

(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2007-519618

(P2007-519618A)

(43) 公表日 平成19年7月19日(2007.7.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 213/80 (2006.01)	C O 7 D 213/80 C S P	4 B O 5 O
A 6 1 K 31/455 (2006.01)	A 6 1 K 31/455	4 C O 5 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 3	4 C O 8 6
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	4 H O O 6
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 44 頁) 最終頁に続く

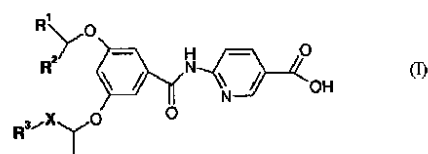
(21) 出願番号	特願2006-542008 (P2006-542008)	(71) 出願人	300022641
(86) (22) 出願日	平成16年12月2日 (2004.12.2)		アストラゼネカ アクチボラダ
(85) 翻訳文提出日	平成18年7月12日 (2006.7.12)		スウェーデン国 1 5 1 8 5 セーデル
(86) 国際出願番号	PCT/GB2004/005068		テルイエ (無番地)
(87) 国際公開番号	W02005/056530	(74) 代理人	100089705
(87) 国際公開日	平成17年6月23日 (2005.6.23)		弁理士 社本 一夫
(31) 優先権主張番号	0328178.9	(74) 代理人	100140109
(32) 優先日	平成15年12月5日 (2003.12.5)		弁理士 小野 新次郎
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グルコキナーゼ (G L K) 活性化剤として有用なベンゾイルアミノピリジルカルボン酸誘導体

(57) 【要約】

式 (I) の化合物 (式中、 R^1 は水素および C_{1-4} アルキルから選択され; R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ 、 $R^4 = C(R^6) -$ および $R^{7a} C(R^{7b}) = C(R^6) -$ から選択され; $R^3 - X -$ はメチル、メトキシメチルから選択され; R^4 は (場合により置換された) C_{1-4} アルキル、フェニル、 C_{3-6} シクロアルキルおよびヘテロアリールから選択され; R^{5a} および R^{5b} は水素、フルオロおよび C_{1-4} アルキルから独立して選択され; R^6 は水素および C_{1-4} アルキルから選択され; R^{7a} および R^{7b} は場合により置換された C_{1-4} アルキルである)、またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物が記載される。G L K 活性化剤としてのそれらの使用、それらを含有する医薬組成物、およびそれらの製造のための工程も記載される。

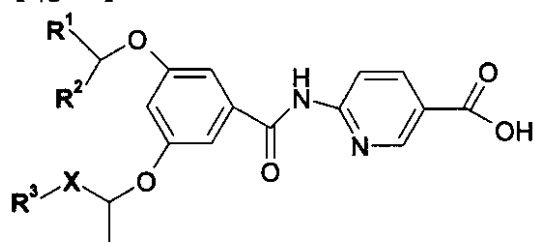


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) の化合物：

【化 1】

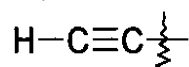


式 (I)

10

(式中、 R^1 は水素および $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され； R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ 、 $R^4 = C(R^6) -$ および $R^{7a} C(R^{7b}) = C(R^6) -$ から選択され； $R^3 - X -$ はメチル、メトキシメチルおよび；

【化 2】



20

から選択され；

 R^4 は $C_1 \sim 4$ アルキル、フェニル、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルおよびヘテロアリールから選択され、ここで R^4 は場合により R^8 から独立して選択される 1 または 2 種の置換基によって置換され； R^{5a} および R^{5b} は水素、フルオロおよび $C_1 \sim 4$ アルキルから独立して選択され； R^6 は水素および $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され； R^{7a} および R^{7b} は $C_1 \sim 4$ アルキルから独立して選択され、ここで R^{7a} および R^{7b} は場合により R^8 から独立して選択される 1 または 2 種の置換基によって置換され； R^8 は $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_1 \sim 3$ アルコキシ、フルオロおよびクロロから独立して選択され；

30

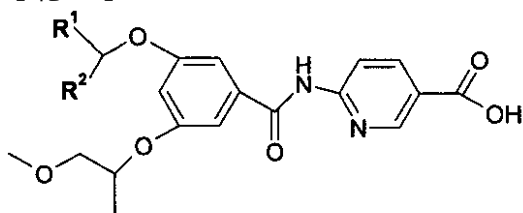
ただし；

(i) 少なくとも R^{5a} および R^{5b} の 1 種はフルオロであり；そして(ii) R^2 が $R^4 = C(R^6) -$ の場合、 R^4 は $C_3 \sim 6$ シクロアルキルである)、またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物。

【請求項 2】

式 (Ia) の化合物：

【化 3】



式 (Ia)

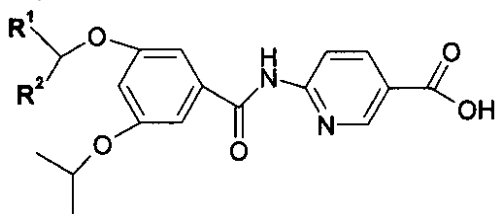
40

(式中、 R^1 および R^2 は請求項 1 で定義したとおりである) である、請求項 1 で記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 3】

式 (Ic) の化合物：

【化 4】



式 (I c)

(式中、 R^1 および R^2 は請求項 1 で定義したとおりである) である、請求項 1 で記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。 10

【請求項 4】

R^2 が $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ である、請求項 1 ~ 3 のいずれかにおいて記載した化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 5】

R^2 が $R^4 = C(R^6) -$ である、請求項 1 ~ 3 のいずれかにおいて記載した化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 6】

請求項 1 で記載した式 (I) の化合物 (式中：

R^1 は水素であり；

R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ および $R^4 = C(R^6) -$ から選択され；

$R^3 - X -$ はメチルおよびメトキシメチルから選択され；

R^4 はフェニルおよび $C_3 - 6$ シクロアルキルから選択され、ここで R^4 は場合により R^7 から独立して選択される 1 または 2 種の置換基によって置換され；

R^{5a} および R^{5b} は水素およびフルオロから独立して選択され；

R^6 は水素であり；

R^7 は $C_1 - 3$ アルキル、 $C_1 - 3$ アルコキシ、フルオロおよびクロロから独立して選択され；

ただし：

(iii) 少なくとも R^{5a} および R^{5b} の 1 種はフルオロであり；そして

(iv) R^2 が $R^4 = C(R^6) -$ の場合、 R^4 は $C_1 - 3$ シクロアルキルである)、またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物。 30

【請求項 7】

R^7 が置換されていない、請求項 6 で記載した式 (I) の化合物；またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物。

【請求項 8】

R^{5a} および R^{5b} の両方がフルオロである、請求項 6 で記載した式 (I) の化合物；またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物。

【請求項 9】

化合物が以下のもの；

6 - { [(3 - [(2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ} フェニル) カルボニル] アミノ} ピリジン - 3 - カルボン酸；

6 - [({ 3 - [(2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - [(1 - メチルエチル) オキシ] フェニル } カルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボン酸；

6 - { [(3 - [(2 - シクロペンチリデンエチル) オキシ] - 5 - { [(1S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ} フェニル) カルボニル] アミノ} ピリジン - 3 - カルボン酸；および

6 - { [(3 - [(2 - シクロペンチリデンエチル) オキシ] - 5 - [(1 - メチルエチル) オキシ] フェニル } カルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボン酸； 40 50

またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグから選択される、請求項 1 で記載した式 (I) の化合物。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを、薬剤的に受容できる希釈剤またはキャリアと一緒に含有する、医薬組成物。

【請求項 11】

薬物としての使用のための、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 12】

G L K により媒介される疾患、とりわけ 2 型糖尿病の治療のための薬物の製造における使用のための、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

【請求項 13】

有効量の、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを、G L K 媒介疾患、とりわけ糖尿病の治療が必要な哺乳動物に投与することにより、かかる疾患を治療する方法。

【請求項 14】

糖尿病および肥満の組み合わせた治療または予防において使用のための薬物の製造における、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの使用。

【請求項 15】

肥満の治療または予防において使用のための薬物の製造における、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した、式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの使用。

【請求項 16】

肥満および糖尿病の組み合わせた治療が必要な哺乳動物に、有効量の、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを投与することによる、かかる治療のための方法。

【請求項 17】

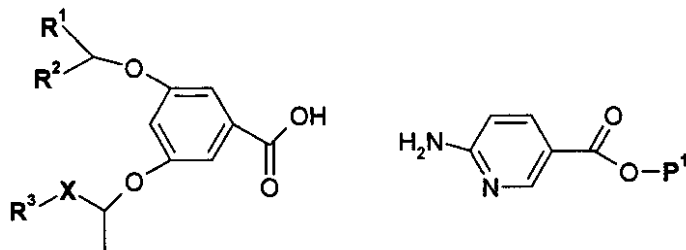
肥満の治療が必要な哺乳動物に、有効量の、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つで記載した式 (I) の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを投与することによる、かかる治療のための方法。

【請求項 18】

以下のことを含む、請求項 1 で記載した式 (I) の化合物、またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物の製造のための工程：

(a) 式 (I I I a) の酸または活性化されたその誘導体と式 (I I I b) の化合物：

【化 5】



式 (I I I a)

式 (I I I b)

(式中、P¹ は水素または保護基である) の反応；または
(b) 式 (I I I c) の化合物：

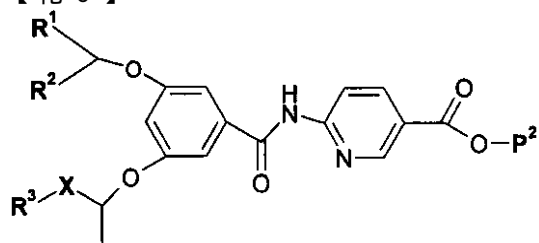
10

20

30

40

【化 6】

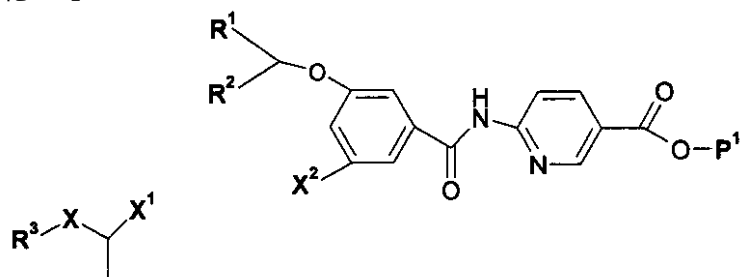


式 (IIIc)

10

(式中、 P^2 は保護基である) の脱保護 ; または
(c) 式 (III d) の化合物と式 (III e) の化合物 :

【化 7】



20

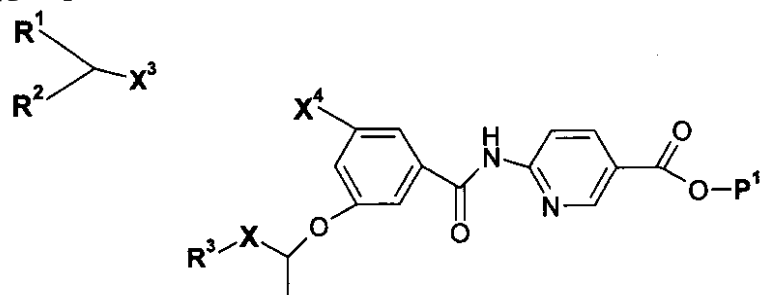
式 (III d)

式 (III e)

(式中、 X^1 は脱離基であり、 X^2 はヒドロキシル基であるか、または X^1 はヒドロキシル基であり、 X^2 は脱離基であり、そして P^1 は水素または保護基である) の反応 ; または

(d) 式 (III f) の化合物と式 (III g) の化合物 :

【化 8】



30

式 (III f)

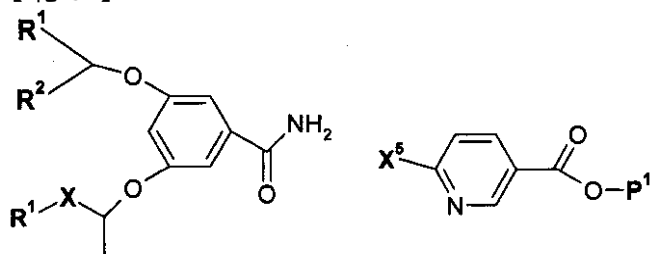
式 (III g)

(式中 : X^3 は脱離基であり、 X^4 はヒドロキシル基であるか、または X^3 はヒドロキシル基であり、 X^4 は脱離基であり、ここで P^1 は水素または保護基である) の反応 ; または

40

(e) 式 (III h) の化合物と式 (III i) の化合物 :

【化 9】



式 (I I I h)

式 (I I I i)

10

(式中: X^5 は脱離基であり、そして P^1 は水素または保護基である) の反応;
 およびその後、必要な場合:

- i) 式 (I) の化合物を別の式 (I) の化合物に変換すること;
- ii) いずれかの保護基を除去すること;
- iii) その塩、プロドラッグまたは溶媒和物を形成すること。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、グルコキナーゼ (GLK) を介して媒介される疾患または医学的状態の治療または予防に有用で、インスリン分泌のためのグルコース閾値の低下を導く、ベンゾイル
 アミノピリジルカルボン酸の群に関する。さらに、該化合物は肝グルコース取り込みを増
 加させることにより血糖を低下させることが予想されている。そのような化合物は、2型
 糖尿病および肥満の治療に有用性がある可能性がある。本発明はまた、上記化合物を含む
 医薬組成物および上記化合物を使用することによる、GLKに媒介される疾患の治療方法
 に関する。

20

【背景技術】

【0002】

膵臓 細胞および肝実質細胞において、主要な細胞膜グルコーストランスポーターはG
 LUT2である。生理的グルコース濃度において、GLUT2が膜を横切ってグルコース
 を輸送する速度は、これらの細胞における全体的なグルコース取り込み速度に対して律速
 ではない。グルコース取り込みの速度は、グルコキナーゼ (GLK) によって触媒される
 、グルコースからグルコース-6-ホスフェート (G-6-P) へのりん酸化の速度によ
 って限定される [1]。GLKはグルコースに対して高い (6 ~ 10 mM) Kmを有し、
 生理的濃度のG-6-Pによって阻害されない [1]。GLK発現はいくつかの組織およ
 び細胞型、最も顕著には膵臓 細胞および肝細胞 (hepatocyte) に限定される
 [1]。これらの細胞では、GLK活性はグルコース利用に関して律速であり、従ってグ
 ルコース誘発インスリン分泌および肝グリコーゲン合成の程度を調節する。これらの過程
 は全身のグルコースホメオスタシスの維持に重要であり、両方とも糖尿病では正常に機能
 しない [2]。

30

【0003】

40

糖尿病の1種のサブタイプ、若年性2型成人発症型糖尿病 (MODY 2) では、糖尿
 病はGLK機能損失突然変異によって引き起こされる [3、4]。MODY 2患者にお
 ける高血糖症は膵臓および肝臓両方における不完全なグルコース利用の結果である [5]
 。MODY 2患者の膵臓における不完全なグルコース利用は、グルコース刺激インスリン
 分泌のための閾値上昇を引き起こす。逆に、まれなGLKの活性化突然変異はこの閾値を
 低下させ、その結果、家族性インスリン過剰症を引き起こす [6、6a、7]。MODY
 2糖尿病で認められる低下したGLK活性に加え、肝グルコキナーゼ活性は2型糖尿病
 でも低下している [8]。重要なことには、GLKの全体的または肝選択的過剰発現は、
 疾患の食餌的および遺伝的モデルの両方において、糖尿病表現型の発生を妨害するか、ま
 たは覆す [9 ~ 12]。さらに、フラクトースによる2型糖尿病の急性治療は、肝グルコ

