

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3983662号
(P3983662)

(45) 発行日 平成19年9月26日(2007.9.26)

(24) 登録日 平成19年7月13日(2007.7.13)

(51) Int.C1.

F 1

C07D 401/04	(2006.01)	C 07 D 401/04
A61K 31/454	(2006.01)	A 61 K 31/454
A61K 31/497	(2006.01)	A 61 K 31/497
A61K 31/501	(2006.01)	A 61 K 31/501
A61K 31/506	(2006.01)	A 61 K 31/506

請求項の数 29 (全 41 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-512174 (P2002-512174)
 (86) (22) 出願日 平成13年7月12日 (2001.7.12)
 (65) 公表番号 特表2004-504317 (P2004-504317A)
 (43) 公表日 平成16年2月12日 (2004.2.12)
 (86) 國際出願番号 PCT/EP2001/008059
 (87) 國際公開番号 WO2002/006271
 (87) 國際公開日 平成14年1月24日 (2002.1.24)
 審査請求日 平成15年1月27日 (2003.1.27)
 (31) 優先権主張番号 00114950.9
 (32) 優先日 平成12年7月19日 (2000.7.19)
 (33) 優先権主張国 歐州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 591003013
 エフ. ホフマンーラ ロシュ アーゲー
 F. HOFFMANN-LA ROCHE
 E AKTIENGESELLSCHAFT
 T
 スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
 グレンツアーヘルストラッセ 124
 (74) 代理人 100078662
 弁理士 津国 肇
 (74) 代理人 100075225
 弁理士 篠田 文雄
 (72) 発明者 エービ, ヨハネス
 スイス国、ツェーハー-4051 バーゼ
 ル、ヴァルシュトラーセ 13

最終頁に続く

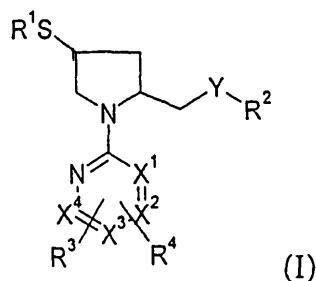
(54) 【発明の名称】 ピリミジン誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 I

【化 1】



10

(式中、

R¹は、水素、アルキルカルボニルまたはアリールカルボニルであり；
 R²は、アルキル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルキルカルボニルアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アリールアルキル、アリールアルコキアルキル、アリール(アルコキシカルボニル)アルキル、ジアリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクリアルキルであり；

R³およびR⁴は、水素、アルキル、アルキルシクロアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アルキルチオ、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、カルバモイル、カ

20

ルボキシ、カルボキシアルキル、シアノ、アミノ、モノ - およびジ - アルキルアミノ、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシカルボニル、アルコキシカルボニルアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、アリールアルキル（アルコキシカルボニル）アルキル、アリールカルボニルアルキル、アリールアルケニル、アリール（アルコキシカルボニル）アルキル、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ、アリールオキシ、ハロゲン、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、トリメチルシラニルエチニルまたはトリフルオロメチルからなる群より独立に選択され；

R⁵は、水素、アルキル、アリール、アリールアルキルオキシカルボニル、またはアルキルカルボニルであり；

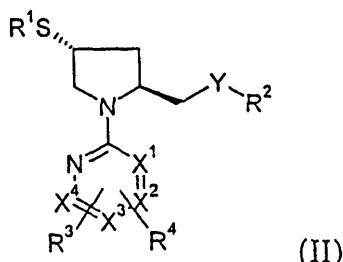
X¹、X²、X³およびX⁴は、C HまたはNであり（ただしX¹、X²、X³およびX⁴の2個までの基のみがNである）；

Yは-O-または-NR⁵である）の化合物、あるいはそのダイマー形、またはそのメトキシメチルエステル、メチルチオメチルエステル、もしくはピバロイルオキシメチルエステル、または薬学的に許容されるその塩。

【請求項2】

一般式II

【化2】



（式中、R¹、R²、R³、R⁴、X¹、X²、X³、X⁴およびYは、請求項1で定義したとおりである）の請求項1記載の化合物。

【請求項3】

R¹が水素またはアルキルカルボニルである、請求項1～2のいずれか記載の化合物。

【請求項4】

R¹が水素またはアセチルである、請求項1～3のいずれか記載の化合物。

【請求項5】

R¹が水素である、請求項1～4のいずれか記載の化合物。

【請求項6】

R²がアルキル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルキルカルボニルアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アリールアルキル、アリールアルコキシアルキル、アリール（アルコキシカルボニル）アルキル、ジアリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキルまたはヘテロシクリルアルキルである、請求項1～5のいずれか記載の化合物。

【請求項7】

R²がアリールアルキル、アリールアルコキシアルキル、シクロアルキルアルキルまたはヘテロアリールアルキルである、請求項1～6のいずれか記載の化合物。

【請求項8】

R²がアリールアルキルまたはヘテロアリールアルキルである、請求項1～7のいずれか記載の化合物。

【請求項9】

R²がアリールアルキルである、請求項1～8のいずれか記載の化合物。

【請求項10】

R²が、場合により2～3個のハロゲン原子によって置換されたフェニルアルキルであ

10

20

30

40

50

る、請求項 1 ~ 9 のいずれか記載の化合物。

【請求項 1 1】

R^3 および R^4 が水素、アルキル、アルキルチオ、アルケニル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アミノ、アリール、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキルアミノ、アリールオキシ、モノ - およびジ - アルキルアミノ、カルバモイル、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、トリメチルシラニルエチニルならびにトリフルオロメチルからなる群より独立に選択される、請求項 1 ~ 10 のいずれか記載の化合物。

【請求項 1 2】

R^3 および R^4 が水素、アルキル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルケニル、チオフェニル、アミノ、モノ - およびジアルキルアミノ、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、トリメチルシラニルエチニル、フェニルアルキルアミノ、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、フェニルおよびフェノキシ（該アリールおよびヘテロアリール基が場合によりアルキル、アルコキシ、カルボキシまたはハロゲンによって置換される）からなる群より独立に選択される、請求項 1 ~ 11 のいずれか記載の化合物。 10

【請求項 1 3】

R^3 が水素、アルキル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルケニル、チオフェニル、アミノ、モノ - もしくはジ - アルキルアミノ、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、トリメチルシラニルエチニル、フェニルアルキルアミノ、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、フェニルまたはフェノキシ（該アリールおよびヘテロアリール基が場合によりアルキル、アルコキシ、カルボキシまたはハロゲンによって置換される）であり、 R^4 が水素である、請求項 1 ~ 12 のいずれか記載の化合物。 20

【請求項 1 4】

Y が $-NR^5-$ である、請求項 1 ~ 13 のいずれか記載の化合物。

【請求項 1 5】

R^5 が水素またはアルキルである、請求項 1 4 記載の化合物。

【請求項 1 6】

R^5 が水素である、請求項 1 5 記載の化合物。

【請求項 1 7】

Y が $-O-$ である、請求項 1 ~ 13 のいずれか記載の化合物。 30

【請求項 1 8】

X^1 が N であり、 X^2 、 X^3 および X^4 が C H である、請求項 1 ~ 17 のいずれか記載の化合物。

【請求項 1 9】

X^2 が N であり、 X^1 、 X^3 および X^4 が C H である、請求項 1 ~ 17 のいずれか記載の化合物。

【請求項 2 0】

X^3 が N であり、 X^1 、 X^2 および X^4 が C H である、請求項 1 ~ 17 のいずれか記載の化合物。

【請求項 2 1】

X^1 、 X^2 、 X^3 および X^4 が C H である、請求項 1 ~ 17 のいずれか記載の化合物。 40

【請求項 2 2】

R^1 が水素またはアルキルカルボニルであり、
 R^2 が 2 ~ 3 個のハロゲンで置換されたフェニルアルキルであり；
 R^3 が水素、アルキル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルケニル、チオフェニル、アミノ、モノ - もしくはジ - アルキルアミノ、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、トリメチルシラニルエチニル、フェニルアルキルアミノ、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、フェニルまたはフェノキシ（該アリールおよびヘテロアリール基が場合によりアルキル、アルコキシ、カルボキシまたはハロゲンによって置換される）であり；
 R^4 が水素であり；

40

50

X^1 、 X^2 、 X^3 および X^4 がC HまたはNであり（ただし X^1 、 X^2 、 X^3 および X^4 の2個までの基のみがNである）；

Yが-NH-または-O-である、

請求項1～21のいずれか記載の化合物。

【請求項23】

R¹が水素またはアセチルであり、R²がジフルオロベンジルまたはトリフルオロベンジルである、請求項1～22のいずれか記載の化合物。

【請求項24】

a) (3R, 5S)-1-ピリミジン-2-イル-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1 10)；

b) (3R, 5S)-1-(4, 6-ジメトキシ-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール；

c) (3R, 5S)-1-(4-アミノ-5-フルオロ-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール；

d) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-ニコチノニトリル；

e) (3R, 5S)-1-(6-フェニル-ピリダジン-3-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール；

f) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-ニコチン酸；

g) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-6-メチル-ピリミジン-4-カルボン酸メチルエステル；

h) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-4-トリフルオロメチル-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステル；

i) (3R, 5S)-1-ピラジン-2-イル-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)ピロリジン-3-チオール；トリフルオロ酢酸との化合物；

j) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-ニコチニアミド；

k) (3R, 5S)-5-(2, 5-ジフルオロ-4-メトキシ-ベンジルオキシメチル)-1-(2-メトキシ-ピリミジン-4-イル)-ピロリジン-3-チオール；

l) (3R, 5S)-1-(2-クロロ-ピリミジン-4-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール；トリフルオロ酢酸との化合物；

m) (3R, 5S)-1-(5-エチル-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1)；

n) (3R, 5S)-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1)；

o) (3R, 5S)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-1-(4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1)；

p) (3R, 5S)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-1-(5-トリフルオロメチル-ピリジン-2-イル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1)；

q) (3R, 5S)-1-ピリジン-2-イル-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1) 50

;

r) (2 S , 4 R) - 2 - [4 - メルカプト - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 1 - イル] - 6 - メチル - ピリミジン - 4 - カルボン酸 ;

s) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - メトキシ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

t) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - フェニルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート (1 : 1) ;

u) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - ベンジルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ - アセタート (1 : 1) ;

v) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - メチルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ - アセタート (1 : 1) ;

w) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - プチルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ - アセタート (1 : 1) ;

x) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - メチルスルファニル - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) ピロリジン - 3 - チオール ; 20

y) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - フェノキシ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

z) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - フェニル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

a a) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 2 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ酢酸との化合物 ;

b b) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 4 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

c c) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - チオフェン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; 30

d d) (3 R , 5 S) - 1 - [5 - (4 - メトキシ - フェニル) - ピリミジン - 2 - イル] - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

e e) (2 S , 4 R) - 4 - { 2 - [4 - メルカプト - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン - 5 - イル } - 安息香酸 ;

f f) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - アリル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; 40

g g) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; および

h h) (3 R , 5 S) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 1 - (5 - トリメチルシラニルエチニル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオール

からなる群より選択される、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか記載の化合物。

【請求項 2 5】

a) (3 R , 5 S) - 1 - ピリミジン - 2 - イル - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート (1 : 1)

) ;

b) (3 R , 5 S) - 1 - (6 - フェニル - ピリダジン - 3 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

c) (3 R , 5 S) - 1 - ピラジン - 2 - イル - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ酢酸との化合物 ;

d) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - エチル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート (1 : 1) ;

e) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - 10 アセタート (1 : 1) ;

f) (3 R , 5 S) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 1 - (5 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート (1 : 1) ;

g) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - フェニル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

h) (3 R , 5 S) - チオ酢酸 S - [1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - イル] エステル ;

i) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 2 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ酢酸との化合物 ;

j) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 4 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

k) 1 - (5 - チオフェン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

l) 1 - (5 - ピリジン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;

m) (2 S , 4 R) - 5 - [(2 , 5 - ジフルオロ - ベンジルアミノ) - メチル] - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオール ; および

n) (3 R , 5 S) - チオ酢酸 S - [5 - [(2 , 5 - ジフルオロ - ベンジルアミノ) - メチル] - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - イル] エステル

からなる群より選択される、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか記載の化合物。

【請求項 2 6】

治療に使用するための、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項記載の式 (I) の化合物。

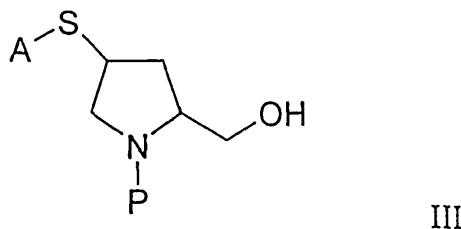
【請求項 2 7】

心筋虚血、うっ血性心不全、不整脈、高血圧、肺性高血圧、喘息、脳血管痙攣、くも膜下出血、子癇前症、腎臓病、アテローム性動脈硬化、バージャー病、高安動脈炎、糖尿病性合併症、肺癌、前立腺癌、胃腸障害、エンドトキシンショックおよび敗血症に関連して、そして創傷治癒ならびに月経制御、緑内障、移植片拒絶、細胞増殖抑制性の眼および脳保護適応に関する疾患、および臓器保護のために、治療活性物質として使用する請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項記載の化合物。

【請求項 2 8】

請求項 1 ~ 2 5 のいずれか記載の化合物を調製する方法であって、式 III

【化3】



(式中、AはHS-であり、PはNH-保護基である)の化合物を

a) -OR²基の導入のためにR²-ハロゲン化物と反応させ、続いてP-脱保護および
10 ヘテロアロマートの導入を行うこと: または

b) 最初に式(III)のP-脱保護を行い、請求項1記載のヘテロアロマートの導入を行
15 い、続いて-OH、-NH₂置換およびR²を導入するための還元的アミノ化を行うこと;
場合により続いて請求項1に記載の基R¹、R²、R³、R⁴の異なる基への変換および/ま
たは脱保護および/またはチオール遊離を行うこと、

を含むことを特徴とする方法。

【請求項29】

請求項28記載の方法によって調製される化合物。

【発明の詳細な説明】

20

【0001】

本発明は、たとえば亜鉛プロテアーゼ、特に亜鉛ヒドロラーゼなどの金属プロテアーゼの阻害剤として有用であって、血管収縮の発生増加に関連する疾患状態の予防および治療に有効である化合物に関する。そのような障害の例は、高血圧、冠動脈障害、心不全、腎および心筋虚血、腎不全、透析、大脳虚血、心筋梗塞、偏頭痛、くも膜下出血、レイノー症候群および肺性高血圧である。さらに該化合物は、移植片拒絶阻害のため、臓器保護のため、および眼疾患の治療のための細胞増殖抑制および脳保護剤として有用である。

