

統合失調症治療薬の開発を目的とした
グリシントランスポーター阻害物質の創薬研究

2017 年

山本 修資

目次

序論	1
本論	10
第 1 章 LBDD 手法による新規 GlyT1 阻害剤の創出	
第 1 節 LBDD 手法を用いた化合物デザイン	10
第 2 節 SSR504734 に対して芳香族複素環を導入した誘導体の合成	15
第 3 節 合成化合物の薬理評価および考察	21
第 4 節 化合物 18l および 19a の薬物動態プロファイル	27
第 5 節 化合物 19a の初期 <i>in vivo</i> 薬理評価	28
第 6 節 まとめ	29
第 2 章 CNS MPO を指標とした新規 GlyT1 阻害剤の創出	
第 1 節 合成の方針および新規リード化合物の創出	31
第 2 節 下部アルキル部位変換体の合成	34
第 3 節 下部アルキル部位変換体の薬理評価と右側鎖部位の誘導化計画	35
第 4 節 右側鎖部位変換体（フェニルピリジン誘導体）の合成	37
第 5 節 右側鎖部位変換体（フェニルピリジン誘導体）の薬理評価	39
第 6 節 化合物 37k の動態特性および初期 <i>in vivo</i> 薬理評価	42
第 7 節 化合物 19a と 37k の比較および考察	44

第 8 節	まとめ	48
第 3 章 化合物 19a の薬理学的評価		
第 1 節	化合物 19a の <i>in vitro</i> 特性	49
第 2 節	化合物 19a の統合失調症の動物モデルに対する効果と考察	50
第 3 節	化合物 19a の中枢性副作用の確認	59
第 4 節	まとめ	62
第 4 章 化合物 19a の合成における工程数の削減		
第 1 節	合成経路の設定	64
第 2 節	別法による化合物 19a の合成	65
第 3 節	考察	67
結論		68
謝辞		72
実験の部		73
参考文献		127
主論文目録		132
論文審査の主査および副査名		133

略語表

本論文において以下に示す略語及び略号を用いた

5-HT	5-hydroxytryptamine
5-HTT	5-hydroxytryptamine transporter
Ac	acetyl
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid
APCI	atmospheric pressure chemical ionization
AUC	area under the curve
BA	bioavailability
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
cHex	cyclohexyl
CNS MPO	central nervous system multi-parameter optimization
CSF	cerebrospinal fluid
CYP450	cytochrome P450
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
dppf	1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene
ESI	electrospray ionization
Et	ethyl
GABA	γ -aminobutyric acid
GlyT	glycine transporter
HBA	hydrogen bond acceptor
HBD	hydrogen bond donor
HEPES	2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethanesulfonic acid
HOBt	1-hydroxybenzotriazole

HP- β -CD	hydroxypropyl- β -cyclodextrin
IC ₅₀	half maximal (50%) inhibitory concentration
iBu	<i>isobutyl</i>
i.p.	intraperitoneal
iPr	<i>isopropyl</i>
LBDD	ligand-based drug design
Me	methyl
MED	minimum effective dose
MS	mass spectra
MsCl	methanesulfonyl chloride
MW	molecular weight
n-Bu	normal-butyl
NMDA	<i>N</i> -methyl-D-aspartate
NMR	nuclear magnetic resonance
n-Pr	normal-propyl
PCP	phencyclidine
p.o.	per os
Ph	phenyl
PK	pharmacokinetics
SBDD	structure-based drug design
s.c.	subcutaneous
SEM	standard error of the mean
Tf	trifluoromethanesulfonyl
THF	tetrahydrofuran
TPSA	topological polar surface area
WSC	water soluble carbodiimide, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide

序論

統合失調症の症状

統合失調症は陽性症状、陰性症状、および認知機能障害を中核症状とする精神障害である¹⁾。主に青年期までに発症し、生涯罹患率は約1%とされる頻度の高い疾患である^{1b,c)}。陽性症状は妄想、幻覚など、陰性症状は感情の平板化、意欲低下など、認知機能障害は注意力・記憶力の低下や情報処理能力の低下などの症状をそれぞれ引き起こす¹⁾。妄想、幻覚や自閉などの症状はコミュニケーションをとることを困難にし、社会的なルールや習慣に従えなくなり、また認知機能障害は作業能力や対人関係などに多大な影響を与えるなど、患者の日常生活に著しい影響を与える^{1a,b)}。

統合失調症の原因は明確にされていない。たとえば一卵性双生児が2人とも発症する割合は50%程度と通常に比べて発症確率が高いことから、遺伝的な要因が考えられるが、すべてを説明することはできない。その他に胎児期のウイルス感染、栄養不良、出産時の無酸素受胎などによる脳の障害に起因する可能性も議論されたが、発症危険因子の1つにすぎない^{1c)}。現在では、統合失調症は1つの原因によるものではなく、脳の脆弱性とストレスとの相互作用で発症する脆弱性 - ストレス - 対処モデルが考えられている^{1b)}。

統合失調症患者では、脳実質が減少している。思考・判断などの知的活動をつかさどる前頭葉の萎縮、また記憶や感情に関係する海馬や扁桃体の萎縮が認められ、その脳構造とともに機能に異常が生じている^{1b)}。統合失調症患者ではドーパミン神経系の亢進、グルタミン酸神経系および gamma-aminobutylic acid (GABA) 神経系の機能低下が示唆されており、その結果精神症状が現れるものと考えられる。その治療は薬物療法が主になり、再発リスクの高い疾患であるため長期にわたる薬物コントロールが必須となる²⁾。

統合失調症治療薬の現状

既存の統合失調症治療薬は第 1 世代治療薬である定型抗精神病薬と、第 2 世代治療薬である非定型抗精神病薬に分けられる²⁾。それぞれの特徴を **Table 1** に、またそれぞれの代表的な化合物の構造を **Figure 1** にまとめた。定型抗精神病薬としてクロルプロマジン、ハロペリドールなどがあげられる。これらは主にドーパミン D₂ 受容体に対する拮抗作用を有しており、陽性症状に効果を示す。しかしながら陰性症状および認知機能障害には効果がなく、また錐体外路症状と呼ばれる運動機能障害や高プロラクチン血症に起因する乳汁漏出や月経障害といった副作用が高頻度で発現する。錐体外路症状の具体的な症状として、震戦・固縮といったパーキンソン様症候群や、じっとしていられないアカシジア、持続性の筋固縮と痙直による不随意運動が生じるジストニアなどがある。中でも持続的かつ難治性の不随意運動である遅発性ジスキネジアは重篤な副作用である^{1b)}。

非定型抗精神病薬であるリスペリドン、オランザピン、クエチアピンなどはドーパミン D₂ 受容体拮抗作用に加え、セロトニン 5-HT₂ 受容体などに対する拮抗作用を併せ持つ。またアリピプラゾールはドーパミン D₂ 受容体に対して部分作動薬として働くといった特徴を有する。これら非定型抗精神病薬は陽性症状への効果に加え、限定的ではあるが陰性症状および認知機能障害に対する治療効果が認められる³⁾。副作用に関しては 5-HT₂ 受容体への拮抗作用により錐体外路症状が軽減するという利点があるものの、体重増加という新たな副作用が報告されている^{1b)}。非定型抗精神病薬の中でもクロザピンは難治性の統合失調症患者に対しても有効性を示すという特徴を有しているものの、致命的な副作用である無顆粒球症候群を引き起こすことが知られており²⁾、副作用発現をモニタリングすることを条件に認可されている。

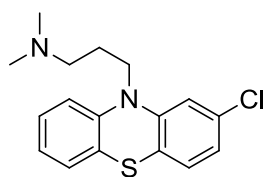
上述の通りドーパミン D₂ 受容体拮抗剤が陽性症状に効果を示すことと、逆にドーパミン伝達を亢進するアンフェタミンなどの覚醒剤やコカインが陽性症状と同様の症状を引き起こすことより、統合失調症の原因が脳内のドーパミン過剰により引き起こされるとするドーパミン仮説が提唱されるようになった⁴⁾。既

存の抗精神病薬はドーパミン仮説に基づく薬剤であるが、治療効果の面で陰性
 症状および認知機能障害に対して効果が限定的である。近年では、日常生活能
 力や社会的および職業的機能の長期的転帰は認知機能の障害と強く関連するこ
 とが示されており、社会機能全般の改善のために認知機能障害に有効性を示す
 薬剤が求められている^{1b,5)}。また副作用の面でも、十分なコントロールができて
 いるとはいえない。ドーパミン仮説により統合失調症の治療は大きく進歩した
 ものの、症状全般を改善するためには新たな作用機序を有する統合失調症治療
 薬の研究開発が求められている。

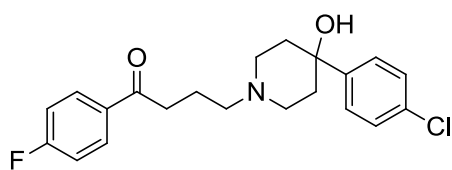
Table 1. 既存の抗精神病薬の特徴

	定型抗精神病薬	非定型抗精神病薬
主な作用機序	ドーパミン D ₂ 受容体拮抗	ドーパミン D ₂ 受容体拮抗 + セロトニン 5-HT ₂ 受容体拮抗, など
陽性症状	○ (有効)	○ (有効)
陰性症状	× (無効)	△ (効果が限定的)
認知機能障害	× (無効)	△ (効果が限定的)
副作用	× (錐体外路症状, 高プロラ クチン血症, など)	△ (錐体外路症状などは改善する が, 体重増加など見られる)

定型抗精神病薬

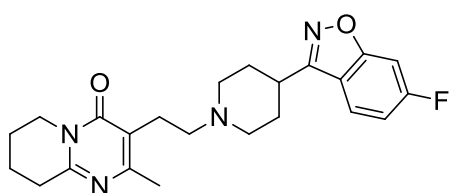


Chlorpromazine

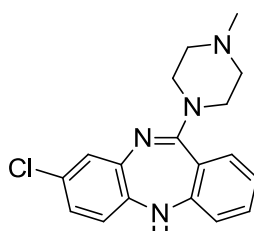


Haloperidol

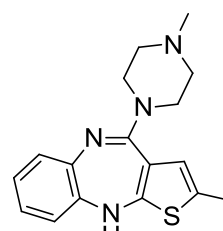
非定型抗精神病薬



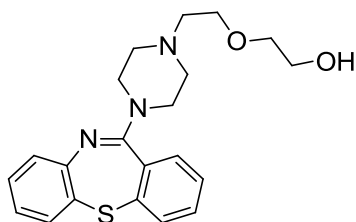
Risperidone



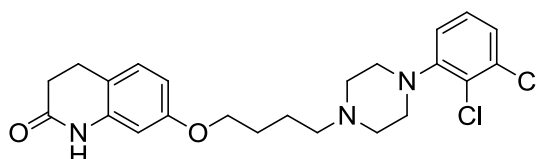
Clozapine



Olanzapine



Quetiapine



Aripiprazole

Figure 1. 代表的な統合失調症治療薬の構造

統合失調症のグルタミン酸仮説とグリシントランスポーター1

統合失調症患者の脳脊髄液中のグルタミン酸濃度は健常人に比べて減少しているという報告がなされ、発症原因としてグルタミン酸神経伝達の異常が注目されるようになった⁶⁾。グルタミン酸神経系に関わるグルタミン酸受容体はその構造や性質から、イオンチャネル型受容体と G タンパク質共役型受容体である代謝型受容体に分類される。イオンチャネル共役型受容体はさらに *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 型、 α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate (AMPA) 型、カイニン酸型受容体に分類される。これら多種のグルタミン酸受容体の中で、NMDA 受容

体に対して非競合的な拮抗作用を有するフェンサイクリジン (PCP) やケタミンがヒトにおいて幻覚・妄想のみならず、意欲低下・感情の平板化・自閉といった陰性症状と同様の症状や認知機能障害を惹起し、さらに統合失調症患者の症状を悪化させることが知られている(**Figure 2**)⁷⁾。統合失調症の発症に NMDA 受容体の機能低下が大きく関与していると考えられるようになった。

近年、上述の経緯により、統合失調症治療の創薬仮説としてグルタミン酸神経伝達の異常に着目したグルタミン酸仮説が注目されるようになった。ドーパミン仮説では統合失調症のすべての症状を説明が出来ない一方、グルタミン酸仮説により陽性症状以外の症状も説明が可能となった (**Figure 3**)。グルタミン酸仮説に基づく創薬により、既存薬では効果を示さない陰性症状や認知機能障害に対する改善効果を持つ薬剤の創出が期待されている⁸⁾。

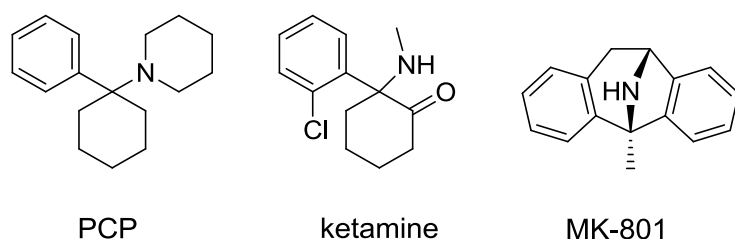


Figure 2. NMDA 受容体アンタゴニストの構造

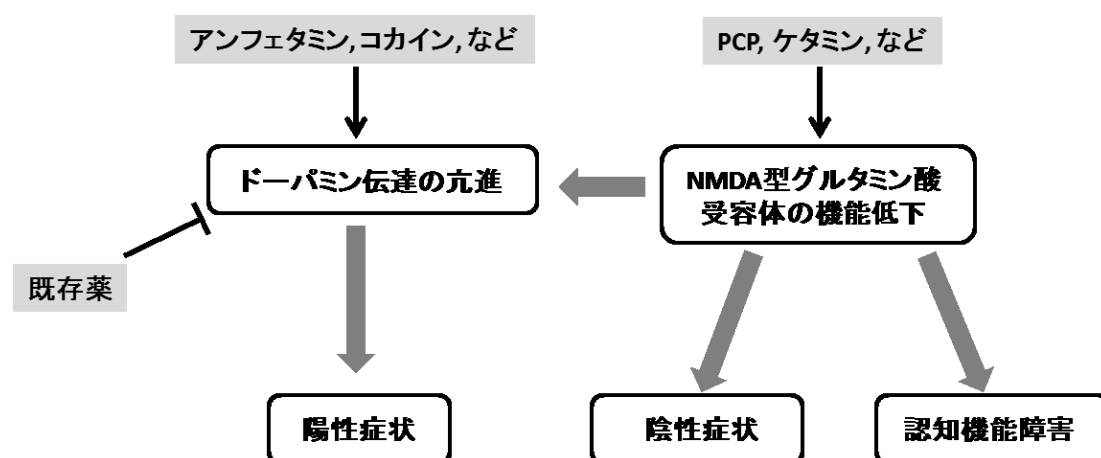


Figure 3. 統合失調症を発症する原因仮説のまとめ

グルタミン酸仮説に立脚し、これまで NMDA 受容体機能を向上させるアプローチでの創薬が検討されてきた。受容体活性化の手法として、グルタミン酸結合部位に作用するアゴニストの開発が考えられるが、NMDA 受容体の直接刺激は神経細胞毒性や痙攣を引き起こす⁹⁾。一方、NMDA 受容体にはアロステリック結合部位が存在し、グリシン結合部位もその一つである。グリシン結合部位の刺激ではグルタミン酸結合部位の直接刺激で見られるような神経細胞毒性などが認められず、その結果、統合失調症治療薬の新規ターゲットとして NMDA 受容体複合体グリシン結合部位が注目されるようになった¹⁰⁾。実際に統合失調症患者に対してグリシンもしくはグリシン結合部位のアゴニストである D-セリンを抗精神病薬と併用することにより、抗精神病薬単剤に比べより高い治療効果を示すことが報告されている¹¹⁾。

シナプス間のグリシンはグリシントランスポーター (GlyT) によりその濃度が調節されており、GlyT1 および GlyT2 の2つのサブタイプが存在する。GlyT1 は主に大脳皮質、海馬などに発現しており、NMDA 受容体の近傍にあるグリア細胞に存在する。もう一方のサブタイプである GlyT2 は脊髄、小脳などに発現し、NMDA 受容体とは異なる他のグリシン受容体と同様の分布を示すため、NMDA 受容体の機能調節には関与していないと考えられる。GlyT2 を過度に阻害することは鎮静や運動機能への障害が懸念される。これらのことから GlyT1 が NMDA 受容体機能の調節に関わっており、その選択的な阻害が NMDA 受容体の活性化に有用なアプローチと考えられる¹²⁾。すなわち、GlyT1 の阻害によりグリア細胞へのグリシン取り込みが阻害され、シナプス間のグリシン濃度が上昇することにより NMDA 受容体機能が活性化し、神経伝達が亢進される¹³⁾ (Figure 4)。

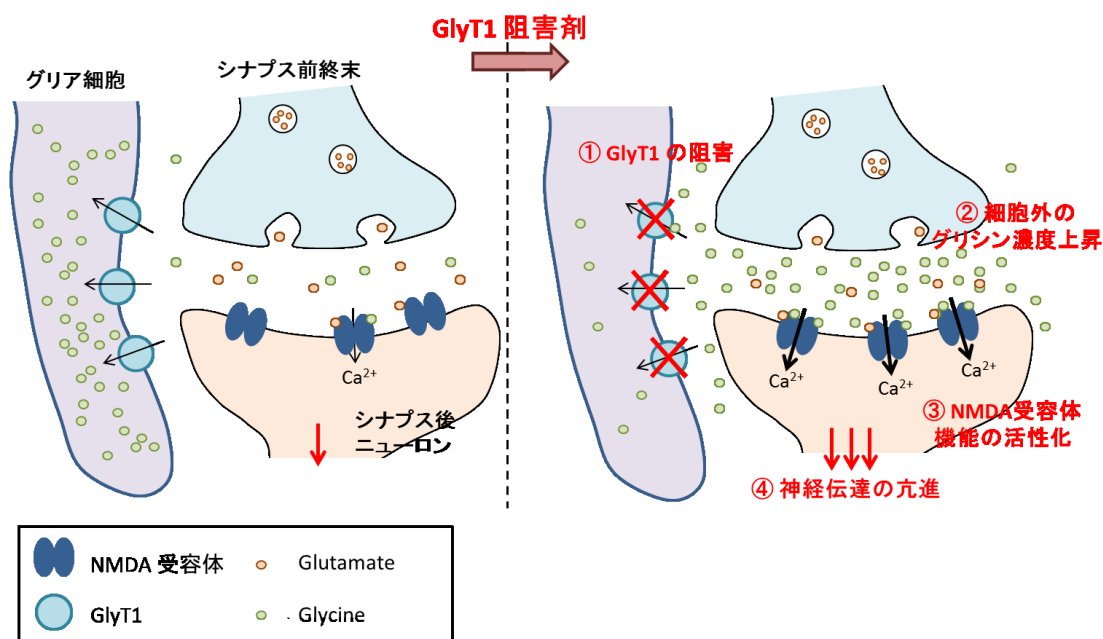


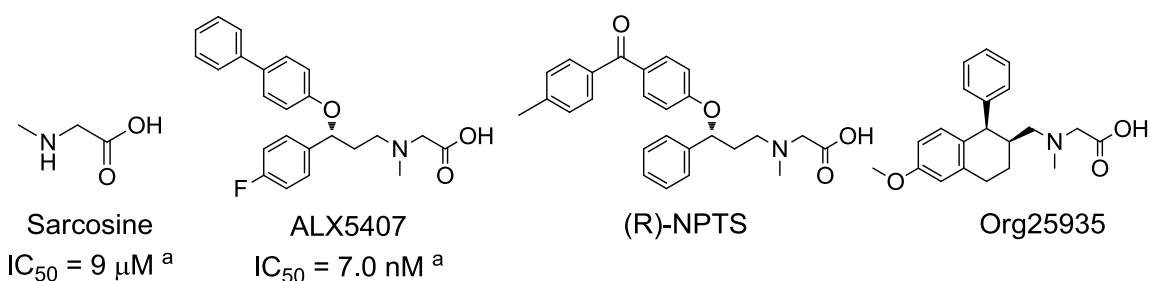
Figure 4. GlyT1 阻害による NMDA 受容体活性化 (文献 13 を改変)

GlyT1 阻害物質の現況

これまで多くの GlyT1 阻害剤が報告されており、その代表的な化合物を **Figure 5** に示す¹⁴⁾。サルコシン (sarcosine, *N*-methylglycine) は GlyT1 選択的な阻害剤として知られており、統合失調症患者において抗精神病薬治療にサルコシンを併用することで、主症状である陽性症状、陰性症状および認知機能障害をそれぞれ改善することが報告されている¹⁵⁾。しかしながらその阻害活性は非常に低いため ($IC_{50} = 9 \mu M$)¹⁶⁾、1 日の投与量は 2 グラムにもなり、より活性の高い阻害剤の探索がなされた。初期の GlyT1 阻害剤はサルコシンの構造を基本とするものであり、ALX5407¹⁶⁾や(*R*)-NPTS¹⁷⁾、Org25935¹⁸⁾など様々なサルコシン型阻害剤が報告された。しかしながら ALX5407 などのサルコシン型阻害剤は動物で毒性所見が見られることが報告されている¹⁹⁾。また一般的にカルボン酸を含む化合物は脳内移行性が低いものが多いため、近年では非サルコシン型阻害剤の研究開発に目が向けられるようになった。SSR504734²⁰⁾ (Sanofi-Aventis 社)、PF-0346275²¹⁾ (Pfizer 社)、DCCyB²²⁾ (Merck 社)、RG1678²³⁾ (Roche 社) などに代表される多くの非サルコシン型阻害剤が報告さ

れている。中でも RG1678 は第Ⅱ相臨床試験において統合失調症患者の陰性症状と個人的及び社会的機能の改善が認められ、また副作用を示さなかった²⁴⁾。第Ⅲ相臨床試験において、第Ⅱ相試験で認められた有効性を再現することが出来ず、認可には至らなかったものの、統合失調症治療における GlyT1 阻害の有用性を示唆する知見が蓄積されつつある。

サルコシン型 GlyT1 阻害剤



非サルコシン型 GlyT1 阻害剤

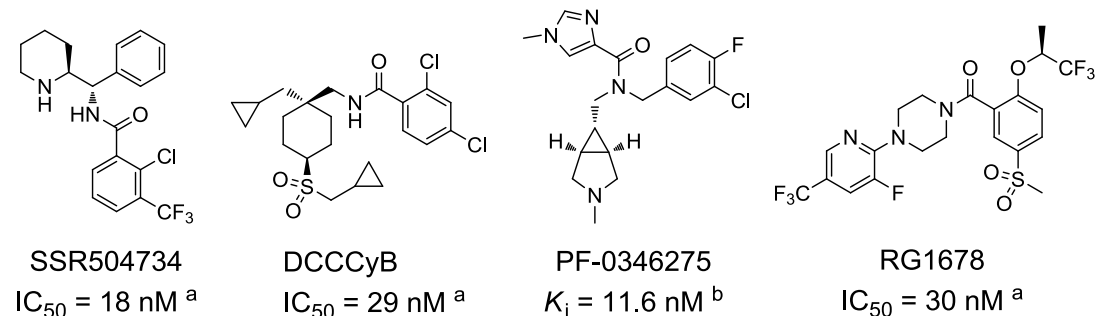


Figure 5. GlyT1 阻害剤の構造と *in vitro* 活性値 (文献値)

^a GlyT1 を発現した細胞に対するグリシンの取り込みを、グリシンのラジオリガンド ([³H]グリシンもしくは [¹³C]グリシン) を用いて測定することで評価した取り込み阻害活性；

^b GlyT1 を発現させた細胞において、ラジオリガンド ([³H]-NPTS) の置換量を、放射エネルギーを測定することで得た結合阻害活性。

本研究の目的

著者は治療ニーズの高い陰性症状および認知機能障害に効果を示す新規統合失調症治療薬を創出すべく、新規 GlyT1 阻害剤の創製を目的に研究を開始した。研究開始当初、サルコシン型から非サルコシン型阻害剤へとその注目が移行している時期にあり、様々な骨格を持つ阻害剤が次々と報告されているさなかであった。筆者は既報の阻害剤の構造情報を用いた新規阻害剤探索を実施することで研究開発の迅速化をはかることとした。

ドラッグデザイン手法として **structure-based drug design (SBDD)** や **ligand-based drug design (LBDD)** を用いることで、リガンドと標的タンパクとの相互作用を確認もしくは推測することができ、迅速かつ効率的に強力な活性を有する阻害剤を探索することが可能であると考えられる。一方、薬として必要な体内動態、安全性、物性などを最適化する手法として、これまでの医薬品開発で得られた知見を基に得られた「薬らしさ (**drug-likeness**) の指標」を用いる方法が効率的であると考えられる。本研究ではそれぞれの視点に立ち、下記の 2 つの手法からそれぞれ独立して新規 GlyT1 阻害剤の探索を実施した。

- (1) **Ligand-based drug design (LBDD)** 手法による新規 GlyT1 阻害剤創製の可能性検討
- (2) 中枢薬に特化した **drug-likeness** 指標である **CNS MPO 値**²⁵⁾を指標とした GlyT1 阻害剤の創製検討

本研究においては 2 つの手法よりそれぞれ開発候補化合物を創出するとともに、各手法より実際に得られた化合物を評価、比較することにより、それぞれの創薬手法の特性について議論を行う。また得られた開発候補化合物に対して種々の動物試験を実施し、GlyT1 阻害剤の薬理効果、特に認知機能および社会性行動に対する効果の検証を経て、新たな統合失調症治療薬の創出を目指した。

以下、詳細について各章で述べる。

本論

第 1 章 LBDD 手法による新規 GlyT1 阻害剤の創出

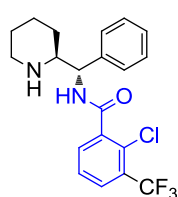
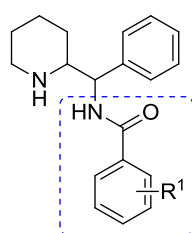
第 1 節 LBDD 手法を用いた化合物デザイン

一般的に標的タンパクもしくは標的に類似したタンパクの立体構造が判明している場合は、その構造情報に基づいてドラッグデザインを行う structure-based drug design (SBDD) が可能である。GlyT1 はその立体構造が明らかにされておらず、また GlyT1 が属する SLC6 gene family のトランスポーターの結晶構造についてもまだ十分に理解が進んでいるとは言えない¹⁴⁾。一方、既知リガンドが複数知られている場合、それらの構造情報に基づいてドラッグデザインを行う ligand-based drug design (LBDD) が可能であり、標的の立体構造情報が不明な場合によく用いられる。LBDD 手法においては、まず同一の標的に作用する複数の化合物から、標的タンパクとの結合に必要な分子特徴 (ファーマコフォア) を抽出する。分子特徴として具体的に、分子の疎水性や水素結合供与基 (HBD)、水素結合受容基 (HBA) などがあげられる。得られたファーマコフォアモデルに基づき、化合物のデザインもしくはバーチャルスクリーニングを行う。ファーマコフォア抽出までの計算時間が短く、また複数の骨格の特徴を組み合わせることで高い活性の化合物を得ることが可能になると考えられる。**Figure 5** に示したとおり、これまで複数の GlyT1 阻害物質が報告されており、これらの情報を用いることで LBDD による強力かつ新規性を有する GlyT1 阻害剤の探索が可能であると考えた。

LBDD でファーマコフォア抽出を行う際、同一部位で結合をしている化合物を用いることが重要であるが、既報阻害剤のすべてが GlyT1 の同一部位に結合している確証はなかった。その中で著者は、**Figure 6** に示す SSR504734 に代表される *N*-[フェニル(ピペリジン-2-イル)メチル]ベンズアミド誘導体 (scaffold A) と、スルホンアミド誘導体²⁶⁾ (scaffold B) に着目した。これらはオ

ルト位に置換基を有する 2 級ベンズアミドという共通する部分構造を有しており、同一の結合部位で阻害作用を示しているものと考えられる。本研究においては同一の部位に結合していると考えられる **scaffold A** および **scaffold B** のみを用い、一方に不足するファーマコフォアを補うことで、より確度が高い LBDD 戦略が取れるものと考えた。

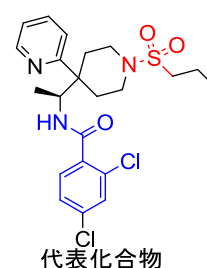
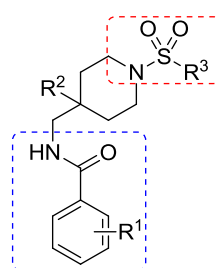
Scaffold A



代表化合物
SSR504734

$IC_{50} = 18 \text{ nM}$ (文献値²⁰⁾)

Scaffold B



代表化合物
Compound A

$IC_{50} = 3 \text{ nM}$ (文献値^{26c)})

Figure 6. 注目した GlyT1 阻害剤の骨格と代表化合物の構造

(青部分：共通する部分構造，赤部分：scaffold B に特有の部分構造)

スルホンアミド誘導体 (**Scaffold B**) の代表化合物として例示した **Compound A**^{26c} (**Figure 6**) は高いグリシン取り込み阻害活性 ($IC_{50} = 3 \text{ nM}$) を示すことが報告されている。構造面では特徴的なスルホニル基が水素結合受容基 (HBA) として重要な役割を担っていると考えられる。一方、**scaffold A** にはこれに相当する HBA がなく、**scaffold A** に HBA を補うことで活性の向上が見込めると考えた。この仮説に基づき、本章では以下の手順でデザインを行った。

- (1) **Scaffold B** の代表化合物群をコンピュータ上で重ね合わせ、GlyT1 による分子認識に必要な特徴を抽出 (ファーマコフォア抽出)
- (2) 作成した **Scaffold B** のファーマコフォアモデルに対して SSR504734 (**Scaffold A**) をコンピュータ上で重ね合わせ

(3) 作成した重ね合わせモデルを目視で確認し、SSR504734 のどの部位にどのような HBA を導入するかをデザイン

まず複数の既報スルホンアミド誘導体²⁶⁾を用いて、**scaffold B** のファーマコフォア抽出を行った。ファーマコフォアの抽出には LBDD において一般的に広く利用されているソフトである BIOVIA Discovery Studio を用いた²⁷⁾。このソフトに含まれている“Common Feature Pharmacophore Generation”プロトコールを用いた (**Figure 7(a)**)。

次に、得られたファーマコフォアモデルに対し **scaffold A** の代表化合物である SSR504734 を重ね合わせた (**Figure 7(b)**)。この重ね合わせモデルにおいて、**scaffold B** に特徴的なスルホンアミド部位の HBA は SSR504734 では明らかに欠如しており、SSR504734 のフェニル基もしくはピペリジン環の外側に位置することが示された。

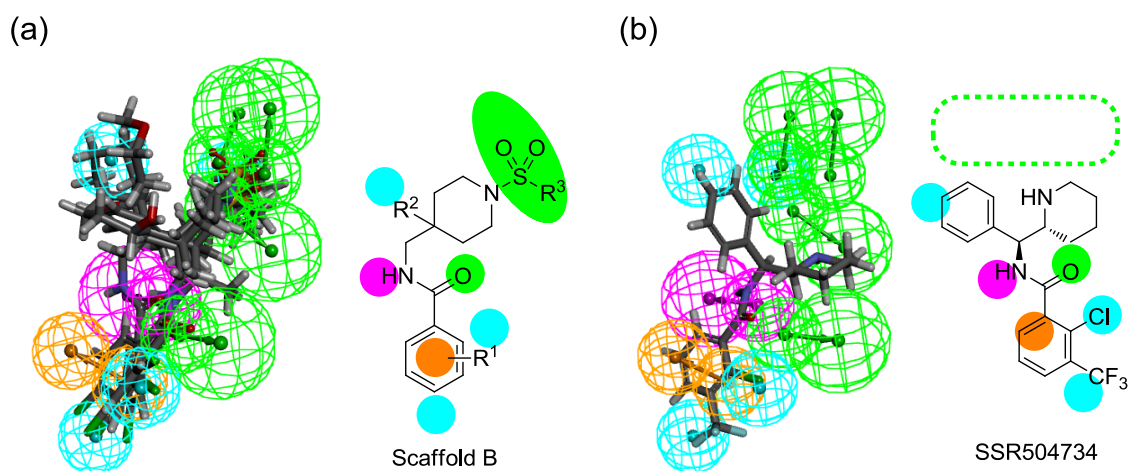


Figure 7. (a) スルホンアミド誘導体 (**scaffold B**) のファーマコフォアモデル.
(b) ファーマコフォアモデルへの SSR504734 の重ね合わせ.

(*緑色の球体：水素結合受容基、紫色の球体：水素結合供与基、青色の球体：疎水性部位、橙色球体：芳香族環.)

この重ね合わせモデルの結果に加え、合成面での簡便さを考慮し、SSR504734のフェニル基に対して HBA を含む置換基を導入することとした (**Figure 8**)。HBA を含む置換基としては、ある程度の大きさを持ち、またヘテロ原子の位置や数を調整することが可能である芳香族ヘテロ環の導入を試みることにした。

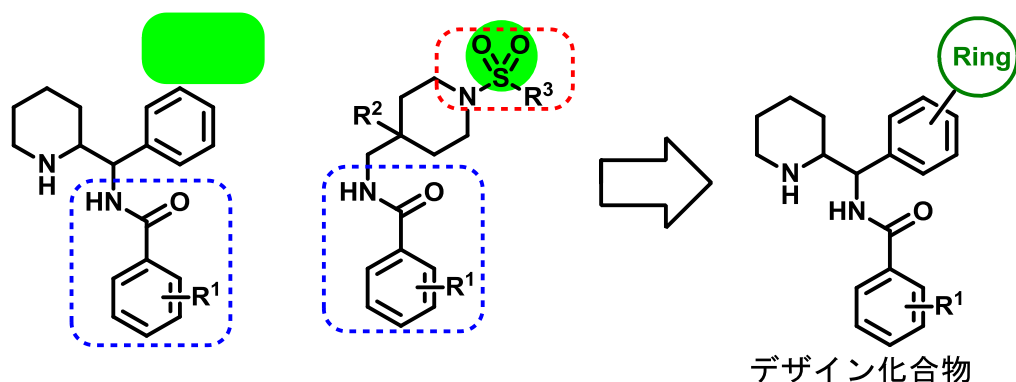


Figure 8. 本章における化合物デザインの概略図

以下に本章で合成した誘導体の構造を示す (**Figure 9**)。上述のドラッグデザインに基づき、フェニル基に対していくつかの種類の芳香族複素環を導入することで活性の向上を検討した。またベンゾイル部分に関しては情報がほとんどないためファーマコフォアモデルからの理論的デザインが困難であり、置換基変換により構造活性相関を得ることにより、より高活性な化合物を探索することとした。

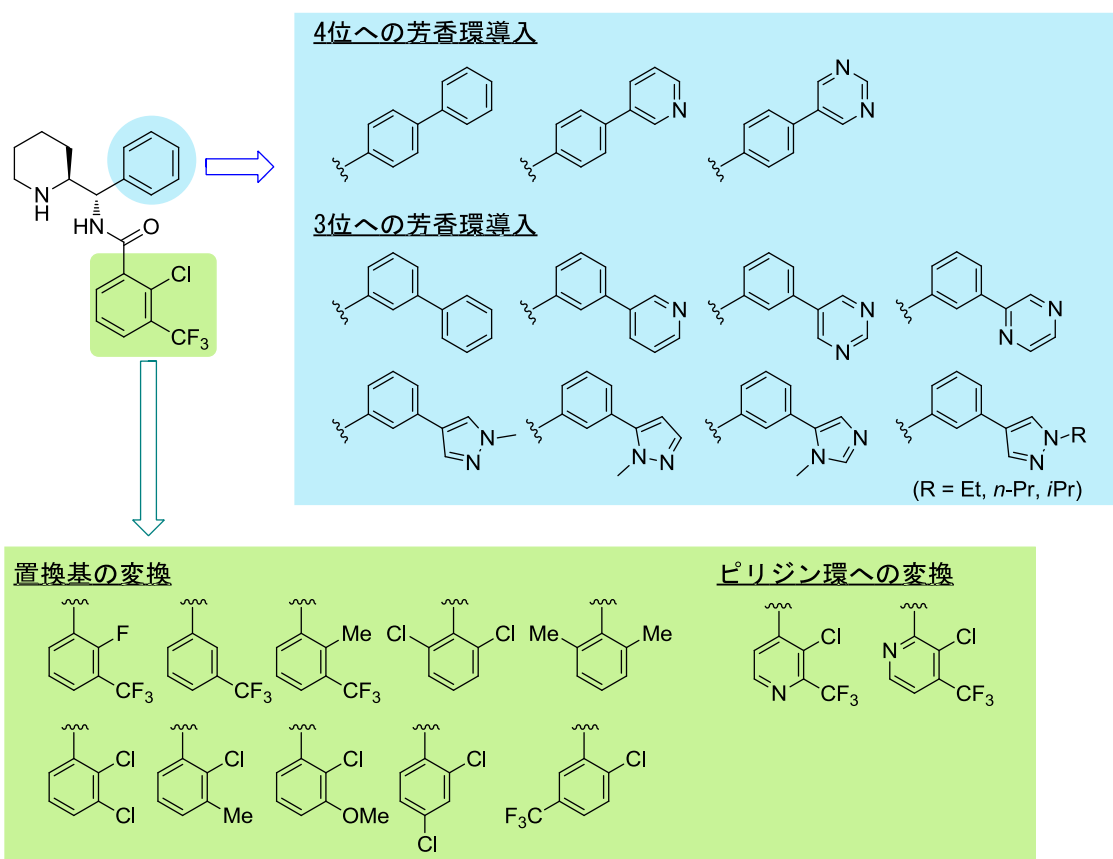
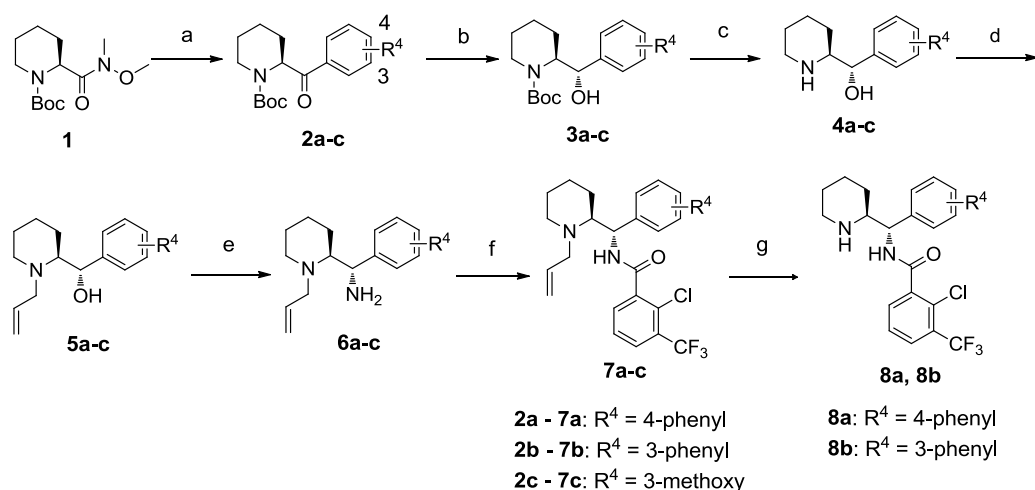


Figure 9. 本章で合成した化合物の構造

第2節 SSR504734 に対して芳香族複素環を導入した誘導体の合成

ビフェニル誘導体 **8a**, **8b** および中間体 **7c** の合成法を **Scheme 1** に示す。(S)-ピペコリン酸の Weinreb アミド **1** に対して Grignard 試薬を反応させてケトン **2a–c** を得た。これに L-Selectride を用いたジアステレオ選択的還元反応を行い²⁸⁾、2 級アルコール **3a–c** を得た。この還元反応は **Figure 10** に示す Felkin-Ahn モデルに従うものと考えられる。すなわち、嵩高い *N*-Boc 基がカルボニル平面に対して 90 度の二面角に配置し、より立体障害の少ない配座で反応が進行することで、ジアステレオ選択性が得られたものと考えられる。保護基を Boc 基からアリル基に架け替えた後、2 級水酸基のメシル化と続くアンモニアとの反応によりベンジルアミン **6a–c** を得た。このアミノ化反応は、メシル化後にアジリジン中間体を経てアンモニアと反応することにより立体保持で反応が進行する²⁹⁾。2-クロロ-3-(トリフルオロメチル)安息香酸との縮合により **7a–c** を得た。**7a**, **b** はアリル基の脱保護を行うことで目的とする **8a** および **8b** に変換した。



Scheme 1. Reagents and conditions: (a) 4-Biphenylmagnesium bromide (for **2a**) or 3-biphenylmagnesium bromide (for **2b**) or 3-methoxyphenylmagnesium bromide (for **2c**), THF, 0°C, 55~56%; (b) L-Selectride, THF, -78°C, 67~96%; (c) KOH, MeOH, H₂O, reflux; (d) allyl bromide, K₂CO₃, DMF, 80°C, 33~82% (in 2 steps); (e) (1) MsCl, Et₃N, CHCl₃; (2) 8 mol/L ammonia solution in MeOH, 74~83% (in 2 steps); (f) 3-chloro-4-(trifluoromethyl)benzoic acid, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF, 64~84%; (g) Pd(PPh₃)₄, 1,3-dimethylbarbituric acid, CHCl₃, 62% for **8a**, 38% for **8b**.

