

明 細 書

発明の名称：置換ピペリジン化合物及びその用途

技術分野

- [0001] 本発明は、オレキシン 2 型受容体作動活性を有する、置換ピペリジン化合物又はその薬剤学的に許容される塩及びその医薬用途に関するものである。本発明はまた、前記化合物を有効成分として含有する医薬に関する。

背景技術

- [0002] 脳視床下部外側野に局在する特定の神経細胞で特異的に産生される 2 種の脳内神経ペプチド、オレキシン-A (OX-A) 及びオレキシン-B (OX-B) は、主として脳内に存在する G タンパク質共役型受容体であるオレキシン受容体 (特許文献 1-4) の内在性リガンドとして発見された (特許文献 5、非特許文献 1)。オレキシン受容体には、2 種のサブタイプ、1 型サブタイプである OX₁ 受容体 (以下、OX₁R ともいう。) 及び 2 型サブタイプである OX₂ 受容体 (以下、OX₂R ともいう。) が存在することが知られている。オレキシンは、ラットの摂食行動を亢進させることが見出されている (非特許文献 1)。
- [0003] 一方、イヌ・ナルコレプシーの原因として OX₂R の遺伝子変異が報告され (非特許文献 2)、またオレキシン欠損マウスはヒトあるいはイヌのナルコレプシーと非常によく似たナルコレプシー様症状を示した (非特許文献 3)。さらにオレキシン神経細胞を変性させたトランスジェニックマウス、及びこのマウスとオレキシン過剰発現トランスジェニックマウスとを掛け合わせたダブルトランスジェニックマウスを用いた研究より、オレキシン神経細胞の変性によって出現するナルコレプシー様の症状がオレキシンの持続的な発現により消失することが明らかとなった (非特許文献 4)。同様にオレキシン神経細胞を変性させたトランスジェニックマウスに OX-A を脳室内投与した場合にも、カタプレキシー (情動性脱力発作) 様の行動停止の抑制、覚醒の増加など、ナルコレプシー様の症状改善が認められた (非特許文献 4)。

）。また、OX2Rノックアウトマウスの研究により、OX2Rが覚醒を維持するために重要である事が示唆されている（非特許文献5）。また、パーキンソン病患者の日中の眠気が、オレキシン神経の脱落が原因である事が示唆されている（非特許文献6）。また、睡眠時無呼吸症候群患者は、血漿中のOX-A濃度レベルが低い事が示唆されている（非特許文献7）。このような背景から、OX2R作動薬は、ナルコレプシー治療薬やその他の過眠を呈する睡眠障害の治療薬になる事が示唆されている（非特許文献8）。

[0004] したがってOX2R作動活性を有する化合物は、ナルコレプシー、特発性過眠症、過眠症、睡眠時無呼吸症候群、昏睡などの意識障害、ナルコレプシー様症状を伴うナルコレプシー症候群、日中の過眠を伴う過眠症症候群（たとえば、パーキンソン病、ギランバレー症候群やクライネレヴィン症候群）の治療薬として利用可能と考えられる。

[0005] OX2R作動活性を有する化合物であるTAK-925は、健常人及びナルコレプシー患者を対象にしたフェーズ1試験（静脈内投与）が行われている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第1996/34877号

特許文献2：特開平10-327888号公報

特許文献3：特開平10-327889号公報

特許文献4：特開平11-178588号公報

特許文献5：特開平10-229887号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Sakurai T. et al, Cell, 1998, 92, 573-585

非特許文献2：Lin L. et al, Cell, 1999, 98, 365-376

非特許文献3：Chemelli R. M. et al, Cell, 1999

, 98, 437-451

非特許文献4: Mieda M. et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004, 101, 4649-4654

非特許文献5: Willie J. T. et al, Neuron, 2003, 38, 715-730

非特許文献6: Thannickal T. C. et al, Brain. 2007, 130, 1586-1595

非特許文献7: Busquets X. et al, Respiration, 2004, 71, 575-579

非特許文献8: Mieda M. et al, CNS Drugs, 2013, 27, 83-90

発明の概要

発明が解決しようとする課題

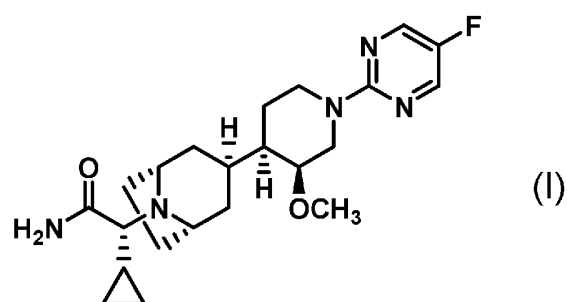
[0008] 本発明の課題は、オレキシン2型受容体作動活性を有する、置換ピペリジン化合物又はその薬剤学的に許容される塩、及びそれらを含有する医薬組成物を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] すなわち、本発明は、以下の[1]から[21]に関する。

[1] 下記式(I)

[化1]

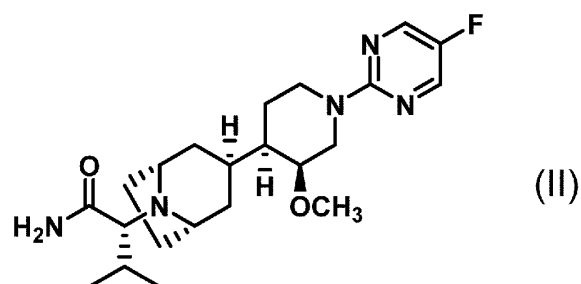


で表される (2R)-2-シクロプロピル-2-[(1R, 3S, 5S)-3-[(3S, 4R)-1-(5-フルオロピリミジン-2-イル)-3-

メトキシピペリジン-4-イル]-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル} アセトアミド、

下記式 (I I)

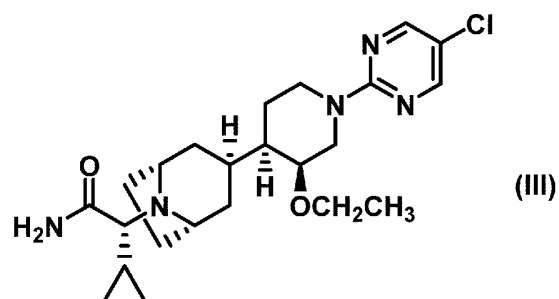
[化2]



で表される (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-フルオロピリミジン-2-イル)-3-メトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)-3-メチルブタンアミド、

下記式 (I I I)

[化3]

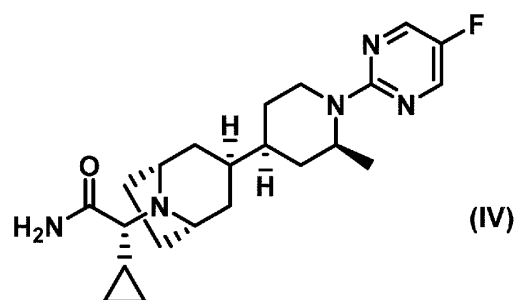


で表される (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-エトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)-2-シクロプロピルアセトアミド、

及び

下記式 (I V)

[化4]

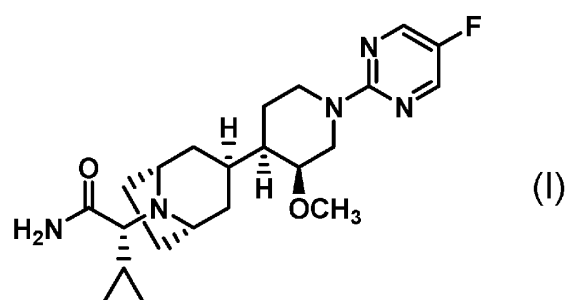


で表される (R) - 2 - シクロプロピル - 2 - ((1 R, 3 S, 5 S) - 3 - ((2 S, 4 S) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 2 - メチルピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - イル) アセトアミド

からなる群から選ばれる一つの化合物又はその薬剤学的に許容される塩。

[2] 下記式 (I)

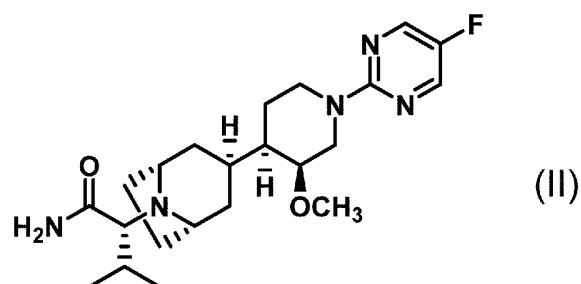
[化5]



で表される (2 R) - 2 - シクロプロピル - 2 - { (1 R, 3 S, 5 S) - 3 - [(3 S, 4 R) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 3 - メトキシピペリジン - 4 - イル] - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - イル} アセトアミド又はその薬剤学的に許容される塩。

[3] 下記式 (II)

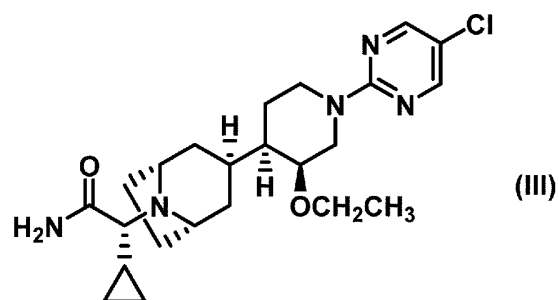
[化6]



で表される (R) - 2 - ((1 R, 3 S, 5 S) - 3 - ((3 S, 4 R) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 3 - メトキシピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - イル) - 3 - メチルブタンアミド又はその薬剤学的に許容される塩。

[4] 下記式 (I I I)

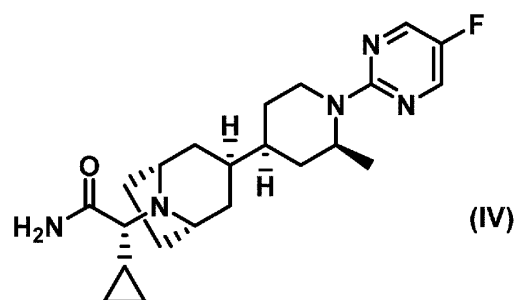
[化7]



で表される (R) - 2 - ((1 R, 3 S, 5 S) - 3 - ((3 S, 4 R) - 1 - (5 - クロロピリミジン - 2 - イル) - 3 - エトキシピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - イル) - 2 - シクロプロピルアセトアミド又はその薬剤学的に許容される塩。

[5] 下記式 (I V)

[化8]



で表される (R) - 2 - シクロプロピル - 2 - ((1 R , 3 S , 5 S) - 3 - ((2 S , 4 S) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 2 - メチルピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3 . 2 . 1] オクタン - 8 - イル) アセトアミド又はその薬剤学的に許容される塩。

[6] 前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩を含有する医薬組成物。

[7] 前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩を含有するオレキシン 2 型受容体作動薬。

[8] 前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩を含有するナルコレプシーの治療剤。

[9] 前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩の薬理学的有効量を対象に投与することを含み、該対象におけるナルコレプシーの治療方法。

