

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2011年5月5日(05.05.2011)



(10) 国際公開番号
WO 2011/052759 A1

- (51) 国際特許分類:
C07D 211/44 (2006.01) C07D 211/34 (2006.01)
A61K 31/438 (2006.01) C07D 221/20 (2006.01)
A61K 31/45 (2006.01) C07D 487/20 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01) C07D 491/20 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01) C07D 495/20 (2006.01)
C07D 211/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/069385
- (22) 国際出願日: 2010年10月29日(29.10.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
61/256,184 2009年10月29日(29.10.2009) US
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人九州大学 (Kyushu University, National University Corporation) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 Fukuoka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 内海英雄 (UTSUMI, Hideo) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 酒井浄 (SAKAI, Kiyoshi) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 山田健一 (YAMADA, Kenichi) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP).
- (74) 代理人: 矢口太郎, 外(YAGUCHI, Taro et al.); 〒1020082 東京都千代田区一番町2-2-1 一番町セントラルビル8階 恵泉国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))



WO 2011/052759 A1

(54) Title: NOVEL NITROXYL RADICAL COMPOUND AND PROCESS FOR PRODUCTION THEREOF

(54) 発明の名称: 新規ニトロキシラジカル化合物及びその製造方法

(57) Abstract: Disclosed are: a process for producing a novel nitroxyl radical; and the compound. The nitroxyl radical produced by the process has a therapeutic effect on gastric ulcer and hypertension.

(57) 要約: 【解決手段】 本発明は、新規なニトロキシラジカルの製造方法ならびにその化合物に関する。さらに、本願製造方法により得られるニトロキシラジカルは、胃潰瘍及び高血圧症に対して治療効果を有するものである。

明 細 書

発明の名称：新規ニトロキシラジカル化合物及びその製造方法 技術分野

- [0001] 本出願は、2009年10月29日付願の米国仮出願第61/256,184号に対して優先権を主張するものであり、前記仮出願の開示内容はすべて、本願発明に組み込まれるものである。
- [0002] 本発明は、2,6位置換ピペリジン系ニトロキシラジカル及びその新規合成法に関する。

背景技術

- [0003] ニトロキシラジカルは、比較的安定なラジカルとして知られているが、種々の活性酸素や酸化還元物質に対して鋭敏に反応することから、フリーラジカルが関与する様々な疾患に対するニトロキシラジカルの効果が期待されている。
- [0004] フリーラジカルが関与する疾患は、疾患の原因となるフリーラジカル種が異なるため、特定の疾患に特異的に働く有効なラジカル補足種が望まれている。これまでの研究により、ニトロキシラジカルの基本骨格や側鎖の違いにより、その反応性が異なることが知られている (F. Vianello, et al., Kinetics of nitroxide spin label removal in biological systems: An in vitro and in vivo ESR study. Magn Reson Imag, 1995. 13 (2) : 219-226. ; W. R. Couet, et al., Influence of chemical structure of nitroxyl spin labels on their reduction by ascorbic acid. Tetrahedron, 1985. 41 (7) : 1165-1172. ; K. Takeshita, et al., Kinetic study on ESR signal deca

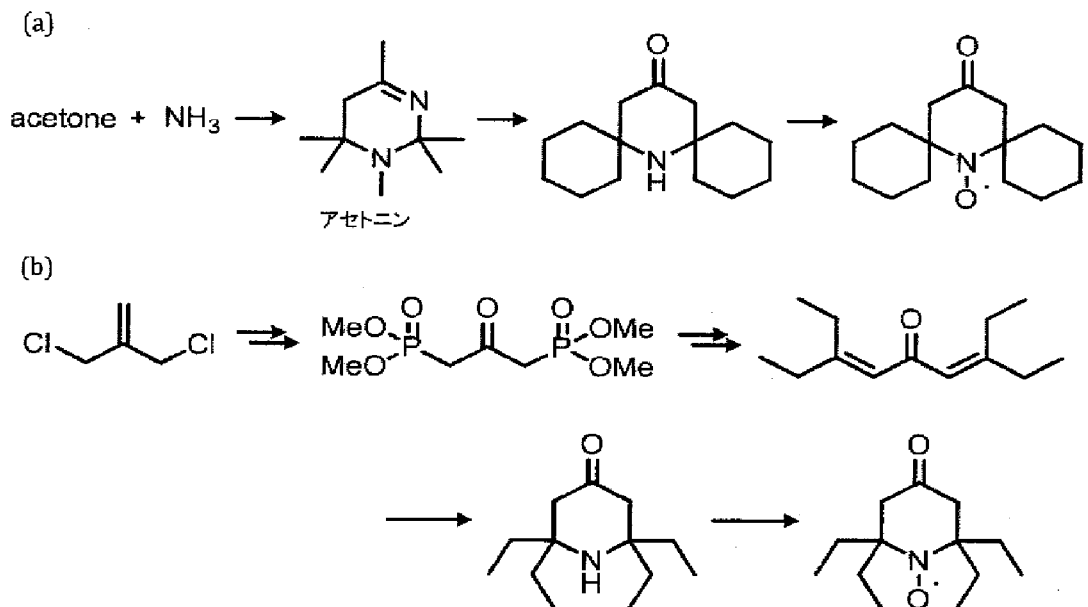
y of nitroxyl radicals, potent redox probes for in vivo ESR spectroscopy, caused by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta*, 2002. 1573 (2) : 156-64.)。例えば、ニトロキシルラジカルは、細胞内で、アスコルビン酸やチオール（金属が触媒する反応）、ミトコンドリア呼吸鎖、NADPH、シトクロムP450などと反応することが報告され、アポトーシスの誘発や、シトクロムP450を介したH₂O₂の産生などが細胞毒性の原因となっていると報告されている。一方、テトラエチル基を有するニトロキシルラジカルは、アスコルビン酸との反応性が顕著に低下していることが報告されている。

- [0005] 近年、イソインドリン骨格のニトロキシルラジカルの α 位の置換基をエチル基にすることによって、TEMPOと比較して、*p*-フェニレンジアミン (N. Kocherginsky and H. M. Swartz, *Chemical reactivity of nitroxides, in Nitroxide Spin Labels: Reactions in Biology and Chemistry*, N. Kocherginsky and H. M. Swartz, Editors. 1995, CRC Press: Boca Raton. p. 27-66.) やアスコルビン酸 (L. Marx, et al., *A comparative study of the reduction by ascorbate of 1, 1, 3, 3-tetraethylisoindolin-2-yloxy and of 1, 1, 3, 3-tetramethylisoindolin-2-yloxy*. *J Chem Soc, Perkin Trans 1*, 2000: 1181.) による還元に対して抵抗性が増すことが報告されている。また、イミダゾール骨格のニトロキシルラジカルの α 位の炭素をエチル基に置換したものが、アスコルビン酸に対して還元抵抗性を示すことが報告されている (A. A. Bobko, et

al., Reversible reduction of nitroxides to hydroxylamines: roles for ascorbate and glutathione. Free Radic Biol Med, 2007, 42 (3) : 404-12.)。このように、ニトロキシラジカルのα位の置換基を変えることによって、様々な物質に対する反応性を制御できると考えられる。

[0006] 2, 6 位置換ニトロキシラジカルの従来の合成法を下記に示す。

[0007] [化1]



これまでに報告された2,6位置換ピペリジン系ニトロキシラジカル
 (a)7-Aza-15-oxodispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (b)2,2,6,6-Tetraethylpiperidin-4-one-1-oxyl

[0008] 図に示すように、従来法は、反応ステップが多く煩雑であり、そのため2, 6 位置換ニトロキシラジカルの収率が非常に低いという課題が挙げられる。この課題を解決するために、簡便かつ高収率で2, 6 位に様々な置換基を導入するニトロキシラジカルの合成法の開発が望まれている。

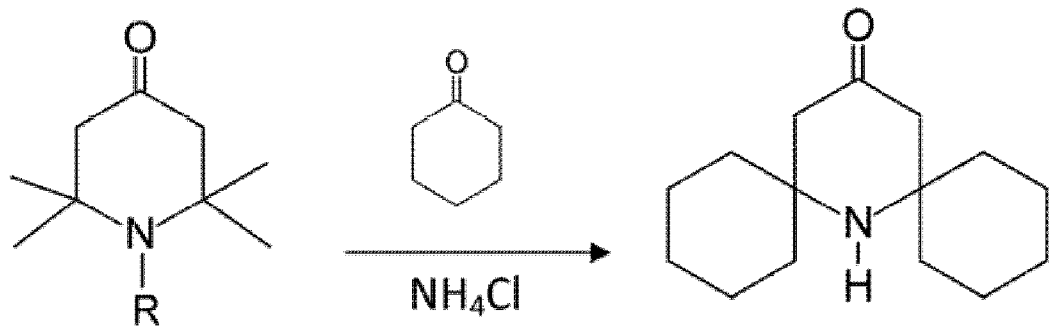
[0009] また、当該発明者により開発されたニトロキシラジカルの製造方法が、国際特許公開第WO2008/093881号に開示されており、本特許出願は、この参照により本願明細書に組み込まれるものである。

発明の概要

課題を解決するための手段

- [0010] 発明者らは、上記課題を解決するために、様々な検討を重ねた結果、2, 6位置換ピペリジン系ニトロキシラジカルの簡便且つ高収率合成方法を開発した。さらに、当該製造方法により得られたニトロキシラジカルの有効性を検討したところ、アジュバンド関節炎モデルラットにおける胃粘膜損傷抑制効果、並びに血圧降下作用を有することが明らかとなった。
- [0011] 当該発明方法によると、1, 2, 2, 6, 6-ペンタアルキルピペリジン-4-オンを出発原料として、アンモニウム塩の存在下、カルボニル化合物を反応させると、2及び6位が置換されたピペリドンが生成され、更に、この化合物を酸化することにより、2及び6位が置換されたニトロキシラジカルが得られる。
- [0012] 本願発明の特徴としては、窒素原子上にメチル基などのアルキル基を有する、2, 6置換ピペリジンを用いることである。窒素上にメチル基を有する1, 2, 2, 6, 6-ペンタメチルピペリジン-4-オンを用いた場合、2, 2, 6, 6-テトラメチルピペリジン-4-オンと比べて、顕著な収率の上昇並びに反応促進効果が見られた。従って、当該反応は、窒素上にメチル基などのアルキル基が置換されているピペリジン化合物を出発物質として用いることが最も重要である。
- [0013]

[表1]



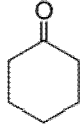
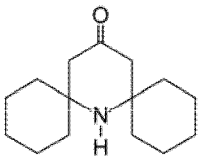
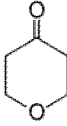
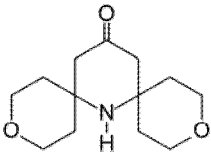
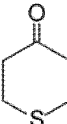
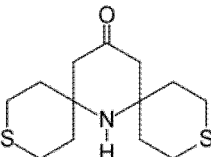
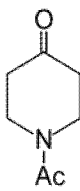
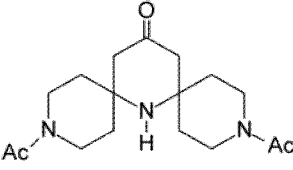
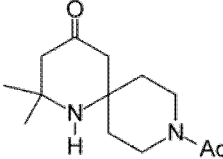

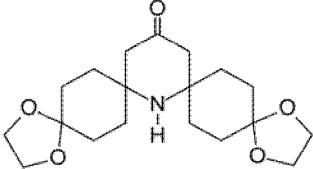
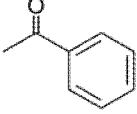
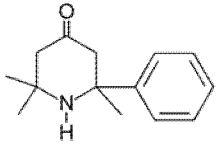
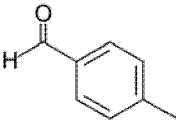
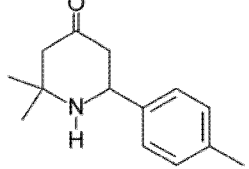
R	収率 (%)	反応時間 (hr)
H (1)	16	15~20
CH ₃ (2)	34	5

[0014] 本願製造方法に使用される前記ケトンとしては、例えば、シクロヘキサノン、ピラン環、チオピラン環、アセトアミノフェンなどの環状・鎖状カルボニル化合物やベンズアルデヒドなどが用いられる。

