

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5225864号
(P5225864)

(45) 発行日 平成25年7月3日 (2013.7.3)

(24) 登録日 平成25年3月22日 (2013.3.22)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 413/14 (2006.01)

C O 7 D 413/14 C S P

A 6 1 K 31/5377 (2006.01)

A 6 1 K 31/5377

A 6 1 P 7/02 (2006.01)

A 6 1 P 7/02

請求項の数 16 (全 67 頁)

(21) 出願番号 特願2008-554638 (P2008-554638)
 (86) (22) 出願日 平成19年2月6日 (2007.2.6)
 (65) 公表番号 特表2009-526788 (P2009-526788A)
 (43) 公表日 平成21年7月23日 (2009.7.23)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2007/001135
 (87) 国際公開番号 W02007/093328
 (87) 国際公開日 平成19年8月23日 (2007.8.23)
 審査請求日 平成22年2月2日 (2010.2.2)
 (31) 優先権主張番号 102006007146.8
 (32) 優先日 平成18年2月16日 (2006.2.16)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(73) 特許権者 512137348
 バイエル・インテレクチュアル・プロパティ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング
 Bayer Intellectual Property GmbH
 ドイツ40789モンハイム、アルフレートーノーベルシュトラッセ10番
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 篠
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子

最終頁に続く

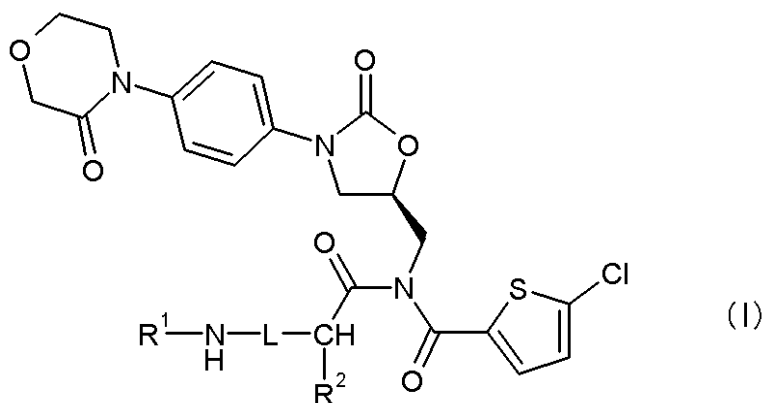
(54) 【発明の名称】 血栓塞栓性障害の処置用のアミノアシルプロドラッグ誘導体および医薬

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 (I)

【化1】



〔式中、

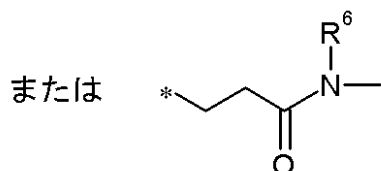
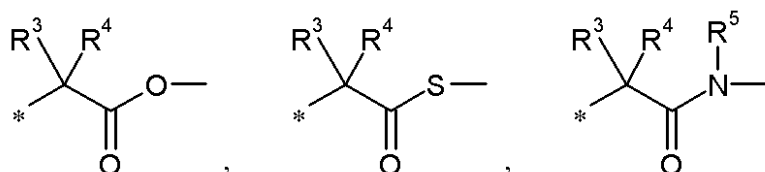
R^1 は、水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキル (これは、ヒドロキシまたは $(C_1 - C_4)$ -アルコキシにより置換されていてもよい) であり、

R^2 は、水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、

そして、

Lは、 $(C_1 - C_4)$ -アルカンジイル基（ここで、1個の CH_2 基は、O原子により置き換えられていてもよい）であるか、または、式

【化2】



{式中、

*は、N原子への結合点を意味し、

R^3 は、水素、メチル、プロパン-2-イル、プロパン-1-イル、イミダゾール-4-イルメチル、ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、カルバモイルメチル、2-カルバモイルエチル、4-アミノブタン-1-イル、3-アミノプロパン-1-イルまたは3-グアニジノプロパン-1-イルであるか、

または、

R^3 は R^1 に結合しており、その2つが一体となって $(CH_2)_3$ または $(CH_2)_4$ 基を形成しており、

R^4 は、水素またはメチルであり、

R^5 は $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、

そして、

R^6 は、水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキルである}

の基である]

の化合物並びにその塩、溶媒和物および塩の溶媒和物。

【請求項2】

式中、

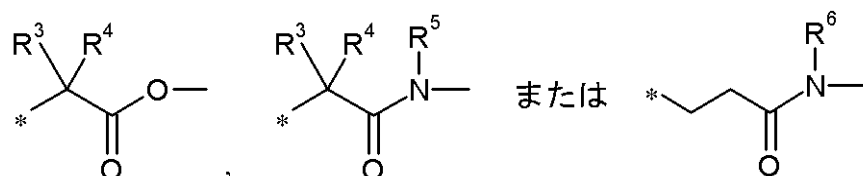
R^1 が水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、

R^2 が水素であり、

そして、

Lが、 $(C_2 - C_4)$ -アルカンジイル基または式

【化3】



{式中、

*は、N原子への結合点を意味し、

R^3 は、水素、メチル、プロパン-2-イル、プロパン-1-イル、イミダゾール-4-イルメチル、ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、カルバモイルメチル、2-カルバモイルエチル、4-アミノブタン-1-イル、3-アミノプロパン-1-イルまたは3-グアニジノプロパン-1-イルであるか、

または、

R^3 は R^1 に結合しており、その2つが一体となって $(CH_2)_3$ または $(CH_2)_4$ 基を形成しており、

10

20

30

40

50

R⁴ は、水素またはメチルであり、

R⁵ はメチルであり、

そして、

R⁶ は、水素またはメチルである}

の基である、

請求項 1 に記載の式 (I) の化合物、並びにその塩、溶媒和物および塩の溶媒和物。

【請求項 3】

式中、

R¹ が、水素、メチルまたは n-ブチルであり、

R² が、水素であり、

そして、

L が、CH₂CH₂ 基であるか、または、式

【化 4】



{式中、

*は、N 原子への結合点を意味し、

R³ は、水素、メチル、プロパン-2-イル、プロパン-1-イル、イミダゾール-4-イルメチル、ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、カルバモイルメチル、2-カルバモイルエチル、4-アミノブタン-1-イル、3-アミノプロパン-1-イルまたは 3-グアニジノプロパン-1-イルであるか、

または、

R³ は R¹ に結合しており、その 2 つが一体となって (CH₂)₃ または (CH₂)₄ 基を形成しており、

R⁴ は、水素またはメチルであり、

そして、

R⁶ は、水素またはメチルである}

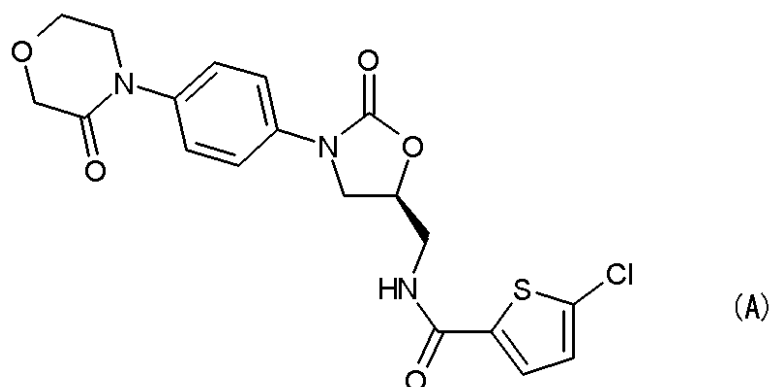
の基である、

請求項 1 または請求項 2 に記載の式 (I) の化合物、並びにその塩、溶媒和物および塩の溶媒和物。

【請求項 4】

請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物の製造方法であって、
化合物 (A)

【化 5】



を、先ず、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (II)

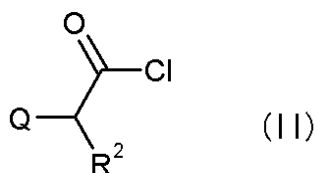
10

20

30

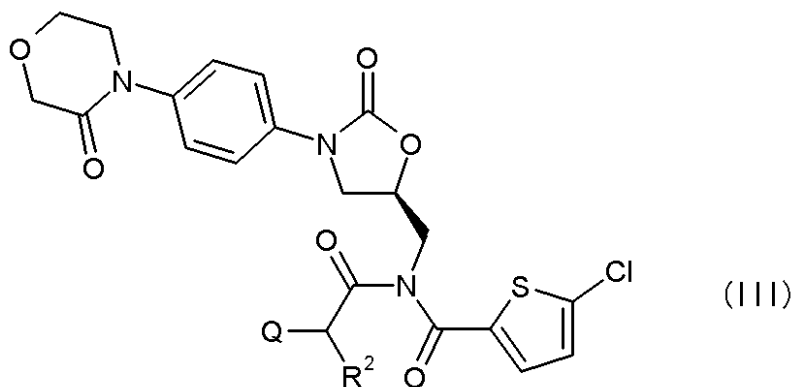
40

【化 6】



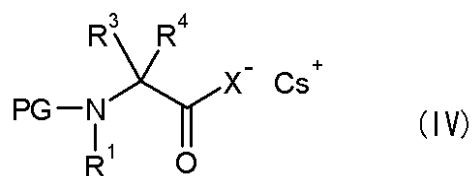
(式中、 R^2 は請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の意味を有し、
 そして、Q は、脱離基である)
 の化合物を用いて、式 (I I I)

【化 7】



(式中、Q および R^2 は上記の意味を有する)
 の化合物に変換し、
 次いで、後者を、不活性溶媒中、式 (I V)

【化 8】



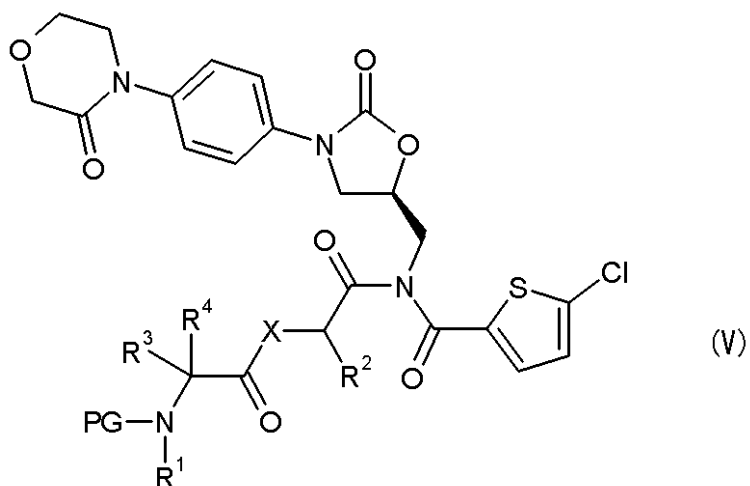
(式中、 R^1 、 R^3 および R^4 は、各々請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の意味
 を有し、
 PG は、アミノ保護基であり、
 そして、X は O または S である)
 の α -アミノカルボン酸または α -アミノチオカルボン酸のセシウム塩と反応させ、式 (V)

10

20

30

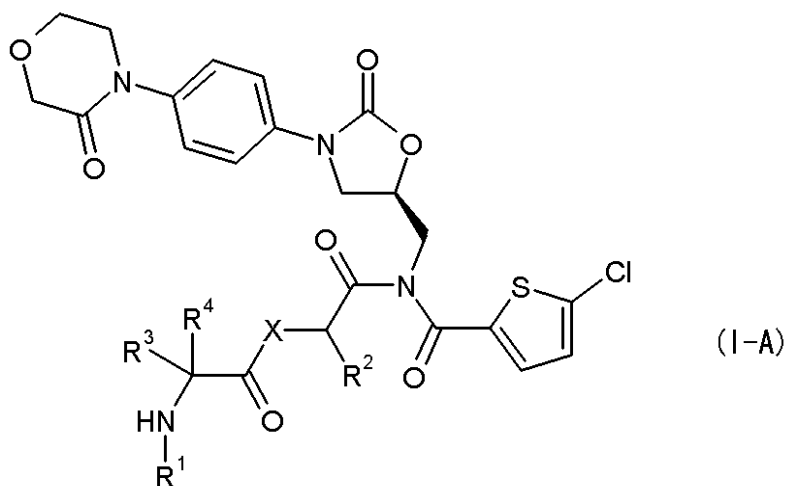
【化 9】



10

(式中、R¹、R²、R³、R⁴、PGおよびXの各々は上記の意味を有する)
 の化合物を得、続いて、保護基PGを除去し、式(I-A)

【化 10】



20

30

(式中、R¹、R²、R³、R⁴およびXの各々は上記の意味を有する)
 の化合物を得、

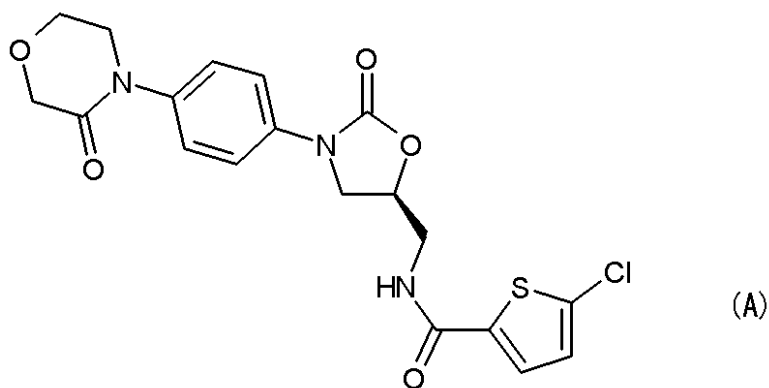
そして、得られる式(I-A)の化合物を、必要に応じて、適切な(i)溶媒および／または(ii)酸により、それらの溶媒和物、塩および／または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする、方法。

【請求項 5】

請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式(I)の化合物の製造方法であって、
 化合物(A)

40

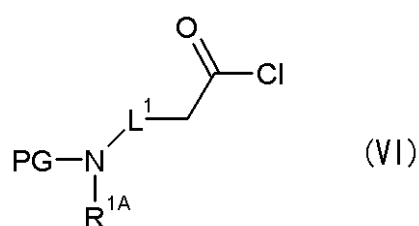
【化 1 1】



10

を、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (V I)

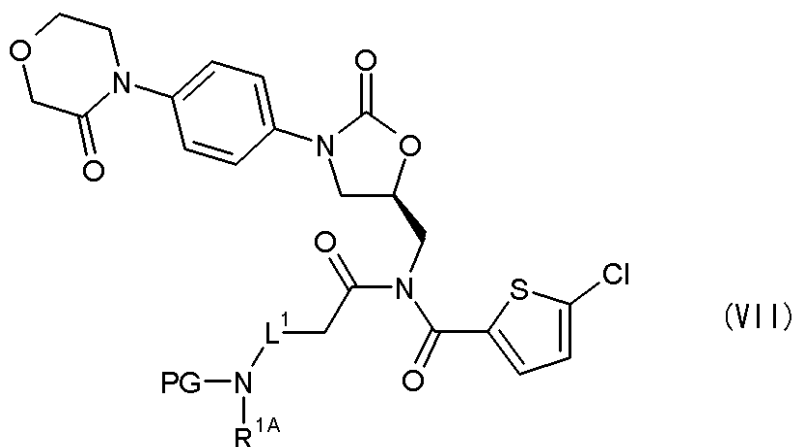
【化 1 2】



20

(式中、P Gはアミノ保護基であり、
 R^{1A} は、ヒドロキシまたは $(C_1 - C_4)$ -アルコキシにより置換されていてもよい $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、
 そして、 L^1 は、1個の CH_2 基がO原子により置き換えられていてもよい $(C_1 - C_4)$ -アルカンジイル基である)
 の化合物と反応させ、式 (V I I)

【化 1 3】

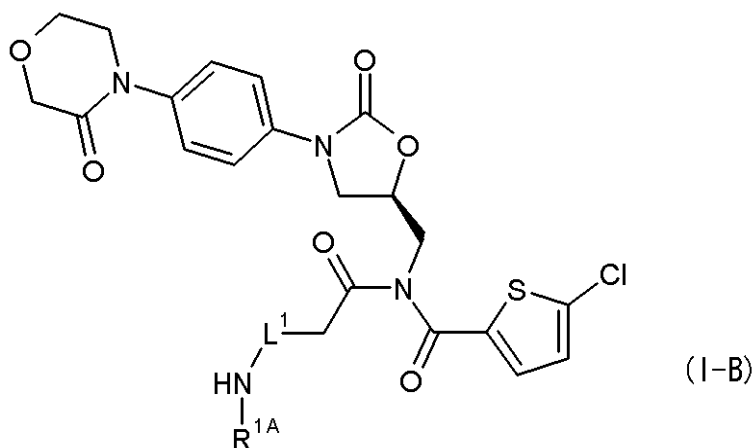


30

40

(式中、 R^{1A} 、 L^1 およびP Gの各々は上記の意味を有する)
 の化合物を得、続いて、保護基P Gを除去し、式 (I - B)

【化 1 4】



10

(式中、 R^{1A} および L^1 は上記の意味を有する)
 の化合物を得、

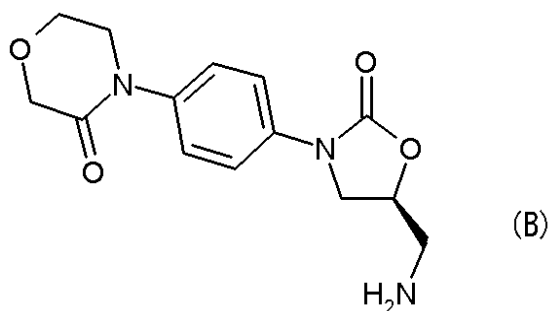
そして、得られる式 (I-B) の化合物を、必要に応じて、適切な (i) 溶媒および／または (ii) 酸により、それらの溶媒和物、塩および／または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする、方法。

20

【請求項 6】

請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物の製造方法であって、
 化合物 (B)

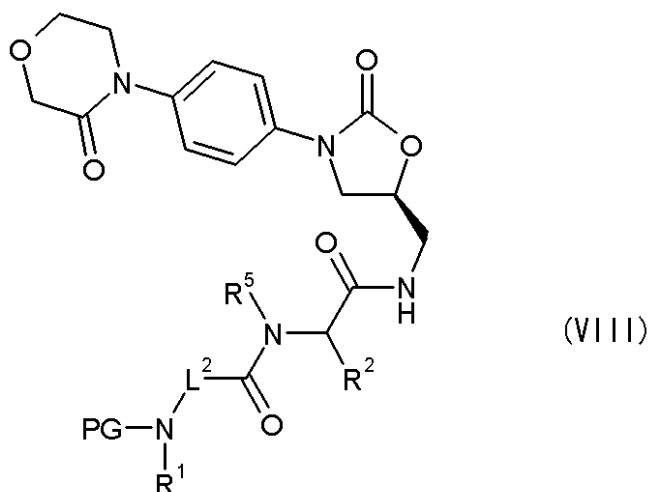
【化 1 5】



30

を、先ず、式 (VIII)

【化 1 6】



40

(式中、PG はアミノ保護基であり、
 R^1 、 R^2 および R^5 の各々は、請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の意味を有し

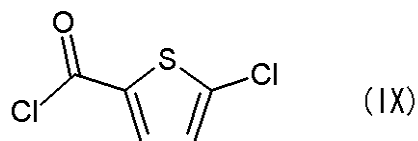
50

、
そして、 L^2 は、 $(CH_2)_2$ または CR^3R^4 基である（式中、 R^3 および R^4 の各々は請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の意味を有する）

の化合物に変換し、

次いで、後者を、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (IX)

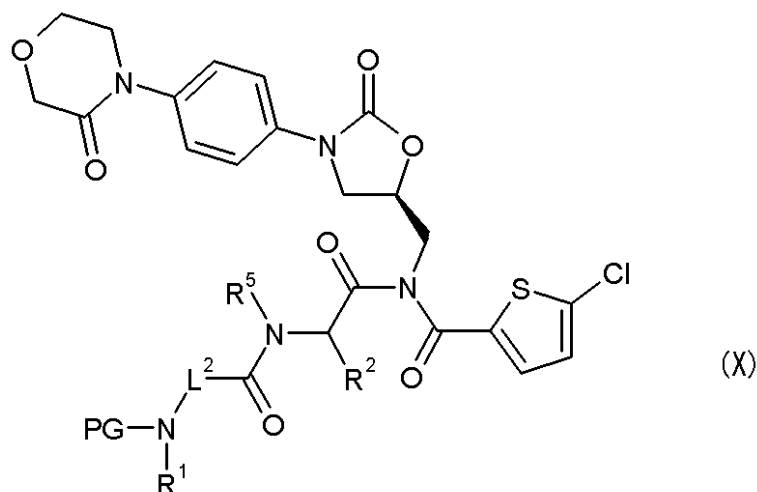
【化 17】



10

の化合物と反応させ、式 (X)

【化 18】



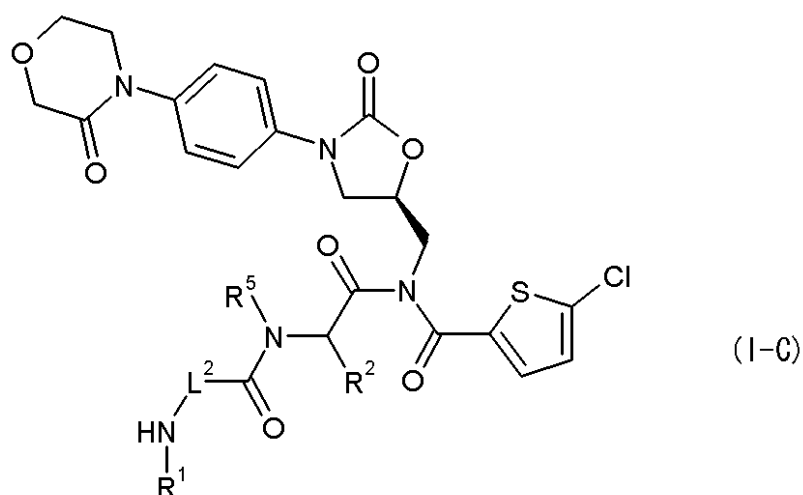
20

（式中、PG、 L^2 、 R^1 、 R^2 および R^5 の各々は上記の意味を有する）

の化合物を得、

続いて、保護基 PG を除去し、式 (I-C)

【化 19】



40

（式中、 L^2 、 R^1 、 R^2 および R^5 の各々は上記の意味を有する）

の化合物を得、

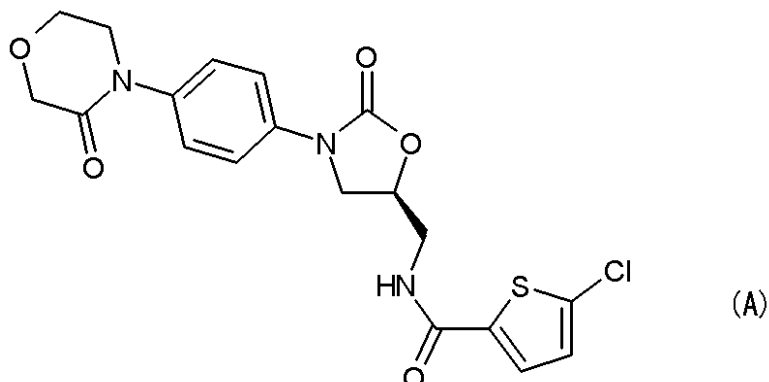
そして、得られる式 (I-C) の化合物を、必要に応じて、適切な (i) 溶媒および／または (ii) 酸により、それらの溶媒和物、塩および／または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする、方法。

50

【請求項 7】

請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物の製造方法であって、
化合物 (A)

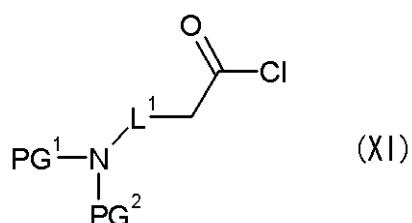
【化 20】



10

を、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (XI)

