

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.96 (s, 6H), 6.58 (d, $J=3.0$ Hz, 1H), 6.93 (dd, $J=2.1, 2.1$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=8.1$ Hz, 2H).

1-(4-(Tributylstannyl)phenyl)-*N,N*-dimethyl-1*H*-indol-5-amine (化合物 3 2)の合成

化合物 3 1 (43 mg, 0.14 mmol) を 1,4-ジオキサン (5 mL) に溶解し、ピス(トリブチルスズ) (0.1 mL)、テトラトリフェニルホスフィンパラジウム (6.3 mg, 0.005 mmol)、トリエチルアミン (5 mL) を加えて 6 時間加熱還流した。反応溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/9) を溶出溶媒とする中圧分取クロマトグラフィーに付し、化合物 3 2 を得た。収量 6.2 mg (収率 8.6%) ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.89-1.57 (m, 27H), 2.94 (s, 6H), 6.56 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 6.9 (dd, $J=2.7, 2.4$ Hz, 1H), 7.05 (d,

$J=2.1$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J=8.1$ Hz, 2H).

1-(4-Iodophenyl)-*N,N*-dimethyl-1*H*-indol-5-amine (化合物 3 3)の合成

化合物 3 2 (38 mg, 0.07 mmol) をクロロホルム (5 mL) に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (1 mL, 0.25 M) を加え、室温で 5 分間攪拌した。飽和亜硫酸ナトリウム水溶液を加えて反応を停止させ、クロロホルム層を分液し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/9) を展開溶媒とする分取用 TLC により精製を行い、化合物 3 3 を得た。収量 6 mg (収率 22.9%) ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.95 (s, 6H), 6.57 (d, $J=3.3$ Hz, 1H), 6.90 (dd, $J=2.7, 2.4$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J=2.7$ Hz, 1H), 7.22-7.28 (m, 3H), 7.44 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J=8.4$ Hz, 2H).

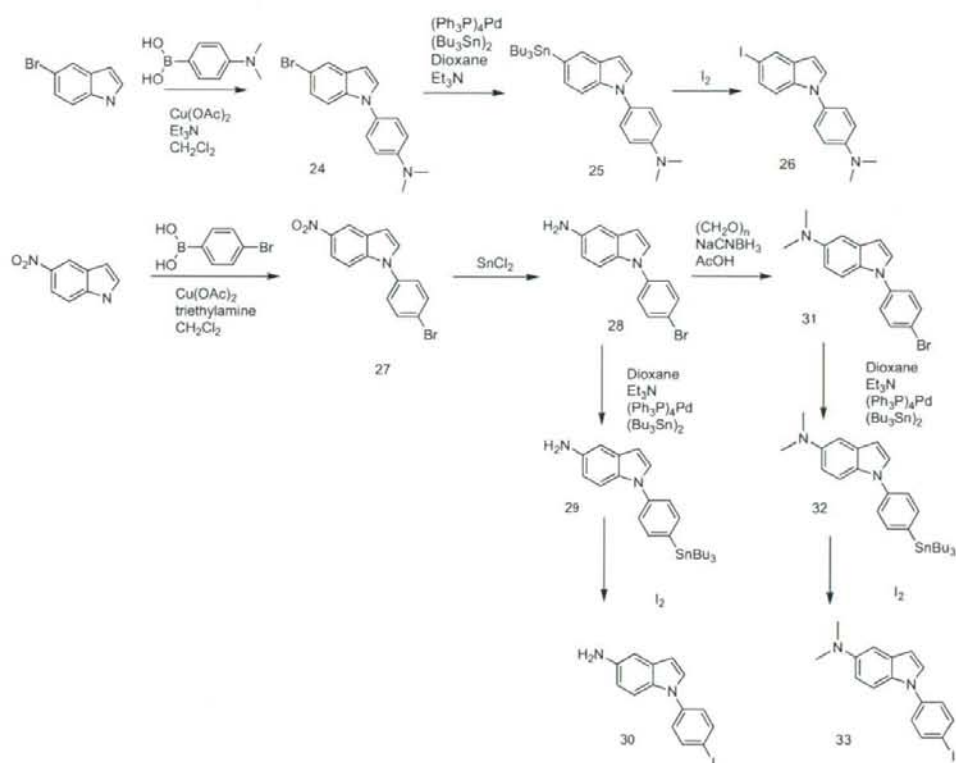


図 1 1 . Indomethacin 派生化合物の合成経路(II)

(6) フェニルブタゾン派生化合物の合成

4-(5-(4-Bromophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-*N,N*-dimethylbenzenamine
(化合物 34) の合成

4-Bromobenzhydrazine (215 mg, 1 mmol) と

4-dimethylaminobenzaldehyde (149 mg, 1 mmol)、ammonium cerium nitrate (548 mg, 1 mmol) をジクロ

ロメタン (10 mL) に溶解し 24 時間加熱還流した。精製水を加えてクロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/4) を溶出溶媒とする中圧分取クロマトグラフィーに付し、化合物 34 を得た。収量 12 mg (収率 3.5%) ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.08 (s, 6H), 6.76 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 7.66 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 7.98 (dd, *J*=5.4, 4.5 Hz, 4H).

MS m/z 362 (M⁺).

