

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-162546

(P2012-162546A)

(43) 公開日 平成24年8月30日 (2012. 8. 30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 213/38 (2006.01)	C O 7 D 213/38 C S P	4 C O 2 2
C O 7 D 295/12 (2006.01)	C O 7 D 295/12 Z	4 C O 5 5
C O 7 D 319/18 (2006.01)	C O 7 D 319/18	4 C O 8 6
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 K 31/5375 (2006.01)	A 6 1 K 31/5375	

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 102 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2012-85676 (P2012-85676)	(71) 出願人	591018268
(22) 出願日	平成24年4月4日 (2012. 4. 4)		アラーガン、インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願2007-553191 (P2007-553191) の分割		A L L E R G A N , I N C O R P O R A T E D
原出願日	平成18年1月25日 (2006. 1. 25)		アメリカ合衆国92612カリフォルニア
(31) 優先権主張番号	60/647, 271		州アーヴィン、デュポン・ドライブ252
(32) 優先日	平成17年1月26日 (2005. 1. 26)		5番
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100068526
			弁理士 田村 恭生
		(74) 代理人	100100158
			弁理士 鮫島 睦
		(74) 代理人	100138900
			弁理士 新田 昌宏
		(74) 代理人	100162684
			弁理士 呉 英燦

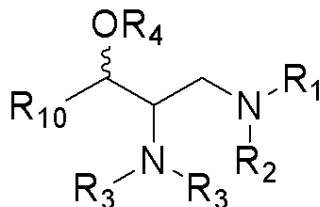
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 鎮痛活性および／または免疫賦活性を有する3-ヘテロアリール-3-ヒドロキシ-2-アミノ-プロピルアミンおよび関連化合物

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 鎮痛剤または免疫賦活剤として有用な新規化合物の提供。

【解決手段】 次式で示される、1-アリール-1-ヒドロキシ-2,3-ジアミノ-プロピルアミンまたは1-ヘテロアリール-1-ヒドロキシ-2,3-ジアミノ-プロピルアミンの誘導体。



(式中、 $R_1 \sim R_4$ はそれぞれ独立にアルキル基等を表し、 R_{10} はアリール基またはヘテロアリール基を表す) 該化合物は、哺乳類において鎮痛活性および／または免疫賦活効果を有する。

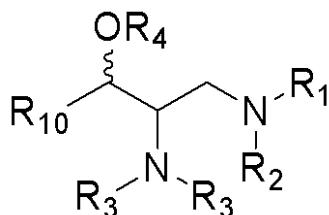
【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次式で示される化合物

【化 1】



[式中、

R_1 は、H または 1 ～ 6 炭素のアルキル、

R_2 は、H、1 ～ 6 炭素のアルキルまたは R_1 および R_2 基は窒素と一緒にあって、N、O および S から独立に選択される 1 または 2 のヘテロ原子を含んでもよい飽和または不飽和の 4、5、6 または 7 員環を形成し、該 4、5、6 または 7 員環はハロゲンまたは 1 ～ 6 アルキル基を有するアルキル基で置換されていてもよく、

R_3 は独立に、H、1 ～ 20 炭素のアルキル、アリールまたはヘテロアリール、アリールアルキルまたはヘテロアリールアルキルから選択され、アルキル部分は 1 ～ 4 炭素を有し、3 ～ 6 炭素のシクロアルキル、該アリールまたはヘテロアリール基はハロゲン、1 ～ 6 炭素のアルキル、1 ～ 6 炭素のアルコキシおよびチオキシ 1 ～ 6 炭素のからなる群から独立に選択される 1 ～ 3 の基で置換されていてもよい、または

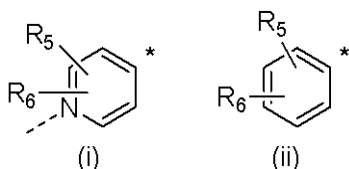
R_3 は $CO-R_7$ または $CO-O-R_7$ であり、ここで R_7 は、H、1 ～ 20 炭素のアルキル、ベンジル、または NH_2 基、 $NHCOO$ アルキルもしくは $NH-CO$ アルキル基で置換された 1 ～ 20 炭素のアルキルであり、アルキル基は 1 ～ 6 炭素を有するか、または R_7 はアリール、ヘテロアリール、アリールアルキルまたはヘテロアリールアルキルであり、アルキル部分は、枝分かれしているまたは枝分かれしておらず 1 ～ 4 炭素を有し、該アリールまたはヘテロアリール基は、ハロゲン、1 ～ 6 炭素のアルキル、1 ～ 6 炭素のアルコキシおよび 1 ～ 6 炭素のチオキシからなる群から独立に選択される 1 ～ 3 の基で置換されていてもよく、

R_4 は、H、1 ～ 6 炭素のアルキルまたは $CO-R_8$ (ここで R_8 は 1 ～ 6 炭素のアルキルである) であり；

波線は R または S 配置を有する炭素に結合した結合を示し、そして

R_{10} は、式 (i) および (ii) の基から選択され

【化 2】



(*は分子の残りの部分がそこへ結合する炭素原子を示す) ；

R_5 および R_6 は、独立に H、1 ～ 6 炭素のアルキル、ハロゲン、1 ～ 6 炭素のアルコキシであるかまたは R_5 および R_6 基がそれらが結合している原子と一緒にあって炭素環または複素環を形成し、炭素環は環に 5 または 6 原子を有し、複素環は環に 5 または 6 原子を有し、ヘテロ原子は N、O および S から独立に選択される 1 ～ 3 個を有し、該炭素環または複素環は、1 ～ 6 個の R_9 で置換されていてもよい R_5 および R_6 により形成され、 R_9 は独立に、ハロゲン、1 ～ 6 炭素のアルキル、1 ～ 6 炭素のアルコキシから選択され、

但し、

R_{10} が式 (ii) を有するとき、 R_4 が水素で R_1 および R_2 が窒素と一緒にあってモルホリンまたはピロリジン環を形成し R_5 および R_6 がいずれも H であるかまたは R_5 および R_6

の一方が OCH_3 で他方が H である化合物は包含しない]
で示される化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

【請求項 2】

R_{10} が式 (i) で表される請求項 1 記載の化合物。

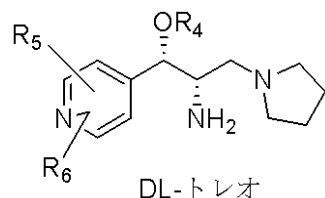
【請求項 3】

R_{10} が式 (ii) で表される請求項 1 記載の化合物。

【請求項 4】

次式

【化 3】



10

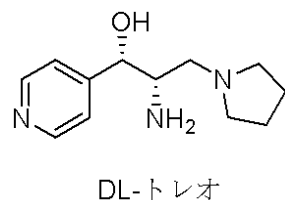
[式中、 R_5 および R_6 は、 H 、アルキルおよびアルコキシから独立に選択され、 R_4 は H または $\text{CO}-\text{R}_8$ である]

を有する請求項 2 記載の化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

【請求項 5】

次式

【化 4】



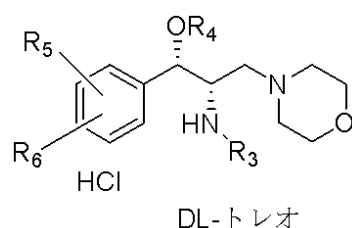
20

を有する請求項 4 記載の化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

【請求項 6】

次式

【化 5】



30

[式中、 R_3 は $\text{CO}-\text{R}_7$ または $\text{CO}-\text{O}-\text{R}_7$ であり、 R_4 は $\text{CO}-\text{R}_8$ であり、 R_5 および R_6 は H 、1～6 炭素のアルキルおよび 1～6 炭素のアルコキシから独立に選択される]

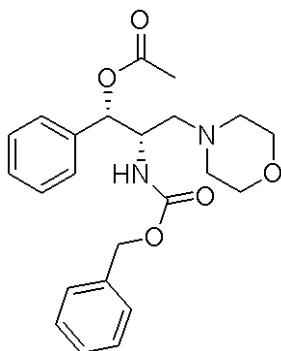
を有する請求項 3 記載の化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

40

【請求項 7】

次式

【化 6】



10

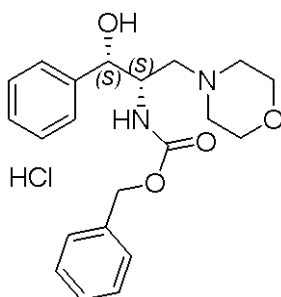
HCl L-トレオ

を有する請求項 6 記載の化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

【請求項 8】

式

【化 7】



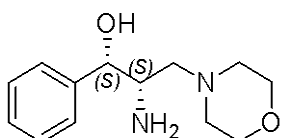
20

で示される化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

【請求項 9】

式

【化 8】



30

2.HCl

で示される化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

【請求項 10】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 1 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 11】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 2 記載の化合物を含有する方法。

40

【請求項 12】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 3 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 13】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 4 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 14】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 5 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 15】

50

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 6 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 1 6】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 7 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 1 7】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 8 記載の化合物を含有する方法。

【請求項 1 8】

鎮痛効果を有する医薬組成物を用いてそのような処置を必要とする哺乳類を処置する方法であって、該組成物が請求項 9 記載の化合物を含有する方法。

10

【請求項 1 9】

請求項 1 記載の化合物および製薬的に許容し得る賦形剤を含有する、哺乳類における疼痛を処置するための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権主張：本出願は、2005年1月26日に出願した米国仮出願第60/647271号の優先権を主張する。

【0002】

20

本発明は、1-アリール-1-ヒドロキシ-2,3-ジアミノ-プロピルアミン、1-ヘテロアリール-1-ヒドロキシ-2,3-ジアミノ-プロピルアミンの誘導体および鎮痛活性およびある場合には免疫賦活活性を有する化合物に関する。

【0003】

また、本発明は、哺乳動物において疼痛を緩和もしくは除去するかつ／または哺乳動物において免疫系を賦活する活性成分として、これらの化合物を含有する医薬組成物、ならびに当該医薬組成物を鎮痛薬および／または免疫賦活薬として使用する方法にも関するものである。

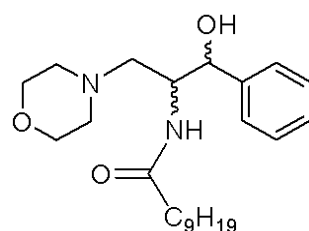
【背景技術】

【0004】

30

1-フェニル-2-デカノイルアミノ-3-モルホリノ-1-プロパノール (PDMP) は、Vunam, R. R. and Radin, N., Chem. Phys. Lipids, 26, 265-278, 1980により発見された。PDMPの製造については、Inokuchi, J. et al., J. Lipid Res. 28, 565-571, 1987; Radin, A. et al., NeuroProtocols, 3(2), 145-55, 1993; Radin, A. et al., J. Lipid Res. 36, 611-621, 1995および米国特許第5916911号に記載されている。

【化1】



40

PDMP

DL-エリトロと
DL-トレオ異性体
の混合物

【0005】

これらの誘導体は、グルコシルセラミド (GlcCer) シンターゼを阻害することによりグルコシルセラミド形成を阻害し、それによりスフィンゴ糖脂質のレベルが低下する。最も活性な異性体は、R,R-(D-トレオ)-配置を有する。合成の間に4種類のエ

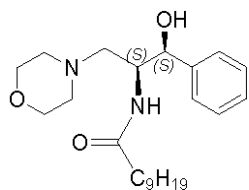
50

ナンチオマーが生じる。グルコシルセラミドシンターゼの阻害において、D-トレオエナンチオマーのみが活性であるので、活性なD-トレオ阻害剤の分割はキラルクロマトグラフィーによって行われた。

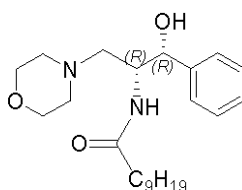
【0006】

さらに、Inokuchi J., Cancer Letters 38(1-2), 23-30, 1987に記載されているように、D-トレオ-PDMPは、スフィンゴ糖脂質生合成の阻害を介して抗腫瘍活性を有する。

【化2】



L-トレオ-PDMP



D-トレオ-PDMP

10

【0007】

さらに、D-トレオ-PDMPがシナプス機能を抑制することが、Mizutani A. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 222, 494-498, 1996によって報告されている。

【0008】

エナンチオマー的に純粋なD-トレオ-PDMPの製造については、Mitchell, Scott A. [J. Org Chem., 63 (24), 8837-8842, 1998]; Miura, T. et al, [Bioorg Med. Chem., 6, 1481-1498, 1998]; Shin, S. et al., [Tetrahedron asymmetry, 11, 3293-3301, 2000]; WO 2002012185に報告されている。

20

【0009】

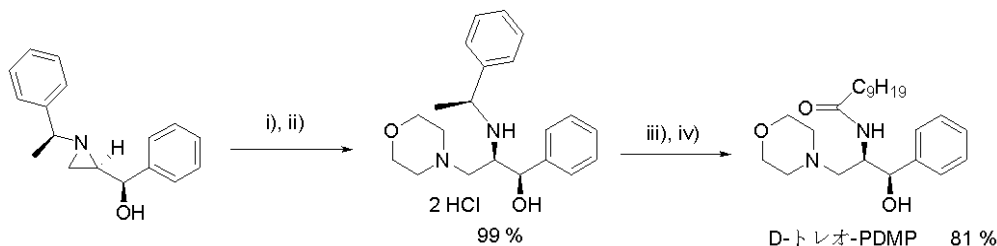
L-トレオ-PDMPは、神経疾患を処置する物質である(WO 95/05177)。この化合物はまた、米国特許第6407064号において、脳を保護するための試薬として記載されている。さらに、八放射迷路課題によるよく覚えさせた空間記憶の損失は、ラットにおける一過性の前脳虚血後のL-トレオ-PDMPでの処置により改善し、Inokuchi et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 845(1), 219-224, 1998および特開平10-324671(生化学工業株式会社)に記載されているように、神経変性障害に対する潜在能力が示唆されている。

30

【0010】

エナンチオマー的に純粋なD-トレオ-PDMPの立体選択的合成は、Shin, S. et al., Tetrahedron asymmetry, 11, 3293-3301, 2000およびWO 2002/012185にも記載されており、鍵となる工程は、活性化されていないエナンチオマー的に純粋なアジリジン-2-メタノールのC(3)-N-結合の、モルホリン等の窒素求核試薬による位置選択的開裂である。

【化3】



40

i) TMS-I, CH₃CN ii) a) モルホリン b) HCl iii) Pd(OH)₂, H₂, AcOH, MeOH, 40°C
iv) 10% NaOH, デカノイルクロリド 81%

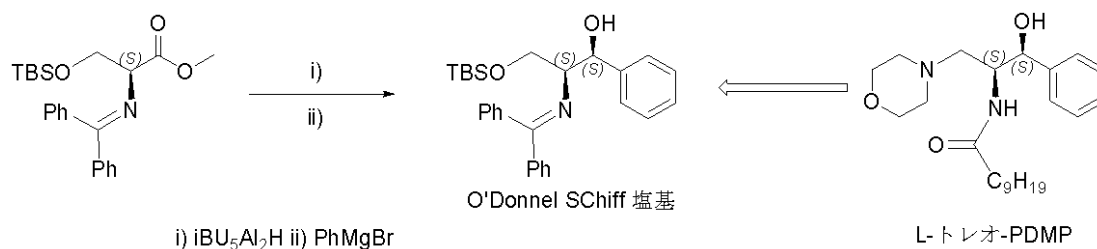
【0011】

一方、L-セリンからの、エナンチオマー的に純粋な(1S, 2S)-1-フェニル-2-デカノイルアミノ-3-モルホリノ-1-プロパノール(L-トレオ-PDMP)の

50

合成もまた、Mitchell, Scott A., J. Org Chem., 63 (24), 8837-8842, 1998に記載されている。

【化4】



10

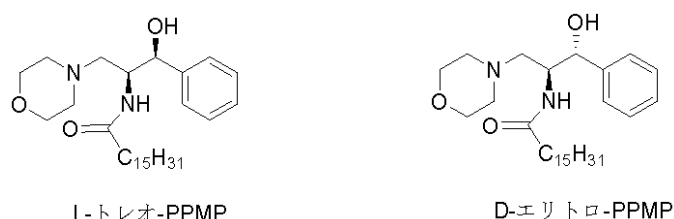
【0012】

L-トレオ-PDMPを得るための他の既知の方法は、Miura, T. et al, Bioorg Med. Chem., 6, 1481-1498, 1998および特開平9-216858号に記載されている。L-トレオ-PDMPは神経疾患の治療物質である(WO95/05177)。この化合物はまた脳を保護する物質として米国特許第6407064号に記載されている。さらに、八放射迷路課題によるよく覚えさせた空間記憶の損失は、ラットにおける一過性の前脳虚血後のL-トレオ-PDMPでの処置により改善し、Inokuchi et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 845(1), 219-224, 1998および特開平10-324671(生化学工業株式会社)に記載されているように、神経変性障害に対する潜在能力が示唆されている。

L-セリンのGarnerアルデヒドを出発物質とする(1S, 2S)-トレオおよび(1R, 2S)-エリトロ-1-フェニル-2-パルミトイルアミノ-3-N-モルホリノ-1-プロパノール(PPMP)の合成は、Nishida, A., Synlett, 4, 389-390, 1998に記載されている。

20

【化5】

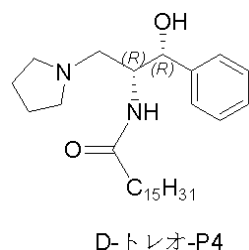


30

【0013】

(デカノイルよりも)長い脂肪鎖アシル基を有する化合物は、GCSの阻害剤として実質的により効果的であることが分かっている。Abe, A. et al., J. Biochem., 111, 191-196, 1992または米国特許第5916911号およびWO2001/004108に記載されているように、D-トレオ-1-フェニル-2-パルミトイルアミノ-3-ピロリジノ-1-プロパノール(P4またはPPPP)アナログは、マンニッヒ反応により最初に得られた。

【化6】



40

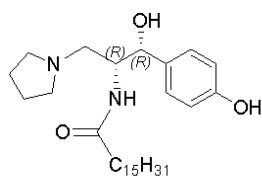
【0014】

GCSの最も強力な阻害剤のひとつであるD-トレオ-4'-ヒドロキシ-P4は、Lee, L. et al., J. Biol. Chem., 274, 21, 14662-14669, 1999に記載されている。さらに、一連のジオキサン置換が設計され試験されている。これらには、3', 4'-メチレンジオキシフェニル-3', 4'-エチレンジオキシフェニル置換された同族体、および3

50

, 4'-トリメチレンジオキシフェニル置換された同族体が含まれている。

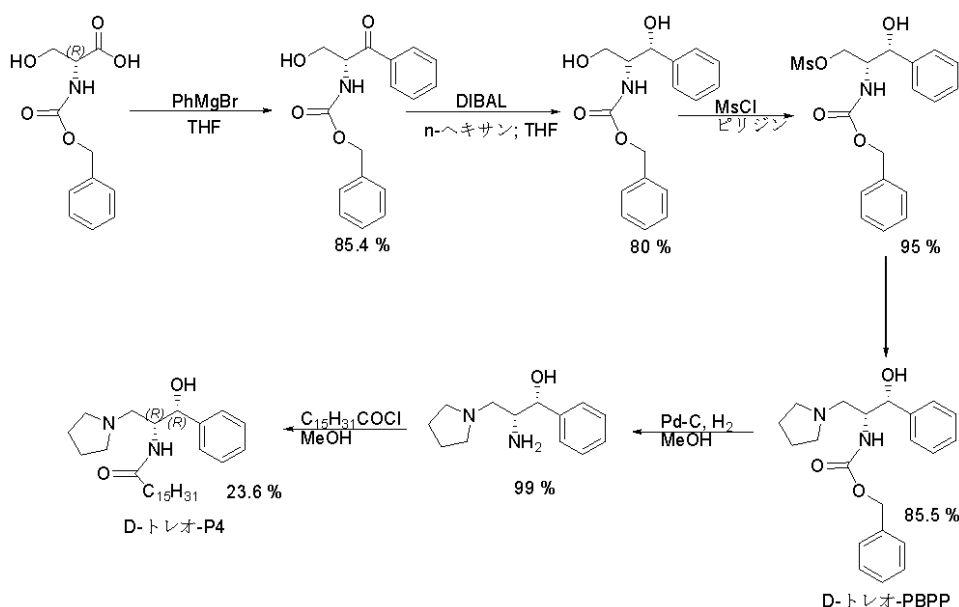
【化 7】



D-トレオ-4'-ヒドロキシ-P4

n-ベンジルオキシカルボニル-D-セリンからのエナンチオマー的に純粋なD-トレオ-1-フェニル-2-ベンジルオキシカルボニルアミノ-3-ピロリジノ-1-プロパノール (PBPP) およびD-トレオ-P4およびそのアナログの合成は、Jimbo M. et al, J. Biochem., 127(3), 485-91, 2000およびEP 782992 (Seikagaku Kogyo Co.)に記載されている。PBPPは強力なGCS阻害剤として記載された。

【化 8】

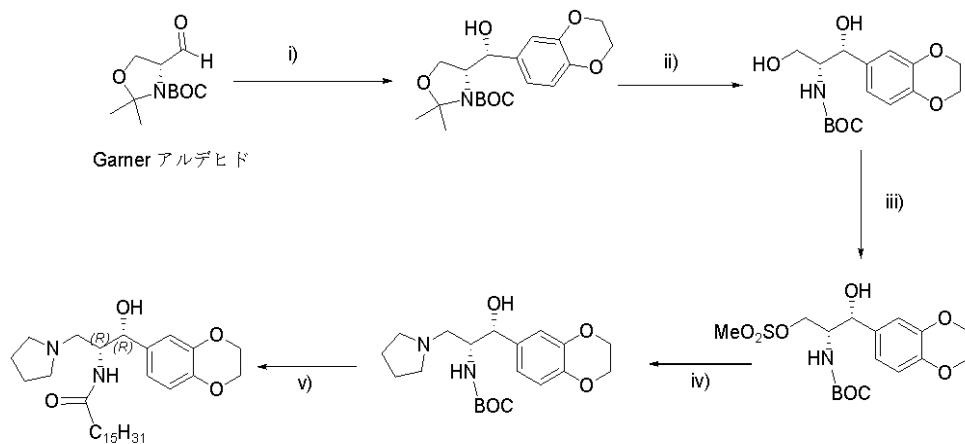


【0015】

P4誘導体の新規プロドラッグは、US 2002/0198240およびWO 2002/062777に記載されている。

エナンチオマー的に純粋なD-トレオ-エチレンジオキシ-P4およびD-トレオ-p-メトキシ-P4の合成は、Husain A. and Ganem B., Tetrahedron Lett., 43, 8621-8623, 2002に記載されている。鍵となる工程は、GarnerアルデヒドへのアリールGrignard試薬の高度のsyn-選択的付加である。

【化 9】



D-トレオ-エチレンジオキシ-P4

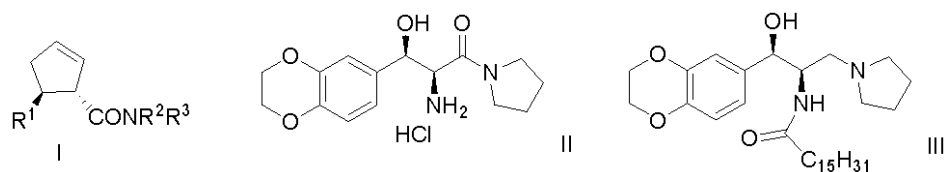
i) 3,4-エチレンジオキシフェニルマグネシウムブロミド, -78°C , CuI, THF:Me₂S, 64 % ii) 0.1 N HCl, THF 82%,
 MsCl, Et₃N, DCM, 0°C , 85 % iii) ピロリジン, DMF, 45°C , 58 % iv) 3 N HCl, 0°C , 室温, その後 C₁₅H₃₁COCl,
 Et₃N, DMAP, DCM, -20°C , 87%

【0016】

P4 アナログのジアステレオ選択的合成は、US 03 / 0153768 および WO 2003 / 045928 (Genzyme Corp.) に記載されている；オキサゾリン I [R¹ = (非)置換されたアリール；R²、R³ = H、(非)置換された脂肪族；NR²R³ = 複素環] を、R¹CHO および R²R³NC(=O)CH₂CN から P4 グルコシルトランスフェラーゼ阻害剤の中間体として製造した。即ち、メチルイソシアノアセテート CNCH₂CO₂Me をピロリジンで処理し、アミドを 1,4-ベンゾジオキサネ-6-カルボキシアリドで処理した後、オキサゾリンをメタノール中 HCl を用いて加水分解し、アミド I I のケト基を LiAlH₄ を用いて還元し、パルミトイルクロリドでアシル化して D, L-トレオ-エチレンジオキシ-P4 I I I を得た。

20

【化 10】

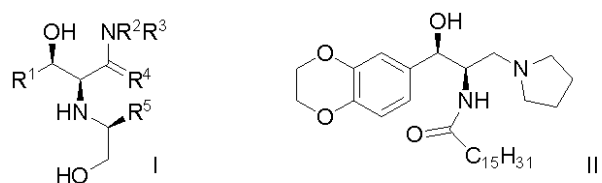


D,L-トレオ-3',4'-エチレンジオキシ-P4

エナンチオ純粋な P4 アナログは WO 2003 / 008399 (Genzyme Corp.) に記載されている。I [R¹、R⁵ = 非 (置換) 芳香族；R²、R³ = H、非 (置換) 脂肪族；NR²R³ = (非) 置換非芳香族複素環；R⁴ = O、H₂] 等の P4 誘導体は、GCS 阻害剤として治療用として製造された。即ち、D-トレオ-エチレンジオキシ-P4 は、S-(+)-Ph グリシノール、フェニル-α-プロモアセテート、1,4-ベンゾジオキサネ-6-カルボキシアリド、ピロリジンおよびパルミトイルクロリドを出発物質として、多段階の合成経路によって製造された。

40

【化 11】



D-トレオ-3',4'-エチレンジオキシ-P4

【0017】

Slavish., J. P. et al., Bioorg Med. Chem. Lett., 14, 1487-1490, 2004 に記載されているように、芳香族環にエーテル置換基を有する新しい D-トレオ-P4 アナログが最

50

近 D-セリンから合成され、昆虫胚細胞系における軸索伸張を抑制することが分かった。

【0018】

本発明の背景について記載するさらなる文献としては、米国特許第 5,945,442 号；同第 5,952,370 号；同第 6,030,995 号；および同第 6,051,598 号；Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals (1996), 38(3), 285-97；国際公開公報 WO 01/38228；および Kastron et al. Latvijas PSR Zinatnu Akademijas Vestis, Kimijas Serija (1965) (4), 474-7 が挙げられる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0019】

10

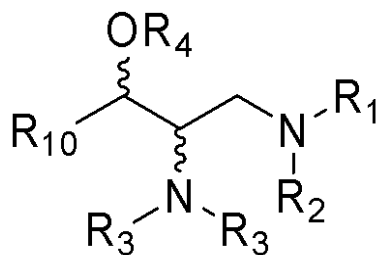
重要なことに、本発明者らの最新の知識によれば、本発明の新規化合物に構造的に類似する従来技術の化合物に、鎮痛剤または免疫賦活剤として知られているものはない。

【課題を解決するための手段】

【0020】

本発明は、式 1

【化 1 2】



20

式 1

〔式中、

R₁ は、H または 1 個～6 個の炭素のアルキルであり、

R₂ は、H、1 個～6 個の炭素のアルキルであるか、R₁ および R₂ の基が、窒素と一緒にあって、N、O および S から独立に選択される 1 個または 2 個のヘテロ原子を所望により含む飽和または不飽和の 4、5、6 または 7 員環を形成し、当該 4、5、6 または 7 員環は、ハロゲン、COOH、CH₂OH、OH、B(OH)₂、シアノでまたは 1 個～6 個のアルキル基を有するアルキル基で所望により置換されており、

30

R₃ は、H、1 個～20 個の炭素のアルキル、アリールもしくはヘテロアリール、アリール-アルキル、またはアルキル部分が 1 個～4 個の炭素を有するヘテロアリール-アルキル、3～6 炭素のシクロアルキルから独立に選択され、当該アリールまたはヘテロアリール基は、ハロゲン、1 個～6 個の炭素のアルキル、1 個～6 個の炭素のアルコキシおよび 1 個～6 個の炭素のチオキシからなる群から独立に選択される 1 個～3 個の基で所望により置換されているか、R₇ は、CO-R₇ または CO-O-R₇ であり、但し、R₇ は、H、1 個～20 個の炭素のアルキル、ベンジル、NH₂ 基もしくはアルキル基が 1 個～6 個の炭素を有する NHCOO アルキル基または NH-CO アルキル基で置換されている 1 個～20 個の炭素のアルキルであるか、または R₇ は、アリール、ヘテロアリール、アリール-アルキルまたはヘテロアリール-アルキルであってアルキル部分が分岐または分岐していない 1 個～4 個の炭素を有しており、当該アリールまたはヘテロアリール基は、ハロゲン、1 個～6 個の炭素のアルキル、1 個～6 個の炭素のアルコキシおよび 1 個～6 個の炭素のチオキシからなる群から独立に選択される 1 個～3 個の基で所望により置換されており；

