

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年8月11日(11.08.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/168962 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/192 (2006.01) A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01) A61P 17/04 (2006.01)
A61K 31/196 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/4192 (2006.01) C07K 7/08 (2006.01)
A61K 31/421 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2022/004558

(22) 国際出願日: 2022年2月4日(04.02.2022)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2021-016917 2021年2月4日(04.02.2021) JP

(71) 出願人: 国立大学法人九州大学 (KYUSHU UNIVERSITY, NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION) [JP/JP]; 〒8190395 福岡県福岡市西区元岡 7 4 4 Fukuoka (JP). 国立大学法人 東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO)

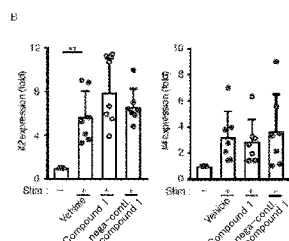
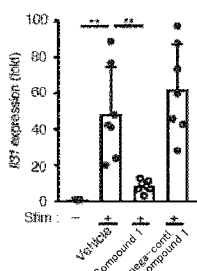
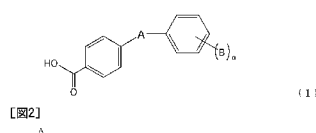
[JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 福井 宣規 (FUKUI, Yoshinori); 〒8190395 福岡県福岡市西区元岡 7 4 4 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 宇留野武人 (URUNO, Takehito); 〒8190395 福岡県福岡市西区元岡 7 4 4 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 金井 求 (KANAI, Motomu); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 生長 幸之助 (OISAKI, Kounosuke); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 齋木 邦子 (SAIKI, Kuniko); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所 (SAEGUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町 1 - 7 - 1 北浜コニシビル Osaka (JP).

(54) Title: AGENT FOR SUPPRESSING IL-31 PRODUCTION AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING THE SAME

(54) 発明の名称: IL-31 産生抑制剤、及びそれを含有する医薬組成物



(57) Abstract: The present invention provides an agent for suppressing interleukin 31 (IL-31) production and a pharmaceutical composition containing the same. The present invention also provides a novel compound that is effective as an active ingredient of the agent for suppressing IL-31 production. These contain a compound represented by formula (1) or a salt thereof as an active ingredient. (In formula (1): A is a -NH-N=C (R₁)- group, a divalent nitrogen-containing 5-membered heterocyclic group, or a -NH-CO- group; the R₁ is a hydrogen atom or a C₁₋₄ alkyl group; B is the same or different, is a C₁₋₆ alkyl group that may have one hydroxyl group, a mono- or di-(C₁₋₆ alkyl) amino group that may have one hydroxyl group, a halogen atom, a halo C₁₋₆ alkyl group, a C₂₋₆ alkynylene group, or a carboxy group; the C₁₋₆ alkyl group of the mono- or di-(C₁₋₆ alkyl)-amino group may bond to a carbon atom adjacent to the carbon atom of the phenyl group to which it is bonded to form a 5 to 6-membered ring; and n is an integer between 1 and 5.)

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

(57) 要約: 本発明はインターロイキン-31 (IL-31) 産生抑制剤、及びそれを含有する医薬組成物を提供する。またIL-31産生抑制剤の有効成分として有用な新規化合物を提供する。これらは、下式(1)で示される化合物またはその塩を有効成分として配合する: {式(1)中、Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基、二価のN含有5員複素環基、または $-NH-CO-$ 基であり、前記 R_1 は、水素原子または C_{1-4} アルキル基であり、Bは、同一又は異なって、1つの水酸基を有することのある C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるモノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、ハロ C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルキニレン基、またはカルボキシ基であり、前記モノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基は、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5~6員環を形成してもよく、nは1~5の整数を示す。}。

明 細 書

発明の名称：

IL-31 産生抑制剤、及びそれを含有する医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、インターロイキン-31（以下、「IL-31」と略称する）産生抑制剤、及びそれを含有する医薬組成物に関する。また本発明はIL-31産生抑制剤の有効成分として有用な新規化合物に関する。

背景技術

[0002] アトピー性皮膚炎（atopic dermatitis：以下、「AD」と略称する場合がある）は、再発性湿疹と激しい痒みを特徴とする慢性炎症性皮膚疾患である。痒みは、ADを始め、多くの疾患で認められる代表的な症状であり、QOLを著しく損なうことから、その対策は重要である。従来、痒みの研究は、ヒスタミンを中心に進んできたが、ADの痒みの多くは、H1ヒスタミン受容体遮断薬では抑制されないことが分かっている。

[0003] 痒みは、さまざまな化学メディエーターによって誘発される。特にIL-31はADに関連する主要なプルリトゲンであることが知られている（非特許文献1参照）。IL-31は主にCD4⁺ヘルパーT細胞によって産生され、IL-31受容体A（IL-31 RA）とオンコスタチンM受容体で構成されるヘテロ二量体受容体を介してシグナルを伝達する（非特許文献1参照）。最近の臨床研究では、IL-31 RAに対する特異的抗体によってIL-31シグナルを遮断することで、AD患者の掻痒が緩和されることがわかっている（非特許文献2参照）。しかしながら、ヘルパーT細胞によるIL-31産生を阻害することによってADを治療する方法は未だ確立されていない。

[0004] ところで、ヒトにおいて、DOCK8欠損により、ADに特徴づけられる複合免疫不全症を発症することが知られている（非特許文献3参照）。本発明者らは、以前、DOCK8欠損（Dock8^{-/-}）であるが、Dock8^{+/-}ではないマウスを、AND T細胞受容体（AND TCR）を発現するトランスジェニックマウス（「AND Tgマウ

ス」と称する)と交配して作製したDOCK8欠損AND Tgマウス(AND TCRを発現するDOCK8欠損マウス、以下「Dock8^{-/-}AND Tgマウス」とも称する)は、血清IL-31の上昇を伴うAD様皮膚疾患を自然発症することを見出し報告している(非特許文献4)。重要なことに、Dock8^{-/-} AND TgマウスのCD4⁺ ヘルパーT細胞は、抗原(moth cytochrome Cペプチド:MCC88-103)で刺激すると、転写因子EPAS1(Endothelial PAS domain-containing protein 1)に依存して、大量のIL-31を産生する(非特許文献4)。また、当該EPAS1は、ARNT(Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator)と協調して低酸素応答を制御するが、IL-31の産生にはARNTは無関係で、SP1と協調的に機能して、IL-31の産生を制御していることがわかっている(非特許文献4)。これらのことから、EPAS1は、副作用のリスクを抑えながらも、IL-31の産生をコントロールするための創薬標的として有用であると考えられる。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1: Furue M, Yamamura K, Kido-Nakahara M, Nakahara T, Fukui Y. Emerging role of interleukin-31 and interleukin-31 receptor in pruritus in atopic dermatitis. *Allergy* 2018;73:29-36.

非特許文献2: Kabashima K, Furue M, Hanifin JM, Pulka G, Wollenberg A, Galus R, et al. Nemolizumab in patients with moderate-to-severe atopic dermatitis: Randomized, phase II, long-term extension study. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142:1121-1130.e7.

非特許文献3: Zhang Q, Davis JC, Dove CG, Su HC. Genetic, clinical, and laboratory markers for DOCK8 immunodeficiency syndrome. *Dis Markers* 2010;29:131-9.

非特許文献4: Yamamura K, Uruno T, Shiraishi A, Tanaka Y, Ushijima M, Nakahara T, et al. The transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction. *Nat Commun* 2017;8:13946.

非特許文献5: Kok-Fui, L.; Kit-Lam, C.; Chong-Yew, L. Eur. J. Med. Chem. 2015, 94, 195

非特許文献6: Tian H, McKnight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. Genes Dev 1997;11:72-82

非特許文献7: Moreno-Manzano V, Rodri' guez-Jime' nez FJ, Acen~a-Bonilla JL, Fustero-Lardi' es S, Erceg S, Dopazo J, et al. FM19G11, a New Hypoxia-inducible Factor (HIF) Modulator, Affects Stem Cell Differentiation Status. J Biol Chem 2010;285:1333-42.

非特許文献8: Peng T, Qi B, He J, Ke H, Shi J. Advances in the Development of Phosphodiesterase-4 Inhibitors. J Med Chem 2020;63:10594-10617

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、IL-31産生抑制剤を提供することを課題とする。

[0007] また、本発明は、掻痒惹起物質であるIL-31を標的とした掻痒性疾患、特に痒みを伴う炎症性疾患であるアトピー性皮膚炎の治療薬として有効な医薬組成物を提供することを課題とする。好ましくは、本発明は、ヘルパーT細胞によるIL-31産生を抑制する作用を有し、当該作用に基づいて、掻痒性疾患に特徴的な症状である痒みを低減する効果を発揮する、医薬組成物を提供することを課題とする。より好ましくは、本発明は、IL-31産生を抑制する作用に基づいて、痒みを低減する効果を有するとともに、副作用の少ない、医薬組成物を提供することを課題とする。

[0008] さらに、本発明は、当該医薬組成物の有効成分として有用な新規化合物、及びその医薬用途を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0009] 前述するように、EPAS1は、IL-31の産生をコントロールするための創薬標的として有用である。そこで、本発明者らは、アトピー性皮膚炎の治療薬の

有効成分となりえる低分子化合物を開発するために、EPAS1を介したIL-31遺伝子のプロモーターの活性化に着目し、Epas1依存的にIL-31遺伝子の転写活性化を反映するレポーター細胞を作製し、当該細胞を用いたアッセイシステム（ルシフェラーゼレポーターアッセイ）を構築した。

[0010] 具体的には、マウスIL-31遺伝子のExon 1の上流約1.3kbのプロモーター領域を、発光タンパク質ルシフェラーゼ遺伝子に繋いだコンストラクト（IL31-luc）と、抗生物質（Doxycycline）の誘導のもとでEpas1を発現できるpTet-oneシステム（pTet-ONE-Epas1）を組み込んだマウス繊維芽細胞（Mouse embryonic fibroblast：MEF）を作製した（図1参照）。図1中、3Gは、Doxycyclineに結合して活性化される転写因子である。図1に示すように、Doxycycline非存在下（Doxycycline(-)）では、3GはEpas1を発現するプロモーター領域（TREp-3G）に結合できず、Epas1は発現しない。一方、Doxycycline存在下（Doxycycline(+)）では、Doxycyclineが3Gに結合し、それが前記TREp-3Gに結合することでEpas1が発現誘導されて、IL-31遺伝子のプロモーターが活性化する。

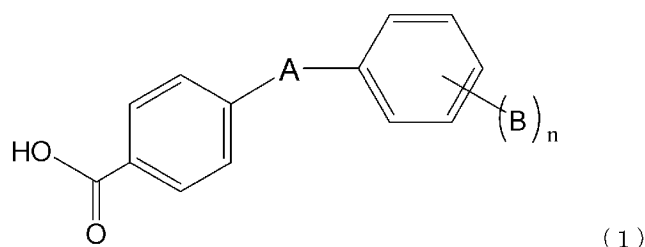
[0011] このアッセイシステムを用いて、約1万もの化合物群（未公開化合物を含む）からなる化学ライブラリーを一次スクリーニングして得られた化合物を、さらにDock8^{-/-} AND Tgマウス由来のヘルパーT細胞を用いた2次スクリーニングに供した結果、あるヒドラゾン化合物（4-(2-(4-isopropylbenzylidene)hydrazineyl)benzoic acid）（以下、これを「化合物1」とも称する）が、インターロイキン-2（IL-2）やインターロイキン-4（IL-4）の産生に影響することなく、IL-31の産生を低濃度で選択的に阻害する作用を発揮することを確認した。

[0012] 本発明は、これらの知見に基づいて、化合物1と同様にIL-31遺伝子の発現抑制作用に基づきIL-31の産生を、好ましくは選択的に抑制する化合物を見出すべく、さらに検討を重ねた結果、完成したものであり、下記の実施形態を有するものである。

[0013] (1) IL-31 産生抑制剤

(I-1) 下式(1)で示される化合物またはその塩を有効成分とするIL-31
産生抑制剤：

[化1]



{式(1)中、

Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基、二価のN含有5員複素環基、 $-NH-CO-$ 基、または二価のN含有5員複素環基と $-NH-CO-$ 基とが連結した基であり、

前記 R_1 は、水素原子または C_{1-4} アルキル基であり、

Bは、同一又は異なって、1つの水酸基を有することのある C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるモノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、ハロ C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルキニレン基、またはカルボキシ基であり、

前記モノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基は、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5～6員環を形成してもよく、

n は1～5の整数を示す。}。

[0014] (I-2) 前記化合物(1)が、前記式(1)においてBで示される置換基を有するフェニル基のオクタノール／水分配係数(KLogP)が1.5以上の化合物である、(I-1)に記載するIL-31産生抑制剤。

[0015] (I-3) 前記化合物(1)が、前記式(1)において、

Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基であり、

前記 R_1 は、水素原子であり、

Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル

基であり、

前記ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ基の C_{1-6} アルキル基の少なくとも 1 つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して 6 員環を形成してもよく、

n は 1 ～ 5 の整数である、

化合物である、(1-1) 又は (1-2) に記載する IL-31 産生抑制剤。

[0016] (1-4) 前記化合物 (1) が、前記式 (1) において、

A は、二価の N 含有 5 員複素環基であり、

B は、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

n は 1 ～ 5 の整数である、

化合物である、(1-1) 又は (1-2) に記載する IL-31 産生抑制剤。

[0017] (II) IL-31 産生抑制作用に基づく薬理作用を有する医薬組成物

(11-1) (1-1) ～ (1-4) のいずれか一項に記載する IL-31 産生抑制剤、及び薬学的に許容される担体又は賦形剤を含有する、医薬組成物。

(11-2) 経口投与形態を有する、(11-1) に記載する医薬組成物。

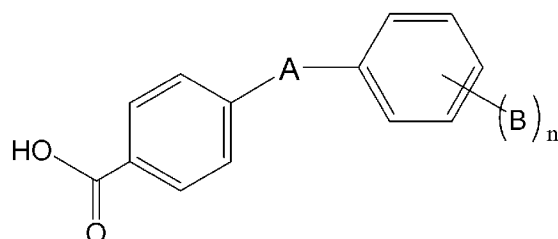
(11-3) 抗掻痒剤である、(11-1) 又は (11-2) に記載する医薬組成物。

(11-4) IL-31 介在性の掻痒性疾患、好ましくは痒みを伴う炎症性疾患、より好ましくはアトピー性皮膚炎の治療薬である、(11-1) 又は (11-2) に記載する医薬組成物。

[0018] (III) ヒドラゾン系化合物、及びその用途

(111-1) 下式 (1) で示される化合物またはその塩：

[化2]



(1)

{式(1)中、

Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基、二価のN含有5員複素環基、 $-NH-CO-$ 基、または二価のN含有5員複素環基と $-NH-CO-$ 基とが連結した基であり、

前記 R_1 は、水素原子または C_{1-4} のアルキル基であり、

Bは、同一又は異なって、1つの水酸基を有することのある C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるモノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、ハロ C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルキニレン基、またはカルボキシ基であり、

前記モノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基は、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5～6員環を形成してもよく、

n は1～5の整数を示す。}。

[0019] (III-2) 前記式(1)において、Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基であり、 R_1 は、水素原子であり、

Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

前記ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基の少なくとも1つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して6員環を形成してもよく、

n は1～5の整数である、(III-1)に記載する化合物またはその塩。

[0020] (III-3) 前記式(1)において、Aは、二価のN含有5員複素環基であり、

Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

n は1～5の整数である、(III-1)に記載する化合物またはその塩。

[0021] (IV) スクリーニング系

ドキシサイクリン存在下(Doxycycline(+))でEPAS1が発現誘導されるようにしたマウスMEF細胞あるいはヒト細胞株（例えばヒトHCT116細胞）にIL-31遺伝子プロモーター（Il31 p）により誘導されるレポーター蛋白発現系が導入されてなる、当該レポーター蛋白の発現抑制を示すIL-31産生抑制剤のスクリーニング系。

発明の効果

[0022] 本発明によれば、IL-2やIL-4などのサイトカインの遺伝子発現や産生に影響を及ぼすことなく、IL-31の遺伝子発現を選択的に阻害し、IL-31産生を特異的に抑制する作用を有するIL-31産生抑制剤を提供することができる。本発明のIL-31産生抑制剤は、細胞毒性が低いため、ヒトを含む哺乳動物に適用される医薬組成物の有効成分として有用に使用することができる。具体的には、本発明のIL-31産生抑制剤は、IL-31介在性の掻痒性疾患の治療剤、特に痒みを緩和ないし低減する効果を有する治療剤の有効成分として有用である。このため、本発明のIL-31産生抑制剤を有効成分とする医薬組成物は、安全性の高い、IL-31介在性の掻痒性疾患の治療剤として、特に痒みを緩和ないし低減する効果を有する治療剤として有用である。

[0023] さらに、本発明が提供する新規化合物は、IL-31の遺伝子発現を選択的に阻害し、IL-31産生を特異的に抑制する作用を有する。加えて、ヒトなどの哺乳動物への安全性が高いため、前記IL-31産生抑制剤、及び医薬組成物の有効成分として有用である。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]化学ライブラリーの一次スクリーニングに使用したレポーター細胞（MEF）システムの概略図を示す（実験例1）。ドキシサイクリンの存在下（Doxycycline(+)）では、EPAS1の発現がMEFで誘導され、IL-31遺伝子プロモーター（Il31 p）が活性化される。

[図2]Dock8^{-/-} AND Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞（3 x 10⁵細胞）を、MCC88-103（3 μg/ml）の存在下、被験化合物（化合物1 [4-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジネイル)安息香酸]、ネガティブ対照化合物1（図中、「nega-

contl.compound 1」と称する。以下の図も同じ。) [4-(2-(4-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)ベンジリデン)ヒドラジネイル)安息香酸]、 $2.5\mu\text{M}$) またはビヒクルのみ (0.1%DMSO) を含むT細胞枯渇照射脾臓細胞 (5×10^6 細胞) とともに24時間培養した後、IL-31 遺伝子の発現量 (Il31 expression) (図 2 A)、並びにIL-2遺伝子 (Il2) 及びIL-4遺伝子 (Il4) の発現量 (図 2 B) を測定した結果を示す (実験例 1)。

[図3]前記CD4⁺ T細胞を、MCC88-103の存在下、化合物 1 及びネガティブ対照化合物 1 ($20\mu\text{M}$) でそれぞれ処理し、ELISAアッセイによりIL-31 及びIL-2の産生量 (pg/ml) を測定した結果を示す (実験例 1)。

[図4]PMA とイオノマイシンによる非特異的T細胞増殖アッセイの結果を示す (実験例 1)。横軸は、各化合物 (化合物 1、ネガティブ対照化合物 1) の添加量 (μM) を、縦軸はCD4⁺ T細胞に取り込まれた³H-チミジンに起因する放射エネルギー (cpm $\times 10^5$) を示す (実験例 1)。

[図5]化合物 1 をマウスに経口投与し、24時間にわたり血中の化合物 1 の濃度 (μM) を測定した結果を示す (実験例 2 (1))。

[図6]引っ掻き行動測定の結果を示す (実験例 2 (2))。縦軸は、2時間中の引っ掻き行動の回数を示す。

[図7]ヒト癌細胞株HT1080を、FM19G11又は化合物 1 で処理して、低酸素によって誘導されるVEGFAおよびGLUT1の発現に対する影響を評価した結果を示す (実験例 3 (1))。

[図8]クロマチン免疫沈降 (ChIP) アッセイの結果を示す (実験例 3 (2))。縦軸はTotal DNAに対する割合%を示す。

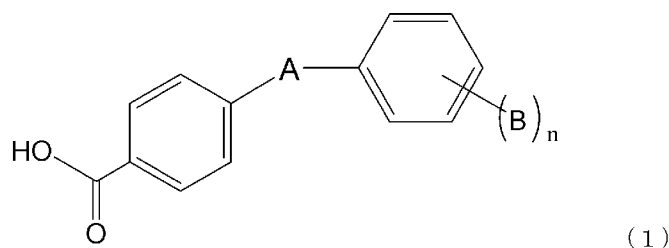
[図9]実験例 4 の結果を示す。アトピー性皮膚炎 (AD) 患者のCD4⁺ T細胞は健康者 (Control) のCD4⁺ T細胞よりも大量のIL-31 を産生するが、化合物 1 処理により、用量依存的にIL-31 産生量が低減した (図 9 A)。一方、IL-2産生量には影響はなかった (図 9 B)。

発明を実施するための形態

[0025] (1) IL-31産生抑制剤

本発明のIL-31 産生抑制剤は、下記一般式（１）で示される化合物、またはその塩を有効成分とすることを特徴とする。

[化3]



[0026] 式（１）中のAは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基、二価のN含有5員複素環基、 $-NH-CO-$ 基、または二価のN含有5員複素環基と $-NH-CO-$ 基が連結してなる基を示す。好ましくは $-NH-N=C(R_1)-$ 基、又は二価のN含有5員複素環基であり、より好ましくは $-NH-N=C(R_1)-$ 基である。

[0027] $-NH-N=C(R_1)-$ 基において、 R_1 は、水素原子またはアルキル基とすることができる。アルキル基としては、制限されないものの、好ましくは直鎖状または分岐状の C_{1-6} のアルキル基、より好ましくは C_{1-3} のアルキル基、特に好ましくはメチル基を挙げることができる。 R_1 として好ましくは水素原子である。

[0028] 二価のN含有5員複素環基は、環中に少なくとも1つの窒素原子を有する二価の5員複素環基であればよいが、好ましくはN含有5員不飽和複素環基である。当該N含有5員複素環基は、窒素原子以外に、酸素原子または硫黄原子などの複素原子を有するものであってもよい。例えば、制限されないものの、一つの窒素原子を有する5員不飽和複素環としてオキサゾール、イソオキサゾール、ピロール、及びチアゾール；二つの窒素原子を有する5員不飽和複素環としてイミダゾール、ピラゾール、オキサジアゾール、チアジアゾール、フラザン；三つの窒素原子を有する5員不飽和複素環としてトリアゾールを挙げることができる。好ましいN含有5員複素環基は、複素原子として窒素原子のみ、または窒素原子と酸素原子を有するものである。より好ましくは、一つの窒素原子と一つの酸素原子を有するオキサゾール、及びイ

ソオキサゾール；二つの窒素原子を有するイミダゾール、及びピラゾール；三つの窒素原子を有するトリアゾール；二つの窒素原子と一つの酸素原子を有するオキサジアゾールを例示することができる。

[0029] 二価のN含有5員複素環基の2つの結合手は、最も離間した位置に存在することが好ましい。例えば、化合物(1)の主骨格の一部であるp-カルボキシフェニル基に結合しているN含有5員複素環基の一方の結合手の位置を1位とした場合、もう一方の結合手は3位または4位に有していることが好ましい。

[0030] 式(1)中のBは、同一又は異なって、1つの水酸基を有することのあるアルキル基、1つの水酸基を有することのあるモノ若しくはジ(アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、ハロアルキル基、アルキニレン基、またはカルボキシ基である。

[0031] 制限されないが、これらの置換基は、当該置換基を有するフェニル基のオクタノール／水分配係数(CLogP)が1.5以上になるように設定することが好ましい。化合物(1)がIL-31産生抑制作用を発揮するうえで、Bで示される置換基を有するフェニル基は、KLogPが、好ましくは2以上、より好ましくは2.5以上、さらに好ましくは3以上、特に好ましくは3.5以上であることが望ましい。

[0032] Bで示されるアルキル基としては、制限されないものの、好ましくは直鎖状または分岐状の炭素数1～6のアルキル基(C₁₋₆アルキル基)を挙げることができる。より好ましくはC₁₋₄のアルキル基である。これらのアルキル基には、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、及びn-ヘキシル基が含まれる。好ましくは、制限されないが、メチル基、イソプロピル基、及びtert-ブチル基等が例示される。また、置換基としてアルキル基を有するフェニル基のKLogPが1.5以上であることを限度として、当該アルキル基は水酸基を有することもできる。当該水酸基の数は1以下であり、好ましくは0である。

- [0033] また、Bで示されるモノ若しくはジ（アルキル）アミノ基に含まれるアルキル基も、前記と同様である。好ましくは直鎖状の C_{1-4} のアルキル基である。ジアルキルアミノ基に含まれる2つのアルキル基は同一であってもよいし、異なってもよい。また、モノ若しくはジ（アルキル）アミノ基に含まれる1または2つのアルキル基は、おのおの、アミノ基が結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5～6員環を形成していてもよい。また、置換基としてモノ若しくはジ（アルキル）アミノ基を有するフェニル基のKLogPが1.5以上であることを限度として、当該アルキルアミノ基は水酸基を有することもできる。当該水酸基の数は1以下であり、好ましくは0である。水酸基を有することのあるジアルキルアミノ基としては、ヒドロキシエチル（メチル）アミノ基、ヒドロキシプロピル（メチル）アミノ基、ヒドロキシブチル（エチル）アミノ基、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、メチル（エチル）アミノ基等が制限されることなく例示される。
- [0034] Bで示されるハロゲン原子としては、例えばフッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子が含まれる。好ましくはフッ素原子、及び塩素原子である。
- [0035] Bで示されるハロアルキル基としては、ハロゲン原子を1～3個有する炭素数1～6の直鎖状または分岐状のアルキル基が含まれる。好ましくはハロゲン原子を3個有するトリハロ C_{1-6} アルキル基である。トリハロ C_{1-6} アルキル基としては、例えば、トリフルオロメチル基、トリクロロメチル基、2, 2, 2-トリフルオロエチル基、2, 2, 2-トリクロロエチル基、3, 3, 3-トリフルオロプロピル基、4, 4, 4-トリクロロブチル基等が制限なく例示される。
- [0036] Bで示されるアルキニレン基としては、制限されないものの、好ましくは1つの三重結合を有する直鎖状または分岐状の炭素数2～6のアルキニレン基、好ましくは C_{2-3} アルキニレン基を挙げることができる。アルキニレン基としては、例えば、エチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基等が制限なく例示される。

[0037] 式(1)中、 n は1～5の整数である。つまり、化合物(1)は、フェニル基の5つの水素原子のいずれか少なくとも1つが、同一または異なる、置換基Bで置換されてなるものである。当該フェニル基上の置換基Bは、置換基Bを有するフェニル基の KLogP が1.5以上であることを限度として、ベンゼン環に結合しているA基に対して、オルト位、メタ位、またはパラ位のいずれの位置に存在していてもよく、特に制限されない。制限されないが、例えば、 n が1である場合、好ましくはパラ位であり、 n が2である場合、好ましくはメタ位及びオルト位である。 n が2である場合の置換基Bとしては、一方がハロゲン原子、他方がトリハロ C_{1-6} アルキル基を好適に例示することができる。

[0038] 化合物(1)には、好ましい化合物として下記(i)～(viii)の化合物が含まれる：

(i) 式(1)において、Aが、 $-\text{NH}-\text{N}=\text{C}(\text{R}_1)-$ 基であり、 R_1 は、同一又は異なって、水素原子または C_{1-4} アルキル基であり、Bが、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、前記ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基の少なくとも1つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5～6員環を形成してもよく、 n は1～5の整数である、化合物。

(ii) 式(1)において、Aが、 $-\text{NH}-\text{N}=\text{C}(\text{R}_1)-$ 基であり、 R_1 は、水素原子であり、Bが、同一又は異なって、 C_{1-4} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるジ(C_{1-3} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはトリハロ C_{1-3} アルキル基であり、前記ジ(C_{1-3} アルキル)アミノ基の C_{1-3} アルキル基の少なくとも1つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して6員環

を形成してもよく、

n は 1 ～ 5 の整数である、化合物。

前記 (i) 及び (i i) 群に属する化合物を、以下「化合物 A」と総称する場合がある。化合物 A のうち、好ましくは (i i) 群に属する化合物である。

[0039] (i i i) 式 (1) において、A は、二価の N 含有 5 員不飽和複素環基であり、

B は、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

n は 1 ～ 5 の整数である、化合物。

(i v) 式 (1) において、A は、二価の N 含有 5 員不飽和複素環基、好ましくはオキサゾール、イソオキサゾール、トリアゾール、イミダゾール、ピラゾール、又はオキサジアゾールであり、

B は、同一又は異なって、 C_{1-4} アルキル基、ジ (C_{1-3} アルキル) アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-3} アルキル基であり、

n は 1 ～ 5 の整数である、化合物。

なお、前記 (i i i) 及び (i v) 群に属する化合物を、以下「化合物 B」と総称する場合がある。

[0040] (v) 式 (1) において、A は、 $-NH-CO-$ 基であり、

B は、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

前記ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ基の C_{1-6} アルキル基の少なくとも 1 つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して 6 員環を形成してもよく、

n は 1 ～ 5 の整数である、化合物。

(v i) 式 (1) において、A は、 $-NH-CO-$ 基であり、

B は、同一又は異なって、 C_{1-4} アルキル基、ジ (C_{1-3} アルキル) アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-3} アルキル基であり、

n は 1 ～ 5 の整数である、化合物。

なお、前記 (v) 及び (v i) 群に属する化合物を、以下「化合物 C」と総称する場合がある。

[0041] (v i i) 式 (1) において、A は、二価の N 含有 5 員不飽和複素環基と —NH—CO— 基とが連結してなる基であり、
B は、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ (C_{1-6} アルキル) アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、
n は 1 ～ 5 の整数である、化合物。

