(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-519410
(P2025-519410A)
(43)公表日　令和7年6月26日(2025.6.26)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/166*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/166		４Ｃ２０６
Ａ６１Ｐ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12		４Ｈ００６
Ａ６１Ｐ	*9/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/04		
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５	
Ｃ０７Ｃ	*237/38*	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｃ	237/38		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全47頁）

(21)出願番号　特願2024-571318(P2024-571318)
(86)(22)出願日　令和5年6月6日(2023.6.6)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月28日(2025.1.28)
(86)国際出願番号　PCT/EP2023/065045
(87)国際公開番号　WO2023/237511
(87)国際公開日　令和5年12月14日(2023.12.14)
(31)優先権主張番号　63/365,971
(32)優先日　令和4年6月7日(2022.6.7)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　391008951
アストラゼネカ・アクチエボラーグ
ＡＳＴＲＡＺＥＮＥＣＡ　ＡＫＴＩＥＢＯＬＡＧ
スウェーデン国エスエー－１５１　８５　セーデルテイエ
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷　道子
(74)代理人　100156144
弁理士　落合　康
(72)発明者　ガブリエルセン，アンデシュ
スウェーデン、エスエー－１５１　８５　セーデルテイエ、アストラゼネカ・アクチエボラーグ
(72)発明者　ジョージ ジュニア，リチャード トーマス
最終頁に続く

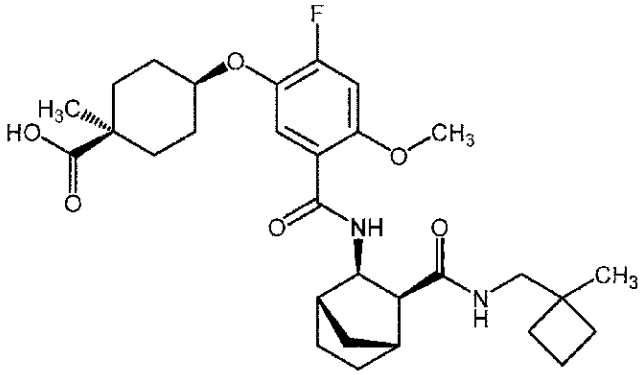
(54)【発明の名称】　抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全を治療するためのＲＸＦＰ１調節薬

(57)【要約】
本明細書は、概して、ＲＸＦＰ１調節薬の使用、特に抵抗性高血圧症及び肺高血圧症を伴う心不全を治療する方法に関する。

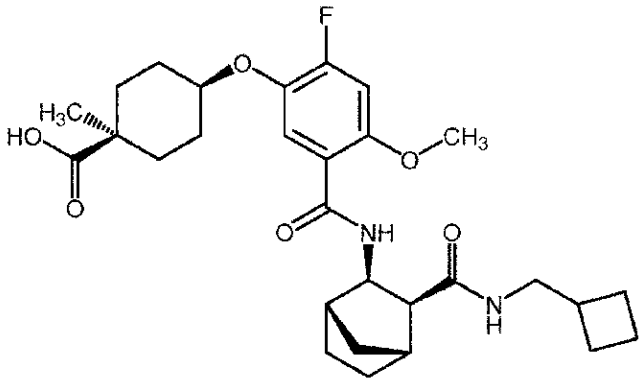
10

20

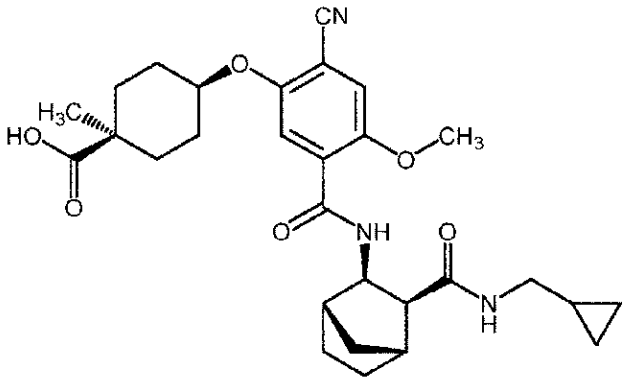
【特許請求の範囲】
【請求項１】
抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態を有する対象を治療する方法であって、有効量の、
【化１】



(化合物1);

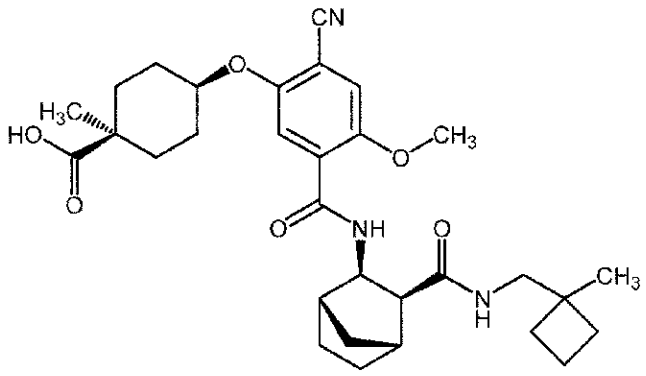


(化合物2);

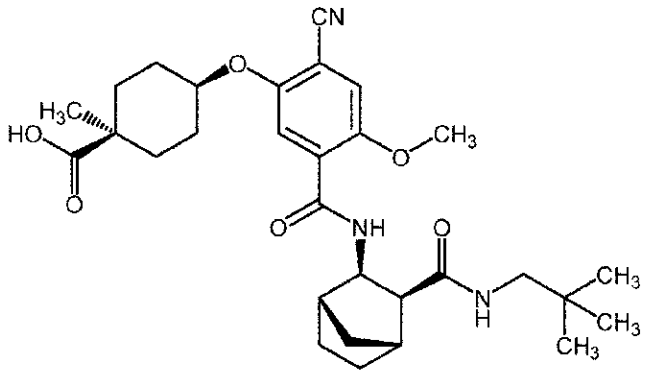


(化合物3);

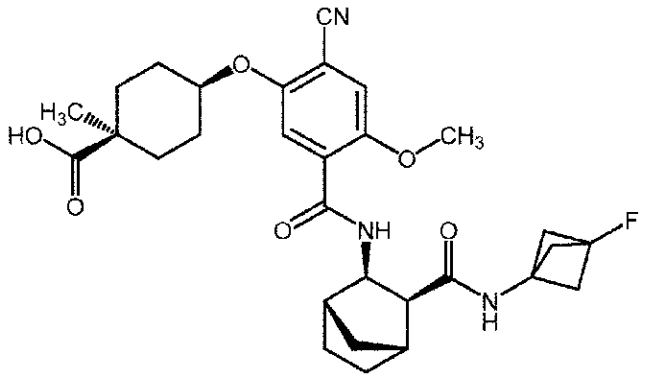
【化２】



(化合物4);



(化合物5);及び



(化合物6);

又はその薬学的に許容される塩から選択されるＲＸＦＰ１調節薬を前記対象に投与することを含む方法。

【請求項２】

前記ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物１又はその薬学的に許容される塩である、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

前記病態は、肺高血圧症を伴う心不全である、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項４】

前記心不全は、駆出率の低下した心不全、中程度の駆出率の心不全又は駆出率の保たれた心不全である、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５】

前記病態は、抵抗性高血圧症である、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。

【請求項６】

前記対象は、約２５ｍｍＨｇ以上の平均肺動脈圧及び／又は約４０ｍｍＨｇ以上の右心室収縮期圧を有する、請求項１～５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項７】

前記対象は、３．０ウッド単位未満の肺血管抵抗を有する、請求項１～６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
前記対象は、３．０ウッド単位以上の肺血管抵抗を有する、請求項１～７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
前記対象は、血圧モニタリングデバイス、任意選択的に肺動脈圧モニタリングデバイスを装着されている、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記肺動脈圧モニタリングデバイスは、ＣａｒｄｉｏＭＥＭＳ圧力モニタリングデバイスである、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記ＲＸＦＰ１調節薬は、前記ＲＸＦＰ１調節薬及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物として投与される、請求項１～１０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
請求項１～１０のいずれか一項に記載の方法で使用するためのＲＸＦＰ１調節薬。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本明細書では、ＲＸＦＰ１の調節薬である化合物（その塩を含む）を使用する治療方法が記載される。
【背景技術】
【０００２】
リラキシンは、妊娠中、全身血液動態の適応変化及び腎臓の適応変化を媒介することが知られている多面的ホルモンである。リラキシンは、抗線維化の特性を有し、且つ心不全、例えば急性非代償性心不全（ＡＤＨＦ）で有益な効果を有することも明らかにされている。心不全は、深刻な罹患率及び死亡率を伴う。心不全は、心筋細胞死の増加及び間質性線維症を伴う複雑な組織リモデリングを特徴とする。リラキシンは、虚血再灌流及び心不全といった状況で有益であることが示されている多くのシグナル伝達カスケードを活性化する。これらのシグナル伝達経路は、ホスホイノシチド３－キナーゼ経路の活性化及び一酸化窒素シグナル伝達経路の活性化を含む（非特許文献１、非特許文献２、非特許文献３、非特許文献４）。
【０００３】
心不全患者では、有意な小集団が肺高血圧症も患う（ＨＦ＋ＰＨ患者）。駆出率が保持された心不全患者の約５０％が更に肺高血圧症を患い、これは、駆出率の低下を伴う心不全患者では６０％に増加するものと推定されている（非特許文献５、非特許文献６）。肺高血圧症を伴う心不全の患者は、肺高血圧症を伴わない心不全の患者と比較して生存率が低下することが示されている（非特許文献７）。心不全患者では、推定肺動脈拡張期圧（ｅＰＡＤ）の３ｍｍＨｇの増減（平均肺動脈圧（ｍＰＡＰ）の約４ｍｍＨｇの増減に相当）は、心血管系死亡率の２４％の増加又は１９％の減少とそれぞれ関連していた（非特許文献８）。ｍＰＡＰの４ｍｍＨｇの低減は、心不全及び肺高血圧症を患う患者における呼吸困難の改善にも関連する（非特許文献９）。
【０００４】
抵抗性高血圧症（ｒＨＴ）は、１つが利尿剤である、異なるクラスの最適化された用量の３つの降圧剤の同時使用にもかかわらず、達成目標を超えて上昇したままである高血圧患者の血圧として定義される。高血圧症の初期処置のための現在のＳｏＣは、カルシウムチャネル遮断薬（ＣＣＢ）、レニン－アンジオテンシン系の遮断薬（アンジオテンシン変換酵素［ＡＣＥ］阻害薬又はアンジオテンシン受容体遮断薬［ＡＲＢ］）及び利尿薬である。ｒＨＴの患者について、次に追加するものについて複数の選択肢（鉱質コルチコイド受容体拮抗薬（ＭＲＡ）、β遮断薬又はα遮断薬など）があり、ガイドラインは、現在、

ｒＨＴの治療のための好ましい選択肢としてＭＲＡを推奨している。ｒＨＴには、４つ以上の降圧薬を同時に受容したときに血圧が適切に制御されている患者も含まれる（非特許文献１０）。ｒＨＴ患者は、典型的には、重度の血圧上昇の長い病歴を有し、血圧が調節された治療された高血圧患者よりも高い心血管リスクを有する傾向がある（非特許文献１１）。リラキシンが高血圧性疾患の治療可能性を有し得ることが示唆されている（非特許文献１２）。

【０００５】

非修飾組換えヒトリラキシン２であるセレラキシンを使用して、臨床試験が実施された。入院患者にセレラキシンを連続的に静脈内投与することで心臓、腎臓及び肝臓の障害及び鬱血が改善した（非特許文献１３、非特許文献１４、非特許文献１５）。しかし、セレラキシンは、患者の血液循環から速やかに除去されるため、その治療効果は、限定的であり、静脈内注射を中止するとプラスの効果が急速に消滅した。更に、患者の約３分の１が、セレラキシンを静脈内投与した後に有意な血圧低下（＞４０ｍｍＨｇ）を経験したため、用量を半分又は更に減少させなければならないという結論が得られた。

【０００６】

ヒトリラキシンの同族受容体は、ＲＸＦＰ１であり、ホルモンリラキシンによる活性化が血行動態特性、抗線維化特性及び抗炎症特性と関連する、十分に検証された薬理学的に重要なＧＰＣＲファミリー１ｃメンバーである（非特許文献１６）。

【０００７】

ＲＸＦＰ１の小分子調節薬がリラキシン模倣体として求められている。例えば、Ｍａｒｕｇａｎ，Ｊ．Ｊ．，ｅｔ　ａｌ．の特許文献１、非特許文献１７及び非特許文献１８は、ＲＸＦＰ１の小分子調節薬を論じている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００８】

【特許文献１】国際公開第２０１３／１６５６０６Ａ１号パンフレット

【非特許文献】

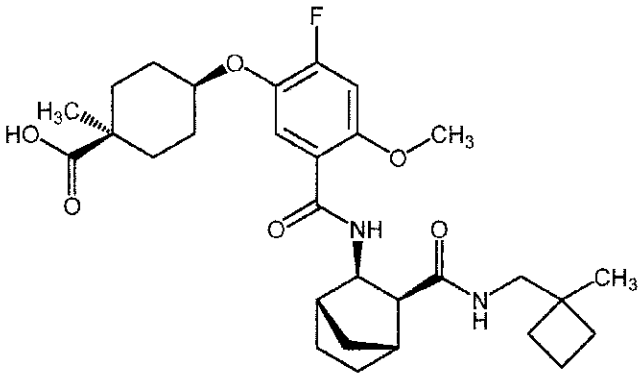
【０００９】

【非特許文献１】Ｂａｔｈｇａｔｅ　ＲＡ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）　Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｒｅｖ．９３（１）：４０５－４８０
【非特許文献２】Ｍｅｎｔｚ　ＲＪ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ａｍ．Ｈｅａｒｔ　Ｊ．１６５（２）：１９３－１９９
【非特許文献３】Ｔｉｅｔｊｅｎｓ　Ｊ　ｅｔ　ａｌ．（２０１６）Ｈｅａｒｔ　１０２：９５－９９
【非特許文献４】Ｗｉｌｓｏｎ　ＳＳ　ｅｔ　ａｌ．（２０１５）Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　３５：３１５－３２７
【非特許文献５】Ｇｕａｚｚｉ，（２０１４）Ｃｉｒｃ　Ｈｅａｒｔ　Ｆａｉｌ．，７：３６７－３７７
【非特許文献６】Ｍｉｌｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１３）ＪＡＣＣ　Ｈｅａｒｔ　Ｆａｉｌ．，１（４）：２９０－２９９
【非特許文献７】Ｂａｒｎｅｔｔ　ａｎｄ　Ｄｅ　Ｍａｒｃｏ，（２０１２）Ｈｅａｒｔ　Ｆａｉｌ．Ｃｌｉｎ．８：４４７－４５９
【非特許文献８】Ｚｉｌｅ　ＭＲ，ｅｔ　ａｌ．（２０１７）Ｃｉｒｃ　Ｈｅａｒｔ　Ｆａｉｌ．，１０：ｅ００３５９４
【非特許文献９】Ｓｏｌｏｍｏｎｉｃａ　Ａ，ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｃｉｒｃ　Ｈｅａｒｔ　Ｆａｉｌ．，６：５３－６０
【非特許文献１０】Ｃａｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｙｐｅｒｔｅｎｓｉｏｎ，２０１８，７２，ｅ５３－ｅ９０
【非特許文献１１】Ａｃｅｌａｊａｄｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２０１９，１２４，１０６１－１０７０

【非特許文献１２】Ｌｅｋｇａｂｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｙｐｅｒｔｅｎｓｉｏｎ，２００５，４６，４１２－８
【非特許文献１３】Ｆｅｌｋｅｒ　ＧＭ　ｅｔ　ａｌ．（２０１４）Ｊ．Ａｍ．Ｃｏｌｌ．Ｃａｒｄｉｏｌ．６４（１５）：１５９１－１５９８
【非特許文献１４】Ｍｅｔｒａ　Ｍ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｊ．Ａｍ．Ｃｏｌｌ．Ｃａｒｄｉｏｌ．６１（２）：１９６－２０６
【非特許文献１５】Ｔｅｅｒｌｉｎｋ　ＪＲ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｌａｎｃｅｔ　３８１（９８６０）：２９－３９
【非特許文献１６】Ｈａｌｌｓ　ＭＬ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１５），Ｐｈａｒｍａｃｏｌ　Ｒｅｖ．６７（２）：３８９－４４０
【非特許文献１７】Ｘｉａｏ　Ｊ　ｅｔ　ａｌ．（２０１３）Ｎａｔ．Ｃｏｍｍｕｎ．４：１９５３
【非特許文献１８】ＭｃＢｒｉｄｅ　Ａ　ｅｔ　ａｌ．（２０１７）Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｒｅｐｏｒｔｓ　７：１０８０６

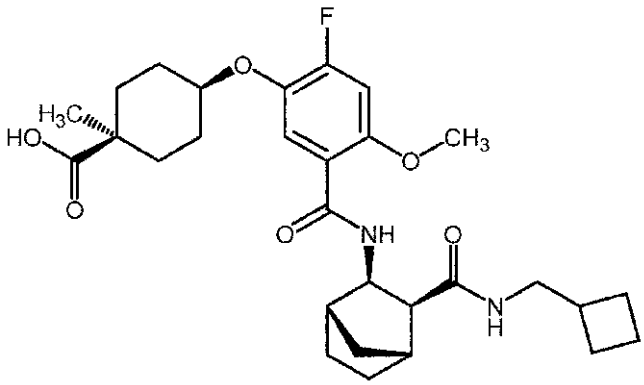
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１０】
上記にもかかわらず、ＲＸＦＰ１の調節薬である更なる化合物が引き続き必要とされており、この化合物を治療薬としての開発に特に有望なものにし得る。そのような化合物は、他の既知のＲＸＦＰ１調節薬と比較してＲＸＦＰ１の調節の改善も示し得る。そのような化合物は、他の公知のＲＸＦＰ１調節薬と比較して有利な薬物動態プロファイル（例えば、より低い固有クリアランス）及び／又は有利な物理的特性（例えば、より高い水溶解度）も示し得る。したがって、そのような化合物は、ＲＸＦＰ１の調節が有益である病状の治療に特に有用であり得る。
【課題を解決するための手段】
【００１１】
本明細書は、抵抗性高血圧症に罹患している対象及び肺高血圧症を伴う心不全（ＨＦ＋ＰＨ）に罹患している対象の治療における、本明細書に記載のＲＸＦＰ１調節薬の使用に関する。ＨＦ＋ＰＨ対象及び抵抗性高血圧症を有する対象の治療は、重大な満たされていない必要性のままである。
【００１２】
本明細書は、部分的に、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態を有する対象を治療する方法を記載し、本方法は、有効量の、本明細書に記載されるＲＸＦＰ１調節薬を対象に投与することを含む。
【００１３】
同様に、本明細書は、部分的に、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態を有する対象の治療で使用するための、本明細書に記載されるＲＸＦＰ１調節薬について記載する。
【００１４】
同様に、本明細書は、部分的に、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態を有する対象を治療するための医薬品の製造における、本明細書に記載されるＲＸＦＰ１調節薬の使用について記載する。
【００１５】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、

【化１】

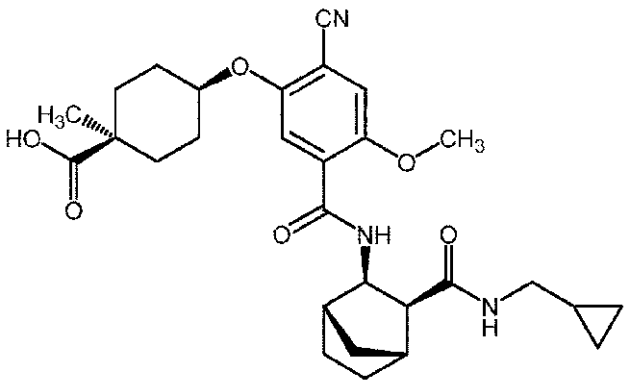


(化合物1);

