

明 細 書

発明の名称：シクロアルキン誘導体

技術分野

[0001] 本開示は、シクロアルキン誘導体およびその使用に関する。

背景技術

[0002] クリックケミストリーは、比較的シンプルな構造の化合物同士を高い反応性と選択性で炭素－ヘテロ原子結合反応により新たな分子を合成する手法である（非特許文献1）。アジドとアルキンの1, 3－双極子環化付加反応(Azide alkyne cycloaddition: AAC)は、クリックケミストリーを代表する反応であり、安定な1,2,3-トリアゾール環を構築することができるため、基質同士を強固に連結させる手法として、医薬品や機能性材料の合成に用いられている。近年、金属触媒を用いることなくアルキン分子を活性化し、アジド化合物と反応させる歪み促進型アジド－アルキン環化付加反応(Strain-promoted azide alkyne cycloaddition(SPAAC))が開発され、注目を集めている（特許文献1～3、非特許文献2～11）。SPAACに利用するため、様々なシクロアルキン誘導体が開発されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：国際公開第2006/050262号公報

特許文献2：特開2018-039773号公報

特許文献3：特開2020-026476号公報

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Kolb, H. C. et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2001, 40, 2004

.

非特許文献2：Dones, J. M., et al., J. Am. Chem. Soc. 2021_143_9489

非特許文献3：Danilkina, N. A. et al., J. Am. Chem. Soc. 2021_143_16519

非特許文献4：Ni, R. et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2015_54_1190

非特許文献5：Kuzmin, A. et al., Bioconjugate Chem.2010_21_2076

非特許文献6：Masuda, R. et al., Chem Asian J.2020_15_742

非特許文献7：Debets, M. F. et al., Chem.Commun.2010_46_97

非特許文献8：Jewett, J. C. et al., Chem.Soc.Rev.2010_39_1272

非特許文献9：Agard, N. J. et al., J.Am.Chem.Soc.2004_126_15046

非特許文献10：Kawasaki, Y. et al., Chemistry Letters, 2019, 48, 495

非特許文献11：Harris, T. et al., Mendeleev Commun. 2019, 29, 237.

非特許文献12：Teobald, B. J., Tetrahedron 2002, 58, 4133.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] SPAACの基質は、クリックケミストリーの基質として広く利用されるだけでなく、ペプチド薬物複合体(Peptide-drug conjugate: PDC)のキャリアペプチドとペイロードとの結合に用いることも想定される。そのため、新たなSPAACの基質が求められている。

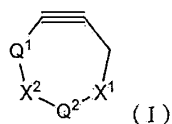
課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、鋭意検討を重ねた結果、スピロ環構造を有する新規なシクロアルキン化合物の調製方法を見いだした。さらに該化合物がSPAACの基質として望ましい特性を有することを見だし、本発明を完成させた。

[0007] 本明細書は以下の発明の開示を包含する。

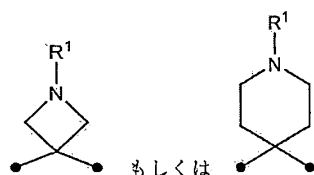
[1-1] 式(1)：

[0008] [化1]

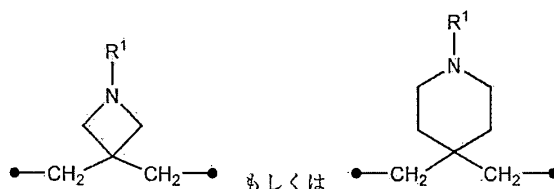


[0009] [式中、X¹およびX²は、それぞれ独立して、酸素原子または-N(Y¹)-であり、
Q¹は、

[0010] [化2]

[0011] のいずれかであり、 Q^2 は、 C_{2-4} アルキレンから選択され、または Q^1 はメチレンであり、 Q^2 は

[0012] [化3]



[0013] のいずれかであり、

Y^1 は水素原子、1以上のハロゲン原子で置換されていてもよい C_{1-6} アルカンスルホニルおよびニトロベンゼンスルホニルから選択され、

R^1 は、水素原子、 C_{1-6} アルキル、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル、ベンジルオキシカルボニル、 $-CO-Q^3-X^3$ 、 $-COO-Q^3-X^3$ 、 $-CONR^2-Q^3-X^3$ 、 $-SO_2-Q^3-X^3$ 、および $-SO_2NR^2-Q^3-X^3$ から選択され、

R^2 は水素原子または C_{1-6} アルキルであり、

X^3 は、 $-COR^5$ 、 $-OL^1$ 、または $-NR^3R^4$ であり、

R^3 は水素原子または C_{1-6} アルキルであり、

R^4 は水素原子、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル、 $-COX^4$ 、またはベンジルオキシカルボニルであり、

Q^3 は、 C_{1-10} アルキレン、または $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ であり、

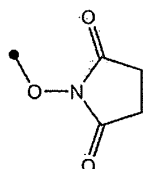
n は1～10の整数であり、

L^1 は、水素原子、または $-COX^4$ であり、

R^5 は、ヒドロキシ、 X^4 、または C_{1-6} アルコキシであり、

X^4 は、

[0014] [化4]



[0015] であり、

式(1)の三重結合は、 $Co_2(CO)_6$ により保護されていてもよい]により表される化合物、またはその塩。

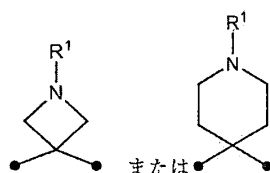
[0016] [1-2] R^1 が $-CO-CH_2-OH$ 、ベンジルオキシカルボニル、および $tert$ -ブトキシカルボニルから選択される、[1-1]に記載の化合物、またはその塩。

[1-3] Y^1 が C_{1-6} アルカンスルホニル、トリフルオロメタンスルホニルおよび2-ニトロベンゼンスルホニルである、[1-1]または[1-2]に記載の化合物、またはその塩。

[0017] [1-4] Y^1 がメタンスルホニルまたは $tert$ -ブタンスルホニルである、[1-3]に記載の化合物、またはその塩。

[1-5] Q^1 は

[0018] [化5]

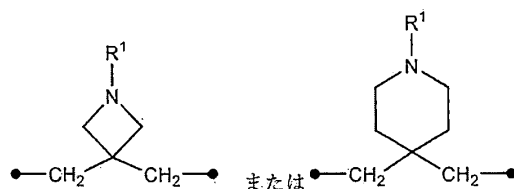


[0019] のいずれかである、[1-1]～[1-4]のいずれかに記載の化合物、ま

たはその塩。

[1 - 6] Q^2 は

[0020] [化6]

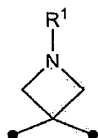


[0021] のいずれかである、[1 - 1] ~ [1 - 4] のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[1 - 7] X^2 が酸素原子であり、

Q^1 は、

[0022] [化7]



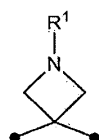
[0023] であり、

R^1 がベンジルオキシカルボニルである、[1 - 1] ~ [1 - 4] のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[0024] [1 - 8] 8員~9員ヘテロ環であり、

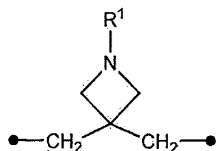
Q^1 が

[0025] [化8]



[0026] であるか、または Q^2 が

[0027] [化9]

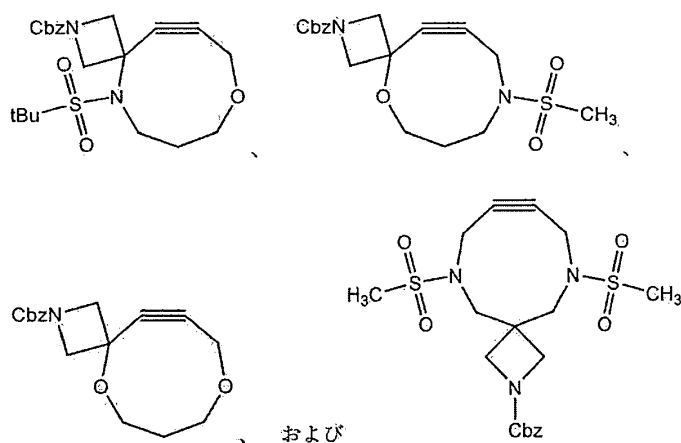


[0028] であり、

R¹がベンジルオキシカルボニルである、[1-1]～[1-4]のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[0029] [1-9]

[0030] [化10]

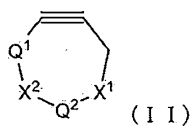


[0031] から選択される、[1-1]に記載の化合物、またはその塩。

[1-10] [1-1]～[1-9]のいずれかに記載の化合物またはその塩を用いて機能性分子のコンジュゲート体を製造する方法であって、

式(11)：

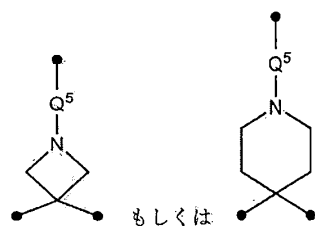
[0032] [化11]



[0033] [式中、 X^1 および X^2 は、それぞれ独立して、酸素原子または $-N(Y^1)$ であり、

Q^1 は、

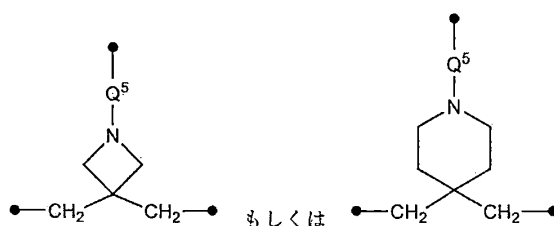
[0034] [化12]



[0035] のいずれかであり、 Q^2 は、 C_{2-4} アルキレンから選択され、または

Q^1 はメチレンであり、 Q^2 は

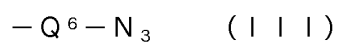
[0036] [化13]



[0037] のいずれかであり、

Q^5 は、第1の機能性分子に結合するリンカー又は単結合である]

で表される基を有する第1の機能性分子と、式 (I I I)



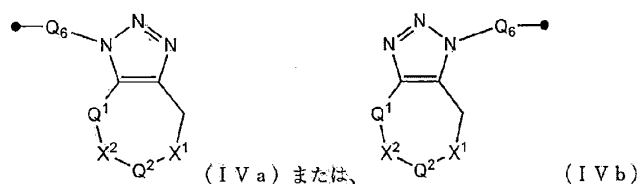
[Q^6 は、第2の機能性分子に結合するリンカー又は単結合である]

により表される基を有する第2の機能性分子を反応させて、式 I V a または

式 I V b :

[0038]

[化14]



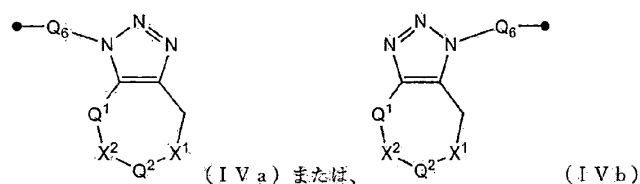
[0039] により表されるリンカーにより第1の機能性分子と第2の機能性分子が連結するコンジュゲート体を得ることを含む、前記方法。

[1-11] 第1の機能性分子及び第2の機能性分子が、それぞれ独立して、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグデリバリーシステムに用いる分子である[1-10]に記載の方法。

[0040] [1-12] 第1の機能性分子または第2の機能性分子のいずれかが、標的への特異的結合性を有する、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸である、[1-11]に記載の方法。

[0041] [1-13] 式(IVa)または式(IVb)：

[0042] [化15]



[0043] [式中、X¹、X²、Q¹、Q²およびQ⁶は[1-10]において定義した通りである]により表されるリンカーにより第1の機能性分子と第2の機能性分子が連結するコンジュゲート体。

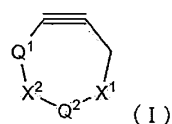
[0044] [1-14] 第1の機能性分子及び第2の機能性分子が、それぞれ独立して、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグデリバリーシステムに用いる分子である、[1-13]に記載のコンジュゲート体。

[0045] [1-15] 第1の機能性分子または第2の機能性分子のいずれかが、

標的への特異的結合性を有する、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸である、[1-14]に記載のコンジュゲート体。

[0046] [1-16] 式(1)：

[0047] [化16]

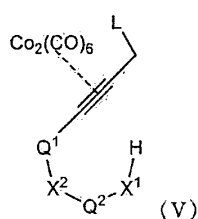


[0048] [式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、および Q^2 は[1-1]において定義した通りであり、式(1)の三重結合は、 $C \equiv C$ により保護されていてもよい]

で表される化合物の製造方法であって、

式(V)

[0049] [化17]



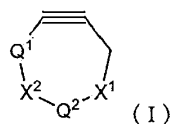
[0050] [式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、および Q^2 は[1-1]において定義した通りであり、ただし、ヒドロキシ基およびアミノ基が存在する場合、それらは保護基で保護されており、Lは脱離基である]により表される化合物をルイス酸存在下で処理することにより、対応する閉環体を得ること、を含む製造方法。

[0051] [1-17]

Lは $-OR^{10}$ またはハロゲン原子であり、 R^{10} は、水素原子、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、アセチル、トリ(C_{1-6} アルキル)シリル、 C_{1-6} アルキル、ベンゼンスルホニル、または C_{1-6} アルカンスルホニルである[1-16]に記載の方法。

[0052] [2-1] 式(1) :

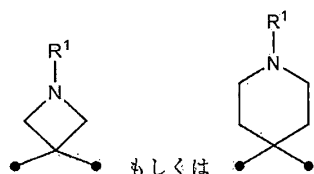
[0053] [化18]



[0054] [式中、X¹およびX²は、それぞれ独立して、酸素原子または-N(Y¹)-であり、

Q¹は、

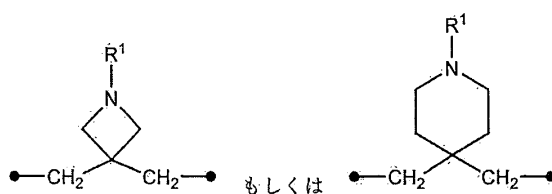
[0055] [化19]



[0056] のいずれかであり、Q²は、C₂₋₄アルキレンから選択され、または

Q¹はメチレンであり、Q²は

[0057] [化20-1]



[0058] のいずれかであり、

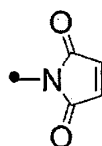
Y¹は水素原子、1以上のハロゲン原子で置換されていてもよいC₁₋₆アルカンスルホニルおよびニトロベンゼンスルホニルから選択され、

R¹は、水素原子、C₁₋₆アルキル、(C₁₋₆アルキル)カルボニル、(C₁₋₆アルコキシ)カルボニル、ベンジルオキシカルボニル、[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニル、-CO-Q³-X³、-COO-Q³-X³、-CONR²-Q³-X³、-SO₂-Q³-X³、および-SO₂NR²

— Q^3-X^3 から選択され、

R^2 は水素原子または C_{1-6} アルキルであり、

X^3 は、 $-COR^5$ 、 $-OL^1$ 、 $-NR^3R^4$ 、または
[化20-2]



であり、

R^3 は水素原子または C_{1-6} アルキルであり、

R^4 は水素原子、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル、 $-COX^4$ 、またはベンジルオキシカルボニルであり、

Q^3 は、 C_{1-10} アルキレン、シクロ C_{3-10} アルキレン、シクロ C_{3-10} アルキレンが挿入された C_{2-10} アルキレン、—(シクロ C_{3-10} アルキレン)—(C_{1-10} アルキレン)—、—(C_{1-10} アルキレン)—(シクロ C_{3-10} アルキレン)—または—(CH_2CH_2O) $_n$ CH_2CH_2 —であり、

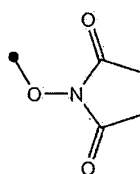
n は1～10の整数であり、

L^1 は、水素原子、 $-COX^4$ 、または(C_{1-6} アルキル)ジフェニルシリルであり、

R^5 は、ヒドロキシ、 X^4 、または C_{1-6} アルコキシであり、

X^4 は、

[0059] [化21]



[0060] であり、

式(1)の三重結合は、 $Co_2(CO)_6$ により保護されていてもよい]

により表される化合物、またはその塩。

[0061] [2-2] Q^3 はエチレンまたはプロピレンである、[2-1]に記載の化合物、またはその塩。

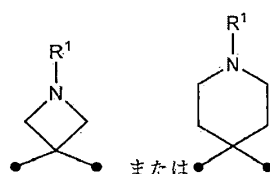
[2-3] R^1 が $-CO-CH_2-OH$ 、ベンジルオキシカルボニル、*tert*-ブトキシカルボニル、[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニルから選択される、[2-1]または[2-2]に記載の化合物、またはその塩。

[2-4] Y^1 が C_{1-6} アルカンスルホニル、トリフルオロメタンスルホニルおよび2-ニトロベンゼンスルホニルである、[2-1]～[2-3]のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[0062] [2-5] Y^1 がメタンスルホニルまたは*tert*-ブタンスルホニルである、[2-4]に記載の化合物、またはその塩。

[2-6] Q^1 は

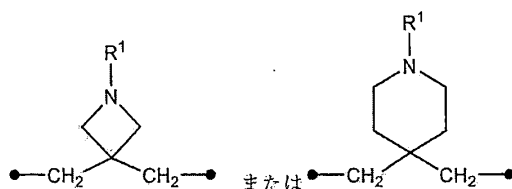
[0063] [化22]



[0064] のいずれかである、[2-1]～[2-5]のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[2-7] Q^2 は

[0065] [化23]

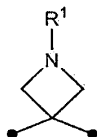


[0066] のいずれかである、[2-1]～[2-5]のいずれかに記載の化合物、ま

たはその塩。

[2-8] Q¹は、

[0067] [化24]

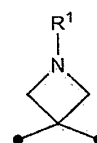


[0068] であり、

R¹がベンジルオキシカルボニルである、[2-1]～[2-5]のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

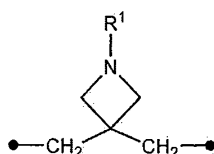
[2-9] Q¹が

[0069] [化25]



[0070] であり、Q²は、C₂₋₃アルキレンから選択され、またはQ²が

[0071] [化26]



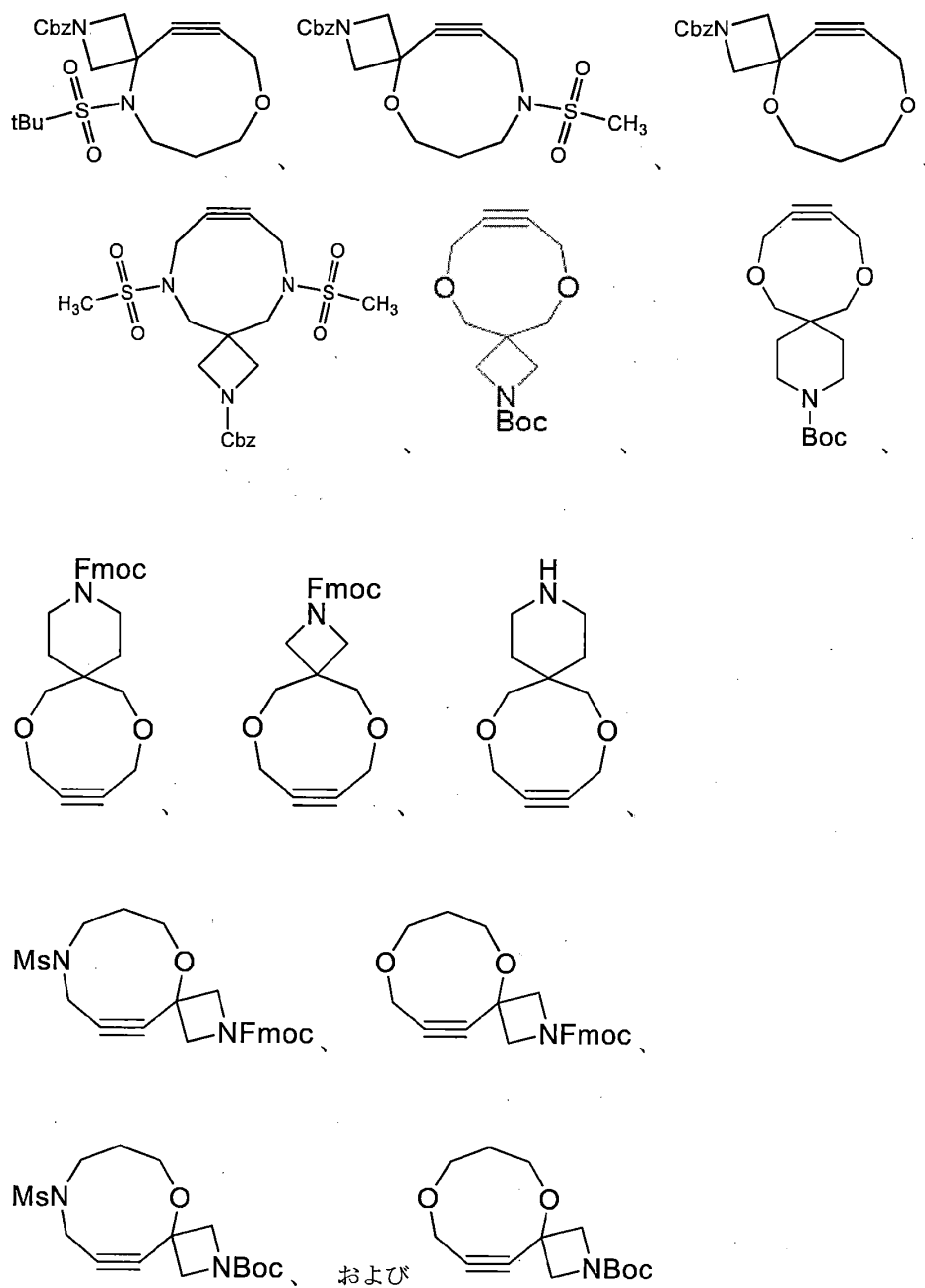
[0072] であり、

R¹がベンジルオキシカルボニルである、[2-1]～[2-5]のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[2-10]

[0073]

[化27]