【0002】

エンドセリンは、それぞれ異なる遺伝子によってコードされる3種類のアイソフォーム、ET-1、ET-2およびET-3として存在するペプチドである。これらは当初、1988年にYanagisawaによって(Yanagisawa M; Kurihara H; Kimura S; Tomobe Y; Kobayashi M; Mitsui Y; Yazaki Y; Goto K; Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells [コメントを参照]。NATURE (1998 Mar 31), 332 (6163), 411~5)、ブタ血管内皮細胞の条件培地で発見された。活性ETは、2個の分子内ジスルフィド架橋を持つ21個のアミノ酸によるペプチドである。それらはフリン(furin)様のエンドペプチダーゼによって、203~212個のアミノ酸のプレプロプロテインから、生物学的に不活性なビッグエンドセリン(ビッグET)に処理される。ビッグETは特に、それぞれTrp²¹-Val²²(ビッグET-1、ビッグET-2)およびビッグET-3のTrp²¹-Ile²²であるアミノ酸21および22の間の加水分解開裂によって、成熟ETに処理される。すでに1988年に、特定の金属プロテアーゼがこの特異性開裂の原因であることが仮定されていた。1994年に、ECE-1(エンドセリン変換酵素-1)が、ウシ副腎から精製およびクローニングされた(Xu D, Emoto N, Giaid A, Slaughter C, Kaw S, de Witt D, Yanagisawa M: ECE-1: a membrane-bound metalloprotease that catalyzes the proteolytic activation of big endothelin-1. Cell (1994) 78: 473~485)。

【0003】

ECE-1は、中性pHが最適であり、亜鉛結合モチーフHE_xxH_x(>20)Eを持つ、膜結合タイプII亜鉛エンドペプチダーゼである。ECE-1はサブファミリM13に属し、活性部位を含む大型の681のアミノ酸外部ドメインを持つ。M13ファミリの他のメンバは、NEP24.11(中性エンドペプチダーゼ)、PEX、リン酸調節中性

40

50

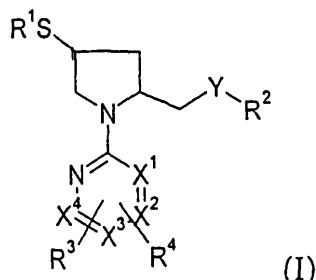
エンドペプチダーゼ、および最近、ピッグ E T - 3 处理酵素として説明されている K e l 1 血液グループタンパク質である。ヒト起源の M 1 3 ファミリのメンバは、高い分子量 ($> 80 \text{ kDa}$)、多数の保存ジスルフィド架橋および複合グリコシル化パターンを特徴とする。N E P の構造は最近、解明されている (Oefnerら、J. Mol. Biol. 2000, 296, 341 ~ 349)。E C E の触媒ドメインおよび関連するヒト M 1 3 プロテイナーゼは、マトリクス金属プロテアーゼ (MMP) のメンバよりも著しく大きい (> 650 のアミノ酸)。メトジンシン (metzincins) に属し、典型的な H E x x H x x G x x H パターンを示す MMP のファミリとは異なり、M 1 3 ファミリのメンバは、H E x x H x (> 20) E パターンを含むグルジンシン (gluzincins) である。これらの 2 つのファミリは、触媒ドメインのサイズ、構造およびリガンドの亜鉛配位パターンが明らかに異なっている。2 つのファミリの活性部位は、阻害剤のタイプおよび潜在的な選択性に明確な影響を及ぼす明らかな相違を示す。

【0004】

本発明の 1 つの側面は、式 (I)

【0005】

【化 4】



【0006】

(式中、

R¹ は、水素、アルキルカルボニルまたはアリールカルボニルであり；

R² は、アルキル、アルキニル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルコキシカルボニル、アルキルカルボニルアルキル、アルキルシクロアルキル、アルキルシクロアカルキルアルキル、アルキルスルホニル、アリール、アリールアルキル、アリールアルコキシアルキル、アリール (アルコキシカルボニル) アルキル、アリールアミノカルボニル、ジアリールアルキル、アリール (カルボキシアルキル) アミノカルボニル、アリールカルボニル、アリールスルホニル、シクロアルキル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクリルアルキルであるか、または基 Y R² はヘテロシクリルであり；

R³ および R⁴ は、水素、アルキル、アルキルシクロアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アルキルチオ、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、カルバモイル、カルボキシ、カルボキシアルキル、シアノ、アミノ、モノ - およびジ - アルキルアミノ、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシカルボニル、アルコキシカルボニルアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、アリールアルキル (アルコキシカルボニル) アルキル、アリールカルボニルアルキル、アリールアルケニル、アリール (アルコキシカルボニル) アルキル、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ、アリールオキシ、ハロゲン、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、トリメチルシラニルエチニルまたはトリフルオロメチルからなる群より独立に選択され；

R⁵ は、水素、アルキル、アリール、アリールアルキルオキシカルボニル、またはアルキルカルボニルであり；

X¹、X²、X³ および X⁴ は、C H または N であり (ただし X¹、X²、X³ および X⁴ の 2 個までの基のみが N である)；

Y は - O - または - N R⁵ である) の化合物、および

10

20

30

40

50

そのダイマー形、および／または薬学的に許容されるそのエステル、および／または薬学的に許容されるその塩に関する。

【0007】

「アルキル」という語は単独でまたは組み合わされて、最大7個の、好ましくは最大4個の炭素原子を含む直鎖または分岐鎖アルキル基、たとえばメチル、エチル、n-プロピル、2-メチルプロピル(イソ-ブチル)、1-メチルエチル(イソ-プロピル)、n-ブチル、および1,1-ジメチルエチル(t-ブチル)を意味する。

【0008】

「カルボキシ」という語は、-C(O)OH基を指す。

【0009】

「カルバモイル」という語は、-C(O)NH₂基を指す。 10

【0010】

「カルボニル」という語は、-C(O)-基を指す。

【0011】

「ハロゲン」という語は、フルオロ、ブロモ、クロロおよびヨード基を指す。

【0012】

「スルホニル」という語は、-S(O₂)-基を指す。

【0013】

「アルケニル」という語は、少なくとも1個のオレフィン二重結合を含むアルキル(たとえばビニル、アリールおよびブテニルを含む)として定義される炭化水素鎖を指す。 20

【0014】

「アルキニル」という語は、少なくとも1個のオレフィン三重結合を含むアルキル(たとえばプロピニル、ブチン-(1)-イルなどを含む)として定義される炭化水素鎖を指す。

【0015】

「アルコキシ」という語は単独でまたは組み合わせて、「アルキル」という語が上述した意味を持つアルキルエーテル基、たとえばメトキシ、エトキシ、n-ブロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシなどを意味する。

【0016】

「アルコキカルボニル」という語は、式-C(O)R_c(式中、R_cは上記で定義したようにアルコキシである)の基を指す。 30

【0017】

「ヒドロキシ」という語は、-OH基を指し、「シアノ」という語は-CN基を指す。

【0018】

「ヒドロキシアルキル」という語は、ヒドロキシ基で置換された、上記で定義したアルキル基を意味する。

【0019】

「チオアルキル」および「シアノアルキル」という語は、-SH基または-CN基でそれぞれ置換された、上記で定義したアルキル基を指す。 40

【0020】

「カルボキシアルキル」は、HOOC-基によって置換された、上記で定義した低級アルキルを意味する。

【0021】

「アルキルカルボニル」という語は、単独でまたは組み合わされて、アルカンカルボン酸より由来するアシル基、すなわち、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリル、4-メチルバレリルなどのアルキル-C(O)-を意味する。

【0022】

「シクロアルキル」という語は、3~8個の、好ましくは3~6個の炭素原子を持つ飽和環状炭化水素基、すなわちシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロ

ヘキシルなどを意味する。

【0023】

「アミノ」という語は、-NH₂基を指す。

【0024】

R²の「アリール」という語は、単独でまたは組み合わされて、たとえばフェニル、ナフチルまたはテトラヒドロナフチル、好ましくはフェニルまたはナフチル、最も好ましくはフェニルである、芳香族炭素環式ラジカル、すなわち6または10員芳香環または部分芳香環を指す。アリール部分は場合により、ハロゲン（好ましくはフルオロ）、アルコキシカルボニル（たとえばメチルカルボニル）、カルボキシ、シアノ、アルキル、アルコキシ、フェニル、フェノキシ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、1,3-ジオキソリルまたは1,4-ジオキソリル、さらに好ましくはフルオロ、アルコキシカルボニル、アルキル、トリフルオロメチルおよびトリフルオロメトキシ、最も好ましくはフルオロ、より独立に選択される1個以上の基で置換される。最も好ましい芳香基は、2,5-ジフルオロベンジルおよび2,4,5-トリフルオロベンジルである。

【0025】

R³およびR⁴の「アリール」という語は、単独でまたは組み合わされて、たとえばフェニル、ナフチルまたはテトラヒドロナフチル、好ましくはフェニルまたはナフチル、最も好ましくはフェニルである、芳香族炭素環式ラジカル、すなわち6または10員芳香環または部分芳香環を指す。アリール部分は場合により、ハロゲン、アルコキシカルボニル（たとえばメチルカルボニル）、カルボキシ、シアノ、アルキル、アルコキシ、フェニル、フェノキシ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、1,3-ジオキソリルまたは1,4-ジオキソリル、シクロヘキシル、ヒドロキシ、アルキルアミド（たとえばアセトアミド）、ニトロ、アルキルスルホニル（たとえばメチルスルホニル）、さらに好ましくはフルオロ、クロロ、プロモ、アルコキシ、カルボキシ、1,4-ジオキソリル、アルコキシカルボニルより独立に選択される1個以上の基で置換される。R³およびR⁴に最も好ましい芳香基は、フェニルおよびフェノキシである。

【0026】

R⁵の「アリール」という語は、場合によりアルキル、アルコキシまたはハロゲンで置換されたフェニルを指す。

【0027】

「アリールオキシ」という語は、オキシラジカルによって親構造に結合した、上記で定義したアリール基、すなわちアリール-O-を指す。

【0028】

R²の「ヘテロアリール」という語は、単独でまたは組み合わされて、たとえば窒素、酸素または硫黄より独立に選択される1~3個のヘテロ原子、好ましくは1個のヘテロ原子を含む、5~10個の、好ましくは5~6個の環原子を持つ、芳香族单環または二環ラジカルを指す。ヘテロアリール基の例は、チオフェニル、イソオキサゾリル、チアゾリル、ピリジニル、ピロリル、イミダゾリル、テトラゾリル、好ましくはピリジニル、イソオキサゾリルおよびチアゾリルである。ヘテロアリール基は、場合により、フェニル、アルキル、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニル、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、カルボキシ、アルコキシカルボニルアルキル、好ましくはアルキルによって、独立にモノ-、ジ-またはトリ-置換されうる。

【0029】

R³およびR⁴の「ヘテロアリール」という語は、単独でまたは組み合わされて、たとえば窒素、酸素または硫黄より独立に選択される1~3個のヘテロ原子、好ましくは1個のヘテロ原子を含む、5~10個の、好ましくは5~6個の環原子を持つ、芳香族单環または二環ラジカルを指す。ヘテロアリール基の例は、ピリジニル、チオフェニル、イソオキサゾリル、イソキノリル、キノリル、および1H-ベンゾ[д][1,3]オキサジン-2,4-ジオンならびにインドリル、ピリミジン、ピリダジン、およびピラリジン、好ましくはピリジニルおよびチオフェニルである。ヘテロアリール基は、場合により、アルキル

10

20

20

30

40

50

、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニル、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、カルボキシ、アルコキシカルボニルアルキル、好ましくはアルキルによって、独立にモノ - 、ジ - またはトリ - 置換されうる。

【0030】

「ヘテロシクリル」という語は、単独でまたは組み合わされて、たとえば窒素、酸素または硫黄より独立に選択される1~3個のヘテロ原子、好ましくは1個のヘテロ原子を含む、5~10個の、好ましくは5~6個の環原子を持つ、非芳香族单環または二環ラジカルを指す。ヘテロシクリルは場合により、ハロゲン、アルキル、アルコキシ、オキソカルボキシ、アルコキシカルボニルなどより独立に選択される基によって、および / またはアルキル、アルコキシカルボニル、アルキルカルボニルにより2級窒素原子(すなわち - NH -)上で、またはオキシドにより3級窒素原子(すなわち = N -)上で置換されうる。ヘテロシクリル基の例は、モルホリニル、ピロリジニル、ピペリジルなどである。

10

【0031】

「ダイマー形」という語は、同一の2個の式Iの化合物のR¹基2個が、共通の単結合で置換されているか、あるいはR¹がグルタチオン-S-もしくはシステイン-S-またはそれらのエステルおよび / もしくはアルキルカルボニルもしくはアリールカルボニル誘導体、たとえばアセチルシステイン-S-またはベンゾイルシステイン-S-、好ましくはグルタチオン-S-、システイン-S-、アセチルシステイン-S-またはベンゾイルシステイン-S-である、化合物を意味する。

【0032】

20

「薬学的に許容される塩」という語は、生物学的にまたはそれ以外でも許容される、遊離塩基または遊離酸の生物学的有効性および特性を保持する塩を指す。塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などの無機酸、および酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸、N-アセチルシステインなどの有機酸によって形成される。さらにこれらの塩は、遊離酸に無機塩基または有機塩基を加えて調製されうる。無機塩基から誘導される塩は、これに限定されるわけではないが、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム塩などである。有機塩基から誘導される塩は、これに限定されるわけではないが、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、リジン、アルギニン、N-エチルピペリジン、ピペリジン、ポリアミン樹脂などの、1級、2級および3級アミン、天然型置換アミンを含む置換アミン、環状アミンおよび塩基性イオン交換樹脂を含む。