50

ース利用の刺激により耐糖性を改善する[13]。この作用は、以下に記載の機序により、肝細胞におけるフラクトース誘発サイトソルGLK活性の上昇を介して媒介され则认为られている[13]。

【0004】

肝GLK活性は、GLK調節蛋白質(GLKRP)との結合により阻害される。GLK/GLKRP複合体はGLKRPへのフラクトース-6-ホスフェート(F6P)結合により安定化され、フラクトース-1-ホスフェート(F1P)によるこの糖ホスフェートの置換により脱安定化される。F1Pは食物フラクトースのフラクトキナーゼ媒介りん酸化により生成される。結果として、F6Pは吸収後状態において上昇するが、F1Pは食事後状態において優勢であるというように、GLK/GLKRP複合体統合性および肝GLK活性は、食物摂取依存的様式で調節される。肝細胞と対照的に、膵臓細胞はGLKRPの非存在下においてGLKを発現する。したがって、細胞GLK活性はその基質、グルコースの有効性によってもっぱら調節される。小分子は直接、またはGLK/GLKRP複合体の脱安定化のいずれかによりGLKを活性化することができる。前者のクラスの化合物は肝臓および膵臓の両方においてグルコース利用を刺激すると予想されるが、後者はもっぱら肝臓において作用すると予想されている。しかし、2型糖尿病は両方の組織における不完全なグルコース利用が特徴であるため、どちらの特徴を持つ化合物も、かかる疾患の治療に治療的利点を有すると予想される。

10

【0005】

GLKおよびGLKRPならびにK_{ATP}チャンネルは、エネルギーバランスの調節および食物摂取の制御において重要な脳の領域である、視床下部のニューロンに発現される[14~18]。これらのニューロンは、食欲亢進および食欲抑制神経ペプチドを発現することが示されていて[15、19、20]、周囲のグルコース濃度の変化によって阻害されるか、または興奮する、視床下部内のグルコース感知ニューロンであると考えられている[17、19、21、22]。グルコースレベルの変化を感知するこれらのニューロンの能力は、多様な遺伝的および実験的に誘発された肥満モデルにおいて欠陥がある[23~28]。グルコキナーゼの競合的拮抗剤である、グルコース類似体の脳室内(icv)注入は、痩せたラットにおいて食物摂取を刺激する[29、30]。対照的にグルコースのicv注入は摂食を抑制する[31]。したがって、GLKの小分子活性化剤はGLKの中樞作用を介して、食物摂取および体重増加を減少させる可能性がある。したがって、GLK活性化剤は、糖尿病に加え、肥満を含む摂食障害の治療において治療的用途を有する可能性がある。視床下部作用は、2型糖尿病の治療のためにグルコースホメオスタシスを正常化することにおいて肝臓および/または膵臓で作用する同種の化合物の作用に相加的または相乗的であることになる。したがって、GLK/GLKRP系は、(糖尿病および肥満の両方に利点を有する)潜在的な“ダイアベシティー(Diabetesity)”標的として記載することができる。

20

30

【0006】

WO0058293およびWO01/44216(Roche)では、一連のベンジルカルバモイル化合物がグルコキナーゼ活性化剤として記載されている。そのような化合物がGLKを活性化する機序は、GLK活性がNADH産生に繋がり、次にそれを光学的に測定するアッセイにおいて、そのような化合物の直接作用を測定することにより評価される。実施例Aに記載のin vitroアッセイの詳細を参照されたい。本発明の多くの化合物は、公知のGLK活性化剤に比較して好ましい選択性を示すことができる。

40

【0007】

WO9622282、WO9622293、WO9622294、WO9622295、WO9749707およびWO9749708は、本発明に開示された化合物に構造的に類似するバソプレッシン薬として有用な化合物の製造に使用されるいくつかの中間体を開示する。構造的に類似した化合物は、WO9641795およびJP8143565(バソプレッシン拮抗作用)、JP8301760(皮膚障害予防)ならびにEP619116(骨疾患)にも開示される。

50

【 0 0 0 8 】

WO 0 1 / 1 2 6 2 1 は c - J U N N - 末端キナーゼの阻害剤としての、イソキサゾリルピリミジンおよび関連化合物、ならびにそのような化合物を含有する医薬組成物の製造を記載する。

【 0 0 0 9 】

Cushman et al [Bioorg Med Chem Lett (1991) 1 (4), 211-14] は、ピリジン含有スチルベンおよびアミドの合成、および蛋白質チロシンキナーゼ阻害剤としてのそれらの評価を記載する。Rogers et al [J Med Chem (1981) 24 (11) 1284-7] は、環状 AMP ホスホジエステラーゼ阻害剤としてのメソイオンプリノン類似体を記載する。

10

【 0 0 1 0 】

WO 0 0 / 2 6 2 0 2 は、抗腫瘍剤としての 2 - アミノ - チアゾールの製造を記載する。GB 2 3 3 1 7 4 8 は、殺虫剤チアゾール誘導体の製造を記載する。WO 9 6 / 3 6 6 1 9 は、消化管運動改善薬としてのアミノチアゾール誘導体の製造を記載する。US 5 4 6 6 7 1 5 および US 5 2 5 8 4 0 7 は、3, 4 - 2 置換フェノール免疫刺激剤の製造を記載する。JP 5 8 0 6 9 8 1 2 は、ベンズアミド誘導体を含有する血糖降下剤を記載する。US 3 9 5 0 3 5 1 は 2 - ベンズアミド - 5 - ニトロチアゾールを記載し、Cavier et al [Eur J Med Chem-Chim Ther (1978) 13 (6), 539-43] はこれらの化合物の生物学的重要性について検討する。

20

【 発明の開示 】

【 0 0 1 1 】

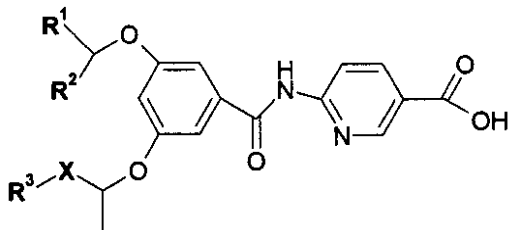
係属中の国際特許出願番号：PCT / GB 0 2 / 0 2 8 7 3 は、酵素グルコキナーゼ (GLK) の活性化剤であるベンゾイルアミノピリジルカルボン酸の群を記載する。本発明者らは驚くべきことに、いくつかの選択されたこれらの化合物を見出していて、それらは GLK 酵素に対する高い効果を維持しながら、改善された水溶性と低下した血漿結合レベルのために、経口投与後に高い血漿中薬物レベルを有する。このことが、化合物のこのサブグループを、GLK を介して媒介される疾患または医学的状態の治療または予防における用途にとりわけ適切にする。

【 0 0 1 2 】

したがって、本発明の第 1 の側面に従って、式 (I) の化合物：

【 0 0 1 3 】

【 化 1 】



式 (I)

40

【 0 0 1 4 】

(式中：

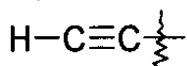
R^1 は水素および $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され；

R^2 は $R^4 - C(R^5 a R^5 b) -$ 、 $R^4 = C(R^6) -$ および $R^7 a C(R^7 b) = C(R^6) -$ から選択され；

$R^3 - X -$ はメチル、メトキシメチルおよび：

【 0 0 1 5 】

【化 2】



【0016】

から選択され；

R^4 は $C_1 \sim 4$ アルキル、フェニル、 $C_3 \sim 6$ シクロアルキルおよびヘテロアリールから選択され、ここで R^4 は場合により R^8 から独立して選択される 1 または 2 種の置換基によって置換され；

R^{5a} および R^{5b} は水素、フルオロおよび $C_1 \sim 4$ アルキルから独立して選択され；

R^6 は水素および $C_1 \sim 4$ アルキルから選択され；

R^{7a} および R^{7b} は $C_1 \sim 4$ アルキルから独立して選択され、ここで R^{7a} および R^{7b} は場合により R^8 から独立して選択される 1 または 2 種の置換基によって置換され；

R^8 は $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_1 \sim 3$ アルコキシ、フルオロおよびクロロから選択され；

ただし；

(i) 少なくとも R^{5a} および R^{5b} の 1 種はフルオロであり；そして

(ii) R^2 が $R^4 = C(R^6) -$ の場合、 R^4 は $C_3 \sim 6$ シクロアルキルである)、またはその塩、プロドラッグもしくは溶媒和物が提供される。

【0017】

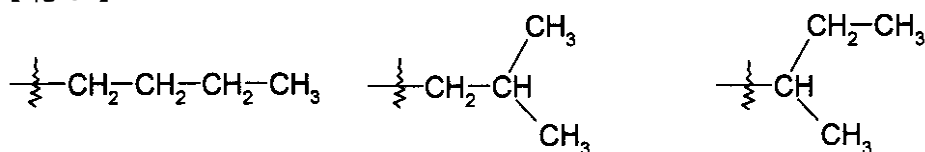
式 (I) の化合物は、本発明の範囲内である、塩を形成してもよい。薬剤的に受容できる塩が好ましいが、別の塩がたとえば、化合物を単離または精製することにおいて有用であってもよい。

【0018】

本明細書では、“アルキル”という用語は、直鎖および分枝鎖アルキル基を共に包含する。たとえば、“ $C_1 \sim 4$ アルキル”はプロピル、イソプロピルおよび *t*-ブチルを包含する。疑いを避けるために、アルキル鎖はアルキル鎖の末端において、またはアルキル鎖の真ん中において分子の残部に結合することができる、すなわち、“アルキル”の定義は以下の構造：

【0019】

【化 3】



【0020】

を包含し、ここで：

【0021】

【化 4】



【0022】

は分子の残部への結合点を表す。

“ヘテロアリール”という用語は、5 ~ 6 炭素原子を含有する不飽和、単環を表し、少なくともその 1 原子は、窒素、硫黄または酸素によって置き換えられ、ここで複素環の硫黄原子は $S(O)$ または $S(O)_2$ に酸化されてもよい。ヘテロアリール環は、特記しない限り、窒素を介した結合が荷電した第 4 窒素を導く場合を除いては、炭素または窒素で結合してもよい。

【0023】

ヘテロアリールの例としては、チエニル、フラニル、チアゾリル、チアジアゾリル、トリアゾリル、ピラゾリル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、ピリジル、ピ

10

20

30

40

50

ラジニル、ピリダジニルおよびピリミジニルが挙げられる。好ましいヘテロアリアル環としては：チエニルが挙げられる。

【0024】

“ $C_3 - 6$ シクロアルキル” という用語は、3 ~ 6 炭素原子、好ましくは5 ~ 6 炭素原子を含有する飽和炭素環を表す。 $C_3 - 6$ シクロアルキルの例としては、シクロヘキシル、シクロペンチル、シクロブチルまたはシクロプロピルが挙げられる。好ましくは、シクロペンチルまたはシクロヘキシル。最も好ましくはシクロペンチル。

【0025】

$C_1 - 4$ アルキルの例としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、sec-ブチルおよびtert-ブチルが挙げられ； $C_1 - 3$ アルコキシの例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、およびイソプロポキシが挙げられる。

10

【0026】

先に定義したある種の式(I)の化合物が1以上の不斉炭素原子のために光学活性またはラセミ型で存在する限り、本発明はその定義において、GLKを直接刺激するか、またはGLK/GLKRP相互作用を阻害する特性を有する、任意のそのような光学活性またはラセミ型を包含すると理解すべきである。光学活性型の合成は、当該技術分野で公知の有機化学の標準技術、たとえば光学的に活性な出発物質からの合成により、またはラセミ型の分割により実行することができる。また、ある種の化合物は互変異性体形で存在してもよいこと、そして本発明はまた、GLKを活性化する本発明の化合物の任意およびすべての互変異性体形に関することを理解すべきである。

20

【0027】

式(I)の好ましい化合物は、以下のいずれか1以上のことが当てはまるものである：

- (1) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ である；
- (2) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ であり、そして R^4 はフェニルである；
- (3) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ であり、そして R^4 はヘテロアリアルである；
- (4) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ であり、そして R^4 は $C_3 - 6$ シクロアルキルである；
- (5) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ であり、そして R^{5a} および R^{5b} は両方ともフルオロである；
- (6) R^2 は $R^4 = C(R^6) -$ である；
- (7) R^2 は $R^4 = C(R^6) -$ であり、そして $R^3 - X -$ はメチルである；
- (8) R^2 は $R^4 = C(R^6) -$ であり、そして $R^3 - X -$ はメトキシメチルである；
- (9) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ であり、そして $R^3 - X -$ はメチルである；
- (10) R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ であり、そして $R^3 - X -$ はメトキシメチルである

30

- (11) R^4 は非置換である；
- (12) $R^3 - X -$ はメチルである；
- (13) $R^3 - X -$ はメトキシメチルである；
- (14) R^2 は $R^{7a} C(R^{7b}) = C(R^6) -$ である。

【0028】

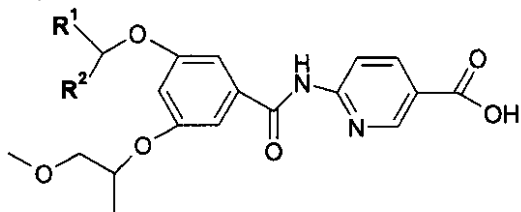
本発明の別の態様に従って、本発明の化合物の以下の好ましい群が提供される：

(I) 式(Ia)の化合物：

【0029】

40

【化5】



式 (I a)

【0030】

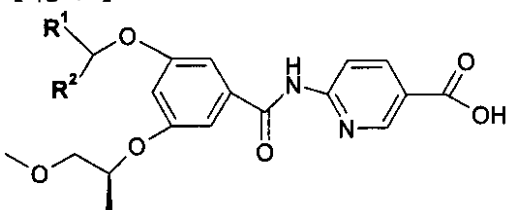
10

(式中： R^1 および R^2 は式 (I) の化合物において先に定義したとおりである) またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

(II) 式 (I b) の化合物：

【0031】

【化6】



20

式 (I b)

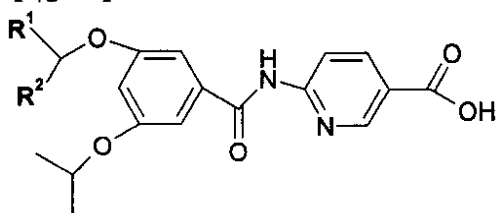
【0032】

(式中： R^1 および R^2 は式 (I) の化合物において先に定義したとおりである) またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

(III) 式 (I c) の化合物：

【0033】

【化7】



30

式 (I c)

【0034】

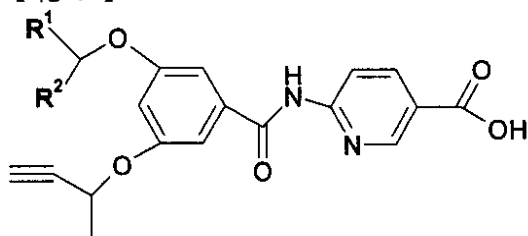
(式中： R^1 および R^2 は式 (I) の化合物において先に定義したとおりである) またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

