

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、疼痛、及び糖尿病性網膜症）との関係が報告されている。

[0003] ファンコニ貧血 (FA) は、遺伝性の骨髄不全疾患であり、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。骨髄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*2 (ALDH2 遺伝子変異) を発現するトランスジェニック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（侵害受容性）、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）。また、ALDH2活性化により糖尿病性網膜症への薬効が期待できること

が、ラットモデルで報告されている（例えば、非特許文献14）。

- [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1～5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
特許文献5：中国特許出願公開第108864034号明細書

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

非特許文献14: Oxidative Medicine and Cellular Longevity (2021) 2021: ID1641717

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0013] 本発明は、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

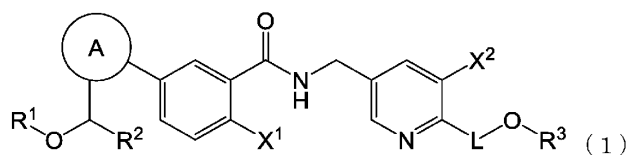
[0014] 本発明者等が鋭意検討した結果、所定の構造を有する化合物が ALDH2 活性化作用を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

[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、

L は、存在しないか、又はアルキレンであり、

X¹ は、ハロゲンであり、

X² は、水素、又はハロゲンである]

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。

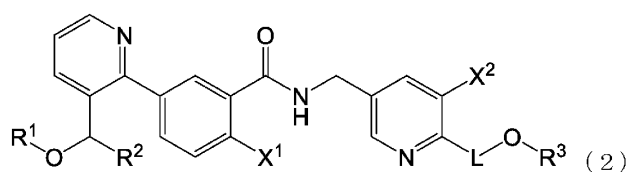
[4]

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)：

[化2]



[式中、R¹、R²、R³、L、X¹及びX²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。

[6A]

R¹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。

[6B]

R¹が、水素である、[1]～[6A]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。

[7A]

R²が、水素、又はアルキルである、[1]～[6B]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。

[7B]

R²が、水素である、[1]～[7A]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 C]

R^2 が、アルキルである、[1]～[7 A]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 A]

R^3 が、アルキルである、[1]～[7 C]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 B]

R^3 が、非置換アルキル、ハロアルキル又はシクロアルキルである、[1]～[8 A]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 C]

R^3 が、非置換アルキルである、[1]～[8 B]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 D]

R^3 が、ハロアルキルである、[1]～[8 B]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 E]

R^3 が、シクロアルキルである、[1]～[8 B]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 F]

R^3 が、メチル、エチル、イソプロピル、シクロプロピル、又はフルオロメチルである、[1]～[8 B]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。

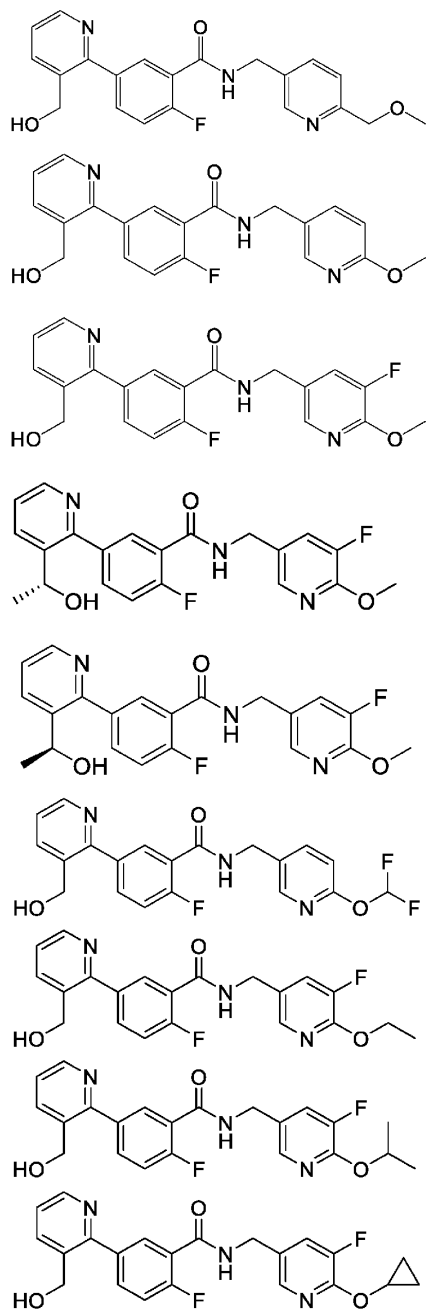
[10]

X²が、水素、又はフッ素である、[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。

[11]

式(1)で表される化合物が、下記化合物：

[化3]



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]

R^1 が、 $-CH_2-O-PO_3H_2$ 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、 $-CH_2-O-PO_3H_2$ で置換されている、[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。

[14]

[1]～[13]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。

[15]

[1]～[13]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。

[16]

[1]～[13]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、疼痛、及び糖尿病性網膜症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] また、本発明は以下の実施形態も含む。

[A1]

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]～[13]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。

[A2]

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、疼痛、及び糖尿病性網膜症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〕～〔１３〕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。

[0017] [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〕～〔１３〕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、疼痛、及び糖尿病性網膜症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〕～〔１３〕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。

[0018] [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〕～〔１３〕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、疼痛、及び糖尿病性網膜症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〕～〔１３〕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。

[0019] [D 1]

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。

[D 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、疼痛、及び糖尿病性網膜症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

[0020] 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

[0021] 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。

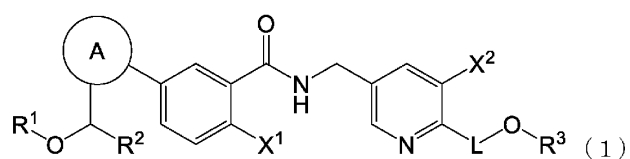
[0022] <定義>

本明細書において、「含む」との用語は、含まれることが明示された要素に加え、それ以外の要素を含んでもよいことを意味する。

[0023] <化合物>

本発明の一実施形態は、下記式（1）：

[化4]



[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、

Lは、存在しないか、又はアルキレンであり、

X¹は、ハロゲンであり、X²は、水素、又はハロゲンである]

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関する。

[0024] 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、ピリジン環であることが好ましい。

[0025] 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し、環状であってもよい。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。

[0026] 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。

[0027] 式(1)において、R¹は、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。

[0028] 式(1)において、R²は、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。

[0029] 式(1)において、R³は、アルキルであることが好ましく、非置換アルキル、ハロアルキル又はシクロアルキルであることがより好ましく、メチル、エチル、イソプロピル、シクロプロピル、又はフルオロメチル（好ましくはジフルオロメチル）であることが更に好ましい。

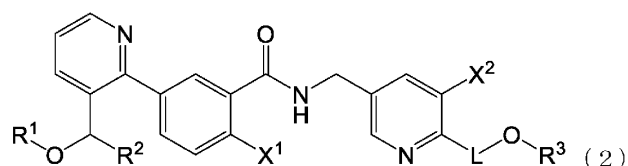
[0030] 式(1)において、Lは、存在しないか又は炭素数1～3のアルキレンであることが好ましく、存在しないか又はメチレン(—CH₂—)であることがより好ましい。

[0031] 式(1)において、X¹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。

[0032] 式(1)において、X²は、水素、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素であることが好ましく、水素、フッ素、又は塩素であることがより好ましく、水素、又はフッ素であることが更に好ましい。

[0033] 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)：

[化5]

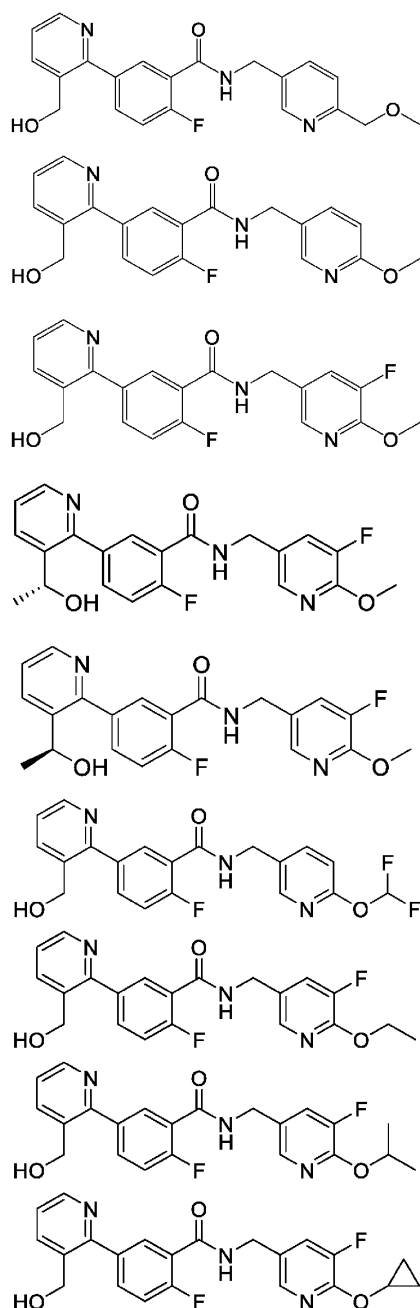


[式中、R¹、R²、R³、L、X¹及びX²は、前記のとおりである]

