

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6470757号
(P6470757)

(45) 発行日 平成31年2月13日 (2019. 2. 13)

(24) 登録日 平成31年1月25日 (2019. 1. 25)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 413/10	(2006. 01)	C O 7 D 413/10	C S P
A 6 1 K 31/4245	(2006. 01)	A 6 1 K 31/4245	
A 6 1 P 19/02	(2006. 01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 29/00	(2006. 01)	A 6 1 P 29/00	1 O 1
A 6 1 P 25/00	(2006. 01)	A 6 1 P 25/00	

請求項の数 38 (全 55 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-543299 (P2016-543299)
 (86) (22) 出願日 平成26年9月15日 (2014. 9. 15)
 (65) 公表番号 特表2016-530334 (P2016-530334A)
 (43) 公表日 平成28年9月29日 (2016. 9. 29)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2014/086538
 (87) 国際公開番号 W02015/039587
 (87) 国際公開日 平成27年3月26日 (2015. 3. 26)
 審査請求日 平成29年9月4日 (2017. 9. 4)
 (31) 優先権主張番号 201310433018.6
 (32) 優先日 平成25年9月22日 (2013. 9. 22)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 516084848
 スーチョウ・コネクト・バイオフィーマシ
 ユーティカルズ・リミテッド
 中華人民共和国・215400・ジアン
 ・タイカン シティ・チャオ ヤン ド
 ルー・シャンタン ファジャーン ビルデ
 イング・ナンバー3・テンス フロア
 (74) 代理人 100098394
 弁理士 山川 茂樹
 (74) 代理人 100064621
 弁理士 山川 政樹
 (72) 発明者 ジェン, ウェイ
 アメリカ合衆国・92130・カリフォル
 ニア州・サンディエゴ・ヴィア キャン
 デイス・4128・スイート・145
 最終頁に続く

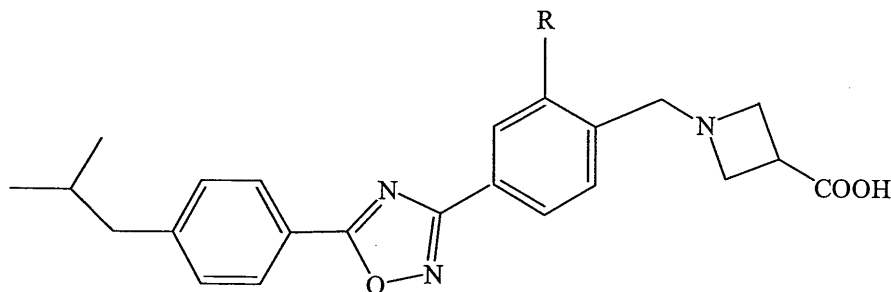
(54) 【発明の名称】 免疫調節のための化合物及びその使用及びそれを含む医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 I :

【化1】



式 I

(式中、Rはハロゲン又はC₁-C₆アルキルである)で表される化合物。

【請求項2】

RはF、Cl又はBrであり、あるいはRはC₁-C₃アルキルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

Rはメチルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項 4】

S 1 P 1 が媒介する疾患又は状態の治療のための薬物を製造するための化合物の使用であって、

前記疾患又は状態は、関節リウマチ、多発性硬化症、炎症性腸炎、自己免疫疾患、慢性炎症性疾患、喘息、炎症性ニューロパチー、関節炎、移植、クローン病、潰瘍性大腸炎、エリテマトーデス、乾癬、虚血再灌流障害、固形腫瘍、血管新生に関する疾患、血管疾患、疼痛、急性ウイルス性疾患、炎症性腸疾患、インスリン及び非インスリン依存性糖尿病並びに他の関連免疫疾患から成る群から選択される、

請求項 1 から 3 のいずれかに記載の化合物の使用。

【請求項 5】

前記疾患又は状態は、多発性硬化症、関節リウマチ、炎症性腸炎及び乾癬から成る群から選択される、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 6】

請求項 1 から請求項 3 に記載の化合物及び任意で医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

【請求項 7】

錠剤、坐薬、分散錠、腸溶錠、咀嚼錠、口腔内崩壊錠、カプセル、糖衣製剤、顆粒、乾燥粉末、経口服液、小型注射針、注射用凍結乾燥粉末又は大容量非経口服液の形態である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

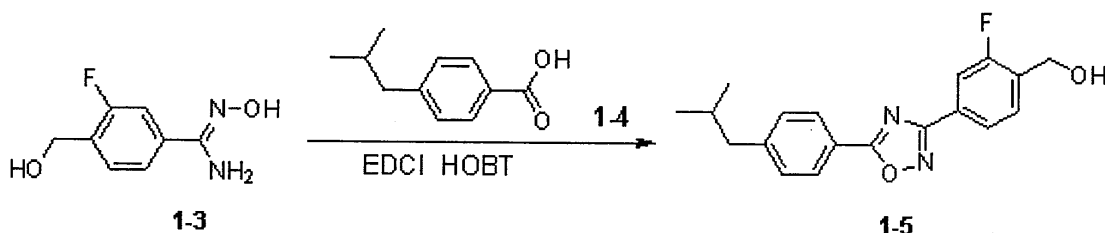
前記医薬的に許容可能な担体は、希釈剤、可溶化剤、崩壊剤、懸濁剤、滑沢剤、バインダ、フィラー、香味料、甘味料、抗酸化剤、界面活性剤、防腐剤、ラッピング剤及び着色料から成る群から選択される、請求項 6 または 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

以下の：

(1) 式 1 - 3 の 3 - フルオロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミンを式 1 - 4 の 4 - イソブチル安息香酸と縮合剤 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド及び 1 - ヒドロキシベンゾトリゾールの存在下で反応させることで式 1 - 5 :

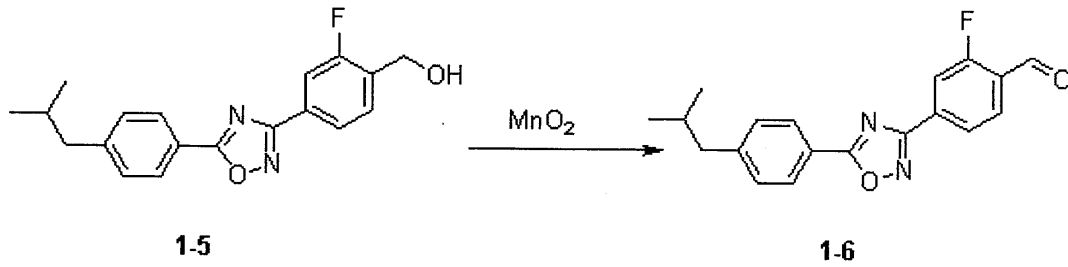
【化 2】



の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールを生成するステップと、

(2) ステップ (1) で得られた式 1 - 5 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールを二酸化マンガンと反応させることで式 1 - 6 :

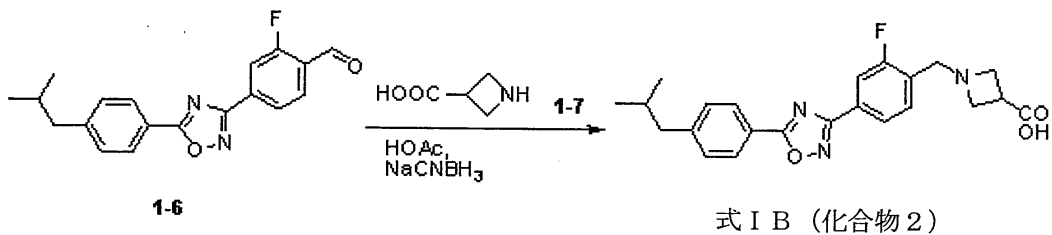
【化 3】



の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドを生成するステップと、

(3) ステップ (2) で得られた式 1 - 6 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドを式 1 - 7 のアゼチジン - 3 - カルボン酸と、触媒としての酢酸及び還元剤としてのナトリウムシアノボロヒドリドを使用して反応させることで式 I B :

【化 4】



の化合物を生成するステップとを含む、1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸の合成方法。

【請求項 1 0】

ステップ (1) は、式 1 - 5 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールの生成後に、得られた粗生成物を精製するステップも含む、

請求項 9 に記載の合成方法。

【請求項 1 1】

前記精製をカラムクロマトグラフィ又は結晶化で行う、請求項 1 0 に記載の合成方法。

【請求項 1 2】

前記精製を結晶化により行う場合、利用する結晶化溶媒は、メタノール、エタノール、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル及び水から選択される 1 種以上である、請求項 1 1 に記載の合成方法。

【請求項 1 3】

利用する前記結晶化溶媒はメタノールと水との混合物である、請求項 1 2 に記載の合成方法。

【請求項 1 4】

前記結晶化溶媒は、体積基準で 3 : 1 の比のメタノールと水との混合物である、請求項 1 3 に記載の合成方法。

【請求項 1 5】

前記粗生成物 (g 、重量基準) の前記結晶化溶媒 (m l 、体積基準) に対する比は 1 : 3 ~ 2 0 である、請求項 1 2 に記載の合成方法。

【請求項 1 6】

前記粗生成物 (g 、重量基準) の前記結晶化溶媒 (m l 、体積基準) に対する比は 1 : 5 である、請求項 1 2 に記載の合成方法。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

前記結晶化を 20 で行う、請求項 11 に記載の合成方法。

【請求項 18】

ステップ(1)の前記反応は、アセトニトリル、N-メチルピロリドン及びN,N-ジメチルホルムアミドから選択される1種以上の反応溶媒中で行われ、前記反応は、80~140で行われ、式1-3の3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンの式1-4の4-イソブチル安息香酸に対するモル比は1:1~2.0である、請求項9から17のいずれか一項に記載の合成方法。

【請求項 19】

ステップ(1)において、前記反応溶媒はN,N-ジメチルホルムアミドである、請求項18に記載の合成方法。

10

【請求項 20】

前記反応温度は130~140である、請求項18に記載の合成方法。

【請求項 21】

式1-3の3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンの式1-4の4-イソブチル安息香酸に対するモル比は1:1~1.5である、請求項18に記載の合成方法。

【請求項 22】

式1-3の3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンの式1-4の4-イソブチル安息香酸に対するモル比は1:1~1.2である、請求項18に記載の合成方法。

20

【請求項 23】

ステップ(2)の前記反応は、トルエン、テトラヒドロフラン及び酢酸エチルから選択される1種以上の反応溶媒中で行われ、式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(g、重量基準)の前記反応溶媒(ml、体積基準)に対する比は1:10~30であり、前記反応は40~70で行われ、式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は1:4~10である、請求項9に記載の合成方法。

30

【請求項 24】

ステップ(2)において、前記反応溶媒は酢酸エチルである、請求項23に記載の合成方法。

【請求項 25】

式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(g、重量基準)の前記反応溶媒(ml、体積基準)に対する比は1:10である、請求項23に記載の合成方法。

【請求項 26】

前記反応温度は60~70である、請求項23に記載の合成方法。

40

【請求項 27】

式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は1:5~6である、請求項23に記載の合成方法。

【請求項 28】

式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は1:6である、

50

請求項 23 に記載の合成方法。

【請求項 29】

ステップ(3)の前記反応は、テトラヒドロフラン及び/又はメタノールから選択される反応溶媒中で行われ、式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドの式1-7のアゼチジン-3-カルボン酸に対するモル比は1:1~1.2であり、式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドのナトリウムシアノボロヒドリドに対するモル比は1:0.5~6であり、前記反応は0~30で1~16時間の反応時間にわたって行われる、請求項9に記載の合成方法。

10

【請求項 30】

ステップ(3)において、前記反応溶媒はメタノールである、請求項29に記載の合成方法。

【請求項 31】

式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドの式1-7のアゼチジン-3-カルボン酸に対するモル比は1:1~1.1である、
請求項29に記載の合成方法。

【請求項 32】

式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドの式1-7のアゼチジン-3-カルボン酸に対するモル比は1:1である、
請求項29に記載の合成方法。

20

【請求項 33】

ナトリウムシアノボロヒドリドをメタノールに溶解させ、0~20で反応系に滴下する、
請求項29に記載の合成方法。

【請求項 34】

ナトリウムシアノボロヒドリドをメタノールに溶解させ、15~20で反応系に滴下する、
請求項29に記載の合成方法。

30

【請求項 35】

式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドのナトリウムシアノボロヒドリドに対するモル比は1:1である、
請求項29に記載の合成方法。

【請求項 36】

前記反応温度は10~20である、
請求項29に記載の合成方法。

【請求項 37】

前記反応温度は15~20である、
請求項29に記載の合成方法。

40

【請求項 38】

前記反応時間は4~16時間である、
請求項29に記載の合成方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は医学分野に関わる。特に、本発明は、S1P1受容体アゴニストの活性を有する新規な化合物、この化合物を含む医薬組成物、S1P1受容体が媒介する疾患の治療

50

のための薬物を製造するためのこの化合物及び医薬組成物の使用並びにS1P1受容体が媒介する関連疾患を治療するための化合物及び医薬組成物の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

リンパ組織から末梢循環へのリンパ球の輸送にはスフィンゴシン-1-リン酸受容体-1(S1P1)の存在が必要とされることは当該分野で周知である。しかしながら、S1P1の内部移行はリンパ球のリンパ組織からの流出を妨げ得るため、これらの重要な免疫細胞がリンパ組織に閉じ込められてしまう。

【0003】

数多くの研究が、リンパ球で発現する相同受容体に結合し、S1P1の内部移行を引き起こすことでリンパ球の輸送を妨げる複数のS1P1アゴニストの存在を示唆している。S1P1受容体アゴニストはリンパ球の輸送を妨げることでヒトが免疫応答を発動させる能力を低下させることができるため、様々な自己免疫疾患を治療するための免疫抑制剤として機能し得る。

10

【0004】

数多くのS1P1アゴニストが文献に記載されてきたが、その中でも最も典型的な化合物はFTY720(「フィンゴリモード」としても知られる)である。現在、FTY720は、多発性硬化症の治療用にNovartisにより「Gilenya(ジレニア)」の商品名で宣伝、販売されている。FTY720は臨床的に有効であるものの非選択的S1P受容体アゴニストであり、複数のS1P受容体、例えばS1P1、S1P2、S1P3、S1P4、S1P5を活性化させ得る。FTY720がS1P3に結合すると一連の副作用(例えば、徐脈、組織の線維化)が起きる場合がある。したがって、多くの製薬会社及びバイオテクノロジー団体が、FTY720の副作用を克服するために、より特異性が高く安全な第2世代のS1P1アゴニストを探し求めている。

20

【0005】

ターゲット特異性の改善に加えて、薬剤(すなわち、S1P1受容体アゴニスト)のインビボでの半減期の短縮が、第2世代のS1P1アゴニストを選定するにあたってのもう1つの重要な目的である(Pan et al., 2013, ACS Medicinal Chemistry Letters, 4, p333)。伝統的には、より長い半減期を有する低分子薬が望ましいとされてきたが、これは半減期が長いと薬剤を頻繁に投与せず済むからである。しかしながら、免疫抑制剤にとって長い半減期は極めて不利なものになり得る。免疫抑制剤がリンパ球の輸送をいつまでも阻害して末梢血中のリンパ球数が減少する結果、免疫機能が低下し、薬剤使用者のウイルス感染リスクが上昇するからである。上記のデメリットは、現在臨床的に使用されている、FTY720等のS1P1受容体アゴニストにもある。感染時、可能な限り迅速に末梢血中のリンパ球を正常なレベルに戻し、ヒトの身体の免疫機能を速やかに回復させるために投与を中断する必要があることが多い。体内でのFTY720の半減期は6~9日であるため、患者が薬物摂取を停止したあとであっても、リンパ球を正常な状態に戻すには長い時間を必要とする(Budde et al., 2002, Journal of the American Society of Nephrology, 13:1073-83)。

30

40

【0006】

したがって、既存の療法の短所を克服するために、S1P1に対する高い選択性及びより短い半減期を備えた新規なS1P1受容体アゴニストが依然として必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Pan et al., 2013, ACS Medicinal Chemistry Letters, 4, p333

【非特許文献2】Budde et al., 2002, Journal of the American Society of Nephrology, 13:1073-

50

83

【発明の概要】

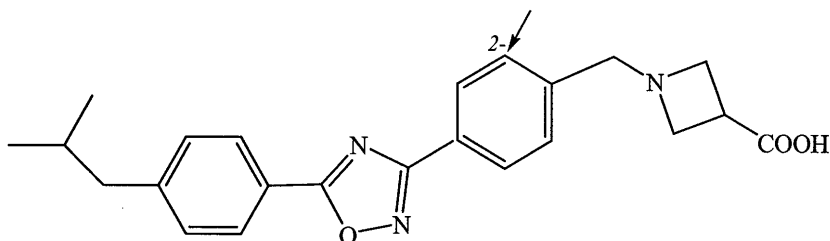
【0008】

上記の技術的な問題を解決するために、発明者は製薬化学合成を行い、合成した多数の化合物を、免疫細胞制御等に関する研究と組み合わせたラットにおける薬物動態研究を通して選定した。研究中に、1 - { 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸と称される式 I A の化合物 (Li et al . , 2005 , Journal of Medicinal Chemistry , 48 (20) 6169 - 6173 ; 本明細書では「化合物 1」とも称する) の 2 位にハロゲン又はアルキルを追加することで新規な化合物が得られることが判明した。これらの化合物はインビトロ、また静脈及び経口投与後にインビボで免疫を調節する効力を保ち続け、さらにハロゲンでの置換を通して得られる化合物は、これら 2 種の異なるやり方で投与した後の半減期が明らかに短縮されてもいる。

10

【0009】

【化 1】



20

式 I A (化合物 1)

【0010】

したがって、本発明の 1 つの目的は、新規な化合物を提供し、既存の S 1 P 1 受容体アゴニストの選択性及び半減期における短所を解決することである。本発明の別の目的は、薬物を製造するためにこの化合物の使用を提供することである。本発明のさらに別の目的は、この化合物を主要有効成分として含む医薬組成物を提供することである。本発明のさらに別の目的は、この化合物又は医薬組成物を使用して疾患を治療する方法を提供することである。本発明のさらに別の目的は、この化合物の合成方法を提供することである。

30

【0011】

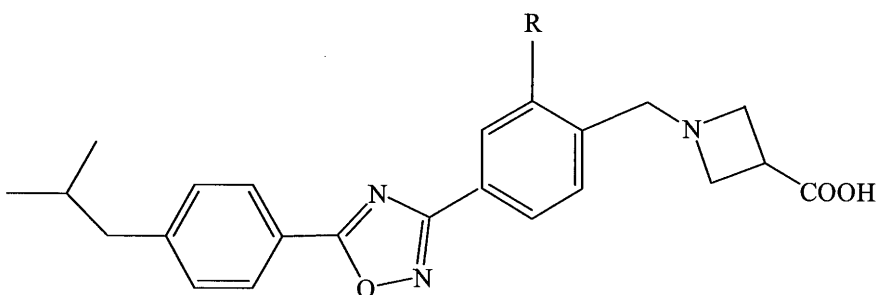
上記の目的を達成するために本発明で提供する技術的解決策は以下の通りである。

【0012】

一態様において、本発明は、式 I :

【0013】

【化 2】



40

式 I

【0014】

(式中、R はハロゲン又は C₁ - C₆ アルキルである) で表される化合物を提供する。好ましくは、R は F、Cl 又は Br であり、あるいは R は C₁ - C₃ アルキル、より好ましくはメチルである。

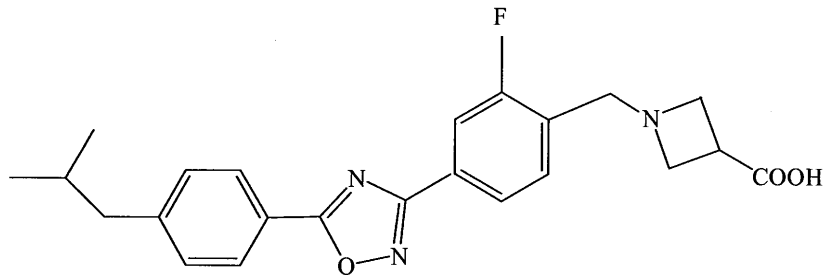
【0015】

50

この化合物は、RがFである場合、1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (本明細書では「化合物2」とも称する) であり、式I B :

【 0 0 1 6 】

【 化 3 】



10

式I B (化合物2)

