(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2020-509064
(P2020-509064A)
(43)公表日　令和2年3月26日(2020.3.26)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07D 513/04	(2006.01)	C07D	513/04	383	4C072
C07D 519/00	(2006.01)	C07D	519/00	CSP	4C086
A61K 31/542	(2006.01)	A61K	31/542		
A61P 25/28	(2006.01)	A61P	25/28		
A61P 25/00	(2006.01)	A61P	25/00	101	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 66 頁）　最終頁に続く

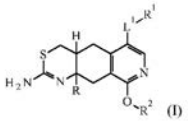
(21)出願番号　特願2019-548451 (P2019-548451)
(86)(22)出願日　平成30年3月6日(2018.3.6)
(85)翻訳文提出日　令和1年9月5日(2019.9.5)
(86)国際出願番号　PCT/EP2018/055403
(87)国際公開番号　WO2018/162445
(87)国際公開日　平成30年9月13日(2018.9.13)
(31)優先権主張番号　62/468,070
(32)優先日　平成29年3月7日(2017.3.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　17189778.8
(32)優先日　平成29年9月7日(2017.9.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)

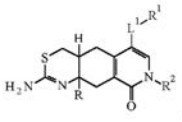
(71)出願人　397060175
ヤンセン　ファーマシューティカ　エヌ．ベー．
ベルギー国　ベー．－２３４０　ベルセトルンハウッサーヴェヒ　３０
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100095360
弁理士　片山　英二
(74)代理人　100093676
弁理士　小林　純子
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄
(74)代理人　100135943
弁理士　三橋　規樹

最終頁に続く

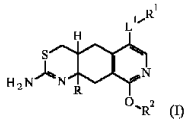
(54)【発明の名称】βセクレターゼ阻害剤

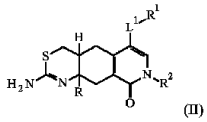
(57)【要約】
本発明は、式（Ｉ）および（ＩＩ）
【化１】


(I)

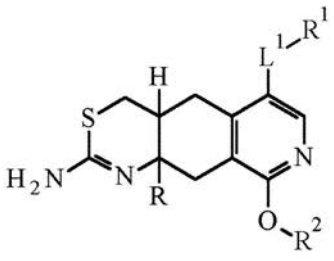

(II)

（式中、基は、本明細書において定義されるとおりである）
に示される構造を有する三環系のβ－セクレターゼ阻害剤に関する。本発明は、このような化合物を含む医薬組成物、このような化合物および組成物を調製するプロセスならびにアルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症、βアミロイドに伴う認知症、加齢黄斑変性、２型糖尿病および他の代謝障害など、β－セクレターゼが関与する障害を防止および処置するためのこのような化合物および組成物の使用も対象とする。

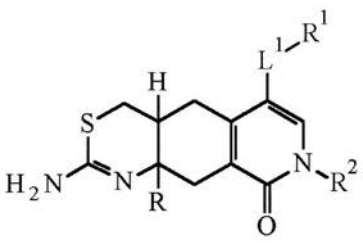

(I)


(II)

【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（Ｉ）
【化１】


(I)

および


(II)

（式中、
Ｒは、ハロ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、シアノ、２－シアノ－ピリジン－５－イル、３－シアノ－ピリジン－５－イルおよびピリミジン－５－イルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基で任意選択的に置換されるフェニルであり；
－Ｌ^{1}－は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－および－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}－から選択され；
Ｒ^{1}は、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ａｒ、Ｈｅｔ、Ａｒ－ＣＨ$_{2}$－、Ｈｅｔ－ＣＨ$_{2}$－および４－モルホリニル－ＣＨ$_{2}$－からなる群から選択され；ここで、
Ａｒは、フェニルまたはハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシおよびポリハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基で置換されたフェニルであり；および
Ｈｅｔは、ハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシおよびポリハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピリジル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、オキサジアゾリル、インドリル、インダゾリル、１Ｈ－ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリルおよびベンゾチアゾリルからなる群から選択され；および
ａ）Ｒ^{1a}は、ＨもしくはＣ$_{1\sim3}$アルキルであるか、または
ｂ）－ＮＲ^{1}Ｒ^{1a}は、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、シアノ、オキソ、ハロ－フェニル、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキル）フェニル、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）フェニル、ハロ－フェニルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキル）フェニルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）フェニルオキシ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、ピリジル、ピリミジニル、ピラゾリルおよびチアゾリルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピロリジン－１－イル、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、モルホリン－４－イル、チオモルホリン－４－イル、５，７－ジヒドロ－６Ｈ－ピロロ［３，４－ｂ］ピリジン－６－イル、６，７－ジヒドロピラゾロ［１，５－ａ］ピリミジン－４（５Ｈ）－イルおよび８－オキサ－３－アザビシクロ［３．２．１］オクタ－３－イルからなる群から選択される複素環式基を一緒に形成し；および
Ｒ^{2}は、水素またはＣ$_{1\sim3}$アルキルである）
の化合物またはその互変異性体もしくは立体異性形態あるいはその薬学的に許容される付加塩および溶媒和物。

【請求項２】
－Ｌ^{1}－は、－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}－であり；
ａ）Ｒ^{1a}は、ＨもしくはＣ$_{1～3}$アルキルであり、かつＲ^{1}は、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、ＡｒおよびＨｅｔからなる群から選択されるか；または
ｂ）－ＮＲ^{1}Ｒ^{1a}は、Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、シアノ、オキソ、ハロ－フェニル、（Ｃ$_{1～3}$アルキル）フェニル、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）フェニル、ハロ－フェニルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキル）フェニルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）フェニルオキシ、Ｃ$_{1～3}$アルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、ピリジル、ピリミジニル、ピラゾリルおよびチアゾリルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピロリジン－１－イル、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、モルホリン－４－イル、チオモルホリン－４－イル、５，７－ジヒドロ－６Ｈ－ピロロ［３，４－ｂ］ピリジン－６－イル、６，７－ジヒドロピラゾロ［１，５－ａ］ピリミジン－４（５Ｈ）－イルおよび８－オキサ－３－アザビシクロ［３．２．１］オクター３－イルからなる群から選択される複素環式基を一緒に形成し；ここで、
Ａｒは、フェニルまたはハロ、シアノ、Ｃ$_{1～3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ－およびポリハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基で置換されたフェニルであり；および
Ｈｅｔは、ハロ、シアノ、Ｃ$_{1～3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキルおよびＣ$_{1～3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピリジル、ピリミジニル、ピラジニルおよびピリダジニルからなる群から選択される、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
－ＮＲ^{1}Ｒ^{1a}は、Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）Ｃ$_{1～3}$アルキル、シアノ、オキソ、Ｃ$_{1～3}$アルキル－（Ｃ＝Ｏ）－およびＣ$_{3～6}$シクロアルキル－（Ｃ＝Ｏ）－からなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピロリジン－１－イル、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、モルホリン－４－イル、１，１－ジオキシドチオモルホリン－４－イルからなる群から選択される複素環式基を一緒に形成する、請求項１または２に記載の化合物。
【請求項４】
－Ｌ^{1}－は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－であり；および
Ｒ^{1}は、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、Ａｒ、Ｈｅｔ、Ａｒ－ＣＨ$_{2}$－、Ｈｅｔ－ＣＨ$_{2}$－および４－モルホリニル－ＣＨ$_{2}$－からなる群から選択される、請求項１に記載の化合物。
【請求項５】
Ｒ^{1}は、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、Ａｒ、Ｈｅｔおよび４－モルホリニル－ＣＨ$_{2}$－からなる群から選択され；ここで、
Ａｒは、フェニルまたはハロ、シアノ、Ｃ$_{1～3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ－およびポリハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基で置換されたフェニルであり；および
Ｈｅｔは、ハロ、シアノ、Ｃ$_{1～3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1～3}$アルキルおよびＣ$_{1～3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピリジル、ピリミジニル、ピラジニルおよびピリダジニルからなる群から選択される、請求項１または４に記載の化合物。
【請求項６】

Ｒは、ハロ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、シアノ、２－シアノ－ピリジン－５－イル、３－シアノ－ピリジン－５－イルおよびピリミジン－５－イルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基で置換されたフェニルである、請求項１～５のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項７】

治療有効量の請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【請求項８】

医薬組成物を調製するプロセスであって、薬学的に許容される担体を治療有効量の請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物と混合することを含むプロセス。

【請求項９】

医薬品として使用するための、請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項１０】

アルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症またはβアミロイドに伴う認知症の処置、防止または予防に使用するための、請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項１１】

アルツハイマー病、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症およびβアミロイドに伴う認知症からなる群から選択される障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物または請求項７に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

【請求項１２】

β部位アミロイド切断酵素の活性を調節する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物または請求項７に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

【請求項１３】

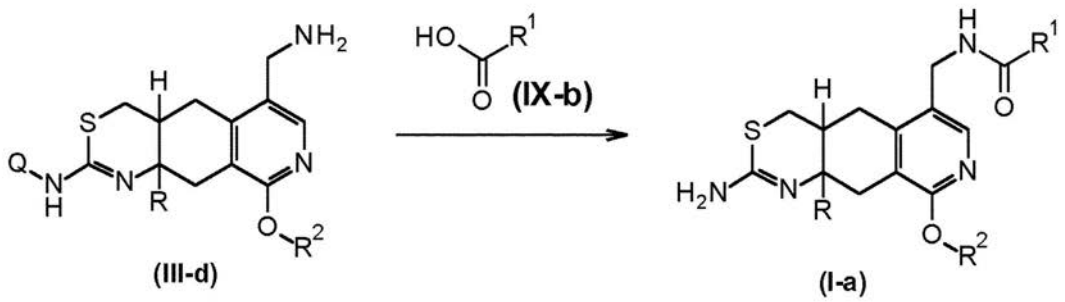
アルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症またはβアミロイドに伴う認知症を処置または防止するための薬剤の製造のための、請求項１～６のいずれか一項に記載の化合物または請求項７に記載の医薬組成物の使用。

【請求項１４】

式（Ｉ－ａ）または（Ｉ－ｂ）（式中、Ｒ、Ｒ^{1}およびＲ^{2}は、請求項１～６のいずれか一項に定義されるとおりである）による化合物を調製するプロセスであって、工程ａ）またはｂ）

ａ）式（ＩＩＩ－ｄ）（式中、Ｑは、保護基である）の化合物をカップリング試薬の存在下、適切な塩基の存在下で式（ＩＸ－ｂ）（式中、Ｒ^{1}は、請求項１、４、５または６のいずれか一項に定義されるとおりである）の化合物と反応させる工程

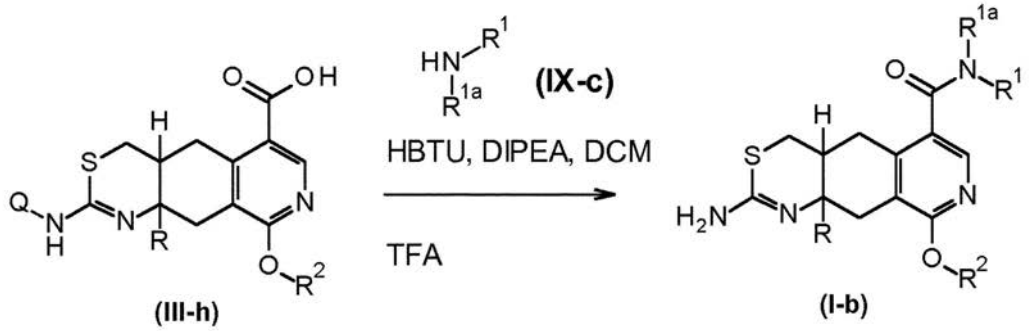
【化２】



または

ｂ）式（ＩＩＩ－ｈ）（式中、Ｑは、保護基であり、かつＲおよびＲ^{2}は、請求項１または６に定義されるとおりである）の中間体をカップリング試薬および適切な塩基の存在下で式（ＩＸ－ｃ）（式中、Ｒ^{1}およびＲ$^{1\,a}$は、請求項１、２、３または６のいずれか一項に定義されるとおりである）の化合物と反応させる工程

【化３】

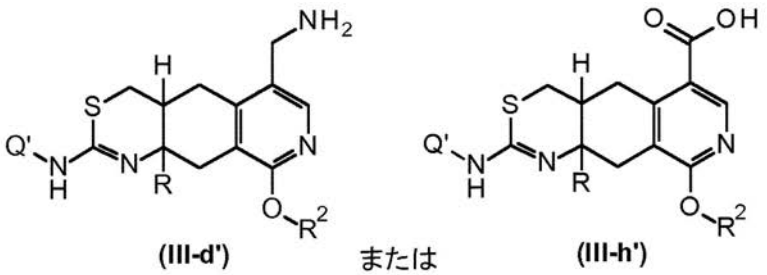


を含むプロセス。

【請求項１５】

式（ＩＩＩ－ｄ’）または（ＩＩＩ－ｈ’）

【化４】



（式中、Ｑ’は、Ｈまたは保護基であり、かつＲおよびＲ^{2}は、請求項１～６のいずれか一項に定義されるとおりである）

の化合物。

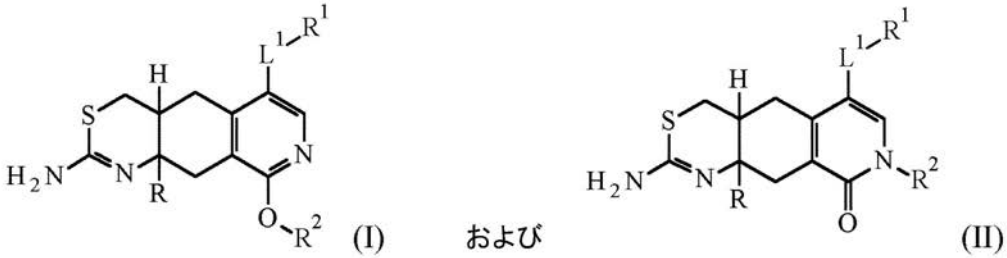
【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、式（Ｉ）および（ＩＩ）

【化１】



（式中、基は、本明細書において定義されるとおりである）

に示される構造を有する三環系のβ－セクレターゼ阻害剤ならびにその互変異性体および立体異性形態に関する。本発明は、このような化合物を含む医薬組成物、このような化合物および組成物を調製するプロセスならびにアルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症、βアミロイドに伴う認知症、加齢黄斑変性、２型糖尿病および他の代謝障害など、β－セクレターゼが関与する障害を防止および処置するためのこのような化合

物および組成物の使用も対象とする。

【背景技術】

【０００２】

アルツハイマー病（ＡＤ）は、老化に伴う神経変性疾患である。ＡＤ患者は、認知障害および記憶喪失を患い、不安症などの行動問題も抱えている。ＡＤに罹患している人の９０％超が散発型の障害を有する一方、この症例の１０％未満は、家族性または遺伝性である。米国では、６５歳で１０人に約１人がＡＤを有し、８５歳で２人に１人がＡＤに罹患している。初期診断からの平均余命は、７～１０年であり、ＡＤ患者は、介護付き生活施設でのまたは家族による広範な介護を必要とする。人口に占める高齢者の数が増加するにつれ、ＡＤに対する医学的関心が高まっている。現在使用可能なＡＤの治療は、この疾患の症状を単に処置するものに過ぎず、それには認知性を改善するためのアセチルコリンエステラーゼ阻害剤ならびにこの病気に伴う行動問題をコントロールするための抗不安薬および抗精神病薬が含まれる。

【０００３】

ＡＤ患者の脳における顕著な病理学的特徴は、タウタンパク質の過剰リン酸化によって生じる神経原線維変化およびβアミロイド１－４２（Ａβ１－４２）ペプチドの凝集によって形成されるアミロイド斑である。Ａβ１－４２は、オリゴマー、次いで原線維を形成し、最終的にアミロイド斑を形成する。オリゴマーおよび原線維は、特に神経毒性があると考えられており、ＡＤに関連する神経損傷の大部分を引き起こし得る。Ａβ１－４２の形成を防止する薬剤は、ＡＤを処置するための疾患修飾薬となる可能性がある。Ａβ１－４２は、７７０個のアミノ酸から構成されるアミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）から生成する。Ａβ１－４２のＮ末端がβ－セクレターゼ（ＢＡＣＥ１）により切断された後、γセクレターゼによりＣ末端が切断される。γセクレターゼは、Ａβ１－４２に加えて、主要な切断産物であるＡβ１－４０ならびにＡβ１－３８およびＡβ１－４３も遊離する。これらのＡβ型も凝集してオリゴマーおよび原線維を形成し得る。したがって、ＢＡＣＥ１の阻害剤は、Ａβ１－４２ならびにＡβ１－４０、Ａβ１－３８およびＡβ１－４３の形成を防止することが期待され、ＡＤの処置における治療薬となる可能性がある。

【０００４】

２型糖尿病（Ｔ２Ｄ）は、インスリン耐性により、および膵β細胞からのインスリン分泌が不十分になることにより、血糖調節が良好に機能せず、高血糖になることが原因となる。Ｔ２Ｄの患者は、微小血管および大血管の疾患ならびに糖尿病性腎症、網膜症および心血管疾患を含む一連の関連合併症のリスクが高い。Ｔ２Ｄの罹患率の上昇は、世界の人々のますます体を動かすことが減ってきているライフスタイルおよび高エネルギー食品の摂取と関係がある。

【０００５】

β細胞の機能不全ならびにその結果として生じるインスリン分泌の大幅な低下および高血糖は、Ｔ２Ｄの発症を示す。現行の処置のほとんどは、顕性Ｔ２Ｄを特徴付けるβ細胞量の減少を防止するものではない。しかしながら、ＧＬＰ－１類似体、ガストリンおよび他の薬剤が最近開発されたことでβ細胞の維持および増殖が実現可能になり、これにより糖耐性を高め、顕性Ｔ２Ｄの進行を遅くすることが示されている。

【０００６】

Ｔｍｅｍ２７は、β細胞の増殖およびインスリン分泌を促進するタンパク質として同定されている。Ｔｍｅｍ２７は、β細胞の表面から構成的に脱落している４２ｋＤａの膜糖タンパク質であり、完全長細胞Ｔｍｅｍ２７の分解から生じる。トランスジェニックマウスにおいてＴｍｅｍ２７を過剰発現させると、糖尿病の食事性肥満ＤＩＯモデルにおいてβ細胞量が増加し、糖耐性が改善する。さらに、齧歯類のβ細胞増殖アッセイ（例えば、ＩＮＳ１ｅ細胞を使用）においてＴｍｅｍ２７のｓｉＲＮＡをノックアウトすると、増殖速度が低下する。これは、β細胞量の調節におけるＴｍｅｍ２７の役割を示すものである。

【０００７】

ＢＡＣＥ２は、Ｔｍｅｍ２７の分解を担うプロテアーゼである。これは、膜結合アスパルチルプロテアーゼであり、ヒト膵β細胞中でＴｍｅｍ２７と共存している。これは、ＡＰＰ、ＩＬ－１Ｒ２およびＡＣＥ２を分解する能力があることも知られている。ＡＣＥ２を分解する能力があることは、高血圧の調節におけるＢＡＣＥ２の役割の可能性を示すものである。

【０００８】

さらに、ＢＡＣＥ１および／またはＢＡＣＥ２の阻害剤は、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、動脈血栓症、自己免疫性／炎症性疾患、乳がんなどのがん、心筋梗塞および脳卒中などの心血管疾患、皮膚筋炎、ダウン症候群、胃腸疾患、多形性膠芽腫、グレーブス病、ハンチントン病、封入体筋炎（ＩＢＭ）、炎症性反応、カポジ肉腫、コストマン病、エリテマトーデス、マクロファージ性筋膜炎、若年性突発性関節炎、肉芽腫性関節炎、悪性黒色腫、多発性骨髄腫、関節リウマチ、シェーグレン症候群、脊髄小脳失調症１、脊髄小脳失調症７、ウィップル病またはウィルソン病の治療処置および／または予防処置にも使用することができる。

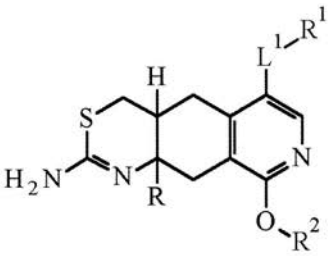
【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

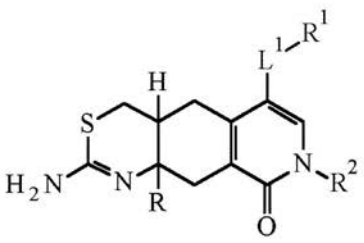
【０００９】

本発明は、式（Ｉ）および（ＩＩ）

【化２】


(I)

および


(II)

（式中、

Ｒは、ハロ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、シアノ、２－シアノ－ピリジン－５－イル、３－シアノ－ピリジン－５－イルおよびピリミジン－５－イルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基で任意選択的に置換されるフェニルであり；

－Ｌ^{1}－は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－および－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}－から選択され；

Ｒ^{1}は、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ａｒ、Ｈｅｔ、Ａｒ－ＣＨ$_{2}$－、Ｈｅｔ－ＣＨ$_{2}$－および４－モルホリニル－ＣＨ$_{2}$－からなる群から選択され；ここで、

Ａｒは、フェニルまたはハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシおよびポリハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基で置換されたフェニルであり；および

Ｈｅｔは、ハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシおよびポリハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピリジル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、オキサジアゾリル、インドリル、インダゾリル、１Ｈ－ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリルおよびベンゾチアゾリルからなる群から選択され；および

ａ）Ｒ^{1a}は、ＨもしくはＣ$_{1\sim3}$アルキルであるか；または

ｂ）－ＮＲ^{1}Ｒ^{1a}は、Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）Ｃ$_{1～3}$アルキル、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル、シアノ、オキソ、ハロ－フェニル、（Ｃ$_{1～3}$アルキル）フェニル、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）フェニル、ハロ－フェニルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキル）フェニルオキシ、（Ｃ$_{1～3}$アルキルオキシ）フェニルオキシ、Ｃ$_{1～3}$アルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、ピリジル、ピリミジニル、ピラゾリルおよびチアゾリルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピロリジン－１－イル、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、モルホリン－４－イル、チオモルホリン－４－イル、５，７－ジヒドロ－６Ｈ－ピロロ［３，４－ｂ］ピリジン－６－イル、６，７－ジヒドロピラゾロ［１，５－ａ］ピリミジン－４（５Ｈ）－イルおよび８－オキサ－３－アザビシクロ［３．２．１］オクタ－３－イルからなる群から選択される複素環式基を一緒に形成し；および

Ｒ^{2}は、水素またはＣ$_{1～3}$アルキルである）

の化合物、その互変異性体および立体異性形態ならびにそれらの薬学的に許容される付加塩および溶媒和物を対象とする。

【００１０】

本発明の実例となるものとして、薬学的に許容される担体と、上記化合物のいずれかとを含む医薬組成物がある。本発明の一例として、上記化合物のいずれかと、薬学的に許容される担体とを混合することによって作製される医薬組成物がある。本発明を例示するものとして、医薬組成物を作製するプロセスであって、上記化合物のいずれかと、薬学的に許容される担体とを混合することを含むプロセスがある。

【００１１】

本発明を例示するものとして、β－セクレターゼ酵素によって媒介される障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の上記化合物または医薬組成物のいずれかを投与することを含む方法がある。

【００１２】

本発明をさらに例示するものとして、β－セクレターゼ酵素を阻害する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の上記化合物または医薬組成物のいずれかを投与することを含む方法がある。

【００１３】

本発明の一例として、アルツハイマー病、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症、βアミロイドに伴う認知症および加齢黄斑変性、好ましくはアルツハイマー病、２型糖尿病および他の代謝障害からなる群から選択される障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の上記化合物または医薬組成物のいずれかを投与することを含む方法がある。