(v i i i) 式 (1) において、A は、 —NH—CO— 基であり、
B は、 C_{1-4} アルキル基であり、
n は 1 である、化合物。

なお、前記 (v i i) 及び (v i i i) 群に属する化合物を、以下「化合物 D」と総称する場合がある。

[0042] 化合物 (1) には、特に好ましい化合物として、下記の化合物が含まれる
:

[化合物 A]

化合物 1 : 4-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 2 : 4-(2-(4-(tert-ブチル)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 3 : 4-(2-(4-(ジメチルアミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 4 : 4-(2-(4-(2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 5 : 4-(2-(4-(3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 6 : 4-(2-(4-(エチル(4-ヒドロキシブチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 7 : 4-(2-(2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピリド[3,2,1-ij]キノリン-9-イル)メチレン)ヒドラジニル)安息香酸、

化合物 8 : 4- (2- (4-フルオロ-2-メチルベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸、

化合物 9 : 4- (2- ((パーフルオロフェニル) メチレン) ヒドラジニル) 安息香酸、

化合物 10 : 4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸、

化合物 11 : 4- (2- (2-フルオロ-5- (トリフルオロメチル) ベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸、

化合物 12 : 4- (2- (4-エチニルベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸、

化合物 13 : 3- ((2- (4-カルボキシフェニル) ヒドラゾノ) メチル) 安息香酸、

化合物 18 : 4- (2- (1- (4-イソプロピルフェニル) エチリデン) ヒドラジニル) 安息香酸。

[0043] [化合物 B]

化合物 14 : 4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 15 : 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 16 : 4- (1- (4- (tert-ブチル) フェニル) -1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル) 安息香酸、

化合物 19 : 4- (5- (4- (ジメチルアミノ) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 20 : 4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸、

化合物 21 : 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) イソオキサゾール-5-イル) 安息香酸、

化合物 22 : 4- (1- (4-イソプロピルフェニル) -1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル) 安息香酸、

化合物 23 : 4- (1- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-1, 2, 3-トリアゾール-4-イル) 安息香酸、

化合物 24 : 4- (1- (2-フルオロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-1, 2, 3-トリアゾール-4-イル) 安息香酸、

化合物 25 : 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-1, 2, 4-トリアゾール-5-イル) 安息香酸、

化合物 26 : 4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1H-イミダゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 27 : 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) -1H-イミダゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 28 : 4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸、

化合物 29 : 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ファニル) -1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸、

化合物 30 : 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ファニル) -1H-ピラゾール-1-イル) 安息香酸、

化合物 31 : 4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1, 3, 4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 32 : 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) -1, 3, 4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸、

化合物 33 : 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1, 2, 4-オキサジアゾール-5-イル) 安息香酸。

[0044] [化合物C]

化合物 17 : 4- (4-イソプロピルベンズアミド) 安息香酸。

[0045] [化合物D]

化合物 34 : 4- (5- (4-イソプロピルベンズアミド) -1, 3, 4-チアジアゾール-2-イル) 安息香酸。

[0046] 前述する化合物 (1) は、薬学的に許容される塩の形態をとることができる

、当該塩は、遊離形態の化合物（１）と同様に用いることができる。薬学的に許容される塩としては、制限されないものの、ナトリウムやカリウムなどのアルカリ金属塩；カルシウムやマグネシウムなどのアルカリ土類金属塩；アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミン等の非毒性アンモニウム、第４級アンモニウムおよびアミンのカチオンが含まれる。また、上記の化合物（１）に、立体異性体や光学異性体などの異性体が含まれる場合であっても、これらの異性体も本発明の化合物（１）の一態様として包含される。また化合物（１）は溶媒和物の形態を有することもでき、当該溶媒和物も本発明の化合物（１）の一態様として包含される。

[0047] 上述の化合物（１）またはその塩の製造方法は、後述する製造例の記載に基づいて製造することができる。中でも化合物１の製造方法である製造例１は、化合物１で代表されるヒドラゾン化合物を合成するための一般的な方法である。このため、式（１）で示されるＡが、化合物１と同様に－NH－N＝C（R₁）－基である前記化合物Ａ群に属するヒドラゾン化合物は、当該製造方法を参考にして製造することができる。また、化合物１４の製造方法である製造例１４は、化合物１４で代表されるN含有複素環基を有する化合物を合成するための一般的な方法である。このため、式（１）で示されるＡが、化合物１４と同様に二価のN含有複素環基である前記化合物Ｂ群に属する化合物は、当該製造方法を参考にして製造することができる。さらに、式（１）で示されるＡが、化合物１７と同様に－NH－CO－基である前記化合物Ｃ群に属する化合物は、化合物１７の製造方法である製造例１７を参考にして製造することができる。またさらに式（１）で示されるＡが、化合物３４と同様に二価のN含有複素環基と－NH－CO－基とが連結してなる基である前記化合物Ｄ群に属する化合物は、化合物３４の製造方法である製造例４１を参考にして製造することができる。

[0048] これらの製造方法により得られる化合物（１）は、公知の単離および／ま

たは精製手段を適用することで、反応混合物から単離、精製される。かかる分離、精製手段としては、例えば、蒸留法、再結晶法、溶媒抽出法、カラムクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィー、親和クロマトグラフィー、プレパラティブ薄層クロマトグラフィーなどを挙げることができる。

[0049] 化合物（１）またはその塩は、EPAS1によって誘導されるIL-31の遺伝子の発現、並びにIL-31の産生を選択的に抑制する作用を有する。一方、化合物（１）またはその塩は、IL-2やIL-4等の他のサイトカインの遺伝子発現や産生を抑制する作用はない。このことから、化合物（１）またはその塩は、選択的IL-31産生抑制剤として有用である。

本発明でいう「IL-31産生抑制剤」という用語には、IL-31の遺伝子の発現抑制の意味とIL-31の産生抑制の意味が包含される。本発明が対象とするIL-31産生抑制剤は、好ましくはIL-31の遺伝子発現を抑制する作用を有し、その結果、IL-31産生を抑制する効果を発揮するものである。

[0050] 本発明に係るIL-31産生抑制剤は、前述する化合物（１）またはその塩そのものからなるものであってもよいが、当該分野（生化学分野、医薬分野など）にて、通常に用いられる添加剤などの他の成分が含まれていてもよい。具体的な添加剤や、IL-31産生抑制剤中の含有割合は、IL-31産生抑制剤が、化合物（１）またはその塩に基づいてIL-31産生抑制作用を発揮することを限度として特に限定されることはない。例えば、後述の医薬組成物に示す添加剤および含有割合を参考に適宜選択することができる。

[0051] （１）医薬組成物

本発明に係る医薬組成物は、前記の化合物（１）またはその薬学的に許容される塩を含む。薬学的に許容される塩は、上記の化合物（１）にて詳述したものを参考に、適宜選択することができる。

[0052] 本発明に係る医薬組成物は、化合物（１）またはその薬学的に許容される塩だけからなるものであってもよいし、または、任意の担体や添加剤と組み合わせて、公知の方法で投与経路、投与方法などの所望の用途に適した形態

に調製した医薬組成物であってもよい。好ましくは静脈投与または経口投与、より好ましくは経口投与に適した形態を有する医薬組成物である。

[0053] 具体的な剤形として、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤（液剤、懸濁剤等）、点滴剤などが挙げられる。好ましくは、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、またはカプセル剤等の経口投与に適した剤形である。

[0054] 本発明に係る医薬組成物中に配合される化合物（１）またはその薬学的に許容される塩の量は、化合物（１）またはその塩に基づいてIL-31産生抑制作用を発揮することを限度として、特に限定されることはない。例えば医薬組成物100質量%中、0.001～99質量%以下程度、好ましくは0.01～50質量%程度、より好ましくは0.05～10質量%程度の範囲で適宜調製することができる。

[0055] 本発明に係る医薬組成物の治療対象となる疾患は、IL-31介在性の掻痒性疾患である。好ましくは、痒みを伴う炎症性疾患、特に痒みを伴う皮膚疾患であり、具体的にはアトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、慢性皮膚炎、アレルギー性接触性皮膚炎、疱疹状皮膚炎、皮膚T細胞性リンパ腫における掻痒症、結節性痒疹、多型慢性痒疹、色素性蕁麻疹、水疱性類天疱瘡などを挙げることができる。好ましくはアトピー性皮膚炎である。通常、アトピー性皮膚炎は、その発病時期または発症対象によって乳児形アトピー性皮膚炎と小児形アトピー性皮膚炎と成人形アトピー性皮膚炎と妊産婦アトピー性皮膚炎に分類される。本発明で対象とするアトピー性皮膚炎には、これら全ての類型のアトピー性皮膚炎が含まれる。

[0056] 本発明の医薬組成物は、こうした疾患の治療に好適に使用することができる。本発明において、治療とは、前記疾患の症状のうち、特に痒みを緩和し、治癒させることを意味する。痒みの完全な消失だけでなく、部分的な消失（緩和、軽減など）も含まれる。本発明の医薬組成物の治療対象者は、前記疾患を有するヒトである。前述するように、乳児、小児、成人及び妊産婦の別を問わない。

[0057] 本発明に係る医薬組成物の1日あたりの投与量、投与時期、及び投与回数は、前記疾患の治療に有効な量、時期、及び回数であればよく、その限りで特に制限されない。例えば、制限されないものの、化合物(1)またはその薬学的に許容される塩に換算して、1日当たり通常は0.1mg～1mg／人程度の範囲の量を、1日1～複数回投与することができる。

[0058] 以上、本明細書において、「含む」及び「含有する」の用語には、「からなる」及び「から実質的になる」という意味が含まれる。

実施例

[0059] 以下、本発明の構成及び効果について、その理解を助けるために、実験例を用いて本発明を説明する。但し、本発明はこれらの実験例によって何ら制限を受けるものではない。以下の実験は、特に言及しない限り、室温(25±5℃)、及び大気圧条件下で実施した。なお、特に言及しない限り、以下に記載する「%」は「質量%」、「部」は「質量部」を意味する。

[0060] 製造例

はじめに

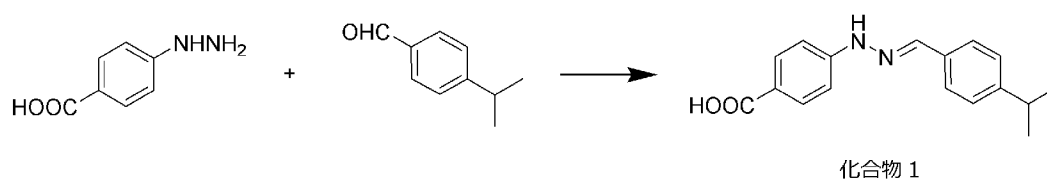
¹HNMRスペクトルは、JEOL ECX500分光計(¹HNMRは500MHz、¹³CNMRは125.65MHz)、およびJEOL ECS400分光計(¹HNMRは400MHz、¹³CNMRは100MHz、¹⁹FNMRは370MHz)(JEOL)を用いて測定した。¹HNMRおよび¹³CNMRの化学シフトは、CDCl₃(¹HNMR: δ = 7.26 ppm、¹³CNMR: δ = 77.16 ppm)、DMSO-d₆(¹HNMR: δ = 2.50 ppm、¹³CNMR: δ = 39.52)、CD₃OD(¹HNMR: δ = 3.31 ppm、¹³CNMR: δ = 49.00 ppm)、およびアセトン-d₆(¹HNMR: δ = 2.05 ppm、¹³CNMR: δ = 29.84 ppm)を内部標準として使用し、これらと比較したスケールにて記載する。¹⁹F NMRについては、外部標準としてヘキサフルオロベンゼン(δ = -164.90 ppm)と比較した化学シフトを記載する。エレクトロスプレーイオン化(ESI)-質量スペクトルは、HRMS用のBruker ESI-TOF MS microTOFII分光計で測定した。赤外線(IR)スペクトルは、JASCO FT / IR410フーリエ変換赤外分光光度計で記録した。カラムクロマトグラフィーは、Biotage(登録商標) SNAP Ultra(Uppsala, Sweden)のプレパックカラムを備えたBiotage(登録商標) Isole

ra (商標) One3.0を用いて行った。

[0061] 化学薬品と溶剤は商業的に購入したものを使用した。湿度に敏感な反応はすべてアルゴン雰囲気下で実施した。化合物は、100%ジメチルスルホキシド (DMSO) (FUJIFILM和光純薬 (株) 製) に溶解し、速やかに適切なバッファで希釈して使用した。

[0062] 製造例 1 4-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (化合物 1)

[化4]



酢酸 (20mL) 中の4-ヒドラジニル安息香酸 (1.00g、6.56mmol、1.00当量)、および4-イソプロピルベンズアルデヒド (1.02g、6.90mmol、1.05当量) の溶液を室温で一晩攪拌した。得られた混合液を冷却し、生じた沈殿物を濾過により回収した。固形物を冷酢酸で洗浄して、4-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (4-(2-(4-isopropylbenzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) をベージュ色の固体として得た (1.22g、4.34mmol、66% 収率)。

[0063] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.30 (1H, br), 10.74 (1H, s), 7.92 (1H, s), 7.81 (2H, d, J = 8.6 Hz), 7.59 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.26 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.09 (2H, d, J = 8.6 Hz), 2.88 (1H, m), 1.19 (6H, d, J = 7.4 Hz);

^{13}C NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 167.3, 149.1, 148.9, 139.0, 133.0, 131.2, 126.7, 126.1, 120.1, 111.1, 33.3, 23.8;

FT-IR (KBr) 3313, 2957, 1671, 1597, 1428, 1266, 1168 cm^{-1} ;

HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ 305.1260;

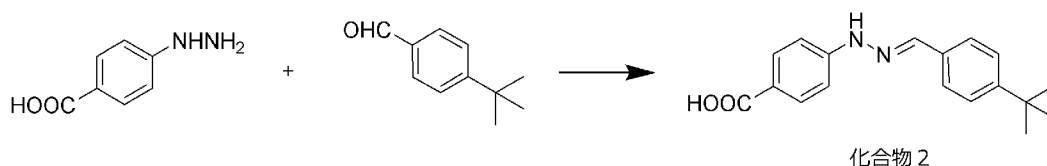
Found 305.1262.

[0064] 当該製造方法は、ヒドラゾン化合物を合成するための一般的な方法である

。以下のヒドラゾン化合物は、当該製造例 1 に記載する手順に準じて、製造した。

[0065] 製造例 2 4-(2-(4-(tert-ブチル)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (化合物 2)

[化5]



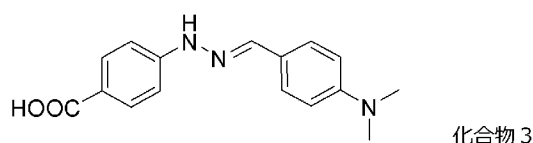
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、4-(tert-ブチル)ベンズアルデヒド (30.1mg、0.186mmol) を用いて、製造例 1 に記載する手順に従って、4-(2-(4-(tert-ブチル)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (4-(2-(4-(tert-butyl)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra10 g、EtOAc /ヘキサン= 50%→ 100%) による精製後、ベージュ色の固体物 (45.5 mg、0.153 mmol、82%収率) として得た。

[0066] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.89 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.82 (1H, s), 7.59 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.42 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.10 (2H, d, J = 8.7 Hz), 1.33 (9H, s) ;

LRMS (ESI+) m/z 297 [M+H]⁺.

[0067] 製造例 3 4-(2-(4-(ジメチルアミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (化合物 3)

[化6]



製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、4-(ジメチルアミノ)ベンズアルデヒド (27.75 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4-(2-(4-

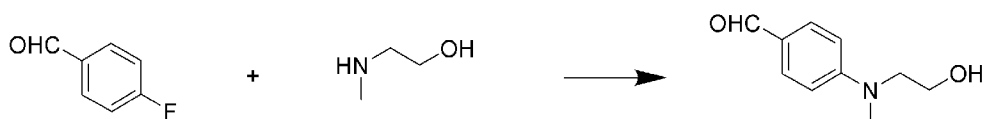
(ジメチルアミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸(4-(2-(4-(dimethylamino)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid)を、黄色の固体(23.4 mg、0.082 mmol、44%収率)として得た。

[0068] ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 12.19 (1H, br), 10.48 (1H, s), 7.84 (1H, s), 7.79 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.50 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.04 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.72 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 2.93 (6H, s); ^{13}C NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 167.6, 150.8, 149.4, 140.4, 131.4, 127.5, 123.1, 119.5, 112.2, 110.9, 40.0; FT-IR (KBr) 3299, 2886, 1669, 1612, 1521, 1290, 1167 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2\text{Na}$ 306.1213; Found 306.1207.

[0069] 製造例4 4-(2-(4-(2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸(化合物4)

(1) 4-(2-(4-(2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒドの製造

[化7]



DMSO (1 mL) に溶解した2-(メチルアミノ)エタノール (948 mg、7.64 mmol、1.0当量) 溶液に、4-フルオロベンズアルデヒド (862 mg、11.48 mmol、1.5当量)、炭酸ナトリウム (1.2 g、11.48 mmol、1.5当量)、および18-クラウン-6 (80.6 mg、0.3 mmol、0.04当量) を加えた。混合物を100°Cで24時間加熱し、次に氷水に注いだ。生成物をジクロロメタンで抽出し、溶媒を真空除去した。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10g、EtOAc /ヘキサン= 4%→26%) で精製して、4-(2-(2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒド (4-((2-hydroxyethyl)(methyl)amino)benzaldehyde) を、黄色の固体 (1.09g、6.12mmol、80%収率) として得た。この化合物の分光学的特性は、文献で報告されているものと一致した。

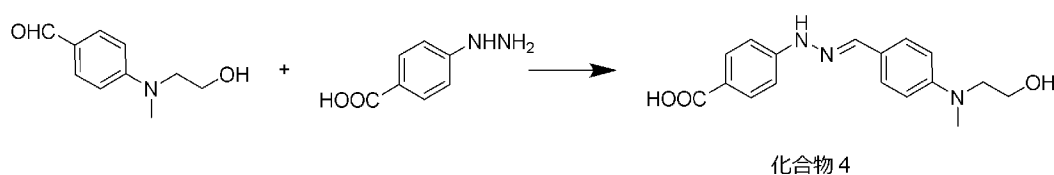
[0070] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.61 (1H, s), 7.65 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.7

2 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 3.85 (dt, $J = 4.5$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.61 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.37 (m, 1H), 3.11 (s, 3H)。

なお、前記方法は、アミノベンズアルデヒド化合物を合成するための一般的な方法である。以下の製造方法において、アミノベンズアルデヒド化合物は、当該製造例4 (1) に記載する手順に準じて製造した。

[0071] (2) 4-(2-(4-((2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸の製造

[化8]



製造例1の4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、前記(1)で製造した4-(2-(4-((2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒド(112.7 mg、0.628 mmol)を使用して、製造例1に記載する手順に従って、4-(2-(4-(2-ヒドロキシエチル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸(4-(2-(4-((2-hydroxyethyl)(methyl)amino)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid)を、カラムクロマトグラフィー(SiO₂、SNAP ultra 10 g、MeOH / CH₂Cl₂ = 1%→12%)による精製後、黄色の固体(104.6 mg、0.334 mmol、53%収率)として得た。

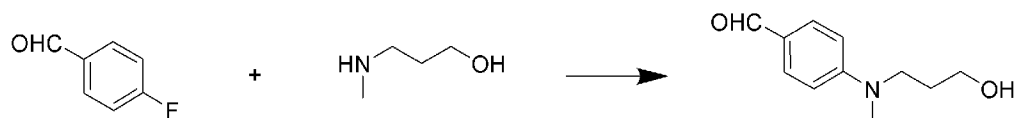
[0072] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10.45 (1H, s), 7.82 (1H, s), 7.78 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.47 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.02 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 6.71 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 4.73 (1H, br), 3.53 (2H, t, $J = 5.7$ Hz), 3.43 (2H, t, $J = 5.7$ Hz), 2.96 (3H, s); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 167.5, 149.8, 149.4, 140.5, 131.4, 127.6, 122.5, 119.4, 111.7, 110.8, 58.3, 54.2, 21.2; FT-IR (KBr) 3422, 3238, 2871, 1655, 1602, 1519, 1278, 1167 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) m/z : [M + Na]⁺ Calcd for C₁₇H₁₉N₃O₃Na 336.1319; Found 336.1318.

[0073] 製造例5 4-(2-(4-((3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベン

ジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 5)

(1) 4-((3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒドの製造

[化9]

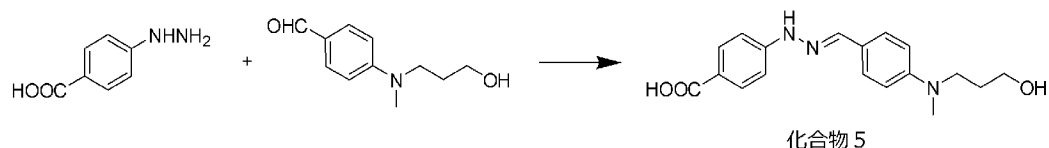


製造例 4 (1) の 2-(メチルアミノ)エタノールに代えて、3-(メチルアミノ)プロパン-1-オール (511.3 mg、5.74 mmol) を使用して、製造例 4 (1) に記載する手順に従って、4-((3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒド (4-((3-hydroxypropyl)(methyl)amino)benzaldehyde) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、EtOAc/CH₂Cl₂ = 1% → 34%) による精製後、黄色の固体 (414.7 mg、2.14 mmol、収率 56 %) として得た。

[0074] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.63 (1H, s), 7.66 (2H, d, J = 8.9 Hz), 6.68 (2H, d, J = 8.9 Hz), 3.67 (2H, t, J = 5.8 Hz), 3.54 (2H, t, J = 7.1 Hz), 3.02 (3H, s), 2.79 (1H, brs), 1.83 (2H, m)

[0075] (2) 4-(2-(4-((3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸の製造

[化10]



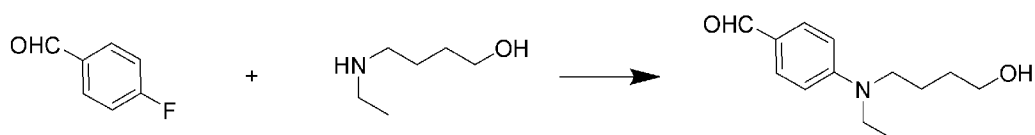
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、前記 (1) で製造した 4-((3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒド (36 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4-(2-(4-((3-ヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (4-(2-(4-((3-hydroxypropyl)(methyl)amino)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra

10 g、MeOH/CH₂Cl₂ = 1% → 12%) による精製後、黄色の固体 (45.1 mg、0.137 mmol、74 %収率) として得た。

[0076] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.86 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.74 (1H, s), 7.50 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.05 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.75 (2H, d, J = 8.5 Hz), 3.62 (2H, m), 3.48 (2H, m), 2.98 (3H, s), 1.80 (2H, m)

[0077] 製造例 6 4- (2- (4- (エチル (4-ヒドロキシブチル) アミノ) ベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 6)

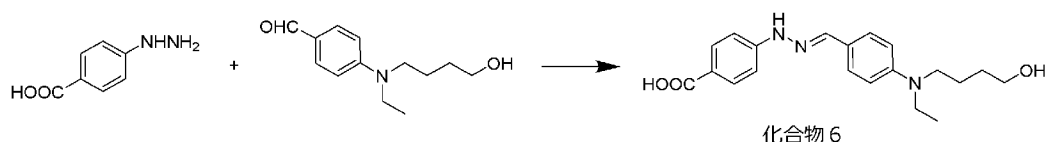
(1) 4- (エチル (4-ヒドロキシブチル) アミノ) ベンズアルデヒドの製造
[化11]



製造例 4 (1) の 2- (メチルアミノ) エタノールに代えて、4- (エチルアミノ) ブタン-1-オール (672.4 mg、5.74mmol) を使用して、製造例 4 (1) に記載する手順に従って、4- (エチル (4-ヒドロキシブチル) アミノ) ベンズアルデヒド (4-(ethyl(4-hydroxybutyl)amino)benzaldehyde) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、EtOAc / CH₂Cl₂ = 4% → 34%) による精製後、黄色の固体 (630.7 mg、2.84mmol、74%収率) として得た。

[0078] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (1H, s), 7.67 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.65 (2H, d, J = 8.7 Hz), 3.69 (2H, m), 3.44 (2H, m), 3.37 (2H, m), 1.71 (2H, m), 1.62 (2H, m), 1.18 (3H, m)

[0079] (2) 4- (2- (4- (エチル (4-ヒドロキシブチル) アミノ) ベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸の製造
[化12]



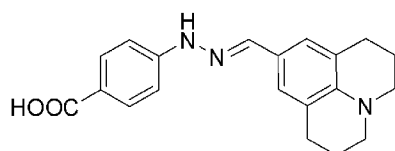
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、(1) で製造した 4

- (エチル (4-ヒドロキシブチル) アミノ) ベンズアルデヒド (41mg、0.186mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4- (2- (4- (エチル (4-ヒドロキシブチル) アミノ) ベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (4- (2- (4- (ethyl(4-hydroxybutyl)amino)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、MeOH/CH₂Cl₂=1% → 12%) による精製後、黄色のアモルファス固体 (54.0 mg、0.151 mmol、81%収率) として得た。

[0080] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.85 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.74 (1H, s), 7.48 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.04 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.70 (2H, d, J = 8.7 Hz), 3.59 (2H, m), 3.42 (2H, m), 3.35 (2H, m), 1.68 (2H, m), 1.60 (2H, m), 1.16 (3H, m)

[0081] 製造例 7 4- (2- ((2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピリド[3,2,1-ij]キノリン-9-イル) メチレン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 7)

[化13]



化合物 7

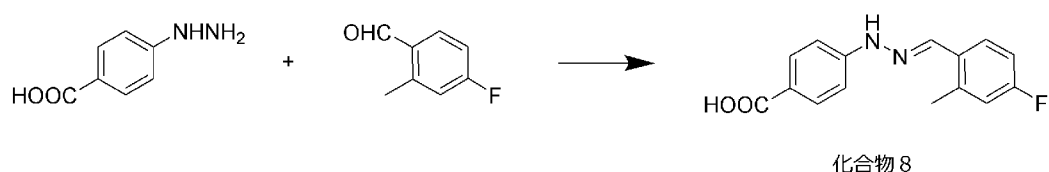
製造例 1 の4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピリド[3,2,1-ij]キノリン-9-カルブアルデヒド (37.4 mg、0.186mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4- (2- ((2,3,6,7-テトラヒドロ-1H,5H-ピリド[3,2,1-ij]キノリン-9-イル) メチレン) ヒドラジニル) 安息香酸 (4- (2- ((2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)methylene)hydrazinyl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、MeOH/CH₂Cl₂ = 5%) による精製後、黄色の固体 (37.2 mg、0.110 mmol、59%収率) として得た。

[0082] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 10.38 (1H, s), 7.76 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.71 (1H, s), 7.02 (2H, s), 7.00 (2H, d, J = 8.5 Hz), 3.14 (4H, m), 2.69 (4H, m), 1.85 (4H, m); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 167.6, 149.4,

143.4, 140.9, 131.4, 125.1, 121.9, 120.9, 119.2, 110.7, 49.4, 27.3, 21.5; FT-IR (KBr) 3304, 2926, 1659, 1596, 1514, 1265, 1157 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M + H]^+$ Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_2$ 336.1707; Found 336.1694

[0083] 製造例 8 4- (2- (4-フルオロ-2-メチルベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 8)

[化14]



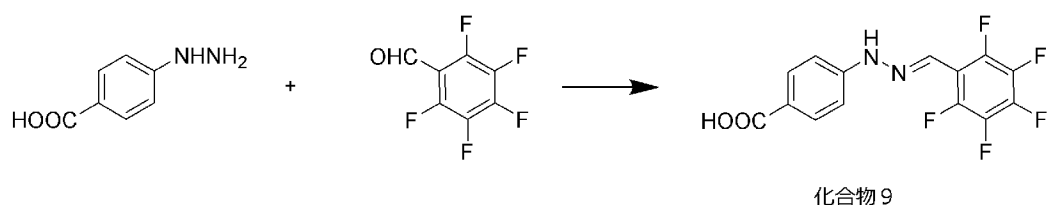
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、4-フルオロ-2-メチルベンズアルデヒド (25.6 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4- (2- (4-フルオロ-2-メチルベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (4-(2-(4-fluoro-2-methylbenzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10 g、 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 5\%$) による精製後、オフホワイトの固体 (11.0 mg、0.040 mmol、21%収率) として得た。

[0084] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.09 (s, 1H), 7.89 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.83 (1H, dd, $J = 9.4$ Hz $J = 9.4$ Hz), 7.09 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 6.94 (2H, m), 2.49 (s, 3H) ;

LRMS (ESI+) m/z 273 $[M+H]^+$

[0085] 製造例 9 4- (2- ((パーフルオロフェニル) メチレン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 9)

[化15]



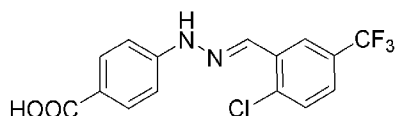
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、2,3,4,5,6-ペンタ

フルオロベンズアルデヒド (61.3 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って反応を行い、生じた沈澱物を濾過により回収した。固体をEt₂Oで洗浄して、4-(2-((パーフルオロフェニル)メチレン)ヒドラジニル)安息香酸 (4-(2-((perfluorophenyl)methylene)hydrazinyl)benzoic acid) を白色固体 ((2.8 mg, 0.008 mmol, 4%収率) として得た。

[0086] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.92 (2H, d, J = 8.9 Hz), 7.89 (1H, s), 7.13 (2H, d, J = 8.9 Hz)

[0087] 製造例 10 4-(2-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (化合物 10)

[化16]



化合物 10

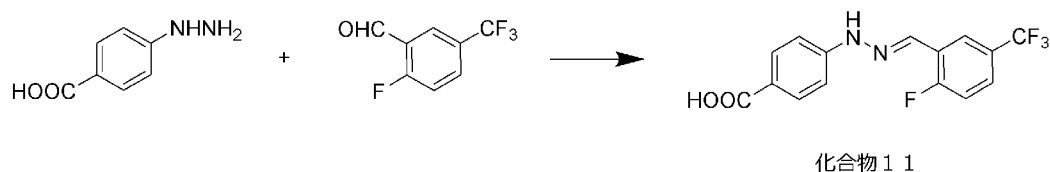
製造例 1 の4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (38.70 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4-(2-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (4-(2-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、ベージュ色の固体 (44.8mg、0.131mmol、70%の収率) として得た。

[0088] ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.19 (1H, br), 11.29 (1H, s), 8.29 (1H, s), 8.23 (1H, s), 7.85 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.70 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.64 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.15 (2H, d, J = 8.8 Hz); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 167.4, 148.1, 135.4, 133.7, 133.2, 131.4, 128.6, 128.4, 125.8, 125.0, 122.4, 121.7, 111.9; ¹⁹F NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ -63.67; FT-IR (KBr) 3280, 3077, 2973, 1677, 1607, 1271, 1165 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + Na]⁺ Calcd for C₁₅H₁₀ClF₃N₂O₂Na 365.0275; Found 365.0283.