で表される化合物であることが好ましい。

[0034] 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6]



[0035] 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。

[0036] 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。

[0037] 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。

[0038] 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。

[0039] <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）を有している。

[0040] 本実施形態のALDH2活性化剤を使用することにより、ALDH2に関連する疾患を治療及び／又は予防することができる。

[0041] <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。

[0042] 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、疼痛、及び糖尿病性網膜症等が挙げられる。

[0043] 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。

[0044] 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。

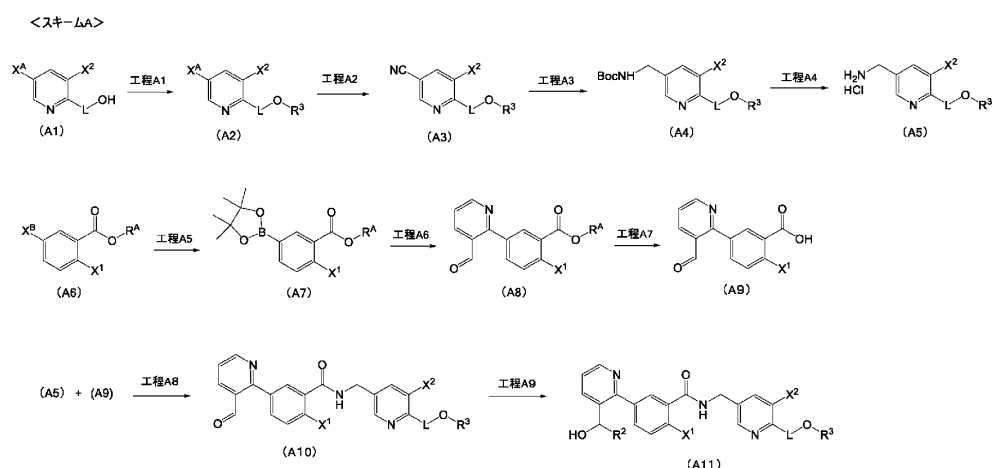
[0045] 本実施形態の医薬組成物並びに治療及び／又は予防薬の投与量（有効成分基準）は、患者の状態や体重、化合物の種類、疾患の種類、投与経路等によって異なるが、適切な量を医師が決定することができる。一例として、ファンコニ貧血、骨粗鬆症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、アルコール性肝障害、膵炎、虚血再灌流障害、末梢動脈疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、食道がん、頭頸部がん、疼痛、及び糖尿病性網膜症等を治療する場合、成人（体重約60kg）に対して、経口投与の場合には1～2000（mg）、非経口投与の場合には0.01～2000（mg）投与してもよい。

[0046] <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7]



[R²、R³、L、X¹及びX²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り、R^Aはアルキルである。]

[0047] 以下、スキーム A の各工程について説明するが、各工程における具体的な条件については、下記実施例の内容に基づいて当業者が適宜設定すればよい。

[0048] 工程 A 1 では、化合物 (A 1) を強塩基（例えば、水素化ナトリウム）と反応させた後、R³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 (A 2) を得る。

工程 A 2 では、化合物 (A 2) 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 (A 3) を得る。

工程 A 3 では、化合物 (A 3) のシアノ基を還元剤（例えば、水素化ホウ素ナトリウム）を用いて還元し、Boc 基で保護して、化合物 (A 4) を得る。

工程 A 4 では、化合物 (A 4) を脱保護して、化合物 (A 5) を得る。

[0049] 工程 A 5 では、化合物 (A 6) をビス（ピナコラート）ジボロンと反応させて、化合物 (A 7) を得る。

工程 A 6 では、化合物 (A 7) を 2-ブロモニコチンアルデヒドと反応さ

せて、化合物（A 8）を得る。

工程 A 7 では、化合物（A 8）のエステル基を加水分解して、化合物（A 9）を得る。

[0050] 工程 A 8 では、化合物（A 5）と化合物（A 9）とを反応させて、化合物（A 1 0）を得る。

工程 A 9 では、化合物（A 1 0）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（A 1 1）を得る。

[0051] 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 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。

[0052] 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。

[0053] 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。

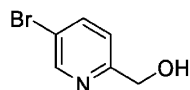
実施例

[0054] 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。

[0055] [製造例 1 - 1]

（5 - ブロモピリジン - 2 - イル）メタノール

[化8]



メチル 5 - ブロモピコリナート（5. 0 g、23. 2 mmol）とメタノール（50 mL）の混合物に、水素化ホウ素ナトリウム（1. 76 g、46. 5 mmol）を加え、室温で4時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加

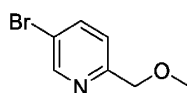
え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（3.20 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.60 (s, 1H), 7.81 (dd, $J=8.4$ Hz, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.36 (bs, 1H).

[0056] [製造例 1-2]

5-ブロモ-2-(メトキシメチル)ピリジン

[化9]



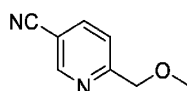
(5-ブロモピリジン-2-イル)メタノール（3.20 g、17.1 mmol）とDMF（35 mL）の混合物に、50%水素化ナトリウム（25 g、0.12 mmol）を0℃でゆっくり加え、同温で30分間攪拌した。反応混合物に室温でヨードメタン（3.64 g、25.6 mmol）を加え、室温で3時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（2.10 g）を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.61 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J=8.4$, 2.4 Hz, 1H), 7.33 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.47 (s, 3H).

[0057] [製造例 1-3]

6-(メトキシメチル)ニコチノニトリル

[化10]



アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-(メトキシメチル)ピリジン（1.0 g、4.97 mmol）、亜鉛（粉末、0.34 g、5.22 mmol）

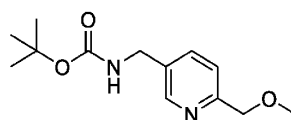
、シアン化亜鉛（0.87 g、7.46 mmol）、及びDMF（10 mL）の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム（0）（227 mg、0.24 mmol）及び1、1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン（137 mg、0.24 mmol）を加え、反応混合物を100℃で3時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、および飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.45 g）を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.80 (d, J=1.2 Hz, 1H), 7.97 (dd, J=8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.58 (d, J=8.0 Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.50 (s, 3H).

[0058] [製造例 1-4]

tert-ブチル ((6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メチル)カルバマート

[化11]



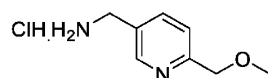
6-(メトキシメチル)ニコチノニトリル（0.50 g、3.37 mmol）とメタノール（10 mL）の混合物に、0℃で塩化ニッケル（II）（1.08 g、8.44 mmol）、水素化ホウ素ナトリウム（0.32 g、8.44 mmol）を加え、同温で15分間攪拌した後、二炭酸ジtert-ブチル（2.20 g、10.0 mmol）を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.26 g）を得た。

ESI-MS: m/z 253.23 [M+1]⁺.

[0059] [製造例 1-5]

(6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロクロ
リド

[化12]



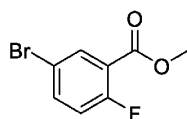
tert-ブチル ((6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メ
チル)カルバマート (0.26 g, 1.03 mmol) とジクロロメタン (3.0 mL) の混合物に、0℃で4 M塩酸-1,4-ジオキサン溶液 (1.0 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、
標記化合物 (0.13 g) を得た。

ESI-MS: m/z 153.11 [M+1]⁺.