【００１４】

本発明の別の例として、（ａ）アルツハイマー病、（ｂ）軽度認知障害、（ｃ）老衰、（ｄ）認知症、（ｅ）レビー小体型認知症、（ｆ）ダウン症候群、（ｇ）脳卒中に伴う認知症、（ｈ）パーキンソン病に伴う認知症、（ｉ）βアミロイドに伴う認知症または（ｊ）加齢黄斑変性、（ｋ）２型糖尿病および（ｌ）他の代謝障害の処置を、それを必要としている対象において行うのに使用するための、上記化合物のいずれかがある。

【発明を実施するための形態】

【００１５】

本発明は、上に定義した式（Ｉ）および（ＩＩ）の化合物ならびにその薬学的に許容される付加塩および溶媒和物を対象とする。式（Ｉ）の化合物は、β－セクレターゼ酵素（β部位切断酵素、ＢＡＣＥ、ＢＡＣＥ１、Ａｓｐ２もしくはメマプシン２またはＢＡＣＥ２としても知られる）の阻害剤であり、アルツハイマー病、軽度認知障害、老衰、認知症、脳卒中に伴う認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、パーキンソン病に伴う認知症、βアミロイドに伴う認知症および加齢黄斑変性、好ましくはアルツハイマー病、軽度

認知障害または認知症、より好ましくはアルツハイマー病、２型糖尿病および他の代謝障害の処置に有用であり得る。

【００１６】

一実施形態では、本発明は、本明細書に定義した式（Ｉ）および（ＩＩ）

（式中、

－Ｌ^{1}－は、－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}－であり；

ａ）Ｒ^{1a}は、ＨもしくはＣ$_{1\sim3}$アルキルであり、かつＲ^{1}は、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、ＡｒおよびＨｅｔからなる群から選択されるか；または

ｂ）－ＮＲ^{1}Ｒ^{1a}は、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、シアノ、オキソ、ハロ－フェニル、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキル）フェニル、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）フェニル、ハロ－フェニルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキル）フェニルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）フェニルオキシ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル－（Ｃ＝Ｏ）－、ピリジル、ピリミジニル、ピラゾリルおよびチアゾリルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピロリジン－１－イル、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、モルホリン－４－イル、チオモルホリン－４－イル、５，７－ジヒドロ－６Ｈ－ピロロ［３，４－ｂ］ピリジン－６－イル、６，７－ジヒドロピラゾロ［１，５－ａ］ピリミジン－４（５Ｈ）－イルおよび８－オキサ－３－アザビシクロ［３．２．１］オクタ－３－イルからなる群から選択される複素環式基を一緒に形成し；ここで、

Ａｒは、フェニルまたはハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシおよびポリハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基で置換されたフェニルであり；および

Ｈｅｔは、ハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルおよびＣ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピリジル、ピリミジニル、ピラジニルおよびピリダジニルからなる群から選択され；および

ＲおよびＲ^{2}は、本明細書に定義されるとおりである）

の化合物に関する。

【００１７】

特定の実施形態では、本発明は、本明細書に定義した式（Ｉ）および（ＩＩ）

（式中、

－Ｌ^{1}－は、－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}－であり；

－ＮＲ^{1}Ｒ^{1a}は、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、（Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ）Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、シアノ、オキソ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル－（Ｃ＝Ｏ）－およびＣ$_{3\sim6}$シクロアルキル－（Ｃ＝Ｏ）－からなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基でそれぞれ任意選択的に置換されるピロリジン－１－イル、ピペリジン－１－イル、ピペラジン－１－イル、モルホリン－４－イルおよび１，１－ジオキシドチオモルホリン－４－イルからなる群から選択される複素環式基を一緒に形成し；および

ＲおよびＲ^{2}は、本明細書に定義されるとおりである）

の化合物に関する。

【００１８】

さらなる実施形態では、本発明は、本明細書に定義した式（Ｉ）および（ＩＩ）

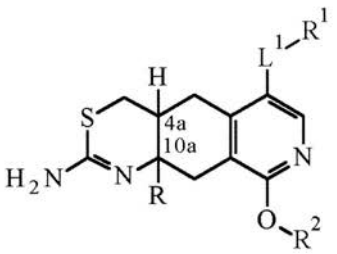
（式中、

－Ｌ^{1}－は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－であり；

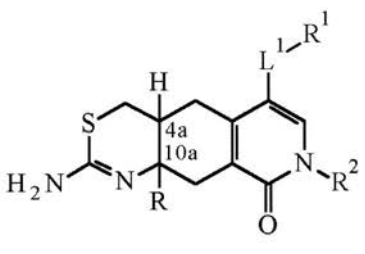
Ｒ^{1}は、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ａｒ、Ｈｅｔ、Ａｒ－ＣＨ$_{2}$－、Ｈｅｔ－ＣＨ$_{2}$－および４－モルホリニル－ＣＨ$_{2}$－からなる群から選択され；および

ＲおよびＲ^{2}は、本明細書に定義されるとおりである）

の化合物に関する。
【００１９】
さらなる実施形態では、本発明は、本明細書に定義した式（Ｉ）および（ＩＩ）
（式中、
－Ｌ^{1}－は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－であり；
Ｒ^{1}は、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ａｒ、Ｈｅｔおよび４－モルホリニル－ＣＨ$_{2}$－からなる群から選択され；ここで、
Ａｒは、フェニルまたはハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、Ｃ$_{3\sim6}$シクロアルキル、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、モノ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ－およびポリハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２もしくは３個の置換基で置換されたフェニルであり；および
Ｈｅｔは、ハロ、シアノ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、ポリ－ハロ－Ｃ$_{1\sim3}$アルキルおよびＣ$_{1\sim3}$アルキルオキシからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基で任意選択的に置換されるピリジル、ピリミジニル、ピラジニルおよびピリダジニルからなる群から選択され；および
ＲおよびＲ^{2}は、本明細書に定義されるとおりである）
の化合物に関する。
【００２０】
さらなる実施形態では、本発明は、本明細書に定義した式（Ｉ）および（ＩＩ）
（式中、
Ｒは、ハロ、Ｃ$_{1\sim3}$アルキルオキシ、シアノ、２－シアノ－ピリジン－５－イル、３－シアノ－ピリジン－５－イルおよびピリミジン－５－イルからなる群からそれぞれ独立に選択される１、２または３個の置換基で置換されたフェニルであり；および
Ｌ^{1}、ＲおよびＲ^{1}は、本明細書に定義されるとおりである）
の化合物に関する。
【００２１】
さらなる実施形態では、Ｒ^{2}は、Ｃ$_{1\sim3}$アルキル、特にメチルである。
【００２２】
本発明は、特に、三環式骨格中の炭素中心Ｃ$_{4a}$およびＣ$_{10a}$がシス配置である（すなわち、ＨおよびＲは、骨格平面の同じ側に突出している）化合物
【化３】



(I)　および



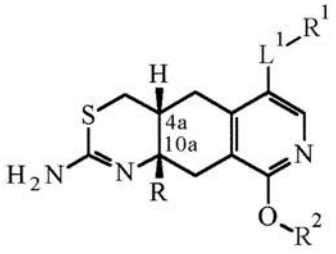
(II)

に関する。
【００２３】
したがって、特に、本発明は、以下に示す式（Ｉ’）および（ＩＩ”）の化合物ならびに式（Ｉ’）および（ＩＩ”）の化合物に関し、ここで、（Ｉ’）および（ＩＩ’）において、三環のコアは、図面の平面にあり、ＨおよびＲは、図面の平面の上方に突出している（結合が太い楔
【化４】

で示される）か、または三環のコアは、図面の平面にあり、ＨおよびＲは、図面の平面の

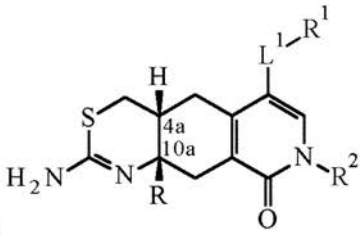
下方に突出している（結合が平行線の楔
【化５】

で示される）。
【化６】

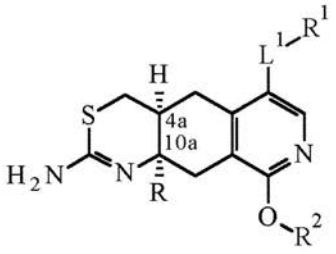


(I')

および

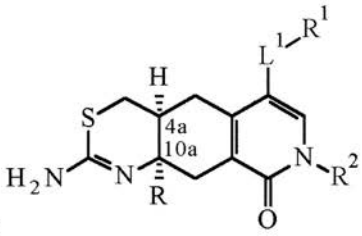


(II');



(I")

および



(II")

【００２４】
定義
「ハロ」は、フルオロ、クロロおよびブロモを意味し；「$C_{1\sim3}$アルキル」は、１、２または３個の炭素原子炭素原子を有する直鎖状または分岐状の飽和アルキル基、それぞれ例えばメチル、エチル、１－プロピル、２－プロピルなどを意味し；「$C_{1\sim3}$アルキルオキシ」は、エーテル基を意味し（ここで、$C_{1\sim3}$アルキルは、上で定義されるとおりである）；「モノ－およびポリハロ$C_{1\sim3}$アルキル」は、１、２、３個または可能であればそれより多くの、上で定義されるとおりのハロ原子で置換された、上で定義されるとおりの$C_{1\sim3}$アルキルを意味し；「モノ－およびポリハロ$C_{1\sim3}$アルキルオキシ」は、エーテル基を意味し（ここで、モノ－およびポリハロ$C_{1\sim3}$アルキルは、上で定義されるとおりである）；「$C_{3\sim6}$シクロアルキル」は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロヘキシルを意味する。
【００２５】
本明細書で使用する「対象」という用語は、処置、観察または実験の目的物となるかまたは目的物となっている動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを指す。
【００２６】
本明細書で使用する「治療有効量」という用語は、研究者、獣医師、医師または他の臨床医によって求められている、組織系、動物またはヒトにおける生物学的または医学的応答（処置されている疾患または障害の症状の軽減を含む）を誘発する活性化合物または医薬剤の量を意味する。
【００２７】
本明細書で使用する場合、「組成物」という用語は、特定の成分を特定の量で含む生成物および特定の成分の特定の量での組合せから直接的または間接的に得られる任意の生成物を包含するものとする。
【００２８】
上記および下記では、「式（Ｉ）の化合物」という用語は、その付加塩、溶媒和物および立体異性体を含むものとする。
【００２９】

「立体異性体」または「立体化学的異性形態」という用語は、上記または下記で同義的に使用される。

【００３０】

本発明は、式（Ｉ）の化合物の全ての立体異性体を純粋な立体異性体または２種以上の立体異性体の混合物として含む。

【００３１】

エナンチオマーは、重ね合わせることができない互いの鏡像となっている立体異性体である。エナンチオマーの対の１：１混合物は、ラセミ体またはラセミ混合物である。ジアステレオマー（またはジアステレオ異性体）は、エナンチオマーではない立体異性体であり、すなわち鏡像の関係にない。化合物が二重結合を含有する場合、置換基は、Ｅ配置またはＺ配置となり得る。化合物が二置換シクロアルキル基を含有する場合、置換基は、シス配置またはトランス配置となり得る。したがって、本発明は、エナンチオマー、ジアステレオマー、ラセミ体、Ｅ異性体、Ｚ異性体、シス異性体、トランス異性体およびこれらの混合物を含む。

【００３２】

絶対配置は、カーン・インゴルド・プレローグ表示法に従って特定される。不斉原子における配置は、ＲまたはＳで特定される。絶対配置が不明である分割化合物は、平面偏光を回転させる方向によって（＋）または（－）で示すことができる。

【００３３】

特定の立体異性体が同定される場合、これは、前記立体異性体が実質的に他の異性体を含まない、すなわち他の異性体を５０％未満、好ましくは２０％未満、より好ましくは１０％未満、より一層好ましくは５％未満、特に２％未満、最も好ましくは１％未満のみ伴うことを意味する。したがって、式（Ｉ）の化合物が例えば（Ｒ）と特定される場合、これは、その化合物が実質的に（Ｓ）異性体を含まないことを意味し、式（Ｉ）の化合物が例えばＥと特定される場合、これは、その化合物が実質的にＺ異性体を含まないことを意味し、式（Ｉ）の化合物が例えばシスと特定される場合、これは、その化合物が実質的にトランス異性体を含まないことを意味する。

【００３４】

医薬で使用される場合、本発明の化合物の付加塩は、毒性のない「薬学的に許容される付加塩」を指す。しかしながら、他の塩が本発明による化合物またはその薬学的に許容される付加塩の調製に有用であることがある。本化合物の好適な薬学的に許容される付加塩としては、例えば、化合物の溶液を塩酸、硫酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酢酸、安息香酸、クエン酸、酒石酸、炭酸またはリン酸などの薬学的に許容される酸の溶液と混合することによって形成され得る酸付加塩が挙げられる。さらに、本発明の化合物が酸部分を有する場合、その薬学的に許容される好適な付加塩としては、アルカリ金属塩、例えばナトリウム塩またはカリウム塩、アルカリ土類金属塩、例えばカルシウム塩またはマグネシウム塩および好適な有機配位子と形成される塩、例えば第四級アンモニウム塩を挙げることができる。

【００３５】

薬学的に許容される付加塩の調製に使用することができる代表的な酸として、以下に限定されるものではないが、酢酸、２，２－ジクロロ酢酸、アシル化アミノ酸、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸、Ｌ－アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、４－アセトアミド安息香酸、（＋）－樟脳酸、樟脳スルホン酸、カプリン酸、カプロン酸、カプリル酸、ケイ皮酸、クエン酸、シクラミン酸、エタン－１，２－ジスルホン酸、エタンスルホン酸、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、ガラクタル酸、ゲンチジン酸、グルコヘプトン酸、Ｄ－グルコン酸、Ｄ－グルクロン酸、Ｌ－グルタミン酸、β－オキソ－グルタル酸、グリコール酸、馬尿酸、臭化水素酸、塩酸、（＋）－Ｌ－乳酸、（±）－ＤＬ－乳酸、ラクトビオン酸、マレイン酸、（－）－Ｌ－リンゴ酸、マロン酸、（±）－ＤＬ－マンデル酸、メタンスルホン酸、ナフタレン－２－スルホン酸、ナフタレン－１，５－ジスルホン酸、１－ヒドロキシ－２－ナフトエ酸、ニコチン酸、硝酸

、オレイン酸、オロト酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、リン酸、Ｌ－ピログルタミン酸、サリチル酸、４－アミノ－サリチル酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、タンニン酸、（＋）－Ｌ－酒石酸、チオシアン酸、ｐ－トルエンスルホン酸、トリフルオロメチルスルホン酸およびウンデシレン酸が挙げられる。薬学的に許容される付加塩の調製に使用することができる代表的な塩基として、以下に限定されるものではないが、アンモニア、Ｌ－アルギニン、ベネタミン、ベンザチン、水酸化カルシウム、コリン、ジメチルエタノールアミン、ジエタノールアミン、ジエチルアミン、２－（ジエチルアミノ）－エタノール、エタノールアミン、エチレン－ジアミン、Ｎ－メチル－グルカミン、ヒドラバミン、１Ｈ－イミダゾール、Ｌ－リシン、水酸化マグネシウム、４－（２－ヒドロキシエチル）－モルホリン、ピペラジン、水酸化カリウム、１－（２－ヒドロキシエチル）－ピロリジン、第二級アミン、水酸化ナトリウム、トリエタノールアミン、トロメタミンおよび水酸化亜鉛が挙げられる。特定の塩は、トリフルオロ酢酸付加塩である。

【００３６】

化合物の名称は、Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ａｂｓｔｒａｃｔｓ Ｓｅｒｖｉｃｅ（ＣＡＳ）によって取り決められた命名規則に従って、または国際純正・応用化学連合（Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｕｎｉｏｎ ｏｆ Ｐｕｒｅ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ）（ＩＵＰＡＣ）によって取り決められた命名規則に従って命名された。互変異性形態の場合、その構造の示される互変異性形態の名称が命名された。示されていない他の互変異性形態も本発明の範囲内に含まれる。

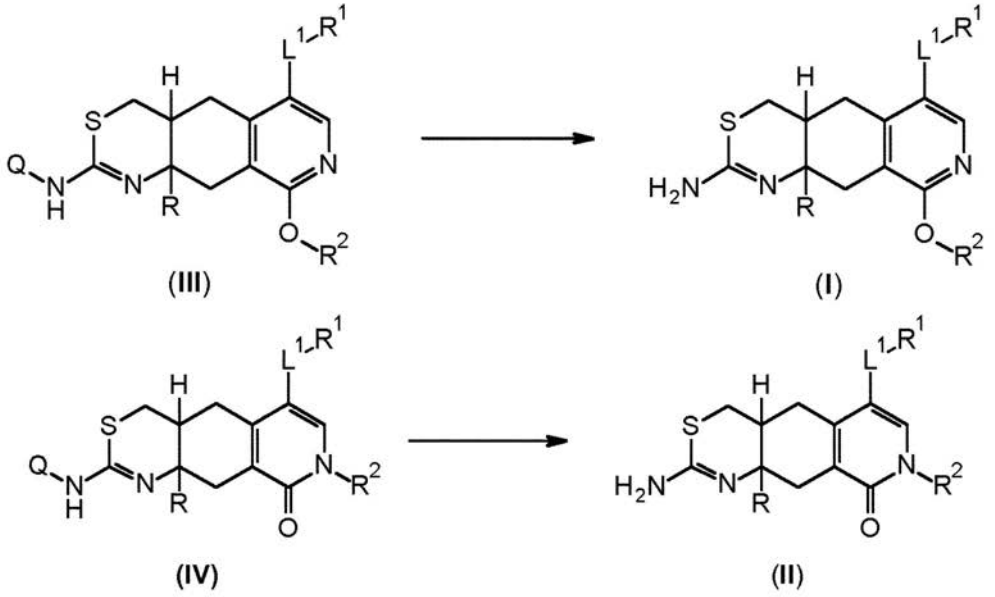
【００３７】

化合物の調製

実験手順１

式（Ｉ）および（ＩＩ）による最終化合物は、式（ＩＩＩ）および（ＩＶ）（式中、Ｑは、塩基不安定性（例えば、アシル）または酸不安定性（例えば、トリチル）保護基を示す）の中間体化合物を脱保護することによって調製することができる（反応スキーム１）。このような反応は、当該技術分野で知られている反応条件下で行うことができる。

【化７】



反応スキーム1

【００３８】

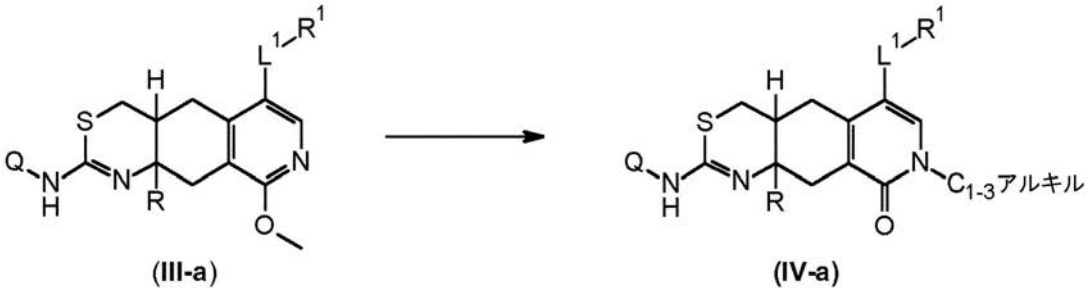
中間体化合物の調製

実験手順２

式（ＩＶ）（式中、R^2は、$C_{1\sim3}$アルキルである）（本明細書では、式（ＩＶ－ａ）の中間体と称する）の中間体は、対応する式（ＩＩＩ）（式中、R^2は、メチルである

）の中間体（本明細書では、式（ＩＩＩ－ａ）の中間体と称する）と、ヨウ化Ｃ$_{1\sim3}$アルキルとの反応によって調製することができる（反応スキーム２）。反応は、例えば、反応混合物を１００℃で加熱するなどの熱条件下で行うことができる。反応スキーム２では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化８】



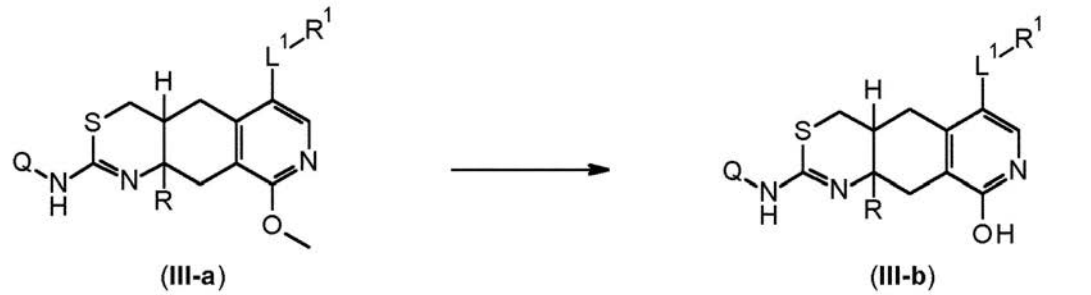
反応スキーム2

【００３９】

実験手順３

式（ＩＩＩ）（式中、Ｒ^{2}は、水素である）の中間体化合物（本明細書では、（ＩＩＩ－ｂ）と称する）は、当該技術分野で知られているＯ－脱メチル化手順に従って式（ＩＩＩ－ａ）の中間体化合物から調製することができる。前記変換は、ヨウ化ナトリウムなどの好適な添加剤の存在下、アセトニトリルなどの好適な不活性溶媒中、好適な反応条件下、例えば好都合な温度、通常５０℃において、反応が確実に完了する時間にわたって中間体（ＩＩＩ－ａ）をトリメチルクロロシランなどの好適なＯ－脱メチル化剤で処理することによって都合よく行うことができる。反応スキーム３では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化９】



反応スキーム3

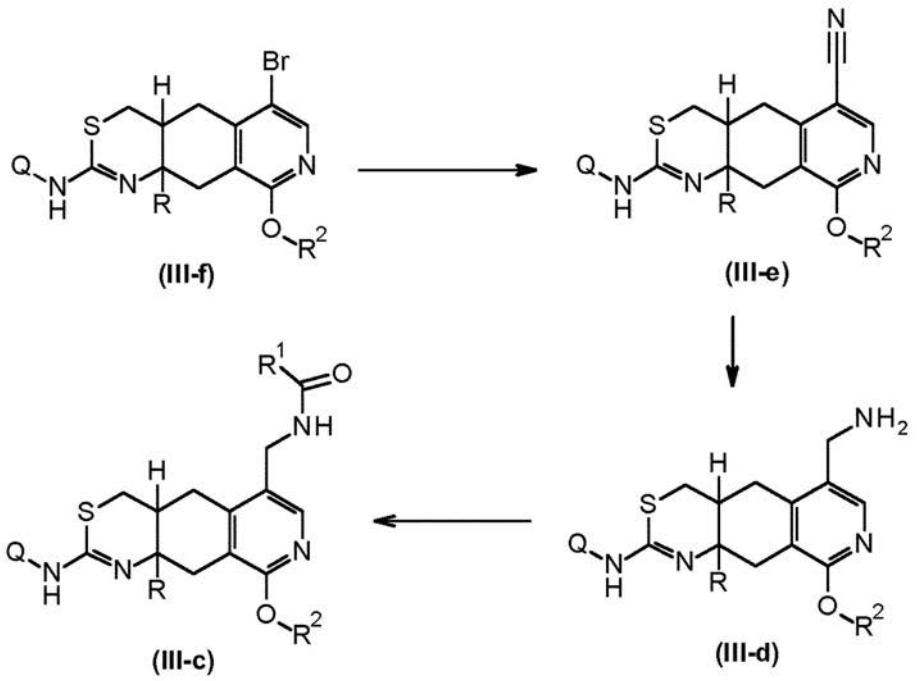
【００４０】

実験手順４

式（ＩＩＩ）（式中、－Ｌ^{1}－Ｒ^{1}は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－Ｒ^{1}である）の中間体化合物（本明細書では、式（ＩＩＩ－ｃ）の中間体と称する）は、式（ＩＩＩ－ｄ）の中間体から、標準的なペプチドカップリング方法、例えばＤＣＭなどの好適な溶媒中、トリエチルアミンなどの塩基およびＨＢＴＵなどのペプチドカップリング試薬の存在下、室温などの好都合な温度において、反応が確実に完了する時間にわたって中間体（ＩＩＩ－ｄ）を適切なカルボン酸で処理するなどによって調製することができる。式（ＩＩＩ－ｄ）の中間体化合物は、式（ＩＩＩ－ｅ）の中間体化合物から、当該技術分野で知られている還元手順により、例えばＴＨＦなどの好適な溶媒に溶解した中間体（ＩＩＩ－ｄ）を室温などの好都合な温度において、反応が確実に完了する時間にわたって水素化リチウムアルミニウムなどの還元剤で処理するなどの手順によって調製することができる。式（ＩＩＩ－ｅ）の中間体は、当該技術分野で知られているシアノ化手順に従って、対応する式（ＩＩＩ－ｆ）の中間体から調製することができる。前記シアノ化は、例えば、ビス（