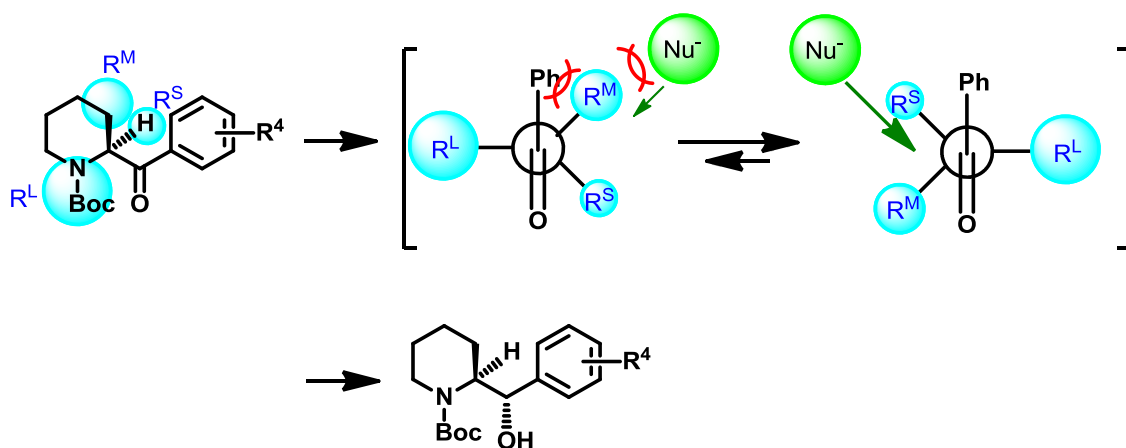
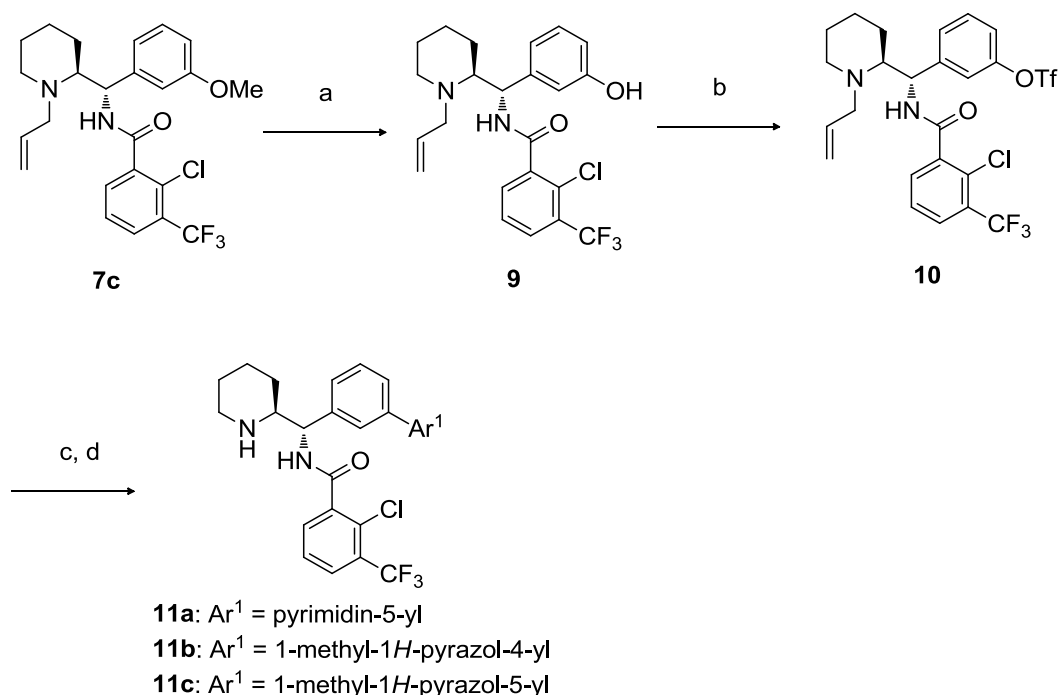


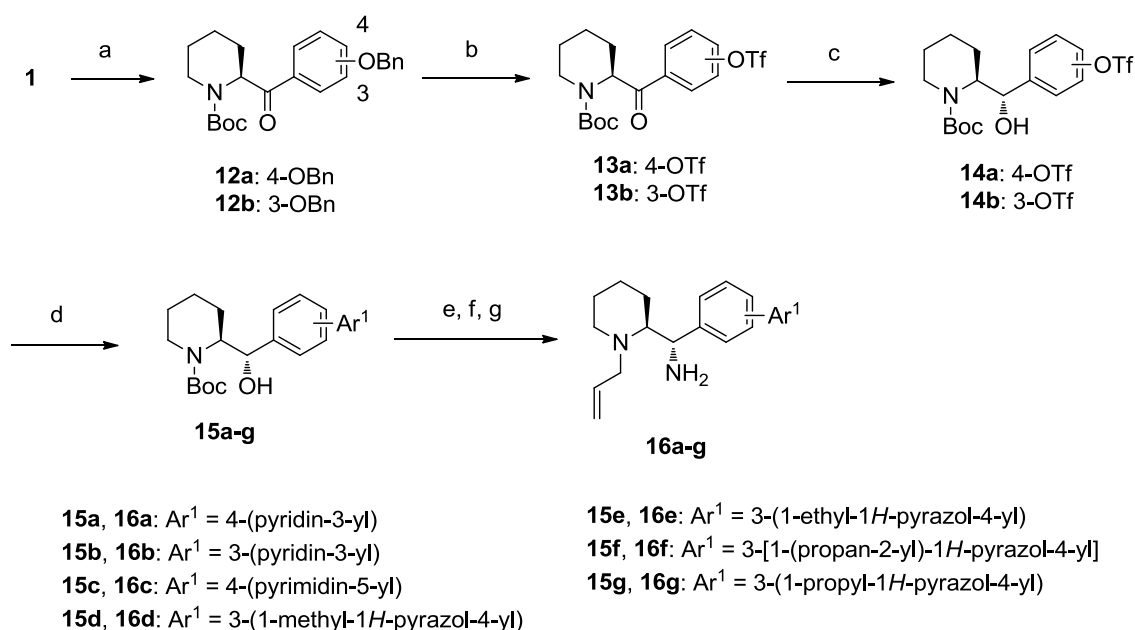
Figure 10. 還元反応におけるジアステレオ選択性発現機構

Scheme 1 で得られた中間体 **7c** を用いて、SSR504734 のフェニル部位に芳香族複素環を導入した誘導体 **11a–c** を合成した (**Scheme 2**)。三臭化ホウ素を用いて **7c** のメトキシ基の脱メチル化反応を行った後、得られたフェノール **9** のトリフラート化により **10** を得た。化合物 **10** は各種ボロン酸もしくはボロン酸エステルと鈴木カップリングを行うことにより Ar^1 を導入し、その後アリル基を除去することで **11a–c** を得た。



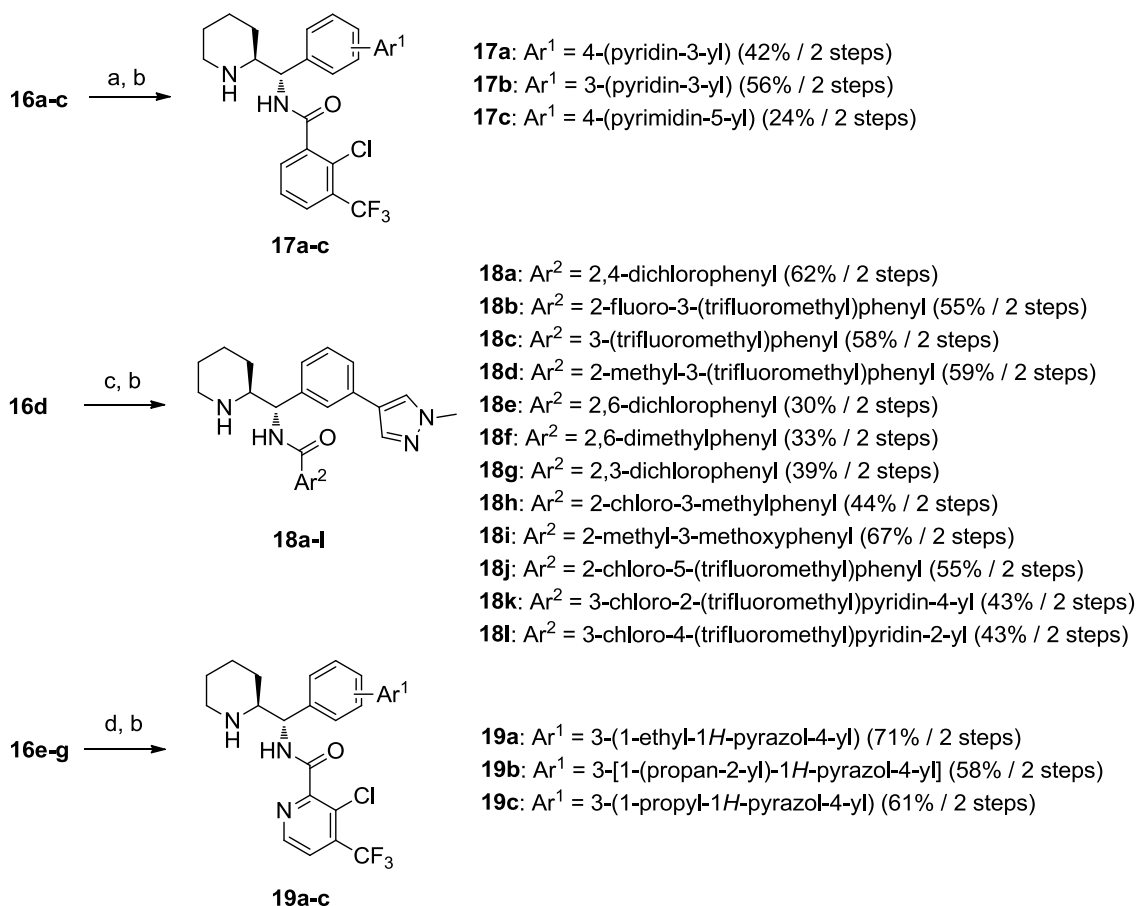
Scheme 2. Reagents and conditions: (a) BBr₃, CHCl₃, 98%; (b) Tf₂O, pyridine, CHCl₃, 88%; (c) Ar¹B(OH)₂ or pinacolester, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, DMF, EtOH, 80°C; (d) Pd(PPh₃)₄, 1,3-dimethylbarbituric acid, CHCl₃, 10-44% (in 2 steps).

Scheme 1、2 の合成経路では鈴木カップリング反応 (Scheme 2 工程(c)-(d)) における収率が低く、またベンゾイル部位の置換基変換の際の誘導化効率の点で問題があった。さらにベンジルアミン合成段階 (Scheme 1 工程 (e)) において 4 位にメトキシ基がある場合に目的物が得られなかった。そのため、合成方法を Scheme 3、4 のように変更した。まずアミン中間体 **16a-g** の合成法を Scheme 3 に示す。Weinreb アミド **1** と Grignard 試薬との反応により得られたケトン **12a** および **12b** のベンジル基を接触水素化により除去した後、トリフラートに変換することで化合物 **13a** および **13b** を得た。これを L-Selectride を用いたジアステレオ選択的還元に付し、各種ボロン酸もしくはボロン酸エステルとカップリング反応を行うことで、**15a-g** を得た。中間体 **14a** および **14b** を用いた鈴木カップリングでは、良好な収率で目的物が得られた。ベンジルアルコール中間体 **15a-g** は Scheme 1 の工程 (c) – (e) と同様の方法により、ベンジルアミン中間体 **16a-g** へと導いた。



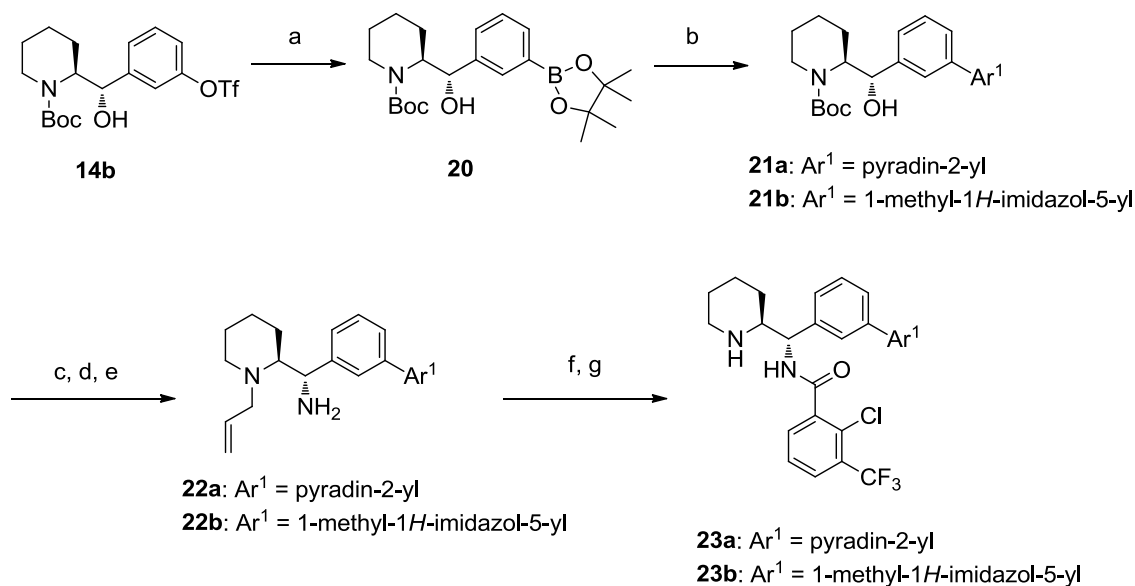
Scheme 3. Reagents and conditions: (a) 4-Benzyloxyphenylmagnesium bromide or 3-benzyloxyphenylmagnesium bromide, THF, 0°C (53% for **12a**, 60% for **12b**); (b) (1) H₂, Pd-C, EtOH; (2) Tf₂O, pyridine, CHCl₃, 0°C, 62% (in 2 steps) for **13a**, 66% (in 2 steps) for **13b**; (c) L-Selectride, THF, -78°C, 94% for **14a**, 96% for **14b**; (d) Ar¹B(OH)₂ or pinacol ester, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, DMF, EtOH, 80°C, 78%~quant.; (e) KOH, MeOH, H₂O, reflux; (f) allyl bromide, K₂CO₃, DMF, 80°C; (g) (1) MsCl, Et₃N, CHCl₃; (2) 8 mol/L ammonia solution in MeOH, 17~99% (in 4 steps).

アミン中間体 **16a-g** から目的化合物 **17a-c**, **18a-l** および **19a-c** への変換を **Scheme 4** に示す。中間体 **16a-c** は 3-クロロ-4-(トリフルオロメチル)安息香酸と縮合反応を行った後、アリル基の脱保護を行うことで **17a-c** へと導いた。中間体 **16d** は各種カルボン酸と縮合した後、アリル基の脱保護を行うことで **18a-l** へと導いた。中間体 **16e-g** は 3-クロロ-4-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボン酸と縮合し、同様にアリル基の脱保護を行うことで **19a-c** へと導いた。



Scheme 4. Reagents and conditions: (a) 3-Chloro-4-(trifluoromethyl)benzoic acid, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF; (b) Pd(PPh₃)₄, 1,3-dimethylbarbituric acid, CHCl₃; (c) Ar²-CO₂H, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF; (d) 3-chloro-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxylic acid, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF.

ピラジン-2-イル基および 1-メチル-1*H*-イミダゾール-5-イル基の導入においては、ボロン酸誘導体の入手が困難であったため **Scheme 5** に示す方法により合成を行った。化合物 **14b** に対してビスピナコラートジボロンを用いたカップリング反応を行うことでボロン酸エステル **20** を得た²⁹⁾。これをハロゲン化芳香族複素環 (Ar¹-Cl) とカップリング反応を行い、化合物 **21a** および **21b** を得た。これらは **Scheme 1** の工程 (c) – (g) と同様の方法により化合物 **23a** および **23b** へと導いた。



Scheme 5. Reagents and conditions: (a) Bis(pinacolato)diboron, Pd(dppf)Cl₂, dppf, KOAc, DMSO, 80°C, 91%; (b) Ar¹-Cl, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, DMF, EtOH, 80°C, 77% for **21a**, 74% for **21b**; (c) KOH, MeOH, H₂O, reflux; (d) allyl bromide, K₂CO₃, DMF, 80°C; (e) (1) MsCl, Et₃N, CHCl₃; (2) 8 mol/L ammonia solution in MeOH, 49% (in 4 steps) for **22a**, 20% (in 4 steps) for **22b**; (f) 3-chloro-4-(trifluoromethyl)benzoic acid, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF; (g) Pd(PPh₃)₄, 1,3-dimethylbarbituric acid, CHCl₃, 37% (in 2 steps) for **23a**, 40% (in 2 steps) for **23b**.

第3節 合成化合物の薬理評価および考察

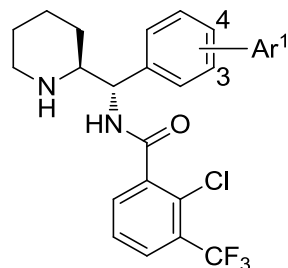
合成した化合物の *in vitro* 活性は、ヒト GlyT1 を発現した T98G 細胞に対する [³H]グリシンの取り込み量を測定することによって評価した。阻害剤の非存在下では細胞内に [³H]グリシンが取り込まれるのに対して、阻害剤の存在下では細胞内への [³H]グリシン取り込みが阻害される。細胞内のグリシン量を放射能により測定の後、50%取り込みを阻害する濃度 (IC₅₀) を算出し、これをグリシン取り込み阻害活性とした³¹⁾。

最適な芳香族複素環 (Ar¹) の探索結果について **Table 2** に示す。まず比較対象として HBA を持たないフェニル基の導入を行ったところ、SSR504734 のグリシン取り込み阻害活性 (文献報告値, IC₅₀ = 18 nM)²⁰⁾ と比較して低活性であった (**8a** : 420 nM, **8b** : 520 nM)。この結果より、HBA を持たない嵩高い置換基の導入では活性にプラスの影響を与えないことが確認された。次に HBA を有する芳香族複素環として 3-ピリジル基の導入を行ったところ、ビフェニル誘導体に比べてパラ置換体およびメタ置換体ともに活性が向上した (**17a** : 37 nM, **17b** : 14 nM)。5-ピリミジニル基の導入を行ったところ、パラ置換体 **17c** は対応する 3-ピリジン誘導体 **17a** に比べて活性が低下する一方 (**17c** : 93 nM)、メタ置換体 **11a** は活性の向上が見られた (**11a** : 6.3 nM)。特に **11a** は SSR504734 の文献値よりも高い活性を示しており、最初の仮説通り、適切な位置への HBA の導入により活性向上が可能であることが示唆された。

ここまでの結果で、メタ位への芳香族複素環導入が最適であり、また 3-ピリジル誘導体 **17b** よりも 5-ピリミジニル誘導体 **11a** のほうがより高い活性を示した。これらの結果より、次に窒素原子を 2 つ有する芳香族複素環のメタ位への導入を検討した。2-ピラジニル基の導入は 3-ピリジル誘導体 **17b** および 5-ピリミジニル誘導体 **11a** の中間の活性となった (**23a** : 10 nM)。5 員環ヘテロ環として 1-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル基の導入を行ったところ、高い活性を示した (**11b** : 2.5 nM)。一方、ピラゾールの位置異性体である 1-メチル-1*H*-ピラゾール-5-イル基の導入を行ったが、**11b** に比べ 10 倍以上活性が低

下した (**11c** : 42 nM)。化合物 **11c** の窒素原子の位置異性体にあたる 1-メチル-1*H*-イミダゾール-5-イル誘導体 **23b** は **11c** に比べて活性が向上したものの、**11b** に比べると若干劣るものであった (**23b**:3.6 nM)。以上の検討結果より、1-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル基の 2 つの窒素原子が GlyT1 と相互作用するのに最適な HBA の位置にあると考えられた。

Table 2. 化合物 **8a, b, 11a-c, 17a-c, 23a, b** のグリシン取り込み阻害活性



Compound	Position	Ar ¹	IC ₅₀ (nM)	Compound	Position	Ar ¹	IC ₅₀ (nM)
SSR504734	-		18 ^a	17c	4		93
8a	4		420	11a	3		6.3
8b	3		520	23a	3		10
17a	4		37	11b	3		2.5
17b	3		14	11c	3		42
				23b	3		3.6

^a 文献報告値²⁰⁾

次に更なる活性の向上を目的に **11b** のベンズアミド部位の置換基変換を検討した。その結果を **Table 3** に示す。まずスルホンアミド誘導体 (**Scaffold B**) において高活性パーツとして使用されていた 2,4-ジクロロベンズアミドに変換したところ、活性は大きく低下した (**18a** : 200 nM)。ベンズアミド部位ではわずかな構造変化が活性に大きな影響を与え、骨格の違いにより最適な置換基が

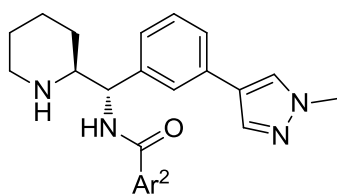
異なる可能性が考えられた。これまで **scaffold A** のベンズアミド部位における置換基に関する構造活性相関の報告はなく、さらなる構造活性相関について検討した。

化合物 **11b** のオルト位のクロロ原子をフッ素原子に変えたところ、活性は低下した (**18b** : 68 nM)。オルト位の置換基を除去したところさらに活性が低下した (**18c** : 220 nM)。さらにメチル基の導入でも、クロロ体 **11b** に比べ低活性であった (**18d** : 12 nM)。これらのことより、高い活性の発現のためにはオルト位への置換基導入は必須であり、特に嵩高さが重要であるということが示唆された。この結果を受け、オルトジ置換誘導体 **18e** および **18f** の合成を行ったが、どちらも中程度の活性であった (**18e** : 21 nM, **18f** : 42 nM)。この活性の低下はメタ位に置換基を有していないことが原因である可能性も考えられた。

ベンズアミド部位のメタ位置換基の効果について確認を行った。化合物 **11b** のトリフルオロメチル基をクロロ原子およびメチル基に変換したところ、活性はおよそ 10 倍程度低下した (**18g** : 25 nM, **18h** : 36 nM)。またメタ位にメトキシ基を持つ化合物も同様に活性が低下した (**18i** : 210 nM)。これらの結果よりメタ位に関しては電子求引性置換基が活性に有利である可能性が示唆された。化合物 **11b** のトリフルオロメチル基を 3 位から 5 位に移したところ、活性は低下した (**18j** : 9.7 nM)。

ここまでの変換結果より、2-クロロ-3-トリフルオロメチルベンズアミド誘導体 **11b** が最も高活性であった。次に、さらに電子密度を下げることを狙い、ピリジン環への変換を検討した。4-ピリジン誘導体 **18k** および 2-ピリジン誘導体 **18l** の合成を行ったところ、どちらも高い阻害活性を示した (**18k** : 4.9 nM, **18l** : 1.5 nM)。特に 2-ピリジン誘導体 **18l** は **11b** に比べ同程度もしくは若干高い阻害活性が確認された。脂溶性の面で、**11b** の ClogP 値³²⁾は 4.56 であり、一般的に用いられている経口吸収性に関する drug-likeness 指標 (rule of 5) の上限である 5.0 に近い値であった。しかしながら 2-ピリジン誘導体 **18l** の ClogP は 3.87 となり、比較して低い値であった。

Table. 3. 化合物 **11b** および **18a–l** のグリシン取り込み阻害活性



Compound	Ar ²	hGlyT1 IC ₅₀ (nM)	Compound	Ar ²	hGlyT1 IC ₅₀ (nM)
11b		2.5	18g		25
18a		200	18h		36
18b		68	18i		210
18c		220	18j		9.7
18d		12	18k		4.9
18e		21	18l		1.5
18f		42			

2-ピリジンカルボキシアミド構造を導入することによって脂溶性が低減し、さらなる誘導化の余地が得られた。そこで最後にピラゾール部位のアルキル鎖長の検討を行った (Table 4)。エチルピラゾール誘導体 **19a** およびイソプロピルピラゾール誘導体 **19b** は、メチルピラゾール誘導体 **18l** とほぼ同等の活性であった。さらにアルキル鎖を伸ばしたプロピルピラゾール誘導体 **19c** では活性が低下する傾向が確認された。プロピル基より長いアルキル鎖への伸長は脂溶性や分子量の面からも利点がないと考え、本部位の変換はここまでとした。これらの結果より、アルキル鎖の変換では活性の向上は見込めず、2 炭素分の長さまでが最適であることが明らかとなった。

Table 4. 化合物 **18l** および **19a–c** のグリシン取り込み阻害活性と ClogP 値

Compound	Ar ¹	hGlyT1 IC ₅₀ (nM)	ClogP ^a
18l		1.5	3.87
19a		1.8	4.40
19b		2.4	4.71
19c		3.9	4.93

^a Daylight software で計算 ³²⁾

第 4 節 化合物 **18l** および **19a** の薬物動態プロファイル

In vitro 薬理評価を行った誘導体のうち、高いグリシン取り込み阻害活性を有する **18l** および **19a** について、詳細なプロファイリングを実施した。まずヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験を実施した。本試験はヒト肝ミクロソーム画分と化合物を 15 分間インキュベーションした後、代謝率を測定する試験である。低い値であるほど代謝的に安定であり、20%以下の値を示す化合物が安定性の点で許容される。本試験において両化合物とも良好な安定性を示した (**18l**: 13.8%, **19a**: 16.4%)。またシトクロム P450 (CYP450) の主要な分子種 (3A4, 2D6, 2C9, 2C19, 1A2) に対して 10 μ M の濃度において阻害作用を示さなかった。

次にラットでの体内動態の確認を行った。**Table 5** に示すとおり、両化合物を比較したところ、**18l** に比べて明らかに **19a** の血漿中曝露が高かった。その値は、ラットに **19a** を 10 mg/kg 経口投与した際の最高血漿中濃度 (C_{max}) が 117 ng/mL すなわち 0.24 μ M であり、また脳および血漿中の濃度比 (B/P ratio) が 0.52 であった。*In vitro* 活性値が IC₅₀ 値で 1.8 nM であることより、*in vivo* で の薬理的評価を評価するのに十分な曝露を有していると考えられた。

Table 5. 化合物 **18l** および **19a** を経口投与した際のラット体内動態

Compound	18l	19a
Dose (mg/kg)	10	10
T_{max} (h)	3.0 $\pm$ 1.73	4.0 $\pm$ 0.0
C_{max} (ng/mL)	49.3 $\pm$ 12.4	117 $\pm$ 15.4
B/P ratio	0.69 (4 h)	0.52 (4 h)
AUC (ng·h/mL)	235 $\pm$ 53.7	661 $\pm$ 42.2

*Each value represents the mean $\pm$ SD of three animals

(C_{max} : 薬物を投与した際の血漿中濃度の最大値、 T_{max} : 薬物濃度が C_{max} に達するまでの時間、AUC: 血中濃度-時間曲線下面積、体内に曝露した薬物の総量を表す)

第5節 化合物 19a の初期 *in vivo* 薬理評価

化合物 19a の *in vivo* 作用の確認のために、ラット脳脊髄液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中のグリシン濃度の測定を行った³³⁾。CSF 中のグリシン濃度は脳内のグリシン濃度を反映しており、*in vivo* での GlyT1 阻害の指標になると考えられる。本試験は統合失調症の薬効試験にあたるものではないが、臨床試験におけるバイオマーカー試験としてヒトでも応用可能な試験であり、GlyT1 阻害剤の研究開発には重要な試験と位置づけられる。Figure 11 に示すとおり、ラットに 19a を経口投与したところ、用量依存的に CSF 中のグリシン濃度が上昇することが確認された。最小有効量 (MED) は 1 mg/kg であり、10 mg/kg ではおよそ 2 倍以上の濃度上昇が確認された。この結果は 19a がラット脳内で GlyT1 を阻害し、シナプス間グリシン濃度を高めていることを示唆するものである。

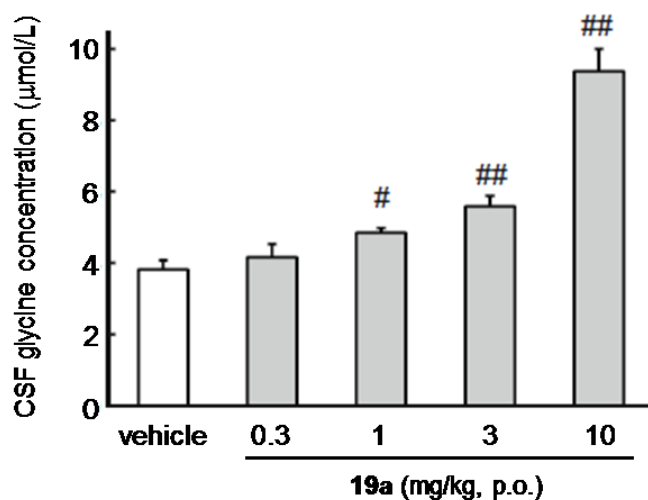


Figure 11. 化合物 19a 投与におけるラット CSF 中グリシン濃度測定結果

(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n=6–7). #P<0.05, ##P<0.01 versus vehicle treated group (Steel test))

第6節 まとめ

本章では新規性を有し、かつ強い *in vitro* 活性を有する GlyT1 阻害剤を探索することを目的に、既知の GlyT1 阻害剤のファーマコフォア情報を利用した Ligand-based drug design (LBDD) 手法を用いた化合物デザインを行った (Figure 12)。既報 GlyT1 阻害剤である SSR504734 に対して、不足するファーマコフォアを異なる骨格から補う LBDD 戦略をとった。スルホンアミド誘導体 (scaffold B) から抽出したファーマコフォアモデルに対して SSR504734 を重ね合わせることで、適切な水素結合受容基の導入により活性の向上が可能になるという仮説を導き、誘導体合成を行った。ベンゼン環に 1-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル基を導入することで 2.5 nM の強い活性を示す 11b を得た。さらにベンズアミド部位およびピラゾール置換基の構造活性相関を明らかとし、それぞれ 1.5 nM および 1.8 nM の優れた *in vitro* 活性を示す化合物 18l および 19a を見出した。化合物 19a とスルホンアミド誘導体の代表化合物 (compound B) の重ね合わせより、19a のピラゾール部位と compound B のスルホンアミド部位が重なることが確認された (Figure 12, 緑破線部分)。

2 化合物はともに代謝安定性、CYP 阻害試験において問題がなく、またラット PK 試験において中程度の脳内移行比であった。両化合物のラット体内動態を比較したところ 19a がより高い血漿中曝露を示した。化合物 19a は 1 mg/kg の経口投与より有意にラット CSF 中のグリシン濃度を上昇させることが確認され、*in vivo* での GlyT1 阻害を示唆する結果を与えた。

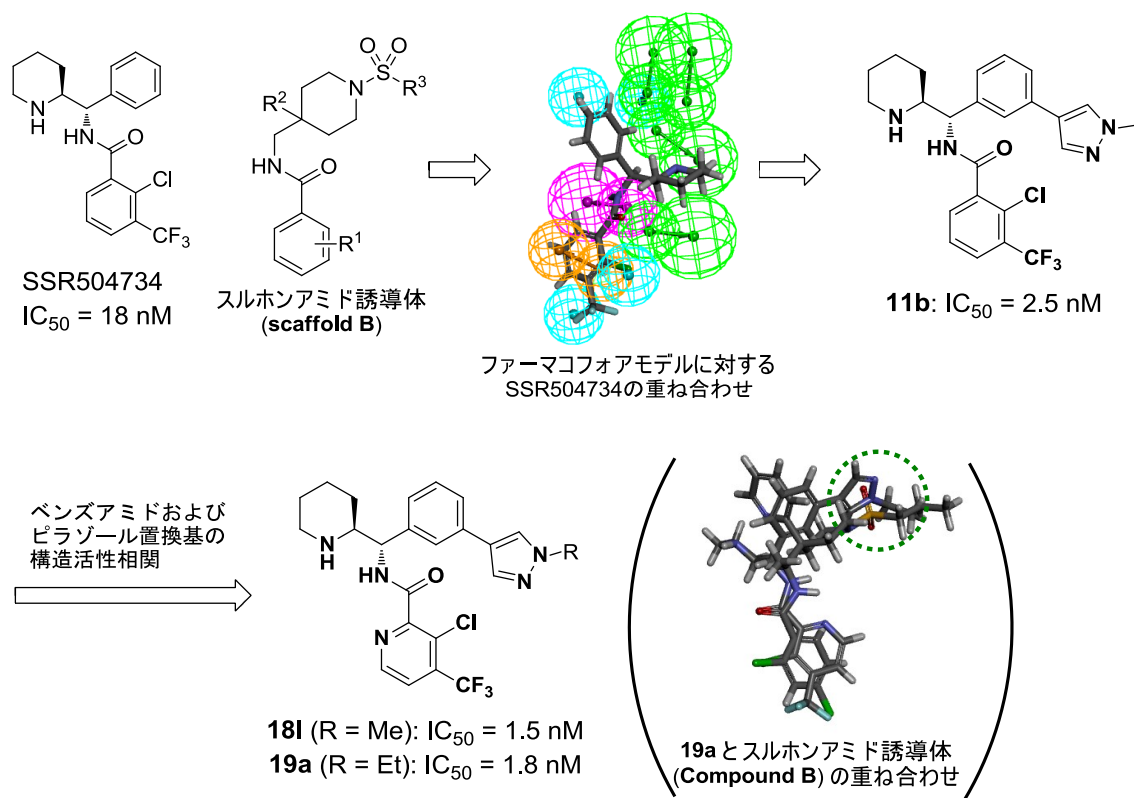


Figure 12. 第1章での新規 GlyT1 阻害剤探索のまとめ

第2章 CNS MPO を指標とした新規 GlyT1 阻害剤の創出

第1節 合成の方針および新規リード化合物の創出

一般的に、医薬品には体内動態や安全性の面で適した物理化学的性質があると考えられ、これらを解析することにより、「薬らしさ (drug-likeness)」の定義がなされるようになった。これまで創薬の成功確率の向上を狙い、多くの drug-likeness ガイドラインが提唱され³⁴⁾、優れたプロファイルを示す化合物を合成するために drug-likeness ガイドラインに従って化合物デザインを行う試みがとられてきた。中でも 1997 年にリピンスキーらが提唱した「rule of 5」³⁵⁾ は化合物の経口吸収性の経験則として広く受け入れられ、またそれをさらに改良した指標なども研究されている³⁶⁾。中枢に作用する薬物は、血液脳関門と呼ばれる物質の脳への運搬を制御する機構を通過する必要があるため、最適な物理化学的性質がより制限される。そうした背景の中、2010 年に Wager らは Central Nervous System Multi-Parameter Optimization (CNS MPO) を中枢薬ガイドラインとして提唱した²⁵⁾。

CNS MPO は 6 つのパラメーター (① 分配係数の計算値 (cLogP), ② pH7.4 における分配係数の計算値 (cLogD_{7.4}), ③ 分子量 (MW), ④ 極性表面積 (TPSA)*, ⑤ 水素結合供与基 (HBD) の数, ⑥ 分子内で最も高い塩基性置換基の pKa) を用いて算出されるものである。他の drug-likeness 指標と異なる特徴として、既存の中枢薬を解析に用いることで、中枢薬に好ましい各パラメーターの範囲を定義し、それを基に算出している。各パラメーターに対して、その計算値に応じて 0 から 1 の点数を与え、その総和として CNS MPO が最低値 0、最大値 6 の範囲で算出される。その値が高いほど中枢薬としての開発成功確率が上がるとされ、既存の中枢薬の 74%は CNS MPO 値が 4.0 以上であると報告

* TPSA: topological polar surface area の略。極性表面積 (PSA) は分子表面の極性を帯びている部分の面積を示しており、膜透過性に関連するといわれている。TPSA は原子群に割り当てたパラメーター値の総和により求められ、3 次元構造に依存せずに高速に PSA の近似値を計算することが可能である。

されている²⁵⁾。

CNS MPO が提唱されて以降、中枢薬の創薬研究に用いられるようになってきた。しかしながらこれまで GlyT1 阻害剤の創薬研究においては CNS MPO に基づく新規阻害剤探索は報告されていない。第 1 章では LBDD 手法を用いた新規 GlyT1 阻害剤の探索について記載したが、本章では別のアプローチとして CNS MPO を指標とした新規 GlyT1 阻害剤探索の可能性検討を行った。

まず本方針に基づく新規リード化合物の探索を行うにあたり、筆者は Pfizer 社により見出された PF-0346275 の骨格に着目した (Figure 13)。PF-0346275 およびその誘導体 **Compound B**²¹⁾ の CNS MPO はそれぞれ 4.88 および 4.65 であり、既存の GlyT1 阻害剤の中では高い CNS MPO 値を有していた。CNS MPO の詳細な解析を行ったところ、両化合物とも強い塩基性のアミン (pKa の計算値が 10) を有しており、特にその点に改善の余地があるものと考えられた。