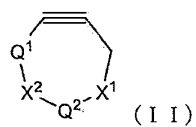


[0074] から選択される、[2-1] に記載の化合物、またはその塩。

[2-11] [2-1] ~ [2-10] のいずれかに記載の化合物またはその塩を用いて機能性分子のコンジュゲート体を製造する方法であって、

式 (11) :

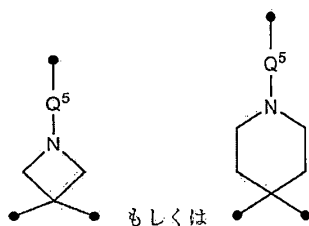
[0075] [化28]



[0076] [式中、X¹およびX²は、それぞれ独立して、酸素原子または-N(Y¹)-であり、

Q¹は、

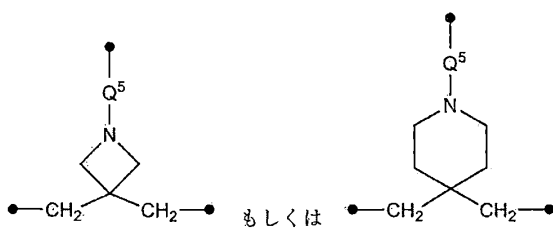
[0077] [化29]



[0078] のいずれかであり、Q²は、C₂₋₄アルキレンから選択され、または

Q¹はメチレンであり、Q²は

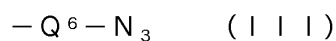
[0079] [化30]



[0080] のいずれかであり、

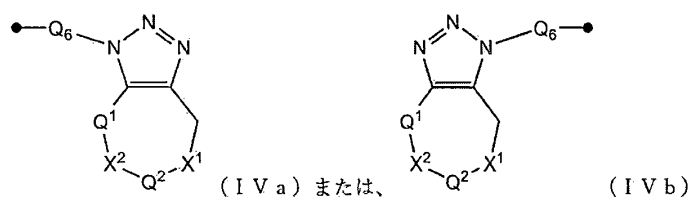
Q⁵は、第1の機能性分子に結合するリンカー又は単結合である]

で表される基を有する第 1 の機能性分子と、式 (I I I)



[Q⁶は、第 2 の機能性分子に結合するリンカー又は単結合である]
により表される基を有する第 2 の機能性分子を反応させて、式 I V a または
式 I V b :

[0081] [化31]



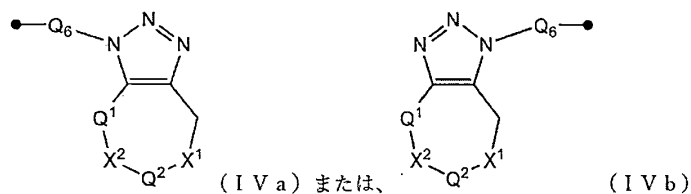
[0082] により表されるリンカーにより第 1 の機能性分子と第 2 の機能性分子が連結するコンジュゲート体を得ることを含む、前記方法。

[2 - 1 2] 第 1 の機能性分子及び第 2 の機能性分子が、それぞれ独立して、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグデリバリーシステムに用いる分子である [2 - 1 1] に記載の方法。

[2 - 1 3] 第 1 の機能性分子または第 2 の機能性分子のいずれかが、標的への特異的結合性を有する、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸である、[2 - 1 2] に記載の方法。

[2 - 1 4] 式 (I V a) または式 (I V b) :

[0083] [化32]



[0084] [式中、X¹、X²、Q¹、Q²およびQ⁶は [2 - 1 1] において定義した通りである]

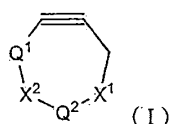
により表されるリンカーにより第 1 の機能性分子と第 2 の機能性分子が連結するコンジュゲート体。

[2-15] 第 1 の機能性分子及び第 2 の機能性分子が、それぞれ独立して、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグデリバリーシステムに用いる分子である、[2-14]に記載のコンジュゲート体。

[2-16] 第 1 の機能性分子または第 2 の機能性分子のいずれかが、標的への特異的結合性を有する、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸である、[2-15]に記載のコンジュゲート体。

[2-17] 式 (I) :

[0085] [化33]

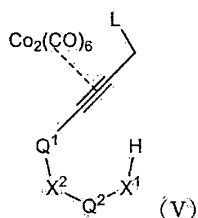


[0086] [式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、および Q^2 は[2-1]において定義した通りであり、式 (I) の三重結合は、 $C \equiv O_2 (CO)_6$ により保護されていてもよい]

で表される化合物の製造方法であって、

式 (V)

[0087] [化34]



[0088] [式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、および Q^2 は[2-1]において定義した通りであり、ただし、ヒドロキシ基およびアミノ基が存在する場合、それらは保護基

で保護されており、Lは脱離基である]により表される化合物を酸存在下で処理することにより、対応する閉環体を得ること、を含む製造方法。

[2-18] 酸がルイス酸又はブレンステッド酸である、[2-17]に記載の製造方法。

[2-19] Lは $-OR^{10}$ またはハロゲン原子であり、 R^{10} は、水素原子、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、アセチル、トリ(C_{1-6} アルキル)シリル、 C_{1-6} アルキル、ベンゼンスルホニル、または C_{1-6} アルカンスルホニルである[2-17]に記載の製造方法。

発明の効果

[0089] 本発明にかかるスピロ環を有する新規なシクロアルキン誘導体は、SPAACに用いることができるシクロアルキン誘導体として汎用性が高く、PDCのコンジュゲーションにも有用である。

図面の簡単な説明

[0090] [図1][実施例13-1]で合成したPN-SO1-10の合成を分析条件1で分析したHPLC分析結果である。

[図2][実施例13-4]で得られたPN-SO1-10の凍結乾燥品を分析条件1で分析したHPLC分析結果である。

[図3][実施例13-4]で得られたPN-SO1-10の凍結乾燥品を分析条件1で分析した分子量結果である。

[図4]核酸化合物(US20180010126を参照に一般的な合成法に従い合成した。以下、NS-SO1-20と記すことがある。)の構造式を示す。

発明を実施するための形態

[0091] 本発明は、その一態様においてSPAACに用いることのできる新規なシクロアルキン誘導体を提供する。

本明細書において「ハロゲン原子」は、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等を意味する。アリール、ヘテロアリール等の置換基としてハロゲン原子が使用される場合、例えば、フッ素原子、塩素原子および臭素原

子が挙げられる。本明細書においてアルキル、またはアルキルをその一部に含む基（アルコキシ、アルケニル、アルキルチオ等）の置換基としてハロゲン原子が用いられる場合、例えば、フッ素原子が挙げられる。ハロゲン原子を置換基として有する基の具体例としては、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、トリフルオロメトキシ、ペンタフルオロエトキシ、トリフルオロメチルチオ、およびペンタフルオロエチルチオ等が挙げられる。

[0092] 本明細書において「 C_{1-6} アルキル」は、炭素数1～6の直鎖状および分岐鎖状の飽和脂肪族炭化水素から任意の水素原子を1個除いて誘導される1価の基であることを意味する。具体例に、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*t*-ブチル、1-メチルプロピル、*n*-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、1, 1-ジメチルプロピル、1-エチルプロピル、ヘキシル、4-メチルペンチル等が挙げられる。

[0093] 本明細書において「 C_{1-6} アルコキシ」は、 C_{1-6} アルキル-*O*-基を意味し、ここで C_{1-6} アルキルは既に定義したとおりである。具体例には、メトキシ、エトキシ、1-プロポキシ、2-プロポキシ、*n*-ブトキシ、*i*-ブトキシ、*sec*-ブトキシ、*t*-ブトキシ、1-ペンチルオキシ、および1-ヘキシルオキシ等が含まれる。

[0094] 本明細書において「(C_{1-6} アルキル)カルボニル」は、 C_{1-6} アルキル-*C*(*O*)-基を意味し、ここで、 C_{1-6} アルキルは既に定義したとおりである。具体例に、メチルカルボニル、エチルカルボニル、*n*-プロピルカルボニル、*i*-プロピルカルボニル、*n*-ブチルカルボニル、*i*-ブチルカルボニル、*sec*-ブチルカルボニル、*t*-ブチルカルボニル、1-メチルプロピルカルボニル、*n*-ペンチルカルボニル、イソペンチルカルボニル、2-メチルブチルカルボニル、1, 1-ジメチルプロピルカルボニル、1-エチルプロピルカルボニル、ヘキシルカルボニル、4-メチルペンチルカルボニル、および2-エチルブチルカルボニル等が含まれる。

[0095] 本明細書において「(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル」は、 C_{1-6} アルコキ

シーC(O)ー基を意味し、ここで、 C_{1-6} アルコキシは既に定義したとおりである。具体例には、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、1ープロポキシカルボニル、2ープロポキシカルボニル、 n ーブトキシカルボニル、 i ーブトキシカルボニル、 sec ーブトキシカルボニル、 t ーブトキシカルボニル、1ーペンチルオキシカルボニル、および1ーヘキシルオキシカルボニル等が含まれる。

[0096] 本明細書において「トリ(C_{1-6} アルキル)シリル」は、(C_{1-6} アルキル) $_3Si$ ー基を意味し、ここで C_{1-6} アルキルは既に定義したとおりであり、3つのアルキル基は同一であってもそれぞれ異なってもよい。具体例には、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリプロピルシリル、トリブチルシリル、トリペンチルシリル、トリヘキシルシリル等が含まれる。

本明細書において「(C_{1-6} アルキル)ジフェニルシリル」は、(C_{1-6} アルキル)(C_6H_5) $_2Si$ ー基を意味し、ここで C_{1-6} アルキルは既に定義したとおりである。具体例には、 t ーブチルジフェニルシリルが挙げられる。

[0097] 本明細書において「 C_{1-6} アルカンスルホニル」は、 C_{1-6} アルキルー SO_2 ー基を意味し、ここで C_{1-6} アルキルは既に定義したとおりである。具体例に、メチルスルホニル、エチルスルホニル、 n ープロピルスルホニル等が挙げられ、例えばメチルスルホニルが挙げられる。

[0098] 本明細書において「 C_{1-10} アルキレン」とは、 $-(C_nH_{2n})-$ 構造を有する基であり、ここで n は1~10のいずれかの整数であり、特に記載がなければ置換または非置換であってよく、直鎖状または分枝鎖状であってもよい。 C_{1-10} アルキレンは、 C_{1-6} アルキレンを含む。具体的には、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ペンチレン、ヘキシレン、ヘプチレン、オクチレン、ノニレン、デシレンが挙げられる。

また、シクロ C_{3-10} アルキレンが挿入された C_{2-10} アルキレンとして、シクロヘキシレンが挿入されたエチレン、シクロヘキシレンが挿入されたプロピレン、シクロヘキシレンが挿入されたブチレン、シクロヘキシレンが挿入されたペンチレン、シクロヘキシレンが挿入されたオクチレン、シクロヘキ

シレンが挿入されたノニレン、シクロヘキシレンが挿入されたデシレン、シクロヘプチレンが挿入されたエチレン、シクロヘプチレンが挿入されたプロピレン、シクロヘプチレンが挿入されたブチレン、シクロヘプチレンが挿入されたペンチレン、シクロヘプチレンが挿入されたオクチレン、シクロヘプチレンが挿入されたノニレン、シクロヘプチレンが挿入されたデシレン、シクロオクチレンが挿入されたエチレン、シクロオクチレンが挿入されたプロピレン、シクロオクチレンが挿入されたブチレン、シクロオクチレンが挿入されたペンチレン、シクロオクチレンが挿入されたオクチレン、シクロオクチレンが挿入されたノニレン、シクロオクチレンが挿入されたデシレンが挙げられる。

— (シクロ C_{3-10} アルキレン) — (C_{1-10} アルキレン) — において、— (C_{1-10} アルキレン) — が X^3 に連結する。— (C_{1-10} アルキレン) — (シクロ C_{3-10} アルキレン) — において、— (シクロ C_{3-10} アルキレン) — が X^3 に連結する。— (C_{1-10} アルキレン) — (シクロ C_{3-10} アルキレン) — として、メチレンシクロプロピレン、メチレンシクロブチレン、メチレンシクロペンチレン、メチレンシクロヘキシレン、メチレンシクロヘプチレン、メチレンシクロオクチレン、メチレンシクロノニレン、メチレンシクロデシレン、エチレンシクロプロピレン、エチレンシクロブチレン、エチレンシクロペンチレン、エチレンシクロヘキシレン、エチレンシクロヘプチレン、エチレンシクロオクチレン、エチレンシクロノニレン、エチレンシクロデシレン、プロピレンシクロプロピレン、プロピレンシクロブチレン、プロピレンシクロペンチレン、プロピレンシクロヘキシレン、プロピレンシクロヘプチレン、プロピレンシクロオクチレン、プロピレンシクロノニレン、プロピレンシクロデシレン、ブチレンシクロプロピレン、ブチレンシクロブチレン、ブチレンシクロペンチレン、ブチレンシクロヘキシレン、ブチレンシクロヘプチレン、ブチレンシクロオクチレン、ブチレンシクロノニレン、ブチレンシクロデシレン、ペンチレンシクロプロピレン、ペンチレンシクロブチレン、ペンチレンシクロペンチレン、ペンチレンシクロヘキシレン、ペンチレンシク

ロヘプチレン、ペンチレンシクロオクチレン、ペンチレンシクロノニレン、ペンチレンシクロデシレン、が挙げられ、例えば、メチレン（1，4－シクロヘキシレン）－が挙げられ、－（シクロ C_{3-10} アルキレン）－（ C_{1-10} アルキレン）－として、シクロプロピレンメチレン、シクロブチレンメチレン、シクロペンチレンメチレン、シクロヘキシレンメチレン、シクロヘプチレンメチレン、シクロオクチレンメチレン、シクロノニレンメチレン、シクロデシレンメチレン、シクロプロピレンエチレン、シクロブチレンエチレン、シクロペンチレンエチレン、シクロヘキシレンエチレン、シクロヘプチレンエチレン、シクロオクチレンエチレン、シクロノニレンエチレン、シクロデシレンエチレン、シクロプロピレンプロピレン、シクロブチレンプロピレン、シクロペンチレンプロピレン、シクロヘキシレンプロピレン、シクロヘプチレンプロピレン、シクロオクチレンプロピレン、シクロノニレンプロピレン、シクロデシレンプロピレン、シクロプロピレンブチレン、シクロブチレンブチレン、シクロペンチレンブチレン、シクロヘキシレンブチレン、シクロヘプチレンブチレン、シクロオクチレンブチレン、シクロノニレンブチレン、シクロデシレンブチレン、シクロプロピレンペンチレン、シクロブチレンペンチレン、シクロペンチレンペンチレン、シクロヘキシレンペンチレン、シクロヘプチレンペンチレン、シクロオクチレンペンチレン、シクロノニレンペンチレン、シクロデシレンペンチレン、が挙げられる。

[0099] 本明細書において「 C_{2-4} アルキレン」とは、－（ C_mH_{2m} ）－構造を有する基であり、直鎖であっても分岐鎖であってもよく、例えば直鎖である。ここで m は2～4のいずれかの整数である。具体的には、エチレン、プロピレン、ブチレンが挙げられる。

[0100] 本発明の1つの態様において、式（1）の化合物は8員～9員ヘテロ環化合物である。本明細書において「8～9員ヘテロ環」とは、N又はOをヘテロ原子として含有し、8～9個の環構成原子からなる複素環基を意味する。本明細書において「8～9員ヘテロ環」は、1の三重結合を有してよい。

[0101] 本明細書において、化学式中の●（黒丸）は結合点を示す。

本明細書において、「により置換されていてもよい」、「により置換された」とは、置換基の数が明記（例：「1以上の」、「1～3個の」、「1または2個の」、「2個の」、「1個の」）されていない場合、それぞれ「1個の置換基により置換されていてもよい」、「1個の置換基により置換された」ことを意味する。例えば、「Aにより置換されていてもよいB」、「Aにより置換されたB」は、それぞれ、「1個のAにより置換されていてもよいB」、「1個のAにより置換されたB」を意味する。

[0102] 本明細書において「機能性分子」とは、特に制限はなく、それが結合することにより所望の機能を付与する分子である。所望の機能としては、薬理活性機能、標識機能、精製機能及び標的部位への送達機能が挙げられるが、これに制限はされない。本明細書における「機能性分子」には、薬理活性化化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグデリバリーシステムに用いる分子が含まれ、分子は、低分子化合物、中分子化合物、高分子化合物であり得る。

[0103] 本明細書において「薬理活性化化合物」とは、薬理活性を有する化合物を指す。薬理活性化化合物は、例えば、薬理活性を有する低分子化合物である。

本明細書において「標識化合物」とは色素、蛍光物質、タグ、放射性同位体で標識化された化合物を指す。そのうち、放射性同位体で標識化された化合物は、低分子、中分子化合物や抗体等が、放射性同位元素で標識化された化合物を指す。また、「標識化合物」は、色素、蛍光物質、タグ、放射性同位元素そのものであってもよい。当該放射性同位元素はD O T A等のキレート剤に配位結合していてもよい。

[0104] 本明細書において「ペプチド」とは、体内で有用な機能を示すペプチドであれば如何なるものでもよい。

本明細書において「タンパク質」とは、生体内に存在するタンパク質、体内にて有用な機能を示すタンパク質であれば如何なるものでもよく、例えば、薬理作用を有するタンパク質、分子認識作用を有するタンパク質等が挙げられる。具体的には、エクスポーチン／インポーチン・タンパク質、フェブ

ロネクチン、アビジン、抗体、酵素等を挙げることができる。

- [0105] 本明細書において「核酸」とは、ヌクレオチドの重合体であれば如何なるものでもよい。具体的には、DNA、RNAが挙げられる。本明細書において、核酸は修飾されていてもよく、例えば2'-メトキシエチル(MOE)修飾、RNAにおける2'-デオキシヌクレオシドの使用、ホスホロチオエートによるヌクレオシド間結合、ホスホジエステルによるヌクレオシド間結合、およびシトシンの5-メチルシトシンへの変換などの修飾が挙げられる。

本明細書において「機能性分子に結合するリンカー」とは、公知のリンカーであってよく、例えば、アミノ酸リンカー(ペプチドリンカー)、脂肪酸リンカー、核酸リンカー、糖鎖リンカーおよびその他の化学リンカー(アルキルリンカー、PEGリンカーなど)などが挙げられ、また、例えば、化学リンカーとペプチドリンカーなどの複合体であってもよい。

- [0106] 本明細書において「ドラッグデリバリーシステム」とは、有効成分を標的細胞内へ送達させるシステムを指し、例としては、水溶性の高分子、ナノサイズの微粒子(ナノスフィア)、リポソームやミセルなどのキャリアが挙げられる。ドラッグデリバリーシステム(DDS)分子には内部にさらに低分子化合物、タンパク質、ペプチド、核酸、ワクチン等の薬物が含まれていてもよい。

- [0107] 本明細書において「コンジュゲート体」とは、2つ以上の機能性分子を含む、機能性分子の複合体を指す。ここにおいて、「コンジュゲート体」に含まれる機能性分子は同一の機能性分子であってもよく、異なる種類の機能性分子の組合せであってもよい。

- [0108] 本明細書において、式(1)で表される化合物のR¹は、Fmoc基やBoc基などの一般的な保護基であってもよい。

本明細書において、式(1)で表される化合物のX⁴は、例えば、p-ニトロフェノキシ基などの脱離基であってもよい。

本明細書において、式(1)で表される化合物の塩としては、酸付加塩または塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩としては、例えば、塩酸塩、臭化水

素酸塩、ヨウ化水素酸塩、リン酸塩、ホスホン酸塩、硫酸塩等；メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、およびp-トルエンスルホン酸塩等のスルホン酸塩；酢酸塩、クエン酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、サリチル酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、安息香酸塩、マロン酸塩、グリコール酸塩、シュウ酸塩、グルクロン酸塩、アジピン酸塩、グルタル酸塩、ケトグルタル酸塩、および馬尿酸塩等のカルボン酸塩等が挙げられる。塩基付加塩としては、例えば、ナトリウム塩、およびカリウム塩等のアルカリ金属塩；マグネシウム塩、およびカルシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、アルキルアンモニウム塩、ジアルキルアンモニウム塩、トリアルキルアンモニウム塩、およびテトラアルキルアンモニウム塩等のアンモニウム塩；リシン塩、アルギニン塩、グリシン塩、バリン塩、トレオニン塩、セリン塩、プロリン塩およびアラニン塩等のアミノ酸塩等が含まれる。これらの塩は、当該化合物と、医薬品の製造に使用可能である酸または塩基とを接触させることにより製造される。

[0109] 本明細書において、式(1)で表される化合物またはその塩は、無水和物であってもよく、水和物等の溶媒和物を形成していてもよい。ここでいう「溶媒和物」とは、化合物分子と溶媒分子とが複合体を形成した固体のことをいい、例えば溶媒が水であれば水和物という。水和物以外の溶媒和物としては、アルコール（例えば、メタノール、エタノール、n-プロパノール）、又はN、N-ジメチルホルムアミド等を含む固体が挙げられる。

[0110] また式(1)で表される化合物およびその塩には、いくつかの互変異性体、例えばケト体及びエノール体、イミン体及びエナミン体、並びにそれらの混合物で存在することができる。互変異性体は、溶液中で、互変異性体の混合物として存在する。固体の形態では、通常、一方の互変異性体が優勢である。一方の互変異性体を記載することがあるが、本発明には、本発明の化合物の全ての互変異性体が含まれる。

[0111] 本発明には、式(1)で表される化合物の全ての立体異性体（例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー（シス及びトランス幾何異性体を含む））

、前記異性体のラセミ体、およびその他の混合物が含まれる。例えば、本発明の化合物は、1以上の不斉点を有していてもよく、本発明の化合物には、そのような化合物のラセミ混合物、ジアステレオマー混合物、およびエナンチオマーが含まれる。

[0112] 式(1)で表される化合物がフリー体として得られる場合、当該化合物が形成していてもよい塩またはそれらの水和物もしくは溶媒和物の状態に、常法に従って変換することができる。

