

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5976322号  
(P5976322)

(45) 発行日 平成28年8月23日(2016.8.23)

(24) 登録日 平成28年7月29日(2016.7.29)

(51) Int.Cl.

F I

<b>C O 7 D 487/04</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 487/04	1 4 4
<b>A 6 1 K 31/4985</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 487/04	C S P
<b>A 6 1 P 3/04</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/4985	
<b>A 6 1 P 3/10</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 3/04	
<b>A 6 1 P 43/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 3/10	

請求項の数 18 (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-552307 (P2011-552307)  
 (86) (22) 出願日 平成22年3月3日(2010.3.3)  
 (65) 公表番号 特表2012-519193 (P2012-519193A)  
 (43) 公表日 平成24年8月23日(2012.8.23)  
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2010/000257  
 (87) 国際公開番号 W02010/099698  
 (87) 国際公開日 平成22年9月10日(2010.9.10)  
 審査請求日 平成25年2月27日(2013.2.27)  
 審判番号 不服2015-2 (P2015-2/J1)  
 審判請求日 平成27年1月2日(2015.1.2)  
 (31) 優先権主張番号 200910047075.4  
 (32) 優先日 平成21年3月5日(2009.3.5)  
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 510166892  
 ジェンス ヘンルイ メディシンカンパニ  
 ー リミテッド  
 J I A N G S U H E N G R U I M E D  
 I C I N E C O . , L T D .  
 中華人民共和国 ジェンス 222002  
 リエンユンガン エコノミック・アンド  
 ・テクノロジカル・ディベロップメント・  
 ゾーン クンルンジャン ロード ナンバ  
 ー7

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 テトラヒドロ-イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン誘導体塩、その製造方法及び医薬用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸の製薬学的に許容される塩；ただし ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸塩酸塩を除く。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の塩であって、当該塩が、有機酸若しくは無機酸と ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸から形成される酸付加塩、又は有機塩基若しくは無機塩基と ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸から形成される塩基付加塩である塩。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の塩であって、酸付加塩が、リン酸塩、ヒドロリン酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、亜硫酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、マロン酸塩、ペンタン酸塩、グルタミン酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、ホウ酸塩、p - トルエン

10

20

スルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、安息香酸塩、パモ酸塩、サリチル酸塩、バニリン酸塩、マンデル酸塩、コハク酸塩、グルコン酸塩、ラクトピオン酸塩及びラウリル硫酸塩からなる群より選ばれる塩。

【請求項 4】

請求項 2 に記載の塩であって、酸付加塩が、リン酸塩である塩。

【請求項 5】

請求項 2 に記載の塩であって、塩基付加塩が、ナトリウム塩、リチウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、テトラメチル四級アンモニウム塩、テトラエチル四級アンモニウム塩、エタノールアミン塩、コリン塩、リジン塩、アルギニン塩、メタンアミン塩、ジメチルアミン塩、トリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩及びエチルアミン塩から成る群より選ばれる塩。

10

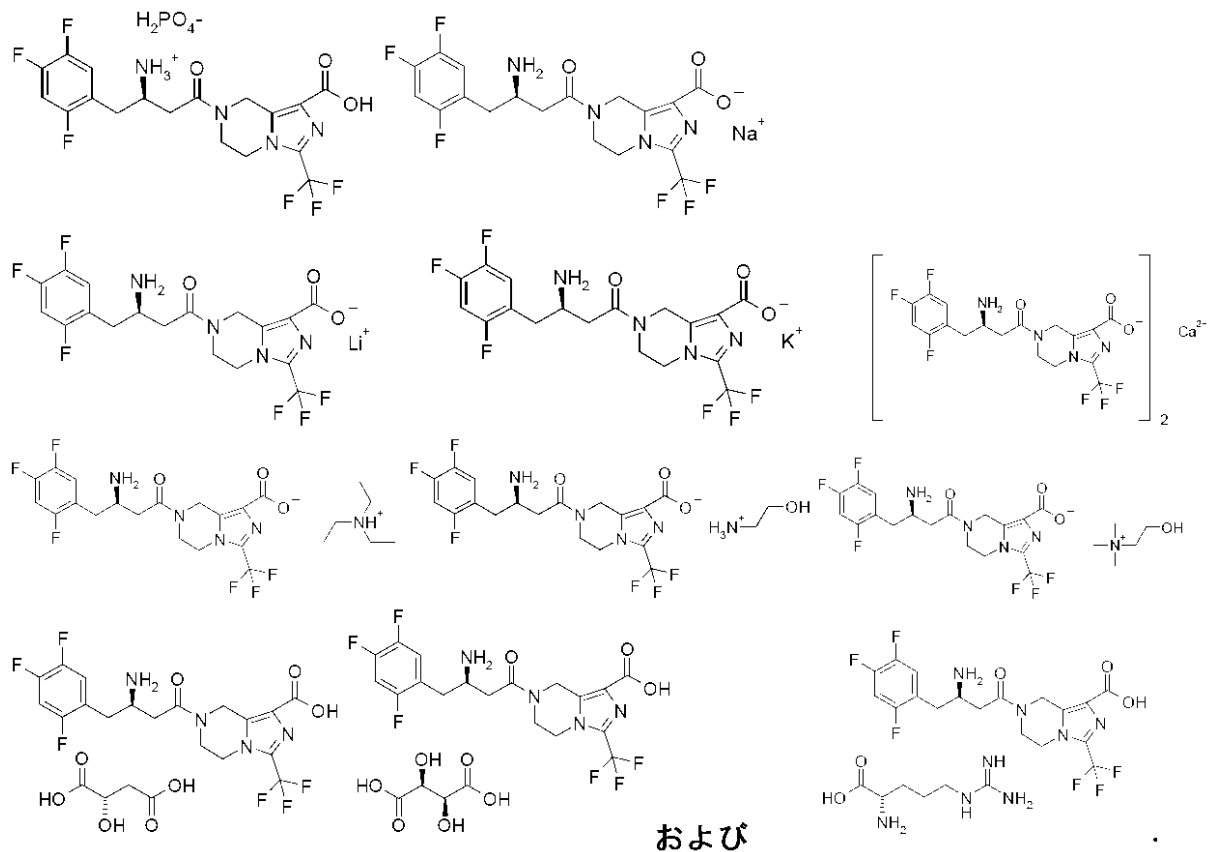
【請求項 6】

請求項 2 に記載の塩であって、塩基付加塩が、エタノールアミン塩またはコリン塩である塩。

【請求項 7】

塩が下記より選ばれる請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の塩。

【化 1 6】



【請求項 8】

2 型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬の製造における、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩の使用。

【請求項 9】

ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPP - IV) 阻害剤としての薬物の製造における、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩の使用。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩を含有する 2 型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬。

【請求項 11】

50

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩を含有するジペプチジルペプチダーゼ IV (DPP - IV) の阻害薬。

【請求項 1 2】

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸塩酸塩と有機酸又は無機酸とを反応させることを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩の製造方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 2 に記載の製造方法であって、有機酸又は無機酸が、リン酸、硫酸、亜硫酸、酢酸、シュウ酸、マロン酸、ペンタン酸、グルタミン酸、オレイン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、ラウリン酸、ホウ酸、p - トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、リンゴ酸、酒石酸、安息香酸、パモ酸、サリチル酸、バニリン酸、マンデル酸、コハク酸、グルコン酸、ラクトビオン酸及びラウリル硫酸からなる群より選ばれる方法。

10

【請求項 1 4】

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸塩酸塩を、アルカリ金属水酸化物、アミン又は四級アンモニウムと反応させることを含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩の製造方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 に記載の製造方法であって、アルカリ金属水酸化物が、水酸化ナトリウム、水酸化リチウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム及び水酸化マグネシウムからなる群より選ばれ、アミン又は四級アンモニウムが、テトラメチル四級アンモニウム、テトラエチル四級アンモニウム、エタノールアミン、コリン、リジン、アルギニン、メタンアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン及びエチルアミンからなる群より選ばれる方法。

20

【請求項 1 6】

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の塩の治療的有効量及び製薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物。

【請求項 1 7】

2 型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬の製造における、請求項 1 6 に記載の医薬組成物の使用。

30

【請求項 1 8】

2 型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬としての、請求項 1 6 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) - ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸の製薬学的に許容される塩、その製造方法、それを含有する医薬組成物及び治療薬としてのその使用、特にジペプチジルペプチダーゼ IV (DPP - IV) 阻害剤としてのその使用に関する。

40

【背景技術】

【0002】

糖尿病は古来より記録があった。この疾患は慢性の高血糖により特徴付けられた代謝疾患であり、人体内のインスリンが絶対的又は相対的に欠乏することにより、糖、脂質及びタンパク質の代謝障害や多飲、多尿、多食、体重減少、眩暈、虚弱などの症状とともに、血液中のグルコース濃度の上昇や尿への大量のグルコース放出が生じる。

【0003】

持続性の又は制御されない高血糖は、罹患率及び死亡率の増加と関連する。グルコース恒

50

常性の異常は、しばしば直接的又は間接的に、脂質、リポタンパク質及びアポリポタンパク質代謝並びに他の代謝疾患及び血行動態疾患と関連する。2型糖尿病患者では、特に冠状動脈性心臓病、脳卒中、末梢血管障害、高血圧、腎障害、神経障害及び網膜症などの大血管及び微小血管合併症の危険性が増大する。そのため、グルコース恒常性、脂質代謝及び高血圧などの治療的制御が、糖尿病の臨床治療では非常に重要である。

【0004】

糖尿病には一般的に認識される2つの型がある。1型糖尿病、すなわちインスリン依存性糖尿病（IDDM）では、患者はグルコース利用を調節するホルモンであるインスリンをほとんど又はまったく産生しない。2型糖尿病、すなわちインスリン非依存性糖尿病（NIDDM）では、患者は多くの場合、糖尿病ではない被検者と比較して同じか又は高い血漿インスリンレベルを有する。しかしながらこれらの患者は、主要なインスリン感受性組織、たとえば筋肉、肝臓及び脂肪組織におけるグルコース及び脂質代謝へのインスリンの刺激効果に対する耐性を発現し、血漿インスリンレベルが上昇しているとしても、顕著なインスリン耐性を克服するには不十分である。

10

【0005】

インスリン耐性は、そもそもインスリン受容体数が減少するためではなく、インスリンが受容体に結合した後の異常によるものであり、これについては今までのところまだ理解されていない。このインスリン応答性に対する耐性により、筋肉でのインスリンに依存したグルコースの取り込み、酸化及び貯蔵の活性化が不十分になり、脂肪組織での脂肪分解や肝臓でのグルコース産生及び分泌の抑制が不十分なものとなる。

