(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2013-508414
(P2013-508414A)
(43)公表日　平成25年3月7日(2013.3.7)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 45/00	***(2006.01)***	A61K	45/00		4C050
A61P 43/00	***(2006.01)***	A61P	43/00	111	4C063
A61K 31/47	***(2006.01)***	A61K	31/47		4C065
A61K 31/443	***(2006.01)***	A61K	31/443		4C072
A61K 31/404	***(2006.01)***	A61K	31/404		4C084

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 219 頁）　最終頁に続く

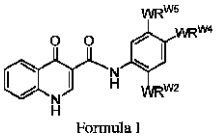
(21)出願番号　特願2012-535433 (P2012-535433)
(86)(22)出願日　平成22年10月22日 (2010.10.22)
(85)翻訳文提出日　平成24年6月6日 (2012.6.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2010/053852
(87)国際公開番号　WO2011/050325
(87)国際公開日　平成23年4月28日 (2011.4.28)
(31)優先権主張番号　61/254,180
(32)優先日　平成21年10月22日 (2009.10.22)
(33)優先権主張国　米国 (US)

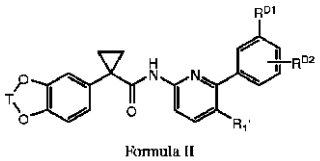
(71)出願人　598032106
バーテックス　ファーマシューティカルズ　インコーポレイテッド
ＶＥＲＴＥＸ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ　ＩＮＣＯＲＰＯＲＡＴＥＤ
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１３９－４２４２，　ケンブリッジ，　ウェーバリー　ストリート　１３０
１３０ Ｗａｖｅｒｌｙ Ｓｔｒｅｅｔ，Ｃａｍｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ ０２１３９－４２４２，Ｕ．Ｓ．Ａ．
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策

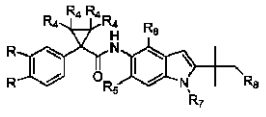
最終頁に続く

(54)【発明の名称】嚢胞性線維症および他の慢性疾患の治療のための組成物

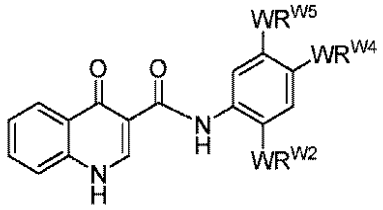
(57)【要約】
本発明は、上皮型ナトリウムチャネル活性の阻害剤を、式Ｉ、式ＩＩ、または式ＩＩＩの少なくとも１つの化合物と組み合わせて含む医薬組成物に関する。本発明はまた、固体形態およびその医薬製剤、ならびにこのような組成物を、薬学的組合せの組成物を使用したＣＦＴＲ媒介性疾患、特に嚢胞性線維症の治療において使用する方法にも関する。本発明の組成物は、上記阻害剤として、アミロリド、ベンザミル、またはジメチルアミロリドを含みうる。


Formula I


Formula II


Formula III

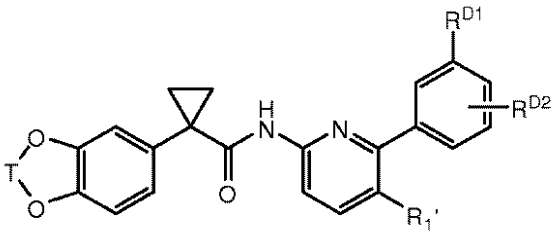
【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ａ．上皮型ナトリウムチャネル（ＥＮａＣ）阻害剤と、
Ｂ．下記のＩ、ＩＩ、またはＩＩＩのうちの少なくとも１つ
を含む医薬組成物：
Ｉ．式Ｉの化合物または薬学的に許容されるその塩
【化１２２】



Ｉ

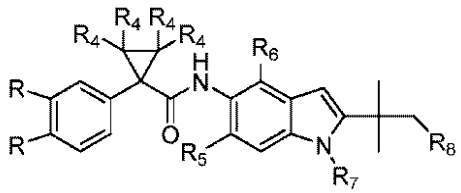
［式中、
WR^{W2}およびWR^{W4}のそれぞれは、独立して、ＣＮ、CF_3、ハロ、$C_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、$C_{3\sim12}$員の脂環式、フェニル、５～１０員のヘテロアリールまたは３～７員の複素環式から選択され、該ヘテロアリールまたは複素環式は、Ｏ、ＳまたはＮから選択される３個までのヘテロ原子を有し、前記WR^{W2}およびWR^{W4}は、－ＯＲ’、－CF_3、－OCF_3、ＳＲ’、Ｓ（Ｏ）Ｒ’、SO_2R'、－SCF_3、ハロ、ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（CH_2）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（CH_2）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（CH_2）$_2$ＯＲ’、－（CH_2）ＯＲ’、－CH_2ＣＮ、必要に応じて置換されているフェニルもしくはフェノキシ、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－（CH_2）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（CH_2）Ｎ（Ｒ’）$_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており、
WR^{W5}は、水素、－OCF_3、－CF_3、－ＯＨ、－OCH_3、－NH_2、－ＣＮ、－CHF_2、－ＮＨＲ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－$NHSO_2R'$、－CH_2ＯＨ、－CH_2Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－SO_2ＮＨＲ’、－SO_2Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－CH_2ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’から選択され、
各Ｒ’は、独立して、$C_{1\sim8}$脂肪族基、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～３個のヘテロ原子を有する３～８員の飽和、部分的に不飽和、もしくは完全に不飽和の単環式環、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～５個のヘテロ原子を有する８～１２員の飽和、部分的に不飽和、もしくは完全に不飽和の二環式環系から選択される、必要に応じて置換されている基から選択されるか、あるいは２つのＲ’が、これらが結合している原子（複数可）と一緒になって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する、必要に応じて置換されている３～１２員の飽和、部分的に不飽和、または完全に不飽和の単環式環または二環式環を形成するが、
ただし、
ｉ）WR^{W2}およびWR^{W4}が、両方とも－Ｃｌであることはなく、
WR^{W2}、WR^{W4}およびWR^{W5}は、－OCH_2CH_2Phでも、－OCH_2CH_2（２－トリフルオロメチル－フェニル）でも、－OCH_2CH_2－（６，７－ジメトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－２－イル）でも、置換１Ｈ－ピラゾール－３－イルでもない］
ＩＩ．式ＩＩの化合物もしくは薬学的に許容されるその塩

【化１２３】



式 II

［式中、
Ｔは、－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－、－ＣＦ$_2$－、－Ｃ（ＣＨ$_3$）$_2$－、または－Ｃ（Ｏ）－であり、
Ｒ$_1$’は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、ハロ、ＣＦ$_3$、ＣＨＦ$_2$、Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族）であり、
Ｒ^{D1}またはＲ^{D2}は、Ｚ^{D}Ｒ$_9$であり、
Ｚ^{D}は、結合、ＣＯＮＨ、ＳＯ$_2$ＮＨ、ＳＯ$_2$Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、ＣＨ$_2$ＮＨＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$Ｎ（ＣＨ$_3$）ＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$ＮＨＣＯ、ＣＯＯ、ＳＯ$_2$、またはＣＯであり、
Ｒ$_9$は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、またはアリールである］
ＩＩＩ．式ＩＩＩの化合物もしくは薬学的に許容されるその塩
【化１２４】



式 III

［式中、
各Ｒは、独立して、Ｈ、ＯＨ、もしくはＯＣＨ$_3$であるか、または２つのＲが一緒になって、－ＯＣＨ$_2$Ｏ－または－ＯＣＦ$_2$Ｏ－を形成し、
各Ｒ$_4$は、独立して、Ｈまたはアルキルであり、
Ｒ$_5$は、ＨまたはＦであり、
Ｒ$_6$は、ＨまたはＣＮであり、
Ｒ$_7$は、Ｈ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｎ$^+$（ＣＨ$_3$）$_3$、または－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＨであり、
Ｒ$_8$は、Ｈ、ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、もしくは－ＣＨ$_2$ＯＨであるか、またはＲ$_7$およびＲ$_8$は一緒になって５員環を形成する］。
【請求項２】
上皮型ナトリウムチャネル阻害剤と式Ｉの化合物とを含む、請求項１に記載の医薬組成物。
【請求項３】
前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{W2}およびＷＲ^{W4}のそれぞれが、独立して、ＣＮ、ＣＦ$_3$、ハロ、Ｃ$_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、Ｃ$_{3\sim12}$員の脂環式、またはフェニルから選択され、該ＷＲ^{W2}およびＷＲ^{W4}が、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、必要に応じて置換されているフェニル、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており、ＷＲ^{W5}が、水素、－ＯＣＦ$_3$、－ＣＦ$_3$、－ＯＨ、－ＯＣＨ$_3$、－ＮＨ$_2$、－ＣＮ、－ＮＨＲ’、－Ｎ（Ｒ’

）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＨＳＯ$_2$Ｒ’、－ＣＨ$_2$ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＳＯ$_2$ＮＨＲ’、または－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ－（Ｒ’）から選択される、請求項１または２のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項４】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれが、独立して、－ＣＮ、－ＣＦ$_3$、Ｃ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、Ｃ$_{3～12}$員の脂環式、またはフェニルから選択され、該ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれが、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、必要に応じて置換されているフェニル、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており、ＷＲ^{Ｗ５}が、－ＯＨ、－ＣＮ、－ＮＨＲ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＨＳＯ$_2$Ｒ’、－ＣＨ$_2$ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＳＯ$_2$ＮＨＲ’、または－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ－（Ｒ’）から選択される、請求項１から３のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項５】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{Ｗ２}が、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＲ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＳＯ$_2$Ｒ’、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、－ＣＨ$_2$ＣＮ、必要に応じて置換されているフェニルもしくはフェノキシ、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から選択される３つまでの置換基で必要に応じて置換されているフェニル環であり、ＷＲ^{Ｗ４}が、Ｃ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキルであり、ＷＲ^{Ｗ５}が－ＯＨである、請求項１から４のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項６】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれが、独立して、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、またはＣ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキルである、請求項１から５のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項７】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれが、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＲ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＳＯ$_2$Ｒ’、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、－ＣＨ$_2$ＣＮ、必要に応じて置換されているフェニルもしくはフェノキシ、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から独立して選択される３つまでの置換基で必要に応じて置換されている、Ｃ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキルである、請求項１から６のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項８】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれが、必要に応じて置換されているｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔ－ブチル、１，１－ジメチル－２－ヒドロキシエチル、１，１－ジメチル－２－（エトキシカルボニル）－エチル、１，１－ジメチル－３－（ｔ－ブトキシカルボニル－アミノ）プロピル、またはｎ－ペンチルから独立して選択される、請求項１から７のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項９】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{Ｗ５}が、－ＣＮ、－ＮＨＲ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＨ$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）Ｏ

Ｒ’、または－ＳＯ$_2$ＮＨＲ’から選択される、請求項１から８のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１０】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{W5}が、－ＣＮ、－ＮＨ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＯＨ、－Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＣＨ$_2$Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、または－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$から選択される、請求項１から９のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１１】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{W5}が、－ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＭｅ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＥｔ、－ＣＮ、－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（ｔ－ブチル）、－Ｃ（Ｏ）ＯＭｅ、または－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$から選択される、請求項１から１０のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１２】

前記式Ｉの化合物において、

ａ．ＷＲ^{W2}がＣ$_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキルであり、

ｂ．ＷＲ^{W4}が、Ｃ$_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキルであるか、または単環式もしくは二環式の脂肪族であり、

ｃ．ＷＲ^{W5}が、－ＣＮ、－ＮＨ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－ＯＨ、－Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、もしくは－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$から選択される、

請求項１から１１のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１３】

前記式Ｉの化合物において、

ａ．ＷＲ^{W2}が、Ｃ$_{2\sim6}$アルキル、－ＣＦ$_3$、もしくは－ＣＮであるか、またはＣ$_{1\sim4}$アルキル、－Ｏ（Ｃ$_{1\sim4}$アルキル）、もしくはハロから選択される３つまでの置換基で必要に応じて置換されているフェニルであり、

ｂ．ＷＲ^{W4}が、－ＣＦ$_3$、Ｃ$_{2\sim6}$アルキル、またはＣ$_{6\sim10}$脂環式であり、

ｃ．ＷＲ^{W5}が、－ＯＨ、－ＮＨ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、または－Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）$_2$である、請求項１から１２のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１４】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{W2}がｔｅｒｔ－ブチルである、請求項１から１３のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１５】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{W4}がｔｅｒｔ－ブチルである、請求項１から１４のいずれかに記載の医薬組成物。

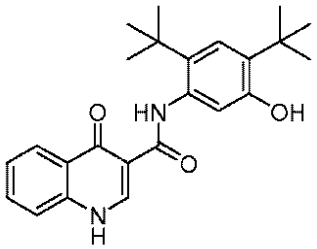
【請求項１６】

前記式Ｉの化合物において、ＷＲ^{W5}が－ＯＨである、請求項１から１５のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１７】

前記式Ｉの化合物が化合物１

【化１２５】



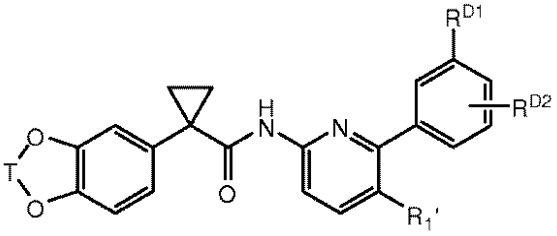
化合物 1

を含む、請求項１から１６のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項１８】

上皮型ナトリウムチャネル阻害剤と、式ＩＩの化合物

【化１２６】



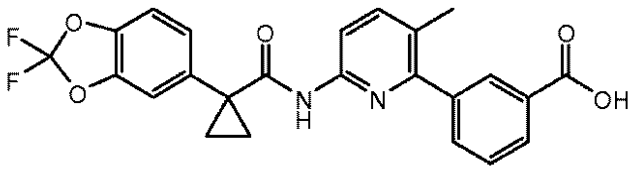
式 II

または薬学的に許容されるその塩［式中、
Ｔは、－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－、－ＣＦ$_2$－、－Ｃ（ＣＨ$_3$）$_2$－、または－Ｃ（Ｏ）－であり、Ｒ$_1$’は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、ハロ、ＣＦ$_3$、ＣＨＦ$_2$、Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族）であり、Ｒ^{D1}またはＲ^{D2}は、Ｚ^{D}Ｒ$_9$であり、
Ｚ^{D}は、結合、ＣＯＮＨ、ＳＯ$_2$ＮＨ、ＳＯ$_2$Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、ＣＨ$_2$ＮＨＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$Ｎ（ＣＨ$_3$）ＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$ＮＨＣＯ、ＣＯＯ、ＳＯ$_2$、またはＣＯであり、
Ｒ$_9$は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、またはアリールである］と
を含む、請求項１に記載の医薬組成物。

【請求項１９】

前記式ＩＩの化合物が、化合物２

【化１２７】



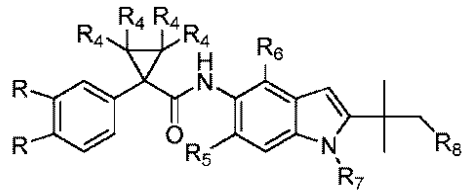
化合物 2

を含む、請求項１８に記載の医薬組成物。

【請求項２０】

上皮型ナトリウムチャネル阻害剤と、式ＩＩＩの化合物

【化１２８】



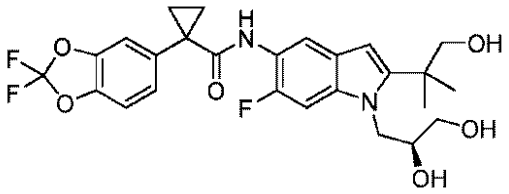
式 III

または薬学的に許容されるその塩［式中、
各Ｒは、独立して、Ｈ、ＯＨ、もしくはＯＣＨ$_3$であるか、または２つのＲが一緒になって－ＯＣＨ$_2$Ｏ－または－ＯＣＦ$_2$Ｏ－を形成し、
各Ｒ$_4$は、独立して、Ｈまたはアルキルであり、
Ｒ$_5$は、ＨまたはＦであり、
Ｒ$_6$は、ＨまたはＣＮであり、
Ｒ$_7$は、Ｈ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｎ$^+$（ＣＨ$_3$）$_3$、または－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＨであり、
Ｒ$_8$は、Ｈ、ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＯＨであるか、またはＲ$_7$およびＲ$_8$は一緒になって、５員環を形成する］と
を含む、請求項１に記載の医薬組成物。

【請求項２１】

前記式ＩＩＩの化合物が、化合物３

【化１２９】



化合物 3

を含む、請求項２０に記載の医薬組成物。

【請求項２２】

前記ＥＮａＣ阻害剤が、アミロリド、ベンザミル、ジメチル－アミロリド、ＰＣＴ／ＥＰ２００６／００３３８７；ＰＣＴ／ＥＰ２００６／０１２３１４およびＰＣＴ／ＥＰ２００６／０１２３２０のＥＮａＣ阻害剤化合物、式ＩＶの１つの化合物、または薬学的に許容されるその塩、エナンチオマーおよび互変異性体から選択される、請求項１から２１のいずれか一項に記載の医薬組成物。

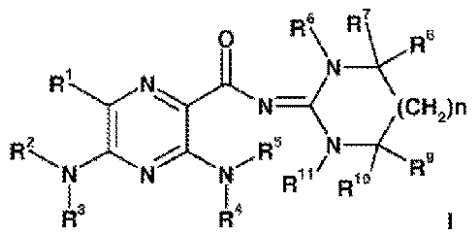
【請求項２３】

前記ＥＮａＣ阻害剤がアミロリドである、請求項２２に記載の医薬組成物。

【請求項２４】

化合物１、化合物２、または化合物３のうちの少なくとも１つと、式ＩＶの少なくとも１つの化合物

【化１３０】



式 IV

または薬学的に許容されるその塩（式中、
R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}およびR^{11}は、それぞれ独立して、Ｈ；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているアリール；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；あるいは、アリール基、１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{10}炭素環式基、または１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基で必要に応じて置換されているC_1～C_8アルキルから選択される）と
を含む医薬組成物。

【請求項２５】

表Ｉに記載のＡ欄、Ｂ欄およびＣ欄からの少なくとも１つの成分と、表ＩのＤ欄からの少なくとも１つの成分とを含む医薬組成物。

【表１－４】

A欄 実施形態		B欄 実施形態		C欄 実施形態		D欄 実施形態	
セクション		セクション	表題	セクション	表題	セクション	表題
II.A.1.	式Iの化合物	II.B.1.	式IIの化合物	II.C.1.	式IIIの化合物	II.D.1.	ENaC化合物
II.A.2.	化合物 1	II.B.2.	化合物 2	II.C.2.	化合物 3	II.D.2	式IVのENaC化合物

【請求項２６】

前記Ａ欄の成分が化合物１であり、前記Ｂ欄の成分が化合物２であり、前記Ｃ欄の成分が化合物３であり、前記Ｄ欄の成分が式ＩＶの化合物である、請求項２５に記載の医薬組成物。

【請求項２７】

化合物１と、式ＩＶの化合物とを含む、請求項２５または２６のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項２８】

化合物２と、式ＩＶの化合物とを含む、請求項２５から２７のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項２９】

化合物３と、式ＩＶの化合物とを含む、請求項２５から２８のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項３０】

ヒトにおけるＣＦＴＲ媒介性疾患を治療する方法であって、請求項１から２９のいずれかに記載の医薬組成物の有効量を、該ヒトに投与するステップを含む方法。

【請求項３１】

前記ＣＦＴＲ媒介性疾患が、嚢胞性線維症、喘息、煙誘発性ＣＯＰＤ、慢性気管支炎、鼻副鼻腔炎、便秘、膵炎、膵臓不全、先天性両側精管欠損症（ＣＢＡＶＤ）によって引き起こされる男性不妊、軽度の肺疾患、特発性膵炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症（ＡＢＰＡ）、肝疾患、遺伝性肺気腫、遺伝性血色症、凝固－線溶欠乏症、例えばプロテインＣ欠乏症、１型遺伝性血管性浮腫、脂質処理欠損症、例えば家族性高コレステロール血症、１型カイロミクロン血症、無βリポタンパク質血症、脂肪蓄積症、例えばＩ－細胞病／偽ハーラー症候群、ムコ多糖体代謝異常、サンドホフ／テイサックス、クリグラーナジャーＩＩ型、多腺性内分泌障害／高インスリン血症、糖尿病、ラロン小人症、ミエ

ロペルオキシダーゼ欠損症、原発性副甲状腺機能低下症、メラノーマ、グリカノシスＣＤＧ１型、先天性甲状腺機能亢進症、骨形成不全症、遺伝性低フィブリノゲン血症、ＡＣＴ欠損症、尿崩症（ＤＩ）、神経身体的ＤＩ、腎性ＤＩ、シャルコーマリーツース症候群、ペリツェウスメルツバッハー病、神経変性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、ピック病、数種のポリグルタミン神経障害、例えばハンチントン病、脊髄小脳失調症Ｉ型、脊髄性および延髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体、および筋緊張性ジストロフィー、ならびに海綿状脳症、例えば遺伝性クロイツフェルトヤコブ病（プリオンタンパク質プロセシング欠陥が原因）、ファブリ病、ストロイスラーシャインカー症候群、ＣＯＰＤ、ドライアイ疾患、またはシェーグレン症候群、骨粗鬆症、骨減少症、骨癒合および骨増殖（骨修復、骨再生、骨吸収の減少および骨沈着の増加を含む）、ゴーハム症候群、クロライドチャネル病、例えば先天性ミオトニー（トムソンおよびベッカー型）、バーター症候群ＩＩＩ型、デント病、驚愕過剰症、てんかん、びっくり病、リソソーム蓄積症、アンジェルマン症候群、ならびに内臓逆位を伴うＰＣＤ（カールタジュナー症候群としても公知）、内臓逆位を伴わないＰＣＤおよび毛様体形成不全を含む繊毛の構造および／または機能の遺伝性障害に対する用語である原発性線毛機能不全（ＰＣＤ）から選択される、請求項３０に記載の方法。

【請求項３２】

前記ＣＦＴＲ媒介性疾患が嚢胞性線維症、ＣＯＰＤ、肺気腫、または骨粗鬆症である、請求項３０または３１のいずれかに記載の方法。

【請求項３３】

前記ＣＦＴＲ媒介性疾患が嚢胞性線維症である、請求項３０から３２のいずれかに記載の方法。

【請求項３４】

前記患者が、ヒトＣＦＴＲの変異である、ΔＦ５０８、Ｒ１１７Ｈ、およびＧ５５１Ｄのうちの１つまたは複数を保有する、請求項３０から３３のいずれかに記載の方法。

【請求項３５】

ヒトＣＦＴＲの前記ΔＦ５０８変異を保有する患者において、嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含む、請求項３０から３４のいずれかに記載の方法。

【請求項３６】

ヒトＣＦＴＲの前記Ｇ５５１Ｄ変異を保有する患者において、嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含む、請求項３０から３５のいずれかに記載の方法。

【請求項３７】

少なくとも１つの対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲの前記ΔＦ５０８変異を保有する患者において、嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含む、請求項３０から３６のいずれかに記載の方法。

【請求項３８】

両方の対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲの前記ΔＦ５０８変異を保有する患者において、嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含む、請求項３０から３７のいずれかに記載の方法。

【請求項３９】

少なくとも１つの対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲの前記Ｇ５５１Ｄ変異を保有する患者において、嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含む、請求項３０から３８のいずれかに記載の方法。

【請求項４０】

両方の対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲの前記Ｇ５５１Ｄ変異を保有する患者において、嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含む、請求項３０から３９のいずれかに記載の方法。

【請求項４１】

表Ｉに記載のＡ欄、Ｂ欄、およびＣ欄のうちの少なくとも１つの化合物と、Ｄ欄の少なくとも１つの化合物とを含む医薬組成物を含むキット。
【請求項４２】
化合物１と、式ＩＶの化合物とを含む、請求項４１に記載のキット。
【請求項４３】
化合物２と、式ＩＶの化合物とを含む、請求項４２に記載のキット。
【請求項４４】
化合物３と、式ＩＶの化合物とを含む、請求項４３に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願への相互参照
本出願は、２００９年１０月２２日に出願された米国仮特許出願第６１／２５４，１８０号の利益を主張する。この参照された出願の開示は、本明細書においてその全体が参照として援用される。
【０００２】
技術分野
本発明は、嚢胞性線維症（ＣＦ）および他の慢性疾患の治療のための組成物、この組成物を調製するための方法、ならびに上皮膜全域の液量の調節に影響を与える慢性疾患を含む、ＣＦおよび他の慢性疾患の治療のための組成物を使用するための方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
背景
嚢胞性線維症（ＣＦ）は、米国では約３０，０００人の小児および大人、ならびに欧州では約３０，０００人の小児および大人が罹患している劣性遺伝性疾患である。ＣＦ治療の進歩にもかかわらず、治療法はない。
【０００４】
ＣＦは、様々な組織における塩ならびに水の吸収および分泌の調節を支援することに関与している上皮の塩化物イオンチャネルをコードする嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（ＣＦＴＲ）遺伝子の変異により引き起こされる。ＣＦＴＲチャネル開口の確率を増加させる増強剤として公知の小分子薬物は、ＣＦを治療する１つの潜在的な治療ストラテジーを示す。このタイプの増強剤は、その全体が本明細書中に参照により組み込まれている特許文献１において開示されている。別の潜在的な治療ストラテジーは、ＣＦＴＲチャネルの数および機能を増加させるＣＦ矯正因子として公知の小分子薬物を含む。このタイプの矯正因子は、その全体が本明細書中に参照により本明細書中に組み込まれている特許文献２において開示されている。
【０００５】
具体的に、ＣＦＴＲは、吸収上皮細胞および分泌上皮細胞を含む様々な細胞のタイプにおいて発現するｃＡＭＰ／ＡＴＰ媒介性陰イオンチャネルであり、吸収上皮細胞および分泌上皮細胞において、ＣＦＴＲは、膜全域で陰イオンフラックス、ならびに他のイオンチャネルおよびタンパク質の活性を調節する。上皮組織細胞において、ＣＦＴＲの正常な機能は、呼吸組織および消化組織を含む全身への電解液輸送を維持するために非常に重要である。ＣＦＴＲは、それぞれ６つの膜貫通ヘリックスおよびヌクレオチド結合ドメインを含有する、膜貫通ドメインのタンデム反復から構成されるタンパク質をコードする、約１４８０アミノ酸から構成される。これら２つの膜貫通ドメインは、大きな、極性の、調節性（Ｒ）－ドメインによって、チャネル活性および細胞トラフィッキングを調節する複数のリン酸化部位と連結している。
【０００６】
ＣＦＴＲをコードしている遺伝子は、同定され、配列が決定している（Gregory, R.J.ら（１９９０年）Nature、３４７巻：３８２～３８６頁；Rich, D. P.ら（１９９０年

）Nature、３４７巻：３５８～３６２頁）、（Riordan, J. R.ら（１９８９年）Science、２４５巻：１０６６～１０７３頁）。この遺伝子の欠陥は、ヒトにおいて最も一般的な致命的な遺伝性疾患である、嚢胞性線維症（「ＣＦ」）をもたらすＣＦＴＲの変異を引き起こす。嚢胞性線維症は、米国において２，５００人に約１人の幼児が罹患している。米国の一般集団において、最大１０００万人の人々が、明らかな病気の影響なしに、欠陥遺伝子の１つのコピーを保持する。対照的に、ＣＦ関連の遺伝子の２つのコピーを有する個体は、慢性肺疾患を含む、ＣＦの衰弱性かつ致命的な影響を被る。

【０００７】

ＣＦを有する患者において、呼吸上皮に内因的に発現するＣＦＴＲの変異は、イオンおよび流体輸送の不均衡を引き起こす頂端陰イオン分泌の減少をもたらす。陰イオン輸送において結果として生じる低下は、ＣＦ患者において最終的に死を引き起こす、肺内の粘液蓄積増加および付随する微生物感染の原因となる。呼吸器疾患に加えて、ＣＦ患者は通常、胃腸系の問題、および未処置のままであれば、死に至る膵臓不全を患っている。さらに、嚢胞性線維症を有する男性の大部分は、生殖能力が無く、嚢胞性線維症を有する女性の間では受精率が低下する。ＣＦ関連の遺伝子の２つのコピーの重篤な影響とは対照的に、ＣＦ関連遺伝子の１つのコピーを有する個体は、コレラに対する、および下痢から生じる脱水に対する抵抗性の増大を示すが、これはおそらく、集団内のＣＦ遺伝子の比較的高い度数を説明するものである。

【０００８】

ＣＦ染色体のＣＦＴＲ遺伝子の配列分析は、様々な疾患を引き起こす変異を明らかにした（Cutting, G. R.ら（１９９０年）、Nature、３４６巻：３６６～３６９頁；Dean, M.ら（１９９０年）Cell、６１巻：８６３号：８７０頁；およびKerem, B-S.ら（１９８９年）Science２４５巻：１０７３～１０８０頁；Kerem, B-Sら（１９９０年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、８７巻：８４４７～８４５１頁）。今日までに、ＣＦ遺伝子における１０００を超える、疾患を引き起こす変異が同定された（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｔ．ｓｉｃｋｋｉｄｓ．ｏｎ．ｃａ／ｃｆｔｒ／ａｐｐ）。最も優勢な変異は、ＣＦＴＲアミノ酸配列の５０８位のフェニルアラニンの欠失であり、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲと一般的に呼ばれている。この変異は、嚢胞性線維症の症例の約７０％で生じ、重症の疾患に関連している。

【０００９】

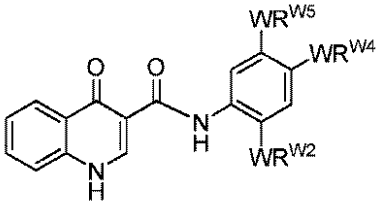
ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの残基５０８の欠失は、発生しようとしているタンパク質が正しく折りたたまれるのを妨げる。これによって、変異タンパク質がＥＲを出て、原形質膜にトラフィッキングできないようになる。その結果、膜内に存在するチャネルの数は、野生型ＣＦＴＲを発現する細胞において認められる数よりもはるかに少ない。トラフィッキングが損なわれることに加えて、変異は、チャネル開閉の不良をもたらす。膜内チャネル数の低下および開閉不良が一緒になって、上皮組織の全域で陰イオン輸送を減少させ、イオンおよび流体輸送の不良をもたらす。（Quinton, P. M.（１９９０年）、FASEB J.４巻：２７０９～２７２７頁）。しかし研究により、膜内の低下した数のΔＦ５０８－ＣＦＴＲは、野生型ＣＦＴＲより少ないにもかかわらず、機能的であることが示された（Dalemansら（１９９１年）、Nature Lond.３５４巻：５２６～５２８頁；Denningら、上記を参考；PasykおよびFoskett（１９９５年）、J. Cell. Biochem.、２７０巻：１２３４７～５０頁）。ΔＦ５０８－ＣＦＴＲに加えて、トラフィッキング、合成、および／またはチャネル開閉の不良をもたらす、疾患を引き起こす他のＣＦＴＲの変異は、アップレギュレートまたはダウンレギュレートによって、陰イオン分泌を変化させ、病気の進行および／または重症度を修正することができた。

【００１０】

ＣＦＴＲは、陰イオンに加えて様々な分子を輸送するが、この役割（陰イオンの輸送）が、上皮全域に渡りイオンおよび水を輸送する重要な機序の一要素を表すことは明白である。他の要素として、上皮Ｎａ＋チャネル（「ＥＮａＣ」）、Ｎａ＋／２Ｃｌ－／Ｋ＋共輸送体、Ｎａ＋－Ｋ＋－ＡＴＰａｓｅポンプおよび側底細胞膜Ｋ＋チャネルが挙げられ、

これらは細胞への塩化物の取り込みを担う。
【００１１】
これらの要素が一緒に働くことによって、これらの細胞内での選択的発現および局在性を介して、上皮全域に渡り指向性輸送を達成する。塩化物吸収は、頂端膜上に存在するＥＮａＣおよびＣＦＴＲならびに細胞の側底表面上に発現するＮａ＋－Ｋ＋－ＡＴＰａｓｅポンプおよびＣｌ－イオンチャネルの協調された活性によって起こる。管腔側からの塩化物の二次的な能動的輸送は、細胞内塩化物の蓄積をもたらし、次いで塩化物は、Ｃｌ－チャネルを介して受動的に細胞を離れることが可能となり、その結果、ベクトル性の輸送が生じる。側底表面上にＮａ＋／２Ｃｌ－／Ｋ＋共輸送体、Ｎａ＋－Ｋ＋－ＡＴＰａｓｅポンプおよび側底細胞膜Ｋ＋チャネルならびに管腔側にＣＦＴＲという配置は、管腔側のＣＦＴＲを介した塩化物の分泌を調和させる。水はおそらくそれ自体決して能動的に輸送されないので、上皮組織全域に渡るその流れは、ナトリウムおよび塩化物の総体流によって生成される極めて小さな経上皮浸透圧勾配に依存する。
【００１２】
上述のように、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの残基５０８の欠失によって、発生しようとしているタンパク質が正しく折りたたまれないようになり、その結果、この変異タンパク質がＥＲを出て、原形質膜にトラフィッキングできないようになると考えられている。その結果、成熟タンパク質の不十分な量しか原形質膜に存在せず、上皮組織内の塩化物輸送は有意に低下する。実際に、ＥＲ機構によるＣＦモジュレーターのＥＲプロセシングの不良というこの細胞現象は、ＣＦ疾患のみならず、広範囲な他の独立した疾患および遺伝性疾患にとってもその根底にある基礎であることが示された。
【００１３】
ＣＦモジュレーター活性の少なくとも１つのモジュレーターとＥＮａＣ活性の少なくとも１つの阻害剤とを含む、このような組合せ組成物を使用するＣＦモジュレーター／ＥＮａＣ媒介性疾患を治療する方法に対する必要性が存在する。
【００１４】
哺乳動物のエキソビボ細胞膜におけるＣＦモジュレーター活性および／またはＥＮａＣ活性をモジュレートするための方法に対する必要性が存在する。
【００１５】
哺乳動物の細胞膜におけるＣＦＴＲ活性をモジュレートするために使用することができるＣＦＴＲ活性のモジュレーターに対する必要性が存在する。
【００１６】
このようなＣＦＴＲ活性のモジュレーターを使用して、ＣＦＴＲ媒介性疾患を治療するための方法に対する必要性が存在する。
【００１７】
このようなモジュレーター、具体的には、ＥＮａＣ活性阻害剤を使用する、ＥＮａＣ媒介性疾患を治療するための方法に対する必要性が存在する。
【００１８】
哺乳動物のエキソビボ細胞膜におけるＣＦＴＲ活性をモジュレートする方法に対する必要性が存在する。
【先行技術文献】
【特許文献】
【００１９】
【特許文献１】国際公開第２００６／００２４２１号
【特許文献２】国際公開第２００５／０７５４３５号
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【００２０】
要旨
これらおよび他の必要性は、式Ｉ、ＩＩ、またはＩＩＩの化合物と、ＥＮａＣ阻害剤と

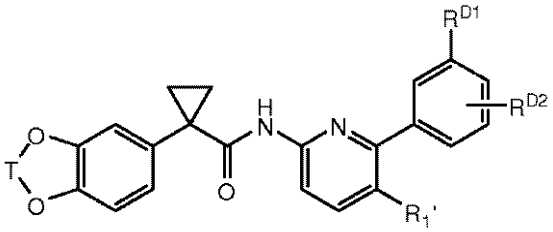
を含む医薬組成物を対象とする本発明により満たされ、ここで、
Ａ　式Ｉの化合物は、
【００２１】
【化１】



式 Ｉ

であるか、または薬学的に許容されるその塩であり（式中、
WR^{W2}およびWR^{W4}のそれぞれは、独立して、ＣＮ、CF_3、ハロ、$C_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、$C_{3\sim12}$員の脂環式、フェニル、５～１０員のヘテロアリールまたは３～７員の複素環式から選択され、前記ヘテロアリールまたは複素環式は、Ｏ、ＳまたはＮから選択される３個までのヘテロ原子を有し、前記WR^{W2}およびWR^{W4}は、－ＯＲ’、$-OCF_3$、$-OCF_3$、ＳＲ’、Ｓ（Ｏ）Ｒ’、SO_2R'、$-SCF_3$、ハロ、ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、$-O(CH_2)_2N(R')_2$、$-O(CH_2)N(R')_2$、$-CON(R')_2$、$-(CH_2)_2OR'$、$-(CH_2)OR'$、$-CH_2CN$、必要に応じて置換されているフェニルもしくはフェノキシ、$-N(R')_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、$-(CH_2)_2N(R')_2$、または$-(CH_2)N(R')_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており；WR^{W5}は、水素、$-OCF_3$、$-CF_3$、－ＯＨ、$-OCH_3$、$-NH_2$、－ＣＮ、$-CHF_2$、－ＮＨＲ’、$-N(R')_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、$-NHSO_2R'$、$-CH_2OH$、$-CH_2N(R')_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、$-SO_2NHR'$、$-SO_2N(R')_2$、または$-CH_2NHC(O)OR'$から選択され、
各Ｒ’は、独立して、$C_{1\sim8}$脂肪族基、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～３個のヘテロ原子を有する３～８員の飽和、部分的に不飽和、もしくは完全に不飽和の単環式環、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～５個のヘテロ原子を有する８～１２員の飽和、部分的に不飽和、もしくは完全に不飽和の二環式環系から選択される、必要に応じて置換されている基から選択されるか、または２つのＲ’が、これらが結合している原子（複数可）と一緒になって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する、必要に応じて置換されている３～１２員の飽和、部分的に不飽和、または完全に不飽和の単環式環または二環式環を形成するが、
ただし、
ｉ）WR^{W2}およびWR^{W4}が、両方とも－Ｃｌであることはなく、
WR^{W2}、WR^{W4}およびWR^{W5}は、$-OCH_2CH_2Ph$でも、$-OCH_2CH_2$（２－トリフルオロメチル－フェニル）でも、$-OCH_2CH_2$－（６，７－ジメトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－２－イル）でも、置換１Ｈ－ピラゾール－３－イルでもない。）、
Ｂ　式ＩＩの化合物は、
【００２２】

【化２】

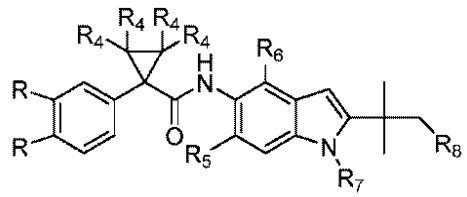


式 II

であるか、または薬学的に許容されるその塩であり（式中、
Ｔは、－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－、－ＣＦ$_2$－、－Ｃ（ＣＨ$_3$）$_2$－、または－Ｃ（Ｏ）－であり、
Ｒ$_1$’は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、ハロ、ＣＦ$_3$、ＣＨＦ$_2$、Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族）であり、
Ｒ^{D1}またはＲ^{D2}は、Ｚ^{D}Ｒ$_9$であり、
Ｚ^{D}は、結合、ＣＯＮＨ、ＳＯ$_2$ＮＨ、ＳＯ$_2$Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、ＣＨ$_2$ＮＨＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$Ｎ（ＣＨ$_3$）ＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$ＮＨＣＯ、ＣＯＯ、ＳＯ$_2$、またはＣＯであり、
Ｒ$_9$は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、またはアリールである。）、
Ｃ　式ＩＩＩの化合物は、

【００２３】

【化３】



式 III

であるか、または薬学的に許容されるその塩（式中、
各Ｒは、独立して、Ｈ、ＯＨ、ＯＣＨ$_3$であるか、または２つのＲが一緒になって、－ＯＣＨ$_2$Ｏ－または－ＯＣＦ$_2$Ｏ－を形成し、
各Ｒ$_4$は、独立して、Ｈまたはアルキルであり、
Ｒ$_5$は、ＨまたはＦであり、
Ｒ$_6$は、ＨまたはＣＮであり、
Ｒ$_7$は、Ｈ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｎ$^+$（ＣＨ$_3$）$_3$、または－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＨであり、
Ｒ$_8$は、Ｈ、ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＯＨであるか、またはＲ$_7$およびＲ$_8$は一緒になって、５員環を形成する。）である。

【００２４】

一態様において、医薬組成物は、ＥＮａＣ阻害剤と、式Ｉ、式ＩＩおよび式ＩＩＩのうちの少なくとも１つの化合物とを含む。

【００２５】

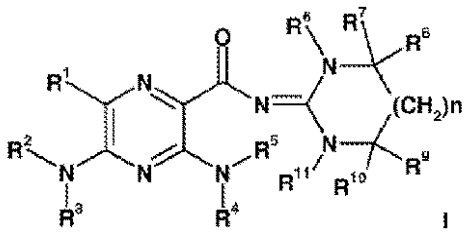
別の態様では、医薬組成物は、式Ｉ、式ＩＩおよび式ＩＩＩのうちの少なくとも１つの化合物と、アミロリド、ベンザミル、ジメチル－アミロリドカモスタット（トリプシン様プロテアーゼ阻害剤）、ＱＡＵ１４５、５５２－０２、ＧＳ－９４１１、ＩＮＯ－４９９５、およびエーロライト（ａｅｒｏｌｙｔｉｃ）から選択されるＥＮａＣ阻害剤とを含む。

【００２６】

別の態様では、ＥＮａＣ阻害剤は、式ＩＶの化合物

【００２７】

【化４】



式 IV

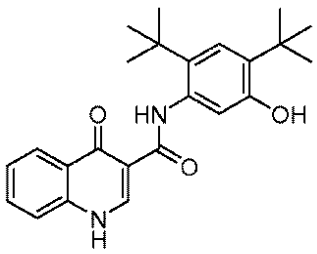
または薬学的に許容されるその塩である。

【００２８】

別の態様では、医薬組成物は、ＥＮａＣ活性阻害剤と化合物１とを含む。

【００２９】

【化５】



化合物 1

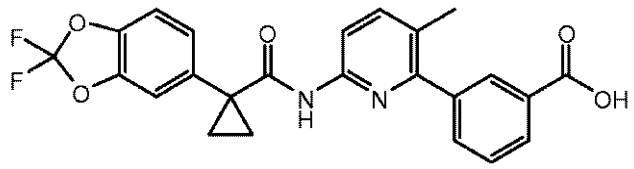
本態様のある実施形態において、ＥＮａＣ阻害剤は、アミロリド、ベンザミル、およびジメチルーアミロリドから選択される。

【００３０】

別の態様では、医薬組成物は、ＥＮａＣ活性阻害剤と化合物２とを含む。

【００３１】

【化６】



化合物 2

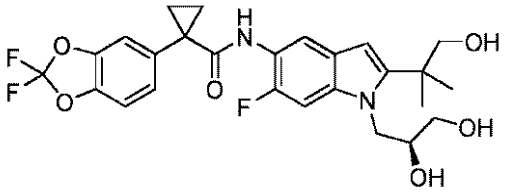
本態様のある実施形態において、ＥＮａＣ阻害剤は、アミロリド、ベンザミル、およびジメチルーアミロリドから選択される。

【００３２】

別の態様では、医薬組成物は、ＥＮａＣ活性阻害剤と化合物３とを含む。

【００３３】

【化７】



化合物 3

本態様のある実施形態において、ＥＮａＣ阻害剤は、アミロリド、ベンザミル、および

ジメチル－アミロリドから選択される。

【００３４】

別の態様では、本発明は、組成物、好ましくは表ＩのＡ欄、または表ＩのＢ欄、または表ＩのＣ欄からの少なくとも１つの成分と、表ＩのＤ欄からの少なくとも１つの成分とを組み合わせて含む医薬組成物を対象とする。これらの成分は、本発明の実施形態として、下記のページの対応するセクションに記載されている。便宜のため、表Ｉは、化合物の実施形態のセクション番号および対応する表題を列挙している。

【００３５】

【表１－１】

A欄 実施形態		B欄 実施形態		C欄 実施形態		D欄 実施形態	
セクション		セクション	表題	セクション	表題	セクション	表題
II.A.1.	式Iの化合物	II.B.1.	式IIの化合物	II.C.1.	式IIIの化合物	II.D.1.	ENaC化合物
II.A.2.	化合物 1	II.B.2.	化合物 2	II.C.2.	化合物 3	II.D.2	式IVの ENaC 化合物

例えば、式Ｉの化合物の実施形態は、本明細書のセクションＩＩ．Ａ．１．において開示されている。

【００３６】

別の例では、式ＩＩの化合物の実施形態は、本明細書のセクションＩＩ．Ｂ．１．において開示されている。

【００３７】

別の例では、式ＩＩＩの化合物の実施形態は、本明細書のセクションＩＩ．Ｃ．１．において開示されている。

【００３８】

別の例では、ＥＮａＣ化合物の実施形態は、本明細書のセクションＩＩ．Ｄ．１．において例示的に記載されている。

【００３９】

本態様のあらゆる実施形態において、Ａ欄に含まれるあらゆる実施形態または実施形態のグループは、第１の成分を含むことができ、Ｄ欄のあらゆる実施形態または実施形態のグループは、第２の成分を含むことができる。

【００４０】

表Ｉに基づく一実施形態において、Ａ欄の成分は化合物１であり、Ｂ欄の成分は化合物２であり、Ｃ欄の成分は化合物３である。

【００４１】

別の態様では、本発明は、ヒトにおけるＣＦＴＲ媒介性疾患を治療する方法を対象とし、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と、表Ｉに記載のＡ、Ｂ、またはＣ欄のうちの少なくとも１つから選択されるＣＦモジュレーター成分とを含む医薬組成物の有効量をヒトに投与することを含む。

【００４２】

本発明の薬学的に許容される組成物は、ＣＦモジュレーター活性またはｃＡＭＰ／ＡＴＰ媒介性陰イオンチャネルのモジュレーター、嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（「ＣＦＴＲ」）およびＥＮａＣ活性モジュレーターの組合せを含むことが現在判明している。

【００４３】
別の態様では、組合せ化合物は、ＣＦモジュレーターおよび／またはＥＮａＣにより媒介される様々な疾患および障害を治療するために提供される。この組合せ組成物は、式Ｉ、ＩＩおよびＩＩＩのうちの１つまたは複数に対応するＣＦモジュレーターのモジュレーターおよびＥＮａＣ阻害剤、例えば、式ＩＶの化合物を含むことができる。ＣＦモジュレーターおよび／またはＥＮａＣにより媒介される前記様々な疾患および障害を治療するための方法は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分および表Ｉに記載のＡ、Ｂ、またはＣ欄のうちの少なくとも１つから選択されるＣＦモジュレーター成分の組合せを含むが、個々の活性物質を、単回投与単位で投与しても、別々の用量単位として投与しても、同時に投与してもよいし、または必要に応じて、他の投与の特定の時間枠内で順次投与してもよい。
【００４４】
別の態様では、本発明は、ヒトにおけるＣＦＴＲ媒介性疾患を治療する方法を対象とし、表Ｉに記載のＤ欄のＥＮａＣ阻害成分および化合物１、２、または３のうちの少なくとも１つの有効量をヒトに投与することを含む。
【００４５】
別の態様では、本発明は、ヒトにおけるＣＦＴＲ媒介性疾患を治療する方法を対象とし、表Ｉに記載のＤ欄のＥＮａＣ阻害成分およびＡ、Ｂ、またはＣ欄のうちの少なくとも１つの固体形態成分の有効量をヒトに投与することを含む。
【００４６】
本明細書に記載されている医薬組成物を使用して、失調症または機能不全のＣＦモジュレーター活性またはｃＡＭＰ／ＡＴＰ媒介性陰イオンチャネルおよび上皮型ナトリウムチャネル（ＥＮａＣ）活性により媒介される、ＣＦおよび他の慢性疾患を治療するための方法が提供される。
【００４７】
別の態様では、本発明は、ヒトにおけるＣＦＴＲ媒介性疾患の治療のためのキットを対象とし、このキットは、表Ｉに記載のＤ欄のＥＮａＣ阻害成分およびＡ、Ｂ、またはＣ欄のうちの少なくとも１つから選択されるＣＦモジュレーター成分、ならびに必要に応じて、前記疾患の治療のための医薬組成物を調製および投与するための指示書を含む。
【００４８】
表Ｉに列挙した様々な成分は、米国特許第７，７４１，３２１号、米国特許第７，６４５，７８９号、米国特許第７，４９５，１０３号、米国特許第７，７７６，９０５号、米国特許第７，６５９，２６８号、米国特許出願公開第ＵＳ２００７／０２４４１５９Ａ１号、ＵＳ２００８／０１１３９８５Ａ１、ＵＳ２００８／００１９９１５Ａ１、ＵＳ２００８／０３０６０６２Ａ１、ＵＳ２００６／００７４０７５Ａ１およびＵＳ２００９／０１３１４９２Ａ１において開示され、見出すことができ、上記の公開された特許出願および特許のすべての内容は、その全体が本明細書中に参照により組み込まれている。
【発明を実施するための形態】
【００４９】
詳細な説明
本発明は、同時に、別々に、または連続して使用するための、特にＣＦＴＲおよびＥＮａＣで媒介される状態、ＣＦモジュレーターおよび／またはＣＦＴＲ活性によって直接引き起こされる状態の予防、進行の遅延または治療、ならびにＣＦモジュレーターおよび／またはＣＦＴＲ陰イオンチャネル活性により直接引き起こされない疾患の症状の軽減において使用するための、組合せ、特に薬学的組合せ、例えば、１）ＡＴＰ結合カセット（ＡＴＰ－Ｂｉｎｄｉｎｇ　Ｃａｓｓｅｔｔｅ、「ＡＢＣ」）トランスポーターまたはそのフラグメントのモジュレーター（嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（「ＣＦＴＲ」）を含む）と、２）上皮型ナトリウムチャネル阻害剤（「ＥＮａＣ」）とをそれぞれ含む、組合せ調製物または医薬組成物などに関する。その症状はＣＦモジュレーター、例えばＣＦＴＲおよび／またはＥＮａＣ活性などにより影響を受け得る疾患の例として、これらに限らないが、嚢胞性線維症、遺伝性気腫、遺伝性血色症、凝固－線溶欠乏症（ｃｏａｇｕ

ｌａｔｉｏｎ－ｆｉｂｒｉｎｏｌｙｓｉｓ　ｄｅｆｉｃｉｅｎｃｉｅｓ）、例えばプロテインＣ欠乏症、１型遺伝性血管性浮腫、脂質処理欠損症、例えば家族性高コレステロール血症、１型カイロミクロン血症、無βリポタンパク質血症、リソソーム蓄積症、脂肪蓄積症、例えばＩ－細胞病／偽ハーラー症候群、ムコ多糖体代謝異常、サンドホフ（Sandhof）／テイサックス、クリグラー－ナジャーＩＩ型、多腺性内分泌障害／高インスリン血症、糖尿病、ラロン小人症、ミエロペルオキシダーゼ欠損症、原発性副甲状腺機能低下症、メラノーマ、グリカノシスＣＤＧ１型、遺伝性気腫、先天性甲状腺機能亢進症、骨形成不全症、遺伝性低フィブリノゲン血症、ＡＣＴ欠損症、尿崩症（ＤＩ）、神経身体的ＤＩ、腎性ＤＩ、シャルコー－マリーツース症候群、ペリツェウスメルツバッハー病、神経変性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、ピック病、数種のポリグルタミン神経障害、例えば、ハンチントン病、脊髄小脳失調症Ｉ型、脊髄性および延髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体、および筋緊張性ジストロフィー、ならびに海綿状脳症、例えば遺伝性クロイツフェルトヤコブ病、ファブリ病、ストロイスラー－シャインカー症候群、ＣＯＰＤ、ドライアイ疾患、ならびにシェーグレン症候群などが挙げられる。ある実施形態において、本発明はまた、活性物質のそのような組合せの使用を、医薬組成物の調製を、そのような状態、疾患および障害の予防、進行の遅延または治療を、哺乳動物の治療のためのそのような組合せを含むキットの提供を提供する。

【００５０】

定義

本明細書で使用する場合、他に指示されない限り、以下の定義が適用されるものとする。

【００５１】

「ＡＢＣトランスポーター」という用語は、本明細書で使用する場合、少なくとも１つの結合ドメインを含むＡＢＣトランスポータータンパク質またはそのフラグメントを意味し、前記タンパク質またはそのフラグメントは、インビボまたはインビトロで存在する。「結合ドメイン」という用語は、本明細書で使用する場合、モジュレーターに結合し得るＡＢＣトランスポーター上のドメインを意味する。例えば、Hwang, T. C.ら、J. Gen. Physiol.（１９９８年）：１１１巻（３号）、４７７～９０頁を参照されたい。

【００５２】

「ＣＦＴＲ」という用語は、本明細書で使用する場合、レギュレーター活性が可能な嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子またはその変異体を意味し、ΔＦ５０８　ＣＦＴＲ、Ｒ１１７Ｈ　ＣＦＴＲ、ならびにＧ５５１Ｄ　ＣＦＴＲ（例えば、ＣＦＴＲ変異については、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｔ．ｓｉｃｋｋｉｄｓ．ｏｎ．ｃａ／ｃｆｔｒ／を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。

【００５３】

本明細書で使用する場合、「活性医薬成分」または「ＡＰＩ」という用語は、生物活性化合物を指す。例となるＡＰＩとして、ＣＦ増強剤Ｎ－［２，４－ビス（１，１－ジメチルエチル）－５－ヒドロキシフェニル］－１，４－ジヒドロ－４－オキソキノリン－３－カルボキサミド（化合物１）およびＮ－（４－（７－アザビシクロ［２．２．１］ヘプタン－７－イル）－２－（トリフルオロメチル）フェニル）－４－オキソ－５－（トリフルオロメチル）－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボキサミド（化合物２）などが挙げられる。例となるＡＰＩとして、ＣＦ矯正因子である３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸（化合物３）および（Ｒ）－１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）－Ｎ－（１－（２，３－ジヒドロキシプロピル）－６－フルオロ－２－（１－ヒドロキシ－２－メチルプロパン－２－イル）－１Ｈ－インドール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド（化合物３）なども挙げられる。

【００５４】

「モジュレートする」という用語は、本明細書で使用する場合、測定可能な量だけ増加または減少させることを意味する。

【００５５】

「正常なＣＦＴＲ」または「正常なＣＦＴＲ機能」という用語は、本明細書で使用する場合、環境因子、例えば喫煙、汚染、または肺の中に炎症を起こす何かが原因の任意の機能障害のない野生型様ＣＦＴＲを意味する。

【００５６】

「低下したＣＦＴＲ」または「低下したＣＦＴＲ機能」という用語は、本明細書で使用する場合、正常なＣＦＴＲより少ないまたは正常なＣＦＴＲ機能より少ないことを意味する。

【００５７】

本明細書で使用する場合、「アモルファス」という用語は、その分子の位置が長い領域において整列していない固体物質を指す。アモルファスの固体は、一般的に極低温液体であり、この液体の中で、分子は、例えば分子充填など、明確な配置がなく、長い領域において整列していないように、ランダムな形式で並べられている。アモルファス固体は、一般的に等方性、すなわちすべての方向において同様の特性を示し、明確な融点を有していない。例えば、アモルファス物質は、その粉末Ｘ線回折（ＸＲＰＤ）パターンにおいて、鋭い特徴的な結晶ピーク（複数可）を有さない固体物質である（すなわち、ＸＲＰＤによって判定される通り結晶ではない）。代わりに、そのＸＲＰＤパターンにおいて、１つまたはいくつかのブロードなピーク（例えば、ハロー（halo））が出現する。ブロードなピークは、アモルファス固体の特徴である。アモルファス物質と結晶物質のＸＲＰＤの比較については、ＵＳ２００４／０００６２３７を参照されたい。

【００５８】

本明細書で使用する場合、「実質的にアモルファス」という用語は、その分子の位置が、長い領域においてわずかしか整列していないか、または長い領域においてまったく整列していない固体物質を指す。例えば、実質的にアモルファスの物質は、約１５％未満の結晶化度（例えば、約１０％未満の結晶化度または約５％未満の結晶化度）を有する。「実質的にアモルファス」という用語は、「アモルファス」という記述子を含み、これは、結晶化度を有していない（０％）物質を指すことも注意されたい。

【００５９】

本明細書で使用する場合、「分散体」という用語は、１つの物質、分散相が、第２の物質の至るところに（連続相またはビヒクル）、別個のユニットで分配されている分散系を指す。分散相のサイズは、かなり変わり得る（例えば単一の分子、ナノメートルの大きさのコロイド粒子から、数ミクロンの大きさまで）。一般的に、分散相は固体、液体または気体であってよい。固体分散体の場合、分散相および連続相は両方とも固体である。薬学的用途において、固体分散体として挙げられるのは、アモルファスポリマー中のアモルファス薬物；結晶ポリマー中のアモルファス薬物；アモルファスポリマー中の結晶薬物；または結晶ポリマー中の結晶薬物である。本発明において、固体分散体として、アモルファスポリマー中のアモルファス薬物または結晶ポリマー中のアモルファス薬物を挙げることができる。ある実施形態において、固体分散体は、分散相を構成するポリマーと、連続相を構成する薬物とを含む。または、固体分散体は、分散相を構成する薬物と、連続相を構成するポリマーとを含む。

【００６０】

本明細書で使用する場合、「固体分散体」という用語は、一般的に、２つ以上の成分、通常１つまたは複数の薬物（例えば，１つの薬物（例えば、化合物１））とポリマーの固体分散体を指すが、他の成分、例えば界面活性剤または他の薬学的添加剤などを場合により含有し、この薬物（複数可）（例えば、化合物１）は、実質的にアモルファスの結晶薬物（例えば、Ｎ－［２，４－ビス（１，１－ジメチルエチル）－５－ヒドロキシフェニル］－１，４－ジヒドロ－４－オキソキノリン－３－カルボキサミド）（例えば，約１５％以下（例えば、約１０％以下、または約５％以下）の結晶薬物を有する）またはアモルフ

ァスであり（すなわち、結晶薬物を有していない）、実質的にアモルファスのまたはアモルファスの薬物の物理学的安定度および／または溶解および／または溶解度は他の成分により増強される。固体分散体は、通常、適切な担体媒体、例えば固体担体などの中に分散した化合物を含む。例えば、担体は、ポリマー（例えば、水溶性ポリマーまたは部分的に水溶性のポリマー）を含み、任意選択の添加剤、例えば機能性添加剤（例えば、１種または複数種の界面活性剤）または非機能性添加剤（例えば、１種または複数種の充填剤）などを含むことができる。固体分散体の別の例は、Ｎ－［２，４－ビス（１，１－ジメチルエチル）－５－ヒドロキシフェニル］－１，４－ジヒドロ－４－オキソキノリン－３－カルボキサミドと、少なくとも１つのポリマーとの共沈物または共溶融物である。

【００６１】

「共沈物」は、薬物とポリマーを溶媒または溶媒混合物中に溶解させた後、この溶媒または溶媒混合物を除去した後の生成物である。時々ポリマーは、溶媒または溶媒混合物中に懸濁させることができる。溶媒または溶媒混合物として、有機溶媒および超臨界流体が挙げられる。「共溶融物」は、必要に応じて溶媒または溶媒混合物の存在下で、薬物とポリマーを加熱して溶融させ、続いて混合し、適用可能ならば、溶媒の少なくとも一部を除去し、選択された速度で室温まで冷却した後の生成物である。

【００６２】

本明細書で使用する場合、「結晶」とは、結晶固体が確固とした長い領域において整列するように、構造単位が固定された幾何学的パターンまたは格子状に配置されている化合物または組成物を指す。結晶構造を構成する構造単位は、原子、分子、またはイオンであってよい。結晶固体は、明確な融点を示す。

【００６３】

本明細書で使用する場合、「実質的に結晶」という句は、確固とした長い領域において整列している、固定された幾何学的パターンまたは格子状に配置されている固体物質を意味する。例えば、実質的に結晶の物質は、約８５％を超える結晶化度（例えば、約９０％超の結晶化度または約９５％超の結晶化度）を有する。「実質的に結晶」という用語は、「結晶」という記述子を含むことも注意されたい。これは以前の段落において定義されている。

【００６４】

本明細書で使用する場合、「結晶化度」は、固体内の構造的整列の程度を指す。例えば、化合物１は実質的にアモルファスであり、約１５％未満の結晶化度を有するか、またはその固体構造が約１５％未満の結晶である。別の例では、化合物１は、アモルファスであり、結晶化度はゼロ（０％）である。

【００６５】

本明細書で使用する場合、「添加剤」は、医薬組成物における不活性な成分である。添加剤の例として、充填剤または賦形剤、界面活性剤、結合剤、流動促進剤、滑沢剤、崩壊剤などが挙げられる。

【００６６】

本明細書で使用する場合、「崩壊剤」は、医薬組成物を水和させ、錠剤の分散を補助する添加剤である。崩壊剤の例として、クロスカルメロースナトリウムおよび／またはデンプングリコール酸ナトリウムが挙げられる。

【００６７】

本明細書で使用する場合、「賦形剤」または「充填剤」は、医薬組成物にかさを付加する添加剤である。充填剤の例として、ラクトース、ソルビトール、セルロース、リン酸カルシウム、デンプン、糖（例えば、マンニトール、ショ糖など）またはこれらの任意の組合せが挙げられる。

【００６８】

本明細書で使用する場合、「界面活性剤」は、医薬組成物に増強した溶解度および／または湿潤性（wetability）を付与する添加剤である。界面活性剤の例として、ラウリル硫酸ナトリウム（ＳＬＳ）、フマル酸ステアリルナトリウム（ＳＳＦ）、ポリオキシエチレ

ン２０ソルビタンモノオレエート（例えば、Ｔｗｅｅｎ（商標））、またはこれらの任意の組合せが挙げられる。

【００６９】

本明細書で使用する場合、「結合剤」とは、医薬組成物に増強された接着性または引っ張り強度（例えば、硬さ）を付与する添加剤である。結合剤の例として、リン酸カルシウム、ショ糖、トウモロコシ（ｃｏｒｎ）（トウモロコシ（ｍａｉｚｅ））デンプン、微結晶性セルロース、および修飾セルロース（例えば、ヒドロキシメチルセルロース）が挙げられる。

【００７０】

本明細書で使用する場合、「流動促進剤」は、医薬組成物に増強された流れ特性を付与する添加剤である。流動促進剤の例として、コロイド状シリカおよび／またはタルクが挙げられる。

【００７１】

本明細書で使用する場合、「着色剤」は、医薬組成物に所望の呈色を付与する添加剤である。着色剤の例として、市販の顔料、例えばＦＤ＆Ｃ　Ｂｌｕｅ　＃１　Ａｌｕｍｉｎｕｍ　Ｌａｋｅ、ＦＤ＆Ｃ　Ｂｌｕｅ　＃２、他のＦＤ＆Ｃ　Ｂｌｕｅ着色剤、二酸化チタン、酸化鉄、および／またはこれらの組合せが挙げられる。

【００７２】

本明細書で使用する場合，「滑沢剤」は、錠剤に圧縮される医薬組成物に付加される添加剤である。滑沢剤は、粒剤の錠剤への圧縮およびダイプレスからの医薬組成物の錠剤の排出を補助する。滑沢剤の例として、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸（ステアリン）、硬化油、フマル酸ステアリルナトリウム、またはこれらの任意の組合せが挙げられる。

【００７３】

本明細書で使用する場合、「脆砕性」とは、外部からの圧力が加わったとしても、錠剤が無傷のままであり、その形態を保持する特性を指す。脆砕性は、式１に提示した数学的表現を使用して、定量化することができる：

【００７４】

【数１】

$$\text{脆砕性\%} = 100 \times \frac{(W_0 - W_f)}{W_0} \qquad (1)$$

（式中、W_0は錠剤の元の重量であり、W_fは、破砕性測定器を通した後の錠剤の最終の重量である）。

【００７５】

脆砕性は、実験錠剤を１００回転させる標準ＵＳＰ試験装置を使用して測定する。本発明のいくつかの錠剤は、約１％未満の脆砕性を有する（例えば、約０．７５％未満、約０．５０％未満、または約０．３０％未満）。

【００７６】

本明細書で使用する場合、「平均粒径」とは、レーザー光散乱、イメージ分析、またはふるい分折などの技法を使用して測定された平均粒径である。

【００７７】

本明細書で使用する場合、「かさ密度」は、物質の粒子の質量を粒子が占める全体積で割ったものである。全体積は、粒子体積、粒子間空隙体積および内部細孔体積を含む。かさ密度は、物質の内因性の特性ではなく、物質がどのように処理されるかに応じて変化し得る。

【００７８】

「脂肪族」または「脂肪族基」という用語は、本明細書で使用する場合、完全に飽和しているか、または１つもしくは複数の不飽和ユニットを含有する、直鎖（すなわち、非有枝鎖状）もしくは有枝鎖状である、置換もしくは非置換炭化水素鎖を意味するか、または

完全に飽和しているか、または１つもしくは複数の不飽和ユニットを含有するが、芳香族ではなく、そして、残りの分子への単一の結合点を有する、単環式炭化水素または二環式炭化水素（本明細書中で「炭素環」「脂環式」または「シクロアルキル」とも呼ばれる）を意味する。他に特定されていない限り、脂肪族基は、１～２０個の脂肪族の炭素原子を含有する。ある実施形態において、脂肪族基は、１～１０個の脂肪族炭素原子を含有する。他の実施形態において、脂肪族基は、１～８個の脂肪族炭素原子を含有する。さらなる他の実施形態において、脂肪族基は、１～６個の脂肪族炭素原子を含有し、さらに他の実施形態において、脂肪族基は、１～４個の脂肪族炭素原子を含有する。ある実施形態において、「脂環式」（または「炭素環」もしくは「シクロアルキル」）は、完全に飽和しているか、または１つもしくは複数の不飽和ユニットを含有するが、芳香族ではなく、残りの分子との単一の結合点を有する、単環式のC_3～C_8炭化水素または二環式もしくは三環式のC_8～C_{14}炭化水素を指し、前記二環式環系内の任意の個々の環は３～７員環である。適切な脂肪族基として、これらに限らないが、直鎖または有枝鎖状である、置換または非置換アルキル基、アルケニル基、アルキニル基およびそのハイブリッド、例えば（シクロアルキル）アルキル、（シクロアルケニル）アルキルまたは（シクロアルキル）アルケニルが挙げられる。適切な脂環式基として、シクロアルキル、二環式シクロアルキル（例えば、デカリン）、架橋型ビシクロアルキル、例えばノルボルニルまたは［２．２．２］ビシクロ－オクチル、または架橋型三環式、例えばアダマンチルなどが挙げられる。

【００７９】

「ヘテロ脂肪族」という用語は、本明細書で使用する場合、１または２個の炭素原子が独立して、１つまたは複数の酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素によって置き換えられている脂肪族基を意味する。ヘテロ脂肪族基は、置換または非置換、有枝鎖状または非有枝鎖状、環式または非環式であってよく、「ヘテロ環」、「ヘテロシクリル」、「ヘテロ脂環式」、または「複素環」基が挙げられる。

【００８０】

「ヘテロ環」、「ヘテロシクリル」、「ヘテロ脂環式」、または「複素環」という用語は、本明細書で使用する場合、１つまたは複数の環構成要素が独立して選択されたヘテロ原子である、非芳香族、単環式、二環式、または三環式の環系を意味する。ある実施形態において、「ヘテロ環」、「ヘテロシクリル」、「ヘテロ脂環式」、または「複素環」基は、３～１４の環構成要素を有し、１つまたは複数の環構成要素が、酸素、硫黄、窒素、またはリンから独立して選択されるヘテロ原子であり、系内の各環が３～７員環である。

【００８１】

「ヘテロ原子」という用語は、１つまたは複数の酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素（任意の酸化型の窒素、硫黄、リン、もしくはケイ素；四級化された形態の任意の塩基性窒素、または複素環式環の置換可能な窒素、例えばＮ（３，４－ジヒドロ－２Ｈ－ピロリル中にあるＮなど）、ＮＨ（ピロリジニル中にあるＮＨなど）またはＮＲ$^+$（Ｎ－置換ピロリジニル中にあるＮＲ$^+$など）を含む）を意味する。

【００８２】

「不飽和」という用語は、本明細書で使用する場合、部分が１つまたは複数の不飽和ユニットを有することを意味する。

【００８３】

「アリール」という用語は、単独で使用する場合、または「アラルキル」、「アラルコキシ」、または「アリールオキシアルキル」の場合のように、より大きな部分の一部として使用する場合、合計で５～１４の環構成要素を有する単環式、二環式、および三環式の環系を指し、系内の少なくとも１つの環は芳香族であり、系内の各環は３～７の環構成要素を含有する。「アリール」という用語は、「アリール環」という用語と交換可能なように使用することができる。「アリール」という用語はまた、本明細書中の以下で定義されるヘテロアリール環系を指す。

【００８４】

脂肪族もしくはヘテロ脂肪族基、または非芳香族複素環の環は、１つまたは複数の置換

基を含有してもよい。脂肪族基もしくはヘテロ脂肪族基の飽和した炭素上の、または非芳香族複素環式環の飽和した炭素上の、適切な置換基は、アリールまたはヘテロアリール基の不飽和炭素に対して上記に列挙されたものから選択され、さらに以下に挙げられる：＝Ｏ、＝Ｓ、＝ＮＮＨＲ＊、＝ＮＮ（Ｒ＊）$_2$、＝ＮＮＨＣ（Ｏ）Ｒ＊、＝ＮＮＨＣＯ$_2$（アルキル）、＝ＮＮＨＳＯ$_2$（アルキル）、または＝ＮＲ＊であり、各Ｒ＊は、水素または必要に応じて置換されているＣ$_{1～6}$脂肪族から独立して選択される。Ｒ＊の脂肪族基上の任意選択の置換基は、ＮＨ$_2$、ＮＨ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）、Ｎ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）$_2$、ハロ、Ｃ$_{1～4}$脂肪族、ＯＨ、Ｏ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）、ＮＯ$_2$、ＣＮ、ＣＯ$_2$Ｈ、ＣＯ$_2$（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）、Ｏ（ハロＣ$_{1～4}$脂肪族）、またはハロ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）から選択され、前述のＲ＊のＣ$_{1～4}$脂肪族基のそれぞれは非置換である。

【００８５】

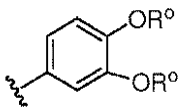
非芳香族複素環式環の窒素上の任意選択の置換基は、－Ｒ$^+$、－Ｎ（Ｒ$^+$）$_2$、－Ｃ（Ｏ）Ｒ$^+$、－ＣＯ$_2$Ｒ$^+$、－Ｃ（Ｏ）Ｃ（Ｏ）Ｒ$^+$、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$Ｃ（Ｏ）Ｒ$^+$、－ＳＯ$_2$Ｒ$^+$、－ＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ$^+$）$_2$、－Ｃ（＝Ｓ）Ｎ（Ｒ$^+$）$_2$、－Ｃ（＝ＮＨ）－Ｎ（Ｒ$^+$）$_2$、または－ＮＲ$^+$ＳＯ$_2$Ｒ$^+$から選択され、Ｒ$^+$は水素、必要に応じて置換されているＣ$_{1～6}$脂肪族、必要に応じて置換されているフェニル、必要に応じて置換されている－Ｏ（Ｐｈ）、必要に応じて置換されている－ＣＨ$_2$（Ｐｈ）、必要に応じて置換されている－（ＣＨ$_2$）$_{1～2}$（Ｐｈ）；必要に応じて置換されている－ＣＨ＝ＣＨ（Ｐｈ）；または酸素、窒素、もしくは硫黄から独立して選択される１～４個のヘテロ原子を有する、非置換である５～６員のヘテロアリール環もしくは複素環式環であるか、または上記定義にかかわらず、同じ置換基または異なる置換基上の２つの独立したＲ$^+$が、各Ｒ$^+$基が結合している原子（複数可）と一緒になって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される０～３個のヘテロ原子を有する、３～８員のシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリール環を形成する。脂肪族基またはＲ$^+$のフェニル環上の任意選択の置換基は、ＮＨ$_2$、ＮＨ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）、Ｎ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）$_2$、ハロ、Ｃ$_{1～4}$脂肪族、ＯＨ、Ｏ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）、ＮＯ$_2$、ＣＮ、ＣＯ$_2$Ｈ、ＣＯ$_2$（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）、Ｏ（ハロＣ$_{1～4}$脂肪族）、またはハロ（Ｃ$_{1～4}$脂肪族）から選択され、前述のＲ$^+$のＣ$_{1～4}$脂肪族基のそれぞれは非置換である。

【００８６】

上に詳述したように、ある実施形態において、２つの独立したＲ’（または本明細書中で同じように定義された任意の他の可変部分）は、各可変部分が結合している原子（複数可）と一緒になって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される０～３個のヘテロ原子を有する、３～８員のシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリール環を形成する。２つの独立したＲ’（または本明細書中で同じように定義された任意の他の可変部分）が、各可変部分が結合している原子（複数可）と一緒になった場合に形成される環の例として、これらに限らないが、以下が挙げられる：ａ）同じ原子と結合し、その原子と一緒になって環を形成する、２つの独立したＲ’（または本明細書中で同じように定義された任意の他の可変部分）、例えば、Ｒ’の両方が窒素原子と一緒になって、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、またはモルホリン－４－イル基を形成するＮ（Ｒ’）$_2$、；およびｂ）異なる原子と結合し、これら原子の両方と一緒になって環を形成する、２つの独立したＲ’（または本明細書中で同じように定義された任意の他の可変部分）、例えばフェニル基が、２つのＯＲ’

【００８７】

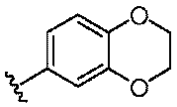
【化８】



で置換され、これら２つのＲ°が、これらが結合している酸素原子と一緒になって、環

【００８８】

【化９】



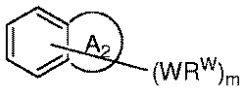
を含有する縮合した６員の酸素含有環を形成する場合。２つの独立したＲ’（または本明細書中で同じように定義された任意の他の可変部分）が、各可変部分が結合している原子（複数可）と一緒になった場合、様々な他の環が形成できること、および上で詳述された例は、限定することを意図していないことを理解されたい。

【００８９】

以下に示す通り、例えば二環式環系の置換基の結合は、置換基が、二環式環系のいずれかの環上の任意の置換可能な環原子に結合することができることを意味する。

【００９０】

【化１０】



「保護基」（ＰＧ）という用語は、本明細書で使用する場合、合成手順の間の切望しない反応に対して、例えばアルコール、アミン、カルボキシル、カルボニルなどの官能基を保護することを意図した基を表す。一般的に使用される保護基は、本明細書に参照により組み込まれているGreeneおよびWuts、Protective Groups in Organic Synthesis、第３版（John Wiley & Sons、New York、１９９９年）において開示されている。窒素保護基の例として、アシル基、アロイル基、またはカルバミル基、例えばホルミル、アセチル、プロピオニル、ピバロイル、ｔ－ブチルアセチル、２－クロロアセチル、２－ブロモアセチル、トリフルオロアセチル、トリクロロアセチル、フタリル、ｏ－ニトロフェノキシアセチル、α－クロロブチリル、ベンゾイル、４－クロロベンゾイル、４－ブロモベンゾイル、４－ニトロベンゾイルなど、およびキラル助剤、例えば保護されたまたは保護されていないＤ－アミノ酸、Ｌ－アミノ酸もしくはＤ、Ｌ－アミノ酸、例えばアラニン、ロイシン、フェニルアラニンなど；スルホニル基、例えば、ベンゼンスルホニル、ｐ－トルエンスルホニルなど；カルバマート基、例えば、ベンジルオキシカルボニル、ｐ－クロロベンジルオキシカルボニル、ｐ－メトキシベンジルオキシカルボニル、ｐ－ニトロベンジルオキシカルボニル、２－ニトロベンジルオキシカルボニル、ｐ－ブロモベンジルオキシカルボニル、３，４－ジメトキシベンジルオキシカルボニル、３，５－ジメトキシベンジルオキシカルボニル、２，４－ジメトキシベンジルオキシカルボニル、４－メトキシベンジルオキシカルボニル、２－ニトロ－４，５－ジメトキシベンジルオキシカルボニル、３，４，５－トリメトキシベンジルオキシカルボニル、１－（ｐ－ビフェニリル）－１－メチルエトキシカルボニル、α，α－ジメチル－３，５－ジメトキシベンジルオキシカルボニル、ベンズヒドリルオキシカルボニル、ｔ－ブチルオキシカルボニル、ジイソプロピルメトキシカルボニル、イソプロピルオキシカルボニル、エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、２，２，２，－トリクロロエトキシカルボニル、フェノキシカルボニル、４－ニトロフェノキシカルボニル、フルオレニル－９－メトキシカルボニル、シクロペンチルオキシカルボニル、アダマンチルオキシカルボニル、シクロヘキシルオキシカルボニル、フェニルチオカルボニルなど、アリールアルキル基、例えばベンジル、トリフェニルメチル、ベンジルオキシメチルなど、ならびにシリル基、例えばトリメチルシリルなどが挙げられる。好ましいＮ－保護基は、ｔｅｒｔ－ブチルオキシカルボニル（Ｂｏｃ）である。

【００９１】

酸に対して有用な保護基の例は、置換アルキルエステル、例えば９－フルオレニルメチル、メトキシメチル、メチルチオメチル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、メトキシエトキシメチル、２－（トリメチルシリル）エトキシメチル、ベンジルオキシ

メチル、ピバロイルオキシメチル、フェニルアセトキシメチル、トリイソプロピル（isopropropylsy）シリルメチル、シアノメチル、アセトール、フェナシル、置換フェナシルエステル、２，２，２－トリクロロエチル、２－ハロエチル、ω－クロロアルキル、２－（トリメチルシリル）エチル、２－メチルチオエチル、ｔ－ブチル、３－メチル－３－ペンチル、ジシクロプロピルメチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、アリル、メタリル、シンナミル、フェニル、シリルエステル、ベンジルおよび置換ベンジルエステル、２，６－ジアルキルフェニルエステル、例えばペンタフルオロフェニル、２，６－ジアルキルフェニルなどである。酸に対して好ましい保護基は、メチルまたはエチルエステルである。

【００９２】

このようなアミンおよび酸保護基を追加する方法（一般的に「保護」と呼ばれる工程）および除去する方法（一般的に「脱保護」と呼ばれる工程）は、当技術分野で周知であり、例えばその全体が参照により本明細書に組み込まれているP. J. Kocienski、Protecting Groups、Thieme、１９９４年、GreeneおよびWuts、Protective Groups in Organic Synthesis、第３版（John Wiley & Sons、New York、１９９９年）において入手可能である。

【００９３】

他に述べられていない限り、本明細書中に表されている構造体はまた、すべての異性体（例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何異性体（または立体配座異性体））形態の構造体；例えば、各不斉中心に対するＲおよびＳ配置、（Ｚ）および（Ｅ）二重結合異性体、および（Ｚ）および（Ｅ）配座異性体を含むことを意図する。したがって、本発明の化合物の単一の立体化学異性体ならびにエナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何異性体（または立体配座異性体）混合物は、本発明の範囲内である。他に述べられていない限り、本発明の化合物のすべての互変異性体の形態は、本発明の範囲内である。

【００９４】

さらに、他に述べられていない限り、本明細書中に表されている構造体はまた、１つまたは複数の同位体を多く含む原子の存在のみが異なる化合物を含むことを意図する。例えば、水素がジュウテリウムもしくはトリチウムで置き換えられている以外、または炭素が^{13}Ｃもしくは^{14}Ｃを多く含む炭素で置き換えられている以外は、本発明の構造を有する化合物は本発明の範囲内である。このような化合物は、例えば生物学的アッセイにおいて分析ツールまたはプローブとして有用である。

【００９５】

適切な溶媒の例は、これらに限定されないが、水、メタノール、ジクロロメタン（ＤＣＭ）、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、酢酸エチル（ＥｔＯＡｃ）、イソプロピルアルコール（ＩＰＡ）、酢酸イソプロピル（ＩＰＡｃ）、テトラヒドロフラン（ＴＨＦ）、メチルエチルケトン（ＭＥＫ）、ｔ－ブタノールおよびＮ－メチルピロリドン（ＮＭＰ）などである。

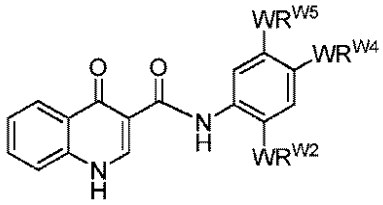
【００９６】

医薬組成物

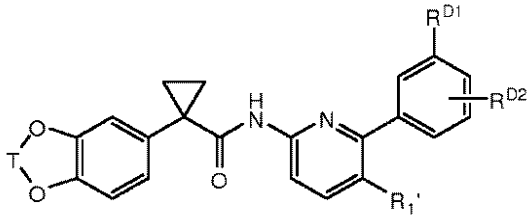
一態様において、本発明は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と、Ａ、Ｂ、またはＣ欄の少なくとも１つの成分とを含む医薬組成物を対象とする。ある実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と式Ｉの化合物の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と式ＩＩの化合物の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と式ＩＩＩの化合物の組合せを含む。

【００９７】

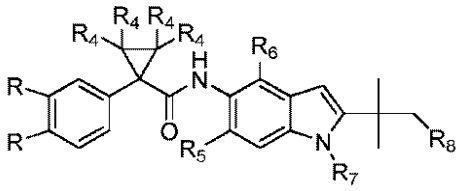
【化１１】



式 Ｉ



式 ＩＩ



式 ＩＩＩ

別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物Ｉの組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物ＩＩの組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物ＩＩＩの組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物１の固体形態の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物２の固体形態の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物３の固体形態の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物１の配合物の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物２の配合物の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と化合物３の配合物の組合せを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害成分と、Ａ、Ｂ、またはＣ欄のうちの少なくとも１つの成分と、少なくとも１つの追加の治療薬の組合せを含む。

【００９８】

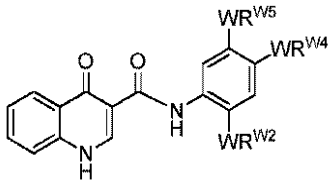
別の実施形態において、少なくとも１つの追加の治療薬は、Ａ、Ｂおよび／またはＣ欄の成分以外のＣＦＴＲモジュレーター、すなわち、ＣＦＴＲ活性をモジュレートする作用を有する薬剤を含む。

【００９９】

ＩＩ．Ａ．１．式Ｉの化合物

【０１００】

【化１２】



式 Ｉ

Ａ欄のＡＢＣトランスポーター活性モジュレーターは、本発明の譲受人と同一出願人による、米国特許第７，４９５，１０３号および米国出願公開第ＵＳ２０１０／０１８４７３９号において十分に記載および例示されている。上記特許に列挙されたすべての化合物は、本発明において有用であり、本明細書中でこれら全体が本発明の開示に組み込まれる。

【０１０１】

一実施形態では、組成物の式Ｉの化合物または薬学的に許容されるその塩において、式中、

WR^{W2}およびWR^{W4}のそれぞれは、独立して、ＣＮ、CF_3、ハロ、$C_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、$C_{3\sim12}$員の脂環式、フェニル、５～１０員のヘテロアリールまたは３～７員の複素環式から選択され、前記ヘテロアリールまたは複素環式は、Ｏ、ＳまたはＮから選択される３個までのヘテロ原子を有し、前記WR^{W2}およびWR^{W4}は、－ＯＲ’、$-CF_3$、$-OCF_3$、ＳＲ’、Ｓ（Ｏ）Ｒ’、SO_2R'、$-SCF_3$、ハロ、ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、$-O(CH_2)_2N(R')_2$、$-O(CH_2)N(R')_2$、$-CON(R')_2$、$-(CH_2)_2OR'$、$-(CH_2)OR'$、$-CH_2CN$、必要に応じて置換されているフェニルまたはフェノキシ、$-N(R')_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、$-(CH_2)_2N(R')_2$、または$-(CH_2)N(R')_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており、

WR^{W5}は、水素、$-OCF_3$、$-CF_3$、－ＯＨ、$-OCH_3$、$-NH_2$、－ＣＮ、$-CHF_2$、－ＮＨＲ’、$-N(R')_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、$-NHSO_2R'$、$-CH_2OH$、$-CH_2N(R')_2$、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、$-SO_2NHR'$、$-SO_2N(R')_2$、または$-CH_2NHC(O)OR'$から選択され、

各Ｒ’は、独立して、$C_{1\sim8}$脂肪族基、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～３個のヘテロ原子を有する３～８員の飽和、部分的に不飽和、もしくは完全に不飽和の単環式環、または窒素、酸素、もしくは硫黄から独立して選択される０～５個のヘテロ原子を有する８～１２員の飽和、部分的に不飽和、もしくは完全に不飽和の二環式環系から選択される、必要に応じて置換されている基から選択されるか、または２つのＲ’が、これらが結合している原子（複数可）と一緒になって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する、必要に応じて置換されている３～１２員の飽和、部分的に不飽和、または完全に不飽和の単環式環または二環式環を形成するが、