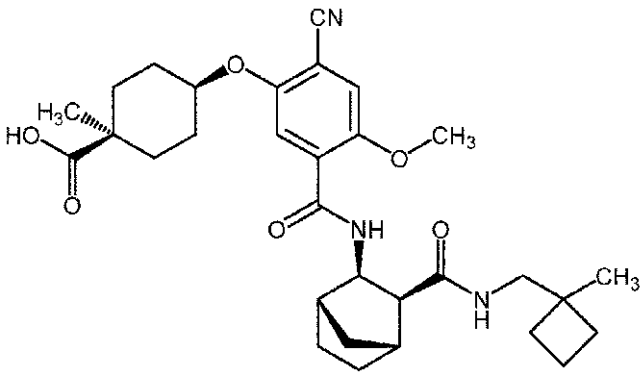
【化２】



(化合物2);

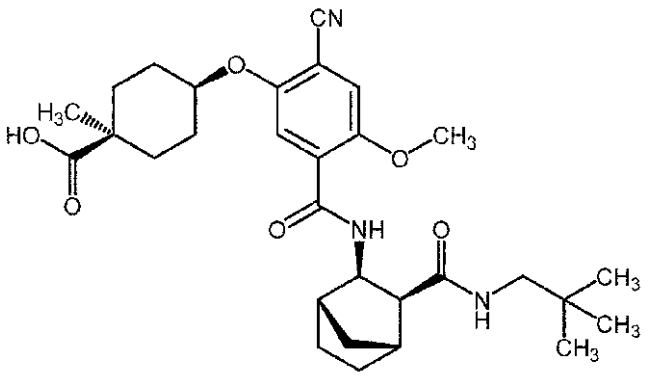


(化合物3);

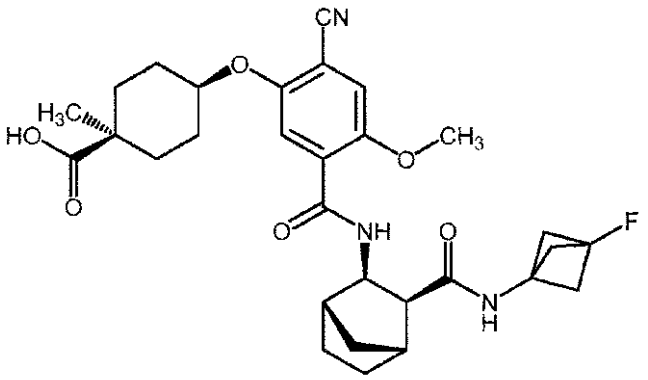


(化合物4);

【化３】



(化合物5);及び



(化合物6);

又はその薬学的に許容される塩から選択される。

【００１６】

本開示の更なる態様は、本明細書を読むことで当業者に明らかになるであろう。

【発明を実施するための形態】

【００１７】

多くの実施形態が本明細書の全体を通して詳述され、当業者に明らかになるであろう。本明細書は、本明細書に記載される任意の特定の実施形態に限定されるものとして解釈されるべきではない。

【００１８】

本明細書で具体的に定義されていない用語は、本開示及び文脈に照らして当業者によってそれらに与えられるであろう意味を有すると理解されたい。

【００１９】

「約」は、一般に、測定法の性質又は精度を考慮すると、測定される数量について許容される程度の誤差を意味し得る。誤差の例示的な程度は、与えられた値又は値の範囲のパーセント（％）以内、典型的には１０％以内、より典型的には５％以内である。

【００２０】

１つ以上の特徴を「含む」として本明細書に記載される実施形態は、そのような特徴「からなる」対応する実施形態の開示とも見なされ得る。

【００２１】

濃度、量、体積、割合及び他の数値は、本明細書では、範囲形式で示され得る。そのような範囲形式は、単に便宜上及び簡潔さのために使用され、範囲の限界として明示的に列挙される数値を含むだけでなく、それぞれの数値及び部分範囲が明示的に列挙されているかのように、その範囲内に包含される個々の数値又は部分範囲を全て含むと柔軟に解釈されるべきであることも理解されたい。

【００２２】

本明細書に記載される化合物の化学名は、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ（登録商標）製のＣｈｅｍＤｒａｗ（登録商標）Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌバージョン１９．０．０．２２を

使用して生成した。当業者は、異なる化学命名ソフトウェアが特定の化合物について異なる化学名を生成し得ることを理解するであろう。本明細書に記載される化合物が化学名の形態で且つ式として示される場合、何らかの不一致がある場合には式が優先されるものとする。

【００２３】

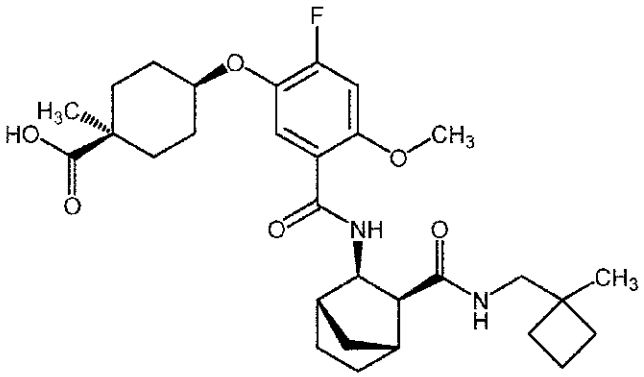
ＲＸＦＰ１調節薬

本明細書では、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態を有する対象の治療方法が開示され、本方法は、有効量のＲＸＦＰ１調節薬を対象に投与することを含む。

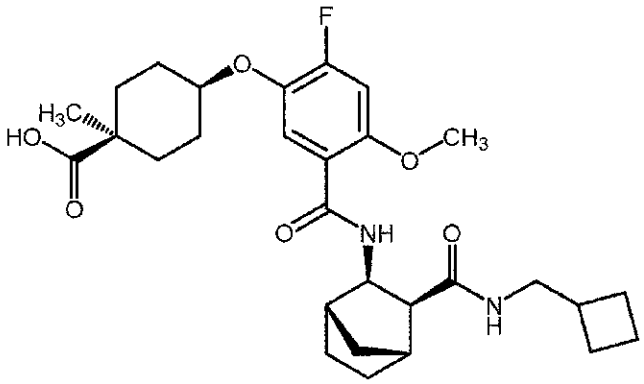
【００２４】

一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、

【化４】

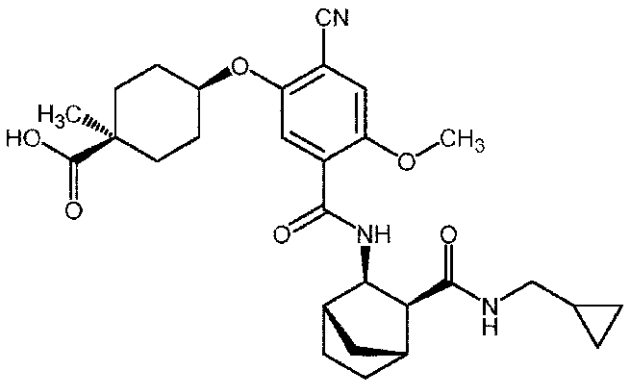


(化合物1);

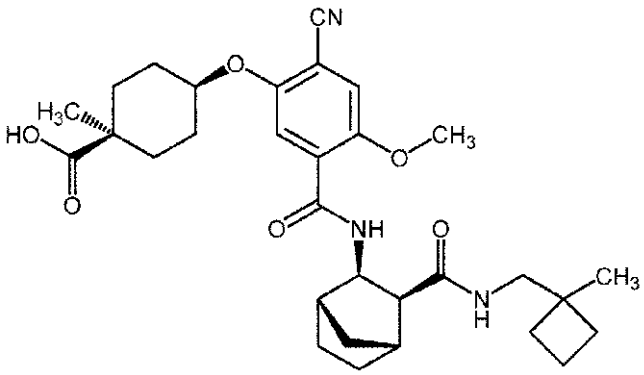


(化合物2);

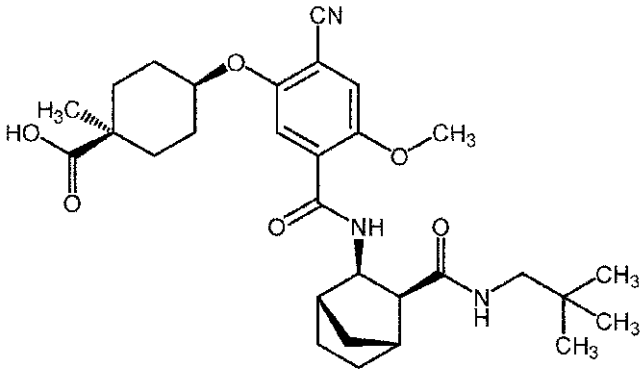
【化５】



（化合物3）;

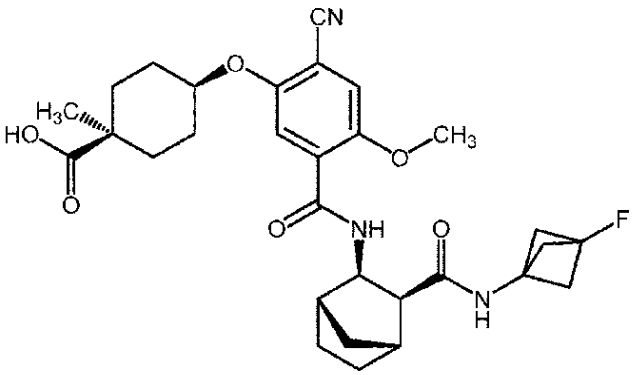


（化合物4）;



（化合物5）;及び

【化６】



（化合物6）

又はその薬学的に許容される塩から選択される。

【００２５】

一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物１又はその薬学的に許容される塩である。

【００２６】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物２又はその薬学的に許容される塩である。
【００２７】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物３又はその薬学的に許容される塩である。
【００２８】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物４又はその薬学的に許容される塩である。
【００２９】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物５又はその薬学的に許容される塩である。
【００３０】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物６又はその薬学的に許容される塩である。
【００３１】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物１である。
【００３２】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物２である。
【００３３】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物３である。
【００３４】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物４である。
【００３５】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物５である。
【００３６】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、化合物６である。
【００３７】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、
（１Ｓ，４Ｓ）－４－（２－フルオロ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（（１－メチルシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸；
（１Ｓ，４Ｓ）－４－（２－シアノ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（（１－メチルシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸；
（１Ｓ，４Ｓ）－４－（２－シアノ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（シクロプロピルメチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－４－メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸；
（１Ｓ，４Ｓ）－４－（２－シアノ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（ネオペンチルカルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸；
（１Ｓ，４Ｓ）－４－（２－シアノ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（３－フルオロ［１．１．１］ペンタン－１－イル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－４－メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸；及び
（１Ｓ，４Ｓ）－４－（５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（シクロブチルメチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－２－フルオロ－４－メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸；

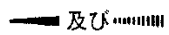
又は
その薬学的に許容される塩
から選択される。
【００３８】
一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、国際特許出願第ＰＣＴ／ＥＰ２０２１／０８４６７３号明細書又は米国特許出願第１７／４５７，９５３号明細書（両方の出願は、それらの全体が参照により組み込まれる）で特許請求又は例示されるような化合物である。
【００３９】
用語「薬学的に許容される」は、ある物体（例えば、塩、剤形又は賦形剤）が患者における使用に適していることを明記するために使用される。薬学的に許容される塩の例となるリストは、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓａｌｔｓ：Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｕｓｅ，Ｐ．Ｈ．Ｓｔａｈｌ ａｎｄ Ｃ．Ｇ．Ｗｅｒｍｕｔｈ，ｅｄｉｔｏｒｓ，Ｗｅｉｎｈｅｉｍ／Ｚｕｅｒｉｃｈ：Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ／ＶＨＣＡ，２００２に見出され得る。本明細書に記載される化合物の好適な薬学的に許容される塩は、例えば、酸付加塩又は塩基塩である。本明細書に記載される化合物の酸付加塩は、当業者に公知の条件下で化合物を好適な無機酸又は有機酸と接触させることによって形成され得る。酸付加塩は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸及びリン酸からなる群から選択される無機酸を使用して形成され得る。酸付加塩は、トリフルオロ酢酸、クエン酸、マレイン酸、シュウ酸、酢酸、ギ酸、安息香酸、フマル酸、コハク酸、酒石酸、乳酸、ピルビン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸及びパラトルエンスルホン酸からなる群から選択される有機酸を使用しても形成され得る。
【００４０】
したがって、一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、薬学的に許容される塩であり、薬学的に許容される塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸、マレイン酸、シュウ酸、酢酸、ギ酸、安息香酸、フマル酸、コハク酸、酒石酸、乳酸、ピルビン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸又はパラ－トルエンスルホン酸塩である。
【００４１】
本明細書に記載される化合物は、塩基付加塩を形成し得る。本明細書に記載される化合物の塩基付加塩は、当業者に公知の条件下で化合物を好適な無機塩基又は有機塩基と接触させることによって形成され得る。例えば、化合物を水性媒体中において、アルカリ金属若しくはアルカリ土類金属のヒドロキシド若しくはアルコキシド（例えば、エトキシド若しくはメトキシド）又は適切に塩基性である有機アミン（例えば、コリン若しくはメグルミン）で処理することにより、アルカリ金属（ナトリウム、カリウム若しくはリチウムなど）又はアルカリ土類金属（カルシウムなど）塩を作製することが可能であり得る。したがって、一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬は、薬学的に許容される塩であり、薬学的に許容される塩は、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、コリン又はメグルミン塩である。
【００４２】
本明細書で説明される化合物及び塩は、溶媒和形態及び非溶媒和形態で存在し得る。例えば、溶媒和形態は、ヘミ水和物、一水和物、二水和物、三水和物又はその代替的な量などの水和物形態であり得る。本明細書に記載される化合物の全てのそのような溶媒和形態及び非溶媒和形態が本明細書に包含される。
【００４３】
本明細書に記載の化合物及び塩の原子は、それらの同位体として存在し得る。原子がその同位体の１つ以上によって置換されている（例えば、１つ以上の炭素原子が^{11}Ｃ若しくは^{13}Ｃ炭素同位体であるか、又は１つ以上の水素原子が^{2}Ｈ若しくは^{3}Ｈ同位体である）、本明細書に記載される全ての化合物が本明細書に包含される。
【００４４】
本明細書に記載される化合物は、シス－及びトランス－型、Ｅ－及びＺ－型並びにＲ－

、Ｓ－及びメソ－型を含むが、これらに限定されない１つ以上の幾何、光学、鏡像異性及びジアステレオ異性形態で存在し得る。特に明記しない限り、特定の化合物についての言及は、ラセミ混合物及び他の混合物を含むそのような異性体形態を全て含む。適切な場合、そのような異性体は、既知の方法（例えば、クロマトグラフィー技術及び再結晶技術）の適用又は改作によってそれらの混合物から分離され得る。適切な場合、そのような異性体は、既知の方法の適用又は改作によって調製され得る。

【００４５】

本明細書に記載される化合物は、１つ以上のキラル中心を含む。本明細書の構造又は化学名がキラリティーを示さない限り、構造又は名称は、その構造又は名称に対応する任意の単一の立体異性体及び立体異性体の任意の混合物（例えば、ラセミ体）を包含することが意図される。ここで、本明細書における構造は、実線及び破線の楔（すなわち、

【化７】



）として描かれた結合を含み、実線及び破線の楔がキラル中心の絶対配置を示すことが意図される。

【００４６】

そのような光学活性形態をどのように分離することができるかは、当技術分野で周知である。例えば、単一の立体異性体は、例えば、キラルクロマトグラフィー分離を用いて、異性体の混合物（例えば、ラセミ体）から単離することによって得ることができる。他の実施形態では、単一の立体異性体は、例えば、キラル出発材料からの直接的な合成により得られる。

【００４７】

一実施形態によれば、ＲＸＦＰ１調節薬は、鏡像体過剰率（％ｅｅ）が≧９５％、≧９８％又は≧９９％である単一の鏡像異性体として提供される。簡便には、単一のエナンチオマーは、９９％以上のエナンチオマー過剰率で存在する。

【００４８】

一実施形態によれば、ＲＸＦＰ１調節薬は、９５～１００％の範囲のエナンチオマー過剰率（％ｅｅ）である単一のエナンチオマーとして提供される。

【００４９】

本明細書に記載される化合物は、ケト形態及びエノール形態を含むが、これらに限定されない１つ以上の互変異性形態で存在し得る。特定の化合物への言及は、それらの混合物を含む全ての互変異性形態を含む。したがって、１つの互変異性体として本明細書に表示される構造は、他の互変異性体も含むことが意図される。

【００５０】

本明細書に記載されるＲＸＦＰ１調節薬は、プロドラッグの形態で投与され得、これは、ヒト又は動物身体内で分解されて、そのようなＲＸＦＰ１調節薬を放出する化合物である。そのような薬学的に許容されるＲＸＦＰ１調節薬のプロドラッグも一実施形態を形成する。様々な形態のプロドラッグが当技術分野で公知である。例えば、下記を参照されたい。

a）Ｄｅｓｉｇｎ ｏｆ Ｐｒｏ－ｄｒｕｇｓ，ｅｄｉｔｅｄ ｂｙ Ｈ．Ｂｕｎｄｇａａｒｄ，（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，１９８５）；

b）Ａ Ｔｅｘｔｂｏｏｋ ｏｆ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ，ｅｄｉｔｅｄ ｂｙ Ｋｒｏｇｓｇａａｒｄ－Ｌａｒｓｅｎ ａｎｄ Ｈ．Ｂｕｎｄｇａａｒｄ，Ｃｈａｐｔｅｒ ５“Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ｐｒｏ－ｄｒｕｇｓ”，ｂｙ Ｈ．Ｂｕｎｄｇａａｒｄ ｐ．１１３－１９１（１９９１）；

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

d）Ｈ．Ｂｕｎｄｇａａｒｄ，ｅｔ ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅ

ｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，７７，２８５（１９８８）；及び
ｅ）Ｎ．Ｋａｋｅｙａ，ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｕｌｌ．，３２，６９２（１９８４）。

【００５１】

ＲＸＦＰ１調節薬を使用する治療

ＲＸＦＰ１のそれらの調節の結果として、本明細書に記載のＲＸＦＰ１調節薬は、治療で有用であると予想される。

【００５２】

用語「治療」は、疾患若しくは病態について、その症状の１つ、一部若しくは全てを全体的若しくは部分的に軽減するか、又は基礎的病理を矯正若しくは補正するように対処するというその標準的な意味を有することが意図される。用語「治療」には、その反対の具体的な指示がない限り、「予防」も含まれる。用語「治療的な」及び「治療的に」は、それに応じて解釈されるべきである。

【００５３】

用語「予防」は、その標準的な意味を有することが意図され、疾患若しくは病態の発生を予防するための一次予防及び疾患若しくは病態が既に発生しており、疾患若しくは病態の増悪若しくは悪化又は疾患若しくは病態に関連する新たな症状の発生に対して一時的又は持続的に患者を保護する二次予防を含む。

【００５４】

用語「処置」は、「治療」と同義的に用いられる。同様に、用語「処置する」は、「治療を適用する」（ここで、「治療」は、本明細書で定義される通りである）ことと見なされ得る。