20

【0006】

ジペプチジルペプチダーゼIV（DPP - IV）は、最後から2番目の位置にプロリン残基を含有するポリペプチドから、N末端ジペプチドを開裂するセリンプロテアーゼである。哺乳類系でのDPP - IVの生物学的役割は、まだ完全には明らかになっていないが、神経ペプチド代謝、T細胞活性化、癌細胞の内皮への接着と浸潤、及びHIVのリンパ球系細胞への進入において重要な役割を果たすと考えられている（国際公開第98/19998号パンフレット）。

【0007】

近年DPP - IVは、グルカゴン様ペプチド - 1（GLP - 1）の分泌抑制に関与することが発見された。さらに詳細には、DPP - IVはGLP - 1のアミノ末端His - Alaジペプチドを開裂し、活性のあるGLP - 1（7 - 36）NH<sub>2</sub>を、不活性のGLP - 1（9 - 36）NH<sub>2</sub>へと分解する（Endocrinology, 1999, 140: 5356-5363）。生理的条件下で、血液循環における全GLP - 1の半減期は短い。DPP - IVにより分解された後のGLP - 1の不活性代謝物は、GLP - 1受容体と結合し、活性型GLP - 1に拮抗し、GLP - 1に対する生理応答を短縮させることができる。しかしながらDPP - IV阻害剤は、内在性又は外来性GLP - 1を不活性化から保護し、GLP - 1の生物活性を顕著に増大（5 ~ 10倍）させることができる。GLP - 1は膵臓のインスリン分泌の主要な刺激物質であり、グルコース処理に直接的な有益な効果があるので、DPP - IV阻害はインスリン非依存性糖尿病（NIDDM）を治療する魅力的な手段のように思われる（米国特許第6110949号明細書（特許文献1））。

30

【0008】

いくつかのDPP - IV阻害剤が開示されているが、現在のところ、効果が持続する薬物がない。改良されたDPP - IV阻害剤が今なお必要とされている。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】米国特許第6110949号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明の目的は、DPP - IV阻害活性を有し、糖尿病や類似の疾患の治療に利用され、又は

50

症状を緩和する薬物として利用される一連の化合物を提供することにある。

【0011】

本発明の出願人が2009年1月4日に提出した特許出願PCT/CN2008/001936には、新規のテトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン誘導体と、DPP-IV阻害剤としてのその使用について記述されている。前記出願で開示された実施例10は、(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)-ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸塩酸塩であり、この化合物はDPP-IVに対して優れた阻害活性を有することが試験により確認された。そのため前記出願のすべての記載内容を、本明細書の記載として援用する。

【0012】

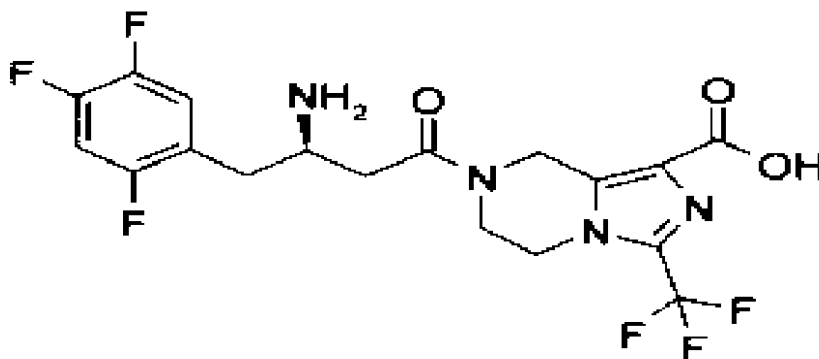
本発明の他の目的は、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩、並びにその溶解性、生物学的利用率、血糖降下活性及び薬物動態を改良するためのその組成物を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明は、新規の(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸の製薬学的に許容される塩、その製造方法、それを含有する医薬組成物及び治療薬としてのその使用、特にジベプチジルペプチダーゼIV阻害剤としてのその使用を提供することを目的とする。式(I)で表される化合物の塩は、糖尿病の治療における優れた活性、改良された溶解性、生体内における優れた活性及び生物学的利用率を有する上、低毒性であり、糖尿病治療薬を製造する上で良い候補である。

【化2】



(I)

【0014】

本発明は、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩を提供する。「製薬学的に許容される塩」の用語は、医薬における非毒性の酸付加塩又は塩基付加塩を指す。この酸付加塩は、式(I)で表される化合物と有機酸又は無機酸から形成されるものであり、当該酸付加塩には、塩酸塩、リン酸塩、ヒドロリン酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、亜硫酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、マロン酸塩、ペンタン酸塩、グルタミン酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、ホウ酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、安息香酸塩、パモ酸塩、サリチル酸塩、バニリン酸塩、マンデル酸塩、コハク酸塩、グルコン酸塩、ラクチオン酸塩、及びラウリル硫酸塩が含まれるが、好ましくはリン酸塩である。前記の塩基付加塩は、式(I)で表される化合物と有機塩基又は無機塩基から形成されるものであり、当該塩基付加塩には、アルカリ金属、アミン又は四級アンモニウムなどと形成される塩基付加塩、たとえばナトリウム塩、リチウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アミン塩、テトラ

10

20

30

40

50

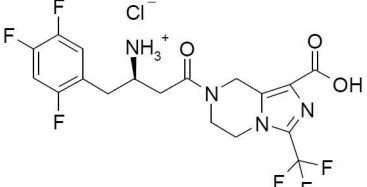
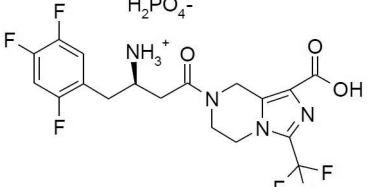
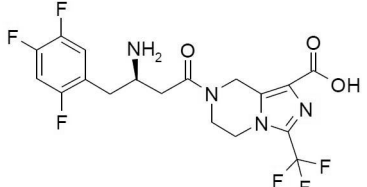
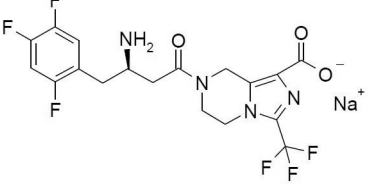
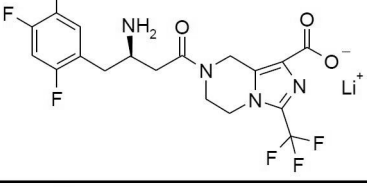
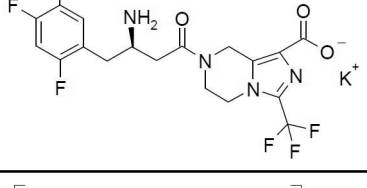
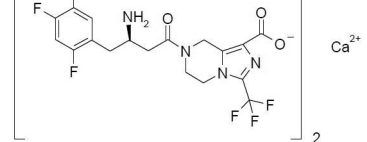
メチル四級アンモニウム塩、テトラエチル四級アンモニウム塩、コリン塩が含まれるが、好ましくはコリン塩である。前記アミン塩は、式(Ⅰ)で表される化合物と、アンモニア、一級アミン、二級アミン及び三級アミンを含むアミンから形成されるものであり、たとえばメタンアミン塩、ジメチルアミン塩、トリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、エチルアミン塩、エタノールアミン塩、リジン塩及びアルギニン塩であるが、好ましくはエタノールアミン塩である。

【0015】

本発明の、式(Ⅰ)で表される化合物の製薬学的に許容される代表的な塩は表1に記載されるが、これらに限定されない。

【0016】

【表 1】

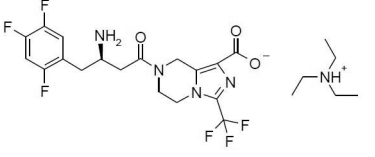
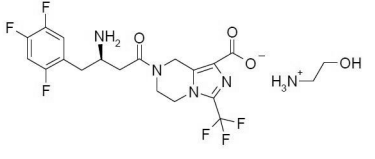
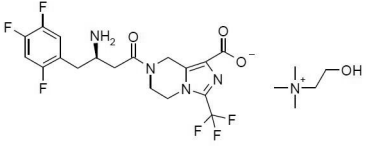
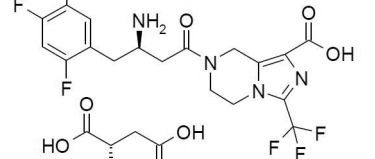
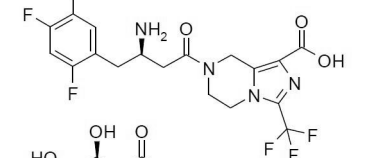
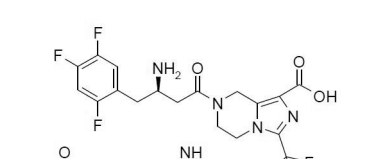
実施例 番号	構造	名称
1		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸塩酸塩
2		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸リン酸塩
3		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸
4		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸ナトリウム塩
5		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸リチウム塩
6		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸カリウム塩
7		(R)-7-[[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロイミダゾ[1,5-a]ピラジジン-1-カルボン酸カルシウム塩

10

20

30

40

8		(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸トリエチルアンモニウム塩
9		(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸 2 - ヒドロキシエチルアンモニウム塩
10		(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸 2 - ヒドロキシエチル ( トリメチル ) アンモニウム塩
11		(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸 ( 2 S ) - 2 - ヒドロキシシコハク酸塩
12		(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸 ( 2 S , 3 S ) - 2 , 3 - ジヒドロキシシコハク酸塩
13		(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸 ( 2 S ) - 2 - アミノ - 5 - グアニジノペンタン酸

## 【 0 0 1 7 】

上記塩の形成反応は、通常、冷却、室温又は加熱条件下で行われる。しかしながら、反応温度は異なる塩形成反応において何らかの影響を及ぼし、このことは当業者に周知であることに注目すべきである。本発明の塩形成反応温度は、室温から反応溶媒の沸点まで幅があるが、好ましくは 0 ~ 40 である。当業者であれば、塩形成反応に対して最も好ましい反応温度を、従来技術を用いて容易に決定することができる。

## 【 0 0 1 8 】

本発明は、式 ( I ) で表される化合物の製薬学的に許容される塩の製造方法に関し、当該方法は、塩を形成するための酸付加及び塩基付加を含む。酸付加塩の製造方法は下記のステップを含む。すなわち、( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジジン - 1 - カルボン酸塩とアルカリ溶液を反応させ、得られた ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ]