ただし、

ｉ）WR^{W2}およびWR^{W4}が、両方とも－Ｃｌであることはなく、

WR^{W2}、WR^{W4}およびWR^{W5}は、$-OCH_2CH_2Ph$でも、$-OCH_2CH_2$（２－トリフルオロメチル－フェニル）でも、$-OCH_2CH_2-$（６，７－ジメトキシ－１，２，３，４－テトラヒドロイソキノリン－２－イル）でも、置換１Ｈ－ピラゾール－３－イルでもない。

【０１０２】

式Ｉの化合物の実施形態

式Ｉの化合物または薬学的その塩の一実施形態において、WR^{W2}およびWR^{W4}のそれぞれは、独立して、ＣＮ、CF_3、ハロ、$C_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、$C_{3\sim12}$員の脂環式、またはフェニルから選択され、前記WR^{W2}およびWR^{W4}は、－ＯＲ’、$-CF_3$、$-OCF_3$、$-SCF_3$、ハロ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、$-O(CH_2)_2N(R')_2$、$-O(CH_2)N(R')_2$、$-CON(R')_2$、$-(CH_2)_2OR'$、$-(CH_2)OR'$、必要に応じて置換されているフェニル、$-N(R')_2$、－ＮＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ’、$-(CH_2)_2N(R')_2$、または$-(CH_2)N(R')_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており、；WR^{W5}は、水素、$-OCF_3$、$-CF_3$、－ＯＨ、$-OCH_3$、$-NH_2$、－ＣＮ、－ＮＨＲ’、$-N(R')_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－

ＮＨＳＯ$_2$Ｒ’、－ＣＨ$_2$ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＳＯ$_2$ＮＨＲ’、または－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ－Ｒ’）から選択される。

【０１０３】

あるいは、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれは、独立して、－ＣＮ、－ＣＦ$_3$、Ｃ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキル、Ｃ$_{3～12}$員の脂環式、またはフェニルから選択され、前記ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれは、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、必要に応じて置換されているフェニル、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＣ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から選択される３つまでの置換基で独立して必要に応じて置換されており、ＷＲ^{Ｗ５}は、－ＯＨ、－ＣＮ、－ＮＨＲ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＨＳＯ$_2$Ｒ’、－ＣＨ$_2$ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＳＯ$_2$ＮＨＲ’、または－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ－（Ｒ’）から選択される。

【０１０４】

さらなる実施形態において、ＷＲ^{Ｗ２}は、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＲ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＳＯ$_2$Ｒ’、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、－ＣＨ$_2$ＣＮ、必要に応じて置換されているフェニルもしくはフェノキシ、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から選択される３つまでの置換基で必要に応じて置換されているフェニル環であり、ＷＲ^{Ｗ４}は、Ｃ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキルであり、ＷＲ^{Ｗ５}は－ＯＨである。別の実施形態において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれは、独立して、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、またはＣ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキルである。

【０１０５】

別の実施形態において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれは、－ＯＲ’、－ＣＦ$_3$、－ＯＣＦ$_3$、－ＳＲ’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－ＳＯ$_2$Ｒ’、－ＳＣＦ$_3$、ハロ、－ＣＮ、－ＣＯＯＲ’、－ＣＯＲ’、－Ｏ（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－Ｏ（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＯＮ（Ｒ’）$_2$、－（ＣＨ$_2$）$_2$ＯＲ’、－（ＣＨ$_2$）ＯＲ’、－ＣＨ$_2$ＣＮ、必要に応じて置換されているフェニルもしくはフェノキシ、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、－ＮＲ’Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－（ＣＨ$_2$）$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、または－（ＣＨ$_2$）Ｎ（Ｒ’）$_2$から独立して選択される３つまでの置換基で必要に応じて置換されている、Ｃ$_{2～6}$直鎖または有枝鎖状アルキルである。

【０１０６】

別の実施形態において、ＷＲ^{Ｗ２}およびＷＲ^{Ｗ４}のそれぞれは、必要に応じて置換されているｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔ－ブチル、１，１－ジメチル－２－ヒドロキシエチル、１，１－ジメチル－２－（エトキシカルボニル）－エチル、１，１－ジメチル－３－（ｔ－ブトキシカルボニル－アミノ）プロピル、またはｎ－ペンチルから独立して選択される。

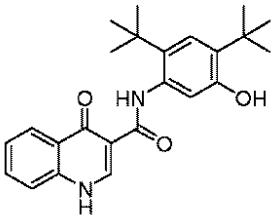
【０１０７】

別の実施形態において、ＷＲ^{Ｗ５}は、－ＣＮ、－ＮＨＲ’、－Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＣＨ$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＲ’、－ＯＨ、－Ｃ（Ｏ）ＯＲ’、または－ＳＯ$_2$ＮＨＲ’から選択される。

【０１０８】

別の実施形態において、ＷＲ^{Ｗ５}は、－ＣＮ、－ＮＨ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－Ｎ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－ＣＨ$_2$ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－ＯＨ、－Ｏ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－ＣＨ$_2$Ｏ（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、または－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$から選択される。

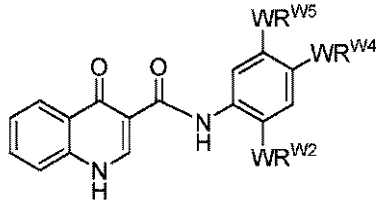
【０１０９】
別の実施形態において、WR^{W5}は、－ＯＨ、－CH_2ＯＨ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＭｅ、－ＮＨＣ（Ｏ）ＯＥｔ、－ＣＮ、－CH_2ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（ｔ－ブチル）、－Ｃ（Ｏ）ＯＭｅ、または－SO_2NH_2から選択される。
【０１１０】
別の実施形態において、
WR^{W2}は$C_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキルであり、
WR^{W4}は、$C_{2\sim6}$直鎖または有枝鎖状アルキルであるか、または単環式もしくは二環式の脂肪族であり、
WR^{W5}は、－ＣＮ、－ＮＨ（$C_{1\sim6}$アルキル）、－Ｎ（$C_{1\sim6}$アルキル）$_2$、－ＮＨＣ（Ｏ）（$C_{1\sim6}$アルキル）、－ＮＨＣ（Ｏ）Ｏ（$C_{1\sim6}$アルキル）、－CH_2Ｃ（Ｏ）Ｏ（$C_{1\sim6}$アルキル）、－ＯＨ、－Ｏ（$C_{1\sim6}$アルキル）、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（$C_{1\sim6}$アルキル）、もしくは－SO_2NH_2から選択される。
【０１１１】
別の実施形態において、
WR^{W2}は、$C_{2\sim6}$アルキル、－CF_3、－ＣＮであるか、または$C_{1\sim4}$アルキル、－Ｏ（$C_{1\sim4}$アルキル）、もしくはハロから選択される３つまでの置換基で必要に応じて置換されているフェニルであり、
WR^{W4}は、－CF_3、$C_{2\sim6}$アルキル、または$C_{6\sim10}$脂環式であり、
WR^{W5}は、－ＯＨ、－ＮＨ（$C_{1\sim6}$アルキル）、または－Ｎ（$C_{1\sim6}$アルキル）$_2$である。
【０１１２】
別の実施形態において、WR^{W2}はｔｅｒｔ－ブチルである。
【０１１３】
別の実施形態において、WR^{W4}はｔｅｒｔ－ブチルである。
【０１１４】
別の実施形態において、WR^{W5}は－ＯＨである。
【０１１５】
ＩＩ．Ａ．２．化合物１
別の実施形態において、式Ｉの化合物は、化合物１である。
【０１１６】
【化１３】



化合物 1

化合物１は、Ｎ－［２，４－ビス（１，１－ジメチルエチル）－５－ヒドロキシフェニル］－１，４－ジヒドロ－４－オキソキノリン－３－カルボキサミドという名称、およびＮ－（５－ヒドロキシ－２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル－フェニル）－４－オキソ－１Ｈ－キノリン－３－カルボキサミドという名称で公知である。
【０１１７】
式Ｉの化合物の合成
式Ｉの化合物
【０１１８】

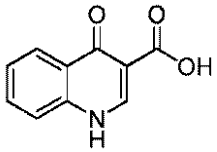
【化１４】



は、酸部分

【０１１９】

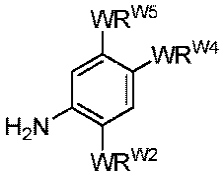
【化１５】



を、アミン部分

【０１２０】

【化１６】



と、本明細書に記載されたように組み合わせることによって、容易に調製される（式中、WR^{W2}、WR^{W4}、およびWR^{W5}は、前に定義された通りである）。

【０１２１】

ａ．式Ｉの化合物の酸部分の合成

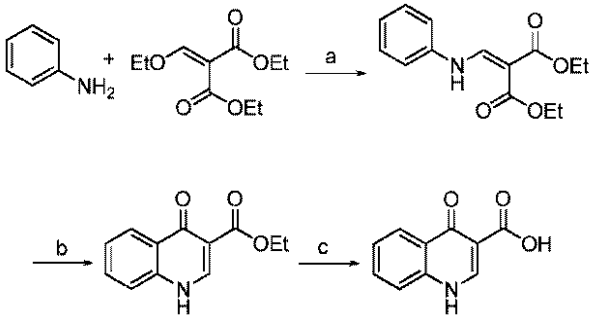
式Ｉの化合物の酸前駆体、ジヒドロキノリンカルボン酸は、スキーム１－１に従い、ＥｔＯＣＨ＝Ｃ（ＣＯＯＥｔ）$_2$のアニリンへの共役付加、それに続く熱転位および加水分解により、合成することができる。

【０１２２】

スキーム１－１：式Ｉの化合物の酸部分の一般的合成。

【０１２３】

【化１７】



ａ）１４０～１５０℃、ｂ）ＰＰＡ、ＰＯＣｌ$_3$、７０℃またはジフェニルエーテル、２２０℃、ｃ）ｉ）２Ｎ　ＮａＯＨ、ｉｉ）２Ｎ　ＨＣｌ

ｂ．式Ｉの化合物のアミン部分の合成

式Ｉの化合物のアミン前駆体をスキーム１－２（式中、WR^{W2}、WR^{W4}、およびWR^{W5}は、前に定義された通りである）に表されているように調製する。このようにして、ステップ（ａ）におけるパラ－置換ベンゼンのオルトアルキル化により、三置換された

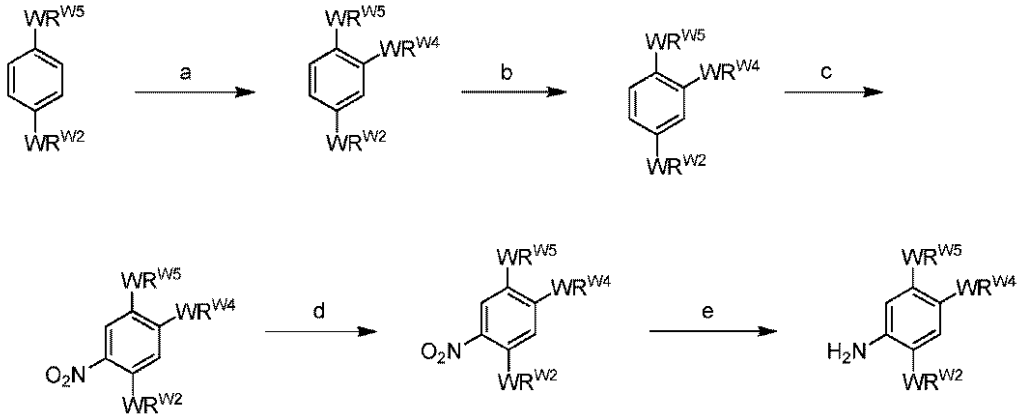
中間体を得る。WR^{W5}がＯＨ（ステップ（ｂ）およびニトロ化（ステップｃ）の場合の、任意選択の保護により、三置換のニトロ化した中間体を得る。任意選択の脱保護（ステップｄ）および水素添加（ステップｅ）により、所望のアミン部分を得る。

【０１２４】

スキーム１－２：アミン部分の一般的合成。

【０１２５】

【化１８】



ａ）$WR^{W4}OH$、WR^{W4}＝アルキル、ｂ）$ClCO_2R$、ＴＥＡ、ｃ）HNO_3、H_2SO_4、ｄ）塩基、ｅ）水素添加。

【０１２６】

ｃ．式Ｉの化合物を形成するための、酸部分のアミン部分へのカップリング

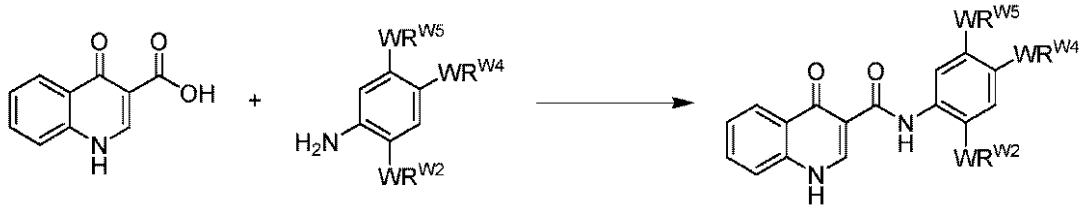
スキーム１－３において表されているように、酸部分とアミン部分をカップリングすることによって、式Ｉの化合物を調製する。一般的に、カップリング反応には、カップリング試薬、塩基、ならびに溶媒が必要である。使用される条件の例として、ＨＡＴＵ、ＤＩＥＡ；ＢＯＰ、ＤＩＥＡ、ＤＭＦ；ＨＢＴＵ、Et_3N、CH_2Cl_2；ＰＦＰＴＦＡ、ピリジンが挙げられる。

【０１２７】

スキーム１－３：式Ｉの化合物の調製。

【０１２８】

【化１９】



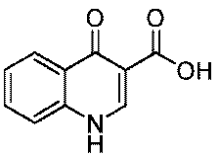
式Ｉ

２．化合物１の合成

化合物１は、スキーム１－３から１－６に提供されている通りに一般的に調製することができ、酸部分

【０１２９】

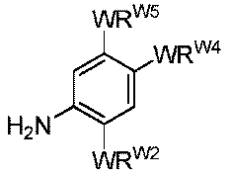
【化２０】



は、アミン部分

【０１３０】

【化２１】



とカップリングさせる（式中、ＷＲ^{W2}およびＷＲ^{W4}はｔ－ブチルであり、ＷＲ^{W5}はＯＨである）。より詳細なスキームおよび例を以下で提供する。

【０１３１】

ａ．化合物１の酸部分の合成

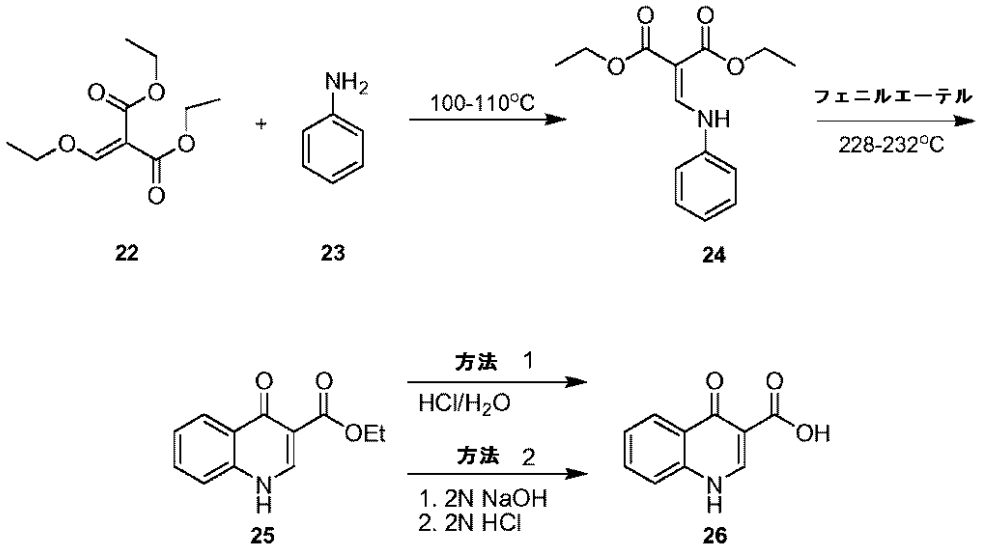
酸部分４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボン酸２６の合成は、スキーム１－４において要約されている。

【０１３２】

スキーム１－４：４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボン酸の合成。

【０１３３】

【化２２】



４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボン酸エチル（２５）。

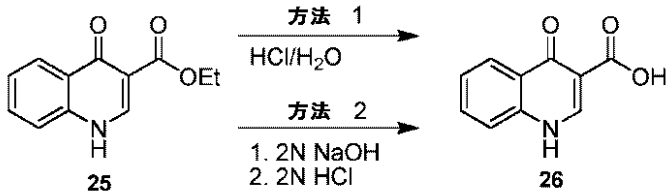
【０１３４】

化合物２３（４．７７ｇ、４７．７ｍｍｏｌ）を化合物２２（１０ｇ、４６．３ｍｍｏｌ）に滴下し、３０℃未満で０．５時間、表面下のＮ$_2$流でエタノールを排除した。次いでこの溶液を１００～１１０℃に加熱し、２．５時間撹拌した。この混合物を６０℃未満に冷却後、ジフェニルエーテルを添加した。２２８～２３２℃で１．５時間加熱し、表面下のＮ$_2$流でエタノールを排除させておいたジフェニルエーテルに、生成した溶液を滴下した。この混合物を、もう２時間２２８～２３２℃で撹拌し、１００℃未満へ冷却し、次いでヘプタンを添加することによって、生成物を沈殿させた。生成したスラリーを、３０℃で０．５時間撹拌した。次いで固体を濾過し、ケーキをヘプタンで洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、褐色の固体として化合物２５を得た。^{1}H NMR (DMSO-d_6; 400 MHz) δ 12.25 (s), δ 8.49 (d), δ 8.10 (m), δ 7.64 (m), δ 7.55 (m), δ 7.34 (m), δ 4.16 (q), δ 1.23 (t).

４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボン酸（２６）。

【０１３５】

【化２３】



方法１

化合物２５（１．０当量）をＨＣｌ溶液（１０．０当量）およびH_2O（１１．６体積（ｖｏｌ））中に懸濁させた。スラリーを８５～９０℃に加熱した。ただし、代替の温度もまたこの加水分解ステップに適している。例えば、加水分解は、代わりに約７５～約１００℃の温度で遂行することができる。ある場合は、加水分解は、約８０～約９５℃の温度で遂行される。他の場合では、加水分解ステップは、約８２～約９３℃の温度で遂行される（例えば、約８２．５～約９２．５℃または約８６～約８９℃）。８５～９０℃で約６．５時間撹拌後、この反応物を反応完了についての試料として採取した。撹拌は、加水分解に適した任意の温度で遂行することができる。次いでこの溶液を２０～２５℃に冷却し、濾過した。反応器／ケーキをH_2O（２体積×２）ですすいだ。次いで、ｐＨ≧３．０になるまで、このケーキを２体積のH_2Oで洗浄した。次いでケーキを減圧下、６０℃で乾燥させることによって、化合物２６を得た。

【０１３６】

方法２

化合物２５（１１．３ｇ、５２ｍｍｏｌ）を１０％ＮａＯＨ水溶液（１０ｍＬ）およびエタノール（１００ｍＬ）の混合物に添加した。この溶液を１６時間加熱還流し、２０～２５℃に冷却し、次いで８％ＨＣｌを用いてｐＨを２～３に調整した。次いでこの混合物を０．５時間撹拌し、濾過した。ケーキを水（５０ｍＬ）で洗浄し、次いで減圧下で乾燥させることによって、褐色の固体として化合物２６を得た。^{1}H NMR (DMSO-d_6; 400 MHz) δ 15.33 (s), δ 13.39 (s), δ 8.87 (s), δ 8.26 (m), δ 7.87 (m), δ 7.80 (m), δ 7.56 (m).

ｂ．化合物１のアミン部分の合成

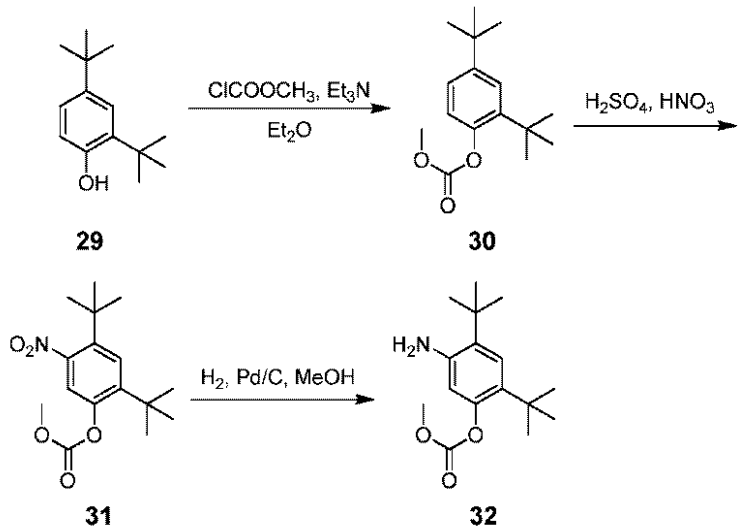
アミン部分３２の合成は、スキーム１－５において要約されている。

【０１３７】

スキーム１－５：５－アミノ－２，４－ジ－Ｔｅｒｔ－ブチルフェニルメチルカーボネート（３２）の合成。

【０１３８】

【化２４】



２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルフェニルメチルカーボネート（３０）。

【０１３９】

方法１

２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルフェノール、２９、（１０ｇ、４８．５ｍｍｏｌ）のジエチルエーテル（１００ｍＬ）およびトリエチルアミン（１０．１ｍＬ、７２．８ｍｍｏｌ）溶液に、０℃でメチルクロロホルメート（７．４６ｍＬ、９７ｍｍｏｌ）を滴下した。次いでこの混合物を室温まで温めておき、さらに２時間撹拌した。次いで、さらに５ｍＬのトリエチルアミンおよび３．７ｍＬのメチルクロロホルメートを添加し、この反応物を一晩撹拌した。次いでこの反応物を濾過し、濾液を０℃に冷却し、次いでさらに５ｍＬのトリエチルアミンおよび３．７ｍＬのメチルクロロホルメートを添加し、この反応物を室温まで温めておき、次いでさらに１時間撹拌した。この段階で、この反応はほとんど完了し、濾過による後処理を行い、次いで水（２×）、続いてブラインで洗浄した。次いでこの溶液を濃縮することによって、黄色の油を生成し、カラムクロマトグラフィーを使用して精製することによって、化合物３０を得た。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.35 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.29 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 1.30 (s, 9H), 1.29 (s, 9H).

方法２

４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ、３．１６ｇ、２５．７ｍｍｏｌ）および２，４－ジｔｅｒｔ－ブチルフェノール（化合物２９、１０３．５ｇ、５０１．６ｍｍｏｌ）を入れた反応容器に、塩化メチレン（４１５ｇ、３１３ｍＬ）を添加し、すべての固体が溶解するまでこの溶液を撹拌した。次いでトリエチルアミン（７６ｇ、７５１ｍｍｏｌ）を添加し、溶液を０～５℃に冷却した。次いで、溶液温度を０～５℃の間に保ちながら、クロロギ酸メチル（５２ｇ、５５０．３ｍｍｏｌ）を２．５～４時間に渡り滴下した。次いでこの反応混合物をゆっくりと２３～２８℃に加熱し、２０時間撹拌した。次いでこの反応物を１０～１５℃に冷却し、１５０ｍＬの水を入れた。この混合物を１５～２０℃で３５～４５分間撹拌し、次いで水層を分離し、１５０ｍＬの塩化メチレンで抽出した。有機層を合わせ、５～２０℃の温度で、２．５％ＨＣｌ水溶液で中和することによって、最終のｐＨ５～６を得た。次いで有機層を水で洗浄し、２０℃より低い温度で、減圧下で１５０ｍＬに濃縮することによって、塩化メチレン中に化合物３０を得た。

【０１４０】

５－ニトロ－２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルフェニルメチルカーボネート（３１）。

【０１４１】

方法１

化合物３０（６．７７ｇ、２５．６ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、硫酸と硝酸の１：１混合物６ｍＬを０℃で滴下した。この混合物を室温まで温めておき、１時間撹拌した。この生成物を液体クロマトグラフィー（ＩＳＣＯ、１２０ｇ、０～７％ＥｔＯＡｃ／ヘキサン、３８分間）を使用して精製し、白色固体として化合物３１の約８：１～１０：１の位置異性体混合物を生成した。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.63 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.32 (s, 9H). HPLC保持時間3.92分, 10-99% CH_3CN, 5分操作; ESI-MS 310 m/z $(MH)^+$.

方法２

化合物３０（１００ｇ、３７８ｍｍｏｌ）に、ＤＣＭ（５４０ｇ、４０８ｍＬ）を添加した。すべての固体が溶解するまでこの混合物を撹拌し、次いで－５～０℃に冷却した。次いで、この反応物の初期温度を維持しながら、濃硫酸（１６３ｇ）を滴下し、この混合物を４．５時間撹拌した。次いでこの反応物の初期温度を維持しながら、硝酸（６２ｇ）を２～４時間に渡り滴下し、次いでこの温度でさらに４．５時間撹拌した。次いで、５℃より低い温度を維持しながら、この反応混合物を冷水にゆっくりと添加した。次いでこのクエンチした反応物を２５℃に加熱し、水層を取り出し、塩化メチレンで抽出した。合わせた有機層を水で洗浄し、Na_2SO_4を使用して乾燥させ、１２４～１５５ｍＬに濃縮した。ヘキサン（４８ｇ）を添加し、生成した混合物を再び１２４～１５５ｍＬに濃縮し

た。続いてさらにヘキサン（１６０ｇ）をこの混合物に添加した。次いでこの混合物を、２３～２７℃で１５．５時間撹拌し、次いで濾過した。濾滓に、ヘキサン（１１５ｇ）を添加し、この生成した混合物を加熱還流し、２～２．５時間撹拌した。次いでこの混合物を３～７℃に冷却し、さらに１～１．５時間撹拌し、濾過することによって、淡黄色の固体として化合物３１を得た。

【０１４２】

５－アミノ－２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルフェニルメチルカーボネート（３２）。

【０１４３】

２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル－５－ニトロフェニルメチルカーボネート（１．００当量）を、適切な水素化反応器に入れ、続いて５％Ｐｄ／Ｃ（２．５０ｗｔ％無水ベース、Ｊｏｈｎｓｏｎ－Ｍａｔｔｈｅｙタイプ３７）を入れた。ＭｅＯＨ（１５．０体積）を反応器に入れ、この装置を閉じた。この装置を$Ｎ_2$（ｇ）でパージし、次いで$Ｈ_2$（ｇ）で２．０バールに加圧した。この反応を２５℃＋／－５℃の反応温度で遂行した。完了時に、この反応物を濾過し、反応器／ケーキをＭｅＯＨ（４．００体積）で洗浄した。生成した濾液を、５０℃以下で、減圧下で、８．００体積に蒸留した。水（２．００体積）を４５℃＋／－５℃で添加した。生成したスラリーを０℃＋／－５に冷却した。このスラリーを、０℃＋／－５℃で１時間以上保持し、濾過した。ケーキを一度０℃＋／－５℃のＭｅＯＨ／$Ｈ_2Ｏ$（８：２）（２．００体積）で洗浄した。このケーキを減圧下（－０．９０バールおよび－０．８６バール）、３５℃～４０℃で乾燥させることによって、化合物３２を得た。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.05 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.23 (s, 9H).

この反応が完了したとき、生成した混合物を、約５～１０体積のＭｅＯＨ（例えば、約６～約９体積のＭｅＯＨ、約７～約８．５容のＭｅＯＨ、約７．５～約８体積のＭｅＯＨ、または約７．７体積のＭｅＯＨ）で希釈し、約３５±５℃の温度に加熱し、上述のように濾過し、洗浄し、乾燥させた。

【０１４４】

ｃ．化合物１を形成するための酸とアミン部分のカップリング

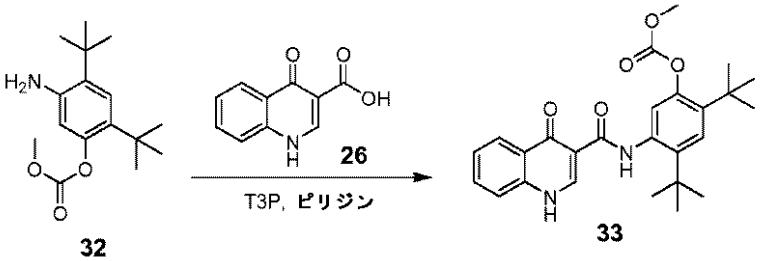
酸部分とアミン部分のカップリングは、スキーム１－６において要約されている。

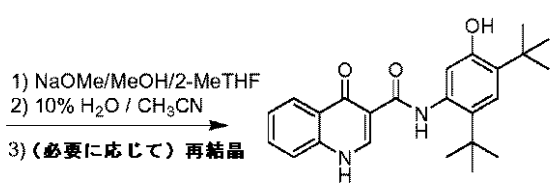
【０１４５】

スキーム１－６：化合物１の合成

【０１４６】

【化２５】





Ｎ－（２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル－５－ヒドロキシフェニル）－４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボキサミド（１）。

【０１４７】

４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボン酸２６（１．０当量）および５－アミノ－２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルフェニルメチルカーボネート３２（１．１当量）を反応器に入れた。２－ＭｅＴＨＦ（４．０体積、酸に対して）を添加し、続いて２－ＭｅＴＨＦ（１．７当量）中のＴ３Ｐ（登録商標）５０％溶液を添加した。Ｔ３Ｐを入れた容器を２－ＭｅＴＨＦ（０．６体積）で洗浄した。次いでピリジン（２．０当量）を添加し、生成した懸濁液を４７．５＋／－５．０℃に加熱し、この温度を８時間保持した。試料を取り出し、ＨＰＬＣで完了したかどうかチェックした。完了したとき、生成した混合物を２５．０℃＋／－２．５℃に冷却した。２－ＭｅＴＨＦを添加することによって（１２．５体積）この混合物を希釈した。この反応混合物を水（１０．０体積）で２回洗浄した。反応物の全体積が４０．０体積（約１６．５体積充填）となるように、２－ＭｅＴＨＦを添加した。この溶液にＮａＯＭｅ／ＭｅＯＨ（１．７当量）を添加することによって、メタノリシスを遂行した。この反応物を１．０時間以上撹拌し、ＨＰＬＣで完了したかどうかチェックした。完了してから、この反応物を１Ｎ　ＨＣｌ（１０．０体積）でクエンチし、０．１Ｎ　ＨＣｌ（１０．０体積）で洗浄した。有機溶液を、ポリッシュ濾過することによって、あらゆる微粒子を取り出し、第２の反応器内に置いた。濾過溶液を、３５℃以下（ジャケット温度）および８．０℃以上（内部反応温度）で、減圧下、２０体積へと濃縮した。CH_3CNを４０体積まで添加し、溶液を、３５℃以下（ジャケット温度）および８．０℃以上（内部反応温度）で、２０体積へと濃縮した。CH_3CNの添加および濃縮サイクルをさらに２回繰り返し、全部でCH_3CNを３回添加し、２０体積へと４回濃縮した。最終濃度を２０体積にした後、１６．０体積のCH_3CNを添加し、続いて４．０体積のH_2Oを添加することによって、開始の酸に対して、４０体積の１０％H_2O／CH_3CNの最終濃度にした。このスラリーを７８．０℃＋／－５．０℃（還流）に加熱した。次いでスラリーを５時間以上撹拌した。このスラリーを５時間に渡り０．０℃＋／－５℃に冷却し、濾過した。０．０℃＋／－５．０℃で、ケーキをCH_3CN（５体積）で４回洗浄した。生成した固体（化合物１）を、真空オーブン内、５０．０℃＋／－５．０℃で乾燥させた。^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.8 (s, 1H), 11.8 (s, 1H), 9.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.9 (t, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.1 (s, 1H), 1.4 (s, 9H), 1.4 (s, 9H).

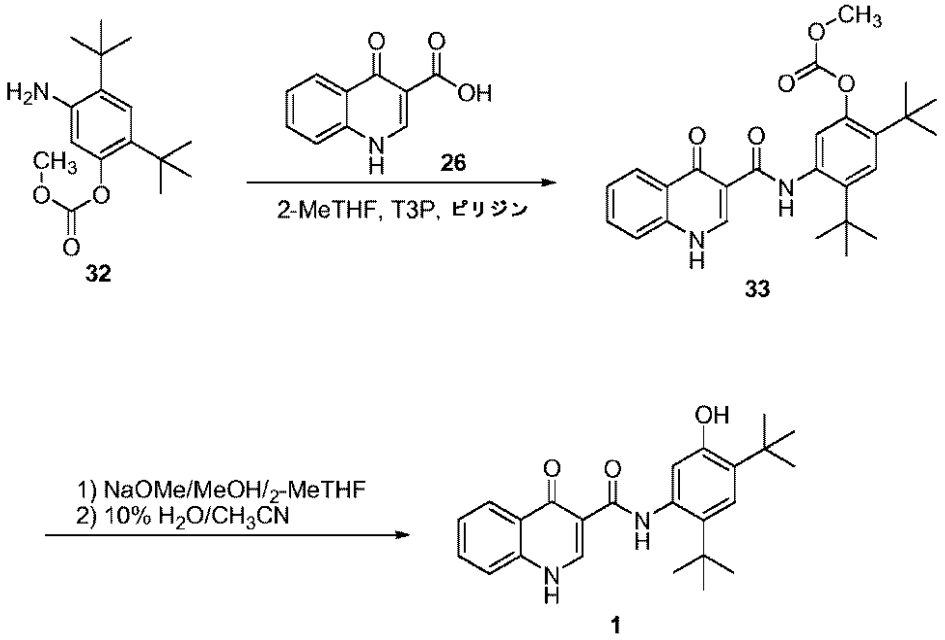
化合物１の代替合成法がスキーム１－７で表されている。

【０１４８】

スキーム１－７：化合物１の代替合成法。

【０１４９】

【化２６】



４－オキソ－１，４－ジヒドロキノリン－３－カルボン酸２６（１．０当量）および５－アミノ－２，４－ジ－ｔｅｒｔ－ブチルフェニルメチルカーボネート３２（１．１当量）を反応器に入れた。２－ＭｅＴＨＦ（４．０体積、酸に対して）を添加し、続いて２－ＭｅＴＨＦ（１．７当量）中のＴ３Ｐ（登録商標）５０％溶液を添加した。Ｔ３Ｐを入れた容器を２－ＭｅＴＨＦ（０．６体積）で洗浄した。次いでピリジン（２．０当量）を添加し、生成した懸濁液を４７．５＋／－５．０℃に加熱し、この温度を８時間保持した。試料を取り出し、ＨＰＬＣで完了したかどうかチェックした。完了したとき、生成した混合物を２０℃＋／－５℃に冷却した。２－ＭｅＴＨＦを添加することによって（１２．５体積）この混合物を希釈した。この反応混合物を水（１０．０体積）で２回洗浄し、２－ＭｅＴＨＦ（１６．５体積）を反応器に入れた。この溶液に３０％ｗ／ｗのＮａＯＭｅ／ＭｅＯＨ（１．７当量）を充填することによって、メタノリシスを遂行した。この反応物を２５．０℃＋／－５．０℃で１．０時間以上撹拌し、ＨＰＬＣで完了したかどうかチェックした。完了してから、この反応物を１．２Ｎ　ＨＣｌ／H_2O（１０．０体積）でクエンチし、０．１Ｎ　ＨＣｌ／H_2O（１０．０体積）で洗浄した。有機溶液を、ポリッシュ濾過することによって、あらゆる微粒子を取り出し、第２の反応器内に置いた。

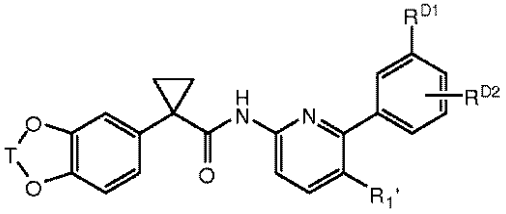
【０１５０】

濾過溶液を、３５℃以下（ジャケット温度）および８．０℃以上（内部反応温度）で、減圧下、２０体積へと濃縮した。CH_3CNを４０体積まで添加し、溶液を、３５℃以下（ジャケット温度）および８．０℃以上（内部反応温度）で、２０体積へと濃縮した。CH_3CNの添加および濃縮サイクルをさらに２回繰り返し、全部でCH_3CNを３回添加し、２０体積へと４回濃縮した。最終濃度を２０体積にした後、１６．０体積のCH_3CNを入れ、続いて４．０体積のH_2Oを添加することによって、開始の酸に対して、４０体積の１０％H_2O／CH_3CNの最終濃度にした。このスラリーを７８．０℃＋／－５．０℃（還流）に加熱した。次いでスラリーを５時間以上撹拌した。このスラリーを５時間に渡り２０～２５℃に冷却し、濾過した。ケーキをCH_3CN（５体積）で洗浄して、２０～２５℃へと４回加熱した。生成した固体（化合物１）を真空オーブン内で５０．０℃＋／－５．０℃で乾燥させた。^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.8 (s, 1H), 11.8 (s, 1H), 9.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.9 (t, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.1 (s, 1H), 1.4 (s, 9H), 1.4 (s, 9H).

ＩＩ．Ｂ．１．式ＩＩの化合物

【０１５１】

【化２７】



式 II

１．式ＩＩの化合物の実施形態

Ｂ欄のＡＢＣトランスポーター活性モジュレーターは、米国特許第７，７４１，３２１号および第７，６５９，２６８号、さらにＵＳ２００８／０３０６０６２Ａ１として公開された、Ｕ．Ｓ．特許出願番号第１２／１１４，９３５号において、十分に記載および例示されている。これらすべては、本発明の譲受人と同一出願人によるものである。上記公開に列挙されたすべての化合物は、本発明において有用であり、これら全体が本明細書中で本発明の開示に組み込まれる。

【０１５２】

一実施形態では、組成物の式ＩＩの化合物において

Ｔは、－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－、－ＣＦ$_2$－、－Ｃ（ＣＨ$_3$）$_2$－、または－Ｃ（Ｏ）－であり、

Ｒ$_1$’は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、ハロ、ＣＦ$_3$、ＣＨＦ$_2$、Ｏ（Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族）であり、

Ｒ^{D1}またはＲ^{D2}は、Ｚ^{D}Ｒ$_9$である

（式中、

Ｚ^{D}は、結合、ＣＯＮＨ、ＳＯ$_2$ＮＨ、ＳＯ$_2$Ｎ（Ｃ$_{1\sim6}$アルキル）、ＣＨ$_2$ＮＨＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$Ｎ（ＣＨ$_3$）ＳＯ$_2$、ＣＨ$_2$ＮＨＣＯ、ＣＯＯ、ＳＯ$_2$、またはＣＯであり、

Ｒ$_9$は、Ｈ、Ｃ$_{1\sim6}$脂肪族、またはアリールである）。

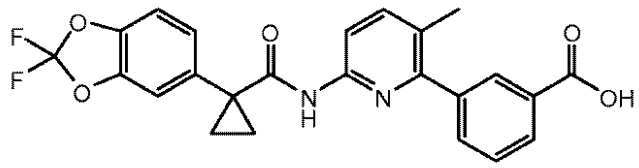
【０１５３】

ＩＩ．Ｂ．２．化合物２

別の実施形態において、式ＩＩの化合物は以下に表されている化合物２であり、これは、その化学名、３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸としても公知である。

【０１５４】

【化２８】



化合物 2

１．式ＩＩの化合物の合成

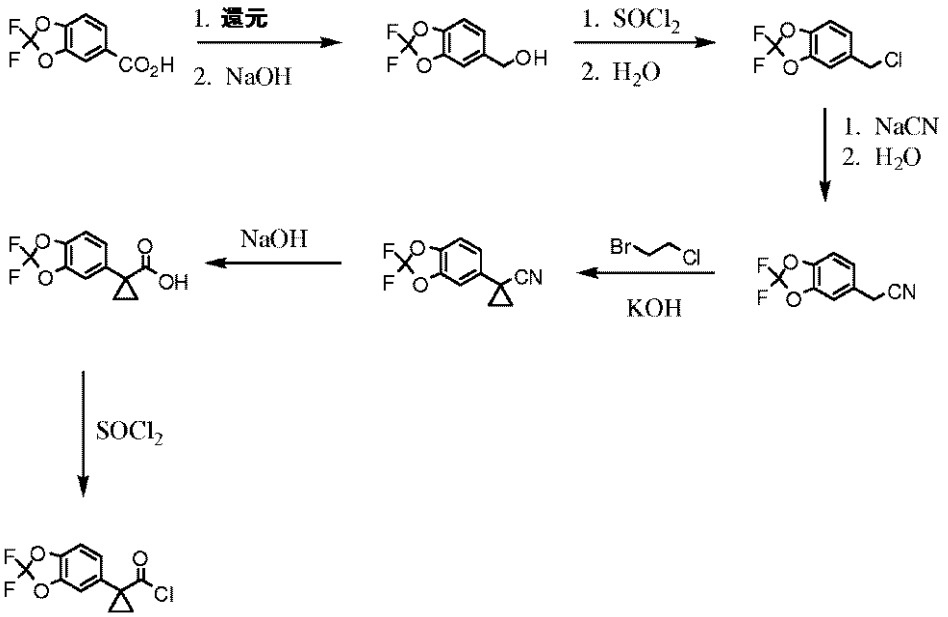
化合物２は、以下のスキーム２－１から２－３に従い、酸塩化物部分とアミン部分をカップリングすることによって、調製することができる。

【０１５５】

スキーム２－１：酸塩化物部分の合成。

【０１５６】

【化２９】



スキーム２－１は、化合物２のアミド結合を作るためにスキーム２－３で使用されている、１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボニルクロリドの調製を表している。

【０１５７】

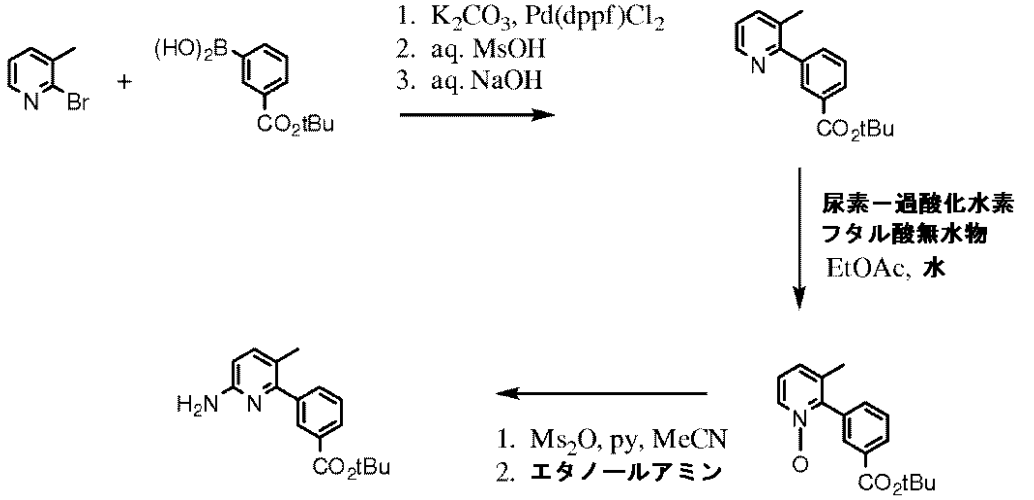
出発物質、２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－カルボン酸は、Ｓａｌｔｉｇｏ（Ｌａｎｘｅｓｓ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの関連会社）から市販されている。２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－カルボン酸のカルボン酸部分の第一級アルコールへの還元、これに続く、塩化チオニル（$SOCl_2$）を使用した、対応する塩化物への変換により、５－（クロロメチル）－２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソールを得る。続いてこれを、シアン化ナトリウムを使用して２－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）アセトニトリルに変換する。２－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）アセトニトリルの、塩基および１－ブロモ－２－クロロエタンでの処理により、１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボニトリルを得る。１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボニトリルのニトリル部分を、塩基を使用してカルボン酸に変換することによって、１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボン酸を得る。これを、塩化チオニルを使用して、所望の酸塩化物に変換する。

【０１５８】

スキーム２－２：アミン部分の合成。

【０１５９】

【化３０】



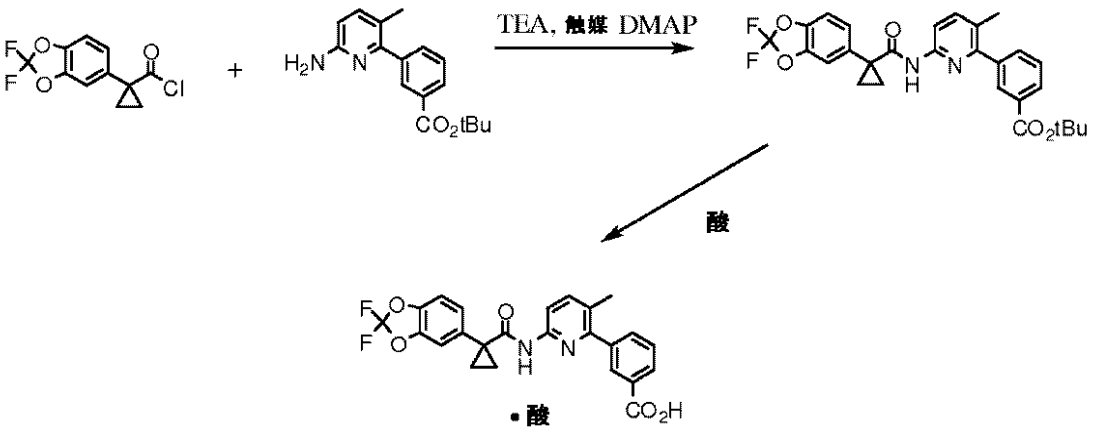
スキーム２－２は、必須のｔｅｒｔ－ブチル３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートの調製を表す。このｔｅｒｔ－ブチル３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートを、スキーム３－３において、１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボニルクロリドとカップリングさせることによって、化合物２を得る。２－ブロモ－３－メチルピリジンと、３－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）フェニルボロン酸のパラジウム触媒によるカップリングにより、ｔｅｒｔ－ブチル３－（３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートを得る。続いてこれを所望の化合物に変換する。

【０１６０】

スキーム２－３　３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸の酸性塩の形成

【０１６１】

【化３１】



スキーム２－３は、トリエチルアミンおよび４－ジメチルアミノピリジンを使用した、１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボニルクロリドとｔｅｒｔ－ブチル３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートとのカップリングによって、化合物２のｔｅｒｔ－ブチルエステルを最初に得ることを表している。ｔｅｒｔ－ブチルエステルを例えばＨＣｌなどの酸で処理することによって、化合物２のＨＣｌ塩を得る。これは通常結晶の固体である。

【０１６２】

実験

Ｖｉｔｒｉｄｅ（登録商標）（ナトリウムビス（２－メトキシエトキシ）アルミニウム

水素化物［またはＮａＡｌＨ$_2$（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$）$_2$］、トルエン中６５ｗｇｔ％溶液）を、Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓから購入した。

【０１６３】

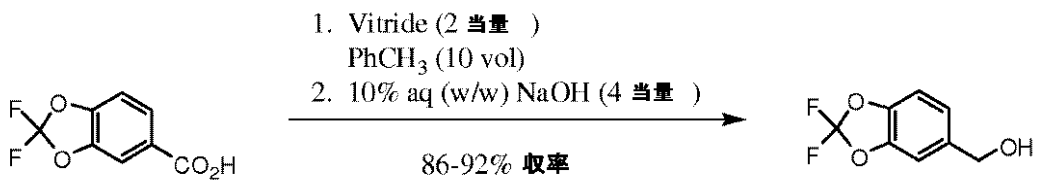
２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－カルボン酸をＳａｌｔｉｇｏ（Ｌａｎｘｅｓｓ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの関連会社）から購入した。

【０１６４】

（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－メタノール。

【０１６５】

【化３２】



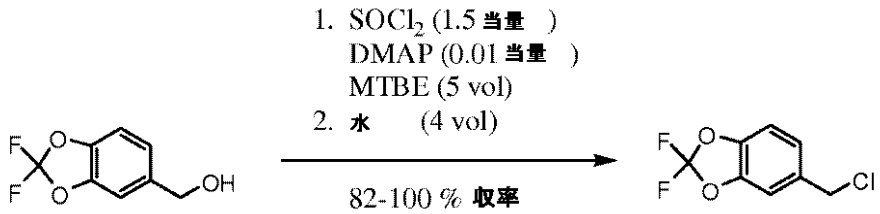
市販の２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－カルボン酸（１．０当量）をトルエン（１０体積）中でスラリー化した。温度を１５～２５℃で維持するような速度で、滴下ロートを介して、Ｖｉｔｒｉｄｅ（登録商標）（２当量）を添加した。添加の終わりに、２時間（ｈ）に渡り、温度を４０℃に増加させ、次いで、温度を４０～５０℃で維持しながら、１０％（ｗ／ｗ）のＮａＯＨ水溶液（ａｑ）（４．０当量）を、滴下ロートを介して慎重に添加した。さらに３０分間（ｍｉｎ）撹拌後、層を４０℃で分離させた。有機相を２０℃に冷却し、次いで水（２×１．５体積）で洗浄し、乾燥させ（Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$）、濾過し、濃縮することによって、粗製の（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－メタノールを生成した。これを直接次のステップで使用した。

【０１６６】

５－クロロメチル－２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール。

【０１６７】

【化３３】



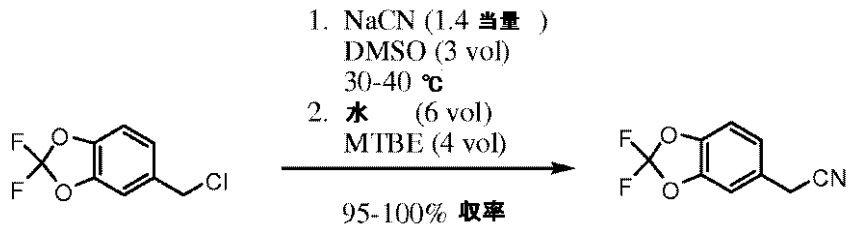
（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－メタノール（１．０当量）をＭＴＢＥ（５体積）中に溶解させた。触媒量の４－（Ｎ，Ｎ－ジメチル）アミノピリジン（ＤＭＡＰ）（１ｍｏｌ％）を添加し、滴下ロートを介してＳＯＣｌ$_2$（１．２当量）を添加した。反応器内の温度を１５～２５℃で維持するような速度でＳＯＣｌ$_2$を添加した。温度を１時間に渡り３０℃に増加させ、次いで２０℃に冷却し、温度を３０℃未満に維持しながら、滴下ロートを介して水（４体積）を添加した。さらに３０分間撹拌後、層を分離させた。有機層を撹拌し、１０％（ｗ／ｖ）ＮａＯＨ水溶液（４．４体積）を添加した。１５～２０分間撹拌後、層を分離させた。次いで有機相を乾燥させ（Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$）、濾過し、濃縮することによって、粗製の５－クロロメチル－２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソールを生成した。これを次のステップでそのまま使用した。

【０１６８】

（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－アセトニトリル。

【０１６９】

【化３４】



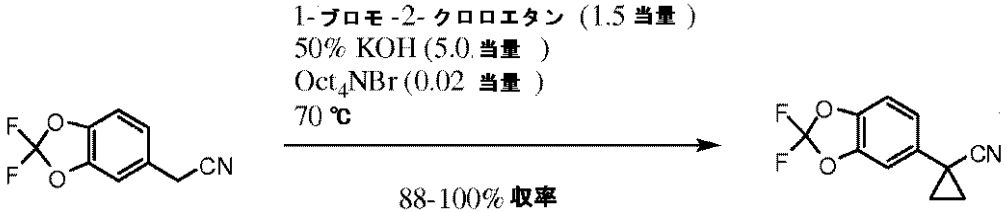
温度を３０～４０℃の間に維持しながら、５－クロロメチル－２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール（１当量）のＤＭＳＯ（１．２５体積）溶液を、ＮａＣＮ（１．４当量）のＤＭＳＯ（３体積）中スラリーに添加した。この混合物を１時間撹拌し、次いで水（６体積）を添加し、続いてメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（ＭＴＢＥ）（４体積）を添加した。３０分間撹拌後、層を分離した。水層をＭＴＢＥ（１．８体積）で抽出した。合わせた有機層を水（１．８体積）で洗浄し、乾燥させ（Na_2SO_4）、濾過し、濃縮することによって、粗製の（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－アセトニトリル（９５％）を生成した。これを次のステップでそのまま使用した。

【０１７０】

（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニトリル。

【０１７１】

【化３５】



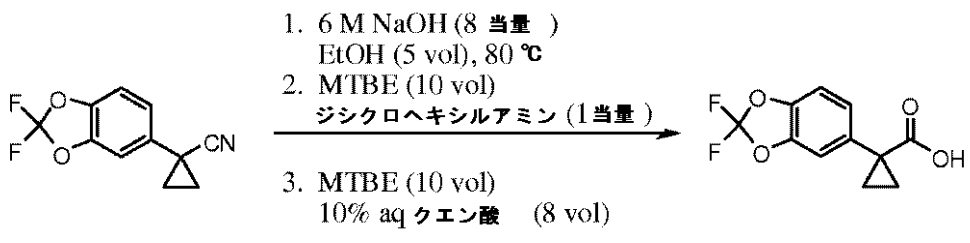
（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－アセトニトリル（１．０当量）、５０ｗｔ％ＫＯＨ水溶液（５．０当量）１－ブロモ－２－クロロエタン（１．５当量）、およびＯｃｔ$_4$ＮＢｒ（０．０２当量）の混合物を、７０℃で１時間加熱した。この反応混合物を冷却し、次いでＭＴＢＥおよび水で後処理を行った。有機相を水およびブラインで洗浄した。溶媒を除去することによって、（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニトリルを生成した。

【０１７２】

１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸。

【０１７３】

【化３６】



エタノール（５体積）中の６Ｍ　ＮａＯＨ（８当量）を使用して、（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニトリルを８０℃

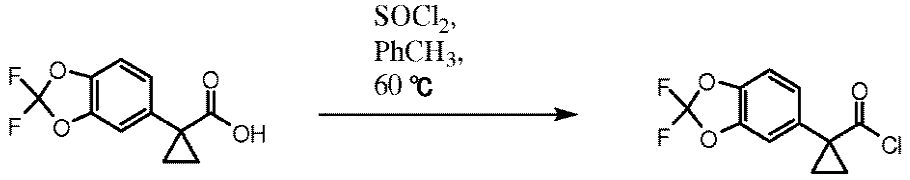
で一晩加水分解した。この混合物を室温に冷却し、減圧下でエタノールを蒸発させた。残渣を水およびＭＴＢＥ中に溶かし、１Ｍ　ＨＣｌを添加し、層を分離させた。次いでＭＴＢＥ層をジシクロヘキシルアミン（ＤＣＨＡ）（０．９７当量）で処理した。スラリーを０℃に冷却し、濾過し、ヘプタンで洗浄することによって、対応するＤＣＨＡ塩を得た。塩をＭＴＢＥおよび１０％クエン酸中に溶かし、すべての固体が溶解するまで撹拌した。層を分離し、ＭＴＢＥ層を水およびブラインで洗浄した。ヘプタンへの溶媒交換、これに続く濾過により、真空オーブン内での、５０℃で一晩の乾燥後、１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸を得た。

【０１７４】

１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニルクロリド。

【０１７５】

【化３７】



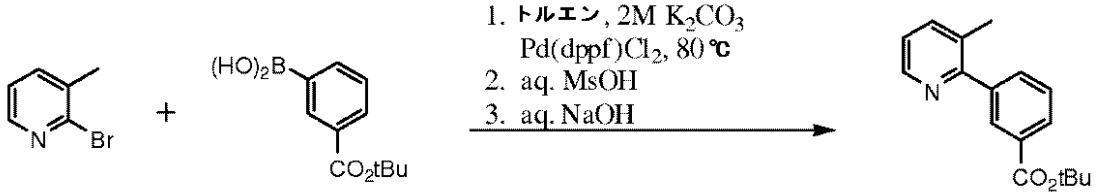
１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸（１．２当量）をトルエン（２．５体積）中でスラリー化し、この混合物を６０℃に加熱した。滴下ロートを介して、$SOCl_2$（１．４当量）を添加した。３０分後、トルエンおよび$SOCl_2$をこの反応混合物から蒸留した。さらにトルエン（２．５体積）を添加し、生成した混合物を再び蒸留すると、酸塩化物の生成物が油として残った。これをさらに精製なしに使用した。

【０１７６】

ｔｅｒｔ－ブチル－３－（３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエート。

【０１７７】

【化３８】



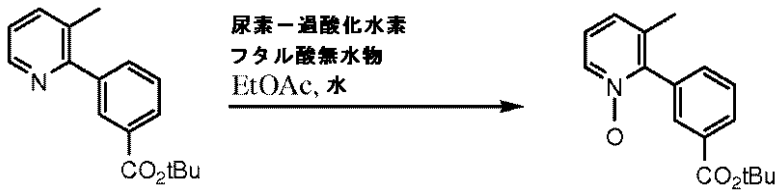
２－ブロモ－３－メチルピリジン（１．０当量）をトルエン（１２体積）中に溶解させた。K_2CO_3（４．８当量）を添加し、続いて水（３．５体積）を添加した。生成した混合物をN_2流下で、１時間に渡り６５℃に加熱した。次いで、３－（ｔ－ブトキシカルボニル）フェニルボロン酸（１．０５当量）およびＰｄ（ｄｐｐｆ）Cl_2・CH_2Cl_2（０．０１５当量）を添加し、この混合物を８０℃に加熱した。２時間後、加温のスイッチを切り、水を添加し（３．５体積）、層を分離させた。次いで有機相を水（３．５体積）で洗浄し、１０％メタンスルホン酸水溶液（２当量　ＭｓＯＨ、７．７体積）で抽出した。５０％ＮａＯＨ水溶液（２当量）を用いて、水相を塩基性にし、ＥｔＯＡｃ（８体積）で抽出した。有機層を濃縮することによって、粗製のｔｅｒｔ－ブチル－３－（３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエート（８２％）を生成した。これを次のステップでそのまま使用した。

【０１７８】

２－（３－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）フェニル）－３－メチルピリジン－１－オキシド。

【０１７９】

【化３９】



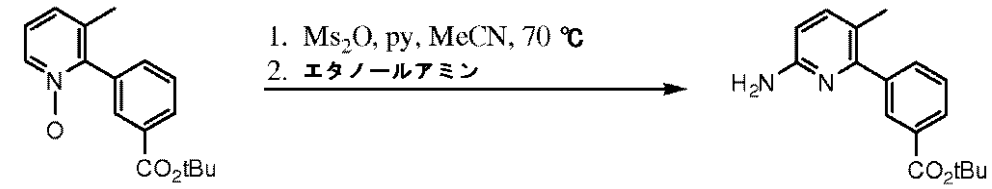
ｔｅｒｔ－ブチル－３－（３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエート（１．０当量）をＥｔＯＡｃ（６体積）中に溶解させた。水（０．３体積）を添加し、続いて尿素－過酸化水素（３当量）を添加した。次いで、反応器内の温度を４５℃より低く維持するような速度で、フタル酸無水物（３当量）を、固体として、この混合物に少しずつ添加した。フタル酸無水物の添加完了後、この混合物を４５℃に加熱した。さらに４時間撹拌後、加温のスイッチを切った。滴下ロートを介して、１０％ｗ／ｗのNa_2SO_3水溶液（１．５当量）を添加した。Na_2SO_3の添加完了後、この混合物をさらに３０分間撹拌し、層を分離させた。有機層を撹拌し、１０％ｗｔ／ｗｔのNa_2CO_3水溶液（２当量）を添加した。３０分間撹拌後、層を分離させた。有機相を１３％ｗ／ｖのＮａＣｌ水溶液で洗浄した。次いで有機相を濾過し、濃縮することによって、粗製の２－（３－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）フェニル）－３－メチルピリジン－１－オキシド（９５％）を生成した。これを次のステップでそのまま使用した。

【０１８０】

ｔｅｒｔ－ブチル－３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエート。

【０１８１】

【化４０】



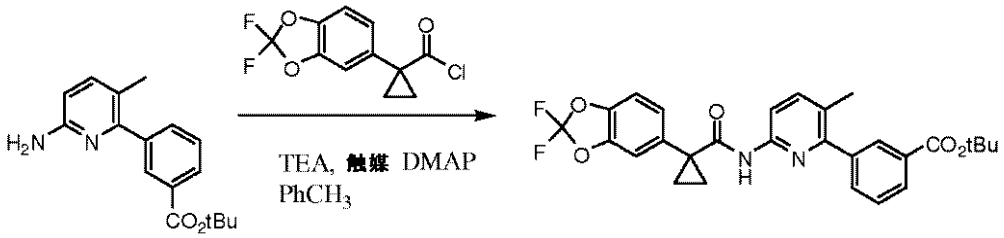
２－（３－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）フェニル）－３－メチルピリジン－１－オキシド（１当量）およびピリジン（４当量）のアセトニトリル（８体積）溶液を７０℃に加熱した。滴下ロートを介して、メタンスルホン酸無水物（１．５当量）のＭｅＣＮ（２体積）溶液を、温度を７５℃未満に維持しながら５０分間に渡り添加した。添加完了後、この混合物をさらに０．５時間撹拌した。次いでこの混合物を周囲温度まで冷却させた。滴下ロートを介してエタノールアミン（１０当量）を添加した。２時間撹拌後、水（６体積）を添加し、この混合物を１０℃に冷却した。３時間撹拌後、固体を濾過で収集し、水（３体積）、２：１アセトニトリル／水（３体積）、およびアセトニトリル（２×１．５体積）で洗浄した。真空オーブン内、５０℃で、わずかにN_2を抜きながら、一定の重量（差異＜１％）に固体を乾燥させることによって、赤黄色の固体として、ｔｅｒｔ－ブチル－３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートを生成した（５３％収率）。

【０１８２】

３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）－ｔ－ブチルベンゾエート。

【０１８３】

【化４１】



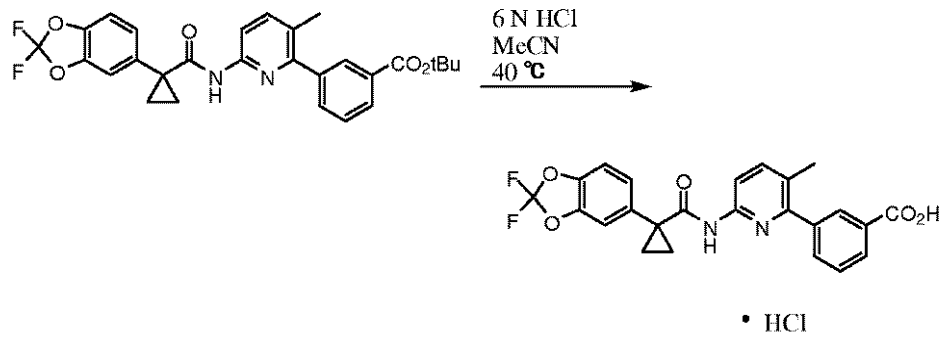
上述した粗製の酸塩化物を、トルエン（２．５体積、酸塩化物に対して）中に溶解させ、滴下ロートを介して、トルエン（４体積、ｔｅｒｔ－ブチル－３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートに対して）中のｔｅｒｔ－ブチル－３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエート（１当量）、ＤＭＡＰ、（０．０２当量）、およびトリエチルアミン（３．０当量）の混合物に添加した。２時間後、水（４体積、ｔｅｒｔ－ブチル－３－（６－アミノ－３－メチルピリジン－２－イル）ベンゾエートに対して）をこの反応混合物に添加した。３０分間撹拌後、層を分離させた。次いで有機相を濾過し、濃縮することによって、高粘度の油である３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）－ｔ－ブチルベンゾエート（定量的粗収率）を生成した。アセトニトリル（３体積、粗生成物に対して）を添加し、晶出が起きるまで蒸留した。水（２体積、粗生成物に対して）を添加し、この混合物を２時間撹拌した。固体を濾過で収集し、１：１（体積で）アセトニトリル／水（２×１体積、粗生成物に対して）で洗浄し、減圧下、フィルター上で部分的に乾燥させた。真空オーブン内、６０℃で、わずかにN_2を抜きながら、一定の重量（＜１％差異）に固体を乾燥させることによって、褐色固体として、３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）－ｔ－ブチルベンゾエートを生成した。

【０１８４】

３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸・ＨＣｌ塩。

【０１８５】

【化４２】



• HCl

３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）－ｔ－ブチルベンゾエート（１．０当量）のＭｅＣＮ（３．０体積）中スラリーに、水（０．８３体積）を添加し、続いて濃ＨＣｌ水溶液（０．８３体積）を添加した。この混合物を４５±５℃に加熱した。２４～４８時間撹拌後、この反応は完了し、この混合物を周囲温度まで冷却させた。水（１．３３体積）を添加し、この混合物を撹拌した。固体を濾過収集し、水（２×０．３体積）で洗浄し、減圧下、フィルター上で部分的に乾燥させた。真空オーブン内、６０℃で、わずかにN_2を抜きながら、一定の重量（＜１％差異）に固体を乾燥させ

ることによって、オフホワイト色の固体として、３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸・ＨＣｌを生成した。

【０１８６】

以下の表２－１は、化合物２に対する物理学的データを列挙している。

表２－１．

【０１８７】

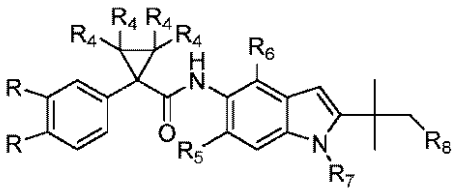
【表２－１】

化合物	LC/MS M＋1	LC/RT 分	NMR
化合物 2	453.3	1.93	^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d6) 9.14 (s, 1H), 7.99-7.93 (m, 3H), 7.80-7.78 (m,1H), 7.74-7.72 (m,1H), 7.60-7.55 (m,2H), 7.41-7.33 (m,2H), 2.24 (s, 3H), 1.53-1.51 (m, 2H), 1.19-1.17 (m, 2H).

ＩＩ．Ｃ．１．式ＩＩＩの化合物

【０１８８】

【化４３】



式 III

Ｃ欄のＡＢＣトランスポーター活性モジュレーターは、本発明の譲受人と同一出願人による米国特許第７，６４５，７８９号および第７，７７６，９０５号において、十分に記載および例示されている。上記特許に列挙された化合物のすべては、本発明において有用であり、これらの全体が本明細書中で本発明の開示に組み込まれる。

１．式ＩＩＩの化合物の実施形態

一実施形態では、式ＩＩＩの化合物において、

Ｒは、Ｈ、ＯＨ、ＯＣＨ$_3$であるか、または２つのＲが一緒になって－ＯＣＨ$_2$Ｏ－または－ＯＣＦ$_2$Ｏ－を形成し、

Ｒ$_4$は、Ｈまたはアルキルであり、

Ｒ$_5$は、ＨまたはＦであり、

Ｒ$_6$は、ＨまたはＣＮであり、

Ｒ$_7$は、Ｈ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｎ$^+$（ＣＨ$_3$）$_3$、または－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＨであり、

Ｒ$_8$は、Ｈ、ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＣＨ（ＯＨ）ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨ$_2$ＯＨであるか、またはＲ$_7$およびＲ$_8$が一緒になって５員環を形成する。

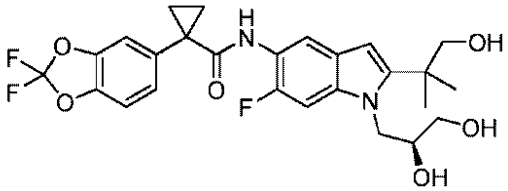
【０１８９】

ＩＩ．Ｃ．２．化合物３

別の実施形態において、式ＩＩＩの化合物は、化合物３であり、その化学名（Ｒ）－１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）－Ｎ－（１－（２，３－ジヒドロキシプロピル）－６－フルオロ－２－（１－ヒドロキシ－２－メチルプロパン－２－イル）－１Ｈ－インドール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミドにより公知である。

【０１９０】

【化４４】



化合物 3

１．式ＩＩＩの化合物の合成

ａ．一般的スキーム

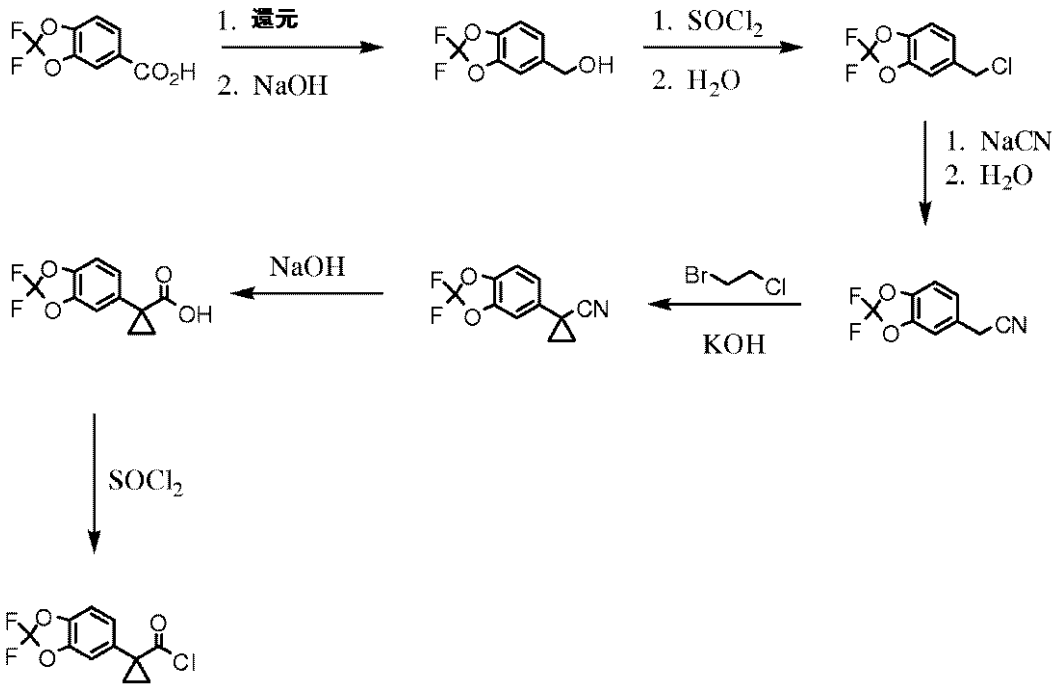
化合物３は、スキーム３－１から３－３に従い、酸塩化物部分とアミン部分をカップリングすることによって、調製することができる。

【０１９１】

スキーム３－１：酸塩化物部分の合成。

【０１９２】

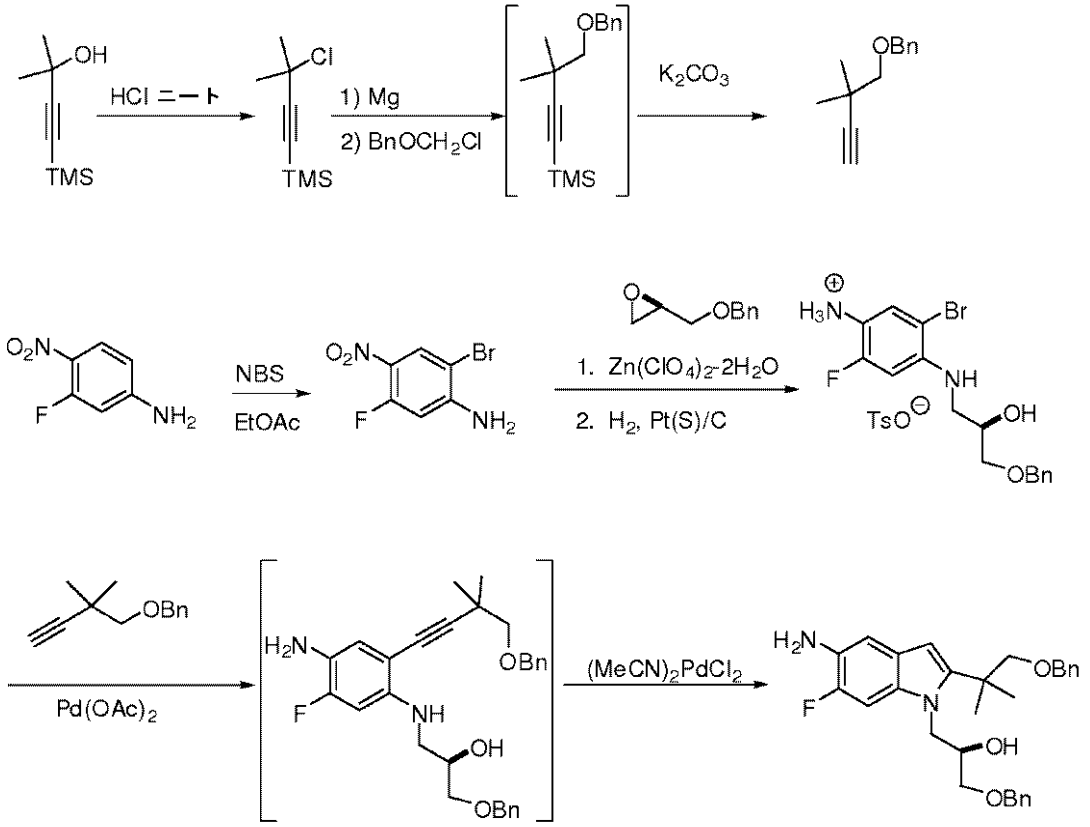
【化４５】



スキーム３－２：アミン部分の合成。

【０１９３】

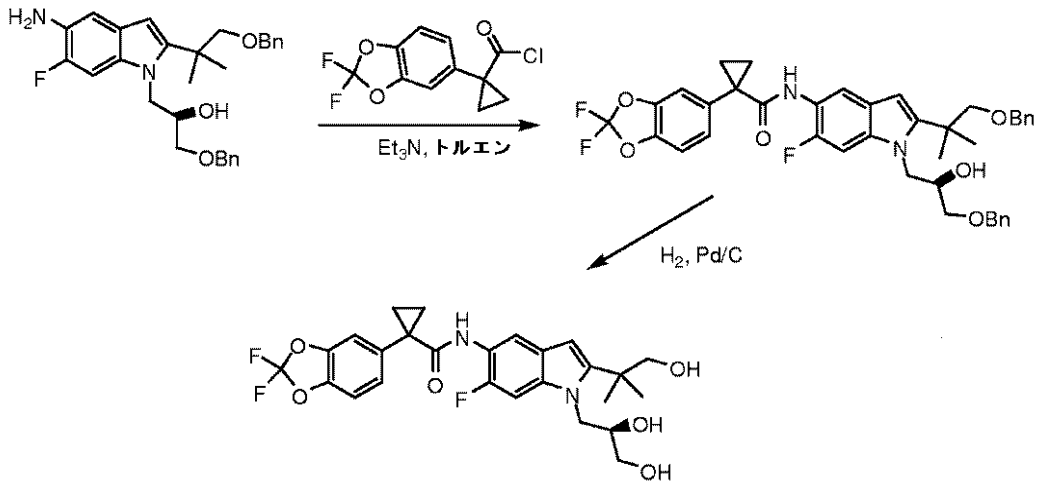
【化４６】



スキーム３－３：化合物３の形成。

【０１９４】

【化４７】



ｂ．例

Ｖｉｔｒｉｄｅ（登録商標）（ナトリウムビス（２－メトキシエトキシ）アルミニウム水素化物［またはＮａＡｌＨ$_2$（ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$）$_2$］、６５ｗｇｔ％のトルエン溶液）をＡｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓから購入した。

【０１９５】

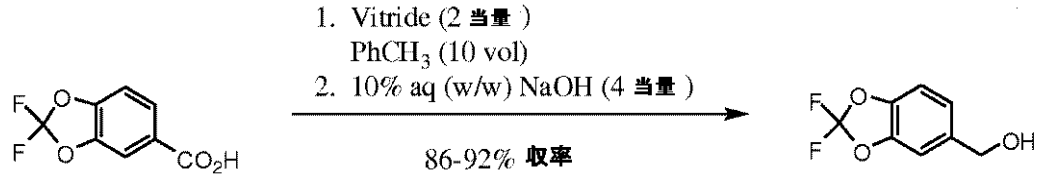
２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－カルボン酸を、Ｓａｌｔｉｇｏ（Ｌａｎｘｅｓｓ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの関連会社）から購入した。

【０１９６】

化合物３の酸部分の合成

（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－メタノール。

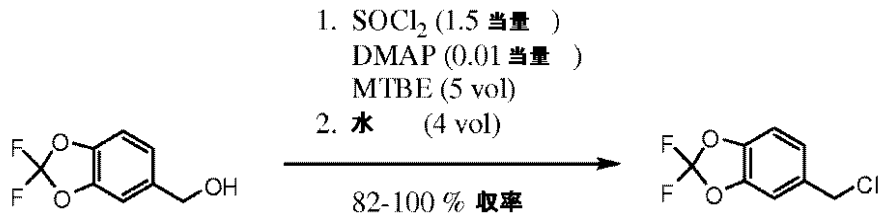
【０１９７】
【化４８】



市販の２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－カルボン酸（１．０当量）をトルエン（１０体積）中でスラリー化した。温度を１５～２５℃で維持するような速度で、滴下ロートを介して、Ｖｉｔｒｉｄｅ（登録商標）（２当量）を添加した。添加の終わりに、温度を４０℃に２時間（ｈ）増加させ、次いで滴下ロートを介して、温度を４０～５０℃で維持しながら、１０％（ｗ／ｗ）ＮａＯＨ水溶液（４．０当量）を慎重に添加した。さらに３０分間（ｍｉｎ）撹拌後、４０℃で層を分離させた。有機相を２０℃に冷却し、次いで水（２×１．５体積）で洗浄し、乾燥させ（Na_2SO_4）、濾過し、濃縮することによって粗製の（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－メタノールを生成した。これを次のステップでそのまま使用した。

【０１９８】
５－クロロメチル－２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール。

【０１９９】
【化４９】



（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－メタノール（１．０当量）をＭＴＢＥ（５体積）中に溶解させた。触媒量のＤＭＡＰ（１ｍｏｌ％）を添加し、滴下ロートを介して$SOCl_2$（１．２当量）を添加した。反応器内の温度を１５～２５℃で維持するような速度で$SOCl_2$を添加した。１時間に渡り温度を３０℃に増加させ、次いで２０℃に冷却し、次いで温度を３０℃未満で維持しながら、滴下ロートを介して水（４体積）を添加した。さらに３０分間撹拌後、層を分離させた。有機層を撹拌し、１０％（ｗ／ｖ）ＮａＯＨ水溶液（４．４体積）を添加した。１５～２０分間撹拌後、層を分離させた。次いで有機相を乾燥させ（Na_2SO_4）、濾過し、濃縮することによって、粗製の５－クロロメチル－２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソールを生成した。これを次のステップでそのまま使用した。

【０２００】
（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－アセトニトリル。

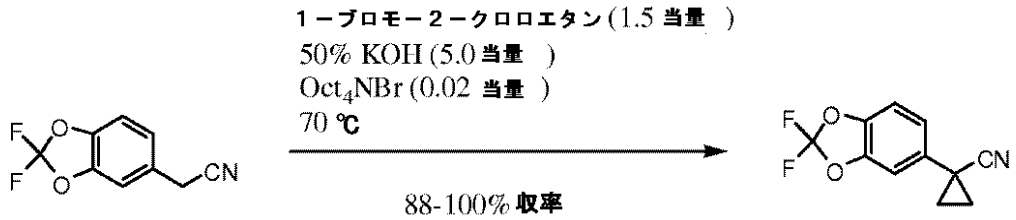
【０２０１】
【化５０】

温度を３０～４０℃の間に維持しながら、５－クロロメチル－２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール（１当量）のＤＭＳＯ（１．２５体積）溶液を、ＮａＣＮ（１．４当量）のＤＭＳＯ（３体積）中スラリーに添加した。この混合物を１時間撹拌し、次いで水（６体積）を添加し、続いてＭＴＢＥ（４体積）を添加した。３０分間撹拌後、層を分離させた。水層をＭＴＢＥ（１．８体積）で抽出した。合わせた有機層を水（１．８体積）で洗浄し、乾燥させ（Na_2SO_4）、濾過し、濃縮することによって粗製の（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－アセトニトリル（９５％）を生成した。これを次のステップでそのまま使用した。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.44 (br s, 1H), 7.43 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.22 (dd, J = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 4.07 (s, 2H).

（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニトリル。

【０２０２】

【化５１】

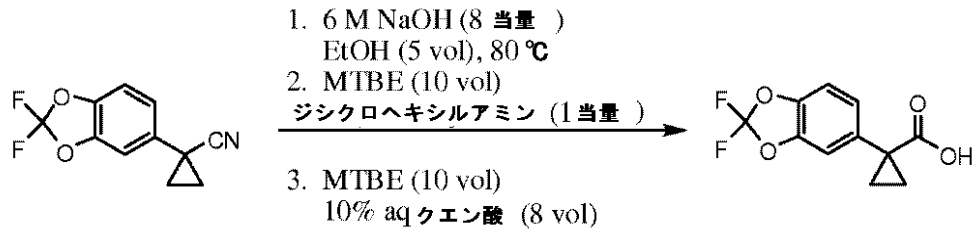


（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－アセトニトリル（１．０当量）、５０ｗｔ％ＫＯＨ水溶液（５．０当量）１－ブロモ－２－クロロエタン（１．５当量）、およびOct_4NBr（０．０２当量）の混合物を７０℃で１時間加熱した。この反応混合物を冷却し、次いでＭＴＢＥおよび水で後処理を行った。有機相を水およびブラインで洗浄し、次いで溶媒を除去することによって、（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニトリルを生成した。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7.43 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.30 (dd, J = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 1.75 (m, 2H), 1.53 (m, 2H).

１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸。

【０２０３】

【化５２】



エタノール（５体積）中６Ｍ　ＮａＯＨ（８当量）を使用して、８０℃で一晩、（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボニトリルを加水分解した。この混合物を室温に冷却し、エタノールを減圧下で蒸発させた。残渣を水およびＭＴＢＥ中に溶解させ、１Ｍ　ＨＣｌを添加し、層を分離させた。次いでＭＴＢＥ層をジシクロヘキシルアミン（０．９７当量）で処理した。スラリーを０℃に冷却し、濾過し、ヘプタンで洗浄することによって、対応するＤＣＨＡ塩を得た。この塩をＭＴＢＥおよび１０％クエン酸に溶解させ、すべての固体が溶解するまで撹拌した。層を分離させ、ＭＴＢＥ層を水およびブラインで洗浄した。ヘプタンへの溶媒交換に続いて、濾

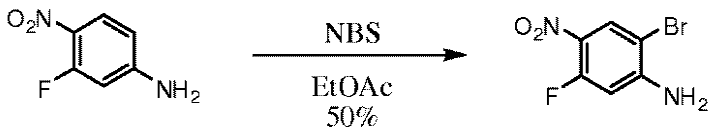
過により、真空オーブン内で、５０℃で一晩乾燥後、１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸を得た。ESI-MS m/z計算値242.04, 実測値241.58 $(M+1)^+$; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 12.40 (s, 1H), 7.40 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.17 (d d, J = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 1.46 (m, 2H), 1.17 (m, 2H).

化合物３のアミン部分の合成

２－ブロモ－５－フルオロ－４－ニトロアニリン。

【０２０４】

【化５３】

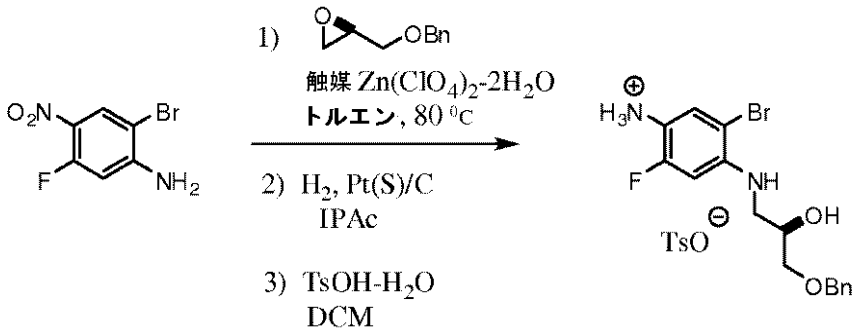


フラスコに３－フルオロ－４－ニトロアニリン（１．０当量）を入れ、続いて酢酸エチル（１０体積）を入れ、撹拌して、すべての固体を溶解させた。内部温度を２２℃で維持するように、Ｎ－ブロモスクシンイミド（１．０当量）を少しずつ添加した。この反応の終わりに、この反応混合物を、ロータバップ上で、減圧下で濃縮した。残渣を蒸留水（５体積）中でスラリー化することによって、溶解させ、スクシンイミドを取り出した。（スクシンイミドはまた、水での後処理手順により取り除くこともできる）。水をデカントして移し、固体を２－プロパノール（５体積）中で一晩スラリー化した。生成したスラリーを濾過し、湿式ケーキを２－プロパノールで洗浄し、N_2を抜きながら、一定の重量が達成されるまで、真空オーブン内で、５０℃で一晩乾燥させた。黄色がかった黄褐色の固体を単離した（５０％収率、９７．５％ＡＵＣ）。他の不純物は、ブロモ－位置異性体（１．４％ＡＵＣ）およびジ－ブロモ付加反応物（１．１％ＡＵＣ）であった。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.19 (1 H, d, J = 8.1 Hz), 7.06 (br. s, 2 H), 6.64 (d, 1 H, J = 14.3 Hz).