4-(5-(4-Tributylstannyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-*N,N*-dimethylbenz enamine (化合物 3 5)の合成

ラトリフェニルホスフィンパラジウム (3 mg, 0.002 mmol)、トリエチルアミン (3 mL) を加えて4時間30分、加熱還流した。反応溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/3)を展

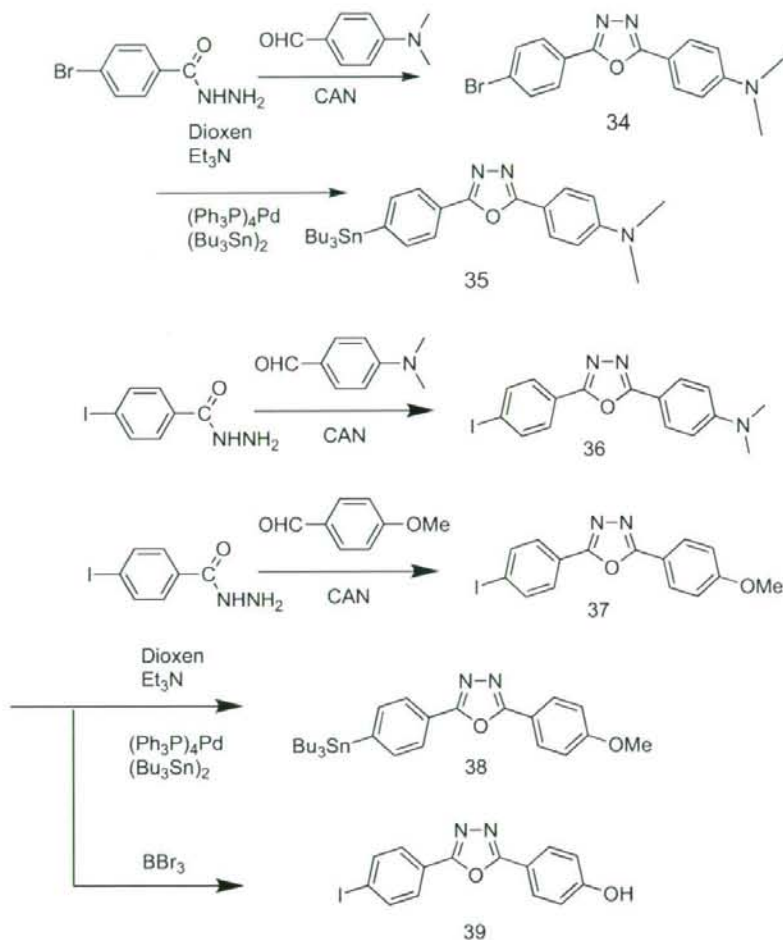


図 1 2-Phenylbutazon 派生化合物の合成経路 (1)

化合物 3 4 (19 mg, 0.06 mmol) を 1,4-ジオキサン (3 mL) に溶解し、ピス(トリブチルスズ) (0.04 mL)、テト

開溶媒とする分取用 TLC により精製を行い、化合物 3 5 を得た。収量 2.5mg (収率 8.2%) ¹H NMR (300

MHz, CDCl₃) δ 0.87-1.6 (m, 27H) 7.61 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 8.01 (dd, 3.07 (s, 6H), 6.77 (d, *J*=9.0 Hz, 2H), 7.61 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 8.01 (dd, *J*=9.0, 8.1 Hz, 4H).

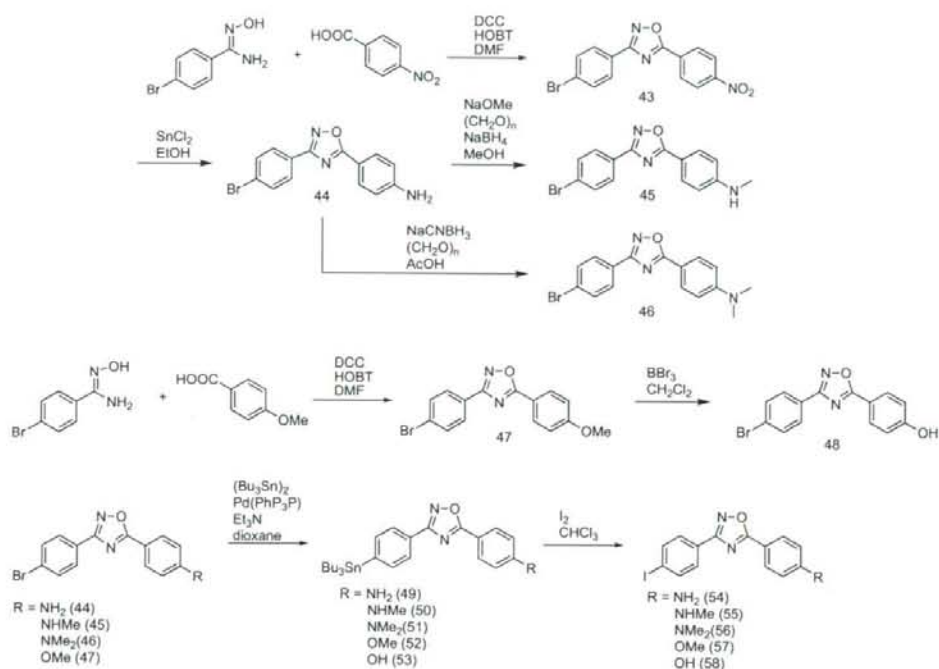


図 1 3. Phenylbutazon 派生化合物の合成経路 (2)

4-(5-(Iodophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-*N,N*-dimethylbenzenamine(化合物 36)の合成

4-Iodobenzohydrazide (524 mg, 2 mmol) と

4-(dimethylamino)benzaldehyde (298 mg, 2 mmol)、Ammonium cerium nitrate (1096 mg, 2 mmol) をジクロロメタン (20 mL) に溶解し 11 時間加熱還流した。精製水を加えて

クロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール (99/1) を展開溶媒とする分取用 TLC により精製を行い、化合物 36 を得た。収量 6 mg (収率 0.76%) ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.07 (s, 6H), 6.76 (d, *J*=3.0 Hz, 2H), 7.85 (d, *J*=12.0 Hz, 4H), 7.97 (d, *J*=3.0 Hz, 2H). MS *m/z* 391 (M⁺).