【 0 0 1 7 】

で表される。

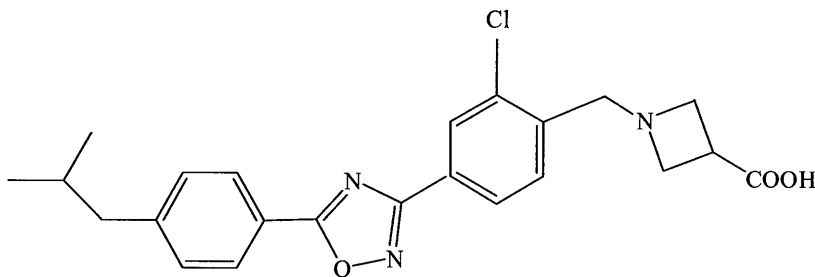
【 0 0 1 8 】

この化合物は、RがClである場合、1 - { 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (本明細書では「化合物3」とも称する) であり、式I C :

20

【 0 0 1 9 】

【 化 4 】



30

式I C (化合物3)

【 0 0 2 0 】

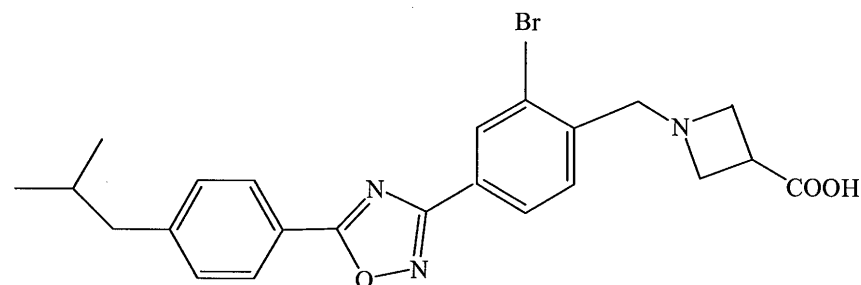
で表される。

【 0 0 2 1 】

この化合物は、RがBrである場合、1 - { 2 - ブロモ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (本明細書では「化合物4」とも称する) であり、式I D :

【 0 0 2 2 】

【 化 5 】



40

式I D (化合物4)

【 0 0 2 3 】

で表される。

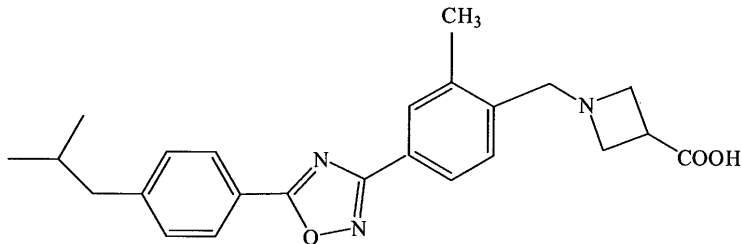
50

【0024】

この化合物は、Rがメチルである場合、1 - { 2 - メチル - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (本明細書では「化合物5」とも称する) であり、式 I E :

【0025】

【化6】



式 I E (化合物5)

10

【0026】

で表される。

【0027】

本発明で提供する化合物が S 1 P 1 アゴニスト活性を有することは多数の実験で示されており、本発明の化合物により誘発された S 1 P 1 の内部移行の検出及び末梢血中のリンパ球の数の減少により確認されている。一方、本発明で提供する化合物は S 1 P 1 に対する選択的特異性も有し、特に、本発明の化合物は S 1 P 3 サブタイプを発現している細胞の内部移行を誘発しなかった。さらに、本発明で提供する化合物の薬物動態実験は、特定の化合物の半減期が、式 I A で表される化合物のものより大幅に短縮され、F T Y 7 2 0 のものよりはるかに短かったことを示した。

20

【0028】

したがって、別の態様において、本発明は、S 1 P 1 が媒介する疾患又は状態の治療のための薬物を製造するための、上記の薬物の使用を提供する。特に、その疾患又は状態は、関節リウマチ、多発性硬化症、炎症性腸炎、自己免疫疾患、慢性炎症性疾患、喘息、炎症性ニューロパチー、関節炎、移植、クローン病、潰瘍性大腸炎、エリテマトーデス、乾癬、虚血再灌流障害、固形腫瘍、血管新生に係する疾患、血管疾患、疼痛、急性ウイルス性疾患、炎症性腸疾患、インスリン及び非インスリン依存性糖尿病並びに他の関連免疫疾患から成る群から選択される。好ましくは、疾患又は状態は、多発性硬化症、関節リウマチ、炎症性腸炎及び乾癬から成る群から選択される。

30

【0029】

本明細書において、「治療する」又は「治療」とは、S 1 P 1 が媒介する疾患又は状態を治すことに加えて、上記の疾患若しくは状態を予防する又は症状等を遅らせることも意味する。

【0030】

さらに別の態様において、本発明は、本発明で提供する化合物及び任意で医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物を提供する。医薬組成物はそれだけで医薬製剤になり得る。あるいは、医薬製剤として又は他の賦形剤若しくは薬剤との混合医薬製剤として調製することができる。

40

【0031】

具体的には、本発明で提供する医薬組成物は、錠剤、坐薬、分散錠、腸溶錠、咀嚼錠、口腔内崩壊錠、カプセル、糖衣製剤、顆粒、乾燥粉末、経口服液、小型注射針、注射用凍結乾燥粉末又は大容量非経口服液の形態になり得る。医薬的に許容可能な賦形剤は、希釈剤、可溶化剤、崩壊剤、懸濁剤、滑沢剤、バインダ、フィラー、香味料、甘味料、抗酸化剤、界面活性剤、防腐剤、ラッピング剤及び着色料等から成る群から選択し得る。

【0032】

50

さらに別の態様において、本発明はS 1 P 1が媒介する疾患又は状態を治療する方法を提供し、この方法は、被験者に、治療有効量の本発明の化合物又は医薬組成物を投与することを含む。好ましくは、被験者は哺乳動物である。

【0033】

この方法において、疾患又は状態は、関節リウマチ、多発性硬化症、炎症性腸炎、自己免疫疾患、慢性炎症性疾患、喘息、炎症性ニューロパチー、関節炎、移植、クローン病、潰瘍性大腸炎、エリテマトーデス、乾癬、虚血再灌流障害、固形腫瘍、血管新生に関する疾患、血管疾患、疼痛、急性ウイルス性疾患、炎症性腸疾患、インスリン及び非インスリン依存性糖尿病並びに他の関連免疫疾患から成る群から選択される。好ましくは、疾患又は状態は、多発性硬化症、関節リウマチ、炎症性腸炎及び乾癬から成る群から選択される。

10

【0034】

本発明で提供する化合物又は医薬組成物は、他の療法又は治療薬と併用/同時投与することができる。さらに、治療、予防又は遅延の役割を果たすのに必要な化合物又は医薬組成物の用量は、投与する特定の化合物、患者、具体的な疾患又は障害及びその重症度、投与経路並びに投与頻度等に左右され、具体的な状態に合わせて主治医が決定する必要がある。

【0035】

要約すると、本発明はS 1 P 1アゴニストの活性を有する新規な化合物を提供し、この化合物は、式I Aで表される化合物の2位でハロゲン、特にフッ素、塩素若しくは臭素又は低級アルキルでの置換を行うことで得られる。実験で検出されるS 1 P 1の内部移行及び末梢血におけるリンパ球の数の減少により、本発明の化合物がS 1 P 1アゴニストの活性を有することを証明することができる。加えて、S 1 P 3サブタイプを発現している細胞を使用した内部移行誘導実験も、本発明の化合物がS 1 P 1に対して選択的な特異性を有することを証明している。

20

【0036】

特に、公知のS 1 P 1アゴニスト及び式I Aの化合物と比較して、ハロゲンでの置換を通して得られる本発明の化合物は大幅に短縮された半減期を有する。薬物動態実験により、これらの化合物の半減期が約11時間から5.5時間未満へと大幅に短縮されたことが証明された。静脈投与及び経口投与の両方の投与方法で半減期は大幅に短縮され、これは平均滞留時間のパラメータの低下と一致していた。さらに、特定の位置での特定の置換基による置換は進歩的である。さらに、同じ位置での低級アルキル、特にメチルでの置換により得られる化合物(化合物5)の半減期は短縮されないものの、インピボでのリンパ球に対する効果はハロゲンで置換した化合物のものと同様である。これらの結果は、本発明で提供する化合物が可能性を秘めた第2世代S 1 P 1アゴニストとして適任であることを示している。

30

【0037】

さらに別の態様において、式I Bで表される化合物(化合物2)に関して、本発明は、単純な反応条件を伴う合成方法をさらに提供し、この合成方法は後処理に便利であり、また高収率で安定した工程の工業的製造に適している。

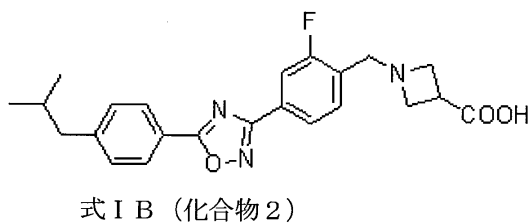
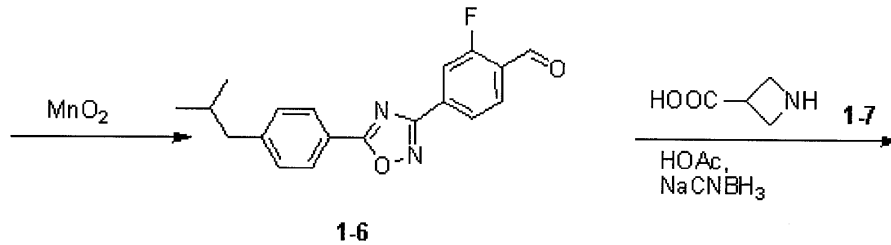
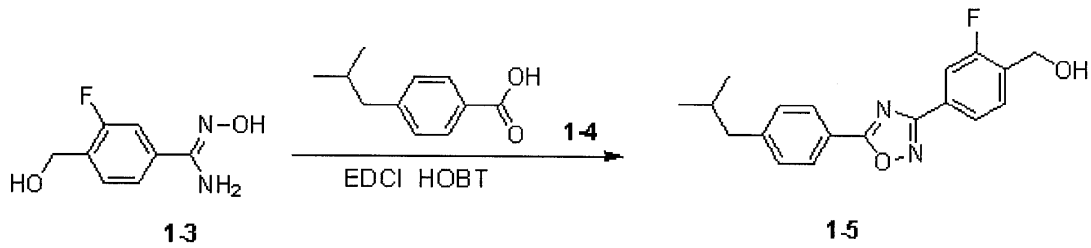
40

【0038】

要約すると、本発明の合成スキームは以下の通りである。

【0039】

【化7】



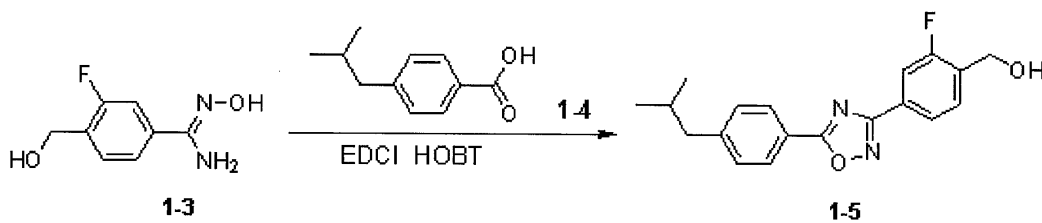
【0040】

具体的には、本発明は、式I Bの1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (「化合物2」 と称する場合もある) の合成方法を提供し、以下の：

(1) 式1 - 3の3 - フルオロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジンを式1 - 4の4 - イソブチル安息香酸と縮合剤1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド及び1 - ヒドロキシベンゾトリゾールの存在下で反応させることで式1 - 5：

【0041】

【化8】



【0042】

の2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールを生成するステップと、

(2) ステップ (1) で得られた式1 - 5の2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールを二酸化マンガンと反応させることで式1 - 6：

【0043】

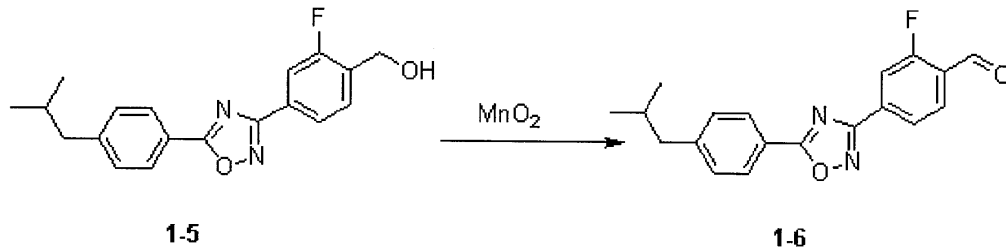
10

20

30

40

【化9】



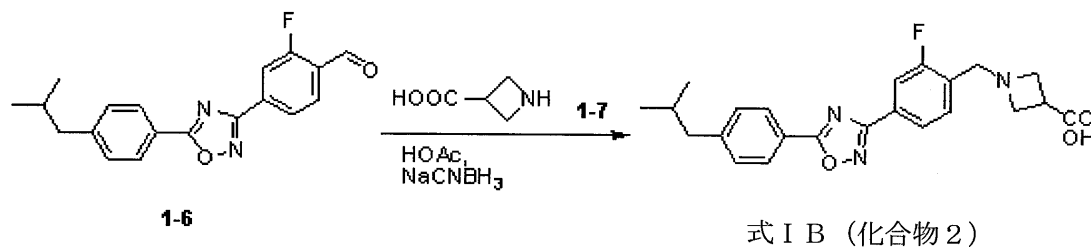
【0044】

の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドを生成するステップと、

(3)ステップ(2)で得られた式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドを式1-7のアゼチジン-3-カルボン酸と、触媒としての酢酸及び還元剤としてのナトリウムシアノヒドライドを使用して反応させることで式I B:

【0045】

【化10】



【0046】

の化合物を生成するステップとを含む。

【0047】

本発明の好ましい実施形態において、ステップ(1)は、式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドの生成後に、得られた粗生成物を精製するステップも含む。好ましくは、この精製をカラムクロマトグラフィ又は結晶化で行う。

【0048】

結晶化により精製を行う場合、利用する結晶化溶媒は、メタノール、エタノール、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル及び水から選択される1種以上である。好ましくは、結晶化溶媒はメタノールと水との混合物である。より好ましくは、結晶化溶媒は、体積基準で3:1の比のメタノールと水との混合物である。好ましくは、粗生成物(g、重量基準)の結晶化溶媒(ml、体積基準)に対する比は1:3~20、より好ましくは1:5である。好ましくは、結晶化を20で行う。

【0049】

本発明の好ましい実施形態において、ステップ(1)の反応は、アセトニトリル、N-メチルピロリドン及びN,N-ジメチルホルムアミドから選択される1種以上の反応溶媒中で行われる。反応は80~140で行われ、式1-3の3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンの式1-4の4-イソブチル安息香酸に対するモル比は1:1~2.0である。

【0050】

好ましくは、ステップ(1)において、反応溶媒はN,N-ジメチルホルムアミドである。好ましくは、反応温度は130~140である。好ましくは、式1-3の3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンの式1-4の4-イソブチル安息香酸に対するモル比は1:1~1.5、より好ましくは1:1~1.2である。

【0051】

10

20

30

40

50

本発明の好ましい実施形態において、ステップ(2)の反応は、トルエン、テトラヒドロフラン及び酢酸エチルから選択される1種以上の反応溶媒中で行われる。式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(g、重量基準)の反応溶媒(ml、体積基準)に対する比は1:10~30である。反応は40~70で行われる。式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は1:4~10である。

【0052】

好ましくは、ステップ(2)において、反応溶媒は酢酸エチルである。好ましくは、式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(g、重量基準)の反応溶媒(ml、体積基準)に対する比は1:10である。好ましくは、反応温度は60~70である。好ましくは、式1-5の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は1:5~6、より好ましくは1:6である。

10

【0053】

本発明の好ましい実施形態において、ステップ(3)の反応は、テトラヒドロフラン及び/又はメタノールから選択される反応溶媒中で行われる。式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドの式1-7のアゼチジン-3-カルボン酸に対するモル比は1:1~1.2である。式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドのナトリウムシアノボロヒドリドに対するモル比は1:0.5~6である。反応は0~30で1~16時間の反応時間にわたって行われる。

20

【0054】

好ましくは、ステップ(3)において、反応溶媒はメタノールである。好ましくは、式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドの式1-7のアゼチジン-3-カルボン酸に対するモル比は1:1~1.1、より好ましくは1:1である。好ましくは、ナトリウムシアノボロヒドリドをメタノールに溶解させ、0~20、より好ましくは15~20で反応系に滴下する。好ましくは、式1-6の2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドのナトリウムシアノボロヒドリドに対するモル比は1:1である。好ましくは、反応温度は10~20、より好ましくは15~20である。好ましくは、反応時間は4~16時間である。

30

【0055】

本発明で提供する式IBで表される化合物(化合物2)の合成方法のステップ(1)において、中間粗生成物の精製は、好ましくは、カラムクロマトグラフィではなく結晶化で行う。大量の溶媒を必要とするため環境にあまり優しくなく高コストなカラムクロマトグラフィをやめることで精製作業は簡略化され、大量の溶媒を使用せずに済む。一方、本発明で提供する方法の各ステップで使用する反応物、溶媒及びその量も調節する。例えば、ステップ(2)においては、より少ない量の二酸化マンガンを使用してコストを下げることができ、また起こり得る安全上のリスクを回避するために反応溶媒として使用するのはテトラヒドロフランではなく酢酸エチルである。ステップ(3)においては、メタノールを反応溶媒として使用し、メタノールは反応中の副生成物の発生を減少させ、反応収率を上昇させ、反応中に使用する溶媒を減量することができる。概して、コストは低下し、これらの改善を通して低コストで効率が良く、高い安全性レベルの大規模製造を実現できる。

40

【0056】

本明細書で引用した特許及び特許出願を含めた(ただしこれらに限定するものではない

50

) 全ての出版物は、あたかも各出版物が具体的且つ個別に全て記載されたがごとく、参照により本明細書で援用される。

【図面の簡単な説明】

【0057】

以下、本発明の実施形態について添付の図面を参照しながら詳細に説明する。

【図1】実施例6における、本発明で提供した化合物の薬物動態実験の結果を示す。図1Aは、化合物2、3、4を経口投与した後の、ラットにおける経時的に変化するインビボでの薬物濃度に関するデータを示し、図1Bは、化合物1、5を経口投与した後の、ラットにおける経時的に変化するインビボでの薬物濃度に関するデータを示す。

【図2】実施例8の実験結果であり、末梢血におけるリンパ球の数が本発明の化合物2により減少したことを示す。

【図3】実施例8の実験結果であり、末梢血におけるリンパ球の数が本発明の化合物3、4により減少したことを示し、化合物3、4は体重1kgあたり0.1mgでラットに投与した。

【図4】実施例8の実験結果であり、末梢血におけるリンパ球の数が本発明の化合物5により減少したことを示し、化合物5は体重1kgあたり0.1mgでラットに投与した。

【図5】実施例9の実験結果であり、関節炎における関節腫脹の発生が本発明で提供する化合物2により阻害されたことを示している。

【図6】実施例9の実験結果であり、関節炎における関節構造の損傷が本発明で提供する化合物2により抑制されたことを示している。

【図7】実施例10の実験結果を示し、EAEの発生が本発明で提供する化合物2により阻害されたことを示している。

【図8A】実施例11の実験結果であり、本発明で提供する化合物2が心電図指標に及ぼす影響を示している。

【図8B】実施例11の実験結果であり、本発明で提供する化合物2が心電図指標に及ぼす影響を示している。

【図8C】実施例11の実験結果であり、本発明で提供する化合物2が心電図指標に及ぼす影響を示している。

【発明を実施するための形態】

【0058】

以下、本発明について、実施形態と組み合わせてさらに詳細に説明していく。当業者ならば、ここで挙げる実施形態が本発明の例示に用いられたにすぎず、本発明の範囲をいかなる形でも限定しないことがわかる。

【0059】

以下の実施形態の実験方法は、特別な指示がない限り全て慣用のものである。以下の実施例で使用する原料、試薬及び他の材料は、特別な指示がない限り商業的に入手可能である。

【実施例】

【0060】

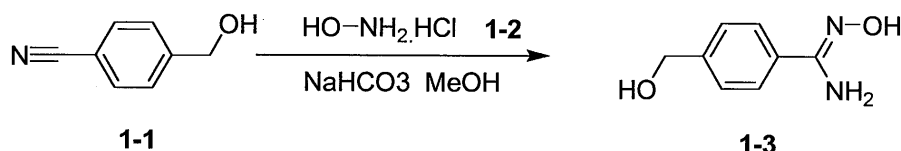
実施例1

1 - { 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 1) の合成

1.1 : (Z) - N ' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1 - 3)

