薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
110 (8) 573-585 (1990)

縮合 Pyridazine 誘導体の合成研究 (第2報¹⁾) 2-Aryl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino-
[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one, 2-Aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]-
pyridazin-3(4*H*)-one 誘導体, 及び関連化合物の合成と抗不安作用²⁾

中尾 達,* 川上 実, 森田憲司, 小畑 実, 森本保人,
竹原修造, 田原哲治
吉富製薬株式会社中央研究所

Studies on the Synthesis of Condensed Pyridazine Derivatives. II.¹⁾
Synthesis and Anxiolytic Activities of 2-Aryl-4,4a,5,6-tetrahydro-
pyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-ones, 2-Aryl-4a,5-dihydro-
2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-
ones, and Related Compounds²⁾

Tohru NAKAO,* Minoru KAWAKAMI, Kenji MORITA, Minoru OBATA,
Yasuto MORIMOTO, Shuzo TAKEHARA, and Tetsuya TAHARA
Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd., 955,
Koiwai, Yoshitomi-cho, Chikujou-gun, Fukuoka, 871, Japan

(Received February 28, 1990)

A series of 2-aryl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-ones, 2-aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-ones, and related compounds were synthesized and tested for their ability to displace [³H]diazepam from rat brain membranes *in vitro*, and to prevent bicuculline-induced convulsions in mice *in vivo*. Among them, 2-(4-chlorophenyl)-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-one (**16b**) showed remarkable activities both *in vitro* (K_i 48 nM) and *in vivo* (ED₅₀ 12.4 mg/kg, *p.o.*). The *trans* sulfoxide (**19a**) of **16b** exhibited anxiolytic pharmacological activities. Compound **19a** was equipotent with diazepam in the anticonflict assay (Vogel type, rat, MED 10 mg/kg, *p.o.*) while exhibiting reduced muscle relaxation (rotarod test) and narcotic potentiation. The structure-activity relationships are discussed.

Keywords—benzodiazepine receptor; binding assay; antianxiety; non-benzodiazepine structure; 2-aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-one; sulfoxide; γ -aminobutyric acid; anticonflict; structure-activity relationship

中枢神経系における benzodiazepine (BZP) 受容体の発見により BZP 系薬剤の作用機作についての研究は一段と進歩した。³⁾ BZP 受容体は γ -aminobutyric acid (GABA) 受容体及び Cl⁻ ionophore との複合体を形成し, BZP 類は GABA の作用を介して薬理作用を発現することが示唆されている。すなわち, BZP 受容体に作用する化合物は, GABA の作用の増強 (agonist) から抑制 (inverse agonist) に至る連続した作用スペクトラムの内に位置づけることができ, 薬理学的性質をも考慮した上で full agonist, partial agonist, antagonist, partial inverse agonist 及び inverse agonist の分類がなされている。⁴⁾

近年, BZP 系薬剤に関連した鎮静, 筋弛緩, アルコール増強作用, 依存性などの副作用が少なく, 不安に選択的に作用する抗不安薬の探索が進められている。⁵⁾ これらの研究の過程で, BZP 構造を持たないにもかかわらず, BZP 受容体に高い親和性を示す化合物が多数見いだされた。これらのうち, BZP partial agonist として分類される化合物は, いずれも副作用との分離が大きく, 抗不安活性に選択的な薬理作用を示すことから, 新しいタイプの抗不安薬として期待されている。^{6,7)}

先に著者らは, 2-aryl-4,4a,5,6-tetrahydrobenzo[*h*]cinnolin-3(2*H*)-one 類及び関連化合物と BZP 受容体親和性との構造-活性相関の検討から, 化合物 **1a**, **b** が BZP 受容体に対し diazepam (DZP) に匹敵する高い活性を有

することを報告した.¹⁾

今回、抗不安作用に選択性の高い薬物の開発を意図して、Chart 1 の一般式 2 で示した 2-aryl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-c]quinolin-3(2H)-one 誘導体、2-aryl-4a,5-dihydro-2H-(1)benzothio-pyrano[4,3-c]pyridazin-3(4H)-one 誘導体及び関連化合物の合成を行い、それらの薬理作用について検討した。抗不安活性のスクリーニングには、(1) *in vitro*; [³H]diazepam(DZP) を用いた binding assay, (2) *in vivo*; BZP 受容体と GABA_A 受容体との関連^{8,9)}から GABA_A antagonist の bicuculline で誘発した痙攣に対する拮抗作用を併用し検討した。その結果、若干の興味ある知見を得たので報告する。

合成

2-Aryl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-c]quinolin-3(2H)-one 誘導体は Chart 2 に示す経路で合成した。まず、縮合原料であるケトカルボン酸 (6) の合成法を検討した。ケトン体 (3) と pyrrolidine より enamine (4) を合成し,¹⁰⁾ 4 と ethyl bromoacetate とを MeOH 中で反応させて 5 を得た。次いで、5 を塩酸-酢酸中で加水分解し 6 へ導いた。ところで、Atwal ら¹⁰⁾ は 3 と diethylamine 及び formaldehyde との Mannich 反応を試み原料回収に終わっている。しかし、先に報告した方法¹⁾ に準じ、無水酢酸存在下で、formaldehyde と dimethylamine hydrochloride 及び 3 との Mannich 反応を試みたところ好収量で 7 を得た。7 に 50% MeOH 溶液中で KCN を反応させ、ニトリル体 (8) とし、塩酸-酢酸中で加水分解することによっても 6 を得た。6 と 4-置

