強いアンタゴニスト活性が確認できたことから ($pA_2=8.7$)、**OUP-191** と hH_3R との結合様式も調べてみたところ、**OUP-186** とは全く異なる結合様式が推測された。

Fig. 13 に示すように、**OUP-186** の場合は、隣接する TM3, 5, 6 に囲まれた受容体ポケットに深く真直ぐ収まる形で安定している。一方、**OUP-191** の場合は、Fig. 14 に示すように、イソチオウレア *N*側-側鎖のピペリジン部位が TM5 内 206 番目 Glu と配位し、イソチオウレアの塩基性部位が TM3 内 114 番目の Asp と配位することで、受容体ポケットに対し浅く入り込み、イソチオウレア *S*側-側鎖のピペリジン末端側は折れ曲がり、奥にある TM7 の 395 番目の Glu と配位することで受容体ポケット入口を塞ぐような形で安定している様子が推察出来た。

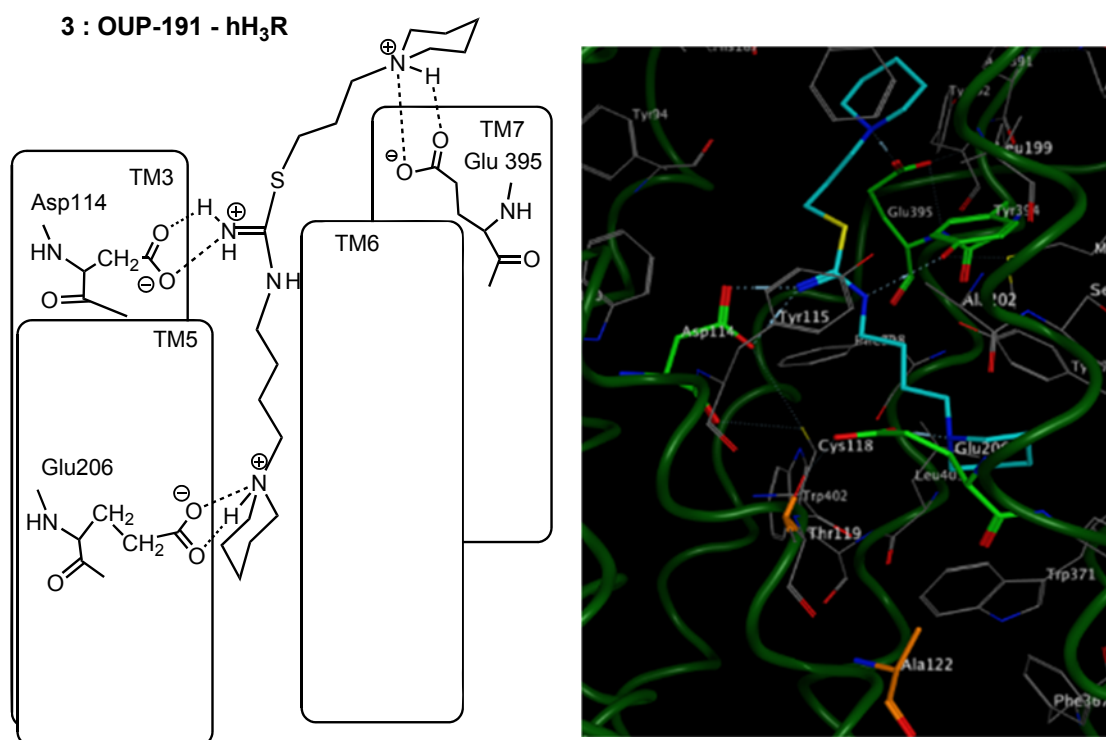


Fig. 14. OUP-191 in hH_3R TM model

結 語

本論文のヒスタミン H_3 受容体アンタゴニストの創製に関する研究において、以下に示す成果をあげた。

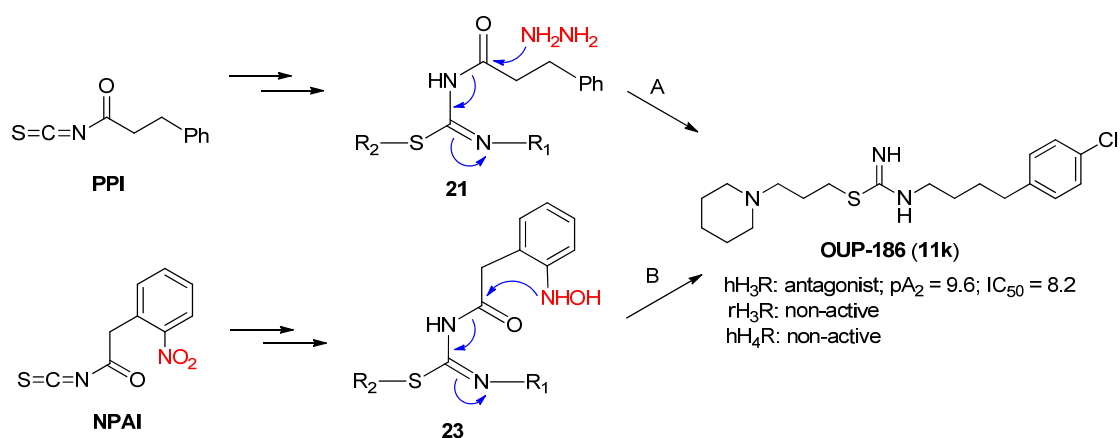
1) 春沢信哉教授らのグループで合成されたキラル H_3R アゴニストのイミフラミン²³⁾の構造を基に、6員環テトラヒドロピラン誘導体をデザイン、合成後さらに、アミン末端部位に疎水性基を導入し、(2*S*,5*R*)配置の新規 H_3R アンタゴニスト **OUP-153** を見出した。²⁵⁾

2) イソチオウレアは医薬品、合成中間体として重要な化合物群であるが、これまでその合成法は限られたものが多く、信頼性の高い合成法はなかった。そこで、**PPI** から誘導した、*N*-アシルイソチオウレア中間体に対し、1当量のヒドラジン水和物を直接反応させ、分子間で **N-CO** 結合を切断してイソチオウレアを得る新規合成法を開発した (Scheme 12)。²⁶⁾

3) **NPAI** から合成したニトロ基導入 *N*-アシルイソチオウレア中間体を、**Pd/C** 触媒存在下、水素ガス雰囲気下の緩和な還元を行うと、ニトロ基がヒドロキシルアミンに変換され、分子内環化反応と同時に **N-CO** 結合切断反応が起こり、イソチオウレアを生成する第二合成法を確立し、新規合成法の改良を行った (Scheme 12)。²⁷⁾

4) イミダゾールを含有する第一世代の中で最強の H_3R アンタゴニストであるクロベンプロピット¹⁶⁾を基にデザインした、*S*-アルキル-*N*-アルキルイソチオウレア構造を持つ第二世代の非イミダゾール系 H_3R アンタゴニストの合成研究を行い、 hH_3R に対しては $pA_2 = 9.6$ 、 $pIC_{50} = 8.2$ と強力なアンタゴニスト活性を示す *N*-[2-(4-クロロフェニル)ブチル]-*S*-(3-ピペリジノプロピル)イソチオウレア (**OUP-186**)を見出した。また、**OUP-186** はこれまで種差が問題とされなかった H_3R リガンド研究の中で、 rH_3R に対しては全く作用を示さない動物間種選択性を持つ分子であることが判明した。この種選択性についての *in silico* 結合研究は、ヒトとラットの H_3R の 122 番目のアミノ酸残基の差異に起因する事を強く支持した。²⁸⁾

また、**OUP-186** は、 hH_4R に不活性であり受容体サブタイプ選択もある。**OUP-186** の様に明瞭な選択性を持つ、ヒト H_3R アンタゴニストの報告例はこれまでに無く、非常に特異な例である。



Scheme 12. Synthetic approaches to isothioureas

実験の部

IR スペクトルは島津 IR-435 により測定した。NMR スペクトル測定は Varian UNITY-500 及び Agilent 400-MR-DD2、Varian Mercury-300、Varian Gemini-200 を使用した。いずれもテトラメチルシラン (TMS) を内部標準とし、ケミカルシフトは δ (ppm) 値で示した。シグナルの表示は s = singlet, d = doublet, t = triplet, quart = quartet, quint = quintet, m = multiplet とする。マスマスペクトルは日立 M-4000H で測定した。 ^{19}F -NMR スペクトルは 282 MHz (Varian Mercury-300) で測定しケミカルシフトは CF_3COOH を基準とし測定した。融点はヤマト科学の MELTING POINT APPARATUS MODEL MP-21 で測定した。特に断りがない場合は、反応はアルゴン気流下で行い、反応溶媒は無水溶媒を使用し、溶媒留去時には減圧留去を行った。MW 反応装置は、マイルストーンゼネラル社の MULTISYNTH 及び、バイオタージ社の Biotage Initiator を用いた。また、クロマトグラフィー用シリカゲルは富士シリシア化学のオープン用 BW-127ZH 又は、フラッシュ用 FL 60 D を用い、NH シリカゲルは富士シリシア化学 Chromatrex NH-DM1020 を使用した。

第一章 第一節の実験

(2S)-Benzyl 4-Carbamoyl-2-dibenzylaminobutyrate **3a**

K₂CO₃ (3.38 g, 24.5 mmol)を H₂O (8 mL)に溶かし、L-glutamine (730 mg, 5 mmol)の DMF 溶液(10 mL)に加え、MW反应用バイアルに移した。BnBr (2.4 mL, 20 mmol)を追加し、MW照射下 80°C で 1 時間反応させた。反応液を水と酢酸エチルで希釈し、有機層を分取し、芒硝乾燥、ろ過後、溶媒留去を行い得た油状粗生成物を、カラムクロマトグラフィー[BW-127ZH ; 酢酸エチル-ヘキサン(1 : 4~4 : 1)]で精製すると **3a** (1.44 g, 69%, 黄色油状)が得られた。

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.95-2.20(2H, m), 2.21-2.35(2H, m), 3.29-3.43 (1H, m), 3.50(2H, d, *J* = 21.6 Hz), 3.87(2H, d, *J* = 18.0 Hz), 4.94-5.10 (2H, m), 5.13-5.32(2H, m), 7.12-7.49(15H, m).

(4S)-4-Dibenzylamino-5-hydroxypentanamide **4a**

LiAlH₄ (2.23 g, 58.6 mmol)をジエチルエーテル(100 mL)に懸濁させ氷冷後、**3a** (12.2 g, 29.3 mmol)をジエチルエーテル(120 mL)に溶かして滴下した。0°C で 40 分撹拌を続けた後、水を加えてクエンチし、水(10 mL)、15%水酸化ナトリウム水溶液(10 mL)、水(10 mL)を順に加え、30 分撹拌した。硫酸マグネシウム、セライトを加え、ろ過後、溶媒留去し、得た油状粗生成物を、カラムクロマトグラフィー[BW-127ZH ; メタノール-酢酸エチル(1 : 9)]で精製すると **4a** (8.30 g, 91%, 黄色油状)が得られた。

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.51-1.78(m, 2H), 2.10-2.23(m, 2H), 2.68-2.82

(m, 1H), 2.97-3.08(br, 1H), 3.45-3.58(m, 4H), 3.80 (d, $J = 13.1$ Hz, 2H), 5.30-5.47(br, 2H), 7.25-7.37(m, 10H).

HR-MS: m/z : 313.1918 (Calcd for $C_{19}H_{25}N_2O_2$: 313.1915).

(5S)-5-Dibenzylaminotetrahydropyran-2-one 5a

4a (8.25 g, 26.4 mmol)をトルエン(570 mL)に溶かし、21 時間還流後、溶媒留去を行い、得られた油状粗生成物をカラムクロマトグラフィー [BW-127ZH; 酢酸エチル-ヘキサン(1:1)]で精製すると **5a**(7.66 g, 98%, 黄色油状)が得られた。

IR (film) cm^{-1} : 1730.

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 1.85-2.20(m, 2H), 2.32-2.53(m, 1H), 2.57-2.74 (m, 1H), 3.17-3.32(m, 1H), 3.59-3.78(m, 4H), 4.29-4.34(m, 2H), 7.23-7.38(m, 10H).

HR-MS m/z : 295.1571 (Calcd for $C_{19}H_{21}NO_2$: 295.1571).

2-*tert*-Butyldimethylsilyl-5-[(1*RS*,4*S*)-4-dibenzylamino-1,5-dihydroxypentyl]imidazole-*N,N*-dimethylsulfonamide 6a

5a (6.67g, 22.6 mmol)のトルエン溶液(120 mL)をドライアイス-メタノールバスで冷却し、1M-DIBAL トルエン溶液(45.2 mL, 45.2 mmol)を 15 分かけて滴下した。滴下後、 $-78^\circ C$ で 1 時間攪拌しメタノール(40 mL)を加えてクエンチし、室温で 30 分攪拌した。飽和炭酸ナトリウム水溶液(40 mL)を加えて室温で 10 分攪拌後、硫酸マグネシウムを加えてセライトろ過し、溶媒留去を行い、5-dibenzylaminotetrapyran-2-ol

の油状粗生成物が得られた。二置換イミダゾール(19.6 g, 67.8 mmol)を THF (66 mL)に溶かし-40°C に冷却後、1.6 M BuLi-hexane (42 mL, 67.8 mmol)を 15 分かけて滴下し、同温で 15 分撹拌を続けて、リチウム塩を生成させた。5-dibenzylaminotetrapyrans-2-ol の油状粗生成物をトルエン (45 mL)に溶かしたものを 20 分かけて加え、その後室温にて 15 時間撹拌した後、水を加えてクエンチした。溶媒留去後に、酢酸エチルと水で分配し、水層から酢酸エチルで 2 回抽出。有機層を合わせ、水洗、Brine 洗、芒硝乾燥後、ろ過して溶媒留去。得られた油状粗生成物をカラムクロマトグラフィー[BW-127ZH ; 酢酸エチル-ヘキサン(1 : 1)]で精製すると **6a**(12.12 g, 92%, 粉末状)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 0.45(s, 6H), 1.02(s, 9H), 1.21-1.38(m, 1H), 1.78-2.08(m, 3H), 2.76-3.20(m, 9H), 3.42-3.59(m, 4H), 3.80(m, 2H), 4.79-4.89(m, 1H), 7.15-7.42(m, 11H).

HR-MS m/z : 587.3077 (Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_4\text{O}_4\text{SSi}$: 587.3085).

4(5)-[(1*RS*,4*S*)-4-Dibenzylamino-1,5-dihydroxypentyl]imidazole 7a

6a (425 mg, 0.725 mmol) の THF(4 mL)溶液に 1.5*N* HCl(6 mL)を加え、4 時間還流。アンモニア水溶液で中和後に酢酸エチルで 3 回抽出、有機層を合わせて芒硝乾燥し、ろ過後に溶媒留去。得られた油状粗生成物をカラムクロマトグラフィー[BW-127ZH ; メタノール-酢酸エチル(1:4)]で精製すると **7a**(247 mg, 93%, アモルフ状)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.18-1.30(m, 1H), 1.62-1.95(m, 3H), 2.61-2.79(m, 1H), 3.36-3.51(m, 4H), 3.63-3.75(m, 2H), 4.58 (t, J = 9.2 Hz, 1H),

6.10-6.61(br, 2H), 6.78(s, 1H), 7.12-7.36(m, 11H).

