

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5902293号
(P5902293)

(45) 発行日 平成28年4月13日 (2016. 4. 13)

(24) 登録日 平成28年3月18日 (2016. 3. 18)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 487/04 (2006. 01)

C O 7 D 487/04 1 4 2

C O 7 D 519/00 (2006. 01)

C O 7 D 519/00 3 1 1

A 6 1 K 31/5025 (2006. 01)

C O 7 D 519/00 3 0 1

A 6 1 K 31/5377 (2006. 01)

C O 7 D 487/04 C S P

A 6 1 K 31/541 (2006. 01)

A 6 1 K 31/5025

請求項の数 28 (全 141 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-508507 (P2014-508507)
 (86) (22) 出願日 平成24年4月25日 (2012. 4. 25)
 (65) 公表番号 特表2014-515758 (P2014-515758A)
 (43) 公表日 平成26年7月3日 (2014. 7. 3)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/034959
 (87) 国際公開番号 W02012/148994
 (87) 国際公開日 平成24年11月1日 (2012. 11. 1)
 審査請求日 平成27年4月24日 (2015. 4. 24)
 (31) 優先権主張番号 61/478, 642
 (32) 優先日 平成23年4月25日 (2011. 4. 25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/537, 908
 (32) 優先日 平成23年9月22日 (2011. 9. 22)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 513267763
 アッシャー・サード・イニシアティブ・インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国、イリノイ・60606、シカゴ、ノース・ワッカー・ドライブ・191、スイート・2090
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所
 (72) 発明者 ブーリ、ローランド・ワーナー
 イギリス国、ハートフォードシャー・シー・エム・23・3・エス・デュー、ピシヨップス・ストートフォード、ニュータウン・ロード・76

最終頁に続く

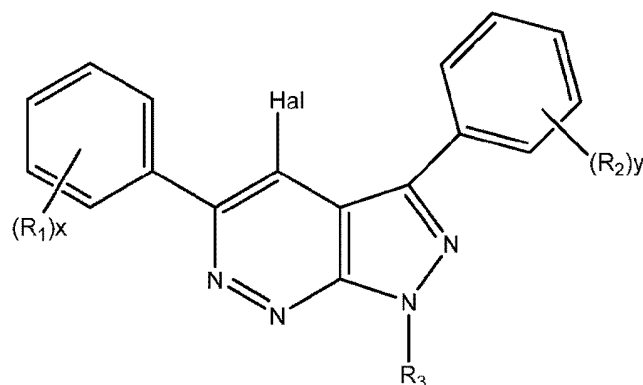
(54) 【発明の名称】 ピラゾロピリダジンおよび網膜変性疾患およびアッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I I

【化 1】



式 II

の化合物または医薬として許容される該化合物の塩

(式中、Halは、-Cl、-F、-I、または-Brであり、

xは、0から5の範囲の整数であり、

各R₁は、独立して、-Cl、-F、-I、-Br、-C₁-C₃アルキル、-O-C₁-C₃アルキル、-CN、-CF₃、-C(O)NH(CH₃)、または-C(CH₂)₂OHであり、

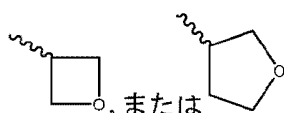
yは、0から5の範囲の整数であり、

各R₂は、独立して、-Cl、-F、-Br、-C₁-C₃アルキル、-O-C₁-C₃アルキル、-CN、-CF₃、-C(O)NH(CH₃)、または-C(CH₂)₂OHであり、

10

R₃は、-H、-C₁-C₆アルキル、-(C₁-C₆アルキレン)-OH、-(C₁-C₆アルキレン)-フェニル、-(C₁-C₆アルキレン)-O-(C₁-C₆アルキル)、-C₂-C₆アルケニル、-(C₁-C₆アルキレン)-C(O)R₄、-(C₁-C₆アルキレン)-R₅、