40

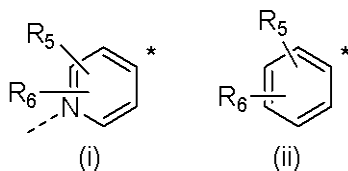
R₄ は、H、1～6 炭素のアルキルまたは CO-R₈（ここで R₈ は 1～6 炭素のアルキルである）であり；

波線は R または S 配置を有する炭素に結合した結合を示し、および

R₁₀ は、式 (i) および (ii) からなる群から選択され

50

【化 1 3】



*は分子の残りの部分がそこへ結合する炭素原子を示し；

R₅およびR₆は、独立にH、1～6炭素のアルキル、ハロゲン、1～6炭素のアルコキシであるかまたはR₅およびR₆基がそれらが結合している原子と一緒に炭素環または複素環を形成し、炭素環は環に5または6原子を有し、複素環は環に5または6原子を有し、ヘテロ原子はN、OおよびSから独立に選択される1～3個を有し、

該炭素環または複素環は、1～6個のR₉で置換されていてもよいR₅およびR₆により形成され、R₉は独立に、ハロゲン、1～6炭素のアルキル、1～6炭素のアルコキシから選択され、

但し、

R₁₀が式(i i)を有するとき、式1は、R₄が水素でR₁およびR₂が窒素と一緒にあってモルホリンまたはピロリジン環を形成しR₅およびR₆がいずれもHであるかまたはR₅およびR₆の一方がOCH₃で他方がHである化合物は包含しない]

で示される化合物に関し、本発明はまた、該化合物の製薬的に許容し得るすべての塩に関する。

【0021】

また、本発明は、上記の新規な化合物を含有する、哺乳動物において鎮痛薬および／または免疫賦活薬として使用する医薬組成物、ならびに当該医薬組成物を鎮痛薬または免疫賦活薬として使用方法に関する。

【発明を実施するための最良の形態】

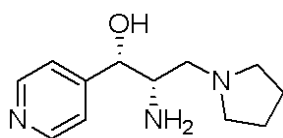
【0022】

本発明の化合物の一般的な説明は、本特許出願の課題を解決するための手段で述べられている。ほとんどの本発明の化合物は、1個または複数の不斉中心を含有し、そのため、そのような化合物には、鏡像異性体およびジアステレオ異性体が存在することができる。事実上、ほとんどの本発明の化合物は、互いに隣接する2個の不斉炭素を有し、したがって、エリトロ形またはトレオ形として存在することができ、これらの2種の形のそれぞれが、右旋性(D)または左旋性(L)の鏡像異性体を有する。本発明によれば、通常、鎮痛活性を得るには、トレオ形が好ましいが、特に別途述べない限り、本発明の範囲には、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、およびジアステレオ異性混合物またはラセミ混合物の全てを含む。上記に照らして、本出願においては、「DL」または「(+/-)」または「(±)」が指定されている場合には、純粋な右旋性鏡像異性体、純粋な左旋性鏡像異性体、および2種の鏡像異性体が均等または不均等な割合で存在する混合物を含む、全てのラセミ混合物を含むことを明確に理解されたい。さらに、簡素化のために、下記の例においてなど、構造式の多くにおいて、鏡像異性体の1種のみが実際に示されているが、「DL」または「(+/-)」または「(±)」が指定されている場合には、当該式で実際に示されている構造の鏡像異性体(鏡映像)も含まれる。

【0023】

例えば：

【化 1 4】



DL-トレオ または
±-トレオ

10

20

30

40

50

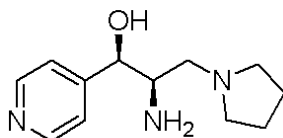
である。

【0024】

したがって、上記の例では、鏡像異性体の1種のみが示されているが、「DL」（または「(+/-)」または「(±)」）が、式の下に指定されているので、その光学異性体

【0025】

【化15】



10

および2種の光学異性体のラセミ混合物の全ても含まれる。

【0026】

本発明のいくつかの化合物の場合には、トレオ形、およびエリトロ形の一部において、一方の鏡像異性体が、同一の対の他方の鏡像異性体よりも、鎮痛薬として顕著に活性が高いことがある。このため、他方より顕著に活性が高い、単離された鏡像異性体を、たとえ同一の化合物のラセミ混合物または他方の対応する鏡像異性体が従来技術にすでに記載されている場合であっても、新規な発明組成物と見なすものとする。

【0027】

本発明の新規な化合物のいくつかは、3個以上の不斉中心を含有する。

【0028】

広い意味では、異性体、鏡像異性体およびラセミ混合物の全てが、本発明の範囲に属するが、読者である当業者には、上記の例を記憶にとどめれば、個々の記載されている例の範囲が容易に理解されるであろう。

20

【0029】

化合物の一般的な説明および定義における「アルキル」という用語には、直鎖および分枝鎖のアルキル基が含まれる。

【0030】

一般に、本発明の化合物は、製薬的に許容される酸または塩基と塩を形成することができ、式1の化合物の製薬的に許容される塩も、本発明の範囲に属する。

【0031】

式1の新規な化合物について述べると、 R_5 および R_6 基は好ましくはいずれもH、アルキル、アルコキシから独立に選択され、さらにより好ましくはHである。好ましい化合物においては、 R_3 基は好ましくはいずれもHであるか、または R_3 基の一方がHであり、他方がアシル基またはアリーラルアルキルカルボイル基である。 R_4 基は好ましくはH（但し、上記但書き参照）またはアルカノイルであり、 R_1 および R_2 基は好ましくはピロリジノまたはモルホリノである。

30

【0032】

本明細書中、本発明の最も好ましい新規な化合物を以下の表中の構造式および／または例示的な化合物の、鎮痛薬および／または免疫賦活薬として作用する能力に関する活性を示す説明を付けて開示する。

40

【0033】

生物学的活性、投与形態

本発明の新規な化合物は、哺乳動物において、鎮痛活性および／または免疫賦活活性を有する。背景技術に記載した化合物のいくつかは、当技術分野においては、それ自体が既知であるが、本発明の発明者らによって、哺乳動物において鎮痛効果も示すことが発見された。本発明の発明者らの知る限りにおいては、これらの既知の化合物の鎮痛活性または免疫賦活性の生物学的活性は、今回発見されるまでは知られていなかった。

【0034】

慢性の疼痛（特に、末梢性神経障害）における化合物の鎮痛効果の測定に用いる、当技術分野で認められているモデルまたはアッセイは、KimおよびChung 1992、

50

Pain 150、pp 355-363 (Chungモデル)として知られるモデルである。このモデルでは、実験動物の片側のL5（および所望によりL6）脊髄神経を外科的に結紮することになる。ラットは、手術から回復するにつれ、体重が増加し、正常なラットに類似する通常の活動のレベルを示す。しかし、これらのラットは、足においては異常を示すようになり、後足が中等度に裏返り、つま先が一緒になって離れなくなる。より重要な点は、手術を受けた側の後足では、機械的刺激に対する感受性の閾値が低下し、かすかな接触感の代わりに疼痛を感じるようになることである。正常であれば無痛性の接触に対するこのような感受性は、「接触性アロディニア」と呼ばれ、手術後1週間以内に発生し、少なくとも2ヶ月は持続する。アロディニア応答には、刺激から逃れるために手術を受けた後足を持ち上げること、足をなめること、および足を何秒間も空中に保つことが含まれる。これらの応答はいずれも、対照群では、通常認められない。

10

【0035】

接触性アロディニアを発生させるために、ラットに手術前に麻酔をかける。術部を剪毛し、ベタダインまたはノボケインのいずれかをを用いて手術に備える。第8胸椎から仙骨に向かって下方に切開する。L4～S2のレベルにおいて、脊椎（左側）から筋肉組織を分離させる。L6椎の位置を決定し、横突起を小型の骨鉗子を用いて注意深く取り除いて、L4～L6脊髄神経を露出させる。L5およびL6脊髄神経を単離し、6-0絹糸を用いて、しっかりと結紮する。対照として、同一の処置を右側に施すが、脊髄神経の結紮は行なわない。

【0036】

止血が完全であることを確認した後、創部を縫合する。少量の抗生物質の軟膏を切開部に施用し、調節されている熱-温度ランプ下にある回復用のプラスチック製ケージに、ラットを移す。

20

【0037】

手術後少なくとも7日後である実験日には、通常、6匹のラットを各試験群に用い、試験薬剤を腹腔内注射（i. p.）または経口胃管栄養法（p. o.）によって投与する。i. p. 投与では、化合物を水中で調製し、1 ml / kg 体重の容量で腹腔内に注射することによって投与する。p. o. 投与では、化合物を水中で調製し、1 ml / kg 体重の容量で、食道を介して胃内にゆっくり挿入する18ゲージの、3インチ胃管栄養針を使用して投与する。

30

【0038】

接触性アロディニアをフォンフレイの触毛を介して評価する。これは、一連の硬度が少しずつ異なる細い毛である。金網製の底を有するプラスチック製のケージにラットを入れ、約30分かけて順応させる。投与前のベースラインを確立するために、フォンフレイの触毛をラットの後足の足底の中央部分に、わずかなバックリングに十分な力で、網を介して垂直に接触させ、6～8秒間保持する。接触させる力は、0.41～15.1グラムの範囲であるように計算されている。足が素早く引っ込む場合には、陽性の反応と見なされる。正常な動物は、この範囲の刺激には応答しないが、外科的に結紮した足は、1～2グラムの毛に応答して引っ込む。足の引っ込め50%閾値を本明細書に参照によって組み入れられているDixon, W.J., Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.20:441-462(1980)の方法を用いて求める。投与前と投与15、30および60分後に、接触性アロディニアを測定する。投与後の閾値を投与前の閾値と比較し、15.1グラムの正常閾値に基づいて、接触感受性の低下率を計算する。

40

【0039】

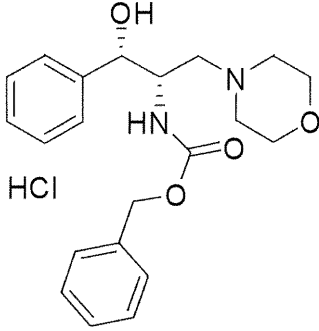
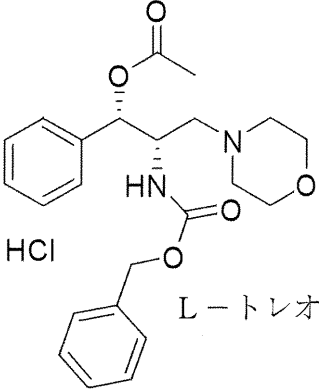
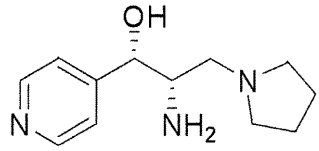
以下の表1に、Chungモデルにおいて、本発明の例示的な化合物を用いて得られた疼痛の低下の程度を示す。化合物の腹腔内（i. p.）および／または静脈内（i v）投与の用量は、術後、1 μg / kg～300 μg / kgまたは3 mg / kgの範囲であり、アロディニアの低下率のピークを投与15、30または60分後に測定し、表に示した。ラットのChungモデルにおいては、アロディニアの低下は、最低でも20%とし、データは、（投与後15分、30分または60分の3時点のいずれかにおける）アロディニ

50

アの低下率の最大値として表した。群間（投薬処置群対食塩水処置群）の比較を両側独立2標本t検定を用いて行なった。300 μ g/kgを腹腔内投与した後、鎮痛性を統計的に示さなかった化合物は、示されていないが、これらにも鎮痛性がある場合がある。100 mg/kgで有意な鎮痛性を示さない化合物は、鎮痛性があるとは見なさない。

【表1】

TABLE 1

化合物番号	化学式	疼痛軽減のピーク (%) 投与後の時間	用量 (μ g/kg) 投与方法
1	 HCl	44% 30分	300 μ g/kg I P
3	 HCl L-トレオ	92% 60分	300 μ g/kg I P
46	 DL-トレオ	96% 60分	30 μ g/kg I P

【0040】

免疫の賦活の測定に用いる、当技術分野で認められている方法は、化合物の全身投与を含み、恐らく血液リンパ細網系の上方制御によって、免疫系を賦活する能力を試験する。この上方制御によって、T細胞およびB細胞の両方の系列のリンパ球の数を増加させることが可能であると思われる。出願人は、免疫賦活のこの生物学的理論に縛られるつもりはないが、実験用のラットに試験化合物を投与し、それに応答する脾臓の大きさを試験することによって、化合物の実際の免疫賦活効力をin vivoにおいて実証することができる。一般に、200 mg/kgまたはそれ以下の投与により脾臓を拡大させる化合物はいずれも、免疫賦活薬と見なすことができる。

【0041】

投与形態：

本発明の化合物を薬学的有効量で投与することができる。通常、そのような投与量は、所望の治療効果を達成するために必要とする最少の用量である。慢性疼痛の治療においては、この量は、およそ、疼痛によって生じる不快感を低減させるのに必要とする量であろう。一般に、ヒト成人では、そのような用量は、0.1～5000mg/日の範囲であり、より好ましくは、1～3000mg/日の範囲であり、さらにより好ましくは、10～1000mg/日の範囲である。しかし、所与の症例において投与する化合物の実際の量は、疼痛の重症度、患者の年齢および体重、患者の全身状態、疼痛の原因、ならびに投与経路など、関連する状況を考慮して医師が決定するものとする。

10

【0042】

本化合物は、哺乳動物、特に、ヒトにおいて、疼痛の治療に有用である。好ましくは、本化合物は、錠剤、液剤、カプセル剤、散剤など、いずれかの許容される剤型で、経口的に患者に投与される。しかし、その他の経路が望ましい場合または必要である場合があり、特に、患者が悪心を訴える場合がそうである。そのようなその他の経路として、例外なしに、経皮、腹腔内、非経口、皮下、鼻腔内、くも膜下腔内、筋肉内、静脈内および直腸内による送達の形態があげられる。本発明の別の態様では、本発明の新規な化合物と、これらの化合物の製薬的に許容される塩と、製薬的に許容される賦形剤とを含む治療用組成物を対象とする。そのような賦形剤は、担体または希釈剤となることができる。多くの場合、これを活性のある化合物と混合する、またはこれで活性のある化合物を希釈もしくは封入する。希釈剤の場合、この担体は、活性のある化合物に対して、賦形剤またはビヒクルとして作用する固体、半固体、または液体の材料であることができる。処方は、湿潤剤、乳化剤、保存剤、甘味剤、および/または矯味剤も含むことができる。眼科用または注入用の場合、多くの場合、処方の浸透圧を変化させるために、処方は、1種または複数の塩を含有するであろう。

20

【0043】

本発明の別の態様では、本発明の対象は、疼痛、特に、慢性疼痛を1種または複数の、本発明の新規な、もしくはそうでなければ既知の化合物、またはそれらの製薬的に許容される塩をそれを必要とする哺乳動物に投与することによって治療する方法である。上記で示したように、多くの場合、本化合物は、所望の送達形態に合致した剤型に製剤化される。

30

【0044】

免疫賦活薬である本発明の化合物は、鎮痛活性を有する化合物と同一の原理に基づいて、症例毎および/または種毎に、ヒトの場合には、時に、患者毎に、最適な用量で投与される。一般に、有効量は、10μg/kg～200mg/kgの範囲であろう。

【0045】

本発明の化合物を得るための合成方法、実験例

本発明の化合物を以下の実験例に記載する合成方法、または本開示に照らせば当業者には容易に明らかになるであろうような、以下に記載する実験的方法の変法を利用して合成することができる。

40

【0046】

一般論

Advance 300分光計(Bruker製)を用いて、室温で¹H NMRスペクトルを記録した。Waters 2525ポンプ、Waters 2696フォトダイオードアレイ検出器およびXTerraカラム(Part. No.186000482、5μm、C18、4.5×50mm)を備えるWaters Autopurification Systemを使用して、逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって、化合物を分析した。使用したHPLC法では、7分間で、溶媒Bの濃度を5%から100%に変化させた。溶媒Aは、0.05%TFAを有する水であり、溶媒Bは、0.05%TFAを有するCH₃CNであった(方法A)。Buchib-545型融点測定装置を用いて、

50

融点を測定したが、補正はしなかった。反応生成物を単離するために、回転式真空蒸発器を使用して溶媒を蒸発させて除去した。水浴の温度は、40℃以下とした。

【0047】

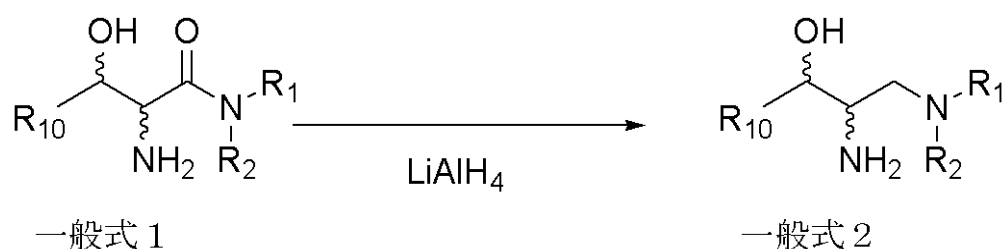
一般的合成経路

本発明の化合物を一般的な意味では直下に、さらにより詳細には本出願の実験例の項に記載する合成法を利用することによって、または本開示に照らせば当業者には容易に明らかになるであろうような、以下に記載する実験例の方法の変法によって合成することができる。

【0048】

置換された「1-ヒドロキシループロピルアミン」である本発明の化合物の一般的合成経路は、対応する置換された「3-ヒドロキシループロピルアミド」化合物を経たのち、「カルボン酸アミド」部分のカルボニル基を、水素化アルミニウムリチウム等の還元剤還元剤で還元することにより行うことができる。

【化16】



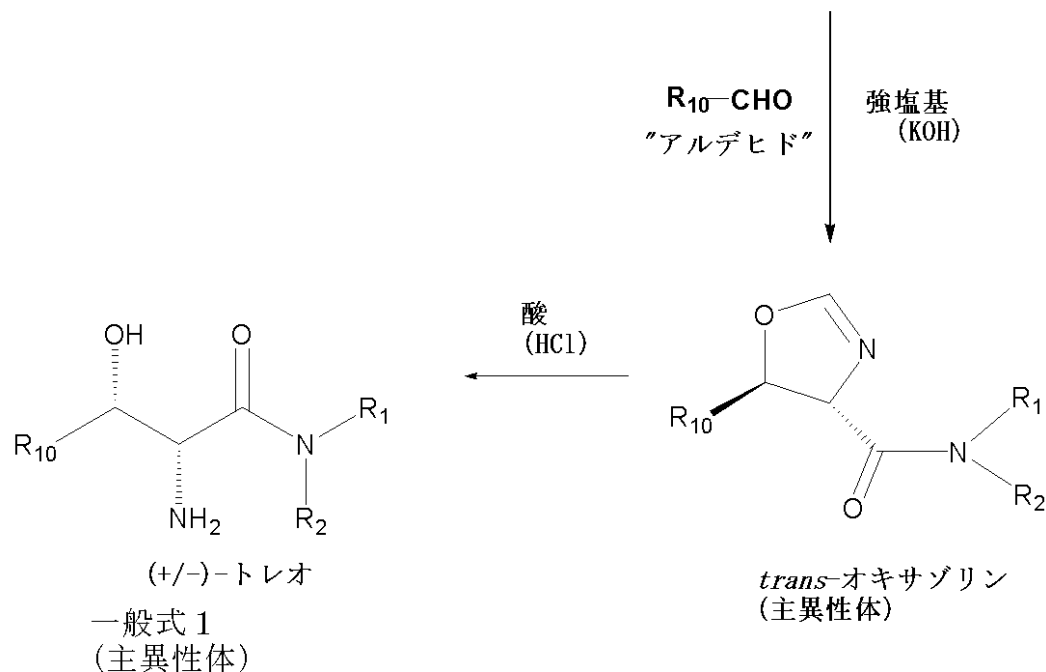
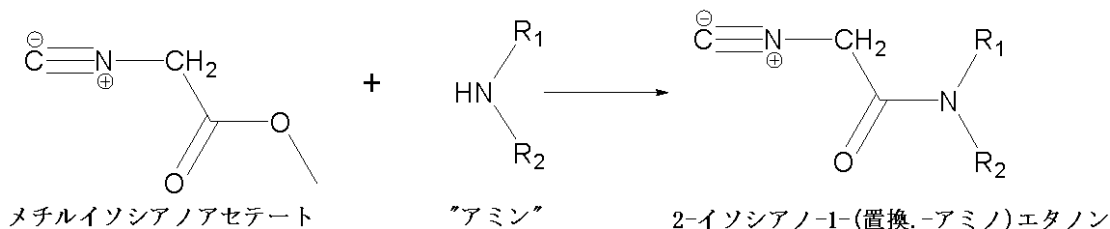
一般的合成反応スキームA

この反応を一般的合成反応スキームAに示す。ここで、一般的に言えば、置換基は本願の要旨の項に記載した意味を有する。有機合成の当業者は、 R_1 、 R_2 および R_{10} に指定した置換基の性質によっては、還元工程を実施するために特定の基を保護することが必要になり得ることを容易に理解する。

【0049】

置換された「3-ヒドロキシループロピルアミド」化合物は、一般的に言えば、以下の一般的スキーム1および一般的スキーム2に記載するように合成することができる。

【化 1 7】



一般的スキーム 1

【0050】

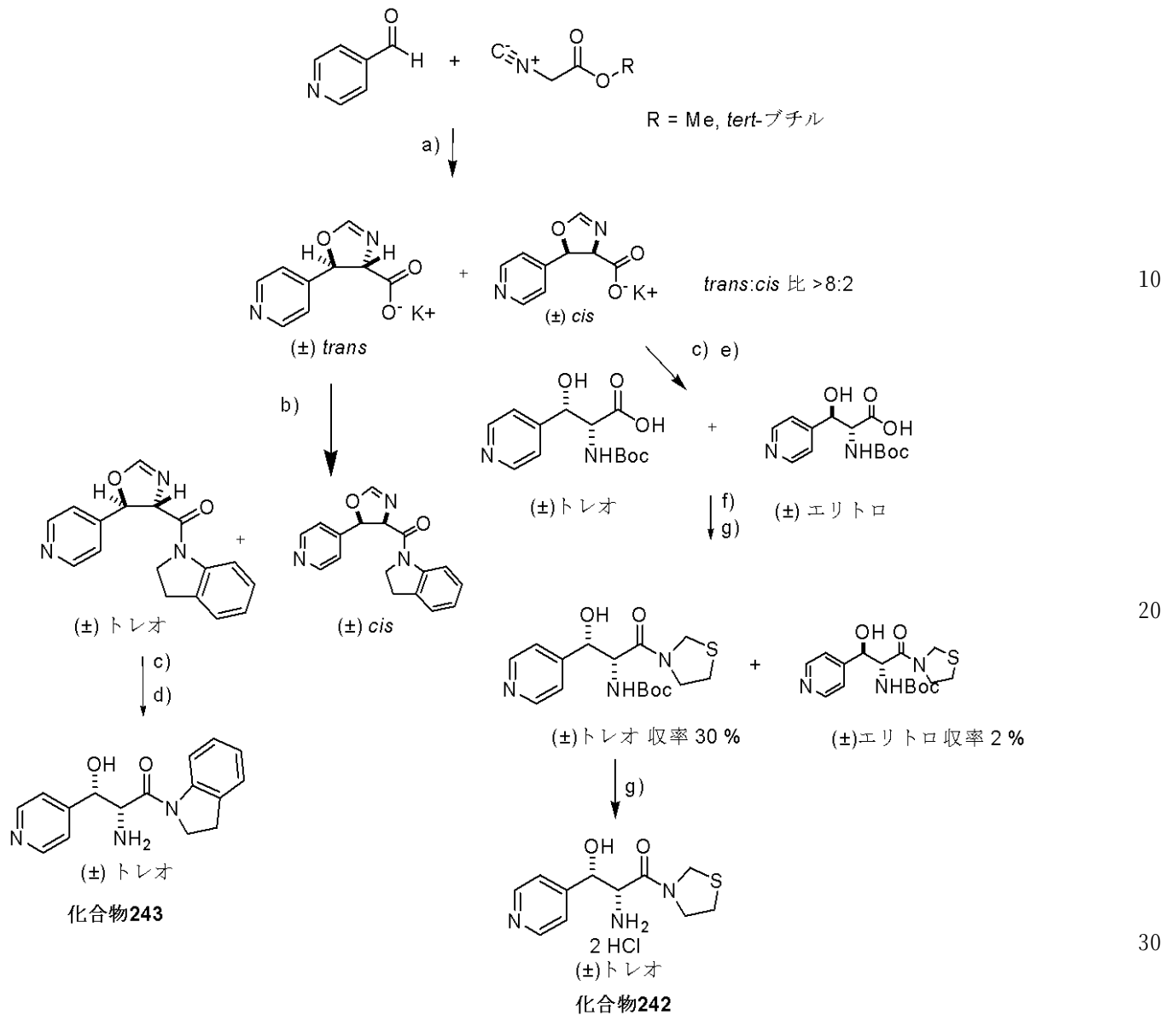
したがって、一般的スキーム 1 によれば、イソシアノ酢酸メチル（または市販されているイソシアノ酢酸エチル）を R_1 および R_2 基を含む「アミン」と反応させて、一般反応スキーム 1 に示す 2-イソシアノ酢酸アミド誘導体を得る。反応に使用するアミンの典型的な例は、ピロリジン、ペペリジン、アゼチジン、モルホリン、2, 5-ジヒドロ-1H-ピロール、ジエチルアミンなどのジアルキルアミン、3-フルオロ、3, 3-ジフルオロもしくは 3-ヒドロキシ置換ピロリジンである。次いで、2-イソシアノ酢酸アミド誘導体を（KOH などの）塩基の存在下、 R_{10} 基を含む「アルデヒド」と反応させて、一般的スキーム 1 に示すような、ジアステレオ選択性の高いトランス「オキサゾリン」を得る（通常、トランス：シス比は、 $>97:3$ ）。次いで、トランスのオキサゾリンを HCl などの強酸で処理し、開環して、一般反応スキーム 1 に示すような、本発明のトレオ-3-置換-3-ヒドロキシ-2-アミノ-プロピオン酸アミド中間体（通常、トレオ：エリトロ比が、 $>97:3$ である）を得る。

【0051】

式 NHR_1R_2 のアミノ基が、インドリン、チオモルホリンなどの弱い求核試薬である式 1 のまたは一般反応スキーム 1 の化合物は、（±）-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-1-（インドリン-1-イル）-3-（ピリジン-4-イル）プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物 243、および（±）-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-1-（チアゾリジン-3-イル）-3-（ピリジン-4-イル）プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物 242 を合成するためのスキーム 2 に示すように合成することができる。

【0052】

【化 18】



a) KOH, MeOH; b) インドリン, EDCI, TEA, HOBT, CH₂Cl₂; c) HCl (1M)(MeOH中) d) i. シリカゲルクロマトグラフィー, ii HCl (0.1M) (*i*-PrOH中) e) BOC₂O, NaOH, ジオキサン; f) チアゾリジン, EDCI, TEA, HOBT, CH₂Cl₂; g) シリカゲルクロマトグラフィー g) HCl (1M)(MeOH中).