HR-MS m/z : 366.2182 (Calcd for $C_{22}H_{28}N_3O_2$: 366.2180).

tert*-Butyl-4-[(2*RS*,5*S*)-5-dibenzylaminotetrahydropyran-2-yl]imidazole-1-carboxylate **8a*

7a (130 mg, 0.356 mmol)のトルエン溶液(50 mL)に、触媒量のパラトルエンスルホン酸(6 mg, 0.036 mmol)を加え、Dean-Stark water separator (molecular sieve 4A)を付けた装置を組み、24 時間激しく還流させた。溶媒留去後に、アンモニア水で中和し、クロロホルムで 3 回抽出を行った。有機層を合わせて硫酸マグネシウム乾燥後、溶媒留去し得られた油状粗生成物を THF 溶液 (1.5 mL)とした。Boc₂O (155 mg, 0.71 mmol)の THF 溶液(1.5 mL)とトリエチルアミン(0.10 mL, 0.71 mmol)を加え、室温で 17 時間攪拌した。溶媒留去後に得られた油状粗生成物をカラムクロマトグラフィー[BW-127ZH ; 酢酸エチル-ヘキサン(1:4)]で精製すると **8a**(109 mg, 69%, 無色油状)が得られた。

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.45-2.27(m, 13H), 2.76-2.94(m, 1H), 3.52-3.93(m, 5H), 4.07-4.16(m, 1H), 4.24-4.32(m, 3/4H), 4.65-4.70 (m, 1/4H), 7.14-7.43(m, 11H), 7.98 (s, 3/4H), 8.02 (s, 1/4H).

HR-MS m/z : 448.2600 (Calcd for $C_{27}H_{34}N_3O_3$: 448.2598).

4(5)-[(2*R*,5*S*)-5-Aminotetrahydropyran-2-yl]imidazole [(+)-1aa] and 4(5)-[(2*S*,5*S*)-5-aminotetrahydropyran-2-yl]imidazole [(-)-1ab]

8a (2.27g, 5.08 mmol)をエタノール(40 mL)に溶かし、1*N* HCl (25

mL)を加えて室温で 2 時間攪拌した。エタノールで共沸しながら、溶媒留去を行い、塩酸塩を得た。得られた塩酸塩をエタノール(45 mL)に溶かして還元瓶へ移し、10% Pd-C (2.9 g)を加え、水素ガス雰囲気下 (3.0 kg/cm²)、19 時間攪拌した。セライトろ過し溶媒留去して得られた塩酸塩をカラムクロマトグラフィー [NH シリカゲル ; CHCl₃-MeOH-30%NH₄OH (75:25:3)]で精製すると (+)-**1aa**(640 mg, 75%)と (-)-**1ab** (208 mg, 25%)がそれぞれ得られた。

(+)-**1a**: $[\alpha]_D = +17.1^\circ$ (c = 3.1, MeOH).

¹H-NMR (CD₃OD) : δ = 1.42(quant-d, J = 12.4, 3.4 Hz, 1H), 1.82(quant-d, J = 12.4, 3.4 Hz, 1H), 1.91-2.03(m, 1H), 2.03-2.17(m, 1H), 2.80(tt, J = 12.4, 3.4 Hz, 1H), 3.20(dd, J = 12.4, 3.4 Hz, 1H), 3.98(ddd, J = 15.2, 6.1, 2.8 Hz, 1H), 4.33(dd, J = 12.4, 12.4 Hz, 1H), 6.99(s, 1H), 7.63(s, 1H).

¹³C-NMR (CD₃OD) : δ = 31.6, 33.2, 48.3 (overlapped with CH₃OH in CD₃OD), 74.2, 74.5, 117.2, 136.4, 139.8.

HR-MS m/z : 167.1061 (Calcd for C₈H₁₃N₃O: 167.1058)

(-)-**1b**: $[\alpha]_D = -31.6^\circ$ (c = 2.9, MeOH).

¹H-NMR(CD₃OD) : δ = 1.66-1.78(m, 1H), 1.85-1.94(m, 1H), 1.98-2.05(m, 1H), 2.05-2.21(m, 1H), 2.92(brs, 1H), 3.77(s, 2H), 4.46(dd, J = 10.4, 2.3 Hz, 1H), 7.00(s, 1H), 7.63(s, 1H).

¹³C-NMR (CD₃OD) : δ = 27.4, 31.6, 48.6 (overlapped with CH₃OH in CD₃OD), 73.7, 74.8, 117.8, 135.0, 139.6.

HR-MS m/z : 167.1055 (Calcd for C₈H₁₃N₃O: 167.1058).

D-glutamine からそれぞれの対掌体(-)-**1ba** と(+)-**1bb** を合成した。

(-)-**1ba**: $[\alpha]_D = -14.7^\circ (c = 2.7, \text{MeOH})$

(+)-**1bb**: $[\alpha]_D = +22.2^\circ (c = 2.7, \text{MeOH})$.

化合物 **9**, **10** の合成法

1 のエタノール溶液に 10 当量のアルデヒド体とモレキュラーシーブ 3 Å を入れ、室温で 5 時間攪拌後、水素化ホウ素ナトリウム 20 当量を追加して室温で一晩攪拌を続けた。酢酸を加えて中和後にセライトろ過し溶媒留去して得られた油状粗生成物をカラムクロマトグラフィー [NH シリカゲル; CHCl₃-MeOH-30%NH₄OH (75:25:3)] で精製すると **9** 又は **10** が得られた。

4(5)-[(2S,5R)-5-Isopropylaminotetrahydropyran-2-yl]-1H-imidazole **9ba-a**

$[\alpha]_D = -21.8^\circ (c = 3.7, \text{MeOH})$.

¹H-NMR (CD₃OD) : $\delta = 1.06(\text{d}, J = 6.4 \text{ Hz}, 3\text{H}), 1.09(\text{d}, J = 6.4 \text{ Hz}, 3\text{H}), 1.34\text{-}1.49(\text{m}, 1\text{H}), 1.76\text{-}1.91(\text{m}, 1\text{H}), 1.93\text{-}2.04(\text{m}, 1\text{H}), 2.11\text{-}2.22(\text{m}, 1\text{H}), 2.81(\text{dddd}, J = 10.9, 10.9, 4.6, 4.5 \text{ Hz}, 1\text{H}), 2.99(\text{heptet}, J = 6.4 \text{ Hz}, 1\text{H}), 3.25(\text{dd}, J = 10.9, 10.8 \text{ Hz}, 1\text{H}), 4.07(\text{ddd}, J = 10.9, 4.6, 2.5 \text{ Hz}, 1\text{H}), 4.35(\text{dd}, J = 11.1, 2.5 \text{ Hz}, 1\text{H}), 6.97(\text{s}, 1\text{H}), 7.59(\text{s}, 1\text{H})$.

¹³C-NMR (CD₃OD) : $\delta = 22.6, 31.1, 31.6, 46.5, 51.3, 72.4, 74.7, 116.7, 135.6, 139.1$.

HR-MS m/z : 209.1530 (Calcd for C₁₁H₁₉N₃O: 209.1527).

4(5)-[(2*R*,5*R*)-5-Isopropylaminotetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 9bb-a

$[\alpha]_{\text{D}} = +30.9^{\circ}$ ($c = 1.9$, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : $\delta = 1.08(\text{d}, J = 6.7 \text{ Hz}, 3\text{H}), 1.11(\text{d}, J = 6.7 \text{ Hz}, 3\text{H}), 1.65\text{--}2.09(\text{m}, 4\text{H}), 2.78\text{--}2.84(\text{m}, 1\text{H}), 3.00(\text{heptet}, J = 6.7 \text{ Hz}, 1\text{H}), 3.72(\text{dd}, 1\text{H}, J = 11.8, 2.4 \text{ Hz}, 1\text{H}), 3.90(\text{ddd}, J = 11.8, 2.6, 2.5 \text{ Hz}, 1\text{H}), 4.48(\text{dd}, J = 10.7, 2.8 \text{ Hz}, 1\text{H}), 7.00(\text{s}, 1\text{H}), 7.62(\text{s}, 1\text{H})$.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) : $\delta = 22.3, 22.9, 27.3, 49.1, 70.9, 74.3, 117.2, 135.8, 139.1$.

HR-MS m/z : 209.1533 (Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$: 209.1527).

4(5)-[(2*S*,5*R*)-5-(3,3-Dimethylbutylamino)tetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 9ba-b

$[\alpha]_{\text{D}} = -18.3^{\circ}$ ($c = 4.1$, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : $\delta = 0.93(\text{s}, 9\text{H}), 1.34\text{--}1.50(\text{m}, 3\text{H}), 1.76\text{--}1.91(\text{m}, 1\text{H}), 1.95\text{--}2.04(\text{m}, 1\text{H}), 2.13\text{--}2.24(\text{m}, 1\text{H}), 2.54\text{--}2.76(\text{m}, 3\text{H}), 3.21\text{--}3.33(1\text{H}, \text{overlapped with } \text{CH}_3\text{OH in } \text{CD}_3\text{OD}, 5'\text{-H}), 4.10(\text{ddd}, J = 10.9, 4.7, 2.4 \text{ Hz}, 1\text{H}), 4.35(\text{dd}, J = 11.8, 2.2 \text{ Hz}, 1\text{H}), 6.97(\text{s}, 1\text{H}), 7.58(\text{s}, 1\text{H})$.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) : $\delta = 30.1, 30.7, 31.3, 31.6, 43.9, 44.6, 54.7, 72.6, 74.7, 116.8, 135.5, 139.3$.

HR-MS m/z : 252.2078 (Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}$: 252.2074).

4(5)-[(2*R*,5*R*)-5-(3,3-Dimethylbutylamino)tetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 9bb-b

$[\alpha]_D = +28.4^\circ$ (c = 3.7, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : δ = 0.96(s, 9H), 1.44-1.55(m, 2H), 1.65-1.76(m, 1H), 1.79-1.94(m, 1H), 1.96-2.11(m, 2H), 2.60-2.78(m, 3H), 3.70(dd, J = 12.3, 2.7 Hz, 1H), 3.95(ddd, J = 12.3, 2.7, 2.5 Hz, 1H), 4.48(dd, J = 10.2, 3.8 Hz, 1H), 7.00(s, 1H), 7.62(s, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD) : δ = 27.4, 27.6, 30.1, 30.7, 43.7, 44.1, 52.6, 70.2, 74.2, 117.4, 135.7, 138.9.

HR-MS m/z : 251.1991 (Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$: 251.1996).

4(5)-[(2*S*,5*R*)-5-Cyclohexylaminotetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 10a

$[\alpha]_D = +21.1^\circ$ (c = 0.82, EtOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : δ = 0.98-1.48(m, 6H), 1.60-2.04(m, 7H), 2.10-2.20(m, 1H), 2.52-2.63(m, 1H), 2.81-2.91(m, 1H), 3.2(1H, overlapped with CH_3OH in CD_3OD), 4.06(ddd, J = 7.5, 2.9, 1.5 Hz, 1H), 4.35(dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 6.97(s, 1H).

HR-MS m/z : 249.1840 (Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$: 249.1840).

4(5)-[(2*S*,5*R*)-5-Cyclohexylmethylaminotetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole (10b: OUP-153)

$[\alpha]_D = -13.5^\circ$ (c = 1.5, MeOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : δ = 0.80-1.80(m, 12H), 1.80-1.89(m, 1H), 1.89-2.08(m, 1H), 2.08-2.27(m, 1H), 2.40-2.52(dd, J = 9.3, 5.1 Hz, 2H), 2.56-2.73(m, 1H), 3.21-3.27(m, 1H), 4.05-4.15(ddd, J = 11.0, 4.5, 3.0 Hz, 1H), 4.30-4.41(dd, J = 11.0, 3.0 Hz, 1H), 6.99(s, 1H), 7.61(s, 1H).

HR-MS m/z : 264.2073 (Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}$: 264.2074).

4(5)-[(2*S*,5*R*)-5-Cyclohexylethylaminotetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 10c

$[\alpha]_{\text{D}} = -14.8^\circ$ ($c = 2.0$, EtOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : δ = 0.86-2.22(m, 15H), 2.66-2.76(m, 3H), 3.25(t, J = 10.9 Hz, 2H), 4.10(ddd, J = 10.9, 4.2, 2.4 Hz, 1H), 4.35(dd, J = 11.5, 2.4 Hz, 1H), 6.96(s, 1H), 7.59(d, J = 1.1 Hz, 1H).

HR-MS m/z : 278.2229 (Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}$: 278.2230).

4(5)-[(2*S*,5*R*)-5-Cyclohexylpropylaminotetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 10d

$[\alpha]_{\text{D}} = -7.0^\circ$ ($c = 2.1$, EtOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : δ = 0.86-1.76(m, 16H), 1.80-1.90(m, 1H), 1.94-2.04(m, 1H), 2.13-2.22(m, 1H), 2.52-2.64(m, 2H), 2.66-2.75(m, 1H), 3.49-3.68(m, 1H), 4.10(ddd, J = 8.9, 2.6, 1.3 Hz, 1H), 4.36(dd, J = 10.6, 1.3 Hz, 1H), 6.98(s, 1H), 7.60(s, 1H).

HR-MS m/z : 291.2303 (Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}$: 292.2390).

4(5)-[(2*S*,5*R*)-5-Cyclohexylbutylaminotetrahydropyran-2-yl]-1*H*-imidazole 10e

$[\alpha]_{\text{D}} = -13.9^{\circ}$ ($c = 1.9$, EtOH).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) : $\delta = 0.82\text{-}2.24(\text{m}, 21\text{H}), 2.56\text{-}2.67(\text{m}, 2\text{H}), 2.68\text{-}2.77(\text{m}, 1\text{H}), 3.17\text{-}3.35(\text{m}, 1\text{H}), 4.10(\text{ddd}, J = 10.0, 4.5, 2.6 \text{ Hz}, 1\text{H}), 4.36(\text{dd}, J = 10.6, 2.6 \text{ Hz}, 1\text{H}), 6.98(\text{s}, 1\text{H}), 7.59(\text{d}, J = 1.3 \text{ Hz}, 1\text{H})$.

HR-MS m/z : 305.2467 (Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}$: 305.2470).