[0060] [製造例 1-6]

メチル 5-ブロモ-2-フルオロベンゾアート

[化13]



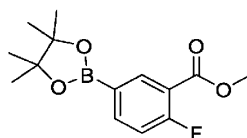
5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (5.0 g, 22.8 mmol) とメ
タノール (50 mL) の混合物に、塩化チオニル (8.28 mL, 114 mm
ol) をゆっくり加え、70℃で8時間攪拌した。反応混合物中のメタノー
ルを減圧下留去し、残渣に氷冷水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を
飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残
渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により
精製し、標記化合物 (3.80 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (dd, J=6.4, 2.4 Hz, 1H), 7.59-7.63 (m
, 1H), 7.04 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H).

[0061] [製造例 1-7]

メチル 2-フルオロ-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)ベンゾアート

[化14]



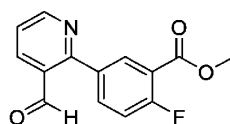
アルゴン雰囲気下、メチル 5-ブロモ-2-フルオロベンゾアート (3.80 g、16.3 mmol)、ビス (ピナコラート) ジボロン (6.21 g、24.4 mmol)、酢酸カリウム (3.19 g、32.6 mmol)、及び1,4-ジオキサン (40 mL) の混合物に、ジクロロ (1,1'-ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン) パラジウムジクロロメタン付加物 (0.665 g、0.81 mmol) を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (2.40 g) を得た。

ESI-MS: m/z 281.38 $[M+1]^+$.

[0062] [製造例 1-8]

メチル 2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル) ベンゾアート

[化15]



アルゴン雰囲気下、メチル 2-フルオロ-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) ベンゾアート (2.40 g、8.57 mmol)、2-ブロモニコチンアルデヒド (1.58 g、8.57 mmol)、炭酸カリウム (2.36 g、17.1 mmol)、1,4-ジオキサン (24 mL)、及び水 (6 mL) の混合物に、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付加物 (0.34 g、0.42 mmol) を加え、100℃で15時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。

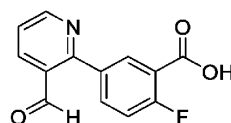
有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（1.10 g）を得た。

ESI-MS: m/z 260.28 $[M+1]^+$.

[0063] [製造例 1-9]

2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)安息香酸

[化16]



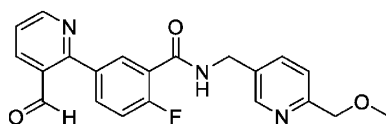
メチル 2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)ベンゾアート（1.10 g、4.23 mmol）、テトラヒドロフラン（5 mL）、メタノール（5 mL）、水（5 mL）の混合物に、水酸化リチウム（0.304 g、12.6 mmol）を0℃で加え、室温で4時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、酢酸エチルで洗浄した。水層を1 mol/L塩酸で中和し、酢酸エチルで抽出した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去し、標記化合物（0.70 g）を得た。

ESI-MS: m/z 246.24 $[M+1]^+$.

[0064] [製造例 1-10]

2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)-N-((6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド

[化17]



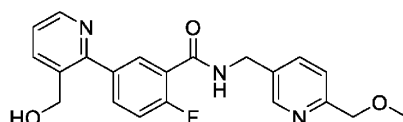
2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)安息香酸（0.40 g、1.63 mmol）、（6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロクロリド（0.30 g、1.63 mmol）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（0.84 g、6.53 mmol）、及び

ジクロロメタン（10 mL）の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液（3.10 g、4.89 mmol）を加え、反応混合物を室温で6時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈し、1 mol/L 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、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（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.23 g）を得た。

ESI-MS: m/z 380.39 [M+1]⁺.

[0065] [実施例 1]

2-フルオロ-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)-N-(6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド
[化18]



2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)-N-(6-(メトキシメチル)ピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド（0.23 g、0.60 mmol）とメタノール（5.0 mL）の混合物に、水素化ホウ素ナトリウム（0.057 g、1.51 mmol）を0℃で加え、室温で3時間攪拌した。反応混合物に水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。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、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（X-Bridge C18（19×250）10 μm、5 mM炭酸水素アンモニウム水溶液）により精製し、標記化合物（0.042 g）を得た。

ESI-MS: m/z 382.18 [M+1]⁺.

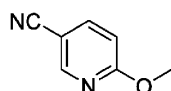
¹H-NMR（400 MHz, DMSO-d₆）δ 9.03 (t, J=5.6 Hz, 1H), 8.56 (dd, J=4.8, 1.2 Hz, 1H), 8.56 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.96 (d, J=7.6 Hz, 1H), 7.86 (d, J=6.8, 2.0 Hz, 1H), 7.80-7.74 (m, 2H), 7.44-7.37 (m, 3H), 5.45 (t,

$J=5.2$ Hz, 1H), 4.50–4.47 (m, 6H), 3.34 (s, 3H).

[0066] [製造例 2 – 1]

6-メトキシニコチノニトリル

[化19]



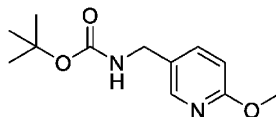
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-メトキシピリジン (5.0 g、26.7 mmol)、亜鉛 (粉末、1.82 g、28.0 mmol)、シアン化亜鉛 (4.70 g、41.0 mmol)、及び DMF (10 mL) の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム (0) (1.22 g、1.3 mmol) 及び 1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン (740 mg、1.3 mmol) を加え、反応混合物を 110°C で 2 時間攪拌した。反応混合物を室温とし、氷冷水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (2.40 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400Hz, DMSO- d_6) δ 8.49 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.76 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1H), 6.81 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H).

[0067] [製造例 2 – 2]

tert-ブチル ((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)カルバマート

[化20]



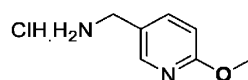
6-メトキシニコチノニトリル (2.40 g、17.9 mmol) とメタノール (30 mL) の混合物に、0°C で塩化ニッケル (II) (5.79 g、44.7 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム (1.70 g、44.7 mmol) を加え、同温で 15 分間攪拌した後、二炭酸ジ-tert-ブチル

(11.7 g、53.7 mmol)を加え、0℃で2時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。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、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（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（1.40 g）を得た。
ESI-MS: m/z 239.36 [M+1]⁺.

[0068] [製造例2-3]

(6-メトキシピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロクロリド

[化21]



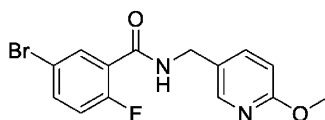
tert-ブチル ((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)カルバマート (1.20 g、5.04 mmol) とジクロロメタン (15.0 mL) の混合物に、0℃で4 M塩酸-1,4-ジオキサン溶液 (10.0 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、標記化合物 (0.85 g) を得た。

¹H-NMR (400Hz, DMSO-d₆) δ 8.47 (bs, 2H), 8.26 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.87 (dd, J=8.4, 2.0 Hz, 1H), 6.88 (d, J=8.4 Hz, 1H), 3.96 (q, J = 5.6 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H).

[0069] [製造例2-4]

5-ブロモ-2-フルオロ-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド

[化22]



5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (1.18 g、5.43 mmol)、(6-メトキシピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロクロリド (0.75 g、5.43 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (2.79

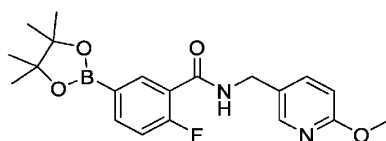
g、21.7 mmol)、及びジクロロメタン(20 mL)の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液(10.36 g、16.2 mmol)を加え、反応混合物を室温で6時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈し、1 mol/L塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.60 g)を得た。

ESI-MS: m/z 339.25 [M+1]⁺.

[0070] [製造例2-5]

2-フルオロ-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-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23]



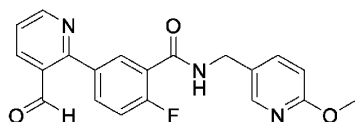
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-フルオロ-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド(0.60 g、1.77 mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン(0.67 g、2.66 mmol)、酢酸カリウム(0.34 g、3.54 mmol)、及び1,4-ジオキサン(10 mL)の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物(0.071 g、0.088 mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.55 g)を得た。

ESI-MS: m/z 387.32 [M+1]⁺.