Chart 1

Chart 2

TABLE I. Physical and Biological Data of Condensed Pyridazinones

Compd. No.	R ¹	R ²	Y	4-4a ^{a)} bond	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv. ^{a)}	Formula	Analysis (%)			[³ H]DZP ^{b)} binding K _i (nM)	Antibicu. ^{c)} ED ₅₀ mg/kg, p.o.
								Calcd	Found	N		
9a	H	H	NH	1	67	170–172 MeOH	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O	73.63 (73.82)	5.45 5.50	15.15 15.17	1000	—
9b	Cl	H	NH	1	56	146–148 EtOH	C ₁₇ H ₁₄ ClN ₃ O	65.49 (65.42)	4.53 4.48	13.48 13.31	110	>100
9c	CH ₃	H	NH	1	48	189–190 IPA	C ₁₈ H ₁₇ N ₃ O	74.21 (74.30)	5.88 5.81	14.42 14.21	750	>100
9d	OCH ₃	H	NH	1	67	179–180 IPA	C ₁₈ H ₁₇ N ₃ O ₂	70.34 (70.45)	5.57 5.54	13.67 13.54	97	>100
10a	H	H	NCH ₃	1	93	142–143 IPA	C ₁₈ H ₁₇ N ₃ O	74.21 (74.39)	5.88 5.85	14.42 14.48	13	>100
10b	Cl	H	NCH ₃	1	89	155–156 IPA	C ₁₈ H ₁₆ ClN ₃ O	66.36 (66.51)	4.95 4.91	12.90 12.78	40	97
10c	OCH ₃	H	NCH ₃	1	75	178–180 IPA	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₂	71.01 (70.88)	5.96 6.07	13.07 12.90	4.5	>100
10d	Cl	H	NC ₂ H ₅	1	87	161–163 IPE	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O	67.16 (67.26)	5.34 5.37	12.37 12.35	>1000	—
10e	Cl	H	NC ₃ H ₇	1	30	168–169 IPA	C ₂₀ H ₂₀ ClN ₃ O	67.89 (67.92)	5.70 5.70	11.88 11.92	>1000	—
11a	Cl	H	NCOCH ₃	1	94	185–186 EtOH	C ₁₉ H ₁₆ ClN ₃ O ₂	64.50 (64.77)	4.56 4.50	11.88 11.87	>1000	—
11b	OCH ₃	H	NCOC ₃ H ₅	1	83	193–195 MeOH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	69.41 (69.33)	5.82 5.83	11.56 11.40	>1000	—
16a	H	H	S	1	65	103–105 EtOH	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ OS	69.36 (69.33)	4.79 4.69	9.52 9.57	120	>100
16b	Cl	H	S	1	87	146–147 AcOH	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ OS	62.10 (62.35)	3.98 3.91	8.52 8.48	48	12.4
16c	OCH ₃	H	S	1	92	163–165 EtOH	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₂ S	66.65 (66.97)	4.97 4.86	8.64 8.45	10	>100

TABLE I. (continued)

Compd. No.	R ¹	R ²	Y	4-4a ^f bond	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv. ^a	Formula	Analysis (%)			[³ H]DZP ^b binding K _i (nM)	Antibicu. ^c ED ₅₀ mg/kg, p.o.
								Calcd	H	N		
16d	CH ₃	H	S	1	44	116–118 IPA	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	70.10 (70.10)	5.23 (5.12)	9.08 (9.12)	12	>100
16e	Br	H	S	1	67	167–169 AcOH	C ₁₇ H ₁₃ BrN ₂ O ₃ S	54.70 (54.83)	3.51 (3.56)	7.50 (7.42)	45	100
16f	CF ₃	H	S	1	58	124–127 EtOH	C ₁₈ H ₁₃ F ₃ N ₂ O ₃ S	59.66 (59.88)	3.62 (3.71)	7.73 (7.74)	>1000	—
16g	Cl	Cl	S	1	87	134–136 EtOH	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₃ S	56.21 (56.21)	3.33 (3.32)	7.71 (7.62)	54	>100
16h	Cl	F	S	1	44	164–167 EtOH	C ₁₇ H ₁₂ ClFN ₂ O ₃ S	58.88 (58.89)	3.49 (3.46)	8.08 (8.16)	31	67.7
16i	Cl	CH ₃	S	1	88	169–171 AcOH	C ₁₈ H ₁₅ ClN ₂ O ₃ S	63.06 (62.99)	4.41 (4.34)	8.17 (8.18)	43	>100
16j	Cl	OCH ₃	S	1	70	143–144 EtOH	C ₁₈ H ₁₅ ClN ₂ O ₂ S	60.25 (60.34)	4.21 (4.18)	7.81 (7.77)	28	29.2
16k	OCH ₃	CH ₃	S	1	59	146–148 EtOH	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₂ S	67.43 (67.58)	5.36 (5.48)	8.28 (8.15)	19	>100
16l	OCH ₃	OCH ₃	S	1	61	124–126 EtOH	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₃ S	64.39 (64.50)	5.12 (5.14)	7.90 (7.97)	15	>100
18a	Cl	H	O	1	74	213–215 ^d EtOH	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	65.29 (65.42)	4.19 (4.20)	8.96 (8.92)	41	>100
18b	OCH ₃	H	O	1	79	159–160 EtOH	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₃	70.12 (70.10)	5.23 (5.25)	9.09 (9.10)	34	>100
18c	CH ₃	H	O	1	69	164–165 ^e IPA	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O ₂	73.96 (74.20)	5.52 (5.51)	9.58 (9.92)	39	>100
19a	Cl	H	SO (<i>trans</i>)	1	(64)	210–213 IPA	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₂ S	59.22 (58.98)	3.80 (3.78)	8.12 (8.19)	75	3.4
19b	Cl	H	SO (<i>cis</i>)	1	(64)	190–192 IPA	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₂ S	59.22 (59.22)	3.89 (3.89)	8.11 (8.11)	>1000	5.3
19c	Cl	F	SO (<i>cis</i>)	1	78	188–191 EtOH	C ₁₇ H ₁₂ ClFN ₂ O ₂ S	56.28 (56.14)	3.33 (3.42)	7.72 (7.78)	>1000	18.9
20	Cl	H	SO ₂	1	62	168–170 AcOH	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₂ O ₃ S	56.59 (56.59)	3.63 (3.63)	7.76 (7.82)	220	78.1
21	Cl	H	S	2	72	183–185 AcOH	C ₁₇ H ₁₁ ClN ₂ O ₃ S	62.48 (62.40)	3.39 (3.31)	8.57 (8.54)	97	>100
22	Cl	H	SO	2	68	197–198 AcOH	C ₁₇ H ₁₁ ClN ₂ O ₂ S	59.57 (59.21)	3.23 (3.21)	8.17 (8.00)	>1000	21.3
Diazepam											5.8	0.4

^a) IPE, isopropylether, IPA, isopropylalcohol; ^b) DZP, diazepam; ^c) antibicu., antituberculin; ^d) lit. (reference 13), mp 209–211°C; ^e) lit. (reference 13), mp 165–166°C; ^f) 1, single bond, 2, double bond.

TABLE II. Physical Data of 3,4-Dihydro-4-oxo-2*H*-(1)benzothiopyran-3-Acetonitrile Derivatives

Compd. No.	R ²	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv.	Formula	Analysis (%)		
					Calcd (Found)		
					C	H	N
14a	Cl	70	153—155 AcOEt	C ₁₁ H ₅ ClNOS	55.58 (55.63)	3.39 3.49	5.89 5.84
14b	H	83	73—75 IPA	C ₁₁ H ₉ NOS	65.00 (65.11)	4.46 4.63	6.89 6.86
14c	F	62	118—119 IPA	C ₁₁ H ₅ FNOS	59.72 (59.93)	3.64 3.75	6.33 6.33
14d	CH ₃	40	120—121 IPA	C ₁₂ H ₁₁ NOS	66.33 (66.27)	5.10 5.14	6.45 6.39
14e	OCH ₃	52	123—125 EtOH	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂ S	61.78 (61.85)	4.75 4.86	6.00 5.83

換 phenylhydrazine 類とを butanol 中、一夜加熱還流し縮合閉環体 (9) を得た。9 と各種 aldehyde とを MeOH 中、NaCNBH₃ の存在下で還元的アルキル化反応を行い 10 を合成した。また、9 と酸無水物との反応により 6-acyl 体 (11) を得た (Table I)。