第二章 第二節の実験

2-Nitrophenylacetyl Isothiocyanate (NPAI)

2-ニトロフェニル酢酸 (1.81 g, 10.00 mmol) とチオニルクロライド (1.46 mL, 20.00 mmol) をジクロロメタン (20 mL) に溶かし、20 時間還流した。溶媒をアスピレーターで留去すると、未精製の 2-ニトロフェニルアセチルクロライドが得られる。これを 2 時間アスピレーターで減圧した後に、ベンゼン (10 mL) に溶かし、イソチオシアン酸鉛 (1.94 g, 6.00 mmol) を懸濁させ、3 時間還流した。鉛塩をセライトで除去し、溶媒を留去した。続いてカラムクロマトグラフィー [BW-127ZH; 酢酸エチル-ヘキサン (1:9)] で精製すると **NPAI** (1.90 g, 86%, 橙色透明油状物) が得られた。これを 1M トルエン溶液として調製し冷蔵保管した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 4.23(\text{s}, 2\text{H}), 7.34\text{--}7.70(\text{m}, 3\text{H}), 8.14\text{--}8.22(\text{m}, 1\text{H})$

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 46.0, 125.2, 127.6, 129.2, 133.2, 133.7, 147.3, 147.7, 164.8$

IR(film) cm^{-1} : 1340, 1518, 1720, 1940-1980 (br, NCS)

HRMS m/z : 223.0181 (Calcd for $\text{C}_9\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: 223.0177)

3-Phenylpropionyl Isothiocyanate (PPI)

既知の化合物である **PPI** は Koenen らの方法⁴⁹⁾により合成した。ベンゼン (10 mL) にイソチオシアン酸鉛 (1.94 g, 6.00 mmol) を懸濁させ、3-フェニルプロピオニルクロライド (1.52 mL, 10.00 mmol) を加えて 3

時間還流した。鉛塩をセライトで除去し、溶媒を留去した。続いてカラムクロマトグラフィー[BW-127ZH ; 酢酸エチル-ヘキサン(2 : 8)]で精製すると **PPI** (1.49 g, 79%, 橙色透明油状物) が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 2.85-3.05(m, 4H), 7.10-7.30(m, 5H)

IR(film) cm^{-1} : 1720, 1940-1980 (br, NCS)

bp 95-98°C (0.5 mmHg) [(lit., ⁴⁹) 93-95°C (0.5 mmHg)]

第二章 第三節の実験

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)thiourea **20a**

PPI (955 mg, 5.00 mmol) と 4-クロロベンジルアミン **12a** (0.61 mL, 5.00 mmol) をベンゼン (10 mL) に溶かす。室温で 30 分間攪拌した後、溶媒を留去。続いてカラムクロマト [BW-127ZH ; 酢酸エチル-ヘキサン (2 : 8)] で精製すると **20a** (1300 mg, 78%, 黄色粉末) が得られ、酢酸エチルで再結晶すると黄色透明針状結晶が得られた。また、N-(4-クロロベンジル)-3-フェニルプロピオンアミド **26a** (219mg, 16%, 白色繊維状) も得られた。

$^1\text{H-NMR}$ [(CD₃)₂CO] : δ = 2.78-3.00(m, 4H), 2.88(d, J = 6.0 Hz, 2H), 7.15-7.50(m, 9H), 10.15(brs, 1H), 11.00(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ [(CD₃)₂CO] : δ = 31.1, 38.6, 48.2, 126.3, 128.4, 128.5, 128.6, 129.6, 132.7, 135.9, 140.6, 173.6, 180.8

mp : 135-141°C

HRMS m/z : 332.748 (Calcd for C₁₇H₁₇³⁵ClN₂OS : 332.0750)

N-(4-Chlorobenzyl)-3-phenylpropionamide **26a**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃) : δ = 2.72(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.96(t, J = 7.2 Hz, 2H), 4.32(d, J = 5.8 Hz, 2H), 5.72(brs, 1H), 7.00-7.35(m, 9H)

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)-S-{3-[1-(triphenylmethyl)imidazol-4-yl]propyl}isothiourea **21a**

チオウレア **20a** (333 mg, 1.00 mmol) と 3-[1-(トリフェニルメチル)-1*H*-イミダゾイル]プロパノール (405 mg, 1.10 mmol) をベンゼン

(10 mL)に溶かし、トリブチルホスフィン(0.37 mL, 1.50 mmol)を加える。氷冷下で TMAD(258 mg, 1.50 mmol)を加え、室温に戻して 15 時間攪拌した。沈殿物をガラスフィルターで取り除き、溶媒を留去。続いてカラムクロマト[BW-127ZH ; 酢酸エチル-ヘキサン(1 : 1)]で精製すると **21a**(640 mg, 94%, 黄色油状)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.93(quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.50-2.70(m, 4H), 2.87(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.04(t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.37(s, 2H), 6.45(s, 1H), 6.90-7.40(m, 25H), 11.15(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.6, 28.5, 29.3, 30.9, 32.1, 42.7, 47.1, 75.1, 117.8, 125.4, 127.6, 127.9, 128.1, 128.3, 128.5, 129.3, 137.9, 139.9, 141.2, 141.9, 172.3, 184.4

HRMS m/z : 683.2615 (Calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{40}^{35}\text{ClN}_4\text{OS}$: 683.2612)

N-(4-Chlorobenzyl)-S-{3-[1-(triphenylmethyl)imidazol-4-yl]propyl} isothioureia 19

イソチオウレア **21a**(137 mg, 0.20 mmol)をエタノール(2 mL)に溶かし、80%ヒドラジン水和物(12 μL)を滴下し、室温で 16 時間攪拌。10%Pd/C をミクロスパーテル一杯加えて 1 時間攪拌後、セライトでこれを除去し、溶媒を留去。続いてカラムクロマト[BW-127ZH ; メタノール-酢酸エチル(0 : 1, 1 : 4, 1 : 1)]で精製すると 3-フェニルプロピオニルヒドラジン(22mg, 61%, 白色粉末)と **19**(76 mg, 69%, 黄色油状)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 2.04(quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.62(t, J = 7.2 Hz,

2H), 3.20(t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.42(s, 2H), 6.54(s, 1H), 7.05-7.40(m, 20H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 25.2, 28.6, 30.1, 47.0, 75.3, 117.9, 127.6, 128.3, 128.4, 129.2, 133.0, 134.5, 137.7, 138.4, 141.7, 168.9$

HRMS m/z : 551.2032 (Calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{32}^{35}\text{ClN}_4\text{S}$: 551.2036)

20aの合成と同様の方法で合成を行った。

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(2-nitrophenylacetyl)thiourea 22a

^1H -NMR [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] : $\delta = 4.32(\text{s}, 2\text{H}), 4.87(\text{d}, J = 5.7 \text{ Hz}, 2\text{H}), 7.30\text{-}7.75(\text{m}, 7\text{H}), 8.05\text{-}8.15(\text{m}, 1\text{H}), 10.45(\text{brs}, 1\text{H}), 10.78(\text{brs}, 1\text{H})$

^{13}C -NMR [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] : $\delta = 41.7, 48.2, 125.0, 128.5, 128.9, 129.4, 129.6, 132.7, 133.8, 134.0, 136.5, 149.0, 170.8, 180.5$

IR(Nujol) cm^{-1} : 1165, 1340, 1520, 1700

HRMS m/z : 363.0437 (Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$: 363.0444)

N-(4-Chlorobenzyl)-2-(2-nitrophenyl)acetamide 27a

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 3.86(\text{s}, 2\text{H}), 4.39(\text{d}, J = 6.0 \text{ Hz}, 2\text{H}), 6.22(\text{brs}, 1\text{H}), 7.10\text{-}7.65(\text{m}, 7\text{H}), 8.00\text{-}8.06(\text{m}, 1\text{H})$

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 41.2, 43.3, 124.8, 128.1, 128.4, 128.6, 129.8, 133.1, 133.2, 136.1, 148.3, 168.3$

IR(Nujol) cm^{-1} : 1342, 1522, 1638

HRMS m/z : 305.0697 (Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{14}^{35}\text{ClN}_2\text{O}_3$: 305.0693)

21a の合成と同様の方法で合成を行った。

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-[2-(2-nitrophenyl)acetyl]-S-{3-[1-(triphenyl methyl)imidazol-4-yl]propyl}isothiourea 23a

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.76(quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.48(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.85(t, J = 7.2 Hz, 2H), 4.06(s, 2H), 4.38(s, 2H), 6.52(s, 1H), 7.00-7.50(m, 23H), 7.90-8.00(m, 1H), 11.08(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.5, 28.9, 30.8, 45.9, 47.2, 75.1, 117.7, 124.3, 127.1, 127.6, 128.3, 128.5, 129.3, 131.9, 132.5, 132.9, 133.9, 137.9, 139.9, 141.9, 148.7, 173.0, 180.3

HRMS m/z : 714.2299 (Calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{37}^{35}\text{ClN}_5\text{O}_3\text{S}$: 714.2305)

20a の合成と同様の方法で合成を行った。

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-[3-(2-nitrophenyl)propionyl]thiourea 24a

$^1\text{H-NMR}$ [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] : δ = 2.94(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.22(t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.88(d, J = 5.8 Hz, 2H), 7.35-7.70(m, 7H), 7.90-8.00(m, 1H), 10.20(brs, 1H), 10.95(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ [$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$] : δ = 28.0, 37.3, 48.2, 124.7, 127.9, 129.6, 132.1, 132.6, 133.3, 135.2, 136.7, 149.5, 173.0, 180.7

IR(Nujol) cm^{-1} : 1175, 1340, 1520, 1540, 1690

HRMS m/z : 378.0681 (Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$: 378.0679)

N-(4-Chlorobenzyl)-3-(2-nitrophenyl)propionamide 28a

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 2.60(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.23(t, J = 7.4 Hz, 2H), 4.34(d, J = 5.4 Hz, 2H), 6.15(brs, 1H), 7.05-7.55(m, 7H), 7.85-7.95(m,

1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 29.6, 37.4, 43.0, 124.5, 127.2, 128.3, 128.5, 132.1, 132.7, 132.9, 135.3, 136.2, 148.4, 170.7

IR(Nujol) cm^{-1} : 1340, 1510, 1625

HRMS m/z : 319.0847 (Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}^{35}\text{ClN}_2\text{O}_3$: 319.0849)

21aの合成と同様の方法で合成を行った。

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-[3-(2-nitrophenyl)propionyl]-S-{3-[1-(triphenylmethyl)imidazol-4-yl]propyl}isothiourea 25a

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 2.00(quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.64(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.75(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.23(t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.45(s, 2H), 6.54(s, 1H), 7.10-7.50(m, 23H), 7.90-8.00(m, 1H), 11.40 (brs, 1/2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 27.5, 29.2, 30.9, 41.4, 47.1, 60.4, 75.1, 117.7, 124.1, 126.5, 127.5, 128.3, 128.4, 129.2, 131.3, 132.3, 134.2, 136.2, 137.8, 139.8, 141.8, 148.7, 172.4, 183.4

HRMS m/z : 728.2466 (Calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{39}^{35}\text{ClN}_5\text{O}_3\text{S}$: 728.2462)

第二章 第六節の実験

NPAI 法

N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)thio urea **22o*

アミン **12o** (500 mg, 2.30 mmol)をトルエン(10 mL)に溶かし、1M NPAI トルエン溶液(3.5 mL, 3.45 mmol)を加えて 1 時間還流した。溶媒留去後に得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィー[FL 60 D ; 酢酸エチル-ヘキサン(1 : 4)]で精製すると **22o**(910 mg, 90%)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.64-1.72(m, 4 H), 2.68(t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.64(td, J = 6.9, 5.4 Hz, 2H), 4.10(s, 2H), 7.25(d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.39(dd, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 7.51(d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.48-7.58(m, 2H), 7.64(td, J = 7.5, 1.2 Hz, 1H), 8.15(dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H), 9.77 (brs, 1H), 10.39(brt, J = 5.4 Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 27.6, 28.1, 35.1, 41.9, 45.3, 125.2 (quart, J = 3.8 Hz), 125.5, 128.2, 128.6, 129.2, 133.6, 133.9, 145.8, 148.5, 170.2, 179.5.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: 440.1256; found: 440.1259.

N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3 -piperidinopropyl)isothioureia **23o*

チオウレア **22o** (532 mg, 1.21 mmol)を THF (10 mL)に溶かし、ピ

ペリジンプロパノール **4** (0.48 mL, 2.42 mmol)を加えた後、Bu₃P (0.61 mL, 2.42 mmol)と TMAD (416 mg, 2.42 mmol)を順に加え、3 時間還流。溶媒留去後、油状粗生成物をシクロヘキサンで希釈し析出した白色固体をろ過し、再び溶媒留去。残渣をカラムクロマトグラフィー[FL 60 D ; 酢酸エチル-ヘキサン(1 : 1)]で精製すると **23o** (523 mg, 76%) が得られた。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.40-1.49(m, 2H), 1.56-1.75(m, 10H), 2.31(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.40(br, 4H), 2.67(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.88(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.22-3.31(brm, 2H), 4.11(s, 2H), 7.26(d, *J* = 8.0Hz, 2H), 7.35(d, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.41(t, *J* = 8.0Hz, 1H), 7.49-7.57(m, 3H), 8.04(d, *J* = 8.0Hz, 1H), 10.81(brs, 1H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 24.2, 25.6, 26.4, 28.1, 28.4, 28.8, 35.1, 43.6, 45.6, 54.3, 57.6, 124.8, 125.3 (quart, *J* = 3.8 Hz), 127.6, 128.6, 132.4, 133.0, 133.4, 145.7, 149.4, 173.5, 181.0.

HRMS (FAB): *m/z* [M+1]⁺ calcd for C₂₈H₃₆F₃N₄O₃S: 565.2460; found: 565.2465.

***N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea **11o**(OUP-188)**

イソチオウレア **23o** (113 mg, 0.20 mmol)メタノール(10 mL)に溶かし、10%Pd/C (30 mg)を加えた。ゴム風船を反応容器に接続し、水素ガス雰囲気下、室温で 2 時間攪拌をした後にセライトろ過し溶媒留去。残渣をカラムクロマトグラフィー[FL 60 D ; メタノール-酢酸エチル(1 :

4)]で精製すると **11o**(67 mg, 83%)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.36-1.48(brm, 2H), 1.55(quint, J = 5.5 Hz, 2H), 1.60-1.75(brm, 4H), 1.80(quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.34 (brs, 4H), 2.40(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.69(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.88(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.29(t, J = 6.8 Hz, 2H), 7.28(d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.52(d, J = 7.8 Hz, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ = 24.3, 25.7, 26.6, 28.5, 29.1, 35.3, 43.3, 54.2, 55.8, 123.0, 125.2 (quart, J = 3.8 Hz), 128.3, 128.7, 146.3, 159.0.

$^{19}\text{F-NMR}$ (282 MHz, CDCl_3): δ = -61.1.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_3\text{S}$: 402.2191; found: 402.2204.

PPI 法

N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea **20o*

アミン **12o** (434 mg, 2.0 mmol)をトルエン(10 mL)に溶かし、PPI (382 mg, 2.0 mmol)を加えて、1時間還流した。溶媒留去後に得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィー[FL 60 D ; 酢酸エチル-ヘキサン(1 : 4)]で精製すると **20o**(641 mg, 78%)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.62-1.78(brm, 4H), 2.64(t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.72(brt, J = 6.6 Hz, 2H), 2.96(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.62-3.71 (brm, 2H), 7.16-7.34(m, 7H), 7.53(d, J = 8.2 Hz, 2H), 8.97(brs, 1H),

10.53(brs, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 27.7, 28.2, 30.4, 35.1, 38.4, 45.1, 122.4, 125.2 (quart, J = 3.8 Hz), 126.5, 128.2, 128.6, 139.4, 145.8, 173.2, 179.6.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}$: 409.1561; found: 409.1559.

N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N*'-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea **21o*

チオウレア **20o** (306 mg, 0.75 mmol) を THF (10 mL) に溶かし、ピペリジンプロパノール **4** (122 mg, 0.83 mmol) を加えた後、 Bu_3P (0.28 mL, 1.13 mmol) と TMAD (194 mg, 1.13 mmol) を順に加え、3 時間還流。溶媒留去後、油状粗生成物をシクロヘキサンで希釈し析出した白色固体をろ過し、再び溶媒留去。残渣をカラムクロマトグラフィー [FL 60 D ; 酢酸エチル-ヘキサン (1 : 1)] で精製すると **21o** (271 mg, 68%) が得られた。

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.36-1.48(brm, 2H), 1.56(quint, J = 5.5 Hz, 2H), 1.62-1.79(brm, 4H), 1.85(quint, J = 7.3 Hz, 2H), 2.30-2.40(brm, 6H), 2.65-2.75(m, 4H), 2.98(t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.26-3.38(brm, 2H), 7.10-7.55(m, 9H), 11.00(brs, 1H).

