

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3936418号  
(P3936418)

(45) 発行日 平成19年6月27日(2007.6.27)

(24) 登録日 平成19年3月30日(2007.3.30)

(51) Int.CI.

F 1

<b>C07C 229/24</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 C 229/24
<b>A61K 31/198</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/198
<b>A61P 25/28</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 25/28

請求項の数 8 (全 12 頁)

(21) 出願番号

特願平8-318456

(22) 出願日

平成8年10月25日(1996.10.25)

(65) 公開番号

特開平10-130215

(43) 公開日

平成10年5月19日(1998.5.19)

審査請求日

平成15年10月24日(2003.10.24)

(73) 特許権者 000001904

サントリー株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

(74) 代理人 100089705

弁理士 社本 一夫

(74) 代理人 100076691

弁理士 増井 忠式

(74) 代理人 100075270

弁理士 小林 泰

(74) 代理人 100080137

弁理士 千葉 昭男

(74) 代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74) 代理人 100092886

弁理士 村上 清

最終頁に続く

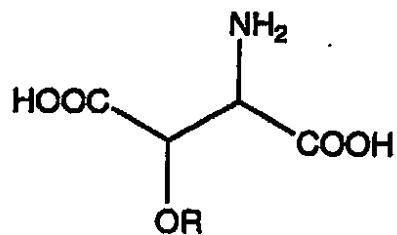
(54) 【発明の名称】  $\beta$ -ヒドロキシアスパラギン酸誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の化学式(1)

【化 1】



10

(式中、Rは環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されていても良いベンゾイル基またはナフトイル基；直鎖もしくは分岐鎖のアセチル基、プロパノイル基、ブタノイル基またはペントノイル基；環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されていても良いフェニル基またはナフチル基；環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されていても良いベンジル基またはフェネチル基；または直鎖もしくは分岐鎖のメチル基、エチル基、プロピル基またはブチル基を示す。)で示される - ヒドロキシアスパラギン

20

酸誘導体(但し、Rはベンゾイルではない。)またはその塩。

**【請求項2】**

2位および3位の相対配置がスレオである請求項1記載の化合物、*t h r e o*- - -ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩。

**【請求項3】**

(2S\*, 3S\*)-3-アセトキシアスパラギン酸;

(2S\*, 3S\*)-3-プロパノイルオキシアスパラギン酸;

(2S\*, 3S\*)-3-(1-ナフトイル)オキシアスパラギン酸;

(2S\*, 3S\*)-3-(2-ナフトイル)オキシアスパラギン酸;もしくは

(2S\*, 3S\*)-3-ベンジルオキシアスパラギン酸

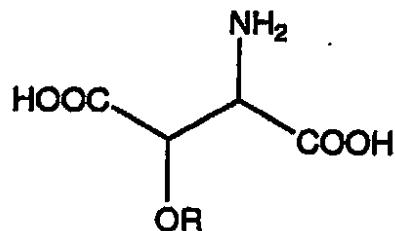
10

またはその塩である、請求項2に記載の*t h r e o*- - -ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩。

**【請求項4】**

次の化学式(1)

**【化2】**



20

1

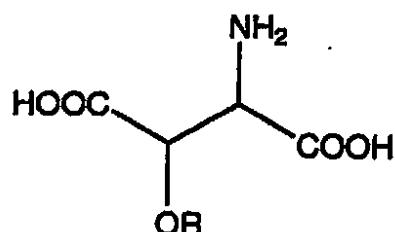
(式中、Rは環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いベンゾイル基またはナフトイル基;直鎖もしくは分岐鎖のアセチル基、プロパノイル基、ブタノイル基またはペントノイル基;環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いフェニル基またはナフチル基;環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いベンジル基またはフェネチル基;または、直鎖もしくは分岐鎖のメチル基、エチル基、プロピル基またはブチル基を示す。)で示される-ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩を有効成分とするグルタミン酸トランスポーター阻害剤。

30

**【請求項5】**

次の化学式(1)

**【化3】**



40

1

(式中、Rは環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いベンゾイル基またはナフトイル基;直鎖もしくは分岐鎖のアセチル基、プロパノイル基、ブタノイル基またはペントノイル基;環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いフェニル基またはナフチル基;環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いベンジル基またはフェネチル基;または、直鎖もしくは分岐鎖のメチル基