【００５５】

本明細書に記載のＲＸＦＰ１調節薬は、抵抗性高血圧症及び肺高血圧症を伴う心不全などの病態の治療で使用され得ることが理解されるであろう。

【００５６】

本明細書で使用する場合、用語「心不全」は、急性心不全、慢性心不全（ＣＨＦ）及び急性非代償性心不全（ＡＤＨＦ）を含む。用語「心不全」は、駆出率が保持された心不全（ＨＦｐＥＦ）、駆出率が中程度の心不全（ＨＦｍｒＥＦ；駆出率が軽度低下した心不全とも称される）又は駆出率が低下した心不全（ＨＦｒＥＦ）などのより詳細な診断も含み得る。これは、肥大型心筋症又は拡張型心筋症が原因の心不全も含み得る。

【００５７】

本明細書で使用する場合、用語「肺高血圧症」とは、典型的には、対象の安静時に平均肺動脈圧が約２０ｍｍＨｇ以上、任意選択的に２５ｍｍＨｇ以上の対象として定義され得る。これは、典型的には、対象が運動中であるか又は最近運動したときの約３０ｍｍＨｇ以上の平均肺動脈圧としても定義され得る。したがって、対象は、約２０ｍｍＨｇ～約３０ｍｍＨｇ、任意選択的に約２５ｍｍＨｇ～約３０ｍｍＨｇ又はそれを超える範囲の平均肺動脈圧を有し得る。代わりに又は更に、対象は、
ａ．約４０ｍｍＨｇ以上の右心室収縮期圧、及び／又は
ｂ．以下の肺血管抵抗：
ｉ．３．０未満のウッド単位、若しくは
ｉｉ．３．０以上のウッド単位
を有し得る。

【００５８】

したがって、場合により、肺高血圧症は、世界保健機関による定義でグループ２の肺高血圧症に分類され得る。他の場合、肺高血圧症は、世界保健機関による定義でグループ１の肺動脈高血圧症に分類され得る（Ｒｙａｎ ｅｔ ａｌ．，２０１２，Ｐｕｌｍ．Ｃｉｒｃ．２（１）：１０７－１２１を参照されたい）。

【００５９】

肺高血圧症及び心不全のパラメータは、当技術分野で既知の技法を用いて測定又は推定

され得る。例えば、これらとしては、心エコー検査、肺動脈カテーテル及び埋め込み可能なモニタリングデバイスが挙げられる。特定の実施形態では、対象は、当技術分野で知られているような血圧モニタリングデバイス、任意選択的に肺動脈圧モニタリングデバイスを装着され得る。特定の実施形態では、肺動脈圧モニタリングデバイスは、ＣａｒｄｉｏＭＥＭＳ圧力モニタリングデバイスである。典型的には、このデバイスは、本明細書に記載されるＲＸＦＰ１調節薬による治療前に装着される。代わりに、対象は、治療期間中又は治療期間後にこのデバイスを装着する。

【００６０】

本明細書で使用する場合、用語「肺高血圧症を伴う心不全」は、肺高血圧症を同時に患う心不全対象の小集団（ＨＦ＋ＰＨ対象）を指す。

【００６１】

本明細書で使用する場合、用語「抵抗性高血圧症」は、１つが利尿剤である、異なるクラスの最適化された用量の３つの降圧剤の同時使用にもかかわらず、達成目標を超えて上昇したままである高血圧患者の血圧又は４つ以上の降圧薬を同時に受容する場合には血圧が適切に制御されている患者の血圧として定義される（Ｃａｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｙｐｅｒｔｅｎｓｉｏｎ，２０１８，７２，ｅ５３－ｅ９０）。高血圧症の初期治療は、カルシウムチャネル遮断薬（ＣＣＢ）、レニン－アンジオテンシン系の遮断薬（アンジオテンシン変換酵素［ＡＣＥ］阻害薬又はアンジオテンシン受容体遮断薬［ＡＲＢ］）及び利尿薬であり得る。ｒＨＴを有する患者の場合、更なる治療は、鉱質コルチコイド受容体拮抗薬（ＭＲＡ）β遮断薬及び／又はα遮断薬を含み得る。抵抗性高血圧症を有する対象は、典型的には、対象が安静状態にあるとき、収縮期血圧≧１４０ｍｍＨｇ及び／又は拡張期血圧≧９０ｍｍＨｇを有し得る。代わりに、抵抗性高血圧症を有する対象は、典型的には、対象が安静状態にあるとき、収縮期血圧≧１３０ｍｍＨｇ及び／又は拡張期血圧≧８０ｍｍＨｇを有し得る。代わりに、抵抗性高血圧症を有する対象は、典型的には、対象が安静状態にあるとき、収縮期血圧≧１５０ｍｍＨｇ及び／又は拡張期血圧≧９０ｍｍＨｇを有し得る。場合により、抵抗性高血圧症は、抵抗性本態性高血圧症であり得る。原発性高血圧症としても知られる本態性高血圧症は、既知の二次的原因が特定されていない高血圧症の一形態である。

【００６２】

「治療」とは、標的疾患の１つ以上の症状又は原因の改善及び／又は排除を指す。いくつかの実施形態では、これは、１つ以上の生物学的マーカー又は機能のレベルが（健康なコホートと比較して）健常範囲内になるように変化させることを伴い得る。例えば、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、対象における平均肺動脈圧（ｍＰＡＰ）を低下させ得る。例えば、ｍＰＡＰは、少なくとも１ｍｍＨｇ～１５ｍｍＨｇ以上低下させ得る。したがって、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、対象の平均肺動脈圧を少なくとも１ｍｍＨｇ、少なくとも２ｍｍＨｇ、少なくとも３ｍｍＨｇ、少なくとも４ｍｍＨｇ、少なくとも５ｍｍＨｇ、少なくとも６ｍｍＨｇ、少なくとも７ｍｍＨｇ、少なくとも８ｍｍＨｇ、少なくとも９ｍｍＨｇ、少なくとも１０ｍｍＨｇ、少なくとも１１ｍｍＨｇ、少なくとも１２ｍｍＨｇ、少なくとも１３ｍｍＨｇ、少なくとも１４ｍｍＨｇ若しくは少なくとも１５ｍｍＨｇ又はそれを超えて低下させ得る。同様に、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、対象における推定肺動脈拡張気圧（ｅＰＡＤ）を低下させ得る。例えば、ｅＰＡＤは、少なくとも１ｍｍＨｇ～１５ｍｍＨｇ以上低下させ得る。したがって、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、対象における推定肺動脈拡張気圧を少なくとも１ｍｍＨｇ、少なくとも２ｍｍＨｇ、少なくとも３ｍｍＨｇ、少なくとも４ｍｍＨｇ、少なくとも５ｍｍＨｇ、少なくとも６ｍｍＨｇ、少なくとも７ｍｍＨｇ、少なくとも８ｍｍＨｇ、少なくとも９ｍｍＨｇ、少なくとも１０ｍｍＨｇ、少なくとも１１ｍｍＨｇ、少なくとも１２ｍｍＨｇ、少なくとも１３ｍｍＨｇ、少なくとも１４ｍｍＨｇ若しくは少なくとも１５ｍｍＨｇ又はそれを超えて低下させ得る。更に又は代わりに、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、心排出量の指標としての対象におけるパーセント駆出率（ＥＦ％）を増加させ得る。例えば、ＥＦ％は、少なくとも１％～１０％、１％～２０％、１％

～３０％、１％～４０％若しくは１％～５０％又はそれを超えて増加し得る。したがって、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、対象におけるパーセント駆出率（ＥＦ％）を、少なくとも１％、２％、３％、４％、５％、６％、７％、８％、９％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％又はそれを超えて増加させ得る。更に又は代わりに、本明細書に開示されるＲＸＦＰ１調節薬は、対象における収縮期及び／又は拡張期血圧を低下させ得る。

【００６３】

特定の実施形態では、Ｓｏｌｏｍｏｎｉｃａ Ａ，ｅｔ ａｌ．（２０１３）Ｃｉｒｃ Ｈｅａｒｔ Ｆａｉｌ．６：５３－６０に記載されるように、本明細書に記載されるようなｍＰＡＰの減少が呼吸困難の改善を引き起こし得る。

【００６４】

一実施形態では、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態を有する対象を治療する方法が提供され、本方法は、有効量のＲＸＦＰ１調節薬を対象に投与することを含む。一実施形態では、肺高血圧症を伴う心不全を有する対象を治療する方法が提供され、本方法は、有効量のＲＸＦＰ１調節薬を対象に投与することを含む。一実施形態では、心不全は、駆出率の低下した心不全、中程度の駆出率の心不全又は駆出率の保たれた心不全である。

【００６５】

一実施形態では、抵抗性高血圧症を有する対象を治療する方法が提供され、本方法は、有効量のＲＸＦＰ１調節薬を対象に投与することを含む。一実施形態では、抵抗性高血圧症は、抵抗性本態性高血圧症である。

【００６６】

一実施形態では、対象は、約２５ｍｍＨｇ以上の平均肺動脈圧及び／又は約４０ｍｍＨｇ以上の右心室収縮期圧を有する。一実施形態では、対象は、３．０ウッド単位未満の肺血管抵抗を有する。一実施形態では、対象は、３．０ウッド単位以上の肺血管抵抗を有する。一実施形態では、対象は、血圧モニタリングデバイス、任意選択的に肺動脈圧モニタリングデバイスを装着されている。一実施形態では、肺動脈圧モニタリングデバイスは、ＣａｒｄｉｏＭＥＭＳ圧力モニタリングデバイスである。

【００６７】

用語「治療有効量」は、対象で「治療」を提供するか、又は対象で疾患若しくは障害を「処置する」ために有効である、本明細書に記載されるようなＲＸＦＰ１調節薬の量を指す。治療有効量は、上記の「治療」、「処置」及び「予防」の定義に記載の通り、対象で観測可能又は測定可能な変化のいずれかを引き起こし得る。当業者によって認識されるように、有効量は、投与経路、賦形剤の使用及び他の薬剤との組み合わせに依存して変化し得る。例えば、併用療法が用いられる場合、ＲＸＦＰ１調節薬の量及び他の薬学的活性剤の量は、組み合わされるとき、対象における標的化された障害若しくは病態を治療するのに一緒に有効である。これに関連して、組み合わされた量は、それらが組み合わされた場合、上記のようなＲＸＦＰ１の調節及び／又はアゴニズムに応答する疾患若しくは状態の症状を減少させるのに十分である場合に「治療有効量」である。典型的には、そのような量は、当業者によって決定され得る。

【００６８】

本明細書で使用する場合、用語「対象」及び「患者」は、互換的に用いられる。「対象」は、例えば、哺乳動物、例えばヒトを含む。いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。

【００６９】

一実施形態では、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態の治療で使用するためのＲＸＦＰ１調節薬が提供される。一実施形態では、肺高血圧症を伴う心不全の治療で使用するためのＲＸＦＰ１調節薬が提供される。一実施形態では、抵抗性高血圧症の治療で使用するためのＲＸＦＰ１調節薬が提供される。一実施形態では、抵抗性高血圧症は、抵抗性本態性高血圧症である。

【００７０】
一実施形態では、抵抗性高血圧症又は肺高血圧症を伴う心不全である病態の治療のための医薬品の製造におけるＲＸＦＰ１調節薬の使用が提供される。一実施形態では、肺高血圧症を伴う心不全の治療のための医薬品の製造におけるＲＸＦＰ１調節薬の使用が提供される。一実施形態では、抵抗性高血圧症の治療のための医薬品の製造におけるＲＸＦＰ１調節薬の使用が提供される。一実施形態では、抵抗性高血圧症は、抵抗性本態性高血圧症である。
【００７１】
医薬組成物
本明細書に記載のＲＸＦＰ１調節薬は、１つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物として投与され得る。
【００７２】
したがって、一実施形態では、ＲＸＦＰ１調節薬が、ＲＸＦＰ１調節薬及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物として投与される、本明細書に記載される方法が提供される。
【００７３】
一実施形態では、本明細書に記載される方法で使用するための、ＲＸＦＰ１調節薬及び少なくとも１つの薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。
【００７４】
特定の組成物中への包含のために選択される賦形剤は、投与の様式及び提供される組成物の形態などの要因に依存することになる。好適な薬学的に許容できる賦形剤は、当業者に周知であり、例えばＨａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔｓ，Ｓｉｘｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐｒｅｓｓ，ｅｄｉｔｅｄ ｂｙ Ｒｏｗｅ，Ｒａｙ Ｃ；Ｓｈｅｓｋｅｙ，Ｐａｕｌ Ｊ；Ｑｕｉｎｎ，Ｍａｒｉａｎに記載されている。薬学的に許容される賦形剤は、例えば、アジュバント、希釈剤、担体、安定剤、香味料、着色料、充填剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、滑剤、増粘剤及びコーティング剤として機能し得る。当業者が認識する通り、特定の薬学的に許容される賦形剤は、組成物中に存在する賦形剤の量及び他のどの賦形剤が組成物中に存在するかに応じて、２つ以上の機能を果たし得、且つ代替の機能を果たし得る。
【００７５】
医薬組成物は、経口使用（例えば、錠剤、ロゼンジ、ハード若しくはソフトカプセル、水性若しくは油性の懸濁剤、乳剤、分散性の散剤又は顆粒剤、シロップ又はエリキシルとして）、局所使用（例えば、クリーム、軟膏、ゲル又は水性若しくは油性の液剤又は懸濁剤として）、吸入による投与（例えば、微粉化された粉末又は液体エアロゾルとして）、吸入による投与（例えば、微粉化された粉末として）又は非経口投与（例えば、静脈内、皮下、筋肉内又は筋肉内投薬のための、無菌の水性若しくは油性の溶液として）又は直腸内投与のための座剤として適した形態であり得る。この組成物は、当技術分野で公知の通常の手順によって得ることができる。経口使用として意図される組成物は、追加的成分を含み得、例えば１つ以上の着色剤、甘味料、香味料及び／又は保存剤を含み得る。
【実施例】
【００７６】
本明細書に記載される化合物を下記の実施例で更に例示する。これらの実施例は、単に例示としてのみ示され、非限定的である。
【００７７】
本実施例では、エレクトロスプレーインターフェイス（ＬＣ－ＨＲＭＳ）を備えたＭｉｃｒｏｍａｓｓ ＬＣＴ質量分析計で高分解能マススペクトルを記録した。
【００７８】
^{1}Ｈ ＮＭＲ測定は、それぞれ３００、４００、５００及び６００ＭＨｚの^{1}Ｈ周波数で動作するＢｒｕｋｅｒ Ａｖａｎｃｅ ＩＩＩ ３００、４００、５００及び６００分光計で実施した。実験は通常２５℃で記録した。化学シフトは、内部標準としての溶媒によ

りｐｐｍ単位で与えられる。ＮＨ及びＯＨプロトンなどのヘテロ原子上のプロトンは、ＮＭＲで検出されたときのみ報告されるため、記載がない場合がある。以下の略称が使用されている（及びその派生語、例えばｄｄ、二重線の二重線など）：ｓ、一重線；ｄ、二重線；ｔ、三重線；ｑ、四重線；ｍ、多重線；ｂｒ、ブロード；ｑｎ、五重線；ｐ、五重線。

【００７９】

フラッシュクロマトグラフィーは、別段の記載がない限り、順相シリカＦＬＡＳＨ＋（登録商標）（４０Ｍ、２５Ｍ若しくは１２Ｍ）、Ｂｉｏｔａｇｅ（登録商標）ＳＮＡＰ Ｃａｒｔｒｉｄｇｅｓ ＫＰ－Ｓｉｌ（３４０、１００、５０若しくは１０）又はＡｇｅｌａ（登録商標）Ｆｌａｓｈカラムシリカ－ＣＳカートリッジ（３３０、１８０、１２０、８０）のいずれかを使用して実施した。

【００８０】

逆相フラッシュクロマトグラフィーは、別段の記載がない限り、Ａｇｅｌａ（登録商標）Ｃ－１８球形２０～３５μｍ １００Ａカートリッジを使用して実施した。

【００８１】

概して、使用した溶媒の全ては、市販されている分析用のものとした。無水溶媒は、反応用に常用されているものとした。

【００８２】

実施例で使用した相分離器は、ＩＳＯＬＵＴＥ（登録商標）Ｐｈａｓｅ Ｓｅｐａｒａｔｏｒカラムである。

【００８３】

以下に命名した中間体及び実施例は、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ製のＣｈｅｍＤｒａｗ Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌバージョン１９．０．０．２２を使用して命名した。

【００８４】

以下の略語を使用した。

Ａｑ Ａｑ

B_2Pin_2 ４，４，５，５－テトラメチル－２－（４，４，５，５－テトラメチル－１，３，２－ジオキサボロラン－２－イル）－１，３，２－ジオキサボロラン

Ｃａｌｃｄ 計算された

ＤＣＭ ジクロロメタン

ＤＩＡ ジイソプロピルアミン

ＤＩＡＤ ジイソプロピル（Ｅ）－ジアゼン－１，２－ジカルボキシレート

ＤＩＰＥＡ Ｎ－エチル－Ｎ－イソプロピル－プロパン－２－アミン

ＤＭＦ Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド

ＤＭＳＯ ジメチルスルホキシド

ＤＰＰＡ ジフェニルホスホリルアジド

ＤＴＢＢＰＹ ４，４’－ジ－ｔｅｒｔ－ブチル－２，２’－ジピリジル

ＥＤＣ ３－（エチルイミノメチレンアミノ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル－プロパン－１－アミン；塩酸塩

ＥＳＩ エレクトロスプレーイオン化

Ｅｔ エチル

Et_2O ジエチルエーテル

ＥｔＯＡｃ 酢酸エチル

ＥｔＯＨ エタノール

ｈ／ｈｒ 時間

ＨＡＴＵ （ジメチルアミノ）－Ｎ，Ｎ－ジメチル（３－オキシド－１Ｈ－［１，２，３］トリアゾロ［４，５－ｂ］ピリジニル）メタンイミニウムヘキサフルオロホスフェート

ＨＯＢｔ １－ヒドロキシベンゾトリアゾール；水和物

ＨＰＬＣ 高速液体クロマトグラフィー

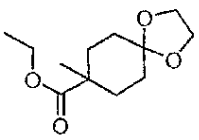
ＨＲＭＳ 高分解能質量分析法

ＩＰＡ　イソプロピルアルコール
ＩＰＡｃ　酢酸イソプロピル
［Ｉｒ（ＣＯＤ）ＯＭｅ］$_2$　ビス（１，５－シクロオクタジエン）ジ－μ－メトキシジイリジウム（Ｉ）
Ｌ　リットル
Ｍｅ　メチル
ＭｅＣＮ　アセトニトリル
ｍＬ　ミリリットル
ＭｅＯＨ　メタノール
２－Ｍｅ－ＴＨＦ　２－メチルテトラヒドロフラン
Ｍｉｎ　分
ＭＳ　質量分析法
ＭＴＢＥ　メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル
ＮＭＲ　核磁気共鳴
ＯＡｃ　アセテート
ＰＥ　石油エーテル
Ｐｄ／Ｃ　パラジウム炭素
Ｒｔ　室温
Ｓａｔ　飽和
ＳＦＣ　超臨界流体クロマトグラフィー
Ｔ３Ｐ　２，４，６－トリプロピル－１，３，５，２，４，６－トリオキサトリホスフィナン２，４，６－トリオキシド
ＴＥＡ　トリエチルアミン
ＴＦＡ　トリフルオロ酢酸
ＴＨＦ　テトラヒドロフラン
ＴＬＣ　薄層クロマトグラフィー