【化 21】



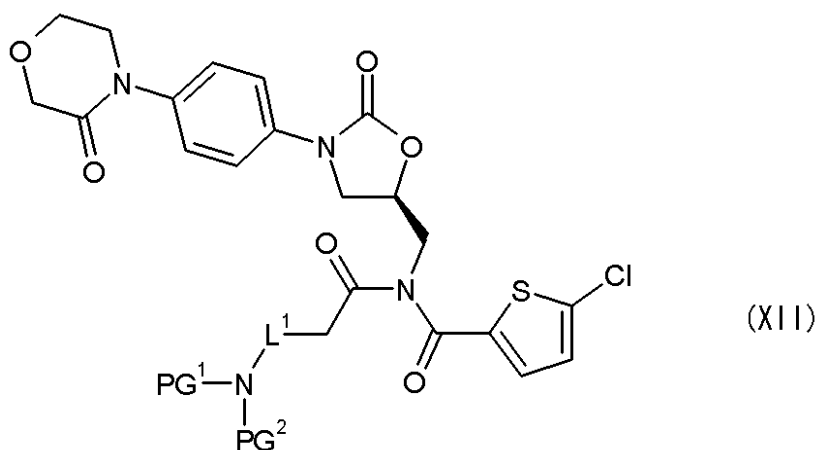
20

(式中、L¹ は、1 個の CH₂ 基が O 原子により置き換えられていてもよい (C₁ - C₄) -アルカンジイル基であり、

そして、PG¹ および PG² は、相互に独立して、アミノ保護基であり、同一であっても異なってもよい)

の化合物と反応させ、式 (XII)

【化 22】



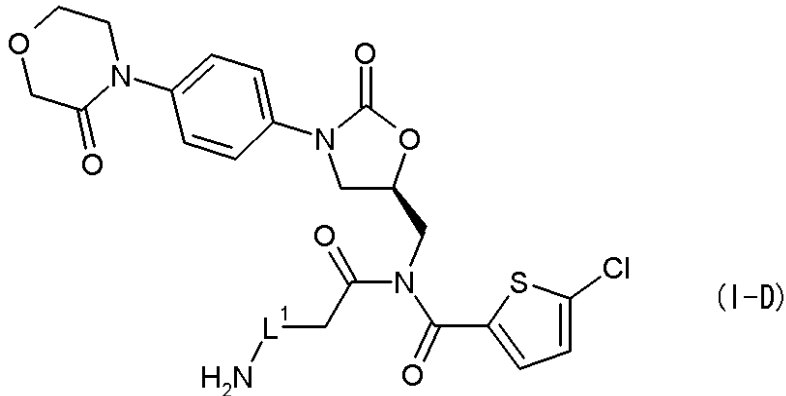
30

40

(式中、L¹、PG¹ および PG² の各々は上記の意味を有する)

の化合物を得、続いて、保護基 PG¹ および PG² を、同時または連続的に除去し、式 (I - D)

【化 2 3】



10

(式中、 L^1 は上記の意味を有する)

の化合物を得、

そして、得られる式 (I-D) の化合物を、必要に応じて、適切な (i) 溶媒および／または (ii) 酸により、それらの溶媒和物、塩および／または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする、方法。

【請求項 8】

Q が、塩素、臭素またはヨウ素である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9】

PG が、tert-ブトキシカルボニル (Boc) またはベンジルオキシカルボニル (Z) である、請求項 4 ないし請求項 6 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 10】

PG¹ および PG² が、相互に独立して、tert-ブトキシカルボニル (Boc)、ベンジルオキシカルボニル (Z) または p-メトキシベンジル (PMB) であり、同一であっても異なってもよい、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 11】

疾患の処置および／または予防のための、請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物。

【請求項 12】

血栓塞栓性障害の処置および／または予防用の医薬を製造するための、請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物の使用。

30

【請求項 13】

請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物を、必要に応じて、不活性、非毒性の医薬的に適する補助剤と組み合わせて含む、医薬。

【請求項 14】

請求項 1 ないし請求項 3 のいずれかに記載の式 (I) の化合物を、さらなる有効成分と組み合わせて含む、医薬。

【請求項 15】

血栓塞栓性障害の処置および／または予防のための、請求項 13 または請求項 14 に記載の医薬。

40

【請求項 16】

静脈内使用のための請求項 13 ないし請求項 15 のいずれかに記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、5-クロロ-N-({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフェン-2-カルボキサミドのプロドラッグ誘導体、それらの製造方法、疾患の処置および／または予防のためのそれらの使用、および疾患の、特に血栓塞栓性障害の処置および／また

50

は予防用の医薬を製造するためのそれらの使用に関する。

【背景技術】

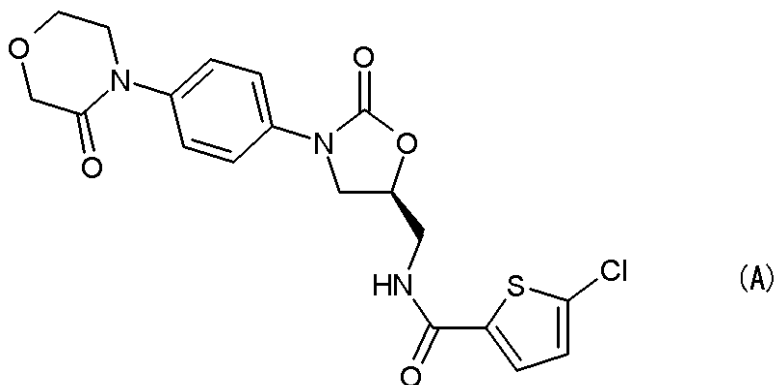
【0002】

プロドラッグは、実際の有効成分が遊離する前に、インビボで酵素的および／または化学的生物変換を1つまたはそれ以上の段階で受ける、有効成分の誘導体である。プロドラッグの残基は、通常、基礎的有効成分の特性のプロフィールを改善するために使用される [P. Ettmayer et al., J. Med. Chem. 47, 2393 (2004)]。最適な効果のプロフィールを達成するために、これに関して、プロドラッグ残渣の設計並びに所望の遊離メカニズムを、個々の有効成分、適応症、作用部位および投与経路と非常に厳密に適合させることが必要である。多数の医薬が、プロドラッグとして投与され、それは、基礎的有効成分と比較して改善されたバイオアベイラビリティを示し、それは、例えば物理化学的プロフィール、特に溶解性、能動的または受動的吸収特性または組織特異的分布を改善することにより達成される。プロドラッグに関する多岐にわたる文献から言及し得る例は、H. Bundgaard (Ed.), Design of Prodrugs: Bioreversible derivatives for various functional groups and chemical entities, Elsevier Science Publishers B.V., 1985 である。

【0003】

5-クロロ-N-({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフェン-2-カルボキサミド [BAY 59-7939、化合物(A)] は、セリンプロテアーゼXa因子の経口で有効な直接的阻害剤であり、血液凝固の調節において本質的な機能を果たす。この化合物は、現在、血栓塞栓性障害の予防および治療用の可能性のある新有効医薬成分として、綿密な臨床試験を受けている [S. Roehrig et al., J. Med. Chem. 48, 5900 (2005)]。

【化1】



【0004】

しかしながら、化合物(A)には、水および生理的媒体において限られた溶解性しかなく、例えば有効成分の静脈内投与を困難にしている。従って、上述の媒体において改善された溶解性を有し、同時に、投与後に患者の体内で有効成分(A)の制御された遊離を可能にする化合物(A)の誘導体またはプロドラッグを同定することが、本発明の目的であった。

【0005】

WO 2005/028473は、経口バイオアベイラビリティを高めるのに役立つ、オキサゾリジノン類のアシルオキシメチルカルバメートプロドラッグを記載している。WO 01/00622は、イノシン-5'-モノホスフェートデヒドロゲナーゼのカルバメート阻害剤のアシルプロドラッグを開示している。基礎的有効成分を多段階の活性化メカニズムにより遊離させるオキサゾリジノン類のさらなるタイプのアミドプロドラッグは、WO 03/006440に記載されている。

【発明の開示】

【0006】

10

20

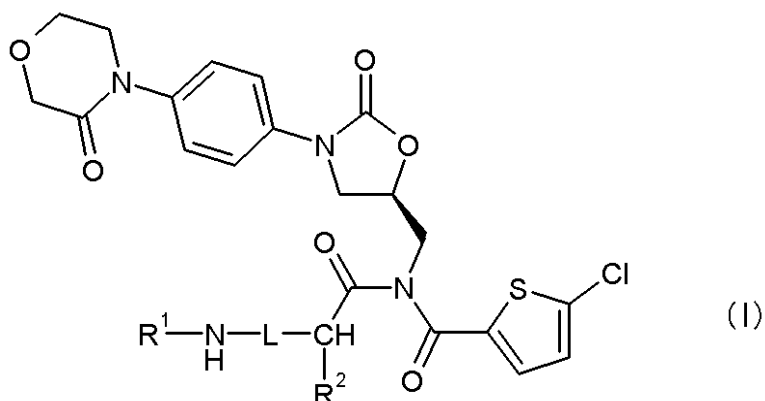
30

40

50

本発明は、一般式（I）

【化 2】



[式中、

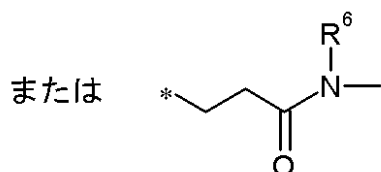
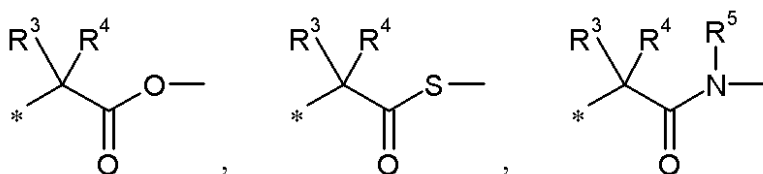
R^1 は、水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキル（これは、ヒドロキシまたは $(C_1 - C_4)$ -アルコキシにより置換されていてもよい）であり、

R^2 は、水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、

そして、

L は、 $(C_1 - C_4)$ -アルカンジイル基（ここで、1 個の CH_2 基は、O 原子により置き換えられていてもよい）であるか、または、式

【化 3】



または

{式中、

* は、N 原子への結合点を意味し、

R^3 は、天然 α -アミノ酸またはそのホモログもしくは異性体の側鎖の基であるか、

または、

R^3 は R^1 に結合しており、その 2 つが一体となって $(CH_2)_3$ または $(CH_2)_4$ 基を形成しており、

R^4 は、水素またはメチルであり、

R^5 は $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、

そして、

R^6 は、水素または $(C_1 - C_4)$ -アルキルである}

の基である]

の化合物並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物に関する。

【0007】

本発明による化合物は、式（I）の化合物およびそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物、式（I）に包含される後述する式の化合物およびそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物、並びに、式（I）に包含される例示的实施態様として後述する化合物およびそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物（後述する式（I）に包含される化合物が、既に塩、溶媒和物および塩の溶媒和物でない場合に）である。

【0008】

本発明による化合物は、それらの構造によって、立体異性体（エナンチオマー、ジアステレオマー）で存在し得る。従って、本発明は、エナンチオマーまたはジアステレオマーおよびそれらの各々の混合物に関する。そのようなエナンチオマーおよび／またはジアステレオマーの混合物から、立体異性的に純粋な構成成分を既知の方法で単離できる。

本発明による化合物が互変異性体で存在できる場合、本発明は、全ての互変異性体を含む。

【0009】

本発明の目的上、好ましい塩は、本発明による化合物の生理的に許容し得る塩である。しかしながら、それら自体は医薬適用に適さないが、例えば本発明による化合物の単離または精製に使用できる塩も含まれる。

10

【0010】

本発明による化合物の生理的に許容し得る塩には、鉱酸、カルボン酸およびスルホン酸の酸付加塩、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸および安息香酸の塩が含まれる。

【0011】

本発明の目的上、溶媒和物は、固体または液体状態で、溶媒分子との配位により錯体を形成している本発明による化合物の形態である。水和物は、配位が水と起こる、溶媒和物の特別な形態である。本発明に関して、好ましい溶媒和物は水和物である。

20

【0012】

本発明に関して、断りのない限り、置換基は、以下の意味を有する：

(C₁ - C₄) - アルキルおよび(C₁ - C₃) - アルキルは、本発明に関して、各々1個ないし4個および1個ないし3個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキルラジカルである。1個ないし3個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキルラジカルが好ましい。好ましく言及し得る例は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチルである。

【0013】

(C₁ - C₄) - アルコキシは、本発明に関して、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルコキシラジカルである。好ましく言及し得る例は、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、tert-ブトキシである。

30

【0014】

(C₁ - C₄) - アルカンジイルは、本発明に関して、1個ないし4個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖の二価のアルキルラジカルである。2個ないし4個の炭素原子を有する直鎖のアルカンジイルラジカルが好ましい。好ましく言及し得る例は、メチレン、1,2-エチレン、エタン-1,1-ジイル、1,3-プロピレン、プロパン-1,1-ジイル、プロパン-1,2-ジイル、プロパン-2,2-ジイル、1,4-ブチレン、ブタン-1,2-ジイル、ブタン-1,3-ジイル、ブタン-2,3-ジイルである。

【0015】

40

R³の意味におけるα-アミノ酸の側鎖の基は、天然産生α-アミノ酸の側鎖の基およびこれらのα-アミノ酸のホモログおよび異性体の側鎖の基の両方を含む。α-アミノ酸は、これに関して、LおよびD配置の両方を有し得るか、または、L体およびD体の混合物であり得る。言及し得る側鎖の基の例は、水素（グリシン）、メチル（アラニン）、プロパン-2-イル（バリン）、プロパン-1-イル（ノルバリン）、2-メチルプロパン-1-イル（ロイシン）、1-メチルプロパン-1-イル（イソロイシン）、ブタン-1-イル（ノルロイシン）、フェニル（2-フェニルグリシン）、ベンジル（フェニルアラニン）、p-ヒドロキシベンジル（チロシン）、インドール-3-イルメチル（トリプトファン）、イミダゾール-4-イルメチル（ヒスチジン）、ヒドロキシメチル（セリン）、2-ヒドロキシエチル（ホモセリン）、1-ヒドロキシエチル（スレオニン）、メルカ

50

プトメチル（システイン）、メチルチオメチル（S-メチルシステイン）、2-メルカプトエチル（ホモシステイン）、2-メチルチオエチル（メチオニン）、カルバモイルメチル（アスパラギン）、2-カルバモイルエチル（グルタミン）、カルボキシメチル（アスパラギン酸）、2-カルボキシエチル（グルタミン酸）、4-アミノブタン-1-イル（リジン）、4-アミノ-3-ヒドロキシブタン-1-イル（ヒドロキシリジン）、3-アミノプロパン-1-イル（オルニチン）、3-グアニジノプロパン-1-イル（アルギニン）、3-ウレイドプロパン-1-イル（シトルリン）である。R³の意味における好ましいα-アミノ酸の側鎖の基は、水素（グリシン）、メチル（アラニン）、プロパン-2-イル（バリン）、プロパン-1-イル（ノルバリン）、イミダゾール-4-イルメチル（ヒスチジン）、ヒドロキシメチル（セリン）、1-ヒドロキシエチル（スレオニン）、カルバモイルメチル（アスパラギン）、2-カルバモイルエチル（グルタミン）、4-アミノブタン-1-イル（リジン）、3-アミノプロパン-1-イル（オルニチン）、3-グアニジノプロパン-1-イル（アルギニン）である。各場合でL配置が好ましい。

10

【0016】

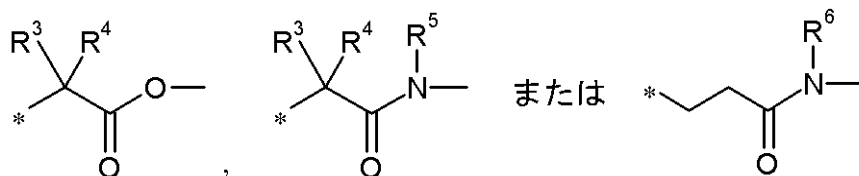
本発明による化合物中のラジカルが置換されている場合、そのラジカルは、断りのない限り、一置換または多置換されていてよい。本発明に関して、1回より多く出てくる全てのラジカルは、相互に独立の意味を有する。1個または2個の同一かまたは異なる置換基による置換が好ましい。1個の置換基による置換がことさら特に好ましい。

【0017】

好ましいのは、式中、
R¹が水素または(C₁-C₄)-アルキルであり、
R²が水素であり、
そして、
Lが、(C₂-C₄)-アルカンジイル基または式

20

【化4】



30

{式中、

*は、N原子への結合点を意味し、

R³は、水素、メチル、プロパン-2-イル、プロパン-1-イル、イミダゾール-4-イルメチル、ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、カルバモイルメチル、2-カルバモイルエチル、4-アミノブタン-1-イル、3-アミノプロパン-1-イルまたは3-グアニジノプロパン-1-イルであるか、

または、

R³はR¹に結合しており、その2つが一体となって(CH₂)₃または(CH₂)₄基を形成しており、

R⁴は、水素またはメチルであり、

40

R⁵はメチルであり、

そして、

R⁶は、水素またはメチルである}

の基である、

式(I)の化合物、並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物である。

【0018】

これに関して、特に重要なのは、式中、R¹が水素または(C₁-C₃)-アルキルである、式(I)の化合物である。

また特に重要なのは、式中、Lが直鎖の(C₂-C₄)-アルカンジイル基である、式(I)の化合物である。

50

【0019】

特に好ましいのは、式中、
 R^1 が、水素、メチルまたは n -ブチルであり、
 R^2 が、水素であり、
 そして、
 L が、 CH_2CH_2 基であるか、または、式
 【化5】



10

{ 式中、
 $*$ は、N 原子への結合点を意味し、
 R^3 は、水素、メチル、プロパン-2-イル、プロパン-1-イル、イミダゾール-4-イルメチル、ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、カルバモイルメチル、2-カルバモイルエチル、4-アミノブタン-1-イル、3-アミノプロパン-1-イルまたは 3-グアニジノプロパン-1-イルであるか、
 または、
 R^3 は R^1 に結合しており、その 2 つが一体となって $(CH_2)_3$ または $(CH_2)_4$ 基を形成しており、
 R^4 は、水素またはメチルであり、
 そして、
 R^6 は、水素またはメチルである }
 の基である、
 式 (I) の化合物、並びにそれらの塩、溶媒和物および塩の溶媒和物である。

20

【0020】

これに関して、特に重要なのは、式中、 R^1 が水素またはメチルである、式 (I) の化合物である。

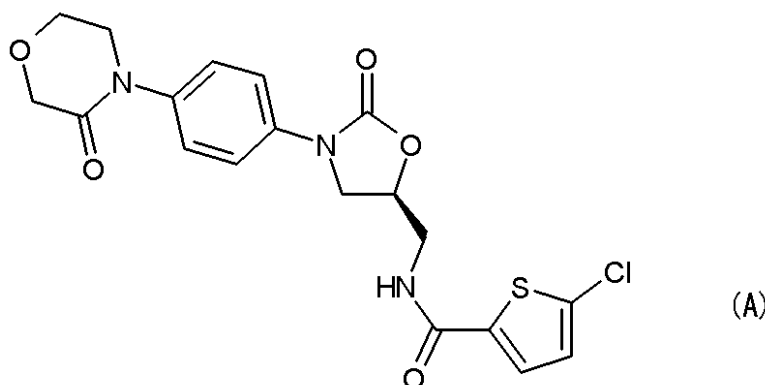
また特に重要なのは、 L が CH_2CH_2 基である式 (I) の化合物である。

30

【0021】

本発明は、さらに、本発明による式 (I) の化合物の製造方法に関し、それは、
 [A] 化合物 (A)

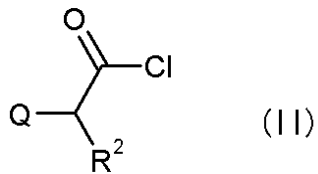
【化6】



40

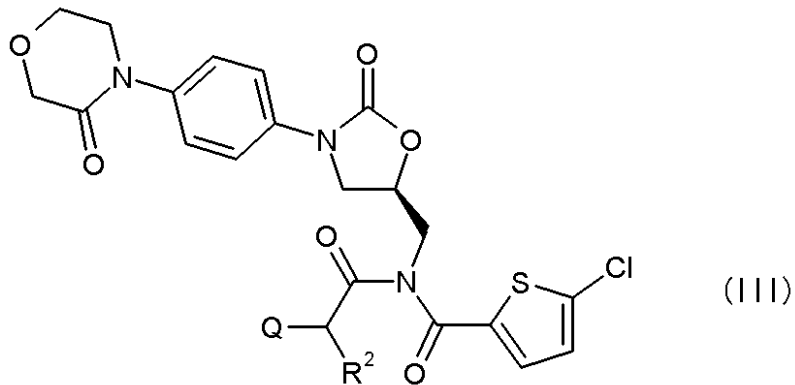
を、先ず、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (I I)

【化 7】



(式中、 R^2 は上記の意味を有し、
 そして、Q は、例えば、塩素、臭素またはヨウ素などの脱離基である)
 の化合物を用いて、式 (I I I)

【化 8】

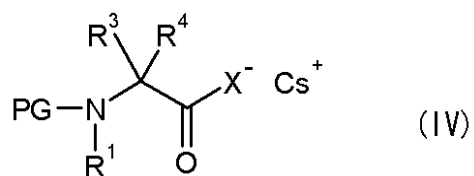


(式中、Q および R^2 は上記の意味を有する)
 の化合物に変換し、

【0022】

次いで、後者を、不活性溶媒中、式 (I V)

【化 9】



(式中、 R^1 、 R^3 および R^4 は、各々上記の意味を有し、
 PG は、例えば、tert-ブトキシカルボニル (Boc) またはベンジルオキシカルボ
 ニル (Z) などのアミノ保護基であり、
 そして、X は O または S である)
 の α -アミノカルボン酸または α -アミノチオカルボン酸のセシウム塩と反応させ、式 (V)

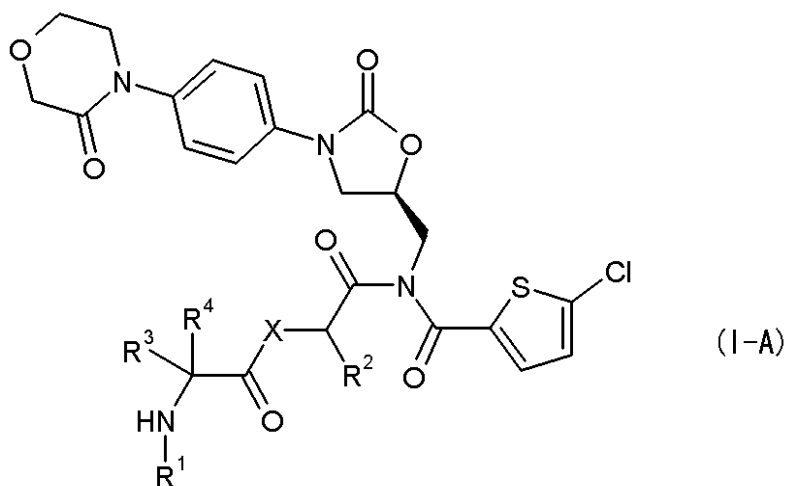
10

20

30

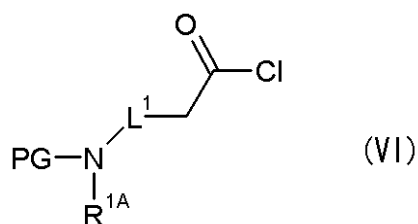
[illegible]

【化 1 1】



【 0 0 2 3 】

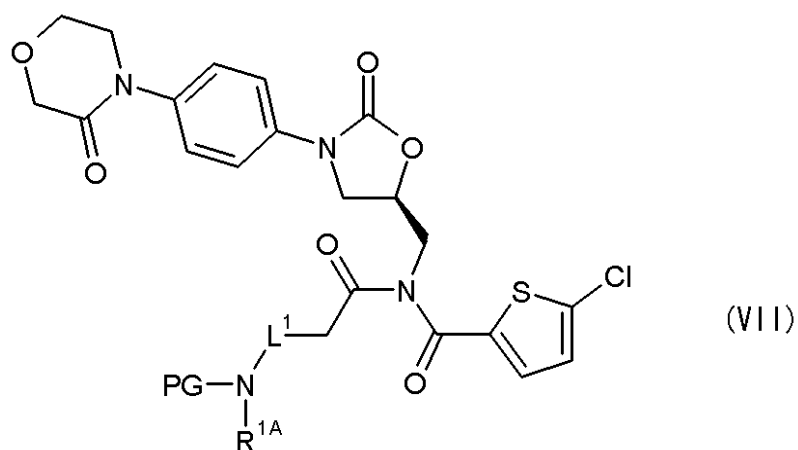
【化 1 2】



(式中、PGは上記の意味を有し、
 R^{1A} は、ヒドロキシまたは $(C_1 - C_4)$ -アルコキシにより置換されていてもよい $(C_1 - C_4)$ -アルキルであり、
 そして、 L^1 は、1個の CH_2 基がO原子により置き換えられていてもよい $(C_1 - C_4)$ -アルカンジイル基である)