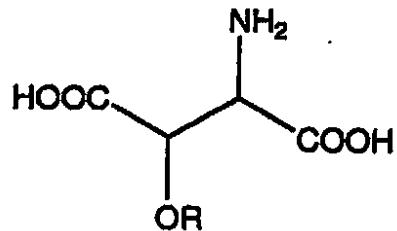
50

、エチル基、プロピル基またはブチル基を示す。)で示される - ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩を有効成分とするグルタミン酸取込阻害剤。

【請求項 6】

次の化学式(1)

【化 4】



1

10

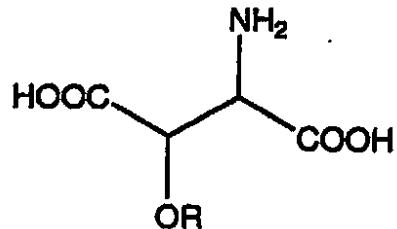
(式中、Rは環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いベンゾイル基またはナフトイル基；直鎖もしくは分岐鎖のアセチル基、プロパノイル基、ブタノイル基またはペントノイル基；環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いフェニル基またはナフチル基；環上の水素原子の一つ以上がハロゲン原子、水酸基もしくはメトキシ基に置換されても良いベンジル基またはフェネチル基；または、直鎖もしくは分岐鎖のメチル基、エチル基、プロピル基またはブチル基を示す。)で示される - ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩を有効成分とする医薬組成物。

20

【請求項 7】

次の化学式(1)

【化 5】



1

30

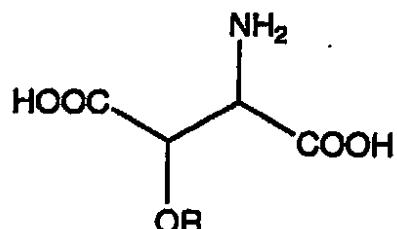
(式中、Rは環上に置換されても良い芳香族アシル基、直鎖または分岐鎖の低級脂肪族アシル基、環上に置換されても良いアリール基、環上に置換されても良いアラルキル基または、直鎖もしくは分岐鎖の低級アルキル基を示す。)で示される - ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩を用いる、グルタミン酸トランスポーターの阻害(但し、ヒト個体での阻害を除く。)方法。

【請求項 8】

次の化学式(1)

40

【化6】



(式中、Rは環上に置換されていても良い芳香族アシル基、直鎖または分岐鎖の低級脂肪族アシル基、環上に置換されていても良いアリール基、環上に置換されていても良いアルキル基または、直鎖もしくは分岐鎖の低級アルキル基を示す。)で示される-L-ヒドロキシアスパラギン酸誘導体またはその塩を用いる、グルタミン酸取込の阻害(但し、ヒト個体での阻害を除く。)方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明はL-グルタミン酸取込阻害剤に関し、さらに詳細にはL-グルタミン酸トランスポーターのグルタミン酸取込活性の抑制作用を有する-L-ヒドロキシアスパラギン酸誘導体に関する。

20

## 【0002】

本化合物の開発は、L-グルタミン酸トランスポーターのグルタミン酸取込阻害剤の開発への糸口を提供するものであり、てんかん、ハンチントン氏病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、アルツハイマー病等の神経障害、神経変異症等の治療への展開が期待できる。

## 【0003】

## 【従来の技術】

L-グルタミン酸は哺乳動物の中権神経系における興奮性神経刺激の伝達物質であり、シナプス間での素早い神経伝達を引き起こすだけではなく、高次で複雑な生理的過程である記憶や学習にも関与していることが知られている。シナプス間での興奮性の神経伝達は、30  
プレシナプスからのグルタミン酸の放出に始まり、プレシナプスやグリア細胞に存在する高親和性のグルタミン酸トランスポーターによるシナプス間隙からの素早いグルタミン酸の取込により終焉する(Attwaele, D. and Nicholls, D., TIPS 68-74, 1991)。

30

## 【0004】

いくつかの遺伝的な神経変性疾患においては、患者の脳の一部にナトリウム依存性グルタミン酸取込活性の低下が報告されている(Rothstein, J. D. et al., N. Engl. J. Med. 326, 1464-1468, 1992.)。このため、グルタミン酸トランスポーターの機能の発現と阻害がこれらの疾患との関連で注目されている。

40

## 【0005】

これまでに、グルタミン酸トランスポーターの研究は主に脳から調製したシナプトゾームや、腎や小腸から得た膜標本を用いて行われてきた。1992年にナトリウム依存性高親和性グルタミン酸トランスポーターのcDNAがクローニングされてからは、分子生物学的にも研究がなされるようになってきた(Pines, G. et al., Nature 360, 464-467, 1992; Storck, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 10955-10959, 1992; Kainai, Y. et al. Nature 360, 467-471, 1992)。さらに最近ではヒトのグルタミン酸トランスポーター遺伝子もクローニングされ、EAAT1~4のサブタイプに分類されている(Arriza, J. L. et al., J. Neurosci.