既存の抗精神病薬 (Figure 1) が必ず塩基性の高いアミノ基を含むのに対して、既報の GlyT1 阻害剤の中には Figure 5 に例示した DCCCyB や RG1678 のような中性化合物が存在する。すなわち GlyT1 はその阻害にアミノ基が必須構造ではないと考えられた。その考えの下、筆者はより強い *in vitro* 活性を示す **Compound B** からアミン部位を除いた化合物を合成したところ、**24** に IC₅₀ 値で 67 nM ほどの中程度の阻害活性が確認された (Figure 13)。化合物 **24** は弱塩基性 (pKa = 4.2) かつ低分子量 (MW = 313) であり、その結果非常に高い CNS MPO 値 (5.96) を示した。化合物 **24** をリード化合物とし、各部分構造を ①下部アルキル部位、②イミダゾール部位、③右側鎖部位とそれぞれ名づけ、高い CNS MPO を維持しながら活性を改善する最適化を実施することとした (Figure 14)。

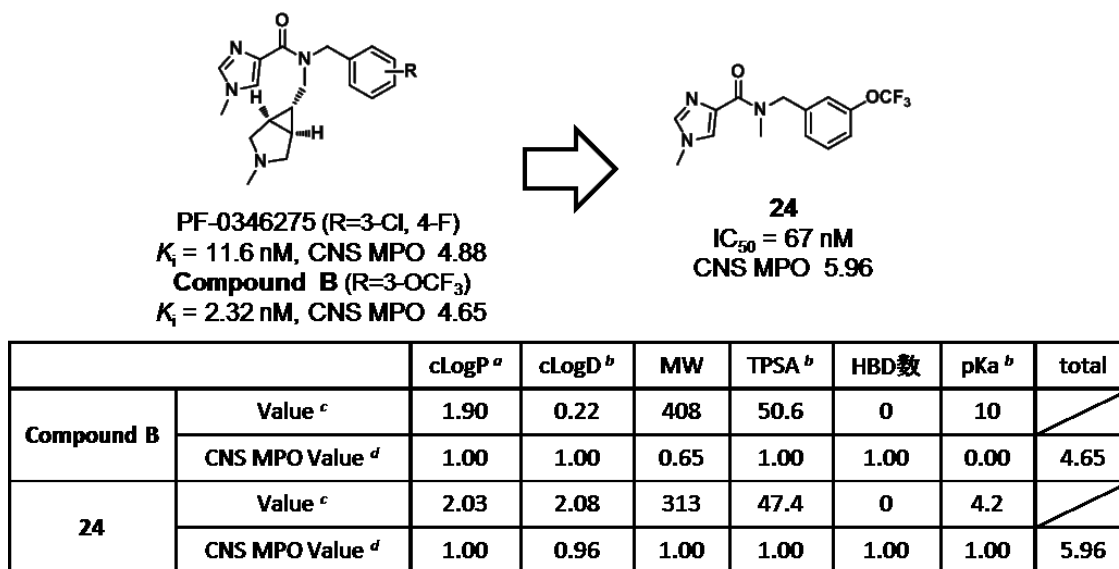


Figure 13. 新規リード化合物 **24** の同定

^a Daylight software で計算³²⁾; ^b ACD/labs software で計算; ^c 各パラメーターの計算値; ^d 各パラメーターの計算値から算出される CNS MPO の点数とその総和

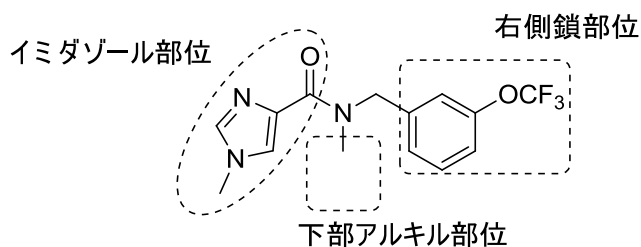
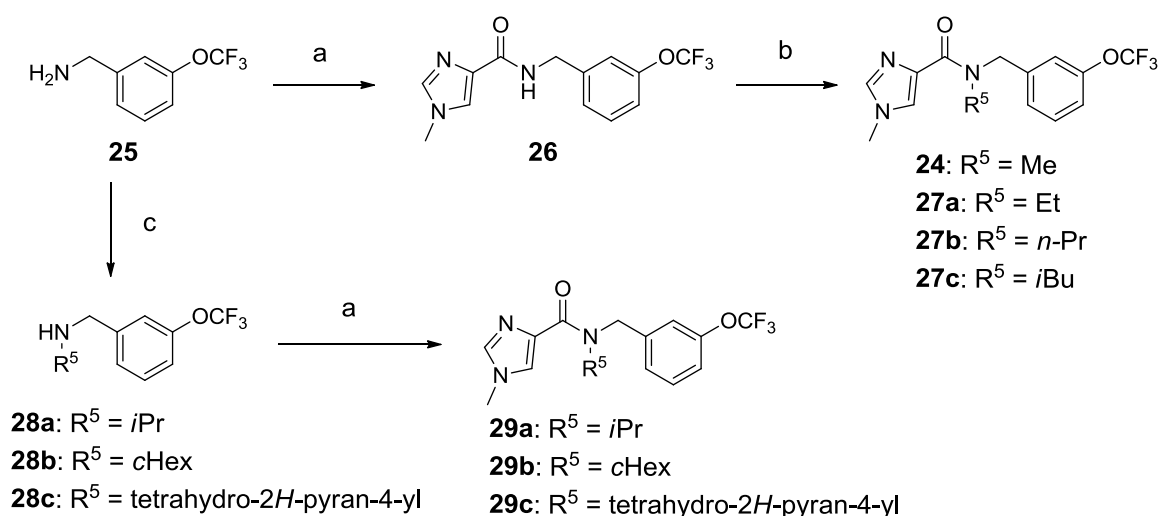


Figure 14. 1-メチル-1*H*-イミダゾール-4-カルボキサミド誘導体の最適化部位

第2節 下部アルキル部位変換体の合成

まずリード化合物 **24** の活性向上を目的に、下部アルキル部位における構造活性相関の検証を行った。化合物 **24** および下部アルキル変換体 **27a–c** および **29a–c** の合成を **Scheme 6** に示す。3-(トリフルオロメトキシ)ベンジルアミン **25** と 1-メチル-1*H*-イミダゾール-4-カルボン酸を縮合し、アミド中間体 **26** を得た。中間体 **26** のアミド部位を水素化ナトリウムで脱プロトン化した後、種々のアルキルハライドを反応させることで化合物 **24** および **27a–c** を得た。イソプロピル基、シクロヘキシル基およびテトラヒドロ-2*H*-ピラン-4-イル基などの2級アルキル基を導入する場合は、ベンジルアミン **25** と対応するケトンとの還元的アミノ化反応を行い、続く 1-メチル-1*H*-イミダゾール-4-カルボン酸との縮合反応により、化合物 **29a–c** をそれぞれ得た。

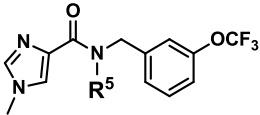


Scheme 6. Reagents and conditions: (a) 1-Methyl-1*H*-imidazole-4-carboxylic acid, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF, 9~98%; (b) NaH, R⁵-I, DMF, 40~80%; (c) acetone or cyclohexanone or tetrahydro-2*H*-pyran-4-one, NaBH(OAc)₃, CHCl₃, 56%~quant.

第3節 下部アルキル部位変換体の薬理評価と右側鎖部位の誘導化計画

前節で得られた **24**, **27a–c** および **29a–c** のグリシン取り込み阻害活性を **Table 6** に示す。化合物 **24** のメチル基をエチル基に伸長したところ、同等の活性を維持した (**27a**: $IC_{50} = 76$ nM)。さらにノルマルプロピル基に伸長したところ、活性が向上した (**27b**: $IC_{50} = 10$ nM)。またイソプロピル基やイソブチル基のような分岐鎖の導入ではさらに活性の向上が認められた (**29a**: $IC_{50} = 2.7$ nM, **27c**: $IC_{50} = 2.8$ nM)。この結果より下部アルキル部位にはある程度の嵩高さが必要であると考えられた。さらに嵩高い置換基を導入したシクロヘキシル誘導体 **29b** やテトラヒドロピラニル誘導体 **29c** も活性は維持したが、CNS MPO はイソプロピル誘導体 **29a** に比べ低下した。これは脂溶性増大もしくは分子量増大によるものと考えられた。活性および CNS MPO に優れた3炭素置換基 (ノルマルプロピル基およびイソプロピル基) が最適なバランスであると考えられた。そこで下部アルキル部位をノルマルプロピル基もしくはイソプロピル基に固定し、他の部位において更なる構造新規性の付与を検討することとした。

Table 6. 化合物 **24**, **27a–c**, **29a–c** のグリシン取り込み阻害活性と CNS MPO



No.	R ⁵	IC ₅₀ (nM)	CNS MPO
24	Me	67	5.96
27a	Et	76	5.78
27b	<i>n</i> -Pr	10	5.58
29a	<i>i</i> Pr	2.7	5.66
27c	<i>i</i> Bu	2.8	5.23
29b	<i>c</i> Hex	1.6	4.55
29c	Tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl	4.7	5.54

イミダゾール部位は既報の論文情報においても構造変換がなされておらず^{21,37)}、阻害活性に必須の構造であると推察された。実際に 1-メチル-1*H*-イミダゾール-4-カルボキサミド部分構造は活性発現に必須な構造であることが確認された (data not shown)。一方、右側鎖部位に関しては、幾つかのフェニル基の置換基変換体に活性があることが報告されており^{21,37)}、イミダゾール部位に比べて構造変換を許容するものと考えられた。そこで右側鎖部位の変換により活性を維持しつつ、更なる新規性確保を行うこととした。その誘導化計画を **Figure 15** に示す。

置換基導入の簡便さを考慮して、著者ははじめトリフルオロメトキシ基のフェニル基への変換によるビフェニル誘導体のデザインを行った。しかしながらその高い脂溶性のために、ビフェニル誘導体の CNS MPO は **29a** に比べ低下した。一般的に最適化の過程において、置換基導入により分子量および脂溶性が増大する傾向があり、CNS MPO はさらに低下することが予想された。したがってこの時点では高い CNS MPO を保つ必要があると考え、筆者はフェニルピリジン誘導体のデザインを行った。この誘導体では CNS MPO が **29a** とほぼ同程度に維持され、置換基導入による最適化も可能になると考えられた。

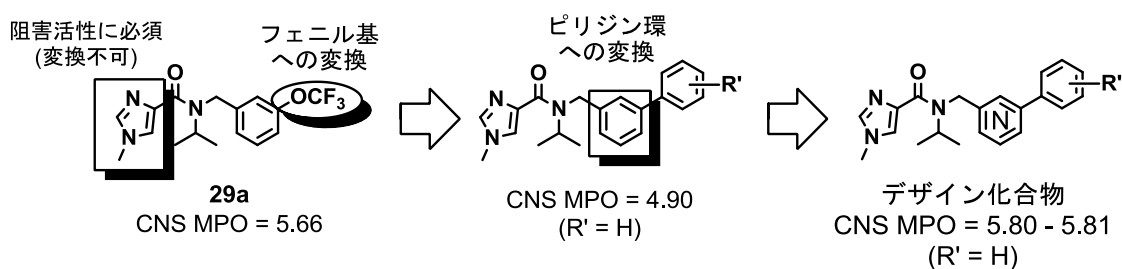
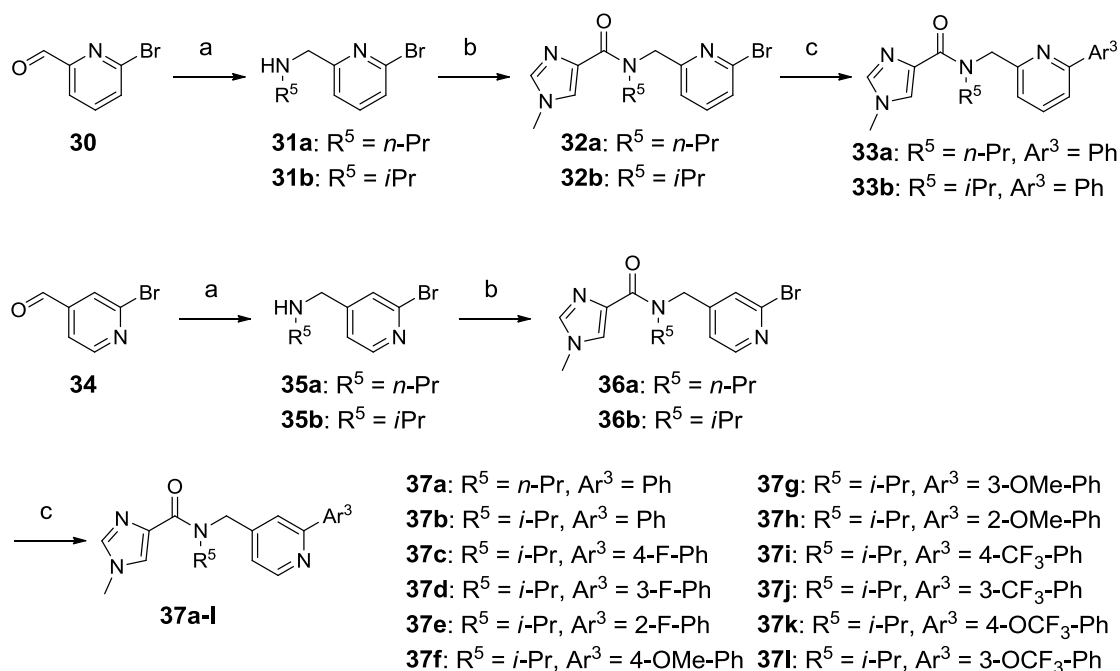


Figure 15. 右側鎖部位の最適化計画

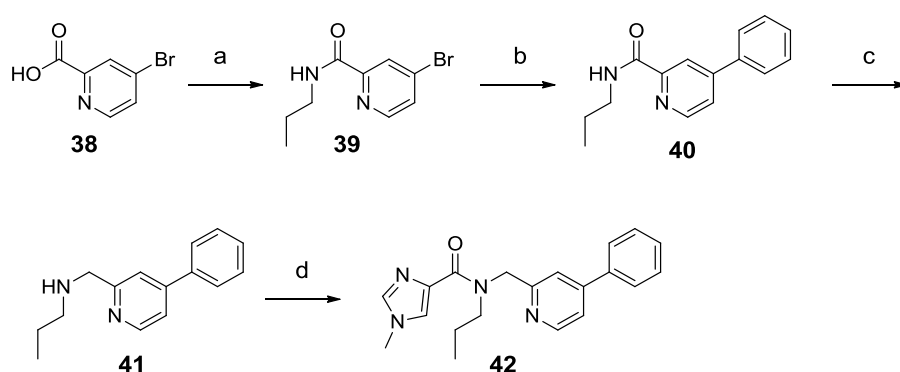
第4節 右側鎖部位変換体（フェニルピリジン誘導体）の合成

フェニルピリジン誘導体の合成を **Scheme 7** および **Scheme 8** に示す。2—ブロモピリジン—6—カルボキサミド **30** に対して 1—アミノプロパンもしくは 2—アミノプロパンを用いて還元的アミノ化反応を行い、**31a** および **31b** を得た。それぞれ 1—メチル—1*H*—イミダゾール—4—カルボン酸と縮合することで中間体 **32a** および **32b** へと導き、続くフェニルボロン酸との鈴木カップリング反応により 2—フェニルピリジン—6—イル誘導体 **33a** および **33b** をそれぞれ得た。出発原料として 2—ブロモピリジン—4—カルボキシアルデヒド **34** を用いて同様の合成経路により、2—フェニルピリジン—4—イル誘導体 **37a-l** を得た。

4—フェニルピリジン—2—イル誘導体は異なる方法にて合成を行った (**Scheme 8**)。4—ブロモピリジン—2—カルボン酸 **38** を 1—アミノプロパンと縮合して **39** へと導いた後、フェニルボロン酸との鈴木カップリング反応により **40** を得た。中間体 **40** のアミド部分を水素化リチウムアルミニウムにて還元し、続く 1—メチル—1*H*—イミダゾール—4—カルボン酸との縮合を行うことで 4—フェニルピリジン—2—イル誘導体 **42** を得た。



Scheme 7. Reagents and conditions: (a) 1-Aminopropane or 2-aminopropane, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, CHCl_3 , 37~99%; (b) 1-methyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide, $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{WSC}\cdot\text{HCl}$, DMF , 67~98%; (c) (condition A) $\text{Ar}^3\text{-B}(\text{OH})_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 , DMF , EtOH , 150°C , microwave irradiation (condition B) $\text{Ar}^3\text{-B}(\text{OH})_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 , toluene , EtOH , H_2O , 150°C , microwave irradiation, 49~98%.



Scheme 8. Reagents and conditions: (a) 1-Aminopropane, HOBt , EDC , DMF , 84%; (b) $\text{PhB}(\text{OH})_2$, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 , DMF , EtOH , 150°C , microwave irradiation, 88%; (c) LiAlH_4 , THF , 70°C , 32%; (d) 1-methyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide, $\text{HOBt}\cdot\text{H}_2\text{O}$, $\text{WSC}\cdot\text{HCl}$, DMF , 28%.

第5節 右側鎖部位変換体（フェニルピリジン誘導体）の薬理評価

合成したフェニルピリジン誘導体の *in vitro* 薬理活性を **Table 7** および **Table 8** に示す。まずピリジン環の最適な窒素原子の位置について検討した。フェニルピリジン誘導体の窒素原子の位置異性体 (**33a**, **42**, **37a**) のうち、2-フェニルピリジン-4-イル誘導体 **37a** は比較的良好な活性を示した (**37a**: IC₅₀ = 39 nM)。前節での構造活性相関のとおり、下部アルキル部位をノルマルプロピル基からイソプロピル基にすることで若干の活性の向上が確認された (**33a** vs **33b** および **37a** vs **37b**)。Table 7 に記載したすべての化合物が高い CNS MPO 値を維持した。次にフェニル基への置換基導入による更なる最適化を行うこととした。

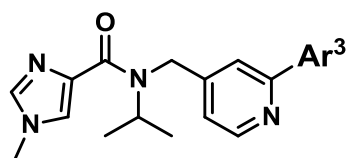
Table 7. 化合物 **33a,b**, **37a,b**, **42** のグリシン取り込み阻害活性と CNS MPO

No.	R ⁵	Ar ⁴	IC ₅₀ (nM)	CNS MPO
33a	<i>n</i> -Pr		140	5.78
42	<i>n</i> -Pr		1,400	5.78
37a	<i>n</i> -Pr		39	5.78
33b	<i>i</i> -Pr		100	5.81
37b	<i>i</i> -Pr		20	5.81

化合物 **37b** のフェニル基への置換基導入結果を **Table 8** に示す。電子求引性置換基であるフッ素原子を導入したところ、パラ位およびメタ位への導入で活性は維持した (**37c**: $IC_{50} = 18$ nM, **37d**: $IC_{50} = 16$ nM)。一方、オルト位へのフッ素原子導入では活性が低下した (**37e**: $IC_{50} = 43$ nM)。電子供与性基であるメトキシ基を導入したところ、フッ素原子の導入と同様の傾向が確認され、オルト置換体比べてパラおよびメタ置換体のほうが高い活性を示した。フッ素原子導入とメトキシ基導入を比較した時、すべての置換位置でフッ素原子置換体が高い活性を示した (**37c** vs **37f**, **37d** vs **37g**, and **37e** vs **37h**)。以上の構造活性相関の結果を受け、パラもしくはメタ位に他の電子求引性基の導入を行うことで活性向上の可能性があるものと考え、更なる置換基変換を検討した。

トリフルオロメチル基の導入は、フッ素原子導入体に比べて、パラ位では活性が低下したものの、メタ位では活性向上が認められた (**37i**: $IC_{50} = 37$ nM, **37j**: $IC_{50} = 8.2$ nM)。トリフルオロメトキシ基の導入ではパラ位、メタ位ともに高い活性を示した (**37k**: $IC_{50} = 7.3$ nM, **37l**: $IC_{50} = 7.9$ nM)。トリフルオロメチル基およびトリフルオロメトキシ基は比較的分子量が大きく、脂溶性が高い置換基であるが、これらの CNS MPO は 5 付近の高い値を維持した。

Table 8. 化合物 **26e**, **37c–l** のグリシン取り込み阻害活性と CNS MPO



No.	Ar ³	IC ₅₀ (nM)	CNS MPO	No.	Ar ³	IC ₅₀ (nM)	CNS MPO
37b		20	5.81	37h		190	5.96
37c		18	5.85	37i		37	5.00
37d		16	5.84	37j		8.2	5.00
37e		43	5.76	37k		7.3	4.75
37f		34	5.93	37l		7.9	4.75
37g		37	5.94				

第 6 節 化合物 **37k** の動態特性および初期 *in vivo* 薬理評価

第 5 節までに構造的に新規性の高い側鎖を有し、また強い *in vitro* 活性を示す化合物 **37j-1** を見出した。これら化合物の薬物動態特性を確認するために、ヒト肝ミクロソームにおける代謝安定性を検討した。メタ置換体 **37j** および **37l** はその代謝率が 25%程度であったのに対し、パラ位に置換基を有する **37k** は代謝率が 5.6%であり、高い安定性を示した。さらに **37k** は代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP450) を阻害しうるイミダゾール部分構造を有しているものの、主要な CYP450 分子種 (3A4, 2D6, 2C9, 2C19 および 1A2) に対し 10 μ M の濃度において阻害作用を示さなかった。

以上の結果より、**37k** をラット体内動態試験に供した。その結果を **Table 9** にまとめる。化合物 **37k** をラットに対して静脈投与したところ、はラット肝血流量の半分ほどのクリアランス値 (*CL*) を示し、初回通過の際に半分ほど消失することが予想された。実際に 2.55 mg/kg を経口投与した時のバイオアベイラビリティ (BA) は 42%であった。また C_{max} は 0.64 μ M であり、B/P ratio は 0.90 であった。第 1 章第 4 節で示したとおり、**19a** を 10 mg/kg 投与した際の C_{max} は 0.24 μ M であり、また B/P ratio は 0.52 であった。このことより **37k** は T_{max} 付近において **19a** よりも高い脳内曝露を示すことが明らかとなった。

Table 9. 化合物 **37k** のラット体内動態

	静脈投与 (1 mg/kg)		経口投与 (2.55 mg/kg)			
	<i>CL</i>	<i>Vd</i>	C_{max}	T_{max}	B/P ratio	BA
37k	2,580 mL/min/kg	2,700 mL/kg	0.64 μ M	0.42 h	0.90	42%

(**CL* (クリアランス): 薬物の体内から消失する速度を、単位時間あたりに体内から消去される量の薬物を含んだ体液の容積で表した概念, *Vd* (分布容積): 薬物が血液や体液にどれほどの体積に分散したかを表す見かけの容積)

化合物 **37k** の *in vivo* での作用を確認するために、ラット CSF 中のグリシン濃度の測定を行った。ラットに **37k** を経口投与したところ、**Figure 16** に示すとおり、用量依存的に CSF 中のグリシン濃度が上昇することが確認された。最小有効量 (MED) は 3 mg/kg であった。この結果は、第 1 章で見出した **19a** と同様、**37k** がラット脳内の GlyT1 を阻害し、シナプス間のグリシン濃度を高めていることを示唆するものである。

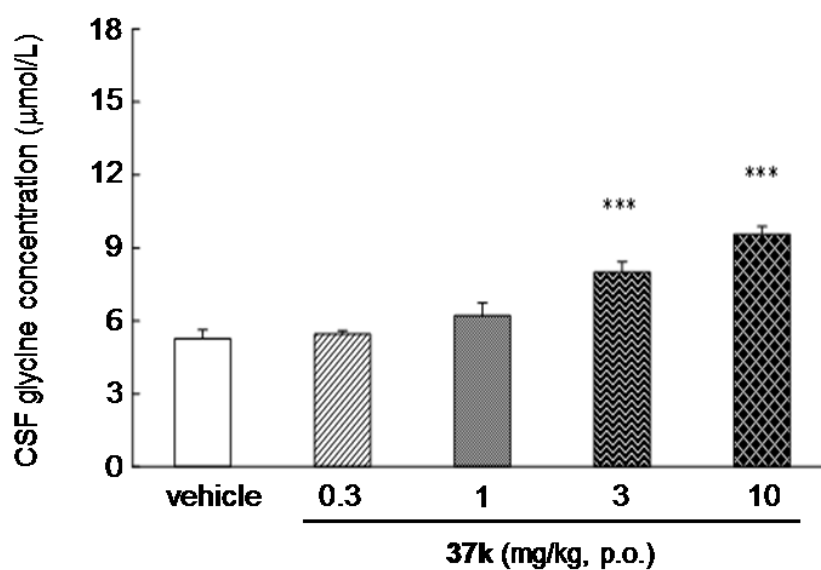


Figure 16. 化合物 **37k** 投与におけるラット CSF 中グリシン濃度測定結果
(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n = 6–7). Vehicle: 0.5% methylcellulose, ***: P < 0.001 versus vehicle treated group (Dunnett's test))

第 7 節 化合物 19a と 37k の比較および考察

まず **37k** と誘導化の起点となった母化合物である PF-0346275 との比較を行った (**Figure 17**)。CNS MPO はそれぞれ 4.75 および 4.88 であり、ほぼ同等の値であった。PF-0346275 の塩基性アミノ基を除くことにより、pKa の計算値が 10 から 4.0 に下がり、その結果 pKa のパラメーターが 0 点から 1.0 点に改善した。一方、**37k** は分子量および脂溶性のパラメーターの数値が若干悪くなり、結果的に同等の CNS MPO を示すことになった。より可視化しやすいように各パラメーターの点数からレーダーチャートを作成したところ、その形状は異なるものであった。このことより、両者は物理化学的に異なる特性を持つことが示唆された。特に塩基性の点でこの 2 化合物は物理化学的な特性が異なっているが、塩基性の強さは動態面および毒性面で異なる特性を示す可能性があることが知られている³⁸⁾。

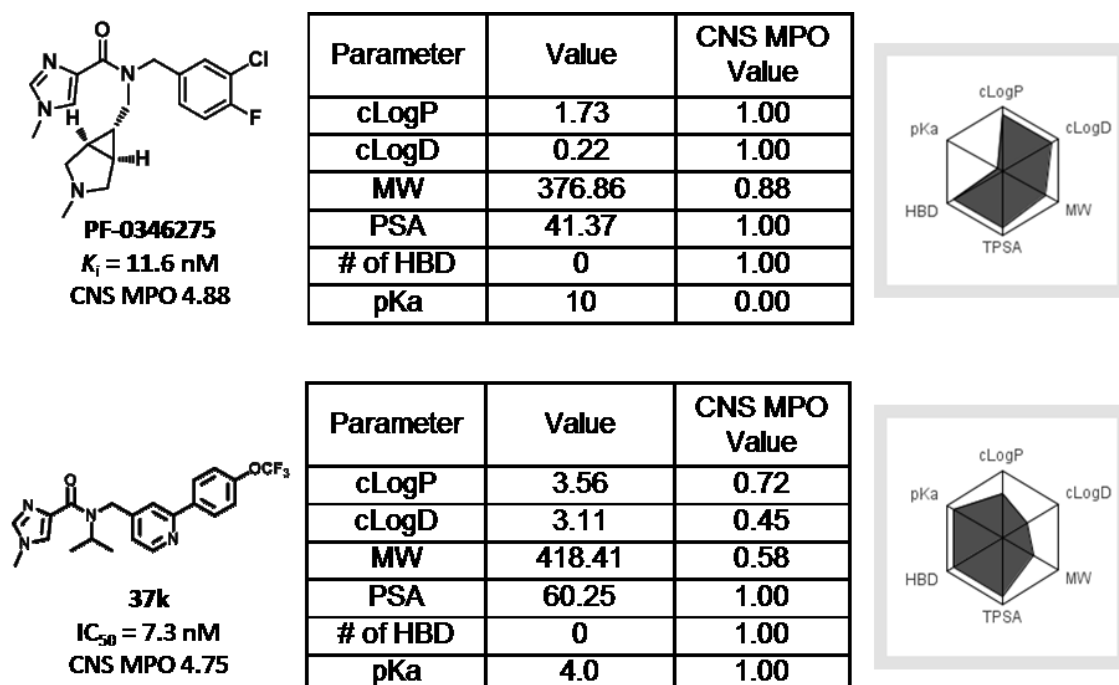


Figure 17. PF-0346275 と **37k** の CNS MPO およびレーダーチャートの比較

次にその他既報の臨床開発化合物との比較を行った (**Figure 18**)。SSR504734 や DCCCyB、RG1678 などの CNS MPO 値は、すべて **37k** に比較して低いものであり、**37k** の開発候補化合物として可能性を示唆するものであった。

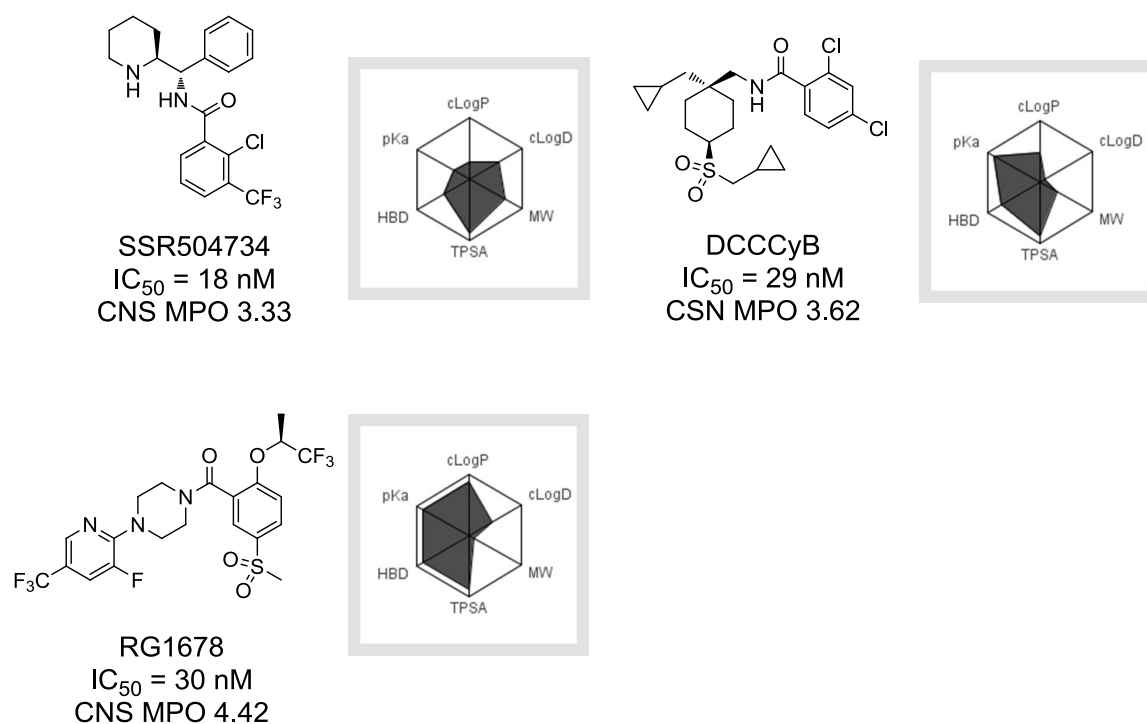


Figure 18. 既報の臨床開発化合物の CNS MPO およびレーダーチャート

最後に **19a** と **37k** の比較を行った (**Figure 19**)。化合物 **19a** の CNS MPO は 3.17 であり、**37k** に比較して低い値であった。化合物 **19a** と **37k** の CNS MPO の各パラメーターを比較したところ、pKa のパラメーターがそれぞれ 0.34 点と 1.0 点であり、点数の差が一番大きかった。また HBD の数、分子量および cLogP のパラメーターが **37k** のほうがより良好な点数を示し、唯一 cLogD のパラメーターのみ **19a** が優れていた。これらをレーダーチャートで可視化したところ、その形状は異なる形状であり、すなわち異なる物理化学的特性を有していることが示唆された。

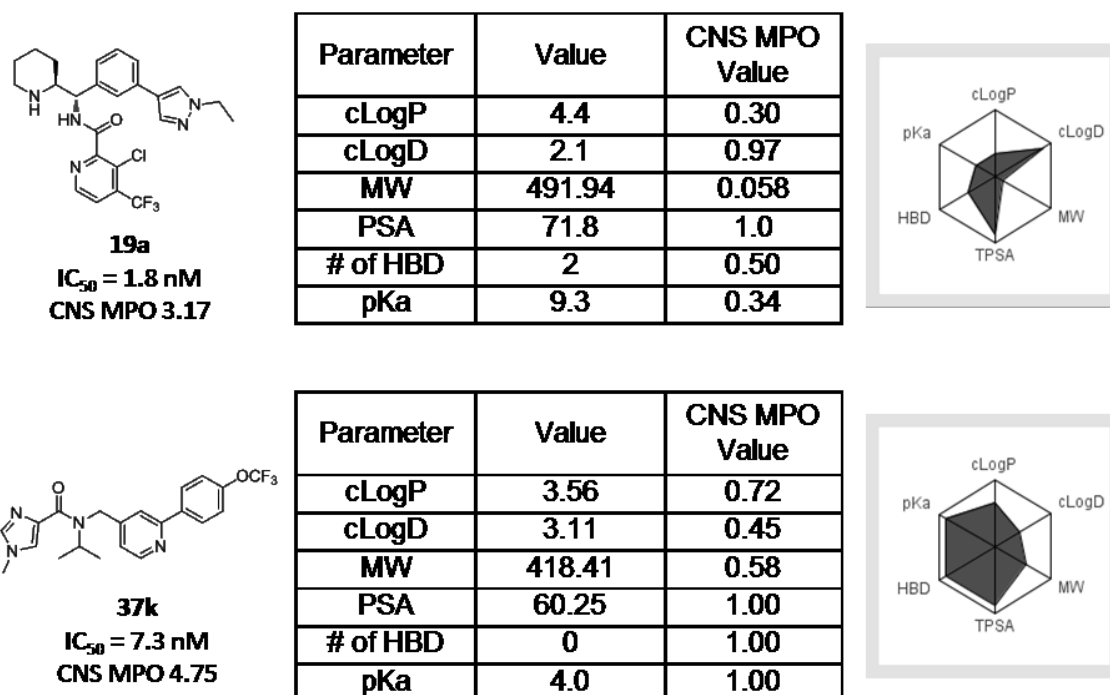


Figure 19. 化合物 19a と 37k の CNS MPO およびレーダーチャートの比較

化合物 **37k** は **19a** に比べ CNS MPO の値が高く、良好なプロファイルを示すことが予想された。実際、**37k** はラット PK 試験において、より高い最高血漿中濃度 (C_{max}) を示した (**19a** (10 mg/kg): 0.24 μM, **37k** (2.55 mg/kg): 0.64 μM)。また中枢薬開発において重要である脳内移行性に関しても、脳および血漿中濃度比 (B/P ratio) は **19a** が 0.52 であったのに対して、**37k** は 0.90 と高い値を示した。このことより、CNS MPO に基づく阻害剤探索は動態プロファイルの改善につながったものと考えられる。

一方、ラット CSF 中のグリシン濃度を測定する試験において、**19a** の MED は 1 mg/kg であったのに対して、**37k** の MED は 3 mg/kg であった。両化合物とも十分な *in vivo* 作用を示しているものの、**37k** は 1 用量高い、すなわちより弱い *in vivo* 作用を示す結果となった。この結果の考察には体内動態と薬理作用

のより詳細な解析が必要ではあるものの、*in vivo* 薬効に差が生じた要因のひとつに *in vitro* 活性の強さの違いが考えられる (**19a**: 1.8 nM, **37k**: 7.3 nM)。CNS MPO は活性値を考慮せず、物性プロファイルのみを参照する指標であり、そのため CNS MPO は薬物動態の改善に適している一方、薬効の予測には不十分である特性を持つものと考えられる。

第 1 章および第 2 章において 2 つの手法により新規 GlyT1 の創製検討を行った。LBDD 手法では効率的に強力な活性を有する阻害剤を見出し、CNS MPO を指標にした手法では中枢薬として良好な体内動態を示す阻害剤を見出した。今後、こうした 2 つの手法を有効に組み合わせ、多面的に化合物を捉えることにより、より効率的な創薬につなげることが可能になるものと考えられる。

第8節 まとめ

本章では CNS MPO を指標とした新規 GlyT1 阻害剤創出を検討し、強い塩基性部分構造を有する既知 GlyT1 阻害剤からその部分構造を取り除くことで、高い CNS MPO を有するリード化合物 **24** を見出した。化合物 **24** の下部アルキル部位の構造活性相関を明らかとし、さらに右側鎖部位の変換により更なる新規性の付与を行った。その結果、7.3 nM の高い *in vitro* 活性を示し、優れたヒト肝ミクロソーム安定性を有する **37k** を見出した。化合物 **37k** は優れたラット体内動態を示し、さらにラット CSF 中のグリシン濃度を 3 mg/kg の経口投与により有意に上昇させた。

化合物 **19a** と **37k** のプロファイル結果の比較より、CNS MPO が中枢薬に求められる体内動態の改善に適している指標であるものの、薬効の予測には不十分ではある特性を有することを明らかとした。化合物 **37k** は **19a** や既存の GlyT1 阻害剤に比べ高い CNS MPO を示し、さらに **19a** と比べ異なる物性プロファイルを示唆された。これらの結果より、**37k** は **19a** のヒトでの予想外の低暴露や不意の毒性などのリスクに備えた、開発バックアップ化合物とした。

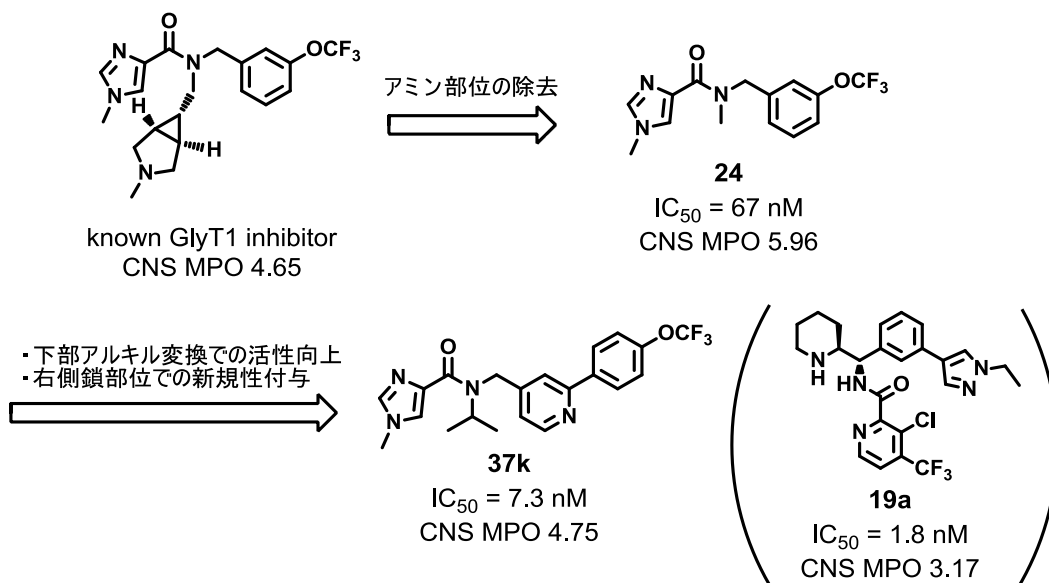


Figure 20. 第2章での新規 GlyT1 阻害剤探索のまとめ

第3章 化合物 19a の薬理学的評価

第1節 化合物 19a の *in vitro* 特性

第1章および第2章で得られた化合物 19a および 37k は高い *in vitro* 活性を有し、ラット CSF 中のグリシン濃度を 1 mg/kg および 3 mg/kg の経口投与によりそれぞれ有意に上昇させた。この2化合物のうち、より低用量でラット CSF 中のグリシン濃度を上昇させた 19a について詳細な薬理学的評価を行った。はじめに *in vitro* 評価を行い、その結果を Table 10 にまとめた。