[0089] 製造例 11 4-(2-(2-フルオロ-5-(トリフルオロメチル)ベンジリデン)

ヒドラジニル)安息香酸(化合物11)

[化17]

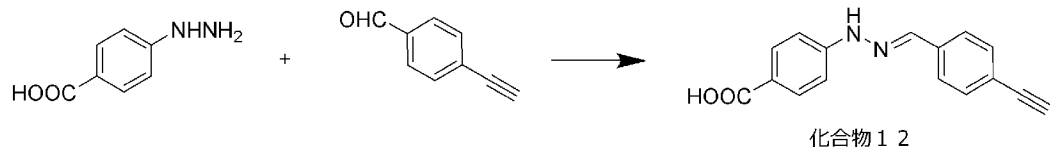


製造例1の4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、2-フルオロ-5-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド(35.7 mg、0.186 mmol)を使用して、製造例1に記載する手順に従って、4-(2-(2-フルオロ-5-(トリフルオロメチル)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸(4-(2-(2-fluoro-5-(trifluoromethyl)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid)を、カラムクロマトグラフィー(SiO₂、SNAP ultra 10 g、EtOAc /ヘキサン= 30%→ 100%)による精製後、ベージュ色の固形物(4.8 mg、0.014 mmol、7%収率)として得た。

[0090] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.40 (1H, brs), 11.20 (1H, s), 8.22 (1H, d, ³J_{H-H} = 7.5 Hz), 8.12 (1H, s), 7.84 (2H, d, ³J_{H-H} = 8.5 Hz), 7.75 (1H, s), 7.51 (1H, dd, ³J_{H-F} = 9.8 Hz, ³J_{H-H} = 7.5 Hz), 7.15 (2H, d, ³J_{H-H} = 8.5 Hz)

[0091] 製造例12 4-(2-(4-エチニルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸(化合物12)

[化18]



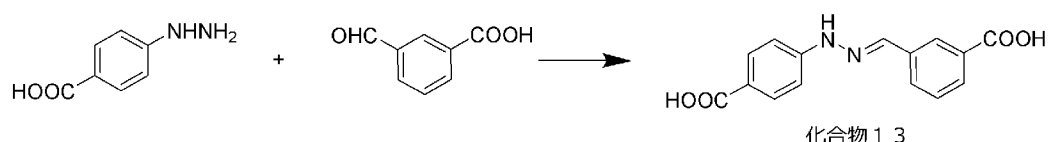
製造例1の4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、4-エチニルベンズアルデヒド(24.1 mg、0.186mmol)を使用して、製造例1に記載する手順に従って、4-(2-(4-エチニルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸(4-(2-(4-ethynylbenzylidene)hydrazinyl)benzoic acid)を、カラムクロマトグラフィー(SiO₂、SNAP ultra 10 g、EtOAc /ヘキサン= 30%→ 100%)による

精製後、黄色の固形物 (37.8 mg, 0.143 mmol, 76%収率) として得た。

[0092] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.90 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.83 (1H, s), 7.65 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.46 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.13 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 3.56 (1H, s) ; LRMS (ESI+) m/z 265 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0093] 製造例 1 3 3- ((2- (4-カルボキシフェニル) ヒドラゾノ) メチル) 安息香酸 (化合物 1 3)

[化19]



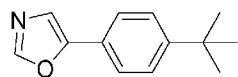
製造例 1 の4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、3-ホルミル安息香酸 (27.9 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、3- ((2- (4-カルボキシフェニル) ヒドラゾノ) メチル) 安息香酸 (3-((2-(4-carboxyphenyl)hydrazono)methyl)benzoic acid) を、淡黄色の固体 (45.5 mg、0.160 mmol、86 %収率) として得た。

[0094] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.93 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.01 (1H, s), 7.93 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.88 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.83 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.53 (1H, dd, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 7.12 (2H, d, $J = 8.9$ Hz)

[0095] 製造例 1 4 4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸 (化合物 1 4)

(1) 5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾールの製造

[化20]



4-tert-ブチルベンズアルデヒド (227 mg、1.4 mmol、1当量) およびTos M IC (287 mg 1.47 mmol、1.05当量) をメタノール (5 mL) に溶解し、続いて無水炭酸カリウム (380 mg、2.8 mmol、2当量) を添加した。反応混合物を2時間加熱還流した。反応混合物を室温まで冷却し、水およびジエチルエー

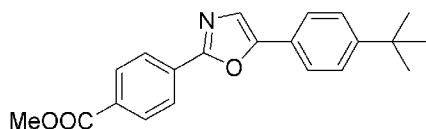
テルに注いだ。有機相を分離し、水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過後、溶媒を真空除去し、粗生成物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10g、EtOAc/ヘキサン= 5%→30%) で精製して、5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール (5-(4-(tert-butyl)phenyl)oxazole) を、黄色の固体 (219.0 mg、1.08 mmol、77%収率) として得た。スペクトルデータは、文献で報告されているものと一致した。

[0096] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.89 (1H, s), 7.58 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.44 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.30 (1H, s), 1.33 (9H, s).

なお、前記方法は、アリールオキサゾール化合物を合成するための一般的な方法である。以下の製造方法において、アリールオキサゾール化合物は、当該製造例 14 (1) に記載する手順に準じて製造した。

[0097] (2) 4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸メチルの製造

[化21]



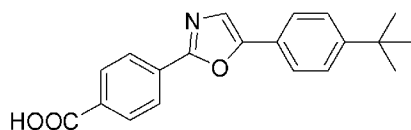
(1) で製造した5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール (50.30 mg、0.25 mmol、1当量)、並びに4-ヨード安息香酸メチル (78.6 mg、0.3 mmol、1.2当量)、CuI (47.6 mg、0.25 mmol、1当量)、PPh₃ (13.1mg、0.05mmol、0.2当量) およびNa₂CO₃ (53mg、0.5mmol、2当量) の混合物に、DMF (0.5 mL) を加えた。得られた混合物を150℃で2時間攪拌した。冷却後、混合物を水に注ぎ、ジクロロメタンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥した。濾過後、溶媒を真空除去し、粗生成物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10g、EtOAc /ヘキサン= 5%→30%) で精製して、4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(5-(4-(tert-butyl)phenyl)oxazol-2-yl)benzoate) (66.80 mg、0.199 mmol、79%収率) を、白色固体として得た。スペクトルデータは、文献で報告されているも

の一致した。

[0098] ^1H NMR (500MHz, acetone- d_6) δ 8.24 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 8.15 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.80 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.70 (1H, s), 7.56 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 3.92 (3H, s), 1.34 (9H, s); ^{13}C NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ 166.8, 153.2, 153.0, 132.4, 132.3, 130.9, 127.0, 126.0, 125.2, 124.8, 52.7, 35.4, 31.5; FT-IR (KBr) 3122, 2961, 2860, 1715, 1274, 1106 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{Na}$ 358.1414; Found 358.1401.

[0099] (3) 4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸

[化22]



化合物 1 4

アセトン (0.5mL) に溶解した4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸メチル (33.5mg、0.1mmol、1当量) の溶液を15分間還流撹拌した。次に、水 (5mL) に溶解したNaOH (8mg、0.2mmol、2当量) 溶液を加えた。混合物を3時間還流下で撹拌した。室温にまで冷却した後、溶媒を真空除去した。1M HCl水溶液を加え、生成物をEtOAcで抽出し、合わせたEtOAc層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、そして溶媒を真空除去した。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , SNAP ultra 10g, EtOAc /ヘキサン= 50%) で精製して、4- (5- (4- (tert-ブチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸 (4-(5-(4-(tert-butyl)phenyl)oxazol-2-yl)benzoic acid) を、淡白色の固体 (13.7 mg、0.042 mmol、42%収率) として得た。

[0100] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) δ 8.16 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 8.09 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.82 (1H, s), 7.76 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.50 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 1.29 (9H, s);

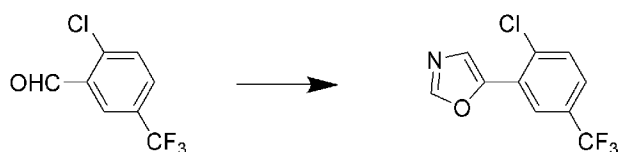
^{13}C NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$) δ 166.7, 159.1, 151.6, 132.2, 130.3, 130.1,

126.0, 125.9, 124.5, 124.1, 34.5, 30.9; FT-IR (KBr) 3069, 2954, 2864, 1681, 1425, 1289 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NO}_3$ 322.1438; Found 322.1438.

[0101] 製造例 15 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸 (化合物 15)

(1) 5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾールの製造

[化23]

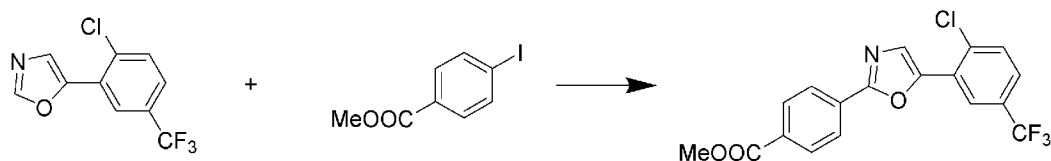


2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンズアルデヒド (292mg、1.4mmol、1当量) 及びTosMIC (287mg、1.47 mmol、1.05当量) をメタノール (5mL) に溶解し、続いて無水炭酸カリウム (380mg、2.8 mmol、2当量) を添加した。反応混合物を2時間還流加熱した。反応混合物を室温まで冷却し、水とジエチルエーテルに注いだ。有機相を分離し、水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を濾過して真空除去し、粗生成物をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10g、EtOAc /ヘキサン= 5%→ 30%) により精製して、5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール (5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-2-yl)benzoic acid) を白色固体 (244.6 mg、0.987 mmol、70%収率) として得た。

[0102] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.07 (1H, d, $J = 1.7$ Hz), 8.00 (1H, s), 7.86 (1H, s), 7.59 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.50 (1H, dd, $J = 1.7$ Hz, $J = 8.5$ Hz)

[0103] (2) 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸メチルの製造

[化24]

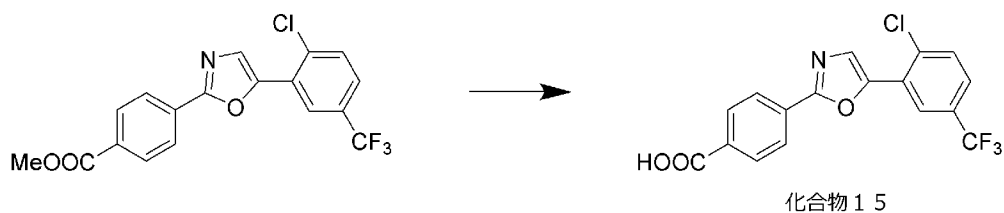


(1) で製造した5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)オキサゾール (61.9mg, 0.25mmol、1 当量)、4-ヨード安息香酸メチル (78.6 mg、0.3mmol、1.2当量)、CuI (47.6 mg、0.25 mmol、1当量)、PPh₃ (13.1 mg、0.05 mmol、0.2当量) およびNa₂CO₃ (53 mg、0.5 mmol、2当量) の混合物に、DMF (0.5 mL) を加えた。この混合液を、150℃で2時間攪拌した。冷却後、混合物を水に注ぎ、ジクロロメタンで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を濾過して真空除去した後、粗精製物をカラムクロマトグラフィー (S I0₂、SNAP ultra 10g、EtOAc/ヘキサン= 5%→ 30%) により精製して、4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)オキサゾール-2-イル)安息香酸メチル (methyl 4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-2-yl)benzoate) を、白色固体 (40.8 mg, 0.106 mmol, 42%の収率) として得た。

[0104] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.21 (1H, d, J = 8.5 Hz), 8.16-8.20 (4H, m), 8.00 (1H, s), 7.64 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.53 (1H, d, J = 8.5 Hz), 3.96 (3H, s)

[0105] (3) 4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)オキサゾール-2-イル)安息香酸の製造

[化25]



アセトン (0.5mL) 中で4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)オキサゾール-2-イル)安息香酸メチル (33.5mg、0.1mmol、1当量) を

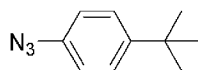
、15分間還流しながら攪拌し、次いで水（5 mL）に溶解したNaOH（8 mg、0.2 mmol、2当量）を添加した。混合液を3時間還流攪拌した。室温まで冷却した後、溶媒を真空除去した。1 MのHCl 水溶液を加え、生成物をEtOAcを用いて抽出し、合わせたEtOAc層をNa₂SO₄を用いて乾燥し、濾過し、そして溶媒を真空除去した。残留物をカラムクロマトグラフィー（SiO₂、SN AP ultra 10 g、EtOAc /ヘキサン= 50 %→ MeOH = 100%）で精製して、4-（5-（2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）フェニル）オキサゾール-2-イル）安息香酸（4-（5-（2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-2-yl)benzoic acid）を、淡白色の固体（4.8 mg、0.013 mmol、12%収率）として得た。

[0106] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.26 (1H, s), 8.15 (2H, d, J = 8.2 Hz), 8.11 (2H, d, J = 8.2 Hz), 8.04 (1H, s), 7.80 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.68 (1H, d, J = 8.5 Hz)

[0107] 製造例 1 6 4-（1-（4-（tert-ブチル）フェニル）-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル）安息香酸（化合物 1 6）

（1）1-アジド-4-（tert-ブチル）ベンゼンの製造

[化26]

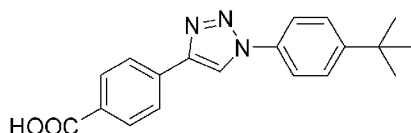


4-（tert-ブチル）アニリン（149.2 mg、1 mmol、1当量）を10 N HCl水溶液（10 mL）およびEtOH（5 mL）に室温下で溶解した。0℃に冷却し、H₂O（0.1 mL）中のNaNO₂（69.0mg、1mmol、1当量）を加えた後、反応混合物を0～5℃で10分間攪拌した。アジ化ナトリウム（78.0 mg、1.2 mmol、1.2当量）を加え、混合物を室温で2時間攪拌した。反応は、EtOAcで希釈することにより後処理した。有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥した。濾過および溶媒の蒸発後、褐色の油として得られた1-アジド-4-（tert-ブチル）ベンゼン（1-azido-4-(tert-butyl)benzene）は、さらなる反応に対して十分純粋なものであった（142.30 mg、0.812 mmol、81%収率）。スペクトルデータは、文献で報告されているものと一致した。

[0108] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.96 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 1.31 (9H, s).

[0109] (2) 4-(1-(4-(tert-ブチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸の製造

[化27]



化合物 16

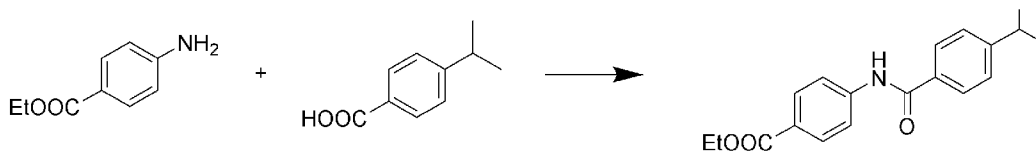
4-エチニル安息香酸 (20 mg、0.136 mmol、1当量)、前記 (1) で製造した1-アジド-4-(tert-ブチル)ベンゼン (23.8 mg、0.136 mmol、1当量)、及びCuI (5.2 mg、0.136mmol、0.2当量)の混合物に、THF (2.5mL) および Et_3N (1.25mL)を加えた。反応混合物を60℃で一晩撹拌した。溶媒を真空除去し、残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10g、 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 10\% \rightarrow 30\%$)で精製して、4-(1-(4-(tert-ブチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸 (4-(1-(4-(tert-butyl)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)benzoic acid)を、ベージュ色の固体 (28.6 mg、0.088 mmol、65%収率)として得た。

[0110] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.98 (1H, s), 8.09 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 8.01 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.80 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.62 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 1.35 (9H, s); ^{13}C NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 151.6, 146.3, 142.5, 134.3, 134.2, 130.1, 126.7, 125.3, 120.6, 119.8, 34.5, 31.0; FT-IR (KBr) 3126, 3056, 2956, 1674, 1519, 1277 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2$ 322.1550; Found 322.1541

[0111] 製造例 17 4-(4-イソプロピルベンズアミド)安息香酸 (化合物 17)

(1) 4-(4-イソプロピルベンズアミド)安息香酸エチルの製造

[化28]

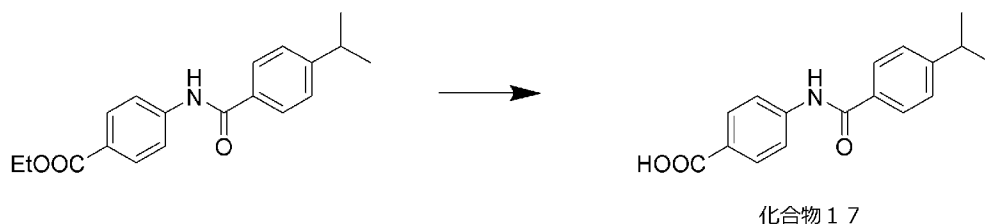


4-イソプロピル安息香酸 (215.1mg、1.31mmol、1当量) のジクロロメタン溶液 (40mL) に、塩化チオニル (1.00 g、8.41mmol、6.4当量) を添加し、反応混合物を1時間還流撹拌した。次に、4-アミノ安息香酸エチル (240 mg、1.45 mmol、1.1当量) とトリエチルアミン (150 mg、1.49 mmol、1.1当量) を加えた。8時間還流撹拌した後、反応混合物を10% HCl、及び飽和 NaHCO₃ で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、そして溶媒を真空除去した。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、EtOAc /ヘキサン= 5%→ 45%) で精製して、4-(4-イソプロピルベンズアミド) 安息香酸エチルを、淡黄色の固体 (154.5 mg、0.496 mmol、37%収率) として得た。

[0112] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (1H, s), 8.03 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.79 (2H, d, J = 7.5 Hz), 7.73 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.32 (2H, d, J = 7.5 Hz), 4.36 (2H, m), 2.97 (1H, m), 1.38 (3H, m), 1.27 (6H, m)

[0113] (2) 4-(4-イソプロピルベンズアミド) 安息香酸の製造

[化29]



4-(4-イソプロピルベンズアミド) 安息香酸エチル (84.1mg、0.27mmo、1当量) のEtOH (1mL) およびTHF (1mL) の溶液に、3M NaOH水溶液 (0.2 mL) を添加した。混合物を2時間、室温下で撹拌し、次いで溶媒を真空除去した。これに1M HCl 水溶液を加え、生成物をEtOAcを用いて抽出した。EtOAc層を合わせて、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、溶媒を真空除去した。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra10 g、EtOAc/CH₂Cl₂ = 13%→ 21%) で精製して、4-(4-イソプロピルベンズアミド) 安息香酸 (4-(4-isopropylbenzamido)benzoic acid) を淡黄色の固体 (26.9mg、0.07mmol、収率42%) として得た。

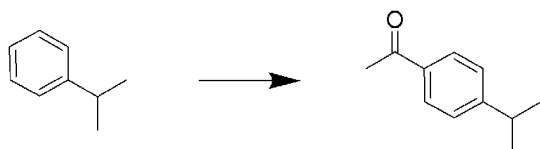
[0114] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.02 (2H, d, J = 8.9 Hz), 7.88 (2H, d, J =

8.5 Hz), 7.84 (2H, d, J = 8.9 Hz), 7.40 (1H, d, J = 8.5 Hz), 3.00 (1H, sep, J = 6.7 Hz), 1.29 (6H, d, J = 6.7 Hz)

[0115] 製造例 1 8 4- (2- (1- (4-イソプロピルフェニル) エチリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 1 8)

(1) 1- (4-イソプロピルフェニル) エタン-1-オンの製造

[化30]

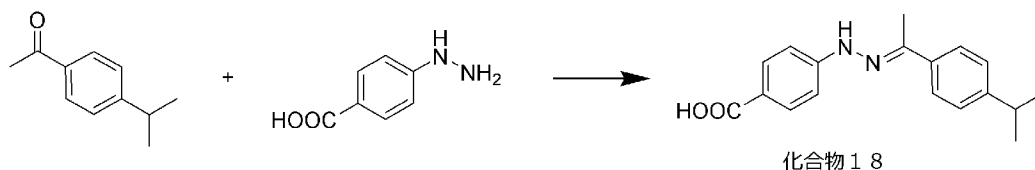


CH₂Cl₂ (11 mL) 中のクメン (1.0 g、8.3 mmol、1当量) の攪拌溶液中に、塩化アルミニウム (3.6 g、27.4 mmol、3.3当量) を0℃ で加え、続いて酢酸無水物 (1.0 g、10 mmol、1.2当量) を添加した。反応混合物を、室温で30分間攪拌し、次いで飽和NaHCO₃水溶液で希釈し、CH₂Cl₂で抽出した。有機層を合わせて、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、真空下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、EtOAc/ヘキサン= 12% → 60%) で精製して、1- (4-イソプロピルフェニル) エタン-1-オン (1-(4-isopropylphenyl)ethan-1-one) を無色の油状物 (1.19 g、89%収率) として得た。

[0116] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.89 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.30 (2H, d, J = 8.2 Hz), 2.95 (1H, sep, J = 6.7 Hz), 2.56 (3H, s), 1.26 (6H, d, J = 6.7 Hz)

[0117] (2) 4- (2- (1- (4-イソプロピルフェニル) エチリデン) ヒドラジニル) 安息香酸の製造

[化31]



1- (4-イソプロピルフェニル) エタン-1-オン (79.1 mg, 0.488 mmol, 1.0

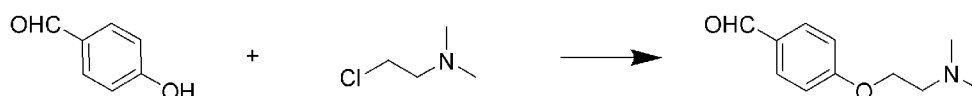
当量)、4-イソプロピルベンズアルデヒド (74.2 mg, 0.488 mmol, 1.0当量) のEtOH (10 mL) 溶液、及び酢酸 (0.025mL) を、2.5時間還流撹拌した。溶媒を真空除去し、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10g、CH₂Cl₂/ヘキサン= 12%→ 60%) を精製して、4-(2-(1-(4-イソプロピルフェニル)エチリデン)ヒドラジネイル)安息香酸 (4-(2-(1-(4-isopropylphenyl)ethylidene)hydrazineyl)benzoic acid) を、白色固体 (36.4 g、0.122 mmol、25%収率) として得た。

[0118] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.89 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.75 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.24–7.26 (4H, m), 2.91 (1H, sep, J = 6.8 Hz), 2.28 (3H, s), 1.26 (6H, d, J = 6.8 Hz)

[0119] 製造例 19 4-(2-(4-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (ネガティブ対照化合物 1)

(1) 4-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)ベンズアルデヒドの製造
Kok-Fui, L.; Kit-Lam, C.; Chong-Yew, L. Eur. J. Med. Chem. 2015, 94, 195 (非特許文献5) の記載に従って標題の化合物を製造した。

[化32]



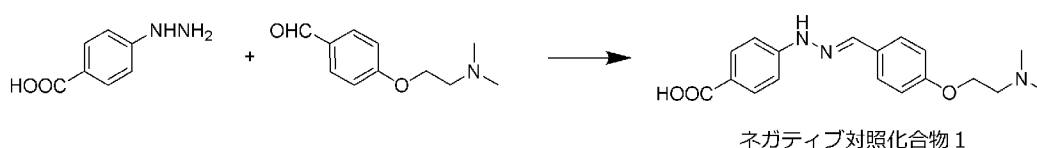
4-ヒドロキシベンズアルデヒド (122.0mg, 1.0mmol, 1.0 equiv.) をアセトン (4mL) に溶解し、K₂CO₃ (422.0mg, 3.05mmol, 3.05 equiv.) を加えた。この混合液を 60℃ で 2 時間強く撹拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち、2-クロロ-N,N'-ジメチルエタン-1-アミン塩酸塩 (144.0 mg, 1.4mmol, 1.4 equiv.) のアセトン溶液 (13mL) を混合した。そのあと、反応液を 60℃ で 2 時間撹拌したのち、不溶物をろ過にて除去した。得られたろ液を濃縮乾固し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーにて分離した。クロマトグラフィーは、固定相として SiO₂, SNAP ultra 10 g を用い、移動相として MeOH/CH₂Cl₂ = 1% → 24% の濃度勾配にて行った。目的とする 4-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)ベンズアルデヒド (4-(2-(dimethylamino)ethoxy)benzaldehyde)

hyde) を含む分画を集め、減圧濃縮することで無色油状の目的化合物(145.1 mg, 0.75 mmol, 75% 収率)を得た。

[0120] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9.83 (1H, s), 7.87 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.11 (2H, d, J = 8.7 Hz), 4.21 (2H, t, J = 5.3 Hz), 2.80 (2H, t, J = 5.3 Hz), 2.34 (s, 6H)

[0121] (2) 4-(2-(4-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸

[化33]

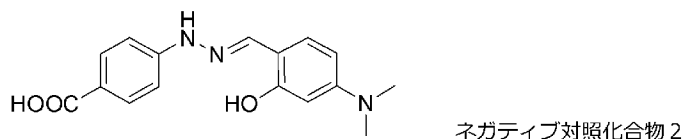


上記で得られた4-(2-(ジメチルアミノ)エトキシ)ベンズアルデヒド(658.2 mg, 3.4 mmol)と4-ヒドラジネイル安息香酸(517.3 mg, 3.24 mmol)を、製造例1に記載された方法に従い反応させたのち、シリカゲルクロマトグラフィで精製し(SiO_2 , SNAP ultra 10 g, MeOH/EtOAc = 5% → 100%の濃度勾配溶出)、4-(2-(4-(2-ジメチルアミノ)エトキシ)ベンジリデン)ヒドラジネイル安息香酸(4-(2-(4-(2-(dimethylamino)ethoxy)benzylidene)hydrazineyl)benzoic acid(ネガティブ対照化合物1))を褐色固体(900.5 mg, 2.75 mmol)として得た。収率は80%。

[0122] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.50 (1H, s), 7.76, (1H, s), 7.65 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.48 (2H, d, J = 8.0 Hz), 6.92 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.85 (2H, d, J = 8.0 Hz), 3.94 (2H, t, J = 5.3 Hz), 2.50 (2H, t, J = 5.3 Hz), 2.37 (6H, s)

[0123] 製造例20 4-(2-(4-(ジメチルアミノ)-2-ヒドロキシベンジリデン)ヒドラジネイル)安息香酸(ネガティブ対照化合物2)

[化34]



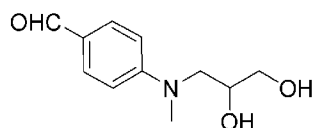
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、4-（ジメチルアミノ）-2-ヒドロキシベンズアルデヒド（30.73 mg、0.186 mmol）を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4-（2-（4-（ジメチルアミノ）-2-ヒドロキシベンジリデン）ヒドラジネイル）安息香酸（4-(2-(4-(dimethylamino)-2-hydroxybenzylidene)hydrazineyl)benzoic acid）を、カラムクロマトグラフィー（SiO₂、SNAP ultra 10 g、MeOH / CH₂Cl₂ = 5%）による精製後、黄色の固体（31.3 mg、0.104 mmol、56%収率）として得た。

[0124] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.55 (1H, br), 10.46 (1H, s), 8.09 (1H, s), 7.79 (2H, d, J = 8.7 Hz), 7.31 (1H, d, J = 8.5 Hz), 6.90 (2H, d, J = 8.7 Hz), 6.29 (1H, dd, J = 2.2, 8.5 Hz), 6.16 (1H, d, J = 2.2 Hz), 2.92 (6H, s); ¹³C NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 167.5, 157.8, 152.1, 148.7, 131.5, 129.3, 119.7, 110.6, 108.7, 104.6, 98.6, 40.0; FT-IR (KBr) 3321, 2847, 1671, 1599, 1522, 1272, 1168 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ Calcd for C₁₆H₁₈N₃O₃ 300.1343; Found 300.1340.

