

明 細 書

発明の名称：

化合物、アルデヒドデヒドロゲナーゼ2活性化剤、医薬組成物、並びに治療及び／又は予防薬

技術分野

[0001] 本発明は、化合物、アルデヒドデヒドロゲナーゼ2活性化剤、医薬組成物、並びに治療及び／又は予防薬に関する。

背景技術

[0002] アルデヒドデヒドロゲナーゼ2 (ALDH2) は、アセトアルデヒド等のアルデヒド類を分解する酵素であり、様々な疾患（例えば、ファンコニ貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH)、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛）との関係が報告されている。

[0003] ファンコニ貧血 (FA) は、遺伝性の骨髓不全疾患であり、再生不良性貧血、白血病、癌、奇形等の症状を伴うものである。骨髓において血液を作成する幹細胞では、アルデヒドを適切に分解し、損傷したゲノムを修復することが重要であるところ、FA患者ではアルデヒドによるゲノム障害を修復できず、貧血が進行すると報告されている（例えば、非特許文献1）。

[0004] 骨粗鬆症との関係において、ALDH2遺伝子変異モデルマウスで骨粗鬆症の症状が呈され、骨密度が低下すること、前記モデルマウスの骨芽細胞の分化形成能が著しく低下すること、及びヒトにおいてもALDH2遺伝子変異を有する骨芽細胞の形成能が低下すること、が報告されている（例えば、非特許文献2）。

[0005] NAFLD及びNASHは、代謝性疾患を背景に、肝臓に中性脂肪が蓄積することによって発症するものであり、ALDH2の低活性遺伝子型のヒトにおいて、NAFLDの発症率が高いことが報告されている（例えば、非特

許文献3)。また、アルコール性肝障害及び膵炎は、過剰の飲酒によって引き起こされるものであり、エタノールが生体内で分解されて生じるアセトアルデヒドが主たる原因であると考えられている。さらに、NAFLD、NASH、アルコール性肝障害、及び膵炎の病態モデルにおいて、ALDH2活性化化合物又はALDH2遺伝子導入により病態が改善されることが報告されている（例えば、非特許文献4、5及び6）。

[0006] 虚血再灌流障害は、動脈の閉塞により臓器の虚血状態が続いた後、血液供給が再開されることによって生じる組織障害である。虚血再灌流障害に対する保護のために、ALDH2活性化化合物が有効であることが報告されている（例えば、特許文献1）。また、末梢動脈疾患とALDH2との関連も示唆されている（例えば、非特許文献7）。

[0007] アルツハイマー病やパーキンソン病は原因不明の神経変性疾患であるが、飲酒やALDH2遺伝子変異が病態の発症や進行に寄与することが報告されている（例えば、非特許文献8及び9）。

[0008] 食道がんの危険因子は喫煙、飲酒、及び熱い飲み物や食べ物の過剰摂取と考えられており、国際がん研究機関（IARC）は2010年にアルコール飲料を食道扁平上皮がんの発がん物質として認定している。食道がん及び頭頸部がん患者の解析から禁酒により食道がんの進展を抑制する可能性が示唆されていることや、低活性変異型のヒトALDH2遺伝子をノックインしたマウスでは飲酒により食道におけるDNA障害をより強く受けることが報告されているなど、食道がんと飲酒及びALDH2との関連性が報告されている（例えば、非特許文献10及び11）。同様に頭頸部がんとALDH2との関連性が報告されている（例えば、非特許文献12）。

[0009] 疼痛としては大きく、炎症性（障害受容性）、神経障害性、及び原因不明の疼痛が知られているが、マウスを用いた炎症性疼痛モデルにおいて、ALDH2変異型導入マウスでは痛み刺激をより感じやすく、ALDH2活性化化合物により解除されることが報告されている（例えば、非特許文献13）。

[0010] 上述のように、ALDH2と様々な疾患との関係が報告されていることから、ALDH2を活性化することが各種疾患の治療及び／又は予防に有効であると期待されている。ALDH2の活性化作用を有する化合物としては、例えば、特許文献1～4に記載のものが知られている。

先行技術文献

特許文献

- [0011] 特許文献1：国際公開第2008／112164号公報
特許文献2：国際公開第2014／160185号公報
特許文献3：国際公開第2015／127137号公報
特許文献4：国際公開第2019／151241号公報

非特許文献

- [0012] 非特許文献1：Blood (2013) 122 (18): 3206-3209
非特許文献2：Journal of Bone and Mineral Research (2012) 27 (9): 2015-2023
非特許文献3：Nutrition & Diabetes (2016) 6, e210
非特許文献4：Redox Biology (2019) 24: 101205
非特許文献5：Journal of Hepatology (2015) 62: 647-656
非特許文献6：Biochemical and Biophysical Research Communications (2020) 522: 518-524
非特許文献7：Pharmacological Research (2017) 115: 96-106
非特許文献8：Biochemical and Biophysical Research Communications (2020) 273: 192-196
非特許文献9：Neurology (2014) 82: 419-426
非特許文献10：Gastroenterology (2016) 151: 860-869
非特許文献11：Carcinogenesis (2020) 41: 194-202
非特許文献12：International Journal of Oncology (2008) 32: 945-973
非特許文献13：Science Translational Medicine (2014) 6: 251ra118

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0013] 本発明は、A L D H 2 活性化作用を有する化合物、又は前記化合物を含む A L D H 2 活性化剤、医薬組成物、若しくは治療若しくは予防薬を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

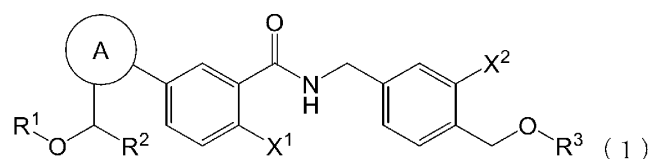
[0014] 本発明者等が鋭意検討した結果、所定の構造を有する化合物が A L D H 2 活性化作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

[0015] 本発明は以下の実施形態を含む。

[1]

下記式 (1) :

[化1]



[式中、

A は、複素環であり、

R¹ 及び R² は、それぞれ独立して、水素、アルキル、アルケニル、又はアルキニルであり、

R³ は、アルキル、アルケニル、又はアルキニルであり、

X¹ 及び X² は、それぞれ独立して、ハロゲンである]

で表される化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[2]

A が、環員原子として少なくとも 1 つの窒素原子を含む、[1] に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[3]

Aが、5又は6員環である、[1]又は[2]に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

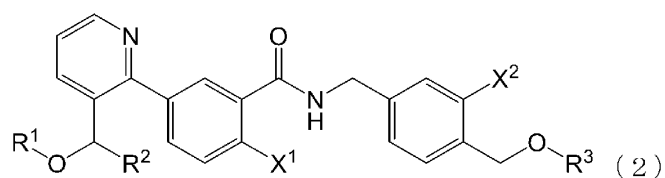
[4]

Aが、芳香族複素環である、[1]～[3]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

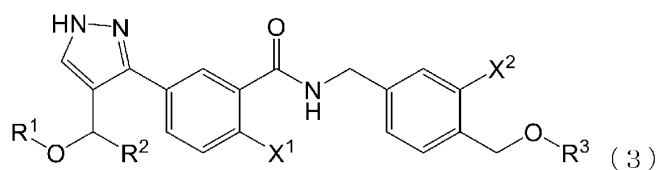
[5]

式(1)で表される化合物が、下記式(2)又は(3)：

[化2]



[化3]



[式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 X^1 及び X^2 は、前記のとおりである]

で表される化合物である、[1]～[4]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[6]

R^1 が、水素又はアルキルである、[1]～[5]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[6-1]

R^1 が、水素又はメチルである、[1]～[6]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[6-2]

R^1 が、水素である、[1]～[6-1]のいずれかに記載の化合物、そ

の医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[7]

R^2 が、水素又はアルキルである、[1] ~ [6 - 2] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[7 - 1]

R^2 が、水素又はメチルである、[1] ~ [7] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[7 - 2]

R^2 が、水素である、[1] ~ [7 - 1] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[8]

R^3 が、ハロゲンで置換されているアルキル又は非置換のアルキルである、[1] ~ [7 - 2] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[8 - 1]

R^3 が、フッ素で置換されているメチル又は非置換のメチルである、[1] ~ [8] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[8 - 2]

R^3 が、非置換のメチルである、[1] ~ [8 - 1] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[9]

X^1 が、フッ素又は塩素である、[1] ~ [8 - 2] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

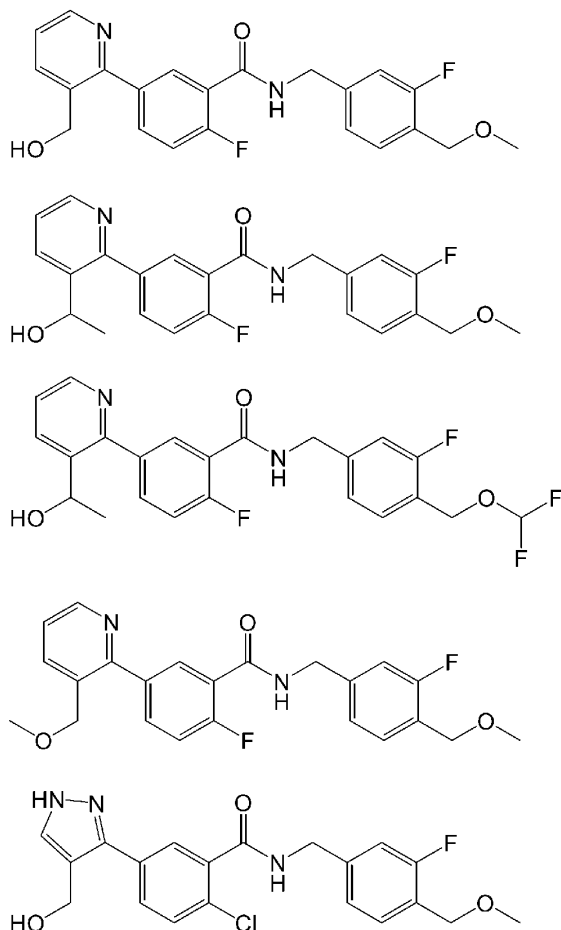
[1 0]