2-Aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-one 誘導体 (16) は Chart 3 に示す経路で

TABLE III. Physical Data of 3,4-Dihydro-4-oxo-2*H*-(1)benzothiopyran-3-acetic Acid Derivatives

Compd. No.	R ²	Yield (%)	mp (°C) Recryst. solv.	Formula	Analysis (%) Calcd (Found)	
					C	H
15a	Cl	86	171—173 IPA	C ₁₁ H ₉ ClO ₃ S	51.47 (51.52)	3.53 (3.53)
15b	H	86	113—115 IPA	C ₁₁ H ₁₀ O ₃ S	59.44 (59.72)	4.54 (4.58)
15c	F	89	146—147 IPA	C ₁₁ H ₉ FO ₃ S	54.99 (55.07)	3.78 (3.87)
15d	CH ₃	93	115—117 IPA	C ₁₂ H ₁₂ O ₃ S	61.00 (60.89)	5.12 (5.08)
15e	OCH ₃	82	155—156 EtOH	C ₁₂ H ₁₂ O ₄ S	57.13 (57.17)	4.79 (4.87)

Chart 4

合成した。ケトン体 (12) に、7 の合成と同様の方法で Mannich 反応を行い 13 を得た。13 は二量体を生成し易いことから、^{11,12} 13a (R²=Cl) を精製確認するに止め、それ以外は精製することなく次の反応に用いた。13 と KCN との反応によりニトリル体 (14) へ導き (Table II), 塩酸-酢酸中で加水分解しケトカルボン酸 (15) を合成した (Table III)。15 と 4-置換 phenylhydrazine との縮合閉環反応により 16 を得た。また、2-aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3-(4*H*)-one 誘導体 (18)¹³は、Ozaki ら¹⁴の方法により合成した 17 を原

料とし、**16**と同様にして合成した (Table I).

さらに、化合物 **16b** ($R^2=H$) については、bioavailability の向上を目的として、Chart 4 に示す経路で sulfoxide 体 (**19a, 19b, 22**) 及び sulfone 体 (**20**) へと導いた。また、**16h** ($R^2=F$) の sulfoxide 体 (**19c**) も合成した。**16** を酢酸中で過酸化水素と反応させて **19** とし、更に酢酸中で過酸化水素と反応させて **20** とした。**16** を酢酸中臭素で酸化し **21** とし、次いで酢酸中で過酸化水素により酸化して **22** を合成した。なお、**19** は diastereoisomer の混合物として得られたので、カラムクロマトグラフィーにより *trans* 体 (**19a**), *cis* 体 (**19b**) を分離し、X 線解析により構造を確認した (Fig. 1).¹⁵⁾ その結果、

19a (*trans*) では sulfoxide の酸素原子が equatorial-like に、**19b** (*cis*) では axial-like に配置していることが判明した。^{1H} 核磁気共鳴スペクトル (¹H-NMR) において、**19a** では 4a 位 H が $\delta=3.33$ に観察されるのに比し、**19b** では 1,3-diaxial 相互作用により低磁場ヘシフト ($\delta=4.11$) していた。**19c** においては 4a 位 H が $\delta=4.10$ に観察されることから *cis* 体であることが示唆された。高速液体クロマトグラフ (HPLC) から **19a** : **19b** = 1 : 4 の生成比を得たことから過酸化水素による酸化反応では *trans* 体に比し *cis* 体が優先して得られることが分かった (Table I).

薬理作用並びに構造-活性相関

In vitro における BZP 受容体親和性の試験はラット大脳皮質を用い、[³H]DZP 結合に対する置換能を阻害定数 K_i 値で示した。*In vivo* での抗 bicuculline 作用の試験はマウスを用い、bicuculline で誘発した痙攣に対する拮抗作用を ED_{50} 値で示した (Table I).

2-Aryl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one 類の BZP 受容体親和性については、6 位 *N* 置換基の影響を強く受ける傾向が認められた。*N*-CH₃ 体である **10a—c** は高い親和性を示し、NH 体である **9a—d** では活性の減弱傾向が見られた。一方、*N*-C₂H₅ 体 (**10d**), *N*-C₃H₇ 体 (**10e**), 及び *N*-acyl 体 (**11a, b**) では、1000 nm まで親和性が認められなかった。これらの事実から、6 位 *N* の置換基としては CH₃ 基が最適であり、かさ高い置換基では親和性を減弱させる傾向が見られた。また、置換基 R^1 については、OCH₃ 体が親和性の増強をもたらし、6 位の *N*-CH₃ 置換と組合わさった **10c** (K_i 4.5 nm) では DZP に勝る親和性が認められた。

2-Aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-one 類の **18a—c** ではいずれも高い親和性が認められた。

2-Aryl-4a,5-dihydro-2*H*-(1)benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-one 類では、置換基 R^1 が CF₃ (**16f**) のとき 1000 nm まで親和性が認められなかった。それ以外の、 R^1 が Cl, CH₃, OCH₃, Br ではいずれも高い親和性を示した。置換基 R^2 については、OCH₃ 体で他の置換基に比して高い親和性を示す傾向が見られたが、その影響は小さかった。4-4a 間の結合を 2 重結合とした **21** は、単結合体である **16b** の 2 倍の K_i 値を示し、不飽和結合の導入は親和性の減弱をもたらした。Sulfoxide 体では、*trans* 体 (**19a**) に親和性が認められたが、*cis* 体 (**19b, c**) では認められなかった。Sulfoxide の酸素原子が *trans* 体では equatorial-like に、*cis* 体では axial-like に配置 (Fig. 1) していることから、両異性体間の親和性の差は 2 位 phenyl 基と酸素原子の相対的位置の違いによるものと推察される。Sulfone 体 (**20**) の親和性は **19a** と **19b** の中間に位置した。

In vivo における抗 bicuculline 作用については、置換基 R^1 が Cl である化合物 **10b, 16b, h** 及び **16j** 並びに、Br である化合物 **16e** に痙攣拮抗作用が認められたが、それ以外の置換基を有する化合物では活性が認められなかった。これらの中では **16b** ($ED_{50}=12.4$ mg/kg *p.o.*) が最も強い活性を示した。次いで bioavailability の向上を目的とした 6 位 *S* 原子の酸化体のうち、sulfoxide 体 (**19a—c**) は、いずれも対応する sulfide 体 (**16b, h**) に比し 2 倍以上の活性増強を示した。これに対し、sulfone 体 (**20**) では活性が減弱した。Sulfoxide 体の異性体間においては、*in vitro* 試験で見られた程の大きな差は認められなかったものの、*trans* 体 (**19a**) が *cis* 体 (**19b**)

Fig. 1. X-ray Crystal Structure of **19a** and **19b**

TABLE IV. Biological Data of 19a

Compd.	Anticonflict (rats) (Water-lick) MED mg/kg, <i>p.o.</i>	Rotarod (mice) ED ₅₀ mg/kg, <i>p.o.</i>	Narcotic potent. (mice) ED ₅₀ mg/kg, <i>p.o.</i>		GABA ratio	Relative <i>I</i> _{cl}
			EtOH	Hexo. ^{a)}		
19a	10	77	312	500	1.76	1.7
DZP	10	1.6	2.2	6.9	2.03	2.4

a) Hexo, hexobarbital.