40

(IV) 式 (I d) の化合物：

【0035】

【化 8】



式 (I d)

10

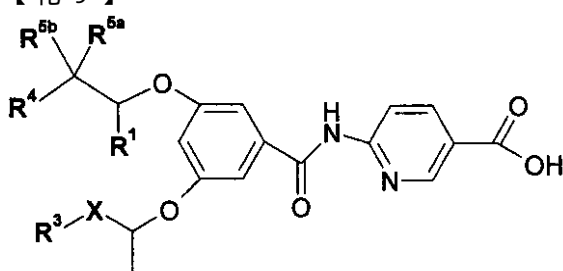
【0036】

(式中: R^1 および R^2 は式 (I) の化合物において先に定義したとおりである) またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

(V) 式 (I e) の化合物:

【0037】

【化 9】



式 (I e)

20

【0038】

(式中: R^1 および R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^{5a} および R^{5b} は式 (I) の化合物において先に定義したとおりである) またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

(VI) 式 (I) の化合物 (式中:

30

R^1 は水素であり;

R^2 は $R^4 - C(R^{5a} R^{5b}) -$ および $R^4 = C(R^6) -$ から選択され;

$R^3 - X -$ はメチルおよびメトキシメチルから選択され;

R^4 はフェニルおよび $C_3 - 6$ シクロアルキルから選択され、ここで R^4 は場合により R^7 から独立して選択される 1 または 2 種の置換基によって置換され、好ましくは非置換であり;

R^{5a} および R^{5b} は水素およびフルオロから独立して選択され;

R^6 は水素であり;

R^7 は $C_1 - 3$ アルキル、 $C_1 - 3$ アルコキシ、フルオロおよびクロロから独立して選択され;

ただし:

40

(i) 少なくとも R^{5a} および R^{5b} の 1 種はフルオロであり、好ましくは R^{5a} および R^{5b} は両方ともフルオロであり;

(ii) R^2 が $R^4 = C(R^6) -$ の場合、 R^4 は $C_3 - 6$ シクロアルキルである。

【0039】

本発明の別の側面では、実施例のいずれか 1 種、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグが提供される。本発明の別の側面では、実施例のいずれか 2 種以上、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグが提供される。

【0040】

好ましい本発明の化合物は、以下のいずれか 1 種、2 種またはそれ以上を包含する:

6 - { [(3 - [(2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1 50

S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ)エチル]オキシ}フェニル)カルボニル]アミノ}ピリジン - 3 - カルボン酸

6 - [(3 - [(2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル)オキシ] - 5 - [(1 - メチルエチル)オキシ]フェニル)カルボニル)アミノ]ピリジン - 3 - カルボン酸

6 - {[(3 - [(2 - シクロペンチリデンエチル)オキシ] - 5 - {[(1S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ)エチル]オキシ}フェニル)カルボニル]アミノ}ピリジン - 3 - カルボン酸

6 - {[(3 - (2 - シクロペンチリデンエチル)オキシ] - 5 - [(1 - メチルエチル)オキシ]フェニル)カルボニル)アミノ]ピリジン - 3 - カルボン酸

またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ。

10

【0041】

本発明の化合物は、プロドラッグの形状において投与されてもよい。プロドラッグは本発明の化合物を生じるために、体内で分解可能である、バイオプリカーサーまたは薬剤的に受容できる化合物（たとえば、本発明の化合物のエステルまたはアミド、とりわけ *in vivo* で加水分解可能なエステル）である。種々の形状のプロドラッグが当該技術分野で公知である。そのようなプロドラッグ誘導体の例については、以下を参照されたい；

a) Design of Prodrugs, H. Bundgaard 編 (Elsevier, 1985) および Methods in Enzymology, 42 巻, p. 309-396, K. Widder, et al. 編 (Academic Press, 1985) ;

20

b) A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen 編 ;

c) H. Bundgaard, 5 章 "Design and Application of Prodrugs", H. Bundgaard 編 p. 113-191 (1991) ;

d) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992) ;

e) H. Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988) ; および

f) N. Kakeya, et al., Chem Pharm Bull, 32, 692 (1984)。

30

【0042】

先に引用した文献の内容は参照として本明細書に援用される。

プロドラッグの例は、以下のとおりである。カルボキシまたはヒドロキシ基を含有する本発明の化合物の *in vivo* での加水分解可能なエステルは、たとえば、ヒトまたは動物体中で加水分解されて親酸またはアルコールを生じる、薬剤的に受容できるエステルである。適切な薬剤的に受容できるカルボキシのエステルには、C₁ ~ C₆ アルコキシメチルエステル、たとえばメトキシメチル、C₁ ~ C₆ アルカノイルオキシメチルエステル、たとえばピバロイルオキシメチル、フタリジルエステル、C₃ ~ C₈ シクロアルコキシカルボニルオキシ C₁ ~ C₆ アルキルエステル、たとえば 1 - シクロヘキシルカルボニルオキシエチル ; 1, 3 - ジオキソレン - 2 - オニルメチルエステル、たとえば 5 - メチル - 1, 3 - ジオキソレン - 2 - オニルメチル ; および C₁ ~ C₆ アルコキシカルボニルオキシエチルエステルが挙げられる。

40

【0043】

ヒドロキシ基を含有する、本発明の化合物の *in vivo* での加水分解可能なエステルには、無機エステル、たとえばホスフェートエステル（ホスホロアミド環状エステルを含む）および - アシルオキシアルキルエステルならびに関連化合物が挙げられ、それらはエステルの *in vivo* 加水分解の結果として、分解し、親ヒドロキシ基（または複数の基）を生じる。 - アシルオキシアルキルエステルの例としては、アセトキシメトキシ、および 2, 2 - ジメチルプロピオニルオキシメトキシが挙げられる。ヒドロキシに

50

ついて選ばれた *in-vivo* 加水分解可能なエステル形成基としては、アルカノイル、ベンゾイル、フェニルアセチルならびに置換されたベンゾイルおよびフェニルアセチル、アルコキシカルボニル（アルキルカーボネートエステルを生じる）、ジアルキルカルバモイルおよび N-（ジアルキルアミノエチル）-N-アルキルカルバモイル（カーバメートを生じる）、ジアルキルアミノアセチルならびにカルボキシアセチルが挙げられる。

【0044】

本発明の化合物の適切な薬剤的に受容できる塩としては、たとえば、十分に塩基性である、本発明の化合物の酸付加塩、たとえば、無機または有機酸、たとえば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸またはマレイン酸との酸付加塩が挙げられる。さらに、十分に酸性である、本発明のベンゾキサジノン誘導体の適切な薬剤的に受容できる塩としては、アルカリ金属塩、たとえばナトリウムまたはカリウム塩、アルカリ土類金属塩、たとえばカルシウムまたはマグネシウム塩、アンモニウム塩または生理的に受容できるカチオンを生じる有機塩基との塩、たとえばメチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリンまたはトリス-（2-ヒドロキシエチル）アミンとの塩が挙げられる。

10

【0045】

本発明の別の態様は、先に定義した式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）もしくは（Ie）の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを、薬剤的に受容できる希釈剤またはキャリアと一緒に含有する医薬組成物である。

【0046】

本発明の別の側面に従って、薬物として使用のための、先に定義した式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）または（Ie）の化合物が提供される。

20

さらに本発明に従って、GLKを介して媒介される疾患、とりわけ2型糖尿病の治療のための薬物の製造における使用のための式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）または（Ie）の化合物が提供される。

【0047】

化合物は、このようにして使用するための医薬組成物として適切に製剤される。

本発明の別の側面に従って、GLK媒介疾患、とりわけ糖尿病の治療に必要な哺乳動物に、有効量の式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）もしくは（Ie）の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを投与することによる、かかる疾患を治療する方法が提供される。

30

【0048】

本発明の化合物または組成物により治療することができる具体的な疾患としては次のものが挙げられる：2型糖尿病における血糖の低下であって重い血糖低下のリスク（および1型を治療する可能性）がないもの、脂質代謝異常、肥満、インスリン耐性、メタボリックシンドロームX、耐糖性障害。

【0049】

先に検討したように、したがってGLK/GLKRP系は、（糖尿病と肥満の両方に利点を有する）潜在的な“ダイアベシティー”標的として記載することができる。したがって、本発明の別の側面に従って、糖尿病と肥満の組み合わせた治療または予防における使用のための薬物の製造における、式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）もしくは（Ie）の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの使用が提供される。

40

【0050】

本発明の別の側面に従って、肥満の治療または予防における使用のための薬物の製造における、式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）もしくは（Ie）の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグの使用が提供される。

【0051】

本発明のさらに別の側面に従って、肥満および糖尿病の組み合わせ治療に必要な哺乳動物に、有効量の式（I）、（Ia）、（Ib）、（Ic）、（Id）もしくは（Ie）の

50

化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを投与することによる、かかる治療のための方法が提供される。

【0052】

本発明のさらに別の側面に従って、肥満の治療に必要な哺乳動物に、有効量の式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)もしくは(Ie)の化合物、またはその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを投与することによる、かかる治療のための方法が提供される。

【0053】

本発明の組成物は、経口用途(たとえば錠剤、トローチ剤、硬もしくは軟カプセル剤、水性もしくは油性懸濁剤、乳濁剤、分散性粉末剤もしくは顆粒剤、シロップ剤またはエリキシル剤として)、局所用途(たとえば、クリーム剤、軟膏剤、ゲル剤、または水性もしくは油性溶液もしくは懸濁液として)、吸入による投与(たとえば微細に分割された粉末または液体エアゾールとして)、通気による投与(たとえば微細に分割された粉末として)または非経口投与(たとえば、静脈内、皮下、筋肉内もしくは筋肉内投与のための滅菌水性もしくは油性溶液として、または直腸内投与のための坐剤として)に適した形状中であってよい。

10

【0054】

本発明の組成物は当該技術分野で公知の、慣用の医薬添加剤を使用して、慣用の手順によって得ることができる。したがって、経口用途を意図した組成物は、たとえば1種以上の着色剤、甘味剤、香味剤および/または保存剤を含んでいてもよい。

20

【0055】

錠剤製剤のための適切な薬剤的に受容できる添加剤には、たとえば不活性希釈剤、たとえばラクトース、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウムまたは炭酸カルシウム、造粒および崩壊剤、たとえばコーンスターチまたはアルギン酸；結合剤、たとえばデンプン；潤滑剤、たとえばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルク；保存剤、たとえばエチルまたはプロピル *p*-ヒドロキシベンゾエート、および酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸が挙げられる。錠剤製剤は、消化管内でのそれらの崩壊およびその後の活性成分の吸収を調節するか、またはそれらの安定性および/または外観を改善するかのいずれかのために被覆されなくても、被覆されてもよく、いずれの場合においても、当該技術分野で公知の慣用の被覆剤および手順を使用する。

30

【0056】

経口用途のための組成物は、活性成分が不活性な固体希釈剤、たとえば炭酸カルシウム、リン酸カルシウムまたはカオリンと混合している硬ゼラチンカプセル剤の形状中であってもよく、または活性成分が水またはオイル、たとえばピーナツオイル、流動パラフィン、またはオリーブオイルと混合している軟ゼラチンカプセル剤として存在してもよい。

【0057】

水性懸濁剤は一般に、1種以上の懸濁化剤、たとえばカルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴムおよびアラビアゴム；分散または湿潤剤、たとえばレシチンまたは脂肪酸とアルキレンオキシドとの縮合産物(たとえばポリオキシエチレンステアレート)、または長鎖脂肪族アルコールとエチレンオキシドの縮合産物、たとえばヘプタデカエチレンオキシセタノール、または脂肪酸とヘキシトールに由来する部分エステルとエチレンオキシドの縮合産物、たとえばポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート、または長鎖脂肪族アルコールとエチレンオキシドの縮合産物、たとえばヘプタデカエチレンオキシセタノール、または脂肪酸とヘキシトールに由来する部分エステルとエチレンオキシドの縮合産物、たとえばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートと一緒、微細な粉末にされた形状中に活性成分を含有する。水性懸濁剤はまた、1種以上の保存剤(たとえば、エチルまたはプロピル *p*-ヒドロキシベンゾエート)、酸化防止剤(たとえばアスコルビ

40

50

ン酸)、着色剤、香味剤、および/または甘味剤(たとえばショ糖、サッカリンまたはアスパルテーム)を含んでいてもよい。

【0058】

油性懸濁剤は植物油(たとえば落花生油、オリーブ油、ゴマ油またはココナッツ油)または鉱物油(たとえば流動パラフィン)中に活性成分を懸濁することにより製剤してもよい。油性懸濁剤はまた、造粘剤、たとえば蜜蝋、硬パラフィンまたはセチルアルコールを含有していてもよい。先に示したような甘味剤、および香味剤を添加して、風味のよい経口製剤を提供してもよい。これらの組成物は、アスコルビン酸のような酸化防止剤の添加によって保存することができる。

【0059】

水の添加による水性懸濁剤の製造に適した分散性粉末剤または顆粒剤は一般に、分散または湿潤剤、懸濁化剤および1以上の保存剤と一緒に活性成分を含有する。適切な、分散または湿潤剤、および懸濁化剤はすでに先に述べたものによって例示されている。付加的な添加剤、たとえば甘味剤、香味剤および着色剤が存在してもよい。

【0060】

本発明の医薬組成物はまた、水中油型乳剤の形状であってもよい。油相は植物油、たとえばオリーブ油または落花生油、もしくは鉱物油、たとえば流動パラフィン、またはこれらのいずれかの混合物であってもよい。適切な乳化剤は、たとえば、天然に存在するゴム、たとえば、アラビアゴムまたはトラガカントゴム、天然に存在するホスファチド、たとえばダイズ、レシチン、脂肪酸と無水ヘキシトールに由来するエステルおよび部分エステル(たとえば、ソルビタンモノオレエート)および上記の部分エステルとエチレンオキシドの縮合産物、たとえばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートであってもよい。乳剤はまた、甘味剤、香味剤および保存剤を含んでいてもよい。

【0061】

シロップ剤およびエリキシル剤は甘味剤、たとえばグリセロール、プロピレングリコール、ソルビトール、アスパルテームまたはショ糖と一緒に製剤されてもよく、そして粘滑剤、保存剤、香味および/または着色剤を含んでいてもよい。

【0062】

医薬組成物はまた、滅菌注射用水性または油性懸濁剤の形状であってもよく、それらは先に述べられている1種以上の適切な分散または湿潤剤および懸濁化剤を使用して、公知の手順に従って製剤されてもよい。滅菌注射用製剤はまた、非毒性の非経口的に受容できる希釈剤または溶媒中の滅菌注射用溶液または懸濁液、たとえば1,3-ブタンジオール中の溶液であってもよい。

【0063】

吸入による投与のための組成物は、微細に分割された固体を含有するエアゾールまたは液体小滴いずれかとして活性成分を投薬するように準備された、慣用の加圧エアゾールの形状中であってもよい。慣用のエアゾール噴射剤、たとえば揮発性フッ素化炭化水素または炭化水素が使用されてもよく、そしてエアゾール装置は、活性成分の計量された量を投薬するように、都合よく準備される。

【0064】

製剤に関するそれ以上の情報については、読者はComprehensive Medicinal Chemistry(Corwin Hansch;編集委員長), Pergamon Press 1990の5巻、25.2章を参照されたい。