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 24.3, 25.9, 27.0, 28.1, 28.6, 29.0, 31.8, 35.1, 42.4, 43.5, 54.5, 58.0, 122.4, 125.2 (quart, J = 3.8 Hz),

125.7, 128.2, 128.6, 141.8, 145.7, 172.9, 185.1.

HRMS (FAB): m/z $[M+1]^+$ calcd for $C_{29}H_{39}F_3N_3OS$: 534.2766; found: 534.2770.

***N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea **11o**(OUP-188)**

イソチオウレア **21o** (160 mg, 0.3 mmol)のエタノール溶液(10 mL)に調製した 1.0M ヒドラジン水和物エタノール溶液 (0.3 mL, 0.3 mmol)を滴下し、室温で 16 時間攪拌した。ミクロスパーテル一杯の Pd/C を加え、30 分攪拌後にセライトろ過し溶媒留去。残渣をカラムクロマトグラフィー[FL 60 D ; メタノール-酢酸エチル(1 : 4)]で精製すると **11o** (56 mg, 47%)が得られた。

第二章 第七節の実験

N*-[4-(Piperidin-1-yl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)thiourea **22ac*

アミン **12ac** (337 mg, 2.16 mmol)をトルエン(10 mL)に溶かし、1M NPAI トルエン溶液(3.2 mL, 3.20 mmol)を加えて 0.5 時間還流した。溶媒留去後に得られたクルードをカラムクロマトグラフィー[FL 60 D ; 酢酸エチル-メタノール(19 : 1)]で精製すると **22ac**(280 mg, 34%)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.43(br, 1H), 1.71(quint, J = 6.8 Hz, 2H), 1.78-2.06(brm, 7H), 2.70(br, 2H), 2.98-3.03(brm, 2H), 3.47(br, 2H), 3.69(quart, J = 6.4 Hz, 2H), 4.16(s, 2H), 7.47(d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.52(d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.65(t, J = 7.6 Hz, 1H), 8.12(d, J = 7.6 Hz, 1H), 9.67(s, 1H), 10.41(brt, J = 5.6 Hz, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 20.7, 21.8, 22.7, 25.5, 41.9, 43.9, 53.3, 56.8, 125.3, 128.4, 129.1, 133.9, 134.1, 148.5, 170.5, 180.1

HRMS (EI) m/z : found 378.1726 (Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}]^+$: 378.1726)

N*-[4-(Piperidin-1-yl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea **23ac*

チオウレア **22ac** (189 mg, 0.50 mmol)を THF (5 mL)に溶かし、ピペリジンプロパノール(0.11 mL, 0.55 mmol)を加えた後、 Bu_3P (0.19 mL, 0.75 mmol)と TMAD (129 mg, 0.75 mmol)を順に加え、室温で 16 時間攪拌した。溶媒留去後、クルードオイルをシクロヘキサンで希釈

し析出した白色固体をろ過し、再び溶媒留去。残渣をカラムクロマトグラフィー[NH シリカゲル ; ジクロロメタン-ヘキサン(9 : 1)]で精製すると **23ac** (90 mg, 36%)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.38-1.70(m, 18H), 2.22-2.42(m, 12H), 2.86(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.25(quant, J = 6.4 Hz, 2H), 4.11(s, 2H), 7.35(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.40(td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.55(td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 8.04(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 10.79(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.1, 24.4, 25.9, 26.6, 27.2, 28.9, 36.1, 43.8, 45.5, 54.4, 54.5, 54.6, 57.8, 58.6, 124.7, 127.4, 132.5, 132.9, 133.3, 149.3, 173.5, 180.8

HRMS (FAB) m/z : found 504.3008 (Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 504.3008)

N-[4-(Piperidin-1-yl)butyl]-S-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11ac (OUP-191)

イソチオウレア **23ac** (100 mg, 0.20 mmol)を THF(2 mL)に溶かし、10%Pd/C (100 mg)を加えた。飽和ホスフィン酸ナトリウム水溶液 (4 mL) を滴下しながら、室温で 2 時間攪拌をした後にセライトろ過し溶媒留去。残渣を酢酸エチルで希釈後、硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過後、溶媒留去して得られた油状粗生成物をカラムクロマトグラフィー[NH シリカゲル ; メタノール-ジクロロメタン(1 : 9)]で精製すると **11ac**(13 mg, 19%)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.38-1.51(brm ,4H), 1.52-1.74(brm, 12H), 1.82

(quint, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.26-2.48(brm, 12H), 2.89(t, $J = 7.1$ Hz, 2H),
3.29(brt, $J = 7.1$ Hz, 2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 24.3, 24.4, 24.6, 25.6, 25.8, 26.7, 27.36, 28.6,$
43.2, 54.3, 54.4, 56.6, 58.6, 160.2

HRMS (FAB) m/z : found 341.2737 (Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$:
341.2739)

第二章 第七節 Table 11,12 の実験は、第二章 第六節 の実験項と同じ方法により合成された。

**N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)-S-(3-piperidinopropyl)
isothiourea 21b**

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.30\text{-}1.70(\text{m}, 6\text{H}), 1.86(\text{quint}, J = 6.7 \text{ Hz}, 2\text{H}),$
2.30-2.50(m, 6H), 2.72(t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 2.98(t, $J = 8.0$ Hz, 2H),
3.11(t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.46(s, 2H), 7.10-7.40(m, 9H), 11.20(brs,
1/2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 23.9, 24.5, 26.0, 29.3, 38.4, 42.5, 46.9, 54.4,$
57.8, 125.2, 127.7, 128.1, 128.3, 133.0, 134.2, 141.0, 172.1, 184.2

HRMS m/z : 458.2038 (Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{33}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$: 458.2033)

**N-(4-Chlorobenzyl)-S-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11b
(11b·2HCl ; FUB 661)**

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.40\text{-}1.70(\text{m}, 6\text{H}), 1.82(\text{quint}, J = 6.8 \text{ Hz}, 2\text{H}),$
2.32(brs, 4H), 2.43(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.94(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 4.44(s,

2H), 7.20-7.40(m, 4H)

**N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)-S-(3-pyrrolidinopropyl)
isothiourea 21c**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.74(brm, 4H), 1.88(quint, J = 7.4 Hz, 2H),
2.40-2.60(br, 6H), 2.72(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.97(t, J = 7.4 Hz, 2H),
3.10-3.20(br, 2H), 4.46(s, 2H), 7.10-7.40(m, 9H), 11.20(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 23.7, 29.3, 29.4, 32.0, 42.6, 47.1, 55.2, 125.3,
127.7, 127.8, 128.2, 128.3, 128.5, 133.1, 134.3, 141.2, 172.3, 184.2

HRMS m/z : 444.1870 (Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{31}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$: 444.1876)

N-(4-Chlorobenzyl)-S-(3-pyrrolidinopropyl)isothiourea 11c

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.60-1.75(br, 4H), 1.81(quint, J = 6.7 Hz, 2H),
2.40-2.54(br, 4H), 2.59(t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.98(t, J = 6.7 Hz, 2H),
4.42(s, 2H), 7.20-7.40(m, 4H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 23.7, 28.9, 29.0, 46.9, 53.1, 53.7, 128.0, 128.1,
128.2, 131.1, 137.5, 158.8

HRMS m/z : 311.1224 (Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}^{35}\text{ClN}_3\text{S}$: 311.1222)

**N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)-S-(3-morpholinopropyl)
isothiourea 21d**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.86(quint, J = 7.0 Hz, 2H), 2.35-2.50(m, 6H),
2.72(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.97(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.12(t, J = 7.0 Hz,

2H), 3.65-3.75(m, 4H), 4.46(s, 2H), 7.10-7.40(m, 9H), 11.30(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 27.5, 28.4, 32.0, 42.7, 47.1, 53.7, 57.5, 66.9, 125.4, 127.8, 127.9, 128.2, 128.5, 133.2, 134.2, 141.1, 172.1, 184.4

HRMS m/z : 460.1833 (Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{31}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$: 460.1825)

N-(4-Chlorobenzyl)-S-(3-morpholinopropyl)isothiourea 11d

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.82(quint, J = 7.0 Hz, 2H), 2.35-2.50(m, 6H), 2.94(t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.64-3.74(m, 4H), 4.44(s, 2H), 7.20-7.30(m, 4H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 27.4, 28.3, 46.6, 53.5, 56.2, 66.8, 128.0, 128.3, 132.1, 138.3, 158.5

HRMS m/z : 328.1251 (Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{23}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$: 328.1251)

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)-S-[3-(4-methylpiperazino)propyl]isothiourea 21e

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.78-1.92(m, 4H), 2.27(s, 3H), 2.38-2.50(m, 8H), 2.72(t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.98(t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.12(t, J = 7.8 Hz, 2H), 4.47(s, 2H), 7.20-7.39(m, 9H), 11.30(brs, 1H)

HRMS m/z : 473.2144 (Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}^{35}\text{ClN}_4\text{OS}$: 473.2142)

N-(4-Chlorobenzyl)-S-[3-(4-methylpiperazino)propyl]isothiourea 11e

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.82(quint, J = 6.9 Hz, 2H), 2.25(s, 3H), 2.38-2.58(m, 8H), 2.91-3.01(m, 4H), 4.46(s, 2H), 7.12-7.30(m, 4H)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 26.9, 31.7, 36.4, 46.1, 52.9, 55.0, 125.9, 127.8, 128.2, 139.9, 172.2
HRMS m/z : 341.1563 (Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{26}^{35}\text{ClN}_4\text{S}$: 341.1566)

N-(4-Chlorobenzyl)-N'-(3-phenylpropionyl)-S-[3-(4-Boc-piperazino)propyl]isothiourea 21f

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.43(s, 9H), 1.72-1.90(m, 2H), 2.30-2.47(m, 6H), 2.74(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.00(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.13(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.34-3.45(m, 4H), 4.46(s, 2H), 7.05-7.38(m, 9H)
HRMS m/z : 559.2510 (Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{40}^{35}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$: 559.2510)

N-(4-Chlorobenzyl)-S-[3-(4-Boc-piperazino)propyl]isothiourea

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.42(s, 9H), 1.85(quint, J = 6.4 Hz, 2H), 2.30-2.40(m, 4H), 2.46(t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.95(t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.35-3.45(m, 4H), 4.45(s, 2H), 7.15-7.33(m, 4H)
HRMS m/z : 427.1924 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{32}^{35}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$: 427.1935)

N-(4-Chlorobenzyl)-S-(3-piperazinopropyl)isothiourea 11f

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.84(quint, J = 6.2 Hz, 2H), 2.30-2.38(m, 4H), 2.46(t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.80-2.92(m, 4H), 2.95(t, J = 6.2 Hz, 2H), 4.50(s, 2H), 7.17(m, 4H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 26.6, 28.7, 46.1, 54.2, 54.5, 56.2, 128.1, 128.3, 132.2, 137.2, 158.7

HRMS m/z : 327.1404 (Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}^{35}\text{ClN}_4\text{S}$: 327.1410)

***N*-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20g**

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 2.62(t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.94(t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.98(t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.85(quant, J = 6.4 Hz, 2H), 7.10-7.40(m, 9H), 8.88(brs, 1H), 10.52(brs, 1H).

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}^{35}\text{ClN}_2\text{OS}$: 347.0985; found: 347.0982.

***N*-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21g**

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 1.34-1.66(m, 6H), 1.84(quint, J = 7.0 Hz, 2H), 2.30-2.46(m, 6H), 2.70(t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.86(t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.98(t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.09(t, J = 7.0 Hz, 2H), 3.50(t, J = 7.0 Hz, 2H), 7.05-7.35(m, 9H).

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{35}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$: 472.2190; found: 472.2173.

***N*-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)thiourea 22g**

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.92(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.83(td, J = 7.2, 5.4 Hz, 2H), 4.04(s, 2H), 7.13(d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.26(d, J = 8.7

Hz, 2H), 7.39(dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 7.54(td, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 7.66(td, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 8.16(dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 9.31(brs, 1H), 10.35(brs, 1H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 33.5, 42.0, 46.6, 125.6, 128.0, 128.8, 129.3, 130.0, 132.5, 133.6, 134.0, 136.5, 148.5, 169.8, 179.6$.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{17}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$: 378.0679; found: 378.0677.

***N*-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-*N*'-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 23g**

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.90\text{-}2.35(\text{m}, 16\text{H}), 2.84(\text{t}, J = 6.9$ Hz, 2H), 3.46(t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 4.10(s, 2H), 7.11(d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.27(d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.33-7.60(m, 3H), 8.04(d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 10.86(brs, 1H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 24.3, 25.9, 26.5, 28.9, 34.8, 45.1, 45.6, 54.4, 57.7, 124.7, 127.5, 128.8, 130.0, 132.4, 132.6, 133.0, 133.3, 136.1, 149.3, 173.6, 180.9$.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{32}^{35}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$: 503.1883; found: 503.1886.

***N*-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11g (OUP-181)**

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.30\text{-}1.65(\text{brm}, 6\text{H}), 1.85(\text{quint}, J =$

6.7 Hz, 2H), 2.29-2.49(m, 6H), 2.69(t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.96(t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.47(t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 7.05-7.36(m, 4H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) : $\delta = 24.2, 25.5, 25.9, 26.3, 28.4, 34.9, 53.8, 54.5, 128.6, 130.3, 132.2, 137.3, 164.4$.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{27}^{35}\text{ClN}_3\text{S}$: 340.1614; found: 340.1613.