ベンジルグリコール化－４－アンモニウム－２－ブロモ－５－フルオロアニリントシル酸塩。

【０２０５】

【化５４】



N_2下で、完全に乾燥したフラスコに以下を入れた：活性化した、粉末４Åモレキュラーシーブ（５０ｗｔ％、２－ブロモ－５－フルオロ－４－ニトロアニリンに対して）、２－ブロモ－５－フルオロ－４－ニトロアニリン（１．０当量）、過塩素酸亜鉛二水和物（２０ｍｏｌ％）、およびトルエン（８体積）。この混合物を室温で３０分間以下の間撹拌した。最後に、トルエン（２体積）中（Ｒ）－ベンジルグリシジルエーテル（２．０当量）を定常流に添加した。この反応物を８０℃（内部温度）に加熱し、約７時間または２－ブロモ－５－フルオロ－４－ニトロアニリンが＜５％ＡＵＣとなるまで撹拌した。

【０２０６】

この反応物を室温に冷却し、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）（５０ｗｔ％）を添加し、続いて酢酸エチル（１０体積）を添加した。生成した混合物を濾過することによって、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）およびシーブを取り出し、酢酸エチル（２体積）で洗浄した。濾液を

塩化アンモニウム溶液（４体積、２０％ｗ／ｖ）で洗浄した。有機層を重炭酸ナトリウム溶液（４体積×２．５％ｗ／ｖ）で洗浄した。ロトバップ上で、有機層を減圧下で濃縮した。生成したスラリーを酢酸イソプロピル（１０体積）中に溶解させ、この溶液をＢｕｃｈｉ水素化装置へと移した。

【０２０７】

この水素添加装置に５ｗｔ％Ｐｔ（Ｓ）／Ｃ（１．５ｍｏｌ％）を入れ、この混合物をN_2下、３０℃（内部温度）で撹拌した。この反応物をN_2、続いて水素でフラッシュした。水素化装置の圧力を水素１バールに調整し、この混合物を急速に（＞１２００ｒｐｍ）撹拌した。この反応の終わりに、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）のパッドを介して触媒を濾過し、ジクロロメタン（１０体積）で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮した。残っているあらゆる酢酸イソプロピルをジクロロメタン（２体積）と共に除き（ｃｈａｓｅ）し、ロータバップ上で濃縮乾燥した。

【０２０８】

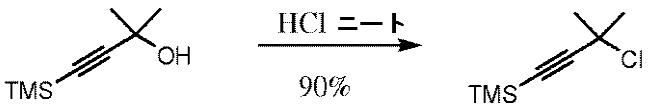
生成した残渣をジクロロメタン（１０体積）中に溶解させた。ｐ－トルエンスルホン酸一水和物（１．２当量）を添加し、一晩撹拌した。生成物を濾過し、ジクロロメタン（２体積）で洗浄し、吸引乾燥した。湿式ケーキを乾燥トレイから、真空オーブンへと移し、N_2を抜きながら一定の重量が達成されるまで４５℃で乾燥させた。ベンジルグリコール化－４－アンモニウム－２－ブロモ－５－フルオロアニリントシル酸塩を、オフホワイト色固体として単離した。

【０２０９】

（３－クロロ－３－メチルブタ－１－イニル）トリメチルシラン。

【０２１０】

【化５５】



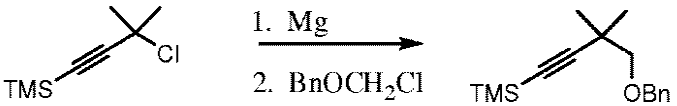
プロパルギルアルコール（１．０当量）を容器に入れた。塩酸（水性）（３７％、３．７５体積）を添加し、撹拌を開始した。固体アルコールの溶解中、中程度の吸熱（５～６℃）が認められた。生成した混合物を一晩（１６時間）撹拌すると、ゆっくりと暗赤色になった。３０Ｌジャケット付き容器に水（５体積）を入れ、次いで１０℃に冷却した。この混合物の内部温度を２５℃より低く維持しながら、この反応混合物を真空によりゆっくりと水に移行させた。ヘキサン（３体積）を添加し、生成した混合物を０．５時間撹拌した。相を澄ませ、水相（ｐＨ＜１）を排水し、廃棄した。回転式エバポレータを使用して、有機相を減圧下で濃縮すると、赤色の油として生成物が供給された。

【０２１１】

（４－（ベンジルオキシ）－３，３－ジメチルブタ－１－イニル）トリメチルシラン。

【０２１２】

【化５６】



方法Ａ

この部分のすべての当量および体積記述子は、２５０ｇの反応物に対するものである。削り屑状マグネシウム（６９．５ｇ、２．８６ｍｏｌ、２．０当量）を３Ｌの４口反応器に入れ、磁気撹拌機を用いて、窒素下で、０．５時間撹拌した。この反応器を氷水浴内に浸した。初期の発熱量（約１０℃）が認められるまで、塩化プロパルギル（２５０ｇ、１．４３ｍｏｌ、１．０当量）のＴＨＦ（１．８Ｌ、７．２体積）溶液を、撹拌しながら、反応器にゆっくりと添加した。^{1}Ｈ－核磁気共鳴分光法を使用して、ＩＰＣにより、グリ

ニャール試薬の形成が確認された。発熱量が弱まったら、バッチ温度＜１５℃を維持しながら、残りの溶液をゆっくりと添加した。添加には約３．５時間必要であった。生成した濃緑色の混合物を、蓋付２Ｌビンにデカントして移した。

【０２１３】

この部分のすべての当量および体積記述子は、５００ｇの反応物に対するものである。２２Ｌ反応器に、ベンジルクロロメチルエーテル（９５％、３７５ｇ、２．３１ｍｏｌ、０．８当量）のＴＨＦ（１．５Ｌ、３体積）溶液を入れた。反応器を氷水浴内で冷却した。上記で調製した４つのグリニャール試薬バッチのうちの２つを合わせ、次いで滴下ロートを介して、バッチ温度を２５℃より低く維持しながら、ベンジルクロロメチルエーテル溶液にゆっくりと添加した。添加には、１．５時間必要であった。この反応混合物を一晩（１６時間）撹拌した。

【０２１４】

この部分のすべての当量および体積記述子は、１ｋｇの反応物に対するものである。１５％塩化アンモニウムの溶液を３０Ｌジャケット付き反応器（８．５ｋｇの水中１．５ｋｇ、１０体積）内で調製した。溶液を５℃に冷却した。上記２つのグリニャール反応混合物を合わせ、次いでヘッダー容器を介して塩化アンモニウム溶液へと移した。内部温度を２５℃より低く保つような速度でクエンチを行い、このクエンチにおいて発熱量が認められた。移行が完了したとき、容器ジャケット温度を２５℃にセットした。ヘキサン（８Ｌ、８体積）を添加し、この混合物を０．５時間撹拌した。相の沈降後、水相（ｐＨ９）を排水し、廃棄した。残っている有機相を水（２Ｌ、２体積）で洗浄した。２２Ｌ回転式エバポレータを使用して、有機相を減圧下で濃縮すると、オレンジ色の油として、粗生成物が提供された。

【０２１５】

方法Ｂ

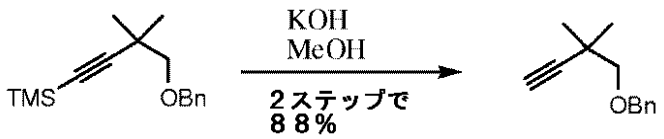
削り屑状マグネシウム（１０６ｇ、４．３５ｍｏｌ、１．０当量）を２２Ｌ反応器に入れ、次いでＴＨＦ（７６０ｍＬ、１体積）中で懸濁させた。バッチ温度が２℃に到達するように、容器を氷水浴内で冷却した。塩化プロパルギル（７６０ｇ、４．３５ｍｏｌ、１．０当量）のＴＨＦ（４．５Ｌ、６体積）溶液を反応器にゆっくりと添加した。１００ｍＬを添加した後、添加を中止し、グリニャール試薬の開始を示唆する、１３℃の発熱量が認められるまでこの混合物を撹拌した。発熱量が弱まったら、バッチ温度＜２０℃を維持しながら、さらに５００ｍＬの塩化プロパルギル溶液をゆっくりと添加した。^{1}Ｈ－核磁気共鳴分光法を使用して、ＩＰＣで、グリニャール試薬の形成を確認した。バッチ温度＜２０℃を維持しながら、残りの塩化プロパルギル溶液をゆっくりと添加した。添加には、約１．５時間必要であった。生成した濃緑色の溶液を０．５時間撹拌した。^{1}Ｈ－核磁気共鳴分光法を使用して、ＩＰＣにより、グリニャール試薬の形成が確認された。ニートのベンジルクロロメチルエーテルを反応器の滴下ロートに入れ、次いで、バッチ温度を２５℃より低く維持しながら、反応器に滴下した。添加には、１．０時間必要だった。この反応混合物を一晩撹拌した。方法Ａと同じ手順および相対量の物質を使用して、水での後処理および濃縮を行うことによって、オレンジ色の油として生成物を得た。

【０２１６】

ベンジルオキシ－３，３－ジメチルブタ－１－イン。

【０２１７】

【化５７】



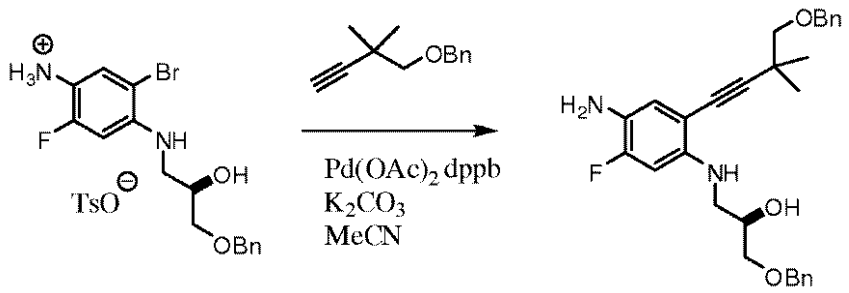
３０Ｌジャケット付き反応器にメタノール（６体積）を入れた。これを次いで５℃に冷却した。水酸化カリウム（８５％、１．３当量）を反応器に添加した。溶解した水酸化カ

リウムとして、１５～２０℃の発熱量が認められた。ジャケット温度を２５℃にセットした。４－ベンジルオキシ－３，３－ジメチル－１－トリメチルシリルブター１－イン（１．０当量）のメタノール（２体積）溶液を添加し、ＨＰＬＣで観察した場合に反応完了となるまで、生成した混合物を撹拌した。２５℃での典型的な反応時間は、３～４時間であった。この反応混合物を水（８体積）で希釈し、次いで０．５時間撹拌した。ヘキサン（６体積）を添加し、生成した混合物を０．５時間撹拌した。相を澄ませて、次いで水相（ｐＨ１０～１１）を排水し、廃棄した。有機相を、ＫＯＨ（８５％、０．４当量）の水（８体積）溶液、続いて水（８体積）で洗浄した。次いで回転式エバポレータを使用して、有機相を濃縮すると、黄色－オレンジ色の油として表題物質が生じた。この物質の典型的な純度は、８０％の領域内であり、主として単一の不純物が存在した。^{1}H NMR (400 MHz, C_6D_6) δ 7.28 (d, 2 H, J = 7.4 Hz), 7.18 (t, 2 H, J = 7.2 Hz), 7.10 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 4.35 (s, 2 H), 3.24 (s, 2 H), 1.91 (s, 1 H), 1.25 (s, 6 H).

ベンジルグリコール化４－アミノ－２－（４－ベンジルオキシ－３，３－ジメチルブター１－イニル）－５－フルオロアニリン。

【０２１８】

【化５８】



ＥｔＯＡｃ（５体積）および$NaHCO_3$飽和溶液（５体積）中の固体を撹拌することによって、明白な有機層が達成されるまで、ベンジルグリコール化（glocolated）４－アンモニウム－２－ブロモ－５－フルオロアニリントシル酸塩を遊離塩基化した。生成した層を分離させ、有機層を$NaHCO_3$飽和溶液（５体積）、続いてブラインで洗浄し、減圧下で濃縮することによって、油として、ベンジルグリコール化４－アンモニウム－２－ブロモ－５－フルオロアニリントシル酸塩を入手した。

【０２１９】

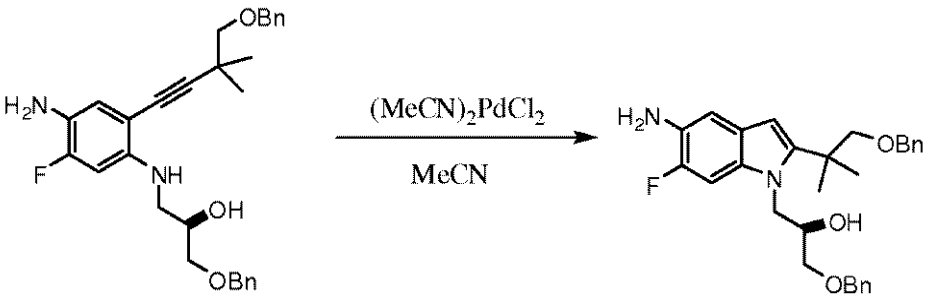
次いで、フラスコに、ベンジルグリコール化４－アンモニウム－２－ブロモ－５－フルオロアニリントシル酸塩（遊離塩基、１．０当量）、Ｐｄ（ＯＡｃ）（４．０ｍｏｌ％）、ｄｐｐｂ（６．０ｍｏｌ％）および粉末K_2CO_3（３．０当量）を入れ、アセトニトリル（６体積）と共に室温で撹拌した。通気しながらN_2でバブリングすることによって、生成した反応混合物を約３０分間脱気した。次いでアセトニトリル（２体積）中に溶解させた４－ベンジルオキシ－３，３－ジメチルブター１－イン（１．１当量）を高速流の中で添加し、８０℃に加熱し、４－アンモニウム－２－ブロモ－５－フルオロアニリントシル酸塩の完全な消費が達成されるまで撹拌した。この反応物スラリーを室温に冷却し、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）のパッドを介して濾過し、アセトニトリル（２体積）で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮し、残渣をＥｔＯＡｃ（６体積）中で再び溶解させた。有機層を、NH_4Cl溶液（２０％ｗ／ｖ、４体積）およびブライン（６体積）で２回洗浄した。生成した有機層を濃縮することによって、褐色の油が生じた。これを次の反応でそのまま使用した。

【０２２０】

Ｎ－ベンジルグリコール化－５－アミノ－２－（２－ベンジルオキシ－１，１－ジメチルエチル）－６－フルオロインドール。

【０２２１】

【化５９】



ベンジルグリコール化４－アミノ－２－（４－ベンジルオキシ－３，３－ジメチルブタ－１－イニル）－５－フルオロアニリンの原油をアセトニトリル（６体積）中に溶解させ、室温で（ＭｅＣＮ）$_2$ＰｄＣｌ$_2$（１５ｍｏｌ％）を添加した。通気しながらＮ$_2$を使用して約３０分間、生成した混合物を脱気した。次いで、Ｎ$_2$ブランケット下で、８０℃で一晩この反応混合物を撹拌した。この反応混合物を室温に冷却し、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）のパッドを介して濾過し、アセトニトリル（１体積）でケーキを洗浄した。生成した濾液を減圧下で濃縮し、ＥｔＯＡｃ（５体積）中に再び溶解させた。Ｄｅｌｏｘａｎ－ＩＩ（登録商標）ＴＨＰ（５ｗｔ％、Ｎ－ベンジルグリコール化－５－アミノ－２－（２－ベンジルオキシ－１，１－ジメチルエチル）－６－フルオロインドールの理論的収率に対して）を添加し、室温で一晩撹拌した。次いで、シリカのパッド（奥行き２．５インチ、直径６インチのフィルター）を介してこの混合物を濾過し、ＥｔＯＡｃ（４体積）で洗浄した。濾液を暗褐色の残渣に濃縮し、これを次の反応でそのまま使用した。

【０２２２】

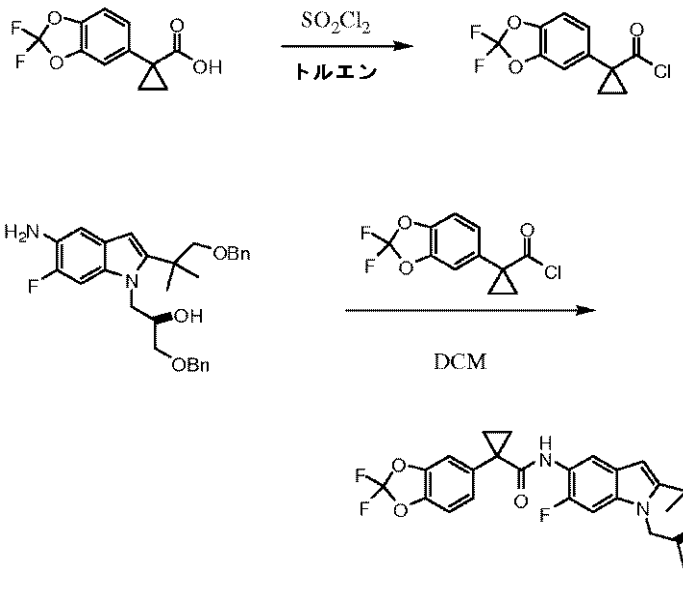
粗製のＮ－ベンジルグリコール化－５－アミノ－２－（２－ベンジルオキシ－１，１－ジメチルエチル）－６－フルオロインドールの再精製：

粗製のＮ－ベンジルグリコール化－５－アミノ－２－（２－ベンジルオキシ－１，１－ジメチルエチル）－６－フルオロインドールをジクロロメタン（約１．５体積）中に溶解させ、不純物を廃棄した３０％ＥｔＯＡｃ／ヘプタンを最初に使用して、シリカのパッドを介して濾過した。次いでこのシリカパッドを５０％ＥｔＯＡｃ／ヘプタンで洗浄することによって、かすかな呈色が濾液内に認められるまで、Ｎ－ベンジルグリコール化－５－アミノ－２－（２－ベンジルオキシ－１，１－ジメチルエチル）－６－フルオロインドールを単離した。この濾液を減圧下で濃縮することによって、褐色の油を生成した。これを室温で静置させて晶出させた。^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.38-7.34 (m, 4 H), 7.32-7.23 (m, 6 H), 7.21 (d, 1 H, J = 12.8 Hz), 6.77 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 6.06 (s, 1 H), 5.13 (d, 1H, J = 4.9 Hz), 4.54 (s, 2 H), 4.46 (br. s, 2 H), 4.45 (s, 2 H), 4.33 (d, 1 H, J = 12.4 Hz), 4.09-4.04 (m, 2 H), 3.63 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 3.56 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 3.49 (dd, 1H, J = 9.8, 4.4 Hz), 3.43 (dd, 1H, J = 9.8, 5.7 Hz), 1.40 (s, 6 H).

化合物３の合成。

【０２２３】

【化６０】



１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸（１．３当量）を、トルエン（２．５体積、１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸に対して）中でスラリー化し、この混合物を６０℃に加熱した。滴下ロートを介して、ＳＯＣｌ$_2$（１．７当量）を添加した。生成した混合物を２時間撹拌した。ロータバップ（rotavop）を使用して、トルエンおよび過剰のＳＯＣｌ$_2$を蒸留して除去した。さらにトルエン（２．５体積、１－（２，２－ジフルオロ－１，３－ベンゾジオキソール－５－イル）－シクロプロパンカルボン酸に対して）を添加し、再び蒸留した。粗製の酸塩化物をジクロロメタン（２体積）中に溶解させ、０～３℃（内部温度）を維持しながら、滴下ロートを介して、ジクロロメタン（７体積）中のＮ－ベンジルグリコール化－５－アミノ－２－（２－ベンジルオキシ－１，１－ジメチルエチル）－６－フルオロインドール（１．０当量）およびトリエチルアミン（２．０当量）の混合物に添加した。生成した混合物を０℃で４時間撹拌し、次いで一晩室温に温めた。蒸留水（５体積）をこの反応混合物に添加し、３０分間以上撹拌し、層を分離させた。有機相を、２０ｗｔ％のＫ$_2$ＣＯ$_3$（４体積×２）、続いてブライン洗浄剤（４体積）で洗浄し、濃縮することによって、粗製のベンジル保護された化合物２を、高粘度の褐色の油として生成した。シリカパッド濾過を使用して、これをさらに精製した。

【０２２４】

シリカゲルパッド濾過：粗製のベンジル保護された化合物３を、活性炭Ｄａｒｃｏ－Ｇ（１０ｗｔ％、ベンジル保護された化合物３の理論的収率に対して）の存在下、酢酸エチル（３体積）中に溶解させ、室温で一晩撹拌した。この混合物に、ヘプタン（３体積）を添加し、シリカゲル（２×粗製のベンジル保護された化合物３の重量）のパッドを介して濾過した。わずかな呈色が濾液中に検出されるまで、シリカパッドを酢酸エチル／ヘプタン（１：１、６体積）で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮することによって、粘性の赤みを帯びた褐色の油としてベンジル保護された化合物３を生成し、これを次のステップでそのまま使用した。

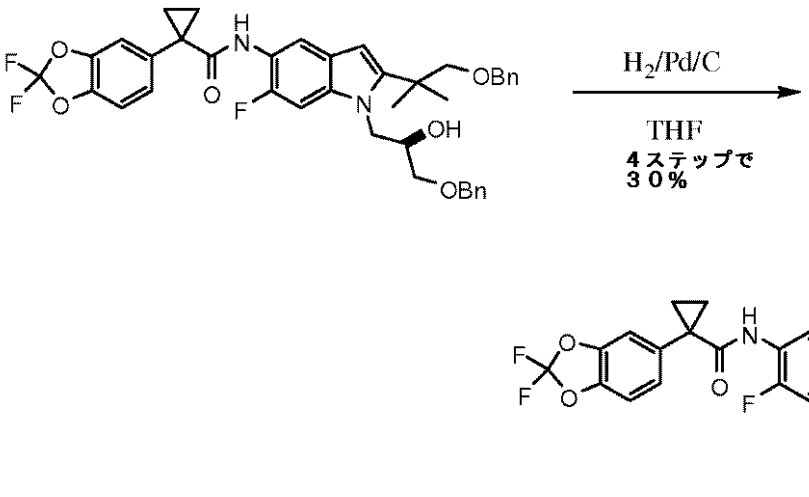
【０２２５】

再精製：ベンジル保護された化合物３をジクロロメタン（１体積、ベンジル保護された化合物３の理論的収率に対して）中に再び溶解させ、シリカゲルパッド（２×粗製のベンジル保護された化合物３の重量）に入れた。このシリカパッドをジクロロメタン（２体積、ベンジル保護された化合物３の理論的収率に対して）洗浄し、濾液を廃棄した。シリカパッドを３０％酢酸エチル／ヘプタン（５体積）で洗浄し、濾液を減圧下で濃縮することによって、粘性の赤みを帯びたオレンジ色の油としてベンジル保護された化合物３を生成

し、これを次のステップでそのまま使用した。

【０２２６】

【化６１】



方法Ａ

２０Ｌオートクレーブを窒素気体で３回フラッシュし、次いでパラジウム担持炭素（Ｅｖｏｎｉｋ　Ｅ　１０１　ＮＮ／Ｗ、５％Ｐｄ、６０％湿式、２００ｇ、０．０７５ｍｏｌ、０．０４当量）を入れた。次いでこのオートクレーブを窒素で３回フラッシュした。吸引により、粗製のベンジル保護された化合物３（１．３ｋｇ、約１．９ｍｏｌ）のＴＨＦ（８Ｌ、６体積）溶液をオートクレーブに添加した。この容器に蓋をし、次いで３回窒素の気体でフラッシュした。優しく撹拌しながら、この容器を水素の気体で３回フラッシュし、窒素で希釈することによって大気に排気した。オートクレーブを水素で３バールに加圧し、撹拌速度を８００ｒｐｍに増加した。急速な水素取り込みが認められた（溶解）。取り込みが弱まってから、容器を５０℃に加熱した。

【０２２７】

安全の目的で、毎労働日の終わりにはサーモスタットを切った。容器を水素で４バールに加圧し、次いで水素タンクから単離した。

【０２２８】

反応から丸２日後、さらにＰｄ／Ｃ（６０ｇ、０．０２３ｍｏｌ、０．０１当量）をこの混合物に添加した。これは、窒素の気体で３回フラッシュし、次いで固体添加ポートを介して触媒を添加することによって行った。前回のように反応を再開した。丸４日後、出発物質の消失ばかりでなく、モノベンジル化した中間体に対応するピークによっても、反応が完了したとＨＰＬＣによりみなされた。

【０２２９】

Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）パッドを介してこの反応混合物を濾過した。容器および濾滓をＴＨＦ（２Ｌ、１．５体積）で洗浄した。次いでＣｅｌｉｔｅ（登録商標）パッドを水で湿らせ、ケーキを適切に廃棄した。回転式エバポレータを使用して、合わせた濾液およびＴＨＦ洗浄剤を濃縮することによって、黒い油として、粗生成物１ｋｇが生じた。

【０２３０】

以下の精製の当量および体積は、１ｋｇの粗製物質に対するものである。粗製の黒い油を酢酸エチル－ヘプタン（１：１）中に溶解させた。この混合物を、１：１酢酸エチル－ヘプタンで飽和させておいたフリット漏斗内のシリカゲルのパッド（１．５ｋｇ、１．５重量当量）に入れた。シリカパッドを最初に１：１酢酸エチル－ヘプタン（６Ｌ、６体積）でフラッシュし、次いで純粋な酢酸エチル（１４Ｌ、１４体積）でフラッシュした。溶出剤を４留分で収集し、これをＨＰＬＣで分析した。

【０２３１】

以下の精製の当量および体積は、０．６ｋｇの粗製物質に対するものである。留分３を

回転蒸発により濃縮することによって、褐色の泡状物（６００ｇ）を得て、次いでこれをＭＴＢＥ（１．８Ｌ、３体積）中に再び溶解させた。暗褐色の溶液を周囲温度で一晩撹拌し、この間晶出が生じた。ヘプタン（５５ｍＬ、０．１体積）を添加し、この混合物を一晩撹拌した。ブフナー漏斗を使用して、この混合物を濾過し、濾滓を３：１ＭＴＢＥ－ヘプタン（９００ｍＬ、１．５体積）で洗浄した。濾滓を１時間空気乾燥させ、次いで周囲温度で１６時間真空乾燥させて、２５３ｇの化合物３がオフホワイト色の固体として供給された。

【０２３２】

以下の精製に対する当量および体積は、１．４ｋｇの粗製物質に対するものである。上記シリカゲル濾過からの留分２および３、ならびに以前の反応物からの物質を合わせ、濃縮することによって、１．４ｋｇの黒い油を得た。この混合物に、上述したシリカゲル濾過（１．５ｋｇのシリカゲル、３．５Ｌ、２．３体積の１：１酢酸エチル－ヘプタン次いで９Ｌ、６体積の純粋な酢酸エチルで溶出）を再び施し、これを濃縮することによって、黄褐色の泡状の固体（３９０ｇ）を得た。

【０２３３】

以下の精製に対する当量および体積は、３９０ｇの粗製物質に対するものである。黄褐色固体は、ＭＴＢＥ中に不溶であったため、メタノール（１．２Ｌ、３体積）中に溶解させた。長い経路の蒸留ヘッドを備えた４Ｌ　Ｍｏｒｔｏｎ反応器を使用して、この混合物を２体積まで蒸留した。ＭＴＢＥ（１．２Ｌ、３体積）を添加し、この混合物を蒸留して２体積までに戻した。ＭＴＢＥ（１．６Ｌ、４体積）の第２の部分を添加し、この混合物を蒸留して２体積までに戻した。第３の部分のＭＴＢＥ（１．２Ｌ、３体積）を添加し、この混合物を蒸留して３体積までに戻した。ＧＣによる留出物の分析により、これが約６％のメタノールで構成されることが明らかになった。サーモスタットを４８℃にセットした（ＭＴＢＥ－メタノール共沸混合物の沸点より低く、沸点は５２℃）。この混合物を２時間に渡り２０℃に冷却し、この間、比較的に高速の晶出が生じた。この混合物を２時間撹拌後、ヘプタン（２０ｍＬ、０．０５体積）を添加し、この混合物を一晩（１６時間）撹拌した。ブフナー漏斗を使用してこの混合物を濾過し、濾滓を３：１ＭＴＢＥ－ヘプタン（８００ｍＬ、２体積）で洗浄した。濾滓を１時間空気乾燥させ、次いで周囲温度で１６時間真空乾燥させることによって、１３０ｇの化合物３がオフホワイト色の固体として供給された。

【０２３４】

方法Ｂ

ベンジル保護された化合物３を溶解させ、ＴＨＦ（３体積）でフラッシュすることによって、残っているあらゆる剰余の溶媒を除去した。ベンジル保護された化合物３をＴＨＦ（４体積）中で再び溶解させ、５ｗｔ％のＰｄ／Ｃ（２．５ｍｏｌ％、６０％湿式、Ｄｅｇｕｓｓａ　Ｅ５　Ｅ１０１　ＮＮ／Ｗ）を含有する水素化装置に添加した。この反応物の内部温度を５０℃に調整し、$Ｎ_2$（×５）でフラッシュし、続いて水素（×３）でフラッシュした。水素化装置圧力を水素３バールに調整し、この混合物を急速に撹拌した（＞１１００ｒｐｍ）。この反応の終わりに、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）のパッドを介して触媒を濾過し、ＴＨＦ（１体積）で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮することによって、褐色の泡状の残渣を入手した。生成した残渣をＭＴＢＥ（５体積）および０．５Ｎ　ＨＣｌ溶液（２体積）中に溶解させ、蒸留水（１体積）を添加した。この混合物を３０分間以上撹拌し、生成した層を分離させた。有機相を１０ｗｔ％の$Ｋ_2ＣＯ_3$溶液（２体積×２）、続いてブライン洗浄剤で洗浄した。有機層を、シリカゲル（２５ｗｔ％）、Ｄｅｌｏｘａｎ－ＩＩ（登録商標）ＴＨＰ（５ｗｔ％、７５％湿式）、および$Ｎａ_2ＳＯ_4$を含有するフラスコに加え、一晩撹拌した。Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）のパッドを介して、生成した混合物を濾過し、１０％ＴＨＦ／ＭＴＢＥ（３体積）で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮することによって、薄い黄褐色の泡状物として、粗製の化合物３を生成した

化合物３母液の回収：

オプションＡ。

【０２３５】
シリカゲルパッドの濾過：母液を減圧下で濃縮することによって、褐色の泡状物を得、これをジクロロメタン（２体積）中に溶解させ、シリカのパッド（粗製の化合物３の３倍の重量）を介して濾過した。シリカパッドを酢酸エチル／ヘプタン（１：１、１３体積）で洗浄し、濾液を廃棄した。シリカパッドを１０％ＴＨＦ／酢酸エチル（１０体積）で洗浄し、濾液を減圧下で濃縮することによって、薄い黄褐色の泡状物として、化合物３を生成した。上記晶出手順に従うことによって、残っている化合物３を単離した。
【０２３６】
オプションＢ。
【０２３７】
シリカゲルカラムクロマトグラフィー：シリカゲル（５０％酢酸エチル／ヘキサンから１００％酢酸エチル）でのクロマトグラフィー後、所望の化合物を薄い黄褐色の泡状物として単離した。上記晶出手順に従うことによって、残っている化合物３を単離した。
【０２３８】
化合物３はまた、本明細書に参照により組み込まれている、米国公開特許出願第ＵＳ２００９／０１３１４９２号において開示された、いくつかの合成ルートのうちの１つにより調製することもできる。
【０２３９】
表３－１：　化合物３に対する物理データ。
【０２４０】
【表３－１】

化合物番号	LC/MS M+1	LC/RT 分	NMR
3	521.5	1.69	1H NMR (400.0 MHz, CD_3CN) d 7.69 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.39 (dd, J = 1.7, 8.3 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 6.34 (s, 1H), 4.32 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 4.15 - 4.09 (m, 1H), 3.89 (dd, J = 6.0, 11.5 Hz, 1H), 3.63 - 3.52 (m, 3H), 3.42 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.21 (dd, J = 6.2, 7.2 Hz, 1H), 3.04 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 1.59 (dd, J = 3.8, 6.8 Hz, 2H), 1.44 (s, 3H), 1.33 (s, 3H) and 1.18 (dd, J = 3.7, 6.8 Hz, 2H) ppm.

ＩＩ．Ｄ．１　ＥＮａＣ阻害剤
本発明は、表ＩのＡ～Ｃ欄により提供されるＣＦモジュレーター成分と、表ＩのＤ欄で提供されている少なくとも１つのＥＮａＣ阻害剤とを含む医薬組成物を対象とする。本発明はまた、ＣＦおよび他の慢性疾患を治療するための方法、組成物を調製するための方法、ならびにＣＦモジュレーターのモジュレーター化合物とＥＮａＣ阻害剤化合物とを含有する組成物を使用した、上皮膜の全域での液量の調節を必要とする慢性疾患を含む、ＣＦおよび他の慢性疾患を治療するための組成物を使用するための方法も提供する。
【０２４１】
他の実施形態では、ＥＮａＣ阻害剤であるＤ欄の化合物は、２００８年１２月９日に出願し、Ｎｏｖａｒｔｉｓ　ＡＧに割り当てられた、国際特許出願Ｎｏ．ＰＣＴ／ＥＰ２００８／０６７１１０において十分に記載および例示された、式ＩＶのＥＮａＣ阻害剤を含むことができる。ＰＣＴ／ＥＰ２００８／０６７１１０において列挙されたすべての化合物は、本発明において有用であり、化合物およびこのような化合物を作るための方法は、これら全体が本明細書中で本発明の開示に組み込まれる。
【０２４２】
ある実施形態において、式ＩＶの化合物に加えて、ＥＮａＣ阻害剤として、カモスタット（トリプシン様プロテアーゼ阻害剤）、ＱＡＵ１４５、５５２－０２、ＧＳ－９４１１、ＩＮＯ－４９９５、エーロライト（ａｅｒｏｌｙｔｉｃ）、アミロリド、ベンザミル、ジメチル－アミロリド、ならびに２００６年１０月１９日に出願した国際出願：ＰＣＴ／ＥＰ２００６／００３３８７；２００７年６月２８日に出願したＰＣＴ／ＥＰ２００６／

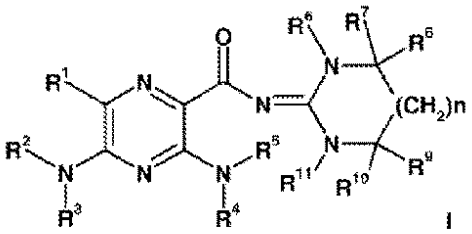
０１２３１４および２００７年６月２８日に出願したＰＣＴ／ＥＰ２００６／０１２３２０に開示されたＥＮａＣ阻害剤化合物も挙げることができる。これら国際特許出願の開示はすべてこれら全体が、参照により本明細書中で本明細書に組み込まれている。ある実施形態において、ＥＮａＣ阻害剤はアミロリドである。化合物がＥＮａＣ阻害剤であるかどうか判定するための方法は、当技術分野では公知であり、本明細書に記載されているＣＦモジュレーター成分と組み合わせて使用することができるＥＮａＣ阻害剤を特定するために使用することができる。

ＩＩ．Ｄ．２　式ＩＶの化合物

一態様において、本発明は、式ＩＶ：

【０２４３】

【化６２】



式 IV.

によるＥＮａＣ阻害剤化合物、またはその溶媒和物、水和物もしくは薬学的に許容される塩を提供する

（式中、R^1は、Ｈ、ハロゲン、C_1～C_8アルキル、C_1～C_8ハロアルキル、C_1～C_8ハロアルコキシ、C_3～C_{15}炭素環式基、ニトロ、シアノ、C_6～C_{15}員の芳香族炭素環式基、またはC_6～C_{15}員の芳香族炭素環式基で置換されているC_1～C_8アルキルであり、

R^2、R^3、R^4およびR^5は、それぞれ独立して、ＨおよびC_1～C_6アルキルから選択され、

R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}およびR^{11}は、それぞれ独立して、Ｈ；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているアリール；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；あるいは、１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているアリール基、１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{10}炭素環式基、または１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基で必要に応じて置換されているC_1～C_8アルキルから選択されるか、または式２：

－（C_0～C_6アルキレン）－Ａ－（C_0～C_6アルキレン）－Ｂ－（Ｘ－R^{12}）$_q$－R^{22}、（式中、アルキレン基は、１つまたは複数のＺ基で必要に応じて置換されている）で表され、

またはR^6およびR^7は、これらが結合している原子と一緒になって、３～１０員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つまたは複数のさらなるヘテロ原子を含み、この複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_6～C_{15}芳香族炭素環式基；C_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；または式２で表される基で必要に応じて置換されており、

またはR^7およびR^8は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、３～１０員の炭素環式基または３～１０員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つまたは複数のヘテロ原子を含み、この炭素環式基および複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_6～C_{15}芳香族炭素環式基；C_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数

のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{14}$複素環式基；または式２で表される基で必要に応じて置換されており、
または$Ｒ^{9}$および$Ｒ^{10}$は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、３～１０員の炭素環式基または３～１０員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、この炭素環式基および複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；$ＳＯ_{2}Ｒ^{16}$；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{6}$～$Ｃ_{15}$芳香族炭素環式基；$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{10}$炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{14}$複素環式基；または式２で表される基で必要に応じて置換されており、
または$Ｒ^{8}$および$Ｒ^{9}$は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、３～１０員のシクロアルキル基または３～１０員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、この炭素環式基および複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；$ＳＯ_{2}Ｒ^{16}$；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{6}$～$Ｃ_{15}$芳香族炭素環式基；$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{10}$炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{14}$複素環式基；または式２で表される基で必要に応じて置換されており、
または$Ｒ^{10}$および$Ｒ^{11}$は、これらが結合している原子と一緒になって、３～１０員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つまたは複数のさらなるヘテロ原子を含み、この複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；$ＳＯ_{2}Ｒ^{16}$；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{6}$～$Ｃ_{15}$芳香族炭素環式基；$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{10}$炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されている$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{14}$複素環式基；または式２で表される基で必要に応じて置換されており、
Ａは、結合、－$ＮＲ^{13}$（$ＳＯ_{2}$）－、－（$ＳＯ_{2}$）$ＮＲ^{13}$－、－（$ＳＯ_{2}$）－、－$ＮＲ^{13}$Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）$ＮＲ^{13}$－、－$ＮＲ^{13}$Ｃ（Ｏ）$ＮＲ^{14}$－、－$ＮＲ^{13}$Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－$ＮＲ^{13}$－、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）、ＯおよびＳから選択され、
Ｂは、結合、－（$Ｃ_{2}$～$Ｃ_{4}$アルケニル基）－、－（$Ｃ_{2}$～$Ｃ_{4}$アルキニル基）－、－ＮＨ－、アリール、Ｏ－アリール、ＮＨ－アリール、$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{14}$炭素環式基および３～１４員の複素環式基から選択され、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、このアリール基、炭素環式基および複素環式基は、それぞれ１つまたは複数のＺ基で必要に応じて置換されており、
Ｘは、結合、－$ＮＲ^{15}$（$ＳＯ_{2}$）－、－（$ＳＯ_{2}$）$ＮＲ^{15}$－、－（$ＳＯ_{2}$）－、－$ＮＲ^{15}$Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）$ＮＲ^{15}$－、－$ＮＲ^{15}$Ｃ（Ｏ）$ＮＲ^{17}$－、－$ＮＲ^{15}$Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－$ＮＲ^{15}$－、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）、ＯおよびＳから選択され、
$Ｒ^{12}$は、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキレン、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルケニレン、－$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{8}$シクロアルキル－、－$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキレン－$Ｃ_{3}$～$Ｃ_{8}$シクロアルキル－、および－アリール－から選択され、このアルキレン基、シクロアルキル基およびアリール基は、１つまたは複数のＺ基で必要に応じて置換されており、
$Ｒ^{13}$、$Ｒ^{14}$、$Ｒ^{15}$および$Ｒ^{17}$は、それぞれ独立して、Ｈおよび$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$アルキルから選択され、
$Ｒ^{16}$は、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{8}$アルキル、アリールおよび３～１４員の複素環式基から選択され、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つまたは複数のヘテロ原子を含み、
Ｚは、独立して、ＯＨ、アリール、Ｏ－アリール、$Ｃ_{7}$～$Ｃ_{14}$アラルキル、Ｏ－$Ｃ_{7}$～$Ｃ_{14}$アラルキル、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$アルキル、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{6}$アルコキシ、$ＮＲ^{19}$（$ＳＯ_{2}$）$Ｒ^{21}$、（$ＳＯ_{2}$）$ＮＲ^{19}Ｒ^{21}$、（$ＳＯ_{2}$）$Ｒ^{20}$、$ＮＲ^{19}$Ｃ（Ｏ）$Ｒ^{20}$、Ｃ（Ｏ）$ＮＲ^{19}Ｒ^{20}$、$ＮＲ^{19}$Ｃ（Ｏ）$ＮＲ^{20}Ｒ^{18}$、$ＮＲ^{19}$Ｃ（Ｏ）$ＯＲ^{20}$、$ＮＲ^{19}Ｒ^{21}$、Ｃ（Ｏ）$ＯＲ^{19}$、Ｃ（Ｏ）$Ｒ^{19}$、$ＳＲ^{19}$、$ＯＲ^{19}$、オキソ、ＣＮ、$ＮＯ_{2}$、およびハロゲンから選択され、このアルキル基、アルコキシ基、アラルキル基およびアリール基は、それぞれ、ＯＨ、ハロゲン、$Ｃ_{1}$～$Ｃ_{4}$ハロアルキルおよび$Ｃ_{1}$～Ｃ

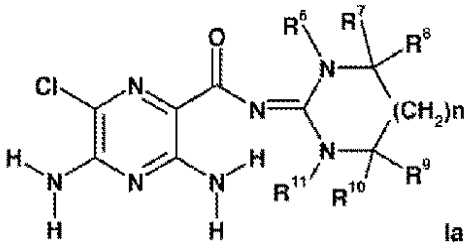
$_4$アルコキシから選択される１つまたは複数の置換基で必要に応じて置換されており、
R^{18}およびR^{20}は、それぞれ独立して、HおよびC_1～C_6アルキルから選択され、
R^{19}およびR^{21}は、それぞれ独立して、H；C_1～C_8アルキル；C_3～C_8シクロアルキル；C_1～C_4アルコキシ－C_1～C_4アルキル；C_1～C_6アルキル、C_1～C_6アルコキシおよびハロゲンから選択される１つまたは複数の基で必要に応じて置換されている（C_0～C_4アルキル）－アリール；（C_0～C_4アルキル）－３～１４員の複素環式基（この複素環式基は、N、OおよびSから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、ハロゲン、オキソ、C_1～C_6アルキルおよびC（O）C_1～C_6アルキルから選択される１つまたは複数の基で必要に応じて置換されている）；C_1～C_6アルキル、C_1～C_6アルコキシおよびハロゲンから選択される１つまたは複数の基で必要に応じて置換されている（C_0～C_4アルキル）－O－アリール；ならびに（C_0～C_4アルキル）－O－３～１４員の複素環式基（この複素環式基は、N、OおよびSから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、ハロゲン、C_1～C_6アルキルおよびC（O）C_1～C_6アルキルから選択される１つまたは複数の基で必要に応じて置換されている）から選択され、このアルキル基は、必要に応じて、１つまたは複数のハロゲン原子、C_1～C_4アルコキシ、C（O）NH_2、C（O）NHC$_1$～C_6アルキルまたはC（O）N（C_1～C_6アルキル）$_2$で置換されているか；または、
R^{19}およびR^{20}は、これらが結合している窒素原子と一緒になって、５～１０員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、N、OおよびSから選択される１つまたは複数のさらなるヘテロ原子を含み、この複素環式基は、OH；ハロゲン；アリール；N、OおよびSから選択される１つまたは複数のヘテロ原子を含む５～１０員の複素環式基；S（O）$_2$－アリール；S（O）$_2$－C_1～C_6アルキル；１つまたは複数のハロゲン原子で必要に応じて置換されているC_1～C_6アルキル；１つまたは複数のOH基またはC_1～C_4アルコキシで必要に応じて置換されているC_1～C_6アルコキシ；ならびにC（O）OC_1～C_6アルキルから選択される１つまたは複数の置換基で必要に応じて置換されており、このアリール置換基および複素環式置換基は、これら自体が、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6ハロアルキルまたはC_1～C_6アルコキシで必要に応じて置換されており、
R^{22}は、H、ハロゲン、C_1～C_8アルキル、C_1～C_8アルコキシ、アリール、O－アリール、S（O）$_2$－アリール、S（O）$_2$－C_1～C_6アルキル、S（O）$_2$N$R^{23}R^{24}$、NHS（O）$_2$N$R^{23}R^{24}$、C_3～C_{14}炭素環式基、３～１４員の複素環式基（この複素環式基N、OおよびSから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含む）、およびO－３～１４員の複素環式（この複素環式基は、N、OおよびSから選択される１つまたは複数のヘテロ原子を含む）から選択され、このアルキル基、アリール基、炭素環式基および複素環式基は、それぞれ、１つまたは複数のZ基で必要に応じて置換されており、
R^{23}およびR^{24}は、それぞれ独立して、H、C_1～C_8アルキルおよびC_3～C_8シクロアルキルから選択されるか、または
R^{23}およびR^{24}は、これらが結合している窒素原子と一緒になって、５～１０員の複素環式基を形成し、N、OおよびSから選択される１つまたは複数のさらなるヘテロ原子を必要に応じて含み、この複素環式基は、１つもしくは複数のZ基で必要に応じて置換されており、
nは、０、１または２であり、
pは、それぞれ独立して、０～６の整数であり、
qは、０、１、２または３であるが、
ただし、nが０の場合、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}およびR^{11}のうちの少なくとも１つは、H以外である）。

【０２４４】

本発明の一実施形態において、本発明は、式ＩＶａ：

【０２４５】

【化６３】



Ia

による化合物を提供する
（式中、
R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}およびR^{11}は、それぞれ独立して、Ｈ；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているアリール；１つもしくは複数のＺ基でC_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；あるいは、アリール基、１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{10}炭素環式基、または１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基で必要に応じて置換されているC_1～C_8アルキルから選択されるか、または式２ａ：
－（CH_2）$_O$－Ａ－（CH_2）$_P$－Ｂ－（Ｘ－R^{12}）$_q$－R^{22}で表されるか、
あるいはR^7およびR^8は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、３～７員の炭素環式基または３～７員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つまたは複数のヘテロ原子を含み、この炭素環式基および複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_6～C_{15}芳香族炭素環式基；C_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；または式２ａで表される基で必要に応じて置換されているか、
またはR^9およびR^{10}は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、３～７員の炭素環式基または３～７員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、この炭素環式基および複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_6～C_{15}芳香族炭素環式基；C_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；または式２ａで表される基で必要に応じて置換されているか、
またはR^8およびR^9は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、３～７員のシクロアルキル基または３～７員の複素環式基を形成し、この複素環式基は、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含み、この炭素環式基および複素環式基は、１つもしくは複数のＺ基；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_6～C_{15}芳香族炭素環式基；C_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；または式（ＩＶ）２ａで表される基で必要に応じて置換されており、
Ａは、結合、－NR^{13}（SO_2）－、－（SO_2）NR^{13}－、－（SO_2）－、－NR^{13}Ｃ（Ｏ）－、－（Ｏ）NR^{13}－、－NR^{13}Ｃ（Ｏ）NR^{14}－、－NR^{13}Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－NR^{13}－、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）、ＯおよびＳから選択され、
Ｂは、結合、アリール、C_3～C_{14}炭素環式基およびC_3～C_{14}複素環式基から選択され、この環系は、１つまたは複数のＺ基で必要に応じて置換されており、
Ｘは、結合、－NR^{15}（SO_2）－、－（SO_2）NR^{15}－、－（SO_2）－、－NR^{15}Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）NR^{15}－、－NR^{15}Ｃ（Ｏ）NR^{17}－、－NR^{15}Ｃ（Ｏ）Ｏ－、－NR^{15}－、Ｃ（Ｏ）Ｏ、ＯＣ（Ｏ）、Ｃ（Ｏ）、ＯおよびＳから選択され、
R^{12}は、Ｈ、C_1～C_8アルキル、C_3～C_8シクロアルキル、C_1～C_8アルキル－

C_3～C_8シクロアルキル、C_1～C_8アルキル－アリール、およびアリールから選択され、このアルキル基、シクロアルキル基およびアリール基は、１つまたは複数のＺ基で必要に応じて置換されており、
R^{13}、R^{14}、R^{15}およびR^{17}は、それぞれ独立して、ＨおよびC_1～C_6アルキルから選択され、
R^{16}は、C_1～C_8アルキル、アリールおよび３～１４員の複素環式基から選択され、
Ｚは、独立して、ＯＨ、アリール、Ｏ－アリール、C_7～C_{14}アラルキル、Ｏ－C_7～C_{14}アラルキル、C_1～C_6アルキル、C_1～C_6アルコキシ、$NR^{19}(SO_2)R^{21}$、$(SO_2)NR^{19}R^{21}$、$(SO_2)R^{20}$、$NR^{19}C(O)R^{20}$、$C(O)NR^{19}R^{20}$、$NR^{19}C(O)NR^{20}R^{18}$、$NR^{19}C(O)OR^{20}$、$NR^{19}R^{21}$、$C(O)OR^{19}$、$C(O)R^{19}$、SR^{19}、OR^{19}、オキソ、ＣＮ、NO_2、およびハロゲンから選択され、このアルキル基、アルコキシ基、アラルキル基およびアリール基は、それぞれ、ＯＨ、ハロゲン、C_1～C_4ハロアルキルおよびC_1～C_4アルコキシから選択される１つまたは複数の置換基で必要に応じて置換されており、
R^{18}、R^{19}、およびR^{20}は、それぞれ独立して、ＨおよびC_1～C_6アルキルから選択され、
R^{21}は、C_1～C_8アルキル、アリールおよび３～１４員の複素環式基から選択され、
R^{22}は、ＨおよびC_1～C_8アルキルから選択され、
ｎは、０、１または２であり、
ｐは、それぞれ独立して、０～６の整数であり、
ｑは、０、１、２または３であるが、
ただし、ｎが０の場合、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{10}およびR^{11}のうちの少なくとも１つは、Ｈ以外である）。

【０２４６】

上記のいずれかの箇所で定義された通り、本発明のさらなる実施形態において、R^6は、Ｈ、C_1～C_3アルキルおよび$(CH_2)_d$－フェニルから選択され、このフェニル基は、OR^{23}で必要に応じて置換されており、
R^{23}は、ＨまたはC_1～C_6アルキルであり、
ｄは、１～５の整数（必要に応じて２～４）である。

【０２４７】

上記のいずれかの箇所で定義された通り、本発明のよりさらなる実施形態において、R^7はＨまたはC_1～C_6であり、
R^8は、Ｈ、C_1～C_6アルキル；$(CH_2)_e$フェニル、（このフェニル基は、ハロおよびOR^{24}から選択される１つまたは複数の基で必要に応じて置換されている）；$(CH_2)_f COOR^{25}$；$(CH_2)_g OC_1$～C_6アルキル（このアルキル基は、ＯＨ、C_1～C_3アルキルおよびフェニルから選択される１～３つの基で必要に応じて置換されている）および$(CH_2)_h NHCO_2(CH_2)_i$フェニルから選択され、
R^{24}は、ＨまたはC_1～C_6アルキルであり、このアルキル基は、ＯＨおよびOC_1～C_3アルキルから選択される１～３つの基で必要に応じて置換されており、
R^{25}は、ＨまたはC_1～C_3アルキルであり、
ｅは、０、１、２、３、４または５（必要に応じて０、１、２、３または４）であり、
ｆ、ｇおよびｈは、それぞれ独立して、１～４の整数であり、
ｉは１または２であるか、
またはR^7およびR^8は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子を含有する、５もしくは６員の非芳香族炭素環系または５もしくは６員の非芳香族複素環式環系を形成し、これら環系は、１つもしくは複数のＺ基；SO_2R^{16}；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_6～C_{15}－芳香族炭素環式基；C_3～C_{10}炭素環式基；１つもしくは複数のＺ基で必要に応じて置換されているC_3～C_{14}複素環式基；または式２もしくは２ａで表される基で必要に応じて置換されている。環系は、R^7、R^8により適切に定義され、これ

らが結合している炭素は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$アルキル、ハロまたはベンジルで必要に応じて置換されている。

【０２４８】

必要に応じて、ｆは、２または３である。さらにまたは代わりに、ｇは２または３であってよい。さらにまたは代わりに、ｈは、２、３または４であってよい。さらにまたは代わりに、ｉは１であってよい。ｆ、ｇ、ｈおよびｉの直前の下位の定義において、各下位の定義は、さらに他の下位の定義と組み合わせることができ、またはこれらは、上記に与えられた関連する可変部分に対する定義と組み合わせることができる。

【０２４９】

上記のいずれかの箇所で定義された通り、本発明のよりさらなる実施形態において、Ｒ^{9}は、Ｈ、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルまたはフェニルであるか、
またはＲ^{8}およびＲ^{9}は、これらが結合している炭素原子と一緒になって、Ｎ、ＯおよびＳから選択される１つもしくは複数のヘテロ原子含有する５、６もしくは７員の非芳香族炭素環系または５、６もしくは７員の非芳香族複素環式環系を形成し、これら環系は、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{3}$アルキル、ハロまたはベンジルで必要に応じて置換されている。

【０２５０】

上記のいずれかの箇所で定義された通り、本発明のさらなる実施形態において、Ｒ^{11}は、Ｈ、ＳＯ$_{2}$Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{6}$アルキルまたはＳＯ$_{2}$フェニルである。

【０２５１】

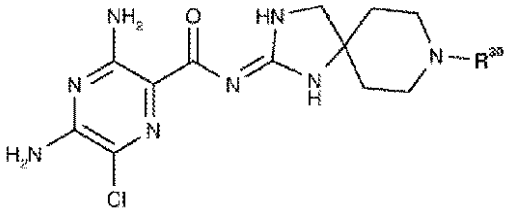
上記のいずれかの箇所で定義された通り、本発明のさらなる実施形態において、Ｒ^{6}およびＲ^{11}は両方ともＨである。

【０２５２】

本発明のさらなる実施形態は、式ＩＶ（１ｂ）による化合物：

【０２５３】

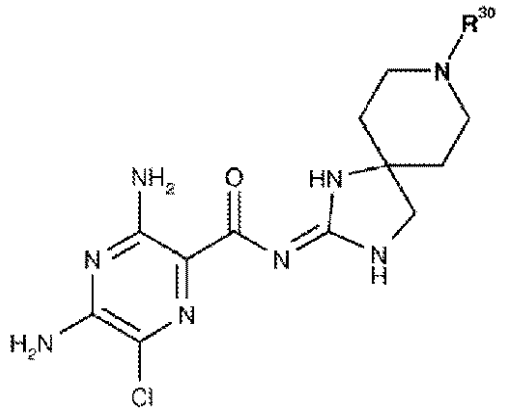
【化６４】



または式ＩＶ（１ｃ）による化合物：

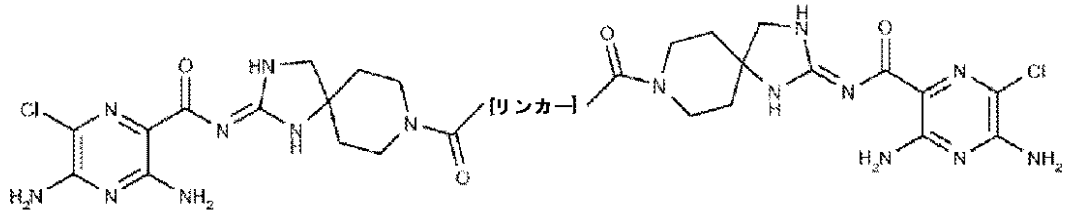
【０２５４】

【化６５】



（式中、Ｒ^{30}は、－Ａ－（Ｃ$_{0}$～Ｃ$_{6}$アルキレン）－Ｂ－（Ｘ－Ｒ^{12}）$_{q}$－Ｒ^{22}であり、
Ａ、Ｂ、Ｘ、Ｒ^{12}、ｑおよびＲ^{22}は、本明細書中のいずれかの箇所で定義された通りである）を提供する。

【０２５５】
本発明のさらなる態様は、式ＩＶ（２）の化合物
【０２５６】
【化６６】



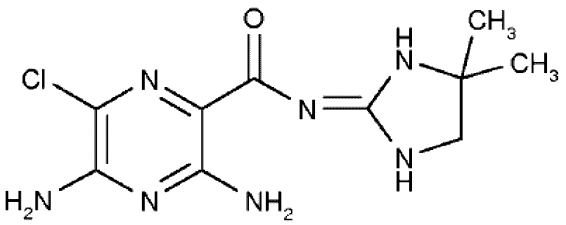
2

式 IV(2)

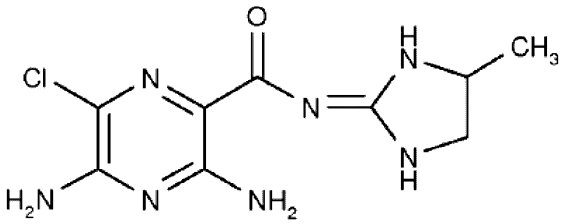
を提供する。
【０２５７】
表II. D-1 例示的な式IVの化合物
【０２５８】