【化2】



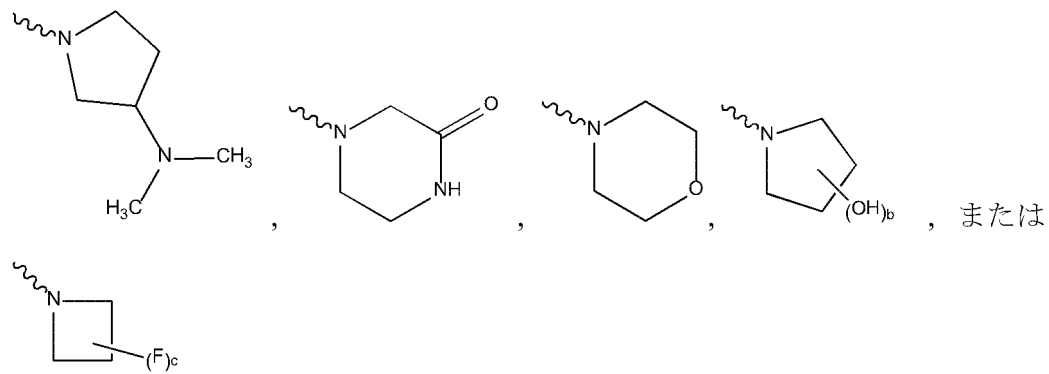
であり、

20

R₄は、-OH、-O-(C₁-C₆アルキル)、-NH₂、-NH(C₁-C₆アルキル)、-NH((C₁-C₆アルキレン)-OH)、-NH((C₁-C₆アルキレン)N(C₁-C₆アルキル)₂)、-N(C₁-C₆アルキル)((C₁-C₆アルキレン)-CN)、-N(C₁-C₆アルキル)((C₁-C₆アルキレン)N(C₁-C₆アルキル)₂)、-NH(C₁-C₆アルキレン)-O-(C₁-C₆アルキル)、

【化 3】





10

であり、

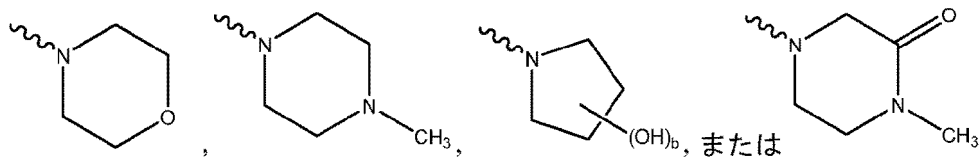
a は、0 から 10 の範囲の整数であり、

b は、0 から 8 の範囲の整数であり、

c は、0 から 6 の範囲の整数であり、ならびに

R₅ は、

【化 4】



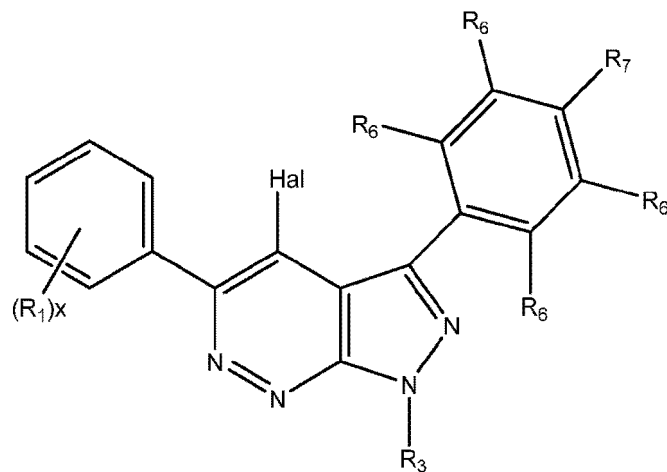
20

である。) 。

【請求項 2】

式 I I I

【化 5】



30

式 III

40

の化合物または医薬として許容される該化合物の塩

(式中、Hal は、- Cl、- F、- I、または - Br であり、

x は、0 から 5 の範囲の整数であり、

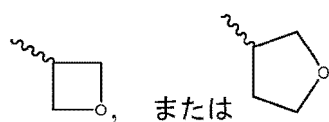
各 R₁ は、独立して、- Cl、- F、- I、- Br、- C₁ - C₃ アルキル、- O - C₁ - C₃ アルキル、- CN、- CF₃、- C(O)NH(CH₃)、または - C(CH₂OH)₂ であり、