[1 0] 前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩の薬理学的有効量を対象に投与することを含み、該対象におけるオレキシン 2 型受容体の活性化方法。

[1 1] 前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩を対象に投与することを含み、ナルコレプシーの治療方法。

[1 2] ナルコレプシーの治療のための医薬組成物を製造するための前記 [1] ~ 前記 [5] のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容

される塩の使用。

[13] ナルコレプシーの治療に使用するための前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩。

[14] 前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩を含有するカタプレキシーの治療剤。

[15] 前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩の薬理学的有効量を対象に投与することを含む、該対象におけるカタプレキシーの治療方法。

[16] カタプレキシーの治療に使用するための、前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩。

[17] カタプレキシーの治療のための医薬組成物を製造するための前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩の使用。

[18] 前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩を含有する過眠症症候群の治療剤。

[19] 前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩の薬理学的有効量を対象に投与することを含む、該対象における過眠症症候群の治療方法。

[20] 過眠症症候群の治療に使用するための、前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩。

[21] 過眠症症候群の治療のための医薬組成物を製造するための前記[1]～前記[5]のいずれか一つに記載の化合物又はその薬剤学的に許容される塩の使用。

発明の効果

[0010] 本発明に係る式(I)、(II)、(III)及び(IV)で表される置換ピペリジン化合物(以下、化合物(I)、(II)、(III)及び(IV)という。)又はその薬剤学的に許容される塩は、下記の薬理試験例における活性データにて示されているようにオレキシン2型受容体作動活性を有

している。本発明の化合物（Ⅰ）、（ⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ）及び（ⅠⅤ）は、オレキシン2型受容体作動活性を有しており、ナルコレプシーの治療剤としての利用可能性を有している。

図面の簡単な説明

[0011] [図1] 図1は実施例1で得られた化合物のX線結晶構造解析の結果を示すORTEP図である。

[図2] 図2は実施例3で得られた化合物（アセトニトリルが2分子付加した二量体）のX線結晶構造解析の結果を示すORTEP図である。

[図3] 図3は実施例4で得られた化合物のX線結晶構造解析の結果を示すORTEP図である。

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の内容について詳細に説明する。

[0013] 本発明に係る化合物は結晶多形が存在することもあるが、いずれにも限定されず、いずれかの結晶形の単一物であっても混合物であってもよく、また、本発明に係る化合物には非晶質体も含まれ、そして、本発明に係る化合物には、無水物と溶媒和物（特に水和物）とが包含される。

[0014] 本発明には、化合物（Ⅰ）、（ⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ）及び（ⅠⅤ）の同位体標識された化合物も含まれる。同位体標識された化合物は1つ又はそれ以上の原子が自然界に通常見出される原子質量か質量数と異なった原子質量か質量数を有する原子で置き換えられていること以外、化合物（Ⅰ）、（ⅠⅠ）、（ⅠⅠⅠ）及び（ⅠⅤ）と同一である。本発明の化合物に組み入れることができる同位元素は、例えば、水素、炭素、窒素、酸素、フッ素、リン、硫黄、沃素、及び塩素の同位元素であり、 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{18}F 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、及び ^{125}I 等が含まれる。

[0015] 上記同位体標識化合物、例えば、 ^3H 及び／又は ^{14}C などの放射性同位元素が組み入れられた化合物は医薬及び／又は基質の組織分布アッセイに有用である。 ^3H と ^{14}C はそれらの調製と検出の容易さのため有用と考えられている。同位元素 ^{11}C 及び ^{18}F はPET（陽電子放射断層撮影）で有用と考えられ

ており、同位元素¹²⁵IはSPECT（単光子放出コンピュータ断層撮影）で有用と考えられており、脳イメージングですべて有用である。²Hなどのより重い同位元素による置換は、より高い代謝的安定性による生体内半減期を増加又は必要用量の減少等のある種の治療上の利点を生じさせ、それ故に、ある状況下では有用と考えられている。上記同位体標識化合物は容易に利用可能な同位体標識された試薬を同位体標識されていない試薬の代わりに用いて、以下の実施例に開示された手順を行うことによって一様に調製することができる。

- [0016] 本明細書における「薬剤学的に許容される塩」とは、本発明に係る化合物と塩を形成されるものであれば特に限定されず、具体的には例えば、無機酸塩、有機酸塩又は酸性アミノ酸塩等の酸付加塩が挙げられる。
- [0017] 本明細書における「薬剤学的に許容される塩」とは、特に限定する記載がない限り、適宜な比で塩を形成しさえすれば、形成された塩において、当該化合物1分子に対する酸の分子数は特に限定されないが、好ましくは該化合物1分子に対して酸は約0.5～約2分子であり、より好ましくは、当該化合物1分子に対して酸は、約0.5、約1、又は約2分子である。
- [0018] 無機酸塩の好ましい例としては、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等が挙げられ、有機酸塩の好ましい例としては、例えば、酢酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ステアリン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩等が挙げられる。
- [0019] 酸性アミノ酸塩の好ましい例としては、例えば、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩などが挙げられる。
- [0020] 本発明に係る化合物（I）、（II）、（III）及び（IV）がフリー体として得られる場合、前記の化合物（I）、（II）、（III）及び（IV）が形成していてもよい塩又はそれらの水和物の状態に常法に従って変換することができる。
- [0021] 本発明に係る化合物（I）、（II）、（III）及び（IV）が化合物

(I)、(II)、(III) 及び (IV) の塩又は化合物 (I)、(II)、(III) 及び (IV) の水和物として得られる場合、前記の化合物 (I)、(II)、(III) 及び (IV) のフリー体に常法に従って変換することができる。

[0022] また、本発明に係る化合物 (I)、(II)、(III) 及び (IV) について得られる種々の異性体（例えば光学異性体、回転異性体、立体異性体等）は、通常分離手段、例えば、再結晶、ジアステロオマー塩法、酵素分割法、種々のクロマトグラフィー（例えば薄層クロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー等）を用いることにより精製し、単離することができる。

[0023] [製剤]

本発明に係る医薬組成物は、薬剤学的に許容される添加物を化合物群 (I)、(II)、(III) 及び (IV) から選ばれる化合物又はその薬剤学的に許容される塩と混和することにより製造することができる。本発明に係る医薬組成物は、例えば、第十七改正日本薬局方の製剤総則に記載の方法など既知の方法に従って製造することができる。

[0024] 本発明に係る医薬組成物は、その剤形に応じて適切に患者に投与することができる。

[0025] 本発明に係る化合物 (I)、(II)、(III) 及び (IV)、又はその薬剤学的に許容される塩の投与量は、症状の程度、年齢、性別、体重、投与形態・塩の種類、疾患の具体的な種類等に応じて異なるが、通常、成人の場合は1日あたり経口投与で約 $30\mu\text{g} \sim 10\text{g}$ 、好ましくは $100\mu\text{g} \sim 5\text{g}$ 、さらに好ましくは $100\mu\text{g} \sim 1\text{g}$ を、注射投与で約 $30\mu\text{g} \sim 1\text{g}$ 、好ましくは $100\mu\text{g} \sim 500\text{mg}$ 、さらに好ましくは $100\mu\text{g} \sim 300\text{mg}$ をそれぞれ1回又は数回に分けて投与する。

[0026] 本明細書において「オレキシン2型受容体作動薬」とは、オレキシン2型受容体に結合し、生体内リガンドと同様にオレキシン2型受容体を活性化させる作用を有する薬剤を意味する。

[0027] 本発明の化合物は生理活性低分子化合物の標的タンパクを捕捉するためのケミカルプローブとすることができる。すなわち、本発明の化合物は、当該化合物の活性発現に必須な構造部分とは異なる部分に、J. Mass Spectrum, Soc. Jpn. Vol. 51, No. 5 2003, p492-498又は WO2007/139149等に記載の手法で標識基、リンカー等を導入することでアフィニティークロマトグラフィー、フォトアフィニティープローブ等に変換することができる。

[0028] ケミカルプローブに用いる標識基、リンカー等は、例えば以下の(1)ないし(5)からなる群に示される基が挙げられる。

(1) 光親和性標識基（例えば、ベンゾイル基、ベンゾフェノン基、アジド基、カルボニルアジド基、ジアジリジン基、エノン基、ジアゾ基及びニトロ基等）及び化学親和性基（例えば、アルファー炭素原子がハロゲン原子で置換されたケトン基、カルバモイル基、エステル基、アルキルチオ基、 α 、 β -不飽和ケトン、エステル等のマイケル受容体、及びオキシラン基等）等のタンパク質標識基、

(2) $-S-S-$ 、 $-O-Si-O-$ 、単糖（グルコース基、ガラクトース基等）又は二糖（ラクトース等）等の開裂可能なリンカー、及び酵素反応で開裂可能なオリゴペプチドリンカー、

(3) ビオチン、3-(4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4H-3a,4a-ジアザ-4-ボラ-s-インダセン-3-イル)プロピオニル基等のフィッシングタグ基、

(4) ^{125}I 、 ^{32}P 、 3H 、 ^{14}C などの放射性標識基；フルオレセイン、ローダミン、ダンシル、ウンベリフェロン、7-ニトロフラザニル、3-(4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4H-3a,4a-ジアザ-4-ボラ-s-インダセン-3-イル)プロピオニル基等の蛍光標識基；ルミフェリン、ルミノール等の化学発光基；ランタノイド金属イオン、ラジウムイオン等の重金属イオン等の検出可能なマーカー又は

(5) ガラスビーズ、ガラスベット、マイクロタイタープレート、アガロー

スビーズ、アガロースベッド、ポリスチレンビーズ、ポリスチレンベッド、ナイロンビーズ、ナイロンベッド等の固相担体と結合させる基等。

[0029] 上記の(1)ないし(5)からなる群より選択される標識基等を上記文献に記載の方法等に準じて本発明の化合物に導入して調製されるプローブは、新たな創薬ターゲットの探索等に有用な標識タンパクの同定のためのケミカルプローブとして用いることができる。

実施例

[0030] 本発明の化合物(I)、(II)、(III)及び(IV)は、例えば、以下の実施例に記載した方法により製造することができ、また、当該化合物の効果は、以下の試験例に記載した方法により確認することができる。ただし、これらは例示的なものであって、本発明は、如何なる場合も以下の具体例に制限されるものではなく、また本発明の範囲を逸脱しない範囲で変化させてもよい。

