

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7677646号
(P7677646)

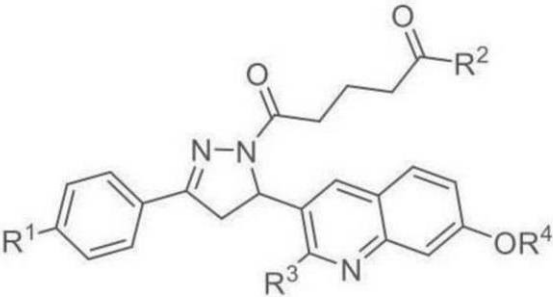
(45)発行日 令和7年5月15日(2025.5.15)

(24)登録日 令和7年5月7日(2025.5.7)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 D 401/04 (2006.01)		C 0 7 D 401/04	
C 0 7 D 405/14 (2006.01)		C 0 7 D 405/14	C S P
C 0 7 D 413/14 (2006.01)		C 0 7 D 413/14	
C 0 7 D 401/14 (2006.01)		C 0 7 D 401/14	
A 6 1 K 31/4709(2006.01)		A 6 1 K 31/4709	
請求項の数 27 (全76頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2022-535116(P2022-535116)	(73)特許権者	520477485
(86)(22)出願日	令和2年12月10日(2020.12.10)		ザ・トラスティーズ・オブ・インディア
(65)公表番号	特表2023-505690(P2023-505690 A)		ナ・ユニバーシティー
(43)公表日	令和5年2月10日(2023.2.10)		アメリカ合衆国インディアナ州4740
(86)国際出願番号	PCT/US2020/064191		5,ブルーミントン,サウス・インディ
(87)国際公開番号	WO2021/119242	(74)代理人	100118902
(87)国際公開日	令和3年6月17日(2021.6.17)		弁理士 山本 修
審査請求日	令和5年12月6日(2023.12.6)	(74)代理人	100106208
(31)優先権主張番号	62/946,100		弁理士 宮前 徹
(32)優先日	令和1年12月10日(2019.12.10)	(74)代理人	100196508
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 松尾 淳一
		(74)代理人	100163784
			弁理士 武田 健志
		(72)発明者	ターチ, ジョン・ジェイ
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 複製タンパク質A（RPA）－DNA相互作用阻害剤

(57)【特許請求の範囲】
【請求項1】
式：
【化1】



(式中、R¹は－OC(O)－モルホリニル、モルホリニル、フラニル、フェニル、ピリジニル、及びイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、及びイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブromo、ヨード、C₁～C₆ハロアルキル、C₁～C₆アルキル、又はモルホリニルで置換され；
R²は－OH、－NH－OH、－NH－SO₂－R⁵、－NH(CH₂)_n－モルホリニル

、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_n$ -ピペラジニル、又は $\text{NH}(\text{CH}_2)_n$ - (N-メチル-ピペラジニル) であり；

R^3 はクロロ、フルオロ、ブロモ、又はヨードであり；

R^4 は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり；

R^5 は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、又は $\text{C}_3 \sim \text{C}_6$ シクロアルキルであり；

n は1、2、3、又は4である）

の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩。

【請求項2】

R^1 がクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項3】

R^1 が、化合物への R^1 の付着点に対するパラ位に、クロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、請求項2に記載の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩。

【請求項4】

R^1 がフラニル又はイソキサゾリルである、請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項5】

R^2 が $-\text{OH}$ である、請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

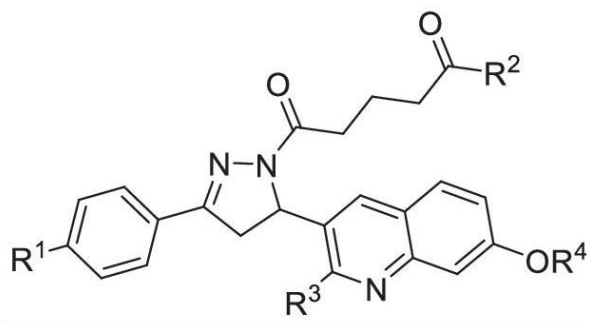
【請求項6】

R^2 が $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3$ -モルホリニルである、請求項1に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項7】

式：

【化2】



（式中、 R^1 はブロモ、クロロ、ヨード、又はトリフルオロメチルであり；

R^2 は $-\text{NH}-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}^5$ 、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_n$ -モルホリニル、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_n$ -ピペラジニル、又は $\text{NH}(\text{CH}_2)_n$ - (N-メチル-ピペラジニル) であり；

R^3 はクロロ、フルオロ、ブロモ、又はヨードであり；

R^4 は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり；

R^5 は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、又は $\text{C}_3 \sim \text{C}_6$ シクロアルキルであり；

n は1、2、3、又は4である）

の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩。

【請求項8】

R^1 がブロモ又はヨードである、請求項7に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 9】

R^1 がブromoである、請求項 7 に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 10】

R^1 がヨードである、請求項 7 に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 11】

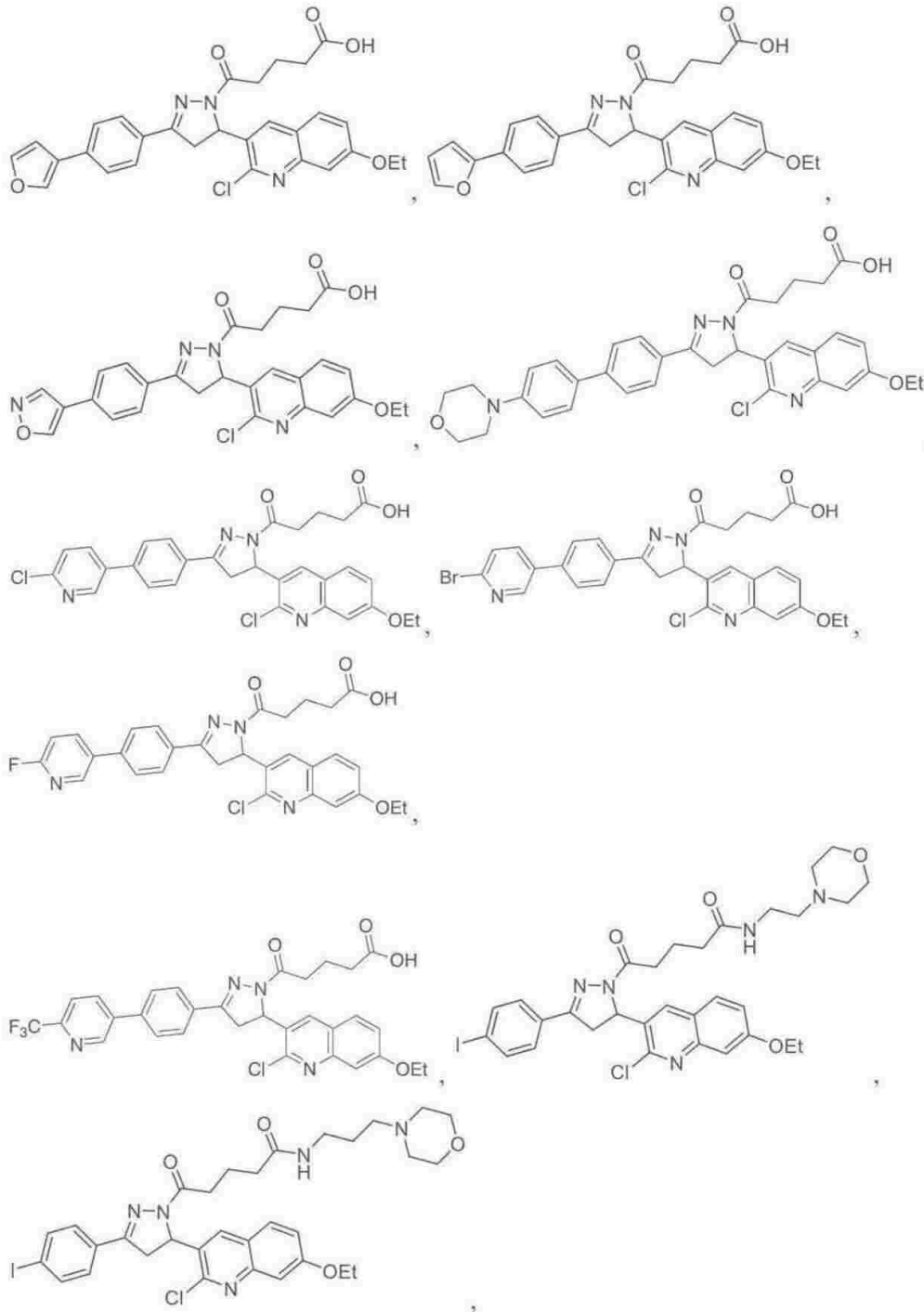
R^2 が $-NH(CH_2)_3$ モルホリニルである、請求項 7 に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 12】

式：

【化 3-1】

10



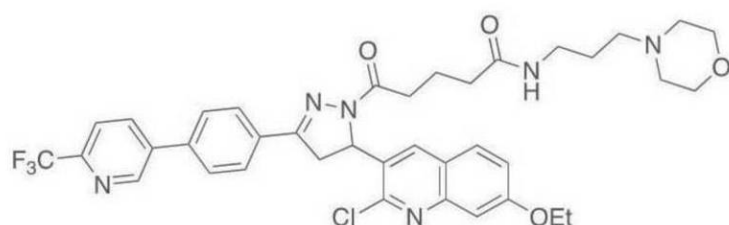
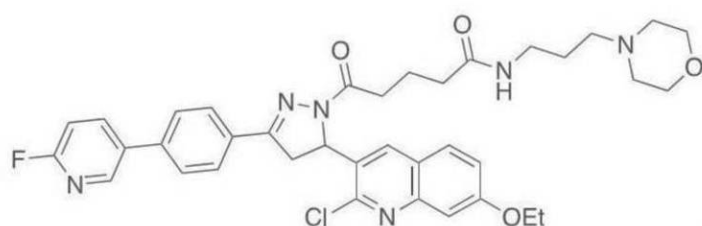
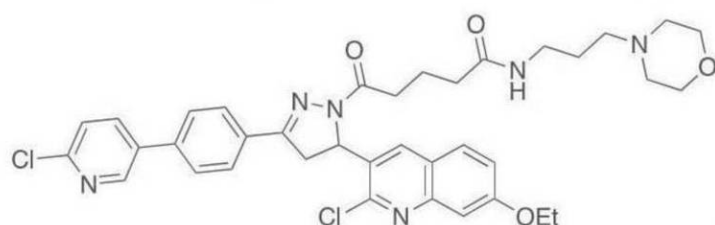
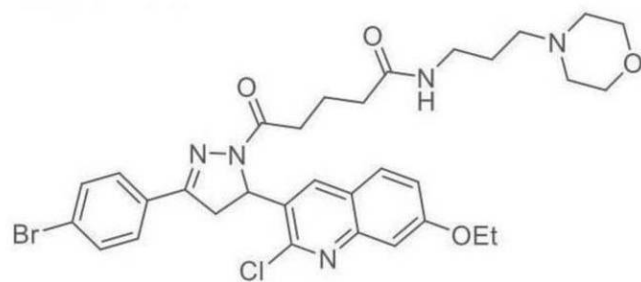
20

30

40

50

【化 3 - 2】



, もしくは

の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩。

【請求項 1 3】

請求項 1 ～ 1 2 のいずれか 1 項に記載の化合物の治療有効量と、薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤の少なくとも 1 つとを含む、医薬組成物。

【請求項 1 4】

請求項 1 ～ 1 2 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩を含む、患者の疾患を治療するための医薬組成物。

【請求項 1 5】

疾患を治療するための前記組成物が、少なくとも 1 つの追加の治療剤と組み合わせて投与される、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

少なくとも 1 つの追加の治療剤が、BMN 6 3 7、NU 7 4 4 1、VE 8 2 1、MK 1 7 7 5、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタピン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシン C、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、及びトポテカンからなる群から選択される、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

患者が、FEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168、及びRTEL1からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現が変調されていると前もって特定されている、請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

患者がFEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168、及びRTEL1からなる群から選択される2つ以上の遺伝子を有すると前もって特定されている、請求項14に記載の医薬組成物。

10

【請求項 19】

疾患が、がん、疼痛、神経疾患、自己免疫疾患、及び炎症からなる群から選択される、請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

疾患が、がんである、請求項19に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

がんが、卵巣がん細胞又は非小細胞肺がんである、請求項20に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

患者の疾患の治療に使用するための医薬の製造における、請求項1～12のいずれか1項に記載の化合物又はその薬学的に許容される塩の使用。

20

【請求項 23】

患者が、FEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168、及びRTEL1からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現が変調されていると前もって特定されている、請求項22に記載の使用。

【請求項 24】

患者がFEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168、及びRTEL1からなる群から選択される2つ以上の遺伝子を有すると前もって特定されている、請求項22に記載の使用。

30

【請求項 25】

疾患が、がん、疼痛、神経疾患、自己免疫疾患、及び炎症からなる群から選択される、請求項22に記載の使用。

【請求項 26】

疾患が、がんである、請求項25に記載の使用。

【請求項 27】

がんが、卵巣がん細胞又は非小細胞肺がんである、請求項26に記載の使用。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

[001]本出願は、2019年12月10日に出版された米国仮特許出願第62/946,100の利益を主張するものであり、その開示全体は参照により本明細書に組み込まれる。

政府の権利

[002]本発明は、米国国立衛生研究所により授与されたCA180710の下で政府支

50

援により行われたものである。政府は、本発明において一定の権利を有する。

【背景技術】

【0002】

[003] DNAに損傷を与える数多くのがん化学療法および放射線療法の臨床効果は、十分なDNA損傷を誘導し、がん細胞をアポトーシスに追い込むことである。DNA損傷は、通常、数多くの固有のDNA修復経路によって認識および修復されるが、治療効果を制限する役割を担うDNA損傷応答（DDR）経路によって調整される。これらの療法の治療域が制限されることを説明する一つのメカニズムは、多くのがんに伴う、固有のDNA修復の欠損である。これらのDNA修復欠損は、安全で効果的な治療法を開発するための合成致死戦略にも利用されてきた。PARP阻害剤の臨床での成功を受けて、現在、DNA修復およびDDR経路に關与する他の標的の阻害剤との組合せにおける安全性および有効性を評価するために、50を超える臨床試験で患者が登録されている。標的を適切に選択することで、単一の分子で、単剤での抗がん作用およびDNA損傷治療薬との相乗効果の両方で治療効果を高める可能性がある。したがって、DNA修復およびDDR欠損を標的として、正常細胞への影響を最小限に抑えながら、細胞毒性を優先的に高めることは、複数のがんにおいて、より選択的で忍容性の高い療法として、がん患者の生存を改善する可能性を秘めている。

【0003】

[004]複製タンパク質A（RPA）は、ヒトの主要なssDNA結合タンパク質であり、DNA複製およびDNA損傷チェックポイントの活性化における必須な役割に加え、ヌクレオチド除去修復（NER）および相同組換え（HR）DNA修復経路の両方において、肝要な役割を担う。DDRの過程では、DNA修復制御因子およびDNA損傷チェックポイント制御因子が本質的に相互に結びついている。より最近、RPAは複製カタストロフィー（RC）の重要な制御因子として關与しており、RPAの消耗、すなわち「RPAの枯渇」は複製フォークでのDNA鎖切断、RC、および細胞死をもたらす。RPAヘテロ三量体は70kDa（RPA70）、32kDa（RPA32）、および14kDa（RPA14）のサブユニットからなり、70-kDaサブユニットには一本鎖DNAおよび二重鎖DNAへの結合を指示する2つの主要な高親和性DNA結合ドメインAおよびBが含まれる。また、RPA70サブユニットはドメインCおよびFを含み、一方でドメインDおよびEはそれぞれ32-kDaおよび14-kDaサブユニットに位置する。RPAタンパク質は、DNAとの一連の必須相互作用に關与し、NERにより誘発されるかさ高い付加体によるDNA損傷の修復を支える。白金系化学療法薬は、DNA複製、転写、細胞分裂を阻害し、最終的に細胞死を誘発するかさ高いDNA付加体の形成を介して治療効果を発揮する。NERおよびHRによるこれらのPt-DNA病変の修復および耐性は、最終的に白金ベースの療法の有効性を妨げる白金耐性に直接的に關連する。また、RPAは肺がん、卵巣がん、乳がん、結腸がん、および食道がんなど多くのがんで過剰発現しており、臨床データの遡及的分析により、RPAは肺および卵巣がんの療法に対する応答を予測し、RPA発現量が高いと予後が悪いことを示すと実証される。これらの、RPAおよびそのssDNAへの結合の重要な役割のそれぞれにより、RPA-DNA相互作用がさらなる抗がん単剤療法を開発する標的として有望視される。さらに、白金薬剤または他のDDR阻害剤との組合せにより、RPA阻害剤は治療効果を高めるものと見込まれる。

【発明の概要】

【0004】

[005]一態様では、本開示は式

【0005】

10

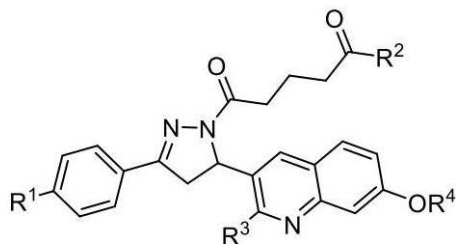
20

30

40

50

【化 1】



【0006】

10

[006] (式中、

[007] R^1 はブロモ、クロロ、ヨード、トリフルオロメチル、 $-OC(O)-$ モルホリニル、モルホリニル、フラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、またはモルホリニルで置換され；

[008] R^2 は $-OH$ 、 $-NH-OH$ 、 $-NH-SO_2-R^5$ 、 $-NH(CH_2)_n$ -モルホリニル、 $-NH(CH_2)_n$ -ピペラジニル、または $-NH(CH_2)_n$ -(N -メチルピペラジニル)であり；

[009] R^3 はクロロ、フルオロ、ブロモ、またはヨードであり；

20

[010] R^4 は $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

[011] R^5 は $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_3 \sim C_6$ シクロアルキルであり；

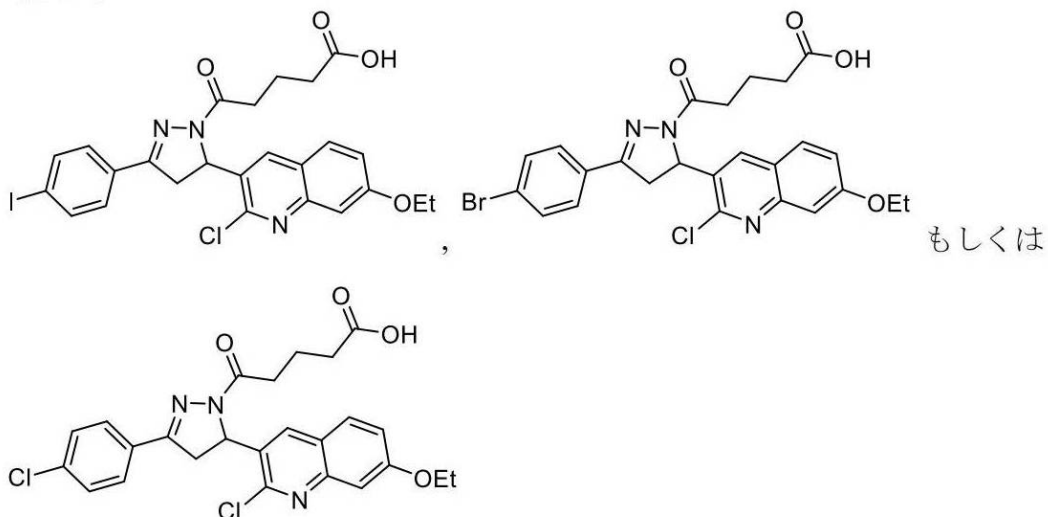
[012] n は 1、2、3、または 4 である)

[013] の化合物またはそれらの薬学的に許容される塩；

[014] (但し化合物は式：

【0007】

【化 2】



30

40

【0008】

の化合物

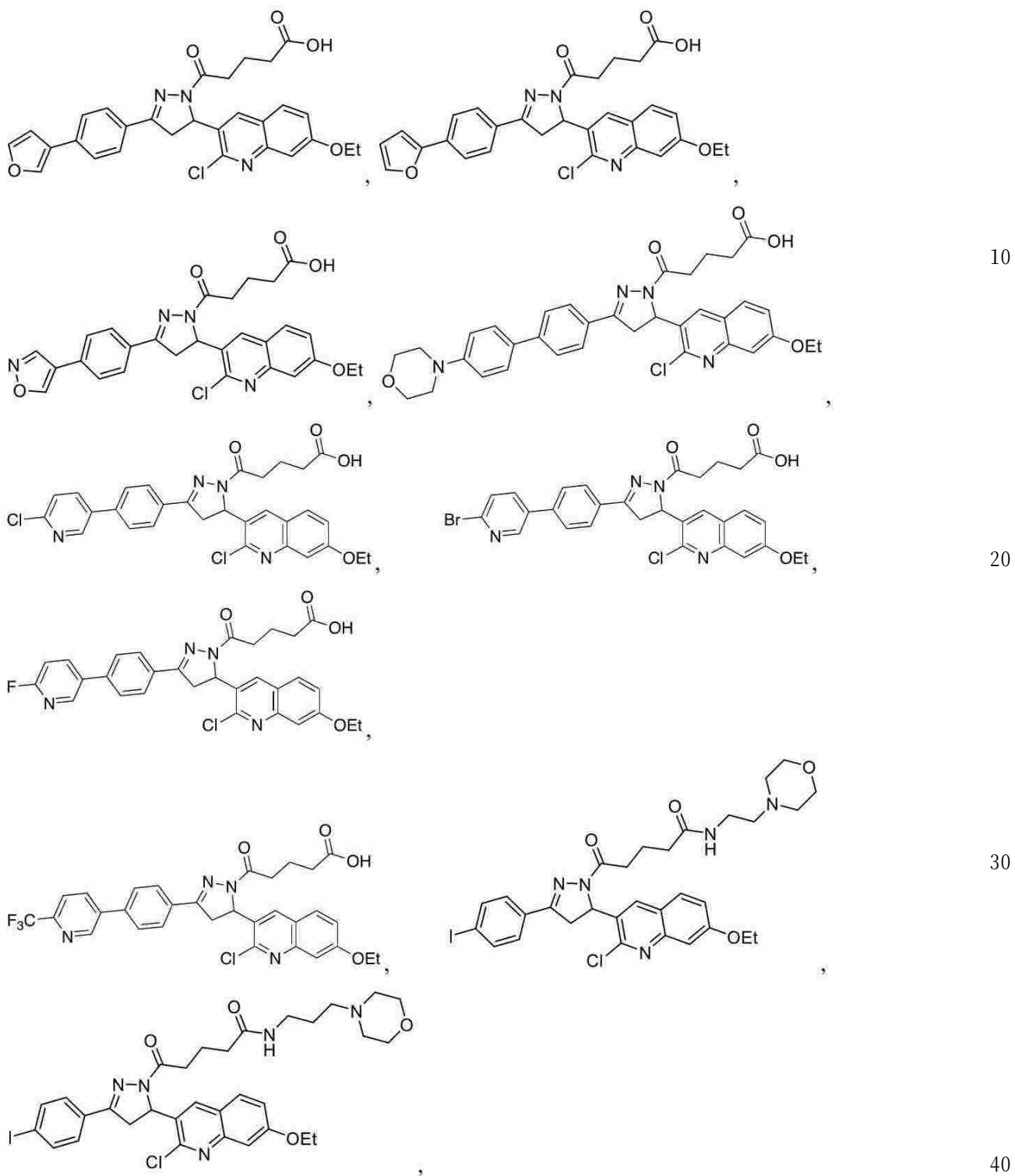
[015] またはそれらの薬学的に許容される塩ではない) に関する。

[016] 他の態様では、本開示は式：

【0009】

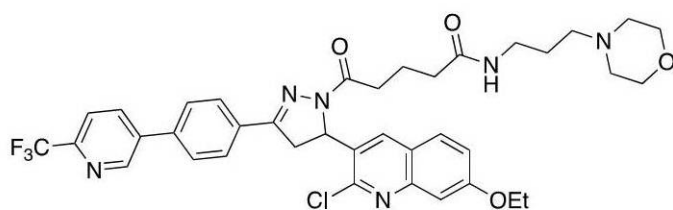
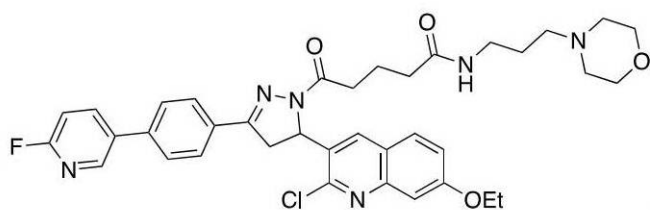
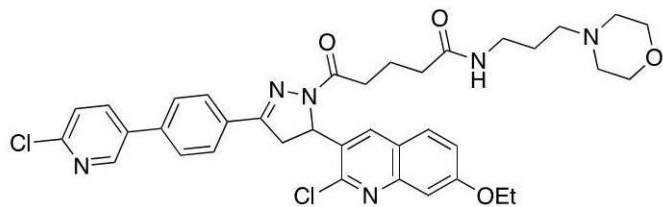
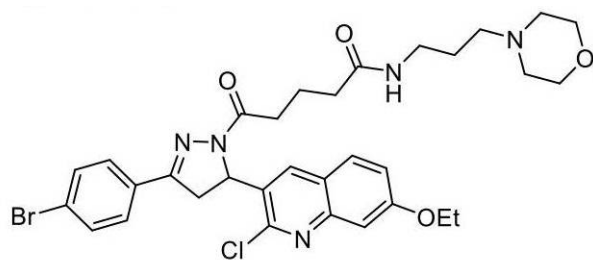
50

【化 3 - 1】



【 0 0 1 0】

【化 3 - 2】



, もしくは

【 0 0 1 1】

の化合物またはそれらの薬学的に許容される塩に関する。

[017] 本開示の追加の実施形態、特徴、および利点は、以下の詳細な説明から、および本開示の実施を通じて明らかになるであろう。本開示の化合物は、以下の列挙された条項のいずれかにおける実施形態として説明され得る。本明細書に記載された任意の実施形態は、実施形態が互いに矛盾しない範囲で、本明細書に記載された任意の他の実施形態と関連して使用され得るが理解されるであろう。

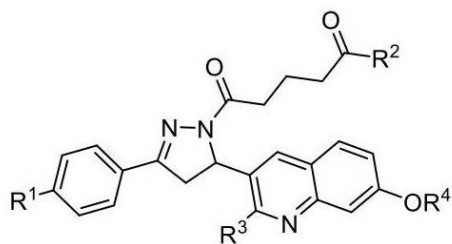
【 0 0 1 2】

[018] 1. 式：

[019]

【 0 0 1 3】

【化 4】



【 0 0 1 4】

[020] (式中、

[021] R¹ はブロモ、クロロ、ヨード、トリフルオロメチル、-OC(O)-モルホリ

ニル、モルホリニル、フラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブromo、ヨード、C₁～C₆ハロアルキル、C₁～C₆アルキル、またはモルホリニルで置換され；

[022] R²は-OH、-NH-OH、-NH-SO₂-R⁵、-NH(CH₂)_n-モルホリニル、-NH(CH₂)_n-ピペラジニル、または-NH(CH₂)_n-(N-メチル-ピペラジニル)であり；

[023] R³ はクロロ、フルオロ、ブロモ、またはヨードであり；

[024] R⁴はC₁～C₆アルキルであり；

[025] R⁵はC₁～C₆ハロアルキル、C₁～C₆アルキル、またはC₃～C₆シクロアルキルであり；

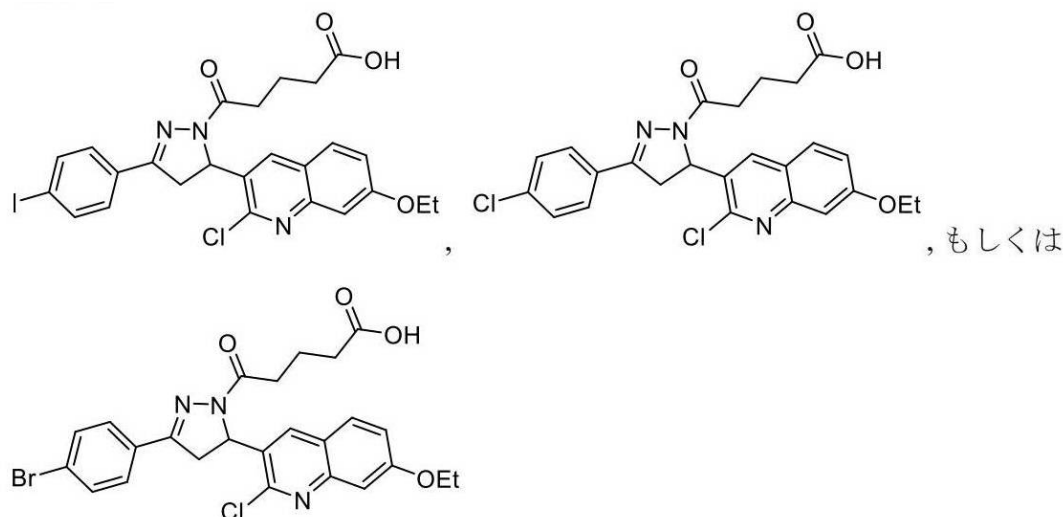
[026] nは1、2、3、または4である)の化合物；

[027] またはそれらの薬学的に許容される塩；

[028]但し前記化合物は式

【 0 0 1 5 】

【化 5】



【 0 0 1 6 】

の化合物

[029] またはそれらの薬学的に許容される塩ではない。

[030] 2. R¹がクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、C₁～C₆ハロアルキル、またはC₁～C₆アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、条項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【 0 0 1 7 】

〔031〕3. R¹が、化合物へのR¹の付着点に対するパラ位に、クロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、C₁～C₆ハロアルキル、またはC₁～C₆アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、条項1または2に記載の化合物、またはそれらの薬学的に許容される塩。

【 0 0 1 8 】

[032] 4. R¹がフラニルまたはイソキサゾリルである、条項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[033] 5. R^2 が $-OH$ である、条項1から4のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【 0 0 1 9 】

[034] 6. R^2 が $-NH(CH_2)_3$ -モルホリニルである、条項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[035] 7. R^1 がブロモまたはヨードである、条項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【0020】

[036] 8. R^1 がブロモである、条項1または7に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[037] 9. R^1 がヨードである、条項1または7に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【0021】