10

20

30

40

50

ピラジン - 1 - カルボン酸を、有機酸又は無機酸と反応させる。前記有機酸又は無機酸は、塩酸、リン酸、硫酸、亜硫酸、酢酸、シュウ酸、マロン酸、ペンタン酸、グルタミン酸、オレイン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、ラウリン酸、ホウ酸、p - トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、リンゴ酸、酒石酸、安息香酸、パモ酸、サリチル酸、バニリン酸、マンデル酸、コハク酸、グルコン酸、ラクトビオン酸及びラウリル硫酸からなる群より選ばれる。塩基付加塩の製造方法は、(R) - 7 - [3 - アミノ - 4 - (2, 4, 5 - トリフルオロフェニル)ブタノイル] - 3 - トリフルオロメチル - 5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - イミダゾ[1, 5 - a]ピラジン - 1 - カルボン酸を、アルカリ金属水酸化物、置換アミン又は四級アンモニウムと反応させることを含む。前記アルカリ金属水酸化物は、水酸化ナトリウム、水酸化リチウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム及び水酸化マグネシウムからなる群より選ばれ、また前記アミン又は四級アンモニウムは、テトラメチル四級アンモニウム、テトラエチル四級アンモニウム、エタノールアミン、コリン、リジン、アルギニン、メタンアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン及びエチルアミンからなる群より選ばれる。

10

## 【0019】

本発明は、2型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬の製造における、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩の使用に関する。

## 【0020】

本発明は、ジペプチジルペプチダーゼIV(DPP - IV)阻害剤の製造における、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩の使用に関する。

20

## 【0021】

本発明は、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩の治療的有効量を患者に投与することを含む、2型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療方法に関する。

## 【0022】

本発明は、ジペプチジルペプチダーゼIVを式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩と接触させることを含む、ジペプチジルペプチダーゼIVの阻害方法に関する。

## 【0023】

本発明は、2型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬としての、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩の使用に関する。

30

## 【0024】

本発明は、ジペプチジルペプチダーゼIV(DPP - IV)の阻害薬としての、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩の使用に関する。

## 【0025】

本発明は、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩の治療的有効量及び製薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物に関する。本発明はまた、2型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬の製造における、前記組成物の使用に関する。

## 【0026】

本発明は、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩を含有する医薬組成物の治療的有効量を患者に投与することを含む、2型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療方法に関する。

40

## 【0027】

本発明は、2型糖尿病、高血糖症、肥満症又はインスリン耐性の治療薬としての、式(I)で表される化合物の製薬学的に許容される塩を含有する医薬組成物の使用に関する。

## 【0028】

特に明記しない限り、明細書及び特許請求の範囲において使用される下記の用語は以下に示した意味を有する。

## 【0029】

「医薬組成物」の用語は、本願明細書に記載された化合物又はそのプロドラッグの製薬学的に許容される塩の1種以上と、生理学的/製薬学的に許容される担体などの他の化学成

50

分の混合物を指す。医薬組成物の目的は、生物体に対する化合物の投与を容易にすることである。

【0030】

本発明の目的を達成するため、本発明には以下の技術的解決法を適用する：  
式(I)で表される化合物の合成方法は、本出願人が2008年11月27日に提出した特許出願PCT/CN2008/001936の実施例10に記載された合成方法を参照する。したがって当該開示のすべての記載内容を本明細書の記載として援用する。

【0031】

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸の酸又は塩基付加塩反応の方法には以下のものが含まれる： 10

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸塩酸塩をアルカリ溶液と反応させ、得られた(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸を有機酸又は無機酸と反応させる酸付加塩反応法；

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸を、水に可溶の有機溶媒中でアルカリ金属水酸化物、置換アミン又は四級アンモニウムなどの有機塩基又は無機塩基と反応させる塩基付加塩反応法。 20

【発明を実施するための形態】

【0032】

本発明をさらに説明するため以下の実施例を提供するが、本発明をなんら限定するものではない。

【0033】

化合物の構造は、核磁気共鳴分光法( $^1\text{H}$  NMR)又は質量分析法(MS)により確認した。 $^1\text{H}$  NMRシフト(d)はppmで表した。 $^1\text{H}$  NMRは、Bruker AVANCE-400装置により測定した。溶媒には重メタノール( $\text{CD}_3\text{OD}$ )を用いた。ケミカルシフトは $10^{-6}$ (ppm)として表した。MSは、FINNIGAN LCQAd(ESI)質量分析計(製造者:Therm、型式:Finnigan LCQ advantage MAX)により測定した。 30

薄層シリカゲルプレートは、煙台黄海(Yantai Huanghai) HSGF254又は青島(Qingdao) G F254シリカゲルプレートを使用した。薄層クロマトグラフィー(TLC)で使用したプレートは厚さ0.15~0.2 mmのものを使用し、生成物の精製に使用したプレートは厚さ0.4~0.5 mmのものを使用した。

カラムクロマトグラフィーには、通常、煙台黄海200~300メッシュ・シリカゲルを担体として使用した。

本発明の出発物質は周知であり、ABCR GmbH & Co. KG、Acros Organics、Aldrich Chemical Company、Accela ChemBio Inc、Darui Finechemical Co., Ltdなどから購入するか、又は当該技術分野で慣用される合成法により調製することができる。 40

【0034】

特に明記しない限り、以下の反応は窒素雰囲気下で行った。

「窒素雰囲気」とは、反応フラスコに約1 Lの窒素バルーンが装着されていることを指す。

。

「水素雰囲気」とは、反応フラスコに約1 Lの水素バルーンが装着されていることを指す。

。

特に明記しない限り、以下の反応で使用した溶液とは水溶液を指す。

特に明記しない限り、反応温度は室温とした。

適切な室温は20~30であった。

【0035】

実施例の反応過程は薄層クロマトグラフィー（TLC）により監視した。展開溶媒系は、ジクロロメタン及びメタノール系、ヘキサン及び酢酸エチル系、石油エーテル及び酢酸エチル並びにアセトンから構成された。溶媒の量比は、化合物の極性に依りて調節した。

【0036】

カラムクロマトグラフィーの溶出系は、A：ジクロロメタン及びメタノール系、B：ヘキサン及び酢酸エチル系から構成された。溶媒の量比は、化合物の極性に依りて調節し、時々、アンモニア又は酢酸を添加した。

【0037】

HPLCとは、高速液体クロマトグラフィーを指す。

HPLCは、Agilent 2695-2996高速液体クロマトグラフィー装置（Gimini C18 150×4.6 mm カラム）により測定した。

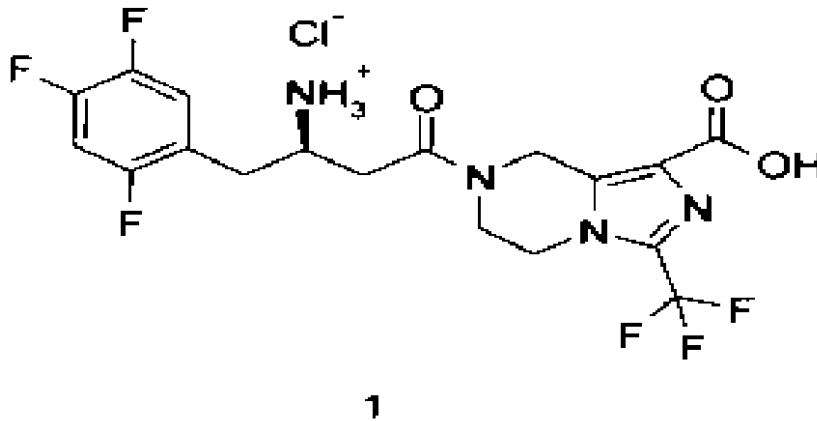
HPLC試験条件： 実行時間：30分間；カラム温度：30；フォトダイオードアレイ（PDA）：230 nm；移動相：メタノール：水（0.1%アンモニア水）= 25：75；流速：1.0 mL / 分。

【実施例1】

【0038】

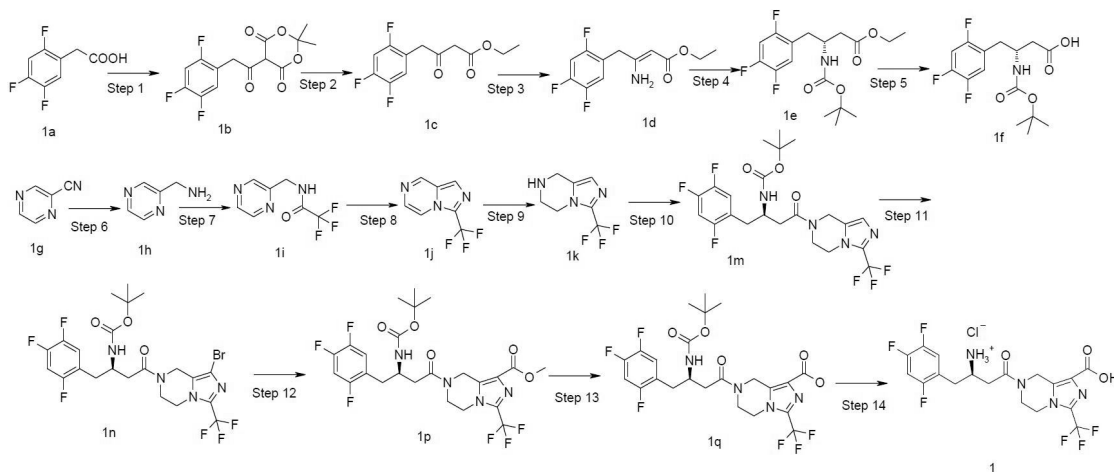
(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸塩酸塩

【化3】



【0039】

【化4】



【0040】

ステップ1

2,2-ジメチル-5-[2-(2,4,5-トリフルオロフェニル)アセチル]-[1

10

20

30

40

50

、 3 ] ジオキサン - 4 , 6 - ジオン  
 2 , 2 - ジメチル - [ 1 , 3 ] ジオキサン - 4 , 6 - ジオン ( 5.69 g、39.5 mmol ) を 400 mL のジクロロメタンに攪拌しながら溶解した後、氷水浴中で、2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル酢酸 1a ( 7.15 g、37.6 mmol ) 及び 4 - ジメチルアミノピリジン ( 7.35 g、60.2 mmol ) を加えた。次に、250 mL のジクロロメタンに懸濁させた 1 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - 3 - エチルカルボジイミド塩酸塩 ( 8.28 g、43.2 mmol ) をゆっくりと滴下した。室温で 36 時間攪拌した後、反応混合物を 5% 硫酸水素カリウム溶液 ( 250 mL x 7 ) 及び飽和食塩水 ( 250 mL x 2 ) で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過及び減圧濃縮して、表題化合物である 2 , 2 - ジメチル - 5 - [ 2 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) アセチル ] - [ 1 , 3 ] ジオキサン - 4 , 6 - ジオン 1b ( 11.4 g、収率 96% ) を白色固体として得た。

10

MS m/z (ESI) : 315.5 [M-1]