X^2 が、フッ素である、[1] ~ [9] のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[1 1]

式（１）で表される化合物が、下記化合物：

[化4]



からなる群から選択される、[1]～[10]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[12]

R¹が、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$ である、[1]～[11]のいずれかに記載のプロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩。

[13]

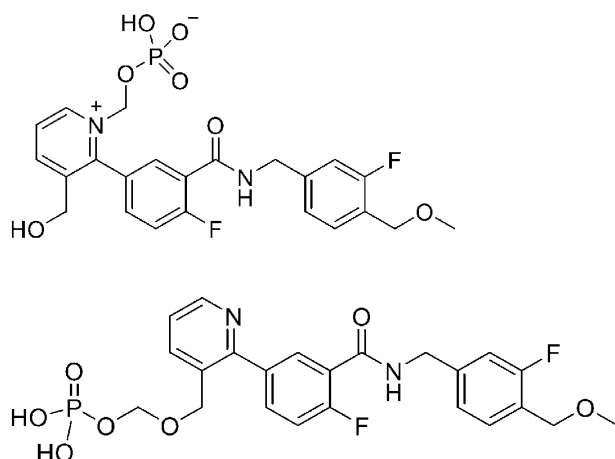
Aが、環員原子として少なくとも1つの窒素原子を含み、前記窒素原子の少なくとも1つが、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$ で置換されている、[1]～[1

1] のいずれかに記載のプロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩。

[14]

プロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩が、下記化合物：

[化5]



からなる群から選択される、[1]～[13]のいずれかに記載のプロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩。

[15]

[1]～[14]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、アルデヒドデヒドロゲナーゼ2活性化剤。

[16]

[1]～[14]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、医薬組成物。

[17]

[1]～[14]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、ファンconi貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛からなる群から選択される疾患の治療及び／又は予防薬。

[0016] [A 1]

アルデヒドデヒドロゲナーゼ2を活性化する方法であって、その必要のある患者に有効量の〔1〕～〔14〕のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを投与することを含む方法。

[A 2]

ファンconi貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛からなる群から選択される疾患を治療及び／又は予防する方法であって、その必要のある患者に有効量の〔1〕～〔14〕のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを投与することを含む方法。

[B 1]

アルデヒドデヒドロゲナーゼ2の活性化に使用するための、〔1〕～〔14〕のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[B 2]

ファンconi貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛からなる群から選択される疾患の治療及び／又は予防に使用するための、〔1〕～〔14〕のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[C 1]

アルデヒドデヒドロゲナーゼ2を活性化するための、〔1〕～〔14〕のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグの使用。

[C 2]

ファンコニ貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛からなる群から選択される疾患を治療及び／又は予防するための、[1]～[14]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグの使用。

[D1]

アルデヒドデヒドロゲナーゼ2活性化剤の製造における、[1]～[14]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグの使用。

[D2]

ファンコニ貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛からなる群から選択される疾患の治療及び／又は予防薬の製造における、[1]～[14]のいずれかに記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグの使用。

発明の効果

[0017] 本発明によれば、ALDH2活性化作用を有する化合物、又は前記化合物を含むALDH2活性化剤、医薬組成物、若しくは治療若しくは予防薬を提供することができる。

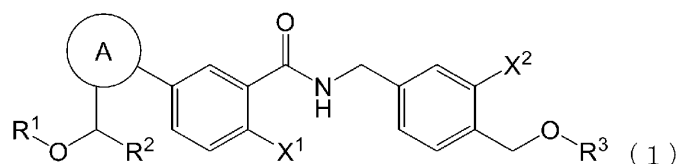
発明を実施するための形態

[0018] 以下、本発明の実施形態について具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではなく、その要旨を逸脱しない範囲で様々な変形が可能である。

[0019] <化合物>

本発明の一実施形態は、下記式(1)：

[化6]



[式中、

Aは、複素環であり、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、水素、アルキル、アルケニル、又はアルキニルであり、

R³は、アルキル、アルケニル、又はアルキニルであり、X¹及びX²は、それぞれ独立して、ハロゲンである]

で表される化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグに関する。

[0020] 式(1)において、Aは、環員原子として少なくとも1つの窒素原子を含むことが好ましい。Aは、5又は6員環であることが好ましい。Aは、芳香族複素環であることが好ましい。特に限定するものではないが、Aは、ピリジン環又はピラゾール環であることが好ましい。

[0021] 式(1)において、R¹～R³のアルキル、アルケニル、及びアルキニルは、直鎖状であってもよいし、分岐状であってもよい。R¹～R³のアルキル、アルケニル、及びアルキニルは、置換基で置換されていてもよいし、非置換であってもよい。前記置換基としては、例えば、ハロゲン（フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素）を挙げることができる。置換基を有する場合、置換基の数としては、例えば、1個、2個又は3個を挙げることができる。

[0022] 式(1)において、R¹～R³のアルキルは、それぞれ独立して、炭素数1～6のアルキルであることが好ましく、炭素数1～3のアルキルであることがより好ましく、メチルであることが更に好ましい。R¹～R³のアルケニルは、それぞれ独立して、炭素数2～6のアルケニルであることが好ましく、炭素数2～4のアルケニルであることがより好ましい。R¹～R³のアルキニ

ルは、それぞれ独立して、炭素数2～6のアルキニルであることが好ましく、炭素数2～4のアルキニルであることがより好ましい。

[0023] 式(1)において、 R^1 は、ALDH2活性及び代謝安定性の観点から、水素又はアルキルであることが好ましく、水素又はメチルであることがより好ましく、水素であることが更に好ましい。

[0024] 式(1)において、 R^2 は、ALDH2活性及び代謝安定性の観点から、水素又はアルキルであることが好ましく、水素又はメチルであることがより好ましく、水素であることが更に好ましい。

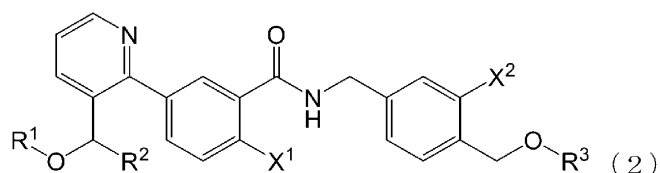
[0025] 式(1)において、 R^3 は、代謝安定性の観点から、ハロゲンで置換されているアルキル又は非置換のアルキルであることが好ましく、フッ素で置換されているメチル又は非置換のメチルであることがより好ましく、非置換のメチルであることが更に好ましい。

[0026] 式(1)において、 X^1 は、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素であることが好ましく、フッ素又は塩素であることがより好ましく、フッ素であることが更に好ましい。

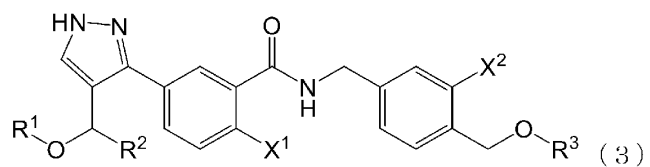
[0027] 式(1)において、 X^2 は、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素であることが好ましく、フッ素又は塩素であることがより好ましく、フッ素であることが更に好ましい。

[0028] 式(1)で表される化合物は、特に限定するものではないが、下記式(2)又は(3)：

[化7]



[化8]

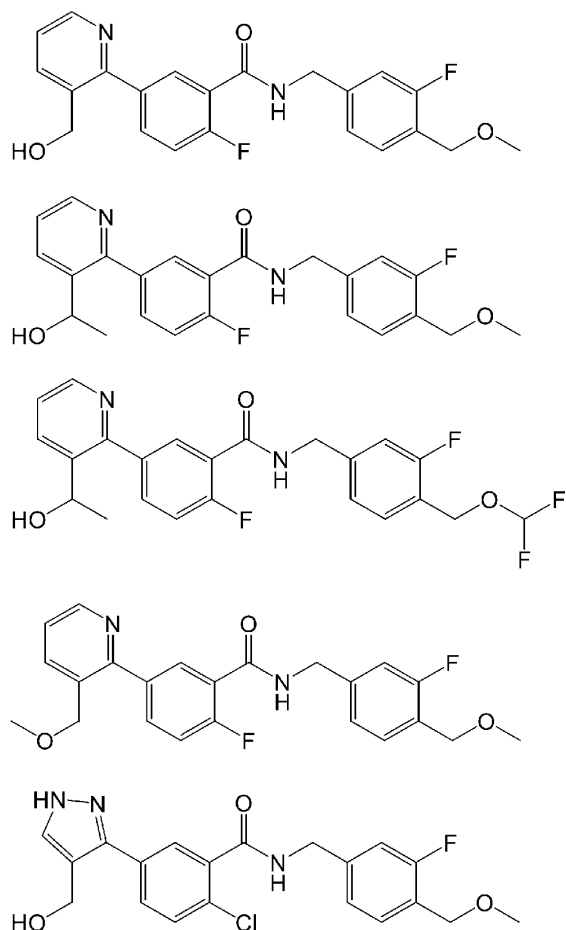


[式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 X^1 及び X^2 は、前記のとおりである]

で表される化合物であることが好ましい。

[0029] 式(1)で表される化合物は、特に限定するものではないが、下記の化合物であることが好ましい。

[化9]