[0031] 文献名等が記載されている化合物は、その文献等に従って製造したことを示す。

[0032] また、本明細書に使用される略号は当業者に周知の慣用的な略号である。本明細書においては以下の略号を使用する。

n-：ノルマル

tert-：ターシャリー

¹H-NMR：プロトン核磁気共鳴スペクトルメトリー

MS：マススペクトルメトリー

HPLC：高速液体クロマトグラフィー

[0033] 以下の実施例及び製造例中の「室温」は通常約10℃から約35℃を示す。％は特記しない限り重量パーセントを示す。

[0034] プロトン核磁気共鳴スペクトルの化学シフトは、テトラメチルシランに対するδ単位(ppm)で記録、カップリング定数はヘルツ(Hz)で記録されている。パターンは、例えば、s：シングレット、d：ダブルット、t：トリプレット、q：カルテット、m：マルチプレット、br：ブロード、b

rs : ブロードシングレット等で示される。

[0035] 質量分析はWaters社製Acquity UPLC (登録商標) 又はAcquity UPC² (登録商標) を用いて行った。

[0036] クロマトグラフィーに関して、シリカゲルは、Merck社製Silica Gel 60 (70-230 mesh、もしくは、230-400 mesh ASTM) 又は富士シリシア化学社製PSQ60Bを用いるか、プレパックカラム {カラム: YAMAZEN社製Hi-FlashTM Column (Silicagel)、サイズ; S (16×60 mm)、M (20×75 mm)、L (26×100 mm)、2L (26×150 mm)、3L (46×130 mm) のいずれか、又はBiotage社製BiotageTM SNAP Ultra Silica Cartridge、サイズ: 10 g、25 g、50 g のいずれか} を用いた。また、超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) による分取はWaters社製Prep100qを用いて行った。

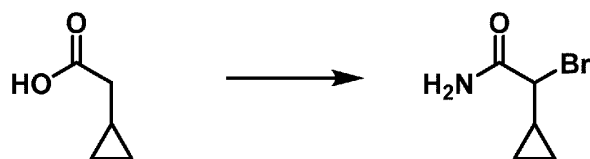
[0037] NHシリカゲルは、富士シリシア化学社製CHROMATOREX NH-DM2035を用いるか、プレパックカラム {カラム: YAMAZEN社製Hi-FlashTM (登録商標) Column (Amino)、サイズ; S (16×60 mm)、M (20×75 mm)、L (26×100 mm)、2L (26×150 mm)、3L (46×130 mm) のいずれか、もしくは和光純薬工業社製プレセップTM (登録商標) (ルアーロック) NH2 (HC)、サイズ: タイプM (14 g/25 mL)、タイプL (34 g/70 mL)、タイプ2L (50 g/100 mL)、タイプ3L (110 g/200 mL) のいずれか} を用いた。

[0038] 以下に示す化合物の命名は、一般的に用いられる試薬を除き、「E-ノートブック」バージョン12又は13 (パーキンエルマー社) で表示されたものを用いた。

[0039] 製造例 1

2-ブromo-2-シクロプロピルアセトアミドの合成

[化9]



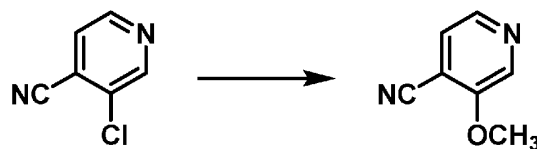
シクロプロピル酢酸 (CAS No. 5239-82-7) (3.30 g, 33.0 mmol) の 1, 2-ジクロロエタン (60 mL) 溶液に塩化オキサリル (CAS No. 79-37-8) (3.11 mL, 36.3 mmol) と N, N-ジメチルホルムアミド (60.0 μ L, 0.775 mmol) を加え、室温で 40 分攪拌した。反応液に臭化水素酸 (56.0 mg, 0.330 mmol) と N-ブロモスクシンイミド (CAS No. 128-08-5) (7.04 g, 39.6 mmol) を加え、18 時間加熱還流した。反応液を 0℃ でアンモニア (28% 水溶液, 60 mL, 2.77 mol) に加え、酢酸エチルと水酸化ナトリウム (2 N 水溶液) を加え分離した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。得られた固体を酢酸エチル/n-ヘプタンでトリチュレーションし、沈殿物をろ取した。得られた固体を減圧下に乾燥して標記化合物 (1.20 g) を得た。

MS (ESI) m/z : 178 [M+H]⁺

[0040] 製造例 2

3-メトキシイソニコチノニトリルの合成

[化10]



3-クロロ-4-シアノピリジン (CAS No. 68325-15-5) (5.00 g, 36.1 mmol) のテトラヒドロフラン (36.0 mL) 溶液にナトリウムメトキシド (CAS No. 124-41-4) (3.90 g, 72.2 mmol) を室温で加え、混合物を 1 時間加熱還流した。

反応混合物へ水と酢酸エチルを加え、有機層を分離した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。得られた固体を酢酸エチル／*n*-ヘプタンでトリチュレーションし、沈殿物をろ取した。得られた固体を減圧下に乾燥して標記化合物（1.91 g）を得た。

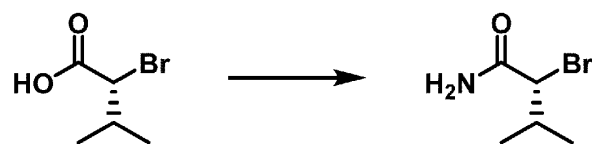
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 4.06 (s, 3 H), 7.44 (d, $J=5.0$ Hz, 1 H), 8.37 (d, $J=4.5$ Hz, 1 H), 8.49 (s, 1 H).

MS (ESI) m/z : 135 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0041] 製造例 3

(R)-2-ブロモ-3-メチルブタンアミドの合成

[化11]



(R)-2-ブロモ-3-メチル酪酸 (CAS No. 76792-22-8) (9.80 g, 54.1 mmol) の塩化メチレン (100 mL) 溶液に塩化オキサリル (9.28 mL, 108 mmol) と *N,N*-ジメチルホルムアミド (30.0 μL , 0.387 mmol) を 0°C で加え、室温で 6 時間攪拌した。反応液を 0°C でアンモニア (28% 水溶液, 50.0 mL, 2.31 mol) に加え、塩化メチレンで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。得られた固体を酢酸エチル／*n*-ヘプタンでトリチュレーションし、沈殿物をろ取した。得られた固体を減圧下に乾燥して標記化合物 (8.20 g) を得た。

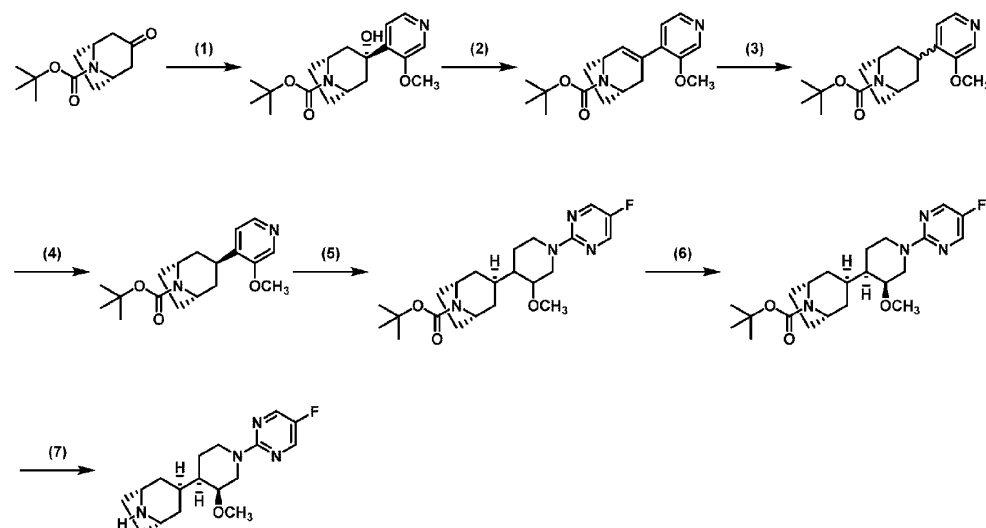
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.01 (d, $J=6.3$ Hz, 3 H), 1.07 (d, $J=6.8$ Hz, 3 H), 2.34–2.39 (m, 1 H), 4.28 (d, $J=4.5$ Hz, 1 H), 5.58 (br s, 1 H), 6.41 (br s, 1 H).

MS (ESI) m/z : 180 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0042] 製造例 4

(1R, 3s, 5S) - 3 - ((3S, 4R) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 3-メトキシピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタンの合成

[化12]



[0043] (1) tert-ブチル (1R, 3r, 5S) - 3-ヒドロキシ-3 - (3-メトキシピリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

N - (tert-ブトキシカルボニル) - ノルトロピノン (CAS No. 185099-67-6) (1.00 g, 4.44 mmol) のメチル tert-ブチル エーテル (18.0 mL) 溶液に 3-メトキシイソニコチノニトリル (1.19 g, 8.88 mmol) とビス (ピナコラート) ジボロン (CAS No. 73183-34-3) (2.25 g, 8.88 mmol) を加え、16 時間加熱還流した。反応混合物へ炭酸ナトリウム (2 mol/L 水溶液, 20.0 mL) を 0℃ で加え、0℃ で 20 分攪拌した。反応混合物へ酢酸エチルを加え、有機層を分離した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、0-20% メタノール/酢酸エチル) で精製し、標

記化合物 (1.12 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.48 (s, 9 H), 1.77 (m, 2 H), 1.94–1.99 (m, 2 H), 2.21–2.32 (m, 2 H), 2.37–2.48 (m, 1 H), 2.63–2.74 (m, 1 H), 2.78 (s, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 4.22–4.29 (m, 1 H), 4.31–4.42 (m, 1 H), 7.28 (d, $J=5.4$ Hz, 1 H), 8.22–8.25 (m, 2 H).

MS (ESI) m/z : 335 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0044] (2) tert-ブチル (1R, 5S)–3–(3–メトキシピリジン–4–イル)–8–アザビシクロ [3. 2. 1] オクト–2–エン–8–カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 3r, 5S)–3–ヒドロキシ–3–(3–メトキシピリジン–4–イル)–8–アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン–8–カルボキシレート (610 mg, 1.82 mmol) に濃硫酸 (1.60 mL, 30.0 mmol) を加え、室温で40分攪拌した。反応混合物を水酸化カリウム (5.00 g, 89.1 mmol) の水 (10.0 mL) 溶液に0℃で加えた。反応混合物にテトラヒドロフラン (10.0 mL) とジ-tert-ブチル ジカルボナート (CAS No. 24424–99–5) (478 mg, 2.19 mmol) を加え、室温で10分攪拌した。反応混合物へ酢酸エチルを加え、有機層を分離した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、5–100%酢酸エチル/ n -ヘプタン) で精製し、標記化合物 (420 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.46 (s, 9 H), 1.72–1.81 (m, 1 H), 1.97–2.03 (m, 2 H), 2.05–2.36 (m, 2 H), 2.94–3.26 (m, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 4.21–4.61 (m, 2 H), 6.30 (br s, 1 H), 6.99 (d, $J=4.5$ Hz, 1 H), 8.17 (d, $J=5$

. 0 Hz, 1 H), 8.21 (s, 1 H).