30

【0033】

「薬学的に許容されるエステル」は、インビボで親化合物に逆変換可能な誘導体を提供するために、一般式(I)の化合物を官能基で誘導体化することを意味する。そのような化合物の例は、メトキシメチルエステル、メチルチオメチルエステルおよびピバロイルオキシメチルエステルなどの、生理学的に許容され、かつ代謝的に不安定なエステル誘導体を含む。加えて、インビボで一般式(I)の親化合物を生成できる、代謝的に不安定なエステルに類似した一般式(I)の化合物の生理学的に許容される同等物はすべて本発明の範囲内である。

40

【0034】

式(I)の化合物は、哺乳類の金属プロテアーゼ活性、特に亜鉛ヒドロラーゼ活性を阻害するのに有用である。さらに詳細には、式(I)の化合物は、エンドセリン変換酵素(ECE)活性によって引き起こされる疾患に関連する障害の治療および予防のための薬物として有用である。この酵素を阻害することは、心筋虚血、うっ血性心不全、不整脈、高血圧、肺性高血圧、喘息、脳血管痙攣、くも膜下出血、子癇前症、腎臓病、アテローム性動脈硬化、バージャー病、高安動脈炎、糖尿病性合併症、肺癌、前立腺癌、胃腸障害、エンドトキシンショックおよび敗血症の治療に、そして創傷治癒ならびに月経制御、緑内障に

50

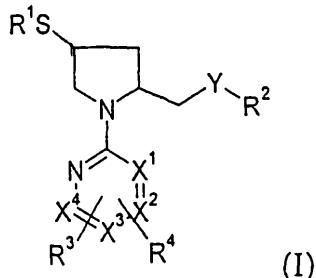
有用である。さらに本化合物は、移植片拒絶防止、臓器保護および眼疾患の治療のための細胞増殖抑制および脳保護剤として有用である。

【0035】

さらに詳細には、本発明は式(I)

【0036】

【化5】



【0037】

(式中、

R¹は、水素、アルキルカルボニルまたはアリールカルボニルであり；

R²は、アルキル、アルキニル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルコキシカルボニル、アルキルカルボニルアルキル、アルキルシクロアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アルキルスルホニル、アリール、アリールアルキル、アリールアルコキシアルキル、アリール(アルコキシカルボニル)アルキル、アリールアミノカルボニル、ジアリールアルキル、アリール(カルボキシアルキル)アミノカルボニル、アリールカルボニル、アリールスルホニル、シクロアルキル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクリルアルキルであるか、または基YR²はヘテロシクリルであり；

R³およびR⁴は、水素、アルキル、アルキルシクロアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アルキルチオ、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、カルバモイル、カルボキシ、カルボキシアルキル、シアノ、アミノ、モノ-ならびにジアルキルアミノ、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシカルボニル、アルコキシカルボニルアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アリールアルキル、アリールアルキル(アルコキシカルボニル)アルキル、アリールカルボニルアルキル、アリールアルケニル、アリール(アルコキシカルボニル)アルキル、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ、アリールオキシ、ハロゲン、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、トリメチルシラニルエチニルまたはトリフルオロメチルからなる群より独立に選択され；

R⁵は、水素、アルキル、アリール、アリールアルキルオキシカルボニル、またはアルキルカルボニルであり；

X¹、X²、X³およびX⁴は、CHまたはNであり(ただし、X¹、X²、X³およびX⁴の2個までの基のみがNである)；

Yは-O-または-NR⁵である)の化合物、ならびに

そのダイマー形、および/または薬学的に許容されるそのエステル、および/または薬学的に許容されるその塩、好ましくは薬学的に許容されるそのエステル、および/または薬学的に許容されるその塩、そして最も好ましくは薬学的に許容されるその塩に関する。

【0038】

本発明は特に一般式(II)

【0039】

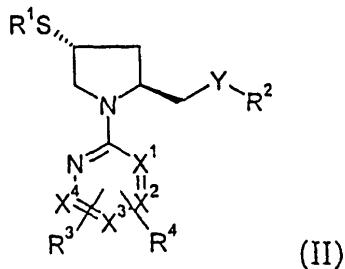
【化6】

10

20

30

40



【0040】

(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 およびYは、請求項1で定義したとおりである)の化合物を指す。 10

【0041】

本発明の好ましい態様において、 R^1 は水素またはアルキルカルボニルより、好ましくは水素またはアセチルより選択され、最も好ましくは、 R^1 は水素である。

【0042】

上記の化合物において、 R^2 は好ましくはアルキル、アルキニル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルコキシカルボニル、アルキルカルボニルアルキル、アルキルシクロアルキル、アルキルシクロアルキルアルキル、アルキルスルホニル、アリール、アリールアルキル、アリールアルコキシアルキル、アリール(アルコキシカルボニル)アルキル、アリールカルバモイル、ジアリールアルキル、アリール(カルボキシアルキル)アミノカルボニル、アリールカルボニル、アリールスルホニル、シクロアルキル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキルまたはヘテロシクリルアルキルであり、さらに好ましくは、 R^2 はアリール、アリールアルキル、アリールアルコキシアルキル、アリールアミノカルボニル、アリールカルボニル、アリールスルホニル、シクロアルキル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキルまたはヘテロアリールアルキルであり、なおさらに好ましくは、 R^2 はアリール、アリールアルキル、アリールカルバモイル、アリールカルボニル、アリールスルホニルまたはヘテロアリールアルキルであり、最も好ましくは、 R^2 はアリールアルキルである。本発明の特に好ましい態様において、 R^2 は、場合により2~3個のハロゲン原子、好ましくはフッ素原子によって置換されたフェニルアルキルである。 30

【0043】

上記で定義した化合物において好ましくは、 R^3 および R^4 は、水素、アルキル、アルキルチオ、アルケニル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アミノ、アリール、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキルアミノ、アリールオキシ、モノ-およびジ-アルキルアミノ、カルバモイル、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、トリメチルシラニルエチニルおよびトリフルオロメチルからなる群より独立に選択され、さらに好ましくは、 R^3 および R^4 は、水素、アルキル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルケニル、チオフェニル、アミノ、モノ-およびジ-アルキルアミノ、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、トリメチルシラニルエチニル、フェニルアルキルアミノ、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、フェニルおよびフェノキシ(該アリールおよびヘテロアリール基は、場合によりアルキル、アルコキシ、カルボキシまたはハロゲンによって置換される)からなる群より独立に選択される。本発明の最も好ましい態様において、 R^3 は、水素、アルキル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルケニル、チオフェニル、アミノ、モノ-およびジ-アルキルアミノ、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、トリメチルシラニルエチニル、フェニルアルキルアミノ、ピリジニル、ピラジニル、フェニルおよびフェノキシ(該アリールおよびヘテロアリール基は場合によりアルキル、アルコキシ、カルボキシまたはハロゲンによって置換される)であり、 R^4 は水素である。 40

【0044】

本発明のさらに好ましい態様において、Yは- NR^5 (式中、 R^5 は水素またはアルキル、 50

さらに好ましくは水素である)である。

【0045】

本発明の別の好ましい態様において、Yは-O-である。

【0046】

本発明は、X¹がNであり、X²、X³およびX⁴がCHである、またはX²がNであり、X¹、X³およびX⁴がCHである、またはX³がNであり、X¹、X²およびX⁴がCHである、またはX¹、X²、X³およびX⁴はCHである、上記で定義した化合物にも関する。

【0047】

好ましい態様において本発明は、R¹が水素またはアルキルカルボニルであり、R²が2~3個のハロゲンで置換されたフェニルアルキルであり; R³が水素、アルキル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルケニル、チオフェニル、アミノ、モノ-およびジ-アルキルアミノ、カルボキシ、シアノ、ハロゲン、トリメチルシラニルエチニル、フェニルアルキルアミノ、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、フェニルまたはフェノキシ(該アリールおよびヘテロアリール基は、場合によりアルキル、アルコキシ、カルボキシまたはハロゲンによって置換される)より選択され; R⁴が水素であり; X¹、X²、X³およびX⁴が、CHまたはNであり(ただし、X¹、X²、X³およびX⁴の2個までの基のみがNである); Yが-NH-または-O-である、上記で定義した化合物を含む。好ましい態様において、上記で定義した化合物では、R¹は水素またはアセチルであり、R²はジフルオロベンジルまたはトリフルオロベンジルである。

【0048】

本発明の好ましい態様は、実施例に例示する化合物である。特に本発明は

a) (3R, 5S)-1-(4, 6-ジメトキシ-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1);

b) (3R, 5S)-1-(4, 6-ジメトキシ-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール;

c) (3R, 5S)-1-(4-アミノ-5-フルオロ-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール;

d) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-ニコチノニトリル;

e) (3R, 5S)-1-(6-フェニル-ピリダジン-3-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール;

f) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-ニコチン酸;

g) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-6-メチル-ピリミジン-4-カルボン酸メチルエステル;

h) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-4-トリフルオロメチル-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステル;

i) (3R, 5S)-1-ピラジン-2-イル-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)ピロリジン-3-チオール]; トリフルオロ酢酸との化合物;

j) 2-[(2S, 4R)-4-メルカブト-2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-1-イル]-ニコチニアミド;

k) (3R, 5S)-5-(2, 5-ジフルオロ-4-メトキシ-ベンジルオキシメチル)-1-(2-メトキシ-ピリミジン-4-イル)-ピロリジン-3-チオール;

l) (3R, 5S)-1-(2-クロロ-ピリミジン-4-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール; トリフルオロ酢酸との化合物;

m) (3R, 5S)-1-(5-エチル-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-

10

20

30

40

50

トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート(1 : 1) ;
n) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5
- トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート(1 : 1) ;
o) (3 R , 5 S) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 1 -
(4 - トリフルオロメチル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフル
オロ - アセタート(1 : 1) ;
p) (3 R , 5 S) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 1 -
(5 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフル
オロ - アセタート(1 : 1) ;
q) (3 R , 5 S) - 1 - ピリジン - 2 - イル - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベン
ジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート(1 : 1) ;
r) (2 S , 4 R) - 2 - [4 - メルカブト - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジ
ルオキシメチル) - ピロリジン - 1 - イル] - 6 - メチル - ピリミジン - 4 - カルボン酸
;
s) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - メトキシ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5
- トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;
t) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - フェニルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 ,
4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオ
ロ - アセタート(1 : 1) ;
u) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - ベンジルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 ,
4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフル
オロ - アセタート(1 : 1) ;
v) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - メチルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4
, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオ
ロ - アセタート(1 : 1) ;
w) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - ブチルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4
, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオ
ロ - アセタート(1 : 1) ;
x) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - メチルスルファニル - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (30
2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) ピロリジン - 3 - チオール ;
y) (3 R , 5 S) - 1 - (2 - フェノキシ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2 , 4 ,
5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;
z) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - フェニル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5
- トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;
a a) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 2 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 -
(2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ; トリフルオロ酢酸との化合物 ;
b b) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 4 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 -
(2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;
c c) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - チオフェン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 -
(2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール ;
d d) (3 R , 5 S) - 1 - [5 - (4 - メトキシ - フェニル) - ピリミジン - 2 - イル
] - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオ
ール ;
e e) (2 S , 4 R) - 4 - { 2 - [4 - メルカブト - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ
- ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン - 5 - イル } - 安息香
酸 ;
f f) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - アリル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 50

- トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール;
 g) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 -
 (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール; および

h) (3 R , 5 S) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 1
 - (5 - トリメチルシラニルエチニル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオ
 アール

からなる群より選択される化合物を含む。

【 0 0 4 9 】

これらの化合物は、ラジオイムノアッセイ（ E C E 阻害に対する E 、下記参照）で約 0 . 10
 5 nM ~ 1 0 0 nM の I C ₅₀ 値を示す。

【 0 0 5 0 】

式 (I) によって定義される、特に好ましい化合物は

a) (3 R , 5 S) - 1 - ピリミジン - 2 - イル - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベ
 ンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート (1 : 1)
 ;

b) (3 R , 5 S) - 1 - (6 - フェニル - ピリダジン - 3 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5
 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール;

c) (3 R , 5 S) - 1 - ピラジン - 2 - イル - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベ
 ンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール; トリフルオロ酢酸との化合物; 20

d) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - エチル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 -
 トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセ
 タート (1 : 1) ;

e) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5
 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - ア
 セタート (1 : 1) ;

f) (3 R , 5 S) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 1 -
 (5 - トリフルオロメチル - ピリジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフル
 オロ - アセタート (1 : 1) ;

g) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - フェニル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5
 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール;

h) (3 R , 5 S) - チオ酢酸 S - [1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 5
 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - イル] エス
 テル;

i) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 2 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 -
 (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール; トリ
 フルオロ酢酸との化合物;

j) (3 R , 5 S) - 1 - (5 - ピリジン - 4 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 -
 トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール;

k) 1 - (5 - チオフェン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - ト
 リフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール; 40

l) 1 - (5 - ピリジン - 3 - イル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2 , 4 , 5 - トリ
 フルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール;

m) (2 S , 4 R) - 5 - [(2 , 5 - ジフルオロ - ベンジルアミノ) - メチル] - 1 -
 (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - チオール; および

n) (3 R , 5 S) - チオ酢酸 S - [5 - [(2 , 5 - ジフルオロ - ベンジルアミノ) -
 メチル] - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - イル] エス
 テル

からなる群より選択される化合物である。

【 0 0 5 1 】

本発明は、上記で定義した化合物および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物にも関する。

【0052】

本発明のさらなる態様は、エンドセリン変換酵素(ECE)活性によって引き起こされる疾患に関連する障害、特に心筋虚血、うっ血性心不全、不整脈、高血圧、肺性高血圧、喘息、脳血管痙攣、くも膜下出血、子癇前症、腎臓病、アテローム性動脈硬化、バージャー病、高安動脈炎、糖尿病性合併症、肺癌、前立腺癌、胃腸障害、エンドトキシンショックおよび敗血症の治療および予防のための、そして創傷治癒ならびに月経制御、緑内障、移植片拒絶、細胞増殖抑制性の眼および脳保護適応に関する疾患、および臓器保護のための、上記で定義した化合物を含む薬物の製造における、上記で定義した化合物の活性成分としての使用に関する。 10

【0053】

さらに本発明は、心筋虚血、うっ血性心不全、不整脈、高血圧、肺性高血圧、喘息、脳血管痙攣、くも膜下出血、子癇前症、腎臓病、アテローム性動脈硬化、バージャー病、高安動脈炎、糖尿病性合併症、肺癌、前立腺癌、胃腸障害、エンドトキシンショックおよび敗血症の治療および予防のための、そして創傷治癒ならびに月経制御、緑内障、移植片拒絶、細胞増殖抑制性の眼および脳保護適応に関する疾患、および臓器保護のための、上記で定義した化合物の使用に関する。