[0113] また、式(1)で表される化合物が、当該化合物の塩、水和物、または溶媒和物として得られる場合、化合物のフリー体に常法に従って変換することができる。

式(1)で表される化合物を構成する元素はいかなる同位体であってもよく、本発明は同位元素を含む式(1)の化合物を包含する。当該化合物の同位体は、少なくとも1の原子が、原子番号(陽子数)が同じで、質量数(陽子と中性子の数の和)が異なる原子で置換されたものである。本発明の化合物に含まれる同位体の例としては、水素原子、炭素原子、窒素原子、酸素原子、硫黄原子、フッ素原子、塩素原子等があり、それぞれ、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{36}Cl 等が含まれる。特に、 ^3H や ^{14}C のような、放射能を発して崩壊する放射性同位体は、医薬品あるいは化合物の体内組織分布試験等の際、有用である。安定同位体は、崩壊を起こさず、存在量がほとんど変わらず、放射能もないため、安全に使用することができる。本発明の化合物の同位体は、合成で用いている試薬を、対応する同位体を含む試薬に置き換えることにより、常法に従って変換することができる。

[0114] 本明細書において、式(V)のLがハロゲン原子の場合、ハロゲン原子としては例えば塩素原子が挙げられる。式(V)で表される化合物の R^{10} としては、水素原子、メチル、アセチル、*t*-ブチルジメチルシリル、トリメチルシリル、ベンゼンスルホニル、メタンスルホニルなどが例示される。また、式(V)で表される化合物の X^{11}H が水酸基の場合において、前記水酸基は

、例えば、TMSやTBSなどのシリル基で保護されていてもよい。

[0115] 一つの側面において、式(1)で表される化合物は、アジド化合物との1, 3-双極子環化付加反応による、1, 2, 3-トリアゾール環の形成に使用することができる(実施例6)。すなわち、本発明は、式(1)で表される化合物を用いて1, 2, 3-トリアゾール環を形成することによる、機能性分子のコンジュゲート体を製造する方法を提供する。

[0116] 一つの態様において、該反応は溶媒中で行うことができ、使用可能な溶媒としては、ジメチルスルホキシド、アセトニトリル、N, N-ジメチルホルムアミドなどが挙げられる。該反応を実施するときの温度は、例えば、-78~50℃であり、具体的には0~25℃である。一つの態様において、式(1)で表される化合物は、反応可能なアジド基に対して、例えば0.1~10当量、具体的には0.5~1.5当量用いることができる。該反応の反応時間は当業者が適宜設定することができ、例えば10分~96時間、より具体的には30分~2時間である。

[0117] 一つの側面において、式(11)で表される基を有する第1の機能性分子は、式(111)で表されるアジド基を含む第2の機能性分子との1, 3-双極子環化付加反応による、1, 2, 3-トリアゾール環を含む式(IVa)または(IVb)で表されるリンカーにより機能性分子が連結されたコンジュゲート体の形成に使用することができる。一つの態様において、該反応は溶媒中で行うことができ、使用可能な溶媒としては、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリドン、アセトニトリル、メタノール、エタノール、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジクロロメタン、前記溶媒と水との混合溶媒などが挙げられ、例えばジメチルスルホキシドまたはN, N-ジメチルホルムアミドである。該反応を実施するときの温度は、例えば、0~100℃であり、具体的には0~25℃である。一つの態様において、第1の機能性分子は、反応可能な第2の機能性分子に対して、例えば0.5~1.5当量、具体的には0.95~1.1当量用いることができる。

- [0118] 一つの側面において、式（Ⅰ）で表される化合物は、式（Ⅴ）により表される化合物をニコラス反応（非特許文献１２）により閉環した後、ヘキサニトラトセリウム（ⅠⅤ）酸アンモニウムまたはテトラブチルアンモニウムフルオリドで処理することにより得ることができる。すなわち、本発明は、式（Ⅰ）で表される化合物の製造方法であって、式（Ⅴ）により表される化合物をニコラス反応により閉環した後、ヘキサニトラトセリウム（ⅠⅤ）酸アンモニウムまたはテトラブチルアンモニウムフルオリドで処理する工程を含む、上記方法を提供する。一つの態様において、前記ニコラス反応は溶媒中で行うことができ、使用可能な溶媒としては、ジクロロメタン、トルエン、テトラヒドロフランが挙げられ、例えばジクロロメタンである。一つの態様において、前記ニコラス反応に使用可能なルイス酸としては、三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体、ジエチルアルミニウムクロリド、エチルアルミニウムジクロリド、トリメチルシリルトリフラート、塩化亜鉛、銀トリフラートが挙げられ、前記ニコラス反応に使用可能なブレンステッド酸としては、p-トルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、トリフルオロメタンスルホン酸、メタンスルホン酸が挙げられる。前記ニコラス反応を実施するときの温度は、例えば、 $-78 \sim 50^{\circ}\text{C}$ であり、具体的には $0 \sim 25^{\circ}\text{C}$ である。前記ニコラス反応の反応時間は当業者が適宜設定することができ、例えば10分 $\sim$ 24時間、より具体的には30分 $\sim$ 2時間である。
- [0119] 一つの側面において、式（Ⅰ）で表される化合物のうち、非対称化合物は、立体的にかさ高いアジド化合物との1, 3-双極子環化付加反応により、1, 2, 3-トリアゾール環を単一の位置異性体として提供することができる（実施例7）。PDCのコンジュゲーションにおいて、式（Ⅰ）で表される化合物のうち、非対称化合物は、式（ⅠⅠⅠ）により表される基を有する第2の機能性分子、例えば、ペプチドや核酸などとの1, 3-双極子環化付加反応により、1, 2, 3-トリアゾール環を単一の位置異性体として提供することができる。よって、本発明の化合物は、製造の際の精製が容易であるという特徴を有する。

[0120] 一つの側面において、式（１）で表される化合物のうち、対称化合物は、アジドとアルキンの１，３－双極子環化付加反応において、複数の位置異性体を生じることなく、１，２，３－トリアゾール環を形成することができる。よって、本発明の化合物は、製造の際の精製が容易であるという特徴を有する。

[0121] 一つの側面において、アジド化合物、又は式（１１１）により表される基を有する第２の機能性分子は、特に限定されるものではなく、合成したものをを用いてもよく、アジドとアルキンの１，３－双極子環化付加反応用の試薬として市販されているものをを用いてもよい。また、上記機能性分子にアジド基を導入したものをを用いてもよい。

[0122] 〔実施例〕

以下に実施例としての合成例を示し、本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

[0123] 本明細書において、化合物や試薬等を略号で表示する場合、各表示は、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものである。

[0124] なお、合成例中の略語表記の意味は以下のとおりである。

t e r t : ターシャリー；

t B u : ターシャリーブチル；

A c : アセチル；

B o c : ターシャリーブトキシカルボニル；

F m o c : ９－フルオレニルメチルオキシカルボニル；

C b z : ベンジルオキシカルボニル；

T M S : トリメチルシリル；

T B S : ターシャリーブチルジメチルシリル；

T I P S : トリイソプロピルシリル；

t B u S O ₂ : ターシャリーブチルスルホニル；

nBuLi : ノルマルブチルリチウム ;
DMF : N, N-ジメチルホルムアミド ;
DMSO : ジメチルスルホキシド ;
NMP : N-メチルピロリドン ;
DIPEA : ジイソプロピルエチルアミン ;
EtOAc または AcOEt : 酢酸エチル ;
Na₂SO₄ : 硫酸ナトリウム ;
DCM : ジクロロメタン ;
THF : テトラヒドロフラン ;
TBAF : テトラブチルアンモニウムフルオリド ;
BF₃ · OEt₂ : 三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体 ;
Et₂AlCl : ジエチルアルミニウムクロリド ;
EtAlCl₂ : エチルアルミニウムジクロリド ;
Ms : メシル ;
Ns : ノシル ;
mCPBA : メタクロロ過安息香酸 ;
MeOH : メタノール ;
CAN : ヘキサニトラトセリウム (IV) 酸アンモニウム ;
KOH : 水酸化カリウム ;
LHMDS : リチウムビス (トリメチルシリル) アミド ;
CO : 一酸化炭素 ;
H₂O : 水 ;
TFA : トリフルオロ酢酸 ;
TsOH : p-トルエンスルホン酸 ;
MsOH : メタンスルホン酸 ;
Co₂ (CO)₈ : ニコバルトオクタカルボニル ;
HCl : 塩酸 ;
mL : ミリリットル (単位) ;

M : モーラー (単位 : mol/L) ;

mM : ミリモーラー (単位) ;

mm : ミリメートル (単位) ;

nm : ナノメートル (単位) ;

μm : マイクロメートル (単位) ;

Å : オングストローム (単位) ;

min : 分 (単位) ;

MS : 質量分析法 ;

mmol : ミリモル (単位) ;

g : グラム (単位) ;

mg : ミリグラム (単位) ;

NHシリカゲル : アミノプロピル系シリカゲル。

[0125] 以下の合成例のプロトン核磁気共鳴 ($^1\text{H-NMR}$) は、特に記述が無い場合は、日本電子 (JEOL) 社製 JNM-EC P 300、または日本電子 (JEOL) 社製 JNM-EC X 300、またはブルカー (Bruker) 社製 Ascend TM 500 を用いて重クロロホルムまたは重ジメチルスルホキシド溶媒中で測定し、化学シフトは、テトラメチルシランを内部標準 (0.0 ppm) としたときの δ 値 (ppm) で示した。

[0126] NMR スペクトルの記載において、「s」はシングレット、「d」はダブルレット、「t」はトリプレット、「q」はカルテット、「dd」はダブルレットオブダブルレット、「dt」はダブルレットオブトリプレット、「m」はマルチプレット、「br」はブロード、「J」はカップリング定数、「Hz」はヘルツ、「 CDCl_3 」は重クロロホルム、「 $\text{DMSO-}d_6$ 」は重ジメチルスルホキシドを意味する。

[0127] 高速液体クロマトグラフィー/質量分析は、特に記載が無い場合は、Waters 社製 ACQUITY UPLC H-Class/QDa、Waters 社製 ACQUITY UPLC H-Class/SQD2、または Shimadzu 社製 LC-20AD/Triple ToF 5600 のい

ずれかを用いて測定した。

[0128] 高速液体クロマトグラフィー／質量分析の記載において、ESI⁺はエレクトロスプレーイオン化法のポジティブモードであり、(M+H)⁺はプロトン付加イオンを意味する。(M-MeOH+H)⁺は、プロトン付加とメタノール脱離によるイオンを意味する。(M-C₄H₈SO₂+H)⁺は、プロトン付加とターシャリーブチルスルホニル基脱離によるイオンを意味する。(M-C₅H₈O₂+H)⁺は、プロトン付加とターシャリーブトキシカルボニル基脱離によるイオンを意味する。(M-C₄H₈+H)⁺は、プロトン付加とターシャリーブチル基脱離によるイオンを意味する。(M-H₂O+H)⁺は、プロトン付加と水の脱離によるイオンを意味する。

[0129] 高速液体クロマトグラフィー／質量分析の記載において、ESI⁻はエレクトロスプレーイオン化法のネガティブモードであり、M-Hはプロトン脱離によるイオンを意味する。

[0130] 分析条件A

カラム：Kinetex（登録商標）1.7 μm EVO C18 100 Å, 2.6 μm, 2.1 × 50 mm,

移動相A：0.025% TFA in H₂O

移動相B：0.025% TFA in CH₃CN

カラム温度：60℃

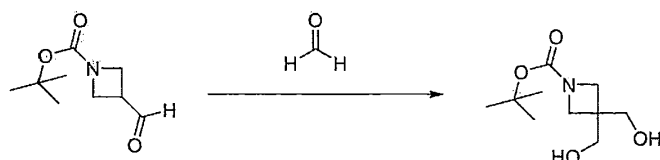
グラジエント（%B）：2.10分間かけて5-95%，その後2.10分から2.84分まで95%，流量；0.6 mL/min

検出：UV 254 nm。

[0131] [実施例1-1] tert-ブチル 3,3-ビス（ヒドロキシメチル）アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0132]

[化35]



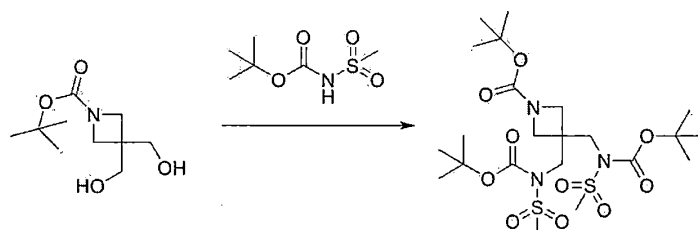
[0133] MeOH (105 mL) に 3-ホルミルアゼチジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (3.88 g, 20.95 mmol, CAS: 177947-96-5) を溶解させ、KOH (4.88 g, 87 mmol) を溶解させた H₂O (50 mL)、37%ホルムアルデヒド水溶液 (17.2 mL, 230 mmol) を加え室温で150分間攪拌したのち、40℃で24時間攪拌した。反応液からMeOHを留去し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相DCM、3%~15%MeOH勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで白色粉体の標題化合物 (3.71 g, 17.08 mmol) を得た。

[0134] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 3.89 (s, 4H), 3.69 (s, 4H), 1.44 (s, 9H)。

〔実施例1-2〕 tert-ブチル 3,3-ビス ({N- [(tert-ブトキシ) カルボニル] メタンスルホンアミド } メチル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0135]

[化36]



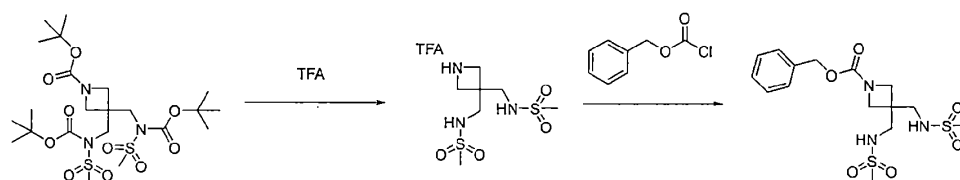
[0136] DCM (9.2 mL) に実施例 1-1 で得られた *tert*-ブチル 3,3-ビス(ヒドロキシメチル)アゼチジン-1-カルボキシレート (400 mg, 1.84 mmol) を溶解させ、氷冷下において *tert*-ブチル *N*-メタンスルホニルカルバメート (755 mg, 3.87 mmol, CAS: 147751-16-4)、トリフェニルホスフィン (1062 mg, 4.05 mmol)、アゾジカルボン酸ジイソプロピル (2.42 mL, 4.60 mmol, 1.9 M トルエン溶液、東京化成工業) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を Isolera (Biotage 社; Sfaer H C Duo; 移動相 ノルマルヘキサン、0%~100% 酢酸エチル 勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粘体の標題化合物 (740 mg, 1.29 mmol) を得た。

[0137] 分析条件 A: 保持時間 = 2.00 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 572.4$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 571.2$ 。

[実施例 1-3] ベンジル 3,3-ビス(メタンスルホンアミドメチル)アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0138]

[化37]



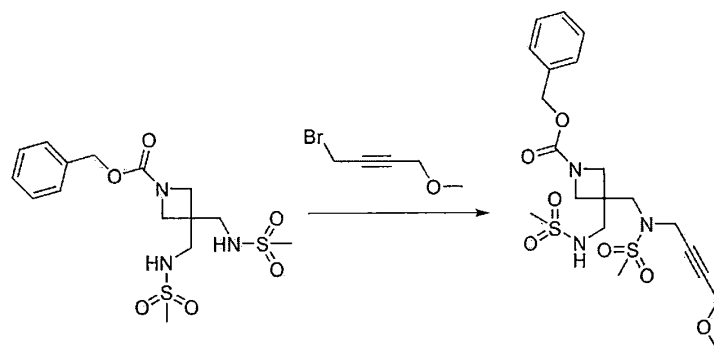
[0139] DCM (6.4 mL) に実施例 1-2 で得られた tert-ブチル 3,3-ビス ({N- [(tert-ブトキシ) カルボニル] メタンスルホンアミド} メチル) アゼチジン-1-カルボキシレート (740 mg, 1.29 mmol) を溶解させ、TFA (6.4 mL) を加え室温で 2 時間攪拌した。反応液にトルエンを加え、濃縮し、減圧下乾燥した。750 mg の残渣のうち 400 mg を 1,4-ジオキサン/水 (3.08 mL/0.34 mL) に溶解させ、氷冷下炭酸ナトリウム (218 mg, 2.06 mmol) とクロロギ酸ベンジル (140 mg, 0.822 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、DCM/MeOH で抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、0%~100% 酢酸エチル勾配、続いて、移動相 DCM、20% MeOH 勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粘体の標題化合物 (346 mg, 0.700 mmol) を得た。

[0140] 分析条件 A : 保持時間 = 1.33 分 ; ESI-MS (+) 観測値 m/z = 406.3 (M+H)⁺ 理論値 m/z = 405.1。

[実施例 1-4] ベンジル 3- (メタンスルホンアミドメチル) - { [N- (4-メトキシブト-2-イン-1-イル) メタンスルホンアミド] メ

チル} アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0141] [化38]

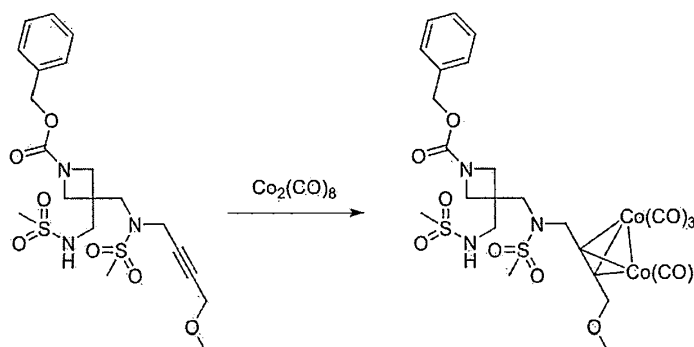


[0142] THF (1.9 mL) と DMF (0.47 mL) の混合溶媒に実施例 1-3 で得られたベンジル 3,3-ビス(メタンスルホンアミドメチル)アゼチジン-1-カルボキシレート (190 mg, 0.469 mmol) を溶解させ、氷冷下、水素化ナトリウム (18.7 mg, 0.469 mmol, 60%, 流動パラフィンに分散) を加え、そのまま 10 分間攪拌した。反応液に 1-ブロモ-4-メトキシ-2-ブチン (76 mg, 0.469 mmol, CAS: 693-26-5, 文献 *Journal of Organic Chemistry* 2005, 70, 4059-4063 に記載の方法にて合成した。) を加え、氷冷下 1 時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biota社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、0% ~ 70% 酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粘体の標題化合物 (70 mg, 0.144 mmol) を得た。

[0143] 分析条件 A: 保持時間 = 1.62 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 488.3$ (M+H)⁺ 理論値 $m/z = 487.1$ 。

[実施例 1-5] ベンジル 3-(メタンスルホンアミドメチル)-3-
 [(N-{[4-(メトキシメチル)-1,2-ジコバルタトリシクロ[1
 . 1. 0. 0^{2,4}]ブタン-3-イル]メチル}メタンスルホンアミド)メチ
 ル]アゼチジン-1-カルボキシレート;ヘキサキス(メタニジリジジオキ
 シダニウム)の合成

[0144] [化39]



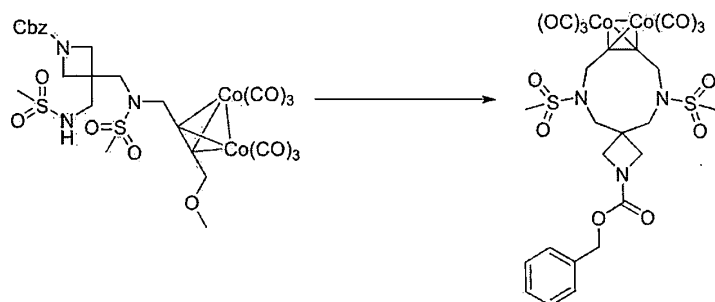
[0145] DCM (0.68 mL) に実施例 1-4 で得られたベンジル 3-(メ
 タンスルホンアミドメチル)-{[N-(4-メトキシブト-2-イン-1-
 イル)メタンスルホンアミド]メチル}アゼチジン-1-カルボキシレート
 (66 mg, 0.135 mmol) を溶解させ、Co₂(CO)₈ (51 mg
 , 0.149 mmol) を加え、室温で2時間攪拌した。反応液を Isol
 era (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘ
 キサン、0%~70%酢酸エチル勾配)を用いたフラッシュカラムクロマト
 グラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで茶色粉体の
 標題化合物 (86 mg, 0.111 mmol) を得た。

[0146] 分析条件 A: 保持時間=2.10 分;ESI-MS (+) 観測値 m/z =
 742.2 (M-MeOH+H)⁺理論値 m/z = 773.0。

[実施例 1-6] ベンジル 3', 7'-ジメタンスルホニル-3', 7'
 -ジアザ-10', 11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 5'-
 テトラシクロ [7. 2. 0. 0^{1,10}. 0^{9,11}]ウンデカン]-1-カルボキ

シレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）の合成

[0147] [化40]



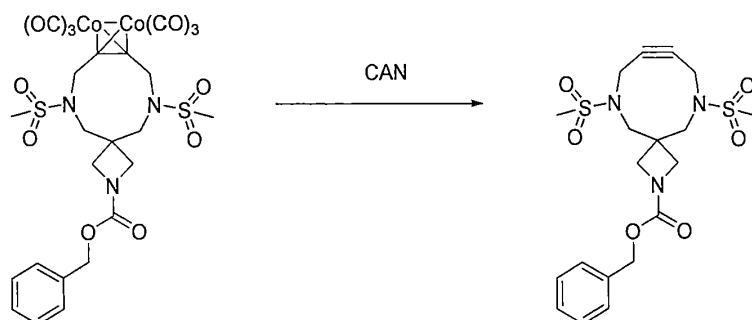
[0148] DCM (9.8 mL) に実施例 1-5 で得られたベンジル 3-（メタンスルホンアミドメチル）-3-〔（N-〔4-（メトキシメチル）-1,2-ジコバルタトリシクロ〔1.1.0.0^{2,4}〕ブタン-3-イル〕メチル〕メタンスルホンアミド）メチル〕アゼチジン-1-カルボキシレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）（76 mg, 0.098 mmol）を溶解させ、三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体（0.037 mL, 0.295 mmol）を加え、室温で1時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣を Isolera（Biotage 社；Sfaer HC Duo；移動相ノルマルヘキサン、20%～80%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで茶色粉体の標題化合物（52 mg, 0.070 mmol）を得た。