[0071] [製造例2-6]

2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド

[化24]



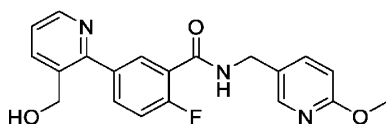
アルゴン雰囲気下、2-フルオロ-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド(0.55g、1.42mmol)、2-ブロモニコチナルデヒド(0.26g、1.42mmol)、炭酸カリウム(0.39g、2.84mmol)、1,4-ジオキサン(4.5mL)、及び水(0.5mL)の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物(0.057g、0.071mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、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(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.28g)を得た。

ESI-MS: m/z 366.37 [M+1]⁺.

[0072] [実施例2]

2-フルオロ-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド

[化25]



2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)-N-((6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド(0.20g、0.54mmol)とメタノール(3.0mL)の混合物に、水素化ホウ素ナトリ

ウム (0.052 g、1.36 mmol) を 0℃ で加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。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、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 (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (0.109 g) を得た。

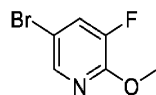
ESI-MS: m/z 368.16 $[M+1]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (400Hz, DMSO- d_6) δ 8.95 (t, $J=5.2$ Hz, 1H), 8.56 (dd, $J=4.8$, 1.6 Hz, 1H), 8.13 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.96 (dd, $J=8.0$, 1.2 Hz, 1H), 7.84–7.82 (m, 1H), 7.79–7.75 (m, 1H), 7.68 (dd, $J=8.4$, 2.4 Hz, 1H), 7.44–7.36 (m, 2H), 6.80 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 5.45 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 4.47 (d, $J=5.2$ Hz, 2H), 4.40 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H).

[0073] [製造例 3 – 1]

5-ブロモ-3-フルオロ-2-メトキシピリジン

[化26]



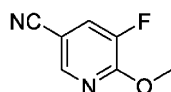
5-ブロモ-2,3-ジフルオロピリジン (5.00 g、25.9 mmol) とメタノール (50 mL) の混合物に、ナトリウムメトキシド (6.99 g、129.5 mmol) を 0℃ で加え、室温で 4 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (4.00 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400Hz, CDCl_3) δ 7.99 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.47 (dd, $J=9.2$, 2.0 Hz, 1H), 4.00 (s, 3H).

[0074] [製造例 3 – 2]

5-フルオロ-6-メトキシニコチノニトリル

[化27]



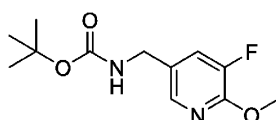
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-3-フルオロ-2-メトキシピリジン（3.0 g、14.6 mmol）、亜鉛（粉末、0.99 g、15.3 mmol）、シアン化亜鉛（2.56 g、21.9 mmol）、及びDMF（30 mL）の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0)（0.668 g、0.73 mmol）及び1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン（0.40 g、0.73 mmol）を加え、反応混合物を110℃で2時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル）により精製し、標記化合物（1.40 g）を得た。

¹H-NMR (400Hz, CDCl₃) δ 8.27 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, J=9.2, 1.6 Hz, 1H), 4.09 (s, 3H).

[0075] [製造例3-3]

tert-ブチル（（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メチル）カルバマート

[化28]



5-フルオロ-6-メトキシニコチノニトリル（1.40 g、9.21 mmol）とメタノール（20 mL）の混合物に、0℃で塩化ニッケル（II）（2.97 g、23.0 mmol）、水素化ホウ素ナトリウム（0.87 g、23.0 mmol）を加え、同温で15分間攪拌した後、二炭酸ジtert-ブチル（6.05 g、27.6 mmol）を加え、0℃で2時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナ

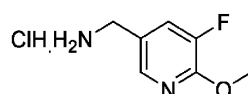
トリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（1.40 g）を得た。

ESI-MS: m/z 257.33 $[M+1]^+$.

[0076] [製造例 3-4]

（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メタンアミン ヒドロクロリド

[化29]



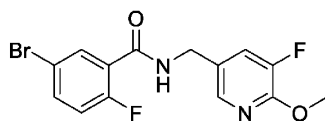
tert-ブチル（（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メチル）カルバマート（0.85 g、3.32 mmol）とジクロロメタン（10.0 mL）の混合物に、0℃で4 M塩酸-1,4-ジオキサン溶液（5.0 mL）を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、標記化合物（0.65 g）を得た。

ESI-MS: m/z 157.13 $[M+1]^+$.

[0077] [製造例 3-5]

5-ブロモ-2-フルオロ-N-（（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メチル）ベンズアミド

[化30]



5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸（0.91 g、4.18 mmol）、（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メタンアミン ヒドロクロリド（0.80 g、4.18 mmol）、N,N-ジイソプルエチルアミン（2.15 g、16.7 mmol）、及びジクロロメタン（15 mL）の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液（7.97 g、12.5 mmol）を加え、反応混合物を室温で6時間攪拌した。反応混

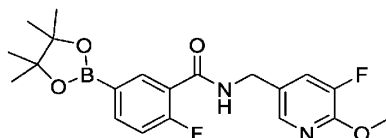
化合物をジクロロメタンで希釈し、1 mol/L 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.50 g）を得た。

ESI-MS: m/z 359.25 [M+3]⁺.

[0078] [製造例 3-6]

2-フルオロ-N-（（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メチル）-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31]



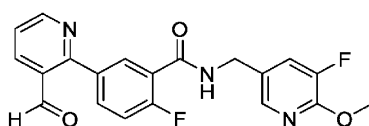
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-フルオロ-N-（（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メチル）ベンズアミド（0.50 g、1.40 mmol）、ビス（ピナコラート）ジボロン（0.53 g、2.10 mmol）、酢酸カリウム（0.27 g、2.80 mmol）、及び1,4-ジオキサン（10 mL）の混合物に、ジクロロ（1,1'-ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン）パラジウムジクロロメタン付加物（0.057 g、0.070 mmol）を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.45 g）を得た。

ESI-MS: m/z 405.29 [M+1]⁺.

[0079] [製造例 3-7]

2-フルオロ-N-（（5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル）メチル）-5-（3-ホルミルピリジン-2-イル）ベンズアミド

[化32]



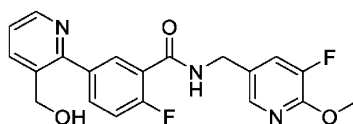
アルゴン雰囲気下、2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド(0.45g、1.11mmol)、2-ブロモニコチナルデヒド(0.20g、1.11mmol)、炭酸カリウム(0.30g、2.22mmol)、1,4-ジオキサン(4.5mL)、及び水(0.5mL)の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物(0.045g、0.050mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。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、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(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.32g)を得た。

ESI-MS: m/z 382.46 [M-1]⁻.

[0080] [実施例3]

2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化33]



2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)ベンズアミド(0.32g、0.83mmol)とメタノール(4.0mL)の混合物に、水素化ホウ素ナトリウム(0.079g、2.08mmol)を0℃に加え、室

温で2時間攪拌した。反応混合物に水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。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、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（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.109 g）を得た。

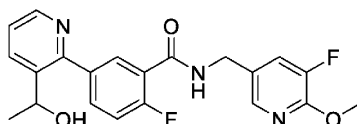
ESI-MS: m/z 386.15 $[M+1]^+$.

^1H NMR (400Hz, DMSO- d_6) δ 8.97 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.56 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 7.97–7.95 (m, 2H), 7.86 (dd, $J = 6.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.79–7.76 (m, 1H), 7.63 (dd, $J = 11.6, 1.6$ Hz, 1H), 7.44–7.37 (m, 2H), 5.44 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.47 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 5.40 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H).