に比し 1.6 倍強い痙攣拮抗作用を示した。これらの結果から, sulfoxide 体では bioavailability の改善があったことが示唆され, 生体内では sulfide 体あるいは sulfone 体に代謝され *cis*, *trans* 間の活性差が小さくなったことが推察される。

式 2 の化合物群について, 構造と薬理作用との関係をまとめると,

(1) Y については *N*-CH₃, *S* 及び *O* の場合 BZP 受容体に高い親和性を示した。 *S* 及び *N*-CH₃ の場合に抗 bicuculline 作用が認められたが, *S* がより好ましいことが示唆された。

(2) R¹ については OCH₃>CH₃>Cl, Br>H>CF₃ の順で BZP 受容体親和性が高かった。抗 bicuculline 作用発現には, Cl 及び Br が寄与しており, 殊に Cl の重要性が示唆された。

(3) R² への置換基の導入が薬理作用に及ぼす影響は小さいものの, BZP 受容体親和性, 抗 bicuculline 作用ともに減弱傾向がみられた。また, 4-4a 間の結合については, 2 重結合より単結合が強い活性を示した。

(4) *S* を sulfoxide に酸化することにより *in vivo* における作用の増強がみられ, bioavailability の向上が示唆された。

そこで, *in vitro* での BZP 受容体親和性を示し, *in vivo* で最も強い抗 bicuculline 作用が認められた *trans*-2-(4-chlorophenyl)-4a,5-dihydro-2*H*-(1-benzothiopyrano[4,3-*c*]pyridazin-3(4*H*)-one 6-oxide (19a) について, 薬理学的特徴を調べる目的で, DZP との比較検討を行った (Table IV)。

臨床上的抗不安作用との相関性が高いとされる抗 conflict 実験¹⁶⁾において, 19a は DZP と同等の活性を示した。DZP では副作用に関連する筋弛緩作用, アルコール増強作用などが低用量から発現した。これに対し, 19a では副作用発現に DZP の 48 倍以上の用量を必要とした。また, [³H]DZP 結合実験によって GABA の増強作用 (GABA ratio) を検討したところ, DZP が 2.03 倍の増強作用に対し 19a は 1.76 倍であった。¹⁷⁾ さらに, concentration-clamp 法¹⁸⁾により GABA (3×10⁻⁶ M) で誘発されるクロロイオン電流 (*I*_{cl}) を比較検討したところ, *I*_{cl} を DZP は 2.4 倍増強したのに比し 19a の増強作用は 1.7 倍であった。^{19,20)} これらの事実から, 19a は BZP 受容体 partial agonist の性質を有し, かつ, 薬理的及び生化学的に BZP 類に随伴する副作用の軽減した性質を示すことから, anxioselective な抗不安作用を有することが期待される。

実 験 の 部

融点は未補正である。赤外線吸収 (IR) スペクトルは, 日本分光 IR-810 型, ¹H-NMR スペクトルは, 日本電子 JNM-FX100 型及び JNM-GSX400 型 (内部標準 tetramethylsilane), 質量スペクトル (MS) は JMS-01SG-2 型を用いて測定した。

Ethyl 1,2,3,4-Tetrahydro-4-oxo-1-(*p*-toluenesulfonyl)quinoline-3-acetate (5) 1-(*p*-Toluenesulfonyl)-4-(*N*-pyrrolidino)-1,2-dihydroquinoline (4)¹⁰⁾ 10.6 g (0.03 mol), ethyl bromoacetate 15 g (0.09 mol), KI 1.0 g を MeOH 200 ml 中に加え 20 時間加熱還流, 次いで, 水 10 ml を添加, 更に 2 時間還流, 濃縮しトルエン抽出, 水洗, 乾燥 (MgSO₄), 溶媒留去して得た残渣を IPA から再結晶し, mp 111—113°C の無色針状晶 (5) 6.4 g (55%) を得た。Anal. Calcd C₂₀H₂₁NO₅S: C, 62.00; H, 5.46; N, 3.62. Found: C, 62.23; H, 5.42; N, 3.71. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1730 (COOC₂H₅), 1695 (C=O), 1350 (SO₂N), 1170 (SO₂N). MS *m/z*: 387 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.80 (3H, t, *J*=7 Hz, CH₂CH₃), 2.38 (3H, s, ArCH₃), 2.23—2.50 (1H, m), 2.67—2.95 (2H, m), 3.78 (1H, dd, *J*=14, 13 Hz), 4.25 (2H, q, *J*=7 Hz, CH₂CH₃), 4.65 (1H, dd, *J*=14, 5 Hz), 7.23 (2H, d, *J*=8 Hz, ArH), 7.15—7.30 (1H, m, ArH), 7.44—7.68 (1H, m, ArH), 7.80—7.98 (2H, m, ArH).

3-Dimethylaminomethyl-1-(*p*-toluenesulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydro-4-quinolone Hydrochloride (7) Dimethyl-

amine hydrochloride 19.6 g (0.24 mol) と 37% HCHO 19.5 g (0.24 mol) とを室温に 30 分間攪拌する. 70—75°C に 30 分保った後, 70—80°C で無水酢酸 200 ml を滴下, 30 分後 360 g (0.2 mol) を加え同温に 3 時間攪拌する. 濃縮残渣に acetone 300 ml を加え放置, 生じた結晶をろ取, acetone 洗浄, EtOH から再結晶し mp 170—173°C (dec.) の無色針状晶 (7) 61.3 g (77%) を得た. Anal. Calcd $C_{19}H_{22}N_2O_3S \cdot HCl$: C, 57.78; H, 5.87; N, 7.10. Found: C, 57.84; H, 5.91; N, 7.08. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 1695 (C=O), 1360 (SO_2N), 1170 (SO_2N). MS m/z : 358 (M^+). 1H -NMR (CD_3COOD) δ : 2.39 (3H, s, $ArCH_3$), 3.02 (6H, s, N (CH_3)₂), 3.21—3.98 (4H, m), 4.87 (1H, dd, $J=14$, 5 Hz), 7.14—7.98 (8H, m, ArH).