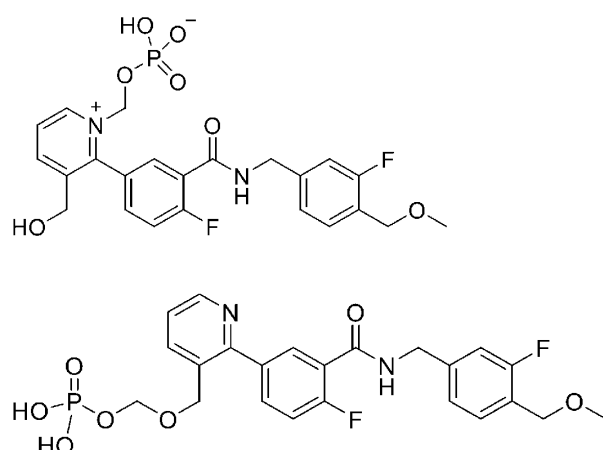


[0030] 上記の化合物のプロドラッグとしては、例えば、リン酸化プロドラッグ、

より具体的には、 R^1 が $-CH_2-O-PO_3H_2$ であるもの、及びAの環員原子である窒素原子の少なくとも1つが $-CH_2-O-PO_3H_2$ で置換されているものを挙げることができる。

[0031] プロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩は、特に限定するものではないが、下記の化合物であることが好ましい。

[化10]



[0032] 上記の化合物又はプロドラッグの医薬上許容可能な塩は、医薬として使用可能なものであれば特に限定されないが、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、臭化水素酸塩等の無機酸塩；フマル酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トールエンスルホン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、パルミチン酸塩等の有機酸塩；アルカリ金属塩；及びアルカリ土類金属塩を挙げることができる。

[0033] 上記の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグは、水和物等の溶媒和物を形成していてもよい。本明細書において、溶媒和物は、上記の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグに包含されるものとする。

[0034] 上記の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグに立体異性体（例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー）が存在する場合、個々の立体異性体及びこれらの混合物（例えば、ラセミ体）は、上記の化合物

、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグに包含されるものとする。

[0035] <アルデヒドデヒドロゲナーゼ2活性化剤>

本発明の一実施形態は、上記の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、ALDH2活性化剤に関する。本実施形態のALDH2活性化剤は、ALDH2活性化作用に優れているだけでなく、更に優れた性質（例えば、優れた代謝安定性、反応性代謝物の生成抑制、HERGの阻害回避）を有している。

[0036] 本実施形態のALDH2活性化剤を使用することにより、ALDH2が関連する疾患を治療及び／又は予防することができる。

[0037] <医薬組成物並びに治療及び／又は予防薬>

本発明の一実施形態は、上記の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、医薬組成物に関する。また、本発明の一実施形態は、上記の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、治療及び／又は予防薬に関する。

[0038] 本実施形態の医薬組成物並びに治療及び／又は予防薬が対象とする疾患としては、例えば、ファンconi貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛等が挙げられる。

[0039] 本実施形態の医薬組成物並びに治療及び／又は予防薬は、経口的又は非経口的に投与することができる。経口投与用の剤形としては、例えば、錠剤、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤、乳剤、及び懸濁剤が挙げられる。非経口投与用の剤形としては、例えば、注射剤、注入剤、点滴剤、点眼剤及び坐剤が挙げられる。

[0040] 本実施形態の医薬組成物並びに治療及び／又は予防薬は、必要に応じて、賦形剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、甘味剤、界面活性剤、懸濁化剤、乳化剤、着色剤、保存剤、芳香剤、矯味剤、安定剤、粘稠剤等を含んでいてもよい。

。

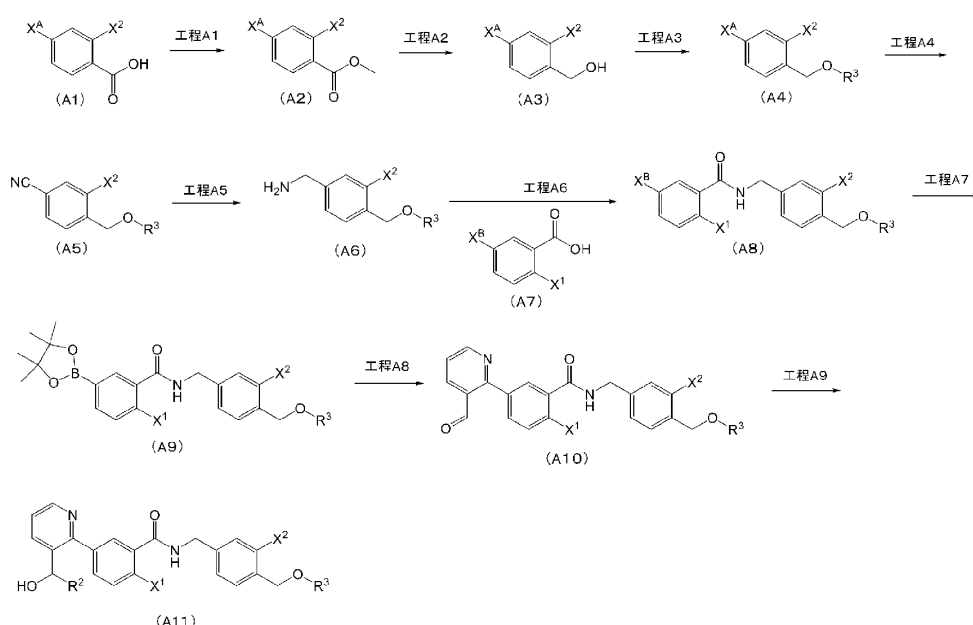
[0041] 本実施形態の医薬組成物並びに治療及び／又は予防薬の投与量（有効成分基準）は、患者の状態や体重、化合物の種類、疾患の種類、投与経路等によって異なるが、適切な量を医師が決定することができる。一例として、ファンconi貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛等を治療する場合、成人（体重約60kg）に対して、経口投与の場合には1～2000（mg）、非経口投与の場合には0.01～200（mg）投与してもよい。

[0042] <化合物の製造方法>

上記の化合物又はその医薬上許容可能な塩は、公知の方法を適宜利用して合成することができる。合成方法の一例として、下記のスキームAを挙げることができる。

[化11]

<スキームA>



[R^2 、 R^3 、 X^1 及び X^2 は上記のとおりであり、 X^A 及び X^B はそれぞれ独立

してハロゲンである。]

[0043] 工程A1では、化合物(A1)をヨードメタンを用いてエステル化し、化合物(A2)を得る。

工程A2では、化合物(A2)を還元剤(例えば、水素化ホウ素ナトリウム)と反応させて、化合物(A3)を得る。

工程A3では、化合物(A3)を強塩基(例えば、水素化ナトリウム)と反応させた後、 R^3 を与えるハロゲン化物(例えば、ヨードメタン)と反応させて、化合物(A4)を得る。

工程A4では、化合物(A4)をシアノ化剤(例えば、シアン化亜鉛)を用いてシアノ化し、化合物(A5)を得る。

工程A5では、化合物(A5)を還元剤(例えば、ボランジメチルスルフィド錯体)と反応させて、化合物(A6)を得る。

[0044] 工程A6では、化合物(A6)を化合物(A7)と反応させて、化合物(A8)を得る。

工程A7では、化合物(A8)をビス(ピナコラート)ジボロンと反応させて、化合物(A9)を得る。

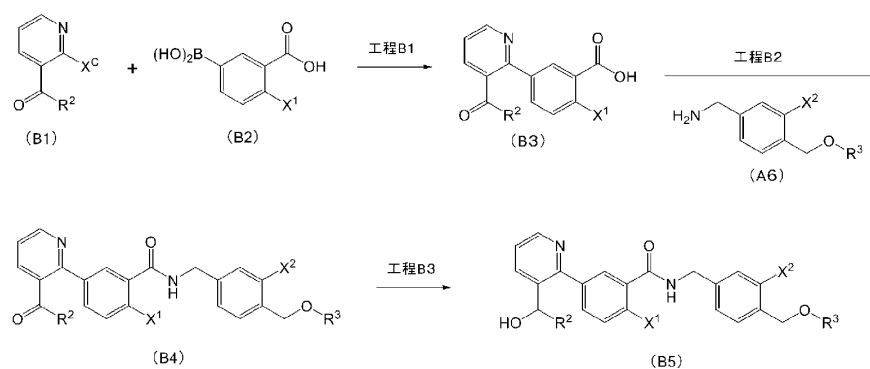
工程A8では、化合物(A9)を2-ハロゲン化ピリジン3-カルバルデヒドと反応させて、化合物(A10)を得る。

工程A9では、化合物(A10)を還元剤(例えば、水素化ホウ素ナトリウム)又は R^2 を与えるグリニャール試薬と反応させて、化合物(A11)を得る。

[0045] 上記の化合物又はその医薬上許容可能な塩の別の合成方法として、下記のスキームBを挙げることができる。

[化12]

<スキームB>



[R^2 、 R^3 、 X^1 及び X^2 は上記のとおりであり、 X^C はハロゲンである。]

[0046] 工程B1では、化合物(B1)を化合物(B2)と反応させて、化合物(B3)を得る。

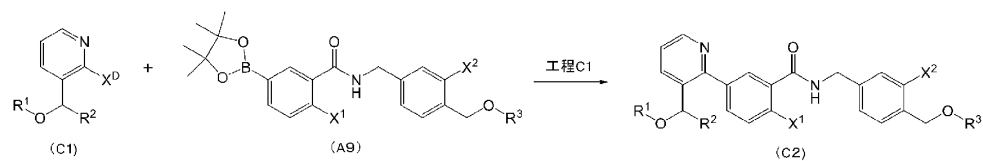
工程B2では、化合物(B3)を化合物(A6)と反応させて、化合物(B4)を得る。