[0149] 分析条件 A：保持時間＝2.04 分；ESI-MS（+）観測値 $m/z = 742.2$ （ $M+H$ ）⁺理論値 $m/z = 741.0$ 。

〔実施例 1-7〕ベンジル 6,11-ジメタンスルホニル-2,6,11-トリアザスピロ〔3.8〕ドデシー-8-イン-2-カルボキシレートの

合成

[0150] [化41]



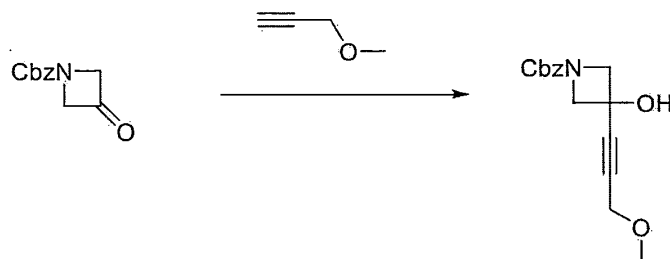
[0151] ジエチルエーテル（４．３ｍＬ）に実施例１－６で得られたベンジル ３’， ７’－ジメタンスルホニル－３’， ７’－ジアザー１０’， １１’－ジコバルタスピロ〔アゼチジン－３， ５’－テトラシクロ〔７．２．０．０^{１， １}， １^０， ０^{９， １１}〕ウンデカン〕－１－カルボキシレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）（３２ｍｇ， ０．０４３ｍｍｏｌ）を懸濁させ、氷冷下ワコーシル（登録商標）Ｃ－２００（１ｇ， ＣＡＳ：６３２３１－６７－４）、ＣＡＮ（２３７ｍｇ， ０．４３２ｍｍｏｌ）を加え、室温で１時間攪拌した。反応液をＮＨシリカゲルに通すことで不溶物を濾別し、目的物を酢酸エチルで溶出させた。得られた有機層を減圧下濃縮した。得られた残渣をＩｓｏｌｅｒａ（Ｂｉｏｔａｇｅ社；Ｓｆａｅｒ ＨＣ Ｄｕｏ；移動相１００％酢酸エチル）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粘体の標題化合物（１０．１ｍｇ， ０．０２２ｍｍｏｌ）を得た。

[0152] 分析条件Ａ：保持時間＝１．５３分；ＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値 m/z ＝４５６．３（ $M+H$ ）⁺理論値 m/z ＝４５５．１。

¹H－ＮＭＲ（５００ＭＨｚ， $CDCl_3$ ） δ ７．３８－７．２９（ｍ， ５Ｈ）， ５．１０（ｓ， ２Ｈ）， ４．０３（ｓ， ４Ｈ）， ３．９８（ｓ， ４Ｈ）， ３．６３（ｓ， ４Ｈ）， ２．８９（ｓ， ６Ｈ）。

[0153] [実施例 2-1] ベンジル 3-ヒドロキシ-3-(3-メトキシプロポ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0154] [化42]

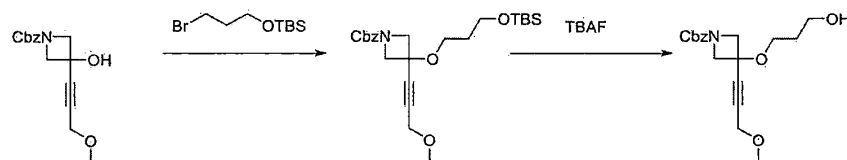


[0155] THF (122 mL) にメチルプロパルギルエーテル (2.05 g, 29.2 mmol, CAS: 627-41-8) を溶解し、2M nBuLi (13.4 mL, 26.8 mmol, シクロヘキサン溶液) を-78℃で加え20分攪拌した。その後、0℃まで昇温し15分攪拌した。-78℃に再び冷却した後、ベンジル 3-オキソアゼチジン-1-カルボキシレート (5.00 g, 24.36 mmol, CAS: 105258-93-3) のTHF溶液を加え、-78℃で1時間攪拌した。その後、0℃まで昇温して30分攪拌した後、飽和食塩水で反応を停止し水層を酢酸エチルで抽出、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera (Biotage社; Sfaer HCDuo; 移動相ノルマルヘキサン、10%~70%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物 (5.30 g, 19.3 mmol) を得た。

[0156] 分析条件A: 保持時間=1.54分; ESI-MS (+) 観測値 m/z =276.2 (M+H)⁺理論値 m/z =275.1。

[実施例 2-2] ベンジル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-(3-メトキシプロポ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0157] [化43]



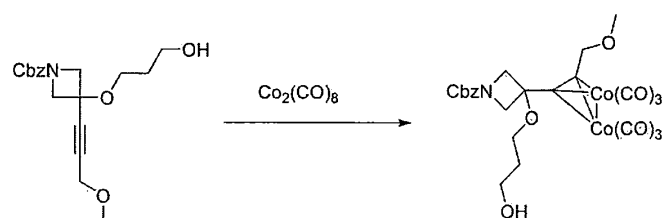
[0158] THF (18 mL) に実施例 2-1 で得られたベンジル 3-ヒドロキシ-3-(3-メトキシプロポ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレート (3.00 g, 10.9 mmol) を溶解し、水素化ナトリウム (0.654 g, 16.4 mmol, 60%, 流動パラフィンに分散) を 0℃ で加え 20 分攪拌した。その後、0℃ にて (3-ブロモプロポキシ) (tert-ブチル) ジメチルシラン (4.14 g, 16.4 mmol, CAS: 89031-84-5) の DMF 溶液 (18 mL) を加え、室温で終夜攪拌した。その後、飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止し水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣を THF/水 (9/1) で溶解した後、TBAF · 3H₂O (10.28 g, 32.7 mmol) を加えて終夜攪拌した。反応液を酢酸エチルで溶解し、水層を酢酸エチルで抽出、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ジクロロメタン、1%~40%メタノール勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、薄黄色粘体の標題化合物 (3.00 g, 9.00 mmol) を得た。

[0159] 分析条件 A: 保持時間 = 1.54 分; ESI-MS (+) 観測値 m/z = 334.4 (M+H)⁺ 理論値 m/z = 333.2。

[実施例 2-3] ベンジル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-[4-(メトキシメチル)-1,2-ジコバルタトリシクロ [1.1.0.0^{2,4}] ブタン-3-イル] アゼチジン-1-カルボキシレート; ヘキサキス (

メタニジリジンオキシダニウム)の合成

[0160] [化44]



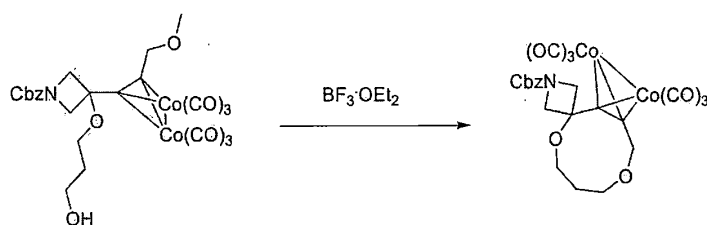
[0161] ジクロロメタン (9 mL) に実施例 2-2 で得られたベンジル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレート (0.30 g, 0.90 mmol) を溶解し、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (0.40 g, 1.17 mmol) を室温に加え 2 時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isoterra (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、20%~70%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の標題化合物 (0.49 g, 0.79 mmol) を得た。

[0162] 分析条件 A : 保持時間 = 2.16 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 588.2$ ($\text{M} - \text{MeOH} + \text{H}$)⁺ 理論値 $m/z = 619.0$ 。

[実施例 2-4] ベンジル 3', 7'-ジオキサ-10', 11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 2'-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,1}.0^{9,11}] ウンデカン] -1-カルボキシレート; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) の合成

[0163]

[化45]



[0164] ジクロロメタン (149 mL) に実施例 2-3 で得られたベンジル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-[4-(メトキシメチル)-1,2-ジコバルタトリシクロ[1.1.0.0^{2,4}]ブタン-3-イル]アゼチジン-1-カルボキシレート; ヘキサキス(メタニジリジンオキシダニウム) (0.46 g, 0.74 mmol) を溶解し、室温で三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体 (0.14 mL, 1.11 mmol) を加えて 30 分攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えて反応を停止し、水層をジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、10%~40%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の標題化合物 (0.174 g, 0.296 mmol) を得た。

[0165] 分析条件 A: 保持時間 = 2.25 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 588.2$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 587.0$ 。

[実施例 2-5] ベンジル 5,9-ジオキサー-2-アザスピロ[3.8]ドデシー-11-イン-2-カルボキシレートの合成

[0166] [化46]



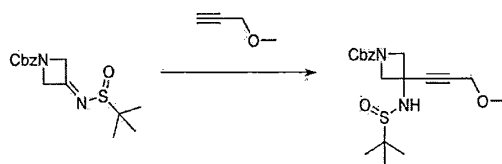
[0167] (アセトン／水＝１５／１)の混合溶媒(１．５ｍＬ)に実施例２－４で得られたベンジル ３′，７′－ジオキサ－１０′，１１′－ジコバルタスピロ[アゼチジン－３，２′－テトラシクロ[７．２．０．０^{１，１}．０^{９，１}]]ウンデカン]－１－カルボキシレート；ヘキサキス(メタニジリジンオキシダニウム)(０．０２７ｇ，０．０４６ｍｍｏｌ)を溶解し、ＴＢＡＦ・３Ｈ₂Ｏ(０．２１８ｇ，０．６９０ｍｍｏｌ)を０℃で加えた。室温で２時間攪拌後、反応液に水を加えて水層を酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage社；Sfaer HCDuo；移動相ノルマルヘキサン、１５％～５０％酢酸エチル勾配)を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物(０．０１１ｇ，０．０３６ｍｍｏｌ)を得た。

[0168] 分析条件Ａ：保持時間＝１．７５分；ＥＳＩ－ＭＳ(+)観測値 m/z ＝３０２．２(M+H)⁺理論値 m/z ＝３０１．１。

¹H-NMR(５００MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.28(m, 5H), 5.10(s, 2H), 4.15(s, 2H), 4.15-4.06(m, 4H), 3.88-3.80(m, 4H), 1.76-1.68(m, 2H)。

[0169] [実施例３－１] ベンジル ３－(３－メトキシプロプ－１－イン－１－イル)－３－[(２－メチルプロパン－２－スルフィニル)アミノ]アゼチジン－１－カルボキシレートの合成

[0170] [化47]

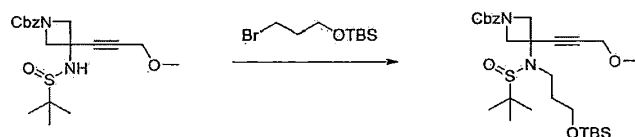


[0171] THF (65 mL) にメチルプロパルギルエーテル (0.59 g, 8.43 mmol, CAS: 627-41-8) を溶解し、2M nBuLi (3.9 mL, 7.78 mmol, シクロヘキサン溶液) を-78℃で加え、0℃に昇温し10分攪拌した。反応液にベンジル 3-[(2-メチルプロパン-2-スルフィニル) イミノ] アゼチジン-1-カルボキシレート (2.00 g, 6.49 mmol, CAS: 1638764-74-5, US2020/0038378A1 に記載の方法にて合成した) のTHF溶液を加え0℃で20分攪拌し、飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止した。水層を酢酸エチルで抽出した後、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera (Biota社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、50%~100%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、黄色粘体の標題化合物 (0.96 g, 2.54 mmol) を得た。

[0172] 分析条件A: 保持時間=1.72分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 379.3$ (M+H)⁺ 理論値 $m/z = 378.2$ 。

[実施例3-2] ベンジル 3-({3-[(tert-ブチルジメチルシリル) オキシ] プロピル} (2-メチルプロパン-2-スルフィニル) アミノ)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0173] [化48]



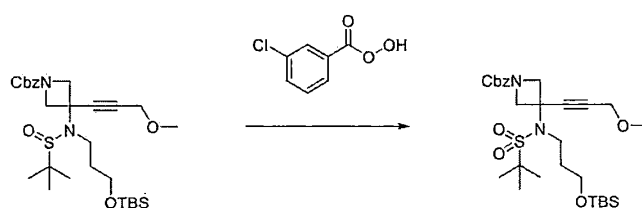
[0174] THF (2.6 mL) に水素化ナトリウム (42.3 mg, 60%, 流動パラフィンに分散) を0℃で懸濁した後、実施例3-1で得られたベンジル

3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル)-3-[(2-メチルプロパン-2-スルフィニル)アミノ]アゼチジン-1-カルボキシレート (0.200 g, 0.528 mmol) を 0℃ で加え 10 分攪拌した。反応液に (3-ブロモプロポキシ) (tert-ブチル) ジメチルシラン (0.294 g, 1.16 mmol, CAS: 89031-84-5) の DMF 溶液 (2.6 mL) を加え室温で終夜攪拌した。反応液を 0℃ に冷却した後、飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止し、水層を酢酸エチルで抽出した後、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、20%~100% 酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物 (0.080 g, 0.145 mmol) を得た。

[0175] 分析条件 A: 保持時間 = 2.37 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 551.4$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 550.3$ 。

[実施例 3-3] ベンジル 3-(N-{3-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]プロピル}-2-メチルプロパン-2-スルホンアミド)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル)アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0176] [化49]



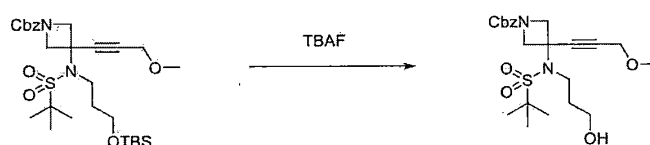
[0177] ジクロロメタン (1.5 mL) に実施例 3-2 で得られたベンジル 3-({3-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]プロピル} (2-メチルプロパン-2-スルフィニル)アミノ)-3-(3-メトキシプロプ

ー1ーインー1ーイル) アゼチジンー1ーカルボキシレート (0.080 g, 0.145 mmol) を溶解した後、30%含水mCPBA (54 mg, 0.218 mmol, CAS: 937-14-4) を室温に加え2時間攪拌した。反応液を0℃に冷却した後、飽和重曹水溶液で反応を停止し、水層を酢酸エチルで抽出した後、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、20%~50%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物 (0.068 g, 0.12 mmol) を得た。

[0178] 分析条件A: 保持時間=2.45分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 447.4$ ($M - C_4H_8SO_2 + H$)⁺ 理論値 $m/z = 566.3$ 。

[実施例3-4] ベンジル 3-[N-(3-ヒドロキシプロピル)-2-メチルプロパン-2-スルホンアミド]-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0179] [化50]



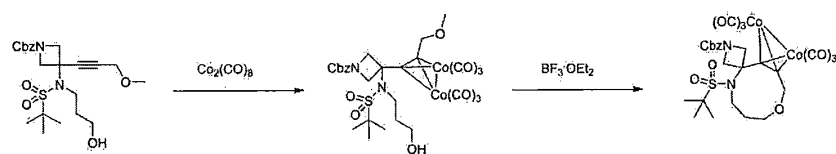
[0180] THF (1.5 mL) に実施例3-3で得られたベンジル 3-(N-{3-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]プロピル}-2-メチルプロパン-2-スルホンアミド)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレート (0.068 g, 0.12 mmol) を溶解した後、1M TBAF (0.18 mL, 0.18 mmol, THF 溶液) を室温に加え3時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得

られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、30%~100%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物 (0.053 g, 0.117 mmol) を得た。

[0181] 分析条件 A: 保持時間 = 1.71 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 333.3$ ($M - C_4H_8SO_2 + H$)⁺ 理論値 $m/z = 452.2$ 。

【実施例 3-5】 ベンジル 3' - (2-メチルプロパン-2-スルホニル) - 7' - オキサ-3' - アザ-10', 11' - ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 2' - テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン] - 1 - カルボキシレート; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) の合成

[0182] [化51]



[0183] ジクロロメタン (1.1 mL) に実施例 3-4 で得られたベンジル 3 - [N - (3-ヒドロキシプロピル) - 2-メチルプロパン-2-スルホンアミド] - 3 - (3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1 - カルボキシレート (0.053 g, 0.117 mmol) を溶解し、Co₂(CO)₈ (0.060 g, 0.176 mmol) を室温に加え3時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、30%~80%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体のベンジル 3 - [N - (3-ヒドロキシプロピル) - 2-メチルプロパン-2-スルホンアミド] - 3 - [4 - (メトキシメチル) - 1, 2-ジコバルタトリシクロ [1.1.0.0^{2,4}] ブタン-3-イル]

アゼチジン-1-カルボキシレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）（0.082 g, 0.111 mmol）を得た。ジクロロメタン（5 mL）に、前記で得られたベンジル 3-[N-（3-ヒドロキシプロピル）-2-メチルプロパン-2-スルホンアミド]-3-[4-（メトキシメチル）-1,2-ジコバルタトリシクロ[1.1.0.0^{2,4}]ブタン-3-イル]アゼチジン-1-カルボキシレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）（0.020 g, 0.027 mmol）を溶解し、室温で三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体（0.005 mL, 0.041 mmol）を加えて15分攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えて反応を停止し、水層をジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera（Biotage社；Sfaer HC Duo；移動相ノルマルヘキサン、20%～50%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の標題化合物（0.013 g, 0.027 mmol）を得た。

[0184] 分析条件A：保持時間＝2.29分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝707.1（M+H）⁺理論値 m/z ＝706.0。

【実施例3-6】ベンジル 5-（2-メチルプロパン-2-スルホニル）-9-オキサ-2,5-ジアザスピロ[3.8]ドデシ-11-イン-2-カルボキシレートの合成

[0185] [化52]



[0186] （アセトン／水＝15／1）の混合溶媒（0.36 mL）に実施例3-5で得られたベンジル 3'-（2-メチルプロパン-2-スルホニル）-7

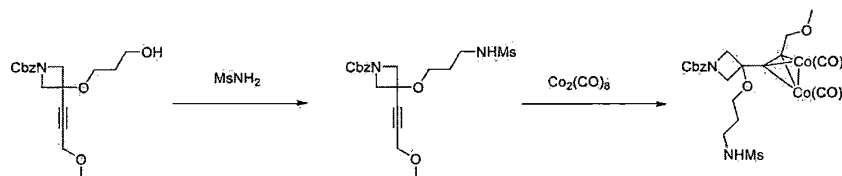
’-オキサー-3’-アザ-10’，11’-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3，2’-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン]-1-カルボキシレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）（0.013 g，0.018 mmol）を溶解し、TBAF・3H₂O（0.115 g，0.365 mmol）を室温に加えた。室温で3時間攪拌後、反応液に水を加えて水層を酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera（Biotage社；Sfaer HC Duo；移動相ノルマルヘキサン、20%～70%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、白色粉末の標題化合物（0.005 g，0.012 mmol）を得た。

[0187] 分析条件A：保持時間＝1.84分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝421.3（M+H）⁺理論値 m/z ＝420.2。

¹H-NMR（500MHz，CDCl₃） δ 7.39–7.30（m，5H），5.11（s，2H），4.52–4.46（m，2H），4.27–4.19（m，4H），3.90–3.84（m，2H），3.53–3.45（m，2H），2.11–2.03（m，2H），1.41（s，9H）。

[0188] [実施例4-1] ベンジル 3-（3-メタンスルホンアミドプロポキシ）-3-〔4-（メトキシメチル）-1，2-ジコバルタトリシクロ [1.0.0^{2,4}] ブタン-3-イル] アゼチジン-1-カルボキシレート；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）の合成

[0189] [化53]

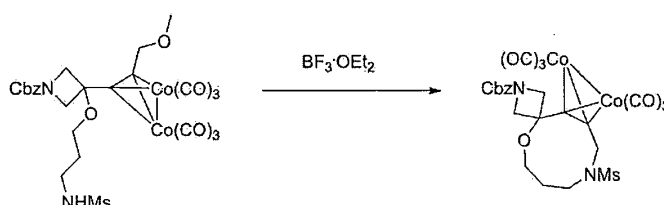


[0190] トルエン (1.5 mL) に実施例 2-2 で得られたベンジル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル)アゼチジン-1-カルボキシレート (0.12 g, 0.360 mmol) を溶解し、 MsNH_2 (0.103 g, 1.08 mmol)、シアノメチレントリブチルホスホラン (0.261 g, 1.08 mmol CAS: 157141-27-0) を加え、室温で終夜攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮し、得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、40%~80%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、赤色粘体の中間体を得た。ジクロロメタン (1.8 mL) に、前記の中間体を溶解し、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (0.148 g, 0.433 mmol) を室温で加え 30 分攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、30%~50%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の標題化合物 (0.196 g, 0.281 mmol) を得た。

[0191] 分析条件 A: 保持時間 = 2.27 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 697.1$ ($\text{M} + \text{H}$)⁺ 理論値 $m/z = 696.0$ 。

[実施例 4-2] ベンジル 7'-メタンスルホニル-3'-オキサ-7'-アザ-10', 11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 2'-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン]-1-カルボキシレート; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) の合成

[0192] [化54]