1,2,3,4-Tetrahydro-4-oxo-1-(*p*-toluenesulfonyl)quinoline-3-acetonitrile (8) KCN 26 g (0.4 mol) を水 300 ml に溶解, MeOH 300 ml を加え, 761 g (0.15 mol) を添加, 55—60°C に 3 時間攪拌する. 放冷後生じた沈澱をろ取, 水洗, EtOH から再結晶し mp 109—111°C の無色針状晶 (8) 41 g (80%) を得た. Anal. Calcd $C_{18}H_{16}N_2O_3S$: C, 63.51; H, 4.74; N, 8.23. Found: C, 63.68; H, 4.69; N, 8.20. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 2240 (CN), 1695 (C=O), 1360 (SO_2N), 1170 (SO_2N). MS m/z : 340 (M^+). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.42 (3H, s, $ArCH_3$), 2.50—2.96 (3H, m), 3.60—3.97 (1H, m), 4.72 (1H, dd, $J=14$, 5 Hz), 7.17—7.33 (1H, m), 7.29 (2H, d, $J=8$ Hz, ArH), 7.65 (2H, d, $J=8$ Hz, ArH), 7.50—7.71 (1H, m, ArH), 7.83—8.01 (2H, m, ArH).

4-Oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-acetic Acid (6) 55 g (0.013 mol) を濃塩酸 25 ml, 酢酸 25 ml の混液中, 5 時間加熱還流する. 濃縮した残渣に水を加え沈澱をろ取, 水洗, IPA から再結晶し mp 183—185°C の淡黄色針状晶 (6) 1.9 g (70%) を得た. Anal. Calcd $C_{11}H_{11}NO_3$: C, 64.38; H, 5.40; N, 6.83. Found: C, 64.31; H, 5.38; N, 6.72. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 3360 (NH), 1690 (COOH), 1660 (C=O). MS m/z : 205 (M^+). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.29—3.74 (7H, m), 6.63—6.84 (2H, m, ArH), 7.21—7.40 (1H, m, ArH), 7.86 (1H, dd, $J=8$, 1 Hz, ArH).

また, 825 g (0.073 mol) を同様にして濃塩酸, 酢酸により加水分解し, 66.8 g (43%) を得た.

2-(4-Methoxyphenyl)-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one (9d) 4-Methoxyphenylhydrazine hydrochloride 2.0 g (0.012 mol) を希 NaOH 水溶液にて脱塩酸し, $CHCl_3$ 抽出, 水洗, 乾燥 (K_2CO_3) 後濃縮した残渣に, 61.7 g (0.008 mol) を加え, butanol 20 ml を注加後一夜加熱還流する. 減圧濃縮した残渣に isopropylether (IPE) を加え洗浄し, 結晶をろ取, IPA から再結晶し mp 179—180°C (dec.) の淡黄色針状晶 (9d) 1.7 g (67%) を得た. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 3340 (NH), 1650 (CON). MS m/z : 307 (M^+). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.54—3.58 (6H, m), 3.83 (3H, s, OCH_3), 6.58—7.17 (3H, m, ArH), 6.93 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.47 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.97 (1H, dd, $J=8$, 1 Hz, ArH).

同様の方法により合成した化合物 (9a-c) の収率, 融点, 元素分析値を Table I に示した.

2-(4-Methoxyphenyl)-6-methyl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one (10c) 9d 1.5 g (0.005 mol), 37% HCHO 2 ml (0.025 mol), $NaCNBH_3$ 1.5 g (0.024 mol) を MeOH 100 ml 中に, 氷冷下順次添加する. 希塩酸数滴を滴下後, 室温に一夜放置する. 濃縮した残渣に水を加え放置, 沈澱をろ取, 水洗, IPA から再結晶し mp 178—180°C の黄色板状晶 (10c) 1.2 g (75%) を得た. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 1680 (CON). MS m/z : 321 (M^+). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 2.53—3.60 (5H, m), 2.95 (3H, s, N- CH_3), 3.84 (3H, s, OCH_3), 6.66—7.01 (2H, m, ArH), 6.93 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.18—7.53 (1H, m, ArH), 7.49 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.01 (1H, dd, $J=8$, 1.5 Hz, ArH).

同様の方法により合成した化合物 (10a,b) の収率, 融点, 元素分析値を Table I に示した.

2-(4-Chlorophenyl)-6-ethyl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one (10d) 9b 1.4 g (0.0045 mol) と CH_3CHO 1 g より 10c と同様にして mp 161—163°C の黄色針状晶 (10d, IPE から再結晶) 1.3 g (87%) を得た. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 1685 (CON). MS m/z : 339 (M^+). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 1.18 (3H, t, $J=7$ Hz, CH_2CH_3), 2.37—2.86 (2H, m), 3.07—3.74 (5H, m), 6.65—6.81 (2H, m, ArH), 7.16—7.41 (1H, m, ArH), 7.35 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.58 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.02 (1H, dd, $J=8$, 1.5 Hz, ArH).

2-(4-Chlorophenyl)-6-propyl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one (10e) 9b 1.6 g (0.005 mol) と CH_3CH_2CHO 1.5 g (0.025 mol) より 10c と同様に反応して得た油状物をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , $CHCl_3$) に付し, 目的画分より得た結晶を IPA から再結晶し, mp 168—169°C の黄色針状晶 (10e) 0.6 g (34%) を得た. IR $\nu_{\max}^{KBr}$ cm^{-1} : 1680 (CON). MS m/z : 353 (M^+). 1H -NMR ($CDCl_3$) δ : 0.97 (3H, t, $J=7$ Hz, CH_2CH_3), 1.46—1.84 (2H, m), 2.36—2.82 (2H, m), 3.05—3.62 (5H, m), 6.64—6.79 (2H, m, ArH), 7.16—7.41 (1H, m, ArH), 7.34 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.57 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.01 (1H, dd, $J=8$, 1.5 Hz).

6-Acetyl-2-(4-chlorophenyl)-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-*c*]quinolin-3(2*H*)-one (11a) 9b 1.6 g (0.005

mol) に無水酢酸 5 ml を加え 85—90°C に 1 時間保つ。放冷後水を加え振とう、生じた沈澱をろ取、水洗、EtOH から再結晶し mp 185—186°C の淡黄色プリズム晶 (**11a**) 1.7 g (94%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1690 (CON), 1660 (CON). MS m/z : 353 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.28 (3H, s, COCH₃), 2.44—3.44 (4H, m), 4.84—5.05 (1H, m), 7.16—7.61 (3H, m, ArH), 7.35 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.54 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.12 (1H, m, ArH).

2-(4-Methoxyphenyl)-6-propionyl-4,4a,5,6-tetrahydropyridazino[4,3-c]quinolin-3(2H)-one (11b) **9d** 1.6 g (0.005 mol) と無水プロピオン酸 10 ml を用いて、**11a** と同様にして得た結晶を MeOH から再結晶し mp 193—195°C の淡黄色プリズム晶 (**11b**) 1.5 g (83%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1685 (CON), 1655 (CON). MS m/z : 363 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 1.17 (3H, t, $J=7$ Hz, CH₂CH₃), 2.26—3.47 (6H, m), 3.83 (3H, s, OCH₃), 4.84—5.02 (1H, m), 6.94 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.13—7.51 (3H, m, ArH), 7.44 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.08 (1H, dd, $J=8, 1.5$ Hz, ArH).