スキーム 2

【0053】

スキーム 2 において、EDCI は、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-エチルカルボジイミド塩酸塩の略語であり、HOBT は、1-ヒドロキシベンゾトリアゾールの略語であり、BOC₂O は、二炭酸ジ-*t*-ブチルの略語であり、TEA は、トリエチルアミンの略語である。化合物 242 および 243 は一般合成反応式 A に記載したように還元して本発明の化合物を得ることができる。

【0054】

別の一般的な合成経路は、本明細書の開示に照らして当業者に明かな修飾を加え、以下に実施例に具体的に記載された化合物 1、化合物 2 および化合物 3 の合成に一般的に従う。

【0055】

異性体として純粋である、および／または鏡像異性体として純粋である化合物、ならびに本発明の 3-置換-3-ヒドロキシ-2-アミノプロピオン酸アミド中間体または置換された 1-ヒドロキシプロピルアミンのさらなる誘導体は、分離の手法および反応によって得られ、それら自体は、合成系の化学者には周知である。いくつかの典型的な分離の手法および反応を一般的に下記に記載する。

【0056】

トレオおよびエリトロの異性体の分離は、両方が本発明の化合物に至る反応で形成される場合には、通常、クロマトグラフィーの方法によって分離することができる。クロマトグラフィーによる分離は、本発明の置換された 3-ヒドロキシプロピオン酸アミド中間体化合物のレベルで、または置換された 1-ヒドロキシプロピルアミン化合物のレベルで行うことができる。

10

【0057】

より豊富に形成したトレオ異性体はまた、プロパン酸部分の 3 位のヒドロキシル基をケトンレベルに酸化したのち、中間体の 3-置換-3-ヒドロキシ-2-アミノプロピオン酸アミド化合物または本発明の化合物において生じたケトンヒドロキシルレベルに還元することにより、エリトロ異性体に変換することができる。

【0058】

鏡像異性混合物の分離は、当技術分野で周知である Chiral pack カラム上で行うことができる。

【0059】

20

一般に、プロピルアミン部分の 2 位のアミノ官能基は、1 位のヒドロキシル基よりも、アシル化およびカルバモイル化に対して、反応性が高い。したがって、2-アミノ官能基のアシル化誘導体を塩化アセチル、塩化ヘキサノイルのような塩化アシルを使用することによって調製することができる。または、本発明の化合物の 1-ヒドロキシおよび 2-アミノ基を同じ反応でアシル化することができる。2-アミノ官能基のカルバミン酸誘導体をベンジルクロロホルマートのようなクロロホルマートを使用することによって得ることができる。また、第三級ブチルカルバモイル官能基またはベンジルカルバモイル官能基を 2-アミノ官能基の離脱可能な保護基として用いることもできる。

【0060】

2-アミノ官能基のアルキル化は、2-NH₂基を有する化合物をアルデヒドと縮合させて Schiff 塩基中間体を得、これを単離することなく還元して、本発明の N-アルキル、アリーラルキルまたはヘテロアリーラルキル化合物を得ることによって行うことができる。

30

【実施例】

【0061】

好ましい化合物の合成に関する詳細な説明（実験例）

D-トレオ-2-アミノ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オール二塩酸塩、化合物 4 の製造

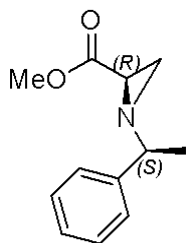
(R)-メチル 1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルボキシレート、E B E 0 6 0 4 4 B

40

2,3-ジブromoproピオン酸メチル (25 mL、198 mmol) のトルエン溶液 (5 °C) にトリエチルアミン (55 mL、0.39 mmol) のトルエン溶液 (100 mL) を加えた。5 分間攪拌した後、(S)-(1)-フェネチルアミン (25 mL、198 mmol) のトルエン溶液 (100 mL) を滴加した。懸濁液を 3 時間還流した後冷却し、濾過し、揮発性成分を減圧下で留去して残留物を得、これをカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 950 g、シクロヘキサン中 0~20% EtOAc のグラジェント) により精製して (S)-メチル 1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルボキシレート E B E 0 6 0 4 4 A を黄色の油 (17.31 g、43% の収率) として、および (R)-メチル 1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルボキシレート E B E 0 6 0 4 4 B を黄色の油 (15.14 g、37% の収率) として得た。

50

【化 19】



EBE 06044B

分子量：205.3；収率 EBE 06044B：37%；黄色の油。収率：EBE 06044A：43%，黄色の油

R_f ：EBE 06044A = 0.5； R_f ：EBE 06044B = 0.35 (EtOAc：シクロヘキサン = 25：75)。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, δ) EBE 06044A：1.47 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH₃), 1.60 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz, CH), 2.13 (d, 1H, $J = 2.6$ Hz), 2.21 (dd, 1H, $J = 3.2$ Hz, $J = 6.4$ Hz), 2.54 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz), 3.75 (s, 3H, OCH₃) 7.23–7.40 (m, 5H, ArH)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, δ) EBE 06044B：1.46 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH₃), 1.79 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, CH), 2.08 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz, $J = 6.6$ Hz), 2.34 (dd, 1H, $J = 3.1$ Hz, $J = 1.0$ Hz), 2.56 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz), 3.67 (s, 3H, OCH₃) 7.24–7.36 (m, 5H, ArH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, δ) EBE 06044B：23.5, 35.0, 36.9, 52.2, 69.8, 126.5, 127.2, 128.5, 143.6, 171.1

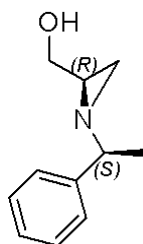
HPLC：方法A，検出 (254 nm)，EBE 06044B RT = 6.11 min，ピーク面積 92.9%

【0062】

((R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-イル)メタノール、EBE 06046

250 mL 容の丸底フラスコに無水 THF (100 mL) および LiAlH₄ (2.77 g, 73.1 mmol) を入れた。懸濁液を 0℃ で攪拌しながら、((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルボキシレート EBE 06044B (10.0 g, 48.7 mmol) の THF 溶液 (50 mL) を 20 分間かけて滴加した。滴加漏斗を THF (2×3 mL) で洗浄して 0℃ にて 20 分反応させた。反応混合物を 0℃ に保ち、KOH 溶液 (10%, 20 mL) を 20 分間滴加した (発熱に注意)。混合物を 25℃ で 0.5 時間攪拌し、白色の沈殿をセライトパッドの濾過により除き、ジエチルエーテル (30 mL) で洗浄した。集めた有機の濾液を NaH₂PO₄ で洗浄し、水層を Et₂O (3×30 mL) で抽出した。集めた有機相を Na₂SO₄ で乾燥し、濃縮して ((R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-イル)メタノール EBE 06046 を白色の固体として得た (10.4 g, 90% の収率)。

【化 20】



EBE 06046

分子量：177.2；収率：90%；白色の固体；Mp (°C)：37.7

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 1.43 (d, 3H, $J=6.6\text{ Hz}$, CH_3), 1.49 (d, 1H, $J=6.5\text{ Hz}$, CH), 1.65–1.71 (m, 1H, CH), 1.92 (d, 1H, $J=3.5\text{ Hz}$, NCH), 2.26 (s, 1H, OH), 2.53 (q, 1H, $J=6.6\text{ Hz}$, NCH), 3.32–3.37 (m, 1H, OCH_2), 3.56 (m, 1H, OCH_2), 7.23–7.35 (m, 5H, ArH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 22.9, 31.4, 39.3, 62.5, 69.4, 126.6, 127.3, 128.6, 144.5

【0063】

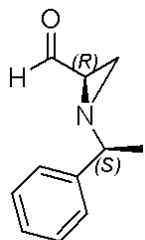
(R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルバルデヒド、EBE06048

10

250 mL 容の三口の丸底フラスコに低温の温度計と均等な滴加漏斗2個を取り付けた。一方を窒素ラインに繋ぎ((R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-イル)メタノールEBE06046 (7.0 g, 39.5 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (75 mL) を入れ、もう一方に DMSO (9.25 g, 118.5 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (11 mL) を入れた。 N_2 下、 -78°C の塩化オキサリル (7.5 g, 59.3 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (90 mL) に、20 分間 DMSO 溶液を滴加し 20 分間攪拌した。EBE06046 (7.0 g, 39.5 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (75 mL) を 50 分間かけて滴加した後、滴加漏斗に DIEA (42.6 mL, 237 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (10 mL) を加え、反応混合物を -45°C で 30 分間攪拌した。DIEA 溶液を 5 分間かけて -78°C の反応混合物に加え、反応物を室温に加温した。反応混合物を H_2O ($3 \times 50\text{ mL}$) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し、濾過し、留去した。得られた粗製物をシリカのカラムクロマトグラフィー (シクロヘキサン中 0–20% [v/v] EtOAc グラジエント) により精製して (R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルバルデヒド EBE06048 を黄色の油として得た (5.59 g, 81% の収率)。

20

【化21】



30

EBE06048

分子量 : 175.2 ; 収率 : 81% ; 黄色の油

R_f : EBE06048 : 0.3 (EtOAc : シクロヘキサン = 20 : 80). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 1.47 (d, 3H, $J=6.6\text{ Hz}$, CH_3), 1.94 (d, 1H, $J=6.7\text{ Hz}$, NCH₂), 2.08 (dt, $J=2.9\text{ Hz}$, $J=6.4\text{ Hz}$, NCH), 2.37 (d, 1H, $J=2.6\text{ Hz}$, NCH₂), 2.61 (q, 1H, $J=6.6\text{ Hz}$, NCH), 7.20–7.38 (m, 5H, ArH), 8.92 (d, 1H, $J=6.2\text{ Hz}$)

40

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 22.7, 32.1, 43.2, 68.1, 125.5, 126.5, 127.6, 142.4, 198.7

【0064】

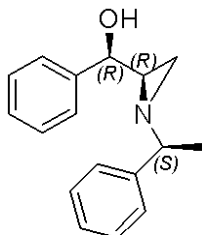
(R)-フェニル((R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-イル)メタノール、EBE06066

窒素下 -78°C のプロモベンゼン (4.93 g, 31.4 mmol) の THF (125 mL) 溶液に *t*-BuLi (ペンタン中 1.7 M, 50 mL) を加えた。混合物を室温にて 0.5 時間攪拌した。混合物を -78°C に冷却し、 -78°C の (R)-1-((S)-1-フェニルエチル)アジリジン-2-カルバルデヒド EBE06048 (2.5 g, 14.3 mmol) の THF (16.7 mL) 溶液を滴加した。反応混合物 H_2O (20 mL

50

L) で処理し、有機層を分離し、水相を E t O A c で抽出した。集めた有機層を M g S O₄ で乾燥し、濾過して減圧濃縮して残留物を得、これをシクロヘキサン中 0 ~ 20 % [v / v] E t O A c グラジェントを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製して (R) - フェニル ((R) - 1 - ((S) - 1 - フェニルエチル) アジリジン - 2 - イル) メタノール E B E 0 6 0 6 6 (3 . 1 3 g , 8 6 % の収率) を得た。

【化 2 2】



EBE 06066

分子量：253.3；収率：86%

R_f : = 0.3 (E t O A c : シクロヘキサン = 20 : 80) . ¹H-NMR (C D C l₃, δ) : 1.47 (d, 3H, J = 6.6 Hz, CH₃), 1.57 (d, 1H, J = 6.5 Hz, CH), 1.79 (dt, 1H, J = 3.5 Hz, J = 8.7 Hz, CH), 2.04 (d, 1H, J = 3.5 Hz, OCH), 2.35 (bs, 1H, OH), 2.53 (q, 1H, J = 6.5 Hz, CH), 4.23 (d, 1H, J = 5.7 Hz, OCH), 7.07 - 7.13 (m, 2H, ArH), 7.16 - 7.20 (m, 3H, ArH), 7.24 - 7.34 (m, 5H, ArH)

¹³C-NMR (C D C l₃, δ) : 22.4, 32.0, 44.6, 69.4, 74.1, 125.8 (2 x C), 126.9 (2 x C), 127.3, 127.6, 128.2 (2 x C), 128.7 (2 x C), 142.0, 144.2

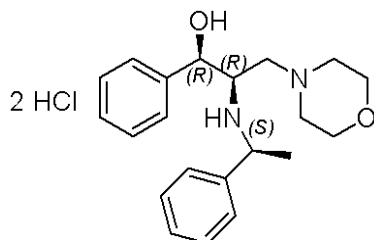
[α]_D²² = -71.53 (c = 0.59, CHCl₃)

【0065】

D - トレオ - 2 - ((S) - 1 - フェニルエチルアミノ) - 3 - モルホリノ - 1 - フェニルプロパン - 1 - オール二塩酸塩、化合物 5

室温の (R) - フェニル ((R) - 1 - ((S) - 1 - フェニルエチル) アジリジン - 2 - イル) メタノール E B E 0 6 0 6 6 (1 . 5 g , 5 . 9 2 mmol) の CH₃CN (19 mL) 溶液に、ヨードトリメチルシラン (3 . 55 g , 17 . 8 mmol) を加えた。この溶液を 2 時間攪拌し、モルホリン (1 . 032 g , 11 . 84 mmol) を加えた。2 時間還流した後、反応混合物を塩酸 (1 M) で処理して pH = 1 にし、10 分間攪拌した。NaHCO₃ をゆっくりと加えて pH = 9 とし、生成物を E t O A c で抽出し、Na₂SO₄ で乾燥し、濾過して留去した後、褐色の粗製の油を得、これを E t O A c 中 0 - 20 % [v / v] MeOH のグラジェントを用いるカラムクロマトグラフィーにより精製して D - トレオ - 2 - ((S) - 1 - フェニルエチルアミノ) - 3 - モルホリノ - 1 - フェニルプロパン - 1 - オール E B E 0 6 0 6 8 A (0 . 831 g , 42 %) を淡褐色の固体として得た。D - トレオ - 2 - ((S) - 1 - フェニルエチルアミノ) - 3 - モルホリノ - 1 - フェニルプロパン - 1 - オール E B E 0 6 0 6 8 A (0 . 100 g , 0 . 294 mmol) のエタノール (1 mL) 溶液に、HCl (0 . 8 M , 0 . 816 mL) の E t O H 溶液を加えた。揮発性成分を留去して D - トレオ - 2 - ((S) - 1 - フェニルエチルアミノ) - 3 - モルホリノ - 1 - フェニルプロパン - 1 - オール二塩酸塩化合物 5 を白色の固体 (0 . 125 g , 100 %) として得た。

【化 2 3】



化合物 5

10

分子量：412.37；収率：42%；白色の固体；Mp (°C)：157.2 (dec)
R_f：0.3 (MeOH:EtOAc = 20:80) EBE06068A

¹H-NMR (CD₃OD, δ)：1.19 (t, 2H, J = 7.0 Hz, NCH₂), 1.71 (d, 3H, J = 6.8 Hz, CH₃), 3.45 (m, 2H, J = 7.1 Hz, NCH₂), 3.62 (q, 2H, J = 7.1 Hz, NCH₂), 3.97 (t, 4H, J = 4.5 Hz, OCH₂), 4.06 (m, 1H, CH-N), 4.75 (q, 1H, J = 6.8 Hz, CH-N), 5.21 (d, 1H, J = 5.1 Hz, CH-O), 7.44-7.56 (m, 10H, ArH)
MS-ESI m/z (%rel. int.)：341.1 ([MH]⁺, 20)

¹³C-NMR (CD₃OD, δ)：24.4, 54.5 (2 x C), 55.5, 55.9, 60.0, 67.0 (2 x C), 75.6, 126.3 (2 x C), 126.5 (2 x C), 127.0, 127.1, 128.1 (2 x C), 128.5 (2 x C), 142.2, 145.3

20

HPLC：方法A, 検出 (254 nm), 化合物 5 RT = 4.41 min, ピーク面積 99%

【0066】

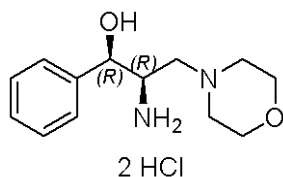
トレオ-2-アミノ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オール二塩酸塩、化合物 4

室温の D-トレオ-2-((S)-1-フェニルエチルアミノ)-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オール EBE06068A (0.400 g, 1.17 mmol) の MeOH (6 mL) 溶液に、酢酸 (0.133 mL, 2.35 mmol) を加えた。反応容器を窒素でフラッシュし Pd(OH)₂ (25%重量, 0.150 g) を加えた。吸引と水素のバルーンを用いた水素添加を 3 回繰り返して窒素を水素に置き換えた。水素化で 16 時間攪拌した後、反応混合物をセライトで濾過して (2R)-アミノ-3-モルホリン-4-イル-(1R)-フェニルプロパン-1-オールの酢酸塩 EBE06070A (0.279 g, 98%の収率) を得た。(2R)-アミノ-3-モルホリン-4-イル-(1R)-フェニルプロパン-1-オールの酢酸塩 EBE06070A (0.100 g, 0.338 mmol) のエタノール (1 mL) 溶液に HCl (0.8 M, 0.930 mL) の EtOH 溶液を加えた。揮発性成分を留去して D-トレオ-2-アミノ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オール二塩酸塩化合物 4 (0.104 g, 100%の収率) を灰白色の固体として得た。(Adapted from Shin, S-H.; Han, E.Y.; Park, C.S.; Lee, W.K.; Ha, H.-J. Tetrahedron Asymmetry, 2000, 11, 3293-3301)

30

40

【化 2 4】



化合物 4

分子量：309.23；収率：99%；灰白色の固体；Mp (°C)：183.4

50

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , δ) : 3.30–3.77 (m, 6H, CH_2N), 3.92–4.05 (m, 4H, CH_2O), 4.05–4.16 (m, 1H, CH), 4.85–4.98 (m, 1H, CH), 7.35–7.60 (m, 5H, ArH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , δ) : 53.2, 58.3, 58.5 (2x C), 64.9 (2x C), 72.6, 128.0 (2x C), 130.2 (2x C), 140.3

MS-E SIM/z (%rel. int.) : 237.1 (100, $[\text{MH}]^+$)

HPLC : アイソクラチック 10% CH_3CN (H_2O 中) ($\text{pH} 10$, $[\text{NH}_4\text{OH}] = 5 \text{ mM}$), 検出 UV 254 nm, 化合物 4 RT = 6.63 min, ピーク面積 97.3%

$[\alpha]^{22}_{\text{D}} = -10.7$ ($c = 1.00$, MeOH)

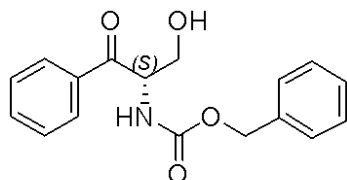
【0067】

ベンジル L-トレオ-1-ヒドロキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドロクロライド、化合物 1 の製造

ベンジル (S)-3-ヒドロキシ-1-オキソ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメート TTA08010B

窒素下、0℃の 32 mL 無水 THF 中の Z-L-Ser-OH (6.00 g, 25.08 mmol) の攪拌した溶液に、1 M フェニルマグネシウムブロミドの THF (32 mL, 200 mmol) 溶液を滴加した (Z は、ベンジルカルバモイル基を表す)。混合物を窒素下、室温で 15 時間攪拌した。2 M HCl 溶液 (100 mL) を 0℃にてゆっくりと加え、混合物を酢酸エチル (750 mL) と酸性水の間に分配した。有機層を水 (2x 20 mL)、1 N 炭酸水素ナトリウム水溶液 (2x 20 mL)、ブライン (2x 20 mL) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥した。30~35℃にて蒸発させることにより酢酸エチルを除去した後、粗製物 (4.50 g, 60% の収率) を酢酸エチル : ヘキサン = 25 mL : 20 mL の混合物中で結晶化してベンジル (S)-3-ヒドロキシ-1-オキソ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメート TTA08010B を白色の固体として得た (1.40 g, 20% の収率)。

【化 25】



TTA08010B

分子量 : 299.32 ; 収率 : 20% ; 白色の固体 ; Mp (℃) : 106.5

R_f : 0.75 (CH_2Cl_2 : MeOH = 9 : 1)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 2.78 (s, 1H, OH), 3.85–3.93 (m, 1H, CH_2O), 4.00–4.09 (m, 1H, CH_2O), 5.14 (s, 2H, Ar CH_2O), 5.40 (t, 1H, $J = 3.3 \text{ Hz}$, CH), 6.17 (d, 1H, $J = 6.4 \text{ Hz}$, NH), 7.35 (s, 5H, ArH), 7.49 (t, 2H, $J = 7.60 \text{ Hz}$, ArH), 7.62 (t, 1H, $J = 7.1 \text{ Hz}$, ArH), 8.99 (t, 2H, $J = 7.6 \text{ Hz}$, ArH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ) : 58.3, 64.6, 67.3, 128.1, 128.3, 128.6, 128.7, 129.0, 134.1, 136.0, 156.6, 196.6

MS-E SIM/z (%rel. int.) : 300.1 ($[\text{MH}]^+$, 5), 256.1 (100)

HPLC : 方法 A, 検出 UV 254 nm, TTA08010B RT = 5.40 min, ピーク面積 98.5%

$[\alpha]^{22}_{\text{D}} = -5.8$ ($c = 1.00$, MeOH)

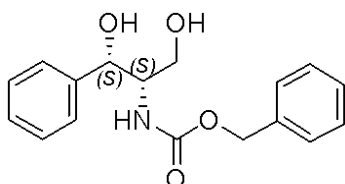
【0068】

ベンジル L-トレオ-1,3-ジヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメート、TTA08012

窒素下、 -78°C の無水THF 28 mL中のベンジル(S)-3-ヒドロキシ-1-オキソ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートTTA08010B (1.40 g, 4.70 mmol)の攪拌した溶液に、ヘキサン(18.8 mL, 18.80 mmol)中の1MDIBAL-Hをゆっくりと滴加した。混合物を -78°C にて2時間、次いで室温で1.5時間攪拌した。2M HCl (35 mL)の溶液を -20°C でゆっくりと加え、混合物を酢酸エチル(750 mL)と酸性水との間に分配した。有機相を水(2 x 20 mL)、ブライン(2 x 20 mL)で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥した。酢酸エチルを $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ で留去し、粗製物をシリカのカラムクロマトグラフィー($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=98:2\sim 97:3$)で精製してベンジルL-トレオ-1,3-ジヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートTTA08012を白色の固体として得た(1.10 g, 78%の収率)。

10

【化26】



TTA08012

分子量: 301.34; 収率: 78%; 白色の固体; Mp ($^{\circ}\text{C}$): 102.5
 R_f : 0.30 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=95/5$). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3, δ): 3.08 (t, 1H, $J=5.0\text{ Hz}$, OH), 3.59 (d, 1H, $J=3.1\text{ Hz}$, OH), 3.64-3.78 (m, 2H, CH_2O), 3.80-3.89 (m, 1H, CH), 4.95 (s, 2H, ArCH_2O), 5.57 (d, 1H, $J=8.3\text{ Hz}$, NH), 7.17-7.38 (m, 10H, ArH)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3, δ): 57.5, 63.6, 66.9, 73.8, 126.0, 127.8, 127.9, 128.1, 128.5, 128.6, 136.2, 141.0, 156.9
 MS-ESI m/z (%rel. int.): 302.0 ($[\text{MH}]^+$, 5); 132.0 (100)

20

30

HPLC: 方法A, 検出UV 254 nm, TTA08012 $\text{RT}=5.00\text{ min}$, ピーク面積 99.5%

$[\alpha]^{22}_{\text{D}} = +39.4$ ($c=1.00$, MeOH)

【0069】

ベンジルトレオ-1-ヒドロキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドrokロライド、化合物1

ピリジン13 mL中の -10°C のベンジルL-トレオ-1,3-ジヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートTTA08012 (1.00 g, 3.30 mmol)の攪拌した溶液にメタンスルホニルクロリド(0.27 mL, 3.50 mmol)を滴加した。混合物を窒素下で -20°C にて6時間攪拌した。ピリジンを $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ で留去し、残留物を酢酸エチル(250 mL)と0.1N HCl (20 mL)との間に分配した。有機相を水(20 mL)、ブライン(20 mL)で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し、留去してL-トレオ-1-ヒドロキシ-3-メタンスルホニル-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートTTA08014を得た(1.25 g, 65%収率)。

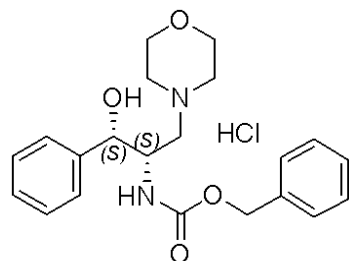
40

DMF 6 mL中の室温の粗製のベンジルL-トレオ-1-ヒドロキシ-3-メタンスルホニル-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートTTA08014 (1.25 g, 3.30 mmol)の攪拌した溶液にモルホリン(1.2 mL, 13.20 mmol)を加えた。混合物を窒素下、 50°C にて15時間攪拌した。DMFを留去し、残留物を酢酸エチル(250 mL)と1N炭酸水素ナトリウム水溶液(20 mL)との間に分配した。有機相を水(20 mL)、ブライン(20 mL)で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥した。留去し

50

た後、組成物をシリカのカラムクロマトグラフィー（ CH_2Cl_2 ： MeOH ＝ $98:2\sim 97:3$ ）により精製してベンジルL-トレオ-1-ヒドロキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートを油状物として得た（ 380mg ， 31% の収率）。ジエチルエーテル中の 0.3M HCl の溶液を用い、 0°C にてジエチルエーテル中の遊離塩基 100mg から塩酸塩を得た。沈殿を濾過し、乾燥してベンジルL-トレオ-1-ヒドロキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドロクロライド化合物1を白色の固体として得た（ 70mg ， 65% の収率）。

【化27】



10

化合物1

分子量： 406.90 ；収率： 20% ；白色の固体； Mp （ $^\circ\text{C}$ ）： 144.5

R_f ： 0.40 （ CH_2Cl_2 ： MeOH ＝ $95:5$ ）。 $^1\text{H-NMR}$ （ CD_3OD ， δ ）：
 $3.14\text{--}3.77$ （ m ， 6H ， CH_2N ）， $3.70\text{--}4.07$ （ m ， 4H ， CH_2O ）， $4.30\text{--}4.33$ （ m ， 1H ， CH ）， $4.90\text{--}5.06$ （ m ， 3H ， CH ， ArCH_2O ）， $7.20\text{--}7.43$ （ m ， 10H ， ArH ）

$^{13}\text{C-NMR}$ （ CD_3OD ， δ ）： 51.2 ， 51.8 ， 53.2 ， 59.3 ， 63.2 ， 66.3 ， 72.5 ， 125.8 ， 127.2 ， 127.3 ， 127.5 ， 127.8 ， 127.9

MS-ESI m/z （ $\% \text{rel. int.}$ ）： 371.0 （ $[\text{MH}]^+$ ， 100 ）

HPLC ：方法A，検出UV 254nm ，化合物1 $\text{RT}=4.40\text{min}$ ，ピーク面積 96.5%

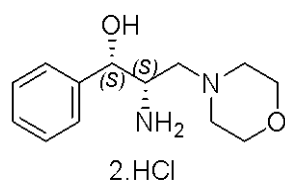
$[\alpha]^{22}_{\text{D}}=+13.9$ （ $c=1.00$ ， MeOH ）

【0070】

トレオ-2-アミノ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オール二塩酸塩、化合物2の製造

20mL の MeOH 中の室温のベンジルL-トレオ-1-ヒドロキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメート（化合物1， 0.26g ， 0.70mmol ）の攪拌した溶液に、 $\text{Pd-C } 10\%$ （ 140mg ）を加えた。混合物を水素で飽和し、水素雰囲気下（バルーン）、室温で 24 時間攪拌した。触媒 $\text{Pd-C } 10\%$ をセライトで濾過して除き、溶液を留去した。粗製物をシリカカラムクロマトグラフィー（ CH_2Cl_2 ： MeOH ： NH_4OH ＝ $79:20:1\sim 75:20:5$ ）で精製してL-トレオ-2-アミノ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オールを油として得た（ 100mg ， 60% の収率）。ジエチルエーテル中の 0.3M HCl を用いて、 0°C にてジエチルエーテル中の遊離塩基 83mg から塩酸塩を得た。ジエチルエーテルで沈殿させた後、濾過および乾燥してL-トレオ-2-アミノ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-1-オール二塩酸塩化合物2を白色の固体として得た（ 80mg ， 74% の収率）。

【化28】



化合物2

50

分子量：309.23；収率：44%；白色の固体；Mp（℃）：166.4–170.9

R_f：0.20（CH₂Cl₂：MeOH=9：1）。¹H-NMR（CD₃OD, δ）：3.30–3.77（m, 6H, CH₂N）, 3.92–4.05（m, 4H, CH₂O）, 4.05–4.16（m, 1H, CH）, 4.85–4.98（m, 1H, CH）, 7.35–7.60（m, 5H, ArH）

¹³C-NMR（CD₃OD, δ）：53.1, 54.9, 58.5, 64.8, 72.6, 127.2, 128.0, 130.2, 140.3

MS-E SIM/z（%rel. int.）：237.0（[MH]⁺, 100）

HPLC：方法A, 検出UV 254nm, 化合物2 RT=0.90min, ピーク面積98.0% 10

[α]²²_D=+10.8（c=1.00, MeOH）, 遊離塩基：[α]²²_D=−6.1（c=0.25, CHCl₃）

【0071】

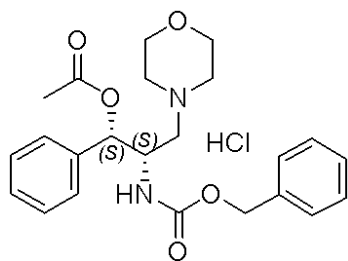
ベンジルL-トレオ-1-アセトキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドロクロライド、化合物3の製造

ベンジルL-トレオ-1-アセトキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドロクロライド 化合物3

30mLのCHCl₃中の室温のベンジルL-トレオ-1-ヒドロキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドロクロライド（化合物1, 0.510g, 1.25mmol）の攪拌した溶液にトリエチルアミン（700μL, 5.00mmol）および塩化アセチル（145μL, 2.00mmol）をゆっくりと加えた。窒素下、室温で混合物を10時間攪拌し、氷水（20mL）とCH₂Cl₂（100mL）の混合物の間に分配した。有機層をブライン（20mL）で洗浄し、MgSO₄で乾燥した。留去した後、粗製物をシリカのカラムクロマトグラフィー（CH₂Cl₂：MeOH=99.5：0.5～98：2）で精製してベンジルL-トレオ-1-アセトキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートを油として得た（0.420g, 81%の収率）。 20

ジエチルエーテル中の0.3M HClを用いて、0℃にてジエチルエーテル中の遊離塩基45mgから塩酸塩を得た。沈殿を濾過し、乾燥してベンジルL-トレオ-1-アセトキシ-3-モルホリノ-1-フェニルプロパン-2-イルカルバメートハイドロクロライド化合物3を白色の固体として得た（40mg, 82%の収率）。 30

【化29】



化合物3

分子量：448.94；収率：66%；白色の固体；Mp（℃）：69.9

R_f：0.70（CH₂Cl₂：MeOH=95：5）。¹H-NMR（CD₃OD, δ）：2.10（s, 3H, CH₃）, 3.14–3.44（m, 4H, CH₂N）, 3.70–4.00（m, 4H, CH₂O）, 4.51–4.53（m, 1H, CH）, 4.90–5.13（m, 2H, ArCH₂O）, 5.89（d, 1H, CH）, 7.28–7.48（m, 10H, ArH）

¹³C-NMR（CD₃OD, δ）：20.8, 52.0, 52.6, 59.7, 64.6, 68.0, 76.5, 127.7, 129.0, 129.2, 129.5, 129.8, 137.9, 50

158.7, 171.3

MS-E SI m/z (%rel. int.): 413.0 ([MH]⁺, 100)

HPLC: 方法A, 検出UV 254 nm, 化合物3 RT = 4.70 min, ピーク面積 98.5%

【0072】

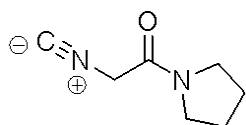
DL-トレオ-2-(デカンアミド)-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロピルデカン酸塩、化合物10

2-イソシアノ-1-(ピロリジン-1-イル)エタノン、BLE 04098

イソシアノ酢酸メチル(96%、工業用グレード、5.0g、47.8mmol)に、冷却(0℃)および攪拌しながら、ピロリジン(6.5mL、78mmol)をゆっくり添加した。混合物を引き続き冷却しながら、1.5時間攪拌し、次いで、濃縮した。得られた油をCH₂Cl₂:ヘキサンから、2回にわたり共蒸発させて、残留しているピロリジンを除去した。2-イソシアノ-1-(ピロリジン-1-イル)エタノン、BLE 04098を黄色の固体(6.85g、収率98%)として得た後、精製せずに、次の工程で使用した。

10

【化30】



20

BLE 04098

分子量: 138.17; 収率: 98%; 黄色の固体; 融点(℃) = 73.9

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.81-2.08 (m, 4H, 2xCH₂), 3.35-3.45 (m, 2H, -NCH₂), 3.50-3.60 (m, 2H, -NCH₂), 4.23 (s, 2H, CH₂CO).