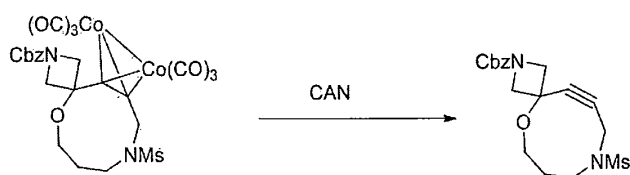


[0193] 実施例4-1で得られたベンジル 3-(3-メタンスルホンアミドプロポキシ)-3-[4-(メトキシメチル)-1,2-ジコバルタトリシクロ[1.1.0.0^{2,4}]ブタン-3-イル]アゼチジン-1-カルボキシレート;ヘキサキス(メタニジリジンオキシダニウム)(0.100g, 0.144mmol)をジクロロメタン(57mL)に溶解し、0℃で三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体(0.152mL, 1.21mmol)を加えて1時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えて反応を停止し、水層をジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera(Biotage社;Sfaer HC Duo;移動相ノルマルヘキサン、20%~60%酢酸エチル勾配)を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、赤褐色粘体の標題化合物(0.093g, 0.140mmol)を得た。

[0194] 分析条件A:保持時間=2.19分;ESI-MS(+)観測値 m/z =665.1(M+H)⁺理論値 m/z =664.0。

[実施例4-3]ベンジル 9-メタンスルホニル-5-オキサー-2,9-ジアザスピロ[3.8]ドデシ-11-イン-2-カルボキシレートの合成

[0195] [化55]



[0196] ジエチルエーテル(30mL)に実施例4-2で得られたベンジル 7'-メタンスルホニル-3'-オキサー-7'-アザ-10',11'-ジコバルタスピロ[アゼチジン-3,2'-テトラシクロ[7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}]ウンデカン]-1-カルボキシレート;ヘキサキス(メタニジリジ

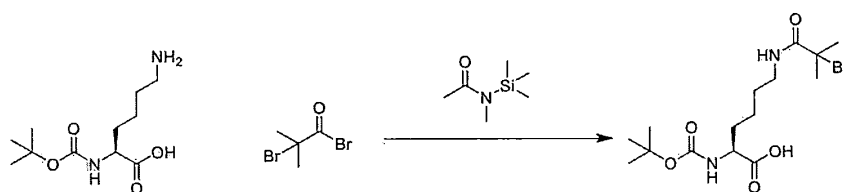
ンオキシダニウム) (0.200 g, 0.301 mmol) を溶解し、ワコーシル (登録商標) C-200 (5 g) を加え、続いてCAN (1.65 g, 3.01 mmol) を0℃で加えた。0℃で1時間攪拌後、室温に昇温し1時間攪拌した。反応終了後、反応液をNHシリカゲルに通すことで不溶物を濾別した後、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、30%~80%酢酸エチル勾配、続いて、移動相ジクロロメタン、1%~20%メタノール勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、薄黄色固体の標題化合物 (0.010 g, 0.036 mmol) を得た。

[0197] 分析条件A: 保持時間=1.71分; ESI-MS (+) 観測値 m/z =379.3 (M+H)⁺理論値 m/z =378.1。

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.29 (m, 5H), 5.10 (s, 2H), 4.14-4.03 (m, 4H), 3.96 (s, 2H), 3.91-3.84 (m, 2H), 3.46-3.38 (m, 2H), 2.84 (s, 3H), 1.95-1.84 (m, 2H)。

[0198] [実施例5-1] (2S)-6-(2-ブromo-2-メチルプロパンアミド)-2-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}ヘキサン酸の合成

[0199] [化56]



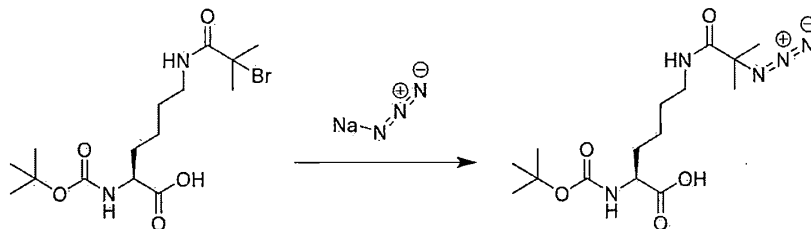
[0200] THF (11.6 mL) にN-Boc-L-リシン (1.13 g, 4.57 mmol, CAS: 13734-28-6) を懸濁し、N-メチル-N-トリメチルシリルアセトアミド (1.53 mL, 9.57 mmol) を加え

、50℃で1時間攪拌した。反応液を0℃に氷冷し、DIPEA（0.89 mL, 5.22 mmol）、2-ブロモイソブチリルブロミド（1.00 g, 4.35 mmol, CAS: 20769-85-1）を加え、1時間で攪拌した。10%炭酸ナトリウム水溶液で反応を停止し、水層をヘプタンで2回洗浄した。1M塩酸水溶液を加えることで水層を酸性とし、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮することで白色粉末の標題化合物（1.64 g, 4.15 mmol）を得た。

[0201] 分析条件A：保持時間＝1.62分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝295.1（ $M-C_5H_8O_2+H$ ）⁺理論値 m/z ＝394.1。

〔実施例5-2〕（2S）-6-（2-アジド-2-メチルプロパンアミド）-2-〔（tert-ブトキシ）カルボニル〕アミノ〕ヘキサン酸の合成

[0202] [化57]



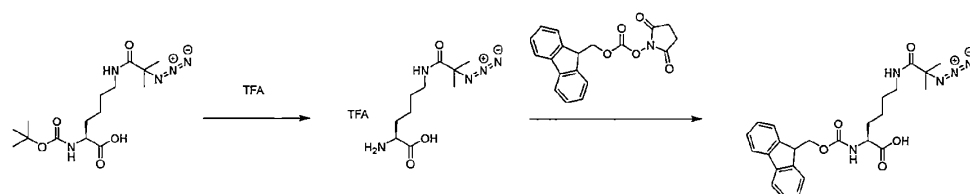
[0203] DMSO（1.7 mL）に実施例5-1で得られた（2S）-6-（2-ブロモ-2-メチルプロパンアミド）-2-〔（tert-ブトキシ）カルボニル〕アミノ〕ヘキサン酸（200 mg, 0.506 mmol）を溶解し、アジ化ナトリウム（66 mg, 1.01 mmol）を加え、50℃で3時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を1N塩酸水溶液、飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮することで無色粘体の標題化合物（146 mg, 0.408 mmol）を得た。

mol)を得た。

[0204] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 6.62–6.56 (m, 1H), 5.23 (d, $J=7.5\text{ Hz}$, 1H), 4.30–4.22 (m, 1H), 3.32–3.17 (m, 2H), 1.95–1.85 (m, 1H), 1.77–1.69 (m, 1H), 1.58–1.55 (m, 1H), 1.53 (s, 6H), 1.45 (s, 9H), 1.44–1.32 (m, 3H)

〔実施例5-3〕 (2S)-6-(2-アジド-2-メチルプロパンアミド)-2-({(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ}カルボニル)アミノ)ヘキサン酸の合成

[0205] [化58]



[0206] 実施例5-2で得られた (2S)-6-(2-アジド-2-メチルプロパンアミド)-2-{ [(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}ヘキサン酸 (146mg, 0.408mmol) を氷冷し、TFA (1.36mL) を加えそのまま2時間攪拌した。反応液にトルエンを加え、濃縮し、減圧下乾燥した。残渣をアセトン/水 (1.0mL/1.0mL) に溶解させ、炭酸水素ナトリウム (274mg, 3.26mmol) とN-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニロキシ]スクシンイミド (151mg, 0.448mmol, CAS: 82911-69-1) を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage社; Sfaer HC Du

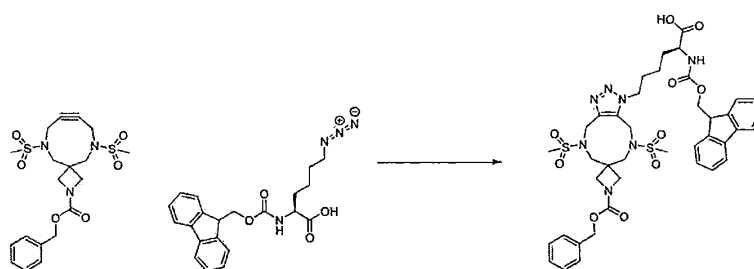
o ; 移動相 100% 酢酸エチル、続いて、移動相 DCM、1%~20% メタノール勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで白色粉体の標題化合物 (148 mg, 0.309 mmol) を得た。

[0207] 分析条件 A : 保持時間 = 1.68 分 ; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 480.3$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 479.2$ 。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.77-7.73 (m, 2H), 7.62-7.52 (m, 2H), 7.42-7.37 (m, 2H), 7.32-7.26 (m, 2H), 6.68-6.52 (m, 1H), 5.73-5.62 (m, 1H), 4.52-4.15 (m, 4H), 3.32-3.17 (m, 2H), 1.98-1.87 (m, 1H), 1.83-1.72 (m, 1H), 1.58-1.47 (m, 7H), 1.46-1.28 (m, 3H)。

[0208] [実施例 6] (2S)-6-{1'-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-5,9-ジメタンスルホニル-4,5,6,8,9,10-ヘキサヒドロ-1H-スピロ[[1,2,3]トリアゾロ[4,5-g][1,5]ジアゾニン-7,3'-アゼチジン]-1-イル}-2-({[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニル}アミノ)ヘキサン酸の合成

[0209] [化59]



[0210] DMSO (0.59 mL) に実施例 1-7 で得られたベンジル 6,11-ジメタンスルホニル-2,6,11-トリアザスピロ[3.8]ドデシー

8-イン-2-カルボキシレート (13.5 mg, 0.030 mmol) を溶解させ、(2S)-6-アジド-2-({[(9H-フルオレン-9-イル) メトキシ] カルボニル} アミノ) ヘキサン酸 (12.9 mg, 0.033 mmol, CAS: 159610-89-6) を加え室温で30時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相100%酢酸エチル、続いて、移動相DCM、0%~30%メタノール勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで白色粉体の標題化合物 (21 mg, 0.025 mmol) を得た。

[0211] 分析条件A: 保持時間=1.90分; ESI-MS (+) 観測値 m/z = 850.6 (M+H)⁺ 理論値 m/z = 849.3。

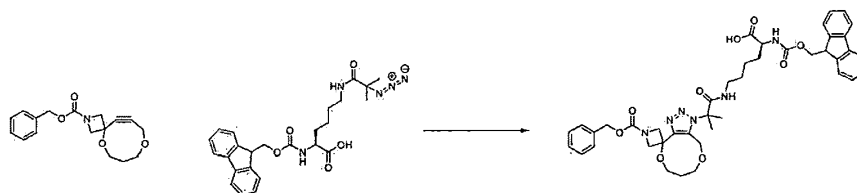
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 12.83-12.34 (m, 1H), 7.91-7.87 (m, 2H), 7.73-7.67 (m, 2H), 7.44-7.39 (m, 2H), 7.38-7.28 (m, 7H), 5.01 (s, 2H), 4.63-4.53 (m, 4H), 4.36-4.19 (m, 5H), 3.79-3.58 (m, 7H), 3.26-3.24 (m, 2H), 3.18 (s, 3H), 3.04 (s, 3H), 1.82-1.66 (m, 3H), 1.66-1.56 (m, 1H), 1.35-1.21 (m, 2H)。

[0212] 本結果より、本発明の化合物であるベンジル 6, 11-ジメタンスルホニル-2, 6, 11-トリアザスピロ [3.8] ドデシ-8-イン-2-カルボキシレートは、公知のクリックケミストリーに使用するアルキンと同様に、アジド化合物とクリック反応を行うことが示された。

[0213] [実施例7] (2S)-6-(2-{1'-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-6, 7, 8, 10-テトラヒドロ-1Hスピロ[[1, 5]ジオキソニノ[7, 8-d][1, 2, 3]トリアゾール-4, 3'-アゼチジン

] - 1 - イル} - 2 - メチルプロパンアミド) - 2 - ({ [(9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ] カルボニル} アミノ) ヘキサン酸の合成

[0214] [化60]



[0215] DMSO (0.78 mL) に実施例 2 - 5 で得られたベンジル 5, 9 - ジオキサ - 2 - アザスピロ [3. 8] ドデシ - 11 - イン - 2 - カルボキシルート (13.0 mg, 0.043 mmol) を溶解させ、実施例 5 - 3 で得られた (2S) - 6 - (2 - アジド - 2 - メチルプロパンアミド) - 2 - ({ [(9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ] カルボニル} アミノ) ヘキサン酸 (18.8 mg, 0.033 mmol) を加え室温で 18 時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチル / Et₂O (3 / 1) で抽出した。得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相 DCM, 0% ~ 30% メタノール勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで白色粉体の標題化合物 (23.2 mg, 0.030 mmol) を得た。

[0216] 分析条件 A : 保持時間 = 2.04 分 ; ESI - MS (+) 観測値 m/z = 781.6 (M+H)⁺ 理論値 m/z = 780.4。

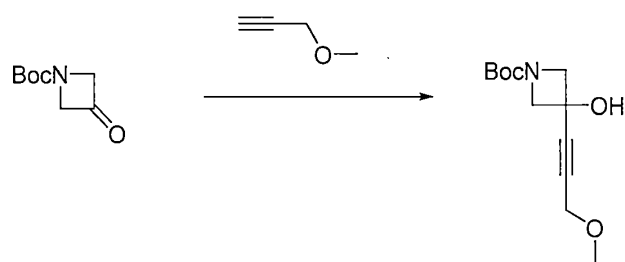
¹H - NMR (500 MHz, DMSO - d₆) δ 12.57 - 12.52 (m, 1H), 7.91 - 7.85 (m, 3H), 7.74 - 7.70 (m, 2H), 7.61 - 7.58 (m, 1H), 7.44 - 7.39 (m, 2H), 7.38 - 7.30 (m, 7H), 5.08 (s, 2H), 4.50

(s, 2H), 4.44–4.29 (m, 2H), 4.29–4.07 (m, 5H), 3.93–3.85 (m, 1H), 3.75–3.70 (m, 2H), 3.38–3.33 (m, 2H), 3.06–2.99 (m, 2H), 1.79 (s, 6H), 1.71–1.52 (m, 4H), 1.43–1.21 (m, 4H)。

[0217] 本結果より、本発明の化合物であるベンジル 5, 9-ジオキサ-2-アザスピロ[3.8]ドデセン-11-イン-2-カルボキシレートは、公知のクリックケミストリーに使用するアルキンと同様に、アジド化合物とクリック反応を行うことが示された。

[0218] [実施例8-1] tert-ブチル 3-ヒドロキシ-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル)アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0219] [化61]



[0220] THF (156 mL) にメチルプロパルギルエーテル (4.26 g, 60.7 mmol, CAS: 627-41-8) を溶解し、2M nBuLi (28.0 mL, 56.1 mmol, シクロヘキサン溶液) を-78℃で加え10分攪拌した。その後、0℃まで昇温し10分攪拌した。-78℃に再び冷却した後、tert-ブチル 3-オキソアゼチジン-1-カルボキシレート (8.00 g, 46.7 mmol, CAS: 398489-26-4) のTHF溶液を加え、-78℃で20分攪拌した。その後、0℃まで昇温して30分攪拌した後、-78℃にて飽和塩化アンモニウム溶液で反応を停止し水層を酢酸エチルで抽出、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウム

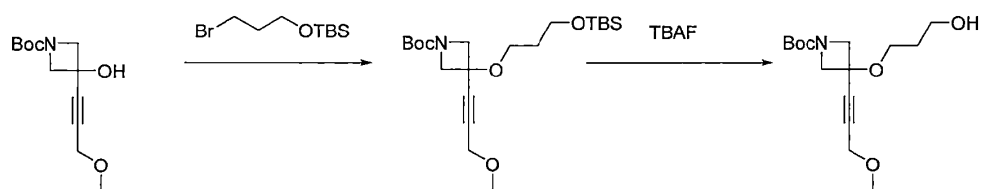
にて乾燥濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Bio
tag社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、20%
～50%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで
精製し、淡黄色粘体の標題化合物 (11.28 g, 45.7 mmol) を得
た。

[0221] 分析条件A: 保持時間=1.35分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 242.2$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 241.1$ 。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.21–4.17 (m, 2
H), 4.15 (s, 2H), 4.05–4.01 (m, 2H), 3.39
(s, 3H), 2.77 (s, 1H), 1.44 (s, 9H)。

[0222] [実施例8-2] tert-ブチル 3-(3-ヒドロキシプロポキ)
-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カル
ボキシレートの合成

[0223] [化62]



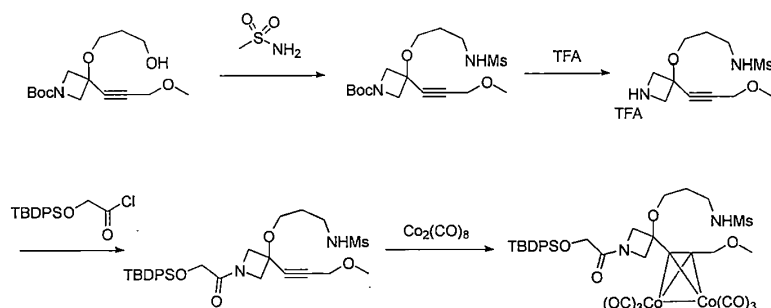
[0224] DMF (76 mL) に水素化ナトリウム (2.56 g, 64.0 mmol, 60%, 流動パラフィンに分散) を加え、実施例8-1で得られた tert-ブチル 3-ヒドロキシ-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレート (11.03 g, 45.7 mmol) の THF (76 mL) 溶液を 0℃ で加え 20 分攪拌した。その後、0℃ にて (3-ブロモプロポキシ) (tert-ブチル) ジメチルシラン (17.37 g, 68.6 mmol, CAS: 89031-84-5) の DMF 溶液を加え、室温で 6 時間攪拌した。その後、飽和塩化アンモニウム水溶液で

反応を停止し水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、0%~30%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色透明粘体の中間体を得た。THF (147 mL) 溶液に先ほど得られた中間体を加え、0℃で1M TBAF (66.1 mL, 66.1 mmol) を加えて室温で3時間攪拌した。反応終了後、飽和塩化アンモニウム水溶液で反応を停止した後、水層を酢酸エチルで抽出、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、0%~80%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色透明粘体の標題化合物 (13.05 g, 43.6 mmol) を得た。

[0225] 分析条件A: 保持時間=1.51分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 300.3$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 299.4$ 。

[0226] [実施例8-3] N- {3- [(1- {2- [(tert-ブチルジフェニルシリル) オキシ] アセチル} -3- [4- (メトキシメチル) -1,2-ジコバルタトリシクロ [1.1.0.0^{2,4}] ブタン-3-イル] アゼチジン-3-イル) オキシ] プロピル} メタンスルホンアミド; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) の合成

[0227] [化63]



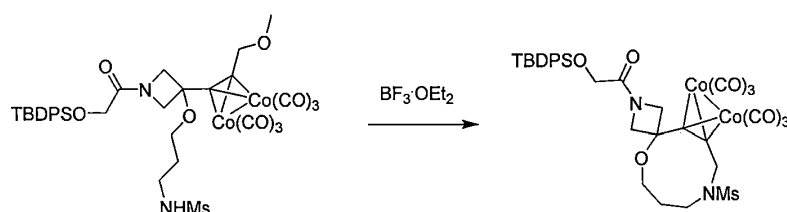
[0228] トルエン (33.4 mL) に実施例 8-2 で得られた *tert*-ブチル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレート (3.00 g, 10.0 mmol) を溶解し、 MsNH_2 (2.38 g, 25.1 mmol)、シアノメチレントリブチルホスホラン (6.57 mL, 25.1 mmol, CAS: 157141-27-0) を加え、80℃で2時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮し、得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、30%~100%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、赤色粘体の中間体を得た。ジクロロメタン (50 mL) に前記の中間体を溶解し、TFA (15.3 mL, 200 mmol) を加えて室温で1.5時間攪拌した。反応終了後、反応液を減圧濃縮しトルエン共沸を行った。得られた残渣を 1,4-ジオキサン (20 mL) / 水 (20 mL) の混合溶媒に溶解し、炭酸ナトリウム (5.31 g, 50.1 mmol) を0℃で加えた後、別途調製した 2-[[(1,1-ジメチルエチル) ジフェニルシリル] オキシ] アセチルクロライド (4.66 g, 14.0 mmol, CAS: 93853-60-2) の 1,4-ジオキサン溶液を0℃で滴下し室温で1時間攪拌した。飽和食塩水を加えて反応を停止した後、水層を酢酸エチルで抽出、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は、Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、20%~100%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の中間体を得た。ジクロロメタン (100 mL) に先ほど得られた中間体を溶解した後、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (3.77 g, 11.02 mmol) を室温で加え2時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、20%~50%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフ

ィーで精製し、茶色粘体の標題化合物（5.20g, 6.06mmol）を得た。

[0229] 分析条件A：保持時間＝2.36分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝859.2（ $M+H$ ）⁺理論値 m/z ＝858.1。

[0230] [実施例8-4] 2-[(tert-ブチルジフェニルシリル)オキシ]-1-{7'-メタンスルホニル-3'-オキサ-7'-アザ-10', 11'-ジコバルタスピロ[アゼチジン-3, 2'-テトラシクロ[7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}]ウンデカン]-1-イル}エタン-1-オン；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）の合成

[0231] [化64]



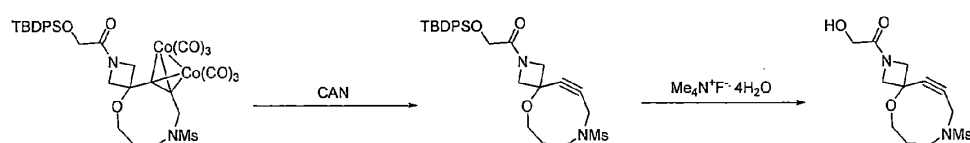
[0232] 実施例8-3で得られたN-{3-[(1-{2-[(tert-ブチルジフェニルシリル)オキシ]アセチル}-3-[4-(メトキシメチル)-1,2-ジコバルタトリシクロ[1.1.0.0^{2,4}]ブタン-3-イル]アゼチジン-3-イル)オキシ]プロピル}メタンスルホンアミド；ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）（4.50g, 5.24mmol）をジクロロメタン（105mL）に溶解し、0℃で三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体（1.99mL, 15.7mmol）を加えて3時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えて反応を停止し、水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera（Biotage社；Sfaer H C Duo；移動相ノルマルヘプタン、20%～50%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、赤褐色粘体の標題化