【 0 0 4 1 】

#### ステップ 2

3 - オキソ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸エチル  
 2 , 2 - ジメチル - 5 - [ 2 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) アセチル ] - [ 1 , 3 ] ジオキサン - 4 , 6 - ジオン 1b ( 15.72 g、49.6 mmol ) を 280 mL のエタノールに攪拌しながら溶解した後、反応混合物を油浴中で 70 °C、12 時間加熱した。室温まで冷却後、この混合物を減圧濃縮した。得られた残渣を、溶出液として B 系を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物である 3 - オキソ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸エチル 1c ( 12 g、収率 88% ) を黄色オイルとして得た。

20

MS m/z (ESI) : 259 [M-1]

【 0 0 4 2 】

#### ステップ 3

3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブト - 2 - エン酸エチル  
 3 - オキソ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸エチル 1c ( 24.6 g、94.5 mmol ) を 240 mL のメタノールに溶解し、この溶液に酢酸アンモニウム ( 36.4 g、473 mmol ) を添加した。この反応混合物を 3 時間加熱還流させ、減圧濃縮した後、残渣に 100 mL の水を加えた。この混合物を酢酸エチル ( 200 mL x 3 ) で抽出し、合わせた有機相を 200 mL の飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過及び減圧濃縮して、淡黄色の固体を得た。得られた固体を 50 mL の酢酸エチルに 50 °C で溶解した後、この溶液に 50 mL の n - ヘキサン及び種晶を添加した。この混合物を室温まで冷却し、30 分後に 100 mL の n - ヘキサンを加えた。この混合物を冷蔵庫で 12 時間保存した後、ろ過し、表題化合物である 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブト - 2 - エン酸エチル 1d ( 19.5 g、収率 80% ) を白色固体として得た。

30

MS m/z (ESI) : 260.1 [M+1]

【 0 0 4 3 】

#### ステップ 4

3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸エチル  
 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブト - 2 - エン酸エチル 1d ( 4.1 g、15.8 mmol ) を高圧蒸気滅菌器に入れ、続いて 70 mL のメタノール、炭酸水素ジ - tert - ブチル ( 3.8 g、17.4 mmol )、クロロ ( 1 , 5 - シクロオクタジエン ) ロジウム ( I ) 二量体 ( 32 mg、0.0632 mmol ) 及び ( R ) - 1 - [ ( S ) - 2 - ( ジフェニルホスフィン ) フェロセニル ] エチル - tert - ブチルホスフィン ( 68 mg、0.13 mmol ) を加えた。この反応混合物を 30 °C、6.67 気圧で 24 時間、水素雰囲気中で反応させた。この混合物をろ過し、ろ液を減圧濃縮した。次に、残渣に 34 mL のメタノールを 50 °C で加えた後、完全に溶解するまで 12 mL の水を加えた。この混合物を室温まで冷却した後、冷蔵庫で 12 時間保存し、次にろ過した。固体生成物をメタノール / 水 ( v : v = 1 : 1 ) の混合物で洗浄し、真空乾燥して、表題化合物である 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - ト

40

50

リフルオロフェニル) 酪酸エチル1e (4 g、収率70%) を淡黄色固体として得た。

MS m/z (ESI) : 362.4 [M+1]

【0044】

#### ステップ5

(R) - 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸

周知の方法「Tetrahedron Asymmetry, 2006, 17(2), 205-209」を参照する。3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸エチルエステル1e (10 g、27.7 mmol) 及び水酸化ナトリウム (3.32 g、83.1 mmol) を、150 mLのメタノールと水の混合物 (v : v = 1 : 1) に溶解させた。この反応混合物を40~45 °Cで1~1.5時間攪拌した後、溶液の一部を減圧下で蒸発させた。残渣に少量の水を加えた後、氷水浴中で1 M塩酸によりpHを2~3に調整した。この混合物を酢酸エチル (200 mL x 3) で抽出し、合わせた有機相を200 mLの飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した後、残渣を酢酸エチル / n - ヘキサンから再結晶させ、表題化合物である (R) - 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸1f (9.2 g) を白色固体として得た。これは次のステップに直接使用した。

MS m/z (ESI) : 332.3 [M-1]

【0045】

#### ステップ6

C - ピラジン - 2 - イル - メチルアミン

ピラジン - 2 - カルボニトリル1g (10.5 g、100 mmol) を150 mLの1, 4 - ジオキサンに溶解後、ラネーニッケル (1.0 g) を加え、250 mLの高圧蒸気滅菌器に入れた。この反応混合物を、60 °C、40気圧で8時間、水素雰囲気中で反応させ、ろ過及び減圧濃縮して、表題化合物であるC - ピラジン - 2 - イル - メチルアミン1h (10.7 g、収率98%) を褐色オイルとして得た。

MS m/z (ESI) : 110 [M+1]

【0046】

#### ステップ7

2, 2, 2 - トリフルオロ - N - ピラジン - 2 - イルメチル - ホルムアミド

C - ピラジン - 2 - イル - メチルアミン1h (10.9 g、100 mmol) を反応フラスコに入れ、200 mLの無水トリフルオロ酢酸を、氷水浴中0 °Cで1時間以内にゆっくりと滴下した。この反応混合物は室温で2時間反応させた。次に、この混合物を減圧濃縮した。得られた残渣を、A系溶出液を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物である2, 2, 2 - トリフルオロ - N - ピラジン - 2 - イルメチル - アセトアミド1i (21.0 g) を褐色オイルとして得た。

MS m/z (ESI) : 206.1 [M+1]

【0047】

#### ステップ8

3 - トリフルオロメチル - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン

2, 2, 2 - トリフルオロ - N - ピラジン - 2 - イルメチル - アセトアミド1i (21.0 g、100 mmol) を反応フラスコに入れ、続いて100 mLのオキシ塩化リンを加えた。室温で30分間攪拌した後、溶液中に五酸化リン (17.8 g、125 mmol) を加えた。この反応混合物を5時間加熱還流した。この混合物を減圧濃縮し、反応系を脱イオン水を用いて反応停止させた。この混合物を20%水酸化ナトリウム溶液により氷水浴中でpH 5~6に調整した後、酢酸エチル (250 mL x 4) で抽出した。合わせた有機相を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過及び減圧濃縮した。得られた残渣を、A系溶出液を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物である3 - トリフルオロメチル - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン1j (12.0 g、収率65%) を黄色固体として得た。

MS m/z (ESI) : 188.0 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 9.15 (s, 1H), 8.06 (d, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.81

10

20

30

40

50

(d, 1H)

【 0 0 4 8 】

ステップ 9

3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン

3 - トリフルオロメチル - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン 1j ( 12.0 g、64.2 mmol ) を 150 mL の無水エタノールに溶解し、この溶液に 10% Pd / C ( 500 mg ) を添加した。この反応混合物を水素雰囲気下、室温で 12 時間攪拌した。この反応溶液を粗粒シリカゲルパッドでろ過し、ろ液を減圧濃縮して、表題化合物である 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン 1k ( 12.2 g、収率 99% ) を褐色固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 6.84 (s, 1H), 4.10 (m, 4H), 3.26 (m, 2H), 1.81 (s, 1H)

【 0 0 4 9 】

ステップ 1 0

( R ) - [ 3 - オキシ - 1 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジル ) - 3 - ( 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 7 - イル ) プロピル ] カルバミン酸 tert - ブチル

( R ) - 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) 酪酸 1f ( 8.6 g、45 mmol ) 及び 9.4 mL のトリエチルアミンを、300 mL のジクロロメタンに溶解した。5 分間攪拌した後、この溶液に 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン 1k ( 15.0 g、45 mmol ) 及びビス ( 2 - オキシ - 3 - オキサゾリジニル ) ホスフィン酸クロリド ( 17.1 g、67.3 mmol ) を連続的に添加した。この反応混合物を 2 時間反応させた後、減圧濃縮した。得られた残渣を、B 系溶出液を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物である ( R ) - [ 3 - オキシ - 1 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジル ) - 3 - ( 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 7 - イル ) プロピル ] カルバミン酸 tert - ブチル 1m ( 20.0 g、収率 88% ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.25 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.032 (s, 1H), 4.93 (m, 2H), 4.35 (m, 3H), 4.05 (m, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 1.34 (s, 9H)

【 0 0 5 0 】

ステップ 1 1

( R ) - [ 3 - オキシ - 1 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジル ) - 3 - ( 1 - ブロモ - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 7 - イル ) プロピル ] カルバミン酸 tert - ブチル

( R ) - [ 3 - オキシ - 1 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジル ) - 3 - ( 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 7 - イル ) プロピル ] カルバミン酸 tert - ブチル 1m ( 20.0 g、39.6 mmol ) を 300 mL の無水エタノールに溶解した後、この溶液に N - ブロモサクシニミド ( 14.1 g、79.2 mmol ) を加えた。1 時間攪拌した後、この混合物に炭酸カリウム ( 10.9 g、79.2 mmol ) 及び炭酸水素ジ - tert - ブチル ( 8.6 g、39.6 mmol ) を添加し、さらに 1 時間攪拌した。この反応混合物を粗粒シリカゲルパッドでろ過した後、ろ液を減圧濃縮した。得られた残渣を、B 系溶出液を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物である ( R ) - [ 3 - オキシ - 1 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジル ) - 3 - ( 1 - ブロモ - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 7 - イル ) プロピル ] カルバミン酸 tert - ブチル 1n ( 20.0 g、収率 86% ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 7.063 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.56 (s, 1H), 4.13 (m, 3H), 3.88 (m, 2H), 2.94 (m, 2H), 2.62 (m, 2H), 1.36 (s, 9H)

【 0 0 5 1 】

ステップ 1 2

10

20

30

40

50

(R) - 7 - [ 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブチリル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - ギ酸メチル

「Journal of Organometallic Chemistry, 1985, 285(1-3), 293-303」を参照する。ジコバルトオクタカルボニル (4.02 g、11.76 mmol)、クロロ酢酸エチル (0.71 g、5.88 mmol)、炭酸カリウム (1.62 g、11.76 mmol) 及び50 mLのメタノールを反応フラスコに入れた。5分間攪拌した後、(R) - [ 3 - オキソ - 1 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロベンジル ) - 3 - ( 1 - ブロモ - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 7 - イル ) プロピル ] カルバミン酸 tert - ブチル 1n (2.3 g、3.92 mmol) を添加した。この反応混合物を60 °C、2時間攪拌した後、減圧濃縮した。得られた残渣を、B系溶出液を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、表題化合物である (R) - 7 - [ 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブチリル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - ギ酸メチル 1p (1.1 g、収率50%) を白色固体として得た。

10

MS m/z (ESI) : 565.0 [M+1]