【0054】

さらに本発明は、心筋虚血、うっ血性心不全、不整脈、高血圧、肺性高血圧、喘息、脳血管痙攣、くも膜下出血、子癇前症、腎臓病、アテローム性動脈硬化、バージャー病、高安動脈炎、糖尿病性合併症、肺癌、前立腺癌、胃腸障害、エンドトキシンショックおよび敗血症のような、特に亜鉛ヒドロラーゼ活性と関連した疾患に関連する、そして創傷治癒ならびに月経制御、緑内障、移植片拒絶、細胞増殖抑制性の眼および脳保護適応に関する疾患、および臓器保護のために、治療活性物質として使用するための、上述の化合物を含む。 20

【0055】

本発明は、心筋虚血、うっ血性心不全、不整脈、高血圧、肺性高血圧、喘息、脳血管痙攣、くも膜下出血、子癇前症、腎臓病、アテローム性動脈硬化、バージャー病、高安動脈炎、糖尿病性合併症、肺癌、前立腺癌、胃腸障害、エンドトキシンショックおよび敗血症の治療および/または予防処置の、そして創傷治癒ならびに月経制御、緑内障、移植片拒絶、細胞増殖抑制性の眼および脳保護適応に関する疾患、および臓器保護のための方法であって、上記で定義した化合物をヒトまたは動物に投与することを含む方法も含む。 30

【0056】

本発明は、亜鉛ヒドロラーゼ活性を阻害するための、上記で定義した化合物の使用にも関する。

【0057】

本発明はまた、以下で述べる方法によって製造される場合は必ず、上記の化合物に関する。

【0058】

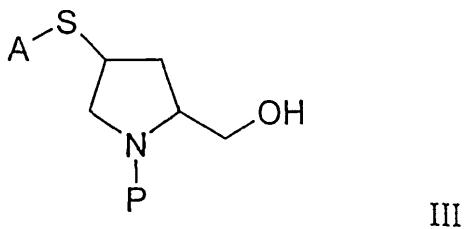
式(I)の化合物は、当技術分野において周知の、または以下で述べる方法によって調製され得る。別途表示しない限り、下記に示すR¹、R²、R³、R⁴、R⁵、X¹、X²、X³、X⁴およびYは、上記で定義したとおりである。 40

【0059】

上記で定義した化合物の調製方法は、式III

【0060】

【化7】



【0061】

(式中、AはHS-であり、Pは次の節で述べるようにNH-保護基である)の化合物を
a) -OR²基の導入のためにR²-ハロゲン化物と反応させ、続いてP-脱保護および
ヘテロアロマーの導入を行うこと:または 10

b) 最初に式(III)のP-脱保護を行い、上記のヘテロアロマーの導入を行い、続
いて-OH/-NH₂置換およびR²を導入するための還元的アミノ化を行うこと;
場合により、続いて上記のR¹、R²、R³、R⁴基の異なる基への変換および/または脱保
護および/またはチオール遊離を行うこと、
を含むことを特徴とする。

【0062】

式(I)の化合物の調製では、スキームIの反応経路を経て進むことができる:出発材料
は市販されているか、当技術分野において周知であり、たとえば "The Practice of Pept
ide Synthesis", M. Bodanszky and A. Bodanszky, Springer Verlag, Berlin, 1984に述
べられている方法によって、ヒドロキシプロリンから合成される。 20

【0063】

合成は、該当するメシラートの調製による(たとえば室温~80°におけるトルエン中で
のMeSO₃H/Ph₃P/DIADとの反応)、塩化物による(たとえば3°~室温にお
けるCH₂C₁₂中のPh₃P/CCl₄との反応)、または臭化物による(たとえば4°
~室温におけるTHF中でのLiBr/DEAD/Ph₃Pとの反応)、立体構造の反転
で開始する。立体構造を保持するために、該当する反応は0°~室温において、MeSO
₂C₁/ピリジン/DMAPによって実施されてもよい。

【0064】

スキーム1の工程bは、たとえばトリフェニルメタンチオールまたは4-メトキシベンジ
ルメルカプタンとの反応による、保護チオ部分の導入を示す(C₁の場合:0°、Brの
場合:0°~室温、Mesの場合:室温~100°におけるDMF中のK-Ot-Bu)。
。

【0065】

スキーム1の工程cの反応は、方法A(-20°におけるTHF中のLAH)または方法
B(-50°におけるトルエン/THF中のRed-Al)によって実施され得る。

【0066】

工程dの反応(Y=-O-)の場合は、

1. 0°~室温におけるDMF中のNaH/R²Br(O-アルキル化)

2. -20°~室温におけるCH₂C₁₂中のTFA(BOC脱保護) 40

3. 方法A: 2-クロロ-ヘテロ-アロマー/N-エチルジイソプロピルアミン、3時間、80°、

方法B:(パラレル合成):ジオキサンまたはDMF中の2-クロロ-ヘテロ-アロマー/
N-エチルジイソプロピルアミン、16時間~2日、80~130°、

方法C:(より反応性の低い化合物の場合):2-クロロ-ヘテロ-アロマー/N-エ
チルジイソプロピルアミン/CuI、10時間、80°、

によって実施され得る。

フェノールエーテル化合物の調製では、該当する反応は、Mitsunobu条件(THF中の
DEAD/Ph₃P/PhOHまたはPhSH)下で実施され得る。

【0067】

YがN R²またはN - ヘテロ環である場合、メシリ化反応はたとえば：

- 1 . 1 . 1 当量M e S O₂C l / 1 . 5 ピリジン / 1 当量D M A P (メシリ化) ;
- 2 . Y R²がたとえばピロール、イミダゾールであり、または、0 ~ 室温、D M F 中の1当量N a I、N a H
- 3 . T F A / C H₂C l₂またはC H₃C N中のi P r₃S i H (トリチル - チオール脱保護の場合)

によって実施され得る。

【0068】

チオール遊離は、室温で、C H₂C l₂またはC H₃C N中のT F A / i P r₃S i Hによつて実施され得る。

10

【0069】

YがNである化合物を調製する別の経路は：最初に脱保護 (P = B O Cである場合、- 20 ~ 室温でC H₂C l₂中のT F A) を行い、続いて2 - クロロ - ヘテロ - アロマート / N - エチルジイソプロピルアミン / C u Iとの反応を80 ~ 10時間行い(工程f)、次に以下を行う。

1 . 0 ~ 80 におけるT H F 中のフタルイミド、D E A D / P h₃P (Mitsunobu条件下でのフタルイミド導入)

2 . ヒドラジン水和物、E t O H、室温 (フタルイミド脱保護)、続いて該当物との反応。

3 . アルデヒド、S n C l₂、N a B H₃C N、M e O H (還元的アミノ化) (工程g)

20

【0070】

必要ならば、R⁵を

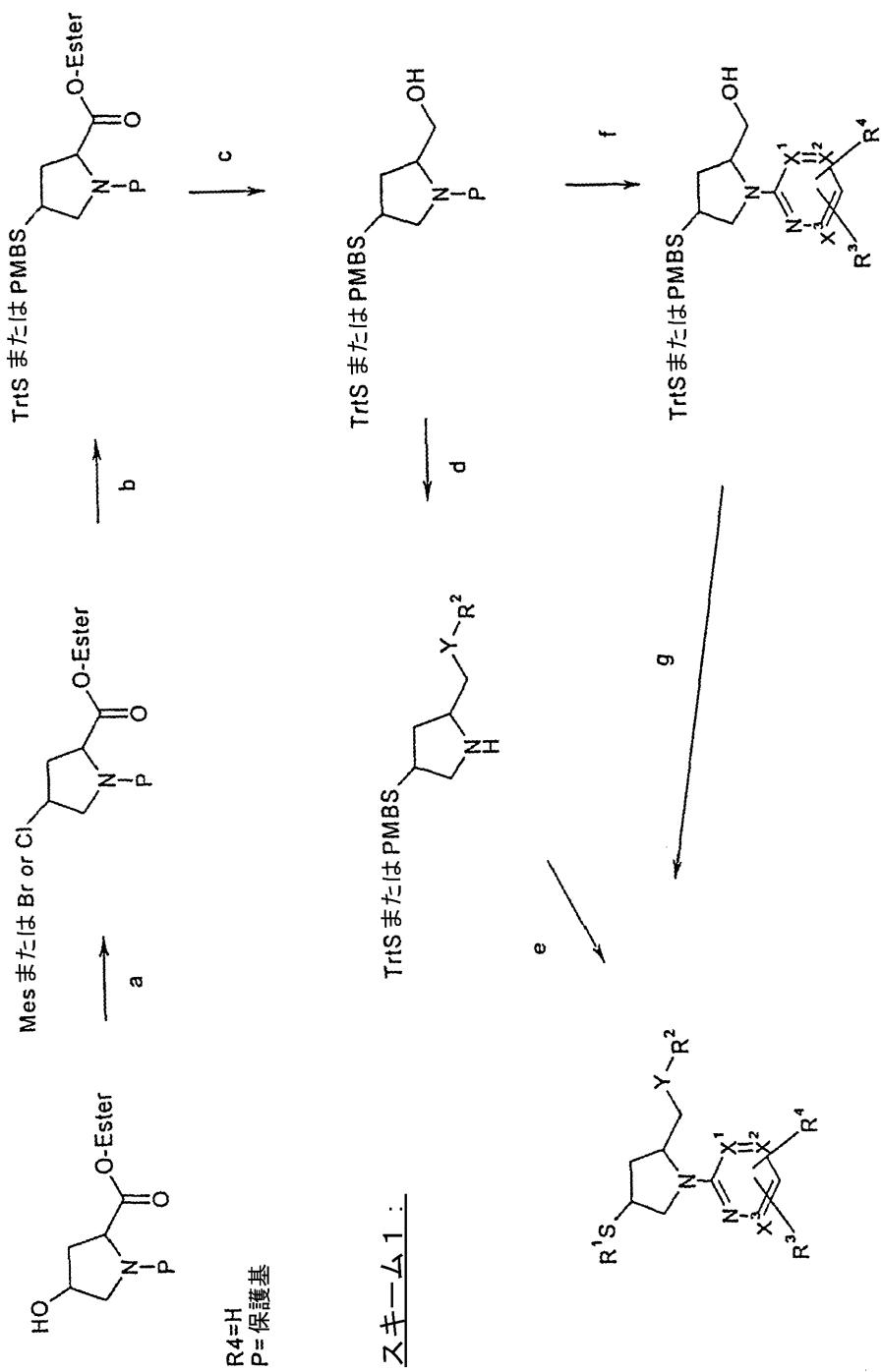
4 . アセトニトリル中のR⁵B r / K₂C O₃、室温、続いて以下との反応

5 . T F A / C H₂C l₂またはC H₃C N中のi P r₃S i H (トリチル - チオール脱保護の場合)

による反応で導入できる。

【0071】

【化8】



【0072】

スキーム 2 に、式 (I) の化合物の調製の特殊反応経路をまとめます：

【0073】

スキーム 2 の A は、スキーム 1 (工程 e) で述べたように、2, 4 - デクロロピリミジンを用いて合成された出発材料としての C 1 - 誘導体に関する：

1. $X R^3$ が OMe である場合、反応は 3 当量 $MeOH / NaH$ を用いて、室温、DMF 中で実施され得る ($Y R^2 = 2, 4, 5$ - トリフルオロベンジルオキシエーテル誘導体において、4 - フルオロ置換が生じる)。

2. $X R^3$ が OPh である場合、反応は 10 当量 $PhOH / NaH$ を用いて、70 °C、DMF 中、8 時間で実施され得る。

3. $X R^3$ が OMe である場合、反応は 2.2 当量 $MeONa$ を用いて、室温 ~ 75 °C (10 時間)、 $MeOH$ 中で実施され得る ($Y R^2 = 2, 4, 5$ - トリフルオロベンジルオ

キシエーテル誘導体において、4 - フルオロ置換が生じない)。

4 . X R³ が S M e である場合、反応は 2 . 2 当量 M e S N a / N a I を用いて、T H F 中、室温 ~ 7 0 、2 8 時間で実施され得る。

5 . X R³ が N H R³ である場合、反応は 7 . 5 ~ 3 0 当量 H₂ N R³ / i P r₂ E t N を用いて、ジオキサン中、9 0 ~ 1 0 5 、4 8 時間で実施され得る。

【 0 0 7 4 】

次にチオール遊離は、室温、C H₂ C l₂ または C H₃ C N 中で T F A / i P r₃ S i H を用いて実施され得る(工程 b)。

【 0 0 7 5 】

スキーム 2 の B の反応経路はさらに、式(I)の化合物の合成経路を示す:

10

工程 c) の反応は以下の方法を用いて実施され得る :

1 . ジメトキシエタン / E t O H および 2 M N a₂ C O₃ 中、9 0 、2 時間での、アリール B (O H)₂ / P d (P h P)₄ との Suzukiカップリング ; または

2 . ジオキサンおよび 2 M N a₂ C O₃ 中、8 0 、2 4 ~ 4 8 時間での、アリール B (O H)₂ / P d C l₂ (d p p f) との反応 ; または