化合物 (2.88 g, 3.48 mmol) を得た。

[0233] 分析条件 A : 保持時間 = 2.34 分 ; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 827.3$ (M+H)⁺ 理論値 $m/z = 826.1$ 。

[0234] [実施例 8-5] 2-ヒドロキシ-1-{9-メタンスルホニル-5-オキサ-2,9-ジアザスピロ [3.8] ドデシ-11-イン-2-イル} エタン-1-オンの合成

[0235] [化65]



[0236] 実施例 8-4 で得られた 2-[(tert-ブチルジフェニルシリル)オキシ]-1-{7'-メタンスルホニル-3'-オキサ-7'-アザ-10',11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3,2'-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン]-1-イル} エタン-1-オン ; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) (2.5 g, 3.0 mmol) を THF (101 mL) に溶解し、続いて CAN (9.95 g, 18.1 mmol) を 0℃ で加えた。0℃ で 3 時間攪拌後、0℃ に冷却した酢酸エチル (50 mL) / 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 mL) の混合溶媒中に反応液を滴下し、反応を停止した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社 ; Sfaer HC Duo ; 移動相 ノルマルヘキサン、10%~80% 酢酸エチル 勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色固体の化合物を得た。得られた化合物 (1.0 g, 1.85 mmol) を THF (18.5 mL) に溶解し、続いて酢酸 (0.85 mL, 14.8 mmol) を 0℃ で加えた

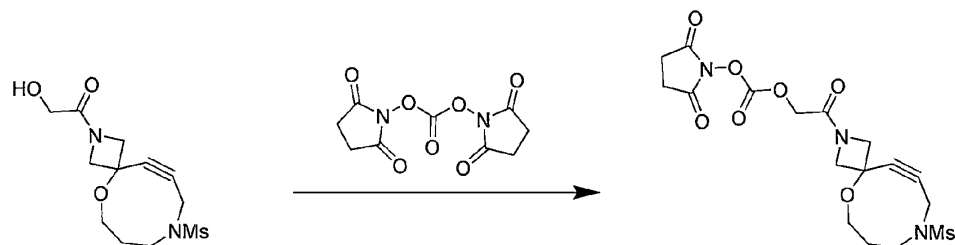
。さらに反応液にテトラメチルアンモニウムフルオリド四水和物（1.38 g, 14.8 mmol, CAS: 17787-40-5）を加え室温で18時間攪拌した。反応液を減圧濃縮したのちに残渣をメタノールで洗浄し、白色固体をろ取、乾燥し標題化合物（391 mg, 1.29 mmol）を得た。

[0237] 分析条件A：保持時間＝1.25分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝303.1（ $M+H$ ）⁺理論値 m/z ＝302.4。

¹H-NMR（500MHz, CDCl₃） δ 4.25-4.10（m, 4H）, 4.05-3.95（m, 4H）, 3.94-3.88（m, 2H）, 3.46-3.40（m, 2H）, 3.02-2.96（m, 1H）, 2.86（s, 3H）, 1.96-1.88（m, 2H）。

[0238] [実施例8-6] 1- { [(2- {9-メタンスルホニル-5-オキサ-2,9-ジアザスピロ [3.8] ドデシ-11-イン-2-イル} -2-オキソエトキシ) カルボニル] オキシ} ピロリジン-2,5-ジオンの合成

[0239] [化66]



[0240] 実施例8-5で得られた2-ヒドロキシー-1- {9-メタンスルホニル-5-オキサ-2,9-ジアザスピロ [3.8] ドデシ-11-イン-2-イル} エタン-1-オン（151 mg, 0.50 mmol）をアセトニトリル（10 mL）に溶解し、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（262 μ L, 1.50 mmol）とビス（2,5-ジオキソピロリジン-1-イル）カーボネート（384 mg, 1.50 mmol, CAS: 74124-79-1）を室温に加え、40℃に昇温し1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し

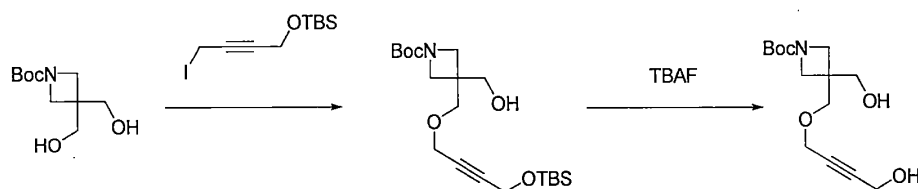
た後に酢酸エチルと水で希釈しエチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘキサン、20%~100%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、白色固体の表題化合物 (130mg, 0.29mmol) を得た。

[0241] 分析条件A: 保持時間=1.86分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 444.2$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 443.4$ 。

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 4.80 (s, 2H), 4.49-4.38 (m, 2H), 4.23-4.14 (m, 2H), 4.05-3.87 (m, 4H), 3.46-3.38 (m, 2H), 2.89-2.83 (m, 7H), 1.96-1.88 (m, 2H)。

[0242] [実施例9-1] tert-ブチル 3- {[(4-ヒドロキシブチ-2-イン-1-イル) オキシ] メチル} -3-(ヒドロキシメチル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0243] [化67]



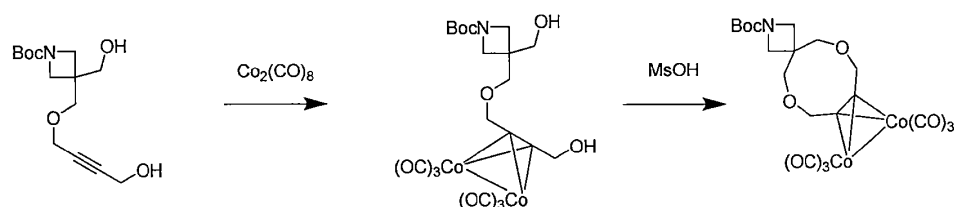
[0244] 実施例1-1の手法で得られた tert-ブチル 3,3-ビス (ヒドロキシメチル) アゼチジン-1-カルボキシレート (8.11g, 37.3mmol) を THF (93mL) / DMF (93mL) に溶解して0℃に冷却した後、LHMDS (28.7mL, 37.3mmol) を加えて0℃にて30分攪拌した。反応液中に (1,1-ジメチルエチル) [(4-ヨード-2-ブチン-1-イル) オキシ] ジメチルシラン (11.8g, 38.0m

mol, CAS: 219996-95-9) を加え、0℃にて3時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した後、水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、0%~50%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体中間体を得た。得られた中間体を THF (55.4 mL) に溶解した後、1M TBAF (54.8 mL, 54.8 mmol) を室温に加えて1時間攪拌した。水を加えて反応を停止した後、水層をジクロロエタンで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、80%~100%酢酸エチル勾配、その後、移動相ジクロロメタン、15%メタノール) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、標題の淡茶色粘体 (5.0 g, 17.5 mmol) を得た。

[0245] 分析条件 A: 保持時間 = 1.24 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 286.2$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 285.2$ 。

[0246] [実施例 9-2] ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム); tert-ブチル 3', 7'-ジオキサー-10', 11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 5'-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン] -1-カルボキシレート の合成

[0247] [化68]



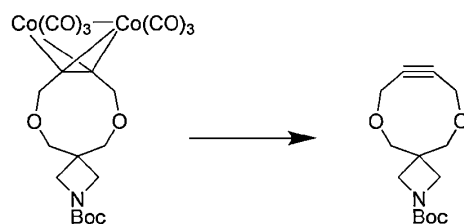
[0248] ジクロロメタン (35 mL) に実施例 9-1 で得られた *tert*-ブチル 3- {[(4-ヒドロキシブチ-2-イン-1-イル) オキシ] メチル} -3- (ヒドロキシメチル) アゼチジン-1-カルボキシレート (1.00 g, 3.50 mmol) を溶解し、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (1.44 g, 4.21 mmol) を室温で加え 1.5 時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、50%~80%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の中間体を得た。ジクロロメタン (292 mL) に、前記で得られた中間体を溶解し、室温でメタンスルホン酸 (0.076 mg, 0.788 mmol, CAS: 75-75-2) を加えて 3 時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えて反応を停止し、水層をジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~30%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粘体の標題化合物 (0.124 g, 0.224 mmol) を得た。

[0249] 分析条件 A: 保持時間 = 2.08 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 498.0$ ($\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8+\text{H}$)⁺ 理論値 $m/z = 553.0$ 。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 5.03 (s, 4H), 3.99 (s, 4H), 3.64 (s, 4H), 1.43 (s, 9H)。

[0250] [実施例 9-3] *tert*-ブチル 6, 11-ジオキサー-2-アザスピロ [3.8] ドデシ-8-イン-2-カルボキシレートの合成

[0251] [化69]



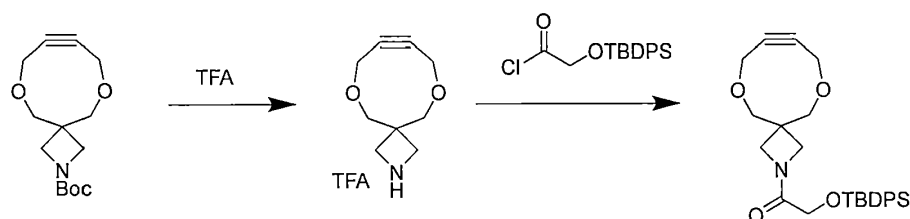
[0252] テトラヒドロフラン (22 mL) に実施例 9-2 で得られたヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) ; *tert*-ブチル 3', 7'-ジオキサー 10', 11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 5'-テトラシクロ [7. 2. 0. 0^{1, 10}. 0^{9, 11}] ウンデカン] -1-カルボキシレート (0. 124 g, 0. 224 mmol) を溶解し、続いて CAN (0. 737 g, 1. 35 mmol) を 0℃ で加えた。0℃ で 1 時間攪拌後、0℃ に冷却した酢酸エチル (200 mL) / 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (100 mL) の混合溶媒中に反応液を滴下し、反応を停止した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相 ノルマルヘプタン、10%~30% 酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粉末の標題化合物 (0. 026 g, 0. 097 mmol) を得た。

[0253] 分析条件 A : 保持時間 = 1. 49 分 ; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 212. 1$ ($M - C_4H_8 + H$)⁺ 理論値 $m/z = 267. 2$ 。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4. 16 (s, 4H), 3. 99 (s, 4H), 3. 59 (s, 4H), 1. 43 (s, 9H)。

[0254] [実施例 9-4] 2-[(*tert*-ブチルジフェニルシリル) オキシ]-1-{6, 11-ジオキサー 2-アザスピロ [3. 8] ドデシー 8-イン-2-イル} エタン-1-オンの合成

[0255] [化70]



[0256] ジクロロメタン (1.0 mL) に実施例 9-3 で得られた *tert*-ブチル 6, 11-ジオキサー-2-アザスピロ [3. 8] ドデシー-8-イン-2-カルボキシレート (0.026 g, 0.097 mmol) を溶解し、続いて TFA (0.225 mL, 2.92 mmol) を室温に加えた。室温で 1 時間攪拌後、トルエンを加えた後、減圧濃縮し、さらにトルエン共沸を行った。得られた残渣に 1, 4-ジオキサン (1.0 mL) / 水 (1.0 mL) を加えた後、炭酸ナトリウム (103 mg, 0.97 mmol) を 0℃ にて加えた。さらに別途調整した 2-[[(1, 1-ジメチルエチル) ジフェニルシリル] オキシ] アセチルクロライド (0.080 mg, 0.243 mmol, CAS: 93853-60-2) の 1, 4-ジオキサン溶液を 0℃ で滴下し、室温で 1 時間攪拌した。反応終了後、飽和重曹水を加えて反応を停止した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は *Isolera* (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~50% 酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物 (0.041 g, 0.088 mmol) を得た。

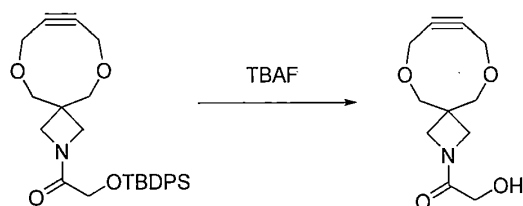
[0257] 分析条件 A: 保持時間 = 2.04 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 464.3$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 463.6$ 。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.67-7.61 (m, 4 H), 7.48-7.37 (m, 6 H), 4.21-4.12 (m, 6 H), 4.02-3.90 (m, 6 H), 3.68 (s, 2 H), 1.07 (s, 9 H)。

[0258] [実施例 9-5] 1- {6, 11-ジオキサー-2-アザスピロ [3. 8] ドデシー-8-イン-2-イル} -2-ヒドロキシエタン-1-オンの合成

[0259]

[化71]



[0260] テトラヒドロフラン（1.0 mL）に実施例9-4で得られた2-[(tert-ブチルジフェニルシリル)オキシ]-1-{6,11-ジオキサ-2-アザスピロ[3.8]ドデシ-8-イン-2-イル}エタン-1-オン（0.041 g, 0.088 mmol）を溶解し、続いてTBAF（0.132 mL, 0.13 mmol, 1 M THF溶液）を室温に加えた。室温で1.5時間攪拌した後、反応液を減圧濃縮した。得られた残渣はIsolera（Biotage社；Sfaer HC Duo；移動相ノルマルヘプタン、50%～100%酢酸エチル勾配、続く移動相酢酸エチル、5%メタノール勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粉体の標題化合物（0.018 g, 0.080 mmol）を得た。

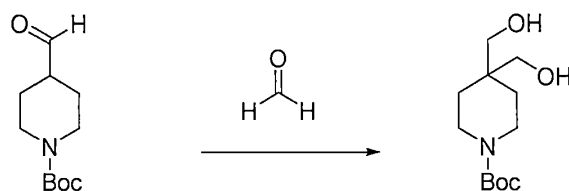
[0261] 分析条件A：保持時間=0.85分；ESI-MS（+）観測値 m/z =226.2（ $M+H$ ）⁺理論値 m/z =225.2。

¹H-NMR（500 MHz, CDCl₃） δ 4.17（s, 4H）, 4.06–3.96（m, 4H）, 3.97（s, 2H）, 3.82–3.61（m, 4H）, 3.06（s, 1H）。

[0262] [実施例10-1] tert-ブチル 4,4-ビス（ヒドロキシメチル）ピペリジン-1-カルボキシレート

[0263]

[化72]



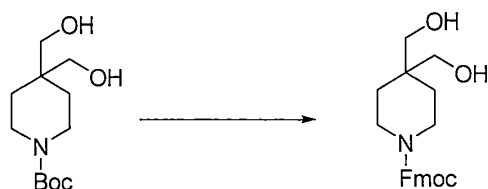
[0264] MeOH (150 mL) に4-ホルミルピペリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (10.0 g, 46.9 mmol, CAS: 137076-22-3) を溶解させ、KOH (10.92 g, 195 mmol) を溶解させた H₂O (50 mL)、37%ホルムアルデヒド水溶液 (38.4 mL, 516 mmol) を加え室温で150分間攪拌したのち、40℃で5時間攪拌した。反応液からMeOHを減圧留去し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera (Biotage社; Sfaer HC Duo; 移動相DCM、3%~15% MeOH勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粉体の標題化合物 (10.0 g, 40.8 mmol) を得た。

[0265] ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.67 (s, 4H), 3.44-3.36 (m, 4H), 2.39 (s, 2H), 1.49-1.44 (m, 13H)。

[0266] [実施例10-2] (9H-フルオレン-9-イル)メチル 4,4-ビス(ヒドロキシメチル)ピペリジン-1-カルボキシレート合成

[0267]

[化73]



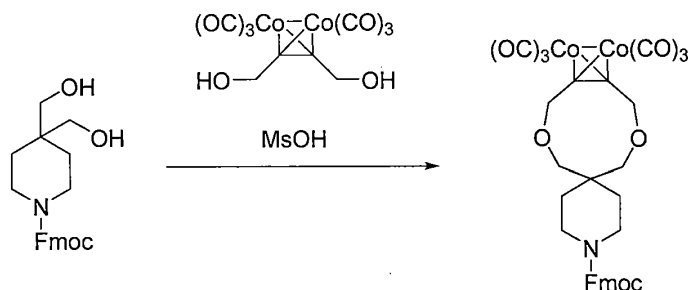
[0268] 1, 4-ジオキサン (10.2 mL) に実施例 10-1 で得られた *tert*-ブチル 4, 4-ビス (ヒドロキシメチル) ピペリジン-1-カルボキシレート (1.00 g, 4.08 mmol) を溶解させ、塩化水素 1, 4-ジオキサン溶液 (4 M, 10.2 mL, 40.8 mmol) を加えて室温で 5 時間攪拌したのち、減圧濃縮した。ジクロロメタン (20 mL) に得られた残渣と DIPEA (1.05 g, 8.15 mmol) を溶解させ、室温で Fmoc-OSu (1.25 g, 3.87 mmol) を加えてそのまま 2 時間攪拌した。反応液にジクロロメタンを加えて抽出し、得られた有機層を減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相 DCM、0%~15% MeOH 勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粘体の標題化合物 (1.45 g, 3.95 mmol) を得た。

[0269] 分析条件 A : 保持時間 = 1.56 分 ; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 368.2$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 367.2$ 。

[0270] [実施例 10-3] ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) ; (9 H-フルオレン-9-イル) メチル 3', 7'-ジオキサ-10', 11'-ジコバルタスピロ [ピペリジン-4, 5'-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン] -1-カルボキシレートの合成

[0271]

[化74]



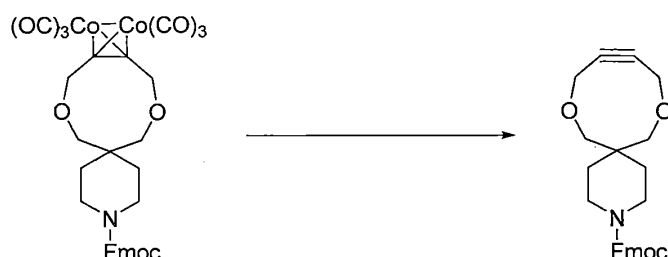
[0272] ジクロロメタン (54.4 mL) に実施例 10-2 で得られた (9H-フルオレン-9-イル) メチル 4,4-ビス (ヒドロキシメチル) ピペリジン-1-カルボキシレート (250 mg, 0.68 mmol) とメタンスルホン酸 (0.131 g, 1.36 mmol) を溶解させた溶液に対し、ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) ; [4- (ヒドロキシメチル) -1,2-ジコバルタトリシクロ [1.1.0.0^{2,4}] ブタン-3-イル] メタノール (253 mg, 0.68 mmol, CAS: 55975-76-3, Organic Letters (2015), 17 (16), 4086-4089 に記載の方法にて合成した) を溶解させたジクロロメタン溶液 (13.6 mL) を室温で90分間かけて滴下した。さらに、30分間室温で撹拌したのちに、10%重曹水を加えて反応を停止し、ジクロロメタンで抽出し、得られた有機層を減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~30%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで茶色粉体の標題化合物 (280 mg, 0.398 mmol) を得た。

[0273] 分析条件 A: 保持時間 = 2.22 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 704.2$ (M+H)⁺ 理論値 $m/z = 703.0$ 。

[0274] [実施例 10-4] (9H-フルオレン-9-イル) メチル 8,13-

ジオキサー 3-アザスピロ [5. 8] テトラデシー 10-イン-3-カルボキシレートの合成

[0275] [化75]



[0276] テトラヒドロフラン (14.2 mL) に実施例 10-3 で得られたヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) ; (9H-フルオレン-9-イル) メチル 3', 7'-ジオキサー 10', 11'-ジコバルタスピロ [ピペリジン-4, 5'-テトラシクロ [7. 2. 0. 0^{1, 10}. 0^{9, 11}] ウンデカン] -1-カルボキシレート (0.100 g, 0.142 mmol) を溶解し、続いて CAN (0.234 g, 0.426 mmol) を 0℃ で加えた。0℃ で 2 時間攪拌後、ジエチルエーテル、10% 重曹水を加え反応を停止した。水層をジエチルエーテルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~40% 酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、無色粘体の標題化合物 (0.025 g, 0.060 mmol) を得た。

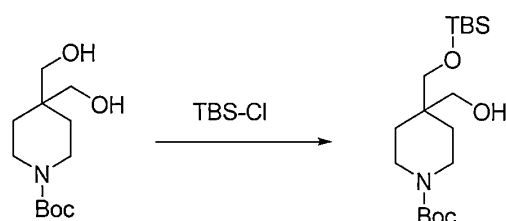
[0277] 分析条件 A : 保持時間 = 1.87 分 ; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 418.3$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 417.2$ 。

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.57 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.43-7.36 (m, 2H), 7.34-7.28 (m, 2H), 4.42 (d, J = 6.