6-Chloro-3,4-dihydro-3-dimethylaminomethyl-2H-(1)benzothiopyran-4-one (13a) Dimethylamine hydrochloride 20 g (0.24 mol), 37% HCHO 20 g (0.24 mol), 無水酢酸 200 ml 及び 6-chloro-2,3-dihydro-4H-(1)benzothiopyran-4-one (**12a**) 40 g (0.2 mol) を用い、**7** と同様にして得た結晶を MeOH から再結晶し mp 165—168°C (dec.) の無色プリズム晶 (**13a**) 55 g (94%) を得た。Anal. Calcd C₁₂H₁₄ClNOS·HCl: C, 49.32; H, 5.17; N, 4.79. Found: C, 49.28; H, 5.13; N, 4.80. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1665 (C=O). MS m/z : 255 (M⁺). ¹H-NMR (CD₃COOD) δ : 3.05 (6H, s, N(CH₃)₂), 3.32—3.88 (5H, m), 7.27 (1H, d, $J=9, 4$ Hz, ArH), 7.43 (1H, dd, $J=9, 2$ Hz, ArH), 7.97 (1H, d, $J=2$ Hz, ArH).

6-Chloro-3,4-dihydro-4-oxo-2H-(1)benzothiopyran-3-acetonitrile (14a) KCN 29 g (0.45 mol) と **13a** 55 g (0.19 mol) から **8** と同様にして得た結晶を AcOEt から再結晶し mp 153—155°C の無色プリズム晶 (**14a**) 31.3 g (70%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 2240 (CN), 1675 (C=O). MS m/z : 237 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.56—3.42 (5H, m), 7.22 (1H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.39 (1H, dd, $J=9, 2$ Hz, ArH), 8.05 (H, d, $J=2$ Hz, ArH).

同様の方法により合成した化合物 (**14b—e**) の収率、融点、元素分析値を Table II に示した。

6-Chloro-3,4-dihydro-4-oxo-2H-(1)benzothiopyran-3-acetic Acid (15a) **14a** 31 g (0.13 mol) を **6** と同様にして得た結晶を IPA から再結晶し mp 171—173°C の無色針状晶 (**15a**) 29 g (86%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1705 (COOH), 1675 (C=O). MS m/z : 256 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.52—3.42 (5H, m), 7.20 (1H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.36 (1H, dd, $J=9, 2$ Hz, ArH), 8.06 (1H, d, $J=2$ Hz, ArH), 9.50—11.00 (1H, br s, COOH).

同様の方法により合成した化合物 (**15b—e**) の収率、融点、元素分析値を Table III に示した。

2-(4-Chlorophenyl)-9-methoxy-4a,5-dihydro-2H-(1)benzothiopyrano[4,3-c]pyridazin-3(4H)-one (16j) **15e** 6.0 g (0.024 mol) と 4-chlorophenylhydrazine 4.1 g (0.029 mol) とを butanol 150 ml 中に加え、一夜加熱還流する。約 1/2 に濃縮し放置する。生じた結晶をろ取、EtOH から再結晶し mp 143—144°C の無色針状晶 (**16j**) 6.0 g (70%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1690 (CON). MS m/z : 358 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.40—3.58 (5H, m), 3.80 (3H, s, OCH₃), 6.86 (1H, dd, $J=9, 3$ Hz, ArH), 7.17 (1H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.34 (2H, d, $J=10$ Hz, ArH), 7.53 (2H, d, $J=10$ Hz, ArH), 7.66 (1H, d, $J=3$ Hz, ArH).

同様の方法により合成した化合物 (**16a—i, k, l**) の収率、融点、元素分析値を Table I に示した。

2-(4-Methylphenyl)-4a,5-dihydro-2H-(1)benzopyrano[4,3-c]pyridazin-3(4H)-one (18c) 4-Methylphenylhydrazine hydrochloride 2.4 g (0.015 mol) を希 NaOH 水溶液により脱塩酸し、CHCl₃ 抽出、乾燥 (K₂CO₃)、濃縮して得た残渣と、3,4-dihydro-4-oxo-2H-(1)benzopyran-3-acetic acid (**17**)¹⁴⁾ 2.1 g (0.01 mol) を butanol 30 ml に添加し、一夜加熱還流する。減圧下に濃縮、少量の IPE を加え放置、生じた結晶をろ取、IPA から再結晶し、mp 164—165°C (Lit. reference 13, mp 165—166°C) の無色針状晶 (**18c**) 2.0 g (69%) を得た。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1680 (CON). MS m/z : 292 (M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 2.37 (3H, s, ArCH₃), 2.44 (1H, dd, $J=15, 15$ Hz), 2.76 (1H, dd, $J=15, 7$ Hz), 3.48 (1H, m), 3.95 (1H, dd, $J=12, 11$ Hz), 4.48 (1H, dd, $J=11, 5$ Hz), 6.86—7.05 (2H, m, ArH), 7.08—7.3 (1H, m, ArH), 7.21 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.44 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.00 (1H, dd, $J=8, 1.5$ Hz, ArH).

同様の方法により合成した化合物 (**18a, b**) の収率、融点、元素分析値を Table I に示した。

2-(4-Chlorophenyl)-4a,5-dihydro-2H-(1)benzothiopyrano[4,3-c]pyridazin-3(4H)-one 6-Oxide (19a, b) **16b** 11.5 g を酢酸 200 ml に溶解、35% H₂O₂ 66 ml を滴下、室温に 3 時間保つ、反応液を多量の水に注加し CHCl₃ 抽出、水洗、乾燥 (MgSO₄)、濃縮した残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂, CHCl₃) に付し、目的画分を濃縮し粗結晶混合物 (**19a, b**) を 7.7 g (64%) 得た。本品 7 g を、更にカラムクロマトグラフィー (SiO₂, AcOEt: *n*-hexane=2:1) に付し、最初の溶出画分を濃縮して得た結晶を IPA から再結晶し mp 210—213°C 無色針状晶で