【0065】

単一剤形を製造するために1種以上の添加剤と組み合わせた活性成分の量は、治療される受容者および具体的な投与経路に依存して必然的に変化することになる。たとえば、ヒトへの経口投与を意図した製剤は一般に、適切で都合のよい添加剤の量と一緒に調合された0.5mg~2gまでの活性剤を含有することになり、そのような添加剤は全組成物の重量の5~98パーセントまで変化してもよい。単位剤形は一般に、約1mg~約500mgの活性成分を含有することになる。投与経路および投与計画に関するそれ以上の情報

10

20

30

40

50

については、読者は *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; 編集委員長), Pergamon Press 1990 の 5 巻、25.3 章を参照されたい。

【0066】

式 (I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id) または (Ie) の化合物の治療または予防目的のための投与量のサイズは、医薬品の公知の原則に従って、状態の性質および重症度、動物または患者の年齢および性、ならびに投与経路に従って自然に変化することになる。

【0067】

式 (I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id) または (Ie) の化合物を治療または予防目的に使用することにおいて、分割された投与量が必要な場合、それはたとえば体重 1 kg につき、0.5 mg ~ 75 mg の範囲で 1 日投与量が受け取れるように投与される。一般に、非経口経路が使用される場合、より少ない投与量が投与されることになる。したがって、たとえば、静脈内投与の場合、体重 1 kg につき、0.5 mg ~ 30 mg の範囲の投与量が一般に使用されることになる。同様に、吸入による投与の場合、体重 1 kg につき、0.5 mg ~ 25 mg の範囲の投与量を使用されることになる。しかし、経口投与が好ましい。

【0068】

本明細書に記載された GLK 活性を高めるは、単独の療法として適用してもよく、または本発明の主題に加え、1 種以上の別の物質および / または処置を包含してもよい。そのような共同治療は処置の個々の成分の同時、連続または別個の投与により行うことができる。同時治療は単一の錠剤または別々の錠剤の状態であってもよい。たとえば、糖尿病の治療では、化学療法は以下の主要な治療カテゴリーを包含することができる：

- 1) インスリンおよびインスリン類似体；
- 2) スルホニルウレア（たとえばグリベンクラミド、グリピジド）、食事グルコース調節剤（たとえばレバグリニド、ナテグリニド）を含む、インスリン分泌促進剤；
- 3) インクレチン作用を改善する物質（たとえばジペプチジルペプチダーゼ I V 阻害剤、および GLP-1 アゴニスト）；
- 4) PPAR ガンマアゴニストを含むインスリン増感剤（たとえばピオグリタゾンおよびロシグリタゾン）、および PPAR アルファおよびガンマ活性を併せ持つ物質；
- 5) 肝グルコースバランスを調節する物質（たとえば、メトホルミン、フラクトース、1, 6-ビスホスファターゼ阻害剤、グリコーゲンホスホリラーゼ阻害剤、グリコーゲンシンターゼキナーゼ阻害剤）；
- 6) 腸からのグルコースの吸収を減少させるように設計された物質（たとえばアカルボース）；
- 7) 腎臓によるグルコースの再吸収を妨害する物質（SGLT 阻害剤）；
- 8) 長期高血糖症の合併症を治療するように設計された物質（たとえば、アルドースレダクターゼ阻害剤）；
- 9) 抗肥満剤（たとえばシブトラミンおよびオルリスタット）；
- 10) 抗脂質代謝異常剤、たとえば HMG-CoA レダクターゼ阻害剤（たとえばスタチン）；PPAR アゴニスト（フィブレート、たとえばゲムフィブロジル）；胆汁酸隔離剤（コレステラミン）；コレステロール吸収阻害剤（植物スタノール、合成阻害剤）；胆汁酸吸収阻害剤（IBATi）ならびにニコチン酸および類似体（ナイアシンおよび徐放製剤）；
- 11) 抗高血圧剤、たとえば ブロッカー（たとえばアテノロール、インデラル）；ACE 阻害剤（たとえばリシノプリル）；カルシウムアンタゴニスト（たとえばニフェジピン）；アンギオテンシン受容体アンタゴニスト（たとえばカンデサルタン）、アンタゴニストおよび利尿剤（たとえばフロセミド、ベンズチアジド）；
- 12) 鬱血調節剤、たとえば抗血栓剤、線維素溶解の活性化剤および抗血小板剤；トロンビンアンタゴニスト；第 Xa 因子阻害剤；第 VIIa 因子阻害剤）；抗血小板剤（たとえ

10

20

30

40

50

ばアスピリン、クロピドグレル)；抗凝固剤(ヘパリンおよび低分子量類似体、ヒルジン)およびワルファリン；

13) グルカゴンの作用に拮抗する物質；および

14) 抗炎症剤、たとえば非ステロイド抗炎症剤(たとえば、アスピリン)およびステロイド抗炎症剤(たとえばコルチゾン)。

【0069】

本発明の別の側面に従って、以下に示された実施例の最終生成物として製造される個々の化合物、ならびにその塩、溶媒和物およびプロドラッグが提供される。

本発明の化合物、またはその塩はそのような化合物、または構造的に関連した化合物の製造に適用できることが公知のいずれかの工程によって製造することができる。官能基は、慣用の方法を使用して、保護し、そして脱保護することができる。アミノおよびカルボン酸保護基のような保護基(ならびに製造の方法および最終的な脱保護)の例に関しては、T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2版, John Wiley & Sons, New York, 1991を参照されたい。

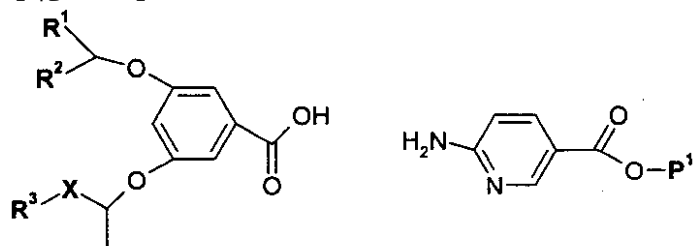
【0070】

式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)または(Ie)の化合物の合成の工程は本発明の別の態様として提供される。したがって、本発明の別の側面に従って、以下のことを含む、式(I)、(Ia)、(Ib)、(Ic)、(Id)または(Ie)の化合物の製造のための工程が提供される：

(a) 式(IIIa)の酸または活性化されたその誘導体と式(IIIb)の化合物：

【0071】

【化10】



式(IIIa)

式(IIIb)

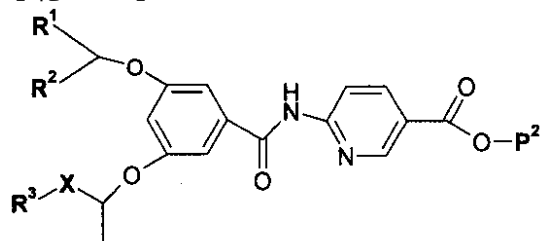
【0072】

[式中、P¹は水素または、C₁ - ₄アルキル、(好ましくはメチルまたはエチル)のような保護基である]の反応；または

(b) 式(IIIc)の化合物：

【0073】

【化11】



式(IIIc)

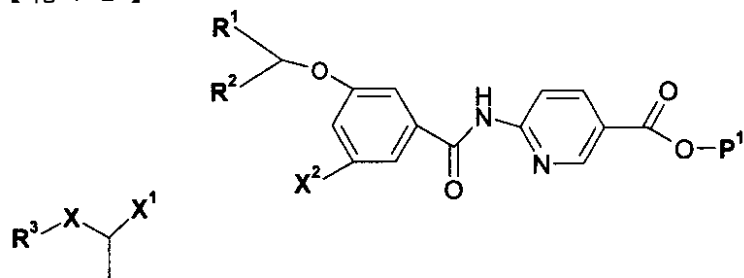
【0074】

(式中、P²は保護基である)の脱保護；または

(c) 式(III d)の化合物と式(III e)の化合物：

【 0 0 7 5 】

【 化 1 2 】



10

式 (I I I d)

式 (I I I e)

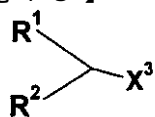
【 0 0 7 6 】

(式中、 X^1 は脱離基であり、 X^2 はヒドロキシル基であるか、または X^1 はヒドロキシル基であり、 X^2 は脱離基であり、そして P^1 は水素または保護基である) の反応 ; または

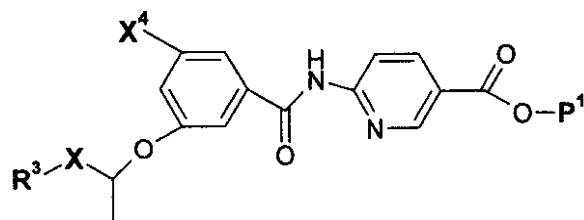
(d) 式 (I I I f) の化合物と式 (I I I g) の化合物 :

【 0 0 7 7 】

【 化 1 3 】



20



式 (I I I f)

式 (I I I g)

【 0 0 7 8 】

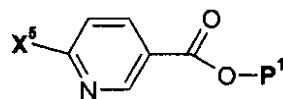
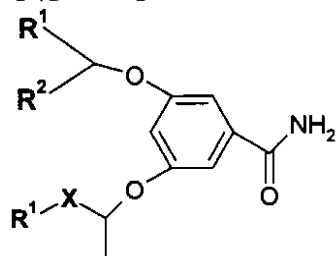
(式中 : X^3 は脱離基であり、 X^4 はヒドロキシル基であるか、または X^3 はヒドロキシル基であり、 X^4 は脱離基であり、ここで P^1 は水素または保護基である) の反応 ; または

30

(e) 式 (I I I h) の化合物と式 (I I I i) の化合物 :

【 0 0 7 9 】

【 化 1 4 】



40

式 (I I I h)

式 (I I I i)

【 0 0 8 0 】

(式中 : X^5 は脱離基であり、そして P^1 は水素または保護基である) の反応 ;
およびその後、必要な場合 :

- i) 式 (I) の化合物を別の式 (I) の化合物に変換すること ;
- i i) いずれかの保護基を除去すること ;
- i i i) その塩、プロドラッグまたは溶媒和物を形成すること。

50

【 0 0 8 1 】

工程 a) ~ e) の適切な脱離基は当業者に公知であり、そしてたとえば活性化されたヒドロキシ脱離基 (たとえばメシレートおよびトシレート基) およびフルオロ、クロロまたはブロモのようなハロ脱離基が挙げられる。

【 0 0 8 2 】

式 (I I I a) ~ (I I I i) の化合物は市販されているか、または当該技術分野で公知のいずれか都合のよい工程によって、および / または本明細書の実施例に説明されるように製造することができる。一般に、いずれかのアリール - O またはアルキル - O 結合が、場合により適切な塩基の存在下で、求核置換または金属に触媒される工程によって形成されてもよいことは理解されるであろう。

10

【 0 0 8 3 】

P¹ が保護基である場合、P¹ は好ましくは C₁ ~ 4 アルキル、たとえばメチルまたはエチルである、上記の反応の具体的な反応条件は以下のとおりであり、:

工程 a) アミノ基とカルボン酸からアミドを形成するカップリング反応は、当該技術分野で公知である。たとえば、

(i) D M A P の存在下、D C M、クロロホルムまたは D M F のような適切な溶媒中、室温で、E D A C と行われる適切なカップリング反応、たとえばカルボジイミドカップリング反応を使用するもの; または

(i i) カルボキシル基が、メチレンクロリドのような適切な溶媒の存在下で、オキザリルクロリドとの反応により酸クロリドに活性化される反応。次に酸クロリドはトリエチルアミンまたはピリジンのような、塩基の存在下、クロロホルムまたは D C M のような適切な溶媒中、0 ~ 室温の温度で、式 I I I b の化合物と反応することができる。

20

工程 b) 脱保護反応は当該技術分野で公知である。P¹ の例としては C₁ ~ 6 アルキルおよびベンジルが挙げられる。P¹ が C₁ ~ 6 アルキルである場合、反応は T H F / 水のような適切な溶媒中、水酸化ナトリウムの存在下で行うことができる。

工程 c) 式 (I I I d) および (I I I e) の化合物は、D M F または T H F のような適切な溶媒中で、場合により金属触媒、たとえば酢酸パラジウム (I I)、パラジウム炭素、酢酸銅 (I I) またはヨウ化銅 (I) を使用し、0 ~ 1 0 0 の範囲の温度で、水素化ナトリウムまたは t e r t - ブトキシドカリウムのような塩基と反応することができる; あるいは、式 (I I I d) および (I I I e) の化合物は、T H F または D C M のような適切な溶媒中、トリフェニルホスフィンのような適切なホスフィン、およびジエチルアゾジカルボキシレートのようなアゾジカルボキシレートと一緒に反応することができる;

30

工程 d) 式 (I I I d) および (I I I e) の化合物は、T H F または D M F のような適切な溶媒中で、場合により金属触媒、たとえば酢酸パラジウム (I I)、パラジウム炭素、酢酸銅 (I I) またはヨウ化銅 (I) を使用し、0 ~ 1 0 0 の範囲の温度で、水素化ナトリウムまたは t e r t - ブトキシドカリウムのような塩基と一緒に反応してもよく、あるいは式 (I I I d) および (I I I e) の化合物は、D M F または T H F のような適切な溶媒中で、適切なホスフィン、たとえばトリフェニルホスフィン、およびアゾジカルボキシレート、たとえばジエチルアゾジカルボキシレートと一緒に反応してもよい;

工程 e) 式 (I I I h) の化合物と式 (I I I i) の化合物の反応は、D M F のような極性溶媒、または T H F のような非極性溶媒中で、場合により金属触媒、たとえば酢酸パラジウム (I I)、パラジウム炭素、酢酸銅 (I I) またはヨウ化銅 (I) を使用し、0 ~ 1 0 0 間の温度で、水素化ナトリウムまたは t e r t - ブトキシドカリウムのような強塩基と行うことができる。

40

【 0 0 8 4 】

製造工程中、分子内の官能基に保護基を使用することが好都合であろう。保護基は、問題となっている保護基の除去に関して文献に記載されているか、または当業者に公知のいずれか都合のよい方法により、適宜除去してもよく、そのような方法は分子のいずれか他の部位の基をできるだけ妨害せずに、保護基を除去するように選択される。

【 0 0 8 5 】

50

保護基の具体的な例は、便宜上、以下に示され、そこでは“低級”は適用される基が好ましくは1～4炭素原子を有することを示す。これらの例が網羅的でないことは理解されるであろう。保護基の除去のための具体的な方法が以下に示される場合、これらは同じ様に網羅するものではない。具体的に述べられていない保護基の使用および脱保護の方法は、もちろん本発明の範囲内である。