の化合物と反応させ、式 (V I I)

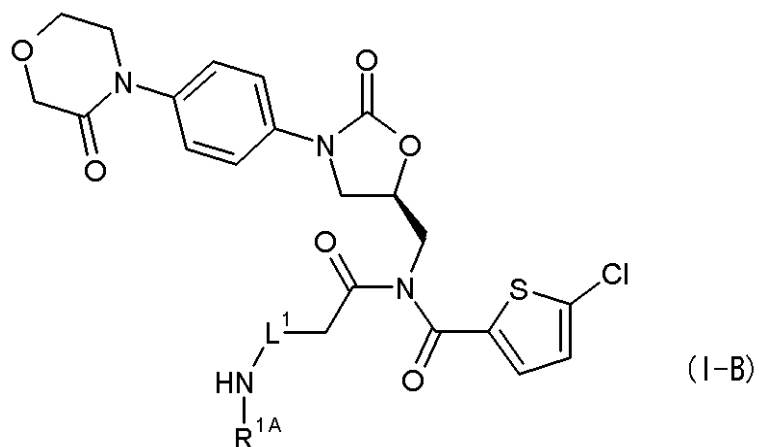
【化 1 3】



10

(式中、 R^{1A} 、 L^1 および PG の各々は上記の意味を有する)
の化合物を得、続いて、保護基 PG を常套の方法により除去し、式 (I-B)

【化 1 4】



20

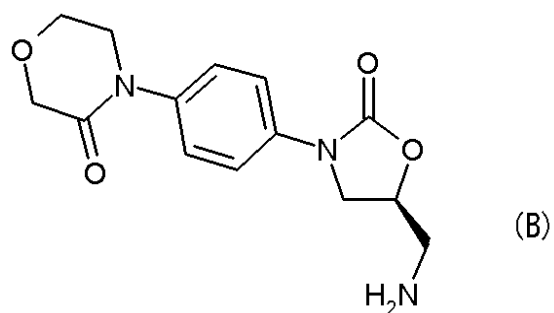
30

(式中、 R^{1A} および L^1 は上記の意味を有する)
の化合物を得るか、
または、

【0024】

[C] 化合物 (B)

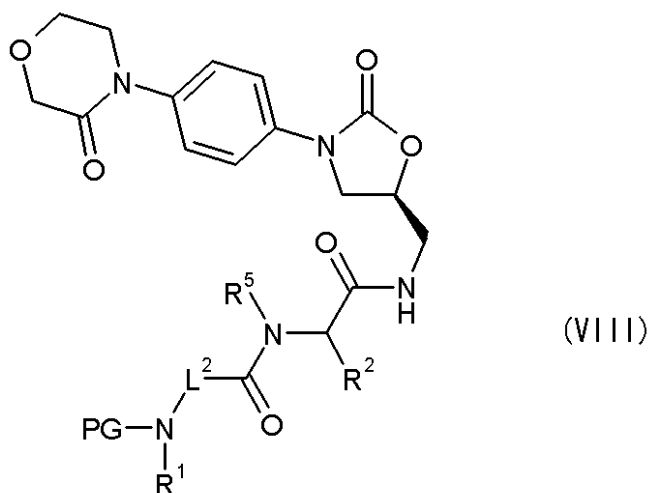
【化 1 5】



40

を、先ず、ペプチド化学の標準的方法により、式 (V I I I)

【化 1 6】



10

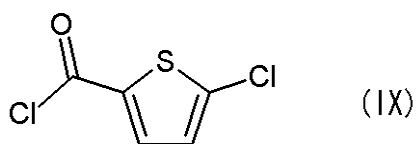
(式中、PG、 R^1 、 R^2 および R^5 の各々は、上記の意味を有し、
 そして、 L^2 は、 $(CH_2)_2$ または CR^3R^4 基である (式中、 R^3 および R^4 の各々は上記の意味を有する))
 の化合物に変換し、

【0025】

20

次いで、後者を、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (IX)

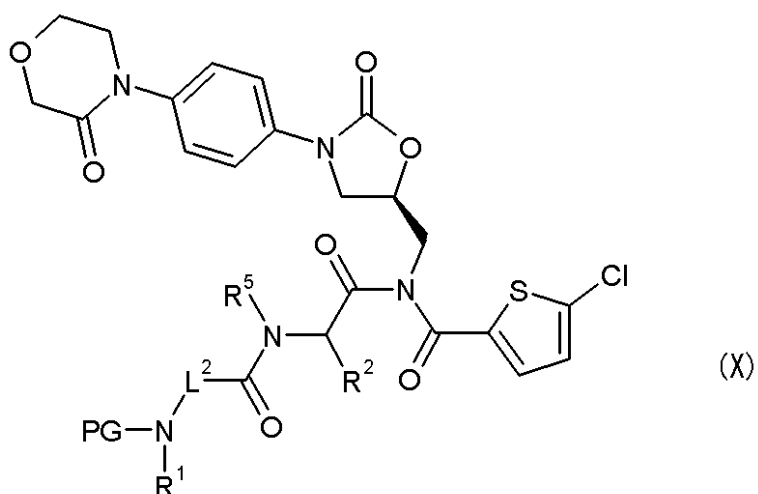
【化 1 7】



の化合物と反応させ、式 (X)

【化 1 8】

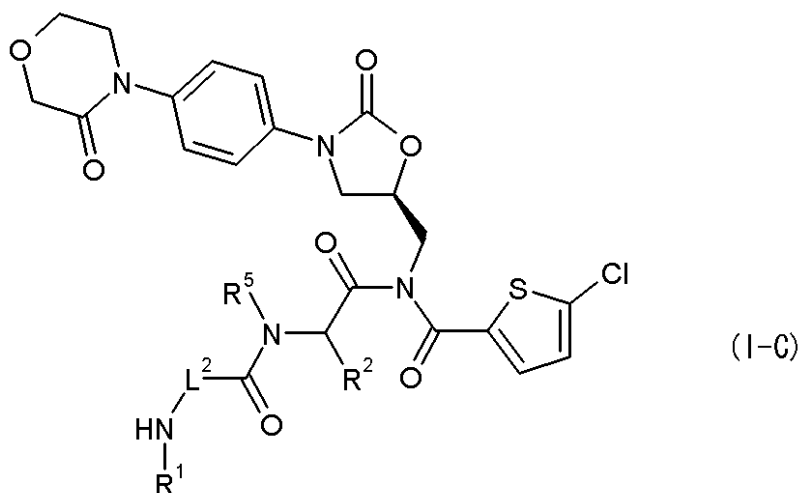
30



40

(式中、PG、 L^2 、 R^1 、 R^2 および R^5 の各々は、上記の意味を有する)
 の化合物を得、続いて、保護基 PG を常套の方法により除去し、式 (I-C)

【化 1 9】



10

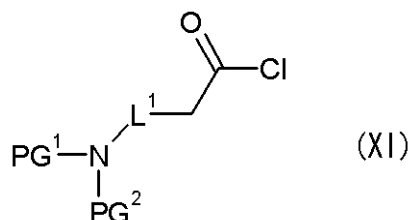
(式中、 L^2 、 R^1 、 R^2 および R^5 の各々は上記の意味を有する)
 の化合物を得るか、
 または、

【0026】

[D] 化合物 (A) を、不活性溶媒中、塩基の存在下、式 (X I)

20

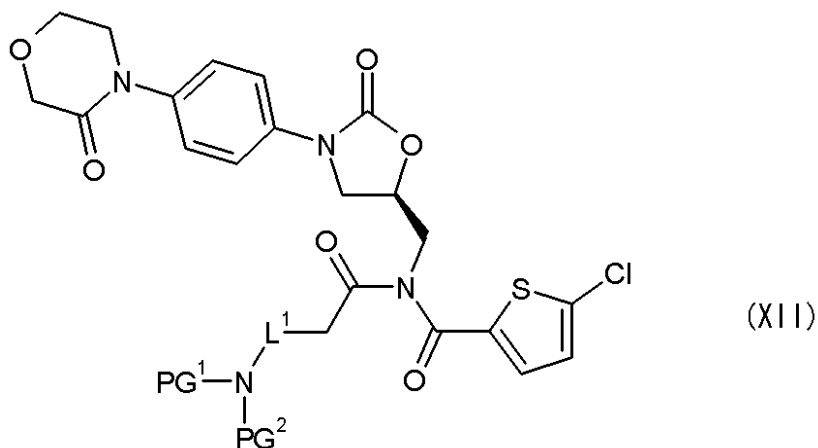
【化 2 0】



(式中、 L^1 は、1 個の CH_2 基が O 原子により置き換えられていてもよい ($C_1 - C_4$)
) -アルカンジイル基であり、
 そして、 PG^1 および PG^2 は、相互に独立して、例えば、tert-ブトキシカルボニル (Boc)、ベンジルオキシカルボニル (Z) または p-メトキシベンジル (PMB)
 などのアミノ保護基であり、同一であっても異なってもよい)
 の化合物と反応させ、式 (X I I)

30

【化 2 1】



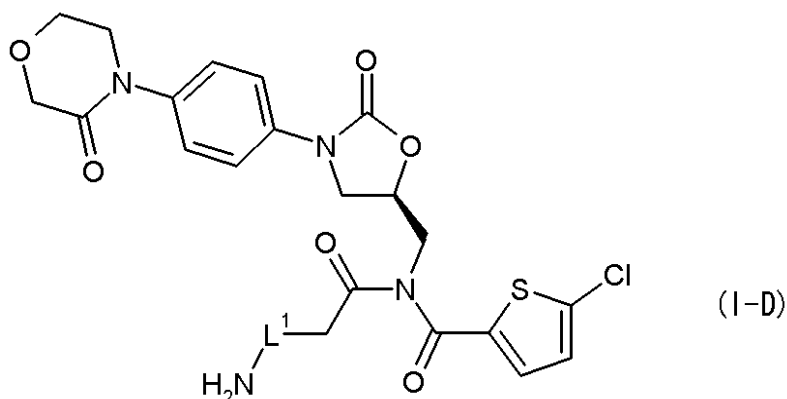
40

(式中、 L^1 、 PG^1 および PG^2 の各々は、上記の意味を有する)
 の化合物を得、続いて、保護基 PG^1 および PG^2 を、常套の方法により同時または連続

50

的に除去し、式 (I-D)

【化 2 2】



10

(式中、 L^1 は上記の意味を有する)

の化合物を得、

そして、各場合で得られる式 (I-A)、(I-B)、(I-C) および (I-D) の化合物を、必要に応じて、適切な (i) 溶媒および／または (ii) 酸により、それらの溶媒和物、塩および／または塩の溶媒和物に変換することを特徴とする。

【0027】

式 (I-A)、(I-B)、(I-C) および (I-D) の化合物は、上記の方法による製造において、それらの塩の形態で直接得てもよい。これらの塩は、必要に応じて、不活性溶媒中、塩基で処理することにより、クロマトグラフィー法により、または、イオン交換樹脂により、各々の遊離塩基に変換できる。

20

【0028】

ラジカル R^1 、 R^{1A} および／または R^3 中に必要に応じて存在する官能基は、好都合または必要であれば、上記の連続反応において、一時的な保護形態にあってもよい。そのような保護基並びに保護基 PG、 PG^1 および PG^2 の導入および除去は、これに関して、ペプチド化学から知られている常套の方法により行う [例えば、T.W. Greene and P.G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, New York, 1999; M. Bodanszky and A. Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlin, 1984 参照]。

30

【0029】

必要に応じて R^1 、 R^{1A} および／または R^3 中に存在するそのような保護基は、これに関して、PGの除去と同時に、または、PGの除去前または後の別の反応段階で、除去し得る。

【0030】

上記方法において好ましく使用されるアミノ保護基 PG、 PG^1 または PG^2 は、tert-ブトキシカルボニル (Boc)、ベンジルオキシカルボニル (Z) または p-メトキシベンジル (PMB) である。これらの保護基の除去は、常套の方法により、好ましくは、塩化水素、臭化水素またはトリフルオロ酢酸などの強酸と、ジオキサン、ジクロロメタンまたは酢酸などの不活性溶媒中で反応させることにより、実施する；必要に応じて、さらなる不活性溶媒を用いずに除去を実施することも可能である。

40

【0031】

変換 (B) → (VIII) は、化合物 (B) を適切に保護されたジペプチド誘導体でアシル化することにより、または、必要に応じて適切に保護された個々のアミノ酸成分の連続的カップリングにより、ペプチド化学の標準的方法により行う [例えば、M. Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag, Berlin, 1993; H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, Aminosaeuren, Peptide, Proteine, Verlag Chemie, Weinheim, 1982 参照]。

【0032】

50

工程 (A) + (I I) $\rightarrow$ (I I I)、(A) + (V I) $\rightarrow$ (V I I)、(V I I I) + (I X) $\rightarrow$ (X) および (A) + (X I) $\rightarrow$ (X I I) で好ましく使用される不活性溶媒は、テトラヒドロフラン、N,N-ジメチルホルムアミドまたはジメチルスルホキシドである；N,N-ジメチルホルムアミドが特に好ましい。これらの反応において特に適する塩基は、水素化ナトリウムである。上述の反応は、一般的に、0℃ないし+40℃の温度範囲で、大気圧下で実施する。

【0033】

工程 (I I I) + (I V) $\rightarrow$ (V) は、好ましくは、溶媒としてのN,N-ジメチルホルムアミド中で行う。この反応は、一般的に、0℃ないし+50℃の温度範囲で、好ましくは+20℃ないし+50℃で、大気圧下で行う。この反応は、また、超音波処理により有利に実施できる。

10

【0034】

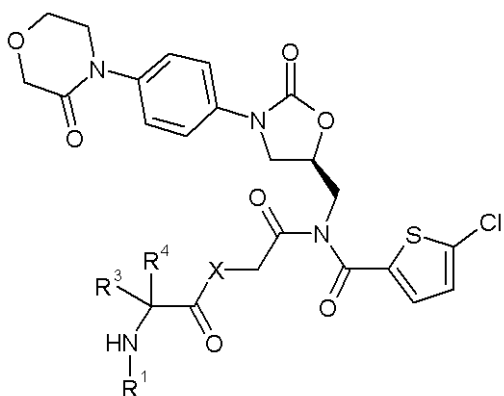
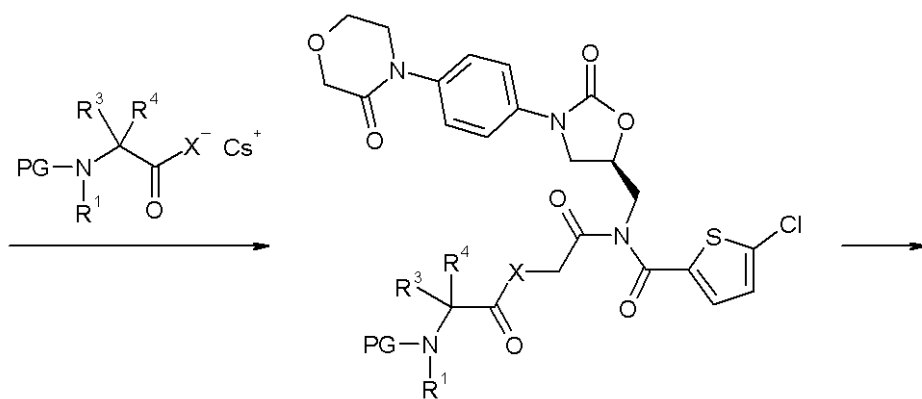
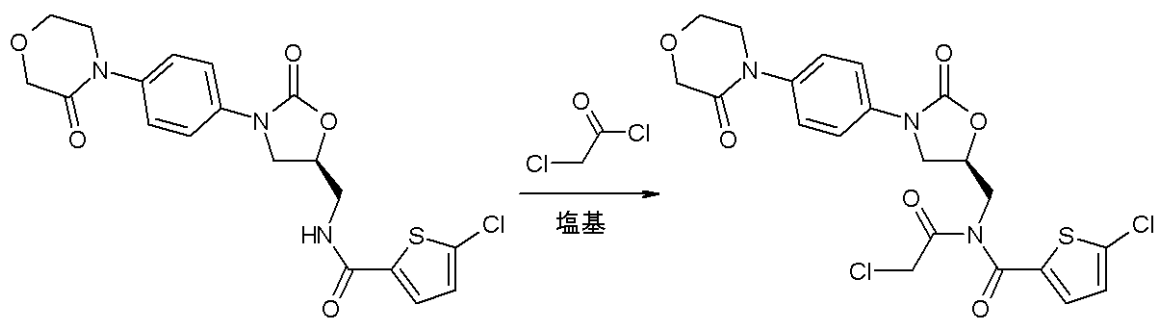
式 (I I)、(I V)、(V I)、(I X) および (X I) の化合物は、購入できるか、文献から知られているか、または、文献中の常套の方法により製造できる。化合物 (A) および (B) の製造は、S. Roehrig et al., J. Med. Chem. 48, 5900 (2005) に記載されている。

【0035】

本発明による化合物の製造は、以下の合成スキームにより例示説明できる：

スキーム 1

【化 2 3】

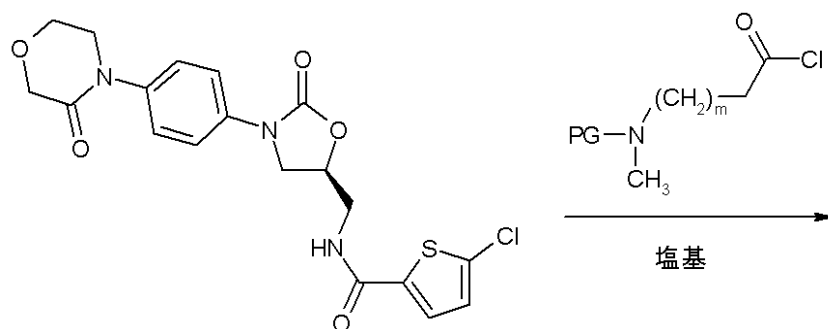


[X=OまたはS；PG=アミノ保護基、例えばtert-ブトキシカルボニル（Boc）またはベンジルオキシカルボニル（Z）]

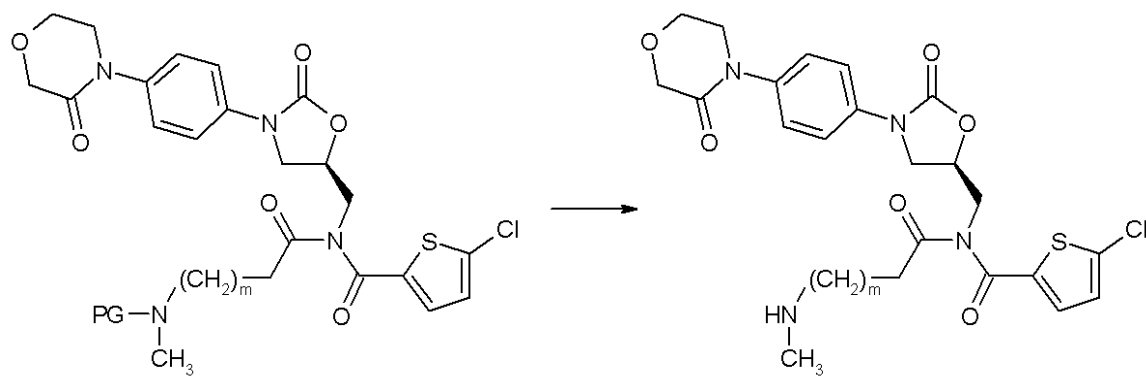
【0036】

スキーム 2

【化 2 4】



10



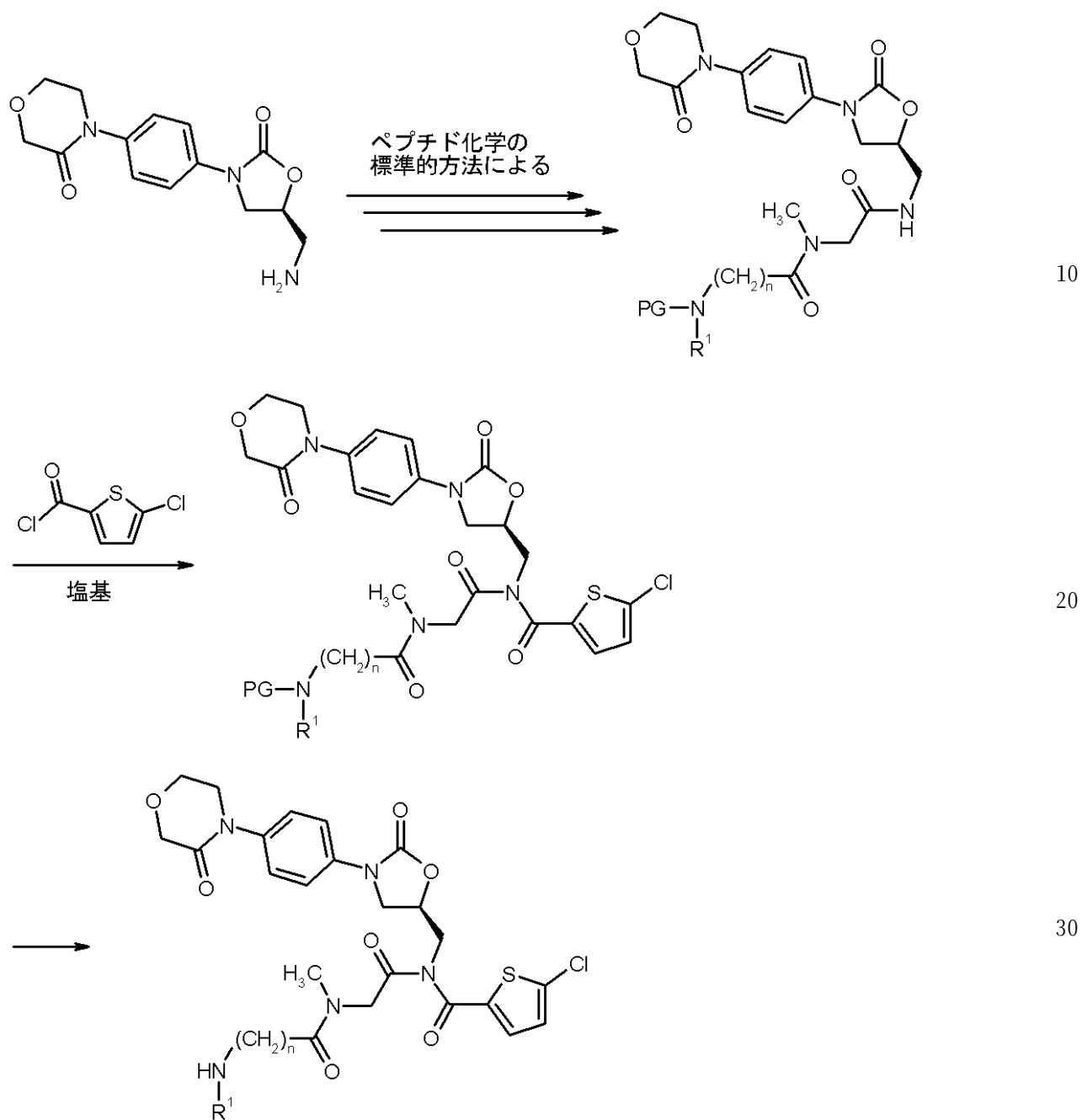
20

[$m = 1 - 4$; PG = アミノ保護基、例えば、tert-ブトキシカルボニル (Boc) またはベンジルオキシカルボニル (Z)]

【0037】

スキーム 3

【化 2 5】

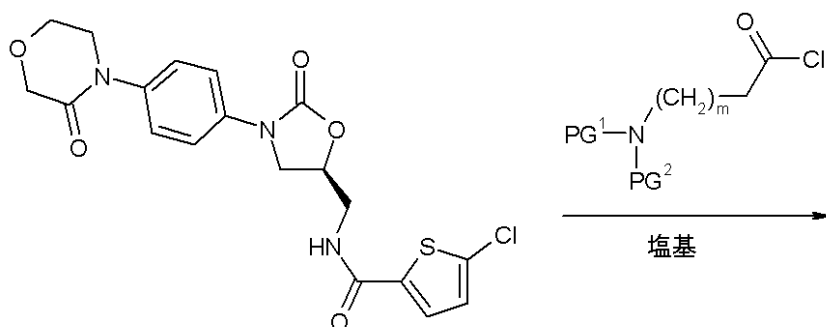


[$n = 1$ または 2 ; PG = アミノ保護基、例えば、tert-ブトキシカルボニル (Boc) またはベンジルオキシカルボニル (Z)]