[038] 10. R^2 が $-NH(CH_2)_3$ -モルホリニルである、条項1または7から9に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

10

[039] 11. 式：

【0022】

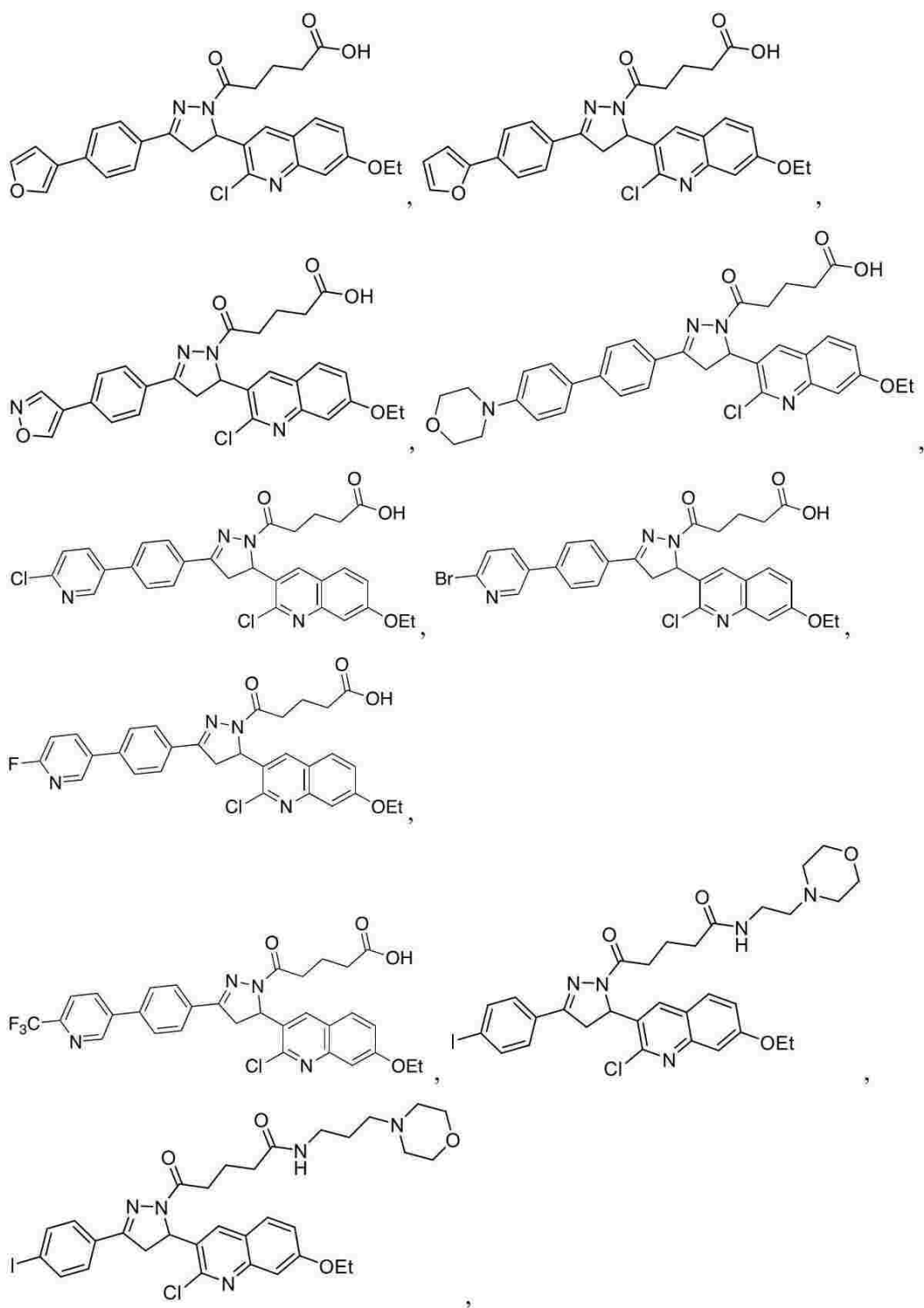
20

30

40

50

【化 6 - 1】



【 0 0 2 3】

10

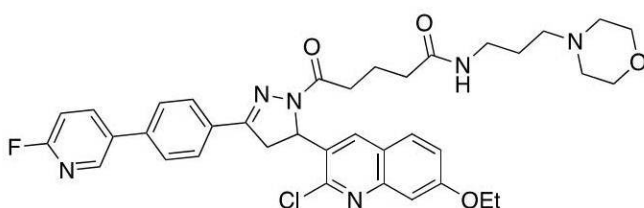
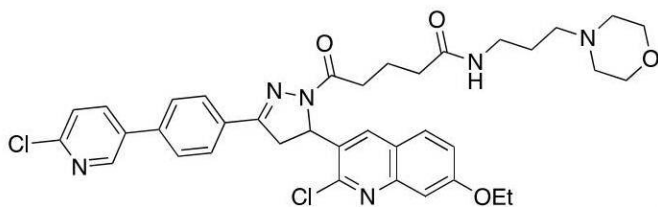
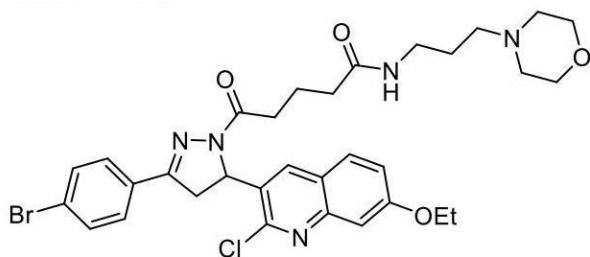
20

30

40

50

【化 6 - 2】



10

20

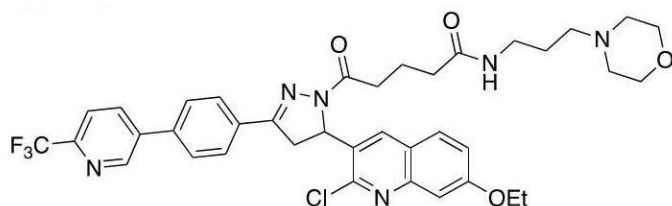
【 0 0 2 4】

、もしくは

【 0 4 0】

【 0 0 2 5】

【化 7】



30

【 0 0 2 6】

【 0 4 1】の化合物またはそれらの薬学的に許容される塩。

【 0 4 2】1 1 . 条項 1 から 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物の治療有効量と、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤の少なくとも 1 つとを含む、医薬組成物。

【 0 0 2 7】

【 0 4 3】1 2 . 条項 1 から 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または条項 1 1 に記載の医薬組成物の治療有効量を投与するステップを含む、そのような治療を必要とする患者に対してがんを治療する方法。

40

【 0 0 2 8】

【 0 4 4】1 3 . 化合物ががん細胞の細胞周期を妨害する、またはがん細胞の細胞周期を妨害する化学物質に代謝される、条項 1 2 に記載の方法。

【 0 4 5】1 4 .

【 0 4 6】a . 条項 1 から 1 0 のいずれか 1 項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または条項 1 1 に記載の医薬組成物の治療有効量を投与するステップ；および

【 0 4 7】b . 少なくとも 1 つの追加の治療剤の治療有効量を投与するステップを含む、疾患を治療する方法。

【 0 0 2 9】

50

[048] 15. 少なくとも1つの追加の治療剤がBMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、条項14に記載の方法。

【0030】

[049] 16. がんが卵巣がん細胞または非小細胞肺癌である、条項12から15のいずれか1項に記載の方法。

10

[050] 17. 患者のがんを治療するための、条項1から10のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【0031】

[051] 18. 患者に少なくとも1つの追加の治療剤の治療有効量を投与することをさらに含む、条項17に記載の化合物。

[052] 19. 少なくとも1つの追加の治療剤がBMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、条項18に記載の化合物。

20

【0032】

[053] 20. 患者のがんの治療に使用するための医薬の製造における、条項1から10のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩の使用。

[054] 21. がんが卵巣がん細胞または非小細胞肺癌である、条項20に記載の使用。

【0033】

[055] 22. 条項1から10のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または条項11に記載の医薬組成物と、少なくとも1つの追加の治療剤とを含む、相乗的な組合せ物。

30

【0034】

[056] 23. 少なくとも1つの追加の治療剤がBMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、条項22に記載の相乗的な組合せ物。

40

【0035】

[057] 24. 条項1から10のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または条項11に記載の医薬組成物と、少なくとも1つの追加の治療剤とがある部位と一緒にもたらされる、条項22または23に記載の相乗的な組合せ物。

【0036】

[058] 25. 前記部位ががん細胞である、条項22から24のいずれか1項に記載の相乗的な組合せ物。

[059] 26. 前記部位が人体である、条項22から24のいずれか1項に記載の相乗的な組合せ。

50

【0037】

【060】27.

【061】条項1から10のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または条項11の医薬組成物の治療有効量を投与するステップを含む患者の疾患を治療する方法であって；

【062】患者がFEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168およびRTEL1からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現が変調されていると前もって特定される、方法。

10

【0038】

【063】28. 患者がFEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168およびRTEL1からなる群から選択される2つ以上の遺伝子を有すると前もって特定されている、条項27に記載の方法。

【0039】

【064】29. 疾患が、がん、疼痛、神経疾患、自己免疫疾患、および炎症からなる群から選択される、条項27または28に記載の方法。

【065】30.

20

【066】b. 少なくとも1つの追加の治療剤の治療有効量を投与するステップをさらに含む、条項27から29のいずれか1項に記載の方法。

【0040】

【067】31. 少なくとも1つの追加の治療剤が、BMN637、NU7441、VE821、MK1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタピン、ドキソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、条項30に記載の方法。

30

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1A】【068】図1A～Dは化合物のDNAとの相互作用の分析を示す図である。図1A～1Cは蛍光インターカレーターディスプレイメント (fluorescent intercalator displacement、FID) を示す図である。表示濃度のドキソルビシン (Dox)、化合物19、23、26、27、43および45を、化合物DNA相互作用の尺度として蛍光性Sybr-green DNAインターカレーターを置換する能力について分析した。アッセイを実施し、本明細書に記載されるように蛍光を測定した。データは、2連で実施された3つの独立した実験的測定の平均およびSDを表す。図1Dは化合物43を用いた示差走査蛍光測定 (DSF) アッセイを本明細書に記載されるように実施し、データは3連測定の平均を表すことを示す図である。図1A：(●) Dox、(■) 化合物19、(▲) 化合物45。図1B：(●) Dox、(■) 化合物23、(▲) 化合物43。図1C：(●) Dox、(■) 化合物26、(▲) 化合物17。

40

【図1B】同上。

【図1C】同上。

【図1D】同上。

【図2A】【069】図2A～Dは分子ドッキング試験を示す図である (PDBコード：1FGU)。図2A～Cは化合物26 (図2A)、42 (図2B)、および45 (図2C) と

50

h R P Aの分子間相互作用を示す図である。アミノ酸側鎖との相互作用は破線で、 $\pi-\pi$ スタッキング相互作用は実線のダンベルで、塩橋相互作用は破線の両側矢印で示される。相互作用距離はÅで示す。図2Dは、R P A結合部位における化合物26、42および45の分子重ね合せ（スーパーインポーズ）を示す図である。

【図2B】同上。

【図2C】同上。

【図2D】同上。

【図3】[070]図3A～BはR P A阻害剤の溶解度分析および細胞取込みを示す図である。図3Aは本明細書に記載されるように非緩衝水中で決定した水溶性を示す図である。値は3つの独立した実験的測定の平均およびS Dを表す。図3Bは本明細書に記載されるようにH 4 6 0 N S C L C細胞で決定した細胞取込みを示す図である。L C / M Sシグナルを定量し、相対レベルを決定し、化合物9に対して正規化した。個々のデータ点をプロットし、バーは3つの独立した実験的測定の平均およびS Dを表す。

【図4A】[071]図4A～Dは代表的な化合物のデータを示す図である。図4Aは、e C C K - 8代謝アッセイにおける化合物9、26および43の単剤活性の分析を示す図である。図4BはA 2 7 8 0 (E O C)、G C T 2 7 (精巢) およびH 4 6 0 (肺) がん細胞モデルにおける化合物43の単剤活性の分析を示す図である。図2Cは、S K G T 食道腺癌 (E A C) およびH 4 6 0 N S C L C 肺がん細胞モデルにおける化合物43とタキソール、シスプラチン、エトポシドおよびブレオマイシンとの組合せ効果の分析を示す図である。図2DはS K G T E A C 細胞モデルにおける化合物43とB M N 6 3 7 (P A R P 阻害剤)、N U 7 4 4 1 (D N A - P K 阻害剤)、V E 8 2 1 (A T R 阻害剤) およびM K 1 7 7 5 (W E E 1 阻害剤) との相乗効果の分析を示す図である。化合物43とD N A 損傷剤 / D D R 阻害剤との組合せ指数 (C I) は、本明細書に記載されるように、C h o u - T a l a l a y に基づくアプローチによって決定した。データは3つの独立した測定からの平均およびS E Mを表す。

【図4B】同上。

【図4C】同上。

【図4D】同上。

【図5A】[072]図5A～DはH 4 6 0 N S C L C 腫瘍を有するマウスの化合物44または対照（通称ビヒクル）（5Aおよび5B）での治療、およびA 5 4 9 ヒト肺癌を有するマウスの化合物45または対照（5Cおよび5D）での治療を示す図表である。図5AはH 4 6 0 N S C L C 腫瘍を有するマウスから腫瘍移植後の様々な時点で採取した腫瘍の体積を示す図表である。図5BはH 4 6 0 N S C L C 腫瘍を有するマウスから腫瘍移植後の様々な時点で採取した腫瘍の重量を示す図表である。図5Aにおいて、(▼)は動物に化合物44を投与した日を示す。図5CはA 5 4 9 ヒト肺癌を有するマウスから腫瘍移植後の様々な時点で採取した腫瘍の体積を示す図表である。図5DはA 5 4 9 ヒト肺癌を有するマウスから腫瘍移植後の様々な時点で採取した腫瘍の重量を示す図表である。図5Bおよび図5D中の各(●)は、異なる動物から取り出した腫瘍を示す。

【図5B】同上。

【図5C】同上。

【図5D】同上。

【図6】[073]図6はカスパーゼ3 / 7 活性を化合物43の濃度の関数として示す図である。

【図7】[074]図7は陽性ヒットのグラフを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0042】

[075]本開示をさらに説明する前に、本開示は、説明された特定の実施形態に限定されることがなく、よって当然のことながら変化し得ることを理解されたい。また、本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明するためのものにすぎず、本開示の範囲は添付の請求項によってのみ限定されるため、限定することを意図していないことを理解され

たい。

【0043】

[076]他に定義されない限り、本明細書で使用するすべての技術用語および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者が通常理解するものと同じ意味を有する。本明細書で参照されるすべての特許、出願、公開された出願およびその他の刊行物は、参照によりその全体が組み込まれる。本項に定める定義が、参照により本明細書に組み込まれる特許、出願、またはその他の刊行物に定める定義に反する、またはそうでなければそれらと矛盾する場合、本項に定める定義が参照により本明細書に組み込まれる定義より優先する。

【0044】

[077]本明細書および添付の特許請求の範囲で 사용되는場合、単数形の「a」、「an」、および「the」は、文脈が明らかに別段の指示をしない限り、複数形の指示対象を含む。特許請求の範囲は、いずれの任意選択の要素も除外するように作成され得ることがさらに留意される。そのため、この記述は、請求項の範囲の要素の列挙に関連して「単独で」「のみ」などの排他的な専門用語の使用、または「否定的な」限定の使用に対する先行根拠として機能することを意図する。

【0045】

[078]本明細書で 사용되는場合、用語「含む (including)」、「含む (containing)」、および「含む (comprising)」は、それらのオープンな、非限定的な意味で使用される。

【0046】

[079]より簡潔に説明するために、本明細書に示される一部の定量的な表現は、用語「約」で限定されない。用語「約」が明示的に使用されているか否かにかかわらず、本明細書に示されるあらゆる量は、実際の示された値を指すことを意味し、また、そのような示された値に対する実験および／または測定条件による同等物および近似物を含む、当技術分野における通常の技術に基づいて合理的に推論されるであろう、そのような示された値の近似値を指すことも意味すると理解される。収率が百分率で示される場合、そのような収率は、特定の化学量論的条件下で得ることができる同じ実体の最大量に対する、収率が示された実体の質量を意味する。百分率で示された濃度は、異なるように示されない限り、質量比を意味する。

【0047】

[080]特に断りのない限り、本実施形態の方法および技術は、一般に、当該技術分野において周知の従来の方法に従い、本明細書を通じて引用および議論される様々な一般的およびより具体的な文献に記載されるように実施される。たとえば、*Loudon, Organic Chemistry*、第4版、New York: Oxford University Press、2002、360~361頁、1084~1085頁；*Smith および March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*、第5版、Wiley-Interscience、2001を参照のこと。

【0048】

[081]本明細書に記載される化合物の化学命名法は、一般に、市販の ACD/Name 2014 (ACD/Labs) または ChemBioDraw Ultra 13.0 (Perkin Elmer) を使用して導出されたものである。

【0049】

[082]明確さのために別々の実施形態の文脈で説明される本開示の特定の特徴は、単一の実施形態において組み合わせて提供されることも可能であることが理解される。逆に、簡潔にするために、単一の実施形態の文脈で説明される本開示の様々な特徴は、別々にまたは任意の適切な下位の組合せで提供されることも可能である。変数で表される化学基に関わる実施形態のすべての組合せは、本開示により具体的に包含され、そのような組合せが安定な化合物（すなわち、単離ができ、特性決定ができ、生物学的活性について試験できる化合物）を包含する程度に、それぞれのおよびすべての組合せが個別にかつ明示的に

10

20

30

40

50

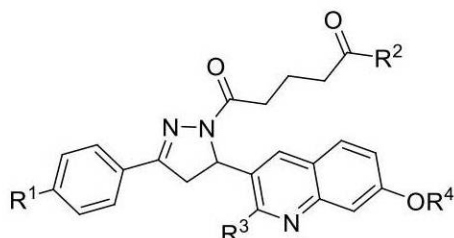
開示されたかのように、本明細書に開示される。さらに、そのような変数を説明する実施形態に記載された化学基のすべての下位の組合せも、本開示により具体的に包含され、化学基のそれぞれのおよびすべてのそのような下位の組合せが、個別にかつ明示的に開示されたかのように、本明細書に開示される。

【0050】

[083] 1. 式

【0051】

【化8】



10

【0052】

[084] (式中、

[085] R^1 はブromo、クロロ、ヨード、トリフルオロメチル、 $-OC(O)-$ モルホリニル、モルホリニル、フラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブromo、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、またはモルホリニルで置換され；

20

[086] R^2 は $-OH$ 、 $-NH-OH$ 、 $-NH-SO_2-R^5$ 、 $-NH(CH_2)_n-$ モルホリニル、 $-NH(CH_2)_n-$ ピペラジニル、または $-NH(CH_2)_n-(N-メチル-ピペラジニル)$ であり；

[087] R^3 はクロロ、フルオロ、ブromo、またはヨードであり；

[088] R^4 は $C_1 \sim C_6$ アルキルであり；

[089] R^5 は $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_3 \sim C_6$ シクロアルキルであり；

30

[090] n は1、2、3、または4である)の化合物；

[091] またはそれらの薬学的に許容される塩；

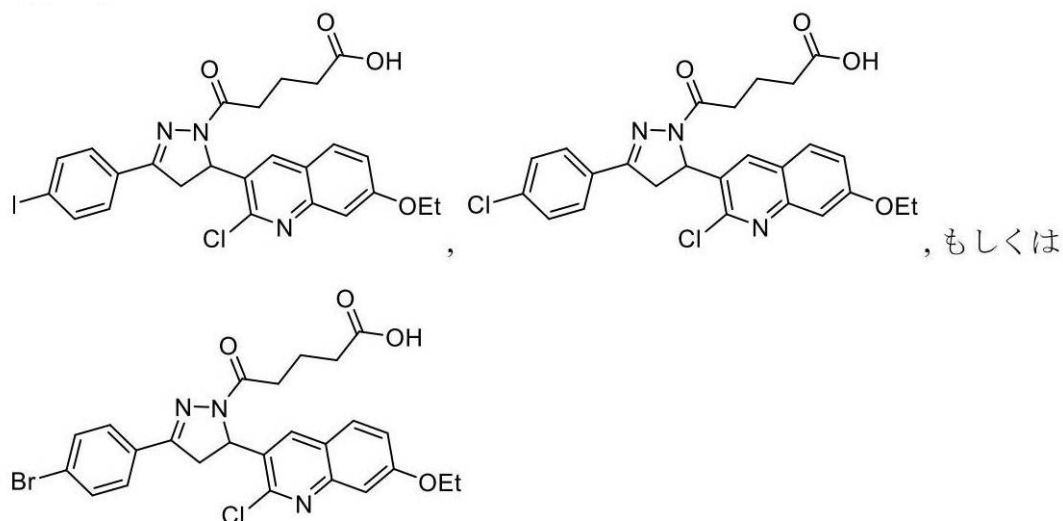
[092] 但し前記化合物は式

【0053】

40

50

【化 9】



10

【0054】

[093]の化合物またはそれらの薬学的に許容される塩ではない。

[094] R^1 がクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、条項1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

20

【0055】

[095] R^1 が、化合物への R^1 の付着点に対するパラ位に、クロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【0056】

[096] R^1 がフラニルまたはイソキサゾリルである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[097] R^2 が $-OH$ である、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

30

【0057】

[098] R^2 が $-NH(CH_2)_3$ モルホリニルである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[099] R^1 がブロモまたはヨードである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【0058】

[0100] R^1 がブロモである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[0101] R^1 がヨードである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

40

【0059】

[0102] R^2 が $-NH(CH_2)_3$ モルホリニルである、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[0103] 式

【0060】

50

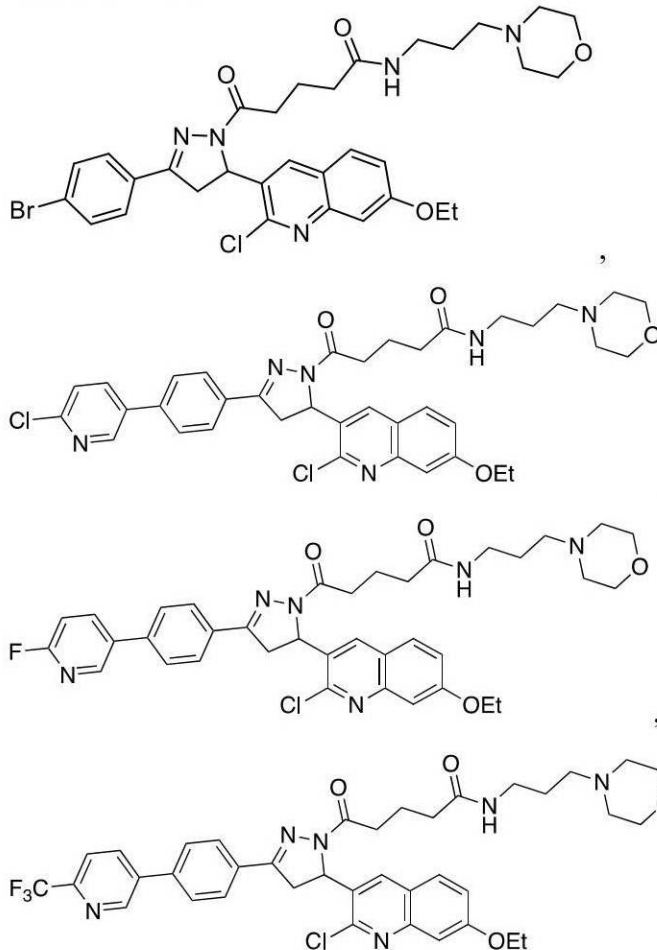
Chemical structures of 11 compounds (1-11) are shown, featuring a quinoline core substituted with a 4-ethoxy-6-chloro group and a 1-(4-substituted-1H-1,2,4-triazol-5-yl) group. The substituents on the triazole ring vary across the compounds:

- 1: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 2: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 3: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 4: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 5: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 6: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 7: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 8: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 9: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 10: 4-(furan-2-yl)phenyl
- 11: 4-(furan-2-yl)phenyl

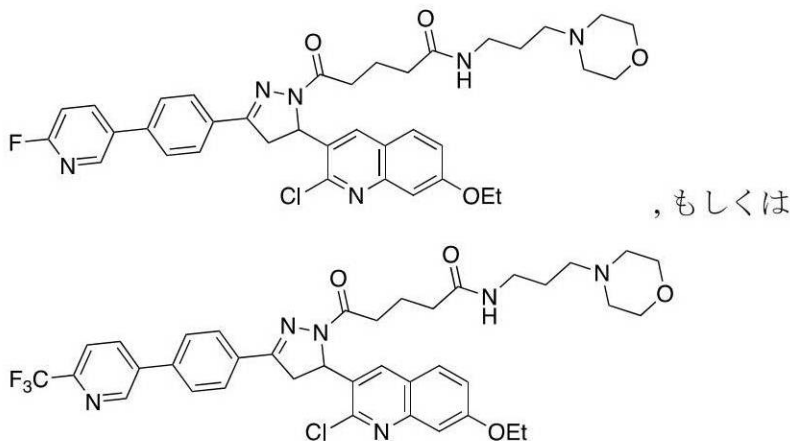
【 0 0 6 1 】

50

【化 10 - 2】



10



20

【0062】

の化合物、またはそれらの薬学的に許容される塩。

[0104] 前記条項のいずれかに記載の化合物の治療有効量と、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤の少なくとも1つとを含む、医薬組成物。

30

【0063】

[0105] 前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または前記条項のいずれかに記載の医薬組成物の治療有効量を投与するステップを含む、そのような治療を必要とする患者に対してがんを治療する方法。

【0064】

[0106] 化合物ががん細胞の細胞周期を妨害する、またはがん細胞の細胞周期を妨害する化学物質に代謝される、前記条項に記載の方法。

【0107】

[0108] a. 前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または前記条項のいずれかに記載の医薬組成物の治療有効量を投与するステップ；および

40

[0109] b. 少なくとも1つの追加の治療剤の治療有効量を投与するステップを含む、疾患を治療する方法。

【0065】

[0110] 少なくとも1つの追加の治療剤が BMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシ

50

ンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、前記条項に記載の方法。

【0066】

[0111]がんが卵巣がん細胞または非小細胞肺癌である、前記条項のいずれかに記載の方法。

[0112]患者のがんを治療するための、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【0067】

[0113]患者に少なくとも1つの追加の治療剤の治療有効量を投与することをさらに含む、前記条項に記載の化合物。

[0114]少なくとも1つの追加の治療剤がBMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、プスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、前記条項に記載の化合物。

【0068】

[0115]患者のがんの治療に使用するための医薬の製造における、前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩の使用。

[0116]がんが卵巣がん細胞または非小細胞肺癌である、前記条項に記載の使用。

【0069】

[0117]条項1から10のいずれか1項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または条項11に記載の医薬組成物と、少なくとも1つの追加の治療剤とを含む、相乗的な組合せ物。

【0070】

[0118]少なくとも1つの追加の治療剤がBMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、プスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンからなる群から選択される、前記条項に記載の相乗的な組合せ物。

【0071】

[0119]前記条項のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、または前記条項のいずれかに記載の医薬組成物と、少なくとも1つの追加の治療剤とがある部位と一緒にもたらされる、前記条項のいずれかに記載の相乗的な組合物。

【0072】

[0120]前記部位ががん細胞である、前記条項のいずれかに記載の相乗的な組合せ物。

[0121]前記部位が人体である、前記条項のいずれかに記載の相乗的な組合せ物。

定義

[0122]本明細書で使用される場合、用語「アルキル」は、任意選択で分岐し、1～20個の炭素原子を含む炭素原子の鎖を含む。特定の実施形態において、アルキルは、有利には、C₁～C₁₂、C₁～C₁₀、C₁～C₉、C₁～C₈、C₁～C₇、C₁～C₆、およびC₁～C₄などの限定された長さであってもよく、例示的には、C₁～C₈、C₁～C₇、C₁～C₆、およびC₁～C₄などのそのような特に限定された長さのアルキル基は「低級アルキル」と称されることがあることをさらに理解されたい。例示的なアルキル基としては、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec

10

20

30

40

50

ーブチル、tert-ブチル、ペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。アルキルは、置換されていてもよく、無置換でもよい。典型的な置換基としては、ハロまたは本明細書に提供される様々な実施形態に記載されるものが挙げられる。「アルキル」は、上記で提供されるような他の基と結合して、官能化アルキルを形成してもよいことが理解されるであろう。例として、本明細書に記載されるように、「アルキル」基と「ハロ」基との組合せを「ハロアルキル」基と称することがある。

【0073】

[0123]本明細書で使用される場合、「ハロ」または「ハロゲン」はフッ素、塩素、臭素またはヨウ素を指す。

[0124]本明細書で使用される場合、「結合」は共有結合を指す。

【0074】

[0125]用語「置換された」は、特定の基または部分が1つまたは複数の置換基を有することを意味する。用語「置換されていない」は、特定の基が置換基を有さないことを意味する。用語「置換された」が構造系を説明するために使用される場合、置換は構造系の任意の原子価許容位置 (valency-allowed position) に起こることを意味する。いくつかの実施形態では、「置換された」は特定の基または部分が1つ、2つ、または3つの置換基を有することを意味する。他の実施形態では、「置換された」は特定の基または部分が1つまたは2つの置換基を有することを意味する。さらに他の実施形態では、「置換された」は特定の基または部分が1つの置換基を有することを意味する。

【0075】

[0126]本明細書で使用される場合、「任意選択の」または「任意選択で」は、その後に記載される事象または状況が、発生してもよいが、発生する必要がないこと、およびその記載がその事象または状況が発生する場合およびそれらが発生しない場合を含むことを意味する。たとえば、「ピリジルの各水素原子が独立して任意選択でクロロにより置換された」は、各クロロ基に対して水素原子を置き換えることにより、ピリジル上にクロロが存在してもよいが、存在する必要がないことを意味し、その記載は、ピリジルがクロロ基で置換された状況およびピリジルがクロロ基で置換されていない状況を含む。