[0125] 製造例 2 1 4-（2-（4-（（2,3-ジヒドロキシプロピル）（メチル）アミノ）ベンジリデン）ヒドラジニル）安息香酸（ネガティブ対照化合物 3）

（1）4-（（2,3-ジヒドロキシプロピル）（メチル）アミノ）ベンズアルデヒドの製造

[化35]



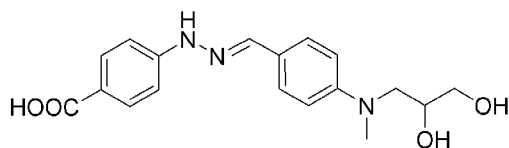
製造例 4（1）の 2-（メチルアミノ）エタノールに代えて、3-（メチルアミノ）プロパン-1,2-ジオール（603.50 mg、5.74 mmol）を使用して、製造例 4（1）に記載する手順に従って、4-（（2,3-ジヒドロキシプロピル）（メチル）アミノ）ベンズアルデヒド（4-((2,3-dihydroxypropyl)(methyl)amino)benzaldehyde）を、カラムクロマトグラフィー（SiO₂、SNAP ultra 10 g、MeOH/CH₂Cl₂ = 5%）による精製後、ベージュ色の固体として得られた（113.00

mg、0.54 mmol、14%の収率)。

[0126] ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 9.64 (1H, s), 7.65 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.80 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 4.88 (1H, s), 4.75 (1H, s), 3.72 (1H, d, $J = 3.6$ Hz), 3.62 (1H, dd, $J = 3.6, 14.9$ Hz), 3.26–3.41 (3H, m), 3.13 (3H, s); ^{13}C NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 189.7, 153.7, 131.5, 124.2, 111.0, 69.5, 63.8, 55.0, 40.0; FT-IR (KBr) 3384, 2917, 1652, 1594, 1529, 1385, 1171 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_3\text{Na}$ 232.0944; Found 232.0957.

[0127] (2) 4-(2-(4-((2,3-ジヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸の製造

[化36]



ネガティブ対照化合物 3

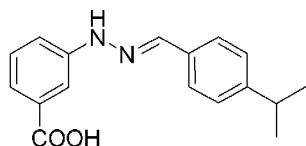
製造例 1 の 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、前記 (1) で製造した 4-(2,3-ジヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンズアルデヒド (38.90 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する手順に従って、4-(2-(4-((2,3-ジヒドロキシプロピル)(メチル)アミノ)ベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (4-(2-(4-((2,3-dihydroxypropyl)(methyl)amino)benzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10 g、 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 4\% \rightarrow 16\%$) による精製後、黄色の固体 (55.6 mg、0.162 mmol、87%収率) として得た。

[0128] ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 10.44 (1H, s), 7.83 (1H, s), 7.78 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.47 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.02 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.72 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 4.77 (1H, br), 3.71 (1H, m), 3.54 (1H, m), 3.36 (2H, m), 3.19 (1H, m), 2.99 (3H, s); ^{13}C NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 167.6, 149.9, 149.4, 140.6, 131.4, 127.5, 122.4, 119.4, 111.6, 110.8, 69.8, 64.1, 55.4, 20.7; FT-IR (KBr) 3312, 2926, 1671, 1600, 1518, 126

7, 1166 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M + H]^+$ Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_4$ 344.1605;
Found 344.1591.

[0129] 製造例 2 2 3-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (ネガティブ対照化合物 4)

[化37]



ネガティブ対照化合物 4

製造例 1 で使用した 4-ヒドラジニル安息香酸に代えて、3-ヒドラジニル安息香酸 (28.30 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する製造方法に従って、4-イソプロピルベンズアルデヒドと反応させて、3-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (3-(2-(4-isopropylbenzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を白色固体として得た (11.40mg、0.0403 mmol、21%収率)。分光学的特性は、文献で報告されているものと一致した。

[0130] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.79 (1H, s), 7.74 (1H, s), 7.58 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.41 (1H, m), 7.30 (2H, d, J = 5.3 Hz), 7.25 (2H, d, J = 8.2 Hz), 2.91 (1H, sep, J = 6.7 Hz), 1.26 (6H, d, J = 6.7 Hz).

[0131] 製造例 2 3 2-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (ネガティブ対照化合物 5)

[化38]



ネガティブ対照化合物 5

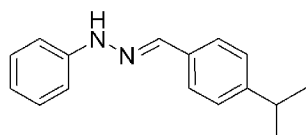
製造例 1 で使用した 4-ヒドラジニル安息香酸に代えて、2-ヒドラジニル安息香酸・塩酸塩 (35.08 mg、0.186 mmol) を使用して、製造例 1 に記載する製造方法に従って、4-イソプロピルベンズアルデヒドと反応させて、2-(2-(4-イソプロピルベンジリデン)ヒドラジニル)安息香酸 (2-(2-(4-iso

propylbenzylidene)hydrazinyl)benzoic acid) を、黄色の固体として得た (35.6 mg、0.126 mmol、67%収率)。

[0132] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.91 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.90 (1H, s), 7.75 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.62 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.46 (1H, dd, J = 1.3, 8.5 Hz), 7.26 (2H, d, J = 8.0 Hz), 6.76 (1H, dd, J = 1.3, 8.4 Hz), 2.92 (1H, sep, J = 7.1 Hz), 1.26 (6H, d, J = 7.1 Hz); ^{13}C NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 169.8, 149.5, 147.3, 141.2, 134.7, 133.0, 131.4, 126.8, 126.5, 117.6, 113.2, 109.9, 33.5, 23.9; FT-IR (KBr) 3287, 2959, 2864, 1659, 1577, 1146 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{Na}]^+$ Calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ 305.1260; Found 305.1267.

[0133] 製造例 2 4 1- (4-イソプロピルベンジリデン) -2-フェニルヒドラジン (ネガティブ対照化合物 6)

[化39]



ネガティブ対照化合物 6

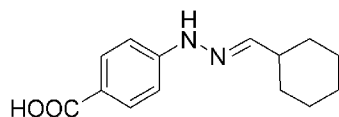
製造例 1 で使用した 4-ヒドラジニル安息香酸に代えて、フェニルヒドラジン (20.08 mg、0.186mmol) を使用して、製造例 1 に記載する製造方法に従って、4-イソプロピルベンズアルデヒドと反応させて、1- (4-イソプロピルベンジリデン) -2-フェニルヒドラジン (1-(4-isopropylbenzylidene)-2-phenylhydrazine) を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra10 g、 EtOAc /ヘキサン= 3%→7%) による精製後に、ピンク色の固体 (2.5mg、0.0104mmol、5%収率) として得た。

[0134] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.24 (1H, s), 7.83 (1H, s), 7.55 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.25 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.20 (2H, dd, J = 7.4, 7.4 Hz), 7.04 (2H, d, J = 7.4 Hz), 6.73 (1H, t, J = 7.4 Hz), 2.88 (1H, sep, J = 6.8 Hz), 1.20 (6H, d, J = 6.8 Hz); ^{13}C NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 148.3, 145.4, 136.6, 133.5, 129.1, 126.6, 125.7, 118.5, 111.9, 33.3,

23.8; FT-IR (KBr) 3295, 3025, 2956, 1595, 1489, 1258, 1127 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M + H]^+$ Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2$ 239.1543; Found 239.1557.

[0135] 製造例 2 5 4- (2- (シクロヘキシルメチレン) ヒドラジニル) 安息香酸 (ネガティブ対照化合物 7)

[化40]



ネガティブ対照化合物 7

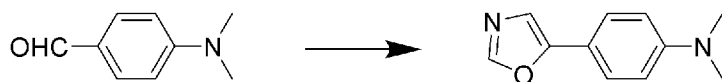
製造例 1 で使用した 4-イソプロピルベンズアルデヒドに代えて、シクロヘキサンカルブアルデヒド (20.83mg、0.186mmol) を使用して、製造例 1 に記載する製造方法に従って、4-ヒドラジネイル安息香酸と反応させて、4- (2- (シクロヘキシルメチレン) ヒドラジネイル) 安息香酸 (4- (2- (cyclohexylmethylene) hydrazinyl) benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10g、EtOAc /ヘキサン= 50%) による精製後、ピンク色の固体 (39.6mg、0.161mmol、87%の収率) として得た。

[0136] ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.17 (1H, br), 10.15 (1H, s), 7.73 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.17 (1H, s), 6.90 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 2.21 (1H, m), 1.71 (5H, m), 1.24 (5H, m); ^{13}C NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 167.5, 149.7, 147.2, 131.3, 119.4, 110.7, 30.3, 25.8, 25.4, 25.3; FT-IR (KBr) 3319, 2929, 2851, 1670, 1602, 1423, 1289, 1167 cm^{-1} ; HRMS (ESI-TOF) m/z : $[M + \text{Na}]^+$ Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ 269.1260; Found 269.1262.

[0137] 製造例 2 6 4- (5- (4- (ジメチルアミノ) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸 (化合物 1 9)

(1) N,N-ジメチル-4- (オキサゾール-5-イル) アニリンの製造

[化41]



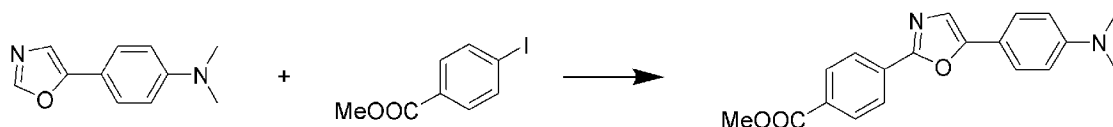
製造例 1 5 (1) の 2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンズアルデヒドに代えて、4- (ジメチルアミノ) ベンズアルデヒド (75.4 mg、0.5 mmol) を

使用して、製造例 15 (1) に記載する手順に従って、N,N-ジメチル-4-(オキサゾール-5-イル) アニリン (N,N-dimethyl-4-(oxazol-5-yl)aniline) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン = 20% → 100%) による精製後、橙色の固体 (62.4 mg、0.33 mmol、収率 66 %) として得た。

[0138] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.82 (1H, s), 7.51 (2H, d, J=8.8 Hz), 7.14 (1H, s), 6.73 (2H, d, J = 8.8 Hz), 2.99 (6H, s)

[0139] (2) 4-(5-(4-(ジメチルアミノ)フェニル)オキサゾール-2-イル)安息香酸メチルの製造

[化42]

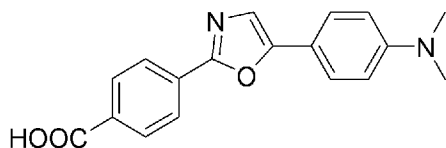


製造例 15 (2) の5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)オキサゾールに代えて、N,N-ジメチル-4-(オキサゾール-5-イル)アニリン (10.0 mg、0.05 mmol) を使用して、製造例 15 (2) に記載する手順に従って、4-(5-(4-(ジメチルアミノ)フェニル)オキサゾール-2-イル)安息香酸メチル (methyl 4-(5-(4-(dimethylamino)phenyl)oxazol-2-yl)benzoate) を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン = 10% → 30%) による精製後、橙色の固体 (12.2 mg、0.03 mmol、収率 71 %) として得た。

[0140] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.13-8.15 (4H, m), 7.60 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.29 (1H, s), 6.76 (2H, d, J = 8.5 Hz), 3.94 (3H, s), 3.02 (6H, s)

[0141] (3) 4-(5-(4-(ジメチルアミノ)フェニル)オキサゾール-2-イル)安息香酸の製造

[化43]



化合物19

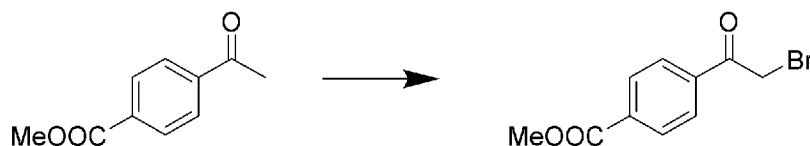
アセトン (0.5 mL) に溶解した4- (5- (4- (ジメチルアミノ) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸メチル (12.2 mg、0.03 mmol) に、水 (0.2 mL) に溶解した水酸化リチウム一水和物 (8 mg、0.2 mmol) 溶液を加えた。混合物を3時間還流下で攪拌した。室温にまで冷却した後、1 M 塩酸水溶液を加えて、pH 1-2として生じた沈殿物を濾過により回収した。固形物を水で洗浄して、4- (5- (4- (ジメチルアミノ) フェニル) オキサゾール-2-イル) 安息香酸 (4-(5-(4-(dimethylamino)phenyl)oxazol-2-yl)benzoic acid) を橙色の固体 (4.1 mg、0.013 mmol、35%収率) として得た。

[0142] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.14 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.07 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.66 (2H, d, J = 8.9 Hz), 7.61 (1H, s), 6.81 (2H, d, J = 8.9 Hz), 2.96 (6H, s)

[0143] 製造例 27 4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸 (化合物 20)

(1) 4- (2-ブromoアセチル) 安息香酸メチルの製造

[化44]



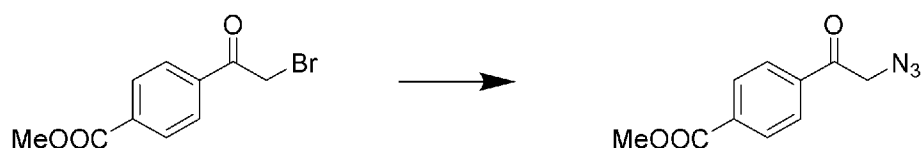
4-アセチル安息香酸メチル (445.4 mg, 2.5 mmol, 1.0 当量)を酢酸エチル (21 mL) に溶解し、臭化銅 (II) (1.1 g, 5.0 mmol, 2.0 当量)を加えた。この混合液を3時間還流下で攪拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち、固形物を濾過により回収した。さらに水とヘキサン/酢酸エチル=4 : 1で洗浄して、4- (2-ブromoアセチル) 安息香酸メチル (methyl 4-(2-brom

oacetyl)benzoate) を黄色の固体 (511.5 mg、1.9 mmol、79%収率) として得た。

[0144] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.15 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.06 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 4.46 (2H, s), 3.95 (3H, s)

[0145] (2) 4-(2-アジドアセチル)安息香酸メチルの製造

[化45]

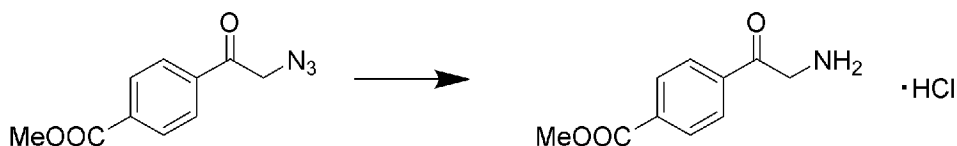


(1) で製造した4-(2-ブロモアセチル)安息香酸メチル (363.0 mg, 1.4 mmol, 1.0 当量)をエタノール (12 mL)、酢酸(0.48 mL)に溶解し、4 °Cで撹拌した。アジ化ナトリウム(183.5 mg, 2.8 mmol, 2.0 当量)を加え、この混合液を一晩4 °Cで撹拌した。得られた反応液を濃縮乾固し、残渣を酢酸エチルに溶解した。これを飽和炭酸ナトリウム水溶液で2回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させろ過し、ろ液を減圧濃縮することで4-(2-アジドアセチル)安息香酸メチル (4-(methyl 4-(2-azidoacetyl)benzoate) (281.5 mg, 1.28 mmol, 90% 収率)を得た。

[0146] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.16 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.96 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 4.59 (2H, s), 3.96 (3H, s)

[0147] (3) 4-グリシル安息香酸メチル塩酸塩の製造

[化46]



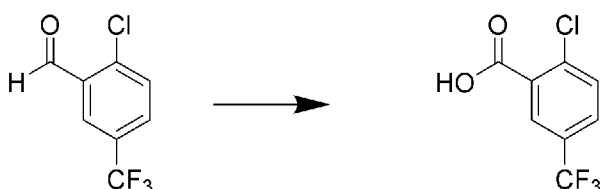
(2) で製造した4-(2-アジドアセチル)安息香酸メチル (281.5 mg, 1.2 mmol)をメタノール (5.8 mL)、1 M塩酸水溶液(1.28 mL)に溶解し、フラスコ内をアルゴンで置換した。Pd/C (28.0 mg, 10w/w%)を加え、フラスコ内を水素で置換しこれを一晩室温で撹拌した。得られた反応液をセライトでろ過し、ろ液を減圧濃縮することで4-グリシル安息香酸メチル塩酸塩 (methyl 4-

glycylbenzoate hydrochloride) (210.8 mg, 0.91 mmol, 76% 収率)を得た。
。

[0148] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.01 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.57 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 3.94 (2H, s), 3.89 (3H, s)

[0149] (4) 2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)安息香酸の製造

[化47]

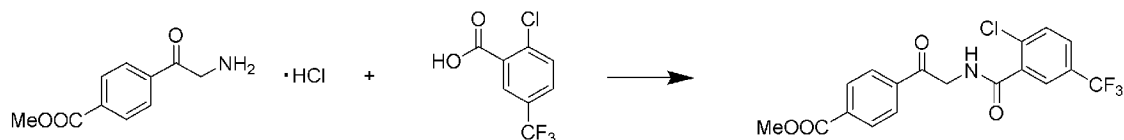


2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンズアルデヒド (522 mg, 2.5 mmol, 1.0 当量)をアセトン (15 mL)、水 (15 mL) に溶解し、過マンガン酸カリウム (1.6 g, 10 mmol, 4.0 当量)を加え3時間半室温で撹拌した。これに炭酸ナトリウム (0.4 g, 3.75 mmol, 1.5 当量)を加え、15分室温で撹拌した。得られた反応液をセライトでろ過し、ろ液を減圧濃縮して溶媒を除いた。残った水溶液に2 M塩酸を加えて酸性にし、酢酸エチルで抽出した。有機層を水と飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮することで2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)安息香酸 (2-chloro-5-(trifluoromethyl)benzoic acid) (556.4 mg, 2.4 mmol, 99% 収率)を得た。

[0150] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.11 (1H, s), 7.77 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.69 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)

[0151] (5) 4-((2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾイル)グリシル)安息香酸メチルの製造

[化48]



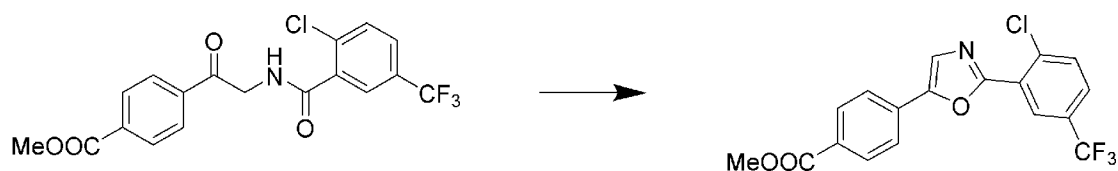
(3) で製造した4-グリシル安息香酸メチル塩酸塩 (3.6 g, 16.1 mmol, 1

.1 当量)、 (4) で製造した2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) 安息香酸 (3.3 g, 14.7 mmol, 1.0 当量)、 Anhydrous HOBt (2.1g, 16.1 mmol, 1.1 当量) をジクロロメタン (36.0 mL)、 トリアチルアミン (2.4 mL) に溶解し、 WSC・HCl (3.0 g, 16.1 mmol, 1.1 当量) を加え一晩室温で撹拌した。得られた反応液に水 (500 mL) を加え、 酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を1 M塩酸、 水、 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し硫酸ナトリウムで乾燥し、 ろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、 SNAP ultra 10 g、 酢酸エチル/ヘキサン = 15 % → 25%、 メタノール/酢酸エチル = 30%) で精製して、 4- ((2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンゾイル) グリシル)) 安息香酸メチル (methyl 4-((2-chloro-5-(trifluoromethyl)benzoyl)glycyl)benzoate) を、 白色固体 (1.8 g、 4.5 mmol、 30%収率) として得た。

[0152] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.15 (2H, d, J = 8.0 Hz), 8.05 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.98 (1H, s), 7.62 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.48 (1H, d, J = 8.3 Hz), 5.00 (2H, s), 3.94 (3H, s)

[0153] (6) 4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸メチルの製造

[化49]



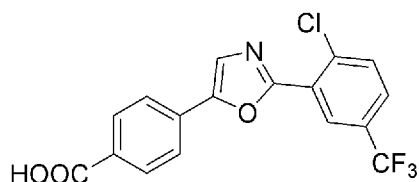
(5) で製造した4- ((2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンゾイル) グリシル)) 安息香酸メチル (842.5 mg, 2.1 mmol) をPOCl₃ (14.0 mL) に溶解し、 6時間還流下で撹拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち、 氷冷した水 (140 mL) を加え、 2 M水酸化ナトリウム水溶液を加えてpH 10とした。これを酢酸エチルで抽出し、 得られた有機層を水と飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し硫酸ナトリウムで乾燥し、 ろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、 SNAP ultra 10g、 酢酸エチル/ヘ

キサン= 5% → 20%) で精製して、4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(2-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-5-yl)benzoate) を、白色固体 (321.0 mg、0.84 mmol、40%収率) として得た。

[0154] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.40 (1H, s), 8.13 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.81 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.65–7.70 (3H, m), 3.95 (3H, s)

[0155] (7) 4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸の製造

[化50]



化合物20

(6) で製造した4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸メチル (321.0 mg、0.84 mmol) をTHF (9.7 mL) と水 (9.7 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (176.4 mg、4.2 mmol) を加えた。混合物を一晩室温で攪拌した。1 M 塩酸水溶液を加えてpH 1–2とし、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥しろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 50% → 100%) で精製して、4- (2- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) オキサゾール-5-イル) 安息香酸 (4-(2-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-5-yl)benzoic acid) を、白色固体 (160.3 mg、0.43 mmol、51%収率) として得た。

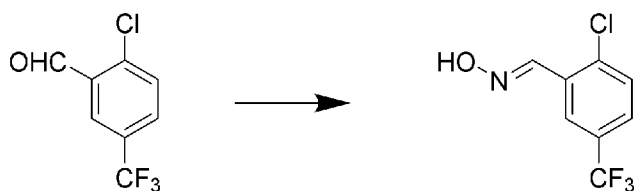
[0156] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.41 (1H, s), 8.14 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.93 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.89 (1H, s), 7.83–7.84 (2H, m)

[0157] 製造例 28 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) イソオキサゾール-5-イル) 安息香酸 (化合物 21)

(1) 2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンズアルデヒドオキシムの製

造

[化51]

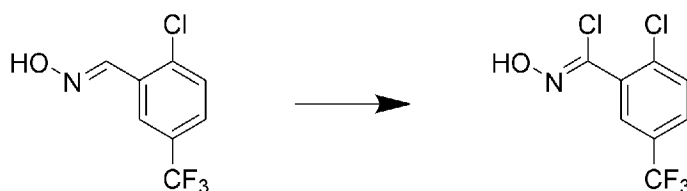


2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）ベンズアルデヒド（522.0 mg, 2.5 mmol, 1.0 当量）を脱水エタノール（2.1 mL）に溶解し、ヒドロキシルアミン塩酸塩（191.3 mg, 2.75 mmol, 1.1 当量）、ピリジン（296.5 mg, 3.75 mmol, 1.5 当量）を加えた。この混合液を3時間還流下で攪拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち、溶媒を真空除去した。残渣にジエチルエーテル（15 mL）を加え、1 M塩酸と水で洗浄し硫酸ナトリウムで乾燥してろ過し、ろ液を減圧濃縮して、2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）ベンズアルデヒドオキシム（2-chloro-5-(trifluoromethyl)benzaldehyde oxime）（476.9 mg, 2.1 mmol、85%収率）として得た。

[0158] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (1H, s), 8.10 (1H, s), 7.56 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.53 (1H, d, $J = 8.3$ Hz)

[0159] (2) 2-クロロ-N-ヒドロキシ-5-（トリフルオロメチル）ベンジミドイルクロリドの製造

[化52]



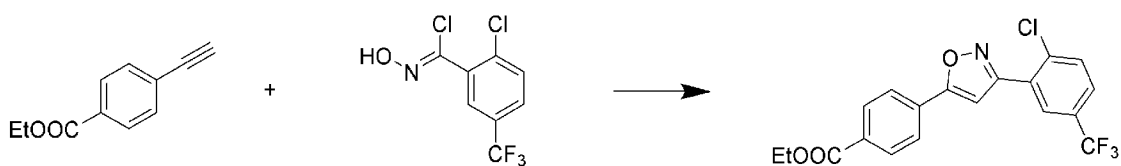
(1) で製造した2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）ベンズアルデヒドオキシム（476.9mg, 2.1 mmol, 1.0 当量）をDMF（0.54 mL）に溶解し、0℃で攪拌した。NCS（298.6 mg, 2.23 mmol, 1.05 当量）を加え、1-2 mLほどの塩化水素ガスを加えた反応液を0℃から室温まで一晩攪拌した。混合液にジエチルエーテル（33 mL）を加え、氷冷した水と飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナト

リウムで乾燥してろ過し、ろ液を減圧濃縮して2-クロロ-N-ヒドロキシ-5-（トリフルオロメチル）ベンジミドイルクロリド（2-chloro-N-hydroxy-5-(trifluoromethyl)benzimidoyl chloride）（462.7 mg、1.79 mmol、84%収率）として得た。

[0160] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.49 (1H, s), 7.74 (1H, s), 7.65 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.59 (1H, d, J = 8.5 Hz)

[0161] (3) 4-（3-（2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）フェニル）イソオキサゾール-5-イル）安息香酸エチル

[化53]

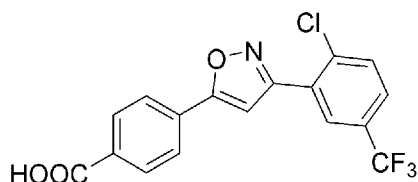


(2) で製造した2-クロロ-N-ヒドロキシ-5-（トリフルオロメチル）ベンジミドイルクロリド（462.7 mg、1.79 mmol、1.0 当量）と4-エチニル安息香酸エチル（327.4 mg、1.87 mmol、1.05 当量）をジクロロメタン（14 mL）に溶解し、トリエチルアミン（271.5 mg、2.68 mmol、1.5 当量）を加え、室温で48時間撹拌した。混合液にジクロロメタン（34 mL）を加え、1 M水酸化ナトリウム水溶液と水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥してろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー（ SiO_2 、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン= 5% → 30%）で精製して、4-（3-（2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）フェニル）イソオキサゾール-5-イル）安息香酸エチル（ethyl 4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)isoxazol-5-yl)benzoate）（259.8mg、0.65 mmol、36%収率）として得た。

[0162] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.17 (2H, d, J = 8.0 Hz), 8.09 (1H, s), 7.92 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.66 (2H, m), 7.11 (1H, s), 4.42 (2H, q, J = 7.1 Hz), 1.42 (3H, t, J = 7.1 Hz)

[0163] (4) 4-（3-（2-クロロ-5-（トリフルオロメチル）フェニル）イソオキサゾール-5-イル）安息香酸の製造

[化54]

**化合物21**

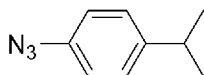
(3) で製造した4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)イソオキサゾール-5-イル)安息香酸エチル (259.8 mg、0.65 mmol) をTHF (2.2 mL) と水 (2.2 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (137.6 mg、3.2 mmol) を加えた。混合物を一晩室温で撹拌した。1 M 塩酸水溶液を加えてpH 1-2とし、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥しろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、メタノール/ジクロロメタン = 10%) で精製して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)イソオキサゾール-5-イル)安息香酸 (4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)isoxazol-5-yl)benzoic acid) を、白色固体 (125.9 mg、0.34 mmol、52%収率) として得た。

[0164] ¹H NMR (400 MHz, acetone-d₆) δ 8.22 (2H, d, J = 8.0 Hz), 8.11-8.13 (3 H, m) 7.92 (2H, m), 7.59 (1H, s)

[0165] 製造例 29 4-(1-(4-イソプロピルフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸 (化合物 22)

(1) 1-アジド-4-イソプロピルベンゼンの製造

[化55]



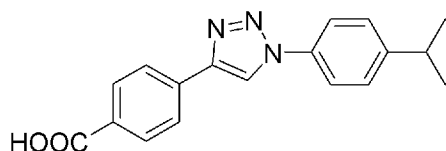
製造例 16 (1) の4-(tert-ブチル)アニリンに代えて、4-イソプロピルアニリン (135.1 mg、1.0 mmol) を使用して、製造例 16 (1) に記載する手順に従って、1-アジド-4-イソプロピルベンゼン (1-azido-4-isopropylbenzene) を、茶色の油状液体 (139.1 mg、0.86 mmol、収率86 %) として得た。

。

[0166] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.02 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 2.96 (1H, sep, $J = 7.1$ Hz), 1.30 (6H, d, $J = 7.1$ Hz),

[0167] (2) 4-(1-(4-イソプロピルフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸の製造

[化56]