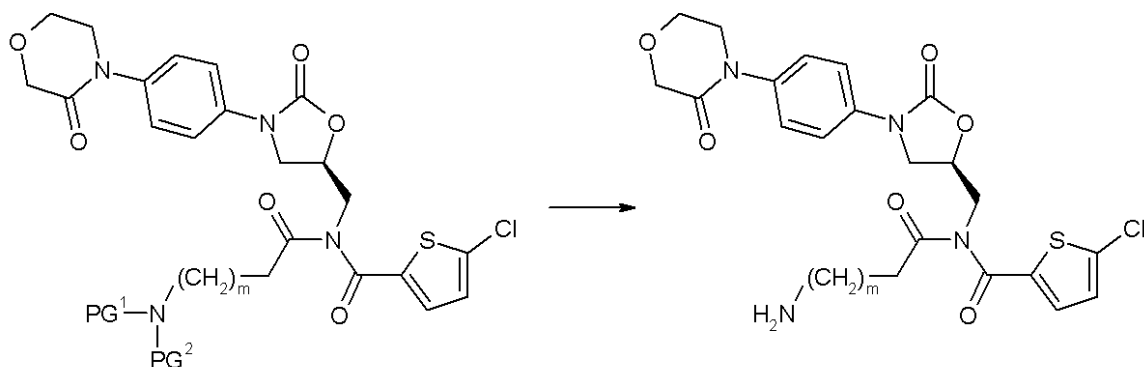
【0038】

スキーム 4

【化 2 6】



10



20

[$m = 1 - 4$; PG^1 、 PG^2 = アミノ保護基、例えば、*tert*-ブトキシカルボニル (Boc)、ベンジルオキシカルボニル (Z) または *p*-メトキシベンジル (PMB)]

【0039】

本発明による化合物およびそれらの塩は、有効成分化合物 (A) の有用なプロドラッグである。一方では、それらは、pH 4 で良好な安定性を示し、他方では、それらは生理的 pH およびインビボで、有効成分化合物 (A) への効率的な変換を示す。本発明による化合物は、さらに、水および他の生理的に耐容される媒体中での良好な溶解性を有し、それらを特に静脈内投与での治療的使用に適するものになっている。

【0040】

30

本発明はさらに、障害、好ましくは血栓塞栓性障害および／または血栓塞栓性合併症の処置および／または予防のための、本発明による化合物の使用に関する。

【0041】

本発明に関して、「血栓塞栓性障害」には、特に、ST 上昇型心筋梗塞 (STEMI) または非 ST 上昇型心筋梗塞 (非 STEMI)、安定狭心症、不安定狭心症、血管形成術または大動脈冠動脈バイパス術などの冠動脈介入後の再閉塞および再狭窄、末梢動脈閉塞疾患、肺栓塞症、深部静脈血栓および腎静脈血栓、一過性虚血発作および血栓性および血栓塞栓性卒中などの障害が含まれる。

【0042】

従って、これらの物質は、例えば心房細動などの急性、間欠性または持続性心不整脈を有する患者、および電氣的除細動を受けている者、また、心臓弁疾患を有するか、または人工心臓弁を有する患者における、心原性血栓塞栓症、例えば、脳虚血、卒中および全身性血栓塞栓症および虚血の予防および処置にも適する。加えて、本発明による化合物は、汎発性血管内凝固症候群 (DIC) の処置に適する。

40

【0043】

血栓塞栓性合併症は、また、微小血管障害性溶血性貧血、血液透析などの体外循環、および、心臓代用弁と関連して起こる。

【0044】

さらに、本発明による化合物は、アテローム硬化性血管障害および炎症障害、例えば筋骨格系のリウマチ性障害の予防および／または処置にも、さらに同様に、アルツハイマー

50

病の予防および／または処置にも適する。さらに、本発明による化合物は、腫瘍成長および転移形成の障害、微小血管障害、加齢に伴う黄斑変性症、糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症および他の微小血管の障害、また、例えば、腫瘍患者における、特に大きい外科的介入または化学療法もしくは放射線治療を受けている者における、静脈血栓塞栓症などの血栓塞栓性合併症の予防および処置にも用いることができる。

【0045】

本発明は、さらに、障害、特に上述の障害の処置および／または予防のための、本発明による化合物の使用に関する。

【0046】

本発明は、さらに、障害、特に上述の障害の処置および／または予防用の医薬を製造するための、本発明による化合物の使用に関する。

10

【0047】

本発明は、さらに、本発明による化合物を使用する、障害、特に上述の障害の処置および／または予防方法に関する。

【0048】

本発明は、さらに、特に上述の障害の処置および／または予防のための、本発明による化合物および1種またはそれ以上のさらなる有効成分を含む医薬に関する。

【0049】

好ましく言及し得る適当な組合せの有効成分の例は、以下のものである：

- ・脂質低下剤、特にHMG-CoA（3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-補酵素A）リダクターゼ阻害剤；
- ・冠血管治療剤／血管拡張剤、特にACE（アンジオテンシン変換酵素）阻害剤；AII（アンジオテンシンII）受容体アンタゴニスト； β -アドレナリン受容体アンタゴニスト；アルファー1-アドレナリン受容体アンタゴニスト；利尿剤；カルシウムチャネル遮断剤；環状グアノシンリン酸（cGMP）の上昇をもたらす物質、例えば、可溶性グアニル酸シクラーゼの刺激剤；
- ・プラスミノゲン活性化剤（血栓溶解剤／線維素溶解剤）および血栓溶解／線維素溶解を高める化合物、例えば、プラスミノゲン活性化因子阻害因子の阻害剤（PAI阻害剤）またはトロンビン活性型線維素溶解阻害因子の阻害剤（TAFI阻害剤）；
- ・凝血活性を有する物質（抗凝血剤）；
- ・血小板凝集阻害性物質（血小板凝集阻害剤）；
- ・フィブリノーゲン受容体アンタゴニスト（糖タンパク質IIb／IIIaアンタゴニスト）；
- ・並びに抗不整脈薬。

20

30

【0050】

本発明は、さらに、少なくとも1種の本発明による化合物を、通常1種またはそれ以上の不活性、非毒性の医薬的に適する補助剤と共に含む医薬、および上述の目的でのそれらの使用に関する。

【0051】

本発明による化合物は、全身のおよび／または局所的に作用できる。この目的で、それらは、適する方法で、例えば、経口、非経腸、肺または鼻の経路で、投与できる。本発明による化合物は、これらの投与経路に適する投与形で投与できる。

40

【0052】

経口投与に適するのは、先行技術に準じて機能し、本発明による化合物を迅速におよび／または改変された様式で送達し、本発明による化合物を結晶および／または無定形および／または溶解形態で含有する投与形であり、例えば、錠剤（非被覆または被覆錠剤、例えば、腸溶性被覆、または、不溶であるか、または、遅れて溶解し、本発明による化合物の放出を制御する被覆を有する錠剤）、口中で迅速に崩壊する錠剤、またはフィルム／オブラート、フィルム／凍結乾燥剤、カプセル剤（例えば、ハードまたはソフトゼラチンカプセル剤）、糖衣錠、顆粒剤、ペレット剤、散剤、乳剤、懸濁剤、エアゾール剤または液

50

剤などである。

【0053】

非経腸投与は、吸収段階を回避して（例えば、静脈内、動脈内、心臓内、脊髄内または腰椎内に）、または吸収を含めて（例えば、筋肉内、皮下、皮内、経皮または腹腔内）、行うことができる。非経腸投与に適する投与形は、なかんずく、液剤、懸濁剤、乳剤、凍結乾燥剤または滅菌粉末剤の形態の注射および点滴用製剤である。

【0054】

他の投与経路に適するのは、例えば、粉末吸入器または噴霧器などの吸入用医薬形、または、点鼻薬、液またはスプレーなどの、鼻腔投与できる医薬形である。

非経腸投与、特に静脈内投与が好ましい。

10

【0055】

本発明による化合物は、上述の投与形に変換できる。これは、不活性、非毒性、医薬的に適する補助剤と混合することにより、それ自体既知の方法で行うことができる。これらの補助剤には、なかんずく、担体（例えば微結晶セルロース、ラクトース、マンニトール）、溶媒（例えば液体ポリエチレングリコール類）、乳化剤および分散剤または湿潤剤（例えばドデシル硫酸ナトリウム、ポリオキシソルビタンオレエート）、結合剤（例えばポリビニルピロリドン）、合成および天然ポリマー（例えばアルブミン）、安定化剤（例えば抗酸化剤、例えばアスコルビン酸など）、着色料（例えば無機色素、例えば酸化鉄など）および香味および／または臭気の隠蔽剤が含まれる。

【0056】

20

一般に、非経腸投与で約0.001ないし1mg／体重kg、好ましくは約0.01ないし0.5mg／体重kgの量を投与するのが、有効な結果を達成するために有利であると明らかになった。経口投与の投与量は、約0.01ないし100mg／体重kg、好ましくは約0.01ないし20mg／体重kg、ことさら特に好ましくは約0.1ないし10mg／体重kgである。

【0057】

それにも拘わらず、必要に応じて、特に、体重、投与経路、有効成分に対する個体の応答、製剤の性質および投与を行う時間または間隔に応じて、上述の量から逸脱することが必要であり得る。従って、上述の最小量より少なくても十分な場合があり、一方上述の上限を超えなければならない場合もある。大量に投与する場合、これらを1日に亘る数回の個別投与に分割するのが望ましいことがある。

30

【0058】

以下の例示的实施態様は、本発明を例示説明する。本発明は、これらの実施例に限定されない。

以下の試験および実施例における百分率のデータは、断りの無い限り、重量パーセントである；部は、重量部である。液体／液体溶液の溶媒比、希釈比および濃度のデータは、各場合で体積に基づく。

【実施例】

【0059】

A. 実施例

40

略号および頭字語：

【表 1】

abs.	無水	
Boc	tert-ブトキシカルボニル	
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド	
DMSO	ジメチルスルホキシド	
h	時間	
HPLC	高圧高速液体クロマトグラフィー	
LC-MS	液体クロマトグラフィー-質量分析の組合せ	
min	分	
MS	質量分析	10
NMR	核磁気共鳴分光法	
p	パラ	
Pd/C	パラジウム／活性炭	
PMB	p-メトキシベンジル	
quant.	定量的（収量について）	
R _f	保持指数（TLCについて）	
RT	室温	
R _t	保持時間（HPLCについて）	
TLC	薄層クロマトグラフィー	
UV	紫外分光法	20
v/v	（溶液の）体積対体積比	
Z	ベンジルオキシカルボニル	

【0060】

LC-MSおよびHPLCの方法：

方法1（分取用HPLC）：

カラム：VP 250/21 Nukleodur 100-5 C18 ec, Macherey & Nagel No. 762002；溶離剤A：水／0.01%トリフルオロ酢酸、溶離剤B：アセトニトリル／0.01%トリフルオロ酢酸；グラジエント：0分0%B→20分20%B→40分20%B→60分30%B→80分30%B→90分100%B→132分100%B；流速：5ml／分；温度：室温；UV検出：210nm。 30

【0061】

方法2（分析用HPLC）：

カラム：XTerra 3.9 x 150 WAT 186000478；溶離剤A：水2.5l中の70%過塩素酸10ml、溶離剤B：アセトニトリル；グラジエント：0.0分20%B→1分20%B→4分90%B→9分90%B；温度：室温；流速：1ml／分。

【0062】

方法3（LC-MS）：

装置：HPLC Agilent Series 1100 を備えた Micromass LCT；カラム：Waters Symmetry C18, 3.5 μm, 50 mm x 2.1 mm；溶離剤A：水1l＋98-100%ギ酸1ml、溶離剤B：アセトニトリル1l＋98-100%ギ酸1ml；グラジエント：0分100%A→1分100%A→6分10%A→8分0%A→10分0%A→10.1分100%A→12分100%A；流速：0-10分0.5ml／分→10.1分1ml／分→12分0.5ml／分；温度：40℃；UV検出DAD：208-500nm。 40

【0063】

方法4（LC-MS）：

装置：HPLC HP 1100 Series を備えた Micromass ZQ；UV DAD；カラム：Phenomenex Synergi 2μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm；溶離剤A：水1l＋50%ギ酸0.5ml、溶離剤B：アセトニトリル1l＋50%ギ酸0.5ml；グラジエント：0.0分90%A→2.5分30%A→3.0分5%A→4.5分5%A；流速：0.0分1ml／分→2.5分 50

／3.0分／4.5分2ml／分；温度：50℃；UV検出：210nm。

【0064】

方法5（LC-MS）：

装置：HPLC Agilent Series 1100 を備えた Micromass Quattro LCZ；カラム：Phenomenex Synergi 2μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm；溶離剤A：水1l + 50%ギ酸0.5ml、溶離剤B：アセトニトリル1l + 50%ギ酸0.5ml；グラジエント：0.0分90%A→2.5分30%A→3.0分5%A→4.5分5%A；流速：0.0分1ml／分→2.5分／3.0分／4.5分2ml／分；温度：50℃；UV検出：208－400nm。

【0065】

方法6（LC-MS）：

MS装置タイプ：Micromass ZQ；HPLC装置タイプ：Waters Alliance 2795；カラム：Phenomenex Synergi 2μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm；溶離剤A：水1l + 50%ギ酸0.5ml、溶離剤B：アセトニトリル1l + 50%ギ酸0.5ml；グラジエント：0.0分90%A→2.5分30%A→3.0分5%A→4.5分5%A；流速：0.0分1ml／分→2.5分／3.0分／4.5分2ml／分；温度：50℃；UV検出：210nm。

【0066】

方法7（キラルHPLC、分析用）：

ポリ（N-メタクリロイル-L-ロイシンジシクロプロピルメチルアミド）をベースとするキラルシリカゲル相（250mm x 4.6mm）；溶離剤：イソヘキサン／酢酸エチル35：65（v/v）；温度：24℃；流速：2ml／分；UV検出：270nm。

【0067】

方法8（キラルHPLC、分析用）：

ポリ（N-メタクリロイル-L-ロイシンtert-ブチルアミド）をベースとするキラルシリカゲル相（250mm x 4.6mm）；溶離剤：イソヘキサン／酢酸エチル35：65（v/v）；温度：24℃；流速：2ml／分；UV検出：270nm。

【0068】

方法9（キラルHPLC、分析用）：

ポリ（N-メタクリロイル-L-ロイシンtert-ブチルアミド）をベースとするキラルシリカゲル相（250mm x 4.6mm）；溶離剤：イソヘキサン／酢酸エチル65：35（v/v）；温度：24℃；流速：2ml／分；UV検出：270nm。

【0069】

方法10（キラルHPLC、分取用）：

ポリ（N-メタクリロイル-L-ロイシンジシクロプロピルメチルアミド）をベースとするキラルシリカゲル相（670mm x 40mm）；溶離剤：イソヘキサン／酢酸エチル25：75（v/v）；温度：24℃；流速：80ml／分；UV検出：270nm。

【0070】

方法11（キラルHPLC、分取用）：

ポリ（N-メタクリロイル-L-ロイシンtert-ブチルアミド）をベースとするキラルシリカゲル相（670mm x 40mm）；溶離剤：イソヘキサン／酢酸エチル65：35（v/v）；温度：24℃；流速：50ml／分；UV検出：260nm。

【0071】

方法12（LC-MS）：

装置：HPLC Agilent Series 1100 を備えた Micromass Quattro LCZ；カラム：Phenomenex Onyx Monolithic C18, 100 mm x 3 mm；溶離剤A：水1l + 50%ギ酸0.5ml、溶離剤B：アセトニトリル1l + 50%ギ酸0.5ml；グラジエント：0.0分90%A→2分65%A→4.5分5%A→6分5%A；流速：2ml／分；オーブン：40℃；UV検出：208－400nm。

【0072】

方法13（LC-MS）：

10

20

30

40

50

装置：HPLC Agilent Series 1100 を備えた Micromass Platform LCZ；カラム：Thermo Hypersil GOLD 3 μ , 20 mm x 4 mm；溶離剤 A：水 1 l + 50 % ギ酸 0.5 ml、溶離剤 B：アセトニトリル 1 l + 50 % ギ酸 0.5 ml；グラジエント：0.0 分 100 % A $\rightarrow$ 0.2 分 100 % A $\rightarrow$ 2.9 分 30 % A $\rightarrow$ 3.1 分 10 % A $\rightarrow$ 5.5 分 10 % A；オープン：50 $^{\circ}$ C；流速：0.8 ml / 分；UV 検出：210 nm。

【0073】

NMR 分光法：

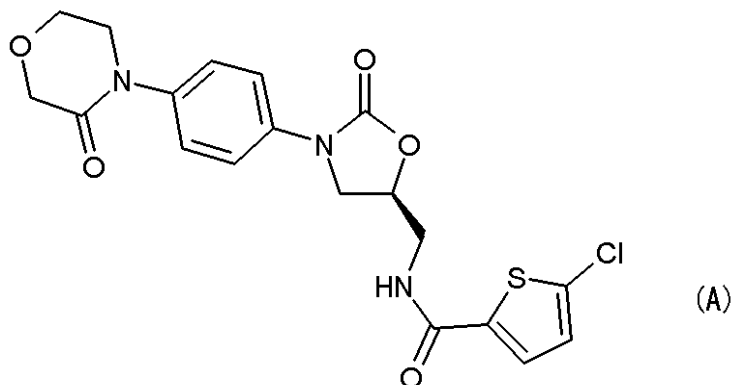
プロトン周波数 400.13 MHz で NMR 測定を実施した。サンプルを、通常、DMSO-d₆ に溶解した；温度：302 K。

【0074】

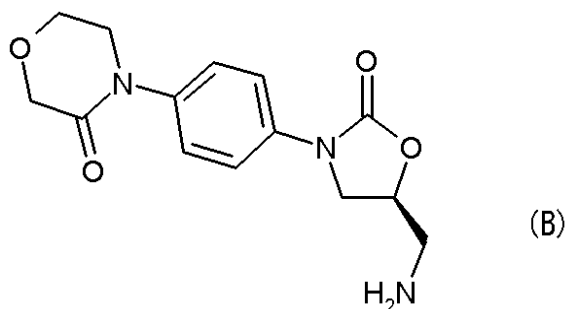
出発化合物および中間体：

使用した出発物質は、5-クロロ-N-（{（5S）-2-オキソ-3-〔4-（3-オキソモルホリン-4-イル）フェニル〕-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル）チオフェン-2-カルボキサミド〔化合物（A）〕および4-〔4-〔（5S）-5-（アミノメチル）-2-オキソ-1,3-オキサゾリジン-3-イル〕フェニル〕モルホリン-3-オン〔化合物（B）〕であった。その製造は、他の文献に記載されている [S. Roehrig et al., J. Med. Chem. 48, 5900 (2005)]。

【化27】



【化28】



【0075】

化合物（B）中のアミノ基のアシル化のための一般方法1：

用いたカルボキシル成分（殆どの場合、適切に保護されたアミノ酸またはペプチド誘導体）は、購入できるか、または、標準的方法により製造される。4-〔4-〔（5S）-5-（アミノメチル）-2-オキソ-1,3-オキサゾリジン-3-イル〕フェニル〕モルホリン-3-オン〔化合物（B）〕を、好ましくは、適切に保護されたペプチド誘導体で直接アシル化する。代替的な連続的方法では、最初にアミノ酸誘導体に結合させ、続いて必要に応じて脱保護し、次いでさらなる適切に保護されたアミノ酸またはペプチド誘導体と標準的方法で反応させる。

【0076】

適切なカルボキシル成分 2.3 mmol を、DMF 30 ml に溶解し、1-ヒドロキシ

10

20

30

40

50

ー1H-ベンゾトリアゾール2.3mmol、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC)2mmol、N,N-ジイソプロピルエチルアミン4.5mmolおよび次いでアミン成分4-{4-[(5S)-5-(アミノメチル)-2-オキソ-1,3-オキサゾリジン-3-イル]フェニル}モルホリン-3-オン[化合物(B)]1.5mmolを添加する。反応混合物を、室温で3時間攪拌し、次いで濃縮し、残渣をジクロロメタンに取り、5%強度クエン酸で2回、5%強度重炭酸ナトリウム溶液で2回、そして水で2回抽出する。有機相を濃縮し、アセトニトリル/水30:1を溶離剤として用いて、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。適切な画分を合わせ、溶媒を除去する。残っている残渣をジクロロメタン/メタノールに溶解し、生成物をジエチルエーテルで沈殿させ、高真空下で乾燥する。

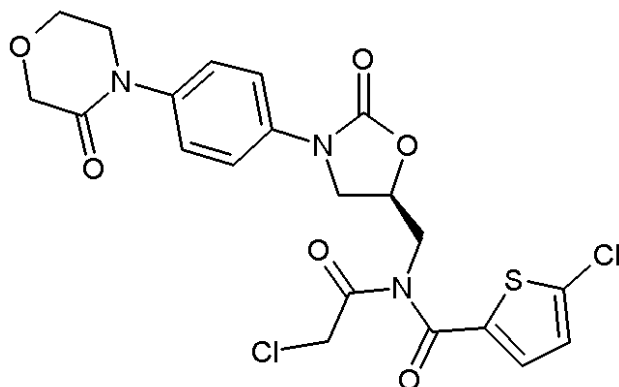
10

【0077】

中間体1A

5-クロロ-N-(クロロアセチル)-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフェン-2-カルボキサミド

【化29】



20

5-クロロ-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフェン-2-カルボキサミド[化合物(A)]1g(2.3mmol)を、無水DMF170mlにアルゴン下で溶解する。水素化ナトリウム110mg(4.6mmol)を添加し、混合物を室温で20分間攪拌する。次いで、クロロアセチルクロリド3.5g(31mmol)を添加し、反応温度を室温に維持する。30分後、水25mlを冷却しながら添加し、混合物を室温で2日間静置する。次いで、溶媒を真空で除去し、その間温度は+25℃より高く上昇するべきではない。残渣をジクロロメタン500mlに取り、水200mlで5回抽出する。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、約50mlの体積に濃縮する。攪拌しながら、ジエチルエーテル200mlを添加し、次いで沈殿(殆ど未反応の出発物質)を濾去する。母液を濃縮し、トルエン/エタノール10:1を溶離剤として用いるシリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。適切な画分を合わせ、溶媒を除去する。残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

30

収量:111mg(理論値の9.5%)

HPLC(方法2):室温=5.09分;

LC-MS(方法4):室温=2.31分;m/z=512(M+H)⁺

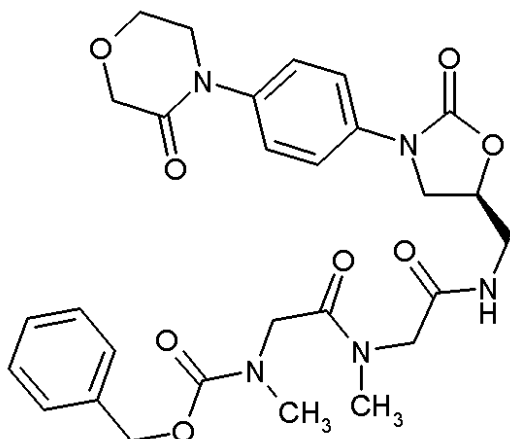
【0078】

中間体2A

N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-N-メチルグリシル-N²-メチル-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)グリシンアミド

40

【化 3 0】



10

第 1 段階で、Z-サルコシン 511 mg (1.5 mmol) を、カルボキシル成分として一般方法 1 により化合物 (B) と反応させる (収量: 697 mg、理論値の 92%)。

次いで、標準的方法による Pd/C での水素化分解により、この中間体 200 mg (0.4 mmol) から、ベンジルオキシカルボニル保護基を除去する (収量: 130 mg、理論値の 89%)。

次いで、かくして得られる化合物を、第 3 段階で、再度 Z-サルコシン 120 mg (0.54 mmol) と一般方法 1 により結合させる (収量: 201 mg、理論値の 98%)

20

HPLC (方法 2): $R_t = 4.21$ 分;

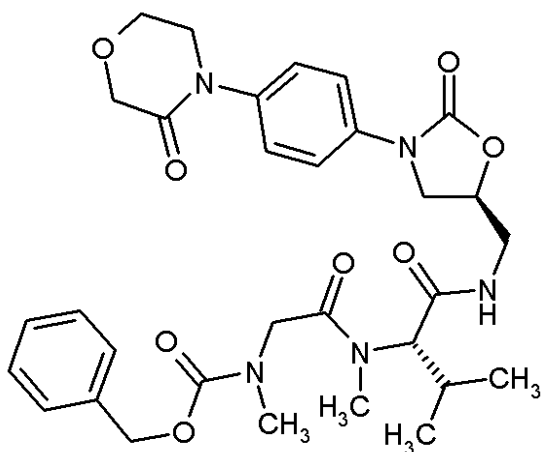
LC-MS (方法 6): $R_t = 1.54$ 分; $m/z = 568$ (M+H)⁺