2-(4-Iodophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole(化合物 37)の合成

4-Iodobenzohydrazide (524 mg, 2 mmol) と 4-methoxybenzaldehyde (272 mg, 2 mmol) Ammonium cerium nitrate (1096 mg, 2 mmol) をジクロロメタン (20mL) に溶解し 19 時間加熱還流した。精製水を加えてクロロホルムで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール (99/1) を展開溶媒とする分取用 TLC により精製を行い、化合物 37 を得た。収量 40mg (収率 8.8%) $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 3.89 (s, 3H), 7.03 (d, $J=2.9$ Hz, 2H), 7.86 (q, $J=7.8$ Hz, 4H), 8.03 (d, $J=3.0$ Hz, 2H). MS m/z 378 (M^+).

2-(4-(Tributylstannyl)phenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazole(化合物 38)の合成

化合物 37 (64 mg, 0.06 mmol) を 1,4-ジオキサン (5 mL) に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (0.11 mL)、テトラトリフェニルホスフィンパラジウム (8.1 mg, mmol)、トリエチルアミン (5 mL) を加えて 4 時間加熱還流した。反応溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/4) を展開溶

媒とする分取用 TLC により精製を行い、化合物 38 を得た。収量 6 mg (収率 6.5%) $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.87-1.58 (m, 27H), 3.91 (s, 3H), 7.04 (d, $J=3.1$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J=2.6$ Hz, 2H), 8.06 (q, $J=6.6$ Hz, 4H).

4-(5-(4-Iodophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenol(化合物 39)の合成

化合物 37 (36mg, 0.1 mmol) をジクロロメタン溶液に溶解し、氷冷下三臭化ホウ素ジクロロメタン溶液 (0.6mL) を徐々に加えていった。室温で 5 日間反応させた後、反応液に少量ずつ精製水を加え反応を停止させた。クロロホルムで抽出後、水層を酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/2) を溶出溶媒とする中圧分取クロマトグラフィーに付し、化合物 39 を得た。収量 17 mg (収率 49%) $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6.98-7.06 (m, 2H), 7.86-7.91 (m, 4H), 8.02-8.09 (m, 2H). MS m/z 364 (M^+).

2-(4-(5-(4-Iodophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenoxy)ethanol (化合物 40) の合成

化合物 39 (22 mg, 0.06 mmol) を DMF (3 mL) に溶解し、 K_2CO_3 (24.5 mg, 0.18 mmol) と ethylenchlorohydrin (4 mL, 0.06

mmol)を加え、6.5時間加熱還流した。反応終了後、精製水を加えクロロホルムで抽出し、 Na_2SO_4 を加えて脱水した後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル:ヘキサン=3:2を展開溶媒とする分取用 TLC にて精製し、化合物 4 0 を得た。収量 11 mg (収率 44.6%)

2-(2-(4-(5-(4-Iodophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenoxy)ethoxy)ethanol (化合物 4 1) の合成

化合物 3 9 (28 mg, 0.077 mmol)を DMF (3 mL) に溶解し、 K_2CO_3 (94.3 mg, 0.23 mmol) と ethyleneglycol mono-2-chloroethyl ether (6 mL, 0.092 mmol)を加え、4.5時間加熱還流した。反応終了後、精製水を加えクロロホルムで抽出し、 Na_2SO_4 を加えて脱水した後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル:ヘキサン=3:2を展開溶媒とする分取用 TLC にて精製し、化合物 4 1 を得た。収量 9 mg (収率 25.9%)

2-(2-(2-(4-(5-(4-Iodophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenoxy)ethoxy)ethoxy)ethanol (化合物 4 2) の合成

化合物 3 9 (12 mg, 0.033 mmol)を DMF (3 mL) に溶解し、 K_2CO_3 (40.4 mg, 0.1 mmol) と 2-[2-(2-chloroethoxy)ethoxy]ethanol

(5 mL, 0.035 mmol)を加え、12時間加熱還流した。反応終了後、精製水を加えクロロホルムで抽出し、 Na_2SO_4 を加えて脱水した後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル:ヘキサン=2:1を展開溶媒とする分取用 TLC にて精製し、化合物 4 2 を得た。収量 7.8 mg (収率 44.7%)

3-(4-Bromophenyl)-5-(4-nitrophenyl)-1,2,4-oxadiazole (化合物 4 3) の合成

4-Bromobenzamidoxime (645 mg, 3 mmol)と 4-nitrobenzoic acid (495 mg, 3 mmol)の DMF (10 mL)溶液に、DCC (3.6 mmol)と HOBT (6.0 mmol)の DMF (5 mL)溶液を加えた。室温で18時間反応後、100 °C で2時間加熱還流を行った。反応溶媒を減圧留去後、酢酸エチル/ヘキサン(9/1)を溶出溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィに付し、目的とする化合物 1 を得た (収量 370 mg、収率 35.6%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7.70 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.43 (s, 4H). MS m/z 346 (M^+).

4-(3-(4-Bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)aniline (化合物 4 4) の合成

化合物 4 3 (350 mg, 1 mmol)と SnCl_2 (948 mg, 5 mmol)を EtOH (15 mL)に懸濁し、2時間加熱還流した。反応溶液を室温まで戻し、1 M NaOH (100 mL)

を加えて、アルカリ状態にした。酢酸エチル(100 mL x 2)で抽出後、生理食塩水で洗浄、硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を減圧留去することにより、目的とする化合物 4 4 を得た(収量 258 mg、収率 80.8%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.16 (s, 2H), 6.75 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.00 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 8.03 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H). MS *m/z* 316 (M⁺).