化合物22

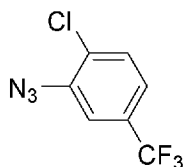
製造例16(2)の1-アジド-4-(tert-ブチル)ベンゼンに代えて、1-アジド-4-イソプロピルベンゼン(11.3 mg、0.07 mmol)を使用して、製造例16(2)に記載する手順に従って、4-(1-(4-イソプロピルフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸(4-(1-(4-isopropylphenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)benzoic acid)を、カラムクロマトグラフィー(SiO_2 、SNAP ultra 10 g、 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 5 \rightarrow 14\%$)による精製後、薄茶色の固体(5.1 mg、0.016 mmol、収率23%)として得た。

[0168] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.99 (1H, s), 8.11 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.01 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.83 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.49 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 3.03 (1H, sep, $J = 7.1$ Hz), 1.32 (6H, d, $J = 7.1$ Hz)

[0169] 製造例30 4-(1-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸(化合物23)

(1) 2-アジド-1-クロロ-4-(トリフルオロメチル)ベンゼンの製造

[化57]



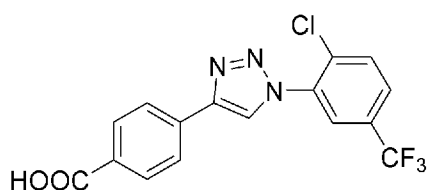
製造例16(1)の4-(tert-ブチル)アニリンに代えて、2-クロロ-5-トリフルオロメチルアニリン(195.5 mg、1.0 mmol)を使用して、製造例16

(1) に記載する手順に従って、2-アジド-1-クロロ-4-(トリフルオロメチル)ベンゼン (2-azido-1-chloro-4-(trifluoromethyl)benzene) を、茶色の油状液体 (191.3 mg、0.86 mmol、収率86%) として得た。

[0170] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.26 (1H, s), 7.19 (1H, d, $J = 8.3$ Hz)

[0171] (2) 4-(1-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸の製造

[化58]



化合物23

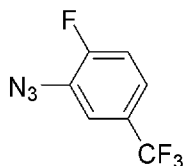
製造例16(2)の1-アジド-4-(tert-ブチル)ベンゼンに代えて、2-アジド-1-クロロ-4-(トリフルオロメチル)ベンゼン (17.7 mg、0.07 mmol) を使用して、製造例16(2)に記載する手順に従って、4-(1-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸 (4-(1-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10 g、 $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 5 \rightarrow 14\%$) による精製後、白色の固体 (6.1 mg、0.017 mmol、収率25%) として得た。

[0172] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.93 (1H, s), 8.14 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 8.11 (1H, s), 8.07 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.96-7.97 (2H, m)

[0173] 製造例31 4-(1-(2-フルオロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)安息香酸(化合物24)

(1) 2-アジド-1-フルオロ-4-(トリフルオロメチル)ベンゼンの製造

[化59]

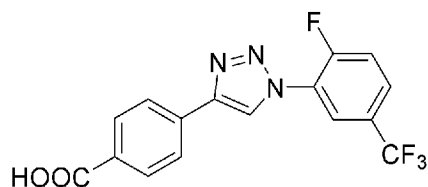


製造例 16 (1) の4- (tert-ブチル) アニリンに代えて、2-フルオロ-5-トリフルオロメチルアニリン (179.1 mg、1.0 mmol) を使用して、製造例 16 (1) に記載する手順に従って、2-アジド-1-フルオロ-4- (トリフルオロメチル) ベンゼン (2-azido-1-fluoro-4-(trifluoromethyl)benzene) を、茶色の油状液体 (93.7 mg、0.45 mmol、収率45%) として得た。

[0174] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36 (1H, s), 7.31 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.21 (1H, d, $J = 8.5$ Hz)

[0175] (2) 4- (1- (2-フルオロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル) 安息香酸の製造

[化60]



化合物24

製造例 16 (2) の1-アジド-4- (tert-ブチル) ベンゼンに代えて、2-アジド-1-フルオロ-4- (トリフルオロメチル) ベンゼン (130.6 mg、0.63 mmol) を使用して、製造例 16 (2) に記載する手順に従って、4- (1- (2-フルオロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル) 安息香酸 (4-(1-(2-fluoro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)benzoic acid) を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/クロロホルム = 5 $\rightarrow$ 8%) による精製後、薄茶色の固体 (2.7 mg、0.20 mmol、収率32%) として得た。

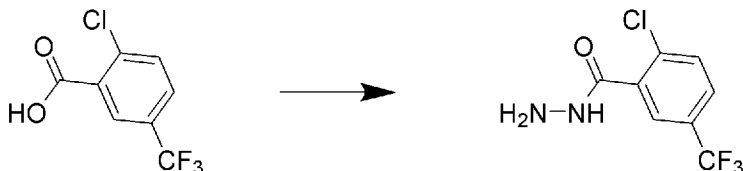
[0176] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.98 (1H, s), 8.32 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.13 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.08 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.97 (1H, s), 7.73 (

^1H , d, $J = 8.0$ Hz); ESI-MS m/z 352.05 $[\text{M} + \text{H}]^+$

[0177] 製造例 3 2 4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)安息香酸(化合物 25)

(1) 2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾヒドラジドの製造

[化61]

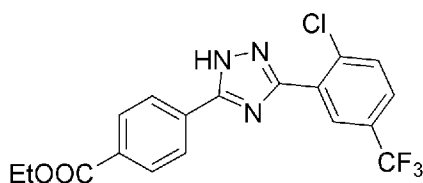


2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)安息香酸 (381.8 mg, 1.7 mmol, 1.0 当量)、脱水メタノール(1.7 mL, 41.6 mmol, 24.5 当量)、硫酸(46 μL , 0.85 mmol, 0.5 当量)を混合して還流下で4時間攪拌し、得られた反応液を室温まで放置冷却した。ヒドラジーン水和物(537 μL , 11.0 mmol, 6.5 当量)を加え還流下で一晩強く攪拌した。飽和炭酸ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和塩化ナトリウム水で洗浄して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を濃縮乾固した。残渣をヘキサンとジイソプロピルエーテルで洗浄して乾燥し、2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾヒドラジド (2-chloro-5-(trifluoromethyl)benzohydrazide) (160.9 mg、0.67 mmol、39%収率)として得た。

[0178] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.89 (1H, s), 7.87 (1H, br), 7.63 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.55 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 4.17 (2H, br)

[0179] (2) 4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)安息香酸エチルの製造

[化62]



4-シアノ安息香酸メチル (197.0 mg, 1.2 mmol)をメタノール(2.6 mL)に

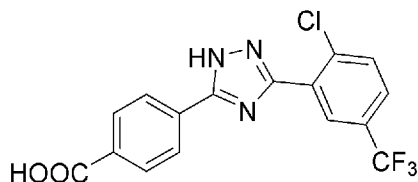
溶解し 0℃で攪拌し、塩化アセチル (3.6 mL)を滴下した。この混合液を 0℃から室温まで一晩攪拌して、溶媒を真空除去した。得られた固体をジエチルエーテルで洗浄して乾燥し、直ちに次の反応に使用した。

ナトリウムメトキシド (5 Mメタノール溶液) (0.15 mL, 0.752 mmol, 1.28 当量)をエタノール (6.3 mL) に溶解して攪拌し、上述の残渣をエタノール (2 mL) に溶解したものを加えた。30分室温で攪拌し、ろ過してろ液を減圧濃縮した。この混合物に (1) で製造した2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾヒドラジド (140.1 mg, 0.58 mmol, 1.0 当量)とジオキサン (2 mL) を加え、還流下で一晩攪拌した。1 M水酸化ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥してろ過し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂, SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン = 5%→ 30%) で精製して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)安息香酸エチル (ethyl 4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)benzoate) (2.9 mg、0.0073 mmol、1.2%収率) として得た。

[0180] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.15-8.22 (5H, m), 7.83 (2H, m), 4.41 (2H, q, J = 7.1 Hz), 1.42 (3H, t, J = 7.1 Hz); ESI-MS m/z 396.25 [M + H]⁺

[0181] (3) 4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)安息香酸の製造

[化63]



化合物25

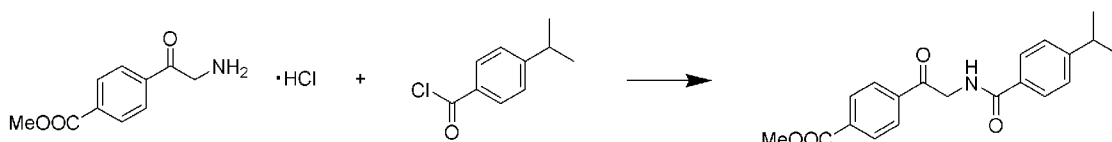
(2) で製造した4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)安息香酸エチル (2.9 mg、0.0075 mmol) をT HF (0.1 mL) と水 (0.1 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (1.6 mg、0.037 mmol) を加え、一晩室温で攪拌した。1 M HCl水溶液を加えて中性にし

、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥しろ過してろ液を減圧濃縮して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)安息香酸 (4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)benzoic acid) を、白色固体 (2.5 mg、0.0067 mmol、89%収率) として得た。

[0182] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.17–8.21 (4H, m), 7.74–7.82 (3H, m); ESI-MS m/z 368.10 $[\text{M} + \text{H}]^+$

[0183] 製造例 3 3 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸 (化合物 2 6)

(1) 4-(4-イソプロピルベンゾイル)グリシル)安息香酸メチルの製造
[化64]

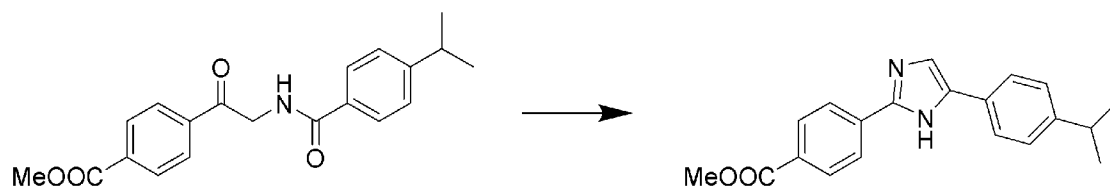


製造例 2 0 (3) で製造した4-グリシル安息香酸メチル塩酸塩 (293.9 mg, 1.28 mmol, 1.0 当量)、4-イソプロピルベンゾイルクロリド (233.7 mg, 1.28 mmol, 1.0 当量)、トリエチルアミン (517.6 mg, 5.12 mmol, 4.0 当量) をジクロロメタン (7.0 mL) に溶解し、室温で30分撹拌した。溶媒を真空除去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 0% → 17%) で精製して、4-(4-イソプロピルベンゾイル)グリシル)安息香酸メチル (methyl 4-((4-isopropylbenzoyl)glycyl)benzoate) (87.1 mg、0.25 mmol、19%収率) として得た。

[0184] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.17 (2H, d, $J = 7.4$ Hz), 8.08 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.81 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.32 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.22 (1H, s), 4.99 (2H, s), 3.96 (3H, s), 2.96 (1H, sep, $J = 6.7$ Hz), 1.27 (6H, d, $J = 6.7$ Hz)

[0185] (2) 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸メチルの製造

[化65]

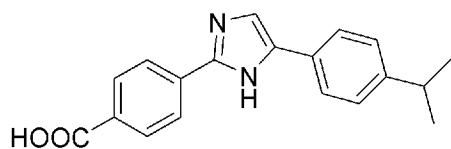


(1) で製造した4-((4-イソプロピルベンゾイル)グリシル)安息香酸メチル (87.1 mg, 0.25 mmol, 1.0 当量)と酢酸アンモニウム (157.8 mg, 2.04 mmol, 8.0 当量)を酢酸 (0.8mL)に溶解し、2時間還流下で撹拌した。溶媒を真空除去し、得られた固体をエタノール/水/ジクロロメタン=1:1:1に溶解した。ジクロロメタン層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮して、4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸メチル (methyl 4-(5-(4-isopropylphenyl)-1H-imidazol-2-yl)benzoate) (7.6 mg、0.023 mmol、9%収率)として得た。

[0186] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.97 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.84 (2H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.71 (2H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.20 (1H, s), 7.19 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 3.90 (3H, s), 2.82 (1H, sep, $J = 7.1$ Hz), 1.18 (6H, d, $J = 7.1$ Hz)

[0187] (3) 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸の製造

[化66]



化合物26

(2) で製造した4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸メチル (7.6 mg, 0.023 mmol, 1.0 当量)をTHF (0.3 mL)と水 (0.3 mL)に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (5.0 mg、0.11 mmol, 5 当量)を加え、混合物を一晩室温で撹拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて中性に

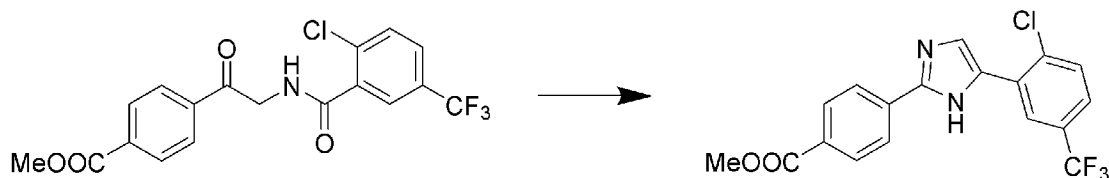
し、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥しろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン= 80% → 100%) で精製して、4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1H-イミダゾール-2-イル) 安息香酸 (4-(5-(4-isopropylphenyl)-1H-imidazol-2-yl)benzoic acid) を、白色固体 (2.7 mg、0.008 mmol、34%収率) として得た。

[0188] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.04 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.88 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.87 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.62 (1H, s) 7.37 (2H, d, J = 8.5 Hz), 2.96 (1H, sep, J = 7.1 Hz), 1.29 (2H, d, J = 7.1 Hz)

[0189] 製造例 3 4 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-イミダゾール-2-イル) 安息香酸 (化合物 2 7)

(1) 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-イミダゾール-2-イル) 安息香酸メチルの製造

[化67]

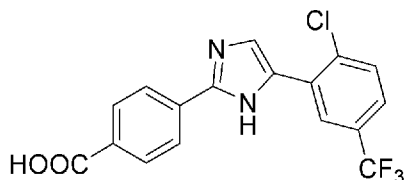


製造例 2 0 (5) で製造した4- ((2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンゾイル) グリシル)) 安息香酸メチル (792.0 mg, 1.98 mmol, 1.0 当量) と酢酸アンモニウム (1.2 g, 15.5 mmol, 8.0 当量) を酢酸 (6.2 mL) に溶解し、2時間還流下で攪拌した。溶媒を真空除去し、得られた固体をエタノール/水/ジクロロメタン=1:1:1に溶解した。ジクロロメタン層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮して、4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-イミダゾール-2-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)benzoate) (267.2 mg、0.7 mmol、35%収率) として得た。

[0190] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.49 (1H, br), 8.72 (1H, s), 8.08 (2H, d,

$J = 8.9 \text{ Hz}$), 7.89–7.91 (2H, m), 7.56 (2H, d, $J = 8.9 \text{ Hz}$), 7.55 (1H, m), 3.93 (3H, s); ESI-MS m/z 380.80 $[M + H]^+$

[0191] (2) 4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸の製造
[化68]



化合物27

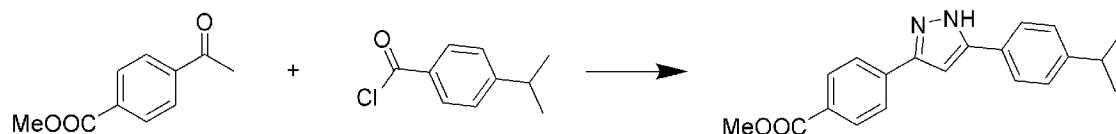
(1) で製造した4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸メチル (267.2 mg, 0.7 mmol, 1.0 当量) をTHF (8 mL) と水 (8 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (146.8 mg, 3.5 mmol, 5.0 当量) を加え、混合物を一晩室温で攪拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて中性にし、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂, SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 80% → 100%) で精製して、4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸 (4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)benzoic acid) を、白色固体 (140.7 mg、0.383 mmol、54%収率) として得た。

[0192] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.14 (1H, s), 8.06 (2H, d, $J = 8.3 \text{ Hz}$), 7.90 (2H, d, $J = 8.3 \text{ Hz}$), 7.75–7.81 (3H, m)

[0193] 製造例35 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)安息香酸 (化合物28)

(1) 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)安息香酸メチルの製造

[化69]

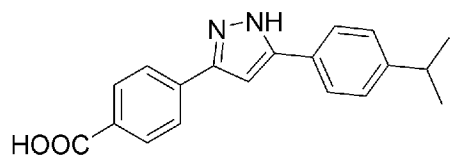


4-アセチル安息香酸メチル (16.4 mg, 0.1 mmol, 1.0 当量) をトルエン (0.25 mL) に溶解して 0℃ で攪拌し、LiHMDS (1 M THF 溶液, 105.0 μ L, 0.105 mmol, 1.05 当量) を素早く加えた。この混合液を 0℃ で 1 分程攪拌したのち、4-イソプロピルベンゾイルクロリド (9.1 mg, 0.05 mmol, 0.5 当量) をシリンジで加えた。反応容器を氷浴から外して 1 分攪拌して、酢酸 (0.1 mL)、エタノール (0.5 mL)、THF (0.25 mL)、ヒドラジーン水和物 (0.3 mL) を加えた。そのあと、反応液を還流下で 1 時間半攪拌したのち、1 M 水酸化ナトリウム水溶液を加えた。これを酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和塩化ナトリウム水で洗浄して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を濃縮乾固した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂, SNAP ultra 10g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 0% $\rightarrow$ 50%) で精製して、4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(5-(4-isopropyl phenyl)-1H-pyrazol-3-yl)benzoate) (13.3 mg、0.041 mmol、83% 収率) として得た。

[0194] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.06 (2H, d, J = 7.1 Hz), 7.95 (2H, d, J = 6.7 Hz), 7.67 (2H, d, J = 6.7 Hz), 7.32 (2H, d, J = 7.1 Hz), 7.05 (1H, s), 2.94 (1H, sep, J = 7.1 Hz), 1.28 (6H, d, J = 7.1 Hz)

[0195] (2) 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸の製造

[化70]



化合物28

(1) で製造した 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)

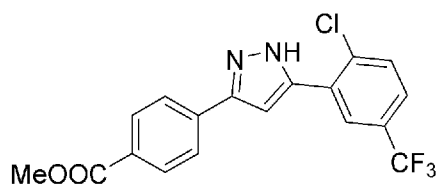
ル)安息香酸メチル (13.3 mg, 0.041 mmol, 1.0 当量) を THF (0.5 mL) と水 (0.5 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (8.7 mg、0.2 mmol, 5.0 当量) を加え、混合物を一晩室温で撹拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて中性にし、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 80% → 100%) で精製して、4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)安息香酸 (4-(5-(4-isopropylphenyl)-1H-pyrazol-3-yl)benzoic acid) を、白色固体 (6.4 mg、0.02 mmol、50%収率) として得た。

[0196] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.09 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.93 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.71 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.32 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.07 (1H, s), 2.95 (1H, sep, J = 6.7 Hz), 1.28 (6H, d, J = 6.7 Hz)

[0197] 製造例 3 6 4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)安息香酸 (化合物 2 9)

(1) 4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール-3-イル)安息香酸メチルの製造

[化71]



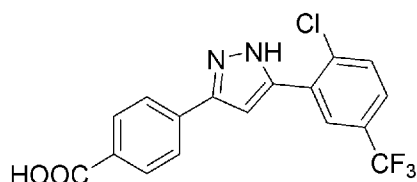
製造例 2 7 で製造した 2-クロロ-5-トリフルオロメチル安息香酸 (529.9 mg, 2.35 mmol, 1.0 当量) をジクロロメタン (8.5 mL) と DMF (2.8 mL) に溶解し、0℃で撹拌して二塩化オギザリル (242 μL, 2.82 mmol, 1.2 当量) を滴下した。反応液を室温で 3 時間撹拌してから減圧濃縮し、2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾイルクロリドとして直ちに次の反応に用いた。

製造例 3 5 (1) の 4-イソプロピルベンゾイルクロリドに代えて、上記で製造した 2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾイルクロリド (17.0 mg

、0.07 mmol) を使用して、製造例 35 (1) に記載する手順に従って、4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-pyrazol-3-yl)benzoate) をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 0% → 50%) (29.0 mg、0.076 mmol、100%収率) として得た。

[0198] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.10 (1H, s), 8.09 (2H, d, J = 9.4 Hz), 7.93 (2H, m), 7.72 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.67 (1H, m), 7.27 (1H, s), 3.93 (3H, s)

[0199] (2) 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸の製造
[化72]



化合物29

(1) で製造した4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸メチル (29.0 mg, 0.076 mmol, 1.0 当量) をTHF (0.9 mL) と水 (0.9 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (15.9 mg、0.38 mmol, 5 当量) を加え、混合物を一晩室温で攪拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて中性にし、酢酸エチルで抽出して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ジクロロメタン = 80% → 100%) で精製して、4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール-3-イル) 安息香酸 (4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-pyrazol-3-yl)benzoic acid) を、白色固体 (5.2 mg、0.014 mmol、18%収率) として得た。

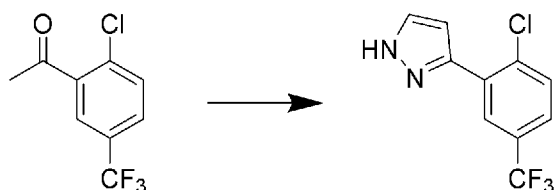
[0200] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.11 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.05 (1H, s), 7.9

1 (2H, d, J = 8.3 Hz), 7.76 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.68 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.24 (1H, s)

[0201] 製造例 3 7 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール-1-イル) 安息香酸 (化合物 3 0)

(1) 3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾールの製造

[化73]

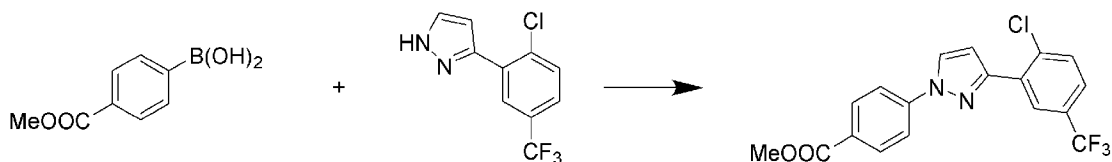


1- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) エタン-1-オン (556.4 mg, 2.5 mmol) とジメチルホルムアミドジメチルアセタール (2.9 mL) を混合して 115℃ で一晩攪拌し、得られた反応液を室温まで放置冷却したのち溶媒を真空除去した。残渣にヒドラジーン水和物 (0.5 mL) と酢酸 (4 mL) を加え 109℃ で一晩攪拌したのち、室温まで放置冷却した。水 (40 mL) を加えて酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和塩化ナトリウム水で洗浄して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を濃縮乾固して、3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール (3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-pyrazole) (652.7 mg, 2.5 mmol, 100% 収率) として得た。

[0202] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.91 (1H, s), 7.66 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.58 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.52 (1H, d, J = 8.2 Hz), 6.81 (1H, d, J = 2.0 Hz)

[0203] (2) 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1H-ピラゾール-1-イル) 安息香酸メチルの製造

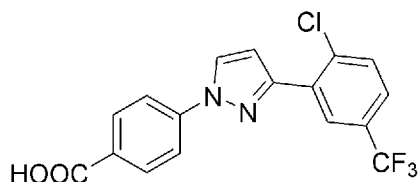
[化74]



(1) で製造した3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール(100.0 mg, 0.4 mmol, 1.0 当量)と(4-(メトキシカルボニル)フェニル)ボロン酸(216.0 mg, 1.2 mmol, 3.0 当量)、酢酸銅(II)(77.7 mg, 0.43 mmol, 1.07 当量)をピリジン(72 μ L)とDMF(2 mL)に溶解し、60℃で一晩撹拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち1 M塩酸水溶液(120 mL)を加えてグラスフィルターでろ過した。ろ液は除き、グラスフィルター上の固体に酢酸エチルを通し、そこで得られたろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー(SiO_2 、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン = 0% $\rightarrow$ 5%)で精製して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)安息香酸メチル(methyl 4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-pyrazol-1-yl)benzoate)(35.8 mg、0.094 mmol、23%収率)として得た。

[0204] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.23 (1H, s), 8.17 (2H, d, J = 8.9 Hz), 8.09 (1H, d, J = 2.6 Hz), 7.87 (2H, d, J = 8.9 Hz), 7.60 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.55 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.09 (1H, d, J = 2.6 Hz), 3.95 (3H, s)

[0205] (3) 4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)安息香酸の製造
[化75]



化合物30

(2) で製造した4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)安息香酸メチル(14.0 mg, 0.036 mmol)をエタノール(1.0 mL)に溶解し、1 Mの水酸化ナトリウム水溶液(73.5 μ L)を加え、混合物を還流下で2時間撹拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち、溶媒を真空除去した。残渣に1 M塩酸水溶液を加えて酸性にし、酢酸

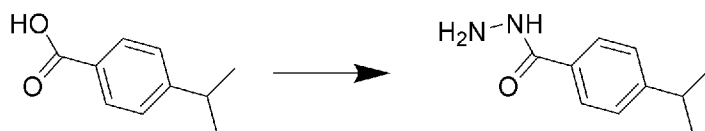
エチルで抽出して有機層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)安息香酸(4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-pyrazol-1-yl)benzoic acid)を、薄黄色固体(7.0 mg、0.019 mmol、52%収率)として得た。

[0206] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.48 (1H, d, $J = 2.6$ Hz), 8.23 (1H, s), 8.18 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 8.01 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 7.74 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.68 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.14 (1H, d, $J = 2.6$ Hz)

[0207] 製造例 38 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル)安息香酸(化合物 31)

(1) 4-イソプロピルベンゾヒドラジドの製造

[化76]

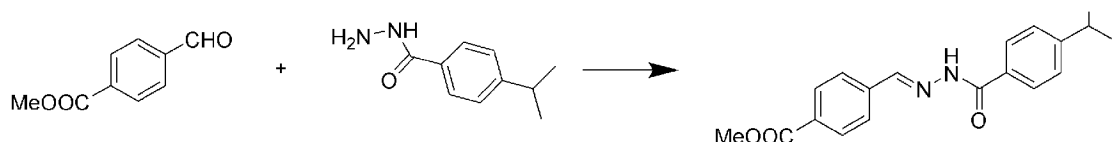


4-イソプロピル安息香酸(246.3 mg, 1.5 mmol, 1.0 当量)、脱水メタノール(1.5 mL, 36.8 mmol, 24.5 当量)、硫酸(40 μL , 0.75 mmol, 0.5 当量)を混合して還流下で4時間攪拌し、得られた反応液を室温まで放置冷却した。ヒドラジーン水和物(473 μL , 9.75 mmol, 6.5 当量)を加え還流下で30分強く攪拌した。飽和炭酸ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和塩化ナトリウム水で洗浄して硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を濃縮乾固して、4-イソプロピルベンゾヒドラジド(4-isopropylbenzohydrazide)(146.7 mg、0.82 mmol、54%収率)として得た。

[0208] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.71 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.31 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 2.93 (1H, sep, $J = 7.1$ Hz), 1.25 (6H, d, $J = 7.1$ Hz); ESI-MS m/z 178.90 $[\text{M} + \text{H}]^+$

[0209] (2) 4-(2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル安息香酸メチルの製造

[化77]

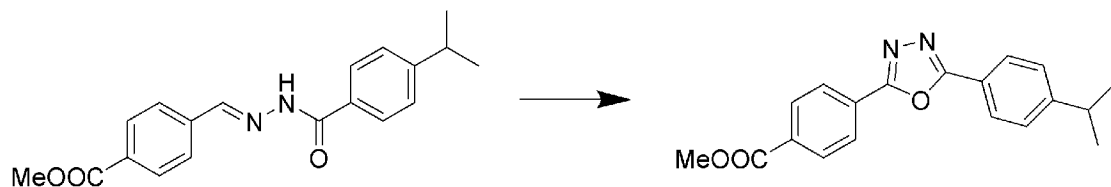


(1) で製造した4-イソプロピルベンゾヒドラジド (146.7 mg, 0.82 mmol, 1.0 当量) と酢酸ナトリウム (135.0 mg, 1.64 mmol, 2.0 当量) を水 (1.6 mL) に溶解し、4-ホルミル安息香酸メチル (135.1 mg, 0.82 mmol, 1.0 当量) をゆっくり加え、40℃で一晩撹拌した。得られた混合液をろ過し、得られた固体を水で洗浄し乾燥して、4-((2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル)安息香酸メチル (methyl 4-((2-(4-isopropylbenzoyl)hydrazineylidene)methyl)benzoate) (260.4 mg, 0.80 mmol, 97%収率) として得た。

[0210] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.37 (1H, s), 8.05 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.92 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.88 (2H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.39 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 3.91 (3H, s), 2.99 (1H, sep, $J = 7.1$ Hz), 1.28 (6H, d, $J = 7.1$ Hz)

[0211] (3) 4-(5-(4-イソプロピルフェニル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル)安息香酸メチルの製造

[化78]