【化６７】

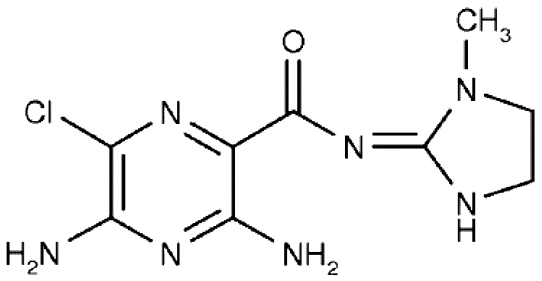
1



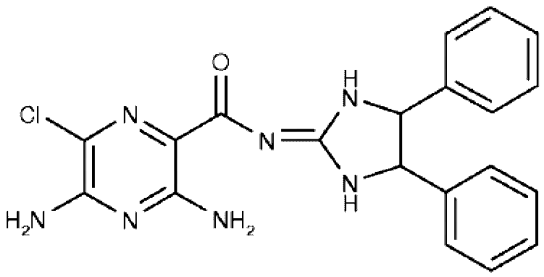
2



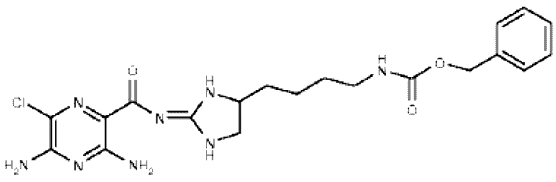
3



4



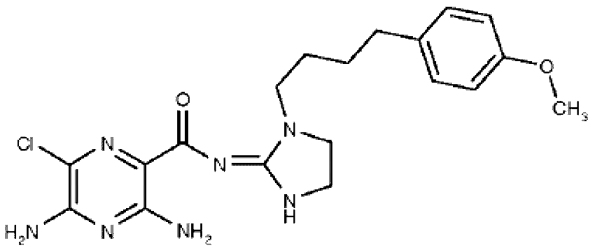
5



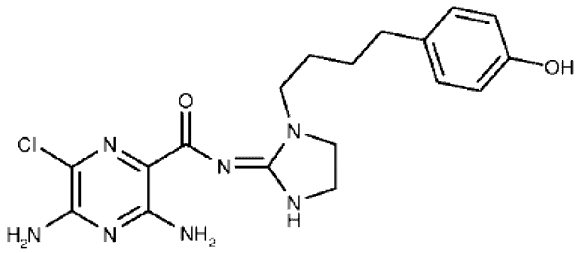
【０２５９】

【化６８】

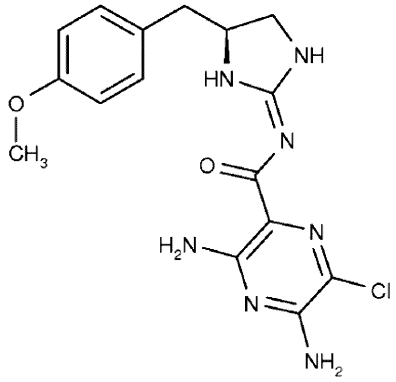
6



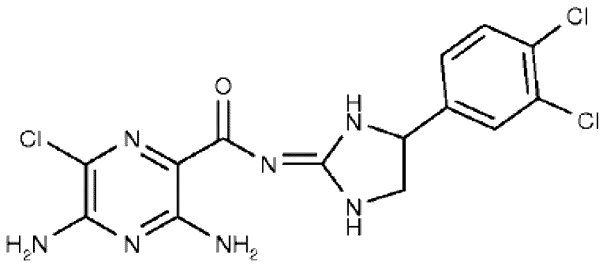
7



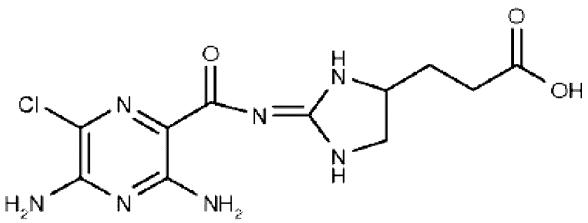
8



9



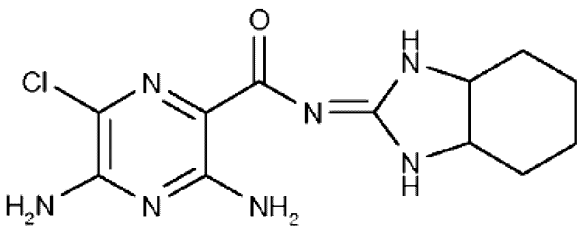
10



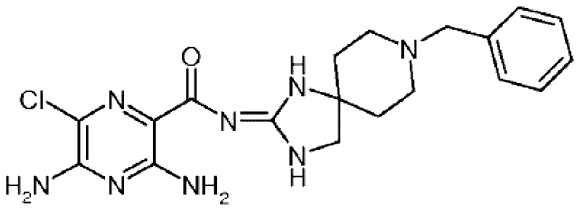
【０２６０】

【化６９】

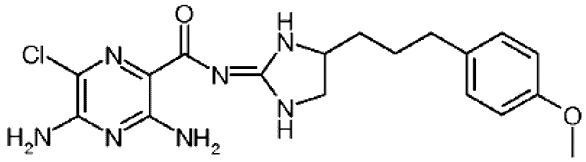
11



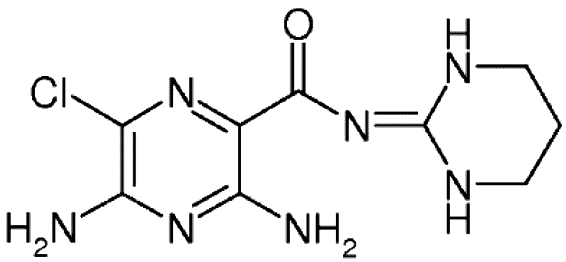
12



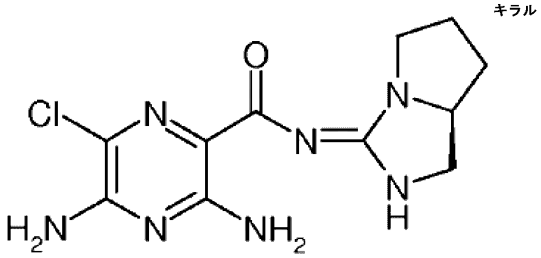
13



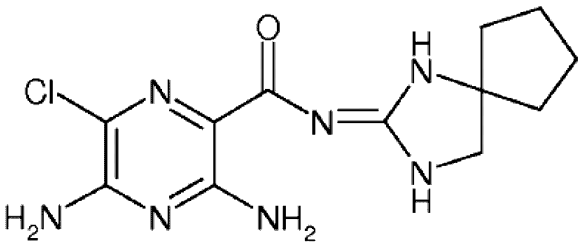
14



15



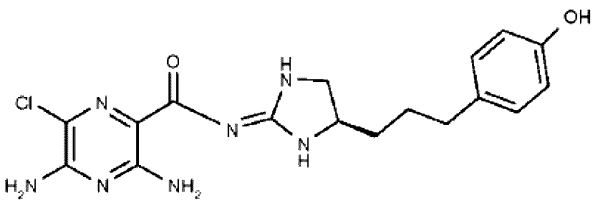
16



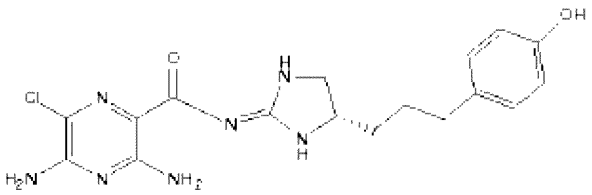
【０２６１】

【化７０】

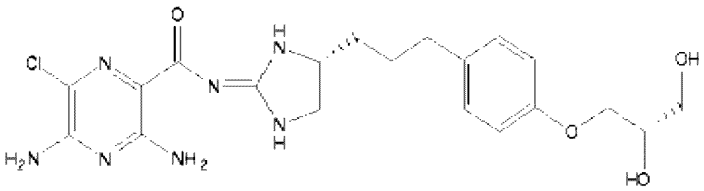
17



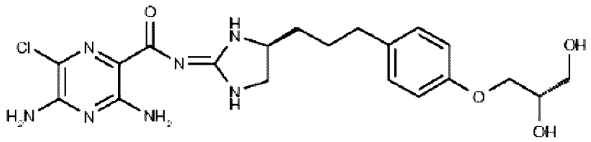
18



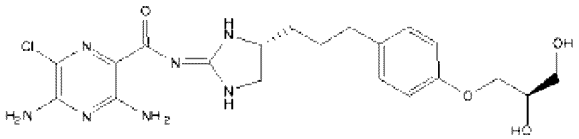
19



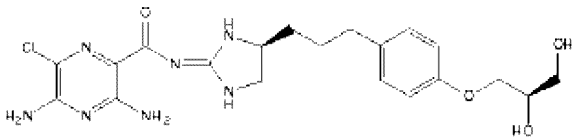
20



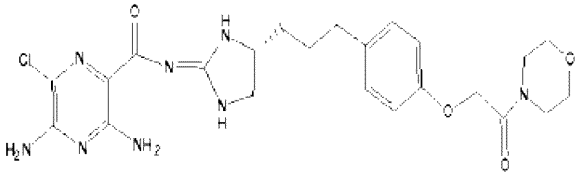
21



22



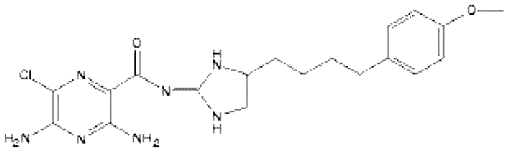
23



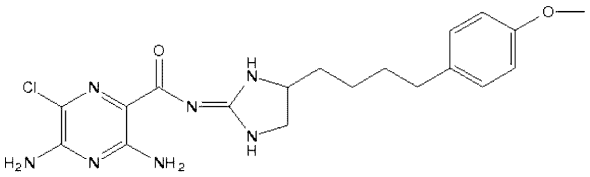
【０２６２】

【化７１】

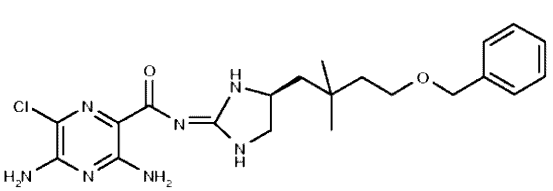
24



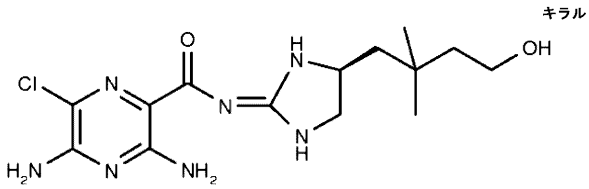
25



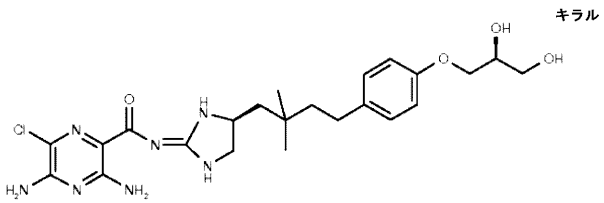
26



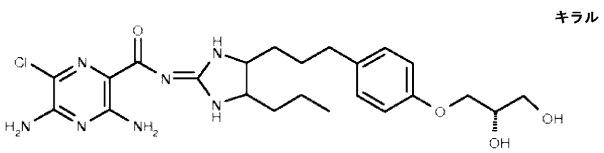
27



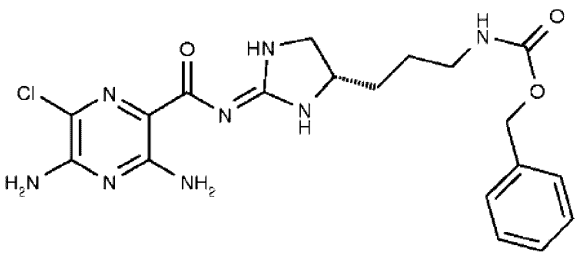
28



29



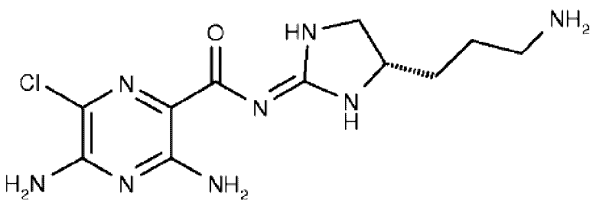
30



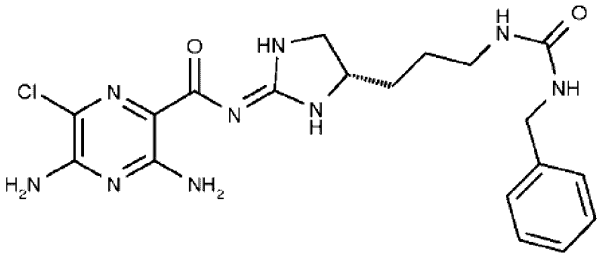
【０２６３】

【化７２】

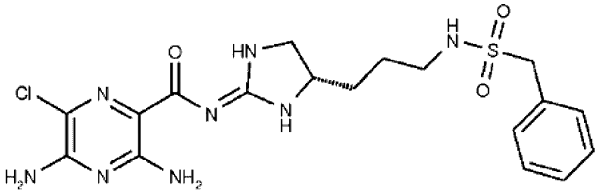
31



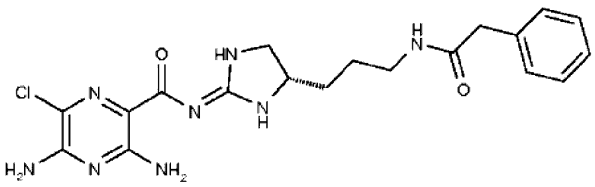
32



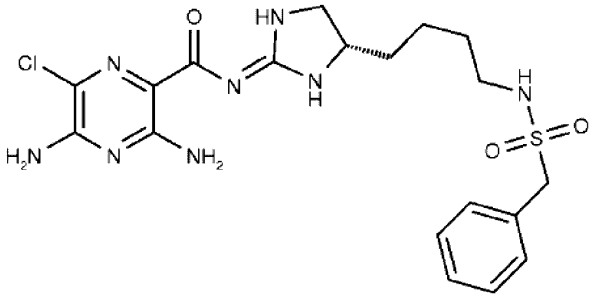
33



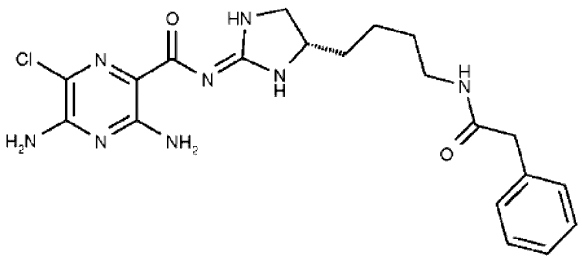
34



35



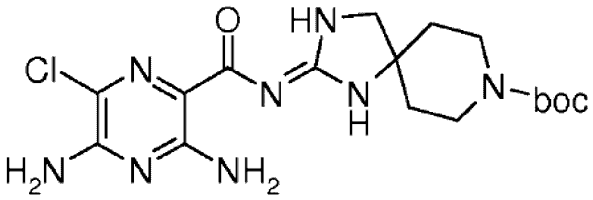
36



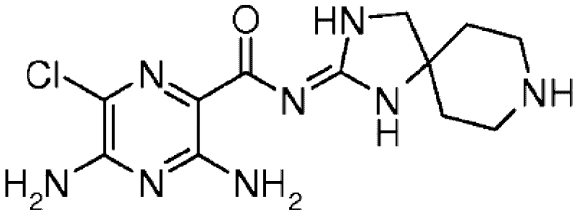
【０２６４】

【化７３】

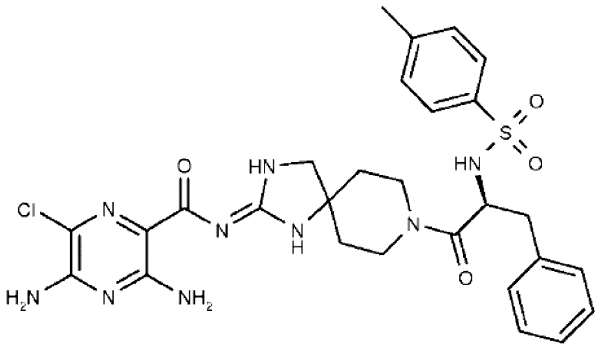
37



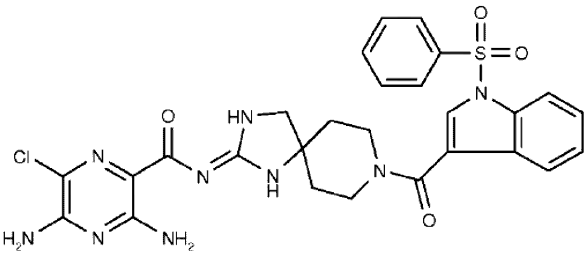
38



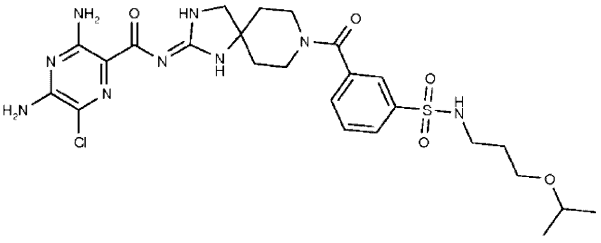
39



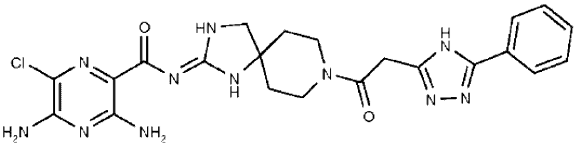
40



41



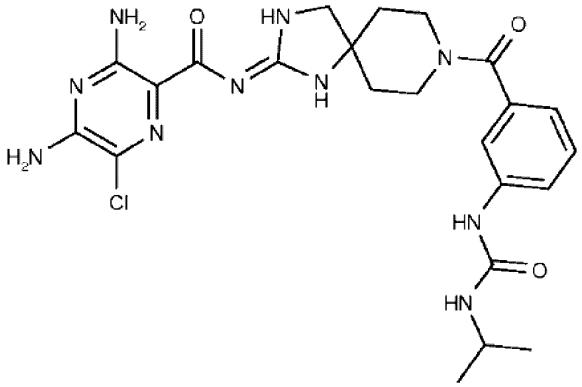
42



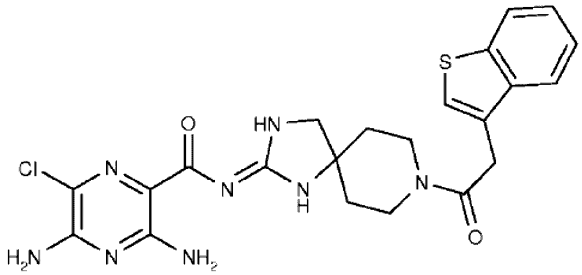
【０２６５】

【化７４】

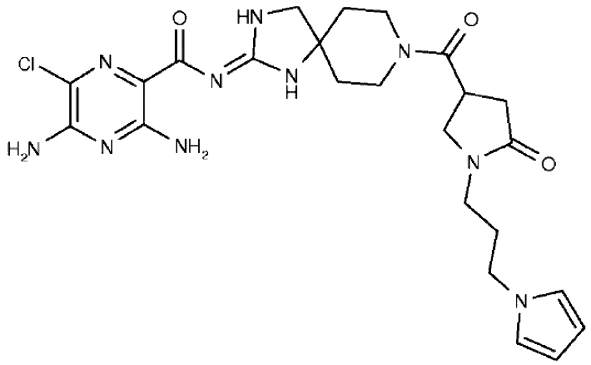
43



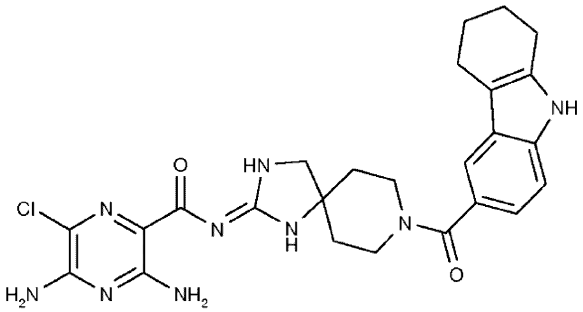
44



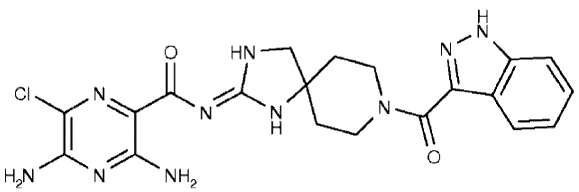
45



46

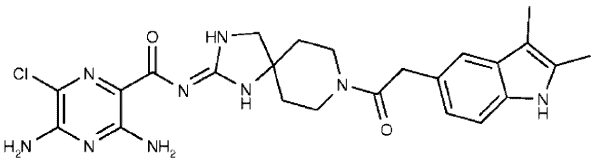


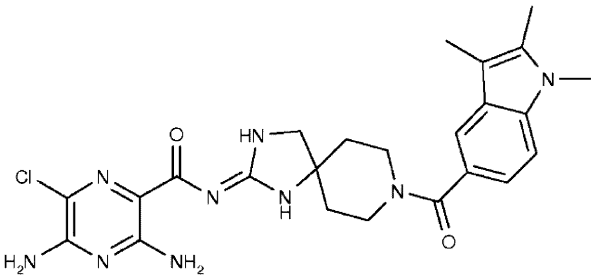
47

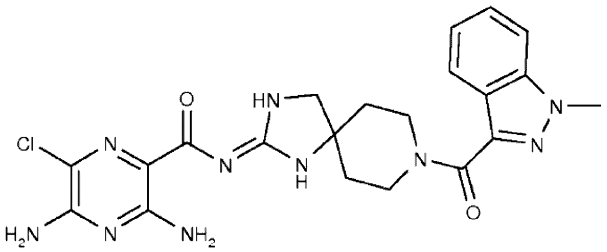


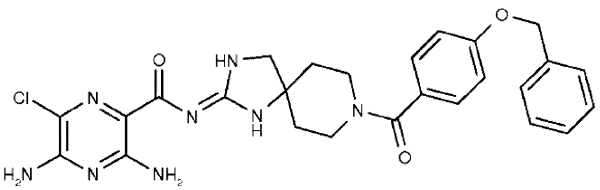
【０２６６】

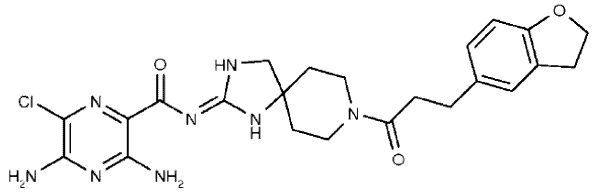
【化７５】

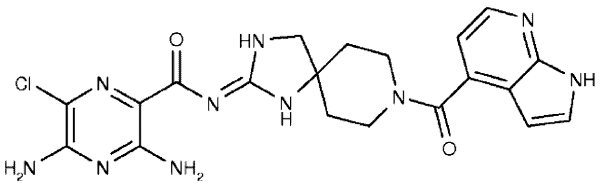
48 

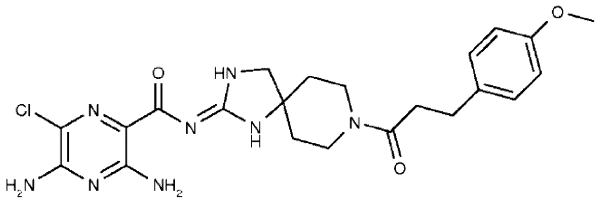
49 

50 

51 

52 

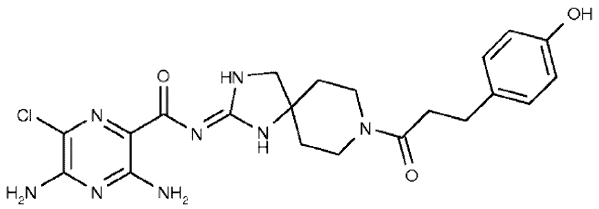
53 

54 

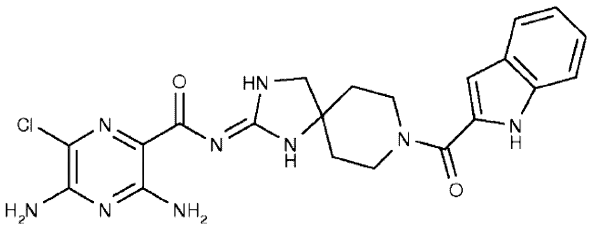
【０２６７】

【化７６】

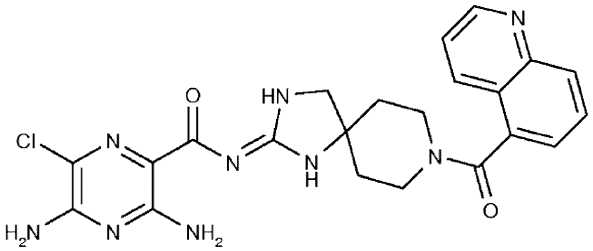
55



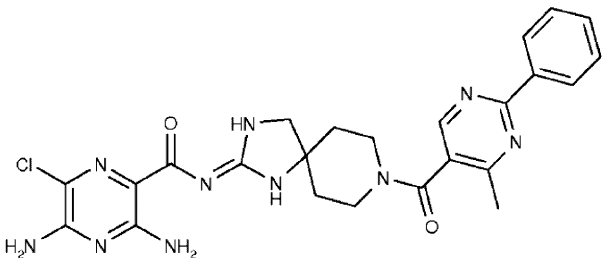
56



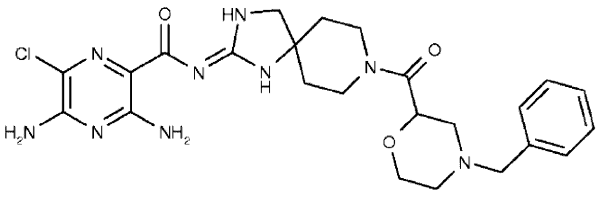
57



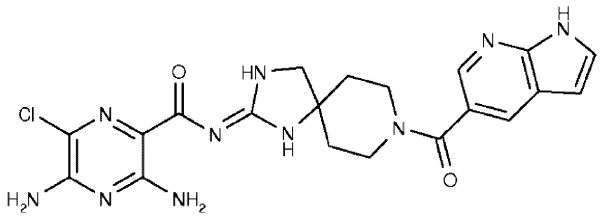
58



59

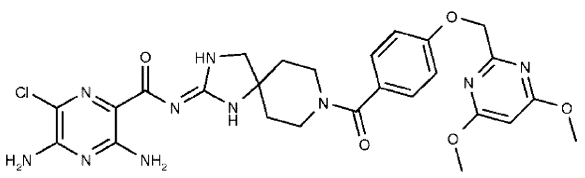


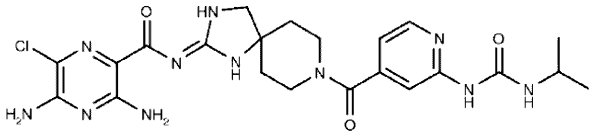
60

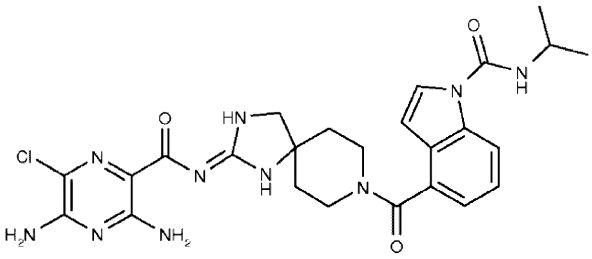


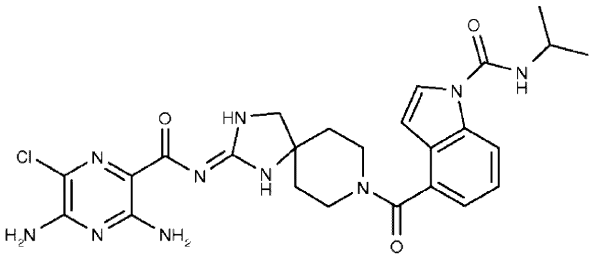
【０２６８】

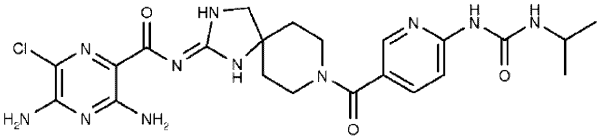
【化７７】

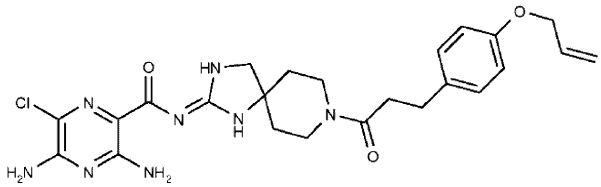
61 

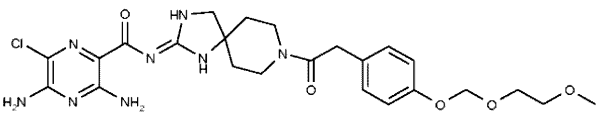
62 

63 

64 

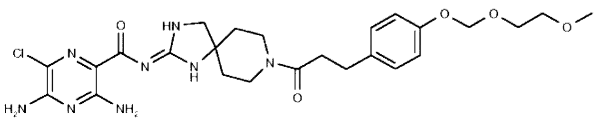
65 

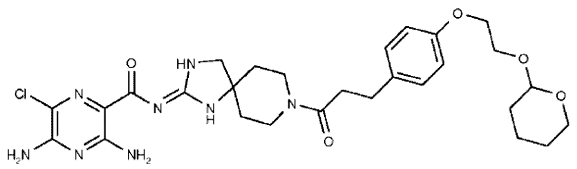
66 

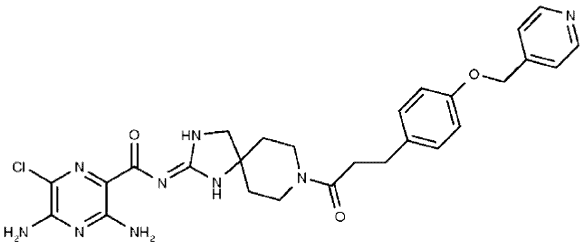
67 

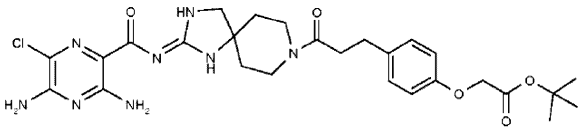
【０２６９】

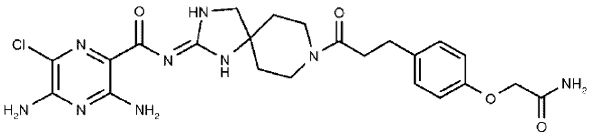
【化７８】

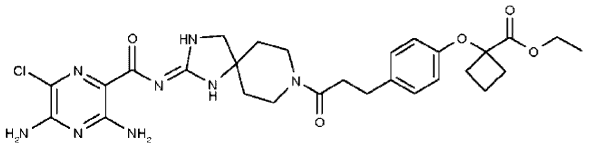
68 

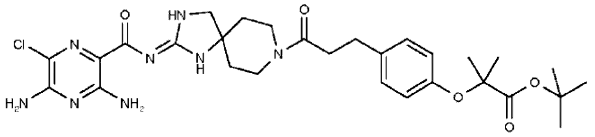
69 

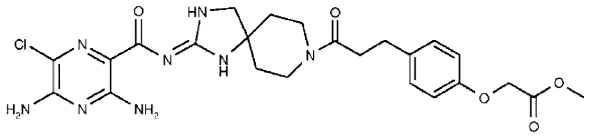
70 

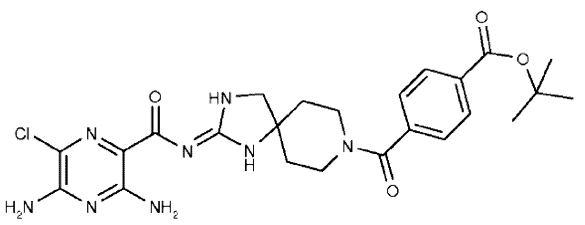
71 

72 

73 

74 

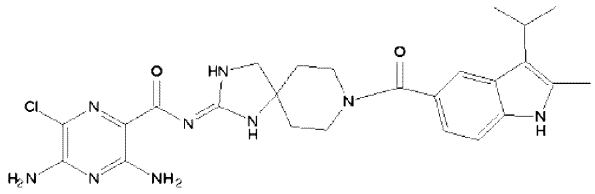
75 

76 

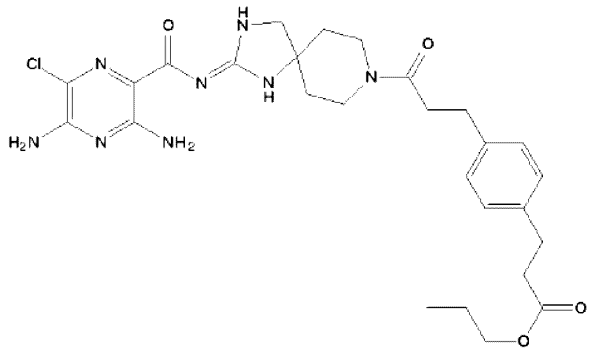
【０２７０】

【化７９】

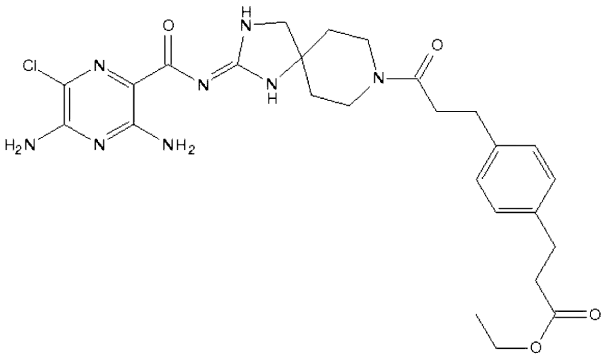
77



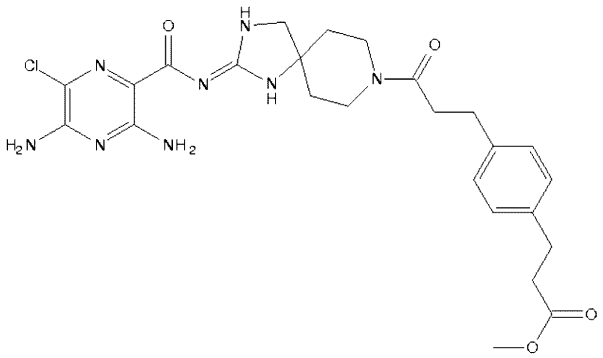
78



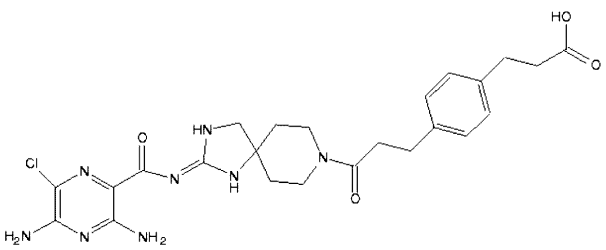
79



80



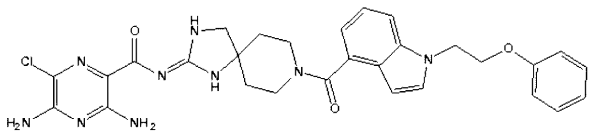
81



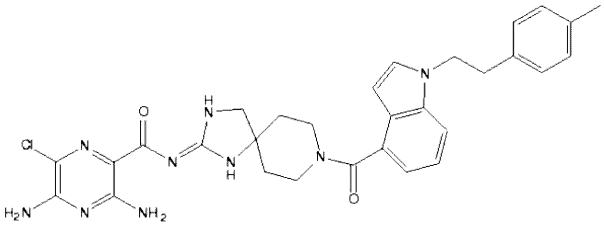
【０２７１】

【化８０】

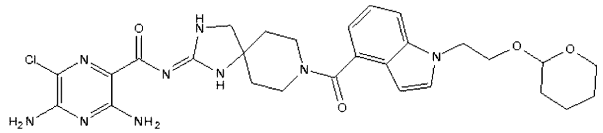
82



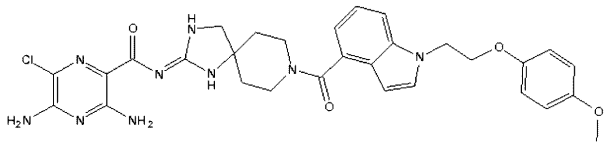
83



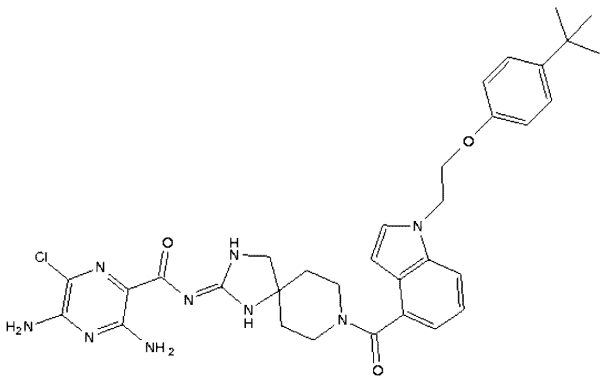
84



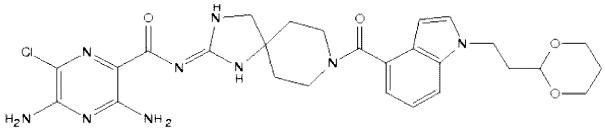
85



86



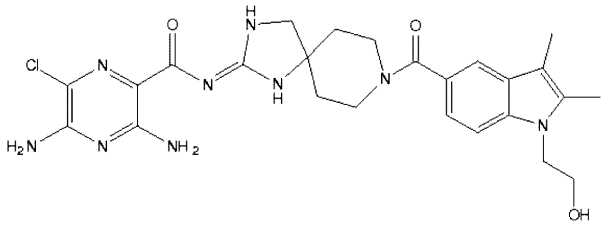
87



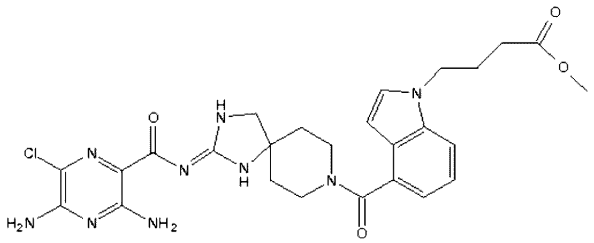
【０２７２】

【化８１】

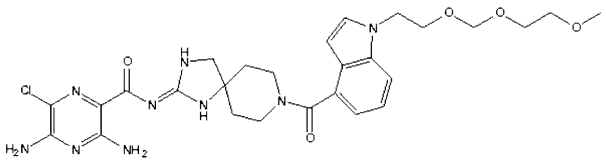
88



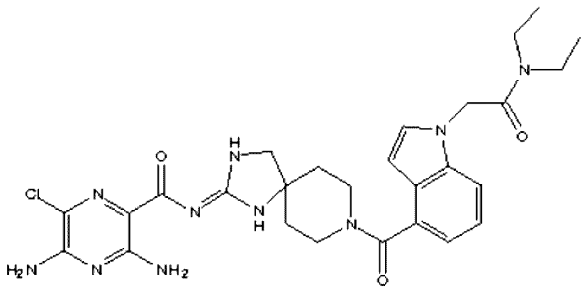
89



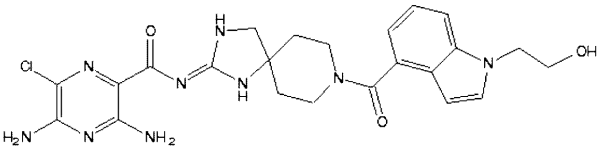
90



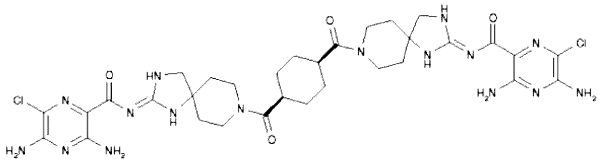
91



92



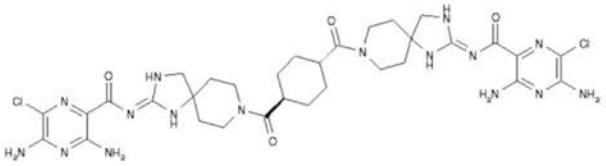
93



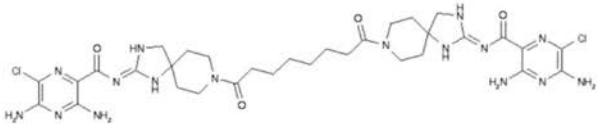
【０２７３】

【化８２】

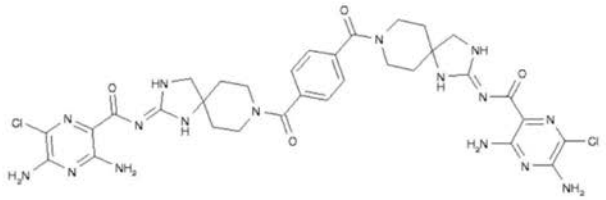
94



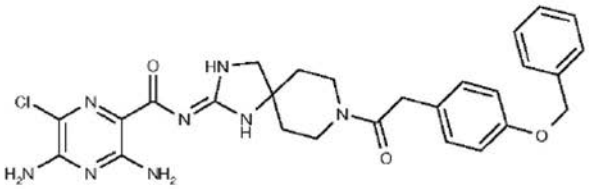
95



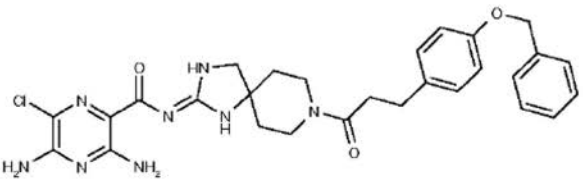
96



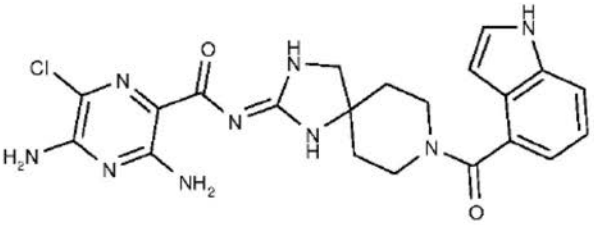
97



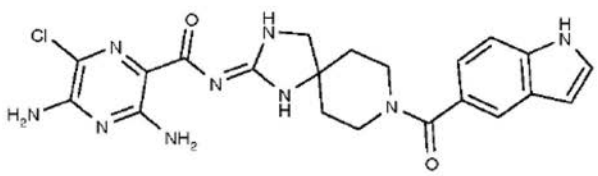
98



99



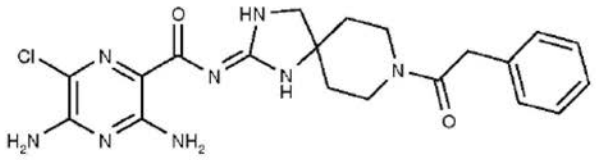
100



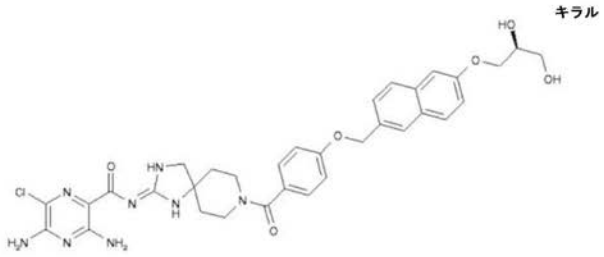
【０２７４】

【化８３】

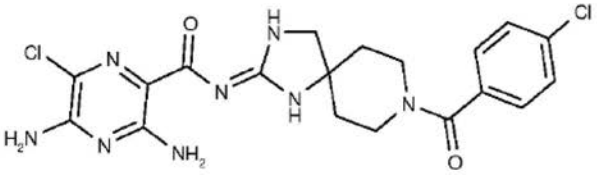
101



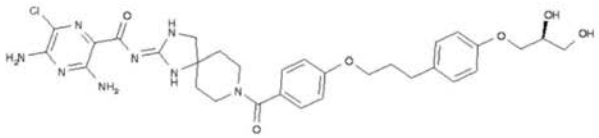
102



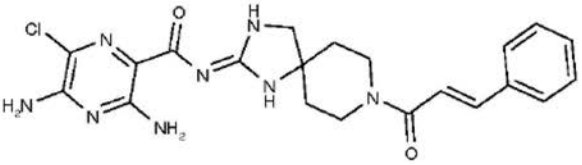
103



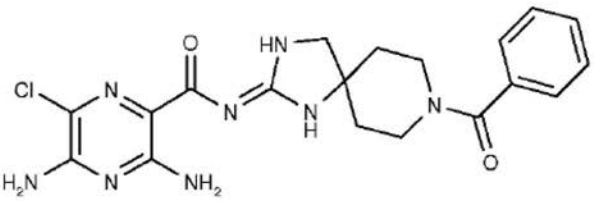
104



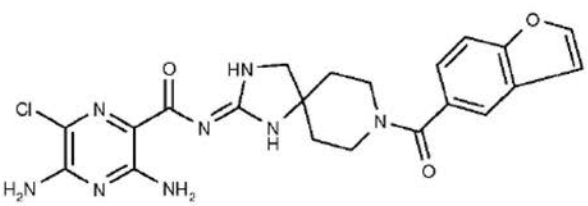
105



106



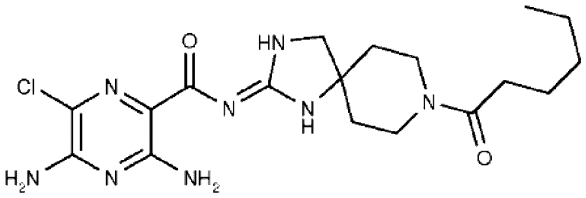
107



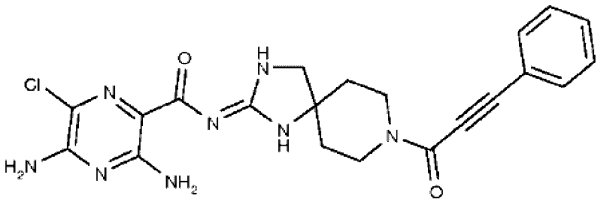
【０２７５】

【化８４】

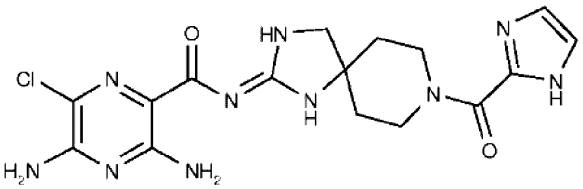
108



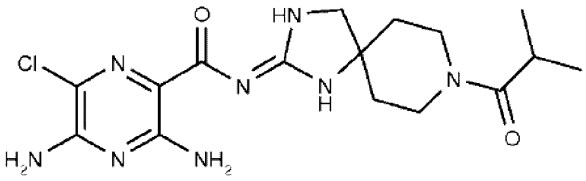
109



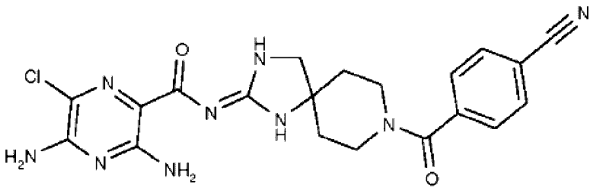
110



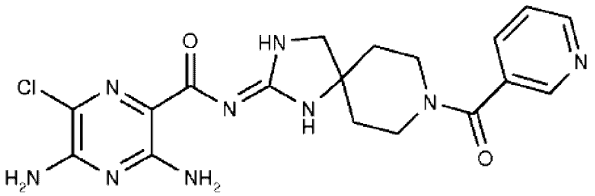
111



112



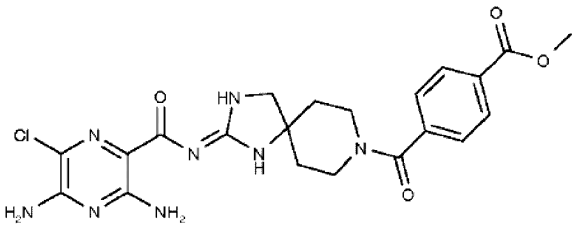
113



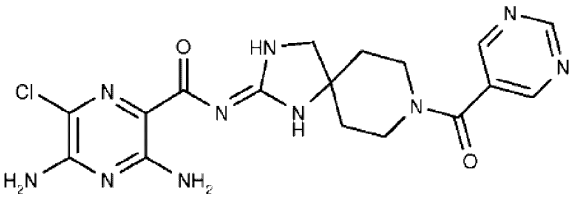
【０２７６】

【化８５】

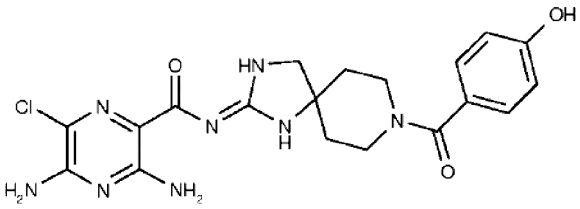
114



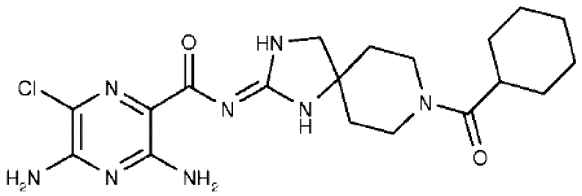
115



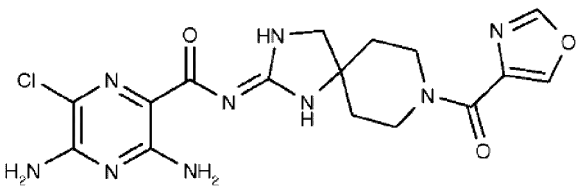
116



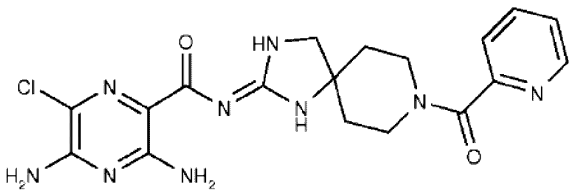
117



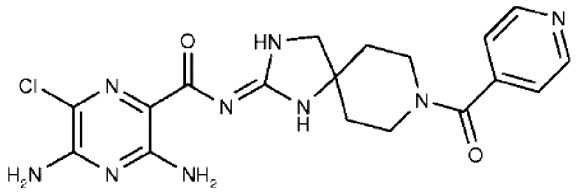
118



119



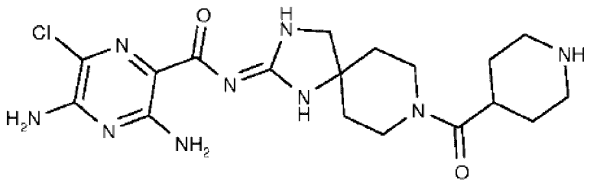
120



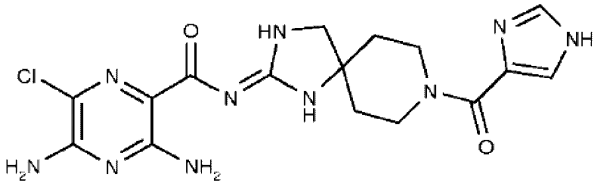
【０２７７】

【化８６】

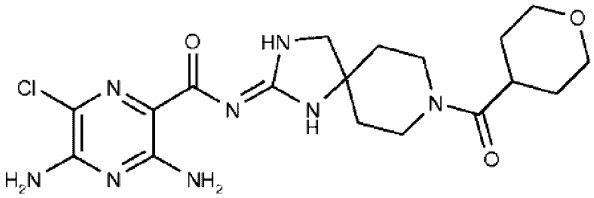
121



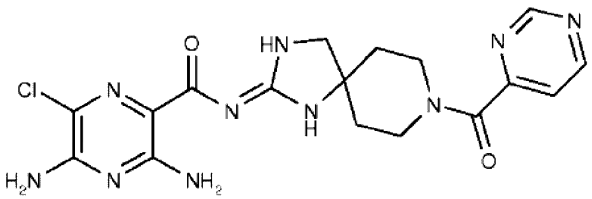
122



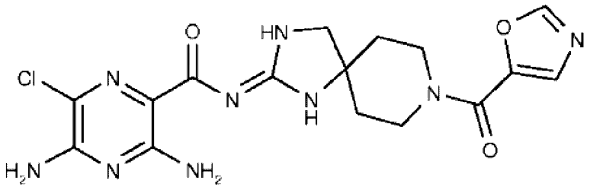
123



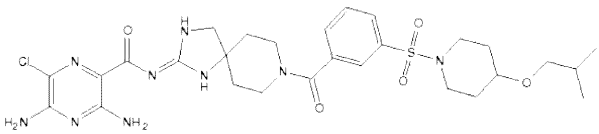
124



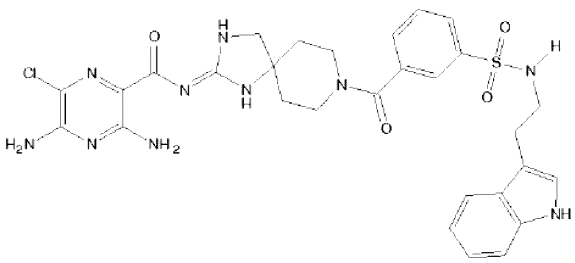
125



126

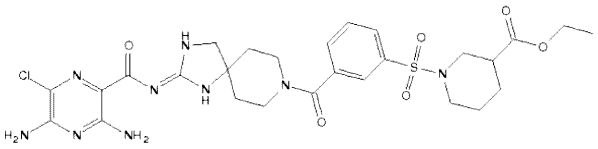


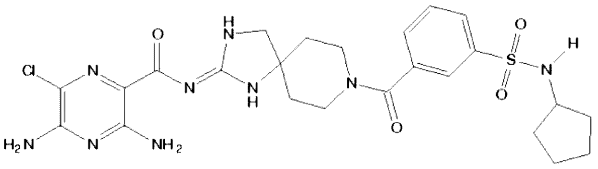
127

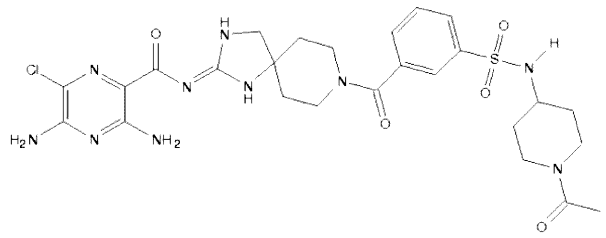


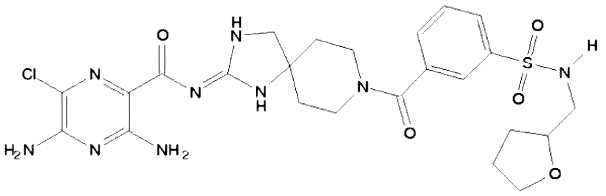
【０２７８】

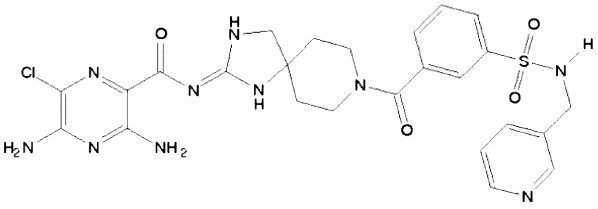
【化８７】

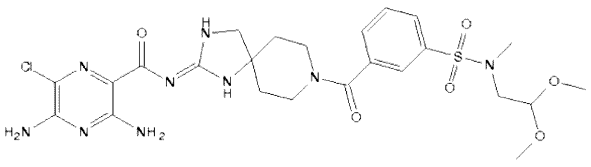
128 

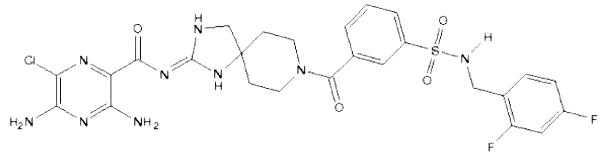
129 

130 

131 

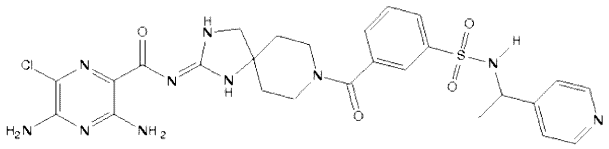
132 

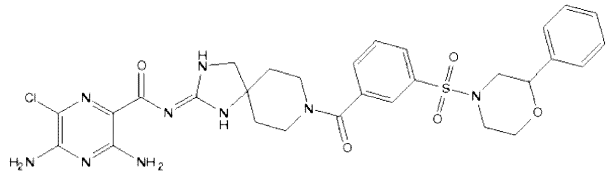
133 

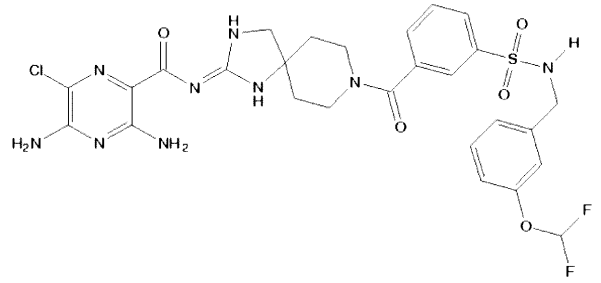
134 

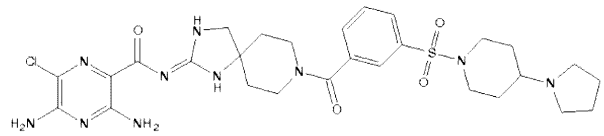
【０２７９】

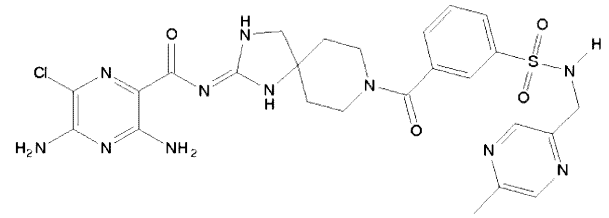
【化８８】

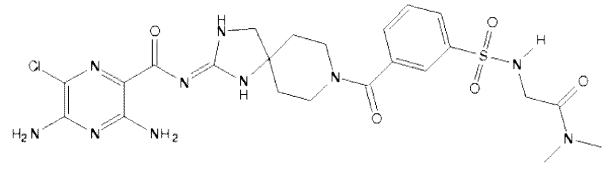
135 

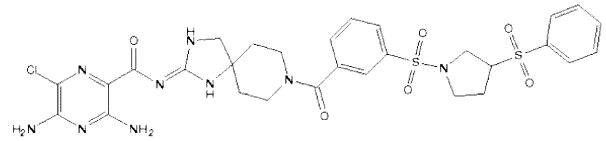
136 

137 

138 

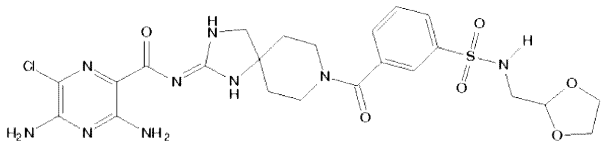
139 

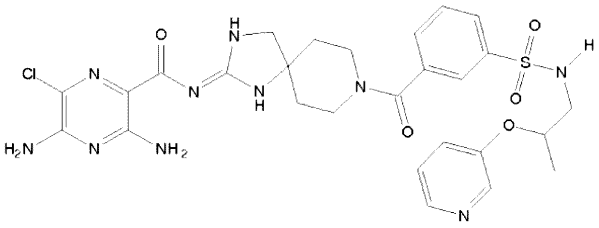
140 

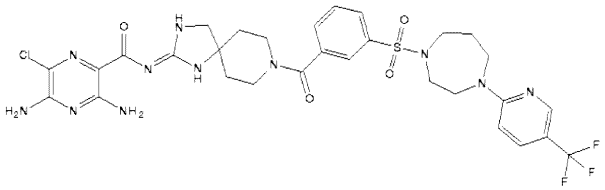
141 

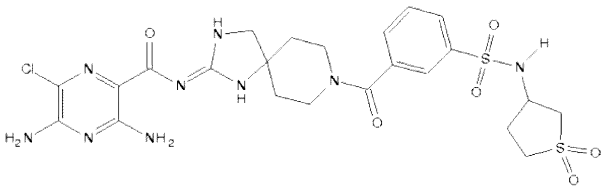
【０２８０】

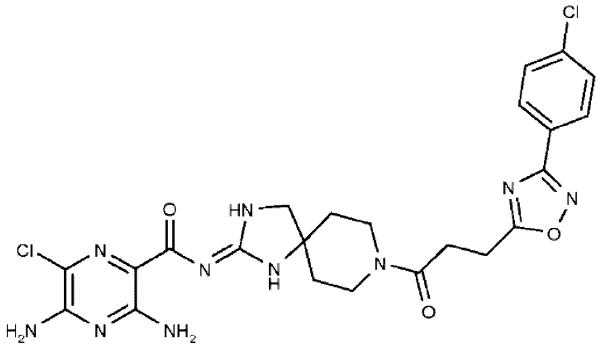
【化８９】

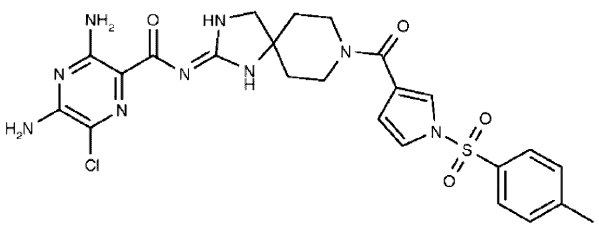
142 

143 

144 

145 

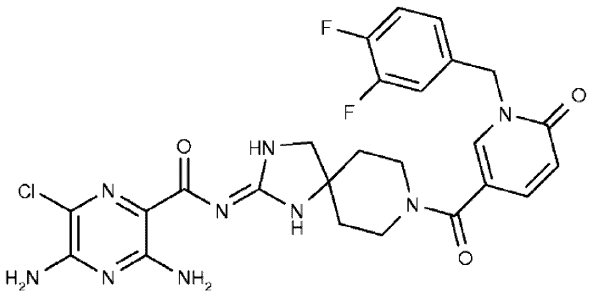
146 

147 

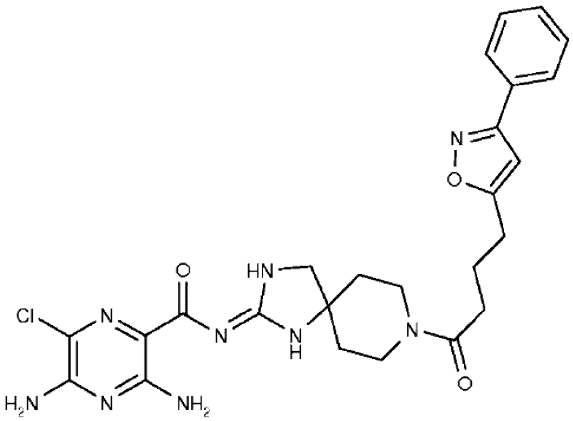
【０２８１】

【化９０】

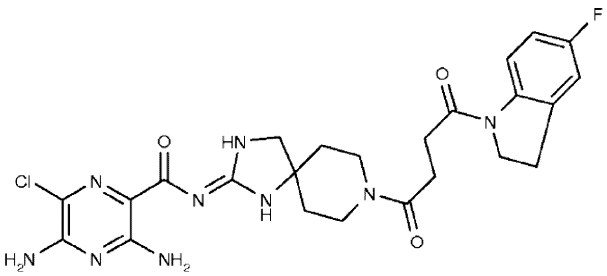
148



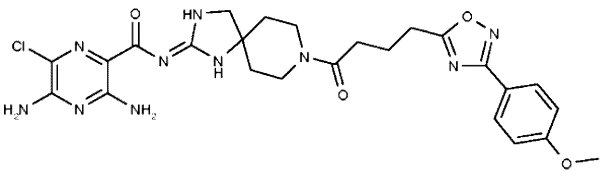
149



150



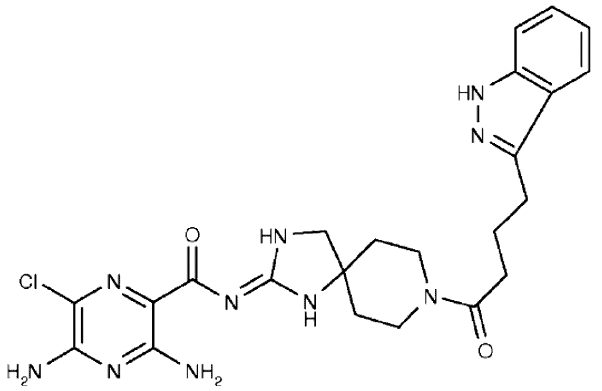
151



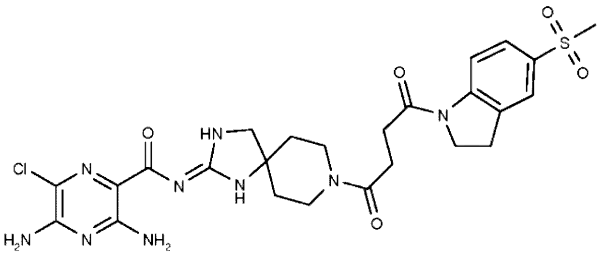
【０２８２】

【化９１】

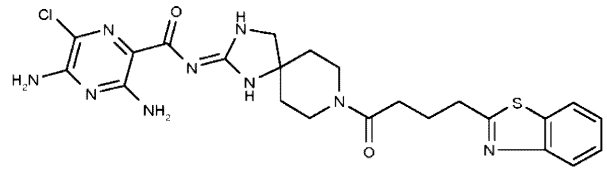
152



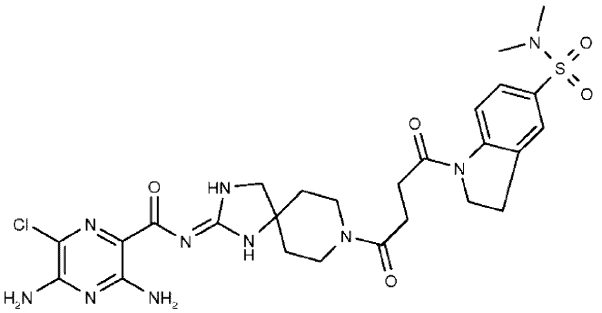
153



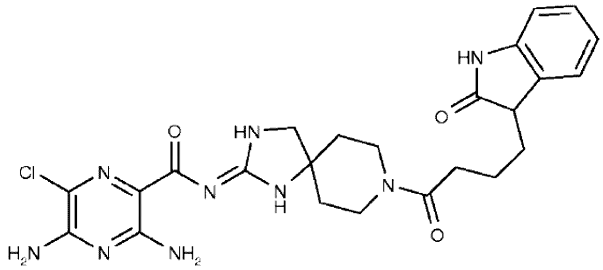
154



155



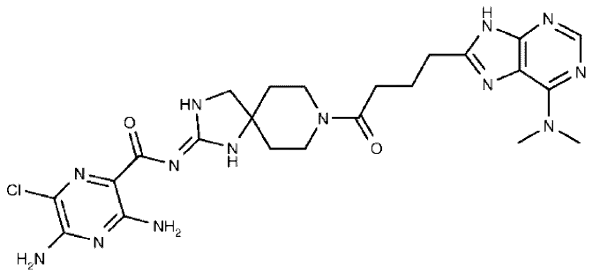
156



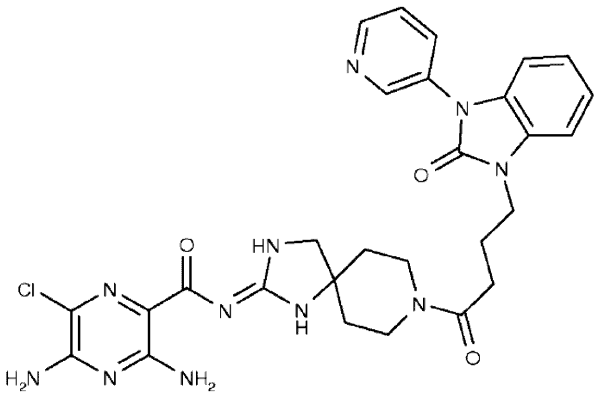
【０２８３】

【化９２】

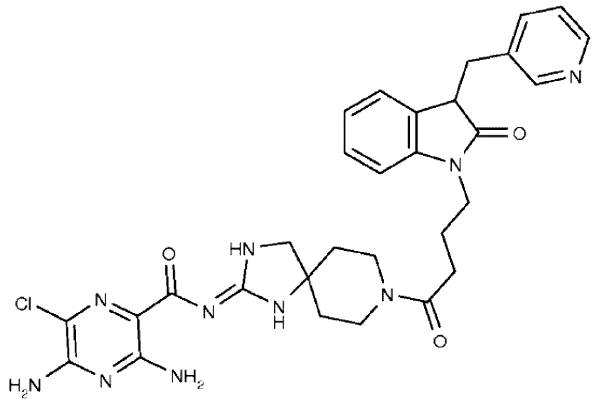
157



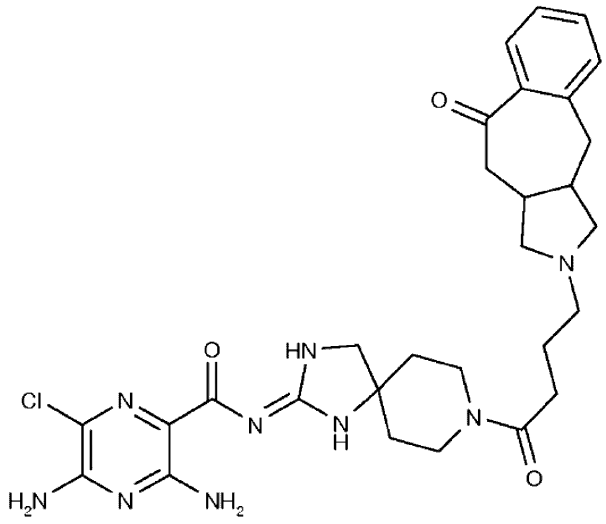
158



159



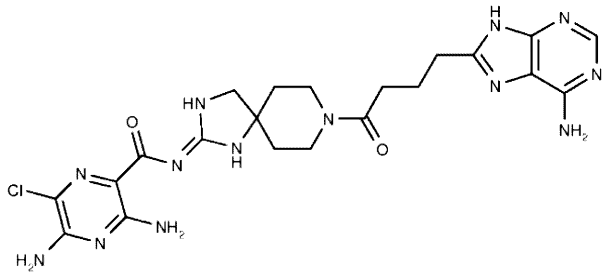
160



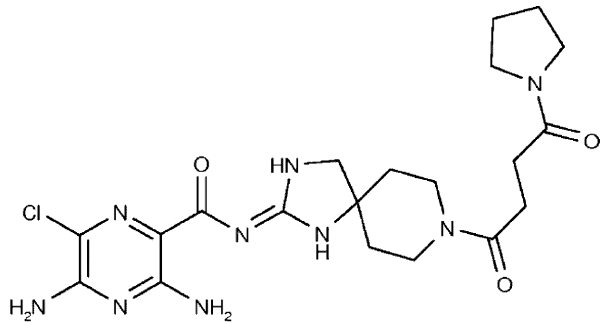
【０２８４】

【化９３】

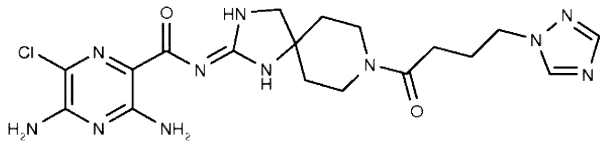
161



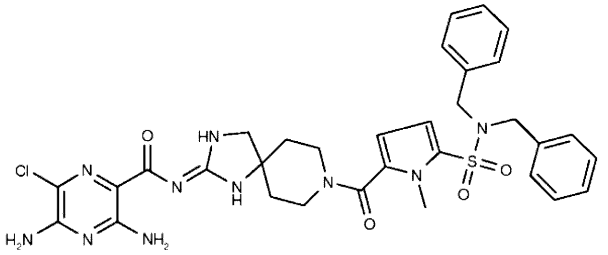
162



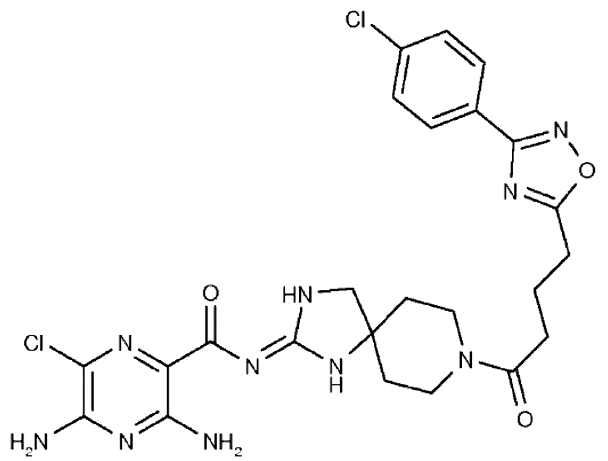
163



164



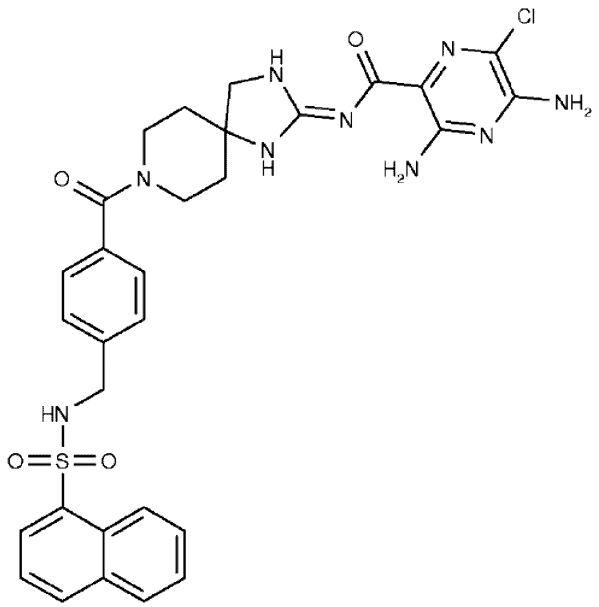
165



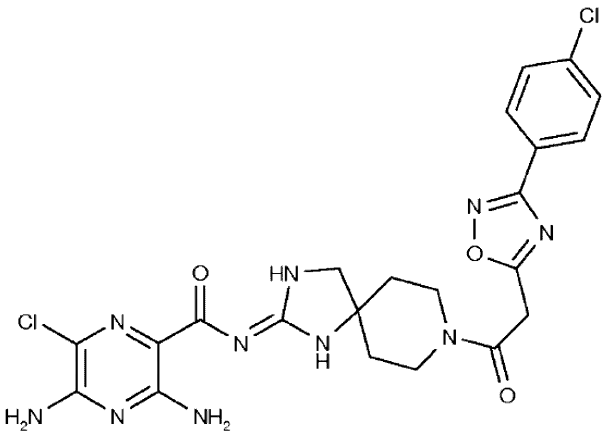
【０２８５】

【化９４】

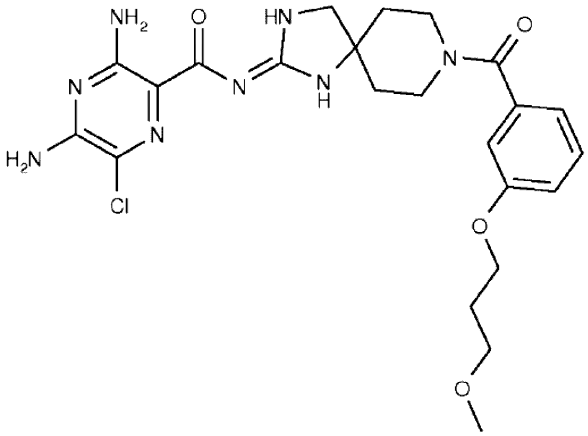
166



167



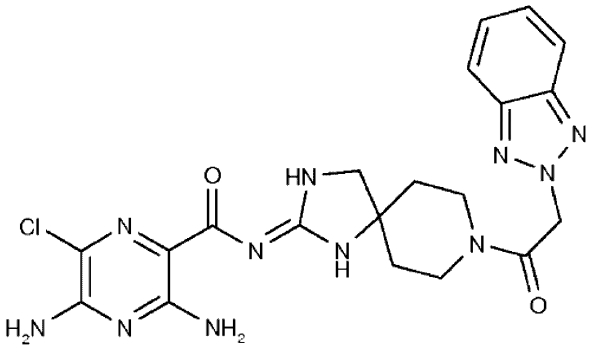
168



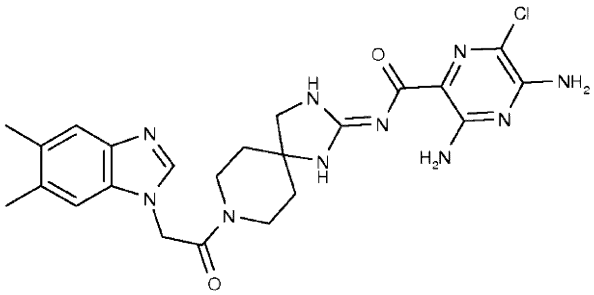
【０２８６】

【化９５】

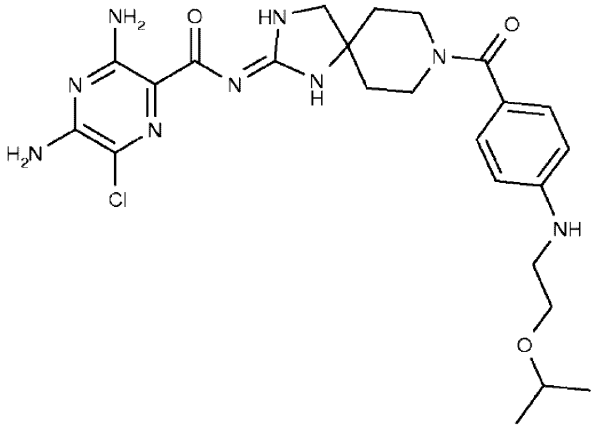
169



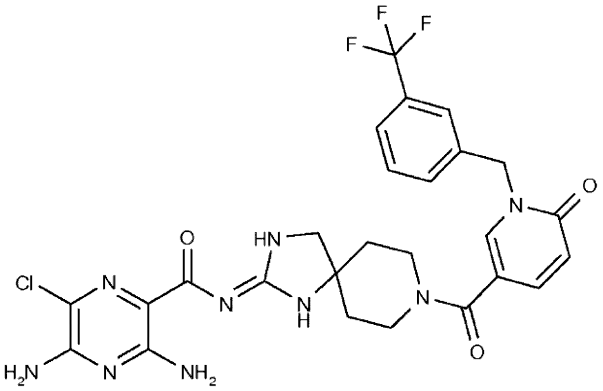
170



171



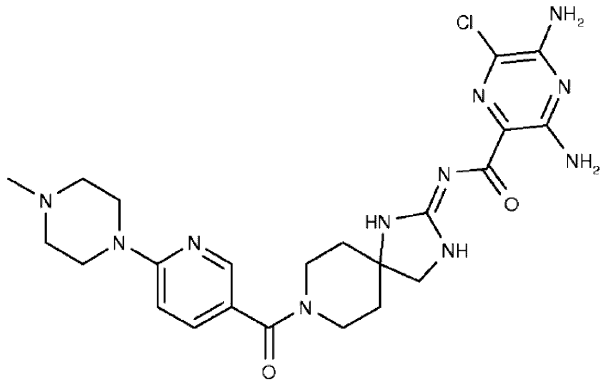
172



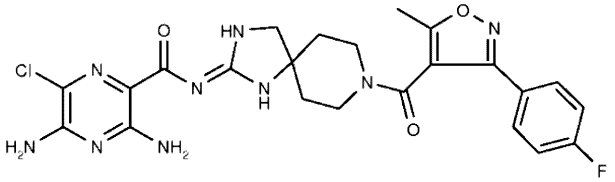
【０２８７】

【化９６】

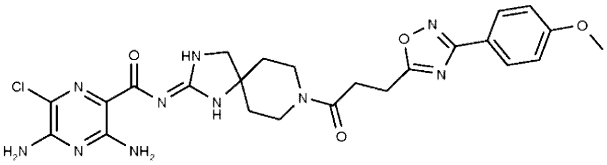
173



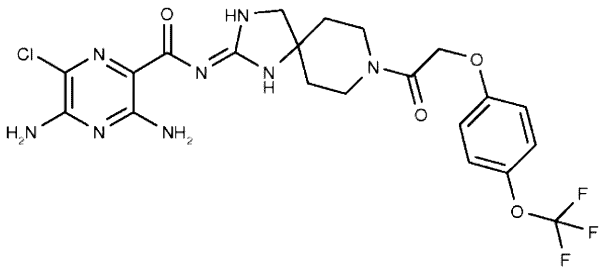
174



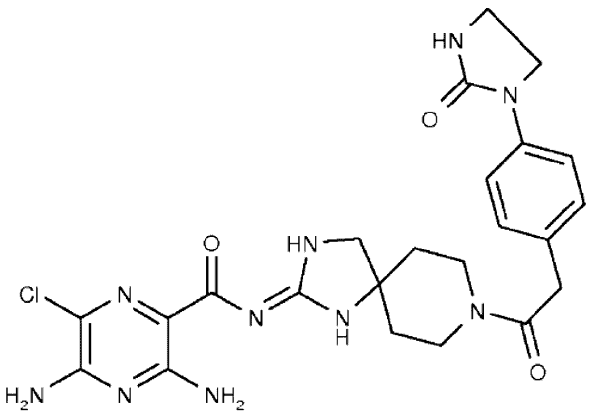
175



176



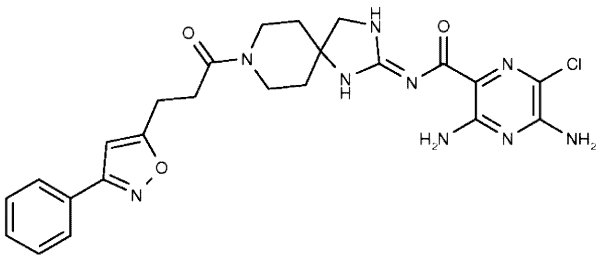
177



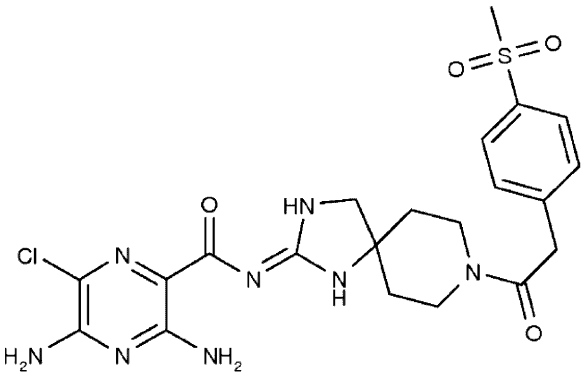
【０２８８】

【化９７】

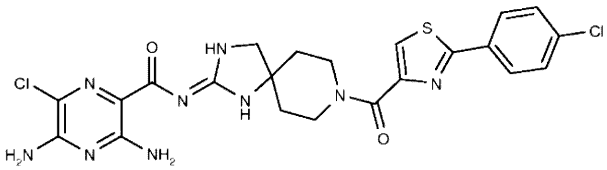
178



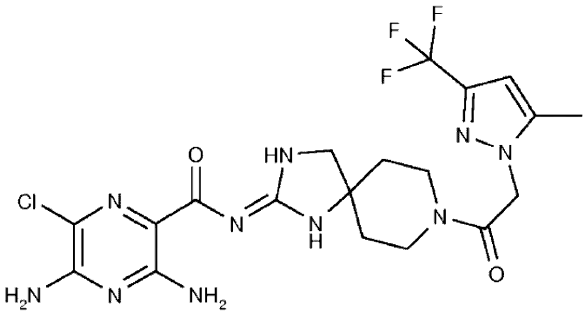
179



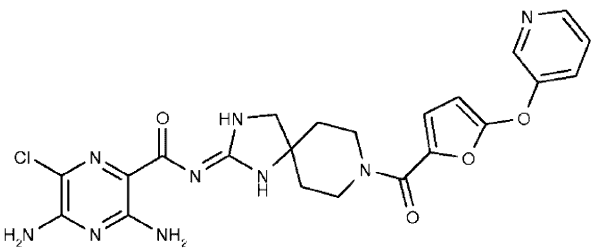
180



181



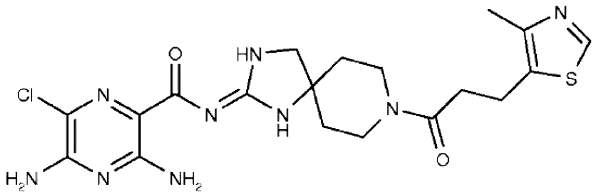
182



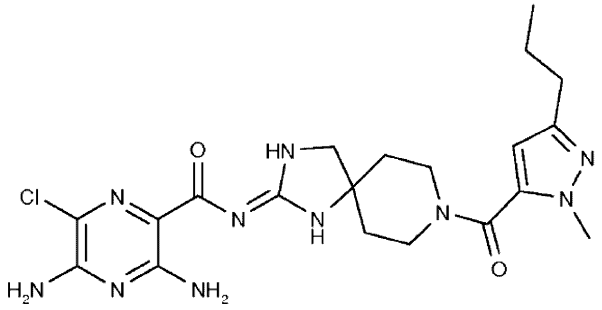
【０２８９】

【化９８】

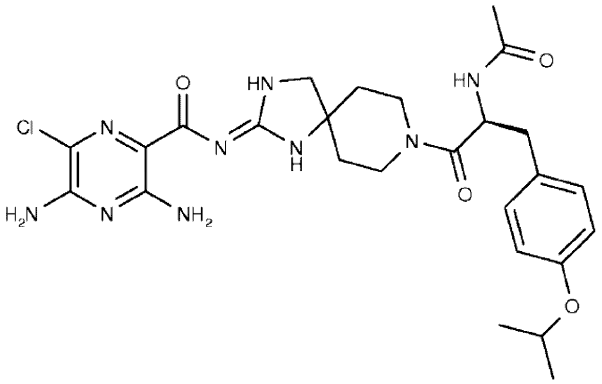
183



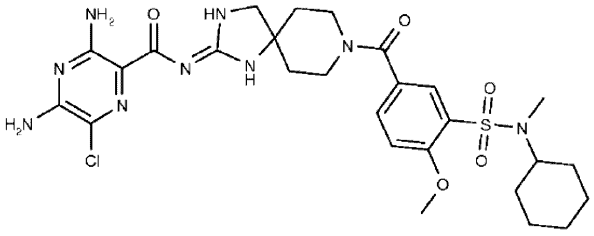
184



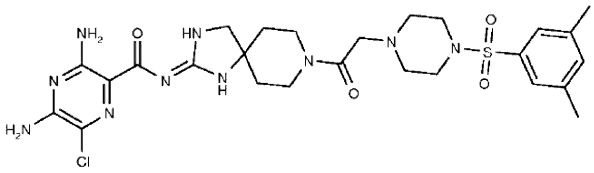
185



186



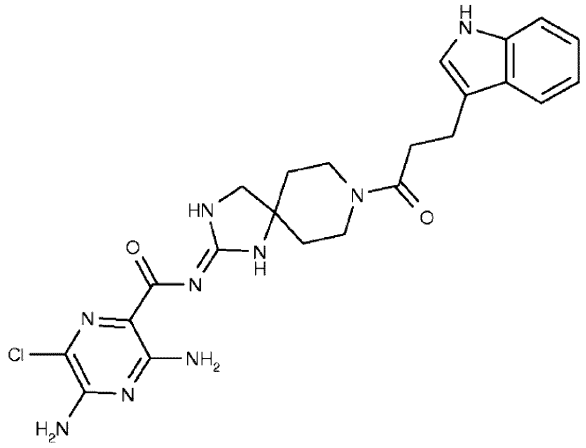
187



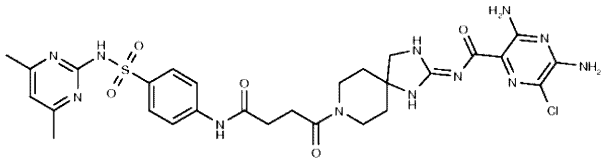
【０２９０】

【化９９】

188

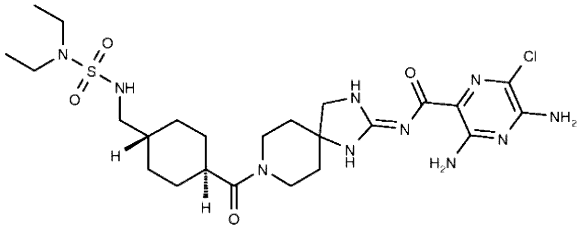


189

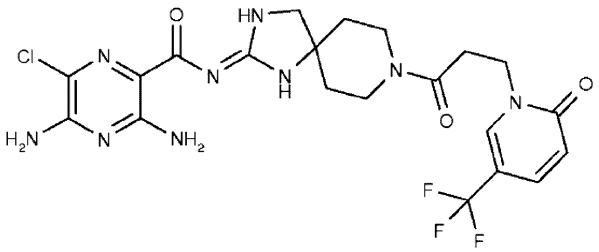


190

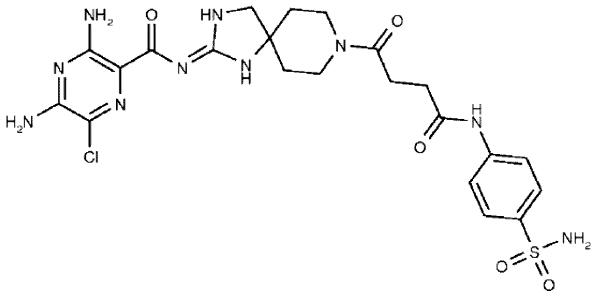
キラル



191



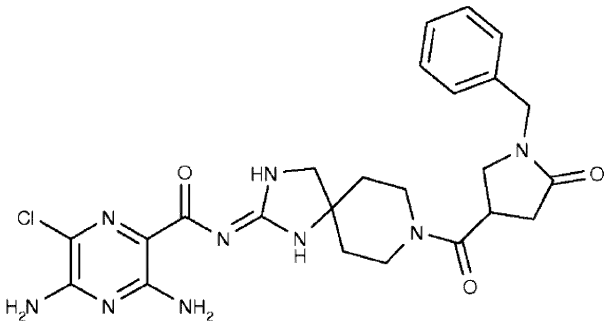
192



【０２９１】

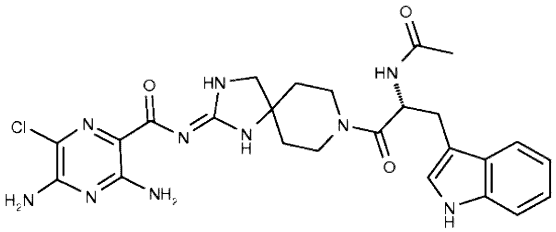
【化１００】

193

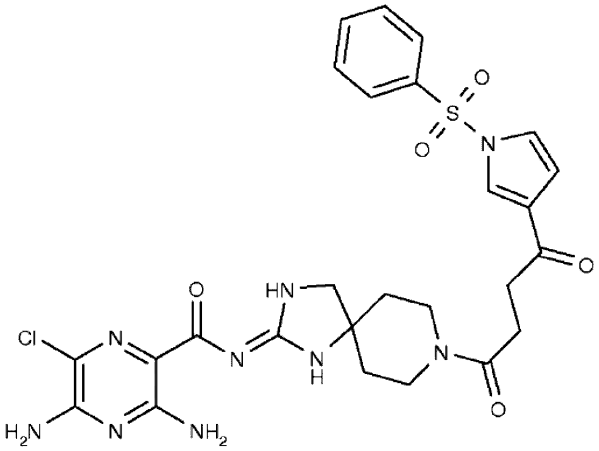


194

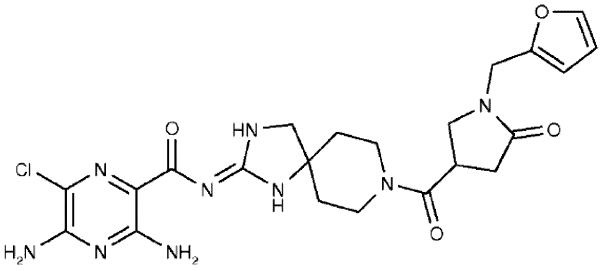
キラル



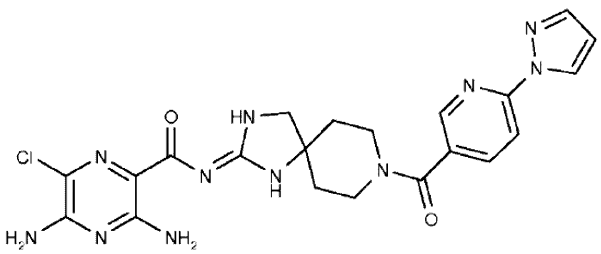
195



196



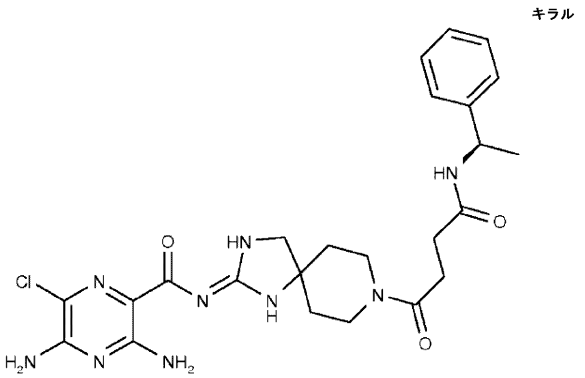
197



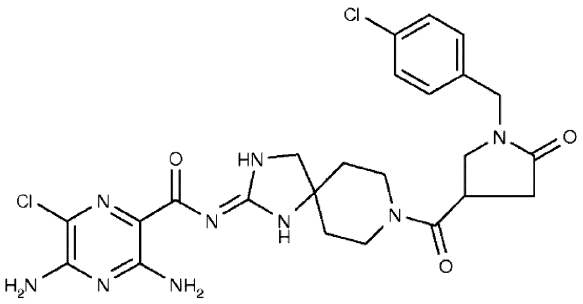
【０２９２】

【化１０１】

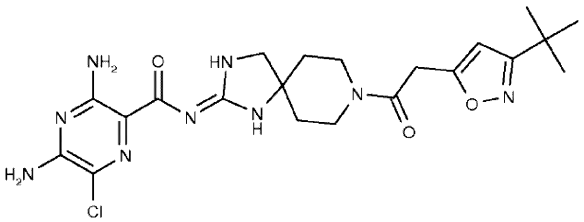
198



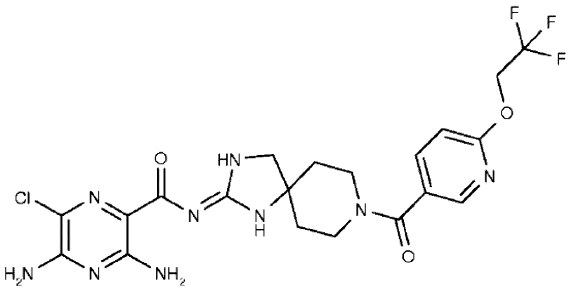
199



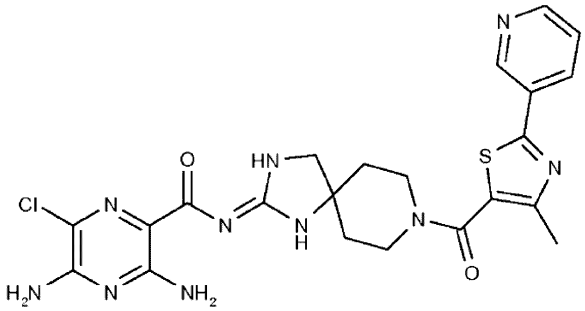
200



201



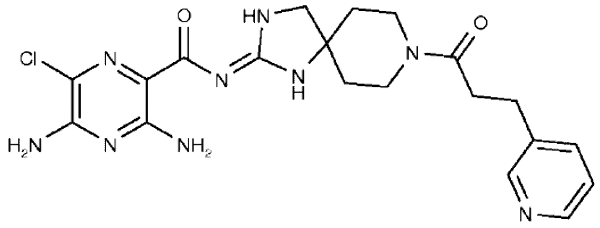
202



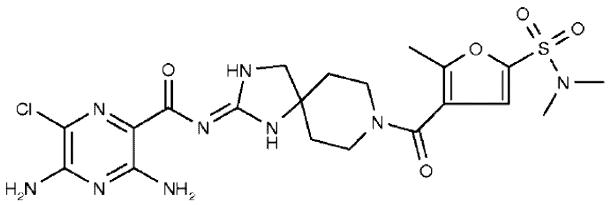
【０２９３】

【化１０２】

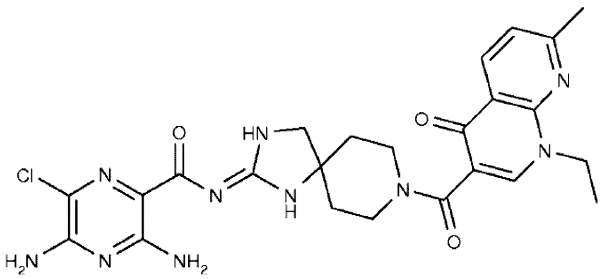
203



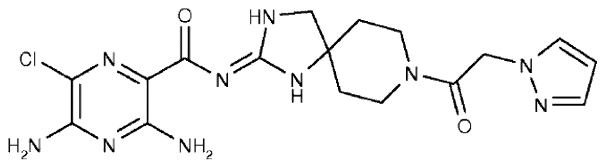
204



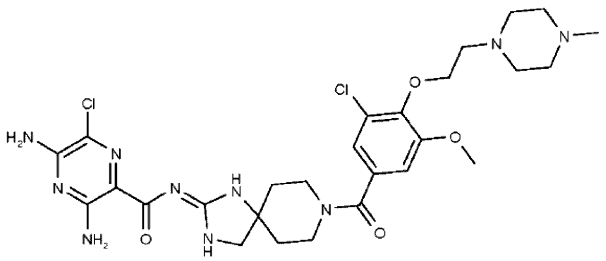
205



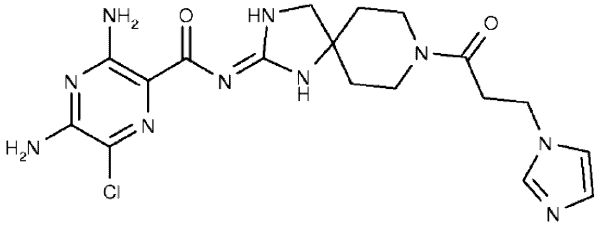
206



207



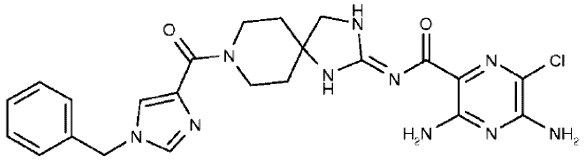
208



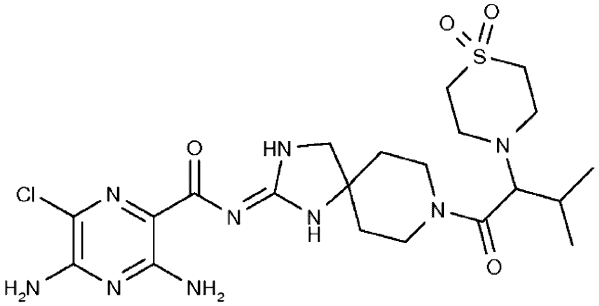
【０２９４】

【化１０３】

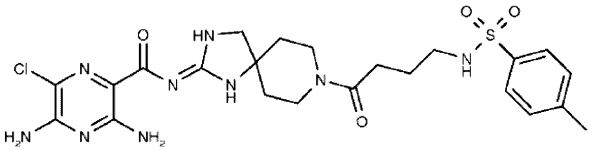
209



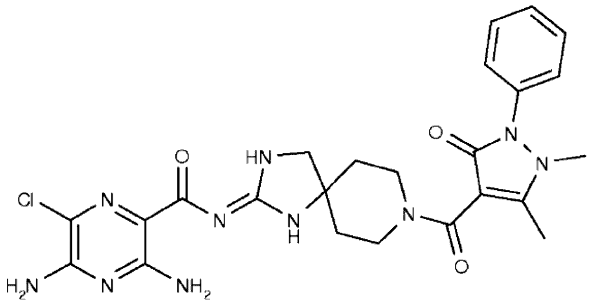
210



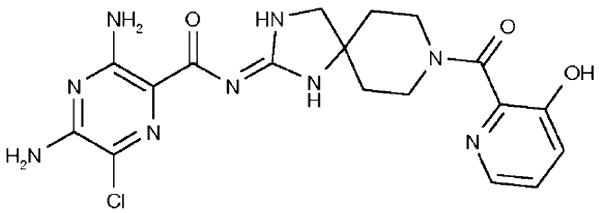
211



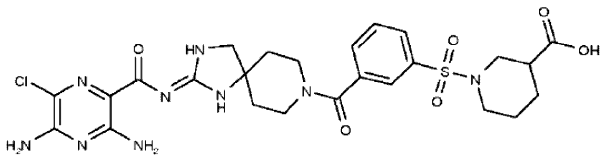
212



213



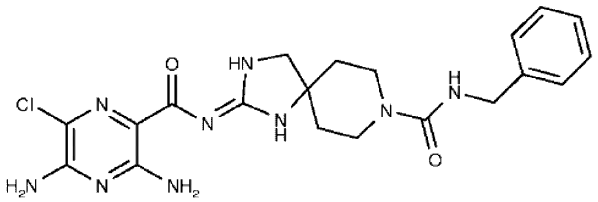
214



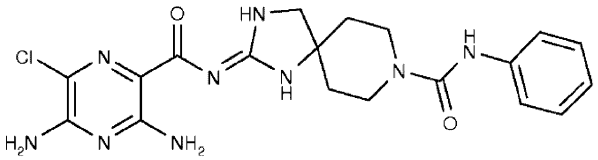
【０２９５】

【化１０４】

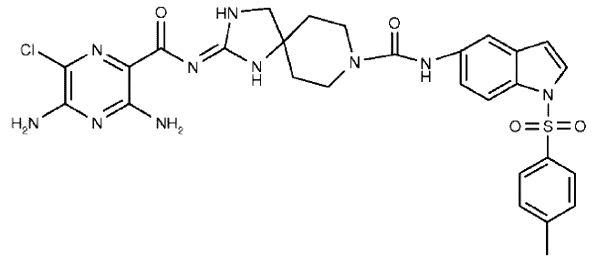
215



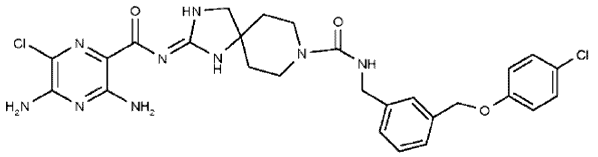
216



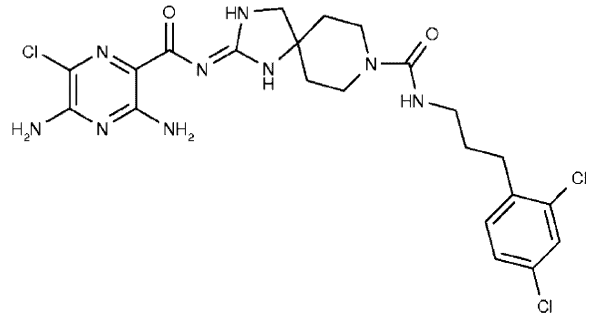
217



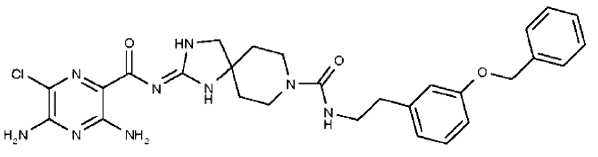
218



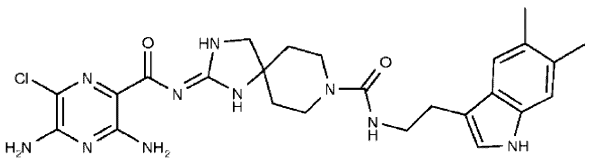
219



220

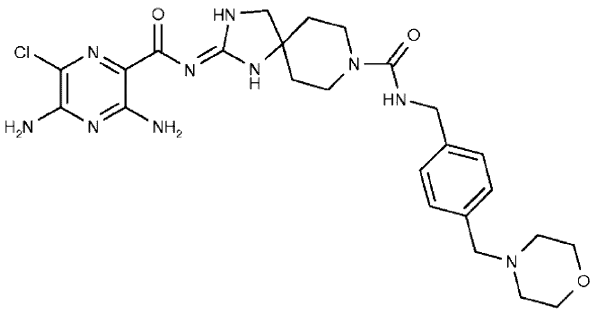


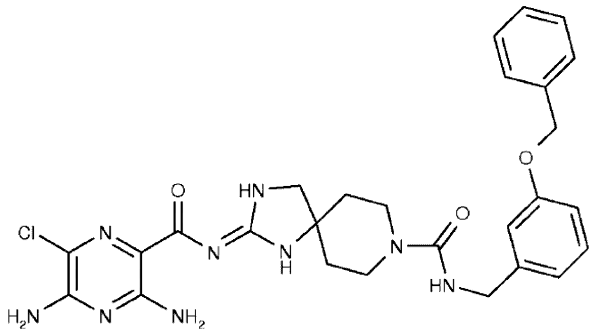
221

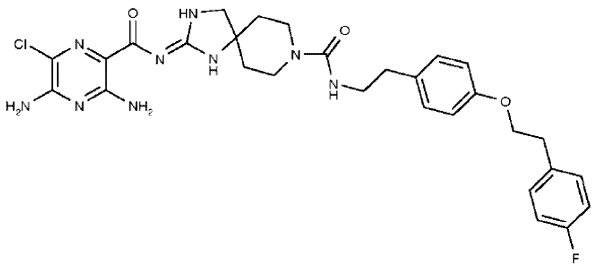


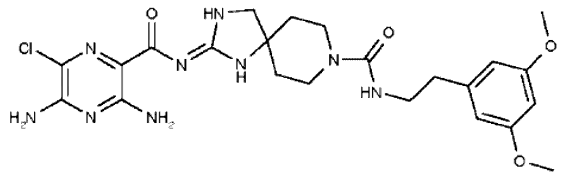
【０２９６】

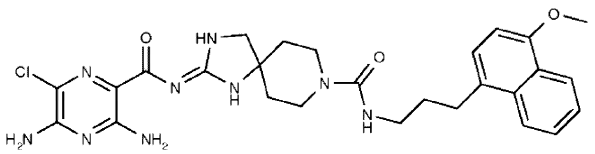
【化１０５】

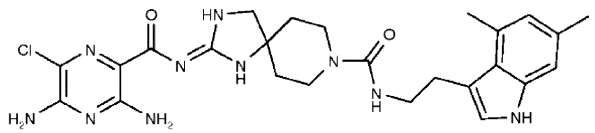
222 

223 

224 

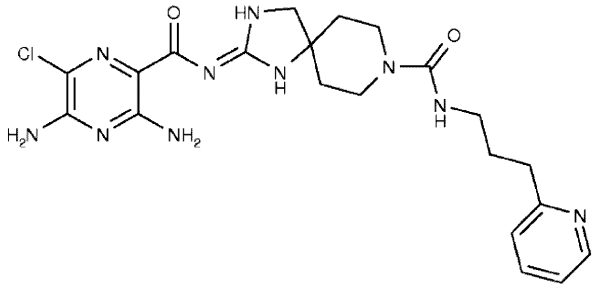
225 

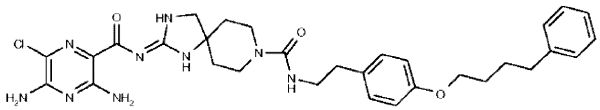
226 

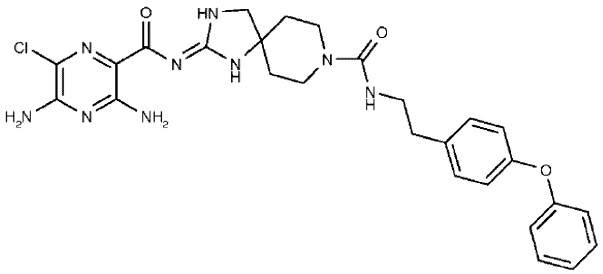
227 

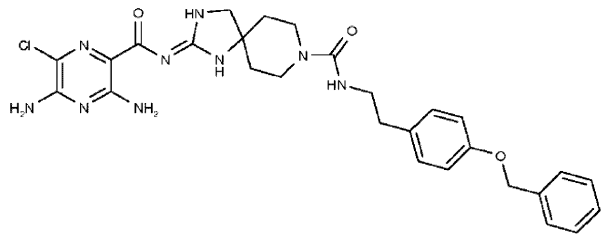
【０２９７】

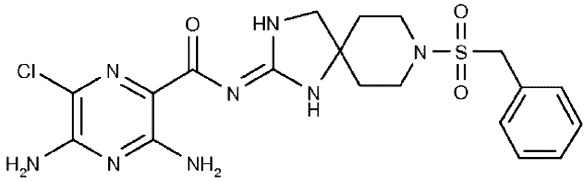
【化１０６】

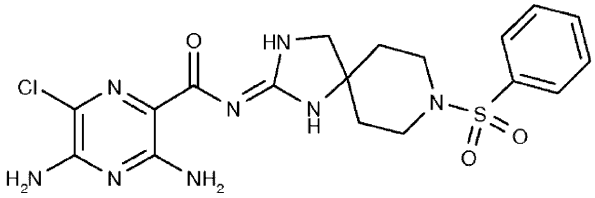
228 

229 

230 

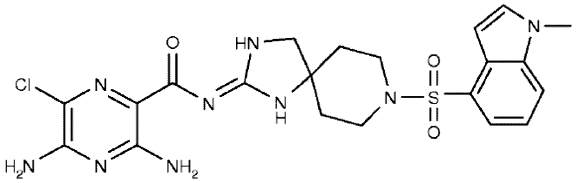
231 

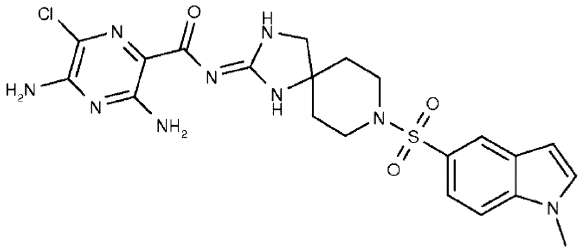
232 

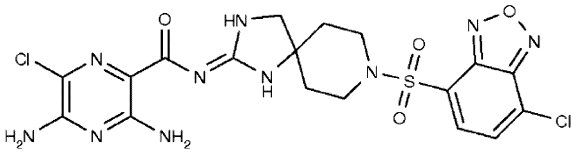
233 

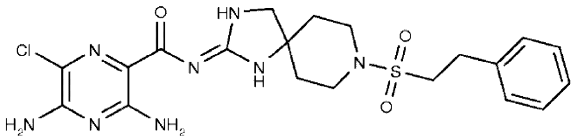
【０２９８】

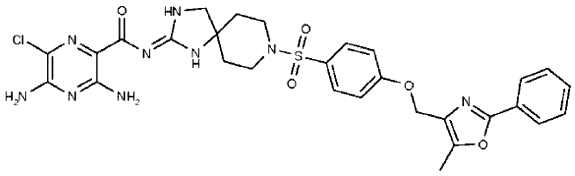
【化１０７】

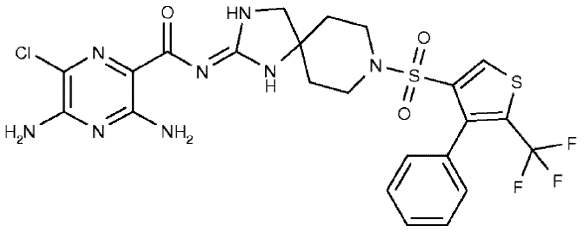
234 

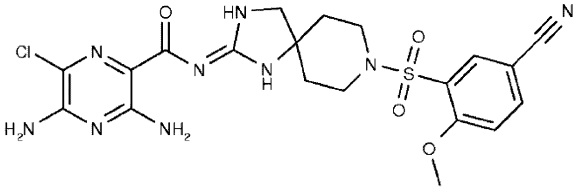
235 

236 

237 

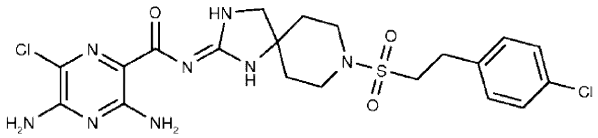
238 

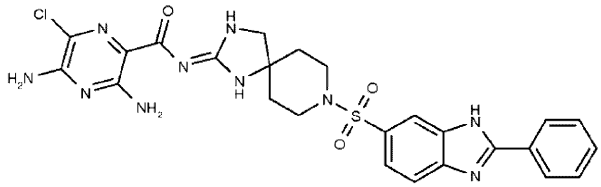
239 

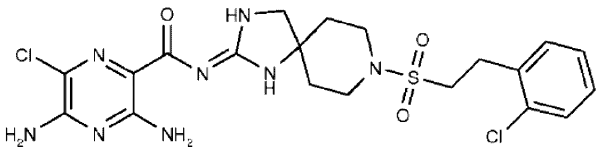
240 

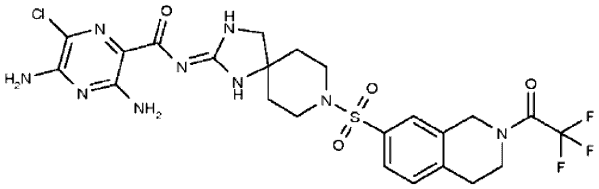
【０２９９】

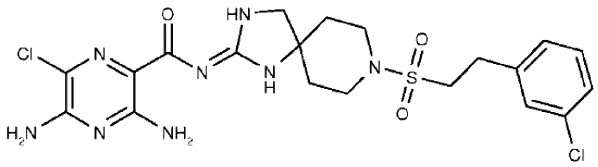
【化１０８】

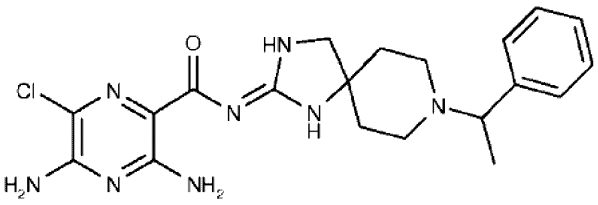
241 

242 

243 

244 

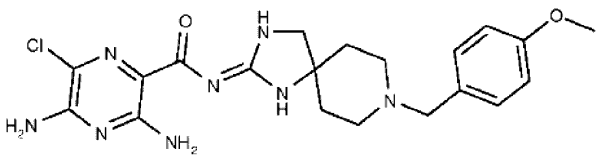
245 

246 

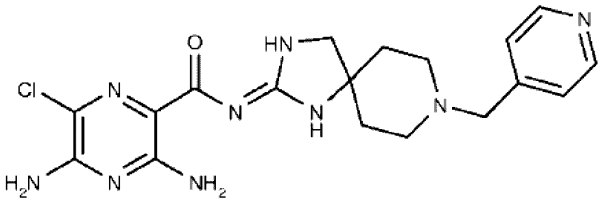
【０３００】

【化１０９】

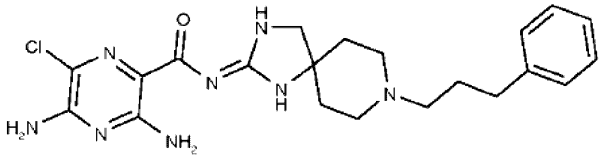
247



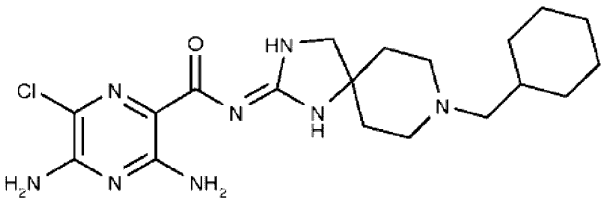
248



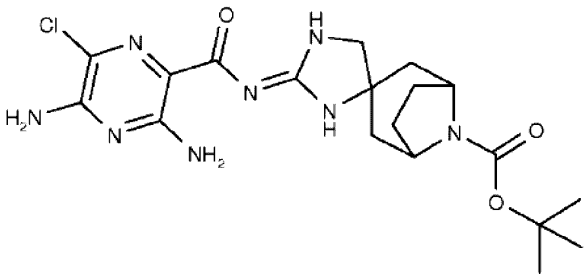
249



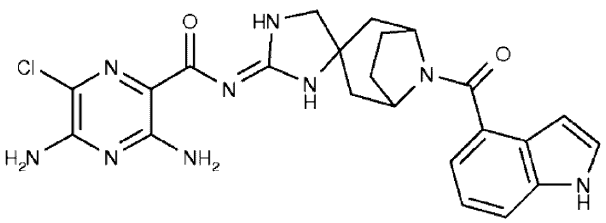
250



251



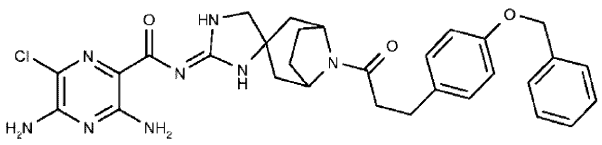
252



【０３０１】

【化１１０】

253



式ＩＶ、ＩＶ（１ａ）、ＩＶ（１ｂ）、ＩＶ（１ｃ）およびＩＶ（２）の用語の定義

式ＩＶ、ＩＶ（１ａ）、ＩＶ（１ｂ）、ＩＶ（１ｃ）およびＩＶ（２）の化合物の記載において使用されている用語は、以下の意味を有する：

「必要に応じて置換されている」とは、言及された基を、１つまたは複数の位置において、これより後に列挙するの基のいずれか１つまたはいずれかの組合せで置換することができることを意味する。