工程B3では、化合物(B4)を還元剤(例えば、水素化ホウ素ナトリウム)と反応させて、化合物(B5)を得る。

[0047] 上記の化合物又はその医薬上許容可能な塩の別の合成方法として、下記のスキームCを挙げることできる。

[化13]

<スキームC>



[$R^1 \sim R^3$ 、 X^1 及び X^2 は上記のとおりであり、 X^D はハロゲンである。]

[0048] 工程C1では、化合物(C1)を化合物(A9)と反応させて、化合物(C2)を得る。

[0049] 上記の化合物又はその医薬上許容可能な塩の合成方法は、上記スキームA～Cに限定されるものではなく、最終化合物の構造に応じて、適切な合成ルート及び反応条件を当業者が適宜設定することができる。例えば、最終化合物がピリジン環以外の複素環（例えばピラゾール環）を有する場合、スキームCにおける化合物（C1）の代わりに、対応する複素環を有する化合物を使用すればよい。

[0050] 上記の化合物又はその医薬上許容可能な塩のプロドラッグは、例えばリン酸基を公知の方法で導入して合成すればよい。

[0051] 式（1）で表される化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグに立体異性体が存在する場合、各異性体を公知の方法で分割することができる。公知の方法としては、例えば、クロマトグラフィー法、酵素法、及び結晶化法を挙げることができる。

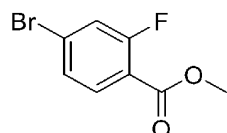
実施例

[0052] 以下、実施例及び比較例を用いて本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれに限定されるものではない。

[0053] [製造例1-1]

メチル 4-ブロモ-2-フルオロベンゾエート

[化14]



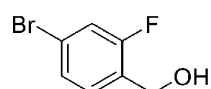
4-ブロモ-2-フルオロベンゾイック アシド（30 g、0.14 mol）、炭酸カリウム（38 g、0.27 mol）、及びN,N-ジメチルホルムアミド（DMF）（300 mL）の混合物に、室温でヨードメタン（16 mL、0.27 mol）を加え、同温で16時間攪拌した。反応混合物に水（200 mL）を加え、酢酸エチル（300 mL）で抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去し、標記化合物（30 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ Spectrum (CDCl_3) δ (ppm): 3.94 (3H, s), 7.81 (1H, s, $J=16\text{Hz}$), 7.32 (2H, m).

[0054] [製造例 1-2]

(4-ブロモ-2-フルオロフェニル) メタノール

[化15]



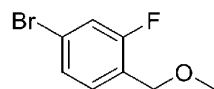
製造例 1-1 で得たメチル 4-ブロモ-2-フルオロベンゾエート (30 g、0.13 mol) とメタノール (300 mL) の混合物に、0℃で水素化ホウ素ナトリウム (0.38 g、10 mmol) を30分間かけて加え、60℃で16時間攪拌した。反応混合物に水 (20 mL) を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去した。反応混合物に水 (250 mL) を加え、ジクロロメタン (200 mL、2回) で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去し、標記化合物 (25 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ Spectrum (CDCl_3) δ (ppm): 4.72 (2H, s), 7.25 (1H, m), 7.34 (2H, m).

[0055] [製造例 1-3]

4-ブロモ-2-フルオロ-1-(メトキシメチル) ベンゼン

[化16]



60%水素化ナトリウム (7.3 g、0.18 mol) とDMF (150 mL) の混合物に、製造例 1-2 で得た (4-ブロモ-2-フルオロフェニル) メタノール (25 g、0.12 mol) とDMF (50 mL) の混合物を0℃で20分間かけて加えた。反応混合物に室温でヨードメタン (15 mL)

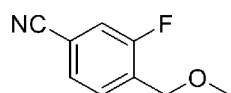
L、0.24 mol)を加え、同温で16時間攪拌した。反応混合物を0℃に冷却し、氷冷水(500 mL)を加え、酢酸エチル(250 mL、次いで150 mL)で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去し、標記化合物(20 g)を得た。

¹H-NMR Spectrum (CDCl₃) δ (ppm): 3.40 (3H, s), 4.47 (2H, s), 7.23 (1H, m), 7.28 (2H, m).

[0056] [製造例1-4]

3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンゾニトリル

[化17]



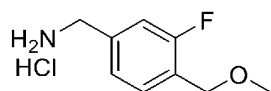
製造例1-3で得た4-ブロモ-2-フルオロ-1-(メトキシメチル)ベンゼン(20 g、91 mmol)、ジンクダスト(0.29 g、4.6 mmol)、シアン化亜鉛(16 g、0.14 mol)、及びDMF(250 mL)の混合物を、アルゴンガスを用いて脱気置換した。反応混合物に、同温でトリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0)(4.2 g、4.6 mmol)及び1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン(5.1 g、9.1 mmol)を加え、再度アルゴンガスを用いて脱気置換した。反応混合物を100℃で16時間攪拌した。反応混合物に水(500 mL)を加え、酢酸エチル(500 mL、次いで200 mL)で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(15~20%酢酸エチル-n-ヘキサン溶液)により精製し、標記化合物(10 g)を得た。

¹H-NMR Spectrum (CDCl₃) δ (ppm): 3.45 (3H, s), 4.56 (2H, s), 7.35 (1H, d, J=9.2Hz), 7.48 (1H, d, J=8Hz), 7.58 (1H, t, J=14Hz).

[0057] [製造例1-5]

(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)フェニル)メタナミン 塩酸塩

[化18]



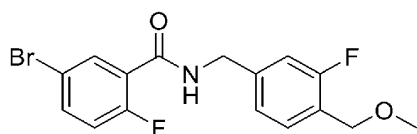
製造例 1-4 で得た 3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンゾニトリル (10 g、61 mmol) とテトラヒドロフラン (THF) (100 mL) の混合物に、0℃で20分間かけてボラン-ジメチルスルフィド コンプレックス (18 mL、0.24 mol) を滴下し、80℃で16時間攪拌した。反応混合物を0℃に冷却し、同温でメタノール (25~30 mL) を加え、減圧下溶媒留去した。残渣にジクロロメタン (100 mL) を加え、塩の形成に十分な量の4 M塩酸-1, 4-ジオキサン溶液を加え、室温で30分間攪拌した。減圧下溶媒留去し、残渣をジエチルエーテルで洗い、標記化合物 (5.0 g) を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 3.37 (3H, s), 4.00 (2H, s), 4.54 (2H, s), 7.31 (1H, d, J=7.6Hz), 7.39 (1H, d, J=11Hz), 7.46 (1H, t, J=7.6Hz), 8.19 (3H, s).

[0058] [製造例 1-6]

5-ブロモ-2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)ベンズアミド

[化19]



5-ブロモ-2-フルオロベンゾイック アシド (5.0 g、23 mmol)、製造例 1-5 で得た (3-フルオロ-4-(メトキシメチル)フェニル)メタナミン 塩酸塩 (5.6 g、27 mmol)、及びDMF (50 mL) の混合物に、0℃でジイソプロピルエチルアミン (13 mL、46 mmol) とプロパンホスホニック アシッド 無水物 (15 mL、46 mmol)

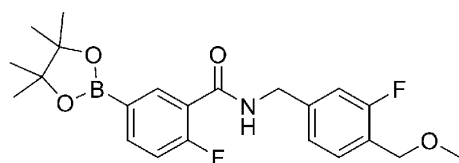
1) を順次加えた。反応混合物を室温で3時間攪拌した。反応混合物に水 (200 mL) を加え、30分間攪拌した。生成した固体をろ取し、水 (100 mL、2回) で洗浄した。固体を減圧下で乾燥させ、標記化合物 (5.2 g) を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 3.28 (3H, s), 4.46 (4H, m), 7.16 (2H, m), 7.40 (2H, m), 7.78 (2H, m), 9.03 (1H, m)

[0059] [製造例1-7]

2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド

[化20]

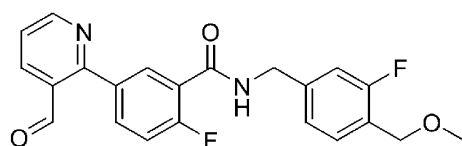


製造例1-6で得た5-ブロモ-2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)ベンズアミド (4.0 g、19 mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン (6.8 g、10 mmol)、酢酸カリウム (3.5 g、9.1 mmol)、及びDMF (50 mL) の混合物を、アルゴンガスを用いて脱気置換した。反応混合物に、同温でジクロロ (1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウム (0.16 g、0.23 mmol) を加え、再度アルゴンガスを用いて脱気置換した。反応混合物を100℃で16時間攪拌した。反応混合物に水 (100 mL) を加え、酢酸エチル (100 mL、2回) で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (15~20%酢酸エチル-n-ヘキサン溶液) により精製し、標記化合物 (4 g) を粗体として得た。これ以上の精製をすることなく次の反応に用いた。

[0060] [製造例 1-8]

2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化21]



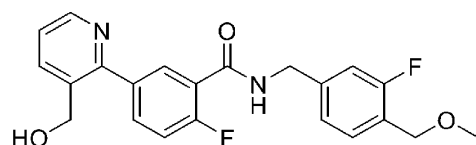
製造例 1-7 で得た 2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド (2.0 g)、2-ブロモピリジン 3-カルバルデヒド (0.98 g、4.7 mmol)、炭酸カリウム (1.3 g、9.5 mmol)、1,4-ジオキサン (20 mL)、及び水 (2 mL) の混合物を、窒素ガスを用いて脱気置換した。反応混合物に、同温でジクロロ (1,1'-ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン) パラジウム (0.39 g、0.25 mmol) を加え、窒素雰囲気下で 110℃ で 16 時間攪拌した。反応混合物を室温とし、酢酸エチル (50 mL) を加え、セライトを用いてろ過した。セライトを酢酸エチル (20 mL) で洗浄した。ろ液を減圧下溶媒留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (15~20% 酢酸エチル-n-ヘキサン溶液) により精製し、標記化合物 (1.1 g) を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 3.28 (3H, s), 4.42 (2H, s), 4.50 (2H, s), 7.18 (2H, m), 7.40 (1H, t, J=15.4Hz), 7.51 (1H, t, J=18Hz), 7.66 (1H, m), 7.83 (1H, m), 7.91 (1H, m), 8.30 (1H, d, J=7.5Hz), 8.92 (1H, m), 9.06 (1H, bs), 9.98 (1H, s).