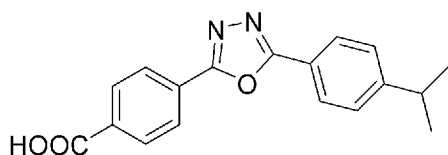


(2) で製造した4-((2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル)安息香酸メチル (260.4 mg, 0.80 mmol, 1.0 当量) と酢酸ナトリウム (131.5 mg, 1.60 mmol, 2.0 当量) を酢酸 (2.7 mL) に溶解し、臭素 (142.2 mg, 0.89 mmol, 1.1 当量) を酢酸 (0.9 mL) に溶解したものを滴下し、60℃で2時間撹拌した。得られた反応液を室温まで放置冷却したのち、氷を加えて混合液をろ過した。得られた固体を水で洗浄し乾燥して、カラ

ムクロマトグラフィー (SiO₂, SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン = 0% → 17%) で精製して、4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(5-(4-isopropylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzoate) (13.5 mg、0.041 mmol、5%収率) として得た。

[0212] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.23 (2H, d, J = 8.3 Hz), 8.23 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.08 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.49 (2H, d, J = 8.3 Hz), 3.95 (3H, s), 3.00 (1H, sep, J = 7.1 Hz), 1.31 (6H, d, J = 7.1 Hz); ESI-MS m/z 323.05 [M + H]⁺

[0213] (4) 4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸の製造
[化79]



化合物31

(3) で製造した4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸メチル (13.5 mg, 0.041 mmol, 1.0 当量) をTHF (0.9 mL) と水 (0.9 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (8.7 mg、0.20 mmol, 5 当量) を加え、混合物を3時間室温で撹拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて酸性にして氷冷し、ろ過して得られた固体を水で洗浄し乾燥して、4- (5- (4-イソプロピルフェニル) -1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸 (4-(5-(4-isopropylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzoic acid) を、白色固体 (8.0 mg、0.025 mmol、62%収率) として得た。

[0214] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.26 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.22 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.10 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.50 (2H, d, J = 8.5 Hz), 3.03 (1H, sep, J = 6.7 Hz), 1.31 (6H, d, J = 6.7 Hz)

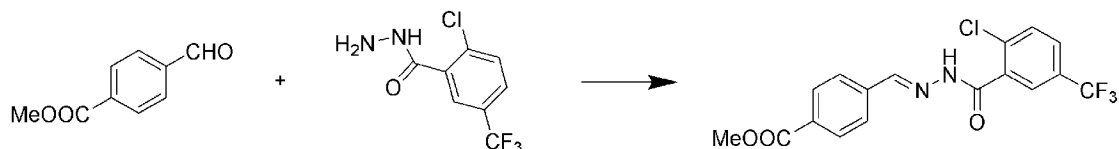
[0215] 製造例39 4- (5- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1,3,4-

-オキサジアゾール-2-イル)安息香酸(化合物32)

(1) 4-((2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル)

安息香酸メチルの製造

[化80]

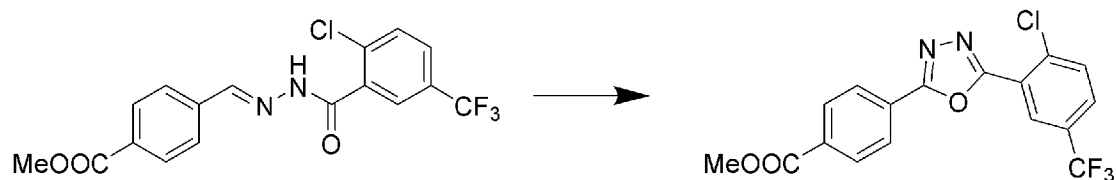


製造例38(2)の4-イソプロピルベンゾヒドラジドに代えて、製造例32(1)で製造した2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)ベンゾヒドラジド(156.5 mg、0.65 mmol)を使用して、製造例38(2)に記載する手順に従って、4-((2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル)安息香酸メチル(methyl 4-((2-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)benzoyl)hydrazineylidene)methyl)benzoate)(219.3 mg、0.56 mmol、85%収率)として得た。

[0216] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.27 (1H, s), 8.09 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.95 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.84 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.78 (1H, s), 7.50 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 3.93 (3H, s)

[0217] (2) 4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル)安息香酸メチルの製造

[化81]

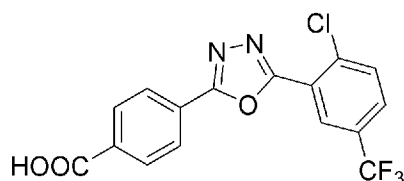


製造例38(3)の4-((2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル)安息香酸メチルに代えて、(1)で製造した4-((2-(4-イソプロピルベンゾイル)ヒドラジニリデン)メチル)安息香酸メチル(153.8 mg、0.40 mmol)を使用して、製造例38(3)に記載する手順に従って、4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,3,4-オキサジアゾ

ール-2-イル) 安息香酸メチル (methyl 4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzoate) (17.3 mg、0.045 mmol、11%収率) として得た。

[0218] ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.45 (1H, s), 8.29 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.24 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.20 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.58 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 3.96 (3H, s)

[0219] (3) 4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸の製造
[化82]



化合物32

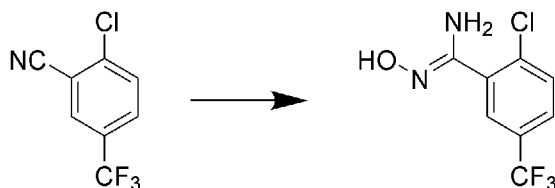
(2) で製造した4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸メチル (10.5 mg, 0.027 mmol, 1.0 当量) をTHF (0.3 mL) と水 (0.3 mL) に溶解し、水酸化リチウム水和物 (5.7 mg、0.13 mmol, 5.0 当量) を加え、混合物を3時間室温で攪拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて酸性にして氷冷し、ろ過して得られた固体を水で洗浄し乾燥して、4-(5-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,3,4-オキサジアゾール-2-イル) 安息香酸 (4-(5-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)benzoic acid) を、白色固体 (6.5 mg、0.017 mmol、38%収率) として得た。

[0220] ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.44 (1H, s), 8.26 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 8.23 (2H, d, $J = 8.3$ Hz), 7.93 (2H, m)

[0221] 製造例40 4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル) 安息香酸 (化合物33)

(1) 2-クロロ-N'-ヒドロキシ-5-(トリフルオロメチル)ベンジミドアミドの製造

[化83]

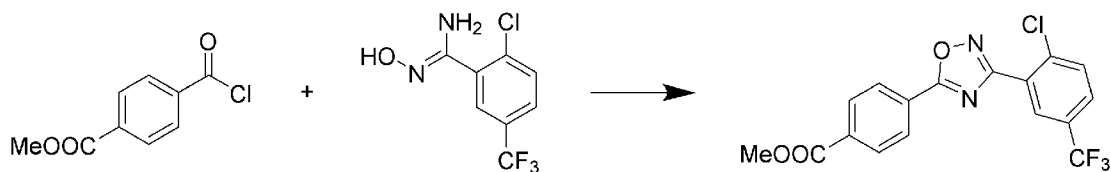


ヒドロキシルアミン塩酸塩 (260 mg, 3.75 mmol, 1.5 当量)と水酸化ナトリウム(157.5 mg, 3.75 mmol, 1.5 当量)をエタノール(2.1 mL)、水 (2.1 mL) に混合して攪拌し、2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) ベンゾニトリル(513.9 mg, 2.5 mmol, 1.0 当量)を加え、90℃で一晩攪拌したのち室温まで放置冷却した。溶媒を真空除去し、残渣にエタノール/ヘキサン=9:1 (4.2 mL) を加えて室温で30分攪拌した。得られた反応液をろ過してろ液を濃縮乾固して、2-クロロ-N'-ヒドロキシ-5- (トリフルオロメチル) ベンジミドアミド (2-chloro-N'-hydroxy-5-(trifluoromethyl)benzimidamide) (59.3 mg、0.24 mmol、10%収率) として得た。

[0222] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.80 (1H, s), 7.61 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 7.56 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)

[0223] (2) 4- (3- (2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) フェニル) -1,2,4-オキサジアゾール-5-イル) 安息香酸メチルの製造

[化84]



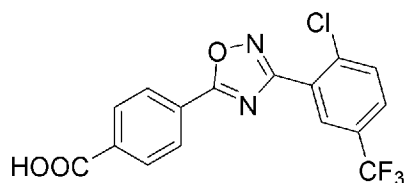
(1) で製造した2-クロロ-N'-ヒドロキシ-5- (トリフルオロメチル) ベンジミドアミド (59.3 mg, 0.24 mmol, 1.0 当量) とトリエチルアミン (41.4 μL , 0.29 mmol, 1.2 当量) をジクロロメタン (1.6 mL) に溶解して0℃で攪拌し、4- (クロロカルボニル) 安息香酸メチル (51.7 mg, 0.26 mmol, 1.05 当量) を加えて室温で4時間攪拌した。得られた反応液を水と飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥してろ過し、ろ液を減圧濃

縮した。残渣にトルエン (1.6 mL) を加えて 130℃で一晩撹拌した。室温まで放置冷却したのち溶媒を真空除去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂、SNAP ultra 10 g、酢酸エチル/ヘキサン = 5% → 30%) で精製して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)安息香酸メチル (methyl 4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)benzoate) (27.0 mg、0.070 mmol、29%収率) として得た。

[0224] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (1H, s), 8.32 (2H, d, J = 8.5 Hz), 8.23 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.72 (2H, m), 3.98 (3H, s)

[0225] (3) 4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)安息香酸の製造

[化85]



化合物33

(2) で製造した4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)安息香酸メチル (27.0 mg、0.070 mmol、1.0 当量) をTHF (0.8 mL) と水 (0.8 mL) に溶解し、水酸化リチウム一水和物 (14.8 mg、0.35 mmol、5.0 当量) を加え、混合物を一晩室温で撹拌した。1 M 塩酸水溶液を加えて酸性にして酢酸エチルで抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過してろ液を減圧濃縮して、4-(3-(2-クロロ-5-(トリフルオロメチル)フェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-5-イル)安息香酸 (4-(3-(2-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)benzoic acid) を、白色固体 (2.4 mg、0.006 mmol、9%収率) として得た。

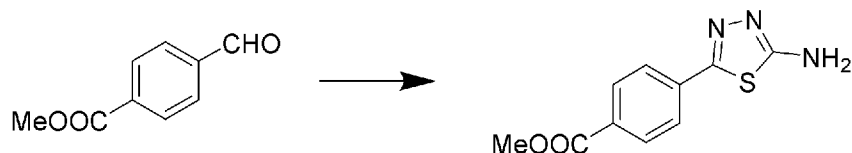
[0226] ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.37 (1H, s), 8.32 (2H, m), 8.18 (2H, m), 8.05 (1H, d, J = 8.7 Hz), 8.00 (1H, d, J = 8.7 Hz)

[0227] 製造例41 4-(5-(4-イソプロピルベンズアミド)-1,3,4-チアジアゾール

-2-イル)安息香酸(化合物34)

(1) 4-(5-アミノ-1,3,4-チアジアゾール-2-イル)安息香酸メチルの製造
記載に従って標題の化合物を製造した。

[化86]

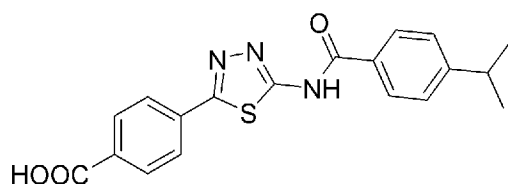


チオセミカルバジド (136.7 mg, 1.5 mmol, 1.0 当量) を温水 (1.5 mL) に加えて攪拌し、4-ホルミル安息香酸メチルをエタノール (8 mL) に混合したものをゆっくりと加えた。室温で2時間攪拌し、塩化鉄 (III) 六水和物 (810.9 mg, 3.0 mmol, 2.0 当量) を水 (1.5 mL) に混合したものを加え攪拌し、75℃で30分攪拌した。室温まで放置冷却してエタノールを真空除去し、ろ過して得られた固体にピリジン (2.3 mL) を加えて室温で30分攪拌した。反応液に氷水を加え、ろ過して得られた残渣を温めたエタノール、温めたメタノール、酢酸エチルで洗浄し乾燥して、4-(5-アミノ-1,3,4-チアジアゾール-2-イル)安息香酸メチル (methyl 4-(5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzoate) (129.4 mg, 0.55 mmol, 33%収率) として得た。

[0228] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.02 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.89 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.59 (2H, s), 3.86 (3H, s)

[0229] (2) 4-(5-(4-イソプロピルベンズアミド)-1,3,4-チアジアゾール-2-イル)安息香酸の製造

[化87]



化合物34

(1) で製造した4-(5-アミノ-1,3,4-チアジアゾール-2-イル)安息香酸

メチル (31.2 mg, 0.13 mmol, 1.0 当量) とトリエチルアミン (50.0 μ L, 0.39 mmol, 3.0 当量) をTHF (1.8 mL) に溶解して、4-イソプロピルベンゾイルクロリド (43.6 mg, 0.26 mmol, 2.0 当量) を加えて室温で一晩撹拌した。反応液に水酸化リチウム一水和物 (15.2 mg, 0.39 mmol, 3.0 当量) と水 (1.8 mL) を加え、室温で一晩撹拌した。溶媒を真空除去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO₂, SNAP ultra 10 g、メタノール/酢酸エチル = 0% → 20%) で精製して、4-(5-(4-イソプロピルベンズアミド)-1,3,4-チアジアゾール-2-イル)安息香酸 (4-(5-(4-isopropylbenzamido)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)benzoic acid) を、薄黄色固体 (5.3 mg、0.014 mmol、11%収率) として得た。

[0230] ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.05 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.98 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.94 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.41 (2H, d, J = 8.0 Hz), 2.99 (1H, sep, J = 6.9 Hz), 1.26 (6H, d, J = 6.9 Hz); ESI-MS m/z 368.35 [M + H]⁺

[0231] 実験例

1. 実験材料とその調製方法

(1) 動物

Dock8^{-/-} AND Tgマウス (AND TCRを発現するDOCK8欠損マウス) およびDock8^{-/-} OTIITgマウス (OTII TCRを発現するDOCK8欠損マウス) は、非特許文献4に説明されているものを使用した。B10.BRおよびC57BL / 6Jマウスは、それぞれJapan SLC (日本) およびJapan Clea (日本) から購入した。すべてのマウスは、九州大学の動物施設で、特定病原体除去条件下で飼育した。すべての動物実験は、「動物の愛護および管理に関する法律」(環境省) および「実験動物の規制」(九州大学) に含まれる関連する国内および国際的なガイドラインに従って実施した。動物実験のプロトコルは、九州大学の動物実験倫理委員会により事前承認を受けた。

[0232] (2) 細胞株とトランスフェクタント

(i) 一次スクリーニング (ルシフェラーゼレポーターアッセイ) に使用す

る細胞株の作製

Lipofectamine 2000 (Thermo Fisher Scientific; 以下「TFS社」とも称する)、並びにマウスEpas1をコードするpTetOneシステムベクター (タカラバイオ)、およびマウスIl31プロモーターの制御下にあるルシフェラーゼをコードするpWhereシステムベクター (タカラバイオ) を使用して、不死化したマウス線維芽細胞 (MEF) に2つのプラスミドをトランスフェクトした (図1参照)。選択用に、これらのベクターをそれぞれピューロマイシンマーカーおよびハイグロマイシンマーカー (両方ともタカラバイオ) でコトランスフェクトした。ハイグロマイシン ($600\text{ }\mu\text{g/ml}$) とピューロマイシン ($3\text{ }\mu\text{g/ml}$) で選択した後、限界希釈によりクローンを単離した。

これを、ドキシサイクリン (100 ng/ml) で24時間処理した後、96ウェルプレート上で、被験化合物 ($10\text{ }\mu\text{M}$) の存在下または非存在下で4時間培養した。ルシフェラーゼ活性を、One-Gloルシフェラーゼアッセイシステム (Promega製) を用いて測定した。

[0233] (ii) ヒト肉腫細胞株HT1080

ヒト肉腫細胞株HT1080は、Y. Matsumoto (九州大学) から提供されたものを使用した。低酸素誘導のために、HT1080 (3×10^5 細胞) を1% O_2 で12時間培養した後に、アッセイに供した。

[0234] (3) マウスCD4⁺ T細胞の調製と活性化

Dynabeads™ FlowComp™マウスCD4キット (TFS社) により、脾臓および末梢リンパ節 (PLNs) からマウスCD4⁺ T細胞を分離し、10%熱不活化胎児子牛血清 (TFS)、 $50\text{ }\mu\text{M}$ 2-メルカプトエタノール (ナカライテスク)、 2 mM L-グルタミン、 100 U/ml ペニシリン、 $100\text{ }\mu\text{g/ml}$ ストレプトマイシン、 1 mM ピルビン酸ナトリウムおよびMEM非必須アミノ酸 (すべてTFS社から入手) を含むRPMI 1640培地 (富士フイルム和光純薬工業) に懸濁した。一次刺激として、Dock8^{-/-} AND Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞 (3×10^5 細胞) を、24ウェルプレート中で、MCC88-103 (ANERADLIAYLKQATK (配列番号1)、 $3\text{ }\mu\text{g/ml}$) の存在下、T細胞を除去した放射線照射脾臓細胞 (5×10^6 細胞) とともに24時間培養して

活性化した。同様に、Dock8^{-/-} OTII Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞 (3 x 10⁵細胞) を、24ウェルプレート中で、OVA323-339 (ISQAVHAAHAEINEAGR (配列番号 2)、1 μg/ml) で72時間刺激して活性化した。

なお、Dock8^{-/-} AND Tgマウスと同様、Dock8^{-/-} OTII TgマウスのCD4⁺ T細胞を、抗原で刺激すると大量のIL-31が産生されることが知られている (非特許文献4)。

[0235] (4) ヒトCD4⁺ T細胞の調製と活性化

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を、パーコール (GE Healthcare) で勾配遠心分離を使用して分離し、次いで、PBMC からCD4⁺ T細胞を、Dynabeads human CD4 (TFS社) で磁気選別した後、DETACHaBEAD human CD4 (TFS社) で処理することにより、単離した。なお、ヒト末梢血サンプルは、AD患者と健康なボランティアから、Institutional Review Boardプロトコルに従って入手した。ADの診断は、日本皮膚科学会が提唱する基準に従って実施した。実験は、事前に九州大学病院の倫理委員会から承認を受け、書面によるインフォームドコンセントをすべての患者と健康なボランティアから得た。

サイトカイン産生量を測定するために、単離したCD4⁺ T細胞 (1 x 10⁵細胞) を、完全RPMI 1640培地に懸濁した後、ブドウ球菌エンテロトキシンB (SEB : 100 ng / ml; Sigma-Aldrich) の存在下で、T細胞を除去した放射線照射PBMC (1 x 10⁶細胞) とともに96ウェルプレート中で72時間培養した。

[0236] (5) リアルタイムPCR

全RNAはISOGEN (ニッポンジーン) を使用して単離した。PCR増幅のために、RNase-free DNase I (Thermo Fisher Scientific) で処理したRNAサンプルを、オリゴ (dT) プライマー (TFS) およびSuperScript III逆転写酵素 (TFS) で逆転写した。リアルタイムPCRは、SYBR Green PCRマスターミックス (Thermo Fisher Scientific) を使用してCFX Connect™サーマルサイクラー (BIO-RAD) で実施した。マウスまたはヒトの標的遺伝子の発現は、それぞれHprt またはPPIB遺伝子の発現に対して標準化した。分析には、機器に付属のCFX Managerソフトウェア (ver. 3.1) を使用した。

[0237] 以下のプライマーをリアルタイムPCRに使用した。

[0238] IL-31遺伝子増幅用

(1) 5' -AAACAAGAGTCTCAGGATCTTTATAACAAC-3' (配列番号3)

(2) 5' -ACGGCAGCTGTATT GATTCTG-3' (配列番号4) ;

[0239] IL-2遺伝子増幅用

(1) 5' -CCTGAGCAGGATGGAGAATTACA-3' (配列番号5)

(2) 5' -TCCAGA ACATGCCGCAGAG-3' (配列番号6) ;

[0240] IL-4遺伝子増幅用

(1) 5' -CGAAGAACACCACAGAGAGTGAGCT-3' (配列番号7)

(2) 5' -GACTCATTTCATGGTGCAGCTTATCG-3' (配列番号8) ;

[0241] Hprt 遺伝子増幅用

(1) 5' -CTGGTGAAAAGGA CCTCTCG-3' (配列番号9)

(2) 5' -TGAAGTACTCATTATAGTCAAGGGCA-3' (配列番号10) ;

[0242] VEGFA遺伝子増幅用

(1) 5' - CATCACCATGCAGATTATGCGG-3' (配列番号11)

(2) 5' -CCCACAGGGACGGGATTTTC-3' (配列番号12) ;

[0243] GLUT1遺伝子増幅用

(1) 5' - CTTTTCTGTTGGGGGCATGAT-3' (配列番号13)

(2) 5' -CCGCAGTACACA CCGATGAT-3' (配列番号14) ;

[0244] PPIB (CYCLOPHILIN B)遺伝子増幅用

(1) 5' -ATGTGGTTTTTCGGCAAAG TTCTA-3' (配列番号15)

(2) 5' -GGCTTGTCCTGGCTGTCT-3' (配列番号16) 。

[0245] 1.1. 実験方法

(1) 化学ライブラリーの一次スクリーニング (ルシフェラーゼレポーターアッセイ)

位置-1,367から-1までのマウスIL-31遺伝子プロモーター領域が導入されたマウスIL-31遺伝子レポータープラスミド (pGL4.10 IL31) は、非特許文献4に記載されている。

[0246] ヒトIL-31遺伝子プロモーターレポータープラスミド (human pGL4.10 IL-31) は、位置-1,308から-1までのヒトIL-31遺伝子のプロモーター領域をPCRによって増幅し、これをpGL4.10 [luc2]ベクター (Promega) にサブクローニングすることによって作製した。マウスおよびヒトのIL-31遺伝子プロモーター領域の欠失および／または変異は、PCRによって作製した。

[0247] pcDNAベクターを使用して、FLAGタグ付きマウスおよびヒトEPAS1 (pcDNA-EPAS1) をコードする発現ベクターを開発した。

[0248] ルシフェラーゼレポーターアッセイのために、不死化MEF (非特許文献4) を、pRL-SV40-Renillaルシフェラーゼプラスミド (0.1 μ g; Promega) 、およびpGL4.10 IL-31またはhuman pGL4.10 IL-31 (2 μ g) を、マウスまたはヒトEPAS1をコードするpcDNAベクター (2 μ g) の存在下でコトランスフェクトした。簡単に説明すると、これらのプラスミドDNAを、Lipofectamine 2000トランスフェクション試薬 (5 μ l : TFS) と、Opti-MEM培地 (500 μ l : TFS) 中で、室温下で20分間混合し、混合物を、1%FCSを含む1.5mlのDMEM培地で培養されたMEF (3 x 10⁵細胞) に滴下した。トランスフェクション6時間後、細胞を被験化合物 (2.5 μ M) またはビヒクルのみ (0.1%DMSO) を含む10%FCS含有DMEMにさらに24時間懸濁した。ルシフェラーゼ活性は、製造元のプロトコルに従って、デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイシステム (Promega) にて測定した。

[0249] 約1万もの被験化合物を当該スクリーニングに供して、被験化合物非存在下でのルシフェラーゼ活性 (対照) (100%) に対して50%以上の阻害を示した被験化合物を選別した。

[0250] (2) 二次スクリーニング

Dock8^{-/-} AND Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞 (3 x 10⁵細胞) を、MCC88-103 (3 μ g/ml) の存在下、被験化合物 (2.5 μ M) またはビヒクルのみ (0.1%DMSO) を含むT細胞を除去した放射線照射脾臓細胞 (5 x 10⁶細胞) とともに24時間培養した。

前述するリアルタイムPCRにより、IL-31遺伝子の発現量を測定し、被験化

合物非存在下での発現量（対照）（100％）に対して60％以上の阻害を示した被験化合物を選別した。

[0251] （3）ELISAとAlphaLISA

マウスCD4⁺ T細胞培養上清中のサイトカイン（IL-31、IL-2）量を測定するため、Dock8^{-/-} AND Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞（1 x 10⁵細胞）を、MCC88-103（1 μg/ml）で、被験化合物（化合物1（20 μM）またはネガティブ対照化合物1（20 μM））の存在下で60時間刺激した。培養上清中のマウスサイトカイン濃度は、ELISAキット（Cloud-Clone Corp、Katy、TX）で測定した。

[0252] 同様に、ヒトCD4⁺ T細胞培養上清中のサイトカイン（IL-31、IL-2）量を測定するため、前記で単離したヒトCD4⁺ T細胞（1 x 10⁵細胞）を、完全RPMI 1640培地に懸濁した後、SEB（100 ng / ml; Sigma-Aldrich）の存在下で、T細胞が枯渇した照射PBMNC（1 x 10⁶細胞）とともに96ウェルプレート中で72時間培養した。培養上清中のヒトサイトカイン濃度は、AlphaLISA Detectionキット（PerkinElmer）を使用して、製造元の指示に従って測定した。

[0253] （4）T細胞増殖アッセイ

T細胞増殖アッセイは、CD4⁺ T細胞（5 x 10⁴細胞）を、ホルボール12-ミリステート13-アセテート（PMA：100 ng/ml; Sigma-Aldrich）およびイオノマイシン（1 μg/ ml; Sigma-Aldrich）の存在下でT細胞を除去した放射線照射脾細胞（1 x 10⁶細胞）とともに66時間培養することによって実施した。培養の最後の18時間に、³H-チミジン（0.037 MBq）を添加し、取り込まれた放射能をMicroBeta2（PerkinElmer, Inc., Waltham, MS）で測定した。

[0254] （5）引っ掻き行動の測定

マウスをアクリル製のケージ（11 x 14 x 20 cm）に少なくとも1時間入れて順応させ、その行動をビデオに記録した。ビデオを再生して、2時間あたりの引っ掻き発作の総数を決定した。マウスの引っ掻き行動は、痒みのある部位に向かって後足を伸ばし、後足に向かって頭を傾け、足を数回すばやく動かしてから、床に戻る。これらの一連の動きを、1回の引っかき行動として数えた。

[0255] (6) クロマチン免疫沈降アッセイ (ChIPアッセイ)

ChIPアッセイは、活性化されたマウスCD4⁺ T細胞と不死化MEFを用いて実施した。簡単に説明すると、Dock8^{-/-} AND TgマウスのCD4⁺ T細胞を、被験化合物 (2.5 μ M) またはビヒクルのみ (0.1%DMSO) の存在下で、MCC88-103で24時間刺激した。不死化MEFは、pGL4.10 IL31 (2 μ g) の存在下でpcDNA-ヒトEPAS1 (2 μ g) とコトランスフェクトした。トランスフェクションの6時間後、MEFを被験化合物 (10 μ M) またはビヒクルのみ (0.1%DMSO) を含む10%FCSを含むDMEM中で、さらに24時間懸濁した。

[0256] 活性化されたマウスCD4⁺細胞とトランスフェクトされたMEFを0.5%ホルムアルデヒドで、室温下で5分間処理した後、グリシンで室温下で5分間中和した。得られた細胞を、プロテアーゼ阻害剤を含むPBSで2回洗浄した後、Magna ChIP™ HiSensキット (Millipore、バーリントン、MS) を用いて、製造元のプロトコルに従って、核を単離した。単離された核を、超音波処理バッファーに再懸濁し、超音波プロセッサー (VCX-130; Sonics & Materials Inc., Newtown, CN) を使用して、氷上で90 x 10秒間30%の振幅設定で超音波処理して、クロマチンDNAを剪断した。4°C条件下、10,000 gで10分間遠心分離した後、剪断されたクロマチンDNAを取得し、DNA含有量を定量化するために、RNAseおよびプロテイナーゼKで処理した。免疫沈降のために、5~10 μ gのクロマチンDNAを、ウサギポリクローナル抗EPAS1抗体 (ab199; Abcam, Cambridge, UK) またはウサギポリクローナル抗FLAG (登録商標) M2抗体 (#14793; CST, Danvers, MS) でプレインキュベートした磁性プロテインA / Gビーズと混合し、4°Cで一晩インキュベートした。

[0257] 対照試験用に、ウサギポリクローナルIgG (ab171870; Abcam) とプレインキュベートした磁気ビーズを使用した。磁気ビーズを、生理的塩を含む緩衝液で3回、低塩緩衝液で1回洗浄した。次に、磁気ビーズをプロテイナーゼKで65°Cで2時間処理し、95°Cで15分間加熱して、プロテイナーゼKの不活性化、及び結合したクロマチンDNAの溶出を行った。溶出DNAと挿入クロマチンDNAを、SYBR Green PCRマスターミックス (Thermo Fisher Scientific) と、下記

のプライマーを使用してCFX Connect™サーマルサイクラー (BIO-RAD) で分析した。データは、挿入クロマチンDNAの量に対して標準化した。

[0258] mouse IL-31 gene (-1336/ -1042) 増幅用

(1) 5' - TCAGTGATCAATTAGCCC AGCC-3' (配列番号 17)

(2) 5' -ATCTGACACTCTCGAGCCTCT-3' (配列番号 18)

[0259] Human IL-31 gene (-280/ -4) 増幅用

(1) 5' -TGCATTCATGTGCCTTCTTGTG-3' (配列番号 19)