【０３０２】

「１つまたは複数のＺ基で必要に応じて置換されている」とは、関連する基が１つまたは複数の置換基を含むことができ、それぞれの置換基が、Ｚの定義の範囲内に含まれる基から独立して選択されることを意味する。よって、２つ以上のＺ基の置換基が存在する場合、これらは、同じでも異なっていてもよい。

【０３０３】

「ハロ」または「ハロゲン」は、本明細書で使用する場合、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素であってよい。

【０３０４】

「C_1～C_8アルキル」は、本明細書で使用する場合、１～８個の炭素原子を有する直鎖または有枝鎖状アルキルを意味する。例えばC_6またはC_3などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、この定義は適宜修正されるものとする。

【０３０５】

「C_1～C_8アルコキシ」は、本明細書で使用する場合、１～８個の炭素原子を有する直鎖または有枝鎖状アルコキシを意味する。例えばC_6またはC_3などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３０６】

「アルキレン」という用語は、１～８個の間の炭素原子を含有する直鎖または有枝鎖状飽和した炭化水素鎖を意味する。例えばC_6またはC_3などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３０７】

「アミノ－C_1～C_8アルキル」および「アミノ－C_1～C_8アルコキシ」は、窒素原子によって、例えばNH_2－（C_1～C_8）－などのC_1～C_8アルキル、または例えばNH_2－（C_1～C_8）－Ｏ－などのC_1～C_8アルコキシに結合しているアミノを意味する。例えばC_6またはC_3などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３０８】

「C_1～C_8アルキルアミノ」および「ジ（C_1～C_8アルキル）アミノ」は、炭素原子によって、アミノ基に結合している、本明細書中で先に定義されたC_1～C_8アルキルを意味する。ジ（C_1～C_8アルキル）アミノ中のC_1～C_8アルキル基は、同じでも異なっていてもよい。例えばC_6またはC_3などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３０９】

「アミノ－（ヒドロキシ）－C_1～C_8アルキル」は、窒素原子によって、C_1～C_8アルキルに結合しているアミノ、および酸素原子によって同じC_1～C_8アルキルに結合しているヒドロキシを意味する。例えばC_6またはC_3などと異なる数の炭素原子が特定

されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３１０】

「Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキルカルボニル」および「Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルコキシカルボニル」は、本明細書で使用する場合、それぞれが本明細書中で先に定義され、炭素原子によってカルボニル基に結合しているＣ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルキルまたはＣ$_{1}$～Ｃ$_{8}$アルコキシを意味する。例えばＣ$_{6}$またはＣ$_{3}$などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３１１】

「Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{8}$シクロアルキルカルボニル」は、本明細書で使用する場合、炭素原子によりカルボニル基に結合している、本明細書中で先に定義されたＣ$_{3}$～Ｃ$_{8}$シクロアルキルを意味する。例えばＣ$_{6}$またはＣ$_{3}$などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３１２】

「Ｃ$_{7}$～Ｃ$_{14}$アラルキル」は、本明細書で使用する場合、例えば本明細書中に定義されたＣ$_{6}$～Ｃ$_{10}$芳香族炭素環式基により置換されている、本明細書中で先に定義された、例えばＣ$_{1}$～Ｃ$_{4}$アルキルなどのアルキルを意味する。例えばＣ$_{6}$またはＣ$_{3}$などと異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３１３】

「Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{15}$炭素環式基」は、本明細書で使用する場合、飽和または部分的に飽和した３～１５個の炭素環原子を有する炭素環式基、例えばＣ$_{3}$～Ｃ$_{8}$シクロアルキルなどを意味する。Ｃ$_{3}$～Ｃ$_{15}$炭素環式基の例として、これらに限らないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルもしくはシクロオクチル、または二環式基、例えばビシクロオクチル、ビシクロノニル、例えばインダニルおよびインデニルおよびビシクロデシルなどが挙げられる。例えばＣ$_{6}$など、異なる数の炭素原子が特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３１４】

「アリール」または「Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{15}$芳香族炭素環式基」は、本明細書で使用する場合、６～１５個の炭素環原子を有する芳香族基を意味する。Ｃ$_{6}$～Ｃ$_{15}$－芳香族炭素環式基の例として、これらに限らないが、フェニル、フェニレン、ベンゼントリイル、ナフチル、ナフチレン、ナフタレントリイルまたはアントリレンが挙げられる。異なる数の炭素原子、例えばＣ$_{10}$などが特定されている場合、定義は適宜修正されるものとする。

【０３１５】

「４～８員（の）複素環式基」、「５～６員（の）複素環式基」、「３～１０員（の）複素環式基」、「３～１４員（の）複素環式基」、「４～１４員（の）複素環式基」および「５～１４員（の）複素環式基」は、それぞれ、窒素、酸素および硫黄からなる群から選択される少なくとも１個の環ヘテロ原子を含有する、４～８員の、５～６員の、３～１０員の、３～１４員の、４～１４員のおよび５～１４員の複素環式環を指し、これらは、飽和、部分的に飽和または不飽和（芳香族）であってよい。複素環式基には、単環基、縮合環基および架橋された基が含まれる。このような複素環式基の例として、これらに限らないが、フラン、ピロール、ピロリジン、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、イソトリアゾール、テトラゾール、チアジアゾール、イソチアゾール、オキサジアゾール、ピリジン、ピペリジン、ピラジン、オキサゾール、イソオキサゾール、ピラジン、ピリダジン、ピリミジン、ピペラジン、ピロリジン、ピロリジノン、モルホリン、トリアジン、オキサジン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロチオフェン、テトラヒドロチオピラン、テトラヒドロピラン、１，４－ジオキサン、１，４－オキサチアン、インダゾール、キノリン、インダゾール、インドール、８－アザ－ビシクロ［３．２．１］オクタンまたはチアゾールなどが挙げられる。

【０３１６】

本発明の第２の態様は、炎症性またはアレルギー性の状態、特に炎症性または閉塞性の気道疾患または粘膜の水和の治療のための薬剤を製造するために、上述の実施形態のいず

れかにおける式（ＩＶ）の化合物を、遊離形態または薬学的に許容される塩の形態で、Ａ、Ｂ、またはＣ欄のうちの少なくとも１つの成分と組み合わせて使用することを提供する。

【０３１７】

本発明の実施形態は、嚢胞性線維症、原発性線毛機能不全、慢性気管支炎、慢性閉塞性肺疾患、喘息、呼吸器感染症、肺癌、口内乾燥および乾性角結膜炎から選択される炎症性またはアレルギー性の状態の治療のための薬剤を製造するために、上述の実施形態のいずれかにおける式（ＩＶ）の化合物を、遊離形態または薬学的に許容される塩形態で使用することを提供する。

【０３１８】

本発明のいずれかおよびすべての実施形態は、本発明の追加の実施形態を説明するために、他のいずれかの実施形態と共に解釈することができることを理解されたい。さらに、実施形態のいずれの要素も、追加の実施形態を説明するために、いずれかの実施形態からのすべての他の要素と組み合わせることが意図されている。可能でない置換基の組合せは、本発明の態様ではないことを当業者であれば理解されよう。

【０３１９】

本明細書およびこれに続く特許請求の範囲全体を通して、特に状況により必要とされない限り、「含む」という単語、または変化形、例えば「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」または「含んでいる」などは、述べられている整数もしくはステップ、または整数もしくはステップのグループを包含することを意味するが、他のいずれかの整数もしくはステップ、または整数もしくはステップのグループを除外しないことを意味することを理解されたい。

【０３２０】

特に好ましい具体的な式（ＩＶ）の化合物は、実施例において本明細書の以下に記載されているものである。

【０３２１】

式（ＩＶ）で表される化合物は、酸付加塩、特に薬学的に許容される酸付加塩を形成することが可能であってよい。式（ＩＶ）化合物の薬学的に許容される酸付加塩として、無機酸のもの、例えば、ハロゲン化水素酸、例えばフッ化水素酸、塩化水素酸、臭化水素酸またはヨウ化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸、ならびに有機酸のもの、例えば、脂肪族モノカルボン酸、例えばギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、プロピオン酸および酪酸；脂肪族ヒドロキシ酸、例えば乳酸、クエン酸、酒石酸またはリンゴ酸；ジカルボン酸、例えばマレイン酸またはコハク酸；芳香族カルボン酸、例えば安息香酸、ｐ－クロロ安息香酸、ジフェニル酢酸、パラ－ビフェニル安息香酸もしくはトリフェニル酢酸；芳香族ヒドロキシ酸、例えばｏ－ヒドロキシ安息香酸、ｐ－ヒドロキシ安息香酸、１－ヒドロキシナフタレン－２－カルボン酸もしくは３－ヒドロキシナフタレン－２－カルボン酸；ケイヒ酸、例えば３－（２－ナフタレニル）プロペン酸、パラ－メトキシケイヒ酸またはパラ－メチルケイヒ酸；およびスルホン酸、例えばメタンスルホン酸またはベンゼンスルホン酸などが挙げられる。これらの塩は、公知の塩形成手順により、式（ＩＶ）の化合物から調製することができる。

【０３２２】

酸性、例えば、カルボキシル基などを含有し得る式（ＩＶ）の化合物はまた、塩基、特に薬学的に許容される塩基、例えば当技術分野で周知のものと塩を形成することが可能である。適切なこのような塩として、金属塩、特にアルカリ金属またはアルカリ土類金属塩、例えばナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩もしくはカルシウム塩；またはアンモニアもしくは薬学的に許容される有機アミンまたは複素環式塩基、例えばエタノールアミン、ベンジルアミンまたはピリジンとの塩が挙げられる。これらの塩は、公知の塩形成手順により式（ＩＶ）の化合物から調製することができる。

【０３２３】

立体異性体とは、不斉炭素原子が存在する化合物である。この化合物は、個々の光学活

性な異性体の形態またはその混合物として、例えば、ジアステレオマーの混合物として存在する。本発明は、個々の光学活性なＲとＳの両異性体、ならびにその混合物を包含する。個々の異性体は、当業者に周知の方法、例えば、キラル高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）で分離することができる。

【０３２４】

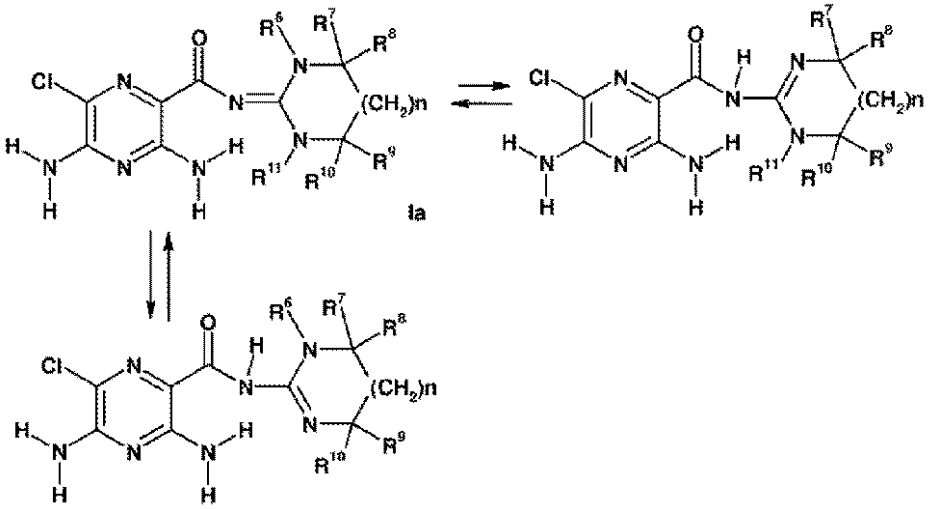
互変異性体は、平衡状態で存在し、１つの異性体の形態から別の形態へと容易に変換する、２つ以上構造的異性体のうちの１つである。

【０３２５】

さらに具体的には、例えば、R^6および／またはR^{11}が水素である式Ｉａの化合物は、以下の互変異性体の形態のうちの１つまたは両方で存在し得る：

【０３２６】

【化１１１】



式ＩＶによる化合物は、対応する互変異性体の形態で存在し得る。

【０３２７】

互変異性体の例として、これらに限らないが、特許請求の範囲において定義された化合物が挙げられる。

【０３２８】

本発明の化合物は、溶媒和していない形態および溶媒和形態の両方で存在し得る。「溶媒和物」という用語は、本発明の化合物と、１つまたは複数の薬学的に許容される溶媒分子、例えば、エタノールを含む分子の複合体を説明するために本明細書中で使用されている。「水和物」という用語は、前記溶媒が水の場合に利用される。

【０３２９】

合成

一般的に、式ＩＶによる化合物は、スキーム１および実施例に記載されたルートで合成することができる。

【０３３０】

例えば、中間体１を、有機溶剤中で中間体２と反応させることによって、化合物３を得ることができ、これを遊離塩基として単離することができる。次いでこの遊離塩基は、適切な酸を用いた処理により、塩形態へと変換することができる。

【０３３１】

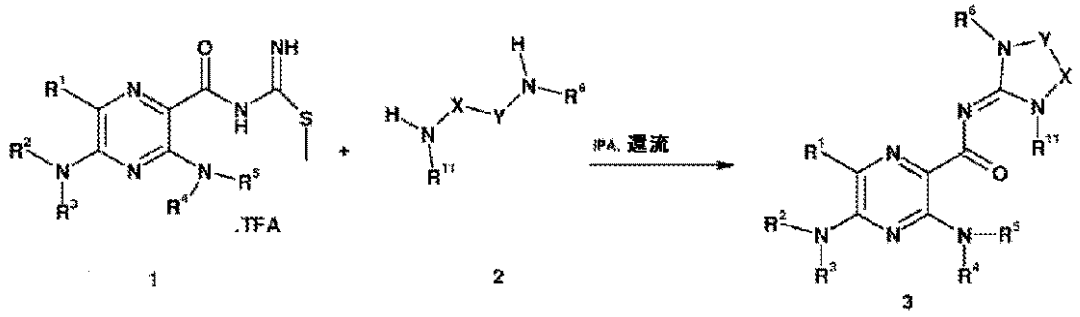
中間体は、当業者に公知の方法で調製することもできるし、または市販のものでよい。

【０３３２】

スキーム１

【０３３３】

【化１１２】



スキーム１において、Ｒ[1]、Ｒ[2]、Ｒ[3]、Ｒ[4]、Ｒ[5]、Ｒ[6]およびＲ[11]は、先に定義された通りであり、ＹはＣＲ[7]Ｒ[8]であり、ＸはＣＲ[9]Ｒ[10]であり、ｎは０であり、Ｒ[7]、Ｒ[8]、Ｒ[9]およびＲ[10]もまた先に定義された通りである。ｎが１または２である化合物に対して、適切なメチレンまたはエチレン連結基がジアミン反応体２のＸとＹの間に挿入される。

【０３３４】

上記式１および式２の化合物は、文献に記載された従来のルートに従い調製することができる。

【０３３５】

遊離形態の式（ＩＶ）の化合物は、当業者により理解されている従来の方法で、塩形態に変換することができ、逆もまた同じである。遊離形態または塩形態の化合物は、晶出のために使用される溶媒を含有する水和物または溶媒和物の形態で得ることができる。式（ＩＶ）の化合物は、反応混合物から回収することができ、従来の方法で精製することができる。異性体、例えば立体異性体などは、対応する、非対称的に置換された、例えば、光学活性のある出発物質から、従来の方法、例えば、分別結晶または不斉合成で得ることができる。式（ＩＶ）の化合物は、例えば、以下および実施例に記載した反応および技法を用いて調製することができる。この反応は、利用された試薬および物質に適した溶媒、および行われる変換に適した溶媒中で遂行することができる。官能基が分子上に存在する有機合成は、提案された変換と一致すべきであることは、当業者であれば理解されよう。これは、本発明の所望の化合物を得るために、合成ステップの順序を変更する判断、または別のスキームよりも、ある特定の工程スキームを選ぶ判断が必要となることがある。

【０３３６】

以下の反応物スキームに示されている合成中間体および最終生成物上の様々な置換基は、当業者であれば理解しているように、必要な場合には適切な保護基と共に、これらの完全に合成された形態で、または当業者に馴染みのある方法でこれらの最終形態へと後で合成することができる前駆体形態で存在することができる。置換基はまた、合成順序全体を通して様々な段階において、または合成順序の完了後に添加することができる。多くの場合、一般的に使用される官能基操作を使用することによって、１つの中間体を別の中間体へ、または式（ＩＶ）の一化合物を式（ＩＶ）の別の化合物に変換することができる。このような操作の例として、エステルまたはケトンのアルコールへの変換；エステルからケトンへの変換；エステル、酸およびアミドの相互変換；アルコールおよびアミンのアルキル化、アシル化およびスルホニル化；ならびにその他が多くある。置換基はまた、一般的反応、例えばアルキル化、アシル化、ハロゲン化または酸化を用いて添加することができる。このような操作は、当技術分野で周知であり、多くの参考資料がこのような操作のための手順および方法を要約している。多くの官能基の操作のための有機合成、ならびに有機合成の分野で一般的に使用されている他の変換についての基礎的な文献の例および参照が得られるいくつかの参考資料は、March's Organic Chemistry、第５版、Wiley and Chichester、Eds.（２００１年）；Comprehensive Organic Transformations、Larock, Ed.、VCH（１９８９年）；Comprehensive Organic Functional Group Transformations、Katritzkyら（シリーズ編集）、Pergamon（１９９５年）；およびComprehensive

Organic Synthesis、TrostandおよびFleming（シリーズ編集）、Pergamon（１９９１年）である。本分野において任意の合成ルートを計画する際の別の重大な考慮は、本発明において記載された化合物中に存在する反応性官能基の保護のために使用される保護基の賢明な選択であることも認識されたい。これら保護基のそれぞれが、所望する成果に応じて、同じ分子内の他の保護基を除去することなく取り除くことができるか、または同じ反応ステップを用いて、いくつかの保護基を取り除くことができるように、同じ分子内の複数の保護基を選択することができる。当業者に多くの代替形態を記載している権威ある記述は、GreeneおよびWuts、Protective Groups in Organic Synthesis、Wiley and Sons（１９９９年）である。

【０３３７】

薬理活性

上皮のナトリウムチャネル（ＥＮａＣ）のこれらの遮断を考慮して、本明細書中これより以下で、代わりに「本発明の薬剤」と呼ばれている、遊離形態または薬学的に許容される塩の形態の式（ＩＶ）の化合物は、Ａ、Ｂ、またはＣ欄のＣＦモジュレーターのモジュレーターと組み合わせることによって、上皮型ナトリウムチャネルの遮断に応答する状態の治療、特に粘膜の水和から恩恵を受ける状態の治療において有用である。

【０３３８】

上皮型ナトリウムチャネルの遮断によって媒介される疾患は、上皮膜の全域での液量の調節に関連する疾患を含む。例えば、気道表面液体の体積は、粘膜毛様体クリアランスおよび肺の健康状態の維持の主要なレギュレーターである。上皮型ナトリウムチャネルの遮断は、気道上皮の粘膜側の流体蓄積を促進し、これによって、粘液クリアランスを促進し、呼吸組織（肺気道を含む）における粘液および痰の蓄積を阻止する。このような疾患として、呼吸器疾患、例えば嚢胞性線維症、原発性線毛機能不全、慢性気管支炎、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、喘息、呼吸器感染症（急性および慢性；ウイルス性および細菌性）および肺癌などが挙げられる。上皮型ナトリウムチャネルの遮断によって媒介される疾患には、これらの表面上の保護的表面液体の異常な生理機能がおそらく関与している、上皮全域での異常な流体調節に関連する呼吸器疾患以外の疾患、例えば、口内乾燥症（口渇）または乾性角結膜炎（ドライアイ）なども含まれる。さらに、腎臓での上皮型ナトリウムチャネルの遮断は、利尿を促進し、これによって、抗高血圧作用を誘発するために使用され得る。

【０３３９】

本発明による治療は、対症的または予防的なものであってもよい。

【０３４０】

喘息は、内因性（非アレルギー性）喘息と外因性（アレルギー性）喘息の両方の喘息、軽度の喘息、中等度の喘息、重症の喘息、気管支喘息、運動誘発性喘息、職業性喘息および細菌感染後誘発性喘息が含まれる。喘息の治療はまた、喘鳴症状を示し、「喘鳴小児」と診断されたまたは診断可能な、例えば、４または５才未満の年齢の被験体の治療を包含すると理解され、この喘鳴小児は、重大な医学的懸案事項の確立された患者分類であり、現在では、初期または早期段階の喘息患者として特定されることが多い（便宜上、この特定の喘息の状態を「喘鳴小児症候群」と呼ぶ）。

【０３４１】

喘息の治療における予防的効果は、症候性発作、例えば、急性喘息性発作または気管支収縮性発作などの頻度または重症度の低下、肺機能の向上または気道過敏性の向上などにより明らかである。他の対症療法、すなわち、症候性発作が生じた場合これを制限または中止させるのための療法または制限または中止することを意図する療法、例えば、抗炎症療法（例えば、副腎皮質ステロイド）または気管支拡張療法の必要性の低下などによりさらに明らかとなり得る。喘息における予防の利点は、「モーニングディップ」を起こす傾向がある被験体において特に明らかとなり得る。「モーニングディップ」は、認知された喘息の症候群であり、高いパーセンテージの喘息に共通し、例えば、午前４～６時頃の時間の喘息発作、すなわち、前に投与された任意の喘息対症療法とは通常相当かけ離れた時

点での喘息発作を特徴とする。

【０３４２】

慢性閉塞性肺疾患には、慢性気管支炎またはこれに関連する呼吸困難、肺気腫ならびに他の薬物治療、特に、他の吸入薬物治療の結果として起こる気道過敏性の悪化が含まれる。本発明はまた、例えば、急性、アラキン酸誘導性、カタル性、クループ性、慢性または結核様気管支炎を含む、あらゆるタイプまたは起源の気管支炎の治療に適している。

【０３４３】

本発明の薬剤は、酸感受性イオンチャネル（ＡＳＩＣ）遮断剤としても有用となり得る。よってこれらは、酸感受性イオンチャネルの遮断に応答する状態の治療において有用となり得る。

【０３４４】

粘膜の水和から恩恵を受ける疾患の治療としての上皮型ナトリウムチャネル遮断剤の適合性は、適切な細胞ベースのアッセイにおいて、ＥＮａＣについて、チャネル遮断剤の抑制効果を判定することによって試験することができる。例えば、ＥＮａＣを内因的に発現している、または過剰に発現するように巧みに操作された単一細胞または集密的な上皮組織を使用して、電気生理的技法またはイオン流出試験を用いてチャネル機能を評価することができる。：Hirshら、Ｊ Pharm Exp Ther（２００４年）；Moodyら、Am Ｊ Physiol Cell Physiol（２００５年）に記載の方法を参照されたい。

【０３４５】

式（ＩＶ）の化合物を含む上皮型ナトリウムチャネル遮断剤はまた、他の薬剤物質と組み合わせて使用するための共同治療薬としても有用であり、これら他の薬剤物質とは、例えば抗炎症性、気管支拡張性、抗ヒスタミン性または鎮咳性の薬剤物質、特に嚢胞性線維症または閉塞性もしくは炎症性の気道疾患の治療における薬剤物質、例えば本明細書中で上述したもの、例えば、このような薬物の治療上の活性の増強剤としてまたは必要投薬量またはこのような薬物の潜在的な副作用を減少させる手段としての薬剤物質などである。

【０３４６】

上皮型ナトリウムチャネル遮断剤は、固定された医薬組成物内でＣＦモジュレーター活性物質と混合してもよいし、または他の薬剤物質とは別々に、事前に、同時にもしくは後で投与してもよい。

【０３４７】

したがって、本発明は、さらなる態様として、ＥＮａＣ阻害剤およびＡ、Ｂ、またはＣ欄の少なくとも１つから選択されるＣＦモジュレーターのモジュレーターの組合せを、必要に応じて、浸透圧薬剤（高張生理食塩水、デキストラン、マンニトール、キシリトール）＋ＣＦＴＲ機能変性剤と共に含み、これらは、野生型および変異体（矯正因子＋増強剤）の両タイプであり、例えば、ＷＯ２００７／０２１９８２、ＷＯ２００６／０９９２５６、ＷＯ２００６／１２７５８８、ＷＯ２００４／０８０９７２、ＷＯ２００５／０２６１３７、ＷＯ２００５／０３５５１４、ＷＯ２００５／０７５４３５、ＷＯ２００４／１１１０１４、ＷＯ２００６／１０１７４０、ＷＯ２００４／１１０３５２、ＷＯ２００５／１２０４９７およびＵＳ２００５／０１７６７６１において記載されている、抗炎症性、気管支拡張性、抗ヒスタミン性、鎮咳性、抗生物質またはＤＮａｓｅの薬剤物質であり、前記上皮型ナトリウムチャネル遮断剤および前記薬剤物質は、同一または異なる医薬組成物中にある。

【０３４８】

適切な抗生物質として、マクロライド系抗生物質、例えば、トブラマイシン（ＴＯＢＩ（商標））が挙げられる。

【０３４９】

適切なＤＮａｓｅ薬剤物質として、Ｄｏｒｎａｓｅ α（Ｐｕｌｍｏｚｙｍｅ（商標））、ＤＮＡを選択的に分割する、高度に精製された組換え型ヒトデオキシリボヌクレアーゼＩ（ｒｈＤＮａｓｅ）溶液などが挙げられる。Ｄｏｒｎａｓｅ αは、嚢胞性線維症を治療するために使用される。

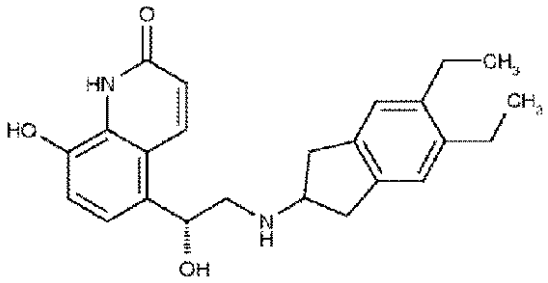
【０３５０】
ＥＮａＣ阻害剤とＡ、Ｂ、またはＣ欄の少なくとも１つから選択されるＣＦモジュレーターのモジュレーターの他の有用な組合せとして、抗炎症剤との組合せが挙げられ、これら抗炎症剤は、例えばケモカイン受容体、例えば、ＣＣＲ－１、ＣＣＲ－２、ＣＣＲ－３、ＣＣＲ－４、ＣＣＲ－５、ＣＣＲ－６、ＣＣＲ－７、ＣＣＲ－８、ＣＣＲ－９およびＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ＣＸＣＲ３、ＣＸＣＲ４、ＣＸＣＲ５のアンタゴニスト、特にＣＣＲ－５アンタゴニスト、例えばＳｃｈｅｒｉｎｇ－Ｐｌｏｕｇｈアンタゴニスト、ＳＣ－３５１１２５、ＳＣＨ－５５７００およびＳＣＨ－Ｄ；Ｔａｋｅｄａアンタゴニスト、例えばＮ－［［４－［［［６，７－ジヒドロ－２－（４－メチル－フェニル）－５Ｈ－ベンゾ－シクロヘプタン－８－イル］カルボニル］アミノ］フェニル］－メチル］テトラヒドロ－Ｎ、Ｎ－ジメチル－２Ｈ－ピラン－４－アミニウム（amin-ium）クロリド（ＴＡＫ－７７０）；ならびにＵＳＰ６，１６６，０３７（特に請求項１８および１９）、ＷＯ００／６６５５８（特に請求項８）、ＷＯ００／６６５５９（特に請求項９）、ＷＯ０４／０１８４２５およびＷＯ０４／０２６８７３に記載のＣＣＲ－５アンタゴニストなどである。

【０３５１】
適切な抗炎症剤として、ステロイド、特に、グルココルチコステロイド、例えばブデソニド、ベクロメタゾン（beclamethasone）ジプロピオネート、プロピオン酸フルチカゾン、シクレソニドまたはフランカルボン酸モメタゾン、またはＷＯ０２／８８１６７、ＷＯ０２／１２２６６、ＷＯ０２／１００８７９、ＷＯ０２／００６７９（特に実施例３、１１、１４、１７、１９、２６、３４、３７、３９、５１、６０、６７、７２、７３、９０、９９および１０１のもの）、ＷＯ０３／３５６６８、ＷＯ０３／４８１８１、ＷＯ０３／６２２５９、ＷＯ０３／６４４４５、ＷＯ０３／７２５９２、ＷＯ０４／３９８２７およびＷＯ０４／６６９２０に記載のステロイド；非ステロイド性グルココルチコイド受容体アゴニスト、例えばＤＥ１０２６１８７４、ＷＯ００／００５３１、ＷＯ０２／１０１４３、ＷＯ０３／８２２８０、ＷＯ０３／８２７８７、ＷＯ０３／８６２９４、ＷＯ０３／１０４１９５、ＷＯ０３／１０１９３２、ＷＯ０４／０５２２９、ＷＯ０４／１８４２９、ＷＯ０４／１９９３５およびＷＯ０４／２６２４８に記載のものなど；ＬＴＤ４アンタゴニスト、例えばモンテルカストならびにザフィルルカストなど；ＰＤＥ４阻害剤、例えばシロミラスト（Ａｒｉｆｌｏ（登録商標）ＧｌａｘｏＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ）、ロフルミラスト（Ｂｙｋ　Ｇｕｌｄｅｎ）、Ｖ－１１２９４Ａ（Ｎａｐｐ）、ＢＡＹ１９－８００４（Ｂａｙｅｒ）、ＳＣＨ－３５１５９１（Ｓｃｈｅｒｉｎｇ－Ｐｌｏｕｇｈ）、アロフィリン（Ａｌｍｉｒａｌｌ　Ｐｒｏｄｅｓｆａｒｍａ）、ＰＤ１８９６５９／ＰＤ１６８７８７（Ｐａｒｋｅ－Ｄａｖｉｓ）、ＡＷＤ－１２－２８１（Ａｓｔａ　Ｍｅｄｉｃａ）、ＣＤＣ－８０１（Ｃｅｌｇｅｎｅ）、ＳｅＩＣＩＤ（ＴＭ）ＣＣ－１０００４（Ｃｅｌｇｅｎｅ）、ＶＭ５５４／ＵＭ５６５（Ｖｅｒｎａｌｉｓ）、Ｔ－４４０（Ｔａｎａｂｅ）、ＫＷ－４４９０（Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ　Ｋｏｇｙｏ）など、ならびにＷＯ９２／１９５９４、ＷＯ９３／１９７４９、ＷＯ９３／１９７５０、ＷＯ９３／１９７５１、ＷＯ９８／１８７９６、ＷＯ９９／１６７６６、ＷＯ０１／１３９５３、ＷＯ０３／１０４２０４、ＷＯ０３／１０４２０５、ＷＯ０３／３９５４４、ＷＯ０４／０００８１４、ＷＯ０４／０００８３９、ＷＯ０４／００５２５８、ＷＯ０４／０１８４５０、ＷＯ０４／０１８４５１、ＷＯ０４／０１８４５７、ＷＯ０４／０１８４６５、ＷＯ０４／０１８４３１、ＷＯ０４／０１８４４９、ＷＯ０４／０１８４５０、ＷＯ０４／０１８４５１、ＷＯ０４／０１８４５７、ＷＯ０４／０１８４６５、ＷＯ０４／０１９９４４、ＷＯ０４／０１９９４５、ＷＯ０４／０４５６０７およびＷＯ０４／０３７８０５に開示されたもの；アデノシンＡ２Ｂ受容体アンタゴニスト、例えばＷＯ０２／４２２９８に記載のものなど；およびβ－２アドレナリン受容体アゴニスト、例えばアルブテロール（サルブタモール）、メタプロテレノール、テルブタリン、サルメテロールフェノテロール、プロカテロール、特に、ホルモテロール、カルモテロールおよび薬学的に許容されるその塩、ならびに文書が本明細書に参照により組み込まれているＷＯ００７５１１４の式（ＩＶ）の

化合物（遊離形態または塩形態または溶媒和物形態）であり、好ましくはその実施例の化合物、特にインダカテロールに対応する式：

【０３５２】

【化１１３】



の化合物および薬学的に許容されるその塩、ならびにＷＯ０４／１６６０１の式（ＩＶ）の化合物（遊離形態または塩形態または溶媒和物形態）、さらにＥＰ１４４０９６６、ＪＰ０５０２５０４５、ＷＯ９３／１８００７、ＷＯ９９／６４０３５、ＵＳＰ２００２／００５５６５１、ＷＯ０１／４２１９３、ＷＯ０１／８３４６２、ＷＯ０２／６６４２２、ＷＯ０２／７０４９０、ＷＯ０２／７６９３３、ＷＯ０３／２－［４３９、ＷＯ０３／４２１６０、ＷＯ０３／４２１６４、ＷＯ０３／７２５３９、ＷＯ０３／９１２０４、ＷＯ０３／９９７６４、ＷＯ０４／１６５７８、ＷＯ０４／２２５４７、ＷＯ０４／３２９２１、ＷＯ０４／３３４１２、ＷＯ０４／３７７６８、ＷＯ０４／３７７７３、ＷＯ０４／３７８０７、ＷＯ０４／３９７６２、ＷＯ０４／３９７６６、ＷＯ０４／４５６１８、ＷＯ０４／４６０８３、ＷＯ０４／８０９６４、ＷＯ０４／１０８７６５およびＷＯ０４／１０８６７６の化合物などが挙げられる。

【０３５３】

適切な気管支拡張剤として、抗コリン性または抗ムスカリン性薬、特に、臭化イプラトロピウム、臭化オキシトロピウム、チオトロピウム塩およびＣＨＦ４２２６（Ｃｈｉｅｓｉ）、ならびにグリコピロレート、さらにＥＰ４２４０２１、ＵＳＰ３，７１４，３５７、ＵＳＰ５，１７１，７４４、ＷＯ０１／０４１１８、ＷＯ０２／００６５２、ＷＯ０２／５１８４１、ＷＯ０２／５３５６４、ＷＯ０３／００８４０、ＷＯ０３／３３４９５、ＷＯ０３／５３９６６、ＷＯ０３／８７０９４、ＷＯ０４／０１８４２２ならびにＷＯ０４／０５２８５に記載のものなども挙げられる。

【０３５４】

適切なデュアルの抗炎症剤および気管支拡張剤として、デュアルβ－２アドレナリン受容体アゴニスト／ムスカリンアンタゴニスト、例えばＵＳＰ２００４／０１６７１６７、ＷＯ０４／７４２４６およびＷＯ０４／７４８１２に開示されたものなどが挙げられる。

【０３５５】

適切な抗ヒスタミン薬剤物質として、セチリジン塩酸塩、アセトアミノフェン、クレマスチンフマル酸、プロメタジン、ロラタジン（loratidine）、デスロラチジン、ジフェンヒドラミンおよびフェキソフェナジン塩酸塩、アクチバスチン、アステミゾール、アゼラスチン、エバスチン、エピナスチン、ミゾラスチンおよびテフェナジン、ならびにＪＰ２００４１０７２９９、ＷＯ０３／０９９８０７およびＷＯ０４／０２６８４１に開示されたものなどが挙げられる。

【０３５６】

前の記述により、本発明はまた、さらなる態様として、上皮型ナトリウムチャネルの遮断に反応する状態、例えば、上皮膜全域での液量の調節に関連する疾患、特に閉塞性気道疾患の治療のための方法であって、式（ＩＶ）の化合物を、遊離形態または薬学的に許容される塩の形態で、それを必要とする被験体、特にヒト被験体に投与するステップを含む方法を提供する。

【０３５７】

別の態様では本発明は、上皮型ナトリウムチャネルの遮断に反応する状態、特に閉塞性

気道疾患、例えば、嚢胞性線維症およびＣＯＰＤの治療のための薬剤の製造において使用するための式（ＩＶ）の化合物を、遊離形態または薬学的に許容される塩の形態で提供する。

【０３５８】

本発明の薬剤は、任意の適切なルートで、例えば経口的に、例えば錠剤またはカプセル剤の形態で；非経口的に、例えば静脈内に；吸入により、例えば閉塞性気道疾患の治療において；鼻腔内に、例えばアレルギー性鼻炎の治療において；皮膚に局所的に；または直腸から投与することができる。さらなる態様において、本発明はまた、式（ＩＶ）の化合物を、遊離形態または薬学的に許容される塩の形態で、必要に応じて薬学的に許容される賦形剤または担体と一緒に含む医薬組成物を提供する。この組成物は、共同治療薬、例えば本明細書中で先に記載した、抗炎症剤、気管支拡張剤、抗ヒスタミン剤または鎮咳薬などを含有することができる。このような組成物は、従来の賦形剤または添加剤および製剤学分野で公知の技法を用いて調製することができる。よって経口剤形として、錠剤およびカプセル剤を挙げることができる。局所的投与のための製剤は、クリーム剤、軟膏剤、ゲル剤または経皮デリバリーシステム、例えば、パッチなどの形態を取ることができる。吸入用組成物として、エアゾール剤または他の噴霧可能な製剤または乾燥粉末製剤が挙げられる。

【０３５９】

組成物がエアゾール製剤を含む場合、これは、例えば、ヒドロ－フルオロ－アルカン（ＨＦＡ）噴霧剤、例えばＨＦＡ１３４ａまたはＨＦＡ２２７またはこれらの混合物を含有することが好ましく、当技術分野で公知の１つまたは複数の共溶媒、例えばエタノール（２０重量％まで）、および／または１種または複数の界面活性剤、例えばオレイン酸またはトリオレイン酸ソルビタン、および／または１種または複数の増量剤、例えばラクトースなどを含有してもよい。組成物が乾燥粉末製剤を含む場合、例えば、直径１０ミクロンまでの粒子を有する式（ＩＶ）の化合物を、必要に応じて、所望の粒度分布を有する賦形剤または担体（例えばラクトースなど）、および水分による製品の性能劣化を防ぐのに役立つ化合物（例えばステアリン酸マグネシウムなど）と一緒に含有するのが好ましい。組成物が噴霧製剤を含む場合には、例えば水を含有するビヒクル、共溶媒（例えばエタノールまたはプロピレングリコールなど）および安定剤（これは界面活性剤であってよい）中に溶解または懸濁させた式（ＩＶ）の化合物を含有するのが好ましい。

【０３６０】

本発明のさらなる態様として、
例えば、エアゾール剤または他の噴霧可能な組成物または吸入可能な微粒子、例えば、微粉化された形態の吸入可能な形態の式（ＩＶ）の化合物、
吸入可能な形態の式（ＩＶ）の化合物を含む吸入可能な薬剤、
吸入装置と一緒に、吸入可能な形態の式（ＩＶ）の化合物を含む薬学的製品、
吸入可能な形態の式ＩＶの化合物を含有する吸入装置
が挙げられる。

【０３６１】

本発明を実施する際に利用される式（ＩＶ）の化合物の投与量は、例えば治療する特定の状態、所望の作用および投与モードなどに応じて当然変わることになる。一般的に、経口投与に適した一日量は、０．０５～１００ｍｇ程度であるのに対して、吸入による投与に適した一日量は、０．００５～１０ｍｇ程度である。

【０３６２】

薬学的使用およびアッセイ

本明細書中これより以下において、代わりに「本発明の薬剤」と呼ぶ式（ＩＶ）の化合物およびこれらの薬学的に許容される塩は、医薬品として有用である。特に、この化合物は、優れたＥＮａＣ遮断活性を有し、以下のアッセイにおいて試験することができる。

【０３６３】

細胞培養

空気－液体の界面条件下でヒト気管支の上皮細胞（ＨＢＥＣ）（Ｃａｍｂｒｅｘ）を培養することによって、よく分化された粘膜繊毛発現型を得た。

【０３６４】

Grayおよび同僚の研究者（Grayら、１９９６年）により記載された方法を修正した方法を用いて、ＨＢＥＣを培養した。細胞は、プラスチックＴ－１６２フラスコ内に播種し、ウシの下垂体のエキス（５２［μｇ／ｍＬ）、ヒドロコルチゾン（０．５［μｇ／ｍＬ）、ヒト組換え型上皮成長因子（０．５ｎｇ／ｍＬ）、エピネフリン（０．５［μｇ／ｍＬ）、トランスフェリン（１０μｇ／ｍＬ）、インスリン（５μｇ／ｍＬ）、レチノイン酸（０．１μｇ／ｍＬ）、トリヨードチロニン（６．５μｇ／ｍＬ）、ゲンタマイシン（５０μｇ／ｍＬ）およびアムホテリシンＢ（５０ｎｇ／ｍＬ）を補充した、気管支上皮細胞増殖培地（ＢＥＧＭ；Ｃａｍｂｒｅｘ）内で培養した。培地を４８時間ごとに取り換え、細胞が９０％コンフルエントになるまでこれを続けた。次いで細胞を継代させ、トリヨードチロニンおよび最終濃縮５０ｎＭのレチノイン酸（全トランス型レチノイン酸）を除いては、上記と同じ補充物を有するＢＥＧＭ中の５０％ＤＭＥＭを含有する分化培地内のポリカーボネートＳｎａｐｗｅｌｌインサート（Ｃｏｓｔａｒ）上に播種した（８．２５×10^5細胞／インサート）。培養の最初の７日間、細胞は、水に浸したまま維持し、その後残りの培養期間、細胞を頂端（ａｐｉｃａｌ）空気界面に曝露した。この時点で、残りの培養期間の間、培地を２％ｖ／ｖのＵｌｔｒｏｓｅｒ　Ｇを含有するＤＭＥＭ：Ｆ１２培地に変更した。Ｕｓｓｉｎｇチャンバー内での使用の３フィード前に、アムホテリシンＢをすべての培地から取り出した。頂端空気界面の確立後７～２１日の間に細胞を使用した。培養のすべての段階で、細胞は、エアインキュベーター内の５％CO_2中、３７℃で維持した。

短絡回路電流（ＩＳＣ）測定

ＳｎａｐｗｅｌｌインサートをＶｅｒｔｉｃａｌ　Ｄｉｆｆｕｓｉｏｎチャンバー（Ｃｏｓｔａｒ）に組み込み、１２０のＮａＣｌ、２５の$NaHCO_3$、３．３のKH_2PO_4、０．８のK_2HPO_4、１．２の$CaCl_2$、１．２の$MgCl_2$、および１０のグルコース（単位ｍＭ）を含有し、持続的に脱気し、３７℃で維持したＲｉｎｇｅｒ溶液（O_2中５％CO_2；ｐＨ７．４）中に浸漬させた。溶液オスモル濃度は、使用したすべての生理食塩水について、２８０～３００ｍＯｓｍｏｌ／ｋｇ　H_2Oの間であった。細胞を、０ｍＶ（モデルＥＶＣ４０００；ＷＰＩ）に電圧固定した。３０秒間隔で１ｍＶパルスまたは２ｍＶパルスを加え、オームの法則によりＲＴを計算することによってＲＴを測定した。データは、ＰｏｗｅｒＬａｂワークステーション（ＡＤ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）を使用して記録した。

【０３６５】

試験化合物をＤＭＳＯ（９５％）中の１０ｍＭストック溶液として調製した。連続３倍希釈物を適切なビヒクル（蒸留H_2OまたはＲｉｎｇｅｒ溶液）中に新たに調製した。最初の濃縮物をアピカルチャンバーに１０００×濃縮物として５μＬで添加し、Ｕｓｓｉｎｇチャンバーの５ｍＬ容量の最終の１×濃縮物を生成した。これに続く追加の化合物を、３．３μＬ容量の１０００×連続希釈ストック溶液中に添加した。濃縮反応実験が完了した時点で、アミロリド（１０μＭ）をアピカルチャンバーに添加することで、総アミロリド受容性電流の測定を可能にした。アミロリド制御IC_{50}を各実験の開始時に確立した。

【０３６６】

結果を、アミロリド受容性ＩＳＣの平均％阻害として表現した。濃度反応曲線をプロットし、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　３．０２を使用してIC_{50}値を算出した。細胞インサートは通常二重に実行し、平均％阻害データについてIC_{50}を計算した。

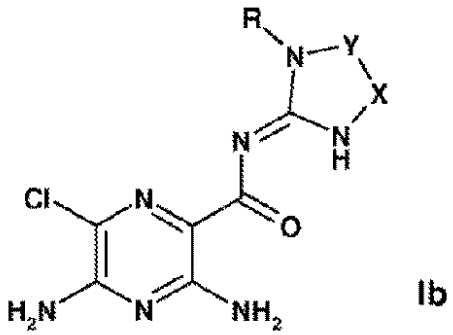
【０３６７】

本明細書中の以下の実施例の化合物は一般的に、上述したデータ測定において１０μＭ未満のIC_{50}値を有する。例えば、以下に示す実施例の化合物は、表示されているIC_{50}値を有する。

【０３６８】
【表２－２】

実施例	IC_{50} (μM)	実施例	IC_{50} (μM)
5	0.065	70	0.074
11	1.686	71	0.042
19	0.018	76	0.012
23	0.0335	86	0.008
25	0.270	91	0.0885
26	0.011	94	0.009
29	0.005	96	0.037
32	0.018	99	0.019
34	0.095	118	0.175
35	0.031	126	0.025
39	0.0055	128	0.0115
40	0.0055	141	0.002
41	0.0095	146	0.006
42	0.011	147	0.016
43	0.013	185	0.062
44	0.0295	215	0.036
45	0.0426	220	0.0085
48	0.0165	228	0.0935
58	0.143	232	0.054
61	0.3465	235	0.364
62	0.013	238	0.0119
64	0.0255	246	0.025
65	0.0395	252	0.028

本発明は、以下の実施例により例示される。
【実施例】
【０３６９】
式ＩＶ（ｂ）の化合物
【０３７０】
【化１１４】



Ib

式 IV(b)

が表ＩＩ．Ｄ－２において示されている。このような化合物を調製するための方法は本明細書のこれより以下に記載されている。表はまた質量分析法の［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$データも示している。
表ＩＩ．Ｄ－２．
【０３７１】

【表２－３】

実施例	M/s $[M+H]^+$
1	284
2	270
3	270
4	408
5	461
6	418
7	404
8	376/378
9	400
10	328
11	310
12	415
13	404
14	270
15	296
16	310
17	390
18	390
19	464
20	464
21	464
22	464
23	517
24	418.2
25	418.2
26	446
27	356
28	506

実施例	M/s $[M+H]^+$
29	506.37
30	447.1
31	313.1
32	446.1
33	467.0
34	430.98
35	481.0
36	445.1
37	425
38	325
39	626.4
40	607.42
41	607.98
42	510.4
43	529.05
44	499.0
45	542.91
46	552.1
47	469.17
48	510.23
49	510.1
50	483.1
51	535.1
52	499.1
53	469.14
54	487.0
55	472.98
56	468.1

【０３７２】

【表２－４】

実施例	M/s $[M+H]^+$
57	480.1
58	521.1
59	528.2
60	469.08
61	597.07
62	530.21
63	553.54
64	529.54
65	530.46
66	513.40
67	547.42
68	561.04
69	601.10
70	564.10
71	587.50
72	530.10
73	599.10
74	615.20
75	545.10
76	529.41
77	524
78	571
79	557
80	543
81	529
82	588
83	586/588
84	597
85	618
86	644/646
87	582/584
88	540

実施例	M/s $[M+H]^+$
89	568/570
90	600/602
91	581/583
92	512/514
93	785
94	$[M+2H]^{2+}$=393
95	787
96	779
97	549
98	563
99	468
100	468
101	443
102	675
103	463
104	653
105	455
106	429
107	469
108	423
109	453
110	419
111	395
112	454
113	430
114	487
115	431
116	445
117	435
118	420
119	430

【０３７３】

【表２－５】

実施例	M/s $[M+H]^+$
120	430
121	436
122	419
123	437
124	431
125	420
126	648.4
127	651.3
128	648.3
129	576.3
130	633.3
131	592.3
132	599.3
133	610.3
134	634.3
135	613.3
136	654.3
137	664.3
138	645.4
139	614.3
140	593.4
141	702.3
142	594.3
143	643.3
144	736.4
145	626.3
146	559.3
147	572.08
148	572.0
149	538.4
150	544.4
151	569.4

実施例	M/s $[M+H]^+$
152	511.4
153	604.3
154	528.3
155	633.4
156	526.3
157	556.4
158	604.4
159	617.4
160	594.4
161	528.4
162	478.3
163	462.3
164	691.04
165	573.05
166	648.06
167	545.3
168	517.07
169	484.04
170	511.04
171	530.08
172	603.99
173	530.19
174	527.99
175	555.07
176	608.05
177	527.07
178	524.1
179	520.99
180	545.95
181	514.98
182	512.01
183	478.01

【０３７４】

【表２－６】

実施例	M/s $[M+H]^+$
184	475.08
185	572.09
186	634.09
187	619.12
188	496.02
189	685.08
190	599.2
191	542.01
192	579.03
193	526.05
194	553.09
195	614.3
196	516.06
197	496.01
198	528.04
199	560.14
200	490.05
201	528.06
202	527.02
203	458.1
204	540.02
205	539.11
206	433.05
207	635.19
208	447.09
209	509.09
210	542.00
211	564.06
212	539.11
213	445.96
214	620.1
215	458.1

実施例	M/s $[M+H]^+$
216	
217	637.1
218	598.05
219	554.0
220	578.2
221	539.2
222	557.2
223	564.1
224	610.2
225	532.1
226	566.1
227	539.2
228	487.1
229	620.2
230	564.2
231	578.2
232	478.98
233	
234	517.9
235	518.1
236	540.9
237	493.1
238	652.2
239	615.1
240	520.1
241	527.0
242	581.1
243	527.1
244	616.1
245	527.0
246	429
247	445

【０３７５】

【表２－７】

実施例	M/s $[M+H]^+$
248	416
249	443
250	421

実施例	M/s $[M+H]^+$
251	451
252	494.15
253	589.20

一般的な合成条件

Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｇｅｍｉｎｉ　５０ｍｍ×３．０ｍｍ、３μｍカラムを使用してＬＣＭＳを記録した。低ｐＨ法は、水－０．１％ＴＦＡ中の５～９５％アセトニトリルの勾配を使用し、高ｐＨ法は、水－０．１％NH_3中の５～９５％アセトニトリルを使用する。［Ｍ＋Ｈ］$^+$は、モノアイソトピック（ｍｏｎｏｉｓｏｔｏｐｉｃ）分子量を指す。

９－ＢＢＮ　９－ボラビシクロ［３．３．１］ノナン
ＤＢＵ　ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン
ＤＭＦ　ジメチルホルムアミド
ＤＭＳＯ　ジメチルスルホキシド
ＤＣＭ　ジクロロメタン
ＤＥＡＤ　アゾジカルボン酸ジエチル
ＤＩＡＤ　アゾジカルボン酸ジイソプロピル
ＤＩＰＥＡ　ジイソプロピルエチルアミン
ＥＤＣＩ　１－エチル－３－（３’－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド
ＥｒＯＡｃ　酢酸エチル
ＨＡＴＵ　２－（７－アザ－１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート
ＨＰＬＣ　高速液体クロマトグラフィー
ＩＰＡ　イソプロピルアルコール（イソ－プロパノール）
ＭｅＯＨ　メタノール
ＭＥＭＣｌ　２－メトキシエトキシメチルクロリド
ＮＭＲ　核磁気共鳴
ＰＳ　ポリマーにより担持される
ＰＰＴＳ　ピリジニウムパラ－トルエンスルホネート
ＰＥＡＸ　ＰＥ－陰イオン交換（例えば、Ｉｓｏｌｕｔｅ（登録商標）Ｂｉｏｔａｇｅ製ＰＥ－ＡＸカラム）
ＳＣＸ－２　強力な陽イオン交換（例えばＩｓｏｌｕｔｅ（登録商標）Ｂｉｏｔａｇｅ製ＳＣＸ－２カラム）
ＴＥＡ　トリエチルアミン
ＴＨＦ　テトラヒドロフラン
ＴＦＡ　トリフルオロ酢酸

実施例の調製

明確にするために述べておくと、以下に記載されている実施例の記載において、実施例２、９、および１０はラセミ混合物である。実施例４、１３および２９はジアステレオマー混合物である。実施例２４および２５は、割り当てられていない立体中心の立体配置が不確定である単一のエナンチオマーである。他のすべての実施例は、定義された立体配置を有する単一のエナンチオマーである。

【０３７６】

述べられていていない場合、化合物は反応混合物から回収され、従来の技法、例えばフラッシュクロマトグラフィー、濾過、再結晶化および摩砕などを使用して精製される。

【０３７７】

（実施例１）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［４，４－ジメチル－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
ＥｔＯＨ（２ｍｌ）中の１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（０．２ｇ、０．５１７ｍｍｏｌ）の懸濁液をトリエチルアミン（０．０２９ｍｌ、０．２５８ｍｍｏｌ）で処理し、続いて１，２－ジアミノ－２－メチルプロパン（０．０７ｍｌ、０．６７２ｍｍｏｌ）で処理し、還流で一晩撹拌する。生成した懸濁液を減圧下で濾過することによって、淡黄色の固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 284
（実施例２）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［４－メチル－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに１，２－ジアミノプロパンを使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 270.
（実施例３）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１－メチル－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりにＮ－メチレンジアミンを使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 270.
（実施例４）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸（４，５－ジフェニル－イミダゾリジン－２－イリデン）－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに１，２－ジフェニルエチレンジアミンを使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 408.
（実施例５）
（４－｛２－［（Ｚ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－イミダゾリジン－４－イル｝－ブチル）－カルバミン酸ベンジルエステル
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに（（Ｓ）－５，６－ジアミノ－ヘキシル）－カルバミン酸ベンジルエステル（中間体Ｂ）を使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 461.
（実施例６）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチル］－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりにＮ＊１＊－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチル］－エタン－１，２－ジアミン（中間体Ｃ）を使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 418.
（実施例７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１－［４－（４－ヒドロキシ－フェニル）－ブチル］－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに４－［４－（２－アミノ－エチルアミノ）－ブチル］－フェノール（中間体Ｃ）を使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 404.
（実施例８）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－メトキシ－ベンジル）－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに（Ｓ）－３－（４－メトキシ－フェニル）－プロパン－１，２－ジアミン（中間体Ｄ）を使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 376.
（実施例９）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［４－（３，４－ジクロロ－

フェニル）－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに１－（３，４－ジクロロ－フェニル）－エタン－１，２－ジアミン（中間体Ｅ）を使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 400.
（実施例１０）
３－｛２－［（Ｚ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－イミダゾリジン－４－イル｝－プロピオン酸
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりに４，５－ジアミノペンタン酸ジヒドロクロリド（中間体Ｆ）を使用して、実施例１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 328.
（実施例２～１０）
これらの化合物を反応混合物から回収し、従来の技法、例えばフラッシュクロマトグラフィー、濾過、捕捉放出樹脂または分取ＨＰＬＣなどを使用して精製する。
【０３７８】
（実施例１１）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸（オクタヒドロ－ベンゾイミダゾール－２－イリデン）－アミド
この化合物は、１，２－ジアミノ－２－メチルプロパンの代わりにシクロヘキサン－１，２－ジアミンを使用して、実施例１と同じように調製する。反応は、プロパン－２－オール中で行う；$[M+H]^+$ 310.
（実施例１２）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－ベンジル－１，３，８－トリアザスピロ［４．５］デカ－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
乾燥プロパン－２－オール（１０ｍｌ）中の４－アミノ－１－ベンジル－ピペリジン－４－カルボニトリル（中間体Ｇ）（２００ｍｇ、０．９１ｍｍｏｌ）を、トリエチルアミン（０．２５ｍｌ）で処理し、続いて１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（３５５ｍｇ、０．９１ｍｍｏｌ）で処理する。この混合物を７０℃で５時間加熱し、次いで室温まで冷却させておく。沈殿物を収集し、メタノールで洗浄することによって、淡黄色固体、１９０ｍｇとして表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 415.
（実施例１３）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［４－［３－（４－メトキシ－フェニル）－プロピル］－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－アミノ－１－ベンジル－ピペリジン－４－カルボニトリル（中間体Ｇ）の代わりに５－（４－メトキシ－フェニル）－ペンタン－１，２－ジアミン（中間体Ｉ）を使用して、実施例１２と同じように調製する；$[M+H]^+$ 404.
（実施例１４）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸（テトラヒドロ－ピリミジン－２－イリデン）－アミド
１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（１．０ｇ、２．５８ｍｍｏｌ）を、プロパン－２－オール（１０ｍｌ）中に懸濁させ、１，３－ジアミノプロパン（０．３２ｍｌ、３．９ｍｍｏｌ）を添加する。この混合物を６０℃で１８時間加熱し、次いで室温まで冷却させておき、存在する固体を濾過で収集する。固体をＴＨＦおよびＭｅＯＨで洗浄することによって、黄色の固体として表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 270.
（実施例１５）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－Ｎ－（１Ｈ－ピロロ［１，２－ｃ］イミダゾール－３（２Ｈ，５Ｈ，６Ｈ，７Ｈ，７ａＨ）－イリデン）ピラジン－２－カルボキサミド
１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（１９５ｍｇ、０．５ｍｍｏｌ）をプロパン－２－オール（１

０ｍｌ）中に懸濁させ、（Ｓ）－２－（アミノメチル）ピロリジン（１００ｍｇ、１ｍｍｏｌ）を添加する。この混合物を６０℃で１８時間加熱し、室温まで冷却させておき、沈殿物を濾過で取り除く。濾液を減圧下で濃縮し、残渣をクロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ）で精製することによって、淡黄色のゴムとして、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 296.

（実施例１６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３－ジアザ－スピロ［４．４］ノン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

粗製の１－アミノメチル－シクロペンチルアミン（中間体Ｊ）（８０ｍｇ、０．７０ｍｍｏｌ）のプロパン－２－オール（１．０ｍｌ）溶液を、プロパン－２－オール（１．０８ｍｌ）中の１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（２０８ｍｇ、０．５４ｍｍｏｌ）の懸濁液に添加し、７０℃で２日間加熱する。室温まで冷却後、この反応混合物を減圧下で濾過し、固体をＭｅＯＨですすぐ。濾液を減圧下で濃縮することによって、明黄色の残渣を生成し、これをＳＣＸ－２カートリッジに充填し、３３％のNH_3（４滴）のＭｅＯＨ（５ｍｌ×２）溶液で溶出する。メタノールアンモニア留分を合わせ、減圧下で濃縮する。９５％水＋０．１％NH_3：５％アセトニトリルで溶出する質量分析分取ＬＣＭＳを使用した精製により、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 310.

（実施例１７）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｒ）－４－［３－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピル］－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

プロパン－２－オール（１００ｍｌ）中の（４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノール（中間体Ｋ）（１．５ｇ、７．７２ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、３０℃で、１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）を一度に添加し、この反応物を、３０℃で１８時間加熱し、続いて５０℃でさらに１８時間加熱する。この反応混合物を熱濾過し、濾液の溶媒を減圧下で除去することによって、黄色の泡状物を生成する。泡をクロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ／５％NH_3）で精製することによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 390.

（実施例１８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－［３－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピル］－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、（４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノール（中間体Ｋ）の代わりに４－（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノール（中間体Ｌ）を使用することによって、実施例１７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 390.

（実施例１９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｒ）－４－｛３－［４－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］－プロピル｝イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

１，４－ジオキサン（３８ｍｌ）中の３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｒ）－４－［３－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピル］－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７）（１．０ｇ、２．５７ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、５０℃で、０．５Ｍ　ＫＯＨ（５．３ｍｌ、２．７ｍｍｏｌ）を一度に添加し、続いて（Ｓ）－（－）－グリシジオール（０．１７０ｍｌ、２．５７ｍｍｏｌ）を添加する。生成した混合物を５０℃で１８時間加熱し、次いでさらに（Ｓ）－（－）－グリシジオール（０．０７ｍｌ、１．０５ｍｍｏｌ）を一度に添加する。生成した混合物を５０℃で６０時間加熱し、次いで室温まで冷却させておく。溶媒を減圧下で除去することによって、オレンジ色の油を生成する。これをＥｔＯＡｃ／ＭｅＯＨ９：１（１００ｍｌ）中に溶解させ、１Ｍ　ＮａＯＨ（５０ｍｌ）で洗浄する。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去することによって、褐色／オレンジ色の泡状物を生成する。ク

ロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ／NH_3）で精製することによって、黄色の泡状物として表題化合物を生成する；[M+H]$^+$ 464; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6): 1.65-1.40 (m, 4H), 2.52 (m, 2H), 3.13 (dd, J=9.6, 7.1Hz, 1H), 3.42 (br d, J=4.7Hz, 2H), 3.62 (dd, J=9.6, 9.6Hz, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 3.94 (dd, J= 9.5, 4.0Hz, 1H), 4.62 (br s, 1H), 4.89 (br s, 1H), 6.68 (br s, 2H), 6.82 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.09 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.2-6.0 (br s, 1H), 8.18 (br s, 1H), 9.3-7.5 (br s, 1H).

（実施例２０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－｛３－［４－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］－プロピル｝－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－［３－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピル］－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８）（３７．５ｍｇ、０．０９ｍｍｏｌ）のエタノール（２ｍｌ）溶液に、トリエチルアミン（６３μｌ、０．４５ｍｍｏｌ）および（Ｓ）－グリシドール（６．０７μｌ、０．０９ｍｍｏｌ）を添加する。生成した混合物を１８時間加熱還流し、次いで室温まで冷却させておく。この反応混合物をＭｅＯＨ（１ｍｌ）で希釈し、Ｗａｔｅｒｓ３０００分取ＨＰＬＣ系（Ｍｉｃｒｏｓｏｒｂ　Ｃ１８、水（０．１％ＴＦＡ）：ＭｅＣＮ）で精製することによって、表題化合物を生成する；[M+H]$^+$ 464.

（実施例２１）

（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｒ）－４－｛３－［４－（（Ｒ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］プロピル｝－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

プロパン－２－オール（３ｍｌ）中の（Ｒ）－３－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（中間体Ｏ）（３２．８ｍｇ、０．１２２ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（４５．８ｍｇ、０．１２２ｍｍｏｌ）を添加し、生成した反応混合物を９０℃で１８時間加熱する。この反応物を室温まで冷却させておき、ＤＭＳＯ（１．５ｍｌ）で希釈し、Ｗａｔｅｒｓ３０００分取ＨＰＬＣ系（Ｍｉｃｒｏｓｏｒｂ（商標）Ｃ１８、水（０．１％ＴＦＡ）：ＭｅＣＮ）で精製する。生成物を含有する留分を、１：１水：ＭｅＣＮ（２０ｍｌ）、ＭｅＣＮ（２０ｍｌ）および７Ｍ　NH_3（ＭｅＯＨ（２０ｍｌ）中）で溶出する１ｇのＳＣＸ－２カートリッジを通過させる。アンモニア溶出物を減圧下で濃縮することによって、表題化合物を生成する；[M+H]$^+$ 464.

（実施例２２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－｛３－［４－（（Ｒ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］プロピル｝－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミドトリフルオロアセテート

この化合物は、（Ｒ）－３－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（中間体Ｏ）の代わりに（Ｒ）－３－［４－（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（中間体Ｐ）を使用して、実施例２１と同じように調製される；[M+H]$^+$ 464.

（実施例２３）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｒ）－４－｛３－［４－（２－モルホリン－４－イル－２－オキソ－エトキシ）－フェニル］－プロピル｝－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

この化合物は、（Ｒ）－３－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（中間体Ｏ）の代わりに２－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－１－モルホリン－４－イル－エタノン（中間

体Ｑ）を使用して、実施例２１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 517.

（実施例２４および２５）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［４－［３－（４－メトキシ－フェニル）－ブチル］－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミドの両エナンチオマー

これら化合物のラセミ体は、４－アミノ－１－ベンジル－ピペリジン－４－カルボニトリル（中間体Ｇ）の代わりに５－（４－メトキシ－フェニル）－ヘキサン－１，２－ジアミン（中間体Ｋ）を使用して、実施例１２と同じように調製する。エナンチオマーをキラルＨＰＬＣにより分離する：

移動相：１００％ＥｔＯＨ（０．２％ＩＰＡｍ）

カラム：Ｃｈｉｒａｐａｋ－ＡＤ　２５ｃｍ×４．６ｍｍ　ｉ．ｄ

流速：１ｍｌ／ｍｉｎ

ＵＶ　２８０ｎＭ

濃度１ｍｇ／ｍＬ

注入体積　１０μＬ

（実施例２６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－ベンジルオキシ－２，２－ジメチル－ブチル－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

ステップ１

ＤＥＡＤ（４．４９ｍｌ、２８ｍｍｏｌ）を、ＴＨＦ（５００ｍｌ）中の（（Ｓ）－５－ベンジルオキシ－１－ヒドロキシメチル－３，－３－ジメチル－ペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（Ruegerら、ＥＰ０７０２００４Ａ２に記載の通りに調製、１０ｇ、０．０２８ｍｍｏｌ）、フタルイミド（４．１９ｇ、０．０２８ｍｍｏｌ）およびＰＳ－トリフェニルホスフィン（２９．８ｇ、５６ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液に添加し、生成した反応物を室温で３日間撹拌する。この反応物を濾過してＰＳ－トリフェニルホスフィン樹脂を取り除き、この樹脂をＥｔＯＡｃ（２ｘ５０ｍｌ）で洗浄する。溶媒を減圧下で除去し、残渣をフラッシュクロマトグラフィーで精製することによって（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）、白色固体として［（Ｓ）－５－ベンジルオキシ－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－３，３－ジメチル－ペンチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 481.

ステップ２

ヒドラジン（ＴＨＦ中１Ｍ溶液６６．６ｍｌ、６６．６ｍｍｏｌ）を、エタノール（１００ｍｌ）中の［（Ｓ）－５－ベンジルオキシ－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－３，３－ジメチル－ペンチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（４ｇ、８．３２ｍｍｏｌ）の懸濁液に添加し、生成した溶液を４０℃で一晩加熱する。綿毛状の白色沈殿物が形成する。この反応物を室温まで冷却させておき、ジエチルエーテル（１００ｍｌ）を添加し、生成した白色懸濁液を０℃で３０分間冷却する。白色沈殿物を濾過で取り除き、溶媒を減圧下で除去する。次いで残渣をジエチルエーテル（１００ｍｌ）で１時間撹拌し、濾過し、溶媒を減圧下で除去することによって、淡黄色の油として、（（Ｓ）－１－アミノメチル－５－ベンジルオキシ－３，３－ジメチル－ペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 351.

ステップ３

ヨードトリメチルシラン（１．６３ｍｌ、１１．９４ｍｍｏｌ）を、（（Ｓ）－１－アミノメチル－５－ベンジルオキシ－３，３－ジメチル－ペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（２．７９ｇ、７．９６ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（３０ｍｌ）溶液に滴下し、生成した黄色の溶液を１時間室温で撹拌する。この反応物を濾過し、濾液をＤＣＭ（５０ｍｌ）で希釈し、２Ｍ　ＮａＯＨ（１００ｍｌ）で洗浄する。水層を一晩放置し、溶液から油として得たあらゆる生成物をＥｔＯＡｃ（１００ｍｌ）中に抽出する。有機層を

合わせ、$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去することによって、淡黄色の油として（Ｓ）－ベンジルオキシ－４，４－ジメチル－ヘキサン－１，２－ジアミンを得る；$[M+H]^+$ 251.

ステップ４

プロパン－２－オール（５０ｍｌ）中の１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（２．５６ｇ、６．８７ｍｍｏｌ）および（Ｓ）－ベンジルオキシ－４，４－ジメチル－ヘキサン－１，２－ジアミン（１．７２ｇ、６．８７ｍｍｏｌ）の懸濁液を９０℃で３時間加熱する。この反応物を室温まで冷却させておき、濾過して、あらゆる不溶物質を取り除き、ろ紙をＭｅＯＨ（５０ｍｌ）で洗浄する。事前にＭｅＯＨで溶出させておいたＳＣＸ－２カートリッジに濾液を充填する。カートリッジをＭｅＯＨで溶出し、次いでＭｅＯＨ中の７Ｍ　NH_3で溶出する。静置させ、ＭｅＯＨ溶液中のNH_3から淡黄色の固体が晶出される。固体を濾過で収集し、ＭｅＯＨ（２０ｍｌ）で洗浄し、減圧下４０℃で乾燥させることによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 446.

（実施例２７）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（ヒドロキシル－２，２－ジメチル－ブチル）－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－ベンジルオキシ－２，２－ジメチル－ブチル－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド（実施例２６）（１００ｍｇ、０．２２ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５ｍｌ）懸濁液に、ヨードトリメチルシラン（０．０６１ｍｌ、０．４４８ｍｍｏｌ）を滴下する。生成した黄色の溶液を２日間加熱還流する。この反応物を室温まで冷却させておき、形成された黄色の固体を濾過で収集し、ＭｅＯＨ（３ｍｌ）中に溶解させ、ＭｅＯＨで事前に溶出させておいた、１０ｇ　ＳＣＸ－２カートリッジに充填する。カートリッジをＭｅＯＨ（３０ｍｌ）およびＭｅＯＨ（３０ｍｌ）中７Ｍ　NH_3で溶出する。ＭｅＯＨ洗浄剤中の淡黄色の７Ｍ　NH_3を減圧下で濃縮することによって、黄色固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 356.

（実施例２８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－｛４－［４－（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロポキシ）－フェニル］－２，２－ジメチル－ブチル｝－イミダゾリジン－（２Ｚ）－イリデン］－アミド

ステップ１

（Ｓ）－グリシドール（０．３６ｍｌ、５．５ｍｍｏｌ）を、４－ヨウ化フェノール（１ｇ、４．５ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（３１ｍｌ、０．２ｍｍｏｌ）のエタノール（５ｍｌ）溶液に添加し、生成した淡褐色の溶液を１５時間加熱還流する。この反応物を室温まで冷却させておき、溶媒を減圧下で除去する。残渣をクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）で精製することによって、無色の油として、（Ｓ）－３－（４－ヨード－フェノキシ）－プロパン－１，２－ジオールを生成する。

【０３７９】

ステップ２

２，２－ジメトキシプロパン（１．９４ｍｌ、１５．８ｍｍｏｌ）およびＰＰＴＳ（０．０７９ｍｇ、０．３２ｍｍｏｌ）を、（Ｓ）－３－（４－ヨード－フェノキシ）－プロパン－１，２－ジオール（０．９３ｇ、３．１６ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２０ｍｌ）溶液に添加し、生成した溶液を室温で一晩撹拌させたままにおく。溶媒を減圧下で除去し、残渣をクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ：イソ－ヘキサン）で精製することによって、無色の油として（Ｒ）－４－（４－ヨード－フェノキシメチル）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソランを生成する。

【０３８０】

ステップ３

ＤＥＡＤ（０．６３ｍｌ、４ｍｍｏｌ）を、（（Ｓ）－１－ヒドロキシメチル－３，３

－ジメチル－ペンター４－エニル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（１ｇ、４ｍｍｏｌ）、フタルイミド（５８８ｍｇ、４ｍｍｏｌ）およびＰＳ－トリフェニルホスフィン（３．７２ｇ、８ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（５０ｍｌ）懸濁液に添加し、生成した溶液を室温で一晩撹拌する。樹脂を濾過で取り除き、濾液を減圧下で濃縮する。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）での精製によって、白色固体として［（Ｓ）－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－３，３－ジメチル－ペンター４－エニル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを得る；$[M+H-BOC]^+$ 273.

ステップ４

９－ＢＢＮ（ＴＨＦ中の０．５Ｍ溶液４．６３ｍｌ、０．２３ｍｍｏｌ）を、［（Ｓ）－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－３，３－ジメチル－ペンター４－エニル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（０．４３ｇ、０．１１６ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１５ｍｌ）溶液に添加し、生成した無色の溶液を室温で一晩撹拌する。無水ＤＭＦ（１５ｍｌ）を溶液に添加し、続いて３ＭのK_3PO_4水溶液（０．７７ｍｌ、２．３ｍｍｏｌ）、（Ｒ）－４－（４－ヨード－フェノキシメチル）－２、２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン（２６７ｍｇ、０．２８ｍｍｏｌ）およびＰｄ（ｄｐｐｆ）$C1_2$．ＤＣＭ（４７ｍｇ、０．０５８ｍｍｏｌ）を添加する。この反応物を室温で３時間撹拌し、５０℃で２時間撹拌し、次いで室温まで冷却させておき、Ｃｅｌｉｔｅのパッド（商標））（フィルター物質）を介して濾過し、Ｃｅｌｉｔｅのパッドを ＥｔＯＡｃ（３×５０ｍｌ）で洗浄する。合わせた濾液を$NaHCO_3$飽和水溶液（３０ｍｌ）で洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、黒い油を生成する。複数クロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）により、クリーム色の固体として、［（Ｓ）－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－３，３－ジメチル－ペンチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを得る；$[M+H-BOC]^+$ 481.

ステップ５

ヒドラジン（ＴＨＦ中１Ｍ溶液２．２ｍｌ、２．２ｍｍｏｌ）を、［（Ｓ）－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－３，３－ジメチル－ペンチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（０．１６ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）のエタノール（５ｍｌ）溶液に添加し、生成した無色の溶液を４５℃で一晩加熱する。この反応物を室温まで冷却させておき、ジエチルエーテル（３０ｍｌ）を添加し、生成した白色懸濁液を０℃で３０分間冷却する。白色固体を濾過で取り除き、溶媒を減圧下で除去することによって、無色の油として｛（Ｓ）－１－アミノメチル－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－３，３－ジメチル－ペンチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを得る；$[M+H]^+$ 451.

ステップ６

｛（Ｓ）－１－アミノメチル－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－３，３－ジメチル－ペンチル｝カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（０．１３ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）およびＴＦＡ（１ｍｌ）のＤＣＭ（５ｍｌ）溶液を室温で１時間撹拌し、次いでＭｅＯＨで事前に溶出させておいたＳＣＸ－２カートリッジに充填した。このカートリッジをＭｅＯＨ（２×５ｍｌ）で溶出し、続いて７ＭのNH_3のＭｅＯＨ溶液で溶出する（２ｘ５ｍｌ）ことによって、無色の油として、（Ｓ）－３－［４－（（Ｓ）－５，６－ジアミノ－３，３－ジメチル－ヘキシル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオールが８０％純度で生じる；$[M+H]^+$ 311.

ステップ７

プロパン－２－オール（３ｍｌ）中の（Ｓ）－３－［４－（（Ｓ）－５，６－ジアミノ

－３，３－ジメチル－ヘキシル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（６０ｍｇ、０．１９ｍｍｏｌ）および１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチルイソチオウレア（中間体Ａ）（７２ｍｇ、０．１９ｍｍｏｌ）の懸濁液を、８０℃で３５分間加熱する。この反応混合物を室温まで冷却させておき、あらゆる固体が溶解するまでＭｅＯＨで希釈する。この溶液は、ＳＣＸ－２カートリッジを通過させ、次いでさらなるＭｅＯＨで溶出する。合わせたメタノール溶出液を減圧下で濃縮する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水／CH_3CN／０．１％ＴＦＡ）により、黄色固体として表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 506.

（実施例２９）

（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－Ｎ－（４－（３－（４－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロポキシ）フェニル）プロピル）－５－プロピルイミダゾリジン－２－イリデン）ピラジン－２－カルボキサミド塩酸塩

ステップ１

４－（４－メトキシフェニル）酪酸（２５ｇ、１２９ｍｍｏｌ）を４８％ＨＢｒ（１２５ｍｌ）およびＡｃＯＨ（１２５ｍｌ）中に溶解する。生成した溶液を１５０℃で一晩加熱する。生成した混合物を減圧下で濃縮し、残渣をＥｔＯＡｃ（５００ｍｌ）中に溶かす。この溶液を水（５００ｍｌ）で洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濃縮することによって、黄褐色固体として、４－（４－ヒドロキシ－フェニル）－酪酸を得る；^1H NMR (d6-DMSO): 1.72 (2H, tt, J =7.4および7.8 Hz), 2.18 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.45 (2H, t, J = 7.8 Hz), 6.66 (2H, dd, J = 1.98および9.3 Hz), 6.96 (2H, dd, J = 2.8および9.3 Hz), 9.12 (1H, s), 12.0 (1H, s).

ステップ２

４－（４－ヒドロキシ－フェニル）－酪酸（２２．１ｇ、１２３ｍｍｏｌ）をＴＨＦ（７５０ｍｌ）中に溶解させ、ジメチルスルフィドボラン（２３．３ｍｌ、２４５ｍｍｏｌ）をゆっくりと添加する。大部分の固体がゆっくりと溶解するまで、形成された黄色の懸濁液を３時間加熱還流する。フラスコを加熱マントルから取り出し、ＭｅＯＨを、バブリングが停止し、残留する固体が溶解されるまでゆっくりと添加する。フラスコを室温に冷却し、水（１Ｌ）を添加する。ＡｃＯＨを用いてｐＨを３に補正し、次いでこの混合物をＥｔＯＡｃ（２×５００ｍｌ）で抽出する。有機物をブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濃縮する。２５％ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン（１Ｌ）中のシリカ（５００ｇ）で粗生成物をスラリー化する。これを濾過し、次いで５０％ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン（２Ｌ）でフラッシュすることによって、生成物を溶出する。有機物を濃縮することによって、褐色の油として４－（４－ヒドロキシ－ブチル）－フェノールを得る。これを静置させて、晶出させる；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.55-1.72 (4H, m), 2.58 (2H, t, J = 7.0Hz), 3.1 (2H, br シグナル), 3.70 (2H, t, J = 6.4Hz), 6.77 (2H, d, J = 8.4Hz), 7.05 (2H, d, J = 8.4Hz).