9 Hz, 2 H), 4.24 (t, J = 6.9 Hz, 1 H), 4.20–4.05 (m, 4 H), 3.91–3.71 (m, 2 H), 3.67–3.54 (m, 2 H), 3.51–3.37 (m, 4 H), 1.57–1.39 (m, 2 H), 1.36–1.16 (m, 2 H)。

[0278] [実施例 11-1] tert-ブチル 4- { [(tert-ブチルジメチルシリル) オキシ] メチル} -4- (ヒドロキシメチル) ピペリジン-1-カルボキシレートの合成

[0279] [化76]

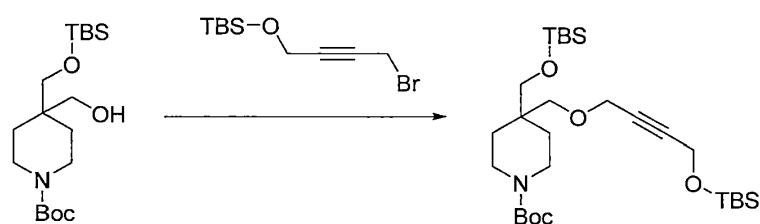


[0280] テトラヒドロフラン (40.8 mL) に実施例 10-1 で得られた tert-ブチル 4,4-ビス (ヒドロキシメチル) ピペリジン-1-カルボキシレート (1.00 g, 4.08 mmol) を溶解させ、氷冷下、水素化ナトリウム (163 mg, 4.08 mmol, 60%, 流動パラフィンに分散) を 0℃ で加え、室温に昇温し 30 分間攪拌した。反応液にターシャリーブチルジメチルシリルクロリド (614 mg, 4.08 mmol, CAS: 18162-48-6) を加え、室温で終夜攪拌した。氷冷下、反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて、酢酸エチルを加えて抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~50%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで無色粉体の標題化合物 (1.45 g, 4.03 mmol) を得た。

[0281] 分析条件A：保持時間＝2.00分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝360.3（ $M+H$ ）⁺理論値 m/z ＝359.3。

[0282] [実施例11-2] *tert*-ブチル 4-〔（〔4-〔（*tert*-ブチルジメチルシリル）オキシ〕ブチ-2-イン-1-イル〕オキシ）メチル〕-4-〔〔（*tert*-ブチルジメチルシリル）オキシ〕メチル〕ピペリジン-1-カルボキシレートの合成

[0283] [化77]



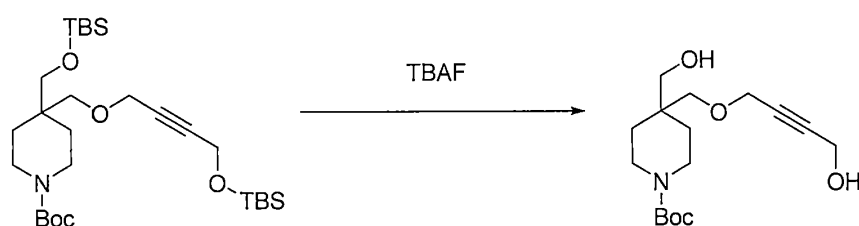
[0284] テトラヒドロフラン（11.1 mL）とDMF（2.78 mL）の混合溶媒に実施例11-1で得られた *tert*-ブチル 4-〔〔（*tert*-ブチルジメチルシリル）オキシ〕メチル〕-4-（ヒドロキシメチル）ピペリジン-1-カルボキシレート（0.50 g，1.39 mmol）を溶解させ、氷冷下、水素化ナトリウム（55.6 mg，1.39 mmol，60%，流動パラフィンに分散）を加え、室温に昇温した後、10分間攪拌した。反応液に〔（4-ブロモブチ-2-イン-1-イル）オキシ〕（*tert*-ブチル）ジメチルシラン（732 mg，2.78 mmol，CAS：110796-98-0）を加え、室温で7時間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて、酢酸エチルを加えて抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera（Biotage社；Sfaer HC Duo；移動相ノルマルヘプタン、10%～40%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、目的物を含む画分を減圧下濃縮することで黄色油状物質の標題化合物（0.192 g，0.354 mmol）

)を得た。

[0285] 分析条件A：保持時間＝2.71分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝542.4（M+H）⁺理論値 m/z ＝541.4。

[0286] [実施例11-3] tert-ブチル 4- { [(4-ヒドロキシブチ-2-イン-1-イル) オキシ] メチル} -4- (ヒドロキシメチル) ピペリジン-1-カルボキシレート の合成

[0287] [化78]



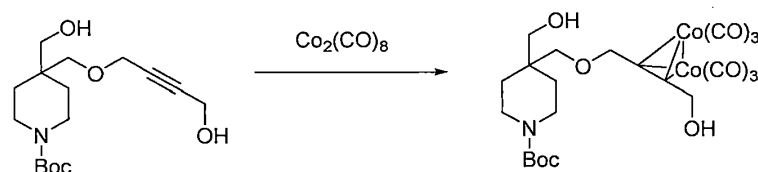
[0288] テトラヒドロフラン（3.6 mL）に実施例11-2で得られた tert-ブチル 4- [({4- [(tert-ブチルシメチルシリル) オキシ] ブチ-2-イン-1-イル} オキシ) メチル] -4- { [(tert-ブチルジメチルシリル) オキシ] メチル} ピペリジン-1-カルボキシレート（0.195 g, 0.360 mmol）を溶解し、1M TBAF（0.792 mL, 0.792 mmol, THF 溶液）を室温に加えた。室温で2時間攪拌後、反応液を減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera（Biota社；Sfaer HC Duo；移動相ノルマルヘプタン、10%～80%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、淡黄色油状物質の標題化合物（0.102 g, 0.325 mmol）を得た。

[0289] 分析条件A：保持時間＝1.40分；ESI-MS（+）観測値 m/z ＝314.3（M+H）⁺理論値 m/z ＝313.2。

[0290] [実施例11-4] ヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）；tert-ブチル 4- (ヒドロキシメチル) -4- ({ [4- (ヒドロキシメ

チル) - 1, 2-ジコバルタトリシクロ [1. 1. 0. 0^{2, 4}] ブタン-3-
イル] メトキシ} メチル) ピペリジン-1-カルボキシレートの合成

[0291] [化79]



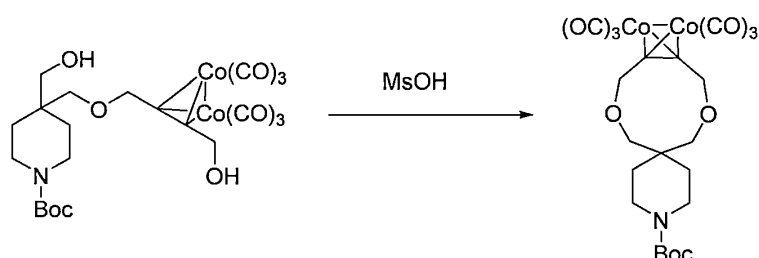
[0292] ジクロロメタン (3. 3 mL) に実施例 11-3 で得られた *tert*-ブチル 4- { [(4-ヒドロキシブチ-2-イン-1-イル) オキシ] メチル} -4- (ヒドロキシメチル) ピペリジン-1-カルボキシレート (0. 102 g, 0. 325 mmol) を溶解し、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (0. 134 g, 0. 391 mmol) を室温で加え 2 時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~80%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色油状物質の標題化合物 (0. 170 g, 0. 284 mmol) を得た。

分析条件 A : 保持時間 = 1. 96 分 ; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 582. 1$ ($\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}$)⁺ 理論値 $m/z = 599. 0$ 。

[0293] [実施例 11-5] ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) ; *tert*-ブチル 3', 7'-ジオキサ-10', 11'-ジコバルタスピロ [ピペリジン-4, 5'-テトラシクロ [7. 2. 0. 0^{1, 10}. 0^{9, 11}] ウンデカン] -1-カルボキシレートの合成

[0294]

[化80]



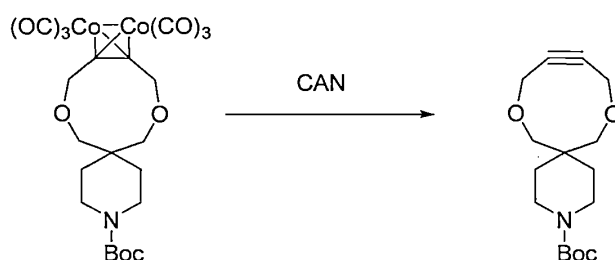
[0295] ジクロロメタン (7.7 mL) に実施例 11-4 で得られたヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) ; tert-ブチル 4- (ヒドロキシメチル) -4- ({ [4- (ヒドロキシメチル) -1, 2-ジコバルタトリシクロ [1. 1. 0. 0^{2, 4}] ブタン-3-イル] メトキシ } メチル) ピペリジン-1-カルボキシレート (0.138 g, 0.230 mmol) を溶解し、室温でメタンスルホン酸 (0.020 g, 0.207 mmol) を加えて 3 時間攪拌した。反応液にトリエチルアミン (0.117 g, 1.15 mmol, CAS : 121-44-8) と二炭酸ジターシャリーブチル (0.101 g, 0.461 mmol, CAS : 24424-99-5) を加え、室温で 20 分間攪拌した。反応液は Isolera (Biotage 社 ; Sfaer HC Duo ; 移動相ノルマルヘプタン、5%~80% 酢酸エチル 勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、茶色粉体の標題化合物 (0.055 g, 0.095 mmol) を得た。

分析条件 A : 保持時間 = 2.19 分 ; ESI-MS (+) 観測値 m/z = 526.0 ($M - C_4H_8 + H$)⁺ 理論値 m/z = 581.0。

[0296] [実施例 11-6] tert-ブチル 8, 13-ジオキサ-3-アザスピロ [5. 8] テトラデシ-10-イン-3-カルボキシレートの合成

[0297]

[化81]



[0298] テトラヒドロフラン（10.0 mL）に実施例11-5で得られたヘキサキス（メタニジリジンオキシダニウム）；tert-ブチル 3', 7'-ジオキサー10', 11'-ジコバルタスピロ [ピペリジン-4, 5'-テトラシクロ [7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}] ウンデカン] -1-カルボキシレート（0.060 g, 0.103 mmol）を溶解し、続いてCAN（0.340 g, 0.619 mmol）を0℃で加えた。0℃で1時間攪拌後、0℃に冷却した酢酸エチル／10%炭酸水素ナトリウム水溶液の混合溶媒中に反応液を滴下し、反応を停止した。水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera（Biotage社；Sfaer HCDuo；移動相ノルマルヘキサン、10%～40%酢酸エチル勾配）を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、白色粉体の標題化合物（0.017 g, 0.057 mmol）を得た。

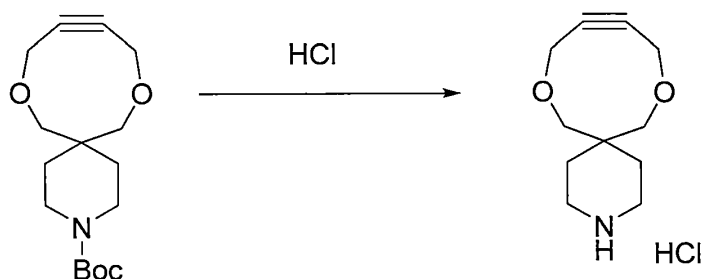
[0299] 分析条件A：保持時間＝1.69分；ESI-MS（+）観測値m/z＝240.1（M-C₄H₈+H）⁺理論値m/z＝295.2。

¹H-NMR（500 MHz, CDCl₃）δ 4.26-4.03（m, 4 H），3.80（s, 2 H），3.60（s, 2 H），3.39（s, 4 H），1.58-1.12（m, 13 H）。

[0300] [実施例11-7] 8, 13-ジオキサー3-アザスピロ [5.8] テトラデシー10-イン ハイドロライドの合成

[0301]

[化82]



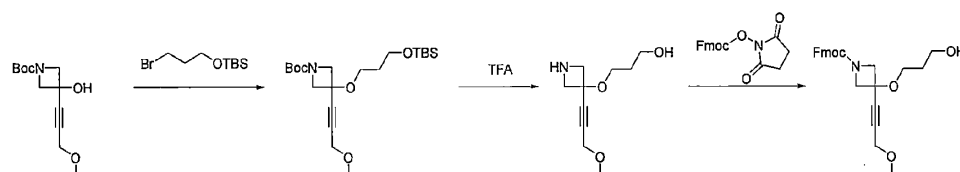
[0302] 1, 4-ジオキサン (0. 4 1 mL) に実施例 1 1-6 で得られた *tert*-ブチル 8, 13-ジオキサ-3-アザスピロ [5. 8] テトラデシ-10-イン-3-カルボキシレート (0. 0 1 2 g, 0. 0 4 1 mmol) を溶解し、続いて塩化水素 1, 4-ジオキサン溶液 (4 M, 5 0. 8 μ L, 0. 2 0 3 mmol) を室温で加えた。室温で一時間攪拌したのち、塩化水素 1, 4-ジオキサン溶液 (4 M, 8 5 μ L, 0. 3 4 0 mmol) を加えた。さらに室温で一時間攪拌したのち、塩化水素 1, 4-ジオキサン溶液 (4 M, 2 7 0 μ L, 1. 0 8 0 mmol) を加えた。室温で一時間攪拌したのち、濃縮、減圧乾燥することで白色粉体の標題化合物を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8. 5 6-8. 3 6 (m, 2 H), 4. 3 0-4. 0 3 (m, 4 H), 3. 7 5-3. 5 0 (m, 4 H), 3. 0 7-2. 9 7 (m, 4 H), 1. 7 1-1. 1 8 (m, 4 H) .

[0303] [実施例 1 2-1] (9H-フルオレン-9-イル) メチル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレートの合成

[0304]

[化83]



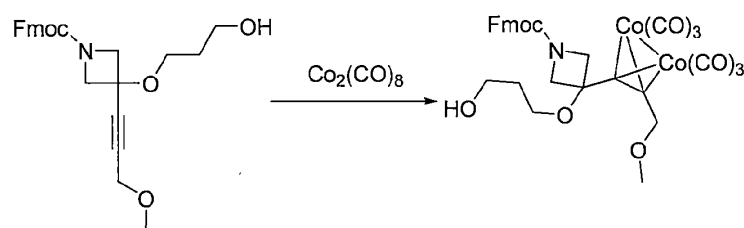
[0305] DMF (8.3 mL) に実施例 8-1 で得られた *tert*-ブチル 3-ヒドロキシ-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル) アゼチジン-1-カルボキシレート (1.20 g, 4.97 mmol) の THF (8.3 mL) 溶液を加え、水素化ナトリウム (0.298 g, 7.46 mmol, 60%, 流動パラフィンに分散) を 0℃ で加え 20 分攪拌した。その後、0℃ にて (3-ブロモプロポキシ) (*tert*-ブチル) ジメチルシラン (1.89 g, 7.46 mmol, CAS: 89031-84-5) の DMF 溶液を加え、室温で 14 時間攪拌した。酢酸イソプロピル/水 (100 mL / 100 mL) 水溶液を加えて反応を停止した後、水層を酢酸イソプロピルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下で濃縮し無色液体の中間体を得た。前記で得られた中間体 (1.90 g, 4.59 mmol) をジクロロメタン 11.5 mL で溶解し、0℃ まで冷却したのちに TFA (11.5 mL, 150 mmol) を加え室温で 2 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、得られた残渣に炭酸水素カリウム (1.43 g, 14.3 mmol) と水 (10.6 mL) および 1,4-ジオキサン (10.6 mL) を加え攪拌したのちに、(N-9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (1.45 g, 4.29 mmol) の 1,4-ジオキサン (10.6 mL) 溶液を 0℃ にて滴下し、滴下終了後に室温まで昇温し、終夜攪拌した。反応液に酢酸イソプロピル (100 mL) と水 (100 mL) を加えて、水層を酢酸イソプロピルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した

。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、20%~65%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、褐色粘体の標題化合物 (264 mg, 0.63 mmol) を得た。

分析条件 A: 保持時間 = 1.85 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 422.4$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 421.4$ 。

[0306] [実施例 12-2] (9H-フルオレン-9-イル) メチル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-[4-(メトキシメチル)-1,2-ジコバルタトリシクロ[1.1.0.0^{2,4}]ブタン-3-イル]アゼチジン-1-カルボキシレート; ヘキサキス(メタニジリジンオキシダニウム)の合成

[0307] [化84]

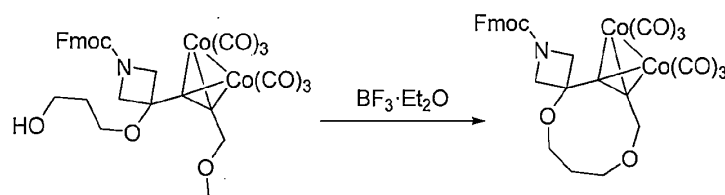


[0308] ジクロロメタン (9.5 mL) に実施例 12-1 で得られた (9H-フルオレン-9-イル) メチル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-(3-メトキシプロプ-1-イン-1-イル)アゼチジン-1-カルボキシレート (803 mg, 1.91 mmol) を溶解し、 $Co_2(CO)_8$ (782 mg, 2.29 mmol) を室温で加え 0.5 時間攪拌した。反応終了後、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isolera (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ジクロロメタン、1%~15%メタノール勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、褐色粘体の中間体 (1.25 g, 1.77 mmol) を得た。

分析条件 A: 保持時間 = 2.29 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 676.2$ ($M-MeOH+H$)⁺ 理論値 $m/z = 707.4$ 。

[0309] [実施例 12-3] (9H-フルオレン-9-イル)メチル 3', 7'-ジオキサー 10', 11'-ジコバルタスピロ [アゼチジン-3, 2'-テトラシクロ [7. 2. 0. 0^{1, 10}. 0^{9, 11}] ウンデカン] -1-カルボキシレート; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) の合成

[0310] [化85]



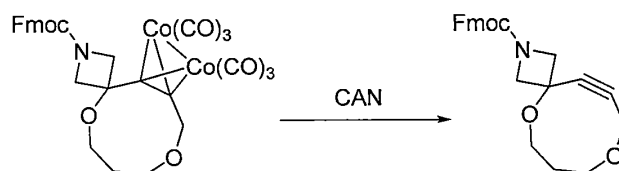
[0311] 実施例 12-2 で得られた (9H-フルオレン-9-イル)メチル 3-(3-ヒドロキシプロポキシ)-3-[4-(メトキシメチル)-1, 2-ジコバルタトリシクロ [1. 1. 0. 0^{2, 4}] ブタン-3-イル] アゼチジン-1-カルボキシレート; ヘキサキス (メタニジリジンオキシダニウム) (1. 0 g, 1. 41 mmol) をジクロロメタン (283 mL) に溶解し、0℃で三ふっ化ほう素ジエチルエーテル錯体 (0. 21 mL, 1. 70 mmol) を加えて 2. 5 時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えて反応を停止し、水層をジクロロメタンで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムにて乾燥後濾過し、減圧下濃縮した。得られた残渣は Isoterra (Biotage 社; Sfaer HC Duo; 移動相ノルマルヘプタン、10%~60%酢酸エチル勾配) を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、褐色粘体の標題化合物 (123 mg, 0. 181 mmol) を得た。

分析条件 A: 保持時間 = 2. 38 分; ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 676. 2$ ($M+H$)⁺ 理論値 $m/z = 675. 4$ 。

[0312] [実施例 12-4] (9H-フルオレン-9-イル)メチル 5, 9-ジオキサー 2-アザスピロ [3. 8] ドデシー 11-イン-2-カルボキシ

レート合成

[0313] [化86]



[0314] 実施例12-3で得られた(9H-フルオレン-9-イル)メチル 3', 7'-ジオキサー10', 11'-ジコバルタスピロ[アゼチジン-3, 2'-テトラシクロ[7.2.0.0^{1,10}.0^{9,11}]ウンデカン]-1-カルボキシレート;ヘキサキス(メタニジリジンオキシダニウム)(150mg, 0.22mmol)にジイソプロピルエーテル(4.4mL)とワコーシル(登録商標)-c200(富士フイルム和光純薬社;2.5g, CAS: 63231-67-4)を加え、続いてCAN(1.22g, 2.22mmol)を0℃で加えた。さらに室温に昇温し3時間攪拌した。反応終了後、反応液をワコーシル(登録商標)-c200(富士フイルム和光純薬社)に通すことで不溶物を濾別した後、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣はIsolera(Biotage社;Sfaer HC Duo;移動相ノルマルヘキサン、50%~80%酢酸エチル勾配、続いて、移動相ジクロロメタン、1%~20%メタノール勾配)を用いたフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製し、薄黄色粉体の標題化合物(0.050g, 0.128mmol)を得た。

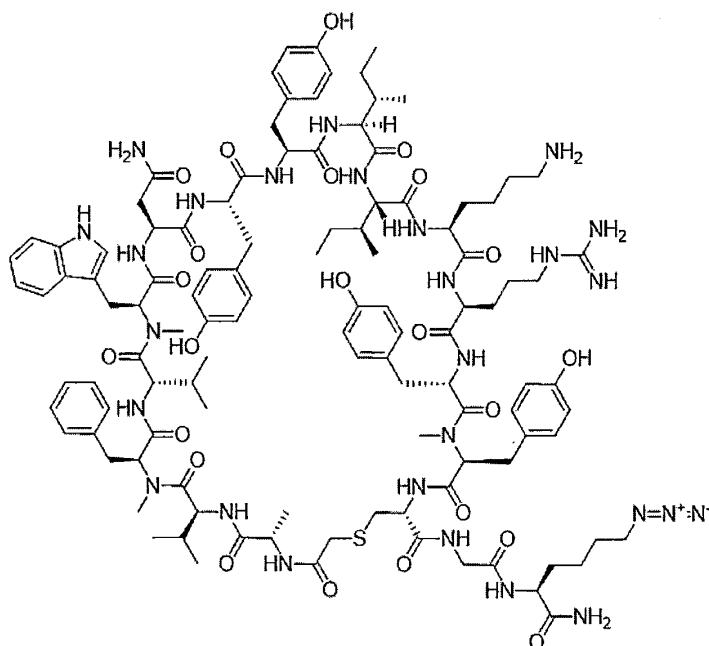
分析条件A:保持時間=2.03分;ESI-MS(+)観測値 m/z =390.3(M+H)⁺理論値 m/z =389.4。

[0315] 以下に実施例として、ペプチドと核酸のコンジュゲート体の合成例を示し、本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

[0316] なお、コンジュゲート用のペプチド、核酸及びクリック試薬は、以下に示す化合物を使用した。

・ペプチド化合物（CAS：2699074-52-5。WO2021167107を参照。以下、ペプチドFと記すことがある）。

[0317] [化87]

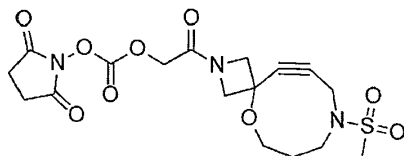


[0318] ・核酸化合物（US20180010126を参照に一般的な合成法に従い合成した。以下、NS-S01-20と記すことがある。核酸化合物の構造式は図4に記載されている。）

