薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
111 (1) 59-64 (1991)

新規カルシウム拮抗薬 (+)-(R)-3,4-Dihydro-2-[5-methoxy-2-[3-[N-methyl-N-2-
[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-
oxo-2H-1,4-benzothiazine(SD-3211) のラット糞中代謝物の
合成とそのカルシウム拮抗作用

藤田昌宣,* 伊藤 研, 須原 寛, 伊吹 肇, 河嶋洋一
参天製薬株式会社中央研究所

Synthesis and Calcium Antagonistic Activities of Fecal Metabolites of a New
Calcium Antagonist (+)-(R)-3,4-Dihydro-2-[5-methoxy-2-[3-[N-methyl-N-
2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-
3-oxo-2H-1,4-benzothiazine (SD-3211) in Rats

Masanobu FUJITA,* Susumu ITO, Hiroshi SUHARA,
Hajime IBUKI, and Yoichi KAWASHIMA

Central Research Laboratories, Santen Pharmaceutical Co., Ltd., 9-19,
Shimoshinjo 3-chome, Higashiyodogawa-ku, Osaka, 533, Japan

(Received July 18, 1990)

In order to confirm the structure of three fecal metabolites, M-I, M-II and M-III, of a new calcium antagonist, (+)-3,4-dihydro-2-[5-methoxy-2-[3-[N-methyl-N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine (SD-3211), in rats, (+)-3,4-dihydro-2-[5-hydroxy-2-[3-[N-methyl-N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine((+)-I), (+)-3,4-dihydro-2-[5-hydroxy-2-[3-[N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine((+)-II) and (+)-3,4-dihydro-2-[5-methoxy-2-[3-[N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine((+)-III) were synthesized. Compounds (+)-I, (+)-II and (+)-III were identified with the fecal metabolites M-I, M-II and M-III, respectively.

The calcium antagonistic activities of (+)-I, (+)-II and (+)-III were examined.

Keywords—benzothiazine; SD-3211; calcium antagonist; fecal metabolite; synthesis; enantiomer

我々は一連の構造活性相関の研究¹⁾により新規カルシウム拮抗薬 (+)-3,4-dihydro-2-[5-methoxy-2-[3-[N-methyl-N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine (SD-3211)^{2,3)}を見出したことを報告した。この SD-3211 の吸収, 分布, 代謝及び排泄についての研究の一環としてラットにおける糞中代謝物の検索を行い, 3 種の代謝産物 M-I, M-II 及び M-III が単離された (Chart 1)^{4,5)}。これらの化合物の構造は, マススペクトロメトリーにより M-I, M-III が SD-3211 の脱メチル体であり, M-II は SD-3211 の脱ジメチル体であることが明らかとなった (Fig. 1)。SD-3211 は, 2 位の立体配置が R の光学活性体であるため, その代謝物 M-I, M-II, M-III も光学活性体であり, 2 位の立体配置は保持されているだろうと推測した。

これら糞中代謝物の構造を確かめるため, 化合物 (+)-I, (+)-II 及び (+)-III の合成を行い, マススペクトル (MS) 及び光学活性体分離用カラムを用いたクロマトグラフ法での分析から代謝物の構造を確認した。

また, 化合物 (+)-I, (+)-II 及び (+)-III のカルシウム拮抗作用をモルモット盲腸紐を用いて試験したので報告する。

Chart 2

代謝産物 M-I, M-II, M-III の MS は化合物 I, II, III の MS とよく類似していた (Fig. 1).

M-I, M-II, M-III, I, II, III 及び, (+)-I, (+)-II, (+)-III を光学活性体分離用カラムで分析し, それぞれのクロマトグラムを比較した. M-I, M-II, M-III はそれぞれ (+)-I, (+)-II, (+)-III と一致したことから, これら代謝物の構造が確認された (Fig. 2). (+)-I 及び (+)-II は, それぞれメタノール中, 室温下ジアゾメタンと反応させると SD-3211 及び (+)-III に導けたため, いずれも 2 位は *R* 配置であり, これら代謝物は SD-3211 の立体配置が保持されていることが確認された.

(+)-I, (+)-II 及び (+)-III のカルシウム拮抗作用

代謝物のカルシウム拮抗作用を明らかにする目的で (+)-I, (+)-II 及び (+)-III について, カルシウム拮抗作用を単離モルモット盲腸紐を用い, 先の報告¹⁾に準じて評価した. (+)-I, (+)-II, (+)-III はいずれも SD-3211 と比較し弱い活性であった (Table I).