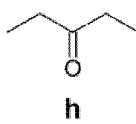
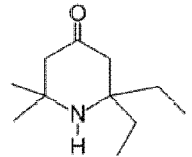
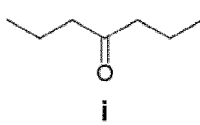
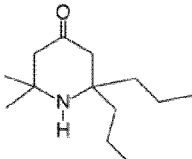
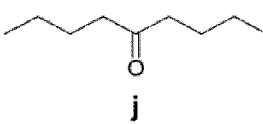
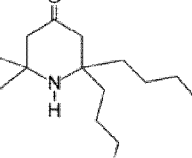
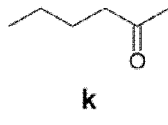
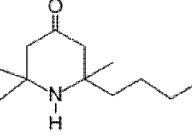
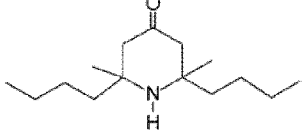
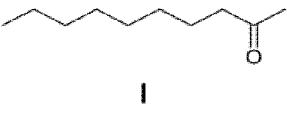
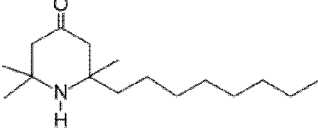
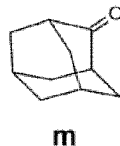
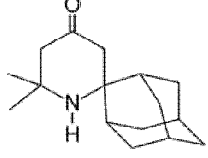
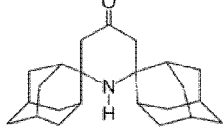
[0015] 具体的なカルボニル化合物と対応する生成物（ピペリドン）を表2に示す。

[0016]

[表2-1]

カルボニル化合物	生成物	収率 (%)
 a	 3a	34
 b	 3b	32
 c	 3c	30
 d	 3d	21
	 47	47
 e	 3e	32
 f	 3f	16
 g	 3g	10

[0017] [表2-2]

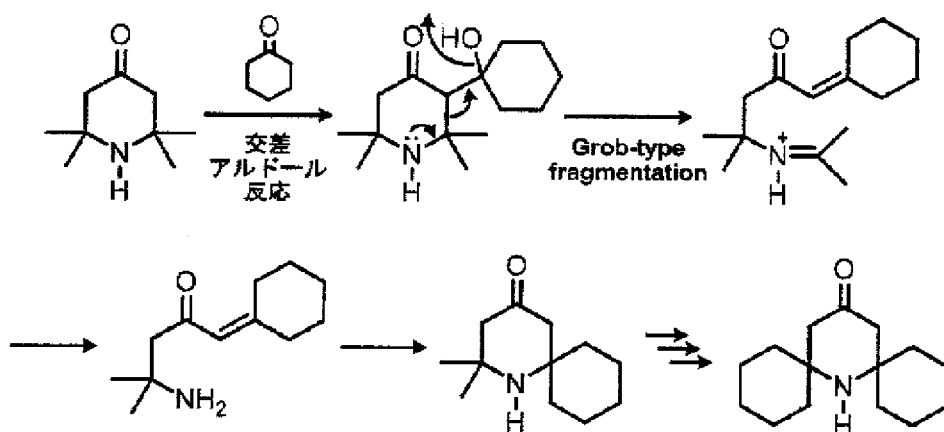
カルボニル化合物	生成物	収率 (%)
 h	 3h	1
 i	 3i	17
 j	 3j	4
 k	 3k	12
	 3k'	4
 l	 3l	
 m	 3m	18
	 3m'	0.62

[0018] 上記表から明らかなように、環状構造を有するカルボニル化合物と、直鎖状カルボニル化合物では、ピロリドン生成物に対して異なる選択性が見られる。つまり、環構造を有するカルボニル化合物を原料として用いた場合、二

置換体が主生成物として得られるのに対して、直鎖状のカルボニル化合物を原料として用いた場合には、一置換体が主生成物として得られる。また、フェニル基をもつカルボニル化合物の場合では、一置換体が選択的に得られる。さらに、2-アダマンタノンカルボニル化合物として用いた場合、一置換体と二置換体の両方が得られる。

[0019] 上述したように、ケトンの立体構造により、ピペリドン誘導体生成物に対する一置換体及び二置換体の選択性が異なること、並びに、 NH_4Cl を ^{15}N H_4Cl に変えてTEMPONEを出発物質に用いて当該発明を行うと、 $[^{15}\text{N}]$ TEMPONEが得られることなどから、以下のスキームで示される反応機構が推測される。

[0020] [化2]



[0021] 当該発明の製造方法において、ピペリドン誘導体の生成工程において用いられる塩基は、塩化アンモニウムが使用されるが、これに限られるものではない。

[0022] また、塩化アンモニウムと共に、水酸化セシウム (CsOH)、又はベンジルトリメチルアンモニウムヒドロキシド (トリトンB) を用いた場合、収率の向上が見られる。

[0023] ピペリドン誘導体からニトロキシラジカル誘導体への酸化は、一般に、タングステン触媒と過酸化水素が用いられるが、これに限られるものではない。2, 6位アダマンタン置換ニトロキシラジカルへの酸化には、MCPB

Aが用いられる。

[0024] 当該発明の製造方法により得られるニトロキシラジカル誘導体を、10 mM PB (pH 7.4) に溶解し (50 μ M)、室温下測定することで、ESRパラメーターを算出した。ただし、溶解性の点から、12は0.5% EtOHを含む。結果を下記表に示した。

[0025]

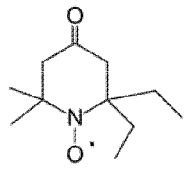
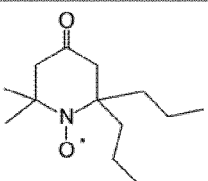
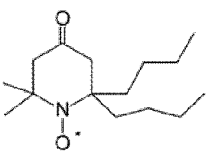
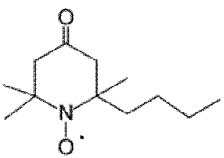
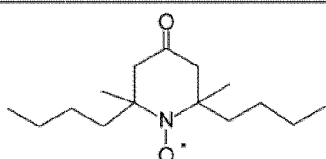
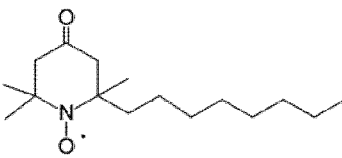
[表3-1]

2,6 位置置換ピペリジン系ニトロキシルラジカルの ESR パラメータ

	ニトロキシル ラジカル	g 値	Hfc(mT)	線幅 (μT)
TEMPONE		2.0063 ±2.08×10 ⁻⁵	1.418 ±4.33×10 ⁻³	36.66 ±0.397
4a		2.0062 ±0.42×10 ⁻⁵	1.407 ±5.60×10 ⁻³	301.96 ±2.123
4b		2.0063 ±2.02×10 ⁻⁵	1.364 ±3.23×10 ⁻³	282.59 ±1.239
4c		2.0065 ±1.81×10 ⁻⁵	1.295 ±2.56×10 ⁻³	291.10 ±1.253
4d		2.0064 ±1.22×10 ⁻⁵	1.359 ±0.71×10 ⁻³	219.93 ±1.526
4e		2.0063 ±2.93×10 ⁻⁵	1.374 ±3.07×10 ⁻³	292.72 ±1.642
4e'		2.0064 ±0.64×10 ⁻⁵	1.351 ±0.71×10 ⁻³	216.47 ±0.462
4g		2.0063 ±2.09×10 ⁻⁵	1.390 ±0	99.02 ±0.763

[0026]

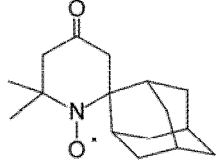
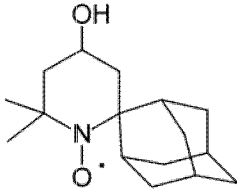
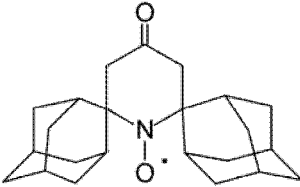
[表3-2]

	ニトロキシル ラジカル	g 値	Hfc(mT)	線幅 (μT)
2		2.0060 ±0.29×10 ⁻³	1.465 ±0.71×10 ⁻³	111.43 ±1.73
4		2.0057 ±2.31×10 ⁻⁶	1.575 ±5.77×10 ⁻⁴	103.96 ±1.26
6		2.0057 ±1.37×10 ⁻⁵	1.575 ±1.57×10 ⁻³	107.87 ±3.05
8		2.0056 ±9.29×10 ⁻⁶	1.598 ±0	95.68 ±2.74
10		2.0057 ±5.77×10 ⁻⁶	1.591 ±6.08×10 ⁻⁴	127.01 ±0.81
12		2.0057 ±5.77×10 ⁻⁶	1.596 ±5.77×10 ⁻⁴	95.65 ±0.92

*12 は 100% EtOH に溶解させて測定した

[0027]

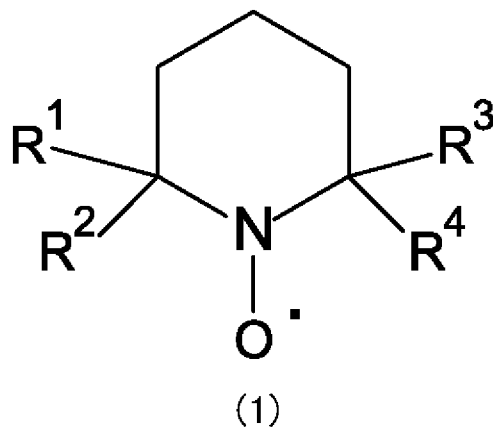
[表3-3]

	ニトロキシラジカル	g 値	Hfc(mT)
14		2.0057 $\pm 5.77 \times 10^{-6}$	1.644 $\pm 6.44 \times 10^{-3}$
15		2.0056 $\pm 5.77 \times 10^{-6}$	1.720 $\pm 5.77 \times 10^{-4}$
17		2.0065 $\pm 4.62 \times 10^{-5}$	1.786 $\pm 6.00 \times 10^{-3}$

*14, 15 は 0.5%EtOH PB, 17 は 100% EtOH に溶解させて測定した。

[0028] 本発明の一実施形態によると、当該発明は、化学式 1 で示されるニトロキシラジカル化合物の製造方法であって、

[化3]



式中、

$R^1 \sim R^4$ は、独立して、 $C_1 \sim C_{10}$ のアルキルであるか、或いは、 R^1 及び R^2 、又は R^3 及び R^4 が共に結合して、 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n O (CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n SO_2 (CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n NX (CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n$

CY (CH₂)_n、

Xは、CH₃CO、CF₃CO、又はR¹COであり、

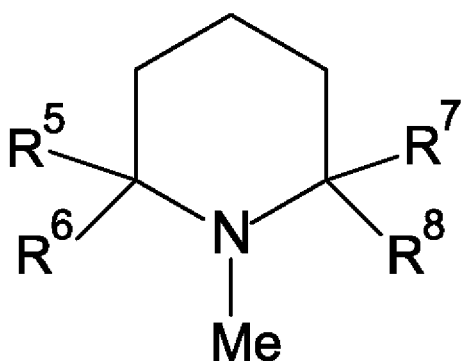
Yは、酸素(=O)、(OCH₂)_nであり、

nは2～4の整数であり、

当該方法は、

化学式2で示される化合物であって、

[化4]



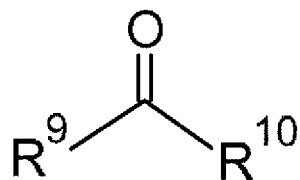
(2)

[0029] 式中、

R⁵～R⁸は、独立して、C₁～C₂₀のアルキルである、化学式2で示される化合物と、

化学式3で示される化合物であって、

[化5]



(3)

[0030] 式中、

R¹～R⁴は、独立して、C₁～C₁₀のアルキル、R¹及びR²、又はR³及びR⁴が共に結合して、(CH₂)_n、(CH₂)_nO(CH₂)_n、(CH₂)_nS

$(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{NX}(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{CY}(\text{CH}_2)_n$ 、

Xは、 CH_3CO 、 CF_3CO 、又は R^1CO であり、

Yは、酸素(=O)、 $(\text{OCH}_2)_n$ であり、

nは2~4の整数である、化学式3で示される化合物と

をアンモニウム塩の存在下にて反応させることにより、2, 6置換-4-ピペリドン誘導体を生成させる工程と、

前記2, 6置換-4-ピペリドン誘導体を酸化させる工程と、

を有する、前記ニトロキシラジカル化合物の製造方法が提供される。

[0031] また、本発明に係る他の一実施形態によれば、上記製造方法によって製造された化合物が提供される。この場合、この化合物は、胃粘膜損傷(胃潰瘍)又は高血圧の治療に使用されることができる。