50

c i . 1 4 , 5 5 5 9 - 5 5 6 9 , 1 9 9 4 ; Arriza , J . L . et al . , N ature , 3 7 5 . 5 9 9 - 6 0 3 , 1 9 9 5 ) .

#### 【0006】

従来のシナプトゾームを用いるグルタミン酸取込阻害物質の検索から、現在までに、スレオ - - ヒドロキシアスパラギン酸および C C G - I I I [ ( 2 S , 1 ' S , 2 ' R ) - 2 - (カルボキシシクロプロピル) グリシン ] 等の化合物がグルタミン酸取込阻害物質として知られているが、これらは自らも基質としてトランスポーターに取り込まれることにより、競合的にグルタミン酸の取込を抑制する阻害物質であった。

#### 【0007】

また、グルタミン酸取込阻害物質の一種であるカイニン酸およびジヒドロカイニン酸は、  
それ自身は取り込まれずにグルタミン酸の取込を阻害するブロッカーであることが、電気  
生理学的研究により示された。さらに、これらの化合物は、4つの E A A T サブタイプの  
うちの E A A T 2 ( G L T - 1 タイプ) にのみ作用することも示された (Arriza ,  
J . L . et al . , J . Neurosci . 1 4 , 5 5 5 9 - 5 5 6 9 , 1 9 9 4 ) 。しかしながら、これらの化合物は、イオンチャンネル型グルタミン酸受容体に作用して  
強い神経興奮を引き起こす作用も合わせ持つ化合物であった。

#### 【0008】

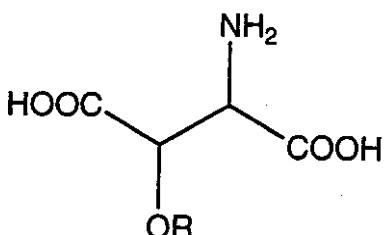
**【発明が解決しようとする課題】**  
この様な状況に鑑み、グルタミン酸トランスポーターとてんかん、ハンチントン氏病、筋  
萎縮性側索硬化症 ( A L S ) 、アルツハイマー病等の神経障害などの神経変性疾患との関  
連性の究明のためには、種々のグルタミン酸トランスポーター阻害剤、とりわけブロッカ  
ーとして作用する阻害剤の開発が要望されている。  
20

#### 【0009】

**【課題を解決するための手段】**  
本発明者らは、ウシまたはヒトのグルタミン酸トランスポーター遺伝子をアフリカツメガ  
エルの卵母細胞に導入してこれを発現させ、これらのトランスポーターによるグルタミン  
酸取込阻害を評価する系を開発した。そしてこの系を用いてグルタミン酸取込阻害物質を  
鋭意研究したところ、次の化学式 ( 1 )

#### 【0010】

#### 【化2】



1

#### 【0011】

(式中、Rは環上に置換されていても良い芳香族アシリル基、直鎖または分岐鎖の低級脂肪  
族アシリル基、環上に置換されていても良いアリール基、環上に置換されていても良いアラ  
ルキル基または、直鎖もしくは分岐鎖の低級アルキル基を示す。) で示される - ヒドロ  
キシアスパラギン酸誘導体が、これらのトランスポーターによるグルタミン酸の取込を阻  
害すること、およびトランスポーター発現卵母細胞を用いて取込に伴う電流量を調べる系  
において、それ自身では電流を惹起せず、グルタミン酸と同時に加えた場合にはグルタミ  
ン酸由来の電流を減少させることを見出して、本発明を完成した。すなわち、本発明によ  
れば、化学式 ( 1 ) で示される、 - ヒドロキシアスパラギン酸誘導体およびその塩を、  
グルタミン酸取込ブロッカーとして提供することができる。

10

20

30

40

50

**【0012】****【発明の実施の形態】**

式(1)において、Rで示される芳香族アシル基の例としては、例えばベンゾイル基、ナフトイル基等が例示され、これらは環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基、メトキシ基等で置換されていても良い。また、Rで示される直鎖または分岐鎖の低級脂肪族アシル基の例としては、アセチル基、プロパノイル基、n-ブタノイル基、sec-ブタノイル基、n-ペントノイル基、sec-ペントノイル基等が例示される。