【0073】

トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(ピロリジン-3-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、BLE 04110B

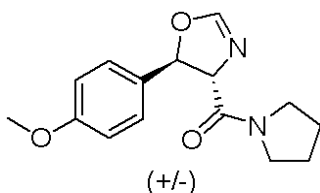
トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(4-メトキシフェニル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、SLA 07074

30

メタノール(30mL)中に水酸化カリウム(0.37g、6.57mmol)を含む溶液に、冷却(0℃)および攪拌しながら、4-メトキシベンズアルデヒド(0.88mL、7.23mmol)および2-イソシアノ-1-(ピロリジン-1-イル)エタノン、BLE 04098(1.0g、6.57mmol)の混合物を添加した。溶液を引き続き冷却しながら、4時間攪拌し、次いで、濃縮した。残滓を酢酸エチルと水とに分配した。有機層をさらなる酢酸エチル抽出液と合わせ、塩化ナトリウム水溶液で洗浄後、MgSO₄上で乾燥させた。濃縮により、粗生成物をガラス状の固体として得た。シリカ上のフラッシュクロマトグラフィー(酢酸エチル)によって、トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(4-メトキシフェニル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、SLA 07074を淡黄色の固体(1.2g、90.5%)として得た。

40

【化31】



SLA 07074

分子量: 274.32; 収率: 90.5%; 淡黄色の固体; 融点(℃): 91.2

50

R_f : 0.30 (EtOAc)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 1.75-2.08 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 3.40-3.58 (m, 3H, CH_2N), 3.52 (s, 3H, CH_3O), 3.88-3.98 (m, 1H, CH_2N), 4.59 (dd, 1H, $J=7.6$ Hz, $J=2.2$ Hz, CH-N), 6.06 (d, 1H, $J=7.6$ Hz, CH-O), 6.90 (d, 2H, $J=8.7$ Hz, ArH), 7.01 (d, 1H, $J=2.2$ Hz, CH=N), 7.25 (d, 2H, $J=8.7$ Hz, ArH).

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 275.1 ($[\text{MH}]^+$, 10), 247.1 (100).

HPLC: Method A, detection UV 280 nm, SLA 07074 $R_T=5.2$ min, peak area 92 %.

【0074】

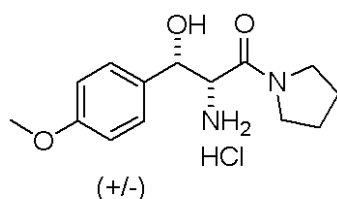
D L-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(4-メトキシフェニル)-1-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オン塩酸塩、SLA 07078

10

メタノール (13 mL) 中にトランス-(4, 5-ジヒドロ-5-(4-メトキシフェニル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、SLA 07074 (1.61 g, 5.93 mmol) を含む溶液に、攪拌しながら、塩酸 (1 mL) を添加した。50 °C で3時間加熱した後、反応混合物を濃縮し、得られた黄色の油を酢酸エチルと共に、2回にわたり共蒸発させた後、凝固させた。粉碎 (酢酸エチル) および乾燥により、D L-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(4-メトキシフェニル)-1-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オン塩酸塩、SLA 07078 を白色の固体 (1.64 g, 93 %) として得た。

【化32】

20



SLA 07078

分子量: 300.78; 収率: 93%; 白色の固体; 融点 (°C): 177.0

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , δ): 1.32-1.50 (m, 1H, $0.5\times\text{CH}_2$), 1.50-1.88 (m, 3H, $1.5\times\text{CH}_2$), 2.15-2.28 (m, 1H, CH_2N), 3.15-3.42 (m, 3H, $1.5\times\text{CH}_2\text{N}$), 3.79 (s, 3H, CH_3O), 4.06 (d, 1H, $J=9.2$ Hz, CH-N), 4.78 (d, 1H, $J=9.2$ Hz, CHO), 6.94 (d, 2H, $J=8.5$ Hz, ArH), 7.34 (d, 2H, $J=8.5$ Hz, ArH).

30

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , δ): 24.8, 26.6, 47.2, 47.6, 55.9, 59.6, 73.9, 115.0 ($2\times\text{C}$), 128.9 ($2\times\text{C}$), 132.5, 161.7, 166.4.

【0075】

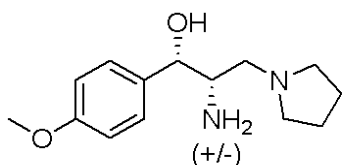
D L-トレオ-2-アミノ-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール、化合物9

窒素雰囲気下、テトラヒドロフラン (200 mL) 中のD L-トレオ-[5-(4-メトキシフェニル)-4, 5-ジヒドロオキサゾール-4-イル]-ピロリジン-1-イル-メタノン SLA 07078 (1.61 g, 5.35 mmol) の攪拌した懸濁液に、リチウムアルミニウム水素化物 (1.22 g, 32.12 mmol) を0 °C で2回に分けてゆっくりと加えた。反応混合物を室温で17時間攪拌した後、水 (50 mL) をゆっくりと滴加してクエンチした。次いで、白色の懸濁液を濃縮してTHFを除去し、300 mL CH_2Cl_2 と1 N塩酸水溶液 (50 mL) の混合物に溶解した。1 N水酸化ナトリウム水溶液をゆっくりと加えて水層をpH = 10 ~ 11の塩基性にした。有機層を除去し、さらに CH_2Cl_2 抽出物 (4 x 200 mL) と合わせ、 MgSO_4 で乾燥し、濾過し、蒸発させた。粗製物をシリカのカラムクロマトグラフィー (CH_2Cl_2 : MeOH: NH_3 = 94:05:01) により精製した。留去および乾燥後、D L-トレオ-2-アミノ-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール化合物9を淡黄色の固体として得た (0.62 g, 46 %)。

40

50

【化 3 3】



化合物 9

分子量：250.34；収率：46%；淡黄色の固体；Mp (°C)：77.7

R_f：0.35 (CH₂Cl₂：MeOH：NH₃=94：05：01)

¹H-NMR (CDCl₃, δ)：1.65–1.87 (s, 4H, 2 x CH₂), 2.40–2.90 (m, 9H, CH₂N, NH₂&OH), 3.11–3.17 (m, 1H, CH–N), 3.81 (s, 3H, CH₃O), 4.61 (d, 1H, J=3.8 Hz, CH–O), 7.89 (d, 2H, J=8.6 Hz, ArH), 7.26 (d, 2H, J=8.5 Hz, ArH)

¹³C-NMR (CDCl₃, δ)：23.6 (2 x C), 54.5, 54.7 (2 x C), 55.3, 60.1, 75.9, 113.6, 127.4, 134.4, 158.8

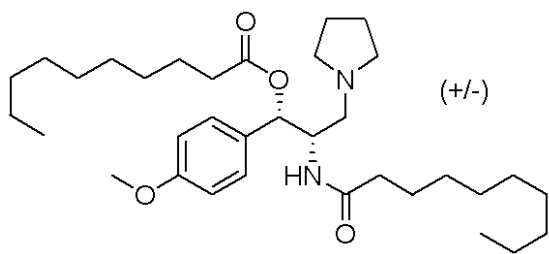
MS-E SIM/z (%rel. int.)：251.1 ([MH]⁺, 100)

【0076】

DL-トレオ-2-(デカンアミド)-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロピルデカン酸塩、化合物10

ジクロロメタン (10 mL) 中の DL-トレオ-2-アミノ-1-(4-メトキシフェニル)-3-ピロリジン-1-イル-プロパン-1-オール化合物9 (0.15 g, 0.60 mmol) の攪拌した溶液に、n-ヒドロキシスクシンイミド (0.07 g, 0.60 mmol)、トリエチルアミン (0.10 mL, 0.63 mmol) およびデカノイルクロリド (112 μL, 0.54 mmol) を窒素雰囲気下で加えた。反応混合物を室温で22時間攪拌し、塩化メチレンと1N水酸化ナトリウム水溶液の間に分配した。有機層をMgSO₄で乾燥し、濾過し、留去した。粗製物をシリカのカラムクロマトグラフィー (CH₂Cl₂：MeOH=95：05) で精製した。DL-トレオ-2-(デカンアミド)-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロピルデカン酸塩 化合物10を白色の油として得た (0.104 g, 31%)。

【化 3 4】



化合物 10

分子量：558.84；収率：40%；白色の油

R_f：0.35 (CH₂Cl₂：MeOH=95：05) . ¹H-NMR (CDCl₃, δ)：0.88 (t, 6H, J=0.7 Hz, 2 x CH₃), 1.26 (s, 14H, 7 x CH₂), 1.57–1.59 (m, 4H, 2 x CH₂), 1.80 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.10–2.50 (m, 5H, CH₂), 2.65–2.76 (m, 5H, CH₂), 3.79 (s, 3H, CH₃O), 4.54 (m, 1H, CH–N), 5.89 (d, 1H, J=6.2 Hz, CH–O), 6.16 (d, 1H, J=8.8 Hz, NH), 6.85 (d, 2H, J=8.7 Hz, ArH), 7.24 (d, 2H, J=8.7 Hz, ArH)

MS-E SIM/z (%rel. int.)：559.5 ([MH]⁺, 100)

HPLC：方法A, 検出UV 280 nm, 化合物10 RT=6.99 min, ピーク面積9

6. 4 %

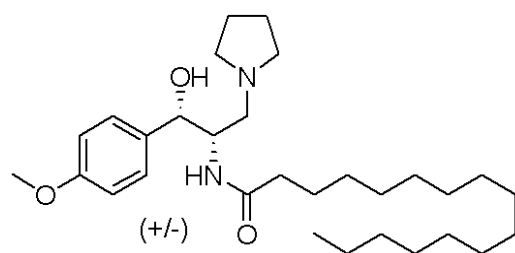
【0077】

N-(DL-トレオ-1-ヒドロキシ-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-2-イル)パルミタミドまたはDL-トレオ-4-MeO-P 4、化合物11

ジクロロメタン(10 mL)中のDL-トレオ-2-アミノ-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール化合物9(0.15 g, 0.60 mmol)の攪拌した溶液に、n-ヒドロキシスクシンイミド(0.07 g, 0.60 mmol)、トリエチルアミン(0.100 mL, 0.63 mmol)およびパルミトイルクロリド(0.15 g, 0.54 mmol)を窒素雰囲気下で順次に加えた。反応混合物を室温で17時間攪拌し塩化メチレンと1N水酸化ナトリウム水溶液の間に分配した。有機層をMgSO₄で乾燥し、濾過し、留去した。粗製物をシリカのカラムクロマトグラフィー(CH₂Cl₂:MeOH=95:05)により精製した。n-(DL-トレオ-1-ヒドロキシ-1-(4-メトキシフェニル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-2-イル)パルミタミド化合物11を白色の固体として得た(0.117 g, 40 %)。

10

【化35】



20

化合物11

分子量: 488.75; 収率: 40%; 白色の固体; Mp (°C): 82.3

R_f: 0.35 (CH₂Cl₂:MeOH=95:05). ¹H-NMR (CDCl₃, δ): 0.88 (t, 3H, J=7.0 Hz, CH₃), 1.22-1.33 (m, 16H, 8 x CH₂), 1.47-1.54 (m, 2H, CH₂), 1.81 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.09 (t, 2H, J=7.0 Hz, COCH₂), 2.60-2.80 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.84 (d, 2H, J=5.1 Hz, CH₂), 3.80 (s, 3H, CH₃O), 4.23 (m, 1H, CH-N), 5.00 (d, 1H, J=2.2 Hz, CH-O), 5.90 (d, 1H, J=7.4 Hz, NH), 6.87 (d, 2H, J=8.7 Hz, ArH), 7.24 (d, 2H, J=8.7 Hz, ArH)

30

¹³C-NMR (CDCl₃, δ): 14.1, 22.7, 23.6, 25.6, 29.1, 29.3, 29.4, 29.5, 29.7, 29.7, 31.9, 36.8, 52.3, 55.2, 57.8, 75.4, 113.7 (2 x C), 127.0 (2 x C), 133.1, 158.9, 173.6

MS-ESI m/z (rel. int.): 489.2 ([MH]⁺, 100)

40

HPLC: 方法A, 検出UV 280 nm, 化合物11 RT=6.55 min, ピーク面積 96.4 %

【0078】

DL-トレオ-2-アミノ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ダイオキシ-6-イル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール、化合物6

トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ジオキシ-6-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、BLE 04100

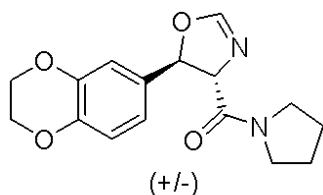
MeOH(6.5 mL)中に水酸化カリウム(0.43 mg, 7.60 mmol)を含む溶液に、冷却(0 °C)および攪拌しながら、1,4-ベンゾジオキサン-6-カルボキ

50

サルデヒド (1.31 g、7.96 mmol) および 2-イソシアノ-1-(ピロリジン-1-イル) エタノン、BLE 04098 (1.0 g、6.57 mmol) を順次添加した。溶液を 0℃ で 3 時間攪拌し、次いで、濃縮した。残滓を EtOAc (100 mL) と水とに分配した。有機層を 2 回のさらなる EtOAc 抽出液 (100 mL、2 回) と合わせ、ブラインで洗浄、MgSO₄ 上で乾燥、ろ過後、蒸発させた。濃縮により粗生成物を得、これをシリカ上のカラムクロマトグラフィー (EtOAc) によって精製し、蒸発および乾燥後、トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ジオキシシン-6-イル) オキサゾール-4-イル) (ピロリジン-1-イル) メタノン、BLE 04100 を無色の油 (1.76 g、収率 89%) として得た。

【化 36】

10



BLE 04100

分子量：440.49；収率：89%；無色の油

¹H-NMR (CDCl₃, δ) : 1.75-2.10 (m, 4H, 2xCH₂), 3.40-3.59 (m, 3H, 1.5xCH₂N), 3.85-4.00 (m, 1H, 0.5xCH₂N), 4.26 (s, 4H, CH₂O), 4.59 (dd, 1H, J=7.5 Hz, J=2.2 Hz, CH-N), 6.00 (d, 1H, J=7.5 Hz, CH-O), 6.75-6.90 (m, 3H, ArH), 7.00 (d, 1H, J=2.2 Hz, CH=N).

20

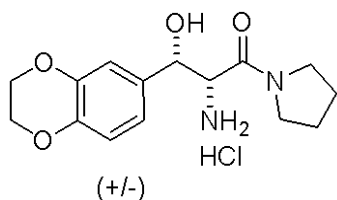
【0079】

D L-トレオ-2-アミノ-3-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ジオキシシン-6-イル)-3-ヒドロキシ-1-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オン塩酸塩、化合物 12

メタノール (15 mL) 中にトランス-(4,5-ジヒドロ-5-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ジオキシシン-6-イル) オキサゾール-4-イル) (ピロリジン-1-イル) メタノン、BLE 04100 (1.74 g、5.77 mmol) を含む溶液に、攪拌しながら、塩酸 (1 mL) を添加した。50℃ で 3 時間加熱した後、反応混合物を濃縮し、得られた黄色の油を酢酸エチルと共に、2 回にわたり共蒸発させた後、凝固させた。粉碎 (酢酸エチル) および乾燥により、D L-トレオ-2-アミノ-3-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ジオキシシン-6-イル)-3-ヒドロキシ-1-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オン塩酸塩、化合物 12 を白色の固体 (1.85 g、95%) として得た。

30

【化 37】



40

化合物 12

分子量：328.79；収率：95.0%；白色の固体；融点 (℃) : 176.2

¹H-NMR (CD₃OD, δ) : 1.42-1.58 (m, 1H, 0.5xCH₂), 1.58-1.70 (m, 1H, 0.5xCH₂), 1.70-1.88 (m, 2H, CH₂), 3.20-3.45 (m, 4H, 2xN-CH₂), 4.06 (d, 1H, J=9.1 Hz, CH-N), 4.25 (s, 2H, OCH₂), 4.75 (d, 1H, J=9.2 Hz, CH-O), 4.89 (s, 2H, OCH₂), 6.82-6.95 (m, 3H, ArH).

50

^{13}C -NMR (CD_3OD , δ) : 24.9, 26.7, 47.3, 47.6, 59.5, 65.7, 73.6, 116.4, 118.3, 120.3, 133.7, 145.1, 145.6, 166.4.

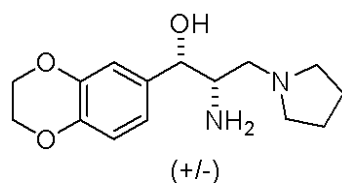
【0080】

D L-トレオ-2-アミノ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ダイオキシシン-6-イル)-3-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オール、化合物 6

THF (220 mL) 中のトランス-(4,5-ジヒドロ-5-(4-メトキシフェニル) オキサゾール-4-イル) (ピロリジン-1-イル) メタノン SLA07080 (1.79 g, 5.44 mmol) の攪拌した懸濁液に LiAlH_4 (1.28 g, 33.7 mmol) を2回に分けて 0°C でゆっくりと加えた。混合物を室温で3.5時間攪拌し、 0°C で水 (350 mL) をゆっくりと加えてクエンチした。白色の懸濁液を濃縮して THF を除去し、 CH_2Cl_2 (300 mL) および 1N HCl 水溶液 (50 mL) に溶解した。1N NaOH 水溶液を加えて水層を $\text{pH} = 10 \sim 11$ の塩基性にした。有機層を除去し、さらに2回抽出したものを合わせて MgSO_4 で乾燥し、濾過し、留去した。濃縮して粗製物を黄色の油として得た。この物質をシリカのカラムクロマトグラフィー (CH_2Cl_2 : MeOH : NH_4OH 20% = 94 : 5 : 1) により精製して D L-トレオ-2-アミノ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ダイオキシシン-6-イル)-3-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オール化合物 6 (0.705 g, 46.5% の収率) を無色に近いゴム状物として得た。

10

【化38】



20

化合物 6

分子量 : 278.35 ; 収率 : 46.5% ; 無色のゴム状物

R_f : 0.20 (CH_2Cl_2 : MeOH : NH_4OH 20% = 94 : 5 : 1) ^1H -NMR (CDCl_3 , δ) : 1.70-1.85 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.40-2.70 (m, 6H, 3 x CH_2N), 3.05-3.15 (m, 1H, CH-N), 4.25 (s, 4H, CH_2O), 4.55 (d, 1H, $J = 2.2\text{ Hz}$, CH-O), 5.30 (s, 1H, $-\text{OH}$), 6.75-6.90 (m, 3H, ArH)

30

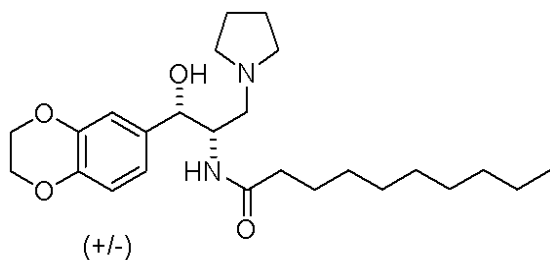
【0081】

N-(D L-トレオ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ダイオキシシン-6-イル)-1-ヒドロキシ-3-(ピロリジン-1-イル) プロパン-2-イル) デカンアミド、化合物 7

10 mL の CH_2Cl_2 中の D L-トレオ-2-アミノ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ダイオキシシン-6-イル)-3-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オール BLE04104 (0.186 g, 0.67 mmol) の攪拌した溶液に、2 mL の CH_2Cl_2 中の n-ヒドロキシスクシンイミド (0.081 g, 0.70 mmol)、トリエチルアミン (112 μL , 0.80 mmol) およびデカノイルクロリド (125 μL , 0.60 mmol) をこの順序で加えた。混合物を室温で一晩攪拌した後、 CH_2Cl_2 と 1N 水酸化ナトリウム水溶液との間に分配した。有機層を MgSO_4 で乾燥し、濾過し、留去して得られた残留物をシリカのカラムクロマトグラフィー (CH_2Cl_2 : MeOH = 95 : 5) により精製した。白色の固体 n-(D L-トレオ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ [b] [1,4] ダイオキシシン-6-イル)-1-ヒドロキシ-3-(ピロリジン-1-イル) プロパン-2-イル) パルミタミド 化合物 7 を得た (126 mg, 43.5% の収率)。

40

【化 3 9】



化合物 7

10

分子量：516.76；収率：43.5%；白色の固体；Mp (°C)：84.6

R_f：0.40 (MeOH：CH₂Cl₂ = 10：90)

¹H-NMR (CDCl₃, δ)：0.88 (t, 3H, J = 6.7 Hz, CH₃), 1.12 – 1.39 (m, 12H), 1.40 – 1.60 (m, 2H, CH₂), 1.72 – 1.90 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.10 (t, 2H, J = 6.7 Hz, CH₂), 2.55 – 2.90 (m, 6H), 4.13 – 4.30 (m, 1H, CH-N), 4.24 (s, 4H, CH₂N), 4.91 (d, 1H, J = 3.3 Hz, CH-O), 5.90 (d, 1H, J = 7.4 Hz, NH), 6.75 – 6.88 (m, 3H, ArH), OH not seen

¹³C-NMR (CDCl₃, δ)：14.1, 22.7, 23.6 (2 x C), 25.6, 29.1, 29.3, 31.9, 36.8, 52.3, 55.1 (2 x C), 57.7, 64.3 (2 x C), 75.2, 77.2, 115.0, 117.0, 118.9, 134.4, 142.8, 143.4, 173.5, 174.8

20

MS-ESI m/z (%rel. int.)：433.1 ([MH]⁺, 100)

HPLC：方法A, 検出UV 280 nm, 化合物7, RT = 5.2 min, ピーク面積 96.2%

【0082】

N-(DL-トレオ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ダイオキシシ-6-イル)-1-ヒドロキシ-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-2-イル)パルミタミド、化合物 8

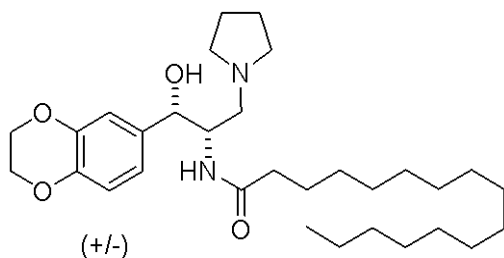
10 mL の CH₂Cl₂ 中の DL-トレオ-2-アミノ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ダイオキシシ-6-イル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール BLE04104 (0.158 g, 0.57 mmol) の攪拌した溶液に、2 mL CH₂Cl₂ 中の n-ヒドロキシスクシンイミド (0.068 g, 0.59 mmol)、トリエチルアミン (95 μL, 0.68 mmol) および 3 mL CH₂Cl₂ 中のパルミトイルクロリド (155 μL, 0.511 mmol) をこの順序で加えた。

30

混合物を室温で一晩攪拌した後、CH₂Cl₂ と 1 N 水酸化ナトリウム水溶液の間に分配した。有機層を CH₂Cl₂：MeOH = 95：5 を溶出液として用いるシリカのカラムクロマトグラフィーにより精製した。白色の固体 n-(DL-トレオ-1-(2,3-ジヒドロベンゾ[b][1,4]ダイオキシシ-6-イル)-1-ヒドロキシ-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-2-イル)パルミタミド化合物 8 を得た (148 mg, 50.4% の収率)。

40

【化 4 0】



化合物 8

10

分子量：516.7；収率：50.4%；白色の固体；Mp (°C)：66.4

R_f：0.50 (MeOH：CH₂Cl₂ = 10：90)

¹H-NMR (CDCl₃, δ)：0.88 (t, 3H, J = 6.7 Hz, CH₃), 1.15–1.35 (m, 24H), 1.45–1.58 (m, 2H, CH₂), 1.75–1.90 (m, 4H, 2xCH₂), 2.10 (t, 2H, J = 7.4 Hz, CH₂), 2.61 (s, 1H, OH), 2.52–2.72 (m, 4H), 2.72–2.92 (m, 2H), 4.15–4.22 (m, 1H, CH–N), 4.24 (s, 4H, CH₂N), 4.92 (d, 1H, J = 3.3 Hz, CH–O), 6.08 (d, 1H, J = 7.4 Hz, NH), 6.75–6.90 (m, 3H, ArH)

MS-E SIM/z (%rel. int.)：517.2 ([MH]⁺, 100)

20

HPLC：方法A, 検出UV 280nm, 化合物8 RT = 6.60min, ピーク面積97.2%

【0083】

DL-トレオ-2-アミノ-1-(ピリジン-4-イル)-3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール、化合物 46の調製

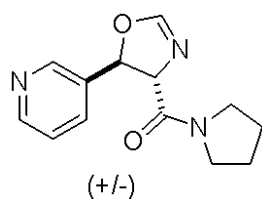
トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(ピリジン-3-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、BLE 04110B

オキサゾリンを形成するための一般的な方法DをBLE 04110Bの調製によって説明する：メタノール(10mL)中に水酸化カリウム(0.55g、9.80mmol)を含む溶液に、冷却(0°C)および攪拌しながら、3-ピリジナルボキサリデヒド(1.03mL、10.84mmol)および2-イソシアノ-1-(ピロリジン-1-イル)エタノン、BLE 04098(1.50g、10.86mmol)の混合物を添加した。溶液を0°Cで3時間攪拌し、次いで、濃縮した。残滓を酢酸エチル(100mL)と水とに分配した。有機層を2回のさらなる酢酸エチル抽出液(100mL、2回)と合わせ、塩化ナトリウム水溶液で洗浄、MgSO₄上で乾燥、ろ過後、蒸発させた。濃縮により粗生成物を得、これをシリカ上のカラムクロマトグラフィー(CH₂Cl₂：MeOH = 98：2)によって精製して、トランス-(4,5-ジヒドロ-5-(ピリジン-3-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、BLE 04110Bを淡黄色の固体(0.95g、収率39%)として得た。

30

【化 4 1】

40



BLE 04110B

分子量：245.28；収率：39%；淡黄色の固体；融点(°C)：107.0

¹H-NMR (CDCl₃, δ)：1.78–2.10 (m, 4H, 2xCH₂), 3.40–3.61 (m, 3H, CH₂N), 3.90–4.0

50

4 (m, 1H, CH₂N), 4.59 (dd, 1H, J=7.7 Hz, J=2.2 Hz, CH-N), 6.21 (d, 1H, J=7.7 Hz, CH-O), 7.04 (d, 1H, J=2.2 Hz, O-CH=N), 7.33 (m, 1H, ArH), 7.64 (m, 1H, ArH), 8.59 (d, 2H, J=2.8 Hz, ArH).