[0032] さらに、本発明に係る別の一実施形態によれば、上記化合物と薬学的に許容可能な担体とを有する医薬組成物が提供される。

[0033] また、本発明に係る他の一実施形態によれば、胃粘膜損傷(胃潰瘍)を治療する方法であって、この方法は、上記化合物を対象に投与する工程を含むものである方法、並びに高血圧を治療する方法であって、この方法は、上記化合物を対象に投与する工程を含むものである方法が提供される。この場合、当該2つの方法において、前記化合物は、約0.0001~4g/日の量で投与されることが好ましい。さらに、胃粘膜損傷(胃潰瘍)を治療する際に、当該化合物が18mMである場合、90 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ の用量で投与されることができる。

図面の簡単な説明

[0034] [図1] 図1は、本発明の一実施形態に係るニトロキシラジカル化合物の細胞毒性の評価を示すグラフである。

[図2] 図2は、本発明の一実施形態に係るニトロキシラジカル化合物の胃粘膜に与える影響を示すグラフである。

[図3] 図3は、本発明の一実施形態に係るニトロキシラジカル化合物の血圧変動に及ぼす影響を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0035] 以下に、実施例を用いて本発明について説明するが、本発明は、これらに限定されるものではないことが理解される。

[0036] 試薬はSigma-Aldrich、和光純薬工業株式会社より購入し、精製せず用いた。融点は微量融点測定装置MP-500P (Yanaco) を用いて測定した。質量分析はJMS-600H (JEOL) にて測定し、3-ニトロベンジルアルコールをマトリックスとして用いた。IRスペクトルはFT/IR-4200 (JASCO) を用い、溶液法または全反射法にて測定した。¹H-NMRはUnity INOVA 400 (Varian) を用いて測定し、標準物質としてtetramethylsilane (TMS) を用いた。化学シフト (δ) はTMS (0 ppm) を基準とし、カップリング定数はHz単位で示した。元素分析は九州大学理学部中央元素分析所に測定を依頼した。

実施例 1

[0037] 7-Azadispiro [5. 1. 5. 3] hexadecan-15-one (3a)

方法A

2, 2, 6, 6-テトラメチルピペリジン-4-オン (1) 1.55 g (10 mmol) とシクロヘキサノン (a) 2.94 g (30 mmol) をDMSO 15 ml に溶解し、NH₄Cl 3.21 g (60 mmol) を室温下で加えた。この溶液を60°Cで20時間攪拌した。水を40 mL 加え希釈し、7%塩酸水溶液で酸性にした。これを、エーテルで洗浄し、水層を10%K₂CO₃水溶液でアルカリ性にした。さらに、これを酢酸エチルで抽出し、水洗を行い、有機層を硫酸ナトリウム乾燥し、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン、酢酸エチル) で精製し、再結晶を行い白色結晶376 mg (収率: 16%) を得た。

[0038] 方法B

1, 2, 2, 6, 6-ペンタメチルピペリジン-4-オン (2) 1.69

g (10 mmol) とシクロヘキサノン (a) 2.94 g (30 mmol) を DMSO 15 mL に溶解し、 NH_4Cl 3.21 g (60 mmol) を室温下で加えた。この溶液を 60°C で 5 時間攪拌した。水を 40 mL 加え希釈し、7% 塩酸水溶液で酸性にした。これを、エーテルで洗浄し、水層を 10% K_2CO_3 水溶液でアルカリ性にした。さらに、これを酢酸エチルで抽出し、水洗を行い、有機層を硫酸ナトリウム乾燥し、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン、酢酸エチル) で精製し、再結晶を行い白色結晶 799 mg (収率: 34%) を得た。

mp: 103°C (hexane-EtOAc, lit. mp $101-103^\circ\text{C}$ [19]);

MS (FAB⁺): 236.3 (M⁺⁺1);

$\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 1689 (C=O);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3) δ (ppm): 1.36–1.46 (8H, m), 1.47–1.56 (8H, m), 1.68–1.71 (4H, m), 2.31 (4H, s);

Found: C, 76.51; H, 10.68; N, 5.93%. Calc. for $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}$: C, 76.55; H, 10.71; N, 5.95%.

実施例 2

[0039] 7-Aza-3,11-dioxadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3b)

方法Bに従って、シクロヘキサノン (a) をテトラヒドロ-4H-ピラン-4-オン (b) 3.00 g (30 mmol) に変えて行った。得られた結晶は Hexane-EtOAc から再結晶した。

収率: 32%;

mp: 167°C ;

MS (FAB⁺): 240.1 (M⁺⁺1);

$\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 1692 (C=O);

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz; CDCl_3) δ (ppm) : 1.64 (8H, t, $J=5.6\text{ Hz}$), 2.40 (4H, s), 3.54–3.60 (4H, m), 3.81–3.87 (4H, m);

Found: C, 65.17; H, 8.85; N, 5.86%. Calc. for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_3$: C, 65.25; H, 8.84; N, 5.85%.

実施例 3

[0040] 7-Aza-3,11-dithiadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3c)

方法Bに従ってシクロヘキサノン (a) をテトラヒドロ-4H-チオピラン-4-オン (c) 3.49 g (30mmol) に変えて行った。

収率: 30%;

mp: 155–157°C (EtOAc);

MS (FAB⁺): 272.2 (M⁺⁺1);

ν_{max} /cm⁻¹: 1697 (C=O);

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz; CDCl_3) δ (ppm) : 0.8 (1s, br s), 1.75–1.90 (8H, m), 2.27 (4H, s), 2.43–2.50 (4H, m), 2.88–2.95 (4H, m);

Found: C, 57.54; H, 7.78; N, 5.11%. Calc. for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NOS}_2$: C, 57.52; H, 7.80; N, 5.16%

実施例 4

[0041] 3,11-Diacetyl-3,7,11-trithiadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3d)
9-Acetyl-2,2-dimethyl-1,9-diazaspiro[5.5]undecan-4-one (3d')

方法Bと同様に1,2,2,6,6-ペンタメチルピペリジン-4-オン (2) 0.845 g (5mmol)、1-アセチル-4-ピペリドン (d) 2.12 g (15mmol)、 NH_4Cl 1.61 g (30mmol)

、DMSO 12 mLの混合物を58~62°Cで8時間加熱攪拌する。水40 mLで希釈し、7%塩酸水溶液で酸性にした後、エーテルで中性部分を抽出除去した。水層を10%K₂CO₃水溶液でpH 9~10に調整し、クロロホルムで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下、留去して得られた油状物質を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（1~5%MeOH/CHCl₃）で精製し、hexane-EtOAcから再結晶を行い、3d 328 mg、3d' 556 mgを得た。

3d ;

収率 : 21% ;

mp : 164. 2°C ;

MS (FAB⁺) : 322. 3 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1687 (C=O) , 1634 (N-Ac) ;

¹H-NMR (400MHz ; CDCl₃) δ (ppm) : 1. 58-1. 66 (8H, m) , 2. 08 (6H, s) , 2. 38 (4H, s) , 3. 37-3. 71 (8H, m) ;

Found : C, 62. 92 ; H, 8. 62 ; N, 12. 12%. Calc . for C₁₇H₂₇N₃O₃ : C, 63. 53 ; H, 8. 47 ; N, 13. 07%.

3d' ;

収率 : 47% ;

mp : 80. 4°C (hexane-EtOAc) ;

MS (FAB⁺) : 239. 2 (M⁺⁺1) ;

¹H-NMR (400MHz ; CDCl₃) δ (ppm) : 1. 21 (6H, d, J=13. 6 Hz) , 1. 50-1. 69 (4H, m) , 2. 05 (3H, s) , 2. 28 (4H, d, J=9. 2 Hz) , 3. 34-3. 78 (4H, m) ;

Found : C, 64. 86 ; H, 9. 28 ; N, 11. 67%. Calc . for C₁₃H₂₂N₂O₂ : C, 65. 51 ; H, 9. 30 ; N, 11. 7

5%.

実施例 5

[0042] 1, 4, 14, 17-Tetraoxa-9-azatetraspiro
o [4, 2, 1, 2, 4, 2, 3, 2] tetracosan-21-one
e (3e)

方法Bに従ってシクロヘキサノン (a) を1, 4-シクロヘキサンジオン
モノエチレンアセタール (e) 4. 69 g (30 mmol) に変えて行い、
Hexane-EtOAcから再結晶を行い3e 1. 12 gを得た。

収率：32%；

mp：190. 6°C；

MS (FAB⁺)：352. 4 (M⁺⁺1)。

$\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ：1699 (C=O), 1083 (-O-CH₂-CH₂-O-
-)

¹H-NMR (400MHz; CDCl₃) δ (ppm)：1. 56-1. 7
4 (12H, m), 1. 85-1. 92 (4H, m), 2. 32 (4H, s
) , 3. 93 (8H, t, J=2. 8Hz)；

Found：C, 64. 95；H, 8. 30；N, 4. 05%. Calc.
for C₁₉H₂₉NO₅：C, 64. 93；H, 8. 32；N, 3. 99%.

実施例 6

[0043] 2, 2, 6-Trimethyl-6-phenylpiperidin
-4-one (3f)

方法Bに従ってシクロヘキサノン (a) をアセトフェノン (f) 3. 6
0 g (30 mmol) に変えて行った。

収率：16%；

mp：109. 5°C (EtOAc)；

MS (FAB⁺)：218. 2 (M⁺⁺1)。

¹H-NMR (400MHz; CDCl₃) δ (ppm)：1. 20 (3H,
s), 1. 31 (3H, s), 2. 23-2. 50 (4H, m), 2. 34

(3H, s), 4.17–4.20 (1H, m), 7.11–7.33 (4H, m);

Found: C, 77.92; H, 8.78; N, 6.44%. Calc. for $C_{19}H_{29}NO_5$: C, 77.38; H, 8.81; N, 6.45%.

実施例 7

[0044] Methyl 3-(2,6,6-trimethyl-4-oxopiperidin-2-yl)propanoate (3g)

方法Bに従ってシクロヘキサノン(レブリン酸メチル(g))に変えて行った。この化合物は、二置換体との混合物が得られており、単離には至っていない。構造の同定は、3gを酸化して得られるMethyl 3-(2,6,6-trimethyl-4-oxopiperidin-1-oxyl-2-yl)propanoate(4g)で行った。

実施例 8

[0045] 2,2-Dimethyl-6-p-tolylpiperidin-4-one (3h)

方法Bに従ってシクロヘキサノン(a)をp-トルアルデヒド(h)3.60g(30mmol)に変えて行った。

収率: 10%;

mp: 109.5°C (hexane);

MS (FAB⁺): 218.2 (M⁺⁺1);

ν_{max}/cm^{-1} : 1693 (C=O);

¹H-NMR (500MHz; CDCl₃) δ (ppm): 1.20 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.53 (1H, brs), 2.25–2.50 (4H, m), 2.34 (3H, s), 4.18 (1H, dd, $J_1=11.5$ Hz, $J_2=3.5$ Hz), 7.16 (2H, d, $J=8.0$ Hz), 7.29 (2H, d, $J=8.0$ Hz);

Found: C, 77.55; H, 8.82; N, 6.53%. Calc. for $C_{14}H_{19}NO$: C, 77.38; H, 8.81; N, 6.45%.

実施例 9

[0046] 3, 11-Tri fluoro acetyl-3, 7, 11-tri th
i a di spi ro [5. 1. 5. 3] hex a de can-15-one
(3 i)

9-Tri fluoro acetyl-2, 2-di methyl-1, 9
-di aza spi ro [5. 5] un de can-4-one (3 i')

方法Bに従ってシクロヘキサノン (a) を1-トリフルオロアセチル-4
-ピペリドン (i) 5. 85 g (30 mmol) に変えて行った。EtOAc
で中性部分を抽出除去し、pH9~10に調整後、CHCl₃で抽出した。
Hexane-EtOAcから再結晶し、3 i 192 mg、3 i' 126
mgを得た。

3 i ;

収率 : 4% ;

mp : 172. 6-173. 2°C ;

MS (FAB⁺) : 430. 2 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1688 (-N-CO-CF₃) ;

¹H-NMR (400 MHz ; CDCl₃) δ (ppm) : 1. 64-1. 7
7 (8H, m) , 2. 42 (4H, s) , 3. 57-3. 82 (8H, m)
;

Found : C, 47. 62 ; H, 5. 01 ; N, 9. 79%. Calc.
for C₁₇H₂₁F₆N₃O₃ : C, 47. 56 ; H, 4. 93 ; N, 9. 7
9%.