[0061] [実施例 1]

2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化22]



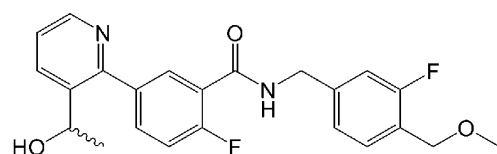
製造例 1－8 で得た 2－フルオロ－N－（3－フルオロ－4－（メトキシメチル）ベンジル）－5－（3－ホルミルピリジン－2－イル）ベンズアミド（1.0 g、2.5 mmol）とメタノール（10 mL）の混合物に 0℃で水素化ホウ素ナトリウム（0.38 g、10 mmol）をゆっくり加え、室温で 16 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、ジクロロメタン（25 mL、次いで 15 mL）で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去し、標記化合物（0.90 g）を得た。

ESI-MS: m/z 399.50 $[M+1]^+$

[0062] [実施例 2]

ラセミック 2－フルオロ－N－（3－フルオロ－4－（メトキシメチル）ベンジル）－5－（3－（1－ヒドロキシエチル）ピリジン－2－イル）ベンズアミド

[化23]



製造例 1－8 に記載の 2－フルオロ－N－（3－フルオロ－4－（メトキシメチル）ベンジル）－5－（3－ホルミルピリジン－2－イル）ベンズアミド（1.3 g、3.7 mmol）と THF（15 mL）の混合物に、0℃でメチルマグネシウムブロミド（3M in diethyl ether、2.7 mL、9.2 mmol）を滴下し、室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を 0℃に冷却し、同温で飽和塩化アンモニウム水溶液（5 mL）を加えた

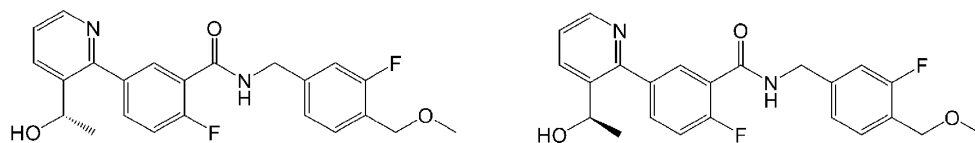
。反応混合物を酢酸エチル（25 mL、次いで15 mL）で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（70%酢酸エチル–n–ヘキサン溶液）により精製し、標記化合物（0.23 g）を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 1.23 (3H, d, J=6.4Hz), 3.28 (3H, s), 4.42 (2H, s), 4.48 (2H, d, J=6Hz), 4.77–4.81 (1H, m), 5.30 (1H, d, J=4Hz), 7.13–7.18 (2H, m), 7.36–7.46 (3H, m), 7.64–7.67 (1H, m), 7.72–7.75 (1H, m), 8.03–8.04 (1H, d, J=6.4Hz), 8.52–8.54 (1H, m), 9.03 (1H, t, J=6Hz).

[0063] [実施例3及び4]

キラル 2–フルオロ–N–（3–フルオロ–4–（メトキシメチル）ベンジル）–5–（3–（1–ヒドロキシエチル）ピリジン–2–イル）ベンズアミド

[化24]

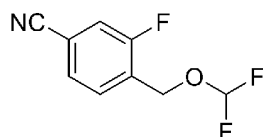


実施例2で得たラセミック 2–フルオロ–N–（3–フルオロ–4–（メトキシメチル）ベンジル）–5–（3–（1–ヒドロキシエチル）ピリジン–2–イル）ベンズアミド（0.80 g）を超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）を用いて鏡像異性体を分離した（Chiralpak–IG、0.2%トリエチルアミン含有の20%メタノール–二酸化炭素）。早く溶出される鏡像異性体（0.26 g、実施例3）と遅く溶出される鏡像異性体（0.32 g、実施例4）を得た。

[0064] [製造例5–1]

4–（（ジフルオロメトキシ）メチル）–3–フルオロベンゾニトリル

[化25]



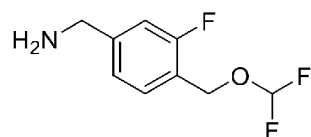
4-（ヒドロキシメチル）-3-フルオロベンゾニトリル（1.0 g、6.6 mmol）とジクロロメタン（5 mL）の混合物に、室温で2 N水酸化ナトリウム水溶液（0.53 g、13 mmol）と（ブロモジフルオロメチル）トリメチルシラン（1.6 mL、9.9 mmol）を順次加え、同温で48時間攪拌した。反応混合物に水を加え、ジクロロメタン（50 mL、2回）で抽出した。有機層を合わせ、飽和食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥させた。減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（2%酢酸エチル-*n*-ヘキサン溶液）により精製し、標記化合物（0.25 g）を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 5.05 (2H, s), 6.82 (1H, t, J=75Hz), 7.69-7.76 (2H, m), 7.91 (1H, d, J=9.2Hz).

[0065] [製造例5-2]

4-（（ジフルオロメトキシ）メチル）-3-フルオロフェニル）メタンアミン

[化26]



製造例5-1で得た4-（（ジフルオロメトキシ）メチル）-3-フルオロベンゾニトリル（0.30 g、1.5 mmol）とメタノール（5 mL）の混合物に0℃でニッケル（II）クロライド ヘキサハイドレート（39 mg、0.30 mmol）と水素化ホウ素ナトリウム（0.17 g、4.5 mmol）をゆっくり加え、同温で1時間攪拌した。反応混合物に氷水を加

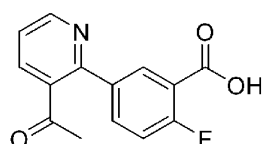
え、ジクロロメタン（25 mL、2回）で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を飽和食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥させた。減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（8%メタノール-ジクロロメタン溶液）により精製し、標記化合物（200 mg）を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 3.72 (2H, s), 4.91 (2H, s), 6.77 (1H, t, J= 75Hz), 7.15-7.23 (2H, m), 7.37-7.41 (1H, m).

[0066] [製造例 5-3]

5-(3-アセチルピリジン-2-イル)-2-フルオロベンゾイック アシド

[化27]



3-カルボキシ-4-フルオロフェニルボロニック アシド（3.0 g、16 mmol）、3-アセチル-2-ブromoピリジン（3.3 g、16 mmol）、1,4-ジオキサン（30 mL）、及び水（10 mL）の混合物に、炭酸カリウム（4.5 g、33 mmol）を室温に加え、窒素ガスを用いて脱気置換した。反応混合物に、同温でジクロロ（1,1'-ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン）パラジウム ジクロロメタンコンプレックス（0.67 g、0.82 mmol）を加え、100℃で16時間攪拌した。反応混合物を室温とし、減圧下溶媒留去した。残渣にジクロロメタン（75 mL）を加え、ろ過し、残渣をジクロロメタン（75 mL）で洗浄した。ろ液を減圧下溶媒留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（10%～12%メタノール-ジクロロメタン溶液）により精製し、標記化合物（2.1 g）を得た。

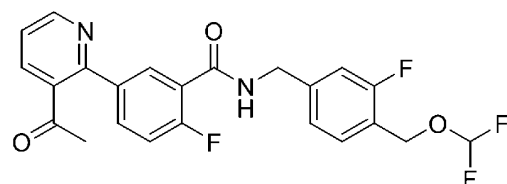
¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 2.37 (3H, s), 7.28-7.31 (1H, m), 7.37-7.42 (1H, m), 7.70-7.72 (1H, m), 7.98-8.00 (1H, m), 8.10-8.12 (1H,

m), 8.76-8.77 (1H, m), 13.34 (1H, bs).

[0067] [製造例 5-4]

5-(3-アセチルピリジン-2-イル)-N-(4-((ジフルオロメトキシ)メチル)-3-フルオロベンジル)-2-フルオロベンズアミド

[化28]



製造例 5-3 で得た 5-(3-アセチルピリジン-2-イル)-2-フルオロベンゾイック アシド (0.10 g, 0.39 mmol) と DMF (3 mL) の混合物に、窒素雰囲気下、0℃でジイソプロピルエチルアミン (0.21 mL, 1.2 mmol) とプロパンホスホンニック アシッド 無水物 (50%酢酸エチル溶液) (0.24 mL, 0.78 mmol) を順次加え、同温で 15 分間攪拌した。反応混合物に、同温で製造例 5-2 で得た (4-((ジフルオロメトキシ)メチル)-3-フルオロフェニル)メタンアミン (79 mg, 0.39 mmol) を加え、室温で 16 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチル (20 mL, 2 回) で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を飽和食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥させた。減圧下溶媒留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (55%酢酸エチル-n-ヘキサン溶液) により精製し、標記化合物 (60 mg) を得た。

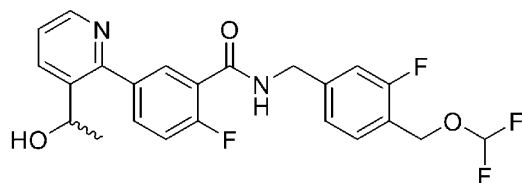
¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ (ppm): 2.38 (3H, s), 4.02 (2H, d, J=5.6Hz), 4.93 (2H, s), 6.71 (1H, t, J=74Hz), 7.18-7.21 (1H, m), 7.44-7.79 (4H, m), 7.78-7.79 (1H, m), 8.11 (1H, d, J=7.6Hz), 8.76-8.77 (1H, m), 9.05-9.06 (1H, m).