3 . i . D M F 中、8 0 でのビス(ピナコラート)ジボロン / K O A c / P d C l₂ (d p p f) との反応による、ボロンエステル(たとえば 4 , 4 , 5 , 5 - テトラメチル - 2 - フェニル - [1 , 3 , 2] ジオキサボロラン誘導体)の合成、および

i i . 8 0 、1 6 時間で、プロモアロマート / P d C l₂ (d p p f) / 2 M N a₂ C O₃ との反応 ; または

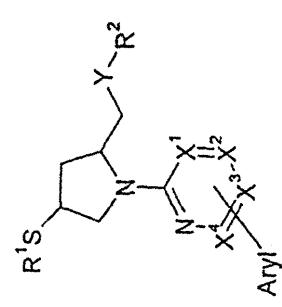
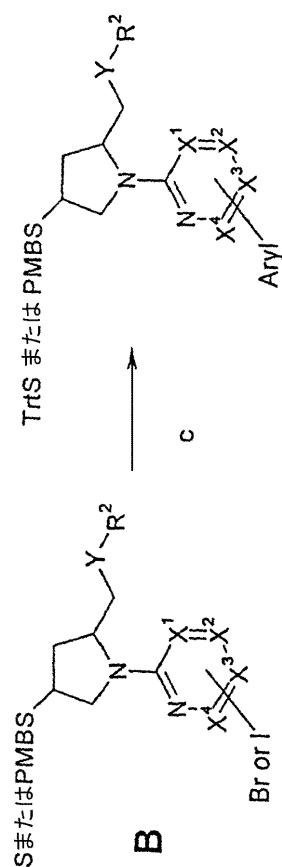
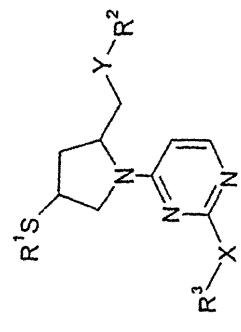
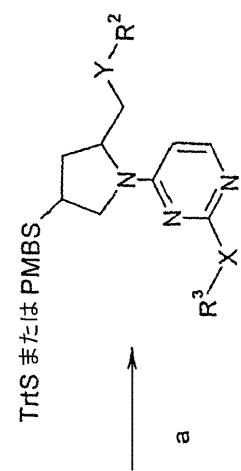
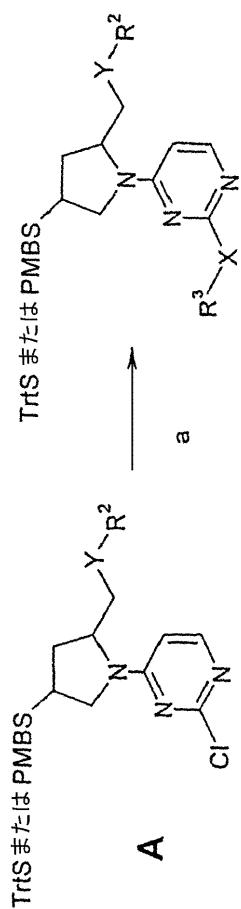
20

4 . Sonogashira-Hagiharaカップリング : D M F 中、8 0 でのエチニルトリメチルシリル / E t₃ N / P d C l₂ (P h₃ P)₂ / C u I との反応。

【 0 0 7 6 】

【 化 9 】

反応2：

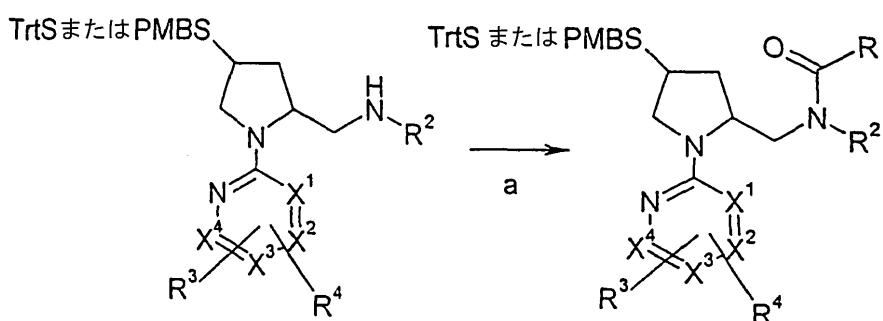


10

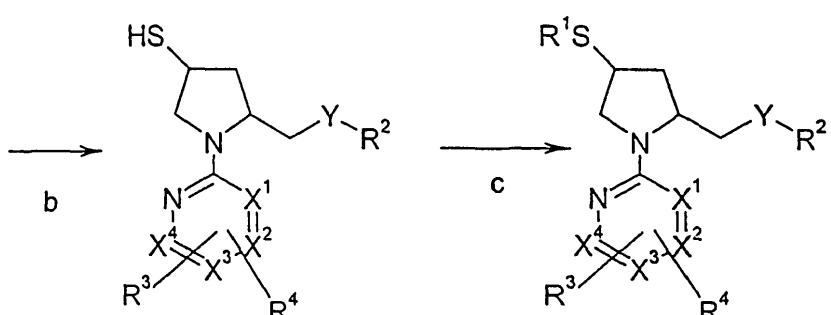
20

30

40

スキーム 3 :

10



20

R=アルキル、アリール、O-アリールアルキル

【0077】

式(I)の化合物のさらなる誘導体化をスキーム3に示す:

【0078】

Yが窒素である場合、工程aの反応は、RCOC1、iPr₂NEt、ポリマー担持された4-(N-ベンジル-N-メチルアミノ)ピリジン、CH₂Cl₂を用いて実施され(N-アシル化)、次にiPr₃SiH、TFA、CH₂Cl₂との反応(チオール遊離)を行う。Yが保護された窒素または酸素である場合、遊離チオールとの反応は工程cに従って、0~室温、ピリジン中でRCOC1を用いて、またはDMF/0.1Mリン酸緩衝液(pH 6.2)中でBOC-Cys(Npys)-OH (=2-(BOC-Cys)ジスルファニル-3-ニトロピリジン)を用いて、実施され得る。Yがベンジルオキシ保護された窒素である場合、酢酸中、0~室温での33%HBrを用いた選択的脱保護が可能である。

30

【0079】

金属プロテアーゼ活性、特に亜鉛ヒドロラーゼ活性を阻害するその能力に基づいて、式Iの化合物を、血管収縮の発生増加に関連する疾患状態の予防および治療に有効である薬物として使用できる。そのような障害の例は、高血圧、冠動脈障害、心不全、腎ならびに心筋虚血、腎不全、透析、大脳虚血、心筋梗塞、偏頭痛、くも膜下出血、レイノー症候群および肺性高血圧である。それらはアテローム性動脈硬化、バルーン誘発性血管膨張後の再狭窄の防止、炎症、胃潰瘍ならびに十二指腸潰瘍、下腿潰瘍、グラム陰性菌敗血症、ショック、糸球体腎炎、腎痛、緑内障、喘息、糖尿病性合併症およびシクロスボリン投与での合併症はもちろんのこと、エンドセリン活性に関連する他の障害の治療または予防においても使用され得る。

40

【0080】

式(I)の化合物が金属プロテアーゼ活性、特に亜鉛ヒドロラーゼを阻害する能力は、当業者に周知の各種のインビトロおよびインビボアッセイによって証明され得る。

50

【0081】

A) 細胞培養

安定なヒト臍静脈内皮細胞系（ECV304）を、記載されているような「細胞工場」でコンフルエントまで培養した（Schweizerら、1997, Biochem. J. 328: 871~878）。コンフルエントにおいて、細胞をトリプシン／EDTA溶液によって分解し、低速遠心分離によって収集した。細胞ペレットをpH7.0のリン酸緩衝生理的食塩水で1度洗浄し、使用するまで-80°で保存した。

【0082】

B) ECV304細胞からのECEの可溶化

別途記載しない限り、すべての手順を0~4で実施した。1×10⁹細胞の細胞ペレットを50mlの緩衝液A（5mMのMgCl₂、100μM PMSF、20μM E64、20μMロイペプチドを含む20mM Tris/HCl、pH7.5）中で懸濁させ、超音波処理した。得られた細胞ホモジエネートを平均100,000gで60分間遠心分離した。上清を捨てて、得られた膜ペレットを50mlの緩衝液A中で均質化して、記載されたとおりに遠心分離した。緩衝液A中で膜画分の洗浄を2回繰り返した。最終膜調製物は50mlの緩衝液B（緩衝液A+0.5% Tween20(v/v)、0.5% CHAPS(w/v)、0.5% Digitonin(w/v)）中で均質化して、4で2時間攪拌した。その後、残りの膜断片を説明されたとおりに沈殿させた。可溶化ECEを含む得られた澄んだ上清は、1.0mlの分割量で-120°で使用するまで保存した。

【0083】

C) ECEアッセイ

アッセイは、ヒトビッグET-1からのET-1の生成を測定した。多数のサンプルを測定するために、96ウェルプレートで実施するアッセイを考案した。生成したET-1の酵素反応および放射性免疫検出は、特別に開発および最適化したコーティング技法を用いて、同一のウェルで実施した。

【0084】

D) プレートのコーティング

Fluoroununc Maxisorp White（コード437796）96ウェルプレートは、UV Stratalinker 2400（Stratagene）内で1ジユールで30分間照射された。次に96ウェルプレートを、1ウェルあたり300μlのタンパク質A（0.1M Na₂CO₃中に2μg/ml、pH9.5）溶液で満たし、4で48時間インキュベートした。コーティングしたプレートは使用するまで、4で最高3週間保存できる。

【0085】

使用前にタンパク質A溶液を捨て、プレートをpH9.5の0.1M Na₂CO₃中で0.5%BSAを用いて、4で2時間ブロックする。

【0086】

プレートを2回蒸留した水で洗浄し、ECEアッセイの実施に備えた。

【0087】

E) スクリーニングアッセイ

試験化合物はDMSOで溶解および希釈する。10μlのDMSOをウェルに入れ、次に、200ngのビッグET-1を含む125μlのアッセイ緩衝液（50mM Tris/HCl、pH7.0、1μMチオルファン、0.1%NaN₃、0.1%BSA）を加えた。酵素反応を、50μlの可溶化ECE（アッセイ緩衝液で1:30~1:60倍(v/v)に希釈）の添加により開始させた。酵素反応は37で30分間実施した。酵素反応を、10μlの150mM EDTA、pH7.0の添加により停止させた。

【0088】

ラジオイムノアッセイ：

ET-1 RIAを基本的に前記に説明されたように実施した（Loeffler, B.-M. and Maire, J.-P. 1994, Endothelium 1: 273~286）。酵素反応を停止させたEDTAを含むプレートに、20000cpm(3-(¹²⁵I) Tyr)-エンドセリン-1を含む25μlの

10

20

30

40

50

アッセイ緩衝液と、25 μlのET特異性抗血清AS-3（アッセイ緩衝液で希釈1:1000）の混合物を加えた。プレートを4℃で攪拌しながら一晩インキュベートした。その後、液相をプレートウォッシャーで吸い取り、プレートを2回蒸留した水で1回洗浄した。洗浄したプレートに200 μlのシンチレーションカクテル（Microscint 40 LSC-Cocktail, Packard code 6013641）を加え、プレートをTopcountでウェル当たり2分間カウントした。

【0089】

標準曲線は、ウェル当たり0～3000 pg ET-1の最終濃度で合成ET-1を含むプレートで作成した。すべてのプレートにおいて、最大ECE活性(10 μl DMSOの存在下で)およびET-1免疫反応性のバックグラウンド生成(10 mM EDTAまたは100 μM ホスホラミドンの存在下で)の対照も実施した。アッセイを3通り実施した。

【0090】

F) 反応速度アッセイ

説明されたアッセイ形式は、アッセイで使用した基質濃度の変化によって、使用したECE調製物はもちろんのこと異なるECE阻害剤の速度反応特性（すなわちKm、Ki）を測定するために使用され得る。

【0091】

G) 細胞ベースのECEアッセイ

ヒトECE-1cを、記載されたようにMDCK細胞中で安定に発現した（Schweizerら、1997, Biochem. J. 328: 871～878）。細胞を、24ウェルプレートの10%（v/v）ウシ胎仔血清（FBS）、0.8 mg/ml ジェネティシン、100 i.u./ml ペニシリンおよび100 μg/ml ストレプトマイシンを添加したダルベッコ変法イーグル培地中（DMEM）で、湿潤空気/CO₂（19:1）雰囲気下でコンフルエントまで培養した。ECEアッセイの前に培地を、0.5 ml DMEM-HBSS 1:1、0.1%（w/v）BSAを添加した10 mM HEPES pH 7.0と交換した。阻害剤は最終濃度が1%となるようDMSOに添加した。酵素反応を0.42 μM ヒトビッグET-1の添加によって開始し、インキュベータ内で37℃で1.5時間実施した。インキュベーション終了時に、インキュベーション培地を迅速に除去し、上述したように生成したET-1について分割量をラジオイムノアッセイで分析した。

【0092】

ECEスクリーニングアッセイは、ホスホラミドン（IC₅₀ 0.8 ± 0.2 μM）およびCGS 314447（IC₅₀ 20 ± 4 nM）の特徴的な阻害定数の測定によって検証した[De Lombaert, Stephane; Stamford, Lisa B.; Blanchard, Louis; Tan, Jenny; Hooyer, Denton; Diefenbacher, Clive G.; Wei, Dongchu; Wallace, Eli M.; Moskal, Michael A. ;ら、Potent non-peptidic dual inhibitors of endothelin-converting enzyme and neutral endopeptidase 24.11. Bioorg. Med. Chem. Lett. (1997), 7(8), 1059～1064]。2つの阻害剤は、異なるアッセイプロトコルによって測定されたが、文献で述べられているIC₅₀値と有意差がないIC₅₀値によって測定された。細胞ベースのアッセイにおいて、ホスホラミドンは4 μMのIC₅₀を示した。このアッセイは、たとえばECEが正常な原形質膜環境に埋め込まれているような、さらに生理的な条件下での阻害剤の阻害能に関する追加情報を与える。NEP24.11の作用による潜在的なビッグET-1の分解を阻害するために、スクリーニングアッセイを1 μM チオルファンの存在下で実施したことを述べることは重要である。チオルファンの存在時または不在時にET-1生成を測定した場合、予備実験ではMDCK-ECE-1c形質移入細胞にNEP活性はなかった。次の実験では、インキュベーション培地にチオルファンを添加しなかった。

【0093】

上記の方法により、本発明の化合物はラジオイムノアッセイにおいて、約0.5 nM～約100 μMのIC₅₀値（ECE阻害に対するE）を示す。好ましい化合物は0.5 nM～100 nM値を示した。

10

20

40

50

【0094】

前に指摘したように、式Iの化合物を含む薬剤も、そのような薬物の製造方法と同様に本発明の目的であり、該方法は1以上の式Iの化合物および望ましい場合には、1以上の他の治療上有用な物質を生薬投与形にすることを含む。

【0095】

薬学的組成物はたとえば錠剤、コーティング錠、糖衣錠、硬質または軟質ゼラチンカプセル、溶液、エマルジョンまたは懸濁液の形で経口投与され得る。投与はたとえば座薬を用いて直腸により；たとえば軟膏、クリーム、ゲルまたは溶液を用いて局所的にまたは経皮的に；あるいはたとえば注入溶液を用いて非経口的にも行われ得る。