3 i' ;

収率 : 4% ;

mp : 85. 8-86. 4°C (hexane-EtOAc) ;

MS (FAB⁺) : 293. 1 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1692 (-N-CO-CF₃) ;

¹H-NMR (400 MHz ; CDCl₃) δ (ppm) : 1. 23 (3H,

s), 1.25 (3H, s), 1.62–1.80 (4H, m), 2.30 (2H, s), 2.33 (2H, s), 3.54–3.96 (4H, m), ;

Found: C, 53.30; H, 6.44; N, 9.58%. Calc. for $C_{13}H_{19}F_3N_2O_2$: C, 53.42; H, 6.55; N, 9.58%.

実施例 10

[0047] 方法C

7-Aza-15-oxodispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (4a)

7-Azadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3a) 235mg (0.99mmol) をエタノール10mLに溶解し、 $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ 50mg (0.15mmol) を加え、この溶液に H_2O_2 (30%) 2mLを徐々に加えた。これを室温下、24時間攪拌した。その後、 K_2CO_3 を加えクエンチし、クロロホルムで抽出した。続いて、溶媒を完全に留去し、再結晶 (ヘキサン) により精製し、微黄色鱗片状結晶208mg (収率: 83%) を得た。

mp: 114.2°C (lit. mp 114–116°C);

MS (FAB⁺): 250.3 (M⁺);

ν_{max}/cm^{-1} : 1717 (C=O);

Found: C, 71.86; H, 9.62; N, 5.57%. Calc. for $C_{15}H_{24}NO_2$: C, 71.96; H, 9.66; N, 5.59%.

実施例 11

[0048] 7-Aza-3,11-dioxadispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (4b)

方法Cに従って7-Aza-3,11-dioxadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3b) 130mg (0.54mmol) を原料として行った。EtOAcから再結晶し、4b 110

mg (0.43 mmol) を得た。

収率：80%；

mp：149.5°C；

MS (FAB⁺)：255.2 (M⁺⁺2)；

ν_{\max} /cm⁻¹：1717 (C=O)；

Found：C, 61.23；H, 7.97；N, 5.40%. Calc.
for C₁₃H₂₀NO₄：C, 61.40；H, 7.93；N, 5.51%.

実施例 12

[0049] 7-Aza-3,11-dithia-3,3,11,11,15-penta-oxodispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (4c)

7-Aza-3,11-dithiadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3c) 210mg (0.78 mmol)、Na₂WO₄·2H₂O 118mg (0.36 mmol)、MeOH 3 ml、及び、H₂O₂ (30%) 1 mL を混合し、室温で48時間攪拌した。K₂CO₃を加え、CHCl₃：MeOH=3：1の混合溶媒で抽出し、溶媒を留去した。これを、水から再結晶し4c 80mg (0.23 mmol) を得た。

収率：29%；

mp：212.5-214.2°C；

MS (FAB⁺)：351.0 (M⁺⁺1)；

ν_{\max} /cm⁻¹：1712 (C=O)，1287 (SO₂)，1122 (SO₂)；

Found：C, 44.38；H, 5.79；N, 3.93%. Calc.
for C₁₃H₂₁NO₅S₂：C, 44.56；H, 5.75；N, 4.00%.

実施例 13

[0050] 3,11-Diacetyl-15-oxo-3,7,11-trith

1,4,14,17-Tetraoxa-9-aza-21-oxotetraspiro[4.2.1.2.4.2.3.2]tetracosan-9-yl-7-oxo-3,11-diacetyl-3,7,11-trithiadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3d)

方法Cに従って3, 11-Diacetyl-3, 7, 11-trithiadispiro [5. 1. 5. 3] hexadecan-15-one (3d) を原料として行った。

mp : 162-163° C ;

MS (FAB⁺) : 337. 3 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1720 (C=O) , 1637 (-N-CO-CH₃) ;

実施例 14

[0051] 1, 4, 14, 17-Tetraoxa-9-aza-21-oxotetraspiro [4. 2. 1. 2. 4. 2. 3. 2] tetracosan-9-yl-9-oxo-1,4,14,17-tetraoxa-9-azatetraspiro [4. 2. 1. 2. 4. 2. 3. 2] tetracosan-21-one (3e)

方法Cに従って1, 4, 14, 17-Tetraoxa-9-azatetraspiro [4. 2. 1. 2. 4. 2. 3. 2] tetracosan-21-one (3e) を原料として行った。

mp : 183. 2-184. 2° C ;

MS (FAB⁺) : 367. 3 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1713 (C=O) ;

Found : C, 62. 18 ; H, 7. 38 ; N, 3. 88%. Calc. for C₁₉H₂₈NO₆ : C, 62. 28 ; H, 7. 70 ; N, 3. 82%.

実施例 15

[0052] 7-Aza-3, 11, 15-trioxodispiro [5. 1. 5. 3] hexadec-7-yl-7-oxo-1,4,14,17-tetraoxa-9-azatetraspiro [4. 2. 1. 2. 4. 2. 3. 2] tetracosan-21-one (3e')

1, 4, 14, 17-Tetraoxa-9-azatetraspiro [4. 2. 1. 2. 4. 2. 3. 2] tetracosan-21-one (3e) 536mg (1. 53mmol) を水2mLと酢酸5mLに溶解し、10% HClを滴下し、70°Cで攪拌した。この溶液を水で希釈し、pHを7に調整し、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し

、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー-hexane/EtOAc, 1:4) で分離精製し、再結晶 (ヘキサン、酢酸エチル) により 7-Aza-3, 11, 15-trioxodispiro [5. 1. 5. 3] hexadecane の白色固体 330mg (1. 25 mmol) を得た。

収率: 82%

mp: 99. 7°C;

MS (FAB⁺): 264. 2 (M⁺⁺1);

$\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 1705 (C=O);

¹H-NMR (400MHz; CDCl₃) δ (ppm): 1. 24 (1H, brs), 1. 87-2. 05 (8H, m), 2. 29-2. 67 (8H, m), 2. 49 (4H, s);

Found: C, 76. 51; H, 10. 68; N, 5. 93%. Calc. for C₁₅H₂₅NO: C, 76. 55; H, 10. 71; N, 5. 95%.

続いて、得られた 7-Aza-3, 11, 15-trioxodispiro [5. 1. 5. 3] hexadecane 215mg (0. 82mmol) を方法Cに従って酸化し、4e' 170mg (0. 61mmol) を得た。

収率: 75%

mp: 161. 5°C;

MS (FAB⁺): 279. 3 (M⁺⁺1);

$\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 1708 (C=O);

Found: C, 64. 71; H, 7. 25; N, 5. 06%. Calc. for C₁₅H₂₀NO₄: C, 64. 73; H, 7. 24; N, 5. 03%.

実施例 16

[0053] Methyl 3-(2, 6, 6-trimethyl-4-oxopiperidin-1-oxyl-2-yl) propanoate (4g)

方法Cに従ってMethyl 3-(2,6,6-trimethyl-4-oxopiperidin-2-yl)propanoate (3g) と二置換体の混合物147mgを原料として用い、赤色油状物質を得た37mg (0.15mmol)。

MS (FAB⁺) : 242.2 (M⁺) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1720 (C=O) ;

Found : C, 58.93 ; H, 8.27 ; N, 5.65%. Calc. for C₁₂H₂₀NO₄ : C, 59.49 ; H, 8.32 ; N, 5.78%.

実施例 17

[0054] 3,11-Trifluoroacetyl-3,7,11-trithia-15-oxodispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (4i)

方法Cに従って3,11-Trifluoroacetyl-3,7,11-trithiadispiro[5.1.5.3]hexadecan-15-one (3i) 130mg (0.30mmol) を原料として行い、4i 57mg (0.13mmol) を得た。

収率 : 42%

MS (FAB⁺) : 445.1 (M⁺⁺¹) ;

Found : C, 44.90 ; H, 4.46 ; N, 9.25%. Calc. for C₁₇H₂₀F₆N₃O₄ : C, 45.95 ; H, 4.54 ; N, 9.46%.

実施例 18

[0055] 7-[¹⁵N]-Aza-15-oxodispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (5a)

NH₄Cl を¹⁵NH₄Cl に変えて、7-Aza-15-oxodispiro[5.1.5.3]hexadec-7-yl-7-oxyl (4a) と同様に行った。

mp : 115.4-117.4°C (hexane) ;

MS (FAB⁺) : 251.3 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1717 (C=O) ;

Found : C, 71.67 ; H, 9.79 ; N, 5.67%. Calc.
for C₁₅H₂₄¹⁵NO₂ : C, 71.68 ; H, 9.62 ; N, 5.57
%.

実施例 19

[0056] 7-[¹⁵N]-Aza-3,11-Dioxa-15-oxodispiro
ro [5.1.5.3] hexadec-7-yl-7-oxy] (5b)

NH₄Cl を¹⁵NH₄Cl に変えて、7-Aza-3,11-Dioxa-
15-oxodispiro [5.1.5.3] hexadec-7-yl
-7-oxy] (4b) と同様に行った。

mp : 171.7-172.0°C (EtOAc) ;

MS (FAB⁺) : 256.23 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1719 (C=O) ;

Found : C, 61.18 ; H, 7.90 ; N, 5.52%. Calc.
for C₁₃H₂₀¹⁵NO₄ : C, 61.16 ; H, 7.90 ; N, 5.48
%.

実施例 20

[0057] 7-[¹⁵N]-Aza-3,11,15-trioxodispiro
[5.1.5.3] hexadec-7-yl-7-oxy] (5c)

NH₄Cl を¹⁵NH₄Cl に変えて、7-Aza-3,11,15-tri
oxodispiro [5.1.5.3] hexadec-7-yl-7-
oxy] (4e') と同様に行った。

mp : 165.8°C (Hexane-EtOAc) ;

MS (FAB⁺) : 280.22 (M⁺⁺1) ;

ν_{\max} / cm⁻¹ : 1707 (C=O) ;

Found : C, 64.47 ; H, 7.22 ; N, 5.01%. Calc.
for C₁₅H₂₀¹⁵NO₄ : C, 64.50 ; H, 7.22 ; N, 5.01

%.

実施例 21

[0058] 2, 2-d i e t h y l - 6, 6-d i m e t h y l p i p e r i d i n - 4 - o n e (1)

1, 2, 2, 6, 6-ペンタメチルピペリジン-4-オン 1.69 g (10 mmol) と 3-ペンタノン 5.16 g (60 mmol) を DMSO 28 ml に溶解し、CsOH 1.50 g (10 mmol)、NH₄Cl 3.22 g (60 mmol) を室温下で加えた。この溶液を 80°C で 4 時間攪拌した。水を適量加えて希釈し、7~8%塩酸水溶液で酸性にした。これを、エーテルで洗浄し、水層を K₂CO₃ 水溶液でアルカリ性にした。さらに、これを酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、淡黄色油状物質 25 mg（収率：1%）を得た。

実施例 22

[0059] 方法 B

2, 2-d i m e t h y l - 6, 6-d i p r o p y l p i p e r i d i n - 4 - o n e (3)

1, 2, 2, 6, 6-ペンタメチルピペリジン-4-オン 1.69 g (10 mmol) と 4-ヘプタノン 3.43 g (30 mmol) を DMSO 16 ml に溶解し、Triton B 2 ml (4.40 mmol)、NH₄Cl 2.68 g (50 mmol) を室温下で加えた。この溶液を 50°C で 4.5 時間攪拌した。水を適量加えて希釈し、7~8%塩酸水溶液で酸性にした。これを、エーテルで洗浄し、水層を K₂CO₃ 水溶液でアルカリ性にした。さらに、これを酢酸エチルで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、得られた結晶をヘキサンから再結晶し、淡黄色針状結晶 368 mg（収率：17%）を得た。mp：53.4-55.0°C；MS（FAB⁺）：212.2（M⁺⁺¹）；ν_{max}/cm⁻¹：1690

(C=O) ; $^1\text{H-NMR}$ (300MHz ; CDCl_3) δ (ppm) : 0.88 (6H, t, $J=7.05\text{Hz}$) , 1.21 (6H, s) , 1.26–1.45 (8H, m) , 2.23 (2H, s) , 2.26 (2H, s) ; Found : C, 73.74 ; H, 11.88 ; N, 6.67%. Calc. for $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{NO}$: C, 73.88 ; H, 11.92 ; N, 6.63%

実施例 23

[0060] 2, 2-dimethyl-6, 6-dipropyl-4-oxo-piperidin-1-yl 1-oxyl (4)

方法Aに従って、2, 2-dimethyl-6, 6-dipropyl piperidin-4-one (3) 59mg (0.28mmol) を原料として行った。反応溶液は、室温で一晩攪拌した。また、反応の進行をTLCで確認し、 H_2O_2 と $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を適宜追加した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン、酢酸エチル) で精製し、橙色油状物質38mg (収率: 60%) を得た。MS (FAB⁺) : 226.3 (M⁺) ; $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 1720 (C=O) ; Found : C, 68.95 ; H, 10.76 ; N, 6.28%. Calc. for $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{NO}_2$: C, 68.99 ; H, 10.69 ; N, 6.19%.