N-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-N'-(3-phenylpropionyl)-S-(3-pyrrolidinopropyl)isothiourea 21h

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.72\text{-}2.05(\text{m}, 6\text{H}), 2.45\text{-}2.59(\text{m}, 4\text{H}), 2.70(\text{t}, J = 7.0 \text{ Hz}, 2\text{H}), 2.89(\text{t}, J = 7.0 \text{ Hz}, 2\text{H}), 2.99(\text{t}, J = 7.0 \text{ Hz}, 2\text{H}), 3.05\text{-}3.15(\text{br}, 2\text{H}), 3.50(\text{quart}, J = 6.7 \text{ Hz}, 2\text{H}), 7.08\text{-}7.32(\text{m}, 9\text{H})$

HRMS m/z : 458.2037 (Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{33}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$: 458.2033)

N-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-S-(3-pyrrolidinopropyl)isothiourea 11h

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.70\text{-}1.82(\text{m}, 4\text{H}), 1.90(\text{quint}, J = 6.9 \text{ Hz}, 2\text{H}), 2.42\text{-}2.61(\text{m}, 6\text{H}), 2.75(\text{t}, J = 6.9 \text{ Hz}, 2\text{H}), 3.30(\text{t}, J = 6.9 \text{ Hz}, 2\text{H}), 3.49(\text{t}, J = 6.9 \text{ Hz}, 2\text{H}), 7.10\text{-}7.30(\text{m}, 4\text{H})$

HRMS m/z : 326.1474 (Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}^{35}\text{ClN}_3\text{S}$: 326.1458)

N-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-N'-(3-phenylpropionyl)-S-(3-morpholinopropyl)isothiourea 21i

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.84(quint, J = 7.9 Hz, 2H), 2.36-2.48(m, 6H), 2.69(t, J = 7.9 Hz, 2H), 2.89(t, J = 7.9 Hz, 2H), 2.99(t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.11(t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.51(t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.66-3.73(m, 4H), 7.10-7.35(m, 9H)

HRMS m/z : 474.1986 (Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{33}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$: 474.1982)

N-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-S-(3-morpholinopropyl)isothiourea

11i

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.80(quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.35-2.50(m, 6H), 2.85(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.90(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.53(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.67-3.75(m, 4H), 7.10-7.35(m, 4H)

HRMS m/z : 342.1408 (Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$: 342.1407)

N-[3-(4-Chlorophenyl)propyl]-N'-(3-phenylpropionyl)thiourea 20j

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.96(quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.61-2.70(m, 4H), 2.96(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.63(td, J = 7.0, 5.7 Hz, 2H), 7.10(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.17-7.31(m, 7H), 9.47(brs, 1H), 10.61(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 29.4, 30.4, 32.3, 38.3, 44.6, 126.5, 128.2, 128.5, 128.6, 129.6, 131.8, 139.2, 139.5, 173.4, 179.7

HRMS (FAB) m/z : found 361.1140 (Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}^{35}\text{ClN}_2\text{OS}$ [M+H] $^+$: 361.1141)

N-[3-(4-Chlorophenyl)propyl]-N'-(3-phenylpropionyl)-S-(3-piperidi

nopropyl)isothiourea 21j

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.36-1.42(brm, 2H), 1.51-1.60(quint, J = 5.5 Hz, 4H), 1.80-1.94(m, 4H), 2.28-2.42(brm, 6H), 2.64(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.99(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.09(t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.22-3.30(brm, 2H), 7.08(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13-7.28(m, 7H), 11.05(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.9, 28.9, 30.3, 31.7, 32.0, 42.4, 42.7, 54.4, 57.8, 125.6, 128.1, 128.4, 129.5, 131.7, 138.9, 141.7, 172.8, 185.0

HRMS (FAB) m/z : found 486.2344 (Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{37}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 486.2346)

***N*-[3-(4-Chlorophenyl)propyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11j**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.38-1.47(brm, 2H), 1.56(quint, J = 5.5 Hz, 4H), 1.80(quint, J = 6.8 Hz, 2H), 1.88(quint, J = 7.6 Hz, 2H), 2.35(brs, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.64(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.90(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.29(t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.11(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.23(d, J = 8.4 Hz, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.6, 28.5, 31.0, 32.6, 43.0, 54.2, 56.0, 128.4, 129.7, 131.5, 140.0, 160.1

HRMS (FAB) m/z : 354.1766 (Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{29}^{35}\text{ClN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 354.1771)

***N*-[4-(4-Chlorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20k**

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ = 1.60-1.72 (m, 4 H), 2.58-2.70 (m, 4H), 2.96 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 3.59-3.70 (brm, 2H), 7.08-7.35 (m, 9H), 9.08 (brs, 1H), 10.53 (brs, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ = 27.6, 28.4, 30.4, 34.7, 38.5, 45.3, 126.6, 128.2, 128.4, 128.7, 129.7, 131.6, 139.4, 140.2.

HRMS (FAB): *m/z* [M+1]⁺ calcd for C₂₀H₂₅³⁵ClN₂OS: 375.1298; found: 375.1307.

***N*-[4-(4-Chlorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21k**

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ = 1.38-1.72 (brm, 10H), 1.86 (quint, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.28-2.45 (brm, 6H), 2.60 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.70 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.00 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.10 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.22-3.38 (brm, 2H), 7.03-7.36 (m, 9H), 10.98 (brs, 1H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ = 24.3, 25.8, 26.9, 28.3, 28.5, 29.0, 31.8, 34.6, 42.5, 43.5, 54.5, 57.9, 125.7, 128.2, 128.3, 128.4, 129.6, 131.6, 140.0, 141.8, 172.8, 185.1.

HRMS (FAB): *m/z* [M+1]⁺ calcd for C₂₈H₃₈³⁵ClN₃OS: 500.2502; found: 500.2508.

***N*-[4-(4-Chlorophenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)thiourea 22k**

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : δ = 1.60-1.66 (m, 4 H), 2.53 (t, *J* = 6.4

Hz, 2H), 3.60-3.64 (m, 2H), 4.09 (s, 2H), 7.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.38 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.53 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.64 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 9.73 (s, 1H), 10.37 (brt, $J = 4.8$ Hz, 1H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) : $\delta = 27.5, 28.3, 34.6, 41.9, 45.3, 125.5, 128.2, 128.4, 129.2, 129.7, 131.5, 133.6, 133.9, 140.1, 148.5, 170.2, 179.4$.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{21}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$: 406.0992; found: 406.1000.

***N*-[4-(4-Chlorophenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 23k**

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) : $\delta = 1.50\text{-}1.72$ (m, 12H), 2.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.26-2.38 (br, 4H), 2.58 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.24 (quart, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.11 (s, 2H), 7.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.40 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.55 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 8.04 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 10.80 (brs, 1H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) : $\delta = 24.2, 26.0, 26.6, 27.3, 28.0, 29.0, 34.6, 43.6, 45.6, 54.5, 57.8, 124.8, 127.5, 128.4, 129.7, 131.6, 132.5, 133.0, 133.4, 140.0, 149.4, 173.6, 181.0$.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{36}^{35}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$: 531.2197; found: 531.2222.

***N*-[4-(4-Chlorophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea**

11k (OUP-186)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.38-1.47 (brm, 2H), 1.52-1.69 (brm, 8H), 1.80 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.26-2.36 (brs, 4H), 2.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.60 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.88 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.28 (brt, J = 6.8 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 8.2 Hz, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.7, 26.6, 28.5, 28.6, 29.0, 34.8, 43.1, 54.2, 56.1, 128.3, 129.7, 131.3, 140.6, 160.2

HRMS (FAB) m/z : 368.1920 (Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{31}^{35}\text{ClN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 368.1927)

***N*-[5-(4-Chlorophenyl)pentyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20l**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.32-1.48(m, 2H), 1.56-1.75(m, 4H), 2.55-2.70 (m, 4H), 2.97(t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.61(td, J = 7.0, 5.7 Hz, 2H), 7.09(d, J = 8.4 Hz, 2H) 7.12-7.40(m, 7H), 8.87(brs, 1H), 10.50(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 26.3, 27.9, 30.4, 30.8, 35.0, 38.4, 45.3, 126.5, 128.2, 128.6, 129.7, 131.4, 139.5, 140.6, 173.2, 179.5

HRMS (FAB) m/z : 389.1459 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{25}^{35}\text{ClN}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 389.1454)

m.p. : 104-107°C

***N*-[5-(4-Chlorophenyl)pentyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21l**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.31-1.48(brm, 4H), 1.52-1.68(brm, 8H), 1.86 (quint, J = 7.5 Hz, 2H), 2.28-2.44(brm, 6H), 2.58(t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.99(t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.5 Hz) , 2H, 3.22-3.32(brm, 2H), 7.08(d, J = 8.4 Hz, 2H) 7.12-7.36(m, 7H), 10.98(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.9, 26.2, 27.0, 28.9, 29.0, 30.8, 31.8, 35.0, 42.5, 43.6, 54.4, 58.0, 125.7, 128.2, 128.3, 129.6, 131.4, 140.6, 141.8, 172.8, 185.0

HRMS (FAB) m/z : 514.2657 (Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{41}^{35}\text{ClN}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 514.2659)

***N*-[4-(4-Chlorophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11l**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.30-1.68(brm ,12H), 1.81(quint, J = 6.8Hz, 2H), 2.26-2.46(brm, 6H), 2.57(t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.90(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.25(t, J = 7.1 Hz, 2H), 7.09(d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.12-7.37(m, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.4, 25.8, 26.5, 26.6, 28.6, 29.3, 31.0, 35.1, 43.2, 54.3, 56.3, 128.3, 129.7, 131.3, 140.9, 160.0

HRMS (FAB) m/z : 382.2084 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}^{35}\text{ClN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 382.2084)

***N*-[2-(4-Trifluoromethylphenyl)ethyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20m**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 2.63(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.96(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.04(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.90(td, J = 7.5, 5.6 Hz, 2H), 7.18-7.38(m, 7H), 7.57(d, J = 8.0 Hz, 2H), 8.83(brs, 1H), 10.56(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 30.4, 34.0, 38.4, 46.2, 122.8, 125.6(m), 126.7, 128.2, 128.6, 129.0, 139.4, 142.2, 173.2, 180.0

HRMS (FAB) m/z : found 381.1245 (Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 381.1248)

***N*-[2-(4-Trifluoromethylphenyl)ethyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21m**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.38-1.60(m, 6H), 1.83(quint, J = 7.4 Hz, 2H), 2.28-2.42(brm, 6H), 2.70(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.92-3.00(m, 4H), 3.04-3.14(br, 2H), 3.55(brt, 2H, J = 7.4 Hz), 7.15-7.36(m, 7H), 7.57(d, J = 8.0 Hz, 2H), 11.05(brs, 1H)

HRMS (FAB) m/z : found 506.2451 (Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 506.2453)

***N*-[-(4-Trifluoromethylphenyl)ethyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11m**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.36-1.48(brm, 2H), 1.50-1.75(brm, 8H), 1.80(quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.25-2.35(br, 4H), 2.40(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.69(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.88(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.29(t, J = 6.8 Hz, 2H), 7.28(d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.52(d, J = 7.8 Hz, 2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.6, 28.5, 35.5, 44.4, 54.2, 55.9, 110.0, 122.9, 125.3(m), 129.2, 143.8, 159.5
HRMS (FAB) m/z : found 374.1882 (Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 374.1878)

***N*-[3-(4-Trifluoromethylphenyl)propyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thio urea 20n**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.99(quint, J = 7.8 Hz, 2H), 2.65(t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.75(t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.66(dd, J = 12.9, 7.2 Hz, 2H), 7.18-7.50(m, 7H), 7.54(d, J = 7.8 Hz, 2H), 9.32(brs, 1H), 10.61(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 29.3, 30.4, 32.9, 38.4, 44.7, 125.4(m), 126.6, 126.6(quant), 128.2, 128.3, 128.5, 128.6, 139.4, 144.9, 173.3, 179.7
HRMS (EI) m/z : found 394.1323 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}]^+$: 394.1327)

***N*-[3-(4-Trifluoromethylphenyl)propyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothioureia 21n**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.34-1.66(m, 10H), 1.80-2.00(m, 2H), 2.30-2.45(m, 4H), 2.69(quant, J = 8.7 Hz, 2H), 2.93(t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.08(t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.27(t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.10-7.30(m, 7H), 7.32(d, J = 8.1 Hz, 2H), 11.00(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 24.2, 25.7, 27.1, 28.0, 28.9, 30.2, 31.7, 42.4,

42.8, 57.9, 60.3, 125.3(m), 125.7, 126.9(quant), 128.1, 128.2, 128.3, 128.6, 141.7, 144.7, 172.9, 185.1

HRMS (FAB) m/z : found 520.2610 (Calcd for $C_{28}H_{37}F_3N_3OS$ $[M+H]^+$: 520.2609)

***N*-[3-(4-Trifluoromethylphenyl)propyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11n**

1H -NMR ($CDCl_3$) : δ = 1.40-1.48(br, 2H), 1.50-1.60(brm, 6H), 1.80-2.00(m, 2H), 2.30-2.45(brm, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.90(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.30(t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.30(d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.52(d, J = 8.0 Hz, 2H)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) : δ = 24.3, 25.9, 26.6, 28.5, 30.9, 33.0, 37.0, 54.1, 57.8, 125.2(m), 126.8(quant), 128.3, 128.6, 145.8, 160.0

^{19}F -NMR (282 MHz, $CDCl_3$): δ = -61.0.

HRMS (FAB) m/z : found 388.2029 (Calcd for $C_{19}H_{29}F_3N_3S$ $[M+H]^+$: 388.2034)

***N*-[5-(4-Trifluoromethylphenyl)pentyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20p**

1H -NMR ($CDCl_3$) : δ = 1.35-1.46(m, 2H), 1.62-1.74(m, 4H), 2.62-2.70(m, 4H), 2.97(t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.61(quant, J = 7.1 Hz, 2H), 7.18-7.33(m, 7H), 7.53(d, J = 8.1 Hz, 2H), 9.17(brs, 1H), 10.55(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 26.3, 27.9, 30.4, 30.6, 35.5, 38.5, 45.4, 125.2(m), 126.6, 127.0(quart), 128.2, 128.6, 139.5, 146.3, 173.1, 179.5

***N*-[5-(4-Trifluoromethylphenyl)pentyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothioureia 21p**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.35-1.45(m, 4H), 1.52-1.70(m, 8H), 1.86 (quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.29-2.43(br, 4H), 2.38(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.66(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.99(t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.14-7.30(m, 7H), 7.52(d, J = 8.0 Hz, 2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.2, 27.0, 28.8, 28.9, 30.6, 31.8, 35.4, 42.4, 43.5, 54.4, 57.9, 125.1(m), 125.7, 126.7(quart), 128.1, 128.2, 128.5, 141.8, 146.2, 172.8, 185.0

***N*-[4-(4-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothioureia 11p**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.36-1.42(m, 4H), 1.50-1.70(m, 8H), 1.81 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.35(brs, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.67(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.89(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.27(brs, 2H), 7.27(d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.52(d, J = 8.0 Hz, 2H)

^{13}C -NMR (CD_3OD) : δ = 22.6, 24.2, 24.9, 27.3, 28.6, 29.4, 31.8, 36.4, 45.4, 54.5, 56.3, 125.9(quart), 126.2(m), 130.0, 130.1, 148.3, 167.5

***N*-[4-(4-Cyanophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20q**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.64-1.76(brm, 4H), 2.64(t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.68-2.76(m, 2H), 2.97(t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.60-3.70(brm, 2H), 7.16-7.34(m, 7H), 7.57(d, J = 8.1 Hz, 2H), 8.81(brs, 1H), 10.52(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.6, 27.9, 30.3, 35.4, 38.2, 44.9, 109.7, 119.0, 126.5, 128.1, 128.5, 129.1, 139.4, 147.3, 173.3, 179.6

HRMS (FAB) m/z : found 366.1638 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 366.1640)

mp : 137-140 °C

***N*-[4-(4-Cyanophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21q**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.36-1.46(brm, 2H), 1.52-1.76(brm, 8H), 1.85 (quint, J = 7.4 Hz, 2H), 2.26-2.44(brm, 6H), 2.60-2.78(m, 4H), 2.98(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.30(brs, 2H), 7.12-7.32(m, 7H), 7.56(d, J = 8.2 Hz, 2H), 11.00(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.9, 27.8, 28.5, 28.9, 31.7, 35.4, 42.4, 43.3, 54.4, 57.9, 109.7, 118.9, 125.7, 128.2, 129.1, 132.1, 141.7, 147.2, 172.8, 185.1

HRMS (FAB) m/z : found 491.2845 (Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 491.2845)

***N*-[4-(4-Cyanophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11q**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.36-1.48(brm, 2H), 1.50-1.75(brm, 8H), 1.80 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.25-2.35(br, 4H), 2.40(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.69(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.88(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.29(t, J = 6.8 Hz, 2H), 7.28(d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.52(d, J = 7.8 Hz, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.6, 28.3, 28.5, 29.2, 35.6, 42.9, 54.2, 56.1, 109.6, 119.0, 129.2, 132.1, 147.9, 159.9