[0068] [実施例 5]

N-(4-((ジフルオロメトキシ)メチル)-3-フルオロベンジル)-

2-フルオロ-5-(3-(1-ヒドロキシエチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化29]



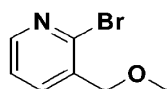
製造例5-4で得た5-(3-アセチルピリジン-2-イル)-N-(4-(ジフルオロメトキシ)メチル)-3-フルオロベンジル)-2-フルオロベンズアミド(0.15g、0.34mmol)とメタノール(3mL)の混合物に0℃で水素化ホウ素ナトリウム(26mg、0.69mmol)をゆっくり加え、室温で6時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチル(30mL、2回)で抽出した。2つの有機層を合わせて、有機層を飽和食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥させた。減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(55%酢酸エチル-n-ヘキサン溶液)により精製し、標記化合物(30mg)を得た。

¹H-NMR Spectrum (DMSO-d₆) δ(ppm): 1.27 (3H, d, J=6.4Hz), 4.49 (2H, d, J=5.6Hz), 4.77-4.81 (1H, m), 4.93 (2H, s), 5.30 (1H, J=4Hz), 6.78 (1H, t, J=75Hz), 7.18-7.21 (2H, m), 7.39-7.47 (3H, m), 7.64-7.68 (1H, m), 7.73-7.75 (1H, m), 8.03 (1H, d, J=8Hz), 8.53 (1H, d, J=4.8Hz), 9.05 (1H, t, J=5.6Hz).

[0069] [製造例6-1]

2-ブロモ-3-(メトキシメチル)ピリジン

[化30]



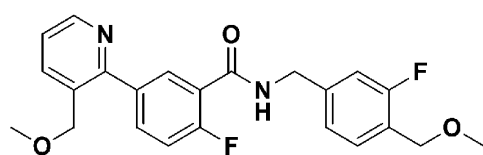
60%水素化ナトリウム(0.057g、2.4mmol)とTHF(3

mL) の混合物に、(2-ブロモピリジン-3-イル) メタノール (0.30 g、1.6 mmol) と THF (3 mL) の混合物を 0℃ で加えた。反応混合物に室温でヨードメタン (0.15 mL、2.4 mmol) を加え、同温で 16 時間攪拌した。反応混合物を 0℃ に冷却し、氷冷水を加え、酢酸エチル (15 mL、次いで 5 mL) で抽出した。2 つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去し、標記化合物 (0.15 g) を粗体として得た。これ以上の精製をすることなく、次の反応に用いた。

[0070] [実施例 6]

2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(3-(メトキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化31]



製造例 6-1 で得た 2-ブロモ-3-(メトキシメチル)ピリジン (49 mg)、製造例 1-7 で得た 2-フルオロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド (0.10 g)、炭酸ナトリウム (0.050 g、0.47 mmol)、1,4-ジオキサン (3 mL)、及び水 (0.5 mL) の混合物を、アルゴンガスを用いて脱気置換した。反応混合物に、同温でジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウム ジクロロメタンコンプレックス (8.0 mg、0.0098 mmol) を加え、再度アルゴンガスを用いて脱気置換し、反応混合物を 80℃ で 16 時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水 (5 mL) を加え、酢酸エチル (10 mL、次いで 5 mL) を用いて抽出した。2 つの有機層を合わせて、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留

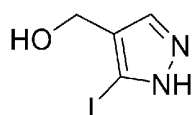
去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（20%酢酸エチル－
n－ヘキサン溶液）により精製し、標記化合物（0.080 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ Spectrum (DMSO-d_6) δ (ppm): 3.28 (3H, s), 3.29 (3H, s), 4.36 (2
H, s), 4.42 (2H, s), 4.48 (2H, d, $J=6\text{Hz}$), 7.13–7.18 (2H, m), 7.36–7.4
5 (3H, m), 7.75–7.79 (1H, m), 7.87–7.89 (1H, m), 7.91–7.93 (1H, m), 8
.61–8.63 (1H, m), 9.01 (1H, t, $J=11\text{Hz}$).

[0071] [製造例 7－1]

（5－ヨード－1H－ピラゾール－4－イル）メタノール

[化32]



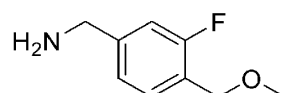
5－ヨード－1H－ピラゾール－4－カルボン酸エチル（4.0 g、15
mmol）とTHF（4 mL）の混合物に0℃でボラン－THF溶液（1 M
THF溶液、30 mL）を滴下した。反応混合物を室温で1時間攪拌した。
反応混合物に同温でメタノール（20 mL）を滴下し、30分間攪拌した。
反応混合物を減圧下溶媒留去した。残渣を高速液体クロマトグラフィーによ
り精製し、標記化合物（1.5 g）を得た。

ESI-MS: m/z 224.9 $[\text{M}+1]^+$

[0072] [製造例 7－2]

（3－フルオロ－4－（メトキシメチル）フェニル）メタナミン

[化33]



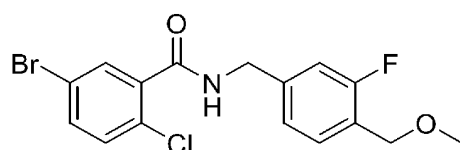
製造例 1－4 に記載の 3－フルオロ－4－（メトキシメチル）ベンゾニト
リル（8.0 g、48 mmol）とメタノール（50 mL）の混合物に、ラ
ネーニッケル（20 g）を加え、水素雰囲気下で室温で終夜攪拌した。反応

混合物を窒素により脱気置換し、セライトを用いてろ過した。ろ液を減圧下溶媒留去し、標記化合物（7.5 g）を粗体として得た。粗体としてそのまま次の反応に用いた。

[0073] [製造例 7-3]

5-ブロモ-2-クロロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)ベンズアミド

[化34]



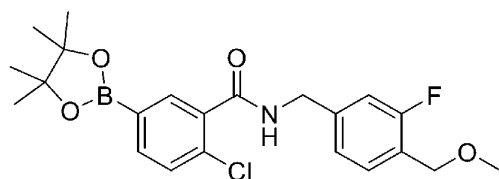
5-ブロモ-2-クロロベンゾイック アシド（1.9 g、8.1 mmol）と塩化チオニル（15 mL）の混合物を1.5時間加熱還流した。反応混合物を室温とし、減圧下溶媒留去した。残渣とジクロロメタン（30 mL）の混合物に、製造例 7-2 で得た粗体の（3-フルオロ-4-(メトキシメチル)フェニル)メタナミン（1.4 g）、トリエチルアミン（1.2 g、12 mmol）及びジクロロメタン（15 mL）の混合物を0℃で滴下した。反応混合物を室温で終夜攪拌した。反応混合物に室温で水を加え、ジクロロメタンで抽出した（50 mLで3回）。有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル＝2／1）により精製し、標記化合物（1.1 g）を得た。

ESI-MS: m/z 386.0 $[M+1]^+$

[0074] [製造例 7-4]

2-クロロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド

[化35]



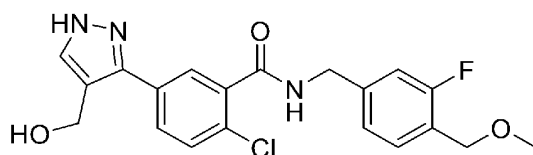
製造例 7-3 で得た 5-ブロモ-2-クロロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)ベンズアミド (1.1 g、2.8 mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン (0.87 g、3.4 mmol)、1,4-ジオキサン (20 mL) の混合物に酢酸カリウム (0.84 g、8.5 mmol) と (1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)ジクロロパラジウム (0.21 g、0.28 mmol) を室温で加えた。反応混合物を 95℃ で 3 時間攪拌した。反応混合物を室温とし、反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した (50 mL で 3 回)。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。減圧下溶媒留去し、標記化合物 (0.80 g) を得た。

ESI-MS: m/z 434.1 $[M+1]^+$

[0075] [実施例 7]

2-クロロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(4-(ヒドロキシメチル)-1H-ピラゾール-3-イル)ベンズアミド

[化36]



製造例 7-4 で得た 2-クロロ-N-(3-フルオロ-4-(メトキシメチル)ベンジル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド (0.40 g、0.92 mmol)

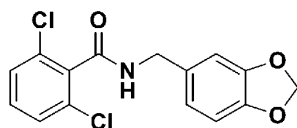
)、製造例 7-1 で得た (5-ヨード-1H-ピラゾール-4-イル) メタノール (310 mg、1.4 mmol)、n-プロパノール (9 mL)、及び水 (6 mL) の混合物に、炭酸ナトリウム (750 mg、2.3 mmol) と [1, 1'-ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン] ジクロロパラジウム (II) (70 mg、0.090 mmol) を室温で加え、95℃で終夜攪拌した。反応混合物を室温とし、減圧下溶媒留去した。残渣を高速液体クロマトグラフィーにより精製し、標記化合物 (57 mg) を得た。

¹H-NMR Spectrum (CD3OD) δ (ppm): 3.40 (3H, s), 4.53 (2H, s), 4.61 (4H, d, J=9.0 Hz), 7.20 (1H, d, J=10.9 Hz), 7.26 (1H, d, J=7.9 Hz), 7.43 (1H, t, J=7.6 Hz), 7.58 (1H, s), 7.70-7.99 (3H, m).

