

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-510661

(P2017-510661A)

(43) 公表日 平成29年4月13日(2017.4.13)

(51) Int.Cl.

C07D 417/12 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

F 1

C O 7 D 417/12
C O 7 D 417/14
A 6 1 K 31/454
A 6 1 P 35/00

C S P

テーマコード (参考)
4 C O 6 3
4 C O 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁)

(21) 出願番号 特願2017-504616 (P2017-504616)
(86) (22) 出願日 平成27年4月10日 (2015. 4. 10)
(85) 翻訳文提出日 平成28年12月7日 (2016. 12. 7)
(86) 国際出願番号 PCT/US2015/025235
(87) 国際公開番号 WO2015/157594
(87) 国際公開日 平成27年10月15日 (2015. 10. 15)
(31) 優先権主張番号 61/978,460
(32) 優先日 平成26年4月11日 (2014. 4. 11)
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 504333972
メディミューン、エルエルシー
アメリカ合衆国 20878 メリーラン
ド州、ゲイサーズバーグ、ワン メディミ
ューン ウェイ
(74) 代理人 100100158
弁理士 鮫島 瞳
(74) 代理人 100150500
弁理士 森本 靖
(74) 代理人 100176474
弁理士 秋山 信彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ツブリシン誘導体

(57) 【要約】

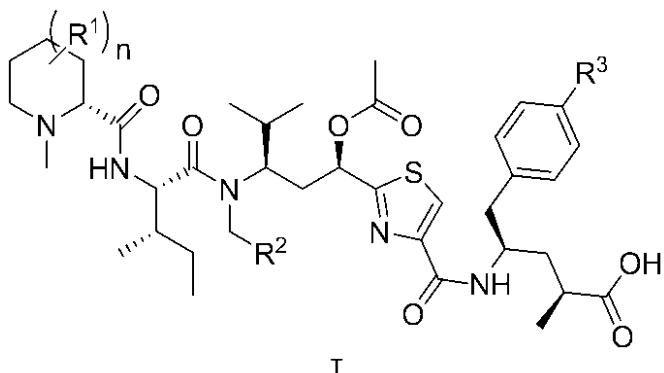
様々なタイプの癌の治療における治療上利益を提供するための細胞毒性剤として有用でありうる新規なツブリシン誘導体単独で、または抗体との薬物複合体として提供される。ツブリシン誘導体は、メチル及びエチル置換ピペリジンを含むテトラペプチド構造からなる。ツブリシン複合体は、スクシンイミドリンカーを介してモノクローナル抗体をさらに含む。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



10

【式中】

 R^1 は、 CH_3 、または CH_2CH_3 であり、 R^2 は、Hまたは CH_3 であり、 R^3 は、Hまたは NH_2 であり、そして n は、1または2である]

20

で示される構造を有する化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 2】

 n が、1であり、 R^1 が、メチルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

 R^2 が、メチルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

 R^3 が、 NH_2 である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

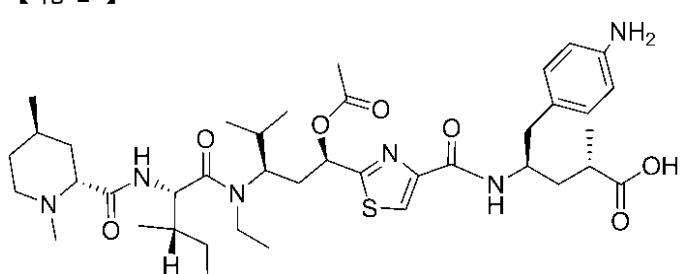
 n が、1であり、 R^1 が、メチルであり、 R^2 が、メチルであり、そして R^3 が、 NH_2 である、請求項 1 に記載の化合物。

30

【請求項 6】

式(I i)

【化 2】



40

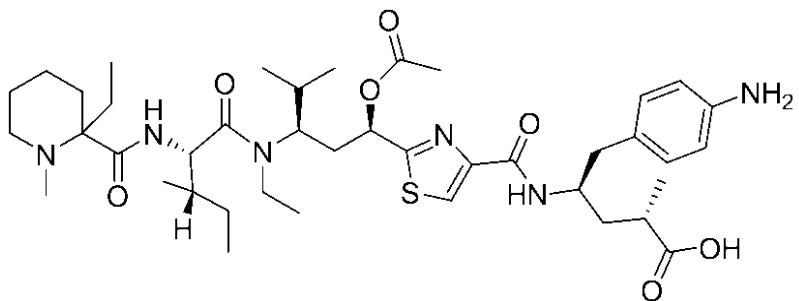
(I i)

で示される化合物。

【請求項 7】

式(I i i)

【化 3】



(I i i)

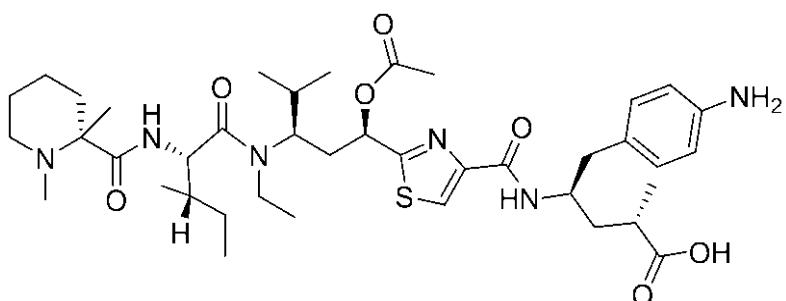
10

で示される化合物。

【請求項 8】

式 (I i i i)

【化 4】



(I i i i)

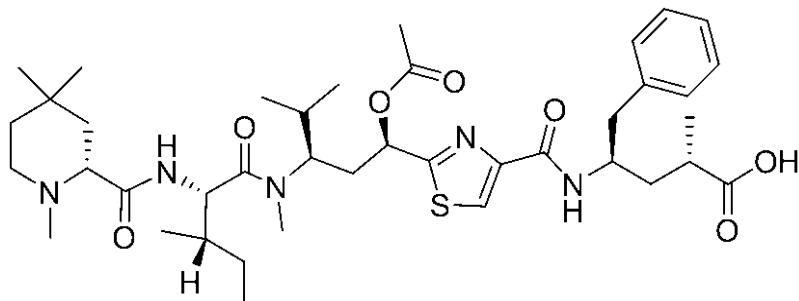
20

で示される化合物。

【請求項 9】

式 (I i v)

【化 5】



(I i v)

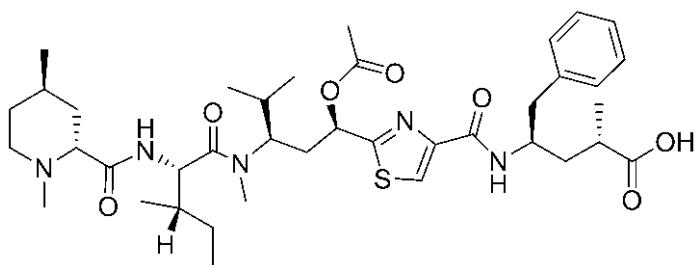
30

で示される化合物。

【請求項 10】

式 (I v)

【化 6】



(I v)

40

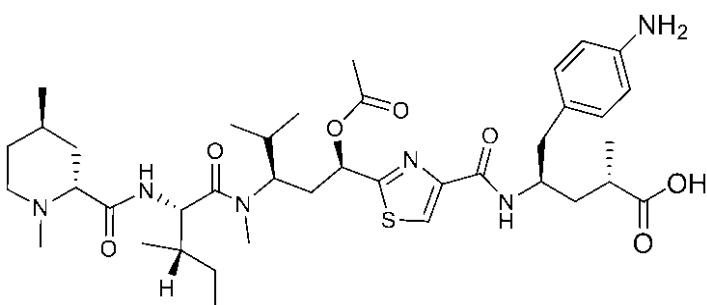
で示される化合物。

【請求項 11】

50

式 (I v i)

【化 7】



10

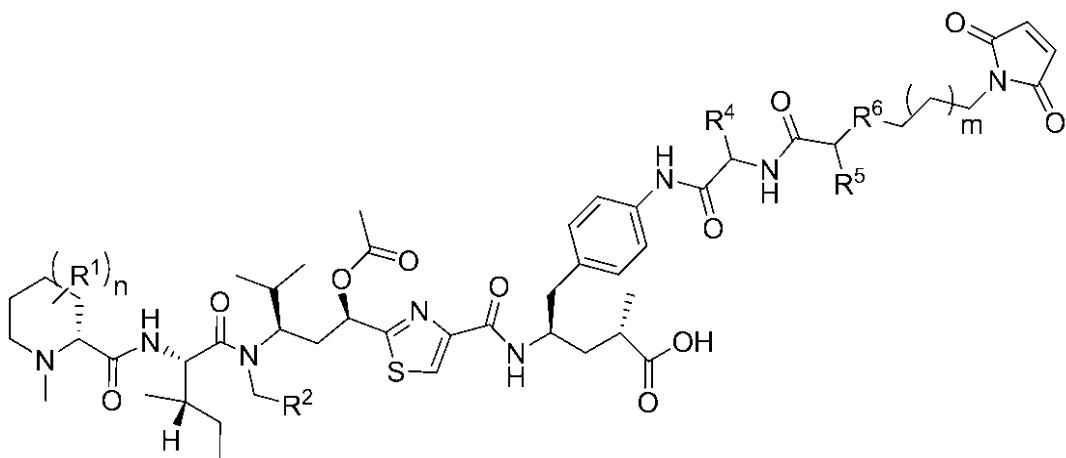
(I v i)

で示される化合物。

【請求項 1 2】

式 I I

【化 8】



20

(I I)

[式中 :

30

R¹ は、 C H₃ 、 または C H₂ C H₃ であり、

R² は、 H または C H₃ であり、

R⁴ は、 C H₃ 、 (C H₂)₄ N H₂ 、 または (C H₂)₃ N H C (= O) N H₂ であ
り、

R⁵ は、 H 、 または C (C H₃) (C H₃) であり、

R⁶ は、 N H C (= O) 、 または C H₂ であり、

n は、 1 または 2 であり； そして

m は、 0 、 1 、 2 、 または 3 である]

で示される構造を有する化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 1 3】

40

n が 1 であり、 R¹ が、 メチルである、 請求項 1 2 に記載の化合物。

【請求項 1 4】

R² が、 メチルである、 請求項 1 2 に記載の化合物。

【請求項 1 5】

R³ が、 N H₂ である、 請求項 1 2 に記載の化合物。

【請求項 1 6】

n が 1 であり、 R¹ がメチルであり、 R² がメチルであり、 そして R³ が N H₂ である
、 請求項 1 2 に記載の化合物。

【請求項 1 7】

R⁴ が、 (C H₂)₄ N H₂ である、 請求項 1 2 に記載の化合物。

50

【請求項 18】

R^5 が、Hである、請求項12に記載の化合物。

【請求項 19】

R^6 が、 CH_2 である、請求項12に記載の化合物。

【請求項 20】

m が、1である、請求項12に記載の化合物。

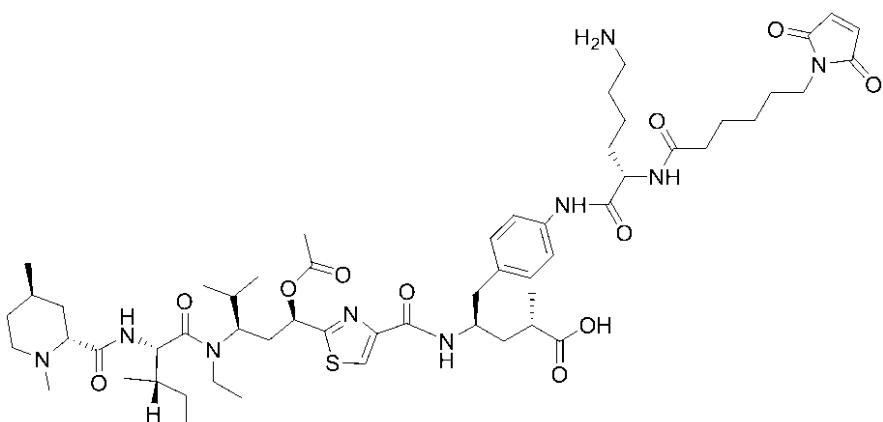
【請求項 21】

n が、1であり、 m が、1であり、 R^1 が、メチルであり、 R^2 が、メチルであり、 R^3 が、 NH_2 であり、 R^4 が、 $(CH_2)_4NH_2$ であり、 R^5 が、Hであり、そして R^6 が、 CH_2 である、請求項12に記載の化合物。 10

【請求項 22】

式(I I i)

【化9】



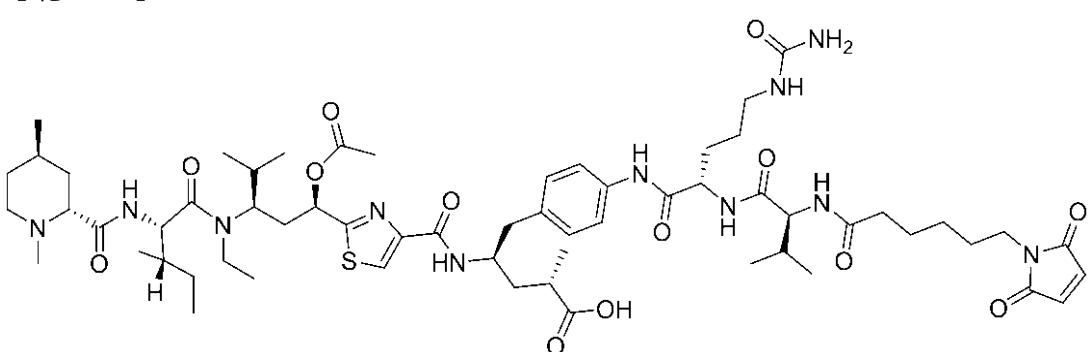
(I I i)

で示される化合物。

【請求項 23】

式(I I i i)

【化10】



(I I i i)

で示される化合物。

【請求項 24】

式(I I i i i)

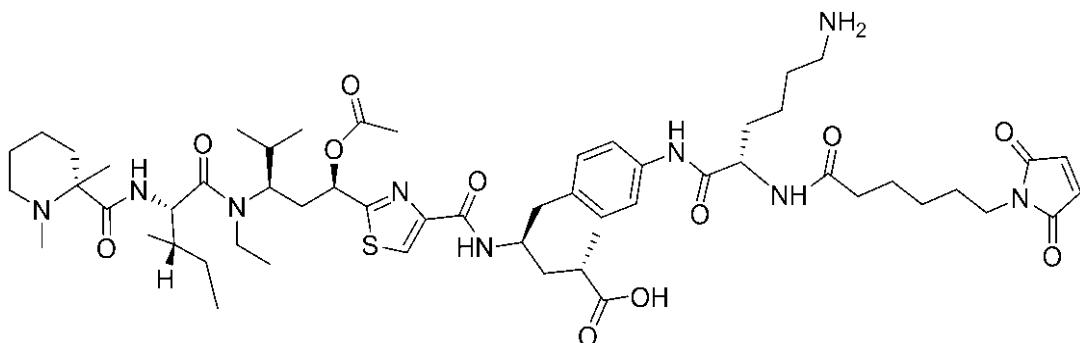
20

20

30

40

【化11】



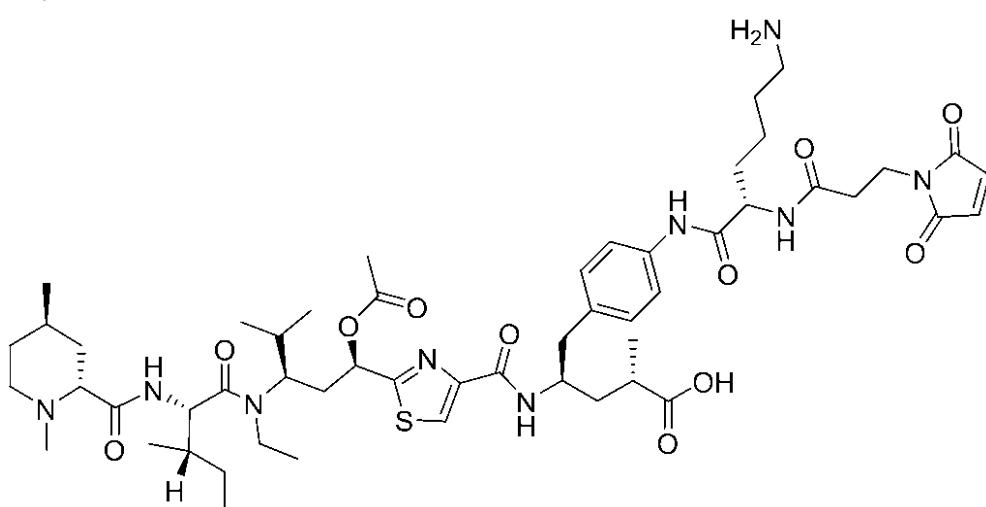
(II i i)

で示される化合物。

【請求項25】

式(IIiv)

【化12】



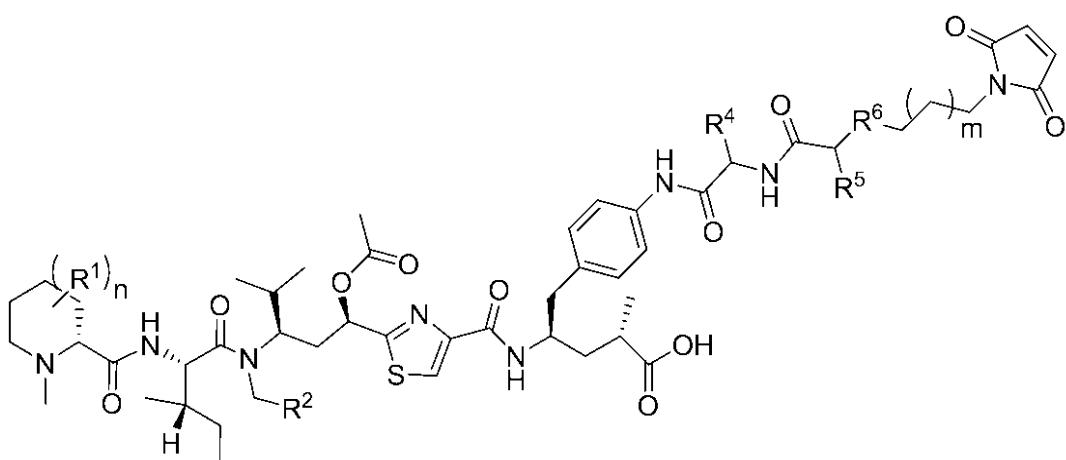
(II iv)

で示される化合物。

【請求項26】

式II

【化13】



(II)

[式中：

R¹は、CH₃、またはCH₂CH₃であり、

50

R² は、H または C H₃ であり、

R⁴ は、C H₃、(C H₂)₄ N H₂、または (C H₂)₃ N H C (=O) N H₂ であり、

R⁵ は、H、C(C H₃)(C H₃) であり、

R⁶ は、N H C (=O)、または C H₂ であり、

n は、1 または 2 であり；そして

m は、0、1、2 または 3 である】

で示される構造を有する化合物および抗体の複合体である、抗体薬物複合体。

【請求項 27】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項 26 に記載の抗体薬物複合体。 10

【請求項 28】

前記抗体が、癌抗原に特異的である、請求項 26 に記載の抗体薬物複合体。

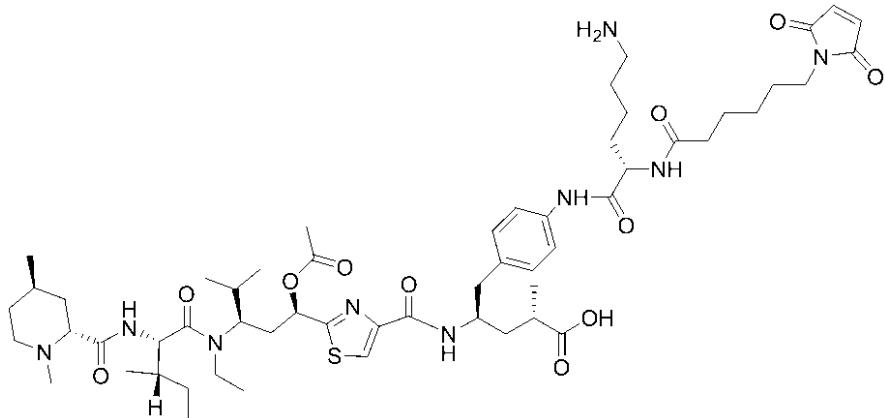
【請求項 29】

前記抗体が、アレムツズマブ、ベバシズマブ、ブレンツキシマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブ、イピリムマブ、オファツムマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トシツモマブ、またはトラスツズマブである、請求項 26 に記載の抗体薬物複合体。

【請求項 30】

式(I I i)

【化 14】



20

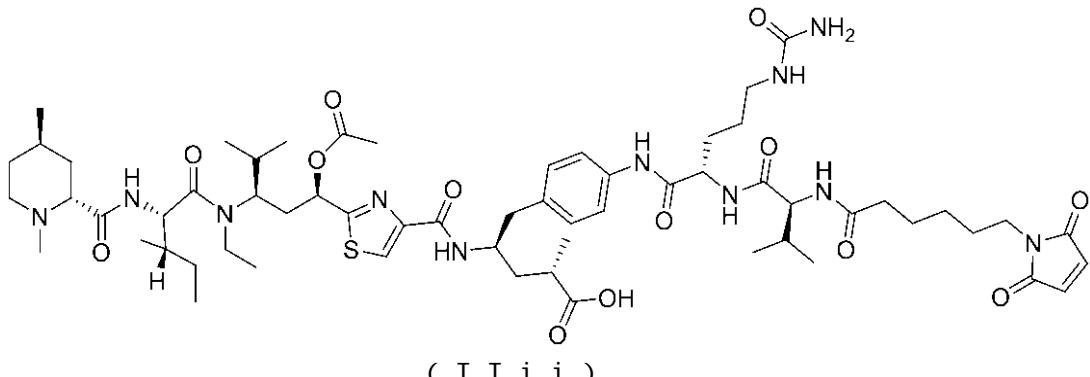
(I I i)

で示される化合物および抗体の複合体である、抗体薬物複合体。

【請求項 31】

式(I I i i)

【化 15】



30

(I I i i)

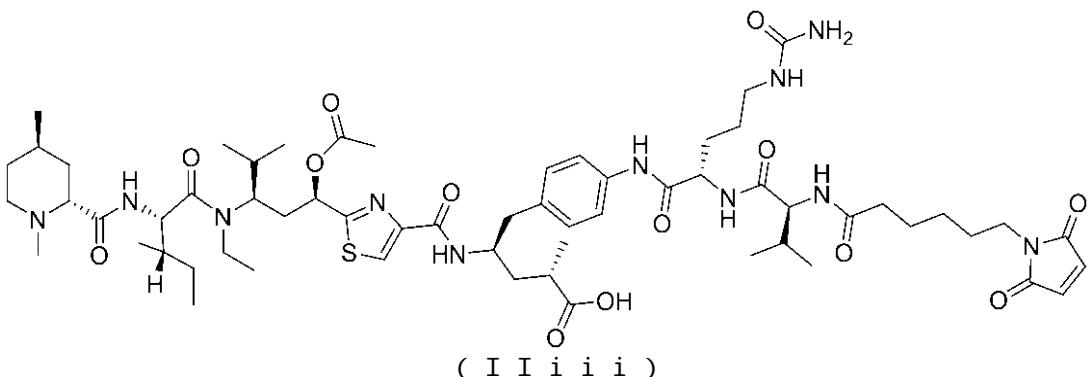
で示される化合物および抗体の複合体である、抗体薬物複合体。

【請求項 32】

式(I I i i i)

40

【化16】



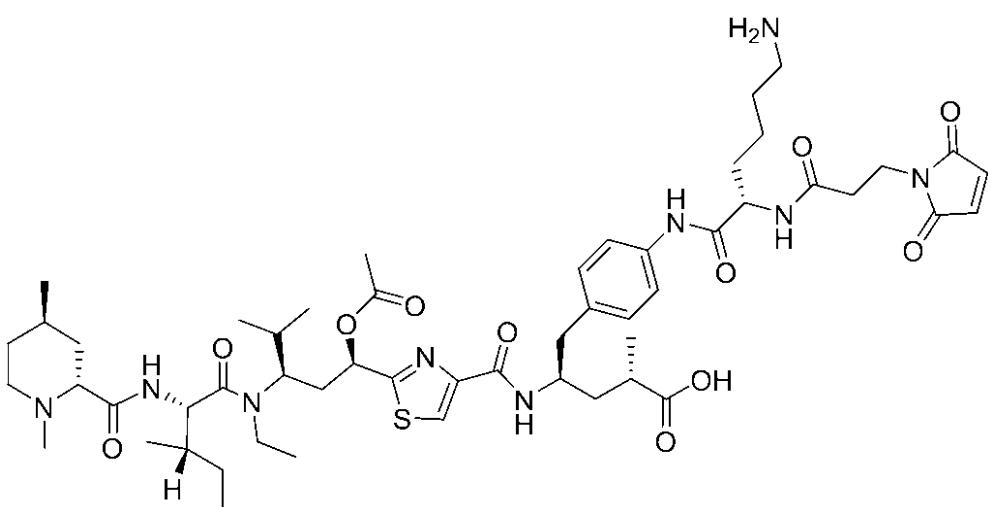
10

で示される化合物および抗体の複合体である、抗体薬物複合体。

【請求項33】

式 (I I i v)

【化17】



20

(I I i v)

30

で示される化合物および抗体の複合体である、抗体薬物複合体。

【請求項34】

請求項1～25のいずれか1項に記載の化合物を含む、医薬組成物。

【請求項35】

請求項26～33のいずれか1項に記載の抗体薬物複合体を含む、医薬組成物。

【請求項36】

癌に罹っている対象に、請求項1～25のいずれか1項に記載の化合物の有効量を投与することを特徴とする癌の治療方法。

【請求項37】

前記対象が、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、神経膠芽腫、神経膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、乳癌、大腸癌、結腸直腸癌、子宮体癌、骨髄腫、唾液腺癌、腎臓癌、基底細胞癌、メラノーマ、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、精巣癌、食道腺癌、頭頸部癌、粘膜性卵巣癌、胆管細胞癌、または腎乳頭癌に罹っているものである、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

癌に罹っている対象に、請求項26～33のいずれか1項に記載の抗体薬物複合体の有効量を投与することを特徴とする癌の治療方法。

【請求項39】

前記対象が、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、脾臓癌、神経膠芽腫、神経膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌

40

50

、乳癌、大腸癌、結腸直腸癌、子宮体癌、骨髄腫、唾液腺癌、腎臓癌、基底細胞癌、メラノーマ、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、精巣癌、食道腺癌、頭頸部癌、粘膜性卵巣癌、胆管細胞癌、または腎乳頭癌である、請求項38に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

ツブリシン類は、粘液細菌から単離された細胞分裂停止テトラペプチドの一クラスである (Sasse F et al J. Antibiotics, 2000, 879)。ツブリシン類の共通の特徴は、それらのテトラペプチド構造にあり、そのうち、Ileのみが天然に存在するアミノ酸であり、他の3つは、複雑な非天然アミノ酸 : Me p (R-N-ピペコリン酸)、Tuv (ツブバリン) およびTut (ツブリロシン) またはTup (ツブフェニルアラニン) である。
10 の中にさらなるメンバーが公開された (Steinmetz et al, Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 4888)。ほとんどの天然に存在するツブリシンは、チューブリン多量体化の阻害に関する癌細胞株に対して pM 細胞毒性活性を有する。ツブリシンの作用機序は、ツブリシンAが、ベータ-チューブリン結合剤 (ホモブシン、ドラスタチン、およびヘミアステリン) の他のビンカ領域よりチューブリン多量体化を阻害する際に有効であることを示した Sasse (Khalil MW et al ChemBioChem, 2006, 678) によって説明された。天然に存在するツブリシンは、ドラスタチンより一貫した高い毒性を示した。さらに、ツブリシンAは、癌細胞株でアポトーシスを誘導することが報告され (Kaur G et al, Biochem. J., 2006, 235)、動物モデルにおいて強力な抗腫瘍活性に加えて抗血管形成活性が示された。
20 これらの発見後、天然に存在するツブリシンの強力な能力を有する合成類似物質を発見することに多大な労力が注ぎ込まれた。N, O-アセタールを含有するTuvの存在は、合成ツブリシン類を誘導し、それらの安定性に関する懸念を生じた。いくつかの群で同定された合成類似体は、細胞毒性活性を大きく損なうことなく、N, O-アセタールを単なるメチル基で置き代えられた (Patterson, A et al, Chem. Eur. J. 2007, 9534; Wipf P et al Org. Lett. 2007, 1605)。

【背景技術】

【0002】

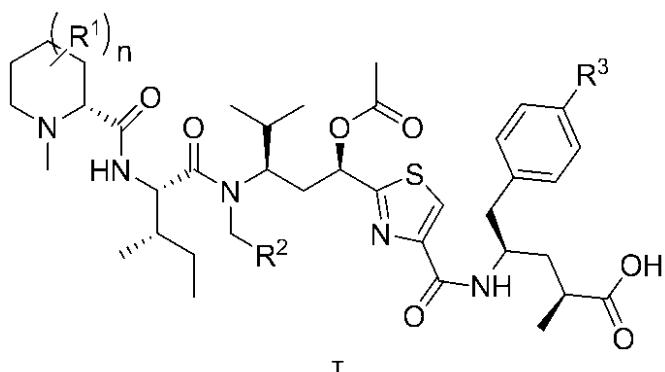
いくつかの報告は、ツブリシンの葉酸との複合体 (Leamon CP et al, Cancer Res. 2008, 9839)、シクロデキストリンナノ複合体 (Schluep TS et al Clin. Cancer Res. 2009, 15:181) ならびにデンドリマー複合体 (Floyd WC, ChemMedChem 2011, 49) を開示している。1つの報告は、ツブリシンのモノクローナル抗体に対する複合体を開示する (US 2011/0027274)。新規のツブリシン誘導体は、様々なタイプの癌の薬物複合体として単独で、他の化学療法薬との組み合わせ治療で、治療上の利益を提供するための細胞毒性剤として有用であります。
30

【発明の概要】

【0003】

本開示は、式 I :

【化1】



[式中 :

10

20

30

40

50

R¹ は、 C H₃ または C H₂ C H₃ ;

R² は、 H または C H₃ ;

R³ は、 H または N H₂ であり；ならびに

n は、 1 または 2 である]

で示される構造を有する化合物またはその医薬的に許容される塩を提供する。

【 0 0 0 4 】

ある態様において、 n は、 1 であり、 R¹ は、 メチルである。

【 0 0 0 5 】

ある態様において、 R² は、 メチルである。

【 0 0 0 6 】

ある態様において、 R³ は、 N H₂ である。

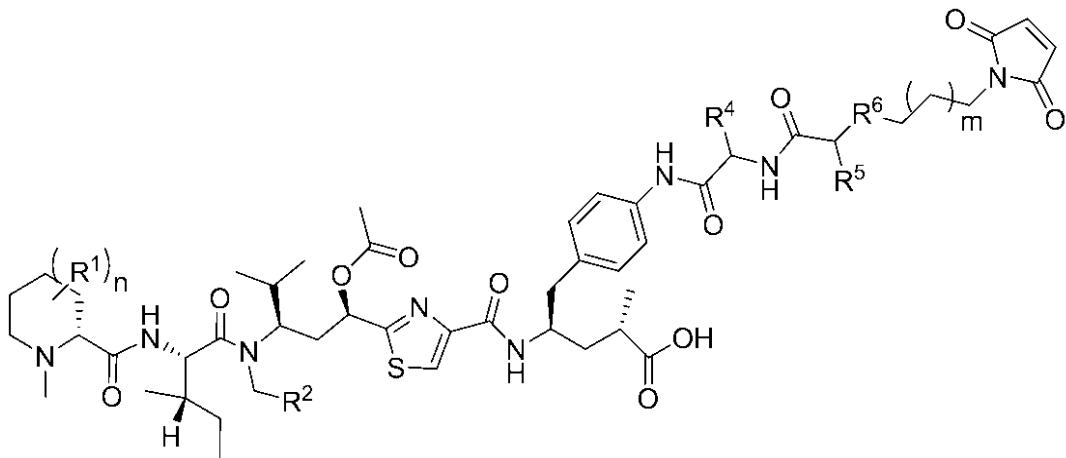
【 0 0 0 7 】

ある態様において、 n は、 1 であり、 R¹ は、 メチルであり、 R² は、 メチルであり、ならびに R³ は、 N H₂ である。式 I の化合物は、 細胞毒性を有し、 癌の治療に有用でありうる。