**【0013】**

さらに、式(1)において、Rで示されるアリール基の例としては、例えばフェニル基、ナフチル基等が例示され、これらは環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基、メトキシ基等で置換されていても良い。また、Rで示されるアラルキル基の例としては、例えばベンジル基、フェネチル基等が例示され、これらは環上の水素原子の一つ以上が、ハロゲン原子、水酸基、メトキシ基等で置換されていても良い。また、Rで示される直鎖または分岐低級アルキル基の例としては、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基等が例示される。

10

**【0014】**

本発明の化合物は通常の方法によって塩とすることができます。このような塩としては、ナトリウム塩およびカリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アンモニウム塩等が例示できるが、これらはいずれも本発明に含まれる。また、本発明の化合物は2位および3位に不斉炭素を有するため(2S, 3S)体, (2R, 3R)体, (2S, 3R)体, (2R, 3S)体の4種類の異性体が存在するが、いずれも本発明に含まれる。

20

**【0015】**

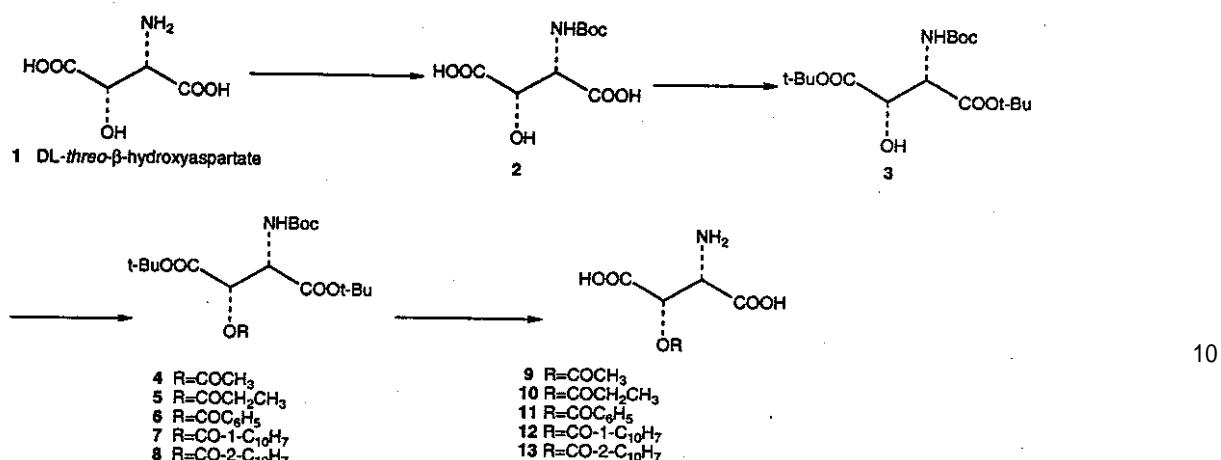
また、化合物の構造活性相關の検討から、本発明の化合物が強い活性を示すためには、置換基Rが高いことおよび2位および3位の相対配置がthreoであることが重要であることが判明した。このRについては、次に示す合成スキームに従って、慣用技術を用いて所望の置換基を導入することができる。また、これら4種類の異性体については、いずれも対応する立体配置を有する-L-ヒドロキシアスパラギン酸を出発原料として合成することができる。

30

**【0016】**

本発明の化合物は、以下のようにして合成することができる。例えば、Rがアシル基の化合物は、次のスキームに従い、通常の方法に従ってアミノ基およびカルボキシル基を保護した後、水酸基に所望のアシル基を導入したのち、脱保護することにより合成することができる。

**【0017】****【化3】**



## 【0018】

(スキーム中、Bocはt-ブトキカルボニル基、t-Buはtert-ブチル基、Rは所望のアシル基を示す。)本スキームに従ってRに所望のアシル基を有する化合物は、化合物(3)と無水酢酸(Rがアセチル基の場合)または所望のRに対応する酸塩化物とを反応させて得られる。例えばRがアセチル基である(2S\*, 3S\*)-3-アセトキシアスパラギン酸(9)は化合物(3)と無水酢酸とを、Rがプロパノイル基である(2S\*, 3S\*)-3-プロパノイルオキシアスパラギン酸(10)は化合物(3)と塩化プロピオニルとを、Rがベンゾイル基である(2S\*, 3S\*)-3-(1-ベンゾイル)オキシアスパラギン酸(11)は、化合物(3)と塩化ベンゾイルとを反応させて得られる。