4-(3-(4-Bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-*N*-methylaniline (化合物 4 5)の合成

化合物 4 4 (185 mg, 0.59 mmol)と paraformaldehyde (176 mg, 0.59 mmol)のメタノール溶液(10 mL)に NaOCH₃ (28 wt % in MeOH, 0.4 mL)を滴下した。反応溶液は、30分間加熱還流し、その後、NaBH₄ (225 mg, 5.9 mmol)を加えて、さらに 1.5 時間加熱還流した。1 M NaOH (50 mL)を加えて、CHCl₃ (50 mL)で抽出した後、硫酸ナトリウムで乾燥した。残渣は、酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィに付し、目的とする化合物 4 5 を得た(収量 98 mg、収率 50.3%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.93 (s, 3H), 4.30 (s, 1H), 6.66 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.63 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.01 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.03 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H). MS *m/z* 330 (M⁺).

4-(3-(4-Bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-*N,N*-dimethylaniline (化合物 4 6)の合成

化合物 4 4 (35 mg, 0.10 mmol)と paraformaldehyde (36 mg, 1.2 mmol)を酢酸(5 mL)溶液に、NaCNBH₃ (50 mg, 0.80 mmol)を加えた。室温で2時間反応を行い、1 M NaOH (30 mL)を加えた後、CH₃Cl (30 mL)で抽出した。硫酸ナトリウムで乾燥後、酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィに付し、目的とする化合物 4 6 を得た(収量 24 mg、収率 68.4%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.09 (s, 6H), 6.75 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.63 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.35 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.43 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H). MS *m/z* 344.

3-(4-Bromophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazole (化合物 4 7)の合成

化合物 4 3 を得る際に用いた方法により、目的とする化合物 4 7 を得た(収量 153 mg、収率 23.1%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.91 (s, 3H), 7.05 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.15 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H). MS *m/z* 330 (M⁺).

4-(3-(4-Bromophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol (化合物 4 8)の合成

氷冷下、化合物 4 7 (300 mg, 0.91 mmol)の CH_2Cl_2 (10 mL)溶液に、 BBr_3 (4.5 mL, 1 M solution in CH_2Cl_2)を滴下した。その後 4 2 時間室温で反応を行い、水 (30 mL)を加えて反応を終了した。クロロホルム (30 mL x 2)で抽出を行い、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、残渣をヘキサン/酢酸エチル (4/1) を溶出溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィに付し、目的とする化合物 4 8 を得た (収量 146 mg、収率 50.6%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6.99 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.65 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.04 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.12 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H). MS m/z 316 (M^+).

4-(3-(4-(Tributylstannyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)aniline (化合物 4 9) の合成

化合物 4 4 (100 mg, 0.32 mmol), bis(tributyltin) (0.2 mL)および $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (16 mg, 0.014 mmol)をジオキサンとトリエチルアミンの混合溶媒(10 mL, 3:2 dioxane/triethylamine mixture)に溶解し、10 時間加熱還流を行った。反応溶媒を留去し、残渣をヘキサン/酢酸エチル (3/1) を溶出溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィに付し、目的とする化合物 4 9 を得た (収量 28 mg、収率 16.8%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.87-1.61 (m, 27H), 4.13 (s, 2H), 6.76 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J =$

8.1 Hz, 2H), 8.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.28 (s, 1H).

N-Methyl-4-(3-(4-(tributylstannyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)aniline (化合物 5 0) の合成

化合物 4 5 を出発原料とし、化合物 4 9 を得るために用いた方法により、目的とする化合物 5 0 を得た (収量 23 mg、収率 15.8%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.87-1.63 (m, 27H), 2.92 (s, 3H), 4.27 (s, 1H), 6.66 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.03 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H).

N,N-Dimethyl-4-(3-(4-(tributylstannyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)aniline (化合物 5 1) の合成

化合物 4 6 を出発原料とし、化合物 4 9 を得るために用いた方法により、目的とする化合物 5 1 を得た (収量 45 mg、収率 20.3%)。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.87-1.58 (m, 27H), 3.09 (s, 6H), 6.76 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 8.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H).

5-(4-Methoxyphenyl)-3-(4-(tributylstannyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazole (化合物 5 2) の合成

化合物 4 7 を出発原料とし、化合物 4 9 を得るために用いた方法により、目

的とする化合物 5 2 を得た (収量 42 mg、収率 22.8%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.87-1.59 (m, 27H), 3.91 (s, 3H), 7.04 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 8.07 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 8.17 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H).

4-(3-(4-(Tributylstannyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol (化合物 5 3) の合成
化合物 4 8 を出発原料とし、化合物 4 9 を得るために用いた方法により、目的とする化合物 5 3 を得た (収量 28 mg、収率 60.1%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.87-1.58 (m, 27H), 6.99 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.61 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 8.07 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H).

4-(3-(4-Iodophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)aniline (化合物 5 4) の合成
化合物 4 9 (27 mg, 0.05 mmol) の CHCl₃ (5 mL) 溶液に、ヨウ素のクロロホルム溶液 (1 mL, 50 mg/mL) を加えた。室温で 10 分間反応を行い、飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液 (25 mL) を加えることにより、反応を終了した。クロロホルム (25 mL x 2) で抽出した後、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧留去した。残渣をヘキサンで洗浄することによって、目的とする化合物 5 4 を得た (収量 12 mg、収率 66.1%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.15 (s, 2H), 6.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H),

7.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.89 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.01 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H). HRMS *m/z* C₁₄H₁₀N₃OI found 362.9855 / calcd 362.9869 (M⁺).

4-(3-(4-Iodophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-*N*-methylaniline (化合物 5 5) の合成
化合物 5 0 を出発原料とし、化合物 5 4 の合成方法と同様のヨウ素化反応により、目的とする化合物 5 5 を得た (収量 20 mg、収率 86.0%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2.93 (s, 3H), 4.29 (s, 1H), 6.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.02 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H). HRMS *m/z* C₁₅H₁₂N₃OI found 377.0022 / calcd 377.0025 (M⁺).