【 0 0 0 8 】

本本開示はまた、 式 I I :

【 化 2 】



10

20

30

(I I)

【 式 中 :

R¹ は、 C H₃ または C H₂ C H₃ であり；

R² は、 H または C H₃ であり；

R³ は、 C H₃ 、 (C H₂)₄ N H₂ 、 または (C H₂)₃ N H C (= O) N H₂ であ

り；

R⁴ は、 H ; C (C H₃) (C H₃) であり；

R⁵ は、 N H C (= O) または C H₂ であり；

n は、 1 または 2 であり；ならびに

m は、 0 、 1 、 2 、 または 3 である]

で示される構造を有する化合物を提供する。

【 0 0 0 9 】

ある態様において、 n は、 1 であり、 R¹ は、 メチルである。

【 0 0 1 0 】

ある態様において、 R² は、 メチルである。

【 0 0 1 1 】

ある態様において、 R³ は、 N H₂ である。

【 0 0 1 2 】

ある態様において、 n は、 1 であり、 R¹ は、 メチルであり、 R² は、 メチルであり、

40

50

ならびに R^3 は、 NH_2 である。

【0013】

ある態様において、 R^4 は、 $(CH_2)_4NH_2$ である。

【0014】

ある態様において、 R^5 は、 H である。

【0015】

ある態様において、 R^6 は、 CH_2 である。

【0016】

ある態様において、 m は、 1 である。

【0017】

ある態様において、 n は、 1 であり、 m は、 1 であり、 R^1 は、 メチルであり、 R^2 は、 メチルであり、 R^3 は、 NH_2 であり、 R^4 は、 $(CH_2)_4NH_2$ であり、 R^5 は、 H であり、 ならびに R^6 は、 CH_2 である。

10

【0018】

式 I の化合物および式 II の化合物は、 従来の手法により抗体に抱合されて、 抗体薬物複合体 (ADC) を提供しうる。ある態様において、 式 I および II の本開示化合物は、 抗体のリジンまたはシステインにより抗体に抱合されて、 抗体薬物複合体 (ADC) を提供しうる。抗体がモノクローナル抗体である本開示のいくつかの抗体薬物複合体が提供される。抗体が癌抗原に特異的である本開示の他の抗体薬物複合体が提供される。抗体が、 アレムツズマブ、 ベバシズマブ、 ブレンツキシマブ、 セツキシマブ、 ゲムツズマブ、 イピリムマブ、 オファツムマブ、 パニツムマブ、 リツキシマブ、 トシツモマブ、 またはトシツモマブである本開示の他の抗体薬物複合体が提供される。

20

【0019】

本開示はまた、 式 I の化合物またはその医薬的に許容される塩および医薬的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。本開示の ADC および医薬的に許容される担体を含む医薬組成物が提供される。

【0020】

本開示により、 癌に罹っている対象に、 有効量の式 I の化合物または式 II の化合物を投与することを特徴とする癌の治療方法もまた提供される。本開示により、 抗体に抱合された式 I の化合物または式 II の化合物の抗体薬物複合体の有効量を投与することを特徴とする癌の治療方法もまた提供される。本開示のある態様において、 前記対象は、 扁平上皮癌、 小細胞肺癌、 非小細胞肺癌、 胃腸癌、 ホジキンリンパ腫、 非ホジキンリンパ腫、 脳膜癌、 神経膠芽腫、 神経膠腫、 子宮頸癌、 卵巣癌、 肝臓癌、 膀胱癌、 乳癌、 大腸癌、 結腸直腸癌、 子宮体癌、 骨髄腫、 唾液腺癌、 腎臓癌、 基底細胞癌、 メラノーマ、 前立腺癌、 外陰癌、 甲状腺癌、 精巣癌、 食道腺癌、 頭頸部癌、 粘膜性卵巣癌、 胆管細胞癌、 または腎乳頭癌に罹っている患者である。

30

【0021】

式 I の化合物を含む医薬組成物を、 それを必要とする対象に投与することを特徴とする癌の治療方法もまた提供される。本開示により、 本開示の ADC を含む医薬組成物を、 それを必要とする対象に投与することを特徴とする癌の治療方法もまた提供される。

40

【0022】

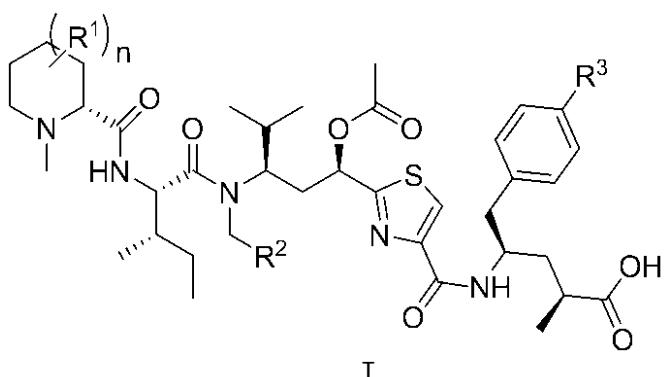
ある態様において、 前記方法は、 少なくとも 1 つのさらなる治療剤を投与することをさらに特徴とする。ある態様において、 少なくとも 1 つのさらなる治療剤は、 放射性核種または化学療法薬である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

本開示は、 式 I :

【化3】



10

【式中：

R¹は、CH₃またはCH₂CH₃であり；
 R²は、HまたはCH₃であり；
 R³は、HまたはNH₂であり；ならびに
 nは、1または2である】

で示される構造を有する化合物またはその医薬的に許容される塩を提供する。

【0024】

ある態様において、nは、1であり、R¹は、メチルである。

【0025】

ある態様において、R²は、メチルである。

【0026】

ある態様において、R³は、NH₂である。

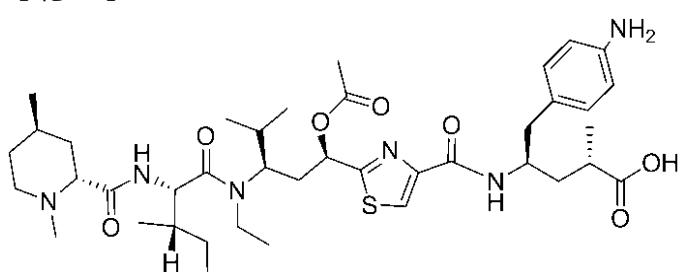
【0027】

ある態様において、nは、1であり、R¹は、メチルであり、R²は、メチルであり、
 ならびにR³は、NH₂である。

【0028】

式Iによる本開示の化合物の特定の例には、化合物(Ii)～(Ivi)

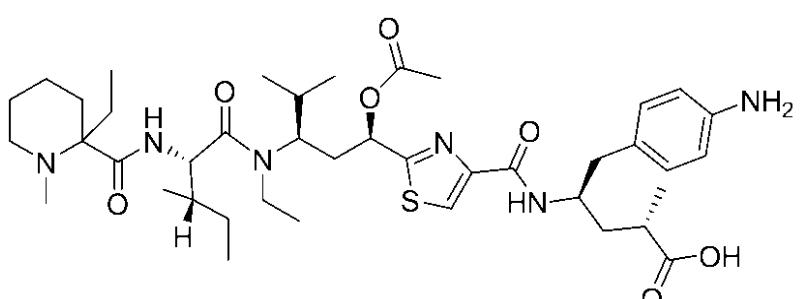
【化4】



30

(Ii)

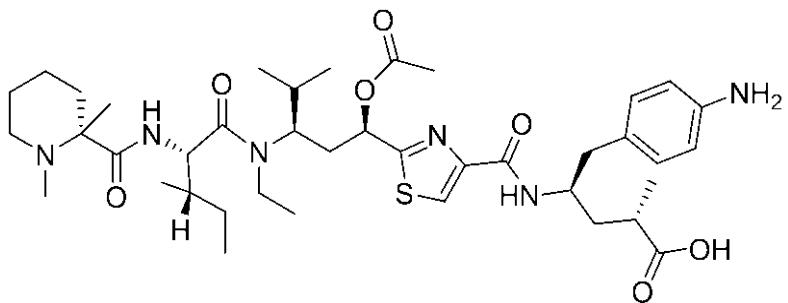
【化5】



40

(Iii)

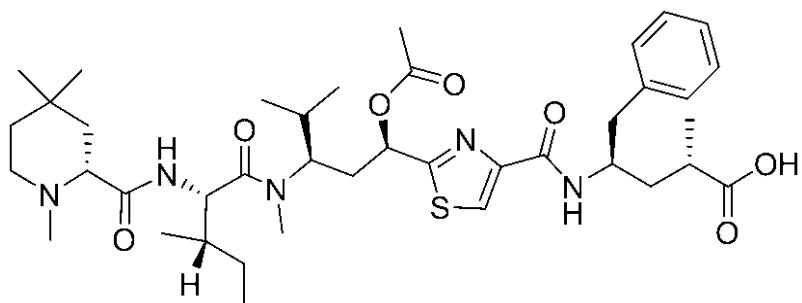
【化 6】



(I i i i)

10

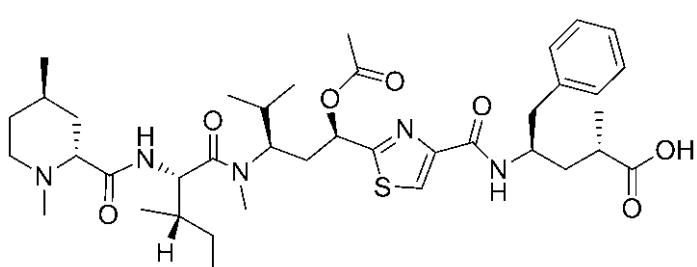
【化 7】



(I i v)

20

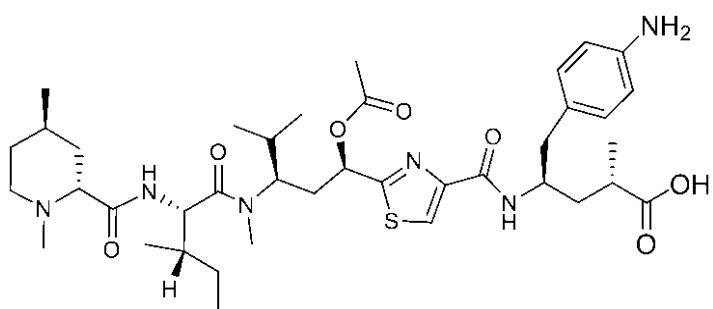
【化 8】



(I v)

30

【化 9】



(I v i)

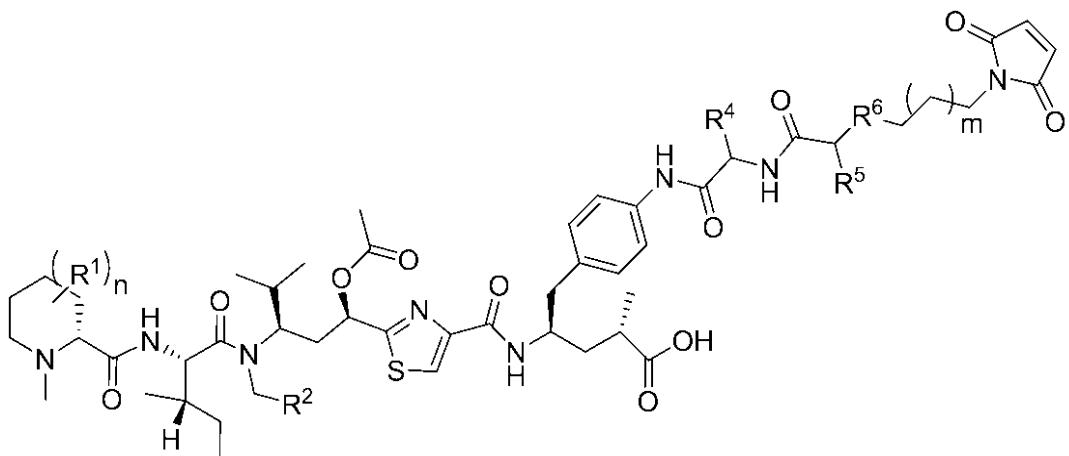
40

が含まれる。

【0029】

本開示は、式II：

【化10】



10

(III)

[式中：

R¹は、CH₃、またはCH₂CH₃であり；R²は、HまたはCH₃であり；R⁴は、CH₃、(CH₂)₄NH₂、または(CH₂)₃NHC(=O)NH₂であり；R⁵は、H、C(CH₃)(CH₃)であり；R⁶は、NH₂C(=O)、またはCH₂であり；

nは、1または2であり；ならびに

mは、0、1、2、または3である]

20

の構造を有する化合物を提供する。

【0030】

ある態様において、nは、1であり、R¹は、メチルである。

【0031】

ある態様において、R²は、メチルである。

【0032】

ある態様において、R³は、NH₂である。

30

【0033】

ある態様において、nは、1であり、R¹は、メチルであり、R²は、メチルであり、ならびにR³は、NH₂である。

【0034】

ある態様において、R⁴は、(CH₂)₄NH₂である。

【0035】

ある態様において、R⁵は、Hである。

【0036】

ある態様において、R⁶は、CH₂である。

40

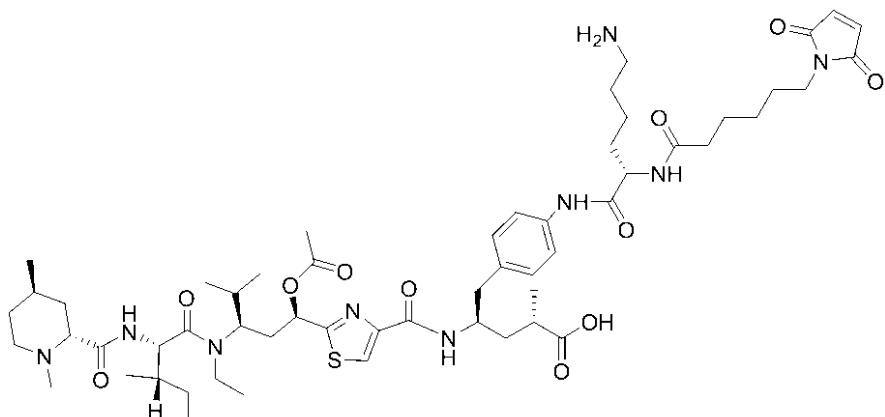
【0037】

ある態様において、mは、1である。

【0038】

式IIIによる本開示の化合物の具体的な例には、化合物(IIIi)～(IIIf)～(IIIfv)

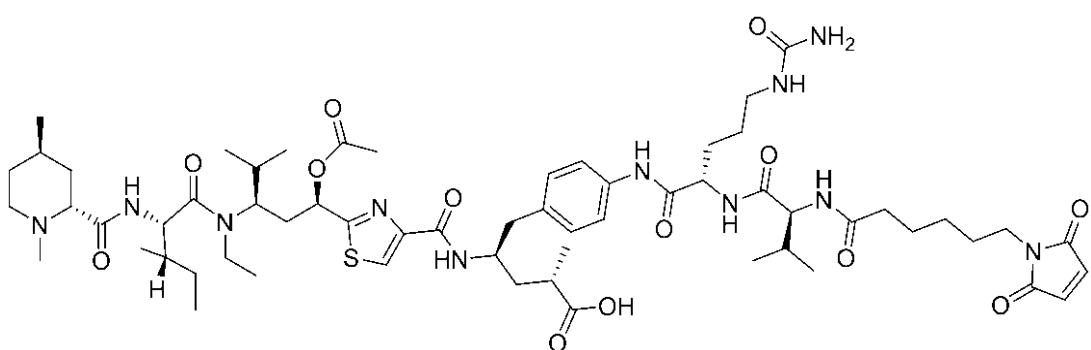
【化 1 1】



10

(III i)

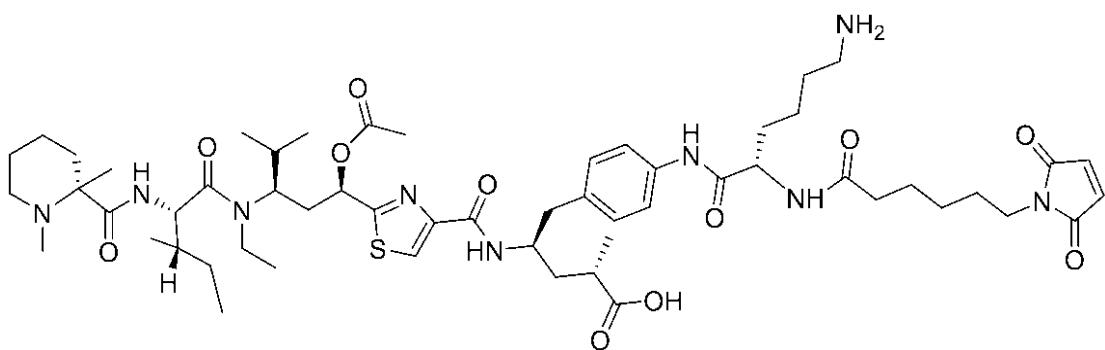
【化 1 2】



20

(III ii)

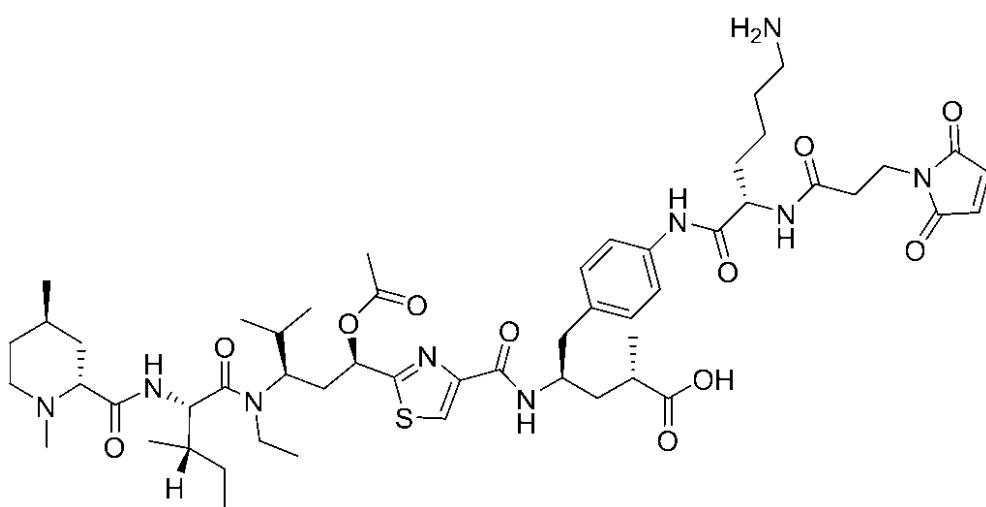
【化 1 3】



30

(III iii)

【化 1 4】



40

50

(I I i v)

が含まれる。

【 0 0 3 9 】

本開示のある態様において、nは、1である。本開示の他の態様において、nは、2である。nが2である場合、ピペリジン環上のR¹置換基は、環内の单一炭素原子であってもよく、あるいは、環内の異なる炭素原子であってもよい。本開示のある態様において、nが1である場合、前記環のR¹置換基は、窒素に対してパラである。本開示の他の態様において、nが1である場合、R¹置換基は、ピペリジン環内の窒素に対してメタである。

【 0 0 4 0 】

式IおよびIIの化合物は、抗体に抱合されて、抗体薬物複合体(ADC)を形成してもよい。ADC複合体において、式Iの化合物および式IIの化合物は、それらが抱合されている抗体によって目的の治療標的に送達される治療部分として供される。式Iおよび式IIの化合物および抗体の抱合によって形成されるADCを含む医薬組成物もまた提供される。式Iの化合物および式IIの化合物を用いるADCの調製方法もまた提供される。本開示のADCを投与することを特徴とするそれを必要とする癌の治疗方法もまた提供される。本発明のADCを化学療法薬と組み合わせて投与することを特徴とする癌の治疗方法もまた提供される。

【 0 0 4 1 】

本発明がより容易に理解できるようにするために、一定の用語が最初に定義される。さらなる定義は詳細な説明を通して説明される。

【 0 0 4 2 】

前記に記載の明細書は、当業者が実施態様を実施するために十分であると考えられる。前記明細書および実施例は、一定の実施態様を詳細に記載し、本発明者らによって考えられる最良の様式を記載する。しかしながら、いかに詳細な記載がなされていたとしても、本実施態様は多くの方法で実施されてもよく、特許請求の範囲はそのいかなる均等物をも含むものであると理解される。

【 0 0 4 3 】

本発明を詳細に記載する前に、本発明は、特定の組成物またはプロセス工程に限定されべきではなく、そのようなものは代えることができるものと理解されるべきである。本明細書および特許請求の範囲で用いられるように、単数形「a」、「a n」および「t h e」には、特に文脈が示していない限り、複数の対象が含まれるものである。用語「a」(または「a n」)、ならびに用語「1つまたはそれ以上の」および「少なくとも1つの」は、本明細書で交換可能に用いることができる。

【 0 0 4 4 】

さらに、本明細書で用いられる「および/または」は、一方とともに、もしくは一方を有しない2つの特定の特徴または構成成分の各々の具体的な開示として解釈されるべきである。よって、本明細書で「Aおよび/またはB」などの用語で用いられる用語「および/または」は、「AおよびB」、「AまたはB」、「A」(単独)、および「B」(単独)を含むものとされる。同様に、「A、B、および/またはC」などの用語で用いられる用語「および/または」は、下記の態様の各々を包含するものとされる：A、B、およびC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A(単独)；B(単独)；ならびにC(単独)。

【 0 0 4 5 】

他で定義されていない限り、本明細書で用いられる全ての技術的および科学的用語は、本開示に関連する当業者によって一般に理解される用語と同一の意味を有する。例えば、the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press ; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press ; およびthe Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressは、本開示で用いられる多くの用語の

10

20

30

40

50

一般的な辞書の技術の1つを提供する。

【0046】

単位、接頭辞、および記号は、それらの国際単位系(SI)で認められた形で表示される。数字範囲は、その範囲を定義する数字が含まれる。特に断りがなければ、アミノ酸配列は、アミノ基からカルボキシ基の方向に左から右に記載される。本明細書で提供される表題は、様々な態様を限定するものではなく、本明細書を全体として参照しうる。よって、すぐ下で定義される用語は、明細書全体を参照して十分に定義されている。

【0047】

用語「を含む」とともに態様が本明細書に記載される場合、「からなる」および/または「から必須としてなる」の用語で記載される類似する態様もまた提供されるものと理解される。

10

【0048】

アミノ酸は、それらの一般に知られる三文字表記、またはIUPAC-IUB生化学命名委員会によって推奨される一文字表記のいずれかによって本明細書で示される。

【0049】

用語「阻害する」、「妨害する」、および「抑制する」は、本明細書で交換可能に用いられ、生物学的活性の統計学的な有意な減少(活性の全阻害を含む)を意味する。例えば、「阻害」は、生物学的活性の約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または100%の減少を意味しうる。

20

【0050】

細胞増殖は、細胞分裂の割合、および/または細胞分裂を経験する細胞集団内の細胞のフラクション、および/または最終分化または細胞死による細胞集団からの細胞喪失の割合(例えば、チミジン取り込み)を測定する当業者で認識されている技術を用いて試験することができる。

【0051】

本明細書で交換可能に用いられる用語「抗体」または「免疫グロブリン」には、全体抗体およびそれらの抗原結合フラグメントもしくは单鎖、ならびにそれらの組み合わせ(例えば、二重特異性抗体)が含まれる。

【0052】

典型的な抗体には、ジスルフィド結合によって相互接続されている少なくとも2つの重鎖(H)および2つの軽鎖(L)が含まれる。各重鎖は、重鎖可変領域(本明細書では、VHと略称される)および重鎖定常領域(本明細書では、CHと略称される)から構成される。重鎖定常領域は、3つのドメイン、CH1、CH2、およびCH3から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書では、VLと略称される)および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CLから構成される。VHおよびVL領域は、フレームワーク領域(FW)と呼ばれるより保存されている領域で散在される相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変性領域にさらに細分化することができる。各VHおよびVLは、下記の順番でアミノ末端からカルボキシル末端に編成される3つのCDRおよび4つのFWから構成される: FW1、CDR1、FW2、CDR2、FW3、CDR3、FW4。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫グロブリンの宿主組織または因子(免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞および伝統的な補体系の第1因子(C1q))を含む)への結合を介在することができる。本開示の抗体の例としては、典型的な抗体、scFv、およびそれらの組み合わせであって、例えば、scFvは、典型的な抗体の重鎖および/または軽鎖のいずれかのN末端に共有結合しているか(例えば、ペプチド結合または化学リンカーにより)、あるいは典型的な抗体の重鎖および/または軽鎖に挿入されている。

30

【0053】

用語「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも1つの抗原認識部位を介して、標的、例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、またはこれらの組み合わせを認識し、特異的に結合する免疫グロブリン分子

40

50

を意味する。本明細書で用いられるように、用語「抗体」には、インタクトなポリクローナル抗体、インタクトなモノクローナル抗体、抗体フラグメント（例えば、F_{a b}、F_{a b'}、F_(a b')2、およびF_vフラグメント）、単鎖可変フラグメント（s c F_v）、ジスルフィドで安定化したs c F_v、複数特異性抗体（例えば、少なくとも2つのインタクトな抗体および／またはその抗原結合フラグメントから作成された二重特異性抗体）、キメラ化抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部分を含む融合タンパク質、ならびに抗原認識部位を含む他の改变免疫グロブリン分子（前記抗体が所望の生物学的活性を示す場合に限る）が包含される。

【0054】

抗体は、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューとそれぞれ呼ばれるそれらの重鎖定常ドメインの同一性に基づいて、5つの主要なクラスの免疫グロブリン：IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgM、またはそれらのサブクラス（アイソタイプ）（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2）のいずれかでありうる。異なるクラスの免疫グロブリンは、異なる周知のサブユニット構造および三次立体構造を有する。抗体は、そのままであるか、あるいは毒素、放射性同位体などの他の分子に抱合されて、ADCを形成しうる。

10

【0055】

用語「抗原結合フラグメント」は、インタクトな抗体の部分を意味し、インタクトな抗体の抗原決定可変領域を示す。抗体の抗原結合機能が全長抗体のフラグメントによって達成されうることが当該技術分野で知られている。抗体フラグメントの例としては、下記に限定されないが、抗体フラグメントから形成されるF_{a b}、F_{a b'}、F_(a b')2、およびF_vフラグメント、直鎖抗体、単鎖抗体、および複数特異性抗体が挙げられる。

20

【0056】

「モノクローナル抗体」は、单一抗原決定因子またはエピトープの高度に特異的な認識および結合に関連する均一な抗体集団を意味する。これは、典型的に、異なる抗原決定因子に対して異なる抗体を含むポリクローナル抗体とは対照的である。

【0057】

用語「モノクローナル抗体」には、インタクトおよび全長モノクローナル抗体の両方ならびに抗体フラグメント（例えば、F_{a b}、F_{a b'}、F_(a b')2、F_v）、単鎖可変フラグメント（s c F_v）、抗体部分を含む融合タンパク質、ならびに抗原認識部位を含む他の改变免疫グロブリン分子が含まれる。さらに、「モノクローナル抗体」は、以下に限定されないが、ハイブリドーマ、ファージ選択、組み換え発現、および遺伝子組み換え動物（例えば、遺伝子組み換えマウスにおけるヒト抗体発現）による多くのいずれかの方法で作成されたこのような抗体を意味する。

30

【0058】

用語「ヒト化抗体」は、最小限の非ヒト（例えば、マウス）配列を含有するように改変されている非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリンに由来する抗体を意味する。典型的に、ヒト化抗体は、CDRに由来する残基が、所望される特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、またはハムスター）のCDRに由来する残基によって置き代えられるヒト免疫グロブリンである（Jones et al., 1986, Nature, 321:522-525；Riechmann et al., 1988, Nature, 332:323-327；Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536）。ある例において、ヒト免疫グロブリンのFW残基は、所望される特異性、および／または親和性、および／または能力を有する非ヒト種に由来する抗体における対応する残基で置き代えられる。

40

【0059】

用語「抗体薬物複合体」（ADC）は、少なくとも1つの式Iの化合物または式IIの化合物に抱合された目的のエピトープに結合する少なくとも1つの抗体を含む複合体を意味する。式Iの化合物および式IIの化合物は、抗体に抱合されて抗体薬物複合体（ADC）を形成し、それにより式Iの化合物および式IIの化合物は、それらが抱合されている抗体によって目的の治療標的に送達される治療部分として供されうる。

50

【0060】

ある態様において、A D Cには、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、または10個の治療部分が含まれる。ある特定の態様において、A D Cには、2個、3個、または4個の治療部分が含まれる。ある態様において、全ての治療部分は、同一である。ある態様において、少なくとも1つの治療部分は、残りの部分と異なる。

【0061】

治療部分は、式Iの化合物の单一分子または式IIの化合物の单一分子を意味する。

【0062】

用語「対象」は、動物（例えば、哺乳類）であって、下記に限定されないが、特定の治療のレシピエントであるヒト、非ヒト靈長類、げっ歯類などを意味する。典型的に、用語「対象」および「患者」は、ヒト対象について本明細書では交換可能に用いられる。10

【0063】

用語「医薬組成物」は、活性成分の生物学的活性を可能にするような形態であり、この組成物が投与される対象に許容されない毒性を有するさらなる成分を含有しない調製物を意味する。このような組成物は無菌でありうる。

【0064】

「治療する」または「治療」または「治療するため」または「軽減する」または「軽減するため」などの用語は、(1)診断された病状または障害の症状を治癒し、遅延させ、軽減し、および/または進行を止める治療的手段、ならびに(2)標的とする病状または障害の発症を予防し、および/または遅延させる予防的もしくは予防手段の両方を意味する。よって、治療を必要とするものには、障害にすでに罹っているもの；障害に罹りやすいもの；ならびに障害が予防されるべきものが含まれる。ある態様において、対象は、患者が、例えば、特定タイプの癌の総合的、部分的、もしくは一次的な寛解を示す場合、本開示の方法による癌のために継続して「治療される」。20

【0065】

用語「癌」、「腫瘍」、「癌性」、および「悪性」は、制御されていない細胞増殖によって一般に特徴付けられる哺乳類における身体的状態を意味するか、または記載する。癌の例としては、以下に限定されないが、腺癌、リンパ腫、芽細胞腫、メラノーマ、肉腫、および白血病を含む癌が挙げられる。このような癌のより具体的な例としては、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、胃腸癌、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、神経膠芽腫、神経膠腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌（例えば、肝癌および肝細胞癌）、膀胱癌、乳癌（ホルモン介在性乳癌を含み、例えば、Innes et al. (2006) Br. J. Cancer 94:1057-1065を参照のこと）、大腸癌、結腸直腸癌、子宮体癌、骨髄腫（例えば、多発性骨髄腫）、唾液腺癌、腎臓癌（例えば、腎細胞癌およびウィルムス腫瘍、基底細胞癌、メラノーマ、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、精巣癌、食道腺癌、様々なタイプの頭頸部癌および粘液性起源の癌、例えば、粘膜性卵巣癌、胆管細胞癌（肝臓）、および腎乳頭癌が挙げられる。30

【0066】

本明細書で用いられる用語「細胞毒性剤」は、広く定義され、細胞の機能を抑制し、もしくは阻害し、および/または細胞（細胞死）の破壊を引き起こし、および/または抗悪性腫瘍/抗増殖性効果を示す物質を意味する。例えば、細胞毒性剤は、腫瘍性腫瘍細胞の発生、成熟、または拡大を直接的もしくは間接的に防ぐ。前記用語にはまた、細胞分裂停止効果のみを引き起こし、細胞毒性効果を生じないような薬剤が含まれる。前記用語には、下記で特定されるような化学療法薬、ならびに他のHER2アンタゴニスト、抗血管形成薬、チロシンキナーゼ阻害剤、タンパク質キナーゼA阻害剤、サイトカインファミリーのメンバー、放射性同位体、ならびに細菌、真菌、植物、または動物起源の酵素学的に活性な毒素などの毒素類が含まれる。40