ステップ３

アセトン（６００ｍｌ）中の４－（４－ヒドロキシ－ブチル）－フェノール（３２．７ｇ、１９７ｍｍｏｌ）に炭酸カリウム（４０．８ｇ、２９５ｍｍｏｌ）を添加し、続いて（Ｓ）－グリシドール（１３．７ｍｌ、２０７ｍｍｏｌ）を添加する。この混合物を一晩加熱還流する。さらに炭酸カリウム（２０ｇ）を添加し、続いて（Ｓ）－グリシドール（５ｇ）を添加し、この混合物を７２時間加熱還流する。この懸濁液を冷却し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮する。残渣をＥｔＯＡｃ（５００ｍｌ）と５％クエン酸溶液（５００ｍｌ）との間に分割させる。有機物を分離し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮することによって、褐色の油として（Ｓ）－３－［４－（４－ヒドロキシ－ブチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオールを得る；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.56-1.74 (4H, m), 2.20 (1H, t, J = 2.46Hz), 2.61 (2H, t, J = 7.6Hz), 3.68 (2H, t, J = 6.2Hz), 3.78 (1H, dd, J = 5.4および11.5Hz), 3.86 (1H, dd, J = 3.9および11.5Hz), 4.0-4.16 (3H, m), 6.85 (2H, d, J = 8.6Hz), 7.12 (2H, d, J = 8.6Hz).

ステップ４

ＴＨＦ（７００ｍｌ）中の（Ｓ）－３－［４－（４－ヒドロキシ－ブチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（４３ｇ、１７９ｍｍｏｌ）に、２，２－ジメトキシプロパン（９４ｍｌ、７６０ｍｍｏｌ）、続いてＰＰＴＳ（４．５ｇ、１７．９ｍｍｏｌ）を添加する。生成した混合物を室温で一晩撹拌する。この溶液を減圧下で濃縮し、残渣をＤＣＭ（５００ｍｌ）中に溶かす。これを水で洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮する。１０％ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン続いて、２５％ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサンで溶出するシリカプラグ（３００ｇ）を介して残渣を精製する。所望の留分を濃縮することによって、透明な油として４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ブタン－１－オールを得る；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.42, (3H, s), 1.48 (3H, s), 1.53-1.73 (4H, m), 2.20 (1H, t, J = 2.5Hz), 2.60 (2H, t, J = 7.2Hz), 3.68 (2H, t, J = 6.4Hz), 3.92 (2H, dt, J = 5.8および8.5Hz), 4.07 (1H, dd, J = 5.4および9.5Hz), 4.19 (1H, dd, J = 6.4および8.5Hz), 4.49 (1H, p, J = 5.7Hz), 6.85 (2H, d, J = 8.7Hz), 7.11 (2H, d, J = 8.7Hz).

ステップ５

ＤＣＭ（１８０ｍｌ）中の４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ブタン－１－オール（５．０ｇ、１７．８ｍｍｏｌ）に、Ｄｅｓｓ－Ｍａｒｔｉｎペルヨージナン（７．５６ｇ、１７．８ｍｍｏｌ）を添加する。黄色がかった溶液を室温で１時間撹拌する。生成した黄色の懸濁液を１Ｎ ＮａＯＨ溶液（２００ｍｌ）で処理し、室温で３０分間撹拌する。有機相を分離し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濃縮することによって、透明な油として、４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ブチルアルデヒドを得る；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.42, (3H, s), 1.48 (3H, s), 1.95 (2H, dt, J = 7.6および14.2Hz), 2.46 (2H, dt, J = 1.5および7.3Hz), 2.62 (2H, t, J = 7.6Hz), 3.90-3.96 (2H, m), 4.07 (1H, dd, J = 5.2および9.3Hz), 4.19 (1H, dd, J = 6.4および8.1Hz), 4.49 (1H, p, J = 5.8Hz), 6.86 (2H, d, J = 9.4Hz), 7.10 (2H, d, J = 9.4Hz), 9.77 (1H, t, J = 1.6Hz).

ステップ６

ＴＨＦ（１５０ｍｌ）中の４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ブチルアルデヒド（４．２８ｇ、１５．４ｍｍｏｌ）に、ｔｅｒｔ－ブチルスルフィンアミド（２．０５ｇ、１６．９ｍｍｏｌ）を添加し、続いてチタンエトキシド（６．５ｍｌ、３０．８ｍｍｏｌ）を添加する。形成された黄色の溶液を室温で一晩撹拌する。この溶液を１Ｎ ＮａＯＨ（２００ｍｌ）およびＥｔＯＡｃ（１００ｍｌ）でクエンチし、室温で３０分間撹拌する。Ｃｅｌｉｔｅ（商標）（フィルター物質）を介して生成した混合物を濾過し、有機相を分離し、乾燥させる（$MgSO_4$）。減圧下での濃縮によって、黄色の油として、２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸［４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ブター（Ｅ）－イリデン］－アミドを得る；$[M+H]^+$ 382.23.

ステップ７

２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸［４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ブター（Ｅ）－イリデン］－アミド（４．５１ｇ、１１．８ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１２０ｍｌ）溶液に、０℃でビニルマグネシウムブロミド（ＴＨＦ中１Ｍ溶液１１．８ｍｌ、１１．８ｍｍｏｌ）を滴下する。添加完了後、この混合物を０℃で３０分間撹拌し、次いでNH_4Cl飽和水溶液（２０ｍｌ）でクエンチする。この混合物を室温まで温めておき、水（５０ｍｌ）およびＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）で希釈する。有機相を分離させ、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮する。クロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）での精製によ

り、ゴムとして２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸｛４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－ビニル－ブチル｝－アミドを、ジアステレオマー混合物として生成する；$[M+H]^+$ 410.39.

ステップ８

２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸｛４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－ビニル－ブチル｝－アミド（１．０ｇ、２．４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２５ｍｌ）溶液を、青い溶液が得られるまで、－７８℃で、酸素、次いでオゾン（Ｆｉｓｃｈｅｒ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　Ｏｚｏｎ　Ｇｅｎｅｒａｔｏｒ　５００ｍを使用して生成）を用いて飽和させる。次いで硫化ジメチル（１．８ｍｌ、２４ｍｍｏｌ）を添加し、この混合物を室温で３０分間に渡り撹拌する。生成した溶液を水（２５ｍｌ）で洗浄し、有機相を高減圧下、低温で濃縮することによって、油として、２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸｛４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－ホルミル－ブチル｝－アミドを得る；$[M+H]^+$ 412.36.

ステップ９

２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸｛４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－ホルミル－ブチル｝－アミドのＴＨＦ（２０ｍｌ）溶液に、ｔｅｒｔ－ブチルスルフィンアミド（３２３ｍｇ、２．７ｍｍｏｌ）を添加し、続いてチタンエトキシド（１．０ｍｌ、４．８ｍｍｏｌ）を添加する。形成された黄色溶液を室温で一晩撹拌する。溶液を１Ｎ　ＮａＯＨ（５０ｍｌ）およびＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）でクエンチし、室温で３０分間撹拌する。Ｃｅｌｉｔｅ（商標）（フィルター物質）を介して、生成した混合物を濾過し、有機相を分離し、乾燥させる（$MgSO_4$）。濃縮によって、黄色の油として、２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸（４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－｛［（Ｅ）－２－メチル－プロパン－２－スルフィニルイミノ］－メチル｝－ブチル）－アミドをジアステレオマー混合物として得る；$[M+H]^+$ 515.38.

ステップ１０

２－メチル－プロパン－２－スルフィン酸（４－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－１－｛［（Ｅ）－２－メチル－プロパン－２－スルフィニルイミノ］－メチル｝－ブチル）－アミド（９０７ｍｇ、１．７ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（２０ｍｌ）溶液に、０℃でｎ－プロピルマグネシウムクロリド（ジエチルエーテル中２Ｍ溶液１．７６ｍｌ、３．５２ｍｍｏｌ）。この溶液を０℃で３０分間撹拌し、次いで室温で３時間撹拌する。ｎ－プロピルマグネシウム（ジエチルエーテル中２Ｍ溶液１．７６ｍｌ、３．５２ｍｍｏｌ）をさらに添加し、この混合物を室温で一晩撹拌する。生成した混合物をNH_4Cl飽和水溶液（５０ｍｌ）でクエンチし、ＥｔＯＡｃ（２×５０ｍｌ）で抽出する。有機相を乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮する。残渣をＥｔＯＡｃ（１０ｍｌ）中に溶解させ、４Ｍ　ＨＣｌ／ジオキサン（１０ｍｌ）で処理する。１０分後、この溶液を減圧下で濃縮し、残渣をＤＣＭ（１００ｍｌ）で希釈する。これを$NaHCO_3$飽和水溶液（１００ｍｌ）で処理し、有機相を除去し、乾燥させる（$MgSO_4$）。ＤＣＭ溶液をＳＣＸ－２カートリッジ（１０ｇ）に適用し、これをＤＣＭおよびＭｅＯＨで溶出する。生成物をＭｅＯＨ中の２Ｍ　NH_3で放出させ、メタノールアンモニア留分を濃縮することによって、ゴムとして、（Ｓ）－３－［４－（４，５－ジアミノ－オクチル）－フェノキシル－プロパン－１，２－ジオールをジアステレオマー混合物として得る；$[M+H]^+$ 515.38.

ステップ１１

（Ｓ）－３－［４－（４，５－ジアミノ－オクチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（１００ｍｇ、０．３２ｍｍｏｌ）のプロパン－２－オール（５ｍｌ）溶液に、１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（１２１ｍｇ、０．３２ｍｍｏｌ）を添加する。生成した懸

濁液を９０℃で２時間加熱し、次いで冷却し、減圧下で濃縮する。残渣をＭｅＯＨ（２０ｍｌ）中で溶解させ、１０ｇ　ＳＣＸ－２カートリッジに適用する。これをＭｅＯＨ、水およびＭｅＣＮでよく洗浄し、次いで２ＭのＮＨ$_3$のＭｅＯＨ溶液で洗浄する。メタノールアンモニア留分を濃縮し、次いでクロマトグラフィー（ＳｉＯ$_2$、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ中５～１０％２Ｍ　ＮＨ$_3$）で精製する。関連する留分の濃縮によって、ゴムとして遊離塩基を得る。これをＭｅＯＨ（１０ｍｌ）中で溶解させ、ジエチルエーテル（２ｍｌ）中の１Ｍ　ＨＣｌで処理する。濃縮することによって、黄色の固体として、（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－Ｎ－（４－（３－（４－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシプロポキシ）フェニル）プロピル）－５－プロピルイミダゾリジン－２－イリデン）ピラジン－２－カルボキサミドの二塩酸塩を得る；[M+H]$^+$　506.37，Cl同位体については508.36.

（実施例３０）

（３－｛（Ｓ）－２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－イミダゾリジン－４－イル｝－プロピル）－カルバミン酸ベンジルエステル

塩素トラップおよび冷却器を取り付けた三口丸底フラスコ内で１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（０．９７ｇ、３．７２ｍｍｏｌ）を撹拌し、プロパン－２－オール（２０ｍｌ）中の（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－カルバミン酸ベンジルエステル（中間体Ｓ）（０．８５ｇ、３．３８ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を８５℃で６６時間撹拌する。捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）により精製し、それに続いてＥｔＯＡｃ、エタノールおよびＭｅＯＨでフラッシュしたシリカパッドを介して溶出させることによって、オレンジ色の泡状物として表題化合物を得る；[M+H]$^+$　447.1.

（実施例３１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（３－アミノ－プロピル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

（３－｛（Ｓ）－２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－イミダゾリジン－４－イル｝－プロピル）－カルバミン酸ベンジルエステル（実施例３０）（０．４４ｇ、０．９８ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２０ｍｌ）溶液に、ヨードトリメチルシラン（０．２７ｍｌ、１．９６ｍｍｏｌ）を滴下する。オレンジ色の懸濁液を室温で６５分間撹拌する。ＭｅＯＨ、続いてＭｅＯＨ中の７Ｍ　ＮＨ$_3$で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製によって、黄色の泡状物として、表題化合物を得る；[M+H]$^+$　313.1.

（実施例３２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－［３－（３－ベンジル－ウレイド）－プロピル］－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（３－アミノ－プロピル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例３１）（０．０４０ｇ、０．１２８ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２ｍｌ）溶液に、１，１’－カルボニルジイミダゾール（０．０２３ｇ、０．１４１ｍｍｏｌ）を添加し、この反応混合物を１時間室温で撹拌する。ベンジルアミン（０．０１４ｍｌ、０．１２８ｍｍｏｌ）を添加し、１時間ごとの間隔で、合計３時間さらにベンジルアミン（０．０１４ｍｌ、０．１２８ｍｍｏｌ）を添加する。この反応物を２Ｎ　ＮａＯＨ（３０ｍｌ）で希釈し、この生成物をＥｔＯＡｃ（４０ｍｌ）中に抽出することによって精製する。有機相を２Ｎ　ＮａＯＨ（３０ｍｌ）で洗浄し、ＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、黄色の油を生じる。この油をメタノール（０．７５ｍｌ）中に溶解させ、ジエチルエーテル（５ｍｌ）を添加することによって、黄色の固体を摩砕する。この固体を濾別し、形成された濾液はさらに沈殿する。この黄色の固体を濾過で収集し、ジエチルエーテルですすぐことによって、表題化合物を得る；[M+H]$^+$　446.1.

（実施例３３）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（３－フェニ

ルメタンスルホニルアミノ－プロピル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（３－アミノ－プロピル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例３１）（０．０３０ｇ、０．０９６ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（５ｍｌ）溶液に、５℃で、α－塩化トルエンスルホニル（０．０１８ｇ、０．０９６ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（０．０１３ｍｌ、０．０９６ｍｍｏｌ）を添加する。この溶液を１０分間撹拌する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）での精製により、黄色の固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 467.0.

（実施例３４）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（３－フェニルアセチルアミノ－プロピル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（３－アミノ－プロピル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例３１）（０．０３０ｇ、０．９６ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２ｍｌ）溶液に、塩化フェニルアセチル（０．０１３ｍｌ、０．０９６ｍｍｏｌ）を添加する。この黄色溶液を室温で１０分間撹拌する。ＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中の７Ｍ　NH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製により、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 430.98.

（実施例３５）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－フェニルメタンスルホニルアミノ－ブチル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－アミノ－ブチル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（中間体Ｔ）（０．０２３ｇ、０．０７１ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２ｍｌ）懸濁液に、トリエチルアミン（０．０１０ｍｌ、０．０７１ｍｍｏｌ）を添加し、続いてα－塩化トルエンスルホニル（０．０１４ｇ、０．０７１ｍｍｏｌ）を添加する。この懸濁液を室温で３０分間撹拌する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）、続いてＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中の７Ｍ　NH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製によって、黄色の固体として表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 481.0.

（実施例３６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－フェニルアセチルアミノ－ブチル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－アミノ－ブチル）－イミダゾリジン－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（中間体Ｔ）（０．０３２ｇ、０．０９８ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１ｍｌ）懸濁液に、トリエチルアミン（０．０１４ｍｌ、０．０９８ｍｍｏｌ）を添加し、続いて塩化フェニルアセチル（０．０１３ｍｌ、０．０９８ｍｍｏｌ）を添加する。この懸濁液を室温で９０分間撹拌し、さらなる０．５当量の塩化フェニルアセチル（０．００６ｍｌ、０．０４９ｍｍｏｌ）を添加する。この反応物を室温でさらに１８時間撹拌したままにしておく。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）、続いてＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中７Ｍ　NH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）による精製によって、オフホワイト色の固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 445.1.

（実施例３７）

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルトリフルオロアセテート

ｔｅｒｔ－ブタノール（６Ｌ）中の４－アミノ－４－アミノメチル－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（中間体Ｕ）（２１８ｇ、０．９５ｍｏｌ）および１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（３３８ｇ、０．８２ｍｏｌ）の懸濁液を、４０℃で一晩撹拌す

る。次いで温度を８５℃に上げ、懸濁液をこの温度でさらに４日間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣を水（１Ｌ）中に溶かし、超音波処理し、４５～５０℃に加熱する。固体を真空濾過で収集し、氷冷水で洗浄し、次いで減圧下、５０℃で一晩乾燥させることによって、黄色の固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 425.1.

（実施例３８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド

ジオキサン（１Ｌ）中の４Ｍ　ＨＣｌの撹拌溶液に、２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４，５］デカン－８－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルトリフルオロアセテート（実施例３７）（１０４ｇ、１９３ｍｍｏｌ）を添加する。生成した高粘度の懸濁液を室温で２時間撹拌する。生成物を真空濾過で単離し、ジオキサンですすぐ。固体を減圧下、５０℃で乾燥させることによって、暗黄色の固体として、表題化合物を二塩酸塩として生成する；$[M+H]^+$ = 325.

（実施例３９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［（Ｓ）－３－フェニル－２－（トルエン－４－スルホニルアミノ）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

トシル－Ｌ－フェニルアラニン（１．０ｇ、３．１３ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２５ｍｌ）溶液に、Ｎ－メチルモルホリン（１．０３３ｍｌ、９．３９ｍｍｏｌ）および３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（１．３７ｇ、３．４４ｍｍｏｌ）を添加し、続いてＨＡＴＵ（１．３１ｇ、３．４４ｍｍｏｌ）を添加し、生成した溶液を室温で２０分間撹拌する。粗生成物を水（３００ｍｌ）で希釈し、生成した固体を単離する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）、続いてＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中の７ＭNH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製によって、黄色固体が生じ、これをＭｅＯＨおよびジエチルエーテルと共に摩砕することによって、遊離塩基として表題化合物を得る。この遊離塩基を５Ｍ　ＨＣｌ中１００℃で３０分間撹拌し、ゴムを形成する。ＭｅＯＨ（５ｍｌ）をこのゴムに添加し、次いで全溶媒を減圧下で除去する。残渣をＭｅＯＨおよびジエチルエーテルと共に摩砕することによって、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 626.4; ^1H NMR (DMSO-d6): 1.12 - 1.71 (4H, m), 2.36 - 2.38 (3H, s), 2.59 - 2.83 (2H, m), 2.93 - 3.52 (4H, m), 3.41 - 3.60 (2H, m), 4.42 (1H, m), 7.12 (2H, d, J = 6.9 Hz), 7.17 - 7.28 (3H, m), 7.35 (2H, d, J = 7.7 Hz), 7.54 - 7.37 (2H, br), 7.57 (2H, d, J = 7.7 Hz), 8.12 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.70 - 8.26 (2H, br), 9.22 (1H, s), 9.95 (1H, s), 10.99 (1H, s).

（実施例４０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－ベンゼンスルホニル－１Ｈ－インドール－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

１－（フェニルスルホニル）－１Ｈ－インドール－３－カルボン酸（１．０ｇ、３．３２ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１５ｍｌ）溶液に、ＨＡＴＵ（１．３８８ｇ、３．６５ｍｍｏｌ）およびＮ－メチルモルホリン（１．０９５ｍｌ、９．９６ｍｍｏｌ）を添加し、溶液を室温で５分間を撹拌する。３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（１．４５２ｇ、３．６５ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で４５分間撹拌する。この反応混合物を水（１００ｍｌ）で希釈し、形成した沈殿物を濾過で単離する。粗生成物を２Ｎ　ＮａＯＨ中に懸濁させＥｔＯＡｃ中に抽出する。有機部分を$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮することによって、褐色固体を得る。固体を

水（＋０．１％ＴＦＡ）およびアセトニトリルの１：１混合物中に懸濁させる。微細な褐色の固体を濾過で取り除き、１０ｍｌの溶媒が残り、淡黄色の固体が沈殿するまで、黄色濾液を減圧下で濃縮する。この固体を２Ｎ　ＮａＯＨ（６０ｍｌ）で洗浄し、次いで２Ｎ　ＮａＯＨ（１００ｍｌ）中に懸濁させ、ＥｔＯＡｃ（２×１００ｍｌ）中に抽出する。有機相を合わせ、$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮することによって、薄いクリーム色の固体を得る。このクリーム色の固体をＥｔＯＡｃ：イソ－ヘキサン（１００ｍｌ）の１：４混合物中に懸濁させ、固体を濾別することによって、表題化合物の遊離塩基を得る。これを５Ｎ　ＨＣｌ（２０ｍｌ）中に懸濁させ、２時間撹拌する。ＭｅＯＨ（２０ｍｌ）を添加して、全固体を溶解させ、黄色の固体が沈殿するまで溶媒を減圧下で濃縮する。この固体を濾別し、水ですすぎ、４０℃で１８時間乾燥させることによって、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 607.42; ^1H NMR (DMSO-d6): 1.86 - 1.92 (4H, m), 3.42 - 3.63 (4H, m), 3.68 (2H, s), 7.34 (1H, dd, J + 7.5 Hz, J = 7.5 Hz), 7.43 (1H, dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz), 7.36 - 7.55 (2H, br), 7.62 (1H, d, J= 7.5 Hz), 7.63 (2H, m), 7.73 (1H, m), 7.99 (1H, d, J = 7.5 Hz), 8.06 (2H, 不明瞭), 8.07 (1H, s), 7.50 - 8.16 (2H, br), 9.18 (1H, s), 9.77 (1H, s), 11.09 (1H, s).

（実施例４１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８４３－（３－イソプロポキシ－プロピルスルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３－（３－イソプロポキシ－プロピルスルファモイル）－安息香酸（中間体Ｖ）（１．１０ｇ、３．６５ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２０ｍｌ）溶液に、ＨＡＴＵ（１．５３ｇ、４．０２ｍｍｏｌ）およびＮ－メチルモルホリン（１．２０４ｍｌ、１０．９５ｍｍｏｌ）を添加し、この溶液を室温で５分間撹拌する。３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（１．６０ｇ、４．０２ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で４５分間撹拌する。この反応混合物を２Ｎ　ＮａＯＨ（１５０ｍｌ）で希釈し、粗生成物をＥｔＯＡｃ（２×２５０ｍｌ）中に抽出する。有機相を$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、黄色の油を得る。水（＋０．１％ＴＦＡ）およびアセトニトリルの勾配を使用した、Ｗａｔｅｒｓ分取Ｄｅｌｔａ３０００ＨＰＬＣでの精製によって、黄色の油を得る。２Ｎ　ＮａＯＨをこの油に添加し、生成物をＥｔＯＡｃ（２×４００ｍｌ）中に抽出する。有機相を合わせ、$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を約１５０ｍｌの体積まで減圧下で濃縮する。この溶液に、イソ－ヘキサン（４００ｍｌ）を添加すると、淡黄色の固体が沈殿する。この固体を濾過で収集し、イソ－ヘキサンですすぐことによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 607.98; ^1H Nmr (DMSO): 1.00 (6H, d, J = 6.0 Hz), 1.55 (2H, m), 1.69 - 1.79 (4H, m), 2.81 (2H, t, 5.9 Hz), 3.29 (2H, tr, J = 6.0 Hz), 3.42 (1H, m), 3.44 (2H, br), 3.29 - 3.82 (4H, m), 6.15 - 7.30 (3H, br), 7.66 (1H, d, J = 7.4 Hz), 7.70 (1H, dd, J= 7.4 Hz, J= 7.4 Hz), 7.76 (1H, s), 7.86 (1H, d, J = 7.4 Hz), 7.44 - 8.00 (1H, br), 8.00 - 9.05 (3H, br).

（実施例４２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（５－フェニル－４Ｈ－［１，２，４］トリアゾール－３－イル）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

（５－フェニル－４Ｈ［１，２，４］トリアゾール－３－イル）酢酸（０．４８ｇ、２．３６４ｍｍｏｌ）、ＨＡＴＵ（０．９８８ｇ、２．６ｍｍｏｌ）、５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（１．０３３ｇ、２．６０ｍｍｏｌ）、ＤＭＦ（２０ｍｌ）およびＮ－メチルモルホリン（０．７８ｍｌ、７．０８

ｍｍｏｌ）を丸底フラスコに加え、室温で２０分間撹拌する。水（２００ｍｌ）を添加することによって、この反応混合物から粗生成物が沈殿し、濾過で単離する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）での精製によって、黄色の半固体を得る。これをＭｅＯＨ（１００ｍｌ）中に溶解させ、静置させておく。オフホワイト色の固体が沈殿し、これを濾過で収集することによって、表題化合物を得る；[M+H]+ 510.0; ^{1}H NMR (DMSO-d6): 1.78 - 1.94 (4H, m), 3.67 (2H, s), 3.30 -3.82 (4H, m), 4.05 - 4.08 (2H, m), 7.45 - 7.55 (3H m), 7.01 - 7.75 (3H, br), 8.05 (2H, d, J = 7.1 Hz), 7.78 - 8.33 (2H, br), 9.24 (1H, s), 9.85 (1H, s), 11.04 (1H, s).

（実施例４３）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（３－イソプロピル－ウレイド）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３－（３－イソプロピル－ウレイド）－安息香酸（中間体Ｗ）（１．０８ｇ、４．８６ｍｍｏｌ）およびＨＡＴＵ（２．０３ｇ、５．３５ｍｍｏｌ）をＤＭＦ（２５ｍｌ）中室温で撹拌し、Ｎ－メチルモルホリン（１．６０ｍｌ、１４．５９ｍｍｏｌ）を添加する。この溶液を室温で５分間撹拌し、５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（２．１３ｇ、５．３５ｍｍｏｌ）を添加する。この褐色の溶液を室温で４５分間撹拌する。２Ｎ　ＮａＯＨの添加によって粗生成物が沈殿し、濾過で収集する。この固体を逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）で精製する。きれいな留分を減圧下で約３０ｍｌに濃縮し、２Ｎ　ＮａＯＨを添加する。オフホワイト色の固体を濾過で収集し、水ですすぐことによって、表題化合物を得る；[M+H]+ 529.05; ^{1}H NMR (DMSO-d6): 1.09 (6H, d, J = 6.5 Hz), 1.67 - 1.73 (4H, m), 3.42 (2H, br), 3.75 (1H, 七重線, J = 6.5 Hz), 3.31 -3.79 (4H, br), 6.15 (1H, d, J = 7.5 Hz), 6.70 (2H, br), 6.40 - 7.01 (1H, br), 6.86 (1H, d, J = 7.2 Hz), 7.26 (1H, dd, J = 8.3 Hz, J = 7.2 Hz), 7.31 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.53 (1H, s), 8.36 (1H, br), 8.48 (1H, br), 8.55 (1H, s), 8.00 - 9.00 (1H, br).

（実施例４４）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－ベンゾ［ｂ］チオフェン－３－イル－アセチル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

３－（３－イソプロピル－ウレイド）－安息香酸（中間体Ｗ）の代わりにベンゾ［ｂ］チオフェン－３－酢酸を使用して、実施例４３と同じようにこの化合物を調製する；[M-H]$^+$ 499.0; ^{1}H NMR (DMSO-d6): 1.59 - 1.74 (4H, m), 3.42 (2H, s), 3.48 - 3.95 (4H, m), 3.97 (2H, s), 6.20 - 7.11 (3H, br), 7.38 (1H, m), 7.39 (1H, m), 7.50 (1H, s), 7.83 (1H, d, J = 7.3 Hz), 7.97 (1H, d, J = 7.6 Hz), 7.75 - 9.30 (3H, br).

（実施例４５）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボン酸（中間体Ｘ）（１．１５ｇ、４．８５ｍｍｏｌ）、ＨＡＴＵ（２．０３ｇ、５．３３ｍｍｏｌ）、ＤＭＦ（２０ｍｌ）およびＮ－メチルモルホリン（１．６０ｍｌ、１４．５４ｍｍｏｌ）の溶液を室温で５分間撹拌し、５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（１．７３１ｇ、５．３３ｍｍｏｌ）を添加する。室

温で６０分間撹拌後、ＥｔＯＡｃ（２００ｍｌ）を添加し、有機相を２Ｎ　ＮａＯＨ（２×１００ｍｌ）およびブライン（１００ｍｌ）で洗浄する。有機相を$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させる。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中の０～１００％ＭｅＣＮ）、続いてＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中の７Ｍ　NH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製により、黄色の油を得る。油をＤＣＭ（１０ｍｌ）中に溶解させ、イソ－ヘキサンの添加により溶液から生成物が沈殿することによって黄色の固体を得る。これを濾過し、イソ－ヘキサンですすぐことによって、表題生成物を得る；$[M+H]^+$542.8; ^1H NMR (DMSO-d6): 1.64 - 1.70 (4H, m), 1.84 - 1.89 (2H, m), 2.43 - 2.51 (2H, m), 3.39 - 3.43 (2H, m), 3.43 - 3.50 (2H, m), 3.55 (1H, m), 3.40 - 3.69 (4H, m), 3.84 (2H, m), 5.97 (2H, m), 6.65 - 6.74 (2H, br), 6.75 (2H, m), 6.2 - 7.6 (1H, br), 7.6 -9.5 (1H, br).

（実施例４６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（６，７，８，９－テトラヒドロ－５Ｈ－カルバゾール－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

乾燥ＤＭＦ（５ｍｌ）中の６，７，８，９－テトラヒドロ－５Ｈ－カルバゾール－３－カルボン酸（０．０５ｇ、０．２５ｍｍｏｌ）およびＨＡＴＵ（０．１１ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、Ｎ－メチルモルホリン（０．０８ｍｌ、０．７６ｍｍｏｌ）を添加する。室温で５分間撹拌後、５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．１０ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で１時間撹拌したままにしておく。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水中０～１００％ＭｅＣＮ）での精製によって、黄色の粉末として表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 524.2.

（実施例４７）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－インダゾール－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

乾燥ＤＭＦ（４ｍｌ）中の１Ｈ－インダゾール－３－カルボン酸（０．０４１ｇ、０．２５ｍｍｏｌ）およびＨＡＴＵ（０．０９６ｇ、０．２５ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、Ｎ－メチルモルホリン（０．０８ｍｌ、０．７６ｍｍｏｌ）を添加する。５分後、５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．１０ｇ、０．２５ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で１時間撹拌したままにしておく。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）での精製により、油性の残渣を得る。これをアセトニトリル中で超音波処理することによって、黄色の懸濁液を得る。この黄色の固体を濾過で収集し、アセトニトリルですすぐことによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 469.17.

（実施例４８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（２，３－ジメチル－１Ｈ－インドール－５－イル）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、１Ｈ－インダゾール－３－カルボン酸の代わりに２－（２，３－ジメチル－１Ｈ－インドール－５－イル）酢酸を使用して、実施例４７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 510.23.

（実施例４９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１，２，３－トリメチル－１Ｈ－インドール－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

乾燥ＤＭＦ（５ｍｌ）中の１，２，３－トリメチル－１Ｈ－インドール－５－カルボン酸（０．０５１ｇ、０．２５ｍｍｏｌ）およびＨＡＴＵ（０．１１ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、Ｎ－メチルモルホリン（０．０８３ｍｌ、０．７６ｍｍｏｌ）を添加する。５分後、５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．１０ｇ、０．２８ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で１時間撹拌したままにしておく。クロマトグラフィー（SiO_2、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）での精製により、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 510.1.

（実施例５０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－メチル－１Ｈ－インダゾール－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、６，７，８，９－テトラヒドロ－５Ｈ－カルバゾール－３－カルボン酸の代わりに１－メチル－１Ｈ－インダゾール－３－カルボン酸を使用して、実施例４６と同じように調製する；$[M+H]^+$ 483.1.

（実施例５１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－ベンジルオキシ－ベンゾイル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．０５ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）、４－（ベンジルオキシ）安息香酸（０．０２９ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）、ＨＡＴＵ（０．０５ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）、Ｎ－メチルモルホリン（０．０４１ｍｌ、０．３８ｍｍｏｌ）およびＤＭＦ（２ｍｌ）を室温で７２時間一緒に撹拌する。この反応混合物をＥｔＯＡｃ（２５ｍｌ）で希釈し、水（２５ｍｌ）および飽和$NaHCO_3$（２５ｍｌ）で洗浄する。有機相を$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で蒸発させることによって、黄色の油を得る。この油を酢酸エチル中に溶解させ、一滴のメタノールおよびイソ－ヘキサンを添加する。生成した淡黄色の固体を濾過で収集することによって、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 535.1.

（実施例５２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－２，３－ジヒドロ－ベンゾフラン－５－イル－プロピオニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－（２，３－ジヒドロベンゾフラン－５－イル）プロパン酸を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$499.1.

（実施例５３）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、１Ｈ－インダゾール－３－カルボン酸の代わりに１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－４－カルボン酸を使用して、実施例４７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 469.14.

（実施例５４）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－メトキシ－フェニル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．０５ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）、３－（４－メトキシフェニル）－プロピオン酸（０．０

２３ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）、ＨＡＴＵ（０．０４８ｇ、０．１３ｍｍｏｌ）、Ｎ－メチルモルホリン（０．０４１ｍｌ、０．３８ｍｍｏｌ）およびＤＭＦ（２ｍｌ）を室温で４８時間一緒に撹拌する。この反応混合物をＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）で希釈し、生成物を１Ｍ　ＨＣｌ中に抽出する。２Ｎ　ＮａＯＨを用いて、水相をｐＨ１２に塩基性化し、生成物をＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）中に抽出する。有機相を$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、褐色のガラスを得る。ＭｅＯＨおよびＥｔＯＡｃと共に、生成物を摩砕することによって、表題化合物として淡褐色の固体を得る；$[M+H]^+$　487.0.

（実施例５５）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、１，２，３－トリメチル－１Ｈ－インドール－５－カルボン酸の代わりに１３－（４－ヒドロキシフェニル）プロピオン酸を使用して、実施例４９と同じように調製する；$[M+H]^+$　472.98.

（実施例５６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－インドール－２－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、６，７，８，９－テトラヒドロ－５Ｈ－カルバゾール－３－カルボン酸の代わりに１Ｈ－インドール－２－カルボン酸を使用して、実施例４６と同じように調製する；$[M+H]^+$468.1.

（実施例５７）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（キノリン－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、６，７，８，９－テトラヒドロ－５Ｈ－カルバゾール－３－カルボン酸の代わりにキノリン－５－カルボン酸を使用して、実施例４６と同じように調製する；$[M+H]^+$　480.1.

（実施例５８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－メチル－２－フェニル－ピリミジン－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボン酸（中間体Ｘ）の代わりに４－メチル－２－フェニルピリミジン－５－カルボン酸を使用して、実施例４５と同じように調製する；$[M+H]^+$　521.1.

（実施例５９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－ベンジル－モルホリン－２－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに４－ベンジル－２－モルホリンカルボン酸塩酸塩を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$　528.2.

（実施例６０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、１Ｈ－インダゾール－３－カルボン酸の代わりに１Ｈ－ピロロ［２，３－ｂ］ピリジン－５－カルボン酸を使用して、実施例４７と同じように調製する；$[M+H]^+$　469.1.

（実施例６１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（４，６－ジメ

トキシ－ピリミジン－２－イルメトキシ）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに４－（（４，６－ジメトキシピリミジン－２－イル）メトキシ）安息香酸を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 597.07.
（実施例６２）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（３－イソプロピル－ウレイド）－ピリジン４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに２－（３－イソプロピル－ウレイド）－イソニコチン酸（中間体Ｙ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 530.2; ^1H NMR (DMSO-d6): 1.13 (6H, d, J = 6.5), 1.77-1.94 (4H, m), 3.66 (2H, d, J = 11), 3.25-3.99 (5H, m), 6.97 (1H, br m), 7.50 (1H, br s), 7.31-7.60 (2H, br s), 7.61 (1H, br s), 7.74-8.25 (2H, br s), 8.28 (1H, d, J = 5.5), 9.08-9.21 (1H, br s), 9.60-9.80 (1H, br s), 9.70-10.25 (1H, br s), 11.07 (s, 1H).
（実施例６３）
４－１２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－インドール－１－カルボン酸イソプロピルアミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－イソプロピルカルバモイル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体Ｚ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 553.5.
（実施例６４）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（３－イソプロピル－ウレイド）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに４－（３－イソプロピル－ウレイド）－安息香酸（中間体ＡＡ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 529.5.
（実施例６５）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［６－（３－イソプロピル－ウレイド）－ピリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに６－（３－イソプロピル－ウレイド）－ニコチン酸（中間体ＡＢ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 530.5.
（実施例６６）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－アリルオキシ－フェニル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－（４－アリルオキシ）－フェニル）プロピオン酸を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 513.4.
（実施例６７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛２－［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－アセチル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－酢酸（中間体ＡＣ）を使用して、実施例５１と同じよう

に調製する；547.4.

（実施例６８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル｝プロピオニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－プロピオン酸（中間体ＡＤ）を使用して、実施例２．１３と同じように調製する；$[M+H]^+$ 561.0.

（実施例６９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－｛４［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エトキシ］－フェニル｝－プロピオニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－｛４－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エトキシ］－フェニル｝－プロピオン酸（中間体ＡＥ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 601.1.

（実施例７０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［４－（ピリジン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピオニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３［４－（ピリジン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピオン酸（中間体ＡＦ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 564.1.

（実施例７１）

［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェノキシ］－酢酸ｔｅｒｔ－ブチル

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸（中間体ＡＧ）を使用して実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 587.5.

（実施例７２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－カルバモイルメトキシ－フェニル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－（４－カルバモイルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸（中間体ＡＨ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 530.1.

（実施例７３）

１－［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェノキシ］－シクロブタンカルボン酸エチルエステル

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－［４－（２－カルボキシ－エチル）－フェノキシ］－シクロブタンカルボン酸エチルエステル（中間体ＡＩ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 599.1.

（実施例７４）

２－［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェノキシ］－２－メチル－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに２－［４－（２－カルボキシ－エチル）－フェノキシ］－２－メチル－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（中間体ＡＪ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 615.2.

（実施例７５）
［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェノキシ］－酢酸メチルエステル
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－（４－メトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸（中間体ＡＫ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 545.1.
（実施例７６）
４－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル－安息香酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに４－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）安息香酸を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 529.4.
（実施例７７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－イソプロピル－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－イソプロピル－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－カルボン酸を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 524.
（実施例７８）
３－［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェニル］－プロピオン酸プロピルエステル
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３４４－（２－プロポキシカルボニル－エチル）－フェニル］－プロピオン酸（中間体ＡＬ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 571.
（実施例７９）
３－［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェニル］－プロピオン酸エチルエステル
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３４４－（２－エトキシカルボニル－エチル）－フェニル］－プロピオン酸（中間体ＡＭ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 557.
（実施例８０）
３－［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェニル］－プロピオン酸メチルエステル
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３－［４－（２－メトキシカルボニル－エチル）－フェニル］－プロピオン酸（中間体ＡＮ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 543.
（実施例８１）
３－［４－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－８－イル｝－３－オキソ－プロピル）－フェニル］－プロピオン酸
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに３，３’－（１，４－フェニレン）ジプロパン酸を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 529.
（実施例８２）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（２－フェノキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［

４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－（２－フェノキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＯ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 588.
（実施例８３）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（２－ｐ－トリル－エチル）１Ｈ－インドール－４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－（２－ｐ－トリル－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＰ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 586.
（実施例８４）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛１－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＱ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 597.
（実施例８５）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛１－［２－（４－メトキシ－フェノキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－［２－（４－メトキシ－フェノキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＲ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 618.
（実施例８６）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛１－［２－（４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェノキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－［２－（４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェノキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＳ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 644.
（実施例８７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（２－［１，３］ジオキサン－２－イル－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－（２－［１，３］ジオキサン－２－イル－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＴ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M+H]^+$ 582.
（実施例８８）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（２－ヒドロキシ－エチル）－２，３－ジメチル－１Ｈ－インドール－５－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに２，３－ジメチル－１－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－５－カルボン酸（中間体ＡＵ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；$[M-4-1]^+$ 540.
（実施例８９）
４－（４－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－インドール－１－イル）－酪酸メチルエステル

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－（４，４，４－トリメトキシ－ブチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＷ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；[M+H]$^+$ 568

（実施例９０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛１－［２－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－［２－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＷ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；[M+H]$^+$ 600

（実施例９１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－ジエチルカルバモイルメチル－１Ｈ－インドール－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－（ベンジルオキシ）安息香酸の代わりに１－ジエチルカルバモイルメチル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸（中間体ＡＸ）を使用して、実施例５１と同じように調製する；[M+H]$^+$ 581

（実施例９２）

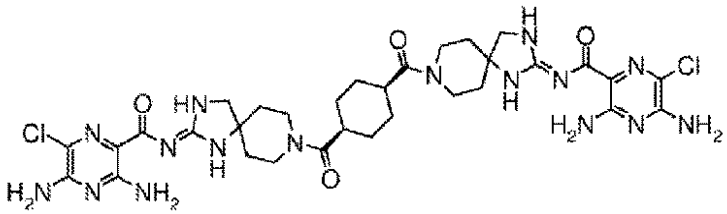
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（２－ヒドロキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

ｐ－トルエンスルホン酸一水和物（１．６ｍｇ、０．００８４ｍｍｏｌ）を、ＭｅＯＨ（３ｍｌ）中の３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛１－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例８４）（５０ｍｇ、０．０８４ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に添加し、生成した溶液を室温で３時間撹拌し、次いで５０℃で１６時間加熱する。溶媒を減圧下で除去し、残渣をＭｅＯＨ（３ｍｌ）中に溶解させ、ＭｅＯＨ（２０ｍｌ）で溶出する１ｇ　ＰＥＡＸカートリッジへ充填する。濾液を減圧下で濃縮することによって、表題化合物を生成する；[M+H]$^+$ 512/514

（実施例９３）

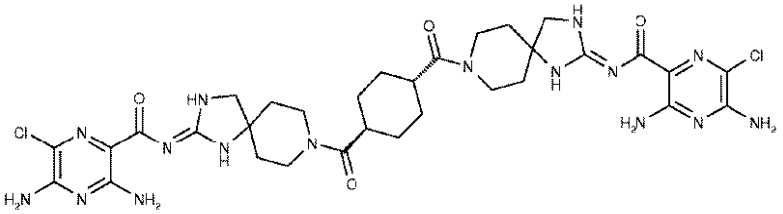
【０３８１】

【化１１５】



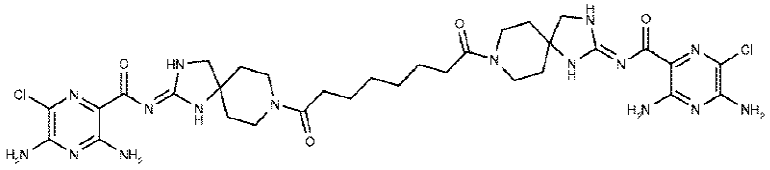
無水ＤＭＦ中の３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（３００ｍｇ、０．８３ｍｍｏｌ）、ｃｉｓ－１，４－シクロヘキサンジカルボン酸（７２ｍｇ、０．４２ｍｍｏｌ）、Ｎ－メチルモルホリン（０．３０ｍｌ、２．７３ｍｍｏｌ）およびＨＡＴＵ（３１５ｍｇ、０．８３ｍｍｏｌ）の混合物を室温で１６時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー（塩基性アルミナ、ＤＣＭ中０～３％ＭｅＯＨ）にかけることによって、オフホワイト色の固体を得る。生成物をＤＣＭ中に溶解させ、ジエチルエーテルの添加により再沈殿させる。上清溶媒混合物をデカントして移し、生成物を再びジエチルエーテルで洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、オフホワイト色の固体として示された化合物を生成する；[M+H]$^+$ 785.

（実施例９４）
【０３８２】
【化１１６】



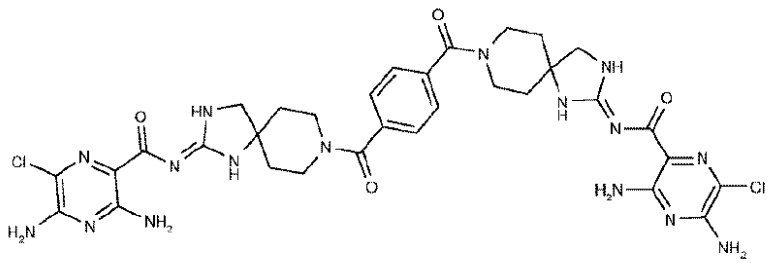
この化合物は、ｃｉｓ－１，４－シクロヘキサンジカルボン酸の代わりにｔｒａｎｓ－１，４－シクロヘキサンジカルボン酸を使用して、実施例９３と同じように調製する；$[M+2H]^{2+}$ 393.

（実施例９５）
【０３８３】
【化１１７】



この化合物は、ｃｉｓ－１，４－シクロヘキサンジカルボン酸の代わりにスベリン酸を使用して、実施例９３と同じように調製する；$[M+H]^{+}$ 787.

（実施例９６）
【０３８４】
【化１１８】



この化合物は、ｃｉｓ－１，４－シクロヘキサンジカルボン酸の代わりにテレフタル酸を使用して、実施例９３と同じように調製する；$[M+H]^{+}$ 779.

（実施例９７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（４－ベンジルオキシ－フェニル）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

無水ＤＭＦ（２０ｍｌ）中の３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（３００ｍｇ、０．８３ｍｍｏｌ）、４－ベンジルオキシフェニル酢酸（２００ｍｇ、０．８３ｍｍｏｌ）、Ｎ－メチルモルホリン（０．４０ｍｌ、３．６４ｍｍｏｌ）およびＨＡＴＵ（３１５ｍｇ、０．８３ｍｍｏｌ）の混合物を、室温で１６時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー（塩基性のアルミナ、ＤＣＭ中０～３％ＭｅＯＨ）にかけることによって、淡黄色の固体を得る。この生成物をＤＣＭおよびＭｅＯＨ中に溶解させ、ジエチルエーテルを添加することによって、再沈殿させる。この上清溶媒混合物をデカントして移し、生成物をジエチルエ

ーテルで再び洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、淡黄色の固体として、表題化合物を生成する；[M+H]$^+$ 549.

（実施例９８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－ベンジルオキシ－フェニル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに３－（４－ベンジルオキシフェニル）プロピオン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；[M+H]$^+$ 563.

（実施例９９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－インドール－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにインドール－４－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；[M+H]$^+$ 468.

（実施例１００）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－インドール－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにインドール－５－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；[M+H]$^+$ 468.

（実施例１０１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－フェニルアセチル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにフェニル酢酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；[M+H]$^+$ 443.

（実施例１０２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［６－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－ベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４，５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

ステップ１

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－ベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドは、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－安息香酸（中間体ＡＹ）を使用して、実施例９７と同じように調製する；[M+H]$^+$ 715.

ステップ２：

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－ベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（０．１６ｇ、０．２２ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（１０ｍｌ）溶液中に、ＳＣＸ－２樹脂（約２ｇ）を添加し、生成したスラリーを０．５時間撹拌し、次いで溶媒を減圧下で除去する。スラリーをＳＣＸ－２樹脂（約３ｇ）のカラムに充填し、ＭｅＯＨで溶出し、次いでＭｅＯＨ中の２Ｍ NH_3 で溶出する。メタノールアンモニア留分を減圧下で濃縮し、残渣をジエチルエーテルと共に摩砕することによって、黄色固体として、３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［６－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－ベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドを得る；[M+H]$^+$ 675.

（実施例１０３）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－クロロ－ベンゾイル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにｐ－クロロ安息香酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 463.
（実施例１０４）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－｛３－［４－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］－プロポキシ｝－ベンゾイル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－安息香酸（中間体ＡＹ）の代わりに４－｛３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロポキシ｝－安息香酸（中間体ＡＺ）を使用して、実施例１０２と同じように調製する；$[M+H]^+$ 653.
（実施例１０５）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［（Ｅ）－（３－フェニル－アクリロイル）］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにｔｒａｎｓ－ケイヒ酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 455.
（実施例１０６）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－ベンゾイル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに安息香酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 429.
（実施例１０７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ベンゾフラン－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにベンゾフラン－５－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 469.
（実施例１０８）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－ヘキサノイル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにヘキサン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 423.
（実施例１０９）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－フェニル－プロピノイル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにフェニルプロピオル酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 453.
（実施例１１０）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－イミダゾール－２－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに２－イミダゾールカルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 419.
（実施例１１１）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－イソブチリル－１，３

，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにイソブチル酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 395.
（実施例１１２）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－シアノ－ベンゾイル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにｐ－シアノ安息香酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 454.
（実施例１１３）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ピリジン－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにニコチン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 430.
（実施例１１４）
４－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－安息香酸メチルエステル
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにモノメチルテレフタラートを使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 487.
（実施例１１５）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ピリミジン－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにピリミジン－５－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 431.
（実施例１１６）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－ヒドロキシ－ベンゾイル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに４－ヒドロキシ安息香酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 445.
（実施例１１７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－シクロヘキサンカルボニル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにシクロヘキサンカルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 435.
（実施例１１８）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（オキサゾール－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにオキサゾール－４－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 420.
（実施例１１９）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ピリジン－２－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに２－ピコリン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 430.
（実施例１２０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ピリジン－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにイソニコチン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 430.

（実施例１２１）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ピペリジン－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド塩酸塩

ジオキサン（５ｍｌ）中４Ｍ　ＨＣｌを、４－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（中間体ＢＡ）（０．１４ｇ、０．２６ｍｍｏｌ）のジオキサン（１０ｍｌ）溶液に添加し、この反応混合物を室温で３時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、得た黄色の固体をＤＣＭと共に摩砕する。ＤＣＭ層をデカントして移し、この化合物をＭｅＯＨで洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、黄色の固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 436.

（実施例１２２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１Ｈ－イミダゾール－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに４－イミダゾールカルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 419.

（実施例１２３）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（テトラヒドロ－ピラン－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにテトラヒドロピラン－４－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 437.

（実施例１２４）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（ピリミジン－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにピリミジン－４－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 431.

（実施例１２５）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（オキサゾール－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりにオキサゾール－５－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 420.

（実施例１２６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－イソブトキシ－ピペリジン－１－スルホニル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

ステップ１

Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（０．００７８ｍｌ、０．０４５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１ｍｌ）溶液を４－イソブトキシ－ピペリジン（０．００８ｇ、０．０５ｍｍｏｌ）に添加し、続いて３－（クロロスルホニル）安息香酸（９．９３ｍｇ、０．０４５ｍｍｏｌ）溶液に添加し、室温で４８時間振とうする。この溶液を減圧下で蒸発させることに

よって、３－（４－イソブトキシ－ピペリジン－１－スルホニル）－安息香酸を生成する。これを精製なしに使用する；$[M+H]^+$ 342.00.

ステップ２

３－（４－イソブトキシ－ピペリジン－１－スルホニル）－安息香酸（０．０３ｍｍｏｌ、１０．２ｍｇ）をＨＡＴＵ（１１．４ｍｇ、０．０３ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１ｍｌ）溶液で処理し、続いて３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（１１．９ｍｇ、０．０３ｍｍｏｌ）およびＮ－メチルモルホリン（０．０１０ｍｌ、０．０３ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１ｍｌ）溶液で処理し、室温で一晩振とうする。この溶液を減圧下で蒸発させ、ＤＭＳＯ（０．５ｍｌ）中に再び溶解させ、質量分析分取ＨＰＬＣで精製する。この精製留分を減圧下で蒸発させることによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 648.4.

（実施例１２７～１４５）

これらの化合物、すなわち

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［２－（１Ｈ－インドール－３－イル）－エチルスルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１２７）；１－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－ベンゼンスルホニル）－ピペリジン－３－カルボン酸エチルエステル（実施例１２８）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－シクロペンチルスルファモイル－ベンゾイル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１２７）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－（１－アセチル－ピペリジン－４－イルスルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３０）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［（テトラヒドロ－フラン－２－イルメチル）－スルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３１）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［（ピリジン－３－イルメチル）－スルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３２）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［（２，２－ジメトキシ－エチル）－メチル－スルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３３）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（２，４－ジフルオロ－ベンジルスルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３４）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（１－ピリジン－４－イル－エチルスルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３５）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（２－フェニル－モルホリン－４－スルホニル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３６）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（３－ジフルオロメトキシ－ベンジルスルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３７）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－ピロリジン－１－イル－ピペリジン－１－スルホニル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ

－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［（５－メチル－ピラジン－２－イルメチル）－スルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１３９）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（ジメチルカルバモイルメチル－スルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１４０）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（３－ベンゼンスルホニル－ピロリジン－１－スルホニル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１４１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［（［１，３］ジオキソラン－２－イルメチル）－スルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１４２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［２－（ピリジン－３－イルオキシ）－プロピルスルファモイル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１４３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［４－（５－トリフルオロメチル－ピリジン－２－イル）－［１，４］ジアゼパン－１－スルホニルＦベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１４４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（１，１－ジオキソ－テトラヒドロ－１λ＊６＊－チオフェン－３－イルスルファモイル）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１４５）；
は、ステップ１の４－イソブトキシ－ピペリジンの代わりにすべて市販されている適切なアミンを使用して、実施例１２６と同じように生成される。これらの化合物は、この反応混合物から回収され、従来の技法を使用して精製される。

【０３８５】
（実施例１４６）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［３－（４－クロロフェニル）－［１，２，４］オキサジアゾール－５－イル］－プロピオニル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミドトリフルオロアセテート
Ｎ－メチルモルホリン（３３μｌ、０．３ｍｍｏｌ）を３－（３－ｐ－トリル－［１，２，４］オキサジアゾール－５－イル）－プロピオン酸（０．１ｍｍｏｌ）に添加し、続いてペプチドグレードのＤＭＦ（２５０μｌ）中に溶解させたＨＡＴＵ（４１．８ｍｇ、０．１１ｍｍｏｌ）およびペプチドグレードのＤＭＦ（２５０μｌ）中に溶解させた３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（４０ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）を添加する。この反応物を密閉し、室温で一晩振とうする。質量分析分取ＨＰＬＣでの精製によって、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 559.3.
（実施例１４７）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（トルエン－４－スルホニル）－１Ｈ－ピロール－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド
１－（トルエン－４－スルホニル）－１Ｈ－ピロール－３－カルボン酸（０．０２３ｇ、０．０８５ｍｍｏｌ）のＮＭＰ（８５０μｌ）溶液をＰＳ－カルボジイミド（１．３ｍ

ｍｏｌ／ｇの添加量１９０ｍｇ、０．２４ｍｍｏｌ）に添加し、続いて３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．０８ｍｍｏｌ）およびＮ－メチルモルホリン（８μｌ、０．０８ｍｍｏｌ）のＮＭＰ（１ｍｌ）溶液を添加し、生成した反応混合物を室温で振とうする。この反応混合物を濾過し、樹脂をＮＭＰ（１ｍｌ）で洗浄する。収集した濾液を減圧下で濃縮し、残渣を質量分析分取ＨＰＬＣで精製する。精製留分を減圧下で蒸発させることによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 572.08.

（実施例１４８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（３，４－ジフルオロ－ベンジル）－６－オキソ－１，６－ジヒドロ－ピリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

１－（３，４－ジフルオロ－ベンジル）－６－オキソ－１，６－ジヒドロ－ピリジン－３－カルボン酸（０．１５ｍｍｏｌ）のＮＭＰ（０．５ｍｌ）溶液を、３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．０４９ｇ、０．１５ｍｍｏｌ）およびＮ－メチルモルホリン（０．０３３ｍｌ、０．３０ｍｍｏｌ）のＮＭＰ（１ｍｌ）溶液に添加し、続いてＨＡＴＵ（０．１１ｇ、０．３ｍｍｏｌ）のＮＭＰ（０．５ｍｌ）溶液を添加する。この反応混合物を室温で一晩振とうする。この反応混合物を質量分析分取ＨＰＬＣで精製する。ＳＣＸ－２カートリッジ（Ｂｉｏｔａｇｅ　１ｇ／６ｍｌカートリッジ）を介して、純粋な生成物を含有する留分を溶出し、カートリッジをＭｅＯＨ（４ｍｌ）で洗浄し、続いてＭｅＯＨ溶液（４ｍｌ）中の３Ｍ　NH_3で洗浄することによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 572.0.

（実施例１４９～２１３）

これらの化合物、

すなわち３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（３－フェニル－イソオキサゾール－５－イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１４９）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（５－フルオロ－２，３－ジヒドロ－インドール－１イル）－４－オキソ－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５０）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［３－（４－メトキシ－フェニル）－［１，２，４］オキサジアゾール－５イル］－ブチリル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５１）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－１Ｈ－インダゾール－３－イル－ブチリル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５２）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（５－メタンスルホニル－２，３－ジヒドロ－インドール－１イル）－４－オキソ－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５３）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－ベンゾチアゾール－２－イル－ブチリル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５４）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（５－ジメチルスルファモイル－２，３－ジヒドロ－インドール－１イル）－４－オキソ－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５５）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（２－オキソ

－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－インドール－３－イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（６－ジメチルアミノ－９Ｈ－プリン－８－イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（２－オキソ－３－ピリジン－３イル－２，３－ジヒドロ－ベンゾイミダゾール－１－イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（２－オキソ－３－ピリジン－３イルメチル－２，３－ジヒドロ－インドール－１－イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１５９）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（９－オキソ－３，３ａ，４，９，１０，１０ａ－ヘキサヒドロ－１Ｈ－２－アザ－ベンゾール［Ｆ］アズレン－２イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１６０）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（６－アミノ－９Ｈ－プリン－８－イル）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１６１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－オキソ－４－ピロリジン－１－イル－ブチリル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１６２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－［１，２，４］トリアゾール－１－イル－ブチリル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１６３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（５－ジベンジルスルファモイル－１－メチル－１Ｈ－ピロール－２－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１６４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［３－（４－クロロ－フェニル）－［１，２，４］オキサジアゾール－５－イル］－ブチリベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１６５）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛４－［（ナフタレン－１－スルホニルアミノ）－メチル］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１６６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛２［３－（４－クロロフェニル）－［１，２，４］オキサジアゾール－５－イルＦアセチベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１６７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（３－メトキシ－プロポキシ）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１６８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－ベンゾトリアゾール－２－イル－アセチル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１６９）
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－ベンゾトリアゾール－２－イル－アセチル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７０）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（２－イソプ

ロポキシ－エチルアミノ）－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［６－オキソ－１－（３－トリフルオロメチル－ベンジル）－１，６－ジヒドロ－ピリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［６－（４－メチル－ピペラジン－１－イル）－ピリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－フルオロ－フェニル）－５－メチル－イソオキサゾール－４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［３－（４－メトキシ－フェニル）－［１，２，４］オキサジアゾール－５－イル］－プロピオニル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７５）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（４－トリフルオロメトキシ－フェノキシ）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛２－［４－（２－オキソ－イミダゾリジン－１－イル）－フェニル］－アセチルベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（３－フェニル－イソオキサゾール－５－イル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（４－メタンスルホニル－フェニル）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１７９）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（４－クロロ－フェニル）－チアゾール－４－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８０）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（５－メチル－３－トリフルオロメチル－ピラゾール－１－イル）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［５－（ピリジン－３－イルオキシ）－フラン－２－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－メチル－チアゾール－５－イル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－メチル－５－プロピル－２Ｈ－ピラゾール３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［（Ｓ）－２－アセチルアミノ－３－（４－イソプロポキシ－フェニル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８５）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（シクロヘキシル－メチル－スルファモイル）－４－メトキシ－ベンゾイル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛２－［４－（３，

５－ジメチル－ベンゼンスルホニル）－ピペラジン－１－イル］－アセチベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－１Ｈ－インドール－３－イル－プロピオニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－［４－（４，６－ジメチル－ピリミジン－２－イルスルファモイル）－フェニルカルバモイル］－プロピオニル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１８９）；
（実施例１９０）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（２－オキソ－５－トリフルオロメチル－２Ｈ－ピリジン－１－イル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［３－（４－スルファモイル－フェニルカルバモイル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－ベンジル－５－オキソ－ピロリジン－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［（Ｒ）－２－アセチルアミノ－３－（１Ｈ－インドール－３－イル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（１－ベンゼンスルホニル－１Ｈ－ピロール３－イル）－４－オキソ－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン－アミド（実施例１９５）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－フラン－２－イルメチル－５－オキソ－ピロリジン－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（６－ピラゾール－１－イル－ピリジン－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－（（Ｒ）－１－フェニル－エチルカルバモイル）－プロピオニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［１－（４－クロロ－ベンジル）－５－オキソ－ピロリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例１９９）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（３－ｔｅｒｔ－ブチル－イソオキサゾール－５－イル）－アセチル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２００）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［６－（２，２，２－トリフルオロ－エトキシ）－ピリジン－３－カルボニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－メチル－２－ピリジン－３－イル－チアゾール－５－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－ピリジン－３－イル－プロピオニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０３）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（５－ジメチルスルファモイル－２－メチル－フラン－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－エチル－７－メチル－４－オキソ－１，４－ジヒドロ－［１，８］ナフチリジン－３－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０５）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－ピラゾール－１－イル－アセチル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－｛３－クロロ－５－メトキシ－４－［２－（４－メチル－ピペラジン－１－イル）－エトキシ］－ベンゾイベンゾイル｝－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－イミダゾール－１－イル－プロピオニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０８）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－ベンジル－１Ｈ－イミダゾール－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２０９）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（１，１－ジオキソ－１λ＊６＊－チオモルホリン－４－イル）－３－メチル－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２１０）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（トルエン－４－スルホニルアミノ）－ブチリル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２１１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１，５－ジメチル－３－オキソ－２－フェニル－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－ピラゾール－４－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２１２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－ヒドロキシ－ピリジン－２－カルボニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２１３）；
は、カルボン酸試薬の代わりに、すべて市販されているか、または「中間体化合物の調製」のセクションに記載の通りに調製される適切なカルボン酸を使用して、実施例１４６、１４７または１４８と同じように生成される。化合物をこの反応混合物から回収し、従来の技法を使用して精製する。

【０３８６】

（実施例２１４）

１－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアイラジン（triayrazine）－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアゼンスルホニル）－ピペリジン－３－カルボン酸

１－（３－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－ベンゼンスルホニル）－ピペリジン－３－カルボン酸エチルエステル（実施例１２８）（０．２９ｇ、０．４５ｍｍｏｌ）を、ＴＨＦ（４ｍｌ）中に溶解させ、２Ｍ　ＬｉＯＨ（０．２２ｍｌ、０．４５ｍｍｏｌ）を添加する。黄色溶液を室温で５時間撹拌する。減圧下での濃縮で、生成した粘着性の黄色の固体を、溶解が完了するまで、水（１５ｍｌ）中で超音波処理する。１Ｎ　ＨＣｌの添加により、ｐＨをｐＨ２に調整する。生成した黄色の固

体を濾過で収集し、水ですすぐことによって、表題化合物を生じる；$[M+H]^+$ 620.1.

（実施例２１５）

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸ベンジルアミド

ベンジルアミン（０．０１７ｍｌ、０．１５４ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１ｍｌ）溶液に、１，１’－カルボニルジイミダゾール（０．０３ｇ、０．１７ｍｍｏｌ）を添加し、生成した溶液を室温で４５分間撹拌する。これに５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．０５ｇ、０．１５ｍｍｏｌ）を添加し、黄色の懸濁液を２４時間撹拌する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中０～１００％ＭｅＣＮ）、続いてＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中７ＭNH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製によって、オフホワイト色の固体として表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 458.1.

（実施例２１６～２３１）

これらの化合物、すなわち

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸フェニルアミド（実施例２１６），

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［１－（トルエン－４－スルホニル）－１Ｈ－インドール－５－イル］－アミド（実施例２１７）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸３－（４－クロロ－フェノキシメチル）－ベンジルアミド（実施例２１８）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［３－（２，４－ジクロロ－フェニル）－プロピル］－アミド（実施例２１９）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［２－（３－ベンジルオキシ－フェニル）－エチル］アミド（実施例２２０）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［２－（５，６－ジメチル－１Ｈ－インドール－３－イル）－エチル］アミド（実施例２２１）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸４－モルホリン－４－イルメチル－ベンジルアミド（実施例２２２）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸３－ベンジルオキシ－ベンジルアミド（実施例２２３）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸（２－｛４４２－（４－フルオロ－フェニル）－エトキシ］－フェニル－エチル）－アミド（実施例２２４）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［２－（３，５－ジメトキシ－フェニル）－エチル］－アミド（実施例２２５）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［３－（４－メトキシ－ナフタレン－１－イル）－プロピル］－アミド（実施例２２６）；

２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［２－（４，６－ジメ

チル－１Ｈ－インドール－３－イル）－エチル］アミド（実施例２２７）；
２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸（３－ピリジン－２－イル－プロピル）－アミド（実施例２２８）；
２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸｛２－［４－（４－フェニル－ブトキシ）－フェニル］－エチル｝－アミド（実施例２２９）；
２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［２－（４－フェノキシ－フェニル）－エチル］－アミド（実施例２３０）；
２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸［２－（４－ベンジルオキシ－フェニル）－エチル］－アミド（実施例２３１）；
は、ベンジルアミンの代わりに、市販されているか、または「中間体化合物の調製」のセクションに記載の通りに合成される適切なアミンを使用して、実施例２１５と類似の手順で調製する。化合物を反応混合物から回収し、従来の技法、例えばフラッシュクロマトグラフィー、濾過、再結晶化および摩砕などを使用して精製する。

【０３８７】

（実施例２３２）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－フェニルメタンスルホニル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミドジヒドロクロリド（実施例３８）（０．０５ｇ、０．１５ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２ｍｌ）溶液に、α－塩化トルエンスルホニル（０．０４ｇ、０．２０ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（０．０２ｍｌ、０．１５ｍｍｏｌ）を添加し、黄色の溶液を室温で２時間撹拌する。逆相クロマトグラフィー（Ｉｓｏｌｕｔｅ（商標）Ｃ１８、水－０．１％ＴＦＡ中の０～１００％ＭｅＣＮ）、続いてＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中７Ｍ　NH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製により、黄色の固体として、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$　478.98.

（実施例２３３～２４５）

以下の化合物、すなわち

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－ベンゼンスルホニル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－メチル－１Ｈ－インドール－４－スルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－メチル－１Ｈ－インドール－５－スルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３５）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（７－クロロ－ベンゾ［１，２，５］オキサジアゾール４－スルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３６）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－フェニル－エタンスルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３７）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［４－（５－メチル－２－フェニル－オキサゾール－４－イルメトキシ）－ベンゼンスルホニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３８）；

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－フェニル－５－トリフルオロメチル－チオフェン－３－スルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２３９）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（５－シアノ－２－メトキシ－ベンゼンスルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２４０）；３
，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（４－クロロ－フェニル）－エタンスルホニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２４１）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（２－フェニル－３Ｈ－ベンゾイミダゾール－５－スルホニル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２４２）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（２－クロロ－フェニル）－エタンスルホニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２４３）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（２，２，２－トリフルオロ－アセチル）－１，２，３，４－テトラヒドロ－イソキノリン－７－スルホニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２４４）；
３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－［２－（３－クロロ－フェニル）－エタンスルホニル］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド（実施例２４５）；
は、α－塩化トルエンスルホニルの代わりに、市販されている、または「中間体化合物の調製」のセクションに記載の通りに合成される適切な塩化スルホニルを使用して、実施例２３２と類似の手順で調製する。化合物を反応混合物から回収し、従来の技法、例えばフラッシュクロマトグラフィー、濾過、再結晶化および摩砕などを使用して精製する。

【０３８８】

（実施例２４６）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（１－フェニル－エチル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

プロパン－２－オール（５０ｍｌ）中の１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレア（中間体Ａ）（１．７ｇ、４．５４ｍｍｏｌ）および４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン４－イルアミン（中間体ＢＭ）（１．６ｇ、４．５９ｍｍｏｌ）の混合物を８０℃で１６時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー（塩基性アルミナ、ＤＣＭ中０～２％ＭｅＯＨ）で精製することによって、淡黄色の固体を得る。得た化合物をさらにＭｅＯＨ中に溶解させ、ジエチルエーテルを添加することによって沈殿させる。この上清溶媒混合物をデカントして移し、生成物をジエチルエーテルで再び洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、オフホワイト色の固体として表題化合物が生成する；$[M+H]^+$ 429.

（実施例２４７）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（４－メトキシ－ベンジル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＭ）の代わりに４－アミノメチル－１－（４－メトキシ－ベンジル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＮ）を使用して、実施例２４６と同じように調製する；$[M+H]^+$ 445.

（実施例２４８）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－ピリジン－４－イルメチル－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＭ）の代わりに４－アミノメチル－１－ピリジン－４－イルメチル－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＯ）を使用して、実施例２４６と同じように調製する；$[M+H]^+$ = 416.

（実施例２４９）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－（３－フェニル－プロピル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＭ）の代わりに４－アミノメチル－１－（３－フェニル－プロピル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＰ）を使用して、実施例２４６と同じように調製する；$[M+H]^+$ 443.

（実施例２５０）

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［８－シクロヘキシルメチル）－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカ－（２Ｅ）－イリデン］－アミド

この化合物は、４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＭ）の代わりに４－アミノメチル－１－シクロヘキシルメチル－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＱ）を使用して、実施例２４６と同じように調製する；$[M+H]^+$ 421.

（実施例２５１）

（Ｅ）－ｔｅｒｔ－ブチル２’－（３，５－ジアミノ－６－クロロピラジン－２－カルボニルイミノ）－８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－８－カルボン酸塩

この化合物は、４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミン（中間体ＢＭ）の代わりに３－アミノ－３－アミノメチル－８－アザ－ビシクロ［３．２．１］オクタン－８－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（中間体ＢＲ）を使用して、実施例２４６と同じように調製する；$[M+H]^+$ 451.

（実施例２５２）

（Ｅ）－Ｎ－（８－（１Ｈ－インドール－４－カルボニル）－８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－２’－イリデン）－３，５－ジアミノ－６－クロロピラジン－２－カルボキサミド

ステップ１

ヨードトリメチルシラン（０．２３ｍｌ、１．６６ｍｍｏｌ）を、（Ｅ）－ｔｅｒｔ－ブチル２’－（３，５－ジアミノ－６－クロロピラジン－２－カルボニルイミノ）－８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－８－カルボキシレート（実施例２５１）（５００ｍｇ、１．１１ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１０ｍｌ）懸濁液に添加する。次いでＤＭＦ（５ｍｌ）を添加し、この反応物を室温で一晩撹拌する。ヨードトリメチルシラン（０．５ｍｌ）を添加し、この反応混合物を減圧下で濃縮する。黄色固体をＤＣＭ中に懸濁させ、濾過で収集する。この固体を１：１ＭｅＯＨ／ＤＣＭ中に溶解させ、ＤＣＭ続いてＭｅＯＨおよびNH_3／ＭｅＯＨで溶出するＳＣＸ－２カートリッジに充填する。メタノールアンモニア留分を減圧下で濃縮することによって、黄色のゴムとして、（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－Ｎ－（８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－２’－イリデン）ピラジン－２－カルボキサミドを生成する；$[M+H]^+$ 351.

ステップ２

（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－Ｎ－（８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－２’－イリデン）ピラジン－２－カルボキサミド（１７０ｍｇ、０．４９ｍｍｏｌ）を、ＨＡＴＵ（１８４ｍｇ、０．４９ｍｍｏｌ）および４－インドール－カルボン酸（７８ｍｇ、０．４９ｍｍｏｌ）と共にＤＭＦ（１０ｍｌ）中に溶解する。Ｎ－メチルモルホリン（１６０ｍｌ、１．４５ｍｍｏｌ）を添加し、この溶液を室温で一晩撹拌する。次いでこの混合物を減圧下で濃縮する。ＥｔＯＡｃ

（１００ｍｌ）を添加し、この溶液を水（１００ｍｌ）で洗浄する。有機相を乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮する。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ）での精製により、黄色の固体として、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 494.15，Cl同位体については496.27.

（実施例２５３）

（Ｅ）－３，５－ジアミノ－Ｎ－（８－（３－（４－（ベンジルオキシ）フェニル）プロパノイル）－８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－２’－イリデン）－６－クロロピラジン－２－カルボキサミド

（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－Ｎ－（８－アザスピロ［ビシクロ［３．２．１］オクタン－３，４’－イミダゾリジン］－２’－イリデン）ピラジン－２－カルボキサミド（実施例２５２に対して記載の通りに調製）（２８０ｍｇ、０．７９８ｍｍｏｌ）を、ＨＡＴＵ（３０３ｍｇ、０．７９８ｍｍｏｌ）および３－（４－ベンジルオキシ－フェニル）－プロピオン酸（２０５ｍｇ、０．７９８ｍｍｏｌ）と共にＤＭＦ（８ｍｌ）中に溶解する。Ｎ－メチルモルホリン（０．２６３ｍｌ、２．３９４ｍｍｏｌ）を添加し、溶液を室温で６時間撹拌する。次いでこの混合物を減圧下で濃縮する。ＥｔＯＡｃ（１００ｍｌ）を添加し、この溶液を水（１００ｍｌ）で洗浄する。有機相を乾燥させ（$MgSO_4$）、濃縮する。残渣をＭｅＯＨ（２０ｍｌ）中に溶解させ、乾燥させ、シリカ（５ｇ）上に充填する。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ）での精製によって、黄褐色の固体として、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 589.20，Cl同位体については591.19.

中間体化合物の調製

中間体Ａ

１－（３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニル）－２－メチル－イソチオウレアヒドロヨージド

方法１

この化合物は、Cragoe，Edward J.，Jr.；Woltersdorf，Otto W.，Jr.；De Solms，Susan Janeの複素環式置換されたピラジノイルグアニジンおよびこれらを含有する医薬組成物、ＥＰ１７１５２、４頁に従い調製する。

【０３８９】

方法２

ステップ１

ＭｅＯＨ（５００ｍｌ）中の３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸メチルエステル（１１０ｇ、５４２．９ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液を、５～１０℃（氷浴）で、水（５００ｍｌ）中の水酸化リチウム（４６．６ｇ、ベンゾイル｝ベンゾイル｝ｍｍｏｌ）の懸濁液を滴下して処理する。この反応混合物を５時間に渡り５０℃に加熱する。次いで室温に冷却し、一晩撹拌する。生成した沈殿物を濾過で収集し、真空オーブン内で乾燥させることによって、リチウム塩（二水和物）としてリチウム３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸を生成する；$[M-Li]^-$ 187.

ステップ２

トルエン（７５ｍｌ）中のＳ－メチル－イソ－チオウレアスルフェート（１０ｇ、３５．９ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液を、室温で、４Ｍ ＮａＯＨ（１５ｍｌ）で処理する。この二相混合物に、二炭酸ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（３．２７ｇ、１５ｍｍｏｌ）を一度に添加する。この反応混合物を室温で１時間撹拌し、次いで一晩６０℃に加熱する。この有機物の部分を分離し、ブライン溶液で洗浄し、次いでNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で粘性の油へと濃縮する。これを高減圧下で晶出させることによって、無色の固体として、ｔｅｒｔ－ブチルアミノ（メチルチオ）メチレンカルバメートを生成する。

【０３９０】

ステップ３

ＤＭＦ（４００ｍｌ）中のリチウム３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸（２２．６ｇ、９８．０３ｍｍｏｌ）の撹拌懸濁液を、窒素の不活性雰囲気下、

ＨＡＴＵ（４１ｇ、１０７．８３ｍｍｏｌ）で少しずつ処理する。この反応混合物を室温で２時間撹拌し、次いでｔｅｒｔ－ブチルアミノ（メチルチオ）メチレンカルバメート（２０．５ｇ、１０７．８３ｍｍｏｌ）を少しずつ１０分間に渡り添加する。この反応混合物を室温でさらに１．５時間撹拌し、次いで５０℃に加熱し、一晩撹拌する。生成した沈殿物を熱濾過し、水で洗浄し、真空オーブン（４０℃）内で一晩乾燥させることによって、ｔｅｒｔ－ブチル（３，５－ジアミノ－６－クロロピラジン－２－カルボキサミド）（メチルチオ）メチレンカルバメートを生成する；$[M+H]^+$ 361.

ステップ４

ｔｅｒｔ－ブチル（３，５－ジアミノ－６－クロロピラジン－２－カルボキサミド）（メチルチオ）メチレンカルバメート（５０ｇ、１３９ｍｍｏｌ）を、ＤＣＭ（５００ｍｌ）中でスラリー化する。ＴＦＡ（５３．４ｍｌ、６９３ｍｍｏｌ）をＤＣＭ（１００ｍｌ）中に溶解させ、４５分に渡り滴下することによって、褐色溶液を形成する。この溶液を室温で一晩撹拌し、この後で黄色の沈殿物が形成する。固体を濾過で収集し、減圧下で乾燥することによって、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 261.1.

中間体Ｂ

（（Ｓ）－５，６－ジアミノ－ヘキシル）－カルバミン酸ベンジルエステル：

ステップ１

ＢＯＣ－リシノール－（Ｚ）－ＯＨ（０．５ｇ、１．３６ｍｍｏｌ）の乾燥ＴＨＦ（１ｍｌ）溶液を、アルゴンの不活性雰囲気下、ＰＳ－トリフェニルホスフィン（０．９１ｇ、３．００ｍｍｏｌ／ｇ添加量）で処理する。この混合物に、乾燥ＴＨＦ（４ｍｌ）中のフタルイミド（０．２ｇ、１．３６ｍｍｏｌ）およびＤＥＡＤ（０．２４ｍｌ、１．５０ｍｍｏｌ）を添加し、この反応混合物を室温で一晩撹拌する。減圧下、樹脂を濾過で取り除き、濾液を減圧下で濃縮する。粗製の白色固体を、イソ－ヘキサン（１％ＴＥＡ）中の２０～５０％ＥｔＯＡｃで溶出するシリカ上のクロマトグラフィーで精製することによって、白色の結晶固体として、［（Ｓ）－５－ベンジルオキシカルボニルアミノ－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－ペンチルベンゾイル（pentybenzoyl）｝－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 496.

ステップ２

［（Ｓ）－５－ベンジルオキシカルボニルアミノ－１－（１，３－ジオキソ－１，３－ジヒドロ－イソインドール－２－イルメチル）－ペンチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（０．６３ｇ、１．２７ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５．１ｍｌ）およびＥｔＯＨ（５．１ｍｌ）溶液をヒドラジン水化物（０．３１８ｇ、６．３５ｍｍｏｌ）で処理し、この反応混合物を室温で一晩撹拌する。白色沈殿物が形成する。これを濾過で取り除き、ＤＣＭ（３×１０ｍｌ）で洗浄する。濾液を減圧下で濃縮し、ＤＣＭ（１５ｍｌ）およびＭｅＯＨ（２ｍｌ）中に再び溶解する。溶解していない物質を濾過で取り除き、濾液を減圧下で濃縮する。生成した油性の黄色の固体を、ＤＣＭ（１％ＴＥＡ）中の１０～５０％ＭｅＯＨで溶出するシリカクロマトグラフィーで精製することによって、透明な油として、（（Ｓ）－１－アミノメチル－５－ベンジルオキシカルボニルアミノ－ペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 366.

ステップ３

（（Ｓ）－１－アミノメチル－５－ベンジルオキシカルボニルアミノ－ペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（０．２４ｇ、０．６５７ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２．４ｍｌ）溶液を、ＴＦＡ（０．６ｍｌ）を滴下して処理し、および室温で３日間撹拌する。この溶媒を減圧下で除去することによって、黄色の油として、（（Ｓ）－５，６－ジアミノ－ヘキシル）－カルバミン酸ベンジルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 266.

中間体Ｃ

４－［４－（２－アミノ－エチルアミノ）－ブチル］－フェノールおよびＮ＊１＊－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチル］－エタン－１，２－ジアミンの混合物

ステップ１

４－メトキシフェニルブタン酸（６．９９ｇ、３６ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（７０ｍｌ）溶液をＥＤＣＩ（７．６ｇ、３６．９ｍｍｏｌ）で処理し、続いてＮ－エチルモルホリン（９．２ｍｌ、７２ｍｍｏｌ）で処理する。室温で１時間撹拌後、Ｎ－ＢＯＣ－エチレンジアミン（５．８４ｇ、３６ｍｍｏｌ）を添加し、生成した混合物を室温で一晩撹拌する。炭酸水素ナトリウム飽和溶液を添加することにより、この反応物をクエンチし、ＥｔＯＡｃで抽出する。有機物の部分をクエン酸溶液、ブラインで洗浄し、（$MgSO_4$）で乾燥させ、２５ｍｌの溶媒が残るまで、減圧下で濃縮する。この懸濁液を濾過することによって、白色固体として、｛２－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチリルアミノ］－エチル｝－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルが生成する。

【０３９１】

ステップ２

アルゴンの不活性雰囲気下、｛２－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチリルアミノ］－エチル｝－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（６ｇ、１７．８８ｍｍｏｌ）の乾燥ＴＨＦ（６０ｍｌ）溶液をボランで慎重に処理する。ＴＨＦ複合体（５３．８８ｍｌ、ＴＨＦ中１Ｍボラン）。この反応混合物を２時間加熱還流し、次いで一晩室温まで冷却させておく。ＭｅＯＨの添加により、この混合物をクエンチし、次いでさらに２時間に渡り７０℃に加熱する。室温まで冷却後、溶媒を減圧下で除去することによって、粘性の油として、｛２－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチルアミノ］－エチル｝－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 323.

ステップ３

４８％ＨＢｒ溶液（３０ｍｌ）中の｛２－［４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチルアミノ］－エチル｝－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（５．８５ｇ、１８．１ｍｍｏｌ）の懸濁液を２時間加熱還流する。室温まで冷却後、溶媒を減圧下で除去する。この粗製残留物をＥｔＯＡｃ中に懸濁させ、濾過することによって、４－［４－（２－アミノ－エチルアミノ）－ブチル］－フェノールおよびＮ＊１＊－１４－（４－メトキシ－フェニル）－ブチル］－エタン－１，２－ジアミンの約１：１比の混合物からなる固体を生成する；$[M+H]^+$ 209および223.

中間体Ｄ

（Ｓ）－３－（４－メトキシ－フェニル）－プロパン－１，２ジアミン

（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－メトキシ－フェニル）－プロピオンアミドを、３８８０頁に記載の手順、Journal of Physical Chemistry B、１０８巻（１２号）、３８７９～３８８９頁；２００４年の方法２．１．３に従い調製し、中間体Ｃと同じように還元する。

【０３９２】

中間体Ｅ

１－（３，４－ジクロロ－フェニル）－エタン－１，２－ジアミン

この化合物を、Journal of Medicinal Chemistry（１９７３年）、１６巻（８号）、９０１～８頁の中の９０７頁、方法５に記載の手順に従い調製する。

【０３９３】

中間体Ｆ

４，５－ジアミノペンタン酸ジヒドロクロリド

「Radiolabeling chelating compounds comprising sulfur atoms, with metal radionuclides」ＥＰ３００４３１　１２頁、中間体３に記載の手順に従い、この化合物を調製する。

【０３９４】

中間体Ｇ

４－アミノ－１－ベンジル－ピペリジン－４－カルボニトリル

ステップ１

塩化アンモニウム（１．７３ｇ、３２．３ｍｍｏｌ）の水（２０ｍｌ）溶液に、３０％アンモニア溶液（２ｍｌ）を添加し、続いて１－ベンジル－４－ピペリドンを添加する。

２０分後、シアン化ナトリウム（１．４７ｇ、３０ｍｍｏｌ）を１５分間に渡り少しずつ添加する。１時間撹拌後、水（５０ｍｌ）を添加し、生成物をＤＣＭ（３×５０ｍｌ）で抽出し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下で濃縮する。イソ－ヘキサン中５０～１００％ＥｔＯＡｃで溶出するシリカクロマトグラフィーでの精製により、４－アミノメチル－１－ベンジル－ピペリジン－４－イルアミンを生成する；$[M+H]^+$　216

ステップ２

アルゴン雰囲気下で０℃に冷却した、水素化リチウムアルミニウム（ＴＨＦ中１Ｍ、１０．４ｍｌ）の乾燥ジエチルエーテル（１５ｍｌ）溶液に乾燥ジエチルエーテル（１５ｍｌ）中の４－アミノメチル－１－ベンジル－ピペリジン－４－イルアミン（９００ｍｇ、４．１８ｍｍｏｌ）を滴下する。この反応混合物を２４時間加熱還流し、次いで０℃に冷却する。水（０．２５ｍｌ）を添加し、続いて１５％ＮａＯＨ水溶液（０．２５ｍｌ）を添加し、次いで水（０．７ｍｌ）を添加する。室温まで温めた後、$MgSO_4$（１５０ｍｇ）を添加し、１５分間撹拌する。この固体を吸引濾過で取り除き、濾液を蒸発させて油を得る。ソックスレー抽出器を使用して、この固体を還流しているジエチルエーテル（８０ｍｌ）で１４時間抽出する。ジエチルエーテルを減圧下で除去し、２つの油を合わせ、ジクロロメタン中で、メタノール溶液中１０～２５％の２Ｍアンモニアで溶出するシリカクロマトグラフィーで精製することによって、４－アミノ－１－ベンジル－ピペリジン－４－カルボニトリルを得る；$[M+H]^+$　220

中間体Ｈ

５－１４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニルベンゾイル｝－ペンタン－１，２－ジアミン

ステップ１

アセトン（２００ｍｌ）中の３－（４－ヒドロキシフェニル）－１－プロパノール（１０ｇ、６６ｍｍｏｌ）および炭酸カリウム（１３．５ｇ、１００ｍｍｏｌ）に、（Ｓ）－グリシドール（６．５ｍｌ、１００ｍｍｏｌ）を添加する。この混合物を１８時間加熱還流する。室温まで冷却後、溶媒を減圧下で除去し、残渣をＥｔＯＡｃと水との間で分割する。水層をＥｔＯＡｃでさらに２回抽出し、合わせた有機物の部分を水、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下で濃縮する。１：１ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサンで溶出するシリカフラッシュカラムクロマトグラフィーで、粗製残留物を精製することによって、白色固体として（Ｓ）－３－［４－（３－ヒドロキシキシ－プロピル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオールを生成する；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.20 (1H, br), 1.85 (2H, 五重線, J = 6.8 Hz), 1.98 (1H, br), 2.58 (1H, br), 2.65 (2H, tr, J = 6.9 Hz), 3.56 (2H, tr, J = 6.8 Hz), 3.72 (1H, m), 3.83 (1H, m), 4.00 (2H, dd, J = 2.1 Hz, J = 6.5 Hz), 4.09 (1H, br), 6.82 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.10 (2H, d, J = 7.4 Hz).