[0081] [製造例4－1]

2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-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34]

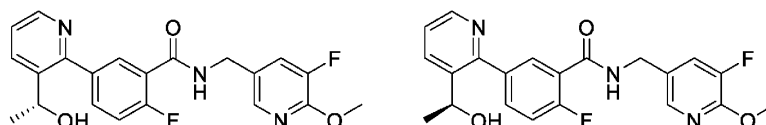


2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-メトキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)ベンズアミド (0.50 g, 1.3 mmol) とテトラヒドロフラン (6 mL) の混合物に、0℃でメチルマグネシウムブロミド (3 M ジエチルエーテル溶液、1.3 mL、3.9 mmol) を加え、室温で15時間攪拌した。反応混合物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水および飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物 (230 mg) を得た。

[0082] [実施例4及び5]

(R) - 2 - フルオロ - N - ((5 - フルオロ - 6 - メトキシピリジン - 3 - イル) メチル) - 5 - (3 - (1 - ヒドロキシエチル) ピリジン - 2 - イル) ベンズアミド、および (S) - 2 - フルオロ - N - ((5 - フルオロ - 6 - メトキシピリジン - 3 - イル) メチル) - 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35]



ラセミ体の 2 - フルオロ - N - ((5 - フルオロ - 6 - メトキシピリジン - 3 - イル) メチル) - 5 - (3 - (1 - ヒドロキシエチル) ピリジン - 2 - イル) ベンズアミド (230 mg) を超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) (Lux Cellulose - 2 (250 × 21 mm) 5 μm、0.2 % 水酸化アンモニウム - メタノール溶液 / 二酸化炭素) を用いて鏡像異性体を分離した。早く溶出された鏡像異性体 (52 mg、実施例4) と遅く溶出された鏡像異性体 (62 mg、実施例5) を得た。

[早く溶出された鏡像異性体]

ESI-MS: m/z 400.18 [M+1]⁺.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 (bs, 1H), 8.53 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.03 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.72 (dd, J = 7.2, 2.4 Hz, 1H), 7.67-7.62 (m, 2H), 7.46-7.38 (m, 2H), 5.30 (bs, 1H), 4.78 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.27 (d, J = 6.4 Hz, 3H).

[遅く溶出された鏡像異性体]

ESI-MS: m/z 400.18 [M+1]⁺.

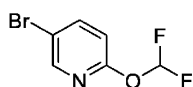
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.98 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.53 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 8.03 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 1.6 Hz,

, 1H), 7.73 (dd, $J = 7.2, 2.4$ Hz, 1H), 7.67–7.62 (m, 2H), 7.46–7.38 (m, 2H), 5.29 (bs, 1H), 4.79 (q, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 1.27 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H).

[0083] [製造例 6 – 1]

5-ブロモ-2-(ジフルオロメトキシ)ピリジン

[化36]



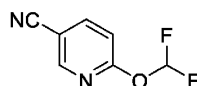
5-ブロモピリジン-2-オール (5.0 g、28.7 mmol) と N,N-ジメチルホルムアミド (10 mL) の混合物に、60%水素化ナトリウム (1.72 g、43.1 mmol) を 0℃ でゆっくり加え、室温で 30 分間攪拌した。反応混合物に 2,2-ジフルオロ-2-(フルオロスルホニル)酢酸 (7.67 g、43.1 mmol) をゆっくり加え、室温で 4 時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、酢酸エチルで洗浄した。水層に 2 N 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (2.4 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.42 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 7.6 (t, $J = 72.4$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H).

[0084] [製造例 6 – 2]

6-(ジフルオロメトキシ)ニコチノニトリル

[化37]



アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-(ジフルオロメトキシ)ピリジン (2.4 g、10.7 mmol)、亜鉛 (粉末、0.70 g、10.7 mmol)、シアン化亜鉛 (1.88 g、16.1 mmol)、及び DMF (25

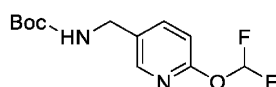
mL) の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム (0) (0.48 g、0.53 mmol) 及び 1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン (0.29 g、0.53 mmol) を加え、反応混合物を 100 °C で 2 時間攪拌した。反応混合物を室温とし、氷冷水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (1.0 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.52 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.5 (t, J = 71.6 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 8.4 Hz, 1H).

[0085] [製造例 6-3]

tert-ブチル ((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)カルバマート

[化38]



6-(ジフルオロメトキシ)ニコチノニトリル (1.0 g、5.88 mmol) とメタノール (10 mL) の混合物に、0 °C で塩化ニッケル (II) (1.90 g、14.7 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム (0.44 g、11.8 mmol) を加え、同温で 15 分間攪拌した後、二炭酸ジ tert-ブチル (3.20 g、14.7 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。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、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 (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (0.76 g) を得た。

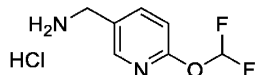
ESI-MS: m/z 275.18 [M+1]⁺.

[0086] [製造例 6-4]

(6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロ

クロリド

[化39]



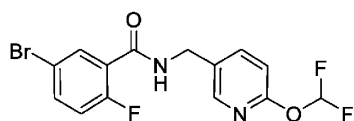
tert-ブチル ((6- (ジフルオロメトキシ) ピリジン-3-イル) メチル) カルバマート (0.75 g、2.73 mmol) とジクロロメタン (10 mL) の混合物に、0℃で4 M塩酸-1, 4-ジオキサン溶液 (5 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、標記化合物 (0.60 g) を得た。

ESI-MS: m/z 175.16 [M+1]⁺.

[0087] [製造例6-5]

5-ブロモ-N- ((6- (ジフルオロメトキシ) ピリジン-3-イル) メチル) -2-フルオロベンズアミド

[化40]



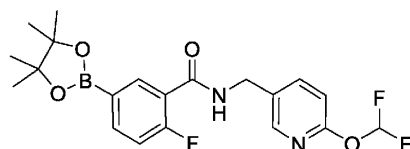
5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (0.62 g、2.84 mmol)、(6- (ジフルオロメトキシ) ピリジン-3-イル) メタンアミン ヒドロクロリド (0.60 g、2.84 mmol)、N, N-ジイソプルエチルアミン (1.47 g、11.4 mmol)、及びジクロロメタン (10 mL) の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液 (2.71 g、8.52 mmol) を加え、反応混合物を室温で6時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈し、1 mol/L塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (0.50 g) を得た。

ESI-MS: m/z 374.97 [M+1]⁺.

[0088] [製造例 6-6]

N-((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-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41]



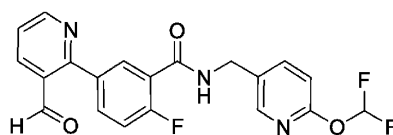
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-N-((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロベンズアミド(0.50g、1.33mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン(0.50g、2.00mmol)、酢酸カリウム(0.26g、2.66mmol)、及び1,4-ジオキサン(5mL)の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物(0.055g、0.066mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.45g)を得た。

ESI-MS: m/z 423.10 [M+1]⁺.

[0089] [製造例 6-7]

N-((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化42]



アルゴン雰囲気下、N-((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-5-(4,4,5,5-テトラメチル-1

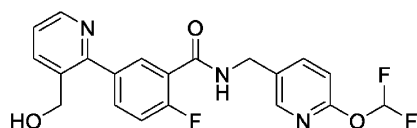
、3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド(0.45g、1.06mmol)、2-ブロモニコチンアルデヒド(0.20g、1.06mmol)、炭酸カリウム(0.29g、2.12mmol)、1,4-ジオキサン(4.5mL)、及び水(0.5mL)の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物(0.04g、0.05mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.22g)を得た。

ESI-MS: m/z 402.3 $[M+1]^+$.

[0090] [実施例6]

N-((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化43]



N-((6-(ジフルオロメトキシ)ピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-5-(3-ホルミルピリジン-2-イル)ベンズアミド(0.3g、0.75mmol)とメタノール(5mL)の混合物に、水素化ホウ素ナトリウム(0.04g、1.1mmol)0℃で加え、室温で3時間攪拌した。反応混合物に水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。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、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(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.065g)を得た。

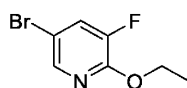
ESI-MS: m/z 404.15 $[M+1]^+$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.02 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.56 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.23 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.90–7.51 (m, 4 H), 7.44–7.37 (m, 2H), 7.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.44 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.48–4.73 (m, 4H).

[0091] [製造例 7 – 1]

5-ブロモ-2-エトキシ-3-フルオロピリジン

[化44]



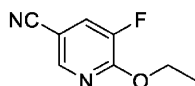
5-ブロモ-2, 3-ジフルオロピリジン (7.2 g、37.2 mmol) とジメチルスルホキシド (120 mL) の混合物に、炭酸セシウム (36.3 g、111 mmol)、エタノール (8 mL、137 mmol) を加え、80℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いてエーテルで洗浄しながら濾過した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (3.5 g) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8.12 (s, 1H), 8.07 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 4.37 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).