【００８５】

中間体
中間体１：エチル８－メチル－１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－カルボキシレート

【化８】



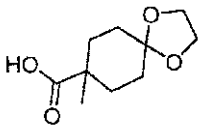
ＴＨＦ（３．５０Ｌ）中のＤＩＡ（５７６ｍＬ、４１３ｇ、４．０８ｍｏｌ）の溶液を－５０～－４０℃に冷却し、ｎ－ＢｕＬｉ（ヘキサン中２．５Ｍ、１．０９ｋｇ、３．９２ｍｏｌ）の溶液を、－５０～－４０°Ｃの温度に維持しながら３時間かけて添加した。溶液を－５０～－４０℃で３時間撹拌し、続いてエチル１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－カルボキシレート（７００ｇ、３．２７ｍｏｌ、ＴＨＦ中２．３４Ｍ）を２時間かけて添加し、温度を－５０～－４０°Ｃに維持した。反応混合物を－５０～－４０°Ｃで４時間撹拌した後、ヨウ化メチル（６０３ｇ、４．２５ｍｏｌ、ＴＨＦ中３．０４Ｍ）を３時間かけて添加した。温度を－５０～－３０°Ｃに維持した。反応混合物を－５０～－３０℃で２時間更に撹拌し、続いて温度を０℃未満に維持しながら、ＮＨ$_4$Ｃｌ水溶液（３．５０Ｌ、Ｈ$_2$Ｏ中２０％重量／重量）を１時間かけて添加した。溶液を１５～２５℃に温め、０．５時間保持し、次いで、層を分離し、有機層をＮＨ$_4$Ｃｌ水溶液（２×３．５０Ｌ、Ｈ$_2$Ｏ中２０％重量／重量）で洗浄した。温度を４５℃未満に維持しながら減圧下でＴＨＦからＥｔＯＨに有機反応溶媒を交換することにより、ＥｔＯＨ中２７％重量／重量溶液として表題化合物を得た（２．５１ｋｇ、２．９１ｍｏｌ、８９％）。

精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ　ＣＤＣｌ$_{3}$）δ　１．１８（３Ｈ，ｓ），１．２７－１．２２（３Ｈ，ｍ），１．４７－１．３５（２Ｈ，ｍ），１．７０－１．５６（４Ｈ，ｍ），２．１３（２Ｈ，ｄ），３．９２（４Ｈ，ｓ），４．１４（２Ｈ，ｑ），ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　２２９．２。

【００８６】

中間体２：８－メチル－１，４－ジオキサスピロ［４．５］デカン－８－カルボン酸

【化９】



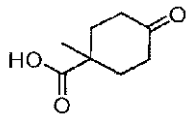
中間体１（１．１３ｋｇ、１．３１ｍｏｌ、ＥｔＯＨ中２７％重量／重量）の溶液に、ＥｔＯＨ（９００ｍＬ）、続いてＮａＯＨ水溶液（２．６３Ｌ、５．２６ｍｏｌ、Ｈ$_{2}$Ｏ中２Ｍ）を、温度を１５～３０℃に維持しながら添加した。溶液を５０～６０℃に加熱し、次いで、６時間保持した後、１５～３０℃に冷却し、減圧下で溶液を１．８～２．４Ｌに濃縮した。ヘキサン（１．５０Ｌ）を添加し、層を分離した。水層を回収し、温度を２０℃未満に維持しながらＨＣｌ水溶液（１．３０Ｌ、５．２ｍｏｌ、Ｈ$_{2}$Ｏ中４Ｍ）を添加することによってｐＨを３～４に調整した。この水溶液をＤＣＭ（２×１．５０Ｌ）で抽出し、合わせた有機相を、温度を３０℃未満に維持しながら減圧下で濃縮して、標題化合物をＤＣＭ中１７％重量／重量溶液として得た（１．４３ｋｇ、１．２４ｍｏｌ、９４％）。精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ　ＣＤＣｌ$_{3}$）δ　１．２５（３Ｈ，ｓ），１．５３（２Ｈ，ｄｔ），１．６２－１．７２（４Ｈ，ｍ），２．０５－２．１９（２Ｈ，ｍ），３．９３（４Ｈ，ｓ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$　２２３．１。

【００８７】

中間体３：１－メチル－４－オキソシクロヘキサン－１－カルボン酸

方法Ａ

【化１０】



中間体２（３６７ｇ、２５０ｍｍｏｌ、ＤＣＭ中１４％重量／重量）の溶液に、ＴＦＡ（９５．３ｍＬ、１４２ｇ、１．２５ｍｏｌ）を添加した。反応温度を２５～３５℃に２０時間維持した後、０℃～１０℃に冷却した。Ｈ$_{2}$Ｏ（２５０ｍＬ）を反応溶液に添加し、ＮａＯＨ水溶液（４４０ｍＬ、１．７６ｍｏｌ、Ｈ$_{2}$Ｏ中４Ｍ）を添加することによって水相のｐＨを９～１０に調整した。層を分離し、水層を保持し、０～１０℃に冷却した。ＨＣｌ水溶液（７３．５ｍＬ、２９４ｍｍｏｌ、Ｈ$_{2}$Ｏ中に４Ｍ）を添加することによってｐＨを２～３に調整し、次いでＤＣＭ（３×２５０ｍＬ）で抽出し、合わせたＤＣＭ溶液を減圧下で１５０～２００ｍＬに濃縮した。温度を４０℃未満に維持しながら減圧下でのＤＣＭからＭｅＣＮへの有機反応溶媒の交換により、標題化合物をＭｅＣＮ中の３０％重量／重量溶液として得た（１１９ｇ、２２７ｍｍｏｌ、９１％）。精製した化合物の^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ　ＣＤＣｌ３）δ　１．３９（３Ｈ，ｓ），１．７３（２Ｈ，ｔｄ），２．４３（６Ｈ，ｍ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　１５７．１。

【００８８】

方法Ｂ

中間体２（６．１７ｋｇ、３．８３ｍｏｌ、ＤＣＭ中の１２．４％）の溶液に、ＴＦＡ（１．４２Ｌ、２．１８ｋｇ、１９．１３ｍｏｌ）を添加した。反応温度を、２５～３５℃で２０時間維持した後、０～１０℃に冷却した。ＮａＯＨ水溶液（９１８ｇ、７．６６

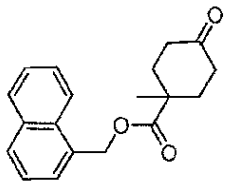
ＬのＨ$_2$Ｏ中に２２．９６ｍｏｌ溶解）を反応溶液に添加し、水相のｐＨを９～１１に調整した。層を分離し、水層を保持し、０～１０℃に冷却した。ＤＣＭ（３．８３Ｌ）に続いてＨＣｌ水溶液（１．５２Ｌ、６．０８ｍｏｌ、Ｈ$_2$Ｏ中４Ｍ）を添加すると、ｐＨが３～４に調整される。有機層を保持し、水層をＤＣＭ（２×３．８３Ｌ）で抽出し、合わせた有機相を塩水（２．３Ｌ、１５％重量／重量ＮａＣｌ）で洗浄した。有機相を減圧下で濃縮して２．３Ｌから３．１Ｌにした。温度を４５℃未満に維持しながら、減圧下でのＤＣＭからＭｅＣＮへの有機反応溶媒の交換により、ＭｅＣＮ中の１８％溶液として標題化合物を得た（２．８５ｋｇ、３．３２ｍｏｌ、８７％）。精製した化合物の^{1}Ｈ ＮＭＲ（４００ＭＨｚ ＣＤＣｌ３）δ １．３９（３Ｈ，ｓ），１．７３（２Ｈ，ｔｄ），２．４３（６Ｈ，ｍ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$ １５７．１。

【００８９】

中間体４：ナフタレン－１－イルメチル１－メチル－４－オキソシクロヘキサン－１－カルボキシレート

方法Ａ

【化１１】



中間体３の溶液（１１９ｇ、１９２ｍｍｏｌ、ＭｅＣＮ中２５％重量／重量）に、１－クロロメチルナフタレン（３２．２ｇ、１８３ｍｍｏｌ）、続いてＤＩＰＥＡ（７０．０ｍＬ、４９．７ｇ、３８４ｍｍｏｌ）及びＮａＩ（２．８８ｇ、１９．２ｍｍｏｌ）を添加した。溶液を５０～６０℃に８時間加熱した後、０～１０℃に冷却した。Ｈ$_2$Ｏ（２４０ｍＬ）を添加し、反応混合物のｐＨを、ＨＣｌ水溶液（５５．０ｍＬ、２２０ｍｍｏｌ、Ｈ$_2$Ｏ中４Ｍ）の添加によって３～４に調整した。反応混合物をＭＴＢＥ（２×１５０ｍＬ）で抽出し、合わせた有機相をＮａＨＣＯ$_3$水溶液（１５０ｍＬ、１４４ｍｍｏｌ、Ｈ$_2$Ｏ中８％重量／重量）で洗浄した。有機反応溶媒を、温度を４０℃未満に維持しながら減圧下でＭＴＢＥからＩＰＡに交換した。反応溶液の温度を－１０～３℃まで降下させ、溶液を２時間撹拌したところ、固体沈殿物が形成した。固体を濾過し、Ｎ$_2$下で１５時間乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（４２．８ｇ、１４４ｍｍｏｌ、７４％）；^{1}Ｈ ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）１．３０（３Ｈ，ｓ），１．６５（２Ｈ，ｔｄ），２．１６－２．４７（６Ｈ，ｍ），５．６６（２Ｈ，ｓ），７．４６（１Ｈ，ｄｄ），７．５１－７．６３（３Ｈ，ｍ），７．７８－７．９３（２Ｈ，ｍ），７．９３－８．０５（１Ｈ，ｍ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］$^+$ ３１９．１。

【００９０】

方法Ｂ

中間体３の溶液（２．６６ｋｇ、３．０９ｍｏｌ、ＭｅＣＮ中１８．２％）に、１－クロロメチルナフタレン（５３５ｇ、２．９４ｍｏｌ）、続いて炭酸カリウム（５１３ｇ、３．７１ｍｏｌ）及び新鮮なＭｅＣＮの更なる部分（７１４ｍＬ）を添加した。懸濁液を５０～６０℃に１７時間加熱した後、２５～３０℃に冷却した。固体を、Ｃｅｌｉｔｅパッドを通しての濾過によって除去し、これをＭｅＣＮ（２×９６７ｍＬ）によって洗浄した。減圧下で、濾液を１．４５～１．９３Ｌに濃縮した。ＭｅＣＮを、温度を５０℃未満に維持しながら、減圧下でイソプロパノールに交換した。混合物の温度を２０～２５℃まで下降させたところ、固体沈殿物が形成した。混合物を－１０～０℃に更に冷却し、次いで固体を濾過し、イソプロパノールで洗浄し、Ｎ$_2$下で乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（７５２．６ｇ、２．４９ｍｏｌ、８０．５％）；^{1}Ｈ ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）１．３０（３Ｈ，ｓ），１．６５（２Ｈ，ｔｄ），２．１６－２．４７（６Ｈ，ｍ），５．６６（２Ｈ，ｓ），７．４６（１Ｈ，ｄｄ），７．５１－７．６３

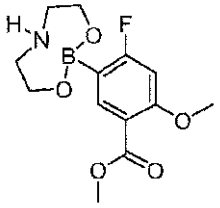
（３Ｈ，ｍ），７．７８－７．９３（２Ｈ，ｍ），７．９３－８．０５（１Ｈ，ｍ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$　３１９．１。

【００９１】

中間体５：メチル５－（１，３，６，２－ジオキシアザボロカン－２－イル）－４－フルオロ－２－メトキシベンゾエート

方法Ａ

【化１２】



B_2Pin_2（３６２ｇ、１．４３ｍｏｌ）を、N_2で１％未満の酸素まで脱気した２－Ｍｅ－ＴＨＦ（１．７５Ｌ）に添加した。溶液を２０～３０℃に保持し、メチル４－フルオロ－２－メトキシベンゾエート（２５０ｇ、１．３６ｍｏｌ）を添加した。ＤＴＢＢＰＹ（１．０９ｇ、４．１０ｍｍｏｌ）を添加し、反応容器を真空にして、酸素レベルが０．５％未満になるまでN_2で再充填した。［Ｉｒ（ＣＯＤ）ＯＭｅ］$_2$（１．３５ｇ、２．０４ｍｍｏｌ）を添加し、反応容器を真空にして、酸素レベルが０．５％未満になるまでN_2で再充填した。反応混合物を８０～８５℃まで加熱し、その温度で更に２時間保持した。反応混合物を０～５℃まで冷却し、続いてジエタノールアミン（４２８ｇ、４．０７ｍｏｌ、ＩＰＡ中１０．９Ｍ）を２．５時間かけてゆっくりと添加したところ、H_2ガスが同時に発生した。反応混合物を０～５℃で２．５時間撹拌し、続いて濾過し、固体を２－Ｍｅ－ＴＨＦ（３×７５０ｍＬ）で洗浄した。固体をN_2下で１０時間乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（３５６ｇ、１．２０ｍｏｌ、８８％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）δ　２．８１－２．８９（２Ｈ，ｍ），３．１４（２Ｈ，ｄｑ），３．７１（２Ｈ，ｄｄｄ），３．７４（３Ｈ，ｓ），３．７８（３Ｈ，ｓ），３．８４（２Ｈ，ｔｄ），６．７７（１Ｈ，ｄ），７．１０（１Ｈ，ｓ），７．８３（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　２９７．１。

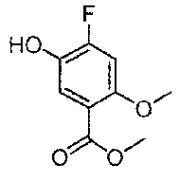
【００９２】

方法Ｂ

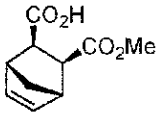
B_2Pin_2（２９．０ｇ、１１４ｍｍｏｌ）及びメチル４－フルオロ－２－メトキシベンゾエート（２０．６ｇ、１０９ｍｍｏｌ）を、N_2で１％未満の酸素まで脱気した２－Ｍｅ－ＴＨＦ（１４０ｍＬ）に添加した。溶液を２０～３０℃に保持し、次いでＤＴＢＢＰＹ（８８ｍｇ、０．３３ｍｍｏｌ）及び［Ｉｒ（ＣＯＤ）ＯＭｅ］$_2$（１０８ｍｇ、０．１６ｍｍｏｌ）を添加し、反応容器を真空にして、酸素レベルが０．５％未満になるまでN_2で再充填した。反応混合物を８０～８５℃まで加熱し、その温度で更に３時間保持した。反応混合物を０～１０℃まで冷却し、続いてイソプロパノール（１２．４ｍＬ、２１８ｍｍｏｌ）をゆっくりと添加したところ、H_2ガスが同時に発生した。種（１００ｍｇの中間体５）を添加し、続いてＩＰＡ（２０ｍＬ）中に溶解したジエタノールアミン（２２．８４ｇ、２１８ｍｍｏｌ）を添加して、可動性スラリーを得た。スラリーを２０～３０℃に温め、濾過によって固体を回収した。次いで、これを２－Ｍｅ－ＴＨＦ（１６０ｍｌ）で洗浄し、固体をN_2下で１０時間乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（２９．１ｇ、９６ｍｏｌ、８８％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）δ　２．８１－２．８９（２Ｈ，ｍ），３．１４（２Ｈ，ｄｑ），３．７１（２Ｈ，ｄｄ），３．７４（３Ｈ，ｓ），３．７８（３Ｈ，ｓ），３．８４（２Ｈ，ｔｄ），６．７７（１Ｈ，ｄ），７．１０（１Ｈ，ｓ），７．８３（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　２９７．１。

【００９３】

中間体６：メチル４－フルオロ－５－ヒドロキシ－２－メトキシベンゾエート
方法Ａ
【化１３】



Ｈ$_2$Ｏ（１．０５Ｌ）中の中間体５（３５０ｇ、１．１８ｍｏｌ）の懸濁液にＴＨＦ（１．７５Ｌ）を添加し、透明な溶液が得られるまで反応混合物を撹拌した。（ＮＨ$_4$）$_2$ＣＯ$_3$（１３６ｇ、１．４１ｍｏｌ）を添加し、異種混合物を０～１０℃に冷却した。ＮａＢＯ$_3$．４Ｈ$_2$Ｏ（２１７ｇ、１．４１ｍｏｌ）を、反応温度を０～３０℃に維持しながら１０個の等部分で２時間かけて添加した。反応温度を２０～３０℃に調整し、１時間保持した。ＮａＨＳＯ$_3$の水溶液（１．９６Ｌ、９４２ｍｍｏｌ、Ｈ$_2$Ｏ中０．４８Ｍ）を３時間かけて添加し、反応混合物を更に０．５時間撹拌した。反応混合物を濾過し、固体を酢酸エチル（７００ｍＬ）で洗浄し、濾液及び洗浄液を合わせて二相溶液を得た。溶液を分離し、保持された有機相溶媒を、４０℃未満の温度を維持しながら減圧下でＴＨＦ／酢酸エチルからＭｅＯＨに交換した。Ｈ$_2$Ｏ（３．５０Ｌ）を４時間にわたって滴加し、反応混合物を０～５℃まで冷却し、２時間保持した。反応混合物を濾過し、回収した固体をＨ$_2$Ｏ（３×３５０ｍＬ）で洗浄し、４０℃未満の温風下で乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（１９５ｇ、９７４ｍｍｏｌ、収率８３％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ　３．８２（３Ｈ，ｓ），３．８６（３Ｈ，ｓ），６．７２（１Ｈ，ｄ），７．５４（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　２０１．０。
【００９４】
方法Ｂ
中間体５（３２．４１ｇ、６７．３ｍｍｏｌ）を、酢酸（１２．１３ｇ、２０２ｍｍｏｌ）と共に２－Ｍｅ－ＴＨＦ（１００ｍＬ）中に溶解し、０～１０℃まで冷却した。過酸化水素溶液（３０％重量／重量、９．１６ｇ、８０．８ｍｍｏｌ）を２時間かけて添加し、次いで反応温度を２０～３０℃に調整して、１８時間保持した。Ｎａ$_2$Ｓ$_2$Ｏ$_3$．５Ｈ$_2$Ｏの水溶液（２０％重量／重量、５０ｍＬ）により混合物をクエンチし、相分離を得た。水相を廃棄し、有機相をＮａ$_2$Ｓ$_2$Ｏ$_3$．５Ｈ$_2$Ｏの水溶液（５％重量／重量、１００ｍＬ）で２回洗浄した。有機相を減圧下で６０ｍＬまで濃縮し、続いて２－Ｍｅ－ＴＨＦ（１００ｍＬ）を用いて更に２回真空蒸留して、３５～４５℃で溶解溶液を得た。種（１００ｍｇの中間体６）の添加、それに続く３００ｍＬのｎ－ヘプタンの５時間にわたるゆっくりとした添加によって核生成を制御した。得られたスラリーを２０～３０℃に調整し、一晩撹拌後、濾過した。回収した固体をｎ－ヘプタン（２×６０ｍＬ）で洗浄し、乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（１２．５ｇ、６２．５ｍｍｏｌ、収率９３％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ　３．８２（３Ｈ，ｓ），３．８６（３Ｈ，ｓ），６．７２（１Ｈ，ｄ），７．５４（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　２０１．０。
【００９５】
中間体７：（１Ｒ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ）－３－（メトキシカルボニル）ビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－カルボン酸
【化１４】