R₃ は、- H、- C₁ - C₆ アルキル、- (C₁ - C₆ アルキレン) - OH、- (C₁ - C₆ アルキレン) - フェニル、- (C₁ - C₆ アルキレン) - O(C₁ - C₆ アルキル)、- C₂ - C₆ アルケニル、- (C₁ - C₆ アルキレン) - C(O)R₄、- (C₁ - C

50

₆ アルキレン) - R₅、

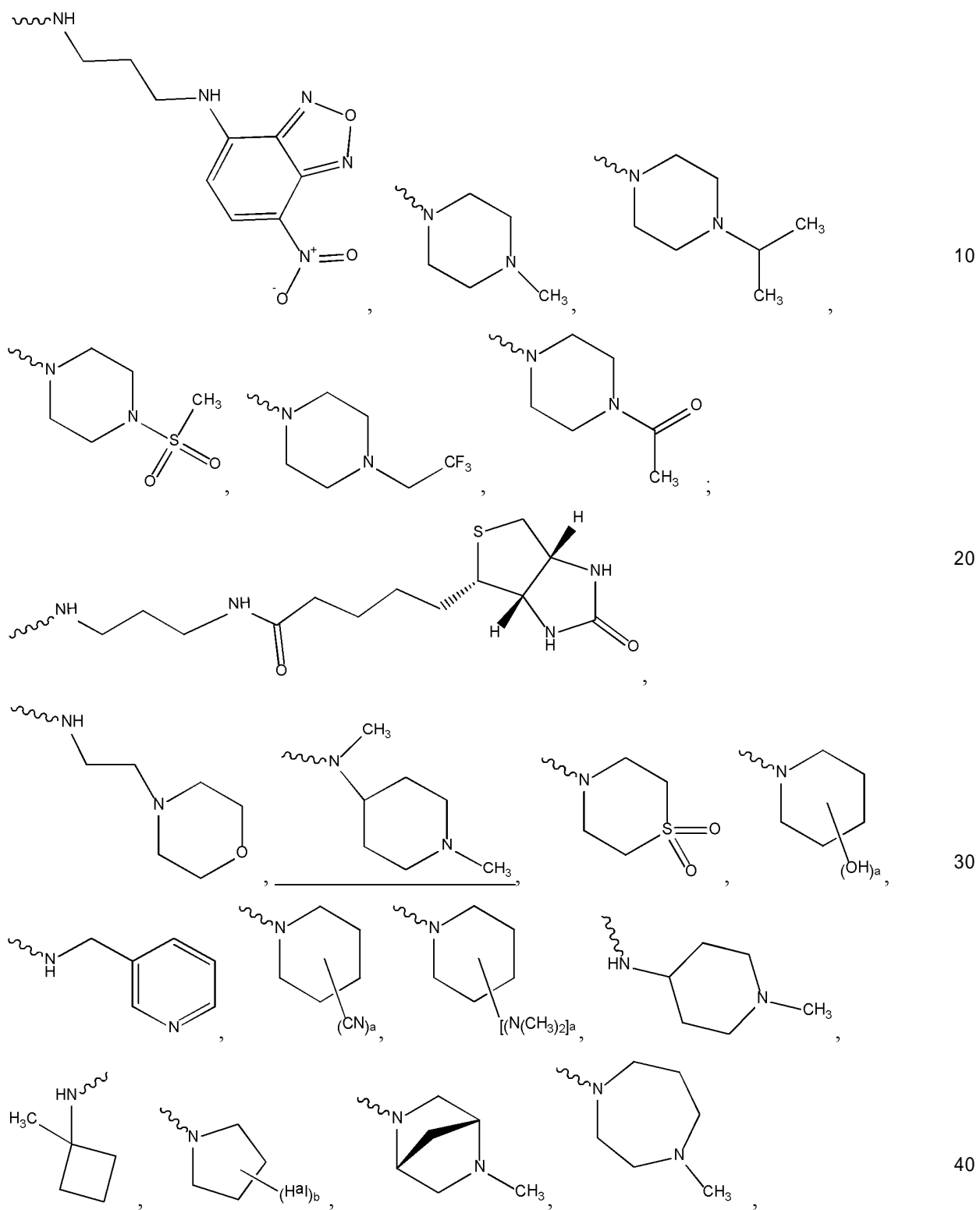
【化 6】