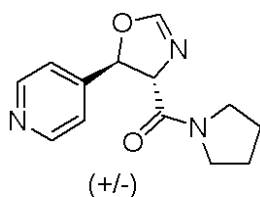
¹³C-NMR (CDCl₃, δ) : 24.2, 26.0, 46.4, 46.6, 75.7, 79.3, 123.7, 133.5, 135.3, 147.6, 149.9, 155.2, 166.2.

【0084】

トランスー(4,5-ジヒドロ-5-(ピリジン-4-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、化合物19

化合物19は、ピリジン-4-カルバルデヒド(1.88mL, 19.76mmol), メタノール(18mL)中のKOH(1.01g, 18.00mmol)および2-イソシアノー-1-(ピロリジン-1-イル)エタノンBLE04098(2.73g, 19.76mmol)を用い、方法Dにしたがって製造した。残留物を酢酸エチル(200mL)と水(150mL)の間に分配した。有機層をさらに酢酸エチル抽出物(2x150mL)と合わせ、塩化ナトリウム水溶液(2x150mL)で洗浄し、MgSO₄で乾燥し、濾過し、留去した。トランスー(4,5-ジヒドロ-5-(ピリジン-4-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン化合物19を白色の固体として得た(4.32g, 98%の収率)。

【化42】



化合物19

分子量: 245.28; 収率: 98%; 白色の固体; Mp (°C) = 69.2

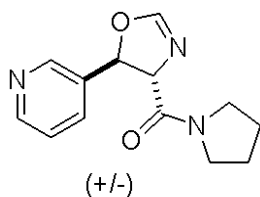
R_f: 0.65 (MeOH:CH₂Cl₂ = 10:90)

¹H-NMR (CDCl₃, δ) : 1.78-2.06 (m, 4H, 2xCH₂), 3.44-3.60 (m, 3H, CH₂N), 3.90-4.01 (m, 1H, CH₂N), 4.52 (dd, 1H, J=7.9 Hz, J=2.2 Hz, CH-N), 6.19 (d, J=7.9 Hz, 1H, CH-O), 7.03 (d, 1H, J=2.2 Hz, N=CH-O), 7.24 (dd, 2H, J=4.5 Hz, J=1.5 Hz, ArH), 8.61 (dd, 2H, J=4.5 Hz, J=1.5 Hz, ArH)

【0085】

オキサゾリンの酸加水分解の一般的方法(方法E)を、置換されたプロピオン酸アミドであり、一般的合成反応式1にしたがって製造することができるオキサゾリン中間体BLE04110Bから製造される化合物20の製造において説明する。

【化43】



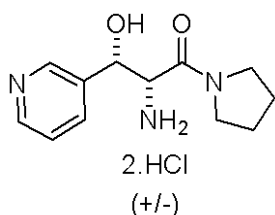
BLE 04110B

D,L-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(ピリジン-3-イル)-1-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物20

メタノール(10mL)中のトランスー(4,5-ジヒドロ-5-(ピリジン-3-イル)オキサゾール-4-イル)(ピロリジン-1-イル)メタノン、BLE 04110

B (0.932 g、3.80 mmol) に、37% 塩酸 (1.2 mL) を添加した。混合物を 2.25 時間加熱 (50 °C) した後、反応混合物を濃縮し、粗生成物を酢酸エチルと共に、2 回にわたり共蒸発させた。酢酸エチルと共に粉碎し、ろ過および乾燥後、DL-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(ピリジン-3-イル)-1-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物 20 を白色の固体 (1.10 g、収率 94%) として得た。

【化 4 4】



10

化合物 20

分子量：308.2；収率：94%；白色の固体；融点 (°C)：123.4

¹H-NMR (CD₃OD, δ)：1.65-2.00 (m, 4H, 2xCH₂), 2.82-3.11 (m, 1H, -CH₂N), 3.30-3.57 (m, 2H, CH₂N), 3.57-3.77 (m, 1H, CH₂N), 4.54 (d, 1H, J=5.3 Hz, CH-N), 5.38 (d, 1H, J=5.3 Hz, CH-O), 8.15 (dd, 1H, J=7.6 Hz, J=5.0 Hz, ArH), 8.68 (d, 1H, J=7.6 Hz, ArH), 8.89 (d, 1H, J=7.6 Hz, ArH), 8.96 (s, 1H, ArH).

20

¹³C-NMR (CD₃OD, δ)：24.9, 26.9, 47.7, 48.2, 58.1, 69.6, 128.7, 141.5, 141.6, 143.1, 146.5, 165.4.

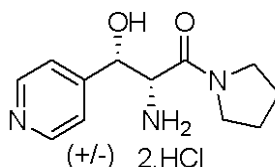
【0086】

DL-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(ピリジン-4-イル)-1-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物 22

化合物 22 をトランス-(4, 5-ジヒドロ-5-(ピリジン-4-イル)オキサゾール-4-イル)-(ピロリジン-1-イル)メタノン、化合物 19 (0.750 g、3.07 mmol)、37% 塩酸 (1.0 mL) およびメタノール (10 mL) を用いて、方法 E にしたがって調製した。50 °C で 3.0 時間加熱した後、精査して、DL-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(ピリジン-4-イル)-1-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物 22 を白色の固体 (0.935 g、収率 99%) として得た。

30

【化 4 5】



化合物 22

40

分子量：308.28；収率：99%；白色の固体；融点 (°C)：117.0

¹H-NMR (CD₃OD, δ)：1.75-2.03 (m, 4H, 2xCH₂), 2.93-3.08 (m, 1H, CHN), 3.32-3.75 (m, 3H, 2xCH₂), 4.54 (d, 1H, J=5.9 Hz, CH-N), 5.40 (d, 1H, J=5.9 Hz, CH-O), 8.21 (d, 2H, J=5.8 Hz, ArH), 8.94 (d, 2H, J=5.8 Hz, ArH).

MS-E SI m/z (% rel. int.)：236.1 ([MH]⁺, 17)、219 (25)、148 (100)

HPLC：方法 A、検出 UV 254 nm、化合物 22 RT = 0.8 分、ピーク面積 96.3%

【0087】

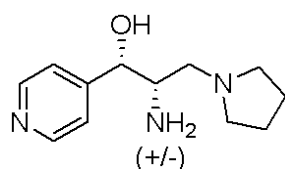
DL-トレオ-2-アミノ-1-(ピリジン-4-イル)-3-(ピロリジン-1-イ

50

ル) プロパン-1-オール、化合物 46

テトラヒドロフラン (108 mL) 中に D L-トレオ-2-アミノ-3-ヒドロキシ-3-(ピリジン-4-イル)-1-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オン二塩酸塩、化合物 22 (0.86 g、2.80 mmol) を含む懸濁液に、攪拌しながら、窒素雰囲気下で、0℃で水素化アルミニウムリチウム (0.64 g、16.82 mmol) を 2 回に分けて、ゆっくり添加した。反応混合物を室温で 20 時間攪拌した後、2 N 水酸化ナトリウム水溶液 (8.4 mL、6 当量) をゆっくり滴下することによって、反応を止めた。黄色の沈殿をろ過した。有機層を水 (80 mL) で洗浄し、有機層を取り出し、さらなる酢酸エチル抽出液 (200 mL、4 回) と合わせ、MgSO₄ 上で乾燥させ、ろ過後、蒸発させた。粗生成物をシリカ上のカラムクロマトグラフィー (CH₂Cl₂:MeOH:NH₃=94:05:01) によって精製した。蒸発および乾燥後、D L-トレオ-2-アミノ-1-(ピリジン-4-イル)-3-(ピロリジン-1-イル) プロパン-1-オール、化合物 46 を淡黄色の固体 (0.075 g、収率 12%) として得た。

【化 46】



化合物 46

分子量: 221.30; 収率: 12%; 淡黄色の固体

R_f: 0.35 (CH₂Cl₂:MeOH:NH₃=90:08:02)、遊離の塩基

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.60-1.80 (m, 4H, 2xCH₂), 2.30-2.80 (m, 6H, 3xCH₂N), 3.14-3.19 (m, 1H, CHNH₂), 4.68 (d, 1H, J=3.0 Hz, CHO), 7.30 (d, 2H, J=6.0 Hz, ArH), 8.55 (d, 2H, J=6.0 Hz, ArH).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 23.5 (2xC), 54.1, 54.7 (2xC), 60.1, 74.5, 121.4 (2xC), 149.5 (2xC), 152.1.

MS-E SI m/z (rel. int.): 222.1 ([MH]⁺, 100), 205.0 (80), 189.0 (45), 151.0 (70), 134.0 (42), 121.9 (100), 107.9 (40)

【手続補正書】

【提出日】平成24年4月25日(2012.4.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

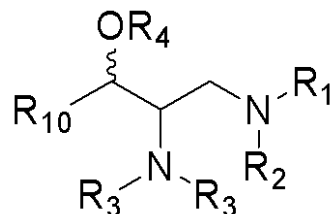
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

次式で示される化合物

【化1】



[式中、

R₁は、Hまたは1～6炭素のアルキル、

10

20

30

R_2 は、H、1～6炭素のアルキルまたは R_1 および R_2 基は窒素と一緒にあって、N、OおよびSから独立に選択される1または2のヘテロ原子を含んでいてもよい飽和または不飽和の4、5、6または7員環を形成し、該4、5、6または7員環はハロゲンまたは1～6アルキル基を有するアルキル基で置換されていてもよく、

R_3 は独立に、H、1～20炭素のアルキル、アリールまたはヘテロアリール、アリール-アルキルまたはヘテロアリール-アルキルから選択され、アルキル部分は1～4炭素を有し、3～6炭素のシクロアルキル、該アリールまたはヘテロアリール基はハロゲン、1～6炭素のアルキル、1～6炭素のアルコキシおよびチオキシ1～6炭素のからなる群から独立に選択される1～3の基で置換されていてもよい、または

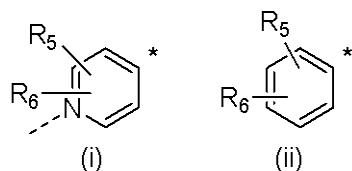
R_3 は $CO-R_7$ または $CO-O-R_7$ であり、ここで R_7 は、H、1～20炭素のアルキル、ベンジル、または NH_2 基、 $NHCOO$ アルキルもしくは $NH-CO$ アルキル基で置換された1～20炭素のアルキルであり、アルキル基は1～6炭素を有するか、または R_7 はアリール、ヘテロアリール、アリール-アルキルまたはヘテロアリール-アルキルであり、アルキル部分は、枝分かれしているまたは枝分かれしておらず1～4炭素を有し、該アリールまたはヘテロアリール基は、ハロゲン、1～6炭素のアルキル、1～6炭素のアルコキシおよび1～6炭素のチオキシからなる群から独立に選択される1～3の基で置換されていてもよく、

R_4 は、H、1～6炭素のアルキルまたは $CO-R_8$ （ここで R_8 は1～6炭素のアルキルである）であり；

波線はRまたはS配置を有する炭素に結合した結合を示し、そして

R_{10} は、式(i)および(ii)の基から選択され

【化2】



(*は分子の残りの部分がそこへ結合する炭素原子を示す)；

R_5 および R_6 は、独立にH、1～6炭素のアルキル、ハロゲン、1～6炭素のアルコキシであるかまたは R_5 および R_6 基がそれらが結合している原子と一緒にあって炭素環または複素環を形成し、炭素環は環に5または6原子を有し、複素環は環に5または6原子を有し、ヘテロ原子はN、OおよびSから独立に選択される1～3個を有し、該炭素環または複素環は、1～6個の R_9 で置換されていてもよい R_5 および R_6 により形成され、 R_9 は独立に、ハロゲン、1～6炭素のアルキル、1～6炭素のアルコキシから選択され、

但し、

R_{10} が式(ii)を有するとき、 R_4 が水素で R_1 および R_2 が窒素と一緒にあってモルホリンまたはピロリジン環を形成し R_5 および R_6 がいずれもHであるかまたは R_5 および R_6 の一方が CH_3 で他方がHである化合物は包含しない]で示される化合物またはその製薬的に許容し得る塩。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/40 (2006.01)	A 6 1 K 31/40	
A 6 1 K 31/4025 (2006.01)	A 6 1 K 31/4025	
A 6 1 K 31/4439 (2006.01)	A 6 1 K 31/4439	

(74)代理人 100176474
弁理士 秋山 信彦

(72)発明者 ベルトラン・ルブロン
フランス、エフー 9 2 3 2 0 シャティヨン、アレ・デ・ダリア 1 7 番

(72)発明者 エリック・ボーソレイユ
フランス、エフー 7 5 0 1 5 パリ、リュ・ショヴェロ 5 ビス番

(72)発明者 ティエリー・タヴェルン
フランス、エフー 6 2 2 8 0 サン・マルタン・レ・ブローニュ・シュール・メール、リュ・ミシェ
ル・アンジュ 2 1 番ーレジダンス・ル・ヴァロン

(72)発明者 ジョン・イー・ドネロ
アメリカ合衆国 9 2 6 2 9 カリフォルニア州ダナ・ポイント、ペキート・ドライブ 3 4 0 4 1 番

F ターム(参考) 4C022 KA01
4C055 AA01 BA01 CA01 DA27 DB01 DB02 GA10
4C086 AA03 BC07 BC17 BC73 GA02 GA07 GA16 NA14 ZA08

【外国語明細書】

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

3-HETEROARYL-3-HYDROXY-2-AMINO-PROPYL AMINES AND RELATED COMPOUNDS HAVING
ANALGESIC AND/OR IMMUNO STIMULANT ACTIVITY

BACKGROUND OF THE INVENTION

Claim of Priority: The present application claims the priority of United States provisional application serial number 60/647,271 filed on January 26, 2005.

Field of the Invention

The present invention relates to derivatives of 1-aryl-1-hydroxy-2,3-diamino-propyl amines, 1-heteroaryl-1-hydroxy-2,3-diamino-propyl amines and to related compounds having analgesic and in some cases immunostimulant activity.

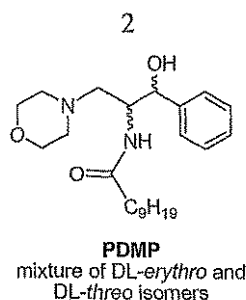
The present invention also relates to pharmaceutical compositions containing these compounds as active ingredient for alleviating or eliminating pain in mammals and/or stimulating the immune system in mammals and to methods of using said pharmaceutical compositions as analgesics and or immunostimulants.

Background Art

1-Phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol (PDMP) was discovered by Vunam, R. R. and Radin, N., *Chem. Phys. Lipids*, 26, 265-278, 1980. Preparation of PDMP is described in Inokuchi, J. *et al.*, *J. Lipid Res.* **28**, 565-571, 1987; Radin, A. *et al.*, *NeuroProtocols*, 3(2), 145-55, 1993; Radin, A. *et al.*, *J. Lipid Res.* **36**, 611-621, 1995 and US 5916911.

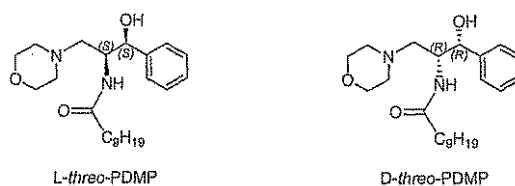
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570



These derivatives inhibit glucosylceramide (GlcCer) formation by inhibiting the enzyme GlcCer synthase, thereby lowering the level of glycosphingolipids.) The isomers most active have the *R,R*-(*D-threo*)-configuration. Four enantiomers are produced during the synthesis. Because only the *D-threo* enantiomers are active in inhibiting the glucosylceramide synthase, resolution of the active *D-threo* inhibitors was performed by chiral chromatography.

Moreover, *D-threo*-PDMP has antitumor activity *via* inhibition of glycosphingolipid biosynthesis as described by Inokuchi J., *Cancer Letters* 38(1-2), 23-30, 1987.



Furthermore, it was also reported that *D-threo*-PDMP suppresses synaptic function by Mizutani A. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 222, 494-498, 1996.

Preparation of enantiomerically pure *D-threo*-PDMP has been reported by Mitchell, Scott A. [*J. Org. Chem.*, 63 (24), 8837-8842, 1998];

WO 2006/081276

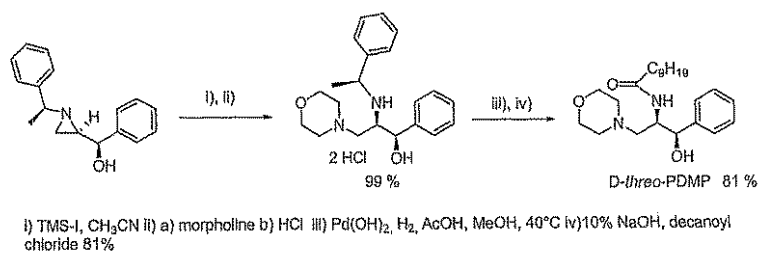
PCT/US2006/002570

3

Miura, T. *et al.*, [Bioorg. Med. Chem., 6, 1481-1498, 1998]; Shin, S. *et al.*, [Tetrahedron asymmetry, 11, 3293-3301, 2000]; WO 2002012185

L-threo-PDMP is an agent for treating neuronal diseases WO 95/05177. This compound is also described to be an agent for protecting brain in US 6407064. Moreover treatment with *L-threo*-PDMP after transient forebrain ischemia in rats ameliorated the deficit of a well learned spatial memory by an 8-arm maze task, suggesting a potential for neurodegenerative disorders as described by Inokuchi *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 845(1), 219-224, 1998 and JP 10324671 (Seikagaku Kogyo Co.).

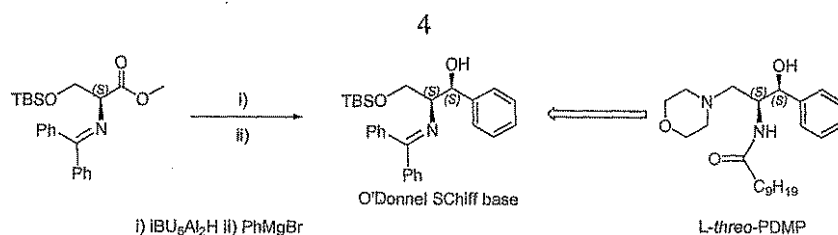
A stereoselective synthesis of enantiomerically pure *D-threo*-PDMP has also been described by Shin, S. *et al.*, *Tetrahedron asymmetry*, 11, 3293-3301, 2000 and WO 2002012185 the key step is the regioselective cleavage by nitrogen nucleophiles, as morpholine, of the C(3)-N-bond of non-activated enantiomerically pure aziridine-2-methanols.



On the other hand, the synthesis of enantiomerically pure (1*S*,2*S*)-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol (*L-threo*-PDMP) from *L*-serine has also been described by Mitchell, Scott A., *J. Org. Chem.*, 63 (24), 8837-8842, 1998.

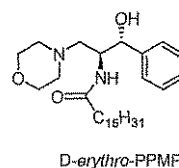
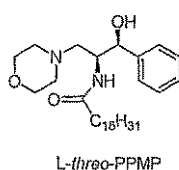
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570



Other known methods to obtain *L-threo*-PDMP are described by Miura, T. *et al*, *Bioorg. Med. Chem.*, 6, 1481-1498, 1998 and in JP-A-9-216858. *L-threo*-PDMP is an agent for treating neuronal diseases WO 95/05177. This compound is also described to be an agent for protecting brain in US 6407064. Moreover treatment with *L-threo*-PDMP after transient forebrain ischemia in rats ameliorated the deficit of a well learned spatial memory by an 8-arm maze task, suggesting a potential for neurodegenerative disorders as described by Inokuchi *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 845(1), 219-224, 1998 and JP 10324671 (Seikagaku Kogyo Co.).

Synthesis of (1*S*,2*S*)- *threo*- and (1*R*,2*S*)-*erythro*-1-phenyl-2-palmitoylamino-3-*N*-morpholino-1-propanol (PPMP) were described starting from Garner aldehyde of *L*-serine, by Nishida, A., *Synlett*, 4, 389-390, 1998.



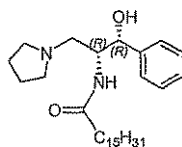
Compounds with longer chain fatty acyl groups (than decanoyl) have been found to be substantially more effective as inhibitor of GCS. *D-threo*-1-phenyl-2-palmitoylamino-3-pyrrolidino-1-propanol (P4 or PPPP) analogues were first obtained by a Mannich reaction as described

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

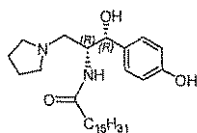
5

Abe, A. et al., *J. Biochem.*, 111, 191-196, 1992 or US 5916911 and WO 2001004108.



D-threo-P4

Preparation of D-*threo*-4'-hydroxy-P4, one of the most potent inhibitor of GCS, was described by Lee, L. et al., *J. Biol. Chem.*, 274, 21, 14662-14669, 1999. In addition, a series of dioxane substitutions was designed and tested. These included 3',4'-methylenedioxyphenyl-3',4'-ethylenedioxyphenyl-, and 3',4'-trimethylenedioxyphenyl-substituted homologues.



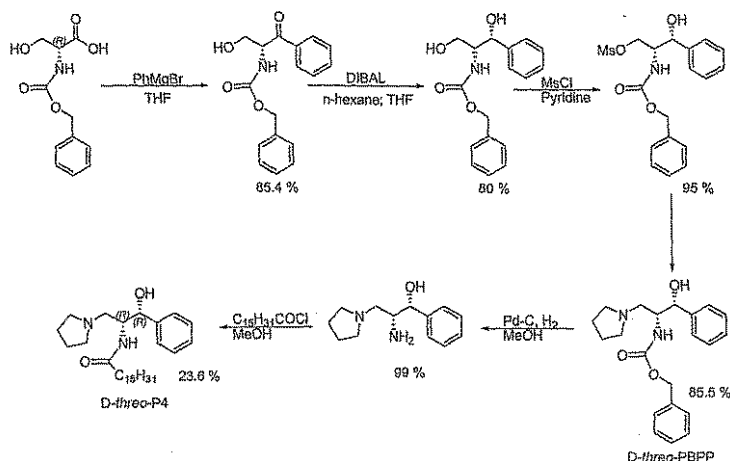
D-threo-4'-hydroxy-P4

Synthesis of enantiomerically pure D-*threo*-1-phenyl-2-benzyloxycarbonylamino-3-pyrrolidino-1-propanol (PBPP) and D-*threo*-P4 and its analogues from *N*-benzyloxycarbonyl-D-serine, was described by Jimbo M. et al, *J. Biochem.*, 127(3), 485-91, 2000 and EP 782992 (Seikagaku Kogyo Co.). PBPP is described as a potent GCS inhibitor.

WO 2006/081276

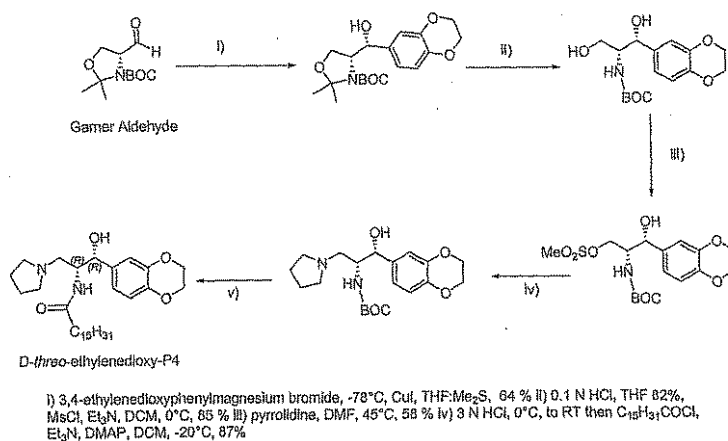
PCT/US2006/002570

6



Novel prodrugs of P4 derivatives were described in US 20020198240 and WO 2002062777.

Synthesis of enantiomerically pure of D-threo-ethylenedioxy-P4 and D-threo-p-methoxy-P4 were described by Husain A. and Ganem B., *Tetrahedron Lett.*, 43, 8621-8623, 2002. The key step is a highly syn-selective additions of aryl Grignard reagents to Garner aldehyde.



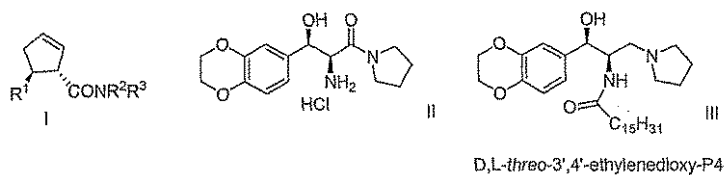
Diastereoselective synthesis of P4 analogues were described in US

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

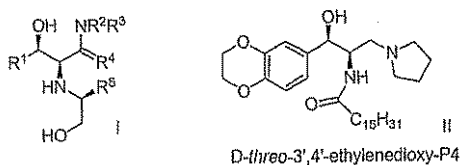
7

03/0153768 and WO 2003045928 (Genzyme Corp.); Oxazolines I [R^1 = (un)substituted aryl; R^2, R^3 = H, (un)substituted aliphatic; NR^2R^3 = heterocyclic] are prepared as intermediates for P4 glucosyltransferase inhibitors from R^1CHO and $R^2R^3NCOCH_2CN$. Thus, methyl isocyanoacetate $CNCH_2CO_2Me$ was treated with pyrrolidine and the amide was treated with 1,4-benzodioxane-6-carboxaldehyde, followed by hydrolysis of the oxazoline using HCl in methanol, reduction of the keto group of amide II using $LiAlH_4$, and acylation with palmitoyl chloride to give D,L-threo-ethylenedioxy-P4 III.



Synthesis of enantiopure P4 analogues were described in WO 2003008399 (Genzyme Corp.).

P4 derivatives, such as I [R^1, R^5 = un(substituted) aromatic; R^2, R^3 = H, un(substituted) aliphatic; NR^2R^3 = (un)substituted non-aromatic heterocyclic ring; R^4 = O, H_2], were prepared for their therapeutic use as GCS inhibitors. Thus, D-threo-ethylenedioxy-P4 was prepared via a multistep synthetic sequence starting from S-(+)-Ph glycinol, phenyl- α -bromoacetate, 1,4-benzodioxan-6-carboxaldehyde, pyrrolidine and palmitoyl chloride.



WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

8

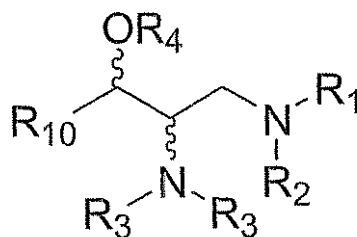
New D-*threo*-P4 analogues that bear ether substituents on the aromatic ring have been recently synthesized from D-serine and found to suppress neurite extension in an embryonic insect cell line as described by Slavish., J. P. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 1487-1490, 2004.

Further references which serve as background to the present invention are United States Patent Nos. 5,945,442; 5,952,370; 6,030,995 and 6,051,598; Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals (1996), 38(3), 285-97; Published PCT application WO 01/38228; and *Kastron et al.* Latvijas PSR Zinatnu Akademijas Vestis, Kimijas Serija (1965) (4), 474-7.