【0061】

【化11】



10

20

30

40

50

【0062】

ヒドロキシルアミンヒドロクロリド(1-2、20.903 g、300.76 mmol)及び炭酸水素ナトリウム(50.5 g、601.5 mmol)を連続的にメタノール(250 mL)中の4-ヒドロキシメチルベンゾニトリル(1-1、20 g、150.38 mmol)溶液に添加して懸濁液を得て、次にこれを還流するまで5時間にわたって加熱した。次に、懸濁液を室温まで冷却し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(100 mL)で洗浄し、得られた濾液を濃縮すると、白色の粗生成物である(Z)-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンが得られ(1-3、24.8 gの粗生成物、収率99.3%)、これを直接次のステップで使用した。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 167.3 [M+H]⁺、NMR：¹H NMR(400 MHz、CD₃OD)：7.64(d、J=8.0 Hz、2H)、7.40(d、J=8.0 Hz、2H)、4.65(s、2H)。

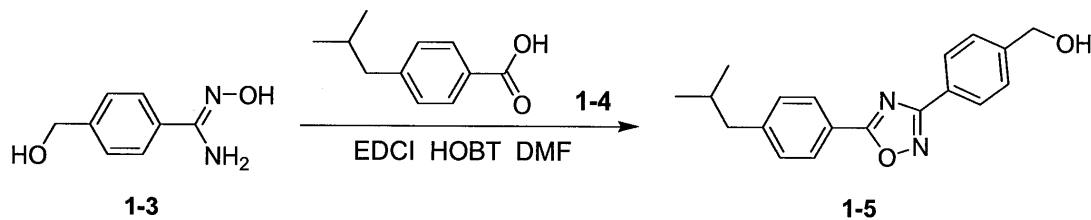
10

【0063】

1.2:4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5)

【0064】

【化12】



20

【0065】

室温で、N,N-ジメチルホルムアミド(200 mL)中の4-イソブチル安息香酸(1-4、26.6 g、149.4 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド(EDCI、28.685 g、149.4 mmol)及び1-ヒドロキシベンゾトリゾール(20.169 g、149.4 mmol)の溶液を30分間にわたって攪拌してから(Z)-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3、24.8 g、149.4 mmol)を添加した。得られた混合系を140の油浴で2時間にわたって加熱した。LC-MSは、反応が完了したことを示した。次に、混合系を室温まで冷却し、殆どのN,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での蒸留により除去した。反応系を水及び酢酸エチルでの抽出に供し、得られた有機相を連続的に0.5N HCl溶液、飽和NaHCO₃溶液及び水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に濾液を乾燥するまで濃縮した。次に、残留物をカラムクロマトグラフィで精製すると(溶出系：石油エーテル：酢酸エチル=10/1~4/1)、白色の固形生成物である4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた(1-5、34.5 g、収率75%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 309.0 [M+H]⁺、NMR：¹H NMR(400 MHz、CDCl₃)：8.16(d、J=8.4 Hz、2H)、8.12(d、J=8.4 Hz、2H)、7.51(d、J=8.4 Hz、2H)、7.33(d、J=8.4 Hz、2H)、4.79(d、J=5.2 Hz、2H)、2.57(d、J=7.2 Hz、2H)、1.95(m、1H)、1.85(t、1H)、0.97(d、J=7.2 Hz、6H)。

30

40

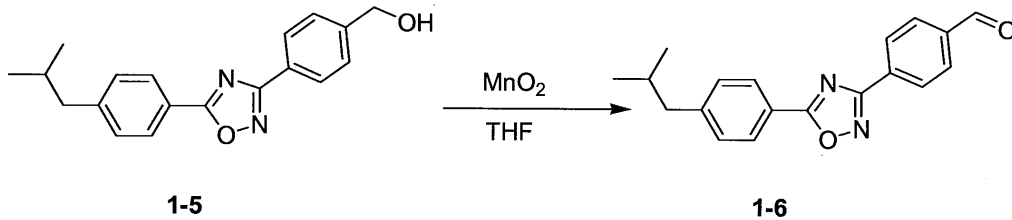
【0066】

1.3:4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6)

【0067】

50

【化13】



【0068】

60 で、テトラヒドロフラン(330 mL)中の4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、17.7 g、57.5 mmol)及び二酸化マンガン(50 g、575 mmol)の懸濁系を2時間にわたって攪拌した。次に、懸濁系を室温まで冷却し、濾過し、乾燥するまで濃縮した。次に、残留物をカラムクロマトグラフィで精製すると(溶出系:石油エーテル:酢酸エチル=20/1)、白色の固形生成物である4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた(1-6、16.44 g、収率93.5%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった:MS(ESI):m/z 307.2[M+H]⁺。

10

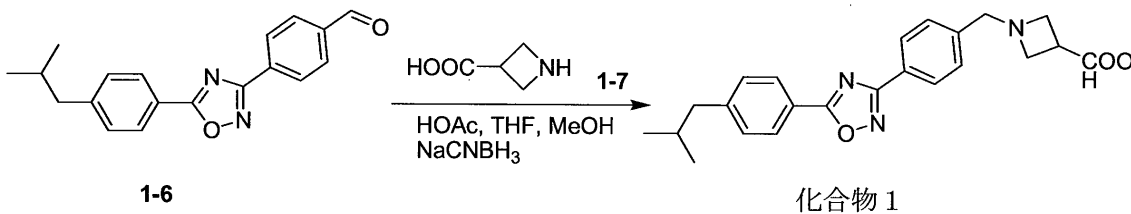
【0069】

2:1-{4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸

20

【0070】

【化14】



【0071】

室温で、メタノール-テトラヒドロフラン(200 mL/200 mL)中の4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、10 g、32.7 mmol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、3.63 g、36 mmol)及び酢酸(15 mL)の溶液を2時間にわたって攪拌した。次に、メタノール(60 mL)中のナトリウムシアノボロヒドリド(1.03 g、16.35 mmol)溶液を反応混合物に添加し、得られた混合物を室温でさらに16時間にわたって攪拌し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(90 mL)で洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸が得られた(5.5 g)。化合物1-6からの還元生成物1-5を回収し、次に酸化及び還元的アミノ化に供すると5 gの最終生成物を得られた。収率82%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった:MS(ESI):m/z 392.2[M+H]⁺、NMR:¹H NMR(400 MHz、CD₃OD):8.23(d、J=8.4 Hz、2H)、8.15(d、J=8.0 Hz、2H)、7.64(d、J=8.4 Hz、2H)、7.44(d、J=8.0 Hz、2H)、4.34(s、2H)、4.12(m、4H)、3.42(m、1H)、2.63(d、J=7.2 Hz、2H)、1.97(m、1H)、0.97(d、J=7.2 Hz、6H)。

30

40

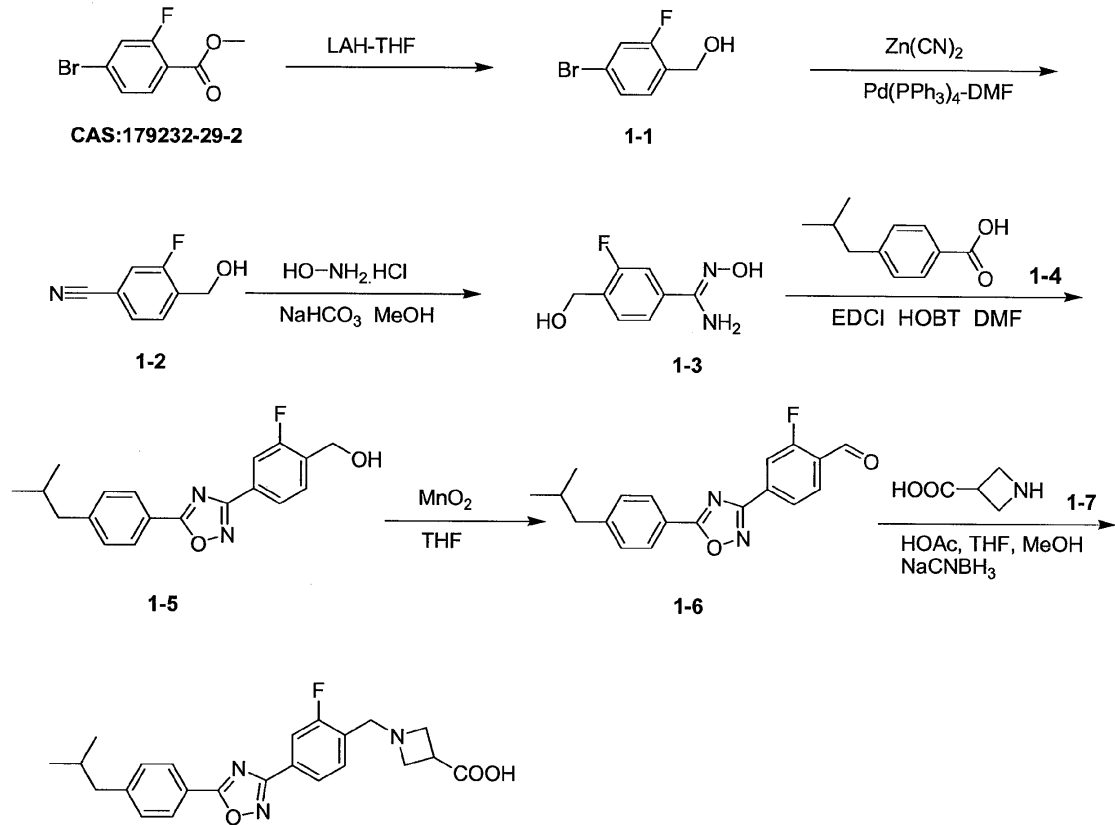
【0072】

実施例2:1-{2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸(化合物2)の合成

50

【 0 0 7 3 】

【 化 1 5 】



10

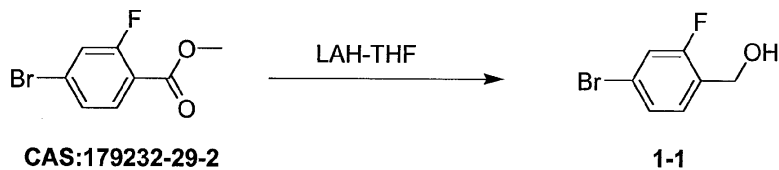
20

【 0 0 7 4 】

1 . 1 : 4 - ブロモ - 2 - フルオロベンジルアルコール (1 - 1)

【 0 0 7 5 】

【 化 1 6 】



30

【 0 0 7 6 】

0 で、リチウムアルミニウムヒドリド (1 . 1 4 g 、 3 0 m m o l) を、テトラヒドロフラン (1 0 0 m L) 中のメチル 4 - ブロモ - 2 - フルオロベンゾエート (4 . 6 6 g 、 2 0 m m o l) 溶液にゆっくりと滴下した。その滴下後に、使用した氷 - 塩浴を取り除いた。1 時間 にわたる室温での攪拌後に反応は完了した (L C M S 及び T L C で検出) 。混合物を 0 まで再度冷却し、反応を水 (1 . 1 4 m L) 及び 1 0 % N a O H 溶液 (1 1 . 4 m L) でそれぞれクエンチした。1 5 分間にわたって室温で攪拌した後、混合物を濾過し、次に濾過ケーキをテトラヒドロフラン (5 0 m L x 2) 及び酢酸エチル E A (5 0 m L x 2) で洗浄した。濾液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に濃縮すると無色のオイル生成物が得られた (3 . 4 g 、 収率 8 3 %) 。

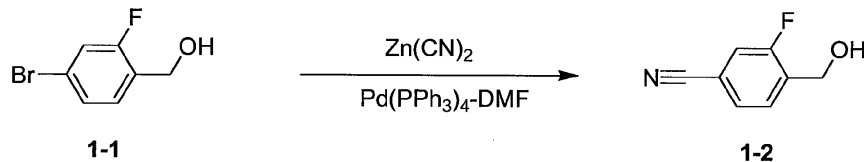
40

【 0 0 7 7 】

1 . 2 : 3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシメチルベンゾニトリル (1 - 2)

【 0 0 7 8 】

【化17】



【0079】

シアン化亜鉛(1.85g、15.85mmol)及びテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム($\text{Pd(PPh}_3)_4$ 、0.916g、0.79mmol)を、DMF(35mL)中の4-ブromo-2-フルオロベンジルアルコール(1-1、3.25g、15.85mmol)溶液に添加した。アルゴンバブリングによる脱酸素後、反応混合物を100で加熱し、16時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、酢酸エチル(100mL)で希釈し、連続的に水(100mL×3)及び飽和塩水(100mL×3)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。濾液を濃縮すると粗生成物が得られた。次に、粗生成物をカラムクロマトグラフィで精製すると(溶出系:石油エーテル:酢酸エチル=15/1~4/1)、白色の固形生成物が得られた(0.72g、収率30%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった: MS(ESI): m/z 152.1 [$\text{M}+\text{H}$]⁺、NMR:¹H NMR(400MHz、CDCl₃): 7.63(t、 $J=7.6\text{Hz}$ 、8.0Hz、1H)、7.48(dd、 $J=1.2\text{Hz}$ 、8.0Hz、1H)、7.48(dd、 $J=1.2\text{Hz}$ 、9.2Hz、1H)、4.83(d、 $J=10\text{Hz}$ 、2H)、2.00(t、 $J=10\text{Hz}$ 、1H)。

10

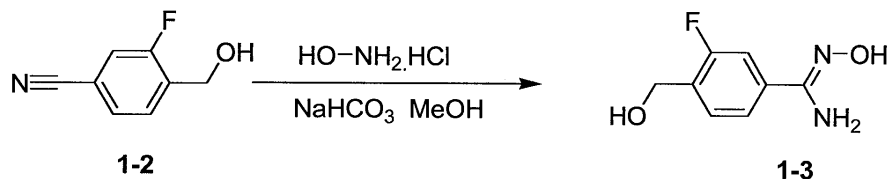
20

【0080】

1.3: (Z)-3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3)

【0081】

【化18】



30

【0082】

ヒドロキシルアミンヒドロクロリド(0.645g、9.28mmol)及び炭酸水素ナトリウム(1.56g、18.56mmol)を連続的に、メタノール(150mL)中の3-フルオロ-4-ヒドロキシメチルベンズニトリル(1-2、0.70g、4.64mmol)溶液に添加すると懸濁液が得られ、次にこれを還流するまで5時間にわたって加熱した。次に、懸濁液を室温まで冷却し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(10mL)で洗浄し、得られた濾液を濃縮すると、白色の粗生成物である3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンが得られ(1-3、0.846g、収率99%)、これを直接次のステップで使用した。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった: MS(ESI): m/z 185.0 [$\text{M}+\text{H}$]⁺、NMR:¹H NMR(400MHz、CD₃OD): 7.51~7.45(m、2H)、7.37~7.34(m、1H)、4.67(s、2H)。

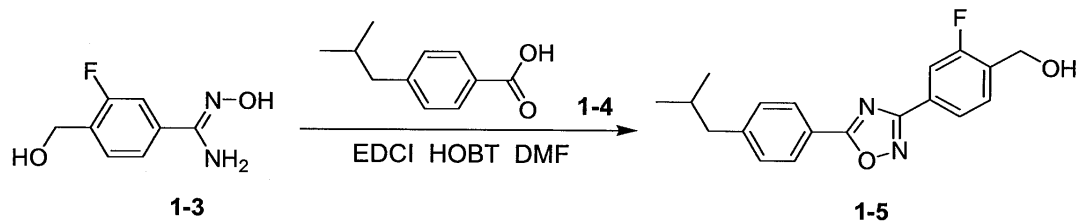
40

【0083】

1.4: 2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5)

【0084】

【化19】



【0085】

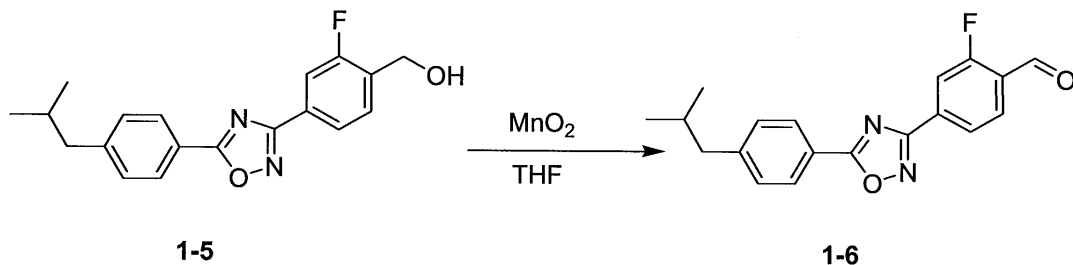
室温で、N, N - ジメチルホルムアミド (10 mL) 中の 4 - イソブチル安息香酸 (1 - 4、0.819 g、4.60 mmol)、1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド (EDCI、0.882 g、4.60 mmol) 及び 1 - ヒドロキシベンゾトリゾール (0.621 g、4.60 mmol) の溶液を 30 分間にわたって攪拌してから (Z) - 3 - フルオロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1 - 3、0.846 g、4.60 mmol) を添加した。混合系を 140 の油浴で 2 時間にわたって加熱した。LCMS は、開始材料が完全に反応したことを示した。次に、混合系を室温まで冷却し、殆どの N, N - ジメチルホルムアミドを減圧下での蒸留により除去した。混合物を水及び酢酸エチルでの抽出に供し、得られた有機相を連続的に 0.5 N HCl 溶液、飽和 NaHCO₃ 溶液及び水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に、濾液を乾燥するまで濃縮した。次に、残留物をカラムクロマトグラフィで精製すると (溶出系 : 石油エーテル : 酢酸エチル = 10 / 1 ~ 4 / 1)、白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールが得られた (1 - 5、0.92 g、収率 61%)。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった : MS (ESI) : m/z 327.0 [M + H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 8.11 (d、J = 8.0 Hz、2 H)、7.98 (m、1 H)、7.86 (m、1 H)、7.59 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1 H)、7.33 (d、J = 8.0 Hz、2 H)、4.85 (s、2 H)、2.57 (d、J = 6.8 Hz、2 H)、1.93 (m、1 H)、0.93 (d、J = 6.8 Hz、6 H)。

【0086】

1.5 : 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒド (1 - 6)

【0087】

【化20】



【0088】

60 で、テトラヒドロフラン (30 mL) 中の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコール (1 - 5、0.91 g、2.79 mmol) 及び二酸化マンガン (2.43 g、27.9 mmol) の懸濁系を 2 時間にわたって攪拌した。次に、懸濁系を室温まで冷却し、濾過し、濃縮すると、白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドが得られた (1

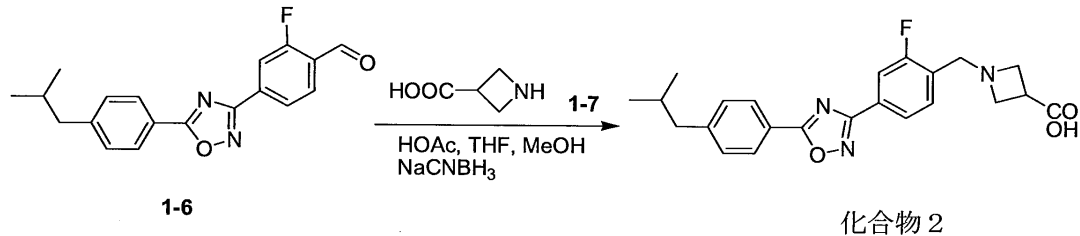
- 6、0.90 g、収率99.6%)。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 325.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 10.42 (s、1H)、8.12 ~ 7.99 (m、5H)、7.34 (d、J = 7.2 Hz、2H)、2.58 (d、J = 6.4 Hz、2H)、1.93 (m、1H)、0.93 (d、J = 6.4 Hz、6H)。

【0089】

1.6 : 1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 2)

【0090】

【化21】



【0091】

室温で、メタノール - テトラヒドロフラン (20 mL / 20 mL) 中の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒド (1.6、0.90 g、2.78 mmol)、アゼチジン - 3 - カルボン酸 (1.7、0.28 g、2.78 mmol) 及び酢酸 (1 mL) の溶液を 2 時間にわたって攪拌した。次に、メタノール (60 mL) 中のナトリウムシアノボロヒドリド (1.03 g、16.35 mmol) 溶液を反応混合物に添加し、得られた混合物を室温でさらに 16 時間にわたって攪拌し、濾過した。濾過ケーキをメタノール (10 mL) で洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である 1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 2) が得られた (0.20 g、収率 18%)。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 410.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CD₃OD) : 8.13 (d、J = 8.4 Hz、2H)、8.05 (m、1H)、7.97 (m、1H)、7.68 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1H)、7.42 (d、J = 8.4 Hz、2H)、4.40 (s、2H)、4.15 (m、4H)、3.41 (m、1H)、2.61 (d、J = 7.2 Hz、2H)、1.95 (m、1H)、0.94 (d、J = 7.2 Hz、6H)。