【0096】

錠剤、コーティング錠、糖衣錠または硬質ゼラチンカプセルの調製では、本発明の化合物を薬学的に不活性な無機または有機賦形剤と混合することができる。錠剤、糖衣錠または硬質ゼラチンカプセルの適切な賦形剤の例はラクトース、トウモロコシ澱粉またはその誘導体、タルクあるいはステアリン酸またはその塩を含む。

【0097】

軟質ゼラチンカプセルでの使用に適した賦形剤はたとえば植物油、ワックス、脂質、半固体または液体ポリオールなどを含む；しかし活性成分の性質により、軟質ゼラチンカプセルでは賦形剤がまったく必要ない場合もある。

【0098】

溶液およびシロップを調製する場合、使用される賦形剤はたとえば水、ポリオール、サッカロース、転化糖およびグルコースを含む。

【0099】

注入溶液では、使用される賦形剤はたとえば水、アルコール、ポリオール、グリセリンおよび植物油を含む。

【0100】

座薬、および局所または経皮用途では、使用される賦形剤はたとえば天然油または硬化油、ワックス、脂質および半固体または液体ポリオールを含む。

【0101】

薬学的組成物は保存料、抗酸化剤、可溶化剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、甘味料、着色料、着臭剤、浸透圧を変化させるための塩、緩衝剤、コーティング剤または抗酸化剤も含むことがある。これらは他の治療的に有用な薬剤を含むこともある。

【0102】

式Iの化合物を有効量で投与する用量は、具体的な活性成分の性質、患者の年齢ならびに要件、および用途の方式による。一般に1日当たり0.1～100mg/体重1kgの用量を考慮するが、必要なことが示されている場合は、見積った上限を超える場合もありうる。

【0103】

以下の具体的な実施例は、本発明の実施において役立つ指針として与えられ、本発明の範囲を制限するものではない。

【0104】

【実施例】

反応は全て、アルゴン下で行った。

A) 略語：

E t O A c : 酢酸エチル、E t O H : エタノール、T H F : テトラヒドロフラン、E t₂ O : ジエチルエーテル、M e O H : メタノール、C H₂ C l₂ : ジクロロメタン、D M F : ジメチルホルムアミド、B O C : t - プチルオキシカルボニル、L A H : 水素化アルミニウムリチウム、L D A : リチウムジイソプロピルアミド、D E A D : アゾジカルボン酸ジエチル、D I A D : アゾジカルボン酸ジイソプロピル、D M A P : 4 - ジメチルアミノピリジン、i P r₂ N E t : N - エチルジイソプロピルアミン、P h₃ P : トリフェニルホスフィン、R e d - A 1 溶液 : ナトリウム水素化ビス(2 - メトキシエトキシ)アルミニウム溶液、E t₃ N : トリエチルアミン、アリールB(OH)₂ : アリール - 、ヘテロアリー

10

20

30

40

50

ル - 、アルファ - アルケニルボロン酸、 $PdCl_2(dppf)$: (1, 1 - ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)ジクロロパラジウム(II)。 CH_2Cl_2 (1:1)、 $Pd(PPh_3)_4$: テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム、 iPr_3SiH : トリイソプロピルシラン、 $PdCl_2(PPh_3)_2$: ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)ジクロリド、 Et_3SiH : トリエチルシラン、TFA : トリフルオロ酢酸。

【0105】

B) 選択的BOC - 脱保護の一般的方法 :

$N - BOC - S$ - トリチル化合物 15.1 mmol の CH_2Cl_2 30 ml 溶液を、-20 で TFA 34 ml を用いて処理し、5.5 時間かけて室温に暖めた。反応を蒸発させ、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 / EtOAc で処理し(3×)、遊離アミノトリチルスルファニルを得た。
10

【0106】

C) エステル加水分解の一般的方法 :

カルボン酸メチルエステル 5.38 mmol の溶液を、EtOH 150 ml に溶解し、室温で 1N NaOH 水溶液 10.8 ml (10.8 mmol) を用いて処理した。3 時間後、反応を蒸発させ、10% $KHSO_4$ 水溶液 / EtOAc に注いだ(3×)。有機相を、10% NaCl 水溶液で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、カルボン酸を得た。

【0107】

D) S - 脱保護の一般的方法 :

トリイソプロピルシランを用いたトリチル脱保護 : トリチル保護した化合物 2.84 mmol の CH_2Cl_2 30 ml 溶液を、0 で、TFA 8 ml およびトリイソプロピルシラン 5.82 ml (2.8 mmol) を用いて処理した。室温で 30 分後、溶液を完全に蒸発させ、化合物を、Et₂O / ペンタンから 2 回沈殿、またはシクロヘキサン、シクロヘキサン / EtOAc 9:1 ~ 1:1 を溶離剤として用いてシリカゲルで精製し、チオールトリフルオロアセタート(1:1)を無色の油状物として得た。
20

【0108】

E) S - 脱保護の一般的な方法の変法 :

CH_2Cl_2 (20 ml / mmol) 中のトリチル化した抽出物 1 当量を、0 でトリイソプロピルシラン 10 ~ 20 当量および TFA 10 ~ 20 当量で処理した。溶液を、抽出物が検出されなくなるまで 0 で攪拌し、飽和 $NaHCO_3$ 溶液に注ぎ、 CH_2Cl_2 で抽出した。合せた有機相をブラインドで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させた。
30

【0109】

実施例 1 : 出発物質

出発物質 : 本発明の化合物を合成するための(2S, 4R)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1, 2-ジカルボン酸 1 - tert - ブチルエステル 2 - メチルエステルは、当該の技術において公知であり、例えば、国際特許出願 WO 98 / 20001 およびヨーロッパ特許出願公開番号 EP - A - 696593 に記載されている。

【0110】

1.1 (2S, 4S) - 4 - クロロ - ピロリジン - 1, 2 - ディカルボン酸 1 - tert - ブチルエステル 2 - メチルエステル
40

(2S, 4R) - 4 - ヒドロキシ - ピロリジン - 1, 2 - ディカルボン酸 1 - tert - ブチルエステル 2 - メチルエステル 374 g (1.48 mol) の CH_2Cl_2 1.6 L 溶液を、トリフェニルホスフィン 680 g (2.6 mol) で処理し、3 ~ 5 に冷却し、 CCl_4 1.24 L (12.8 mol) で 10 分間処理し、この温度冷却を 2 時間後に中止し、2 時間の間に反応を 35 に上げた。これを 20 に冷却し、更に 45 分間攪拌した。n - ヘプタン 4 L を加えた後、反応を蒸発させて 2.9 L にし、0 に冷却し、濾過し、残渣を同じ方法で 2 回処理し、3 回目は再び CH_2Cl_2 2 L 中に残渣を溶解して、処理した。溶媒を蒸発させ、ヘキサン / tert - ブチル - メチルエーテル 9:1 を溶出剤として用いて、シリカゲルを通して濾過した。溶媒を蒸発させて、(2S, 4S) - 4 - クロロ -
50

ピロリジン - 1 , 2 - ジカルボン酸 1 - t e r t - プチルエステル 2 - メチルエステル 347 g (89 %) を得た、M S : 246 (M H⁺)。

【 0111】

1.2 (2 S , 4 R) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 , 2 - ジカルボン酸 1 - t e r t - プチルエステル 2 - メチルエステル

カリウム - t e r t - プチラート 76 g (0.68 mol) の D M F 1.5 L 溶液を冷却し (-3) 、D M F 0.8 L 中のトリフェニルメタンチオール 202 g (0.73 mol) を用いてゆっくり (1.5 時間) 処理した (最高 1 度)。0 度で 2.5 時間の後、(2 S , 4 S) - 4 - クロロ - ピロリジン - 1 , 2 - ジカルボン酸 1 - t e r t - プチルエステル 2 - メチルエステル 161 g (0.61 mol) D M F 0.35 L の溶液を加えた。反応を 2 で一晩攪拌し、蒸発させ、E t O A c 1.5 L に溶解し、飽和 N H₄ C l 水溶液 2.7 L に注ぎ、E t O A c を用いて抽出した (2 ×)。有機相を飽和 N a H C O₃ 水溶液で洗浄し、N a₂ S O₄ で乾燥させ、蒸発させた。ヘキサン / E t O A c (95 : 5 ~ 7 : 3) を用いてシリカゲル上でカラムクロマトグラフィーに付し、(2 S , 4 R) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 , 2 - ジカルボン酸 1 - t e r t - プチルエステル 268 g (87 %) を得た、M S : 504 (M H⁺)。

【 0112】

1.3 エステル還元

A) (2 S , 4 R) - 2 - ヒドロキシメチル - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - カルボン酸 t e r t - プチルエステル

(2 S , 4 R) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 , 2 - ジカルボン酸 1 - t e r t - プチルエステル 2 - メチルエステル 35 g (6.9 mmol) のトルエン 380 ml / T H F 60 ml 溶液を、-47 ~ -50 度で、ナトリウム水素化ビス (2 - メトキシ - エトキシ) アルミニウム 70 % トルエン溶液 (トルエン中 3.5 M Red - A 1) 44 g (15.2 mmol) で処理した。-50 度で 3 時間、-30 度で 1 時間の後、溶液をクエン酸 40 g を含む水 (1 L) に注ぎ、E t O A c で抽出した (2 ×)。有機相を N a₂ S O₄ で乾燥し、蒸発させた。ヘキサン / E t O A c (7 : 3) を用いてシリカゲル上でクロマトグラフィーに付し、(2 S , 4 R) - 2 - ヒドロキシメチル - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - カルボン酸 t e r t - プチルエステル 23.0 g (69 %) を得た、M S : 476 (M H⁺)。

【 0113】

B) (2 S , 4 R) - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - カルボン酸 t e r t - プチルエステル 0 度で、(2 S , 4 R) - 2 - ヒドロキシメチル - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - カルボン酸 t e r t - プチルエステル 15.5 g (32.59 mmol) および 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジルプロミド 24.7 g (109.77 mmol) の D M F 700 ml 溶液を、55 % N a H 2.28 g (52.14 mmol) を 4 回に分けて処理し、7 時間室温に暖めた。反応を 0 度に冷却し、飽和 N H₄ C l 水溶液 500 ml で処理し、E t O A c で抽出した (3 ×)。有機相を 10 % N a C l で洗浄し、N a₂ S O₄ で乾燥させ、蒸発させた。ヘキサン / E t O A c (9 : 1 ~ 8.5 : 1.5) を用いてシリカゲル上でフラッシュカラムクロマトグラフィーに付し、(2 S , 4 R) - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - カルボン酸 t e r t - プチルエステル 9.37 g (46 %) を得た、M S : 620 (M H⁺)。

【 0114】

C) (2 S , 4 R) - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン

(2 S , 4 R) - 2 - (2 , 4 , 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - カルボン酸 t e r t - プチルエステル 9.37 g (15.11 mmol) の C H₂ C l₂ 30 ml 溶液を、-20 度で T F A 34 ml で処理し、5.5 時間室温に暖めた。反応を蒸発させ、飽和 N a H C O₃ 水溶液 / E t O A c で処理し (3 50

×)、(2S,4R)-2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン7.77g(定量)を得た、MS:520(M)。

【0115】

実施例2:N-ピロリジン誘導体(スキーム2)

2.1 方法A:(2S,4R)-2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン2.08g(4mmol)、2-クロロピリミジン0.687g(6mmol)およびN-エチルジイソプロピルアミン1.16ml(6.8mmol)の混合物を、80で3時間加熱した。反応を冷却し、H₂O/Et₂O(3×30)に分配した。有機相を飽和NaHCO₃水溶液と10%NaCl水溶液で洗浄し、乾燥させ(NaSO₄)、蒸発させた。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(CH₂Cl₂/EtOAc 97.5:2.5)に付して、(2S,4R)-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン1.7g(71%)を得た、MS:598(MH⁺)。

【0116】

同様に:

a)(2S,4R)-2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジンおよび2,4-ジクロロピリミジンから、(2S,4R)-2-クロロ-4-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジンを得た、MS:632(MH⁺)。

b)(2S,4R)-2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジンおよび2,5-ジブロモ-ピリミジン[Brown, Desmond J.; Arantz, B. W., Pyrimidine reactions. XXII. Relative reactivities of corresponding chloro-, bromo-, and iodopyrimidines in aminolysis. J. Chem. Soc. C (1971), Issue 10, 1889~91]から、(2S,4R)-5-ブロモ-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジンを得た、MS:676(MH⁺、1Br)。

c)(2S,4R)-2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジンおよびメチル-2-クロロ-6-メチルピリミジンから、(2S,4R)-6-メチル-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン-4-カルボン酸メチルエステルを得た、MS:670(MH⁺)。

d)(2S,4R)-6-メチル-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン-4-カルボン酸メチルエステルを、続いてエステル加水分解の一般的方法(ETOH/ジオキサン)に従って加水分解し、(2S,4R)-6-メチル-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン-4-カルボン酸を得た、MS:656(MH⁺)。

【0117】

2.2 S-脱保護、方法D):(2S,4R)-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン1.7g(2.84mmol)のCH₂Cl₂ 30ml溶液を、0で、TFA 8mlとトリイソプロピルシラン5.82ml(2.8mmol)で処理した。室温で30分後、溶液を完全に蒸発させ、化合物をEt₂O/ペンタンから2度沈殿させ、(3R,5S)-1-ピリミジン-2-イル-5-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1)1.06g(80%)を無色の油状物として得た、MS:356(MH⁺)。

【0118】

同様に:

a)(2S,4R)-2-クロロ-4-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン1.7g(2.84mmol)のCH₂Cl₂ 30ml溶液を、0で、TFA 8mlとトリイソプロピルシラン5.82ml(2.8mmol)で処理した。室温で30分後、溶液を完全に蒸発させ、化合物をEt₂O/ペンタンから2度沈殿させ、(3R,5S)-1-ピリミジン-2-イル-5-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート(1:1)1.06g(80%)を無色の油状物として得た、MS:356(MH⁺)。

キシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンから、(3R, 5S) - 1 - (2 - クロロ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール；トリフルオロ - 酢酸との化合物を得た、MS : 390 (MH⁺)、

b) (2S, 4R) - 5 - プロモ - 2 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンから、(2S, 4R) - 1 - (5 - プロモ - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールを得た、MS : 434 (MH⁺, 1 Br)。(前表には記載していない)、

c) (2S, 4R) - 6 - メチル - 2 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン - 4 - カルボン酸から、(2S, 4R) - 2 - [4 - メルカプト - 2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 1 - イル] - 6 - メチル - ピリミジン - 4 - カルボン酸を得た、MS : 414 (MH⁺)。 10