MS (ESI) m/z : 317 [M+H]⁺

[0045] (3) tert-ブチル (1R, 5S) -3-(3-メトキシピリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 5S) -3-(3-メトキシピリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクト-2-エン-8-カルボキシレート (400 mg, 1.26 mmol) のメタノール (3.00 mL) 溶液に10%パラジウム炭素 (川研ファインケミカル (株), AD, 52.7%含水品, 284 mg, 0.126 mmol) を加え、水素雰囲気下、室温にて1時間攪拌した。反応液をセライト (登録商標) ろ過し、残渣を酢酸エチルで洗浄した。得られたろ液を減圧下濃縮しエンド体とエキソ体の混合物 (エンド:エキソ=1:2, 398 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 1.49 (s, 6 H), 1.50 (s, 3 H), 1.61-2.13 (m, 22/3 H), 2.40-2.45 (m, 2/3 H), 2.96-3.01 (m, 1/3 H), 3.47-3.59 (m, 2/3 H), 3.88 (s, 1 H), 3.90 (s, 2 H), 4.16-4.28 (m, 1 H), 4.34 (br s, 1 H), 7.04 (d, J=4.5 Hz, 2/3 H), 7.06 (d, J=5.0 Hz, 1/3 H), 8.13-8.23 (m, 2 H).

MS (ESI) m/z : 319 [M+H]⁺

[0046] (4) tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-(3-メトキシピリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 5S) -3-(3-メトキシピリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシレート (398 mg, 1.25 mmol) のtert-ブタノール (4.00 mL) 溶液にカリウム tert-ブトキシド (281 mg, 2.50 mmol)

）を加え、17時間加熱還流した。反応混合物へ酢酸エチルと飽和食塩水を加え、有機層を分離した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮し、標記化合物（385mg）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.49 (s, 9H), 1.58–2.06 (m, 8H), 3.49–3.56 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 4.24 (brs, 1H), 4.34 (brs, 1H), 7.04 (d, $J=5.0\text{Hz}$, 1H), 8.17–8.19 (m, 2H).

MS (ESI) m/z : 319 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0047] (5) tert-ブチル (1R, 3s, 5S)–3–(1–(5-フルオロピリミジン–2-イル)–3-メトキシピペリジン–4-イル)–8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン–8-カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 3s, 5S)–3–(3-メトキシピリジン–4-イル)–8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン–8-カルボキシレート (11.2g, 35.2mmol) の酢酸 (100mL) 溶液に10%パラジウム炭素 (川研ファインケミカル (株), AD, 52.7%含水品, 7.91g, 3.52mmol) を加え、水素雰囲気下、70℃で18時間攪拌した。反応液をセライト (登録商標) ろ過し、残渣を酢酸エチルで洗浄した。得られたろ液を減圧下濃縮した。残渣へ酢酸エチルと水酸化ナトリウム (2N) を加え、有機層を分離した。有機層をISOLUTE (登録商標) HM-Nで乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。残渣にN,N-ジメチルホルムアミド (50.0mL)、2-クロロ–5-フルオロピリミジン (CAS No. 62802-42-0) (5.21mL, 42.2mmol) と炭酸カリウム (7.29g, 52.8mmol) を加え、80℃で40分攪拌した。反応混合物へ酢酸エチルと飽和食塩水を加え、有機層を分離した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、10–60%酢酸エチル/n-ヘプタン) で精製し、標記化合物 (9.84g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.19–1.30 (m, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.46–1.65 (m, 6H), 1.81–1.97 (m, 3H), 2.68 (d, $J=14.5\text{ Hz}$, 1H), 2.71–2.81 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.35 (brs, 1H), 4.08–4.31 (m, 2H), 4.64–4.77 (m, 1H), 5.04–5.18 (m, 1H), 8.13 (s, 2H).

MS (ESI) m/z : 421 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0048] (6) tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -1-(5-フルオロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((1-(5-フルオロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラート (7.00g, 16.6mmol) をダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IC/SFC (3cm×25cm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO_2 : メタノール (90 : 10)、120bar、40℃、流速 : 100mL/分) にて一回あたり100mgずつ分取し、後に溶出する保持時間8.45分の標記化合物 (3.02g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1.17–1.29 (m, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.46–1.66 (m, 6H), 1.85–1.97 (m, 3H), 2.68 (d, $J=15.0\text{ Hz}$, 1H), 2.75 (td, $J=12.9, 3.2\text{ Hz}$, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.35 (brs, 1H), 4.11–4.31 (m, 2H), 4.66–4.76 (m, 1H), 5.10 (dt, $J=14.4, 2.6\text{ Hz}$, 1H), 8.13 (s, 2H).

MS (ESI) m/z : 443 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

(分析条件) ダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IC-3 (3.

0 mm×50 mm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO₂:メタノール (85:15), 40℃, 流速: 1.2 mL/分, 検出: UV (254 nm))

(分析結果) 標記化合物の保持時間は 1.34 分であり、光学純度は >99% ee であった。

[0049] (7) (1R, 3s, 5S) - 3 - ((3S, 4R) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 3-メトキシピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタンの合成

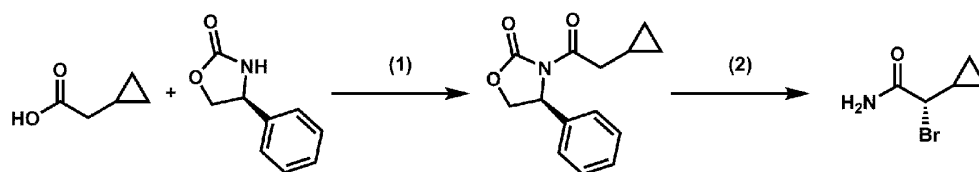
tert-ブチル (1R, 3s, 5S) - 3 - ((3S, 4R) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 3-メトキシピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシレート (1.00 g, 2.38 mmol) にトリフルオロ酢酸 (5.00 mL, 64.9 mmol) を加え、室温で 20 分攪拌した。反応液を減圧下濃縮した。残渣に 2N 水酸化ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチル (3回) で抽出した。合わせた有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥し、ろ過し、減圧下に濃縮し、標記化合物 (620 mg) を得た。

MS (ESI) m/z : 321 [M+H]⁺

[0050] 製造例 5

(S) - 2-ブロモ-2-シクロプロピルアセトアミドの合成

[化13]



[0051] (1) (S) - 3 - (2-シクロプロピルアセチル) - 4-フェニルオキサゾリジン-2-オンの合成

テトラヒドロフラン (7000 mL) にピバロイルクロリド (302 mL, 2470 mmol) を室温で加えた。そこへシクロプロピル酢酸 (238 mL, 2450 mmol) を室温で加え、0℃で冷却した。トリエチルアミ

ン (350 mL) を 10 分かけて滴下したのち、トリエチルアミン (400 mL, 総量 5340 mmol) を加えて、0℃で 76 分撹拌した。反応混合物へ (S) - 4 - フェニルオキサゾリジン - 2 - オン (350 g, 2140 mmol) を一度に加えたのち、塩化リチウム (109 g, 2570 mmol) を一度に加えた。反応混合物を室温で 18 時間撹拌したのち、酢酸エチル (7000 mL) と水 (3500 mL) を加え室温で 40 分撹拌した。有機層を分離し、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (3500 mL) と水 (1750 mL) で順次洗浄した。得られた有機層を 1750 mL まで濃縮した。酢酸エチル (2100 mL) を加えて、1750 mL まで濃縮する共沸操作を 3 回繰り返したのち、さらに酢酸エチル (1050 mL) を加えて 1750 mL まで濃縮した。得られた濃縮液を撹拌し、n - ヘプタン (1000 mL) を滴下した。生じた懸濁液を 10 分撹拌し、さらに n - ヘプタン (2500 mL) を滴下した。その混合液を室温で終夜撹拌したのち、さらに 0℃で 3.5 時間撹拌した。生じた固体をガラスフィルターを用いてろ取し、酢酸エチル / n - ヘプタン (1 : 3 の混合溶液 550 mL) で洗浄した。得られた固体を減圧下乾燥することで標記化合物 (407 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 0.09 - 0.24 (m, 2H) 0.46 - 0.58 (m, 2H) 1.00 - 1.13 (m, 1H), 2.74 - 2.83 (m, 1H), 2.88 - 2.98 (m, 1H), 4.25 - 4.32 (m, 1H), 4.70 (t, $J = 8.83$ Hz, 1H), 5.45 (dd, $J = 8.83, 3.85$ Hz, 1H), 7.28 - 7.43 (m, 5H) .

[0052] (2) (S) - 2 - ブロモ - 2 - シクロプロピルアセトアミドの合成

(S) - 3 - (2 - シクロプロピルアセチル) - 4 - フェニルオキサゾリジン - 2 - オン (100 g, 408 mmol) のジクロロメタン (1000 mL) 溶液に、ジブチルボロントリフラートの 1 M ジクロロメタン溶液 (500 mL, 500 mmol) を氷冷下 40 分かけて滴下し、10 分間氷冷下で撹拌した。N, N - ジイソプロピルエチルアミン (92 mL, 530 mmol)

o l) を氷冷下 25 分かけて滴下したのち 1 時間氷冷下で攪拌した。その後反応混合物をドライアイス－エタノールバスで内温 -72°C まで冷却した。N－ブロモスクシンイミド (80 g, 448 mmol) を一度に加え、ドライアイス－エタノールバスの下で 1 時間 20 分攪拌した。28－30%アンモニア水 (800 mL, 6390 mmol) とテトラヒドロフラン (1000 mL) を加えたのち水浴下で 2 時間攪拌した。有機層と水層を分けた後、水層を酢酸エチル (500 mL) で 3 回抽出した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 4 kg、30－40%酢酸エチル／n－ヘプタン) で精製し 132 g の粗生成物を得た。得られた粗生成物に tert－ブチルメチルエーテル (1440 mL) を加え 50°C で一時間攪拌し溶解させたのち。室温で 1 日攪拌した。生じた固体をろ過し、tert－ブチルメチルエーテル (200 mL) で洗浄した。ろ液と洗浄液を合わせ、そこに酢酸エチル (700 mL) と活性炭 (精製白鷺, 26 g) を加え室温で 30 分攪拌した。セライト (登録商標) ろ過により活性炭を除去し、酢酸エチル (700 mL) で活性炭を洗浄した。ろ液と洗浄液を合わせたのち、減圧下濃縮することで標記化合物 (97.1 g, 含量 65.9%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 0.40－0.52 (m, 1H), 0.63－0.73 (m, 1H), 0.77－0.86 (m, 1H), 0.86－0.97 (m, 1H), 1.41－1.50 (m, 1H), 3.59－3.83 (m, 1H), 5.34－5.71 (m, 1H), 5.94－6.30 (m, 1H) .