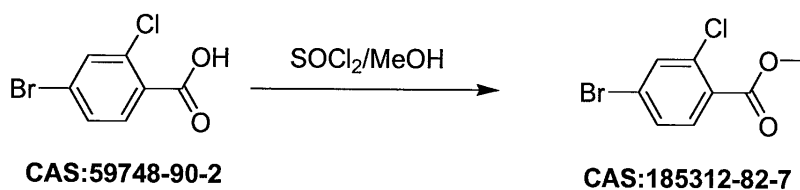
【0092】

実施例 3 : 1 - { 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 3) の合成

1.1 : メチル 4 - ブロモ - 2 - クロロベンゾエート (185312-82-7)

【0093】

【化22】



【0094】

10

20

30

40

50

0 で、塩化チオニル (3.57 g、30 mmol) を、メタノール (100 mL) 中の 4 - ブロモ - 2 - クロロ安息香酸 (4.71 g、20 mmol) 溶液にゆっくりと滴加した。その滴下後に、使用した氷 - 塩浴を取り除き、次に反応混合物を還流するまで 3 時間にわたって加熱した。TLC 及び LCMS は、開始材料が完全に反応したことを示した。溶媒及び過剰な塩化チオニルを回転蒸発により除去すると粗生成物が得られた。次に、粗生成物をジクロロメタン (100 mL) に溶解させ、連続的に飽和炭酸水素ナトリウム溶液 (100 mL x 2) 及び飽和塩水 (100 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。黄色の固形生成物 (4.79 g、収率 96%) が回転蒸発により得られた。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 248.9.8 / 250.8 / 252.8 [M + H]⁺。

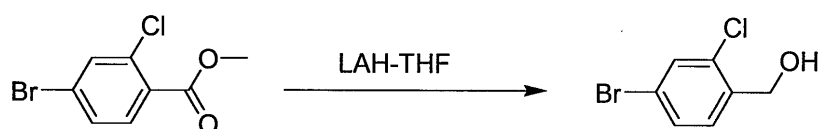
10

【0095】

1.2 : 4 - ブロモ - 2 - クロロベンジルアルコール (1 - 1)

【0096】

【化23】



CAS:185312-82-7

1-1

20

【0097】

0 で、リチウムアルミニウムヒドライド (1.09 g、30 mmol) を、テトラヒドロフラン (100 mL) 中のメチル 4 - ブロモ - 2 - クロロベンゾエート (4.78 g、19.16 mmol) 溶液にゆっくりと滴下した。この滴下後に、使用した氷 - 塩浴を取り除いた。1 時間にわたる室温での攪拌後に反応は完了した (LCMS 及び TLC で検出)。混合物を 0 まで再度冷却し、反応を水 (1.09 mL) 及び 10% NaOH 溶液 (10.9 mL) でそれぞれクエンチした。15 分間にわたる室温での攪拌後、混合物を濾過し、次に濾過ケーキをテトラヒドロフラン (50 mL x 2) 及び酢酸エチル EA (50 mL x 2) で洗浄した。濾液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に濃縮すると無色のオイル生成物が得られた (3.4 g、収率 80%)。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 202.9 / 204.9 [M - OH]⁺。

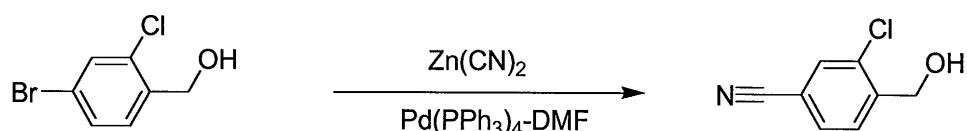
30

【0098】

1.3 : 3 - クロロ - 4 - ヒドロキシメチルベンズニトリル (1 - 2)

【0099】

【化24】



1-1

1-2

40

【0100】

シアン化亜鉛 (0.67 g、5.73 mmol) 及びテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム (Pd(PPh₃)₄, 0.33 g、0.287 mmol) を、DMF (15 mL) 中の 4 - ブロモ - 2 - クロロベンジルアルコール (1 - 1、1.27 g、5.73 mmol) 溶液に添加した。アルゴンバブリングによる脱酸素後、反応混合物を 100 で加熱し、16 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、酢酸エチル (50 mL) で希釈し、連続的に水 (50 mL x 3) 及び飽和塩水 (50 mL x 3) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。濾液を濃縮すると粗生成物が得られた。次に、粗生

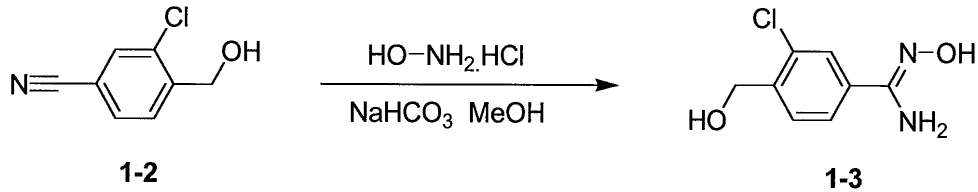
50

成物をカラムクロマトグラフィで精製すると（溶出系：石油エーテル：酢酸エチル = 15 / 1 ~ 4 / 1）、白色の固形生成物が得られた（0.387 g、収率40%）。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 168.0 / 170.1 [M + H]⁺。

【0101】

1.4 : (Z) - 3 - クロロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1-3)

【化25】



10

ヒドロキシルアミンヒドロクロリド（0.321 g、4.62 mmol）及び炭酸水素ナトリウム（0.776 g、9.24 mmol）を連続的に、メタノール（80 mL）中の3-クロロ-4-ヒドロキシメチルベンゾニトリル（1-2、0.387 g、2.31 mmol）溶液に添加すると懸濁液が得られ、次にこれを還流するまで5時間にわたって加熱した。次に、懸濁液を室温まで冷却し、濾過した。濾過ケーキをメタノール（10 mL）で洗浄し、得られた濾液を濃縮すると、白色の粗生成物として3-クロロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンが得られ（1-3、0.324 g、収率70%）、これを直接次のステップで使用した。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 201 [M + H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、DMSO-d₆) : 9.74 (br、1H)、7.68 (s、1H)、7.67 (d、J = 8.4 Hz、1H)、7.54 (d、J = 8.4 Hz、1H)、5.88 (br、2H)、5.49 (br、1H)、4.27 (s、2H)。

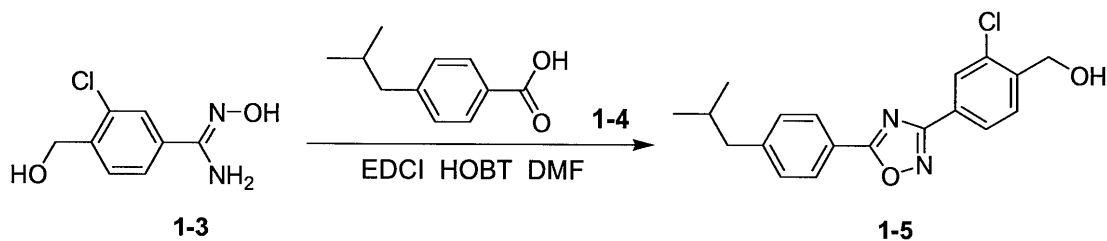
20

【0102】

1.5 : 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコール (1-5)

【0103】

【化26】



30

【0104】

室温で、N, N - ジメチルホルムアミド（8 mL）中の4-イソブチル安息香酸（1-4、0.288 g、1.62 mmol）、1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド（EDCI、0.31 g、1.62 mmol）及び1-ヒドロキシベンゾトリゾール（0.219 g、1.62 mmol）の溶液を30分間にわたって攪拌してから（Z）-3-クロロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン（1-3、0.324 g、1.21 mmol）を添加した。得られた混合系を140の油浴で2時間にわたって加熱した。LCMSは、開始材料が完全に反応したことを示した。次に、混合系を室温まで冷却し、殆どのN, N - ジメチルホルムアミドを減圧下の蒸留により除去した。混合物を水及び酢酸エチルでの抽出に供し、得られた有機相を連続的に0.5 N HCl溶液、飽和NaHCO₃溶液及び水で洗浄し、無水硫酸ナ

40

50

トリウムで乾燥させ、濾過し、次に濾液を乾燥するまで濃縮した。次に、残留物をカラムクロマトグラフィで精製すると（溶出系：石油エーテル：酢酸エチル = 10 / 1 ~ 4 / 1）、白色の固形生成物である 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールが得られた（1 - 5、0.36 g、収率 65 %）。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 343.0 / 345.0 [M + H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.16 (d, J = 1.2 Hz, 1H)、8.10 (d, J = 8.4 Hz, 2H)、8.07 (dd, J = 1.2 Hz, 8.0 Hz, 1H)、7.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H)、7.32 (d, J = 8.4 Hz, 2H)、4.85 (s, 2H)、2.57 (d, J = 7.2 Hz, 2H)、0.94 (d, J = 7.2 Hz, 6H)。

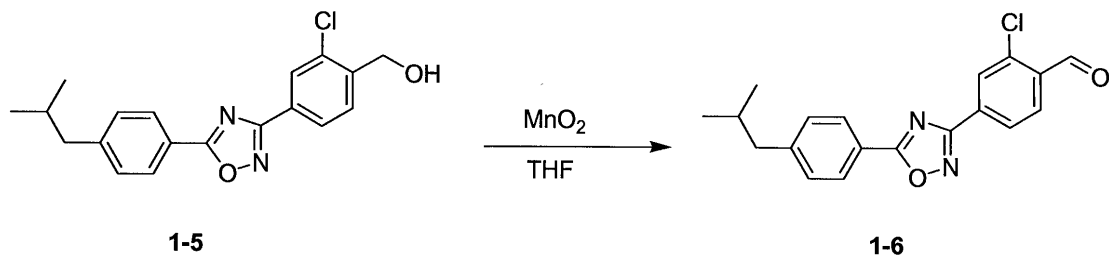
10

【0105】

1.6 : 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒド (1 - 6)

【0106】

【化27】



20

【0107】

40 で、テトラヒドロフラン (30 mL) 中の 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコール (1 - 5、0.36 g、1.05 mmol) 及び二酸化マンガン (0.914 g、10.5 mmol) の懸濁系を 2 時間にわたって攪拌した。次に、懸濁系を室温まで冷却し、濾過し、濃縮すると粗生成物が得られた。粗生成物をカラムクロマトグラフィで精製すると（溶出系：石油エーテル：酢酸エチル = 20 / 1 ~ 10 / 1）、2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドが得られた (1 - 6、0.34 g、収率 95 %)。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 341.1 [M + H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 10.52 (s, 1H)、8.28 (d, J = 1.2 Hz, 1H)、8.16 (dd, J = 1.2 Hz, 8.4 Hz, 1H)、8.10 (d, J = 8.4 Hz, 2H)、8.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H)、7.33 (d, J = 8.4 Hz, 2H)、2.58 (d, J = 7.6 Hz, 2H)、0.94 (d, J = 7.6 Hz, 6H)。

30

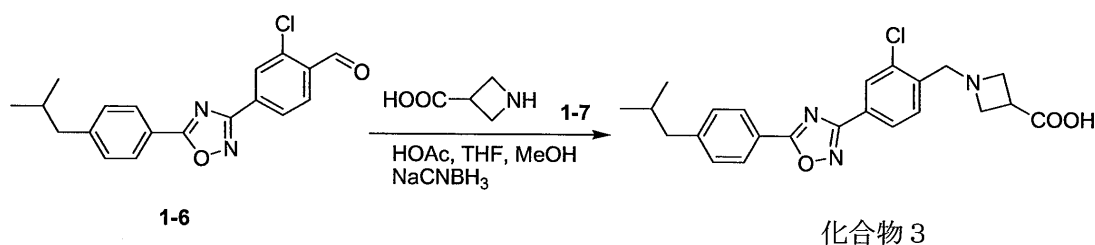
【0108】

1.7 : 1 - { 2 - クロロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 3)

40

【0109】

【化28】



50

【0110】

室温で、メタノール-テトラヒドロフラン(10 mL / 10 mL)中の2-クロロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、0.34 g、1.0 mmol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、0.101 g、1.0 mmol)及び酢酸(0.35 mL)の溶液を2時間にわたって攪拌した。次に、メタノール(20 mL)中のナトリウムシアノボロヒドリド(0.378 g、6.0 mmol)溶液を反応混合物に添加し、得られた混合物を室温でさらに16時間にわたって攪拌し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(10 mL)で洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-クロロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸(化合物3)が得られた(0.109 g、収率26%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 426.1 / 428.3 [M+H]⁺、NMR：¹H NMR(400 MHz、CD₃OD)：8.33(d、J=1.6 Hz、1H)、8.22(dd、J=1.6 Hz、8.0 Hz、1H)、8.16(d、J=8.0 Hz、2H)、7.76(d、J=8.0 Hz、1H)、7.45(d、J=8.0 Hz、2H)、4.72(s、2H)、4.46(m、4H)、3.74(m、1H)、2.63(d、J=7.2 Hz、2H)、1.97(m、1H)、0.96(d、J=7.2 Hz、6H)。

10

【0111】

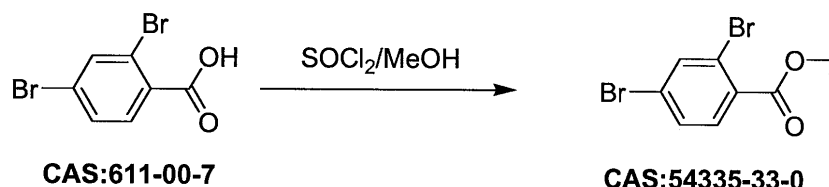
実施例4：1-{2-ブromo-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸(化合物4)の合成

20

1.1：メチル2,4-ジブromoベンゾエート(54335-33-0)

【0112】

【化29】



30

【0113】

0 で、塩化チオニル(3.57 g、30 mmol)を、メタノール(100 mL)中の2,4-ジブromo安息香酸(5.60 g、20 mmol)溶液にゆっくりと滴加した。この滴下後に、使用した氷-塩浴を取り除き、次に反応混合物を還流するまで3時間にわたって加熱した。TLC及びLCMSは、開始材料が完全に反応したことを示した。溶媒及び過剰な塩化チオニルを回転蒸発により除去すると粗生成物が得られた。次に、粗生成物をジクロロメタン(100 mL)に溶解させ、連続的に飽和炭酸水素ナトリウム溶液(100 mL x 2)及び飽和塩水(100 mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。黄色の固形生成物(5.92 g、収率100%)が回転蒸発により得られた。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 292.8 / 294.7 / 269.9 [M+H]⁺。

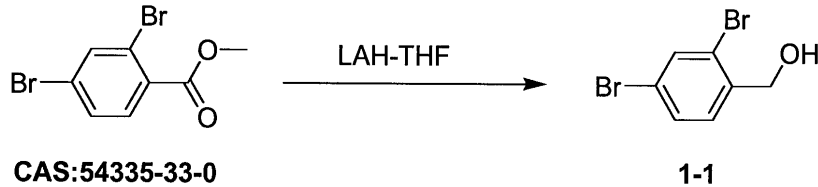
40

【0114】

1.2：2,4-ジブromoベンジルアルコール(1-1)

【0115】

【化30】



【0116】

0 で、リチウムアルミニウムヒドリド (1.14 g、30 mmol) を、テトラヒドロフラン (120 mL) 中のメチル 2,4-ジブロモベンゾエート (5.90 g、20 mmol) 溶液にゆっくりと滴下した。この滴下後に、使用した氷-塩浴を取り除いた。1 時間にわたる室温での攪拌後に反応は完了した (LCMS 及び TLC で検出)。混合物を 0 まで再度冷却し、反応を水 (1.14 mL) 及び 10% NaOH 溶液 (11.4 mL) でそれぞれクエンチした。15 分間にわたって室温で攪拌した後、混合物を濾過し、次に濾過ケーキをテトラヒドロフラン (60 mL × 2) 及び酢酸エチル EA (60 mL × 2) で洗浄した。濾液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮し、次にカラムクロマトグラフィで精製すると (溶出系: 石油エーテル: 酢酸エチル = 10/1 ~ 4/1)、無色のオイル生成物が得られた (2.3 g、収率 43%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった: MS (ESI): m/z 246.9/248.9/250.9 [M-OH]⁺。

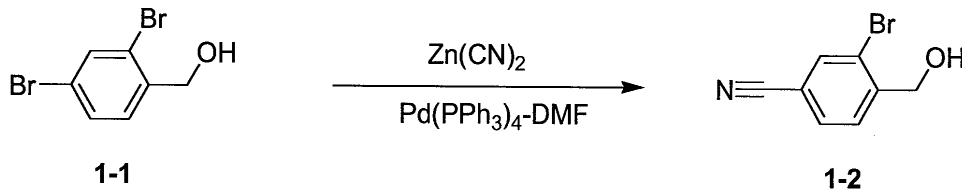
10

20

【0117】

1.3:3-ブロモ-4-ヒドロキシメチルベンゾニトリル (1-2)

【化31】



シアン化亜鉛 (1.01 g、8.65 mmol) 及びテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム (Pd(PPh₃)₄、0.50 g、0.43 mmol) を、DMF (20 mL) 中の 2,4-ジブロモベンジルアルコール (1-1、2.3 g、8.65 mmol) 溶液に添加した。アルゴンバブリングによる脱酸素後、反応混合物を 80 で加熱し、5 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、酢酸エチル (80 mL) で希釈し、連続的に水 (80 mL × 3) 及び飽和塩水 (80 mL × 3) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。濾液を濃縮すると粗生成物が得られた。次に、粗生成物をカラムクロマトグラフィで精製すると (溶出系: 石油エーテル: 酢酸エチル = 15/1 ~ 4/1)、白色の固形生成物が得られた (0.81 g、収率 44%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった: MS (ESI): m/z 211.9/213.9 [M+H]⁺、NMR: ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃)

30

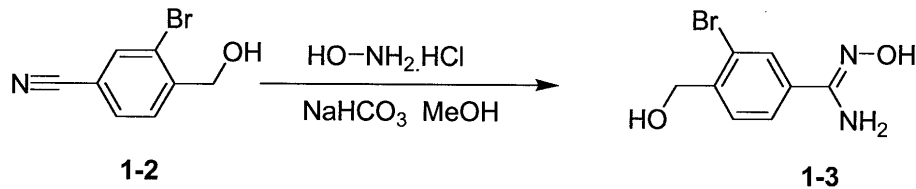
40

【0118】

1.4: (Z)-3-ブロモ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン (1-3)

【0119】

【化32】



【0120】

ヒドロキシルアミンヒドロクロリド (0.524 g、7.54 mmol) 及び炭酸水素ナトリウム (1.27 g、15.08 mmol) を連続的に、メタノール (120 mL) 中の 3-プロモ-4-ヒドロキシメチルベンゾニトリル (1-2、0.80 g、3.77 mmol) 溶液に添加すると懸濁液が得られ、次にこれを還流するまで5時間にわたって加熱した。次に、懸濁液を室温まで冷却し、濾過した。濾過ケーキをメタノール (10 mL) で洗浄し、濾液を濃縮すると、白色の粗生成物である 3-プロモ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンが得られ (1-3、0.90 g、収率97%)、これを直接次のステップで使用した。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 245 / 247 [M+H]⁺。

10

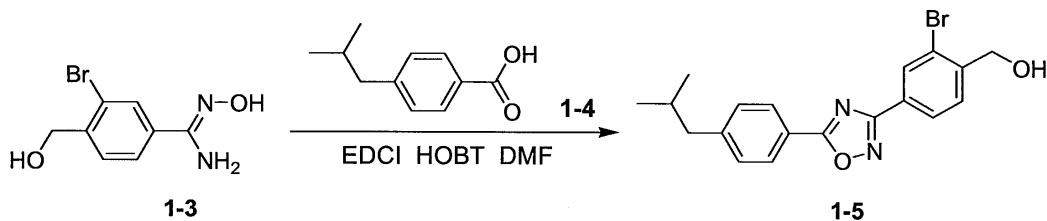
【0121】

1.5 : 2-プロモ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール (1-5)

20

【0122】

【化33】



【0123】

室温で、N,N-ジメチルホルムアミド (10 mL) 中の 4-イソブチル安息香酸 (1-4、0.653 g、3.67 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド (EDCI、0.704 g、3.67 mmol) 及び 1-ヒドロキシベンゾトリゾール (0.495 g、3.77 mmol) の溶液を30分間にわたって攪拌してから (Z)-3-プロモ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン (1-3、0.90 g、3.67 mmol) を添加した。混合系を140の油浴で2時間にわたって加熱した。LCMSは、開始材料が完全に反応したことを示した。次に、混合系を室温まで冷却し、殆どのN,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での蒸留により除去した。混合物を水及び酢酸エチルでの抽出に供し、得られた有機相を連続的に0.5N HCl溶液、飽和NaHCO₃溶液及び水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に濾液を乾燥するまで濃縮した。次に、残留物をカラムクロマトグラフィで精製すると (溶出系：石油エーテル：酢酸エチル = 10 / 1 ~ 4 / 1)、白色の固形生成物である 2-プロモ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた (1-5、0.36 g、収率36%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS (ESI) : m/z 387.1 / 389.1 [M+H]⁺。