[0092] [製造例 7 – 2]

6-エトキシ-5-フルオロニコチノニトリル

[化45]



アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-エトキシ-3-フルオロピリジン (3.0 g、13.6 mmol)、亜鉛 (粉末、0.93 g、14.3 mmol)、シアン化亜鉛 (1.60 g、13.6 mmol)、及びDMF (25

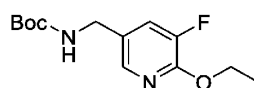
mL) の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0) (0.62 g、0.68 mmol) 及び1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン(0.38 g、0.68 mmol) を加え、反応混合物を100℃で2時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(1.20 g)を得た。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.52 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.27 (dd, J = 12.4 Hz, 2.0 Hz, 1H), 4.46 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 1.36 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0093] [製造例7-3]

tert-ブチル ((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)カルバマート

[化46]



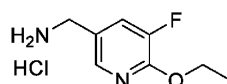
6-エトキシ-5-フルオロニコチノニトリル(1.20 g、7.22 mmol)とメタノール(20 mL)の混合物に、0℃で塩化ニッケル(II) (1.40 g、10.8 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム(0.68 g、18.1 mmol)を加え、同温で15分間攪拌した後、二炭酸ジtert-ブチル(6.30 g、28.9 mmol)を加え、0℃で2時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.80 g)を得た。

ESI-MS: m/z 271.13 [M+]⁺.

[0094] [製造例7-4]

(6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロクロリド

[化47]



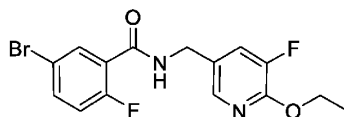
tert-ブチル ((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)カルバマート (0.85 g、3.14 mmol) とジクロロメタン (10.0 mL) の混合物に、0℃で4 M塩酸-1,4-ジオキサン溶液 (5.0 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、残渣をエーテルで洗浄し、標記化合物 (0.60 g) を得た。

ESI-MS: m/z 171.15 [M+1]⁺.

[0095] [製造例7-5]

5-ブロモ-N-((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロベンズアミド

[化48]



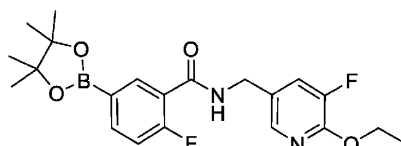
5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (0.58 g、2.67 mmol)、(6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メタンアミン ヒドロクロリド (0.55 g、2.67 mmol)、N,N-ジイソプルエチルアミン (1.38 g、10.7 mmol)、及びジクロロメタン (15 mL) の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液 (5.1 g、8.0 mmol) を加え、反応混合物を室温で5時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈し、1 mol/L塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (0.40 g) を得た。

ESI-MS: m/z 370.99 [M+1]⁺.

[0096] [製造例 7-6]

N-((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-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49]



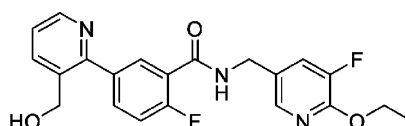
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-N-((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロベンズアミド(0.40g、1.08mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン(0.41g、1.62mmol)、酢酸カリウム(0.212g、2.16mmol)、及び1,4-ジオキサン(10mL)の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物(0.044g、0.050mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.30g)を得た。

ESI-MS: m/z 419.13 [M+1]⁺.

[0097] [実施例 7]

N-((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化50]



アルゴン雰囲気下、N-((6-エトキシ-5-フルオロピリジン-3-

イル)メチル)－2－フルオロ－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(0.25g、0.59mmol)、(2－ブロモピリジン－3－イル)メタノール(0.11g、0.59mmol)、炭酸カリウム(0.16g、1.18mmol)、1, 4－ジオキサン(4.5mL)、及び水(0.5mL)の混合物に、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付加物(0.024g、0.030mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。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、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(ヘキサン／酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.064g)を得た。

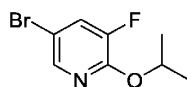
ESI-MS: m/z 400.4 $[M+1]^+$.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.96 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.56 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.97-7.95 (m, 2H), 7.86 (dd, J = 7.2, 2.4 Hz, 1H), 7.79-7.76 (m, 1H), 7.62 (dd, J = 11.6, 2.0 Hz, 1H), 7.45-7.37 (m, 2H), 5.43 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.43 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 4.37 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.92 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

[0098] [製造例 8－1]

5－ブロモ－3－フルオロ－2－イソプロポキシピリジン

[化51]



5－ブロモ－2, 3－ジフルオロピリジン(5.0g、25.9mmol)とジメチルスルホキシド(75mL)の混合物に、炭酸セシウム(25.1g、77.7mmol)、2－プロパノール(5.9mL、77.7mmol)を加え、80℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いてエーテルで洗浄しながら濾過した。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、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムク

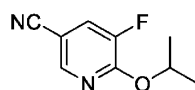
ロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（3.6 g）を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.11 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 10.0$ Hz, 2 Hz, 1H), 5.26 (m, 1H), 1.30 (d, $J = 6.0$ Hz, 6H).

[0099] 〔製造例 8-2〕

5-フルオロ-6-イソプロポキシニコチノニトリル

[化52]



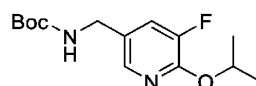
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-3-フルオロ-2-イソプロポキシピリジン（3.6 g、15.4 mmol）、亜鉛（粉末、1.11 g、16.9 mmol）、シアン化亜鉛（2.72 g、23.1 mmol）、及びDMF（45 mL）の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム（0）（0.70 g、0.77 mmol）及び1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン（0.42 g、0.77 mmol）を加え、反応混合物を100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（1.90 g）を得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.50 (dd, $J = 7.8$ Hz, 2.0 Hz, 1H), 8.26 (dd, $J = 10.8$ Hz, 1.6 Hz, 1H), 5.38 (m, 1H), 1.34 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H).

[0100] 〔製造例 8-3〕

tert-ブチル（（5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル）メチル）カルバマート

[化53]



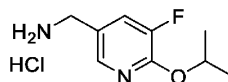
5-フルオロ-6-イソプロポキシニコチノニトリル (1.90 g、10.6 mmol) とメタノール (30 mL) の混合物に、0℃で塩化ニッケル (II) (1.36 g、15.8 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム (0.99 g、26.3 mmol) を加え、同温で15分間攪拌した後、二炭酸ジ-tert-ブチル (2.30 g、42.2 mmol) を加え、0℃で2時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (0.95 g) を得た。

ESI-MS: m/z 285.14 [M+1]⁺.

[0101] [製造例8-4]

(5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル) メタンアミン
ヒドロクロリド

[化54]



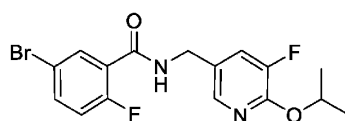
tert-ブチル ((5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル) メチル) カルバマート (1.10 g、3.87 mmol) とジクロロメタン (10 mL) の混合物に、0℃で4 M塩酸-1,4-ジオキサン溶液 (8 mL) を加え、室温で6時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、残渣をエーテルで洗浄し、標記化合物 (0.80 g) を得た。

ESI-MS: m/z 185.16 [M+1]⁺.

[0102] [製造例8-5]

5-ブロモ-2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル) メチル) ベンズアミド

[化55]



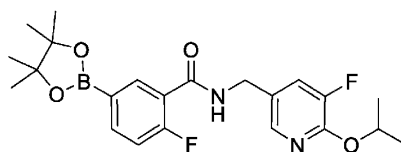
5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (0.69 g、3.18 mmol)、
 (5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル) メタンアミン
 ヒドロクロリド (0.70 g、3.18 mmol)、N,N-ジイソプロ
 チルアミン (1.64 g、12.7 mmol)、及びジクロロメタン (10
 mL) の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液 (3
 .63 g、9.54 mmol) を加え、反応混合物を室温で16時間攪拌し
 た。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和炭酸水素
 ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ
 、減圧下溶媒留去した。残渣をペンタンで粉碎洗浄し、標記化合物 (0.4
 0 g) を得た。

ESI-MS: m/z 385.02 $[M+1]^+$.