HRMS (FAB) m/z : found 359.2271 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 359.2269)

***N*-[4-(4-Fluorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20r**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.62-1.73(brm, 4H), 2.59-2.67(m, 4H), 2.96(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.61-3.68(brm, 2H), 6.93-6.99(m, 2H), 7.09-7.32(m, 7H), 9.10(brs, 1H), 10.54(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.6, 28.6, 30.4, 34.5, 38.5, 45.3, 114.9, 115.2, 126.6, 128.2, 128.6, 129.6, 129.7, 137.3, 139.4, 160.0, 162.4, 173.1, 179.5

HRMS (FAB) m/z : found 359.1599 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{FN}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 359.1593)

***N*-[4-(4-Fluorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21r**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.37-1.46(brm, 2H), 1.56(quint, J = 5.7 Hz,

4H), 1.60-1.71(m, 4H), 1.85(quint, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.30-2.42(brm, 6H), 2.60(t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.70(t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.98(t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 3.10(t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.24-3.32(brm, 2H), 6.92-6.98(m, 2H), 7.08-7.29(m, 7H), 10.98(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 24.3, 25.9, 27.0, 28.5, 29.0, 31.8, 34.4, 42.5, 43.5, 54.5, 58.0, 114.9, 115.1, 125.7, 128.2, 129.6, 137.2, 141.8, 160.0, 162.4, 172.8, 185.0$

HRMS (FAB) m/z : found 484.2796 (Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{FN}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 484.2798)

***N*-[4-(4-Fluorophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11r**

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.38$ -1.46(brm, 2H), 1.52-1.70(brm, 8H), 1.80 (quint, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.30-2.43(brm, 4H), 2.40(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.61(t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.89(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.27-3.33 (brm, 2H), 6.92-6.98(m, 2H), 7.09-7.14(m, 2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 24.4, 25.8, 26.7, 28.6, 28.9, 29.1, 34.7, 43.1, 54.3, 56.3, 114.8, 115.0, 129.6, 129.7, 137.8, 160.0, 162.4$

^{19}F -NMR (CDCl_3) : $\delta = -116.68$

HRMS (FAB) m/z : found 352.2219 (Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{FN}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 352.2223)

***N*-[4-(4-Trifluoromethoxyphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20s**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.63-1.73(m, 4H), 2.61-2.70(m, 4H), 2.97 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.66(td, J = 6.8, 5.6 Hz, 2H), 7.10-7.32(m, 9H), 8.83(brs, 1H), 10.51(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.6, 28.4, 30.4, 34.6, 38.4, 45.2, 116.6, 119.2, 120.9, 121.7, 124.3, 126.5, 128.2, 129.5, 139.5, 140.4, 147.4, 173.3, 179.6

HRMS (FAB) m/z : 425.1501 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 425.1511)

***N*-[4-(4-Trifluoromethoxyphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21s**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.36-1.56(brm, 2H), 1.56(quint, J = 5.7 Hz, 4H), 1.60-1.74(brm, 4H), 1.86(quint, J = 7.4 Hz, 2H), 2.28-2.42(brm, 6H), 2.63(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.98(t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.26-3.34(brm, 2H), 7.10-7.29(m, 9H), 11.00(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.9, 28.3, 28.5, 28.9, 31.8, 34.6, 42.4, 43.5, 54.4, 57.9, 116.6, 119.1, 120.9, 121.7, 124.2, 125.7, 128.2, 129.5, 140.3, 141.8, 147.3, 172.8, 185.0

HRMS (FAB) m/z : found 534.2770 (Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 550.2715)

***N*-[4-(4-Trifluoromethoxyphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isot**

hiourea 11s

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.38-1.48(brm ,2H), 1.56(quint, J = 5.6 Hz, 4H), 1.60-1.75(brm, 4H), 1.85(quint, J = 6.4 Hz, 2H), 2.36(brs, 4H), 2.43(t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.64(t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.97(t, J = 6.4 Hz , 2H), 3.28(t, J = 6.4 Hz, 2H), 7.11(d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.19(d, J = 8.4 Hz, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.2, 25.5, 26.2, 28.3, 28.6, 28.9, 34.7, 43.6, 53.8, 54.5, 117.4, 119.1, 120.8, 121.7, 124.2, 129.5, 140.8, 147.2, 180.1

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3) : δ = -56.70

HRMS (FAB) m/z : found 418.2139 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 418.2140)

***N*-[4-(4-Trifluoromethylthiophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20t**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.68-1.72(m, 4H), 2.64(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.69(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.97(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.66(quart, J = 6.4 Hz, 2H), 7.17-7.32(m, 7H), 7.56(d, J = 8.0 Hz, 2H), 8.76(brs, 1H), 10.50(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.7, 28.2, 30.4, 35.1, 38.4, 45.2, 121.4(m), 126.6, 128.2, 128.6, 129.5, 129.6(quart, J = 307 Hz), 136.5, 139.4, 145.1, 173.3, 179.5

***N*-[4-(4-Trifluoromethylthiophenyl)butyl]-*N*'-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21t**

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.37-1.46(brm, 2H), 1.58(quint, *J* = 5.6 Hz, 4H), 1.62-1.74(m, 4H), 1.85(quint, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.28-2.44(m, 6H), 2.62-2.72(m, 4H), 2.98(t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.10(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.27-3.34(m, 2H), 7.15-7.50(m, 6H), 7.56(d, *J* = 8.0 Hz, 2H)

¹³C-NMR (CDCl₃) : δ = 24.4, 25.9, 27.1, 28.1, 28.7, 29.1, 31.8, 35.1, 42.5, 43.5, 54.5, 58.1, 121.5(m), 125.8, 128.2, 128.3, 129.1(quart, *J* = 308 Hz), 129.6, 136.5, 141.8, 145.0, 172.9, 185.2

HRMS (FAB) *m/z* : found 566.2483 (Calcd for C₂₉H₃₉F₃N₃OS₂ [M+H]⁺ : 566.2487)

***N*-[4-(4-Trifluoromethylthiophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11t**

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.37-1.49(m, 2H), 1.51-1.74(m, 6H), 1.80(quint, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.34(brs, 2H), 2.41(t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.67(t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.89(t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.32(brs, 2H), 7.22(d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.55(d, *J* = 8.4 Hz, 2H)

¹³C-NMR (CDCl₃) : δ = 24.3, 25.9, 26.6, 28.4, 29.1, 35.2, 45.4, 54.2, 56.2, 57.8, 121.1(m), 129.5, 129.5(quart, *J* = 308 Hz), 136.4, 145.6, 159.5

HRMS (FAB) *m/z* : found 434.1917 (Calcd for C₂₀H₃₁F₃N₃S₂ [M+H]⁺ : 434.1912)

***N*-[4-(3-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20u**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.65-1.75(m, 4H), 2.66(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.70(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.96(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.61-3.70(m, 2H), 7.16-7.46(m, 9H), 9.43(brs, 1H), 10.60(brt, J = 4.8 Hz, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.7, 28.3, 30.4, 35.1, 38.4, 45.1, 122.8(m), 124.2(quant, J = 2710 Hz), 125.0(m), 126.5, 128.2, 128.6, 128.7, 130.6(quant, J = 319 Hz), 131.7, 139.5, 142.6, 173.4, 179.6

HRMS (FAB) m/z : found 409.1558 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}_2$ [M+H] $^+$: 409.1562)

***N*-[4-(3-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21u**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.37-1.77(m, 10H), 1.86(quint, J = 7.2 Hz, 2H), 2.31-2.41(brm, 4H), 2.38(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.67-2.74(m, 4H), 2.98(t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.28-3.34(brm, 2H), 7.14-7.29(m, 5H), 7.33-7.47(m, 4H), 11.00(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 27.1, 28.0, 28.6, 28.9, 31.8, 35.1, 42.4, 43.5, 54.4, 57.9, 122.8(m), 124.2(quant, J = 2710 Hz), 124.9(m), 125.7, 128.2, 128.7, 130.6(quant, J = 319 Hz), 131.7, 141.8, 142.4, 172.8, 185.1

HRMS (FAB) m/z : found 534.2764 (Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{F}_3\text{N}_3\text{OS}_2$ [M+H] $^+$: 534.2766)

***N*-[4-(3-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11u**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.39-1.91(m, 10H), 2.28-2.44(br, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.70(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.90(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.30(t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.34-7.44(m, 4H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.7, 25.9, 26.6, 29.1, 35.3, 37.0, 43.2, 54.2, 56.0, 122.5(m), 124.2(quant, J = 2710 Hz), 124.9(m), 128.6, 130.5(quant, J = 319 Hz), 131.7, 143.0, 160.2

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3) : δ = -61.19

HRMS (FAB) m/z : found 402.2188 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 402.2191)

***N*-[4-(2-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20v**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.65-1.80(m, 4H), 2.64(t, J = 8.0 Hz, 2H), 2.82(t, J = 8.0 Hz, 2H), 2.96(t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.60-3.70(brm, 2H), 7.17-7.24(m, 3H), 7.25-7.35(m, 4H), 7.45(t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.61(d, J = 8.0 Hz, 1H), 9.01(brs, 1H), 10.55(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 28.1, 28.8, 30.5, 32.1, 38.6, 45.3, 125.8(m), 126.0, 126.6, 127.4, 128.2, 128.7, 128.8, 130.9, 131.7, 139.5, 140.7, 173.0, 179.6

HRMS (FAB) m/z : found 409.1563 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_2\text{OS}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 409.1562)

***N*-[4-(2-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*N*'-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothioureia 21v**

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.34-1.45(brm, 2H), 1.51-1.59(m, 4H), 1.65-1.75(m, 4H), 1.385(quint, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.30-2.40(br, 4H), 2.38(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.71(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.82(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.99(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.11(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.31(t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.14-7.33(m, 7H), 7.45(t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.60(d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 10.99(brs, 1H)

¹³C-NMR (CDCl₃) : δ = 24.4, 25.9, 27.0, 28.6, 29.0, 31.8, 32.0, 42.5, 43.5, 58.0, 125.7, 125.8(m), 126.0, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 130.8, 131.7, 140.5, 141.9, 172.9, 185.0

HRMS (FAB) *m/z* : found 534.2766 (Calcd for C₂₉H₃₉F₃N₃OS₂ [M+H]⁺ : 534.2766)

***N*-[4-(2-Trifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothioureia 11v**

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.38-1.47(m, 2H), 1.53-1.62(m, 4H), 1.65-1.72(m, 2H), 1.70-1.92(m, 2H), 2.30-2.44(br, 4H), 2.41(t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.70(t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.76-2.83(br, 2H), 2.89(t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 3.29-3.34(brm, 2H), 7.24(t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.33(d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.46(t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.60(d, *J* = 7.6 Hz, 1H)

¹³C-NMR (CD₃OD) : δ = 22.7, 24.2, 24.6, 24.9, 28.8, 35.6, 45.3, 56.3, 56.8, 65.2, 126.8(m), 127.4, 129.0, 129.3, 132.4, 133.3, 141.9, 167.6

^{19}F -NMR (282 MHz, CDCl_3): $\delta = -58.4$.

HRMS (FAB) m/z : found 402.2191 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 402.2191)

***N*-[4-(3-Chloro-4-trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(3phenylpropionyl)thiourea 20w**

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.67$ - 1.74 (brm, 4H), 2.62 - 2.72 (m, 4H), 2.97 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 3.64 - 3.70 (brm, 2H), 7.13 - 7.34 (m, 7H), 7.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.86 (brs, 1H), 10.53 (brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 27.6, 27.9, 30.4, 34.7, 38.4, 45.0, 121.6, 124.3, 126.6, 127.5$ (m), $128.2, 128.6, 131.2, 132.1, 139.4, 147.5, 173.3, 179.7$

HRMS (FAB) m/z : found 443.1167 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}^{35}\text{ClF}_3\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 443.1172)

***N*-[4-(3-Chloro-4-trifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21w**

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.36$ - 1.46 (brm, 2H), 1.56 (quint, $J = 5.7$ Hz, 4H), 1.60 - 1.75 (brm, 4H), 1.86 (quint, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.30 - 2.42 (brm, 6H), 2.64 - 2.74 (m, 4H), 2.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 3.10 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.28 - 3.35 (brm, 2H), 7.14 - 7.33 (m, 7H), 7.59 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 11.00 (brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 24.3, 28.9, 27.0, 27.8, 28.5, 29.0, 31.8, 34.7,$

42.5, 54.5, 57.8, 121.6, 124.3, 125.7, 126.6, 127.5(m), 128.2, 128.3, 131.2, 132.1, 141.8, 147.4, 172.9, 185.2

HRMS (FAB) m/z : found 568.2373 (Calcd for $C_{29}H_{38}^{35}ClF_3N_3OS$ [M+H]⁺ : 568.2376)

***N*-[4-(3-Chloro-4-trifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11w**

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.38-1.48(brm, 2H), 1.52-1.64(brm, 8H), 1.81 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.28-2.37(brs, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.67(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.90(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.27-3.36(brs, 2H), 7.16(d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.32(s, 1H), 7.58(d, J = 8.1 Hz, 1H)

¹³C-NMR (CDCl₃) : δ = 24.3, 25.8, 26.6, 28.2, 28.5, 29.1, 34.9, 43.1, 54.2, 56.1, 121.6, 124.3, 126.7, 127.4(q), 131.2, 132.0, 148.1, 160.0

¹⁹F-NMR (CDCl₃) : δ = -60.98

HRMS (FAB) m/z : found 436.1797 (Calcd for $C_{20}H_{30}^{35}ClF_3N_3S$ [M+H]⁺ : 436.1801)

***N*-[4-(3,4-Difluorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea 20x**

¹H-NMR (CDCl₃) : δ = 1.60-1.73(brm, 4H), 2.60(brt, J = 6.8 Hz, 2H), 2.66(t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.96(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.64(t, J = 6.8 Hz, 2H), 6.83-6.89(m, 1H), 6.93-7.10(m, 2H), 7.16-7.35(m, 5H), 9.35 (brs, 1H), 10.58(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 27.5, 28.3, 30.4, 34.5, 38.4, 45.1, 116.8, 116.9, 117.0, 124.0, 124.1, 126.5, 128.2, 128.6, 138.6, 138.7, 139.5, 147.4, 147.5, 148.8, 148.9, 149.8, 150.0, 151.2, 151.4, 173.3, 179.6
HRMS (FAB) m/z : 377.1493 (Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 377.1499)

***N*-[4-(3,4-Difluorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21x**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.37-1.72(brm, 10H), 1.87(quint, J = 7.3 Hz, 2H), 2.32-2.44(brm, 6H), 2.59(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.98(t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.10(t, J = 7.3 Hz, 2H), 3.26-3.34(brm, 2H), 6.83-6.89(m, 1H), 6.93-7.09(m, 2H), 7.14-7.30(m, 5H), 11.00 (brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 24.2, 25.6, 26.7, 28.1, 28.4, 28.9, 31.7, 34.4, 42.4, 43.4, 54.3, 57.7, 116.8, 116.9, 117.0, 124.0, 125.6, 128.1, 128.2, 138.5, 141.7, 147.3, 147.4, 148.7, 148.8, 149.7, 149.9, 151.1, 151.3, 172.7, 185.0

HRMS (FAB) m/z : 502.2710 (Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{F}_2\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 502.2704)

***N*-[4-(3,4-Difluorophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11x**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.38-1.46(brm, 2H), 1.52-1.70(brm, 8H), 1.80

(quint, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.30-2.43(brm, 4H), 2.40(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.61(t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.89(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.27-3.33 (brm, 2H), 6.92-6.98(m, 2H), 7.09-7.14(m, 2H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 24.4, 25.8, 26.7, 28.6, 28.9, 29.1, 34.7, 43.1, 54.3, 56.3, 114.8, 115.0, 129.6, 129.7, 137.8, 160.0, 162.4$

^{19}F -NMR (CDCl_3) : $\delta = -116.68$

HRMS (FAB) m/z : 370.2132 (Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 370.2129)

***N*-[4-(3,4-DiChlorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)thiourea**

20y

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.64$ -1.70(m, 4H), 2.60(t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.65(t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.96(t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 3.65(quant, $J = 6.7$ Hz, 2H), 7.00(dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.06-7.36(m, 7H), 9.13(brs, 1H), 10.56(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 27.6, 28.1, 30.4, 34.4, 38.5, 45.1, 126.6, 127.8, 128.2, 128.6, 129.8, 130.2, 130.3, 132.2, 139.4, 142.0, 173.2, 179.6$

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}^{35}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{OS}$: 409.0908; found: 409.0906.