30

40

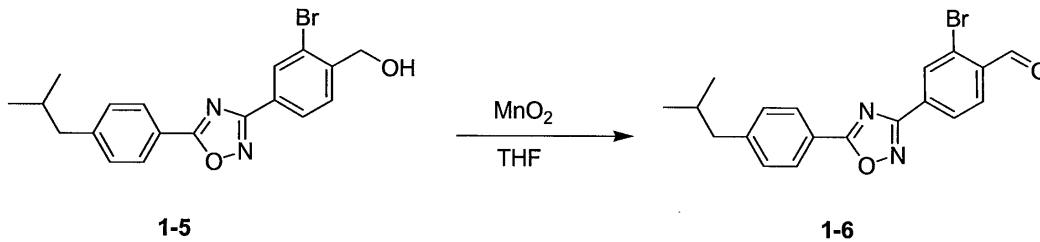
【0124】

1.6 : 2-プロモ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド (1-6)

【0125】

50

【化34】



【0126】

50 で、テトラヒドロフラン(30 mL)中の2-ブromo-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、0.51 g、1.32 mmol)及び二酸化マンガン(1.15 g、13.2 mmol)の懸濁系を2時間にわたって攪拌した。次に、懸濁系を室温まで冷却し、濾過し、濃縮すると粗生成物が得られた。粗生成物をカラムクロマトグラフィで精製すると(溶出系:石油エーテル:酢酸エチル=20/1~10/1)、2-ブromo-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた(1-6、0.34 g、収率67%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった:MS(ESI):m/z 385.0/387.0[M+H]⁺。

10

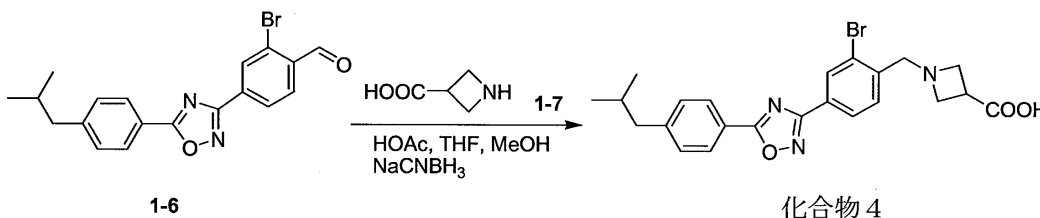
【0127】

1.7:1-{2-ブromo-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸(化合物4)

20

【0128】

【化35】



30

【0129】

室温で、メタノール-テトラヒドロフラン(10 mL/10 mL)中の2-ブromo-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、0.34 g、0.88 mmol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、0.089 g、0.88 mmol)及び酢酸(0.3 mL)の溶液を2時間にわたって攪拌した。次に、メタノール(20 mL)中のナトリウムシアノボロヒドリド(0.333 g、5.28 mmol)溶液を反応混合物に添加し、得られた混合物を室温でさらに16時間にわたって攪拌し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(10 mL)で洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-ブromo-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸(化合物4)が得られた(0.1112 g、収率27%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった:MS(ESI):m/z 469.9/471.8[M+H]⁺、NMR:¹H NMR(400 MHz、CDCl₃):8.39(d、J=1.2 Hz、1H)、8.12(dd、J=1.2 Hz、8.4 Hz、1H)、8.08(d、J=8.4 Hz、2H)、7.70(d、J=8.4 Hz、1H)、7.31(d、J=8.4 Hz、2H)、4.23(s、2H)、4.08(m、2H)、3.99(m、2H)、3.44(m、1H)、2.56(d、J=6.8 Hz、2H)、1.91(m、1H)、0.93(d、J=6.8 Hz、6H)。

40

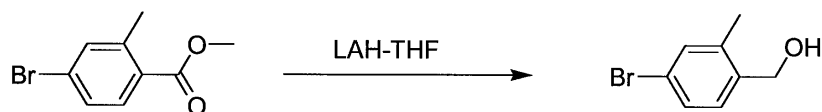
【0130】

50

実施例 5 : 1 - { 2 - メチル - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 5) の合成

【 0 1 3 1 】

【 化 3 6 】



CAS:99548-55-7

1-1

10

【 0 1 3 2 】

1 . 1 : 4 - ブロモ - 2 - メチルベンジルアルコール (1 - 1)

0 で、リチウムアルミニウムヒドريد (1 . 4 2 5 g 、 3 7 . 5 m m o l) を、テトラヒドロフラン (1 2 0 m L) 中のメチル 4 - ブロモ - 2 - メチルベンゾエート (5 . 7 2 5 g 、 2 5 m m o l) 溶液にゆっくりと滴下した。この滴下後に、使用した氷 - 塩浴を取り除いた。1 時間 にわたる室温での攪拌後に反応は完了した (L C M S 及び T L C で検出) 。混合物を 0 まで再度冷却し、反応を水 (1 . 4 3 m L) 及び 1 0 % N a O H 溶液 (1 4 . 3 m L) でそれぞれクエンチした。1 5 分間にわたる室温での攪拌後、混合物を濾過し、次に濾過ケーキをテトラヒドロフラン (8 0 m L x 2) 及び酢酸エチル E A (8 0 m L x 2) で洗浄した。濾液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に濃縮すると無色のオイル生成物が得られた (4 . 5 3 5 g 、 収率 9 0 %) 。

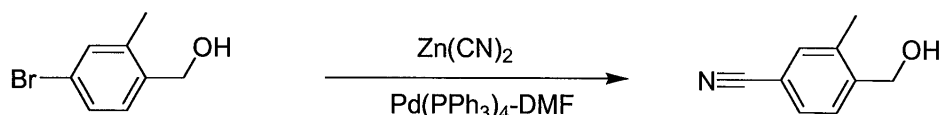
20

【 0 1 3 3 】

1 . 2 : 3 - メチル - 4 - ヒドロキシメチルベンゾニトリル (1 - 2)

【 0 1 3 4 】

【 化 3 7 】



1-1

1-2

30

【 0 1 3 5 】

シアン化亜鉛 (2 . 6 3 g 、 2 2 . 5 m m o l) 及びテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (P d (P P h ₃) ₄ 、 1 . 3 1 g 、 1 . 1 3 m m o l) を、 D M F (5 0 m L) 中の 4 - ブロモ - 2 - メチルベンジルアルコール (1 - 1 、 4 . 5 3 g 、 2 2 . 5 m m o l) 溶液に添加した。アルゴンバブリングによる脱酸素後、反応混合物を 1 0 0 で加熱し、1 6 時間 にわたって反応させ、室温まで冷却し、酢酸エチル (1 2 0 m L) で希釈し、連続的に水 (1 2 0 m L x 3) 及び飽和塩水 (1 2 0 m L x 3) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。濾液を濃縮すると粗生成物が得られた。次に、粗生成物をカラムクロマトグラフィで精製すると (溶出系 : 石油エーテル : 酢酸エチル = 1 5 / 1 ~ 4 / 1) 、白色の固形生成物が得られた (2 . 8 g 、 収率 8 4 %) 。液体クロマトグラフィ - 質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった : M S (E S I) : m / z 1 4 8 . 1 [M + H] ⁺ 、 N M R : ¹ H N M R (4 0 0 M H z 、 C D C l ₃) : 7 . 5 7 (d 、 J = 7 . 6 H z 、 1 H) 、 7 . 5 2 (d 、 7 . 6 H z 、 1 H) 、 7 . 4 4 (s 、 1 H) 、 4 . 7 6 (d 、 J = 5 . 6 H z 、 2 H) 、 2 . 3 4 (s 、 3 H) 。

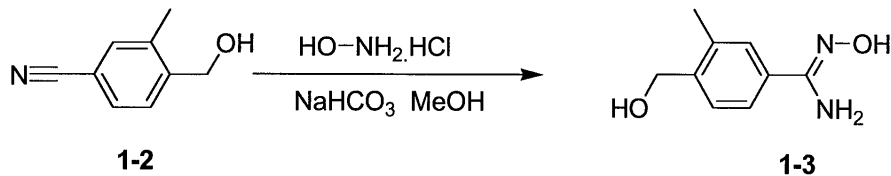
40

【 0 1 3 6 】

1 . 3 : (Z) - 3 - メチル - N ' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1 - 3)

【 0 1 3 7 】

【化38】



【0138】

ヒドロキシルアミンヒドロクロリド(2.64g、38mmol)及び炭酸水素ナトリウム(6.38g、76mmol)を連続的に、メタノール(500mL)中の3-メチル-4-ヒドロキシメチルベンゾニトリル(1-2、2.8g、19mmol)溶液に添加すると懸濁液が得られ、次にこの懸濁液を還流するまで5時間にわたって加熱した。次に、懸濁液を室温まで冷却し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(100mL×2)で洗浄し、得られた濾液を濃縮すると、白色の粗生成物である3-メチル-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジンが得られ(1-3、3.425gの粗生成物、収率100%)、これを直接次のステップで使用した。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 181.0[M+H]⁺。

10

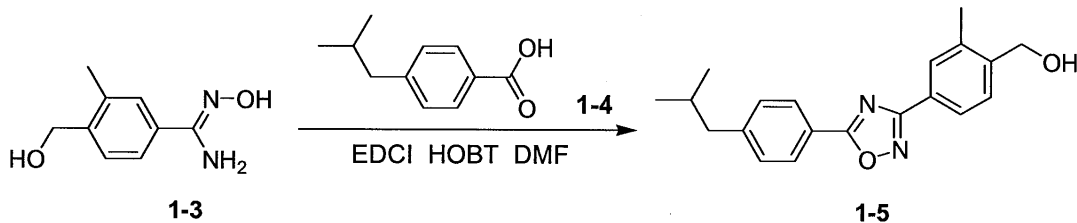
【0139】

1.4：2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5)

20

【0140】

【化39】



【0141】

室温で、N,N-ジメチルホルムアミド(60mL)中の4-イソブチル安息香酸(1-4、3.382g、19mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド(EDCI、3.642g、19mmol)及び1-ヒドロキシベンゾトリゾール(2.565g、19mmol)の溶液を30分間にわたって攪拌してから(Z)-3-メチル-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3、3.42g、19mmol)を添加した。混合系を140の油浴で2時間にわたって加熱した。LCMSは、開始材料が完全に反応したことを示した。次に、混合系を室温まで冷却し、殆どのN,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での蒸留により除去した。混合物を水及び酢酸エチルでの抽出に供し、得られた有機相を連続的に0.5N HCl溶液、飽和NaHCO₃溶液及び水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、次に濾液を乾燥するまで濃縮した。次に、残留物をカラムクロマトグラフィで精製すると(溶出系：石油エーテル：酢酸エチル=10/1~4/1)、白色の固形生成物である2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた(1-5、2.51g、収率41%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 323.0[M+H]⁺、NMR：¹H NMR(400MHz、CDCl₃)：8.12(d、J=8.4Hz、2H)、7.98(m、2H)、7.59(d、J=8.0Hz、1H)、7.32(d、J=8.4Hz、2H)、4.77(s、2H)、2.57(d、J=7.2Hz、2H)、2.42(s、3H)、1.93(m、1H)、0.92(d、J=7.2Hz、6H)。

30

40

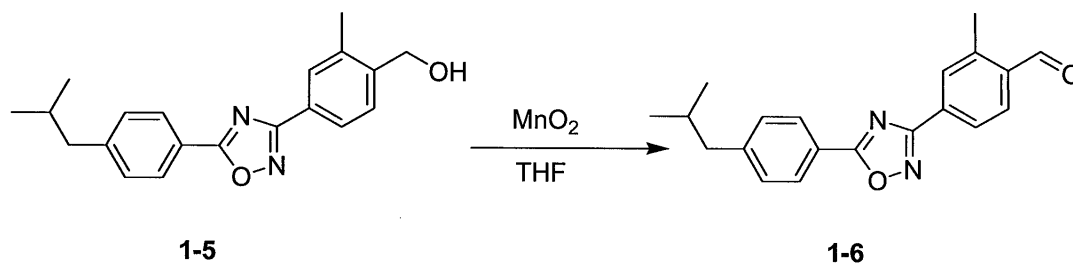
【0142】

50

1-5 : 2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6)

【0143】

【化40】



10

【0144】

60 で、テトラヒドロフラン(100 mL)中の2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、2.5 g、7.76 mmol)及び二酸化マンガン(6.75 g、77.6 mmol)の懸濁系を2時間にわたって攪拌した。次に、懸濁系を室温まで冷却し、濾過し、濃縮すると、白色の固形生成物である2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた(1-6、2.4 g、収率97%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 321.0 [M+H]⁺、NMR：¹H NMR(400 MHz、CDCl₃)：10.38(s、1H)、8.20~8.13(m、4H)、7.97(d、J=8.4 Hz、1H)、7.37(d、J=8.0 Hz、2H)、2.80(s、3H)、2.61(d、J=7.6 Hz、2H)、1.96(m、1H)、0.96(d、J=7.6 Hz、6H)。

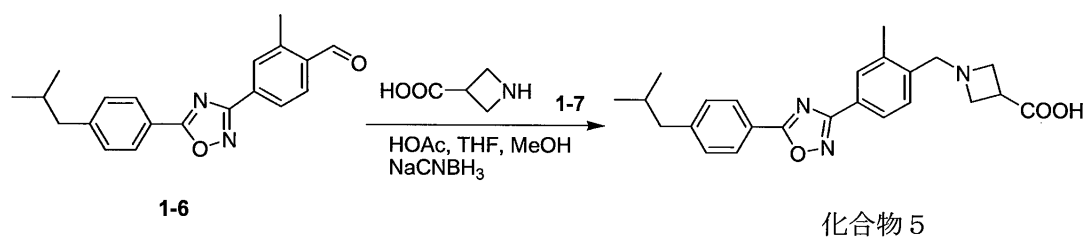
20

【0145】

1-6 : 1-{2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸(化合物5)

【0146】

【化41】



30

【0147】

室温で、メタノール-テトラヒドロフラン(20 mL / 20 mL)中の2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、0.88 g、2.75 mmol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、0.278 g、2.75 mmol)及び酢酸(1 mL)の溶液を2時間にわたって攪拌した。次に、メタノール(60 mL)中のナトリウムシアノボロヒドリド(1.04 g、16.5 mmol)溶液を反応混合物に添加し、得られた混合物を室温でさらに16時間にわたって攪拌し、濾過した。濾過ケーキをメタノール(10 mL x 2)で洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-メチル-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸が得られた(0.23 g、収率21%)。液体クロマトグラフィ-質量分析で見られた分子イオンピークは以下の通りであった：MS(ESI)：m/z 406.0 [M+H]⁺、NMR：¹H NMR(400 MHz、CD₃OD)：8.12(d、J=8.0 Hz、2H)、8.08(s、1H)、8.04(d、J=7.6 Hz

40

50

、1 H)、7.53 (d、J = 7.6 Hz、1 H)、7.42 (d、J = 8.0 Hz、2 H)、4.47 (s、2 H)、4.23 (m、4 H)、3.44 (m、1 H)、2.61 (d、J = 7.2 Hz、2 H)、2.52 (s、3 H)、1.95 (m、1 H)、0.94 (d、J = 7.2 Hz、6 H)。

【0148】

実施例6：本発明で提供する化合物のインビボ薬物動態実験

この実施例においては、化合物1、2、3、4、5の薬物動態特性をスプラーク (Sprague) ・ドーリーラットへの静脈及び経口投与により評価した。この実施例及び以降で用いる実験動物は、7～9週齢、体重186～231gのオスのSDラットであり、Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd. から購入した。購入後5日間にわたって獣医師によるラットの検疫が行われ、次に検疫検査をパスしたラットをSPE条件下での試験用に選択し、試験したラットを以下のように1グループあたり3匹で割り当てた。

【0149】

経口投与グループ：2.74 mgの各化合物1～5をそれぞれ、9.113 mLの0.5% CMC-Naを希釈剤として使用して0.3 mg/mLの溶液に調製した。十分にかき混ぜてから各溶液を1～2分間にわたってボルテックスにかけ、次に均一な懸濁液が得られるまで20～30分間にわたって超音波処理した。均一な懸濁液を、経口投与グループに投与する薬物として使用し、投与は各ラットの体重1 kgあたり10 mLの用量で行った。

【0150】

静脈投与グループ：1.61 mgの各化合物1～5をそれぞれ、1.610 mLの10% HP-CDを希釈剤として使用して1 mg/mLの溶液に調製した。十分にかき混ぜてから各溶液を1～2分間にわたってボルテックスにかけ、次に28～30分間にわたって超音波処理した。得られた溶液を、静脈投与グループに投与する薬物として使用し、投与は各ラットの体重1 kgあたり1 mLの用量で行った。

【0151】

経口投与グループ及び静脈投与グループの両方について、血液サンプルを、投与から0.0833時間(5分)、0.25時間(15分)、0.5時間、1時間、2時間、4時間、8時間及び24時間後に採取した。イソフルラン麻酔後、0.3 mLの全血を各タイムポイントでラットの眼窩静脈叢から採取した。全てのサンプルを採取した後、ラットは安楽死させる。

【0152】

採取した血液サンプルをヘパリンナトリウム(約10 µL、1000 IU/mL)が入ったEPチューブに入れ、次に速やかに氷水に入れ、4500 rpm、低温(4)で5分間にわたって遠心分離した。血漿を迅速に単離し、分析する時まで-20 で保管した。

【0153】

血液中の各化合物の濃度をLC-MS/MS-001(Q-trap-3200)により、オサルミド(osalimide)を内部標準物質として使用し、以下のように測定した。24 µLのブランク血漿を6 µLの血漿サンプル(希釈5倍)に添加し、次に150 µLの内部標準物質(オサルミド、100 µg/mL)を含有するアセトニトリルの溶液を添加した。混合物を5分間にわたって振り混ぜ、次に14000 rpmで5分間にわたって遠心分離した。分析のために、得られたサンプル2 µLをLC-MS/MSに装填した。希釈していない血漿サンプルについては、30 µLを、150 µLの内部標準物質(オサルミド、100 µg/mL)を含有しているアセトニトリルの溶液に添加した。混合物を5分間にわたって振り混ぜ、次に14000 rpmで5分間にわたって遠心分離した。分析のために、得られたサンプル2 µLをLC-MS/MSに装填した。

【0154】

データ分析に関しては、WinNolin(V6.2)ノンコンパートメントモデル(

10

20

30

40

50

NCA)を、 $t_{1/2}$ 、 $AUC(0-t)$ 、 AUC_{inf} 、 V 、 Cl 、 MRT 等を含めた主要代謝薬物動態パラメータの計算に使用し、マイクロソフトOfficeのエクセルを平均値、標準偏差及び変異係数の計算に使用した。

【0155】

表1のデータは、約11時間である化合物1の消失半減期(terminal half-life)と比較して、化合物2、3、4のそれぞれの消失半減期は経口投与後、5.5時間未満であったことをはっきりと示している。したがって、ハロゲンで置換したこれら3種の化合物(化合物2、3、4)の半減期は、化合物1のものよりほぼ50%短かった。

【0156】

静脈投与の場合の薬物動態に関する研究でも同様の半減期の変化が見られた。表2のデータは、化合物1の消失半減期及び平均滞留時間(MRT)と比較して、ハロゲンで置換した化合物2、3、4のそれぞれの消失半減期及び平均滞留時間が大幅に短縮されたことをはっきりと示している。これらのデータは、化合物1の2位でのハロゲン置換が血中からの化合物の排除を加速させることを示している。さらに、クリアランス(Cl)に関する研究結果は、消失半減期及び平均滞留時間の短縮が化合物のクリアランスの上昇により引き起こされたものではないことを示している。

【0157】

化合物2、3、4の大幅に短縮されたインピボでの半減期は従来理論では予期できない。化合物1の同位置での他の置換基での置換では同様の結果が得られないからである。例えば、メチルで置換すると(化合物5に対応する)、半減期は短縮されるどころかむしろ長くなった(表1、2を参照のこと)。さらに、経口投与後の血中化合物濃度対時間曲線から、化合物1、5と比較すると、化合物2、3、4の排出速度は最高濃度で明らかに加速したことがみてとれる(図1)。

【0158】

10

20

【表 1】

表 1：経口投与時の薬物動態 (3 mg / k g)