(2) 5' -AGAGAGAGCAAGGCCA GCTTC-3' (配列番号 20)。

[0260] 実験例 1 スクリーニングによる化合物の選別、及び選別された化合物の構造活性相関

前記一次及び二次スクリーニングにより、約 1 万もの化合物群のなかから、Dock8^{-/-} AND TgマウスのCD4⁺ T細胞を2.5 μMで処理した場合に、抗原誘導性のIl-31遺伝子の発現を有意に阻害する化合物として、4- (2- (4-イソプロピルベンジリデン) ヒドラジニル) 安息香酸 (化合物 1) (製造例 1) を選別した。

[0261] これに対して、化合物 1 に構造類似のヒドラジン化合物として、化合物 1 の右側の芳香環に、p-イソプロピル置換基の代わりに、p-(2-ジメチルアミノ) エトキシ置換基を有する化合物 (ネガティブ対照化合物 1) を、化合物 1 と同様に、Dock8^{-/-} AND TgマウスのCD4⁺ T細胞を処理した場合は、IL-31遺伝子の発現は阻害されなかった (図 2 A 参照)。一方、これらの化合物はいずれも、前記CD4⁺ T細胞における、他のサイトカイン (IL-2及びIL-4) 遺伝子の発現に対して影響を与えなかった (図 2 B 参照)。

[0262] 前記CD4⁺ T細胞を、MCC88-103の存在下で、化合物 1 又はネガティブ対照化合物 1 (20 μM) でそれぞれ処理し、ELISAでIL-31 及びIL-2の産生量を測定した場合も、前記と同様の結果が得られた (図 3)。しかしながら、両化合物はいずれも、PMAとイオノマイシンによって誘導される非特異的T細胞増殖に対して悪影響を及ぼさないことが確認された (図 4 参照)。

[0263] これらのことから、化合物 1 は、Dock8^{-/-} AND TgマウスのCD4⁺ T細胞におけ

るTCR（T細胞受容体）を介したIL-31遺伝子の発現誘導を選択的に阻害し、IL-31産生を特異的に阻害する化合物であること、その作用の発現には、化合物1の右側の芳香環に結合したp-イソプロピル置換基が大きく関係していることが示唆された。また、化合物1は、50 μ Mで用いてもin vitroの非特異的なT細胞増殖応答に影響を与えないことに加えて、100 mg経口投与の単回毒性試験においても、組織学的にも生化学的にも異常を認めず、体重増加の非投与群と差がない。このことから、化合物1は、細胞毒性が低い安全性の高い化合物であると判断される。

[0264] 実験例2 化合物1のin vivo作用の確認

化合物1（100mg）を、C57BL/6マウス（n=3）に経口投与した後、24時間にわたりその血中濃度をモニターしたところ、経口投与から12時間以内に血中に溶出されることがわかった（図5参照）。

[0265] （1）痒み抑制作用

化合物1に、痒みを抑制する作用があるか否かを調べるために、サイトメガロウイルス前初期エンハンサーニワトリ β -アクチンハイブリッドプロモーターの制御下でオブアルブミン（OVA）を発現するマウス（以下、「CAG-OVAマウス」と称する）を使用した。Dock8^{-/-} OTII Tgマウス由来の活性化CD4⁺ T細胞（マウスあたり 8.0×10^6 ）を、OVA323-339（ISQAVHAAHAEINEAGR [配列番号2]、1 μ g/ml）で72時間刺激した後、CAG-OVAマウスに静脈内注射して、1時間後にマウスの引っ掻き行動を測定した。その結果、活性化された前記CD4⁺ T細胞をCAG-OVAマウスに注射すると引っ掻き行動が誘発された（図6のVehicleの結果参照）。しかし、CAG-OVAマウスに、化合物1を経口投与すると、引っ掻き行動が有意に抑制された（図6の化合物1の結果参照）。

実施例1及び2の結果から、経口投与された化合物1は、in vivoで、IL-31の産生を阻害し、痒みを抑制するように機能していると考えられる。

[0266] 実験例3 化合物1のIL-31遺伝子発現抑制メカニズム

（1）EPAS1は、芳香族炭化水素受容体核移行因子（aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator：ARNT）との複合体形成を通じて低酸素応答を制

御することが知られているが（非特許文献6）、EPAS1を介したIL31プロモーターの活性化は、ARNTとは独立して生じる（非特許文献4）。FM19G11はEPAS1の直接の阻害剤ではないものの、未同定の標的に作用することによりEPAS1遺伝子（Epas1）の発現を抑制することが知られている（非特許文献7）。ヒト癌細胞株HT1080を、FM19G11で処理すると、低酸素によって誘導されたVEGF AおよびGLUT1の発現が抑制された（図7）。これに対して、化合物1ではそのような発現抑制効果はみられなかった（図7）。このことから、ARNTに依存したEPAS1機能は、化合物1の影響を受けないことを示唆している。

[0267] (2) 化合物1が、CD4⁺ T細胞におけるIL-31産生を制御するメカニズムを理解するために、Dock8^{-/-} AND TgマウスのCD4⁺ T細胞を使用してクロマチン免疫沈降（ChIP）アッセイを実施した。その結果、抗原刺激により、EPAS1はIL-31遺伝子プロモーター領域（-1336から-1042）にリクルートされるが、化合物1の存在下では、そのリクルートが大幅に低減することがわかった（図8）。この結果は、化合物1は、IL-31遺伝子プロモーター領域へのEPAS1のリクルートを阻害することで、TCRを介したIL-31産生誘導を抑制することを示唆している。

[0268] 実験例4 ヒトに対するIL-31産生誘導抑制作用

実験例1に示すように、化合物1がマウスCD4⁺ T細胞におけるIL-31遺伝子発現誘導を選択的に阻害することが確認されたので、ここでは、化合物1がヒトCD4⁺ T細胞に対しても同様に作用するかどうかを調べた。

[0269] ブドウ球菌エンテロトキシンB（SEB）で刺激すると、AD患者のCD4⁺ T細胞は健常者（対照例）のCD4⁺ T細胞よりも大量のIL-31を産生した。これに対して、AD患者のCD4⁺ T細胞を化合物1で処理すると、用量依存的にIL-31産生量が低減した（図9A）。一方、IL-2産生量には影響はなかった（図9B）。

[0270] IL-31遺伝子プロモーター活性化に対する化合物1の影響を理解するためにヒトIL-31遺伝子プロモーター配列（-1,308~-1）を含むレポーターコンストラクトを作製した。このレポーターコンストラクトをMEFで発現するとIL-31遺伝子プロモーターの活性化がヒトEPAS1の存在下で誘導されたが、化

物 1 によって有意に抑制された。このことから、ヒトCD4⁺ T細胞でも、化合物 1 はEPAS1のIL-31遺伝子プロモーター領域へのリクルートを阻害することでIL-31産生誘導を抑制するものと考えられる。

[0271] 以上の実験から、化合物 1 は、マウスおよびヒトのCD4⁺ T細胞におけるEPAS1によるIL-31産生誘導を標的とした低分子の阻害剤として有用であることが確認された。経口投与によるAD治療剤として、ヤヌスキナーゼ（JAK）およびホスホジエステラーゼ4（PDE4）の小分子の阻害剤が開発中である（非特許文献8）。それらの阻害剤はAD治療に効果的であるものの、いずれも複数のサイトカイン経路に作用し、しかもそれらの効果は非特異的である。これらとは対照的に、化合物 1 は、IL-31以外の他のサイトカイン産生や低酸素応答に影響を与えることなく、IL-31産生誘導を選択的に阻害する。このため、化合物 1 は、副作用のリスクが低いAD治療剤、特に痒み低減効果に優れたAD治療剤の有効成分として有用である。

[0272] 実験例 5 化合物 1 と構造類似の化合物のIL-31産生抑制作用と毒性の評価

製造例 1 ～ 25 に記載する方法で製造した化合物 1 ～ 18、及びネガティブ対照化合物 1 ～ 7、並びに製造例 26 ～ 41 に記載する方法で製造した化合物 19 ～ 34 について、下記の方法により、IL-31産生抑制作用及び細胞増殖作用を測定した。

[0273] （１）IL-31産生抑制作用の測定

Dock8^{-/-} AND Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞（3 × 10⁵細胞）を、MCC88-103（3 μg/ml）の存在下、被験化合物（各種濃度）またはビヒクルのみ（0.1%DMSO）を含むT細胞除去放射線照射脾臓細胞（5 × 10⁶細胞）とともに24時間培養した。前述のリアルタイムPCRにより、マウスIL-31遺伝子の発現量を測定し、被験化合物非存在下でのIL-31遺伝子の発現量（対照）（100％）に対する阻害率を算出した。

[0274] （２）細胞増殖作用の測定

T細胞増殖アッセイは、CD4⁺ T細胞（5 × 10⁴細胞）を、ホルボール12-ミリステート13-アセテート（PMA：100 ng/ml; Sigma-Aldrich）およびイオノマイ

シン ($1\mu\text{g}/\text{ml}$; Sigma-Aldrich) の存在下でT細胞除去放射線照射脾細胞 (1×10^6 細胞) とともに66時間培養することによって実施した。被験化合物は培養開始時に各種最終濃度にて添加した。培養の最後の18時間に、 ^3H -チミジン (0.037 MBq) を添加し、取り込まれた放射能をMicroBeta2 (PerkinElmer, Inc., Waltham, MS) で測定した。具体的には、溶媒のみ (ビヒクルのみ; 0.1% DMSO) で処理した際のDock8^{-/-} AND Tgマウス由来のCD4⁺ T細胞におけるIL-31遺伝子発現とCD4⁺ T細胞の増殖応答をそれぞれ100%として、被験化合物の阻害活性を算出した。

[0275] 化合物 1 ~ 18、及びネガティブ対照化合物 1 ~ 7 の結果を表 1 に示す。

[表1]

NO.	B置換基を有する フェニル基のKLogP	IL-31産生抑制作用		細胞増殖作用		
		溶媒のみを100%とした場合の 阻害率%		溶媒のみを100%とした場合の阻害率%		
		被験化合物の濃度		被験化合物の濃度		
		2.5μM	5μM	5μM	20μM	50μM
化合物 1	3.569	20.9	19.6	137.8	124.7	80.9
化合物 2	3.968	11.5	35.2	ND	115.6	ND
化合物 3	2.307	16.8	21.9	148.7	176.3	124.1
化合物 4	1.5666	62.6	48.8	99.6	134.2	114.4
化合物 5	1.93	67.4	31.9	ND	135.2	96.6
化合物 6	2.436	43.4	16.5	ND	158.7	142.0
化合物 7	3.395	13.4	3.1	105.2	67.0	42.0
化合物 8	2.784	15.3	30.1	ND	88.6	ND
化合物 9	2.647	26.4	39.0	ND	111.4	46.2
化合物 1 0	3.738	8.4	16.2	146.6	143.3	18.0
化合物 1 1	3.168	11.1	18.9	ND	89.0	ND
化合物 1 2	2.412	40.0	38.2	ND	94.3	ND
化合物 1 3	1.885	43.9	46.3	ND	109.6	ND
化合物 1 4	3.968	15.1	19.6	90.9	ND	ND
化合物 1 5	3.738	25.3	24.9	ND	117.0	34.2
化合物 1 6	3.968	17.9	11.3	89.4	61.7	64.0
化合物 1 7	3.569	39.8	53.5	ND	82.5	61.7
化合物 1 8	3.569	11.6	27.1	ND	83.7	31.6
ネガティブ対照化合物1	2.1598	111.5	109.1	98.1	99.9	88.9
ネガティブ対照化合物 2	1.64	53.8	57.2	ND	ND	ND
ネガティブ対照化合物 3	1.2934	88.3	61.1	99.6	ND	ND
ネガティブ対照化合物 4	3.569	124	126.6	ND	ND	ND
ネガティブ対照化合物 5	3.569	120.5	124.5	ND	ND	ND
ネガティブ対照化合物 6	3.569	91.5	98.4	ND	ND	ND
ネガティブ対照化合物 7	3.354	157.4	115.3	ND	ND	ND

NDは試験しなかったことを意味する。

[0276] ネガティブ対照化合物4～6の結果から、化合物1の2つの芳香環のうち

、左側の芳香環に置換基がないか（ネガティブ対照化合物6）、または配位するカルボキシ基の位置がパラ位以外である場合は（ネガティブ対照化合物4及び5）、化合物1のIL-31産生抑制作用が完全に失われることが確認された。このことから、IL-31産生抑制作用を発揮するうえで、左側の芳香環におけるパラ位へのカルボキシ基の配位は必須であると考えられる。

[0277] 化合物14～16及び18の結果から、化合物1の2つの芳香環の間の接続部位に関して、化合物1の —NH—N=CH— 基（ヒドラゾン部分）を、 $\text{—NH—N=C(CH}_3\text{)—}$ 基（化合物18）、並びにオキサゾール（化合物14及び15）やトリアゾール（化合物16）などの二価のN含有5員複素環基に置き換えることができることが確認された。このことは、当該接続部位は、結合の長さが、IL-31産生抑制作用を維持するために重要であり、剛性はマイナーな要因であることを示している。

[0278] ネガティブ対照化合物7に示すように、化合物1の2つの芳香環のうち右側の芳香環をシクロヘキサン環に変更すると、IL-31産生抑制作用が完全に失われた。このことから、右側の芳香環がIL-31産生抑制作用を発揮するうえで重要であることが明らかになった。但し、当該芳香環は、パラ位に配位したイソプロピル基を、tert-ブチル基（化合物2）やジメチルアミノ基（化合物3）に交換してもIL-31産生抑制作用が維持されることが確認された。また化合物4～7の結果から、前記ジメチルアミノ基中のメチル基は、炭素数1～6程度のアルキル基であってもよく（つまり、ジ C_{1-6} アルキルアミノ基）、この各アルキル基はそれが配位する芳香環の他の炭素原子と結合して縮合環を形成していてもよいこと（化合物7）、また前記アルキル基は、IL-31産生抑制作用は若干低下する傾向は認められるものの、1つを限度として水酸基を有していてもよいこと（化合物4～6、ネガティブ対照化合物3）が、確認された。さらに当該芳香環の5つの水素原子の少なくとも1つは、前記の置換基以外に、同一又は異なって、ハロゲン原子（例えば、塩素原子、フッ素原子）、ハロ C_{1-6} アルキル基（例えば、フッ化炭素）、 C_{1-6} アルキル基（例えば、メチル基）、 C_{2-6} アルキニレン基（例えば、エチレニン基）、及

びカルボキシ基の少なくとも1種の基で置換されていてもよいことが確認された（化合物8～13及び15）。しかし、これらの置換基に代えて、2以上の水酸基を有するジC₁₋₆アルキルアミノ基を有する場合（ネガティブ対照化合物3）、パラ位に（2-ジメチルアミノ）エトキシ基を有する場合（ネガティブ対照化合物1、及び水酸基を有する場合（ネガティブ対照化合物2）は、いずれもIL-31産生抑制作用が著しく低下する傾向がみられた。

これらの結果は、右側の芳香環部位は、置換基を含めて全体として疎水性を有することが、IL-31産生抑制効果を発揮するうえで重要であることを示唆している。

[0279] 化合物19～34の結果を表2に示す。

[表2]

qPCR結果(IL-31産生(%)):0.1%DMSOを100%									細胞増殖(%):0.2%DMSOを100%				
NO.		B置換基を有するフェニル基部位のCLogP		0.078μM	0.156μM	0.312μM	0.625μM	1.25μM	2.5μM	5μM	10μM	20μM	40μM
化合物1	IPHBA	3.569	57.5	40.1	38.7	23.9	16.4	ND		ND	ND	ND	ND
化合物19	KS-276	2.307	ND	ND	67.6	69.9	54.5	16.9		86.3	79.4	66.0	67.4
化合物20	KS-290	3.738	16.9	17.7	23.3	24.7	22.1	32.6		ND	91.2	87.5	86.7
化合物21	KS-293	3.738	23.7	29.9	25.3	23.0	38.2	13.1		ND	95.5	98.2	106.5
化合物22	KS-277	3.569	ND	60.4	47.5	64.9	30.6	17.4		102.7	56.7	6.1	ND
化合物23	KS-278	5.514	ND	32.5	46.4	31.4	22.7	ND		110.1	92.9	88.5	68.9
化合物24	KS-281	4.943	ND	31.2	18.1	32.0	31.5	ND		88.1	81.5	71.3	62.9
化合物25	KS-292	3.738	ND	ND	82.7	85.6	72.2	81.9		ND	82.9	81.3	80.5
化合物26	KS-284	3.569	ND	ND	ND	45.1	26.2	ND		ND	77.1	70.6	64.6
化合物27	KS-288	3.738	28.6	35.1	39.6	43.1	46.8	ND		86.2	78.0	70.0	ND
化合物28	KS-285	3.569	ND	73.2	70.6	42.6	28.0	ND		ND	99.9	89.5	69.1
化合物29	KS-287	3.738	ND	59.1	52.3	61.9	40.7	63.6		ND	88.6	77.7	86.0
化合物30	KS-294	3.738	41.5	39.9	29.4	23.4	26.1	30.9		ND	98.3	90.3	76.4
化合物31	KS-282	3.569	ND	ND	ND	53.6	24.0	ND		ND	97.5	79.3	65.6
化合物32	KS-289	3.738	ND	35.5	52.1	39.9	53.5	ND		ND	115.3	92.7	91.8
化合物33	KS-291	3.738	57.7	48.9	37.9	25.1	28.0	29.7		ND	73.5	66.7	64.3
化合物34	KS-283	3.569	ND	ND	ND	48.3	52.3	ND		ND	79.0	90.8	87.8

NDは測定していないことを意味する。

配列表フリーテキスト

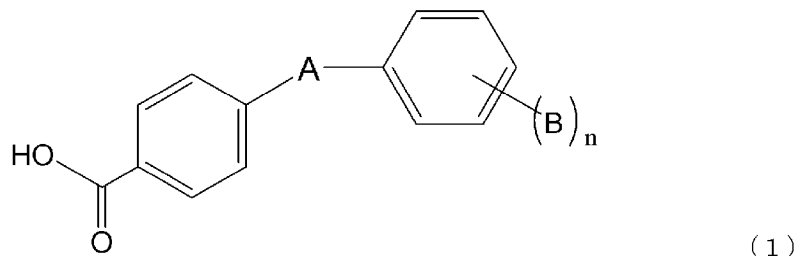
[0280] 配列番号1はMCC88-103のアミノ酸配列；配列番号2はOVA323-339のアミノ酸配列；配列番号3及び4はそれぞれIL-31遺伝子増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号5及び6はそれぞれIL-2遺伝子増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号7及び8はそれぞれIL-4遺伝子増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号9及び10はそれぞれHert遺伝子

増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号 1 1 及び 1 2 はそれぞれ VEGFA 遺伝子増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号 1 3 及び 1 4 はそれぞれ GLUT1 遺伝子増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号 1 5 及び 1 6 はそれぞれ PPIB (CYCLOPHILIN B) 遺伝子増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号 1 7 及び 1 8 はそれぞれマウス IL-31 遺伝子 (-1336/ -1042) 増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列；配列番号 1 9 及び 2 0 はそれぞれヒト IL-31 遺伝子 (-280/ -4) 増幅用のフォワードプライマー及びリバープライマーの塩基配列を示す。

請求の範囲

[請求項1] 下式（1）で示される化合物またはその塩を有効成分とするインターロイキン-3 1 産生抑制剤：

[化1]



{式（1）中、

Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基、二価のN含有5員複素環基、 $-NH-CO-$ 基、または二価のN含有5員複素環基と $-NH-CO-$ 基とが連結した基であり、

前記 R_1 は、水素原子または C_{1-4} アルキル基であり、

Bは、同一又は異なって、1つの水酸基を有することのある C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるモノ若しくはジ（ C_{1-6} アルキル）アミノ基、ハロゲン原子、ハロ C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルキニレン基、またはカルボキシ基であり、

前記モノ若しくはジ（ C_{1-6} アルキル）アミノ基の C_{1-6} アルキル基は、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5～6員環を形成してもよく、

n は1～5の整数を示す。}。

[請求項2] 前記化合物（1）が、前記式（1）においてBで示されざる置換基を有するフェニル基のオクタノール／水分配係数（KLogP）が1.5以上の化合物である、請求項1に記載するインターロイキン-3 1 産生抑制剤。

[請求項3] 前記化合物（1）が、前記式（1）において、
Aは、 $-NH-N=C(R_1)-$ 基であり、 R_1 は、水素原子であり

、

Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

前記ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基の少なくとも1つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して6員環を形成してもよく、

nは1～5の整数である、

化合物である、

請求項1又は2に記載するインターロイキン-3 1産生抑制剤。

[請求項4] 前記化合物(1)が、前記式(1)において、

Aは、二価のN含有5員複素環基であり、

Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

nは1～5の整数である、

化合物である、

請求項1又は2に記載するインターロイキン-3 1産生抑制剤。

[請求項5] 請求項1～4のいずれか一項に記載するインターロイキン-3 1産生抑制剤、及び薬学的に許容される担体又は賦形剤を含有する、医薬組成物。

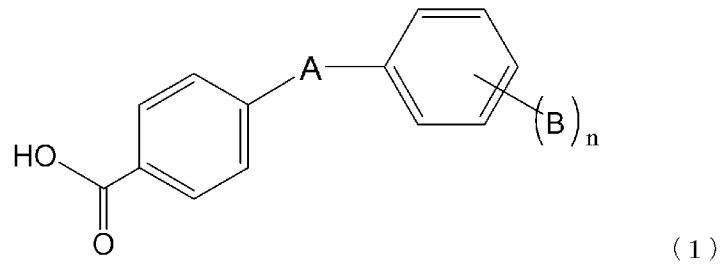
[請求項6] 経口投与形態を有する、請求項5に記載する医薬組成物。

[請求項7] 抗搔痒剤である請求項5又は6に記載する医薬組成物。

[請求項8] IL-31介在性の搔痒性疾患の治療薬である、請求項7に記載する医薬組成物。

[請求項9] 下式(1)で示される化合物またはその塩：

[化2]



{式(1)中、

Aは、 $-\text{NH}-\text{N}=\text{C}(\text{R}_1)-$ 基、二価のN含有5員複素環基、 $-\text{NH}-\text{CO}-$ 基、または二価のN含有5員複素環基と $-\text{NH}-\text{CO}-$ 基とが連結した基であり、

前記 R_1 は、水素原子または C_{1-4} のアルキル基であり、

Bは、同一又は異なって、1つの水酸基を有することのある C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるモノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、ハロ C_{1-6} アルキル基、 C_{2-6} アルキニレン基、またはカルボキシ基であり、

前記モノ若しくはジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基は、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して5～6員環を形成してもよく、

n は1～5の整数を示す。}。

[請求項10]

前記式(1)において、Aは、 $-\text{NH}-\text{N}=\text{C}(\text{R}_1)-$ 基であり、 R_1 は、水素原子であり、

Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、1つの水酸基を有することのあるジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、

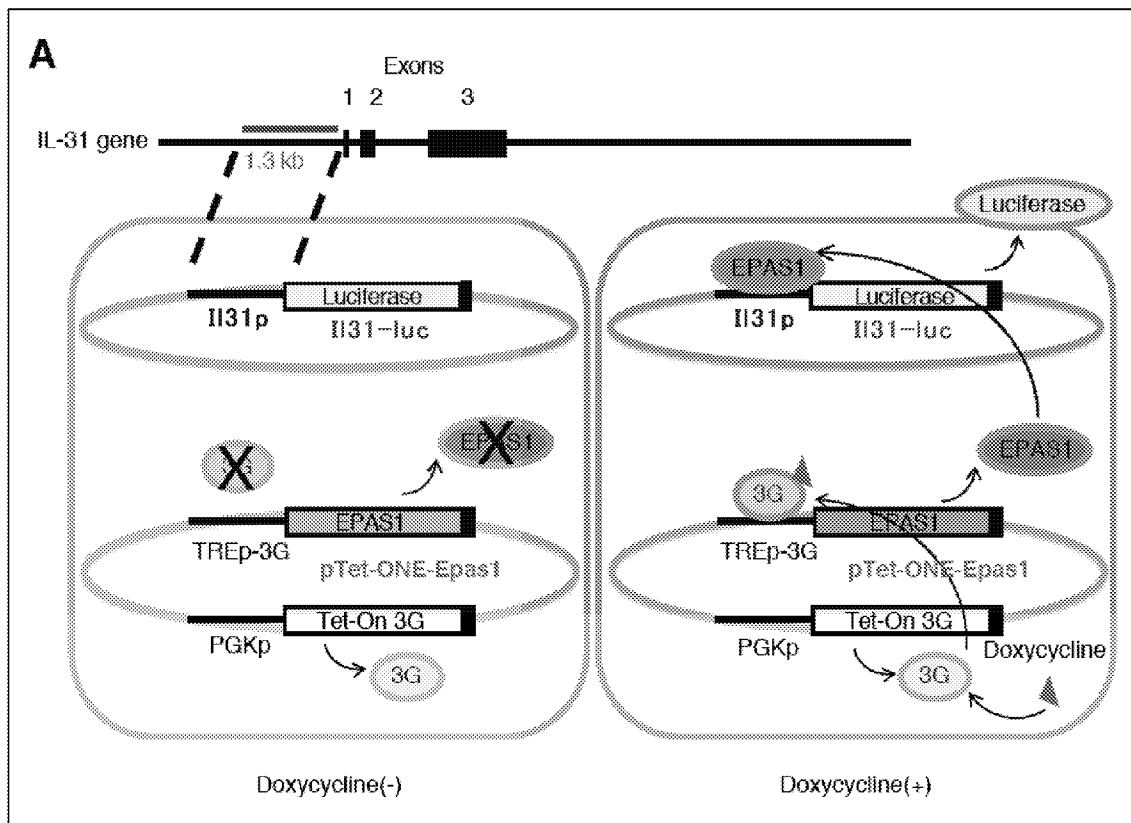
前記ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基の C_{1-6} アルキル基の少なくとも1つは、これが結合したフェニル基の炭素原子に隣接する炭素原子と結合して6員環を形成してもよく、

n は1～5の整数である、請求項9に記載する化合物またはその塩。

[請求項11] 前記式(1)において、Aは、二価のN含有5員複素環基であり、Bは、同一又は異なって、 C_{1-6} アルキル基、ジ(C_{1-6} アルキル)アミノ基、ハロゲン原子、またはハロ C_{1-6} アルキル基であり、nは1～5の整数である、請求項9に記載する化合物またはその塩。

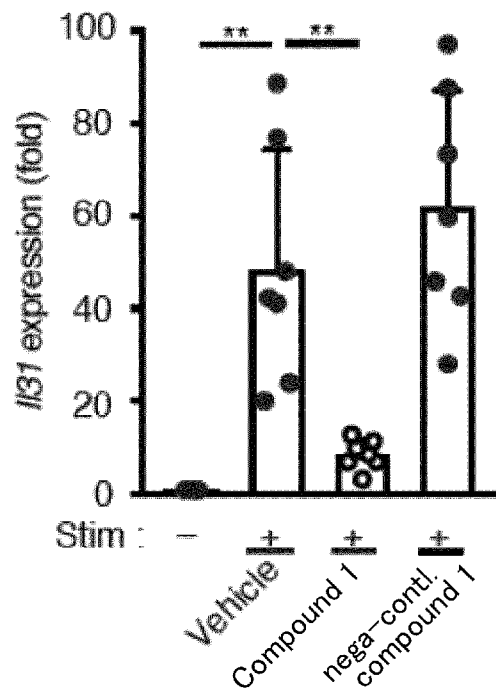
[請求項12] ドキシサイクリン存在下で転写因子EPAS1 (Endothelial PAS domain-containing protein 1) が発現誘導されるようにしたマウスMEF細胞あるいはヒト細胞株にIL-31遺伝子プロモーターにより誘導されるレポーター蛋白発現系が導入されてなる、当該レポーター蛋白の発現抑制を示すIL-31産生抑制剤のスクリーニング系。

[図1]

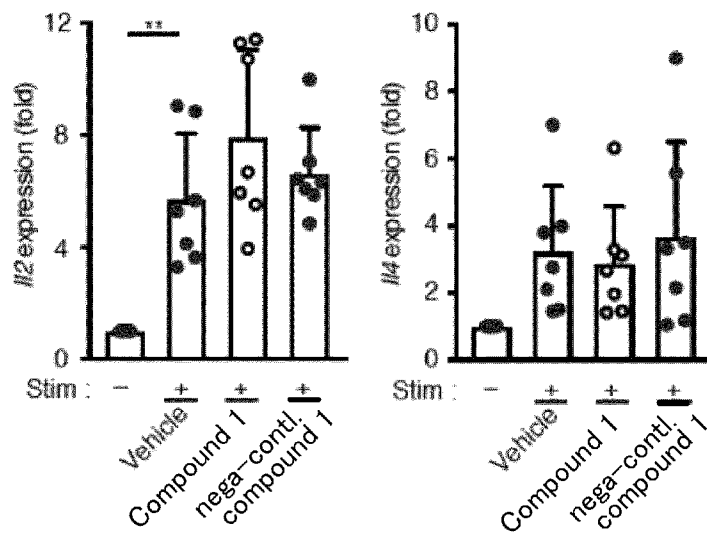


[図2]