【0079】

中間体 3A

N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-N-メチルグリシル-N²-メチル-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)-L-バリンアミド

【化 3 1】



30

40

第 1 段階で、Boc-N-メチルバリン 529 mg (2.3 mmol) を、カルボキシル成分として、一般方法 1 により化合物 (B) と反応させる (収量: 750 mg、理論値の 97%)。

次いで、この中間体 750 mg (1.5 mmol) から、ジクロロメタン中のトリフルオロ酢酸を用いて、標準的方法により tert-ブトキシカルボニル保護基を除去する (収量: 740 mg、理論値の 96%)。

次いで、かくして得られる化合物 200 mg (0.39 mmol) を、第 3 段階で、Z-サルコシン 129 mg (0.58 mmol) に、一般方法 1 により結合させる (収量:

50

206 mg、理論値の88%)。

HPLC (方法2) : $R_t = 4.68$ 分 ;

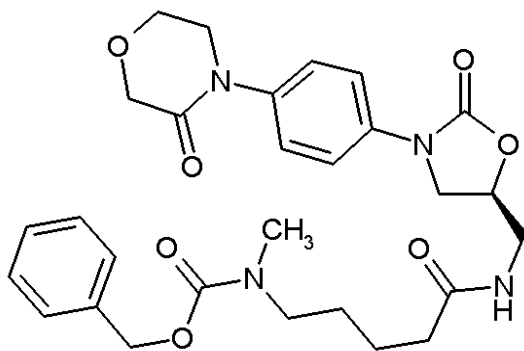
LC-MS (方法5) : $R_t = 1.96$ 分 ; $m/z = 610$ (M+H)⁺

【0080】

中間体4A

ベンジルメチル {5-オキソ-5- [({ (5S)-2-オキソ-3- [4- (3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル] -1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ] ペンチル} カルバメート

【化32】



10

5- [[(ベンジルオキシ) カルボニル] (メチル) アミノ] 吉草酸 32 mg (0.119 mmol) を、カルボキシル成分として、一般方法1により化合物(B)と反応させる。

20

収量 : 45 mg (理論値の91%)

HPLC (方法2) : $R_t = 4.51$ 分 ;

LC-MS (方法4) : $R_t = 2.02$ 分 ; $m/z = 539$ (M+H)⁺

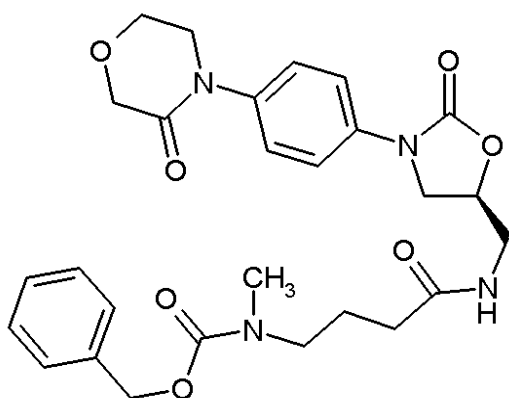
【0081】

中間体5A

ベンジルメチル {5-オキソ-5- [({ (5S)-2-オキソ-3- [4- (3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル] -1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ] ブチル} カルバメート

30

【化33】



40

5- [[(ベンジルオキシ) カルボニル] (メチル) アミノ] ブタン酸 313 mg (0.96 mmol) を、カルボキシル成分として、一般方法1により化合物(B)と反応させる。

収量 : 298 mg (理論値の71%)

HPLC (方法2) : $R_t = 4.42$ 分 ;

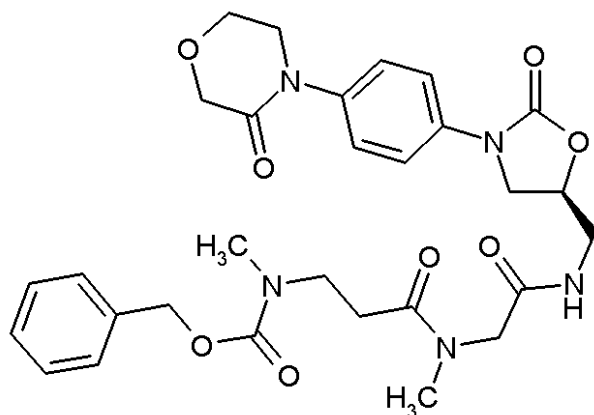
LC-MS (方法4) : $R_t = 1.89$ 分 ; $m/z = 525$ (M+H)⁺

【0082】

中間体6A

50

N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-N-メチル-β-アラニル-N²-メチル-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)グリシンアミド
【化34】



10

第1段階で、Z-サルコシン511mg(1.5mmol)を、カルボキシル成分として、一般方法1により化合物(B)と反応させる(収量:697mg、理論値の92%)。

次いで、ベンジルオキシカルボニル保護基を、この中間体200mg(0.4mmol)から、標準的方法によるPd/Cでの水素化分解により除去する(収量:130mg、理論値の89%)。

20

次いで、かくして得られる化合物100mgを、第3段階で、Z-N-メチル-β-アラニン98.2mg(0.41mmol)と、一般方法1により結合させる(収量:87mg、理論値の54%)。

HPLC(方法2): $R_t = 4.28$ 分;

LC-MS(方法6): $R_t = 1.60$ 分; $m/z = 582$ (M+H)⁺

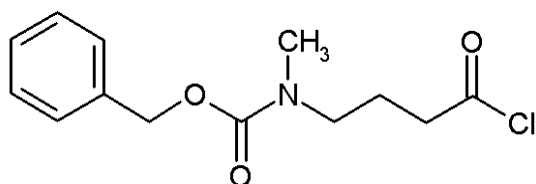
【0083】

中間体7A

ベンジル(4-クロロ-4-オキソブチル)メチルカルバメート

30

【化35】



最初に、4-[[[(ベンジルオキシ)カルボニル](メチル)アミノ]ブタン酸を、文献の方法[Y. Aramaki et al., Chem. Pharm. Bull. 52, 258 (2004)]により、購入できる4-{[(ベンジルオキシ)カルボニル]アミノ}ブタン酸から製造する。代替的製造は、また、ベンジルオキシカルボニル保護基を、P. Quitt et al. [Helv. Chim. Acta 46, 327 (1963)]に従って得ることができるω-N-メチルアミノアルキルカルボン酸に導入することである。

40

4-[[[(ベンジルオキシ)カルボニル](メチル)アミノ]ブタン酸1.74g(6.92mmol)を、ジクロロメタン35mlに溶解し、塩化チオニル3.5ml(48mmol)を添加する。混合物を還流下で1時間加熱する。次いで、それを真空中で濃縮し、残渣を再度ジクロロメタンと混合し、もう一度濃縮する。粘稠性の油状物が残り、それを高真空下で乾燥させる。標的化合物1.8g(理論値の96%)を得、これ以上精製および特徴解析せずに、さらに反応させる。

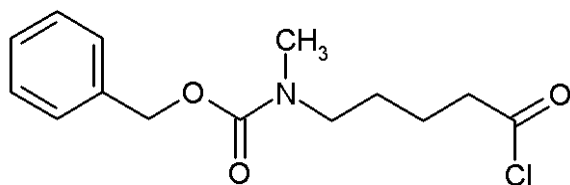
【0084】

50

中間体 8 A

ベンジル（５－クロロ－５－オキソペンチル）メチルカルバメート

【化 3 6】



最初に、５－[[（ベンジルオキシ）カルボニル]（メチル）アミノ]吉草酸を、既知方法により、中間体 7 A と同様に製造する。

10

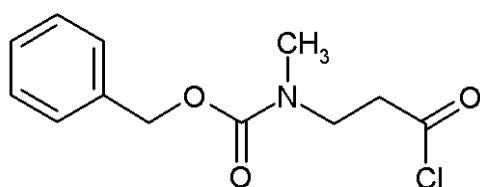
５－[[（ベンジルオキシ）カルボニル]（メチル）アミノ]吉草酸 1.97 g (7.43 mmol) をジクロロメタン 30 ml に溶解し、そして、塩化チオニル 4.9 ml (67.3 mmol) を添加する。混合物を還流下で 1 時間加熱する。次いで、それを真空中で濃縮し、残渣を再度ジクロロメタンと混合し、もう一度濃縮する。粘稠性の油状物が残り、それを高真空中で乾燥させる。標的化合物 2 g (理論値の 95%) を得、これ以上精製および特徴解析せずにさらに反応させる。

【0085】

中間体 9 A

ベンジル（３－クロロ－３－オキソプロピル）メチルカルバメート

【化 3 7】



最初に、３－[[（ベンジルオキシ）カルボニル]（メチル）アミノ]プロピオン酸を、文献の方法 [Y. Aramaki et al., Chem. Pharm. Bull. 52, 258 (2004)] により、購入できる ３－{[(ベンジルオキシ）カルボニル]アミノ}プロピオン酸から製造する。代替的製造は、また、ベンジルオキシカルボニル保護基を、P. Quitt et al. [Helv. Chim. Acta 46, 327 (1963)] に従い得ることができ、ω-N-メチルアミノアルキルカルボン酸に導入することである。

30

３－[[（ベンジルオキシ）カルボニル]（メチル）アミノ]プロピオン酸 850 mg (3.58 mmol) を、ジクロロメタン 15 ml に溶解し、塩化オキサリル 1.5 ml を添加する。混合物を還流下で 3 時間加熱する。次いで、それを真空中で濃縮し、残渣を再度ジクロロメタンと混合し、もう一度濃縮する。粘稠性の油状物が残り、それを高真空中で乾燥させる。標的化合物 915 mg (定量的) を得、これ以上精製および特徴解析せずにさらに反応させる。

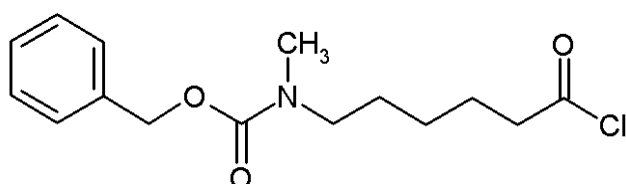
【0086】

40

中間体 10 A

ベンジル（６－クロロ－６－オキソヘキシル）メチルカルバメート

【化 3 8】



最初に、６－[[（ベンジルオキシ）カルボニル]（メチル）アミノ]カプロン酸を、

50

文献の方法 [Y. Aramaki et al., Chem. Pharm. Bull. 52, 258 (2004)] により、購入できる 6- { [(ベンジルオキシ) カルボニル] アミノ } カプロン酸から製造する。代替的製造は、また、ベンジルオキシカルボニル保護基を、P. Quitt et al. [Helv. Chim. Acta 46, 327 (1963)] に従って得られる ω-N-メチルアミノアルキルカルボン酸に導入することである。

6- [[(ベンジルオキシ) カルボニル] (メチル) アミノ] カプロン酸 3850 mg (13.8 mmol) を、ジクロロメタン 60 ml に溶解し、塩化オキサリル 4 ml を添加する。混合物を還流下で 3 時間加熱する。次いでそれを真空中で濃縮し、残渣を再度ジクロロメタンと混合し、もう一度濃縮する。粘稠性の油状物が残り、それを高真空下で乾燥させる。標的化合物 4.1 g (定量的) を得、これ以上精製および特徴解析せずにさらに

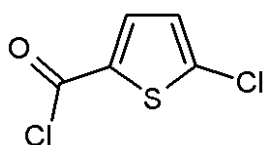
10

【0087】

中間体 11A

5-クロロチオフェン-2-カルボニルクロリド

【化39】



20

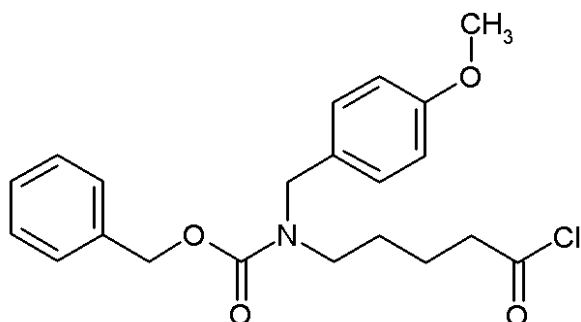
5-クロロチオフェン-2-カルボン酸 480 mg (2.95 mmol) を、ジクロロメタン 24 ml に溶解し、塩化オキサリル 2.4 ml (27.5 mmol) を添加する。混合物を還流下で 16 時間加熱する。次いでそれを真空中で濃縮し、残渣を再度ジクロロメタンと混合し、もう一度濃縮する。粘稠性の油状物が残り、それを高真空下で乾燥させる。標的化合物 534 mg (定量的) を得、これ以上精製および特徴解析せずにさらに反応させる。

【0088】

中間体 12A

ベンジル (5-クロロ-5-オキソペンチル) (4-メトキシベンジル) カルバメート

【化40】



30

段階 a) :

40

5-アミノ吉草酸 10 g (85.4 mmol)、p-アニスアルデヒド 17.4 g (128 mmol) および硫酸マグネシウム 10.3 g (85.4 mmol) をエタノール 330 ml に取り、還流下で 1 時間加熱する。次いで、固体を濾過し、エタノールで洗浄し、続いて全部で 1.94 g (51.2 mmol) の水素化ホウ素ナトリウムを少しずつ 15 分間かけて濾液に添加する。最初に水 10 ml を、次いで 2 M 水酸化ナトリウム溶液 128 ml を添加する。5 分後、混合物を水 300 ml で希釈し、次いで各回 200 ml の酢酸エチルで 3 回抽出する。水相を 4 M 塩酸で pH 2 に調節し、真空中で濃縮する。アセトニトリル/水/酢酸 5:1:0.1 を溶離剤として用いて、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。生成物画分を濃縮し、酢酸エチルおよびジエチルエーテルで攪拌する。次いで、残渣を吸引濾過し、高真空下で乾燥させる。p-メトキシベンジ

50

ルー保護 5-アミノ吉草酸 9.1 g (理論値の 45%) を得る。

【0089】

段階 b) :

かくして得られる 5-アミノ吉草酸誘導体を、ジオキサン/水 (1:1) に取り、水酸化ナトリウム溶液で pH 10 に調節し、次いでベンジルクロロカーボネート 12.97 g (76 mmol) を滴下して添加する。室温で 15 分間攪拌した後、ジオキサンを真空中で除去し、残っている溶液を 2 M 塩酸で pH 2 に調節する。酢酸エチルで抽出した後の有機相を水で 2 回洗浄する。次いで、有機相を濃縮し、残渣を高真空下で乾燥させる。これに

10

続き、アセトニトリルを溶離剤として用いてシリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーで精製する。生成物画分を濃縮し、残渣を高真空下で乾燥させる。Z-保護アミノ酸 5.6 g (理論値の 38%) を得る。

【0090】

段階 c) :

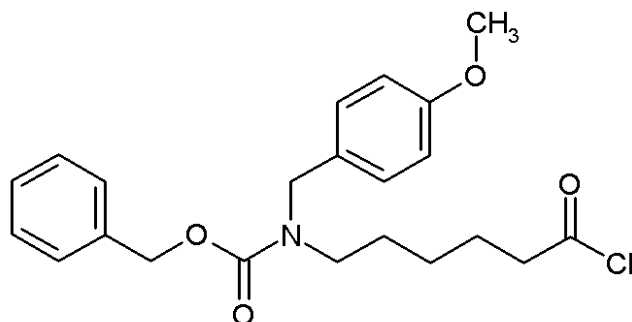
かくして得られる 5- { [(ベンジルオキシ) カルボニル] (4-メトキシベンジル) アミノ } 吉草酸 5.6 g (15 mmol) を、ジクロロメタン 60 ml に溶解し、塩化チオニル 2.2 ml を添加する。混合物を還流下で 30 分間加熱する。次いでそれを真空中で濃縮し、残渣を再度ジクロロメタンと混合し、もう一度濃縮する。粘稠性の油状物が残り、それを高真空下で乾燥させる。標的化合物 5.7 g (理論値の 98%) を得、これ以上精製および特徴解析せずにさらに反応させる。

20

【0091】

中間体 13A

ベンジル (6-クロロ-6-オキソヘキシル) (4-メトキシベンジル) カルバメート
【化 41】



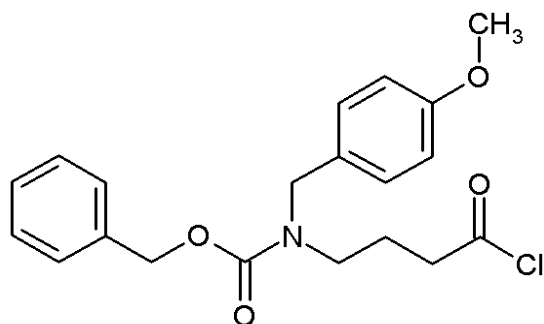
30

中間体 12A と同様に、6-アミノカプロン酸から出発して表題化合物を製造する。

【0092】

中間体 14A

ベンジル (4-クロロ-4-オキソブチル) (4-メトキシベンジル) カルバメート
【化 42】



40

中間体 12A と同様に、4-アミノブタン酸から出発して表題化合物を製造する。

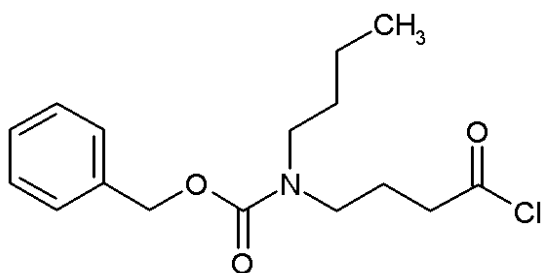
【0093】

中間体 15A

50

ベンジルブチル（４－クロロ－４－オキソブチル）カルバメート

【化４３】



10

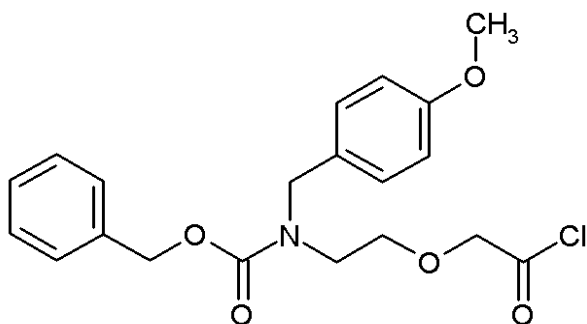
最初に、４－{[(ベンジルオキシ)カルボニル]（ブチル）アミノ}ブタン酸を、文献の方法[Org. Prep. Proc. Int. 9 (2), 49 (1977)]により製造し、同時に、続いてZ保護基を導入する。次いで、対応する酸塩化物を、中間体7Aについて記載した通りに製造する。

【0094】

中間体16A

ベンジル[2-（2-クロロ-2-オキソエトキシ）エチル]（4-メトキシベンジル）カルバメート

【化４４】



20

段階a)：

tert-ブチル（2-ヒドロキシエチル）カルバメート12g（74.4mmol）を、tert-ブチルブROMアセテート43.6g（223.3mmol）と、トルエン400mlおよび濃水酸化ナトリウム溶液20gの混合物中で、テトラブチルアンモニウム重硫酸塩200mg（0.59mmol）の存在下、室温で1時間攪拌する。次いで、さらに15gのtert-ブチルブROMアセテートを添加し、混合物を室温でさらに1時間攪拌する。次いで、それをトルエンおよび水で希釈し、相を分離する。有機相を乾燥させ、真空で濃縮する。残渣を無水トリフルオロ酢酸100mlと混合し、室温で90分間攪拌する。濃縮後のゴム状の残渣を、ジエチルエーテルで処理する。デカンテーション後に残っているゴム状物を、高真空下で乾燥させる。かくして、中間体（2-アミノエトキシ）酢酸10.8g（理論値の62%）が、（トリフルオロ酢酸塩として）得られる。

30

DC（アセトニトリル／水／氷酢酸5：1：0.2）：R_f = 0.08

40

【0095】

段階b)：

次いで、上記で得られるアミノ酸を、中間体12Aについて記載した通りに反応させ、（2-{[(ベンジルオキシ)カルボニル]（4-メトキシベンジル）アミノ}エトキシ）酢酸を得る。

収量：2.56g（理論値の13%）

HPLC（方法2）：R_t = 5.16分；

LC-MS（方法12）：R_t = 3.1分；m/z = 374（M+H）⁺

【0096】

段階c)：

50

次いで、得られる（2- { [（ベンジルオキシ）カルボニル]（4-メトキシベンジル）アミノ} 酢酸 2.56 g（6.86 mmol）を、中間体 12 A について記載した通りに塩化チオニルと反応させ、表題化合物を得る。

収量：2.65 g（理論値の99%）

HPLC（方法2）： $R_t = 5.11$ 分

【0097】

例示的实施態様：

カルボン酸のセシウム塩または適切に保護されたアミノ酸誘導体の製造のための一般方法 2：

適切なカルボン酸 1 mmol をジオキサン 10 ml および水 10 ml の混合物に溶解し、炭酸セシウム 0.5 mmol を添加する。続いてこれを凍結乾燥する。

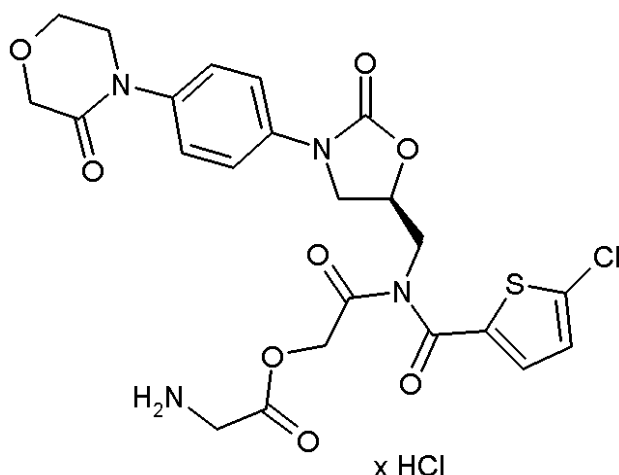
10

【0098】

実施例 1

2- [[（5-クロロ-2-チエニル）カルボニル]（{（5S）-2-オキソ-3- [4-（3-オキソモルホリン-4-イル）フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル）アミノ]-2-オキソエチルグリシネート塩酸塩

【化45】



20

30

段階 a)：

中間体 1 A 11 mg（21 μ mol）を、Boc-グリシンのセシウム塩（Boc-グリシンから一般方法 2 により製造）7.9 mg（26 μ mol）と共に、DMF 5 ml に溶解する。室温で 3 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC（方法 1）により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

収量：7 mg（理論値の50%）

HPLC（方法2）： $R_t = 5.2$ 分；

LC-MS（方法6）： $R_t = 2.11$ 分； $m/z = 651$ （M+H）⁺

【0099】

段階 b)：

40

上記で得られる保護中間体 7 mg（11 μ mol）を、ジオキサン中の塩化水素の 22 % 強度溶液 3 ml と混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量：4.5 mg（理論値の72%）

HPLC（方法2）： $R_t = 4.2$ 分；

LC-MS（方法5）： $R_t = 1.41$ 分； $m/z = 551$ （M+H）⁺

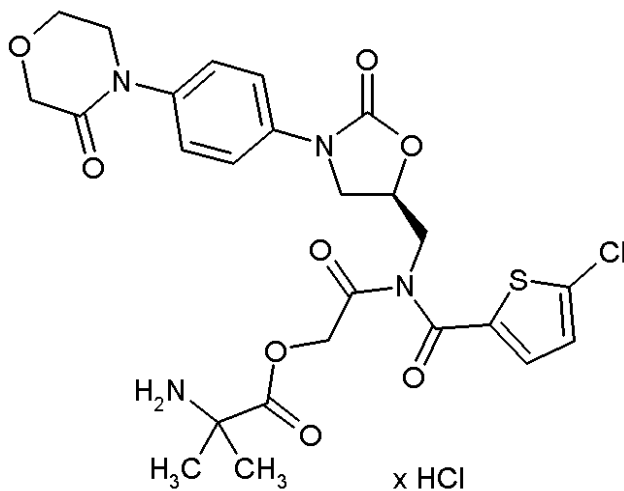
【0100】

実施例 2

2- [[（5-クロロ-2-チエニル）カルボニル]（{（5S）-2-オキソ-3- [4-（3-オキソモルホリン-4-イル）フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル）アミノ]-2-オキソエチルグリシネート塩酸塩

50

ル} メチル) アミノ] - 2 - オキソエチル - 2 - メチルアラニネート塩酸塩
【化 4 6】



10

段階 a) :