[0076] [比較例 1]

市販品である下記化合物を比較例 1 として使用した。なお、下記化合物は、国際公開第 2008/112164 号公報に記載の化合物である。

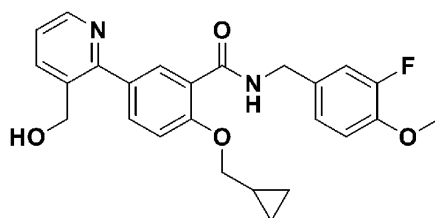
[化37]



[0077] [比較例 2]

国際公開第 2015/127137 号公報に記載の方法に従って下記化合物を合成し、比較例 2 として使用した。

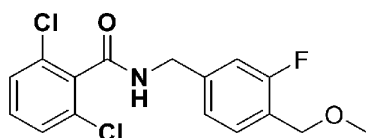
[化38]



[0078] [比較例 3]

国際公開第2019/151241号公報に記載の方法に従って下記化合物を合成し、比較例3として使用した。

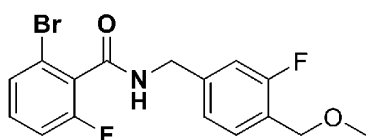
[化39]



[0079] [比較例4]

国際公開第2019/151241号公報に記載の方法に従って下記化合物を合成し、比較例4として使用した。

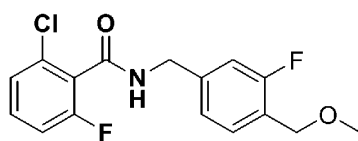
[化40]



[0080] [比較例5]

国際公開第2019/151241号公報に記載の方法に従って下記化合物を合成し、比較例5として使用した。

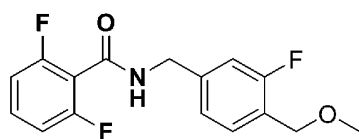
[化41]



[0081] [比較例6]

国際公開第2019/151241号公報に記載の方法に従って下記化合物を合成し、比較例6として使用した。

[化42]



[0082] [試験例 1 : ALDH2 活性化作用]

ALDH2 によるアセトアルデヒドの酸化速度に対する試験化合物の活性化作用を、以下の方法により測定した。市販の PicoProbe™ Aldehyde dehydrogenase Activity Assay Kit (BioVision Inc. 製) を用い、商品の取扱説明書を参考にして以下の条件にて試験を実施した。384-ウェルプレートの各ウェルに、以下 (1) から (3) を順次ピペットにより添加した。

[0083] (1) ヒトリコンビナント ALDH2 酵素 (BioVision Inc. 製) を $3\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように ALDH assay Buffer にて溶解、希釈した溶液 $10\mu\text{L}$ 。

(2) ALDH assay Buffer を用いて調製した $30\mu\text{M}$ 又は $90\mu\text{M}$ の試験化合物溶液 $10\mu\text{L}$ (3% DMSO を含む)。

(3) ALDH assay Buffer $8.6\mu\text{L}$ 、PicoProbe $0.6\mu\text{L}$ 、Substrate Mix $0.3\mu\text{L}$ 、及び Acetaldehyde $1.5\mu\text{L}$ の比率で構成される Reaction mix $10\mu\text{L}$ 。

[0084] 上記 (3) の添加の前に、5 分間室温でインキュベーションした。また、(3) を添加後に EnSight (PerkinElmer Inc. 製) を用いて、室温で 180 分間、蛍光強度を 2.5 分毎に測定した。蛍光強度は、excitation が 535nm 、emission が 587nm の波長を用いた。

[0085] 試験化合物を添加しない場合のアセトアルデヒドの酸化速度を 100% とした際の、試験化合物を添加した場合の酸化速度を表 1 に示す。表 1 の結果から、実施例 1 ~ 7 の化合物が ALDH2 活性化作用を有することが確認さ

れた。

[表1]

表 1

	試験化合物濃度	
	10 μ M	30 μ M
実施例 1	196	238
実施例 2	127	166
実施例 3	137	176
実施例 4	131	155
実施例 5	124	146
実施例 6	139	161
実施例 7	157	170
比較例 1	149	176

[0086] [試験例 2 : マウス肝ミクロソームを用いた代謝安定性]

マウス肝ミクロソームにおける代謝安定性を以下の方法により評価した。

1. 材料

- (1) マウス肝ミクロソーム : 20 mg / mL
- (2) 試験化合物 : 1.1 mM DMSO 溶液
- (3) リン酸カリウム緩衝液 : 66.7 mM (pH 7.4)
- (4) NADPH 溶液 : 10 mM in リン酸カリウム緩衝液
- (5) クエンチング溶液 : 内部標準物質としてワルファリン入りの 0.5 % ギ酸-アセトニトリル溶液

[0087] 2. 方法

プロピレンチューブ中に、971.5 μ L のリン酸カリウム緩衝液と 27.5 μ L のマウス肝ミクロソームを入れ、懸濁させた。ここに、1 μ L の試験化合物を加え、この混合物のうち 180 μ L を別のチューブに移した。混合物を 37°C で 5 分間プレインキュベーションし、その後、20 μ L の NADPH 溶液 (インキュベーション時間 30 分の場合) 又は 20 μ L のリン酸カリウム緩衝液 (インキュベーション時間 0 分の場合) を加えた。インキュベーション後に、200 μ L のクエンチング溶液を加え、反応を停止させた。

。続いて、 $3220 \times g$ で20分間遠心分離し、 $200 \mu\text{L}$ の上清中の試験化合物の未変化体濃度をLC-MS/MSで測定した。得られた未変化体のピーク面積に基づき、インキュベーション時間0分を100%として未変化体の残存率(%)を算出した。

[0088] 3. 結果

30分後の未変化体の残存率(%)を表2に示す。実施例1～7の化合物が、従来のALDH2活性化剤と比較して、マウス肝ミクロソームにおける代謝安定性に優れることが確認された。

[表2]

表2

	残存率 (%)
実施例 1	90
実施例 2	68
実施例 3	64
実施例 4	60
実施例 5	52
実施例 6	24
実施例 7	74
比較例 1	<1
比較例 2	6
比較例 3	1
比較例 4	<1
比較例 5	<1
比較例 6	1

[0089] [試験例3：ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性]

マウス肝ミクロソーム試験で安定性が確認された実施例1、2、5及び6の化合物について、ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性を測定した。具体的な方法は以下のとおりである。

[0090] 2. 方法

(1) β -NADPH溶液で希釈した $0.2 \mu\text{mol/L}$ 試験化合物を $50 \mu\text{L}$ ずつ分取した。

(2) $0.2 \text{ mg protein/mL}$ ヒト肝ミクロソーム溶液を $50 \mu\text{L}$

ずつ添加した（反応時間0分の試料を除く）。

（3）37℃で30分、振とうしながらインキュベーションした。（反応試料中濃度：0.1 $\mu\text{mol/L}$ 試験化合物、0.1 mg protein/mL ヒト肝ミクロソーム）

（4）インキュベーション後、メタノール400 μL を添加し反応を停止させた。

（5）反応時間0分の試料に0.2 mg protein/mL 肝ミクロソーム溶液50 μL を添加した。

（6）上記（4）及び（5）の試料を-20℃で30分以上静置した後、4℃、3,000 rpmで約10分間遠心分離した。

（7）上清をLC/MS/MSにて測定し、得られた未変化体のピーク面積に基づき、インキュベーション時間0分を100%として未変化体の残存率（%）を算出した。

30分後の未変化体の残存率（%）を表3に示す。

[表3]

表3

	残存率（%）
実施例1	90
実施例2	87
実施例5	72
実施例6	75

[0091] [試験例4：反応性代謝物]

ヒト肝ミクロソーム存在下でグルタチオン結合体の産生をLC-MS/MSにより測定することで、試験化合物の反応性代謝物産生リスクを検討した。具体的な方法は以下のとおりである。

[0092] 1. 方法

（1）ポリプロピレンチューブに、20 mg/mLのヒト肝ミクロソームを55 μL 、66.7 mMのリン酸カリウム緩衝液（pH 7.4）を395 μL 、10 mMのグルタチオン水溶液を550 μL 添加した。

(2) 20 mMの試験化合物又は陽性コントロール (Clozapine、Reloxifen、Diclofenac) を0.55 uL添加した。

(3) 180 uLずつ4本のチューブに小分けし、2本にT0、2本にT60とラベルし、 $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ で5分間ブレインキュベートした。

(4) 10 mMのNADPH溶液20 uLをT60チューブに、リン酸カリウム緩衝液20 uLをT0チューブに加えた。

(5) 60分後、10%トリクロロ酢酸アセトニトリル溶液を200 uLずつ加え、反応を停止させた。

(6) 遠心分離装置 (5810-R、Eppendorf) で $3220 \times g$ 、20分間遠心分離し、上清200 uLをLC-MS/MS (LC: SIL-HTc、Shimazu、Mass: API-4000 Qtrap、MD Ssciex) にてGSH結合体を測定した。

(7) 試験化合物で認められたGSH結合体のエリア／クロザピンで認められたGSH結合体のエリアの比 (%) を算出した。

[0093] 2. 結果

結果を表4に示す。これらの結果から、実施例の化合物はクロザピンと比べて反応性代謝物の生成量が小さいことが確認された。

[表4]

表 4

	反応性代謝物の生成量 (クロザピンに対する%)
実施例 1	1
実施例 2	<1
実施例 5	2
実施例 6	3
実施例 7	<1

[0094] [試験例 5 : hERGチャネル阻害作用]