【 0 0 5 2 】

#### ステップ 1 3

(R) - 7 - [ 3 - tert - ブトキシカルボニル - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸

20

(R) - 7 - [ 3 - tert - ブトキシカルボニルアミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブチリル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - ギ酸メチル 1p (1.8 g、3.2 mmol) を50 mLのメタノールに溶解し、続いて10 mLの水酸化ナトリウム水溶液 (4 M) を添加した。この反応混合物を1時間攪拌した。氷水浴中で、この反応混合物を2 M塩酸によりpH 3~5に調整した。この混合物を酢酸エチル (100 mL x 3) で抽出した。合わせた有機相を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過及び減圧濃縮して、表題化合物である (R) - 7 - [ 3 - tert - ブトキシカルボニル - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 1q (1.76 g、収率100%) を淡黄色固体として得た。

30

MS m/z (ESI) : 550.9 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.29-7.23 (m, 1H), 7.121-7.08 (m, 1H), 5.15-5.03 (m, 2H), 4.41-4.06 (m, 5H), 2.98-2.77 (m, 4H), 1.42-1.26 (m, 9H)

【 0 0 5 3 】

#### ステップ 1 4

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸塩酸塩

(R) - 7 - [ 3 - tert - ブトキシカルボニル - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 1q (1.76 g、3.2 mmol) を反応フラスコに入れ、続いて10 mLの塩化水素 / 酢酸エチルを添加した。この反応混合液を1時間攪拌した後、減圧濃縮して、表題化合物である (R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸塩酸塩 1 (1.56 g、収率100%) を白色固体として得た。

40

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.42-7.37 (m, 1H), 7.28-7.23 (m, 1H), 5.19-5.05 (m, 2H), 4.36-4.29 (m, 1H), 4.15-4.00 (m, 2H), 3.94-3.93 (m, 2H), 3.21-2.88 (m,

50

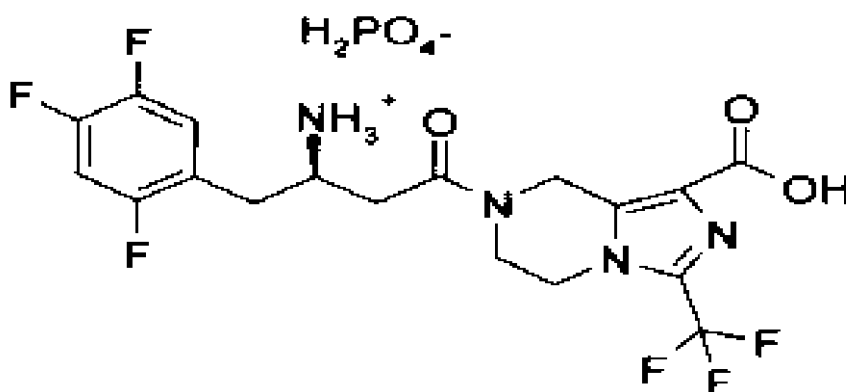
2H), 2.86-2.81 (m, 2H)

【実施例 2】

【0054】

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸リン酸塩

【化5】



2

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸リン酸塩1 (1.45 g, 2.97 mmol) を14 mLのジクロロメタンに溶解した。次に、この混合物を6 mLの炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、水層を5.6 mLのジクロロメタンで抽出した。合わせた有機相を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過及び減圧濃縮して、オイル残渣 (1.38 g) を得た。この残渣を40 mLのイソプロピルアルコールに溶解した後、2 mLのイソプロピルアルコールに溶解した85%リン酸 (342.8 mg, 2.97 mmol) を固体沈殿が生じるまで攪拌しながら添加した。この反応混合液を2時間攪拌した後、ろ過し、ろ過ケーキをイソプロピルアルコールで洗浄し、40

で減圧乾燥して粗生成物 (1.44 g, 収率88.6%) を得た。粗生成物 (1.44 g, 2.63 mmol)

を26 mLのイソプロピルアルコールに溶解し、1時間攪拌した。この混合物をろ過し、ろ過ケーキをイソプロピルアルコールで洗浄した。この固形物を脱イオン水に溶解した。この混合物を40 で減圧濃縮し、40 で真空乾燥させ、表題化合物である (R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸リン酸塩2 (1.33 g, 収率92.6%) を白色粉末として得た。

MS m/z (ESI): 451.2 [M+1]

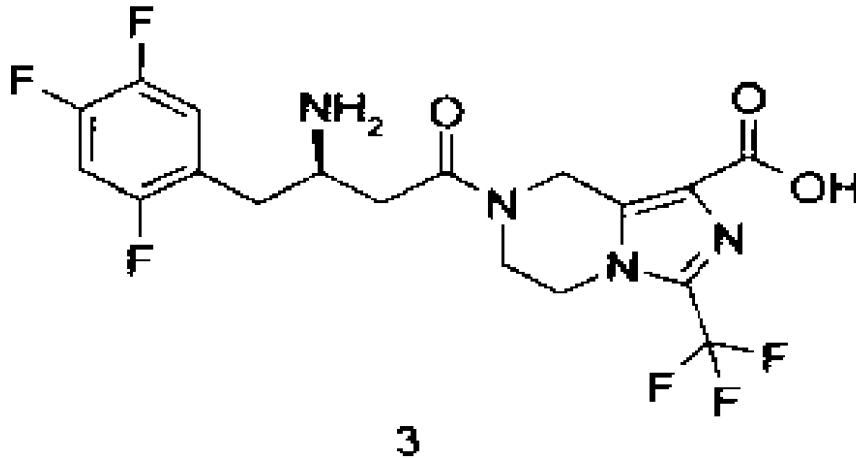
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm): 7.36-7.42 (m, 1H), 7.19-7.25 (m, 1H), 5.01-5.15 (m, 2H), 4.24-4.34 (m, 2H), 4.06-4.11 (m, 1H), 3.91-3.98 (m, 1H), 3.07-3.12 (m, 2H), 2.8-3.09 (m, 2H)

【実施例 3】

【0055】

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸

【化6】



10

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸塩酸塩1 ( 1.02 g、2.1 mmol ) を30 mLのメタノールに溶解し、続いて、水酸化ナトリウム水溶液 ( 2.1 mL、2.1 mmol ) を添加した。15分間攪拌して反応させた。この反応混合物を減圧濃縮し、得られた固形物を15 mLのジクロロメタン/メタノール ( v : v = 1 : 3 ) 混合溶媒に溶解した。この混合物をろ過し、減圧濃縮して、表題化合物である ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸3 ( 943 mg、収率100% ) を白色固体として得た。

20

HPLC純度：99.89%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.32-7.41 (m, 1H), 7.11-7.21 (m, 1H), 5.00-5.07 (m, 2H), 4.16-4.24 (m, 2H), 4.05-4.08 (m, 1H), 3.85-3.97 (m, 2H), 3.05-3.17 (m, 2H), 2.91-2.93 (m, 2H)

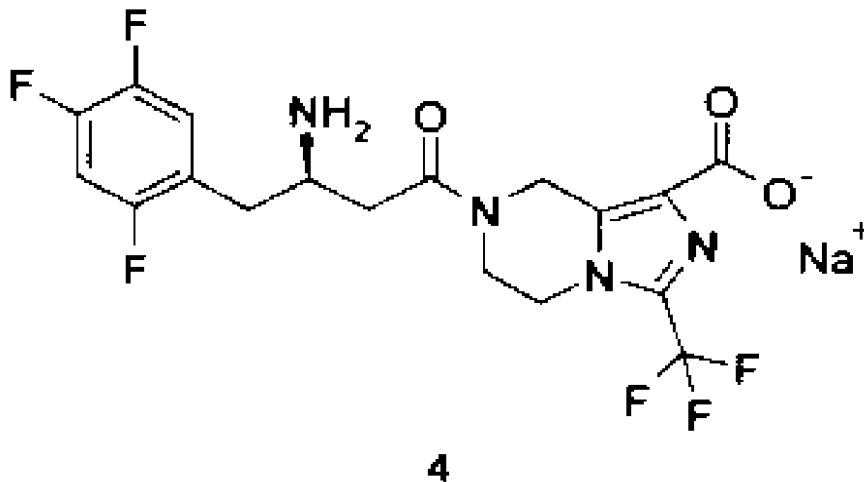
【実施例4】

30

【0056】

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸ナトリウム塩

【化7】



40

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] -

50

3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸3 ( 100 mg、0.22 mmol ) を5 mLのメタノールに溶解し、続いて、水酸化ナトリウム水溶液 ( 0.44 mL、0.22 mmol ) を添加した。15分間攪拌して反応させた。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸ナトリウム塩4 ( 104 mg、収率99.7% ) を白色固体として得た。

HPLC純度 : 99.65%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

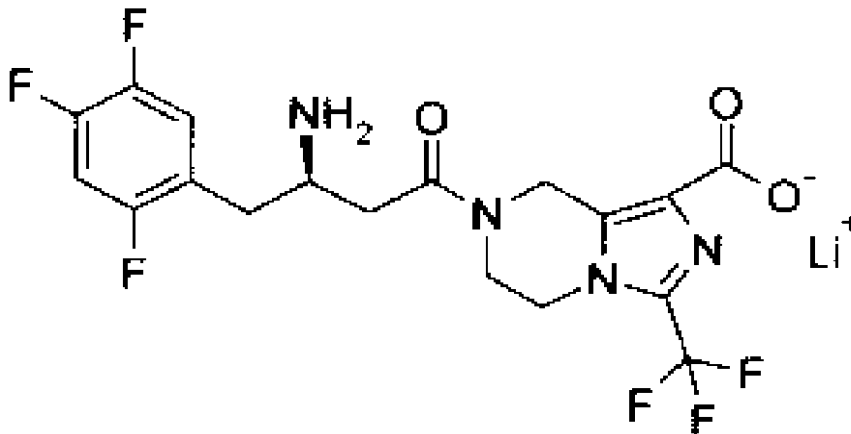
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.26-7.30 (m, 1H), 7.08-7.13 (m, 1H), 5.00-5.20 (m, 2H), 4.26-4.27 (m, 2H), 4.00-4.11 (m, 2H), 3.44-3.48 (m, 1H), 2.72-2.83 (m, 2H), 2.59-2.60 (m, 2H)

【実施例5】

【0057】

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸リチウム塩

【化8】



5

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸3 ( 100 mg、0.22 mmol ) を5 mLのメタノールに溶解し、続いて、水酸化リチウム水溶液 ( 0.44 mL、0.22 mmol ) を添加した。15分間攪拌して反応させた。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸リチウム塩5 ( 104 mg、収率99.7% ) を白色固体として得た。