中間体 1 A 38 mg (74 μ mol) を、N-Boc-2-メチルアラニンのセシウム塩 (N-Boc-2-メチルアラニンから一般方法 2 により製造) 32.3 mg (96 μ mol) と共に、DMF 38 ml に溶解する。室温で超音波処理しながら 3 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

20

収量 : 29 mg (理論値の 58%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.38$ 分 ;

LC-MS (方法 6) : $R_t = 2.27$ 分 ; $m/z = 679$ ($M+H$)⁺

【0101】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 16.3 mg (24 μ mol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22% 強度溶液 3 ml と混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

30

収量 : 13 mg (理論値の 88%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.3$ 分 ;

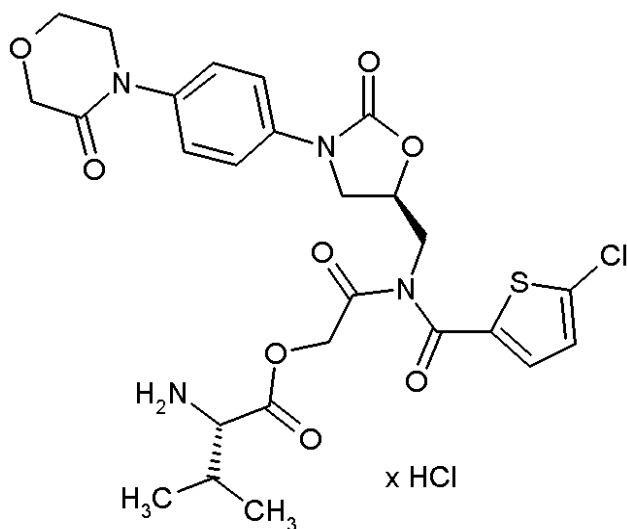
LC-MS (方法 6) : $R_t = 1.27$ 分 ; $m/z = 579$ ($M+H$)⁺

【0102】

実施例 3

2 - [[(5-クロロ-2-チエニル) カルボニル] ({ (5S) - 2-オキソ-3- [4- (3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル] - 1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ] - 2-オキソエチル L-バリネート塩酸塩

【化 47】



10

段階 a) :

中間体 1A 19 mg (37 μ mol) を、N-Boc-バリンのセシウム塩 (N-Boc-バリンから一般方法 2 により製造) 16.8 mg (48 μ mol) と、DMF 10 ml に溶解する。室温で超音波処理しながら 1.5 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

20

収量: 13.5 mg (理論値の 53%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.45$ 分;

LC-MS (方法 4) : $R_t = 2.69$ 分; $m/z = 693$ (M+H)⁺

【0103】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 13.5 mg (19 μ mol) を、塩化水素の 22% 強度溶液 3 ml と、ジオキサン中で混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量: 12 mg (理論値の 98%)

30

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.43$ 分;

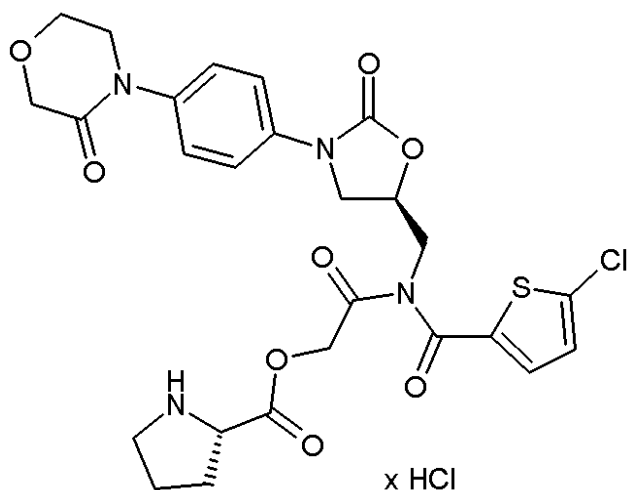
LC-MS (方法 5) : $R_t = 1.54$ 分; $m/z = 593$ (M+H)⁺

【0104】

実施例 4

2-[[[(5-クロロ-2-チエニル)カルボニル]({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)アミノ]-2-オキソエチルL-プロリネート塩酸塩

【化 4 8】



10

段階 a) :

中間体 1 A 20 mg (39 μ mol) を、N-Boc-プロリンのセシウム塩 (N-Boc-プロリンから、一般方法 2 により製造) 17.6 mg (51 μ mol) と共に、DMF 5 ml に溶解する。室温で超音波処理しながら 2 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

20

収量: 11.4 mg (理論値の 42%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.44$ 分;

LC-MS (方法 4) : $R_t = 2.61$ 分; $m/z = 691$ (M+H)⁺

【0105】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 11.3 mg (16 μ mol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22% 強度溶液 2.5 ml と混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量: 10 mg (理論値の 97%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.34$ 分;

30

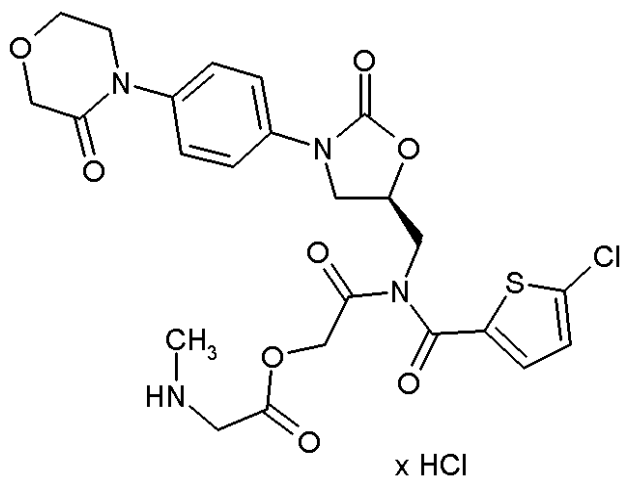
LC-MS (方法 6) : $R_t = 1.26$ 分; $m/z = 591$ (M+H)⁺

【0106】

実施例 5

2-[[[(5-クロロ-2-チエニル)カルボニル]({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)アミノ]-2-オキソエチルN-メチルグリシネート塩酸塩

【化 4 9】



40

50

段階 a) :

中間体 1 A 20 mg (39 μ mol) を、N-Boc-サルコシンのセシウム塩 (N-Boc-サルコシンから一般方法 2 により製造) 17.5 mg (55 μ mol) と共に、DMF 4 ml に溶解する。室温で超音波処理しながら 3 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

収量: 11 mg (理論値の 42%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.35$ 分;

LC-MS (方法 5) : $R_t = 2.43$ 分; $m/z = 665$ (M+H)⁺

【0107】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 11 mg (16 μ mol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22% 強度溶液 2 ml と混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量: 9.5 mg (理論値の 96%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.24$ 分;

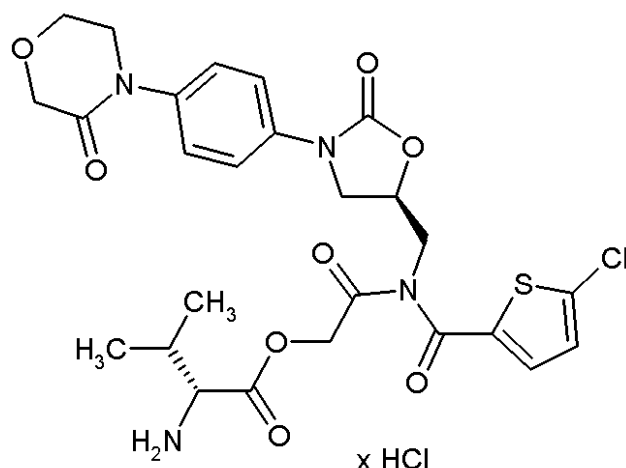
LC-MS (方法 4) : $R_t = 1.57$ 分; $m/z = 565$ (M+H)⁺

【0108】

実施例 6

2-[[(5-クロロ-2-チエニル) カルボニル] ({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル } メチル) アミノ] -2-オキソエチル D-バリネート塩酸塩

【化 50】

段階 a) :

中間体 1 A 20 mg (40 μ mol) を、Boc-D-バリンのセシウム塩 (Boc-D-バリンから一般方法 2 により製造) 19 mg (55 μ mol) と共に、DMF 4 ml に溶解する。室温で 2 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

収量: 23 mg (理論値の 85%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.6$ 分;

LC-MS (方法 4) : $R_t = 2.72$ 分; $m/z = 693$ (M+H)⁺

【0109】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 23 mg (33 μ mol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22% 強度溶液 3 ml と混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量: 20 mg (理論値の 96%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.5$ 分;

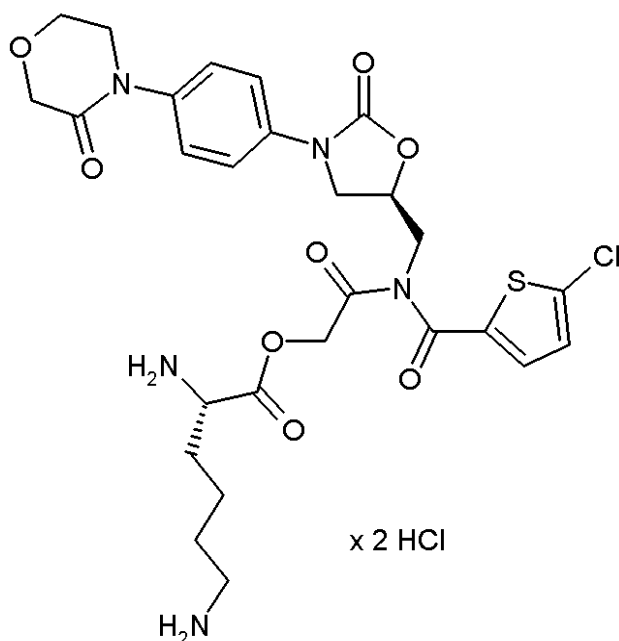
LC-MS (方法6) : $R_t = 1.3$ 分 ; $m/z = 593$ ($M+H$)⁺

【0110】

実施例 7

2-[[(5-クロロ-2-チエニル) カルボニル] ({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ]-2-オキソエチル L-リジネート二塩酸塩

【化51】



段階 a) :

中間体 1A 20 mg (40 μ mol) を、N,N'-ビス-Boc-リジンのセシウム塩 (N,N'-ビス-Boc-リジンから一般方法 2 により製造) 26 mg (55 μ mol) と共に、DMF 4 ml に溶解する。室温で 2 時間攪拌し、続いて分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

収量 : 14 mg (理論値の 43%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.63$ 分 ;

LC-MS (方法 5) : $R_t = 2.66$ 分 ; $m/z = 822$ ($M+H$)⁺

【0111】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 14 mg (17 μ mol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22% 強度溶液 2.5 ml と混合する。30 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量 : 10 mg (理論値の 86%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.1$ 分 ;

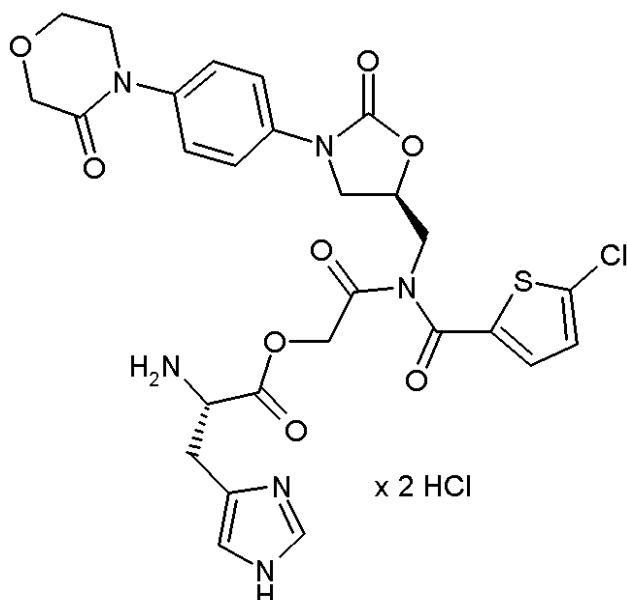
LC-MS (方法 6) : $R_t = 0.92$ 分 ; $m/z = 622$ ($M+H$)⁺

【0112】

実施例 8

2-[[(5-クロロ-2-チエニル) カルボニル] ({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ]-2-オキソエチル L-ヒスチジネート二塩酸塩

【化 5 2】



10

段階 a) :

中間体 1 A 20 mg (40 μ mol) を、Boc-L-ヒスチジンのセシウム塩 (Boc-L-ヒスチジンから一般方法 2 により製造) 21 mg (55 μ mol) と共に、DMF 4 ml に溶解する。室温で 2.5 時間攪拌し、続いて溶媒を真空で除去する。残渣をアセトニトリル/水 (1:1) に取り、分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

20

収量: 21.9 mg (理論値の 77%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.64$ 分;

LC-MS (方法 5) : $R_t = 1.67$ 分; $m/z = 731$ ($M+H$)⁺

【0113】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 21.9 mg (30 μ mol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22% 強度溶液 6 ml と混合する。90 分後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮する。残渣をアセトニトリル/水 (1:1) に取り、分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

30

収量: 7.2 mg (理論値の 34%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.11$ 分;

LC-MS (方法 6) : $R_t = 2.56$ 分; $m/z = 631$ ($M+H$)⁺

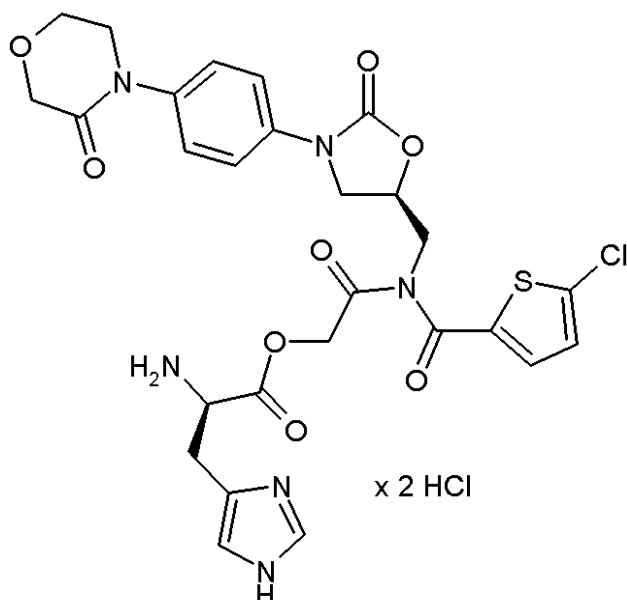
【0114】

実施例 9

2-[[(5-クロロ-2-チエニル) カルボニル] ({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル] -1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ] -2-オキソエチル D-ヒスチジネート二塩酸塩

40

【化 5 3】



10

段階 a) :

中間体1A 25mg (49 μmol)を、Boc-D-ヒスチジンのセシウム塩 (Boc-D-ヒスチジンから、一般方法2により製造) 26mg (68 μmol)と共に、DMF 5mlに溶解する。室温で16時間攪拌し、続いて溶媒を真空で除去する。残渣をアセトニトリル／水 (1：1)に取り、分取用HPLC (方法1)により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

20

収量：18.3 mg（理論値の51%）

HPLC (方法2) : $R_t = 4.62$ 分

【 0 1 1 5 】

段階 b) :

上記で得られる保護中間体 18 mg (25 μmol) を、ジオキサン中の塩化水素の 22 % 強度溶液 2 ml と混合する。4 時間後、混合物を真空で、 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ で濃縮する。残渣をアセトニトリル／水 (1 : 1) に取り、分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

30

収量：6 m g（理論値の37%）

HPLC (方法2) : $R_f = 4.1$ 分 ;

LC-MS (方法5): $R_t = 1.15$ 分; $m/z = 631$ ($M+H$)⁺

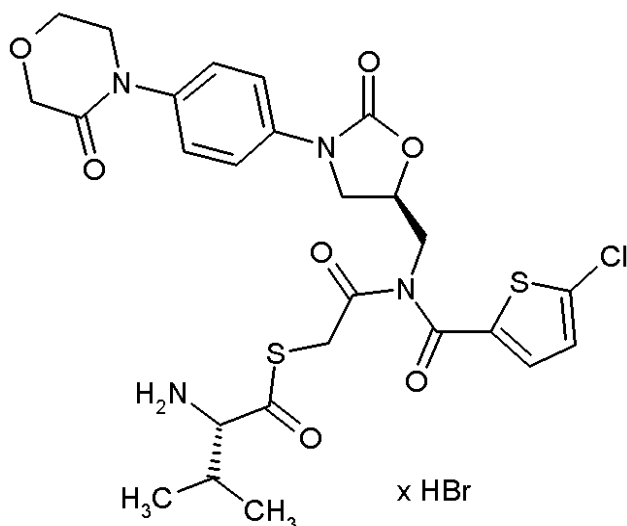
【 0 1 1 6 】

实施例 10

S-〔2-〔〔(5-クロロ-2-チエニル)カルボニル〕{(5S)-2-オキソ-3-〔4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル〕-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)アミノ〕-2-オキソエチル〕(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンチオエート臭化水素酸塩

40

【化 5 4】

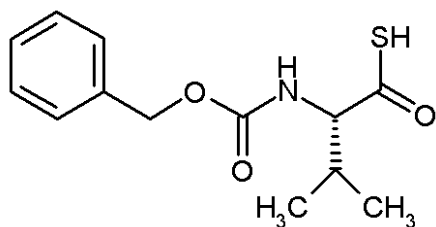


10

段階 a) :

(2S)-2-{[(ベンジルオキシ)カルボニル]アミノ}-3-メチルブタンチオンS-酸

【化 5 5】



20

表題化合物を、Z-バリリンから、文献からわかる方法と同様に製造する [R. Michelot et al., Bioorg. Med. Chem. 1996, 4, 2201].

【0117】

30

段階 b) :

(2S)-2-{[(ベンジルオキシ)カルボニル]アミノ}-3-メチルブタンチオンS-酸 200 mg (748 μmol) を、ジオキサン 10 ml および水 10 ml に取り、炭酸セシウム 110 mg (337 μmol) を添加する。透明な溶液が産生されたらすぐに、それを凍結乾燥する。セシウム塩 300 mg を定量的収量で得る。

このセシウム塩 27 mg (68 μmol) および中間体 1A 25 mg (49 μmol) を、DMF 5 ml に溶解する。室温で 2 時間攪拌し、続いて溶媒を真空で除去する。残渣をアセトニトリル/水 (1:1) に取り、分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

収量: 24 mg (理論値の 66%)

40

HPLC (方法 2): $R_t = 5.62$ 分;

LC-MS (方法 6): $R_t = 2.47$ 分; $m/z = 743$ (M+H)⁺

【0118】

段階 c) :

上記で得られる保護中間体 24 mg (32.3 μmol) を、臭化水素の 33% 強度溶液 2 ml と、氷酢酸中で混合する。室温で 1 時間攪拌した後、混合物を真空で、 $\leq 25^\circ\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサン/水から凍結乾燥する。

収量: 21 mg (理論値の 94%)

HPLC (方法 2): $R_t = 4.43$ 分;

LC-MS (方法 4): $R_t = 1.63$ 分; $m/z = 609$ (M+H)⁺

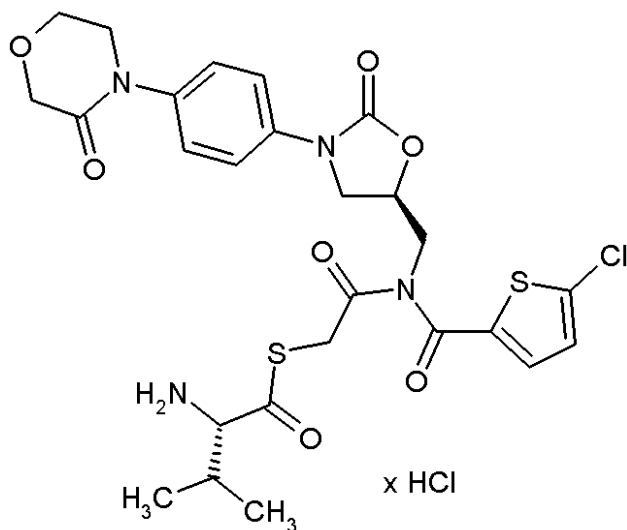
50

【0119】

実施例 1 1

S- { 2- [[(5-クロロ-2-チエニル) カルボニル] ({ (5S)-2-オキソ-3- [4- (3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル] -1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル) アミノ] -2-オキソエチル} (2S)-2-アミノ-3-メチルブタンチオエート塩酸塩

【化56】



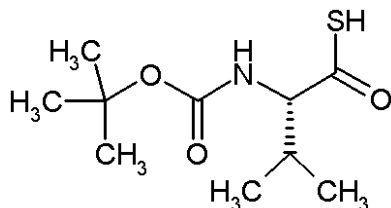
10

20

段階 a) :

(2S)-2- [(tert-ブトキシカルボニル) アミノ] -3-メチルブタンチオン S-酸

【化57】



30

表題化合物を Boc-バリンから、文献からわかる方法と同様に製造する [R. Michelt et al., Bioorg. Med. Chem. 1996, 4, 2201)。

【0120】

段階 b) :

(2S)-2- [(tert-ブトキシカルボニル) アミノ] -3-メチルブタンチオン S-酸 200 mg (857 μmol) を、ジオキサン 10 ml および水 10 ml に取り、炭酸セシウム 126 mg (386 μmol) を添加する。透明な溶液が産生されたらすぐに、それを凍結乾燥する。セシウム塩 310 mg を定量的収量で得る。

40

このセシウム塩 25 mg (68 μmol) および中間体 1A 25 mg (49 μmol) を、DMF 4 ml に溶解する。室温で 1 時間攪拌し、続いて溶媒を真空中で除去する。残渣をアセトニトリル/水 (1:1) に取り、分取用 HPLC (方法 1) により精製する。適する画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

収量: 23 mg (理論値の 65%)

HPLC (方法 2): $R_t = 5.64$ 分;

LC-MS (方法 4): $R_t = 2.76$ 分; $m/z = 709$ (M+H)⁺

【0121】

段階 c) :

上記で得られる保護中間体 23 mg (32 μmol) を、ジオキサン中の塩化水素の 2

50

2%強度溶液4mlと混合する。室温で1時間攪拌した後、混合物を真空中で、 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ で濃縮し、残渣をジオキサンから凍結乾燥する。

収量：20mg（理論値の97%）

HPLC（方法2）： $R_t = 4.47$ 分；

LC-MS（方法6）： $R_t = 1.35$ 分； $m/z = 609$ （ $M+H$ ）⁺

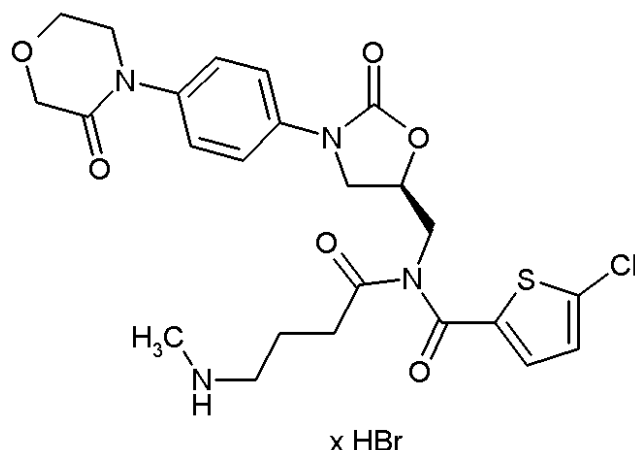
【0122】

実施例12

5-クロロ-N-[4-(メチルアミノ)ブタノイル]-N-({(5S)-2-オキシ-3-[4-(3-オキシモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフエン-2-カルボキサミド臭化水素酸塩

10

【化58】



20

段階a)：

化合物(A) 145.4mg (0.334mmol)を、DMF 25mlに溶解し、水素化ナトリウム24mg (1mmol)を添加し、混合物を室温で30分間攪拌する。次いで、中間体7A 1.8g (6.67mmol)を添加する。混合物を室温でさらに15分間攪拌し、次いで数滴の水を添加する。次いで、それを濃縮し、残渣をジクロロメタン300mlに取る。最初に水で、次いで5%強度重炭酸ナトリウム溶液300mlで3回、抽出を実施する。ジクロロメタン相を分離し、濃縮する。残渣をジクロロメタン15mlおよびジエチルエーテル10mlの混合物と攪拌する。不溶物を濾過により除去し、残っている溶液を濃縮する。残渣を分取用HPLC（方法1）により精製する。モノアシル化合物のエノール化後に産生されるビスアシル化副生成物を含有する適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。純粋な画分41mg（理論値の13.6%）およびわずかに純粋でない画分59mg（理論値の19.6%）を得、一緒に次の段階に用いる。