【0076】

[0127]本明細書で使用される場合、「独立して」は、その後に記載される事象または状況が、他の類似の事象または状況と比較して、それ自体で読取られるべきであることを意味する。たとえば、複数の等価な水素基が、その状況で記載された別の基により任意選択で置換された状況において、「独立して任意選択で」の使用は、基上の水素原子の各場合が別の基により置換されてもよく、各水素原子を置き換える基は同一でも異なってもよいことを意味する。または、たとえば、複数の基が存在し、そのすべてが可能性の集合から選択できる場合、「独立して」の使用は、各基が、任意の他の基とは別に、可能性の集合から選択でき、その状況で選択される基は同一でも異なってもよいことを意味する。

【0077】

[0128]本明細書で使用される場合、用語「薬学的に許容される塩」は、医薬品に使用され得るイオンに対抗するそれらの塩を指す。一般に、S. M. Bergeら、「Pharmaceutical Salts」、J. Pharm. Sci.、1977、66、1～19頁を参照のこと。好ましい薬学的に許容される塩は、薬理学的に有効であり、過度の毒性、刺激、またはアレルギー反応なしに対象の組織と接触するのに適したものである。本明細書に記載される化合物は、十分に酸性な基、十分に塩基性な基、両方のタイプの官能基、またはそれぞれのタイプの2つ以上を有することができ、したがって、多数の無機または有機塩基、ならびに無機および有機酸と反応して、薬学的に許容される塩を形成することができる。このような塩としては、

[0129] (1) 親化合物の遊離塩基と塩酸、臭化水素酸、硝酸、リン酸、硫酸、過塩素酸などの無機酸との反応、または酢酸、シュウ酸、(D) もしくは (L) リンゴ酸、マレイ

10

20

30

40

50

ン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸もしくはマロン酸などの有機酸との反応により得られる酸付加塩；または

【0130】(2) 親化合物中に存在する酸性プロトンが金属イオン、たとえば、アルカリ金属イオン、アルカリ土類イオン、またはアルミニウムイオンにより置き換えられるか；またはエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、トリメタノールアミン、N-メチルグルカミンなどの有機塩基と配位結合して形成される塩などが挙げられる。

【0078】

【0131】薬学的に許容される塩は当業者によく知られており、任意のそのような薬学的に許容される塩が、本明細書に記載される実施形態に関連して企図され得る。薬学的に許容される塩の例としては、硫酸塩、ピロ硫酸塩、重硫酸塩、亜硫酸塩、重亜硫酸塩、リン酸塩、一水素リン酸塩、二水素リン酸塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、酢酸塩、プロピオン酸塩、デカン酸塩、カプリル酸塩、アクリル酸塩、ギ酸塩、イソ酪酸塩、カプロン酸塩、ヘプタン酸塩、プロピオール酸塩、シュウ酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、スベリン酸塩、セバシン酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、ブチン-1, 4-ジオエート、ヘキシン-1, 6-ジオエート、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、フタル酸塩、スルホン酸塩、メチルスルホン酸塩、プロピルスルホン酸塩、ベシル酸塩、キシレンスルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、フェニル酢酸塩、フェニルプロピオン酸塩、フェニル酪酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、γ-ヒドロキシ酪酸塩、グリコール酸塩、酒石酸塩、およびマンデル酸塩などが挙げられる。他の適切な薬学的に許容される塩の一覧は、Remington's Pharmaceutical Sciences、第17版、Mack Publishing Company、Easton, Pa.、1985に見いだされる。

【0079】

【0132】塩基性窒素を含む本明細書に記載される化合物について、薬学的に許容される塩は、当技術分野で利用可能な任意の適切な方法、たとえば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、硝酸、ホウ酸、リン酸などの無機酸を用いた、または酢酸、フェニル酢酸、プロピオン酸、ステアリン酸、乳酸、アスコルビン酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、イセチオン酸、コハク酸、吉草酸、フマル酸、マロン酸、ピルビン酸、シュウ酸、グリコール酸、サリチル酸、オレイン酸、パルミチン酸、ラウリン酸、グルクロン酸もしくはガラクトン酸といったピラノシジル酸、マンデル酸、クエン酸、もしくは酒石酸といったアルファ-ヒドロキシ酸、アスパラギン酸もしくはグルタミン酸といったアミノ酸、安息香酸、2-アセトキシ安息香酸、ナフトエ酸、もしくはケイ皮酸といった芳香族酸、ラウリルスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、もしくはエタンスルホン酸といったスルホン酸などの有機酸を用いた、または本明細書に実施例として示されたものなどの酸の任意の相溶性混合物、ならびに本技術の通常の技術レベルに照らして同等物または許容される代替物とみなされる任意の他の酸およびその混合物を用いた遊離塩基の処理により調製することができる。

【0080】

【0133】本開示は、本明細書に記載される化合物の薬学的に許容されるプロドラッグ、およびそのような薬学的に許容されるプロドラッグを用いる治療方法にも関する。用語「プロドラッグ」は、対象への投与後、加溶媒分解もしくは酵素切断などの化学的もしくは生理的プロセスを介して、または生理的条件下で、生体内で化合物をもたらす指定化合物の前駆体を意味する（たとえば、生理的pHに置かれたプロドラッグは、本明細書に記載される化合物に変換される）。「薬学的に許容されるプロドラッグ」は、毒性がなく、生物学的忍容性があり、それ以外の点で対象に投与するのに生物学的に適したプロドラッグのことである。適切なプロドラッグ誘導体の選択および調製のための例示的な手順は、たとえば、「Design of Prodrugs」、H. Bundgaard編、Else

10

20

30

40

50

v i e r、1985に記載されている。

【0081】

【0134】本開示は、本明細書に記載される化合物の薬学的に活性な代謝物、および本開示の方法におけるそのような代謝物の使用にも関する。「薬学的に活性な代謝物」は、本明細書に記載される化合物またはその塩の体内での代謝の薬理学的に活性な生成物を意味する。化合物のプロドラッグおよび活性な代謝物は、当技術分野において既知または利用可能な日常的な技術を使用して決定することができる。たとえば、Bertoliniら、J. Med. Chem. 1997、40、2011～2016頁；Shanら、J. Pharm. Sci. 1997、86(7)、765～767頁；Bagshawe、Drug Dev. Res. 1995、34、220～230頁；Bodor、Adv. Drug Res. 1984、13、255～331頁；Bundgaard、Design of Prodrugs (Elsevier Press、1985)；およびLarsen、Design and Application of Prodrugs、Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsenら編、Harwood Academic Publishers、1991)を参照のこと。

【0082】

【0135】本明細書に記載される任意の式は、化合物の非標識形態ならびに同位体標識形態を表すことも意図する。同位体標識化合物は、1つまたは複数の原子が選択された原子質量または質量数を有する原子により置き換えられていることを除いて、本明細書に示される式により示される構造を有する。本開示の化合物に組み込まれ得る同位体の例としては、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素、塩素、およびヨウ素の同位体、たとえば、 ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{17}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{36}Cl 、および ^{125}I がそれぞれ挙げられる。このような同位体標識化合物は、代謝研究（好ましくは ^{14}C による）、反応速度研究（たとえば、 ^2H もしくは ^3H による）、薬剤もしくは基質の組織分布アッセイなどの検出もしくはイメージング技術〔たとえば陽電子放出断層撮影（PET）もしくは単光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）〕、または患者の放射線治療に有用である。さらに、重水素（すなわち、 ^2H ）などの重い同位体との置換は、たとえば、in vivo半減期の増加または必要投薬量の減少など、より高い代謝安定性から生じる特定の治療上の利点をもたらすことができる。本開示の同位体標識化合物およびそのプロドラッグは、一般に、同位体標識されていない試薬に代えて、容易に入手可能な同位体標識試薬を用いることにより、後述のスキームまたは実施例および調製に開示される手順を実施することにより調製することができる。

【0083】

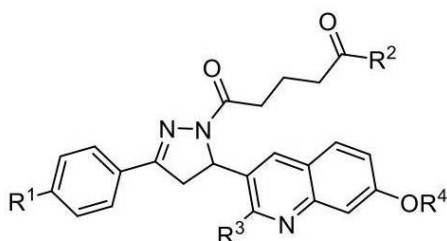
【0136】本明細書で言及される任意の二置換基は、2つ以上のこのような可能性が許容される場合、様々な結合可能性を包含することを意味する。たとえば、 $A \neq B$ である二置換基—A—B—の言及は、本明細書において、第1の置換された構成員に結合したA、および第2の置換された構成員に結合したBを有するこのような二置換基を指し、また、第2の置換された構成員に結合したA、および第1の置換された構成員に結合したBを有するこのような二置換基も指す。

代表的な実施形態

【0137】いくつかの実施形態では、本明細書に記載される化合物は式

【0084】

【化11】



【0085】

の部分またはその薬学的に許容される塩を含む。

[0138]いくつかの実施形態では、 R^1 はブロモ、クロロ、ヨード、トリフルオロメチル、 $-OC(O)-$ モルホリニル、モルホリニル、フラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、またはモルホリニルで置換されている。いくつかの実施形態では、 R^1 はブロモ、ヨード、 $-OC(O)-$ モルホリニル、フラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、およびイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルキルで置換されている。いくつかの実施形態では、 R^1 はクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、またはモルホリニルで置換された1つの水素原子を有するピリジニル (pyridyl) である。いくつかの実施形態では、 R^1 は、化合物への R^1 の付着点に対するパラ位に、クロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はフラニルまたはイソキサゾリルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はブロモまたはヨードである。いくつかの実施形態では、 R^1 はブロモである。いくつかの実施形態では、 R^1 はヨードである。

【0086】

[0139]いくつかの実施形態では、 R^2 は $-OH$ 、 $-NH-OH$ 、 $-NH-SO_2-R^5$ 、 $-NH(CH_2)_n-$ モルホリニル、 $-NH(CH_2)_n-$ ピペラジニル、または $-NH(CH_2)_n-(N-メチル-ピペラジニル)$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 は $-OH$ 、または $-NH(CH_2)_n-$ モルホリニルである。例示的に、 n は0、1、2、または3である。いくつかの実施形態では、 R^2 は $-OH$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 は $-NH(CH_2)_3-$ モルホリニルである。

【0087】

[0140]いくつかの実施形態では、 R^3 はクロロ、フルオロ、ブロモ、またはヨードである。いくつかの実施形態では、 R^3 はクロロ、ブロモ、またはヨードである。

[0141]いくつかの実施形態では、 R^4 は $C_1 \sim C_6$ アルキルである。

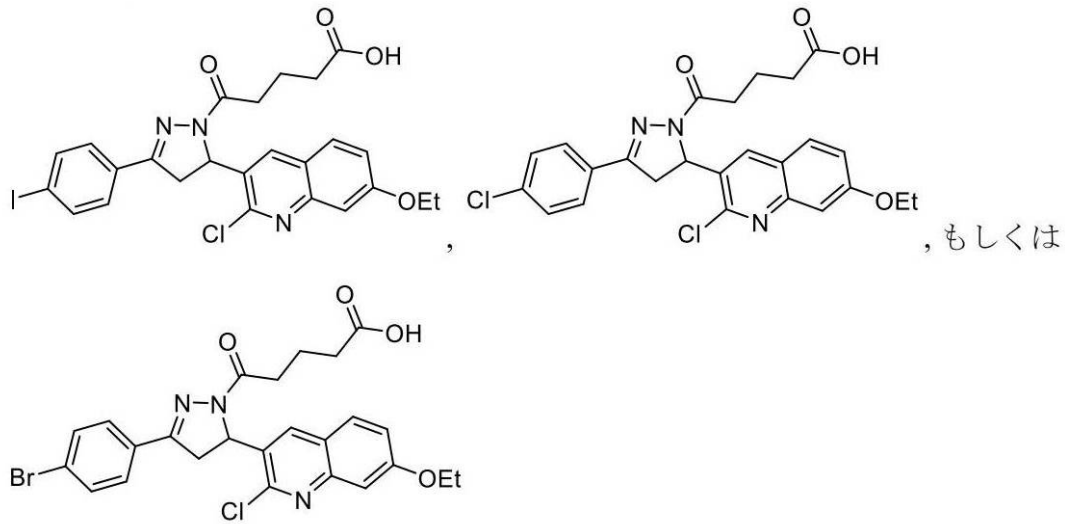
【0088】

[0142]いくつかの実施形態では、 R^5 は $C_1 \sim C_6$ ハロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_3 \sim C_6$ シクロアルキルである。

[0143]いくつかの実施形態では、化合物は式

【0089】

【化 1 2】



10

【 0 0 9 0】

の化合物ではない。

[0144]以下は、化合物の例示的な実施形態を表す。

【 0 0 9 1】

20

30

40

50

【表 1 - 1】

化合物 番号	構造	名称
22		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(フラン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
23		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(フラン-2-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
24		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(イソオキサゾール-4-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
25		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4'-モルホリノ-[1,1'-ビフェニル]-4-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
26		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸

【 0 0 9 2 】

10

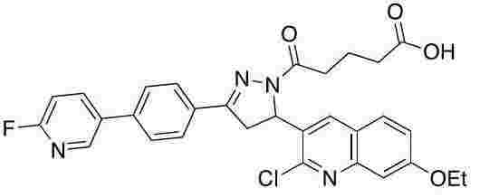
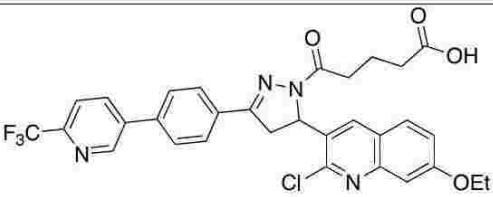
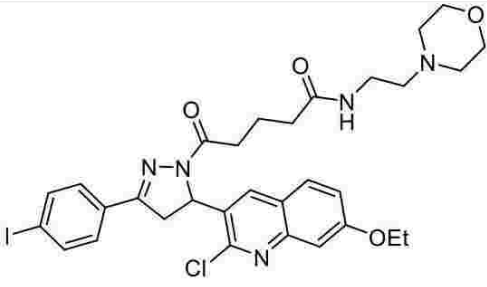
20

30

40

50

【表 1 - 2】

27		5-(3-(4-(6-ブromoピリジン-3-イル)フェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
28		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-フルオロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
29		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸
42		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(2-モルホリノエチル)-5-オキソペンタンアミド
43		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド

【 0 0 9 3 】

10

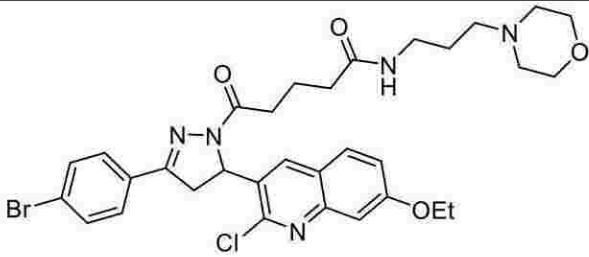
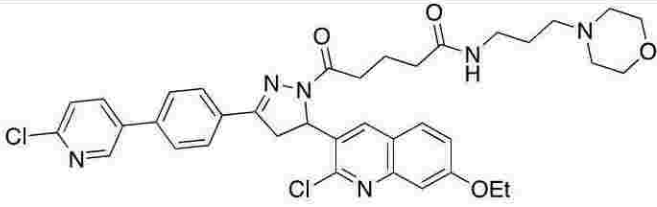
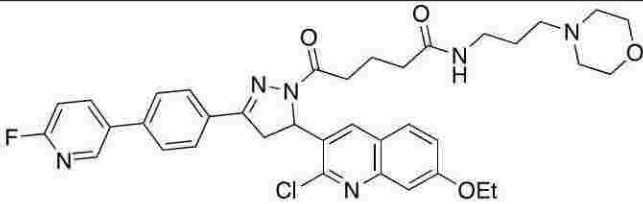
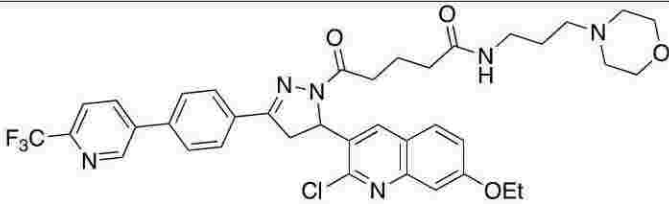
20

30

40

50

【表 1 - 3】

44		5-(3-(4-ブロモフェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド
45		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド
46		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-フルオロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド
47		5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド

【0094】

【0145】当業者であれば、本明細書に記載されたまたは例証された種は網羅的なものではなく、これらの定義された用語の範囲内の追加の種も選択され得ることを認識するであろう。

医薬組成物

【0146】治療目的のために、本明細書に記載される化合物を含む医薬組成物は、1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでもよい。薬学的に許容される賦形剤は、毒性がなく、それ以外の点で対象に投与するのに生物学的に適した物質である。そのような賦形剤は、本明細書に記載される化合物の投与を容易にし、活性成分と相溶性がある。薬学的に許容される賦形剤の例としては、安定剤、滑沢剤、界面活性剤、希釈剤、酸化

10

20

30

40

50

防止剤、結合剤、着色剤、増量剤、乳化剤、または味覚調整剤などが挙げられる。好ましい実施形態では、本発明による医薬組成物は、滅菌組成物である。医薬組成物は、当業者に知られている、または利用可能となる配合技術を使用して調製され得る。

【0095】

[0147]無菌組成物も本発明により企図されており、そのような組成物を管理する国および地域の規制に合った組成物も含まれる。

[0148]本明細書に記載される医薬組成物および化合物は、適切な医薬溶媒もしくは担体中の溶液、乳剤、懸濁液、もしくは分散液として、または固体担体とともに丸薬、錠剤、トローチ剤、坐剤、サシェ剤、糖衣錠、顆粒剤、粉末剤、再構成用粉末剤、もしくはカプセル剤として、様々な剤形の調製のための当技術分野において公知の従来方法に従って、製剤化され得る。本発明の医薬組成物は、経口、非経口、直腸、鼻腔、局所、または眼経路などの適切な送達経路により、または吸入により投与され得る。好ましくは、組成物は、静脈内または経口投与のために製剤化される。

【0096】

[0149]経口投与の場合、本発明の化合物は、錠剤もしくはカプセル剤などの固体形態で、または溶液、乳剤もしくは懸濁液として提供され得る。経口組成物を調製するために、本発明の化合物は、たとえば、1日あたり約0.1mg~1g、または1日あたり約1mg~50mg、または1日あたり約50~250mg、または1日あたり約250mg~1gの投薬量をもたらすように製剤化され得る。経口錠剤は、希釈剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、甘味剤、香味剤、着色剤、保存剤などの相溶性のある薬学的に許容される賦形剤と混合された活性成分を含み得る。適切な不活性充填剤としては、炭酸ナトリウムおよび炭酸カルシウム、リン酸ナトリウムおよびリン酸カルシウム、ラクトース、デンプン、糖、グルコース、メチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、マンニトール、ソルビトールなどが挙げられる。例示的な液体経口賦形剤としては、エタノール、グリセロール、水などが挙げられる。デンプン、ポリビニルピロリドン(PVP)、デンプングリコール酸ナトリウム、微結晶セルロース、およびアルギン酸は、例示的な崩壊剤である。結合剤としては、デンプンおよびゼラチンなどを挙げることができる。滑沢剤は、存在する場合、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、またはタルクであってもよい。必要であれば、錠剤をモノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどの物質でコーティングして消化管での吸収を遅らせてもよく、または腸溶性コーティングでコーティングしてもよい。

【0097】

[0150]経口投与用のカプセルとしては、硬質ゼラチンカプセルおよび軟質ゼラチンカプセルなどが含まれる。硬質ゼラチンカプセルを調製するために、活性成分は固体、半固体、または液体の希釈剤と混合され得る。軟質ゼラチンカプセルは、活性成分を水、ピーナッツ油またはオリーブ油などの油、流動パラフィン、短鎖脂肪酸のモノグリセリドおよびジグリセリドの混合物、ポリエチレングリコール400、またはプロピレングリコールと混合することにより調製され得る。

【0098】

[0151]経口投与用の液体は、懸濁液、溶液、乳剤、もしくはシロップ剤の形態であってもよく、あるいは使用前に水もしくは他の適切なビヒクルで再構成するために、凍結乾燥されてもよく、または乾燥製品として提示されてもよい。このような液体組成物は、任意選択で、懸濁化剤（たとえば、ソルビトール、メチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アルミニウムステアレートゲルなど）などの薬学的に許容される賦形剤；非水性ビヒクル、たとえば、油（たとえば、アーモンド油または分画ココナツ油）、プロピレングリコール、エチルアルコール、または水；保存剤（たとえば、p-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸）；レシチンなどの湿潤剤；および、必要であれば、香味剤または着色剤を含み得る。

【0099】

【0152】静脈内、筋肉内、腹腔内、鼻腔内、または皮下経路などの非経口的使用のために、本発明の薬剤は、適切なpHおよび等張性に緩衝された滅菌水性溶液もしくは懸濁液、または非経口的に許容される油で提供され得る。適切な水性ビヒクルとしては、リンゲル液および等張塩化ナトリウムなどが挙げられる。このような形態は、アンプルまたは使い捨て注射装置などの単位用量形態、適切な用量が取り出せるバイアルなどの複数用量形態、または注射可能な製剤の調製に使用できる固形態もしくは前濃縮物で提示され得る。例示的な注入用量は、数分から数日の範囲の期間にわたって、医薬担体と混和された薬剤の約1~1000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ の範囲である。

【0100】

【0153】鼻腔、吸入、または経口投与の場合、本発明医薬組成物は、たとえば、適切な担体も含むスプレー製剤を使用して投与され得る。本発明組成物は、坐剤として直腸投与用に製剤化されてもよい。

【0101】

【0154】局所用途の場合、本発明の化合物は、好ましくは、クリームまたは軟膏または局所投与に適した同様のビヒクルとして製剤化される。局所投与の場合、本発明化合物は、ビヒクルに対して約0.1%~約10%の濃度で、医薬担体と混合され得る。本発明の薬剤を投与する別の様式として、経皮送達を行うためにパッチ製剤を利用してもよい。

【0102】

【0155】本明細書で使用される場合、用語「治療する」または「治療」は、「予防的」治療および「治癒的」治療の両方を包含する。「予防的」治療は、疾患の発症、疾患の症状、もしくは病状を遅らせて現れ得る症状を抑制すること、または疾患もしくは症状の発症もしくは再発のリスクを低減することを示すことを意味する。「治癒的」治療には、既存の疾患、症状、もしくは状態の重症度を下げること、またはこれらの悪化を抑制することが含まれる。したがって、治療には、既存の疾患症状の悪化の改善または予防、さらなる症状の発生の予防、症状の根本的な全身的原因の改善または予防、障害または疾患の抑制、たとえば、障害もしくは疾患の発症の阻止、障害もしくは疾患の緩和、障害もしくは疾患の退行の誘発、疾患もしくは障害に起因する状態の緩和、または疾患もしくは障害の症状を止めることが含まれる。

【0103】

【0156】用語「対象」は、そのような治療を必要とする哺乳動物患者、たとえば、ヒトを指す。

【0157】例示的な疾患としては、がん、疼痛、神経疾患、自己免疫疾患、および炎症などが挙げられる。がんとしては、たとえば、肺がん、結腸がん、乳がん、前立腺がん、肝細胞癌、腎細胞癌、胃がんおよび食道胃がん、膠芽腫、頭頸部がん、炎症性筋線維芽細胞性腫瘍、ならびに未分化大細胞リンパ腫などが挙げられる。疼痛としては、たとえば、がん性疼痛、化学療法治療による疼痛、神経痛、外傷による疼痛、または他の原因によるものなど、あらゆる原因または病因による疼痛が挙げられる。自己免疫疾患としては、たとえば、関節リウマチ、シェーグレン症候群、I型糖尿病、狼瘡などが挙げられる。例示的な神経疾患としては、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病などが挙げられる。例示的な炎症性疾患としては、アテローム性動脈硬化症、アレルギー、および感染症または外傷による炎症などが挙げられる。

【0104】

【0158】例示的な実施形態では、本明細書に記載される化合物は、がんなどの疾患を治療するために有用であり得る。いくつかの実施形態では、がんは患者に存在する。いくつかの実施形態では、がんは卵巣がんまたは非小細胞肺がんである。

【0105】

【0159】本発明による治療方法では、「治療有効量」は、そのような治療を必要とする対象において所望の治療上の利益を一般にもたらすのに十分な量または用量を指す。本発明の化合物の有効量または用量は、定型的な要因、たとえば、投与または薬物送達の様式または経路、薬剤の薬物動態、感染の重症度および経過、対象の健康状態、状態、および体

10

20

30

40

50

重、ならびに治療医の判断を考慮して、モデル化、用量漸増または臨床試験などの定型的方法によって確認され得る。例示的な用量は、1日あたり約0.1mg～1g、または1日あたり約1mg～50mg、または1日あたり約50～250mg、または1日あたり約250mg～1gの範囲内である。総投薬量は、単回または分割投薬量単位（たとえば、BID、TID、QID）で投与することができる。

【0106】

【0160】患者の疾患が改善された後は、予防的治療または維持的治療のために用量は調節され得る。たとえば、投薬量もしくは投与頻度、またはその両方を、症状の機能として、所望の治療効果または予防効果が維持されるレベルまで減少させることができる。当然ながら、症状が適切なレベルまで緩和されれば、治療を終了することも可能である。ただし、症状が再発した場合には、患者には長期的に断続的な治療が必要となる場合がある。また患者には、長期的に持続的な治療が必要となる場合がある。

10

【0107】

【0161】本開示の化合物、たとえば化合物43の有効性に影響を与え得る個々の遺伝子を同定することは、相互作用する経路および遺伝子を同定するために用いることができる。いくつかの実施形態では、これらの遺伝子の同定は、本開示による化合物を用いた治療の前に行うことができ、または投与と同時に進行することができる。これらのデータは、RPAi治療に反応しやすい患者または反応しにくい患者を特定するための患者層別化に使用することができる。さらに、同定された遺伝子、ひいてはタンパク質は組合せ研究による薬理学的介入の可能性を提供する。遺伝子ヒットの既知の阻害剤を組み合わせることで、個々の薬剤と比較して治療効果が高まる可能性がある。いくつかの実施形態では、患者は、本明細書に記載される組合せ療法で治療され得る。例示的に、このアプローチは、本明細書に記載される疾患のいずれにも使用することができる。

20

【0108】

【0162】いくつかの実施形態では、同定された遺伝子にはFEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168およびRTEL1が含まれる。いくつかの実施形態では、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つの遺伝子が、患者において同定される。いくつかの実施形態では、患者は、記載された遺伝子のうちの少なくとも1つを有することが予め特定されている。

30

薬剤の組合せ

【0163】本明細書に記載される本発明化合物は、本明細書に記載される疾患および障害の治療において、1つまたは複数の追加の活性成分と組み合わせて、医薬組成物または方法に使用され得る。さらなる追加の活性成分には、意図する疾患標的の治療の副作用を緩和する他の治療薬または薬剤が含まれる。このような組合せは、有効性を高める、他の疾患症状を改善する、1つまたは複数の副作用を減少させる、または本発明化合物の必要用量を減少させる役割を担う可能性がある。追加の活性成分は、本発明の化合物とは別の医薬組成物で投与されてもよく、または本発明の化合物とともに単一の医薬組成物中に含まれてもよい。追加の活性成分は、本発明の化合物の投与と同時に、投与前に、または投与後に、投与され得る。

40

【0109】

【0164】組合せ薬剤は、疾患に関連する他の標的に対して活性のあるものなどの、本明細書に記載される疾患および障害を治療するのに有効であることが知られているまたは見いだされる追加の活性成分を含む。たとえば、本発明の組成物および製剤、ならびに治療の方法は、他の薬剤または医薬品、たとえば、標的疾患または関連症状もしくは状態を治療するのに有用な、またはこれらを和らげる、他の活性剤をさらに含むことができる。追加のそのような薬剤としては、BMN637（PARP阻害剤）、NU7441（DNA-PK阻害剤）、VE821（ATR阻害剤）、MK1775（WEE1阻害剤）、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ペンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、

50

クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物は、そのような活性剤の1つまたは複数を追加で含んでもよく、治療の方法は、そのような活性剤の1つまたは複数の有効量を投与するステップを追加で含んでもよい。

【0110】

[0165]いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に記載される化合物、またはその薬学的に許容される塩、または本明細書に記載される医薬組成物と、少なくとも1つの追加の治療剤とを含む相乗的な組合せを提供する。追加のそのような薬剤としては、BMN 637 (PARP阻害剤)、NU7441 (DNA-PK阻害剤)、VE821 (ATR阻害剤)、MK1775 (WEE1阻害剤)、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、およびトポテカンが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物は、そのような活性剤の1つまたは複数を追加で含んでもよく、治療の方法は、そのような活性剤の1つまたは複数を有効量投与するステップを追加で含んでもよい。いくつかの実施形態では、追加の治療剤は、BMN 637 (PARP阻害剤)、NU7441 (DNA-PK阻害剤)、VE821 (ATR阻害剤)、またはMK1775 (WEE1阻害剤)である。

化学合成

[0166]本明細書の方法に有用な例示的な化学物質は、以下のそれらの一般的な調製のための例示的合成スキームおよびそれに続く具体例を参照して、次に説明される。当業者は、本明細書における様々な化合物を得るために、最終的な所望の置換基が所望の生成物を得るために適宜保護されまたは保護されずに、反応スキームを通じて運ばれるように、出発物質が適切に選択され得ることを認識するであろう。あるいは、最終的な所望の置換基の代わりに、反応スキームを通じて運ばれ、所望の置換基で適宜置き換えられる可能性のある適切な基を用いることが必要または望ましい場合がある。さらに、当業者であれば、以下のスキームに示す変換は、特定のペンダント基の官能性と適合性がある任意の順序で実施され得ることを認識するであろう。

【0111】

[0167]略語：DDR、DNA損傷応答；NER、ヌクレオチド除去修復；RPA、複製タンパク質A；DBD、DNA結合ドメイン；EMSA、電気泳動移動度シフトアッセイ；SAR、構造活性相関；FID、蛍光インターカレーターディスプレイメント (Fluorescent Intercalator Displacement)；DSF、示差走査蛍光定量法 (Differential Scan Fluorimetry)；Dox、ドキシソルビシン；Tm、融点；NSCLC、非小細胞肺癌；EOC、上皮性卵巣がん；EAC、食道腺癌；TLC、CI、組合せインデックス；薄層クロマトグラフィー；LC-MS、液体クロマトグラフィー質量分析；HRMS、高分解能質量分析；HPLC、高速液体クロマトグラフィー；EtOH、エタノール；DCM、ジクロロメタン；EtOAc、酢酸エチル；DMF、N,N-ジメチルホルムアミド；DMSO、ジメチルスルホキシド；THF、テトラヒドロフラン；CHCl₃、クロロホルム；HOBt、ヒドロキシベンゾトリアゾール；EDCI、1-エチル-3-(3-(ジメチルアミノ)プロピル)-カルボジイミド；DIPEA、ジイソプロピルエチルアミン；NaHCO₃、重炭酸ナトリウム；K₂CO₃、炭酸カリウム；HCl、塩化水素。