***N*-[4-(3,4-DiChlorophenyl)butyl]-*N'*-(3-phenylpropionyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 21y**

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.35$ -1.45(m, 2H), 1.50-1.70(m, 8H), 1.86

(quint, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.30-2.40(m, 6H), 2.60(t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.70(t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 2.98(t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 3.10(t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.29(brs, 2H), 7.00(dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, 1H), 7.05-7.55(m, 7H), 10.99(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 24.3, 25.9, 27.0, 28.0, 29.0, 31.8, 34.4, 42.5, 43.4, 54.5, 58.0, 125.7, 127.8, 128.2, 128.3, 129.8, 130.2, 130.2, 132.2, 141.8, 141.9, 172.9, 185.1$

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}^{35}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$: 534.2113; found: 534.2118.

***N*-[4-(3,4-DiChlorophenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothioure
a 11y**

^1H -NMR (CDCl_3) : $\delta = 1.24$ -1.34(m, 2H), 1.39-1.47(m, 2H), 1.52-1.72(m, 8H), 1.84(quint, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.35(brs, 2H), 2.41(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.59(t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.89(t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.29(t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 7.00(dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz, 1H), 7.26(d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.32(d, $J = 8.2$ Hz, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : $\delta = 24.3, 25.8, 26.6, 28.4, 28.6, 29.1, 34.6, 43.1, 54.3, 56.2, 127.9, 129.6, 130.1, 130.3, 132.1, 142.4, 15.0$

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{30}^{35}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{S}$: 402.1537; found: 402.1538.

***N*-[4-(4-Pentafluorosulfanylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)**

thiourea 22z

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ = 1.62-1.74(m, 4 H), 2.68(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.62-3.68(m, 2H), 4.08(s, 2H), 7.23(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.39(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.54(td, J = 7.6, 1.2Hz, 1H), 7.64(d, J = 8.8Hz, 2H), 7.66(td, J = 7.6, 1.2Hz, 1H), 8.16(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 9.46(brs, 1H), 10.36(brs, 1H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) : δ = 27.6, 28.1, 34.8, 42.0, 45.2, 125.5, 125.9 (quint, J = 4.6Hz), 128.1, 128.5, 129.3, 133.6, 134.0, 145.8, 148.5, 151.8 (quint, J = 16.7Hz), 170.1, 179.4.

HRMS (FAB): m/z $[\text{M}+1]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{F}_5\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$: 497.0866; found: 497.0867.

***N*-[4-(4-Pentafluorosulfanylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 23z**

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) : δ = 1.39-1.46(m, 2H), 1.54-1.72(m, 10H), 2.25(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.28-2.38(brm, 4H), 2.66(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.87(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.26(quart, J = 6.4Hz, 2H), 4.11(s, 2H), 7.24(d, J = 8.4Hz, 2H), 7.34(dd, J = 7.6, 1.2Hz, 1H), 7.41(td, J = 7.6, 1.2Hz, 1H), 7.55(td, J = 7.6, 1.2Hz, 1H), 7.65(d, J = 8.4Hz, 2H), 8.04(dd, J = 7.6, 1.2Hz, 1H), 10.82(brs, 1H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) : δ = 24.4, 25.9, 26.6, 28.0, 28.4, 28.9, 34.8, 43.5, 45.6, 54.5, 57.8, 124.8, 126.0(quint, J = 4.6Hz), 127.5, 128.5, 132.4, 133.0, 133.3, 145.6, 149.3, 151.9 (quint, J = 16.7Hz),

173.6, 181.0.

HRMS (FAB): m/z $[M+1]^+$ calcd for $C_{27}H_{36}F_5N_4O_3S_2$: 623.2149; found: 623.2147.

***N*-[4-(4-Pentafluorosulfanylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11z**

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) : δ = 1.40-1.48(brm, 2H), 1.54-1.62(m, 6H), 1.68(quint, J = 7.2Hz, 2H), 1.81(quint, J = 7.2Hz, 2H), 2.34-2.44(br, 4H), 2.40(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.71(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.87(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.22(t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.36(d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.69(d, J = 8.8 Hz, 2H)

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD): δ = 25.2, 26.5, 27.6, 29.4, 29.6, 29.8, 36.0, 44.0, 55.4, 58.5, 127.0 (quint, J = 4.6Hz), 130.0, 148.5, 152.9 (quint, J = 16.7Hz), 162.6.

^{19}F -NMR (282 MHz, CD_3OD): δ = 63.6 (d, J = 147.8Hz), 85.9 (quint, J = 147.8Hz,).

HRMS (FAB): m/z $[M+1]^+$ calcd for $C_{19}H_{31}F_5N_3S_2$: 460.1879; found: 460.1882.

***N*-[4-(2,4-Bistrifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)thiourea 22aa**

1H -NMR ($CDCl_3$) : δ = 1.64-1.79(m, 4H), 2.85(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.68 (quart, J = 6.0 Hz, 2H), 4.09(s, 2H), 7.40(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H),

7.47(d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.54(td, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H), 7.66(td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.72(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.85(s, 1H), 8.16(dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H), 9.54(s, 1H), 10.39(t, J = 4.8 Hz, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 28.0, 28.4, 31.9, 42.0, 45.1, 113.1(m), 123.2, 125.5, 128.1(m), 128.5, 129.3, 131.6, 133.6, 134.0, 144.9, 148.5, 170.1, 170.2, 179.5

HRMS (EI) m/z : found 507.1048 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}]^+$: 507.1052)

***N*-[4-(2,4-Bistrifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 23aa**

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1.38-1.47(br, 2H), 1.53-1.61(m, 4H), 1.62-1.73(m, 6H), 2.25(t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.33(brs, 4H), 2.84(brs, 2H), 2.87(t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.29(d, J = 5.6 Hz, 2H), 4.20(t, J = 2.8 Hz, 2H), 7.35(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.41(td, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H), 7.48(d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.55(td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.74(d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.86(s, 1H), 8.05(dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H), 10.85(brs, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.9, 26.6, 28.2, 28.7, 28.9, 31.8, 43.4, 45.6, 54.4, 57.7, 122.1, 122.3(m), 123.1, 124.7, 125.0, 127.5(m), 128.5, 128.8, 128.9, 129.2, 131.6, 132.4, 133.0, 133.3, 144.7, 149.3, 173.6, 181.0

HRMS (FAB) m/z : found 633.2332 (Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 633.2334)

***N*-[4-(2,4-Bistrifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)is
thiourea 11aa**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.39-1.48(br, 2H), 1.52-1.60(m, 4H), 1.63-1.75(m, 4H), 1.81(quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.32-2.38(br, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.84-2.89(br, 2H), 2.90(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.29-3.37(br, 2H), 5.02-5.62(br, 2H), 7.45(d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.72(d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.86(s, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.0, 26.7, 28.6, 28.8, 29.6, 32.2, 54.3, 56.3, 133.1, 122.4(m), 123.1, 124.8, 125.1(m), 128.4, 131.6, 144.4, 159.3

HRMS (FAB) m/z : found 470.2070 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{F}_6\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 470.2065)

***N*-[4-(3,5-Bistrifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)
thiourea 22ab**

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1.65-1.78(m, 4H), 2.77(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.68(quart, J = 5.6 Hz, 2H), 4.09(s, 2H), 7.40(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.54(td, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H), 7.61(s, 2H), 7.66(td, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.70(s, 1H), 8.16(dd, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H), 9.59(s, 1H), 10.40(brs, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 27.6, 28.2, 35.0, 42.0, 45.1, 120.0(m), 123.4, 125.5, 128.1, 128.5, 129.3, 131.5, 133.6, 134.0, 144.1, 148.6, 170.2, 179.6

HRMS (EI) m/z : found 507.1053 (Calcd for $C_{21}H_{19}F_6N_3O_3S$ $[M]^+$: 507.1052)

***N*-[4-(3,5-Bistrifluoromethylphenyl)butyl]-*N'*-(2-nitrophenylacetyl)-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 23ab**

1H -NMR ($CDCl_3$) : δ = 1.37-1.48(br, 2H), 1.49-1.62(m, 4H), 1.58-1.78(m, 6H), 2.25(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.25-2.40(br, 4H), 2.75(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.88(t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.29(quant, J = 6.4 Hz, 2H), 4.11(s, 2H), 7.34(dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.40(td, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 7.55(td, J = 7.4, 1.2 Hz, 1H), 7.61(s, 2H), 7.71(s, 1H), 8.04(d, J = 8.0 Hz, 1H), 10.83(brs, 1H)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) : δ = 24.4, 26.0, 26.6, 28.1, 28.5, 29.0, 35.1, 43.5, 45.6, 54.5, 57.8, 120.1(m), 123.3, 124.7, 127.5, 128.5, 131.6, 132.4, 133.0, 133.3, 144.0, 149.4, 173.7, 181.1

HRMS (EI) m/z : found 633.2336 (Calcd for $C_{29}H_{34}F_6N_4O_3S$ $[M]^+$: 633.2334)

***N*-[4-(3,5-Bistrifluoromethylphenyl)butyl]-*S*-(3-piperidinopropyl)isothiourea 11ab**

1H -NMR ($CDCl_3$) : δ = 1.38-1.48(br, 2H), 1.56(quant, J = 5.6 Hz, 4H), 1.64(quant, J = 7.6 Hz, 2H), 1.72(quant, J = 7.6 Hz, 2H), 1.80(quant, J = 7.2 Hz, 2H), 2.26-2.44(br, 4H), 2.41(t, J = 6.8 Hz, 2H), 2.78(t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.90(t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.27-3.39(br, 2H), 7.63(s, 2H),

7.70(s, 1H)

^{13}C -NMR (CDCl_3) : δ = 24.3, 25.8, 26.6, 27.8, 28.5, 29.2, 35.3, 43.0,
54.2, 56.1, 119.9(m), 123.4, 128.5, 131.4, 144.6, 159.2

HRMS (FAB) m/z : found 470.2065 (Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{F}_6\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$:
470.2065)

第三章 第一節の実験

細胞培養

ヒト H₃R(CF-392-C)をチャイニーズハムスターの卵巣細胞 CHO-K1 細胞に強制発現させたものを PerkinElmer (Belgium)から入手した。10% ウシ胎児の血清 (Biowest, France)、ペニシリン (100IU/ml, Nakarai Tesque, Japan)、ストレプトマイシン (100μl, Nakarai Tesque)、G418 (0.4mg/ml, Invitrogen, USA)を含む Ham's F12 培地 (Sigma-Aldrich, USA)を用い、CO₂ 濃度 5%、37°C の条件のもと培養を行った。

cAMP アッセイ

hH₃R を強制発現させた CHO 細胞の細胞内 cAMP 濃度を LANCE™ cAMP384kit(PerkinElmer)を用いて、製品プロトコールに従い測定した。アッセイは、時間分解蛍光共鳴エネルギー転位 (TR-FRET : Time-Resolved Fluorescence Resonance Energy Transfer)を基盤としたイノムアッセイであり、G タンパク質共役受容体によるアデニル酸シクラーゼの調節を受けて生産される cAMP を調べた。

データ解析

hH₃R を強制発現させた CHO 細胞に対してフォルスコリン 10⁻⁶M によりアデニル酸シクラーゼを活性化し、細胞内 cAMP 濃度を上昇させた後、H₃R アンタゴニストの R-α-メチルヒスタミン 10⁻⁹M を作用させ、最大 cAMP 濃度を 80% 阻害しておく。そこに、試験化合物を、濃度を

変えながら添加し、cAMP の上昇を cAMP 非存在下で最大となる 665nm の蛍光波長をマイクロプレートリーダーで測定することで、用量反応曲線が得られる。このグラフから、GraphPad Prism 5 (GraphPad Prism Software Inc., USA) を用いて pIC₅₀ 値を算出した。pA₂ 値は R-α-メチルヒスタミンのみの濃度を変えながら作用させ、得られる用量反応曲線に対して、いくつかの濃度の試験化合物を添加し、R-α-メチルヒスタミン単独時の用量反応曲線を 2 倍だけ高容量に並行移動する時のモル濃度を求めた。R-α-メチルヒスタミン単独時の用量反応曲線の EC₅₀ 値と試験化合物共存下での EC₅₀ 値の比の負の対数から試験化合物のモル濃度の負の対数を引くことで求めた。

$$pA_2 = \log(A/B) - \log C$$

A；アンタゴニストが存在する時のアゴニストの EC₅₀ 値

B；アンタゴニストが存在しない時のアゴニストの EC₅₀ 値

C；アンタゴニスト濃度

EC₅₀ 値は R-α-メチルヒスタミン単独投与時の用量反応曲線のグラフより GraphPad Prism 5 (GraphPad Prism Software Inc., USA) を用いて算出した。

第三章 第二節の実験

使用動物

体重約 200 g、オスの Wistar rats (生後 7-9 週、Japan SLC, Shizuoka, Japan)を使用した。12 時間(8:00 ~ 20:00)は照明を付け、12 時間暗所となるようにし、室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ の条件のもと、飼育した。実験前日まで、水と標準的なペレット状のエサ(MF, Oriental Yeast Co., Osaka, Japan)を与え、実験前日に絶食を行った。

In vivo ブレインマイクロダイアリシス³²⁾

ラットを装置(Kopf Instrument, Tujunga, CA, USA)に固定後、アミノギ酸エチル(1.2 g/kg, i.p.)で麻酔を行った。その後、マイクロダイアリシスプローブ(MAB6; membrane length, 2 mm; ALS/Microbiotech, Stockholm, Sweden)³³⁾をヒスタミン受容体の多く発現している神経終末が密集している視床下部前野(AH_y)に挿入した。NaCl を 140 mM、KCl を 3 mM、CaCl₂ を 2.5 mM 含み、pH 7.4 に調製された人工脳脊髄液(CSF)を、マイクロインフラクションポンプを用いて、プローブの中に流し入れ、AH_y に遊離しているヒスタミンをプローブ先端の半透膜を通して回収した。プローブを差し込んでから 2 時間後にミニフラクションコレクター(CMA140, CMA/Microdialysis AB)を用いて 20 分単位でサンプルを集め、各フラクションはすぐに -40°C で冷凍し、分析するまで保存した。各 OUP 化合物($10 \mu\text{M}$)は、CSF に加え、状態が安定してからさらに 60 分の時点から、プローブ先端の半透膜を通じて投与した。ヒスタミン遊離量は HPLC 蛍光定量により測定した。