化合物 19a のラット GlyT1 (rGlyT1) への阻害作用を確認したところ、IC₅₀ 値で 1.6 nM と高い阻害作用を示した。この値はヒト GlyT1 (hGlyT1) 阻害作用 (1.8 nM) とほぼ同等の値であり、種差がないことが確認された。ラット GlyT2 (rGlyT2) への阻害作用は IC₅₀ 値で 138.1 nM であり、rGlyT1 阻害作用と比較して弱いものであった。また NMDA 受容体グリシン結合部位、ストリキニン感受性グリシン受容体、ドーパミン受容体、セロトニン受容体およびオピオイド受容体を含む、107 の受容体、トランスポーターおよびイオンチャネルへの選択性を確認した。各分子に対するラジオリガンド結合阻害試験において、19a は 10 μM の濃度でほとんどの分子に対して結合阻害活性を示さなかった。一部、セロトニン 1A 受容体 (5-HT_{1A}) およびセロトニントランスポーター (5-HTT) に対して 1 μM の濃度で 50% 以上の結合阻害活性を示した。IC₅₀ 値の算出を行ったところ、それぞれ 1011.9 nM および 145.7 nM であり、GlyT1 への阻害活性に比べて低く、十分な選択性を有していることが確認された。

Table 10. 化合物 19a の受容体選択性試験のまとめ

	hGlyT1	rGlyT1 ^a	rGlyT2 ^b	5-HT _{1A} ^c	5-HTT ^d	Others ^e
IC ₅₀	1.8 nM	1.6 nM	138.1 nM	1011.9 nM	145.7 nM	> 10,000 nM

^a C6 glioma 細胞を用いたグリシン取り込み阻害活性； ^b GlyT2 を発現させた COS-7 細胞を用いたグリシン取り込み阻害活性； ^c [³H]8-OH-DPAT 結合活性； ^d [³H]paroxetine 結合活性； ^e Cerep (Celle L'Evescault, France) における評価。

第 2 節 化合物 **19a** の統合失調症の動物モデルに対する効果と考察

前節において **19a** はその *in vitro* GlyT1 阻害活性がヒトとラットで種差がなく、また十分な *in vitro* 選択性を有することを示した。そこで統合失調症の主症状を模した動物モデルを用いて **19a** の効果を検討した。認知機能障害への効果を予測する動物モデルとして、ラット新奇物体認識試験³⁹⁾およびラット社会性認知試験⁴⁰⁾を行った。また陰性症状への効果を予測する動物モデルとして PCP 誘発マウス社会性行動試験⁴¹⁾を行った。さらに、統合失調症患者に併発するうつ症状への効果を予測するモデルとしてラット強制水泳試験を行った。

なお、検討において **19a** は塩酸塩もしくはマレイン酸塩を用いたが、両者の PK プロファイルに差は見られなかった。

ラット新奇物体認識試験

化合物 **19a** の認知機能障害への効果を新奇物体認識試験により検討した³⁹⁾ (**Figure 21**)。本試験は新奇性を好むというげっ歯類の特性を利用した試験系であり、あらかじめ 2 つの物体を探索させた後、片方の物体を新奇物体と交換し、2 つの物体への嗜好性を測定することで視覚的記憶を評価する (**Figure 21(a)**)。本試験では定型抗精神病薬であるハロペリドールは薬効を示さないものの、非定型抗精神病薬であるクロザピンは薬効を示すことが確認されている^{39a)}。

正常なラットでは 2 回目の探索で新奇物体により興味 (exploratory preference) を示すようになる (**Figure 21(b)**, vehicle 群)。一方、NMDA 受容体の非競合拮抗剤である MK-801 (序章、**Figure 2**) の投与により vehicle 群に比べて新奇物体への嗜好性が低下、すなわち認知機能の障害を示した (**Figure 21(b)**, vehicle + MK-801 投与群)。これは統合失調症の認知機能障害の一部を模しているものと考えられるが、**19a** を経口投与することにより 0.3 mg/kg 以上の用量で新奇物体への嗜好性を有意に上昇、すなわち改善効果を示した。この結果は GlyT1 阻害剤である **19a** が認知機能障害への改善作用を有することを示しているものである。

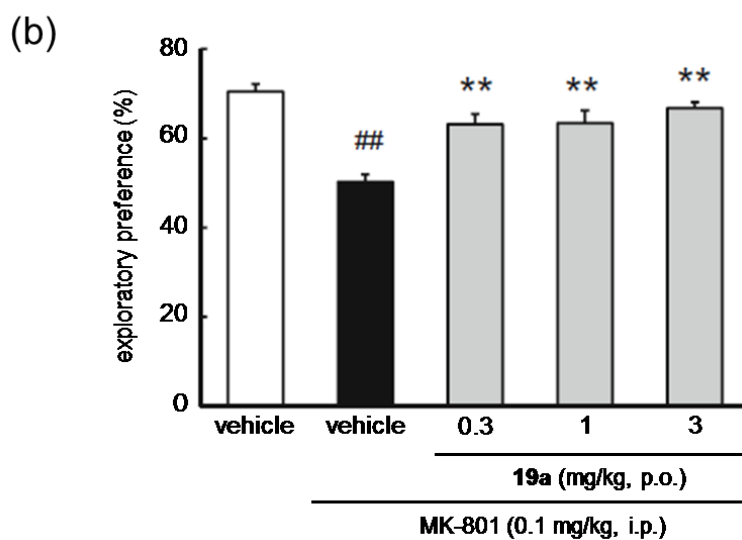
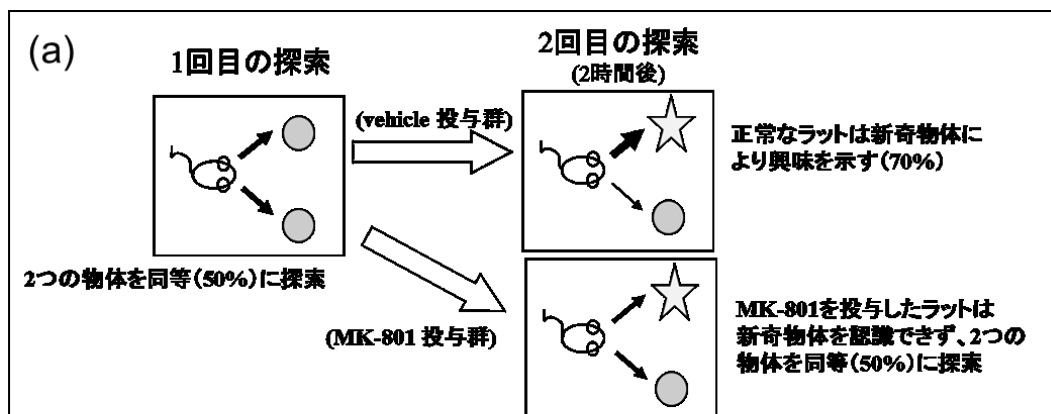


Figure 21. ラット新奇物体認識試験による化合物 **19a** の認知機能障害への効果の確認. (a) 試験内容の概略図. (b) 試験結果

(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n = 8–9). ##P<0.01 versus vehicle-treated group (Student's t test). **P<0.01 versus MK-801 treated group (Dunnett's test))

ラット社会性認知試験

化合物 **19a** の認知機能障害への効果をラット社会性認知試験により検討した⁴⁰⁾。本試験はラットが初見の同種幼若ラットに興味を示すという特性を利用した試験である。本試験では定型抗精神病薬であるハロペリドールは薬効を示さないものの、非定型抗精神病薬であるクロザピンは薬効を示すことが確認されている⁴⁰⁾。

NMDA受容体の非競合拮抗剤である MK-801 で誘発した社会的記憶の障害に対する **19a** の効果を確認した (**Figure 22**)⁴⁰⁾。本試験では成熟ラットを幼若ラットと同じケージに入れて 5 分間探索させた後、30 分の隔離時間をはさんで、再び同一幼若ラットを探索させる。通常であると 30 分の隔離では社会的記憶が維持しているため 2 回目の探索時間が短縮される。すなわち 1 回目と 2 回目の探索時間の比 (ratio of investigation duration (RID) = 2 回目の探索時間 / 1 回目の探索時間) が 1 よりも低い値となる (**Figure 22(b)**, vehicle 群)。一方、MK-801 を投与した成熟ラットの場合、2 回目の探索時間が 1 回目の探索時間と同等となり、RID が 1 に近い値となる (**Figure 22(b)**, vehicle + MK-801 群)。すなわち MK-801 の投与により認知機能に障害が生じ、社会的記憶の低下が引き起こされる。このことは統合失調症の認知機能障害の一部を模していると考えられるが、**19a** を経口投与したところ、0.1 mg/kg より 2 回目の探索時間を有意に短縮させた。すなわち MK-801 により障害が生じた社会的記憶を改善させた。なお、1 回目と 2 回目で異なる幼若ラットを探索させる試験を行い、**19a** を 0.3 mg/kg 経口投与したときに異なる幼若ラットを vehicle 群と同様に探索することを確認した (**Figure 22(c)**)。このことは **19a** が社会性行動自体を低下させないことを示している。

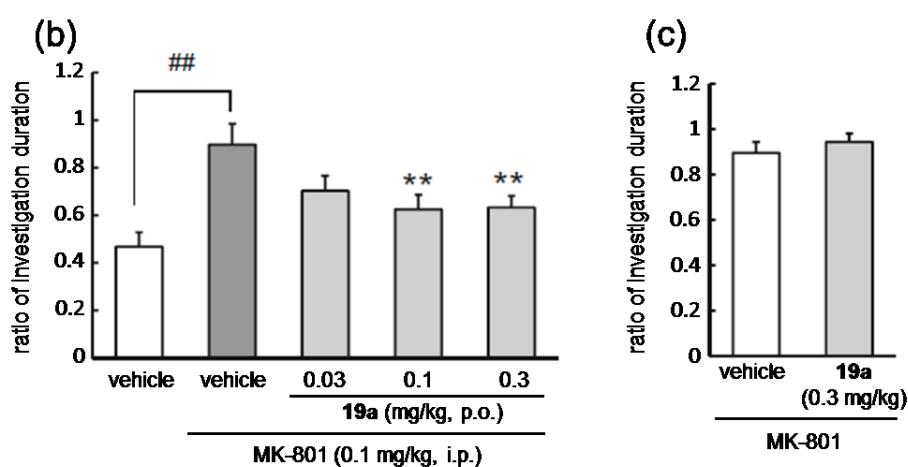
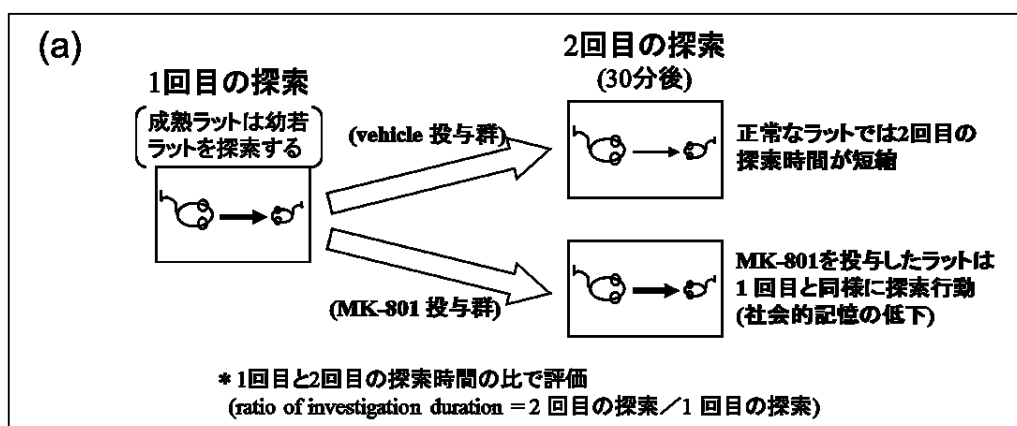


Figure 22. ラット社会性認知試験 (MK-801 で誘発した社会的記憶の低下) による化合物 **19a** の認知機能障害への効果の確認. (a) 試験内容の概略図. (b) 化合物 **19a** の試験結果. (c) 化合物 **19a** 投与時の異なる幼若ラットに対する探索行動結果.

(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n = 11–15). **P<0.01 versus vehicle + MK-801-treated group (Dunnett's test))

次に時間経過による社会的記憶の低下に対する **19a** の効果を確認した (**Figure 23**)。本試験では、隔離時間を延ばすことにより社会的記憶を低下させ、化合物の評価を行うものである (**Figure 23(a)**)。1 回目の探索の後に 120 分間隔離した場合、再び同一幼若ラットを探索させると成熟ラットは 1 回目と同様に探索を行い、RID が 1 に近い値となる (**Figure 23(b)**, vehicle 群)。これは時間経過により社会的記憶が低下していることを示している。一方、1 回目の探索前に **19a** を経口投与したところ、0.3 mg/kg において 2 回目の探索時間が短縮し、RID が低下した (**Figure 23(b)**, **19a** 投与群)。すなわち、社会的記憶を増強させた。この傾向は既存の非定型抗精神病薬であるリスペリドンでも認められ、0.1 mg/kg の経口投与より有意に 2 回目の探索時間を短縮させた (**Figure 23(c)**)。

次にリスペリドンが効果を示さない 0.03 mg/kg の経口投与群に対して **19a** を上乗せ投与したところ、単独投与の場合より低用量である 0.03 mg/kg から薬効を示した (**Figure 23(d)**)。このことは、異なる作用機序を有する非定型抗精神病薬と GlyT1 阻害剤に相乗もしくは相加効果があることを示している。既存の非定型抗精神病薬を用いることで統合失調症の陽性症状は十分にコントロールが可能であるが、認知機能障害に対しては効果が十分ではない。しかしながら、GlyT1 阻害剤が併用可能であることが示されたことにより、統合失調症の幅広い症状に対する治療が可能になることが示唆された。なお、1 回目と 2 回目で異なる幼若ラットを探索させる試験によって、**19a** が社会性行動自体を低下させないことを確認した (**Figure 23(e)**)。

以上の結果は、GlyT1 阻害剤である **19a** が認知機能障害への改善作用を有していることを示しているものである。

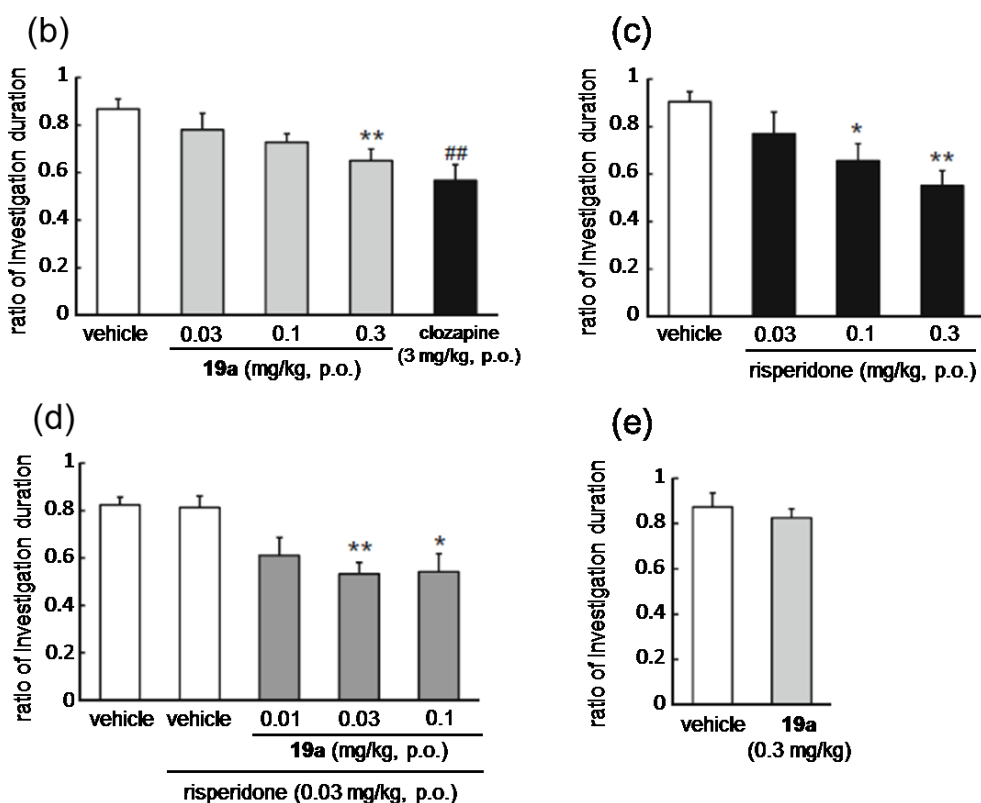
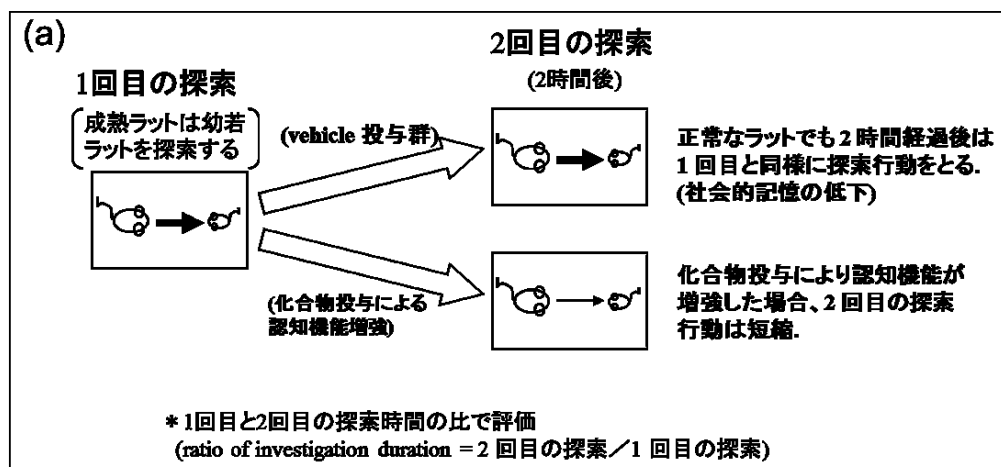


Figure 23. ラット社会性認知試験（時間経過による社会的記憶の低下）による化合物 **19a** の認知機能障害への効果の確認. (a) 試験内容の概略図. (b) 化合物 **19a** の試験結果. (c) リスペリドンの試験結果. (d) 化合物 **19a** とリスペリドンの併用効果. (e) 化合物 **19a** 投与時の異なる幼若ラットに対する探索行動結果.
(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n = 12–15). ##P<0.01 versus vehicle-treated group (Student's t test). *P<0.05, **P<0.01 versus vehicle-treated group (Dunnett's test))

PCP 誘発マウス社会性行動試験

化合物 **19a** の統合失調症陰性症状への効果を PCP 誘発マウス社会性行動試験により検討した⁴¹⁾。これまで複数の陰性症状モデルに対する GlyT1 阻害剤の効果に関して報告はあるが^{20,42)}、本試験における GlyT1 阻害剤の薬効に関する報告はない。

ラットもしくはマウスに対して NMDA 受容体の非競合拮抗剤である PCP (序論、**Figure 2**) を慢性投与することで統合失調症の病態を引き起こすモデルは広く用いられている⁴³⁾。本試験は PCP を 12 日間投与することで社会性行動を低下させたマウスに対し、化合物投与によって改善効果を示すかを観察することで、陰性症状への効果を確認する試験である (**Figure 24(a)**)。

PCP を 12 日間連続投与することでマウスの社会性行動 (interaction time, におい嗅ぎ行動や毛繕い行動など) は有意に低下した (**Figure 24(b)**, vehicle + PCP 投与群)。これは統合失調症の陰性症状を模しているものと考えられるが、リスペリドン 0.1 mg/kg を単回経口投与したところ、社会性行動に改善が確認された (**Figure 24(b)**, risperidone + PCP 投与群)。同様に **19a** も 0.3 mg/kg の単回経口投与より、PCP で誘発した社会性行動の低下を改善した (**Figure 24(b)**, **19a** + PCP 投与群)。

本病態モデルマウスの社会性行動の低下は、PCP 投与後 8 日後も持続した (**Figure 24(c)**, vehicle + PCP 投与群)。一方、リスペリドンもしくは **19a** を 8 日間連投したところ、単回投与のときと同様に社会性行動を回復させた (**Figure 24(c)**)。すなわち両者に耐性の兆候は観察されず、連投しても効果が持続することが確認された。以上の結果は、GlyT1 阻害剤である **19a** が統合失調症の陰性症状への改善作用を有していることを示しているものである。

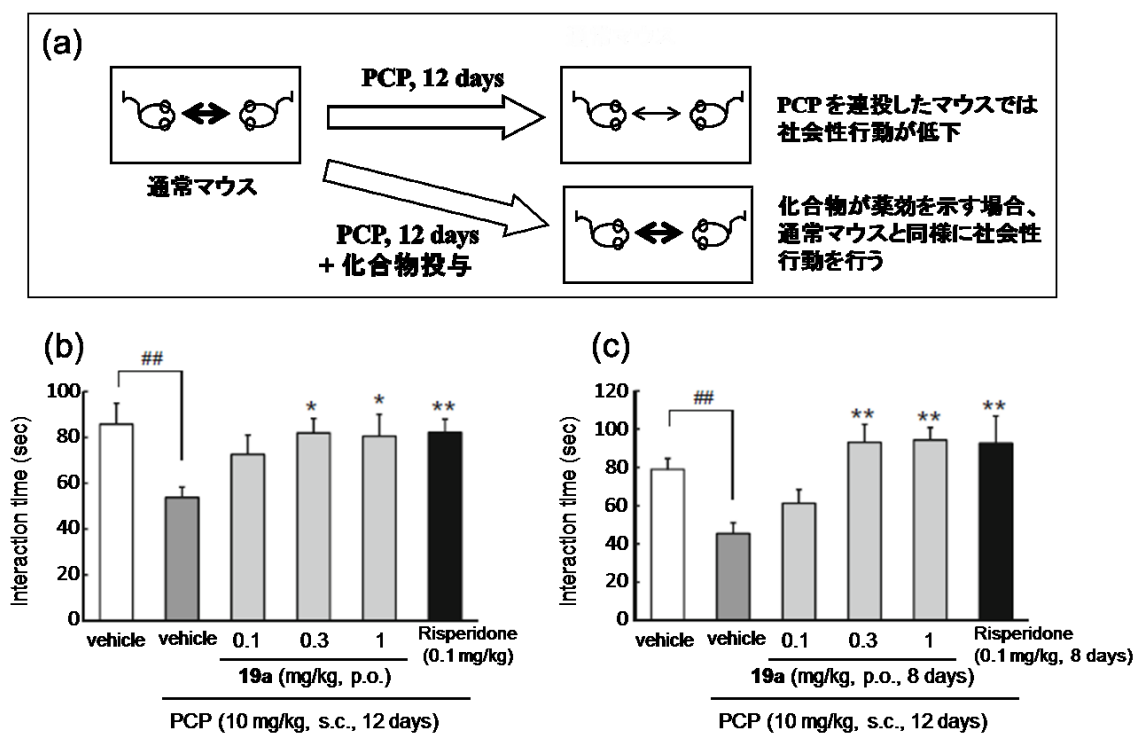


Figure 24. マウス社会性行動試験による化合物 **19a** の陰性症状への効果の確認.

(a) 試験内容の概略図. (b) 化合物 **19a** の試験結果 (単回投与). (c) 化合物 **19a** の試験結果 (8 日間連投).

(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n = 11–12). *P<0.05, **P<0.01 versus vehicle + PCP-treated group (Dunnett's test))

ラット強制水泳試験

統合失調症患者はうつ症状などの他の精神疾患症状を併発することがあり、抗うつ作用を併せ持つ薬剤は有用性が高いと考えられる。化合物 **19a** の抗うつ作用をラット強制水泳試験によって検討した (**Figure 25**)。ラットは逃げることに出来ない状況下で泳がされることで絶望状態になり、無動化する。本試験はこの無動化をうつ状態と捉え、無動化状態にある時間 (immobility time) を指標として評価を行う試験系である。陽性対照として既存の抗うつ薬であるフルボキサミン 3 mg/kg を経口投与したところ、有意に無動化時間を短縮した。すなわち抗うつ作用を示した。同様に **19a** は 1 mg/kg の経口投与により有意に無動化時間を短縮した。このことは **19a** が抗うつ作用を有していることを示しているものであり、統合失調症に併発するうつ症状に対する改善作用を示唆するものである。

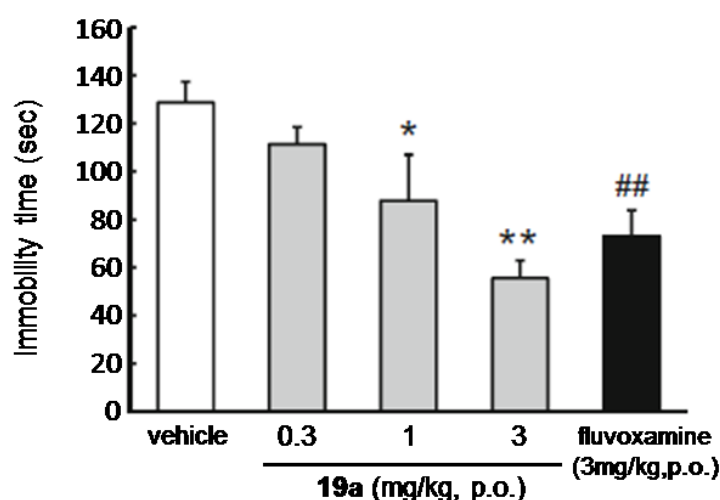


Figure 25. ラット強制水泳試験による化合物 **19a** の抗うつ作用の確認.

(*Data represent the mean $\pm$ SEM (n = 10–11). ##P<0.05 versus vehicle group (Student's t test). *P<0.05, **P<0.01 versus vehicle group (Dunnett's test))

第3節 化合物 **19a** の中枢性副作用の確認

前節での検討の結果、**19a** は経口投与で統合失調症の陰性症状および認知機能障害モデルに対して 0.03～0.3 mg/kg の低用量で薬効を示し、さらに併発するうつ症状への効果を示唆する結果を得た。既存の抗精神病薬は中枢作用による運動障害などの副作用発現が認められており、本節では **19a** の中枢性副作用の有無について検討した。

自発運動量に及ぼす影響

化合物 **19a** のラットおよびマウスの運動量に及ぼす影響を自発運動量試験によって検討した (**Figure 26**)。非定型抗精神病薬の一種であるクロザピンをラットおよびマウスにそれぞれ 30 mg/kg および 10 mg/kg を経口投与することで自発運動量は低下した。一方、化合物 **19a** は経口投与にて 10 mg/kg まで自発運動量に影響を示さず、薬効用量に対して十分な安全性を有していた。

Rotarod 試験

化合物 **19a** のラットおよびマウスの運動協調性に及ぼす影響を rotarod 試験によって検討した (**Figure 27**)。本試験はラットもしくはマウスを回転する棒の上に乗せ、落下するまでの時間を計測する試験である。クロザピンをラットおよびマウスにそれぞれ 100 mg/kg および 30 mg/kg を経口投与することで運動協調性の低下が認められ、回転棒から落下するまでの時間が有意に短縮した。一方、化合物 **19a** は経口投与にて 10 mg/kg まで運動協調性に影響を示さず、薬効用量に対して十分な安全性を有していた。

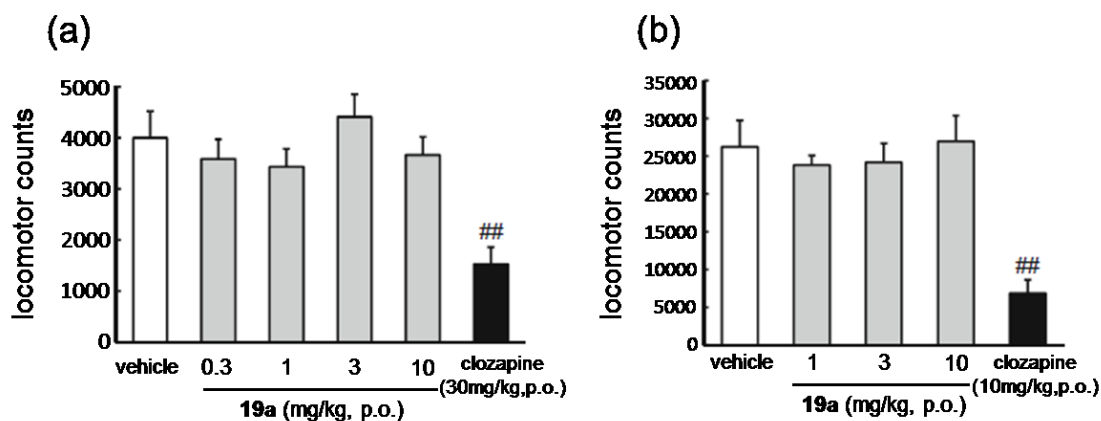


Figure 26. 化合物 **19a** 投与による自発運動量への影響. (a) ラットを用いた自発運動量測定試験の結果. (b) マウスを用いた自発運動量測定試験の結果.

(*Data represent the mean $\pm$ SEM. (n = 8–10). ##P<0.05 versus vehicle group (Student's t test))

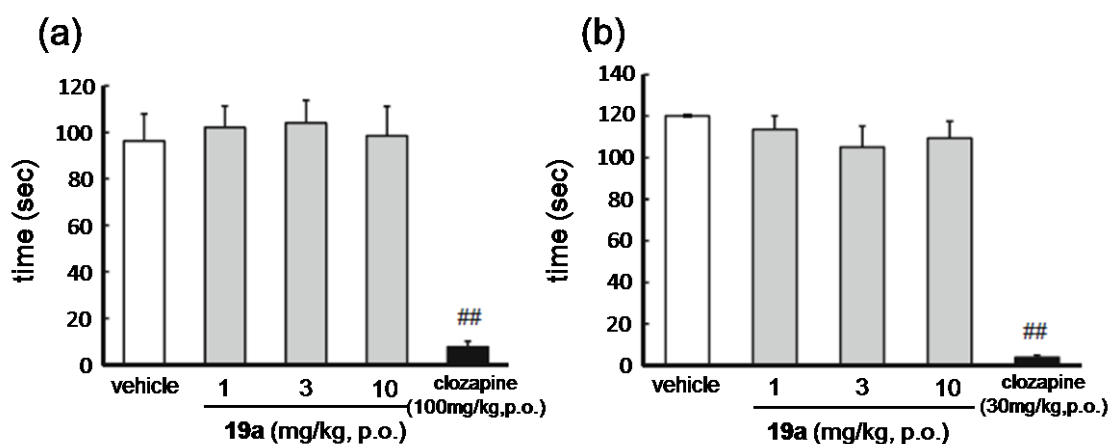


Figure 27. 化合物 **19a** 投与による運動協調性への影響. (a) ラットを用いた Rotarod 試験の結果. (b) マウスを用いた Rotarod 試験の結果.

(*Data represent the mean $\pm$ SEM. (n = 8–10). ##P<0.05 versus vehicle group (Student's t test))

ラットカタレプシー試験

カタレプシーとは既存の抗精神病薬で出現する副作用の 1 つであり、受動的に取らされた姿勢を自ら変えずにそのまま保ち続ける症状である。本試験はラットを不自然な姿勢にし、その姿勢を保ち続ける時間 (duration) を測定することでカタレプシー作用を評価する試験である。化合物 **19a** がラットにカタレプシー作用を引き起こすか、検討を行った (**Figure 28**)。非定型抗精神病薬であるリスペリドンは 3 mg/kg の経口投与においてカタレプシー作用を引き起こす一方、**19a** は経口投与にて 10 mg/kg までカタレプシー作用を引き起こさず、薬効用量に対して十分な安全性を有していた。

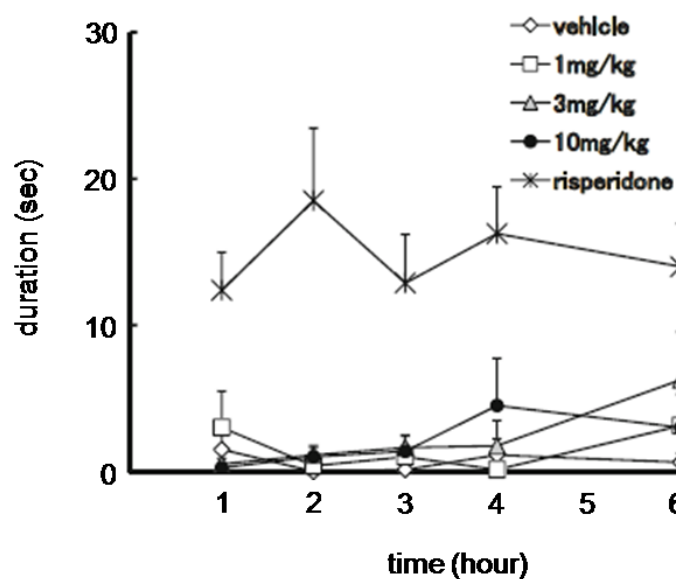


Figure 28. 化合物 **19a** の投与によるカタレプシー惹起作用の検証

(*Data represent the mean $\pm$ SEM. (n = 8))

第4節 まとめ

本章では **19a** の薬理学的特性について評価を行った。*In vitro* 特性を評価した結果、**19a** は GlyT1 阻害に関してヒトとラットで種差はなく、またラット GlyT2 に対して十分な選択性を示した。その他の 107 の受容体、トランスポーター、イオンチャネルなどに対する選択性試験を実施した結果、5-HT_{1A} 受容体および 5-HTT に対してのみ親和性を示したものの、その *K_i* 値は GlyT1 阻害活性に比べて乖離があり、十分な選択性を有していることを明らかとした。

化合物 **19a** を MK-801 誘発ラット新奇物体認識試験により認知機能障害への効果を確認したところ、0.1 mg/kg の経口投与より有意に改善効果を示した。また MK-801 で誘発した社会性認知の低下に対して、**19a** は 0.1 mg/kg より有意に改善効果を示した。時間経過による社会性認知の低下に対しても **19a** は改善効果を示し、さらにリスペリドンへの上乗せによりその効果が増強することを明らかとした。この上乗せ効果は、既存の抗精神病薬と GlyT1 阻害剤の併用が可能であり、陽性症状も含めた幅広い症状のコントロールが可能になることを示唆している。

陰性症状への効果を確認するモデルとして PCP 誘発マウス社会性行動試験を行った。PCP の連投により誘発したマウスの社会性行動の低下に対して、**19a** を経口投与することで 0.3 mg/kg より有意に改善効果を示した。さらに統合失調症に併発するうつ症状に対する効果を確認するためにラット強制水泳試験により評価を行ったところ、1 mg/kg の経口投与より有意に抗うつ効果を示した。

中枢性副作用検討として、自発運動量および運動協調性に対する作用をラットおよびマウスを用いて確認したところ、**19a** は 10 mg/kg まで投与量を上げて運動機能に影響を及ぼさなかった。またラットに対するカタレプシー惹起作用も、10 mg/kg の投与量において認められなかった。副作用検討に用いた投与量は薬効用量と乖離していることから、既存薬で認められる副作用がない安全な薬剤となることが期待される。

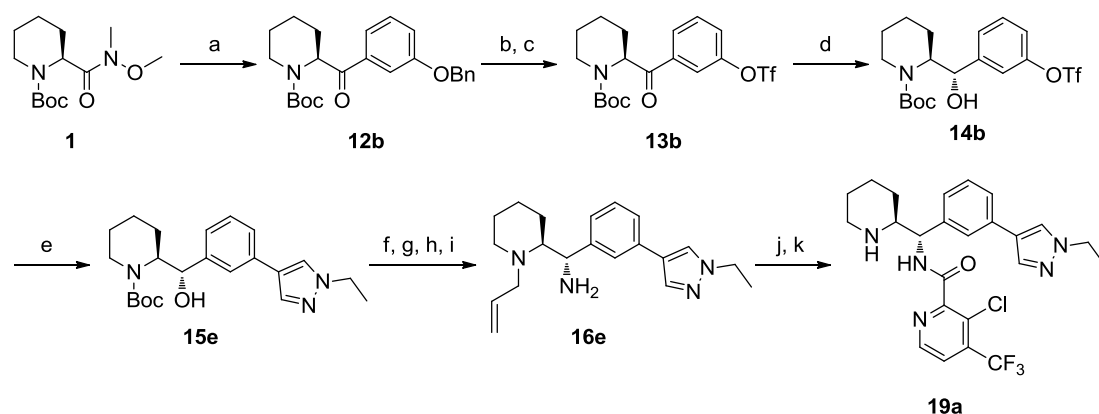
化合物 **19a** は統合失調症の動物モデルにおいて認知機能障害および陰性症状

に対する有効性を示し、さらに抗うつ作用を示した。また既存の抗精神病薬で見られる中枢性の副作用を示さないことが明らかとなった。以上の結果より、GlyT1 阻害剤である **19a** は既存薬と異なる作用機序を有する新規統合失調症治療薬の開発候補化合物になりうるものと考えられる。

第4章 化合物 **19a** の合成における工程数の削減

第1節 合成経路の設定

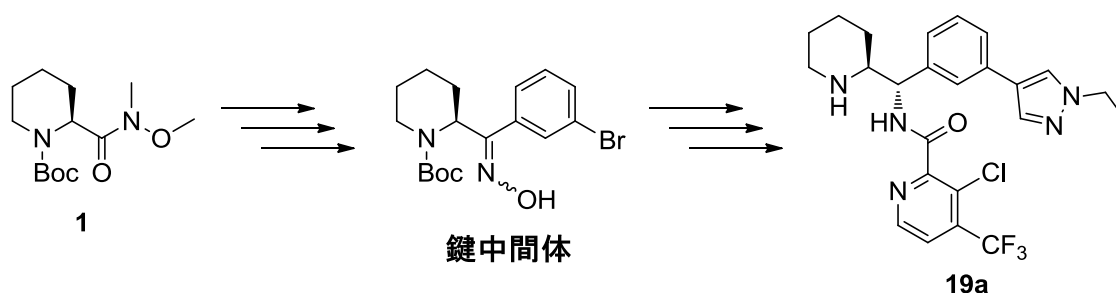
医薬品開発において候補化合物の選抜後には安全性試験を含めた種々の前臨床試験を実施する必要がある、一般的に必要な化合物量は数百グラムに及ぶ。その供給量に見合った合成法の開発が必要であり、**19a** の合成法の見直しを行った。**Scheme 9** に誘導体合成時の合成経路を示す。Weinreb アミド **1** を出発原料とし、全 11 工程、総収率 10.4% にて **19a** を合成したが、工程数が長いことが課題であった。この工程数を減らすために、① ベンジル基の脱保護およびトリフラート化を経由したピラゾール部位の導入（工程 b, c, e）、② ケトンの水酸基への還元と Boc 基からアリル基への保護基の付け替えを伴うベンジル位へのアミン導入（工程 d, f-i）、の 2 点に絞り、その改良を検討した。



Scheme 9. 化合物 **19a** の初期合成法.