【0067】

用語「化学療法薬」は、天然または合成化学化合物を含む用語「細胞毒性剤」の一部である。化学療法薬の例としては、アルキル化剤、例えば、ナイトロジエンマスター、エ

10

20

30

40

50

チレンイミン化合物、アルキルスルホネート、ならびにアルキル化作用を有する他の化合物、例えば、ニトロソ尿素、シスプラチンおよびダカルバジン；代謝拮抗剤、例えば、葉酸、プリンまたはピリミジンアンタゴニスト；分裂阻害剤、例えば、ビンカアルカロイドおよびポドフィロトキシン誘導体；細胞傷害性抗生物質およびカンプトテシン誘導体が挙げられる。他の化学治療薬は、アミホスチン(ethyl(登録商標))、シスプラチン、ダカルバジン(DTIC)、ダクチノマイシン、メクロレタミン(ナイトロジェンマスター)、ストレプトゾシン、シクロホスファミド、カルムスチン(BCNU)、ロムスチン(CCNU)、ドキソルビシン(アドリアマイシン(登録商標))、リポソーマルドキソルビシン(doxil(登録商標))、ゲムシタビン(gemzar(登録商標))、ダウノルビシン、リポソーマルダウノルビシン(daunoXome(登録商標))、プロカルバジン、マイトマイシン、シタラビン、エトポシド、メトトレキセート、5-フルオロウラシル(5-FU)、ビンプラスチン、ビンクリスチン、ブレオマイシン、パクリタキセル(タキソール(登録商標))、ドセタキセル(タキソテール(登録商標))、アルデスロイキン、アスピラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、クラドリビン、カンプトテシン、CPT-11、10-ヒドロキシ-7-エチル-カンプトテシン(SN38)、ゲフィチニブ(Iressa(登録商標))、ダカルバジン、フロキシウリジン、フルダラビン、ヒドロキシウレア、イホスファミド、イダルビシン、メスナ、インターフェロンアルファ、インターフェロンベータ、イリノテカン、ミトキサントロン、トポテカン、ロイプロリド、メゲストロール、メルファラン、メルカプトプリン、プリカマイシン、ミトタン、ペグアスバルガーゼ、ペントスタチン、ピポブロマン、プリカマイシン、ストレプトゾシン、タモキシフェン、テニポシド、テストラクトン、チオグアニン、チオテバ、ウラシルマスター、ビノレルビン、クロランプシリアルマターゼ阻害剤、およびこれらの組み合わせである。
10

【0068】

本開示の方法によれば、本開示の化合物およびADCは、患者に投与されて癌に関する陽性治療寛解を促進しうる。癌治療に関する用語「陽性治療寛解」は、前記疾患に付随する症状における改善を意味する。

【0069】

例えば、前記疾患における改善は、完全寛解として特徴付けることができる。用語「完全寛解」は、過去の試験結果の正常化を伴い、臨床的に検出可能な疾患の不存在を意味する。あるいは、前記疾患における改善は、部分寛解であるものとして分類することができる。「陽性治療寛解」には、癌の進行および/または期間の減少または阻害、癌の重症度の減少または軽減、および/または本開示の化合物の投与から生じるこれらの1つまたはそれ以上の症状の緩和が包含される。
30

【0070】

具体的な態様において、このような用語は、本開示の化合物の投与による1個、2個もしくは3個またはそれ以上の結果を意味する：

- (1) 癌細胞集団の安定化、減少または排除；
- (2) 癌増殖の安定化または減少；
- (3) 癌形成の障害；
- (4) 原発性、局所性および/または転移性癌の根絶、除去、または制御；
- (5) 死亡率の低下；
- (6) 無病、無再発、無進行、および/または全体の生存、期間または割合の増加；
- (7) 寛解率、寛解持続期間、あるいは寛解または回復患者数の増加；
- (8) 入院率の低下；
- (9) 入院期間の減少；
- (10) 癌の大きさが維持され、増加しないか、あるいは10%以下、好ましくは5%以下、好ましくは4%以下、好ましくは2%以下で増加すること；
- (11) 回復患者数の増加；ならびに
- (12) 癌を治療するために別途に必要とされるであろう補助剤治療(例えば、化学療法

10

20

20

30

40

40

50

またはホルモン療法) 数の減少。

【0071】

臨床的な寛解は、PET、磁気共鳴画像法(MRI)スキャン、X放射線画像、コンピュータ断層撮影(CT)スキャン、フローサイトメトリーもしくは蛍光標示式細胞分取器(FACS)解析、組織学的検査、肉眼所見、および血液化学検査などのスクリーニング技術(下記に限定されないが、ELISA、RIA、クロマトグラフィーなどによって検出可能な変化を含む)を用いて評価することができる。これらの陽性治療寛解に加えて、治療を受けている対象は、疾患に関連する症状における改善の有益な効果を受けることができる。

【0072】

本開示の化合物は、癌、例えば、大腸癌、肺癌、胃癌、頭頸部扁平細胞癌、および乳癌の治療に有用と知られているか、あるいは用いられているか、または現在使用中である、薬剤または薬剤の組み合わせを含む、癌のための公知の治療と組み合わせて用いることができる。抗癌剤には、悪性腫瘍、例えば、癌の増殖を治療するために用いられる薬物が含まれる。薬物治療は、単独で、または外科手術もしくは放射線療法などの他の治療と組み合わせて用いることができる。いくつかのクラスの薬物は、関連する臓器の性質に応じて、癌治療に用いることができる。例えば、乳癌は、一般にエストロゲン類によって刺激され、これらの性ホルモンを不活性化する薬物で治療することができる。同様に、前立腺癌は、男性ホルモンのアンドロゲンを不活性化する薬物で治療することができる。

【0073】

本開示の特定の方法における使用のための抗癌剤としては、特に、抗体、代謝拮抗剤、アルキル化剤、トポイソメラーゼ阻害剤、微小管標的薬、キナーゼ阻害剤、タンパク質合成阻害剤、免疫治療薬、ホルモン療法、グルココルチコイド、アロマターゼ阻害剤、mTOR阻害剤、化学療法薬、タンパク質キナーゼB阻害剤、fosfathidilinositol-3-kinase(PI3K)阻害剤、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)阻害剤、RLR9、CD289、酵素阻害剤、抗TRAIL、MEK阻害剤などが挙げられる。

【0074】

組み合わせ治療が、別の治療薬の投与と組み合わせた本開示の化合物の投与を含む場合、本開示の方法には、別々の製剤または単一医薬製剤、およびいずれかの順序による連続投与を用いた共投与が含まれる。ある態様において、本明細書に記載の式Iの化合物、式IIの化合物、および/またはADCは、他の薬物と組み合わせて投与され、前記抗体または抗原結合フラグメント、変異型、またはこれらの誘導体、および治療薬は、連続して、いずれかの順序で、または一緒に(すなわち、同時に、または同一期間内に)投与することができる。

【0075】

組み合わせ治療は、「相乗」を提供し、「相乗的な」効果を示すことができ、すなわち、その効果は、一緒に用いられる活性成分が、別々にこれらの化合物を用いることから生じる効果の合計よりも高い場合に達成される。相乗的効果は、活性成分が:(1)共製剤化され、投与されるか、あるいは合わせた単位用量製剤で一緒に送達され;(2)別々の製剤として交互に、もしくは並行して送達され;または(3)他の計画によって送達される場合に達成することができる。別の治療で送達される場合、相乗的効果は、化合物が、例えば、別のシリンジで異なる注射によって連続して投与されるか、または送達される場合に達成することができる。一般に、別の治療期間中、各活性成分の有効な用量は、連続して、すなわち、順次投与される一方、組み合わせ治療では、2つまたはそれ以上の活性成分の有効な用量は、一緒に投与される。

【0076】

本開示(治療剤)の化合物およびADCは、経口、非経口、吸入または局所経路によって患者に投与されてもよい。本明細書で用いられる用語「非経口」としては、例えば、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、直腸、または腔投与が挙げられる。しかしながら、本明細書の記載に適合する他の方法において、ADCは、本発明の化合物を選択的に標

10

20

30

40

50

的として、治療薬を有害な細胞集団の部位に直接送達し、それによりその障害のある部位の治療薬への露出を増加させるために用いることができる。

【0077】

本明細書に記載されるように、本開示の治療剤は、癌のインビボ治療のための医薬的に許容される組成物で投与することができる。典型的に、本開示の化合物は、静脈内投与のための溶液または（生理食塩水、5% デキストロース、または同様の等張溶剤等とともに）静脈内溶液を調製するための再構成用の凍結乾燥された濃縮物として製剤化される。前記医薬組成物には、例えば、水、イオン交換剤、タンパク質、緩衝物質、および塩を含む医薬的に許容される担体が含まれる。保存添加剤もまた存在しうる。担体は、溶媒または分散媒体でありうる。本明細書に記載の治療方法における使用に適する製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980)に記載される。

10

【0078】

ある場合において、無菌の注射溶液は、本開示の治療薬を適當な溶媒の必要な量で含ませ、続いて滅菌濾過することによって調製することができる。さらに、前記調製物は、包装され、キットの形態で販売することができる。このような製品は、添付された組成物が疾患または障害に罹っているか、または罹りやすい対象を治療するために有用であることを示す表示または添付文書を有しうる。

【0079】

非経口製剤は、単回ボーラス投与、点滴または充填ボーラス投与、続いて維持投与が行われる。これらの組成物は、具体的な固定または変動間隔、例えば、1日1回、または「必要に応じて」に基づいて投与することができる。

20

【0080】

前記組成物は、単回用量、複数回用量として、または点滴で設定された期間にわたり投与することができる。投薬計画はまた、適切な所望の反応（例えば、治療または予防応答）を提供するように調整することができる。

【0081】

例えば、大腸癌、肺癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、メラノーマ、膵臓癌、前立腺癌、および乳癌を含む癌の治療のための本開示の組成物の治療上有効な用量は、投与方法、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトまたは動物であるか、他の投与される薬剤、および治療が予防または治療であるかを含む、多くの異なる因子によって変動する。通常、前記患者は、ヒトであるが、非ヒト哺乳類（遺伝子組み換え哺乳類を含む）もまた治療することができる。治療用量は、安全性および有効性を最適化するための当業者に公知の所定の方法を用いて漸増することができる。

30

【0082】

投与される本開示の治療薬の量は、過度の実験を要することなく当業者によって容易に決定することができる。投与様式および薬剤の各量に影響を与える因子としては、以下に限定されないが、疾患の重症度、病歴、ならびに治療を受けている個体の年齢、身長、体重、健康、および身体状態が挙げられる。同様に、投与される抗HER2結合分子、例えば、抗体、またはそのフラグメント、変異型、もしくは誘導体の量は、投与様式に依存し、対象がこの薬の単一用量もしくは複数回用量を受けるかどうかに依存する。

40

【0083】

本開示はまた、例えば、乳癌、大腸癌、肺癌、胃癌、頭頸部扁平上皮癌、メラノーマ、膵臓癌、および前立腺癌を含む癌のタイプの治療薬の製造における本開示の治療薬の使用について提供する。

【0084】

本開示はまた、癌のタイプを治療するための対象の治療薬の製造における本開示の治療薬の使用について提供する。ある態様において、該薬は、少なくとも1つの他の療法で前もって治療を受けている対象に用いられる。

【0085】

50

「前治療された」または「前治療」は、標的とする対象が、本開示の化合物を含む薬剤を受容する前に1つまたはそれ以上の他の療法を受容している（例えば、少なくとも1つの他の抗癌療法で治療されている）ことを意味する。前記対象は、治療前に前治療に対する応答者である必要はない。よって、薬剤を受容する対象は、過去の治療による前治療、または複数の治療を含む1つまたはそれ以上の過去の治療による前治療に応答し、または応答し得なかったものでありうる。

【0086】

本開示はまた、治療薬および少なくとも1つの他の治療を、単一組成物で共投与を、あるいは別々の組成物で同時または重複時期で一緒に共投与を提供する。

【0087】

本開示はまた、癌を治療するための対象の治療薬の製造における治療薬の使用であって、前記治療薬が、対象が少なくとも1つの他の療法で治療される前に投与される使用を提供する。

【実施例】

【0088】

本開示の態様は、本開示の特定の化合物および中間体の製造、ならびに本開示の化合物の使用方法を詳細に記載する下記の非限定的な実施例を参照することによりさらに定義することができる。原料および方法の両方に対する多くの改変は、本開示の範囲から逸脱することなく実施することができることが当業者にとって明らかである。

【0089】

他に示されていない限り：
 (i) 特に記載されていなければ、操作が、室温または周囲温度、すなわち、18 - 25 の範囲で行われる場合；温度は摂氏温度(°C)で付与され；

(ii) 溶液は、無水硫酸ナトリウムもしくは硫酸マグネシウムで乾燥させ；有機溶媒の蒸発は、減圧下(4.5 ~ 30 mmHg)にて30までの浴温でロータリーエバポレーターを用いて行われ；

(iii) クロマトグラフィーは、シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーを意味し；薄層クロマトグラフィー(TLC)は、シリカゲルプレート上で行われ；

(iv) 一般に、反応経過は、TLCまたは液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)に従い、反応時間は、例示のみを付与するに過ぎず；

(v) 最終生成物は、条件を満たしたプロトン核磁気共鳴(NMR)スペクトルおよび/または質量スペクトルデータを示し；

(vi) 収率は、例示のみを付与し、必ずしも精力的なプロセス開発によって得ができるものではなくてもよく；より多くの物質が必要であれば調製を繰り返し；

(vii) 付与される場合、他に記載がなければ、核磁気共鳴(NMR)データは、主要な診断用プロトンのためのデルタ(Δ)値の形であり、内部標準としてテトラメチルシラン(TMS)と比較して100万分の1(ppm)で付与され、d₆-DMSO中で300または400MHzで測定され；

(viii) 化学記号は、それらの通常の意味を示し；

(ix) 溶媒比は、体積：体積(v/v)の用語で付与され；

(x) 化合物の精製は、1つまたはそれ以上の下記の方法を用いて行われ：

a) 通常のシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー；

b) シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(Iscoco CombiFlash(登録商標)分離システムを使用)：ReadySep順相フラッシュカラム、流速、30 - 40 ml/min (ISCO MPLC)

c) Gilson semiprep HPLC分離システム：YMC pack ODS-AQカラム、100 × 20 mm、5 μm 12 nm、水(0.1% トリフルオロ酢酸)および溶媒としてのアセトニトリル(0.1% トリフルオロ酢酸)，20分；ならびに

(xi) 下記の略語が用いられる：

10

20

30

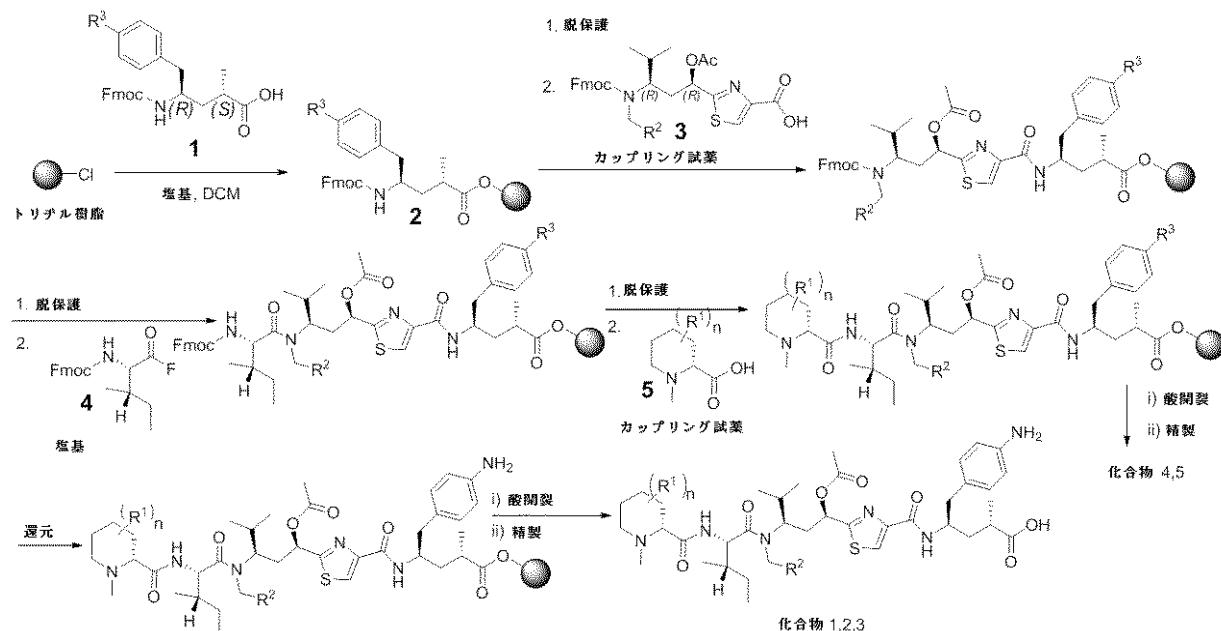
40

50

B o c	t - ブトキシカルボニル ;	
D C M	ジクロロメタン ;	
D I A D	アゾジカルボン酸ジイソプロピル ;	
D I C	N , N ' - デイソプロピルカルボジイミド ;	
D C C	N , N ' - デシクロヘキシルカルボジイミド ;	
D I E A	ジエチルイソプロピルアミン ;	
D M A	N , N - デメチルアセトアミド ;	
D M F	N , N - デメチルホルムアミド ;	
E D C I	1 - エチル - 3 - (3 - デメチルアミノプロピル) カルボジイミド	10
E t O A c	酢酸エチル ;	
E t ₂ O	ジエチルエーテル ;	
F m o c - O S u	9 - フルオレニルメチル N - スクシンイミジル カルボネート	
M e O H	メタノール ;	
N a ₂ C O ₃	炭酸ナトリウム ;	
N a H C O ₃	炭酸水素ナトリウム ;	
R T	室温 ;	
T E A	トリエチルアミン	
T F A	トリフルオロ酢酸 ;	
T H F	テトラヒドロフラン	
H A T U	1 - [ビス (デメチルアミノ) メチレン] - 1 H - 1 , 2 , 3 - ト	20
リアゾロ [4 , 5 - b] ピリジニウム 3 - オキシド ヘキサフルオロホスフェート		
D A S T	三フッ化ジエチルアミノ硫黄	
A C N	アセトニトリル	
B o c ₂ O	二炭酸ジ - t e r t - ブチル	
メルドラム酸	2 , 2 - デメチル - 1 , 3 - デオキサン - 4 , 6 - ジオン	
【 0 0 9 0 】		

化合物 1 ~ 5 の合成のための一般的スキーム

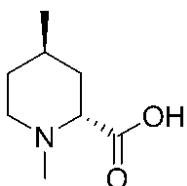
【化 15】



【 0 0 9 1 】

中間体 1

【化16】



M e O H (4 0 m L) および水 (4 0 . 0 m L) 中の (2 R , 4 R) - 4 - メチルピペリジン - 2 - カルボン酸 (2 g , 1 3 . 9 7 m m o l) の溶液に、パラホルムアルデヒド (2 . 5 2 g , 2 7 . 9 4 m m o l) および P d / C (1 0 %) (0 . 8 g , 7 . 5 2 m m o l) を加えた。反応混合液を、水素雰囲気下にて室温で終夜攪拌した。 T L C により、該反応は完了しなかった。さらに 1 当量のパラホルムアルデヒド (2 . 5 2 g , 2 7 . 9 4 m m o l) を加え、該反応混合物をさらに 2 4 時間攪拌した。 T L C により該反応が完了したことが示され、反応混合物を濾過し、該触媒を M e O H で洗浄した (2 × 3 0 m L) 。濾液を減圧中で濃縮して、粗生成物を白色の固体として得、これをエーテルで洗浄し (3 × 3 0 m L) 、高真空で終夜乾燥させて、 (2 R , 4 R) - 1 , 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボン酸 (1) (1 . 8 7 0 g , 8 5 %) を白色の固体として得た。 LC-MS: 158 (M+ 1); ¹H NMR (400 MHz, D₂O) ppm 0.97 (d, J=5.52 Hz, 3 H), 1.54 (br. s, 1 H), 1.71 - 1.87 (m, 3 H), 1.91 - 2.07 (m, 1 H), 2.84 (s, 3 H), 3.13 (td, J=8.41, 3.76 Hz, 1 H), 3.35 (m, 1 H), 3.65 (m, 1 H).

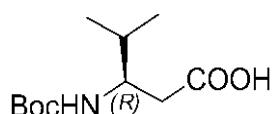
10

【0092】

20

中間体2

【化17】



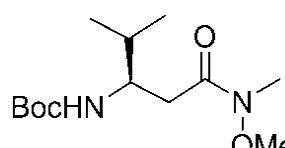
B o c₂ O (2 4 3 . 0 g , 1 . 1 m o l) を、室温で攪拌しながらアセトン (1 L) および水 (1 L) 中の (R) - 3 - アミノ - 4 - メチルpentan酸 (市販品として入手可能な) (1 3 3 . 0 g , 1 . 0 m o l) および N a₂ C O₃ (2 1 2 g , 2 . 0 m o l) の懸濁液に滴下して加えた。反応混合液を終夜攪拌し、該有機溶媒を減圧下で留去した。該残渣を水 (1 L) で希釈し、 E t O A c で洗浄した (5 0 0 m L × 3) 。該水層を、 2 N H C l 溶液で pH = 3 まで酸性にし、生じた混合物を E t O A c で抽出した (8 0 0 m L × 3) 。抽出物を合わせて、食塩水で洗浄し (8 0 0 m L × 1) 、乾燥させ (N a₂ S O₄) 、濃縮して、化合物 (2) (2 2 4 . 0 g , 収率 9 7 %) を油状物として得て、これをさらに精製することなく次の工程に使用した。

30

【0093】

中間体3

【化18】



40

トリエチルアミン (6 7 g , 0 . 6 1 m o l) を、 0 度攪拌しながら C H₂ C l₂ (1 . 4 L) 中の中間体 2 (1 4 0 . 0 g , 0 . 6 1 m o l) および N , O - ジメチルヒドロキシリルアミン塩酸塩 (7 4 . 1 g , 0 . 7 6 m o l) の懸濁液に加えた。該懸濁液を 0 . 5 時間攪拌し、 E D C I (7 4 g , 0 . 6 1 m o l) を 0 度少しづつ加えた。反応混合液を 0 度で 2 時間攪拌し、水 (8 0 0 m L) を加えた。有機層を分離し、 5 % K H S O₄ 溶液 (8 0 0 m L × 3) 、飽和 N a H C O₃ 溶液 (8 0 0 m L × 3) 、続いて食塩水 (8 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥させ (N a₂ S O₄) 、乾燥するまで濃縮した。該残渣を、シリカゲル上のフラッショカラムクロマトグラフィーで精製して (E t O A c / ヘキサン = 1 : 5) 、化合物 (3) (1 4 1 . 0 g , 収率 8 4 %) を油状物として得た。 ¹H

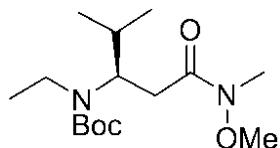
50

NMR (300 MHz, CDCl₃): 5.26 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.15 (s, 3H), 2.60~2.80 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.41 (s, 9H), 0.90 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

【0094】

中間体4

【化19】



10

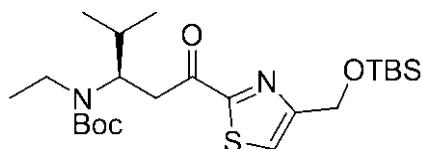
ヨードエタン (250.0 g, 1.6 mol) を、0°で攪拌しながら DMF (1.1 L) 中の中間体3 (55.0 g, 0.2 mol) の溶液に加えた。続いて、NaH (60% 懸濁液, 24.0 g, 0.60 mol) を0°で少しづつ加え、該反応混合物を室温に温め、12時間攪拌した。該反応を水 (2 L) で慎重にクエンチし、EtOAc (2 L) を加えた。有機層を分離し、5% KHSO₄ 溶液 (800 mL × 3)、飽和 NaHCO₃ 溶液 (800 mL × 3)、そして食塩水 (800 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。該残渣を、シリカゲル上のフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して (EtOAc / ヘキサン = 1 : 10)、tert-ブチル (R) - エチル (1-(メトキシ(メチル)アミノ)-4-メチル-1-オキソペンタン-3-イル) カルバメート (35.1 g, 収率 58%) を油状物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 3.70 (s, 3H), 3.65 (m, 1H), 3.10~3.30 (m, 5H), 2.50~2.95 (m, 2H), 1.90~2.20 (m, 1H), 1.40~1.55 (m, 9H), 1.10 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.90 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

20

【0095】

中間体5

【化20】



30

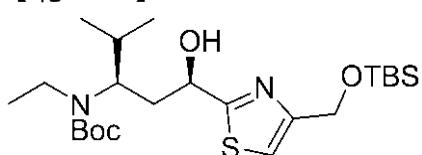
n-BuLi (106 mL, ヘキサン中で 2.5 N, 0.17 mol) の溶液を、N₂ 下にて -78°で攪拌しながら 1 時間にわたって、乾燥 THF (500 mL) 中の中間体5 (74 g, 0.24 mol) の溶液に滴下して加えた。該懸濁液をさらに 30 分間攪拌し、続いて、乾燥 THF (300 mL) 中の中間体4 (51.0 g, 0.17 mol) の溶液を -78°で 30 分かけて滴下して加えた。反応混合液を -78°で 1 時間攪拌し、続いて室温に温め、12時間攪拌した。該反応物を 20% 塩化アンモニウム水溶液 (1 L) でクエンチし、該有機溶媒を減圧下で留去した。生じた混合物を EtOAc で抽出した (800 mL × 3)。有機層を合わせて、5% KHSO₄ 溶液 (800 mL × 3)、飽和 NaHCO₃ 溶液 (800 mL × 3)、そして食塩水 (800 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をシリカゲル上のフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して (EtOAc / ヘキサン = 1 : 10)、tert-ブチル (R) - (1-(4-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)チアゾール-2-イル) - 4-メチル-1-オキソペンタン-3-イル) (エチル) カルバメート (58.1 g, 収率 73%) を油状物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 7.53 (m, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.04 (m, 1H), 3.35 (m, 2H), 3.15 (m, 2H), 2.00 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 0.80~1.20 (m, 21H), 0.14 (s, 6H).

40

【0096】

中間体6

【化21】



LiBH₄ (4.8 g, 0.22 mol)を、室温で攪拌しながら0.5時間かけて、メタノール(500 mL)中の中間体5 (47.1 g, 0.1 mol)の溶液に少しづつ加えた。該懸濁液を2時間攪拌し、該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をEtOAc (800 mL)中に溶解させ、得られた溶液を飽和NaHCO₃溶液(500 mL × 3)および食塩水(500 mL × 1)で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質を、フラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(EtOAc/ヘキサン = 1 : 6)、tert-ブチル((1R, 3R)-1-(4-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)チアゾール-2-イル)-1-ヒドロキシ-4-メチルペンタン-3-イル)(エチル)カルバメート(13.5 g, 収率28%)およびその異性体(化合物6')(21.0 g, 収率45%)を得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm -0.06 - 0.05 (m, 6 H) 0.76 - 0.89 (m, 15 H) 1.12 (t, J = 6.97 Hz, 3 H) 1.39 (s, 9 H) 1.55 - 2.05 (m, 3 H) 2.86 - 3.21 (m, 2 H) 3.76 - 3.96 (m, 1 H) 4.73 (d, J = 1.13 Hz, 4 H) 7.01 (s, 1 H).

10

20

30

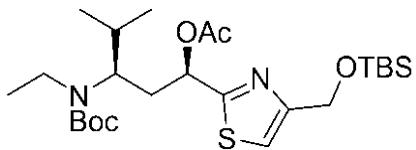
40

50

【0097】

中間体7

【化22】

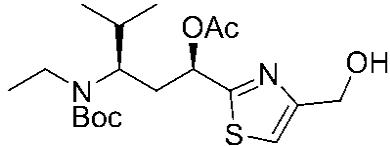


塩化アセチル(45.2 g, 0.58 mol)を、0で攪拌しながら10分かけて、ピリジン(500 mL)中の中間体6 (34.0 g, 72 mmol)の溶液に滴下して加えた。反応混合液を室温に温め、12時間攪拌した。該反応を水(200 mL)でクエンチし、該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をCH₂Cl₂(800 mL)で処理し、生じた混合物を5%KHSO₄溶液(800 mL × 3)、飽和NaHCO₃溶液(800 mL × 3)および食塩水(800 mL × 1)で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質を、シリカゲル上のフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(EtOAc/ヘキサン = 1 : 10)、(1R, 3R)-3-((tert-ブキシカルボニル)オキシ)メチル)チアゾール-2-イル)-4-メチルペンチルアセテート(25.7 g, 収率69%)を油状物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 7.15 (m, 1H), 5.95 (m, 1H), 4.84 (s, 2H), 4.04 (m, 1H), 3.10 (m, 2H), 2.35 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.00 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.25 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.80~1.10 (m, 15H), 0.08 (s, 6H).

【0098】

中間体8

【化23】



THF(200 mL)中のフッ化テトラブチルアンモニウム(65.3 g, 0.25 mol)の溶液を、0で攪拌しながらTHF(300 mL)中の中間体7 (25.7 g, 50 mmol)の溶液に滴下して加えた。反応混合液を室温にし、4時間攪拌した。水(800 mL)を加え、該有機溶媒を減圧下で留去した。該残渣をCH₂Cl₂(800 mL)

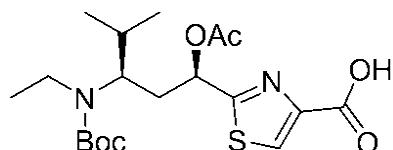
L)で処理し、生じた混合物を5%KHSO₄溶液(800mL×3)、飽和NaHCO₃溶液(800mL×3)および食塩水(800mL×1)で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をシリカゲル上のフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(EtOAc/ヘキサン=1:4)、(1R,3R)-3-((tert-ブトキシカルボニル)エチル)アミノ)-1-(4-(ヒドロキシメチル)チアゾール-2-イル)-4-メチルペンチルアセテート(19.5g, 収率98%)を油状物として得た。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 8.26(m, 1H), 5.95(m, 1H), 4.83(m, 2H), 4.10(m, 1H), 3.17(m, 2H), 2.40(m, 1H), 2.20(s, 3H), 2.18(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.56(s, 9H), 1.10~1.30(m, 3H), 0.80~1.05(m, 6H).

【0099】

10

中間体9

【化24】



デス・マーチン試薬(32.7g, 75mmol)をジクロロメタン(300mL)の中の中間体8(20.0g, 50mmol)の溶液に加え、該反応混合物を室温で12時間攪拌した。該混合物を水酸化ナトリウム溶液(1N, 300mL×3)、チオ硫酸ナトリウム溶液(1N, 300mL×3)、飽和NaHCO₃(300mL×3)溶液、続いて食塩水(300mL×1)でそれぞれ洗浄した。有機層を乾燥させ(Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮して、対応するアルデヒド化合物を得た。この粗アルデヒド化合物をtert-ブチルアルコール(500mL)中に溶解させ、水(300mL)中の亜塩素酸ナトリウム(80%, 36.4g, 320mmol)およびリン酸二水素ナトリウム一水和物(105g, 0.77mol)の溶液を、室温で1時間かけて滴下して加えた。反応混合液を3時間攪拌し、塩酸溶液(0.1N, 500mL)で希釈した。生じた混合物をEtOAcで抽出(500mL×1)、該有機層を合わせて、5%KHSO₄溶液(500mL×3)および食塩水(500mL×1)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、乾燥するまで濃縮した。該残渣を、シリカゲル上のフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して(CH₂Cl₂/MeOH=100:5)、2-((1R,3R)-1-アセトキシ-3-((tert-ブトキシカルボニル)エチル)アミノ)-4-メチルペンチルチアゾール-4-カルボン酸(15.4g, 収率58%)を得た。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 9.90(br s, 1H), 8.27(s, 1H), 5.96(m, 1H), 4.07(m, 1H), 3.15(m, 1H), 2.35(m, 1H), 2.20(s, 3H), 2.18(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.45(s, 9H), 1.20(t, J=7.2Hz, 3H), 0.98(d, J=6.6Hz, 3H), 0.88(d, J=6.6Hz, 3H).