ある **19a** (*trans*) 0.6 g を得た. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1695 (CON), 1040 (SO). MS m/z : 344 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.69 (1H, dd, $J=16.1$ Hz), 2.96 (1H, dd, $J=16.1$, 5.9 Hz), 3.05 (1H, dd, $J=12.2$, 11.2 Hz), 3.33 (1H, m), 3.65 (1H, dd, $J=11.2$, 3.9 Hz), 7.40 (2H, d, $J=9.3$ Hz, ArH), 7.53 (2H, d, $J=9.3$ Hz, ArH), 7.58 (1H, ddd, $J=7.8$, 7.8, 1.0 Hz, ArH), 7.67 (1H, ddd, $J=7.8$, 7.8, 1.0 Hz, ArH), 7.95 (1H, dd, $J=7.8$, 1.0 Hz, ArH), 8.23 (1H, dd, $J=7.8$, 1.0 Hz, ArH), 次の溶出画分を濃縮して得た結晶を IPA から再結晶し mp 190–192°C の無色針状晶である **19b** (*cis*) 5.0 g を得た. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1690 (CON), 1030 (SO). MS m/z : 344 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.65 (1H, dd, $J=16.0$, 16.0 Hz), 2.82 (1H, dd, $J=13.0$, 13.0 Hz), 2.92 (1H, dd, $J=16.0$, 6.0 Hz), 3.53 (1H, dd, $J=13.0$, 3.9 Hz), 4.11 (1H, m), 7.41 (2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 7.54 (2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 7.57 (1H, ddd, $J=7.8$, 7.8, 1.0 Hz, ArH), 7.65 (1H, ddd, $J=7.8$, 7.8, 1.0 Hz, ArH), 7.77 (1H, dd, $J=7.8$, 1.0 Hz, ArH), 8.38 (1H, dd, $J=7.8$, 1.4 Hz, ArH).

2-(4-Chlorophenyl)-9-fluoro-4a,5-dihydro-2H-(1)benzothiopyrano[4,3-c]pyridazin-3(4H)-one 6-Oxide (19c)

16h 2.7 g (0.0078 mol) を酢酸 30 ml に加え, 氷冷下 35% H_2O_2 12.5 ml を滴下し室温に 4 時間攪拌する. 反応液を多量の氷水中に注加し放置, 沈澱を濾取, 水洗, EtOH から 3 度再結晶を繰り返すことにより mp 188–191°C の無色針状晶である **19c** (*cis*) 2.2 g (78%) を得た. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1690 (CON). MS m/z : 362 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.65 (1H, dd, $J=16.1$, 16.1 Hz), 2.79 (1H, dd, $J=13.6$, 13.1 Hz), 2.94 (1H, dd, $J=16.1$, 5.9 Hz), 3.54 (1H, dd, $J=13.1$, 3.9 Hz), 4.10 (1H, m), 7.26 (1H, ddd, $J=8.3$, 7.3, 2.4 Hz, ArH), 7.42 (2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 7.50 (2H, d, $J=8.8$ Hz, ArH), 7.79 (1H, dd, $J=8.3$, 5.5 Hz, ArH), 8.03 (1H, dd, $J=9.8$, 2.4 Hz, ArH).

2-(4-Chlorophenyl)-4a,5-dihydro-2H-(1)benzothiopyrano[4,3-c]pyridazin-3(4H)-one 6,6-Dioxide (20) **19a,b**

の粗結晶混合物 4.5 g (0.013 mol) を酢酸 150 ml 中に添加, 室温にて 35% H_2O_2 55 ml を滴下 45–50°C に 4 時間保つ. 多量の水の中へ注加し放置, 沈澱を濾取, 水洗, EtOH 洗浄, 酢酸から再結晶し mp 168–170°C (dec.) の結晶性粉末 (**20**) 2.9 g (62%) を得た. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1710 (CON), 1310 (SO_2), 1150 (SO_2). MS m/z : 360 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.48–4.08 (5H, m), 7.32–7.73 (6H, m, ArH), 7.99 (1H, m, ArH), 8.22 (1H, m, ArH).

2-(4-Chlorophenyl)-2H-(1)benzothiopyrano[4,3-c]pyridazin-3(5H)-one (21)

16b 8.2 g (0.025 mol) を酢酸 200 ml 中に加え 50–55°C に保ち, Br_2 4.8 g (0.03 mol) を滴下, 同温に 2 時間攪拌する. 減圧下に濃縮し, 残渣に水を加え, 沈澱を濾取水洗する. カラムクロマトグラフィー (SiO_2 , CHCl_3) に付し, 目的画分より得た結晶を酢酸-水より再結晶し mp 183–185°C の無色結晶性粉末 (**21**) 5.8 g (72%) を得た. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1680 (CON). MS m/z : 326 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.84 (2H, d, $J=1$ Hz, SCH_2), 6.87 (1H, d, $J=1$ Hz, $=\text{CHCO}$), 7.19–7.48 (3H, m, ArH), 7.45 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 7.69 (2H, d, $J=9$ Hz, ArH), 8.07 (1H, m, ArH).

2-(4-Chlorophenyl)-2H-(1)benzothiopyrano[4,3-c]pyridazin-3(5H)-one 6-Oxide (22)

21 3.6 g を酢酸 100 ml 中に溶解, 35% H_2O_2 40 ml を加え室温に 5 時間攪拌する. 多量の水に注加し放置. 沈澱を濾取, 水洗して得た結晶をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , CHCl_3 (2.5% EtOH 含)) に付し, 目的画分から得た結晶を酢酸から再結晶し, mp 195–196°C (dec.) の無色結晶性粉末 (**22**) 2.6 g (68%) を得た. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1675 (CON), 1045 (SO). MS m/z : 342 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.98 (1H, dd, $J=15$, 1.5 Hz), 4.38 (1H, dd, $J=15$, 1.5 Hz), 7.12 (1H, m, ArH), 7.35–7.88 (7H, m, ArH), 8.21 (1H, m, ArH).

BZP 受容体 Binding Assay [^3H]DZP を用いた結合実験は, Möhler と Okada の方法²¹⁾に準じて行った.

9–10 週齢雄性 Wistar ラットの脳皮質より粗シナプトソーム画分を分離し, 120 mM NaCl 及び 5 mM KCl を含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4) に懸濁して粗シナプス膜溶液とした. 粗シナプス膜溶液 900 μl に, 被験化合物溶液あるいは溶媒 (EtOH) 50 μl 及び 40 nM [^3H]DZP 50 μl を加え 0°C で 20 分間インキュベートした. 反応液に氷冷した 120 mM NaCl 及び 5 mM KCl を含む 50 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4) 3 ml を加え Whatman GF/B フィルターで吸引濾過し, ただちに同緩衝液 3 ml で 4 回洗浄した. フィルター上に残った放射能活性の測定はフィルターを ACS-II シンチレーター® (Amersham) に懸濁し, 液体シンチレーションカウンター (Beckman 社 LS 1701) で測定した. [^3H]DZP の非特異的結合量は 1 μM 非標識 DZP 存在下での結合量とし, 特異的結合量は, 非標識 DZP 非存在下での結合量から非特異的結合量を差し引いた値とした. 被験化合物の [^3H]DZP 結合の阻害定数 (K_i 値) は, それぞれの阻害曲線より IC_{50} 値を求め次式より算出した.

$$K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [\text{DZP}] / K_d), \quad K_d: \text{解離定数.}$$

また GABA ratio の測定は Chiu と Rosenberg の方法²²⁾に準じて行った.