化合物	T _{max} (時間)	C _{max} (n g / m L)	AUC _{inf} (時間 * n g / mL)	T _{1/2} (時間)	F (%)
化合物 1	2. 00	3 6 5 ± 5 1. 5	6 1 9 7 ± 1 4 7	1 0. 6 ± 1. 0 7	8 2. 5
化合物 2	2. 00	3 4 1 ± 3 6. 2	3 8 2 9 ± 1 8 4	5. 4 7 ± 0. 6 3	6 3. 4
化合物 3	3. 3 3	6 8 1 ± 6 1. 1	8 1 0 7 ± 4 6 9	5. 3 0 ± 0. 5 1	9 6. 1
化合物 4	1. 1 5	3 4 6 ± 2 9. 6	4 4 1 9 ± 4 4 9	5. 3 7 ± 0. 1 5	5 2. 9
化合物 5	3. 3 3	2 4 9 ± 8. 7 4	5 4 6 0 ± 4 0 1	1 2. 3 ± 2. 0 9	7 4. 0

10

表 2：静脈投与時の薬物動態 (1 mg / k g)

化合物	CL (L / 時間 / k g)	V _{ss} (L / k g)	AUC _{inf} (時間 * n g / m L)	T _{1/2} (時間)	MRT _{inf} (時間)
化合物 1	0. 4 2 7 ± 0. 0 6 3	4. 6 5 ± 0. 3 8 9	2 3 7 6 ± 3 2 9	8. 6 9 ± 0. 8 0	1 1. 0 ± 1. 2 0
化合物 2	0. 4 9 9 ± 0. 0 3 9	3. 1 2 ± 0. 1 0 1	2 0 1 2 ± 1 4 6	5. 4 7 ± 0. 4 2	6. 2 8 ± 0. 4 4
化合物 3	0. 3 6 6 ± 0. 0 5 0	2. 6 5 ± 0. 2 2 9	2 7 6 7 ± 4 1 0	5. 0 4 ± 0. 3 7	5. 1 1 ± 0. 3 9
化合物 4	0. 3 6 2 ± 0. 0 2 6	2. 7 5 ± 0. 1 1 2	2 7 6 8 ± 2 0 0	5. 2 9 ± 0. 6 0	5. 2 3 ± 0. 3 6
化合物 5	0. 4 5 4 ± 0. 0 1 8	5. 8 7 ± 0. 8 0 2	2 2 0 3 ± 8 9. 5	1 0. 1 ± 1. 0 2	1 2. 9 ± 1. 2 4

20

30

【 0 1 5 9 】

実施例 7：本発明で提供する化合物が S 1 P 1 及び S 1 P 3 の内部移行に及ぼす影響

(1) S 1 P 1 に対する内部移行作用実験

細胞表面の S 1 P 1 の内部移行を誘導することで S 1 P 1 小分子アゴニストが末梢循環へのリンパ球の進入を防止できることは周知である。本発明で提供する化合物が S 1 P 1 内部移行誘導活性を有するか否かを判定するため、リンパ球に代わる、ヒト S 1 P 1 を発現している CHO - S 細胞を S 1 P 1 内部移行の検出系として使用する。細胞表面上の S 1 P 1 をモニタし易くするため、Myc タグを S 1 P 1 の N 末端に融合させ、S 1 P 1 の発現を、Myc タグに対する蛍光標識抗体と細胞をインキュベートした後にフローサイトメトリで分析する

40

【 0 1 6 0 】

本発明で提供する化合物 2 をジメチルスルホキシド (D M S O) に溶解させることで 1 0 m M の原液を調製し、次に D M E M で原液を所望の異なる濃度に希釈した。Myc タグ

50

がついたヒトS1P1を抱えるCHO-S細胞を収穫し、次にダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)により1mLあたり100万個の細胞密度に調節した。等体積で希釈した異なる濃度の化合物2を細胞懸濁物と混合し、次に37℃で1時間にわたってインキュベートした。インキュベーション後、混合物を800RPMで5分間にわたって遠心分離すると細胞が得られた。これらの細胞をFACSバッファ(1%BSAを含有するPBS)に再度懸濁させ、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)で標識したMyc抗体(Californian Miltenyi Biotec GmbH、米国)を添加し、1時間にわたって氷上でインキュベートした。細胞を洗浄し、予冷したFACSバッファに再度懸濁させ、FACS Caliburフローサイトメトリで分析した。

【0161】

実験データは、化合物2がS1P1内部移行を用量依存的に誘導する活性を呈することを示した(表3)。S1P1内部移行を誘導する化合物3、4の活性も同じやり方で検出し、得られた結果は、化合物1のものと有意な差がないことを示している。このことは、F、Cl、Brでの置換を通して得られた全化合物(化合物2、3、4)が、明らかに短くなった半減期を有しながらもS1P1を活性化する活性を依然として備えていることを示している。

【0162】

(2) S1P3の内部移行作用実験

ヒトS1P3を発現しているCHO-S細胞を使用して内部移行検出試験を行った。細胞に加え、実験方法も、S1P1の内部移行検出実験の方法と同じであった。

【0163】

実験結果は、化合物1のものと同様に、S1Pに対する化合物2、3、4の作用が特異的であること、つまり化合物がS1P1に対する内部移行活性化作用しか有さないこと、またS1P3サブタイプに対する内部移行活性化作用は有さないことを示した(表3)。このことは、F、Cl又はBr置換基を有する化合物が化合物1より短いインピボ半減期を明らかに有していても、ターゲットS1P1に対する化合物の選択性は変化しないことを示している。この点で、本発明の化合物は、現在臨床の場で使用されている、非選択的なS1PアゴニストであるFTY720とは異なる。FTY720は複数のS1P受容体、例えばS1P1、S1P2、S1P3、S1P4及びS1P5を活性化させ、結果的に一連の重い副作用、例えば徐脈が起きる場合がある。

【0164】

【表2】

表3：化合物2、3、4の受容体に対する活性及び選択性

	受容体内部移行 (EC50)	
	S1P1	S1P3
化合物1	5.69 nM	>1000 nM
化合物2	9.83 nM	>1000 nM
化合物3	3.21 nM	>1000 nM
化合物4	4.20 nM	>1000 nM

【0165】

実施例8：本発明で提供する化合物が末梢血中のリンパ球の数に及ぼす影響

リンパ球の表面上で発現するS1P1は、リンパ球が二次リンパ組織を出て末梢循環に進入するのに必須である。S1P1の小分子アゴニストは受容体を活性化させることができ、受容体に対する内部移行作用がもたらされる。このメカニズムが、リンパ球が二次リンパ組織から出られなくなることで末梢循環中のリンパ球の数が減少するという現在知られているメカニズムである。本発明で提供する化合物が末梢血中のリンパ球の数を減少さ

10

20

30

40

50

せるか否かを判定するために、リンパ球に対するインビボでの作用実験を行う。

【0166】

適当な量の化合物2を、ナトリウムカルボキシメチルセルロース(CMC-Na)との懸濁液として調製し、3匹のスプラッグ・ドリー(SD)ラットに経口投与した。血液サンプル(0.5ml)を投与30分前、また投与後の異なるタイムポイントで採取し(採取した血液サンプルは適当な量のEDTA-2K溶液が入ったEPチューブに入れた)、ADVI A 2120血液細胞分析装置で直接分析した。

【0167】

実験結果は、化合物2により末梢血中のリンパ球の数が効果的に減少したことを示している。末梢血中のリンパ球の数は投与から30分後に明らかに減少し、全てのサンプリングタイムポイント(30、120、240、360及び480分後)でさらに減少した。評価した3つの用量の全てで化合物2は活性を示し、末梢血中のリンパ球は、用量0.01mg/kgでのみ50%を超える減少が観察され、最大の減少は用量1mg/kgで観察された(図2)。さらに、化合物2の作用はリンパ球に特異的であり、化合物2による末梢単核細胞及び他の白血球の数の変化は明白なものではなかった。

10

【0168】

本発明の化合物3、4、5を同じ方法で試験することで、化合物3、4、5がリンパ球に及ぼす影響が化合物2のものと同様であると判明した(図3及び図4)。

【0169】

実施例9：化合物2がルイスラットにおけるII型コラーゲン誘発関節炎の発症に及ぼす影響

20

ヒトにおける関節リウマチは自己免疫疾患であり、患者自身の免疫系が関節組織を攻撃する。T細胞及びB細胞を含めたリンパ球は、この疾患の病因において重要な役割を担っている。T細胞の活性化をブロックすることによるT細胞の機能の阻害が効果的な関節リウマチ治療法であることは知られている。化合物2はリンパ球が出ていくのをブロックするため、ラットCIAモデルにおける関節炎の発症の阻害にこれが有効であるかを確認することは重要であった。試験を行うにあたって、以下のようにしてルイスラットに関節リウマチを発症させた。ラットにイソフルランで麻酔をかけ、全部で0.5mLのCII/CF Aエマルジョンを皮内注射した。エマルジョンは3つの部位で注射し、1つ目は尾の付け根(0.1mL)、残りの2つは尾の付け根に近いラットの背面(0.2mL/部位)であった。同じブースター注射を、一次免疫から7日目に、前回の注射部位を避けて皮内投与した。

30

【0170】

化合物2を、0.5%CMC-Na中の懸濁液として調製し、CII/CF A注射時にラットに経口投与した。ポジティブコントロールグループには、感作から12日目にTOFACITINIBを経口投与した。感作から7日目から開始して1週間に2回、四肢における関節炎の重症度をスコア付けした。判断基準は以下の通りであった：スコア0：紅斑及び腫脹が見られない；スコア1：紅斑及び軽度の腫脹が中足部(足根)又は足首関節に限定される；スコア2：紅斑及び軽度の腫脹が足首から中足部に広がっている；スコア3：紅斑及び中程度の腫脹が足首から中足部関節に広がっている；スコア4：紅斑及び重度の腫脹が足首、足及び足指に及ぶ。プレチスモメータにより後肢の体積で測定する関節の腫脹を0日目、次に7日目から28日目まで1週間に2回判定した。関節の破壊を28日目にX線検査で判定した。結果は、1mg/kgで、化合物2が、関節の腫脹(図5)に基づいた関節炎の発症及び関節構造の破壊(図6)の阻害において効果的であることを示した。図5から、化合物2がTOFACITINIBと同様の機能を有するが、その用量は大幅に減少したことがみてとれる。

40

【0171】

実施例10：化合物2が実験的自己免疫性脳炎(EAE)の発症に及ぼす影響

S1P1アゴニストはヒト多発性硬化症及びMSの動物モデルにおいて効果的であると判明している。化合物2を、実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)、ヒト多発性硬化症の

50

マウスモデルでのその有効性について評価した。この研究においては、80匹のメスのC57BL/6マウスを、体重に基づいて8つのグループにランダムに分け、免疫化した。各グループは10匹のマウスから成る。疾患を誘導するために、MOG35-55(MOG、ミエリンオリゴ-デンドロサイト糖タンパク質)を生理食塩水に濃度2mg/mLまで溶解させ、改変完全フロイントアジュバント(CFA)中で乳化した。イソフルランでマウスに麻酔をかけ、次に100 μ Lのエマルジョンを、マウスの剃毛した背部の3つの部位(1つ目は両肩の間の背部を通る正中線に沿い、2つは腰部上の正中線の両側)に皮下注射した。百日咳毒素(peritussis toxin)(200 μ LのPBS中200ng)の腹腔内投与を、免疫化を行った日及び48時間後に全てのグループに行った。免疫化を行ってから0日目~30日目まで1日1回、マウスを臨床的にスコア付けすることでEAEの発症を査定した。

10

【0172】

NaCMC懸濁液として調製した化合物2をMOG免疫化時から経口投与し、研究全体を通じて投与を継続した。データは、評価した3つの用量(0.03、0.1、1mg/kg)全てで、化合物2が効果的にEAEの発症を阻害したことを示した(図7)。

【0173】

実施例11:化合物2がビーグル犬の心血管系機能に及ぼす影響

FTY720は非選択的なS1P1アゴニストであり、ヒトにおける徐脈を含め、様々な心血管系作用を有すると判明している。化合物2が心拍数及びQT間隔に影響するかを判定するために、化合物を意識があるビーグル犬におけるテレメトリアッセイにより評価した。

20

【0174】

適当な量のCMC-Naを、注射用滅菌液で0.5%CMC-Na(w/v)溶液として調製した。溶液は、投与1日前に調製した。

【0175】

濃度2、6、20mg/mLの化合物2の溶液(サンプル)を、以下のようにして投与1日前に調製した。適当な量の化合物2を適当な量の0.5%CMC-Na溶液に添加した。得られた混合物を、等方乳化装置(emulsification isotropic machine)で乳化、ホモジナイズした。調製したサンプル溶液中の化合物2の理論濃度は2、6、20mg/mLであった。

30

【0176】

全部で8匹のラット及び二重ラテン方格実験デザインをこの実験で用いた。投与サイクルは3~5日の間隔をあけた。各投与サイクルの1日前、ラットの体重を測り、一晚絶食させた。投与当日に、テレメトリスシステム(インプラント型生理学的シグナルテレメトリスシステム1、Data Science International Inc.、米国)をONにし、試験パラメータを設定し、インプラントを作動させ、ラットの生理学的指標を記録した。システムをONにしてから約2時間後、デザインしたサイクルにしたがってラットに投与を行った。ラットの血圧、心電図及び体温等の指標データを投与から24時間以内に収集した。収集中、適切にシステムのON/OFFを切り替えることで、考えられ得るデータのオーバーフローを回避した。この切り換え工程は設定データポイントの値に影響せず、システム切り換え時間は記録された。記録が完了した次の日、テレメトリスシステムをOFFにした。検出タイムポイントは投与1時間前(-1時間)及び投与から0.5時間(\pm 5分)、1時間(\pm 10分)、1.5時間(\pm 10分)、2時間(\pm 15分)、3時間(\pm 15分)、4時間(\pm 15分)、8時間(\pm 45分)、24時間(\pm 1時間)であった。全てのデータを自動的にPONEMAHバージョン4.8ソフトウェアにより収集した。パラメータは、データ収集完了後に人工データを用いて分析する。データをまずPONEMAHバージョン4.8ソフトウェアで自動的に分析し、次に選択した値について人工データでポイント毎にチェックした。心拍数、血圧、呼吸及び体温の指標に関しては、1分以内の連続的な波形の平均値を選択し、他の心電指標に関しては10秒以内の連続的な波形の平均値を選択した。値を選択する際、検出タイムポイントでの即値

40

50

データが好ましい。しかしながら、ノイズ障害が大きい、心拍数における異常又は検出タイムポイントではっきりとした波形が確認できない等の問題があった場合は、所与の範囲にある、シグナルがはっきりした波形を選択した。さらに、それでも所与の範囲に、分析できるようなはっきりした波形が見られない場合は、分析できるデータを値点付近で見つけなくてはならず、値点表で特別に説明する。値を選択した時間を記録した。

【0177】

この実験においては、統計ソフトウェアSPSS13.0を使用してデータを処理した。両側検定を行い、有意水準は $p < 0.05$ に設定した。血圧、心電図、呼吸及び体温の指標は「平均±標準誤差」として表し、以下の手順にしたがって分析した。まず、ルビーン検定を用いてデータの均一性検定を行った。データが均一($P > 0.05$)であるならば、1要因分散分析を行った。分散分析の結果が有意であるならば($P < 0.05$)、ダネットの多重比較検定をビヒクルグループとサンプルグループとの差について行った。ルビーン検定の結果が有意であるならば($P < 0.05$)、クラスカル-ワリスノンパラメトリック検定を行った。クラスカル-ワリスノンパラメトリック検定の結果が有意であるならば($P < 0.05$)、マン-ホイットニーのU検定によりペアワイズ比較を行った。

10

【0178】

有意な差又は有意な変化傾向がみられるタイムポイントで収集したデータを正規化した後、変化範囲を計算した。正規化の式は $\% = [(b_1 - b_0) - (a_1 - a_0)] / a_1 \times 100$ (b_1 はサンプル投与後のタイムポイントの値を表し、 b_0 はサンプル投与前のタイムポイントの値を表し、 a_1 はビヒクル投与後のタイムポイントの対応値を表し、 a_0 はビヒクル投与前のタイムポイントの値を表し、 $\%$ は変化範囲を表す)であった。

20

【0179】

各用量のサンプルを投与したラットの心拍数、QT間隔及びQTcF間隔をビヒクルを投与したラットの心電図指標と比較したが、有意な差($P > 0.05$)又は変化傾向はみられなかった(図8A~8C)。

【0180】

1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 2) の合成方法に関し、この方法及びその条件を最適化する実施例を以下に挙げる。

【0181】

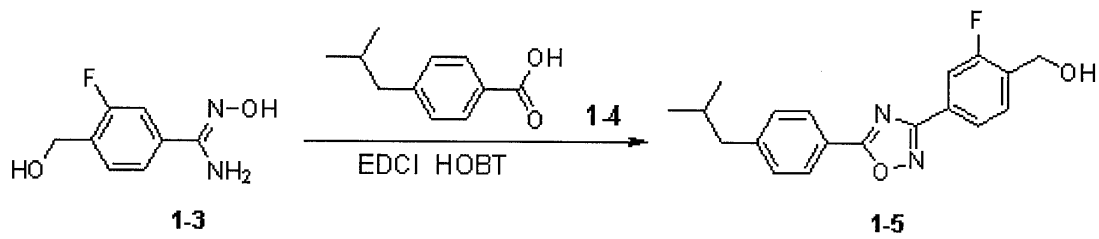
化合物2の合成は、以下のステップを含む方法にしたがって行う。

30

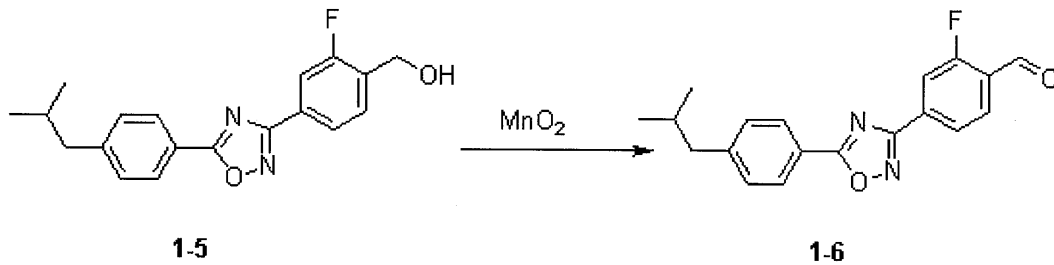
【0182】

【化 4 2】

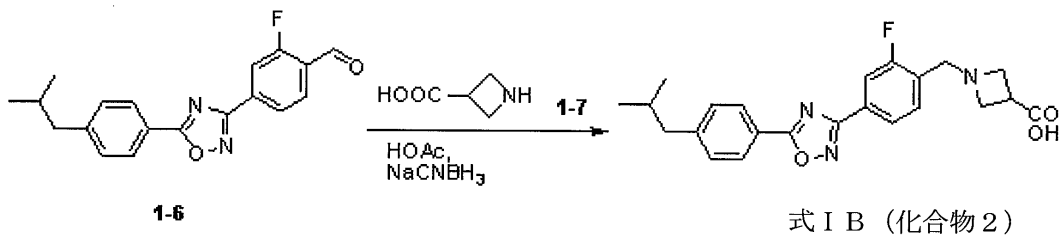
(1)



(2)



(3)



【 0 1 8 3 】

実施例 1 2 : 本発明の合成方法におけるステップ (1) のための選定

式 1 ~ 5 で表される化合物の粗生成物を実施例 2 にしたがって調製し、キャラクターゼーションを行った。LCMSで測定した純度は77.25%であった。

【 0 1 8 4 】

結晶化精製条件用の選定を、調製した粗生成物に行った。結晶化工程は以下の通りであった：粗生成物を結晶化溶媒に溶解させ、20 で結晶化し、真空で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である、式 1 ~ 5 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールが得られた。純度を LCMS で測定した。

【 0 1 8 5 】

第 1 に、好ましい結晶化溶媒を選定するために、上記の結晶化工程を表 4 の内容にしたがって行った。

【 0 1 8 6 】

10

20

30

40

【表 3】

表 4：結晶化精製のための溶媒及びその量の選定

溶媒	溶媒量（粗生成物：溶媒）	粗生成物の純度	精製物の純度	精製収率
酢酸エチル	1 g : 1 ml	77.25%	96.72%	少量の沈殿物
アセトン	1 g : 1 ml	77.25%	95.22%	少量の沈殿物
メタノール	1 g : 3 ml	77.25%	99.08%	55.4%
エタノール	1 g : 3 ml	77.25%	99.36%	37.4%
テトラヒドロフラン	1 g : 1 ml	77.25%		透明な溶液
ジクロロメタン	1 g : 1 ml	77.25%	98.58%	少量の沈殿物
水	1 g : 1 ml	77.25%	95.34%	84%