Reagents and condition: (a) 3-Benzyloxyphenylmagnesium bromide, THF, 0°C, 60%; (b) H₂, Pd-C, EtOH; (c) Tf₂O, pyridine, CHCl₃, 0°C, 66% in 2 steps; (d) L-Selectride, THF, -78°C, 96%; (e) 1-ethyl-1*H*-pyrazole-4-boronic acid pinacol ester, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃, DMF, EtOH, 80°C, 80%; (f) KOH, MeOH, H₂O, reflux; (g) allyl bromide, K₂CO₃, DMF, 80°C; (h) MsCl, Et₃N, CHCl₃; (i) 8 mol/L ammonia solution in MeOH, 48% in 4 steps; (j) 3-chloro-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxylic acid, HOBt-H₂O, WSC-HCl, DMF; (k) Pd(PPh₃)₄, 1,3-dimethylbarbituric acid, CHCl₃, 71% in 2 steps.

著者は **scheme 10** に示す鍵中間体を経由することで工程数を削減することとした。すなわち 3-ベンジルオキシフェニルマグネシウムブロミドのかわりに 1,3-ジブロモベンゼンをモノリチオ化した反応剤を用いることで、ベンジル基の脱保護とトリフラート化を省くこととした。またケトンをおキシムに変換し、これを還元することで保護基の付け替えを省くこととした。

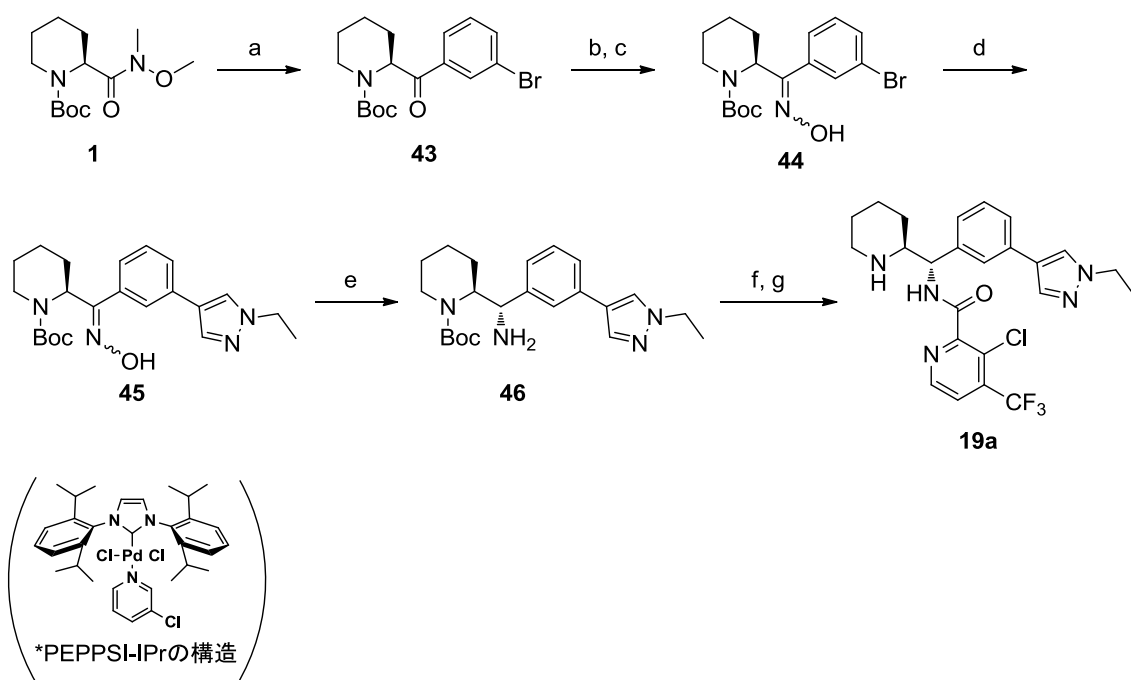


Scheme 10. 化合物 **19a** の改良合成経路の鍵中間体

第 2 節 別法による化合物 **19a** の合成

改良した合成経路を **Scheme 11** に示す。1,3-ジブロモベンゼンを *n*-BuLi でモノリチオ化し、これを Weinreb アミド **1** に反応させ⁴³⁾、46%の収率で **43** を得た。ケトン **43** に対して、加熱還流下、ヒドロキシルアミン塩酸塩を反応させた。この際、オキシムの生成と共に Boc 基が除去されたため、再び Boc 保護を行い、オキシム **44** を得た。次にオキシム **44** に対して鈴木カップリングを行った。本反応は、Pd(PPh₃)₄ を用いた初期の条件では反応収率が低く、種々のパラジウム触媒および溶媒を検討した。その結果、[1,3-bis(2,6-diisopropylphenyl)imidazol-2-ylidene](3-chloropyridyl)palladium(II) dichloride (PEPPSI-IPr)⁴⁵⁾を用いることで 77%の収率にて **45** を得た。オキシム化および鈴木カップリング反応の 2 工程において、ラセミ化は観察されなかった。オキシム **45** は接触水素化によりジアステレオ選択的にベンジルアミン **46**

へと導いた。この際、反応溶媒中にアンモニアを添加することで反応が加速された。ベンジルアミン **46** を 3-クロロ-4-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-カルボン酸と縮合し、Boc 基の除去を行うことで **19a** へと導いた。全 7 工程、総収率 14.4% であり、初期の合成経路に比べて 4 工程を削減した。



Scheme 11. 化合物 **19a** の改良合成法.

Reagents and condition: (a) 1,3-Dibromobenzene, *n*-BuLi, THF, -78°C, 46%; (b) NH₂OH·HCl, EtOH, reflux; (c) Boc₂O, CHCl₃, 79% in 2 steps; (d) 1-ethyl-1*H*-pyrazole-4-boronic acid pinacol ester, PEPPSI-IPr, K₂CO₃, toluene, EtOH, H₂O, reflux, 77%; (e) H₂, Pd-C, NH₃ / MeOH, 78%; (f) 3-chloro-4-trifluoromethylpyridine-2-carboxylic acid, WSC-HCl, HOBT-H₂O, DMF; (g) HCl, EtOAc, 66% in 2 steps.

第3節 考察

合成法を見直すことで4工程を削減し、全7工程、総収率14.4%で**19a**を合成した。削減した工程の中には -78°C の極低温反応も含まれており、操作性が向上した。またアリル基の使用を省いたことで最終工程でのPd触媒使用が回避され、残留金属の制御の点でも利点がある経路であると考えられる。本合成経路により安全性試験などの前臨床試験で用いる化合物を数百グラム合成することが可能となった。

一方でいくつかの改善すべき点は見られるものの、以下のとおり改善することで工業スケールでの合成にも耐える経路であると考ええる。まず1工程目の収率が低く、また極低温条件である点であるが、これはジブロモベンゼンのモノメタル化条件を検討することで改善可能であると考ええる。例えば $n\text{-Bu}_3\text{MgLi}$ のようなアート錯体を用いる方法が考えられる⁴⁶⁾。またオキシム合成時にBoc基が一度外れるが、これはヒドロキシルアミンの塩酸塩を用いていることが原因と考えられ、酢酸塩などを用いることで改善する可能性が考えられる。またカラムクロマトグラフィーの回避検討が必要となるが、例えば**43**での結晶化検討、**46**での逆抽出および塩析などを検討することで改善可能であると考えられる。実際にこの合成経路を基に初期プロセス化学検討が行われた。

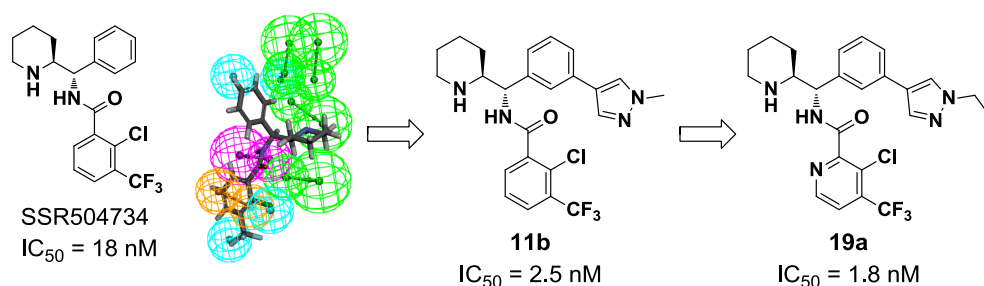
結論

筆者は新規統合失調症治療薬の創出を目指し、2つの手法による新規 GlyT1 阻害剤の創製検討を行った (**Figure 29**)。その結果、以下のような知見を得た。

第1章では既報の GlyT1 阻害剤の情報を用いた ligand-based drug design (LBDD) 手法を用いて化合物デザインを行い、強力な *in vitro* 阻害活性を有する新規 GlyT1 阻害剤の創製を検討した。既報 GlyT1 阻害剤である SSR504734 に対して、不足するファーマコフォアを異なる骨格から補う LBDD 戦略をとった。SSR504734 に対して適切な位置に HBA を導入することで活性の向上が可能になると考え、種々の芳香族複素環を導入した。その結果、1-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル基の導入により、**11b** が IC₅₀ 値で 2.5 nM の強い阻害活性を示すことを明らかとした。続いてベンズアミド部位およびピラゾール置換基の構造活性相関を明らかとし、強力な GlyT1 阻害活性 (IC₅₀ = 1.8 nM) を示す化合物 **19a** を見出した。化合物 **19a** はラット体内動態試験において経口吸収性および脳内移行性を有しており、1 mg/kg の経口投与より有意にラット CSF 中のグリシン濃度を上昇させることが確認され、*in vivo* で GlyT1 を阻害することが示された。

第2章では中枢薬に特化した drug-likeness 指標である CNS MPO を指標として、より高い値を示す化合物を見出すことに主眼を置いた新規 GlyT1 阻害剤の創製を検討した。既報の GlyT1 阻害剤の塩基性アミノ基部位の除去を行うことで、高い CNS MPO 値を示す新規リード化合物 **24** を見出した。化合物 **24** の下部アルキル部位および右側鎖部位について CNS MPO を指標とした最適化を実施し、強い *in vitro* 活性を示し、優れた体内動態プロファイルを有する **37k** を創出した。化合物 **37k** はラット CSF 中のグリシン濃度を 3 mg/kg の経口投与より有意に上昇させたことより、**19a** と同様に *in vivo* で GlyT1 を阻害することが示された。

第 1 章：LBDD 手法を用いた阻害剤探索



第 2 章：CNS MPO を指標とした阻害剤探索

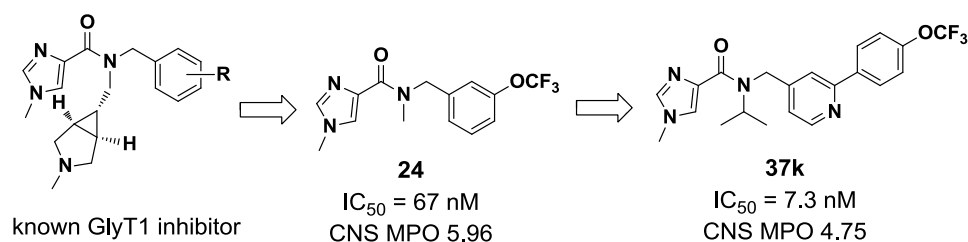


Figure 29. 本研究での誘導化のまとめ

化合物 **37k** は CNS MPO の観点で **19a** に比べて優れた化合物であり、より高い血漿中曝露および脳内移行性を示していた。一方、**19a** のほうが *in vivo* 薬効の面で優れていた。すなわち CNS MPO は体内動態の改善には有用であるものの、活性値のパラメーターを含まないために薬効の予測には不十分であった。化合物 **37k** は **19a** とは異なる構造および物性プロファイルを有し、さらに既存の GlyT1 阻害剤の中でも高い CNS MPO 値を有していることより、開発バックアップ化合物とした。

第 3 章では **19a** の薬理学的な評価を行った。*In vitro* 試験において GlyT2 およびその他の受容体、イオンチャネル、トランスポーターに対して十分な選択性を有していることを明らかとした。統合失調症の認知機能への効果を予測する系として MK-801 により障害を誘発したラットを用いた新奇物体認識試験および社会性認知試験を実施し、それぞれ 0.3 mg/kg および 0.1 mg/kg の低用量から有意に改善効果を示した。また時間経過による社会的記憶の低下に対して **19a** は 0.3 mg/kg から改善効果を示し、さらに既存の非定型抗精神病薬であるリ

スペリドンへの上乗せにより薬効が増強することを明らかとした。異なる作用機序を持つ非定型抗精神病薬と GlyT1 阻害剤が併用可能であることを示しており、陽性症状も含めた統合失調症の幅広い症状に対して治療が可能になることが示唆された。

統合失調症の陰性症状への効果を予測するモデルとして PCP により障害を誘発したマウスを用いた社会性行動試験を実施し、0.3 mg/kg の経口投与より有意に改善効果を示した。さらに統合失調症に併発しうるうつ症状への効果を予測するモデルとしてラット強制水泳試験を実施し、1 mg/kg の経口投与より有意に改善効果を示した。また中枢性副作用の検討を行い、既存薬で見られる運動障害を引き起こさない可能性を示した。これらの行動薬理評価より、**19a** が統合失調症治療薬候補として有用であることを明らかとした。

第 4 章では **19a** の合成法の改良を行った。前臨床試験で用いる化合物の供給を行うために工程数の削減を検討した。合成経路を見直し、1 工程目で 1,3-ジブロモベンゼンのモノリチオ体を使用すること、およびオキシムの還元によるベンジルアミンへの変換を行うことにより、探索時の 11 工程から 4 工程を削減した、7 工程での合成を可能とした。本合成経路により数百グラムスケールの化合物合成を行い、また本合成経路を基に初期プロセス化学検討が行われた。

化合物 **19a** を得る際に用いた他の骨格から新たなファーマコフォアを補う LBDD 手法は、複数の骨格が報告されている GlyT1 阻害剤への適用に有効な戦略であり、またその他のターゲットにおけるリガンド探索にも応用可能である。この方法から得られた構造活性相関の知見は、今後の新規 GlyT1 阻害剤創製に寄与するものと考えられる。LBDD 手法を用いることで効率的に強力な活性を有する阻害剤を探索することができる一方、体内動態に関する情報は得られない。一方、CNS MPO を指標とした手法を用いることにより、中枢薬として良好な体内動態を有する阻害剤を効率的に得ることが出来た。しかしながら CNS MPO は *in vivo* 薬効の指標としては十分ではないという知見が得られた。両手

法とも阻害剤探索に有効であり、今後こうした2つの手法を有効に組み合わせ、多面的に化合物を捉えることにより、より効率的な創薬につなげることが可能になるものと考えられる。

また化合物 **19a** が、統合失調症の様々な動物モデルにおいて改善効果を示したことは、今後の GlyT1 阻害剤の研究開発において意義深いと考えられる。中でもリスペリドンへの上乗せにより効果が増強すること、さらに統合失調症陰性症状に対する効果を評価する PCP 誘発社会性行動モデルにおいて GlyT1 阻害剤が効果を示すことをはじめて明らかとした。本研究で得られた知見が、今後の GlyT1 阻害剤の創薬研究に応用されることを望むとともに、本研究で見出した **19a** や **37k** などの優れた特性を持つ化合物が統合失調症の新しい治療薬となることを期待したい。

謝辞

本論文の作成及び発表にあたり、終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました千葉大学大学院薬学研究院教授 西田篤司先生に深甚なる謝意を表します。また、本論文の御高閲と適切な御教示を賜りました千葉大学大学院薬学研究院教授 高山廣光先生、荒野泰先生、石橋正己先生、根本哲宏先生に深謝致します。

本研究の機会および本論文発表の許可を与えて頂きました大正製薬株式会社社長 上原茂氏、同医薬研究本部本部長 奥山茂博士、同医薬研究本部副本部長 ロドニー W. スティーブンス博士、同化学研究所所長 大嶽憲一博士に厚く御礼申し上げます。

また、終始御指導と温かい激励を賜りました大正製薬株式会社化学資源研究室室長 川元博博士、同化学第1研究室室長 吉住隆博士、同フェロー 茶木茂之博士、同品質保証部 安原明登博士、同研究総務部 関口喜功博士、同医薬事業企画部 高山哲男博士、同化学第2研究室 野沢大博士に謹んで感謝致します。

本研究の遂行にあたりご指導およびご協力を頂きました大正製薬株式会社研究総務部 守谷実博士、同化学第2研究室 太田裕之博士、同プロセス化学研究室 柴田剛氏、同化学第2研究室 阿部公美氏、大久保武利博士（現キャノン株式会社）、同化学資源研究室 小田晃司氏、同開発推進部 青木健博士、同薬理第4研究室 築山直弘氏、同医薬開発部 島崎聡立博士、河北泰紀氏、同医薬事業企画部 唐沢淳一博士、同薬理第4研究室 福本綾香氏、同薬理第1研究室 吉水孝緒博士、神辺太樹博士、飯島通彦博士、同化学資源研究室 樋口彰氏、岡田敦司博士、ならびに化学第1研究室、化学第2研究室内の諸氏に深く感謝致します。

最後に教育の機会を与えてくださった両親、兄姉、また本論文をまとめるあたり常に支えとなってくれた妻 有希に感謝致します。

実験の部

Chemistry

^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a JEOL JNM-ECA600, JEOL JNM-ECA500, Varian UNITYNOVA300, or Varian GEMINI2000/200, and the chemical shifts were expressed in δ (ppm) values with trimethylsilane as an internal reference (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, and br = broad peak). Mass spectra (MS) were recorded on a micromass Platform LC or Shimadzu LCMS-2010EV. High resolution mass spectral data were acquired using a Shimadzu LCMS-IT-TOF equipped with an ESI/APCI dual ion source. The purities of the final compounds were confirmed using LCMS on an Agilent instrument with electrospray ionization. The LCMS conditions were as follows: Agilent 1290 infinity and Agilent 6150; column Waters Acquity CSH C18, 1.7 μm , 2.1 mm $\times$ 50 mm; eluent A, water + 0.1% formic acid; eluent B, acetonitrile + 0.1% formic acid; 20%–99% B for 1.2 min, 99% B for 0.2 min; flow rate 0.8 mL/min; UV detection, λ = 254 nm. Optical rotations were measured on a Rudolph Research Analytical AUTOPOL V.

Chapter 1

***tert*-Butyl (2*S*)-2-(3-methoxybenzoyl)piperidine -1-carboxylate (2c)**

Under a nitrogen gas atmosphere, 3-bromoanisole (35 mL, 277 mmol) was added dropwise to a mixture of magnesium (7.1 g, 292 mmol) and a catalytic amount of iodine in THF (270 mL), and the mixture was stirred at room temperature for 2 h. This reaction solution was added dropwise to a solution of *tert*-butyl (2*S*)-2-[(methoxy(methyl)amino)carbonyl]piperidine-1-carboxylate (**1**, 50.0 g, 184 mmol) in THF (300 mL) under ice cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 2 h. 10% Aqueous solution of NH_4Cl was added, followed by extraction

with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (11% EtOAc in hexane) to yield **2c** (32.7 g, 56%) as a pale yellow oil. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.29 - 1.53 (m, 11H), 1.53 - 1.88 (m, 3H), 1.99 - 2.22 (m, 1H), 3.07 - 3.29 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.88 - 4.05 (m, 1H), 5.41 - 5.69 (m, 1H), 7.05 - 7.15 (m, 1H), 7.30 - 7.57 (m, 3H); MS (ESI): *m/z* 342 [M+Na]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-([1,1'-biphenyl]-4-carbonyl)piperidine-1-carboxylate (2a)**

Compound **2a** (55%) was obtained in a similar manner to that described for **2c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.37 - 1.52 (m, 12H), 1.59 - 1.74 (m, 1H), 1.77 - 1.95 (m, 1H), 2.06 - 2.22 (m, 1H), 3.11 - 3.29 (m, 1H), 3.88 - 4.05 (m, 1H), 5.47 - 5.78 (m, 1H), 7.35 - 7.49 (m, 3H), 7.62 (br d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.64 - 7.71 (m, 2H), 7.94 - 8.05 (m, 2H); MS (ESI): *m/z* 266 [M-Boc+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-([1,1'-biphenyl]-3-carbonyl)piperidine-1-carboxylate (2b)**

Compound **2b** (55%) was obtained in a similar manner to that described for **2c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.33 - 1.51 (m, 11H), 1.57 - 1.73 (m, 2H), 1.76 - 1.89 (m, 1H), 2.04 - 2.22 (m, 1H), 3.08 - 3.25 (m, 1H), 3.87 - 4.05 (m, 1H), 5.49 - 5.78 (m, 1H), 7.34 - 7.41 (m, 1H), 7.42 - 7.56 (m, 3H), 7.61 (br d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.78 (br d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.82 - 7.96 (m, 1H), 8.06 - 8.20 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 266 [M-Boc+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-{(*S*)-hydroxy(3-methoxyphenyl)methyl}piperidine-1-carboxylate (3c)**

Under a nitrogen gas atmosphere, lithium tri-*sec*-butylborohydride (L-Selectride, 1 mol/L solution in THF, 200 ml, 200 mmol) was added dropwise to a solution of **2c** (32.7 g, 103 mmol) in THF (300 mL) cooled with a dryice-acetone bath, and the mixture was stirred for 3 h. The reaction was quenched with 15% aqueous solution of H₂O₂ (200 ml) and extracted with EtOAc. The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered,

and concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in 10% EtOAc in hexane, and the precipitate was filtered to yield **3c** (22.0 g, 67%) as a colorless powder. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.26 - 1.34 (m, 1H), 1.35-1.75 (m, 5H), 1.51 (s, 9H), 2.84 - 3.15 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.95 - 4.46 (m, 2H), 4.83 - 4.88 (m, 1H), 6.81 - 6.87 (m, 1H), 6.90 - 7.00 (m, 2H), 7.22 - 7.31 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 344 [M+Na]⁺

***tert*-Butyl**

(2*S*)-2-[(*S*)-([1,1'-biphenyl]-4-yl)(hydroxy)methyl]piperidine-1-carboxylate (3a**)**

Compound **3a** (96%) was obtained in a similar manner to that described for **3c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.32 - 1.38 (m, 1H), 1.38 - 1.65 (m, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.66 - 1.74 (m, 1H), 2.89 - 3.17 (m, 1H), 3.98 - 4.55 (m, 2H), 4.93 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 7.32 - 7.37 (m, 1H), 7.40 - 7.49 (m, 4H), 7.54 - 7.64 (m, 4H); MS (ESI): *m/z* 390 [M+Na]⁺

***tert*-Butyl**

(2*S*)-2-[(*S*)-([1,1'-biphenyl]-3-yl)(hydroxy)methyl]piperidine-1-carboxylate (3b**)**

Compound **3b** (81%) was obtained in a similar manner to that described for **3c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.30 - 1.37 (m, 1H), 1.37 - 1.65 (m, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.65 - 1.74 (m, 1H), 2.87 - 3.18 (m, 1H), 3.97 - 4.54 (m, 2H), 4.95 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 7.31 - 7.40 (m, 2H), 7.39 - 7.49 (m, 3H), 7.50 - 7.65 (m, 4H); MS (ESI): *m/z* 368 [M+H]⁺

(*S*)-{(2*S*)-1-Allylpiperidin-2-yl}(3-methoxyphenyl)methanol (5c**)**

To a solution of **3c** (28.1 g, 87.4 mmol) in MeOH (400 mL) was added KOH (39.2 g, 699 mmol) in water (350 mL), and the mixture was stirred under reflux condition for 16 h. The organic solvent was distilled off, followed by extraction with CHCl₃. The organic layer was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in 5% EtOAc in hexane, and precipitate was filtered to yield **4c** (19.0 g, 98%) as a colorless powder. ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.20 - 1.32 (m, 2H), 1.34 - 1.44 (m, 2H), 1.54 - 1.61 (m, 1H), 1.73 - 1.79 (m, 1H), 2.56 - 2.63 (m, 1H), 2.63 -

2.68 (m, 1H), 3.06 - 3.11 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 4.37 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 6.79 - 6.85 (m, 1H), 6.88 - 6.94 (m, 2H), 7.23 - 7.28 (m, 1H); MS (ESI): m/z 222 $[M+H]^+$

To a solution of **4c** (17.0 g, 76.8 mmol) in DMF (200 mL) were added K_2CO_3 (15.9 g, 116 mmol) and allyl bromide (7.3 mL, 84.4 mmol), and the mixture was stirred at 50°C for 2 h. The reaction mixture was partitioned between water and EtOAc, and the organic layer was washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using NH-silica gel column chromatography (5% EtOAc in hexane) to yield **5c** (16.8 g, 84%) as a colorless oil. 1H NMR (200 MHz, $CDCl_3$): δ 1.12 - 1.77 (m, 6H), 2.56 - 2.81 (m, 2H), 2.93 - 3.11 (m, 1H), 3.27 - 3.51 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.72 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 5.11 - 5.26 (m, 2H), 5.76 - 5.99 (m, 1H), 6.76 - 6.85 (m, 1H), 6.89 - 6.97 (m, 2H), 7.18 - 7.28 (m, 1H); MS (ESI): m/z 262 $[M+H]^+$

(S)-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)[(2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methanol (5a)

Compound **5a** (33% in 2 steps) was obtained in a similar manner to that described for **5c**. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 1.20 - 1.31 (m, 1H), 1.32 - 1.40 (m, 1H), 1.49 - 1.66 (m, 3H), 1.68 - 1.78 (m, 1H), 2.64 - 2.74 (m, 1H), 2.74 - 2.81 (m, 1H), 3.00 - 3.12 (m, 1H), 3.34 - 3.41 (m, 1H), 3.43 - 3.51 (m, 1H), 4.80 (br d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 5.15 - 5.26 (m, 2H), 5.90 (ddt, $J = 17.0, 10.4, 6.3, 6.3$ Hz, 1H), 7.30 - 7.36 (m, 1H), 7.40 - 7.45 (m, 4H), 7.54 - 7.61 (m, 4H); MS (ESI): m/z 308 $[M+H]^+$

(S)-([1,1'-Biphenyl]-3-yl)[(2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methanol (5b)

Compound **5b** (44% in 2 steps) was obtained in a similar manner to that described for **5c**. 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 1.21 - 1.29 (m, 1H), 1.32 - 1.40 (m, 1H), 1.48 - 1.66 (m, 3H), 1.68 - 1.77 (m, 1H), 2.66 - 2.73 (m, 1H), 2.73 - 2.80 (m, 1H), 3.01 - 3.11 (m, 1H), 3.37 (br dd, $J = 13.6, 6.6$ Hz, 1H), 3.43 - 3.51 (m, 1H), 4.82 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 5.15 - 5.25 (m, 2H), 5.84 - 5.94 (m, 1H), 7.32 - 7.37 (m, 2H), 7.38 - 7.47 (m, 3H), 7.47 - 7.53 (m, 1H), 7.57 - 7.62 (m, 3H); MS (ESI): m/z 308 $[M+H]^+$

(S)-1-((2S)-1-Allylpiperidin-2-yl)-1-(3-methoxyphenyl)methanamine (6c)

To an ice-cooled solution of **5c** (16.6 g, 63.5 mmol) and triethylamine (15 mL, 108 mmol) in CHCl₃ (160 mL) was added methanesulfonyl chloride (6.9 mL, 89.1 mmol), and the mixture was stirred under cooling for 1.5 h and at room temperature for an additional 1 h. The reaction mixture was concentrated *in vacuo* and the residue was dissolved in 8 mol/L NH₃ solution in MeOH (150 mL). After stirring at 40°C for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (CHCl₃ / MeOH / 28% NH₃ in water = 50 : 1 : 0.5) to yield **6c** (12.9 g, 78%) as a yellow oil. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.01 - 1.07 (m, 1H), 1.29 - 1.54 (m, 4H), 1.59 - 1.69 (m, 1H), 2.62 - 2.71 (m, 2H), 3.01 - 3.08 (m, 1H), 3.32 - 3.42 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.17 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.10 - 5.15 (m, 1H), 5.18 - 5.24 (m, 1H), 5.84 - 5.93 (m, 1H), 6.76 - 6.80 (m, 1H), 6.91 - 6.96 (m, 2H), 7.19 - 7.25 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 261 [M+H]⁺

(S)-1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-1-((2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl)methanamine (6a)

Compound **6a** (83% in 2 steps) was obtained in a similar manner to that described for **6c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.04 - 1.16 (m, 1H), 1.28 - 1.57 (m, 4H), 1.60 - 1.71 (m, 1H), 2.66 - 2.73 (m, 2H), 3.07 (ddd, *J* = 13.8, 9.9, 3.4 Hz, 1H), 3.35 - 3.43 (m, 2H), 4.25 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.09 - 5.26 (m, 2H), 5.87 - 5.96 (m, 1H), 7.29 - 7.35 (m, 1H), 7.39 - 7.47 (m, 4H), 7.52 - 7.62 (m, 4H); MS (ESI): *m/z* 307 [M+H]⁺

(S)-1-([1,1'-Biphenyl]-3-yl)-1-((2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl)methanamine (6b)

Compound **6b** (74% in 2 steps) was obtained in a similar manner to that described for **6c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.02 - 1.12 (m, 1H), 1.29 - 1.46 (m, 3H), 1.46 - 1.56 (m, 1H), 1.60 - 1.74 (m, 1H), 2.66 - 2.75 (m, 2H), 3.02 - 3.10 (m, 1H), 3.33 - 3.45 (m,

2H), 4.27 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.09 - 5.27 (m, 2H), 5.86 - 5.95 (m, 1H), 7.28 - 7.52 (m, 6H), 7.54 - 7.66 (m, 3H); MS (ESI): m/z 307 $[M+H]^+$

***N*-[(*S*)-{(2*S*)-1-Allylpiperidin-2-yl}(3-methoxyphenyl)methyl]-2-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (7c)**

To a solution of 2-chloro-3-(trifluoromethyl)benzoic acid (2.58 g, 11.5 mmol) in DMF (15 mL) were added 1-hydroxybenzotriazole monohydrate (2.18 g, 16.1 mmol) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (2.54 g, 13.2 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 30 min. A solution of **6c** (3.00 g, 11.5 mmol) was added to the reaction mixture, and the mixture was stirred at room temperature for 3 h. The reaction was quenched with saturated NaHCO_3 aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (2% MeOH in CHCl_3) to yield **7c** (3.42 g, 64%) as a colorless powder. ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ 1.25 - 1.88 (m, 6H), 2.45 - 2.64 (m, 1H), 2.75 - 3.03 (m, 2H), 3.10 - 3.38 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.88 - 4.98 (m, 1H), 5.02 - 5.17 (m, 2H), 5.61 - 5.83 (m, 1H), 6.75 - 6.84 (m, 1H), 6.90 - 7.01 (m, 2H), 7.19 - 7.32 (m, 1H), 7.36 - 7.48 (m, 1H), 7.64 - 7.81 (m, 3H); MS (ESI): m/z 467 $[M+H]^+$

***N*-{(*S*)-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)[(2*S*)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methyl}-2-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (7a)**

Compound **7a** (67%) was obtained in a similar manner to that described for **7c**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.35 - 1.62 (m, 5H), 1.77 - 1.90 (m, 1H), 2.54 - 2.62 (m, 1H), 2.85 - 2.91 (m, 1H), 2.94 - 3.01 (m, 1H), 3.21 - 3.27 (m, 1H), 3.33 (br dd, $J = 13.8$, 6.4 Hz, 1H), 4.97 - 5.04 (m, 1H), 5.08 - 5.18 (m, 2H), 5.70 - 5.80 (m, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.31 - 7.36 (m, 1H), 7.41 - 7.49 (m, 5H), 7.56 - 7.61 (m, 4H), 7.71 - 7.79 (m, 2H); MS (ESI): m/z 513 $[M+H]^+$

***N*-{(*S*)-([1,1'-Biphenyl]-3-yl)[(2*S*)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methyl}-2-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (**7b**)**

Compound **7b** (84%) was obtained in a similar manner to that described for **7c**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.08 - 1.14 (m, 1H), 1.27 - 1.45 (m, 4H), 1.66 - 1.72 (m, 1H), 1.99 (s, 1H), 2.45 - 2.49 (m, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.90 - 2.95 (m, 1H), 2.96 - 3.01 (m, 1H), 3.34 - 3.41 (m, 1H), 3.46 (br dd, *J* = 14.2, 6.4 Hz, 1H), 5.11 - 5.15 (m, 1H), 5.21 - 5.26 (m, 1H), 5.43 - 5.48 (m, 1H), 5.88 (ddt, *J* = 17.0, 10.4, 6.2, 6.2 Hz, 1H), 7.35 - 7.40 (m, 1H), 7.42 - 7.51 (m, 4H), 7.53 - 7.61 (m, 1H), 7.62 - 7.69 (m, 4H), 7.76 - 7.79 (m, 1H), 7.93 (dd, *J* = 7.1, 2.5 Hz, 1H), 9.04 - 9.10 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 513 [M+H]⁺

***N*-{(*S*)-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)[(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-2-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (**8a**)**

To a solution of **7a** (328 mg, 0.64 mmol) in CHCl₃ (5 mL) were added 1,3-dimethylbarbituric acid (299 mg, 1.9 mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (7.4 mg, 0.0064 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction mixture was partitioned between CHCl₃ and saturated NaHCO₃ aqueous solution, and the organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (2% MeOH in CHCl₃) to yield the free form of **8a** (212 mg). 4 mol/L HCl in EtOAc solution (0.2 mL) was added to a solution of the free form of **8a** in EtOAc (1 mL), and the precipitate was filtered to yield **8a** (202 mg, 62%) as a colorless powder. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 1.35 - 1.51 (m, 3H), 1.56 - 1.67 (m, 1H), 1.68 - 1.78 (m, 2H), 2.79 - 2.92 (m, 1H), 3.27 - 3.41 (m, 1H), 3.50 - 3.60 (m, 1H), 5.20 - 5.26 (m, 1H), 7.35 - 7.41 (m, 1H), 7.45 - 7.57 (m, 4H), 7.65 - 7.76 (m, 5H), 7.93 - 8.05 (m, 2H), 8.73 - 8.85 (m, 1H), 8.99 - 9.16 (m, 1H), 9.63 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 165.3, 139.8, 139.5, 138.7, 137.0, 133.4, 129.0, 128.7, 128.4, 128.0, 127.7, 127.6, 127.2 (q, *J* = 31 Hz), 126.9, 126.7, 122.7 (q, *J* = 273

Hz), 58.2, 55.6, 44.8, 25.8, 21.6, 21.4; HR-MS: Calcd for $C_{26}H_{24}ClF_3N_2O$ $[M+H]^+$ 473.1602. Found 473.1590; $[\alpha]_D = +72$ ($c = 0.50$, MeOH)

***N*-{[(*S*)-([1,1'-Biphenyl]-3-yl)][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-2-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (8b)**

Compound **8b** (38%) was obtained from **7b** in a similar manner to that described for **8a**. 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.36 - 1.45 (m, 1H), 1.45 - 1.52 (m, 2H), 1.57 - 1.67 (m, 1H), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 2.80 - 2.90 (m, 1H), 3.31 - 3.38 (m, 1H), 3.56 - 3.65 (m, 1H), 5.25 - 5.32 (m, 1H), 7.36 - 7.46 (m, 2H), 7.47 - 7.54 (m, 3H), 7.63 - 7.69 (m, 2H), 7.69 - 7.73 (m, 2H), 7.79 (s, 1H), 7.92 - 7.97 (m, 1H), 8.01 - 8.07 (m, 1H), 8.81 - 8.99 (m, 1H), 9.05 - 9.19 (m, 1H), 9.69 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ : 165.4, 140.5, 139.7, 138.7, 138.5, 133.4, 129.3, 128.9, 128.6, 127.7, 127.7, 127.6 (q, $J = 82$ Hz), 127.1, 127.0, 126.8, 126.4, 126.0, 122.7 (q, $J = 274$ Hz), 58.2, 55.8, 44.8, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for $C_{26}H_{24}ClF_3N_2O$ $[M+H]^+$ 473.1602. Found 473.1596; $[\alpha]_D = +76$ ($c = 0.52$, MeOH)

3-{[(*S*)-{2-Chloro-3-(trifluoromethyl)benzoyl]amino}[(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-phenyl trifluoromethanesulfonate (10)

To an ice cooled solution of **7c** (3.29 g, 7.05 mmol) in $CHCl_3$ (30 mL) was added boron tribromide (2.0 mL, 21.2 mmol), and the mixture was stirred under ice cooling for 1.5 h. The reaction was quenched with saturated $NaHCO_3$ aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (0% - 12% MeOH in $CHCl_3$) to yield **9** (3.15 g, 98%) as a colorless amorphous. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1.28 - 1.63 (m, 5H), 1.70 - 1.86 (m, 1H), 2.51 - 2.65 (m, 1H), 2.74 - 3.03 (m, 2H), 3.16 - 3.37 (m, 2H), 4.90 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 5.04 - 5.20 (m, 2H), 5.62 - 5.82 (m, 1H), 6.59 - 6.67 (m, 1H), 6.78 - 6.93 (m, 2H), 7.10 - 7.20 (m, 1H), 7.37 - 7.45 (m, 1H), 7.65 - 7.93 (m, 3H); MS (ESI): m/z 453 $[M+H]^+$

To an ice cooled solution of **9** (2.97 g, 6.56 mmol) and pyridine (2.6 mL, 32.2 mmol) in CHCl₃ (20 mL) was added trifluoromethanesulfonic anhydride (1.3 mL, 7.74 mmol), and the mixture was stirred under ice cooling for 30 min and at room temperature for an additional 1.5 h. The reaction was quenched with saturated NaHCO₃ aqueous solution and extracted with CHCl₃. The organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (0 - 3% MeOH in CHCl₃) to yield **10** (3.39 g, 88%) as a brown oil. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.22 - 1.91 (m, 6H), 2.49 - 2.70 (m, 1H), 2.71 - 3.03 (m, 2H), 3.12 - 3.38 (m, 2H), 4.92 - 5.03 (m, 1H), 5.05 - 5.20 (m, 2H), 5.61 - 5.84 (m, 1H), 7.12 - 7.34 (m, 2H), 7.37 - 7.50 (m, 3H), 7.65 - 7.85 (m, 3H); MS (ESI): *m/z* 585 [M+H]⁺

2-Chloro-*N*-{(S)-(2S)-piperidin-2-yl[3-(pyrimidin-5-yl)phenyl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (11a)