【0086】

カルボキシ保護基はエステル形成脂肪族またはアルアリファチックアルコールまたはエステル形成シラノール（上記アルコールまたはシラノールは好ましくは1～20炭素原子を含有する）の残基であってもよい。カルボキシ保護の例としては、直鎖または分枝鎖（1～12C）アルキル基（たとえば、イソプロピル、t-ブチル）；低級アルコキシ低級アルキル基（たとえばメトキシメチル、エトキシメチル、イソブトキシメチル；低級脂肪族アシルオキシ低級アルキル基（たとえばアセトキシメチル、プロピオニルオキシメチル、ブチリルオキシメチル、ピバロイルオキシメチル）；低級アルコキシカルボニルオキシ低級アルキル基（たとえば、1-メトキシカルボニルオキシエチル、1-エトキシカルボニルオキシエチル）；アリール低級アルキル基（たとえば、p-メトキシベンジル、o-ニトロベンジル、p-ニトロベンジル、ベンズヒドリルおよびフタリジル）；トリ（低級アルキル）シリル基（たとえばトリメチルシリルおよびt-ブチルジメチルシリル）；トリ（低級アルキル）シリル低級アルキル基（たとえば、トリメチルシリルエチル）；および（2～6C）アルケニル基（たとえばアリルおよびビニルエチル）が挙げられる。

【0087】

カルボキシ保護基の除去にとりわけ適切な方法には、たとえば、酸、金属または酵素に触媒される加水分解が挙げられる。

ヒドロキシ保護基の例としては、低級アルケニル基（たとえば、アリル）；低級アルカノイル基（たとえば、アセチル）；低級アルコキシカルボニル基（たとえば、t-ブトキシカルボニル）；低級アルケニルオキシカルボニル基（たとえば、アリルオキシカルボニル）；アリール低級アルコキシカルボニル基（たとえば、ベンゾイ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、o-ニトロ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）；トリ低級アルキル／アリールシリル基（たとえば、トリメチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル）；アリール低級アルキル基（たとえば、ベンジル）基；およびトリアリール低級アルキル基（たとえばトリフェニルメチル）が挙げられる。

【0088】

アミノ保護基の例としては、ホルミル、アラルキル基（たとえば、ベンジルおよび置換されたベンジル、たとえばp-メトキシベンジル、ニトロベンジルおよび2,4-ジメトキシベンジル、およびトリフェニルメチル）；ジ-p-アニシルメチルおよびフリルメチル基；低級アルコキシカルボニル（たとえばt-ブトキシカルボニル）；低級アルケニルオキシカルボニル（たとえばアリルオキシカルボニル）；アリール低級アルコキシカルボニル基（たとえば、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、o-ニトロ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）；トリアルキルシリル（たとえば、トリメチルシリル、およびt-ブチルジメチルシリル）；アルキリデン（たとえばメチリデン）；ベンジリデンおよび置換されたベンジリデン基が挙げられる。

【0089】

ヒドロキシおよびアミノ保護基の除去に適切な方法には、たとえば、酸、塩基、金属もしくは酵素に触媒される加水分解、またはo-ニトロベンジルオキシカルボニルのような基に対しては光分解、またはシリル基にはフルオリドイオンによるものが挙げられる。

【0090】

アミド基の保護基の例としては、アラルコキシメチル（たとえば、ベンジルオキシメチルおよび置換されたベンジルオキシメチル）；アルコキシメチル（たとえば、メトキシメ

10

20

30

40

50

チルおよびトリメチルシリルエトキシメチル) ; トリアルキル / アリールシリル (たとえば、トリメチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル) ; トリアルキル / アリールシリルオキシメチル (たとえば、t-ブチルジメチルシリルオキシメチル、t-ブチルジフェニルシリルオキシメチル) ; 4-アルコキシフェニル (たとえば、4-メトキシフェニル) ; 2, 4-ジ (アルコキシ) フェニル (たとえば、2, 4-ジメトキシフェニル) ; 4-アルコキシベンジル (たとえば、4-メトキシベンジル) ; 2, 4-ジ (アルコキシ) ベンジル (たとえば、2, 4-ジ (メトキシ) ベンジル ; およびアルク-1-エニル (たとえば、アリル、ブト-1-エニルおよび置換されたビニル、たとえば2-フェニルビニル) が挙げられる。

【0091】

10

アルコキシメチル基は、アミド基を適切なアルコキシメチルクロリドと反応させることにより、アミド基に導入し、接触水素添加により除去することができる。アルコキシメチル、トリアルキル / アリールシリルおよびトリアルキル / シリルオキシメチル基は、アミドを適切なクロリドと反応させることにより導入し、酸、またはシリル含有基の場合にはフルオリドイオンにより除去することができる。アルコキシフェニルおよびアルコキシベンジル基は好都合には適切なハロゲン化物によるアリール化またはアルキル化により導入し、セリウムアンモニウムニトレートによる酸化によって除去する。最後に、アルク-1-エニル基は、アミドを適切なアルデヒドと反応させ、酸により除去することができる。

【実施例】

20

【0092】

以下の実施例は、説明のためだけであって、本出願の範囲を限定することを意図しない。例示されたそれぞれの化合物は、本発明の具体的で独立した側面を表す。以下の限定的でない実施例では、特記しない限り：

(i) 留去はロータリーエバポレーションにより真空下で行い、乾燥剤のような残存する固体の除去後に、ろ過により後処理を行った；

(ii) 操作は18~25の範囲の室温において、アルゴンまたは窒素のような不活性ガスの雰囲気下で行った；

(iii) 収率は説明のためだけに示し、必ずしも最大収率ではない；

(iv) 式(I)の最終生成物の構造は、核(一般にプロトン)磁気共鳴(NMR)および質量分析技術によって確かめ；プロトン磁気共鳴化学シフト値はデルタスケールで測定し、ピーク多重度は以下のように示す：s、一重項；d、二重項；t、三重項；m、多重項；b、ブロード；q、四重項、quin、五重項；

30

(v) 中間体は一般に完全には解析せず、純度は薄層クロマトグラフィー(TLC)、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、赤外(IR)またはNMR分析によって評価した；

(vi) Isoluteシリカカートリッジは、Flashmaster 2システム；Argonaut Technologies, Inc., Hengoed, Mid Glamorgan, Wales UK CF82 8AUを使用して溶出されるIST(International Sorbent Technology), Hengoed, Mid Glamorgan, Wales UK, CF82 7RJのプレパックシリカカートリッジ(1g~70gまで)を表す。

40

【0093】

(vii) Biotageカートリッジは、biotageポンプおよびフラクションコレクター系を使用して溶出される、プレパックシリカカートリッジ(40g~400gまで)；Biotage UK Ltd, Hertford, Herts, UKを表す。

【0094】

(viii) セライトは珪藻土を表す。

略語

DCM ジクロロメタン；

50

DEAD	ジエチルジアゾカルボキシレート；
DIAD	ジ - i - プロピルアゾジカルボキシレート；
DIPEA	ジ - イソプロピルエチルアミン
DMSO	ジメチルスルホキシド；
DMF	ジメチルホルムアミド；
EDAC	1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド 塩酸塩；
LCMS	液体クロマトグラフィー / 質量分析；
RT	室温；および
THF	テトラヒドロフラン。

10

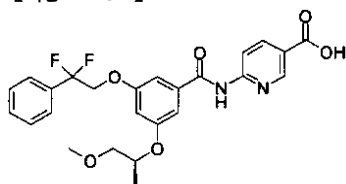
【 0 0 9 5 】

実施例 1

6 - { [(3 - [(2 , 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボン酸

【 0 0 9 6 】

【 化 1 5 】



20

【 0 0 9 7 】

THF (5 m l) 中のメチル 6 - { [(3 - [(2 , 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボキシレート (3 7 5 m g 、 0 . 7 5 m m o l) の溶液に、蒸留水 (1 . 9 m l) および水酸化ナトリウム溶液 (1 M を 1 . 9 m l 、 約 2 . 5 当量) を添加した。溶解度を高めるためにメタノール (2 滴) を添加し、混合物を周囲温度で 2 時間攪拌した。反応混合物は塩酸 (1 M を 1 . 9 m l) で中和し、THF は真空下で部分的に除去し；さらに水を添加し、得られた固体をろ過し、さらに蒸留水で洗浄した。部分的に乾燥した後、固体をアセトニトリル (4 m l) に懸濁し、約 1 時間、穏やかに攪拌し；固体をろ過し、さらにアセトニトリルで洗浄し、乾燥して、6 - { [(3 - [(2 , 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボン酸を無色固体として得た。

30

¹HNMRd (d₆ - DMSO) : 1 . 2 (d , 3 H) , 3 . 2 5 (s , 3 H) , 3 . 4 - 3 . 5 5 (m , 2 H) , 4 . 6 - 4 . 8 (m , 3 H) , 6 . 7 5 (m , 1 H) , 7 . 2 5 (d , 2 H) , 7 . 5 5 (m , 3 H) , 7 . 6 5 (m , 2 H) , 8 . 3 (s , 2 H) , 8 . 8 5 (s , 1 H) , 1 1 . 0 5 (b r s , 1 H) ;

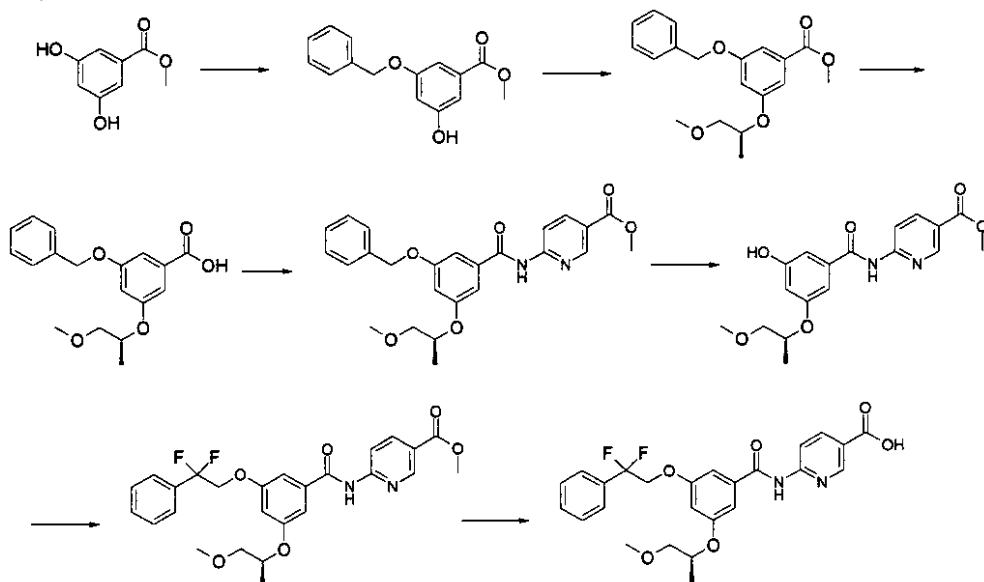
m / z 4 8 7 (M + H) ⁺ , 4 8 5 (M - H) ⁻

40

実施例 1 の製造のための中間体は下記のスキーム：

【 0 0 9 8 】

【化 16】



10

【0099】

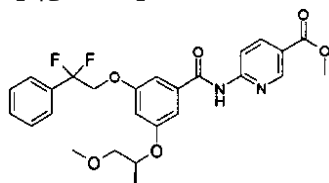
に従って、以下に記載のように製造した：

メチル 6 - { [(3 - [(2 , 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボキシレート

20

【0100】

【化 17】



【0101】

アセトン (7 m l) および D M F (2 m l) 中のメチル 6 - { [(3 - ヒドロキシ - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボキシレート (3 6 0 m g 、 1 m m o l) の溶液は、炭酸カリウム (4 1 4 m g 、 3 m m o l 、 3 当量) および 2 , 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチルトリフルオロメタンスルホネート (4 3 2 m g 、 1 . 5 m m o l 、 1 . 5 当量) で順次処理した。得られた懸濁液は、付加的なスルホネート試薬 (2 日にわたり 2 5 0 m g を 2 回) を添加しながら、周囲温度で 3 日間撹拌した。

30

【0102】

反応混合物はエチルアセレートで希釈し、水 (2 回) およびブラインで洗浄し、乾燥 (M g S O ₄) し、留去して茶色オイルとして粗生成物 (1 g) を得た。これをクロマトグラフィー (1 0 g I s o l u t e シリカカートリッジ , 1 5 % ~ 2 0 % に増加するエチルアセレートを含むヘキサンで溶出) にかき、無色ゴム状物として、メチル 6 - { [(3 - [(2 , 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボキシレートを得た。

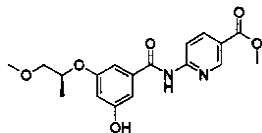
40

¹ H N M R d (d ₆ - D M S O) : 1 . 2 (d , 3 H) , 3 . 2 5 (s , 3 H) , 3 . 4 - 3 . 5 (m , 2 H) , 3 . 8 5 (s , 3 H) , 4 . 6 - 4 . 8 (m , 3 H) , 6 . 8 (s , 1 H) , 7 . 2 5 (d , 2 H) , 7 . 5 5 (m , 3 H) , 7 . 6 5 (m , 2 H) , 8 . 3 5 (s , 2 H) , 8 . 9 (s , 1 H) , 1 1 . 1 (b r s , 1 H) ;

m / z 4 9 9 (M + H) ⁺ , 5 0 1 (M - H) ⁻

50

メチル 6 - { [(3 - ヒドロキシ - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボキシレート
 【 0 1 0 3 】
 【 化 1 8 】



【 0 1 0 4 】

THF (85 mL) 中のメチル 6 - [({ 3 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] フェニル } カルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボキシレート (0 . 038 mol) の攪拌溶液に、メタノール (85 mL) を添加した。パラジウムチャコール触媒 (10 % w / w を 1 . 7 g) をアルゴン雰囲気下で添加し、得られた懸濁液は水素雰囲気中で、一晚、周囲温度で攪拌した。触媒はセライトでろ過し、THF で洗浄し、ろ液を留去して、薄茶色の固体を得た。これをエーテルで粉砕して所望する化合物 (収率 72 %) を得た。

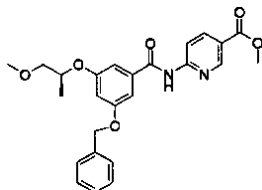
$^1\text{H NMR}$ d (d_6 - DMSO) : 1 . 25 (d , 3 H) , 3 . 3 (s , 3 H) , 3 . 45 (m , 2 H) , 3 . 85 (s , 3 H) , 4 . 65 (m , 1 H) , 6 . 55 (m , 1 H) , 6 . 95 (m , 1 H) , 7 . 1 (m , 1 H) , 8 . 3 (m , 2 H) , 8 . 9 (m , 1 H) , 11 . 0 , (s , 1 H) .

m / z 361 (M + H) $^+$, 359 (M - H) $^-$

メチル 6 - [({ 3 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } - 5 [(フェニルメチル) オキシ] フェニル } カルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボキシレート

【 0 1 0 5 】

【 化 1 9 】



【 0 1 0 6 】

DMF (1 mL) を含有する DCM (250 mL) 中の 3 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] 安息香酸 (75 . 9 mmol) の攪拌溶液に、アルゴン下でオキザリルクロリド (151 . 7 mmol) を滴下して加え、得られた溶液を 4 時間攪拌した。次に溶液を真空下で留去し、さらに