MS (ESI) m/z : 180 $[\text{M}+\text{H}]^+$

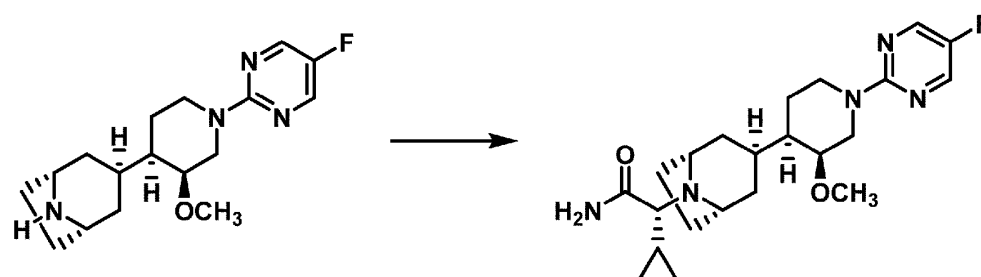
(分析条件) ダイセル製 CHIRALPAK (登録商標) IA (0.46 cm×25 cm×2 本) を用いたクロマトグラフィー (移動相 エタノール : n－ヘキサン (10 : 90), 40°C , 流速 : 0.8 mL/分, 検出 : UV (210 nm))

(分析結果) 標記化合物の保持時間は 24.5 分であった。

[0053] 実施例 1

(R) - 2 - シクロプロピル - 2 - ((1 R, 3 S, 5 S) - 3 - ((3 S, 4 R) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 3 - メトキシピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - イル) アセトアミドの合成

[化14]



(1 R, 3 s, 5 S) - 3 - ((3 S, 4 R) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 3 - メトキシピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン (260 mg, 0.811 mmol) のアセトニトリル (4.00 mL) 溶液に 2 - ブロモ - 2 - シクロプロピルアセトアミド (433 mg, 2.43 mmol)、炭酸セシウム (793 mg, 2.43 mmol)、及び酸化銀 (564 mg, 2.43 mmol) を加え、室温で 40 時間攪拌した。反応液を直接カラムクロマトグラフィー (シリカゲル、20% メタノール / 酢酸エチル) で精製した。得られた生成物をメタノール (10 mL) に溶解させ、Waters Porapak Rxn (登録商標) CX (2 g カートリッジを 2 本) 上に供した。固相をメタノール (20 mL) でそれぞれ洗浄した後、生成物をアンモニア (2 mol / L メタノール溶液、20 mL) でそれぞれ溶離し、合わせた溶出液を減圧下濃縮した。残渣をメタノールに溶解させ、ダイセル製 CHIRALPAK (登録商標) OD-H / SFC (2 cm × 25 cm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO₂ : メタノール (85 : 15)、120 bar、40 °C、流速 : 70 mL / 分) にて一回あたり 10 mg / 500 μL (メタノール) ずつ分取し、保持時間 6.41 分の化合物 (120 mg) をエナン

チオマー混合物として得た。得られた化合物をメタノールに溶解させ、ダイセル製CHIRALPAK（登録商標）IG/SFC（2cm×25cm）を用いた超臨界流体クロマトグラフィー（移動相 CO₂：メタノール（75：25）、120bar、40℃、流速：70mL／分）にて一回あたり13mg／500μL（メタノール）ずつ分取し、後に溶出する成分を主とする保持時間9.11分の化合物（75mg）を得た。得られた化合物をメタノールに溶解させ、ダイセル製CHIRALPAK（登録商標）IG/SFC（2cm×25cm）を用いた超臨界流体クロマトグラフィー（移動相 CO₂：メタノール（75：25）、120bar、40℃、流速：70mL／分）にて一回あたり4mg／100μL（メタノール）ずつ分取し、後に溶出する成分を主とする保持時間7.52分の化合物（52mg）を得た。得られた化合物をメタノールに溶解させ、ダイセル製CHIRALPAK（登録商標）IG/SFC（2cm×25cm）を用いた超臨界流体クロマトグラフィー（移動相 CO₂：メタノール（75：25）、120bar、40℃、流速：70mL／分）にて一回あたり7mg／500μL（メタノール）ずつ分取し、後に溶出する保持時間7.18分の標記化合物（31.3mg）を得た。

¹H-NMR（400MHz, CDCl₃）δ（ppm）：0.28-0.37（m, 1H）, 0.45-0.52（m, 1H）, 0.53-0.58（m, 1H）, 0.60-0.68（m, 1H）, 0.78（dd, J=8.8, 4.3Hz, 1H）, 1.20-1.27（m, 2H）, 1.32-1.45（m, 2H）, 1.46-1.52（m, 2H）, 1.59-1.65（m, 3H）, 1.70-1.80（m, 2H）, 1.81-1.88（m, 1H）, 2.08（d, J=9.1Hz, 1H）, 2.68（dd, J=14.3, 1.1Hz, 1H）, 2.75（td, J=12.8, 2.9Hz, 1H）, 3.21-3.24（m, 1H）, 3.30（s, 3H）, 3.36（brs, 1H）, 3.86-3.91（m, 1H）, 4.65-4.76（m, 1H）, 5.10（dt, J=14.2, 2.4Hz, 1H）

), 5.14–5.24 (m, 1H), 6.92–7.02 (m, 1H), 8.14 (s, 2H).

MS (ESI) m/z : 418 [M+H]⁺

(分析条件) ダイセル製 CHIRALPAK (登録商標) IA (0.46 cm×15 cm) を用いたクロマトグラフィー (移動相 エタノール : ヘキサン (20 : 80), 40°C, 流速 : 1 mL/分, 検出 : UV (254 nm))

(分析結果) 標記化合物の保持時間は 4.91 分であり、光学純度は >99 % ee であった。

[0054] (R)-2-シクロプロピル-2-((1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-フルオロピリミジン-2-イル)-3-メトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)アセトアミドの単結晶の調製及びX線結晶構造解析

実施例1で得られた標記化合物 (2.97 mg) をメタノール (1 mL) に溶解した。そのうち 500 μL をバイアルに入れ、軽くキャップを閉めた (溶媒蒸発法)。1日後、バイアル中に標記化合物の単結晶を得た。得られた単結晶について、以下の条件でX線結晶構造解析を行った。標記化合物のX線結晶構造を図1に示す。

分析機器 : XtaLAB PRO P200 MM007HF (Rigaku, Japan)

ソフト : CrysAlisPro (Rigaku Oxford Diffraction)

X線 : multi-layer mirror monochromated Cu-Kα (40 kV/30 mA)

測定法 : ω axis oscillation method

カメラ長 : 35 mm

測定温度 : -170°C

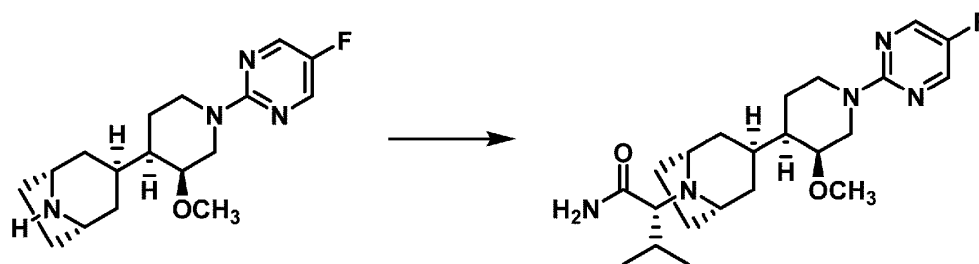
[0055] なお、実施例1で合成される (R)-2-シクロプロピル-2-((1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-フルオロピリミジン-2-イル)-3-メトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)アセトアミドのIUPAC名は (2R)-

2-シクロプロピル-2- { (1 R, 3 S, 5 S) -3- [(3 S, 4 R) -1- (5-フルオロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル] -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-イル} アセトアミドである。

[0056] 実施例 2

(R) -2- ((1 R, 3 S, 5 S) -3- ((3 S, 4 R) -1- (5-フルオロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-イル) -3-メチルブタンアミドの合成

[化15]



(1 R, 3 s, 5 S) -3- ((3 S, 4 R) -1- (5-フルオロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン (290 mg, 0.905 mmol) のアセトニトリル (8.00 mL) 溶液に (R) -2-ブロモ-3-メチルブタンアミド (326 mg, 1.81 mmol)、炭酸セシウム (590 mg, 1.81 mmol)、及び酸化銀 (419 mg, 1.81 mmol) を加え、室温で40時間攪拌した。反応液をシリカゲルろ過し、残渣を20%メタノール／酢酸エチルで洗浄した。得られたろ液を減圧下濃縮した。残渣をメタノール (5 mL) に溶解させ、Waters Porapak Rxn (登録商標) CX (バルク、4 g) 上に供した。固相をメタノール (40 mL) で洗浄した後、生成物をアンモニア (2 Nメタノール溶液, 40 mL) で溶離し、溶出液を減圧下濃縮した。残渣をダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IG/SFC (2 cm×25 cm) を用いた超臨界流体クロマトグ

ラフィー（移動相 CO₂：メタノール（80：20）、120 bar、40℃、流速：70 mL／分）にて一回あたり5 mg ずつ分取し、保持時間4.41分の標記化合物（154 mg）を得た。

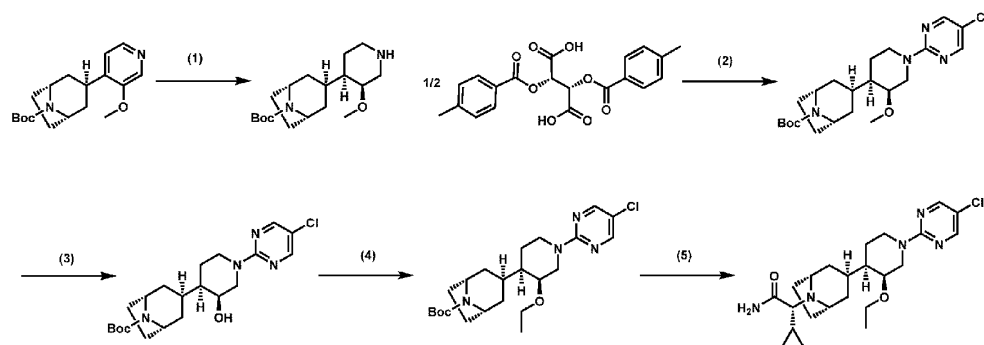
¹H-NMR（400 MHz, CDCl₃）δ（ppm）：0.95（d, J=6.8 Hz, 3H）, 1.02（d, J=6.8 Hz, 3H）, 1.15–1.56（m, 8H）, 1.75（td, J=10.8, 6.1 Hz, 3H）, 1.86–2.10（m, 2H）, 2.67（d, J=13.1 Hz, 1H）, 2.75（td, J=12.9, 3.2 Hz, 1H）, 2.95（d, J=4.1 Hz, 1H）, 3.19–3.27（m, 1H）, 3.30（s, 3H）, 3.33–3.46（m, 2H）, 4.70（dt, J=13.3, 2.2 Hz, 1H）, 5.06–5.16（m, 1H）, 5.30–5.36（m, 1H）, 6.79（brd, J=5.0 Hz, 1H）, 8.14（s, 2H）.