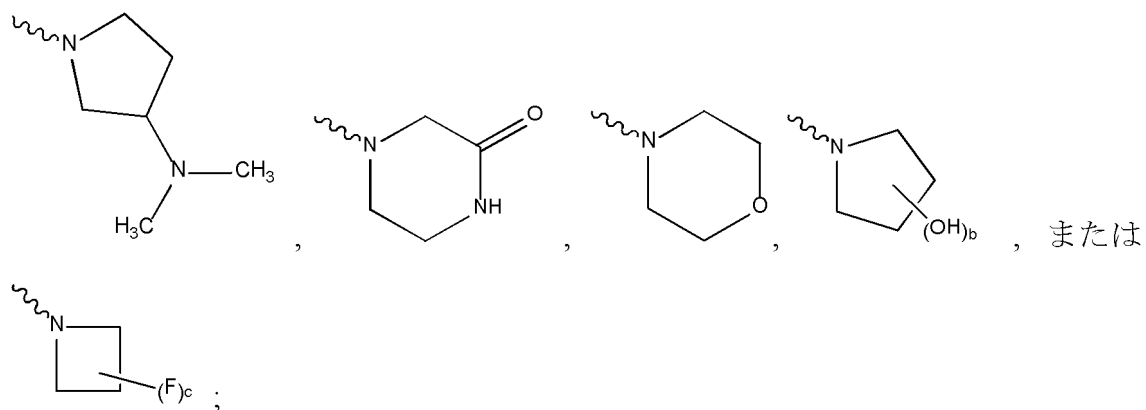


であり、

R₄ は、-OH、-O-(C₁-C₆ アルキル)、-NH₂、-NH(C₁-C₆ アルキル)、-NH((C₁-C₆ アルキレン)-OH)、-NH((C₁-C₆ アルキレン)N(C₁-C₆ アルキル)₂)、-N(C₁-C₆ アルキル)((C₁-C₆ アルキレン)-CN)、-N(C₁-C₆ アルキル)((C₁-C₆ アルキレン)N(C₁-C₆ アルキル)₂)、-NH(C₁-C₆ アルキレン)-O-(C₁-C₆ アルキル)、