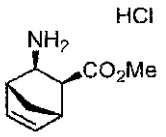
トルエン（４．６４Ｌ）中の（３ａＲ，４Ｒ，７Ｓ，７ａＳ）－３ａ，４，７，７ａ－

テトラヒドロ－４，７－メタノイソベンゾフラン－１，３－ジオン（３８７ｇ、２．３６ｍｏｌ）の溶液に、キニジン（８４３ｇ、２．６０ｍｏｌ）、続いてトルエン（７７４ｍＬ）を添加した。反応混合物を－１０～－５℃まで冷却し、ＭｅＯＨ（２２７ｇ、２８６ｍＬ、７．０８ｍｏｌ）を１．５時間かけて滴加し、その後、－１０～－５℃で１４時間保持した。反応混合物を－５～５℃まで温め、２時間保持し、次いで濾過した。固体をトルエン（３×３８７ｍＬ）で洗浄し、濾液と洗浄液を合わせて０～１０℃まで冷却した。別個の容器に、ＨＣｌ水溶液（５９０ｍＬ、７．０８ｍｏｌ、H_2O中１２Ｍ）及びＮａＣｌ（１．２４ｋｇ、２１．２ｍｏｌ）をH_2O（６．３９Ｌ）に添加し、得られた溶液を、反応溶液を１０℃未満に維持しながら主反応容器に滴加した。反応混合物を１０～２０℃まで温め、０．５時間保持し、次いで濾過した。固体をトルエン（１．９４Ｌ）で洗浄し、濾液及び洗浄液を合わせて、二相溶液を分離した。有機相をＮａＣｌ水溶液（３．８７Ｌ、H_2O中２０％重量／重量）で洗浄し、５℃未満で保管して、標題化合物をトルエン中の５．９％重量／重量溶液として得た（６．１９ｋｇ、１．８３ｍｏｌ、７８％）；精製した化合物の^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ　ＤＭＳＯ－d_6）δ　１．２５－１．３２（１Ｈ，ｍ），１．９５（１Ｈ，ｄ），２．４８－２．５０（２Ｈ，ｍ），２．９３（２Ｈ，ｓ），３．５１（３Ｈ，ｓ），６．１５－６．２２（２Ｈ，ｍ），１２．２１（１Ｈ，ｓ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］＋　２１９．１。

【００９６】

中間体８：メチル（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－アミノビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－カルボキシレート塩酸塩

【化１５】



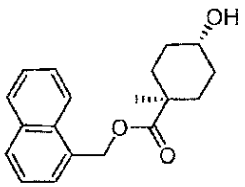
－５～５℃でのトルエン中、中間体７の溶液（６．１９ｋｇ、５．９％重量／重量、１．８５ｍｏｌ）に、反応溶液を５℃未満に維持しながら、ＴＥＡ（３０７ｍＬ、２２３ｇ、２．２２ｍｏｌ）、続いてＤＰＰＡ（５３８ｇ、１．９４ｍｏｌ）を添加した。反応混合物を－５～５℃で４時間撹拌し、次いでＴＥＡ（７６７ｍＬ、５５７ｇ、５．５５ｍｏｌ）を添加し、続いてクエン酸（３５２ｇ、１．８５ｍｏｌ）を添加した。反応混合物を－５～５℃で６時間撹拌し、次いで反応溶液を１０℃未満に維持しながら、H_2O（３．６Ｌ）を添加した。二相反応溶液を０．５時間撹拌し、相を分離し、有機相をH_2O（３．６Ｌ）及びＮａＣｌ水溶液（３．６Ｌ、H_2O中１５％重量／重量）で洗浄し、２～８℃で保管して、メチル（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－（アジドカルボニル）ビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－カルボキシレート（中間体９）をトルエン中の溶液として得て、これを次の工程で直接使用した。２～８℃でトルエン中の溶液としての中間体９を、反応温度を８０℃未満に維持しながら、７０～８０℃でトルエン（１．８０Ｌ）を入れた反応器に２時間かけて添加した。得られた溶液を１時間撹拌後、２０～３０℃に冷却した。温度を５０℃未満で維持しながらの、減圧下でのトルエンから１，４－ジオキサンへの有機反応溶媒の交換により、メチル（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－イソシアナトビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－カルボキシレート（中間体１０）を１，４－ジオキサン中の溶液として得て、これを次の工程で直接使用した。１０～２０℃での１，４－ジオキサン中の中間体１０の溶液に、ＨＣｌ（４２０ｍＬ、１．６８ｍｏｌ、１，４－ジオキサン中４Ｍ）、続いてH_2O（３６０ｍＬ、１．６８ｍｏｌ、１，４－ジオキサン中４．６７Ｍ）を添加した。反応混合物を２５～３５℃まで温め、１６時間保持した。ＭＴＢＥ（１．６５Ｌ）を滴加し、反応混合物を濾過し、ＭＴＢＥ／１，４－ジオキサン（１：１、６６０ｍＬ）及びＭＴＢＥ（６６０ｍＬ）で洗浄し、次いで真空下、３０～４０℃で乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（２５８ｇ、１．２７ｍｏｌ、＞９９％ｅｅ、７５％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）δ　１

．４５（１Ｈ，ｄ），２．０４（１Ｈ，ｄ），２．５２－２．６７（１Ｈ，ｍ），２．９４－３．１０（２Ｈ，ｍ），３．１９（１Ｈ，ｄ），３．６５（３Ｈ，ｓ），６．２１（１Ｈ，ｍ），６．３０（１Ｈ，ｍ），８．３４（３Ｈ，ｓ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　１６８．１。

【００９７】

中間体１１：ナフタレン－１－イルメチル（１ｒ，４ｒ）－４－ヒドロキシ－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボキシレート

【化１６】



経路Ａ

２０～３０℃でのH_2O（５５０ｍＬ）中の$Na_2HPO_4．12H_2O$（８．２５ｇ、２３．０ｍｍｏｌ）、NaH_2PO_4（０．５５ｇ、４．４８ｍｍｏｌ）及び$MgCl_2$（０．１１ｇ、１．１０ｍｍｏｌ）の溶液に、中間体４（５０．０ｇ、１６９ｍｍｏｌ）をＩＰＡ中の溶液（４５０ｍＬ）として添加した。反応溶液のｐＨを、６Ｍ　ＨＣｌを使用して７．３～７．８に調整し、ＮＡＤ＋（０．６６ｇ、１．００ｍｍｏｌ）を添加し、続いてＡＤＨ－２３０（７．５０ｇ、０．１５重量％）を添加した。ＡＤＨ－２３０は、Ｊｏｈｎｓｏｎ　Ｍａｔｔｈｅｙ　ＰＬＣ，ＵＫから入手可能なアルコール脱水素酵素（カタログ番号ＡＤＨ－２３０）である。次いで、反応混合物を３３～３７℃で１８時間保持した後、温度を４５℃未満に維持しながら減圧下で３００～４００ｍＬまで濃縮した。ＮａＣｌ（１５０ｇ）、Ｃｅｌｉｔｅ（登録商標）（２０．０ｇ、０．４重量％）及びＭＴＢＥ（５００ｍＬ）を添加し、反応物を０．５時間保持した。混合物を濾過し、フィルターケーキをＭＴＢＥ（２５０ｍＬ）で洗浄した。合わせた濾液を分離し、水相をＭＴＢＥ（５００ｍＬ）で抽出した。有機相を合わせ、H_2O（２５０ｍＬ）で洗浄後、温度を４５℃未満に維持しながら溶媒を減圧下でＴＨＦに交換し、標題化合物をＴＨＦ中の溶液として得て（１３８ｇ、３３％重量／重量％、＞９９：１のトランス：シス、＜０．１％のＩＰＡ、収率９２％）、これを次の工程で直接使用した。精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ　１．２１（３Ｈ，ｓ），１．４８－１．５８（２Ｈ，ｍ），１．６２－１．７７（４Ｈ，ｍ），１．８２－１．９３（２Ｈ，ｍ），３．７４－３．７７（１Ｈ，ｍ），５．５７（２Ｈ，ｓ），７．４１－７．４８（１Ｈ，ｍ），７．４８－７．５７（３Ｈ，ｍ），７．８５（１Ｈ，ｄ），７．８７－７．９１（１Ｈ，ｍ），７．９８（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］＋　３２１．１。

【００９８】

経路Ｂ

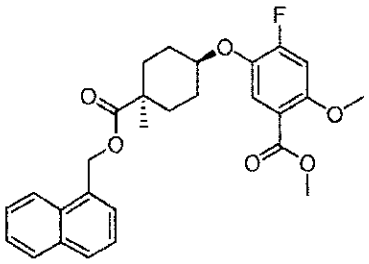
ＴＨＦ（５ｍＬ）中の水素化トリ－ｓｅｃ－ブチルホウ素リチウム（１．０６ｇ、５．６ｍｍｏｌ）の溶液を、－７８℃に冷却したＴＨＦ（１０ｍＬ）中の中間体４（１．００ｇ、３．３７ｍｍｏｌ）中の撹拌溶液に、窒素下で１分かけて滴加した。得られた溶液を、－７８℃で２時間撹拌した。反応混合物を０．１ＭのＨＣｌ（１０ｍＬ）で－７８℃においてクエンチし、次いでＥｔＯＡｃ（３×５０ｍＬ）で抽出した。有機層をプールし、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、蒸発させた。残渣を、分取ＴＬＣ（ＥｔＯＡｃ／ＰＥ、１：３）によって精製し、標題化合物（０．４８８ｇ、４８．５％）を淡黄色ガムとして得た。単離された物質は、３：１００のシス／トランス比を有していた。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ１．２１－１．２５（ｓ，３Ｈ），１．３７－１．４９（ｍ，１Ｈ），１．４９－１．６１（ｍ，２Ｈ），１．６１－１．７４（ｍ，４Ｈ），１．８３－１．９５（ｍ，２Ｈ），３．７４－３．８３（ｄｑ，１Ｈ），５．５７－５．６

１（ｓ，２Ｈ），７．４３－７．５４（ｄｄ，１Ｈ），７．５０－７．６１（ｍ，３Ｈ），７．８４－７．９４（ｍ，２Ｈ），７．９７－８．０４（ｍ，１Ｈ）．）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$　３２１。

【００９９】

中間体１２：メチル４－フルオロ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンゾエート

【化１７】

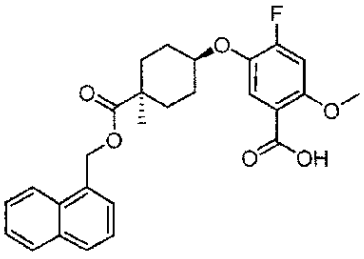


ＴＨＦ中の中間体１１の溶液（７３６ｇ、３４％重量／重量、８３９ｍｍｏｌ）に、ＴＨＦ（１５６ｍＬ）、PPh_3（２４８ｇ、９４４ｍｍｏｌ）及び中間体６（１４０ｇ、６９９ｍｍｏｌ）を添加した。溶液を３０℃に加熱した後、反応温度を４０℃未満に維持しながらＤＩＡＤ（１８４ｇ、９０９ｍｍｏｌ）を１時間かけて滴加した。溶液を３０～４０℃で１時間保持した後、２０～３０℃まで冷却し、続いてＨＣｌの水溶液（７００ｍＬ、H_2O中２０％重量／重量）を添加した。層を分離し、ＴＨＦ中の標題化合物の粗溶液を次の工程で直接使用した。精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ　１．１７（３Ｈ，ｓ），１．２０－１．３０（２Ｈ，ｍ），１．５８（２Ｈ，ｑｄ），１．８８－１．９８（２Ｈ，ｍ），２．２９（２Ｈ，ｄ），３．８４（３Ｈ，ｓ），３．８８（３Ｈ，ｓ），４．０５（１Ｈ，ｔｑ），５．６１（２Ｈ，ｓ），６．７２（１Ｈ，ｄ），７．４３－７．５８（５Ｈ，ｍ），７．８２－７．９４（２Ｈ，ｍ），８．００（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］＋　５０３．２。

【０１００】

中間体１３：４－フルオロ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）安息香酸

【化１８】



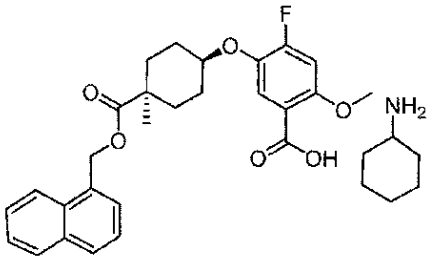
０～５℃での前の工程から直接使用した中間体１２の粗溶液に、ＬｉＯＨ．２H_2Oの水溶液（８８．０ｇ、２．１０ｍｏｌ、H_2O中５２５ｍＬ）を、反応温度を１０℃未満に維持しながら１時間かけて添加した。溶液を１５～３０℃まで温め、１６時間激しく撹拌した。ＩＰＡＣ（１．６８Ｌ）を添加し、溶液を０～１０℃まで冷却し、続いて反応温度を１０℃未満に維持しながら、H_3PO_4（１．２６Ｌ、２．５２Ｍ、H_2O中２Ｍ）を滴加し、４．０～５．０のｐＨの溶液を得た。有機層を分離し、ＮａＣｌの水溶液（７００ｍＬ、H_2O中２０％重量／重量）で洗浄した。温度を５０℃未満に維持しながら、減圧下でＴＨＦを除去し、ＩＰＡＣ（４．２０Ｌ）を添加して、標題化合物をＩＰＡＣ中で得て、これを次の工程で直接使用した。精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ　１．１８（３Ｈ，ｓ），１．２２－１．３６（２Ｈ，ｍ）

，１．５８（２Ｈ，ｑｄ），１．９５（２Ｈ，ｄｔ），２．２９（２Ｈ，ｄ），４．０２（３Ｈ，ｓ），４．１９（１Ｈ，ｔｄ），５．６０（２Ｈ，ｓ），６．８２（１Ｈ，ｄ），７．４６（１Ｈ，ｄｄ），７．４９－７．６２（３Ｈ，ｍ），７．７８（１Ｈ，ｄ），７．８２－７．９４（２Ｈ，ｍ），７．９９（１Ｈ，ｄ）。

【０１０１】

中間体１４：４－フルオロ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンゾエートシクロヘキサンアミニウム塩

【化１９】

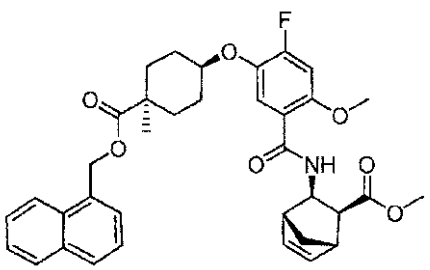


５０～５５℃での前の工程から直接使用されるＩＰＡＣ中の中間体１３の粗溶液に、シクロヘキシルアミンの溶液（２８０ｍＬ、６９９ｍｍｏｌ、ＩＰＡＣ中２．５Ｍ）を３時間かけて滴加した。異種スラリーを、５０～５５℃で０．５時間撹拌し、その後、４０～４５℃で更に１時間撹拌した。反応混合物を濾過し、固体を４０～４５℃に予め温めたＩＰＡＣ（３×０．９８Ｌ）で洗浄し、N_2流下で４５℃において１６時間乾燥させた。乾燥させ、回収した固体にＭｅＯＨ（３．６４Ｌ）を添加し、混合物を５５～５６℃に加熱した。H_2O（１．５８Ｌ）を１時間にわたって滴加し、次いで混合物を１時間撹拌した後、０～５℃に３時間かけて冷却した。異種スラリーを更に１時間保持し、次いで濾過し、５：３のＭｅＯＨ：H_2O（２×７５０ｍＬ）で０℃において洗浄し、固体をN_2下で４５℃において１６時間乾燥させ、標題化合物を白色固体として得た（３３２ｇ、メチル４－フルオロ－５－ヒドロキシ－２－メトキシベンゾエートから８５％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ　０．９６（１Ｈ，ｄｄｔ），１．０３－１．３６（６Ｈ，ｍ），重複１．１４（３Ｈ，Ｓ），１．４６－１．７（５Ｈ，ｍ），１．９１（４Ｈ，ｄｔ），２．２６（２Ｈ，ｄ），２．８１（１Ｈ，ｔ），３．７６（３Ｈ，ｓ），４．０３（１Ｈ，ｔｔ），５．５９（２Ｈ，ｓ），６．６５（１Ｈ，ｄ），７．３７－７．４９（２Ｈ，ｍ），７．４９－７．６（３Ｈ，ｍ），７．８１－７．９３（２Ｈ，ｍ），７．９８（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］＋　４８９．２。

【０１０２】

中間体１５：メチル（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－（４－フルオロ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４Ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンズアミド）ビシクロ［２．２．１］ヘプタ－５－エン－２－カルボキシレート

【化２０】



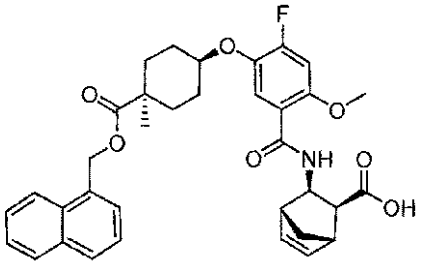
１５～３０℃でのＤＣＭ（７５０ｍＬ）中の中間体１４（１４９ｇ、２６４ｍｍｏｌ）の溶液にH_2O（４５０ｍＬ）を添加し、続いてＨＣＬ（３００ｍＬ、H_2O中１Ｍ）を

ゆっくりと添加した。二相溶液を０．５時間撹拌し、次いで分離し、有機相をＨＣｌ（７５０ｍＬ、H_2O中０．２Ｍ）、その後、H_2O（３×７５０ｍＬ）で洗浄した。有機溶液を、温度を３０℃未満に維持しながら減圧下で濃縮し、０．１％未満のH_2Oまで乾燥させた。溶液をＤＣＭ（４５０ｍＬ）で希釈し、総容量を７５０ｍＬにして、その後、中間体８（５９．３ｇ、２９１ｍｍｏｌ）を添加して、異種スラリーを得た。この混合物にＤＩＰＥＡ（１３７ｇ、１．０６ｍｏｌ）、続いてＴ３Ｐ（２５２ｇ、３９７ｍｍｏｌ、ＥｔＡＯｃ中５０％重量／重量）を添加し、溶液を１時間撹拌した。溶液を０～１０℃まで冷却し、続いてH_2O（７５０ｍＬ）を添加し、その後、更に０．５時間撹拌した。二相溶液を分離し、有機相をH_2O（２×７５０ｍＬ）で洗浄した後、溶媒を減圧下でＴＨＦに交換してＴＨＦ中で標題化合物を得て、これを次の工程で直接使用した。精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ１．１６（３Ｈ，ｓ），１．２５（２Ｈ，ｔｄ），１．４９－１．６９（３Ｈ，ｍ），１．９２－２．０１（２Ｈ，ｍ），２．０４－２．１（１Ｈ，ｍ），２．２８（２Ｈ，ｄ），２．７１（１Ｈ，ｄｄ），２．８３（１Ｈ，ｓ），２．９２－３．０５（１Ｈ，ｍ），３．６１（３Ｈ，ｓ），３．９３（３Ｈ，ｓ），４．１７（１Ｈ，ｔｄ），４．４６（１Ｈ，ｔｄ），５．６０（２Ｈ，ｓ），６．２５（２Ｈ，ｄｄｄ），６．７２（１Ｈ，ｄ），７．４６（１Ｈ，ｄｄ），７．４８－７．６（３Ｈ，ｍ），７．８１－７．９５（３Ｈ，ｍ），７．９９（１Ｈ，ｄ），８．６０（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　６１６．３。