4-(3-(4-Iodophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-*N,N*-dimethylaniline (化合物 5 6) の合成
化合物 5 1 を出発原料とし、化合物 5 4 の合成方法と同様のヨウ素化反応により、目的とする化合物 5 5 を得た (収量 34 mg、収率 72.4%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.09 (s, 6H), 6.75 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.90 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.04 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H). HRMS *m/z* C₁₆H₁₄N₃OI found 391.0192 / calcd 391.0182 (M⁺).

3-(4-Iodophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-1

,2,4-oxadiazole (化合物 5 7) の合成

化合物 5 2 を出発原料とし、化合物 5 4 の合成方法と同様のヨウ素化反応により、目的とする化合物 5 7 を得た (収量 17 mg、収率 69.2%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.89 (s, 3H), 6.97 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H). HRMS *m/z* C₁₅H₁₁N₂O₂I found 377.9865 / calcd 377.9872 (M⁺).

4-(3-(4-iodophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)phenol (化合物 5 8) の合成

化合物 5 3 を出発原料とし、化合物 5 4 の合成方法と同様のヨウ素化反応により、目的とする化合物 5 8 を得た (収量 14 mg、収率 81.8%)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.99 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H). HRMS *m/z* C₁₄H₉N₂O₂I found 363.9704 /

calcd 363.9709 (M⁺).

(7) NSAIDs 派生化合物の ¹²⁵I 標識種々のトリブチルスズ化合物 (1mg/mL) のエタノール溶液 (50μL) に [¹²⁵I]NaI (1.5μL 5mCi/50μL)、1N 塩酸 (50μL) を加え、最後に 3% w/v 過酸化水素水 (50μL) を加えた。3 分間室温放置後、飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液 (100μL) を加え反応を停止させ、飽和炭酸水素ナトリウム (100μL) を加えて反応溶液を中和した。酢酸エチルで抽出し、硫酸ナトリウムを入れたパスツールピペットに通して脱水した後、逆相 HPLC (水 : アセトニトリル = 4 : 6 · 3 : 7) で精製した。非放射性化合物を標品として 254nm における吸光度を HPLC で分析し、それと一致する目的物を分取し、酢酸エチルで抽出し、窒素気流下酢酸エチルを留去した。

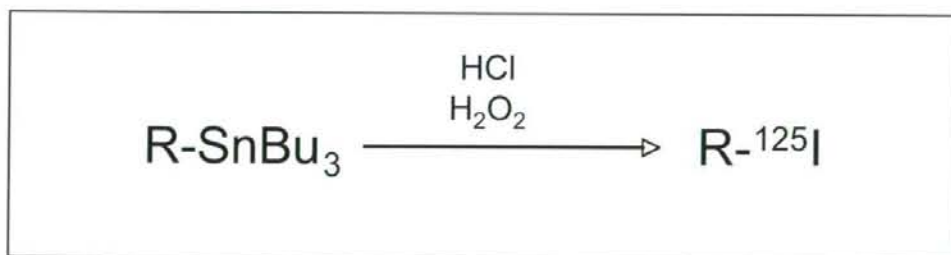


図 1 4. トリブチルスズ標識前駆化合物からの放射性ヨウ素標識

(8) Aβ (1-42)凝集体の調製
Aβ (1-42)を 1 mM EDTA を含んだ 10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) に 0.25

mg/mL の濃度になるように溶解し、37 °C で 42 時間インキュベートすることにより、Aβ (1-42)凝集体を調整

した。

(9) A β (1-42)凝集体を用いた結合実験

10%EtOH 溶液 900 μ L、種々の濃度のサンプル溶液 50 μ L、A β (1-42)凝集体 50 μ Lまたはリン酸 Buffer 50 μ Lを加え、室温で 3 時間放置した。A β (1-42)凝集体と結合した化合物と結合していない化合物とは、Whatman GF/B filter を用いて Brandel M-24R cell harvester によって分離し、濾過したフィルターに残った放射能を γ カウンターで計測した。

(10) A β (1-42)凝集体を用いた結合阻害実験による阻害定数: K_i 値の算出
10%EtOH 溶液 850 μ L、 $[^{125}\text{I}]\text{IMPY}$ の 10%エタノール溶液 50 μ L、種々の濃度のサンプル溶液 50 μ L (0~20 μ M) を混和し、最後に A β (1-42)凝集体溶液 50 μ L を加え、室温で 3 時間放置した。A β (1-42)凝集体と結合した化合物と結合していない化合物とは Whatman GF/B filter を用いて Brandel M-24R cell harvester によって分離した。濾過したフィルターに残った放射能を γ -カウンターで計測し、GraphPad Prism 4.0 を用いて阻害曲線を作成し、阻害定数: K_i を算出した。

C. 研究結果

(11) 正常マウスを用いた体内放射能分布実験

10%EtOH 含有生理食塩水を用い、放射性ヨウ素標識体を希釈した。1群 4-5 匹の 4-5 週齢 ddY 雄系マウス (20-25 g) に、それぞれの標識体 $[^{125}\text{I}]7$ 、 $[^{125}\text{I}]10$ 、 $[^{125}\text{I}]13$ 、 $[^{125}\text{I}]14$ を 1 匹あたり 100 μ L (0.2-0.4 μ Ci) 尾静脈より投与した。投与後 2、10、30、60 分後に断頭、採血し、主要な臓器を摘出した後、それらの重量および放射能を測定した。