20

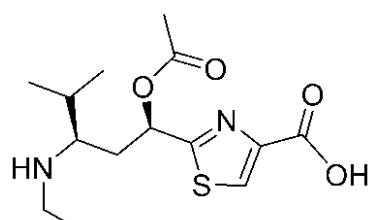
【0100】

30

中間体10

30

【化25】



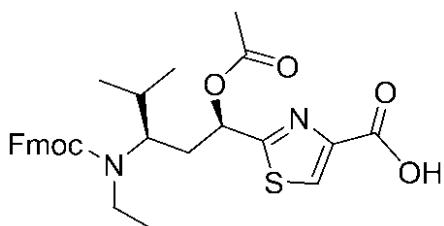
40

DCM(60mL)の中の中間体9(6.5g, 15.68mmol)の溶液に、0でTFA(30mL)を滴下して加えた。該混合物を0で1時間攪拌した。該溶媒を減圧中で蒸発させて、粗2-((1R,3R)-1-アセトキシ-3-(エチルアミノ)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボン酸を得た。粗生成物をさらに精製することなく次の工程に使用した(7.2グラム)。LC-MS: 315(M+1),

50

【0101】

中間体 1 1
【化 2 6】

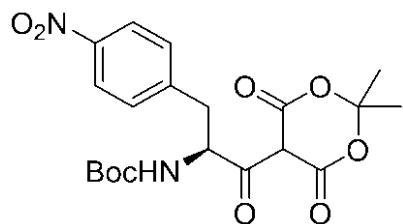


アセトン (300 mL) および水 (150 mL) の混合液中の中間体 10 (5 g, 11.67 mmol) および炭酸水素ナトリウム (9.80 g, 116.71 mmol) の溶液に、(9H-フルオレン-9-イル)メチル (2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル)カルボネート (3.94 g, 11.67 mmol) を加えた。該混合物を室温で終夜攪拌した。LC / MSにより、該反応が完了したことが示された。該混合物を塩酸で (pH 2) まで酸性にし、アセトンを減圧中で蒸発させた。該生成物を DCM で抽出した (3 × 300 mL)。有機抽出物を合わせて、0.1% HCl 溶液 (200 mL)、食塩水 (200 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧中で蒸発させた。該残渣をフラッシュクロマトグラフィーで精製して (シリカゲル, MeOH / DCM, MeOH 0% ~ 5%)、2-(((1R, 3R)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(エチル)アミノ)-1-アセトキシ-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボン酸 (3.53 g, 54.6%) を白色の固体として得た。LC-MS : 537.2 (M+1); ¹H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) ppm 0.84 (d, J=6.78 Hz, 3 H), 0.92 - 1.05 (m, 5 H), 1.14 (d, J=3.01 Hz, 1 H), 1.73 (dt, J=10.23, 6.43 Hz, 1 H), 1.92 - 2.05 (m, 1 H), 2.12 - 2.27 (m, 4 H), 2.28 - 2.44 (m, 1 H), 2.90 - 3.33 (m, 2 H), 3.98 (t, J=9.29 Hz, 1 H), 4.12 - 4.32 (m, 1 H), 4.47 - 4.82 (m, 2 H), 5.95 (dd, J=10.92, 2.89 Hz, 1 H), 7.29 - 7.45 (m, 4 H), 7.55 - 7.69 (m, 2 H), 7.72 - 7.81 (m, 2 H), 8.22 - 8.29 (m, 1 H).

【0102】

中間体 1 2

【化 2 7】

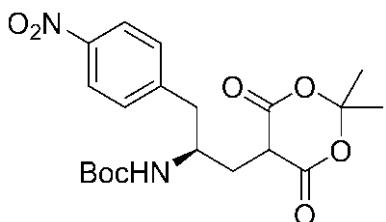


DMAP (106 g, 0.86 mol) を、ジクロロメタン (1.5 L) 中の Boc-L-4-ニトロ-フェニルアラニン (1800 g, 0.58 mol) およびメルドラム酸 (92 g, 0.64 mol) の溶液に加えた。生じた溶液を N₂ 霧囲気下で -5 に冷却し、ジクロロメタン (1 L) 中の DCC (240 g, 1.16 mol) を 1 時間かけて加えた。該混合物を 0 ~ 5 で終夜攪拌した。続いて、沈殿した N, N'-ジシクロヘキシルウレアを濾過により除去し、該濾液を 5% HCl 溶液 (1 L × 3)、そして食塩水 (1 L × 1) で洗浄し、MgSO₄ で乾燥させた。MgSO₄ を濾過により除去し、有機層を乾燥するまで濃縮した。該残渣を EtOAc / ヘキサン (1:1, 500 mL) でトリチュレートし、乾燥させて、tert-ブチル (S)-(1-(2, 2-ジメチル-4, 6-ジオキソ-1, 3-ジオキサン-5-イル)-3-(4-ニトロフェニル)-1-オキソプロパン-2-イル)カルバメート (130.0 g, 収率 51%) を黄色の固体として得た。

【0103】

中間体 1 3

【化28】



AcOH (400 mL) を、N₂下にて -5 度ジクロロメタン (1.5 L) 中の中間体 12 (130.0 g, 0.298 mol) の溶液に加えた。固体物 NaBH₄ (22.7 g, 0.597 mol) を2時間かけて少しづつ加えた(ガス発生と発熱)。-5 度さらに3時間攪拌し、TLCにより、該反応が完了したことが示された。該混合物を食塩水 (1 L) でクエンチした。有機層を分離し、水 (1 L × 2)、飽和NaHCO₃水溶液 (1 L × 3)、続いて食塩水 (1 L × 3) で順次洗浄し、MgSO₄で乾燥させた。濾液を乾燥するまで濃縮し、tert-ブチル (R) - (1 - (2,2 - ジメチル - 4,6 - ジオキソ - 1,3 - ジオキサン - 5 - イル) - 3 - (4 - ニトロフェニル) プロパン - 2 - イル) カルバメート (70.3 g, 収率 55%) を黄色の固体物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 8.18 (d, J=8.7 Hz, 2H), 7.41 (d, J=8.7 Hz, 2H), 4.58 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 2.97 (d, J=6.6 Hz, 2H), 2.27 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 1.35 (s, 9H).

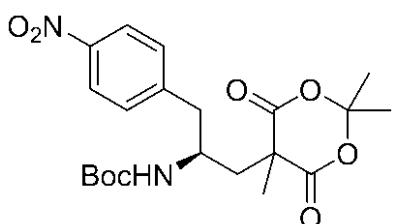
10

20

【0104】

中間体 14

【化29】



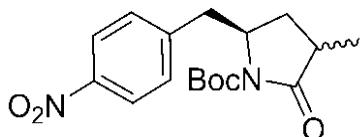
K₂CO₃ (35 g, 0.25 mol) および MeI (36 g, 0.25 mol) を、アセトン (400 mL) および DMF (400 mL) 中の中間体 13 (70.3 g, 0.167 mol) の溶液に加えた。該混合物を室温で終夜攪拌した。TLCにより出発物質が使い果たされたことが示された。水 (2 L) を加え、該混合物をさらに1時間攪拌した。沈殿した固体物を濾過により回収し、水で洗浄し、乾燥させて、tert-ブチル (S) - (1 - (4 - ニトロフェニル) - 3 - (2,2,5 - トリメチル - 4,6 - ジオキソ - 1,3 - ジオキサン - 5 - イル) プロパン - 2 - イル) カルバメート (34.5 g, 収率 47%) を淡黄色の固体物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 8.17 (d, J=8.7 Hz, 2H), 7.34 (d, J=8.7 Hz, 2H), 4.22 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 2.85 (m, 2H), 2.22 (m, 2H), 1.73 (s, 3H), 1.73 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.31 (s, 9H).

30

【0105】

中間体 15

【化30】



中間体 14 (34.5 g, 79.1 mmol) をトルエン (500 mL) 中に溶解させた。該溶液を40時間加熱還流させた。TLCにより、該反応の完了が示された。溶媒を留去して、tert-ブチル (5 R) - 3 - メチル - 5 - (4 - ニトロベンジル) - 2 - オキソピロリジン - 1 - カルボキシレート (30 g) を得て、さらに精製することなく次の工程に使用した。

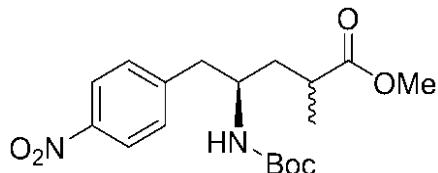
40

50

【0106】

中間体16

【化31】



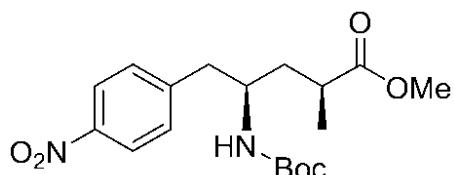
K_2CO_3 (22 g, 0.16 mol)を、MeOH (300 mL) 中の中間体15 (30 g, 79 mmol) の溶液に加えた。該混合物を室温で3時間攪拌した。TLCにより、完全な変換が示された。該溶媒を留去し、残渣をジクロロメタン (500 mL) 中に溶解させ、食塩水で洗浄し (500 mL × 3)、 $MgSO_4$ で乾燥させた。 $MgSO_4$ を濾過により留去し、有機層を乾燥するまで濃縮した。該残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン = 1 : 10) でさらに精製し、メチル (4R)-4-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-2-メチル-5-(4-ニトロフェニル)ペンタノエート (23.5 g, 2ステップで81%の収率) を1:1のジアステレオマー混合物として得た。 1H NMR (300 MHz, CDCl₃): 8.13 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 4.43 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 2.85 (m, 2H), 2.65 (m, 1H), 1.85 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.30 (s, 9H), 1.15 (t, $J=6.6$ Hz, 3H).

10

【0107】

中間体17

【化32】



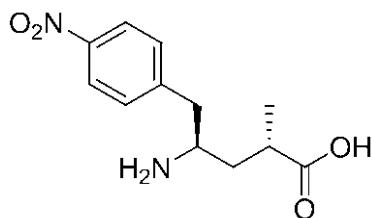
50 g の化合物 (16) を、Chiralpak ID 21 × 250 mm, 5 μ カラム (移動相A 90% 二酸化炭素および移動相B イソプロパノール 10%を60 mL / 分の流速で使用) 上でSFC (超臨界流体クロマトグラフィー) を用いるキラルクロマトグラフィーにかけた。40 で分離を行い、270 nmで検出した。基準の分離を行い、2つのフラクションを単離した。ピークBは、所望のメチル (2S, 4R)-4-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-2-メチル-5-(4-ニトロフェニル)ペンタノエートであり、固体物 27.4 g (55%) として得た。>99:1のジアステレオマー過剰量 (Chiralpak IAカラム 4.6 × 250 mm, 5 μ 、ヘキサン中で 10%の1:1のメタノール:イソプロパノール (0.1% ジエチルアミン改質剤を含有))。LC/MS (2分, 酸_CV10.olp法 367 ($M+1$), 1.16分). 1H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) δ ppm 8.16 (d, $J=8.53$ Hz, 2H) 7.46 (d, $J=8.53$ Hz, 2H) 3.79 - 3.93 (m, 1H) 3.68 (s, 3H) 2.90 - 2.99 (m, 1H) 2.71 - 2.81 (m, 1H) 2.47 - 2.59 (m, 1H) 1.81 - 1.95 (m, 1H) 1.55 - 1.66 (m, 1H) 1.32 (s, 9H) 1.21 - 1.25 (m, 2H) 1.16 (d, $J=7.03$ Hz, 3H)

30

【0108】

中間体18

【化33】



40

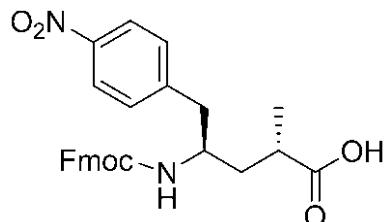
50

6 N HCl 水溶液中の中間体 17 の溶液 (8.0 mL, 263.30 mmol) をマイクロ波にて 130 °C で 30 分間加熱した。反応混合液を凍結乾燥させて、(2S, 4R)-4-アミノ-2-メチル-5-(4-ニトロフェニル)ペンタン酸を固体物として得た。該生成物をさらに精製することなく次の工程に使用した (3.2 g)。LC-MS : 253 (M+1); ¹H NMR (400 MHz, D₂O) ppm 1.12 (d, J=7.28 Hz, 3 H), 1.62 - 1.76 (m, 1 H), 1.90 - 2.02 (m, 1 H), 2.56 - 2.68 (m, 1 H), 3.02 - 3.11 (m, 2 H), 3.58 - 3.69 (m, 1 H), 7.47 (d, J=8.53 Hz, 2 H), 8.18 (d, J=8.78 Hz, 2 H).

【0109】

中間体 19

【化34】

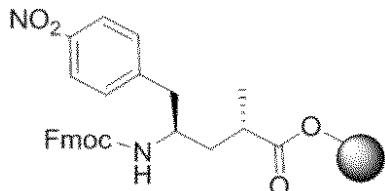


アセトン (30 mL) および水 (15 mL) の混合液中の中間体 18 (0.43 g, 1.49 mmol) および NaHCO₃ (1.251 g, 14.89 mmol) の溶液に、(9H-フルオレン-9-イル)メチル 2,5-ジオキソピロリジン-1-イル カルボネート (0.502 g, 1.49 mmol) を加えた。該混合物を室温で終夜攪拌した。LC/MS により、該反応の完了が示された。該混合物を塩酸で pH 2 まで酸性にし、アセトンを減圧中で蒸発させた。該生成物を DCM で抽出した (3 × 60 mL)。有機抽出物を合わせて、1N HCl 溶液 (40 mL)、食塩水 (40 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧中で蒸発させた。該残渣をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィーにより精製して (EtOAc DCM 中で 0% ~ 100%)、(2S, 4R)-4-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-2-メチル-5-(4-ニトロフェニル)ペンタン酸 (0.630 g, 89%) を白色の固体物として得た。LC-MS : 475.5 (M+H); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD-d) ppm 0.81 - 1.06 (m, 1 H), 1.08 - 1.28 (m, 2 H), 1.33 - 1.75 (m, 1 H), 1.77 - 2.11 (m, 1 H), 2.36 - 2.69 (m, 2 H), 2.76 - 3.18 (m, 1 H), 3.43 - 4.08 (m, 1 H), 4.09 - 4.19 (m, 1 H), 4.21 - 4.53 (m, 2 H), 4.54 - 4.80 (m, 1 H), 7.18 - 7.58 (m, 8 H), 7.66 - 7.82 (m, 2 H), 7.95 - 8.17 (m, 2 H), 8.67 (br. s., 1 H).

【0110】

中間体 20

【化35】



DIEA (0.419 mL, 2.40 mmol) を、DCM (4.5 mL) 中の中間体 19 (0.380 g, 0.80 mmol) の溶液に加え、該混合物を室温で 5 分間攪拌し、続いて 2-クロロトリチルクロリド樹脂 (0.4 mmol/g の荷重, 0.5 g, 0.80 mmol) を該混合物に加えた。該混合物を室温で終夜攪拌し、得られた樹脂を DMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、次いで DCM (3 × 6 mL) で洗浄し、続いて DIEA (0.419 mL, 2.40 mmol) および MeOH/DCM (1:1, 5 mL) で室温にて 30 分間処理した。得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、そして DCM (3 × 6 mL) で洗浄し、高真空中で終夜乾燥させた。少量の化合物を樹脂から切り出し、LC/MS により解析した。生じた樹脂を次

10

20

30

40

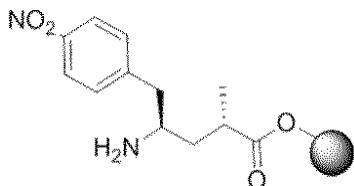
50

の工程の反応に使用した。LC/MS: 475 (M + 1).

【0111】

中間体 2 1

【化36】

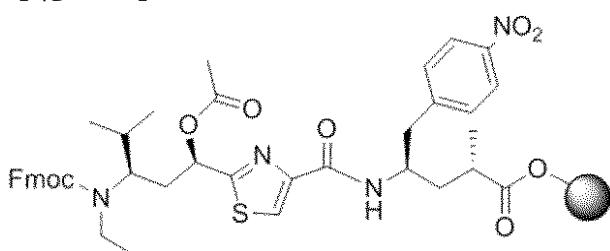


樹脂中間体 2 0 (0.5 g, 0.80 mmol) に、D M F (5 mL) 中の 20 % ピペリジンを加えた。該混合物を室温で 6 分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 6 mL)、M e O H (3 × 6 mL)、D C M (3 × 6 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 253 (M + H). 10

【0112】

中間体 2 2

【化37】

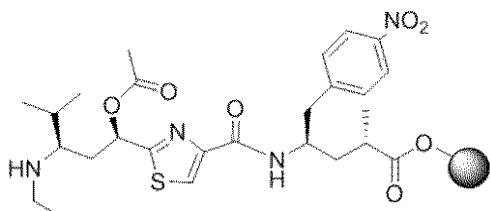


中間体 2 1 の樹脂 (0.5 g, 1.88 mmol) に、室温で D M F (5 mL) 中の中間体 1 1 (1.108 g, 2.07 mmol)、H A T U (1.428 g, 3.76 mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン (0.500 mL, 3.76 mmol)、および D I E A (0.656 mL, 3.76 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で 2 時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 6 mL)、M e O H (3 × 6 mL)、および D C M (3 × 6 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 771 (M + H). 20

【0113】

中間体 2 3

【化38】



中間体 2 2 の樹脂 (0.5 g, 0.80 mmol) に、D M F (5 mL) 中の 20 % ピペリジンを加えた。該混合物を室温で 6 分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 6 mL)、M e O H (3 × 6 mL)、D C M (3 × 6 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 549 (M + 1). 30

【0114】

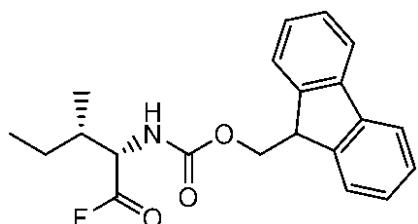
中間体 2 4

20

30

40

【化39】

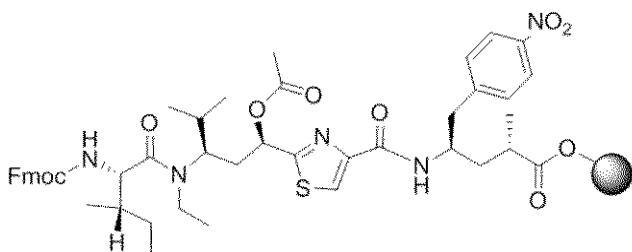


DCM (120 mL) 中の (2S,3S)-2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ-3-メチルpentan酸 (Fmoc-イソロイシン) (7 g, 19.81 mmol) およびピリジン (1.602 mL, 19.81 mmol) の溶液に、カニューレにより10分かけて DCM (20 mL) 中の DAST (3.11 mL, 23.77 mmol) の溶液を加えた。反応混合液を室温で1時間攪拌し、DCM (80 mL) で希釈し、氷冷水で洗浄し (2 × 200 mL)、該有機層を MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧中で蒸発させて、(9H-フルオレン-9-イル)メチル (2S,3S)-1-フルオロ-3-メチル-1-オキソ pentan-2-イルカルバメート (6.65 g, 94%) を白色の固体として得た。エステル化試験を行って、無水 MeOH (0.3 mL) および DIEA (0.030 mL) 中に Fmoc-Ile-F (5 mg) を溶解させ、室温で15分間反応させることにより定量的な酸フッ化物の形成を確認した。続いて、該混合物を減圧中で蒸発させ、LC/MS により解析し、1%以下の Fmoc-Ile-OH の存在が示された。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.83 - 1.12 (m, 6 H) 1.18 - 1.37 (m, 1 H) 1.42 - 1.59 (m, 1 H) 2.01 (br. s., 1 H) 4.26 (t, J=6.78 Hz, 1 H) 4.44 - 4.63 (m, 3 H) 5.20 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 7.31 - 7.39 (m, 2 H) 7.40 - 7.47 (m, 2 H) 7.61 (d, J=7.28 Hz, 2 H) 7.80 (d, J=7.53 Hz, 2 H)

【0115】

中間体25

【化40】

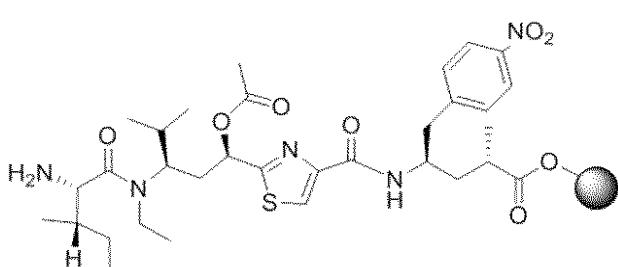


中間体23の樹脂 (0.5 g, 0.80 mmol) に、室温で DCM (5 mL) 中の中間体24 (0.569 g, 1.60 mmol)、DMAP (4.89 mg, 0.04 mmol)、およびDIEA (0.419 mL, 2.40 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で終夜攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、DCM (3 × 6 mL) で洗浄し、高真空中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MS により該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 884 (M + H).

【0116】

中間体26

【化41】



10

20

30

40

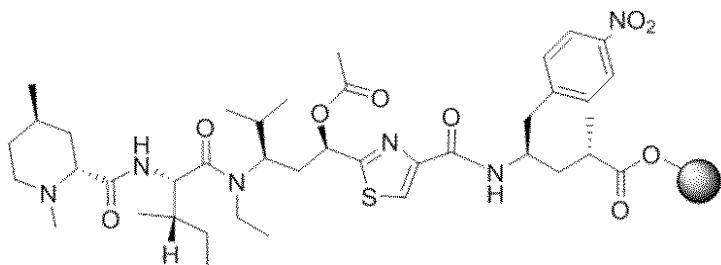
50

中間体 25 の樹脂（0.5 g, 0.80 mmol）に、DMF（5 mL）中の20%ピペリジンを加えた。該混合物を室温で6分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF（3×6 mL）、MeOH（3×6 mL）、DCM（3×6 mL）で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 662 (M + 1).

【0117】

中間体 27

【化42】

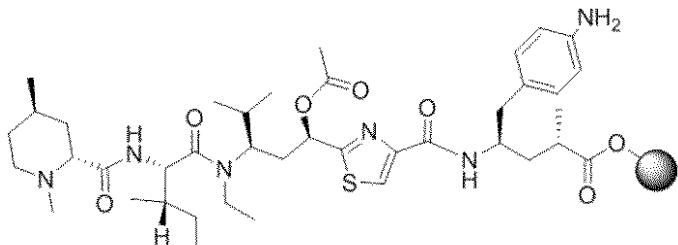


樹脂中間体 26（0.5 g, 0.80 mmol）に、DMF（5 mL）中の中間体 1（0.252 g, 1.60 mmol）、HATU（0.608 g, 1.60 mmol）、2,4,6-トリメチルピリジン（0.320 mL, 2.40 mmol）、および DIEA（0.419 mL, 2.40 mmol）の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF（3×6 mL）、MeOH（3×6 mL）、そして DCM（3×6 mL）で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 801 (M + 1).

【0118】

中間体 28

【化43】



樹脂中間体 27 に、DMF（5 mL）中の塩化スズ（II）二水和物（1.805 g, 8.00 mmol）、および酢酸ナトリウム（0.197 g, 2.40 mmol）の溶液を加えた。該混合物を室温で4時間攪拌した。生じた樹脂を濾過し、DMF（3×6 mL）、MeOH（3×6 mL）、および DCM（3×6 mL）で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 771 (M + H).

【0119】

化合物 1

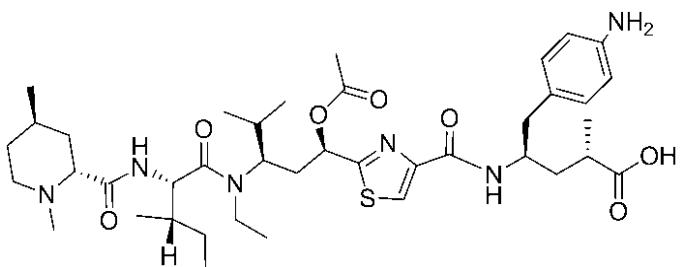
10

20

30

40

【化44】

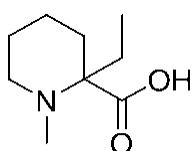


樹脂中間体28(0.1g, 0.16mmol)に、室温でDCM(1mL)、水(0.200mL)およびTFA(1mL)を加えた。該混合物を室温で20分間攪拌し、続いて濾過し、該樹脂を水/TFAで洗浄し(1:1, 3×2mL)、該濾液を減圧中で蒸発させた。該残渣を逆相HPLCにより精製して(ACN/H₂O 0.1% TFA(14分でACN 5%~50%))。純粋なフラクションを凍結乾燥させて、(2S, 4R)-4-(2-((1R, 3R)-1-アセトキシ-3-((2S, 3S)-2-((2R, 4R)-1, 4-ジメチルピペリジン-2-カルボキサミド)-N-エチル-3-メチルペンタンアミド)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-5-(4-アミノフェニル)-2-メチルペンタン酸(0.050g, 35.3%)を固体物として得た。LC/MS: 771.8 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d4) δ ppm 7.8 (s, 1H), 7.30 (d, J=8.53 Hz, 2H), 7.08 - 7.18 (m, 2H), 5.66 (d, J=13.05 Hz, 1H), 4.57 (d, J=8.53 Hz, 1H), 4.29 (ddd, J=9.98, 6.71, 2.89 Hz, 1H), 3.90 (br. s., 1H), 3.73 (d, J=6.27 Hz, 1H), 3.24 - 3.33 (m, 1H), 2.84 (d, J=7.28 Hz, 2H), 2.68 (br. s., 3H), 2.40 - 2.53 (m, 2H), 2.20 - 2.36 (m, 1H), 2.03 - 2.12 (m, 4H), 1.75 - 2.00 (m, 7H), 1.64 (ddd, J=14.12, 10.23, 4.02 Hz, 2H), 1.42 - 1.57 (m, 2H), 1.30 (t, J=7.15 Hz, 3H), 1.01 - 1.17 (m, 7H), 0.88 - 0.98 (m, 7H), 0.84 (t, J=7.40 Hz, 3H), 0.77 d, J=6.53 Hz, 3H).

【0120】

中間体29

【化45】



MeOH(4.0mL)および水(4.0mL)中の2-エチルピペリジン-2-カルボン酸(320mg, 1.65mmol)の溶液に、パラホルムアルデヒド(372mg, 4.13mmol)およびPd/C(10%)(88mg, 0.83mmol)を加えた。1当量の炭酸ナトリウム(175mg, 1.65mmol)を加え、該反応混合物を水素雰囲気下にて室温で終夜攪拌した。LC/MSにより出発物質の完全な変換が示された。反応混合液を珪藻土に通して濾過した。該濾過ケーキをMeOHで洗浄した(2×30mL)。濾液を減圧中で濃縮して粗生成物を得た。該粗固体をメタノール(50mL)中に懸濁し、得られた懸濁液を濾過し、該濾液を濃縮して、2-エチル-1-メチルピペリジン-2-カルボン酸(202mg, 71.4%)を固体物として得た。LC/MS: 172 (M + 1); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.58 (td, J=12.80, 3.51 Hz, 1H), 3.09 - 3.20 (m, 1H), 2.81 (s, 3H), 2.17 - 2.29 (m, 1H), 1.54 - 1.84 (m, 7H), 0.98 (t, J=7.40 Hz, 3H).

【0121】

中間体30

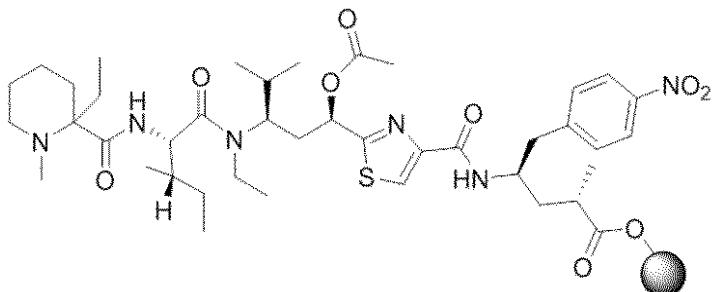
10

20

30

40

【化46】

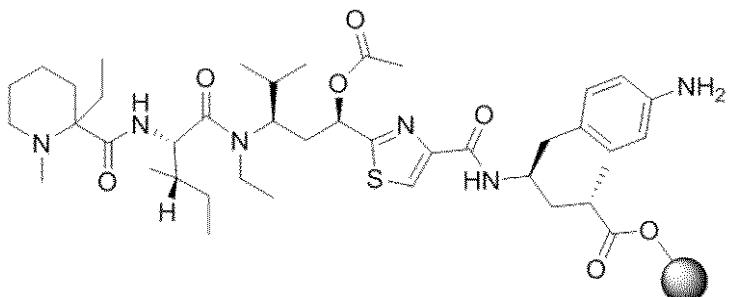


樹脂中間体26(0.2g, 0.32mmol)に、DMF(5mL)中の中間体29(0.082g, 0.48mmol)、HATU(0.243g, 0.64mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン(0.127mL, 0.96mmol)およびDIPEA(0.168mL, 0.96mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×4mL)、MeOH(3×4mL)、およびDCM(3×4mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 815(M+H). 10

【0122】

中間体31

【化47】

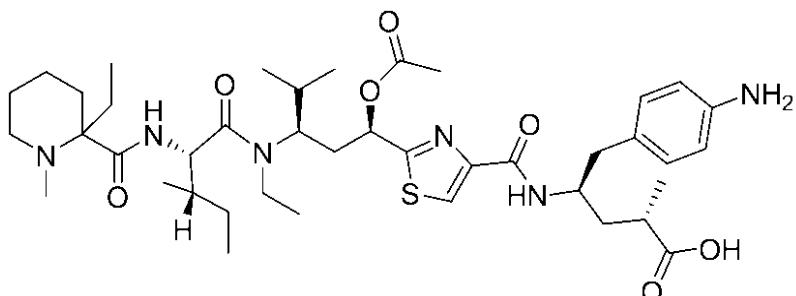


樹脂中間体30に、DMF(5mL)中の塩化スズ(II)二水和物(0.544g, 2.41mmol)および酢酸ナトリウム(0.059g, 0.72mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で4時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×6mL)、MeOH(3×6mL)、そしてDCM(3×6mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 785(M+H). 30

【0123】

化合物2

【化48】



樹脂中間体31に、室温でDCM(2mL)およびTFA(0.493mL, 6.40mmol)を加えた。該混合物を室温で20分間攪拌した。該樹脂をDCM/TFA(1:1, 3×2mL)で洗浄し、該濾液を減圧中で蒸発させた。該残渣を逆相HPLCにより精製した(ACN/H₂O 0.1% ギ酸, ACN 10%~50%, 14分)。該純粋なフラクションを凍結乾燥させて、(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1

10

20

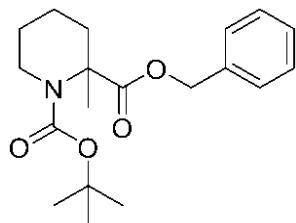
30

40

50

- アセトキシ - 3 - ((2S, 3S) - N - エチル - 2 - (2 - エチル - 1 - メチルピペリジン - 2 - カルボキサミド) - 3 - メチルペンタンアミド) - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - カルボキサミド) - 5 - (4 - アミノフェニル) - 2 - メチルペンタン酸 (0.057 g, 20.31%) を白色の固体として得た。LC-MS : 785 (M + H).; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.98 (s, 1 H), 6.87 (m, J=8.28 Hz, 2 H), 6.54 (m, J=8.03 Hz, 2 H), 5.63 - 5.73 (m, 1 H), 4.60 - 4.71 (m, 3H), 4.17 (br. s., 2 H), 3.76 (dd, J=14.93, 7.15 Hz, 1 H), 2.69 (d, J=6.53 Hz, 2 H), 2.42 (br. s., 1 H), 2.36 (s, 3 H), 2.29 (br. s., 2 H), 2.03 - 2.12 (m, 3 H), 1.88 (d, J=9.79 Hz, 3 H), 1.79 (br. s., 2 H), 1.49 - 1.64 (m, 5 H), 1.43 (br. s., 2 H), 1.23-1.35 (m, 4 H), 1.11 (d, J=7.78 Hz, 1 H), 1.06 (d, J=7.03 Hz, 4 H), 0.93 (d, J=15.81 Hz, 3 H), 0.94 (d, J=15.56 Hz, 3 H), 0.70 - 0.87 (m, 9 H). 10

【0124】

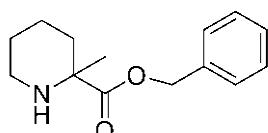
中間体32
【化49】

20

ACN (20 mL) 中の 1 - (tert - プロキシカルボニル) - 2 - メチルピペリジン - 2 - カルボン酸 (1 g, 4.11 mmol) および炭酸カリウム (0.852 g, 6.17 mmol) の懸濁液に、臭化ベンジル (0.733 mL, 6.17 mmol) を滴下して加えた。生じた反応混合物を室温で終夜攪拌した。LC / MSにより、所望生成物の生成が示された。反応混合物を水 (2 mL) で希釈し、酢酸エチルで抽出した (2 × 30 mL)。抽出物を合わせて、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィーで精製して (シリカゲル, ヘキサン / 酢酸エチル, 80 / 20 溶離液)、2 - ベンジル 1 - (tert - ブチル) 2 - メチルピペリジン - 1 , 2 - ジカルボキシレート (1.27 g, 92%) を油状物として得た。LC-MS: 356 (M+ Na); ¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂) ppm 7.33 - 7.45 (m, 5 H), 5.13 - 5.27 (m, 2 H), 3.91 - 4.09 (m, 1 H), 2.83 - 3.09 (m, 1 H), 2.10 - 2.32 (m, 1 H), 1.56 - 1.72 (m, 1 H), 1.30 - 1.51 (m, 12 H), 1.09 (qd, J=12.42, 4.64 Hz, 1 H), 0.90 - 0.98 (m, 3 H). 30

30

【0125】

中間体33
【化50】

40

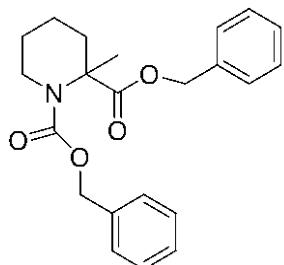
DCM (10 mL) 中の中間体32 (1.2 g, 3.60 mmol) の溶液に、TFA (4.16 mL, 53.99 mmol) を滴下して加えた。生じた反応混合物を室温で 2 時間攪拌した。LC / MSにより Boc の完全な脱保護が示された。溶媒を減圧下で留去した。粗製物質を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で塩基性にし、該水層を酢酸エチルで抽出した (2 × 50 mL)。抽出物を合わせて、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次いで濃縮して、ベンジル 2 - メチルピペリジン - 2 - カルボキシレート (810 mg) を油状物として得た。該粗生成物を精製することなく次の工程に使用した。LC/MS: 234 (M + 1). 40

【0126】

中間体34

50

【化 5 1】

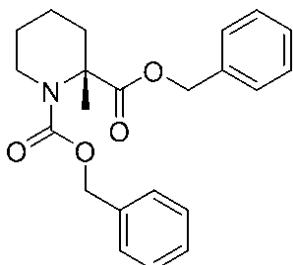


D C M (2 5 m L) 中の中間体 3 3 (1 . 4 5 g , 6 . 2 2 m m o l) および D I E A (2 . 3 8 8 m L , 1 3 . 6 7 m m o l) の溶液に、 0 度でクロロギ酸ベンジル (0 . 8 7 5 m L , 6 . 2 2 m m o l) を滴下して加えた。生じた溶液を室温で 2 時間攪拌した。反応混合液を 3 0 m L の D C M で希釈し、 4 m L の飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、 5 分間攪拌した。有機層を分離し、水層を D C M で抽出した (2 × 3 0 m L) 。有機抽出物を合わせて、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィーで精製して (シリカゲル, ヘキサン / �酢酸エチル, 9 0 / 1 0) 、ジベンジル 2 - メチルピペリジン - 1 , 2 - ジカルボキシレート (1 . 3 2 g , 5 8 %) を油状物として得た。LC-MS: 268 (M + 1); ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) ppm 7 .21 - 7.42 (m, 10 H), 5.04 - 5.18 (m, 2 H), 5.00 (br. s., 2 H), 4.91 (br. s., 1 H), 3.88 (d, J=12.80 Hz, 1 H), 3.17 (t, J=9.54 Hz, 1 H), 1.83 - 1.97 (m, 1 H), 1 .55 - 1.78 (m, 4 H), 1.51 (s, 3 H).