ジベンジリデンアセトン）パラジウム（０）などの好適なＰｄ触媒、例えば１，１’－ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセンなどの好適な配位子および亜鉛末の存在下、例えばＤＭＡなどの好適な不活性溶媒中、例えば１２０℃などの好適な温度において、反応が完了するまで、対応する式（ＩＩＩ－ｆ）の中間体化合物を例えばシアン化亜鉛などのシアン化剤で処理することによって都合よく行うことができる。反応スキーム４では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化１０】



反応スキーム4

【００４１】

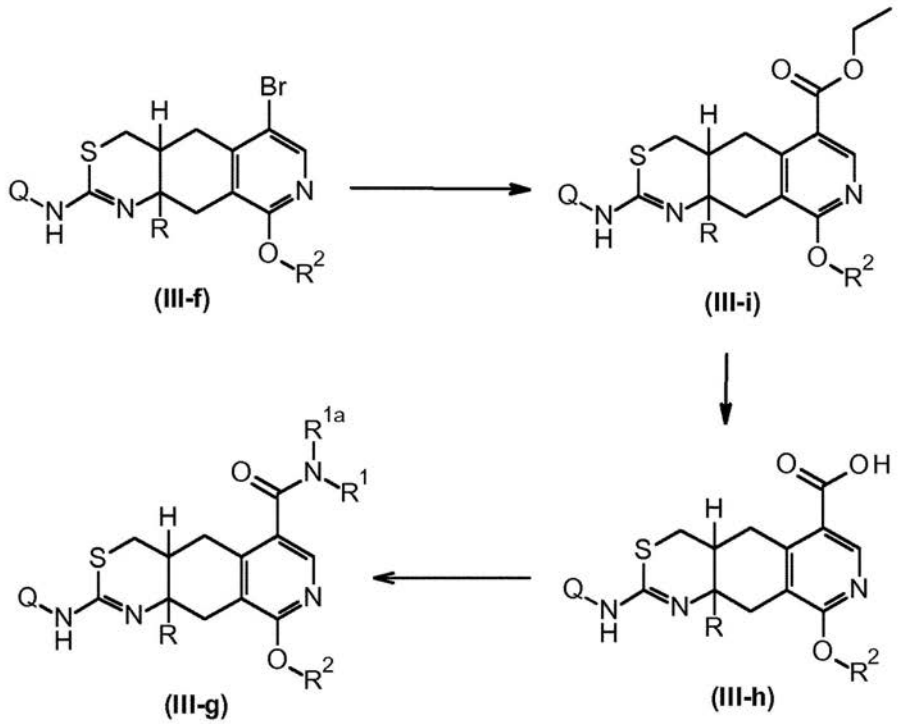
実験手順５

式（ＩＩＩ）（式中、－Ｌ^{1}－Ｒ^{1}は、－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}Ｒ^{1}である）の中間体化合物（本明細書では、式（ＩＩＩ－ｇ）の中間体と称する）は、式（ＩＩＩ－ｈ）の中間体から、標準的なペプチドカップリング方法、例えばＤＣＭなどの好適な溶媒中、トリエチルアミンなどの塩基およびＨＢＴＵなどのペプチドカップリング試薬の存在下、室温などの好都合な温度において、反応が確実に完了する時間にわたって中間体（ＩＩＩ－ｈ）を適切なアミンで処理するなどによって調製することができる。式（ＩＩＩ－ｈ）の中間体化合物は、式（ＩＩＩ－ｉ）の中間体化合物から、標準的な加水分解手順、例えば水／ジオキサンなどの好適な溶媒の混合物中、８０℃などの好都合な温度において、反応が確実に完了する時間にわたって中間体（ＩＩＩ－ｉ）を水酸化リチウムなどの水酸化物で処理するなどの手順によって調製することができる。

【００４２】

式（ＩＩＩ－ｈ）および（ＩＩＩ－ｉ）の中間体化合物は、対応する式（ＩＩＩ－ｆ）の中間体から、当該技術分野で知られているパラジウムを触媒としたカルボニル化手順に従って調製することができる。前記カルボニル化は、一酸化炭素雰囲気において、例えば酢酸パラジウムなどの好適なパラジウム触媒、１，３－ビス（ジフェニルホスフィノ）プロパンなどの好適な配位子および酢酸カリウムなどの好適な塩基の存在下、例えばＴＨＦ／ＥｔＯＨなどの好適な反応溶媒または溶媒の混合物中で式（ＩＩＩ－ｆ）の中間化合物を撹拌することによって都合よく行うことができる。反応は、オートクレーブ中、好適な圧力、例えば３０バール、好都合な温度、通常１２０℃において、反応が確実に完了する時間にわたって行うことができる。反応スキーム５では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化１１】

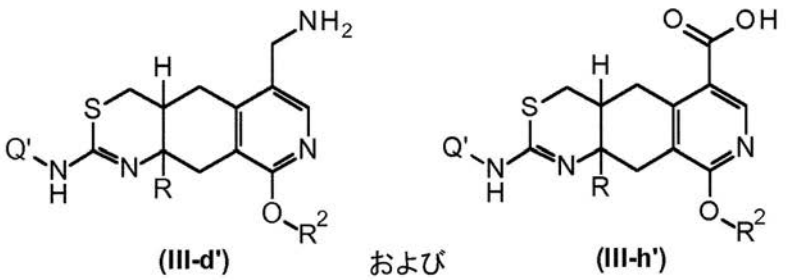


反応スキーム5

【００４３】

式（ＩＩＩ－ｄ）および（ＩＩＩ－ｈ）の中間体は、本発明の化合物の合成における有用な中間体である。したがって、一実施形態では、本発明は、式（ＩＩＩ－ｄ’）の化合物および式（ＩＩＩ－ｈ’）の化合物

【化１２】



（式中、Ｑ’は、Ｈまたは保護基であり、かつＲおよびＲ^{2}は、本明細書中の式（Ｉ）の化合物で定義されるとおりである）

に関する。

【００４４】

実験手順６

式（ＩＩＩ－ｆ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られている臭素化手順に従って式（ＩＩＩ－ｊ）の中間体化合物から調製することができる。前記臭素化は、例えば、アセトニトリルなどの好適な不活性溶媒中、例えば室温などの好適な温度において、反応が完了するまで、例えば１６時間にわたり、対応する式（ＩＩＩ－ｊ）の中間体化合物を例えばＮ－ブロモコハク酸イミドなどの臭素化剤で処理することによって都合よく行うことができる。

【００４５】

式（ＩＩＩ－ｊ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られている手順に従って、例えばｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル基などの保護基ＰＧによって保護する必要があり得る。前記反応は、４－（ジメチルアミノ）ピリジン（ＤＭＡＰ）などの好適な触媒の存在下、

ＴＨＦなどの好適な不活性溶媒中、好適な反応条件下、例えば好都合な温度、通常ｒ．ｔ．において、反応が確実に完了する時間にわたって中間体化合物（ＩＩＩ－ｊ）を二炭酸ジ－ｔｅｒｔ－ブチルで処理することによって都合よく行うことができる。

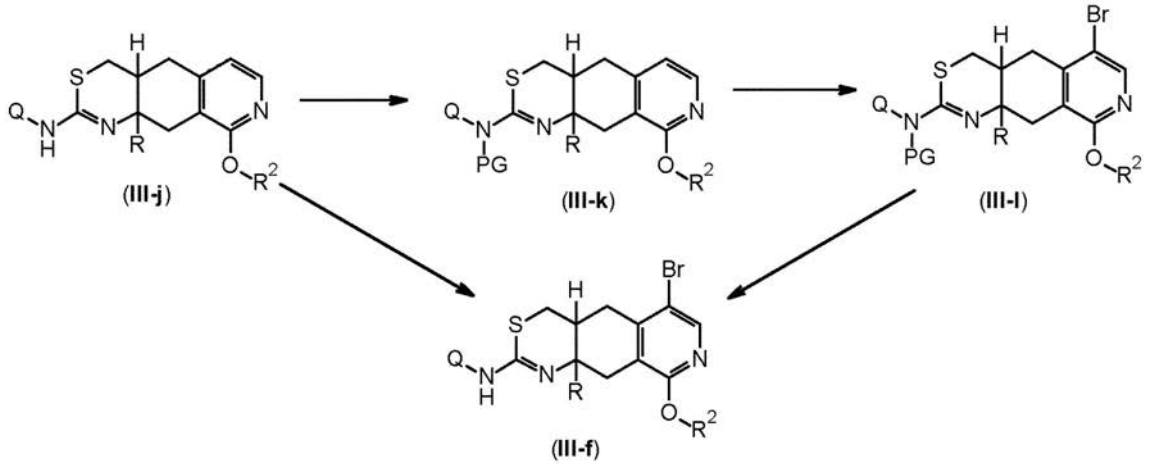
【００４６】

次いで、保護した中間体（ＩＩＩ－ｋ）を上記のように臭素化して（ＩＩＩ－ｌ）を得、次いでこれを周囲温度において好適な溶媒中または無溶媒で、例えばトリフルオロ酢酸またはギ酸などの好適な酸で処理して脱保護することにより、中間体（ＩＩＩ－ｆ）を得ることができる。

【００４７】

反応スキーム６では、ＱおよびＰＧは、保護基であり、他の可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化１３】



反応スキーム6

【００４８】

実験手順７

式（ＩＩＩ－ｊ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られている環化手順に従って式（Ｖ）の中間体化合物から調製することができる。前記環化は、例えば、ＤＣＭなどの好適な反応溶媒中、好適な反応条件下、例えば好都合な温度、通常ｒ．ｔ．において、反応が確実に完了する時間にわたって式（Ｖ）の中間体化合物を１－クロロ－Ｎ，Ｎ－２－トリメチルプロペニルアミンなどの好適な試薬で処理することによって都合よく行うことができる。

【００４９】

式（Ｖ）の中間体化合物は、例えば、ＤＣＭなどの好適な不活性溶媒中、好都合な温度、通常ｒ．ｔ．において、反応が完了するまで、例えば３時間にわたり、対応する式（ＶＩ）の中間体化合物を例えばベンジルイソチオシアネートなどの好適な試薬と反応させることにより（その結果、化合物（Ｖ）および（ＩＩＩ）（式中、Ｑは、フェニル（Ｃ＝Ｏ）－である）を生じる）調製することができる。

【００５０】

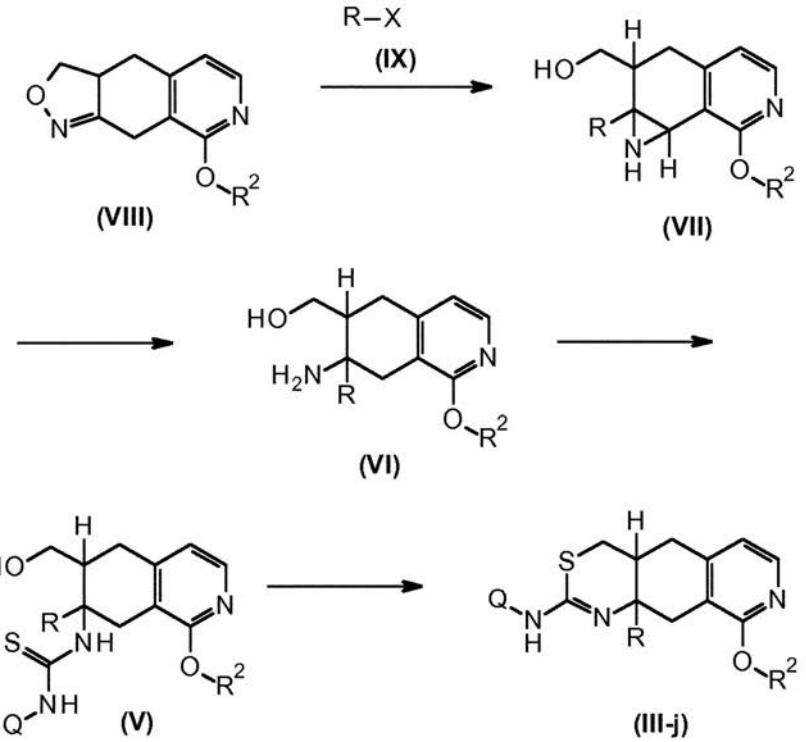
式（ＶＩ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られているアジリジン環の開環手順に従って、対応する式（ＶＩＩ）の中間体化合物から調製することができる。前記反応は、水素雰囲気下、例えばアルカノール（例えば、メタノール、エタノールなど）などの好適な溶媒中、ラネーニッケルなどの好適な触媒の存在下、好都合な温度、通常ｒ．ｔ．において、反応が完了するまで、例えば６時間にわたって反応物を撹拌することによって実施することができる。

【００５１】

式（ＶＩＩ）の中間体化合物は、対応する式（ＶＩＩＩ）の中間体化合物を式（ＩＸ）（式中、Ｘは、ハロであり、Ｒは、式（Ｉ）で定義されるとおりである）の中間体と反応

させることにより調製することができる。反応は、ＴＨＦなどの好適な反応不活性溶媒中、好適な反応条件下、例えば好適な温度、通常－７８℃～室温の範囲において、反応が確実に完了する時間にわたって行うことができる。式（ＩＸ）の中間体化合物は、市販品を購入するか、または文献の手順に従って合成することができる。

【化１４】



反応スキーム7

【００５２】

実験手順８

式（ＶＩＩＩ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られている環化手順に従って、対応する式（Ｘ）の中間体化合物を反応させることによって調製することができる。前記環化は、例えば、ＴＨＦなどの好適な反応不活性溶媒中、好適な反応条件下、例えば好都合な温度、通常５０℃において、反応が確実に完了する時間にわたって式（Ｘ）の中間体化合物を例えば塩酸などの好適な酸で処理することによって都合よく行うことができる。

【００５３】

式（Ｘ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られているカップリング手順に従って式（ＸＩ）の中間体化合物を反応させることによって調製することができる。前記変換は、イソプロピルマグネシウムクロリド－塩化リチウム錯体などの好適なメタル化試薬および例えばシアン化銅（Ｉ）ジ（塩化リチウム）錯体溶液などの好適な有機銅アート試薬前駆体の存在下で式（ＸＩ）の中間体化合物を対応するシアノ銅酸塩試薬に変換し、続いて臭化アリルなどの適切なハロゲン化物を添加することによって都合よく行うことができる。反応は、例えば、ＴＨＦなどの好適な反応不活性溶媒中、好都合な温度、通常－７０℃～ｒ．ｔ．において、確実に反応が完了する時間にわたって行われ得る。

【００５４】

式（ＸＩ）の中間体化合物は、当該技術分野で知られているウィッティヒ反応手順に従って式（ＸＩＩ）の中間体化合物を反応させることによって調製することができる。前記反応は、例えば、カリウムビス（トリメチルシリル）アミドなどの好適な塩基の存在下、例えばトルエンなどの好適な反応不活性溶媒中、好適な温度、通常－１０℃～ｒ．ｔ．において、確実に反応が完了する時間にわたって式（ＸＩＩ）の中間体化合物を例えばメトキシメチルトリフェニルホスホニウムクロリドなどの好適なホスホニウム塩で処理するこ

とによって都合よく行うことができる。

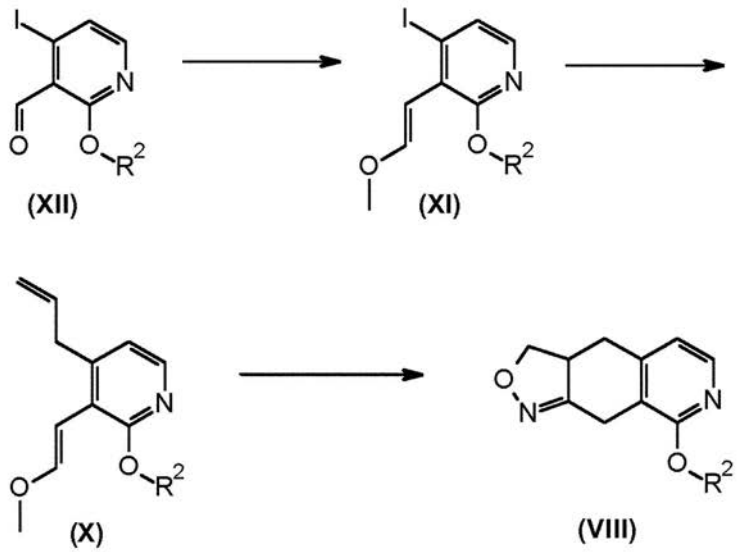
【００５５】

式（ＸＩＩ）の中間体化合物は、一般に、市販品を購入するか、または文献の手順に従って合成することができる。

【００５６】

反応スキーム８では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化１５】



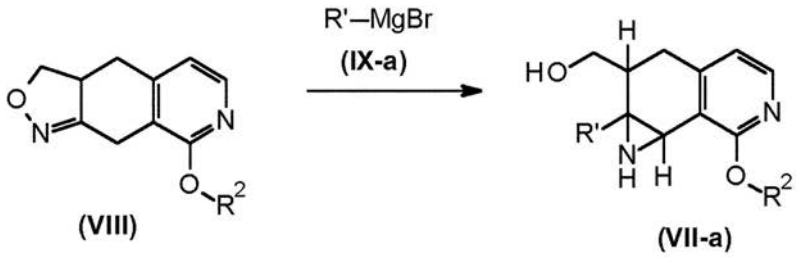
反応スキーム8

【００５７】

実験手順９

代わりに、式（ＶＩＩＩ）の中間体化合物は、式（ＩＸ－ａ）（式中、Ｒ’は、例えば、クロスカップリング反応、アルキル化反応および脱保護反応などの当業者に知られた手順を使用することによってＲに変換することができる任意の基である）の有機金属種の添加を受けることができる。中間体化合物（ＶＩＩ－ａ）は、前述の実施例に記載したのと同じ合成経路を用いて合成を続けることができる。当業者であれば、合成過程のいずれの時点でＲ’からＲへの変換を行うことが適切であるかを判断することができるであろう。

【化１６】



反応スキーム9

【００５８】

化合物の調製　－　フローケミストリー

本明細書に記載のＣｙｃｌＯｐｓ（商標）プラットフォームを用いて、多くの化合物を合成し、スクリーニングし、それは、高い成功範囲（６１～９６％の成功率）で機能した。フロー合成システムは、ＦｌｏｗＣｏｍｍａｎｄｅｒ（商標）ソフトウェアによって制御される一体化されたバルブおよび試薬ループを備えたＶａｐｏｕｒｔｅｃ（登録商標）Ｒ４反応器およびＲ２ポンプモジュールを利用した。ケミストリーの複雑さに応じて、最大で４つまでの反応器、ポンプおよびバルブを使用した。最終反応器からの生成物は、生

成物のアリコートを精製システムに注入することを可能にするＨＰＬＣ注入バルブに流入した。合成システムにおける分散による材料の損失は、いくつかの方法で最小限に抑えられた。最初に、分散を最小限に抑えるために、システム全体にわたって小口径の管を使用した。第２に、反応物および生成物の定常状態濃度が反応器内で確実に達成されるように試薬ループサイズを選択した。最後に、最大生成物濃度の時点において、すなわち定常状態条件下でアリコートが確実に採取されるようにＨＰＬＣへの注入の時間を調節した。一般に、試薬のフレッシュボトルの使用および／またはその場での試薬の生成は、合成結果を改善し得る。

【００５９】

実験手順１０

式（Ｉ）（式中、－Ｌ^{1}－Ｒ^{1}は、－ＣＨ$_{2}$－ＮＨ－（Ｃ＝Ｏ）－Ｒ^{1}である）の化合物（本明細書では、式（Ｉ－ａ）の化合物と称する）は、式（ＩＩＩ－ｄ）（式中、Ｑは、例えば、トリチルなどの保護基である）の中間体から、ＤＩＰＥＡなどの適切な塩基の存在下で例えばＨＡＴＵなどの適切なカップリング試薬を用いて調製することができる。反応は、わずか１．２当量でも進むが、通常、２当量のアミンまたは酸のカップリングパートナー（ＩＸ－ｂ）の使用で確実に最大の変換が生じる。通常、１．２当量のＨＡＴＵが使用され、ＤＩＰＥＡは、（ＩＩＩ－ｄ）に対して３倍過剰に存在する。ＤＩＰＥＡなどの塩基を（ＩＩＩ－ｄ）に添加する。

【００６０】

アミド形成のための注入ループサイズは、通常、各成分で２５０μＬである。脱保護のための酸溶液、例えばＴＦＡは、３３％ＴＦＡ（ＮＭＰ中）を０．５ｍｌ注入する。

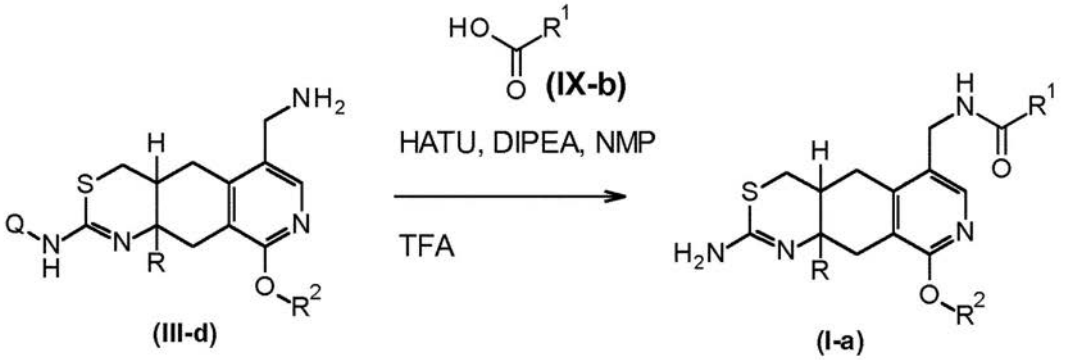
【００６１】

アミド形成は、通常、溶媒としてＮＭＰを使用し、４０℃で２０分間、流れ中で行われ、保護生成物が得られる。

【００６２】

保護基、例えばトリチル基は、既知の手順に従って例えば３３％ＴＦＡ（ＮＭＰ中）を使用して脱離させることができる。次いで、これを第１の反応流出物に加え、得られた混合物を通常１２０℃で１５分間加熱する。反応スキーム１０では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように定義される。