TABLE I. Ca^{2+} Antagonistic Activity of (+)-I, (+)-II and (+)-III

Compd	Guinea pig taenia cecum		N ^{b)}
	Ca^{2+}	$\text{IC}_{50}^{\text{a)}$ (μM)	
(+)-I	1.3	(0.72—2.2)	4
(+)-II	>10		4
(+)-III	0.74	(0.54—1.0)	5
SD-3211	0.085	(0.060—0.12)	5

a) Molar concentration required to block Ca^{2+} -induced contraction of K^+ -depolarized taenia cecum by 50%. Data represent the mean and 95% confidence limits.

b) Number of experiments.

実験の部

融点はすべて未補正である. 赤外吸収 (IR) スペクトルは JASCO A-302 型スペクトロメータを使用した. ¹H-核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトルは JEOL GSX-400 型スペクトルメータを使用し, tetramethylsilane を内部標準として化学シフトを示した (略号: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; dd, double doublet; br, broad). 帰属に必要な化合物の原子の番号付けは Chart 2 に示した. MS は日立 M-80B 型スペクトルメータを使用し, イオン源への試料の直接導入法による EI モードで測定した.

2-[2-(3-Chloropropoxy)-5-hydroxyphenyl]-3,4-dihydro-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine V 2-[2-(3-Chloropropoxy)-5-methoxyphenyl]-3,4-dihydro-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine 20 g の CH_2Cl_2 160 ml 溶液に BBr_3 26.5 g を攪拌下 -60°C で加えたのち, その混合物を -20°C で 4 時間攪拌した. 反応液を水 300 ml に注ぎ, 更に 1N NaOH 水溶液を加え pH 4 とした.

AcOEt 500 ml で 3 回抽出し, 得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後, MgSO_4 で乾燥した. 溶媒を留去し V 14.6 g (収率 76%) を得た. mp $197-198^\circ\text{C}$. IR (KBr) cm^{-1} : 1629 ($\text{C}=\text{O}$). ¹H-NMR (CDCl_3) δ : 2.10—2.20

Fig. 2. Chromatogram of I, II, III, (+)-I, (+)-II, (+)-III and Metabolites M-I, M-II, M-III

Column: Chiralcel OG (Daicel Chemical Industries), 4.6×250 mm. Column temperature: 35°C . Eluent: *n*-hexane-*iso*-PrOH- Et_2NH =450:50:1, 1.5 ml/min. Detection: UV 300 nm.

(2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.47 (3H, s, $\text{N}_4\text{-CH}_3$), 3.79 (2H, t, $J=6.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Cl}$), 4.03 (2H, t, $J=5.6$ Hz, O-CH_2), 4.93 (1H, s, $\text{C}_2\text{-H}$), 6.27 (1H, d, $J=2.9$ Hz, $\text{C}_6\text{'-H}$), 6.61 (1H, dd, $J=8.8, 2.9$ Hz, $\text{C}_4\text{'-H}$), 6.84 (1H, d, $J=8.8$ Hz, $\text{C}_3\text{'-H}$), 7.00–7.08 (1H, m, $\text{C}_7\text{-H}$), 7.29 (1H, d, $J=7.8$ Hz, $\text{C}_8\text{-H}$), 7.30–7.38 (2H, m, $\text{C}_5, \text{C}_6\text{-H}$), 8.95 (1H, s, OH). Anal. Calcd $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ClNO}_3\text{S}$: C, 59.42; H, 4.99; N, 3.85. Found: C, 59.46; H, 4.84; N, 3.85.

3,4-Dihydro-2-[5-hydroxy-2-[3-[*N*-methyl-*N*-[2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2*H*-1,4-benzothiazine I V 1.0 g と *N*-methyl-*N*-[2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amine 1.6 g を 110°C で 3 時間攪拌した。放冷後、反応後に飽和 NaHCO_3 水溶液 50 ml を加えたのち、 AcOEt 150 ml