[0 1 2 7]

中間体 3 5

【化 5 2】

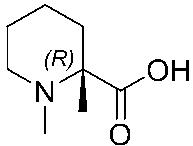


中間体 3-4 を、2種類のエナンチオマーの SFC キラルカラム分割 (Chiralpak AD, 二酸化炭素 / メタノール 90% - 10%) にかけて、所望生成物ジベンジル (R)-2-メチルピペリジン-1,2-ジカルボキシレートを単離した, LC-MS: 368 (M + 1); ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.19 - 7.44 (m, 10 H), 5.04 - 5.15 (m, 2 H), 5.00 (br. s., 2 H), 3.88 (d, J = 13.05 Hz, 1 H), 3.17 (t, J = 9.54 Hz, 1 H), 1.84 - 1.97 (m, 1 H), 1.55 - 1.78 (m, 5 H), 1.51 (s, 3 H); % ee > 98 : 旋光度: [α]_D: +2 (メタノール)

【 0 1 2 8 】

中間体 3 6

【化 5 3】



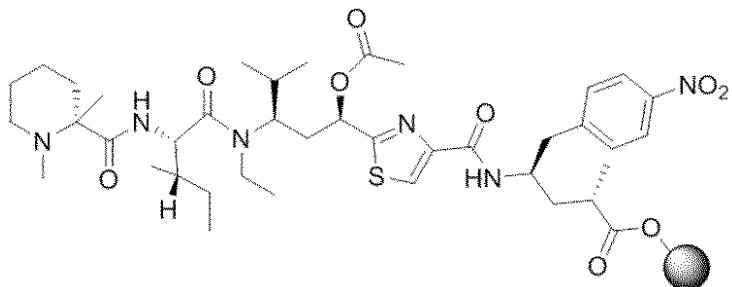
メタノール(10mL)の中の中間体35(600mg, 1.63mmol)の溶液に、パラホルムアルデヒド(49.0mg, 1.63mmol)およびパラジウム炭素(174mg, 1.63mmol)を加えた。反応混合液を水素雰囲気下にて室温で終夜攪拌した。LC/MSにより、出発物質の消費が示された。反応混合液を濾過し、該触媒をMe

O Hで洗浄した(2×30mL)。濾液を減圧中で濃縮して、粗生成物を白色の固体物として得、これをエーテルで洗浄し(3×30mL)、高真空中で終夜乾燥させて、1,2-ジメチルピペリジン-2-カルボン酸(230mg, 90%)を白色の固体物として得た。LC-MS: 158 (M + 1); ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d4) ppm 3.03 - 3.18 (m, 1 H), 2.76 (br. s., 3 H), 2.01 (br. s., 1 H), 1.83 (br. s., 2 H), 1.72 - 1.81 (m, 1 H), 1.62 - 1.71 (m, 2 H), 1.48 (s, 3 H).; 旋光度: _D +24 (メタノール).

【0129】

中間体37

【化54】

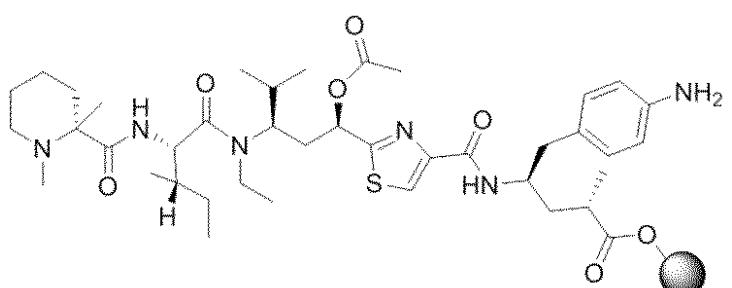


中間体樹脂26(0.5g, 0.80mmol)に、D M F (5mL)中の中間体36(0.189g, 1.20mmol)、H A T U (0.608g, 1.60mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン(0.318mL, 2.40mmol)およびD I E A (0.419mL, 2.40mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3×6mL)、M e O H (3×6mL)、およびD C M (3×6mL)で洗浄し、乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M Sにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 801 (M + 1).

【0130】

中間体38

【化55】



樹脂中間体37(0.5g, 0.80mmol)に、D M F (5mL)中の塩化スズ(I I)二水和物(1.384g, 6.13mmol)および酢酸ナトリウム(0.151g, 1.84mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で4時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3×6mL)、M e O H (3×6mL)、およびD C M (3×6mL)で洗浄し、真空中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M Sにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 71 (M + H).

【0131】

化合物3

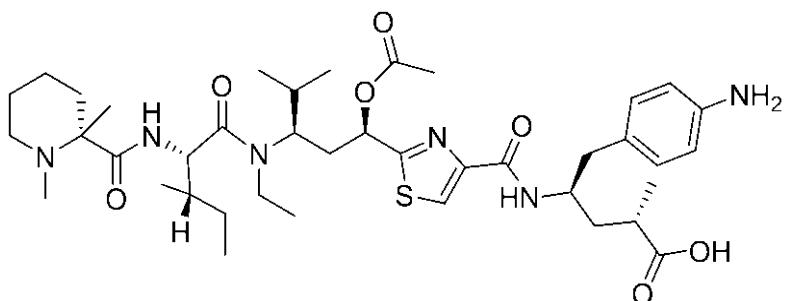
10

20

30

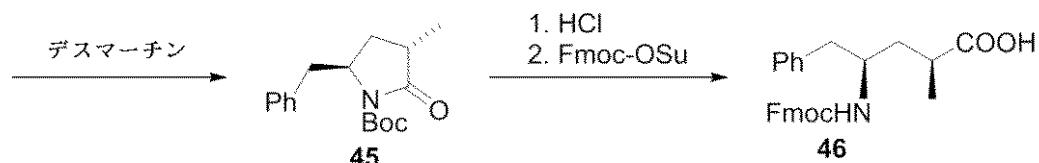
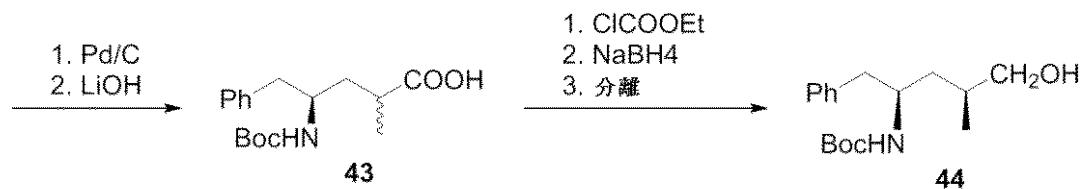
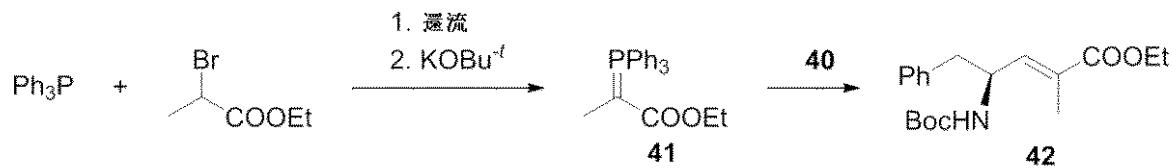
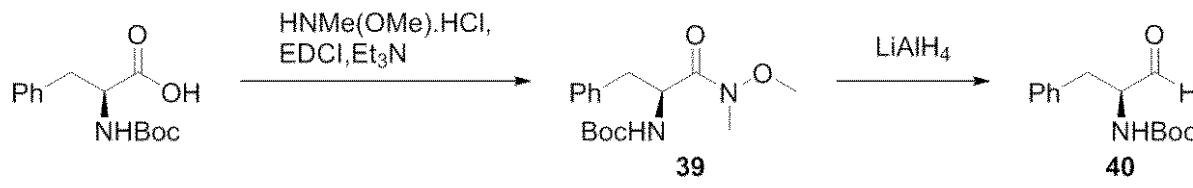
40

【化56】



樹脂中間体38(0.15g, 0.24mmol)に、室温でDCM(5mL)、およびTFA(0.370mL, 4.80mmol)を加えた。該混合物を室温で10分間攪拌し、続いて濾過し、DCMで洗浄した(2×50mL)。該濾液を減圧中で蒸発させた。該残渣を逆相HPLCにより精製した(ACN/H₂O 0.1% ギ酸, 14分でACN 10%~50%)。純粋なフラクションを凍結乾燥させて、((2S,4R)-4-((1R,3R)-1-アセトキシ-3-((2S,3S)-2-((R)-1,2-ジメチルビペリジン-2-カルボキサミド)-N-エチル-3-メチルペンタンアミド)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-5-(4-アミノフェニル)-2-メチルペンタン酸(0.037g, 17.86%)を固体物として得た。LC/MS: 771(M+1); ¹H NMR(400MHz, CD₃OD) ppm 7.97(s, 1H), 6.87(d, J=8.03Hz, 2H), 6.53(d, J=8.03Hz, 2H), 5.67(d, J=12.80Hz, 1H), 4.59(d, J=8.28Hz, 1H), 4.17(br. s., 2H), 3.72(d, J=7.28Hz, 1H), 2.69(d, J=6.27Hz, 3H), 2.42(br. s., 2H), 2.28(br. s., 2H), 2.17(s, 3H), 2.07(s, 3H), 1.74-1.94(m, 3H), 1.45-1.62(m, 4H), 1.36(br. s., 3H), 1.27(t, J=7.03Hz, 3H), 1.10(s, 3H), 1.06(d, J=7.03Hz, 4H), 0.95(d, J=6.53Hz, 3H), 0.90(d, J=6.78Hz, 4H), 0.83(t, J=7.40Hz, 4H), 0.74(d, J=6.27Hz, 3H).

【化57】



【0132】

10

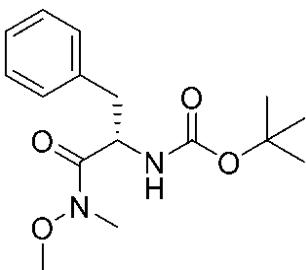
20

30

40

50

中間体 3 9
【化 5 8】



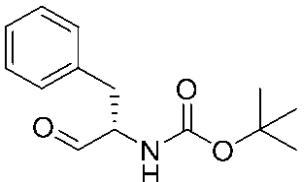
10

トリエチルアミン (40 g, 0.4 mol) を、0で攪拌しながら DCM (500 mL) 中の Boc-L-フェニルアラニン (90 g, 0.34 mol) および N, O-ジメチルヒドロキシリアルアミン塩酸塩 (36.5 g, 0.37 mol) の懸濁液に加えた。該懸濁液を 10 分間攪拌し、EDCI (HCl 塩, 72 g, 0.37 mol) を加えた。該懸濁液を 0 でさらに 3 時間攪拌した。該混合物を飽和 NaHCO₃ 水溶液 (1 L) でクエンチした。該層を分離し、該水層を DCM で再抽出した (500 mL × 3)。有機層を合わせて、水 (1 L × 3)、5% KHSO₄ 水溶液 (1 L × 3)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (1 L × 3)、および食塩水 (1 L × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィーでさらに精製し (シリカゲル, EtOAc / ヘキサン = 1 : 1)、(S)-tert-butyl 1-(メトキシ(メチル)アミノ)-1-オキソ-3-フェニルプロパン-2-イルカルバメート (85.1 g, 収率 81%) を白色の固体として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 7.15~7.26 (m, 5H), 5.25 (bs, 1H), 4.95 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 2.83~3.07 (m, 2H), 1.37 (s, 9H).

20

【0133】

中間体 4 0
【化 5 9】



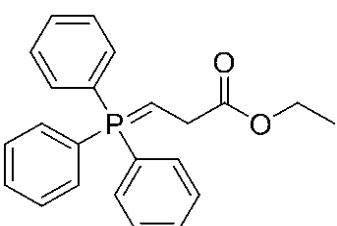
30

乾燥 THF (500 mL) 中の中間体 39 (97.1 g, 0.315 mol) の溶液を、-10で攪拌しながら、乾燥 THF (200 mL) 中の LiAlH₄ (12.0 g, 0.316 mol) の懸濁液に 1 時間かけて滴下して加えた。該懸濁液を 0 でさらに 3 時間攪拌し、続いて -10 で水 (12 mL)、15% NaOH 水溶液 (12 mL)、および水 (12 mL × 3) でクエンチした。0.5 時間攪拌し、該混合物を濾過し、該濾液を乾燥するまで濃縮して、(S)-tert-butyl 1-オキソ-3-フェニルプロパン-2-イルカルバメート (45.2 g, 粗生成物)、これをさらに精製することなく次の工程で使用した。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 9.65 (s, 1H), 7.17~7.33 (m, 5H), 4.80 (m, 1H), 2.80~3.15 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).

40

【0134】

中間体 4 1
【化 6 0】



50

酢酸エチル (400 mL) 中のトリフェニルホスフィン (173.7 g, 0.66 mol) およびエチル 2 - プロモ - プロピオネート (100 g, 0.55 mol) の溶液を、終夜加熱還流した。冷却し、該混合物を濾過した。該ケーキを酢酸エチルで洗浄し、乾燥させて、ホスホニウム塩を得た。ホスホニウム塩を DCM (400 mL) 中に溶解させた。モレキュラ・シーブス (4 A, 50 g) を加え、続いて室温で攪拌しながらトリエチルアミン (111 g, 1.1 mol) を滴下して加えた。該混合物をさらに 1 時間攪拌し、続いて濾過した。濾液を水 (300 mL × 3)、5% KHSO₄ 水溶液 (300 mL × 3)、そして食塩水 (300 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッショクロマトグラフィーでさらに精製し (シリカゲル, EtOAc / ヘキサン = 1 : 10)、エチル (トリフェニルホスホラニリデン) プロピオネート (105 g, 収率 52%) を固体物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 7.34~8.10 (m, 15H), 4.02 (q, J=7.2 Hz, 2H), 1.68 (m, 3H), 1.01 (t, J=7.2 Hz, 3H).

10

20

30

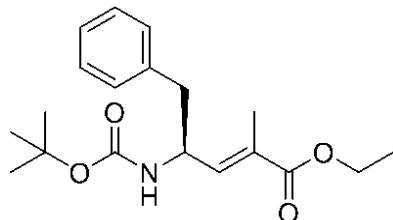
40

50

【0135】

中間体 42

【化 61】



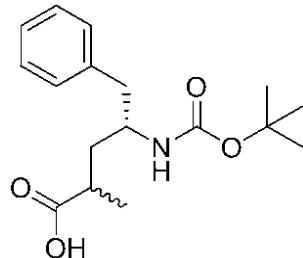
DCM (500 mL) 中の中間体 40 (52 g, 0.21 mol) および中間体 41 (76 g, 0.21 mol) の溶液を、室温で 14 時間攪拌した。該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をフラッショクロマトグラフィーでさらに精製し (シリカゲル, EtOAc / ヘキサン = 1 : 10)、(S) - エチル 4 - (tert - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル - 5 - フェニルペンタ - 2 - エノエート (45.3 g, 収率 64%) を油状物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 7.17~7.32 (m, 5H), 6.53 (dd, J=1.2 and 9 Hz, 1H), 4.63 (m, 2H), 4.18 (q, J=7.2 Hz, 2H), 2.76~2.95 (m, 2H), 1.72 (s, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.28 (t, J=7.2 Hz, 3H).

30

【0136】

中間体 43

【化 62】

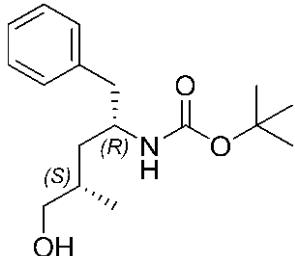


中間体 42 (45 g, 0.135 mol) を 10% Pd / C (10 g) を含有する MeOH (600 mL) 中に溶解させた。反応混合液を水素雰囲気下にて室温で 16 時間攪拌した。反応混合液を珪藻土に通して濾過し、該濾液を減圧下で濃縮した。該残渣をアセトン (200 mL) 中に溶解させ、NaOH 水溶液 (2 M, 135 mL) を 0° 加えた。該混合物を室温で 10 時間攪拌した。反応混合液を HCl 水溶液 (2 M, 135 mL) に注ぎ入れ、DCM で抽出した (300 mL × 3)。有機抽出物を合わせて、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、そして減圧下で濃縮して、(R) - 4 - (tert - プトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル - 5 - フェニルペンタン酸を得て (41.0 g, ~100% 収率)、これをさらに精製することなく次の工程に使用した。LC / MS によりその構造を確認した。

【0137】

中間体44

【化63】



10

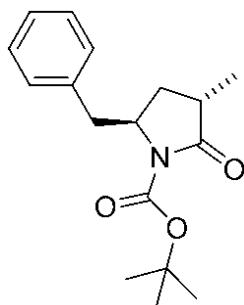
中間体43(28g, 0.091mol)を無水THF(200mL)中に溶解させ、-40に冷却した。この溶液に、トリエチルアミン(10.1g, 0.099mol)を加え、続いてクロロギ酸エチル(11g, 0.10mol)を15分かけて滴下して加えた。反応混合液を-40でさらに1時間攪拌し、続いて濾過して、沈殿した物質を取り除いた。濾液を0に冷却し、水(20mL)中の水素化ホウ素ナトリウム(7.5g, 0.197mol)を含有する懸濁液で30分にわたり処理した。反応混合液を0で30分間攪拌し、室温でさらに30分間攪拌した。該混合物をEtOAc(500mL)で希釈し、食塩水(500mL)で洗浄した。水層をEtOAcで抽出した(200mL × 3)。有機抽出物を合わせて、飽和NaHCO₃水溶液(500mL × 2)、そして食塩水(500mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、減圧下で濃縮して、油状残渣を供した。該残渣をフラッシュクロマトグラフィーで精製し(シリカゲル, EtOAc/ヘキサン = 10 : 1)、tert-ブチル(2R, 4S)-5-ヒドロキシ-4-メチル-1-フェニルペンタン-2-イルカルバメート(17.5g, 収率65%)を油状物として得た。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 7.15~7.29(m, 5H), 4.60(m, 1H), 4.00(m, 1H), 3.45(d, J=5.7Hz, 2H), 2.71~2.11(m, 4H), 1.78(m, 1H), 1.55(m, 1H), 1.38(s, 9H), 1.25(m, 1H).

20

【0138】

中間体45

【化64】



30

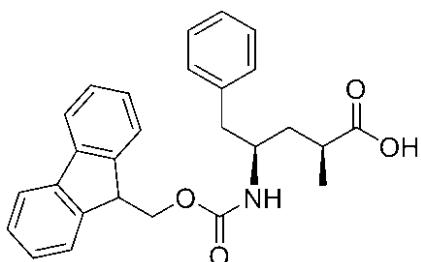
デス・マーチンペルヨージナン(39g, 89.4mmol)を、DCM(300mL)の中の中間体44(17.5g, 59.7mmol)の溶液に加え、該懸濁液を室温で15時間攪拌した。該混合物をNaOH溶液(1N, 300mL × 3)、および食塩水(300mL × 3)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、減圧下で濃縮した。該残渣を、フラッシュクロマトグラフィーで精製し(シリカゲル, EtOAc/ヘキサン = 1 : 6)、tert-ブチル(3S, 5R)-5-ベンジル-3-メチル-2-オキソピロリジン-1-カルボキシレート(9.1g, 収率53%)を油状物として得た。¹H NMR(300MHz, CDCl₃): 7.16~7.35(m, 5H), 4.30(m, 1H), 3.15(dd, J=3.3および13.2Hz, 1H), 2.73(dd, J=9.6 and 13.2Hz, 2H), 2.42(m, 1H), 2.00~2.10(m, 2H), 1.58(s, 9H), 1.15(d, J=6.9Hz, 3H).

40

【0139】

中間体46

【化 6 5】

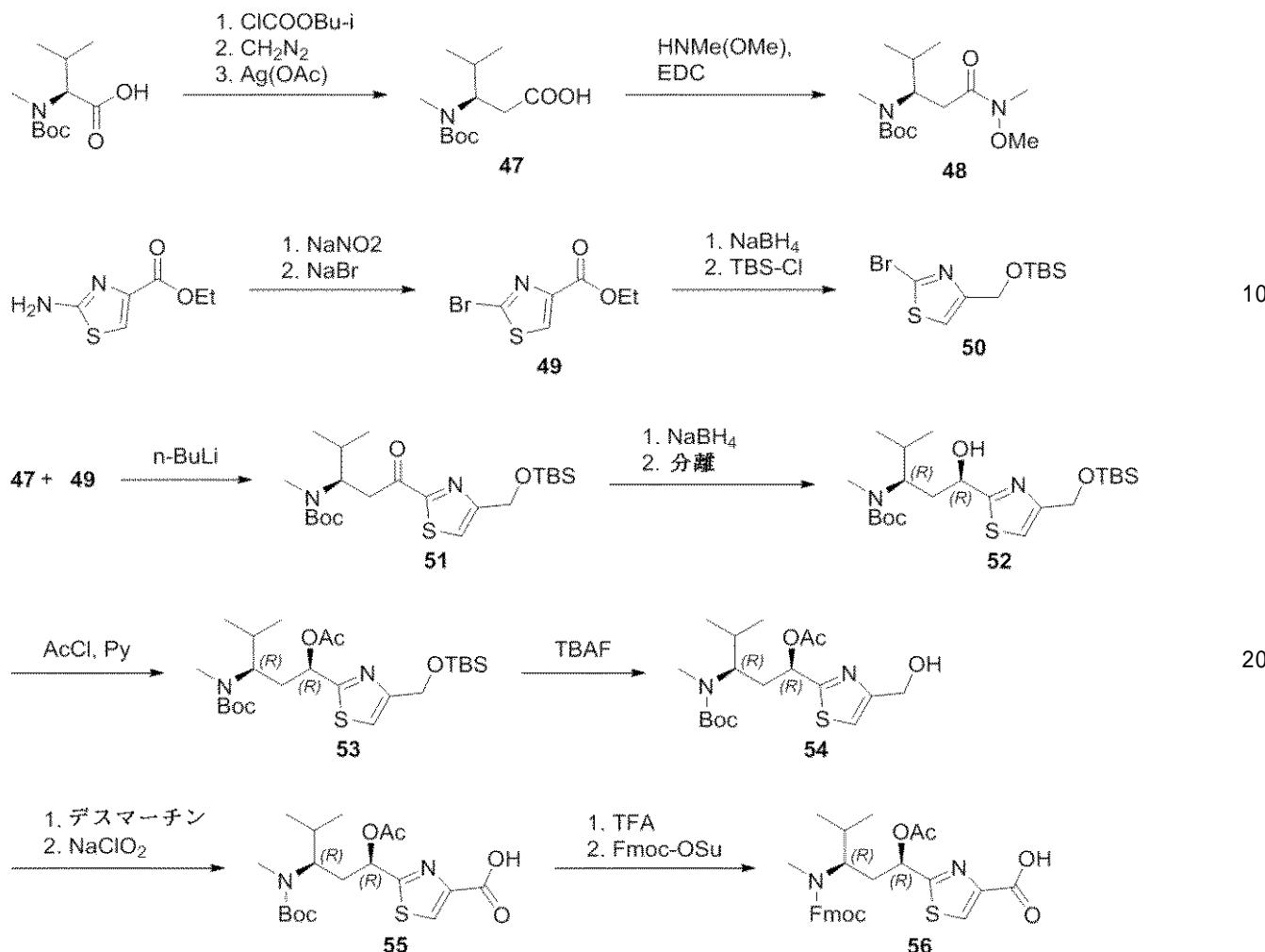


中間体 4 5 (9 . 0 g , 3 1 . 1 m m o l) および H C l 溶液 (4 N , 1 5 0 m L) を 10
4 時間加熱還流した。冷却し、該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をアセトン (1 0 0 m
L) および水 (1 0 0 m L) 中に溶解させた。該溶液の pH を 2 M N a O H 溶液で 8 .
5 に調整し、アセトン (2 0 m L) 中の F m o c - O S u (1 2 g , 3 5 m m o l) の溶
液を滴下して加え、この溶液の pH を、この工程中に 2 M N a O H 溶液で 8 ~ 9 に保
た。該懸濁液を 4 時間攪拌し、続いて 2 M H C l 溶液で pH 3 まで酸性にし、E t O A
c で抽出した (2 0 0 m L × 3) 。有機層を合わせて、水 (1 0 0 m L × 3) 、 5 % K
H S O 4 水溶液 (1 0 0 m L × 3) 、そして食塩水 (1 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥さ
せ (N a 2 S O 4) 、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッショクロマトグラフィー
で精製し (シリカゲル , E t O A c / ヘキサン = 1 : 1) 、 (2 S , 4 R) - 4 - (((20
(9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 2 - メチル - 5 - フ
エニルペンタン酸 (5 . 3 g , 収率 4 0 %) を得た。LC-MS : 430 [M+1]; ¹H NMR (400 M
Hz, メタノール-d4) ppm 7.78 - 7.83 (m, 2 H), 7.59 - 7.65 (m, 2 H), 7.37 - 7.
43 (m, 2 H), 7.28 - 7.35 (m, 2 H), 7.14 - 7.26 (m, 5 H), 6.94 - 7.01 (m, 1 H), 4.
28 - 4.36 (m, 1 H), 4.21 - 4.27 (m, 1 H), 4.10 - 4.16 (m, 1 H), 3.84 - 3.93 (m,
1 H), 2.68 - 2.82 (m, 2 H), 2.48 - 2.60 (m, 1 H), 1.86 - 1.95 (m, 1 H), 1.42 - 1.
51 (m, 1 H), 1.17 (d, J=7.03 Hz, 3 H), 1.09 - 1.14 (m, 1 H).

【 0 1 4 0 】

スキーム

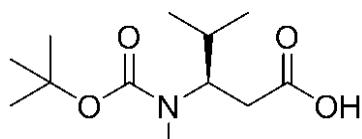
【化66】



【0141】

中間体47

【化67】



クロロギ酸エチル (12.6 mL, 0.13 mol) を、-20°で無水THF (200 mL) 中の I - M e - B o c - L - V a l - O H (27.3 g, 0.12 mol) およびトリエチルアミン (14.7 mL, 0.13 mol) の溶液に 15 分かけて滴下して加え、得られた白色懸濁液をさらに 30 分間攪拌した。ジアゾメタン溶液 (0.36 mol, 60 g) の N - ニトロソ - N - メチルウレアから調製し、エーテル (500 mL) 中の水酸化カリウムで乾燥させ、続いてカニューレにより該反応混合物に入れた。該混合物を室温にし、さらに 5 時間攪拌し、続いて酢酸溶液 (10%, 250 mL) で慎重にクエンチした。該層を分離し、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム (300 mL × 3) および食塩水 (300 mL × 3) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、約 200 mL まで濃縮した。該残渣を THF (900 mL) および水 (100 mL) 中に溶解させた。該溶液を 40°に加熱し、酢酸銀 (500 mg) を加えた。該懸濁液を 5 時間攪拌し、続いて約 300 mL に濃縮した。該残渣を EtOAc で抽出した (500 mL × 3)。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム (300 mL × 3) および食塩水 (300 mL) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、濃縮して、(R) - 3 - (tert - プトキシカルボニル (メチル) アミノ) - 4 - メチルペンタン酸 (23.8 g, 収率 81%) を得て、これをさらに精製するこ

40

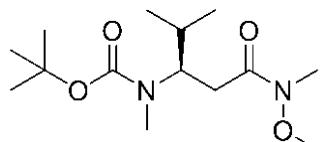
50

となく次の工程に使用した。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 10.08 (bs, 1H), 4.00 (m, 1H), 2.75 (m, 3H), 2.55 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.85~0.84 (m, 6H).