[0319] 実施例8-6で得られた1- { [(2- {9-メタンスルホニル-5-オキサ-2, 9-ジアザスピロ [3. 8] ドデシ-11-イン-2-イル}-2-オキソエトキシ) カルボニル] オキシ} ピロリジン-2, 5-ジオンは、クリック試薬化合物である。（以下、クリック試薬Xと記すことがある）。

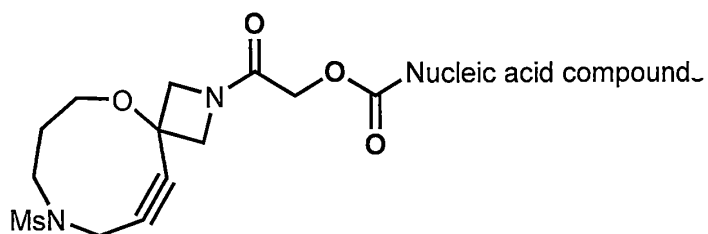
[0320]

[化88]



[0321] NS-SO1-20にクリック試薬Xを導入した化合物を以下に示す。（以下、クリック試薬X導入体と記すことがある）。

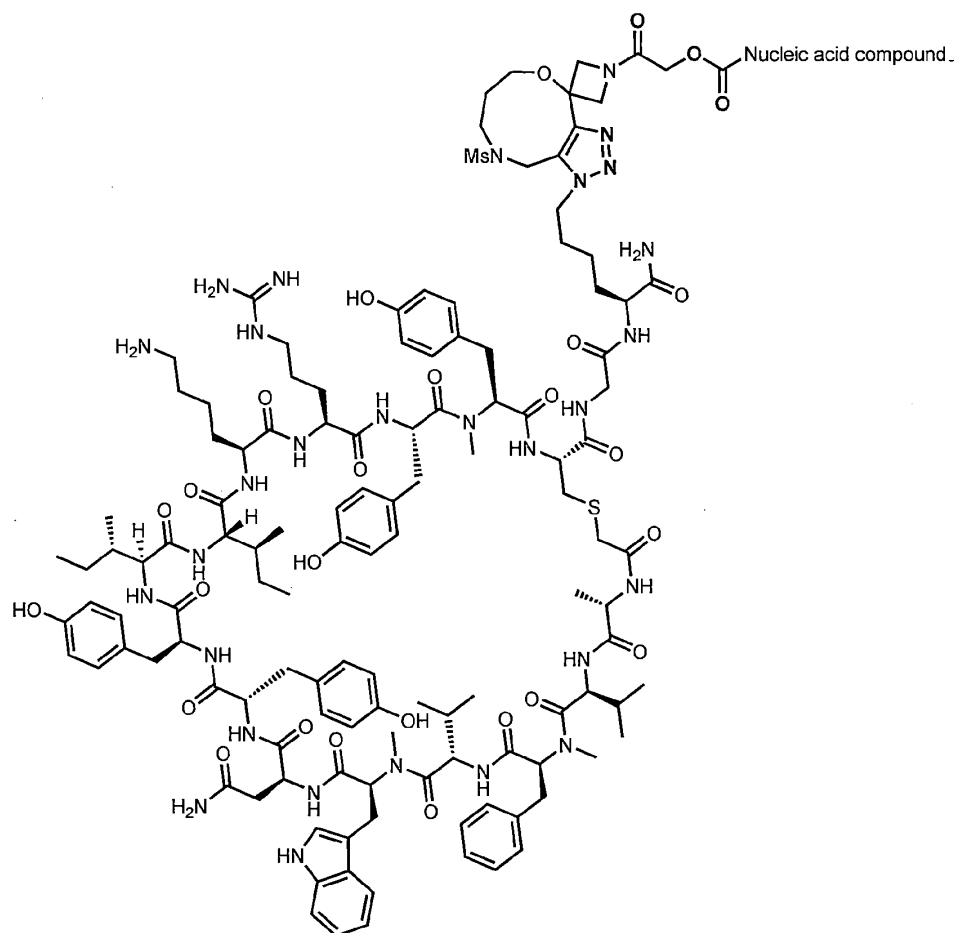
[0322] [化89]



[0323] クリック試薬X導入体とペプチドFをコンジュゲートした化合物を以下に示す。（以下、PN-SO1-10と記すことがある）。

[0324]

[化90]



[0325] 分析条件1 (LC-MS)

カラム: XBridge Premier Oligonucleotide BEH C18カラム (2.5 μ m), 2.1 mm $\times$ 150 mm (Waters社)

移動相A: 400 mM 1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール, 15 mM トリエチルアミン含有水溶液

移動相B: 400 mM 1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール, 15 mM トリエチルアミン含有メタノール溶液

流速：0.2 mL/分

カラム温度：60℃

検出波長：260 nm

グラジエント条件：10%B (0分) → 85%B (22.5分) → 100%B (23分) → 100%B (25分) → 10%B (26分) → 10%B (30分)

[0326] 精製条件 1

カラム：Triart Prep C18-Sカラム (10 μm), 10 mm × 250 mm (YMC社)

移動相 A：100 mM 酢酸トリエチルアンモニウム水溶液

移動相 B：アセトニトリル

流速：6.0 mL/分

カラム温度：室温

検出波長：260 nm

グラジエント条件：20%B (0分) → 40%B (80分)

[0327] 脱塩条件 1

カラム：Triart Prep C18-Sカラム (10 μm), 10 mm × 250 mm (YMC社)

移動相 A：注射用水

移動相 B：アセトニトリル

流速：6.0 mL/分

カラム温度：室温

検出波長：260 nm

グラジエント条件：0%B (6.5分)

[0328] 溶出条件 1

カラム：Triart Prep C18-Sカラム (10 μm), 10 mm × 250 mm (YMC社)

移動相 A：注射用水

移動相 B : アセトニトリル

流速 : 6.0 mL / 分

カラム温度 : 室温

検出波長 : 260 nm

グラジエント条件 : 0% B (0分) → 45% B (30分)

[0329] [実施例 13-1] PN-SO1-10 の合成

1) クリック試薬 X 導入体の合成

ガラスバイアル中の NS-SO1-20 (29.4 mg, 4.0 μ mol) を pH 7.2 の 150 mM リン酸緩衝液 (560 μ L, DMSO 68 μ L) で溶解し、NS-SO1-20 溶液とした。別のガラスバイアルにクリック試薬 X (5.3 mg, 12 μ mol) を DMSO (690 μ L) で溶解し、クリック試薬 X 溶液とした。NS-SO1-20 溶液全量に、クリック試薬 X 溶液 345 μ L (1.5 eq) を添加し、室温で 2 時間攪拌した。分析条件 1 にて、NS-SO1-20 のピークが 3% 以下になったことを確認し攪拌を停止した。

保持時間 (分析条件 1) : NS-SO1-20 : 9.2 分 ; クリック試薬 X : 9.5 分

[0330] 2) PN-SO1-10 の合成

ガラスバイアル中のペプチド F 13.8 mg (6.0 μ mol, 1.5 eq.) を DMSO (1425 μ L) で溶解し、ペプチド F 溶液とした。上記のクリック試薬 X 導入体を含む溶液に、ペプチド F 溶液 (1450 μ L, 1.5 eq.) を添加し、室温で 2 時間攪拌した。分析条件 1 にて、クリック試薬 X 導入体のピークが 3% 以下になったことを確認し攪拌を停止した。純度 64% の PN-SO1-10 粗体溶液が得られた。

保持時間 (分析条件 1) : クリック試薬 X 導入体 : 9.5 分 ; PN-SO1-10 : 10.8 分

[0331] [実施例 13-2] PN-SO1-10 の精製

PN-SO1-10 粗体溶液に、精製条件 1 の移動相 A (118 mL) を

添加し希釈した溶液を注入液とし、精製条件1にて分取精製を行なった。保持時間76分から85分までを分取し、分取溶液を全て合併した。分取溶液を分析条件1にて分析し、純度90.7%のPN-S01-10精製溶液を得た（回収率100%）。

[0332] 〔実施例13-3〕PN-S01-10の脱塩・溶出

PN-S01-10精製溶液に、脱塩条件1の移動相A（100mL）を添加し希釈した溶液を注入液とし、脱塩条件1にて脱塩を行なった。カラムに注入後、2カラムボリュームの注射用水を通液させ、導電率が $50\mu\text{S}/\text{cm}$ 以下となっていることを確認した。次いで、溶出条件1にて、カラム内に保持しているPN-S01-10を溶出させた。保持時間10分から13分までを分取し、分取溶液を全て合併した。分取液を分析条件1にて分析し、純度92.2%のPN-S01-10脱塩溶液を得た（回収率100%）。

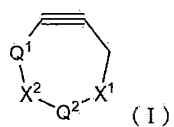
[0333] 〔実施例13-4〕PN-S01-10の凍結乾燥

PN-S01-10脱塩溶液（42mL）に、注射用水（42mL）を添加し希釈した。希釈溶液を凍結後、3日間凍結乾燥機にて乾燥を実施した。乾燥後、白色固体のPN-S01-10（16.1mg、純度90.4%、収率40.4%）を得た。

請求の範囲

[請求項1] 式 (I) :

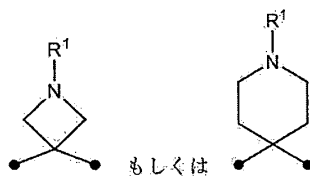
[化1]



[式中、 X^1 および X^2 は、それぞれ独立して、酸素原子または—N(Y^1)—であり、

Q^1 は、

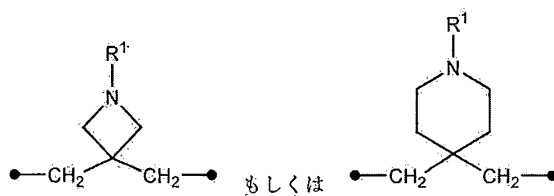
[化2]



のいずれかであり、 Q^2 は、 C_{2-4} アルキレンから選択され、または

Q^1 はメチレンであり、 Q^2 は

[化3-1]



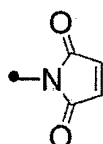
のいずれかであり、

Y^1 は水素原子、1以上のハロゲン原子で置換されていてもよい C_{1-6} アルカンスルホニルおよびニトロベンゼンスルホニルから選択され、

R^1 は、水素原子、 C_{1-6} アルキル、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル、ベンジルオキシカルボニル、[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニル、 $-CO-Q^3-X^3$ 、 $-COO-Q^3-X^3$ 、 $-CONR^2-Q^3-X^3$ 、 $-SO_2-Q^3-X^3$ 、および $-SO_2NR^2-Q^3-X^3$ から選択され、

R^2 は水素原子または C_{1-6} アルキルであり、

X^3 は、 $-COR^5$ 、 $-OL^1$ 、 $-NR^3R^4$ 、または
[化3-2]



であり、

R^3 は水素原子または C_{1-6} アルキルであり、

R^4 は水素原子、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、(C_{1-6} アルコキシ)カルボニル、 $-COX^4$ 、またはベンジルオキシカルボニルであり、

Q^3 は、 C_{1-10} アルキレン、シクロ C_{3-10} アルキレン、シクロ C_{3-10} アルキレンが挿入された C_{2-10} アルキレン、 $-(シクロC_{3-10}アルキレン)-(C_{1-10}アルキレン)-$ 、 $-(C_{1-10}アルキレン)-(シクロC_{3-10}アルキレン)-$ または $-(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2-$ であり、

n は1~10の整数であり、

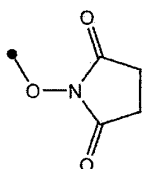
L^1 は、水素原子、 $-COX^4$ 、または(C_{1-6} アルキル)ジフェニ

ルシリルであり、

R^5 は、ヒドロキシ、 X^4 、または C_{1-6} アルコキシであり、

X^4 は、

[化4]



であり、

式(1)の三重結合は、 $CO_2(CO)_6$ により保護されていてもよい]

により表される化合物、またはその塩。

[請求項2] Q^3 はエチレンまたはプロピレンである、請求項1に記載の化合物、またはその塩。

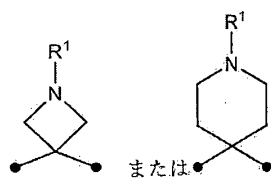
[請求項3] R^1 が $-CO-CH_2-OH$ 、ベンジルオキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、[(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ]カルボニルから選択される、請求項1または2に記載の化合物、またはその塩。

[請求項4] Y^1 が C_{1-6} アルカンスルホニル、トリフルオロメタンスルホニルおよび2-ニトロベンゼンスルホニルである、請求項1～3のいずれか1項に記載の化合物、またはその塩。

[請求項5] Y^1 がメタンスルホニルまたはtert-ブタンスルホニルである、請求項4に記載の化合物、またはその塩。

[請求項6] Q^1 は

[化5]

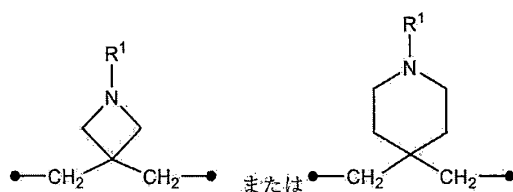


のいずれかである、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物、またはその塩。

[請求項7]

Q²は

[化6]

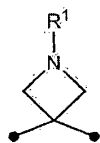


のいずれかである、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の化合物、またはその塩。

[請求項8]

Q¹は、

[化7]



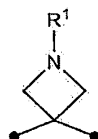
であり、

R¹がベンジルオキシカルボニルである、請求項 1 ～ 5 のいずれか

1 項に記載の化合物、またはその塩。

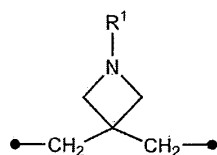
[請求項9] Q^1 が

[化8]



であり、 Q^2 は、 C_{2-3} アルキレンから選択され、または Q^2 が

[化9]

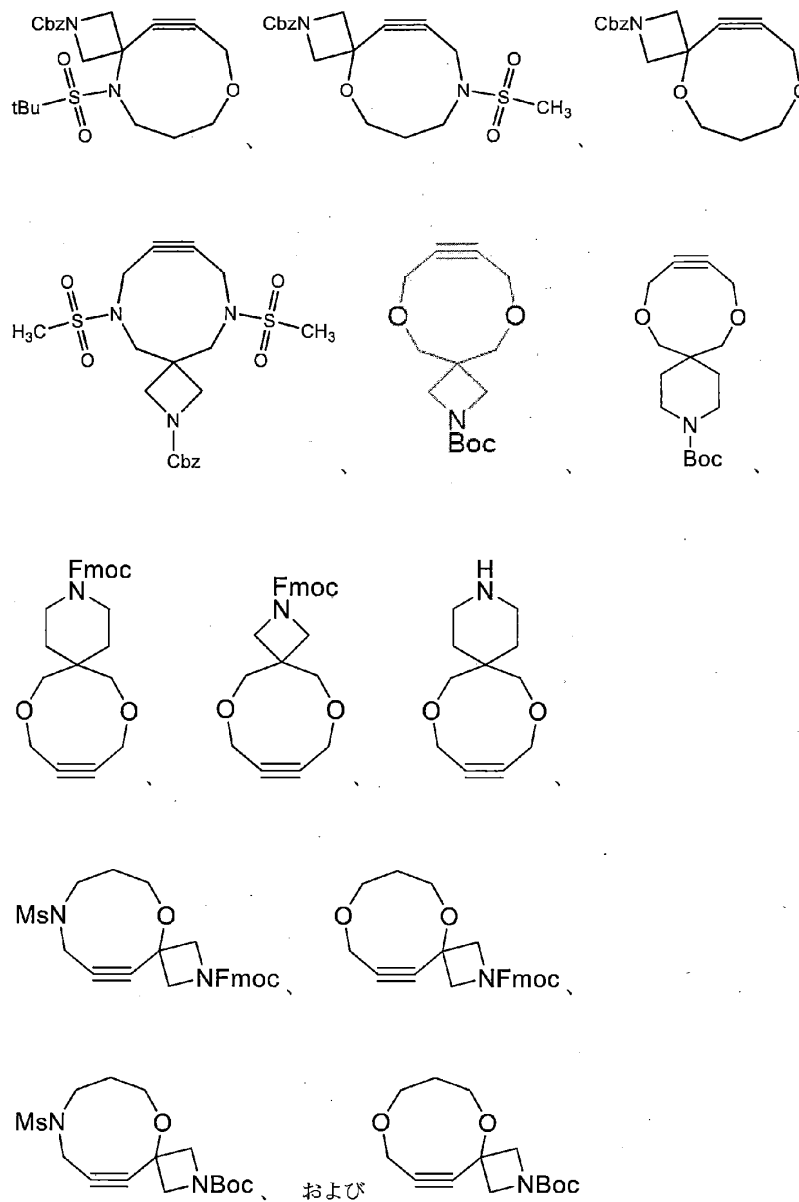


であり、

R^1 がベンジルオキシカルボニルである、請求項1～5のいずれか
1 項に記載の化合物、またはその塩。

[請求項10]

[化10]



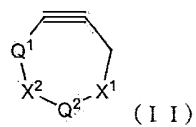
から選択される、請求項 1 に記載の化合物、またはその塩。

[請求項11]

請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の化合物またはその塩を用いて機能性分子のコンジュゲート体を製造する方法であって、

式 (I I) :

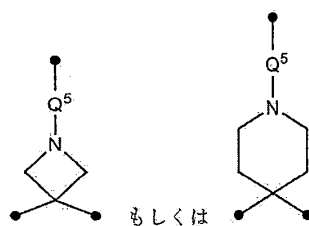
[化11]



[式中、 X^1 および X^2 は、それぞれ独立して、酸素原子または
N (Y^1) -であり、

Q^1 は、

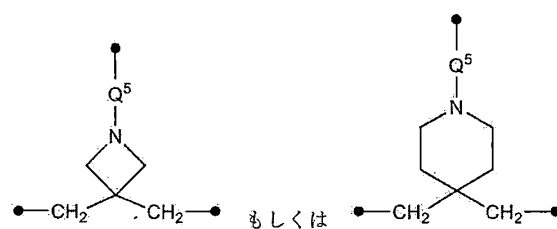
[化12]



のいずれかであり、 Q^2 は、 C_{2-4} アルキレンから選択され、または

Q^1 はメチレンであり、 Q^2 は

[化13]



のいずれかであり、

Q^5 は、第1の機能性分子に結合するリンカー又は単結合である]

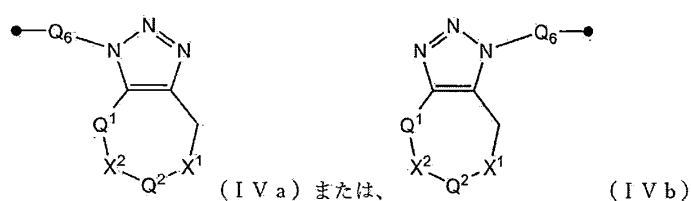
で表される基を有する第1の機能性分子と、式(III)



[Q^6 は、第2の機能性分子に結合するリンカー又は単結合である]

により表される基を有する第2の機能性分子を反応させて、式IVa
または式IVb:

[化14]



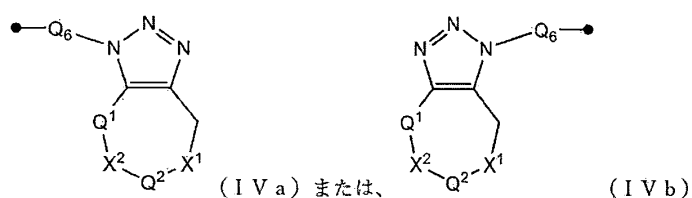
により表されるリンカーにより第1の機能性分子と第2の機能性分子
が連結するコンジュゲート体を得ることを含む、前記方法。

[請求項12] 第1の機能性分子及び第2の機能性分子が、それぞれ独立して、薬
理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグ
デリバリーシステムに用いる分子である請求項11に記載の方法。

[請求項13] 第1の機能性分子または第2の機能性分子のいずれかが、標的への
特異的結合性を有する、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タ
ンパク質、核酸である、請求項12に記載の方法。

[請求項14] 式(IVa)または式(IVb):

[化15]



[式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、 Q^2 および Q^6 は請求項11において定義した通りである]

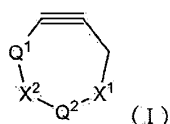
により表されるリンカーにより第1の機能性分子と第2の機能性分子が連結するコンジュゲート体。

[請求項15] 第1の機能性分子及び第2の機能性分子が、それぞれ独立して、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、ドラッグデリバリーシステムに用いる分子である、請求項14に記載のコンジュゲート体。

[請求項16] 第1の機能性分子または第2の機能性分子のいずれかが、標的への特異的結合性を有する、薬理活性化合物、標識化合物、ペプチド、タンパク質、核酸である、請求項15に記載のコンジュゲート体。

[請求項17] 式(1)：

[化16]

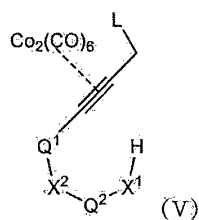


[式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、および Q^2 は請求項1において定義した通りであり、式(1)の三重結合は、 $C \equiv C$ により保護されていてもよい]

で表される化合物の製造方法であって、

式(V)

[化17]



[式中、 X^1 、 X^2 、 Q^1 、および Q^2 は請求項1において定義した通りであり、ただし、ヒドロキシ基およびアミノ基が存在する場合、それらは保護基で保護されており、 L は脱離基である]により表される化合物を酸存在下で処理することにより、対応する閉環体を得ること、を含む製造方法。

[請求項18] 酸がルイス酸又はブレンステッド酸である、請求項17に記載の製造方法。

[請求項19] L は $-OR^{10}$ またはハロゲン原子であり、 R^{10} は、水素原子、(C_{1-6} アルキル)カルボニル、アセチル、トリ(C_{1-6} アルキル)シリル、 C_{1-6} アルキル、ベンゼンスルホニル、または C_{1-6} アルカンスルホニルである請求項17に記載の製造方法。