【化１７】



反応スキーム10

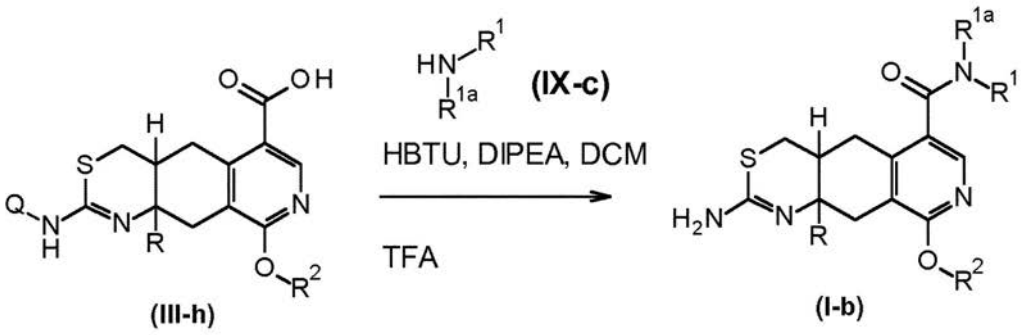
【００６３】

実験手順１１

式（Ｉ）（式中、－Ｌ^{1}－Ｒ^{1}は、－（Ｃ＝Ｏ）－ＮＲ^{1a}Ｒ^{1}である）の化合物（本明細書では、式（Ｉ－ｂ）の化合物と称する）は、式（ＩＩＩ－ｈ）（式中、Ｑは、例えば、トリチルなどの保護基である）の中間体から、例えばＤＣＭなどの好適な溶媒中、ＤＩＰＥＡなどの適切な塩基の存在下、例えばＨＢＴＵなどの適切なカップリング試薬を用いて、反応が確実に完了する条件で式（ＩＸ－ｃ）のアミンと反応させることによって調製することができる。反応スキーム１１では、可変要素は、全て式（Ｉ）におけるように

定義される。

【化１８】



反応スキーム11

【００６４】

薬効薬理

本発明の化合物およびその薬学的に許容される組成物は、ＢＡＣＥを阻害し、したがってアルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害（ＭＣＩ）、老衰、認知症、レビー小体型認知症、脳アミロイド血管症、多発梗塞性認知症、ダウン症候群、パーキンソン病に伴う認知症、アルツハイマー型認知症、血管性認知症、ＨＩＶ疾患による認知症、頭部外傷による認知症、ハンチントン病による認知症、ピック病による認知症、クロイツフェルト・ヤコブ病による認知症、前頭側頭型認知症、ボクサー認知症、βアミロイドに伴う認知症および加齢黄斑変性、２型糖尿病ならびに他の代謝障害の処置または防止に有用であり得る。

【００６５】

本明細書で使用する場合、「処置」という用語は、疾患の進行を遅延、中断、阻止もしくは停止するかまたは症状を軽減し得る全てのプロセスを指すものとするが、必ずしも全症状の完全な排除を示すものではない。

【００６６】

本発明は、ＡＤ、ＭＣＩ、老衰、認知症、レビー小体型認知症、脳アミロイド血管症、多発梗塞性認知症、ダウン症候群、パーキンソン病に伴う認知症、アルツハイマー型認知症、βアミロイドに伴う認知症および加齢黄斑変性、２型糖尿病ならびに他の代謝障害からなる群から選択される疾患または病態の処置または防止に使用するための、一般式（Ｉ）による化合物、その立体異性形態またはその薬学的に許容される酸付加塩もしくは塩基付加塩にも関する。

【００６７】

本発明は、ＡＤ、ＭＣＩ、老衰、認知症、レビー小体型認知症、脳アミロイド血管症、多発梗塞性認知症、ダウン症候群、パーキンソン病に伴う認知症、アルツハイマー型認知症、βアミロイドに伴う認知症および加齢黄斑変性、２型糖尿病ならびに他の代謝障害からなる群から選択される疾患または病態の処置、防止、改善、調節またはそれらのリスクの軽減に使用するための、一般式（Ｉ）による化合物、その立体異性形態またはその薬学的に許容される酸付加塩もしくは塩基付加塩にも関する。

【００６８】

上で既に述べたように、「処置」という用語は、必ずしも全症状の完全な排除を示すものではないが、上記の障害のいずれかの対症処置を指す場合もある。式（Ｉ）の化合物の有用性に鑑みて、上記の疾患のいずれか１つに罹患しているヒトを含む温血動物などの対象を処置する方法または上記の疾患のいずれか１つに罹患しているヒトを含む温血動物などの対象を予防する方法が提供される。

【００６９】

前記方法は、治療有効量の式（Ｉ）の化合物、その立体異性形態、その薬学的に許容される付加塩または溶媒和物の、ヒトを含む温血動物などの対象への投与、すなわち全身投

与または局所投与、好ましくは経口投与を含む。

【００７０】

したがって、本発明は、上記の疾患のいずれかを防止および／または処置する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の本発明による化合物を投与することを含む方法にも関する。

【００７１】

本発明は、βサイトアミロイド切断酵素の活性を調節する方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の本発明によるかつ特許請求の範囲で定義される化合物または本発明によるかつ特許請求の範囲で定義される医薬組成物を投与することを含む方法にも関する。

【００７２】

処置方法は、１日に１～４回摂取する投薬計画で活性成分を投与することも含み得る。これらの処置方法では、本発明による化合物は、投与前に製剤化されることが好ましい。本明細書で下記に記載するように、好適な医薬製剤は、よく知られ、容易に入手可能な成分を使用して既知の手順で調製される。

【００７３】

アルツハイマー病またはその症状を処置または防止するのに好適であり得る本発明の化合物は、単独で投与されるか、または１種または複数の追加の治療剤と併用投与され得る。併用療法には、式（Ｉ）の化合物および１種または複数の追加の治療薬を含有する単一医薬投与製剤の投与ならびに式（Ｉ）の化合物および各追加の治療薬（それ自体個別の医薬投与製剤）の投与が含まれる。例えば、式（Ｉ）の化合物および治療薬は、患者に錠剤またはカプセル剤などの単一経口投与組成物で一緒に投与され得、または各薬剤が個別の経口投与製剤で投与され得る。

【００７４】

当業者は、本明細書に記載の疾患または病態の別の命名法、疾病分類および分類体系に精通しているであろう。例えば、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｉｃ ＡｓｓｏｃｉａｔｉｏｎのＤｉａｇｎｏｓｔｉｃ＆Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａｌ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｍｅｎｔａｌ Ｄｉｓｏｒｄｅｒｓ第５版（ＤＳＭ－５（商標））は、神経認知障害群（ＮＣＤ）（重度と軽度との両方）、特にアルツハイマー病による神経認知障害、外傷性脳損傷（ＴＢＩ）による神経認知障害、レビー小体病による神経認知障害、パーキンソン病による神経認知障害または血管性ＮＣＤ（多発性梗塞を伴って存在する血管性ＮＣＤなど）などの用語を使用している。このような用語は、本明細書に記載の疾患または病態の一部の別の名称として当業者が使用する場合がある。

【００７５】

医薬組成物

本発明は、アルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害、老衰、認知症、レビー小体型認知症、ダウン症候群、脳卒中に伴う認知症、パーキンソン病に伴う認知症およびβアミロイドに伴う認知症および加齢黄斑変性、２型糖尿病ならびに他の代謝障害など、β－セクレターゼの阻害が有益である疾患を防止または処置するための組成物も提供する。前記組成物は、治療有効量の式（Ｉ）による化合物と、薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む。

【００７６】

活性成分を単独で投与することが可能であるが、医薬組成物としてそれを提供することが好ましい。したがって、本発明は、本発明による化合物を薬学的に許容される担体または希釈剤と共に含む医薬組成物をさらに提供する。担体または希釈剤は、組成物の他の成分と混合可能であり、そのレシピエントに有害でないという意味で「許容される」ものでなければならない。

【００７７】

本発明の医薬組成物は、薬学の技術分野においてよく知られる任意の方法によって調製され得る。治療有効量の特定の化合物は、有効成分として、塩基形態または付加塩形態に

おいて、薬学的に許容される担体と組み合わされて均質な混合物にされるが、これは、投与に所望される製剤の形態に応じて多様な形態をとり得る。これらの医薬組成物は、好ましくは、経口、経皮もしくは非経口投与などの全身投与；または吸入、鼻腔スプレー、点眼剤を介したものもしくはクリーム、ゲルもしくはシャンプーなどを介したものなどの局所投与に好適な単位剤形であることが望ましい。例えば、経口剤形の組成物の調製では、懸濁剤、シロップ、エリキシル剤および液剤などの経口液体製剤の場合、例えば水、グリコール、油、アルコールなど；または散剤、丸剤、カプセル剤および錠剤の場合、デンプン、糖類、カオリン、滑沢剤、結合剤および崩壊剤などの固体担体など、通常の医薬媒体のいずれかを使用することができる。錠剤およびカプセル剤は、その投与が容易であるため、最も有利な経口単位剤形であり、その場合、固体医薬担体が明らかに使用される。非経口組成物の場合、担体は、通常、滅菌水を少なくとも大部分含むことになるが、例えば溶解性を促進する他の成分が含まれ得る。例えば、担体が生理食塩水、ブドウ糖溶液または生理食塩水とブドウ糖溶液との混合物を含む注射用溶液を調製することができる。注射用懸濁剤も調製することができ、その場合、適切な液体担体および懸濁化剤などが使用され得る。経皮投与に好適な組成物では、担体は、皮膚に重大な有害作用を引き起こさない任意の性質の少量の好適な添加剤と任意選択により組み合わせて、浸透促進剤および／または好適な湿潤剤を任意選択により含む。前記添加剤は、皮膚への投与を容易にすることができ、かつ／または所望の組成物の調製に役立ち得る。これらの組成物は、様々な方法で例えば経皮パッチ、スポットオンまたは軟膏として投与され得る。

【００７８】

投与を容易にし、投与量を均一にするために、前述の医薬組成物を単位剤形に製剤化することが特に有利である。本明細書および特許請求の範囲で使用する単位剤形は、一体型投与に好適な物理的に分離した単位を指し、各単位は、必要な医薬担体と共同して所望の治療効果が得られるように計算された所定量の活性成分を含有する。そのような単位剤形の例としては、錠剤（割線入り錠剤またはコーティング錠を含む）、カプセル剤、丸剤、分包散剤、カシェ剤、注射用溶液または懸濁剤、小さじ量および大さじ量など、ならびにそれらを分割して複合したものがある。

【００７９】

正確な投与量および投与頻度は、当業者によく知られているように、使用される式（Ｉ）の特定の化合物、処置される特定の病態、処置される病態の重症度、特定の患者の年齢、体重、性別、障害の程度および全身の健康状態ならびにその個体が摂取している可能性がある他の医薬に依存する。さらに、前記有効１日量は、治療対象の応答に応じて、および／または本発明の化合物を処方する医師の評価に応じて減少または増加され得ることが明らかである。

【００８０】

投与方法に応じて、医薬組成物は、有効成分を０．０５～９９重量％、好ましくは０．１～７０重量％、より好ましくは０．１～５０重量％および薬学的に許容される担体を１～９９．９５重量％、好ましくは３０～９９．９重量％、より好ましくは５０～９９．９重量％含むことになるであろう。パーセンテージは、全て組成物の全重量に基づく。

【００８１】

本化合物は、経口、経皮もしくは非経口投与などの全身投与；または吸入、鼻腔スプレー、点眼剤を介したものもしくはクリーム、ゲルもしくはシャンプーなどを介したものなどの局所投与のために使用することができる。本化合物は、経口投与されることが好ましい。正確な投与量および投与頻度は、当業者によく知られているように、使用される式（Ｉ）による特定の化合物、処置される特定の病態、処置される病態の重症度、特定の患者の年齢、体重、性別、障害の程度および全身の健康状態ならびにその個体が摂取している可能性がある他の医薬に依存する。さらに、前記有効１日量は、治療対象の応答に応じておよび／または本発明の化合物を処方する医師の評価に応じて減少または増加され得ることが明らかである。

【００８２】

単回剤形を製造するために担体材料と組み合わせることができる式（Ｉ）の化合物の量は、処置される疾患、哺乳動物種および特定の投与方式に応じて変動するであろう。しかし、一般的な指針として、本発明の化合物の好適な単位用量は、例えば、好ましくは０．１ｍｇ～約１０００ｍｇの有効化合物を含有し得る。好ましい単位用量は、１ｍｇ～約５００ｍｇである。より好ましい単位用量は、１ｍｇ～約３００ｍｇである。より一層好ましい単位用量は、１ｍｇ～約１００ｍｇである。このような単位用量は、１日２回以上、例えば１日２、３、４、５または６回、しかし好ましくは１日当たり１または２回投与することができるため、体重７０ｋｇの成人のための総用量は、１回の投与当たり対象の体重１ｋｇ当たり０．００１～約１５ｍｇの範囲である。好ましい投与量は、１回の投与につき対象の体重１ｋｇ当たり０．０１～約１．５ｍｇであり、このような治療は、数週間または数カ月間、場合により数年間にわたり得る。しかし、当然のことながら、当業者によく理解されているように、任意の特定の患者に対する特定の用量レベルは、使用する特定の化合物の活性、処置される個体の年齢、体重、全身の健康状態、性別および食事、投与時間および投与経路、排泄率、以前投与された他の薬物ならびに治療を受ける特定の疾患の重症度を含む様々な要因に依存するであろう。

【００８３】

典型的な投与量は、１ｍｇ～約１００ｍｇの錠剤もしくは１ｍｇ～約３００ｍｇの錠剤を１錠、１日１回もしくは１日数回服用または活性成分の含量を比較的多く含有する徐放カプセル剤もしくは錠剤を１つ、１日１回服用とすることができる。徐放効果は、異なるｐＨ値で溶解するカプセル材料により、浸透圧で徐々に放出するカプセルにより、または他の既知の任意の放出制御手段により得ることができる。

【００８４】

当業者に明らかであろうように、これらの範囲外の投与量を使用することが必要となる場合があり得る。さらに、臨床医または治療医は、個々の患者の応答に応じて治療を開始、中断、調整または終了する方法および時点を知っているであろうことにも留意されたい。

【００８５】

上記の組成物、方法およびキットについて、当業者は、それぞれに使用するのに好ましい化合物が上記で好ましいと記載されている化合物であることを理解するであろう。組成物、方法およびキットについてより一層好ましい化合物は、下記の非限定的な実施例で提供される化合物である。

【実施例】

【００８６】

実験の部

以下では、「ａｑ．」という用語は、水性を意味し、「ｒ．ｍ．」は、反応混合物を意味し、「ｒ．ｔ．」または「ＲＴ」は、室温を意味し、「ＤＩＰＥＡ」は、Ｎ，Ｎ’－ジイソプロピルエチルアミンを意味し、「ＤＩＰＥ」は、ジイソプロピルエーテルを意味し、「ＴＨＦ」は、テトラヒドロフランを意味し、「ＤＭＦ」は、ジメチルホルムアミドを意味し、「ＤＣＭ」は、ジクロロメタンを意味し、「ＥｔＯＨ」は、エタノールを意味し、「ＥｔＯＡｃ」は、エチルアセテートを意味し、「ＡｃＯＨ」は、酢酸を意味し、「ｉＰｒＯＨ」は、イソプロパノールを意味し、「$iPrNH_2$」は、イソプロピルアミンを意味し、「ＡＣＮ」または「ＭｅＣＮ」は、アセトニトリルを意味し、「ＭｅＯＨ」は、メタノールを意味し、「$Pd(OAc)_2$」は、パラジウム（ＩＩ）ジアセタートを意味し、「ｒａｃ」は、ラセミを意味し、「ｓａｔ．」は、飽和を意味し、「ＳＦＣ」は、超臨界流体クロマトグラフィーを意味し、「ＳＦＣ－ＭＳ」は、超臨界流体クロマトグラフィー／質量分析を意味し、「ＬＣ－ＭＳ」は、液体クロマトグラフィー／質量分析を意味し、「ＧＣＭＳ」は、ガスクロマトグラフィー／質量分析を意味し、「ＨＰＬＣ」は、高速液体クロマトグラフィーを意味し、「ＲＰ」は、逆相を意味し、「ＵＰＬＣ」は、超高速液体クロマトグラフィーを意味し、「R_t」は、保持時間（分）を意味し、「$[M+H]^+$」は、化合物の遊離塩基のプロトン化質量を意味し、「ＨＡＴＵ」は、Ｏ－（７－ア

ザベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’，－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェートを意味し、「ＨＢＴＵ」は、Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’，－テトラメチル－Ｏ－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）ウロニウムヘキサフルオロホスフェートを意味し、「Ｘａｎｔｐｈｏｓ」は、（９，９－ジメチル－９Ｈ－キサンテン－４，５－ジイル）ビス［ジフェニルホスフィン］を意味し、「ＴＦＡ」は、トリフルオロ酢酸を意味し、「Et_2O」は、ジエチルエーテルを意味し、「ＤＭＳＯ」は、ジメチルスルホキシドを意味し、「ＮＭＰ」は、Ｎ－メチルピロリドンを意味し、「ＮＭＲ」は、核磁気共鳴を意味し、ＬＤＡは、リチウムジイソプロピルアミドを意味し、「ＤＩＰＡ」は、ジイソプロピルアミンを意味し、「ｎ－ＢｕＬｉ」は、ｎ－ブチルリチウムを意味する。「ｈ」は、時間を意味する。「ｍｉｎ」は、分を意味し、「Na_2CO_3」は、炭酸ナトリウムを意味し、「ｓｏｌ．」は、溶液を意味し、「ＢＯＣ」は、ｔ－ブトキシカルボニルを意味し、「ＤＭＡ」は、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミドを意味し、「ＤＭＡＰ」は、ジメチルアミノピリジンを意味し、「ｍｗ」は、マイクロ波を意味し、「ＮＢＳ」は、Ｎ－ブロモスクシンイミドを意味し、「$Pd(PPh_3)_4$」は、テトラキス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）を意味し、「ＤＢＵ」は、１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エンを意味し、「ＳＱＤ」は、シングル四重極検出器を意味し、「ＭＳＤ」は、質量選択検出器を意味し、「ＢＥＨ」は、架橋エチルシロキサン／シリカハイブリッドを意味し、「ＤＡＤ」は、ダイオードアレイ検出器を意味し、「ＨＳＳ」は、高強度シリカを意味し、「Ｑ－Ｔｏｆ」は、四重極飛行時間型質量分析計を意味し、「ＣＬＮＤ」は、化学発光窒素検出器を意味し、「ＥＬＳＤ」は、蒸発光散乱検出器を意味する。

【００８７】

立体化学的配置の割り当ておよび図形表示

中間体／化合物の中心C_{4a}およびC_{10a}の立体配置は、以下のように示されている：

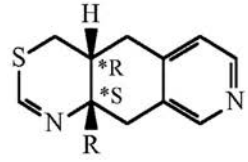
ａ）中間体／化合物がエナンチオピュアであり、絶対立体配置が知られている場合、例えば立体配置がC_{4a}（Ｒ）、C_{10a}（Ｓ）に対応し、化合物が単一のジアステレオ異性体およびエナンチオピュアである場合、コアは、

【化１９】

として表され；

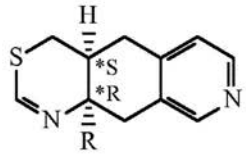
ｂ）中間体／化合物がエナンチオピュアであるが、絶対立体配置が知られていない場合、コアは、

【化２０】

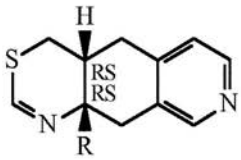


（ここで、楔は、シスジアステレオ異性体を示すためにランダムに割り当てられている）として表され；シス相対配置の他の純粋なエナンチオマーが単離されている場合、中間体／化合物は、他の単離エナンチオマー中間体／化合物と区別するために、

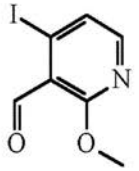
【化２１】



として表され；
ｃ）中間体／化合物がシス相対配置の２つのエナンチオマーのラセミ混合物である場合、コアは、
【化２２】

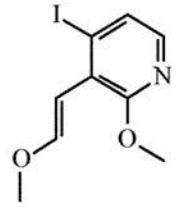


として表されている。
【００８８】
中間体／化合物の立体化学的絶対配置は、化学合成法およびＮＭＲ（相対立体配置の割り当て）ならびに化合物３０および中間体２６ならびに種々のエナンチオピュア類似体のＢＡＣＥ１酵素との共結晶化（示された化合物のインビトロ活性と共に、これにより化合物におけるＲ基の好ましい配向を確認することができる）に基づいて理論的に説明されている。
【００８９】
Ａ．中間体の調製
中間体１
【化２３】



ＴＨＦ（１００ｍＬ）中のＤＩＰＡ（３．５ｍＬ、２５ｍｍｏｌ）の混合物を－２０℃に冷却し、ｎ－ＢｕＬｉ（ヘプタン中２．７Ｍ、９．２ｍＬ、２５ｍｍｏｌ）を滴下した。１０分間撹拌した後、ｒ．ｍ．を－７５℃に冷却し、ＴＨＦ（５０ｍＬ）中の２－フルオロ－３－ヨードピリジン（５．５５ｇ、２５ｍｍｏｌ）を滴下した。－６５℃で２ｈ撹拌を続けた。ｒ．ｍ．を－７５℃に冷却し、ＴＨＦ（２５ｍＬ）中のギ酸エチル（２．３ｍＬ、２８ｍｍｏｌ）を滴下した。１０分後、ナトリウムメトキシド（５．８ｍＬ、０．９５ｇ／ｍＬ、２５ｍｍｏｌ、純度２５％）を滴下した。冷却浴を取り除き、ｒ．ｍ．をｒ．ｔ．にし、塩水（５０ｍＬ）、Et_2O（１００ｍＬ）で処理し、層を分離した。水層をEt_2O（１００ｍＬ）で抽出し、有機層をまとめて塩水（５０ｍＬ）で処理し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、中間体１（６．１５ｇ、９４％）を得、これをそのまま次の反応工程で使用した。
【００９０】
中間体２

【化２４】

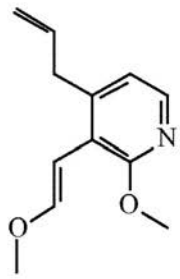


トルエン（１５０ｍＬ）中のメトキシメチルトリフェニルホスホニウムクロリド（８．４ｇ、２４ｍｍｏｌ）の撹拌混合物にカリウムビス（トリメチルシリル）アミド（トルエン中０．７Ｍ、３４ｍＬ、２４ｍｍｏｌ）を－１０℃で滴下した。この温度で３０分間撹拌を続けた。トルエン（２０ｍＬ）中の中間体１（２．１ｇ、８ｍｍｏｌ）を滴下し、２時間後、水（５０ｍＬ）でｒ．ｍ．の反応を停止させ、層を分離した。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して黄褐色の油状物を得た。この油状物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＥｔＯＡｃ／ヘプタン　０／１００～１０／９０）により精製して、中間体２を油状物（１．８６ｇ、８０％）として得た。

【００９１】

中間体３

【化２５】

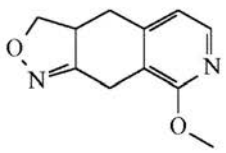


撹拌し冷却した（－７０℃）、ＴＨＦ（５００ｍＬ）中の中間体２（３０ｇ、１００ｍｍｏｌ）の混合物に、内部温度を－６５℃未満に維持しながら、イソプロピルマグネシウムクロリド－塩化リチウム錯体（１０５ｍＬ、１．３Ｍ、１４０ｍｍｏｌ）を滴下した。添加が完了したところで、撹拌を１．５ｈ続けた。次いで、シアン化銅（Ｉ）ジ（塩化リチウム）錯体溶液（１０５ｍＬ、１Ｍ、１１０ｍｍｏｌ）を－７０℃で滴下し、１５分後、臭化アリル（２８ｍＬ、３１ｍｍｏｌ）を滴下した。ｒ．ｍ．をｒ．ｔ．にし、次いで塩水（１００ｍＬ）で反応を停止させ、Et_2O（０．３Ｌ）および水（０．１Ｌ）で希釈し、層を分離した。有機層をまずアンモニアで少しずつ青色が消失するまで洗浄し（５×０．２Ｌ）、次いで塩水（０．１Ｌ）で洗浄した。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮し、得られた残留物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＤＣＭ／ヘプタン　９８／２～１００／０）で精製して、中間体３（１９．６ｇ、９３％）を得た。