実施例 24

[0061] 2, 2-dibutyl-6, 6-dimethylpiperidin-4-one (5)

方法Bに従って、4-ヘプタノン H_2O を5-デカノン4.27g (30mmol) に変えて行った。反応溶液は、60°Cの水浴中で4時間攪拌した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル, 85:15) で精製し、淡黄色油状物質106mg (収率: 4%) を得た。MS (FAB⁺) : 240.3 (M⁺⁺¹) ; $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 1705 (C=O) ; $^1\text{H-NMR}$ (300MHz ; CDCl_3) δ (ppm) : 0.89 (6H, t, $J=6.7\text{Hz}$) , 1.25 (6H, s) , 1.24–1.56 (12H, m)

, 2. 23 (2H, s), 2. 26 (2H, s); Found: C, 74. 83; H, 11. 96; N, 5. 97%. Calc. for $C_{15}H_{29}NO$: C, 75. 26; H, 12. 21; N, 5. 85%.

実施例 25

[0062] 2, 2-dibutyl-6, 6-dimethyl-4-oxo-piperidin-1-yl 1-oxyl (6)

方法Aに従って、2, 2-dibutyl-6, 6-dimethyl piperidin-4-one (5) 100mg (0. 42mmol) を原料として行った。反応溶液は、室温で一晩攪拌した。また、反応の進行をTLCで確認し、 H_2O_2 と $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ を適宜追加した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、橙色油状物質53mg（収率：50%）を得た。MS (FAB⁺): 254. 3 (M⁺); ν_{max}/cm^{-1} : 1720 (C=O); Found: C, 70. 55; H, 11. 05; N, 5. 24%. Calc. for $C_{15}H_{28}NO_2$: C, 70. 82; H, 11. 09; N, 5. 51%.

実施例 26

[0063] 2-butyl-2, 6, 6-trimethylpiperidin-4-one (7)

2, 6-dibutyl-2, 6-dimethylpiperidin-4-one (9)

方法Bに従って、4-ヘプタノンを2-ヘキサノン3. 00g (30mmol) に変えて行った。反応溶液は、50°Cの水浴中で2. 5時間攪拌した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル, 9: 1）で精製し、淡黄色油状物質(7) 239mg（収率：12%）と淡黄色油状物質(9) 98mg（収率：4%）を得た。(7): MS (FAB⁺): 198. 3 (M⁺⁺¹); ν_{max}/cm^{-1} : 1703 (C=O); ¹H-NMR (300MHz; CDCl₃) δ (ppm): 0. 90 (3H, t, J = 7. 1Hz), 1. 16 (3H, s), 1. 23 (6H, s), 1. 29

-1.33 (6H, m), 2.22-2.26 (4H, m); Found: C, 72.83; H, 11.63; N, 7.02%. Calc. for $C_{12}H_{23}NO$: C, 73.04; H, 11.75; N, 7.10%. (9): MS (FAB⁺): 240.4 (M⁺⁺¹); ν_{max}/cm^{-1} : 1706 (C=O); ¹H-NMR (300MHz; CDCl₃) δ (ppm): 0.91 (6H, t, J=3.3Hz), 1.14 (6H, s), 1.28-1.46 (12H, m), 2.18-2.31 (4H, m); Found: C, 75.15; H, 12.11; N, 5.75%. Calc. for $C_{15}H_{29}NO$: C, 75.26; H, 12.21; N, 5.85%.

実施例 27

[0064] 2-butyl-2,6,6-trimethyl-4-oxo-piperidin-1-yl 1-oxyl (8)

方法Aに従って、2-butyl-2,6,6-trimethylpiperidin-4-one (7) 199mg (1.01mmol) を原料として行った。反応溶液は、室温で一晩攪拌した。また、反応の進行をTLCで確認し、H₂O₂とNa₂WO₄·2H₂Oを適宜追加した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル, 95:5）で精製し、橙色油状物質68mg（収率: 32%）を得た。MS (FAB⁺): 212.3 (M⁺); ν_{max}/cm^{-1} : 1720 (C=O); Found: C, 68.01; H, 10.44; N, 6.53%. Calc. for $C_{12}H_{22}NO_2$: C, 67.89; H, 10.44; N, 6.60%.

実施例 28

[0065] 2,6-dibutyl-2,6-dimethyl-4-oxo-piperidin-1-yl-oxyl (10)

方法Aに従って、2,6-dibutyl-2,6-dimethylpiperidin-4-one (9) 77mg (0.32mmol) を原料として行った。反応溶液は、室温で一晩攪拌した。また、反応の進行をTLCで確認し、H₂O₂とNa₂WO₄·2H₂Oを適宜追加した。抽出後、シリカ

ゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、橙色油状物質 25 mg（収率：31%）を得た。MS（FAB⁺）：254.3（M⁺）； $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ：1720（C=O）；Found：C, 70.94；H, 10.98；N, 5.18%。Calc. for C₁₅H₂₈NO₂：C, 70.82；H, 11.09；N, 5.51%。

実施例 29

[0066] 2, 2, 6-trimethyl-6-octylpiperidin-4-one (11)

方法Bに従って、4-ヘプタノン（2-デカノン 4.69 g（30 mmol））に変えて行った。反応溶液は、50°Cの水浴中で4時間攪拌した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、淡黄色油状物質 137 mg（収率：5%）を得た。MS（FAB⁺）：254.3（M⁺⁺¹）； $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ：1708（C=O）；¹H-NMR（300 MHz；CDCl₃） δ （ppm）：0.87（3H, t, J=5.7 Hz），1.16（3H, s），1.22（6H, s），2.16-2.29（4H, m）；Found：C, 75.57；H, 12.15；N, 5.09%。Calc. for C₁₆H₃₁NO：C, 75.83；H, 12.33；N, 5.53%。

実施例 30

[0067] 2, 2, 6-trimethyl-6-octyl-4-oxo-piperidin-1-yl 1-oxyl (12)

方法Aに従って、2, 2, 6-trimethyl-6-octylpiperidin-4-one（11）100 mg（0.39 mmol）を原料として行った。反応溶液は、室温で一晩攪拌した。また、反応の進行を TLCで確認し、H₂O₂とNa₂WO₄・2H₂Oを適宜追加した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、橙色油状物質 78 mg（収率：74%）を得た。MS（FAB⁺）：268.3（M⁺）； $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ：1721（C=O）；Found：C, 71.45

; H, 11.13; N, 5.10%. Calc. for $C_{16}H_{30}NO_2$: C, 71.59; H, 11.27; N, 5.22%.

実施例 31

[0068] 2, 2-dimethyl-6-spiro-2'-tricyclo[3. 3. 1. 1^{3', 7'}] decanepiperidine-4-one (13)

2, 6-dispiro-2', 2'-ditricyclo[3. 3. 1. 1^{3', 7'}] decanepiperidine-4-one (16)

方法Bに従って、4-ヘプタノンに2-アダマンタノンを4.51g (30mmol) に変えて行った。反応条件はTableに示した。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン、酢酸エチル) で精製し、得られた結晶をヘキサンからそれぞれ再結晶し、白色針状結晶 (13) と淡黄色鱗片状結晶 (16) を得た。(13): 収率: (粗結晶); mp: 92.5-92.6°C; MS (FAB⁺): 248.3 (M⁺⁺¹); ν_{max}/cm^{-1} : 1699 (C=O); ¹H-NMR (300MHz; CDCl₃) δ (ppm): 1.23 (6H, s), 1.50-1.95 (14H, m), 2.27 (2H, s), 2.53 (2H, s); Found: C, 77.65; H, 10.12; N, 5.60%. Calc. for $C_{16}H_{25}NO$: C, 77.68; H, 10.19; N, 5.66%. (16): 収率: 0.62% (2.5時間50°C) (粗結晶); mp: 131.2-131.5°C; MS (FAB⁺): 340.4 (M⁺⁺¹); ν_{max}/cm^{-1} : 1709 (C=O); ¹H-NMR (400MHz; CDCl₃) δ (ppm): 1.25 (brs), 1.56-1.69 (m), 1.79-1.92 (m), 2.33 (brs), 2.36 (brs), 2.61 (4H, s); Found: C, 81.30; H, 9.77; N, 4.07%. Calc. for $C_{23}H_{33}NO$: C, 81.37; H, 9.80; N, 4.13%.

実施例 32

[0069] 方法C

2, 2-dimethyl-6-spiro-2'-tricyclo [3. 3. 1. 1^{3', 7'}] decane-4-oxo-piperidin-1-yl 1oxyl (14)

2, 2-dimethyl-6-spiro-2'-tricyclo [3. 3. 1. 1^{3', 7'}] decanepiperidine-4-one (13) 410mg (1.66mmol) をクロロホルム30mlに溶解し、氷浴中で攪拌した。MCPBA 371mg (1.66mmol) を加え、15分後に室温に戻し、さらに2時間攪拌を続けた。クロロホルムで抽出を行い、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン、酢酸エチル) で精製し、得られた結晶をジイソプロピルエーテルから再結晶し、橙色鱗片状結晶 172mg (収率: 40%) を得た。mp: 134.7-135.3°C; MS (FAB⁺): 262.3 (M⁺); ν_{max}/cm^{-1} : 1709 (C=O); Found: C, 73.13; H, 9.14; N, 5.29%. Calc. for C₁₆H₂₄NO₂: C, 73.25; H, 9.22; N, 5.34%.

実施例 33

[0070] 2, 2-dimethyl-6-spiro-2'-tricyclo [3. 3. 1. 1^{3', 7'}] decane-4-hydroxy-piperidin-1-yl 1oxyl (15)

2, 2-dimethyl-6-spiro-2'-tricyclo [3. 3. 1. 1^{3', 7'}] decane-4-oxo-piperidin-1-yl 1oxyl (14) 180mg (0.73mmol) をエタノール5mlに溶解し、水浴中で攪拌した。NaBH₄ 34mg (0.91mmol) を加え、室温に戻し、一晩攪拌を続けた。また、反応の進行をTLCで確認し、NaBH₄を適宜追加した。これをクロロホルムで抽出し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を完全に留去した。その後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール, 99:1) で精製し、得られた結晶を酢酸エチルから再結晶し、赤紫色鱗片状結晶 89mg (収率: 4

6%)を得た。mp: 132.0–133.6°C; MS (FAB⁺): 264.3 (M⁺); $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3407 (br, OH); Found: C, 72.55; H, 9.89; N, 5.36%. Calc. for C₁₆H₂₄NO₂: C, 72.69; H, 9.91; N, 5.30%.

実施例 34

[0071] 2, 6-dispiro-2', 2'-ditricyclo[3.3.1.1^{3',7'}] decanepiperidine-4-oxo-piperidin-1-yl 1-oxyl (17)

方法Cに従って、2, 6-dispiro-2', 2'-ditricyclo[3.3.1.1^{3',7'}] decanepiperidine-4-one (16) 149mg (0.439mmol)を原料として行った。抽出後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン、酢酸エチル）で精製し、得られた結晶をヘキサンから再結晶し、紫色球状結晶18mg（収率：12%）を得た。mp: 154.6–160.9°C; MS (FAB⁺): 354.3 (M⁺); $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 1705 (C=O); Found: C, 77.67; H, 9.03; N, 3.76%. Calc. for C₂₃H₃₂NO₂: C, 77.92; H, 9.10; N, 3.95%.