MS（ESI）m/z：421 [M+H]⁺

[0057] 実施例3

(R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-エトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)-2-シクロプロピルアセトアミドの合成

[化16]



[0058] (1) tert-ブチル (1R,3s,5S)-3-((3S,4R)-3

ーメトキシピペリジンー4ーイル)ー8ーアザビシクロ[3.2.1]オクタンー8ーカルボキシラート ヘミ(2S,3S)ー2,3ービス((4ーメチルベンゾイル)オキシ)スクシナートの合成

tert-ブチル(1R,3s,5S)ー3ー(3ーメトキシピペリジンー4ーイル)ー8ーアザビシクロ[3.2.1]オクタンー8ーカルボキシラート(20g,62.8mmol)と10%パラジウム炭素(川研ファインケミカル製タイプAD,約50%含水品,6g)の酢酸(160mL)混合物を水素雰囲気下70℃で終夜攪拌した。ろ過によりパラジウム炭素を除去し、メタノール(10倍量)で洗浄後、ろ液をおよそ2倍量まで濃縮した。得られた濃縮液に酢酸イソプロピル(15倍量)とn-ヘプタン(3倍量)を加えた後、48%水酸化ナトリウム水溶液(54.7mL)で洗浄した。n-ヘプタン(100mL)を加え水(5倍量)で洗浄後、およそ5倍量まで濃縮した。得られた濃縮液に酢酸イソプロピル(5倍量)を加えて、およそ5倍量まで濃縮する共沸操作を2回繰り返すことでtert-ブチル(1R,3s,5S)ー3ー(3ーメトキシピペリジンー4ーイル)ー8ーアザビシクロ[3.2.1]オクタンー8ーカルボキシラート(15.1g)を酢酸イソプロピル溶液として得た。

得られたtert-ブチル(1R,3s,5S)ー3ー(3ーメトキシピペリジンー4ーイル)ー8ーアザビシクロ[3.2.1]オクタンー8ーカルボキシラート(7.55g,23.3mmol)と(+)-ジピバロイル-D-酒石酸(1.85g,5.82mmol)の酢酸イソプロピル(151mL)、アセトニトリル(30.2mL)及びメタノール(38mL)溶液に(-)-ジパトールオイル-L-酒石酸(2.70g,6.98mmol)を加え、室温にて3日間攪拌して固体を得た。

得られた固体をろ取したのち、酢酸イソプロピルとアセトニトリルの混合溶液(9/1)で固体を洗浄した。得られた母液を10倍量まで濃縮し、酢酸イソプロピル(10倍量)、5N水酸化ナトリウム水溶液(4.65mL,23.269mmol)及び水(4倍量)を加えた。水層を除去したのち

、水（４倍量）で洗浄した。５倍量まで濃縮後、酢酸イソプロピル（１０倍量）で加えて５倍量まで共沸し、（＋）－ジピバロイル－Ｄ－酒石酸（１．８５２ｇ，５．８１７ｍｍｏｌ）のメタノール（３８ｍＬ）、アセトニトリル（３０．２ｍＬ）及び酢酸イソプロピル（１５１ｍＬ）溶液に（＋）－ジ－パラトルオイル－Ｄ－酒石酸（３．１５ｇ，８．１４４ｍｍｏｌ）を加え、室温にて終夜攪拌した。（＋）－ジ－パラトルオイル－Ｄ－酒石酸（０．０５等量）と酢酸イソプロピル（１０倍量）を加えた。濃縮、水酸化ナトリウムによる中和、純水による洗浄によって全量を回収し、（＋）－ジピバロイル－Ｄ－酒石酸（０．２等量）の酢酸イソプロピル（１５１ｍＬ）、アセトニトリル（３０．２ｍＬ）及びメタノール（３８ｍＬ）溶液に（＋）－ジ－パラトルオイル－Ｄ－酒石酸（３．１５ｇ，８．１４４ｍｍｏｌ）を加え、室温にて終夜攪拌した。反応混合物に（＋）－ジ－パラトルオイル－Ｄ－酒石酸（０．０５等量）を加え、室温にて４時間攪拌した。反応混合物へ（＋）－ジ－パラトルオイル－Ｄ－酒石酸（０．０２５等量）と酢酸イソプロピル（１０倍量）を加え、室温にて終夜攪拌した。濃縮、水酸化ナトリウムによる中和、純水による洗浄によって全量を回収し、（＋）－ジピバロイル－Ｄ－酒石酸（０．２等量）の酢酸イソプロピル（１５１ｍＬ）、アセトニトリル（３０．２ｍＬ）及びメタノール（３８ｍＬ）溶液に（＋）－ジ－パラトルオイル－Ｄ－酒石酸（３．１５ｇ，８．１４ｍｍｏｌ）を加え、室温にて終夜攪拌した。酢酸イソプロピル（１０倍量）を加えた。７時間後、生じた固体をろ取り酢酸イソプロピルで洗浄することで標記化合物（３．４５ｇ）を得た。

（分析条件）ダイセル製ＣＨＩＲＡＬＰＡＫ（登録商標）　ＩＡ（０．４６ｃｍ×２５ｃｍ）を用いたクロマトグラフィー（移動相　エタノール：ｎ－ヘキサン（２０：８０），４０℃，流速：１．０ｍＬ／分，検出：ＵＶ（２５４ｎｍ））

（分析結果）標記化合物の保持時間は８．５２分であり、光学純度は９９．２％ｅｅであった。

[0059] (2) tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -1-(5-クロロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

2, 5-ジクロロピリミジン (288 mg, 1.93 mmol)、tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -3-メトキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラート ヘミ (2S, 3S) -2, 3-ビス ((4-メチルベンゾイル)オキシ)スクシナート (500 mg, 0.966 mmol) と炭酸カリウム (267 mg, 1.93 mmol) のN, N-ジメチルホルムアミド (10 mL) を80℃で24時間攪拌した。室温まで冷却した後、水を加え酢酸エチルで3回抽出した。有機層を集めて濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、10-100%酢酸エチル/n-ヘプタン) で精製し、標記化合物 (368 mg) を得た

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 1.24-1.27 (m, 2H), 1.41-1.49 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.61 (brs, 4H), 1.82-1.98 (m, 4H), 2.68 (d, J=14.04 Hz, 1H), 2.75 (td, J=12.91, 3.17 Hz, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.36 (brs, 1H), 4.11-4.32 (m, 2H), 4.68-4.80 (m, 1H), 5.12 (dt, J=14.27, 2.61 Hz, 1H), 8.16 (s, 2H) .

[0060] (3) tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -1-(5-クロロピリミジン-2-イル) -3-ヒドロキシピペリジン-4-イル) -8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R) -1-(5-クロロピリミジン-2-イル) -3-メトキシピペリジン-4-イル)

－8－アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン－8－カルボキシラート (300 mg, 0. 687 mmol) と48%臭化水素酸 (5 mL) の混合物を室温で20分攪拌したのち、100℃で2. 5時間加熱した。その後室温で終夜攪拌し、得られた反応混合物を減圧下濃縮した。得られた残渣にテトラヒドロフラン (10 mL) と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、そこに *tert*-ブチルジカルボナート (165 mg, 0. 755 mmol) を室温に加えた。UPLCで反応の完結を確認したのち、酢酸エチルと水を加えて有機層を分離した。水層を酢酸エチルで再度抽出し、先に得られた有機層と合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下濃縮した。得られた残渣を10%酢酸エチル／*n*-ヘプタンの混合溶媒で洗浄し、標記化合物 (226 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 1. 28–1. 34 (m, 2H), 1. 46 (s, 9H), 1. 59–1. 72 (m, 6H), 1. 75–1. 97 (m, 4H), 2. 70–2. 83 (m, 1H), 2. 91 (dd, $J=14. 04$, 0. 91 Hz, 1H), 3. 97–4. 03 (m, 1H), 4. 09–4. 34 (m, 2H), 4. 68–4. 79 (m, 1H), 4. 81–4. 91 (m, 1H), 8. 18 (s, 2H). MS (ESI) m/z : 423 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0061] (4) *tert*-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-エトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

tert-ブチル (1R, 3s, 5S) -3-((3S, 4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-ヒドロキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラート (50 mg, 0. 118 mmol) のN, N-ジメチルホルムアミド (1 mL) 溶液に、氷冷下、水素化ナトリウム (60%、流動パラフィンに分散、7. 09 mg, 0. 177 mmol) を加えた。30分攪拌したのち、ヨウ化エ

チル (0.019 mL, 0.236 mmol) を加え室温で16時間攪拌した。反応液へ水と酢酸エチルを加えた後、有機層を分離して濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、1-20%酢酸エチル／*n*-ヘプタン) で精製し、標記化合物 (42.5 mg) を得た。

MS (ESI) *m/z* : 451 [M+H]⁺

[0062] (5) (R)-2-((1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-エトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)-2-シクロプロピルアセトアミドの合成

tert-ブチル (1R, 3S, 5S)-3-((3S, 4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-エトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-カルボキシレート (42.5 mg, 0.094 mmol) をトリフルオロ酢酸 (1 mL) で30分処理したのち、濃縮した。得られた残渣をメタノールに溶かし、Waters

Porapak Rxn (登録商標) CX (0.4 g) 上に供した。固相をメタノール (6 mL) で洗浄した後、生成物をアンモニア (2 mol/Lメタノール溶液, 6 mL) で溶離し、溶出液を減圧下濃縮した。得られた残渣、製造例5と同様の操作にて得られた (S)-2-ブromo-2-シクロプロピルアセトアミド (51.6 mg, 0.188 mmol)、炭酸カリウム (26.0 mg, 0.188 mmol) 及びアセトニトリル (2 mL) の混合物を室温で17日間攪拌した。反応混合物をアセトニトリル (3 mL) を用いてろ過し、得られたろ液をダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IA/SFC (3 cm x 25 cm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO₂:メタノール (75:25)、120 bar、40°C、流速:100 mL/分) にて一回あたり500 μLずつ分取し、保持時間7.55分の標記化合物 (22.2 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 0.26-0.38 (m, 1H), 0.40-0.58 (m, 2H), 0.59-0.68 (

m, 1 H), 0.71–0.83 (m, 1 H), 0.98–1.92 (m, 12 H), 1.04 (t, $J=7.02$ Hz, 3 H), 2.07 (brd, $J=9.06$ Hz, 1 H), 2.61–2.81 (m, 2 H), 3.13–3.30 (m, 2 H), 3.45 (brs, 1 H), 3.61–3.75 (m, 1 H), 3.84–3.92 (m, 1 H), 4.66–4.76 (m, 1 H), 4.93–5.11 (m, 1 H), 5.17–5.32 (m, 1 H), 6.90–7.03 (m, 1 H), 8.16 (s, 2 H).