(12) トランスジェニックマウス脳切片を用いた蛍光染色

アルツハイマー病モデルトランスジェニックマウス Tg2576 (20,24 ヶ月齢)の脳を取り出し、ドライアイス中で 4%CMC を加え凍結させた。その後、LEICA CM1900 により厚さ 10 μ m の切片を作製した。切片とリガンド (100 μ M in 50%EtOH) を 10 分間、または切片と Th-S を 3 分間反応させた後、50%EtOH で 2 回洗浄し、Nikon ECLIPSE 80i を用い、波長 365 nm、380-420 nm で観察した。

AD の特徴的病理学的変化のうち最

も初期段階に始まるとされる老人斑に着目し、老人斑の主構成成分であるA β に特異的結合性を有するイメージングプローブの開発を計画した。本研究では、NSAIDsを基盤分子とする種々の放射性ヨウ素標識化合物を合成し、アミロイドイメージングプローブとしての有用性の評価を行った。

NSAIDs派生化合物の合成

図1から13にNSAIDs派生化合物の合成経路を示した。それぞれのプロモ化合物はパラジウムを触媒とするビス(トリブチルスズ)との反応によりトリブチルスズ体へと変換した。これらのトリブチルスズ体はヨウ素と反応させることによりヨウ素体へと変換した。

¹²⁵I標識実験

¹²⁵I標識は、過酸化水素を酸化剤として用い、スズ-ヨウ素交換反応により目的とする¹²⁵I標識体を得た(図14)。あらかじめ254 nmにおける非放射能化合物の吸光度を逆相HPLCで分析しておき、その保持時間と一致する化合物を分離精製することにより、目的とする¹²⁵I標識体を98%以上の放射化学的純度で得た。

A β (1-42)凝集体との結合親和性に関する検討

合成した化合物に関して、アミロイド β 42凝集体を用いたインビトロ結合実験を行い、化合物のアミロイドに対する結合性を定性的に評価した。その結果を図15のグラフに示した。横軸に化合物の濃度、縦軸にアミロイド凝集体に結合した放射能を示す。アミロイド結合性は、化合物によって異なったが、化合物36および化合物37はアミロイド凝集体への高い結合性を有することが示唆された。

さらに、アミロイド凝集体との結合親和性の指標となる阻害定数: K_i を算出するため、^[125I]IMPYを放射性リガンドとして用いた結合阻害実験を行った。実験の結果得られた K_i を表1に示す。ジフェニルオキサジアゾール誘導体におけるA β (1-42)凝集体に対する結合親和性は、置換基の種類により異なり、OH < NH₂ = NHMe = NMe₂ < OMeの順で向上することが示された。これら化合物の K_i 値は4から47 nMであり、いずれの化合物も、インビボアミロイドイメージングを行うのに十分な結合性を示した。

正常マウスにおける体内放射能分布実験

4-5週齢正常マウスを用いて¹²⁵I標識化合物36、37、54、55、56、57の体内放射能分布実験を行った(表2)。いずれの化合物も1%ID/g

以上の脳移行性を示し、アミロイドイメージングに十分な放射能が脳へ到達した。[¹²⁵I]37は、[¹²⁵I]36に比べて、速やかな放射能消失を示すことが確認された。また、1,2,4誘導体に比べ、1,3,4誘導体は高い脳移行性を示した。中でも[¹²⁵I]20は、最も速やかな放射能消失を示しことが確認された。また、いずれの化合物も肝臓への高い集積を示し、経時的に腸管へと排泄された。

アルツハイマー病病態モデルマウス

脳組織切片を用いた蛍光染色実験

次に、実際にアミロイド斑への結合性を検討するために、化合物36および化合物37を使用し、アルツハイマー病モデルマウス脳切片を用いた蛍光染色実験を行った。その結果、アルツハイマー病モデルマウス脳切片上には、同月齢のワイルドタイプマウス脳切片には観察されない、多数の蛍光が観察され、この蛍光像は、隣接切片を用いて行った抗アミロイドβ抗体による免疫染色の陽性部位と一致した。

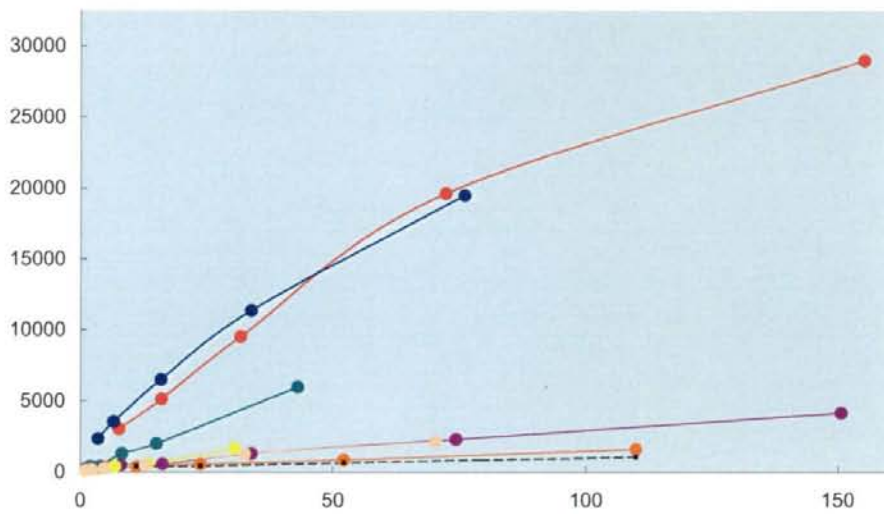
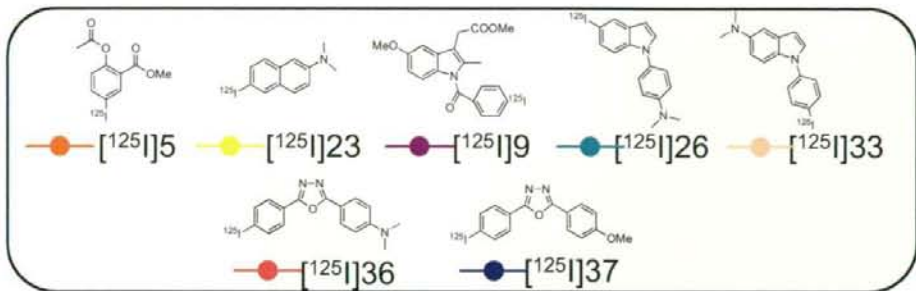