[0103] [製造例 8-6]

2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-
 イル)メチル)-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56]



アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-フルオロ-N-((5-フルオロ-
 6-イソプロポキシピリジン-3-イル)メチル)ベンズアミド (0.45
 g、1.17 mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン (0.44 g、1
 .75 mmol)、酢酸カリウム (0.230 g、2.34 mmol)、及
 び1,4-ジオキサン (8 mL) の混合物に、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付加物 (0

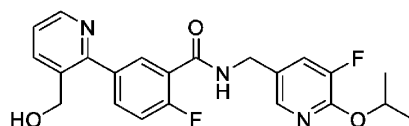
． 0.48 g、0.05 mmol) を加え、100℃で16時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.30 g）を得た。

ESI-MS: m/z 433.20 $[M+1]^+$.

[0104] [実施例 8]

2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化57]



アルゴン雰囲気下、2-フルオロ-N-((5-フルオロ-6-イソプロポキシピリジン-3-イル)メチル)-5-(4,4,5,5-テトラメチルー1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)ベンズアミド（0.25 g、0.58 mmol）、(2-ブロモピリジン-3-イル)メタノール（0.11 g、0.58 mmol）、炭酸カリウム（0.16 g、1.16 mmol）、1,4-ジオキサン（3.6 mL）、及び水（0.4 mL）の混合物に、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付加物（0.024 g、0.03 mmol）を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。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、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（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.04 g）を得た。

ESI-MS: m/z 414.4 $[M+1]^+$.

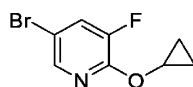
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.95 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.56 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H), 7.97–7.94 (m, 2H), 7.85 (dd, J = 6.8, 2.4 Hz, 1H), 7.79–7.75 (m, 1H), 7.60 (dd, J = 11.2, 1.6 Hz, 1H), 7.44–7.37 (m, 2H)

, 5.43 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.32-5.26 (m, 1H), 4.48 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.42 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 1.31 (d, $J = 6.4$ Hz, 6H).

[0105] [製造例 9-1]

5-ブロモ-2-シクロプロポキシ-3-フルオロピリジン

[化58]



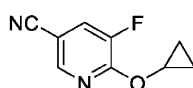
5-ブロモ-2, 3-ジフルオロピリジン (6.0 g、30.9 mmol) とジメチルスルホキシド (70 mL) の混合物に、炭酸セシウム (30.2 g、92.8 mmol)、シクロプロパノール (5.38 g、92.8 mmol) を加え、80℃で2時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いてエーテルで洗浄しながら濾過した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (3.2 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.18 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.08 (dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz, 1H), 4.32-4.28 (m, 1H), 0.84-0.72 (m, 4H).

[0106] [製造例 9-2]

6-シクロプロポキシ-5-フルオロニコチノニトリル

[化59]



アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-2-シクロプロポキシ-3-フルオロピリジン (3.2 g、13.8 mmol)、亜鉛 (粉末、0.95 g、14.5 mmol)、シアン化亜鉛 (1.62 g、13.8 mmol)、及びDMF (30 mL) の混合物に、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0) (0.64 g、0.70 mmol) 及び1, 1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン (0.46 g、0.70 mmol) を加え、反応混合物

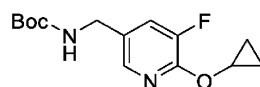
を 100℃で2時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（1.70g）を得た。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.58 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.30 (dd, J = 10.4, 2.0 Hz, 1H), 4.32-4.28 (m, 1H), 0.84-0.72 (m, 4H).

[0107] [製造例9-3]

tert-ブチル ((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)カルバマート

[化60]



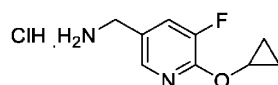
6-シクロプロポキシ-5-フルオロニコチンニトリル（1.50g、8.42mmol）とメタノール（20mL）の混合物に、0℃で塩化ニッケル（II）（1.63g、12.6mmol）、水素化ホウ素ナトリウム（0.80g、21.0mmol）を加え、同温で15分間攪拌した後、二炭酸ジ-tert-ブチル（7.35g、33.7mmol）を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物に氷冷水を加え、反応混合物中のメタノールを減圧下留去し、残渣を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）により精製し、標記化合物（0.90g）を得た。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.81 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 11.2, 2.0 Hz, 1H), 5.32-4.23 (m, 1H), 4.06 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 1.34 (s, 9H), 1.29-1.15 (m, 4H).

[0108] [製造例9-4]

((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メタンアミン)ヒドロクロリド

[化61]



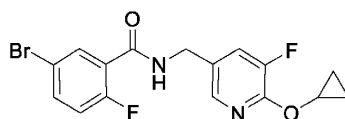
tert-ブチル ((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)カルバマート (0.90 g、3.18 mmol) とジクロロメタン (10.0 mL) の混合物に、0℃で4 M塩酸-1,4-ジオキサン溶液 (5.0 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を減圧下溶媒留去し、残渣をエーテルで洗浄し、標記化合物 (0.70 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.55 (bs, 1H), 8.17 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.90 (dd, J = 11.6, 2.0 Hz, 1H), 5.91 (bs, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.01 (dd, J = 11.2, 5.6 Hz, 1H), 0.81-0.76 (m, 4H).

[0109] [製造例9-5]

5-ブロモ-N-((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロベンズアミド

[化62]



5-ブロモ-2-フルオロ安息香酸 (0.65 g、2.97 mmol)、(6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メタンアミンヒドロクロリド (0.65 g、2.97 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (1.15 g、8.94 mmol)、及びジクロロメタン (10 mL) の混合物に、50%プロピルホスホン酸無水物・酢酸エチル溶液 (3.77 g、11.9 mmol) を加え、反応混合物を室温で6時間攪拌した。反応混合物をジクロロメタンで希釈し、1 mol/L塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、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 (ヘキサン/酢酸エチル) により精製し、標記化合物 (0.37 g

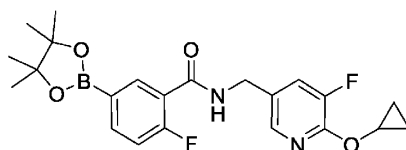
)を得た。

ESI-MS: m/z 383.13 $[M+1]^+$.

[0110] [製造例 9-6]

N-((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-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63]



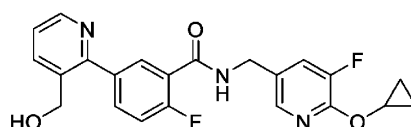
アルゴン雰囲気下、5-ブロモ-N-((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロベンズアミド (0.37 g、0.97 mmol)、ビス(ピナコラート)ジボロン (0.37 g、1.45 mmol)、酢酸カリウム (0.19 g、1.94 mmol)、及び1,4-ジオキサン (5 mL) の混合物に、ジクロロ(1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン)パラジウムジクロロメタン付加物 (0.04 g、0.05 mmol) を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、セライトを用いて濾過し、濾液を減圧下溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物 (0.27 g) を得た。

ESI-MS: m/z 431.34 $[M+1]^+$.

[0111] [実施例 9]

N-((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-5-(3-(ヒドロキシメチル)ピリジン-2-イル)ベンズアミド

[化64]



アルゴン雰囲気下、N-((6-シクロプロポキシ-5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-2-フルオロ-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(0.22 g、0.51 mmol)、(2-ブロモピリジン-3-イル)メタノール(0.095 g、0.51 mmol)、炭酸カリウム(0.14 g、1.02 mmol)、1,4-ジオキサン(4.5 mL)、及び水(0.5 mL)の混合物に、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付加物(0.021 g、0.025 mmol)を加え、100℃で6時間攪拌した。反応混合物を室温とし、水を加え、酢酸エチルで抽出した。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、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(ヘキサン/酢酸エチル)により精製し、標記化合物(0.083 g)を得た。

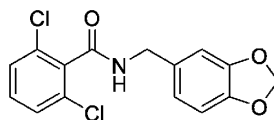
ESI-MS: m/z 412.3 [M+1]⁺.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.97 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 8.55 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 8.05 (br s, 1H), 9.96 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 6.8, 2.0 Hz, 1H), 7.79-7.78 (m, 1H), 7.62 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 7.44-7.37 (m, 2H), 5.44 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 4.48 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.44 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.34-4.30 (m, 1H), 0.80-0.65 (m, 4H).