【0112】

[0168]一般事項 合成に使用した化学物質はすべてAldrich、Acros、Fisher Scientific、Combi-Blocks Chemical Co. (USA) から購入し、さらに精製せずに使用した。無水溶媒はFisher ScientificまたはAldrichから入手し、直接使用した。空気または水分に敏感な試薬を含む反応は、すべて窒素雰囲気下で実施した。 ^1H NMRスペクトルはBruker AV NMR分光計を使用して300MHzで記録した。 ^{13}C NMRスペクトルはBruker AV NMR分光計を使用して75MHzで記録した。化学シフトは、特に断りのない限り、残留溶媒のピークを基準として、TMSに対する δ ppmとして報告した。結合定数(J)はすべてヘルツで示される。データは以下の通りに報告される：化学シフト、多重度(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、p=ペンテットまたはクインテット、brs=ブロードのシングレット、m=マルチプレット、dd=ダブルットのダブルット、dt=トリプレットのダブルット)、プロトン数および結合定数。薄層クロマトグラフィーは、Merck silica gel 60 F-254薄層プレートを使用して実施し、以下の手法のうち1つを使用して発色させた：UV蛍光(254nm)、アルカリ性過マンガン酸カリウム溶液(0.5% w/v)またはニンヒドリン(0.2% w/v)およびヨウ素蒸気。Biotage Isoleraクロマトグラフィーシステムで、プレパックされたシリカカートリッジを用い、示された溶媒系を使用して自動フラッシュカラムクロマトグラフィーを行った。すべての新規化合物の純度は、波長214nmで記録されたUVトレースの面積百分率法を使用したエレクトロスプレーイオン化質量分析に連結した分析用HPLC(LC/ESI-MS)により決定し、特に明記しない限り、化合物の純度は95%以上であることが確認された。LC-MS分析と化合物の純度データは、Agilent 1200 HPLCシステムに接続したAgilent 6545 Q-ToF LC/MS装置から得て、両方の装置はAgilentフォトダイオードアレイ(PDA) UV検出器に接続した。固定相としてC-18逆相カラム(Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD、1.8 μm 粒径、2.1mm $\times$ 50mm)を使用し、移動相として水およびアセトニトリル(ともに0.1%ギ酸を含む)を室温で使用した。HPLCグラジエント法は、5~90%水中アセトニトリル(ともに0.1%ギ酸を含む)を0.6ml/minの流速で10分かけて用いた。254nmの固定波長でのUV吸光度、ならびにポジティブおよびネガティブのESI-MSデータを記録した。保持時間および対応するESI-MSのデータを使用して、分子を同定した。HRMSデータは、インディアナ大学化学部質量分析施設(Mass Spectrometry Facility at Indiana University Chemistry Department)(<http://msf.chem.indiana.edu>)の飛行時間型(TOF)質量分析計でWaters/Macromass LCTエレクトロスプレーイオン化(ESI)を使用して得た。A2780細胞はSigmaより購入した。その他の細胞(H460、SKGT-4、およびGCT27)はすべて我々の研究室で入手可能であり、マイコプラズマ汚染について定期的に検査を行った。細胞は10% FBS(Atlanta Biological)、ペニシリンおよびストレプトマイシンを補充したRPMI培地で維持した。培養物を37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 でインキュベートし、1週間に2~3回継代培養を行った。

【0113】

[0169]

【0114】

10

20

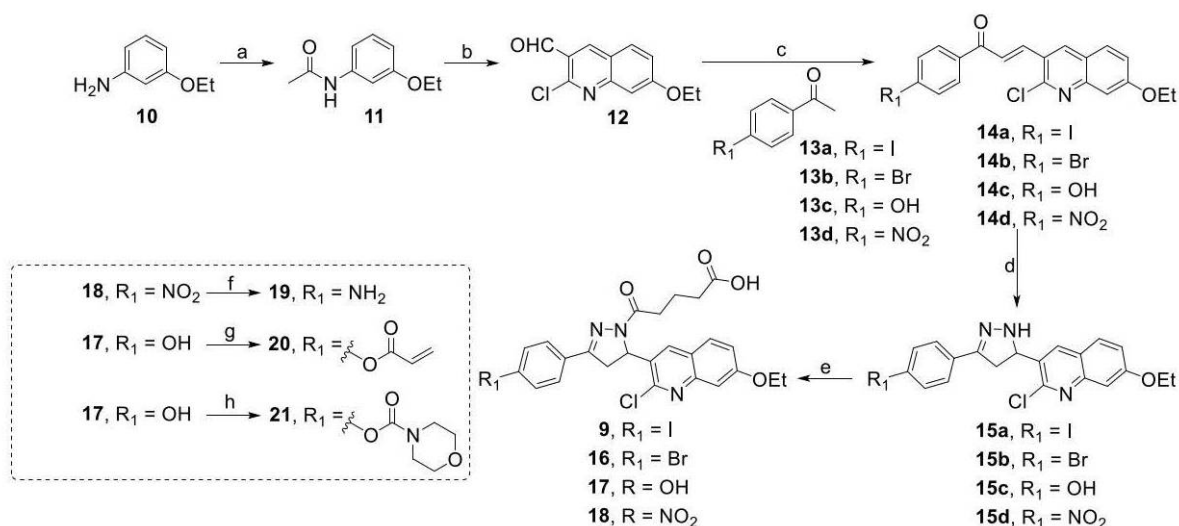
30

40

50

【化 13】

スキーム 1



【0115】

[0170] N-(3-エトキシフェニル)アセトアミド (11) 乾燥 DCM (25 mL) 中の 3-エトキシアニリン 10 (1 gm、1 当量) の攪拌溶液に、DIPEA (1.89 mL、1.5 当量)、DMAP (89 mg、0.1 当量)、および無水酢酸 (0.69 mL、1 当量) をアルゴン雰囲気下で添加した。反応混合物を室温で 2 時間攪拌した。次に溶液をさらに DCM (30 mL) で希釈し、合わせた有機抽出物を水、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮して N-(3-エトキシフェニル)アセトアミド 11 (1.15 gm、88% 収率、さらなる精製不要) をオフホワイトの固体として得た。TLC: ヘキサン中 50% EtOAc、R_f = 0.35; UV で可視化。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 9.88 (s, 1H, NH), 7.27 (s, 1H), 7.16 (t, 1H, J = 8.07 および 16.14 Hz), 7.07 (d, 1H, J = 7.08 Hz), 6.59 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 3.99-3.92 (q, 2H, OCH₂), 2.02 (s, 3H, COCH₃), 1.31 (t, 3H, J = 6.93 および 13.92 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 180.1 [M+H]⁺.

【0116】

[0171] 2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-カルバルデヒド (12) コンデンサーを備えた三口丸型フラスコに、POCl₃ (4 mL、7 当量) をアルゴン雰囲気下で激しく攪拌しながら乾燥 DMF (1.20 mL、2.5 当量) に 0℃ で 25 分かけて滴下添加した。次に、N-(3-エトキシフェニル)アセトアミド 11 (1.10 gm、1 当量) を 0℃ で少しずつ添加した。反応混合物を室温まで温め、その温度で透明な溶液が得られるまで 10 分間攪拌させた。その後、反応混合物を 110℃ で 3 時間加熱し、それから室温まで冷却し、攪拌している氷水 (80 mL) 上に注ぎ、黄色混合物を 15~20 分間攪拌した。得られた固体をろ別し、水で 4~5 回 (10 mL) で洗浄して反応混合物を中和し、風乾し、ヘキサン中 70% EtOAc を使用して結晶化させ、2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-カルバルデヒド 12 (1.07 gm、74% 収率、さらなる精製不要) を黄色固体として得た。TLC: ヘキサン中 20% EtOAc、R_f = 0.51; UV で可視化。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 10.32 (s, 1H, CHO), 8.87 (s, 1H), 8.18 (d, 1H, J = 8.97 Hz), 7.42 (s, 1H), 7.39 (d, 1H, J = 8.94 Hz), 4.28-4.21 (q, 2H, OCH₂), 1.41 (t, 3H, J = 6.96 および 13.95 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 189.64, 163.54, 151.53, 150.25, 141.03, 132.02, 124.52, 121.86, 121.63, 107.62, 64.69, 14.81. MS (ESI) m/z = 236.1 [M+H]⁺.

【0117】

[0172] 14a~d の合成: (E)-3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-ヨードフェニル)プロパ-2-エン-1-オン (14a) 15 mL の

EtOH中の4-ヨードアセトフェノン13a (0.36 gm、1.0当量) および2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-カルバルデヒド12 (0.35 gm、1.0当量) の攪拌溶液に、NaOH (0.83 mL、水中2.5 M、2.0当量) を室温で滴下添加した。反応混合物を45℃で45分間攪拌した後、室温まで冷却し、反応混合物をHCl (3 M) でpH 2~3にクエンチした。得られた固体をろ別し、水で2~3回 (5 mL) 洗浄し、EtOHを使用して結晶化させ、(E)-3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-ヨードフェニル)プロパー-2-エン-1-オン14a (0.51 gm、74%収率) を黄色固体として得て、生成物はさらに精製せずに次の反応に使用した。TLC: ヘキサン中30% EtOAc、 $R_f=0.48$; UVで可視化。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 9.17 (s, 1H), 8.06 (d, 2H, $J=2.1$ Hz), 8.02-7.93 (m, 5H), 7.36 (s, 2H), 4.25-4.18 (q, 2H, OCH₂), 1.41 (t, 3H, $J=6.9$ および13.89 Hz, CH₃). MS (ESI) $m/z=464.1$ [M+H]⁺。

【0118】

[0173] (E)-1-(4-ブロモフェニル)-3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)プロパー-2-エン-1-オン(14b) 14bは、12 (0.35 gm、1当量) および13b (0.29 gm、1当量) を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。褐色固体、(433 mg、70%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 9.21 (s, 1H), 8.15 (d, 2H, $J=15.18$ Hz), 8.11 (d, 2H, $J=15.00$ Hz), 7.99 (d, 1H, $J=8.97$ Hz), 7.85 (d, 2H, $J=9.09$ Hz), 7.40-7.36 (m, 2H), 4.27-4.21 (q, 2H, OCH₂), 1.42 (t, 3H, $J=6.2$ および13.82 Hz, CH₃). MS (ESI) $m/z=417.1$ [M+H]⁺。

【0119】

[0174] (E)-3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-ヒドロキシフェニル)プロパー-2-エン-1-オン(14c) 14cは、12 (0.35 gm、1当量) および13c (0.20 gm、1当量) を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。黄色固体、(278 mg、53%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 10.54 (s, 1H, OH), 9.13 (s, 1H), 8.12-7.90 (m, 5H), 7.34-7.29 (m, 2H), 6.94 (d, 2H, $J=8.76$ Hz), 4.24-4.17 (q, 2H, OCH₂), 1.40 (t, 3H, $J=6.93$ および13.95 Hz, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO): δ 186.46, 162.51, 161.45, 150.04, 149.24, 136.92, 136.71, 131.30, 129.75, 128.77, 125.02, 124.40, 122.04, 120.83, 115.47, 107.00, 63.90, 14.36. MS (ESI) $m/z=355.1$ [M+H]⁺。

【0120】

[0175] (E)-3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-ニトロフェニル)プロパー-2-エン-1-オン(14d) 14dは、12 (0.35 gm、1当量) および13d (0.25 gm、1当量) を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。赤色固体、(346 mg、61%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 9.16 (s, 1H), 8.16-8.11 (m, 3H), 8.04 (d, 1H, $J=14.5$ Hz), 7.84 (d, 1H, $J=8.96$ Hz), 7.51 (dd, 1H, $J=2.74$ および8.91 Hz), 7.47-7.42 (m, 3H), 4.26-4.19 (q, 2H, OCH₂), 1.41 (t, 3H, $J=6.91$ および13.90 Hz, CH₃). MS (ESI) $m/z=384.1$ [M+H]⁺。

【0121】

[0176] 15a~dの合成: 2-クロロ-7-エトキシ-3-(3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)キノリン(15a) エタノール(15 mL)中の3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-ヨードフェニル)プロパー-2-エン-1-オン14a (500 mg、1当量)の攪拌懸濁液に、ヒドラジン-水和物(0.52 mL、10当量)を滴下添加した。反応混合物を2時間還流させ、その後室温まで冷却させた。得られた固体をろ過し、EtOHで洗浄した(2回)。EtOHを用いたトリチュレーションによりさらに精製することにより、2-クロロ-7-エトキシ-3-(3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-

ピラゾール-5-イル)キノリン15a (427mg、83%収率)を淡黄色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO): 8.41 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, J = 9.03 Hz), 7.74 (d, 2H, J = 8.52 Hz), 7.44 (d, 2H, J = 8.49 Hz), 7.33 (s, 1H), 7.28 (dd, 1H, J = 2.46および8.94 Hz), 5.21 (t, 1H, J = 10.32および20.73 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 3.70-3.61 (dd, 1H), 2.92-2.83 (dd, 1H), 1.41 (t, 3H, J = 6.93および13.89 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 479.1 [M+H]⁺.

【0122】

[0177]3-(3-(4-ブロモフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)-2-クロロ-7-エトキシキノリン(15b) 15bは、14b (350mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。淡褐色固体、(278mg、77%収率)。¹H NMR (500 MHz, DMSO): δ 8.42 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, J = 8.64 Hz), 7.85 (d, 1H, J = 3.3 Hz), 7.61-7.56 (m, 4H), 7.35 (d, 1H, J = 2.34 Hz), 7.29-7.25 (dd, 1H, J = 2.36および8.9 Hz), 5.22 (t, 1H, J = 10.32および19.87 Hz), 4.21-4.16 (q, 2H, OCH₂), 3.71-3.63 (dd, 1H), 2.93-2.88 (dd, 1H), 1.42 (t, 3H, J = 6.9および13.87 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 430.1 [M+H]⁺.

10

【0123】

[0178]4-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-3-イル)フェノール(15c) 15cは、14c (250mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。黄色固体、(182mg、70%収率)。¹H NMR (500 MHz, DMSO): δ 9.66 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 7.97 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.49-7.42 (m, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.27 (dd, 1H, J = 2.5および8.95 Hz), 6.77 (d, 2H, J = 8.7 Hz), 5.12 (t, 1H, J = 10.35および20.7 Hz), 4.21-4.17 (q, 2H, OCH₂), 3.65-3.59 (dd, 1H), 2.85-2.79 (dd, 1H), 1.42 (t, 3H, J = 6.95および13.95 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 369.1 [M+H]⁺.

20

【0124】

[0179]2-クロロ-7-エトキシ-3-(3-(4-ニトロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)キノリン(15d) 15dは、14d (300mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。褐色固体、(227mg、73%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.38-8.36 (m, 2H), 8.23 (d, 2H, J = 8.88 Hz), 7.98 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.86 (d, 2H, J = 8.85 Hz), 7.34 (s, 1H), 7.28 (dd, 1H, J = 2.34および8.88 Hz), 5.33 (t, 1H, J = 11.52および21.03 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 3.78-3.69 (dd, 1H), 3.04-2.95 (dd, 1H), 1.41 (t, 3H, J = 6.9および13.83 Hz, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO): δ 160.32, 149.98, 148.16, 146.31, 145.90, 139.40, 135.97, 131.33, 129.21, 126.07, 123.84, 122.04, 120.18, 106.69, 63.65, 60.65, 14.40. MS (ESI) m/z = 398.1 [M+H]⁺.

30

【0125】

[0180]化合物9、16~18の合成: 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(9/TDR L-551) CHCl₃ (15mL)中の2-クロロ-7-エトキシ-3-(3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)キノリン15a (410mg、1.0当量)の攪拌懸濁液に、グルタル酸無水物 (107mg、1.1当量)をアルゴン雰囲気下でコンデンサーを介して一度に添加した。得られた溶液を攪拌しながら2時間還流させ、その後室温まで冷却させた。得られた固体をろ過し、EtOAcで洗浄し、EtOAcを用いたトリチュレーションおよび結晶化によりさらに精製して5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸9 (360mg、71%収率)をオフホワイトの固体として得た。TLC: ヘキサン中75% EtOAc、R_f = 0.51; UVで可視化。¹

40

50

^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 7.98 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, $J = 9.06$ Hz), 7.85 (d, 2H, $J = 8.52$ Hz), 7.58 (d, 2H, $J = 8.49$ Hz), 7.34 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 7.27 (dd, 1H, $J = 2.49$ および8.97 Hz), 5.84-5.79 (dt, 1H, $J = 3.39$ および11.91 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 3.97 (dd, 1H, $J = 12.15$ および18.12 Hz), 3.28 (dd, 1H, $J = 5.01$ および12.75 Hz), 2.96-2.71 (m, 2H, CH₂), 2.32 (t, 2H, $J = 7.35$ および14.58 Hz, CH₂), 1.86-1.76 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および13.89 Hz, CH₃); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.71, 170.38, 160.83, 154.27, 148.63, 138.05, 130.91, 130.44, 129.62, 129.02, 122.53, 120.71, 107.09, 97.88, 64.15, 57.88, 33.40, 33.03, 20.24, 14.87. MS (ESI) $m/z = 614.1$ [M+Na]⁺; HRMS (ESI): C₂₅H₂₂N₃O₄IClの計算値 [M+H]⁺ $m/z = 592.0500$ 、実測値592.0503。HPLC純度: 98.36% (R_t = 6.29分)。

【0126】

[0181] 5-(3-(4-ブロモフェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(16) 化合物16は、15b(150mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。黄色固体、(132mg、70%収率)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 7.98 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, $J = 9.06$ Hz), 7.76-7.65 (m, 4H), 7.34 (d, 1H, $J = 2.37$ Hz), 7.27-7.23 (dd, 1H, $J = 2.46$ および8.97 Hz), 5.85-5.79 (dt, 1H, $J = 5.22$ および11.97 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 4.02 (dd, 1H, $J = 12.09$ および18.09 Hz), 3.30 (dd, 1H, $J = 12.84$ および18.06 Hz), 2.96-2.72 (m, 2H, CH₂), 2.32 (t, 2H, $J = 7.29$ および14.52 Hz, CH₂), 1.89-1.77 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および13.89 Hz, CH₃). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 174.71, 170.41, 160.83, 154.08, 148.64, 135.38, 132.24, 130.66, 130.44, 129.64, 129.16, 124.25, 122.54, 120.72, 107.10, 64.15, 57.92, 33.40, 33.03, 20.24, 14.87. MS (ESI) $m/z = 542.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₅H₂₂N₃O₄BrClの計算値 [M-H]⁻ $m/z = 542.0482$ 、実測値542.0479。HPLC純度: 98.03%。

【0127】

[0182] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(17) 化合物17は、15c(170mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。黄色固体、(142mg、64%収率)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 10.0 (brs, 1H, OH), 7.93 (s, 1H), 7.90 (d, 1H, $J = 9.02$ Hz), 7.63 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.33 (d, 1H, $J = 2.37$ Hz), 7.26 (dd, 1H, $J = 2.46$ および8.94 Hz), 6.83 (d, 2H, $J = 8.76$ Hz), 5.80-5.74 (dt, 1H, $J = 4.89$ および11.73 Hz), 4.20-4.14 (q, 2H, OCH₂), 3.96 (dd, 1H, $J = 11.94$ および17.91 Hz), 3.24 (dd, 1H, $J = 5.07$ および17.94 Hz), 2.92-2.76 (m, 2H, CH₂), 2.32 (t, 2H, $J = 7.35$ および14.58 Hz, CH₂), 1.85-1.80 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および13.89 Hz, CH₃). MS (ESI) $m/z = 480.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₅H₂₃N₃O₅Clの計算値 [M-H]⁻ $m/z = 480.1326$ 、実測値480.1321。HPLC純度: 97.24%。

【0128】

[0183] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ニトロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(18): 化合物18は、15d(210mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製した。赤色固体、(157mg、58%収率)。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 12.14 (brs, 1H, COOH), 8.37 (d, 2H, $J = 6.5$ Hz), 7.91 (d, 2H, $J = 7$ Hz), 7.72 (s, 1H), 7.65 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7.31 (s, 1H), 7.19 (dd, 1H, $J = 2.5$ および11.5 Hz), 5.96-5.92 (dt, 1H, $J = 5$ および12 Hz), 4.09-4.05 (q, 2H, OCH₂

), 3.92 (dd, 1H, $J = 12$ および 17.5 Hz), 3.20 (dd, 1H, $J = 5$ および 18 Hz), 2.93-2.87 (m, 2H, CH₂), 2.39 (t, 2H, $J = 7.5$ および 14.6 Hz, CH₂), 1.90-1.87 (p, 2H, CH₂), 1.40 (t, 3H, $J = 6.95$ および 13.84 Hz, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 173.44, 172.24, 161.06, 151.98, 149.09, 148.36, 137.01, 128.80, 128.59, 127.36, 124.06, 122.16, 120.99, 106.92, 63.92, 60.31, 33.56, 33.20, 20.37, 14.46. MS (ESI) $m/z = 510.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₅H₂₄N₄O₆Cl の計算値 [M+2H]⁺ $m/z = 511.1384$ 、実測値 511.1389。HPLC 純度: 95.07%。

【0129】

[0184] 5-(3-(4-アミノフェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(19) THF: EtOH の混合物(1:1, 8 mL)中の18(120 mg、1当量)の溶液に、89 mg の SnCl₂ (2当量)を添加し、得られた懸濁液を2時間穏やかに還流させた。冷却後、反応混合物を氷で希釈し、5% NaHCO₃ でわずかにアルカリ性にし、沈殿物をろ過し DCM および水で洗浄した。ろ液を減圧下で濃縮した後、残渣を20%クエン酸で酸性化した。沈殿物をジクロロメタン(3×30 mL)で抽出し、合わせた有機画分をブラインで洗浄し、無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮して粗生成物を得た。粗生成物を EtOAc 中2%エタノール混合物中で結晶化させ、ヘキサン中70% EtOAc でトリチュレートして、5-(3-(4-アミノフェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸19(54 mg、48%収率)を赤色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.11 (brs, 1H, COOH), 7.89 (s, 1H), 7.87 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 7.61 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz), 7.31 (d, 1H, $J = 2.41$ Hz), 7.28 (dd, 1H, $J = 2.45$ および 8.91 Hz), 6.83 (d, 2H, $J = 8.76$ Hz), 5.79-5.73 (dt, 1H, $J = 4.87$ および 11.73 Hz), 4.21-4.13 (q, 2H, OCH₂), 3.93 (dd, 1H), 3.27 (dd, 1H, $J = 5$ および 17.96 Hz), 2.90-2.79 (m, 2H, CH₂), 2.35 (t, 2H, $J = 7.3$ および 14.5 Hz, CH₂), 1.82-1.76 (p, 2H, CH₂), 1.40 (t, 3H, $J = 6.91$ および 13.85 Hz, CH₃). MS (ESI) $m/z = 479.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₅H₂₄N₄O₄Cl の計算値 [M-H]⁻ $m/z = 479.1486$ 、実測値 479.1483。HPLC 純度: 95.63% (R_t = 4.39分)。

【0130】

[0185] 5-(3-(4-(アクリロイルオキシ)フェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(20) THF (5 mL)中の17(60 mg、1当量)の攪拌懸濁液に、2NのNaOH(0.5 mL)を添加した。反応混合物を0℃で15分間攪拌した後、塩化アクリロイル(13 mg、1.1当量)を一度に添加した。反応混合物を室温でさらに2時間攪拌した。溶媒を真空中で除去し、残渣を20%クエン酸溶液を使用して pH 2~3 に酸性化した。生成物を EtOAc (3×15 mL)で抽出した。合わせた有機抽出物をブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物を、溶離液として DCM 中1~5% MeOH を使用した Biotage 自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、5-(3-(4-(アクリロイルオキシ)フェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸20(22 mg、34%収率)を白色固体として得た。TLC: DCM 中5% MeOH、R_f = 0.44; UV で可視化。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.78 (d, 2H, $J = 7.35$ Hz), 7.70 (s, 1H), 7.64 (d, 1H, $J = 8.76$ Hz), 7.29 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.20 (d, 2H, $J = 8.07$ Hz), 6.64 (d, 1H, $J = 16.83$ Hz), 6.35 (t, 1H, $J = 10.29$ および 27.21 Hz), 6.05-5.96 (m, 2H), 4.20-4.12 (q, 2H, OCH₂), 3.96 (dd, 1H, $J = 11.82$ および 16.89 Hz), 3.17-2.94 (m, 3H), 2.65-2.52 (m, 2H, CH₂), 2.15-2.07 (p, 2H, CH₂), 1.46 (t, 3H, $J = 6.95$ および 13.80 Hz, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 177.80, 170.82, 170.48, 169.10,

164.15, 160.93, 153.75, 152.31, 148.97, 148.52, 134.31, 133.23, 129.23, 128.64, 127.97, 127.56, 122.23, 122.07, 120.86, 106.83, 63.86, 57.79, 41.43, 33.07, 19.89, 14.58. MS (ESI) $m/z = 535.1$ $[M-H]^-$; HRMS (ESI): $C_{28}H_{26}N_3O_6ClNa$ の計算値 $[M+Na]^+ m/z = 558.1408$ 、実測値 558.1407。HPLC 純度: 99.21% ($R_t = 4.74$ 分)。

【0131】

[0186] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(モルホリン-4-カルボニル)オキシ)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(21) 乾燥 THF 中の 17 (60 mg、1 当量) の攪拌懸濁液に、トリメチルアミン/TEA (34 μ L、2 当量) および DMA P (3 mg、0.2 当量) をアルゴン雰囲気下で添加し、反応混合物を 0°C で 15 分間攪拌した後、4-モルホリンカルボニルクロリド (20 mg、1.1 当量) を添加した。反応混合物を室温でさらに 12 時間攪拌した。溶媒を真空で除去し、残渣を 20% クエン酸溶液を使用して pH 2~3 に酸性化した。生成物を EtOAc (3×15 mL) で抽出した。合わせた有機抽出物をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、減圧下で濃縮した。得られた固体を EtOAc で洗浄し、EtOAc を用いたトリチュレーションおよび結晶化によりさらに精製して 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(モルホリン-4-カルボニル)オキシ)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸 21 (46 mg、63% 収率) を白色固体として得た。TLC: EtOAc 中 5% MeOH、 $R_f = 0.41$; UV で可視化。 ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 8.00 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, $J = 9.09$ Hz), 7.82 (d, 2H, $J = 8.79$ Hz), 7.34 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 7.27 (d, 1H, $J = 8.94$ Hz), 7.26 (d, 2H, $J = 8.79$ Hz), 5.85-5.80 (dt, 1H, $J = 5.79$ および 11.91 Hz), 4.21-4.15 (q, 2H, OCH_2), 3.97 (dd, 1H, $J = 12.11$ および 18.10 Hz), 3.53-3.46 (m, 4H), 3.44-3.37 (m, 4H), 3.27 (dd, 1H, $J = 5.1$ および 17.94 Hz), 2.96-2.79 (m, 2H, CH_2), 2.37 (m, 2H, CH_2), 1.87-1.78 (p, 2H, CH_2), 1.40 (t, 3H, $J = 6.12$ および 13.89 Hz, CH_3). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 170.99, 170.51, 160.82, 154.25, 153.09, 148.67, 130.60, 129.64, 128.51, 122.72, 122.56, 120.69, 107.09, 66.53, 66.20, 64.15, 57.81, 45.77, 43.12, 33.26, 32.02, 20.40, 14.87. MS (ESI) $m/z = 594.1$ $[M-H]^-$; HRMS (ESI): $C_{30}H_{32}N_4O_7Cl$ の計算値 $[M+H]^+ m/z = 595.1960$ 、実測値 595.1958。HPLC 純度: 96.71% ($R_t = 4.92$ 分)。

【0132】

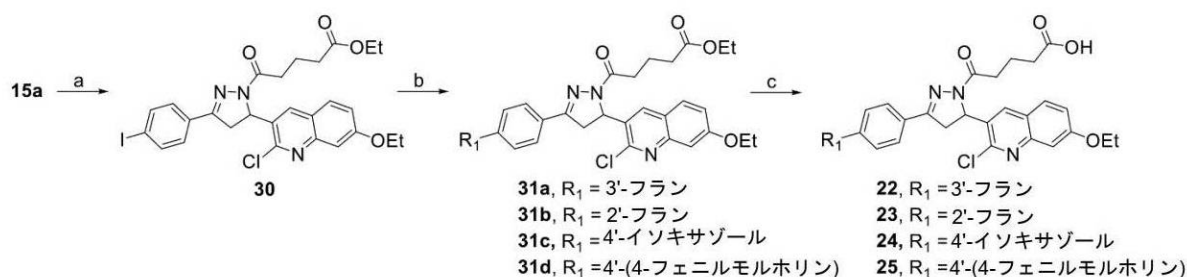
[0187] 目的化合物 22~25 の合成:

[0188]