脳皮質より調整した洗浄シナプス膜溶液 850 μl に, 600 μM GABA あるいは水 50 μl , 被験化合物溶液, あるいは溶媒 (EtOH) 50 μl 及び 40 nM [^3H]DZP 50 μl を加え, 上記した方法で結合実験を行った. 得られた

GABA 非存在, 及び存在下での IC_{50} 値から, それぞれの $IC_{50}(-GABA)$ 及び $IC_{50}(+GABA)$ より $GABA \text{ ratio} = IC_{50}(-GABA)/IC_{50}(+GABA)$ を算出した.

GABA 誘発クロロイオン電流に対する作用 (Concentration-Clamp 法) ウシガエル後根神経節より単離した知覚神経細胞体を用い赤池らの方法¹⁸⁾に準じて行った. 膜電位固定下 ($V_H = -50 \text{ mV}$) に, GABA ($3 \times 10^{-6} \text{ M}$) で誘発されるクロロ電流 (I_{Cl}) を単離し, I_{Cl} のピーク値に対する被験化合物の効果を調べた. その結果を, GABA $3 \times 10^{-6} \text{ M}$ 単独で誘発される I_{Cl} 値を 1 としたときの相対値 (relative I_{Cl}) で示した.

薬理試験 被験化合物はすべて 0.5% methyl cellulose (MC) 溶液に懸濁して使用した.

抗痙攣作用 (Antibicuculline Test) Lippa と Regan の方法²³⁾に準じて行った. 体重 20—28 g ddY 雄性マウスを 1 群 7—14 匹として用いた. 被験化合物を経口投与して 1 時間後に bicuculline 0.6 mg/kg を静脈内投与し, 後肢の強直性伸展痙攣の有無を調べた. 動物の 50% に強直性伸展痙攣の消失が認められる用量を ED_{50} 値として Probit 法により算出した.

抗コンフリクト作用 (Water-Lick 法) Vogel らの方法²⁴⁾に準じて行った. 体重 150—200 g の雄性 Wistar ラットを 1 群 10—14 匹として使用した. 実験に先立ち 72 時間絶水した. 実験装置は明箱と給水ノズルを備えた暗箱から成り, 動物は両箱間を自由に出入りできるようにした. 被験化合物を経口投与し 1 時間後に動物を明箱に入れ, lick 数 20 回毎に給水ノズルと床グリッドを通して電気ショックを与えた. 動物が最初にショックを受けた直後から 3 分間の被ショック数を測定し, MC 投与群との有意差を調べ t 検定により最小有効量 (MED) を求めた.

筋弛緩作用 (Rota Rod 法) Dunham と Miya の方法²⁵⁾に準じて行った. ddY 雄性マウスを 1 群 10 匹として使用した. 被験化合物を経口投与し, 1 時間後に毎分 11 回で回転している棒 (直径 2.8 cm) 上に乗せ, 1 分以内の落下率を調べた. 動物 50% を落下させる用量を ED_{50} 値として Probit 法により算出した.

睡眠増強作用 ddY 雄性マウス 1 群 7—14 匹を用いた. 被験化合物を経口投与して, 1 時間後に hexobarbital 40 mg/kg, あるいは 30% EtOH 10 mg/kg を腹腔内投与し, 15 分後に 3 秒以上持続する正向反射の有無を調べた. 動物の 50% に正向反射を消失させる用量を ED_{50} 値として Probit 法により算出した.

引用文献及び注

- 1) 第 1 報: 中尾 達, 川上 実, 森田憲司, 森本保人, 竹原修造, 田原哲治, 薬誌, **110**, 561 (1990).
- 2) 日本薬学会第 108 年々会発表, 広島, 1988 年 4 月.
- 3) W. Haefely, E. Kyburz, M. Gerecke, H. Mohler, "Advances in Drug Research," ed. by B. Testa, Academic, New York, Vol. 14, 1985, pp. 168—322.
- 4) C. Braestrup, M. Nielsen, T. Honore, L. H. Jensen, E. N. Petersen, *Neuropharmacology*, **22**, 1451 (1983).
- 5) M. Williams, *J. Med. Chem.*, **26**, 619 (1983); M. E. Goldberg, A. I. Salama, J. B. Patel, J. B. Malich, *Neuropharmacology*, **22**, 1499 (1983).
- 6) E. N. Petersen, L. H. Jensen, T. Honore, C. Braestrup, W. Kehr, D. N. Stephens, H. Wachtel, D. Seidelman, R. Schmiechen, *Psychopharmacology*, **83**, 240 (1984).
- 7) C. R. Gardner, *Drugs of the Future*, **14**, 51 (1989).
- 8) R. W. Olsen, *J. Neurochem.*, **37**, 1 (1981).
- 9) 栗山欣弥, "続 脳と生体警告系—不安・不快・痛みの機構," 高木博司, 木村 裕, 伊藤正男編, 東京大学出版会, 東京, 1989, pp. 237—251.
- 10) M. S. Atwal, L. Bauer, S. N. Dixit, J. E. Gearien, R. W. Morris, *J. Med. Chem.*, **8**, 566 (1965).
- 11) S.-L. Chu, W.-H. Chyan, C.-C. Chang, *Hea Hsueh Hsueh Pao*, **22**, 371 (1956) [*Chem. Abstr.*, **52**, 11044 (1958)].
- 12) D. F. Rane, A. G. Fishman, R. E. Pike, *Synthesis*, **1984**, 695.
- 13) T. Shimizu, Y. Hayashi, Y. Kitora, K. Teramura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **55**, 2450 (1982).
- 14) Y. Ozaki, K. Mochida, S.-W. Kim, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1790 (1987).
- 15) Fig. 1 の X 線構造解析についての詳細は別途報告予定である.
- 16) 植木昭和, 山本経之, 神経精神薬理, **6**, 751 (1984).
- 17) C. Braestrup, R. Schmiechen, G. Neff, M. Nielsen, E. N. Petersen, *Science*, **216**, 1241 (1982).
- 18) N. Akaike, M. Inoue, O. A. Kristal, *J. Physiol. (London)*, **379**, 171 (1986).

- 19) 赤池紀男, 薬師寺隆, 徳富直史, 服部希一, 大村 裕, “続 脳の生体警告系—不安, 不快, 痛みの機構,” 高木博司, 大村 裕, 伊藤正男編, 東京大学出版会, 東京, 1987, pp. 253—267.
- 20) T. Yakushiji, T. Fukuda, Y. Oyama, N. Akaike, *Br. J. Pharmacol.*, **98**, 735 (1989).
- 21) H. Mohler, T. Okada, *Life Sci.*, **20**, 2101 (1977).
- 22) T. H. Chiu, H. C. Rosenberg, *Eur. J. Pharmacol.*, **56**, 337 (1979).
- 23) A. S. Lippa, B. Regan, *Life Sci.*, **21**, 1779 (1977).
- 24) J. R. Vogel, B. Beer, D. E. Clody, *Psychopharmacology*, **21**, 1 (1971).
- 25) N. W. Dunkan, T. S. Miya, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **46**, 208 (1957).