【0142】

中間体48

【化68】



トリエチルアミン (34.3 mL, 0.244 mol) を、0 で攪拌しながら C H₂Cl₂ (300 mL) 中の中間体47 (60 g, 0.244 mol) および N, O-ジメチルヒドロアミン塩酸塩 (23.9 g, 0.244 mol) の懸濁液に加えた。該懸濁液をこの温度で 0.5 時間攪拌し、続いて E D C I (46.9 g, 0.244 mol) を 0 で少しづつ加えた。反応混合液を 0 でさらに 2 時間攪拌し、次いで水 (300 mL) でクエンチした。有機層を分離し、5% KHSO₄ 溶液 (300 mL × 3)、飽和 NaHCO₃ 溶液 (300 mL × 3)、そして食塩水 (300 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。該残渣をシリカゲルクロマトグラフィーによりさらに精製し (EtOAc / ヘキサン = 1 : 3)、tert-ブチル (R) - (1-(メトキシ(メチル)アミノ)-4-メチル-1-オキソペンタン-3-イル)(メチル)カルバメート (52 g, 収率 74%) を油状物として得た。

10

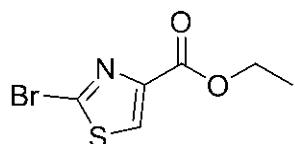
20

20

【0143】

中間体49

【化69】



tert-ブチルニトリル (0.61 mol) の NaNO₂ および 110 mL の tert-ブチルアルコールから調製) を、0 で ACN (500 mL) 中の CuBr₂ (26.0 g, 1.16 mol) およびエチル 2-アミノチアゾール-4-カルボキシレート (100 g, 0.58 mol) の懸濁液に 1 時間かけて滴下して加えた。該混合物を室温で 12 時間攪拌し、続いて EtOAc (800 mL) および水 (800 mL) でクエンチした。該混合物を濾過し、該濾液を水層および有機層に分割した。該水層を EtOAc で抽出した (800 mL × 2)。有機抽出物を合わせて、5% KHSO₄ 溶液 (300 mL × 3)、飽和 NaHCO₃ 溶液 (300 mL × 3)、そして食塩水 (300 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮して、エチル 2-ブロモチアゾール-4-カルボキシレート (79.4 g, 収率 58%) を得て、さらに精製することなく次の工程に使用した。¹H NMR (300 MHz, DMSO-d6): 7.45 (s, 1H), 4.20 (q, J=7.2 Hz, 2H), 1.25 (t, J=7.2 Hz, 3H).

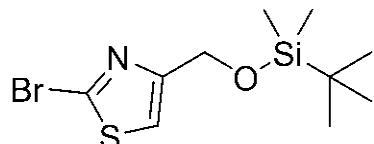
30

30

【0144】

中間体50

【化70】



NaBH₄ (16.5 g, 0.43 mol) を、50 で攪拌しながらエタノール (500 mL) 中の中間体49 (68 g, 0.288 mol) の溶液に 0.5 時間かけて少しづつ加えた。該懸濁液を 5 時間加熱還流し、NaBH₄ (8.25 g, 0.22 mol) の別のバッチを少しづつ加えた。該混合物をさらに 12 時間加熱還流した。これを室温に

40

50

冷まし、該溶媒を減圧下で留去し、残渣を D C M (5 0 0 m L) 中に溶解させ、飽和 N a H C O₃ 溶液 (3 0 0 m L × 3) 、続いて食塩水 (3 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥させ (N a₂S O₄) 、乾燥するまで濃縮して、該アルコール化合物を得た。該アルコール化合物を D M F (3 0 0 m L) 中に溶解させ、イミダゾール (2 8 . 3 g , 0 . 4 1 6 m o l) を加えた。T H F (1 0 0 m L) 中の T B S - C l (6 2 . 4 g , 0 . 4 1 6 m o l) の溶液を、室温でこの溶液に滴下して加えた。該混合物を 1 2 時間攪拌し、次いで水 (8 0 0 m L) でクエンチし、E t O A c で抽出した (8 0 0 m L × 2) 。有機抽出物を合わせて、5 % K H S O₄ 水溶液 (3 0 0 m L × 3) 、飽和 N a H C O₃ 水溶液 (3 0 0 m L × 3) 、そして食塩水 (3 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥させ (N a₂S O₄) 、乾燥するまで濃縮した。該残渣をフラッショクロマトグラフィーで精製し (シリカゲル , E t O A c / ヘキサン = 1 : 3 0) 、2 - ブロモ - 4 - ((t e r t - ブチルジメチルシリルオキシ) メチル) チアゾール (4 2 . 0 g , 2 ステップで 4 7 % 収率) を油状物として得た。¹H N M R (300 MHz, C D C I 3) : 7.15 (t , J=1.5 Hz, 1H) , 4.84 (d , J=1.5 Hz, 2H) , 0.94 (s , 9H) , 0.12 (s , 6H) .

10

20

30

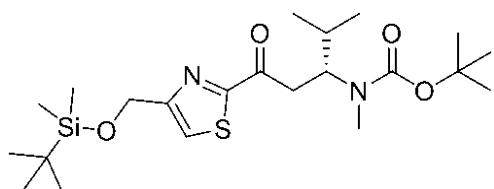
40

50

【 0 1 4 5 】

中間体 5 1

【 化 7 1 】

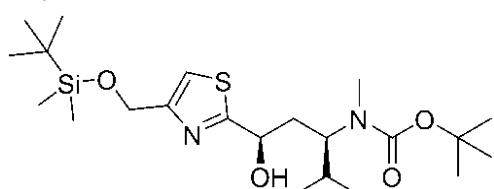


n - B u L i (7 7 m L , ヘキサン中で 2 . 5 N , 0 . 1 9 m o l) の溶液を、N₂ にて - 7 8 で攪拌しながら、乾燥 T H F (5 0 0 m L) 中の中間体 5 0 (5 3 . 9 g , 0 . 1 7 5 m o l) の溶液を 1 時間かけて滴下して加えた。該懸濁液をこの温度で 3 0 分間攪拌した。続いて、乾燥 T H F (2 0 0 m L) 中の中間体 4 8 (5 0 . 4 g , 0 . 1 7 5 m o l) の溶液を - 7 8 で 3 0 分かけて滴下して加えた。反応混合液をこの温度で 1 時間攪拌し、続いて室温に温め、1 2 時間攪拌した。該混合物を 2 0 % 塩化アンモニウム溶液 (1 L) でクエンチし、該有機溶媒を減圧下で留去した。生じた混合物を E t O A c で抽出した (5 0 0 m L × 3) 。有機層を合わせて、5 % K H S O₄ 溶液 (5 0 0 m L × 3) 、飽和 N a H C O₃ 溶液 (5 0 0 m L × 3) 、そして食塩水 (5 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥させ (N a₂S O₄) 、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッショクロマトグラフィーでさらに精製し (シリカゲル , E t O A c / ヘキサン = 1 : 1 0) 、(R) - t e r t - ブチル 1 - ((t e r t - ブチルジメチルシリルオキシ) メチル) チアゾール - 2 - イル) - 4 - メチル - 1 - オキソペンタン - 3 - イル (メチル) カルバメート (3 8 . 1 g , 収率 4 8 %) を油状物として得た。¹H N M R (300 MHz, C D C I 3) : 7.55 (m , 1H) , 4.91 (s , 2H) , 4.27 (m , 1H) , 3.20~3.60 (m , 2H) , 1.90 (m , 1H) , 1.03 (d , J=6.6 Hz, 3H) , 0.97 (s , 9H) , 0.88 (d , J=6.6 Hz, 3H) , 0.15 (s , 6H) .

【 0 1 4 6 】

中間体 5 2

【 化 7 2 】



N a B H₄ (4 . 7 g , 1 2 5 m m o l) を、室温で攪拌しながらメタノール (2 0 0 m L) 中の中間体 5 1 (3 8 . 0 g , 8 3 . 3 m m o l) の溶液に 0 . 5 時間かけて少しづつ加えた。該懸濁液を 2 時間攪拌し、N a B H₄ (1 . 5 g , 4 0 m m o l) の別のバッヂを加え、該混合物をさらに 2 時間攪拌した。該溶媒を減圧下で留去し、残渣を E t O

A c (2 0 0 m L) 中に溶解させ、飽和 Na H C O₃ 水溶液 (2 0 0 m L × 3) 、そして食塩水 (2 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥させ (N a₂ S O₄) 、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をシリカゲルクロマトグラフィーによりさらに精製し (E t O A c / ヘキサン = 1 : 6) 、 t e r t - ブチル (1 R , 3 R) - 1 - (4 - ((t e r t - ブチルジメチルシリルオキシ) メチル) チアゾール - 2 - イル) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンタン - 3 - イル (メチル) カルバメート (1 6 . 2 g , 収率 4 2 %) および t e r t - ブチル ((1 S , 3 R) - 1 - (4 - (((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) メチル) チアゾール - 2 - イル) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンタン - 3 - イル) (メチル) カルバメート (異性体 , 1 7 . 3 g , 収率 4 5 %) を得た。

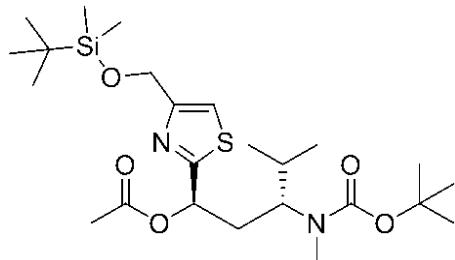
t e r t - ブチル (1 R , 3 R) - 1 - (4 - ((t e r t - ブチルジメチルシリルオキシ) メチル) チアゾール - 2 - イル) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンタン - 3 - イル (メチル) カルバメート (1 R , 3 R - 異性体) : ¹H N M R (300 M H z , C D C I 3) : 7.11 (s , 1 H) , 4.98 (b s , 1 H) , 4.80 (s , 2 H) , 4.68 (d t , J = 11.7 H z , 1 H) , 3.95 (d t , J = 3.3 および 12 H z , 1 H) , 2.75 (s , 3 H) , 1.70 ~ 1.95 (m , 2 H) , 1.49 (s , 9 H) , 0.95 (s , 9 H) , 0.85 ~ 0.95 (m , 6 H) , 0.15 (s , 6 H) .

t e r t - ブチル ((1 S , 3 R) - 1 - (4 - (((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) メチル) チアゾール - 2 - イル) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンタン - 3 - イル) (メチル) カルバメート (1 S , 3 R - 異性体) : ¹H N M R (300 M H z , C D C I 3) : 7.07 (s , 1 H) , 5.01 (m , 1 H) , 4.81 (s , 2 H) , 4.81 (b s , 1 H) , 3.86 (d t , J = 3.3 および 10.5 H z , 1 H) , 2.35 (s , 3 H) , 2.25 (m , 1 H) , 1.74 (m , 1 H) , 1.43 (s , 9 H) , 1.00 (d , J = 6.6 H z , 3 H) , 0.96 (s , 9 H) , 0.84 (d , J = 6.6 H z , 3 H) , 0.15 (s , 6 H) .

【 0 1 4 7 】

中間体 5 3

【 化 7 3 】



塩化アセチル (2 2 . 5 m L , 0 . 3 1 6 m o l) を、 0 度で攪拌しながらピリジン (1 4 0 m L) 中の中間体 5 2 (1 9 . 7 g , 4 3 m m o l) の溶液に 1 時間かけて滴下して加えた。反応混合液を室温に温め、 1 2 時間攪拌した。該混合物を水 (2 0 0 m L) でクエンチし、該有機溶媒を減圧下で留去した。該残渣を D C M (5 0 0 m L) 中に溶解させ、 5 % K H S O₄ 水溶液 (2 0 0 m L × 3) 、飽和 Na H C O₃ 水溶液 (2 0 0 m L × 3) 、および食塩水 (2 0 0 m L × 1) で洗浄し、乾燥させ (N a₂ S O₄) 、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッショクロマトグラフィーで精製し (シリカゲル , E t O A c / ヘキサン = 1 : 1 0) 、 (1 R , 3 R) - 3 - (t e r t - ブチルジメチルシリルオキシ) メチル) チアゾール - 2 - イル) - 4 - メチルペンチルアセテート (1 8 . 5 g , 収率 8 6 %) を油状物として得た。L C / M S によりその構造を確認した。

【 0 1 4 8 】

中間体 5 4

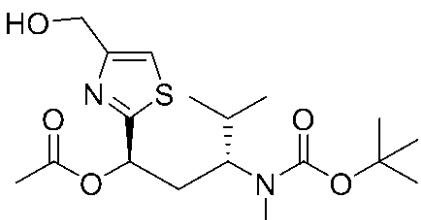
10

20

30

40

【化74】

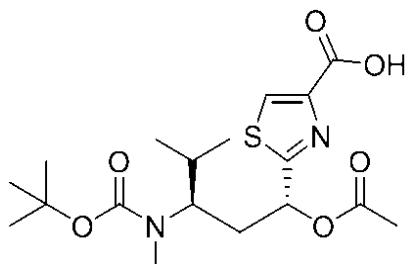


THF (100 mL) 中のフッ化テトラブチルアンモニウム (45.7 g, 175 mmol) の溶液を、0°で攪拌しながら THF (100 mL) 中の中間体 53 (17.5 g, 35 mmol) の溶液に滴下して加えた。反応混合液を室温に温め、12時間攪拌した。該混合物を水 (100 mL) でクエンチし、該有機溶媒を減圧下で留去した。該残渣を CH₂Cl₂ (500 mL) 中に溶解させ、5% KHSO₄ 水溶液 (200 mL × 3)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (200 mL × 3)、そして食塩水 (200 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィーで精製し (シリカゲル, EtOAc / ヘキサン = 1 : 4)、(1R, 3R)-3-(tert-ブトキシカルボニル(メチル)アミノ)-1-(4-(ヒドロキシメチル)チアゾール-2-イル)-4-メチルペンチルアセテート (9.3 g, 収率 69%) を油状物として得た。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.15 (d, J=3 Hz, 1H), 5.81~5.86 (m, 1H), 4.74 (d, J=3 Hz, 2H), 4.11 (m, 1H), 2.70 および 2.63 (s, 3H), 2.31 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.05 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.47 (s, 9H), 0.98 (d, J=6.6 Hz, 3H), 0.86 (d, J=6.6 Hz, 3H).

【0149】

中間体 55

【化75】

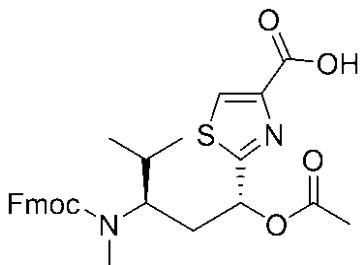


デス・マーチンペルヨージナン (14.9 g, 34.2 mmol) を、ジクロロメタン (250 mL) 中の中間体 54 (8.8 g, 22.8 mmol) の溶液に加えた。反応混合液を室温に温め、12時間攪拌し、続いて水酸化ナトリウム水溶液 (1N, 200 mL × 3)、チオ硫酸ナトリウム水溶液 (1N, 200 mL × 3)、飽和 NaHCO₃ 水溶液 (200 mL × 3)、食塩水 (200 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮して、アルデヒドを得た。この粗アルデヒド化合物を、tert-ブチルアルコール (250 mL)、ならびに水 (150 mL) 中の亜塩素酸ナトリウム (8.0%, 11.6 g, 102 mmol) およびリン酸二水素ナトリウム-水和物 (33.6 g, 244 mmol) の溶液に室温で1時間かけて滴下して加えた。反応混合液をさらに16時間攪拌し、続いて塩酸 (0.1N, 100 mL) で希釈し、EtOAc で抽出した (200 mL × 3)。有機層を合わせて、5% KHSO₄ 水溶液 (200 mL × 3)、そして食塩水 (200 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮して、2-((1R, 3R)-1-アセトキシ-3-(tert-ブトキシカルボニル(メチル)アミノ)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボン酸 (7.5 g, 収率 82%) を得て、これをさらに精製することなく次の工程に使用した。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8.26 (s, 1H), 5.87~6.01 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 2.72 および 2.65 (s, 3H), 2.35 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.18 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.49 (s, 9H), 1.00 (d, J=6.6 Hz, 3H), 0.88 (d, J=6.6 Hz, 3H).

【0150】

中間体56

【化76】



10

TFA (30 mL) を、ジクロロメタン (80 mL) 中の中間体55 (7.4 g, 18.5 mmol) の溶液に加えた。該混合物を12時間攪拌し、該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をアセトン (100 mL) および水 (100 mL) 中に溶解させた。該溶液のpHを2M NaOH水溶液で8.5に調整し、アセトン (50 mL) 中のFmoc-OSu (6.2 g, 18.5 mmol) の溶液を滴下して加え、この溶液のpHをこの工程の間、2M NaOH水溶液で8~9に保った。該懸濁液を4時間攪拌し、2M HCl水溶液でpH3に酸性にし、EtOAcで抽出した (200 mL × 3)。有機層を合わせて、水 (100 mL × 3)、5% KHSO₄水溶液 (100 mL × 3)、そして食塩水 (100 mL × 1) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、乾燥するまで濃縮した。粗製物質をフラッシュクロマトグラフィーで精製し (シリカゲル, MeOH / CH₂Cl₂ = 1 : 40)、2-(1R, 3R)-3-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル (メチル)アミノ) - 1 - アセトキシ - 4 - メチルペンチル)チアゾール - 4 - カルボン酸を得た (5.1 g, 収率53%)。LC-MS : 523 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.56 (br. s., 1 H) 0.67 - 0.82 (m, 2 H) 0.83 - 0.96 (m, 2 H) 1.64 (dt, J=10.36, 6.57 Hz, 1 H) 1.88 (s, 1 H) 2.07 (s, 2 H) 2.09 - 2.17 (m, 1 H) 2.19 - 2.33 (m, 1 H) 2.52 - 2.67 (m, 3 H) 3.86 - 4.01 (m, 1 H) 4.08 (s, 1 H) 4.12 - 4.21 (m, 1 H) 4.29 - 4.40 (m, 1 H) 4.68 (dd, J=10.61, 5.56 Hz, 1 H) 5.85 (dd, J=10.86, 3.28 Hz, 1 H) 7.19 - 7.27 (m, 2 H) 7.27 - 7.35 (m, 2 H) 7.42 - 7.58 (m, 2 H) 7.61 - 7.71 (m, 2 H) 8.11 - 8.19 (m, 1 H)

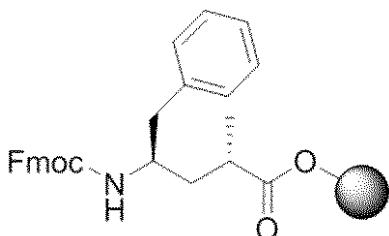
20

30

【0151】

中間体57

【化77】



40

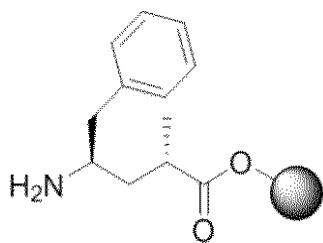
DIEA (0.419 mL, 2.40 mmol) を、DCM (1.5 mL) 中の中間体46 (0.344 g, 0.80 mmol) の溶液に加え、該混合物を室温で5分間攪拌し、続いて2-クロロトリチルクロリド樹脂 (0.5 g, 0.80 mmol) を該混合物に加えた。該混合物を室温で4時間攪拌し、得られた樹脂をDMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、そしてDCM (3 × 6 mL) で洗浄し、続いてMeOH / DCM (1 : 1, 5 mL) 中のDIEA (0.419 mL, 2.40 mmol) で室温にて30分間処理した。得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、そしてDCM (3 × 6 mL) で洗浄し、高真空中で終夜乾燥させた。少量の化合物を樹脂から切り出し、LC / MSにより解析した。該乾燥させた樹脂を次の工程に使用した。LC / MS: 430 (M + 1).

50

【0152】

中間体58

【化78】



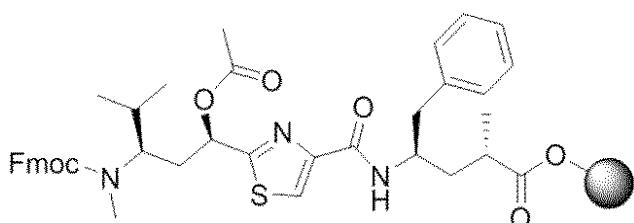
10

樹脂中間体57(0.5g, 0.80mmol)に、DMF(5mL)中の20%ピペリジンを加えた。該混合物を室温で6分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×6mL)、MeOH(3×6mL)、DCM(3×6mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 208(M+1).

【0153】

中間体59

【化79】



20

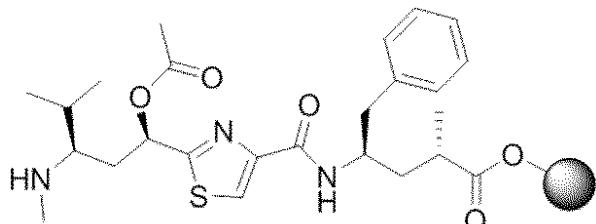
樹脂中間体58(0.4g, 0.64mmol)に、DMF(4mL)中の中間体56(0.351g, 0.67mmol)、HATU(0.487g, 1.28mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン(0.256mL, 1.92mmol)、およびDIEA(0.335mL, 1.92mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌した。生じた樹脂を濾過し、DMF(3×6mL)、MeOH(3×6mL)、DCM(3×6mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 712(M+1).

30

【0154】

中間体60

【化80】



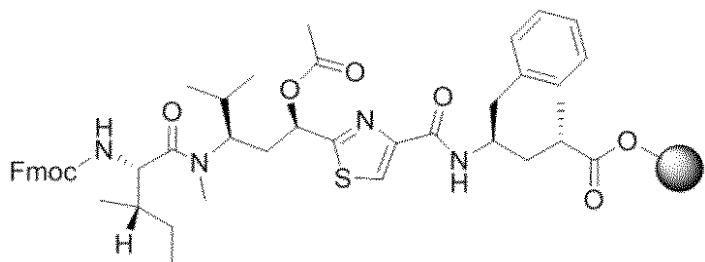
40

樹脂中間体59(0.4g, 0.64mmol)に、DMF(4mL)中の20%ピペリジンを加えた。該混合物を、室温で6分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×6mL)、MeOH(3×6mL)、DCM(3×6mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 491(M+H).

【0155】

中間体61

【化 8 1】

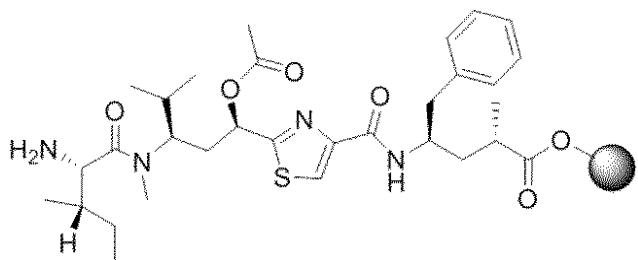


樹脂中間体 60 (0.4 g, 0.64 mmol) に、室温で DCM (4 mL) 中の中間体 24 (0.341 g, 0.96 mmol)、DMAP (3.91 mg, 0.03 mmol) および DIEA (0.335 mL, 1.92 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で 1 時間攪拌した。得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、DCM (3 × 6 mL) で洗浄し、高真空中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MS により解析し、該反応の完了が示された。LC/MS: 825 (M + 1). 10

【0156】

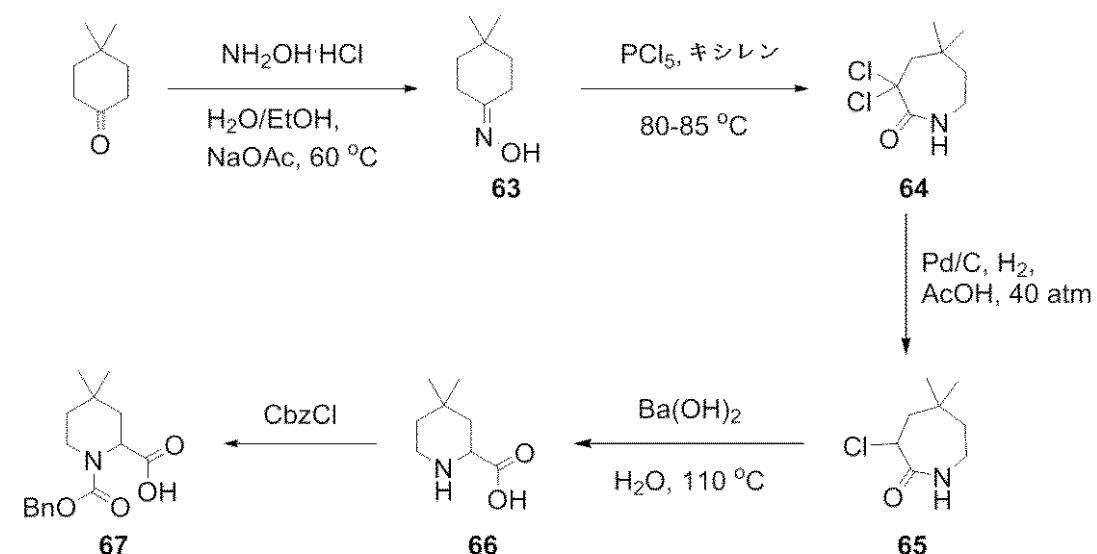
中間体 62

【化 8 2】



樹脂中間体 61 (0.4 g, 0.64 mmol) に、DMF (4 mL) 中の 20% ピペリジンを加えた。該混合物を室温で 6 分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 6 mL)、MeOH (3 × 6 mL)、DCM (3 × 6 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MS により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 603 (M + 1). 20

【化 8 3】



【0157】

中間体 63

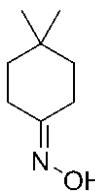
10

20

30

40

【化 8 4】



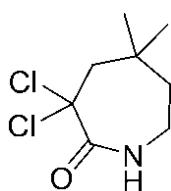
$H_2O / EtOH$ (720 mL, 5/1) 中の 4,4-ジメチルシクロヘキサン (30 g, 0.238 mol)、ヒドロキシリルアミン塩酸塩 (32.8 g, 0.476 mol)、および酢酸ナトリウム (39.0 g, 0.476 mol) の溶液を、加熱還流した。該反応を TLC によりモニターし、反応完了後、室温に冷ました。これをジクロロメタン (500 mL) で希釈した。有機層を分離し、食塩水 (100 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させた。溶媒を減圧下で留去し、4,4-ジメチルシクロヘキサン オキシムを無色の固体として得て、これをさらに精製することなく次の工程で使用した。

10

【0158】

中間体 6 4

【化 8 5】



20

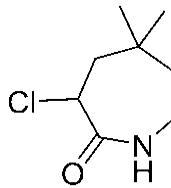
キシレン (1000 mL) 中の五塩化リン (120 g, 0.576 mol) の攪拌スラリーに、キシレン (400 mL) 中の中間体 6 3 (27.2 g, 0.192 mol) の溶液を 20 分かけて加えた。反応混合液を、添加中、水浴を用いて 30 ~ 36 に保った。次いで、これを 80 に加熱し、1.5 時間攪拌した。該均一の反応混合物を室温に冷まし、飽和炭酸ナトリウム水溶液 (2000 mL) に注ぎ入れた。該混合物を終夜静置し、該沈殿物を収集した。3,3-ジクロロ-5,5-ジメチルアゼパン-2-オン (28.4 g) を褐色の固体として得、これをさらに精製することなく次の工程に使用した。 1H NMR (300 MHz, CDCl₃): 6.51 (bs, 1H), 3.39-3.44 (m, 1H), 3.16-3.21 (m, 1H), 1.41-1.51 (m, 2H), 1.17 (s, 2H), 0.99 (s, 6H).

30

【0159】

中間体 6 5

【化 8 6】



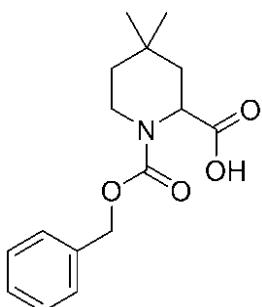
40

中間体 6 4 (25.8, 0.123 モル) を氷酢酸 (1300 mL) 中に溶解させ、室温で Pd/C (13 g, 10%) 上にて水素の 40 atm 下で 2 時間攪拌した。触媒を濾過して除去し、該濾液を減圧濃縮した。DCM (200 mL) および飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (200 mL) を、該残渣に加え、該混合物を 10 分間攪拌した。有機層を分離し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、減圧濃縮して、3-クロロ-5,5-ジメチルアゼパン-2-オン (19.1 g) を得て、さらに精製することなく次の工程で使用した。 1H NMR (300 MHz, CDCl₃): 6.19 (brs, 1H), 4.75 (d, $J = 11$ Hz, 1H), 3.30-3.36 (m, 1H), 3.11-3.17 (m, 1H), 1.91-2.09 (m, 2H), 1.39-1.59 (m, 2H), 1.14 (s, 3H), 1.04 (s, 3H).

【0160】

中間体 6 6

【化 8 7】

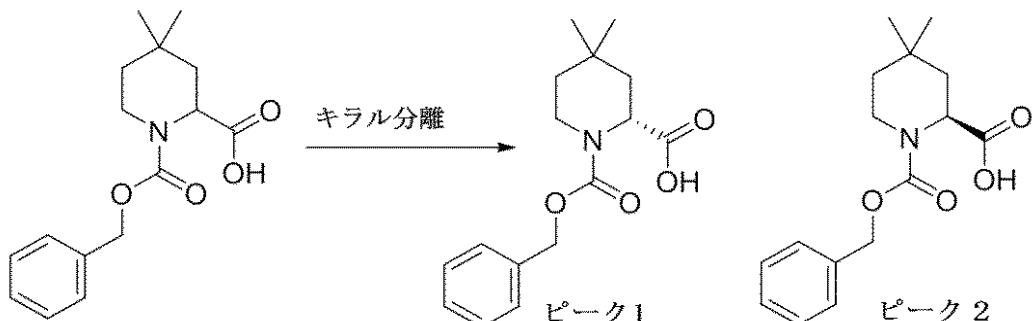


中間体 65 (16.1 g, 0.092 mol) および Ba(OH)₂ (35.1 g, 0.11 mol) を入れたフラスコに、水 (400 mL) を加えた。この混合物を 110 10
で 2 時間攪拌した。次いで、これを室温に冷まし、THF (400 mL) 中の塩化 CBZ (20.6 g, 0.121 mol) の溶液を加えた。該混合物を室温で終夜攪拌し、続いて 1 N HCl を用いて pH 3 に調整した。該粗生成物を酢酸エチルで抽出した (2 × 200 mL)。抽出物を合わせて、食塩水 (100 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮した。該残渣をシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、1-(ベンジルオキシ)カルボニル) - 4, 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボン酸を粘稠性油状物として得た (7 g)。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 7.33-7.38 (m, 5H), 5.16-5.19 (m, 2H), 4.78-4.88 (m, 1H), 3.95-3.99 (m, 1H), 3.23-3.27 (m, 1H), 2.07 (s, 2H), 1.64-1.71 (m, 1H), 1.37-1.40 (m, 2H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (s, 3H).

【0161】

中間体 67

【化 8 8】

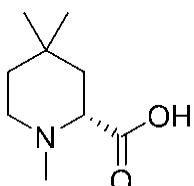


2種類のエナンチオマーを、移動相 A 90% 二酸化炭素 / 移動相 B 10% エタノールを用いて chiral pak IC により分割した (210 nm で検出)。(R) - 1 - ((ベンジルオキシ)カルボニル) - 4, 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボン酸 : LC-MS : 292 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, クロロホルム-d) δ ppm 0.93 (s, 3H) 0.98 (s, 3H) 1.40 (d, J=11.80 Hz, 2H) 1.68 (dd, J=14.05, 7.28 Hz, 1H) 1.99 - 2.18 (m, 1H) 3.27 (m, J=12.30 Hz, 1H) 3.97 (m, J=12.80 Hz, 1H) 4.69 - 4.95 (m, 1H) 5.11 - 5.25 (m, 2H) 7.28 - 7.44 (m, 5H) 9.63 (br. s, 1H)

【0162】

中間体 68

【化 8 9】



MeOH (20 mL) および水 (20.00 mL) 中の中間体 67 (1.14 g, 3.91 mmol) の溶液に、パラホルムアルデヒド (0.705 g, 7.83 mmol) および Pd/C (10%) (0.4 g, 3.76 mmol) を加えた。反応混合液を水素雰

10

20

30

40

50

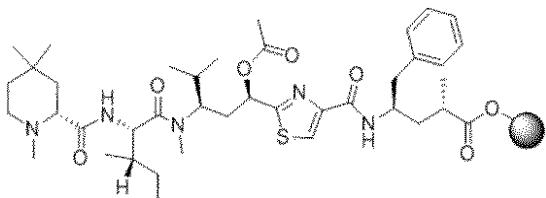
圧気下にて室温で終夜攪拌した。TLCから、該反応は完了していなかった。さらにパラホルムアルデヒド(0.705g, 7.83mmol)を加え、該反応混合物を水素雰囲気下にて室温で終夜攪拌した。TLCにより、該反応が完了したことが示された。反応混合液を濾過し、該触媒をMeOHで洗浄した(2×20mL)。濾液を減圧中で濃縮して、粗生成物を白色の固体として得て、これをエーテルで洗浄し(3×20mL)、高真空中で終夜乾燥させて、(R)-1,4,4-トリメチルピペリジン-2-カルボン酸(0.671g, 100%)を白色の固体として得た。LC-MS: 172 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ ppm 0.96 (s, 3H) 1.01 (s, 3H) 1.49 - 1.63 (m, 3H) 1.83 (dt, J=14.56, 2.64 Hz, 1H) 2.79 (s, 3H) 3.08 - 3.18 (m, 1H) 3.27 - 3.34 (m, 1H) 3.54 (dd, J=12.80, 3.26 Hz, 1H).