【００９２】

中間体４

【化２６】



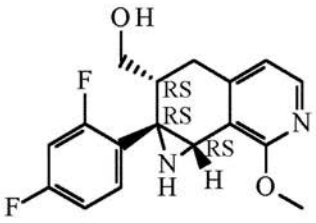
中間体３（１９．６ｇ、９５ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（２００ｍＬ）溶液を撹拌し、６ＭのＨＣｌ水溶液（７０ｍＬ、４２０ｍｍｏｌ）で処理し、ｒ．ｍ．を５０℃で３０分間加熱した。ｒ．ｍを氷水（０．２Ｌ）に注ぎ入れ、ｐＨが中性になるまでNa_2CO_3飽和溶液で処理した。ｒ．ｍ．をＤＣＭ（３×０．１Ｌ）で抽出し、有機層をまとめてＭｇＳＯ

$_4$で乾燥させた。得られた溶液にトリエチルアミン（４０ｍＬ、２９０ｍｍｏｌ）、次いで塩酸ヒドロキシルアミン（８ｇ、１２０ｍｍｏｌ）を加え、撹拌を１ｈ続けた。ｒ．ｍ．をＮａＨＣＯ$_3$飽和溶液（０．１Ｌ）で希釈し、層を分離した。有機層をＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、メカニカルスターラーを備えた１Ｌの四つ口フラスコに移し、０℃（内部温度）に冷却した。この冷却した溶液に次亜塩素酸ナトリウム（２１０ｍＬ、４７０ｍｍｏｌ）を滴下した。添加完了後、ｒ．ｍ．をｒ．ｔ．にし、ｒ．ｔ．で終夜撹拌を続けた。層を分離し、水層をＤＣＭ（０．２ｍＬ）で抽出した。有機層をまとめてＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、固体を得、これをＤＩＰＥ（０．１Ｌ）から再結晶させて、中間体４（８．６４ｇ、４４％）を得た。

【００９３】

中間体５

【化２７】

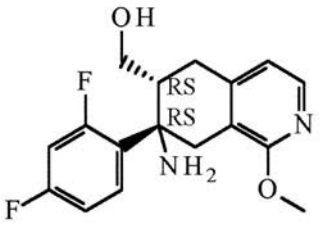


窒素下において１－ブロモ－２，４－ジフルオロベンゼン（９．６９９ｍＬ、７０．５１ｍｍｏｌ）を４３ｍＬのＴＨＦ中で攪拌し、ｒ．ｍ．を－１５℃に冷却した。イソプロピルマグネシウムクロリド（ＴＨＦ中２Ｍ、４３．０４８ｍＬ、８６．１ｍｍｏｌ）を－１５℃で滴下し、ｒ．ｍ．を０～５℃で１ｈ撹拌し、次いで再度－１５℃に冷却した。４３ｍｌのＴＨＦに溶解した中間体４（７．２ｇ、３５．２６ｍｍｏｌ）を滴下した。この混合物を室温に到達させた後、６０ｍＬのＮＨ$_4$Ｃｌ飽和溶液に滴下し、ＥｔＯＡｃで抽出した。有機層をＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、中間体５を得た（１１．１５ｇ、９９％、シス／トランス混合物）。

【００９４】

中間体６

【化２８】

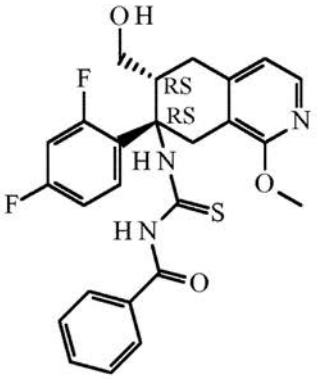


ＥｔＯＨ（４７３ｍＬ）中のＲａｎｅｙ（登録商標）－Ｎｉｃｋｅｌ（６４ｇ）およびチオフェン（ＤＩＰＥ中４％、８５ｍＬ）を水素化フラスコに入れた後、ＥｔＯＨ（４７３ｍＬ）に溶解した中間体５（１７．２ｇ、５４ｍｍｏｌ）を加えた。フラスコを脱気し、次いで水素ガスでフラッシュした後、１４℃で６ｈ撹拌した。ｒ．ｍ．をｄｉｃａｌｉｔｅ（登録商標）で濾過し、ＥｔＯＨおよびＴＨＦで洗浄した後、生成物を蒸発により濃縮した。生成物を精製した（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～６／９４）。純粋な画分を蒸発させて、中間体６を得た（１０．３４ｇ、６０％）。

【００９５】

中間体７

【化２９】

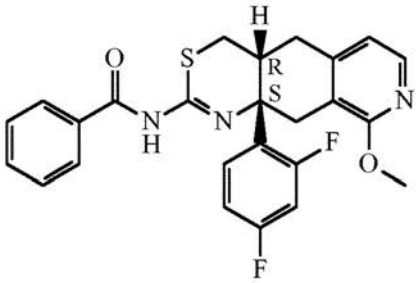


中間体６（２．３２ｇ、７．２４ｍｍｏｌ）を氷浴中の１３０ｍＬのＤＣＭに溶解した後、２０ｍＬのＤＣＭ中のベンゾイルイソチオシアナート（１．６６ｇ、１０．１４ｍｍｏｌ）を混合物に滴下し、反応物をｒ．ｔ．で１．５ｈ撹拌した。少量の氷を依然として撹拌しているｒ．ｍ．に加え、生成物を、ＤＣＭを用いて抽出し、有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発によって濃縮した。有機層をカラムクロマトグラフィー（シリカ；ＥｔＯＡｃ／ヘプタン　０／１００～８０／２０）により精製した。生成物を含む画分を集め、蒸発により濃縮して、中間体７（３．５０ｇ、定量的）を得た。

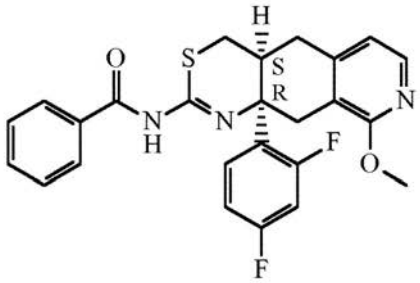
【００９６】

中間体８Ａおよび８Ｂ

【化３０】



中間体8a



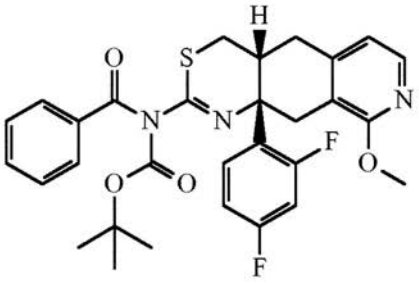
中間体8b

窒素フロー下、ｒ．ｔ．において、中間体７（３．５ｇ、７．２４ｍｍｏｌ）をＤＣＭ（９１ｍＬ）中で撹拌した後、１－クロロ－Ｎ，Ｎ，２－トリメチルプロペニルアミン（２．６２ｍＬ、１９．８０ｍｍｏｌ）を滴下し、ｒ．ｍ．を１０分間撹拌した。反応が完了に至ったところで、２０ｍＬの$NaHCO_3$飽和水溶液で反応を停止させ、１０分間撹拌した。有機物質を、ＤＣＭを用いて抽出し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発により濃縮した。この物質をＤＩＰＥ中で撹拌して白色固体を得、これを濾別し、オーブン中で乾燥させて２．４６ｇの混合物を得、これをＰｒｅｐ　ＳＦＣ（固定相：Ｃｈｉｒａｌｐａｋ　Ｄｉａｃｅｌ　ＡＤ　３０×２５０ｍｍ、移動相：CO_2、０．２％のｉＰｒＮH_2を含有するＭｅＯＨ）により精製して、中間体８ａ（１．９９ｇ、３３％、純粋なエナンチオマー）および中間体８ｂ（１．６７、２８％　純粋なエナンチオマー）を得た。

【００９７】

中間体９

【化３１】

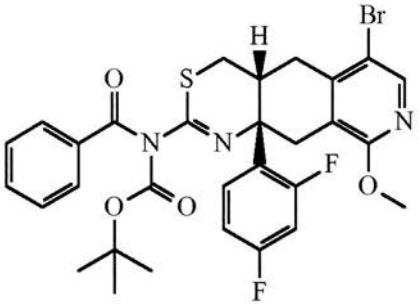


ＴＨＦ（２０ｍＬ、０．８９ｇ／ｍＬ、０．２５ｍｏｌ）中の中間体８ａ（２．２ｇ、０．００４７ｍｏｌ）の混合物を撹拌し、ＢＯＣ無水物（１．２４ｇ、０．００５７ｍｏｌ）およびＤＭＡＰ（５０ｍｇ、０．０００４１ｍｏｌ）で処理した。ｒ．ｔ．で１ｈ撹拌した後、ｒ．ｍ．を$NaHCO_3$飽和溶液（２０ｍＬ）、水（５０ｍＬ）およびＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で希釈し、層を分離した。水層をＥｔＯＡｃ（５０ｍＬ）で抽出した。有機層をまとめて塩水（２０ｍＬ）で処理し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、中間体９を白色泡状物（２．７７ｇ、９９％）として得た。

【００９８】

中間体１０

【化３２】

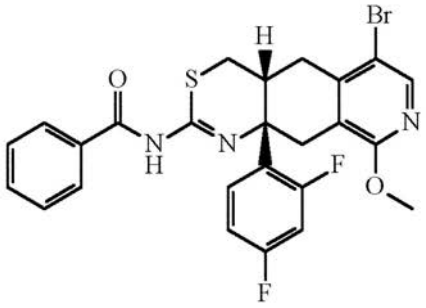


ＡＣＮ（２５０ｍＬ、０．７９ｇ／ｍＬ、４．８１ｍｏｌ）中の中間体９（２．７７ｇ、０．００４９ｍｏｌ）の混合物を撹拌し、Ｎ－ブロモスクシンイミド（１ｇ、０．００５６ｍｏｌ）を少量ずつ加え、そのｒ．ｍ．をｒ．ｔ．で４日間撹拌した後、さらにＮ－ブロモスクシンイミド（０．２ｇ、０．００１１ｍｏｌ）を加え、撹拌をさらに３ｈ続けた。ｒ．ｍ．を４０ｍＬの飽和$NaHCO_3$、水（０．１Ｌ）、ＥｔＯＡｃ（２００ｍＬ）で希釈し、層を分離した。水層をＥｔＯＡｃ（５０ｍＬ）で抽出し、有機層をまとめて塩水（０．１Ｌ）で処理し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、オフホワイト色の固体を得た。これを、ヘプタン中、０～５０％のＥｔＯＡｃの勾配で溶出する１２０ｇのＲｅｄｉｓｅｐフラッシュカラムを使用するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、中間体１０を明るい白色の固体として得た（２．１ｇ、収率６７％）。

【００９９】

中間体１１

【化３３】

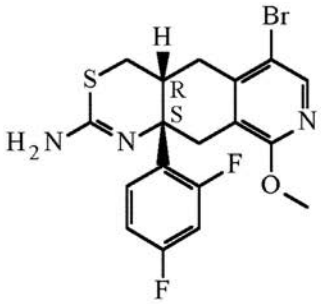


中間体１０（１３．７１ｇ、２１ｍｍｏｌ）およびギ酸（７９．７ｍＬ、２．１ｍｍｏｌ）をｒ．ｔ．で１ｈ撹拌した。ｒ．ｍ．中に存在するギ酸を蒸発させ、生成物をNa_2CO_3で塩基性化した後、ＤＣＭで抽出した。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発により濃縮し、ＤＩＰＥから結晶化させて、生成物を得た。この結晶を濾別し、乾燥させて、中間体１１を得た（９．３２ｇ、８１％）。

【０１００】

中間体１２

【化３４】

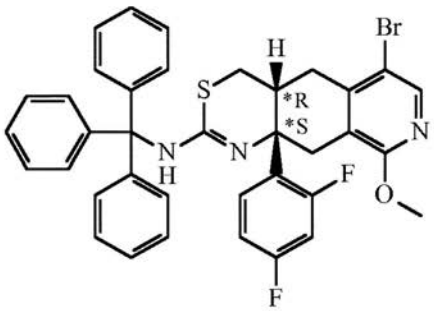


中間体１１（９．３２ｇ、１７ｍｍｏｌ）、ＤＢＵ（２５．５ｍＬ、１７１ｍｍｏｌ）およびＭｅＯＨ（１９２．８ｍＬ）を圧力管に入れ、６０℃で終夜撹拌した。ｒ．ｍ．を蒸発により濃縮させた後、物質をカラムクロマトグラフィー（シリカ；ＤＣＭ～５％ＭｅＯＨ（ＤＣＭ中））により２回精製した。生成物を含有する画分を合わせ、蒸発により濃縮させて、中間体１２（６．８４ｇ、９１％）を得た。

【０１０１】

中間体１３

【化３５】



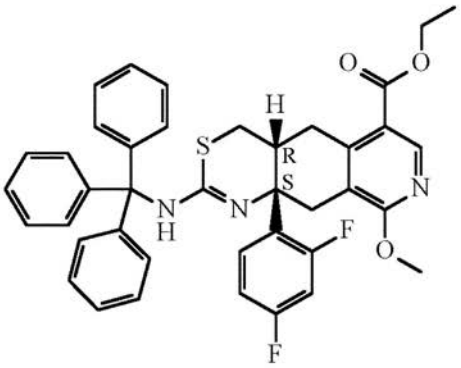
中間体１２（０．８７ｇ、１．９７６ｍｍｏｌ）を乾燥アセトニトリル（７６ｍＬ）に溶解し、次いでEt_3N（０．５５ｍＬ．３．９５ｍｍｏｌ）を添加し、続いてトリフェニルメチルクロリド（０．８２６ｇ、２．９６ｍｍｏｌ）を加えた。次いで、ｒ．ｍ．を８０℃に１．５ｈ加熱し、次いで溶媒を蒸発させ、残渣をＥｔＯＡｃに溶解した。K_2CO_3を用いて混合物を塩基性化した後、有機層を塩水（×３）で洗浄し、相を分離した。有機層をまとめて$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗生成物をフラッ

シュカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、ＥｔＯＡｃ／ヘプタン　０／１００～１０／９０）により精製した。所望の画分を集め、真空下で蒸発させた。化合物をＭｅＯＨからトリチュレートし、結晶を濾別し、乾燥させて、中間体１３（１．３ｇ、９６％）を白色固体として得た。

【０１０２】

中間体１４

【化３６】

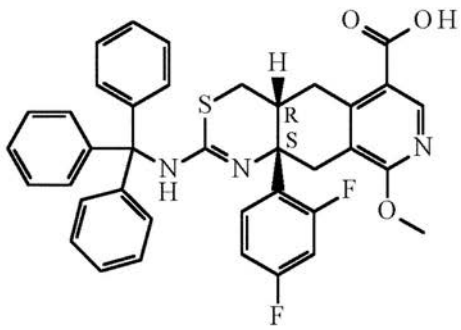


７５ｍＬのステンレス鋼オートクレーブに窒素雰囲気下で中間体１３（１．１ｇ、１．６１ｍｍｏｌ）、Ｐｄ（ＯＡｃ）$_2$（７７．２ｍｇ、０．３４ｍｍｏｌ）、１，３－ビス（ジフェニルホスフィノ）プロパン（４４ｍｇ、０．１０７ｍｍｏｌ）、酢酸カリウム（３８５ｍｇ、３．９３ｍｍｏｌ）、ＴＨＦ（２０ｍＬ）およびＥｔＯＨ（２０ｍＬ）を投入した。オートクレーブを閉じ、３０バールＣＯに加圧した。ｒ．ｍ．を１２０℃で１９ｈ撹拌した。ｒ．ｍ．を蒸発させた後、ＤＣＭを加え、混合物をｄｉｃａｌｉｔｅ（登録商標）で濾過した。有機物質を、ＤＣＭを用いて抽出し、ＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発によって濃縮して、１．４８ｇの生成物を得、これをカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～２／９８）により精製し、生成物を含有する画分を合わせ、蒸発により濃縮して中間体１４（０．９０２ｇ、８３％）を得た。

【０１０３】

中間体１５

【化３７】

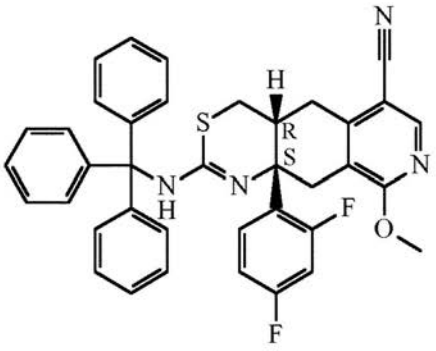


中間体１４（１．１３７ｇ、１．６８２ｍｍｏｌ）、水酸化リチウム（４８４ｍｇ、２０．１８９ｍｍｏｌ）、水（１３０ｍＬ）および１，４－ジオキサン（１３０ｍＬ）を、所望の生成物に完全に変換するまで８０℃で３ｈ撹拌した。次いで、ジオキサンを蒸発させ、混合物をＡｃＯＨでｐＨを約３にまで酸性化した。続いて、ｒ．ｍ．をＤＣＭで抽出し、有機層を集め、ＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、真空中で溶媒を蒸発させた。残留物をカラムクロマトグラフィー（シリカ；ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～５／９５）により精製して、中間体１５を得、これをオーブン中で乾燥して固体（０．８４５ｇ、７８％）を得た。

【０１０４】

中間体１６

【化３８】

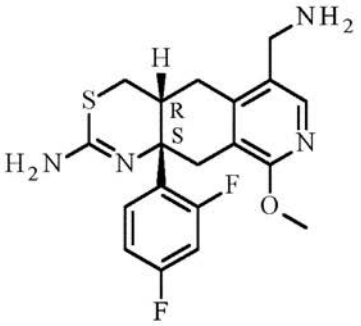


トリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウム（０）（５１９．４ｍｇ、０．５７ｍｍｏｌ）および１，１’－ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン（６４９．７ｍｇ、１．１７ｍｍｏｌ）をｍｗバイアル内のＤＭＡ（１０６．７ｍＬ）中で混合し、この混合物を、窒素を用いて１０分間脱気した。次いで、中間体１３（１．６ｇ、２．３４ｍｏｌ）を添加し、続いて亜鉛（１８３．９ｍｇ、２．８１ｍｍｏｌ）および$Zn(CN)_2$（２．２０ｇ、１８．８ｍｍｏｌ）を添加した。バイアルに蓋をし、１５０℃で４ｈ加熱した。このｒ．ｍ．を氷水に注ぎ、撹拌したところ、褐色の固体が生成された。固体を濾別し、ＤＣＭに溶解し、水で洗浄した。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発により濃縮した。生成物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～１／９９）により精製した。純粋な画分を合わせ、蒸発により濃縮して、中間体１６（１．４７ｇ、定量的）を得た。

【０１０５】

中間体１７

【化３９】

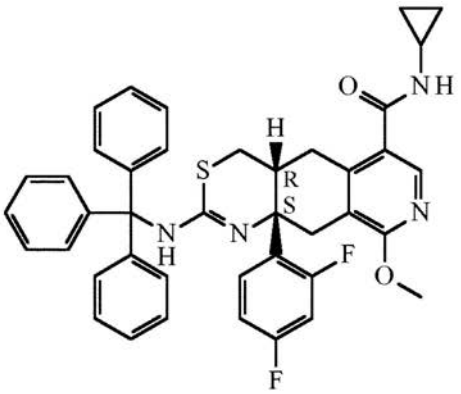


中間体１６（１．４７ｇ、２．３ｍｍｏｌ）を窒素フロー下において－２０℃でＴＨＦ（乾燥）（１４７ｍＬ）に溶解し、$LiAlH_4$（ＴＨＦ中２Ｍ、２．３４ｍＬ、４．７ｍｍｏｌ）を滴下した。反応物をｒ．ｔ．で温め、１６ｈ間撹拌した。このｒ．ｍ．を氷浴で冷却し、ロッシェル塩溶液（H_2O中１．５Ｍ）１０ｍＬで反応を停止させた。有機物質をＤＣＭで抽出し$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発により濃縮した。これをシリカ（溶離液：ＤＣＭ～＞５％ＭｅＯＨ／NH_3（ＤＣＭ中））で精製し、生成物を含有する画分を合わせ、真空中で濃縮し、オーブンで２ｈ乾燥して、中間体１６（０．７４ｇ、５０％）を得た。２２０ｍｇの出発物質を回収した。

【０１０６】

中間体１８

【化４０】

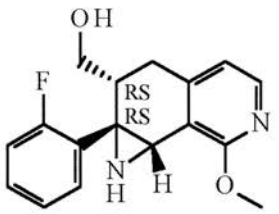


中間体１５（９０ｍｇ、０．１４ｍｍｏｌ）をＤＣＭ（２．２５ｍＬ）中で撹拌し、ＤＩＰＥＡ（０．１２ｍＬ、０．７０ｍｍｏｌ）およびＨＢＴＵ（５２．６９ｍｇ、０．１３９ｍｍｏｌ）を添加し、ｒ．ｔ．で０．５ｈ、撹拌を続けた。この溶液にシクロプロピルアミン（０．０１１６ｍＬ、０．１６７ｍｍｏｌ）を添加し、ｒ．ｔ．で１ｈ、撹拌を続けた。ＮａＯＨ（１Ｎ溶液、３ｍＬ）を添加し、ｒ．ｍ．を５分間撹拌した。有機層を分離し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発により濃縮した。有機残留物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～４／９６）により精製し、生成物を含有する画分を合わせ、蒸発により濃縮して、中間体１８（１３５ｍｇ、純度７２％、定量的）を得た。

【０１０７】

中間体１９

【化４１】

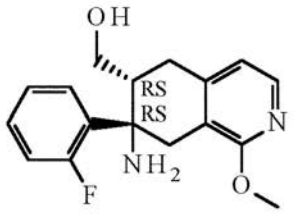


撹拌し冷却した（５℃）２－フルオロフェニルマグネシウムブロミド（２０ｍＬ、１Ｍ、２０ｍｍｏｌ）の不均一混合物に中間体４（２ｇ、９．８ｍｍｏｌ）のトルエン（４０ｍＬ）溶液を滴下した。添加が完了したところで、３０分間撹拌を続け、次いでｒ．ｍ．の反応をNH_4Cl飽和水溶液（５０ｍＬ）、水（０．１Ｌ）で停止させ、層を分離した。水相をＥｔＯＡｃ（３×０．１Ｌ）で抽出し、有機層をまとめて塩水（０．１Ｌ）で処理し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮し、得られた残留物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＥｔＯＡｃ／ＤＣＭ　０／１００～１００／０）により精製して、中間体１９をオフホワイト色の泡状物として得た（２．４５ｇ、８３％、シス／トランス　９３／７）。

【０１０８】

中間体２０

【化４２】



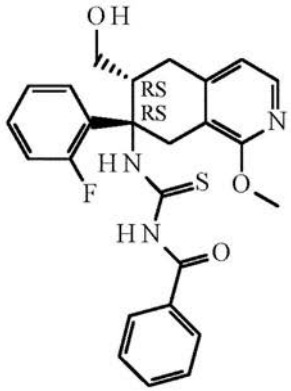
中間体６の合成で報告したものと同様の合成手順に従って中間体２０を調製した。中間体１９（２．８ｇ、９．３２ｍｍｏｌ）から出発して中間体２０を得、これをそのまま次

の工程に使用した（２．８ｇ、定量的、シス／トランス　９６／４）。

【０１０９】

中間体２１

【化４３】

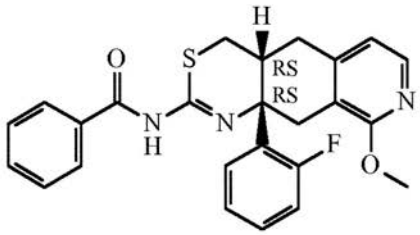


中間体７の合成で報告したものと同様の合成手順に従って中間体２１を調製した。中間体２０（１．６ｇ、５．２９ｍｍｏｌ）から出発して中間体２１を白色の泡状物として得た（２．２２ｇ、９０％、シス）。