【０１０３】

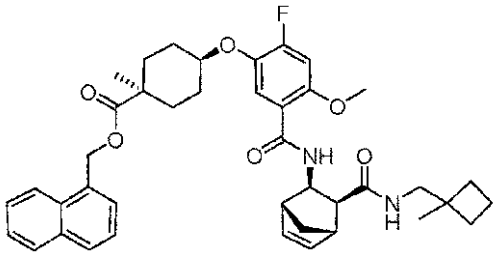
中間体１６：（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－（４－フルオロ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４Ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンズアミド）ビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－カルボン酸

【化２１】

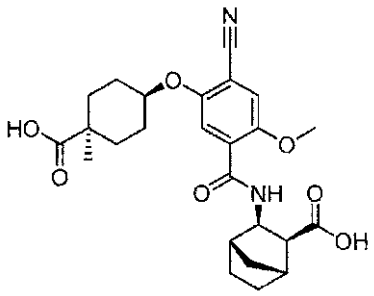


前の工程からのＴＨＦ（７５０ｍＬ）中の中間体１５の粗溶液を、０～５℃に冷却した。ＬｉＯＨ．$2H_2O$の水溶液（２７．７ｇ、６６１ｍｍｏｌ、１５０ｍＬのH_2O中）を添加し、溶液を３６時間保持した。溶液のｐＨを、ＨＣｌ（０．５Ｍ、１．４５Ｌ、２．９０ｍｏｌ）をゆっくりと分割添加することによって２に調整し、０～５℃で１時間保持した。異種スラリーを濾過し、固体を０℃で１：３のＭｅＯＨ：H_2O（６００ｍＬ）で洗浄し、固体をN_2下で４５℃において１６時間乾燥させて、標題の粗化合物を白色固体として得た（１５８ｇ、９９％）。粗製物（１５０ｇ）を、ＩＰＡＣ（１．１３Ｌ）中で６０～６５℃において０．５時間スラリー化した。異種混合物を０～５℃に３時間かけて冷却し、次いで１時間撹拌後、濾過した。回収した固体を、０～５℃でＩＰＡＣ（２×３００ｍＬ）において処理し、次いでN_2下、４５℃で１２時間乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（１２７ｇ、中間体１４から８２％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ１．１６（３Ｈ，ｓ），１．２－１．３５（２Ｈ，ｍ），１．５０－１．６９（３Ｈ，ｍ），１．８９－２．０８（３Ｈ，ｍ），２．２７（２Ｈ，ｄｄｄ），２．７２（１Ｈ，ｄｄ），２．８０（１Ｈ，ｓ），３．０６（１Ｈ，ｓ），３．７５（３Ｈ，ｓ），４．１５（１Ｈ，ｔｔ），４．４３－４．５４（１Ｈ，ｍ），５．５９（２Ｈ，ｓ），６．２４（２Ｈ，ｄｄｄ），６．５３（１Ｈ，ｄ），７．４５（１Ｈ，ｄｄ），７．４７－７．５８（３Ｈ，ｍ），７．８－７．９（３Ｈ，ｍ），７．９４－８．０５（１Ｈ，ｍ），８．５９（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　６０２．３。

【０１０４】
中間体１７：ナフタレン－１－イルメチル（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－フルオロ－４－メトキシ－５－（（（１Ｒ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ）－３－（（（１－メチルシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボキシレート
【化２２】

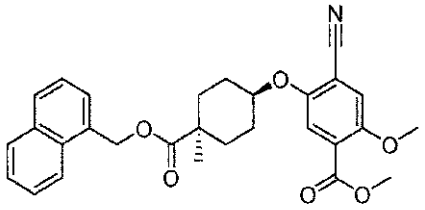


０～５℃でのＤＣＭ（３００ｍＬ）中のＤＩＰＥＡ（６．４５ｇ、４９．９ｍｍｏｌ）の溶液に、中間体１６（３０．６ｇ、４９．９ｍｍｏｌ）、続いて（１－メチルシクロブチル）メタンアミン塩酸塩（８．６３ｇ、６２．４ｍｍｏｌ）を添加した。ＤＩＰＥＡ（２５．８ｇ、２００ｍｍｏｌ）を、温度を０～５℃に維持しながら滴加し、続いてＴ３Ｐ（５０．８ｇ、７９．８ｍｍｏｌ、ＥｔＡＯｃ中５０％重量／重量）を０．５時間かけて添加した。溶液を１５～２５℃に温め、１時間撹拌し、続いて温度を３０℃未満に維持しながらH_2O（１５０ｍＬ）を滴加した。二相溶液を分離し、有機相をH_2O（２×１５０ｍＬ）で洗浄し、次いで減圧下で溶媒をＥｔＯＨに交換し、標題化合物をＥｔＯＨ中の粗溶液として得て（１２８ｇ、２６％重量／重量、収率９６％）、これを次の工程で直接使用した。精製された化合物についての^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，$CDCl_3$）δ　０．９８（３Ｈ，ｓ），１．１６（３Ｈ，ｓ），１．２１－１．２９（２Ｈ，ｍ），１．５１－１．６６（５Ｈ，ｍ），１．６６－１．７６（３Ｈ，ｍ），１．７６－１．８２（１Ｈ，ｍ），１．８８－２．０２（２Ｈ，ｍ），２．２６（３Ｈ，ｄｄ），２．４０（１Ｈ，ｄｄ），２．８０（１Ｈ，ｓ），３．００（１Ｈ，ｓ），３．０５（１Ｈ，ｄｄ），３．２１（１Ｈ，ｄｄ），３．９３（３Ｈ，ｓ），４．０６－４．２（１Ｈ，ｍ），４．３９（１Ｈ，ｔｄ），５．６０（２Ｈ，ｓ），５．６４（１Ｈ，ｔ），６．１９－６．３８（２Ｈ，ｍ），６．７０（１Ｈ，ｄ），７．４６（１Ｈ，ｄｄ），７．４９－７．６２（３Ｈ，ｍ），７．７５－７．９３（３Ｈ，ｍ），８．００（１Ｈ，ｄ），８．６６（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　６８３．３。
【０１０５】
中間体１９：（１Ｒ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｓ）－３－（５－（（（１ｓ，４Ｓ）－４－カルボキシ－４－メチルシクロヘキシル）オキシ）－４－シアノ－２－メトキシベンズアミド）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－カルボン酸
【化２３】



工程Ａ．中間体２０：メチル４－シアノ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンゾエート

【化２４】

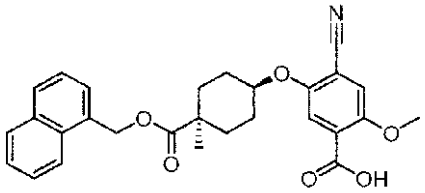


ＴＨＦ（３０ｍＬ）中のメチル４－シアノ－５－ヒドロキシ－２－メトキシベンゾエート（１．４ｇ、６．７ｍｍｏｌ）、中間体１１及びＰＰｈ$_3$（２．６ｇ、１０．１ｍｍｏｌ）の溶液を、６０℃で１０分間撹拌した。ＤＩＡＤ（１．９７ｍＬ、１０．１ｍｍｏｌ）をゆっくりと添加した後、反応混合物を６０℃で１４時間撹拌した。次いで、減圧下で溶媒を除去し、残渣をＥｔＯＡｃ（１５０ｍＬ）中に再溶解し、ＮａＨＣＯ$_3$（飽和、２００ｍＬ）、ＮＨ$_4$Ｃｌ（飽和、２５０ｍＬ）及びブライン（飽和、２５０ｍＬ）で順次洗浄した。有機層を分離し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、減圧下で溶媒を除去した。移動相として、ＰＥ中０～１８％のＥｔＯＡｃの濃度勾配を使用するフラッシュクロマトグラフィーによって粗生成物を精製し、標題化合物を白色固体として得た（３．２５ｇ、９９％）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］$^+$　５１０．３。

【０１０６】

工程Ｂ．中間体２１：４－シアノ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）安息香酸

【化２５】

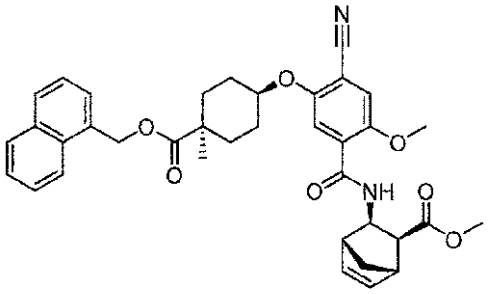


ＬｉＯＨ（１．６ｇ、６６．７ｍｍｏｌ）を、Ｈ$_2$Ｏ：ＴＨＦ　１：３（８０ｍＬ）中の中間体２０（３．２５ｇ、６．７ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に１０℃で分割して添加し、得られた懸濁液を２０℃で撹拌した。３時間後、反応混合物のｐＨを、ＨＣｌ（２Ｍ）を添加することにより、ｐＨ３に調整した。反応混合物をＥｔＯＡｃ（３５０ｍＬ）で希釈し、ブライン（飽和、３５０ｍＬ）、Ｈ$_2$Ｏ（３５０ｍＬ）及びブライン（３５０ｍＬ）で順次洗浄した。有機層を分離し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥させ、濾過し、減圧下で溶媒を除去した。ＩＰＡ／ＥｔＯＡｃからの結晶化によって粗生成物を精製し、標題化合物を白色固体として得た（３．１６ｇ、１００％）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｎａ］$^+$　４９６．３。

【０１０７】

工程Ｃ．中間体２２：メチル（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－（４－シアノ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４Ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンズアミド）ビシクロ［２．２．１］ヘプタ－５－エン－２－カルボキシレート

【化２６】

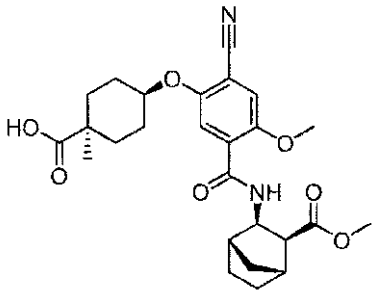


ＤＩＰＥＡ（３．５ｍＬ、２０ｍｍｏｌ）を、ＤＭＦ（６０ｍＬ）中の中間体２１（３．１６ｇ、６．６７ｍｍｏｌ）、中間体８（１．２９１ｇ、６．３４ｍｍｏｌ）、ＥＤＣ（１．９ｇ、１０ｍｍｏｌ）及びＨＯＢｔ（１．５３３ｇ、１０．０１ｍｍｏｌ）の溶液に１０℃で添加し、得られた懸濁液を室温で１３時間撹拌した。反応混合物をＥｔＯＡｃ（５００ｍＬ）で希釈し、NH_4Cl（飽和、２００ｍＬ）、H_2O（３００ｍＬ）及びブライン（飽和、２５０ｍＬ）で順次洗浄した。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、濾過し、減圧下で溶媒を除去した。移動相として、ＰＥ中０～２０％のＥｔＯＡｃの濃度勾配を使用するフラッシュクロマトグラフィーによって粗生成物を精製し、標題化合物を白色固体として得た（２．６ｇ、６２％）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　６２３．４。

【０１０８】

工程Ｄ．中間体２３：（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－シアノ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（メトキシカルボニル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

【化２７】



ＭｅＯＨ（１００ｍＬ）中の中間体２２（５．７ｇ、９．１５ｍｍｏｌ）及びＰｄ／Ｃ（０．５８４ｇ、０．５５ｍｍｏｌ）を、水素の雰囲気下（１．５気圧）で２０℃において１４時間撹拌した。混合物をＣｅｌｉｔｅ（登録商標）パッドを通して濾過し、溶媒を減圧下で除去した。ＥｔＯＡｃ／ＥｔＯＨからの結晶化によって粗生成物を精製し、標題化合物（５．１ｇ）を淡黄色固体として得た。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　４８５．４。

【０１０９】

工程Ｅ．（１Ｒ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｓ）－３－（５－（（（１ｓ，４Ｓ）－４－カルボキシ－４－メチルシクロヘキシル）オキシ）－４－シアノ－２－メトキシベンズアミド）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－カルボン酸

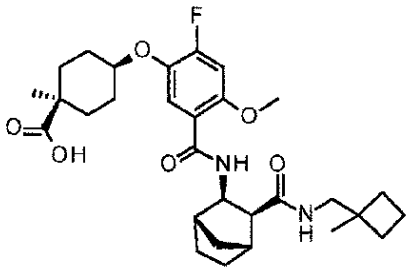
ＬｉＯＨの溶液（５０ｍＬ、５２．６ｍｍｏｌ、H_2O中１．０５Ｍ）を、ＴＨＦ（１００ｍＬ）中の中間体２３（５．１ｇ、１０．５ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に１０℃で添加した。反応混合物を室温まで温め、１４時間撹拌し、次いでＨＣｌ（１Ｍ水溶液）を使用して、ｐＨ２に酸性化した。反応混合物をＥｔＯＡｃ（３５０ｍＬ）で希釈し、ブライン（３００ｍＬ、飽和）、H_2O（３００ｍＬ）及びブライン（３００ｍＬ、飽和）で順次洗

浄した。有機相を分離し、Na_2SO_4で乾燥させ、濾過し、溶媒を減圧下で除去した。粗生成物を、ＥｔＯＡｃ／Et_2Oからの沈殿、続いて移動相として、ＨＣｌ（０．４％水溶液）中の０～５０％のＭｅＣＮの濃度勾配を使用するＣ１８カラム上の逆相フラッシュクロマトグラフィーによって精製し、標題化合物を白色固体として得た（４．００ｇ、８２％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）δ　１．１３（ｓ，３Ｈ），１．２０（ｓ，１Ｈ），１．２３（ｓ，２Ｈ），１．３３（ｔ，２Ｈ），１．４６（ｑ，４Ｈ），１．８４（ｄ，１Ｈ），１．９２（ｄ，２Ｈ），２．０３－２．１４（ｍ，４Ｈ），２．３８（ｄ，１Ｈ），２．６７（ｄ，１Ｈ），３．８９（ｓ，３Ｈ），４．２３（ｔ，１Ｈ），４．４３（ｄｔ，１Ｈ），７．５４（ｓ，１Ｈ），７．５９（ｓ，１Ｈ），８．６７（ｄ，１Ｈ），１２．３０（ｓ，２Ｈ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　４７１．３。

【０１１０】

実施例１：（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－フルオロ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（（１－メトキシシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸（形態Ａ）

【化２８】



ＥｔＯＨ中の中間体１７の溶液（２０６ｇ、１９％重量／重量、５７．９ｍｍｏｌ）に、ＥｔＯＨ（３８５ｍＬ）、続いて１０重量％のＰｄ／Ｃ（３．９６ｇ、５％重量／重量）を添加した。容器をN_2で６回、続いてH_2で更に６回パージした。容器をH_2で０．４ＭＰａまで加圧し、反応溶液を２０～３０℃で２０時間撹拌した。H_2雰囲気をN_2で完全に置き換えた後、反応混合物を濾過し、固体をＥｔＯＨ（３×８０ｍＬ）で洗浄した。第２の同一のバッチを実施し、回収したＥｔＯＨ溶液を合わせて単一の溶液を得た。溶媒を、４５℃未満の温度を維持しながら減圧下でＥｔＯＡｃに交換した。ＥｔＯＡｃ溶液（２８０ｍＬ）を７０～７５℃で０．５時間加熱し、次いで４０～４５℃に冷却し、ｎ－ヘプタン（４７５ｍＬ）を０．５時間かけて滴加した。混合物を０．５時間撹拌し、次いで２０～２５℃に２時間かけて冷却し、その後、更に２時間保持した。異種スラリーを濾過し、次いで固体を１：２のＥｔＯＡｃ／ｎ－ヘプタン（１６０ｍＬ）で２回洗浄した後、４５℃未満で２０時間乾燥させ、粗標題化合物を白色固体として得た（５５．７ｇ、８７％）。

パート１：粗標題化合物（２．５０ｇ、４．５９ｍｍｏｌ）を、ＥｔＯＨ（１５．０ｍＬ）中に溶解した。水（７．５０ｍＬ）の滴加中、溶液の温度を２５．０±２．０℃で維持し、その間に沈殿物が形成した。異種スラリーを更に１．０時間撹拌し、次いで濾過によって回収した。固体をＥｔＯＨ／水の（２：３）混合物（２×５．００ｍＬ）で洗浄し、回収し、N_2下で乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（１．８０ｇ、７２％）。この物質は形態Ａと特徴付けられ、パート２に記載される以下の方法の種として使用した。

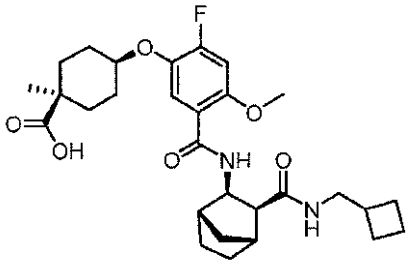
パート２：粗標題化合物（５０．０ｇ、９１．８ｍｍｏｌ）をＥｔＯＨ（３５０ｍＬ）中に溶解し、次いでフィルターを通過させた。ＥｔＯＨ（１００ｍＬ）を容器に添加し、次いでフィルターを通過させて、合わせたＥｔＯＨ溶液を得た。H_2O（１５０ｍＬ）の０．５時間にわたるゆっくりとした添加中に、溶液の温度を２５．０±２．０℃で維持した

。溶液を更に０．５時間撹拌した後、パート１からの種物質（０．００５ｇ、０．１％重量／重量）を添加した。溶液を６時間保持し、次いで２０．０±０．５℃に２時間かけて冷却し、その後、更に６時間保持した。H_2O（１５０ｍＬ）を６時間かけてゆっくりと添加し、混合物を更に２時間保持した後、濾過した。ＥｔＯＨ（４５ｍＬ）及びH_2O（３０ｍＬ）を容器に添加し、フィルターケーキを洗浄するために用いた。固体を回収し、N_2下４５℃未満で１２時間乾燥させ、標題化合物形態Ａを白色固体として得た（４２．２ｇ、８５％）；^1H ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＣＤＣｌ$_3$）δ ０．９７（３Ｈ，ｓ），１．１２－１．４２（５Ｈ，ｍ），重複１．２５（３Ｈ，Ｓ），１．４３－１．８２（１０Ｈ，ｍ），１．９２－２．１（３Ｈ，ｍ），２．２５（３Ｈ，ｄｄ），２．５１（２Ｈ，ｄｄ），２．９６（１Ｈ，ｄｄ），３．１８（１Ｈ，ｄｄ），３．９２（３Ｈ，ｓ），４．１２－４．２８（１Ｈ，ｍ），４．４１（１Ｈ，ｔ），５．８１（１Ｈ，ｔ），６．７０（１Ｈ，ｄ），７．８６（１Ｈ，ｄ），８．６０（１Ｈ，ｄ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$ Ｃ３０Ｈ４２ＦＮ２Ｏ６についての計算値：５４５．３０２２ 実測値：５４５．３０１９。

【０１１１】

実施例２：（１Ｓ，４ｓ）－４－（５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（シクロブチルメチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－２－フルオロ－４メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

【化２９】



工程Ａ　中間体１８：ナフタレン－１－イルメチル（１Ｓ，４ｓ）－４－（５－（（（１Ｒ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ）－３－（（シクロブチルメチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプター５－エン－２－イル）カルバモイル）－２－フルオロ－４－メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボキシレート