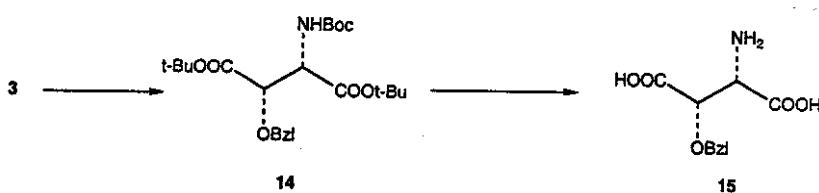
[ここで(2S\*, 3S\*)とは(2S, 3S)と(2R, 3R)の立体配置を持つスレオ体の混合物であることを示す]。

## 【0019】

また、Rがアリール基、アラルキル基またはアルキル基であるエーテル型の化合物は、通常の方法に従ってアミノ基およびカルボキシル基を保護した後、水酸基に所望の置換基を導入したのち、脱保護することにより合成することができる。例えば、Rがベンジル基である(2S\*, 3S\*)-3-ベンジルオキシアスパラギン酸(15)は、先の合成中間体(3)を出発原料として、次のスキームに従って合成することができる。

## 【0020】

## 【化4】



40

## 【0021】

(スキーム中、BzIはベンジル基、t-Buはtert-ブチル基を示す)このスキーム中、臭化ベンジルに代えて、所望の臭化アリール、臭化アラルキルまたは臭化アルキルを用いれば、対応する所望の置換基Rが導入された化合物を得ることができる。

## 【0022】

## 【作用】

本発明の化合物は、ウシBGLASTおよびヒトEAAAT1, EAAAT2のcRNAをアフリカツメガエルの卵母細胞に導入して発現させた系において、グルタミン酸の卵母細胞への取込を阻害する。また、同じ卵母細胞において、本化合物はグルタミン酸の取込によ

50

り惹起される電流を減少させるが、これらの化合物自身は電流を惹起しない。このことは、本化合物がブロッカーとして働いていることを示す。従って本発明の化合物が神経変性疾患におけるグルタミン酸トランスポーターの機構解明に繋がり、構造活性相関などの研究を通して、これらの神経疾患治療に結びつく有用な化合物であることを示している。

### 【0023】

#### 【実施例】

次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらのみに限定されるものではない。

### 【0024】

#### 実施例1. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - アセトキシアスパラギン酸(9)の合成

10

#### ステップ1. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - N - t - プトキシカルボニル - 3 - ヒドロキシアスパラギン酸ジ - t - ブチルエステル(3)の合成

既知化合物 (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - N - t - プトキシカルボニル - 3 - ヒドロキシアスパラギン酸 (2) 1.37 g (5.5 mmol) に、窒素気流下に N, N - ジメチルホルムアミドジ - t - ブチルアセタール 10.5 ml (44 mmol) を室温で加えた。その後、攪拌下に 60 度で 2 時間加温した。エーテルで抽出し、有機層を水、ついで飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9）で精製した。得られた油状生成物をヘキサンから結晶化し、標題化合物 (3) を 1.68 g 得た（収率 85%）。

### 【0025】

20

性状：無色プリズム晶

融点：106 ~ 107

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 1.40 (s, 9H), 1.50 (s, 18H), 3.12 (d, 1H, J = 5.0 Hz), 4.53 (dd, 1H, J = 5.0, 2.0 Hz), 4.68 (d, 1H, J = 10 Hz), 5.14 (d, 1H, J = 10 Hz)

### 【0026】

#### ステップ2. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - アセトキシ - N - t - プトキシカルボニルアスパラギン酸ジ - t - ブチルエステル(4)の合成

30

ステップ1で得られた化合物 (3) 500 mg (1.38 mmol) のピリジン (3 ml) 溶液に無水酢酸 1 ml を加えた後、室温で 20 時間攪拌した。エーテルで抽出し、有機層を水、ついで飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9）で精製し、標題化合物 (4) を 550 mg 得た（収率 99%）。

### 【0027】

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 1.40 (s, 9H), 1.43 (s, 9H), 1.50 (s, 9H), 2.13 (s, 3H), 4.90 (br d, 1H, J = 10 Hz), 5.18 (br d, 1H, J = 10 Hz), 5.50 (br s, 1H)