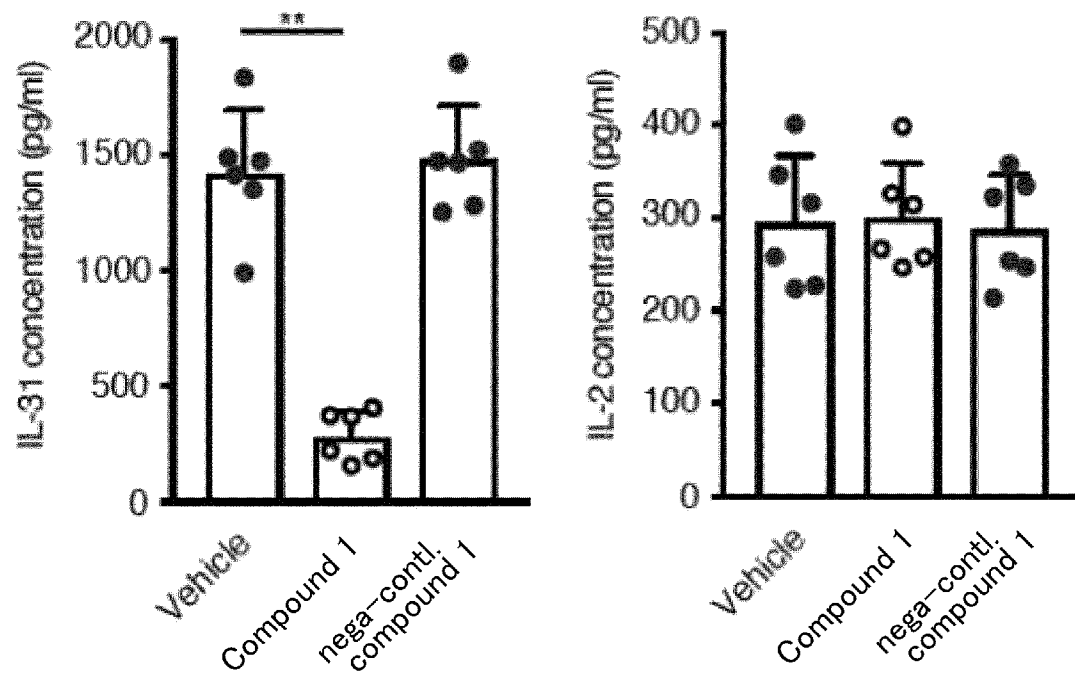
A



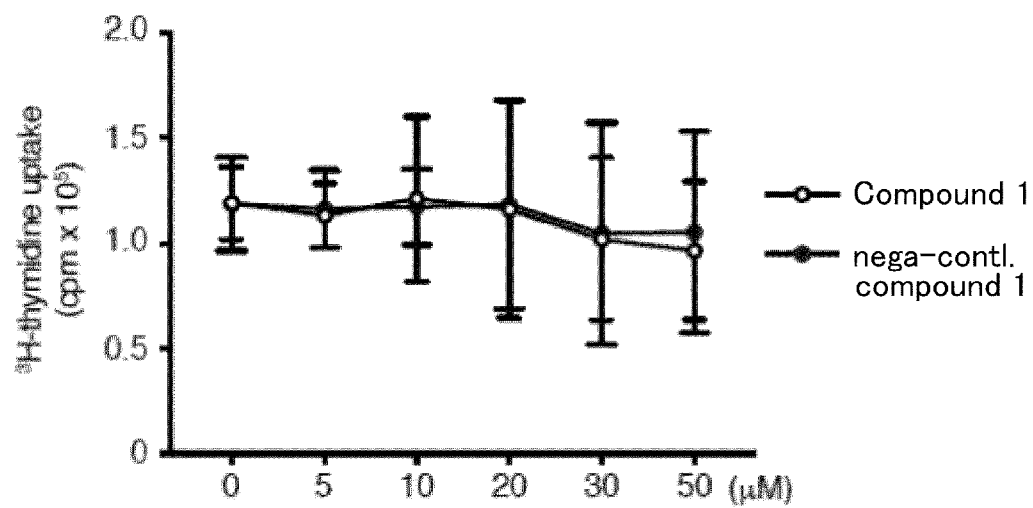
B



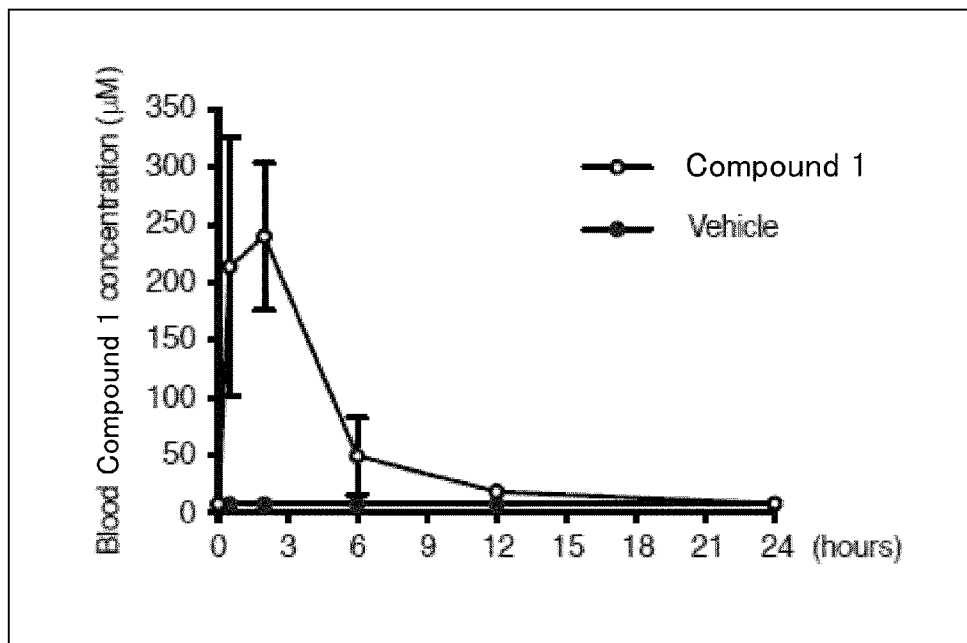
[図3]



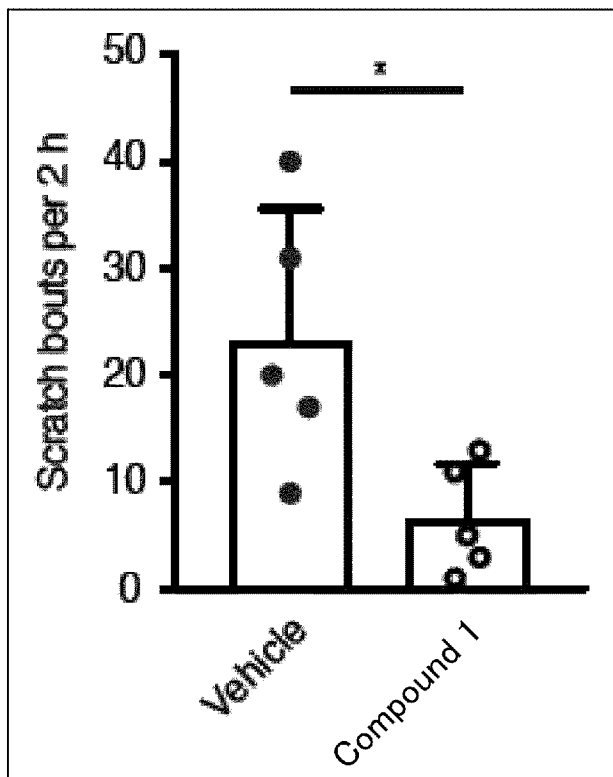
[図4]



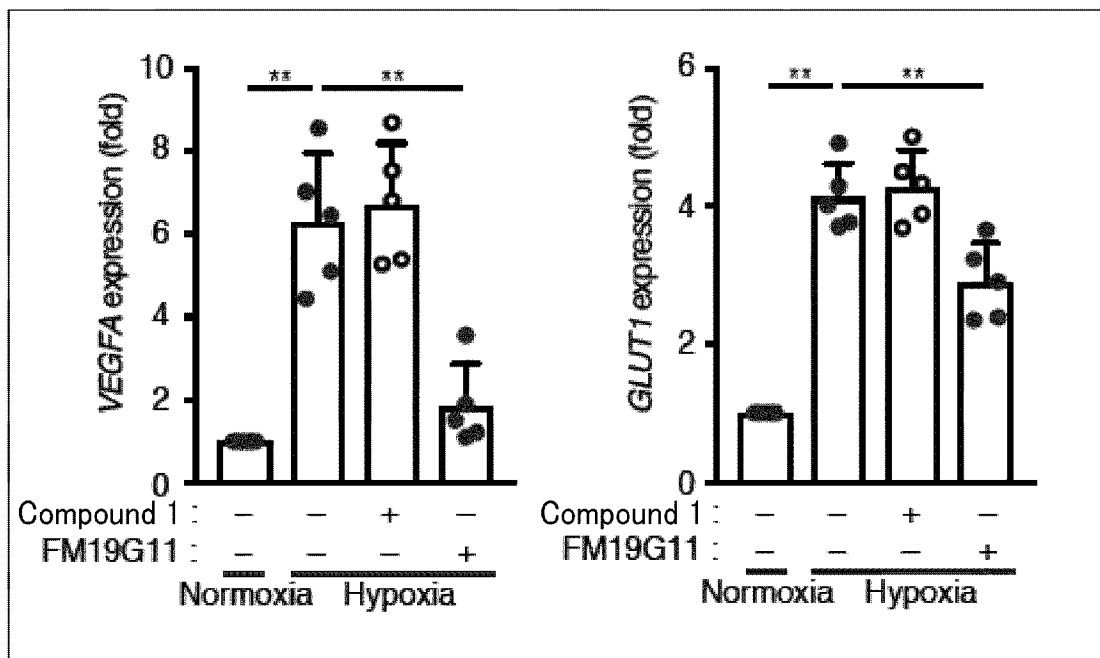
[図5]



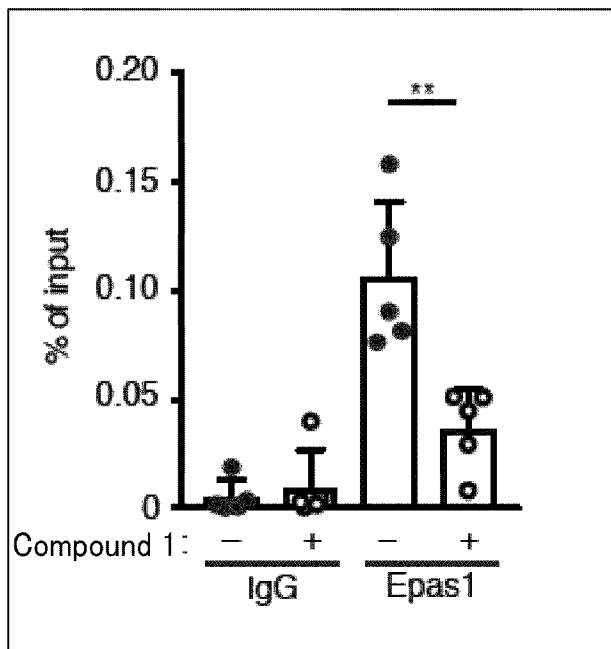
[図6]



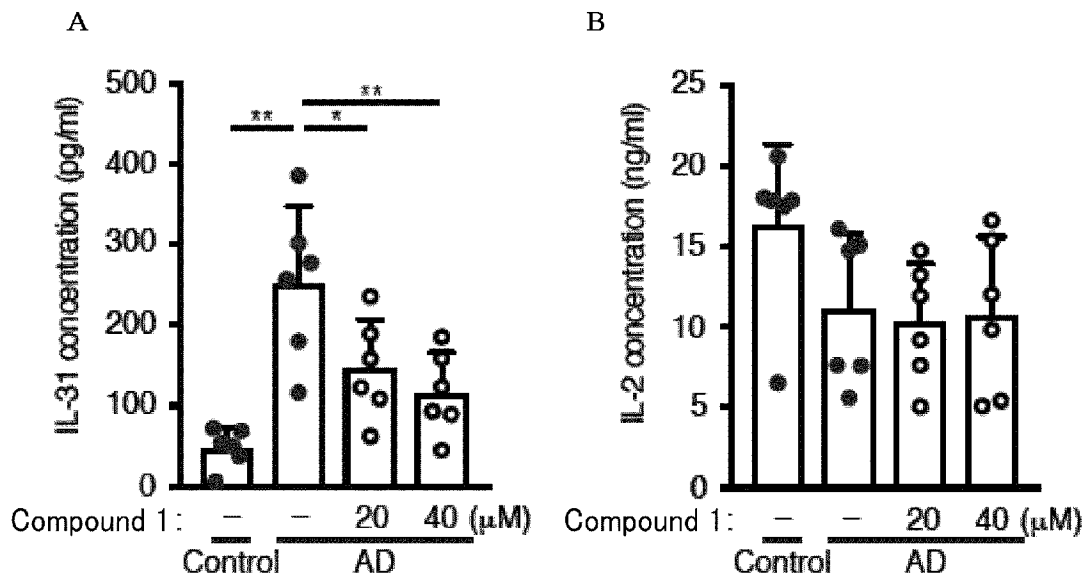
[図7]



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/004558

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/192(2006.01)i; **A61K 31/194**(2006.01)i; **A61K 31/196**(2006.01)i; **A61K 31/4192**(2006.01)i;
A61K 31/421(2006.01)i; **A61K 31/4745**(2006.01)i; **A61P 17/04**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i; **C07K 7/08**(2006.01)i;
C12N 15/09(2006.01)i

FI: A61K31/192; A61K31/194; A61K31/196; A61K31/4192; A61K31/421; A61K31/4745; A61P17/04 ZNA; A61P43/00
111; C07K7/08; C12N15/09 Z

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/192; A61K31/194; A61K31/196; A61K31/4192; A61K31/421; A61K31/4745; A61P17/04; A61P43/00; C07K7/08;
C12N15/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/053606 A2 (MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH) 14 May 2010 (2010-05-14) claims, in particular, claims 11, 17, 45, examples	5-6, 9-11
A	entire text	1-4, 7-8
X	JP 2008-530104 A (THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE) 07 August 2008 (2008-08-07) claims, fig. 4, aryl hydrazine component 25, aryl aldehyde components b-d, g-I, k-l	5-6, 9-10
A	entire text	1-4, 7-8, 11
X	JP 2-250856 A (BASF AG) 08 October 1990 (1990-10-08) claims, example no. 23, 28, 32-33	5-6, 9-10
A	entire text	1-4, 7-8, 11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 April 2022

Date of mailing of the international search report

26 April 2022

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan**

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/004558

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2018-505860 A (GALDERMA RESEARCH & DEVELOPMENT) 01 March 2018 (2018-03-01) claims, paragraphs [0096], [0097], fig. 2, 20, 22, fig. 3, 28,32, fig. 4, 43, 44, fig. 5, 55, fig. 6, 65, 69, fig. 8, 87, tables 2H, 2I	5-6, 9, 11
A	entire text	1-4, 7-8, 10
X	JP 2008-515985 A (PTC THERAPEUTICS, INC) 15 May 2008 (2008-05-15) claims, examples, compounds 1, 3, 5, 7, 16, 42-46, 49-50, 68, 90, 96, 142-148, 150-159, etc.	5-6, 9, 11
A	entire text	1-4, 7-8, 10
X	WO 2007/043400 A1 (KISSEI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 19 April 2007 (2007-04-19) claims, XO-CH79	5-6, 9, 11
A	entire text	1-4, 7-8, 10
A	CHE, Nchang Denis et al. Fisetin inhibits IL-31 production in stimulated human mast cells: Possibilities of fisetin being exploited to treat histamine-independent pruritus. Life Sciences. 28 March 2018, vol. 201, pp. 121-129 abstract	1-11
A	CHE, Nchang Denis et al. Luteolin and Apigenin Attenuate LPS-Induced Astrocyte Activation and Cytokine Production by Targeting MAPK, STAT3, and NF-κB Signaling Pathways. Inflammation. October 2020, vol. 43, no. 5, pp. 1716-1728 abstract	1-11
P, X	KAMIKASEDA, Yasuhisa et al. Targeted inhibition of EPAS1-driven IL-31 production by a small-molecule compound. J ALLERGY CLIN IMMUNOL. 02 April 2021, vol. 148, no. 2, pp. 633-638, DOI:10.1016/j.jaci.2021.03.029 abstract	1-3, 5-10
P, A	abstract	4, 11
P, X	KUNIMURA, Kazufumi et al. The molecular basis for IL-31 production and IL-31- mediated itch transmission: from biology to drug development. International Immunology. 07 September 2021, vol. 33, no. 12, pp. 731-736, DOI:10.1093/intimm/dxab065 abstract	1-3, 5-10
P, A	abstract	4, 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/004558

Box No. I **Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Document 7: CHE, Nchang Denis et al. Fisetin inhibits IL-31 production in stimulated human mast cells: Possibilities of fisetin being exploited to treat histamine-independent pruritus. Life Sciences. 28 March 2018, vol. 201, pp. 121-129

Document 8: CHE, Nchang Denis et al. Luteolin and Apigenin Attenuate LPS-Induced Astrocyte Activation and Cytokine Production by Targeting MAPK, STAT3, and NF-κB Signaling Pathways. Inflammation. October 2020, vol. 43, no. 5, pp. 1716-1728

Claims are classified into the two inventions below.

● (Invention 1) Claims 1-11

Claims 1-8 have the special technical feature of an interleukin-31 (hereinafter, IL-31) production inhibitor including a compound represented by formula (1) or a salt thereof as an active ingredient, and are thus classified as invention 1.

Also, the invention in claims 9-11 has the special technical feature corresponding to said special technical feature, and is thus classified as invention 1.

● (Invention 2) Claims 12

Claim 12 shares the common technical feature of an IL31 production inhibitor with claim 1 classified as invention 1. However, said technical feature does not make a contribution over the prior art in light of the disclosure of documents 7-8 (documents 7-8: abstract. Document 7 indicates that fisetin has an action of inhibiting the production of IL-31, and document 8 indicates that luteolin and apigenin have an action of inhibiting the production of IL-31.), and thus cannot be said to be a special technical feature. Furthermore, there are no other same or corresponding special technical features between these inventions.

In addition, claim 12 is not dependent on claim 1. Furthermore, claim 12 is not substantially identical to or similarly closely related to any of the claims classified as invention 1.

Therefore, claim 12 cannot be classified as invention 1.

In addition, claim 12 has the special technical feature of a screening system for a specific IL-31 production inhibitor, and is thus classified as invention 2.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **claims 1-11**

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/004558

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2010/053606	A2	14 May 2010	US 2011/0263540 A1 claims, examples	
JP	2008-530104	A	07 August 2008	WO 2006/086517 A2 claims, fig. 4, aryl hydrazine component 25, aryl aldehyde components b-d, g-I, k-l US 2006/0178527 A1 EP 1848688 A1 KR 10-2007-0101386 A CN 101115712 A	
JP	2-250856	A	08 October 1990	US 5072042 A claims, example no. 23, 28, 32- 33 EP 382076 A1 DE 3903990 A KR 10-1990-0011717 A	
JP	2018-505860	A	01 March 2018	WO 2016/097626 A1 claims, fig. 2, 20, 22, fig. 3, 28, 32, fig. 4, 43, 44, fig. 5, 55, fig. 6, 65, 69, fig. 8, 87, tables 2H, 2I US 2017/0342040 A1 EP 3233806 A1 KR 10-2017-0096181 A CN 107250115 A	
JP	2008-515985	A	15 May 2008	WO 2006/044456 A1 claims, examples, compounds 1, 3, 5, 7, 16, 42-46, 49-50, 68, 90, 96, 142-148, 150, 159, etc. US 2009/0253699 A1 EP 1799207 A1 KR 10-2007-0065429 A CN 101076332 A	
WO	2007/043400	A1	19 April 2007	US 101076332 A1 claims, XO-CH79 WO 2007/043401 A1 EP 1932833 A1 KR 10-2008-0066938 A CN 101282936 A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 31/192(2006.01)i; A61K 31/194(2006.01)i; A61K 31/196(2006.01)i; A61K 31/4192(2006.01)i; A61K 31/421(2006.01)i; A61K 31/4745(2006.01)i; A61P 17/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07K 7/08(2006.01)i; C12N 15/09(2006.01)i FI: A61K31/192; A61K31/194; A61K31/196; A61K31/4192; A61K31/421; A61K31/4745; A61P17/04 ZNA; A61P43/00 111; C07K7/08; C12N15/09 Z																							
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K31/192; A61K31/194; A61K31/196; A61K31/4192; A61K31/421; A61K31/4745; A61P17/04; A61P43/00; C07K7/08; C12N15/09 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1 9 2 2 - 1 9 9 6 年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1 9 7 1 - 2 0 2 2 年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1 9 9 6 - 2 0 2 2 年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1 9 9 4 - 2 0 2 2 年</td> </tr> </table> 国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)			日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年	日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 2 2 年	日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 2 2 年	日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 2 2 年													
日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年																						
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 2 2 年																						
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 2 2 年																						
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 2 2 年																						
C. 関連すると認められる文献 <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2010/053606 A2 (MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH) 14.05.2010 (2010 - 05 - 14) 特許請求の範囲,特に請求項 1 1, 1 7, 4 5, 実施例</td> <td>5-6, 9-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>全文</td> <td>1-4, 7-8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>JP 2008-530104 A (ザ スクリプス リサーチ インスティテュート) 07.08.2008 (2008 - 08 - 07) 特許請求の範囲, 図 4 のアリアルヒドラジン成分 2 5, アリアルアルデヒド成分 b- d, g-l, k-l</td> <td>5-6, 9-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>全文</td> <td>1-4, 7-8, 11</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>JP 2-250856 A (ビーエーエスエフ・アクチエンゲゼルシャフト) 08.10.1990 (1990 - 10 - 08) 特許請求の範囲, 実施例番号 2 3, 2 8, 3 2 - 3 3</td> <td>5-6, 9-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>全文</td> <td>1-4, 7-8, 11</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	WO 2010/053606 A2 (MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH) 14.05.2010 (2010 - 05 - 14) 特許請求の範囲,特に請求項 1 1, 1 7, 4 5, 実施例	5-6, 9-11	A	全文	1-4, 7-8	X	JP 2008-530104 A (ザ スクリプス リサーチ インスティテュート) 07.08.2008 (2008 - 08 - 07) 特許請求の範囲, 図 4 のアリアルヒドラジン成分 2 5, アリアルアルデヒド成分 b- d, g-l, k-l	5-6, 9-10	A	全文	1-4, 7-8, 11	X	JP 2-250856 A (ビーエーエスエフ・アクチエンゲゼルシャフト) 08.10.1990 (1990 - 10 - 08) 特許請求の範囲, 実施例番号 2 3, 2 8, 3 2 - 3 3	5-6, 9-10	A	全文	1-4, 7-8, 11
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																					
X	WO 2010/053606 A2 (MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH) 14.05.2010 (2010 - 05 - 14) 特許請求の範囲,特に請求項 1 1, 1 7, 4 5, 実施例	5-6, 9-11																					
A	全文	1-4, 7-8																					
X	JP 2008-530104 A (ザ スクリプス リサーチ インスティテュート) 07.08.2008 (2008 - 08 - 07) 特許請求の範囲, 図 4 のアリアルヒドラジン成分 2 5, アリアルアルデヒド成分 b- d, g-l, k-l	5-6, 9-10																					
A	全文	1-4, 7-8, 11																					
X	JP 2-250856 A (ビーエーエスエフ・アクチエンゲゼルシャフト) 08.10.1990 (1990 - 10 - 08) 特許請求の範囲, 実施例番号 2 3, 2 8, 3 2 - 3 3	5-6, 9-10																					
A	全文	1-4, 7-8, 11																					
☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。																							
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献																							
国際調査を完了した日 18.04.2022		国際調査報告の発送日 26.04.2022																					
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号		権限のある職員（特許庁審査官） 今村 明子 4C 3847 電話番号 03-3581-1101 内線 3452																					

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2018-505860 A (ガルデルマ・リサーチ・アンド・デヴェロップメント) 01.03.2018 (2018 - 03 - 01) 特許請求の範囲, 段落[0096], [0097], 図2の20, 22, 図3の28, 32, 図4の43, 44, 図5の 55, 図6の65, 69, 図8の87, 表2H, 表 2 I	5-6, 9, 11
A	全文	1-4, 7-8, 10
X	JP 2008-515985 A (ピーティーシー セラピューティクス, インコーポレーテッド) 15.05.2008 (2008 - 05 - 15) 特許請求の範囲, 実施例, 化合物 1, 3, 5, 7, 16, 42-46, 49-50, 68, 90, 96, 142-148, 150-159 など	5-6, 9, 11
A	全文	1-4, 7-8, 10
X	WO 2007/043400 A1 (キッセイ薬品工業株式会社) 19.04.2007 (2007 - 04 - 19) 請求の範囲, X0-CH79	5-6, 9, 11
A	全文	1-4, 7-8, 10
A	CHE, Nchang Denis et al., Fisetin inhibits IL-31 production in stimulated human mast cells: Possibilities of fisetin being exploited to treat histamine-independent pruritus, Life Sciences, 2018.03.28, Vol.201, p.121-129 抄録	1-11
A	CHE, Nchang Denis et al., Luteolin and Apigenin Attenuate LPS-Induced Astrocyte Activation and Cytokine Production by Targeting MAPK, STAT3, and NF- κ B Signaling Pathways, Inflammation, 2020.10, Vol. 43, No. 5, p.1716-1728 抄録	1-11
P, X	KAMIKASEDA, Yasuhisa et al., Targeted inhibition of EPAS1-driven IL-31 production by a small-molecule compound, J ALLERGY CLIN IMMUNOL, 2021.04.02, Vol.148, No.2, p.633-638, DOI:10.1016/j.jaci.2021.03.029 抄録	1-3, 5-10
P, A	抄録	4, 11
P, X	KUNIMURA, Kazufumi et al., The molecular basis for IL-31 production and IL-31- mediated itch transmission: from biology to drug development, International Immunology, 2021.09.07, Vol. 33, No. 12, p.731-736, DOI:10.1093/intimm/dxab065 抄録	1-3, 5-10
P, A	抄録	4, 11

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- ☒ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- ☐ 紙形式又はイメージファイル形式
- b. ☐ 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- ☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- ☐ 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

文献7 : CHE, Nchang Denis et al. , Fisetin inhibits IL-31 production in stimulated human mast cells: Possibilities of fisetin being exploited to treat histamine-independent pruritus, Life Sciences, 2018.03.28, Vol.201, p.121-129

文献8 : CHE, Nchang Denis et al. , Luteolin and Apigenin Attenuate LPS-Induced Astrocyte Activation and Cytokine Production by Targeting MAPK, STAT3, and NF- κ B Signaling Pathways, Inflammation, 2020.10, Vol. 43, No. 5, p.1716-1728

請求の範囲は、以下の2個の発明に区分される。

●（発明1）請求項1-11

請求項1-8は、式（1）で示される化合物またはその塩を有効成分とするインターロイキン-31（以下、IL-31ともいう。）産生抑制剤という特別な技術的特徴を有しているので、発明1に区分する。

また、請求項9-11に係る発明は、上記特別な技術的特徴に対応する特別な技術的特徴を有しているので、発明1に区分する。

●（発明2）請求項12

請求項12は、発明1に区分された請求項1と、IL-31産生抑制剤という共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、文献7-8の開示内容（文献7-8：抄録。文献7にはフィセチンがIL-31の産生抑制作用を有することが記載されており、文献8には、ルテオリン、アピゲニンがIL-31の産生抑制作用を有することが記載されている。）に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

さらに、請求項12は、請求項1の従属請求項ではない。また、請求項12は、発明1に区分されたいずれの請求項に対しても実質同一又はそれに準ずる関係にはない。

したがって、請求項12は発明1に区分できない。

そして、請求項12は特定のIL-31産生抑制剤のスクリーニング系という特別な技術的特徴を有しているので、発明2に区分する。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。
請求項1-11

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/004558

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2010/053606	A2	14.05.2010	US	2011/0263540	A1	
				特許請求の範囲, 実施例			
JP	2008-530104	A	07.08.2008	WO	2006/086517	A2	
				特許請求の範囲, 図4の アリールヒドラジン成分25, アリールアルデヒド成分b- d, g-l, k-l			
				US	2006/0178527	A1	
				EP	1848688	A1	
				KR	10-2007-0101386	A	
				CN	101115712	A	
JP	2-250856	A	08.10.1990	US	5072042	A	
				特許請求の範囲, 実施例番号 23, 28, 32-33			
				EP	382076	A1	
				DE	3903990	A	
				KR	10-1990-0011717	A	
JP	2018-505860	A	01.03.2018	WO	2016/097626	A1	
				特許請求の範囲, 図2の20, 22, 図3の28, 32, 図4の43, 44, 図5の55, 図6の65, 69, 図8の 87, 表2H, 表2I			
				US	2017/0342040	A1	
				EP	3233806	A1	
				KR	10-2017-0096181	A	
				CN	107250115	A	
JP	2008-515985	A	15.05.2008	WO	2006/044456	A1	
				特許請求の範囲, 実施例, 化 合物1, 3, 5, 7, 16, 42 -46, 49-50, 68, 9 0, 96, 142-148, 1 50-159など			
				US	2009/0253699	A1	
				EP	1799207	A1	
				KR	10-2007-0065429	A	
				CN	101076332	A	
WO	2007/043400	A1	19.04.2007	US	2009/0306396	A1	
				特許請求の範囲, X0-CH79			
				WO	2007/043401	A1	
				EP	1932833	A1	
				KR	10-2008-0066938	A	
				CN	101282936	A	