DCM (3 x 100 mL) と共沸させ、残渣を高真空下で乾燥し、酸クロリドを得て、性状を調べずにそれを使用した。

【 0 1 0 7 】

上記の酸クロリド (約 75 . 9 mmol) は THF (100 mL) に溶解し、アルゴン下で THF (100 mL) およびピリジン (100 mL) 混合物中のメチル 6 - アミノニコチネート (91 . 1 mmol) の攪拌溶液に添加した。反応混合物は一晚攪拌し、その後溶媒の大部分を真空下で除去した。残渣はエチルアセレート (250 mL) に溶解し、懸濁液は 1 M クエン酸 (2 回、洗浄液が酸性になるまで) およびブラインで順次洗浄し ; 得られた溶液は乾燥 (MgSO_4) し、留去して茶色のゴム状物として粗生成物を得た。これをクロマトグラフィー (400 g Biota g e シリカカートリッジ、20 % v / v エチルアセレートを含むヘキサンで溶出) にかき、所望する化合物を得た (収率 50 %) 。

10

20

30

40

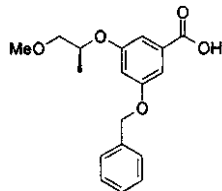
50

$^1\text{H NMR d}(\text{d}_6 - \text{DMSO})$: 1.21 (d, 3H), 3.47 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.72 (m, 1H), 5.16 (s, 2H), 6.78 (t, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.31 - 7.49 (m, 5H), 8.32 (s, 2H), 8.90 (見かけ上 t, 1H), 11.15 (s, 1H).
 m/z 451.5 ($\text{M} + \text{H}^+$), 449.5 ($\text{M} - \text{H}^-$)

3 - { [(1S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ)エチル] オキシ } - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] 安息香酸

【0108】

【化20】



10

【0109】

THF (232 mL) およびメタノール (232 mL) の混合物中のメチル 3 - { [(1S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ)エチル] オキシ } - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] ベンゾエート (77.4 mmol) の溶液は、水酸化ナトリウム (2N) (232 mmol) の溶液で処理し、反応混合物は周囲温度で4時間攪拌した。得られた溶液は水 (250 mL) で希釈し、大部分の有機溶媒は真空下で除去した。得られた懸濁液はジエチルエーテル (3 x 200 mL) で洗浄し、洗浄液は廃棄した。得られた水溶液は塩酸溶液 (2M) で pH 4 に酸性化し、エチルアセテート (2 x 200 mL) で抽出し、抽出物を合わせてブラインで洗浄し、乾燥 (MgSO_4) し、留去して所望する化合物 (収率 99%) を得た。

20

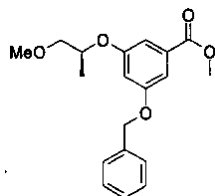
$^1\text{H NMR d}(\text{d}_6 - \text{DMSO})$: 1.20 (d, 3H), 3.46 (m, 2H), 4.64 (m, 1H), 5.15 (s, 2H), 6.83 (見かけ上 t, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.30 - 7.49 (m, 5H), 12.67 (br s, 1H)。

メチル 3 - { [(1S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ)エチル] オキシ } - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] ベンゾエート

30

【0110】

【化21】



【0111】

THF 中のメチル 3 - ヒドロキシ - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] ベンゾエート (77.4 mmol) の溶液に、ポリマーに支持されたトリフェニルホスフィン (3 mmol / g 負荷を 51.7 g、155 mmol) および (R) - (-) - 1 - メトキシ - 2 - プロパノール (102 mmol) を添加した。攪拌溶液はアルゴンで覆い、氷浴で冷やし、ジイソプロピルアゾジカルボキシレート (116 mmol) の溶液を10分間かけてシリンジから滴下して加えた。添加後、溶液を20分間攪拌し、その後ろ過し、THF (500 mL) で残渣を洗浄し、ろ液および洗浄液を合わせ、留去して未精製の所望する化合物を得て、それ以上精製せずにそれを次の段階に使用した。

40

【0112】

$^1\text{H NMR d}(\text{d}_6 - \text{DMSO})$: 3.26 (s, 3H), 3.44 (m, 2H), 3

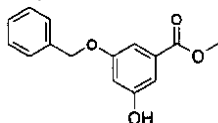
50

・ 8.2 (s, 3H), 4.63 (m, 1H), 5.14 (s, 2H), 6.85 (s, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.30 - 7.47 (m, 5H); スペクトルは少量のビス(1-メチルエチル)ヒドラジン-1,2-ジカルボキシレートに一致するシグナルも含有した。

メチル 3 - ヒドロキシ - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] ベンゾエート

【0113】

【化22】



10

【0114】

DMF (6 L) 中のメチル 3, 5 - ジヒドロキシベンゾエート (5.95 mmol) の攪拌溶液に、炭酸カリウム (9 mmol) を添加し、懸濁液はアルゴン下、周囲温度で攪拌した。これに、ベンジルブロミド (8.42 mmol) を 1 時間かけて、わずかに発熱反応を伴いながら、ゆっくり添加し、反応混合物は周囲温度で一晩攪拌した。それを塩化アンモニウム溶液 (5 L) 続いて水 (35 L) で注意深く冷やした。水性懸濁液は DCM (1 x 3 L および 2 x 5 L) で抽出した。合わせた抽出物は水 (10 L) で洗浄し、一晩乾燥 (MgSO₄) した。溶液は真空下で留去し、粗生成物は 3 バッチでクロマトグラフィー (フラッシュカラム、3 x 2 kg シリカ、10% DCM を含有するヘキサン、純粋な DCM、50% エチルアセテートを含む DCM からなるグラジエントで溶出) につ

20

け、出発物質を除去し; 次に未精製の溶出液を 175 g バッチでクロマトグラフィー (Amicon HPLC、5 kg 順相シリカ、20% v/v エチルアセテートを含むイソヘキサンで溶出) につ

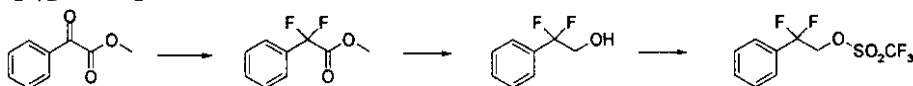
【0115】

必要な出発物質 2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチルトリフルオロメタンは下記のスキーム:

30

【0116】

【化23】



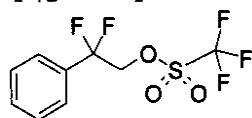
【0117】

に従って、以下に記載のように製造した:

2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエチルトリフルオロメタンスルホネート

【0118】

【化24】



40

【0119】

冷却し、攪拌した DCM (50 ml) 中の 2, 2 - ジフルオロ - 2 - フェニルエタノール (1.6 g、10 mmol) およびジ - イソプロピルエチルアミン (DIEA、2.1 ml、12 mmol、1.2 当量) の溶液に、トリフルオロメタン無水スルホン酸 (2.0 ml、12 mmol、1.2 当量) を添加し、溶液を 2 時間攪拌した。さらに、DIEA (0.5 ml、3 mmol) および無水トリフル酸 (0.5 ml、3 mmol) を

50

添加し、反応混合物をさらに2時間撹拌した。次にそれを水(2回)およびブラインで順次洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、留去して暗茶色オイルとして粗生成物を得た；これをクロマトグラフィー(20% Isoluteシリカカートリッジ、5% v/vエチルアセテートを含有するヘキサンで溶出)にかけ、薄茶色オイルとして2,2-ジフルオロ-2-フェニルエチルトリフルオロメタンスルホネートを得て、それを性状解析せずに、すぐに使用した。

【0120】

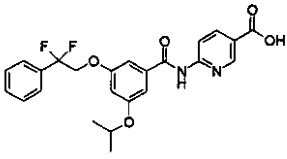
必要な2,2-ジフルオロ-2-フェニルエタノールは、メチル、ジフルオロフェニルアセテートから出発し、WO98/20878に記載された方法に従って製造した(WJ Middleton et al, J. Org. Chem. (1980), 45, 2883-2887)。

【0121】

先に記載の方法に類似の方法を使用して、実施例1.1がさらに製造された：

【0122】

【表1】

No	構造	MS	NMR
1.1		(M+H) ⁺ 457 (M-H) ⁻ 455	¹ H NMR δ (d ₆ -DMSO): 1.25 (d, 6H), 4.6-4.8 (m, 3H), 6.75 (m, 1H), 7.2 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.55 (m, 3H), 7.65 (m, 2H), 8.3 (s, 2H), 8.9 (s, 1H), 11.05 (br s, 1H).

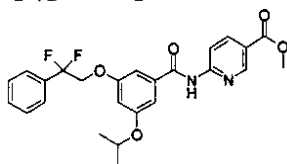
【0123】

特記しない限り、実施例1.1の製造のための適切な中間体は、実施例1の製造のための中間体製造に使用した方法に類似の方法を使用して製造した：

メチル6-[(3-(2,2-ジフルオロ-2-フェニルエチル)オキシ)-5-[(1-メチルエチル)オキシ]フェニル]カルボニル)アミノ]ピリジン-3-カルボキシレート

【0124】

【化25】



【0125】

¹H NMR d(d₆-DMSO): 1.25 (d, 6H), 3.85 (s, 3H), 4.6-4.8 (m, 3H), 6.75 (m, 1H), 7.2 (m, 1H), 7.25 (m, 1H), 7.45-7.55 (m, 3H), 7.65 (m, 2H), 8.35 (m, 2H), 8.9 (s, 1H), 11.1 (br s, 1H); m/z 471 (M+H)⁺

メチル6-[(3-ヒドロキシ-5-[(1-メチルエチル)オキシ]フェニル]カルボニル)アミノ]ピリジン-3-カルボキシレート

【0126】

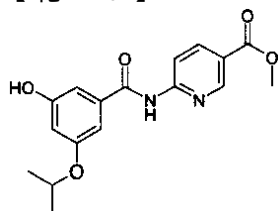
10

20

30

40

【化 2 6】



【 0 1 2 7 】

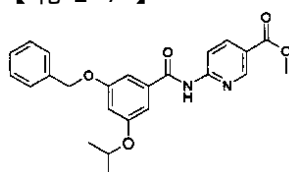
¹H NMR d (d₆ - DMSO) : 1.25 (d, 6H), 3.85 (s, 3H), 4.65 (m, 1H), 6.55 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 7.1 (m, 1H), 8.3 (s, 2H), 8.9 (s, 1H), 9.7 (s, 1H), 11.0, (s, 1H).

$$m/z \ 331 \ (M + H)^+, \ 329 \ (M - H)^-$$

メチル 6 - [({ 3 - ベンジルオキシ - 5 - [(1 - メチルエチル) オキシ] フェニル } カルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボキシレート

【 0 1 2 8 】

【化 2 7】



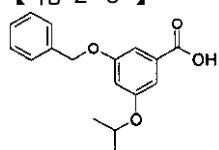
【 0 1 2 9 】

$$^1\text{H NMR d}(d_6\text{-DMSO}): 1.25(\text{d}, 6\text{H}), 3.85(\text{s}, 3\text{H}), 4.7(\text{m}, 1\text{H}), 5.2(\text{s}, 2\text{H}), 6.75(\text{m}, 1\text{H}), 7.2(\text{m}, 1\text{H}), 7.3-7.5(\text{m}, 6\text{H}), 8.35(\text{s}, 2\text{H}), 8.90(\text{s}, 1\text{H}), 11.15(\text{br s}, 1\text{H})$$

3 - [(1 - メチルエチル) オキシ] - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] 安息香酸

【 0 1 3 0 】

【化 2 8】



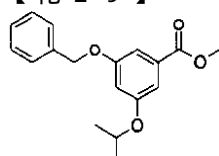
【 0 1 3 1 】

¹HNMRd(d₆-DMSO): 1.25 (d, 6H), 4.65 (m, 1H), 5.15 (s, 2H), 6.8 (m, 1H), 7.05 (m, 1H), 7.15 (m, 1H), 7.30~7.5 (m, 5H), 12.95 (s br, 1H)

メチル 3 - [(1 - メチルエチル) オキシ] - 5 - [(フェニルメチル) オキシ] ベン
ゾエート

【 0 1 3 2 】

【化 2 9】



【 0 1 3 3 】

DMF (250 ml) 中のメチル 3 - イソプロピルオキシ - 5 - ジヒドロキシ - ベンゾ
エート (25.0 g, 119 mmol) の溶液は、炭酸カリウム (41.1 g, 297 mmol) と 50

mol、2.5当量)およびベンジルブロミド(17ml、143mmol、1.2当量)で処理し、得られた懸濁液は60℃で5時間加熱した。溶媒は真空下で除去し、残渣は水(200ml)に懸濁した;これをエチルアセテート(2×250ml)で抽出した。合わせた抽出物は水(4×150ml)およびブライン(2×100ml)で順次洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、留去して黄色オイルとしてメチル3-イソプロピルオキシ-5-ベンジルオキシベンゾエート(37.5g)を得て、それには痕跡量のエチルアセテート、ベンジルアルコールおよびベンジルブロミドが含まれていた。

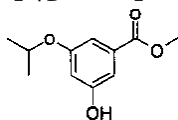
¹H NMR d(d₆-DMSO): 1.2(d, 6H), 3.85(s, 3H), 4.65(m, 1H), 5.15(s, 2H), 6.85(m, 1H), 7.05(m, 1H), 7.15(m, 1H), 7.3-7.5(m, 5H)。

10

メチル3-[(1-メチルエチル)オキシ]-5-ヒドロキシベンゾエート

【0134】

【化30】



【0135】

¹H NMR d(d₆-DMSO): 1.2(d, 6H), 3.8(s, 3H), 4.55(m, 1H), 6.55(m, 1H), 6.9(m, 1H), 6.95(m, 1H)。

20

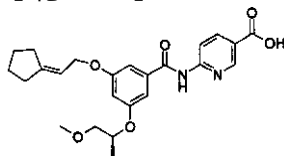
【0136】

実施例2

6-{[(3-(2-シクロペンチリデンエチル)オキシ)-5-{[(1S)-1-メチル-2-(メチルオキシ)エチル]オキシ}フェニル)カルボニル]アミノ}ピリジン-3-カルボン酸

【0137】

【化31】



30

【0138】

実施例2は実施例1の製造に類似した方法を使用して、対応するエステル、メチル6-{[(3-(2-シクロペンチリデンエチル)オキシ)-5-{[(1S)-1-メチル-2-(メチルオキシ)エチル]オキシ}フェニル)カルボニル]アミノ}ピリジン-3-カルボキシレートから製造した。

¹H NMR d(d₆-DMSO): 1.24(s, 3H), 1.55-1.72(m, 4H), 2.30(見かけ上q, 4H), 3.30(s, 3H 溶媒ピークにより不明瞭), 3.49(qd, 2H), 4.57(d, 2H), 4.75(m, 1H), 5.55(m, 1H), 6.70(s, 1H), 7.18(s, 1H), 7.22(s, 1H), 8.31(s, 2H), 8.90(s, 1H), 11.09(s, 1H), 13.17(s br, 1H)