ステップ２

乾燥ＤＭＦ（１５０ｍｌ）中の（Ｓ）－３－［４－（３－ヒドロキシ－プロピル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール（ベンゾイル｝．５ｇ、５０．９ｍｍｏｌ）に、ｐ－トルエンスルホン酸ピリジニウム（１．２８ｇ、５ｍｍｏｌ）および２，２－ジメトキシプロパン（３１ｍｌ、２５０ｍｍｏｌ）を添加する。この混合物を室温で１８時間撹拌し、次いで溶媒を減圧下で除去し。残渣をＥｔＯＡｃ（１５０ｍｌ）中に溶解させ、水、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮する。１：４ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン～１：１ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサンで溶出するシリカクロマトグラフィーで残渣を精製することによって、無色の油として（３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロパン－１－オールを生成する；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.25 (1H, br), 1.39 (3H, s), 1.43 (3H,s), 1.85 (2H, 五重線, J = 6.9 Hz), 2.63 (2H, tr, J = 6.9 Hz), 3.63 (2H, tr, J = 6.9 Hz), 3.90 (2H, m), 4.02 (1H, m), 4.12 (1H, m), 4.50 (1H, 五重線, J = 6.8 Hz), 6.82 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.10 (2H, d, J = 7.4 Hz).

ステップ３

乾燥エーテル（１５０ｍｌ）中の（３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロパン－１－オール（１２．２ｇ、４６ｍｍｏｌ）に、ＴＥＡ（１２．８ｍｌ、９２ｍｍｏｌ）を添加する。この混合物を０℃に冷却し、メタンスルホニルクロリド（５．３ｍｌ、６９ｍｍｏｌ）を滴下して処理する。この反応混合物を室温まで温めておき、次いで３時間撹拌を継続する。生成した混合物を、水（２×１００ｍｌ）、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮することによって、白色固体として、メタンスルホン酸３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピルエステルを得る；^1H NMR($CDCl_3$): 1.39 (3H, s), 1.43 (3H,s), 2.02 (2H, 五重線, J = 6.9 Hz), 2.63 (2H, tr, J = 6.9 Hz), 3.00 (3H,s), 3.90 (2H, m), 4.05 (1H, m), 4.14 (3h, m), 4.46 (1H, 五重線, J = 6.8 Hz), 6.82 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.10 (2H, d, J = 7.4 Hz).

ステップ４

アセトン（２００ｍｌ）中のメタンスルホン酸３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピルエステル（１１．８ｇ、３４．２ｍｍｏｌ）を臭化リチウム（８．９ｇ、１００ｍｍｏｌ）で処理し、次いで５時間加熱還流する。室温まで冷却後、この混合物を減圧下で濃縮する。生成した残渣をＥｔＯＡｃ（１５０ｍｌ）中に溶解させ、水（２×５０ｍｌ）、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下で濃縮することによって、油を得る。４：１イソ－ヘキサン／ＥｔＯＡｃで溶出するシリカクロマトグラフィーでの精製により、無色の油として、（Ｒ）－４－［４－（３－ブロモ－プロピル）－フェノキシメチル］－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソランを得る。これは固体化する；^1H NMR ($CDCl_3$): 1.39 (3H, s), 1.43 (3H,s), 2.02 (2H, 五重線, J = 6.9 Hz), 2.63 (2H, tr, J = 6.9 Hz), 3.38 (2H, tr, J = 6.9 Hz), 3.90 (2H, m), 4.02 (1H, m), 4.15 (1H, m), 4.46 (1H, 五重線, J = 6.9 Hz), 6.82 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.10 (2H, d, J = 7.4 Hz).

ステップ５

Ｎ－（ジフェニルメチレン）アミノアセトニトリル（５．１４ｇ、２３．４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１２ｍｌ）溶液を、ＤＣＭ（１２ｍｌ）中の（Ｒ）－４－［４－（３－ブロモ－プロピル）－フェノキシメチル］－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン（８．１ｇ、２４ｍｍｏｌ）で処理し、０℃に冷却する。４８％ＮａＯＨ水溶液（２０ｍｌ）を添加し、続いてベンジルトリエチルアンモニウムクロリド（５３０ｍｇ、２．４ｍｍｏｌ）を添加し、生成した混合物を室温まで温めておく。４時間激しく撹拌後、混合物をＤＣＭ（１００ｍｌ）で希釈し、水性部分を除去する。有機層を水（２×５０ｍｌ）、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下で濃縮する。１５：１イソ－ヘキサン／ジエチルエーテルから４：１イソ－ヘキサン／ジエチルエーテルで溶出するシリカクロマトグラフィーで粗生成物を精製することによって、黄色の油として、２－（ベンズヒドリリデン－アミノ）－５４４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］ペンタンニトリルを得る；^1H NMR ($CDCl_3$): ジアステレオ異性体の混合物; 1.39 (3H, s), 1.43 (3H,s), 1.71 (2H, m), 1.80-1.98 (2H, m), 2.52 (2H, tr, J = 7.0 Hz) 3.90,(2H, m), 4.02 (1H, m), 4.10-4.22 (2H, m), 4.47 (1H, 五重線, J = 6.9 Hz), 6.82 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.05 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.19 (2H, m), 7.35 (2H, tr, J = 7.2 Hz), 7.40-7.50 (4H, m), 7.60 (2H, d, J = 7.1 Hz).

ステップ６

２－（ベンズヒドリリデン－アミノ）－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］ペンタンニトリル（７．２ｇ、１５．５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（５０ｍｌ）溶液に、２Ｍ　ＨＣｌ水溶液（ａｑ）（５ｍｌ）

を添加する。溶液を４０℃で４時間加熱し、次いで室温まで冷却させておく。炭酸水素ナトリウム飽和水溶液を使用して、ｐＨをｐＨ９～１０に調整し、有機溶剤を減圧下で除去する。粗製残留物をＥｔＯＡｃ（１００ｍｌ）中に溶解させ、水、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下で濃縮する。５：１～１：１イソ－ヘキサン／エチルＥｔＯＡｃおよび１％トリエチルアミンで溶出するシリカクロマトグラフィーで生成した残渣を精製することによって、無色の油として、２－アミノ－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ペンタンニトリルが生じ、これを固体化する；^1H NMR ($CDCl_3$): ジアステレオ異性体の混合物; 1.39 (3H, s), 1.43 (3H,s), 1.70-1.87 (4H, m), 2.60 (2H, tr, J = 7.1 Hz), 3.62 (1H, br), 3.90 (2H, m), 4.00-4.18 (2H, m), 4.48 (1H, 五重線, J = 6.9 Hz), 6.82 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.10 (2H, d, J = 7.4 Hz). $[M+H]^+$ 305.

ステップ７

２－アミノ－５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ペンタンニトリル（１．７ｇ、４．２８ｍｍｏｌ）のメタノール溶液（５０ｍｌ）中２Ｍアンモニアの中の溶液は、５０℃で、水素ガス圧力５０バールおよび流速１．５ｍｌ／ｍｉｎで、ラネーニッケルＣａｔＣａｒｔを取り付けたＨ－ＣＵＢＥ装置を通過させる。この溶液を５時間継続サイクルにかけた後、この反応混合物を減圧下で濃縮することによって、淡黄色の油として、５－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－ペンタン－１，２－ジアミンを得る；$[M+H]^+$ 309.

中間体Ｉ

５－（４－メトキシ－フェニル）－ペンタン－１，２－ジアミン

この化合物は、（３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロパン－１－オールの代わりに４－（４－メトキシフェニル）－１－ブタノールを使用して、中間体Ｈと同じように調製する。

【０３９５】

中間体Ｊ

１－アミノメチル－シクロペンチルアミン

ステップ１

アルゴン大気下、（１－シアノ－シクロペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（４３０ｍｇ、２．０４ｍｍｏｌ）の乾燥ＴＨＦ（４．３ｍｌ）中の０℃に冷却した溶液に、１．０Ｍ $LiAlH_4$（６．１３ｍｌ、６．１３ｍｍｏｌ）を滴下する。この反応混合物を室温まで温めておき、３．５時間撹拌する。次いでこの混合物を０℃に再冷却し、水（０．４ｍｌ）：１５％ＮａＯＨ（０．８ｍｌ）：水（１．２ｍｌ）（１：２：３当量）で注意してクエンチする。Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）（フィルター物質）を介して、生成した混合物を濾過することによって、無機の固体を取り除き、ＭｅＯＨですすぐ。濾液を減圧下で濃縮することによって、白色固体を得る。これを、ＤＣＭ中の３０％ＭｅＯＨで溶出するシリカクロマトグラフィーで精製することによって、（１－アミノメチル－シクロペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 215.

ステップ２

ヨードトリメチルシラン（０．０９１ｍｌ、０．６７ｍｍｏｌ）を（１－アミノメチル－シクロペンチル）－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（１２０ｍｇ、０．５６ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（２．４ｍｌ）溶液に滴下し、一晩撹拌したままにしておく。生成した懸濁液をＭｅＯＨ（２．４ｍｌ）でクエンチし、減圧下で濃縮することによって、暗色の油として１－アミノメチル－シクロペンチルアミンを得る。これをさらなる精製なしに使用する。

【０３９６】

中間体Ｋ

（４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノール
ステップ１および２
（Ｒ）－２－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルアミノ－５－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシ－フェニル）－ペンタン酸エチルエステルを、Ding, Chuanyong.；Ma, Rujian.；Rong, Guobin.、Preparation of w-Phenyl-(2S)-N-Boc-amino Acid Ethyl esters；Chinese Journal of Organic Chemistry ２６巻（１２号）２００６年、１６９４＆１６９５頁の手順に従い、実施例２ａにおいて、エチルＢｏｃ－Ｌ－ピログルタメートの代わりにエチルＢｏｃ－Ｄ－ピログルタメートを使用し、ブロモメチル－ベンゼンの代わりに１－ブロモ－４－ｔｅｒｔ－ブトキシ－ベンゼンを使用して、調製ステップ２．２、２．３、および２．５を使用して調製する；$[M+H]^+$ 394.
ステップ３
（Ｒ）－２－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルアミノ－５－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシ－フェニル）－ペンタン酸エチルエステル（１７９ｇ、４６０ｍｍｏｌ）を、７ＭのＮＨ$_3$のＭｅＯＨ溶液（４００ｍｌ、２８００ｍｍｏｌ）に溶解させ、室温で４日間撹拌する。温度を３０℃より低く保ちながら、この反応物を減圧下で濃縮することによって、［（Ｒ）－４－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシ－フェニル）－１－カルバモイル－ブチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 364.
ステップ４
１ＭのＨＣｌのＥｔ$_2$Ｏ溶液（４０００ｍｌ）中の［（Ｒ）－４－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシ－フェニル）－１－カルバモイル－ブチル］－カルバミン酸ｔｅｒｔブチルエステル（１６７ｇ、４５８ｍｍｏｌ）を室温で３日間撹拌する。この後、白色固体が形成する。これを濾過で収集し、Ｅｔ$_2$Ｏで洗浄することによって、（Ｒ）－２－アミノ－５－（４－ヒドロキシ－フェニル）－ペンタン酸アミドを得る；$[M+H]^+$ 209.
ステップ５
ＴＨＦ（２５０ｍｌ）中の（Ｒ）－２－アミノ－５－（４－ヒドロキシ－フェニル）－ペンタン酸アミド（５ｇ、２４．０１ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、イミダゾール（４．９０ｇ、７２ｍｍｏｌ）を添加し、続いてｔｅｒｔ－ブチルジメチルクロロシラン（３．９８ｇ、２６．４ｍｍｏｌ）を添加する。生成した溶液を７０℃で４時間加熱し、次いで室温まで冷却させておく。Ｅｔ$_2$Ｏ（２００ｍｌ）で希釈し、水（２×１００ｍｌ）およびブライン（１００ｍｌ）で洗浄し、ＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮することによって、（Ｒ）－２－アミノ－５－［４－（ｔｅｒｔ－ブチル－ジメチル－シラニルオキシ）－フェニル］－ペンタン酸アミドを得る；$[M+H]^+$ 323.
ステップ６
（Ｒ）－２－アミノ－５［４－（ｔｅｒｔ－ブチル－ジメチル－シラニルオキシ）－フェニル］－ペンタン酸アミド（７．７４ｇ、２４ｍｍｏｌ）のＴＨＦ溶液を５℃で撹拌し、ボラン（ＴＨＦ中１Ｍ溶液９６ｍｌ、９６ｍｍｏｌ）を添加する。均一な混合物が得られるまでこの混合物を５℃で撹拌し、次いで室温で３０分間撹拌し、３５℃で３時間撹拌する。この後、さらにボラン（ＴＨＦ中１Ｍ溶液２４ｍｌ、２４ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を３５℃で１８時間加熱する。この後、追加分のボラン（ＴＨＦ中１Ｍ溶液２４ｍｌ、２４ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を３５℃でさらに２４時間加熱する。この後、この反応物を１０℃に冷却し、ＭｅＯＨ（５０ｍｌ）を－５℃で滴下することによってクエンチする。室温まで温めた後、溶媒を減圧下で除去することによって、黄色の油を生成する。この油をＭｅＯＨ（２５０ｍｌ）中に溶解させ、ＳＣＸ－２シリカ（１８０ｇ、０．６３ｍｍｏｌ／ｇ、１２０ｍｍｏｌ）を添加する。シリカ懸濁液を１８時間振とうし、シリカを濾過で取り除き、ＭｅＯＨ（３×１００ｍｌ）で洗浄し、次いでＭｅＯＨ中の７Ｍ　ＮＨ$_3$に懸濁させ、１８時間振とうする。シリカを濾過で取り除き、ＭｅＯＨ中の７Ｍ　ＮＨ$_3$を減圧下で取り除くことによって、黄色の油として、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 195.
中間体Ｌ
４－（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノール

この化合物は、ステップ１のエチルＢｏｃ－Ｄ－ピログルタメートの代わりにエチルＢｏｃ－Ｌ－ピログルタメートを使用して、中間体Ｋ（ＮＶＰ－ＱＢＭ３３３）と同じように調製する；$[M+H]^+$ 195.

中間体Ｍ

（Ｒ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメート

（４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノール（中間体Ｋ）（７７５ｍｇ、１．９９ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１０ｍｌ）溶液に、トリエチルアミン（１．１４ｍｌ、８．０８ｍｍｏｌ）および二炭酸ジ－ｔｅｒｔ－ブチル（１．３３ｇ、６．０８ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（１０ｍｌ）溶液を添加し、生成した溶液を室温で１８時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、残渣をクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）で精製することによって、表題化合物を生成する；$[M+H]^+$ 395.

中間体Ｎ

（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメート

この化合物は、中間体Ｋ、（４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノールの代わりに、中間体Ｌ、４－（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノールを使用して、中間体Ｍ、（Ｒ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメートと同じように調製する；$[M+H]^+$ 395.

中間体Ｏ

（Ｒ）－３－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール

ステップ１

トリエチルアミン（８．３７μｌ、０．０６ｍｍｏｌ）および（Ｒ）－（＋）－グリシドール（９６μｌ、１．４４２ｍｍｏｌ）を、（Ｒ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメート（中間体Ｍ）（４７４ｍｇ、１．２０ｍｍｏｌ）のＥｔＯＨ（５ｍｌ）溶液に添加し、生成した溶液を９０℃で１８時間加熱する。この反応物を室温まで冷却させておき、減圧下で濃縮する。クロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）での精製により、｛（Ｒ）－２－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルアミノ－５－［４－（（Ｒ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］－ペンチル｝－カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 469.

ステップ２

｛（Ｒ）－２－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルアミノ－５－［４－（（Ｒ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－フェニル］－ペンチル｝カルバミン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（９４ｍｇ、０．２０１ｍｍｏｌ）を、１Ｍ　ＨＣｌのEt_2O（３ｍｌ）溶液と共に１８時間撹拌し、次いでＭｅＯＨ（３０ｍｌ）、続いてＭｅＯＨ（３０ｍｌ）中７ＭNH_3で洗浄した１ｇ　ＳＣＸ－２カートリッジに充填する。NH_3留分を減圧下で濃縮することによって、表題化合物、（Ｒ）－３－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール、中間体Ｈ（Ｒ）－３－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオールを得る；$[M+H]^+$ 269.

中間体Ｐ

（Ｒ）－３－［４－（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－プロパン－１，２－ジオール

この化合物は、（Ｒ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメート（中間体Ｍ）の代わりに、（Ｓ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメート（中間体Ｎ）を使用して、中間体Ｏと同じように調製する；$[M+H]^+$ 269.

中間体Ｑ

２－［４－（（Ｒ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－フェノキシ］－１－モルホリン－４－イル－エタノン

（Ｒ）－ｔｅｒｔ－ブチル５－（４－ヒドロキシフェニル）ペンタン－１，２－ジイルジカルバメート（中間体Ｍ）（４４６ｍｇ、０．５６５ｍｍｏｌ）およびCs_2CO_3（３６８ｍｇ、１．１３１ｍｍｏｌ）をＤＭＦ（１０ｍｌ）中に溶解させ、２－ブロモ－１－モルホリンエタノン（１１８ｍｇ、０．５６５ｍｍｏｌ）を添加する。この反応物を室温で４０分間撹拌し、次いで水（２０ｍｌ）で希釈し、ＥｔＯＡｃ（２×５０ｍｌ）で抽出する。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で濃縮することによって、透明な油を得る。Ｗａｔｅｒｓ３０００分取ＨＰＬＣ系（Ｍｉｃｒｏｓｏｒｂ（商標）Ｃ１８水／ＭｅＣＮ＋０．１％ＴＦＡ）でのクロマトグラフィーでの精製により、透明な油を得る。これをジオキサン（４ｍｌ）中に溶解させ、ジオキサン（４ｍｌ）中４Ｍ　ＨＣｌで処理し、室温で４日間撹拌する。減圧下での濃縮により、白色の泡状物が生成する。これをＭｅＯＨ（３ｍｌ）中に溶解させ、ＭｅＯＨ（６０ｍｌ）およびＭｅＯＨ（６０ｍｌ）中の７Ｍ　NH_3で洗浄した１０ｇ　ＳＣＸ－２カートリッジに充填する。NH_3留分を合わせ、減圧下で濃縮することによって、無色の油として表題化合物を得る；$[M+H]^+$　322.

中間体Ｒ

５－（４－メトキシ－フェニル）－ヘキサン－１，２－ジアミン

この化合物は、４－（４－メトキシフェニル）－１－ブタノールの代わりに４－（４－メトキシフェニル）－１－ペンタノールを使用して、中間体Ｉと同じように調製する。

【０３９７】

中間体Ｓ

（（Ｓ）－４，５－ジアミノ－ペンチル）－カルバミン酸ベンジルエステル

ステップ１

濃縮ＨＣｌ（１５ｍｌ）を、２，２－ジメトキシプロパン（１５０ｍｌ）中のＮａ－ＢＯＣ－Ｎ８－Ｚ－Ｌ－オルニチン（５．００ｇ、１３．６５ｍｍｏｌ）の懸濁液に添加する。吸熱が起き、生成した溶液は、室温で６時間撹拌したままにしておく。次いで溶媒を減圧下で約５０ｍｌまで減少させ、ジエチルエーテル（１００ｍｌ）を添加することにより、溶液が濁る。撹拌すると、高粘度の白色懸濁液が形成する。この白色固体を濾過で収集し、ジエチルエーテル（１００ｍｌ）ですすぐ。この白色固体をＭｅＯＨ（３０ｍｌ）中に溶解させ、ジエチルエーテル（２００ｍｌ）を添加して、白色固体を沈殿させる。これを濾過で収集し、ジエチルエーテルですすぐ。この固体をＤＣＭ中に溶解させ、２Ｎ　ＮａＯＨ（７５ｍｌ）で洗浄する。有機相を$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、無色の油として、（Ｓ）－２－アミノ－５－ベンジルオキシカルボニルアミノペンタン酸メチルエステルを得る；$[M+H]^+$　280.78.

ステップ２

（Ｓ）－２－アミノ－５－ベンジルオキシカルボニルアミノ－ペンタン酸メチルエステル（２．８０ｇ、９．９９ｍｍｏｌ）およびＭｅＯＨ（２０ｍｌ）中の７Ｍ　NH_3を室温で７２時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で乾燥蒸発させることによって、白色固体を得る。この白色固体をジエチルエーテル中に懸濁させ、濾過および乾燥することによって、（（Ｓ）－４－アミノ－４－カルバモイル－ブチル）－カルバミン酸ベンジルエステルを得る。

【０３９８】

ステップ３

（（Ｓ）－４－アミノ－４－カルバモイル－ブチル）－カルバミン酸ベンジルエステル（１．８７ｇ、７．０７１ｍｍｏｌ）を乾燥ＴＨＦ（４０ｍｌ）中に懸濁させ、窒素下、氷浴内で、１０℃に冷却する。ボラン（ＴＨＦ中の１Ｍ溶液２８．３ｍｌ、２８．３ｍｍｏｌ）を添加する。氷浴を取り除きし、懸濁液を７０℃に加熱し、次いでこの温度で３時間撹拌したままにしておく。さらにボラン（ＴＨＦ中１Ｍ溶液２８．３ｍｌ、２８．３ｍｍｏｌ）を添加し、次いで１時間後、同じ量のＴＨＦ中１Ｍボランを再び添加する。７０℃で最後の１時間が経過後、この反応混合物をＭｅＯＨ（４０ｍｌ）でクエンチする。溶

媒を減圧下で約５０ｍｌに減少させる。これを５Ｍ　ＨＣｌ（１００ｍｌ）で希釈し、ジエチルエーテル（３×１００ｍｌ）で洗浄する。２Ｎ　ＮａＯＨを用いて、水相をｐＨ１２に塩基性化し、生成物をＥｔＯＡｃ（３×１００ｍｌ）中に抽出する。有機相を合わせ、$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、無色の油として表題化合物を得る。

【０３９９】

中間体Ｔ

３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボン酸［（Ｓ）－４－（４－アミノ－ブチル）－イミダゾリジン（２Ｅ）－イリデン］－アミド

（４－｛（Ｓ）－２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－イミダゾリジン－４－ベンゾイル｝－ブチル）－カルバミン酸ベンジルエステル（実施例５）（０．１１０ｇ、０．２３９ｍｍｏｌ）の乾燥ＤＣＭ（２０ｍｌ）懸濁液に、ヨードトリメチルシラン（０．１３０ｍｌ、０．９５６ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を室温で３．５時間撹拌する。ＭｅＯＨをこの懸濁液に添加し、溶液を得る、ＭｅＯＨおよびＭｅＯＨ中の７Ｍ　NH_3で溶出する捕捉放出樹脂（ＳＣＸ－２）での精製によって、褐色の油として、表題化合物を得る；$[M+H]^+$　327.1

中間体Ｕ

４－アミノ－４－アミノメチル－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル

ステップ１

４－アミノ－４－シアノ－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（１１．５ｇ、５１．０ｍｍｏｌ）のピリジン（２０ｍｌ）溶液に、０℃で、トリフルオロ酢酸無水物（１１．０ｍｌ）をゆっくりと添加し、この反応混合物を０℃で４時間撹拌する。この反応混合物をＤＣＭで希釈し、ブラインで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮する。得た残渣をＤＣＭ中に溶解させ、石油エーテルを添加することによって、再沈殿させる。この上清溶媒混合物をデカントして移し、生成物を石油エーテルで再び洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、油として、４－シアノ－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；^1H NMR (d_6-DMSO): 1.40 (9H, s), 1.81-1.88 (2H, m), 2.26-2.32 (2H, m), 2.99-3.15 (2H, m), 3.793.82 (2H, m), 10.1 (1H, s).

ステップ２

シアノ－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（１０．０ｇ、３１．０ｍｍｏｌ）のＥｔＯＨ（１５０ｍｌ）溶液に、ラネーニッケル（約１．５ｇ）を添加し、水素の大気下、この反応混合物を３日間撹拌する。さらなる量のラネーニッケル（約１．５ｇ）を添加し、この反応混合物をさらに２日間撹拌する。Ｃｅｌｉｔｅ（商標）のプラグ（フィルター物質）を介して、この反応混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮することによって、４－アミノメチル－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを、粘性の油として得る。これを粗製のさらなる精製なしに使用する。

【０４００】

ステップ３

４－アミノ－４－アミノメチル－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル

４－アミノメチル－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルのＭｅＯＨ（７０ｍｌ）溶液に、アンモニアの３０％水溶液（７０ｍｌ）を添加し、この反応混合物を８０℃で一晩撹拌する。この反応混合物を、減圧下で、褐色油として４－アミノ－４－アミノメチル－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルへと濃縮する。これを粗製のさらなる精製なしに使用された；$[M+H]^+$　230.

中間体Ｖ
３－（３－イソプロポキシ－プロピルスルファモイル）－安息香酸
３－イソプロポキシプロピルアミン（１．１当量）を、撹拌しながら室温で、ＴＨＦ中に溶解する。Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（１当量）を添加し、続いてメチル３－（クロロスルホニル）安息香酸（１当量）を添加する。この反応混合物を室温で２時間撹拌し、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、表題の粗生成物を得る。

【０４０１】
中間体Ｗ
３－（３－イソプロピル－ウレイド）－安息香酸
３－アミノ安息香酸（２０ｇ、１４５．８ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（３００ｍｌ）懸濁液を６０℃に加熱することによって、透明な溶液を形成する。ｉ－プロピルイソシアネート（１４．９ｇ、１７５ｍｍｏｌ）を３０分間に渡り添加する。添加の間、生成物は沈殿し始める。添加完了後、トルエン（３００ｍｌ）を添加する。この反応混合物を６０℃で４．５時間撹拌する。加熱槽を取り除き、この混合物を一晩室温で撹拌する。最後に、懸濁液を濾過し、ＴＨＦ：トルエン（２００ｍｌ）の１：１混合物で洗浄する。この生成物を６０℃で１８時間乾燥させることによって、３－（３－イソプロピル－ウレイド）－安息香酸を得る。

【０４０２】
中間体Ｘ
５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボン酸
ステップ１
５－オキソ－ピロリジン－３－カルボン酸メチルエステル（１当量）の乾燥ＤＭＦ溶液に、ＮａＨ（１．１当量）を添加し、続いて１－（３－ブロモ－プロピル）－１Ｈ－ピロール（１当量）を添加する。この反応混合物を室温で一晩撹拌する。順相クロマトグラフィーでの精製により、５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボン酸メチルエステルを得る。

【０４０３】
ステップ２
５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボン酸メチルエステルのＴＨＦ中冷却溶液（０℃）に、０．２Ｍ　ＬｉＯＨを添加し、ＲＭを３時間撹拌してゆっくりと室温に温める。反応混合物を１Ｎ　ＨＣｌで酸性化し、生成物を酢酸エチル中に抽出する。有機相をブラインで洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、５－オキソ－１－（３－ピロール－１－イル－プロピル）－ピロリジン－３－カルボン酸を得る。

【０４０４】
中間体Ｙ
２－（３－イソプロピル－ウレイド）－イソニコチン酸
ステップ１
エチル２－アミノイソニコチネート（５００ｍｇ、３．０１ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（１０ｍｌ）溶液に、トリエチルアミン（１．２６ｍｌ、９．０３ｍｍｏｌ）を添加し、次いでイソプロピルイソシアネート（５１２ｍｇ、６．０２ｍｍｏｌ）を添加する。マイクロ波で、この反応混合物を１４０℃で２時間加熱する。この反応混合物をＥｔＯＡｃで希釈し、水（×５）、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮する。クロマトグラフィー（SiO_2、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）により、２－（３－イソプロピル－ウレイド）－イソニコチン酸エチルエステルを生成する；$[M+H]^+$　252．
ステップ２
２－（３－イソプロピル－ウレイド）－イソニコチン酸エチルエステル（１３０ｍｇ、０．５２ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（５ｍｌ）溶液に、２Ｍ　ＮａＯＨ（２．５ｍｌ）を添加し、生成した溶液を室温で１．５時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、NH_4Cl飽和

水溶液を添加する。１Ｍ　ＨＣｌを使用して、水相のｐＨを１に調整し、生成物をＥｔＯＡｃ中に抽出し、乾燥させ（$MgSO_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、白色固体として、２－（３－イソプロピル－ウレイド）－イソニコチン酸を生成する；$[M+H]^+$ 224.

中間体Ｚ

１－イソプロピルカルバモイル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

この化合物は、ステップ１のエチル２－アミノイソニコチネートの代わりにメチルインドール－４－カルボキシレートを使用して、中間体Ｙと同じように調製する；$[M+H]^+$ 247.

中間体ＡＡ

－４－（３－イソプロピル－ウレイド）－安息香酸

この化合物は、ステップ１のエチル２－アミノイソニコチネートの代わりにメチル４－アミノ安息香酸を使用して、中間体Ｙと同じように調製する；$[M+H]^+$ 237.

中間体ＡＢ

－６－（３－イソプロピル－ウレイド）－ニコチン酸

この化合物は、ステップ１のエチル２－アミノイソニコチネートの代わりにメチル６－アミノニコチネートを使用して、中間体Ｙと同じように調製する；$[M+H]^+$ 224.

中間体ＡＣ

－［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－酢酸

ステップ１

メチル４－ヒドロキシフェニルアセテート（２００ｍｇ、１．２０ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５ｍｌ）溶液に、ＤＩＰＥＡ（０．３１５ｍｌ、１．８１ｍｍｏｌ）を添加し、次いでＭＥＭＣｌ（０．２０４ｍｌ、１．８１ｍｍｏｌ）を添加し、生成した反応混合物を室温で２時間撹拌する。ＭＥＭＣｌ（０．１０２ｍｌ、１ｍｍｏｌ）およびＤＩＰＥＡ（０．１５８ｍｌ、１ｍｍｏｌ）をさらに添加し、この反応混合物をさらに１６時間撹拌する。ＭＥＭＣｌ（０．１０２ｍｌ、１ｍｍｏｌ）およびＤＩＰＥＡ（０．１５８ｍｌ、１ｍｍｏｌ）をさらに添加し、この反応混合物を３時間撹拌する。この反応混合物をＤＣＭで希釈し、０．５Ｍ　ＨＣｌ、１Ｍ　ＮａＯＨ、次いで０．５Ｍ　ＨＣｌで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮することによって、［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－酢酸メチルエステルを生成する。

【０４０５】

ステップ２

［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］酢酸メチルエステル（１９２ｍｇ、０．７６ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（３ｍｌ）溶液に、２Ｍ　ＮａＯＨ（３ｍｌ）を添加する。この反応混合物を室温で１６時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、残渣をＥｔＯＡｃ中で溶解させ、NH_4Cl溶液で洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で濃縮することによって、［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－酢酸を得る。

【０４０６】

中間体ＡＤ

３－［４－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－フェニル］－プロピオン酸

この化合物は、ステップ１のメチル４－ヒドロキシフェニルアセテートの代わりにメチル－３－（４－ヒドロキシフェニル）プロピオネートを使用して、中間体ＡＣと同じように調製する。

【０４０７】

中間体ＡＥ

３－｛４［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エトキシ］－フェニル｝－プロピオン酸

ステップ１

メチル３－（４－ヒドロキシフェニル）プロピオネート（０．１ｇ、０．５５ｍｍｏｌ

）をＤＭＦ（５ｍｌ）中に溶解させ、ＮａＨ（鉱油中６０％分散液０．０３３ｇ、０．８３ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を室温で１５分間撹拌する。次いで２－（２－ブロメトキシ）テトラヒドロ－２－Ｈ－ピラン（０．１０９ｍｌ、０．７２ｍｍｏｌ）を添加し、この反応混合物を１８時間撹拌したままにしておく。ＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）で希釈し、水（２５ｍｌ）、飽和$NaHCO_3$（２５ｍｌ）およびブライン（２５ｍｌ）で洗浄し、$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮することによって、無色の油として、３－｛４４２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エトキシ］－フェニルプロピオン酸メチルエステルを得る；$[M+H]^+$ 309.

ステップ２

３－｛４－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エトキシ］－フェニル｝－プロピオン酸メチルエステル（０．１２ｇ、０．３９ｍｍｏｌ）をＭｅＯＨ（３ｍｌ）中に溶解させ、２Ｍ　ＮａＯＨ溶液（３ｍｌ）を添加し、生成した溶液を室温で１８時間撹拌する。この反応混合物を飽和塩化アンモニウム溶液（２０ｍｌ）で希釈し、ＥｔＯＡｃ（１００ｍｌ×２）で抽出する。有機相を合わせ、$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去することによって、無色の油として表題化合物を生じる；$[M+H]^+$ ＝ 295.

中間体ＡＦ

３－［４－（ピリジン４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピオン酸

ステップ１

メチル３－（４－ヒドロキシフェニル）プロパノエート（０．５ｇ、２．７７ｍｍｏｌ）の乾燥ＤＭＦ（１０ｍｌ）溶液に、炭酸カリウム（０．７６ｇ、５．５５ｍｍｏｌ）、続いて４－（ブロモメチル）ピリジンヒドロブロミド（０．７ｇ、２．７７ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を室温で一晩撹拌し、次いで水（８０ｍｌ）に注ぎ入れ、ＥｔＯＡｃ（４０ｍｌ）で抽出する。有機相をブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって暗褐色の油を得る。クロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ）により、無色の油として３－［４－（ピリジン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピオン酸メチルエステルを得る；$[M+H]^+$ 272.0.

ステップ２

３－［４－（ピリジン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロピオン酸メチルエステル（０．２８ｇ、１．０３ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（５ｍｌ）およびＭｅＯＨ（５ｍｌ）溶液に、室温で、２Ｎ　ＬｉＯＨ（０．５２ｍｌ、１．０３２ｍｍｏｌ）を添加し、生成した溶液を一晩撹拌する。さらに２Ｎ　ＬｉＯＨ（０．１０３ｍｌ）を添加し、この反応混合物をさらに１時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣を水（５０ｍｌ）、続いてＥｔＯＡｃで希釈する。１Ｎ　ＨＣｌを用いて、水相をｐＨ２に酸性化し、ＤＣＭで抽出する。有機相を、白色粉末が沈殿するまで、減圧下で三分の一の体積に濃縮する。これを濾過で収集し、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 258.0.

中間体ＡＧ

３－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸

ステップ１

乾燥ＤＭＦ（３０ｍｌ）中のメチル３－（４－ヒドロキシフェニル）プロパノエート（２ｇ、１１．１０ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、室温で、炭酸カリウム（１．５３ｇ、１０ｍｍｏｌ）を添加し、続いてｔｅｒｔ－ブチル２－ブロモアセテート（２．１７ｇ、１１．１０ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を窒素でパージし、次いで栓をし、室温で７日間撹拌したままにしておく。この反応混合物を水（２００ｍｌ）に注ぎ入れ、ＥｔＯＡｃ（１００ｍｌ）で抽出し、ブラインで洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下で蒸発させることによって、淡黄色の油を得る。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）により、透明な油として、３－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸メチルエステルを得る。

【０４０８】

ステップ２

３－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸メチル

エステル（２．７０ｇ、９．１７ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（８０ｍｌ）溶液に、０．２Ｎ水酸化リチウム（４５．９ｍｌ、９．１７ｍｍｏｌ）を０℃で添加し、この反応混合物を０℃で４．５時間撹拌する。１Ｍ　ＨＣｌ（１５ｍｌ）を添加し、ＥｔＯＡｃ（×３）を使用して生成物を抽出する。有機相を乾燥させ（Na_2SO_4）、減圧下で濃縮することによって、白色固体を得る。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、CH_2Cl_2中の１０％ＥｔＯＡｃ、次いでCH_2Cl_2中の２０％ＥｔＯＡｃ）により、白色固体として、３－（４－ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸を得る。

【０４０９】

中間体ＡＨ

３－（４－カルバモイルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸

この化合物は、ステップ１のｔｅｒｔ－ブチル２－ブロモアセテートの代わりに２－ブロモアセトアミドを使用して、中間体ＡＧと同じように調製する；$[M+H]^+$　530.1.

中間体ＡＩ

１－［４－（２－カルボキシ－エチル）－フェノキシ］－シクロブタンカルボン酸エチルエステル

この化合物は、ステップ１のｔｅｒｔ－ブチル２－ブロモアセテートの代わりにエチル１－ブロモシクロブタン－カルボキシレートを使用して、中間体ＡＧと同じように調製する；$[M+H]^+$　293.0.

中間体ＡＪ

２－［４－（２－カルボキシ－エチル）－フェノキシ］－２－メチル－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル

この化合物は、ステップ１のｔｅｒｔ－ブチル２－ブロモアセテートの代わりにｔｅｒｔ－ブチル２－ブロモイソブチレートを使用して、中間体ＡＧと同じように調製する；^1H NMR (DMSO-d6): 1.40 (9H, s), 1.48 (6H, s), 2.49 (2H, t, J = 7.5), 2.75 (2H, t, J = 7.5), 6.71 (2H, d, J = 8.5), 7.11 (2H, d, J = 8.50), 12.10 (1H, s).

中間体ＡＫ

３－（４－メトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸

ステップ１

３－（４－ヒドロキシフェニル）プロパン酸（３．３２ｇ、２０ｍｍｏｌ）の乾燥ＤＭＦ（２０ｍｌ）溶液に、１，１’－カルボニルジイミダゾール（３．２４ｇ、２０ｍｍｏｌ）を少しずつ慎重に添加する。この反応混合物を４０℃で２時間撹拌し、その後、ＤＢＵ（６．０２ｍｌ、４０ｍｍｏｌ）およびｔｅｒｔ－ブタノール（４．７８ｍｌ、５０ｍｍｏｌ）を添加し、ここでこの反応混合物を６５℃で２日間撹拌する。この反応混合物を室温まで冷却させておき、水（５０ｍｌ）に注ぎ入れ、生成物をジエチルエーテル（３×３０ｍｌ）で抽出する。有機物を合わせ、乾燥させ（$MgSO_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、黄色の油を得る。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）での精製により、無色の油として、３－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを得る；1H NMR (DMSO-d6) 9.1 (1H, s), 7.0 (2H, d, J = 8.45), 6.65 (2H, d, J = 8.45), 2.7 (2H, t, J = 7.28), 2.4 (2H, t, J = 7.28), 1.4 (9H, s).

ステップ２

－（４－ヒドロキシ－フェニル）－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（１ｇ、４．５０ｍｍｏｌ）の乾燥ＤＭＦ（２０ｍｌ）溶液に、アルゴン下、室温で、炭酸カリウム（０．６２ｇ、４．５０ｍｍｏｌ）、続いてブロモ酢酸メチル（０．４３ｍｌ、４．５０ｍｍｏｌ）を添加し、この反応混合物を室温で撹拌する。この反応混合物をＥｔＯＡｃで希釈し、水で洗浄し、乾燥させ（$MgSO_4$）、減圧下で蒸発させることによって、透明な無色の液体を得る。Ｗａｔｅｒｓ３０００分取ＨＰＬＣ系（Ｃ１８、ＭｅＣＮ／水）での精製により、淡黄色の油として、３－（４－メトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを得る。

【０４１０】
ステップ３
３－（４－メトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（０．０９７ｇ、０．３３ｍｍｏｌ）に、ＴＦＡのＤＣＭ（２ｍｌ）中９０％溶液を添加し、生成した溶液を室温で１時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去することによって、オフホワイト色の粉末として、３－（４－メトキシカルボニルメトキシ－フェニル）－プロピオン酸を得る；$[M+H-18]^+$ 256.0
中間体ＡＬ
３－［４－（２－プロポキシカルボニル－エチル）－フェニル］－プロピオン酸
３，３’－（１，４－フェニレン）ジプロパン酸（２５０ｍｇ、１．１２５ｍｍｏｌ）ＤＣＭ（１５ｍｌ）の溶液に、４－ジメチルアミノピリジン（１３７ｍｇ、１．１２５ｍｍｏｌ）およびプロパノール（３ｍｌ、４０．１ｍｍｏｌ）を添加する。この溶液を０℃に冷却し、ジシクロヘキシルカルボジイミド（２３２ｍｇ、１．１２５ｍｍｏｌ）を添加し、生成した溶液を０℃で３０分間撹拌し、室温で２時間撹拌する。減圧下での濃縮により、白色固体を生成し、これをEt_2O（５０ｍｌ）中に懸濁させ、濾過することによって、あらゆる不溶性物質を取り除く。濾液を減圧下で濃縮し、クロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）での精製によって、表題化合物を生成する。
【０４１１】
中間体ＡＭ
３－［４－（２－エトキシカルボニル－エチル）－フェニル］－プロピオン酸
この化合物は、プロパノールの代わりにエタノールを使用して、中間体ＡＬと同じように調製する。
【０４１２】
中間体ＡＮ
３－１４－（２－メトキシカルボニル－エチル）－フェニル］－プロピオン酸
この化合物は、プロパノールの代わりにメタノールを使用して、中間体ＡＬと同じように調製する。
【０４１３】
中間体ＡＯ
１－（２－フェノキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸
ステップ１
ＮａＨ（鉱油中６０％分散液、６８．５ｍｇ、１．７１ｍｍｏｌ）を、メチルインドール－４－カルボキシレート（２００ｍｇ、１．１４２ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（５ｍｌ）溶液に添加し、生成した懸濁液を室温で２０分間撹拌する。この後、（２－ブロモエトキシ）ベンゼン（２９８ｍｇ、１．４８４ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で１８時間撹拌する。ＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）で希釈し、水（２５ｍｌ×２）、飽和$NaHCO_3$（２５ｍｌ）およびブライン（２５ｍｌ）で洗浄し、$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮し、クロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）で精製することによって、１－（２－フェノキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 296.
ステップ２
１－（２－フェノキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステル（１８５ｍｇ、０．６２６ｍｍｏｌ）をＭｅＯＨ（３ｍｌ）と２Ｍ ＮａＯＨ（２ｍｌ）の混合物中に懸濁させる。この懸濁液を室温で２時間撹拌し、ＴＨＦ（１ｍｌ）を添加し、この反応物を６０℃で１時間加熱する。この反応物を室温まで冷却させておき、NH_4Cl飽和溶液（１０ｍｌ）で希釈し、ＥｔＯＡｃ（１０ｍｌ×３）で抽出し、$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮することによって、表題化合物を得る；$[M+H]^+$ 282.
中間体ＡＰ
１－（２－ｐ－トリル－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸
この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりに４－メチルフェネチルブロ

ミドを使用して、中間体ＡＯと同じように調製する；[M+H]$^+$ 280.

中間体ＡＱ

１－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりに２－（２－ブロモエトキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピランを使用して、中間体ＡＯと同じように調製する；[M+H]$^+$ 290.

中間体ＡＲ

１－［２－（４－メトキシ－フェノキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりに１－（２－ブロモエトキシ）－４－メトキシベンゼンを使用して、中間体ＡＯと同じように調製する；[M+H]$^+$ 312.

中間体ＡＳ

１－［２－（４－ｔｅｒｔ－ブチル－フェノキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりに１－（２－ブロモエトキシ）－４－ｔｅｒｔ－ブチルベンゼンを使用して、中間体ＡＯと同じように調製する；[M+H]$^+$ 338.

中間体ＡＴ

１－（２－［１，３］ジオキサン－２－イル－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりに（２－ブロモエチル）１，３－ジオキサンを使用して、中間体ＡＯと同じように調製する；[M+H]$^+$ 276.

中間体ＡＵ

２，３－ジメチル－［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－５－カルボン酸

この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりに（２－（２－ブロモエトキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピランを使用し、メチルインドール－４－カルボキシレートの代わりに２，３－ジメチル－１Ｈ－インドール－５－カルボキシレートを使用して、中間体Ａと同じように調製する；[M+H]$^+$ 318.

中間体ＡＶ

１－（４，４，４－トリメトキシ－ブチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

この化合物は、（２－ブロモエトキシ）ベンゼンの代わりにトリエチル４－ブロモオルソブチレートを使用して、中間体ＡＯ　１－（２－フェノキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸と同じように調製する。

【０４１４】

中間体ＡＷ

１－［２－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

ステップ１

ＮａＨ（鉱油中６０％分散液、８６ｍｇ、２．１４ｍｍｏｌ）を、メチルインドール－４－カルボキシレート（２５０ｍｇ、１．４２７ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２０ｍｌ）溶液に添加し、生成した懸濁液を室温で３０分間撹拌する。この後、（２－（２－ブロモエトキシ）テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン（３８８ｍｇ、１．８６ｍｍｏｌ）を添加し、この反応物を室温で２２時間撹拌する。ＥｔＯＡｃ（５０ｍｌ）で希釈し、水（２５ｍｌ×３）、飽和ＮａＨＣＯ$_3$（２５ｍｌ×２）およびブライン（２５ｍｌ）で洗浄し、ＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮し、クロマトグラフィー（ＳｉＯ$_2$、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ）で精製することによって、１［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステルを生成する；[M+H]$^+$ 304.

ステップ２

１［２－（テトラヒドロ－ピラン－２－イルオキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステル（１２０ｍｇ、０．３９６ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（１０ｍｌ）溶液に、ｐ－トルエンスルホン酸一水和物（７．２５ｍｇ、０．０４ｍｍｏｌ）を添加する。この反応物を室温で１６時間撹拌し、溶媒を減圧下で除去する。残渣をＭｅＯＨ（３ｍｌ）中に溶解させ、ＭｅＯＨ（２０ｍｌ）で洗浄した１ｇ　ＰＥＡＸカートリッジに充填する。濾液を減圧下で濃縮することによって、１－（２－ヒドロキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステルを得る；$[M+H]^+$　220.

ステップ３

－（２－ヒドロキシ－エチル）－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステルのＤＣＭ（３ｍｌ）溶液に、ＤＩＰＥＡ（０．１２９ｍｌ、０．７３９ｍｍｏｌ）および１－クロロメトキシ－２－メトキシ－エタン（０．０８４ｍｌ、０．７３９ｍｍｏｌ）を添加する。この溶液を室温で７２時間撹拌する。この反応物をＤＣＭ（５０ｍｌ）で希釈し、０．５Ｍ　ＨＣｌ（２０ｍｌ）、１Ｍ　ＮａＯＨ（２０ｍｌ）および０．５Ｍ　ＨＣｌ（２０ｍｌ）で洗浄する。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去する。クロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ／ＭｅＯＨ）での精製により、１－［２－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステルを生成する；$[M+H]^+$　308.

ステップ４

１－［２－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステル（６９ｍｇ、０．２２５ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（２ｍｌ）溶液に、２Ｍ　ＮａＯＨ（１ｍｌ）を添加し、この反応物を室温で１９．５時間撹拌し、次いで５０℃で２時間撹拌する。この反応物を室温まで冷却させておき、減圧下で溶媒を除去した。残渣に、飽和NH_4Cl（１０ｍｌ）を添加し、生成物をＥｔＯＡｃ（５×２５ｍｌ）で抽出し、ブラインで洗浄し（１０ｍｌ）、Na_2SO_4で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去することによって、表題化合物１－［２－（２－メトキシ－エトキシメトキシ）－エチル］－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸を得る；$[M+H]^+$　294.

中間体ＡＸ

１－ジエチルカルバモイルメチル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸

ステップ１

メチルインドール－４－カルボキシレート（５０ｍｇ、２．８５ｍｍｏｌ）および２－クロロ－Ｎ，Ｎ－ジエチルアセトアミド（８５４ｍｇ、５．７１ｍｍｏｌ）をＤＭＦ（１０ｍｌ）中に溶解させ、この溶液に、炭酸カリウム（９８６ｍｇ、７．１４ｍｍｏｌ）を添加する。マイクロ波放射を使用して、この反応物を１００℃で２時間加熱し、次いでＤＣＭ（６０ｍｌ）で希釈し、水（５×１０ｍｌ）で洗浄する。$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で濃縮し、Et_2Oと共に摩砕することによって、１－ジエチルカルバモイルメチル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステルを生成する；$[M+H]^+$　289.

ステップ２

ジエチルカルバモイルメチル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸メチルエステル（４８０ｍｇ、１．６６５ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（５ｍｌ）溶液に、２Ｍ　ＮａＯＨ（５ｍｌ）を添加する。この反応物を５０℃で２０時間加熱し、次いで室温まで冷却させておく。溶媒を減圧下で除去し、残渣を水（１０ｍｌ）中に溶解する。１Ｍ　ＨＣｌを使用して、溶液のｐＨを５に調整し、生成した固体を濾過で収集することによって、表題化合物１－ジエチルカルバモイルメチル－１Ｈ－インドール－４－カルボン酸を得る；$[M+H]^+$　275.

中間体ＡＹ

４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－安息香酸

ステップ１

メチル６－ヒドロキシ－２－ナフトエート（４．５５ｇ、２２．５ｍｍｏｌ）の無水アセトン（６０ｍｌ）溶液に、Ｓ－（－）－グリシドール（２．０ｇ、２７．０ｍｍｏｌ）およびK_2CO_3（９．３ｇ、６７．３ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を３日間

加熱還流する。Ｃｅｌｉｔｅ（商標）（フィルター物質）を介してこの反応混合物を濾過し、濾液を減圧下で濃縮することによって、白色固体として、６－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－ナフタレン－２－カルボン酸メチルエステルを生成する；^{1}H NMR (DMSO-d_6): 3.49 (2H, t, J = 6.0 Hz), 3.85-3.88 (1H, m), 3.89 (3H, s), 4.02 (1H, dd, J = 9.9, 6.0 Hz), 4.16 (1H, dd, J = 9.9, 4.0 Hz), 4.73 (1H, t, J = 6.0 Hz), 5.04 (1H, d, J = 5.2 Hz), 7.26 (1H, dd, J = 9.0, 2.0 Hz), 7.41 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.88-7.94 (2H, m), 8.04 (1H, d, J = 9.0 Hz), 8.55 (1H, s).

ステップ２

無水ＤＭＦ（１０ｍｌ）中の６－（（Ｓ）－２，３－ジヒドロキシ－プロポキシ）－ナフタレン－２－カルボン酸メチルエステル（０．９ｇ、３．２６ｍｍｏｌ）に、２，２－ジメトキシプロパン（２．０ｍｌ、１６．３ｍｍｏｌ）およびｐ－トルエンスルホン酸ピリジニウム（０．０８ｇ、０．３２ｍｍｏｌ）を添加し、この反応混合物を室温で１６時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣をＥｔＯＡｃ中に溶解する。ＥｔＯＡｃ層を１０％$NaHCO_3$、水、およびブラインで洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させることによって、固体として、６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－カルボン酸メチルエステルを得る；^{1}H NMR (DMSO-d6): 1.32 (3H, s), 1.37 (3H, s), 3.78-3.82 (1H, m), 3.88 (3H, s), 4.ベンゾイル}-4.20 (3H, m), 4.45-4.50 (1H, m), 7.26 (1H, dd, J = 9.0, 2.0 Hz), 7.45 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.88 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.93 (1H, d, J= 9.0 Hz), 8.04 (1H, d, J = 9.0 Hz), 8.55 (1H, s).

ステップ３

６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－カルボン酸メチルエステル（１．０ｇ、３．１６ｍｍｏｌ）の無水ＴＨＦ（２０ｍｌ）溶液に、０℃で、ＬｉＡｌＨ４（ＴＨＦ中２Ｍ溶液１．９ｍｌ、３．８ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を室温で一晩撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー（SiO_2、ＤＣＭ）で精製することによって、無色の粘性の油として［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イル］－ＭｅＯＨを生成する。これを静置させて固化する；^{1}H NMR (d_6-DMSO): 1.32 (3H, s), 1.37 (3H, s), 3.78 (1H, dd, J = 8.3, 6.0 Hz), 4.01-4.15 (3H, m), 4.45-4.48 (1H, m), 4.60 (2H, d, J = 6.0 Hz), 5.24 (1H, t, J = 6.0 Hz), 7.14 (1H, dd, J = 8.5, 2.5 Hz), 7.32 (1H, d, J = 2.5 Hz), 7.41 (1H, dd, J = 8.5, 1.5 Hz), 7.33-7.80 (3H, m).

ステップ４

ＤＣＭ（２０ｍｌ）中のメチル４－ヒドロキシベンゾエート（０．５ｇ、３．２８ｍｍｏｌ）、［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イル］－メタノール（０．９ｇ、３．１２ｍｍｏｌ）およびトリフェニルホスフィン（０．８３ｇ、３．１６ｍｍｏｌ）の混合物を０℃に冷却する。アゾジカルボン酸ジエチル（０．５ｍｌ、３．１７ｍｍｏｌ）を滴下する。この反応混合物を室温で一晩撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）で精製することによって、白色固体を得る。得た生成物をカラムクロマトグラフィー（中性アルミナ、ＥｔＯＡｃ／石油エーテル）でもう一度精製することによって、白色固体として、４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ］－ナフタレン－２－イルメトキシ］－安息香酸メチルエステルを得る；^{1}H NMR (d_6-DMSO): 1.32 (3H, s), 1.38 (3H, s), 3.77-3.82 (4H, m), 4.08-4.16 (3H, m), 4.46-4.49 (1H, m), 5.30 (2H, s), 7.15-7.21 (3H, m), 7.37 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.53 (1H, dd, J = 8.50, 1.5 Hz), 7.83 (2H, dd, J = 9.0, 6.0 Hz), 7.92 (3H, m).

ステップ５
４４６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－安息香酸メチルエステル（０．４６、１．０９ｍｍｏｌ）のＴＨＦ／水（１０ｍｌの１：１混合物）溶液に、水酸化リチウム（０．１５ｇ、３．５７ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を室温で一晩撹拌し、次いで７０℃で２４時間撹拌する。この反応混合物を室温に冷却し、１．５Ｍ　ＨＣｌで中和させ、得た白色固体を真空濾過で収集し、水で洗浄し、減圧下で乾燥することによって、４－［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イルメトキシ］－安息香酸を生成する；$[M]^-$ 407.

中間体ＡＺ
４－｛３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロポキシ｝－安息香酸
この化合物は、ステップ４の［６－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－ナフタレン－２－イル］－メタノールの代わりに３－［４－（（Ｒ）－２，２－ジメチル－［１，３］ジオキソラン－４－イルメトキシ）－フェニル］－プロパン－１－オールを使用して、中間体ＡＹと同じように調製する；^{1}H NMR (DMSOd6): 1.30 (3H, s), 1.35 (3H, s), 1.97-2.01 (2H, m), 2.68 (2H, t, J = 7.5 Hz), 3.72-3.75 (1H, m), 3.93-4.00 (4H, m), 4.06-4.10 (1H, m), 4.38 (1H, dd, J = 6.0, 5.0), 6.87 (2H, d, J = 9.0 Hz), 6.92 (2H, d, J = 9.0 Hz), 7.14 (2H, d, J =, 9.0 Hz), 7.84 (2H, d, J = 9.0 Hz).

中間体ＢＡ
４－｛２－［（Ｅ）－３，５－ジアミノ－６－クロロ－ピラジン－２－カルボニルイミノ］－１，３，８－トリアザ－スピロ［４．５］デカン－８－カルボニル｝－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル
この化合物は、４－ベンジルオキシフェニル酢酸の代わりに１－Ｂｏｃ－ピペリジン－４－カルボン酸を使用して、実施例９７と同じように調製する；$[M+H]^+$ 536.

中間体ＢＢ
４－［（ナフタレン－１－スルホニルアミノ）－メチル］－安息香酸
４Ｎ　ＮａＯＨ溶液（３０ｍｌ）を、４－（アミノメチル）安息香酸（５．０１ｇ、３１．８２ｍｍｏｌ）のアセトン（１００ｍｌ）懸濁液に添加する。トルエン（１００ｍｌ）を添加し、この反応物を４０℃に加熱することによって、溶解を得る。この溶液を０℃に冷却し、アセトン（１００ｍｌ）中の１－ナフタレン塩化スルホニル（１２ｇ、５１．３５ｍｍｏｌ）で処理し、生成した反応混合物を３時間撹拌する。クエン酸を使用してこの反応物を酸性化し、減圧下で濃縮する。残渣をＥｔＯＡｃ中に溶かし、水で洗浄する。水層をＥｔＯＡｃで逆抽出し、合わせた有機層を水、ブラインで洗浄し、乾燥させ（Na_2SO_4）、溶媒を減圧下で除去することによって、淡褐色固体を得る。Et_2Oと共に摩砕することにより、表題化合物を得る。

【０４１５】
中間体ＢＣ
３－（シクロヘキシル－メチル－スルファモイル）－４－メトキシ－安息香酸
ステップ１
メチル３－（クロロスルホニル）－４－メトキシベンゾエート（２．０ｇ、７．５６ｍｍｏｌ）およびジイソプロピルエチルアミン（１．９４ｍｌ、１１．３４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５０ｍｌ）溶液を、０℃で、Ｎ－メチルシクロヘキシルアミン（０．７０ｍｌ、９．０７ｍｍｏｌ）で処理する。溶液を室温で３時間撹拌し、Ｎ－メチルシクロヘキシルアミン（０．７０ｍｌ、９．０７ｍｍｏｌ）を添加する。溶液を、ＤＣＭ（２５０ｍｌ）と０．５Ｎ　ＨＣｌ（１００ｍｌ）との間で分配する。有機層を０．５Ｎ　ＨＣｌ（２ｘ１００ｍｌ）、$NaHCO_3$（２×１００ｍｌ）および水（１００ｍｌ）で洗浄し、$MgSO_4$で乾燥させ、減圧下で溶媒を除去することによって、黄色油を得る。結晶化（ｉＰｒ

$_2$Ｏ／ＥｔＯＡｃ）により、３－（シクロヘキシル－メチル－スルファモイル）－４－メトキシ－安息香酸メチルエステルとして黄色結晶を得る；[M+H]$^+$ 342.

ステップ２

３－（シクロヘキシル－メチル－スルファモイル）－４－メトキシ－安息香酸メチルエステル（１．５０ｇ、４．３９ｍｍｏｌ）の１，４ジオキサン（４０ｍｌ）溶液を２Ｎ ＮａＯＨ（１０ｍｌ）で処理し、生成した溶液を室温で２１時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、氷冷の２Ｎ ＨＣｌ（２５ｍｌ）を添加し、形成された白色固体をＤＣＭ（１５０ｍｌ）中に抽出する。有機層を水で洗浄し、乾燥させ（ＭｇＳＯ$_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、白色固体として表題化合物を得る；[M-1]$^-$ 326.

中間体ＢＤ

３－クロロ－５－メトキシ－４４２－（４－メチル－ピペラジン－１－イル）－エトキシ］－安息香酸

ステップ１

ＭｅＯＨ（１００ｍｌ）中の５－クロロバニリン酸（５．０ｇ、２４．６ｍｍｏｌ）および濃塩酸（５ｍｌ）の混合物を４８時間加熱還流する。溶媒を減圧下で除去し、水を残渣に添加することによって白色沈殿物を得る。これを濾過で収集し、水で洗浄し、次いでＥｔ$_2$Ｏに溶解させる。溶液を乾燥させ（Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、白色固体として、３－クロロ－４－ヒドロキシ－５－メトキシ－安息香酸メチルエステルを得る。

【０４１６】

ステップ２

トリフェニルホスフィン（６．４ｇ、２４．４ｍｍｏｌ）およびＤＩＡＤ（４．８ｍｌ、２０２．２ｍｍｏｌ）を、０℃で、３－クロロ－４－ヒドロキシ－５－メトキシ－安息香酸メチルエステル（２．５ｇ、ベンゾイル}．５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（４０ｍｌ）溶液に添加し、生成した溶液を０℃で２時間撹拌し、室温で１６時間撹拌する。溶媒を減圧下で除去し、水を残渣に添加する。生成物をＥｔＯＡｃ中に抽出し、乾燥させ（Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、黄色の油を生成する。フラッシュクロマトグラフィー（ＳｉＯ$_2$、ＥｔＯＡｃ／ＭｅＯＨ）により、オレンジ色の固体として、３－クロロ－５－メトキシ－４－［２－（４－メチル－ピペラジン－１－イル）－エトキシ］－安息香酸メチルエステルを得る。

【０４１７】

ステップ３

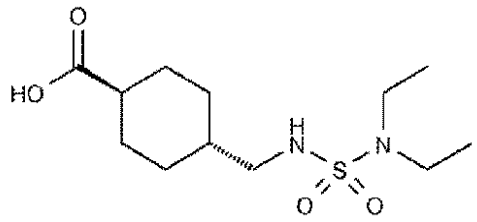
３－クロロ－５－メトキシ－４－［２－（４－メチル－ピペラジン－１－イル）－エトキシ］－安息香酸メチルエステル（３．７ｇ、１０．７ｍｍｏｌ）の２Ｎ ＮａＯＨ（２０ｍｌ）およびＴＨＦ（４０ｍｌ）溶液を１時間加熱還流する。この反応混合物をＥｔ$_2$Ｏで洗浄する。水相を減圧下で濃縮し、水（５０ｍｌ）を添加する。２Ｎ ＨＣｌを使用してｐＨを３～４に調整する。この溶液に、ＤＯＷＥＸ ５０ＷＸ４（ＭｅＯＨ、２Ｎ ＨＣｌおよび水で事前に洗浄）を添加し、生成した混合物を室温で１時間撹拌する。樹脂を濾過し、水で洗浄し、ＭｅＯＨ／ＮＨ$_4$ＯＨで洗浄することによって、生成物を樹脂から放出する。この溶液を減圧下で濃縮し、ＤＣＭおよびＭｅＯＨで希釈し、乾燥させ（Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、薄いクリーム色の固体として、表題化合物を得る。

【０４１８】

中間体ＢＥ

【０４１９】

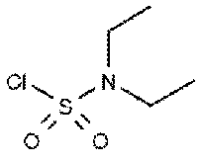
【化１１９】



ステップ１

【０４２０】

【化１２０】



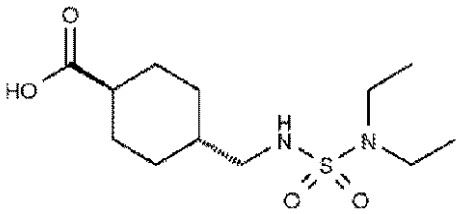
Et_2O（１２００ｍｌ）中のジエチルアミン（５００ｍｌ、４．８ｍｏｌ）の撹拌溶液に、－１５℃で８０分間に渡り塩化スルフリル（１７７．３ｍｌ、２．１９ｍｏｌ）を添加する。この反応物を室温で２．５時間撹拌する。Et_2O（１０００ｍｌ）を添加し、存在する白色固体を濾過で取り除き、Et_2O（２０００ｍｌ）で洗浄する。合わせた濾液を減圧下で濃縮することによって、無色の油として生じる。

【０４２１】

ステップ２

【０４２２】

【化１２１】



１Ｎ　ＮａＯＨ（１５３ｍｌ）中のｔｒａｎｓ－４－（アミノメチル）－シクロヘキサンカルボン酸（１０ｇ、６３．６ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、（１０．９１ｇ、６３．６ｍｍｏｌ）を添加し、生成した混合物を室温で１５時間撹拌する。この反応物を１０℃に冷却し、濃塩酸溶液（１５ｍｌ）を添加し、この混合物をこの温度で１０分間撹拌する。白色の結晶が形成する。これを濾過で単離し、Et_2O（４０ｍｌ）で洗浄することによって、表題化合物を得る。

【０４２３】

中間体ＢＦ

３－（３－フェニル－イソオキサゾール－５－イル）－プロピオン酸

この化合物は、G.S.d'Alcontres；C　Caristi；A　Ferlazzo；M　Gattuso、J.Chem.Soc.Perkin　1、（１９７６年）１６巻、１６９４頁に記載の通りに調製する。

【０４２４】

中間体ＢＧ

３－（４－クロロ－フェノキシメチル）－ベンジルアミン

この化合物は、ＵＳ２００８２００５２３に記載の通りに調製する。

【０４２５】

中間体ＢＨ

２－｛４－［２－（４－フルオロ－フェニル）－エトキシ］－フェニル｝－エチルアミン

ステップ１
４－ヒドロキシベンジルシアニド（７．９ｇ、５９．５７ｍｍｏｌ）、１－（２－ブロモ－エチル）－４－フルオロ－ベンゼン（１７．４ｇ、７１．４８ｍｍｏｌ）、炭酸カリウム（１９．８ｇ、１４３ｍｍｏｌ）およびヨウ化ナトリウム（２．６８ｇ、１７．８７ｍｍｏｌ）のアセトニトリル（１２０ｍｌ）懸濁液を４４時間加熱還流する。この反応混合物を冷却し、濾過し、溶媒を減圧下で除去することによって、暗褐色の油を得る。フラッシュクロマトグラフィー（SiO_2、ＥｔＯＡｃ／イソ－ヘキサン）により、黄色の油として、｛４４２－（４－フルオロ－フェニル）－エトキシ｝－フェニル｝－アセトニトリルを得る。

【０４２６】
ステップ２
２Ｎ　ＮａＯＨ溶液（４５．２ｍｌ、９０．３ｍｍｏｌ）を、｛４－［２－（４－フルオロ－フェニル）－エトキシ］－フェニル｝－アセトニトリル（３．２９ｇ、１２．９ｍｍｏｌ）のＥｔＯＨ（４５．２ｍｏｌ）溶液、続いてＡｌ－Ｎｉアロイ（２．５ｇ）に添加し、生成した反応混合物を室温で１時間撹拌する。この反応混合物を濾過し、ＥｔＯＨを減圧下で除去する。この生成物をＤＣＭ（２×８０ｍｌ）中に抽出し、乾燥させ（$MgSO_4$）、溶媒を減圧下で除去することによって、黄色の油として表題化合物を得る。

【０４２７】
中間体ＢＩ
２－（４，６－ジメチル－１Ｈ－インドール－３－イル）－エチルアミン
この化合物は、ＥＰ６２０２２２に記載の通りに調製する。

【０４２８】
中間体ＢＪ
２－［４－（４－フェニル－ブトキシ）－フェニル］－エチルアミン
この化合物は、ＷＯＰ２００４０１６６０１に記載の通りに調製する。

【０４２９】
中間体ＢＫ
４－（５－メチル－２－フェニル－オキサゾール－４－イルメトキシ）－ベンゼン塩化スルホニル
この化合物は、ＷＯ２００５０２６１３４に記載の通りに調製する。

【０４３０】
中間体ＢＬ
２－フェニル－３Ｈ－ベンゾイミダゾール－５－塩化スルホニル
この化合物は、ＥＰ１２０５４７５に記載の通りに調製する。

【０４３１】
中間体ＢＭ
４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミン
ステップ１
１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－オンは、J.Org.Chem.１９９１年、５６巻（２号）、５１３～５２８頁の５２５頁に記載の手順に従い調製する。

【０４３２】
水（３０ｍｌ）中の１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－オン（１０．９ｇ、５３．６ｍｍｏｌ）、塩化アンモニウム（４．３ｇ、８０．４ｍｍｏｌ）および３０％アンモニア水溶液（３０ｍｌ）の混合物に、室温で、シアン化ナトリウム（４．０ｇ、８１．６ｍｍｏｌ）を少しずつ添加する。この反応混合物を室温で１８時間撹拌し、次いで水で希釈し、ＤＣＭで抽出する。有機相をブラインで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することによって、褐色油として、４－アミノ－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－カルボニトリルを得る；$[M+H]^+$　230.
ステップ２
４－アミノメチル－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－イルアミンは、

ステップ１の４－アミノ－４－シアノ－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルの代わりに４－アミノ－１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－カルボニトリルを使用して、中間体Ｕと同じように調製する；$[M+H]^+$ 234.

中間体ＢＮ

４－アミノメチル－１－（４－メトキシ－ベンジル）－ピペリジン－４－イルアミン

この化合物は、１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－オンの代わりに、ステップ２の１－（４－メトキシベンジル）ピペリジン－４－オンを使用して、中間体ＢＭと同じように調製する；^1H NMR (DMSO-d6): 1.46-1.64 (4H, m), 2.38-2.55 (4H, m), 2.67 (2H, s), 3.26 (2H, s), 4.08 (3H, s), 6.87 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.18 (2H, d, J = 8.2 Hz).

中間体ＢＯ

４－アミノメチル－１－ピリジン－４－イルメチル－ピペリジン－４－イルアミン

ステップ１

４－アミノメチル－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（中間体Ｕ、ステップ２）（５．０ｇ、１５．４ｍｍｏｌ）のＤＣＭ（５０ｍｌ）溶液に、０℃で、ピリジン（１０ｍｌ）を添加し、続いてトリフルオロ酢酸無水物（３．５ｍｌ、２５．３ｍｍｏｌ）を添加し、この反応混合物を室温で１６時間撹拌する。この反応混合物をＤＣＭで希釈し、ブラインで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮する。得た残渣をジエチルエーテル中に溶解させ、石油エーテルを添加することにより再沈殿させる。溶媒混合物をデカントして移し、減圧下で固体を乾燥させることによって、４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－４－［（２，２，２－トリフルオロアセチルアミノ）－メチル］－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステルを生成する；$[M+H]^+$ 420.

ステップ２

４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－４－［（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－メチル］－ピペリジン－１－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル（５．２５ｇ、１２．５ｍｍｏｌ）のジオキサン（５０ｍｌ）溶液に、ジオキサン（１５ｍｌ）中４Ｍ　ＨＣｌを添加し、この反応混合物を室温で３時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮し、得たオフホワイト色の固体を最低量のＭｅＯＨ中に溶解させ、ジエチルエーテルを添加することによって再沈殿させる。上清溶媒混合物をデカントして移し、生成物をジエチルエーテルで再び洗浄し、減圧下で乾燥させることによって、２，２，２－トリフルオロ－Ｎ－｛４－［（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－メチル］－ピペリジン－４－イル｝－アセトアミド塩酸塩を生成する；$[M+H]^+$ 322.

ステップ３

ＮａＨ（鉱油中６０％分散液１７０ｍｇ、４．２５ｍｍｏｌ）の無水ＤＭＦ（２０ｍｌ）懸濁液に、２，２，２－トリフルオロ－Ｎ－｛４－［（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－メチル］－ピペリジン－４－イル｝－アセトアミド塩酸塩）（５００ｍｇ、１．４ｍｍｏｌ）を添加し、続いて４－ブロモメチルピリジンヒドロブロミド（３５０ｍｇ、１．４ｍｍｏｌ）を添加する。この反応混合物を室温で３時間撹拌する。この反応混合物をNH_4Cl飽和溶液でクエンチし、減圧下で濃縮する。残渣をカラムクロマトグラフィー（塩基性アルミナ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ）で精製することによって、２，２，２－トリフルオロ－Ｎ－［１－ピリジン－４－イルメチル－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－４－イルメチル］－アセトアミドとしてオフホワイト色固体を得る；$[M+H]^+$ 413.

ステップ４

２，２，２－トリフルオロ－Ｎ－［１－ピリジン－４－イルメチル－４－（２，２，２－トリフルオロ－アセチルアミノ）－ピペリジン－４－イルメチル］－アセトアミド（２００ｍｇ、０．４９ｍｍｏｌ）のＭｅＯＨ（１０ｍｌ）溶液に、３０％アンモニア水溶液（１０ｍｌ）を添加し、この反応混合物を６０℃で３時間撹拌する。この反応混合物を減圧下で濃縮することによって、無色の粘着性の油として、４－アミノメチル－１－ピリジ

ン４－イルメチル－ピペリジン－４－イルアミンを得る。これをさらなる精製なしに使用する；^{1}H NMR (DMSO-d6): 1.63-1.77 (4H, m), 2.45-2.54 (4H, m), 2.49 (2H, s), 3.57 (3H, s), 7.30 (2H, d, J = 5.5 Hz), 8.68 (2H, d, J = 5.5 Hz).

中間体ＢＰ

４－アミノメチル－１－（３－フェニル－プロピル）－ピペリジン－４－イルアミン

この化合物は、－ブロモメチルピリジンヒドロブロミド（ステップ３）の代わりに１－ブロモ－３－フェニルプロパンを使用して、中間体ＢＯと同じように調製する；$[M+H]^+$ 248.

中間体ＢＱ

４－アミノメチル－１－シクロヘキシルメチル－ピペリジン－４－イルアミン

この化合物は、－ブロモメチルピリジンヒドロブロミド（ステップ３）の代わりにシクロヘキシル臭化メチルを使用して、中間体ＢＯと同じように調製する。実施例２５０の調製において、この中間体を粗製のまま使用する。

【０４３３】

中間体ＢＲ

３－アミノ－３－アミノメチル－８－アザ－ビシクロ［３．２．１］オクタン－８－カルボン酸ｔｅｒｔ－ブチルエステル

この化合物は、１－（１－フェニル－エチル）－ピペリジン－４－オン（ステップ１）の代わりにＮ－Ｂｏｃ－ノルトロピノンを使用して、中間体ＢＭと同じように調製する；^{1}H NMR (DMSO-d6): 1.40 (9H, s), 1.63-1.85 (8H, m), 2.79 (2H, s), 4.06 (2H, s).