Significantly, according to the best knowledge of the present inventors none of the compounds of the prior art which are structurally similar to the novel compounds of the present invention are known in the prior art as analgesics or immuno stimulants.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention is directed to compounds of **Formula 1**



Formula 1

where R₁ is H or alkyl of 1 to 6 carbons,

R₂ is H, alkyl of 1 to 6 carbons or the R₁ and R₂ groups together with the nitrogen form a saturated or unsaturated 4, 5, 6 or 7 membered ring that optionally includes one or two heteroatoms independently selected from

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

9

N, O and S, said 4, 5, 6 or 7 membered ring optionally being substituted with a halogen, COOH, CH₂OH, OH, B(OH)₂, cyano or with an alkyl group having 1 to 6 alkyl groups;

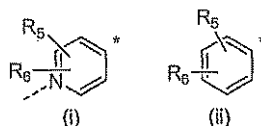
R₃ is independently selected from H, alkyl of 1 to 20 carbons, aryl or heteroaryl, aryl-alkyl or heteroaryl-alkyl where the alkyl moiety is has 1 to 4 carbons, cycloalkyl of 3 to 6 carbons, said aryl or heteroaryl groups being optionally substituted with 1 to 3 groups independently selected from the group consisting of halogen, alkyl of 1 to 6 carbons, alkoxy of 1 to 6 carbons and thioxy of 1 to 6 carbons, or

R₃ is CO-R₇ or CO-O-R₇ where R₇ is H, alkyl of 1 to 1 to 20 carbons, benzyl, alkyl of 1 to 20 carbons substituted with and NH₂ group, with a NHCOOalkyl or with an NH-COalkyl group where the alkyl group has one to 6 carbons, or R₇ is aryl, heteroaryl, aryl-alkyl or heteroaryl-alkyl where the alkyl moiety is branched or unbranched and has 1 to 4 carbons, said aryl or heteroaryl groups being optionally substituted with 1 to 3 groups independently selected from the group consisting of halogen, alkyl of 1 to 6 carbons, alkoxy of 1 to 6 carbons and thioxy of 1 to 6 carbons;

R₄ is H, alkyl of 1 to 6 carbons or CO-R₈ where R₈ is alkyl of 1 to 6 carbons;

the wavy lines represent bonds connected to carbons having *R* or *S* configuration, and

R₁₀ is selected from the groups of formulas (i) and (ii)



WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

10

where the * indicates the carbon atom to which the remaining moiety of the molecule is attached;

R₅ and R₆ independently are H, alkyl of 1 to 6 carbons, halogen, alkoxy of 1 to 6 carbons or the R₅ and R₆ groups together with the atoms to which they are attached jointly form a carbocyclic or a heterocyclic ring, the carbocyclic ring having 5 or 6 atoms in the ring, the heterocyclic ring having 5 or 6 atoms in the ring and 1 to 3 heteroatoms independently selected from N, O and S, and

said carbocyclic or heterocyclic ring jointly formed by R₅ and R₆ being optionally substituted with 1 to 6 R₉ groups where R₉ is independently selected from halogen, alkyl of 1 to 6 carbons, alkoxy of 1 to 6 carbons, with the proviso:

that when R₁₀ has formula (ii) then **Formula 1** does not include compounds where R₄ is hydrogen and R₁ and R₂ jointly with the nitrogen form a morpholin or a pyrrolidin ring and where R₅ and R₆ both are H or one of R₅ and R₆ is OCH₃ and the other is H, and the present invention is also directed to all pharmaceutically acceptable salts of said compounds.

The present invention is also directed to pharmaceutical compositions containing the above-noted novel compound to be used as analgesics and/or immuno stimulants in mammals, and to methods of using said pharmaceutical compositions as analgesics and/or as immuno stimulants.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

A general description of the compounds of the invention is provided in the Summary Section of the present application for patent. Most compounds of the invention contain one or more asymmetric centers, such that the compounds may exist in enantiomeric as well as in

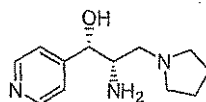
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

11

diastereomeric forms. In fact, most of the compounds of the present invention have two asymmetric carbons adjacent to one another and therefore can exist in *erythro* or *threo* form, with each of these two forms having *dextrorotatory* (D) or *levorotary* (L) enantiomers. Although the *threo* form is generally preferred in accordance with the present invention for analgesic activity, unless it is specifically noted otherwise, the scope of the present invention includes all enantiomers, diastereomers and diastereomeric and racemic mixtures. In light of the foregoing, it should be clearly understood that the designation "DL" or "(+/-)" or "(±)" in this application includes the pure dextrorotatory enantiomer, the pure levorotatory enantiomer and all racemic mixtures, including mixtures where the two enantiomers are present in equal or in unequal proportions. Moreover, for simplicity sake in many of the structural formulas, such as in the example below, only one of the enantiomers is actually shown but when the designation "DL" (or "(+/-)" or "(±)") appears it also includes the enantiomeric form (mirror image) of the structure actually shown in the formula.

For Example:



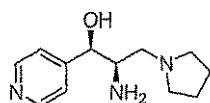
DL-*threo* or $\pm$ -*threo*

Thus, in the example above, only one enantiomer is shown, but because the designation "DL" (or "(+/-)" or "(±)") appears below the formula, its optical isomer

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

12



and all racemic mixtures of the two optical isomers are also included.

In the case of some compounds of the present invention one enantiomer of the threo, and in some cases of the erythro, is significantly more active as an analgesic or immuno stimulant than the other enantiomer of the same pair. For this reason the isolated enantiomer which is significantly more active than the other is considered a novel and inventive composition even if the racemic mixture or one single enantiomer of the same compounds have already been described in the prior art.

Some of the novel compounds of the present invention may contain three or more asymmetric centers.

Keeping the foregoing examples in mind a person of ordinary skill in the art should readily understand the scope of each described example, although in a broad sense all isomers, enantiomers and racemic mixtures are within the scope of the invention.

The term "alkyl" in the general description and definition of the compounds includes straight chain as well as branch-chained alkyl groups.

Generally speaking the compounds of the invention may form salts with pharmaceutically acceptable acids or bases, and such pharmaceutically acceptable salts of the compounds of **Formula 1** are also within the scope of the invention.

Referring now to the novel compounds of **Formula 1**, the **R₅** and **R₆** groups preferably both are independently selected from H, alkyl,

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

13

alkoxy and still more preferably are H. In the preferred compounds the R_3 groups are preferably both H, or one of the R_3 groups is H and the other is an acyl group or an arylalkylcarbamoyl group. The R_4 group is preferably H (but see the “proviso” in the Summary section) or alkanoyl, and the R_1 and R_2 groups preferably are pyrrolidino or morpholino.

The presently most preferred novel compounds of the invention are disclosed with their structural formulas in the ensuing Table and or description, showing activity of exemplary compounds relevant to their ability to act as analgesics.

BIOLOGICAL ACTIVITY, MODES OF ADMINISTRATION

The novel compounds of the invention have analgesic and/or immunostimulant activity in mammals. Some of the compounds described in the introductory section which *per se* are known in the art have been discovered by the present inventors to also have analgesic effect in mammals. To the best of the knowledge of the present inventors the analgesic or immunostimulant biological activity of the known compounds was not known before the present discovery.

An art-accepted model or assay for measuring an analgesic effect of a compound in chronic pain (in particular peripheral neuropathy) is the model known as *Kim and Chung* 1992, Pain 150, pp 355-363 (*Chung* model). This model involves the surgical ligation of the L5 (and optionally the L6) spinal nerves on one side in experimental animals. Rats recovering from the surgery gain weight and display a level of general activity similar to that of normal rats. However, these rats develop abnormalities of the foot, wherein the hindpaw is moderately everted and the toes are held together. More importantly, the hindpaw on the side affected by the surgery appears to become sensitive to low-threshold mechanical stimuli and will perceive pain instead of the faint

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

14

sensation of touch. This sensitivity to normally non-painful touch, called "tactile allodynia", develops within the first week after surgery and lasts for at least two months. The allodynia response includes lifting the affected hindpaw to escape from the stimulus, licking the paw and holding it in the air for many seconds. None of these responses is normally seen in the control group.

To produce the tactile allodynia, rats are anesthetized before surgery. The surgical site is shaved and prepared either with betadine or Novacaine. Incision is made from the thoracic vertebra XIII down toward the sacrum. Muscle tissue is separated from the spinal vertebra (left side) at the L4 - S2 levels. The L6 vertebra is located and the transverse process is carefully removed with a small rongeur to expose the L4 - L6 spinal nerves. The L5 and L6 spinal nerves are isolated and tightly ligated with 6-0 silk thread. The same procedure is done on the right side as a control, except no ligation of the spinal nerves is performed.

After a complete hemostasis is confirmed, the wounds are sutured. A small amount of antibiotic ointment is applied to the incised area, and the rat is transferred to the recovery plastic cage under a regulated heat-temperature lamp.

On the day of the experiment, at least seven days after the surgery, typically six rats per test group are administered the test drugs by intraperitoneal (i.p.) injection or oral gavage (p.o.). For i.p. administration, the compounds are formulated in H₂O and given in a volume of 1 ml/kg body weight by injecting into the intraperitoneal cavity. For p.o. administration, the compounds are formulated in H₂O and given in a volume of 1 ml/kg body weight using an 18-gauge, 3 inch gavage needle that is slowly inserted through the esophagus into the stomach.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

15

Tactile allodynia is assessed via von Frey hairs, which are a series of fine hairs with incremental differences in stiffness. Rats are placed in a plastic cage with a wire mesh bottom and allowed to acclimate for approximately 30 minutes. To establish the pre-drug baseline, the von Frey hairs are applied perpendicularly through the mesh to the mid-plantar region of the rats' hindpaw with sufficient force to cause slight buckling and held for 6-8 seconds. The applied force has been calculated to range from 0.41 to 15.1 grams. If the paw is sharply withdrawn, it is considered a positive response. A normal animal will not respond to stimuli in this range, but a surgically ligated paw will be withdrawn in response to a 1-2 gram hair. The 50 % paw withdrawal threshold is determined using the method of Dixon, W.J., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20:441-462 (1980) hereby incorporated by reference. Tactile allodynia is measured prior to and 15, 30, and 60 minutes after drug administration. The post-drug threshold is compared to the pre-drug threshold and the percent reversal of tactile sensitivity is calculated based on a normal threshold of 15.1 grams.

Table 1 below indicates the degree of pain reversal obtained in the Chung model with exemplary compounds of the invention. The intraperitoneal (i.p.) and/or intravenous (iv) administration of the compounds was in doses ranging from 1 μ g/kg to 300 μ g/kg or 3mg/kg PO and the peak percentage of reversal of allodynia was measured at 15, 30 or 60 minutes after administration, as is indicated in the table. Data are expressed as the highest % allodynia reversal (out of 3 time points: 15 min, 30 min, or 60 min. post-drug) with a minimum of a 20% allodynia reversal in the rat Chung model. Comparisons between groups (drug treated vs. saline treated) were made using a two-tailed, 2-sample, unpaired t-test. Compounds that are not shown which were not

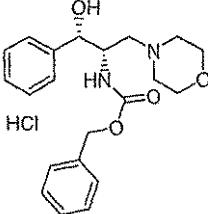
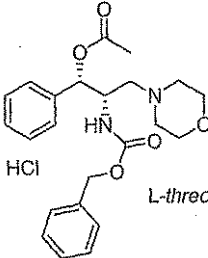
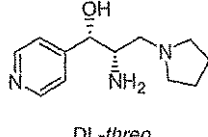
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

16

statistically analgesic following an IP dose of 300 ug/kg, but may still be analgesic. Compounds that do not exhibit significant analgesia at 100 mg/kg are not considered to be analgesic.

TABLE 1

Compound #	Chemical Formula	Peak % Pain reversal: time post dose	Dose $\mu\text{g/kg}$, Mode of administ.
1		30 min 44%	300 $\mu\text{g/kg}$ IP
3		60 min 92%	300 $\mu\text{g/kg}$ IP
46		60 min 96%	30 $\mu\text{g/kg}$ IP

An art accepted method for measuring immuno stimulation comprises systemic administration of compounds to assay for the ability to stimulate the immune system, possibly due to nonspecific upregulation of the hemolymphoreticular system. This upregulation could result in increased numbers of lymphocytes of both T- and B-cell lineage. Although applicant does not wish to be bound by the biological

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

17

theory of the immuno stimulation, actual immunostimulatory efficacy of the compounds can be demonstrated *in vivo* by assaying splenic size in response to administration of the test compound to laboratory test species rats. Generally speaking any compound that exhibits splenic enlargement following dosing of 200 mg/kg or less may be considered an immunostimulant.

Modes of Administration:

The compounds of the invention may be administered at pharmaceutically effective dosages. Such dosages are normally the minimum dose necessary to achieve the desired therapeutic effect; in the treatment of chronic pain, this amount would be roughly that necessary to reduce the discomfort caused by the pain to tolerable levels. For human adults such doses generally will be in the range 0.1-5000 mg/day; more preferably in the range 1 to 3000 mg/day, still more preferably in the range of 10 mg to 1000 mg/day. However, the actual amount of the compound to be administered in any given case will be determined by a physician taking into account the relevant circumstances, such as the severity of the pain, the age and weight of the patient, the patient's general physical condition, the cause of the pain, and the route of administration.

The compounds are useful in the treatment of pain in a mammal; particularly a human being. Preferably, the patient will be given the compound orally in any acceptable form, such as a tablet, liquid, capsule, powder and the like. However, other routes may be desirable or necessary, particularly if the patient suffers from nausea. Such other routes may include, without exception, transdermal, intraperitoneal, parenteral, subcutaneous, intranasal, intrathecal, intramuscular, intravenous and intrarectal modes of delivery. Another aspect of the

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

18

invention is drawn to therapeutic compositions comprising the novel compounds of the invention and pharmaceutically acceptable salts of these compounds and a pharmaceutically acceptable excipient. Such an excipient may be a carrier or a diluent; this is usually mixed with the active compound, or permitted to dilute or enclose the active compound. If a diluent, the carrier may be solid, semi-solid, or liquid material that acts as an excipient or vehicle for the active compound. The formulations may also include wetting agents, emulsifying agents, preserving agents, sweetening agents, and/or flavoring agents. If used as in an ophthalmic or infusion format, the formulation will usually contain one or more salt to influence the osmotic pressure of the formulation.

In another aspect, the invention is directed to methods for the treatment of pain, particularly chronic pain, through the administration of one or more of the novel or otherwise known compounds of the invention, or of pharmaceutically acceptable salts thereof to a mammal in need thereof. As indicated above, the compound will usually be formulated in a form consistent with the desired mode of delivery.

Compounds of the invention which are immuno stimulants are administered subject to the same basic principles as the compounds having analgesic activity, in doses which are best determined on a case-by-case and/or species-by-species and, in case of humans, at times on a patient-by-patient basis. Generally speaking the effective dose will be in the range of 10 $\mu\text{g/kg}$ to 200 mg/kg .

SYNTHETIC METHODS FOR OBTAINING THE COMPOUNDS OF THE INVENTION, EXPERIMENTAL

The compound of the invention can be synthesized by utilizing the synthetic methods described in the experimental below, or such modifications of the below described experimental methods which will

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

19

become readily apparent to those skilled in the art in light of the present disclosure.

GENERAL

¹H NMR spectra were recorded at ambient temperature with an Avance 300 (Bruker) spectrometer. The compounds were analyzed by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) using a Waters Autopurification System equipped with a Waters 2525 Pump, a Waters 2696 photodiode array detector, and a XTerra column (Part. No. 186000482, 5 μ m, C18, 4.5 $\times$ 50 mm).

The HPLC method used was a gradient of 5 % solvent B to 100 % in 7 min. Solvent A was H₂O with 0.05 % TFA and solvent B was CH₃CN with 0.05 % TFA (Method A).

Melting points were measured with a Büchi B-545 melting point apparatus and were uncorrected. To isolate reaction products the solvent were removed by evaporation using a vacuum rotatory evaporator, the water bath temperature not exceeding 40 °C.

GENERAL SYNTHETIC ROUTES

The compound of the invention can be synthesized by utilizing the synthetic methods described in a general sense immediately below and in more detail in the experimental section of the present application, or by such modifications of the below described general and experimental methods which will become readily apparent to those skilled in the art in light of the present disclosure.

A general synthetic route to the compound of the present invention which are substituted "1-hydroxyl-propyl amines" may lead through the synthesis of the corresponding substituted "3-hydroxyl-propyl amide" compounds, followed by reduction of the carbonyl group of the

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

20

“carboxylic acid amide” moiety with a reducing agent such as lithium aluminum hydride, or like reducing agent.



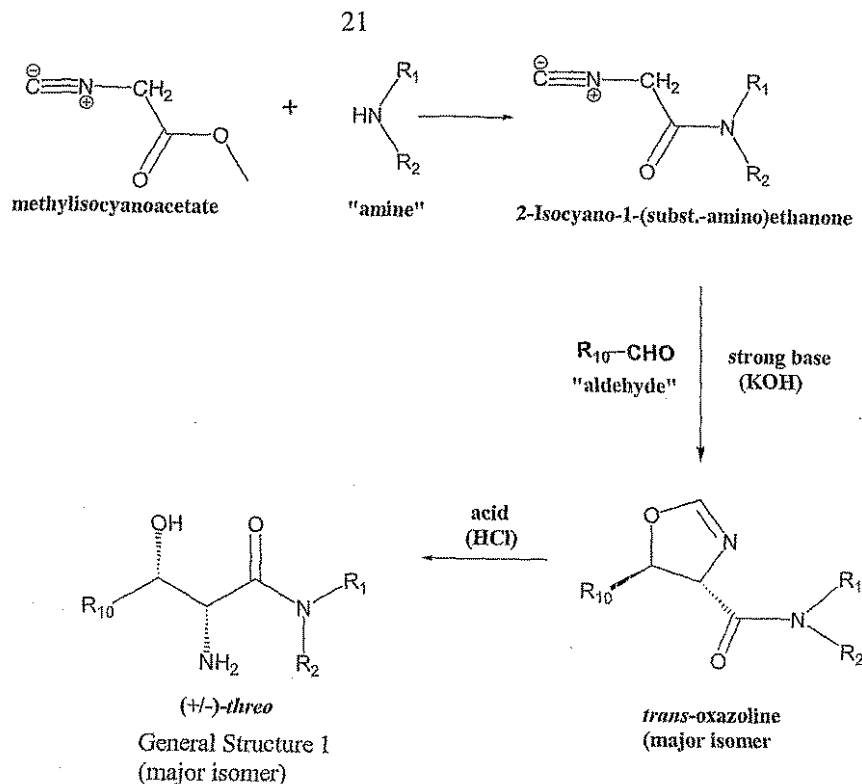
General Synthetic Scheme A

This reaction is illustrated in General Synthetic Scheme A, where, generally speaking, the variables have the meaning described in the Summary Section of the present application for patent. A person of ordinary skill in the art of organic synthesis will nevertheless readily understand that depending on the nature of the substituents designated R₁, R₂ and R₁₀ certain groups may need to be protected for the performance of the reduction step.

The substituted “3-hydroxyl-propyl amide” compounds can, generally speaking, be synthesized as described below in the following General Reaction Scheme 1 and General Reaction Scheme 2.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570



General Reaction Scheme 1

Thus, in accordance with **General Scheme 1**, methyl isocyanoacetate (or ethyl isocyanoacetate available commercially) is reacted with an "amine" which includes the R₁ and R₂ groups to provide the 2-isocyanoacetic acid amide derivative shown in General Reaction Scheme 1. Typical examples for the amines used in the reaction are pyrrolidine, piperidine, azetidine, morpholine, 2,5-dihydro-1*H*-pyrrole, dialkylamines such as diethylamine, 3-fluoro-, 3,3-difluoro or 3-hydroxy substituted pyrrolidines. The 2-isocyanoacetic acid amide derivative is then reacted in methanol in the presence of base (such as KOH) with an "aldehyde" which includes the R₁₀ group to provide a *trans* "oxazoline" with high diastereoselectivity (*trans:cis* ratios generally > 97:3) as shown

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

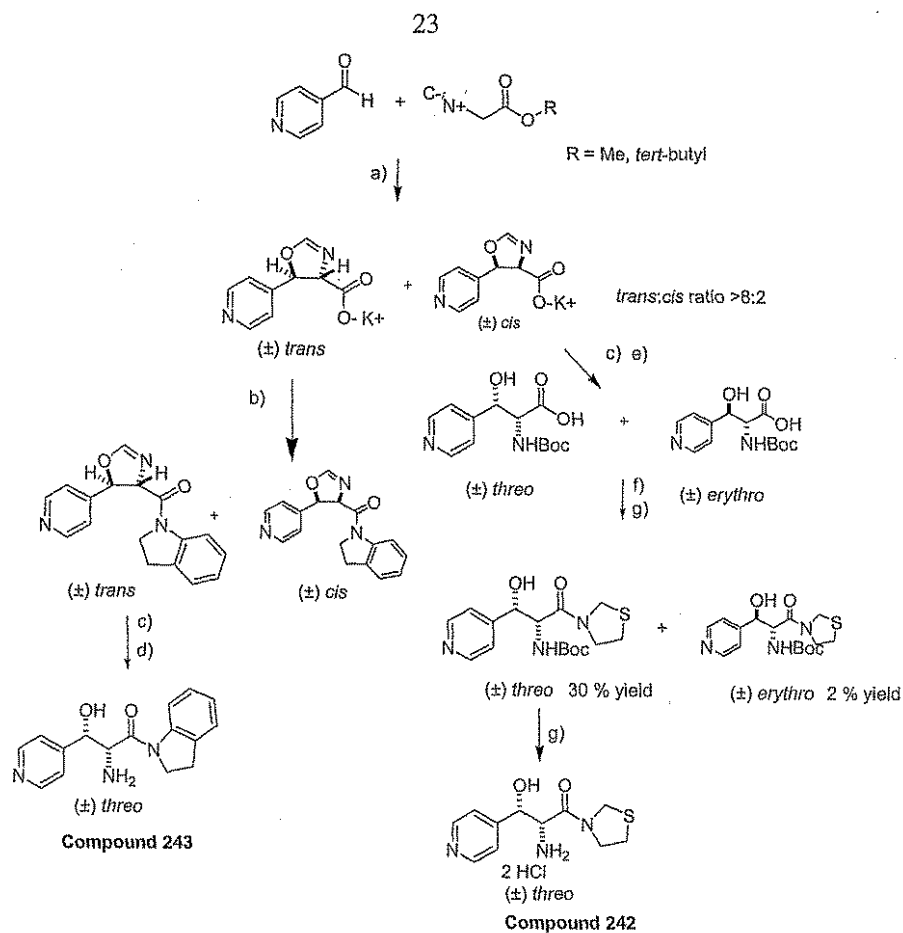
22

in General Reaction Scheme 1. The *trans* oxazoline is then treated in methanol with a strong acid, such as HCl, to open the ring and to provide the *threo*-3-substituted-3-hydroxy-2-amino-propionic acid amide intermediates (with a *threo:erythro* ratios generally > 97:3) as shown in General Reaction Scheme 1.

Compounds of **Formula 1** and or of General Structure 1, where the amino group of formula NHR_1R_2 is a weaker nucleophile, such as indoline, thiomorpholine and the like, can be made as illustrated in Reaction Scheme 2 for the synthesis of intermediate compounds ($\pm$)-*threo*-2-amino-3-hydroxy-1-(indolin-1-yl)-3-(pyridin-4-yl)propan-1-one dihydrochloride Compound 243 and ($\pm$)-*threo*-2-amino-3-hydroxy-1-(thiazolidin-3-yl)-3-(pyridin-4-yl)propan-1-one dihydrochloride Compound 242.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570



a) KOH, MeOH; b) Indoline, EDCI, TEA, HOBT, CH₂Cl₂; c) HCl (1M) in MeOH d) i. Silica Gel Chromatography. ii HCl (0.1M) in *i*-PrOH e) BOC₂O, NaOH, Dioxane. f) Thiazolidine, EDCI, TEA, HOBT, CH₂Cl₂; g) Silica Gel Chromatography g) HCl (1M) in MeOH.

Reaction Scheme 2

In Reaction Scheme 2 EDCI stands for 1-(3-dimethylaminopropyl)-ethylcarbodiimide hydrochloride; HOBT stands for 1-hydroxybenzotriazole; BOC₂O stands for di-*t*-butyl-dicarbonate and TEA stands for triethylamine. Compounds 242 and 243 can be reduced, as

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

24

illustrated in General Synthetic Scheme A to provide compounds of the invention.

Another general synthetic route may follow in general terms the synthesis of Compound 1, Compound 2 and Compound 3, specifically described in detail in the experimental section below, modified with such modifications which in light of the present disclosure will become readily apparent to a person of ordinary skill in the art.

Isomerically pure and/or enantiomerically pure compounds and further derivatives of the 3-substituted-3-hydroxy-2-amino-propionic acid amide intermediates or of the substituted 1-hydroxy propylamines of the invention are obtained by separation techniques and reactions which, *per se*, are well known to the synthetic chemist. Some of the typical separation techniques and reactions are generally described below.

Separation of *threo* and *erythro* isomers, when both are formed in the reactions leading to the compounds of the invention, can typically be performed by chromatographic methods. The chromatographic separation may occur the level of the substituted 3-hydroxyl-propionic acid amide intermediate compounds or at the level of the substituted 1-hydroxyl propyl amine compounds of the invention.

The more abundantly formed *threo* isomers can also be converted into the *erythro* isomers by oxidizing to the ketone level the hydroxyl group in the 3 position of the propanoic acid moiety and subsequently reducing the resulting ketone to the hydroxyl level in the intermediate 3-substituted-3-hydroxy-2-amino-propionic acid amide compounds or in the compounds of the invention.

Separation of enantiomeric mixtures can be performed on Chiralpack columns which are well known in the art.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

25

The amino function in the 2-position of the propyl amine moiety is, generally speaking, more reactive towards acylation and carbamoylation than the hydroxyl group in the 1 position. Therefore, acylated derivatives of the 2-amino function can be prepared by using acyl chlorides such as acetyl chloride and hexanoyl chloride. Or the 1-hydroxy and 2-amino groups of the compounds of the invention can be acylated in the same reaction. Carbamate derivatives of the 2-amino function can be obtained by using chloroformates, such as benzylchloroformate. A tertiary butyl carbamoyl function or benzyl-carbamoyl function can also serve as a removable protecting group of the 2-amino function.

Alkylation of the 2-amino function can be performed by condensing the compound bearing the 2-NH₂ group with an aldehyde to obtain a Schiff base intermediate which can be reduced, without isolation, to provide the *N*-alkyl, arylalkyl or heteroaryl-alkyl compounds of the invention.

DETAILED DESCRIPTION OF THE SYNTHESIS OF PREFERRED COMPOUNDS (EXPERIMENTAL)

Preparation of D-threo-2-amino-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochloride Compound 4.

(*R*)-Methyl 1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridine-2-carboxylate EBE 06044B.

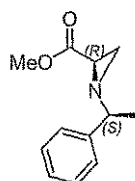
To solution of methyl 2,3-dibromopropionate (25 mL, 198 mmol) in toluene at 5 °C was added triethylamine (55 mL, 0.39 mmol) in toluene (100 mL). After stirring for 5 min (*S*)-(1)-phenethylamine (25 mL, 198 mmol) in toluene (100 mL) was added dropwise. The suspension was refluxed for 3 h and allowed to cool down, filtered and the volatiles were evaporated under reduced pressure to give a residue that was purified by

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

26

column chromatography (950 g of silica gel) with a gradient of 0-20 % EtOAc in cyclohexane to yield to (*S*)-methyl 1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridine-2-carboxylate EBE 06044A as a yellow oil (17.31 g, 43 % yield) and (*R*)-methyl 1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridine-2-carboxylate EBE 06044B as a yellow oil (15.14 g, 37 % yield).



EBE 06044B

MW: 205.3; Yield EBE 06044B: 37 %; Yellow Oil. Yield: EBE 06044A: 43 %, Yellow Oil.

R_f : EBE 06044A = 0.5; R_f : EBE 06044B = 0.35 (EtOAc:cyclohexane = 25:75).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ) EBE 06044A: 1.47 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 1.60 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz, CH), 2.13 (d, 1H, $J = 2.6$ Hz), 2.21 (dd, 1H, $J = 3.2$ Hz, $J = 6.4$ Hz), 2.54 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz), 3.75 (s, 3H, OCH_3) 7.23-7.40 (m, 5H, ArH).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ) EBE 06044B: 1.46 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH_3), 1.79 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, CH), 2.08 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz, 6.6 Hz), 2.34 (dd, 1H, $J = 3.1$ Hz, $J = 1.0$ Hz), 2.56 (q, 1H, $J = 6.6$ Hz), 3.67 (s, 3H, OCH_3) 7.24-7.36 (m, 5H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ) EBE 06044B: 23.5, 35.0, 36.9, 52.2, 69.8, 126.5, 127.2, 128.5, 143.6, 171.1.

HPLC: Method A, detection at 254 nm, EBE 06044B RT = 6.11 min, peak area 92.9 %.

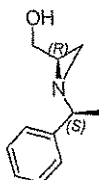
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

27

((*R*)-1-((*S*)-1-Phenylethyl)aziridin-2-yl)methanol EBE 06046.

A 250 mL round bottom flask was charged with anhydrous THF (100mL) and LiAlH₄ (2.77 g, 73.1 mmol). While the suspension is stirred at 0 °C, a solution of (*S*)-methyl 1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridine-2-carboxylate EBE 06044B (10.0 g, 48.7 mmol) in THF (50 mL) was added dropwise over 20 min. The dropping funnel was washed with THF (2 × 3 mL) and allowed to react 20 min at 0°C. Maintaining the reaction mixture at 0°C, a solution of KOH (10 %, 20 mL) was added dropwise for 20 min (caution the reaction is exothermic). The mixture was stirred for 0.5 h at 25 °C and the white precipitate removed by filtration through a celite pad that was washed with diethyl ether (30 mL). The combined organic filtrates were washed with NaH₂PO₄ and the aqueous layer was extracted with Et₂O (3 × 30 mL). The combined organic phase were dried with Na₂SO₄ and concentrated to give ((*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridin-2-yl)methanol EBE 06046 as a white solid (10.4 g, 90 % yield).