HPLC純度 : 99.66%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

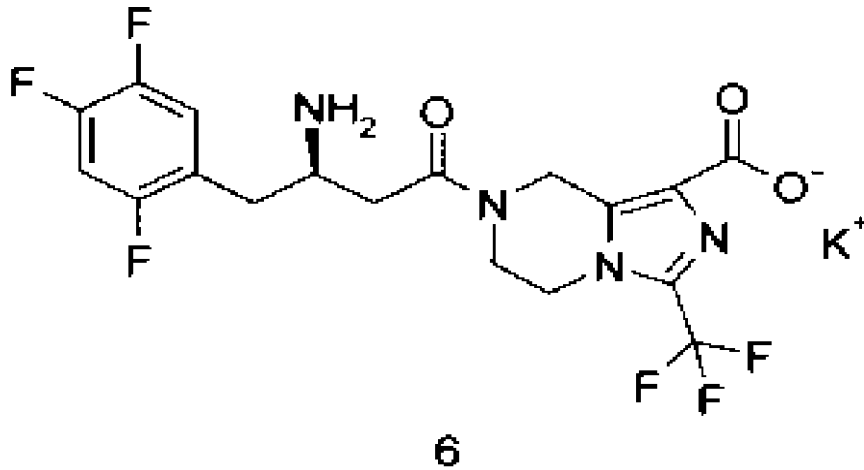
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.31-7.38 (m, 1H), 7.13-7.22 (m, 1H), 5.07-5.27 (m, 2H), 4.26-4.36 (m, 2H), 4.01-4.15 (m, 2H), 3.53-3.60 (m, 1H), 2.80-2.91 (m, 2H), 2.59-2.72 (m, 2H)

【実施例6】

【0058】

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸カリウム塩

【化9】



10

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 3 ( 100 mg , 0.22 mmol ) を 5 mL の メタノール に 溶解 し、 続いて、 水酸化カリウム水溶液 ( 0.44 mL , 0.22 mmol ) を 添加 し た。 15 分間 攪拌 し て 反応 さ せ た。 この 反応 混合 物 を 減 圧 濃 縮 し、 表 題 化 合 物 で あ る ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸カリウム塩 6 ( 108 mg 、 収率 100% ) を 白色 固体 と し て 得 た。

20

HPLC純度：92.78%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.31-7.38 (m, 1H), 7.14-7.23 (m, 1H), 5.07-5.27 (m, 2H), 4.26-4.36 (m, 2H), 4.01-4.15 (m, 2H), 3.52-3.60 (m, 1H), 2.80-2.92 (m, 2H), 2.59-2.74 (m, 2H)

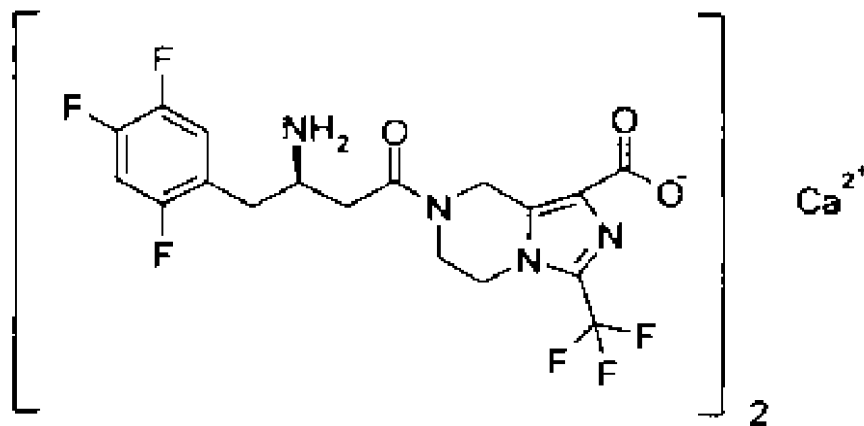
【実施例7】

【0059】

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸カルシウム塩

30

【化10】



40

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラ

50

ジン - 1 - カルボン酸3 (100 mg、0.22 mmol) を10 mLのメタノールに溶解し、続いて、水酸化カルシウム水溶液 (8.1 mg、0.11 mmol) を添加した。混合物は20時間撹拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である (R) - 7 - [3 - アミノ - 4 - (2, 4, 5 - トリフルオロフェニル) ブタノイル] - 3 - トリフルオロメチル - 5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [1, 5 - a] ピラジン - 1 - カルボン酸カルシウム塩7 (103 mg、収率100%) を白色固体として得た。

HPLC純度 : 99.60%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.28-7.34 (m, 1H), 7.11-7.21 (m, 1H), 5.10-5.21 (m, 2H), 4.22-4.36 (m, 2H), 4.03-4.09 (m, 2H), 3.55-3.59 (m, 1H), 2.76-2.85 (m, 2H), 2.60-2.71 (m, 2H)

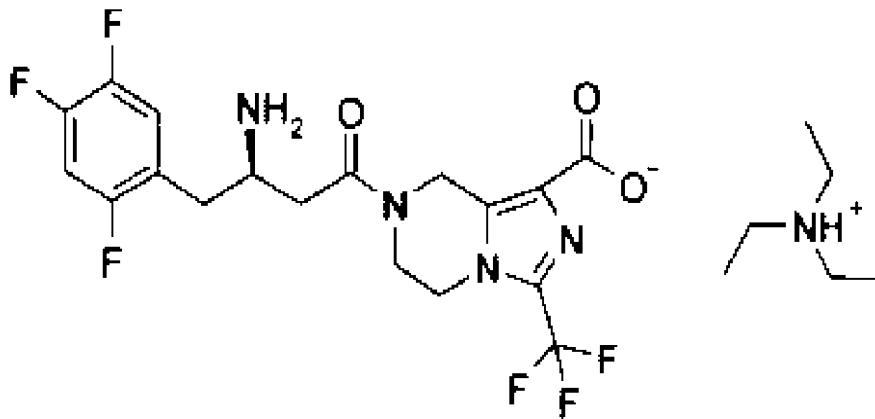
10

【実施例 8】

【0060】

(R) - 7 - [3 - アミノ - 4 - (2, 4, 5 - トリフルオロフェニル) ブタノイル] - 3 - トリフルオロメチル - 5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [1, 5 - a] ピラジン - 1 - カルボン酸トリエチルアンモニウム塩

【化11】



20

8

30

(R) - 7 - [3 - アミノ - 4 - (2, 4, 5 - トリフルオロフェニル) ブタノイル] - 3 - トリフルオロメチル - 5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [1, 5 - a] ピラジン - 1 - カルボン酸3 (100 mg、0.22 mmol) を5 mLのメタノールに溶解し、続いて、メタノールに溶解したトリエチルアミン溶液 (0.767 mL、0.22 mmol : この溶液は、メタノールに1 mLのトリエチルアミンを加え、25 mLのメタノール中トリエチルアミン溶液としたものである。) を添加した。混合物は40時間撹拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である (R) - 7 - [3 - アミノ - 4 - (2, 4, 5 - トリフルオロフェニル) ブタノイル] - 3 - トリフルオロメチル - 5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [1, 5 - a] ピラジン - 1 - カルボン酸トリエチルアンモニウム塩8 (112 mg、収率99.8%) を白色固体として得た。

40

HPLC純度 : 99.8%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.28-7.35 (m, 1H), 7.10-7.19 (m, 1H), 5.03-5.13 (m, 2H), 4.17-4.25 (m, 2H), 3.88-4.08 (m, 2H), 3.70-3.73 (m, 1H), 3.12-3.17 (m, 6H), 2.93-2.95 (m, 2H), 2.71-2.80 (m, 2H), 1.27-1.30 (m, 9H)

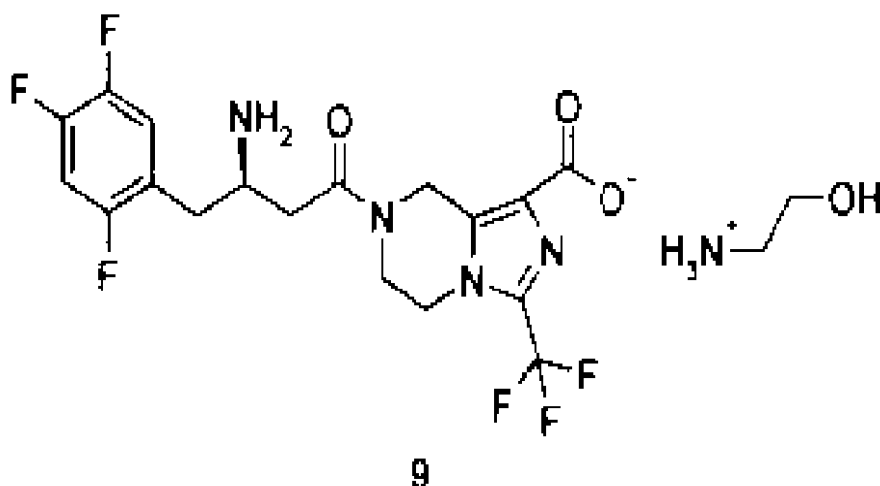
【実施例 9】

【0061】

(R) - 7 - [3 - アミノ - 4 - (2, 4, 5 - トリフルオロフェニル) ブタノイル] - 3 - トリフルオロメチル - 5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [1, 5 - a] ピラ

50

ジン - 1 - カルボン酸 2 - ヒドロキシエチルアンモニウム塩  
【化 1 2】



10

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 3 ( 100 mg, 0.22 mmol ) を 5 mL のメタノールに溶解し、続いて、メタノールに溶解したエタノールアミン溶液 ( 0.33 mL, 0.22 mmol : この溶液は、メタノールに 1 mL のエタノールアミンを加え、25 mL のメタノール中エタノールアミン溶液としたものである。 ) を添加した。混合物は 40 時間攪拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 2 - ヒドロキシエチルアンモニウム塩 9 ( 114 mg, 収率 99.62% ) を白色固体として得た。

20

HPLC 純度 : 99.62%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.27-7.32 (m, 1H), 7.07-7.16 (m, 1H), 4.96-5.17 (m, 2H), 4.12-4.26 (m, 2H), 3.91-4.09 (m, 2H), 3.70-3.72 (t, 2H), 3.56-3.57 (m, 1H), 2.95-2.98 (t, 2H), 2.80-2.89 (m, 2H), 2.58-2.70 (m, 2H)