10

20

30

【0187】

表 4 から、結晶化に単一の溶媒を使用する場合、メタノール又はエタノールを溶媒として使用することで生成物の純度がはっきりと上昇したことがみてとれる。メタノールを使用したほうがエタノールを使用するより収率はずっと高かったが、それでも 55.4% にすぎなかった。水を溶媒として使用すると生成物の純度は実質的に上昇しなかったが、収率の損失は少なかった。したがって、追跡調査においては、メタノールと水との混合溶媒を結晶化溶媒として使用することを試みた。

【0188】

第 2 に、混合溶媒におけるメタノールと水との好ましい比を選定するために、上記の結晶化工程を表 5 の内容にしたがって行った。結晶化のための、粗生成物（g、重量基準）の混合溶媒（ml、体積基準）に対する比は 1 : 5 である。

40

【0189】

【表 4】

表 5 : 混合溶媒におけるメタノール対水比の選定

溶媒	溶媒比 (体積比)	粗生成物の純度	精製物の純度	精製収率
メタノール及び水	1 : 1	77.25%	98.32%	75.2%
メタノール及び水	2 : 1	77.25%	99.13%	73.1%
メタノール及び水	3 : 1	77.25%	99.27%	72.7%
メタノール及び水	1 : 2	77.25%	97.20%	79.8%
メタノール及び水	1 : 3	77.25%	95.68%	83.2%

10

【0190】

表 5 から、混合溶媒中のメタノールを増量することで生成物の純度は上昇したものの収率は低下したことがみとれる。水を増量することで精製収率は上昇したものの生成物の純度は低下したことがみとれる。全てを考慮し、混合溶媒におけるメタノール対水比として体積比 3 : 1 を選択した。

20

【0191】

第 3 に、混合溶媒の好ましい量を選定するために、上記の結晶化工程を表 6 の内容にしたがって行った。混合溶媒におけるメタノールの水に対する体積比は 3 : 1 である。

【0192】

【表 5】

表 6 : 溶媒量の選定

溶媒	溶媒量 (粗生成物 : 溶媒)	粗生成物の純度	精製物の純度	精製収率
メタノール及び水	1 g : 3 ml	77.25%	98.99%	69.9%
メタノール及び水	1 g : 5 ml	77.25%	99.16%	72.2%
メタノール及び水	1 g : 10 ml	77.25%	99.05%	68.9%
メタノール及び水	1 g : 20 ml	77.25%	99.30%	67.2%

30

40

【0193】

表 6 から、粗生成物の重量の溶媒の体積に対する比が 1 g : 5 mL である場合に高い収率及び純度が得られたことがみとれる。しかしながら、粗生成物の重量の溶媒の体積に対する比が 1 : 20 mL である場合、比が 1 g : 5 mL である場合より高い純度が得られるものの、収率は低かった。したがって、比 1 g : 5 mL を、粗生成物の重量の、結晶化用の溶媒系として使用する溶媒の体積に対する比として選択した。

【0194】

50

実施例 13 : 本発明の合成方法におけるステップ (2) のための選定

本発明のステップ (2) を以下の手順にしたがって行った。実施例 1 で精製した、式 1 ~ 5 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールを反応溶媒に溶解させ、次に活性二酸化マンガンを添加した。反応液を還流するまで加熱し、反応を継続させた。反応物を室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である、式 1 ~ 6 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドが得られた。変換率は L C M S で測定した。

【 0 1 9 5 】

第 1 に、好ましい反応溶媒を選定するために、上記の合成ステップを表 7 の内容にしたがって行った。式 1 ~ 5 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は 1 : 6 であった。表 7 ~ 9 における「原料」という表現は、式 1 ~ 5 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールを意味する。

【 0 1 9 6 】

【表 6】

表 7 : 反応溶媒の選定

溶媒	溶媒量 (原料 : 溶媒)	反応時間	変換率 (L C M S)	収率
テトラヒドロフラン	1 g : 1 0 m l	1 時間	9 6 . 2 6 %	9 2 . 2 %
酢酸エチル	1 g : 1 0 m l	1 時間	9 3 . 3 %	9 3 . 3 %
トルエン	1 g : 1 0 m l	1 時間	9 1 . 7 %	9 1 . 7 %

【 0 1 9 7 】

表 7 から、テトラヒドロフラン、酢酸エチル又はトルエンを反応溶媒として使用すると変換率及び収率にはあまり影響がなかったことがみてとれる。しかしながら、反応溶媒としてのテトラヒドロフランの使用には安全上のリスクがあり、反応溶媒としてのトルエンの使用では高い毒性が問題となるため、酢酸エチルを反応溶媒として選択した。

【 0 1 9 8 】

第 2 に、溶媒の好ましい量を選定するために、上記の合成ステップを表 8 の内容にしたがって行った。酢酸エチルを反応溶媒として使用し、式 1 ~ 5 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールの二酸化マンガンに対するモル比は 1 : 6 である。

【 0 1 9 9 】

【表 7】

表 8 : 反応溶媒量の選定

溶媒量 (原料 : 溶媒)	反応時間	変換率 (LCMS)	収率
1 g : 10 ml	1 時間	97.76%	93.3%
1 g : 20 ml	1 時間	98.93%	92.6%
1 g : 30 ml	1 時間	98.83%	93.1%

【0200】

表 8 から、原料の重量の溶媒の体積に対する比が 1 g : 10 ml、1 g : 20 ml 及び 1 g : 30 ml だと変換率及び収率にはあまり影響がなかったことがみてとれる。コストを考慮し、反応溶媒量として 1 g : 10 ml の比を選択した。

【0201】

第 3 に、二酸化マンガンの好ましい量を選定するために、上記の合成ステップを表 9 の内容にしたがって行った。式 1 ~ 5 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールの酢酸エチルに対する量 1 g : 10 ml を用いた。

【0202】

【表 8】

表 9 : 酸化剤量の選定

酸化剤量 (原料対二酸化マンガンモル比)	反応時間	変換率 (LCMS)	収率
1 : 4	3 時間	96.91%	86.6%
1 : 5	3 時間	97.06%	91.0%
1 : 6	3 時間	97.03%	93.3%
1 : 10	3 時間	97.12%	93.6%

【0203】

表 9 から、原料の二酸化マンガンに対するモル比が 1 : 6 だと高い変換率及び収率が得られたことがみてとれる。しかしながら、原料の二酸化マンガンに対するモル比を 1 : 10 に上げて変換率及び収率にはあまり影響がなかった。したがって、コスト及び収率の両方を考慮し、原料及び二酸化マンガンの量としてモル比 1 : 6 を選択した。

【0204】

実施例 14 : 本発明の合成方法におけるステップ (3) のための選定

本発明のステップ (3) を、以下の手順にしたがって行った。室温で、式 1 ~ 6 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒド、式 1 ~ 7 のアゼチジン - 3 - カルボン酸及び氷酢酸を反応溶媒に添加し、2 時間にわたって 20 で攪拌した。NaBH₃CN をメタノールに溶解させ、次にメタノール中の NaBH₃CN 溶液を反応系に 1 時間以内に滴加した。滴下後、反応液を攪拌し、20 で反応させ、濾過した。濾過ケーキをメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である、式 IB で表される 1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸 (化合物 2) が得られた。変換率を LCMS で測定した。

【0205】

第 1 に、好ましい反応溶媒を選定するために、上記の合成ステップを表 10 の内容にし

10

20

30

40

50

たがって行った。式 1 ~ 6 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドの式 1 ~ 7 のアゼチジン - 3 - カルボン酸に対するモル比は 1 : 1 . 0 5 であった。式 1 ~ 6 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドのナトリウムシアノボロヒドリドに対するモル比は 1 : 1 である。メタノール中の NaBH₃CN 溶液の滴下温度は 15 ~ 20 であった。表 10 ~ 12 における「原料」という表現は、式 1 ~ 6 で表される 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドを意味する。

【 0 2 0 6 】

【表 9】

10

表 10 : 反応溶媒の選定

溶媒	溶媒量 (原料 : 溶媒)	反応時間	変換率 (LCMS)	収率
テトラヒドロフラン	1 g : 40 ml	6 時間	1 . 6 4 %	
メタノール	1 g : 40 ml	6 時間	7 9 . 2 6 %	6 9 . 1 0 %
エタノール	1 g : 40 ml	6 時間	6 6 . 2 0 %	5 3 . 2 3 %

20

【 0 2 0 7 】

表 10 から、テトラヒドロフランを反応溶媒として使用すると変換率が極めて低かったことがみてとれる。一方、メタノール又はエタノールを反応溶媒として使用すると、変換率及び収率は共により高かった。

【 0 2 0 8 】

第 2 に、還元剤の好ましい量を選定するために、上記の合成ステップを、表 11 の内容にしたがって行った。式 1 ~ 6 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドの式 1 ~ 7 のアゼチジン - 3 - カルボン酸に対するモル比は 1 : 1 . 0 5 であった。反応溶媒はメタノールであり、メタノール中の NaBH₃CN 溶液の滴下温度は 15 ~ 20 であった。

30

【 0 2 0 9 】

【表 10】

表 11 : 還元剤量の選定

還元剤量 (原料対ナトリウムシアノボロヒドリドモル比)	反応時間	変換率 (LCMS)	収率	純度
1 : 0.5	15時間	66.42%	67.20%	94.58%
1 : 1	15時間	79.26%	69.10%	95.50%
1 : 2	15時間	73.77%	65.61%	94.24%
1 : 6	15時間	64.51%	53.27%	94.36%

10

【0210】

表 11 から、原料のナトリウムシアノボロヒドリドに対するモル比が 1 : 1 だと変換率、収率及び生成物の純度の全てがより高かったことがみてとれる。

20

【0211】

第 3 に、還元剤の好ましい滴下温度を選定するために、上記の合成ステップを表 12 の内容にしたがって行った。式 1 ~ 6 の 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドの式 1 ~ 7 のアゼチジン - 3 - カルボン酸に対するモル比は 1 : 1.05 であり、反応溶媒はメタノールであった。

【0212】

【表 11】

表 12 : 還元剤の滴下温度の選定

30

温度	還元剤量(原料(1-6):還元剤)	溶媒量(原料:溶媒)	滴下時間	変換率	純度
0~5℃	1 Eq.	40V	20分	67.65%	95.61%
5~15℃	1 Eq.	40V	20分	71.04%	96.91%
15~20℃	1 Eq.	40V	20分	74.50%	97.91%

40

【0213】

表 12 から、ナトリウムシアノボロヒドリドの滴下温度が 15 ~ 20 だと変換率及び生成物の純度が共により高かったことがみてとれる。

【0214】

実施例 15 : 本発明の合成方法

(1) 室温で、4 - イソブチル安息香酸 (1 - 4、0.148 Kg、0.83 mol) を N, N - ジメチルホルムアミド (1.7 L) に溶解させ、次に 1 - ヒドロキシベンゾトリゾール (0.11 Kg、0.83 mol) 及び 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) -

50

3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド (0.16 Kg, 0.83 mol) を添加した。反応液を 30 まで加熱し、30 分間にわたって攪拌し、次に 3 - フルオロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1 - 3、0.153 Kg, 0.83 mol) を反応液に添加した。反応液を 140 まで加熱し、2 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N, N - ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル (2.0 L) に溶解させ、連続的に水 (1.5 L x 2) 及び飽和 NaHCO₃ 溶液 (1.5 L) で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると 256 g の粗生成物が得られた。

【0215】

上で得られた粗生成物を、メタノールと水との 1.28 L の混合溶媒 (体積比 3 : 1) で再結晶化し、20 で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールが得られた (1 - 5、182 g、収率 71%)。LCMS で測定した純度は 93.1% であった。

MS (ESI) : m/z 327.0 [M+H]⁺, NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.11 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.98 (m, 1H), 7.86 (m, 1H), 7.59 (t, J = 8.0 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.85 (s, 2H), 2.57 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 1.93 (m, 1H), 0.93 (d, J = 6.8 Hz, 6H)

【0216】

(2) 室温で、2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコール (1 - 5、0.14 Kg, 0.43 mol) を酢酸エチル (1.4 L) に溶解させ、次に活性二酸化マンガン (0.21 Kg, 2.42 mol) を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドが得られた (1 - 6、139 g、収率 99.0%)。LCMS で測定した純度は 97.6% であった。

MS (ESI) : m/z 325.0 [M+H]⁺, NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 10.42 (s, 1H), 8.12 ~ 7.99 (m, 5H), 7.34 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.58 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 1.93 (m, 1H), 0.93 (d, J = 6.4 Hz, 6H)

【0217】

(3) 室温で、2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒド (1 - 6、60 g, 0.185 mol)、アゼチジン - 3 - カルボン酸 (1 - 7、19.5 g, 0.193 mol) 及び氷酢酸 (360 mL, 0.63 mol) をメタノール (1.6 L) に添加し、2 時間にわたって 20 で攪拌した。NaBH₃CN (11.5 g, 0.185 mol) をメタノール (200 mL) に溶解させ、次にメタノール中の NaBH₃CN 溶液を反応系に 1 時間以内に滴加した。滴下温度は 15 ~ 20 に制御した。滴下後、反応液を 16 時間にわたって 20 で攪拌し、濾過した。濾過ケーキを 300 mL のメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である 1 - {2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル} - 3 - アゼチジンカルボン酸が得られた (化合物 2、67 g、収率 89.0%)。LCMS で測定した純度は 98.8% であった。

MS (ESI) : m/z 410.2 [M+H]⁺, NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.05 (m, 1H), 7.97 (m, 1H), 7.68 (t, J = 8.0 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.40 (s, 2H), 4.15 (m, 4H), 3.41 (

10

20

30

40

50

m、1 H)、2.61 (d、J = 7.2 Hz、2 H)、1.95 (m、1 H)、0.94 (d、J = 7.2 Hz、6 H)。

【0218】

実施例16：本発明の合成方法

(1)室温で、4-イソブチル安息香酸(1-4、1.477 Kg、8.30 mol)をN,N-ジメチルホルムアミド(17 L)に溶解させ、次に1-ヒドロキシベンゾトリゾール(1.12 Kg、8.30 mol)及び1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド(1.58 Kg、8.30 mol)を添加した。反応液を30℃まで加熱し、30分間にわたって攪拌し、次に3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3、1.527 Kg、8.30 mol)を反応液に添加した。反応液を140℃まで加熱し、2時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル(20 L)に溶解させ、連続的に水(15 L x 2)及び飽和NaHCO₃溶液(15 L)で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、2.6 Kgの粗生成物が得られた。

10

【0219】

上で得られた粗生成物をメタノールと水との12.5 Lの混合溶媒(体積比3:1)により再結晶化し、20℃で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた(1-5、1.9 Kg、収率73%)。LCMSで測定した純度は93.89%であった。

20

MS(ESI): m/z 327.0 [M+H]⁺、NMR:¹H NMR(400 MHz、CDCl₃) : 8.11 (d、J = 8.0 Hz、2 H)、7.98 (m、1 H)、7.86 (m、1 H)、7.59 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1 H)、7.33 (d、J = 8.0 Hz、2 H)、4.85 (s、2 H)、2.57 (d、J = 6.8 Hz、2 H)、1.93 (m、1 H)、0.93 (d、J = 6.8 Hz、6 H)

【0220】

(2)室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、1.4 Kg、4.30 mol)を酢酸エチル(14 L)に溶解させ、次に活性二酸化マンガン(2.1 Kg、24.15 mol)を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた(1-6、1.38 Kg、収率99.0%)。LCMSで測定した純度は93.94%であった。

30

MS(ESI): m/z 325.0 [M+H]⁺、NMR:¹H NMR(400 MHz、CDCl₃) : 10.42 (s、1 H)、8.12 ~ 7.99 (m、5 H)、7.34 (d、J = 7.2 Hz、2 H)、2.58 (d、J = 6.4 Hz、2 H)、1.93 (m、1 H)、0.93 (d、J = 6.4 Hz、6 H)

40

【0221】

(3)室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、0.6 Kg、1.85 mol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、0.195 Kg、1.93 mol)及び氷酢酸(0.360 L、6.3 mol)をメタノール(16 L)に添加し、2時間にわたって20℃で攪拌した。NaBH₃CN(0.115 Kg、1.85 mol)をメタノール(2 L)に溶解させ、次にメタノール中のNaBH₃CN溶液を反応系に1時間以内に滴加した。滴下温度は15~20℃に制御した。滴下後、反応液を16時間にわたって20℃で攪拌し、濾過した。濾過ケーキを3 Lのメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1

50

、2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸が得られた(化合物2、0.7Kg、収率92.6%)。LCMSで測定した純度は97.6%であった。

MS(ESI): m/z 410.2 [M+H]⁺、NMR: ¹H NMR(400MHz、CDCl₃) : 8.13(d、J=8.4Hz、2H)、8.05(m、1H)、7.97(m、1H)、7.68(t、J=8.0Hz、7.6Hz、1H)、7.42(d、J=8.4Hz、2H)、4.40(s、2H)、4.15(m、4H)、3.41(m、1H)、2.61(d、J=7.2Hz、2H)、1.95(m、1H)、0.94(d、J=7.2Hz、6H)

【0222】

10

実施例17: 本発明の合成方法

(1) 室温で、4-イソブチル安息香酸(1-4、0.148Kg、0.83mol)をN,N-ジメチルホルムアミド(1.7L)に溶解させ、次に1-ヒドロキシベンゾトリゾール(0.11Kg、0.83mol)及び1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド(0.16Kg、0.83mol)を添加した。反応液を30℃まで加熱し、30分間にわたって攪拌し、次に3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3、0.153Kg、0.83mol)を反応液に添加した。反応液を140℃まで加熱し、2時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル(2.0L)に溶解させ、連続的に水(1.5L×2)及び飽和NaHCO₃溶液(1.5L)で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると251gの粗生成物が得られた。

20

【0223】

上で得られた粗生成物をメタノールと水との1.28Lの混合溶媒(体積比1:1)により再結晶化し、20℃で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた(1-5、158g、収率63%)。LCMSで測定した純度は92.1%であった。

MS(ESI): m/z 327.0 [M+H]⁺、NMR: ¹H NMR(400MHz、CDCl₃) : 8.11(d、J=8.0Hz、2H)、7.98(m、1H)、7.86(m、1H)、7.59(t、J=8.0Hz、7.6Hz、1H)、7.33(d、J=8.0Hz、2H)、4.85(s、2H)、2.57(d、J=6.8Hz、2H)、1.93(m、1H)、0.93(d、J=6.8Hz、6H)

30

【0224】

(2) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、0.14Kg、0.43mol)を酢酸エチル(1.4L)に溶解させ、次に活性二酸化マンガン(0.19Kg、2.15mol)を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた(1-6、138g、収率99.0%)。LCMSで測定した純度は98.5%であった。

40

MS(ESI): m/z 325.0 [M+H]⁺、NMR: ¹H NMR(400MHz、CDCl₃) : 10.42(s、1H)、8.12~7.99(m、5H)、7.34(d、J=7.2Hz、2H)、2.58(d、J=6.4Hz、2H)、1.93(m、1H)、0.93(d、J=6.4Hz、6H)

【0225】

(3) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、60g、0.185mol)

50

)、アゼチジン - 3 - カルボン酸 (1 - 7、19.5 g、0.193 mol) 及び氷酢酸 (360 mL、0.63 mol) をメタノール (1.6 L) に添加し、2 時間にわたって 20 で攪拌した。NaBH₃CN (5.8 g、0.09 mol) をメタノール (200 mL) に溶解させ、次に、メタノール中の NaBH₃CN 溶液を反応系に 1 時間以内に滴加した。滴下温度は 15 ~ 20 に制御した。滴下後、反応液を 16 時間にわたって 20 で攪拌し、濾過した。濾過ケーキを 300 mL のメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である 1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸が得られた (化合物 2、62 g、収率 81.9%)。LCMS で測定した純度は 94.6% であった。

10

MS (ESI) : m/z 410.2 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 8.13 (d、J = 8.4 Hz、2H)、8.05 (m、1H)、7.97 (m、1H)、7.68 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1H)、7.42 (d、J = 8.4 Hz、2H)、4.40 (s、2H)、4.15 (m、4H)、3.41 (m、1H)、2.61 (d、J = 7.2 Hz、2H)、1.95 (m、1H)、0.94 (d、J = 7.2 Hz、6H)