【0133】

【化14】

スキーム 2



【0134】

[0189] ステップ 1

[0190] エチル 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-

ーヨードフェニル)ー4, 5ージヒドロー1Hーピラゾールー1ーイル)ー5ーオキソペンタノエート(30)の合成 乾燥DCM(25 mL)中の15a(600 mg、1当量)の攪拌懸濁液に、DIPEA(0.54 mL、2.5当量)を添加した。反応混合物を室温で15分間攪拌した後、エチルグルタリルクロリド(0.30 mL、1.5当量)を滴下添加した。反応混合物を室温でさらに12時間攪拌した。反応混合物を水で希釈し、生成物をDCM(3×15 mL)で抽出した。合わせた有機抽出物を飽和NaHCO₃、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物を、溶離液としてヘキサン中5~40% EtOAcを使用したBiota g e自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、エチル 5ー(5ー(2ークロロー7ーエトキシキノリンー3ーイル)ー3ー(4ーヨードフェニル)ー4, 5ージヒドロー1Hーピラゾールー1ーイル)ー5ーオキソペンタノエート30(607 mg、78%収率)を白色固体として得た。TLC:ヘキサン中40% EtOAc、R_f=0.51; UVで可視化。¹H NMR(300 MHz, DMSO): δ 7.98 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, J = 9.03 Hz), 7.85 (d, 2H, J = 8.52 Hz), 7.57 (d, 2H, J = 8.52 Hz), 7.34 (d, 1H, J = 2.43 Hz), 7.27 (dd, 1H, J = 2.49および8.97 Hz), 5.84-5.79 (dt, 1H, J = 3.54および12 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 4.08-4.01 (q, 2H, OCH₂), 3.96 (dd, 1H, J = 12.10および17.97 Hz), 3.30 (dd, 1H, J = 5.61および18.27 Hz), 2.96-2.76 (m, 2H, CH₂), 2.36 (t, 2H, J = 7.41および14.76 Hz, CH₂), 1.89-1.79 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, J = 6.93および13.92 Hz, CH₃), 1.17 (t, 3H, J = 7.08および10.83 Hz, CH₃); ¹³C NMR(75 MHz, DMSO): δ 173.12, 170.28, 160.84, 154.34, 148.63, 138.07, 130.89, 130.43, 129.62, 129.02, 122.53, 120.73, 107.09, 97.92, 64.16, 60.25, 57.92, 33.26, 32.87, 20.25, 14.87, 14.58. MS (ESI) m/z = 621.1 [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₂₇H₂₈N₃O₄IClの計算値 [M+H]⁺ m/z = 620.0813、実測値620.0814。HPLC純度: 99.08%。

[0135]

[0191]ステップ2 31a~dの合成:

[0192]エチル5ー(5ー(2ークロロー7ーエトキシキノリンー3ーイル)ー3ー(4ー(フランー3ーイル)フェニル)ー4, 5ージヒドロー1Hーピラゾールー1ーイル)ー5ーオキソペンタノエート(31a)の合成 ジメトキシエタン/DME(8 mL)中の30(100 mg、1当量)および3ーフランボロン酸(24 mg、1.3当量)の攪拌懸濁液に、CsF(98 mg、4当量)を添加した。反応混合物をアルゴンで5分間脱気した後、Pd(PPh₃)₄(19 mg、0.1当量)を添加した。反応混合物を90℃で18時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、沈殿した反応混合物をジクロロメタン(3×20 mL)で抽出し、合わせた有機画分を飽和NaHCO₃、ブラインで洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物を、溶離液としてヘキサン中5~40% EtOAcを使用したBiota g e自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、エチル 5ー(5ー(2ークロロー7ーエトキシキノリンー3ーイル)ー3ー(4ー(フランー3ーイル)フェニル)ー4, 5ージヒドロー1Hーピラゾールー1ーイル)ー5ーオキソペンタノエート31a(58 mg、64%収率)を黄色固体として得た。TLC:ヘキサン中40% EtOAc、R_f=0.47; UVで可視化。¹H NMR(300 MHz, CDCl₃): δ 7.80 (d, 2H, J = 11.97 Hz), 7.74 (d, 2H, J = 2.07 Hz), 7.66 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.54-7.49 (m, 3H), 7.30 (d, 1H, J = 2.28 Hz), 7.18 (dd, 1H, J = 2.43および8.97 Hz), 6.73 (s, 1H), 6.00-5.95 (dt, 1H, J = 4.86および11.79 Hz), 4.20-4.09 (m, 4H, 2OCH₂), 3.98 (dd, 1H, J = 11.82および17.97 Hz), 3.21 (dd, 1H, J = 4.95および17.76 Hz), 3.10-2.89 (m, 2H, CH₂), 2.48 (t, 2H, J = 7.26および14.61 Hz, CH₂), 2.16-2.07 (p, 2H, CH₂), 1.47 (t, 3H, J = 6.96および13.92 Hz, CH₃), 1.22 (t, 3H, J = 7.10および10.85 Hz, CH₃); ¹³C NMR(75 MHz, CDCl₃): δ 173.33, 170.75, 160.86, 153.99, 148.96, 148.61, 144.04, 139.19, 134.68, 129.48, 129.43, 128.62, 127.19, 125.98, 125.69, 122.26, 120.78, 108.56, 106.84, 63.84, 60.40, 57.65, 41.32, 33.69, 33.16, 20.22, 14.58,

14.29.MS (ESI) $m/z = 561.1$ $[M+H]^+$; HRMS (ESI): $C_{31}H_{31}N_3O_5Cl$ の計算値 $[M+H]^+ m/z = 560.1952$ 、実測値 560.1934 。

【0136】

【0193】化合物 31b～d は、適切なボロン酸／エステルを使用して、化合物 31a の調製で述べた上記の鈴木カップリング合成手順により合成した。各化合物を、溶離液としてヘキサン中 5～50% EtOAc (31b) または DCM 中 0～7% MeOH (31c～d) を使用した Biota ge 自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、所望の化合物を得た。

【0137】

【0194】エチル 5- (5- (2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル) -3- (4- (フラン-2-イル) フェニル) -4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル) -5-オキソペンタノエート (31b) 黄色固体 (57mg、63% 収率)。TLC: ヘキサン中 50% EtOAc、 $R_f = 0.52$; UV で可視化。 ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.85 (d, 1H, $J = 8.43$ Hz), 7.78-7.62 (m, 5H), 7.54-7.36 (m, 3H), 7.30 (t, 1H, $J = 2.49$ および 5.07 Hz), 7.19 (dd, 1H, $J = 2.22$ および 8.97 Hz), 6.03-5.94 (m, 1H), 4.20-4.10 (m, 4H, $2OCH_2$), 4.01-3.83 (m, 1H), 3.24-2.86 (m, 3H), 2.51-2.42 (m, 2H, CH_2), 2.17-2.05 (p, 2H, CH_2), 1.49 (t, 3H, $J = 6.93$ および 13.92 Hz, CH_3), 1.27 (t, 3H, $J = 7.17$ および 10.95 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 173.32, 173.22, 170.82, 160.91, 153.78, 148.99, 148.49, 141.98, 135.31, 130.64, 129.16, 128.33, 127.91, 127.33, 122.25, 120.83, 106.85, 63.86, 60.41, 57.79, 41.34, 33.69, 33.19, 20.21, 14.59, 14.30. MS (ESI) $m/z = 561.1$ $[M+H]^+$; HRMS (ESI): $C_{31}H_{32}N_3O_5Cl$ の計算値 $[M+2H]^+ m/z = 561.2030$ 、実測値 561.2039 。

【0138】

【0195】エチル 5- (5- (2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル) -3- (4- (イソオキサゾール-4-イル) フェニル) -4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル) -5-オキソペンタノエート (31c) 淡褐色固体 (59mg、65% 収率)。TLC: DCM 中 5% MeOH、 $R_f = 0.43$; UV で可視化。MS (ESI) $m/z = 562.1$ $[M+H]^+$; HRMS (ESI): $C_{30}H_{30}N_4O_5Cl$ の計算値 $[M+H]^+ m/z = 561.1905$ 、実測値 561.1908 。

【0139】

【0196】エチル 5- (5- (2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル) -3- (4'-モルホリノ- [1, 1'-ビフェニル] -4-イル) -4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル) -5-オキソペンタノエート (31d) 黄色固体 (73mg、69% 収率)。TLC: DCM 中 5% MeOH、 $R_f = 0.41$; UV で可視化。MS (ESI) $m/z = 578.1$ $[M+Na]^+$; HRMS (ESI): $C_{37}H_{40}N_4O_5Cl$ の計算値 $[M+H]^+ m/z = 655.2687$ 、実測値 655.2683 。

【0140】

【0197】ステップ 3 目的化合物 22～25 の合成：

【0198】5- (5- (2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル) -3- (4- (フラン-3-イル) フェニル) -4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル) -5-オキソペンタン酸 (22) の合成 THF: MeOH (1:2、v/v、6mL) 中の化合物 31a (50mg) の攪拌溶液に 10N の NaOH (0.4mL) 溶液を添加した。反応混合物を室温で 6～8 時間攪拌した。溶媒を真空で除去し、残渣を 1N の HCl 溶液を使用して pH 2～3 に酸性化した。生成物を EtOAc (3×15mL) で抽出した。合わせた有機抽出物をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、減圧下で濃縮した。生成物をヘキサン中 70% EtOAc でトリチュレートし、EtOAc 中 2% EtOH 中で結晶化させ、5- (5- (2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル) -3- (4- (フラン-3-イル) フェニル) -4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)

－5－オキソペンタン酸 22 (41 mg、87%収率) を黄色固体として得た。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.11 (brs, 1H, COOH), 8.30 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, J = 9.06 Hz), 7.82-7.69 (m, 5H), 7.34 (s, 1H), 7.27 (dd, 1H, J = 2.31 および 8.97 Hz), 7.03 (s, 1H), 5.85-5.80 (dt, 1H, J = 4.98 および 11.79 Hz), 4.21-4.14 (m, 2H, 2OCH₂), 4.01 (dd, 1H, J = 12.09 および 18.27 Hz), 3.30 (dd, 1H, J = 4.92 および 17.72 Hz), 2.98-2.78 (m, 2H, CH₂), 2.32 (t, 2H, J = 7.23 および 14.47 Hz, CH₂), 1.89-1.80 (p, 2H, CH₂), 1.49 (t, 3H, J = 6.84 および 13.77 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 174.74, 170.28, 160.81, 154.65, 148.63, 145.05, 140.70, 134.37, 130.61, 129.80, 129.64, 127.76, 126.12, 125.66, 122.55, 120.72, 109.02, 107.09, 64.15, 57.71, 33.43, 33.04, 20.29, 14.88. MS (ESI) m/z = 532.1 [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₂₉H₂₇N₃O₅Cl の計算値 [M+H]⁺ m/z = 532.1639、実測値 532.1638。HPLC 純度: 98.56% (R_t = 5.98 分)。

【0141】

[0199] 化合物 23～25 は、化合物 22 の調製で述べた上記のエステル加水分解合成手順を使用して合成した。各化合物をヘキサン中 70% EtOAc を用いたトリチュレーションにより精製し、EtOAc 中 2% EtOH 中で結晶化させ、所望の化合物を得た。

【0142】

[0200] 5－(5－(2－クロロ－7－エトキシキノリン－3－イル)－3－(4－(フラン－2－イル)フェニル)－4, 5－ジヒドロ－1H－ピラゾール－1－イル)－5－オキソペンタン酸 (23) 黄色固体 (35 mg、75%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.12 (brs, 1H, COOH), 8.25 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.92-7.80 (m, 5H), 7.62-7.59 (m, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.27 (dd, 1H, J = 2.35 および 8.94 Hz), 5.85-5.80 (dt, 1H, J = 4.95 および 11.76 Hz), 4.21-4.14 (m, 2H, 2OCH₂), 4.02 (dd, 1H, J = 12.13 および 18.23 Hz), 2.99-2.79 (m, 2H, CH₂), 2.31 (t, 2H, J = 7.26 および 14.43 Hz, CH₂), 1.88-1.82 (p, 2H, CH₂), 1.39 (t, 3H, J = 6.87 および 13.74 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 531.1 [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₉H₂₆N₃O₅Cl の計算値 [M]⁺ m/z = 531.1561、実測値 531.1564。HPLC 純度: 98.04% (R_t = 5.82 分)。

【0143】

[0201] 5－(5－(2－クロロ－7－エトキシキノリン－3－イル)－3－(4－(イソオキサゾール－4－イル)フェニル)－4, 5－ジヒドロ－1H－ピラゾール－1－イル)－5－オキソペンタン酸 (24) 淡褐色固体 (37 mg、79%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.11 (brs, 1H, COOH), 8.17 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.77 (m, 3H), 7.57 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 7.51 (d, 1H, J = 8.49 Hz), 7.41 (s, 1H), 6.81-6.74 (m, 2H), 5.52-5.47 (dt, 1H, J = 4.53 および 11.31 Hz), 4.10-3.99 (m, 2H, 2OCH₂), 3.78 (dd, 1H, J = 12.24 および 18.18 Hz), 3.13 (dd, 1H, J = 4.74 および 17.91 Hz), 2.93-2.72 (m, 2H, CH₂), 2.31 (t, 2H, J = 7.14 および 14.28 Hz, CH₂), 1.89-1.80 (p, 2H, CH₂), 1.34 (t, 3H, J = 6.87 および 13.83 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 174.76, 170.08, 161.45, 160.49, 154.97, 140.22, 134.10, 132.01, 129.76, 128.82, 127.36, 126.92, 116.99, 113.37, 111.53, 98.61, 89.91, 63.82, 33.46, 33.09, 20.38, 14.97. MS (ESI) m/z = 532.1 [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₈H₂₄N₄O₅Cl の計算値 [M-H]⁻ m/z = 531.1435、実測値 531.1440。HPLC 純度: 96.27% (R_t = 5.49 分)。

【0144】

[0202] 5－(5－(2－クロロ－7－エトキシキノリン－3－イル)－3－(4'－モルホリノー[1, 1'－ビフェニル]－4－イル)－4, 5－ジヒドロ－1H－ピラゾール－1－イル)－5－オキソペンタン酸 (25) 黄色固体 (40 mg、84%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.11 (brs, 1H, COOH), 8.21 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, J

= 9.57 Hz), 7.79-7.60 (m, 4H), 7.46 (d, 1H, $J = 11.76$ Hz), 7.06-7.01 (m, 3H), 6.78-6.75 (m, 2H), 5.85-5.80 (dt, 1H, $J = 4.49$ および11.63 Hz), 4.20-4.15 (m, 2H, $2OCH_2$), 4.05 (dd, 1H, $J = 12.44$ および18.29 Hz), 3.74 (brs, 4H), 3.16 (brs, 5H), 2.88-2.72 (m, 2H, CH_2), 2.31 (t, 2H, $J = 7.11$ および14.34 Hz, CH_2), 1.90-1.80 (p, 2H, CH_2), 1.36 (t, 3H, $J = 6.45$ および13.98 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 174.77, 170.11, 160.82, 160.49, 151.32, 142.10, 133.34, 133.98, 129.82, 127.68, 126.27, 115.64, 112.34, 111.67, 66.47, 48.44, 20.29, 14.88. MS (ESI) $m/z = 626.1$ $[M-H]^-$; HRMS (ESI): $C_{35}H_{34}N_4O_5Cl$ の計算値 $[M-H]^- m/z = 625.2218$ 、実測値625.2215。HPLC純度: 97.63% ($R_t = 6.18$ 分)。

【0145】

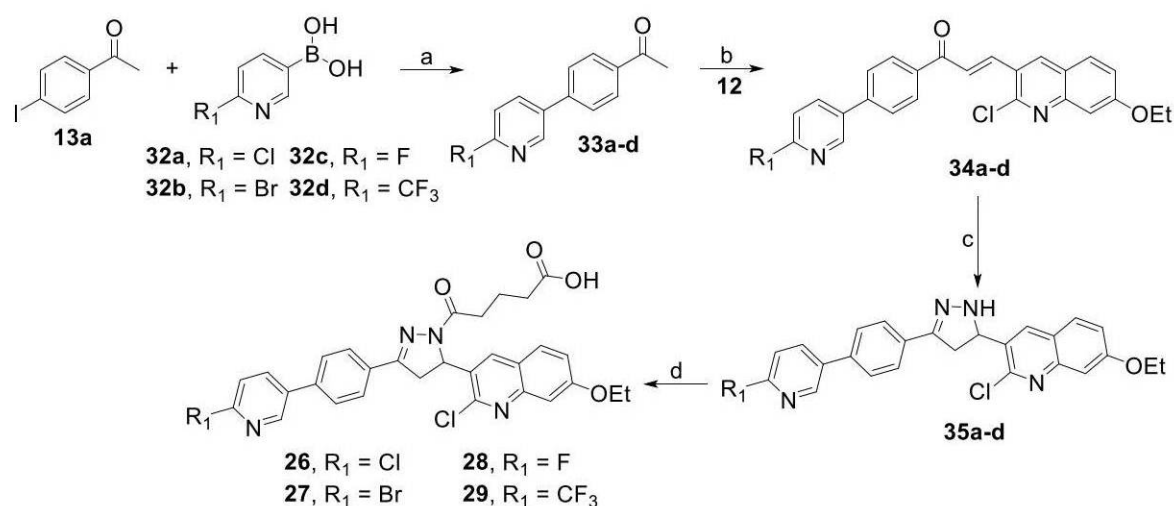
【0203】目的化合物26~29の合成: ステップ1 中間体33a~dの合成:

【0204】

【0146】

【化15】

スキーム3



【0147】

【0205】1-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)エタン-1-オン(33a)の合成 水(4 mL)中の K_2CO_3 (421 mg、3当量)の溶液をトルエン(12 mL)中の4-ヨードアセトフェノン13a(250 mg、1.2当量)および6-クロロ-3-ピリジニルボロン酸32a(192 mg、1.2当量)の混合物に添加した。混合物をアルゴンで5分間脱気した後、 $Pd(PPh_3)_4$ (117 mg、0.1当量)を添加した。反応混合物を90℃で18時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、減圧下で溶媒を除去した。残渣を酢酸エチル(3×15 mL)で抽出し、合わせた有機画分をブラインで洗浄し、無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物を、溶離液としてヘキサン中0~50% EtOAcを使用したBiotage自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、1-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)エタン-1-オン33aを白色固体として得た(197 mg、84%収率)。TLC: ヘキサン中30% EtOAc、 $R_f = 0.47$; UVで可視化。 ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 8.66 (d, 1H, $J = 2.61$ Hz), 8.09 (d, 2H, $J = 8.64$ Hz), 7.91 (dd, 1H, $J = 2.61$ および8.28 Hz), 7.68 (d, 2H, $J = 8.64$ Hz), 7.47 (d, 1H, $J = 8.28$ Hz), 2.67 (s, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 197.47, 151.31, 148.08, 140.97, 137.25, 136.78, 134.43, 129.24, 127.22, 124.45, 26.74. MS (ESI) $m/z = 232.1$ $[M+H]^+$ 。

【0148】

[0206] 中間体 3 3 b ~ d は、適切なボロン酸／エステル (3 2 b ~ d) を使用して、中間体 3 3 a の調製で述べた上記の鈴木カップリング合成手順により合成した。各化合物を、溶離液としてヘキサン中 0 ~ 5 0 % E t O A c を使用した B i o t a g e 自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、所望の化合物を得た。

【0149】

[0207] 1 - (4 - (6 - ブロモピリジン - 3 - イル) フェニル) エタン - 1 - オン (3 3 b) オフホワイトの固体 (2 4 1 m g 、 8 6 % 収率) 。 T L C : ヘキサン中 3 0 % E t O A c 、 $R_f = 0.48$; U V で可視化。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 8.47 (d, 1H), 8.10 (m, 2H), 7.93 (dd, 1H, $J = 2.64$ および 8.32 Hz), 7.69 (d, 2H, $J = 8.58$ Hz), 7.47 (d, 1H, $J = 8.32$ Hz), 2.67 (s, 2H, CH_3) . M S (E S I) $m/z = 276.1$ [M + H] $^+$ 。

10

【0150】

[0208] 1 - (4 - (6 - フルオロピリジン - 3 - イル) フェニル) エタン - 1 - オン (3 3 c) 白色固体 (1 9 6 m g 、 9 0 % 収率) 。 T L C : ヘキサン中 3 0 % E t O A c 、 $R_f = 0.50$; U V で可視化。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 8.49 (s, 1H), 8.10-8.01 (m, 3H), 7.67 (d, 2H, $J = 8.52$ Hz), 7.09 (dd, 1H, $J = 3.03$ および 8.49 Hz), 2.67 (s, 2H, CH_3) ; $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) : δ 197.50, 146.23, 146.03, 141.36, 139.90, 139.79, 136.58, 129.21, 127.20, 110.03, 109.53, 26.73 . M S (E S I) $m/z = 216.1$ [M + H] $^+$ 。

20

【0151】

[0209] 1 - (4 - (6 - (トリフルオロメチル) ピリジン - 3 - イル) フェニル) エタン - 1 - オン (3 3 d) 白色固体 (2 2 9 m g 、 8 5 % 収率) 。 T L C : ヘキサン中 3 0 % E t O A c 、 $R_f = 0.50$; U V で可視化。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 9.00 (s, 1H), 8.14-8.08 (m, 3H), 7.83 (d, 1H, $J = 8.16$ Hz), 7.74 (d, 2H, $J = 8.64$ Hz), 2.68 (s, 2H, CH_3) ; $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) : δ 197.40, 148.53, 140.75, 137.21, 135.80, 129.32, 127.61, 120.58, 26.77 . M S (E S I) $m/z = 266.1$ [M + H] $^+$ 。

【0152】

[0210] ステップ 2 中間体 3 4 a ~ d の合成 : 中間体 3 4 a ~ d は、アルデヒド 1 2 および対応するアセトフェノン (3 3 a ~ d) を使用して、化合物 1 4 a の調製および精製で述べた上記のクライゼン - シュミット縮合合成手順により合成した。

30

【0153】

[0211] (E) - 3 - (2 - クロロ - 7 - エトキシキノリン - 3 - イル) - 1 - (4 - (6 - クロロピリジン - 3 - イル) フェニル) プロパー - 2 - エン - 1 - オン (3 4 a) 黄色固体 (2 0 4 m g 、 5 7 % 収率) 。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) : δ 9.27 (s, 1H), 8.88 (d, 1H, $J = 2.04$ Hz), 8.33 (m, 2H), 8.19 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 8.07-7.97 (m, 4H), 7.69 (d, 1H, $J = 8.91$ Hz), 7.38-7.35 (m, 2H), 4.26-4.20 (q, 2H, OCH_2), 1.41 (t, 3H, $J = 6.90$ および 13.92 Hz, CH_3) . M S (E S I) $m/z = 450.1$ [M + H] $^+$ 。

【0154】

[0212] (E) - 1 - (4 - (6 - ブロモピリジン - 3 - イル) フェニル) - 3 - (2 - クロロ - 7 - エトキシキノリン - 3 - イル) プロパー - 2 - エン - 1 - オン (3 4 b) 褐色固体 (1 9 3 m g 、 4 8 % 収率) 。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) : δ 9.21 (s, 1H), 8.90 (d, 1H, $J = 1.96$ Hz), 8.29 (m, 2H), 8.16 (d, 2H), 8.10 (d, 2H), 7.97 (d, 1H), 7.86 (d, 2H, $J = 8.95$ Hz), 7.40-7.36 (m, 2H), 4.26-4.21 (q, 2H, OCH_2), 1.41 (t, 3H, $J = 6.88$ および 13.92 Hz, CH_3) . M S (E S I) $m/z = 495.1$ [M + H] $^+$ 。

40

【0155】

[0213] (E) - 3 - (2 - クロロ - 7 - エトキシキノリン - 3 - イル) - 1 - (4 - (6 - フルオロピリジン - 3 - イル) フェニル) プロパー - 2 - エン - 1 - オン (3 4 c) 橙色固体 (2 5 3 m g 、 6 8 % 収率) 。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO) : δ 9.23 (s, 1H),

50

8.70 (d, 1H, J = 2.49 Hz), 8.46-8.39 (m, 1H), 8.32 (d, 2H, J = 8.49 Hz), 8.21-8.04 (m, 2H), 7.99-7.93 (m, 3H), 7.37-7.32 (m, 3H), 4.25-4.18 (q, 2H, OCH₂), 1.40 (t, 3H, J = 6.93および13.89 Hz, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 188.46, 162.15, 150.63, 149.92, 146.60, 146.40, 141.35, 141.24, 138.62, 137.80, 137.06, 133.48, 130.41, 129.96, 127.76, 125.17, 124.60, 122.50, 121.43, 110.60, 107.51, 64.46, 14.86. MS (ESI) m/z = 434.1 [M+H]⁺.

【0156】

[0214] (E)-3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-(6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル)フェニル)プロパン-2-エン-1-オン (34d) 黄色固体 (229mg、60%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.22 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.81-7.64 (m, 4H), 7.48 (d, 1H, J = 8.19 Hz), 7.40 (d, 1H, J = 8.22 Hz), 7.29 (s, 2H), 7.15-7.03 (m, 3H), 4.22-4.15 (q, 2H, OCH₂), 1.38 (t, 3H, J = 6.72および13.44 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 484.1 [M+H]⁺.

10

【0157】

[0215] ステップ3 中間体35a~dの合成: 中間体35a~dは、化合物15aの調製および精製で上述した合成手順を使用して合成した。

[0216] 2-クロロ-3-(3-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)-7-エトキシキノリン (35a) 淡黄色固体 (150mg、77%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.78 (d, 1H, J = 2.64 Hz), 8.44 (s, 1H), 8.21-8.17 (dd, 1H, J = 2.67および8.4 Hz), 7.99 (d, 1H, J = 9.03 Hz), 7.77 (s, 4H), 7.62 (d, 1H, J = 8.37 Hz), 7.34 (d, 1H, J = 2.43 Hz), 7.28-7.24 (dd, 1H, J = 2.49および8.94 Hz), 5.24 (t, 1H, J = 10.44および20.85 Hz), 4.22-4.15 (q, 2H, OCH₂), 3.77-3.68 (dd, 1H, J = 11.16および16.65 Hz), 2.99-2.90 (dd, 1H, J = 10.02および16.65 Hz), 1.40 (t, 3H, J = 6.96および13.92 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 464.1 [M+H]⁺.

20

【0158】

[0217] 3-(3-(4-(6-ブロモピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)-2-クロロ-7-エトキシキノリン (35b) 褐色固体 (139mg、73%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.77 (d, 1H, J = 2.25 Hz), 8.42 (s, 1H), 8.13 (d, 1H, J = 8.34 Hz), 8.01 (s, 1H), 7.94-7.85 (m, 4H), 7.77 (d, 1H, J = 8.43 Hz), 7.34 (s, 1H), 7.27-7.24 (dd, 1H, J = 2.19および9.0 Hz), 5.26 (t, 1H, J = 10.42および20.80 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 3.75-3.70 (dd, 1H, J = 11.12および16.48 Hz), 2.95-2.89 (dd, 1H, J = 10および16.60 Hz), 1.42 (t, 3H, J = 6.9および13.77 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 509.1 [M+H]⁺.

30

【0159】

[0218] 2-クロロ-7-エトキシ-3-(3-(4-(6-フルオロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)キノリン (35c) 黄色固体 (198mg、80%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.59 (d, 1H, J = 2.49 Hz), 8.44 (s, 1H), 8.35-8.29 (m, 1H), 7.99 (d, 1H, J = 9.0 Hz), 7.75 (s, 4H), 7.34 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 7.30-7.24 (m, 2H), 5.24 (t, 1H, J = 10.38および20.91 Hz), 4.22-4.15 (q, 2H, OCH₂), 3.77-3.68 (dd, 1H, J = 11.16および16.65 Hz), 2.95-2.89 (dd, 1H, J = 9.99および16.65 Hz), 1.42 (t, 3H, J = 6.96および13.92 Hz, CH₃). MS (ESI) m/z = 448.1 [M+H]⁺.

40

【0160】

[0219] 2-クロロ-7-エトキシ-3-(3-(4-(6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)キノリン (35d) 淡黄色固体 (170mg、77%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 9.13 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.41-8.38 (d, 1H, J = 8.16 Hz), 7.99-7.78 (m, 6

50

H), 7.35 (d, 1H, $J = 2.19$ Hz), 7.28-7.25 (dd, 1H, $J = 2.43$ および8.97 Hz), 5.26 (t, 1H, $J = 10.42$ および20.94 Hz), 4.22-4.15 (q, 2H, OCH₂), 3.78-3.69 (dd, 1H, $J = 11.22$ および16.53 Hz), 2.97-2.92 (dd, 1H, $J = 6.81$ および16.53 Hz), 1.42 (t, 3H, $J = 6.90$ および13.89 Hz, CH₃). MS (ESI) $m/z = 498.1$ [M+H]⁺.

【0161】

[0220]ステップ4 目的化合物26~29の合成：目的化合物26~29を、化合物9の調製および精製で上述した合成手順を使用して合成した。

[0221]5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(26) 白色固体(113mg、70%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 8.81 (d, 1H, $J = 2.58$ Hz), 8.24-8.20 (dd, 1H, $J = 2.64$ および8.4 Hz), 8.0 (s, 1H), 7.94-7.84 (m, 5H), 7.65 (d, 1H, $J = 8.34$ Hz), 7.35 (d, 1H, $J = 2.31$ Hz), 7.27-7.23 (dd, 1H, $J = 2.46$ および8.97 Hz), 5.88-5.82 (dt, 1H, $J = 5.16$ および11.85 Hz), 4.22-4.15 (q, 2H, OCH₂), 4.08-3.97 (dd, 1H, $J = 12.42$ および18.27 Hz), 3.39-3.31 (dd, 1H, $J = 5.4$ および17.91 Hz), 2.99-2.78 (m, 2H, CH₂), 2.32 (t, 2H, $J = 7.32$ および14.52 Hz, CH₂), 1.89-1.79 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および13.89 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.72, 170.42, 160.84, 154.40, 150.17, 148.64, 148.31, 138.23, 137.71, 134.50, 131.48, 130.54, 129.64, 127.99, 127.64, 124.93, 122.55, 120.73, 107.11, 64.16, 57.89, 33.43, 33.07, 20.29, 14.88. MS (ESI) $m/z = 576.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₃₀H₂₅N₄O₄Cl₂の計算値[M+H]⁺ $m/z = 577.1409$ 、実測値577.1412。HPLC純度：98.23% (R_t=5.98分)。

【0162】

[0222]5-(3-(4-(6-ブロモピリジン-3-イル)フェニル)-5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(27) オフホワイトの固体(95mg、65%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 8.77 (d, 1H, $J = 2.28$ Hz), 8.11 (dd, 1H, $J = 2.52$ および8.34 Hz), 8.0 (s, 1H), 7.94-7.82 (m, 5H), 7.77 (d, 1H, $J = 8.38$ Hz), 7.33 (s, 1H), 7.27-7.23 (dd, 1H, $J = 2.13$ および8.91 Hz), 5.87-5.82 (dt, 1H, $J = 5.25$ および11.82 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 4.07-3.97 (dd, 1H, $J = 12.12$ および17.91 Hz), 3.38-3.30 (dd, 1H), 2.98-2.79 (m, 2H, CH₂), 2.33 (t, 2H, $J = 7.29$ および14.49 Hz, CH₂), 1.89-1.80 (p, 2H, CH₂), 1.40 (t, 3H, $J = 6.84$ および13.74 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.32, 170.41, 160.84, 154.39, 148.84, 148.64, 141.26, 137.95, 137.73, 134.77, 131.50, 130.53, 129.63, 129.31, 129.15, 128.66, 127.99, 127.60, 122.55, 120.72, 107.10, 64.16, 57.90, 33.43, 33.08, 20.29, 14.88. MS (ESI) $m/z = 619.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₃₀H₂₅N₄O₄BrClの計算値[M-H]⁻ $m/z = 619.0748$ 、実測値619.0744。HPLC純度：96.08% (R_t=5.77分)。

【0163】

[0223]5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-フルオロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸 白色固体(164mg、73%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 8.62 (d, 1H, $J = 2.43$ Hz), 8.38-8.31 (m, 1H), 8.0 (s, 1H), 7.94-7.82 (m, 5H), 7.34-7.23 (m, 3H), 5.87-5.82 (dt, 1H, $J = 5.25$ および11.88 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 4.07-3.97 (dd, 1H, $J = 12.3$ および18.21 Hz), 3.38-3.30 (dd, 1H, $J = 5.37$ および17.82 Hz), 2.96-2.81 (m, 2H, CH₂), 2.31 (t, 2H, $J = 7.41$ および14.61 Hz, CH₂), 1.90-1.78 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および13.86 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.