To a solution of **10** (657 mg, 1.12 mmol) in a mixed solvent of DMF and EtOH (2 : 1, 10 mL) were added pyrimidine-5-boronic acid (212 mg, 1.71 mmol), potassium carbonate (236 mg, 1.71 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (40 mg, 0.035 mmol), and the mixture was stirred at 90°C for 4 h. The reaction mixture was partitioned between saturated NaHCO₃ aqueous solution and EtOAc, and the organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using NH-silica gel column chromatography (20% EtOAc in hexane) to yield a colorless amorphous solid (237 mg). 1,3-Dimethylbarbituric acid (215 mg, 1.38 mmol) and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (5.3 mg, 0.0046 mmol) were added to a solution of the amorphous solid in CHCl₃ (4 mL), and the mixture was stirred at room temperature for 3 h. The reaction mixture was partitioned between saturated NaHCO₃ aqueous solution and CHCl₃, and the organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column

chromatography (5% MeOH in CHCl₃) and NH-silica gel column chromatography (100% EtOAc) to yield the free form of **11a** (70 mg). 2 mol/L HCl in isopropanol solution (1.0 mL) was added to an ice-cooled solution of the free form of **11a** in EtOH (1.0 mL). After concentration *in vacuo*, the residue was solidified with EtOAc to yield **11a** (59 mg, 10% in 2 steps from **10**) as a colorless powder. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.37 - 1.54 (m, 3H), 1.54 - 1.66 (m, 1H), 1.66 - 1.78 (m, 2H), 2.81 - 2.91 (m, 1H), 3.31 - 3.39 (m, 1H), 3.56 - 3.64 (m, 1H), 5.26 - 5.33 (m, 1H), 7.51 - 7.57 (m, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.81 - 7.86 (m, 1H), 7.92 - 7.97 (m, 2H), 7.98 - 8.02 (m, 1H), 8.73 - 8.80 (m, 1H), 8.88 - 8.97 (m, 1H), 9.20 (s, 2H), 9.23 (s, 1H), 9.55 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165.4, 157.5, 154.8, 138.9, 138.6, 134.1, 133.4, 132.8, 129.6, 128.6, 128.5, 128.0, 127.7, 127.2 (q, *J* = 30 Hz), 126.6, 126.2, 122.7 (q, *J* = 274 Hz), 58.2, 55.6, 44.8, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₂ClF₃N₄O [M+H]⁺ 475.1507. Found 475.1493; [α]_D = +72 (c = 0.48, MeOH)

2-Chloro-*N*-{(S)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (11b**)**

Compound **11b** (44% in 2 steps) was obtained from **10** in a similar manner to that described for **11a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.34 - 1.49 (m, 3H), 1.56 - 1.65 (m, 1H), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 2.80 - 2.90 (m, 1H), 3.33 - 3.38 (m, 1H), 3.48 - 3.55 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.15 - 5.19 (m, 1H), 7.24 - 7.27 (m, 1H), 7.39 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.52 - 7.55 (m, 1H), 7.63 - 7.69 (m, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.93 - 7.97 (m, 1H), 7.97 - 8.02 (m, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.68 - 8.81 (m, 1H), 8.90 - 9.02 (m, 1H), 9.51 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165.3, 138.7, 138.4, 136.0, 133.5, 132.9, 129.2, 128.6, 128.0, 127.9, 127.7, 127.2 (q, *J* = 31 Hz), 125.2, 124.6, 124.4, 122.7 (q, *J* = 274 Hz), 121.6, 58.2, 55.8, 44.8, 38.7, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₄ClF₃N₄O [M+H]⁺ 477.1664. Found 477.1663; [α]_D = +74 (c = 1.05, MeOH)

2-Chloro-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (11c)

Compound **11c** (21% in 2 steps) was obtained from **10** in a similar manner to that described for **11a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.37 - 1.51 (m, 3H), 1.54 - 1.64 (m, 1H), 1.69 - 1.77 (m, 2H), 2.82 - 2.90 (m, 1H), 3.33 - 3.39 (m, 1H), 3.51 - 3.60 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.22 - 5.27 (m, 1H), 6.44 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.47 - 7.58 (m, 4H), 7.61 (s, 1H), 7.68 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.63 - 8.77 (m, 1H), 8.83 - 8.99 (m, 1H), 9.54 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165.3, 142.3, 138.6, 138.5, 137.9, 133.4, 130.5, 129.2, 128.6, 128.1, 127.9, 127.9, 127.7, 127.6, 127.2 (q, *J* = 31 Hz), 122.7 (q, *J* = 274 Hz), 105.9, 58.1, 55.6, 44.8, 37.6, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₄ClF₃N₄O [M+H]⁺ 477.1664. Found 477.1662; [α]_D = +66 (c = 0.50, MeOH)

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[4-(benzyloxy)benzoyl]piperidine-1-carboxylate (12a)**

Compound **12a** (53%) was obtained in a similar manner to that described for **2c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.31 - 1.72 (m, 13H), 1.74 - 1.90 (m, 1H), 1.98 - 2.18 (m, 1H), 3.10 - 3.29 (m, 1H), 3.84 - 4.02 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 5.38 - 5.69 (m, 1H), 6.96 - 7.05 (m, 2H), 7.31 - 7.46 (m, 5H), 7.86 - 7.96 (m, 2H); MS (ESI): *m/z* 418 [M+Na]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[3-(benzyloxy)benzoyl]piperidine-1-carboxylate (12b)**

Compound **12b** (60%) was obtained in a similar manner to that described for **2c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.30 - 1.50 (m, 11H), 1.52 - 1.73 (m, 2H), 1.74 - 1.85 (m, 1H), 1.98 - 2.16 (m, 1H), 3.07 - 3.28 (m, 1H), 3.86 - 4.03 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.39 - 5.70 (m, 1H), 7.13 - 7.20 (m, 1H), 7.30 - 7.41 (m, 4H), 7.41 - 7.45 (m, 2H), 7.46 - 7.58 (m, 2H); MS (ESI): *m/z* 418 [M+Na]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-(4-{[(trifluoromethyl)sulfonyl]oxy}benzoyl)piperidine-1-carboxylate (13a)**

To a solution of **12a** (9.90 g, 25 mmol) in MeOH (120 mL) was added 5% Pd/C (1.0 g), and the mixture was stirred at room temperature overnight under a hydrogen gas atmosphere. After filtration, the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was solidified with 33% EtOAc in hexane to yield a colorless powder (4.94 g), which was converted to **13a** (6.82 g, 62 % in 2 steps from **12a**, pale yellow powder) in a similar manner to that described for **10**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.30 - 2.16 (m, 15H), 2.96 - 3.26 (m, 1H), 3.83 - 4.05 (m, 1H), 5.35 - 5.65 (m, 1H), 7.32 - 7.43 (m, 2H), 7.99 - 8.11 (m, 2H); MS (ESI): *m/z* 438 [M+H]⁺, *m/z* 460 [M+Na]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-{3-[(trifluoromethanesulfonyl)oxy]benzoyl}piperidine-1-carboxylate (**13b**)**

Compound **13b** (66% in 2 steps) was obtained from **12b** in a similar manner to that described for **13a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.29 - 2.16 (m, 15H), 2.96 - 3.25 (m, 1H), 3.80 - 4.00 (m, 1H), 5.29 - 5.61 (m, 1H), 7.40 - 7.62 (m, 2H), 7.75 - 8.02 (m, 2H); MS (ESI): *m/z* 438 [M+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(*S*)-hydroxy(4-{[(trifluoromethyl)sulfonyl]oxy}phenyl)methyl]-piperidine-1-carboxylate (**14a**)**

Compound **14a** (6.3g, 94%) was obtained from **13a** (6.70 g) in a similar manner to that described for **3c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.21 - 1.32 (m, 1H), 1.37 - 1.76 (m, 14H), 2.85 - 3.17 (m, 1H), 3.96 - 4.50 (m, 2H), 4.87 - 5.00 (m, 1H), 7.26 - 7.37 (m, 2H), 7.44 - 7.55 (m, 2H); MS (ESI): *m/z* 440 [M+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(*S*)-hydroxy{3-[(trifluoromethanesulfonyl)oxy]phenyl}methyl]-piperidine-1-carboxylate (**14b**)**

Compound **14b** (96%) was obtained from **13b** in a similar manner to that described for **3c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.22 - 1.29 (m, 1H), 1.38 - 1.73 (m, 5H), 1.51 (s, 9H), 2.93 - 3.11 (m, 1H), 3.99 - 4.36 (m, 2H), 4.92 (br d, *J* = 10.3 Hz, 1H), 7.20 - 7.24

(m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.41 - 7.48 (m, 2H); MS (ESI): m/z 462 $[M+Na]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2- $\{$ (*S*)-hydroxy[4-(pyridin-3-yl)phenyl]methyl}piperidine-1-carboxylate (**15a**)**

To a solution of **14a** (6.00 g, 13.7 mmol) in a mixed solvent of DMF and EtOH (2 : 1, 135 mL) were added 3-pyridineboronic acid (2.50 g, 20.3 mmol), potassium carbonate (2.84 g, 20.5 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (0.47 g, 0.41 mmol), and the mixture was stirred at 90°C for 1.5 h. The reaction mixture was partitioned between water and EtOAc, and the organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using NH-silica gel column chromatography (33–50% EtOAc in hexane) to yield **15a** (4.40 g, 87%) as a pale yellow powder. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.31 - 1.38 (m, 1H), 1.40 - 1.55 (m, 2H), 1.52 (s, 9H), 1.56 - 1.84 (m, 3H), 2.97 - 3.16 (m, 1H), 3.99 - 4.50 (m, 2H), 4.89 - 5.01 (m, 1H), 7.35 - 7.39 (m, 1H), 7.45 - 7.62 (m, 4H), 7.85 - 7.90 (m, 1H), 8.56 - 8.61 (m, 1H), 8.82 - 8.86 (m, 1H); MS (ESI): m/z 369 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2- $\{$ (*S*)-hydroxy[3-(pyridin-3-yl)phenyl]methyl}piperidine-1-carboxylate (**15b**)**

Compound **15b** (quant.) was obtained from **14b** in a similar manner to that described for **15a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.32 - 1.37 (m, 1H), 1.39 - 1.81 (m, 5H), 1.51 (s, 9H), 2.93 - 3.18 (m, 1H), 3.98 - 4.48 (m, 2H), 4.97 (br d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 7.6, 4.7 Hz, 1H), 7.39 - 7.54 (m, 3H), 7.59 (br s, 1H), 7.88 - 7.91 (m, 1H), 8.60 (dd, J = 4.7, 1.4 Hz, 1H), 8.85 (d, J = 2.1 Hz, 1H); MS (ESI): m/z 369 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2- $\{$ (*S*)-hydroxy[4-(pyrimidin-5-yl)phenyl]methyl}piperidine-1-carboxylate (**15c**)**

Compound **15c** (97%) was obtained from **14a** in a similar manner to that described for **15a**. ¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 1.20 - 1.39 (m, 3H), 1.40 (s, 9H), 1.43 - 1.49

(m, 1H), 1.59 - 1.82 (m, 2H), 2.85 - 3.02 (m, 1H), 3.86 - 3.96 (m, 1H), 4.07 - 4.23 (m, 1H), 4.89 (br dd, $J = 8.9, 4.1$ Hz, 1H), 5.33 (br s, 1H), 7.51 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 9.15 (s, 2H), 9.18 (s, 1H); MS (ESI): m/z 370 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(*S*)-hydroxy[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]methyl]piperidine-1-carboxylate (**15d**)**

Compound **15d** (quant.) was obtained from **14b** in a similar manner to that described for **15a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.31 - 1.75 (m, 6H), 1.52 (s, 9H), 2.85 - 3.19 (m, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.97 - 4.50 (m, 2H), 4.90 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 7.21 (br d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.32 - 7.36 (m, 1H), 7.39 - 7.43 (m, 1H), 7.48 (br s, 1H), 7.63 (br s, 1H), 7.76 (s, 1H); MS (ESI): m/z 372 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(*S*)-[3-(1-ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl](hydroxy)methyl]piperidine-1-carboxylate (**15e**)**

Compound **15e** (80%) was obtained from **14b** in a similar manner to that described for **15a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.29 - 1.72 (m, 6H), 1.52 (s, 9H), 1.54 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 2.86 - 3.17 (m, 1H), 3.97 - 4.47 (m, 2H), 4.21 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.90 (dd, $J = 10.5, 5.0$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.32 - 7.36 (m, 1H), 7.39 - 7.44 (m, 1H), 7.50 (br s, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.78 (s, 1H); MS (ESI): m/z 386 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(*S*)-hydroxy{3-[1-(propan-2-yl)-1*H*-pyrazol-4-yl]phenyl}methyl]piperidine-1-carboxylate (**15f**)**

Compound **15f** (quant.) was obtained from **14b** in a similar manner to that described for **15a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.27 - 1.77 (m, 15H), 1.53 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.56 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 2.86 - 3.15 (m, 1H), 3.99 - 4.47 (m, 2H), 4.48 - 4.57 (m, 1H), 4.91 (dd, $J = 10.3, 4.4$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.32 - 7.36 (m, 1H), 7.40 - 7.45 (m, 1H), 7.51 (br s, 1H), 7.71 (br s, 1H), 7.78 (s, 1H); MS (ESI): m/z 400 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(*S*)-hydroxy[3-(1-propyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]methyl]piperidine-1-carboxylate (**15g**)**

Compound **15g** (78%) was obtained from **14b** in a similar manner to that described for **15a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 0.91 - 0.98 (m, 3H), 1.29 - 1.73 (m, 6H), 1.52 (s, 9H), 1.87 - 1.96 (m, 2H), 2.90 - 3.17 (m, 1H), 3.98 - 4.52 (m, 4H), 4.90 (br dd, *J* = 10.1, 4.1 Hz, 1H), 7.20 (br d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32 - 7.36 (m, 1H), 7.39 - 7.44 (m, 1H), 7.50 (br s, 1H), 7.66 (br s, 1H), 7.78 (s, 1H); MS (ESI): *m/z* 400 [M+H]⁺

(*S*)-1-[(2*S*)-1-(Prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]-1-[4-(pyridin-3-yl)phenyl]methanamine (16a**)**

Compound **16a** (33% in 4 steps) was obtained from **15a** in a similar manner to that described for the synthesis of **6c** from **3c**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.04 - 1.12 (m, 1H), 1.23 - 1.56 (m, 4H), 1.62 - 1.72 (m, 1H), 2.67 - 2.74 (m, 2H), 3.03 - 3.11 (m, 1H), 3.36 - 3.42 (m, 2H), 4.28 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 5.12 - 5.16 (m, 1H), 5.20 - 5.25 (m, 1H), 5.87 - 5.95 (m, 1H), 7.33 - 7.37 (m, 1H), 7.47 - 7.50 (m, 2H), 7.52 - 7.56 (m, 2H), 7.85 - 7.89 (m, 1H), 8.57 - 8.59 (m, 1H), 8.85 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H); MS (ESI): *m/z* 308 [M+H]⁺

(*S*)-1-[(2*S*)-1-(Prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]-1-[3-(pyridin-3-yl)phenyl]methanamine (16b**)**

Compound **16b** (43% in 4 steps) was obtained from **15b** in a similar manner to that described for **16a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.03 - 1.11 (m, 1H), 1.31 - 1.57 (m, 4H), 1.63 - 1.71 (m, 1H), 2.66 - 2.76 (m, 2H), 3.03 - 3.11 (m, 1H), 3.35 - 3.44 (m, 2H), 4.29 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 5.12 - 5.17 (m, 1H), 5.20 - 5.25 (m, 1H), 5.86 - 5.95 (m, 1H), 7.34 - 7.38 (m, 1H), 7.39 - 7.52 (m, 3H), 7.58 - 7.61 (m, 1H), 7.87 - 7.91 (m, 1H), 8.57 - 8.60 (m, 1H), 8.85 - 8.86 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 308 [M+H]⁺

(S)-1-[(2S)-1-(Prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]-1-[4-(pyrimidin-5-yl)phenyl]methanamine (16c)

Compound **16c** (99% in 4 steps) was obtained from **15c** in a similar manner to that described for **16a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.31 - 4.44 (m, 12H), 5.46 (d, *J* = 11.0 Hz, 2H), 6.05 - 6.19 (m, 1H), 7.49 - 7.72 (m, 4H), 8.89 - 8.92 (m, 2H), 9.20 (s, 1H); MS (ESI): *m/z* 309 [M+H]⁺

(S)-1-[3-(1-Methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]-1-[(2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methanamine (16d)

Compound **16d** (17% in 4 steps) was obtained from **15d** in a similar manner to that described for **16a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.01 - 1.09 (m, 1H), 1.29 - 1.55 (m, 4H), 1.60 - 1.89 (m, 1H), 2.65 - 2.72 (m, 2H), 3.02 - 3.08 (m, 1H), 3.33 - 3.43 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 4.22 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 5.13 (dd, *J* = 10.1, 1.8 Hz, 1H), 5.19 - 5.24 (m, 1H), 5.86 - 5.94 (m, 1H), 7.18 - 7.21 (m, 1H), 7.30 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.34 - 7.37 (m, 1H), 7.46 - 7.50 (m, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.77 (s, 1H); MS (ESI): *m/z* 311 [M+H]⁺

(S)-1-[3-(1-Ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]-1-[(2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methanamine (16e)

Compound **16e** (48% in 4 steps) was obtained from **15e** in a similar manner to that described for **16a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.02 - 1.10 (m, 1H), 1.30 - 1.57 (m, 4H), 1.53 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.58 - 1.84 (m, 1H), 2.67 - 2.73 (m, 2H), 3.03 - 3.09 (m, 1H), 3.34 - 3.44 (m, 2H), 4.18 - 4.24 (m, 3H), 5.11 - 5.16 (m, 1H), 5.18 - 5.26 (m, 1H), 5.85 - 5.95 (m, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.30 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.35 - 7.38 (m, 1H), 7.50 (br s., 1H), 7.68 (s, 1H), 7.78 (s, 1H); MS (ESI): *m/z* 325 [M+H]⁺

(S)-1-{3-[1-(Propan-2-yl)-1*H*-pyrazol-4-yl]phenyl}-1-[(2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methanamine (16f)

Compound **16f** (39% in 4 steps) was obtained from **15f** in a similar manner to that

described for **16a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.02 - 1.09 (m, 1H), 1.30 - 1.59 (m, 4H), 1.55 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H), 1.61 - 1.85 (m, 1H), 2.67 - 2.73 (m, 2H), 3.03 - 3.09 (m, 1H), 3.34 - 3.43 (m, 2H), 4.23 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 4.50 - 4.56 (m, 1H), 5.11 - 5.15 (m, 1H), 5.19 - 5.25 (m, 1H), 5.86 - 5.95 (m, 1H), 7.16 - 7.19 (m, 1H), 7.29 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.36 - 7.39 (m, 1H), 7.50 - 7.52 (m, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.79 (s, 1H); MS (ESI): m/z 339 $[\text{M}+\text{H}]^+$

(S)-1-[(2S)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]-1-[3-(1-propyl-1H-pyrazol-4-yl)-phenyl]methanamine (16g)

Compound **16g** (33% in 4 steps) was obtained from **15g** in a similar manner to that described for **16a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 0.95 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.03 - 1.11 (m, 1H), 1.29 - 1.73 (m, 5H), 1.89 - 1.96 (m, 2H), 2.67 - 2.73 (m, 2H), 3.02 - 3.10 (m, 1H), 3.33 - 3.44 (m, 2H), 4.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.22 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.10 - 5.16 (m, 1H), 5.19 - 5.25 (m, 1H), 5.85 - 5.96 (m, 1H), 7.17 - 7.20 (m, 1H), 7.30 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.35 - 7.39 (m, 1H), 7.49 - 7.52 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.79 (s, 1H); MS (ESI): m/z 339 $[\text{M}+\text{H}]^+$

2-Chloro-N-[(S)-(2S)-piperidin-2-yl[4-(pyridin-3-yl)phenyl]methyl]-3-(trifluoromethyl)benzamide dihydrochloride (17a)

Compound **17a** (42% in 2 steps) was obtained from **16a** in a similar manner to that described for the synthesis of **7c** and **8a**. ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1.35 - 1.52 (m, 3H), 1.59 - 1.68 (m, 1H), 1.70 - 1.77 (m, 2H), 2.80 - 2.89 (m, 1H), 3.34 - 3.40 (m, 1H), 3.54 - 3.63 (m, 1H), 5.23 - 5.28 (m, 1H), 7.63 - 7.65 (m, 2H), 7.67 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.90 - 7.97 (m, 4H), 8.04 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 8.64 - 8.69 (m, 1H), 8.81 (dd, $J = 5.5, 1.4$ Hz, 1H), 8.85 - 8.90 (m, 1H), 9.16 - 9.23 (m, 2H), 9.76 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 165.3, 143.7, 143.0, 139.6, 139.1, 138.6, 136.9, 134.7, 133.5, 128.7, 128.6, 128.0, 127.7, 127.5, 127.2 (q, $J = 32$ Hz), 125.9, 122.8 (q, $J = 274$ Hz), 58.0, 55.6, 44.7, 25.8, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}$

$[M+H]^+$ 474.1555. Found 474.1547; $[\alpha]_D = +71$ ($c = 0.52$, MeOH)

2-Chloro-*N*-{(S)-(2S)-piperidin-2-yl}[3-(pyridin-3-yl)phenyl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (17b)

Compound **17b** (65% in 2 steps) was obtained from **16b** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.36 - 1.46 (m, 1H), 1.46 - 1.52 (m, 2H), 1.58 - 1.67 (m, 1H), 1.69 - 1.77 (m, 2H), 2.80 - 2.90 (m, 1H), 3.32 - 3.39 (m, 1H), 3.59 - 3.70 (m, 1H), 5.29 - 5.33 (m, 1H), 7.58 - 7.64 (m, 2H), 7.66 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.84 - 7.86 (m, 1H), 7.93 - 8.00 (m, 3H), 8.05 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 8.65 - 8.71 (m, 1H), 8.83 (dd, $J = 5.5, 1.4$ Hz, 1H), 8.92 - 8.98 (m, 1H), 9.10 - 9.18 (m, 1H), 9.21 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 9.73 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 165.4, 144.1, 143.3, 139.3, 139.1, 138.6, 137.0, 135.4, 133.5, 129.7, 128.6, 128.6, 128.0, 127.7, 127.2 (q, $J = 30$ Hz), 126.9, 126.6, 125.8, 122.7 (q, $J = 273$ Hz), 58.1, 55.7, 44.8, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}$ $[M+H]^+$ 474.1555. Found 474.1552; $[\alpha]_D = +76$ ($c = 0.60$, MeOH)

2-Chloro-*N*-{(S)-(2S)-piperidin-2-yl}[4-(pyrimidin-5-yl)phenyl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (17c)

Compound **17c** (24% in 2 steps) was obtained from **16c** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.34 - 1.51 (m, 3H), 1.56 - 1.69 (m, 1H), 1.69 - 1.79 (m, 2H), 2.81 - 2.93 (m, 1H), 3.32 - 3.43 (m, 1H), 3.50 - 3.63 (m, 1H), 5.21 - 5.33 (m, 1H), 7.63 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.68 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 8.75 - 8.82 (m, 1H), 9.03 - 9.11 (m, 1H), 9.17 - 9.24 (m, 3H), 9.67 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 165.3, 157.4, 154.7, 138.7, 138.6, 133.5, 133.4, 132.6, 128.7, 128.6, 128.0, 127.7, 127.2, 127.2 (q, $J = 30$ Hz), 122.7 (q, $J = 274$ Hz), 58.1, 55.5, 44.8, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}$ $[M+H]^+$ 475.1507. Found 475.1498; $[\alpha]_D = +71$ ($c = 0.53$, MeOH)

2,4-Dichloro-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]-methyl}benzamide hydrochloride (18a)

Compound **18a** (62% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.33 - 1.45 (m, 3H), 1.55 - 1.64 (m, 1H), 1.67 - 1.76 (m, 2H), 2.79 - 2.88 (m, 1H), 3.31 - 3.37 (m, 1H), 3.48 - 3.55 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 5.12 - 5.16 (m, 1H), 7.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.38 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 8.3, 2.3 Hz, 1H), 7.65 (br s, 1H), 7.67 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.74 - 7.77 (m, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.63 - 8.76 (m, 1H), 8.94 - 9.08 (m, 1H), 9.42 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 165.3, 138.7, 136.0, 134.9, 134.6, 132.9, 131.5, 131.0, 129.2, 129.1, 127.9, 127.1, 125.2, 124.6, 124.3, 121.6, 58.2, 55.7, 44.7, 38.7, 25.8, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₃H₂₄Cl₂N₄O [M+H]⁺ 443.1400. Found 443.1397; [α]_D = +66 (c = 0.55, MeOH)

2-Fluoro-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (18b)

Compound **18b** (55% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.32 - 1.48 (m, 3H), 1.57 - 1.67 (m, 1H), 1.68 - 1.76 (m, 2H), 2.77 - 2.86 (m, 1H), 3.30 - 3.37 (m, 1H), 3.55 - 3.63 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.15 - 5.21 (m, 1H), 7.25 - 7.30 (m, 1H), 7.40 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.50 - 7.56 (m, 2H), 7.66 - 7.70 (m, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.91 - 7.96 (m, 1H), 8.09 - 8.14 (m, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.67 - 8.81 (m, 1H), 8.98 - 9.17 (m, 1H), 9.55 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 162.5, 156.3 (d, *J* = 258 Hz), 139.0, 136.0, 135.2, 133.0, 129.3, 128.0, 125.4 (q, *J* = 13 Hz), 125.1, 124.9, 124.8, 124.7, 124.3, 122.5 (q, *J* = 272 Hz), 121.6, 116.9 - 117.4 (m), 58.2, 55.8, 44.6, 38.7, 25.9, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₄F₄N₄O [M+H]⁺ 461.1959. Found 461.1948; [α]_D = +56 (c = 0.51, MeOH)

***N*-{(*S*)-[3-(1-Methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-3-(triflu-**

oromethyl)benzamide hydrochloride (18c)

Compound **18c** (58% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.34 - 1.48 (m, 3H), 1.57 - 1.68 (m, 1H), 1.68 - 1.79 (m, 2H), 2.80 - 2.89 (m, 1H), 3.32 - 3.38 (m, 1H), 3.67 - 3.76 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 5.19 - 5.26 (m, 1H), 7.28 - 7.32 (m, 1H), 7.36 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.48 - 7.53 (m, 1H), 7.71 - 7.77 (m, 2H), 7.87 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.38 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.63 - 8.80 (m, 1H), 9.07 - 9.21 (m, 1H), 9.71 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 165.0, 139.5, 136.1, 134.8, 133.0, 132.0, 129.5, 129.3, 129.0 (q, *J* = 32 Hz), 128.1, 127.9, 125.2, 124.5, 124.4, 124.4, 124.0 (q, *J* = 273 Hz), 121.5, 58.0, 56.0, 44.6, 38.7, 26.0, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₅F₃N₄O [M+H]⁺ 443.2053. Found 443.2053; [α]_D = +22 (c = 0.66, MeOH)

2-Methyl-N-{(S)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]-methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (18d)

Compound **18d** (59% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.34 - 1.44 (m, 3H), 1.55 - 1.65 (m, 1H), 1.67 - 1.77 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.78 - 2.90 (m, 1H), 3.33 - 3.40 (m, 1H), 3.48 - 3.55 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.13 - 5.18 (m, 1H), 7.24 - 7.27 (m, 1H), 7.40 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.48 - 7.55 (m, 2H), 7.64 - 7.67 (m, 1H), 7.75 - 7.81 (m, 2H), 7.87 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.61 - 8.73 (m, 1H), 8.89 - 9.08 (m, 1H), 9.37 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 168.1, 139.2, 139.2, 136.0, 133.9, 133.0, 131.5, 129.3, 128.0 (q, *J* = 28 Hz), 127.9, 126.6, 126.1, 125.1, 124.6, 124.3, 124.3 (q, *J* = 275 Hz), 121.6, 58.0, 55.8, 44.7, 38.7, 25.9, 21.6, 21.3, 15.5; HR-MS: Calcd for C₂₅H₂₇F₃N₄O [M+H]⁺ 457.2210. Found 457.2199; [α]_D = +53 (c = 0.60, MeOH)

2,6-Dichloro-N-{(S)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]-methyl}benzamide hydrochloride (18e)

Compound **18e** (30% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that

described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.38 - 1.61 (m, 3H), 1.65 - 1.72 (m, 1H), 1.73 - 1.82 (m, 2H), 2.86 - 2.95 (m, 1H), 3.23 - 3.58 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 5.27 - 5.33 (m, 1H), 7.27 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.39 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.45 - 7.49 (m, 1H), 7.51 - 7.56 (m, 3H), 7.66 - 7.69 (m, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.52 - 8.80 (m, 2H), 9.58 (d, J = 8.3 Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 163.4, 137.3, 136.0, 135.7, 132.8, 131.3, 131.2, 129.0, 128.2, 127.8, 125.6, 124.6, 121.7, 58.6, 55.1, 45.1, 38.7, 25.0, 21.6, 21.4; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 443.1400. Found 443.1392; $[\alpha]_{\text{D}} = +79$ (c = 0.54, MeOH)

2,6-Dimethyl-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]-methyl}benzamide hydrochloride (18f**)**

Compound **18f** (33% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.32 - 1.44 (m, 2H), 1.50 - 1.62 (m, 2H), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 2.12 (br s, 6H), 2.80 - 2.90 (m, 1H), 3.27 - 3.54 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 5.16 - 5.22 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 7.17 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (br s, 1H), 7.85 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.37 - 8.56 (m, 1H), 8.67 - 8.84 (m, 1H), 8.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 169.2, 138.8, 137.5, 136.0, 133.9, 132.8, 129.0, 128.2, 127.8, 127.1, 125.6, 124.5, 121.7, 58.0, 55.5, 44.9, 38.7, 25.6, 21.6, 21.4, 19.0; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 403.2492. Found 403.2499; $[\alpha]_{\text{D}} = +82$ (c = 0.54, MeOH)

2,3-Dichloro-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]-methyl}benzamide hydrochloride (18g**)**

Compound **18g** (39% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.35 - 1.47 (m, 3H), 1.54 - 1.64 (m, 1H), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 2.79 - 2.89 (m, 1H), 3.30 - 3.38 (m, 1H), 3.46 - 3.53 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.11 - 5.17 (m, 1H), 7.23 - 7.25 (m, 1H), 7.39 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.48

(t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.52 - 7.55 (m, 1H), 7.63 - 7.67 (m, 2H), 7.72 - 7.76 (m, 1H), 7.85 - 7.88 (m, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.57 - 8.68 (m, 1H), 8.85 - 8.96 (m, 1H), 9.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 165.5, 138.6, 138.2, 136.0, 132.9, 132.0, 131.4, 129.1, 128.3, 128.0, 127.9, 125.3, 124.6, 124.3, 121.6, 58.2, 55.7, 44.8, 38.7, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 443.1400. Found 443.1394; $[\alpha]_{\text{D}} = +86$ ($c = 0.63$, MeOH)

2-Chloro-3-methyl-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]}[(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}benzamide hydrochloride (18h)

Compound **18h** (44% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.33 - 1.49 (m, 3H), 1.54 - 1.63 (m, 1H), 1.67 - 1.76 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.79 - 2.89 (m, 1H), 3.31 - 3.37 (m, 1H), 3.41 - 3.63 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.12 - 5.17 (m, 1H), 7.24 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.33 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.38 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.42 - 7.45 (m, 1H), 7.45 - 7.49 (m, 1H), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.64 (br s, 1H), 7.84 - 7.87 (m, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.46 - 8.61 (m, 1H), 8.84 - 8.99 (m, 1H), 9.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 166.7, 138.7, 136.5, 136.3, 136.0, 132.9, 131.9, 130.1, 129.1, 127.9, 126.9, 126.6, 125.3, 124.6, 124.4, 121.6, 58.3, 55.6, 44.8, 38.7, 25.7, 21.6, 21.3, 19.9; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 423.1946. Found 423.1934; $[\alpha]_{\text{D}} = +85$ ($c = 0.50$, MeOH)

3-Methoxy-2-methyl-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]}[(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}benzamide hydrochloride (18i)

Compound **18i** (67% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.31 - 1.46 (m, 3H), 1.53 - 1.64 (m, 1H), 1.66 - 1.77 (m, 2H), 2.01 (s, 3H), 2.77 - 2.86 (m, 1H), 3.30 - 3.37 (m, 1H), 3.42 - 3.60 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 5.11 - 5.16 (m, 1H), 7.04 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.22 - 7.27 (m, 2H), 7.38 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50 - 7.53 (m, 1H), 7.65 (br s, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.46 - 8.58 (m, 1H), 8.92 - 9.01 (m,

1H), 9.04 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 168.9, 157.3, 139.4, 137.7, 136.0, 132.9, 129.2, 127.9, 126.3, 125.1, 124.5, 124.3, 123.7, 121.6, 119.4, 111.6, 58.1, 55.6, 44.7, 38.7, 25.9, 21.6, 21.4, 12.4; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 419.2442. Found 419.2429; $[\alpha]_{\text{D}} = +59$ ($c = 0.51$, MeOH)

2-Chloro-*N*-{(S)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-5-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (18j)

Compound **18j** (55% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.34 - 1.45 (m, 3H), 1.58 - 1.68 (m, 1H), 1.68 - 1.78 (m, 2H), 2.82 - 2.92 (m, 1H), 3.35 - 3.40 (m, 1H), 3.47 - 3.56 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 5.15 - 5.20 (m, 1H), 7.22 - 7.25 (m, 1H), 7.38 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.52 - 7.55 (m, 1H), 7.66 (br s, 1H), 7.74 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.82 - 7.88 (m, 2H), 8.10 - 8.13 (m, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.78 - 8.91 (m, 1H), 8.92 - 9.08 (m, 1H), 9.49 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 165.1, 138.4, 136.8, 136.0, 134.7, 132.9, 130.9, 129.2, 127.9, 127.8, 127.6 (q, $J = 34$ Hz), 126.3, 125.3, 124.7, 124.3, 123.6 (q, $J = 270$ Hz), 121.6, 58.3, 55.8, 44.7, 38.7, 25.8, 21.6, 21.2; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 477.1664. Found 477.1658; $[\alpha]_{\text{D}} = +68$ ($c = 0.52$, MeOH)

3-Chloro-*N*-{(S)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-2-(trifluoromethyl)pyridine-4-carboxamide hydrochloride (18k)

Compound **18k** (43% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.33 - 1.49 (m, 3H), 1.55 - 1.66 (m, 1H), 1.67 - 1.77 (m, 2H), 2.81 - 2.91 (m, 1H), 3.34 - 3.39 (m, 1H), 3.48 - 3.58 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 5.11 - 5.24 (m, 1H), 7.25 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.39 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 8.07 - 8.21 (m, 2H), 8.82 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.89 - 9.10 (m, 2H), 9.78 - 9.86 (m, 1H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 163.5, 147.7, 146.2, 143.3 (q, $J = 34$ Hz), 138.1, 136.1, 133.0, 129.2, 127.9, 127.4, 126.2, 125.2, 124.8, 124.3, 121.6, 120.9 (q, $J = 277$ Hz), 58.2, 55.8, 44.8, 38.7, 25.7,

21.6, 21.2; HR-MS: Calcd for C₂₃H₂₃ClF₃N₅O [M+H]⁺ 478.1616. Found 478.1605; [α]_D = +69 (c = 0.53, MeOH)

3-Chloro-*N*-{(S)-[3-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxamide hydrochloride (18l)

Compound **18l** (43% in 2 steps) was obtained from **16d** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.33 - 1.52 (m, 3H), 1.53 - 1.63 (m, 1H), 1.66 - 1.77 (m, 2H), 2.77 - 2.86 (m, 1H), 3.25 - 3.36 (m, 1H), 3.55 - 3.64 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.12 - 5.21 (m, 1H), 7.25 - 7.30 (m, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.52 - 7.57 (m, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.46 - 8.60 (m, 1H), 8.75 - 8.86 (m, 1H), 8.88 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 9.60 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 163.6, 152.6, 148.5, 138.4, 136.1, 135.8 (q, *J* = 32 Hz), 133.0, 129.3, 127.9, 125.7, 125.2, 124.7, 124.4, 123.1, 121.8 (q, *J* = 275 Hz), 121.6, 58.1, 55.5, 44.7, 38.7, 25.6, 21.6, 21.4; HR-MS: Calcd for C₂₃H₂₃ClF₃N₅O [M+H]⁺ 478.1616. Found 478.1603; [α]_D = +71 (c = 0.50, MeOH)

3-Chloro-*N*-{(S)-[3-(1-ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxamide hydrochloride (19a)

Compound **19a** (71% in 2 steps) was obtained from **16e** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.35 - 1.52 (m, 3H), 1.41 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.54 - 1.65 (m, 1H), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 2.78 - 2.87 (m, 1H), 3.27 - 3.34 (m, 1H), 3.57 - 3.64 (m, 1H), 4.17 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 5.16 - 5.21 (m, 1H), 7.26 - 7.29 (m, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.53 - 7.57 (m, 1H), 7.66 - 7.68 (m, 1H), 7.88 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.52 - 8.65 (m, 1H), 8.81 - 9.00 (m, 1H), 8.87 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 9.65 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 163.6, 152.7, 148.5, 138.5, 135.9, 135.8 (q, *J* = 37 Hz), 133.1, 129.3, 126.5, 125.7, 125.1, 124.7, 124.5, 123.0, 121.7 (q, *J* = 275 Hz), 121.4, 58.1, 55.5, 46.4, 44.6, 25.5, 21.6, 21.4, 15.5; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₅ClF₃N₅O [M+H]⁺ 492.1772. Found 492.1763; [α]_D =

+68 (c = 0.52, MeOH)

3-Chloro-*N*-[(*S*)-[(2*S*)-piperidin-2-yl]{3-[1-(propan-2-yl)-1*H*-pyrazol-4-yl]phenyl}-methyl]-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxamide hydrochloride (19b)

Compound **19b** (58% in 2 steps) was obtained from **16f** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 1.32 - 1.52 (m, 3H), 1.46 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H), 1.52 - 1.65 (m, 1H), 1.67 - 1.78 (m, 2H), 2.77 - 2.87 (m, 1H), 3.27 - 3.35 (m, 1H), 3.56 - 3.65 (m, 1H), 4.49 - 4.56 (m, 1H), 5.15 - 5.20 (m, 1H), 7.27 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (br s, 1H), 7.87 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.50 - 8.58 (m, 1H), 8.83 - 8.92 (m, 2H), 9.63 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 163.5, 152.5, 148.4, 138.4, 135.8 (q, *J* = 31 Hz), 135.6, 133.2, 129.2, 125.7, 125.1, 124.8, 124.7, 124.4, 123.1, 121.7 (q, *J* = 275 Hz), 121.1, 58.1, 55.5, 53.1, 44.6, 25.6, 22.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₅H₂₇ClF₃N₅O [M+H]⁺ 506.1929. Found 506.1917; [α]_D = +70 (c = 0.49, MeOH)

3-Chloro-*N*-{(*S*)-(2*S*)-piperidin-2-yl[3-(1-propyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]methyl}-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxamide hydrochloride (19c)