30

HPLC（方法2）： $R_t = 6.06$ 分；

LC-MS（方法5）： $R_t = 2.88$ 分； $m/z = 902$ （ $M+H$ ）⁺

【0123】

段階b)：

上記で得られるZ-保護中間体100mg (0.11mmol)を、氷酢酸3.3mlに取り、氷酢酸中の臭化水素の33%強度溶液17mlを添加する。これらの条件下で、エノールエステルの切断もある。室温で5分間攪拌した後、標的化合物への変換が完了し、混合物を高真空下で濃縮する。残渣をアセトニトリルから2回濃縮し、次いで、分取用HPLCにより精製する。

40

収量：29.6mg（理論値の73.5%）

HPLC（方法2）： $R_t = 4.2$ 分；

LC-MS（方法6）： $R_t = 1.19$ 分； $m/z = 535$ （ $M+H$ ）⁺

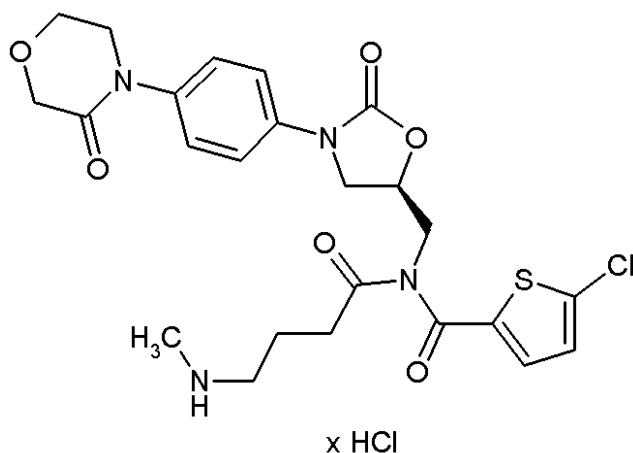
【0124】

実施例13

5-クロロ-N-[4-(メチルアミノ)ブタノイル]-N-({(5S)-2-オキシ

50

－3－〔4－（3－オキソモルホリン－4－イル）フェニル〕－1,3－オキサゾリジン－5－イル}メチル）チオフェン－2－カルボキサミド塩酸塩
【化59】



10

実施例12由来の化合物59mg（0.096mmol）を、アセトニトリル／水（1：1）40mlに溶解し、ジ-tert-ブチルピロカーボネート（「Boc無水物」）1g（4.8mmol）を添加する。次いで、N,N-ジイソプロピルエチルアミン37μlを少しずつ添加し、その間にpH7.8を超えない。約15分後に反応が完了した後、酢酸でpH3ないし4に調節し、混合物を真空で濃縮する。残渣をアセトニトリルに取り、分取用HPLC（方法1）により精製する。適切な画分を濃縮し、真空で乾燥させる。Boc-保護中間体15.5mg（理論値の26%）を得る。次いで、その12.5mg（0.02mmol）を、ジオキサン中の塩化水素の22%強度溶液5mlで処理する。10分後、混合物を真空で、 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ で濃縮する。残渣を水に取り、ジクロロメタンと共に徹底的に振盪する。水相を塩酸でpH4に調節し、次いで凍結乾燥する。

20

収量：3.5mg（理論値の31%）

HPLC（方法2）： $R_t = 4.24$ 分；

LC-MS（方法5）： $R_t = 1.43$ 分； $m/z = 535$ （ $M+H$ ）⁺

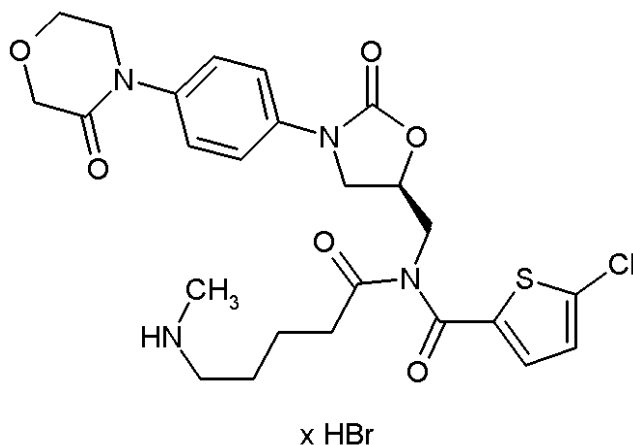
【0125】

30

実施例14

5-クロロ-N-〔5-（メチルアミノ）ペンタノイル〕-N-（{（5S）-2-オキソ-3-〔4-（3-オキソモルホリン-4-イル）フェニル〕-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル）チオフェン-2-カルボキサミド臭化水素酸塩

【化60】



40

段階a）：

化合物（A）153.6mg（0.352mmol）をDMF25mlに溶解し、水素化ナトリウム25mg（1mmol）を添加し、混合物を室温で30分間攪拌する。次いで

50

、DMF 5 ml に溶解した中間体 8 A 2 g (7.05 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、数滴の水を混合物に添加する。次いでそれを濃縮し、残渣をジクロロメタン 500 ml に取る。溶液を 5% 強度重炭酸ナトリウム溶液 300 ml で 2 回抽出する。ジクロロメタン相を分離し、濃縮する。残渣を分取用 HPLC (方法 1) により精製する。モノアシル化合物のエノール化の後に產生されるビスアシル化副生成物を含有する適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。わずかに純粋でない画分 50 mg (理論値の 15.2%) を得、そのまま次の段階で用いる。

HPLC (方法 2) : $R_t = 6.23$ 分

【0126】

段階 b) :

10

上記で得られる Z-保護中間体 50 mg (0.027 mmol) を、氷酢酸 1 ml に取り、氷酢酸中の臭化水素の 33% 強度溶液 5 ml を添加する。これらの条件下で、エノールエステルの切断もある。室温で 10 分間攪拌した後、標的化合物を与える反応が完了し、混合物を高真空下で濃縮する。残渣をアセトニトリルから 2 回濃縮し、次いで分取用 HPLC で繰り返し精製する。

収量 : 0.5 mg (理論値の 3%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.32$ 分 ;

LC-MS (方法 4) : $R_t = 1.31$ 分 ; $m/z = 549$ (M+H)⁺

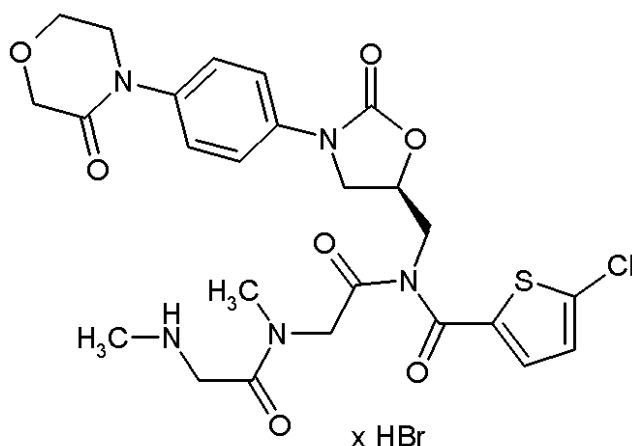
【0127】

実施例 15

20

N-メチルグリシル-N-[(5-クロロ-2-チエニル)カルボニル]-N²-メチル-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)グリシンアミド臭化水素酸塩

【化 61】



30

段階 a) :

中間体 2 A 108 mg (0.19 mmol) を、DMF 25 ml に溶解し、水素化ナトリウム 14 mg (0.57 mmol) を添加し、混合物を室温で 15 分間攪拌する。次いで、DMF 5 ml に溶解した中間体 11 A 534 mg (2.95 mmol) を添加する。室温でさらに 10 分間攪拌した後、数滴の水を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣をジクロロメタン 500 ml に取る。溶液を 5% 強度重炭酸ナトリウム溶液 300 ml で 3 回抽出する。ジクロロメタン相を分離し、濃縮する。残渣を分取用 HPLC (方法 1) により 2 回精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

40

収量 : 31 mg (理論値の 23%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.15$ 分 ;

LC-MS (方法 5) : $R_t = 2.28$ 分 ; $m/z = 712$ (M+H)⁺

【0128】

段階 b) :

上記で得られる Z-保護中間体 31 mg (0.044 mmol) を、氷酢酸 1 ml に取り

50

り、氷酢酸中の臭化水素の 33% 強度溶液 3 ml を添加する。室温で 45 分間攪拌し、続いて高真空下で濃縮する。残渣を分取用 HPLC により繰り返し精製する。

収量：1 mg (理論値の 3.3%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.23$ 分 ;

LC-MS (方法 4) : $R_t = 1.32$ 分 ; $m/z = 578$ (M+H)⁺

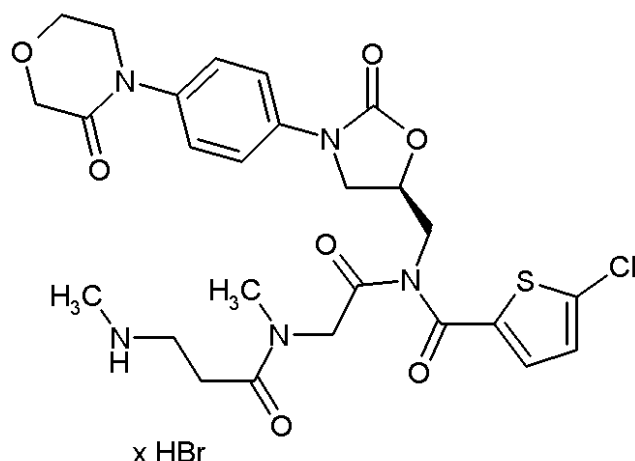
【0129】

実施例 16

N-メチル-β-アラニル-N-[(5-クロロ-2-チエニル)カルボニル]-N²-メチル-N-({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル)グリシンアミド臭化水素酸塩

10

【化 62】



20

段階 a) :

中間体 6A 40 mg (0.069 mmol) を DMF 10 ml に溶解し、水素化ナトリウム 5 mg (0.21 mmol) を添加し、混合物を室温で 15 分間攪拌する。次いで、DMF 5 ml に溶解した中間体 11A 249 mg (1.38 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、数滴の水を混合物に添加する。次いでそれを濃縮し、残渣をジクロロメタン 500 ml に取る。溶液を 5% 強度重炭酸ナトリウム溶液 50 ml で 2 回抽出する。ジクロロメタン相を分離し、濃縮する。残渣を分取用 HPLC (方法 1) により 2 回精製する。適切な画分を濃縮し、高真空下で乾燥させる。

30

収量：4.6 mg (理論値の 9.2%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.16$ 分 ;

LC-MS (方法 6) : $R_t = 2.17$ 分 ; $m/z = 726$ (M+H)⁺

【0130】

段階 b) :

上記で得られる Z-保護中間体 4.2 mg (0.006 mmol) を、氷酢酸中の臭化水素の 33% 強度溶液 1 ml と混合する。室温で 30 分間攪拌し、続いて高真空下で濃縮する。残渣を水に取り、ジクロロメタンで抽出し、次いで水相を凍結乾燥する。

40

収量：2 mg (理論値の 51%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.25$ 分 ;

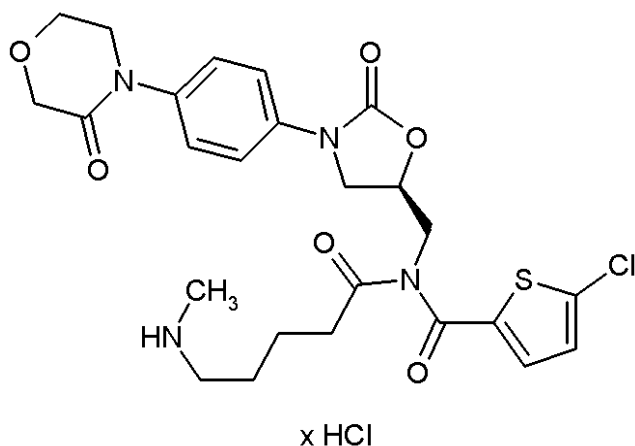
LC-MS (方法 6) : $R_t = 1.16$ 分 ; $m/z = 592$ (M+H)⁺

【0131】

実施例 17

5-クロロ-N-[5-(メチルアミノ)ペンタノイル]-N-({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル)チオフェン-2-カルボキサミド塩酸塩

【化 6 3】



10

段階 a) :

化合物 (A) 1.96 g (4.5 mmol) を DMF 70 ml に溶解し、水素化ナトリウム 323 mg (13.5 mmol) を添加し、混合物を 30 分間攪拌する。次いで、DMF 10 ml に溶解した中間体 8A 5.1 g (18 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、水 20 ml を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣を酢酸エチル 500 ml に取る。溶液を 5% 強度重炭酸ナトリウム溶液 300 ml で 3 回抽出する。酢酸エチル相を分離し、濃縮する。残渣をジクロロメタン/ジエチルエーテル混合物 (2:1) 40 ml と攪拌し、次いで濾過する。残っている溶液を真空中で濃縮する。次いで残渣を、ジクロロメタン中の塩化水素の飽和溶液 100 ml と 2 時間攪拌し、その間に最初に産生されたエノールエステルが切断される。次いで、混合物を濃縮し、残っている残渣を、酢酸エチル/トルエン 5:1 を溶離剤として用いてシリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより精製する。適切な画分を濃縮し、Z-保護中間体 721 mg (理論値の 23.5%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.54$ 分

【0132】

段階 b) :

上記で得られる Z-保護中間体 720 mg (1.05 mmol) を、無水トリフルオロ酢酸 20 ml 中で終夜攪拌する。次いで、混合物を高真空中で濃縮し、温度を約 20 °C に維持する。残渣を塩酸 100 ml に取り、pH 3 に調節し、各回 100 ml のジクロロメタンおよび 100 ml の酢酸エチルで 2 回抽出する。水相を濃縮し、残渣を分取用 HPLC により精製する。適切な画分の濃縮および塩酸 (pH 3) からの凍結乾燥により、標的化合物を得る。

30

収量 : 20 mg (理論値の 3.3%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.29$ 分 ;

LC-MS (方法 5) : $R_t = 1.27$ 分 ; $m/z = 549$ (M+H)⁺

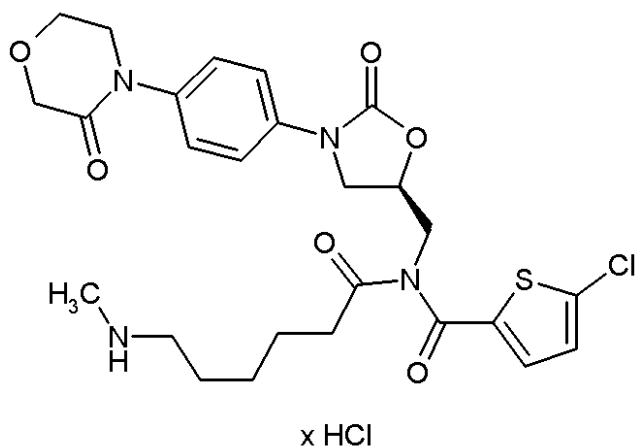
【0133】

実施例 18

40

5-クロロ-N-[6-(メチルアミノ)ヘキサノイル]-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル} メチル)チオフエン-2-カルボキサミド塩酸塩

【化 6 4】



10

段階 a) :

化合物 (A) 2 g (4.59 mmol) を、DMF 70 ml に溶解し、水素化ナトリウム 330 mg (13.8 mmol) を添加し、混合物を室温で 30 分間攪拌する。次いで、DMF 10 ml に溶解した中間体 10A 5.1 g (18 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、水 20 ml を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣をジクロロメタン中の塩化水素の飽和溶液 100 ml と 2 時間攪拌し、その間に最初に発生されたエノールエステルが切断される。次いで、混合物を濃縮し、残渣を酢酸エチル 600 ml に取る。溶液を 10% 強度炭酸ナトリウム溶液で 3 回抽出する。酢酸エチル相を分離し、濃縮する。残渣をジクロロメタン/ジエチルエーテル混合物 (2:1) 150 ml と攪拌し、次いで濾過する。残っている溶液を真空で濃縮し、酢酸エチル/トルエン 5:1 を溶離剤として用いて、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。適切な画分を濃縮し、依然としてわずかに純粋でない生成物を得る。アセトニトリル/ジクロロメタン 1:1 を溶離剤として用いるシリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより再度精製し、次いでより純粋な Z 保護中間体 572 mg (理論値の 18%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.68$ 分

【0134】

30

段階 b) :

上記で得られる中間体 572 mg (0.82 mmol) を、無水トリフルオロ酢酸 50 ml 中、超音波浴で 6 時間処理する。次いで、混合物を高真空下で濃縮し、温度を約 20 °C に維持する。残渣を塩酸 100 ml に取り、pH 3 に調節し、濾過する。水相を濃縮し、残渣を分取用 HPLC により精製する。適切な画分の濃縮および塩酸 (pH 3) からの凍結乾燥により、標的化合物 283 mg (理論値の 58%) を得る。

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.35$ 分 ;LC-MS (方法 6) : $R_t = 1.24$ 分 ; $m/z = 563$ (M+H)⁺

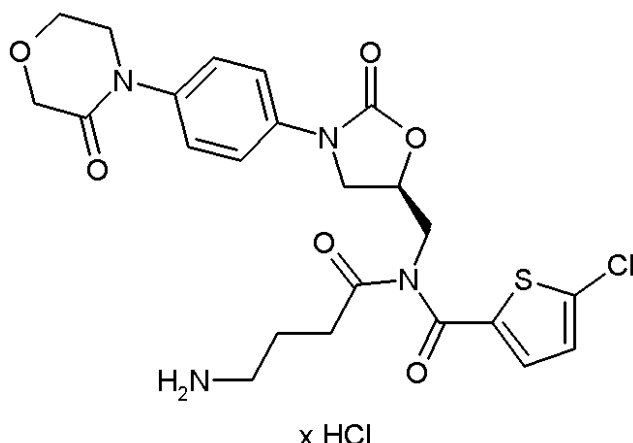
【0135】

実施例 19

40

N-(4-アミノブタノイル)-5-クロロ-N-({ (5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル }メチル)チオフェン-2-カルボキサミド塩酸塩

【化 6 5】



10

段階 a) :

化合物 (A) 1.33 g (3.06 mmol) を DMF 75 ml に溶解し、水素化ナトリウム 220 mg (9.2 mmol) を添加し、混合物を室温で 30 分間攪拌する。次いで、DMF 10 ml に溶解した中間体 14A 1.5 g (30.6 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、水 20 ml を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣を酢酸エチル 300 ml に取る。溶液を 10% 強度炭酸ナトリウム溶液 300 ml で 3 回抽出する。有機相を分離し、濃縮し、残渣をジクロロメタン 50 ml に取る。短時間攪拌した後、不溶成分を濾過し、ジクロロメタン相を濃縮する。残渣を、酢酸エチル/トルエン 5 : 1 を溶離剤として用いてシリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより精製する。ビスアシル化副生成物 ($m/z = 1113$) を含有する生成物含有画分を濃縮する。次いで、残渣をジクロロメタン中の塩化水素の飽和溶液 10 ml と 2 時間攪拌し、その間に最初に産生されたエノールエステルが切断される。次いで、混合物を濃縮し、酢酸エチル/トルエン 5 : 1 を溶離剤として用いて、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより、残っている残渣を再度精製する。適切な画分を濃縮し、2 箇所保護された中間体 151 mg (理論値の 7%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.83$ 分 ;LC-MS (方法 6) : $R_t = 2.61$ 分 ; $m/z = 775$ ($M+H$)⁺

30

【0136】

段階 b) :

上記で得られる中間体 151 mg (0.2 mmol) を、無水トリフルオロ酢酸 8 ml 中、室温で終夜攪拌する。次いで、混合物を高真空下で濃縮し、温度を約 20 °C に維持する。残渣を pH 3 に調節した塩酸 100 ml に取り、ジクロロメタン 75 ml で、次いで酢酸エチルで 2 回抽出する。水相を濃縮し、残渣を塩酸 (pH 3) から凍結乾燥する。

収量 : 70 mg (理論値の 64%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.13$ 分 ;LC-MS (方法 5) : $R_t = 1.38$ 分 ; $m/z = 521$ ($M+H$)⁺

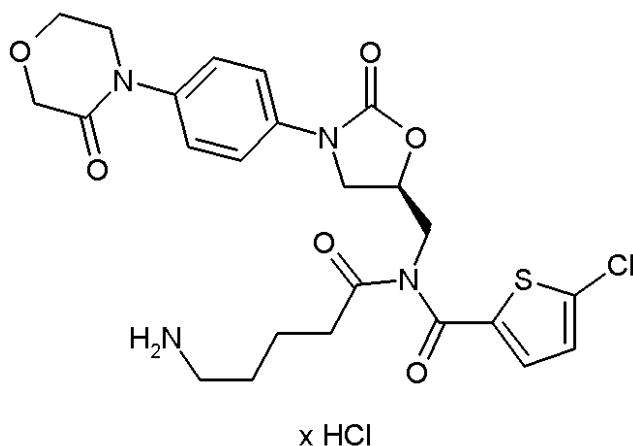
40

【0137】

実施例 20

N-(5-アミノペンタノイル)-5-クロロ-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフェン-2-カルボキサミド塩酸塩

【化 6 6】



10

段階 a) :

化合物 (A) 2.83 g (6.5 mmol) を DMF 100 ml に溶解し、水素化ナトリウム 468 mg (19.5 mmol) を添加し、混合物を室温で 30 分間攪拌する。次いで、DMF 10 ml に溶解した中間体 12A 7.6 g (19.5 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、水 20 ml を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣をジクロロメタン中の塩化水素の飽和溶液 150 ml で 1 時間攪拌し、その間に最初に発生されたエノールエステルが切断される。次いで、混合物を濃縮し、残渣を酢酸エチル 700 ml に取る。溶液を各回 10% 強度炭酸ナトリウム溶液 200 ml で 2 回抽出する。有機相を分離し、濃縮し、残渣を酢酸エチル 30 ml およびジエチルエーテル 30 ml に取る。短時間攪拌した後、不溶性成分を濾過し、有機相を濃縮する。残渣を、酢酸エチル/トルエン 4 : 1 を溶離剤として用い、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより精製する。適切な画分を濃縮し、残渣を酢酸エチル 10 ml に取る。冷たいジエチルエーテル 100 ml を添加し、混合物を 0℃ で 30 分間静置する。濾過後の残渣をジエチルエーテル 100 ml で再度処理する。再度濾過した後、残渣を回収し、乾燥させる。2 箇所保護された中間体 1 g (理論値の 20%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.92$ 分 ;LC-MS (方法 6) : $R_t = 2.68$ 分 ; $m/z = 789$ (M+H)⁺

30

【0138】

段階 b) :

得られる中間体 1 g (1.3 mmol) を、無水トリフルオロ酢酸 70 ml 中、超音波浴で 6 時間処理する。次いで、混合物を高真空下で濃縮し、温度を約 20℃ で維持する。残渣を塩酸 350 ml に取り、pH 3 に調節し、室温で 15 分間攪拌した後、ジクロロメタン 100 ml で抽出する。水相を分離し、次いで酢酸エチル 100 ml で再度抽出する。水相を分離し、次いで、高真空下で短時間蒸留し、残っている酢酸エチルを除去し、最後に凍結乾燥する。

収量 : 586 mg (理論値の 81%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.2$ 分 ;LC-MS (方法 6) : $R_t = 1.17$ 分 ; $m/z = 535$ (M+H)⁺

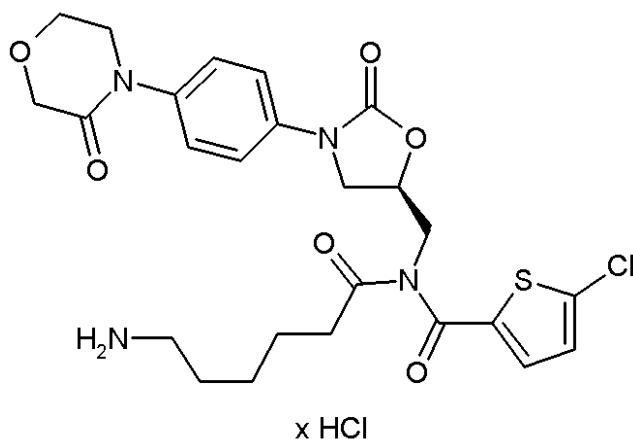
40

【0139】

実施例 21

N-(6-アミノヘキサノイル)-5-クロロ-N-({(5S)-2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフェン-2-カルボキサミド塩酸塩