72, 170.39, 161.69, 160.84, 154.44, 148.65, 146.12, 145.92, 140.91, 140.80, 137.95, 133.74, 131.16, 130.55, 129.64, 127.96, 127.57, 122.56, 120.73, 110.51, 110.01, 107.10, 64.16, 57.88, 33.43, 33.08, 20.30, 14.88. MS (ESI) $m/z = 559.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₃₀H₂₇N₄O₄FCl の計算値 [M+H]⁺ $m/z = 561.1705$ 、実測値 561.1746。HPLC 純度: 96.08 (R_t = 5.68 分)。

【0164】

[0224] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-5-オキソペンタン酸(29) 白色固体(130mg、71%収率)。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.10 (brs, 1H, COOH), 9.15 (s, 1H), 8.44 (d, 1H, J = 8.16 Hz), 8.02-7.92 (m, 7H), 7.34 (s, 1H), 7.27-7.23 (dd, 1H, J = 2.19 および 8.94 Hz), 5.89-5.83 (dt, 1H, J = 5.19 および 12 Hz), 4.22-4.15 (q, 2H, OCH₂), 4.09-3.99 (dd, 1H, J = 12.72 および 18.36 Hz), 3.40-3.33 (dd, 1H, J = 5.37 および 17.80 Hz), 2.97-2.80 (m, 2H, CH₂), 2.34 (t, 2H, J = 7.2 および 14.31 Hz, CH₂), 1.92-1.80 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, J = 6.84 および 13.71 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.72, 170.46, 160.85, 154.34, 148.74, 148.65, 138.38, 137.56, 136.60, 132.04, 129.65, 128.14, 128.05, 122.56, 121.42, 120.74, 107.11, 64.16, 57.94, 33.43, 33.09, 20.30, 14.88. MS (ESI) $m/z = 611.1$ [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₃₁H₂₇N₄O₄F₃Cl の計算値 [M+H]⁺ $m/z = 611.1673$ 、実測値 611.1678。HPLC 純度: 97.46 (R_t = 6.25 分)。

【0165】

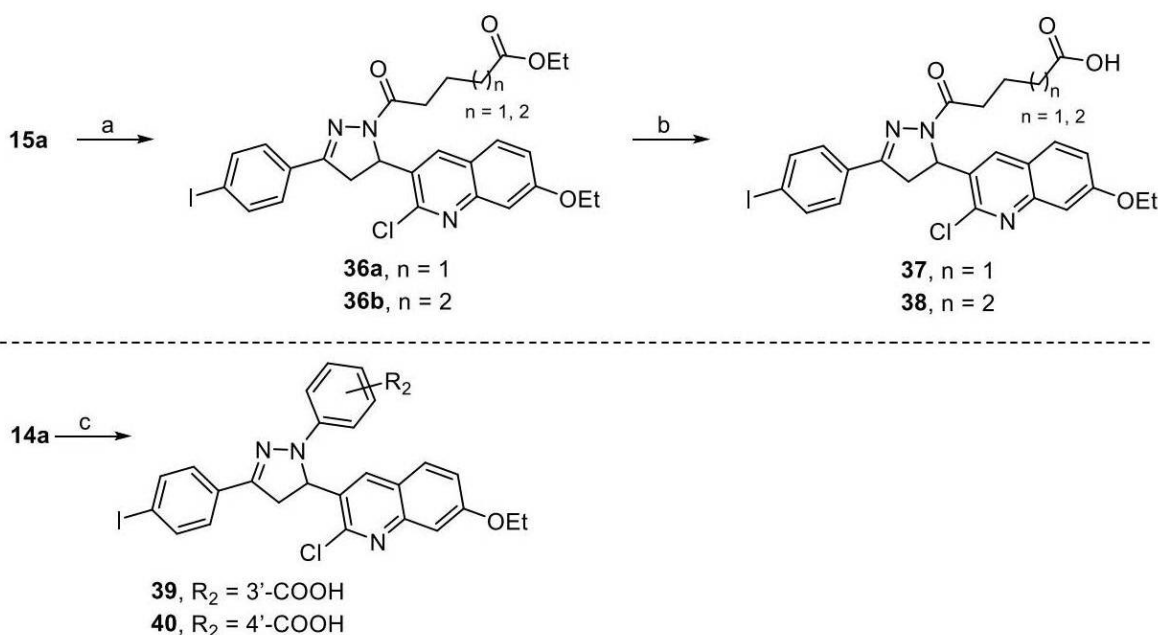
[0225] 目的化合物 37~40 の合成:

[0226]

【0166】

【化16】

スキーム 4



【0167】

[0227] 中間体 36a~b は、対応する塩化アシルを使用して、化合物 30 の調製で述べた上記の合成手順により、化合物 15a から合成した。各化合物を、溶離液としてヘキサン中 0~50% EtOAc を使用した Biota ge 自動フラッシュカラムクロマトグラ

フィーにより精製し、所望の化合物を得た。

【0168】

[0228]エチル6-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-6-オキソヘキサノエート(36a) 白色固体(55mg、84%収率)。TLC:ヘキサン中40%EtOAc、 $R_f=0.49$;UVで可視化。 ^1H NMR(300 MHz, DMSO): δ 7.74-7.69 (t, 3H, $J=8.37$ および17.64 Hz), 7.64 (d, 1H, $J=8.97$ Hz), 7.46 (d, 2H, $J=8.37$ Hz), 7.27 (d, 1H, $J=2.22$ Hz), 7.16-7.12 (dd, 1H, $J=2.22$ および8.91 Hz), 5.97-5.91 (dt, 1H, $J=4.92$ および11.79 Hz), 4.15-4.08 (q, 4H, 2OCH_2), 3.92-3.82 (dd, 1H, $J=11.97$ および17.7 Hz), 3.15-3.07 (dd, 1H, $J=4.98$ および17.82 Hz), 3.00-2.81 (m, 2H, CH_2), 2.37 (t, 2H, $J=6.57$ および13.02 Hz, CH_2), 1.82-1.75 (m, 4H, 2CH_2), 1.48 (t, 3H, $J=6.93$ および13.86 Hz, CH_3), 1.26 (t, 3H, $J=7.14$ および14.25 Hz, CH_3); ^{13}C NMR(75 MHz, DMSO): δ 173.50, 171.26, 160.88, 153.36, 148.95, 148.51, 137.94, 130.51, 129.26, 128.61, 128.10, 122.19, 120.80, 106.83, 96.95, 63.85, 60.31, 57.82, 41.08, 34.10, 33.77, 24.66, 24.35, 14.59, 14.28. MS (ESI) $m/z=634.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

10

【0169】

[0229]エチル7-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-7-オキソヘプタノエート(36b) 白色固体(58mg、86%収率)。TLC:ヘキサン中40%EtOAc、 $R_f=0.48$;UVで可視化。 ^1H NMR(300 MHz, DMSO): δ 7.76 (d, 2H, $J=7.92$ Hz), 7.68-7.60 (m, 2H), 7.47 (d, 2H, $J=7.98$ Hz), 7.28 (d, 1H, $J=2.2$ Hz), 7.18-7.15 (dd, 1H, $J=2.26$ および8.94 Hz), 5.98-5.93 (dt, 1H, $J=4.11$ および11.28 Hz), 4.15-4.09 (q, 4H, 2OCH_2), 3.93-3.83 (dd, 1H, $J=12.15$ および17.64 Hz), 3.15-3.08 (dd, 1H, $J=4.38$ および17.85 Hz), 3.00-2.81 (m, 2H, CH_2), 2.35 (t, 2H, $J=7.17$ および14.4 Hz, CH_2), 1.83-1.69 (m, 4H, 2CH_2), 1.51-1.44 (m, 5H, CH_2 および CH_3), 1.27 (t, 3H, $J=6.93$ および13.89 Hz, CH_3); ^{13}C NMR(75 MHz, DMSO): δ 173.73, 171.57, 160.89, 153.27, 148.96, 148.54, 137.96, 130.54, 129.30, 128.57, 128.10, 122.18, 120.83, 106.86, 96.92, 63.86, 60.25, 57.80, 41.06, 34.19, 33.93, 28.87, 24.71, 24.51, 14.59, 14.28. MS (ESI) $m/z=648.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20

30

【0170】

[0230]化合物37~38は、化合物22の調製で述べた上記のエステル加水分解合成手順を使用して合成した。各化合物をヘキサン中70%EtOAcを用いたトリチュレーションにより精製し、EtOAc中2%EtOH中で結晶化させ、所望の最終化合物を得た。

【0171】

[0231]6-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-6-オキソヘキサン酸(37) 白色固体(35mg、92%収率)。TLC:ヘキサン中75%EtOAc、 $R_f=0.48$;UVで可視化。 ^1H NMR(300 MHz, DMSO): δ 12.05 (brs, 1H, COOH), 7.96 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, $J=9.0$ Hz), 7.84 (d, 2H, $J=8.28$ Hz), 7.58 (d, 2H, $J=8.25$ Hz), 7.33 (d, 1H, $J=1.59$ Hz), 7.25-7.22 (dd, 1H, $J=2.13$ および8.88 Hz), 5.84-5.78 (dt, 1H, $J=5.01$ および11.91 Hz), 4.20-4.14 (q, 2H, OCH_2), 4.01-3.90 (dd, 1H, $J=12.18$ および18.12 Hz), 3.31-3.23 (dd, 1H, $J=5.43$ および18.24 Hz), 2.91-2.70 (m, 2H, CH_2), 2.27 (t, 2H, $J=6.87$ および12.78 Hz, CH_2), 1.62-1.58 (m, 4H, 2CH_2), 1.40 (t, 3H, $J=6.81$ および13.68 Hz, CH_3); ^{13}C NMR(75 MHz, DMSO): δ 174.90, 170.65, 160.82, 154.20, 148.62, 138.05, 130.92, 130.48, 129.65, 129.04, 122.52, 120.70, 107.07, 97.88, 64.15, 57.82, 33.90, 33.58, 24.62, 24.37, 14.88. MS (ESI) $m/z=604.1$ $[\text{M}-\text{H}]^-$; HRMS (ESI): $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_4$ ICLの計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z=606$

40

50

。0657、実測値606.0662。HPLC純度：98.91% ($R_t = 6.46$ 分)。

【0172】

[0232] 7-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-7-オキソヘプタン酸(38) 白色固体(34mg、90%収率)。TLC：ヘキサン中75%EtOAc、 $R_f = 0.47$ ；UVで可視化。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.02 (brs, 1H, COOH), 7.96 (s, 1H), 7.93 (d, 1H, $J = 9.06$ Hz), 7.84 (d, 2H, $J = 8.46$ Hz), 7.58 (d, 2H, $J = 8.43$ Hz), 7.33 (d, 1H, $J = 2.19$ Hz), 7.26-7.22 (dd, 1H, $J = 2.4$ および 8.97 Hz), 5.83-5.78 (dt, 1H, $J = 5.07$ および 11.79 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH_2), 4.01-3.91 (dd, 1H, $J = 12.27$ および 18.27 Hz), 3.31-3.23 (dd, 1H, $J = 5.55$ および 18.36 Hz), 2.90-2.70 (m, 2H, CH_2), 2.22 (t, 2H, $J = 7.2$ および 14.49 Hz, CH_2), 1.65-1.48 (m, 4H, 2CH_2), 1.41-1.33 (m, 5H, CH_2 および CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.95, 170.76, 160.82, 154.16, 148.62, 138.05, 130.94, 130.51, 129.65, 129.02, 122.52, 120.71, 107.07, 97.86, 64.15, 55.39, 34.00, 33.66, 31.17, 28.68, 24.72, 24.51, 14.88. MS (ESI) $m/z = 618.1$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$; HRMS (ESI): $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_4$ ICLの計算値 [$\text{M}+\text{H}$] $^+m/z = 620.0813$ 、実測値620.0809。HPLC純度：97.34% ($R_t = 6.70$ 分)。

【0173】

[0233] 3-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)安息香酸(39) n-ブタノール(8mL)中の3-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-1-(4-ヨードフェニル)プロパー-2-エン-1-オン14a(100mg、1当量)および3'-ヒドラジノ安息香酸(65mg、1当量)の攪拌懸濁液に、酢酸(4mL)を添加した。反応混合物を120℃で20時間加熱した。反応混合物を減圧下で濃縮した。粗固体をEtOH(3×15mL)で洗浄し、EtOAc中2%EtOH中で結晶化させ、化合物39(79mg、62%)を黄色固体として得た。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.86 (brs, 1H, COOH), 7.80 (d, 2H, $J = 7.35$ Hz), 7.64 (s, 1H), 7.55-7.45 (m, 4H), 7.36-7.29 (m, 2H), 7.18-7.12 (m, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.71 (dd, 1H, $J = 8.19$ Hz), 5.54-5.48 (dt, 1H, $J = 5.12$ および 11.82 Hz), 4.04-3.99 (q, 2H, OCH_2), 3.95-3.85 (dd, 1H, $J = 12.78$ および 18.64 Hz), 3.17-3.09 (dd, 1H, $J = 4.89$ および 18.06 Hz), 1.34 (t, 3H, $J = 6.3$ および 12.51 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ 170.91, 167.92, 161.67, 150.24, 148.66, 144.35, 140.31, 134.95, 132.07, 129.95, 129.79, 128.63, 120.04, 113.84, 112.57, 111.62, 98.70, 95.70, 63.85, 58.69, 14.39. MS (ESI) $m/z = 596.1$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$; HRMS (ESI): $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$ ICLの計算値 [$\text{M}-\text{H}$] $^-m/z = 596.0238$ 、実測値596.0243。HPLC純度：96.12% ($R_t = 6.82$ 分)。

【0174】

[0234] 4-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-ヨードフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)安息香酸(40) 化合物40は、14a(100mg、1当量)および4'-ヒドラジノ安息香酸(65mg、1当量)を出発物質として使用して、上述の手順により調製し、精製した。黄色固体、(74mg、58%収率)。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 12.32 (brs, 1H, COOH), 7.80-7.76 (m, 4H), 7.57 (d, 2H, $J = 8.25$ Hz), 7.48 (d, 1H, $J = 8.76$ Hz), 7.40 (s, 1H), 7.05 (d, 2H, $J = 8.58$ Hz), 6.79 (s, 1H), 6.71 (dd, 1H, $J = 1.62$ および 8.64 Hz), 5.60-5.54 (dt, 1H, $J = 5.01$ および 12.03 Hz), 4.05-3.97 (q, 2H, OCH_2), 3.96-3.85 (dd, 1H, $J = 12.72$ および 17.61 Hz), 3.21-3.14 (dd, 1H, $J = 5.16$ および 17.79 Hz), 1.34 (t, 3H, $J = 6.69$ および 13.83 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ 170.89, 167.67, 161.61, 150.25, 148.66, 144.35, 140.31, 137.92, 134

.89, 131.84, 129.97, 128.42, 128.28, 120.60, 117.11, 113.32, 112.55, 111.62, 98.68, 96.18, 63.95, 58.35, 14.92. MS (ESI) $m/z = 596.1$ [M-H]⁻; HRMS (ESI): C₂₇H₂₀N₃O₃ICl の計算値 [M-H]⁻ $m/z = 596.0238$ 、実測値 596.0236。HPLC 純度: 96.55% (R_t = 6.84 分)。

【0175】

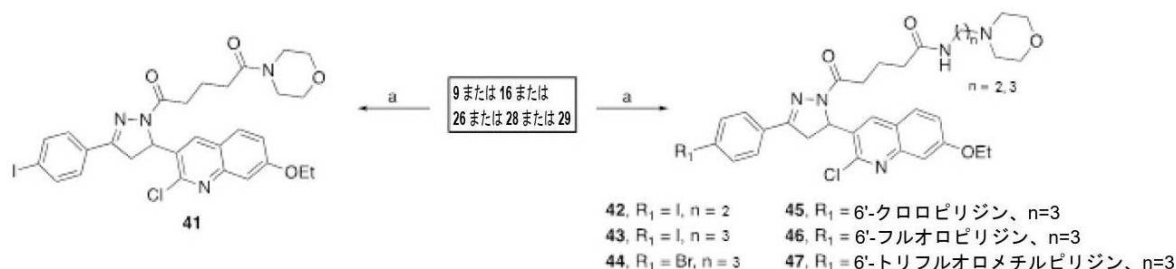
【0235】目的化合物 41 ~ 47 の合成

【0236】

【0176】

【化17】

スキーム 5



【0177】

【0237】1 - (5 - (2 - クロロ - 7 - エトキシキノリン - 3 - イル) - 3 - (4 - ヨードフェニル) - 4, 5 - ジヒドロ - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) - 5 - モルホリノペンタン - 1, 5 - ジオン (41) 乾燥 DMF (4 mL) 中の化合物 9 (50 mg、1 当量) の溶液に、EDCI・HCl (24 mg、1.5 当量)、HOBt (17 mg、1.5 当量)、DIPEA (22 μL、1.5 当量) を添加し、混合物をアルゴン雰囲気下室温で 30 分間撹拌した。反応混合物にモルホリン (9 μL、1.1 当量) および DIPEA (22 μL、1.5 当量) を添加した。反応混合物を室温で 18 時間撹拌した。反応混合物を水に注ぎ、DCM (3 × 10 mL) で抽出した。合わせた有機抽出物を飽和 NaHCO₃ (2 × 10 mL)、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物を、溶離液として DCM 中 1 ~ 2 % MeOH を使用した Biota ge 自動フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、1 - (5 - (2 - クロロ - 7 - エトキシキノリン - 3 - イル) - 3 - (4 - ヨードフェニル) - 4, 5 - ジヒドロ - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) - 5 - モルホリノペンタン - 1, 5 - ジオン 41 (44 mg、78 % 収率) を白色固体として得た。TLC: DCM 中 1 % MeOH、R_f = 0.38; UV で可視化。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.74 (t, 3H, J = 8.37 および 17.58 Hz), 7.65 (d, 1H, J = 8.97 Hz), 7.47 (d, 2H, J = 8.37 Hz), 7.29 (d, 1H, J = 1.74 Hz), 7.18-7.15 (dd, 1H, J = 2.25 および 8.91 Hz), 5.98-5.92 (dt, 1H, J = 4.8 および 11.76 Hz), 4.18-4.08 (q, 2H, OCH₂), 3.93-3.83 (dd, 1H, J = 11.97 および 17.82 Hz), 3.61 (brs, 4H), 3.15-2.89 (m, 3H, CH および CH₂), 2.52-2.38 (m, 2H, CH₂), 2.27 (brs, 4H), 2.13-2.04 (p, 2H, CH₂), 1.48 (t, 3H, J = 6.9 および 13.86 Hz, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 171.26, 171.07, 160.95, 153.46, 149.00, 148.51, 137.97, 130.44, 128.59, 128.14, 122.19, 120.89, 106.85, 97.02, 66.60, 63.89, 57.84, 53.61, 36.18, 33.36, 32.54, 21.08, 14.58. MS (ESI) $m/z = 661.1$ [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₂₉H₃₁N₄O₄ICl の計算値 [M+H]⁺ $m/z = 661.1079$ 、実測値 661.1076。HPLC 純度: 95.37% (R_t = 4.09 分)。

【0178】

【0238】化合物 42 ~ 47 は、適切な出発物質を使用して、アミド 41 の調製で述べた上記の合成手順により合成した。各化合物を EtOAc 中の 1 ~ 2 % MeOH の混合物でト

10

20

30

40

50

リチュレート（2～3回）して、所望の化合物を得た。

【0179】

[0239] 5-（5-（2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル）-3-（4-ヨードフェニル）-4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル）-N-（2-モルホリノエチル）-5-オキソペンタンアミド（42） 白色固体（44 mg、74%収率）。TLC：DCM中10% MeOH、 $R_f = 0.42$ ；UVで可視化。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 7.98 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, $J = 9.03$ Hz), 7.85 (d, 2H, $J = 8.43$ Hz), 7.77 (t, 1H, $J = 5.49$ および 11.13 Hz), 7.57 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.34 (d, 1H, $J = 2.31$ Hz), 7.26-7.22 (dd, 1H, $J = 2.4$ および 8.97 Hz), 5.84-5.78 (dt, 1H, $J = 5.13$ および 11.88 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH_2), 4.01 (dd, 1H, $J = 12.03$ および 18.00 Hz), 3.54 (t, 4H, $J = 4.5$ および 9.12 Hz), 3.29 (dd, 1H, $J = 5.91$ および 18.63 Hz), 3.18-3.11 (q, 2H, CH_2), 2.89-2.72 (m, 2H, CH_2), 2.33-2.27 (m, 6H), 2.16-2.11 (t, 2H, $J = 7.26$ および 14.43 Hz, CH_2), 1.86-1.77 (p, 2H, CH_2), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および 13.89 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ 172.10, 170.54, 160.82, 154.20, 148.63, 138.05, 130.93, 130.47, 129.67, 129.01, 122.54, 120.70, 107.08, 97.88, 66.60, 64.15, 57.99, 53.71, 36.20, 35.12, 33.16, 21.07, 14.88. MS (ESI) $m/z = 704.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (ESI): $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_4\text{ICl}$ の計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z = 704.1501$ 、実測値 704.1504。HPLC 純度: 98.92% ($R_t = 4.16$ 分)。

10

【0180】

[0240] 5-（5-（2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル）-3-（4-ヨードフェニル）-4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル）-N-（3-モルホリノプロピル）-5-オキソペンタンアミド（43） 白色固体（46 mg、76%収率）。TLC：DCM中10% MeOH、 $R_f = 0.37$ ；UVで可視化。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 7.98 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, $J = 9.09$ Hz), 7.85 (d, 2H, $J = 8.46$ Hz), 7.78 (t, 1H), 7.57 (d, 2H, $J = 8.49$ Hz), 7.34 (d, 1H, $J = 2.34$ Hz), 7.26-7.23 (dd, 1H, $J = 2.43$ および 8.97 Hz), 5.84-5.78 (dt, 1H, $J = 5.16$ および 11.97 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH_2), 4.01 (dd, 1H, $J = 12.42$ および 18.36 Hz), 3.53 (t, 4H, $J = 4.47$ および 9.09 Hz), 3.29 (dd, 1H, $J = 5.34$ および 18.15 Hz), 3.07-3.01 (q, 2H, CH_2), 2.91-2.71 (m, 2H, CH_2), 2.27 (brs, 4H), 2.27-2.19 (m, 2H), 2.15-2.10 (t, 2H, $J = 7.29$ および 14.49 Hz, CH_2), 1.87-1.77 (p, 2H, CH_2), 1.56-1.49 (p, 2H, CH_2), 1.41 (t, 3H, $J = 6.93$ および 13.89 Hz, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO): δ 172.01, 170.52, 160.82, 154.18, 148.63, 138.05, 135.34, 130.92, 130.45, 129.66, 128.99, 128.20, 122.54, 121.18, 120.69, 107.08, 97.87, 66.62, 64.15, 57.85, 56.35, 53.77, 37.26, 35.15, 33.20, 26.57, 21.07, 14.87. MS (ESI) $m/z = 718.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (ESI): $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{O}_4\text{ICl}$ の計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z = 718.1657$ 、実測値 718.1651。HPLC 純度: 97.24% ($R_t = 4.28$ 分)。

20

30

【0181】

[0241] 5-（3-（4-ブロモフェニル）-5-（2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル）-4, 5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル）-N-（3-モルホリノプロピル）-5-オキソペンタンアミド（44） オフホワイトの固体（49 mg、80%収率）。TLC：DCM中10% MeOH、 $R_f = 0.39$ ；UVで可視化。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO): δ 7.99 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, $J = 9.09$ Hz), 7.83 (t, 1H, $J = 5.16$ および 9.9 Hz), 7.74-7.65 (m, 4H), 7.34 (d, 1H, $J = 2.34$ Hz), 7.27-7.23 (dd, 1H, $J = 2.49$ および 8.97 Hz), 5.85-5.79 (dt, 1H, $J = 5.25$ および 12.06 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH_2), 4.02 (dd, 1H, $J = 12.33$ および 18.33 Hz), 3.51 (t, 4H, $J = 4.17$ および 9.04 Hz), 3.30 (dd, 1H, $J = 5.55$ および 18.37 Hz), 3.08-3.01 (q, 2H, CH_2), 2.91-2.72 (m, 2H, CH_2), 2.27 (brs, 4H), 2.26-2.20 (m, 2H), 2.16-2.11 (t, 2H, $J = 7.41$ および 14.58 Hz, CH_2), 1.87-1.77 (p, 2H, CH_2), 1.56-1.49 (p, 2H, C

40

50

H₂), 1.41 (t, 3H, J = 6.96および13.92 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 172.03, 170.54, 160.83, 153.99, 148.64, 132.23, 130.67, 130.46, 129.67, 129.13, 124.24, 122.55, 120.70, 107.09, 66.61, 64.15, 57.91, 56.33, 53.76, 37.24, 35.15, 33.22, 26.58, 21.07, 14.87. MS (ESI) m/z = 670.1 [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₃₂H₃₈N₅O₄BrClの計算値 [M+H]⁺m/z = 670.1796、実測値670.1793。HPLC純度: 96.61% (R_t = 3.93分)。

【0182】

[0242] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-クロロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド (45) 淡黄色固体 (49mg、81%収率)。TLC: DCM中10%MeOH、R_f = 0.40; UVで可視化。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.80 (s, 1H), 8.23 (d, 1H, J = 6.78 Hz), 8.01 (s, 1H), 7.95-7.81 (m, 6H), 7.65 (d, 1H, J = 8.22 Hz), 7.34 (s, 1H), 7.26 (d, 1H, J = 8.16 Hz), 5.87-5.83 (dt, 1H, J = 5.30および12.16 Hz), 4.20-4.15 (q, 2H, OCH₂), 4.07 (dd, 1H, J = 12.87および17.82 Hz), 3.51 (brs, 4H), 3.08-3.01 (q, 2H, CH₂), 2.90-2.72 (m, 2H, CH₂), 2.29 (brs, 4H), 2.27-2.22 (m, 2H), 2.16-2.11 (t, 2H, J = 7.35および14.24 Hz, CH₂), 1.88-1.78 (p, 2H, CH₂), 1.57-1.50 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, J = 6.51および12.57 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.65, 172.16, 172.08, 170.58, 160.83, 160.41, 154.31, 153.81, 150.51, 150.18, 148.65, 148.31, 140.74, 138.22, 137.70, 135.58, 134.51, 131.57, 129.49, 127.96, 127.64, 124.94, 124.43, 123.21, 120.90, 107.71, 66.50, 64.03, 57.91, 53.64, 36.09, 35.17, 35.07, 33.22, 21.12, 14.91. MS (ESI) m/z = 703.1 [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₃₇H₄₁N₆O₄Cl₂の計算値 [M+H]⁺m/z = 703.2566、実測値703.2699。HPLC純度: 95.36% (R_t = 4.27分)。

【0183】

[0243] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-フルオロピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド (46) 白色固体 (47mg、77%収率)。TLC: DCM中10%MeOH、R_f = 0.43; UVで可視化。¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.62 (d, 1H, J = 2.28 Hz), 8.38-8.31 (m, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.95-7.80 (m, 6H), 7.34-7.32 (m, 1H), 7.30-7.23 (m, 2H), 5.87-5.81 (dt, 1H, J = 5.04および11.7 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH₂), 4.07 (dd, 1H, J = 12.15および18.15 Hz), 3.52 (t, 4H, J = 4.32および8.76 Hz), 3.36 (dd, 1H, J = 5.37および17.88 Hz), 3.09-3.02 (q, 2H, CH₂), 2.92-2.80 (m, 2H, CH₂), 2.28 (brs, 4H), 2.27-2.21 (m, 2H), 2.17-2.13 (t, 2H, J = 7.32および14.46 Hz, CH₂), 1.89-1.82 (p, 2H, CH₂), 1.57-1.50 (p, 2H, CH₂), 1.41 (t, 3H, J = 6.9および13.83 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 172.04, 170.53, 160.83, 154.35, 148.65, 146.11, 145.91, 140.89, 140.78, 137.94, 131.17, 130.56, 129.68, 127.93, 127.55, 122.57, 120.70, 110.51, 110.01, 107.09, 66.60, 64.15, 57.86, 56.34, 53.75, 37.26, 35.20, 33.28, 26.56, 21.12, 14.87. MS (ESI) m/z = 687.1 [M+H]⁺; HRMS (ESI): C₃₇H₄₁N₆O₄ClFの計算値 [M+H]⁺m/z = 687.2862、実測値687.2859。HPLC純度: 97.05% (R_t = 4.06分)。

【0184】

[0244] 5-(5-(2-クロロ-7-エトキシキノリン-3-イル)-3-(4-(6-(トリフルオロメチル)ピリジン-3-イル)フェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-1-イル)-N-(3-モルホリノプロピル)-5-オキソペンタンアミド (47) オフホワイトの固体 (45mg、75%収率)。TLC: DCM中10%Me