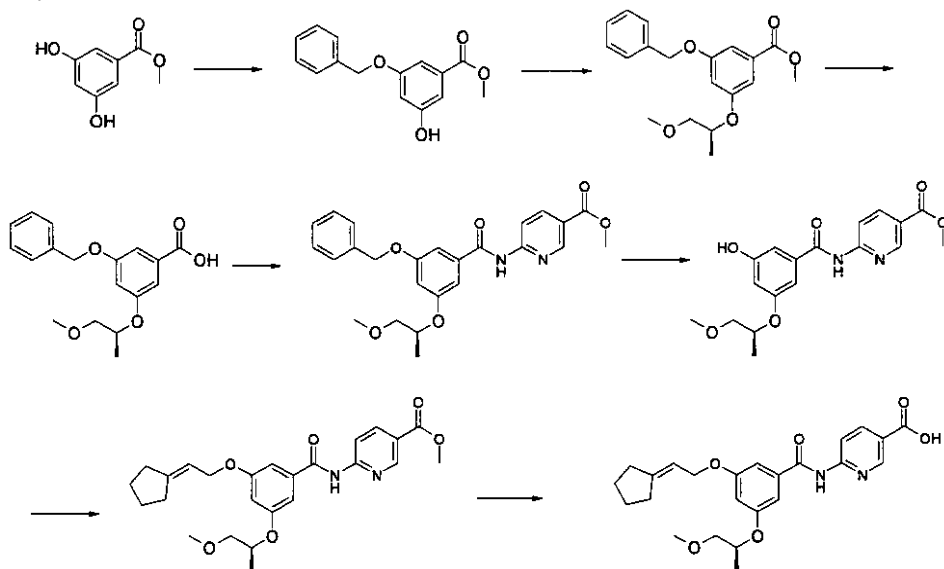
40

m/z 441.5 (M+H)⁺, 439.5 (M-H)⁻

実施例2の製造のための中間体は、下記のスキーム:

【0139】

【化 3 2】



10

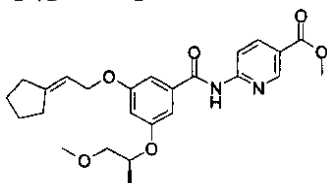
【 0 1 4 0 】

に従って、以下に記載のように製造した：

メチル 6 - { [(3 - (2 - シクロペンチリデンエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S)
- 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ }
ピリジン - 3 - カルボキシレート

【 0 1 4 1 】

【化 3 3】



【 0 1 4 2 】

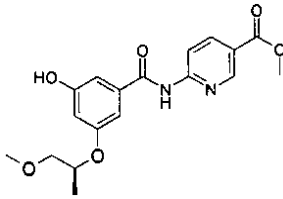
DCM (3 0 m l) 中のメチル 6 - { [(3 - ヒドロキシ - 5 - { [(1 S) - 1 - メ
チル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン
- 3 - カルボキシレート (9 0 0 m g 、 2 . 5 m m o l) 、 2 - シクロペンチリデンエタ
ノール (3 8 2 m g 、 3 . 4 m m o l 、 1 . 4 当量) およびポリマーに支持されたトリフ
ェニルホスフィン (およそ 3 m m o l / g 、 1 . 5 g 、 およそ 3 当量) の攪拌懸濁液に、
アルゴン下で、ジ - t e r t - ブチルアゾジカルボキシレート (D T A D 、 1 . 2 9 g 、
5 . 6 m m o l 、 2 . 2 当量) を添加し、反応混合物は周囲温度で一晩攪拌した。レジ
ンは過により除去し、エチルアセテートおよび T H F で洗浄し ; る液および洗浄液を合
わせて真空下で留去し、残渣を粉碎 (エーテル / イソヘキサン 1 : 1) してメチル 6 - { [
(3 - (2 - シクロペンチリデンエチル) オキシ] - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2
- (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カ
ルボキシレートを得た。

¹HNMR d (d₆ - DMSO) : 1.22 (d, 3H), 1.60 (m, 4H), 2.29 (d, 4H), 3.3 (s, 3H), 3.47 (m, 2H), 3.45 (d, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.71 (m, 1H), 5.53 (m, 1H), 6.68 (m, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 8.33 (s, 2H), 8.90 (s, 1H), 11.12 (br s, 1H)
m/z 455.5 (M+H)⁺

メチル 6 - { [(3 - ヒドロキシ - 5 - { [(1 S) - 1 - メチル - 2 - (メチルオキシ) エチル] オキシ } フェニル) カルボニル] アミノ } ピリジン - 3 - カルボキシレート

【 0 1 4 3 】

【化 3 4】



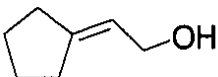
【0 1 4 4】

これは上記の実施例 1 の中間体に記載されたとおりに製造した。

2 - シクロペンチリデンエタノール

【0 1 4 5】

【化 3 5】



【0 1 4 6】

これは国際特許出願番号 W O 0 1 / 6 8 6 0 3、6 3 ページに記載されたとおりに製造した。

先に記載の方法に類似の方法を使用して、実施例 2 . 1 がさらに製造された：

【0 1 4 7】

【表 2】

No	構造	MS	NMR
2.1		(M+H) ⁺ 411	¹ H NMR δ (d ₆ -DMSO): 1.26 (d, 6H), 1.61 (m, 4H), 2.26 (d, 4H), 4.55 (d, 2H), 4.71 (7重項, 1H), 5.53 (br m, 1H), 6.64 (t, 1H), 7.16 (m, 2H), 8.29 (s, 2H), 8.97 (s, 1H), 11.05 (br s, 1H), COOH は見られなかった。

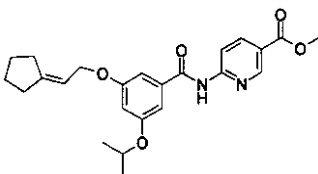
【0 1 4 8】

実施例 2 . 1 の製造のための適切な中間体は、実施例 2 の製造のための中間体の製造に使用した方法に類似の方法を使用して製造した：

メチル 6 - { [(3 - (2 - シクロペンチリデンエチル) オキシ] - 5 - [(1 - メチルエチル) オキシ] フェニル } カルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボキシレート

【0 1 4 9】

【化 3 6】



【0 1 5 0】

¹ H N M R d (d₆ - D M S O) : 1 . 2 7 (d , 6 H) , 1 . 6 0 (m , 4 H) , 2 . 2 8 (m , 4 H) , 3 . 8 6 (s , 3 H) , 4 . 5 4 (d , 2 H) , 4 . 7 0 (7 重 項 , 1 H) , 5 . 5 2 (m , 1 H) , 6 . 6 3 (t , 1 H) , 7 . 1 5 (m , 2 H) , 8 . 3 2 (s , 2 H) , 8 . 8 8 (s , 1 H) , 1 1 . 1 0 (b r s , 1 H)
m / z 4 2 5 (M + H)⁺

メチル 6 - [({ 3 - ヒドロキシ - 5 - [(1 - メチルエチル) オキシ] フェニル } カ

10

20

30

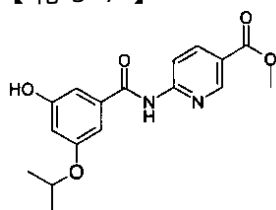
40

50

ルボニル) アミノ] ピリジン - 3 - カルボキシレート

【 0 1 5 1 】

【 化 3 7 】



【 0 1 5 2 】

これは上記の実施例 1 . 1 の中間体に記載されたとおりに製造した。

生物学的

試験：

本発明の化合物の生物学的作用は、以下の方法で試験することができる：

(1) G L K の酵素活性は、G L K、A T P およびグルコースをインキュベートすることにより測定することができる。生成物形成速度は、G - 6 - P デヒドロゲナーゼ、N A D P / N A D P H 系にアッセイをカップリングし、3 4 0 n m の光学密度の直線状増加を測定することにより、決定することができる (M a t s c h i n s k y e t a l 1 9 9 3) 。化合物による G L K の活性化は、B r o c k l e h u r s t e t a l (D i a b e t e s 2 0 0 4 , 5 3 , 5 3 5 - 5 4 1) に記載のように、G L K R P の存在下、または非存在下でこのアッセイを使用して、評価することができる。

【 0 1 5 3 】

(2) G L K と G L K R P (R P = 調節蛋白質) 間の結合相互作用を測定するための G L K / G L K R P 結合アッセイ。該方法を使用して、G L K と G L K R P 間の相互作用を調節することにより、G L K を調節する化合物を同定することができる。G L K R P と G L K は、場合により試験化合物の存在下において、阻害濃度の F - 6 - P と共にインキュベートし、G L K と G L K R P 間の相互作用の程度を測定する。F - 6 - P に取って代わるか、またはいずれか別の方法で G L K / G L K R P 相互作用を減少させる化合物は、形成される G L K / G L K R P 複合体の量の減少により、検出されることになる。F - 6 - P 結合を促進するか、またはいずれか別の方法で G L K / G L K R P 相互作用を促進する化合物は、形成される G L K / G L K R P 複合体の量の増加によって検出されることになる。そのような結合アッセイの具体的な例を以下に記載する。

【 0 1 5 4 】

G L K / G L K R P シンチレーション近接アッセイ

W O 0 1 / 2 0 3 2 7 (その内容は参照として本明細書に援用される) に記載のように、組換えヒト G L K および G L K R P を使用して、“ m i x a n d m e a s u r e ” 9 6 ウェル S P A (シンチレーション近接アッセイ) を開発した。G L K (ビオチン化) および G L K R P は、阻害濃度の放射標識した [3 H] F - 6 - P (A m e r s h a m C u s t o m S y n t h e s i s T R Q 8 6 8 9) の存在下で、ストレプトアビジンに結合した S P A ビーズ (A m e r s h a m) とインキュベートし、シグナルを生じる。F - 6 - P に取って代わるか、またはいずれか別の方法で G L K / G L K R P 相互作用を中断する化合物は、このシグナル消失を引き起こすことになる。

【 0 1 5 5 】

結合アッセイは、室温で 2 時間行われた。反応混合物は、5 0 m M T r i s - H C l (p H 7 . 5) 、2 m M A T P 、5 m M M g C l ₂ 、0 . 5 m M D T T 、組換えビオチン化 G L K (0 . 1 m g) 、組換え G L K R P (0 . 1 m g) 、0 . 0 5 m C i [3 H] F - 6 - P (A m e r s h a m) を含有し、最終容量は 1 0 0 m l とした。インキュベーション後、G L K / G L K R P 複合体形成の程度は、0 . 1 m g / ウェル アビジン結合 S P A ビーズ (A m e r s h a m) の添加、および P a c k a r d T o p C o u n t N X T でのシンチレーション計数により決定した。

10

20

30

40

50

【0156】

(3) G L K R P と F - 6 - P 間の結合相互作用を測定するための F - 6 - P / G L K R P 結合アッセイ。この方法を使用して、化合物の作用機序に関する付加的な情報を提供することができる。G L K / G L K R P 結合アッセイにおいて同定された化合物は、F - 6 - P に取って代わるか、またはいずれか別の方法で G L K と G L K R P の相互作用を変化させることにより、G L K と G L K R P の相互作用を調節することができる。たとえば、蛋白質 蛋白質相互作用は一般に複数の結合部位を介した相互作用によって起こることが公知である。したがって、G L K と G L K R P 間の相互作用を変化させる化合物は、1 以上のいくつかの異なる結合部位に結合することにより作用できる可能性がある。

【0157】

F - 6 - P / G L K R P 結合アッセイは、G L K R P 上の F - 6 - P の結合部位から F - 6 - P に取って代わることによって G L K と G L K R P の相互作用を調節する化合物だけを同定する。

【0158】

G L K R P は G L K の非存在下で、試験化合物と阻害濃度の F - 6 - P と共にインキュベートし、F - 6 - P と G L K R P 間の相互作用の程度を測定する。G L K R P への F - 6 - P の結合に取って代わる化合物は、形成される G L K R P / F - 6 - P 複合体の量の変化によって検出することができる。そのような結合アッセイの具体的な例を、以下に記載する。

【0159】

F - 6 - P / G L K R P シンチレーション近接アッセイ

W O 0 1 / 2 0 3 2 7 (その内容は参照として本明細書に援用される) に記載のように、組換えヒト G L K R P を使用して、" m i x a n d m e a s u r e " 9 6 ウェルシンチレーション近接アッセイを開発した。F L A G 標識 G L K R P は、阻害濃度の放射標識 [3 H] F - 6 - P の存在下において、蛋白質 A に被覆された S P A ビーズ (A m e r s h a m) 、および抗 F L A G 抗体と共にインキュベートする。シグナルが生成される。F - 6 - P 結合に取って代わる化合物は、このシグナル消失を引き起こすことになる。このアッセイと G L K / G L K R P 結合アッセイの組み合わせにより、観察者は、F - 6 - P に取って代わることによって G L K / G L K R P 相互作用を中断する化合物を同定することになる。

【0160】

結合アッセイは、室温で2時間行われた。反応混合物は、50 mM T r i s - H C l (p H 7 . 5) 、 2 m M A T P 、 5 m M M g C l ₂ 、 0 . 5 m M D T T 、 組換え F L A G 標識 G L K R P (0 . 1 m g) 、 抗 F L A G M 2 抗体 (0 . 2 m g) (I B I K o d a k) 、 0 . 0 5 m C i [3 H] F - 6 - P (A m e r s h a m) を含有し、最終容量は 1 0 0 m l とした。インキュベーション後、F - 6 - P / G L K R P 複合体形成の程度は、0 . 1 m g / ウェル 蛋白質 A 結合 S P A ビーズ (A m e r s h a m) の添加、および P a c k a r d T o p C o u n t N X T でのシンチレーション計数により決定した。

【0161】

組換え G L K および G L K R P の産生

m R N A の調製

ヒト肝総 m R N A は、S a m b r o o k J , F r i t s c h E F & M a n i a t i s T , 1 9 8 9 に記載のように、4 M グアニジンイソチオシアネート、2 . 5 m M シトレート、0 . 5 % サルコシル、1 0 0 m M β - メルカプトエタノール中で、ポリトロンによりホモゲナイズし、その後 5 . 7 M C s C l 、 2 5 m M 酢酸ナトリウム、1 3 5 , 0 0 0 g (最大) での遠心分離により調製した。

P o l y A ⁺ m R N A は F a s t T r a c k (登録商標) m R N A 単離キット (I n v i t r o g e n) を使用して直接調製した。

【0162】

GLKおよびGLKRP cDNA配列のPCR増幅

ヒトGLKおよびGLKRP cDNAは、Sambrook, Fritsch & Maniatis, 1989に記載された、確立された技術を使用して、ヒト肝mRNAからPCRにより得た。PCRプライマーは、Tanizawa et al 1991およびBonthron, D. T. et al 1994 (後に Warner, J. P. 1995において修正された) に示されたGLKおよびGLKRP cDNA配列に従って設計した。

【0163】

Bluescript IIベクターにおけるクローニング

GLKおよびGLKRP cDNAは、Yanisch-Perron C et al 10
(1985)によって使用されたものに類似した組換えクローニングベクター系、pBluescript II、(Short et al 1998) (バクテリオファージT3およびT7プロモーター配列が隣接した、複数の特有の制限部位を含有するポリリンカーDNAフラグメント、線維状ファージ複製起点、およびアンピシリン薬剤耐性マーカ―遺伝子を持つ、colEIを基礎にしたレプリコンを含有する) を使用して、大腸菌にクローニングした。

【0164】

形質転換

大腸菌形質転換は、一般にエレクトロポレーションにより行った。DH5aまたはBL
21 (DE3) 菌株の400 mL培養物は、L 20
ブロス中でOD600が0.5になるまで培養し、2,000 gで遠心分離することにより採取した。細胞は氷冷脱イオン水で2回洗浄し、1 mLの10%グリセロールに再懸濁し、 -70°C でアリコートを保存した。ライゲーションミックスはMillipore Vシリーズ(登録商標)膜(0.0025 mmポアサイズ)を使用して脱塩した。細胞40 mLは、0.2 cmのエレクトロポレーションキュベット中で、1 mLのライゲーションミックスまたはプラスミドDNAと共に10分間、氷上でインキュベートし、Gene Pulser (登録商標)装置(BioRad)を使用して、 0.5 kV cm^{-1} 、250 mF、250 μs で標識した。形質転換体は、テトラサイクリン10 mg/mLまたはアンピシリン100 mg/mLを補足したL-寒天培地上で選択した。