０～５℃でのＤＣＭ（５０．５ｍＬ）中のＤＩＰＥＡ（１．０７ｇ、８．３１ｍｍｏｌ）の溶液に、中間体１６（５．００ｇ、８．３１ｍｍｏｌ）、続いてシクロブチルメタンアミン塩酸塩（１．２６ｇ、１０．４ｍｍｏｌ）を添加した。温度を０～５℃に維持しながらＤＩＰＥＡ（４．２１ｇ、３２．６ｍｍｏｌ）を滴加し、続いてＴ３Ｐ（８．４６ｇ、１３．３ｍｍｏｌ、ＥｔＯＡｃ中５０％重量／重量）を０．５時間かけて添加した。溶液を１５～２５℃まで温め、２時間撹拌し、続いて温度を３０℃未満に維持しながら水（２５．０ｍＬ）を滴加した。二相溶液を分離し、有機相を水（２×２５．０ｍＬ）で洗浄し、次いで減圧下で溶媒をＥｔＯＨ（７５．０ｍＬ）に交換し、標題化合物をＥｔＯＨ中の溶液として得て、これを次の工程で直接使用した。

【０１１２】

工程Ｂ（１Ｓ，４ｓ）－４－（５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（シクロブチルメチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－２－フルオロ－４メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

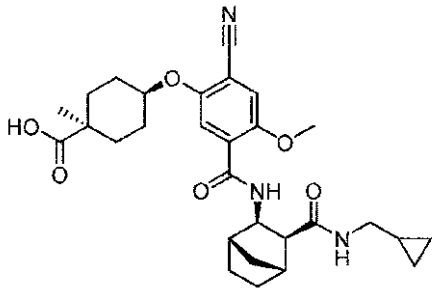
中間体１８のＥｔＯＨ溶液に、１０重量％のＰｄ／Ｃ（２９０ｍｇ、５％重量／重量）を添加した。容器をN_2で６回、続いてH_2で更に６回パージした。容器をH_2で０．４ＭＰａまで加圧し、反応溶液を２０～３０℃で２０時間撹拌した。H_2雰囲気をN_2で完

全に置き換えた後、反応混合物を濾過し、ＥｔＯＨ（２×１２．２ｍｌ）で洗浄した。温度を４５℃未満に維持しながら減圧下で溶媒をＥｔＡＯｃに交換した。ＥｔＡＯｃ溶液（４１．０ｍＬ）を７０～７５℃に０．５時間加熱し、次いで４０～４５℃に冷却し、ｎ－ヘプタン（３４．８ｍＬ）を０．５時間かけて滴加した。混合物を０．５時間撹拌し、次いで２０～２５℃に２時間かけて冷却し、その後、更に２時間保持した。異種スラリーを濾過し、次いで固体を１：２のＥｔＯＡｃ／ｎ－ヘプタン（１１．６ｍＬ）で２回洗浄した後、４５℃未満で２０時間乾燥させて、標題化合物を白色固体として得た（３．２８ｇ、７４％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）δ　１．０４－１．３０（６Ｈ，ｍ），重複１．１０（３Ｈ，ｓ），１．３５－１．５８（５Ｈ，ｍ），１．５９－１．６９（２Ｈ，ｍ），１．７１－１．８２（２Ｈ，ｍ），１．８３－１．９２（２Ｈ，ｍ），１．９５－２．０２（１Ｈ，ｍ），２．０１－２．１０（３Ｈ，ｄ），２．１８－２．３１（２Ｈ，ｍ），２．５０－２．５５（１Ｈ，ｄ），２．９２－３．００（１Ｈ，ｍ），３．０６－３．１４（１Ｈ，ｍ），３．８９（３Ｈ，ｓ），４．０７－４．１７（２Ｈ，ｍ），７．１１（１Ｈ，ｄ），７．６７（１Ｈ，ｄ），７．９４（１Ｈ，ｔ），８．８３（１Ｈ，ｄ）。ＭＳ（ＥＳＩ）：ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　５３１．３。

【０１１３】

実施例３．（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－シアノ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（シクロプロピルメチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－４－メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

【化３０】

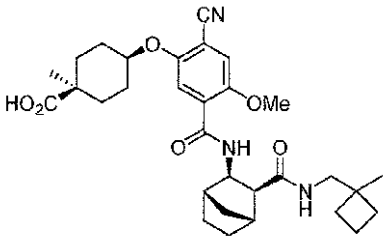


中間体１９の溶液（５００μＬ、０．０２４ｇ、０．０５ｍｍｏｌ、ＤＭＦ中０．１Ｍ）、シクロプロピルメタンアミンの溶液（５００μＬ、０．０５ｍｍｏｌ、ＤＭＦ中０．１Ｍ）及びＤＩＰＥＡの溶液（５００μＬ、０．１５ｍｍｏｌ、ＤＭＦ中０．３Ｍ）を室温でバイアルに添加した。ＨＡＴＵの溶液（５００μＬ、０．１５ｍｍｏｌ、ＤＭＦ中０．３Ｍ）を添加し、反応混合物を４０℃で一晩撹拌した。粗混合物をＤＭＳＯ（３×５００μＬ）で洗浄し、濾過し、濾液を減圧下で蒸発させた。粗生成物を、移動相としてＭｅＯＨ／ＣＯ$_{2}$中２０ｍＭのＮＨ$_{3}$を使用するｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｌｕｎａ　ＨＩＬＩＣカラム（５μｍ　２５０×３０ＩＤｍｍ）上の分取ＳＦＣによって粗生成物を精製し、標題化合物を得た（１０．３ｍｇ、３９％）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　Ｃ$_{29}$Ｈ$_{38}$Ｎ$_{3}$Ｏ$_{6}$についての計算値：５２４．２７５６　実測値：５２４．２７５２。

【０１１４】

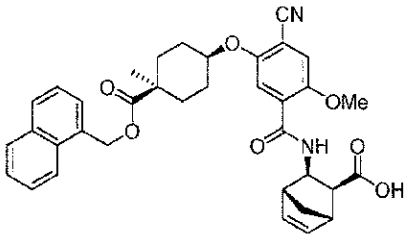
実施例４：（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－シアノ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（（１－メチルシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

【化３１】



工程Ａ：中間体２４：（１Ｓ，２Ｓ，３Ｒ，４Ｒ）－３－（４－シアノ－２－メトキシ－５－（（（１ｓ，４Ｓ）－４－メチル－４－（（ナフタレン－１－イルメトキシ）カルボニル）シクロヘキシル）オキシ）ベンズアミド）ビシクロ［２．２．１］ヘプタ－５－エン－２－カルボン酸

【化３２】

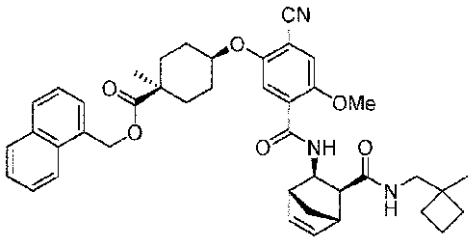


ＬｉＯＨの２Ｍ水溶液（１０．６ｍＬ、２１．１２ｍｍｏｌ）をＤＭＥ（５０ｍＬ）中の中間体２２（２．６０ｇ、４．１８ｍｍｏｌ）の溶液に添加し、次いで反応混合物を室温で１２時間撹拌した。クエン酸の１０％水溶液をｐＨ＜３になるまで反応混合物に添加し、次いで反応混合物をＥｔＯＡｃで２回抽出し、合わせた有機層を真空下で濃縮して、標題化合物を得た（２．５ｇ、９７％）。ＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ６０９．３［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。

【０１１５】

工程Ｂ：中間体２５：ナフタレン－１－イルメチル（１Ｓ，４ｓ）－４－（５－（（（１Ｒ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｓ）－３－（（（１－メチルシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタ－５－エン－２－イル）カルバモイル）－２－シアノ－４－メトキシフェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボキシレート

【化３３】

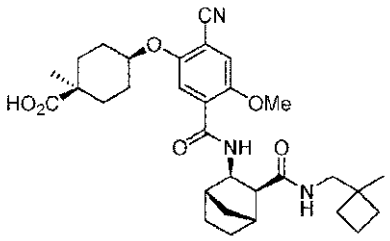


ＨＡＴＵ（３４４ｍｇ、０．９０４ｍｍｏｌ）及びＤＩＰＥＡ（０．４３ｍＬ、２．４６ｍｍｏｌ）を、ＤＭＦ（４ｍＬ）中の中間体２４（５００ｍｇ、０．８２１ｍｍｏｌ）及び（１－メチルシクロブチル）メチルアミン塩酸塩（１３４ｍｇ、０．９８６ｍｍｏｌ）に添加し、次いで混合物を室温で３０分間撹拌した。H_2O（５０ｍＬ）を反応混合物に添加し、残留沈殿物を濾過により回収し、次いで残渣を真空ポンプ下で乾燥させて、標題化合物を得た（６１１ｍｇ、１００％）。ＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ６９０．４［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。

【０１１６】

工程Ｃ：（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－シアノ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（（１－メチルシクロブチル）メチル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

【化３４】

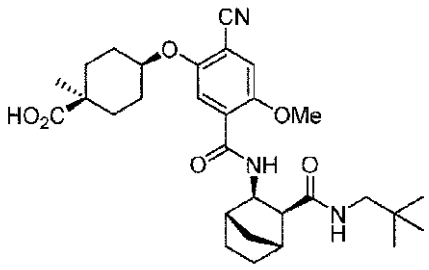


パラジウム（１０％のＰｄ／Ｃ、５０％のH_2Oによる水分、２００ｍｇ）を、ＭｅＯＨ（４．４ｍＬ）中の中間体２５（６０９ｍｇ、０．８８３ｍｍｏｌ）の溶液に添加した。反応混合物を１気圧の水素雰囲気下、室温で３時間撹拌した。反応容器内の水素をアルゴンで置き換え、反応混合物をＣｅｌｉｔｅ（登録商標）で濾過した。濾液を真空中で濃縮後、移動相として$CHCl_3$中０～５％のＭｅＯＨの濃度勾配を使用するフラッシュクロマトグラフィーによって粗生成物を精製して、標題化合物を得た（３８９ｍｇ、８０％）。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６）δ　０．９９（ｓ，３Ｈ），１．２１（ｓ，３Ｈ），１．２３－１．４１（ｍ，５Ｈ），１．４５－１．８５（ｍ，１０Ｈ），１．９６－２．１３（ｍ，３Ｈ），２．１８－２．２９（ｍ，３Ｈ），２．３５－２．４０（ｍ，１Ｈ），２．６５－２．７１（ｍ，１Ｈ），３．０６（ｄｄ，Ｊ＝１３．２，５．８Ｈｚ，１Ｈ），３．１７（ｄｄ，Ｊ＝１３．２，６．３Ｈｚ，１Ｈ），３．９８（ｓ，３Ｈ），４．２６－４．３３（ｍ，１Ｈ），４．３４－４．４３（ｍ，１Ｈ），７．３７（ｓ，１Ｈ），７．７２（ｓ，３Ｈ），７．８４－７．９１（ｍ，１Ｈ），９．０９（ｄ，Ｊ＝８．５Ｈｚ，１Ｈ）。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　Ｃ３１Ｈ４２Ｎ３Ｏ６についての計算値：５５２．３０６８　実測値：５５２．３０６４。

【０１１７】

実施例５：（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－シアノ－４－メトキシ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（ネオペンチルカルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）フェノキシ）－１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸

【化３５】

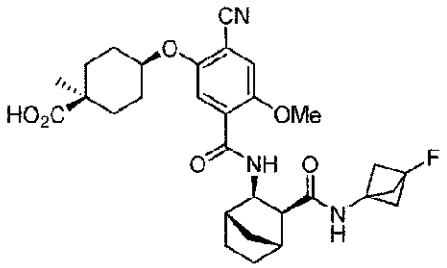


標題化合物を、シクロプロピルメタンアミンの代わりに２，２－ジメチルプロパン－１－アミンを使用して、実施例３と同様の方法で調製した。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^+$　Ｃ３０Ｈ４２Ｎ３Ｏ６についての計算値：５４０．３０６８　実測値：５４０．３０７６。

【０１１８】

実施例６：（１Ｓ，４ｓ）－４－（２－シアノ－５－（（（１Ｓ，２Ｒ，３Ｓ，４Ｒ）－３－（（３－フルオロビシクロ［１．１．１］ペンタン－１－イル）カルバモイル）ビシクロ［２．２．１］ヘプタン－２－イル）カルバモイル）－４－メトキシフェノキシ）－

１－メチルシクロヘキサン－１－カルボン酸
【化３６】



標題化合物を、シクロプロピルメタンアミンの代わりに３－フルオロビシクロ［１．１．１］ペンタン－１－アミンを使用して、実施例３と同様な方法で調製した。ＨＲＭＳ（ＥＳＩ）ｍ／ｚ［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$　Ｃ３０Ｈ３７ＦＮ３Ｏ６についての計算値：５５４．２６６６　実測値：５５４．２６７０。
【０１１９】
生物学的及び物理化学的データ
ＲＸＦＰ１　Ｈｕ　ｃＡＭＰ（試験Ａ）
ｈＲＸＦＰ１の調節薬をスクリーニングするために、Ｇｓ結合ｈＲＸＦＰ１受容体を介してｃＡＭＰ産生を刺激する化合物を同定するアッセイを使用した。ｃＡＭＰ　ＨｉＲａｎｇｅ　ＨＴＲＦキット（ＣｉｓＢｉｏ　Ｂｉｏａｓｓａｙｓ，Ｆｒａｎｃｅから入手可能；カタログ番号６２ＡＭ６ＰＥＪ）を、ｃＡＭＰの検出についての製造業者の推奨に従って大規模に使用した。ＨＴＲＦ法は、細胞により産生された天然ｃＡＭＰと、染料ｄ２で標識されたｃＡＭＰとの間の競合イムノアッセイである。トレーサー結合は、ｃＡＭＰに対するクリプテート標識抗体で可視化され、したがって、シグナルは、産生されたｃＡＭＰの量に反比例する。
【０１２０】
アッセイ試薬の調製：
アッセイ緩衝液：０．１％のＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ、Ａ８８０６）を含有する５ｍＭのＨｅｐｅｓ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ、１５６３０）、ｐＨ７．４を有するＨＢＳＳ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ、１４０６５）
細胞：ヒトＲＸＦＰ１で安定してトランスフェクトされたＪｕｍｐ－Ｉｎ（商標）Ｔ－ＲＥｘ（商標）ＣＨＯ－Ｋ１細胞（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を使用した。細胞は、１０ｎｇ／ｍｌのドキシサイクリンで２４時間処理することによってヒトＲＸＦＰ１を発現するように誘導された。次いで、細胞は、長期保存のために凍結保存された。各実験の開始時に、細胞を解凍し、ＰＢＳで洗浄し、１．８７５＊１０＾５細胞／ｍｌになるようにアッセイ緩衝液中で再懸濁させた
ｃＡＭＰ標準：ＣｉｓＢｉｏキット中で提供されるストック標準ｃＡＭＰをアッセイ緩衝液中で希釈して、アッセイにおける最高最終濃度２．８μＭとした。
ＨＴＲＦ検出試薬：ＣｉｓＢｉｏの説明書に従って再構成されたｃＡＭＰ－ｄ２及び抗ｃＡＭＰクリプテートを、ＨＴＲＦキットを備えた溶解緩衝液中で１：４０に希釈した。
【０１２１】
アッセイを実行するための段階的手順：
１．ＤＭＳＯ中に溶解させた試験化合物４０ｎＬを白色３８４ウェルプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ；７８４０７５）に音響的に（ａｑｕｏｓｔｉｃａｌｌｙ）分注し（Ｌａｂｃｙｔｅ　Ｅｃｈｏ）、密封して、アッセイまで室温で保存した。
２．ＤＭＳＯ中４０ｎＬの２００ｎＭリラキシン－２（最終濃度１ｎＭ）を１００％の対照ウェルに添加し、４０ｎＬのＤＭＳＯをアッセイ日にＥｃｈｏアコースティックディスペンサーを用いて０％のウェルに添加した。
３．ホスホジエステラーゼを遮断するための１ｍＭのＩＢＭＸ（０．５ｍＭの最終濃度）を含む４μＬのアッセイ緩衝液を、Ｍｕｌｔｉｄｒｏｐ　Ｃｏｍｂｉ（ＴｈｅｒｍｏＦｉ

ｓｈｅｒ）と共に添加した。
４．１．８７５＊１０＾５個の細胞／ｍｌの４μＬの細胞溶液をＭｕｌｔｉｄｒｏｐ Ｃｏｍｂｉと共に添加して、７５０個の細胞／ウェルを得た。
５．室温で４５分間インキュベートした。
６．溶解緩衝液中の４μＬのｃＡＭＰ－ｄ２をＭｕｌｔｉｄｒｏｐ Ｃｏｍｂｉと共に添加した。
７．溶解緩衝液中の４μＬの抗ｃＡＭＰクリプテートをＭｕｌｔｉｄｒｏｐ Ｃｏｍｂｉと共に添加した。
８．室温で２時間インキュベートした。
９．均一時間分解蛍光測定（ＨＴＲＦ）シグナルを、Ｅｎｖｉｓｉｏｎ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）又はＰｈｅｒａｓｔａｒ（ＢＭＧ Ｌａｂｔｅｃｈ）リーダー（λｅｘ＝３４０ｎｍ、λｅｍ＝６６５及び６１５ｎｍ）で検出した。

【０１２２】
ｃＡＭＰ検量線を使用して、ＨＴＲＦデータを試料中で産生されたｃＡＭＰ量に変換し、続けて、これを濃度応答の計算に使用した。濃度応答データを、４パラメータロジスティックフィット、Ｈｉｌｌ式を用いてフィッティングした。アッセイからの結果を、表１にＥＣ$_{50}$（μＭ）及びＳ$_{ｉｎｆ}$（％）として報告する。

【０１２３】
ＥＣ$_{50}$は、刺激活性がその最大レベルの５０％に達する濃度と定義される。アッセイを同じ化合物について複数回行った場合、幾何平均値を報告する。

【０１２４】
Ｓ$_{ｉｎｆ}$は、無限濃度の試験化合物での適合された活性レベル、有効性である。有効性データの比較を容易にするために、有効性を、リラキシンの飽和濃度（１ｎＭ）により刺激される応答の効果％に対して正規化した。同じ化合物についてアッセイを複数回行った場合、算術平均値を報告する。

【０１２５】
ヒト血漿タンパク質結合（試験Ｂ）
アッセイは、Ｗｅｒｎｅｖｉｋ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，“Ａ Ｆｕｌｌｙ Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ Ａｓｓａｙ Ｐａｎｅｌ ｆｏｒ Ｅａｒｌｙ Ｄｒｕｇ Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｎｄ Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ Ｐｒｏｆｉｌｉｎｇ”，Ａｓｓａｙ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，２０２０，１８（４），１５７－１７９のページ１６７～１７０に記載されるヒト血漿タンパク質結合アッセイに従って行われた。データを、表１に非結合画分（ｆ$_{ｕ}$）（遊離％）として報告する。同じ化合物についてアッセイを複数回行った場合、算術平均値を報告する。

【０１２６】
ヒト肝臓ミクロソーム安定性（試験Ｃ）
アッセイは、Ｗｅｒｎｅｖｉｋ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，“Ａ Ｆｕｌｌｙ Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ Ａｓｓａｙ Ｐａｎｅｌ ｆｏｒ Ｅａｒｌｙ Ｄｒｕｇ Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｎｄ Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ Ｐｒｏｆｉｌｉｎｇ”，Ａｓｓａｙ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，２０２０，１８（４），１５７－１７９のページ１７０～１７４に記載されるヒト肝臓ミクロソーム安定性アッセイに従って行われた。データを、表１にＣＬ$_{ｉｎｔ}$（μｌ／分／ｍｇタンパク質）として報告する。同じ化合物についてアッセイを複数回行った場合、算術平均値を報告する。