【化 6 7】



10

段階 a) :

化合物 (A) 1.6 g (3.7 mmol) を DMF 50 ml に溶解し、水素化ナトリウム 263 mg (11 mmol) を添加し、混合物を室温で 30 分間攪拌する。次いで、DMF 10 ml に溶解した中間体 13A 14.1 g (36.6 mmol) を添加する。室温でさらに 15 分間攪拌した後、水 20 ml を混合物に添加する。それを濃縮し、残渣を酢酸エチル 500 ml に取る。溶液を各回 10% 強度炭酸ナトリウム溶液 100 ml で 3 回抽出する。有機相を分離し、濃縮し、残渣をジクロロメタン/ジエチルエーテル (2:1) 15 ml に取る。短時間攪拌した後、不溶成分を濾過し、有機相を濃縮する。酢酸エチル/トルエン 5:1 を溶離剤として用い、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。二保護中間体 256 mg (理論値の 9%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 6.07$ 分 ;

LC-MS (方法 5) : $R_t = 2.92$ 分 ; $m/z = 803$ ($M+H$)⁺

【0140】

段階 b) :

上記で得られる中間体 256 mg (0.32 mmol) を、無水トリフルオロ酢酸 10 ml 中、室温で終夜攪拌する。次いで、混合物を高真空下で濃縮し、温度を約 20 °C に維持する。残渣を pH 3 に調節した塩酸 100 ml に取り、室温で 15 分間攪拌した後、ジクロロメタン 100 ml で抽出する。水相を分離し、次いで酢酸エチル 100 ml で再度抽出する。水相を濃縮し、残渣を分取用 HPLC により精製する。適切な画分を濃縮し、残渣を塩酸 (pH 3) から凍結乾燥する。

30

収量 : 29 mg (理論値の 16%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.28$ 分 ;

LC-MS (方法 6) : $R_t = 1.24$ 分 ; $m/z = 549$ ($M+H$)⁺

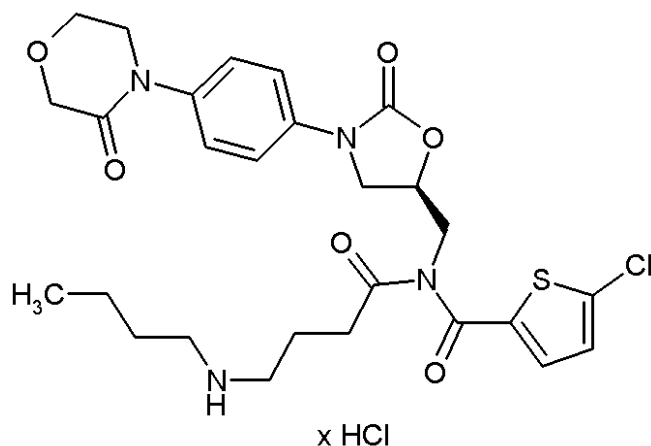
【0141】

実施例 22

N-[4-(ブチルアミノ)ブタノイル]-5-クロロ-N-({ (5S)-2-オキシ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル)フェニル]-1,3-オキサゾリジン-5-イル}メチル)チオフエン-2-カルボキサミド塩酸塩

40

【化 6 8】



10

段階 a) :

化合物 (A) 3.215 g (7.38 mmol) を、DMF 60 ml に溶解し、水素化ナトリウム 531 mg (22.1 mmol) を添加し、混合物を室温で 30 分間撹拌する。次いで、DMF 10 ml に溶解した中間体 15A 6.9 g (22.1 mmol) を添加する。室温でさらに 10 分間撹拌した後、水 10 ml を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣をジクロロメタン中の塩化水素の飽和溶液 70 ml と終夜撹拌し、その間に最初に産生されたエノールエステルが切断される。混合物を濾過し、残っている溶液を濃縮する。残渣を酢酸エチル 600 ml に取り、10% 強度炭酸ナトリウム溶液 100 ml で 3 回、そして水で 1 回抽出する。酢酸エチル相を分離し、濃縮する。アセトニトリル/ジクロロメタン 1 : 1 を溶離剤として用いて、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。適切な画分を濃縮する。残っている樹脂状生成物を酢酸エチル 20 ml に取り、冷たいジエチルエーテル 40 ml を添加する。濾過後に残っている残渣をジエチルエーテルで洗浄する。高真空下で乾燥し、Z-保護中間体 1.7 g (理論値の 32.4%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 6.0$ 分 ;

LC-MS (方法 12) : $R_t = 3.9$ 分 ; $m/z = 711$ ($M+H$)⁺

【0142】

30

段階 b) :

保護中間体 1.7 g (2.39 mmol) を無水トリフルオロ酢酸 50 ml に取り、5 時間超音波処理する。次いで、混合物を高真空下で濃縮し、温度を約 20 °C に維持する。残渣を pH 3 に調節した塩酸 200 ml に取り、酢酸エチル 25 ml で 3 回抽出する。水相を凍結乾燥し、次いで、再度塩酸 (pH 3) に取り、濾過し、再度凍結乾燥する。

収量 : 450 mg (理論値の 31%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.57$ 分 ;

LC-MS (方法 13) : $R_t = 2.81$ 分 ; $m/z = 577$ ($M+H$)⁺

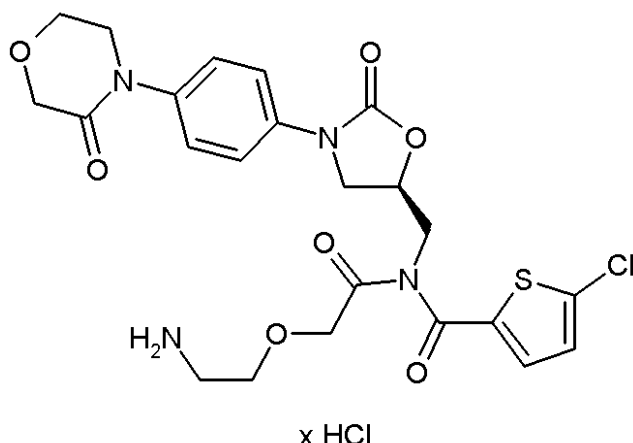
【0143】

実施例 23

40

N-[(2-アミノエトキシ) アセチル] -5-クロロ-N- ({ (5S) -2-オキソ-3-[4-(3-オキソモルホリン-4-イル) フェニル] -1,3-オキサゾリジン-5-イル } メチル) チオフェン-2-カルボキサミド塩酸塩

【化 6 9】



10

段階 a) :

化合物 (A) 589.6 mg (1.35 mmol) を DMF 25 ml に溶解し、水素化ナトリウム 97 mg (4 mmol) を添加し、混合物を室温で 30 分間攪拌する。次いで、DMF 4 ml に溶解した中間体 16A 2.65 g (6.76 mmol) を添加する。室温でさらに 10 分間攪拌した後、水 5 ml を混合物に添加する。次いで、それを濃縮し、残渣をジクロロメタン中の塩化水素の飽和溶液 150 ml で終夜攪拌する。次いでそれを再度濃縮し、残渣を酢酸エチル 200 ml に取る。溶液を各回 10% 強度炭酸ナトリウム溶液 50 ml で 2 回抽出する。有機相を分離し、濃縮し、残渣を酢酸エチル 30 ml で攪拌する。不溶成分を濾過し、有機相を濃縮する。アセトニトリル/ジクロロメタン 1:1 を溶離剤として用いて、シリカゲルのフラッシュクロマトグラフィーにより残渣を精製する。生成物含有画分を濃縮し、残渣を分取用 HPLC (方法 1) により再度精製する。適切な画分を濃縮し、乾燥させる。二保護中間体 30 mg (理論値の 3%) を得る。

20

HPLC (方法 2) : $R_t = 5.71$ 分 ;

LC-MS (方法 12) : $R_t = 3.74$ 分 ; $m/z = 791$ (M+H)⁺

【0144】

段階 b) :

保護中間体 30 mg (0.038 mmol) を無水トリフルオロ酢酸 50 ml 中で終夜攪拌する。次いで、混合物を高真空下で濃縮し、温度を約 20 °C に維持する。残渣を pH 3 に調節した塩酸 30 ml に取り、ジクロロメタン 20 ml を混合物に添加する。相を分離し、水相を再度ジクロロメタン 20 ml で、続いて酢酸エチル 20 ml で抽出する。水相を分離し、次いで、高真空下で短時間蒸留して残っている酢酸エチルを除去し、最後に凍結乾燥する。

30

収量 : 17 mg (理論値の 78%)

HPLC (方法 2) : $R_t = 4.14$ 分 ;

LC-MS (方法 12) : $R_t = 1.67$ 分 ; $m/z = 537$ (M+H)⁺

【0145】

B. 溶解性、安定性および遊離挙動の測定

40

a) 溶解度の決定 :

試験物質を水または希塩酸 (pH 4) に懸濁する。この懸濁液を室温で 24 時間振盪する。224000 g で 30 分間の超遠心後、上清を DMSO で希釈し、HPLC により分析する。DMSO 中の試験化合物の 2 点校正プロットを定量に使用する。

【0146】

HPLC 方法 :

DAD (G1315A)、quat. ポンプ (G1311A)、オートサンプラー CTC HTS PAL、脱気装置 (G1322A) およびカラムサーモスタット (G1316A) を備えた Agilent 1100; カラム: Zorbax Extend-C18 3.5 μ ; 温度: 40 °C; 溶離剤 A: 水+過塩素酸 5 ml / l、溶離剤 B: アセトニトリル; 流速: 0.7 ml / 分; グラジエント: 0-0.5 分 98% A、2% B; 勾配 0

50

.5－4.5分10%A、90%B；4.5－6分10%A、90%B；勾配6.5－6.7分98%A、2%B；6.7－7.5分98%A、2%B。

【0147】

代表的な例示的实施態様の希塩酸（pH4）中の溶解性を、表1に示す：

表1

【表2】

実施例番号	溶解性 [mg/l]
1	320
2	>500
3	340
4	480
5	330
6	860
7	340
10	680
11	960
12	350

10

【0148】

20

これらの溶液における例示的化合物の分解は観察されない。

基礎となる活性物質〔化合物（A）〕の希塩酸（pH4）中の溶解性は、この試験で8.1mg/lであると測定される。

実施例13の化合物について見出された、塩酸でpH4に調節した5%デキストロース中での溶解性は、2.70g/lである；実施例20、21および22の化合物について測定された溶解性は、3g/lより高い。

【0149】

b) 様々なpH値のバッファー中での安定性：

試験物質0.3mgを、2mlのHPLCバイアルに量り入れ、アセトニトリル0.5mlを添加する。物質を、サンプル容器を超音波浴に約10秒置くことにより溶解する。次いで、各バッファー溶液0.5mlを添加し、サンプルを再度超音波浴で処理する。

30

【0150】

用いるバッファー溶液：

pH4.0：Millipore 水1lを、1N塩酸でpH4.0に調節する；

pH7.4：塩化ナトリウム90g、リン酸二水素カリウム13.61gおよび1M水酸化ナトリウム溶液83.35gを、Millipore 水で1lとし、次いで1：10に希釈する。

試験溶液5μl分を、HPLCにより、未変化の試験物質の含量について、37℃で24時間にわたり毎時間分析する。適切なピークのパーセントの面積を定量に使用する。

【0151】

HPLCの方法：

40

DAD (G1314A)、バイナリーポンプ (G1312A)、オートサンプラー (G1329A)、カラムオーブン (G1316A)、サーモスタット (G1330A) を備えた Agilent 1100；カラム：Kromasil 100 C18, 125 mm x 4.6 mm, 5 μm；カラム温度：30℃；溶離剤A：水＋過塩素酸5ml/l、溶離剤B：アセトニトリル。

グラジエント1：

0－1.0分98%A、2%B→1.0－13.0分50%A、50%B→13.0－17.0分10%A、90%B→17.0－18.0分10%A、90%B→18.0－19.5分98%A、2%B→19.5－23.0分98%A、2%B；流速：2.0ml/分；UV検出：210nm。

グラジエント2：

50

0－3.0分78%A、22%B→3.0－15.0分78%A、22%B→15.0－17.0分10%A、90%B→17.0－18.0分10%A、90%B→18.0－20.0分98%A、2%B→20.0－23.0分98%A、2%B；流速：2.0ml／分；UV検出：210nm。

グラジエント3：

0－3.0分70%A、30%B→3.0－15.0分70%A、30%B→15.0－17.0分10%A、90%B→17.0－18.0分10%A、90%B→18.0－20.0分98%A、2%B→20.0－23.0分98%A、2%B；流速：2.0ml／分；UV検出：210nm。

【0152】

10

各時点でのピーク面積（F）の比を、開始時のピーク面積と比較して、各例示的实施態様について表2に示す：

表2

【表 3】

実施例 番号	バッファー pH	4時間後の %試験物質 [F(t=4h) x 100 / F(t=0h)]	24時間後の %試験物質 [F(t=24h) x 100 / F(t=0h)]
1	4	100	99
1	7.4	49	3
2	4	100	100
2	7.4	96	80
3	4	100	99
3	7.4	88	48
4	4	100	100
4	7.4	31	0
5	4	100	94
5	7.4	68	14
6	4	100	98
6	7.4	90	59
7	4	100	99
7	7.4	48	3
8	4	99	81
8	7.4	2	0
10	4	100	99
10	7.4	8	0
11	4	100	99
11	7.4	10	0
12	4	100	98
12	7.4	0	0
13	4	99	91
14	4	57	0
14	7.4	0	0
17	4	83	55
18	4	100	99
19	4	100	97
19	7.4	0	0
20	4	98	90
20	7.4	0	0
21	4	100	100
21	7.4	92	66
22	4	100	98

10

20

30

40

【0153】

この試験では、pH 7.4で、試験物質の含量の減少と同時に有効成分化合物（A）の増加が見出される。

【0154】

c) ラット血漿におけるインビトロの安定性（HPLC検出）：

物質 1mg をジメチルスルホキシド 1.25ml に溶解する。次いで、水 1.25ml を添加する。このサンプル溶液 500 μl をラット血漿 500 μl と 37℃ で混合し、振盪

50

する。最初のサンプル（10 μl）をすぐにHPLC分析用にする。インキュベーションの開始後2時間までの期間に、さらなるアリコート（2、5、10、30、60および90分後）に取り、各試験物質およびそこから遊離した有効成分化合物（A）の内容量を決定する。

【0155】

HPLC方法：

DAD (G1314A)、バイナリーポンプ (G1312A)、オートサンプラー (G1329A)、カラムオーブン (G1316A)、サーモスタット (G1330A) を備えた Agilent 1100; カラム: Kromasil 100 C18, 250 mm x 4.6 mm, 5 μm; カラム温度: 30 °C; 溶離剤 A: 水+過塩素酸 5 ml / 1、溶離剤 B: アセトニトリル。

グラジエント：

0-0.5分98%A、2%B→0.5-3.0分73%A、27%B→3.0-18.0分73%A、27%B→18.0-20.0分10%A、90%B→20.0-21.0分90%A、10%B→21.0-22.5分98%A、2%B→22.5-25.0分98%A、2%B; 流速: 2.0 ml / 分; UV検出: 248 nm。

【0156】

結果：

実施例13、17、20、22および23の化合物は、この試験において2分未満の半減期で分解され、有効成分化合物（A）を遊離させる。

【0157】

d) ラットおよびヒト血漿におけるインビトロの安定性（LC/MS-MS検出）：

所定の血漿体積（例えば2.0 ml）を、水浴中の密閉試験管で37 °Cに温める。意図した温度に達した後、所定の量の試験物質を溶液（溶媒の体積は、血漿体積の2%以下である）として添加する。血漿を振盪し、最初のサンプル（50-100 μl）をすぐに取る。次いで4-6個のさらなるアリコートを、インキュベーション開始後2時間までの期間中に取り。

【0158】

アセトニトリルを血漿サンプルに添加し、タンパク質を沈殿させる。遠心分離後、上清中の試験物質および、必要に応じて、試験物質の既知の切断生成物を、適するLC/MS-MS方法により定量的に測定する。

ヘパリン化ラットまたはヒト血液における安定性の決定は、血漿について記載した通りに実施する。

【0159】

Wistar ラットの血漿において様々な時点で測定した、実施例6の化合物およびそれから遊離した有効成分化合物（A）の濃度cを、表3に示す：

表3

【表4】

インキュベーション時間 [h]	実施例6のc [mg/l]	化合物(A)のc [mg/l]
0	0.403	0.0789
0.08	0.0756	0.155
0.17	0.0079	0.175
0.5	n.d.	0.178
1	n.d.	0.186
2	n.d.	0.187

【0160】

Wistar ラットの血漿において様々な時点で測定した、実施例13の化合物およびそれから遊離した有効成分化合物（A）の濃度cを、表4に示す：

表4

【表 5】

インキュベーション時間 [h]	実施例13の c [mg/l]	化合物(A)の c [mg/l]
0	0.5	0.178
0.08	n.d.	0.237
0.17	n.d.	0.247
0.5	n.d.	0.257
1	n.d.	0.275

n.d. = 測定不能（検出限界より低い）

10

【0161】

e) Wistar ラットにおける i.v. 薬物動態：

物質投与の前日に、実験動物（オスの Wistar ラット、体重 200 – 250 g）の頸静脈に、血液を得るためのカテーテルを、イソフルラン（登録商標）麻酔下で移植する。

実験当日、所定の用量の試験物質を、Hamilton（登録商標）ガラスシリンジを使用して、溶液として尾静脈に投与する（ボーラス投与、投与期間 < 10 秒）。血液サンプル（8 – 12 時点）を、カテーテルを通して、物質投与後 24 時間の期間にわたり連続的に取る。ヘパリン処理管でサンプルを遠心分離することにより、血漿を得る。アセトニトリルを時点毎に所定の血漿体積に添加し、タンパク質を沈殿させる。遠心分離後、上清における試験物質、および、必要に応じて、試験物質の既知の切断生成物を、適する LC/MS – MS 方法を使用して定量的に測定する。

20

【0162】

測定される血漿濃度を使用して、試験物質およびそこから遊離した有効成分化合物（A）の、AUC、 C_{max} 、 $T_{1/2}$ （半減期）および CL（クリアランス）などの薬物動態的パラメーターを算出する。

【0163】

f) 代謝的安定性を測定するための肝細胞アッセイ：

肝細胞の存在下の試験化合物の代謝的安定性は、実験において可能な限り線形の動態学的条件を確実にするために、化合物を低濃度（好ましくは 1 μ M 未満）および少数の細胞（好ましくは 1×10^6 細胞/ml）でインキュベートすることにより測定する。化合物の半減期（即ち、分解）を測定するために、インキュベーション溶液の 7 個のサンプルを、固定した時間パターンで、LC – MS 分析用にとる。様々なクリアランスパラメーター（CL）および F_{max} 値をこの半減期から算出する（下記参照）。

30

【0164】

CL および F_{max} 値は、肝細胞における第 1 相および第 2 相の化合物の代謝の測定を表す。インキュベーション混合物中の酵素に対する有機溶媒の影響を最小化するために、この濃度を一般的に 1%（アセトニトリル）または 0.1%（DMSO）に限定する。

【0165】

1.1×10^8 細胞/肝臓 1 g の肝臓中の肝細胞の細胞数を、全ての種（species and breeds）について計算に使用する。インキュベーション時間（通常 90 分間）を超えて延びる半減期に基づいて算出した CL パラメーターは、大まかなガイドラインと見なし得るだけである。

40

【0166】

算出したパラメーターおよびそれらの意味は、以下の通りである：

F_{max} 十分に攪拌 [%] 経口投与後の最大の可能なバイオアベイラビリティ

計算： $(1 - CL_{血液} \text{十分に攪拌} / QH) \times 100$

$CL_{血液}$ 十分に攪拌 [L / (h * kg)] 算出される血液クリアランス（十分に攪拌したモデル）

計算： $(QH * CL'_{内因性}) / (QH + CL'_{内因性})$

$CL'_{内因性}$ [ml / (分 * kg)] 化合物を代謝する肝臓の（肝細胞の）最大能力

50

(肝臓の血流が律速ではないと仮定して)

計算: $CL'_{\text{内因性、明白}} \times \text{種特異的肝細胞数} [1.1 \times 10^8 / \text{肝臓 } 1 \text{ g}] \times \text{種特異的肝臓重量} [g / kg]$

$CL'_{\text{内因性、明白}} [ml / (分 \times mg)]$ 用いた肝細胞の細胞数 $x (x \times 10^6 / ml)$ で除去定数 (elimination constant) を除すことにより、それを標準化する

計算: $k_{e1} [1 / 分] / (\text{細胞数} [x \times 10^6] / \text{インキュベーション体積} [ml])$

(QH = 種特異的な肝臓の血流)

【0167】

g) ラットの動静脈シャントモデルにおける抗血栓効果の測定:

10

絶食中のオスのラット (系統: HSD CPB:WU) を、Rompun/Ketavet 溶液 ($12 \text{ mg} / kg$ / $50 \text{ mg} / kg$) の腹腔内投与により麻酔する。P.C. Wong et al. [Thrombosis Research 83 (2), 117-126 (1996)] により記載された方法に基づき、動静脈シャントで血栓形成を誘導する。この目的で、左頸静脈および右頸動脈を露出させる。8 cm 長のポリエチレンカテーテル (PE60、Becton-Dickinson より) を動脈に設置し、続いて、血栓形成性表面をもたらしのために、二重ループにした粗いナイロンのループ (60 x 0.26 mm、Berkley Trilene より) を含む 6 cm 長の Tygon チューブ (R-3606, ID 3.2 mm, Kronlab より) を設置する。2 cm 長のポリエチレンカテーテル (PE60、Becton-Dickinson より) を頸静脈に設置し、6 cm 長のポリエチレンカテーテル (PE160、Becton-Dickinson より) により Tygon チューブに連結する。シャントを開く前に、そのチューブを生理塩水で満たす。体外循環を 15 分間維持する。次いで、シャントを取り除き、すぐに血栓を伴うナイロン糸の重量を量る。ナイロン糸の空の重量は、実験開始前に見出された。体外循環を取り付ける前に、試験物質 (0.1 N 塩酸で pH 4 に調節した生理塩水中の溶液として) をボーラス注射として投与する。

20

【0168】

C. 医薬組成物の例示的实施態様

本発明による化合物は、例えば、以下の方法で医薬製剤に変換できる:

i.v. 溶液:

本発明による化合物を、生理的に耐容される溶媒に飽和溶解度より低い濃度で溶解する (例えば、等張塩水、5% グルコース溶液および / または 30% PEG 400 溶液、各々 pH 3-5 に調節する)。溶液を必要に応じて濾過滅菌し、かつ / または、無菌かつパイロジェン不含の注射容器に分配する。

30

フロントページの続き

- (74)代理人 100067035
弁理士 岩崎 光隆
- (74)代理人 100146259
弁理士 橋本 諭志
- (72)発明者 ハンスーゲオルク・ラーヒェン
ドイツ連邦共和国デー 5 1 3 7 5 レーフレルクーゼン、ジュルダーシュトラッセ 3 番
- (72)発明者 ウルスラ・クレンツ
ドイツ連邦共和国デー 4 2 7 9 9 ライヒリンゲン、アム・クロスター 3 3 番
- (72)発明者 カールーハインツ・シュレマー
ドイツ連邦共和国デー 4 2 1 1 3 ヴッパータール、ヴィルトシュタイヒ 2 2 アー番
- (72)発明者 エリーザベト・ペルツボルン
ドイツ連邦共和国デー 4 2 3 2 7 ヴッパータール、アム・テッヒャー・ブッシュ 1 3 番
- (72)発明者 イェルク・ケルデニツヒ
ドイツ連邦共和国デー 4 2 1 1 3 ヴッパータール、ダマシュケヴェーク 4 9 番

審査官 磯部 洋一郎

- (56)参考文献 国際公開第 0 5 / 0 2 8 4 7 3 (WO, A 1)
国際公開第 0 1 / 0 0 0 6 2 2 (WO, A 1)
国際公開第 0 3 / 0 0 0 2 5 6 (WO, A 1)
国際公開第 0 3 / 0 0 6 4 4 0 (WO, A 1)
国際公開第 0 8 / 0 2 2 7 8 6 (WO, A 1)
ROEHRIG S, JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 米国, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., 2 0 0 5
年 9 月 2 2 日, V48 N19, P5900-5908
KAHNS A H, INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, 英国, 1 9 9 1 年, V71 N1-2, P31-43

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C 0 7 D 4 1 3 / 1 4
A 6 1 K 3 1 / 5 3 7 7
A 6 1 P 7 / 0 2
C A p l u s (STN)
R E G I S T R Y (STN)