【０１１０】

中間体２２

【化４４】

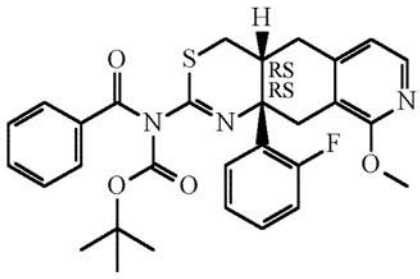


中間体８の合成で報告したものと同様の合成手順に従って中間体２２を調製した。中間体２１（２．２２ｇ、４．７７ｍｍｏｌ）から出発して中間体２２を白色固体として得た（１．４ｇ、６６％、シス）。

【０１１１】

中間体２３

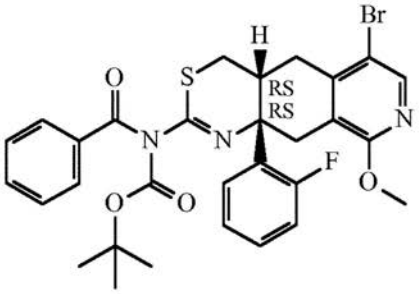
【化４５】



ＴＨＦ（２０ｍＬ）中の中間体２２（１．５ｇ、３．４ｍｍｏｌ）の撹拌混合物にＢＯＣ－無水物（０．９ｇ、４．１ｍｍｏｌ）およびＤＭＡＰ（０．０１ｇ、０．０８２ｍｍｏｌ）を添加し、ｒ．ｍ．をｒ．ｔ．で３ｈ撹拌した。ｒ．ｍ．を$NaHCO_3$飽和水溶液（５ｍＬ）で希釈し、層を分離し、有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～２／９８）で精製して、中間体２３を白色固体として得た（１．１ｇ、６０％、シス）。

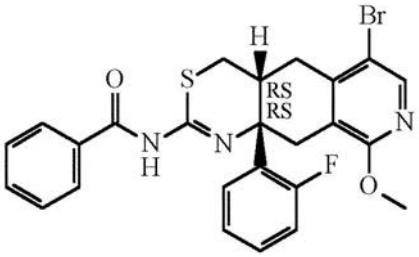
【０１１２】

中間体２４
【化４６】



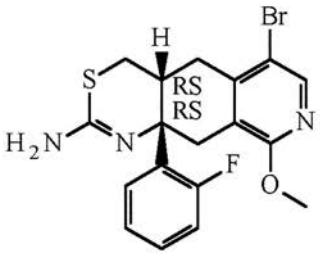
中間体２３（１．１ｇ、２ｍｍｏｌ）のＭｅＣＮ（５０ｍＬ）懸濁液を撹拌し、ＮＢＳ（０．４６ｇ、２．６ｍｍｏｌ）を少量ずつ添加した。１６ｈ後、ｒ．ｍ．をＤＣＭ（０．１Ｌ）およびＮａＨＣＯ$_3$飽和水溶液で希釈し、層を分離した。有機層を塩水で処理し、ＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、固体を得た。この粗生成物をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＥｔＯＡｃ／ヘプタン　０／１００～５０／５０）で精製して、中間体２４を白色固体として得た（０．８ｇ、６４％、シス）。

【０１１３】
中間体２５
【化４７】



ＤＣＭ（２０ｍＬ）中の中間体２４（０．８ｇ、１．３ｍｍｏｌ）の混合物を撹拌し、ＴＦＡ（１ｍＬ、１３ｍｍｏｌ）で処理した。１ｈ後、ｒ．ｔ．においてこの混合物をＮａＨＣＯ$_3$飽和水溶液でｐＨが約８になるまで希釈し、層を分離した。有機層をＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、中間体２５を白色固体として得た（０．６７ｇ、９９％、シス）。

【０１１４】
中間体２６
【化４８】



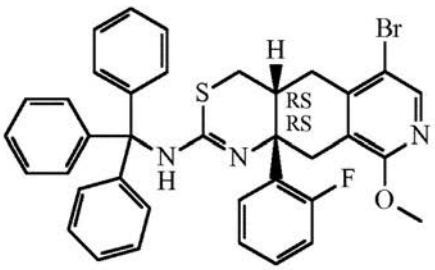
ＤＣＭ（５ｍＬ）中の中間体２５（０．１５ｇ、０．２４ｍｏｌ）の混合物を撹拌し、ＴＦＡ（１ｍＬ、１３ｍｍｏｌ）を添加した。１０分後、ｒ．ｍ．をＤＣＭ（２０ｍＬ）およびＮａＨＣＯ$_3$飽和水溶液でｐＨが塩基性になるまで希釈し、層を分離した。有機層をＭｇＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して油状物を得た。この油状物をＭｅＯＨ（１０ｍＬ）に溶解し、ＤＢＵ（０．３６ｍＬ、２．４ｍｍｏｌ）で処理した。ｒ．ｍ．を６５℃で１６ｈ加熱し、次いでｒ．ｍ．を真空中で濃縮して油状物を得た。この油状物をフラッシュクロマトグラフィー（シリカ、７Ｍアンモニア（ＭｅＯＨ中）／ＤＣＭ　０／１００～４／９６）により精製して油状物を得、これをＥｔ$_2$Ｏでトリチュレートし

た。得られた白色固体を乾燥させて（真空オーブン、６０℃、１ｈ）、中間体２６を得た（４７ｍｇ、４７％、シス）。

【０１１５】

中間体２７

【化４９】

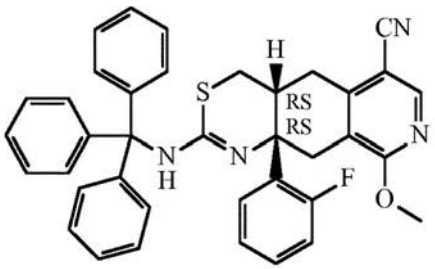


中間体１３の合成で報告したものと同様の合成手順に従って中間体２７を調製した。中間体２６（０．４７ｇ、１．１１ｍｍｏｌ）から出発して中間体２７を得た（０．３９６ｇ、５４％、シス）。

【０１１６】

中間体２８

【化５０】

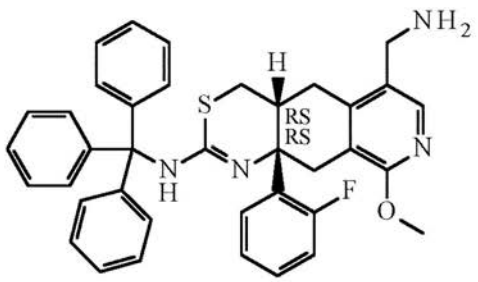


マイクロ波管にジメチルアセトアミド（１０ｍＬ）中のトリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウム（０）（２５ｍｇ、０．０２７ｍｍｏｌ）、１，１’－ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン（３０ｍｇ、０．０５３ｍｍｏｌ）を投入し、窒素で脱気し、次いで中間体２７（１５０ｍｇ、０．２２６ｍｍｏｌ）、亜鉛末（５ｍｇ、０．０７６ｍｍｏｌ）およびシアン化亜鉛（１０８ｍｇ、０．９ｍｍｏｌ）を添加した。管に蓋をし、１２０℃で１２ｈ加熱した。ｒ．ｍ．を冷却し、氷水（３０ｍＬ）に注ぎ、ＥｔＯＡｃ（２×２０ｍＬ）で抽出した。有機層をまとめて水（２×５ｍＬ）で処理し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、褐色の固体を得た。この固体をカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～１／９９）により精製して、中間体２８を白色固体として得（０．１５９ｇ、定量的、シス）、これをそのまま次の工程で使用した。

【０１１７】

中間体２９

【化５１】



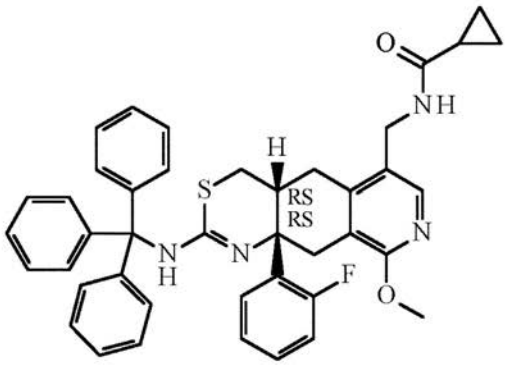
氷のように冷却した中間体２８（０．２４ｇ、０．３９ｍｍｏｌ）のＴＨＦ（１０ｍＬ

）溶液に水素化リチウムアルミニウム（ＴＨＦ中２Ｍ、０．３９ｍＬ、０．７９ｍｍｏｌ）を滴下した。このｒ．ｍ．をｒ．ｔ．に到達させ、１６ｈ撹拌した。次いで、ロッシェル塩飽和溶液を添加し（５ｍＬ）、続いてＥｔＯＡｃ（２０ｍＬ）を添加し、層を分離した。水層をＥｔＯＡｃ（３×１０ｍＬ）で抽出し、有機層をまとめて塩水で洗浄し、$MgSO_4$で乾燥させ、濾過後、真空中で濃縮した。次いで、粗物質をカラムクロマトグラフィー（シリカ、７Ｍアンモニア（ＭｅＯＨ中）／ＤＣＭ　０／１００～５／９５）により精製して、中間体２９（０．１４ｇ、５８％、シス）を得た。

【０１１８】

中間体３０

【化５２】

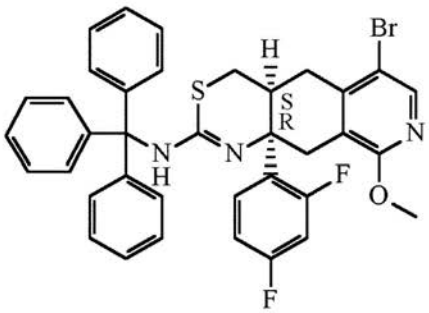


ＤＣＭ（２０ｍＬ）中の中間体２９（０．１２ｇ、０．１９５ｍｍｏｌ）、シクロプロパンカルボン酸（２０ｍｇ、０．２３ｍｍｏｌ）およびトリエチルアミン（０．１ｍＬ、０．７２ｍｍｏｌ）の撹拌混合物にＨＢＴＵ（９０ｍｇ、０．２３７ｍｍｏｌ）を一度に加えた。ｒ．ｔ．で２ｈ撹拌した後、ｒ．ｍ．を水（１ｍＬ）で希釈し、層を分離した。その後、有機層を水（２ｍＬ）および１Ｍ　ＨＣｌ（０．５ｍＬ）で処理し、次いで１Ｍ　ＮａＯＨ（１ｍＬ）で処理した。この溶液を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮して、オフホワイト色の固体を得、これをカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＥｔＯＡｃ／ヘプタン　０／１００～５０／５０）により精製して、中間体３０を白色固体として得た（８５ｍｇ、６４％、シス）。

【０１１９】

中間体３１

【化５３】



中間体１４の合成について報告したものと同様の合成手順（中間体８ａ、９、１０、１１、１２、１３から１４の順に）に従って、中間体８ｂから出発して中間体３１を得た。

【０１２０】

Ｂ．最終化合物の調製

実施例Ｅ１　－　基本手順フローケミストリーによるアミド化合物の調製

１つの容器において、中間体１７（２５ｍｇ）および塩基（例えば、ＤＩＰＥＡ（１７μＬ））を溶媒（例えば、ＮＭＰ（４００μＬ））に溶解した。第２および第３の容器でカップリング剤（例えば、ＨＡＴＵ（１７．６ｍｇ））および酸カップリング剤（２当量）を溶媒（例えば、ＮＭＰ（４００μＬ））に溶解した。最後の容器に酸のストック溶液

（例えば、３３％ＴＦＡ（ＮＭＰ中）（２ｍＬ））を入れた。

【０１２１】

最初の3つの容器をＧｉｌｓｏｎ　２１５に装填し、２５０μＬ注入ループに注入し、続いて各ポンプを３３μＬ／ｍｉｎで作動させながら、４０℃に加熱した２ｍＬステンレス鋼コイル上に注入した。酸（ＴＦＡ）溶液を０．５ｍＬ注入ループに装填し、ピークは、自動的に１２０℃に加熱した２ｍＬステンレス鋼コイルにマッチした。酸（ＴＦＡ）ポンプを３３μＬ／ｍｉｎで作動させた。流出物は、２０μＬのループを通してプラットフォームの精製およびアッセイ部に自動的に注入された。

【０１２２】

ＲＰ　ＨＰＬＣへの言及は、分取ＨＰＬＣを用いて精製されたサンプルに関連する。画分を凍結乾燥法により凍結乾燥した。勾配プロファイルは、必要とする化合物と任意の中間体との間の分解能を最大にするために試料毎に調節した。分取ＨＰＬＣシステムは、以下の構成要素から構成された。

H_2ヘッドを備えたＧｉｌｓｏｎ　３２２ポンプ（０．３～３０ｍｌ／ｍｉｎ）

半分取フローセルを備えたＧｉｌｓｏｎ１５５検出器（経路長０．５ｍｍ）

Ｇｉｌｓｏｎ　８１９インジェクタモジュール

Ｇｉｌｓｏｎ　５０６システムインターフェースモジュール

１００×１６ｍｍチューブが装着されるようにセットされたＧｉｌｓｏｎ　ＦＣ２０４フラクションコレクター

Ｕｎｉｐｏｉｎｔ　５．１１により制御した。

ＨＰＬＣカラム：Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｌｕｎａ、５μｍ　Ｃ１８（２）、１５０ｍｍ×２１．２ｍｍ

【０１２３】

溶媒Ａ：１０ｍＭの酢酸アンモニウムを含有するＨＰＬＣグレード水（ｐＨ未調整）

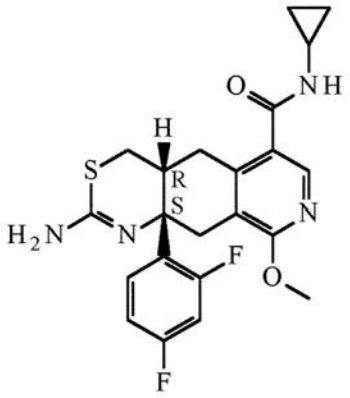
溶媒Ｂ：ＨＰＬＣグレードアセトニトリル

検出：２３０ｎｍおよび２６０ｎｍ

【０１２４】

実施例Ｅ２　－　化合物１の調製

【化５４】

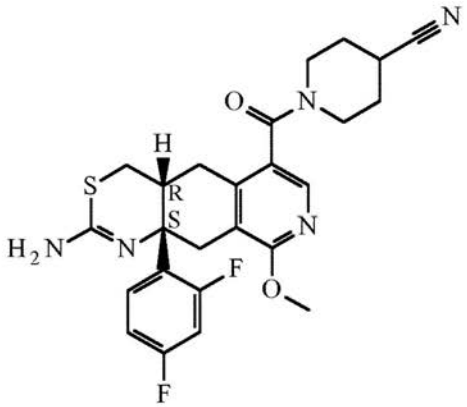


中間体１８（１３５ｍｇ、０．２０ｍｍｏｌ）をＴＦＡ（６ｍＬ）中、６０℃で１．５ｈ撹拌した。ＴＦＡを蒸発させ、有機残留物をNa_2CO_3で中和させた後、ＤＣＭと水との間で分配した。有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、蒸発により濃縮した。これをカラムクロマトグラフィー（シリカ、ＭｅＯＨ／ＤＣＭ　０／１００～８／９２）により精製し、生成物を含有する画分を合わせ、蒸発により濃縮した。さらに生成物をオーブンで終夜乾燥させて、化合物１（５２ｍｇ、６０％）を得た。

【０１２５】

実施例Ｅ３　－　化合物２２の調製

【化５５】

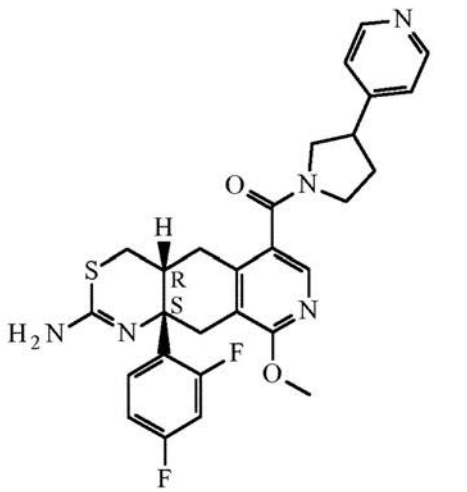


中間体１５（１００ｍｇ、０．１５４ｍｍｏｌ）をＮＭＰ（３００μＬ）に溶解し、Ｎ－エチル－Ｎ－イソプロピルプロパン－２－アミン（８１μＬ、０．４６３ｍｍｏｌ）およびピペリジン－４－カルボニトリル（１７．０１ｍｇ、０．１５４ｍｍｏｌ）を添加し、続いてＨＡＴＵ（７０．４ｍｇ、０．１８５ｍｍｏｌ）を添加した。反応物を１０分間放置し、次いでＬＣＭＳにより分析し、反応が完了したことを確認した。２，２，２－トリフルオロ酢酸（１５１μＬ、１．９７５ｍｍｏｌ）を添加し、この混合物を１２０℃で２０分間加熱した。混合物を水に注ぎ、ＤＣＭで抽出した。有機相を集め、濾過し、蒸発させて、ガムを得、これをＲＰ　ＨＰＬＣ（溶媒Ｂ　－　最小１０％、中間５５％、最大９５％）により精製して、化合物２２を白色固体として得た（２１．６ｍｇ、２８％）。

【０１２６】

実施例Ｅ４　－　化合物２６の調製

【化５６】

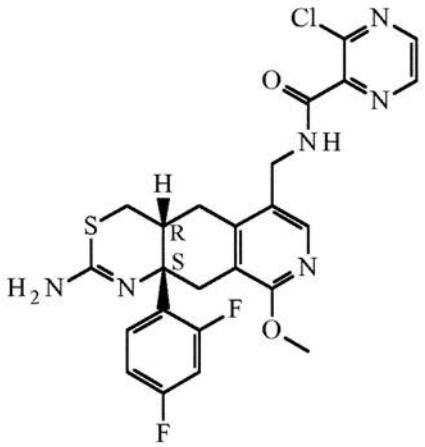


中間体１５（１００ｍｇ、０．１５４ｍｍｏｌ）をＮＭＰ（３００μＬ）に溶解し、Ｎ－エチル－Ｎ－イソプロピルプロパン－２－アミン（１００ｍｇ、０．７７２ｍｍｏｌ）および４－（ピロリジン－３－イル）ピリジン（２２．８８ｍｇ、０．１５４ｍｍｏｌ）を添加し、続いてＨＡＴＵ（７０．４ｍｇ、０．１８５ｍｍｏｌ）を添加した。反応物を１０分間放置し、次いでＬＣＭＳにより分析し、反応が完了したことを確認した。混合物を水に注ぎ、ＤＣＭで抽出した。有機相を集め、濾過し、蒸発させて、ガムを得た。２，２，２－トリフルオロ酢酸（１５１μＬ、１．９７５ｍｍｏｌ）を添加し、この混合物を１２０℃で２０分間加熱した。混合物を水に注ぎ、ＤＣＭで抽出した。有機物を乾燥させ、濾過し、蒸発させて、ガムを得、これをＲＰ　ＨＰＬＣ（溶媒Ｂ　－　最小１０％、中間６０％、最大９５％）により精製して、化合物２６を白色固体として得た（１４．１ｍｇ、１７％）。

【０１２７】

実施例Ｅ５　－　化合物４８の調製

【化５７】

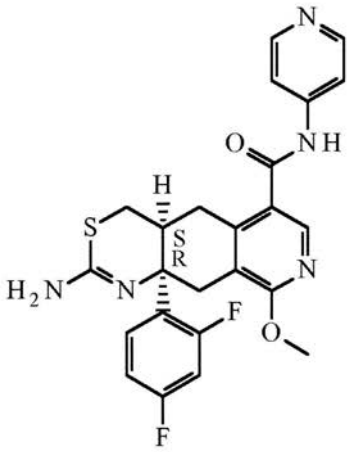


中間体１７（５０ｍｇ、０．０７９ｍｍｏｌ）をＮＭＰ（３００μＬ）に溶解し、Ｎ－エチル－Ｎ－イソプロピルプロパン－２－アミン（４１．３μＬ、０．２３７ｍｍｏｌ）および３－クロロピラジン－２－カルボン酸（１３．７８ｍｇ、０．０８７ｍｍｏｌ）を添加し、続いてＨＡＴＵ（３６．１ｍｇ、０．０９５ｍｍｏｌ）を添加した。反応物を１０分間放置し、次いでＬＣＭＳにより分析し、反応が完了したことを確認した。２，２，２－トリフルオロ酢酸（１５１μＬ、１．９７５ｍｍｏｌ）を添加し、この混合物を１２０℃で２０分間加熱した。混合物を水に注ぎ、ＤＣＭで抽出した。有機物を乾燥させ、濾過し、蒸発させて、ガムを得、これをＲＰ　ＨＰＬＣ（溶媒Ｂ　－　最小１０％、中間５５％、最大９５％）により精製して、化合物４８を白色固体として得た（１０ｍｇ、２４％）。

【０１２８】

実施例Ｅ６　－　化合物４の調製

【化５８】



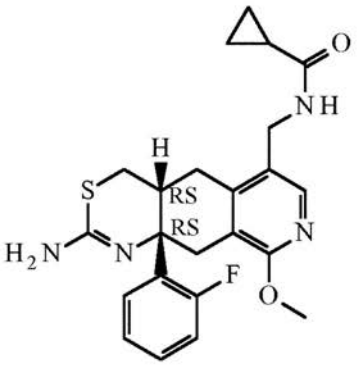
１，３－ジメチル－２－イミダゾリジノン（４４０ｍＬ）およびＴＨＦ（２２０μＬ）中の中間体３１（３３．８ｍｇ、０．０５ｍｍｏｌ）および４－アミノピリジン（５．２ｍｇ、０．０５５ｍｍｏｌ）の溶液（０．１５０ｍｌ／ｍｉｎ）と、ＬＨＤＭＳ（ＴＨＦ中１．０Ｍ、２２０μＬ、０．２２ｍｍｏｌ）の溶液（０．０５０ｍｌ／ｍｉｎ）との２つの溶液を２つのシリンジポンプでＳｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（登録商標）マイクロリアクターに送り、５０℃で混合した（Ｖ＝１ｍＬ、Ｒｔ＝５分）。次いで、ＴＦＡ（８８０μＬ、１１．５ｍｍｏｌ）を粗混合物に加え、マイクロ波照射下において１２０℃で５分間加熱し、溶媒を真空中で蒸発させて、粗生成物を得、これをＲＰ　ＨＰＬＣ（固定相：Ｃ１８　Ｓｕｎｆｉｒｅ　３０×１００ｍｍ　５μｍ、移動相：８０％の０．１％ＴＦＡ水溶液、２０％のCH_3CNから０％の０．１％ＴＦＡ水溶液、１００％のCH_3CN

の勾配）により精製して、化合物４を得た（１１ｍｇ、４３％）。

【０１２９】

実施例Ｅ７　－　化合物２９の調製

【化５９】



ＭｅＯＨ（７ｍＬ）および酢酸（７ｍＬ）中の中間体３０（０．０８５ｇ、０．０１２ｍｍｏｌ）の撹拌混合物を８０℃で１６ｈ加熱した。ｒ．ｍ．を真空中で濃縮し、次いでＤＣＭ（２０ｍＬ）で希釈し、Na_2CO_3飽和水溶液（２ｍＬ）で処理した。層を分離し、有機層を$MgSO_4$で乾燥させ、濾過し、濃縮して、油状物を得、これをカラムクロマトグラフィー（４ｇ、Ｒｅｄｉｓｅｐフラッシュカラム、０～１０％　７Ｎ　NH_3／ＭｅＯＨ（ＤＣＭ中）の勾配）で精製して、化合物２９（０．０３２ｇ、５９％）を白色固体として得た。