実施例 35

[0072] 細胞毒性

ニトロキシルラジカルは、細胞内で、アスコルビン酸やチオール（金属が触媒する反応）、ミトコンドリア呼吸鎖、NADPH、シトクロムP450などと反応することが報告され、アポトーシスの誘発や、シトクロムP450を介したH₂O₂の産生などが細胞毒性の原因となっていると報告されている。一方、テトラエチル基を有するニトロキシルラジカルは、アスコルビン酸との反応性が顕著に低下していることを、本発明者らは報告している。そこで、合成したニトロキシルラジカル化合物の細胞毒性を評価した。

[0073] 方法

HUVEC（ヒト臍帯静脈内皮細胞）はブレットキットEGMを培地とし

て用いて、37℃、5%CO₂下、CO₂インキュベーターで培養した。また、HUVECは対数増殖期を維持するために、一定の間隔で継代を行い、2～5代培養の間を実験に用いた。HUVEC (5000 cells/well) は、コラーゲンIコートした透明平底プレートを用いて、各濃度のニトロキシラジカルを添加後、24時間インキュベートし、細胞生存率をWST-1法により解析した。24時間インキュベート後、WST-1試薬を各ウェル10μlずつ添加し、3時間インキュベート後、450nmの吸光度をプレートリーダーにて測定した。ポジティブコントロールに2%Tween 20、ネガティブコントロールにPBSを用い、データはコントロールに対する相対値 (%) で表した。

[0074] 結果

HUVEC細胞にニトロキシラジカル化合物を添加し、24時間後の細胞増殖能を測定した。その結果、Ox o-TEMPO、Tempolは、濃度依存的な細胞増殖能抑制効果を示した。一方、テトラエチル基を導入した化合物では、1mMの濃度まで細胞増殖能抑制効果は認められず、脂溶性が高いにも関わらず低毒性であることが示された (図1を参照)。

実施例 36

[0075] 胃潰瘍モデル動物を用いた薬効評価

アジュバント関節炎ラットの作成

ニトロキシラジカルが、アジュバント関節炎ラット (AAラット) におけるインドメタシン惹起胃潰瘍を抑制するか否か検討した。

[0076] 方法

結核死菌 *Mycobacterium tuberculosis* H37 RA を瑪瑙乳鉢中で磨碎し、この中に heavy mineral oil を滴下しつつ加え、さらに磨碎し 10mg/ml とした。この結核死菌 oil 懸濁液を 3 分間超音波処理後 1ml 容量のシリンジにとり、イソフルラン麻酔下、5 週齢の DA ラットの左足蹠皮内に 100μL 投与し、アジュバント関節炎を惹起した。陰性対照群は、heavy mineral

o i lのみを左足蹠皮内に投与した。

[0077] DAラットは、アジュバント投与後13日目に飼育ケージ内にて絶食させた。ただし、飲料水は自由飲水とした。絶食開始から24時間後にインドメタシン(20mg/kg)をラットに経口投与して胃潰瘍を作成した。コントロールでは、vehicleとして5%NaHCO₃を同量経口投与した。ニトロキシルラジカル化合物は、インドメタシン投与5分前に経口投与した。

実施例 37

[0078] 胃粘膜損傷面積計測

インドメタシンによる胃潰瘍惹起4時間後、ラットを過麻酔下頸椎脱臼により処理し、直ちに胃を食道、小腸側をそれぞれ約1cmずつ残して切断し摘出した。幽門部側を鉗子で固定し、1%ホルマリン溶液を10ml注入後、噴門部側を鉗子で固定した。これを10-20分間浸し続けることにより胃壁を両側面から固定した。固定後、大湾部に沿って胃を切開し、胃腔内膜をデジタルカメラで撮影した。画像処理ソフトImage Jを用いて胃底部粘膜に発生した損傷面積を計測した。

[0079] 結果

インドメタシンによる胃潰瘍惹起の程度を、インドメタシンを経口投与したAAラットの胃底部粘膜損傷面積で評価した結果、ニトロキシルラジカル化合物を投与していないAAラットでは、損傷面積が高い値を示し、胃潰瘍を惹起していること、つまり胃底部粘膜に炎症が起きていることが確認された。一方、ニトロキシルラジカル化合物を投与したAAラットでは、ニトロキシルラジカル化合物を投与していないAAラットと比較して損傷面積が有為に減少していることが示され、ニトロキシルラジカル化合物が、胃潰瘍における粘膜損傷を有為に抑制していることを示した。

[0080] 既知のニトロキシルラジカル化合物であるTempol(図2を参照)は、900μmol/kgの濃度で抑制作用を示しているが、本発明に基づき合成されたニトロキシルラジカル化合物(図2における化合物A及びB)は

、Tempolと比較して最大1/10の濃度で有為な胃粘膜損傷の抑制作用を有していることも示され、既知化合物より低濃度で抑制効果を示すことが明らかとなった。

実施例 38

[0081] ニトロキシラジカルの血圧降下作用

TempolなどTEMPO系ニトロキシラジカル化合物は、血圧降下作用を有し、高血圧研究に広く用いられている。血圧降下作用の原因は未だ明らかにはなっていないが、SOD様作用と相関があることから、活性酸素消去能によるものではないかと考察されている。そこで、今回新たに合成したニトロキシラジカル化合物の血圧降下作用を明らかにする。

[0082] 方法

日周リズムへの影響を避けるために、実験は全て9:00から16:00の間に行った。自然発症高血圧モデルラット(SHR; ♂、208-330g)は、イソフルランを用いて麻酔を施した。平均血圧(MAP)は、大腿部の動脈にポリエチレンチューブ(PE-50)をカニューレーション後、transducer (MLT0670 BP Transducer, AD instruments, Sydney, Australia)とamplifier (ML117 BP Amp, AD instruments, Sydney, Australia)にて計測した。ニトロキシラジカル溶液(60 μmol/kg)を1ml/minの速度で大腿静脈より投与し、投与後20分間血圧と心拍数を測定した。

[0083] 結果

ニトロキシラジカル化合物を投与後の経時的な血圧変化を図3に示す。今回新たに開発したニトロキシラジカル化合物(化合物C)が示す血圧降下作用は、既知のニトロキシラジカル化合物であるTempolと比較して有為に高い作用を示した。また、血圧降下作用の持続時間は、新規ニトロキシラジカル化合物(化合物C)は、Tempolと比較し長時間にわたって持続することも示された。

[0084] 尚、上述の実施例は本発明の好適な実施の一例ではあるが、その範囲を限定するものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲において種々変形実施可能である。

[0085] 下記に本願発明に係る参照文献を記載するが、これらは、この参照により本願明細書に完全に組み込まれるものである。

(参照文献)

(1) B. Halliwell, Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J*, 2007. 401 (1) : 1-11.

(2) T. Sano, et al., Oxidative stress measurement by in vivo electron spin resonance spectroscopy in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 1998. 41 (11) : 1355-60.

(3) M. Yamato, T. Egashira, and H. Utsumi, Application of in vivo ESR spectroscopy to measurement of cerebrovascular ROS generation in stroke. *Free Radic Biol Med*, 2003. 35 (12) : 1619-31.

(4) H. Utsumi, et al., Noninvasive mapping of reactive oxygen species by in vivo electron spin resonance spectroscopy in indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006. 317 (1) : 228-35.

- (5) K. Yamada, I. Yamamiya, and H. Utsumi, In vivo detection of free radicals induced by diethylnitrosamine in rat liver tissue. *Free Radic Biol Med*, 2006. 40 (11) : 2040-6.
- (6) H. Sano, et al., A new nitroxyl-probe with high retention in the brain and its application for brain imaging. *Free Radic Biol Med*, 2000. 28 (6) : 959-69.
- (7) T. Herrling, et al., UV-induced free radicals in the skin detected by ESR spectroscopy and imaging using nitroxides. *Free Radic Biol Med*, 2003. 35 (1) : 59-67.
- (8) D. J. Lurie, et al., Proton-electron double magnetic resonance imaging of free radical solutions. *J Magn Res*, 1988. 76 : 366-370.
- (9) K. Yamada, et al., Synthesis of nitroxyl radicals for Overhauser-enhanced magnetic resonance imaging. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2008. 341 (9) : 548-53.
- (10) M. C. Krishna, et al., Overhauser enhanced magnetic resonance imaging for tumor oximetry: coregistration of tumor anatomy and tissue

oxygen concentration. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. 99 (4) : 2216-21

(11) H. Utsumi, et al., Simultaneous molecular imaging of redox reactions monitored by Overhauser-enhanced MRI with ^{14}N - and ^{15}N -labeled nitroxyl radicals. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. 103 (5) : 1463-8.

(12) J. M. Metz, et al., A phase I study of topical Tempol for the prevention of alopecia induced by whole brain radiotherapy. Clin Cancer Res, 2004. 10 (19) : 6411-7.

(13) Y. Miura, N. Nakamura, and I. Taniguchi, Low-temperature "living" radical polymerization of styrene in the presence of nitroxides with spiro structures. Macromolecules, 2001. 34 (3) : 447-455.

(14) C. Wetter, et al., Steric and electronic effects in cyclic alkoxamines—synthesis and applications as regulators for controlled/living radical polymerization. Chemistry, 2004. 10 (5) : 1156-66.

(15) M. J. Aroney, et al., Molecular Polarisability. The Molecular Con

formations of Some Substituted 4-Piperidones as Solutes. J Chem Soc, 1966: 98.

(16) M. Cygler, et al., CONFORMATION OF THE PIPERIDINE RING Part IV. Investigations of 4-tert-butyl-4-hydroxy-2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidine derivatives. J Mol Struct, 1980. 68: 161-171.

(17) Z. Ma, Q. Huang, and J. M. Bobbitt, Oxoammonium Salts. 5. A New Synthesis of Hindered Piperidines Leading to Unsymmetrical TEMPO-Type Nitroxides. Synthesis and Enantioselective Oxidations with Chiral Nitroxides and Chiral Oxoammonium Salts. J Org Chem, 1993. 58: 4837-43.

(18) J. E. Baker, et al., Spin label oximetry to assess extracellular oxygen during myocardial ischemia. Free Radic Biol Med, 1997. 22 (1-2): 109-15.

(19) H. Hu, G. Sosnovsky, and H. M. Swartz, Simultaneous measurements of the intra- and extra-cellular oxygen concentration in viable cells. Biochim Biophys Acta, 1992. 111

2 (2) : 161-6.

(20) J. B. Feix, J. J. Yin, and J. S. Hyde, Interactions of ^{14}N : ^{15}N stearic acid spin-label pairs: effects of host lipid alkyl chain length and unsaturation. *Biochemistry*, 1987. 26 (13) : 3850-5.

(21) 木下祐一, 生体内レドックスメカニズム解析に向けた新規スピンプローブ剤の開発. 修士論文, 2007

(22) E. Sartori, et al., A time-resolved electron paramagnetic resonance investigation of the spin exchange and chemical interactions of reactive free radicals with isotopically symmetric ($^{14}\text{N-X-}^{14}\text{N}$) and isotopically asymmetric ($^{14}\text{N-X-}^{15}\text{N}$) nitroxyl biradicals. *J Am Chem Soc*, 2007. 129 (25) : 7785-92.

(23) J. F. W. Keana, Newer Aspects of the Synthesis and Chemistry of Nitroxide Spin Labels. *Chem Rev*, 1978. 78 (1) : 37.

(24) 大矢博昭、山内淳, 電子スピン共鳴, 講談社サイエンティフィク. 1989 : 講談社.