### 【0028】

40

#### ステップ3. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - アセトキシアスパラギン酸(9)の合成

ステップ2で得られた化合物 (4) 202 mg (0.50 mmol) のクロロホルム (2 ml) 溶液にトリフルオロ酢酸 2 ml を加え、室温で 20 時間攪拌した。溶媒を留去して得られた残渣を C18 シリカゲルカラムクロマトグラフィー (RP - C18、蒸留水) で精製し、標題化合物 (9) を 43 mg 得た（収率 45%）。

### 【0029】

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm) : 2.05 (s, 3H), 4.19 (d, 1H, J = 2 Hz), 5.38 (d, 1H, J = 2 Hz)

### 【0030】

#### 実施例2. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - プロパノイルオキシアスパラギン酸(10)の合成

50

ステップ1 . ( 2 S \* , 3 S \* ) - N - t - プトキシカルボニル - 3 - プロパノイルオキシアスパラギン酸 ジ - t - ブチルエステル ( 5 ) の合成

化合物 ( 3 ) 300 mg ( 0 . 83 mmol ) から、無水酢酸に代えて塩化プロピオニルを用いて、実施例 1 ステップ 2 と同様の方法により標題化合物 ( 5 ) を 303 mg 得た ( 収率 87 % )。

【 0031】

<sup>1</sup> H NMR ( 400 MHz , CDCl<sub>3</sub> , ppm) : 1 . 12 ( t , 3H , J = 7 . 0 Hz ) , 1 . 40 ( s , 9H ) , 1 . 42 ( s , 9H ) , 1 . 50 ( s , 9H ) , 2 . 40 ( m , 2H ) , 4 . 88 ( brd , 1H , J = 11 Hz ) , 5 . 15 ( brd , 1H , J = 11 Hz ) , 5 . 48 ( brs , 1H )

10

【 0032】

ステップ2 . ( 2 S \* , 3 S \* ) - 3 - プロパノイルオキシアスパラギン酸 ( 10 ) の合成

化合物 ( 5 ) 195 mg ( 0 . 47 mmol ) から、実施例 1 ステップ 3 と同様の方法により標題化合物 ( 10 ) を 92 . 5 mg 得た ( 収率 96 % )。

【 0033】

<sup>1</sup> H NMR ( 400 MHz , CD<sub>3</sub>OD , ppm) : 1 . 12 ( t , 3H , J = 7 Hz ) , 2 . 45 ( q , 2H , J = 7 Hz ) , 4 . 53 ( d , 1H , J = 2 Hz ) , 5 . 72 ( d , 1H , J = 2 Hz )

20

【 0034】

実施例 3 . ( 2 S \* , 3 S \* ) - 3 - ベンゾイルオキシアスパラギン酸 ( 11 ) の合成

ステップ1 . ( 2 S \* , 3 S \* ) - 3 - ベンゾイルオキシ - N - t - プトキシカルボニルアスパラギン酸 ジ - t - ブチルエステル ( 6 ) の合成

化合物 ( 3 ) 300 mg ( 0 . 83 mmol ) から、無水酢酸に代えて塩化ベンゾイルを用いて、実施例 1 ステップ 2 と同様の方法により標題化合物 ( 6 ) を 291 mg 得た ( 収率 75 % )。

【 0035】

<sup>1</sup> H NMR ( 400 MHz , CDCl<sub>3</sub> , ppm) : 1 . 30 ( s , 9H ) , 1 . 40 ( s , 9H ) , 1 . 43 ( s , 9H ) , 4 . 95 ( brd , 1H , J = 10 Hz ) , 5 . 23 ( brd , 1H , J = 10 Hz ) , 5 . 60 ( d , 1H , J = 4 Hz ) , 7 . 35 ( t , 2H , J = 6 Hz ) , 7 . 50 ( t , 1H , J = 8 Hz ) , 7 . 92 ( d , 2H , J = 8 Hz )

30

【 0036】

ステップ2 . ( 2 S \* , 3 S \* ) - 3 - ベンゾイルオキシアスパラギン酸 ( 11 ) の合成

化合物 ( 6 ) 152 mg ( 0 . 33 mmol ) から実施例 1 ステップ 3 と同様の方法により標題化合物 ( 11 ) を 66 mg 得た ( 収率 80 % )。