OH、 $R_f = 0.37$ ；UVで可視化。 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO): δ 9.15 (s, 1H), 8.44 (d, 1H, $J = 8.01$ Hz), 8.02-7.92 (m, 7H), 7.86 (t, 2H, $J = 4.89$ および10.05 Hz), 7.34 (d, 1H, $J = 1.74$ Hz), 7.27-7.23 (dd, 1H, $J = 2.16$ および8.91 Hz), 5.88-5.83 (dt, 1H, $J = 5.07$ および11.85 Hz), 4.21-4.14 (q, 2H, OCH_2), 4.08 (dd, 1H, $J = 12.06$ および18.06 Hz), 3.53 (t, 4H, $J = 4.02$ および8.22 Hz), 3.29 (m, 1H), 3.09-3.03 (q, 2H, CH_2), 2.93-2.78 (m, 2H, CH_2), 2.31 (brs, 4H), 2.27-2.23 (m, 2H), 2.18-2.13 (t, 2H, $J = 7.2$ および14.37 Hz, CH_2), 1.89-1.82 (p, 2H, CH_2), 1.58-1.49 (p, 2H, CH_2), 1.41 (t, 3H, $J = 6.87$ および13.8 Hz, CH_3); MS (ESI) $m/z = 737.1$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; HRMS (ESI): $\text{C}_{37}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_4\text{ClF}$ の計算値 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ $m/z = 737.2830$ 、実測値737.2835。HPLC純度: 95.12% ($R_t = 4.55$ 分)。

10

【0185】

[0245]完全長ヒトRPAおよびRPA70サブユニットのDBD-A/Bコンストラクトの精製。

[0246]完全長のヘテロ三量体ヒトRPA (f1-RPA) およびDBD-A/Bコンストラクトは、以前に記載されたプロトコルに従って発現および精製した。DBD-A/BコンストラクトはHis6-RPA₁₈₁₋₄₂₂融合タンパク質として発現させた。対数増殖中の大腸菌 (*E. coli*) BL21 (DE3) 細胞を0.5 mMのIPTGを用いて37°Cで3時間誘導した。20 mMトリス pH 7.5、500 mMのNaCl、10 mMのβ-メルカプトエタノールを含み、25 μg/mLリゾチーム、1 μg/mLロイペプチン、1 μg/mLペプスタチンおよび0.5 mMのPMSFを補充した緩衝液中で細胞を超音波処理により溶解させた。ライセートを、同じ緩衝液で平衡化した20 mLのホスホセルロースカラムに適用し、フロースルー物質を回収して、5 mMイミダゾールとし、2 mLのNi-NTAカラムにロードした。カラムを洗浄し、50 mM~500 mMのイミダゾールのグラジエントでタンパク質を溶出させた。画分はEMSAおよびSDS-PAGEにより評価し、DBD-A/Bを含む画分をプールし、50 mMのHEPES pH 7.0、500 mMのNaCl、および1 mMのDTTを含む緩衝液に対して透析し、-80°Cで保存した。

20

【0186】

[0247]電気泳動移動度シフトアッセイ (EMSA)。

30

[0248]EMSAは、以前に記載された手順に以下の修正を加えたものを使用して行った。EMSA反応 (20 μL) は、20 mMのHEPES (pH 7.8)、1 mMのDTT、0.001% NP-40、50 mMのNaClを含む緩衝液中で、50 nMのf1-RPAおよび2.5 nMの5' $\text{[}^{32}\text{P]}$ -標識34塩基DNAを用いて実施した。化学化合物はDMSOに懸濁し、反応混合物中のDMSO濃度は2%または5%未満で一定に保った。RPAは、DNAを添加する前に、反応緩衝液中で阻害剤またはDMSO対照と30分間インキュベートした。反応物を室温で5分間インキュベートし、生成物を6%ネイティブポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した。次に結合画分および非結合画分をImageQuantソフトウェア (Molecular Dynamics, CA) を使用したPhosphorImager (商標) での分析により定量し、Sigmplo

40

【0187】

[0249]精製した完全長ヘテロ三量体ヒトRPAタンパク質を使用して、ss-DNA基質への直接結合を測定する電気泳動移動度シフトアッセイ (EMSA) で、一連のアナログをスクリーニングした。EMSAデータの定量化、および新たに合成されたアナログのIC₅₀値を測定するための追加の濃度依存性分析により、構造活性相関に関する潜在的な知見が得られた (表1および2)。化合物9 (IC₅₀ = 15.30 ± 1.42 μM) のヨード基をヒドロキシル基またはニトロ基で置き換えると、RPA阻害活性は低下し、

50

一方、アミンに変更すると、効力が7倍増加した ($IC_{50} = 2.34 \pm 0.22 \mu M$)。アクリレートを含む化合物20は、化合物9と比較して2倍の活性の増加を示し、化合物21のホルホルンカルボニル基の含有は、RPA阻害を減少させた。3'-フラン、2'-フラン、および4'-イソキサゾールなどのヘテロ芳香族を環Aに導入すると、効力が増加し、環Aの2'-置換フラン (化合物23、 $IC_{50} = 2.10 \pm 0.48 \mu M$) は、3'-置換フランを含む化合物22 ($IC_{50} = 6.77 \pm 0.64 \mu M$) と比較しておよそ3.2倍の活性の増加を示した。窒素などの他のヘテロ原子をイソキサゾールの形態でフラン環に挿入すると、さらに強力なRPA阻害活性を示した。(化合物24、 $IC_{50} = 1.71 \pm 0.28 \mu M$)。ハロゲン化ピリジニル化合物 (26~29) は、親化合物と比較してRPA阻害活性が増加し、4~15倍の効力の増加を示した。クロロピリジニル化合物26およびブロモピリジニル化合物27は、EMSAアッセイにおいて、26は $1.61 \pm 0.04 \mu M$ 、および27は $IC_{50} = 1.01 \pm 0.60 \mu M$ のRPA阻害活性を示した。ピリジニル化合物28~29には、フッ素およびトリフルオロメチル置換基が含まれた。しかし、両化合物は、クロロおよびブロモピリジニルを含む化合物26~27と比較して、やや弱い活性を示した。

【0188】

[0250] オキソペンタン酸エチルエステル (化合物30) に変換すると、RPA阻害活性が減少した (表2)。化合物39~40は、2' または3'-置換ベンゾイルカルボン酸 (*benzoylic carboxylic acid*) を有するオキソペンタン酸を含んだ。化合物37および38は、脂肪族側鎖の長さが、化合物37および38のそれぞれにおいて1および2炭素分増加していた。化合物41は、アルキルカルボン酸側鎖にN-ホルホルノ基を有した。

【0189】

[0251]

【0190】

10

20

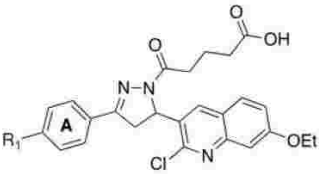
30

40

50

【表 2】

表 1 : IC₅₀ 値



化合物	R1	RPA IC50 (μM) ^{b,c}
9	I	15.30 ± 1.42
16	Br	19.24 ± 4.17
17	OH	>25
18	NO2	>25
19	NH2	2.34 ± 0.22
20		8.98 ± 0.98
21		>25
22		6.77 ± 0.64
23		2.10 ± 0.48
24		1.71 ± 0.28
25		3.14 ± 0.23
26		1.61 ± 0.04
27		1.01 ± 0.60
28		2.66 ± 0.60
29		4.35 ± 0.42

EMSAを使用して決定し、完全長ヒトRPAのDNAへの結合を評価した。^b 25 μMで80%を超える阻害を示した化合物を、滴定実験で分析した。^c IC₅₀値は、3連の独立した実験の最小値の平均であり、データは平均±SDで表示される。

【0191】
【0252】
【0192】

10

20

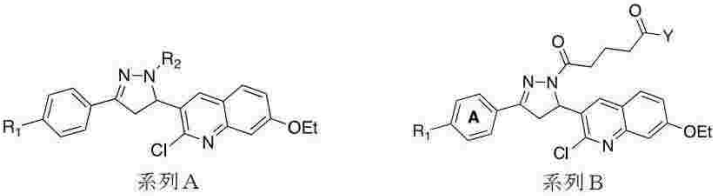
30

40

50

【表 3】

表 2 I C₅₀ 値



化合物	系列	R ₁	R ₂	Y	RPA IC ₅₀ (μM) ^{b,c}
30	A	I			>25
37	A	I			6.86 ± 0.23
38	A	I			9.93 ± 1.23
39	A	I			>25
40	A	I			>25
41	B	I			6.63 ± 0.48
42	B	I			10.52 ± 0.68
43	B	I			4.99 ± 0.28
44	B	Br			10.05 ± 1.46
45	B				4.06 ± 0.56
46	B				2.29 ± 0.31
47	B				5.85 ± 0.39

EMSAを使用して決定し、完全長ヒトRPAのDNAへの結合を評価した。^b 25 μMで80%を超える阻害を示した化合物を、滴定実験で分析した。^c IC₅₀値は、3連の独立した実験の最小値の平均であり、データは平均±SDで表示される。

【0193】

[0253] RPA 70サブユニットの中央領域にはDNA結合ドメインAおよびB（DBD-AおよびDBD-B）のOBフォールドがあり、RPAは主にこれらのDBD-AおよびBドメイン（アミノ酸181～422）を介して12塩基ssDNAと結合し、RPA-ssDNA相互作用に大いに貢献し得る。これらのドメインは、疎水性および塩基性DNA結合アミノ酸残基を有するコンパクトなモジュラードメインであり、化合物のRPA 70サブユニットへの結合に影響を与える可能性が大きい。RPA DBD-A/Bコンストラクトは、Ni-アフィニティークロマトグラフィーにより精製した。精製したDBD-A/Bコンストラクトに対して、EMSAを使用して化合物23～27の活性を評価

した。表3は、化合物23～27によるRPA DBD-A/Bの阻害を示し、我々のRPA阻害剤の阻害効果の大部分は、DBA-A、DBD-B O B-フォールドおよび潜在的にドメイン間領域との相互作用を介して現れることが示唆される。次に、DBD-A/Bコンストラクトと完全長ヘテロ三量体RPAに対する化合物23～27の阻害活性を比較したところ、すべての化合物がDBD-A/Bと比較して完全長RPAに対して向上した効力を示した。化合物23～27は完全長RPAに対する効力を向上させたことから、これらの化合物はRPA内のDBD-AおよびB以外の部位と相互作用し、相互作用を安定化させ、我々の化合物全体の効力に寄与している可能性が示唆された。

【0194】

[0254]

【0195】

【表4】

表3

化合物	RPA _{A/B} IC ₅₀ (μM) ^b
23	3.30 ± 0.07
24	4.03 ± 0.28
25	16.43 ± 2.09
26	11.73 ± 0.30
27	3.32 ± 0.016

^a EMSAを使用して決定し、RPA DBD-A/BコンストラクトのDNAへの結合を評価した。^b IC₅₀値は、3連の独立した実験の最小値の平均であり、データは平均 ± SDで表示される。

【0196】

[0255] 蛍光インターカレーターディスプレイメント (FID) アッセイ

[0256] 化合物のDNAとの相互作用の分析は、先に述べたように、DNAへのSYBR-Greenインターカレーションの阻害により決定した。簡潔に述べると、反応は、超音波処理したサケ精子DNA (8.29 ng/μL)、SYBR-Green、および示された濃度のRPA阻害剤を含む25 mMのMOPS (pH 6.5) で実施した。反応は黒色の96ウェルプレートで行った。陽性対照として、非共有結合性DNA結合化学療法薬として知られるドキソルビシンを使用した。蛍光はBioTek (登録商標) Synergy (商標) H1ハイブリッドマルチモードマイクロプレートリーダー (H1 hybrid multi-mode microplate reader) を使用して、励起波長485 nm、発光波長528 nm、読取り高さ7 mmで測定した。データはBioTek (登録商標) Gen5 (商標) リーダーソフトウェアを使用して収集した。反応は最大5分間インキュベートしてから測定値を収集した。

【0197】

[0257] RPA阻害のメカニズムとしてDNAインターカレーションの潜在的な役割を調べるために、化合物19、23、26、27、43および45を、陽性対照としてのドキソルビシン (Dox) とともにFIDアッセイを使用して分析した。図1Aに示した結果は、予想されたように、陽性対照であるドキソルビシンは、非共有結合性DNA結合化学療法薬として知られるが、濃度依存的に蛍光が減少することを実証するものである。RPA阻害剤 (19、23、26、27、43、および45) ではいずれも有意なDNA結合活性は観察されず、これらがDNAに高い親和性を示さないことが実証された。さらに、9つの誘導体の標的タンパク質への直接結合を、示差走査蛍光定量法 (DSF) アッセイ

を使用して評価した。このアッセイは、蛍光色素の結合による温度上昇の際のタンパク質の融解プロファイルの評価するものである。小分子が標的タンパク質に直接相互作用することで、特定のタンパク質およびその相互作用に応じて、標的の融解温度 (T_m) を上昇させたり、低下させたりすることができる。完全長ヘテロ三量体 RPA の変性プロファイルはかなり複雑であることが実証されており、ABドメインへの結合を実証する我々のデータを考慮し、我々は DNA RPA70 ABドメインコンストラクトで分析を実施した。RPA 相互作用分子として知られ、そのタンパク質の精製でしばしば使われるヘパリン硫酸を、対照として使用した。このデータは、ヘパリンが 1.2°C の T_m の減少を誘導することを実証する (データは示されていない)。ビヒクル対照は緩衝液のみと比較して変化がなかったが、化合物 43 は T_m を 0.6°C 上昇させた (図 1 B)。

10

【0198】

[0258] 示差走査蛍光測定 (DSF)

[0259] 化合物 43 の RPA-AB コンストラクトとの相互作用は、GloMelt (商標) 色素 (BioTum) を使用した示差走査蛍光測定により実施した。簡潔に述べると、 20mM の HEPES $\text{pH} 7.8$ 、 0.001% NP-40、 50mM の NaCl および 1mM の DTT を含む $20\mu\text{L}$ の容量で、示された濃度の化合物を $5\mu\text{g}$ の RPA-AB とインキュベートした。反応は ABI 7500 リアルタイム PCR 装置で行い、 $25^\circ\text{C} \sim 99^\circ\text{C}$ まで 2% の傾斜で温度を上げ (~ 40 分)、レポーターの蛍光を SYBR (登録商標) Green の設定で測定した。ROX 色素はパッシブリファレンスとして含まれた。データを TSA-CRAFT ソフトウェアにアップロードし、Lee らの記述に従って T_m を算出した。RPA の AB ボックスとの結合の陽性対照としてヘパリンを用いた。

20

【0199】

[0260] 分子ドッキング

[0261] 我々は、Protein Data Bank (PDB) から取得し、Protein Preparation Wizard を使用して調製した RPA70₁₈₁₋₄₂₂ X 線結晶構造および PDB コード 1FGU を使用して、RPA70 の中央 DNA 結合ドメイン A および B に主に着目した分子ドッキング研究を実施した。このステップでは、力場の原子タイプおよび結合順が割り当てられ、欠損原子が追加され、互変異性体 / イオン化状態が割り当てられ、水の配向がサンプリングされ、水素結合ネットワークを最適化するために Asn、Gln、His 残基が反転され、制約エネルギーの最小化が実施される。RPA 阻害剤は ChemDraw で MDL モルファイル (MDL molfiles) として描き、OPLS3 力場による最小化を含む LigPrep を使用してドッキング用に準備した。すべてのキラル中心は、文献に明記されているように保持された。1 化合物につき 1 つの低エネルギー環状コンフォメーションが生成された。イオン化状態および互変異性形態は、Epik を用いて $\text{pH} 7.0 \pm 2.0$ で列挙した。RPA 阻害剤は、Glide SP プロトコルを使用して、デフォルト設定でドメイン B 結合残基に柔軟にドッキングさせた。ドッキングポーズは、視覚的な取調べおよび算出されたドッキングスコアに基づいて評価した。ドッキング分析により明らかになった各化合物との近接性から、潜在的なアミノ酸相互作用を決定した。RPA の低分子との相互作用は、PyMol を使用して、漫画、表面、および化合物の相互作用表示で表示した。本研究におけるすべての分子モデリングは、Linux 環境で動作する Maestro ソフトウェア、バージョン 11 (Schrodinger) を使用して実施した。

30

40

【0200】

[0262] 主要な相互作用を明らかにし、SAR を理解するために、RPA 阻害剤の構造を、RPA70₁₈₁₋₄₂₂ X 線結晶構造 (PDB コード: 1FGU) を使用することにより、RPA70 の中央 DNA 結合ドメイン A および B に主に着目して柔軟にドッキングした。化合物 8 および 9 を用いた分子ドッキング研究により、ドメイン B およびドメイン間 (ID) 領域に高い親和性があることが明らかになり、一方でドメイン A には適度な親和性が観察された。ドメイン B の活性部位に対する化合物は、ドッキングプログラムのパラメータを最適化し、また、選択された活性部位を確認するために使用した (図 2 A ~ D 参

50

照)。化合物 9 の誘導体のドッキング (表 1 および 2) により、環 A におけるヘテロ芳香族またはビフェニルヘテロ芳香族置換も、すべての基の全体形状が異なるにもかかわらず、親化合物 9 のフェニル環におけるものと同様に、 $\pi-\pi$ / 疎水性接触を維持してポケット内部に収容され得ることが示唆された。最初のドッキング研究では、末端カルボキシル基がタンパク質の溶媒露出領域に向かって配向しているように見えたため、我々の化合物の物理化学的特性を高めるためにモルホリノエタン (化合物 4 2) およびモルホリノプロパン (化合物 4 3 ~ 4 7) を用いた。化合物 4 2 ~ 4 7 とのドッキングでは、末端カルボン酸のアルキルモルホリノ基が、RPA 結合領域を出て溶媒露出領域へと延びるため、よく適合し、許容されることが示された (図 2 B ~ C)。図 2 A ~ D は、RPA ドメイン B 領域内での化合物 2 6、4 2、および 4 5 の結合配向および分子相互作用を示すものである。2 6、4 2、および 4 5 の分子相互作用 (それぞれ、図 2 A ~ C) 2 C) は、様々な静電相互作用に大きく起因する。これらには、Lys 313 の ϵ -アミンと水素結合接触を形成する化合物 4 2 および 4 5 のアミドカルボニルが含まれ、他方で、2 6 の末端カルボン酸は Lys 313 と塩橋相互作用を形成する。さらに、3 つすべての化合物のアミドカルボニル (ピラゾール環に結合) は、Ser 392 のヒドロキシル基ならびに Arg 382 のアミン基と強い水素結合接触を形成し、3 つすべての化合物において、フェニル部分 (環 A) と Trp 361 の芳香環との間に $\pi-\pi$ スタッキング相互作用を形成する。さらに、3 つすべての化合物のキノリン部分が、Phe 386 と $\pi-\pi$ スタッキング相互作用を形成し得る。最後に、末端アルキルモルホリノ側鎖は、RPA 結合領域から溶媒露出領域へと延びるため、適合し位置することができる。ドッキング研究では、化合物 2 6 が化合物 4 2 および 4 5 などの他の化合物系列よりも強い親和性を持つと予測され、実際、化合物 2 6 は *in vitro* EMSA アッセイでも他の化合物系列よりも強力な RPA 阻害を示した (表 1)。

【0201】

[0263] 溶解性分析

[0264] 水溶性は、化合物を非緩衝水に懸濁し、攪拌しながら決定した。不溶物質を沈降またはろ過により除去し、可溶化合物を吸光度分光法および LC / MS により定量した。pH 依存性は、上述の説明の通り、化合物を pH 4.0 の 10 mM のクエン酸緩衝液または pH 7 および 9.5 の 10 mM のリン酸緩衝液に懸濁することにより決定した。

【0202】

[0265]

【0203】

【表 5】

表 4 pH の関数としての化合物 9 および 4 3 の溶解性

	水溶性		
pH	4	7	9.5
化合物 9	0.76 ± 0.35 μ M	3.31 ± 0.36 μ M	112.53 ± 0.74 μ M
化合物 4 3	21.43 ± 5.49 μ M	5.72 ± 2.79 μ M	3.62 ± 2.22 μ M

【0204】

[0266] 細胞取込み測定

[0267] すべての細胞は、20 % ウシ胎仔血清および 0.1 % pen / strep を含む培地で 37 °C、5 % CO₂ で単層として増殖させた。細胞取込みを、H460 NSCLC 細胞および SKGT4 食道腺癌細胞の両細胞で評価した。簡潔に述べると、細胞を 35 mm ディッシュに 1 × 10⁶ 細胞ウェルでプレーティングし、一晚インキュベートした。化合物を 20 μ M の濃度で培地に添加し、4 時間インキュベーションを継続した。培地を除去し、細胞を PBS で 3 回洗浄した。1 ウェルあたり 1 mL のメタノールを添加し、細

胞を4℃で一晩攪拌した。メタノールを回収し、ウェルをさらに1 mLのメタノールで洗浄し、プールした。化合物を真空下で乾燥させ、メタノールに懸濁し、LC/MSにより定量した。

【0205】

[0268]図3Aは、pH4の非緩衝H₂Oで水溶性を評価した際に得られたデータを示す。このデータから、モルホリノ修飾化合物は、そのカルボン酸の対応物に比べて増加した溶解性を示すという全般的な傾向が明らかになった（化合物9、16、26、28、29を、それぞれ43、44、45、46、47と比較する）。モルホリン環は、溶解性または見込みのある薬剤足場の代謝安定性などの薬物動態学的特性を改善するために、特権的な可溶化基として溶媒露出領域に一般に導入され、多くのFDA承認薬剤に例示される。環A上での修飾は、アルキルカルボン酸側鎖でのモルホリノ修飾よりも効果が少なかった。溶解性に及ぼすpHの影響を決定するため、pH4のクエン酸緩衝液、pH7のリン酸緩衝液、およびpH9.5の炭酸緩衝液で1 mMの溶液を調製した。化合物9および43を様々なpHで分析したところ、カルボン酸を含む化合物9は高いpH値で水溶性が劇的に増加することが実証され、一方でモルホリノを含む化合物43は低いpH値で大きな溶解性を示した（表4）。

10

【0206】

[0269]H460 NSCLC細胞における我々の化合物の細胞取込みを分析した（図3B）。まず、化合物を100% DMSOに溶解し、それから所望の濃度になるように培地の水性緩衝液で希釈し、すべての実験において最終DMSO濃度は1%以下とした。細胞を固定濃度（20 μM）で37℃で4時間処理した。細胞内薬物濃度は、氷冷MeOHで抽出し、LCおよびLC/MSにより分析した後に決定した。図3Bのデータは、予想通り、化合物9は比較的取込みが悪く、一方で化合物26はカルボン酸部分を有していても取込みが増加したことを実証する。この両方の化合物のモルホリノ誘導体は、かなり優れた取込みを実証し、化合物43はがん細胞モデルにおける細胞活性と最も良い相関を有した。同様の取込みデータが、SKGT4食道腺癌細胞株でも得られた。

20

【0207】

[0270]細胞生存アッセイ

[0271]細胞生存は、CCK-8生存率アッセイおよび／またはクローン原性細胞率アッセイにより、それぞれ96ウェルプレートまたは24ウェルプレートで決定し、薬剤間相互作用の組合せインデックス（CI）分析は、本発明者らが以前記載したように、Chou-Talalay分析により決定した。

30

【0208】

[0272]1) CCK-8代謝アッセイ：細胞を96ウェルプレートにプレーティングし（2500細胞／ウェル）、37℃、5% CO₂存在下で少なくとも18時間増殖させた後、阻害剤で48時間処理した。CCK-8溶液（同仁化学）を全培地量の10%添加し、1～4時間のインキュベーション後、BioTek（登録商標）Synergy（商標）H1ハイブリッドマルチモードマイクロプレートリーダーを使用して450 nmの吸光度を決定した。

【0209】

40

[0273]2) クローン原性細胞率アッセイ：細胞を24ウェルプレートにプレーティングし（20,000細胞／ウェル）、少なくとも18時間インキュベートした後、阻害剤で処理した。48時間の処理後、細胞を10 cmディッシュに再プレーティングし（500細胞／ディッシュ）、8～10日間インキュベートしてコロニーを形成させる。プレートをPBSで洗浄し、グルタルアルデヒドで固定し、クリスタルバイオレットで染色する。染色したコロニーの画像をFujifilm LAS-3000 CCDシステムで撮影し、OpenCFUソフトウェアで計数した。生存率はビヒクル対照のパーセントとして決定され、薬剤濃度に対してプロットされる。

【0210】

[0274]3) 組合せインデックス（CI）による相乗作用の評価：組合せインデックス研

50

究では、細胞（H460またはSKGT4）をRPA阻害剤およびPt／エトポシド／ブレオマイシン／タキソール／DDR阻害剤を単独で、ならびに、その阻害剤とDNA損傷化学療法剤／DDR阻害剤との両者の組合せで処理した。治療範囲は、各阻害剤／薬剤のIC₅₀に依存した。IC₅₀がXの場合、CKK-8代謝アッセイで0.04X～5Xの範囲の濃度で細胞を処理した。単剤処理ならびに組合せ処理の両方の死滅曲線をChou-Talalayに基づく方法で使用し、影響を受けた細胞の異なる割合における組合せインデックス（CI）を決定した。⁴⁰ CI>1.0は2剤間の拮抗作用を示し、一方でCI<1.0は相乗作用を示す。CIが1.0の場合、相加効果を実証する。

【0211】

[0275] H460 NSCLC細胞における細胞活性。化合物9と比較して、化合物26および43では、取込み、効力、および溶解性の増加により、細胞の抗がん活性の増加が観察された（図4A）。化合物43は、A2780上皮性卵巣がん（EOC）細胞およびGCT27精巣がん細胞に対して、H460 NSCLC細胞と比較して高い細胞毒性を示した（図4B）。

【0212】

[0276] RPAの阻害は、シスプラチンおよびエトポシドなどのDNA損傷治療薬と相乗的に作用することができる（図4C）。これらの研究では、各薬剤の組合せについて相乗活性を定量化する組合せインデックス（CI）が得られるChou-Talalay法を使用した。CI値<1.0は相乗効果を示し、数値が小さいほど強い相乗作用を示す。一方で、CI値1.0および>1.0は、それぞれ相加効果および拮抗効果を示す。9の分析では、相乗作用を示したが、化合物8ほど強力な活性ではなかった。化合物43を分析したところ、前のいずれの化合物よりもさらに高い相乗作用を示し、興味深いことに、主にDNA二本鎖切断（DSB）の形成を介して細胞死を誘導する放射線類似作用剤であるブレオマイシンとも、強い相乗作用が観察された。SKGT-4 EAC細胞において、化合物43とシスプラチンで同様のレベルの相乗作用が観察された。本明細書に記載される化合物とDNA損傷剤との相乗作用は、DNA損傷応答およびシグナル伝達におけるRPAの役割によって説明され得る。タキソールのデータは、SKGT-4 EACモデルにおいて、相加的な相互作用を実証し、相乗作用を示さなかった（図4C）。図4Dは、EACがん細胞モデルにおいて、RPA阻害がPARP、DNA-PK、ATR、およびWEE1阻害剤などの多くの薬剤と効果的に相乗作用を示すことを実証する。

【0213】

[0277] In Vivo腫瘍異種移植モデル

[0278] H460細胞およびA549細胞をNSGマウスの皮下に移植し、～100mm³の大きさになるまで増殖させた。マウスは、ビヒクル対照群および示された化合物群に無作為化した。化合物44での処理は三角で示される。2日間のSID後、後示された通りに50mg／用量でBID。化合物45は200. mg BIDで2サイクル、5日／週でIP送達した。実験終了後、カリパスにより腫瘍体積を測定し（図5Aおよび図5C）、腫瘍重量を測定した（パネル図5Bおよび図5D）。

【0214】

[0279] 化合物43はアポトーシスを誘導する

[0280] アポトーシス誘導は、Cell Event（商標）Caspase-3／7 Green Detection Reagent（Invitrogen）を使用して、カスパーゼ3および7の活性化により決定した。H460細胞を、底が透明な黒の96ウェルプレート（Costar）に5×10³細胞／ウェルでプレーティングし、処理前に24時間インキュベートした。細胞を、示された濃度の化合物43またはシスプラチンで24時間処理した。化合物43の処理では、ビヒクル（DMSO）濃度は1％で一定とした。カスパーゼ3／7の検出では、培地を除去し、5％FBSおよび2μMのCell Event（商標）Caspase-3／7 Green Detection Reagentを含むPBSで置き換えた。細胞を37℃／5％CO₂で1時間インキュベートし、BioTek Synergy H1プレートリーダーで蛍光強度を測定した（励起／発光

10

20

30

40

50

485／528)。画像は、Evos FL2 自動顕微鏡 (Invitrogen) を用いて、10 倍の対物レンズを使用して撮影した。化合物 43 はカスパーゼ 3 および 7 を強力に活性化し、細胞死のメカニズムとしてアポトーシス経路の活性化が示される (図 6)。

【0215】

[0281] 化合物 43 の抗がん活性を増加する DDR 遺伝子の同定

[0282] 特定の遺伝子を変異させ、または発現もしくは活性を低下させたときに、化合物 43 の抗がん活性が増加するかどうかを決定するため、230 個の個々の遺伝子の CRISPR スクリーニングを行った。Cas9 (GeneoCopia) を安定的に発現する A549 細胞を 96 ウェルプレートに 5×10^5 細胞／ウェルでプレATINGし、37 °C、5% CO₂ で 24 時間インキュベートした。細胞を、Opti-MEM (Gibco) 中で、最終濃度 25 nM の Edit-R crRNA:tracrRNA 複合体 (Horizon) とともに、0.2 μL／ウェルの Dharmafect1 でトランスフェクトした。230 個の個々の遺伝子をスクリーニングした。各遺伝子に対して 4 種類の異なる crRNA が指定され、その 4 種類をそれぞれ 3 連で試験した。トランスフェクションの 24 時間後に、細胞を 2 μM の化合物 43 で処理し、さらに 48 時間インキュベートした。生存率は CCK-8 アッセイ (同仁化学) により評価した。プレート全体の平均シグナルと比較して、細胞生存率が低下していたウェルでヒットを決定した。各遺伝子について独立したヒット数を、最大を 12 とし、各遺伝子に対して 4 つの crRNA の 3 連の決定で合計した。これにより、異なる crRNA の効率およびその結果生じる様々な遺伝子破壊の可能性を考慮することが可能となる。

【0216】

[0283] DNA 損傷応答および修復経路に広く関与するものを含むように、230 個の遺伝子を選択された。各遺伝子に対し、異なる配列を標的とした 4 種類の crRNA が存在し、幅広い不活性化変異を与えた。この分析から、CRISPR により変異させると、A549 腺癌で化合物 43 の細胞活性が増加する 20 個の遺伝子が同定された。ヒットのグラフが図 7 に示され、遺伝子が表 5 に記載される。

【0217】

[0284]