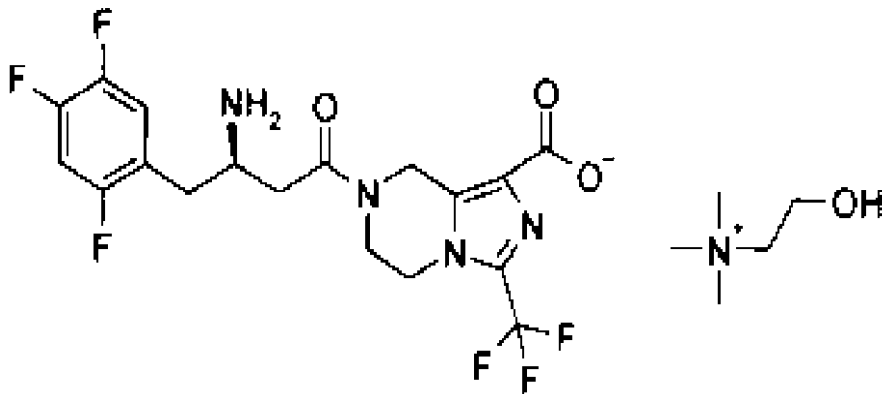
30

【実施例 10】

【0062】

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 2 - ヒドロキシエチル ( トリメチル ) アンモニウム塩

## 【化13】



10

(R) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 3 ( 100 mg、0.22 mmol ) を 5 mL のメタノールに溶解し、続いて、メタノールに溶解したコリン溶液 ( 1.55 mL、0.22 mmol : この溶液は、メタノールに 1 mL のコリンを加え、25 mL のメタノール中コリン溶液としたものである。 ) を添加した。混合物は 3 時間攪拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である ( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 2 - ヒドロキシエチル ( トリメチル ) アンモニウム塩 10 ( 120 mg、収率 98.5% ) を白色固体として得た。

HPLC純度：99.41%

MS m/z (ESI) : 451.2 [M+1]

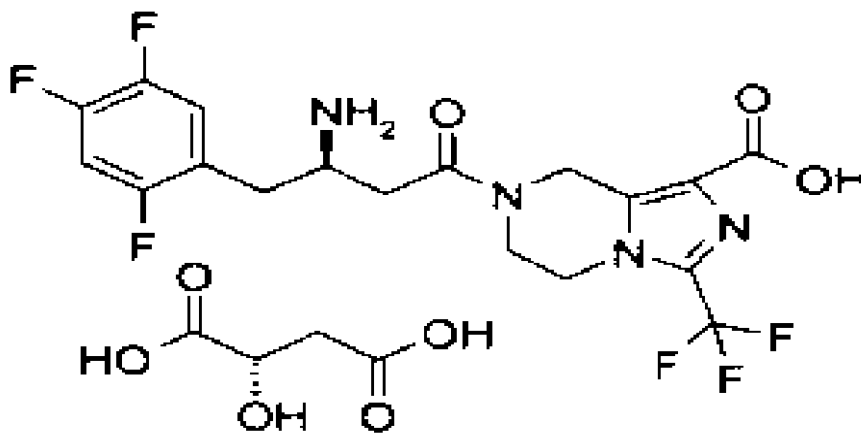
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.23-7.30 (m, 1H), 7.06-7.15 (m, 1H), 4.99-5.19 (m, 2H), 4.19-4.26 (m, 2H), 3.89-4.07 (m, 4H), 3.60-3.71 (m, 1H), 3.50-3.55 (m, 2H), 3.21 (s, 9H), 2.72-2.84 (m, 2H), 2.55-2.66 (m, 2H)

## 【実施例11】

## 【0063】

( R ) - 7 - [ 3 - アミノ - 4 - ( 2 , 4 , 5 - トリフルオロフェニル ) ブタノイル ] - 3 - トリフルオロメチル - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [ 1 , 5 - a ] ピラジン - 1 - カルボン酸 ( 2 S ) - 2 - ヒドロキシコハク酸塩

## 【化14】



11

10

20

30

40

50

L-リンゴ酸 (368 mg、2.74 mmol) を25 mLのメタノール/水 (v : v = 4 : 1) 混合溶媒に溶解し、0.11 M溶液として、以下のステップで使用した。(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸3 (100 mg、0.22 mmol) を10 mLのメタノールに溶解し、続いて、2 mLの前記溶液を添加した。混合物は30分間攪拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸(2S)-2-ジヒドロキシコハク酸塩11 (129 mg、収率98.92%) を白色固体として得た。

10

HPLC純度 : 98.92%

MS m/z (ESI) : 451.1[M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.32-7.41 (m, 1H), 7.16-7.23 (m, 1H), 4.96-5.13 (m, 2H), 4.35-4.39 (m, 1H), 4.20-4.30 (m, 2H), 4.04-4.13(m, 1H), 3.90-4.00 (m, 2H), 3.07-3.13 (m, 2H), 2.77-2.97 (m, 3H), 2.56-2.62 (m, 1H).

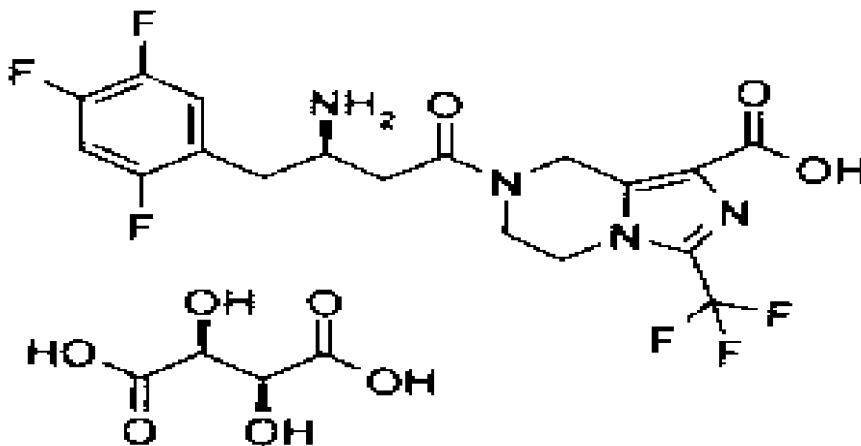
【実施例12】

【0064】

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸(2S,3S)-2,3-ジヒドロキシコハク酸塩

20

【化15】



30

12

D-酒石酸 (413 mg、2.75 mmol) を25 mLのメタノール/水 (v : v = 4 : 1) 混合溶媒に溶解し、0.11 M溶液として、以下のステップで使用した。(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸3 (100 mg、0.22 mmol) を10 mLのメタノールに溶解し、続いて、2 mLの前記溶液を添加した。混合物は30分間攪拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸(2S,3S)-2,3-ジヒドロキシコハク酸塩12 (131 mg、収率99%) を白色固体として得た。

40

HPLC純度 : 99.35%

MS m/z (ESI) : 451.1[M+1]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD, ppm) : 7.32-7.41 (m, 1H), 7.17-7.26 (m, 1H), 5.01-5.14 (m, 2H), 4.51 (s, 1H), 4.20-4.35 (m, 2H), 4.00-4.13 (m, 1H), 3.89-3.96 (m, 2H), 3.04-3.13 (m, 2H), 2.90-3.00 (m, 1H), 2.77-2.87 (m, 1H)

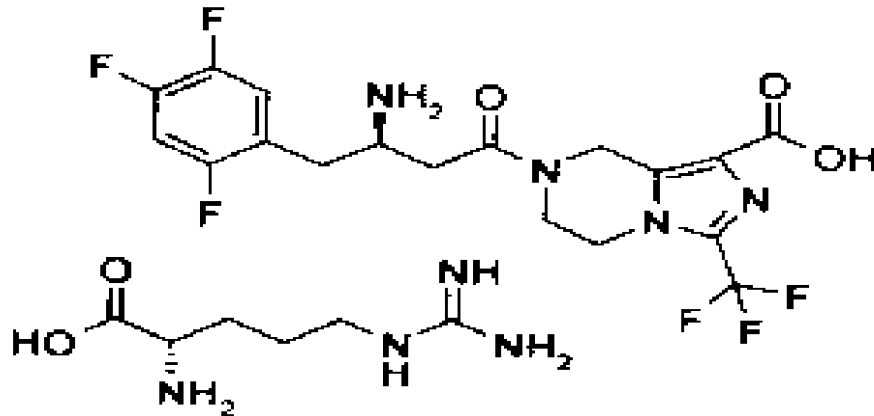
50

## 【実施例13】

【0065】

(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸(2S)-2-アミノ-5-グアニジノペンタン酸

【化16】



13

L-アルギニン(239 mg、1.37 mmol)を25 mLのメタノール/水(v:v = 4:1)混合溶媒に溶解し、0.055 M溶液として、以下のステップで使用した。(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸3(100 mg、0.22 mmol)を15 mLのメタノールに溶解し、続いて、4 mLの前記溶液を添加した。混合物は4時間攪拌した。この反応混合物を減圧濃縮し、表題化合物である(R)-7-[3-アミノ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブタノイル]-3-トリフルオロメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-イミダゾ[1,5-a]ピラジン-1-カルボン酸(2S)-2-アミノ-5-グアニジノペンタン塩13(139 mg、収率100%)を白色固体として得た。

HPLC純度：98.89%

MS m/z (ESI)：451.1[M+1]

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , ppm)： 7.24-7.32 (m, 1H), 7.09-7.14 (m, 1H), 4.98-5.18 (m, 2H), 4.25-4.28 (m, 1H), 4.18-4.19 (m, 1H), 3.93-4.04 (m, 2H), 3.50-3.54 (m, 2H), 3.18-3.23 (m, 2H), 2.76-2.87 (m, 2H), 2.58-2.69 (m, 2H), 1.77-1.90 (m, 2H), 1.67-1.75 (m, 2H)

## 【試験例】

【0066】

## 溶解度実験

従来の溶解度測定法に従って、試験サンプルの溶解度を4種の異なる系：すなわちリン酸緩衝液(PBS、pH = 7.4)、メタノール、0.1%塩酸及び水で測定した。この結果を表2に示した。

【0067】

【表 2】

実施例	溶解度値 (mg/mL)			
	PBS (pH7.4)	メタノール	0.1%塩酸	水
実施例 1	18.6	31.3	17.2	20.9
実施例 2	20.2	37.5	32.5	26.1
実施例 3	7.0	32.7	20.5	9.2
実施例 4	57.4	46.7	94.8	43.5
実施例 5	60.5	50.3	100.6	40.2
実施例 8	0.2	20.1	8.3	0.5
実施例 9	0.3	35.2	12.6	1.0
実施例 10	1.2	40.3	15.2	1.5
実施例 11	19.5	5.4	32.6	22.2
実施例 12	12.3	0.5	33.8	19.5

10

20

## 【0068】

結論：実施例 2、4 及び 5 の溶解度は明らかに改善された。

## 【0069】

## 薬理試験法

本発明の化合物は、下記の方法に従って、DPP - IV、DPP - VIII 及び DPP - IX 阻害活性を測定した。各化合物の 50% 阻害濃度  $IC_{50}$  (酵素活性を 50% 阻害する被験化合物濃度) は、一定量の酵素と基質との混合物を、いくつかの異なる濃度の被験化合物と反応させる試験及び計算により決定した。