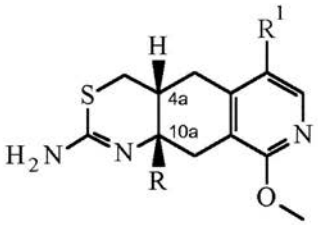
【０１３０】

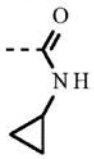
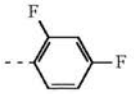
下の表１および２に例示され（＊Ｅｘ．Ｎｏ．）、上記実施例の１つと同様に調製された（Ｅｘ　Ｎｏ．で示される）式（Ｉ）および（ＩＩ）の化合物を列挙する。塩の形態が示されていない場合、その化合物は、遊離塩基として得られたものである。「Ｅｘ．Ｎｏ．」は、実施例番号を指し、そのプロトコルに従ってその化合物が合成された。「Ｃｏ．Ｎｏ．」は、化合物番号を意味する。

【０１３１】

【表１】

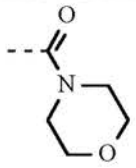
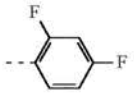
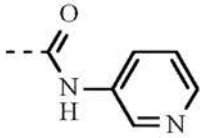
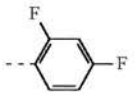
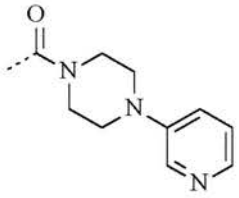
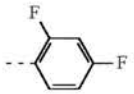
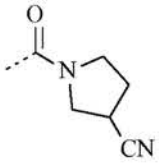
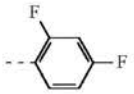
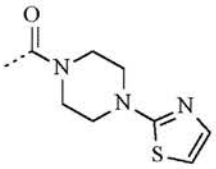
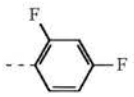
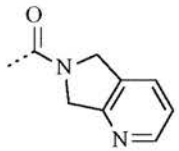
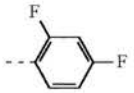
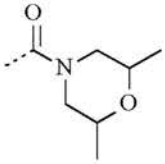
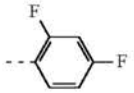
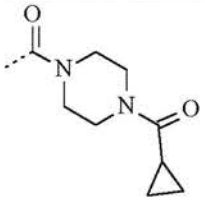
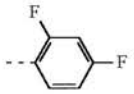
表1. $C_{4a}(R)$, $C_{10a}(S)$配置の式(I)の化合物



Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
1	*E2			
1a				.TFA

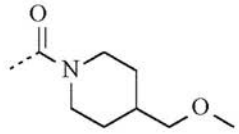
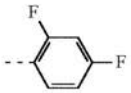
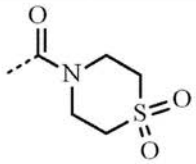
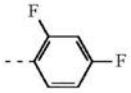
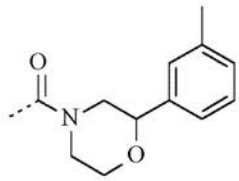
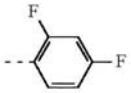
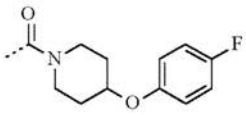
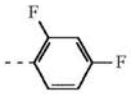
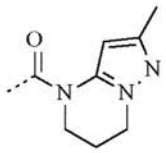
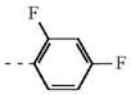
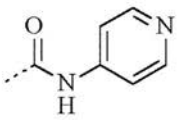
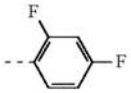
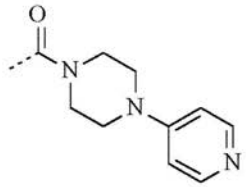
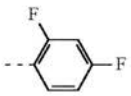
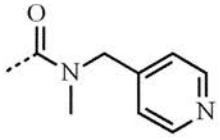
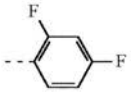
【０１３２】

【表２】

Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
2	E2			
2a				.TFA
3	E2			
5	E3			
6	E3			
7	E3			
8	E3			
9	E3	 シスまたはトランス		
10	E3			

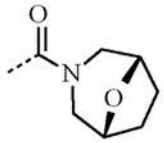
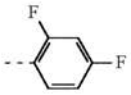
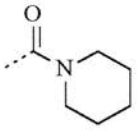
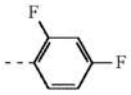
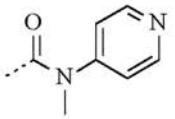
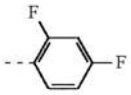
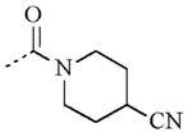
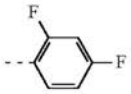
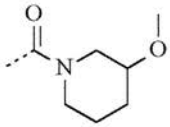
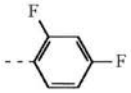
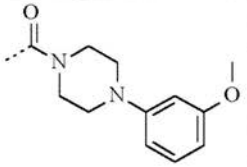
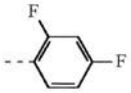
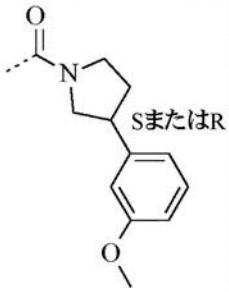
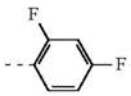
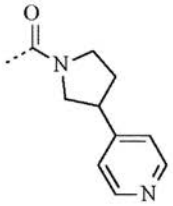
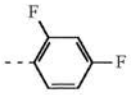
【０１３３】

【表３】

Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
11	E3			
12	E3			
13	E3			
14	E3			
15	E3			
16	E3			
17	E3			
18	E3			

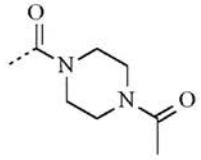
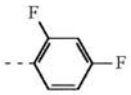
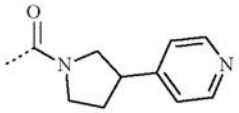
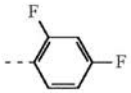
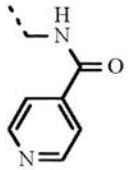
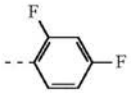
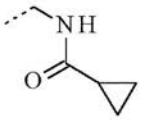
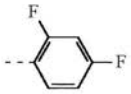
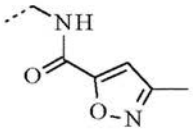
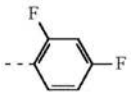
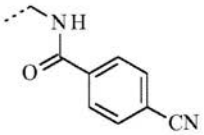
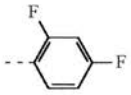
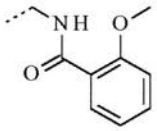
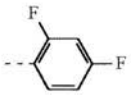
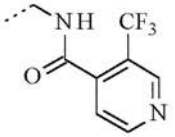
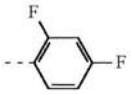
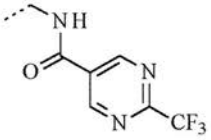
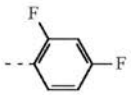
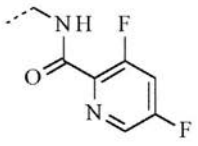
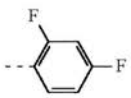
【０１３４】

【表４】

Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
19	E3			
20	E3			
21	E3			
22	*E3			
23	E3			
24	E3			
25	E3			
26	*E6			

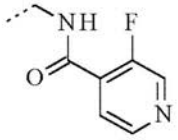
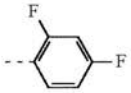
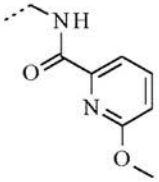
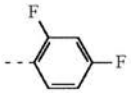
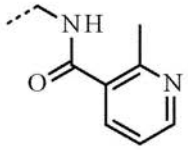
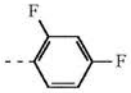
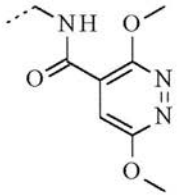
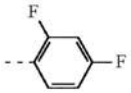
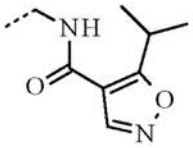
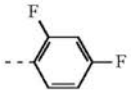
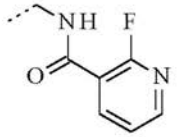
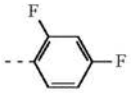
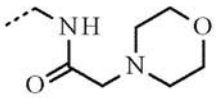
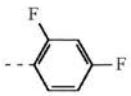
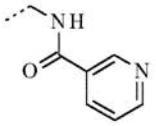
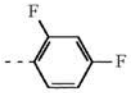
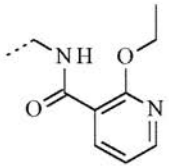
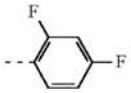
【０１３５】

【表５】

Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
27	E3			
28	E1			
30	E11			.TFA
31	E1			
31a				.TFA
32	E26			
32a				.TFA
33	E1			
34	E1			
35	E1			
36	E1			
37	E1			

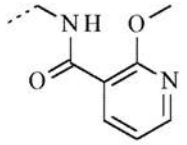
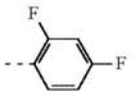
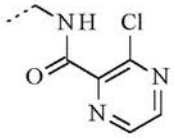
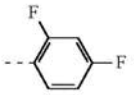
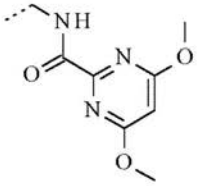
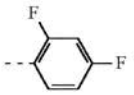
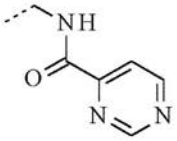
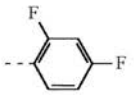
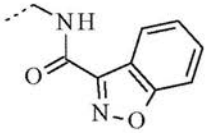
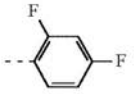
【０１３６】

【表６】

Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
38	E1			
39	E1			
40	E1			
41	E1			
42	E1			
43	E1			
44	E1			
45	E1			
46	E1			

【０１３７】

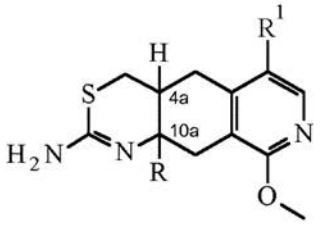
【表７】

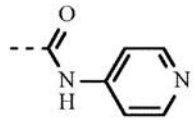
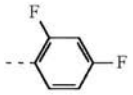
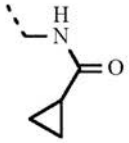
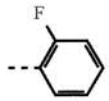
Co. No.	Ex. No.	R^1	R	塩形態
47	E1			
48	*E5			
49	E1			
50	E1			
51	E1			

【０１３８】

【表８】

表2. 式(I)および(II)の化合物



Co. No.	Ex. No.	R^1	R	立体配置/塩
4	*E6			C_{4a}(S);C_{10a}(R) 単一ジアステレオ異性体 ピュアエナンチオマー/ . TFA
29	*E7			C_{4a}(RS);C_{10a}(RS) 単一ジアステレオ異性体シス, ラセミ混合物

【０１３９】

Ｃ．分析の部

ＬＣＭＳ（液体クロマトグラフィー／質量分析法）

ＬＣＭＳ基本手順

高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）測定を、それぞれの方法で指定されたＬＣポンプ、ダイオードアレイ（ＤＡＤ）検出器またはＵＶ検出器およびカラムを使用して行った。必要に応じて追加の検出器を含めた（下の方法の表を参照されたい）。

【０１４０】

カラムからの流れを、大気圧イオン源を備えた質量分析計（ＭＳ）に導入した。化合物の公称モノアイソトピック分子量（ＭＷ）の特定を可能にするイオンを得るために、調整パラメータ（例えば、走査範囲、データ取込時間など）を設定することは、当業者の知識の範囲内である。データ取得は、適切なソフトウェアを用いて行った。化合物は、それらの実測保持時間（R_t）およびイオンで表される。データの表で別に指定しない場合、報告した分子イオンは、［Ｍ＋Ｈ］$^+$（プロトン化分子）および／または［Ｍ－Ｈ］$^-$（脱プロトン化分子）に対応する。複数の同位体パターンを有する分子（例えば、Ｂｒ、Ｃｌ）について、報告される値は、最も低い同位体質量について得られた値である。全ての結果は、用いられた方法に通常付随する実験上の不確実性を伴って得られた。

【０１４１】

【表９】

表 3: LCMS 方法コード(流量は mL/min で表し、カラム温度(T)は℃で表し、分析時間は分で表す)

方法コード	装置	カラム	移動相	勾配	流量 ------- カラム T	分析時間
1	Waters: Alliance®-DAD – ZQ および ELSD 2000 Alltech	Waters : Xterra MS C18 (3.5µm, 4.6×100mm)	A: 25mM CH_3COONH_4 (95% H_2O + 5% CH_3CN 中) B: CH_3CN C: CH_3OH D: (40% CH_3CN および 40% CH_3OH および 20% H_2O (0.25% CH_3COOH を含有)	6.5 min で 100% A から 1% A, 49% B および 50% C へ, 0.5 min で 1% A および 99% B へ, 1 min で 100% D へ,1.0 min 保持, 0.5 min で 100% A へ, そして 1.5min 保持。	1.6 ------- 40	11
1	Waters: Acquity® UPLC® - DAD および SQD	Waters:HSS T3 (1.8µm, 2.1×100mm)	A: 10mM CH_3COONH_4 (95% H_2O + 5% CH_3CN 中) B: CH_3CN	2.10min で 100% A から 5% A へ, 0.90min で 0% A へ, 0.5min で 5% A へ	0.7 ------- 55	3.5
2	Waters: Acquity® UPLC® - DAD および SQD	Waters : BEH C18 (1.7µm, 2.1×50mm)	A: 10mM CH_3COONH_4 (95% H_2O + 5% CH_3CN 中) B: CH_3CN	1.3 min で 95% A から 5% A へ, 0.7 min 保持。	0.8 ------- 55	2
3	Waters: Acquity® IClass UPLC® - DAD および Xevo G2-S QTOF	Waters: CSH™ C18 (1.7µm, 2.1×50mm)	A: 95% CH_3COONH_4 6.5mM + 5% CH3CN, B: CH3CN	4.6min で 95% A から 5% A へ, 0.4min 保持	1 ------- ----- 50	5

【０１４２】

融点

値は、ピーク値または融解範囲であり、この分析方法に通常付随する実験上の不確実性を伴って得られる。

【０１４３】

複数の化合物について、ＤＳＣ８２３ｅ（Ｍｅｔｔｌｅｒ－Ｔｏｌｅｄｏ）で融点を測定した。融点を３０℃／分の温度勾配で測定した。最高温度は、４００℃であった。

【０１４４】

【表１０】

表4. 分析データ – R_t は保持時間(分)を意味し、$[M+H]^+$ は化合物のプロトン化質量を意味し、方法は(LC)MSで使用した方法を指す。

Co. No.	R_t	$[M+H]^+$	方法	融点
1	1.59	445	1	n.d.
2	0.81	475	2	n.d.
3	0.84	482	2	n.d.
4	1.80	482.1	3	n.d.
5	5.17	551.62	3	n.d.
6	5.02	484.53	3	n.d.
7	5.56	557.65	3	n.d.
8	5.05	508.55	3	n.d.
9	5.34	503.58	3	n.d.
10	5.08	542.61	3	n.d.
11	5.49	517.60	3	n.d.
12	5.03	523.59	3	n.d.
13	6.64	565.65	3	n.d.
14	6.68	583.64	3	n.d.
15	3.86	525.59	3	n.d.
16	5.19	482.52	3	n.d.
17	4.45	551.62	3	n.d.
18	4.96	510.57	3	n.d.
19	5.1	501.56	3	n.d.
20	5.57	473.55	3	n.d.
21	4.91	496.54	3	n.d.
22	5.21	498.56	3	n.d.
23	5.33	503.58	3	n.d.
24	6.39	580.66	3	n.d.
25	6.3	565.65	3	n.d.
26	5.04	536.61	3	n.d.
27	4.67	516.58	3	n.d.
29	1.47	441	1	n.d.
30	0.83	496	2	n.d.
31a	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

【０１４５】

【表１１】

Co. No.	R_t	$[M+H]^+$	方法	融点
32a	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
33	5.57	520.57	3	n.d.
34	5.66	525.58	3	n.d.
35	5.32	564.54	3	n.d.
36	5.93	565.53	3	n.d.
37	5.45	532.53	3	n.d.
38	5.02	514.53	3	n.d.
39	5.83	526.57	3	n.d.
40	4.85	510.57	3	n.d.
41	5.46	557.58	3	n.d.
42	6.01	528.59	3	n.d.
43	5.06	514.53	3	n.d.
44	4.71	518.59	3	n.d.
45	4.82	496.54	3	n.d.
46	5.83	540.60	3	n.d.
47	5.81	526.57	3	n.d.
48	5.18	531.98	3	n.d.
49	5.49	557.58	3	n.d.
50	4.97	497.53	3	n.d.
51	5.93	536.57	3	n.d.

n.d. は未測定を意味し、b.r. は広範囲を意味する

【０１４６】

ＮＭＲ

複数の化合物について、^{1}Ｈ　ＮＭＲスペクトルを、４００ＭＨｚで運転するＢｒｕｋｅｒ　ＤＰＸ－４００分光器または６００ＭＨｚで運転する、３６０ＭＨｚで運転するＢｒｕｋｅｒ　ＤＰＸ－３６０分光器において、クロロホルム－ｄ（重水素化クロロホルム、$CDCl_3$）またはＤＭＳＯ－d_6（重水素化ＤＭＳＯ、ジメチル－ｄ６スルホキシド）を溶媒として用いて記録した。化学シフト（δ）は、内部標準として使用したテトラメチルシラン（ＴＭＳ）に対する百万分率（ｐｐｍ）で報告する。

【０１４７】

【表１２】

表5. ^{1}H NMR 結果

Co. No.	^{1}H NMR 結果
2	^{1}H NMR (360 MHz, クロロホルム-*d*) δ ppm 2.80 - 3.45 (m, 10 H) 3.53 - 3.87 (m, 7 H) 3.93 (s, 3 H) 6.79 - 6.94 (m, 2 H) 7.29 - 7.38 (m, 1 H) 7.87 (s, 1 H)
4*	^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2.90 - 3.43 (m, 7 H) 3.96 (s, 3 H) 7.22 - 7.33 (m, 2 H) 7.39 - 7.50 (m, 1 H) 8.17 (d, *J*=6.82 Hz, 2 H) 8.48 (s, 1 H) 8.76 (d, *J*=6.83 Hz, 2 H) 8.91 (br. s, 1 H) 9.54 (br. s, 1 H) 10.96 (br. s., 1 H) 11.66 (s, 1 H)

* チオアミジン基がプロトン化される

【０１４８】

Ｄ．薬理学的な実施例

本発明で提供される化合物は、β部位ＡＰＰ切断酵素１（ＢＡＣＥ１）の阻害剤である。アスパラギン酸プロテアーゼであるＢＡＣＥ１の阻害は、アルツハイマー病（ＡＤ）の処置に適していると考えられている。βアミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）からのβアミロイドペプチド（Ａβ）の産生および蓄積は、ＡＤの発症および進行において重要な役割を果たしていると考えられている。Ａβは、アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）からＡβドメインのＮ末端側およびＣ末端側をそれぞれβ－セクレターゼおよびγセクレターゼで順次切断することにより産生される。

【０１４９】

式（Ｉ）の化合物は、その酵素活性阻害能により、ＢＡＣＥ１において実質的にその効果を有すると予想される。このような阻害剤の挙動は、下記の生化学的蛍光共鳴エネルギー移動（ＦＲＥＴ）に基づくアッセイおよびＳＫＮＢＥ２細胞における細胞αＬｉｓａアッセイを用いて試験され、これらのアッセイは、このような化合物、とりわけ式（Ｉ）による化合物の同定に好適であり、表８および表９に示す。

【０１５０】

ＢＡＣＥ１の生化学的ＦＲＥＴに基づくアッセイ

このアッセイは、蛍光共鳴エネルギー移動アッセイ（ＦＲＥＴ）に基づくアッセイである。このアッセイのための基質は、アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）β－セクレターゼ切断部位の「スェーデン」Ｌｙｓ－Ｍｅｔ／Ａｓｎ－Ｌｅｕ変異を含有する、ＡＰＰ由来の１３アミノ酸ペプチドである。この基質は、２つのフルオロフォアも含有する。すなわち、（７－メトキシクマリン－４－イル）酢酸（Ｍｃａ）は、３２０ｎｍの励起波長と４０５ｎｍの発光とを有する蛍光ドナーであり、２，４－ジニトロフェニル（Ｄｎｐ）は、専有の消光剤アクセプターである。これらの２つの基間の距離は、光励起すると、共鳴エネルギー移動を通してドナー蛍光エネルギーがアクセプターにより顕著に消光されるように選択されている。ＢＡＣＥ１により切断されると、フルオロフォアＭｃａが消光基Ｄｎｐから分離され、ドナーの十分な蛍光収率が回復される。蛍光の増強は、タンパク質分解速度と直線的に相関する。

【０１５１】

簡潔に述べると、３８４ウェルフォーマットで最終濃度０．０４μｇ／ｍｌの組換えＢＡＣＥ１タンパク質を化合物またはＤＭＳＯの存在下においてインキュベーションバッファ（５０ｍＭクエン酸バッファ　ｐＨ５．０、０．０５％ＰＥＧ）中、２０μＭ基質と共に室温で４５０分間インキュベートする。次に、様々なインキュベーション時間（０、３０、６０、９０、１２０および４５０分）で蛍光測定（励起３２０ｎｍおよび発光４０５ｎｍ）によってタンパク質分解量を直接測定する。全ての実験に対して、時間曲線（０分

～１２０分で３０分毎）を使用して、高対照の最小基底シグナルが見出される時間を決定する。この時点（Ｔｘ）のシグナルを、４５０分の時点のシグナルから減算するために使用する。結果をＴ４５０とＴｘとの間の差としてＲＦＵで表す。

【０１５２】

最小二乗和法により、％対照ｍｉｎ対化合物濃度のプロットに対して最良適合曲線をフィットさせる。これから、IC_{50}値（活性の５０％阻害を引き起こす阻害濃度）を得ることができる。

ＬＣ＝低対照値の中央値
＝低対照：酵素を用いない反応
ＨＣ＝高対照値の中央値
＝高対照：酵素を用いた反応
％効果＝１００－［（試料－ＬＣ）／（ＨＣ－ＬＣ）×１００］
％対照＝（試料／ＨＣ）×１００
％対照ｍｉｎ＝（試料－ＬＣ）／（ＨＣ－ＬＣ）×１００

【０１５３】

次の例示化合物を基本的に上記のように試験し、次の活性が示された。

【０１５４】

【表１３】

表 6.