Compound **19c** (61% in 2 steps) was obtained from **16g** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO- *d*₆): δ 0.85 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.34 - 1.52 (m, 3H), 1.54 - 1.65 (m, 1H), 1.67 - 1.76 (m, 2H), 1.82 (tq, *J* = 7.3, 7.2 Hz, 2H), 2.77 - 2.87 (m, 1H), 3.25 - 3.34 (m, 1H), 3.56 - 3.65 (m, 1H), 4.09 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 5.16 - 5.21 (m, 1H), 7.28 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.53 - 7.57 (m, 1H), 7.66 - 7.68 (m, 1H), 7.89 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.51 - 8.62 (m, 1H), 8.83 - 8.94 (m, 2H), 9.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆): δ 163.5, 152.5, 148.5, 138.4, 136.0, 135.8 (q, *J* = 32 Hz), 133.1, 129.3, 127.2, 125.7, 125.1, 124.7, 124.4, 123.1, 121.7 (q, *J* = 275 Hz), 121.2, 58.1, 55.5, 53.0, 44.7, 25.6, 23.2, 21.6, 21.3, 10.9; HR-MS: Calcd for C₂₅H₂₇ClF₃N₅O [M+H]⁺ 506.1929. Found 506.1916; [α]_D = +84 (c = 0.41, MeOH)

***tert*-Butyl (2*S*)-2-{{(*S*)-hydroxy[3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-phenyl]methyl}piperidine-1-carboxylate (**20**)**

To a solution of **14b** (7.86 g, 17.9 mmol) in 1,4-dioxane (150 mL) were added potassium acetate (5.27 g, 53.7 mmol), [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]dichloropalladium(II) (1.46 g, 1.79 mmol), 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene (1.19 g, 2.51 mmol), and bis(pinacolato)diboron (5.00 g, 19.7 mmol), and the mixture was stirred at 80°C for 3 h. The reaction solution was partitioned between water and EtOAc, and the organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (33–50% EtOAc in hexane) to yield **20** (6.82 g, 91%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.83 (br s, 1H), 7.74 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.44 - 7.49 (m, 1H), 7.33 - 7.40 (m, 1H), 4.89 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 3.98 - 4.50 (m, 2H), 2.87 - 3.41 (m, 1H), 1.52 (s, 9H), 1.34 (s, 12H), 1.25 - 1.73 (m, 6H); MS (ESI): *m/z* 418 [M+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-{{(*S*)-hydroxy[3-(pyrazin-2-yl)phenyl]methyl}piperidine-1-carboxylate (**21a**)**

To a solution of **20** (1.16 g, 2.78 mmol) in a mixed solvent of DMF and EtOH (2 : 1, 18 mL) were added 2-chloropyrazine (0.64 g, 5.56 mmol), tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (96 mg, 0.083 mmol), and potassium carbonate (0.77 g, 5.56 mmol), and the mixture was stirred at 90°C for 2 h. The reaction solution was partitioned between water and EtOAc, and the organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (33–67% EtOAc in hexane) to yield **21a** (0.79 g, 77%) as a colorless amorphous. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 1.32 - 1.86 (m, 6H), 1.52 (s, 9H), 2.91 - 3.18 (m, 1H), 3.99 - 4.25 (m, 1H), 4.35 - 4.54 (m, 1H), 5.00 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 7.48 - 7.57 (m, 2H), 7.92 - 7.99 (m, 1H),

8.03 - 8.08 (m, 1H), 8.52 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 8.62 - 8.66 (m, 1H), 9.04 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H); MS (ESI): m/z 370 $[M+H]^+$

***tert*-Butyl**

(2*S*)-2-[(*S*)-hydroxy[3-(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)phenyl]methyl]piperidine-1-carboxylate (21b**)**

Compound **21b** (74%) was prepared from **20** in a similar manner to that described for **21a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.30 - 1.74 (m, 6H), 1.51 (s, 9H), 2.89 - 4.47 (m, 3H), 3.67 (s, 3H), 4.93 (br d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.31 - 7.35 (m, 1H), 7.36 - 7.47 (m, 3H), 7.52 (s, 1H); MS (ESI): m/z 372 $[M+H]^+$

(*S*)-1-[(2*S*)-1-(Prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]-1-[3-(pyrazin-2-yl)phenyl]methanamine (22a**)**

Compound **22a** (49% in 4 steps) was prepared from **21a** in a similar manner to that described for the synthesis of **6c** from **3c**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.04 - 1.11 (m, 1H), 1.31 - 1.77 (m, 5H), 2.67 - 2.77 (m, 2H), 3.04 - 3.11 (m, 1H), 3.34 - 3.46 (m, 2H), 4.32 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 5.13 - 5.16 (m, 1H), 5.20 - 5.25 (m, 1H), 5.87 - 5.96 (m, 1H), 7.45 - 7.52 (m, 2H), 7.88 - 7.91 (m, 1H), 8.02 - 8.04 (m, 1H), 8.50 - 8.52 (m, 1H), 8.63 - 8.65 (m, 1H), 9.04 - 9.06 (m, 1H); MS (ESI): m/z 309 $[M+H]^+$

(*S*)-1-[3-(1-Methyl-1*H*-imidazol-5-yl)phenyl]-1-[(2*S*)-1-(prop-2-en-1-yl)piperidin-2-yl]methanamine (22b**)**

Compound **22b** (20% in 4 steps) was prepared from **21b** in a similar manner to that described for the synthesis of **6c** from **3c**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.02 - 1.09 (m, 1H), 1.31 - 1.68 (m, 5H), 2.65 - 2.72 (m, 2H), 3.02 - 3.09 (m, 1H), 3.36 - 3.41 (m, 2H), 3.67 (s, 3H), 4.25 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 5.11 - 5.16 (m, 1H), 5.19 - 5.26 (m, 1H), 5.85 - 5.95 (m, 1H), 7.10 - 7.11 (m, 1H), 7.27 - 7.29 (m, 1H), 7.36 - 7.41 (m, 3H), 7.51 (s, 1H); MS (ESI): m/z 311 $[M+H]^+$

2-Chloro-*N*-{(*S*)-(2*S*)-piperidin-2-yl}[3-(pyrazin-2-yl)phenyl]methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (23a)

Compound **23a** (37% in 2 steps) was prepared from **22a** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.34 - 1.49 (m, 3H), 1.55 - 1.66 (m, 1H), 1.68 - 1.77 (m, 2H), 2.82 - 2.91 (m, 1H), 3.33 - 3.39 (m, 1H), 3.54 - 3.63 (m, 1H), 5.25 - 5.31 (m, 1H), 7.57 - 7.62 (m, 2H), 7.68 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.94 - 7.97 (m, 1H), 7.98 - 8.02 (m, 1H), 8.13 - 8.15 (m, 1H), 8.24 - 8.27 (m, 1H), 8.66 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 8.72 - 8.87 (m, 2H), 8.95 - 9.10 (m, 1H), 9.29 - 9.35 (m, 1H), 9.62 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165.4, 151.1, 144.3, 143.7, 142.2, 138.8, 138.6, 136.2, 133.4, 129.4, 128.7, 128.0, 127.7, 127.2 (q, *J* = 31 Hz), 126.4, 126.1, 126.0, 122.7 (q, *J* = 273 Hz), 58.1, 55.8, 44.8, 25.7, 21.6, 21.3; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₂ClF₃N₄O [M+H]⁺ 475.1507. Found 475.1498; [α]_D = +77 (c = 0.55, MeOH)

2-Chloro-*N*-{(*S*)-[3-(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)phenyl]}[(2*S*)-piperidin-2-yl]-methyl}-3-(trifluoromethyl)benzamide hydrochloride (23b)

Compound **23b** (40% in 2 steps) was prepared from **22b** in a similar manner to that described for **17a**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.34 - 1.51 (m, 3H), 1.56 - 1.65 (m, 1H), 1.69 - 1.77 (m, 2H), 2.79 - 2.88 (m, 1H), 3.29 - 3.43 (m, 1H), 3.57 - 3.66 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 5.24 - 5.29 (m, 1H), 7.57 - 7.64 (m, 3H), 7.66 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.93 - 7.97 (m, 1H), 7.98 - 8.04 (m, 1H), 8.77 - 8.92 (m, 1H), 9.07 - 9.22 (m, 2H), 9.72 - 9.77 (m, 1H); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165.3, 139.1, 138.6, 136.8, 133.8, 133.5, 129.5, 129.1, 128.8, 128.6, 128.3, 128.0, 127.7, 127.2 (q, *J* = 30 Hz), 126.3, 122.8 (q, *J* = 274 Hz), 118.2, 57.9, 55.5, 44.7, 34.5, 25.7, 21.5, 21.4; HR-MS: Calcd for C₂₄H₂₄ClF₃N₄O [M+H]⁺ 477.1664. Found 477.1662; [α]_D = +54 (c = 0.59, MeOH)

Chapter 2

1-Methyl-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (26)

To a solution of 1-methyl-1*H*-imidazole-4-carboxylic acid (0.50 g, 4.0 mmol), 1-hydroxybenztriazole monohydrate (0.74 g, 4.8 mmol), and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (0.92 g, 4.8 mmol) in acetonitrile (10 mL) was added a solution of 3-(trifluoromethoxy)benzylamine **25** (0.84 g, 4.4 mmol) in acetonitrile (10 mL), and the mixture was stirred at room temperature for overnight. The reaction mixture was concentrated *in vacuo*, and saturated aqueous NaHCO₃ solution was added to the residue. After extraction with ethyl acetate, the organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (0–10 % MeOH in CHCl₃) to obtain **26** (1.18 g, 98%) as a colorless powder. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 3.73 (3 H, s), 4.62 (2 H, d, *J* = 6.0 Hz), 7.08 - 7.13 (1 H, m), 7.18 (1 H, s), 7.26 - 7.29 (1 H, m), 7.31 - 7.37 (2 H, m), 7.44 - 7.51 (1 H, m), 7.55 (1 H, d, *J* = 1.4 Hz); MS (ESI): *m/z* 300 [M+H]⁺

***N*,1-Dimethyl-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (24)**

To a solution of **26** (50 mg, 0.17 mmol) in *N,N*-dimethylformamide (1 mL) was added sodium hydride (60% in oil, 8 mg, 0.20 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 10 min. To the reaction mixture was added methyl iodide (12 μL, 0.19 mmol), and the mixture was stirred for an additional 30 min. The reaction was quenched with saturated aqueous NaHCO₃ solution and extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (0–2% MeOH in CHCl₃) to obtain **24** (42 mg, 80%) as a colorless powder. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.83 and 3.38 (3H, br s), 3.69 (3H, s), 4.67

and 5.37 (2H, br s), 7.23 - 7.32 (3H, m), 7.48 (1H, t, $J = 7.8$ Hz), 7.64 (1H, br s), 7.69 - 7.72 (1H, m); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 33.12, 33.46, 36.23, 50.32, 52.21, 119.38, 119.64, 119.82, 120.03 (q, $J = 256.7$ Hz), 126.53, 130.37, 136.84, 137.42, 140.96, 141.54, 148.52, 163.37; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 314.1111. Found 314.1089

***N*-Ethyl-1-methyl-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (27a)**

Compound **27a** (73%, colorless powder) was obtained in a similar manner to that described for **24**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 0.99 - 1.18 (3H, m), 3.29 and 3.92 (2H, br s), 3.69 (3H, s), 4.67 and 5.37 (2H, br s), 7.23 - 7.31 (2H, m), 7.33 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.47 (1H, t, $J = 7.9$ Hz), 7.61 - 7.69 (1H, m), 7.71 (1H, s); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 12.32, 14.39, 33.10, 40.45, 42.54, 47.81, 49.68, 119.26, 119.78, 120.04 (q, $J = 259.72$ Hz), 126.43, 130.21, 137.06, 137.51, 141.79, 142.05, 148.46, 162.73, 163.27; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 328.1267. Found 328.1261

1-Methyl-*N*-propyl-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (27b)

Compound **27b** (73%, colorless oil) was obtained in a similar manner to that described for **24**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 0.73 - 0.84 (3H, m), 1.45 - 1.62 (2H, m), 3.22 and 3.87 (2H, br s), 3.70 (3H, s), 4.68 and 5.39 (2H, br s), 7.23 - 7.34 (3H, m), 7.46 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.59 - 7.68 (1H, m), 7.70 (1H, s); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 10.75, 11.13, 20.04, 21.86, 33.10, 47.31, 48.31, 49.28, 50.16, 119.26, 119.74, 120.04 (q, $J = 255.19$ Hz), 126.39, 126.63, 127.20, 130.21, 137.04, 137.44, 139.35, 141.69, 142.05, 148.46, 163.39; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 342.1424. Found 342.1404

1-Methyl-*N*-(2-methylpropyl)-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (27c)

Compound **27c** (40%, colorless oil) was obtained in a similar manner to that described for **24**. ¹H NMR (499 MHz, CDCl₃): δ 0.82 - 0.98 (6H, m), 1.94 - 2.13 (1H, m), 3.21 - 3.28 and 3.88 - 3.98 (2H, m), 3.71 (3H, br s), 4.76 and 5.43 (2H, br s), 7.05 - 7.24 (3H, m), 7.29 - 7.35 (1H, m), 7.35 - 7.43 (1H, m), 7.57 (1H, d, *J* = 1.4 Hz); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 19.90, 20.27, 26.71, 33.68, 51.58, 53.13, 119.41, 120.01, 126.37, 129.80, 136.47, 149.46, 164.04; HR-MS: Calcd for C₁₇H₂₀F₃N₃O₂ [M+H]⁺ 356.1580. Found 356.1551

***N*-{[3-(Trifluoromethoxy)phenyl]methyl}propan-2-amine (28a)**

To a solution of acetone (0.38 mL, 5.2 mmol) and **25** (1.0 g, 5.2 mmol) in CHCl₃ (10 mL) was added sodium triacetoxymethylborohydride (2.2 g, 10 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 45 min. The mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃ solution and extracted with CHCl₃. The organic layer was washed with brine, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified with silica gel column chromatography (0–10% MeOH in CHCl₃) to obtain **28a** (0.68 g, 56%) as a colorless oil. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.10 (6H, d, *J* = 6.4 Hz), 2.84 (1H, spt, *J* = 6.3 Hz), 3.80 (2H, s), 7.09 (1H, d, *J* = 7.3 Hz), 7.20 (1H, s), 7.30 - 7.36 (1H, m); MS (ESI): *m/z* 234 [M+H]⁺

***N*-{[3-(Trifluoromethoxy)phenyl]methyl}cyclohexanamine (28b)**

Compound **28b** (quant., colorless oil) was obtained in a similar manner to that described for **28a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.08 - 1.27 (4H, m), 1.56 - 1.66 (2H, m), 1.67 - 1.80 (2H, m), 1.82 - 1.99 (2H, m), 2.43 - 2.51 (1H, m), 3.83 (2H, s), 7.07 - 7.12 (1H, m), 7.20 - 7.28 (2H, m), 7.30 - 7.38 (1H, m); MS (ESI): *m/z* 274 [M+H]⁺

***N*-{[3-(Trifluoromethoxy)phenyl]methyl}oxan-4-amine (28c)**

Compound **28c** (82%, colorless oil) was obtained in a similar manner to that described for **28a**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.40 - 1.49 (2H, m), 1.82 - 1.89 (2H, m), 2.66 -

2.76 (1H, m) 3.36 - 3.44 (2H, m) 3.85 (2H, s) 3.94 - 4.02 (2H, m) 7.08 - 7.38 (4H, m);
MS (ESI): m/z 276 $[M+H]^+$

1-Methyl-*N*-(propan-2-yl)-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (29a)

Compound **29a** (93%, colorless powder) was obtained from **28a** in a similar manner to that described for **26**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.02 - 1.15 (6H, m), 3.69 (3H, br s), 4.44 - 4.71 and 5.21 - 5.40 and 5.54 - 5.67 (3H, m), 7.18 (1H, br d, $J = 8.3$ Hz), 7.22 (1H, br s), 7.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.42 (1H, s), 7.54 - 7.72 (2H, m); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 19.89, 21.16, 33.08, 42.91, 46.68, 48.17, 118.65, 119.20, 120.02 (q, $J = 258.21$), 125.79, 125.93, 126.51, 126.69, 129.85, 137.34, 143.39, 148.28, 156.52, 163.85; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ $[M+H]^+$ 342.1424. Found 342.1398

***N*-Cyclohexyl-1-methyl-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (29b)**

Compound **29b** (9%, colorless powder) was obtained from **28b** in a similar manner to that described for **26**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 0.96 - 1.09 (1H, m), 1.13 - 1.59 (6H, m), 1.61 - 1.73 (3H, m), 3.70 (3H, br s), 4.12 - 4.32 and 4.54 - 4.76 and 5.06 - 5.46 (3H, m), 7.17 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.20 (1H, s), 7.29 (1H, br d, $J = 7.4$ Hz), 7.38 - 7.44 (1H, m), 7.48 - 7.72 (2H, m); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 24.72, 25.44, 30.02, 31.41, 33.08, 43.95, 46.79, 54.78, 56.31, 118.57, 119.12, 119.94, 120.01 (q, $J = 256.7$ Hz), 125.75, 126.03, 126.63, 129.79, 130.15, 137.34, 137.67, 143.41, 144.04, 148.24, 148.42, 163.27, 164.05; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ $[M+H]^+$ 382.1737. Found 382.1716

1-Methyl-*N*-(oxan-4-yl)-*N*-{[3-(trifluoromethoxy)phenyl]methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide (29c)

Compound **29c** (14%, colorless powder) was obtained from **28c** in a similar manner to

that described for **26**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.56 - 1.82 (4H, m), 3.45 (2H, br t, $J=11.8$ Hz), 3.71 (3H, br s), 3.95 (2H, br dd, $J = 11.6, 4.1$ Hz), 4.60 - 4.86 and 5.28 - 5.66 (3H, m), 7.05 (1H, br d, $J = 7.8$ Hz), 7.12 (1H, br s), 7.18 - 7.23 (1H, m), 7.26 - 7.46 (1H, m), 7.36 - 7.40 (1H, m), 7.57 (1H, br s); ^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 30.62, 32.06, 33.57, 44.98, 47.46, 52.54, 54.19, 67.47, 119.00, 119.53, 120.43 (q, $J = 259.7$ Hz), 125.13, 126.48, 129.55, 136.63, 138.40, 142.18, 142.94, 149.31, 164.58; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 384.1530. Found 384.1507

***N*-[(6-Bromopyridin-2-yl)methyl]propan-1-amine (31a)**

Compound **31a** (99%, yellow oil) was obtained from 2-bromopyridine-6-carboxaldehyde **30** and 1-aminopropane in a similar manner to that described for **28a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 0.94 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 1.52 - 1.59 (2H, m), 2.59 - 2.64 (2H, m), 3.89 (2H, s), 7.29 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.36 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.51 (1H, t, $J = 7.5$ Hz); MS (ESI): m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$

***N*-[(6-Bromopyridin-2-yl)methyl]propan-2-amine (31b)**

Compound **31b** (49%, pale yellow oil) was obtained from **30** and 2-aminopropane in a similar manner to that described for **28a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.11 (6H, d, $J = 6.0$ Hz), 2.84 (1H, spt, $J = 6.3$ Hz), 3.88 (2H, s), 7.29 (1H, d, $J = 7.3$ Hz), 7.33 - 7.36 (1H, m), 7.49 (1H, t, $J = 7.6$ Hz); MS (ESI): m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$

***N*-[(6-Bromopyridin-2-yl)methyl]-1-methyl-*N*-propyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide (32a)**

Compound **32a** (67%, pale yellow oil) was obtained from **31a** in a similar manner to that described for **26**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 0.83 - 0.93 (3H, m), 1.61 - 1.71 (2H, m), 3.34 - 4.05 (5H, m), 4.72 - 5.51 (2H, m), 7.29 - 8.11 (5H, m); MS (ESI): m/z 337 $[\text{M}+\text{H}]^+$

***N*-[(6-Bromopyridin-2-yl)methyl]-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide (**32b**)**

Compound **32b** (95%, colorless powder) was obtained from **31b** in a similar manner to that described for **26**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.09 - 1.24 (6H, m), 3.64 - 3.76 (3H, m), 4.70 - 4.88 and 5.29 - 5.36 and 5.68 - 5.75 (3H, m), 7.26 - 7.34 (2H, m), 7.41 - 7.47 (2H, m), 7.51 - 7.59 (1H, m); MS (ESI): *m/z* 337 [M+H]⁺

1-Methyl-*N*-[(6-phenylpyridin-2-yl)methyl]-*N*-propyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide (33a**)**

To a solution of **32a** (150 mg, 0.44 mmol) in *N,N*-dimethylformamide (2 mL) and ethanol (1 mL) were added phenylboronic acid (107 mg, 0.88 mmol), potassium carbonate (122 mg, 0.88 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (51 mg, 0.044 mmol), and the reaction mixture was stirred at 150°C under microwave irradiation for 10 min. Water was added, and the mixture was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with water and brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (0–5% MeOH in CHCl₃) and NH-silica gel column chromatography (67–100% ethyl acetate in hexane) to obtain **33a** (98 mg, 67%) as a colorless oil. ¹H NMR (499 MHz, CDCl₃): δ 0.84 - 0.95 (3H, m), 1.64 - 1.82 (2H, m), 3.46 (1H, br t, *J* = 7.4 Hz), 3.68 and 3.72 (3H, br s), 4.07 (1H, br t, *J* = 7.2 Hz), 4.93 (1H, br s), 5.53 (1H, s), 7.23 - 7.33 (2H, m), 7.38 - 7.49 (3H, m), 7.56 - 7.61 (2H, m), 7.68 (1H, t, *J* = 7.7 Hz), 7.98 - 8.03 (2H, m); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃): δ 11.04, 11.45, 20.49, 22.24, 33.54, 48.56, 50.40, 52.01, 53.99, 118.65, 118.72, 119.71, 120.09, 125.90, 126.05, 126.95, 128.67, 128.77, 128.87, 136.58, 137.27, 138.61, 139.33, 139.51, 156.69, 158.14, 158.84, 164.20; HR-MS: Calcd for C₂₀H₂₂N₄O [M+H]⁺ 335.1866. Found 335.1855

1-Methyl-*N*-[(6-phenylpyridin-2-yl)methyl]-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-

carboxamide (**33b**)

Compound **33b** (52%, colorless oil) was obtained from **32b** in a similar manner to that described for **33a**. ^1H NMR (499 MHz, CDCl_3): δ 1.14 - 1.30 (6H, m), 3.65 and 3.73 (3H, br s), 4.86 (2H, br s), 5.43 and 5.72 (1H, br s), 7.28 (1H, br d, $J = 7.5$ Hz), 7.37 - 7.49 (4H, m), 7.53 - 7.57 (2H, m), 7.62 - 7.67 (1H, m), 8.00 (2H, d, $J = 7.5$ Hz); ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ 20.23, 21.50, 33.57, 46.88, 47.26, 48.97, 49.99, 118.37, 119.77, 120.03, 125.86, 126.98, 128.43, 128.53, 128.64, 129.47, 131.91, 131.93, 132.05, 132.13, 136.57, 136.83, 137.11, 156.41, 159.28, 164.48; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 335.1866. Found 335.1855

N-[(2-Bromopyridin-4-yl)methyl]propan-1-amine (**35a**)

Compound **35a** (37%, pale yellow oil) was obtained from 2-bromopyridine-4-carboxaldehyde **34** and 1-aminopropane in a similar manner to that described for **28a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 0.94 (1H, t, $J = 7.3$ Hz), 1.50 - 1.55 (2H, m), 2.57 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 3.79 (2H, s), 7.23 (1H, dd, $J = 5.0, 1.4$ Hz), 7.49 - 7.50 (1H, m), 8.29 (1H, d, $J = 5.0$ Hz); MS (ESI): m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$

N-[(2-Bromopyridin-4-yl)methyl]propan-2-amine (**35b**)

Compound **35b** (74%, pale yellow oil) was obtained from **34** and 2-aminopropane in a similar manner to that described for **28a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.09 (6 H, d, $J = 6.4$ Hz), 2.83 (1 H, spt, $J = 6.3$ Hz), 3.78 (2 H, s), 7.23 (1 H, dd, $J = 5.0, 0.9$ Hz), 7.50 - 7.51 (1 H, m), 8.28 (1 H, d, $J = 5.0$ Hz); MS (ESI): m/z 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$

N-[(2-Bromopyridin-4-yl)methyl]-1-methyl-*N*-propyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide (**36a**)

Compound **36a** (81%, pale yellow oil) was obtained from **35a** in a similar manner to that described for **26**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 0.84 - 0.97 (3H, m), 1.59 - 1.73 (2H, m), 3.29 - 4.04 (5H, m), 4.60 - 4.73 (1H, m), 5.30 - 5.50 (1H, m), 7.12 - 7.64 (4H,

m), 8.28 (1H, d, $J = 5.0$ Hz); MS (ESI): m/z 337 $[M+H]^+$

***N*-[*(2-Bromopyridin-4-yl)methyl*]-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide (36b)**

Compound **36b** (98%, pale yellow oil) was obtained from **35b** in a similar manner to that described for **26**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.14 - 1.23 (6H, m), 3.62 - 3.77 (3H, m), 4.49 - 4.90 and 5.22 - 5.34 and 5.75 - 5.84 (3H, m), 7.17 (1H, br s), 7.27 - 7.31 (1H, m), 7.37 - 7.45 (2H, m), 7.57 (1H, br s), 8.24 (1H, br d, $J = 5.0$ Hz); MS (ESI): m/z 337 $[M+H]^+$

1-Methyl-*N*-[*(2-phenylpyridin-4-yl)methyl*]-*N*-propyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide (37a)

Compound **37a** (74%, colorless oil) was obtained from **36a** in a similar manner to that described for **33a**. ^1H NMR (499 MHz, CDCl_3): δ 0.83 - 0.98 (3H, m), 1.63 - 1.76 (2H, m), 3.41 (1H, br s), 3.69 and 3.72 (3H, br s), 3.99 (1H, br s), 4.79 (1H, br s), 5.49 (1H, br s), 7.09 - 7.20 (1H, m), 7.28 - 7.48 (4H, m), 7.57 - 7.66 (2H, m), 7.95 (2H, br d, $J = 6.9$ Hz), 8.61 (1H, d, $J = 4.8$ Hz); ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ 11.01, 11.42, 20.54, 22.28, 33.59, 48.49, 49.06, 50.13, 51.06, 119.06, 119.41, 120.76, 120.98, 126.50, 127.01, 128.66, 128.91, 136.65, 138.32, 139.33, 148.15, 148.96, 149.74, 157.69, 163.87, 164.32; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ $[M+H]^+$ 335.1866. Found 335.1856

1-Methyl-*N*-[*(2-phenylpyridin-4-yl)methyl*]-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide (37b)

Compound **37b** (58%, colorless amorphous) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **33a**. ^1H NMR (499 MHz, CDCl_3): δ 1.14 - 1.30 (6H, m), 3.66 and 3.72 (3H, br s), 4.69 and 5.37 (2H, br s), 4.78 - 4.94 and 5.74 - 5.86 (1H, m),

7.14 - 7.25 (1H, m), 7.35 - 7.49 (4H, m), 7.56 - 7.59 (1H, m), 7.64 (1H, br s), 7.94 (2H, br d, $J = 7.5$ Hz), 8.57 (1H, br d, $J = 4.5$ Hz); ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ 20.37, 21.61, 33.60, 43.88, 46.98, 47.27, 48.85, 109.90, 118.88, 120.51, 126.36, 127.01, 128.64, 128.81, 136.64, 138.37, 139.53, 149.51, 149.74, 150.96, 157.43, 164.48; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 335.1866. Found 335.1851

***N*-{[2-(4-Fluorophenyl)pyridin-4-yl]methyl}-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37c)**

To a solution of **36b** (1.50 g, 4.4 mmol) in *N,N*-dimethylformamide (10 mL) and ethanol (5 mL) were added 4-fluorophenylboronic acid (1.24 g, 8.9 mmol), potassium carbonate (1.23 g, 8.9 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (0.51 g, 0.45 mmol), and the reaction mixture was stirred at 150°C under microwave irradiation for 30 min. Water was added, and the mixture was extracted with CHCl_3 . The organic layer was dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using NH-silica gel column chromatography (25–100% ethyl acetate in hexane) and silica gel column chromatography (0–10% MeOH in CHCl_3). The fractions including the product were collected and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in ethyl acetate (10 mL), and 4 mol/L HCl in ethyl acetate (1.9 mL) was added to the solution. After stirring at room temperature for 4.5 h, the resultant precipitate was collected by filtration to obtain **37c** (1.41 g, 79%) as a colorless powder. ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1.11 - 1.31 (6H, m), 3.75 and 3.92 (3H, br s), 4.61 and 4.89 and 5.12 (3H, br s), 7.46 (2H, t, $J = 8.7$ Hz), 7.73 (1H, br s), 8.18 - 8.28 (4H, m), 8.72 (1H, d, $J = 5.8$ Hz), 9.20 (1H, br s); ^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 20.90, 35.57, 44.09, 49.94, 116.14, 116.28, 121.37, 122.23, 124.02, 126.61, 129.61, 130.57, 137.10, 144.08, 151.33, 156.70, 159.43, 163.05, 164.70; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 353.1772. Found 353.1784

***N*-{[2-(3-Fluorophenyl)pyridin-4-yl]methyl}-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imid-**

azole-4-carboxamide (37d)

Compound **37d** (49%, colorless amorphous) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **33a**. ^1H NMR (499 MHz, CDCl_3): δ 1.14 - 1.30 (6H, m), 3.68 and 3.73 (3H, br s), 4.61 - 4.92 and 5.24 - 5.46 and 5.81 (3H, m), 7.08 (1H, td, J = 8.2, 2.4 Hz), 7.20 (1H, br s), 7.33 - 7.50 (2H, m), 7.55 - 7.65 (2H, m), 7.65 - 7.74 (2H, m), 8.57 (1H, br d, J = 4.8 Hz); ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ 20.40, 21.61, 33.62, 43.85, 46.98, 47.32, 48.89, 113.86, 114.04, 115.55, 115.73, 118.94, 121.06, 122.54, 126.41, 128.44, 128.54, 130.06, 130.13, 136.67, 141.79, 149.57, 156.03, 162.27, 164.21; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 353.1772. Found 353.1784

N-{[2-(2-Fluorophenyl)pyridin-4-yl]methyl}-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37e)

To a solution of **36b** (150 mg, 0.44 mmol) in toluene (1.5 mL), ethanol (1.5 mL), and water (1.0 mL) were added 2-fluorophenylboronic acid (93 mg, 0.66 mmol), cesium carbonate (217 mg, 0.67 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (26 mg, 0.022 mmol), and the reaction mixture was stirred at 150°C under microwave irradiation for 30 min. Water was added, and the mixture was extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (0–10% MeOH in CHCl_3). The fractions including the product were collected and concentrated *in vacuo*. The residue was dissolved in MeOH (2 mL), and 2 mol/L HCl in MeOH (0.8 mL) was added to the solution. The solution was concentrated *in vacuo* to obtain **37e** (165 mg, 87%) as a colorless amorphous. ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1.21 - 1.30 (6H, m), 3.92 (3H, br s), 4.54 - 4.69 and 4.87 - 5.19 (3H, m), 7.42 - 7.50 (2H, m), 7.63 - 7.70 (1H, m), 7.81 - 7.98 (2H, m), 8.05 (1H, br s), 8.22 - 8.37 (1H, m), 8.83 (1H, d, J = 5.8 Hz), 9.06 - 9.35 (1H, m); ^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 20.88, 35.65, 44.11, 48.53, 50.00, 116.42, 116.58, 123.02, 123.96, 124.42, 125.11, 126.11, 128.72, 128.80, 131.50, 132.04, 133.16, 137.14, 144.40, 148.02, 158.53, 159.19, 160.20; HR-MS: Calcd

for C₂₀H₂₁FN₄O [M+H]⁺ 353.1772. Found 353.1784

***N*-{[2-(4-Methoxyphenyl)pyridin-4-yl]methyl}-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37f)**

Compound **37f** (73%, colorless powder) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37e**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.07 - 1.24 (6H, m), 3.66 - 3.81 (3H, m), 3.83 (3H, s), 4.73 (2H, br s), 5.26 (1H, br s), 7.08 - 7.12 (2H, m), 7.34 (1H, br d, *J* = 5.4 Hz), 7.74 - 7.90 (1H, m), 7.93 (1H, s), 8.03 (2H, br d, *J* = 8.7 Hz), 8.27 (1H, br s), 8.57 (1H, d, *J* = 5.4 Hz); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ 19.79, 21.08, 34.08, 43.55, 48.88, 55.37, 114.43, 119.00, 120.62, 125.35, 128.20, 128.60, 137.38, 146.41, 153.72, 160.92, 162.10; HR-MS: Calcd for C₂₁H₂₄N₄O₂ [M+H]⁺ 365.1972. Found 365.1961

***N*-{[2-(3-Methoxyphenyl)pyridin-4-yl]methyl}-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37g)**

Compound **37g** (59%, colorless powder) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37e**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.10 - 1.30 (6H, m), 3.66 - 3.93 (3H, m), 3.88 (3H, s), 4.64 - 5.21 (3H, m), 7.12 - 7.18 (1H, m), 7.51 (1H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.58 - 7.68 (2H, m), 7.70 - 7.75 (1H, m), 8.16 (2H, s), 8.70 (1H, d, *J* = 5.8 Hz), 8.98 (1H, br s); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ 19.69, 20.94, 35.19, 43.91, 49.64, 55.43, 112.73, 116.70, 119.82, 121.03, 122.01, 124.36, 126.33, 130.29, 135.42, 137.20, 144.92, 152.56, 159.73, 160.07; HR-MS: Calcd for C₂₁H₂₄N₄O₂ [M+H]⁺ 365.1972. Found 365.1959

***N*-{[2-(2-Methoxyphenyl)pyridin-4-yl]methyl}-1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37h)**

Compound **37h** (86%, colorless powder) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37e**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.15 - 1.30 (6H, m), 3.85 (3H,

s), 3.92 (3H, br s), 4.64 and 4.96 (3H, br s), 7.20 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.30 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.61 - 7.73 (2H, m), 7.96 (1H, br s), 8.12 (1H, s), 8.26 (1H, br s), 8.83 (1H, d, $J = 5.8$ Hz), 9.19 (1H, br s); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 20.84, 35.55, 44.29, 49.92, 56.01, 112.34, 119.86, 121.01, 122.97, 124.18, 125.25, 126.59, 131.28, 133.49, 137.18, 141.34, 148.94, 159.15, 159.45; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 365.1972. Found 365.1962

1-Methyl-*N*-(propan-2-yl)-*N*-(2-[4-(trifluoromethyl)phenyl]pyridin-4-yl)methyl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37i)

Compound **37i** (98%, colorless amorphous) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37c**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.15 - 1.30 (6H, m), 3.75 and 3.92 (3H, br s), 4.62 and 4.83 and 5.04 (3H, br s), 7.55 (1H, br s), 7.92 (2H, m, $J = 8.3$ Hz), 8.11 (1H, s), 8.26 (1H, br s), 8.32 (2H, m, $J = 8.3$ Hz), 8.72 (1H, d, $J = 5.4$ Hz), 9.20 (1H, br s); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 20.96, 35.57, 43.81, 49.90, 120.32, 122.15, 123.92, 124.13 (q, $J = 247.8$ Hz), 125.79, 126.67, 128.02, 129.73, 129.95, 137.10, 140.24, 147.49, 152.90, 159.29; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 403.1740. Found 403.1743

1-Methyl-*N*-(propan-2-yl)-*N*-(2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]pyridin-4-yl)methyl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37j)

Compound **37j** (81%, colorless amorphous) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37e**. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1.17 - 1.30 (6H, m), 3.76 and 3.93 (3H, br s), 4.59 and 4.87 and 5.06 (3H, br s), 7.63 (1H, br s), 7.80 - 7.86 (1H, m), 7.92 (1H, br d, $J = 7.4$ Hz), 8.23 (1H, s), 8.28 (1H, br s), 8.43 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 8.47 (1H, s), 8.73 (1H, d, $J = 5.4$ Hz), 9.26 (1H, br s); ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6): δ 20.94, 35.63, 43.83, 49.98, 120.84, 122.24 (q, $J = 273.3$ Hz), 122.25, 123.86, 124.00, 126.37, 126.75, 127.01, 129.76 (q, $J = 30.2$ Hz), 130.21, 131.42, 136.32, 137.08, 146.43, 152.00, 153.94, 159.23; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

403.1740. Found 403.1742

1-Methyl-*N*-(propan-2-yl)-*N*-(2-[4-(trifluoromethoxy)phenyl]pyridin-4-yl)methyl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37k)

Compound **37k** (95%, colorless amorphous) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37c**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.14 - 1.30 (6H, m), 3.76 and 3.93 (3H, br s), 4.60 and 4.87 and 5.08 (3H, br s), 7.59 (2H, br d, *J* = 8.3 Hz), 7.68 (1H, br s), 8.15 (1H, s), 8.23 - 8.29 (3H, m), 8.73 (1H, d, *J* = 5.4 Hz), 9.23 (1H, br s); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ 20.94, 35.61, 43.97, 49.94, 119.16, 120.88, 120.97, 121.37, 122.27, 123.94, 126.51, 129.91, 137.10, 145.46, 149.89, 151.79, 159.31; HR-MS: Calcd for C₂₁H₂₁F₃N₄O₂ [M+H]⁺ 419.1689. Found 419.1690

1-Methyl-*N*-(propan-2-yl)-*N*-(2-[3-(trifluoromethoxy)phenyl]pyridin-4-yl)methyl)-1*H*-imidazole-4-carboxamide bishydrochloride (37l)

Compound **37l** (60%, colorless amorphous) was obtained from **36b** in a similar manner to that described for **37e**. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.15 - 1.30 (6H, m), 3.77 and 3.93 (3H, br s), 4.61 and 4.86 and 5.02 (3H, br s), 7.51 - 7.66 (2H, m), 7.73 (1H, t, *J* = 8.1 Hz), 8.12 (1H, s), 8.15 - 8.18 (2H, m), 8.27 (1H, br s), 8.72 (1H, d, *J* = 5.8 Hz), 9.25 (1H, br s); ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ 20.94, 35.63, 43.87, 49.96, 119.84, 120.10 (q, *J* = 258.2 Hz), 120.72, 122.25, 122.61, 123.86, 126.49, 131.13, 137.10, 137.59, 146.43, 148.88, 151.88, 154.01, 159.19; HR-MS: Calcd for C₂₁H₂₁F₃N₄O₂ [M+H]⁺ 419.1689. Found 419.1691

4-Bromo-*N*-propylpyridine-2-carboxamide (39)

Compound **39** (84%, colorless oil) was obtained from 4-bromopyridine-2-carboxylic acid **38** and 1-aminopropane in a similar manner to that described for **26**. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.00 (3H, t, *J* = 7.3 Hz), 1.62 - 1.69 (2H, m), 3.41 - 3.46 (2H, m), 7.57 - 7.60 (1H, m), 7.92 - 8.01 (1H, m), 8.35 (1H, d, *J* = 5.0 Hz), 8.38 (1H, d, *J* = 1.8 Hz);