ＩＶ．製剤

一態様において、本発明は、表Ｉに記載のＤ欄で提供されるＥＮａＣ活性阻害剤と、Ａ、Ｂ、またはＣ欄で提供されるＣＦモジュレーター活性のモジュレーターとを含む医薬製剤を特徴とする。一部の実施形態において、ＣＦモジュレーター活性のモジュレーターは、表Ｉに記載の、式Ｉの化合物、または式ＩＩの化合物、または式ＩＩＩの化合物、またはこれらの組合せを含むことができる。一部の実施形態において、ＣＦモジュレーター活性のモジュレーターは、表Ｉに記載の、化合物１、または化合物２、または化合物３またはこれらの組合せを含むことができる。

【０４３４】

便宜のため表Ｉをここで複製する。

【０４３５】

【表１－２】

A欄 実施形態		B欄 実施形態		C欄 実施形態		D欄 実施形態	
セクション		セクション	表題	セクション	表題	セクション	表題
II.A.1.	式Iの化合物	II.B.1.	式IIの化合物	II.C.1.	式IIIの化合物	II.D.1.	ENaC 化合物
II.A.2.	化合物 1	II.B.2.	化合物 2	II.C.2.	化合物 3	II.D.2	式IVの ENaC 化合物

表Ｉによると、医薬組成物は、表ＩのＤ欄の少なくとも１つの成分と、表ＩのＡ、Ｂ、またはＣ欄の少なくとも１つの成分とを含む。一態様において化合物１はＡ欄の成分であり、化合物２はＢ欄の成分であり、化合物３はＣ欄の成分である。

【０４３６】
一実施形態において、組成物は、表Ｉに記載の組成物を含む均一な混合物を含む。別の実施形態において、組成物は、表Ｉに記載の組成物を含む不均一な混合物を含む。
【０４３７】
表Ｉの医薬組成物は、１つのビヒクルに入れてまたは別々に投与することができる。別の態様では，表ＩのＤ欄で例示されたＥＮａＣ活性阻害剤を含む、医薬品の組合せ組成物は、単一の用量単位、例えば、それを必要とする哺乳動物への投与のための錠剤、カプセル剤、液体懸濁液または溶液剤へと配合することができる。ＥＮａＣ阻害剤は、ＥＮａＣ化合物のアモルファス形態、実質的にアモルファス形態または結晶形態を含み得る。代わりに、各活性物質は、組合せの他の活性物質と、同時に、または順次、すなわち互いの投与前後に投与されるように、または既定の時間枠内で別個に、例えば、他の活性物質の投与から、５分以内、３０分以内、１時間以内、２時間以内、３時間以内、６時間以内、または１２時間以内に投与されるように、単一の用量単位として別々に配合することもできる。一部の実施形態において、この時間枠は、２４時間以上であってよい。例えば、第１の活性物質（ＥＮａＣ阻害剤またはＣＦモジュレーターのモジュレーター）を第１日目に投与し、この組合せの第２の活性物質を翌日に投与する。連続した投与体制は、第１の活性物質から遅れた第２の活性物質の投与のいくつかある可能性のうちの１つを例証することだけを意図し、当業者、例えば、処方医により容易に決定することができる。
【０４３８】
本明細書に記載される医薬組成物は、表Ｉから選択される１つの活性物質または２つの異なる活性物質を包含することができるが、この製剤が２つの活性物質を含む場合、活性物質の１つは、Ｄ欄の成分により例示されるＥＮａＣ活性阻害剤であり、他方の活性物質は、Ａ～Ｃ欄の成分により例示されるＣＦモジュレーター活性のモジュレーターであることを理解されたい。一部の実施形態において、医薬組成物は、Ａ～Ｃ欄に提供されている２つ以上のＣＦモジュレーターのモジュレーターを含有することができる。
【０４３９】
一部の実施形態において、医薬組成物は、薬学的に許容される担体、アジュバントまたはビヒクルを必要に応じて含む。特定の実施形態において、これらの組成物は、１つまたは複数のさらなる治療薬を必要に応じてさらに含む。
【０４４０】
本発明の特定の化合物は、治療のための遊離形態、または適切であれば、薬学的に許容されるその誘導体、エナンチオマー、互変異性体またはプロドラッグとして存在することができることも理解されたい。本発明によると、薬学的に許容される誘導体またはプロドラッグとして、これらに限らないが、薬学的に許容される塩、エステル、このようなエステルの塩が挙げられ、またはそれを必要とする患者への投与の際に、直接もしくは間接的に、本明細書で他に記載されている化合物、もしくはその代謝物もしくは残留物を提供することが可能な、任意の他の付加反応物もしくは誘導体が挙げられる。
【０４４１】
本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、健全な医学上の判断の範囲内で、不当な毒性、刺激作用、アレルギー反応などを起こすことなく、ヒトおよび下等動物の組織に接触させて使用するのに適した、妥当な損益比と釣り合いのとれた塩を指す。「薬学的に許容される塩」とは、レシピエントへの投与の際に、直接的または間接的に、本発明の化合物または阻害活性代謝物もしくはその残留物を提供することが可能な、任意の無毒性の塩または本発明の化合物のエステルの塩を意味する。
【０４４２】
薬学的に許容される塩は、当技術分野では周知である。例えば、Ｓ．Ｍ．Ｂergeらは、薬学的に許容される塩を、本明細書に参照により組み込まれているＪ．Ｐharmaceutical Ｓciences、１９７７年、６６巻、１～１９頁において詳細に説明している。本発明の化合物の薬学的に許容される塩は、適切な無機酸、無機塩基、有機酸および有機塩基から誘導されたものを含む。薬学的に許容される、無毒の酸付加塩の例として、無機酸、例えば塩

化水素酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸および過塩素酸など、または有機酸、例えば酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸もしくはマロン酸など、または当技術分野で使用されている他の方法、例えばイオン交換などを使用することにより形成されるアミノ基の塩である。他の薬学的に許容される塩として、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオネート、二グルコン酸塩、硫酸ドデシル塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホネート、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオネート、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。適切な塩基から誘導された塩として、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウムおよびN^+（$C_{1\sim4}$アルキル）$_4$の塩が挙げられる。本発明はまた、本明細書中に開示される化合物の任意の塩基性窒素含有基の四級化も想定している。水可溶性または油可溶性のまたは分散性の生成物をこのような四級化により得ることができる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩として、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどが挙げられる。さらなる薬学的に許容される塩として、適切であれば、無毒のアンモニウム、第四級アンモニウム、および対イオンを使用して形成されるアミン陽イオン、例えばハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルスルホン酸塩およびアリールスルホン酸塩などが挙げられる。

【０４４３】

上述のように、薬学的に許容される本発明の組成物は薬学的に許容される担体、アジュバント、またはビヒクルをさらに含み、これらは本明細書で使用する場合、所望する特定の剤形に適した、任意のおよびすべての溶媒、賦形剤または他の液体ビヒクル、分散助剤または懸濁助剤、表面活性物質、等張剤、増粘剤または乳化剤、保存剤、固体結合剤、滑沢剤などを含む。Remington's Pharmaceutical Sciences、Sixteenth Edition、E. W. Martin（Mack Publishing Co.、Easton、Pa.、１９８０年）は、薬学的に許容される組成物を配合する際に使用される様々な担体およびその調製のための公知の技法を開示している。任意の従来の担体媒体が本発明の化合物と不相容でない限り、例えば任意の切望しない生物学的作用が生じることによって、さもなければ薬学的に許容される組成物の任意の他の成分（複数可）と有害な形で相互作用することによって配合禁忌とならない限り、その使用は、本発明の範囲内であると想定される。薬学的に許容される担体として機能することができる物質のいくつかの例として、これらに限らないが、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、血清タンパク質、例えばヒト血清アルブミン、緩衝物質、例えばリン酸塩、グリシン、ソルビン酸、またはソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分的グリセリド混合物、水、塩または電解液、例えば硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、ポリアクリレート、蝋、ポリエチレン－ポリオキシプロピレン－ブロックポリマー、羊毛脂、糖、例えばラクトース、グルコースおよびショ糖；デンプン、例えばコーンスターチおよびジャガイモデンプン；セルロースおよびその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース；粉末化トラガント；麦芽；ゼラチン；タルク；添加剤、例えばココアバターおよび坐剤用蝋；油、例えばピーナッツ油、綿実油；ベニバナ油；ゴマ油；オリーブ油；トウモロコシ油およびダイズ油；グリコール；例えばプロピレングリコールまたはポリエチレングリコール；エステル、例えばオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル；寒天；緩衝剤、例えば水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウム；アルギ

ン酸；発熱物質を含まない水；等張生理食塩水；Ｒｉｎｇｅｒ溶液；エチルアルコール、およびリン酸緩衝液、ならびに他の無毒性の適合性滑沢剤、例えばラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウムなどが挙げられ、ならびに処方者の判断により、着色剤、離型剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤および芳香剤、保存剤および抗酸化剤もまた組成物中に存在し得る。

【０４４４】

薬学的に許容される本発明の組成物は、治療する感染症の重症度に応じて、ヒトおよび他の動物に、経口的に、直腸から、非経口的、槽内、膣内、腹腔内、局所的（散剤、軟膏剤、またはドロップ剤として）、口腔から、経口スプレーまたは点鼻薬として投与することができる。特定の実施形態において、本発明の組成物は、経口的または非経口的に投与してもよく、この場合、所望の治療上の作用を得るために、ＥＮａＣ阻害剤化合物および／またはＣＦモジュレーターのモジュレーターは、投与する組成物中に、一日あたり、被験体の体重に対して約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇおよび好ましくは約１ｍｇ／ｋｇ～約２５ｍｇ／ｋｇの投与量（１日あたり１回または複数回）で、独立して存在する。

【０４４５】

経口投与用の液体剤形として、これらに限らないが、薬学的に許容される乳剤、マイクロエマルジョン、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤が挙げられる。組成物の活性化合物に加えて、液体剤形は、当技術分野で一般的に使用される不活性賦形剤、例えば水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えばエチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、１，３－ブチレングリコリド、ジメチルホルムアミド、油（特に、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ油、細菌油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコールおよびソルビタンの脂肪酸エステル、ならびにこれらの混合物を含有することができる。不活性な賦形剤に加えて、経口用組成物として、アジュバント、例えば湿潤剤、乳化剤および懸濁化剤、甘味剤、香味剤、および芳香剤なども挙げることができる。

【０４４６】

注射用調製物、例えば、無菌の注射用の水性または油性の懸濁剤を適切な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を使用して、公知の技術に従い配合することができる。無菌の注射用調製物はまた、無毒の非経口的に許容可能な賦形剤または溶媒中の無菌注射液剤、懸濁剤または乳剤、例えば、１，３－ブタンジオール中の溶液剤であってよい。利用し得る許容可能なビヒクルおよび溶媒の中には、水、Ｒｉｎｇｅｒ溶液、Ｕ．Ｓ．Ｐ．および等張性塩化ナトリウム溶液があってよい。さらに、無菌の、不揮発性油は、溶媒としてまたは懸濁化媒体として慣例的に利用されている。この目的のために、合成によるモノグリセリドまたはジグリセリドを含む任意の無菌性の不揮発性油を利用することができる。さらに、脂肪酸、例えばオレイン酸などが注射剤の調製に使用される。

【０４４７】

注射用製剤は、例えば、細菌保持フィルターを介した濾過により、または使用前に滅菌水または他の無菌の注射用媒体中に溶解または分散することができる無菌の固体組成物の形態で滅菌剤を組み込むことによって、無菌化することができる。

【０４４８】

本発明の組成物の作用を長引かせるために、皮下投与または筋肉内投与からの組成物の吸収を遅らせることが望ましいことが多い。これは、水溶解度の乏しい結晶物質またはアモルファス物質の液体懸濁剤を使用することによって成し遂げることができる。よって組成物の吸収速度はその溶解速度に依存し、ひいてはこの溶解速度は結晶粒度および結晶形態に依存し得る。代わりに、非経口的に投与される組成物形態の遅延型吸収は、油ビヒクル中に組成物を溶解または懸濁させることで成し遂げられる。注射用デポーの形態は、組成物のマイクロカプセルマトリックスを、生分解性ポリマー、例えばポリ乳酸－ポリグリコリド中に形成することによって作製される。組成物対ポリマーの比および利用する特定

のポリマーの性質に応じて、組成物の放出速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例として、ポリ（オルトエステル）およびポリ（無水塩）が挙げられる。デポー注射用製剤はまた、組成物を体組織と適合性のリポソームまたはマイクロエマルジョン内に封入することによって調製される。

【０４４９】

直腸または経膣投与のための組成物は、本発明の化合物を適切な非刺激性添加剤または担体、例えばココアバター、ポリエチレングリコールまたは坐剤用蝋などと混合することによって調製することができる坐剤が好ましく、これらの添加剤または担体は、周囲温度では固体であるが、体温では液体であり、したがって直腸または膣腔内で溶融し、活性化合物を放出する。

【０４５０】

経口投与のための固形製剤として、カプセル剤、錠剤、小型錠剤、マイクロ錠剤、微粒子、マイクロ微粒子およびナノ微粒子、丸剤、散剤、および粒剤が挙げられる。このような固形製剤において、活性化合物またはＥＮａＣ阻害剤とＣＦモジュレーター化合物の組合せは、少なくとも１つの不活性な、薬学的に許容される添加剤または担体、例えばクエン酸ナトリウムもしくはリン酸カルシウムおよび／または、ａ）充填剤もしくは増量剤、例えばデンプン、ラクトース、ショ糖、グルコース、マンニトール、およびケイ酸、ｂ）結合剤、例えばカルボキシメチルセルロース、アルギネート、ゼラチン、ポリビニルピロリジノン、ショ糖、およびアラビアゴム、ｃ）湿潤剤、例えばグリセロール、ｄ）崩壊剤、例えば寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモデンプンまたはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のシリケート、および炭酸ナトリウム、ｅ）溶解遅延剤、例えばパラフィン、ｆ）吸収促進剤、例えば第四級アンモニウム化合物、ｇ）湿潤剤、例えばセチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロール、ｈ）吸収剤、例えばカオリンおよびベントナイト粘土、ならびにｉ）滑沢剤、例えばタルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、ならびにこれらの混合物と混合される。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合、剤形は緩衝剤も含み得る。

【０４５１】

同様のタイプの固体組成物もまた、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどの添加剤を使用して、軟質充填ゼラチンカプセル剤および硬質充填ゼラチンカプセル剤中の充填剤として利用することができる。カプセル剤、錠剤、小型錠剤、マイクロ錠剤、微粒子、マイクロ微粒子およびナノ微粒子、丸剤、および粒剤の固形製剤は、コーティングおよびシェル、例えば製剤処方の分野で周知の腸溶コーティングおよび他のコーティングを用いて調製することができる。これらは、不透明化剤を必要に応じて含有することができ、腸管の特定の部分において、必要に応じて、遅延型形式で、有効成分（複数可）のみ、またはこれを優先的に放出する組成物であってもよい。使用することができる包埋組成物の例として、ポリマー物質および蝋が挙げられる。同様のタイプの固体組成物もまた、このような添加剤、例えばラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどを使用して、軟質充填ゼラチンカプセル剤および硬質充填ゼラチンカプセル剤中の充填剤として利用し得る。

【０４５２】

活性化合物または化合物の組合せは、上述の１つまたは複数の添加剤を有するマイクロカプセル化形態であってもよい。固形製剤であるカプセル剤、錠剤、小型錠剤、マイクロ錠、微粒子、マイクロ微粒子およびナノ微粒子、丸剤、ならびに粒剤は、コーティングおよびシェル、例えば腸溶コーティング、放出制御コーティングおよび製剤処方分野で周知の他のコーティングを用いて調製することができる。このような固形製剤において、活性化合物または化合物の組合せは、少なくとも１つの不活性な賦形剤、例えばショ糖、ラクトースまたはデンプンなどと混和することができる。このような剤形はまた、通常実施されているような不活性な賦形剤、例えば、錠剤化滑沢剤および他の錠剤化アジュバント、例えばステアリン酸マグネシウムおよび微結晶性セルロースなど以外のさらなる物質を含み得る。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合、この剤形は緩衝剤も含み得る。これらは不

透明化剤を必要に応じて含有することができ、腸管の特定の部分で、必要に応じて遅延型形式で、有効成分（複数可）のみ、またはこれを優先的に放出する組成物とすることもできる。使用することができる包埋組成物の例として、ポリマー物質および蝋が挙げられる。

【０４５３】

本化合物または本発明の化合物の組合せの局所的または経皮的投与のための剤形として、軟膏、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、散剤、溶液剤、スプレー剤、吸入剤またはパッチが挙げられる。活性成分は、必要に応じて、無菌条件下で、薬学的に許容される担体および必要とされる任意の保存剤または緩衝剤と混和する。眼科用製剤、点耳剤、および点眼剤もまた、本発明の範囲内であると想定される。さらに、本発明は、身体に対して化合物のコントロールデリバリーを提供するという追加の利点を有する経皮的パッチの使用を想定している。このような剤形は、適切な媒体中に化合物を溶解または分散させることによって調製される。吸収増強物質はまた、皮膚全域に化合物のフラックスを増加させるために使用することができる。速度は、速度制御膜を提供するか、またはポリマーマトリックスまたはゲル剤の中に化合物を分散させることによって、制御することができる。

【０４５４】

本明細書中に開示される組成物は、１つまたは複数の他の所望の治療法または医療処置と同時に、またはその前後に投与することができることも理解されたい。組合せレジメンを利用するための治療の特定の組合せ（治療法または手順）は、所望の治療法および／または手順ならびに達成すべき所望の治療作用との適合性を考慮に入れる。利用する治療法は、同じ障害に対する所望の作用を達成してもよく（例えば、本発明の化合物または化合物の組合せは、同じ障害を治療するために使用される別の薬剤と同時に投与されてもよい）、またはこれらは異なる作用を達成してもよい（例えば、任意の副作用の制御）ことも理解されたい。本明細書で使用する場合、ある特定の疾患または状態を治療または予防するために通常投与されるさらなる治療薬は、「治療をしている疾患または状態に適している」ものとして公知である。

【０４５５】

一実施形態において、さらなる薬剤は、粘液溶解薬、気管支拡張剤、抗生物質、抗感染症剤、抗炎症剤、本発明の化合物以外のＣＦＴＲモジュレーター、または栄養剤から選択される。

【０４５６】

一実施形態において、さらなる薬剤は抗生物質である。本明細書中で有用な例示的抗生物質として、トブラマイシン吸入パウダー（ＴＩＰ）を含むトブラマイシン、アジスロマイシン、エアゾール剤の形態のアズトレオナムを含むアズトレオナム、そのリポソーム製剤を含むアミカシン、吸入による投与に適したその製剤を含むシプロフロキサシン、エアゾール化されたその製剤を含むレボフロキサシン、ならびに２つの抗生物質の組合せ、例えば、ホスホマイシンおよびトブラマイシンが挙げられる。

【０４５７】

別の実施形態において、さらなる薬剤は、ムコライトである。本明細書中で有用な例示的ムコライトにはＰｕｌｍｏｚｙｍｅ（登録商標）が含まれる。

【０４５８】

別の実施形態において、さらなる薬剤は気管支拡張剤である。例示的な気管支拡張剤（bronchodialtor）として、アルブテロール、硫酸メタプロテネロール、酢酸ピルブテロール、サルメテロール、または硫酸テトラブリンが挙げられる。

【０４５９】

別の実施形態において、さらなる薬剤は、肺気道表面の液体の修復に効果的である。このような薬剤は、細胞内外への塩の移動を向上させて、肺気道内の粘液をさらに水和させ、これにより、粘膜をさらに容易に除去する。例示的なこのような薬剤として、高張生理食塩水、デヌホソール四ナトリウム（［［（３Ｓ，５Ｒ）－５－（４－アミノ－２－オキ

ソピリミジン－１－イル）－３－ヒドロキシオキソラン－２－イル］メトキシ－ヒドロキシホスホリル］［［［（２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ，５Ｒ）－５－（２，４－ジオキソピリミジン－１－イル）－３，４－ジヒドロキシオキソラン－２－イル］メトキシ－ヒドロキシホスホリル］オキシ－ヒドロキシホスホリル］ハイドロジェンホスフェート）、またはブロンキトール（マンニトールの吸入製剤）が挙げられる。

【０４６０】

別の実施形態において、さらなる薬剤は抗炎症剤、すなわち、肺の炎症を低下させることができる薬剤である。本明細書中で有用なこのような例示的薬剤として、イブプロフェン、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）、シルデナフィル、吸入用グルタチオン、ピオグリタゾン、ヒドロキシクロロキン、またはシンバスタチンが挙げられる。

【０４６１】

別の実施形態において、さらなる薬剤は、Ａ～Ｄ欄で開示された成分以外のＣＦＴＲモジュレーター、すなわちＣＦＴＲ活性をモジュレートする作用を有する薬剤である。このような例示的薬剤として、アタルレン（「ＰＴＣ１２４（登録商標）」；３－［５－（２－フルオロフェニル）－１，２，４－オキサジアゾール－３－イル］安息香酸）、シナプルチド、ランコブチド、デペレスタット（ヒト組換え型好中球エラスターゼ阻害剤）、コビプロストン（７－｛（２Ｒ、４ａＲ、５Ｒ、７ａＲ）－２－［（３Ｓ）－１，１－ジフルオロ－３－メチルペンチル］－２－ヒドロキシ－６－オキソオクタヒドロシクロペンタ［ｂ］ピラン－５－イル｝ヘプタン酸）、または（３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸が挙げられる。別の実施形態において、さらなる薬剤は、（３－（６－（１－（２，２－ジフルオロベンゾ［ｄ］［１，３］ジオキソール－５－イル）シクロプロパンカルボキサミド）－３－メチルピリジン－２－イル）安息香酸である。

【０４６２】

別の実施形態において、さらなる薬剤は栄養剤である。このような薬剤の例示として、パンクレリパーゼ（膵臓酵素代用物）を含むＰａｎｃｒｅａｓｅ（登録商標）、Ｐａｎｃｒｅａｃａｒｂ（登録商標）、Ｕｌｔｒａｓｅ（登録商標）、またはＣｒｅｏｎ（登録商標）、Ｌｉｐｒｏｔｏｍａｓｅ（登録商標）（以前はＴｒｉｚｙｔｅｋ（登録商標））、Ａｑｕａｄｅｋｓ（登録商標）、またはグルタチオン吸入剤が挙げられる。一実施形態において、さらなる栄養剤はパンクレリパーゼである。

【０４６３】

本発明の組成物中に存在するさらなる治療薬の量は、その治療薬が唯一の活性物質として含まれている組成物において通常投与されることになる量を上回ることはない。好ましくは本発明で開示された組成物中のさらなる治療薬の量は、唯一の治療用活性物質としてその薬剤を含む組成物中に通常存在する量の約５０％～１００％の範囲となる。

【０４６４】

本明細書中に開示されている本発明の組成物は、埋込み型医療装置、例えば人工器官、人工弁、血管グラフト、ステントおよびカテーテルをコーティングするための組成物に取り込まれてもよい。したがって、本発明は、別の態様において、本明細書中のクラスおよびサブクラスにおける、本明細書中で開示されている組成物または薬学的に許容されるその組成物と、前記移植可能な装置をコーティングするのに適した担体とを含む、移植可能な装置をコーティングするための組成物を含む。さらに別の態様において、本発明は、本明細書に記載される組成物または薬学的に許容されるその組成物と、前記移植可能な装置をコーティングするのに適した担体とを含む組成物でコーティングされた移植可能な装置を含む。コーティングされた移植可能な装置の適切なコーティングおよび一般的な製剤は、米国特許第６，０９９，５６２号；５，８８６，０２６号；および５，３０４，１２１号に記載されている。コーティングは、通常生体適合性ポリマー剤、例えばヒドロゲルポリマー、ポリメチルジシロキサン、ポリカプロラクトン、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、エチレン酢酸ビニル、およびその混合物などである。コーティングは、フルオロシ

リコーン、ポリサッカライド、ポリエチレングリコール、リン脂質またはこれらの組合せなどの適切なトップコートで必要に応じてさらに覆うことにより、組成物に徐放特性を与えることができる。

【０４６５】

本明細書に記載されている本発明をより完全に理解することができるように、以下の実施例が記載されている。これら実施例は、例示目的のみであり、決して本発明を限定していると解釈されてはならないことを理解するべきである。

【０４６６】

例示目的のみで、ＣＦモジュレーターのモジュレーターを含む製剤ＩＶ．Ａ、ＢおよびＣを、単一成分の製剤、またはＡ、Ｂ、もしくはＣ欄のＣＦモジュレーターのモジュレーター成分とＤ欄のＥＮａＣ阻害剤成分の組合せを含有する製剤のいずれかとして列挙する。

【０４６７】

Ｖ．使用の方法

さらに別の態様において、本発明は、ＣＦＴＲおよび／またはＥＮａＣ機能不全に関係づけられる状態、疾患、もしくは障害を治療する方法であって、それを必要とする被験体、好ましくは哺乳動物に医薬組成物を投与するステップを含む方法を提供し、この組成物は、Ｄ欄の成分（ＥＮａＣ阻害剤、好ましくは式ＩＶの化合物であるＥＮａＣ阻害剤を含む）と、表Ｉに記載のＡ、Ｂ、およびＣ欄の少なくとも１つの成分とを含む。一実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と式Ｉの化合物を含む。一実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と式ＩＩの化合物とを含む。一実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と式ＩＩＩの化合物とを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と化合物１とを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と化合物２とを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と化合物３とを含む。さらなる実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と化合物１の製剤とを含む。さらなる実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と化合物２の製剤とを含む。さらなる実施形態において、医薬組成物は、Ｄ欄のＥＮａＣ阻害剤と化合物３の製剤とを含む。

【０４６８】

様々な実施形態において、合わせた活性物質の投与は、組合せの各活性物質を、別々の用量単位としてまたは単一の用量単位として投与することによって遂行できる。２つの活性物質を別々に投与する場合、活性物質のそれぞれは、同時に投与してもよく、または一方の活性物質を他方の活性物質の前後で投与してもよい。

【０４６９】

特定の実施形態において、本発明は、ＣＦＴＲ活性の欠陥に関わる状態、疾患、または障害を治療する方法であって、本発明の医薬組成物を、それを必要とする被験体、好ましくは哺乳動物に投与するステップを含む方法を提供する。

【０４７０】

さらに別の態様において、本発明は、ＣＦＴＲ変異に関わる状態、疾患、または障害を治療するまたはこれらの重症度を低める方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、ＣＦＴＲ活性の欠陥に関わる状態、疾患、または障害を治療する方法であって、本発明の医薬組成物を、それを必要とする被験体、好ましくは哺乳動物に投与するステップを含む方法を提供する。

【０４７１】

別の態様では、本発明はまた、患者における疾患を治療するまたは疾患の重症度を低める方法であって、本発明の医薬組成物を、それを必要とする被験体、好ましくは哺乳動物に投与するステップを含む方法を提供し、前記疾患は、以下から選択される。嚢胞性線維症、喘息、煙誘発性ＣＯＰＤ、慢性気管支炎、鼻副鼻腔炎、便秘、膵炎、膵臓不全、先天性両側精管欠損症（ＣＢＡＶＤ）によって引き起こされる男性不妊、軽度の肺疾患、特発性膵炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症（ＡＢＰＡ）、肝疾患、遺伝性肺気腫、

遺伝性血色症、凝固－線溶欠乏症、例えばプロテインＣ欠乏症、１型遺伝性血管性浮腫、脂質処理欠損症、例えば家族性高コレステロール血症、１型カイロミクロン血症、無βリポタンパク質血症、脂肪蓄積症、例えばＩ－細胞病／偽ハーラー症候群、ムコ多糖体代謝異常、サンドホフ／テイサックス、クリグラー－ナジャーＩＩ型、多腺性内分泌障害／高インスリン血症、糖尿病、ラロン小人症、ミエロペルオキシダーゼ欠損症、原発性副甲状腺機能低下症、メラノーマ、グリカノシスＣＤＧ１型、先天性甲状腺機能亢進症、骨形成不全症、遺伝性低フィブリノゲン血症、ＡＣＴ欠損症、尿崩症（ＤＩ）、神経身体的ＤＩ、腎性ＤＩ、シャルコー－マリーツース症候群、ペリツェウスメルツバッハー病、神経変性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺（progressive supranuclear plasy）、ピック病、数種のポリグルタミン神経障害、例えばハンチントン病、脊髄小脳失調症Ｉ型、脊髄性および延髄性筋萎縮症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体、および筋緊張性ジストロフィー、ならびに海綿状脳症、例えば遺伝性クロイツフェルトヤコブ病（プリオンタンパク質プロセシング欠陥が原因）、ファブリ病、ストロイスラー－シャインカー症候群、ＣＯＰＤ、ドライアイ疾患、またはシェーグレン症候群、骨粗鬆症、骨減少症、骨癒合および骨増殖（骨修復、骨再生、骨吸収の減少および骨沈着の増加を含む）、ゴーハム症候群、クロライドチャネル病、例えば先天性ミオトニー（トムソンおよびベッカー型）、バーター症候群ＩＩＩ型、デント病、驚愕過剰症、てんかん、びっくり病、リソソーム蓄積症、アンジェルマン症候群、ならびに内臓逆位を伴うＰＣＤ（カールタジュナー症候群としても公知）、内臓逆位を伴わないＰＣＤおよび毛様体形成不全を含む繊毛の構造および／または機能の遺伝性障害に対する用語である原発性線毛機能不全（ＰＣＤ）。

【０４７２】

一部の実施形態において、本方法は、患者において嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物の１つを投与するステップを含む。特定の実施形態において、患者はヒトＣＦＴＲの変異体形態を保有する。他の実施形態では、患者は、ヒトＣＦＴＲの変異である、ΔＦ５０８、Ｒ１１７Ｈ、およびＧ５５１Ｄのうちの１つまたは複数を保有する。一実施形態において、本方法は、ヒトＣＦＴＲのΔＦ５０８変異を保有する患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、ヒトＣＦＴＲのＧ５５１Ｄ変異を保有する患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、少なくとも１つの対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのΔＦ５０８変異を保有する患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、両方の対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのΔＦ５０８変異を保有する患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、少なくとも１つの対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのＧ５５１Ｄ変異を保有する患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、両方の対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのＧ５５１Ｄ変異を保有する患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。

【０４７３】

一部の実施形態において、本方法は、患者において嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物の１つを投与するステップを含む。特定の実施形態において、患者はヒトＣＦＴＲの変異体形態を保有する。他の実施形態

では、患者は、ヒトＣＦＴＲの変異である、ΔＦ５０８、Ｒ１１７Ｈ、およびＧ５５１Ｄのうちの１つまたは複数を保有する。一実施形態において、本方法は、ヒトＣＦＴＲのΔＦ５０８変異を保有する患者における嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、ヒトＣＦＴＲのＧ５５１Ｄ変異を保有する患者における嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、少なくとも１つの対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのΔＦ５０８変異を保有する患者における嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、両方の対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのΔＦ５０８変異を保有する患者における嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、少なくとも１つの対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのＧ５５１Ｄ変異を保有する患者における嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。一実施形態において、本方法は、両方の対立遺伝子上に、ヒトＣＦＴＲのＧ５５１Ｄ変異を保有する患者における嚢胞性線維症の重症度を低めるステップを含み、前記患者に本明細書中で定義された組成物のうちの１つを投与するステップを含む。

【０４７４】

一部の態様において、本発明は、患者における骨粗鬆症を治療するまたは骨粗鬆症の重症度を低める方法であって、前記患者に本明細書中で定義された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。

【０４７５】

特定の実施形態において、患者における骨粗鬆症を治療するまたは骨粗鬆症の重症度を低める本方法は、前記患者に本明細書に記載された医薬組成物を投与するステップを含む。

【０４７６】

一部の態様において、本発明は、患者における骨減少症を治療するまたは骨減少症の重症度を低める方法であって、前記患者に本明細書中で定義された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。

【０４７７】

特定の実施形態において、患者における骨減少症を治療するまたは骨減少症の重症度を低める本方法は、前記患者に本明細書に記載された医薬組成物を投与するステップを含む。

【０４７８】

一部の態様において、本発明は、患者における骨癒合および／または骨修復の方法であって、前記患者に本明細書中で定義された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。

【０４７９】

特定の実施形態において、患者における骨癒合および／または骨修復の本方法は、前記患者に本明細書に記載された医薬組成物を投与するステップを含む。

【０４８０】

一部の態様において、本発明は、本明細書中に定義された組成物を患者に投与するステップを含む方法であって、前記患者における骨吸収を減少させる方法を提供する。

【０４８１】

一部の態様において、本発明は、本明細書中に定義された組成物を患者に投与するステップを含む方法であって、前記患者における骨沈着を増加させる方法を提供する。

【０４８２】

特定の実施形態において、患者における骨沈着を増加させる方法は、本明細書中に定義された組成物を前記患者に投与するステップを含む。

【０４８３】
一部の態様において、本発明は、患者におけるＣＯＰＤを治療するまたはＣＯＰＤの重症度を低める方法であって、前記患者に本明細書中で定義された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。
【０４８４】
特定の実施形態において、患者におけるＣＯＰＤを治療するまたはＣＯＰＤの重症度を低める本方法は、前記患者に本明細書に定義された組成物を投与するステップを含む。
【０４８５】
一部の態様において、本発明は、患者における煙誘発性ＣＯＰＤを治療するまたは煙誘発性ＣＯＰＤの重症度を低める方法であって、前記患者に本明細書中で定義された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。
【０４８６】
特定の実施形態において、患者における煙誘発性ＣＯＰＤを治療するまたは煙誘発性ＣＯＰＤの重症度を低める本方法は、前記患者に本明細書に定義された組成物を投与するステップを含む。
【０４８７】
一部の態様において、本発明は、患者における慢性気管支炎を治療するまたは慢性気管支炎の重症度を低める方法であって、前記患者に本明細書中に記載された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。
【０４８８】
特定の実施形態において、患者における慢性気管支炎を治療するまたは慢性気管支炎の重症度を低める本方法は、前記患者に本明細書に定義された組成物を投与するステップを含む。
【０４８９】
代替の実施形態によると、本発明は、嚢胞性線維症を治療する方法であって、前記哺乳動物に本明細書中で定義された組成物を投与するステップを含む方法を提供する。
【０４９０】
本発明によると、組成物の「有効量」は、上に列挙した１つまたは複数の疾患、障害または状態を治療するまたはこれらの重症度を低める効果のある量である。
【０４９１】
本発明の別の態様は、一日あたり少なくとも一度、本明細書に記載された組成物を患者に経口的に投与することによって、医薬組成物を投与する方法を提供する。一実施形態において、本方法は、本明細書中の表Ｉで一度定義された組成物である組成物を前記患者に２４時間ごとに投与するステップを含む。別の実施形態において、本方法は、本明細書中に定義された組成物を１２時間ごとに前記患者に投与するステップを含む。さらなる実施形態において、本方法は、本明細書中で定義された組成物を一日３回前記患者に投与するステップを含む。よりさらなる実施形態において、本方法は、本明細書中に定義された組成物を前記患者に投与するステップを含む。
【０４９２】
本発明の方法によると、組成物は、上に列挙した１つまたは複数の疾患、障害または状態を治療するまたはこれらの重症度を低める効果のある、任意の投与量および任意の投与ルートを使用して投与することができる。
【０４９３】
特定の実施形態において、本発明の組成物は、呼吸上皮組織および非呼吸上皮組織の頂端膜において、残留ＣＦＴＲ活性を示す患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるために有用である。上皮表面での残留ＣＦＴＲ活性の存在は、当技術分野で公知の方法、例えば、標準的な電気生理的技法、生化学的技法または組織化学的技法を使用して容易に検出できる。このような方法は、インビボまたはエキソビボの電気生理的技法、汗または唾液のCl^-濃度の測定、または細胞表面密度を観察するためのエキソビボの生化学的または組織化学的技法を使用してＣＦＴＲ活性を特定する。残留

ＣＦＴＲ活性は、このような方法を使用して、様々な異なる変異に対してヘテロ接合性またはホモ接合性である患者において容易に検出することができ、この中には、最も一般的な変異、ΔＦ５０８に対してホモ接合性またはヘテロ接合性の患者も含まれる。

【０４９４】

別の実施形態において、本発明の組成物は、誘発されたまたは増大された残留ＣＦＴＲ活性を有する患者において、薬品作用学的方法または遺伝子治療を使用して嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるのに有用である。このような方法は、細胞表面に存在するＣＦＴＲの量を増加させ、これによって、患者において今までに存在しなかったＣＦＴＲ活性を誘発し、または患者における残留ＣＦＴＲ活性の既存濃度を増加させる。

【０４９５】

一実施形態において、本明細書中で定義された組成物は、残留ＣＦＴＲ活性、例えばクラスＩＩＩの変異（調節または開閉の障害）、クラスＩＶの変異（コンダクタンスの変化）、またはクラスＶ変異（合成の減少）を示す特定の遺伝子型内で患者における嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるのに有用となり得る（Lee R.Choo-Kang、Pamela L., Zeitlin、Type I、II、III、IV、and V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy；Current Opinion in Pulmonary Medicine ６巻：５２１～５２９頁、２０００年）。残留ＣＦＴＲ活性を示す他の患者の遺伝子型は、クラスＩの変異、クラスＩＩの変異、または分類されていない変異を含む、これらのクラスの変異のうちの１つに対してホモ接合性であるか、または任意の他のクラスの変異とヘテロ接合性である患者を含む。

【０４９６】

一実施形態において、本明細書中で定義された組成物は、特定の臨床上の発現型内で、例えば、上皮組織の頂端膜における残留ＣＦＴＲ活性の量と通常相関する、中等度から軽度の臨床上の発現型内で、患者において嚢胞性線維症を治療するまたは嚢胞性線維症の重症度を低めるのに有用となり得る。このような発現型は、膵臓不全を示す患者または特発性膵炎および先天性両側精管欠損症、または軽度の肺疾患と診断された患者を含む。

【０４９７】

正確な必要量は、被験体の種属、年齢、および全身症状、感染症の重症度、特定の薬剤、その投与方法などに応じ、被験体によって異なることになる。本発明の組成物は、投与の容易さおよび投与量の均一性のため単位剤形で配合するのが好ましい。「単位剤形」という表現は、本明細書で使用する場合、治療を受ける患者に適した物理的に別個の薬剤ユニットを指す。しかし、本発明の組成物の総一日量は、健全な医学上の判断の範囲内で担当医師により決定されることになることを理解されたい。任意の特定の患者または生物に対する具体的な投与量のレベルは、治療する障害および障害の重症度；利用する組成物の活性；利用する特定の組成物；患者の年齢、体重、全般的な健康状態、性別および食生活；投与の時間、投与のルート、および利用する特定の組成物の排出速度；治療の継続期間；利用する特定の組成物と組み合わせてまたは同時に使用される薬物、ならびに医学分野における周知の要因などを含む、様々な要因に依存することになる。「患者」という用語は、本明細書で使用する場合、動物、好ましくは哺乳動物、ならびに最も好ましくはヒトを意味する。

【０４９８】

ＶＩ．アッセイ

Ａ．プロトコル１

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強特性を検出および測定するためのアッセイ

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーション特性をアッセイするための膜電位の光学的測定方法

このアッセイは、ＮＩＨ３Ｔ３細胞における機能性ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの増加の読み取りとして、蛍光プレートリーダー（例えば、ＦＬＩＰＲ ＩＩＩ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｉｎｃ．）を使用して、膜電位の変化を測定する蛍光の電圧感受性染

料を利用する。反応に対する推進力は、細胞を事前に化合物で処理し、続いて電圧感受性染料を充填した後での、単一の液体添加ステップによるチャネル活性化と関連した塩素イオン勾配の生成である。

【０４９９】

増強化合物の同定

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの増強物質を同定するために、二重添加ＨＴＳアッセイフォーマットを開発した。このＨＴＳアッセイは、蛍光の電圧感受性染料を利用することによって、温度補正したΔＦ５０８　ＣＦＴＲ　ＮＩＨ　３Ｔ３細胞におけるΔＦ５０８　ＣＦＴＲの開閉（コンダクタンス）の増加の測定として、ＦＬＩＰＲ　ＩＩＩ上の膜電位の変化を測定する。反応に対する推進力は、細胞を増強化合物（またはＤＭＳＯビヒクル制御）で事前に処理し、続いて再分布染料を充填した後での、蛍光のプレートリーダー、例えばＦＬＩＰＲ　ＩＩＩなどを使用した、単一の液体添加ステップによるホルスコリンでのチャネル活性化と関連したCl^-イオン勾配である。

【０５００】

溶液

槽溶液＃１：（単位ｍＭ）ＮａＣｌ　１６０、ＫＣｌ　４．５、$CaCl_2$　２、$MgCl_2$　１、ＨＥＰＥＳ　１０、ＮａＯＨでｐＨ７．４

塩化物を含まない槽溶液：槽溶液＃１（上記）中塩化物塩をグルコン酸塩で置き換える。

【０５０１】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を膜電位の光学測定に使用する。これらの細胞を、１７５ｃｍ^{2}の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ペニシリン／ストレプトマイシン（ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ）、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持する。すべての光学的アッセイに対して、細胞を、３８４ウェルマトリゲルコーティングしたプレートに約２０，０００個／ウェルで播種し、３７℃で２時間培養し、増強物質アッセイのため２７℃で２４時間培養する。補正アッセイのため、化合物と共に、および化合物なしで、２７℃または３７℃で１６～２４時間細胞を培養する。化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーション特性をアッセイするための電気生理的アッセイ。

【０５０２】

Ｕｓｓｉｎｇチャンバーアッセイ

光学的アッセイにおいて同定したΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーターをさらに特徴づけるため、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを発現する、極性化した気道上皮細胞上で、Ｕｓｓｉｎｇチャンバー実験を遂行した。非ＣＦおよびＣＦ気道上皮組織を気管支組織から単離し、上述したように培養し（Galietta, L. J. V.、Lantero, S.、Gazzolo, A.、Sacco, O.、Romano, L.、Rossi, G.A.およびZegarra-Moran, O.（１９９８年）In Vitro Cell.Dev.Biol.３４巻、４７８～４８１頁）、ＮＩＨ３Ｔ３馴化培地をプレコートしたＣｏｓｔａｒ（登録商標）Ｓｎａｐｗｅｌｌ（商標）フィルター上にプレーティングした。４日後、頂端膜用培地を取り出し、使用前の１４日間超の間、空気液体界面で細胞を増殖した。これにより、繊毛のある（これは、気道上皮組織に典型的な特徴である）完全に分化した円柱細胞の単分子膜が生じた。非ＣＦ　ＨＢＥをいかなる公知の肺疾患も有さない非喫煙者から単離した。ＣＦ－ＨＢＥは、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲに対してホモ接合性の患者から単離した。

【０５０３】

Ｃｏｓｔａｒ（登録商標）Ｓｎａｐｗｅｌｌ（商標）細胞培養インサート上で増殖したＨＢＥを、Ｕｓｓｉｎｇチャンバー（Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）に組み込み、経上皮抵抗および短絡回路電流を、側底膜から頂端膜までのCl^-勾配（I_{SC}）の存在下、電圧クランプシステム（Ｄｅ

ｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｉｏｗａ、ＩＡ）を使用して測定した。簡単に説明すると、ＨＢＥを、電圧クランプ記録条件（V_{hold}＝０ｍＶ）下で、３７℃で試験した。側底膜用溶液は、１４５のＮａＣｌ、０．８３のK_2HPO_4、３．３のKH_2PO_4、１．２の$MgCl_2$、１．２の$CaCl_2$、１０のグルコース、１０のＨＥＰＥＳ（ＮａＯＨでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有し、頂端膜用溶液は、１４５のＮａグルコン酸塩、１．２の$MgCl_2$、１．２の$CaCl_2$、１０のグルコース、１０のＨＥＰＥＳ（ＮａＯＨでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。

【０５０４】

増強化合物の同定

典型的なプロトコルは、側底膜から頂端膜へのCl^-濃縮勾配を利用した。この勾配を設定するため、通常のリンガー液を側底細胞膜上で使用し、その一方で、頂端膜のＮａＣｌを等モルのグルコン酸ナトリウムで置き換えることによって（ＮａＯＨでｐＨ７．４に滴定）、上皮全域で大きなCl^-濃度勾配を得た。ホルスコリン（１０μＭ）およびすべての試験化合物を細胞培養インサートの頂端膜側面に添加した。推定のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強物質の効力を、公知の増強物質である、ゲニステインの効力と比較した。

【０５０５】

パッチクランプ記録

ΔＦ５０８－ＮＩＨ３Ｔ３細胞中の総Cl^-電流を、上述した穿孔処理したパッチ記録設定を使用してモニターした（Rae, J.、Cooper, K.、Gates, P.およびWatsky, M.（１９９１年）J.Neurosci.Methods ３７巻、１５～２６頁）。Ａｘｏｐａｔｃｈ２００Ｂパッチクランプ増幅器（Ａｘｏｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｉｎｃ.、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）を使用して、電圧－クランプ記録を２２℃で遂行した。ピペット溶液は、１５０のＮ－メチル－Ｄ－グルカミン（ＮＭＤＧ）－Ｃｌ、２の$MgCl_2$、２の$CaCl_2$、１０のＥＧＴＡ、１０のＨＥＰＥＳ、および２４０μｇ／ｍＬのアムホテリシン－Ｂ（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。細胞外培地は、１５０のＮＭＤＧ－Ｃｌ、２の$MgCl_2$、２の$CaCl_2$、１０のＨＥＰＥＳ（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。Ｃｌａｍｐｅｘ ８（Ａｘｏｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｉｎｃ.）と共にＤｉｇｉｄａｔａ １３２０Ａ／Ｄインターフェイスを備えたＰＣを使用して、パルスの発生、データ取得、および分析を遂行した。ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを活性化するために、１０μＭのホルスコリンと２０μＭのゲニステインを槽に添加し、電流－電圧関係を３０秒ごとにモニターした。

【０５０６】

増強化合物の同定

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３細胞中の巨視的なΔＦ５０８－ＣＦＴＲ Cl^-電流（$I_{\Delta F508}$）を増加させるΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強物質の能力もまた、穿孔処理したパッチ記録技法を使用して調べた。光学的アッセイで同定した増強物質は、光学的アッセイにおいて認められたものと同様の作用強度および効力で$I_{\Delta F508}$の用量依存的増加を誘起した。試験したすべての細胞において、増強物質の適用前および適用中の逆転電位は、約－３０ｍＶであった。これは算出したE_{Cl}（－２８ｍＶ）である。

【０５０７】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を全細胞記録に使用する。これらの細胞を、１７５cm^2の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持した。全細胞記録のため、２，５００～５，０００個の細胞をポリ－Ｌ－リジン－コーティングしたガラスカバースリップ上に播種し、増強物質の活性を試験するためのに、使用前に２７℃で２４～４８時間培養し、矯正因子の活性を

測定するために、３７℃で、補正化合物と共に、および補正化合物なしでインキュベートした。

【０５０８】

単一チャネル記録

Ａｘｏｐａｔｃｈ２００Ｂパッチクランプ増幅器（Ａｘｏｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｉｎｃ．）を使用して、ＮＩＨ３Ｔ３細胞内に発現した、ｗｔ－ＣＦＴＲおよび温度補正したΔＦ５０８－ＣＦＴＲの開閉活性を、上述した、切除した反転膜のパッチ記録を使用して観測した（Dalemans, W.、Barbry, P.、Champigny, G.、Jallat, S.、Dott, K.、Dreyer, D.、Crystal, R.G.、Pavirani, A.、Lecocq, J-P.、Lazdunski, M（１９９１年）Nature、３５４巻、５２６～５２８頁）。ピペットは、１５０のＮＭＤＧ、１５０のアスパラギン酸、５の$CaCl_2$、２の$MgCl_2$、および１０のＨＥＰＥＳ（トリス塩基でｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。槽は、１５０のＮＭＤＧ－Ｃｌ、２の$MgCl_2$、５のＥＧＴＡ、１０のＴＥＳ、および１４のトリス塩基（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。切除後、１ｍＭ Ｍｇ－ＡＴＰ、７５ｎＭの触媒サブユニットのｃＡＭＰ依存性タンパク質キナーゼ（ＰＫＡ；Ｐｒｏｍｅｇａ Ｃｏｒｐ．Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）および１０ｍＭのＮａＦを添加してタンパク質ホスファターゼを抑制する（電流停止を防止した）ことによって、ｗｔ－ＣＦＴＲとΔＦ５０８－ＣＦＴＲの両方を活性化させた。ピペット電位を８０ｍＶに維持した。２つ以下の活性チャネルを含有する膜パッチからチャネル活性を分析した。実験経過中、同時開口の最大数から、活性チャネルの数を求めた。単一チャネル電流振幅を求めるために、１２０秒のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ活性から記録したデータを、１００Ｈｚで「オフライン」でフィルターし、次いでこれを使用して、Ｂｉｏ－Ｐａｔｃｈ Ａｎａｌｙｓｉｓソフトウエア（Ｂｉｏ－ＬｏｇｉｃＣｏｍｐ．Ｆｒａｎｃｅ）を使用した、マルチガウシアン機能を備えた全点振幅ヒストグラム（ａｌｌ ｐｏｉｎｔ ａｍｐｌｉｔｕｄｅ ｈｉｓｔｏｇｒａｍ）を構築した。微細電流の総電流量および開口の確率（P_o）を１２０秒のチャネル活性から求めた。Ｂｉｏ－Ｐａｔｃｈソフトウエアを使用して、または$P_o = I / i(N)$（式中、Ｉ＝平均電流、ｉ＝単一チャネル電流振幅、およびＮ＝パッチ内の活性チャネルの数）の関係からP_oを求めた。

【０５０９】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を、切除膜パッチクランプ記録に使用する。これらの細胞を、１７５cm^2の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持する。単一チャネル記録のため、２，５００～５，０００個の細胞を、ポリ－Ｌ－リジン－コーティングされたガラスカバースリップ上に播種し、使用前に２７℃で２４～４８時間培養した。

【０５１０】

化合物１の活性

本発明の化合物は、ＡＴＰ結合カセットトランスポーターのモジュレーターとして有用である。以下の表１－３は、表Ｉの特定の実施形態のＥＣ５０および相対的な効力を例示している。以下の表１－３において、以下の意味が適用される。ＥＣ５０：「＋＋＋」は、＜１０μＭを意味する。「＋＋」は、１０μＭ～２５μＭの間を意味する。「＋」は、２５μＭ～６０μＭの間を意味する。効力％：「＋」は＜２５％を意味する。「＋＋」は２５％～１００％の間を意味する。「＋＋＋」は＞１００％を意味する。

【０５１１】

【表１－３】

化合物番号	EC50 (μM)	活性 %
1	+++	++

Ｂ．プロトコル２

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強特性を検出および測定するためのアッセイ

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーション特性をアッセイするための膜電位の光学的測定方法

このアッセイは、ＮＩＨ３Ｔ３細胞における機能性ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの増加の読み取りとして、蛍光プレートリーダー（例えば、ＦＬＩＰＲ　ＩＩＩ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｉｎｃ．）を使用して、膜電位の変化を測定する蛍光の電圧感受性染料を利用する。反応に対する推進力は、細胞を事前に化合物で処理し、続いて電圧感受性染料を充填した後での、単一の液体添加ステップによるチャネル活性化と関連した塩素イオン勾配の生成である。

【０５１２】

増強化合物の同定

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの増強物質を同定するために、二重添加ＨＴＳアッセイフォーマットを開発した。このＨＴＳアッセイは、温度補正されたΔＦ５０８　ＣＦＴＲ　ＮＩＨ３Ｔ３細胞内のΔＦ５０８　ＣＦＴＲの開閉（コンダクタンス）の増加の測定として、膜電位の変化を測定するための蛍光の電圧感受性染料を利用する。反応に対する推進力は、細胞を事前に増強化合物（またはＤＭＳＯビヒクル対照）で処理し、続いて再分散染料で充填した後での、ＦＬＩＰＲＩＩＩなどの蛍光のプレートリーダーを使用した、単一の液体添加ステップによるホルスコリンでのチャネル活性化と関連したCl^-イオン勾配である。

【０５１３】

溶液

槽溶液＃１：（単位ｍＭ）ＮａＣｌ　１６０、ＫＣｌ　４．５、$CaCl_2$　２、$MgCl_2$　１、ＨＥＰＥＳ　１０、ＮａＯＨでｐＨ７．４

塩化物を含まない槽溶液：槽溶液＃１（上記）中塩化物をグルコン酸塩で置き換える。

【０５１４】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を、膜電位の光学的測定に使用する。これらの細胞を、１７５cm^2の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持する。すべての光学的アッセイに対して、３８４－ウェルマトリゲル－コーティングしたプレートに約２０，０００／ウェルで細胞を播種し、３７℃で２時間培養し、その後、増強物質アッセイのために、２７℃で２４時間培養した。補正アッセイのため、化合物と共に、および化合物なしで、２７℃または３７℃で１６～２４時間細胞を培養した。化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーション特性をアッセイするための電気生理的アッセイ

Ｕｓｓｉｎｇチャンバーアッセイ

光学的アッセイにおいて同定したΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーターをさらに特徴づけるため、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを発現する、極性化した気道上皮細胞上で、Ｕｓｓｉｎｇチャンバー実験を遂行した。非ＣＦおよびＣＦ気道上皮組織を気管支組織から単離し、上述したように培養し（Galietta, L.J.V.、Lantero, S.、Gazzolo, A.、Sacco, O.、Romano, L.、Rossi, G.A.およびZegarra-Moran, O.（１９９８年）In Vitro Cell. Dev.Biol.３４巻、４７８～４８１頁）、ＮＩＨ３Ｔ３馴化培地をプレコートした、Ｃｏｓｔａｒ（登録商標）Ｓｎａｐｗｅｌｌ（商標）フィルター上にプレーティングした。４

日後、頂端膜用培地を取り出し、使用前の１４日間超の間、空気液体界面で細胞を増殖した。これにより、繊毛のある（これは、気道上皮組織に典型的な特徴である）完全に分化した円柱細胞の単分子膜が生じた。非ＣＦ　ＨＢＥを、いかなる公知の肺疾患も有さない非喫煙者から単離した。ＣＦ－ＨＢＥは、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲに対してホモ接合性の患者から単離した。

【０５１５】

Ｃｏｓｔａｒ（登録商標）Ｓｎａｐｗｅｌｌ（商標）細胞培養インサート上で増殖したＨＢＥを、Ｕｓｓｉｎｇチャンバー（Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）に組み込み、経上皮抵抗および短絡回路電流を、側底膜から頂端膜までのCl^-勾配（I_{SC}）の存在下、電圧－クランプシステム（Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｉｏｗａ、ＩＡ）を使用して測定した。簡単に説明すると、ＨＢＥ電圧－クランプ記録条件（V_{hold}＝０ｍＶ）下で、３７℃で試験した。側底膜用溶液は、１４５のＮａＣｌ、０．８３のK_2HPO_4、３．３のKH_2PO_4、１．２の$MgCl_2$、１．２の$CaCl_2$、１０のグルコース、１０のＨＥＰＥＳ（ＮａＯＨでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有し、頂端膜用溶液は、１４５のＮａグルコン酸塩、１．２の$MgCl_2$、１．２の$CaCl_2$、１０のグルコース、１０のＨＥＰＥＳ（ＮａＯＨでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。

【０５１６】

増強化合物の同定

典型的なプロトコルは、側底膜から頂端膜のCl^-濃度勾配を利用した。この勾配を設定するため、通常のリンガー液を側底細胞膜上で使用し、その一方で、頂端膜のＮａＣｌを等モルのグルコン酸ナトリウムで置き換えることによって（ＮａＯＨでｐＨ７．４に滴定）、上皮全域で大きなCl^-濃度勾配を得た。ホルスコリン（１０μＭ）およびすべての試験化合物を細胞培養インサートの頂端膜側面に添加した。推定のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強物質の効力を、公知の増強物質である、ゲニステインと比較した。

【０５１７】

パッチクランプ記録

ΔＦ５０８－ＮＩＨ３Ｔ３細胞中の総Cl^-電流を、上述した穿孔処理したパッチ記録形状を使用してモニターした（Rae，Ｊ.、Cooper，Ｋ.、Gates，Ｐ.およびWatsky，Ｍ.（１９９１年）J.Neurosci. Methods、３７巻、１５～２６頁）。電圧－クランプ記録を、Ａｘｏｐａｔｃｈ　２００Ｂパッチクランプ増幅器（Ａｘｏｎ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ　Ｉｎｃ．、Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ、ＣＡ）を使用して２２℃で遂行した。ピペット溶液は、１５０のＮ－メチル－Ｄ－グルカミン（ＮＭＤＧ）－Ｃｌ、２の$MgCl_2$、２の$CaCl_2$、１０のＥＧＴＡ、１０のＨＥＰＥＳ、および２４０μｇ／ｍＬのアムホテリシン－Ｂ（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。細胞外培地は、１５０のＮＭＤＧ－Ｃｌ、２の$MgCl_2$、２の$CaCl_2$、１０のＨＥＰＥＳ（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。Ｃｌａｍｐｅｘ　８（Ａｘｏｎ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ　Ｉｎｃ．）と共にＤｉｇｉｄａｔａ　１３２０Ａ／Ｄインターフェイスを備えたＰＣを使用して、パルス発生、データ取得、および分析を遂行した。ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを活性化するために、１０μＭホルスコリンおよび２０μＭのゲニステインを槽に添加し、電流－電圧関係を３０秒ごとにモニターした。

【０５１８】

増強化合物の同定

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３細胞中の巨視的なΔＦ５０８－ＣＦＴＲ　Cl^-電流（$I_{\Delta F508}$）を増加させるΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強物質の能力もまた、穿孔処理した－パッチ－記録技法を使用して調べた。光学的アッセイで同定した増強物質は、光学的アッセイにおいて認められたものと同様の作用強度および効力で、$I_{\Delta F508}$の用量依存的増加を誘起した。試験したすべての細胞において、増強物質の適用前および適用中の逆転電位は、約－３０ｍＶであった。これは、算出したE_{Cl}（－

２８ｍＶ）である。

【０５１９】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を、全細胞記録に使用する。これら細胞を、１７５ｃｍ^{2}の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持する。全細胞記録のため、２，５００～５，０００個の細胞をポリ－Ｌ－リジン－コーティングしたガラスカバースリップ上に播種し、増強物質の活性を試験するために、使用前に２７℃で２４～４８時間培養し、矯正因子の活性を測定するために、３７℃で補正化合物と共に、および補正化合物なしでインキュベートした。

【０５２０】

単一チャネル記録

Ａｘｏｐａｔｃｈ ２００Ｂパッチクランプ増幅器（Ａｘｏｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｉｎｃ．）を使用して、ＮＩＨ３Ｔ３細胞内に発現した、ｗｔ－ＣＦＴＲおよび温度補正したΔＦ５０８－ＣＦＴＲの開閉活性を上述した、切除した反転膜のパッチ記録を使用して観測した（Dalemans, W.、Barbry, P.、Champigny, G.、Jallat, S.、Dott, K.、Dreyer, D.、Crystal, R.G.、Pavirani, A.、Lecocq, J-P.、Lazdunski, M、（１９９１年）、Nature、３５４巻、５２６～５２８頁）。ピペットは、１５０のＮＭＤＧ、１５０のアスパラギン酸、５の$CaCl_2$、２の$MgCl_2$、および１０のＨＥＰＥＳ（トリス塩基でｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。槽は、１５０のＮＭＤＧ－Ｃｌ、２の$MgCl_2$、５のＥＧＴＡ、１０のＴＥＳ、および１４のトリス塩基（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）（単位ｍＭ）を含有した。切除後、１ｍＭのＭｇ－ＡＴＰ、７５ｎＭの触媒サブユニットのｃＡＭＰ依存性タンパク質キナーゼ（ＰＫＡ；Ｐｒｏｍｅｇａ Ｃｏｒｐ．Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）、および１０ｍＭのＮａＦを添加して、タンパク質ホスファターゼを抑制する（電流停止を防止した）ことによって、ｗｔ－ＣＦＴＲとΔＦ５０８－ＣＦＴＲの両方を活性化させた。ピペット電位を８０ｍＶで維持した。２つ以下の活性のあるチャネルを含有する膜パッチからチャネル活性を分析した。実験経過中、同時開口の最大数から、活性チャネルの数を求めた。単一チャネル電流振幅を求めるために、１２０秒のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ活性から記録したデータを１００Ｈｚで「オフライン」でフィルターし、次いでこれを使用して、Ｂｉｏ－Ｐａｔｃｈ分析ソフトウエア（Ｂｉｏ－Ｌｏｇｉｃ Ｃｏｍｐ．Ｆｒａｎｃｅ）を使用した、マルチガウシアン機能を備えた全点振幅ヒストグラムを構築した。微細電流の総電流量および開口の確率（P_o）を１２０秒のチャネル活性から求めた。Ｂｉｏ－Ｐａｔｃｈソフトウエアを使用して、またはP_o＝Ｉ／ｉ（Ｎ）（式中、Ｉ＝平均電流、ｉ＝単一チャネル電流振幅、およびＮ＝パッチ内の活性チャネルの数）の関係からP_oを求めた。

【０５２１】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を、切除膜パッチクランプ記録に使用する。これらの細胞を、１７５ｃｍ^{2}の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持した。単一チャネル記録のため、２，５００～５，０００個の細胞を、ポリ－Ｌ－リジン－コーティングされたガラスカバースリップ上に播種し、使用前に２７℃で２４～４８時間培養した。

【０５２２】

実施例：式ＩＩの化合物の活性

式ＩＩの化合物は、ＡＴＰ結合カセットトランスポーターのモジュレーターとして有用である。式ＩＩの化合物の活性および効力の例が表２－１５において以下に示されている

。化合物活性については、活性が２．０μＭ未満と測定された場合「＋＋＋」で示され、活性が２μＭ～５．０μＭと測定された場合「＋＋」で示され、活性が５．０μＭを超えると測定された場合「＋」で示され、データが入手できなかった場合「－」で示される。効力については、効力が１００％を超えると算出された場合「＋＋＋」で示され、効力が１００％～２５％と算出された場合「＋＋」で示され、効力が２５％未満と算出された場合「＋」で示され、データが入手できない場合「－」で示された。効力１００％は、４－メチル－２－（５－フェニル－１Ｈ－ピラゾール－３－イル）フェノールで得られる最大の反応であることを注意されたい。

表2-15

【０５２３】

【表２－１５】

式IIの化合物の活性および効力		
実施例 化合物番号	活性 EC_{50} (μm)	効力 %
2	+++	++
2-2	+++	++
2-3	+++	++
2-4	+++	++
2-5	+++	+++
2-6	+++	+++
2-7	+++	++
2-8	+++	++
2-9	+++	++
2-10	+++	+++
2-11	+++	++
2-12	+++	++
2-13	+++	++
2-14	+++	++

Ｃ．プロトコル３

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ補正特性を検出および測定するためのアッセイ

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーション特性をアッセイするための膜電位の光学的測定方法

光学的膜電位アッセイは、GonzalezおよびTsien（Gonzalez, J.E.およびR.Y.Tsien（１９９５年）「Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells」Biophys J ６９巻（４号）：１２７２～８０頁、およびGonzalez, J. E.およびR. Y. Tsien（１９９７年）「Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer」Chem Biol、４巻（４号）：２６９～７７頁を参照されたい）に記載された電圧受容性ＦＲＥＴセンサーを、蛍光変化を測定するための装置類、例えば電圧／イオンプローブリーダー（ＶＩＰＲ）（Gonzalez, J. E.、K.Oadesら（１９９９年）「Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets」Drug Discov Today ４巻（９号）：４３１～４３９頁を参照されたい）などと組み合わせて、利用した。

【０５２４】

これら電圧感受性アッセイは、膜可溶性、電圧受容性染料、ＤｉＳＢＡＣ$_2$（３）と、蛍光リン脂質、ＣＣ２－ＤＭＰＥ（原形質膜の外側の葉状部分に結合し、ＦＲＥＴ供与体として作用する）との間の蛍光共鳴エネルギー移動（ＦＲＥＴ）の変化に基づく。膜電位の変化（V_m）により、陰性電荷のあるＤｉＳＢＡＣ$_2$（３）が、原形質膜の全域で再分配され、したがってＣＣ２－ＤＭＰＥから移送されるエネルギー量が変化する。９６ウェルまたは３８４ウェルマイクロタイタープレートにおいて細胞ベースのスクリーニングを行うように設計された、組み込み型液体ハンドラーおよび蛍光検出器である、ＶＩＰＲ（

商標）ＩＩを使用して、蛍光放射の変化をモニターした。

【０５２５】

補正化合物の同定

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲに関連するトラフィッキングの欠陥を補正する小分子を同定するために、単一添加ＨＴＳアッセイフォーマットを開発した。血清を含まない培地内、試験化合物の存在下または非存在下で（ネガティブコントロール）、これらの細胞を３７℃で１６時間インキュベートした。ポジティブコントロールとして、３８４－ウェルプレート内にプレーティングしたインキュベートした細胞を、２７℃で１６時間、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを「温度補正」した。続いて細胞をクレブスリンガー溶液ですすぎ（３×）、電圧受容性染料を充填した。ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを活性化するために、各ウェルに、１０μＭのホルスコリンおよびＣＦＴＲ増強物質、ゲニステイン（２０μＭ）を、Cl^-を含まない培地と共に添加した。Cl^-を含まない培地の添加は、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲ活性化に反応したCl^-流出を促進し、ＦＲＥＴに基づいた電圧－センサー染料を使用して、こうして生成した膜脱分極を光学的にモニターした。

【０５２６】

増強化合物の同定

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの増強物質を同定するために、二重の添加ＨＴＳアッセイフォーマットを開発した。第１の添加の間、Cl^-を含まない培地内を、試験化合物と共に、および試験化合物なしで、各ウェルに添加した。２２秒後、２～１０μＭのホルスコリンを含有するCl^-を含まない培地の第２の添加物を添加することによって、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを活性化した。両方の添加後の細胞外のCl^-濃度は２８ｍＭであり、これにより、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲ活性化に反応したCl^-流出が促進され、ＦＲＥＴベースの電圧センサー染料を使用して、生成した膜脱分極を光学的にモニターした。

【０５２７】

溶液

槽溶液＃１（単位ｍＭ）：ＮａＣｌ　１６０、ＫＣｌ　４．５、$CaCl_2$　２、$MgCl_2$　１、ＨＥＰＥＳ　１０、ＮａＯＨでｐＨ７．４。

【０５２８】

塩化物を含まない槽溶液：槽溶液＃１（上記）中の塩化物は、グルコン酸塩で置換されている。

【０５２９】

ＣＣ２－ＤＭＰＥ：ＤＭＳＯ中１０ｍＭ貯蔵溶液として調製し、－２０℃で貯蔵した。

【０５３０】

$DiSBAC_2$（３）：ＤＭＳＯ中１０ｍＭ貯蔵溶液として調製し、－２０℃で貯蔵した。

【０５３１】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を膜電位の光学的測定のために使用する。これらの細胞を、１７５cm^2の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持する。すべての光学的アッセイ対して、細胞を、３８４－ウェルマトリゲル－コーティングされたプレートに３０，０００／ウェルで播種し、３７℃で２時間培養し、増強物質アッセイのため２７℃で２４時間培養する。補正アッセイのため、化合物と共に、および化合物なしで、２７℃または３７℃で１６～２４時間細胞を培養する。

【０５３２】

化合物のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーション特性をアッセイするための電気生理的アッセイ。

Ｕｓｓｉｎｇチャンバーアッセイ

光学的アッセイにおいて同定したΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーターをさらに特徴づけるため、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを発現する、極性化した上皮細胞上でＵｓｓｉｎｇチャンバー実験を遂行した。Ｃｏｓｔａｒ　Ｓｎａｐｗｅｌｌ細胞培養インサート上で増殖したＦＲＴ$^{\Delta Ｆ５０８－ＣＦＴＲ}$上皮細胞を、Ｕｓｓｉｎｇチャンバー（Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）に組み込み、電圧クランプシステム（Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｉｏｗａ、ＩＡ、および、Ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）を使用して、単分子膜を持続的にショートさせた。２ｍＶパルスを加えることによって、経上皮抵抗を測定した。これらの条件下、ＦＲＴ上皮組織は、４ＫΩ／ｃｍ^{2}以上の抵抗を実証した。この溶液を２７℃で維持し、空気をバブリングした。無細胞のインサートを使用して、電極オフセット電位および流体抵抗性を補正した。これらの条件下、電流は、頂端膜内に発現したΔＦ５０８－ＣＦＴＲを介したＣｌ$^{-}$の流れを反映する。ＭＰ１００Ａ－ＣＥインターフェイスおよびＡｃｑＫｎｏｗｌｅｄｇｅソフトウエア（ｖ３．２．６；ＢＩＯＰＡＣ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｓａｎｔａ　Ｂａｒｂａｒａ、ＣＡ）を使用して、デジタル処理したI_{SC}を取得した。

【０５３３】

補正化合物の同定

典型的なプロトコルは、側底膜から頂端膜までのＣｌ$^{-}$濃度勾配を利用した。この勾配を設定するため、通常のリンガー液を側底細胞膜上で使用し、その一方で、頂端膜のＮａＣｌを等モルのグルコン酸ナトリウムで置き換えることによって（ＮａＯＨでｐＨ７．４に滴定）、上皮全域で大きなＣｌ$^{-}$濃度勾配を得た。すべての実験を無傷の単分子膜で遂行した。ΔＦ５０８－ＣＦＴＲ、ホルスコリン（１０μＭ）およびＰＤＥ阻害剤を完全に活性化するため、ＩＢＭＸ（１００μＭ）を適用し、続いてＣＦＴＲ増強物質、ゲニステイン（５０μＭ）を添加した。

【０５３４】

他の細胞型で観測されたように、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＦＲＴ細胞の低温でのインキュベーションは、原形質膜におけるＣＦＴＲの機能密度を増加させる。補正化合物の活性を求めるため、細胞を１０μＭの試験化合物と共に３７℃で２４時間インキュベートし、続いて記録前に３×洗浄した。化合物で処理された細胞におけるｃＡＭＰ媒介性I_{SC}およびゲニステイン媒介性I_{SC}を２７℃および３７℃の対照に対して正規化し、パーセンテージ活性として表現した。細胞を補正化合物と共にプレインキュベーションすることによって、３７℃の対照と比較して、ｃＡＭＰ媒介性I_{SC}およびゲニステイン媒介性I_{SC}が有意に増加した。

【０５３５】

増強化合物の同定

典型的なプロトコルは、側底膜から頂端膜へのＣｌ$^{-}$濃度勾配を利用した。この勾配を設定するため、通常のリンガー液を側底細胞膜上に使用し、ナイスタチン（３６０μｇ／ｍｌ）で透過処理し、その一方で、頂端膜のＮａＣｌを等モルのグルコン酸ナトリウムで置き換えることによって（ＮａＯＨでｐＨ７．４に滴定）、上皮全域で大きなＣｌ$^{-}$濃度勾配を得た。すべての実験は、ナイスタチン透過化から３０分後に遂行した。ホルスコリン（１０μＭ）およびすべての試験化合物を細胞培養インサートの両側面に添加した。推定のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強物質の効力を公知の増強物質ゲニステインと比較した。

溶液

側底膜用溶液（単位ｍＭ）：ＮａＣｌ（１３５）、$CaCl_2$（１．２）、$MgCl_2$（１．２）、K_2HPO_4（２．４）、$KHPO_4$（０．６）、Ｎ－２－ヒドロキシエチルピペラジン－Ｎ’－２－エタンスルホン酸（ＨＥＰＥＳ）（１０）、およびデキストロース（１０）。ＮａＯＨでこの溶液をｐＨ７．４に滴定した。

【０５３６】

頂端膜用溶液（単位ｍＭ）：側底膜用溶液と同じだが、ＮａＣｌをＮａグルコン酸塩（

１３５）に置き換える。

【０５３７】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲ（ＦＲＴ$^{ΔＦ５０８－ＣＦＴＲ}$）を発現するＦｉｓｈｅｒラット上皮（ＦＲＴ）細胞を、光学的アッセイから同定した推定のΔＦ５０８－ＣＦＴＲモジュレーターのためのＵｓｓｉｎｇチャンバー実験に使用した。これらの細胞をＣｏｓｔａｒ　Ｓｎａｐｗｅｌｌ細胞培養インサート上に培養し、５％のウシ胎児血清、１００Ｕ／ｍｌのペニシリン、および１００μｇ／ｍｌのストレプトマイシンを補充した、Ｃｏｏｎ改質Ｈａｍ　Ｆ－１２培地内で、５％のCO_2、３７℃で５日間培養した。化合物の増強活性を特徴づけるため、使用前に２７℃で１６～４８時間細胞をインキュベートして、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲに対して補正を行った。化合物の補正の活性を求めるため、化合物と共に、および補正化合物なしで、２７℃または３７℃で２４時間細胞をインキュベートした。

【０５３８】

全細胞の記録

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現する、温度補正し、そして、試験化合物で補正したＮＩＨ３Ｔ３細胞の巨視的なΔＦ５０８－ＣＦＴＲ電流（$I_{ΔＦ５０８}$）を、穿孔処理したパッチ、全細胞記録を使用してモニターした。簡単に説明すると、Ａｘｏｐａｔｃｈ　２００Ｂ　パッチクランプ増幅器（Ａｘｏｎ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ　Ｉｎｃ．、Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ、ＣＡ）を使用して、$I_{ΔＦ５０８}$の電圧クランプ記録を室温で遂行した。すべての記録をサンプリング周波数１０ｋＨｚおよびローパスフィルター１ｋＨｚで取得した。ピペットは、細胞内溶液を充填した時点で、５～６ＭΩの抵抗があった。これらの記録条件下で、室温でのCl^-（E_{Cl}）に対して算出した逆転電位は－２８ｍＶであった。すべての記録は、シール抵抗＞２０ＧΩおよびシリーズ抵抗＜１５ＭΩを有していた。パルス発生、データ取得、および分析は、Ｃｌａｍｐｅｘ　８（Ａｘｏｎ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ　Ｉｎｃ．）と共にＤｉｇｉｄａｔａ　１３２０Ａ／Ｄインターフェイスを備えたＰＣを使用して遂行した。槽は、＜２５０μｌの生理食塩水を含有し、重力駆動型パーフュージョンシステムを使用して、２ｍｌ／ｍｉｎの速度で持続的に灌流した。

【０５３９】

補正化合物の同定

原形質膜における機能性ΔＦ５０８－ＣＦＴＲの密度を増加させるための補正化合物の活性を求めるために、補正化合物での２４時間の治療後、上に記載の穿孔処理したパッチ記録技法を使用して電流密度を測定した。ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを完全に活性化させるため、１０μＭのホルスコリンおよび２０μＭのゲニステインを細胞に添加した。記録条件下で、２７℃での２４時間インキュベーション後の電流密度は、３７℃での２４時間インキュベーション後に観測されたものより高かった。これらの結果は、原形質膜におけるΔＦ５０８－ＣＦＴＲの密度に対する、低温インキュベーションの公知の作用と一致している。ＣＦＴＲ電流密度に対する補正化合物の作用を求めるため、３７℃で２４時間１０μＭの試験化合物と共に細胞をインキュベートし、電流密度を２７℃および３７℃の対照（％活性）と比較した。記録を行う前、これらの細胞を細胞外の記録培地で洗浄（３×）することによって、残っているあらゆる試験化合物を取り除いた。１０μＭの補正化合物でのプレインキュベーションによって、ｃＡＭＰ－およびゲニステイン依存性電流が３７℃の対照と比較して有意に増加した。

【０５４０】

増強化合物の同定

ＮＩＨ３Ｔ３細胞における巨視的なΔＦ５０８－ＣＦＴＲ　Cl^-電流（$I_{ΔＦ５０８}$）を増加させるΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するΔＦ５０８－ＣＦＴＲ増強物質の能力もまた穿孔処理したパッチ記録技法を使用して調べた。光学的アッセイから同定された増強物質は、光学的アッセイにおいて認められたものと同様の作用強度および効力で

、$I_{\Delta F508}$の用量依存的増加を誘起した。試験したすべての細胞において、増強物質の適用前および適用中の逆転電位は、約－３０ｍＶであった。これは、算出したE_{Cl}（－２８ｍＶ）である。

【０５４１】

溶液

細胞内溶液（単位ｍＭ）：Ｃｓ－アスパルテート（９０）、ＣｓＣｌ（５０）、$MgCl_2$（１）、ＨＥＰＥＳ（１０）、および２４０μｇ／ｍｌのアムホテリシン－Ｂ（ＣｓＯＨでｐＨを７．３５に調整）。

【０５４２】

細胞外溶液（単位ｍＭ）：Ｎ－メチル－Ｄ－グルカミン（ＮＭＤＧ）－Ｃｌ（１５０）、$MgCl_2$（２）、$CaCl_2$（２）、ＨＥＰＥＳ（１０）（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）。

【０５４３】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を全細胞記録のため使用する。これらの細胞は、１７５cm^2の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度で、３７℃で維持する。全細胞記録のため、２，５００～５，０００個の細胞をポリ－Ｌ－リジン－コーティングされたガラスカバースリップ上に播種し、増強物質の活性を試験するために、使用前に、２７℃で２４～４８時間培養し、矯正因子の活性を測定するために、補正化合物と共に、および補正化合物なしで、３７℃でインキュベートした。

【０５４４】

単一チャネル記録

ＮＩＨ３Ｔ３細胞において安定して発現する、温度補正したΔＦ５０８－ＣＦＴＲの単一チャネル活性および増強化合物の活性を、切除した反転（ｉｎｓｉｄｅ－ｏｕｔ）膜パッチを使用して観測した。簡単に説明すると、Ａｘｏｐａｔｃｈ ２００Ｂパッチクランプ増幅器（Ａｘｏｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｉｎｃ．）を用いて、単一チャネル活性の電圧クランプ記録を室温で遂行した。すべての記録は、サンプリング周波数１０ｋＨｚおよびローパスフィルター４００Ｈｚで取得した。パッチピペットは、Ｋｏｖａｒ Ｓｅａｌｉｎｇ＃７０５２ガラス（Ｗｏｒｌｄ Ｐｒｅｃｉｓｉｏｎ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｒａｓｏｔａ、ＦＬ）から組み立て、細胞外溶液を充填した時点で抵抗は５～８ＭΩであった。切除後、１ｍＭのＭｇ－ＡＴＰ、および７５ｎＭのｃＡＭＰ依存性タンパク質キナーゼ、触媒サブユニット（ＰＫＡ；Ｐｒｏｍｅｇａ Ｃｏｒｐ．Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を添加することで、ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを活性化させた。チャネル活性が安定した後、重力駆動型マイクロパーフュージョンシステムを使用してパッチを灌流させた。インフローをパッチの近くに配置し、これによって溶液が１～２秒内で完全に交換された。高速パーフュージョン中にΔＦ５０８－ＣＦＴＲ活性を維持するため、非特異性のホスファターゼ阻害剤F^-（１０ｍＭ ＮａＦ）を槽溶液に添加した。これらの記録条件下で、チャネル活性は、パッチ記録の期間中（６０分間まで）一定に保たれたままであった。細胞内から細胞外溶液へと移動する陽性電荷（陰イオンは反対の方向へ移動）により生じる電流が陽性電流として示される。ピペット電位（V_p）を、８０ｍＶで維持した。

【０５４５】

チャネル活性を２つ以下の活性チャネルを含有する膜パッチから分析した。同時開口の最大数により実験経過中の活性チャネルの数が決定した。単一チャネル電流振幅を求めるため、１２０秒のΔＦ５０８－ＣＦＴＲ活性から記録したデータを、１００Ｈｚで「オフライン」でフィルターし、次いでこれを使用して、Ｂｉｏ－Ｐａｔｃｈ Ａｎａｌｙｓｉｓソフトウエア（Ｂｉｏ－Ｌｏｇｉｃ Ｃｏｍｐ．Ｆｒａｎｃｅ）を使用した、マルチガ

ウシアン機能を備えた全点振幅ヒストグラムを構築した。微細電流の総電流量および開口の確率（P_o）を１２０秒のチャネル活性から求めた。Ｂｉｏ－Ｐａｔｃｈソフトウエアを使用して、またはP_o＝Ｉ／ｉ（Ｎ）（式中、Ｉ＝平均電流、ｉ＝単一チャネル電流振幅、およびＮ＝パッチ内の活性チャネルの数）の関係からP_oを求めた。

【０５４６】

溶液

細胞外溶液（単位ｍＭ）：ＮＭＤＧ（１５０）、アスパラギン酸（１５０）、$CaCl_2$（５）、$MgCl_2$（２）、およびＨＥＰＥＳ（１０）（トリス塩基でｐＨを７．３５に調整）。

【０５４７】

細胞内溶液（単位ｍＭ）：ＮＭＤＧ－Ｃｌ（１５０）、$MgCl_2$（２）、ＥＧＴＡ（５）、ＴＥＳ（１０）、およびトリス塩基（１４）（ＨＣｌでｐＨを７．３５に調整）。

【０５４８】

細胞培養

ΔＦ５０８－ＣＦＴＲを安定して発現するＮＩＨ３Ｔ３マウス線維芽細胞を切除膜パッチクランプ記録のために使用する。これらの細胞は、１７５cm^2の培養フラスコ内の、２ｍＭのグルタミン、１０％のウシ胎児血清、１×ＮＥＡＡ、β－ＭＥ、１×ｐｅｎ／ｓｔｒｅｐ、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ変法Ｅａｇｌｅ培地中で、５％のCO_2および９０％の湿度、３７℃で維持する。単一チャネル記録のため、２，５００～５，０００個の細胞をポリ－Ｌ－リジン－コーティングされたガラスカバースリップ上に播種し、使用前に２７℃で２４～４８時間培養した。

【０５４９】

上述の手順を使用して、化合物３の活性（EC_{50}）を測定し、以下の表に示す。

表

【０５５０】

【表４】

IC50/EC50 の値域 ： +++ <= 2.0 < ++ <= 5.0 < +		
活性%の値域: + <= 25.0 < ++ <= 100.0 < +++		
化合物	EC50の値域	最大効力の値域
化合物 3	+++	+++

Ｄ．プロトコル４

培養中のＣＦ　ＨＢＥにおける流体輸送に対する、ＣＦＴＲおよびＥＮａＣモジュレーターの併用効果を試験するための方法

上皮細胞流体輸送に対して直接的または間接的に上皮型ナトリウムチャネル（ＥＮａＣ）活性を低下させるＣＦＴＲモジュレーターおよび薬品作用剤の組合せを試験するため、共焦点免疫蛍光顕微鏡法を使用して、ＣＦ患者の気管支から得たヒト気管支の上皮（ＨＢＥ）細胞の頂端膜の表面上の気道表面の液体（ＡＳＬ）の高さを測定した。頂端膜の表面を、３７℃に予め温めておいた吸収緩衝剤３００μｌ（８９ｍＭのＮａＣｌ、４ｍＭのＫＣｌ、１．２ｍＭの$MgCl_2$、１．２ｍＭの$CaCl_2$、１ｍＭのＨＥＰＥＳ、１６ｍＭのＮａ－グルコン酸塩、１０ｍＭのグルコース）で２回洗浄した。最終の洗浄後、吸収緩衝剤中のＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ４８８にコンジュゲートした、１０，０００Ｋｄデキストラン２０μｌを添加し、試験の２日前から平衡化させておいた。ＡＳＬに対する薬品作用のモジュレーションの作用を試験するため、ＨＢＥ分化媒体［Ｄｕｌｂｅｃｏ　ＭＥＭ（ＤＭＥＭ）／Ｆ１２、Ｕｌｔｒｏｓｅｒ－Ｇ（２．０％；Ｐａｌｌ　カタログ＃１５９５０－０１７）、Ｆｅｔａｌ　Ｃｌｏｎｅ　ＩＩ（２％）、インスリン（２．５μｇ／ｍｌ）、ウシの脳抽出物（０．２５％；Ｌｏｎｚａキット＃ＣＣ－４１３３、コンポーネ

ント＃ＣＣ－４０９２Ｃ）、ヒドロコルチゾン（２０ｎＭ）、トリヨードサイロニン（Triodothyronine）（５００ｎＭ）、トランスフェリン（２．５μｇ／ｍｌ：Ｉｎ Ｖｉｔｒｏｇｅｎ カタログ＃００３０１２４ＳＡ）、エタノールアミン（２５０ｎＭ）、エピネフリン（１．５μＭ）、ホスホエタノールアミン（２５０ｎＭ）、レチノイン酸（１０ｎＭ）］中で調製したＣＦＴＲモジュレーターを、所望の濃度で側底膜の側面に適用した。ＥＮａＣモジュレーターは、最終濃度でのＦｌｕｏｒｉｎｅｒｔ ＦＣ－７７０（３Ｍ）２０００μＬ中で調製し、１００μＬの溶液を頂端膜表面に添加した。９６時間の処理後、Ｉｎｖｅｒｔｅｄ Ｚｅｉｓｓ顕微鏡および２０×対象上で、Ｑｕｏｒｕｍ Ｗａｖｅ ＦＸ Ｓｐｉｎｎｉｎｇ Ｄｉｓｃ共焦点システムを使用してＡＳＬの高さを測定した。イメージを取得し、適切にプログラミング可能なコンピュータ（Ｃｅｌｌ Ｉｍａｇｉｎｇ Ｓｏｆｔｗａｒｅパッケージ、Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ、前のＩｍｐｒｏｖｉｓｉｏｎ）を使用したＶｏｌｏｃｉｔｙ ４．０を使用してこれを処理した。

【０５５１】

他の実施形態

本開示において言及されたすべての公報および特許は、それぞれ個々の公報または特許出願が、具体的におよびそれぞれ、参照により組み込まれていると表示されている場合と同程度に、本明細書に参照により組み込まれている。参照により組み込まれているいずれかの特許または公報における用語の意味が、本開示に使用されている用語の意味と万が一矛盾する場合、本開示における用語の意味が優先されるものとする。さらに、前述の考察は、単に本発明の例示的実施形態を開示および説明しているだけである。当業者であれば、このような考察ならびに付随する図および特許請求の範囲から、以下の特許請求の範囲において定義された本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく、様々な変更、修正および変化形を本明細書中で作り出すことができることを容易に認めることになる。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2010/053852

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/404 A61K31/443 A61K31/4965 A61K31/501 A61K45/06
A61P11/00 A61P19/10 A61P43/00
ADD.
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)
A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4 501 729 A (BOUCHER RICHARD C [US] ET AL) 26 February 1985 (1985-02-26) claim 5	1-44
Y	US 5 876 700 A (BOUCHER JR RICHARD C [US] ET AL) 2 March 1999 (1999-03-02) column 1, line 57 - line 67 claim 7	1-22, 24-44
Y	WO 2006/002421 A2 (VERTEX PHARMA [US]; HADIDA RUAH SARAH S [US]; HAZLEWOOD ANNA R [US]; G) 5 January 2006 (2006-01-05) page 92, paragraph 253 - page 93; claims 21-31, 72	1-17, 22-27, 30-44

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[X] 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 document 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	Date of mailing of the international search report
31 January 2011	07/02/2011

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Terenzi, Carla

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2010/053852

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2007/134279 A2 (VERTEX PHARMA [US]; YOUNG CHRISTOPHER R [US]; ROWE CHARLES WILLIAM [US) 22 November 2007 (2007-11-22) claims 1, 21-23	1-17, 22-27, 30-44
Y	WO 2009/073757 A1 (VERTEX PHARMA [US]; KESHAVARZ-SHOKRI ALI [US]; ZHANG BEILI [US]; KRAWI) 11 June 2009 (2009-06-11) page 3, paragraph 12 page 4, paragraph 13 page 7, paragraph 56	1,18,19, 22-26, 28,30-44
Y	US 2009/131492 A1 (RUAH SARA S HADIDA [US] ET AL HADIDA RUAH SARA S [US] ET AL) 21 May 2009 (2009-05-21) page 85; example 315; table 1 page 111, paragraph 279 claim 61	1,20-26, 29-44
Y	WO 2009/074575 A2 (NOVARTIS AG [CH]; BHALAY GURDIP [GB]; BUDD EMMA [GB]; BLOOMFIELD GRAHA) 18 June 2009 (2009-06-18) page 59, last paragraph page 60, line 1 - line 2; claims 1, 13	24-44

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2010/053852

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4501729 A	26-02-1985	CA 1209918 A1	19-08-1986
US 5876700 A	02-03-1999	AU 4420496 A	03-07-1996
		CA 2207585 A1	20-06-1996
		EP 0793483 A1	10-09-1997
		WO 9618385 A1	20-06-1996
		US 5656256 A	12-08-1997
WO 2006002421 A2	05-01-2006	AU 2005258320 A1	05-01-2006
		AU 2010249302 A1	06-01-2011
		AU 2010251787 A1	06-01-2011
		AU 2010251789 A1	06-01-2011
		BR PI0511321 A	31-07-2007
		CA 2571949 A1	05-01-2006
		CN 101006076 A	25-07-2007
		CN 101935301 A	05-01-2011
		CN 101891680 A	24-11-2010
		EP 1773816 A2	18-04-2007
		JP 2008504291 T	14-02-2008
		NZ 552543 A	30-09-2010
		RU 2382779 C2	27-02-2010
		US 2006074075 A1	06-04-2006
		US 2009227797 A1	10-09-2009
		US 2009298876 A1	03-12-2009
		US 2008071095 A1	20-03-2008
		ZA 200700601 A	26-11-2008
WO 2007134279 A2	22-11-2007	AU 2007249269 A1	22-11-2007
		CA 2652072 A1	22-11-2007
		CN 101478964 A	08-07-2009
		EP 2021797 A2	11-02-2009
		JP 2009536969 T	22-10-2009
		US 2010069434 A1	18-03-2010
		US 2008090864 A1	17-04-2008
WO 2009073757 A1	11-06-2009	AU 2008333845 A1	11-06-2009
		CA 2706920 A1	11-06-2009
		CN 101910156 A	08-12-2010
		EP 2225230 A1	08-09-2010
		KR 20100101130 A	16-09-2010
		US 2009170905 A1	02-07-2009
US 2009131492 A1	21-05-2009	US 2010113555 A1	06-05-2010
WO 2009074575 A2	18-06-2009	AR 069637 A1	10-02-2010
		AU 2008334629 A1	18-06-2009
WO 2009074575 A2		CN 101939054 A	05-01-2011
		CR 11470 A	09-07-2010
		EC SP100242 A	31-08-2010
		EP 2231280 A2	29-09-2010
		KR 20100098682 A	08-09-2010
		PE 10962009 A1	25-08-2009
		US 2010130506 A1	27-05-2010

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		テーマコード（参考）
A61K 31/506	*(2006.01)*	A61K 31/506		4C086
A61K 31/497	*(2006.01)*	A61K 31/497		
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P 43/00	105	
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P 11/06		
A61P 27/16	*(2006.01)*	A61P 11/00		
A61P 1/10	*(2006.01)*	A61P 27/16		
A61P 1/18	*(2006.01)*	A61P 1/10		
A61P 15/08	*(2006.01)*	A61P 1/18		
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P 15/08		
A61P 31/10	*(2006.01)*	A61P 17/06		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P 31/10		
A61P 7/00	*(2006.01)*	A61P 1/16		
A61P 3/00	*(2006.01)*	A61P 7/00		
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P 3/00		
A61P 5/10	*(2006.01)*	A61P 3/10		
A61P 5/14	*(2006.01)*	A61P 5/10		
A61P 5/16	*(2006.01)*	A61P 5/14		
A61P 19/08	*(2006.01)*	A61P 5/16		
A61P 13/02	*(2006.01)*	A61P 19/08		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P 13/02		
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P 25/00		
A61P 25/28	*(2006.01)*	A61P 13/12		
A61P 21/00	*(2006.01)*	A61P 25/28		
A61P 25/16	*(2006.01)*	A61P 21/00		
A61P 25/14	*(2006.01)*	A61P 25/16		
A61P 21/04	*(2006.01)*	A61P 25/14		
A61P 27/02	*(2006.01)*	A61P 21/04		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61P 27/02		
A61P 19/10	*(2006.01)*	A61P 37/06		
A61P 25/08	*(2006.01)*	A61P 19/10		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P 25/08		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P 43/00	121	
A61K 31/4965	*(2006.01)*	A61P 17/00		
A61K 31/5377	*(2006.01)*	A61P 35/00		
A61K 31/541	*(2006.01)*	A61K 31/4965		
C07D 403/12	*(2006.01)*	A61K 31/5377		
C07D 471/10	*(2006.01)*	A61K 31/541		
C07D 487/04	*(2006.01)*	C07D 403/12		
C07D 519/00	*(2006.01)*	C07D 471/10	103	
C07D 487/10	*(2006.01)*	C07D 487/04	138	
		C07D 519/00	311	
		C07D 487/10		

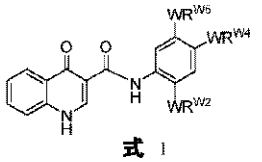
(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,I

D,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

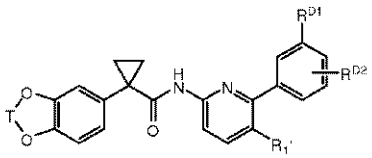
(74)代理人 100062409
弁理士 安村 高明
(74)代理人 100113413
弁理士 森下 夏樹
(72)発明者 バン ゴアー, フレデリック エフ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１０９, サン ディエゴ, オーモンド コート ８３２
(72)発明者 バートン, ウィリアム ローレンス
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９２１２２, サン ディエゴ, トスカーナ ウェイ ５３４５, ナンバー５２８

Ｆターム(参考) 4C050 AA01 AA04 AA08 BB05 CC04 EE02 EE03 FF01 GG04 HH04
4C063 AA01 BB09 CC34 DD23 DD26 DD29 EE01
4C065 AA16 BB06 CC01 DD03 EE02 HH09 JJ01 KK01 LL06 PP03
PP04 PP06 PP07 PP09 PP10 PP12 PP13 PP14 PP16 PP17
PP18 PP19
4C072 MM02 UU01
4C084 AA19 MA13 MA28 MA31 MA32 MA35 MA37 MA52 MA55 MA56
MA57 MA60 MA63 MA66 NA05 NA14 ZA011 ZA012 ZA021 ZA022
ZA061 ZA062 ZA151 ZA152 ZA161 ZA162 ZA331 ZA332 ZA341 ZA342
ZA511 ZA512 ZA531 ZA532 ZA591 ZA592 ZA661 ZA662 ZA721 ZA722
ZA751 ZA752 ZA811 ZA812 ZA891 ZA892 ZA941 ZA942 ZA961 ZA962
ZA971 ZA972 ZB081 ZB082 ZB131 ZB132 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262
ZB351 ZB352 ZC041 ZC042 ZC061 ZC062 ZC201 ZC202 ZC211 ZC212
ZC331 ZC332 ZC751 ZC752
4C086 AA01 AA02 BC13 BC17 BC28 BC48 BC73 CB03 CB05 GA02
GA07 GA08 GA12 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA01 ZA02 ZA06
ZA15 ZA16 ZA33 ZA34 ZA51 ZA53 ZA59 ZA66 ZA72 ZA75
ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZA97 ZB08 ZB13 ZB21 ZB26 ZB35
ZC04 ZC06 ZC20 ZC21 ZC33 ZC75

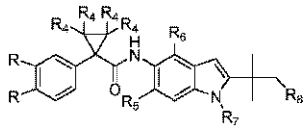
【要約の続き】



式 I



式 II



式 III