【0119】

2.3 方法B(パラレル合成)：ジオキサン1mlまたはDMF 0.1ml中の(2S, 4R) - 2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン0.45mmol、2 - クロロ - ヘテロ - アロマ - ト2.25mmol、およびN - エチルジイソプロピルアミン2.25mmolの溶液を80~130 で16時間~2日間加熱した(表1を参照)。反応は、分取HPLC(RP - 18, MeCN/H₂O, UV 230nm)により精製した。 20

【0120】

上述のTFA / トリイソプロピルシラン脱保護(S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)によって、遊離チオールを得た。

【0121】

2.4 方法C：(2S, 4R) - 2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン2g(3.85mmol)、2 - クロロ - 5 - n - プロピルピリミジン1.2g(7.7mmol)、N - エチルジイソプロピルアミン1.98ml(11.55mmol)、および触媒量のヨウ化銅(I)の混合物を、80 で10時間加熱した。反応を冷却し、H₂O / Et₂Oに分配した(3×300)。有機相を飽和NaHC₂O₃水溶液と10%NaCl水溶液で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、蒸発させた。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(トルエン / Et₂O 99 : 1)に付して、(2S, 4R) - 5 - プロピル - 2 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン2g(81%)を得た、MS : 640 (MH⁺)。 30

【0122】

上述のTFA / トリイソプロピルシラン脱保護(S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)によって、(3R, 5S) - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート(1 : 1)を得た、MS : 398 (MH⁺)。 40

【0123】

同様の方法にしたがって、以下の化合物を、(2S, 4R) - 2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジンと、以下の表1に記載の2.抽出物との反応を通して調製した。

【0124】

【表1】

表 1

(2S, 4R) -2- (2, 4, 5-トリフルオロベンジルオキシメチル) -4-トリチルスルファニル-ピロリジン-6-7030と、2. 抽出物との反応による。					
物質名	2. 抽出物	方法	溶媒/時間 /温度/°C	MS	
(3R, 5S) -1- (4, 6-ジメトキシ-ピリミジン-2-イル) -5- (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) -ピロリジン-3-チオール	2-クロロ-2, 4-ジメトキシ-ピリミジン	B	DMF cat KI/16 時間 /80	416	M+H ⁺
(3R, 5S) -1- (4-アミノ-5-フルオロ-ピリミジン-2-イル) -5- (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) -ピロリジン-3-チオール	4-アミノ-2-クロロ-5-フルオロ-ピリミジン	B	DMF/24 時間 /120	389	M+H ⁺
2-[(2S, 4R) -4-メルカプト-2- (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) -ピロリジン-1-イル] -6-メチル-ピリミジン-4-カルボン酸メチルエステル	メチル2-クロロ-6-メチル-ピリミジン-4-カルボキシラート	B	なし/16 時間 /80	428	M+H ⁺
2-[(2S, 4R) -4-メルカプト-2- (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) -ピロリジン-1-イル] -4-トリフルオロメチル-ピリミジン-5-カルボン酸メチルエステル	メチル2-クロロ-4-(トリフルオロ-メチル) ピリミジン-5-カルボキシラート	B	なし/16 時間 /80	482	M+H ⁺
(3R, 5S) -1- (5-エチル-ピリミジン-2-イル) -5- (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) -ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート (1 : 1)	2-クロロ-5-エチル-ピリミジン	C	なし/10 時間 /80	384	M+H ⁺
(3R, 5S) -5- (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) -1- (4-トリフルオロメチル-ピリミジン-2-イル) -ピロリジン-3-チオールトリフルオロ-アセタート (1 : 1)	2-クロロ-4-(トリフルオロメチル) -ピリミジン	B	なし/16 時間 /85	424	M+H ⁺

10

20

30

40

2-[(2S, 4R) -4- メルカプト-2- (2, 4, 5- トリフルオロー ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-1-イル] - ニコチノニトリル	2-クロロ- ニコチノニトリル	B	なし/16 時間 /80	380	M+H ⁺
2-[(2S, 4R) -4- メルカプト-2- (2, 4, 5- トリフルオロー ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-1-イル] - ニコチノニトリル	2-クロロ-ニコチノニトリル	B	ジオキサン、 DMF/24 時間 /120	399	M+H ⁺
2-[(2S, 4R) -4- メルカプト-2- (2, 4, 5- トリフルオロー ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-1-イル] - ニコチノニトリル	2-クロロ-ニコチノニトリル	B	ジオキサン/ 16 時間/80	398	M+H ⁺
(3R, 5S) -5- (2, 4, 5- トリフルオロー ベンジルオキシメチル) -1- (5-トリフルオロメチル- ピリジン-2-イル) - ピロリジン-3- チオールトリフルオローアセタート (1 : 1)	2-クロロ-5- (トリフルオロメチル) - ピリジン	B	なし/16 時間 /80	423	M+H ⁺
(3R, 5S) -1-ピリジン-2- イル-5- (2, 4, 5- トリフルオロー ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-3- チオールトリフルオローアセタート (1 : 1)	2-クロロ-ピリジン	B	なし/2 日 /130	355	M+H ⁺
(3R, 5S) -1-ピラジン-2- イル-5- (2, 4, 5- トリフルオロー ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-3-チオール; トリフルオロ酢酸との化合物	2-クロロ-ピラジン	C	なし/45 分 /160	470	M+H ⁺
(3R, 5S) -1- (6- フェニル-ピリダジン-3-イル) - 5- (2, 4, 5-トリフルオロー ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-3-チオール	3-クロロ-6- フェニル-ピリダジン	B	DMF/16 時間 /80	432	M+H ⁺

10

20

30

40

【0125】

実施例3：2-クロロピリミジン上の置換

3.1 DMF中での反応：(2S, 4R)-2-クロロ-4-[2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン0.24(0.4mmol)のDMF 8ml溶液を、0で、MeOH 0.05ml(1.2mmol)と55%NaH 0.054g(1.24mmol)で処理した。反応をこの温度に保ち(6時間)、一晩かけて室温に暖めた。飽和NH₄Cl水溶液/Et₂Oで抽出(3×)した後、有機相を10%NaCl水溶液で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、蒸発させた。フラッシュクロマトグラフィー(CH₂Cl₂/EtOAc 95:5)に付して、(2S, 4R)-4-[2-(2, 5-ジフルオロ-4-メトキシ-ベンジルオキ

50

シメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - 2 - メトキシ - ピリミジン 0.14 g (54%)を得た、MS : 640 (MH⁺)。

【0126】

TFA / トリイソプロピルシラン脱保護 (S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照) によって、(3R, 5S) - 5 - (2, 5 - ジフルオロ - 4 - メトキシ - ベンジルオキシメチル) - 1 - (2 - メトキシ - ピリミジン - 4 - イル) - ピロリジン - 3 - チオールを得た、MS : 398 (MH⁺)。

【0127】

同様に：

a) (2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンおよびフェノール / NaH 10当量から、70 で8時間後、2 - フェノキシ - 4 - [(2S, 4R) - 2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンを得た、MS : 690 (MH⁺)；それを脱保護し (S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)、(3R, 5S) - 1 - (2 - フェノキシ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールを得た、MS : 448 (MH⁺)。

【0128】

3.2 他の溶媒中での反応：(2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン 0.24 (0.4 mmol) のMeOH 1ml溶液を、0 で、ナトリウムメチラート (MeOH 中 5.5 M) 0.16 ml (0.88 mmol) で処理し、この温度を保ち (2時間)、暖め、75 で10時間加熱した。蒸発および、飽和NH₄Cl水溶液 / Et₂Oでの抽出 (3×) の後、有機相を 10% NaCl 水溶液で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、蒸発させ、2 - メトキシ - 4 - [(2S, 4R) - 2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン 0.19 g (77%)を得た、MS : 628 (MH⁺)、これを脱保護し (S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)、(3R, 5S) - 1 - (2 - メトキシ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールを得た、MS : 386 (MH⁺)。

【0129】

同様に：

a) THF 中の (2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンおよびナトリウムメタンチオラート 2.2 当量 / ヨウ化ナトリウム 2 当量 (70 で 28 時間) から、脱保護 (S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照) の後、(3R, 5S) - 1 - (2 - メチルスルファニル - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールを得た、MS : 402 (MH⁺)、

b) ジオキサン中の (2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンおよびアニリン 10 当量 / N - エチルジイソプロピルアミン 3.5 当量 (105 で 48 時間) から、脱保護 (S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照) した後、(3R, 5S) - 1 - (2 - フェニルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールトリフルオロ - アセタート (1 : 1) を得た、MS : 447 (MH⁺)、

c) ジオキサン中の (2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンおよびベンジルアミン 7.5 当量 / N - エチルジイソプロピルアミン 3.5 当量 (90 で 48 時間) から、脱保護 (S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照) の後、(3

10

20

30

40

50

R, 5 S) - 1 - (2 - ベンジルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール；トリフルオロ - アセタート(1 : 1)を得た、MS : 461 (MH⁺)。

d) ジオキサン中の(2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンおよびブチルアミン7.5当量/N - エチルジイソプロピルアミン3.5当量(90で48時間)から、脱保護(S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)の後、(3R, 5S) - 1 - (2 - ブチルアミノ - ピリミジン - 4 - イル - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール；トリフルオロ - アセタート(1 : 1)を得た、MS : 427 (MH⁺)。 10

e) ジオキサン中の(2S, 4R) - 2 - クロロ - 4 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジンおよびメチルアミン溶液(EtOH中8.03M)3.0当量/N - エチルジイソプロピルアミン3.5当量(90で48時間)から、脱保護(S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)した後、(3R, 5S) - 1 - (2 - メチルアミノ - ピリミジン - 4 - イル) - 5 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオール；トリフルオロ - アセタート(1 : 1)を得た、MS : 385 (MH⁺)。

【0130】

実施例4：Suzuki型反応

一般に、反応はビアリール合成のStanforth, Stephen P. 触媒交差カップリング反応にしたがって行われた。Tetrahedron (1998), 54 (3/4), 263-303。 20

【0131】

4.1 方法A(溶媒をアルゴンで10分間脱気した)：(2S, 4R) - 5 - プロモ - 2 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン1.35g(2mmol)のジメトキシエタン1.2ml溶液を、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム0.116g(0.1mmol)のジメトキシエタン1.4ml懸濁液に加え、15分間攪拌した。次に、EtOH 3.4ml中のフェニルボロン酸0.29g(2.4mmol)を加え、10分後、2M Na₂CO₃水溶液8.8mlを加えた。反応を90で2時間加熱し、蒸発させ、H₂O/Et₂Oで抽出した(3×)。有機相を10%NaCl水溶液で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、蒸発させた。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(トルエン)を用いて精製し、(2S, 4R) - 5 - フェニル - 2 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン0.48g(36%)を得た、MS : 674 (MH⁺)。 30

【0132】

TFA / トリイソプロピルシラン脱保護(S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)によって、(3R, 5S) - 1 - (5 - フェニル - ピリミジン - 2 - イル) - 5 - (2, 4 - 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - ピロリジン - 3 - チオールを得た、MS : 432 (MH⁺)。

【0133】

4.2 方法B(溶媒をアルゴンで10分間脱気した)；パラレル合成：(2S, 4R) - 5 - プロモ - 2 - [2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ - ベンジルオキシメチル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 1 - イル] - ピリミジン0.13mmol、ボロン酸またはボロン酸エステル0.195mmol、およびPdCl₂(dpdf)0.004mmolのジオキサン2mlと2M Na₂CO₃ 0.4ml溶液を、80で48時間加熱した。濾過した後、混合物を分取HPLC(RP18、アセトニトリル50%~95%)によって、精製した。 40

【0134】

TFA / トリイソプロピルシラン脱保護(S - 脱保護の一般的方法、方法Dを参照)によって、遊離チオールを得た。

【0135】

4.3 方法C：(溶媒をアルゴンで10分間脱気した) [Giroux, Andre; Han, Yongxin; Prasit, Petpiboon. One pot biaryl synthesis via in situ boronate formation. *Tetrahedron Lett.* (1997), 38 (22), 3841-3844]。(2S, 4R)-5-ブロモ-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン0.68g(1mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン0.28g(1.1mmol)、酢酸カリウム0.29g(3mmol、100、0.1Torrで2時間乾燥)、PdCl₂(dppf)0.024g(0.03mmol)のDMF 12ml溶液を、80で4.5時間攪拌した。反応を冷却し、2-ブロモピロリジン0.195ml(2mmol)、PdCl₂(dppf)0.024g(0.03mmol)、および2M Na₂CO₃水溶液2.5mlで処理し、80で16時間加熱した。反応を蒸発させ(60/0.1torr)、水/Et₂Oに分配した(3×)。有機相を、10%NaCl水溶液で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させた。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(トルエン/EtOAc 97.5:2.5)を用いて精製し、(2S, 4R)-5-ピリジン-2-イル-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン0.125gを得た、MS: 675(MH⁺)。

【0136】

TFA/トリイソプロピルシラン脱保護(S-脱保護の一般的方法、方法Dを参照)によって、(3R, 5S)-1-(5-ピリジン-2-イル-ピリミジン-2-イル)-5-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール；トリフルオロ-酢酸との化合物を得た、MS: 433(MH⁺)。

【0137】

4.4 方法D(溶媒をアルゴンで10分間脱気した)：(2S, 4R)-5-ブロモ-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジン0.68g(1mmol)、ビス(トリフェニルホスфин)パラジウム(II)ジクロリド15mg(0.022mmol)、およびヨウ化銅(I)9.5mgのDMF 0.4ml溶液を、エチニルトリメチルシラン0.35ml(2.5mmol)およびEt₃N 1.87mlのDMF 1.5ml溶液で、80で1時間処理した。同じ溶液を1時間かけて再び加え、4時間後、ペンタン(3×)/H₂O(2×)で抽出した。有機相を乾燥させ(Na₂SO₄)、蒸発させ、シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(トルエン)を用いて精製し、(2S, 4R)-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-5-トリメチルシラニルエチニル-ピリミジン0.063g(9%)を得た、MS: 694(MH⁺)。