第三章 第四節の実験

モデリング解析

ヒト H₃R(NCBI; NP_009163.2)とラット H₃R(Swiss-Prot; Q9QYN8.1)の解析は、X 線結晶構造解析の行われたヒト H₁R 膜貫通領域の構造 (3RZE dataset in Protein Data Bank)¹²⁾を基に行った。79.48Å x 79.48Å x 99.29Å サイズのボックスの中に水溶媒中で脂質二重膜を再現した中へそれぞれの受容体を入れ、各受容体モデルを組んだ。AMBER 12 force field を用い最適化を行い、300K の熱を 0.002 ピコ秒ごとにかけた分子動力学シミュレーションを行い、最安定配座を求めた。

各受容体モデルを組んだ後に、それぞれ、ヒスタミンの配位する位置を基に、OUP 化合物 (OUP-181,186,191) を配置し、再び分子動力学シミュレーションを行い、最安定配座を求めた。

引用文献

- 1) (a) Arrang, J. M.; Garbarg, M.; Schwartz, J. C. *Nature*, **1983**, *302*, 832. (b) Leurs, R.; Bakker R. A.; Timmerman, H.; De Esch, I. J. P. *NATURE REVIEWS*, **2005**, *4*, 107. (c) Miko, T.; Ligneau, X.; Pertz, H. H.; Ganellin, C. R.; Arrang, J. M.; Schwartz, J. C.; Schunack, W.; Stark, H. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 1523. (d) Arrang, J.-M.; Gargarg, M.; Lancelot, J.-C.; Lecomte, J.-M.; Pollard, H.; Robba, M.; Schunack, W.; Schwartz, J. -C. *Nature* **1987**, *327*, 117. (e) Morisset, S.; Rouleau, A.; Ligneau, X.; Gbahou, F.; Tardivel-Lacombe, J.; Stark, H.; Schunack, W.; Ganellin, C. R.; Schwartz, J. C.; Arrang, J.-M. *Nature*, **2000**, *408*, 860.
- 2) Hill, S. J.; Ganellin, C. R.; Timmerman, H.; Schwartz, J. C.; Shankley, N. P.; Young, J. M.; Schunack, W.; Levi, R.; Haas, H. L. *Pharmacol. Rev.*, **1997**, *49*, 253.
- 3) Schlicker, E.; Fink, K.; Detzner, M.; Göthert, M. *J. Neural. Transm. Gen. Sect.*, **1993**, *93*, 1.
- 4) Schlicker, E., Betz, R., Göthert, M. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1988**, *337*, 588.
- 5) (a) Watanabe, T.; Timmerman, H.; Yanai, K. *Histamine Research in the New Millennium*, Elsevier: New York, 2001. (b) Leurs, R.; Blandina, P.; Tedford, C.; Timmerman, H. *Trends*

Pharmacol. Sci., **1998**, *19*, 177.

- 6) Bray, G. A.; Tartaglia, L. A. *Nature*, **2000**, *404*, 672.
- 7) Pillot, C.; Ortiz, J.; Heron, A.; Ridray, S.; Schwartz, J.C.; Arrang, J.;M. *J. Neurosci.*, **2002**, *22*, 7272.
- 8) Mignot, E.; Taheri, S.; Nishino, S. *Nature Neurosci.*, **2002**, *5*, 1071.
- 9) (a) Oda, T.; Morikawa, N.; Saito, Y.; Masuho, Y.; Matsumoto, S. *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 36781; (b) Nakamura, T.; Itadani, H.; Hidaka, Y.; Ohta, M.; Tanaka, K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2000**, *279*, 615; (c) Hough, L. B. *Mol. Pharmacol.*, **2001**, *59*, 415 and references therein; (d) Smits, R. A.; Leurs, R.; de Esch, I. J. P. *Drug Discov. Today*, **2009**, *14*, 745; (d) *Histamine H₄ Receptor: A Novel Drug Target in Immunoregulation and Inflammation*; Stark, H., Ed.; Versita: London, **2013**; (e) Repka-Ramirez, M. S. *Curr. Allergy Rep.* **2003**, *30*, 227.
- 10) Oda, T.; Matsumoto, S. *Nihon Yakurigaku Zasshi* **2001**, *118*, 36..
- 11) (a) Igel, P.; Dove, S.; Buschauer, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 7191; (b) Kiss, R.; Keseru, G. M. *Expert Opin. Ther. Patents* **2012**, *22*, 205.
- 12) Shimamura, T.; Shiroishi, M.; Weyand, S.; Tsujimoto, H.; Winter, G.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Cherezov, V.; Liu, W.; Han, G. W.; Kobayashi, T.; Stevens, R. C.; Iwata, S. *Nature* **2011**, *475*, 65.

- 13) (a) Yao, B. B.; Hutchins, C. W.; Carr, T. L.; Cassar, S.; Masters, J. N.; Bennani, Y. L.; Esbenshade, T. A.; Hancock, A. A. *Neuropharmacol.* **2003**, *44*, 773; (b) Hancock, A. A.; Esbenshade, T. A.; Krueger, K. M.; Yao, B. B. *Life Sci.* **2003**, *73*, 3043; (c) Hancock, A. A. *Biochem. Pharmacol.* **2006**, *71*, 1103; (d) Lovenberg, T. W.; Pyati, J.; Chang, H.; Wilson, S. J.; Erlander, M. G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, *293*, 771.
- 14) Vollinga, R. C., de Koning, J. P., Jansen, F. P., Leurs, R., Menge, W. M. P. B., Timmerman, H., *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 332.
- 15) Arrang, J.-M, Garbarg, M., Lancelot, J.-C., Lecomte, J.-M., Pollard, H., Robba, M. Schunack, W., Schwartz, J.-C., *Nature*, **1987**, *327*, 117.
- 16) (a) Van der Goot, H.; Schepers, M. J. P.; Sterk, G. J.; Timmerman, H. *Eur J. Med. Chem.* **1992**, *27*, 511. (b) Barnes, J. C.; Brown, J. D.; Clarke, N. P.; Clapham, J.; Evans, D. J.; O'Shaughnessy, C. T. *Eur. J. Pharmacol.* **1993**, *250*, 147. (c) De Esch, I. J. P.; Mills, J. E. J.; Perkins, T. D. J.; Romeo, G.; Hoffmann, M.; Wieland, K.; Leurs, R.; Menge, W. M. B.; Nederkoorn, P. H. J.; Dean, P. M.; Timmerman, H., *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 1666.
- 17) Oda, T.; Morikawa, N.; Saito, Y.; Masuho, Y.; Matsumoto, S. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 36781.
- 18) Stephanos, J. *J. Inorg. Biochem.*, **1996**, *62*, 155.

- 19) Chadha, H. S.; Abraham, M. H.; Mitchell, R. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 2511.
- 20) Hudkins, R. L.; Raddatz, R.; Tao, M.; Mathiasen, J. R.; Aimone, L. D.; Beckell, N. C.; Prouty, C. P.; Knutsen, L. J. S.; Yazdanian, M.; Moachon, G.; Ator, M. A.; Mallamo, J. P.; Marino, M. J.; Bacon, E. R.; Williams, M. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4781.
- 21) Cowart, M.; Faghih, R.; Curtis, M. P.; Gfesser, G. A.; Bennani, Y. L.; Black, L. A.; Pan, L.; Marsh, K. C.; Sullivan, J. P.; Esbenshade, T. A.; Fox, G. B.; Hancock, A. A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 38.
- 22) (a) Ligneau X., Landais L., Perrin D., Piriou J., Uguen M., Denis E., Robert P., Parmentier R., Anaclet C., Lin J. S., Burban A., Arrang J. M., Schwartz J. C., *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, *73*, 1215. (b) Schwartz J. C., *Br. J. Pharmacol.*, **2011**, *163*, 713.
- 23) (a) Harusawa, S.; Imazu, T.; Takahashi, S.; Araki, L.; Ohishi, H.; Kurihara, T.; Yamamoto, Y.; Yamatodani, A. *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 2561. (b) Harusawa, S.; Imazu, T.; Takashima, S.; Araki, L.; Ohishi, H.; Kurihara, T.; Sakamoto, Y.; Yamamoto, Y.; Yamatodani, A. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 8608; (c) Hashimoto, T., Harusawa, S., Araki, L., Zuiderveld, O. P., Smit, M. J., Imazu, T., Takashima, S., Yamamoto, Y., Sakamoto, Y., Kurihara, T., Leurs R., Bakker, R. A., Yamatodani, A., *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 3162.

- 24) Hashimoto, T.; Harusawa, S.; Araki, L.; Zuiderveld, O. P.; Smit, M. J.; Imazu, T.; Takashima, S.; Yamamoto, Y.; Sakamoto, Y.; Kurihara, T.; Leurs, R.; Bakker, R. A.; Yamatodani, A. *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 3162.
- 25) Shinya Harusawa, Makoto Kawamura, Lisa Araki, Ryusuke Taniguchi, Hiroki Yoneyama, Yasuhiko Sakamoto, Noritsugu Kaneko, Yumi Nakao, Kouta Hatano, Takeshi Fujita, Ryoko Yamamoto, Takushi Kurihara, Atsushi Yamatodani, *Chem. Pharm. Bull.*, **2007**, *55*, 1245.
- 26) (a) Yoneyama H., Shimoda A., Araki L., Hatano K., Sakamoto Y., Kurihara T., Yamatodani A., Harusawa S., *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 2096. (b) 米山弘樹、修士論文、大阪薬科大学大学院、**2008**.
- 27) Hiroki Yoneyama, Takuji Magata, Kenji Uemura, Yoshihide Usami, Satoshi Tanaka, Masanori Takaoka, Shinya Harusawa. *Synthesis*, **2015**, *47*, 1291.
- 28) Shinya Harusawa, Koichi Sawada, Takuji Magata, Hiroki Yoneyama, Lisa Araki, Yoshihide Usami, Kouta Hatano, Kouichi Yamamoto, Daisuke Yamamoto, Atsushi Yamatodani. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 6415.
- 29) Lehmann, T., Michel, D., Glänzel, M., Waibel, R., Gmeiner, P., *Heterocycles*, **1999**, *51*, 1389 and references cited therein.
- 30) Ngochindo, R. I., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1999**, *1*, 1645.
- 31) Harusawa, S., Murai, Y., Moriyama, H., Imazu, T., Ohishi, H.,

- Yoneda, R., Kurihara, T., *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 4405.
- 32) Mochizuki, T.; Yamatodani, A.; Okakura, K.; Takemura, M.; Inagaki, N.; Wada, H. *Naunyu Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1991**, *343*, 190.
- 33) Paxinos, G., Watson, C., "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates," 4th ed., Academic Press: Sydney, **1998**.
- 34) (a)Di Giacomo, C.; Sorrenti, V.; Salerno, L.; Cardile, V.; Guerrera, F.; Siracusa, M. A.; Avitabile, M.; Vanella, A., *Exp. Biol. Med.*, **2003**, *228*, 486. (b)Garvey, E. P.; Oplinger, J. A.; Tanoury, G. J.; Sherman, P. A.; Fowler, M.; Marshall, S.; Harmon, M. F.; Paith, J. E.; Furfine, E. S. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 26669.
- 35) (a)Uetani, T.; Matsubara, T.; Nomura, H.; Murohara, T.; Nakayama, S. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 47491. (b)Watano, T.; Kimura, J.; Morita, T.; Nakanishi, H. *Br. J. Pharmacol.* **1996**, *119*, 555.
- 36) Dolma, S.; Lessnick, S. L.; Hahn, W. C.; Stockwell, B. R. *Cancer Cell* **2003**, *3*, 285.
- 37) Rawal, R. K; Tripathi, R.; Katti, S. B.; Pannecouque, C.; Clercq, E. D. *Bio. & Med. Chem.* **2007**, *15*, 1725.
- 38) (a) Manimala, J. C.; Anslyn, E.V. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3909. (b) Drouin, C.; Woo, J. C. S.; MacKay, D. B.; Lavigne, R. M. A. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7197. (c) Powell, D. A.; Batey, R. A.

Org. Lett. **2002**, *4*, 2913.

- 39) Smith, M. B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry*, 5th ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, **2001**, 495.
- 40) (a) Sandler, R. S.; Karo, W. *Organic Functional Group Preparations*, 2nd ed.; Academic Press, Inc.: New York, **1986**, 206. (b) Smith, M. B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry*, 5th ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, **2001**, 495. (c) Denk, M. K.; Ye, X. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7597.
- 41) John L. LaMattina, Peter A. McCarthy,* Lawrence A. Reiter, William F. Holt, and Li-An Yeh. *J. Med. Chem.*, **1990**, *32*, 543.
- 42) Charles H. Grogan, Leonard M. Rice, M. X. Sullivan. *J. O. Chem.*, **1953**, *18*, 728.
- 43) Meier, G. ; Apelt, J. ; Reichert, U. ; Gra \square mann, S. ; Ligneau, X. ; Elz, S. ; Leurquin, F. ; Ganellin, C. R. ; Schwartz, J.-C. ; Schunack, W. ; Stark, H. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2001**, *13*, 249.
- 44) Bordwell, F. G.; Ji, G. Z., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 8398.
- 45) Tsunoda, T.; Otsuka, J.; Yamamiya, Y.; Itô, S. *Chem. Lett.* **1994**, 539.
- 46) Kodomari, M.; Suzuki, M.; Tanigawa, K.; Aoyama, T., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5841.
- 47) Marshall Gates.; B. Sugavanam.; William L. Schreiber., *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 205.
- 48) Smith P. A. S., Kan R. O., *Org. Synth.*, **1973**, *5*, 1051.

- 49) Lipp, M.; Dallacker, F.; Koenen, G. *Chem. Ber.*, **1958**, *91*, 1660.
- 50) Nagasawa, H.; Mitsunobu, O. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1981**, *54*, 2223.
- 51) Vowinkel, E.; Wolff, C., *Chem. Ber*, **1974**, *107*, 496.
- 52) Entwistle, I. D.; Jackson, A. E.; Johnstone, R. A. W.; Telford, R. *P. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1977**, 443.
- 53) (a) Somei, M.; Yamada, F.; Kurauchi, T.; Nagahama, Y.; Hasegawa, M.; Yamada, K.; Teranishi, S.; Sato, H.; Kaneko, C. *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, *49*, 87. (b) Hashimoto, Y.; Ishizaki, T.; Shudo, K.; Okamoto, T., *Chem. Pharm. Bull.*, **1983**, *31*, 3891.
- 54) Welch, J. T.; Lim, D. S. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 6659.
- 55) (a) Sepcic K., Mancini I., Vidic I., Franssanito R., Pietra F., Macek P., Turk T. *Journal of natural toxins*, **2001**, *10*, 181.; (b) Swanson Devin M; Wilson Sandy J; Boggs Jamin D; Xiao Wei; Apodaca Richard; Barbier Ann J; Lovenberg Timothy W; Carruthers Nicholas I., *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, **2006**, *16*, 897.
- 56) Barbier A. J., Berridge C., Dugovic C., Laposky A. D., Wilson S. J., Boggs J., Aluisio L., Lord B., Mazur C., Pudiak C. M., Langlois X., Xiao W., Apodaca, R., Carruthers N. I., Lovenberg T. W. *Br. J. Pharmacol.*, **2004**, *143*, 649.