MS (ESI): m/z 243 $[M+H]^+$

4-Phenyl-*N*-propylpyridine-2-carboxamide (**40**)

Compound **40** (88%, pale yellow oil) was obtained from **39** in a similar manner to that described for **33a**. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.02 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 1.65 - 1.72 (2H, m), 3.43 - 3.51 (2H, m), 7.28 - 8.60 (9H, m); MS (ESI): m/z 241 $[M+H]^+$

N-[(4-Phenylpyridin-2-yl)methyl]propan-1-amine (**41**)

To a solution of **40** (0.35 g, 1.5 mmol) in tetrahydrofuran (10 mL) was added lithium aluminium hydride (0.28 g, 7.3 mmol), and the mixture was stirred at 70°C for 2 h. The reaction was quenched with 10% aqueous solution of NaOH under ice cooling, dried over anhydrous MgSO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using NH-silica gel column chromatography (50–100% ethyl acetate in hexane) to obtain **41** (107 mg, 32%) as a yellow oil. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 0.95 (3H, t, $J = 7.6$ Hz), 1.53 - 1.62 (2H, m), 2.65 - 2.69 (2H, m), 3.97 (2H, s), 7.38 (1H, dd, $J = 5.0, 1.8$ Hz), 7.42 - 7.46 (1H, m), 7.46 - 7.51 (2H, m), 7.54 (1H, s), 7.63 - 7.67 (2H, m), 8.60 (1H, d, $J = 5.0$ Hz); MS (ESI): m/z 227 $[M+H]^+$

1-Methyl-*N*-[(4-phenylpyridin-2-yl)methyl]-*N*-propyl-1*H*-imidazole-4-carboxamide (**42**)

Compound **42** (28%, colorless oil) was obtained in a similar manner to that described for **26**. ^1H NMR (499 MHz, CDCl_3): δ 0.83 - 0.95 (3H, m), 1.64 - 1.75 (2H, m), 3.45 (1H, br t, $J = 7.4$ Hz), 3.68 and 3.71 (3H, br s), 4.04 (1H, br t, $J = 6.9$ Hz), 4.92 (1H, br s), 5.55 (1H, br s), 7.28 - 7.47 (5H, m), 7.54 - 7.63 (4H, m), 8.58 (1H, br d, $J = 4.8$ Hz); ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3): δ 11.01, 11.44, 20.45, 22.22, 33.55, 48.55, 50.26, 51.77, 53.85, 119.34, 119.92, 120.09, 120.22, 126.21, 127.07, 127.16, 129.00, 136.62, 138.31, 138.48, 149.05, 149.24, 149.36, 149.51, 158.79, 159.57, 164.01, 164.20; HR-MS: Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ $[M+H]^+$ 335.1866. Found 335.1858

Chapter 4

***tert*-Butyl (2*S*)-2-(3-bromobenzoyl)piperidine-1-carboxylate (43)**

Under a nitrogen gas atmosphere, *n*-BuLi (2.64 mol/L hexane solution, 175 mL) was added dropwise to a solution of 1,3-dibromobenzene (148 g, 629 mmol) in THF (680 mL) cooled with a dry ice-acetone bath, and the mixture was stirred at a temperature below -70°C for 30 min. A solution of **1** (114 g, 419 mmol) in THF (230 mL) was added in a dropwise manner, and the reaction mixture was stirred for 2 h. The reaction was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (11% EtOAc in hexane) to yield **43** (71.2 g, 46%) as a pale yellow powder. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.28 - 1.88 (m, 14H), 1.96 - 2.20 (m, 1H), 2.98 - 3.17 (m, 1H), 3.82 - 4.06 (m, 1H), 5.33 - 5.64 (m, 1H), 7.29 - 7.37 (m, 1H), 7.63 - 7.72 (m, 1H), 7.76 - 7.89 (m, 1H), 8.00 - 8.09 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 368 [M+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-[(3-bromophenyl)(hydroxyimino)methyl]piperidine-1-carboxylate (44)**

To a solution of **43** (5.10 g, 13.8 mmol) in EtOH (50 mL) was added hydroxylamine hydrochloride (1.92 g, 27.6 mol), and the mixture was stirred for 5 h under reflux condition. After cooling with an ice bath, 4 mol/L HCl solution in EtOAc was added to the reaction mixture and the mixture was stirred overnight at room temperature. A mixed solvent of hexane and EtOAc (1 : 1, 50 mL) was added to the solution, and the precipitate was filtered to yield colorless solid (4.97 g). This solid was suspended in MeOH (50 mL), and triethylamine (5.8 mL, 41.6 mmol) and di-*t*-butyl dicarbonate (9.5 mL, 41.4 mmol) were added under ice cooling. The mixture was stirred at room temperature for 3 h at room temperature and then concentrated *in vacuo*. The residue was

partitioned between EtOAc and 5% aqueous potassium bisulfate solution, and the organic layer was washed with saturated NaHCO₃ aqueous solution, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (10–33% EtOAc in hexane) to yield **44** (4.18 g, 79%) as a pale yellow oil. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.37 - 1.96 (m, 14H), 2.15 - 2.24 (m, 1H), 2.28 - 2.94 (m, 1H), 3.66 - 3.75 (m, 1H), 5.49 - 5.54 (m, 1H), 7.18 - 7.52 (m, 4H), 8.27 (s, 1H); MS (ESI): *m/z* 383 [M+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-{{3-(1-ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl}(hydroxyimino)methyl}piperidine-1-carboxylate (**45**)**

To a solution of **44** (217 g, 566 mmol) in toluene (1 L) were added a solution of potassium carbonate (117 g, 850 mmol) in water (1 L), a solution of 1-ethyl-1*H*-pyrazole-4-boronic acid pinacol ester (163 g, 736 mmol) in EtOH (1 L) and [1,3-bis(2,6-diisopropylphenyl)imidazol-2-ylidene](3-chloropyridyl)palladium(II) dichloride (7.70 g, 11.4 mmol), and the mixture was stirred at 72°C for 2 h. After the reaction mixture was cooled to room temperature, brine (400 mL) was added, followed by extraction with EtOAc (400 mL × 2). The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (20–60% EtOAc in hexane) to yield **45** (174 g, 77%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.23 - 1.39 (m, 9H), 1.40 - 2.26 (m, 9H), 2.28 - 3.03 (m, 1H), 3.67 - 3.77 (m, 1H), 4.16 - 4.24 (m, 2H), 5.59 - 5.65 (m, 1H), 7.12 - 7.19 (m, 1H), 7.30 - 7.48 (m, 3H), 7.65 (s, 1H), 7.74 - 7.76 (m, 1H), 8.01 - 8.53 (m, 1H); MS (ESI): *m/z* 399 [M+H]⁺

***tert*-Butyl (2*S*)-2-{{(*S*)-amino[3-(1-ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]methyl}piperidine-1-carboxylate (**46**)**

To an 8 mol/L NH₃ solution in MeOH (300 mL) were added **45** (50.1 g, 126 mmol) and 10% Pd/C (5.0 g), and the mixture was stirred under a hydrogen gas atmosphere at

room temperature for 20 h. 8 mol/L NH₃ solution in MeOH (140 mL) and 10% Pd/C (5.0 g) were added, and the mixture was stirred for an additional 7.5 h at 45°C. After filtration, the solvent was removed in vacuo. The residue was purified using silica gel column chromatography (5% MeOH in CHCl₃) to yield **46** (37.7 g, 78%) as a colorless syrup. ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.28 - 1.32 (m, 1H), 1.34 - 1.73 (m, 14H), 1.54 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 2.80 - 3.04 (m, 1H), 4.01 - 4.51 (m, 3H), 4.21 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.14 - 7.21 (m, 1H), 7.28 - 7.35 (m, 1H), 7.37 - 7.41 (m, 1H), 7.42 - 7.50 (m, 1H), 7.62 - 7.71 (m, 1H), 7.77 (s, 1H); MS (ESI): *m/z* 385 [M+H]⁺

Synthesis of 3-chloro-*N*-{(*S*)-[3-(1-ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl]}[(2*S*)-piperidin-2-yl]methyl}-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxamide (19a**) from **46****

To an ice-cooled solution of 3-chloro-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxylic acid (67.2 g, 298 mmol) in DMF (500 mL) were added 1-hydroxybenzotriazole monohydrate (63.8 g, 417 mmol) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (68.5 g, 357 mmol), and the mixture was stirred under ice cooling for 10 min. A solution of **46** (114.5 g, 298 mmol) in DMF (400 mL) was added dropwise to the reaction mixture, and the mixture was stirred at room temperature for 4 h. The reaction was quenched with saturated NaHCO₃ aqueous solution and extracted with a mixed solvent of hexane and EtOAc (1 : 1). The organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (40–60% EtOAc in hexane) to yield a colorless amorphous. The amorphous solid was dissolved in EtOAc (1100 mL), and 4 mol/L HCl in EtOAc (280 mL) was then added under ice cooling. The mixture was stirred at room temperature for 3 h, and the reaction solution was concentrated *in vacuo*. The residue was suspended in CHCl₃, and 2 mol/L aqueous sodium hydroxide solution was added under ice cooling. The mixture was partitioned, and the organic layer was dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified using silica gel column chromatography (3–7% MeOH in CHCl₃) to yield free form of **19a** (96.2 g, 66% in 2

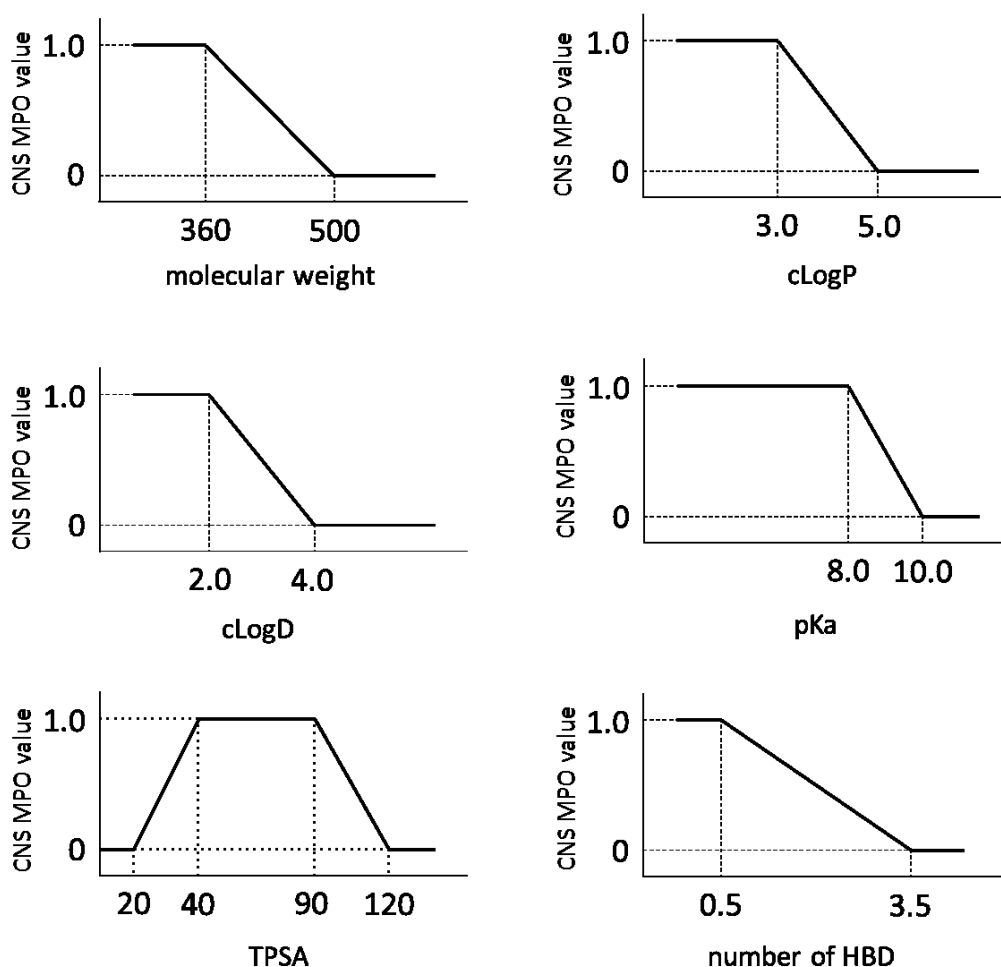
steps) as a colorless amorphous. ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.31 - 1.59 (m, 4H), 1.53 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.74 - 1.80 (m, 1H), 1.81 - 1.86 (m, 1H), 2.46 - 2.54 (m, 1H), 2.94 - 3.03 (m, 2H), 4.20 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 5.11 (dd, $J = 8.1, 3.1$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.33 - 7.41 (m, 2H), 7.45 - 7.48 (m, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.76 - 7.78 (m, 1H), 8.35 (br d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.72 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H); MS (ESI): m/z 492 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Calculation of CNS MPO

The CNS MPO score was calculated according to a previously reported method²⁵. The cLogP value was calculated by a software from Daylight Chemical Information Systems, Inc. The cLogD, pKa, and TPSA were calculated using the software from ACD/Laboratories. The desirable ranges of each property were defined as described in **Table 11**, and the CNS MPO values between inflection points were determined according to the graphs described in **Figure 30**. The final CNS MPO score was calculated as the summation of each property.

Table 11. The desirable range of each property

properties	more desirable range (CNS MPO value = 1.0)	less desirable range (CNS MPO = 0.0)
MW	$MW \leq 360$	$MW > 500$
cLogP	$cLogP \leq 3.0$	$cLogP > 5.0$
cLogD	$cLogD \leq 2.0$	$cLogD > 4.0$
pKa	$pKa \leq 8.0$	$pKa > 10.0$
TPSA	$40 < TPSA \leq 90$	$TPSA \leq 20, 120 < TPSA$
number of HBD	$HBD \leq 0.5$	$HBD > 3.5$

**Figure 30.** The graphs for determining the CNS NPO values of each property

Pharmacology

Materials

Male Wistar rats (Charles River, Yokohama, Japan) were used for the novel object recognition test. Male Sprague-Dawley rats (Charles River, Yokohama, Japan) were used for the social recognition test and the forced swimming test and for the evaluations of locomotor activity, rotarod performance, catalepsy, and glycine concentration in the cerebrospinal fluid (CSF). All the animals were maintained under 12 h light/dark cycles (lights on at 7:00 AM) in a temperature- and humidity-controlled holding room, with food and water available ad libitum. All the studies were reviewed by the Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. Animal Care Committee and met the standards of the Japanese Experimental Animal Research Association, as defined in the Guidelines for Animal Experiments (1987).

MK-801 hydrogen maleate was purchased from Research Biochemicals International (Natick, MA, USA) and was dissolved in saline. Clozapine was purchased from Gee Lawson Chemicals (London, UK) and was suspended in 0.3% Tween 80 in saline. Risperidone was synthesized at Taisho Chemistry Laboratories and was suspended in 0.3% Tween 80 in saline. Fluvoxamine maleate was purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA) and was dissolved in 10% HP- β -CD. [3 H]Glycine, [3 H]strychnine, [3 H]8-OH-DPAT and [3 H]paroxetine were purchased from PerkinElmer Life and Analytical Sciences (Boston, MA, USA), and [3 H]MDL105,519 was purchased from Amersham Bioscience UK (Buckinghamshire, UK). (*N*-[3-(4'-Fluorophenyl)-3-(4'-phenylphenoxy)propyl])sarcosine (ALX5407) was purchased from Tocris Bioscience (Ellisville, MO, USA). *O*-[(2-Benzoyloxyphenyl-3-fluorophenyl)methyl]-L-serine (ALX1393), 3-(2-carboxy-2-phenylethenyl)-4,6-dichloro-1*H*-indole-2-carboxylic acid (MDL105,519) and strychnine were purchased from Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA).

Glycine uptake inhibitory assay³¹⁾

Glioma T98G cells expressing human GlyT1 were used. The T98G cells were seeded at a density of 2.0×10^4 cells/well onto a 96-well plate and cultured overnight in a carbon dioxide incubator. The test compound was dissolved in 100% DMSO and then dissolved in 10 mM 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethanesulfonic acid (HEPES) buffer solution (pH 7.4) containing 150 mM sodium chloride, 1 mM calcium chloride, 5 mM potassium chloride, 1 mM magnesium chloride, 10 mM glucose, and 0.2% bovine serum albumin. After the medium for the cell culture was removed, the test compound and [^3H] glycine (final concentration, 250 nM) were added to the cells and reacted at room temperature for 15 minutes. After the completion of the reaction, the labeled glycine solution was aspirated with a manifold. The cells were then lysed with 0.5 mol/L sodium hydroxide solution. The amount of intracellular glycine was determined by measuring the radio activity in the cell lysate using a liquid scintillation counter. The quantity of glycine uptake in the presence of 10 μM ALX5407 was defined as nonspecific uptake, and the specific uptake amount was determined by subtracting the nonspecific uptake amount from the total uptake amount in the absence of 10 μM ALX5407. The glycine uptake inhibitory activity (IC_{50} value) was calculated from an inhibition curve for test compound concentrations of 10^{-9} to 10^{-5} . The inhibitory activity on rat GlyT1 was evaluated using C6 glioma cells (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA). The inhibitory activity on rat GlyT2 was evaluated using COS-7 cells transiently expressing rat GlyT2 according to the method used for GlyT1, with the exception that 10 μM of ALX1393 was used to determine the non-specific [^3H]glycine uptake.

Binding assays for glycine binding sites, 5-HT_{1A} receptor and serotonin transporter

Binding assays for strychnine sensitive glycine receptors⁴⁷⁾ and strychnine insensitive glycine receptors⁴⁸⁾ (NMDA receptor glycine site) were performed according to

previously reported methods. Briefly, [^3H]strychnine binding to the membranes of rat brainstem and spinal cord (incubated with 2 nM [^3H]strychnine for 30 min on ice) and [^3H]MDL105,519 binding to the membranes of rat whole brain (except cerebellum) (incubated with 1 nM [^3H]MDL105,519 for 30 min at room temperature) were performed to evaluate the affinity to strychnine sensitive glycine receptors and NMDA receptor glycine sites, respectively. Binding assays for other receptors, transporters, and ion channels were performed at Cerep (Celle L'Evescault, France). Binding assays for 5-HT_{1A} receptor and serotonin transporter were additionally performed in house. Binding assay for 5-HT_{1A} receptor was performed by [^3H]8-OH-DPAT binding to membranes of rat brain (incubated with 1 nM [^3H]8-OH-DPAT for 15 min at 37 °C), and binding assay for serotonin transporter was performed by [^3H]paroxetine binding to membranes of rat brain (incubated with 0.04 nM [^3H]paroxetine for 90 min at 22 °C).

Measurement of glycine concentration in CSF of rats

Rats were anesthetized by isoflurane 4 h after oral administration of vehicle or **19a**, or 1 h after oral administration of vehicle or **37k**, and were sacrificed by cutting of an abdominal aorta. Then, CSF samples were collected from the cisterna magna using a 29-gauge needle. The CSF samples were centrifuged at 21500×g for 10 min at 4 °C. The glycine standard and the CSF samples were derivatized with 1.33 mM of *o*-phthaldialdehyde at 10 °C for 2.5 min, then injected into a high-performance liquid chromatography device equipped with an electrochemical detection system, ECD-300 (Eicom, Kyoto, Japan). Derivatized glycine was separated on a reversed phase Octa-Decyl-Silyl (ODS) column, Eicompak SC-5ODS (3.0 mm, i.d.×150 mm, Eicom, Kyoto, Japan), at 35 °C with a flow rate of 0.5 mL/min. The electrode potential for the electrochemical detector was set at +600 mV against Ag/AgCl reference electrode. The mobile phase consisted of 0.1 M phosphate buffer solution (pH 6.0) containing 10.0 % v/v acetonitrile and 5.0 mg/L ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt.

Novel object recognition test^{39a)}

The experiments were performed using a black open field box measuring 50×25×50 cm. Prior to the test, the rats were habituated to the test box for 10 min per day for two consecutive days with no objects present. On the test day, the rats were placed in the test box, and after a 5-min habituation period, two objects were introduced in two corners. The time spent exploring each object was recorded during the subsequent 5-min period (defined as the training session). Then, the rats were returned to their home cage. After 120 min, the rats were placed in the test box once again, and 5 min later, the objects were reintroduced; however, one of the familiar object used in the previous training session was replaced with a novel object. The time spent exploring each object was recorded during the subsequent 5-min period (defined as the test session). The time spent exploring each object was measured manually by experimenters who were unaware of the treatments. A preference index, consisting of the ratio of the amount of time spent exploring any one of the two objects (during the training session) or the replaced novel one (during the test session) relative to the total time spent exploring both objects, was used to measure memory preference. Twenty minutes before the training session, MK-801 was administered intraperitoneally (i.p.) at a dose of 0.1 mg/kg. Compound **19a** hydrochloride was administered orally at 4 h before the training session. We did not observe abnormal behaviors including impaired motor coordination following MK-801 (0.1 mg/kg, i.p.).

Social recognition test (time-dependent memory impairment)⁴⁰⁾

The experiments were performed using an open-topped box containing sawdust. An adult rat was allowed to habituate to the test cage for 30 min. Then, an unfamiliar juvenile rat was placed in the test cage with the adult rat for 5min. The length of time during which the adult rat exhibited exploratory behavior (sniffing, grooming, and close following) toward the juvenile rat during the test session was recorded and was defined as the first investigation duration. The juvenile was then removed from the test cage and

the adult rat was returned to its home cage. After 90 min, the adult was brought back to the same test cage and allowed to habituate for 30 min. The same juvenile (familiar) was then placed in the test cage once again for a 5-min test session; the length of time spent by the adult in exploring the juvenile during this test session was defined as the second investigation duration. The time spent exploring the juvenile rats was measured manually by experimenters who were unaware of the treatments. The social memory for each adult rat was defined by determining the ratio of the duration of the second investigation to that of the first investigation (ratio of investigation duration, RID). Compound **19a** maleate was administered orally 4 h prior to the first investigation. Clozapine or risperidone was administered orally 60 min prior to the first investigation. Of note, **19a** hydrochloride was used to investigate the effect of **19a** on the social interaction itself by presenting an unfamiliar juvenile rat during the second investigation. In a preliminary study, we confirmed that both salt forms (maleate and hydrochloride) of **19a** exerted the same effects on the social recognition test when administered at the same doses.

Social recognition test (MK-801-induced memory impairment)⁴⁰⁾

Adult rats were trained in a social memory test to recall prior exposure to a conspecific juvenile as described above but with the following changes: the two 5-min investigation periods were separated by only 30 min, and MK-801 was administered i.p. to the adult rats 30 min prior to the first investigation. Compound **19a** maleate was administered orally 4 h prior to the first investigation. Under the same conditions, we previously observed that clozapine (0.3 and 1 mg/kg, i.p.), but not haloperidol (0.01– 0.1 mg/kg, i.p.), reversed MK-801-induced impairments in social recognition⁴⁰⁾. Of note, **19a** hydrochloride was also used to investigate the effect of **19a** on the social interaction itself by presenting an unfamiliar juvenile rat during the second investigation.

Sub-chronic treatment of PCP-reduced social interaction in mice^{41b)}

PCP (10 mg/kg) was subcutaneously (s.c.) administered to mice once daily for 12 consecutive days. The social interaction test was then conducted 2 days after the cessation of PCP treatment. The mice were allocated to a test pair based on weight. Both members of a pair were given the same drug treatment. The following behaviors were measured as social interaction: sniffing, following, social grooming, and crawling under and over the partner. The social interaction time was measured manually by experimenters who were unaware of the treatments. Compound **19a** maleate and risperidone were administered orally at 2 and 1 h, respectively, prior to the social interaction test, which was conducted for 10 min. For sub-chronic treatment, the mice were orally treated once daily with **19a** maleate for 8 days (on days 15–22), and the social interaction test was conducted on day 22.

Forced swimming test in rats⁴⁹⁾

Swimming sessions were conducted by placing the rats in cylinders containing 25 °C water 30-cm deep. Two sessions were conducted consisting of an initial 15-min pretest followed 24 h later by a 5-min test. The immobility time was measured manually by experimenters who were unaware of the treatments. Compound **19a** maleate was administered orally during the period between these two sessions (approximately 24 and 4 h prior to the test). Fluvoxamine was administered orally at approximately 24 and 1 h prior to the test.

Spontaneous locomotor activity in rats and mice⁴⁹⁾

Animals were placed individually in transparent acrylic cages (for rats, 47×28.5×29.5 cm; for mice, 30-cm diameter, 30-cm height), and spontaneous locomotor activity was recorded every 5 min for 1 h, using a SCANET apparatus (Neuroscience Inc, Japan) placed in a sound-proof box. For rats, **19a** maleate and clozapine were administered orally 4 and 1 h, respectively, before the start of the measurement. For mice, **19a**

hydrochloride and clozapine were orally administered 2 and 1 h, respectively, before the start of the measurement.

Rotarod performance in rats and mice⁴⁹⁾

The rotarod (Campdem Instruments, UK) consisted of a gritted plastic roller (3-cm diameter, 9-cm long) flanked by two large round plates to prevent the animal from escaping, and was run at 10 r.p.m. All the animals were given control trials before the test. An animal was placed on the roller, and the length of time it remained on the rod was measured. A maximum of 2 min was allowed for each animal. For rats, **19a** maleate and clozapine were administered orally at 4 and 1 h, respectively, before the start of the measurement. For mice, **19a** hydrochloride and clozapine were orally administered at 2 and 1 h, respectively, before the start of the measurement.

Induction of catalepsy in rats

The animals were placed individually in transparent acrylic cages (36×30×17 cm) and were allowed a minimum of 1 h to acclimatize to their new environments. Compound **19a** maleate or risperidone was then orally administered, and catalepsy was measured at 1, 1.5, 2, 3, 4, and 5 h after administration.

参考文献

1. (a) 厚生労働省, みんなのメンタルヘルス総合サイト“統合失調症”,
http://www.mhlw.go.jp/kokoro/know/disease_into.html
(b) 精神医学講座担当者会議監修, 佐藤光源, 丹羽真一, 井上新平編集, 統合失調症治療ガイドライン, 医学書院, 2008
(c) 松岡 洋夫, 精神経誌, 109, 189-194 (2007)
2. 日本神経精神薬理学会編集, 統合失調症薬物治療ガイドライン, 医学書院, 2016
3. Meltzer H. Y., McGurk S. R., *Schizophrenia Bull.*, 25, 233-255 (1999)
4. (a) Meltzer H. Y., Stahl M. S., *Schizophrenia Bull.*, 2, 19-76 (1976)
(b) Howes O. D., Kapur S., *Schizophrenia Bull.*, 35, 549-562 (2009)
5. 渡邊裕美, 日薬理誌, 136, 133-136 (2010)
6. Kim J.S., Kornhuber H.H., Schmid-Burgk W., Holzmüller B., *Neurosci Lett.*, 20, 379-82 (1980)
7. (a) Allen R. M., Young S. J., *Am. J. Psychiatry*, 135, 1081-1084 (1978)
(b) Krystal J. H., Karper L. P., Seibyl J. P., Freeman G. K., Delancy R., Bremner J. D., Heninger G. R., Bowers M. B. Jr, Charney D. S., *Arch. Gen. Psychiatry*, 51, 199-214 (1994)
8. (a) 日吉哲明, 茶木茂之, 奥山茂, 日薬理誌, 140, 111-115 (2012)
(b) 中藤和博, 原田勝也, 戸部貴彦, 山路隆之, 高倉昭治, 日薬理誌, 136, 128-132 (2010)
(c) 西川 徹, 精神経誌, 111, 859-867 (2009)
9. Olney J. W., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 30, 47-71 (1990)
10. Millan M. J., *Psychopharmacology*, 179, 30-53 (2005)
11. Heresco-Levy U., Ermilv M., Lichtenberg P., Bar G., Javitt D. C., *Biol. Psychiatry*, 55, 165-171 (2004)
12. (a) Hashimoto K., *The Open Med. Chem. J.*, 4, 10-19 (2010)
(b) Chue P., *Curr. Pharm. Des.*, 19, 1311-1320 (2013)

13. Harvey R. J., Yee B. K., *Nat. Rev. Drug Discov.*, 12, 866-885 (2013)
14. Porter R. A., Dawson L. A., *Topics in Medicinal Chemistry*, 13, 51-99 (2015)
15. Tsai G., Lane H. Y., Yang P., Chong M. Y., Lange N., *Biol. Psychiatry*, 55, 452-456 (2004)
16. Atkinson B. N., Bell S. C., De Vivo M., Kowalski L. R., Lechner S. M., Ognyanov V. I., Tham C. S., Tsai C., Jia J., Ashton D., Klitenick M. A., *Mol. Pharmacol.*, 60, 1414-1420 (2001)
17. Lowe J.A. 3rd, Drozda S.E., Fisher K., Strick C., Lebel L., Schmidt C., Hiller D., Zandi K.S., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13, 1291-1292 (2003)
18. Molander A., Lidö H. H., Löf E., Ericson M., Söderpalm B., *Alcohol and Alcoholism*, 42, 11-18 (2007)
19. (a) Perry K. W., Falcone J. F., Fell M. J., Ryder J. W., Yu H., Love P. L., Katner J., Gordon K. D., Wade M. R., Man T., Nomikos G. G., Phebus L. A., Cauvin A. J., Johnson K. W., Jones C. K., Hoffmann B. J., Sandusky G. E., Walter M. W., Porter W. J., Yang L., Merchant K. M., Shannon H. E., Svensson K. A., *Neuropharmacology*, 55, 743–754 (2008)
- (b) Harsing L. G. Jr., Juranyi Z., Gacsalyi I., Tapolcsanyi P., Czompa A., Matyus P., *Curr. Med. Chem.*, 13, 14017-1044 (2006)
20. Depoortère R., Dargazanli G., Estenne-Bouhtou G., Coste A., Lanneau C., Desvignes C., Poncelet M., Heaulme M., Santucci V., Decobert M., Cudennec A., Voltz C., Boulay D., Terranova J. P., Stemmelin J., Roger P., Marabout B., Sevrin M., Vigé X., Biton B., Steinberg R., Françon D., Alonso R., Avenet P., Oury-Donat F., Perrault G., Griebel G., George P., Soubrié P., Scatton B., *Neuropsychopharmacology*, 30, 1963–1985 (2005)
21. Lowe J. A. 3rd, Hou X., Schmidt C., David Tingley F. III, McHardy S., Kalman M., DeNinno S., Sanner M., Ward K., Lebel L., Tunucci D., Valentine J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, 2974–2976 (2009)
22. Blackaby W. P., Lewis R. T., Thomson J. L., Jennings A. S., Goodacre S. C., Street L.

- J., MacLeod A. M., Pike A., Wood S., Thomas S., Brown T. A., Smith A., Pillai G., Almond S., Guscott M. R., Burns H. D., Eng W., Ryan C., Cook J., Hamill T. G., *ACS Med. Chem. Lett.*, 1, 350–354 (2010)
23. Pinard E., Alanine A., Alberati D., Bender M., Borroni E., Bourdeaux P., Brom V., Burner S., Fischer H., Hainzl D., Halm R., Hauser N., Jolidon S., Lengyel J., Marty H. P., Meyer T., Moreau J. L., Mory R., Narquizian R., Nettekoven M., Norcross R. D., Puellmann B., Schmid P., Schmitt S., Stalder H., Wermuth R., Wettstein J. G., Zimmerli D., *J. Med. Chem.*, 53, 4603–4614 (2010)
24. Umbricht D., Alberati D., Martin-Facklam M., Borroni E., Youssef E. A., Ostland M., Wallace T. L., Knoflach F., Dorflinger E., Wettstein J. G., Bausch A., Garibaldi G., Santarelli L., *JAMA Psychiatry*, 71, 637-646 (2014)
25. Wager T. T., Hou X., Verhoest P. R., Villalobos A., *ACS Chem. Neurosci.*, 1, 435-449 (2010)
26. (a) Lindsley C. W., Zhao Z., Leister W. H., O'Brien J., Lemaire W., Williams D. L. Jr., Chen T. B., Chang R. S., Burno M., Jacobson M. A., Sur C., Kinney G. G., Pettibone D. J., Tiller P. R., Smith S., Tsou N. N., Duggan M. E., Conn P. J., Hartman G. D., *ChemMedChem*, 1, 807-811 (2006)
- (b) Zhao Z., O'Brien J. A., Lemaire W., Williams D. L. Jr., Jacobson M. A., Sur C., Pettibone D. J., Tiller P. R., Smith S., Hartman G. D., Wolkenberg S. E., Lindsley C. W., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16, 5968-5972 (2006)
- (c) Zhao Z., Leister W. H., O'Brien J. A., Lemaire W., Williams D. L. Jr., Jacobson M. A., Sur C., Kinney G. G., Pettibone D. J., Tiller P. R., Smith S., Hartman G. D., Lindsley C. W., Wolkenberg S. E., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, 1488-1491 (2009)
- (d) Wolkenberg S. E., Zhao Z., Wisnoski D. D., Leister W. H., O'Brien J., Lemaire W., Williams D. L. Jr., Jacobson M. A., Sur C., Kinney G. G., Pettibone D. J., Tiller P. R., Smith S., Gibson C., Ma B. K., Polsky-Fisher S. L., Lindsley C. W., Hartman G. D., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 19, 1492-1495 (2009)
27. (a) Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, San

Diego: Dassault Systèmes

- (b) Sakikiah S., Thangapandian S., John S., Lee K.W., *Eur. J. Med. Chem.*, 46, 2937-2947 (2011)
- (c) Tanneeru K., Guruprasad L., *J. Mol. Model.*, 18, 1611-1624 (2012)
28. Okamoto N., Hara O., Makino K., Hamada Y., *J. Org. Chem.*, 67, 9210-9215 (2002)
29. Dieter R. K., Deo N., Lagu B., Dieter J. W., *J. Org. Chem.*, 57, 1663-1671 (1992)
30. Ishiyama T., Itoh Y., Kitano T., Miyaura N., *Tetrahedron Lett.*, 38, 3447-3450 (1997)
31. Smith K. E., Borden L. A., Hartig P. R., Branchek T., Weinshank R. L., *Neuron*, 8, 927-935 (1992)
32. Clog P value was calculated by software of Daylight Chemical Information Systems, Inc.
33. Johnson K. W., Clemens-Smith A., Nomikos G., Davis R., Phebus L., Shannon H., Love P., Perry K., Katner J., Bymaster F., Yu H., Hoffman B. J., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1003, 412-414 (2003)
34. (a) Walter W. P., *Expert Opin. Drug Discov.*, 7, 99-107 (2012)
- (b) Meanwell N. A., *Chem. Res. Toxicol.*, 29, 564-616 (2016)
35. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 3-25 (1997)
36. Bickerton G. R., Paolini G. V., Besnard J., Muresan S., Hopkins A.L., *Nat. Chem.*, 90-98 (2012)
37. Lowe J. A. 3rd, Deninno S. L., Drozda S. E., Schmidt C. J., Ward K. M., David Tingley F. 3rd, Sanner M., Tunucci D., Valentine J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20, 907-911 (2010)
38. Charifson P. S., Walters W. P., *J. Med. Chem.*, 57, 9701-9717 (2014)
39. (a) Karasawa J., Hashimoto K., Chaki S., *Behav. Brain Res.*, 186, 78-83 (2008)
- (b) Horiguchi M1, Huang M, Meltzer HY, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 338, 605-614 (2011)
40. Shimazaki T., Kaku A., Chaki S., *Psychopharmacology*, 209, 263-270 (2010)

41. (a) Qiao H., Noda Y., Kamei H., Nagai T., Furukawa H., Miura H., Kayukawa Y., Ohta T., Nabeshima T., *Neuroreport*, 22, 11-15 (2001)
- (b) Wang D1, Noda Y, Zhou Y, Nitta A, Furukawa H, Nabeshima T., *Neuropharmacology*, 52, 1179-1187 (2007)
42. (a) Harsing L. G. Jr., Gacsalyi I., Szabo G., Schmidt E., Sziray N., Sebban C., Tesolin-Decros B., Matyus P., Egyed A., Spedding M., Levay G., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 74, 811-825. (2003)
- (b) Black M. D., Varty G. B., Arad M., Barak S., De Levie A., Boulay D., Pichat P., Griebel G., Weiner I., *Psychopharmacology*, 202, 385-396 (2009)
43. (a) Gururajan A., Taylor D. A., Malone D. T., *Behav. Pharmacol.*, 21, 690-709 (2010)
- (b) Sams-Dodd F., *Behav. Pharmacol.*, 7, 3-23 (1996)
44. Dehmlow H., Aebi J. D., Jolidon S., Ji Y. H., von der Mark E. M., Himber J., Morand O. H., *J. Med. Chem.*, 46, 3354-3370 (2003)
45. Kantchev E. A., O'Brien C. J., Organ M. G., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46, 2768–2813 (2007).
46. Iida T., Wada T., Tomimoto K., Mase T., *Tetrahedron Lett.*, 42, 4841–4844 (2001)
47. Young A. B., Snyder S. H., *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 70, 2832-2836 (1973)
48. Grimwood S., Moseley A. M., Carling R. W., Leeson P. D., Foster A. C., *Mol. Pharmacol.*, 41, 923-930 (1992)
49. Chaki S., Hirota S., Funakoshi T., Suzuki Y., Suetake S., Okubo T., Ishii T., Nakazato A., Okuyama S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 304, 818-826 (2003)

主論文目録

本学位論文内容は下記の発表論文による

1. Yamamoto S., Shibata T., Abe K., Oda K., Aoki T., Kawakita Y., Kawamoto H., Discovery of 3-chloro-*N*-{(*S*)-[3-(1-ethyl-1*H*-pyrazol-4-yl)phenyl][(2*S*)-piperidine-2-yl]methyl}-4-(trifluoromethyl)pyridine-2-carboxamide as a potent glycine transporter 1 inhibitor, *Chem. Pharm. Bull.* 64, 1321–1337 (2016)
2. Yamamoto S., Ohta H., Abe K., Kambe D., Tsukiyama N., Kawakita Y., Moriya M., Yasuhara A., Identification of 1-methyl-*N*-(propan-2-yl)-*N*-{(2-[4-(trifluoromethoxy)phenyl]pyridin-4-yl)methyl}-1*H*-imidazole-4-carboxamide as a potent and orally available glycine transporter 1 inhibitor, *Chem. Pharm. Bull.* 64, 1630–1640 (2016)
3. Chaki S., Shimazaki T., Karasawa J., Aoki T., Kaku A., Iijima M., Kambe D., Yamamoto S., Kawakita Y., Shibata T., Abe K., Okubo T., Sekiguchi Y., Okuyama S., Efficacy of a glycine transporter 1 inhibitor TASP0315003 in animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia, *Psychopharmacology*, 232, 2849-2861 (2015)

論文審査の主査および副査名

本学位論文の審査は千葉大学大学院薬学研究院で指名された下記の審査委員により行われた。

主査	千葉大学大学院教授（薬学研究院）	薬学博士	西田 篤司
副査	千葉大学大学院教授（薬学研究院）	薬学博士	高山 廣光
副査	千葉大学大学院教授（薬学研究院）	薬学博士	荒野 泰
副査	千葉大学大学院教授（薬学研究院）	理学博士	石橋 正己
副査	千葉大学大学院教授（薬学研究院）	薬学博士	根本 哲宏