図 1 5. Aβ42 凝集体を用いたインビトロ結合実験

表 1. $[^{125}\text{I}]\text{IMPY}$ を放射性リガンドとして用いたジフェニルオキサジアゾール誘導体の A β 42 凝集体への結合阻害実験

Compound	K_i (nM) ^a
36	20.1 \pm 2.6
37	46.1 \pm 12.6
39	229.6 \pm 47.3
40	282.2 \pm 61.4
41	348.6 \pm 51.7
42	257.7 \pm 34.8
54	14.2 \pm 1.4
55	14.3 \pm 3.6
56	15.4 \pm 1.4
57	4.3 \pm 2.1
58	47.1 \pm 4.1

^aValues are means \pm standard error of the mean of 3-6 independent experiments.

表 2. 正常マウス体内放射能分布実験^a

Tissue	Time after injection (min)			
	2	10	30	60
	$[^{125}\text{I}]\text{54}$			
Blood	4.55 (0.64)	2.32 (0.63)	3.09 (0.22)	2.99 (0.31)
Liver	21.36 (3.13)	17.37 (1.72)	14.89 (1.47)	12.33 (2.19)
Kidney	8.24 (1.26)	6.94 (0.70)	5.86 (0.56)	5.15 (0.74)
Intestine	1.50 (0.36)	3.08 (0.47)	5.84 (0.75)	8.33 (1.39)
Spleen	6.13 (1.67)	8.87 (2.35)	6.89 (0.81)	5.02 (0.55)

Pancreas	3.69 (2.30)	3.88 (0.54)	3.36 (0.36)	2.83 (0.32)
Heart	9.29 (1.66)	4.02 (0.48)	3.48 (0.24)	3.51 (0.61)
Stomach ^b	0.92 (0.31)	1.70 (0.18)	4.05 (0.96)	5.15 (1.32)
Brain	1.61 (0.23)	2.48 (0.16)	3.32 (0.31)	3.29 (0.58)
[¹²⁵ I]55				
Blood	3.54 (0.26)	1.84 (0.24)	1.52 (0.13)	1.54 (0.09)
Liver	14.62 (1.30)	12.37 (2.09)	8.53 (0.98)	7.30 (0.78)
Kidney	9.53 (0.83)	5.30 (0.94)	3.39 (0.66)	3.02 (0.58)
Intestine	1.36 (0.21)	2.83 (0.93)	5.67 (1.44)	8.46 (1.36)
Spleen	4.58 (0.62)	4.70 (0.48)	2.84 (0.35)	2.14 (0.22)
Pancreas	3.34 (0.38)	3.91 (0.60)	3.06 (0.58)	1.88 (0.25)
Heart	9.51 (0.77)	3.05 (0.50)	1.68 (0.21)	1.27 (0.20)
Stomach ^b	1.08 (0.11)	2.32 (0.62)	4.89 (0.99)	7.38 (0.97)
Brain	1.44 (0.12)	1.98 (0.36)	2.56 (0.44)	2.70 (0.33)
[¹²⁵ I]56				
Blood	5.42 (0.85)	2.41 (0.22)	1.79 (0.24)	1.56 (0.27)
Liver	13.94 (3.26)	8.27 (1.49)	5.89 (1.75)	5.15 (1.92)
Kidney	7.83 (3.53)	7.67 (1.62)	4.81 (1.01)	3.31 (0.77)
Intestine	1.59 (0.28)	2.40 (0.36)	4.12 (0.99)	5.37 (1.01)
Spleen	6.26 (1.53)	4.56 (1.11)	3.11 (0.62)	2.41 (0.29)
Pancreas	3.17 (0.73)	3.80 (0.50)	2.86 (1.64)	2.47 (0.62)

Heart	11.04 (2.43)	4.81 (1.07)	2.20 (0.54)	1.24 (0.68)
Stomach ^b	1.28 (0.21)	3.28 (0.36)	4.80 (0.56)	5.75 (2.47)
Brain	1.07 (0.23)	1.45 (0.27)	2.23 (0.61)	2.32 (0.64)
[¹²⁵I]57				
Blood	1.96 (0.66)	1.63 (0.14)	1.23 (0.39)	1.12 (0.26)
Liver	11.94 (1.92)	9.35 (1.17)	6.13 (0.76)	4.44 (0.60)
Kidney	8.77 (1.17)	6.22 (0.87)	3.85 (1.01)	2.95 (0.66)
Intestine	1.70 (0.27)	3.53 (0.32)	6.62 (0.90)	8.21 (1.84)
Spleen	4.41 (0.72)	3.62 (0.28)	2.13 (0.53)	1.34 (0.40)
Pancreas	4.55 (0.77)	4.94 (0.26)	2.84 (0.48)	1.45 (0.28)
Heart	11.30 (1.92)	4.44 (0.67)	1.84 (0.32)	1.35 (0.29)
Stomach ^b	0.62 (0.21)	1.64 (0.10)	2.46 (0.80)	3.16 (1.39)
Brain	2.06 (0.45)	2.76 (0.23)	2.82 (0.34)	2.01 (0.33)
[¹²⁵I]36				
Blood	3.28 (0.46)	3.51 (0.29)	2.53 (0.28)	2.21 (0.41)
Liver	15.87 (3.49)	19.12 (2.43)	12.64 (2.44)	10.01 (1.64)
Kidney	9.14 (1.60)	7.80 (0.64)	5.71 (1.35)	3.81 (0.64)
Intestine	2.28 (0.55)	11.34 (1.61)	12.58 (2.35)	16.22 (2.51)
Spleen	3.56 (0.96)	4.10 (0.40)	2.63 (0.54)	2.05 (0.41)
Pancreas	5.32 (0.98)	4.39 (2.17)	2.50 (0.56)	2.14 (0.90)
Heart	3.99 (3.10)	3.55 (1.86)	2.03 (0.30)	1.54 (0.31)