EBE 06046

MW: 177.2; Yield: 90 %; White Solid; Mp (°C): 37.7.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.43 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz, CH₃), 1.49 (d, 1H, *J* = 6.5 Hz, CH), 1.65-1.71 (m, 1H, CH), 1.92 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, NCH), 2.26 (s, 1H, OH), 2.53 (q, 1H, *J* = 6.6 Hz, NCH), 3.32-3.37 (m, 1H, OCH₂), 3.56 (m, 1H, OCH₂), 7.23-7.35 (m, 5H, ArH).

WO 2006/081276

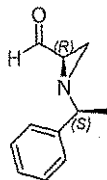
PCT/US2006/002570

28

^{13}C -NMR (CDCl_3 , δ): 22.9, 31.4, 39.3, 62.5, 69.4, 126.6, 127.3, 128.6, 144.5.

(*R*)-1-((*S*)-1-Phenylethyl)aziridine-2-carbaldehyde EBE 06048

A three neck, 250 mL round bottom flask was equipped with a low temperature thermometer and two (2) equalizing dropping funnels. One of these was connected to a nitrogen line and charged with a solution of ((*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridin-2-yl)methanol EBE 06046 (7.0 g, 39.5 mmol) in CH_2Cl_2 (75 mL), the other was charged with a solution of DMSO (9.25 g, 118.5 mmol) in CH_2Cl_2 (11 mL). To a solution of oxalyl chloride (7.5 g, 59.3 mmol) in CH_2Cl_2 (90 mL) under N_2 at -78°C , the DMSO solution was added dropwise during 20 min and stirred for 20 min. EBE 06046 (7.0 g, 39.5 mmol) in CH_2Cl_2 (75 mL) was added dropwise over 50 min. then the dropping funnel was charged with DIEA (42.6 mL, 237 mmol) in CH_2Cl_2 (10 mL) and the reaction mixture was stirred for 30 min at -45°C . The DIEA solution was added over 5 min with the reaction mixture at -78°C and the reaction was allowed to warm to room temperature. The reaction mixture was washed with H_2O (3×50 mL), dried over MgSO_4 , filtered, evaporated. The crude product obtained was purified by column chromatography on silica with a gradient of 0-20 % [v/v] EtOAc in cyclohexane to give (*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridine-2-carbaldehyde EBE 06048 as a yellow oil (5.59 g, 81 % yield).



WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

29

EBE 06048

MW: 175.2; Yield: 81 %; Yellow Oil.

R_f: EBE 06048: 0.3 (EtOAc:cyclohexane = 20:80).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.47 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz, CH₃), 1.94 (d, 1H, *J* = 6.7 Hz, NCH₂), 2.08 (dt, *J* = 2.9 Hz, *J* = 6.4 Hz, NCH), 2.37 (d, 1H, *J* = 2.6 Hz, NCH₂), 2.61 (q, 1H, *J* = 6.6 Hz, NCH), 7.20-7.38 (m, 5H, ArH), 8.92 (d, 1H, *J* = 6.2 Hz).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ): 22.7, 32.1, 43.2, 68.1, 125.5, 126.5, 127.6, 142.4, 198.7.

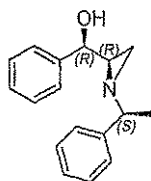
(*R*)-Phenyl((*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridin-2-yl)methanol EBE 06066.

To a solution of bromobenzene (4.93 g, 31.4 mmol) in THF 125 mL under nitrogen at -78 °C was added *t*-BuLi (1.7 M in pentane, 50 mL). The mixture was stirred for 0.5 h at room temperature. The mixture was cooled down to -78 °C and a solution of (*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridine-2-carbaldehyde EBE 06048 (2.5 g, 14.3 mmol) in THF (16.7 mL) at -78 °C was added dropwise. The reaction mixture was treated with H₂O (20 mL), the organic layer was separated and the aqueous phase was extracted with EtOAc. The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo* to give a residue that was purified by column chromatography using a gradient of 0-20 % [v/v] EtOAc in cyclohexane to give (*R*)-phenyl((*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridin-2-yl)methanol EBE 06066 (3.13 g, 86 % yield).

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

30



EBE 06066

MW: 253.3; Yield: 86 %.

 R_f : = 0.3 (EtOAc:cyclohexane = 20:80).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 1.47 (d, 3H, J = 6.6 Hz, CH_3), 1.57 (d, 1H, J = 6.5 Hz, CH), 1.79 (dt, 1H, J = 3.5 Hz, J = 8.7 Hz, CH), 2.04 (d, 1H, J = 3.5 Hz, OCH), 2.35 (bs, 1H, OH), 2.53 (q, 1H, J = 6.5 Hz, CH), 4.23 (d, 1H, J = 5.7 Hz, OCH), 7.07-7.13 (m, 2H, ArH), 7.16-7.20 (m, 3H, ArH), 7.24-7.34 (m, 5H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 22.4, 32.0, 44.6, 69.4, 74.1, 125.8(2xC), 126.9(2xC), 127.3, 127.6, 128.2(2xC), 128.7(2xC), 142.0, 144.2.

$[\alpha]_D^{22}$ = - 71.53 (c = 0.59, CHCl_3).

D-threo-2-((*S*)-1-Phenylethylamino)-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochloride Compound 5

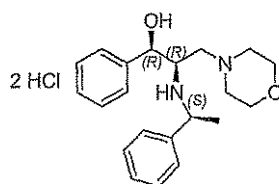
To a solution of (*R*)-phenyl((*R*)-1-((*S*)-1-phenylethyl)aziridin-2-yl)methanol EBE 06066 (1.5 g, 5.92 mmol) in CH_3CN (19 mL) at RT was added iodotrimethylsilane (3.55 g, 17.8 mmol). The solution was stirred for 2 h and morpholine (1.032 g, 11.84 mmol) was added. After 2 h at reflux, the reaction mixture was treated with HCl (1M) to reach pH = 1 and stirred for 10 min. After a slow addition of NaHCO_3 to reach pH = 9, the product was extracted with EtOAc, dried over Na_2SO_4 , filtered to give after evaporation a crude brown oil that was purified by column chromatography using a gradient of 0-20% [v/v] MeOH in EtOAc to give

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

31

D-*threo*-2-((*S*)-1-phenylethylamino)-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol EBE 06068A (0.831 g, 42 %) as a pale brown solid. To a solution of D-*threo*-2-((*S*)-1-phenylethylamino)-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol EBE 06068A (0.100 g, 0.294 mmol) in ethanol (1 mL) was added a solution of HCl (0.8 M, 0.816 mL) in EtOH. Evaporation of the volatiles afforded to D-*threo*-2-((*S*)-1-phenylethylamino)-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochloride Compound 5 as white solid (0.125 g, 100 %).



Compound 5

MW: 412.37; Yield: 42 %; White Solid; Mp (°C): 157.2 (dec).

R_f: 0.3 (MeOH:EtOAc = 20:80) EBE 06068A.

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.19 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, NCH₂), 1.71 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH₃), 3.45 (m, 2H, *J* = 7.1 Hz, NCH₂), 3.62 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, N-CH₂), 3.97 (t, 4H, *J* = 4.5 Hz, OCH₂), 4.06 (m, 1H, CH-N), 4.75 (q, 1H, *J* = 6.8 Hz, CH-N), 5.21 (d, 1H, *J* = 5.1 Hz, CH-O), 7.44-7.56 (m, 10H, ArH).

MS-ESI *m/z* (% rel. Int.): 341.1 ([MH]⁺, 20).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 24.4, 54.5 (2xC), 55.5, 55.9, 60.0, 67.0 (2xC), 75.6, 126.3 (2xC), 126.5 (2xC), 127.0, 127.1, 128.1 (2xC), 128.5 (2xC), 142.2, 145.3.

HPLC: Method A, detection at 254 nm, Compound 5 RT = 4.41 min, peak area 99 %.

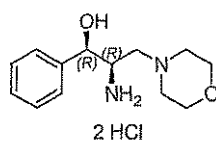
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

32

Threo-2-Amino-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochlorideCompound 4.

To a solution of D-threo-2-((S)-1-phenylethylamino)-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol EBE 06068A (0.400 g, 1.17 mmol) in MeOH (6 mL) at RT was added acetic acid (0.133 mL, 2.35 mmol). The reaction vessel was flushed with nitrogen and Pd(OH)₂ (25 % weight, 0.150 g) was added. The nitrogen atmosphere was exchanged with hydrogen using three cycle of vacuum and hydrogen addition using a balloon of hydrogen. After stirring for 16 h under hydrogen the reaction mixture was filtrated through celite to give EBE 06070A the acetate salt of (2R)-amino-3-morpholin-4-yl-(1R)-phenyl-propan-1-ol (0.279 g, 98 % yield). To as solution of EBE 06070A the acetate salt of (2R)-amino-3-morpholin-4-yl-(1R)-phenyl-propan-1-ol (0.100 g, 0.338 mmol) in ethanol (1 mL) was added a solution of HCl (0.8 M, 0.930 mL) in EtOH. Evaporation of the volatiles afforded to D-threo-2-amino-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochloride Compound 4 (0.104 g, 100 % yield) as an off white solid. (Adapted from Shin, S-H.; Han, E.Y.; Park, C.S.; Lee, W.K.; Ha, H.-J. *Tetrahedron Asymmetry*, 2000, 11, 3293-3301).



Compound 4

MW: 309.23; Yield: 99 %; Off White Solid; Mp (°C): 183.4.

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 3.30-3.77 (m, 6H, CH₂N), 3.92-4.05 (m, 4H, CH₂O), 4.05-4.16 (m, 1H, CH), 4.85-4.98 (m, 1H, CH), 7.35-7.60 (m, 5H, ArH).

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

33

^{13}C -NMR (CD_3OD , δ): 53.2, 58.3, 58.5 (2xC), 64.9 (2xC), 72.6, 128.0 (2xC), 130.2 (2xC), 140.3.

MS-ESI m/z (% rel. int.): 237.1 (100, $[\text{MH}]^+$).

HPLC: Isocratic 10 % CH_3CN in H_2O (pH 10, $[\text{NH}_4\text{OH}] = 5 \text{ mM}$), detection UV 254 nm, Compound 4 RT = 6.63 min, peak area 97.3 %.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -10.7$ ($c = 1.00$, MeOH).

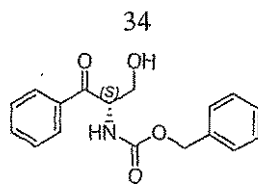
Preparation of Benzyl L-threo-1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride Compound 1.

Benzyl (*S*)-3-hydroxy-1-oxo-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08010B.

To a stirred solution of Z-L-Ser-OH (6.00 g, 25.08 mmol) in 32 mL of anhydrous THF at 0°C under nitrogen was added dropwise 1 M phenylmagnesium bromide in THF (32 mL, 200 mmol). (The symbol Z designates a benzylcarbamoyl group). The mixture was stirred 15 h at RT under nitrogen. A solution of 2 M HCl (100 mL) was slowly added at 0°C and the mixture was partitioned between ethyl acetate (750 mL) and acidic water. The organic layer was washed with water (2 x 20 mL), 1 N aqueous sodium bicarbonate (2 x 20 mL), brine (2 x 20 mL) and dried over MgSO_4 . After removing ethyl acetate by evaporation at $30\text{--}35^\circ\text{C}$, the crude product (4.50 g, 60 % yield) was crystallized in a mixture of ethyl acetate:hexane = 25 mL:20 mL to give benzyl (*S*)-3-hydroxy-1-oxo-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08010B as a white solid (1.40 g, 20 % yield).

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570



TTA 08010B

MW: 299.32; Yield: 20 %; White Solid; Mp (°C): 106.5.

R_f: 0.75 (CH₂Cl₂:MeOH = 9:1).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 2.78 (s, 1H, OH), 3.85-3.93 (m, 1H, CH₂O), 4.00-4.09 (m, 1H, CH₂O), 5.14 (s, 2H, ArCH₂O), 5.40 (t, 1H, *J* = 3.3 Hz, CH), 6.17 (d, 1H, *J* = 6.4 Hz, NH), 7.35 (s, 5H, ArH), 7.49 (t, 2H, *J* = 7.60 Hz, ArH), 7.62 (t, 1H, *J* = 7.1 Hz, ArH), 8.99 (t, 2H, *J* = 7.6 Hz, ArH).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ): 58.3, 64.6, 67.3, 128.1, 128.3, 128.6, 128.7, 129.0, 134.1, 136.0, 156.6, 196.6.

MS-ESI *m/z* (% rel. Int.): 300.1 ([MH]⁺, 5), 256.1 (100).

HPLC: Method A, detection UV 254 nm, TTA 08010B RT = 5.40 min, peak area 98.5 %.

[α]_D²² = - 5.8 (*c* = 1.00, MeOH).

Benzyl *L*-*threo*-1,3-dihydroxy-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08012.

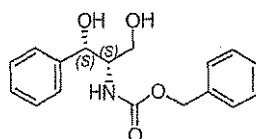
To a stirred solution of benzyl (*S*)-3-hydroxy-1-oxo-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08010B (1.40 g, 4.70 mmol) in 28 mL of anhydrous THF at -78 °C under nitrogen was added slowly dropwise 1 M DIBAL-H in hexane (18.8 mL, 18.80 mmol). The mixture was stirred 2 h at -78 °C then 1.5 h at RT. A solution of 2 M HCl (35 mL) was slowly added at -20 °C and the mixture was partitioned between ethyl acetate (750 mL) and acidic water. The organic phase was washed with water (2x20 mL), brine (2x20 mL) and dried over MgSO₄. After

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

35

removing ethyl acetate by evaporation at 30-35 °C, the crude product was purified by column chromatography on silica (CH₂Cl₂:MeOH = 98:2 to 97:3) to give benzyl *L-threo*-1,3-dihydroxy-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08012 as a white solid (1.10 g, 78 % yield).



TTA 08012

MW: 301.34; Yield: 78 %; White Solid; Mp (°C): 102.5.

R_f: 0.30 (CH₂Cl₂:MeOH = 95/5).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 3.08 (t, 1H, *J* = 5.0 Hz, OH), 3.59 (d, 1H, *J* = 3.1 Hz, OH), 3.64-3.78 (m, 2H, CH₂O), 3.80-3.89 (m, 1H, CH), 4.95 (s, 2H, ArCH₂O), 5.57 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz, NH), 7.17-7.38 (m, 10H, ArH).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ): 57.5, 63.6, 66.9, 73.8, 126.0, 127.8, 127.9, 128.1, 128.5, 128.6, 136.2, 141.0, 156.9.

MS-ESI *m/z* (% rel. Int.): 302.0 ([MH]⁺, 5); 132.0 (100).

HPLC: Method A, detection UV 254 nm, TTA 08012 RT = 5.00 min, peak area 99.5 %.

[α]_D²² = +39.4 (c=1.00, MeOH).

Benzyl *threo*-1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride Compound 1.

To a stirred solution of benzyl *L-threo*-1,3-dihydroxy-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08012 (1.00 g, 3.30 mmol) in 13 mL of pyridine at -10 °C was added dropwise methanesulfonyl chloride (0.27 mL, 3.50 mmol). The mixture was stirred 6 h at 20 °C under nitrogen.

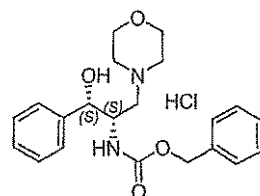
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

36

Pyridine was removed by evaporation at 30-35 °C and the residue was partitioned between ethyl acetate (250 mL) and 0.1 N HCl (20 mL). The organic phase was washed with water (20 mL), brine (20 mL), dried over MgSO_4 and evaporated to give after drying *L-threo*-1-hydroxy-3-methanesulfonyl-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08014 (1.25 g, 65% yield).

To a stirred solution of crude benzyl *L-threo*-1-hydroxy-3-methanesulfonyl-1-phenylpropan-2-ylcarbamate TTA 08014 (1.25 g, 3.30 mmol) in 6 mL of DMF at RT was added morpholine (1.2 mL, 13.20 mmol). The mixture was stirred 15 h at 50 °C under nitrogen. DMF was evaporated and the residue was partitioned between ethyl acetate (250 mL) and 1 N aqueous sodium bicarbonate (20 mL). The organic phase was washed with water (20 mL), brine (20 mL) and dried over MgSO_4 . After evaporation the crude product was purified by column chromatography on silica (CH_2Cl_2 :MeOH = 98:2 to 97:3) to give benzyl *L-threo*-1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate as an oil (380 mg, 31 % yield). The hydrochloride salt was obtained from 100 mg of the free base in diethylether at 0°C using a solution 0.3 M HCl in diethylether. The precipitate was filtered and dry to give benzyl *L-threo*-1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride Compound 1 as a white solid (70 mg, 65 % yield).



Compound 1

MW: 406.90; Yield: 20 %; White Solid; Mp (°C): 144.5.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

37

R_f : 0.40 (CH_2Cl_2 :MeOH = 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , δ): 3.14-3.77 (m, 6H, CH_2N), 3.70-4.07 (m, 4H, CH_2O), 4.30-4.33 (m, 1H, CH), 4.90-5.06 (m, 3H, CH, ArCH_2O), 7.20-7.43 (m, 10H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , δ): 51.2, 51.8, 53.2, 59.3, 63.2, 66.3, 72.5, 125.8, 127.2, 127.3, 127.5, 127.8, 127.9.

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 371.0 ($[\text{MH}]^+$, 100).

HPLC: Method A, detection UV 254 nm, Compound 1 RT = 4.40 min, peak area 96.5 %.

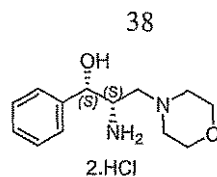
$[\alpha]_D^{22} = +13.9$ ($c = 1.00$, MeOH).

Preparation of *threo*-2-amino-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochloride Compound 2.

To a stirred solution of benzyl *L-threo*-1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate (Compound 1, 0.26 g, 0.70 mmol) in 20 mL of MeOH at RT was added Pd-C 10 % (140 mg). The mixture was saturated with hydrogen and stirred for 24 h at RT under hydrogen atmosphere (balloon). The catalyst Pd-C 10% was removed by filtration on celite and the solution was evaporated. The crude product was purified by column chromatography on silica (CH_2Cl_2 :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH} = 79:20:1$ to $75:20:5$) to give *L-threo*-2-amino-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol as an oil (100 mg, 60 % yield). The hydrochloride salt was obtained from 83 mg of the free base in diethylether at 0 °C using 0.3 M HCl in diethylether. After precipitation in diethylether, filtration and drying *L-threo*-2-amino-3-morpholino-1-phenylpropan-1-ol dihydrochloride Compound 2 was obtained as a white solid (80 mg, 74 % yield).

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570



Compound 2

MW: 309.23; Yield: 44 %; White Solid; Mp (°C): 166.4-170.9.

R_f: 0.20 (CH₂Cl₂:MeOH = 9:1).

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 3.30-3.77 (m, 6H, CH₂N), 3.92-4.05 (m, 4H, CH₂O), 4.05-4.16 (m, 1H, CH), 4.85-4.98 (m, 1H, CH), 7.35-7.60 (m, 5H, ArH).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 53.1, 54.9, 58.5, 64.8, 72.6, 127.2, 128.0, 130.2, 140.3.

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 237.0 ([MH]⁺, 100).

HPLC: Method A, detection UV 254 nm, Compound 2 RT = 0.90 min, peak area 98.0 %.

[α]_D²² = +10.8 (c = 1.00, MeOH), free base: [α]_D²² = - 6.1 (c = 0.25, CHCl₃).

Preparation of benzyl L-threo-1-acetoxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride Compound 3.

Benzyl L-threo-1-acetoxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride Compound 3.

To a stirred solution of benzyl L-threo-1-hydroxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride (Compound 1, 0.510 g, 1.25 mmol) in 30 mL of CHCl₃ at RT were added slowly triethylamine (700 μL, 5.00 mmol) and acetyl chloride (145 μL, 2.00 mmol). The mixture was stirred 10 h at RT under nitrogen and partitioned between a mixture of ice-water (20 mL) and CH₂Cl₂ (100 mL). The organic layer was

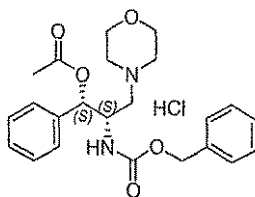
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

39

washed with brine (20 mL) and dried over MgSO_4 . After evaporation the crude product was purified by column chromatography on silica ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 99.5:0.5$ to $98:2$) to give benzyl *L-threo*-1-acetoxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate as an oil (0.420 g, 81 % yield).

The hydrochloride salt was obtained from 45 mg of the free base in diethylether at 0°C using a solution of 0.3 M HCl in diethylether. The precipitate was filtered and dry to give benzyl *L-threo*-1-acetoxy-3-morpholino-1-phenylpropan-2-ylcarbamate hydrochloride Compound 3 as a white solid (40 mg, 82 % yield).



Compound 3

MW: 448.94; Yield: 66 %; White Solid; Mp ($^\circ\text{C}$): 69.9.

R_f : 0.70 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , δ): 2.10 (s, 3H, CH_3), 3.14-3.44 (m, 4H, CH_2N), 3.70-4.00 (m, 4H, CH_2O), 4.51-4.53 (m, 1H, CH), 4.90-5.13 (m, 2H, ArCH_2O), 5.89 (d, 1H, CH), 7.28-7.48 (m, 10H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , δ): 20.8, 52.0, 52.6, 59.7, 64.6, 68.0, 76.5, 127.7, 129.0, 129.2, 129.5, 129.8, 137.9, 158.7, 171.3.

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 413.0 ($[\text{MH}]^+$, 100).

HPLC: Method A, detection UV 254 nm, Compound 3 RT = 4.70 min, peak area 98.5 %.

Preparation of DL-*threo*-2-(Decanamido)-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propyl decanoate Compound 10.

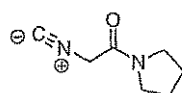
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

40

2-Isocyano-1-(pyrrolidin-1-yl)ethanone BLE 04098.

To stirred and cooled (0°C) methyl isocyanoacetate (96 % technical grade, 5.0 g, 47.8 mmol) was slowly added in 0.75 h pyrrolidine (6.5 mL, 78 mmol). The mixture was stirred for 1.5 h with continued cooling and then concentrated. The resulting oil was co-evaporated twice from CH₂Cl₂:hexane to remove residual pyrrolidine. 2-Isocyano-1-(pyrrolidin-1-yl)ethanone BLE 04098 was obtained as a yellow solid (6.85 g, 98 % yield) and used in the next step without purification.



BLE 04098

MW: 138.17; Yield: 98 %; yellow solid; Mp (°C) = 73.9.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.81-2.08 (m, 4H, 2xCH₂), 3.35-3.45 (m, 2H, -NCH₂), 3.50-3.60 (m, 2H, -NCH₂), 4.23 (s, 2H, CH₂CO).

Trans-(4,5-dihydro-5-(pyridin-3-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04110B.

trans-(4,5-Dihydro-5-(4-methoxyphenyl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone SLA 07074.

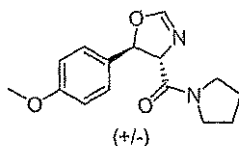
To a stirred and cooled (0°C) solution of potassium hydroxide (0.37 g, 6.57 mmol) in methanol (30 mL) was added a mixture of 4-methoxy-benzaldehyde (0.88 mL, 7.23 mmol) and 2-isocyano-1-(pyrrolidin-1-yl)ethanone BLE 04098 (1.0 g, 6.57 mmol). The solution was stirred 4 h with continued cooling and then concentrated. The residue was partitioned between ethyl acetate and water. The organic layer was combined with additional ethyl acetate extracts, washed with aqueous sodium chloride and dried over MgSO₄. Concentration afforded a crude

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

41

product as a glassy solid. Flash chromatography over silica (ethyl acetate) yielded to *trans*-(4,5-dihydro-5-(4-methoxyphenyl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone SLA 07074 as a pale yellow solid (1.2 g, 90.5 %).



SLA 07074

MW: 274.32; Yield: 90.5 %; pale yellow solid; Mp (°C): 91.2.

R_f: 0.30 (EtOAc).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.75-2.08 (m, 4H, 2xCH₂), 3.40-3.58 (m, 3H, CH₂N), 3.52 (s, 3H, CH₃O), 3.88-3.98 (m, 1H, CH₂N), 4.59 (dd, 1H, *J* = 7.6 Hz, *J* = 2.2 Hz, CH-N), 6.06 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, CH-O), 6.90 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH), 7.01 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, CH=N), 7.25 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH).

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 275.1 ([MH]⁺, 10), 247.1 (100).

HPLC: Method A, detection UV 280 nm, SLA 07074 RT = 5.2 min, peak area 92 %.

DL-*threo*-2-Amino-3-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one hydrochloride SLA 07078.

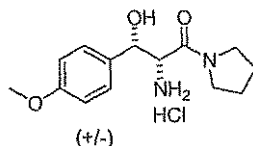
To a stirred solution of *trans*-(4,5-dihydro-5-(4-methoxyphenyl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone SLA 07074 (1.61 g, 5.93 mmol) in methanol (13 mL) was added hydrochloric acid (1 mL). After heating at 50 °C for 3 h the mixture reaction was concentrated and the resulting yellow oil was co-evaporated twice with ethyl acetate before solidifying. Trituration (ethyl acetate) and drying afforded DL-*threo*-2-amino-3-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-1-

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

42

(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one hydrochloride SLA 07078 as a white solid (1.64 g, 93 %).



SLA 07078

MW: 300.78; Yield: 93 %; white Solid; Mp (°C): 177.0.

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.32-1.50 (m, 1H, CH₂), 1.50-1.88 (m, 3H, CH₂), 2.15-2.28 (m, 1H, CH₂N), 3.15-3.42 (m, 4H, 2xCH₂N), 3.79 (s, 3H, CH₃O), 4.06 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, CH-N), 4.78 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, CHO), 6.94 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, ArH), 7.34 (d, 2H, *J* = 8.5 Hz, ArH).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 24.8, 26.6, 47.2, 47.6, 55.9, 59.6, 73.9, 115.0 (2xC), 128.9 (2xC), 132.5, 161.7, 166.4.

DL-threo-2-Amino-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol
Compound 9.

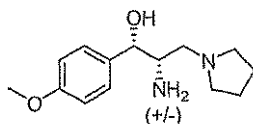
To a stirred suspension of DL-*threo*-[5-(4-methoxy-phenyl)-4,5-dihydro-oxazol-4-yl]-pyrrolidin-1-yl-methanone SLA 07078 (1.61 g, 5.35 mmol) in tetrahydrofuran (200 mL) under nitrogen atmosphere was slowly added, in two portions, lithium aluminium hydride (1.22 g, 32.12 mmol) at 0 °C. The mixture reaction was stirred at RT for 17 h, and then quenched by a slow, dropwise addition of water (50 mL). The white suspension was then concentrated to remove THF and taken back up in a mixture of 300 mL CH₂Cl₂ and 1N aqueous hydrochloric acid (50 mL). The aqueous layer was basified to pH = 10-11 by a slow addition of 1N aqueous sodium hydroxide. The organic layer was removed, combined with additional CH₂Cl₂ extracts (4 x 200 mL) and dried over MgSO₄, filtered and evaporated. The crude product was purified by column

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

43

chromatography on silica ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{NH}_3 = 94:05:01$). After evaporation and drying, DL-*threo*-2-amino-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 9 was obtained (0.62 g, 46 %) as a pale yellow solid.



Compound 9

MW: 250.34; Yield: 46 %; Pale Yellow Solid; Mp ($^{\circ}\text{C}$): 77.7.

R_f : 0.35 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{NH}_3 = 94:05:01$).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 1.65-1.87 (s, 4H, $2\times\text{CH}_2$), 2.40-2.90 (m, 9H, CH_2N , NH_2 & OH), 3.11-3.17 (m, 1H, CH_2N), 3.81 (s, 3H, CH_3O), 4.61 (d, 1H, $J = 3.8$ Hz, CH-O), 7.89 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, ArH), 7.26 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 23.6 ($2\times\text{C}$), 54.5, 54.7 ($2\times\text{C}$), 55.3, 60.1, 75.9, 113.6, 127.4, 134.4, 158.8.

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 251.1 ($[\text{MH}]^+$, 100).

DL-*threo*-2-(Decanamido)-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propyl decanoate Compound 10.