(25) B. S. Winkler, S. M. Orsell, and T. S. Rex, The redox couple between glutathione and ascorbic acid: a chemical and physiological persp

- ective. *Free Radic Biol Med*, 1994. 17 (4) : 333-49.
- (26) S. Morris, et al., Chemical and electrochemical reduction rates of cyclic nitroxides (nitroxyls). *J Pharm Sci*, 1991. 80 (2) : 149-52.
- (27) M. Shibuya, M. Tomizawa, and Y. Iwabuchi, TEMPO/NaIO₄-SiO₂: a catalytic oxidative rearrangement of tertiary allylic alcohols to beta-substituted alpha, beta-unsaturated ketones. *Org Lett*, 2008. 10 (21) : 4715-8.
- (28) X. Wang, et al., TEMPO/HCl/NaNO₂ catalyst: a transition-metal-free approach to efficient aerobic oxidation of alcohols to aldehydes and ketones under mild conditions. *Chemistry*, 2008. 14 (9) : 2679-85.
- (29) K. Nakahara, et al., Rechargeable batteries with organic radical cathodes. *Chem Phys Lett*, 2002. 359 (5-6) : 351-354.
- (30) A. Dhanasekaran, et al., Mitochondria superoxide dismutase mimetic inhibits peroxide-induced oxidative damage and apoptosis: role of mitochondrial superoxide. *Free Ra*

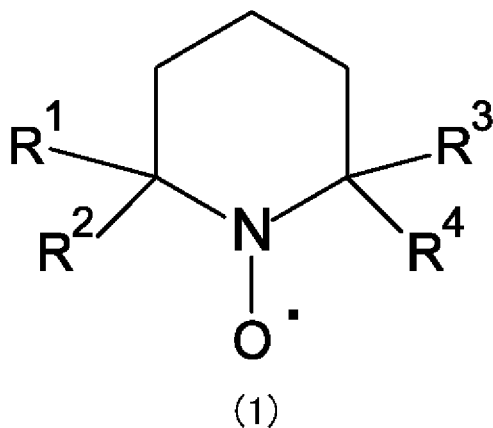
- dic Biol Med, 2005. 39 (5) : 567-83.
- (31) A. A. Bobko, et al., ^{19}F NMR measurements of NO production in hypertensive ISIAH and OXYS rats. Biochem Biophys Res Commun, 2005. 330 (2) : 367-70.
- (32) A. Modica, D. J. Lurie, and M. Alecci, Sequential, co-registered fluorine and proton field-cycled Overhauser imaging at a detection field of 59 mT. Phys Med Biol, 2006. 51 (3) : N39-45.
- (33) R. Murugesan, et al., Fluorine electron double resonance imaging for ^{19}F MRI in low magnetic fields. Magn Reson Med, 2002. 48 (3) : 523-9.
- (34) C. Buhrmester, et al., The Use of 2, 2, 6, 6-Tetramethylpiperinyl-Oxides and Derivatives for Redox Shuttle Additives in Li-Ion Cells. J Electrochem Soc, 2006. 153 (10) : A1800-A1804.

請求の範囲

[請求項1] 化学式 1 で示されるニトロキシラジカル化合物の製造方法であって

,

[化6]



式中、

$R^1 \sim R^4$ は、独立して、 $C_1 \sim C_{10}$ のアルキルであるか、或いは、 R^1 及び R^2 、又は R^3 及び R^4 が共に結合して、 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n O (CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n SO_2 (CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n NX (CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_n CY (CH_2)_n$ 、

X は、 CH_3CO 、 CF_3CO 、又は R^1CO であり、

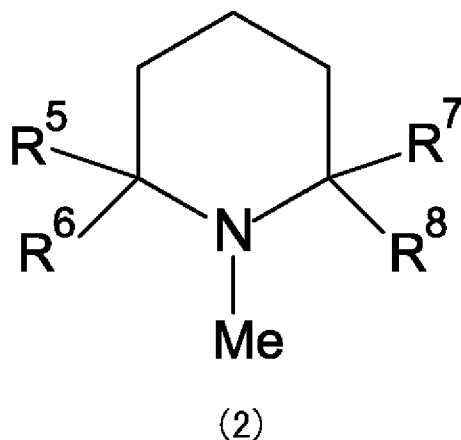
Y は、酸素(=O)、 $(OCH_2)_n$ であり、

n は2～4の整数であり、

当該方法は、

化学式 2 で示される化合物であって、

[化7]

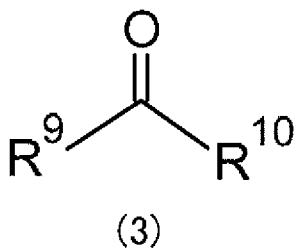


式中、

$R^5 \sim R^8$ は、独立して、 $C_1 \sim C_{20}$ のアルキルである、化学式2で示される化合物と、

化学式3で示される化合物であって、

[化8]



式中、

$R^1 \sim R^4$ は、独立して、 $C_1 \sim C_{10}$ のアルキル、 R^1 及び R^2 、又は R^3 及び R^4 が共に結合して、 $(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_nO(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_nS(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_nNX(CH_2)_n$ 、 $(CH_2)_nCY(CH_2)_n$ 、

Xは、 CH_3CO 、 CF_3CO 、又は R^1CO であり、

Yは、酸素(=O)、 $(OCH_2)_n$ であり、

nは2～4の整数である、化学式3で示される化合物と

をアンモニウム塩の存在下にて反応させることにより、2, 6置換

− 4 − ピペリドン誘導体を生成させる工程と、

前記 2, 6 置換 − 4 − ピペリドン誘導体を酸化させる工程と、
を有する、前記ニトロキシラジカル化合物の製造方法。

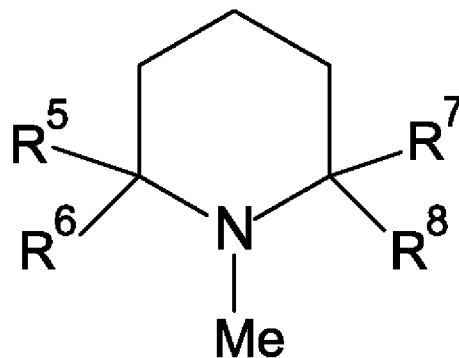
[請求項 2] 請求項 1 記載の方法において、前記アンモニウム塩は、塩化アンモニウムである、方法。

[請求項 3] 請求項 1 記載の方法において、前記 2, 6 置換 − 4 − ピペリドン誘導体を生成させる工程は、水酸化セシウムを含むものである、方法。

[請求項 4] 請求項 1 記載の方法において、前記 2, 6 置換 − 4 − ピペリドン誘導体を生成させる工程は、ベンジルトリメチルアンモニウムヒドロキシド（トリトン B）を含むものである、方法。

[請求項 5] 化学式 2 で示される化合物であって、

[化 9]



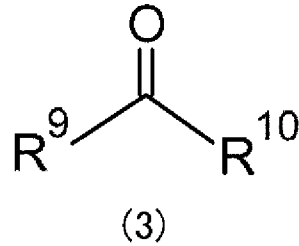
(2)

式中、

R⁵ ~ R⁸ は、C₁ ~ C₂₀ のアルキルである、化学式 2 で示される化合物と、

化学式 3 で示される化合物であって、

[化10]



式中、

$\text{R}^9 \sim \text{R}^{10}$ は、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ のアルキル、 R^9 及び R^{10} が共に結合して、 $(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{NX}(\text{CH}_2)_n$ 、 $(\text{CH}_2)_n\text{CY}(\text{CH}_2)_n$ 、

X は、 CH_3CO 、 CF_3CO 、又は R^1CO であり、

Y は、酸素(=O)、 $(\text{OCH}_2)_n$ であり、

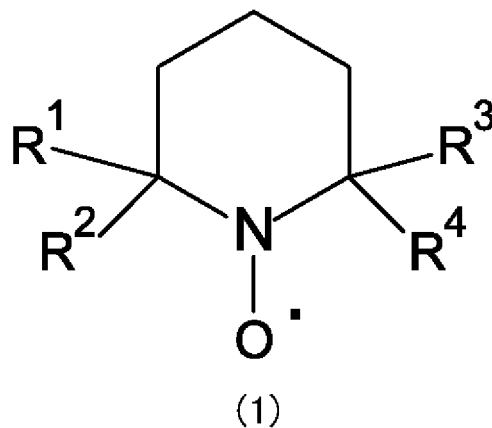
n は2～4の整数である、化学式3で示される化合物と

をアンモニウム塩の存在下にて反応させることにより、2, 6置換-4-ピペリドン誘導体を生成させる工程と、

前記2, 6置換-4-ピペリドン誘導体を酸化させる工程と、

を含む方法により製造される、化学式1

[化11]