【０１２７】
ヒト肝細胞安定性（試験Ｄ）
ヒト肝細胞における化合物の代謝安定性を、以下のプロトコルを使用して評価した：
１．化合物及び対照化合物を適切な溶媒（ＤＭＳＯ）に入れた１０ｍＭストック溶液を調製する。インキュベーション培地（Ｌ－１５培地）を、３７℃の水浴に入れ、使用前に少なくとも１５分間温めさせる。

２．９６ウェルディープウェルプレート（「反応停止プレート」）の各ウェルに、８０μＬのアセトニトリルを添加する。
３．新しい９６ウェルプレートにおいて、１９８μＬのアセトニトリル及び２μＬの１０ｍＭストック溶液を混ぜ合わせることにより、１０ｍＭ試験化合物及び対照化合物を１００μＭに希釈する。
４．貯蔵庫から、冷凍保存（－１５０℃未満）ヒト肝細胞（Ｂｉｏｒｅｃｌａｍａｔｉｏｎ　ＩＶＴ（製品番号Ｓ０１２０５）から入手したＬｉｖｅｒＰｏｏｌ（商標）１０－ドナーヒト肝細胞）のバイアルを取り出し、解凍プロセスを行うまでバイアルが極低温のままであることを確保する。バイアルを３７℃の水浴に入れて軽く振盪させることにより、可能な限り速やかに細胞を融解させる。全ての氷晶が溶解し、見えなくなるまで、バイアルを水浴に入れたままにするべきである。融解が完了した後、バイアルに７０％エタノールをスプレーし、バイアルをバイオセーフティキャビネットに移す。
５．バイアルを開け、内容物を、融解培地を含有する５０ｍＬコニカルチューブに注ぐ。５０ｍＬコニカルチューブを遠心分離機に入れ、１００ｇで１０分間（室温）回転させる。回転の完了後、融解培地を吸引し、肝細胞を十分なインキュベーション培地に再懸濁して、約１．５×10^6個の細胞／ｍＬをもたらす。
６．Ｃｅｌｌｏｍｅｔｅｒ（登録商標）Ｖｉｓｉｏｎを使用して細胞を計数し、生細胞密度を決定する。生存率が不十分（＜８０％生存率）である細胞は、使用が容認できない。細胞を、インキュベーション培地で、１．０×10^6個の生細胞／ｍＬの研究用細胞密度に希釈する。
７．２４７．５μＬの肝細胞を、９６ウェル細胞インキュベーションプレートの各ウェルに移す。このプレートを、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ　Ｔｈｅｒｍｏｍｉｘｅｒ　Ｃｏｍｆｏｒｔプレートシェーカー上に置いて、肝細胞を１０分間温めさせる。
８．１００μＭの試験化合物又は対照化合物の２．５μＬを、細胞を含有するインキュベーションウェルに添加して、反応を開始させる。
９．このプレートを、Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ　Ｔｈｅｒｍｏｍｉｘｅｒ　Ｃｏｍｆｏｒｔプレートシェーカーで、３７℃及び９００ｒｐｍでインキュベートする。０．５、５、１５、３０、４５、６０、８０、１００及び１２０分に、インキュベートした混合物の２０μＬを別個の「反応停止プレート」に移し、次いで試料をボルテックスにより２分間混合する。
１０．反応停止プレートを、４，０００ｒｐｍで２０分間遠心分離する。各化合物の上清３０μＬを９６ウェル分析プレートに移す。４つの化合物を１つのカセットに一緒にプールする。次いで、プールした試料を１８０μｌの純水を添加することによって希釈する。全てのインキュベーションは、単独で実施される。

【０１２８】

全ての計算は、Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｅｘｃｅｌを使用して実施した。ピーク面積は、抽出イオンクロマトグラムから決定した。親化合物のインビトロ固有クリアランス（インビトロCl_{int}、μＬ／分／10^6個の細胞の単位）を、時間曲線に対する親の消失率（％）Ｌｎの回帰分析によって決定した。インビトロ固有クリアランス（インビトロCl_{int}、μＬ／分／10^6個の細胞の単位）を表１に報告し、以下の式を用いて勾配値から決定した：

インビトロCl_{int}＝ｋＶ／Ｎ
Ｖ＝インキュベーション体積（０．２５ｍＬ）；
Ｎ＝１ウェル当たりの肝細胞の数（０．２５×10^6個の細胞）。
アッセイを同じ化合物について複数回行った場合、幾何平均値を報告する。

【０１２９】

ラット肝細胞安定性（試験Ｅ）

アッセイは、Ｗｅｒｎｅｖｉｋ，Ｊ．ｅｔ　ａｌ．，“Ａ　Ｆｕｌｌｙ　Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ　Ａｓｓａｙ　Ｐａｎｅｌ　ｆｏｒ　Ｅａｒｌｙ　Ｄｒｕｇ　Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ　ａｎｄ　Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ　Ｐｒｏｆｉｌｉｎｇ”，Ａｓｓａｙ

ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，２０２０，１８（４），１５７－１７９のページ１７０～１７４に記載されるラット肝細胞安定性アッセイに従って行われた。データを、表１に平均Ｃｌｉｎｔ（μＬ／分／１０６個の細胞）として報告する。アッセイを同じ化合物について複数回行った場合、幾何平均値を報告する。

【０１３０】

溶解度（試験Ｆ）

アッセイは、Ｗｅｒｎｅｖｉｋ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，“Ａ Ｆｕｌｌｙ Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ Ａｓｓａｙ Ｐａｎｅｌ ｆｏｒ Ｅａｒｌｙ Ｄｒｕｇ Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｎｄ Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ Ｐｒｏｆｉｌｉｎｇ”，Ａｓｓａｙ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，２０２０，１８（４），１５７－１７９のページ１６４～１６７に記載される溶解度アッセイに従って行われた。データを、表１に溶解度（μＭ）として報告する。同じ化合物についてアッセイを複数回行った場合、算術平均値を報告する。

【０１３１】

【表１】

表 1-アッセイデータ

実施例	試験 A		試験 B	試験 C	試験 D	試験 E	試験 F
	EC_{50} (μM)	S_{inf} (%)	ヒト血漿タンパク質結合(遊離%)	ヒト肝臓ミクロソーム安定性 Cl_{int} (μl/分/mg)	ヒト肝細胞安定性 Cl_{int} (μL/分/10^6 個の細胞)	ラット肝細胞安定性 Cl_{int} (μL/分/10^6 個の細胞)	溶解度 (μM)
1	0.017	109	4.3	23	4.8	11	>500
2	0.23	101	1.9	14	2	27	>1000
3	0.39	97	17	<3		28	940
4	0.0058	100	6.3	19	5.6	18	>890
5	0.024	114	12	<3	<1.2	15	910
6	0.024	105	17	<5.1	1.7	11	>860

【０１３２】

ヒトＲＸＦＰ１ ｃＧＭＰ産生アッセイ（試験Ｇ）

ｃＧＭＰ産生に関するＲＸＦＰ１アゴニスト活性について化合物をプロファイリングするために、Ｇｒｅｅｎ ＧＥＮＩｅ ｃＧＭＰアッセイ（Ｍｏｎｔａｎａ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ；カタログ番号Ｄ８００Ｇ）を使用した。このアッセイは、ＢａｃＭａＭベクターで哺乳動物細胞に送達されたｍＮｅｏｎＧｒｅｅｎ融合タンパク質蛍光バイオセンサーに基づく。ｃＧＭＰがバイオセンサーに結合すると、蛍光が低下する。

【０１３３】

アッセイ試薬の調製：

アッセイ緩衝液：０．１％ＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ；Ａ８８０６）を含有するＤＰＢＳ（Ｇｉｂｃｏ；１４０４０１３３）

細胞：ｐＩＲＥＳｎｅｏ３中、ヒトＲＸＦＰ１で安定してトランスフェクトされたＨＥＫ２９３ｓ細胞を使用した。細胞を、ＲＸＦＰ１発現を維持するために１０％ＦＢＳを０．８ｍｇ／ｍＬで補充したＤＭＥＭ培地（Ｇｉｂｃｏ；３１９６６）中で培養した。

【０１３４】

アッセイを実行するための段階的プロトコル：

１日目
　１．細胞を形質導入の１日前に分割し、組織培養フラスコ中で、抗生物質を含まない１０％のＦＢＳを含むＤＭＥＭ培地中に６３０００個の細胞／ｃｍ２に播種した。
２日目
２．ＰＢＳ洗浄後、アキュターゼ（Ｇｉｂｃｏ；１７３７３４１）を使用して細胞を剥離し、培地に再懸濁して、５０ｍＬチューブに収集した。
３．細胞を、ＣＥＤＥＸ（Ｉｎｎｏｖａｔｉｓ）を用いて計数し、培地で２６７０００個の細胞／ｍＬに希釈した。
４．ウイルス形質導入マスターミックスは、単一ウェルに対して以下の割合で試薬を混合することによって調製した：
６μＬのＧＥＮＩｅ　ＢａｃＭＡＭベクター
０．２μＬの５００ｍＭ酪酸ナトリウム
１３．８μＬの１０％ＦＢＳを含むＤＭＥＭ培地
総容量２０μＬ
５．細胞及び形質導入マスターミックスを、単一のウェルに対して３０μＬの細胞及び２０μＬのマスターミックスの割合で混合した。
６．上記からの５０μＬの細胞形質導入ミックスを、ブラックポリ－Ｄ－リジンでコーティングしたμｃｌｅａｒ　３８４ウェルプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ；７８１９４６）に１ウェル当たりで分注した。
７．プレートを３７℃、５％ＣＯ２で暗所において２４時間インキュベートした。
３日目
８．Ｂｌｕｅｗａｓｈｅｒ（ＢｌｕＣａｔＢｉｏ）を使用してプレートから培地を除去した。
９．２０μＬのアッセイ緩衝液を、Ｍｕｌｔｉｄｒｏｐ　Ｃｏｍｂｉ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）と共に添加した。
１０．プレートを、アッセイ前に室温で暗所において３０分間インキュベートした。
１１．ＦＬＩＰＲ　Ｔｅｔｒａ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用してプレートをアッセイした：アッセイ緩衝液で希釈した１０μＬの化合物をＦＬＩＰＲ　Ｔｅｔｒａにより各ウェルに添加し、最大３時間にわたって経時的に緑色蛍光を測定した。
【０１３５】
　Ｓｃｒｅｅｎｅｒソフトウェア（Ｇｅｎｅｄａｔａ　ＡＧ）を使用してデータを処理した。バックグラウンド蛍光の減算後（化合物の点か前）、化合物添加後０から９０分までの曲線下面積値を反応の計算のために使用した。濃度反応データを、４パラメータロジスティックフィットでフィッティングし、EC_{50}値（ｎＭ）を表２に報告する。
【０１３６】
ヒトＲＸＦＰ１ホスホ－ＥＲＫアッセイ（試験Ｈ）
　ＥＲＫリン酸化に関するＲＸＦＰ１アゴニスト活性について化合物をプロファイリングするために、ａｄｖａｎｃｅｄホスホ－ＥＲＫ（Ｔｈｒ２０２／Ｔｙｒ２０４）細胞キット（ＣｉｓＢｉｏ；６４ＡＥＲＰＥＨ）を使用した。アッセイは、２つの抗体を使用する。１つはドナーフルオロフォア（Ｅｕクリプテート）で標識し、２つ目はアクセプター（ｄ２）で標識した。第１の抗体はリン酸化ＥＲＫに特異的に結合し、第２の抗体はＥＲＫの別のモチーフに、且つそのリン酸化状態とは無関係に結合する。ＥＲＫリン酸化は、２つの抗体を伴う免疫複合体の形成を可能にし、それによりＦＲＥＴシグナルを生成する。その強度は、試料中のリン酸化ＥＲＫの濃度に比例する。アッセイは、製造業者の推奨に従って実施した。
【０１３７】
アッセイ試薬の調製：
　細胞：ｐＩＲＥＳｎｅｏ３中、ヒトＲＸＦＰ１で安定してトランスフェクトされたＨＥＫ２９３ｓ細胞を使用した。細胞を、ＲＸＦＰ１発現を維持するために１０％ＦＢＳを０．８ｍｇ／ｍＬで補充したＤＭＥＭ培地（Ｇｉｂｃｏ；３１９６６）中で培養した。アッ

セイは、連続培養に維持した細胞に対して実施した。
試験化合物の希釈：化合物を、フェノールレッドを伴わない無血清ＤＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ；３１０５３－０３８）で所望の濃度に希釈した。ＤＭＳＯ濃度を０．４％に調整した。
抗体混合物：ＥＵ及びｄ２標識抗ＥＲＫ１／２抗体を、キット中で提供される検出緩衝液で別々に２０倍希釈した。実験の少し前に、等容量の各希釈抗体溶液を抗体ミックスに合わせた。
【０１３８】
アッセイを実行するための段階的プロトコル：
１日目
１．アキュターゼ（Ｇｉｂｃｏ；１７３７３４１）を用いて細胞を培養フラスコから剥離し、１０％ＦＢＳを含有するフェノールレッドを含まないＤＭＥＭ培地に再懸濁し、５０ｍＬチューブに収集した。
２．細胞を、ＣＥＤＥＸ（Ｉｎｎｏｖａｔｉｓ）を用いて計数し、上記の培地で３２００００個の細胞／ｍＬに希釈した。
３．１００μＬの細胞懸濁液を、Ｂｌａｃｋ　μｃｌｅａｒポリ－Ｄ－リジンでコーティングしたμｃｌｅａｒ９６ウェルプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ；６５５９４６）に１ウェル当たりで分注した。
４．プレートを、３７℃、５％ＣＯ２で２４時間インキュベートした。
２日目
５．血清飢餓：培地を除去し、フェノールレッドを含まない５０μＬの無血清ＤＭＥＭと交換した。プレートを、３７℃、５％ＣＯ２で５時間インキュベートした。
６．１ウェル当たり５０μＬの試験化合物溶液を添加した。
７．プレートを室温で５分間インキュベートした。
８．培地を迅速に除去し、１ウェル当たり５０μＬの溶解緩衝液（添加前に１×最終濃度に希釈）を添加することによって刺激を停止させた。
９．プレートを－８０℃に移し、溶解物を凍結させた。
３日目
１０．プレートを解凍し、室温で３０分間振盪した。
１１．細胞溶解物をピペッティングによりホモジナイズした。
１２．１ウェル当たり１６μＬのホモジネートを白色低容量３８４ウェルプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ；７８４０７５）に移した。
１３．１ウェル当たり４μＬの抗体ミックスを添加した。
１４．プレートを暗所において室温で４時間インキュベートした。
１５．均一時間分解蛍光測定（ＨＴＲＦ）シグナルを、Ｐｈｅｒａｓｔａｒ（ＢＭＧ　Ｌａｂｔｅｃｈ）リーダー（λｅｘ＝３４０ｎｍ、λｅｍ＝６６５及び６１５ｎｍ）を用いて検出した。
【０１３９】
ＨＴＲＦ比データは、Ｓｃｒｅｅｎｅｒソフトウェア（Ｇｅｎｅｄａｔａ　ＡＧ）を使用して処理した。濃度反応データを、４パラメータロジスティックフィットとフィッティングさせ、表２にEC_{50}値（ｎＭ）として報告した。
【０１４０】

【表２】

表 2-アッセイデータ

化合物	試験 G cGMP アッセイ EC_{50} (nM)	試験 H ホスホ-ERK アッセイ EC_{50} (nM)
実施例 1	50	6.3
実施例 4	29	2.5
実施例 5	72	6.8
実施例 6	107	5.2
リラキシン 2	0.085	0.038

【０１４１】

当業者は、上述の生物学的アッセイが、結果に大きい影響を与えることなく、代替の装置及びプロトコルのわずかな変形形態を使用して実施され得ることを理解するであろう。

【０１４２】

この説明及びその具体例は、特定の実施形態を示すが、例示のみを目的とするように意図される。したがって、本開示は、本明細書に記載した例示的な実施形態に限定されるものではなく、様々に変形され得る。加えて、明瞭さを理由として別々の実施形態に関連して説明される様々な実施形態を組み合わせて、単一の実施形態を形成し得ることも認識されたい。逆に言うと、簡潔さを理由として単一の実施形態に関連して説明される様々な実施形態を組み合わせて、これらの部分的組み合わせも形成し得る。

【０１４３】

本明細書で開示された全ての刊行物は、参照により本明細書に組み込まれる。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/065045

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/192 A61P9/04 A61P9/12
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Anonymous: "Abstract 16068: Biased Relaxin-RXFP1 Agonist ML290 Attenuates the Development of Pulmonary Hypertension | Circulation", , 11 November 2019 (2019-11-11), pages 1-6, XP093080738, Retrieved from the Internet: URL:https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/circ.140.suppl_1.16068 [retrieved on 2023-09-11] the whole document ----- -/--	1-12

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 September 2023	19/09/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Büttner, Ulf

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/065045

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MARTINA KOCAN ET AL: "ML290 is a biased allosteric agonist at the relaxin receptor RXFP1", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 7, no. 2968, 7 June 2017 (2017-06-07) , pages 1-14, XP055762715, DOI: 10.1038/s41598-017-02916-5 figure 7 -----	1-12
A	LEKGABE EDNA D. ET AL: "Relaxin Reverses Cardiac and Renal Fibrosis in Spontaneously Hypertensive Rats", HYPERTENSION, vol. 46, no. 2, 1 August 2005 (2005-08-01) , pages 412-418, XP093080757, US ISSN: 0194-911X, DOI: 10.1161/01.HYP.0000171930.00697.2f Retrieved from the Internet: URL:http://dx.doi.org/10.1161/01.HYP.00001 71930.00697.2f> the whole document -----	1-12
X,P	WO 2022/122773 A1 (ASTRAZENECA AB [SE]; MITSUBISHI TANABE PHARMA CORP [JP]) 16 June 2022 (2022-06-16) page 118, line 2 - line 8 claims page 32 - page 34 -----	1-12

3

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2023/065045

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2022122773 A1	16-06-2022	AR 124193 A1	22-02-2023
		AU 2021395353 A1	13-07-2023
		CA 3203024 A1	16-06-2022
		CN 116547270 A	04-08-2023
		DO P2023000111 A	09-07-2023
		IL 303220 A	01-07-2023
		KR 20230118142 A	10-08-2023
		TW 202237559 A	01-10-2022
		US 2023078576 A1	16-03-2023
		UY 39559 A	30-06-2022
		WO 2022122773 A1	16-06-2022

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

フロントページの続き

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国１９８５０－５４３７デラウェア州ウィルミントン、コンコード・パイク１８００、アストラゼネカ・ファーマシューティカルズ・リミテッド・パートナーシップ

(72)発明者　コノリー，キャスリーン マリー

英国シービー２・０エイエイ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、フランシス・クリック・アベニュー１、ケンブリッジ・バイオメディカル・キャンパス、アストラゼネカ・ユーケイ・リミテッド

(72)発明者　オマル，サミ アリ アブデル ハフィース

英国シービー２・０エイエイ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、フランシス・クリック・アベニュー１、ケンブリッジ・バイオメディカル・キャンパス、アストラゼネカ・ユーケイ・リミテッド

(72)発明者　ウフナル，マルチン

ポーランド０２－６７６ワルシャワ、ポステンプ１４、アストラゼネカ・ファーマ・ポーランド・スプウカ・ス・オグラニチョノン・オドポヴィエジャルノシチョン

Ｆターム（参考）　4C206　AA01 AA02 GA07 MA01 MA04 NA14 ZA36 ZA42 ZC01
4H006　AA03 AB23 AC53 BJ30 BJ50 BM71 BP30 BP50 BS10 BV62 BV73