10

【0163】

中間体69

【化90】



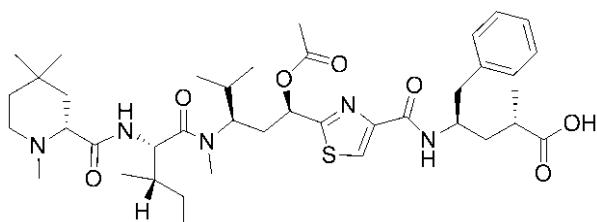
樹脂中間体62(0.1g, 0.16mmol)に、DMF(1mL)中の中間体68(0.055g, 0.32mmol)、HATU(0.122g, 0.32mmol)、2,4,6-トリメチルピペリジン(0.064mL, 0.48mmol)、およびDIEA(0.056mL, 0.32mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×2mL)、MeOH(3×2mL)、そしてDCM(3×2mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 756 (M+1).

20

【0164】

化合物4

【化91】



樹脂中間体69(0.1g, 0.13mmol)に、DCM(1mL)およびTFA(1mL)を加えた。該混合物を室温で20分間攪拌し、続いて濾過し、該樹脂をDCM/TFAで洗浄し(1:1, 3×2mL)、該濾液を減圧中で蒸発させた。該残渣を逆相HPLCにより精製した(ACN/H₂O 0.1% TFA ACN 5%~75%, 14分)。該純粋なフラクションを凍結乾燥させて、(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-アセトキシ-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-((R)-1,4,4-トリメチルピペリジン-2-カルボキサミド)ペンタンアミド)-4-メチルベンチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-2-メチル-5-フェニルペンタン酸(30mg, 収率30%)を白色の固体として得た。LC-MS: 756.5 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) δ ppm 0.75 (dd, J=6.53, 2.01 Hz, 3H), 0.85 (td, J=7.34, 3.64 Hz, 4H), 0.90 - 0.99 (m, 11H), 1.01 - 1.16 (m, 9H), 1.45 - 1.66 (m, 6H), 1.67 - 1.85 (m, 4H), 1.86 - 1.97 (m, 1H), 2.03 - 2.06 (m, 3H), 2.16 - 2.34 (m, 2H), 2.39 - 2.51 (m, 1H), 2.66 (d, J=1.25 Hz, 3H), 2.75 - 2.85 (m, 2H), 3.02 (d, J=1.25 Hz, 3H), 3.16 (br. s., 1H), 3.79 - 3.93 (m, 1H), 4

40

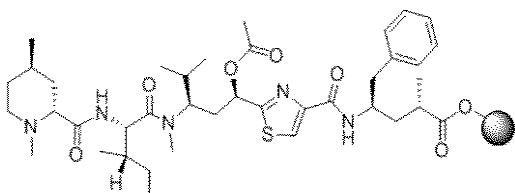
50

.29 (br. s., 2 H), 4.57 - 4.66 (m, 1 H), 5.55 - 5.70 (m, 1 H), 7.01 - 7.18 (m, 5 H), 7.98 (d, J=1.25 Hz, 1 H).

【0165】

中間体 70

【化92】



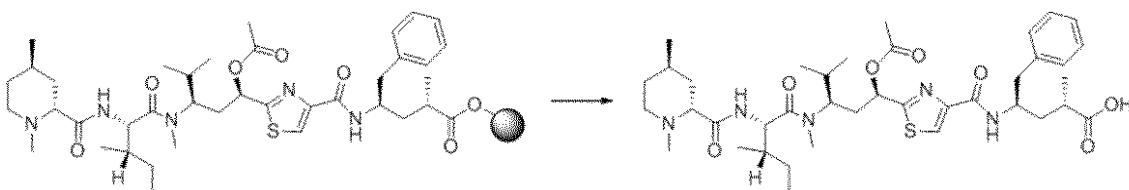
10

樹脂中間体 62 (0.1 g, 0.16 mmol) に、DMF (1 mL) 中の中間体 1 (0.050 g, 0.32 mmol)、HATU (0.122 g, 0.32 mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン (0.064 mL, 0.48 mmol)、および DIEA (0.056 mL, 0.32 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で 2 時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 2 mL)、MeOH (3 × 2 mL)、そして DCM (3 × 2 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MS により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 742 (M+1).

【0166】

化合物 5

【化93】

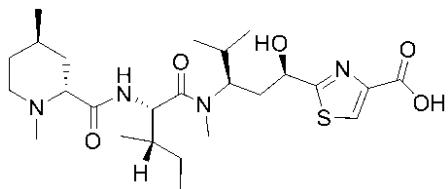


樹脂中間体 70 (0.1 g, 0.16 mmol) に、DCM (1 mL) および TFA (1 mL) を加えた。該混合物を室温で 20 分間攪拌し、続いて濾過し、該樹脂を DCM / TFA (1 : 1, 3 × 2 mL) で洗浄し、該濾液を減圧中で蒸発させた。該残渣を逆相 HPLC により精製した (ACN / H₂O 0.1% TFA, ACN 5% ~ 50% 14 分)。純粹なフラクションを凍結乾燥させて、(2S, 4R)-4-(2-((1R, 3R)-1-アセトキシ-3-((2S, 3S)-2-((2R, 4R)-1, 4-ジメチルピペリジン-2-カルボキサミド)-N, 3-ジメチルペンタンアミド)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-2-メチル-5-フェニルペンタン酸 (0.040 g, 29.2%) を白色の固体として得た。LC-MS: 742 (M+1); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 0.71 - 0.78 (m, 3 H), 0.80 - 0.87 (m, 3 H), 0.93 (dd, J=9.9 Hz, 6.65 Hz, 6 H), 1.07 (d, J=7.03 Hz, 6 H), 1.42 - 1.65 (m, 3 H), 1.74 - 1.85 (m, 3 H), 1.86 - 1.98 (m, 3 H), 2.05 (s, 4 H), 2.16 - 2.35 (m, 2 H), 2.38 - 2.51 (m, 1 H), 2.59 - 2.72 (m, 3 H), 2.77 - 2.83 (m, 2 H), 3.02 (s, 3 H), 3.84 - 3.94 (m, 1 H), 4.20 - 4.35 (m, 2 H), 4.56 - 4.65 (m, 1 H), 5.57 - 5.67 (m, 1 H), 7.03 - 7.09 (m, 1 H), 7.13 (s, 4 H), 7.91 - 8.02 (m, 2 H).

【0167】

中間体 71

【化94】



40

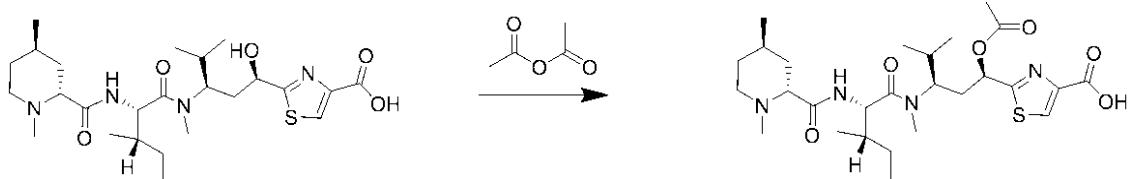
50

DCM (24 mL) 中のエチル 2 - ((1R, 3R) - 3 - ((2S, 3S) - 2 - (tert - プトキシカルボニルアミノ) - N, 3 - ジメチルペントンアミド) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - カルボキシレート (Patterson A. et al J. Org. Chem. 2008, 73, 4362に記載されるとおり調製) (1.2 g, 2.40 mmol) の溶液に、同等体積の TFA (24.00 mL) を、1時間攪拌しながら加えた。続いて、該溶液を濃縮し、EtOAc で希釈し、飽和 NaHCO₃ (水溶液) で1回洗浄した。水性フラクションを EtOAc で2回逆抽出し、有機フラクションを合わせて、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮して、Boc 脱保護遊離アミンを得て、これをさらに精製することなく次の工程に使用した。CH₂Cl₂ (24 mL) 中のこのアミン化合物に、HOBT (0.368 g, 2.40 mmol) および中間体1 (0.3969 g, 2.52 mmol) を加えた。続いて、該混合物を、塩を入れた氷水浴内で攪拌しながら冷却し、PS - カルボジイミド (1.23 mmol/g) (2.598 g, 2.88 mmol) を加えた。該浴を室温に温め、14時間攪拌し続けた。次いで、該混合物を濾過し、該樹脂を DCM で洗浄し、該濾液を濃縮した。該粗混合物を EtOAc で希釈し、飽和 NaHCO₃ 水溶液で1回洗浄した。水性フラクションを EtOAc で2回逆抽出し、有機フラクションを合わせて、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮して、4 - メチルMeP - 結合中間体を得て、これをさらに精製することなく使用した。ジオキサン (24 mL) で希釈した該粗中間体に、脱気した水 (24 mL) 中の LiOH (0.230 g, 9.60 mmol) の溶液を加えた。5時間攪拌し、該溶液を濃縮した。該残渣を、順相フラッシュクロマトグラフィーを用いることによりシリカゲルカラムにより精製した (DCM / DCM : MeOH : NH₄OH (90 : 10 : 1 ~ 70 : 30 : 1 で溶出) (0 ~ 100% のグラジェントとして DCM : MeOH : NH₄OH)。該純粋なフラクションを濃縮し、最終的に高真空中で乾燥させて、2 - ((1R, 3R) - 3 - ((2S, 3S) - 2 - ((2R, 4R) - 1, 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボキサミド) - N, 3 - ジメチルペントンアミド) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - カルボン酸 (1.003 g, 82%) をアモルファス固体として得た。LC/MS: 509 [M+1].

【0168】

中間体72

【化95】



ピリジン (19.47 mL) 中の中間体71 (1.0026 g, 1.96 mmol) の溶液を、氷水浴内で冷却し、無水酢酸 (0.927 mL, 9.82 mmol) を攪拌しながら加えた。該浴を室温に温め、24時間攪拌し続けた。次いで、該溶液を氷水浴内で冷却し、脱気した水 / ジオキサン (40 mL) 中の 1 : 1 (v/v) 溶液を加えた。該浴を室温に温め、22時間攪拌し続けた。該残渣を蒸発により濃縮し、残渣を逆相クロマトグラフィーにより精製し (ACN / H₂O (0.1% TFA) を使用, ACN 5% ~ 50%, 14分)、純粋なフラクションを凍結乾燥させて、2 - ((1R, 3R) - 1 - アセトキシ - 3 - ((2S, 3S) - 2 - ((2R, 4R) - 1, 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボキサミド) - N, 3 - ジメチルペントンアミド) - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - カルボン酸 (0.945 g, 72.2%) を無色の固体として得た。LC-M S : 551 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) ppm 0.85 (d, J=6.53 Hz, 3 H), 0.88 - 0.98 (m, 4 H), 0.98 - 1.08 (m, 6 H), 1.10 - 1.28 (m, 4 H), 1.59 (ddd, J=3.49, 7.47, 2.89 Hz, 1 H), 1.70 (d, J=14.05 Hz, 1 H), 1.81 - 2.12 (m, 5 H), 2.12 - 2.25 (m, 3 H), 2.32 (d, J=7.78 Hz, 2 H), 2.72 - 2.93 (m, 4 H), 3.07 - 3.18 (m, 4 H), 4.02 (d, J=10.54 Hz, 1 H), 4.10 - 4.39 (m, 1 H), 4.65 - 4.76 (m, 1 H), 5

10

20

30

40

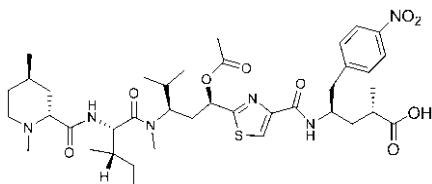
50

.64 - 5.80 (m, 1 H), 8.30 - 8.39 (m, 1 H), 8.66 (d, J=7.28 Hz, 1 H).

【0169】

中間体 73

【化96】

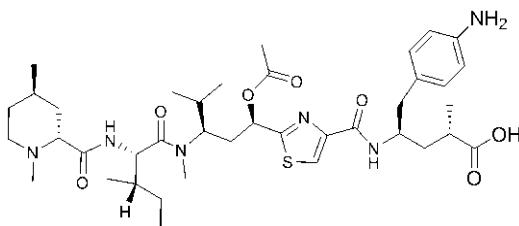


中間体 72 (100 mg, 0.18 mmol) を、0で DCM (5 mL) 中の 2, 3, 4, 5, 6-ペンタンフルオロフェノール (49.32 mg, 0.27 mmol) および DIC (41.34 μl, 0.27 mmol) の溶液に加えた。該溶液を室温にし、4時間攪拌し、続いて該溶媒を減圧下で留去した。EtOAc (4 mL) を該混合物に加え、得られた懸濁液を吸入濾過して、濾液中の所望の活性化した酸を得た。該 EtOAc を減圧下で留去し、続いて乾燥 DMF (1.3 mL) を加え、次いで中間体 18 (52.2 mg, 0.18 mmol) および DIEA (0.213 mL) を加えた。該混合物を終夜攪拌し、続いて DMF を高真空下で留去した。該残渣を逆相クロマトグラフィーにより精製し (ACN / H₂O (10 mM 酢酸アンモニウムを含有), ACN 10% ~ 80%, 20分)、純粋なフラクションを凍結乾燥させて、(2S, 4R)-4-(2-(1R, 3R)-1-アセトキシ-3-((2S, 3S)-2-カルボキサミド)-N, 3-ジメチルペントンアミド)-4-メチルペニチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-2-メチル-5-(4-ニトロフェニル)ペントン酸 (85 mg, 59.3%) を無色の固体として得た。LC/MS : 787 [M+1]

【0170】

化合物 6

【化97】



25 mL の丸底フラスコに、攪拌バー、中間体 73 (84.5 mg, 0.11 mmol) および MeOH (5 mL) を入れ、Pd-C 10% (50 mg, 0.47 mmol) を窒素下で加えた。該混合物を、室温で水素バルーンを用いて1時間水素化した。該粗 LC / MS により、出発物質の生成物への完全な変換が示された。反応混合液を珪藻土パッドに通して濾過し、フィルター上にて MeOH で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮し、最終的に高真空下で乾燥させて、(2S, 4R)-4-(2-(1R, 3R)-1-アセトキシ-3-((2S, 3S)-2-カルボキサミド)-N, 3-ジメチルペントンアミド)-4-メチルペニチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-5-(4-アミノフェニル)-2-メチルペントン酸 (79 mg, 97%) を固体として得た。LC-MS : 757 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d4) ppm 8.10 (s, 1 H) 6.99 (d, J=8.28 Hz, 2 H) 6.65 (d, J=8.28 Hz, 2 H) 5.66 - 5.78 (m, 1 H) 4.71 - 4.80 (m, 1 H) 4.24 - 4.43 (m, 2 H) 3.13 (s, 3 H) 2.77 - 2.83 (m, 2 H) 2.61 - 2.71 (m, 1 H) 2.49 - 2.56 (m, 1 H) 2.44 (s, 3 H) 2.27 - 2.40 (m, 2 H) 2.17 (s, 3 H) 1.86 - 2.04 (m, 4 H) 1.74 - 1.83 (m, 1 H) 1.53 - 1.69 (m, 3 H) 1.31 (br. s., 3H) 1.17 (d, J=7.03 Hz, 4H) 0.98 - 1.07 (m, 8 H) 0.93 (d, J=7.53 Hz, 6H) 0.83 - 0.87 (m, 3 H).

【0171】

10

20

20

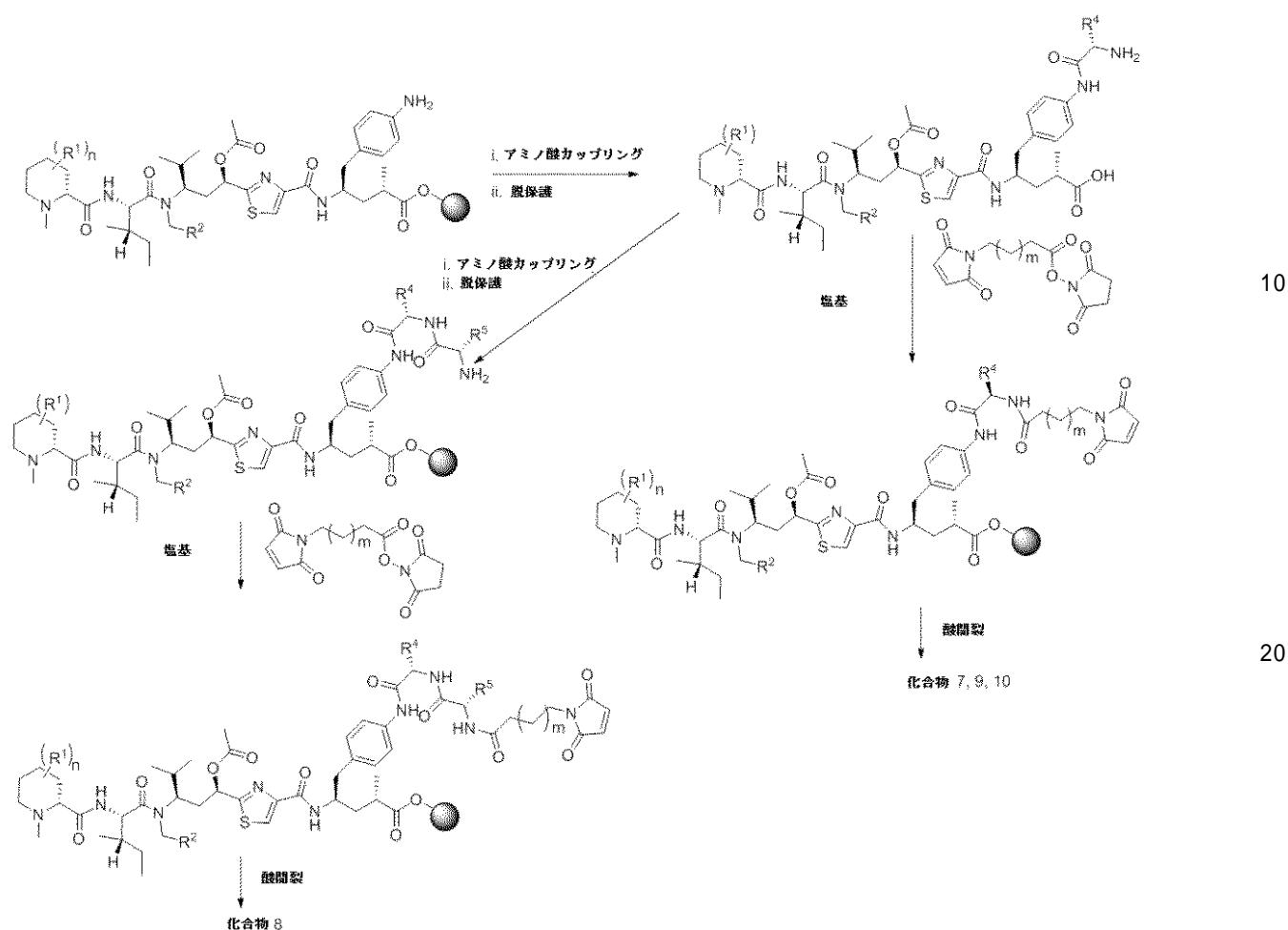
30

40

50

化合物 7 - 10 のための一般的な合成スキーム

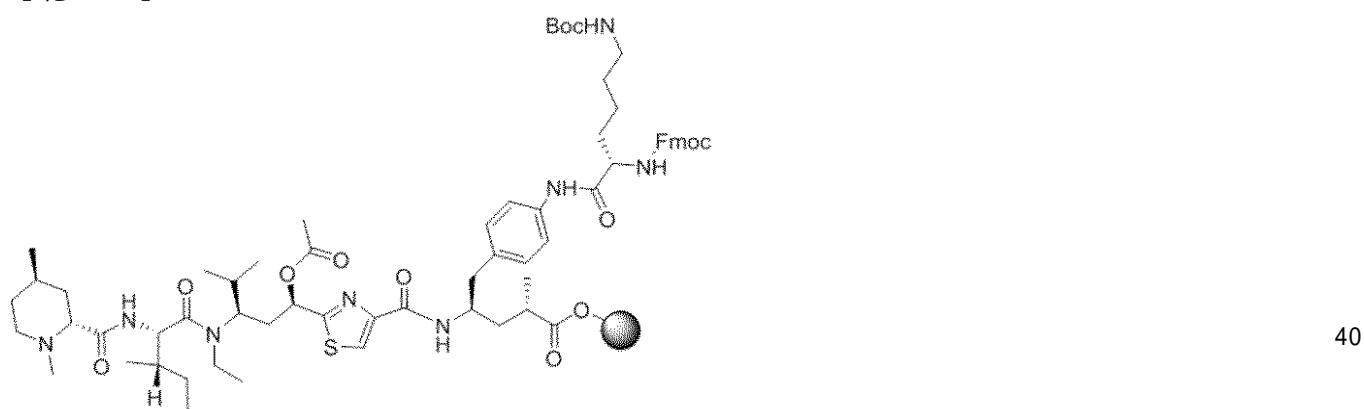
【化 9 8】



【0172】

中間体 7-4

【化 9 9】



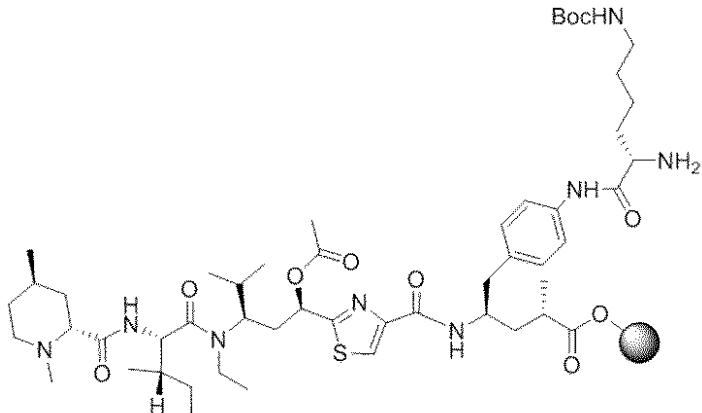
樹脂中間体 2-8 (0.2 g, 0.32 mmol) に、DMF (4 mL) 中の (S)-2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-6-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)ヘキサン酸 (0.300 g, 0.64 mmol)、HATU (0.243 g, 0.64 mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン (0.128 mL, 0.96 mmol)、および DIEA (0.168 mL, 0.96 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で 2 時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF (3 × 2 mL)、MeOH (3 × 2 mL)、および DCM (3 × 2 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC / MS により解析し、該反応の完了が示

された。生じた樹脂中間体 7 4 を次の工程に使用した。LC/MS: 1221 (M + 1).

【0173】

中間体 7 5

【化100】



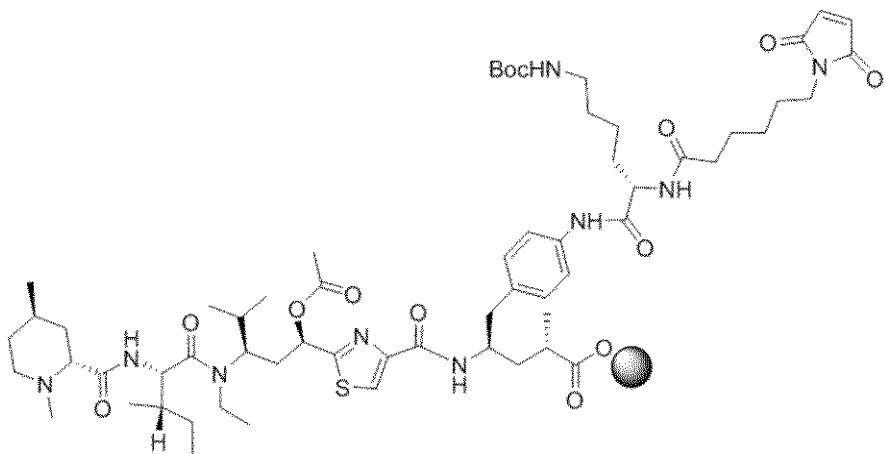
10

樹脂中間体 7 4 (0.2 g, 0.32 mmol) に、D M F (2 mL) 中の 20 % ピペリジンを加えた。該混合物を室温で 6 分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 3 mL)、M e O H (3 × 3 mL)、D C M (3 × 3 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体 7 5 を次の反応工程に使用した。LC/MS: 999 (M + H). 20

【0174】

中間体 7 6

【化101】



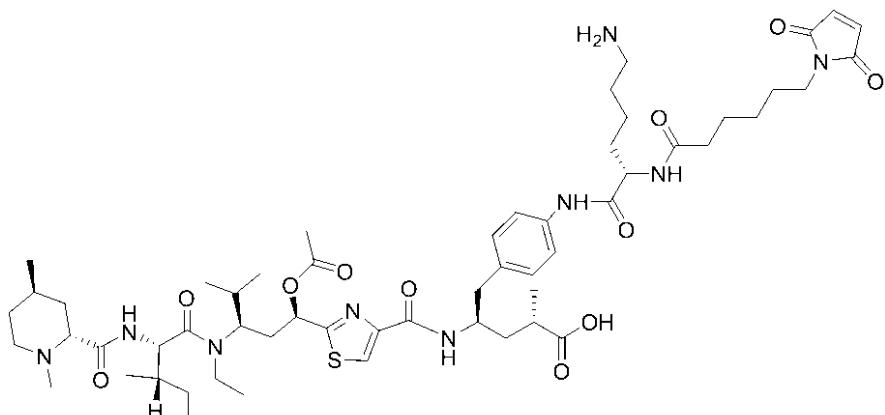
30

樹脂中間体 7 5 (0.2 g, 0.32 mmol) に、室温で D M F (2 mL) 中の 2, 5 - ジオキソピロリジン - 1 - イル 6 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) ヘキサノエート (0.148 g, 0.48 mmol) の溶液、続いて N - メチルモルホリン (0.106 mL, 0.96 mmol) を加えた。該混合物を室温で 2 時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 3 mL)、D C M (3 × 3 mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体 7 6 を次の工程に使用した。LC/MS: 1192 (M + 1). 40

【0175】

化合物 7

【化102】



10

樹脂中間体 76 (0.2 g, 0.32 mmol) に、室温で DCM (1 mL)、および TFA (1 mL) を加えた。該混合物を室温で 20 分間攪拌し、濾過した。該樹脂を DCM / TFA (1 : 1, 3 × 2 mL) で洗浄し、濾液を合わせて、減圧中で蒸発させた。該残渣を逆相 HPLC により精製した (ACN / 水 0.1% TFA, ACN 5% ~ 75%, 14 分)。純粋なフラクションを凍結乾燥させて、(2S, 4R)-4-(2-((1R, 3R)-1-アセトキシ-3-((2S, 3S)-2-((2R, 4R)-1, 4-ジメチルピペリジン-2-カルボキサミド)-N-エチル-3-メチルpentanamido)-4-メチルpentanil)チアゾール-4-カルボキサミド) - 5 - (4 - ((S) - 6 - アミノ-2 - (6 - (2, 5 - ジオキソ-2, 5 - ジヒドロ-1H - ピロール-1 - イル)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)フェニル) - 2 - メチルpentan酸 (0.095 g, 22.48%) を白色の固体として得た。LC-MS: 1092 [M+1]; ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d4) ppm 7.99 (s, 1 H), 7.34 (d, J = 8.53 Hz, 2 H), 7.10 (d, J = 8.53 Hz, 2 H), 6.66 (s, 2 H), 5.64 (d, J = 10.79 Hz, 1 H), 4.50 - 4.61 (m, 1 H), 4.21 - 4.35 (m, 2 H), 3.92 (d, J = 9.29 Hz, 1 H), 3.69 (br. s., 1 H), 3.37 (t, J = 7.15 Hz, 2 H), 3.15-3.35 (m, 4H), 3.04 (dt, J = 3.58, 1.85 Hz, 1 H), 2.84 (t, J = 7.65 Hz, 2 H), 2.76 (d, J = 7.03 Hz, 2 H), 2.62 (br. s., 2 H), 2.38 - 2.52 (m, 2 H), 2.25 (t, J = 11.54 Hz, 1 H), 2.16 (t, J = 7.40 Hz, 2 H), 2.04 - 2.11 (m, 4 H), 1.70 - 2.00 (m, 7 H) 1.42 - 1.69 (m, 11 H), 1.34 - 1.40 (m, 1 H), 1.27 (t, J = 6.78 Hz, 3 H), 1.16 - 1.24 (m, 2 H), 1.01 - 1.14 (m, 7 H), 0.90 (d, J = 6.78 Hz, 3 H), 0.94 (d, J = 6.53 Hz, 3 H), 0.84 (t, J = 7.40 Hz, 3 H), 0.79 (d, J = 6.53 Hz, 3 H).

20

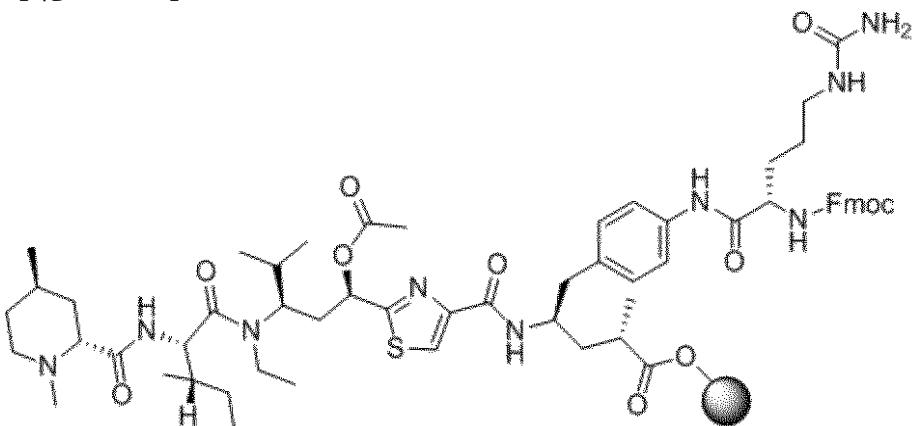
30

30

【0176】

中間体 77

【化103】



40

樹脂中間体 28 に、DMF (38 mL) 中の (S) - 2 - ((9H - フルオレン-9 - イル)メトキシ)カルボニル)アミノ) - 5 - ウレイドpentan酸 (3.88 g, 9.76 mmol)、HATU (3.71 g, 9.76 mmol)、2, 4, 6 - トリメチ

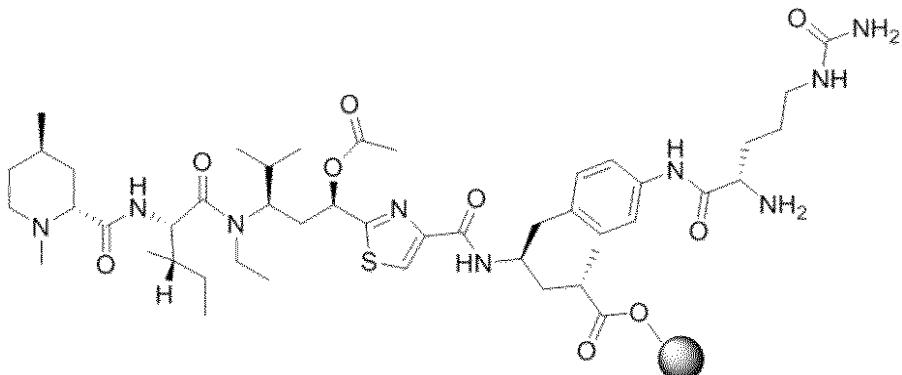
50

ルピリジン (2.59 mL, 19.52 mmol) および D I E A (3.41 mL, 19.52 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3×100mL)、M e O H (3×100mL)、およびD C M (3×100mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体77を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 1150 (M + 1).