MS (ESI) m/z : 448 $[M+H]^+$

(分析条件) ダイセル製 CHIRALPAK (登録商標) IA-3 (0.46 cm × 25 cm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO₂:メタノール (80:20), 40°C, 流速: 1.2 mL/分, 検出: UV (257 nm))

(分析結果) 標記化合物の保持時間は 2.19 分であり、光学純度は > 99.9% ee であった。

[0063] (R)-2-((1R,3S,5S)-3-((3S,4R)-1-(5-クロロピリミジン-2-イル)-3-エトキシピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)-2-シクロプロピルアセトアミドの単結晶の調製及びX線結晶構造解析

実施例3で得られた標記化合物 (1.37 mg) をアセトニトリル (600 μL) に溶解した。そのうち 200 μL をバイアルに入れ、軽くキャップを閉めた (溶媒蒸発法)。1日後、バイアル中に標記化合物の単結晶 (アセトニトリルが2分子付加した二量体の結晶) を得た。得られた単結晶について、以下の条件でX線結晶構造解析を行った。標記化合物のX線結晶構造を図2に示す。

分析機器: XtaLAB PRO P200 MM007HF (Rigaku, Japan)

ソフト: CrysAlisPro (Rigaku Oxford Diffraction)

X線: multi-layer mirror monochromated Cu-K α (40 kV/30 mA)

測定法: ω axis oscillation method

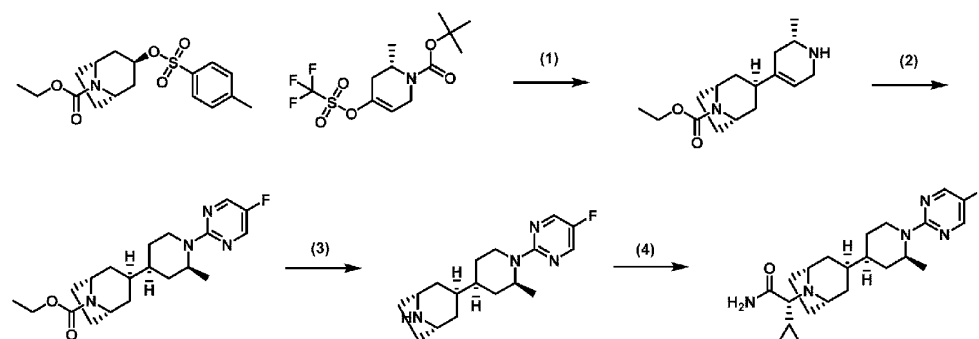
カメラ長 : 35 mm

測定温度 : -170°C

[0064] 実施例 4

(R) - 2 - シクロプロピル - 2 - ((1 R, 3 S, 5 S) - 3 - ((2 S, 4 S) - 1 - (5 - フルオロピリミジン - 2 - イル) - 2 - メチルピペリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - イル) アセトアミドの合成

[化17]



[0065] (1) エチル (1 R, 3 s, 5 S) - 3 - ((S) - 2 - メチル - 1, 2, 3, 6 - テトラヒドロピリジン - 4 - イル) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - カルボキシラートの合成

13 mm スクリューキャップ試験管に、エチル (1 R, 3 s, 5 S) - 3 - (トシルオキシ) - 8 - アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン - 8 - カルボキシレート (CAS No. 2236076-85-8) (200 mg, 0.566 mmol)、臭化ニッケル (II) エチレングリコールジメチルエーテル錯体 (17.5 mg, 0.057 mmol)、4, 4 - ジ - *tert* - ブチル - 2, 2 - ジピリジル (15.2 mg, 0.057 mmol)、ヨウ化カリウム (94.0 mg, 0.566 mmol) 及びマンガン (62.2 mg, 1.13 mmol) を加えた。次いで、*tert* - ブチル (S) - 2 - メチル - 4 - (((トリフルオロメチル) スルホニル) オキシ) - 3, 6 - ジヒドロピリジン - 1 (2 H) - カルボキシレート (CAS No. 876922-74-6) (195 mg, 0.566 mmol) の N,

N-ジメチルアセトアミド (4.0 mL) 溶液及び4-エチルピリジン (0.064 mL, 0.566 mmol) を窒素気流下加えた。得られた混合物を窒素雰囲気下、80℃で12.5時間攪拌した。室温まで冷却した後、酢酸エチルで希釈した。不溶物を綿栓ろ過で除去し、溶出物を水及び酢酸エチルで分配した。水層を分取し、酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせ、水で3回洗浄し減圧下濃縮し、カップリング反応生成物を粗生成物として得た。

得られた粗生成物のジクロロメタン (4.0 mL) 溶液に、トリフルオロ酢酸 (1.0 mL) を加え、室温で1時間攪拌した。反応混合物に窒素を吹き付けることで溶媒を留去し、残渣をメタノールで希釈した。得られたメタノール溶液をWaters Porapak Rxn (登録商標) CX (20cc (2g) cartridge) 上に供した。固相をメタノール (20.0 mL) で洗浄した後、アンモニア (2Nメタノール溶液, 20 mL) で溶出させた。溶出液を減圧下濃縮することで、標記化合物の粗生成物 (120 mg) を得た。

MS (ESI) m/z : 279 [M+H]⁺

[0066] (2) エチル (1R, 3s, 5S) - 3 - ((2S, 4S) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 2-メチルピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラートの合成

エチル (1R, 3s, 5S) - 3 - ((S) - 2-メチル-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3. 2. 1] オクタン-8-カルボキシラート (120 mg, 0.431 mmol)、10%パラジウム炭素 (エヌ・イーケムキャット (株)、48.47%含水品、183 mg, 0.083 mmol) 及びメタノール (4.0 mL) の混合物を水素雰囲気下、6.5時間攪拌した。不溶物をセライト (登録商標) ろ過で除き、減圧下濃縮することで還元体 (113 mg) をシス・トランスの混合物として得た。

MS (ESI) m/z : 281 [M+H]⁺

得られた還元体 (113 mg)、2-クロロ-5-フルオロピリミジン (0.048 mL, 0.517 mmol)、炭酸セシウム (281 mg, 0.862 mmol) 及びN,N-ジメチルアセトアミド (2.0 mL) の混合物を100℃で8時間攪拌した。混合物をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、0-30%酢酸エチル/n-ヘプタン) で精製し、標記化合物 (82.0 mg) をシス・トランスの混合物として得た。

MS (ESI) m/z : 377 [M+H]⁺

(分析条件) ダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IF-3 (3.0 mm×50 mm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO₂:メタノール (70:30), 40℃, 流速: 1.2 mL/分, 検出: UV (210-400 nm))

(分析結果) 標記化合物の保持時間は1.02分であり、トランス体の保持時間は1.23分であった。シス:トランスは4:5 (ピーク面積比) であり、光学純度は>99% eeであった。

得られたシス・トランスの混合物を、ダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IF/SFC (3 cm×25 cm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO₂:メタノール (70:30)、120 bar、40℃、流速: 100 mL/分) にて一回あたり10 mgずつ分取し、先に溶出する保持時間5.55分の標記化合物 (34.0 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 1.17 (d, J = 6.34 Hz, 3H), 1.23 (t, J = 7.25 Hz, 3H), 1.19-2.02 (m, 14H), 3.09 (ddd, J = 13.70, 10.99, 5.66 Hz, 1H), 4.10 (q, J = 7.10 Hz, 2H), 4.17-4.30 (m, 3H), 4.34 (dd, J = 13.59, 7.25 Hz, 1H), 8.13 (s, 2H).

MS (ESI) m/z : 377 [M+H]⁺

(分析条件) ダイセル製CHIRALPAK (登録商標) IF-3 (3.0 mm×50 mm) を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (移動相 CO

2 : メタノール (70 : 30) , 40℃ , 流速 : 1.2 mL / 分 , 検出 : UV (245 nm))

(分析結果) 標記化合物の保持時間は1.02分であり、シス : トランスは >99 : 1 であり、光学純度は >99% ee であった。

[0067] (3) (1R, 3s, 5S) - 3 - ((2S, 4S) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 2-メチルピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3.2.1] オクタンの合成

エチル (1R, 3s, 5S) - 3 - ((2S, 4S) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 2-メチルピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3.2.1] オクタン-8-カルボキシラート (34 mg, 0.09 mmol) と48%臭化水素酸 (2.0 mL) の混合物を100℃で1時間攪拌した。反応混合物に0℃で5N水酸化ナトリウム水溶液を加えて中和した。混合物をジクロロメタンで3回抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し減圧下濃縮することで標記化合物 (21.7 mg) を得た。

MS (ESI) m/z : 305 [M+H]⁺

[0068] (4) (R) - 2-シクロプロピル-2- ((1R, 3S, 5S) - 3 - ((2S, 4S) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 2-メチルピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3.2.1] オクタン-8-イル) アセトアミドの合成

(1R, 3s, 5S) - 3 - ((2S, 4S) - 1 - (5-フルオロピリミジン-2-イル) - 2-メチルピペリジン-4-イル) - 8-アザビシクロ [3.2.1] オクタン (5.00 mg, 0.016 mmol) 、炭酸カリウム (4.54 mg, 0.033 mmol) 、 (S) - 2-ブロモ-2-シクロプロピルアセトアミド (8.24 mg, 0.033 mmol) 及びアセトニトリル (1.0 mL) の混合物を室温で7日間攪拌した。反応混合物に炭酸カリウム (4.54 mg, 0.033 mmol) 及び (S) - 2-ブロモ-2-シクロプロピルアセトアミド (8.24 mg, 0.033 mmol) を加え、さらに室温で3日間攪拌した。反応混合物に塩化アンモニウム

水溶液を加えて反応を停止させた。混合物を酢酸エチルで抽出し、有機層を水で洗浄し減圧下濃縮することで粗生成物を得た。

得られた粗生成物をメタノールで希釈し、Waters Porapak R_{xn} (登録商標) CX (6cc (400mg) cartridge) 上に供した。固相をメタノール (6.0 mL) で洗浄した後、アンモニア (2Nメタノール溶液, 6 mL) で溶出させた。溶出液を減圧下濃縮し、得られた残渣を薄層クロマトグラフィー (NH, ジクロロメタン) で精製することで標記化合物 (3.74 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 0.25–0.36 (m, 1H), 0.39–0.51 (m, 1H), 0.51–0.59 (m, 1H), 0.59–0.70 (m, 1H), 0.70–0.84 (m, 1H), 1.18 (d, J=6.34 Hz, 3H), 1.21–1.55 (m, 9H), 1.61–1.95 (m, 5H), 2.04 (d, J=9.06 Hz, 1H), 3.10 (ddd, J=13.70, 10.99, 5.21 Hz, 1H), 3.15–3.28 (m, 1H), 3.80–3.94 (m, 1H), 4.17–4.29 (m, 1H), 4.35 (dd, J=13.59, 7.25 Hz, 1H), 5.18 (brs, 1H), 6.94 (brs, 1H), 8.14 (s, 2H).