試験化合物のhERG (human Ether-a-go-go Related Gene) チャネル阻害作用を以下のパッチクランプ法で検討した。

1. 方法

電位固定下で細胞膜全体を通過した h E R G 電流を、ホールセルパッチクランプ法で記録した。

h E R G 電流を確認するため、保持電位を -80 mV に設定し、 -50 mV 、 110 msec 及び 20 mV 、 4 sec の脱分極パルスに続く -50 mV 、 2 sec の再分極パルスを 15 秒に 1 回の頻度で与えた。得られた h E R G t a i l 電流の安定が確認された後、適用を開始した。適用中も継続してパルスを与えた。

サンプリング周波数は 5 kHz とし、Lowpass Filter は 2 kHz とした。

測定中のチャンバー内における細胞外液の温度は $22\sim 25^{\circ}\text{C}$ とした。

[0095] <細胞外液の組成>

NaCl: 137 mmol/L , KCl: 4 mmol/L , CaCl_2 : 1.8 mmol/L , MgCl_2 : 1 mmol/L , D(+)-glucose: 10 mmol/L , HEPES: 10 mmol/L (1 mol/L NaOH で pH 7.4 に調整)。

[0096] <電極内液の組成>

KCl: 130 mmol/L , MgCl_2 : 1 mmol/L , EGTA: 5 mmol/L , MgATP: 5 mmol/L , HEPES: 10 mmol/L (1 mol/L KOH で pH 7.2 に調整)。

[0097] <ガラス電極の作製>

ガラス細管 (G-1.5、株式会社 成茂科学器械研究所) をプラー (P-97、Sutter Instrument Company) を用いて加工し、電極内液を満たした時の抵抗値が $2\sim 5\text{ M}\Omega$ の範囲のものを測定に使用した。

[0098] <測定及び解析>

h E R G 電流はパッチクランプ用アンプ (Axopatch 200B、Molecular Devices、LLC) を用いて測定し、得られた電気信号はパッチクランプ用記録解析ソフト (pCLAMP 10、Molecular Devices、LLC) を介してコンピュータ上に記録した。

-50 mV 、 110 msec の脱分極パルスにおける電流値を基準に最大

t a i l 電流値を求め、試験化合物適用前の最大 t a i l 電流値に対する適用開始 5 分後の変化率（抑制率）を算出した。

[0099] 2. 結果

結果を表 5 に示す。これらの結果から、実施例の化合物は h E R G チャンネル阻害作用を示さないことが確認された。

[表5]

表 5

	hERG チャンネル阻害作用 IC ₅₀ 値 (μM)
実施例 1	>100
実施例 2	>30

[0100] [試験例 6 : カラゲニンにより誘発される疼痛の抑制効果]

本実験は、Science Translational Medicine 6, 251ra118 (2014). を参考にして実施した。動物は雄 C 5 7 B L / 6 J マウス（日本チャールス・リバー）、7 週齢を使用した。足底部に機械刺激アロディニアを誘発するため、カラゲニンをマウスの左後肢足底に皮下投与した。誘発 1 8 0 分後の機械的刺激に対する逃避反応を、左後肢の足底面への上行曲げ力（0. 1 6 グラム）の v o n F r e y フィラメントを用いて測定した。フィラメントが曲がるまで垂直に 6 秒間マウスを刺激し、マウスの逃避反応を 3 段階スコア化（0 : 無反応または驚愕反応（足を引きあげずにずらす）、1 : 足を引き挙げる、2 : 足を舐めるまたは振る）した。刺激は 1 0 回行い、1 0 回のスコアの合計値（逃避スコア）を算出した。

[0101] 化合物（実施例 1）を DMSO / P E G 4 0 0（1 : 1 の体積比）に溶解し、2、6 または 2 0 m g / k g の化合物を（V e h i c l e 群は化合物含まない）5 m L / k g の投与液量でカラゲニンを注入する 1 5 分前、カラゲニンを注入してから 3 0 分および 1 5 0 分後の計 3 回同量を頸背部皮下に投与した。カラゲニンは、生理食塩液を用いて 1. 5 % 溶液を調製し、左後肢足底に 7 μ L / b o d y で皮下投与した。

[0102] 有意差検定は、Vehicle群と実施例1群の比較をSteelの多重比較検定を行い、有意水準は5%として算出した。有意差検定には、市販の統計プログラムSAS SYSTEM (SAS Software Release 9.1.3; SAS Institute Japan Ltd)を使用した。

[0103] 表6に示す通り、実施例の化合物が、カラゲニンにより誘発される疼痛を抑制することが示された。

[0104] [表6]

表6

群	Vehicle	実施例1 2 mg/kg	実施例1 6 mg/kg	実施例1 20 mg/kg
動物数	8	8	8	8
疼痛関連トータルスコア カラゲニン誘発後の時間 (分)				
Pre	2.8±0.2	3.0±0.3	3.0±0.3	3.0±0.3
180	13.0±1.1	10.5±1.6	8.3±1.0*	8.6±1.4

各値は平均±SEを示す。

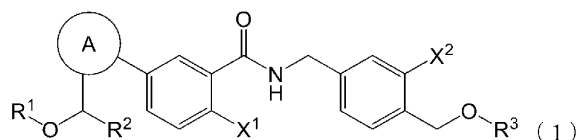
Pre: カラゲニン投与前

*: $p < 0.05$

請求の範囲

[請求項1] 下記式（１）：

[化1]



[式中、

Aは、複素環であり、

R¹及びR²は、それぞれ独立して、水素、アルキル、アルケニル、又はアルキニルであり、

R³は、アルキル、アルケニル、又はアルキニルであり、

X¹及びX²は、それぞれ独立して、ハロゲンである]

で表される化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

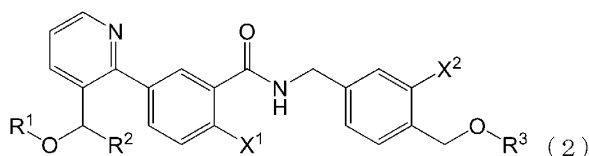
[請求項2] Aが、環員原子として少なくとも1つの窒素原子を含む、請求項1に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項3] Aが、5又は6員環である、請求項1又は2に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

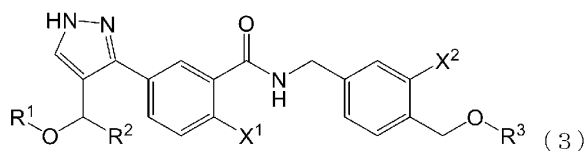
[請求項4] Aが、芳香族複素環である、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項5] 式（１）で表される化合物が、下記式（２）又は（３）：

[化2]



[化3]



[式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 X^1 及び X^2 は、前記のとおりである]

で表される化合物である、請求項1～4のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項6] R^1 が、水素又はアルキルである、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項7] R^2 が、水素又はアルキルである、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

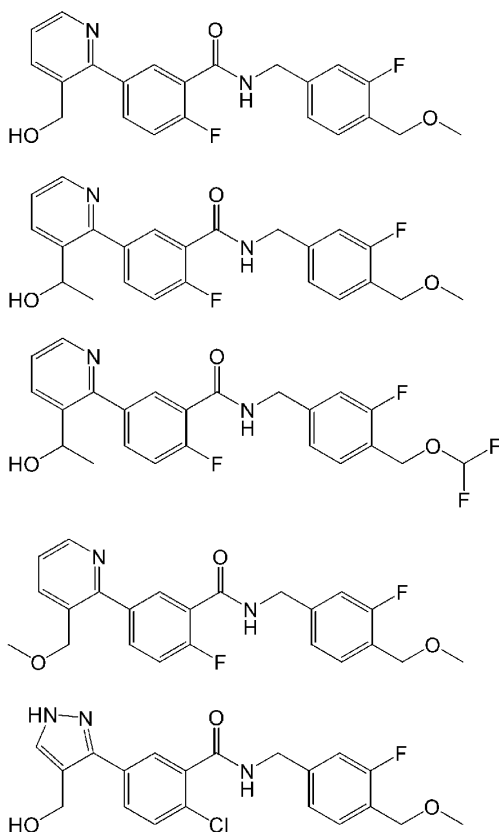
[請求項8] R^3 が、ハロゲンで置換されているアルキル又は非置換のアルキルである、請求項1～7のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項9] X^1 が、フッ素又は塩素である、請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項10] X^2 が、フッ素である、請求項1～9のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項11] 式(1)で表される化合物が、下記化合物：

[化4]



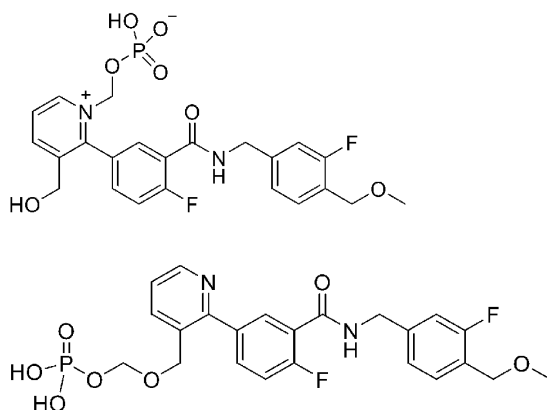
からなる群から選択される、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項12] R^1 が、 $-CH_2-O-PO_3H_2$ である、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載のプロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩。

[請求項13] Aが、環員原子として少なくとも 1 つの窒素原子を含み、前記窒素原子の少なくとも 1 つが、 $-CH_2-O-PO_3H_2$ で置換されている、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載のプロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩。

[請求項14] プロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩が、下記化合物：

[化5]



からなる群から選択される、請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載のプロドラッグ又はその医薬上許容可能な塩。

[請求項15] 請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 活性化剤。

[請求項16] 請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、医薬組成物。

[請求項17] 請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグを含む、ファンconi貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、及び疼痛からなる群から選択される疾患の治療及び／又は予防薬。