【0218】

10

20

30

40

50

【表 6】

表 5

遺伝子	記載	Hits
FEN1	フラップ構造 特異的エンドヌクレ アーゼ 1	9
APTX	アブラタキシン	7
PRKCG	プロテインキナーゼ C ガンマ	7
POLE2	DNAポリメラーゼ イプシロンサブユニット 2	6
XRCC6	Ku 70	6
ATRX	A T R Xクロマチン リモデラー	6
TCEA1	転写伸長因子 A 1	5
IP6K3	イノシトール 6 リン酸 キナーゼ 3	5
FANCM	F A相補群 M	5
XAB2	X P A結合タンパク質	5
ERCC2	XPD	5
DDB1	損傷特異的 D N A 結合タンパク質 1	5
RRM2	リボヌクレオチド 還元酵素制御 サブユニット M 2	5
BRE	B R C A 1 複合体	5
PRPF19	PSO4	5
UVRAG	紫外線耐性関連	5
DCLRE1C	アルテミス	5
KAT5	Tip 60	5
RNF168	リングフィンガー タンパク質 1 6 8	5
RTEL1	テロメア伸長 ヘリカーゼ 1 調節因子	5

ある態様において、本発明は以下であってもよい。

〔態様 1〕 式：

10

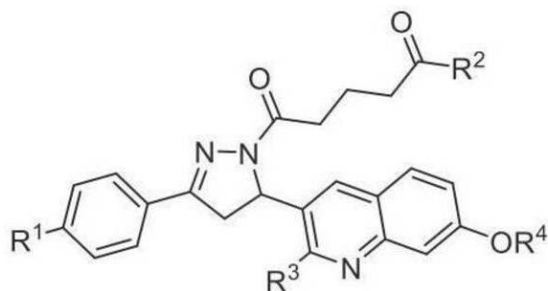
20

30

40

50

【化 18】



10

(式中、 R^1 はブロモ、クロロ、ヨード、トリフルオロメチル、 $-\text{OC}(\text{O})-\text{モルホリニル}$ 、 モルホリニル 、 フラニル 、 フェニル 、 ピリジニル 、及びイソキサゾリルからなる群から選択され、ここでフラニル、フェニル、ピリジニル、及びイソキサゾリル中の各水素原子は独立して任意選択でクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、又はモルホリニルで置換され；

R^2 は $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}^5$ 、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_n-\text{モルホリニル}$ 、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_n-\text{ピペラジニル}$ 、又は $\text{NH}(\text{CH}_2)_n-(\text{N}-\text{メチル}-\text{ピペラジニル})$ であり；

R^3 はクロロ、フルオロ、ブロモ、又はヨードであり；

20

R^4 は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり；

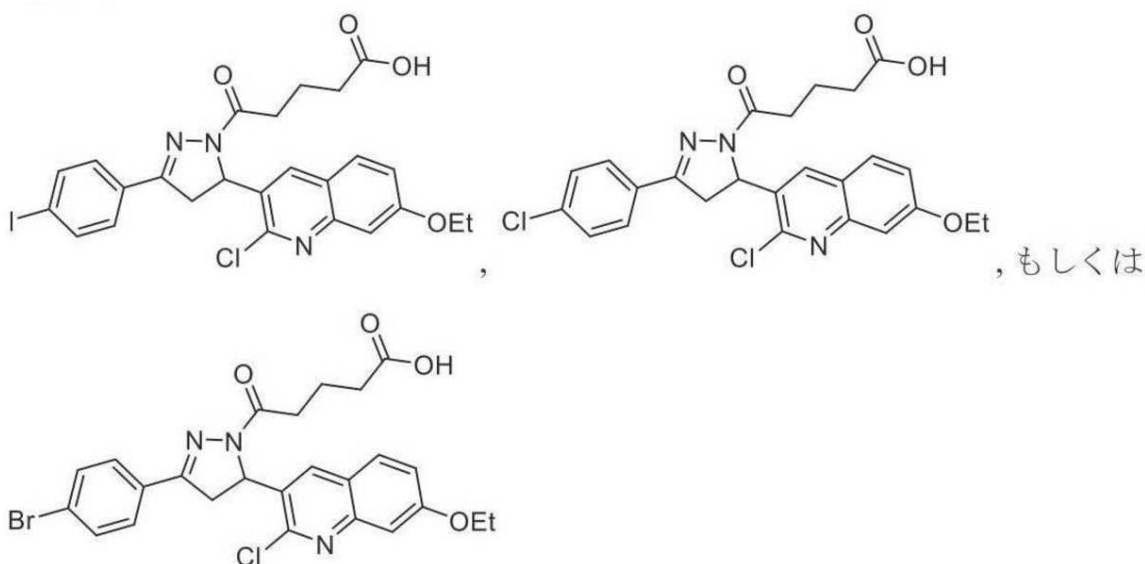
R^5 は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、又は $\text{C}_3 \sim \text{C}_6$ シクロアルキルであり；

n は1、2、3、又は4である)

の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩；

但し前記化合物は式：

【化 19】



30

40

の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩ではない。

【態様 2】 R^1 がクロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルで置換された1つの水素原子を有するピリジニルである、態様 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

【態様 3】 R^1 が、化合物への R^1 の付着点に対するパラ位に、クロロ、フルオロ、ブロモ、ヨード、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ ハロアルキル、又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルで置換された1つの水素原

50

子を有するピリジニルである、態様 1 又は 2 に記載の化合物、又はそれらの薬学的に許容される塩。

〔態様 4〕 R^1 がフラニル又はイソキサゾリルである、態様 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 5〕 R^2 が $-OH$ である、態様 1 ～ 4 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 6〕 R^2 が $-NH(CH_2)_3$ モルホリニルである、態様 1 ～ 4 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 7〕 R^1 がブロモ又はヨードである、態様 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 8〕 R^1 がブロモである、態様 1 又は 7 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 9〕 R^1 がヨードである、態様 1 又は 7 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 10〕 R^2 が $-NH(CH_2)_3$ モルホリニルである、態様 1 又は 7 ～ 9 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 11〕

式：

10

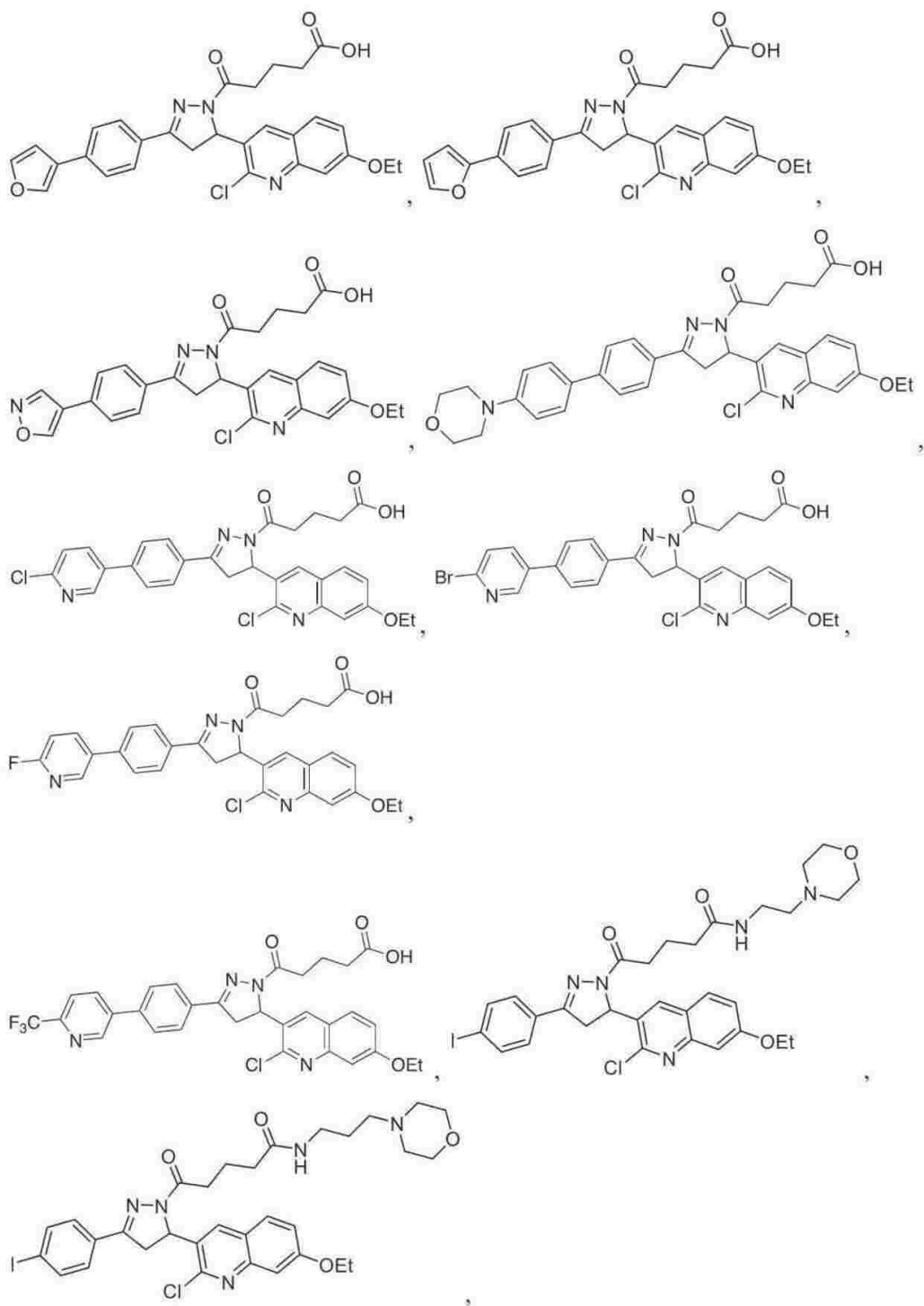
20

30

40

50

【化 20 - 1】



10

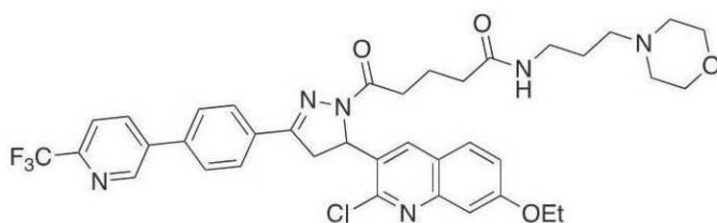
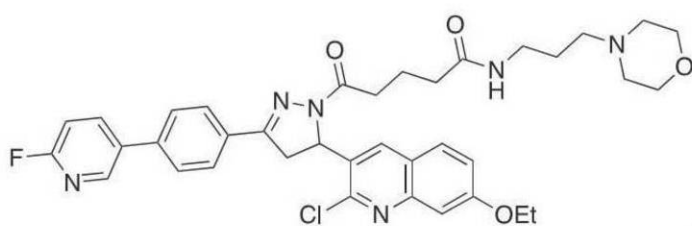
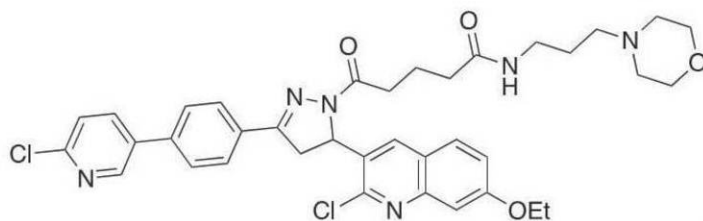
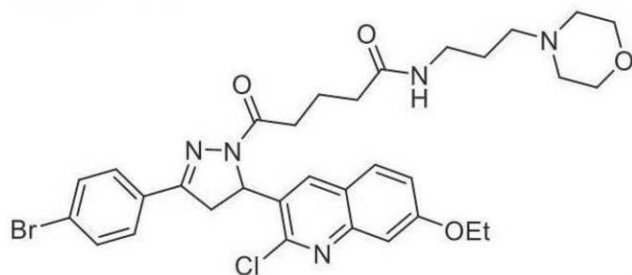
20

30

40

50

【化 20 - 2】



10

20

, もしくは

30

の化合物又はそれらの薬学的に許容される塩。

〔態様 11〕 態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物の治療有効量と、薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤の少なくとも 1 つを含む、医薬組成物。

〔態様 12〕 態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、又は態様 11 に記載の医薬組成物の治療有効量を投与するステップを含む、そのような治療を必要とする患者に対してがんを治療する方法。

〔態様 13〕 化合物ががん細胞の細胞周期を妨害する、又はがん細胞の細胞周期を妨害する化学物質に代謝される、態様 12 に記載の方法。

〔態様 14〕 a. 態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、又は態様 11 に記載の医薬組成物の治療有効量を投与するステップ；及び

b. 少なくとも 1 つの追加の治療剤の治療有効量を投与するステップを含む、疾患を治療する方法。

40

〔態様 15〕 少なくとも 1 つの追加の治療剤が BMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシン C、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、及びトポテカンからなる群から選択される、態様 14 に記載の方法。

50

〔態様 16〕 がんが卵巣がん細胞又は非小細胞肺癌である、態様 12～15 のいずれか 1 に記載の方法。

〔態様 17〕 患者のがんを治療するための、態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩。

〔態様 18〕 患者に少なくとも 1 つの追加の治療剤の治療有効量を投与することをさらに含む、態様 17 に記載の化合物。

〔態様 19〕 少なくとも 1 つの追加の治療剤が BMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシン C、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、及びトポテカンからなる群から選択される、態様 18 に記載の化合物。

10

〔態様 20〕 患者のがんの治療に使用するための医薬の製造における、態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩の使用。

〔態様 21〕 がんが卵巣がん細胞又は非小細胞肺癌である、態様 20 に記載の使用。

〔態様 22〕 態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、又は態様 11 に記載の医薬組成物と、少なくとも 1 つの追加の治療剤とを含む、相乗的な組合せ物。

20

〔態様 23〕 少なくとも 1 つの追加の治療剤が BMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシン C、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、及びトポテカンからなる群から選択される、態様 22 に記載の相乗的な組合せ物。

〔態様 24〕 態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、又は態様 11 に記載の医薬組成物と、少なくとも 1 つの追加の治療剤とがある部位に一緒にもたらされる、態様 22 又は 23 に記載の相乗的な組合せ物。

30

〔態様 25〕 前記部位ががん細胞である、態様 22～24 のいずれか 1 に記載の相乗的な組合せ物。

〔態様 26〕 前記部位が人体である、態様 22～24 のいずれか 1 に記載の相乗的な組合せ物。

〔態様 27〕 態様 1～10 のいずれか 1 に記載の化合物、又はその薬学的に許容される塩、又は態様 11 の医薬組成物の治療有効量を投与するステップを含む患者の疾患を治療する方法であって；

患者が FEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168 及び RTEL1 からなる群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現が変調されていると前もって特定されている、方法。

40

〔態様 28〕 患者が FEN1、APTX、PRKCG、POLE2、XRCC6、ATRX、TCEA1、IP6K3、FANCM、XAB2、ERCC2、DDB1、RRM2、BRE、PRPF19、UVRAG、DCLRE1C、KAT5、RNF168 及び RTEL1 からなる群から選択される 2 つ以上の遺伝子を有すると前もって特定されている、態様 27 に記載の方法。

〔態様 29〕 疾患が、がん、疼痛、神経疾患、自己免疫疾患、及び炎症からなる群から選択される、態様 27 又は 28 に記載の方法。

50

【態様 30】 少なくとも 1 つの追加の治療剤の治療有効量を投与するステップをさらに含む、態様 27 から 29 のいずれか 1 に記載の方法。

【態様 31】 少なくとも 1 つの追加の治療剤が、BMN 637、NU 7441、VE 821、MK 1775、シスプラチン、エトポシド、ブスルファン、ベンダムスチン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、ダカルバジン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキソルビシン、エピルビシン、エトポシド、イダルビシン、イホスファミド、パクリタキセル、アブラキサン、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、オラパリブ、ルカパリブ、イリノテカン、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、マイトマイシン C、ミトキサントロン、オキサリプラチン、テモゾロミド、及びトポテカンからなる群から選択される、態様 30 に記載の方法。

【図面】

【図 1 A】

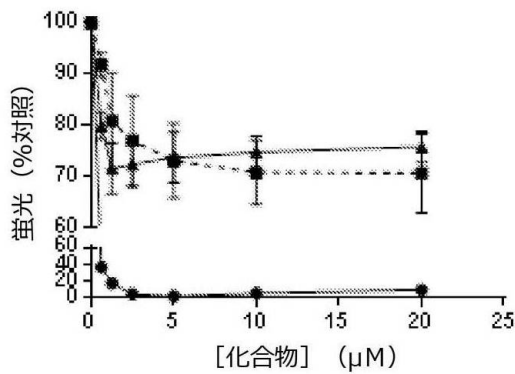


Fig. 1A

【図 1 B】

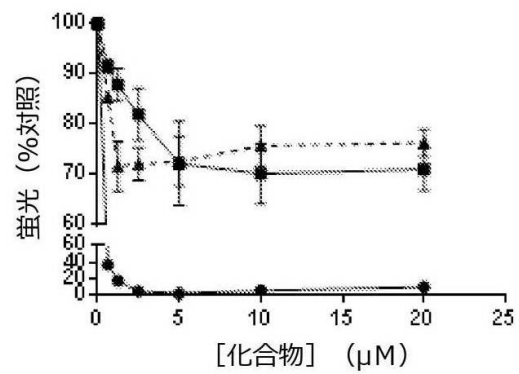


Fig. 1B

【図 1 C】

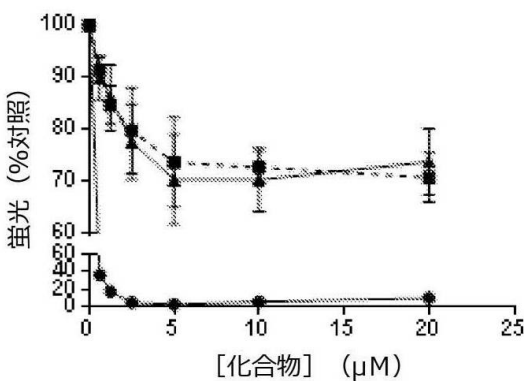


Fig. 1C

【図 1 D】

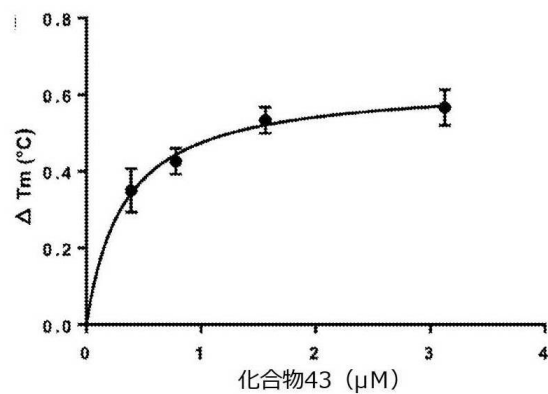


Fig. 1D

10

20

30

40

50

【図 2 A】

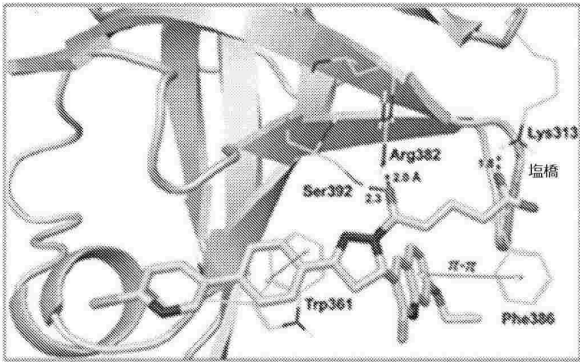


Fig. 2A

【図 2 B】

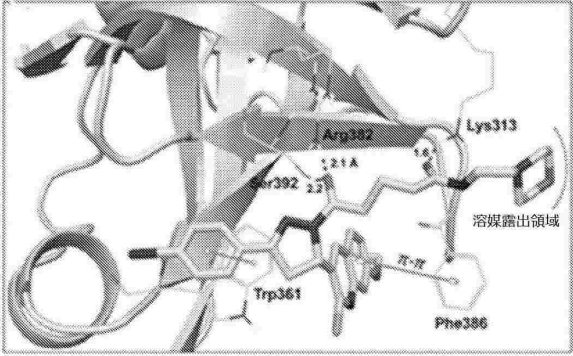


Fig. 2B

【図 2 C】

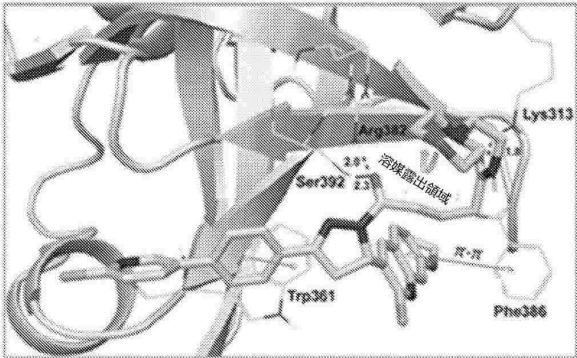


Fig. 2C

【図 2 D】

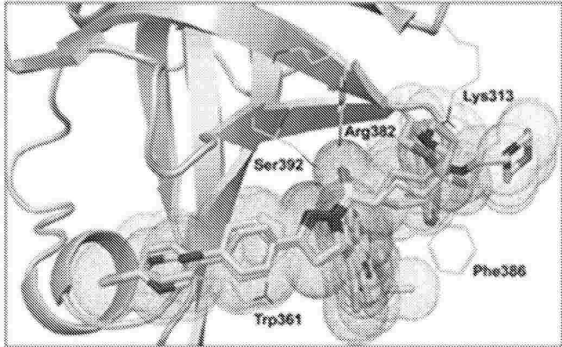


Fig. 2D

10

20

30

40

50

【図 3】

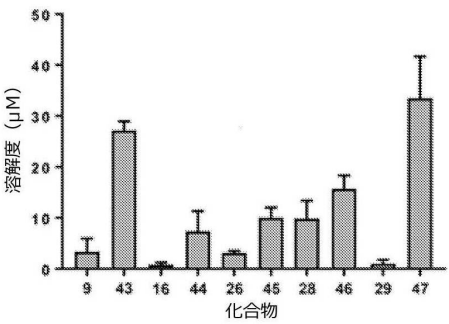


Fig. 3A

【図 4 A】

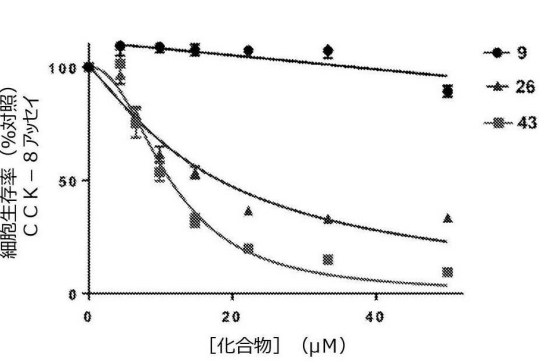


Fig. 4A

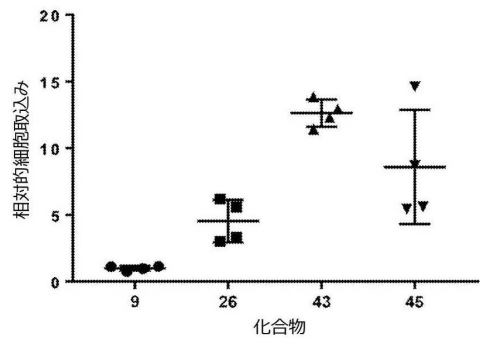


Fig. 3B

【図 4 B】

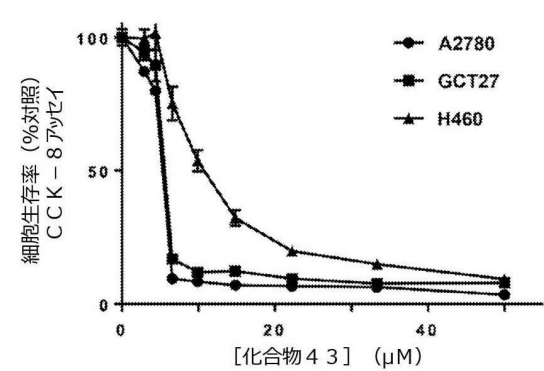


Fig. 4B

【図 4 C】

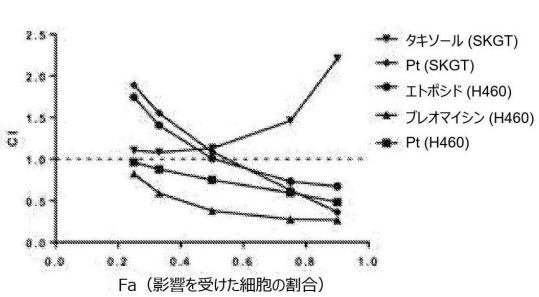


Fig. 4C

10

20

30

40

50

【図 4 D】

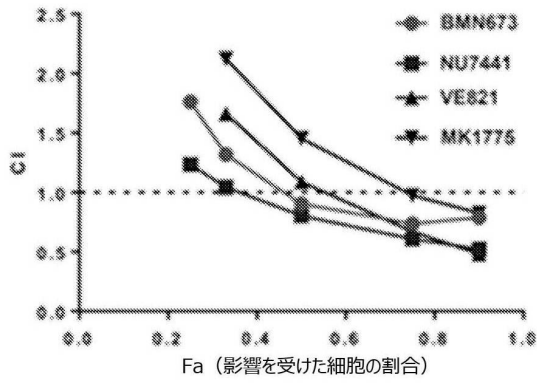


Fig. 4D

【図 5 A】

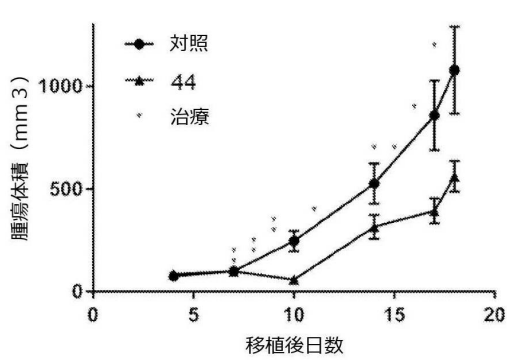


Fig. 5A

【図 5 B】

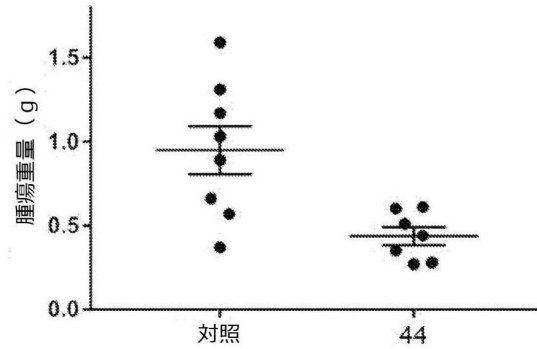


Fig. 5B

【図 5 C】

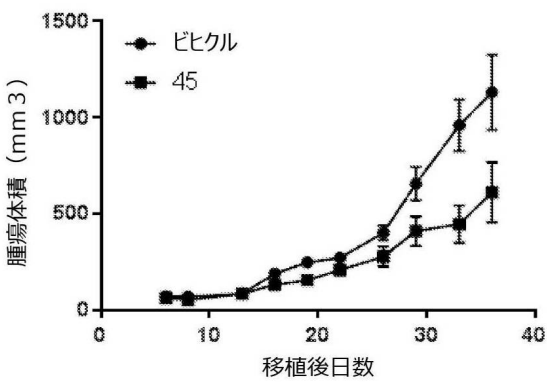


FIG. 5C

10

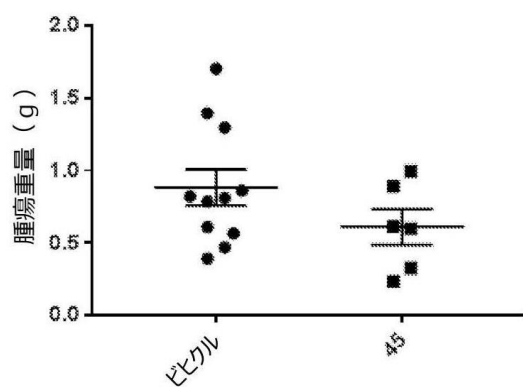
20

30

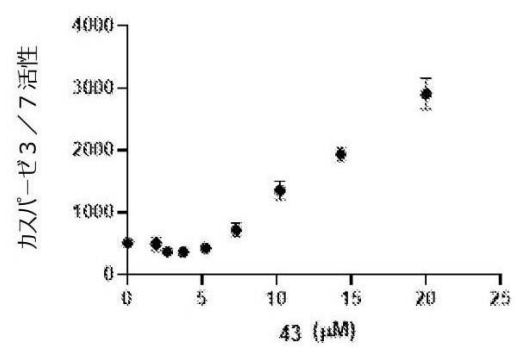
40

50

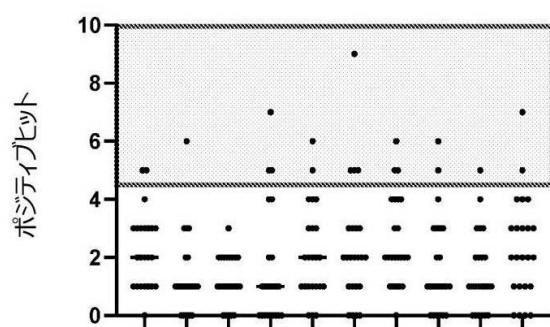
【図 5 D】



【図 6】



【圖 7】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/5377(2006.01)	A 6 1 K	31/5377	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 3
A 6 1 K	31/365(2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 K	31/7064(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	31/337(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	33/24 (2019.01)	A 6 1 K	31/365	
		A 6 1 K	31/7064	
		A 6 1 K	31/337	
		A 6 1 K	33/24	

アメリカ合衆国インディアナ州 4 6 2 2 0 , インディアナポリス, ノース・ペンシルベニア・スト
リート 5 4 4 5

(72)発明者 ガバンデ, ナブナス

アメリカ合衆国インディアナ州 4 6 2 0 8 , インディアナポリス, キャピトル・アベニュー 2 9
3 5

審査官 前田 憲彦

(56)参考文献

特表 2 0 1 3 - 5 1 8 9 0 6 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 6 / 0 7 7 7 5 2 (W O , A 1)
特表 2 0 1 0 - 5 2 3 6 7 0 (J P , A)
国際公開第 2 0 0 8 / 0 4 5 6 6 3 (W O , A 1)
Biochemical Pharmacology, 2015年, 93(1), P.25-33

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 0 7 D 4 0 1 /
C 0 7 D 4 0 5 /
C 0 7 D 4 1 3 /
A 6 1 K 3 1 /
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)