【0165】

発現

GLKは大腸菌BL21細胞中で、ベクターpTB375NBSEから発現され、N-末端メチオニンのすぐ隣に6-Hisタグを含有する組換え蛋白質が産生された。あるいは、別の適切なベクターはpET21(+) DNA、Novagen、カタログ番号697703である。6-Hisタグを使用して、Qiagenから購入した、ニッケル ニトリロトリ酢酸アガロースを充填したカラム(カタログ番号30250)で組換え蛋白質を精製した。

【0166】

GLKRPは大腸菌BL21細胞中で、ベクターpFLAG CTC (IBI Kodak) から発現され、C-末端FLAGタグを含有する組換え蛋白質が産生された。蛋白質は、初めにDEAEセファロースイオン交換により、続いてSigma-Aldrich 40
から購入したM2抗FLAG免疫アフィニティークラム(カタログ番号A1205)での最終精製のためのFLAGタグの使用により精製した。

【0167】

GLKのビオチン化:

GLKは、Sigma Aldrichから購入した、ビオチンアミドカプロエートN-ヒドロキシスクシニミドエステル(ビオチン NHS) (カタログ番号B2643)との反応によりビオチン化した。手短に言えば、標的蛋白質(GLK)の遊離アミノ基は、定義されたモル比でビオチン NHSと反応して安定なアミド結合を形成し、共有結合したビオチンを含有する生成物を生じる。過剰な、結合しないビオチン NHSは透析によ 30

り生成物から除去される。具体的には、7.5 mgのGLKが4 mLの25 mM HEPES pH 7.3、0.15 M KCl、1 mMジチオスレイトール、1 mM EDTA、1 mM $MgCl_2$ (バッファ-A)中の0.31 mgのビオチン NHSに添加された。この反応混合物は、付加的な22 mgのビオチン NHSを含有するバッファ-A 100 mLに対して透析した。4時間後、過剰なビオチン NHSをバッファ-Aに対する十分な透析により除去した、

【0168】

ラットへの経口投与後の血漿中レベルおよび血漿蛋白質結合の測定

ラットへの化合物の投与および血漿試料採取

遊星歯車で粉砕した化合物 [Puluerisette 7 Mill (Glen Creston Ltd, Stanmore, Middlesex, UK) 中、15分間、500 rpm、5ジルコニウムボール] は、0.5% HPMC Tweenに懸濁し、高脂肪食 (Research Diets、D12451、14日間随意に摂食) で飼育された雌Alderley Park ZuckerまたはAlderley Park Wistarラットに、投与量0.3~10 mg/kg、5 ml s/kgの割合で経口胃管投与した。

【0169】

血漿試料は、以下のような覚醒血液採取または末梢血採取のいずれかにより得た：

覚醒血液採取 (化合物レベルまたは血液化学のため) 静脈内血液試料は、600 μ l Starstedt Multivette (EDTA) および22 G針を使用して、必要な時点で尾静脈から採取した。試料は氷上に維持し、採取後15~30分間以内に3000 rpmで10分間、遠心分離した。血漿は吸引し、-20 で保存した。

【0170】

化合物レベルまたは血液化学のための末梢血採取 実験終了時に、動物はCO₂/O₂への暴露により安楽死させた。血液試料は心臓穿刺により採取した。試料は氷上に維持し、採取後15~30分間以内に3000 rpmで10分間、遠心分離した。血漿は吸引し、-20 で保存した。

【0171】

ラット血漿における化合物レベルの測定

ラット血漿25 μ lは96ウェル蛋白質沈殿プレート (Varian inc. Palo Alto, California, USA) のウェルに添加した。それぞれのウェルに、内部標準として作用する1 μ g/mlの (3-イソプロポキシ-5-ベンジルオキシ-ベンゾイル) アミノピリジン3-カルボン酸を含有する、アセトニトリル500 μ lを添加し、血漿蛋白質を沈殿させた。次に血漿溶媒混合物を真空下で沈殿プレートを通して吸引し、溶出液を集めた。溶出液は遠心エバポレーターを使用して蒸発乾固し、200 μ lのメタノール：水：ギ酸 (60：40：0.1) に溶解した。

【0172】

溶解した試料は、次にタンデム質量分析検出の付いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC-MS-MS) を使用して分析した。HPLCは、Phenomenex Prodigy C8、50 x 4.6、5 mm. カラム (Phenomenex, Macclesfield, UK) を使用し、流速1 ml/分で、注入量10 μ lを使用し、以下のグラジエント溶出特性を使用して行った：

【0173】

【表 3】

移動相A	水中0.1%ギ酸
移動相B	メタノール中0.1%ギ酸
移動相グラジエント	0分 50% A
	0.5分 5% A
	2.5分 5% A
	2.6分 50% A
	3.0分 50% A

10

【0174】

質量分析はApplied Biosystems API3000質量分析計(Applied Biosystems, Foster City, California, USA)を使用して行った。試料を分析する前に、質量分析計は試験化合物の構造に対して最適化された。

【0175】

20

試験試料の濃度は、試験試料のピーク高対内部標準のピーク高の比から決定した。試験試料の濃度は、内部標準として(3-イソプロポキシ-5-ベンジルオキシ-ベンゾイル)アミノピリジン3-カルボン酸を使用し、先に記載のように処理されたラット血漿試料に添加された公知の濃度の試験試料を使用することにより作製された、比を濃度に関連させる標準曲線を参照して計算した。

【0176】

化合物の血漿蛋白質結合の測定

化合物の血漿蛋白質結合は、平衡透析技術(W. Lindner et al, J. Chromatography, 1996, 677, 1-28)を使用して測定した。化合物は、血漿および等張リン酸バッファーpH7.4(透析セル中それぞれ1ml)と共に37で18時間、濃度20μMで透析した。Spectrum(登録商標)20-セル平衡ダイアライザーをテフロン、半微量透析セルおよびSpectra/Por(登録商標)2膜ディスク[分子量カットオフ12~14000ダルトン、47mm](PerBio Science UK Ltd, Tattenhall, Cheshireにより供給)と一緒に使用した。血漿およびバッファー試料は透析後除去し、HPLC/UV/MS(UVおよび質量分析を伴った高速液体クロマトグラフィー)を使用して、分析し、血漿中の%遊離レベルを得た。

30

【0177】

本発明の化合物は約200nM未満のEC₅₀でグルコキナーゼを活性化させ、約0.05%~約1%の血漿中遊離百分率、およびラット体重1キログラムにつき化合物1mgの標準化投与量に関して、約0.5μM~約10μMのピーク血中レベル(結合および遊離を共に含む)を有する。

40

たとえば、実施例2は以下の値を有する：

【0178】

【表 4】

EC ₅₀	血漿中 遊離百分率	ピーク 血中レベル
78nM	0.42%	2.2μM

【 0 1 7 9 】

参考文献

【 0 1 8 0 】

【表 5 A】

- 1 Printz, R. L., Magnuson, M. A. and Granner, D. K. (1993) Annual Review of Nutrition 13, 463-96
- 2 DeFronzo, R. A. (1988) Diabetes 37, 667-87
- 3 Froguel, P., Zouali, H., Vionnet, N., Velho, G., Vaxillaire, M., Sun, F., Lesage, S., Stoffel, M., Takeda, J. and Passa, P. (1993) New England Journal of Medicine 328, 697-702
- 4 Bell, G. I., Pilkis, S. J., Weber, I. T. and Polonsky, K. S. (1996) Annual Review of Physiology 58, 171-86

【 0 1 8 1 】

10

20

【表 5 B】

- 5 Velho, G., Petersen, K. F., Perseghin, G., Hwang, J. H., Rothman, D. L., Pueyo, M. E., Cline, G. W., Froguel, P. and Shulman, G. I. (1996) *Journal of Clinical Investigation* **98**, 1755-61
- 6 Christesen, H. B., Jacobsen, B. B., Odili, S., Buettger, C., Cuesta-Munoz, A., Hansen, T., Brusgaard, K., Massa, O., Magnuson, M. A., Shiota, C., Matschinsky, F. M. and Barbetti, F. (2002) *Diabetes* **51**, 1240-6
- 6a Gloyn, A.L., Noordam, K., Willemsen, M.A.A.P., Ellard, S., Lam, W.W.K., Campbell, I. W., Midgley, P., Shiota, C., Buettger, C., Magnuson, M.A., Matschinsky, F.M., and Hattersley, A.T.; *Diabetes* **52**: 2433-2440 10
- 7 Glaser, B., Kesavan, P., Heyman, M., Davis, E., Cuesta, A., Buchs, A., Stanley, C. A., Thornton, P. S., Permutt, M. A., Matschinsky, F. M. and Herold, K. C. (1998) *New England Journal of Medicine* **338**, 226-30
- 8 Caro, J. F., Triester, S., Patel, V. K., Tapscott, E. B., Frazier, N. L. and Dohm, G. L. (1995) *Hormone & Metabolic Research* **27**, 19-22 20
- 9 Desai, U. J., Slosberg, E. D., Boettcher, B. R., Caplan, S. L., Fanelli, B., Stephan, Z., Gunther, V. J., Kaleko, M. and Connelly, S. (2001) *Diabetes* **50**, 2287-95
- 10 Shiota, M., Postic, C., Fujimoto, Y., Jetton, T. L., Dixon, K., Pan, D., Grimsby, J., Grippo, J. F., Magnuson, M. A. and Cherrington, A. D. (2001) *Diabetes* **50**, 622-9
- 11 Ferre, T., Pujol, A., Riu, E., Bosch, F. and Valera, A. (1996) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**, 7225-30
- 12 Seoane, J., Barbera, A., Telemaque-Potts, S., Newgard, C. B. and Guinovart, J. J. (1999) *Journal of Biological Chemistry* **274**, 31833-8 30
- 13 Moore, M. C., Davis, S. N., Mann, S. L. and Cherrington, A. D. (2001) *Diabetes Care* **24**, 1882-7
- 14 Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, J. A., Vazquez, P. and Blazquez, E. (2002) *Journal of Neurochemistry* **80**, 45-53
- 15 Lynch, R. M., Tompkins, L. S., Brooks, H. L., Dunn-Meynell, A. A. and Levin, B. E. (2000) *Diabetes* **49**, 693-700 40
- 16 Roncero, I., Alvarez, E., Vazquez, P. and Blazquez, E. (2000) *Journal of Neurochemistry* **74**, 1848-57
- 17 Yang, X. J., Kow, L. M., Funabashi, T. and Mobbs, C. V. (1999) *Diabetes* **48**, 1763-1772

【表 5 C】

- 18 Schuit, F. C., Huypens, P., Heimberg, H. and Pipeleers, D. G. (2001) *Diabetes* **50**, 1-11
- 19 Levin, B. E. (2001) *International Journal of Obesity* **25**, supplement 5, S68-S72.
- 20 Alvarez, E., Roncero, I., Chowen, J. A., Thorens, B. and Blazquez, E. (1996) *Journal of Neurochemistry* **66**, 920-7
- 21 Mobbs, C. V., Kow, L. M. and Yang, X. J. (2001) *American Journal of Physiology - Endocrinology & Metabolism* **281**, E649-54
- 22 Levin, B. E., Dunn-Meynell, A. A. and Routh, V. H. (1999) *American Journal of Physiology* **276**, R1223-31
- 23 Spanswick, D., Smith, M. A., Groppi, V. E., Logan, S. D. and Ashford, M. L. (1997) *Nature* **390**, 521-5
- 24 Spanswick, D., Smith, M. A., Mirshamsi, S., Routh, V. H. and Ashford, M. L. (2000) *Nature Neuroscience* **3**, 757-8
- 25 Levin, B. E. and Dunn-Meynell, A. A. (1997) *Brain Research* **776**, 146-53
- 26 Levin, B. E., Govek, E. K. and Dunn-Meynell, A. A. (1998) *Brain Research* **808**, 317-9
- 27 Levin, B. E., Brown, K. L. and Dunn-Meynell, A. A. (1996) *Brain Research* **739**, 293-300
- 28 Rowe, I. C., Boden, P. R. and Ashford, M. L. (1996) *Journal of Physiology* **497**, 365-77
- 29 Fujimoto, K., Sakata, T., Arase, K., Kurata, K., Okabe, Y. and Shiraishi, T. (1985) *Life Sciences* **37**, 2475-82
- 30 Kurata, K., Fujimoto, K. and Sakata, T. (1989) *Metabolism: Clinical & Experimental* **38**, 46-51
- 31 Kurata, K., Fujimoto, K., Sakata, T., Etou, H. and Fukagawa, K. (1986) *Physiology & Behavior* **37**, 615-20

10

20

30

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/GB2004/005068

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07D213/80 A61K31/455 A61P03/04 A61P03/10		
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) IPC 7 C07D A61K A61P		
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, WPI Data, PAJ, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/000267 A (ASTRAZENECA AB; ASTRAZENECA UK LIMITED; HAYTER, BARRY, RAYMOND; CURRIE) 3 January 2003 (2003-01-03) cited in the application claims 1-5,7,8,13,14; examples 30-32,53,58,72,74,80,81	1-18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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
16 March 2005		29/03/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer vanVoorst tot Voorst, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

international application No.
PCT/GB2004/005068

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13, 16, 17
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 13, 16 and 17 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

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

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

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

PCT/GB2004/005068

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03000267	A	03-01-2003	
		BR 0210711 A	20-07-2004
		CA 2451249 A1	03-01-2003
		EP 1404335 A1	07-04-2004
		WO 03000267 A1	03-01-2003
		JP 2005500312 T	06-01-2005
		MX PA03012004 A	26-03-2004
		US 2004214868 A1	28-10-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 5/50 (2006.01)	A 6 1 P 5/50	
A 6 1 P 3/08 (2006.01)	A 6 1 P 3/08	
C 0 7 C 65/21 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 C 235/46 (2006.01)	C 0 7 C 65/21	D
C 0 7 C 33/12 (2006.01)	C 0 7 C 235/46	
C 0 7 C 309/65 (2006.01)	C 0 7 C 33/12	
C 1 2 N 9/12 (2006.01)	C 0 7 C 309/65	
	C 1 2 N 9/12	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. テフロン

(74)代理人 100135415

弁理士 中濱 明子

(72)発明者 コールケット, ピーター・ウィリアム・ロドニー

イギリス国チェシャー エスケイ 10・4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

(72)発明者 ジョンストーン, クレイグ

イギリス国チェシャー エスケイ 10・4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

(72)発明者 マッケレッチャー, ダーレン

イギリス国チェシャー エスケイ 10・4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

(72)発明者 パイク, カート・ゴードン

イギリス国チェシャー エスケイ 10・4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

F ターム(参考) 4B050 CC10 DD11 HH01 KK11 LL01

4C055 AA01 BA02 BA53 BB04 BB15 CA02 CA57 DA01 FA11 FA32
FA37

4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 BC19 GA16 MA01 MA04 NA14 NA15
ZA70 ZC02 ZC19 ZC33 ZC35

4H006 AA01 AB84