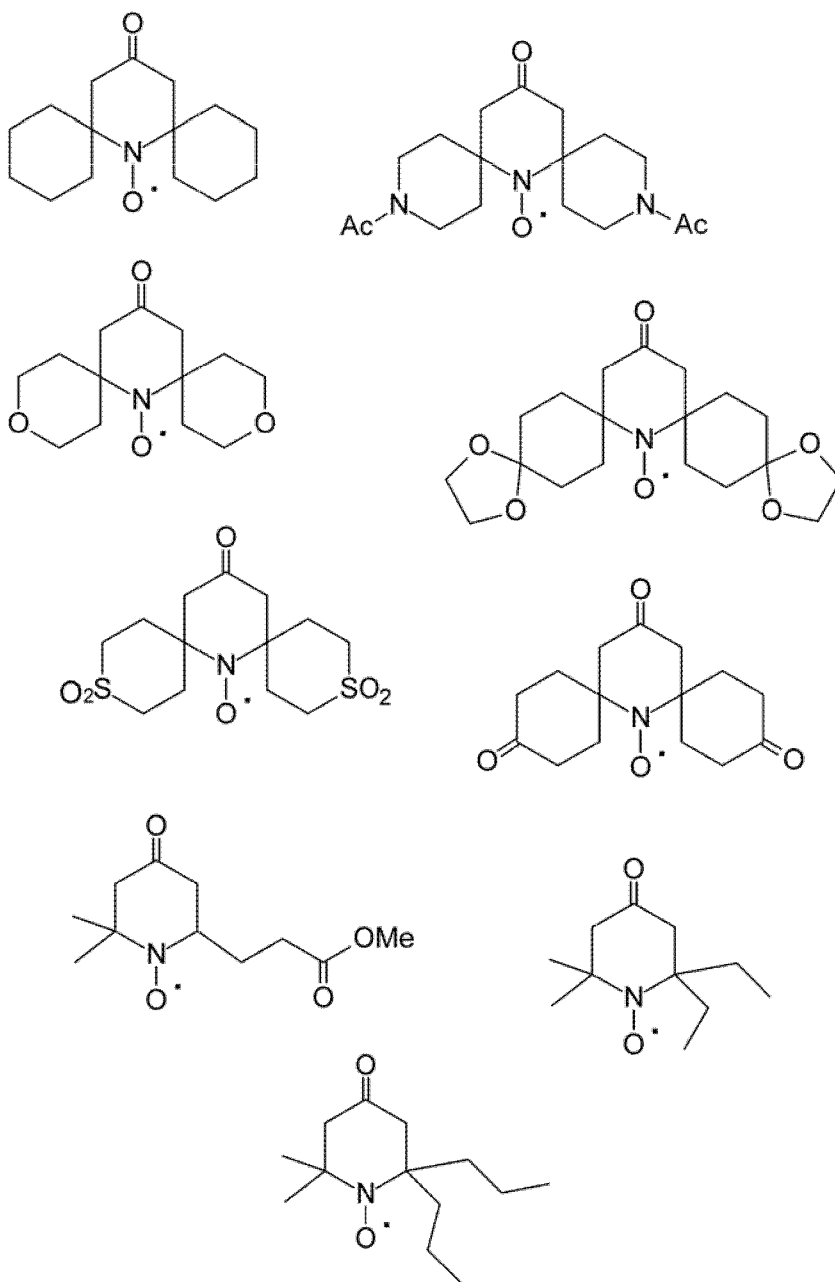


で示される化合物。

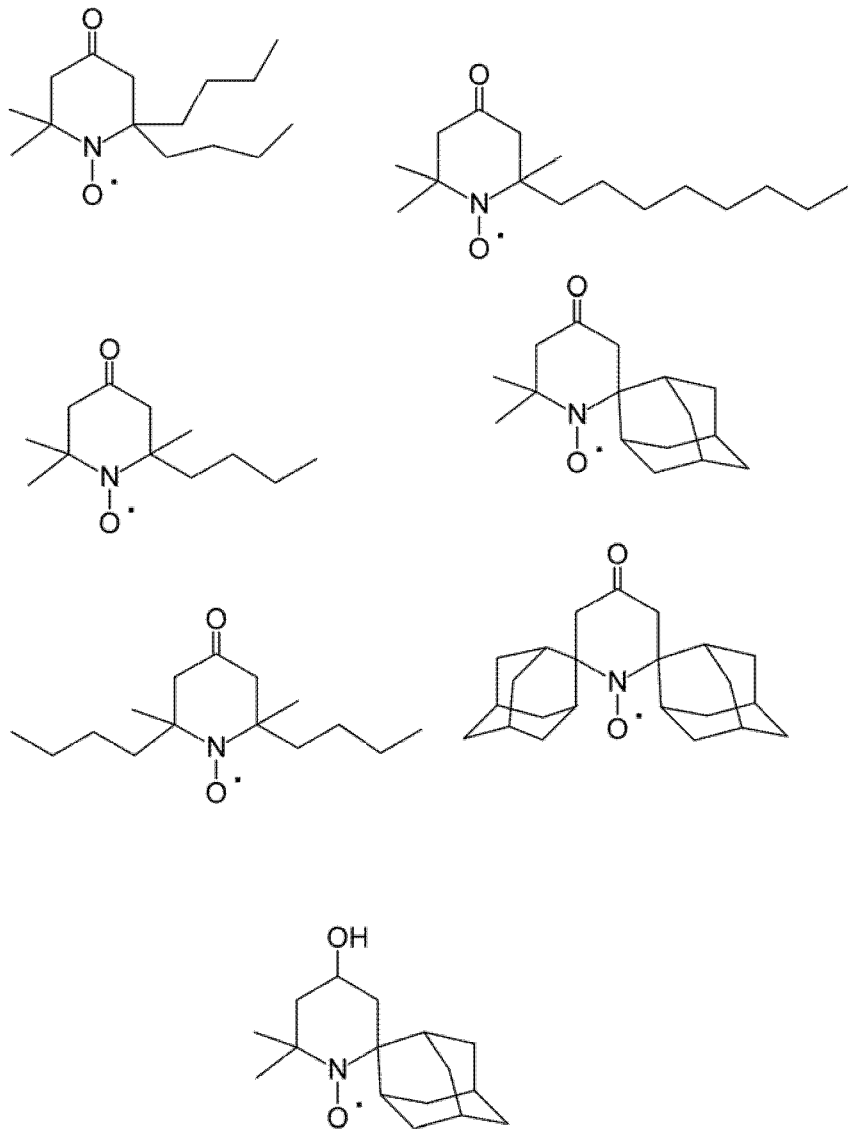
[請求項6]

請求項5記載の化合物であって、この化合物は、以下の化学式、

[化12]



[化13]



で示されるニトロキシラジカル化合物。

- [請求項7] 請求項5記載の化合物であって、この化合物は、胃粘膜損傷の治療に使用されるものである、化合物。
- [請求項8] 請求項5記載の化合物であって、この化合物は、高血圧の治療に使用されるものである、化合物。
- [請求項9] 請求項5記載の化合物と薬学的に許容可能な担体とを有する、医薬組成物。
- [請求項10] 胃粘膜損傷を治療する方法であって、この方法は、請求項5記載の

化合物を対象に投与する工程を含むものである、方法。

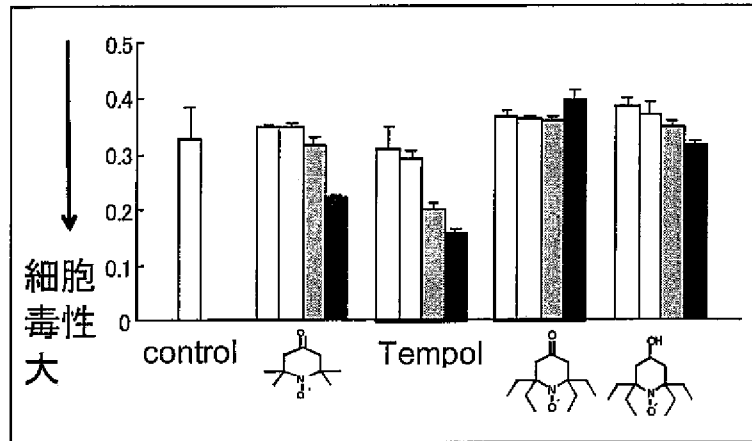
[請求項11] 請求項10記載の方法において、前記化合物は、約0.0001～4 g／日の量で投与されるものである、方法。

[請求項12] 高血圧を治療する方法であって、この方法は、請求項5記載の化合物を対象に投与する工程を含むものである、方法。

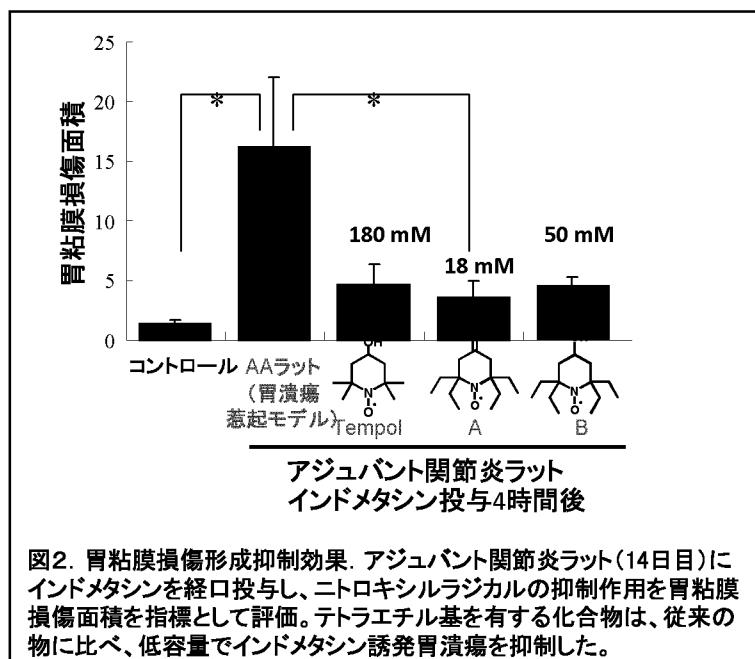
[請求項13] 請求項12記載の方法において、前記化合物は、約0.0001～4 g／日の量で投与されるものである、方法。

[図1]

図1 細胞毒性の評価

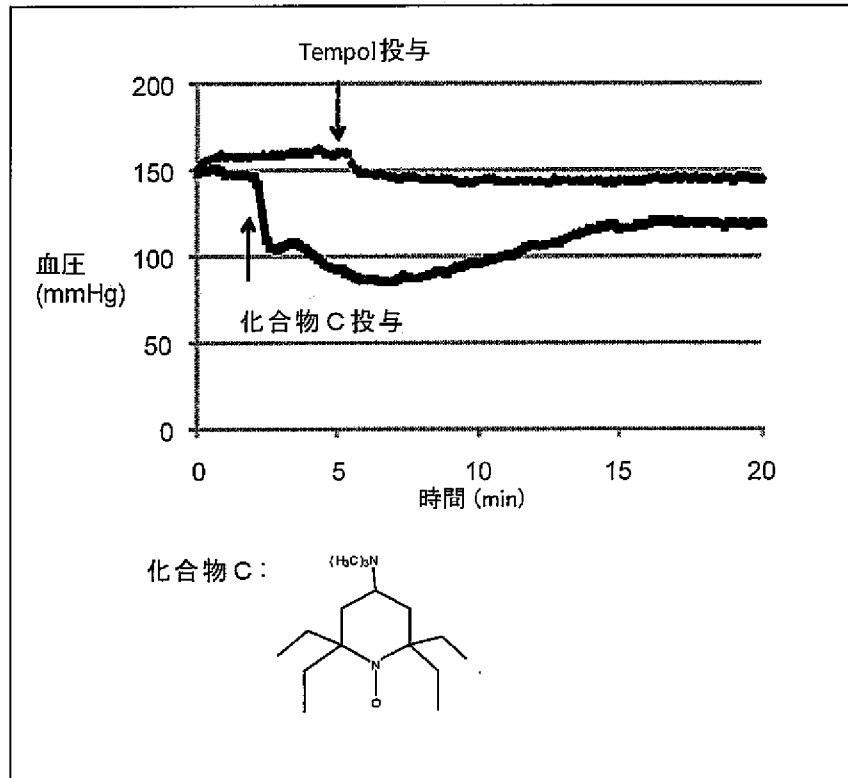


[図2]



[図3]

図3 血圧変動に及ぼす影響



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/069385

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D211/44(2006.01)i, A61K31/438(2006.01)i, A61K31/45(2006.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, C07D211/10(2006.01)i, C07D211/34(2006.01)i, C07D221/20(2006.01)i, C07D487/20(2006.01)i, C07D491/20(2006.01)i,
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D211/44, A61K31/438, A61K31/45, A61P1/04, A61P9/12, C07D211/10, C07D211/34, C07D221/20, C07D487/20, C07D491/20, C07D495/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CASREACT (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/093881 A1 (UNIV. KYUSHU NAT. CORP.,	1-2, 5-9
Y	Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-8581,	4
A	JP), 07 August 2008 (07.08.2008), & EP 2128135 A1	3
Y	JP 2001-026610 A (SANKYO CO., LTD.), 30 January 2001 (30.01.2001), paragraphs [0066], [0076] (Family: none)	4
Y	JP 2001-081076 A (SANKYO CO., LTD.), 27 March 2001 (27.03.2001), paragraphs [0020], [0026] (Family: none)	4



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 January, 2011 (04.01.11)

Date of mailing of the international search report

18 January, 2011 (18.01.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/069385

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

C07D495/20(2006.01) i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/069385

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 10-13
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The claims pertain to methods for treatment by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The inventions described in claims 1-4 relate to a process for producing a compound represented by chemical formula (1) from a compound represented by chemical formula (2), the inventions described in claims 5-8 relate to a compound represented by chemical formula (1), and the inventions described in claims 9-13 relate to a medicinal agent comprising a compound represented by chemical formula (1). These inventions share such a common matter that these inventions relate to a compound represented by chemical formula (1). However, a compound represented by chemical formula (1) is known at the time of the priority date of the present application, as disclosed in, for example,
(continued to extra sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/069385

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

WO 2008/093881 A1, page 27. Therefore, the matter that the inventions relate to a compound represented by chemical formula (1) cannot be regarded as a special technical feature from the viewpoint of the contribution over the prior art. In addition, there is no other same or corresponding special technical feature among the inventions. The claims include the following three (groups of) inventions.

(1) Inventions described in claims 1-4, which relate to a production process.

(2) Inventions described in claims 5-8, which relate to a compound itself.

(3) Inventions described in claims 9-13, which relate to a medicinal agent.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07D211/44(2006.01)i, A61K31/438(2006.01)i, A61K31/45(2006.01)i, A61P1/04(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, C07D211/10(2006.01)i, C07D211/34(2006.01)i, C07D221/20(2006.01)i, C07D487/20(2006.01)i, C07D491/20(2006.01)i, C07D495/20(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07D211/44, A61K31/438, A61K31/45, A61P1/04, A61P9/12, C07D211/10, C07D211/34, C07D221/20, C07D487/20, C07D491/20, C07D495/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2011年
日本国実用新案登録公報	1996-2011年
日本国登録実用新案公報	1994-2011年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CASREACT (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y A	WO 2008/093881 A1 (UNIV KYUSHU NAT CORP, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-8581, JP) 2008.08.07, & EP 2128135 A1	1-2, 5-9 4 3
Y	JP 2001-026610 A (SANKYO CO LTD) 2001.01.30, 【0066】 【0076】などを参照。 (ファミリーなし)	4
Y	JP 2001-081076 A (SANKYO CO LTD) 2001.03.27, 【0020】 【0026】などを参照。 (ファミリーなし)	4

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.01.2011

国際調査報告の発送日

18.01.2011

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 恵

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

4P

9164

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 10-13 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、治療による処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求項1-4に記載された発明は化学式(1)の化合物を化学式(2)の化合物から製造する方法の発明、請求項5-8に記載された発明は化学式(1)で表される化合物の発明、請求項9-13に記載された発明は化学式(1)の化合物を用いる医薬の発明である。これら発明は、化学式(1)の化合物に関するという点で共通するが、化学式(1)で表される化合物は、たとえば、WO 2008/093881 A1の27頁などに記載されているように、本願優先日時点ですでに公知である。したがって、化学式(1)の化合物に関するという点は、先行技術に貢献からみて、特別な技術的特徴とはならない。また、これらの発明の間には、ほかに同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。そして、請求の範囲には以下に示す3つの発明(群)が含まれる。

- (1) 請求項1-4に記載された製造方法の発明
- (2) 請求項5-8に記載された化合物自体の発明
- (3) 請求項9-13に記載された医薬の発明

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。