Stomach ^b	0.71 (0.13)	1.41 (0.91)	3.12 (0.90)	2.90 (1.57)
Brain	2.98 (0.53)	5.93 (0.76)	3.16 (0.69)	1.78 (0.41)
[¹²⁵ I]37				
Blood	1.84 (0.30)	1.60 (0.30)	1.26 (0.26)	0.80 (0.20)
Liver	9.60 (1.73)	12.60 (1.14)	8.07 (1.66)	4.65 (1.34)
Kidney	7.14 (1.46)	4.85 (0.48)	3.92 (1.97)	2.48 (0.37)
Intestine	2.07 (0.36)	4.49 (0.60)	10.06 (1.81)	19.85 (4.71)
Spleen	2.44 (0.28)	1.51 (0.26)	0.80 (0.10)	0.60 (0.26)
Pancreas	4.74 (0.63)	1.98 (0.37)	0.96 (0.03)	0.57 (0.14)
Heart	4.80 (1.33)	1.73 (0.27)	0.92 (0.25)	0.43 (0.11)
Stomach ^b	0.71 (0.13)	1.41 (0.91)	3.12 (0.90)	2.89 (1.57)
Brain	3.75 (0.78)	2.74 (0.37)	1.04 (0.14)	0.36 (0.10)

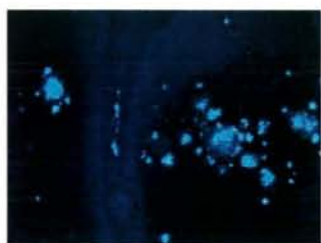
^aExpressed as % injected dose per gram. Each value represents the mean (s.d.) for 3-5 animals at each interval. ^bExpressed as % injected dose per organ. ^cnot determined



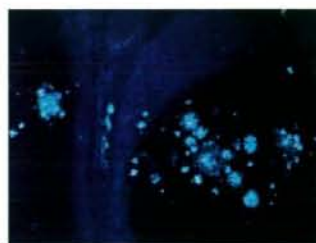
36



チオフラビン S

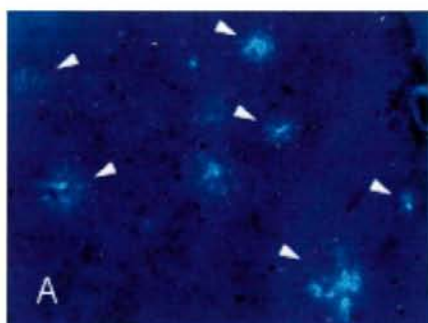


37

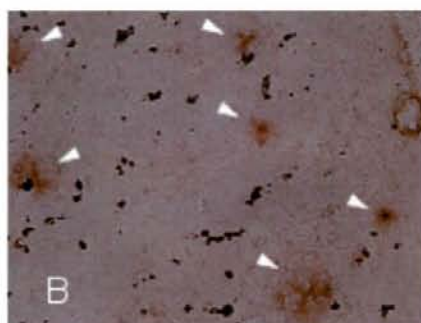


チオフラビン S

図 16. アルツハイマー病モデルマウス脳切片を用いた化合物 36 と 37 の蛍光染色



A



B

図 17. アルツハイマー病モデルマウス脳切片を用いた化合物 56 の蛍光染色 (A) と隣接切片を用いた抗アミロイドβ抗体による免疫染色(B)

D. 考察

NSAIDs を基盤分子とする数種類の新規 SPECT 用プローブを設計・合成した。アミロイド凝集体を用いたインビトロ結合実験において、ジフェニルオキサジアゾール誘導体化合物 36 と化合物 37 は、アミロイド凝集体に対する高い結合親和性を示した。アルツハイマー病モデルマウス脳切片を用いた蛍光染色実験より、化合物お

よび化合物は、脳への高い移行性を示した。今後、ジフェニルオキサジアゾール骨格へ更なる分子修飾を行い、高性能なアミロイドイメージングプローブの開発を推進していくとともに、アミロイドイメージングプローブとなりうる NSAIDs を基盤分子とした新規リード化合物を探索していく予定である。

E. 結論

NSAIDs を基盤分子とする放射性ヨウ素標識化合物の中から、ジフェニルオキサジアゾール骨格が新規 SPECT 用アミロイドイメージングプローブとして機能することが示唆された。また、本結果は NSAIDs を基盤分子としたアミロイドイメージングプローブ開発の妥当性を示すものであり、今後更なるリード化合物の探索研究の必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

Ono M, Haratake M, Saji H, Nakayama M. Development of novel β -amyloid probes based on 3,5-diphenyl-1,2,4-oxadiazole. Bioorganic&Medicinal Chemistry, 16,

6867-72, 2008.

小野正博、佐治英郎、PET/SPECT による β アミロイドの分子イメージング—アルツハイマー病の早期診断を目指して、化学, 63, 64-65, 2008.

小野正博、PET/SPECT を用いたアルツハイマー病の画像診断、薬剤学、68, 427-424, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

小野正博、中山守雄：ジフェニルオキサジアゾール誘導体含有診断用組成物 平成20年2月26日出願
出願番号：特願2008-043750