## 【0070】

本発明の化合物は、DPP - IV、DPP - VIII 及び DPP - IX 阻害活性を、プロメガ (Promega) DP P - IV - Glo (商標) プロテアーゼアッセイ (カタログ番号 G8350 / G8351) キットを使用する下記の試験により測定した。

30

- (a) 酵素 DPP - IV はカルピオケム (Calbiochem) から購入した (カタログ番号 317630)。
- (b) 酵素 DPP - VIII はバイオサイエンス (Bioscience) から購入した (カタログ番号 80080)。
- (c) 酵素 DPP - IX はバイオサイエンスから購入した (カタログ番号 80090)。

## 【0071】

試験に必要な DPP - IV - Glo、ルシフェリン試薬などの通常試薬の調製法や試験の詳細な操作は、キットの仕様書を参照することができる。試験は下記ステップのとおり実施した。

40

## 【0072】

被験化合物は DMSO に溶解し、一連の異なる濃度の被験化合物溶液を調製した。DPP - IV - Glo 緩衝液と冷凍ルシフェリン検出試薬は、室温に平衡化した。ルシフェリン検出試薬は適度の緩衝液に溶解し、褐色フラスコ中で溶液とした。次に、DPP - IV - Glo を超純水に溶解し、適当な濃度とした。基質溶液とルシフェリン検出試薬溶液とは適当な比率 (本発明での比率は 1 : 49) で十分に混合し、混合物は室温で 30 ~ 60 分間静置した。トリス緩衝液 (2 mM、pH 8.0)、被験化合物及び DPP - IV (又は DPP - VIII 若しくは DPP - IX) を混合した後、96 ウェルプレートに移した。各試験には 3 ウェル対照の二重ウェルを置いた。同量の DMSO を陰性対照及びブランクに添加した。次に、96 ウェルプレートにルシフェリン検出試薬と基質との混合溶液を添加し、反応を開始した。96 ウェルプレートは、密閉した後、プレ

50

ートシェーカー上で室温、40分間インキュベートした。各ウェルの蛍光シグナル強度をマイクロプレートリーダーにより測定し、各濃度における被験化合物の酵素に対する阻害率を下記式によって算出した。

$$\text{阻害率} : IR = [ 1 - ( S - B ) / ( N - B ) ] \times 100\%$$

S : サンプル値

B : ブランク値

N : 陰性対照値

被験化合物の $IC_{50}$ は、異なる濃度における阻害率を用いて算出することができる。

【 0 0 7 3 】

【 表 3 】

実施例	$IC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )		
	DPP-IV	DPP-VIII	DPP-IX
1	0.021	87.9	63.6
2	0.015	399.7	185.0
3	0.013	235.7	125.4
4	0.022	77.3	42.3
5	0.025	80.5	50.6
8	0.021	152.5	135.6
9	0.012	113.7	128.3
10	0.023	210.1	165.6
11	0.009	279.7	180.1
12	0.012	243.8	135.5

【 0 0 7 4 】

結論：各化合物の遊離型又は塩は、DPP - IVに対して優れた阻害活性を示した。実施例 2 の化合物は、より好ましい選択性を示した。

【 0 0 7 5 】

薬物動態試験法

試験例 1 : 本発明の化合物の薬物動態試験法

( 1 ) 試験目的

ラットに対し、実施例 3 の化合物を胃内投与又は尾静脈注射し、また実施例 1 ~ 4、9、11 及び 12 の化合物を胃内投与し、異なる時間ポイントで LC / MS / MS 測定により血漿中の薬物濃度を測定した。本発明の化合物の薬物動態はラットにおいて検討し、評価した。また、経口における絶対生物学的利用率を検討した。

【 0 0 7 6 】

( 2 ) プロトコール

( 2 - 1 ) サンプル

実施例 1 ~ 4、9、11 及び 12 の化合物

( 2 - 2 ) 実験動物

雌雄半々の 28 匹の健常成体マウスは Sino-British Sippr / BK 実験動物株式会社から購入した。登録番号 : SCXK ( シャンハイ ) 2008-0016。

( 2 - 3 ) 機器

API 4000 Q-trap リニアイオン質量分析器、アプライドバイオシステムズ ( 米国 ) 。

Agilent 1200 高速液体クロマトグラフ、アジレント ( 米国 ) 。

( 2 - 4 ) 被験化合物の調製

静脈注射群 : 適切に秤量した被験化合物を、超音波をかけて 0.5 mL の DMSO に溶解した後、

10

20

30

40

50

通常の生理食塩水で15 mLに希釈し、0.3 mg/mLの溶液を調製した。

胃内投与群：適切に秤量した被験化合物を、超音波をかけて0.5%CMC - Naに溶解し、0.3 mg/mLの懸濁液を調製した。

(2-5) 投与

雌雄半々の32匹の健常成体SDラットを8群に分け、各群を4匹とした。一晚絶食させた後、ラットに実施例3の化合物をラットに尾静脈注射し、また、実施例3の化合物及びその塩を胃内投与した。投与量は、3.0 mg/kg (遊離塩基型として計算した) 及び10 mL/kg とした。

(2-6) サンプル採取

尾静脈注射群におけるラットの血液サンプル(0.2 mL)は、投与前並びに投与後2、15、30分及び1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0時間で眼窩から採取し、ヘパリン化チューブに保管して、10分間、3500回転で遠心分離した。血漿サンプルは分析するまで-20℃で保存した。ラットには、投与後2時間で給餌した。

胃内投与群におけるラットの血液サンプルは、投与前及び投与後0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0時間で採取した。このサンプルは上記と同じ方法で処理した。

(2-7) 分析法

50 µLの内部標準溶液と150 µLのメタノールを、投与後の各時間で得られた50 µLのラット血漿に添加した。次にこの混合物をボルテックスミキサーを用いて3分間混和して、10分間、13500回転で遠心分離した。この上清の10 µLをLC/MS/MSで分析した。

(2-8) 薬物動態パラメータの算出

被験化合物に対して薬物動態コンパートメントモデルが適合し、主要な薬物動態パラメータは、 $C_{max}$  及び $T_{max}$  を実測値として、DAS 2.0ソフトウェアにより算出した。絶対生物学的利用率は、投与後及び静脈注射から得られた $AUC_{0-t}$ により算出した。

【0077】

(3) 薬物動態パラメータの結果

本発明の化合物の薬物動態パラメータを表4に示す。

結論：他の化合物と比較して、実施例2の化合物の薬物動態及び生物学的利用率は明らかに改善され、薬物動態においてこの化合物は明らかに優れていた。

【0078】

【表4】

【表4】

実施例	F (%)	$C_{max}$ (ng/mL)	$AUC_{0-t}$ (ng·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	$T_{max}$ (h)	MRT (h)	CL/F (L/h/kg)	$V_z/F$ (l/kg)
1	2.90	18.0±7.5	66.6±19.5	1.74±0.16	2.50±1.00	3.17±0.36	45.6±11.5	114±27
2	8.63	66.6±36.4	198.1±57.4	1.69±1.24	0.92±0.58	4.05±3.66	16.2±4.55	41±29.7
3	2.54	13.4±5.6	58.3±17.3	2.73±0.73	1.00±0.00	4.45±1.01	51.7±16.0	193±38
		静脈	2295±353	2.35±1.90	—	0.22±0.06	1.33±0.20	6.05±6.53
4	2.90	14.2±2.0	66.6±10.6	2.65±0.94	1.75±0.96	4.30±0.60	43.7±7.1	164±56
9	4.06	25.1±13.9	93.2±36.4	3.18±0.71	1.25±0.50	4.34±0.66	32.9±10.0	155±63
11	3.03	13.5±3.9	69.5±25.2	2.21±0.69	1.63±1.11	4.50±1.32	46.6±17.7	140±39
12	3.25	17.0±6.9	74.6±21.7	2.54±0.86	1.75±0.50	4.23±0.84	40.3±9.9	154±77

## 【 0 0 7 9 】

本発明の化合物の血糖降下作用の予備的評価

## ( 1 ) 試験目的

実施例 1 ~ 4 及び実施例 8 ~ 1 2 の化合物の、正常ICRマウス ( Sino-British Sippr/BK実験動物株式会社 ) における経口グルコース負荷試験に関する効果を観察するため、生体内における血糖降下作用を、血糖測定器を用いて評価し、2時間中の異なる時間ポイントでサンプルの糖含量を測定し、分析した。サンプルはマウスの尾部から採取した。

## 【 0 0 8 0 】

## ( 2 ) 方法

## ( 2 - 1 ) 投与量

投与量は10 mg / kgとし、対照には水を投与した。両群とも5% DMSOを含有した。

## ( 2 - 2 ) 投与方法

ラットには強制経口投与した。4 g / kgの10%グルコース溶液 ( 各マウスに0.8 mL ) は、化合物の投与後15分に投与した。

## ( 2 - 3 ) 血糖レベル

マウスには上記の用量に従って投与し ( 対照群には5% DMSO水溶液を投与した。 )、血糖値を測定した ( - 15分 )。

投与後15分にマウスに4 g / kgの10%グルコース溶液を投与し、0、15、30、45、60及び120分に、ロシュ ( Roche ) ACCU - CHEKを用いて血糖値を測定した。

## 【 0 0 8 1 】

## 【表 5】

実施例	投与後 30 分の血中における 血糖降下率% ( 10 mg / kg )
1	16. 06
2	29. 96
3	25. 60
4	9. 49
8	19. 82
9	27. 56
10	20. 92
11	20. 18
12	24. 11

## 【 0 0 8 2 】

結論：化合物と比較して、実施例 2 の化合物は顕著な血糖降下作用を示した。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 6 1 P 43/00 1 1 1

(73)特許権者 508209602

シャンハイ ヘンルイ ファーマスーティカル カンパニー リミテッド  
SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.  
中華人民共和国 シャンハイ, ミンシン・ディストリクト, ウェンジン・ロード No. 279

(74)代理人 100153394

弁理士 謝 卓峰

(72)発明者 タン・ベンチョ

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

(72)発明者 スン・ピャオヤン

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

(72)発明者 ヤン・ファンロン

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

(72)発明者 リャン・ジンドン

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

(72)発明者 シェン・グァンユァン

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

(72)発明者 ワン・ヤン

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

(72)発明者 ファン・ジャン

中華人民共和国 シャンハイ ミンシン・ディストリクト ウェンジン・ロード No. 279

合議体

審判長 中田 とし子

審判官 富永 保

審判官 齊藤 真由美

(56)参考文献 特表2011-508735(JP, A)

国際公開第2009/082881(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K31/00-31/80

A61P3/00-3/14, 43/00

C07D487/00-487/22

REGISTRY(STN), CAplus(STN)