[0112] 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。

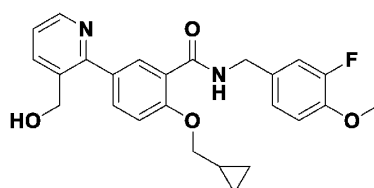
[化65]



[0113] 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。

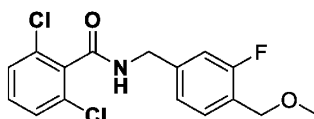
[化66]



[0114] [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。

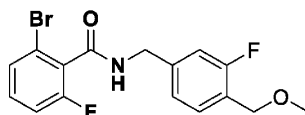
[化67]



[0115] [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。

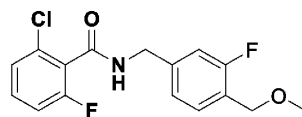
[化68]



[0116] [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。

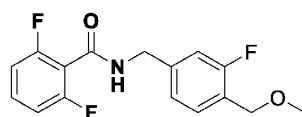
[化69]



[0117] [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70]



[0118] [試験例 1 - 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。

[0119] (1) ヒトリコンビナント ALDH2 酵素 (Abcam 製品番 ab87415) を ALDH assay Buffer にて溶解、希釈した溶液 10 μ L (終濃度 2 μ g/mL)。

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

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

[0120] 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 分毎に測定し酸化速度を算出した。蛍光強度は、excitation が 535 nm、emission が 587 nm の波長を用いた。

[0121] 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 ~ 3 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	123	130
実施例 2	150	180
実施例 3	188	226
比較例 1	199	225

[0122] [試験例 1 – 2 : ALDH 2 活性化作用]

ALDH 2 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 (Abcam 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。

[0123] (1) ヒトリコンピナント ALDH 2 酵素 (Abcam 製品番 ab87415) を ALDH assay Buffer にて溶解、希釈した溶液 10 μ L (終濃度 1 μ g/mL)。

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

(3) ALDH assay Buffer 7.3 μ L、PicoProbe 0.6 μ L、Substrate Mix 0.6 μ L、及び Acetaldehyde 1.5 μ L の比率で構成される Reaction mix 10 μ L。

[0124] 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 EnVision (PerkinElmer Inc. 製) を用いて、室温で 60 分間、蛍光強度を 2.5 分毎に測定し酸化速度を算出した。蛍光強度は、excitation が 535 nm、emission が 587 nm の波長を用いた。

[0125] 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2に示す。表2の結果から、実施例4～9の化合物がALDH2活性化作用を有することが確認された。

[表2]

表2

	試験化合物濃度	
	10 μ M	30 μ M
実施例4	133	155
実施例5	122	170
実施例6	125	139
実施例7	331	415
実施例8	154	224
実施例9	182	283
比較例1	220	275

[0126] [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

[0127] 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℃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。

[0128] 3. 結果

30分後の未変化体の残存率(%)を表3に示す。実施例1～9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3]

表3

	残存率 (%)
実施例 1	91
実施例 2	89
実施例 3	93
実施例 4	93
実施例 5	95
実施例 6	>99
実施例 7	96
実施例 8	90
実施例 9	92
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

[0129] [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1～9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。

[0130] (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4に示す。

[表4]

表 4

	残存率 (%)
実施例 1	96
実施例 2	>99
実施例 3	93
実施例 4	>99
実施例 5	92
実施例 6	47
実施例 7	89
実施例 8	>99
実施例 9	93

[0131] [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。

[0132] 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

L、10 mMのグルタチオン水溶液を550 μ L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 μ L添加した。

(3) 180 μ L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分間プレインキュベートした。

(4) 10 mMのNADPH溶液20 μ LをT60チューブに、リン酸カリウム緩衝液20 μ L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 μ L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 μ L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。

[0133] 2. 結果

結果を表5に示す。これらの結果から、実施例1～9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5]

表5

	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 3	3
実施例 4	<1
実施例 5	<1
実施例 6	<1
実施例 7	<1
実施例 8	<1
実施例 9	<1

[0134] [試験例5：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C57BL/6Jマウス（ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン）、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180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（0.16グラム）のvon Frey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10回行い、10回のスコアの合計値（逃避スコア）を算出した。

[0135] 化合物（実施例3）をDMSO/PEG400（1：1の体積比）に溶解し、2、6または20mg/kgの化合物を（Vehicle群は化合物含まない）5mL/kgの投与液量でカラゲニンを注入する15分前、カラゲニンを注入してから30分および150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7μL/bodyで皮下投与した。

[0136] 有意差検定は、Vehicle群と実施例3群の比較をSteelの検定にて多重比較を行い、有意水準は5%とし、5%未満（ $p < 0.05$ ）と1%未満（ $P < 0.01$ ）に分けて算出した。有意差検定には、市販の統計プログラムSAS SYSTEM（SAS Institute Japan Ltd）を使用した。

[0137] 表6に示す通り、本発明にかかる化合物が、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。

[0138]

[表6]

表 6

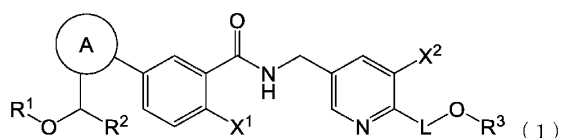
群	Vehicle	実施例 3 2 mg/kg	実施例 3 6 mg/kg	実施例 3 20 mg/kg
動物数	8	8	8	8
疼痛関連トータルスコア カラゲニン誘発後の時間（分）				
Pre	1.8±0.4	1.8±0.5	1.8±0.5	1.8±0.4
180	9.4±0.5	5.3±0.3**	4.6±0.3**	3.9±0.3**

各値は平均±S Eを示す。
P r e：誘発前
V e h i c l e 群との有意差（*：p<0. 0 5、**：p<0. 0 1）

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、

Lは、存在しないか、又はアルキレンであり、

X¹は、ハロゲンであり、

X²は、水素、又はハロゲンである]

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。

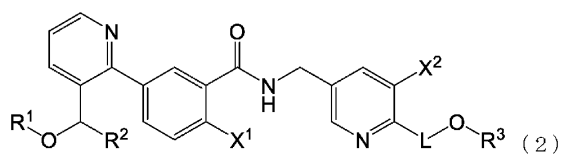
[請求項2] Aが、環員原子として少なくとも1つの窒素原子を含む、請求項1に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[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）：

[化2]



[式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 L 、 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、水素である、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7] R^2 が、水素、又はアルキルである、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。

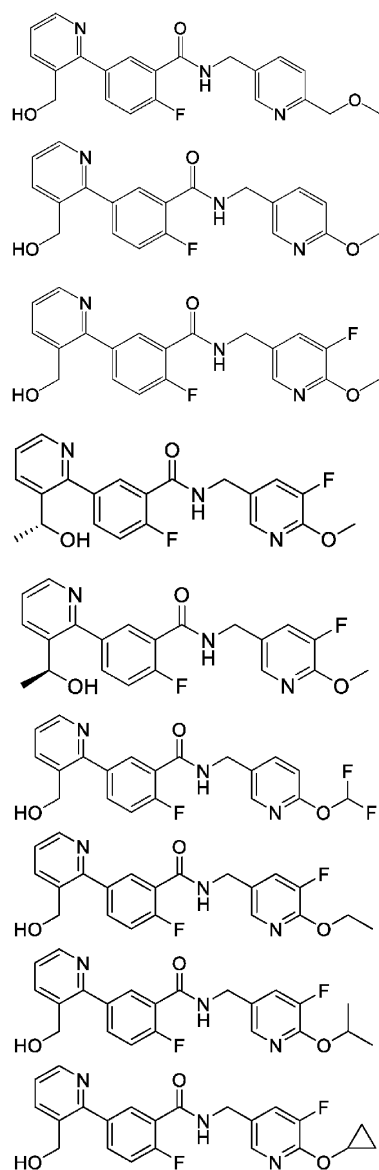
[請求項8] R^3 が、アルキルである、請求項1に記載の化合物、その医薬上許容可能な塩又はそれらのプロドラッグ。

[請求項9] X^1 が、フッ素である、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10] X^2 が、水素、又はフッ素である、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11] 式(1)で表される化合物が、下記化合物：

[化3]



からなる群から選択される、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12] R^1 が、 $-CH_2-O-PO_3H_2$ である、請求項1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 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] 請求項 1 ～ 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を含む、アルデヒドデヒドロゲナーゼ 2 活性化剤。

[請求項15] 請求項 1 ～ 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を含む、医薬組成物。

[請求項16] 請求項 1 ～ 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（N A F L D）、非アルコール性脂肪肝炎（N A S H）、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、疼痛、及び糖尿病性網膜症からなる群から選択される疾患の治療及び／又は予防薬。