で抽出した。飽和食塩水で洗浄, MgSO_4 で乾燥したのち, 溶媒を留去した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトに付し (溶出溶媒: $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}=50:1$) 精製し, **I** 1.0 g (収率 72%) を得た。mp 115—116°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1637 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.75—1.85 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.21 (3H, s, アミン側鎖 N-CH_3), 2.52 (2H, t, $J=6.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.65 (2H, t, $J=5.9$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.46 (3H, s, $\text{N}_4\text{-CH}_3$), 3.93 (2H, t, $J=5.9$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.94 (2H, t, $J=6.3$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4.89 (1H, s, $\text{C}_2\text{-H}$), 5.93 (2H, s, OCH_2O), 6.26 (1H, d, $J=2.9$ Hz, $\text{C}_6'\text{-H}$), 6.30 (1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz, $\text{C}_6''\text{-H}$), 6.58 (1H, d, $J=2.4$ Hz, $\text{C}_2'\text{-H}$), 6.59 (1H, dd, $J=8.8, 2.9$ Hz, $\text{C}_4'\text{-H}$), 6.75 (1H, d, $J=8.8$ Hz, $\text{C}_5'\text{-H}$), 6.80 (1H, d, $J=8.8$ Hz, $\text{C}_3'\text{-H}$), 7.00—7.04 (1H, m, $\text{C}_7\text{-H}$), 7.25 (1H, d, $J=7.8$ Hz, $\text{C}_8\text{-H}$), 7.32—7.34 (2H, m, $\text{C}_5, \text{C}_6\text{-H}$), 8.93 (1H, s, OH). *Anal.* Calcd $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 64.35; H, 5.79; N, 5.36. Found: C, 64.32; H, 5.84; N, 5.41.

(+)-(R)-**I** **I** 0.5 g の EtOH 200 ml 溶液を光学活性体分離用カラムを装着した液体カラムクロマトグラフに付し (+)-**I** 130 mg (26%) を分取した。カラムクロマトグラフィーの条件を以下に示す。カラム: Chiralcel OJ (10×50 cm), カラム温度: 40°C, 溶出溶媒: EtOH (190 ml/min), 溶出溶媒圧: 15 kg/cm², 検出波長: 300 nm. 物性値を以下に示す。非結晶状粉末, $[\alpha]_D^{25} +177^\circ$ ($c=0.5$, MeOH). IR (KBr) cm^{-1} : 1665 (C=O). **I** と同一の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを示した。MS (m/z) Calcd 522.1823, Found. 522.1817.

3,4-Dihydro-2-[5-hydroxy-2-[3-[N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]propoxy]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine II **V** 2.0 g と 2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethylamine 4.0 g から **I** の合成と同様の方法を用いて **II** 1.62 g (収率 58%) を得た。mp 131—132°C. IR (KBr) cm^{-1} : 1633 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.79—1.86 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.70 (2H, t, $J=6.8$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_2$), 2.81 (2H, t, $J=5.6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.47 (3H, s, $\text{N}_4\text{-CH}_3$), 3.90 (2H, t, $J=5.6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.97 (2H, t, $J=6.4$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4.89 (1H, s, $\text{C}_2\text{-H}$), 5.94 (2H, s, OCH_2O), 6.25 (1H, d, $J=2.9$ Hz, $\text{C}_6'\text{-H}$), 6.34 (1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz, $\text{C}_6''\text{-H}$), 6.60 (1H, dd, $J=8.8, 2.9$ Hz, $\text{C}_4'\text{-H}$), 6.61 (1H, d, $J=2.4$ Hz, $\text{C}_2'\text{-H}$), 6.78 (1H, d, $J=8.8$ Hz, $\text{C}_5'\text{-H}$), 6.83 (1H, d, $J=8.8$ Hz, $\text{C}_3'\text{-H}$), 7.01—7.05 (1H, m, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.27 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $\text{C}_8\text{-H}$), 7.31—7.36 (2H, m, $\text{C}_5, \text{C}_7\text{-H}$), 8.92 (1H, s, OH). *Anal.* Calcd $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: C, 63.76; H, 5.55; N, 5.51. Found: C, 63.64; H, 5.74; N, 5.56.

(+)-(R)-**II** **II** 0.5 g の EtOH 300 ml 溶液を光学活性体分離用カラムを装着した液体カラムクロマトグラフに付し (+)-**II** 150 mg (30%) を分取した。カラムクロマトグラフィーの条件を以下に示す。カラム: Chiralcel OJ (10×50 cm), カラム温度: 40°C, 溶出溶媒: EtOH (190 ml/min), 溶出溶媒圧: 15 kg/cm², 検出波長: 300 nm. 物性値を以下に示す。非結晶状粉末, $[\alpha]_D^{25} +179^\circ$ ($c=0.5$, MeOH). IR (KBr) cm^{-1} : 1663 (C=O). **II** と同一の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを示した。MS (m/z) Calcd 508.1666, Found. 508.1647.