Co. Nr.	FRET に基づく生化学的アッセイ pIC_{50}
1	7.12
1a	7.18
2	6.66
2a	6.62
3	7.12
22	6.89
28	7.69
30	7.53
30a	7.18
31	7.09
31a	6.95
32	6.96
32a	6.74
48	7.66

【０１５５】

ＳＫＮＢＥ２細胞における細胞αＬＩＳＡアッセイ

２つのαＬｉｓａアッセイにおいて、全Ａβレベルと、産生され、ヒト神経芽細胞腫ＳＫＮＢＥ２細胞の培地中に分泌されるＡβ１－４２のレベルとを定量する。このアッセイは、野生型アミロイド前駆体タンパク質（ｈＡＰＰ６９５）を発現するヒト神経芽細胞腫ＳＫＮＢＥ２に基づいている。本化合物を希釈し、これらの細胞に添加し、１８時間インキュベートし、次いでＡβ１－４２および全Ａβの測定を行う。全ＡβおよびＡβ１－４２をサンドイッチαＬｉｓａによって測定する。αＬｉｓａは、ストレプトアビジンコー

トビーズおよび抗体Ａｂ４Ｇ８またはｃＡｂ４２／２６結合アクセプタービーズに付着したビオチン化抗体ＡｂＮ／２５を用いる、それぞれ全ＡβおよびＡβ１～４２を検出するためのサンドイッチアッセイである。全ＡβまたはＡβ１－４２の存在下において、ビーズは、極めて接近する。ドナービーズの励起により一重項酸素分子の放出が起こり、それによりアクセプタービーズで一連のエネルギー移動が起こり、その結果、発光が生じる。発光を１時間のインキュベーション後に測定する（励起６５０ｎｍおよび発光６１５ｎｍ）。

【０１５６】

最小二乗和法により、％対照ｍｉｎ対化合物濃度のプロットに対して最良適合曲線をフィットさせる。これから、IC_{50}値（活性の５０％阻害を引き起こす阻害濃度）を得ることができる。

【０１５７】

ＬＣ＝低対照値の中央値
＝低対照：αＬｉｓａにおいてビオチン化Ａｂを用いることなく、化合物なしで予備インキュベートした細胞
ＨＣ＝高対照値の中央値
＝高対照：化合物なしでプレインキュベートした細胞
％効果＝１００－［（試料－ＬＣ）／（ＨＣ－ＬＣ）×１００］
％対照＝（試料／ＨＣ）×１００
％対照ｍｉｎ＝（試料－ＬＣ）／（ＨＣ－ＬＣ）×１００

【０１５８】

次の例示化合物を基本的に上記のように試験し、次の活性が示された。

【０１５９】

【表１４】

表7.

Co. Nr.	SKNBE2 細胞における 細胞αLisaアッセイ Aβ42 pIC_{50}	SKNBE2 細胞における 細胞αLisaアッセイ 全Aβ pIC_{50}
1	8.02	
1a	7.72	7.64
2	7.32	
2a	7.33	7.3
3	7.25	
22	7.07	
28	7.54	
30	7.31	
30a	7	7.09
31	7.48	
31a	7.39	7.36
32	7.41	
32a	7.07	7.02
48	7.78	

【０１６０】

ＢＡＣＥ２の生化学的ＦＲＥＴに基づくアッセイ

このアッセイは、蛍光共鳴エネルギー移動アッセイ（ＦＲＥＴ）に基づくアッセイである。このアッセイのための基質は、アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）β－セクレターゼ切断部位の「スェーデン」Ｌｙｓ－Ｍｅｔ／Ａｓｎ－Ｌｅｕ変異を含有する。この基質は、２つのフルオロフォアも含有する。すなわち、（７－メトキシクマリン－４－イル）酢酸（Ｍｃａ）は、３２０ｎｍの励起波長と４０５ｎｍの発光とを有する蛍光ドナーであり、２，４－ジニトロフェニル（Ｄｎｐ）は、専有の消光剤アクセプターである。これらの２つの基間の距離は、光励起すると、共鳴エネルギー移動を通してドナー蛍光エネルギーがアクセプターにより顕著に消光されるように選択されている。β－セクレターゼにより切断されると、フルオロフォアＭｃａが消光基Ｄｎｐから分離され、ドナーの十分な蛍光収率が回復される。蛍光の増強は、タンパク質分解速度と直線的に相関する。

【０１６１】

簡潔に述べると、３８４ウェルフォーマットで化合物の非存在下または存在下においてインキュベーションバッファ（５０ｍＭクエン酸バッファ　ｐＨ５．０、０．０５％ＰＥＧ、ＤＭＳＯなし）中、１０μＭ基質と共に最終濃度０．４μｇ／ｍｌの組換えＢＡＣＥ２タンパク質を室温で４５０分間インキュベートする。次に、タンパク質分解量をＴ＝０およびＴ＝４５０で蛍光測定（励起３２０ｎｍおよび発光４０５ｎｍ）によって直接測定する。結果をＴ４５０とＴ０との間の差としてＲＦＵ（相対蛍光単位）で表す。

【０１６２】

最小二乗和法により、％対照ｍｉｎ対化合物濃度のプロットに対して最良適合曲線をフィットさせる。これから、IC_{50}値（活性の５０％阻害を引き起こす阻害濃度）を得ることができる。

【０１６３】

ＬＣ＝低対照値の中央値
＝低対照：酵素を用いない反応
ＨＣ＝高対照値の中央値
＝高対照：酵素を用いた反応
％効果＝１００－［（試料－ＬＣ）／（ＨＣ－ＬＣ）×１００］
％対照＝（試料／ＨＣ）×１００
％対照ｍｉｎ＝（試料－ＬＣ）／（ＨＣ－ＬＣ）×１００

【０１６４】

次の例示化合物を基本的に上記のように試験し、次の活性が示された。

【０１６５】

【表１５】

表8.

Co. Nr.	FRETに基づく生化学的アッセイ pIC_{50}
1	6.77
1a	6.78
2	5.82
2a	5.84
3	6.55
22	5.96
28	6.01
30	6.45
30a	6.16
31	6.98
31a	6.9
32	6.51
32a	6.23
48	6.7

【０１６６】

生化学的アッセイ　－　自動

一般的方法

他に示さない限り、全ての生化学物質は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｐｏｏｌｅ、Ｄｏｒｓｅｔ、Ｕ．Ｋ．から購入し、分析用またはより高級な非水性溶媒はＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｌｏｕｇｈｂｏｒｏｕｇｈ、Ｕ．Ｋ．から購入した。ＭｉｌｌｉＱ水（Ｅｌｉｘ　５＆ＭｉｌｌｉＱ　Ｇｒａｄｉｅｎｔ；Ｍｅｒｃｋ　Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を、生物学的バッファを作るためのベース水性溶媒として使用した。５０ｍＭクエン酸溶液（１．００２４４；Ｍｅｒｃｋ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を５０ｍＭクエン酸三ナトリウム（１．０６４４８；Ｍｅｒｃｋ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）の撹拌溶液に最終ｐＨが５．０に達するまで添加することによってベースアッセイバッファを調製した。これに、ポリエチレングリコール（「ＰＥＧ」）（Ｐ１４５８；Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）の４０％溶液を０．０５％の最終濃度まで添加し、したがって、ベースバッファは、０．０５％ＰＥＧを含有する５０ｍＭクエン酸ナトリウム、ｐＨ５．０から構成された。全てのアッセイを３８４ウェルアッセイプレート（Ｃｏｓｔａｒ　４５１４；Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）でルーチン的に実施し、３７±１℃で６０分間インキュベートした後、終点蛍光強度を読み取った。（７－メトキシルクマリン－４－イル）酢酸ベースの基質β－セクレターゼ基質ＶＩ（Ｍ２４６５；Ｂａｃｈｅｍ）を１００％ＤＭＳＯ（Ｄ／４１２１／ＰＢ０８；ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）中の１ｍＭストックとして調製した。ベースバッファにＤＭＳＯを最終濃度１％（体積／体積）まで添加することによってアッセイバッファを調整した。β－セクレターゼＩ（１８．６４μＭ；「ＢＡＣＥ１」）およびβ－セクレターゼＩＩ（４．６５μＭ；「ＢＡＣＥ２」）をＪａｎｓｓｅｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａ、Ｂｅｅｒｓｅ、Ｂｅｌｇｉｕｍから入手し、凍結アリコート（約２０μｌ）として保存し、必要に応じて解凍した。

【０１６７】

手動アッセイ
典型的には、１２．５μｌのアッセイバッファをアッセイプレートのＢ～Ｐ列に分配した。Ａ列に対し、アッセイバッファで適切に希釈した試験化合物１８．７５μｌを添加した。試料の６．２５μｌアリコートをＡ列からＢ列に移し、試料をピペットで３回混合した。このプロセスをプレートに沿って繰り返し、６．２５μｌの溶液をＮ列での混合後に廃棄した。Ｏ列およびＰ列を陽性および陰性対照とした。Ｐ列に６．２５μｌのベースバッファを加えた。Ａ列～Ｏ列に対し、ベースバッファで希釈した６．２５μｌの酵素（新しく調製した４０ｎＭのＢＡＣＥ１または４０ｎＭのＢＡＣＥ２）を加えた。１００％ＤＭＳＯ溶液中の１ｍＭをＨＰＬＣグレードの水（Ｏｐｔｉｍａ　Ｗ６－２１２；ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）に希釈して作った、新たに調製した８０μＭ基質６．２５μｌを全ウェルに添加し、アッセイを開始した。アッセイプレートを覆い、３７±１℃で６０分間インキュベートした。ウェルの蛍光強度を、３６０／４０５ｎｍ（励起／発光）で１ウェル当たり９回の読み取りプロトコル（５０ｍｓインテグレーション；密度３、０．２５ｍｍ間隔；ＳｐｅｃｔｒａＭＡＸ　Ｐａｒａｄｉｇｍプレートリーダー；ＴＵＮＥカートリッジ；ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏ　ｖ　６．３ソフトウェア；Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ　ＵＫ　Ｌｔｄ．、Ｗｏｋｉｎｇｈａｍ、Ｂｅｒｋｓｈｉｒｅ，ＵＫ）を用いて読み取り、９回の読み取りの中央値をテキストファイルとして出力した。ベンダーから供給される非線形回帰分析モデルを用いたＰｒｉｓｍソフトウェアｖ６．３（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｉｎｃ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ、ＵＳＡ）により、データの分析を行った。IC_{50}を決定するために、４パラメータロジスティック可変傾斜モデルを用いて、生蛍光強度データを陰性対照に固定された「ボトム」にフィットさせた。

【０１６８】
自動バイオアッセイハードウエア
ＣｙｃｌＯｐｓバイオアッセイモジュールは、画分収集ステーション、試薬ステーション、液体処理ロボット、プレートストアおよび統合プレートリーダー（ＳｐｅｃｔｒａＭＡＸ　Ｐａｒａｄｉｇｍ、ＴＵＮＥカートリッジ、ＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏ　ｖ６．３；Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）から構成された。分画収集ステーションは、Ｈポータルキャリッジ（Ｆｅｓｔｏ　ＡＧ＆ＣｏＫＧ、Ｅｓｓｌｉｎｇｅｎ、Ｇｅｒｍａｎｙ）上に搭載された３８４ウェル収集プレート（Ｐ－３８４－２４０ＳＱ－Ｃ；Ａｘｙｇｅｎ、Ｕｎｉｏｎ　Ｃｉｔｙ、ＣＡ、ＵＳＡ）、シリンジドライブおよび２００μｌループを備えた２方向６ポート注入バルブ（ＶＩＣＩ　ＡＧ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ、Ｓｃｈｅｎｋｏｎ　Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）から構成された。注入バルブの出力は、３８４ウェル収集プレートの全ての位置にアドレス可能であった。試薬ステーションは、油圧冷却（１０～１２℃）アルミニウムセグメントからなり、各セグメントは、ＳＢＳマイクロタイタープレートフットプリントを収容するように作製された。独立したアドレス可能な試薬ステーションをこれらのセクション内に収容した。必要に応じて、標準的な実験室用プラスチック器具（例えば、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブ、Ｆａｌｃｏｎチューブなど）を収容するために特注のアルミニウムハウジングを使用した。必要に応じて、試薬リザーバを覆い、蓋は、テフロン（登録商標）被覆プローブが溶液に到達できる穴を含んだ。液体処理システムに存在する試薬は以下のとおりであった。
・覆った試薬リザーバ（３９０００７；Ｐｏｒｖａｉｒ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｌｔｄ．、Ｌｅａｔｈｅｒｈｅａｄ、ＵＫ）に収容されたプローブ洗浄溶液（約１５０ｍｌ；３３．３：３３．３：３３．３　水：プロパン－２－オール（Ｐ／７５０８／１７；ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）：メタノール（Ｍ／４０５８／１７；ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ））
・アッセイバッファ溶液
・ＨＰＬＣグレード水
・５ｍｌ用Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブ（００３０　１１９．４０１；Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ）に入った、ベースバッファで希釈された４０ｎＭのＢＡＣＥ１
・１．５ｍｌ用Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブ（００３０　０００．９１９；Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ）に入った、１００ｍＭの塩化ナトリウムおよび２０％グリセロール（１６３７４

；ＵＳＢ　Ｃｏｒｐ．、Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ、ＯＨ、ＵＳＡ）を含有する２５ｍＭのトリス（６４８３１１；Ｍｅｒｃｋ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｎｏｔｔｉｎｇｈａｍ、Ｕ．Ｋ．）、ｐＨ７．５で希釈された４００ｎＭのＢＡＣＥ２
・１．５ｍｌ用Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブに入った、１００％ＤＭＳＯ中の１ｍＭの基質（周囲温度で保持）
・２本の空の１．５ｍｌ用Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブ
【０１６９】
液体処理システムは、グリッパーアームおよび単一のテフロン被覆ステンレス鋼プローブを備えたＬＩＳＳＹシステム（Ｚｉｎｓｓｅｒ　Ａｎａｌｙｔｉｋ　ＧｍｂＨ、Ｆｒａｎｋｆｕｒｔ、Ｇｅｒｍａｎｙ）から構成された。全ての液体処理工程間において、テフロン被覆ステンレス鋼プローブをプローブ洗浄溶液で洗浄し、続いてシステム液（水）で洗浄した。バイオアッセイシステムの制御は、ＷｉｎＬＩＳＳＹソフトウェア（Ｚｉｎｓｓｅｒ　Ａｎａｌｙｔｉｋ）およびＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏ（これは、ＷｉｎＬＩＳＳＹ自動化コマンド制御下にあった）を使用して行った。プレートストアは、アッセイプレートのスタック（Ｃｏｓｔａｒ　４５１４）を収容した。入力リレーおよび出力リレーは、バイオアッセイモジュールとＣｙｃｌＯｐｓ制御ソフトウェアとの間の接点閉鎖制御およびフィードバックを可能にした。プレートストアは、液体処理システムによって到達され得るアッセイプレートのスタックを収容するアルミニウムラックであった。
【０１７０】
自動バイオアッセイプロセス
希釈モジュールの出力は、「ロード」位置に設置された収集ステーション注入弁を通って流れた。入力ポーリングモードに設定されたＷｉｎＬＩＳＳＹにより、ＣｙｃｌＯｐｓ制御ソフトウェアによる接点閉鎖でバイオアッセイプロトコルを開始した。第１の動作は注入弁を「注入」位置に作動させ、ループ内容物を分離し、画分収集システムは、ループ内容物を収集プレート上のアドレス可能なウェルに分配した。同時に、液体処理システムは、アッセイプレートを液体処理ベッド上のアッセイステーションに送達した。アッセイプレートのカラムに対し、液体ハンドリングシステムは、１２．５μｌのアッセイ緩衝液をＢ列からＰ列までアッセイプレートの２つのカラムに分配した。Ａ列には、収集プレートの各ウェルから１８．７５μｌの試験化合物を加えた。Ａ列からのサンプルの６．２５μｌアリコートをＢ列に移した。このプロセスを両方のカラムに対してプレートに沿って繰り返し、６．２５μｌの試薬をＮ列で廃棄した。Ｏ列およびＰ列は、陽性対照および陰性対照とした。Ｐ列に６．２５μｌのアッセイバッファを加えた。第１のカラムのＡ列～Ｏ列に対し、ベースバッファ中に保存された６．２５μｌの４０ｎＭのＢＡＣＥ１を添加した。ＢＡＣＥ２酵素を添加するために、１７．５μｌの４００ｎＭのＢＡＣＥ２を１５７．５μｌのベースバッファで希釈した。これを、指定された受入Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブ中で１７５μｌの溶液を５回ピペッティングすることによって混合し、次いで６．２５μｌの希釈ＢＡＣＥ２をそれぞれのカラムに加えた。ＭＣＡ基質について、１００％ＤＭＳＯ中の３０．８μｌの１ｍＭのＭＣＡ基質を３８５μｌのＨＰＬＣ水で希釈した。これを、指定された受入Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆチューブ中で４００μｌを５回ピペッティングすることによって混合し、次いで６．２５μｌをそれぞれのカラムに加えた。次いで、アッセイプレートをプレートリーダーキャリッジに移し、引出しを閉じ、アッセイインキュベーションを開始した。６０分後、ＷｉｎＬＩＳＳＹは、蛍光強度を読み取るプロトコルファイルをロードして実行するようにプレートリーダーに指示するサブルーチンを実行した。このプロトコルファイルは、マイクロタイタープレートを読み取り、対応するデータをテキストファイルとして書き込むのに必要なパラメータを含んだ。１ウェル当たり９回の読み取りプロトコル（５０ｍｓインテグレーション；密度３、０．２５ｍｍ間隔）のプロトコルを用いて、蛍光強度を３６０／４０５ｎｍ（励起／発光）で読み取り、９回の読み取りの中央値をテキストファイルとして出力した。
【０１７１】
ＣｙｃｌＯｐｓバイオアッセイデータ分析

ＣｙｃｌＯｐｓソフトウェアを、バイオアッセイ共有データファイルフォルダをポーリングするように設定した。データを保存する際、ＷｉｎＬＩＳＳＹは、バイオアッセイが完了したことをＣｙｃｌＯｐｓソフトウェアに通知する出力接点閉鎖信号を送信した。ＣｙｃｌＯｐｓソフトウェアが開き、処理し、データを分析した。データ処理は、被験物質の各濃度を対応する列に（希釈モジュールから受け取ったデータと共に）付加することからなった。その後、データは、４パラメータロジスティックモデルを用いる非線形回帰分析によって分析され（ＭＡＴＬＡＢ；ＭａｔｈＷｏｒｋｓ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、Ｕ．Ｋ．）、IC_{50}が決定された。スパンは、ベースライン（すなわちＰ列）と最大観察陽性対照率（すなわちＯ列）との間で固定した。データの品質を維持するために、自動バイオアッセイデータ分析を管理するためのルールを設定した。第１の例において、７５パーセント以上の活性または２５パーセント以下の活性が観察された場合、データを排除した。これにより、良好な分析を実施するのに十分な滴定データが存在することが確実になった。その後、適合の質をＲ－２乗値によって判定した。この値が０．８５を下回った場合、データを排除した。全ての場合において、排除は、システムに報告されるバイオアッセイ失敗タグをもたらした。外れ値の分析を、以前に記載されているように（Ｍｏｔｕｌｓｋｙ，Ｈ．Ｊ．ａｎｄ　Ｂｒｏｗｎ，Ｒ．Ｅ．，（２００６），ＢＭＣ　Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ，７，１２３）、Ｑ値１０％で行った。自動IC_{50}分析では、適合フラグのエラーが生成される前に最大３つの外れ値を除外することができる。バイオアッセイデータの交差検証を、非線形回帰分析４パラメータロジスティック可変傾斜モデルを用いるＰｒｉｓｍソフトウェアｖ６．３（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｉｎｃ．）を用いて同じものを分析して、生蛍光強度データを陰性対照に固定された「ボトム」に適合させることによって達成した。

【０１７２】

【表１６】

表9.

Co. No.	自動アッセイ BACE1 pIC_{50}	自動アッセイ BACE2 pIC_{50}
1a	7.4	7.14
2a	7.24	6.49
5	6.84	6.49
6	7.25	6.55
7	6.49	6.06
8	6	5.45
9	6.44	5.67
10	6.31	5.84
11	6.81	6.11
12	6.3	6.08
13	7.16	6.51
14	7.96	7.41
16	7.27	6.86
17	6.8	5.625
18	8.07	7.52
19	7.73	6.93
20	7.3	6.71
21	6.95	6.49
22	7.46	6.45
23	7.21	6.49
24	7.21	7.2
25	7.83	7.055
26	7.805	6.295
27	6.02	5.38
30a	7.38	6.33
31a	7.15	7.06
32a	7.2	6.76
33	7.24	6.75
34	6.66	6.27
35	6.86	6.14
36	7.66	7.44
37	7.6	7.15
38	7.72	6.94
39	6.74	6.41
40	6.95	6.73
41	7.1	6.29

【０１７３】

【表１７】

Co. No.	自動アッセイ BACE1 pIC_{50}	自動アッセイ BACE2 pIC_{50}
42	7.13	6.86
43	7.68	7.01
44	7.38	7.1
45	8.07	7.53
46	7.44	6.39
47	7.59	6.68
48	7.915	7.14
49	7.46	6.75
50	6.94	6.51

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2018/055403

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D513/04 A61K31/542 A61P25/28
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)
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 practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI 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.
A,P	WO 2017/051276 A1 (PFIZER [US]) 30 March 2017 (2017-03-30) claims; examples	1-15
A	US 2011/009395 A1 (AUDIA JAMES EDMUND [US] ET AL) 13 January 2011 (2011-01-13) claims; examples	1-15

-/--

[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 application or patent but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 April 2018	19/04/2018

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	Fazzi, Raffaella

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2018/055403

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GONZALEZ-MUNOZ G C ET AL: "Old phenothiazine and dibenzothiadiazepine derivatives for tomorrow's neuroprotective therapies against neurodegenerative diseases", EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, FR, vol. 45, no. 12, 2010, pages 6152-6158, XP027526586, ISSN: 0223-5234 [retrieved on 2010-11-25] page 6153 -----	1-15

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2018/055403

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017051276 A1	30-03-2017	AU 2016325665 A1	08-03-2018
		CA 2942599 A1	24-03-2017
		TW 201726688 A	01-08-2017
		US 2017088558 A1	30-03-2017
		US 2017305931 A1	26-10-2017
		WO 2017051276 A1	30-03-2017
US 2011009395 A1	13-01-2011	AR 077277 A1	17-08-2011
		AU 2010270691 A1	22-12-2011
		BR 112012000525 A2	15-09-2015
		CA 2764429 A1	13-01-2011
		CN 102471296 A	23-05-2012
		CO 6480979 A2	16-07-2012
		CR 20120011 A	09-02-2012
		DO P2012000004 A	31-01-2012
		EA 201270149 A1	29-06-2012
		EC SP12011581 A	29-02-2012
		EP 2451793 A1	16-05-2012
		HN 2012000012 A	26-05-2014
		JP 5666578 B2	12-02-2015
		JP 2012532874 A	20-12-2012
		KR 20120027482 A	21-03-2012
		MA 33492 B1	01-08-2012
		NZ 596579 A	20-12-2013
		PE 06322012 A1	26-05-2012
		SG 177594 A1	28-02-2012
		TN 2011000673 A1	24-05-2013
		TW 201113289 A	16-04-2011
		US 2011009395 A1	13-01-2011
		US 2012323001 A1	20-12-2012
		WO 2011005738 A1	13-01-2011
		ZA 201109385 B	29-05-2013

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ　25/16　(2006.01)	Ａ６１Ｐ　25/16	

(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,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,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(74)代理人　100104282
弁理士　鈴木　康仁
(72)発明者　ヴァン　ブランド，スヴェン，フランシスクス，アンナ
ベルギー国　２３４０　ベルセ，トルンハウッサーヴェヒ　３０，ヤンセン　ファーマシューティカ　エヌ．ベー．内
(72)発明者　ジーセン，ヘンリクス，カコブス，マリア
ベルギー国　２３４０　ベルセ，トルンハウッサーヴェヒ　３０，ヤンセン　ファーマシューティカ　エヌ．ベー．内
(72)発明者　ヴォス，アン，マルレーン
ベルギー国　２３４０　ベルセ，トルンハウッサーヴェヒ　３０，ヤンセン　ファーマシューティカ　エヌ．ベー．内
(72)発明者　エルリッチ，ダニエル
ベルギー国　２３４０　ベルセ，トルンハウッサーヴェヒ　３０，ヤンセン　ファーマシューティカ　エヌ．ベー．内

Ｆターム(参考)　4C072 AA01 AA07 BB02 BB06 CC02 CC16 EE16 FF07 GG01 GG07
GG08 HH01 HH02 HH07 HH08 HH10 JJ03 MM10 UU01
4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 CB29 GA07 GA08 GA09 GA10 MA01
MA04 NA14 ZA02 ZA16