【0138】

TFA/トリイソプロピルシラン脱保護(S-脱保護の一般的方法、方法Dを参照)によって、(3R, 5S)-5-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-1-(5-トリメチルシラニルエチニル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-3-チオールを得た、MS: 452(MH⁺)。

【0139】

同様の方法にしたがって、以下の化合物を、(2S, 4R)-5-ブロモ-2-[2-(2,4,5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル]-ピリミジンと以下の表2に記載の2.抽出物との反応を通して調製した。

【0140】

【表2】

表2

方法Bにしたがって、(2S, 4R) - 5-プロモ-2-[2-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-イル] - ピリミジン-6-5011と、2.抽出物との反応による。

物質名	2. 抽出物	MS	色	
(3R, 5S) - 1 - (5-ピリジン-4-イル-ピリミジン-2-イル) - 5 - (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール	4-ピリジルボロン酸	433	M+H ⁺	10 橙色
(3R, 5S) - 1 - (5-チオフェン-3-イル-ピリミジン-2-イル) - 5 - (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール	チオフェン-3-ボロン酸	438	M+H ⁺	
(3R, 5S) - 1 - [5 - (4-メトキシフェニル)-ピリミジン-2-イル] - 5 - (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール	4-メトキシベンゼンボロン酸	462	M+H ⁺	20
(2S, 4R) - 4 - {2 - [4 - メルカプト-2 - (2, 4, 5 - トリフルオロ-ベンジルオキシメチル) - ピロリジン-1-イル] - ピリミジン-5-イル} - 安息香酸	4-カルボキシベンゼンボロン酸	476	M+H ⁺	
(3R, 5S) - 1 - (5-アリル-ピリミジン-2-イル) - 5 - (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール	2-アリル-4, 4, 5, 5-テトラメチル-1, 3, 2-ジオキサー-ボロラン	396	M+H ⁺	
(3R, 5S) - 1 - (5-ピリジン-3-イル-ピリミジン-2-イル) - 5 - (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール	ピリジン-3-ボロン酸 1, 3-プロパンジオール	433	M+H ⁺	30

【0141】

実施例5：S-アセチル-誘導体化

(3R, 5S) - 1 - (5-プロピル-ピリミジン-2-イル) - 5 - (2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-チオール(トリフルオロ-アセタート塩を飽和NaHC₃O₃水溶液/EtOAcで抽出した)397mg(1mmol)のピリジン6ml溶液を、塩化アセチル0.14ml(2mmol)で0で処理し、室温で5時間攪拌した。反応を氷水に注ぎ、Et₂Oで抽出した(3×)。有機相を、1N HClおよび10% NaCl水溶液で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、蒸発させた。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィー(CH₂Cl₂/Et₂O 100:0~95:5)に付して、(3R, 5S)-チオ酢酸S-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-5-(2, 4, 5-トリフルオロ-ベンジルオキシメチル)-ピロリジン-3-イル]エステル383mg(87%)を得た、MS: 440(MH⁺)。

【0142】

実施例6：アミン類

a) CH₂Cl₂ 80ml中の(2S, 4R)-2-ヒドロキシメチル-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステル25.0g(52.56m

mol) に、0 度 TFA 40 ml を加え、その溶液を室温で一晩攪拌した。溶液を真空で濃縮し、残渣を EtOAc に再び溶解し、飽和 NaHCO₃ 溶液およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させた。(2S, 4R) - (4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イル) メタノール 21.98 g (定量) を明褐色の泡状物として単離した。

【0143】

b) 粗生成物を、2-クロロ-5-n-プロピルピリミジン 16.46 g (105.1 mmol)、2 当量) および N-エチルジイソプロピルアミン 30 ml (175 mmol、3.3 当量) 中で懸濁させ、混合物を 80 度に加熱した。すべてが溶解した後、ヨウ化銅 350 mg (1.84 mmol) を加え、反応混合物を一晩 80 度に保った。室温に冷却した後、混合物を EtOAc / H₂O で希釈し、水溶液を EtOAc で抽出した。合せた有機層を、1 M KH_{SO}₄、1 M HCl、およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させた。EtOAc : ヘキサン (1 : 4 ~ 1 : 1) を用いてフラッシュクロマトグラフィーで精製し、(2S, 4R) - [1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イル] - メタノール 19.1 g (74%) を明黄色の泡状物として得た、MS : 496 (MH⁺)。

【0144】

c) THF 15 ml 中の (2S, 4R) - [1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イル] - メタノール 1.0 g (2.0 mol) を、トリフェニルホスфин 764 mg (2.82 mmol) およびフタルイミド 420 mg (2.82 mmol) を用いて室温で処理した。溶液を 0 度に冷却し、THF 3 ml 中のジエチルアゾジカルボキシラート 615 μl (3.83 mmol) を加えた。溶液を室温で一晩攪拌し、H₂O を加え、無機層を EtOAc で抽出した。合せた層を、1 M NaOH、飽和 NaHCO₃ 溶液、およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させた。EtOAc : ヘキサン 1 : 2 を溶出剤として用いたカラムクロマトグラフィーに付して、(2S, 4R) - 2-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル] - イソインドール-1,3-ジオン 1.20 g (95%) を白色の固体として得た、MS : 625 (MH⁺)。

【0145】

d) エタノール 95 ml 中の (2S, 4R) - 2-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルチル] - イソインドール-1,3-ジオン 960 mg (1.52 mmol) を、ヒドラジン水和物 2.4 ml (49.4 mmol) で還流下処理した。室温に冷却した後、溶液を濾過し、濃縮し、粗生成物を CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH 90 : 10 : 0.25 を用いたフラッシュクロマトグラフィーで精製し、(2S, 4R) - C - [1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イル] - メチルアミン 659 mg (88%) を白色の泡状物として得た、MS : 495 (MH⁺)。

【0146】

e) メタノール 3 ml 中の (2S, 4R) - C - [1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イル] - メチルアミン 643 mg (1.3 mmol) に、2,5-ジフルオロベンズアルデヒド 158 μl (1.43 mmol) と、部分的に化合物を再溶解するためメタノール 5 ml を加えた。続いて、塩化亜鉛 108 mg (0.78 mmol) および NaBH₃CN 109 mg (1.56 mmol) のメタノール 3 ml 溶液を加えた。溶液を一晩攪拌し、濃縮し、EtOAc / 飽和 NaHCO₃ 溶液に溶解した。無機層を EtOAc で抽出し、合せた有機層を NaHCO₃ およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させた。カラムクロマトグラフィーで精製し、(2S, 4R) - (2,5-ジフルオロ-ベンジル) - [1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル] - アミン 750 mg (93%) を明黄色のガム状物として得た、MS : 621 (MH⁺)。

【0147】

f) ピリジン 2 ml 中の (2S, 4R) - (2,5-ジフルオロ-ベンジル) - [1-(5-

- プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - 4 - トリチルスルファニル - ピロリジン - 2 - イルメチル] - アミン 160 mg (0.258 mmol) を、0 度で、塩化アセチル 37 μl (0.52 mmol) で処理した。溶液を室温で 1.5 時間攪拌し、氷水に注ぎ、EtOAc で抽出した。合せた有機層を、1N HCl およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、蒸発させた。EtOAc : ヘキサン 1 : 2 ~ 1 : 1 を用いたカラムクロマトグラフィーに付して、(2S, 4R)-N-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-N-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル]-アセトアミド 170 mg (定量) を白色の泡状物として得た。

【0148】

g) (2S, 4R)-N-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-N-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル]-アセトアミドから、一般手順 E と同様に、(2S, 4R)-N-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-N-[4-メルカプト-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-2-イルメチル]-アセトアミドを無色のガム状物として調製した、MS : 421 (MH⁺)。 10

【0149】

h) (2S, 4R)-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル]-アミンから、一般手順 E と同様に、(2S, 4R)-5-[2, 5-ジフルオロ-ベンジルアミノ]-メチル]-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-3-チオールを無色のガム状物として調製した、MS : 379 (MH⁺)。 20

【0150】

i) ピリジン 1mI 中の (2S, 4R)-5-[2, 5-ジフルオロ-ベンジルアミノ]-メチル]-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-3-チオール 50 mg (0.13 mmol) を、0 度で、塩化アセチル 28 μl (0.39 mmol) で処理した。溶液を室温で 1.5 時間攪拌し、氷水に注ぎ、EtOAc で抽出した。合せた有機層を、1N HCl およびブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、蒸発させた。EtOAc : ヘキサン 1 : 1 ~ 2 : 1 を用いたカラムクロマトグラフィーに付して、(3R, 5S)-チオ酢酸 S - [5-[アセチル-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-アミノ]-メチル]-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-3-イル] エステル 54 mg (88%) をオフホワイト色のガム状物として得た、MS : 463 (MH⁺)。 30

。

【0151】

j) CH₂C₁₂ 6.5mI 中の (2S, 4R)-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル]-アミン 220 mg (0.35 mmol) を、N-エチルジイソプロピルアミン 74 μl (0.43 mmol)、クロロベンジルホルマート 63 μl (0.43 mmol)、および結合 DMAP ポリマー 26.6 mg (0.043 mmol) で 0 度 5 分、室温で 1 時間処理した。ポリマー結合トリスアミン 212 mg (0.212 mmol) を加え、溶液を一晩振とうした。濾過および濃縮により、(2S, 4R)-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-[1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-4-トリチルスルファニル-ピロリジン-2-イルメチル]-カルバミン酸ベンジルエステル 331 mg (定量) を白色の泡状物として得、それを手順 E にしたがって処理し、(2S, 4R)-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-[4-メルカプト-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-2-イルメチル]-カルバミン酸ベンジルエステルを無色の泡状物として得た、MS : 513 (MH⁺)。 40

【0152】

k) (2S, 4R)-(2, 5-ジフルオロ-ベンジル)-[4-メルカプト-1-(5-プロピル-ピリミジン-2-イル)-ピロリジン-2-イルメチル]-カルバミン酸ベンジルエステルから、実施例 6g と同様に、(3R, 5S)-チオ酢酸 S - [5-[ベ 50

ンジルオキシカルボニル - (2 , 5 - ジフルオロ - ベンジル) - アミノ] - メチル] - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - イル] エステルを調製した。

【 0 1 5 3 】

1) E E 5 ml 中の (3 R , 5 S) - チオ酢酸 S - [5 - [(ベンジルオキシカルボニル - (2 , 5 - ジフルオロ - ベンジル) - アミノ] - メチル] - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - イル] - エステル 13.7 mg (2.5 mmol) に、酢酸中の 33% HBr 320 μl を 0 度加えた。溶液を室温で 12 時間攪拌し、NaHCO₃ に注ぎ、無機相を EtOAc で抽出した。合せた有機層をブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、蒸発させた。EtOAc を溶出剤として用いたカラムクロマトグラフ 10 イーで精製し、(3 R , 5 S) - チオ酢酸 S - [5 - [(2 , 5 - ジフルオロ - ベンジルアミノ) - メチル] - 1 - (5 - プロピル - ピリミジン - 2 - イル) - ピロリジン - 3 - イル] エステル 6.5 mg (6.3 %) を無色の油状物として得た、MS : 421 (MH⁺)。(表には記載していない)。

【 0 1 5 4 】

実施例 A

以下の成分を含む錠剤を、従来の方法で製造できた :

【 0 1 5 5 】

【表 3】

成 分	<u>1 錠当たり</u>
式 I の化合物	10.0 - 100.0 mg
ラクトース	125.0 mg
トウモロコシ澱粉	75.0 mg
タルク	4.0 mg
ステアリン酸マグネシウム	1.0 mg

20

【 0 1 5 6 】

実施例 B

以下の成分を含むカプセルを、従来の方法で製造できた :

【 0 1 5 7 】

【表 4】

成 分	<u>1 カプセル当たり</u>
式 I の化合物	25.0 mg
ラクトース	150.0 mg
トウモロコシ澱粉	20.0 mg
タルク	5.0 mg

40

【 0 1 5 8 】

実施例 C

注入溶液を、以下の組成にすることができた :

【 0 1 5 9 】

【表 5】

式 I の化合物	3.0 mg
ゼラチン	150.0 mg
フェノール	4.7 mg
注入溶液用の水	1.0 mg 加えた

【 0 1 6 0 】

実施例 D

10

式 I の化合物 500 mg を、マイグリオール (Myglyol) 812 3.5 ml およびベンジルアルコール 0.08 g 中で懸濁させた。この懸濁液を、薬用量バルブを備えた容器に満たした。圧力下のフレオン (freon) 12 5.0 g を、バルブを通して容器に満たした。フレオンを、マイグリオール - ベンジルアルコール混合物に振とうすることによって溶解した。このスプレー容器は、個々に適用できる約 100 の単回用量分を有する。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	7/02	(2006.01)	A 6 1 P	7/02	
A 6 1 P	9/06	(2006.01)	A 6 1 P	9/06	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	15/08	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	15/08	
A 6 1 P	25/08	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/08	
A 6 1 P	27/06	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	27/06	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
C 0 7 D	401/14	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
C 0 7 D	403/04	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 D	409/14	(2006.01)	C 0 7 D	401/14	
			C 0 7 D	403/04	
			C 0 7 D	409/14	

(72)発明者 ブール, ダニエル

スイス国、ツェーハー - 4 1 0 6 テルヴィル、イム・ローゼンガルテン 2 4

(72)発明者 クコロウスキー, アレキサンダー

アメリカ合衆国、カリフォルニア 9 2 1 3 0、サン・ディエゴ、アーモンドウッド・ウェイ
4 9 7 8

(72)発明者 デームロウ, ヘンリエッタ

ドイツ国、7 9 6 3 9 グレンツァハ - ヴィーレン、リッターシュトラーセ 8 5

審査官 長部 喜幸

(56)参考文献 国際公開第9 9 / 0 1 4 1 9 5 (WO , A 1)
 国際公開第9 9 / 0 5 2 8 6 8 (WO , A 1)
 国際公開第9 7 / 0 4 1 1 2 0 (WO , A 1)
 国際公開第9 8 / 0 0 8 8 1 4 (WO , A 1)
 国際公開第9 7 / 0 0 5 1 3 5 (WO , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C07D 401/04

C07D 401/14

C07D 403/04

C07D 409/14

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)