【0226】

実施例 18 : 本発明の合成方法

(1) 室温で、4 - イソブチル安息香酸 (1 - 4、0.148 Kg、0.83 mol) を N, N - ジメチルホルムアミド (1.7 L) に溶解させ、次に 1 - ヒドロキシベンゾトリゾール (0.11 Kg、0.83 mol) 及び 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド (0.16 Kg、0.83 mol) を添加した。反応液を 30 まで加熱し、30 分間にわたって攪拌し、次に 3 - フルオロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1 - 3、0.153 Kg、0.83 mol) を反応液に添加した。反応液を 140 まで加熱し、2 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N, N - ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル (2.0 L) に溶解させ、連続的に水 (1.5 L x 2) 及び飽和 NaHCO₃ 溶液 (1.5 L) で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると 260 g の粗生成物が得られた。

20

【0227】

上で得られた粗生成物を、メタノールと水との 1.30 L の混合溶媒 (体積比 1 : 3) で再結晶化し、20 で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールが得られた (1 - 5、196 g、収率 76%)。LCMS で測定した純度は 88.7% であった。

30

MS (ESI) : m/z 327.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 8.11 (d、J = 8.0 Hz、2H)、7.98 (m、1H)、7.86 (m、1H)、7.59 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1H)、7.33 (d、J = 8.0 Hz、2H)、4.85 (s、2H)、2.57 (d、J = 6.8 Hz、2H)、1.93 (m、1H)、0.93 (d、J = 6.8 Hz、6H)

40

【0228】

(2) 室温で、2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコール (1 - 5、0.14 Kg、0.43 mol) を酢酸エチル (1.4 L) に溶解させ、次に活性二酸化マンガン (0.21 Kg、2.42 mol) を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1, 2, 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドが得られた (1 - 6、139 g、収率 99.0%)。LCMS で測定した純度は 97.7% であった。

50

MS (ESI) : m/z 325.0 [M+H]⁺, NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 10.42 (s, 1H), 8.12 ~ 7.99 (m, 5H), 7.34 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.58 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 1.93 (m, 1H), 0.93 (d, J = 6.4 Hz, 6H)

【0229】

(3) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、60g、0.185mol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、19.5g、0.193mol)及び氷酢酸(360mL、0.63mol)をメタノール(1.6L)に添加し、2時間にわたって20℃で撹拌した。NaBH₃CN(23.0g、0.37mol)をメタノール(200mL)に溶解させ、次にメタノール中のNaBH₃CN溶液を反応系に1時間以内に滴加した。滴下温度は15~20℃に制御した。滴下後、反応液を16時間にわたって20℃で撹拌し、濾過した。濾過ケーキを300mLのメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸が得られた(化合物2、60g、収率79%)。LCMSで測定した純度は94.2%であった。

10

MS (ESI) : m/z 410.2 [M+H]⁺, NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 8.05 (m, 1H), 7.97 (m, 1H), 7.68 (t, J = 8.0 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.40 (s, 2H), 4.15 (m, 4H), 3.41 (m, 1H), 2.61 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 1.95 (m, 1H), 0.94 (d, J = 7.2 Hz, 6H)

20

【0230】

実施例19：本発明の合成方法

(1) 室温で、4-イソブチル安息香酸(1-4、0.148Kg、0.83mol)をN,N-ジメチルホルムアミド(1.7L)に溶解させ、次に1-ヒドロキシベンゾトリゾール(0.11Kg、0.83mol)及び1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド(0.16Kg、0.83mol)を添加した。反応液を30℃まで加熱し、30分間にわたって撹拌し、次に3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3、0.153Kg、0.83mol)を反応液に添加した。反応液を140℃まで加熱し、2時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル(2.0L)に溶解させ、連続的に水(1.5L×2)及び飽和NaHCO₃溶液(1.5L)で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると250gの粗生成物が得られた。

30

【0231】

上で得られた粗生成物をメタノールと水との1.25Lの混合溶媒(体積比2:1)で再結晶化し、20℃で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた(1-5、169g、収率68%)。LCMSで測定した純度は93.9%であった。

40

MS (ESI) : m/z 327.0 [M+H]⁺, NMR : ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) : 8.11 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.98 (m, 1H), 7.86 (m, 1H), 7.59 (t, J = 8.0 Hz, 7.6 Hz, 1H), 7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.85 (s, 2H), 2.57 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 1.93 (m, 1H), 0.93 (d, J = 6.8 Hz, 6H)

【0232】

(2) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、0.14Kg、0.43

50

mol) を酢酸エチル (1.4 L) に溶解させ、次に活性二酸化マンガン (0.37 Kg、4.3 mol) を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒドが得られた (1 - 6、139 g、収率 99.0%)。LCMS で測定した純度は 99.2% であった。

MS (ESI) : m/z 325.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 10.42 (s、1H)、8.12 ~ 7.99 (m、5H)、7.34 (d、J = 7.2 Hz、2H)、2.58 (d、J = 6.4 Hz、2H)、1.93 (m、1H)、0.93 (d、J = 6.4 Hz、6H)

10

【0233】

(3) 室温で、2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンズアルデヒド (1 - 6、60 g、0.185 mol)、アゼチジン - 3 - カルボン酸 (1 - 7、19.5 g、0.193 mol) 及び氷酢酸 (360 mL、0.63 mol) をメタノール (1.6 L) に添加し、2 時間にわたって 20 で攪拌した。NaBH₃CN (69.0 g、1.11 mol) をメタノール (200 mL) に溶解させ、次にメタノール中の NaBH₃CN 溶液を反応系に 1 時間以内に滴加した。滴下温度は 15 ~ 20 に制御した。滴下後、反応液を 16 時間にわたって 20 で攪拌し、濾過した。濾過ケーキを 300 mL のメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である 1 - { 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジル } - 3 - アゼチジンカルボン酸が得られた (化合物 2、2.54 g、収率 71.2%)。LCMS で測定した純度は 94.4% であった。

20

MS (ESI) : m/z 410.2 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 8.13 (d、J = 8.4 Hz、2H)、8.05 (m、1H)、7.97 (m、1H)、7.68 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1H)、7.42 (d、J = 8.4 Hz、2H)、4.40 (s、2H)、4.15 (m、4H)、3.41 (m、1H)、2.61 (d、J = 7.2 Hz、2H)、1.95 (m、1H)、0.94 (d、J = 7.2 Hz、6H)

30

【0234】

実施例 20 : 本発明の合成方法

(1) 室温で、4 - イソブチル安息香酸 (1 - 4、0.148 Kg、0.83 mol) を N,N - ジメチルホルムアミド (1.7 L) に溶解させ、次に 1 - ヒドロキシベンゾトリゾール (0.11 Kg、0.83 mol) 及び 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミドヒドロクロリド (0.16 Kg、0.83 mol) を添加した。反応液を 30 まで加熱し、30 分間にわたって攪拌し、次に 3 - フルオロ - N' - ヒドロキシ - 4 - ヒドロキシメチルベンズアミジン (1 - 3、0.153 Kg、0.83 mol) を反応液に添加した。反応液を 140 まで加熱し、2 時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N,N - ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル (2.0 L) に溶解させ、連続的に水 (1.5 L x 2) 及び飽和 NaHCO₃ 溶液 (1.5 L) で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると 256 g の粗生成物が得られた。

40

【0235】

上で得られた粗生成物を、メタノールと水との 1.28 L の混合溶媒 (体積比 1 : 2) で再結晶化し、20 で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である 2 - フルオロ - 4 - [5 - (4 - イソブチルフェニル) - 1 , 2 , 4 - オキサジアゾール - 3 - イル] - ベンジルアルコールが得られた (1 - 5、190 g、収率 74%)。LCMS で測定した純度は 92.6% であった。

MS (ESI) : m/z 327.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、

50

CDC13) : 8.11 (d, J = 8.0 Hz, 2H)、7.98 (m, 1H)、7.86 (m, 1H)、7.59 (t, J = 8.0 Hz, 7.6 Hz, 1H)、7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2H)、4.85 (s, 2H)、2.57 (d, J = 6.8 Hz, 2H)、1.93 (m, 1H)、0.93 (d, J = 6.8 Hz, 6H)

【0236】

(2) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール(1-5、0.14 Kg、0.43 mol)を酢酸エチル(1.4 L)に溶解させ、次に活性二酸化マンガン(0.15 Kg、1.72 mol)を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた(1-6、139 g、収率99.0%)。LCMSで測定した純度は96.9%であった。

10

MS(ESI): m/z 325.0 [M+H]⁺、NMR:¹H NMR(400 MHz、CDC13) : 10.42 (s, 1H)、8.12 ~ 7.99 (m, 5H)、7.34 (d, J = 7.2 Hz, 2H)、2.58 (d, J = 6.4 Hz, 2H)、1.93 (m, 1H)、0.93 (d, J = 6.4 Hz, 6H)

【0237】

(3) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド(1-6、60 g、0.185 mol)、アゼチジン-3-カルボン酸(1-7、19.5 g、0.193 mol)及び氷酢酸(360 mL、0.63 mol)をメタノール(1.6 L)に添加し、2時間にわたって20℃で攪拌した。NaBH₃CN(11.5 g、0.185 mol)をメタノール(200 mL)に溶解させ、次にメタノール中のNaBH₃CN溶液を反応系に1時間以内に滴加した。滴下温度は15~20℃に制御した。滴下後、反応液を16時間にわたって20℃で攪拌し、濾過した。濾過ケーキを300 mLのメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸が得られた(化合物2、64 g、収率84.4%)。LCMSで測定した純度は95.5%であった。

20

30

MS(ESI): m/z 410.2 [M+H]⁺、NMR:¹H NMR(400 MHz、CDC13) : 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 2H)、8.05 (m, 1H)、7.97 (m, 1H)、7.68 (t, J = 8.0 Hz, 7.6 Hz, 1H)、7.42 (d, J = 8.4 Hz, 2H)、4.40 (s, 2H)、4.15 (m, 4H)、3.41 (m, 1H)、2.61 (d, J = 7.2 Hz, 2H)、1.95 (m, 1H)、0.94 (d, J = 7.2 Hz, 6H)

【0238】

実施例21: 本発明の合成方法

(1) 室温で、4-イソブチル安息香酸(1-4、0.148 Kg、0.83 mol)をN,N-ジメチルホルムアミド(1.7 L)に溶解させ、次に1-ヒドロキシベンゾトリゾール(0.11 Kg、0.83 mol)及び1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロリド(0.16 Kg、0.83 mol)を添加した。反応液を30℃まで加熱し、30分間にわたって攪拌し、次に3-フルオロ-N'-ヒドロキシ-4-ヒドロキシメチルベンズアミジン(1-3、0.153 Kg、0.83 mol)を反応系に添加した。反応液を140℃まで加熱し、2時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、N,N-ジメチルホルムアミドを減圧下での濃縮により除去した。濃縮物を酢酸エチル(2.0 L)に溶解させ、連続的に水(1.5 L x 2)及び飽和NaHCO₃溶液(1.5 L)で洗浄した。有機相を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると258 gの粗生成物が得られた。

40

50

【0239】

上で得られた粗生成物を、メタノールと水との1.29 Lの混合溶媒（体積比3：1）で再結晶化し、20℃で結晶化し、濾過し、真空下で乾燥させると、ほぼ白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコールが得られた（1-5、186 g、収率72%）。LCMSで測定した純度は93.8%であった。

MS (ESI) : m/z 327.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 8.11 (d、J = 8.0 Hz、2H)、7.98 (m、1H)、7.86 (m、1H)、7.59 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1H)、7.33 (d、J = 8.0 Hz、2H)、4.85 (s、2H)、2.57 (d、J = 6.8 Hz、2H)、1.93 (m、1H)、0.93 (d、J = 6.8 Hz、6H)

10

【0240】

(2) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジルアルコール（1-5、0.14 Kg、0.43 mol）を酢酸エチル（2.8 L）に溶解させ、次に活性二酸化マンガン（0.21 Kg、2.42 mol）を添加した。反応液を還流するまで加熱し、3時間にわたって反応させ、室温まで冷却し、濾過した。淡黄色の濾液を回収し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮すると、白色の固形生成物である2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒドが得られた（1-6、138 g、収率99%）。LCMSで測定した純度は98.8%であった。

20

MS (ESI) : m/z 325.0 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 10.42 (s、1H)、8.12 ~ 7.99 (m、5H)、7.34 (d、J = 7.2 Hz、2H)、2.58 (d、J = 6.4 Hz、2H)、1.93 (m、1H)、0.93 (d、J = 6.4 Hz、6H)

【0241】

(3) 室温で、2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンズアルデヒド（1-6、60 g、0.185 mol）、アゼチジン-3-カルボン酸（1-7、19.5 g、0.193 mol）及び氷酢酸（360 mL、0.63 mol）をメタノール（1.6 L）に添加し、2時間にわたって20℃で撹拌した。NaBH₃CN（11.5 g、0.185 mol）をメタノール（200 mL）に溶解させ、次にメタノール中のNaBH₃CN溶液を反応系に1時間以内に滴加した。滴下温度は15~20℃に制御した。滴下後、反応液を16時間にわたって20℃で撹拌し、濾過した。濾過ケーキを300 mLのメタノールで洗浄し、次に乾燥させると、白色の固形生成物である1-{2-フルオロ-4-[5-(4-イソブチルフェニル)-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル]-ベンジル}-3-アゼチジンカルボン酸が得られた（化合物2、64 g、収率84.5%）。LCMSで測定した純度は96.9%であった。

30

MS (ESI) : m/z 410.2 [M+H]⁺、NMR : ¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) : 8.13 (d、J = 8.4 Hz、2H)、8.05 (m、1H)、7.97 (m、1H)、7.68 (t、J = 8.0 Hz、7.6 Hz、1H)、7.42 (d、J = 8.4 Hz、2H)、4.40 (s、2H)、4.15 (m、4H)、3.41 (m、1H)、2.61 (d、J = 7.2 Hz、2H)、1.95 (m、1H)、0.94 (d、J = 7.2 Hz、6H)

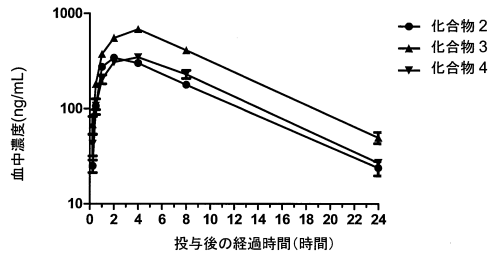
40

【0242】

本発明の実施形態に関するこれまでの説明は本発明を限定することを意図したものではなく、当業者ならば、本発明に沿って様々な変更を加え、変化形を作り出すことができ、これらは本発明の趣旨から逸脱することなく本発明の保護範囲内に含まれる。

【 図 1 】

Fig. 1A



【 図 2 】

Fig. 2

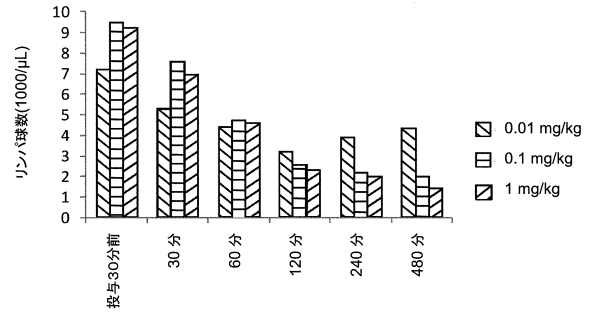


Fig. 1B

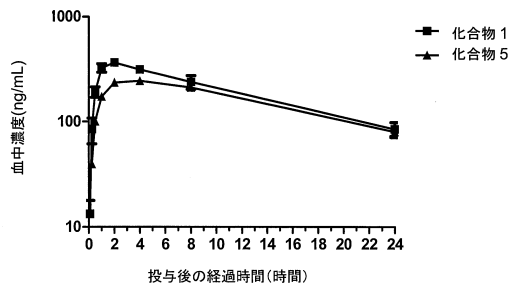
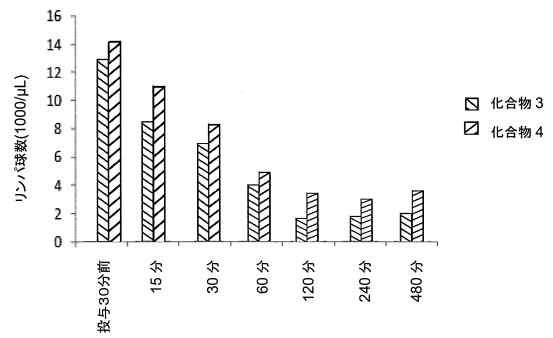
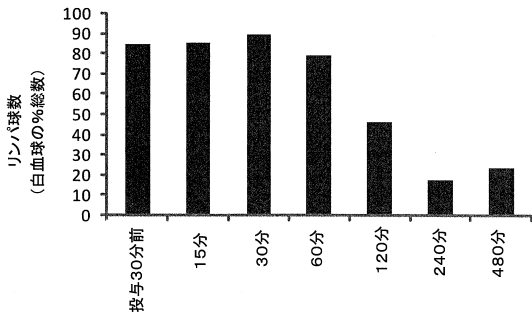


Fig. 3



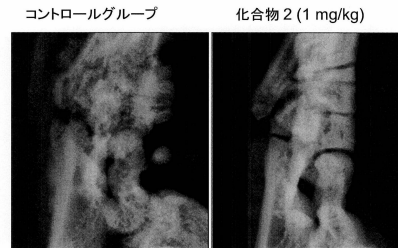
【 図 4 】

Fig. 4



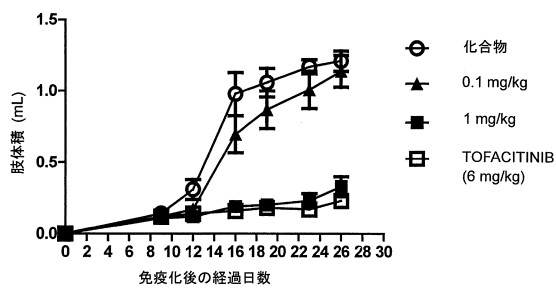
【 図 6 】

Fig. 6



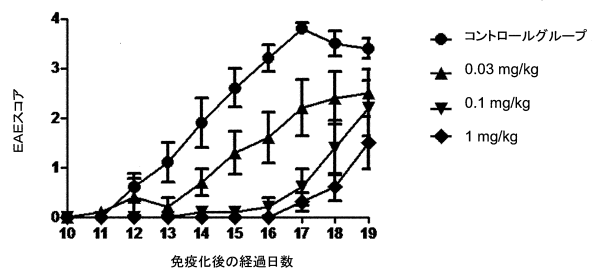
【 図 5 】

Fig. 5



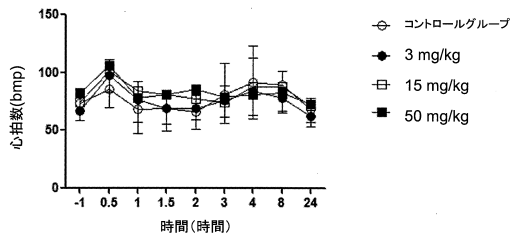
【 図 7 】

Fig. 7



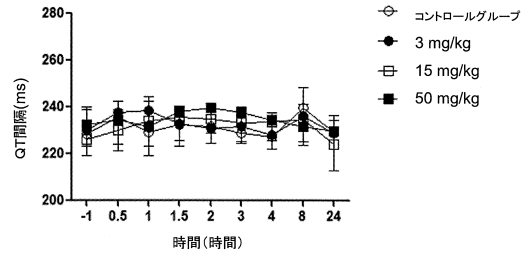
【 図 8 A 】

Fig. 8A



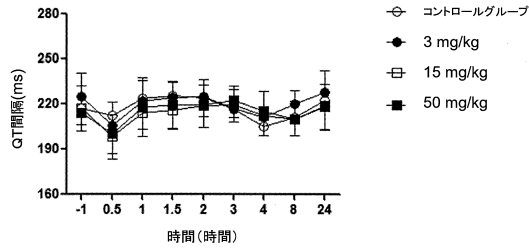
【 図 8 C 】

Fig. 8C



【 図 8 B 】

Fig. 8B



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I			
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	37/00	(2006.01)	A 6 1 P	37/00	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
C 0 7 B	61/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
			C 0 7 B	61/00	3 0 0

(72)発明者 パン, ウビン
 カナダ国・ブイ7エイ 1イー4・ブリティッシュ コロンビア・リッチモンド・ベイツ ロード
 ・9940

(72)発明者 ヤン, シン
 中華人民共和国・215400・ジアンズ・タイカン シティ・ピンフファユアン・ビルディング
 ・3・スイート・602

審査官 三上 晶子

(56)参考文献 特表2005-533058(JP, A)
 特表2012-522744(JP, A)
 特表2012-515787(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D 2 0 1 / 0 0 - 5 2 1 / 0 0
 A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4
 A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0
 C 0 7 B 6 1 / 0 0
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)