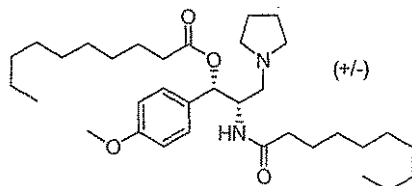
To a stirred solution of DL-*threo*-2-amino-1-(4-methoxy-phenyl)-3-pyrrolidin-1-yl-propan-1-ol Compound 9 (0.15 g, 0.60 mmol) in dichloromethane (10 mL) were added *N*-hydroxysuccinimide (0.07 g, 0.60 mmol), triethylamine (0.10 mL, 0.63 mmol) and decanoyl chloride (112 μL , 0.54 mmol) under nitrogen atmosphere. The mixture reaction was stirred at RT for 22 h and partitioned between methylene chloride and 1 N aqueous sodium hydroxide. The organic layer was dried over

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

44

MgSO₄, filtered and evaporated. The crude product was purified by column chromatography on silica (CH₂Cl₂:MeOH = 95:05). DL-*threo*-2-(Decanamido)-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propyl decanoate Compound 10 was obtained as a white oil (0.104 g, 31 %).



Compound 10

MW: 558.84; Yield: 40 %; White Oil.

R_f: 0.35 (CH₂Cl₂:MeOH = 95:05).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 0.88 (t, 6H, *J* = 0.7 Hz, 2xCH₃), 1.26 (s, 14H, 7xCH₂), 1.57-1.59 (m, 4H, 2xCH₂), 1.80 (m, 4H, 2xCH₂), 2.10-2.50 (m, 5H, CH₂), 2.65-2.76 (m, 5H, CH₂), 3.79 (s, 3H, CH₃O), 4.54 (m, 1H, CH-N), 5.89 (d, 1H, *J* = 6.2 Hz, CH-O), 6.16 (d broad, 1H, *J* = 8.8 Hz, NH), 6.85 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH), 7.24 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz, ArH).

MS-ESI *m/z* (% rel. int.): 559.5 ([MH]⁺, 100).

HPLC: Method A, detection UV 280 nm, Compound 10 RT = 6.99 min, peak area 96.4 %.

N-(DL-*threo*-1-Hydroxy-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl)palmitamide or DL-*threo*-4-MeO-P4 Compound 11.

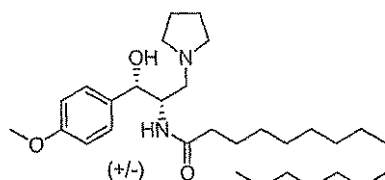
To a stirred solution of DL-*threo*-2-amino-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 9 (015 g, 0.60 mmol) in dichloromethane (10 mL) were successively added *N*-hydroxysuccinimide (0.07 g, 0.60 mmol), triethylamine (0.100 mL, 0.63 mmol) and palmitoyl chloride (0.15 g, 0.54 mmol) under nitrogen

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

45

atmosphere. The mixture reaction was stirred at RT for 17 h and partitioned between methylene chloride and 1N aqueous sodium hydroxide. The organic layer was dried over MgSO_4 , filtered and evaporated. The crude product was purified by column chromatography on silica ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:05$). *N*-(DL-*threo*-1-Hydroxy-1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl)palmitamide Compound 11 was obtained as a white solid (0.117 g, 40 %).



Compound 11

MW: 488.75; Yield: 40 %; White Solid; Mp ($^{\circ}\text{C}$): 82.3.

R_f : 0.35 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:05$).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 0.88 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3), 1.22-1.33 (m, 16H, $8 \times \text{CH}_2$), 1.47-1.54 (m, 2H, CH_2), 1.81 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.09 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, COCH_2), 2.60-2.80 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.84 (d, 2H, $J = 5.1$ Hz, CH_2), 3.80 (s, 3H, CH_3O), 4.23 (m, 1H, CH-N), 5.00 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, CH-O), 5.90 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, NH), 6.87 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, ArH), 7.24 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ): 14.1, 22.7, 23.6, 25.6, 29.1, 29.3, 29.4, 29.5, 29.7, 29.7, 31.9, 36.8, 52.3, 55.2, 57.8, 75.4, 113.7 ($2 \times \text{C}$), 127.0 ($2 \times \text{C}$), 133.1, 158.9, 173.6.

MS-ESI m/z (rel. int.): 489.2 ($[\text{MH}]^+$, 100).

HP LC: Method A, detection UV 280 nm, Compound 11 RT = 6.55 min, peak area 96.4 %.

WO 2006/081276

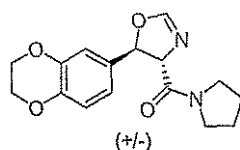
PCT/US2006/002570

46

DL-threo-2-Amino-1-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 6.

trans-(4,5-Dihydro-5-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04100.

To a stirred and cooled (0°C) solution of potassium hydroxide (0.43 mg, 7.60 mmol) in MeOH (6.5 mL) were added successively 1,4-benzodioxan-6-carboxaldehyde (1.31 g, 7.96 mmol) and 2-isocyano-1-(pyrrolidin-1-yl)ethanone BLE 04098 (1.0 g, 6.57 mmol). The solution was stirred 3 h at 0°C and then concentrated. The residue was partitioned between EtOAc (100 mL) and water. The organic layer was combined with 2 additional EtOAc extracts (2 x 100 mL), washed with brine, dried over MgSO₄, filtered and evaporated. Concentration afford to a crude product which was purified by column chromatography on silica (EtOAc) to yield, after evaporation and drying, to *trans*-4,5-dihydro-5-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04100 as a colourless oil (1.76 g, 89 % yield).



BLE 04100

MW: 440.49; Yield: 89 %; colourless oil.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.75-2.10 (m, 4H, 2xCH₂), 3.40-3.59 (m, 6H, 3xCH₂N), 3.85-4.00 (m, 1H, CHN), 4.26 (s, 4H, CH₂O), 4.59 (dd, 1H, J=

WO 2006/081276

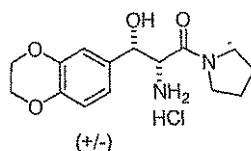
PCT/US2006/002570

47

7.5 Hz, $J = 2.2$ Hz, CH-N), 6.00 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, CH-O), 6.75-6.90 (m, 3H, ArH), 7.00 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, CH=N).

DL-threo-2-amino-3-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-3-hydroxy-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one hydrochloride Compound 12.

To a stirred solution of *trans*-4,5-dihydro-5-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04100 (1.74 g, 5.77 mmol) in methanol (15 mL) was added hydrochloric acid (1mL). After heating at 50°C for 3h the mixture reaction was concentrated and the resulting yellow oil was co-evaporated twice with ethyl acetate before solidifying. Trituration (ethyl acetate) and drying afforded DL-*threo*-2-amino-3-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-3-hydroxy-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one hydrochloride Compound 12 as a white solid (1.85 g, 95 %).



Compound 12

MW: 328.79; Yield: 95.0 %; White Solid; Mp (°C): 176.2.

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.42-1.58 (m, 1H, CH₂), 1.58-1.70 (m, 1H, CH₂), 1.70-1.88 (m, 2H, CH₂), 3.20-3.45 (m, 4H, N-CH₂), 4.06 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz, CH-N), 4.25 (s, 2H, CH₂), 4.75 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, CH-O), 4.89 (s, 2H, CH₂), 6.82-6.95 (m, 3H, ArH).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 24.9, 26.7, 47.3, 47.6, 59.5, 65.7, 73.6, 116.4, 118.3, 120.3, 133.7, 145.1, 145.6, 166.4.

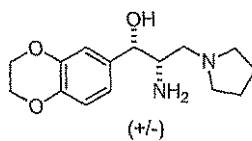
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

48

DL-threo-2-Amino-1-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 6.

To a stirred suspension of *trans*-(4,5-dihydro-5-(4-methoxyphenyl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone SLA 07080 (1.79 g, 5.44 mmol) in THF (220 mL) was slowly added at 0 °C, in two portions, LiAlH₄ (1.28 g, 33.7 mmol). The mixture was stirred at RT for 3.5 h and quenched by a slow addition of water at 0 °C (350 mL). The white suspension was concentrated to remove THF and taken back in a mixture of CH₂Cl₂ (300 mL) and 1 N aqueous HCl (50 mL). The aqueous layer was basified to pH = 10-11 by slow addition of 1 N aqueous NaOH. The organic layer was removed; two more extracts were combined and dried over MgSO₄, filtered and evaporated. Concentration afforded to a crude product as a yellow oil. This material was purified by column chromatography on silica (CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH 20% = 94:5:1) to led to DL-threo-2-amino-1-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 6 (0.705 g, 46.5 % yield) as a near colorless gum.



Compound 6

MW: 278.35; Yield: 46.5 %; Colorless Gum.

R_f: 0.20 (CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH 20 % = 94:5:1).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.70-1.85 (m, 4H, 2xCH₂), 2.40-2.70 (m, 6H, 3xCH₂N-), 3.05-3.15 (m, 1H, CH-N), 4.25 (s, 4H, CH₂O), 4.55 (d, 1H, J = 2.2 Hz, CH-O), 5.30 (s, 1H, -OH), 6.75-6.90 (m, 3H, ArH).

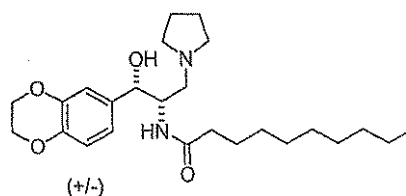
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

49

N-(DL-*threo*-1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-1-hydroxy-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl)decanamide Compound 7.

To a stirred solution of DL-*threo*-2-amino-1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol BLE 04104 (0.186 g, 0.67 mmol) in 10 mL CH₂Cl₂ were added, in order, *N*-hydroxysuccinimide (0.081 g, 0.70 mmol) in 2 mL CH₂Cl₂, triethylamine (112 μ L, 0.80 mmol) and decanoyl chloride (125 μ L, 0.60 mmol). The mixture was stirred overnight at RT and then partitioned between CH₂Cl₂ and 1 N aqueous sodium hydroxide. The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and evaporated and the residue obtained was purified by column chromatography on silica (CH₂Cl₂:MeOH = 95:5). A white solid *N*-(DL-*threo*-1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-1-hydroxy-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl)palmitamide Compound 7 was obtained (126 mg, 43.5 % yield).



Compound 7

MW: 516.76; Yield: 43.5 %; White Solid; Mp (°C): 84.6.

R_f: 0.40 (MeOH:CH₂Cl₂ = 10:90).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 0.88 (t, 3H, *J* = 6.7 Hz, CH₃), 1.12-1.39 (m, 12 H), 1.40-1.60 (m, 2H, CH₂), 1.72-1.90 (m, 4H, 2xCH₂), 2.10 (t, 2H, *J* = 6.7 Hz, CH₂), 2.55-2.90 (m, 6H), 4.13-4.30 (m, 1H, CH-N), 4.24 (s, 4H,

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

50

CH₂N), 4.91 (d, 1H, J = 3.3 Hz, CH-O), 5.90 (d, 1H, J = 7.4 Hz, NH),

6.75-6.88 (m, 3H, ArH), OH not seen.

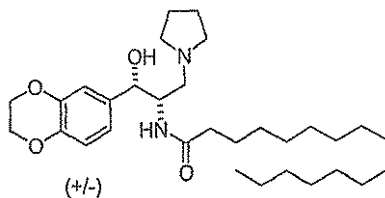
¹³C-NMR (CDCl₃, δ): 14.1, 22.7, 23.6 (2xC), 25.6, 29.1, 29.3, 31.9, 36.8, 52.3, 55.1 (2xC), 57.7, 64.3 (2xC), 75.2, 77.2, 115.0, 117.0, 118.9, 134.4, 142.8, 143.4, 173.5, 174.8.

MS-ESI m/z (% rel. Int.): 433.1 ([MH]⁺, 100).

HPLC: Method A, detection UV 280 nm, Compound 7, RT = 5.2 min, peak area 96.2 %.

N-(DL-*threo*-1-(2,3-Dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-1-hydroxy-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl)palmitamide Compound 8.

To a stirred solution of DL-*threo*-2-amino-1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol BLE 04104 (0.158 g, 0.57 mmol) in 10 mL CH₂Cl₂ were added, in order, *N*-hydroxysuccinimide (0.068 g, 0.59 mmol) in 2 mL CH₂Cl₂, triethylamine (95 μ L, 0.68 mmol) and palmitoyl chloride (155 μ L, 0.511 mmol) in 3 mL CH₂Cl₂. The mixture was stirred overnight at RT and then partitioned between CH₂Cl₂ and 1 N aqueous sodium hydroxide. The organic layer was purified by column chromatography on silica using as eluent CH₂Cl₂:MeOH = 95:5. A white solid *N*-(DL-*threo*-1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-1-hydroxy-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-2-yl)palmitamide Compound 8 was obtained (148 mg, 50.4 % yield).



WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

51

Compound 8

MW: 516.7; Yield: 50.4 %; White Solid; Mp (°C): 66.4.

R_f: 0.50 (MeOH:CH₂Cl₂ = 10:90).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 0.88 (t, 3H, *J* = 6.7 Hz, CH₃), 1.15-1.35 (m, 24 H), 1.45-1.58 (m, 2H, CH₂), 1.75-1.90 (m, 4H, 2xCH₂), 2.10 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz, CH₂), 2.61 (s, 1H, OH), 2.52-2.72 (m, 4H), 2.72-2.92 (m, 2H), 4.15-4.22 (m, 1H, CH-N), 4.24 (s, 4H, CH₂N), 4.92 (d, 1H, *J* = 3.3 Hz, CH-O), 6.08 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, NH), 6.75-6.90 (m, 3H, ArH).

MS-ESI *m/z* (% rel. Int.): 517.2 ([MH]⁺, 100).

HPLC: Method A, detection UV 280 nm, Compound 8 RT = 6.60 min, peak area 97.2 %.

Preparation of DL-threo-2-Amino-1-(pyridin-4-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 46.

Trans-(4,5-dihydro-5-(pyridin-3-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04110B.

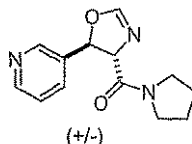
A general method D for oxazolines formation is illustrated by the preparation of BLE 04110B: To a stirred and cooled (0°C) solution of potassium hydroxide (0.55 g, 9.80 mmol) in methanol (10 mL) were added a mixture of 3-pyridine carboxaldehyde (1.03 mL, 10.84 mmol) and 2-isocyano-1-(pyrrolidin-1-yl)ethanone BLE 04098 (1.50 g, 10.86 mmol). The solution was stirred 3 h at 0°C and then concentrated. The residue was partitioned between ethyl acetate (100 mL) and water. The organic layer was combined with two additional ethyl acetate extracts (2x100 mL), washed with aqueous sodium chloride and dried over MgSO₄, filtered and evaporated. Concentration afforded a crude product

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

52

which was purified by column chromatography on silica (CH₂Cl₂:MeOH = 98:2) to yield to *trans*-(4,5-dihydro-5-(pyridin-3-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04110B (0.95 g, 39 %) as a pale yellow pale solid.



BLE 04110B

MW: 245.28; Yield: 39 %; Yellow Pale Solid; Mp (°C): 107.0.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.78-2.10 (m, 4H, 2xCH₂), 3.40-3.61 (m, 3H, CH₂N), 3.90-4.04 (m, 1H, CH₂N), 4.59 (dd, 1H, *J* = 7.7 Hz, *J* = 2.2 Hz, CH-N), 6.21 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz, CH-O), 7.04 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, O-CH=N), 7.33 (m, 1H, ArH), 7.64 (m, 1H, ArH), 8.59 (d, 2H, *J* = 2.8 Hz, ArH).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ): 24.2, 26.0, 46.4, 46.6, 75.7, 79.3, 123.7, 133.5, 135.3, 147.6, 149.9, 155.2, 166.2.

trans-(4,5-Dihydro-5-(pyridin-4-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone Compound 19.

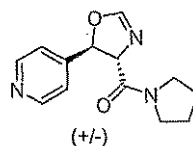
Compound 19 was prepared in accordance with method D using pyridine-4-carbaldehyde (1.88 mL, 19.76 mmol), KOH (1.01 g, 18.00 mmol) in methanol (18 mL) and 2-isocyano-1-(pyrrolidin-1-yl)ethanone BLE 04098 (2.73 g, 19.76 mmol). The residue was partitioned between ethyl acetate (200 mL) and water (150 mL). The organic layer was combined with additional ethyl acetate extracts (2 x 150 mL), washed with aqueous sodium chloride (2 x 150 mL) and dried over MgSO₄, filtered and evaporated. *Trans*-(4,5-dihydro-5-(pyridin-4-yl)oxazol-4-

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

53

yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone Compound 19 was obtained as a white solid (4.32 g, 98 % yield).



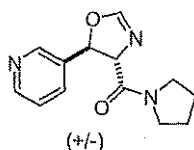
Compound 19

MW: 245.28; Yield: 98 %; White Solid; Mp (°C) = 69.2.

R_f: 0.65 (MeOH:CH₂Cl₂ = 10:90).

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 1.78-2.06 (m, 4H, 2xCH₂), 3.44-3.60 (m, 3H, CH₂N), 3.90-4.01 (m, 1H, CH₂N), 4.52 (dd, 1H, *J* = 7.9 Hz, *J* = 2.2 Hz, CH-N), 6.19 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, CH-O), 7.03 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, N=CH-O), 7.24 (dd, 2H, *J* = 4.5 Hz, *J* = 1.5 Hz, ArH), 8.61 (dd, 2H, *J* = 4.5 Hz, *J* = 1.5 Hz, ArH).

A general method for the acidic hydrolysis of oxazolines (Method E) is illustrated in the preparation of Compound 20 which is a substituted propionic acid amide and is made from the oxazoline intermediate BLE 04110B which can be prepared in accordance with General Synthetic Scheme 1.



BLE 04110B

DL-threo-2-Amino-3-hydroxy-3-(pyridin-3-yl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one dihydrochloride Compound 20.

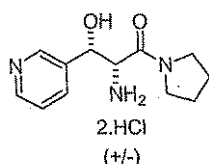
To a solution of *trans*-(4,5-dihydro-5-(pyridin-3-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone BLE 04110B (0.932 g, 3.80 mmol) in

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

54

methanol (10 mL) was added hydrochloric acid 37 % (1.2 mL). After heating (50 °C) the mixture for 2.25 h the reaction mixture was concentrated and the crude product was coevaporated twice with ethyl acetate. After trituration with ethyl acetate, filtration and drying DL-*threo*-2-amino-3-hydroxy-3-(pyridin-3-yl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one dihydrochloride Compound 20 was obtained as a white solid (1.10 g, 94 % yield).



Compound 20

MW: 308.2; Yield: 94 %; White Solid; Mp (°C): 123.4.

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.65-2.00 (m, 4H, 2xCH₂), 2.82-3.11 (m, 1H, -CH₂N), 3.30-3.57 (m, 2H, CH₂N), 3.57-3.77 (m, 1H, CH₂N), 4.54 (d, 1H, *J* = 5.3 Hz, CH-N), 5.38 (d, 1H, *J* = 5.3 Hz, CH-O), 8.15 (dd, 1H, *J* = 7.6 Hz, *J* = 5.0 Hz, ArH), 8.68 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, ArH), 8.89 (d, 1H, *J* = 7.6 Hz, ArH), 8.96 (s, 1H, ArH).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 24.9, 26.9, 47.7, 48.2, 58.1, 69.6, 128.7, 141.5, 141.6, 143.1, 146.5, 165.4.

DL-*threo*-2-Amino-3-hydroxy-3-(pyridin-4-yl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one dihydrochloride Compound 22.

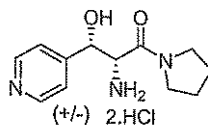
Compound 22 was prepared following method E with *trans*-(4,5-dihydro-5-(pyridin-4-yl)oxazol-4-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone Compound 19 (0.750 g, 3.07 mmol), hydrochloric acid 37 % (1.0 mL) and methanol (10 mL). After 3.0 h at 50 °C and work-up DL-*threo*-2-amino-3-hydroxy-3-(pyridin-4-yl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

55

dihydrochloride Compound 22 was obtained as a white solid (0.935 g, 99 %).



Compound 22

MW: 308.28; Yield: 99 %; White Solid; Mp (°C): 117.0.

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.75-2.03 (m, 4H, 2xCH₂), 2.93-3.08 (m, 1H, CHN), 3.32-3.75 (m, 3H, 2xCH₂), 4.54 (d, 1H, *J* = 5.9 Hz, CH₂-N), 5.40 (d, 1H, *J* = 5.9 Hz, CH-O), 8.21 (d, 2H, *J* = 5.8 Hz, ArH), 8.94 (d, 2H, *J* = 5.8 Hz, ArH).

MS-ESI *m/z* (% rel. int.): 236.1 ([MH]⁺, 17), 219 (25), 148 (100).

HPLC: Method A, detection UV 254 nm, Compound 22 RT = 0.8 min, peak area 96.3 %.

DL-threo-2-Amino-1-(pyridin-4-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol
Compound 46.

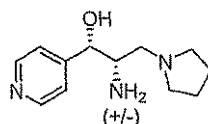
To a stirred suspension of DL-threo-2-amino-3-hydroxy-3-(pyridin-4-yl)-1-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-one dihydrochloride Compound 22 (0.86 g, 2.80 mmol) in tetrahydrofuran (108 mL) under nitrogen atmosphere was slowly added, in two portions, lithium aluminium hydride (0.64 g, 16.82 mmol) at 0 °C. The mixture reaction was stirred at RT for 20 h and quenched by a slow, dropwise addition of 2 N aqueous sodium hydroxide (8.4 mL, 6 eq). The yellow precipitate was filtered. The organic layer was washed by water (80 mL) and the organic layer was removed and combined with additional ethyl acetate extracts (4 x 200 mL) and dried over MgSO₄, filtered and evaporated. The crude product was purified by column chromatography on silica

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

56

(CH₂Cl₂:MeOH:NH₃ = 94:05:01). After evaporation and drying DL-*threo*-2-amino-1-(pyridin-4-yl)-3-(pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol Compound 46 was obtained (0.075 g, 12 %) as a pale yellow solid.



Compound 46

MW: 221.30; Yield: 12 %; Pale Yellow Solid.

R_f: 0.35 (CH₂Cl₂:MeOH:NH₃ = 90:08:02).

¹H-NMR (CD₃OD, δ): 1.60-1.80 (m, 4H, 2xCH₂), 2.30-2.80 (m, 6H, 3xCH₂N), 3.14-3.19 (m, 1H, CH-NH₂), 4.68 (d, 1H, *J* = 3.0 Hz, CH-O), 7.30 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz, ArH), 8.55 (d, 2H, *J* = 6.0 Hz, ArH).

¹³C-NMR (CD₃OD, δ): 23.5 (2xC), 54.1, 54.7 (2xC), 60.1, 74.5, 121.4 (2xC), 149.5 (2xC), 152.1.

MS-ESI *m/z* (rel. int.): 222.1 ([MH]⁺, 100), 205.0 (80), 189.0 (45), 151.0 (70), 134.0 (42), 121.9 (100), 107.9 (40).

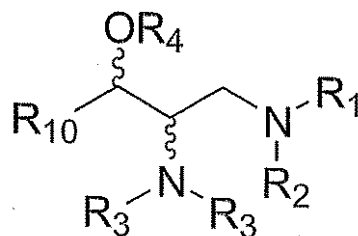
WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

57

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A compound of the formula



where R₁ is H or alkyl of 1 to 6 carbons,

R₂ is H, alkyl of 1 to 6 carbons or the R₁ and R₂ groups together with the nitrogen form a saturated or unsaturated 4, 5, 6 or 7 membered ring that optionally includes one or two heteroatoms independently selected from N, O and S, said 4, 5, 6 or 7 membered ring optionally being substituted with a halogen or with an alkyl group having 1 to 6 alkyl groups;

R₃ is independently selected from H, alkyl of 1 to 20 carbons, aryl or heteroaryl, aryl-alkyl or heteroaryl-alkyl where the alkyl moiety is has 1 to 4 carbons, cycloalkyl of 3 to 6 carbons, said aryl or heteroaryl groups being optionally substituted with 1 to 3 groups independently selected from the group consisting of halogen, alkyl of 1 to 6 carbons, alkoxy of 1 to 6 carbons and thioxy of 1 to 6 carbons, or

R₃ is CO-R₇ or CO-O-R₇ where R₇ is H, alkyl of 1 to 1 to 20 carbons, benzyl, alkyl of 1 to 20 carbons substituted with and NH₂ group, with a NHCOOalkyl or with an NH-COalkyl group where the alkyl group has one to 6 carbons, or R₇ is aryl, heteroaryl, aryl-alkyl or heteroaryl-alkyl where the alkyl moiety is branched or unbranched and has 1 to 4 carbons, said aryl or heteroaryl groups being optionally substituted with 1 to 3

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

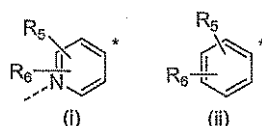
58

groups independently selected from the group consisting of halogen, alkyl of 1 to 6 carbons, alkoxy of 1 to 6 carbons and thioxy of 1 to 6 carbons;

R_4 is H, alkyl of 1 to 6 carbons or CO-R_8 where R_8 is alkyl of 1 to 6 carbons;

the wavy lines represent bonds connected to carbons having *R* or *S* configuration, and

R_{10} is selected from the groups of formulas (i) and (ii)



where the * indicates the carbon atom to which the remaining moiety of the molecule is attached;

R_5 and R_6 independently are H, alkyl of 1 to 6 carbons, halogen, alkoxy of 1 to 6 carbons or the R_5 and R_6 groups together with the atoms to which they are attached jointly form a carbocyclic or a heterocyclic ring, the carbocyclic ring having 5 or 6 atoms in the ring, the heterocyclic ring having 5 or 6 atoms in the ring and 1 to 3 heteroatoms independently selected from N, O and S, and

said carbocyclic or heterocyclic ring jointly formed by R_5 and R_6 being optionally substituted with 1 to 6 R_9 groups where R_9 is independently selected from halogen, alkyl of 1 to 6 carbons, alkoxy of 1 to 6 carbons, or a pharmaceutically acceptable salt of said compound;

with the proviso:

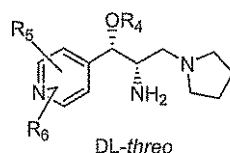
that when R_{10} has formula (ii) then the claim does not include compounds where R_4 is hydrogen and R_1 and R_2 jointly with the nitrogen form a morpholin or a pyrrolidin ring and where R_5 and R_6 both are H or one of R_5 and R_6 is OCH_3 and the other is H.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

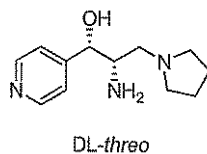
59

2. A compound in accordance with Claim 1 where R_{10} represents the formula (i).
3. A compound in accordance with Claim 1 where R_{10} represents the formula (ii).
4. A compound in accordance with Claim 2 having the formula



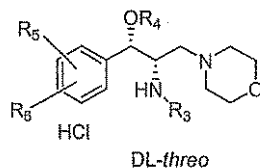
where R_5 and R_6 are independently selected from H, alkyl and alkoxy and R_4 is H or CO- R_8 or a pharmaceutically acceptable salt of said compound.

5. A compound in accordance with Claim 4 having the formula



or a pharmaceutically acceptable salt of said compound.

6. A compound in accordance with Claim 3 having the formula



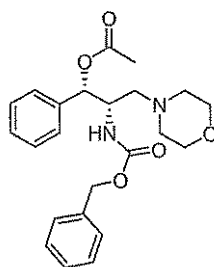
where R_3 is CO- R_7 or CO-O- R_7 , R_4 is CO- R_8 and R_5 and R_6 are independently selected from H, alkyl of 1 to 6 carbons and alkoxy of 1 to 6 carbons or any other pharmaceutically acceptable salt of said compound.

7. A compound in accordance with Claim 6 having the formula

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

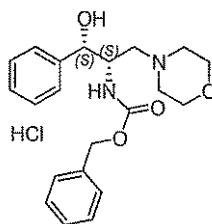
60



HCl L-threo

or any other pharmaceutically acceptable salt of said compound.

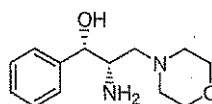
8. A compound of the formula



HCl

or any other pharmaceutically acceptable salt of said compound.

9. A compound of the formula



2 HCl

or any other pharmaceutically acceptable salt of said compound.

10. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 1.

11. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 2.

WO 2006/081276

PCT/US2006/002570

61

12. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 3.
13. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 4.
14. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 5.
15. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 6.
16. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 7.
17. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 8.
18. A method of treating a mammal in need of such treatment with a pharmaceutical composition having an analgesic effect, the composition including a compound in accordance with Claim 9.
19. A pharmaceutical composition for treating pain in a mammal, the composition comprising a compound in accordance with Claim 1 and a pharmaceutically acceptable excipient.

(57) Abstract: Compounds of the formula where the variables have the meaning defined in the specification have analgesic and or immunostimulant effect in mammals.