【 0037】

<sup>1</sup> H NMR ( 400 MHz , DMSO - d<sub>6</sub> , ppm) : 4 . 20 ( d , 1H , J = 10 Hz ) , 5 . 36 ( d , 1H , J = 10 Hz ) , 7 . 50 ( t , 2H , J = 8 Hz ) , 7 . 68 ( t , 1H , J = 8 Hz ) , 8 . 15 ( d , 2H , J = 8 Hz ) 。 ( 但し DMSO - d<sub>6</sub> はすべての水素が重水素化されたジメチルスルホキシドを示す。 )

40

【 0038】

実施例 4 . ( 2 S \* , 3 S \* ) - 3 - ( 1 - ナフトイル ) オキシアスパラギン酸 ( 12 ) の合成

化合物 ( 3 ) 100 mg ( 0 . 27 mmol ) から、無水酢酸に代えて塩化 - 1 - ナフトイルを用いて、実施例 1 ステップ 2 と同様の方法により、( 2 S \* , 3 S \* ) - N - t - プトキシカルボニルオキシ - 3 - ( 1 - ナフトイル ) アスパラギン酸 ジ - t - ブチルエステル ( 7 ) を得た。これを精製することなく実施例 1 ステップ 3 と同様に処理して標題化合物 ( 12 ) を 82 . 5 mg 得た ( 収率 2 段階 70 % )。

【 0039】

50

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 4.23 (d, 1H, J = 12 Hz), 5.50 (d, 1H, J = 12 Hz), 7.63 (m, 3H), 8.03 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.20 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.40 (d, 1H, J = 9 Hz), 8.80 (d, 1H, J = 9 Hz)

#### 【0040】

実施例5. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - (2-ナフトイル)オキシアスパラギン酸(13)の合成

ステップ1. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - N - t - プトキシカルボニル - 3 - (2-ナフトイル)オキシアスパラギン酸ジ - t - プチルエステル(8)の合成

化合物(3)300mg(0.83mmol)から、無水酢酸に代えて塩化-2-ナフトイルを用いて、実施例1ステップ2と同様の方法により、標題化合物(8)を95.5mg得た(収率22%)。 10

#### 【0041】

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 1.35 (s, 9H), 1.42 (s, 9H), 1.48 (s, 9H), 5.05 (br d, 1H, J = 10 Hz), 5.37 (br d, 1H, J = 10 Hz), 5.72 (s, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.83 (d, 2H, J = 10 Hz), 7.95 (d, 1H, J = 10 Hz), 8.00 (d, 1H, J = 10 Hz), 8.60 (s, 1H)

#### 【0042】

ステップ2. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - (2-ナフトイル)オキシアスパラギン酸(13)の合成

化合物(8)82mg(0.16mmol)から実施例1ステップ3と同様の方法により標題化合物(13)を46mg得た(収率95%)。 20

#### 【0043】

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) : 4.25 (d, 1H, J = 10 Hz), 5.43 (d, 1H, J = 10 Hz), 7.63 (m, 2H), 8.05 (m, 4H), 8.83 (s, 1H)

#### 【0044】

実施例6. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - ベンジルオキシアスパラギン酸(15)の合成

ステップ1. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - ベンジルオキシ - N - t - プトキシカルボニルアスパラギン酸ジ - t - プチルエステル(14)の合成

化合物(3)78mg(0.22mmol)のDMF(3ml)溶液に-20で水素化ナトリウム13mg(0.32mmol), ヨウ化テトラ-n-ブチルアンモニウム16mg(0.04mmol)を加えて10分攪拌した後、臭化ベンジル38μl(0.32mmol)を加えて0で1時間攪拌した。エーテルで抽出し、有機層を水、ついで飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(エーテル/ヘキサン=1/9)で精製し、標題化合物(14)を65mg得た(収率65%)。

#### 【0045】

<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm) : 1.40 (s, 18H), 1.50 (s, 9H), 4.40 (d, 1H, J = 11 Hz), 4.42 (d, 1H, J = 3 Hz), 4.73 (dd, 1H, J = 3, 10.5 Hz), 4.80 (d, 1H, J = 11 Hz), 5.26 (d, 1H, J = 10.5 Hz), 7.32 (m, 5H). 40

#### 【0046】

ステップ2. (2S<sup>\*</sup>, 3S<sup>\*</sup>) - 3 - ベンジルオキシアスパラギン酸(15)の合成

化合物(14)65mg(0.14mmol)のクロロホルム(2ml)溶液にトリフルオロ酢酸2mlを加えた後、室温で20時間攪拌した。溶媒を留去して得られた残渣をイオン交換樹脂(Dowex 50W×4)のカラムクロマトグラフィーに付し、水で洗浄した後1Nアンモニア水で溶出して、標題化合物(15)を23mg得た(収率65%)。

## 【0047】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm) : 4.01 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 4.34 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 4.44 (d, 1H, J = 11.5 Hz), 4.73 (d, 1H, J = 11.5 Hz), 7.42 (m, 5H).