MS (ESI) m/z : 402 [M+H]⁺

[0069] (R)-2-シクロプロピル-2-((1R, 3S, 5S)-3-((2S, 4S)-1-(5-フルオロピリミジン-2-イル)-2-メチルピペリジン-4-イル)-8-アザビシクロ[3.2.1]オクタン-8-イル)アセトアミドの単結晶の調製及びX線結晶構造解析

実施例4で得られた標記化合物 (0.81 mg) をメタノール (600 μL) に溶解した。そのうち200 μLを入れたバイアルを、このバイアルよりひと回り大きく、tert-ブチルメチルエーテル2 mLが入ったバイアルにゆっくり入れ、キャップを閉めた (蒸気拡散法)。12日後、バイアル中に標記化合物の単結晶を得た。得られた単結晶について、以下の条件でX

線結晶構造解析を行った。標記化合物のX線結晶構造を図3に示す。

分析機器：XtaLAB PRO P200 MM007HF (Rigaku, Japan)

ソフト：CrysAlisPro (Rigaku Oxford Diffraction)

X線：multi-layer mirror monochromated Cu-K α (40 kV/30 mA)

測定法： ω axis oscillation method

カメラ長：35 mm

測定温度：-170°C

[0070] 薬理試験例

実施例1～4の化合物を用いて、以下の薬理試験を行った。

[0071] 試験例1-1 OX1R及びOX2Rに対する作動活性評価

hOX1R、hOX2Rを強制発現させたHuman Embryonic Kidney cells 293 (HEK293) 細胞を384ウェルのマイクロプレート (Greiner) の各ウェルに10,000個となるように播種し、10% FBS (サーモサイエンティフィック) 及び1% Penicillin-Streptomycin (富士フイルム和光純薬) 添加した高グルコースDMEM (富士フイルム和光純薬) で24時間培養した。培地を除去後、Calcium 4 dye (Molecular Device Corporation) 及び2.5mM プロベネシド (シグマアルドリッチ) を含むアッセイ用緩衝液 (20mM HEPES (シグマアルドリッチ)、Hank's balanced salt solution (ギブコ)、0.1% BSA (シグマアルドリッチ)、0.1% Pluronic F-127 (Biotium, Inc.)) を40 μ L添加し、60分間インキュベートした。アッセイ用緩衝液20 μ Lを更に添加した後に、被験化合物を含むアッセイ用緩衝液20 μ Lを添加し、反応を開始した。反応による細胞内カルシウムイオン濃度の変化は、FDS S7000 (浜松ホトニクス) を用いて、480nm及び540nmの二波長励起による蛍光強度比を蛍光値として測定することにより測定した。なお、被験化合物は10mMとなるようにDMSOに溶解し、最終濃度が3 $\times$ 1

0.10 M から $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ となるようにアッセイ用緩衝液で希釈した（DMSOの最終濃度は0.1%）。化合物を含まない緩衝液を添加したウェルの蛍光値を0%、OX-A（ペプチド研究所）

10 nMを添加したウェルの蛍光値を100%として算出し、種々の濃度の被験化合物を添加した際の蛍光値から、50%作動作用濃度（EC50値）を求めた。表1に各化合物の作動活性値を示した。

[0072] [表1]

実施例番号	hOX1R EC50 (nM)	hOX2R EC50 (nM)
1	>100	0.99
2	>100	3.08

[0073] 試験例1-2 OX1R及びOX2Rに対する作動活性評価

hOX1R、hOX2Rを強制発現させたHuman Embryonic Kidney cells 293（HEK293）細胞を384ウェルのマイクロプレート（Greiner）の各ウェルに10,000個となるように播種し、10% FBS（サーモサイエンティフィック）及び1% Penicillin-Streptomycin（富士フイルム和光純薬）添加した高グルコースDMEM（富士フイルム和光純薬）で1日培養した。培地を除去後、Calcium 4 dye（Molecular Device Corporation）及び2.5mM プロベネシド（シグマアルドリッチ）を含むアッセイ用緩衝液（20mM HEPES（シグマアルドリッチ）、Hank's balanced salt solution（ギブコ）、0.1% BSA（シグマアルドリッチ）、0.1% Pluronic F-127（Biotium, Inc.））を30 μL 添加し、60分間インキュベートした。被験化合物を含むアッセイ用緩衝液30 μL を添加し、反応を開始した。反応による細胞内カルシウムイオン濃度の変化は、FDSS7000（浜松ホトニクス）を用いて、480nm及び540nmの二波長励起による蛍光強度比を蛍光値として測定することにより測定した。なお、被験化合物は10mMとなるようにDMSOに溶解し、最終濃度が $3 \times 10^{-11} \text{ M}$ から $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ となるようにアッセイ用緩衝

液で希釈した（DMSOの最終濃度は0.1％）。化合物を含まない緩衝液を添加したウェルの蛍光値を0％、OX-A（ペプチド研究所）10nMを添加したウェルの蛍光値を100％として算出し、種々の濃度の被験化合物を添加した際の蛍光値から、50％作動作用濃度（EC50値）を求めた。表2に各化合物の作動活性値を示した。

[0074] [表2]

実施例番号	hOX1R EC50 (nM)	hOX2R EC50 (nM)
1	4700	2.3
3	1400	4.3
4	3900	4.4

[0075] 試験例2 自発運動量の増加について

マウスにおける運動量の増加は、覚醒時間の増加、体温の上昇、心脈管系パラメータの増強などと共に、覚醒作用の指標の1つである。この試験例では覚醒作用を、マウスの自発運動量を測定することにより評価した。実験には、雄性のC57BL/6NCrlマウス（18-19週齢、日本チャールス・リバー、各群4例ずつ）を用いた。自発運動量は、運動量測定装置（VersaMaxオープンフィールド、AccuScan Instruments, Inc.）を使用して測定ケージの側部から赤外線を照射し、マウスが照射線を通過する回数を定量することで測定した。マウスを測定ケージに入れ3時間馴化させた後、化合物を経口投与した（10mg/kg）。自発運動量は、投与後2時間測定した。試験化合物投与群は、試験化合物を5％（v/v）DMSO及び5％（v/v）Kolliphor（登録商標）ELを含む0.1mol/L塩酸に溶解した溶液をマウスに投与した。対照群には、試験化合物を含まない上記溶媒のみをマウスに投与した。

[0076] 結果を表3に示す。自発運動量は対照群の自発運動量を100％とした時の試験化合物投与群の自発運動量を％で表す。

[0077]

[表3]

試験化合物	自発運動量 (% of Control)
溶媒	100
実施例1	865
実施例2	253

[0078] 表3から明らかなように、本発明の化合物はマウスの自発運動量を増強した。即ち、本発明の化合物は覚醒効果を有することが示された。

[0079] 試験例3 本発明化合物の野生型マウスへの暗期経口投与による覚醒効果

実験動物は、C57BL/6系統の野生型(WT)雄性マウスを用いた。

13週齢のマウスにイソフルラン麻酔下にて脳波及び筋電図測定用電極埋め込み手術を行った。手術後、照明サイクルや実験操作への馴化を経てから、脳波及び筋電図の測定を実施し、脳波及び筋電図が正常に記録できるマウスを実験に供した。溶媒(0mg/kg)または実施例1の化合物を溶媒に溶解した溶液;1、3または10mg/kg)を消灯の30~15分前に経口投与した。なお、溶媒は5%(v/v)DMSO及び5%(v/v)Kolliphor(登録商標)ELを含む0.1mol/L塩酸溶液を用いた。脳波及び筋電図は消灯1時間前から約24時間記録した。マウスは2日以上の上のウォッシュアウト期間を設け、繰り返し使用した。得られた各マウスの脳波及び筋電図データは、睡眠解析ソフトウェア(SleepSign;キッセイコムテック株式会社)を利用して、1エポック(10秒)ごとに睡眠ステージを判定した。1例ごとに消灯後に最初の睡眠(non-REM睡眠)から始まる8エポック以上の睡眠が現れるまでの時間(睡眠潜時)を計測した。各投与群の例数を16とし、睡眠潜時についての溶媒投与群(対照群)と実施例1の化合物投与群間の比較は実験回と同一個体の対応を考慮した生存時間解析後のDunnett型多重比較検定を行い、いずれも有意水準は両側5%とした。

[0080] 溶媒及び1、3及び10mg/kgの実施例1の化合物を投与したマウスの睡眠潜時はそれぞれ、0.23時間、0.28時間、0.44時間及び2

． 07時間であった。また、3または10mg/kgの実施例1の化合物投与群では溶媒投与群と比較して有意に睡眠潜時が増加した。すなわち、マウスにとって活動期の始まりである明期（ZT12）に実施例1の化合物を経口投与したところ、投与量依存的な睡眠潜時の延長が確認された。

[0081] 試験例4 本発明化合物のオレキシン欠損マウス（オレキシン／アタキシン3マウス）への暗期経口投与による覚醒効果、及びカタプレキシー様行動抑制効果

実験動物は、C57BL/6系統を遺伝的背景とするオレキシン／アタキシン3マウス（*orexin/ataxin-3 Tg/+*（以下「Tgマウス」と表記）、Hara et al., Neuron, 30, 345-54, 2001）、コントロールとして同腹仔の野生型マウス（以下「WTマウス」と表記）を用いた。12週齢（±2週）のマウスにイソフルラン麻酔下にて脳波及び筋電図測定用電極埋め込み手術を行った。手術後、照明サイクルや実験操作への馴化を経てから、脳波及び筋電図測定を実施し、脳波及び筋電図が正常に記録できるマウスを実験に供した。溶媒（0mg/kg）または検体（実施例1の化合物を溶媒に溶解した溶液；0.3、1、または3mg/kg）を消灯の30～15分前に経口投与した。なお、溶媒は5%（v/v）DMSO及び5%（v/v）Kolliphor（登録商標）ELを含む0.1mol/L塩酸溶液を用いた。脳波及び筋電図は消灯1時間前から約24時間記録した。マウスは2日以上ウォッシュアウト期間を設け、繰り返し使用した。得られた各マウスの脳波及び筋電図データは、睡眠解析ソフトウェア（SleepSign；キッセイコムテック株式会社）を利用して、1エポック（10秒）ごとに最大4時間まで睡眠ステージを判定した。本実験でのカタプレキシー様症状とは、連続4エポック以上の覚醒状態の直後にREM睡眠が出現する現象（direct transitions from wake to REM sleep（DREM））を意味する。マウスのDREMは人でのカタプレキシーのアナログである（Exp Neurol. 2009;217:46-54）。1例ごとに消灯後に最初の睡眠（DREMを除き、連続8エポック以上の睡

眠)が現れるまでの時間(睡眠潜時)及び最初のDREMが現れるまでの時間(DREM潜時)を計測した。例数は溶媒投与群は8で、実施例1の化合物投与群は14である。睡眠潜時についての病態対照群と化合物投与群間の比較は実験回と同一個体の対応を考慮した生存時間解析後のDunnnett型多重比較検定を行い、いずれも有意水準は両側5%とした。また、DREM潜時についての正常対照群と病態対照群間の比較は、実験回と同一個体の対応を考慮した生存時間解析にて行った。上記の検定が有意であった場合の病態対照群と実施例1の化合物投与群間の比較は実験回と同一個体の対応を考慮した生存時間解析後のDunnnett型多重比較検定を行い、いずれも有意水準は両側5%とした。

[0082] 溶媒及び0.3、1及び3mg/kgの実施例1の化合物を投与したTgマウスの睡眠潜時はそれぞれ、0.21時間、0.31時間、0.64時間、及び2.42時間で、1及び3mg/kgの実施例1の化合物投与群では有意に睡眠潜時が増加した。すなわち、マウスにとって活動期の始まりである明期(ZT12)に実施例1の化合物を経口投与したところ、オレキシン欠損マウスでは1mg/kgから投与量依存的に睡眠潜時の延長が確認された。

[0083] WTマウスにおける媒体投与時のDREM潜時は4.00時間であった。一方、Tgマウスにおける溶媒及び0.3、1及び3mg/kgの実施例1の化合物投与時のDREM潜時はそれぞれ1.16時間、1.50時間、2.26時間及び4.00時間であり、0.3、1及び3mg/kgの実施例1の化合物投与群においては溶媒投与群と比較して、有意かつ投与量依存的なDREM潜時の増加が確認された。すなわち、オレキシン欠損マウスが呈するカタプレキシー様症状(DREM)は、本発明の化合物の投与により投与量依存的に抑制された。