(+)-(R)-**3,4-Dihydro-2-[5-methoxy-2-[3-[N-2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amino]phenyl]-4-methyl-3-oxo-2H-1,4-benzothiazine (+)-(R)-III Hydrogen Fumarate** 化合物 (+)-(R)-**VI** 1.0 g と NaI 1.8 g のアセトン 10 ml 溶液を攪拌下, 10 時間加熱還流した。反応液を濃縮し, 得られた残渣に H_2O 50 ml を加え, AcOEt 50 ml で抽出した。飽和食塩水で洗浄, MgSO_4 で乾燥したのち, 濃縮し得られた残渣に *N*-methyl-*N*-[2-[(3,4-methylenedioxy)phenoxy]ethyl]amine 0.56 g, NaHCO_3 0.20 g, dimethylformamide 10 ml を加え, 窒素雰囲気下, 室温で 4 時間攪拌した。反応液に H_2O 50 ml を加えたのち, AcOEt 150 ml で抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄, MgSO_4 で乾燥したのち濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフに付し (溶出溶媒: $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}=50:1$), (+)-**III** を油状物質として得た。これをフマル酸塩とし (+)-**III**·hydrogen fumarate 0.84 g (収率 54%, 光学純度 98% e.e.) を得た。光学純度は光学活性体分離用カラム (Chiralcel OG) を用い測定した。mp 84—86°C. $[\alpha]_D^{25} +203^\circ$ ($c=1.0$, DMSO). IR (KBr) cm^{-1} : 1653 (C=O). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ : 1.98—2.07 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3.00 (2H, t, $J=7.3$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.13 (2H, t, $J=5.4$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.49 (3H, s, $\text{N}_4\text{-CH}_3$), 3.53 (3H, s, OCH_3), 4.05 (2H, t, $J=6.9$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4.08 (2H, t, $J=5.4$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.99 (1H, s, $\text{C}_2\text{-H}$), 5.95 (2H, s, OCH_2O), 6.31 (1H, d, $J=3.4$ Hz, $\text{C}_6'\text{-H}$), 6.39 (1H, dd, $J=8.3, 2.4$ Hz, $\text{C}_6''\text{-H}$), 6.50 (2H, s, $=\text{CH-CO}_2\times 2$), 6.65 (1H, d, $J=2.4$ Hz, $\text{C}_2'\text{-H}$), 6.79 (1H, dd, $J=9.3, 3.4$ Hz, $\text{C}_4'\text{-H}$), 6.80 (1H, d, $J=8.3$ Hz, $\text{C}_5'\text{-H}$), 6.95 (1H, d, $J=9.3$ Hz, $\text{C}_3'\text{-H}$), 7.03 (1H, t, $J=7.8$ Hz, $\text{C}_7\text{-H}$), 7.26 (1H, d, $J=7.3$ Hz, $\text{C}_8\text{-H}$), 7.34 (1H, t, $J=8.3$ Hz, $\text{C}_6\text{-H}$), 7.37 (1H, d, $J=6.4$ Hz, $\text{C}_5\text{-H}$). *Anal.* Calcd $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}\cdot\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$: C, 58.53; H, 5.53; N, 4.27. Found: C, 58.37; H, 5.41; N, 4.17.

謝辞 本研究にあたり, 終始御助言を与えていただいた大阪大学薬学部 岩田宙造教授に感謝します。

引用文献

- 1) M. Fujita, S. Ito, A. Ota, N. Kato, K. Yamamoto, Y. Kawashima, H. Yamauchi, J. Iwao, *J. Med. Chem.*, **33**, 1898 (1990).
- 2) N. Miyawaki, T. Furuta, T. Shigei, H. Yamauchi, T. Iso, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **16**, 769 (1990).
- 3) K. Nishimura, N. Miyawaki, H. Yamauchi, T. Iso, *Arzneim.-Forsch. Drug Res.*, **40**, 244 (1990).
- 4) K. Morishima, R. Tahara, M. Horiuchi, *J. Chromatography*, **527**, 381 (1990).
- 5) 伊吹 肇, 高階秀男, 堀内正人, 未発表データ.
- 6) Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Hatada, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 5357 (1984).
- 7) Y. Okamoto, M. Kawashima, K. Hatada, *J. Chromatogr.*, **363**, 173 (1986).