## 【0048】

評価例1. ウシのグルタミン酸トランスポーター遺伝子(BGLAST)を注入したアフリカツメガエル卵母細胞におけるグルタミン酸取込阻害の測定

本発明者らによる先の特許出願(特開平7-126250号公報参照)の方法に従い、ウシのグルタミン酸トランスポーター遺伝子BGLASTを発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を得た。グルタミン酸取込活性は、1 μMのL-[<sup>14</sup>C]グルタミン酸(11 GBq / mmol)と100 μMの試料を加えて20分間インキュベートした後、卵母細胞を完全に溶解して、卵母細胞に取り込まれた放射活性を液体シンチレーションにより測定した。

## 【0049】

本発明の化合物はグルタミン酸取込阻害活性を示し、例えば、(2S\*, 3S\*)-3-ベンゾイルオキシアスパラギン酸(11)は79%，(2S\*, 3S\*)-3-(1-ナフトイル)オキシアスパラギン酸(12)は63%，(2S\*, 3S\*)-3-(2-ナフトイル)オキシアスパラギン酸(13)は63%のグルタミン酸取込阻害作用を示した。

## 【0050】

評価例2. ヒトのグルタミン酸トランスポーター遺伝子(EAAT1または2)を注入したアフリカツメガエル卵母細胞におけるグルタミン酸取込阻害の測定

先と同様の方法で調整したヒトEAAT1またはEAAT2のcRNAを発現させた卵母細胞を用いて、(2S\*, 3S\*)-3-ベンジルオキシアスパラギン酸(15)のグルタミン酸取込活性を評価例1と同様に測定した。その結果、化合物(15)は100 μMの濃度で、EAAT1に対しては74%，EAAT2に対しては99%阻害した。

## 【0051】

評価例3. ウシのグルタミン酸トランスポーター遺伝子(BGLAST)を注入したアフリカツメガエル卵母細胞における電気生理学的評価

先の方法で調整したウシBGLASTのcRNAを発現させた卵母細胞において、100 μMのグルタミン酸は約125 nAの内向き電流を惹起した。これに対して、本発明の化合物である(2S\*, 3S\*)-3-ベンゾイルオキシアスパラギン酸(11)，(2S\*, 3S\*)-3-(1-ナフトイル)オキシアスパラギン酸(12)，(2S\*, 3S\*)-3-(2-ナフトイル)オキシアスパラギン酸(13)は100 μMではいずれも取込に伴う内向き電流を惹起しなかった。次いでグルタミン酸100 μMとこれらの化合物100 μMを同時に加えたところ、グルタミン酸取込に伴う内向き電流は顕著に減少した。その阻害率は化合物(11)は50%，化合物(12)は40%，化合物(13)は20%であった。

## 【0052】

これらの結果から、本発明の化合物はグルタミン酸トランスポーターの阻害剤として有用であることが明らかになった。

## 【0053】

## 【発明の効果】

本発明に依れば、グルタミン酸トランスポーターの阻害剤である-ヒドロキシアスパラギン酸誘導体およびその塩が提供される。これらの化合物はグルタミン酸取込活性を阻害する新規化合物群であり、グルタミン酸トランスポーターの機能の解明に有用な生化学試薬であるばかりか、これらの研究を通して、種々の神経変性疾患の治療に繋がるものである。

---

フロントページの続き

(72)発明者 島本 啓子

大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 財団法人サントリー有機科学研究所内

(72)発明者 安田 好美

大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 財団法人サントリー有機科学研究所内

(72)発明者 堀谷 政弘

大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 財団法人サントリー有機科学研究所内

審査官 前田 憲彦

(56)参考文献 特開平05-214567 (JP, A)

特開昭54-052068 (JP, A)

特開昭54-106457 (JP, A)

特開昭54-130552 (JP, A)

特開昭54-130553 (JP, A)

特開昭60-075452 (JP, A)

特開昭59-106444 (JP, A)

Journal of Organic Chemistry, 1975年, 40(22), p.3219-3221

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07C229/00

A61K 31/00

CA(STN)

REGISTRY(STN)