【0177】

中間体78

【化104】

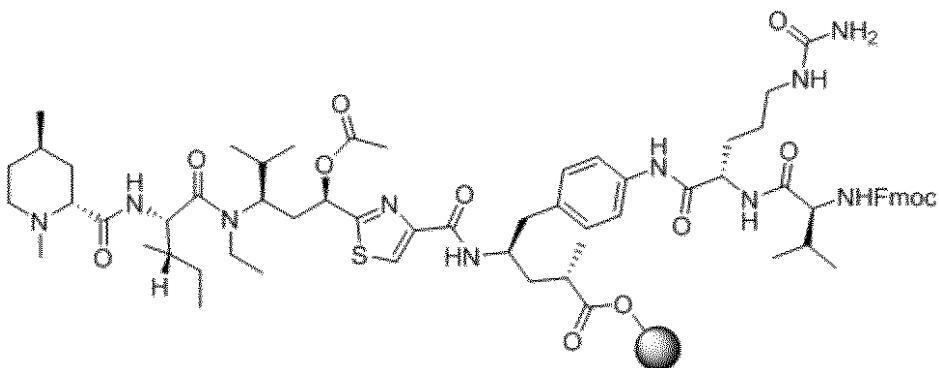


樹脂中間体77に、D M F (35mL) 中の20% ピペリジンの溶液を加えた。該混合物を室温で6分間攪拌した。生じた樹脂を濾過し、D M F (3×100mL)、M e O H (3×100mL)、およびD C M (3×100mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により分析し、弱いシグナルが示された。生じた樹脂中間体78を次の工程反応に使用した。LC/MS: 928 (M + 1).

【0178】

中間体79

【化105】



樹脂中間体78に、D M F (20mL) 中の(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メチルブタン酸 (1.529g, 4.50 mmol)、H A T U (1.713g, 4.50 mmol)、2,4,6-トリメチルピリジン (1.294mL, 9.76 mmol)、およびD I P E A (1.705mL, 9.76 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で2時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3×75mL)、M e O H (3×75mL)、およびD C M (3×75mL) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体79を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 1250 (M + 1).

【0179】

中間体80

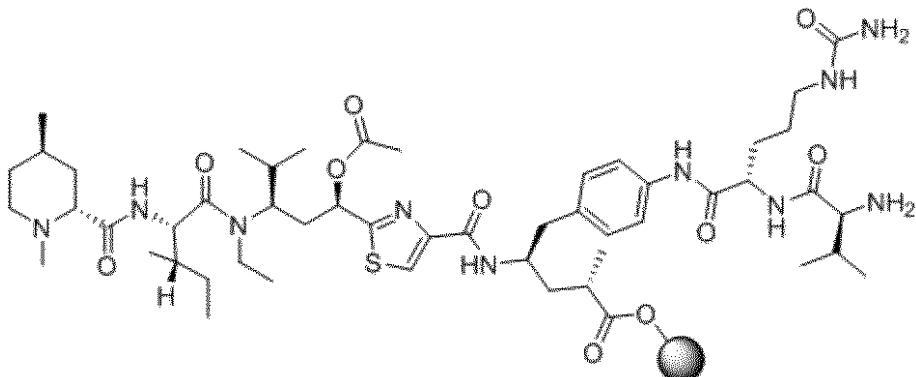
10

20

30

40

【化106】



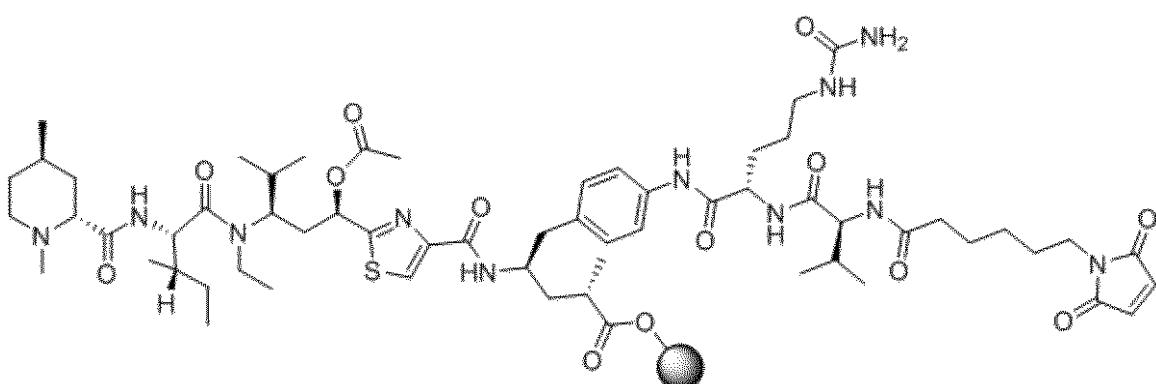
10

樹脂中間体 79 に、D M F (2 0 m L) 中の 2 0 % ピペリジンの溶液を加えた。該混合物を室温で 6 分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 7 5 m L) 、M e O H (3 × 7 5 m L) 、および D C M (3 × 7 5 m L) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体 80 を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 1028 (M + 1).

【0180】

中間体 81

【化107】



20

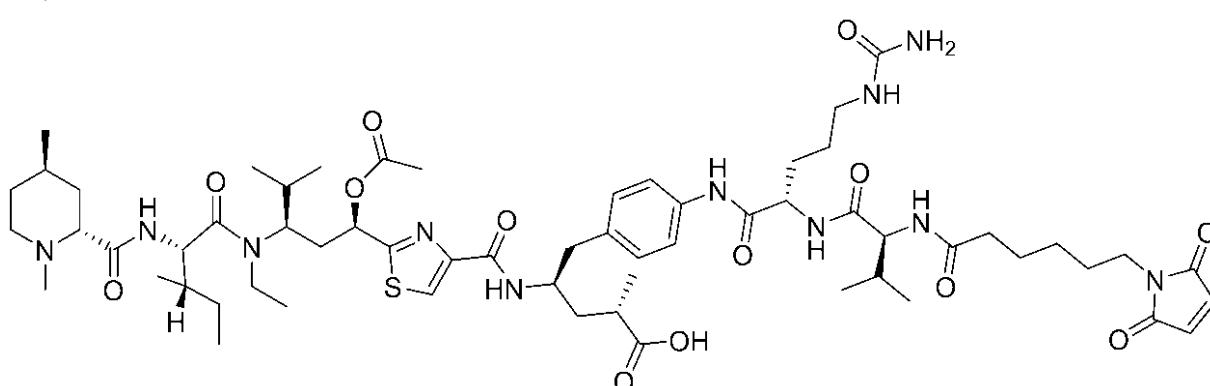
樹脂中間体 80 に、室温で D M F (1 8 m L) 中の 2 , 5 - ジオキソピロリジン - 1 - イル 6 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) ヘキサノエート (1 . 1 5 7 g , 3 . 7 5 m m o l) の溶液、続いて 4 - メチルモルホリン (1 . 0 3 2 m L , 9 . 3 8 m m o l) を加えた。該混合物を室温で 2 時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、D M F (3 × 7 5 m L) 、M e O H (3 × 7 5 m L) 、および D C M (3 × 7 5 m L) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の樹脂を、T F A を加えることにより切り出し、L C / M S により分析し、所望生成物の形成が示された。樹脂中間体 81 を次の工程に使用した。LC/MS: 1220 (M + 1).

30

【0181】

化合物 8

【化108】



40

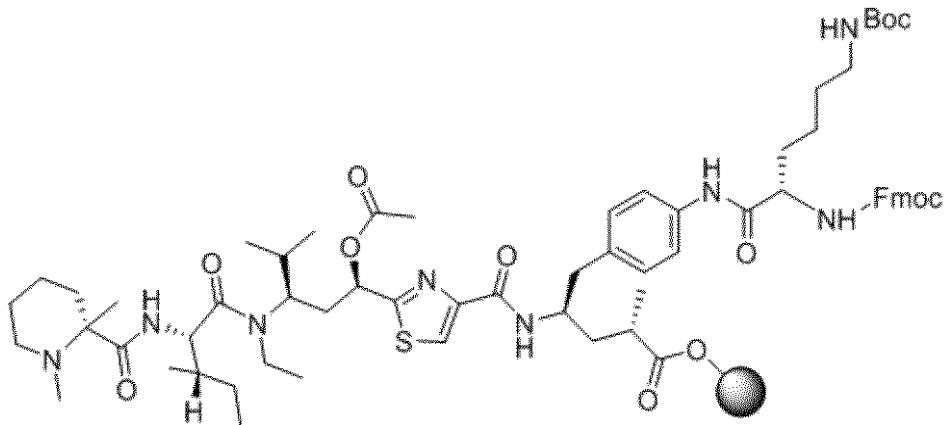
50

化合物 8 1 からの樹脂に、 D C M (4 0 m L) 中の T F A (2 . 8 9 m L , 3 7 . 5 4 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で 5 分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、さらに 5 0 m L D C M で洗浄した。抽出物を合わせて、濃縮した。粗製物質を逆相 H P L C により精製した (C 1 8 カラム , 0 . 1 % T F A / 水 / 0 . 1 T F A アセトニトリル , 0 - 4 0 % , 3 0 分の方法)。純粋なフラクションを凍結乾燥させて、 (2 S , 4 R) - 4 - (2 - ((1 R , 3 R) - 1 - アセトキシ - 3 - ((2 S , 3 S) - 2 - ((2 R , 4 R) - 1 , 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボキサミド) - N - エチル - 3 - メチルペンタンアミド) - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - カルボキサミド) - 5 - (4 - ((S) - 2 - ((S) - 2 - (6 - (2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) ヘキサンアミド) - 3 - メチルブantanアミド) - 5 - ウレイドペنتアンアミド) フェニル) - 2 - メチルペンタン酸 (0 . 6 2 0 g , 1 2 . 3 8 %) を白色の固体として得た。LC-MS: 1220 (M + 1); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 8.03 (s , 1 H), 7.30 - 7.44 (m , 2 H), 7.07 (d , J = 8.53 Hz , 2 H), 6.69 (s , 2 H), 5.53 - 5.68 (m , 1 H), 4.52 - 4.63 (m , 1 H), 4.19 - 4.40 (m , 3 H), 4.01 - 4.12 (m , 2 H), 3.89 - 3.99 (m , 1 H), 3.56 - 3.74 (m , 1 H), 3.33 - 3.43 (m , 2 H), 3.23 - 3.32 (m , 1 H), 2.96 - 3.13 (m , 4 H), 2.83 - 2.95 (m , 1 H), 2.66 - 2.83 (m , 3 H), 2.57 (br. s ., 3 H), 2.40 - 2.52 (m , 2 H), 2.14 - 2.24 (m , 3 H), 2.02 - 2.11 (m , 4 H), 1.87 - 2.00 (m , 5 H), 1.72 - 1.87 (m , 4 H), 1.42 - 1.68 (m , 10 H), 1.16 - 1.28 (m , 5H), 1.09 (d , J = 7.03 Hz , 6 H), 0.76 - 0.96 (m , 16 H).

【 0 1 8 2 】

中間体 8 2

【 化 1 0 9 】

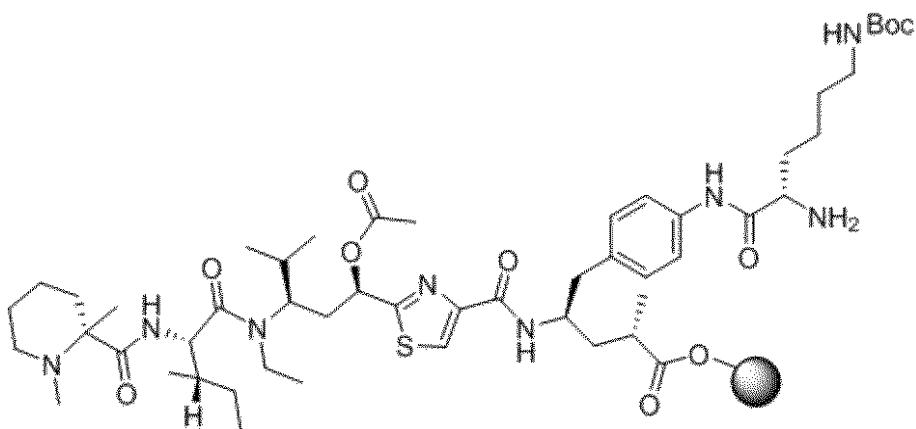


樹脂中間体 3 8 (0 . 3 5 g , 0 . 5 6 mmol) に、 D M F (5 m L) 中の (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 6 - (t e r t - プトキシカルボニル) アミノ) ヘキサン酸 (0 . 5 2 5 g , 1 . 1 2 mmol) 、 H A T U (0 . 4 2 6 g , 1 . 1 2 mmol) 、 2 , 4 , 6 - トリメチルピリジン (0 . 2 2 3 m L , 1 . 6 8 mmol) および D I P E A (0 . 2 9 3 m L , 1 . 6 8 mmol) の溶液を加えた。該混合物を室温で 2 時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、 D M F (3 × 5 m L) 、 M e O H (3 × 5 m L) 、 および D C M (3 × 5 m L) で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、 L C / M S により解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体 8 2 を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 1221 (M + 1).

【 0 1 8 3 】

中間体 8 3

【化110】



10

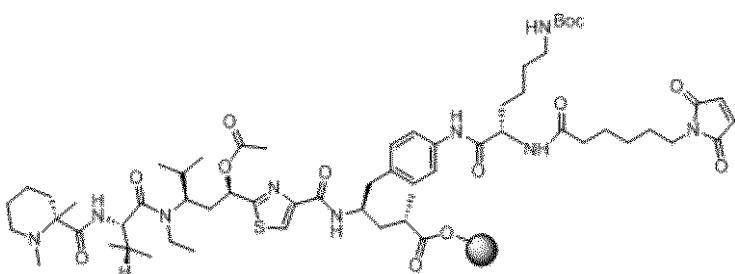
樹脂中間体8-2に、DMF(4mL)中の20%ピペリジンを加えた。該混合物を室温で6分間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×5mL)、MeOH(3×5mL)、DCM(3×5mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体8-3を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 999(M+1).

【0184】

中間体8-4

20

【化111】



樹脂中間体8-3に、室温でDCM(4mL)中の2,5-ジオキソピロリジン-1-イル6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサノエート(0.259g, 0.84mmol)の溶液、続いて4-メチルモルホリン(0.185mL, 1.68mmol)を加えた。該混合物を室温で6時間攪拌し、得られた樹脂を濾過し、DMF(3×5mL)、MeOH(3×5mL)、DCM(3×5mL)で洗浄し、減圧中で乾燥させた。少量の該化合物を樹脂から切り出し、LC/MSにより解析し、該反応の完了が示された。生じた樹脂中間体8-4を次の工程の反応に使用した。LC/MS: 1192(M+1).

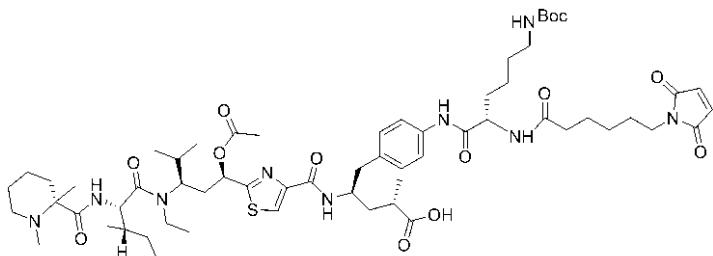
30

【0185】

中間体8-5

40

【化112】



樹脂中間体8-4(0.35g, 0.56mmol)に、DCM(5mL)中のTFA(0.216mL, 2.80mmol)を加えた。該混合物を室温で10分間攪拌した。該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をDMSO中に溶解させ、逆相HPLCにより精製した

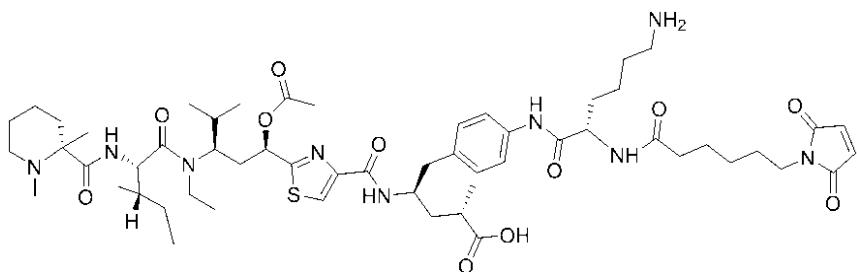
50

(0.1 TFA / 水 / アセトニトリル, 20 - 80 %, 14分)。純粋な生成物を含有するフラクションを凍結乾燥させて、(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1-アセトキシ-3-((2S,3S)-2-((1,2-ジメチルピペリジン-2-カルボキサミド)-N-エチル-3-メチルペンタンアミド)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-5-(4-((S)-6-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-2-(6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)フェニル)-2-メチルペンタン酸(0.123g, 18.42%)を白色の固体として得た。LC/MS: 1192 (M + 1).

【0186】

化合物9

【化113】



中間体85(95mg, 0.08mmol)に、DCM(1mL)中のTFA(0.123mL, 1.59mmol)の溶液を加えた。該混合物を室温で1時間攪拌した。該溶媒を減圧下で留去した。該残渣をDMSO中に溶解させ、逆相HPLCにより精製した(0.1TFA / 水 / アセトニトリル, 10 - 70 %, 10分)。純粋な生成物を含有するフラクションを凍結乾燥させて、(2S,4R)-4-(2-((1R,3R)-1,2-ジメチルピペリジン-2-カルボキサミド)-N-エチル-3-メチルペンタンアミド)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-カルボキサミド)-5-(4-((S)-6-アミノ-2-(6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド)ヘキサンアミド)フェニル)-2-メチルペンタン酸(53.0mg, 50.4%)を白色の固体として得た。LC-MS : 1092 (M + 1).; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) ppm 7.97 (s, 1 H), 7.36 (d, J=8.28 Hz, 2 H), 7.11 (d, J=8.28 Hz, 2 H), 6.65 (s, 2 H), 5.63 (d, J=11.29 Hz, 1 H), 4.34 (dd, J=8.28, 5.77 Hz, 1 H), 4.26 (br. s., 1 H), 3.75-3.60 (m, 1 H), 3.32 - 3.46 (m, 4 H), 3.30-3.25 (m, 1 H), 2.71 - 2.90 (m, 5 H), 2.49 - 2.62 (m, 3 H), 2.27 (t, J=12.05 Hz, 1 H), 2.17 (t, J=7.40 Hz, 3 H) 2.00 - 2.12 (m, 5 H), 1.84 - 1.96 (m, 3 H), 1.72 - 1.84 (m, 4 H), 1.58 - 1.69 (m, 5 H), 1.47 - 1.56 (m, 4 H), 1.36 - 1.44 (m, 5 H), 1.14 - 1.30 (m, 6 H), 1.01 - 1.10 (m, 4 H), 0.93 (dd, J=13.93, 6.65 Hz, 7 H), 0.74 - 0.86 (m, 7 H).

【0187】

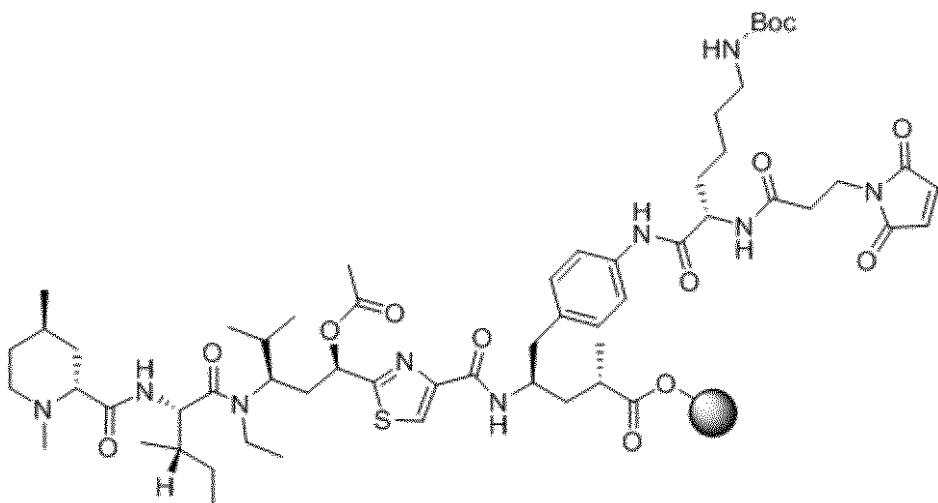
中間体86

10

20

30

【化 1 1 4】

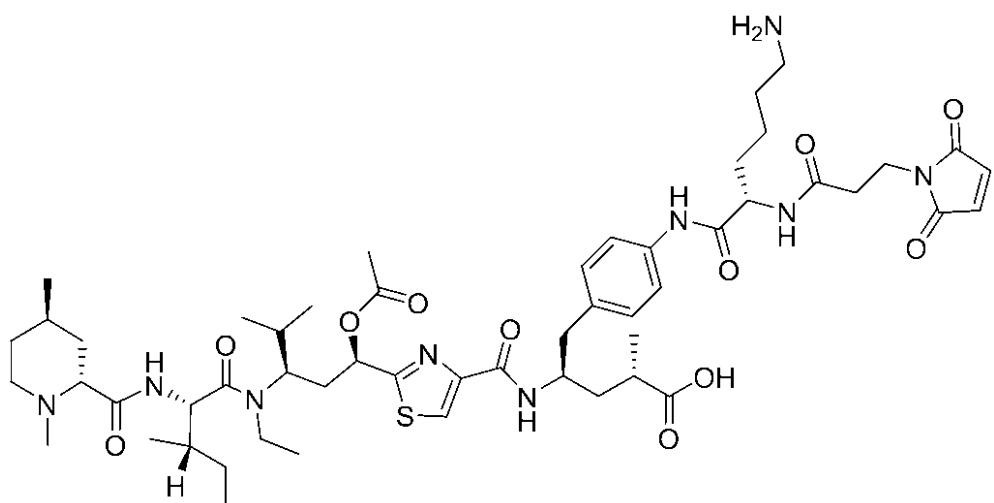


樹脂中間体 75 (0.20 g, 0.16 mmol) に、室温で DCM 中の 2,5-ジオキソピロリジン-1-イル-3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル) プロパノエート (85 mg, 0.32 mmol) の溶液、続いて DIEA (0.056 mL, 0.32 mmol) を加えた。該混合物を室温で 4 時間攪拌し、得られた樹脂を DMF (3 × 3 mL)、DCM (3 × 3 mL)、および MeOH (3 × 3 mL) で洗浄し、減圧下で乾燥させた。少量の化合物を TFA / DCM (1 : 2) で該樹脂から切り出した。該溶媒を蒸発させ、該粗生成物を LC / MS により解析した。LC / MS により、該カップリング反応の完了が示された。LC/MS: 1050.37 (M+1).

〔 0 1 8 8 〕

化合物 1 0

【化 1 1 5】



樹脂中間体 8-6 (0.20 g, 0.16 mmol) に、室温で TFA / DCM (1 : 2, 3 mL) を加えた。該混合物を室温で 10 分間攪拌し、濾過した。該樹脂を DCM (3 × 3 mL) で洗浄し、全ての濾液を合わせて、減圧下で蒸発させて、粗生成物を得た。該粗生成物を逆相 HPLC により精製した (H_2O および CH_3CN (0.1% TFA を含有), CH_3CN 5% ~ 40%, 12 CV の長さ)。収集したフラクションを合わせて、凍結乾燥させて、(2S, 4R) - 4 - (2 - ((1R, 3R) - 1 - アセトキシ - 3 - ((2S, 3S) - 2 - ((2R, 4R) - 1, 4 - ジメチルピペリジン - 2 - カルボキサミド) - N - エチル - 3 - メチルペンタンアミド) - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - カルボキサミド) - 5 - (4 - ((S) - 6 - アミノ - 2 - (3 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 -イル) プロパンアミド) ヘキサンア

ミド)フェニル) - 2 - メチルペンタン酸を白色の粉末 (70 mg, 35%) として得た。LC/MS: 1050.37 (M+1); ¹H NMR (400 MHz, メタノール-d₄) 7.99 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.10 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.65 (s, 2H), 5.64 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 4.56 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.28 (td, J = 11.3, 10.0, 6.1 Hz, 2H), 3.92 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.69 (q, J = 6.8 Hz, 3H), 3.31 - 3.23 (m, 1H), 3.18 (s, 1H), 2.83 (t, J = 7.7 Hz, 3H), 2.76 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.50 - 2.40 (m, 4H), 2.25 (t, J = 12.8 Hz, 1H), 2.06 (s, 4H), 2.00 - 1.69 (m, 8H), 1.69 - 1.52 (m, 6H), 1.53 - 1.31 (m, 4H), 1.28 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.08 (d, J = 7.1 Hz, 7H), 0.92 (dd, J = 13.7, 6.7 Hz, 7H), 0.83 (t, J = 7.4 Hz, 4H), 0.78 (d, J = 6.6 Hz, 3H).

10

【0189】

抱合の一般的な説明

抗体を含有するADCは、標準的な方法、例えば、以下に限定されないが、アルデヒド/シッフ結合、スルフヒドリル結合、酸不安定性結合、シス-アコニチル結合、ヒドラゾン結合、Hamblett, Clin. Cancer Res. 2004, 10, 7063-7070; Doronina et al., Nat. Biotechnol. 2003, 21(7), 778-784、およびFrancisco et al., Blood, 2003, 102, 1458-1465によって記載される方法に類似する方法、および下記の非限定的な例の適当な改変によって調製されてもよい。抗体は、pH 7.2でPBS中の40モル当量のTCEPおよび1 mMのEDTAを37で3時間使用する還元条件下で処理することにより、チオール反応性種、例えば、システイン、グルタチオン、金属類を除去し、抗体中の鎖間ジスルフィド結合を減らす。この工程に続いて、10,000 MWCO透析カセット(Thermo Scientific)を用いて、4でPBS、pH 7.2、1 mM EDTAで2回透析を行う。ジスルフィド結合は、PBS、pH 7.2、1 mM EDTA中に25

で、抗体に対してデヒドロアスコルビン酸で4時間酸化させることによって再形成される。その後、20モル当量の式IIの化合物は、PBS、pH 7.2、1 mM EDTA、10 v/v% DMSO(ジメチルスルホキシド)(Thermo Scientific)で25にて1時間インキュベートすることによって、抗体の反応性チオール基を介して抱合させる。前記複合体は濾過により精製する。抱合反応は、4モル当量のN-アセチルシステイン(Sigma-Aldrich)を加えてクエンチする。該抗体薬物複合体は、5 mM NaPO₄中にてpH 6で20 K MWCOカセットを用いて4で終夜透析し、続いて5 mL セラミックスヒドロキシアパタイト(ChT)タイプIIカートリッジ(Biorad)を用いて精製する。前記複合体を10 mM NaPO₄、pH 6および0~2 M NaCl直線グラジエントを用いてカートリッジから溶出し、濃縮し、20 mM ヒスチジン-HCl、pH 6.0中の透析を用いて緩衝液交換により製剤化することができる。

20

【0190】

インビトロ増殖アッセイ

American Type Tissue Collection (ATCC)(P.O. Box 1549, Manassa, VA 20108 (USA))から取得したヒト癌細胞株集団(DU145、NCI-N87、およびMDA-MB-361)を用いて、本発明のツブリシン化合物の相対的な細胞毒性を決定した。前記細胞は、80 μlの体積中に組織培養処理した96ウェルプレートの1ウェルあたり2,000~5,000個の密度で培地中にプレーティングし、終夜接着させた。5 X 濃度の各試験化合物は、培地中の試験試料を希釈することによって調製した。20マイクロリットルの各試験試料を細胞に2回もしくは3回加え、最終用量曲線を段階的な1:4の連続希釈系で4 μg / mlから61 pg / mlまでの範囲とした。処理した細胞は、37 / 5% CO₂で72~144時間培養した。CellTiter-Glo発光生存アッセイ(Promega)を用いて、相対的な細胞毒性を決定した。簡単に説明すると、100 μlのCellTiter-Glo試薬を各ウェルに加え、軽く振盪させながら室温で10分間インキュベートさせ、続いて各試料の560 nMでの吸光度をPerkin Elmer EnVisionルミノメーターを用いて読み

30

40

50

取った。細胞生存率を下記の式によって算出した：(処理した試料の平均発光 / コントロール (未処理) 試料の平均発光) × 100。IC₅₀ 値は、GraphPad Prism ソフトウェアによるロジスティック非線形回帰分析を用いて決定した。全ての化合物を全ての細胞株に対してアッセイしなかった。表 I は、アッセイのデータを提供する。

表 I

【表 1】

化合物	DU145 IC50 (nM)	HCT116 IC50 (nM)	MB231 IC50 (nM)
化合物 1	0.2	.6	2.5
化合物 2	0.5	ND	ND
化合物 3	0.2	ND	ND
化合物 4	1.3	1.8	3.9
化合物 5	0.9	0.5	3.4
化合物 6	4	1.9	6.6

【0191】

本明細書で引用される全ての参考文献（特許文献、特許出願文献、論文、教科書など）およびそこで引用される参考文献は、すでに存在していない範囲において、全ての目的について全体を援用することにより本明細書に取り込まれるものである。

【国際調査報告】

PCT/US2015/025235 26.06.2015

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 15/25235
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C07D 277/30; A61K 31/426; A61K 31/427 (2015.01) CPC - C07D 417/12; C07D 277/56; C07D 277/28; C07D 277/30; A61K 38/07 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED <small>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</small> CPC: C07D 417/12; C07D 277/56; C07D 277/28; C07D 277/30; A61K 38/07 <small>IPC(8): C07D 277/30; A61K 31/426; A61K 31/427 (2015.01)</small>		
<small>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</small> <small>USPC: 548/200, 548/20 (See Search Words below)</small>		
<small>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</small> <small>PATBASE: Full-text = AU BE BR CA CH CN DE DK EP ES FI FR GB IN JP KR SE TH TW US WO</small> <small>Google: Scholar/Patents: antibody drug conjugate tubulysin 4-methylpiperidine cancer monoclonal 2-methyl 2-ethyl N-methyl piperidine hodgkins peptide succinimide</small>		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2013/0197259 A1 (CHENG et al.) 01 August 2013 (01.08.2013) para [0010];[0011];[0013];[0018]; [0020];[0021];[0092];[0096];[0106];[0118]; [0149];[0156];[0160] Figures 4, 9, 18; pg 24, pg 27	1-39
Y	US 2008/0108820 A1 (CAMPAGNA et al.) 08 May 2008 (08.05.2008) para [0007]; pg 100	1-6, 10-23, 25-33, (34,36-37)/(1-6,10-23,25), 35, 38-39
Y	US 2013/0129753 A1 (DOROSKI et al.) 23 May 2013 (23.05.2013) para [0003]; pg. 137, compound 180	7-8, 24, (34,36-37)/(7-8,24)
Y	US 2006/0148014 A1 (AGOULNIK et al.) 06 July 2006 (06.07.2006) para [0034];[0123];[0125];[0131]	9, (34,36-37)/(9)
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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		
Date of the actual completion of the international search 28 May 2015 (28.05.2015)		Date of mailing of the international search report 26 JUN 2015
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISAUS, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young <small>PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774</small>

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(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,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ラクシュマイア・ジンジバリ

アメリカ合衆国02451マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ35番、アストラゼネカ・アール・アンド・ディ・ボストン

(72)発明者 ドリン・トーダー

アメリカ合衆国20878メリーランド州ゲイザースバーグ、ワン・メディミューン・ウェイ、メディミューン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー

(72)発明者 フエンジャン・ワン

アメリカ合衆国02451マサチューセッツ州ウォルサム、ゲイトハウス・ドライブ35番、アストラゼネカ、アストラゼネカ・インテレクチュアル・プロパティ内

F ターム(参考) 4C063 AA01 BB09 CC62 DD04 DD10 EE01

4C086 AA01 AA02 AA03 BC82 GA07 GA10 MA01 MA04 ZB26