【化 7】





10

であり、

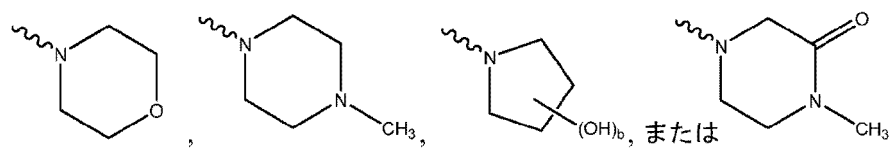
a は、0 から 10 の範囲の整数であり、

b は、0 から 8 の範囲の整数であり、

c は、0 から 6 の範囲の整数であり、

R₅ は、

【化 8】



20

であり、

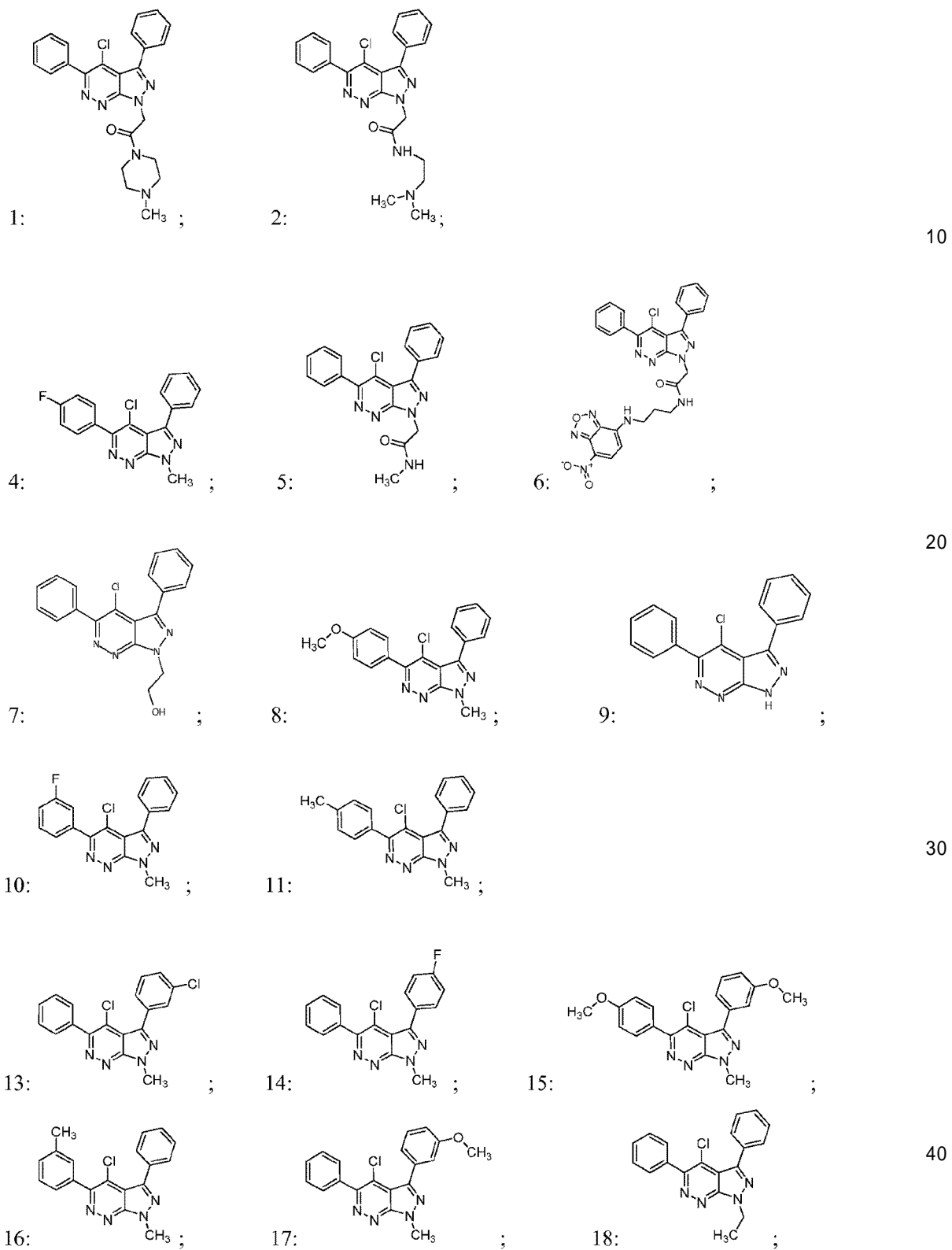
各 R₆ および R₇ は、独立して、- H または - I であり、但し、R₆ および R₇ のうちの少なくとも 1 つは - I であり、ならびに

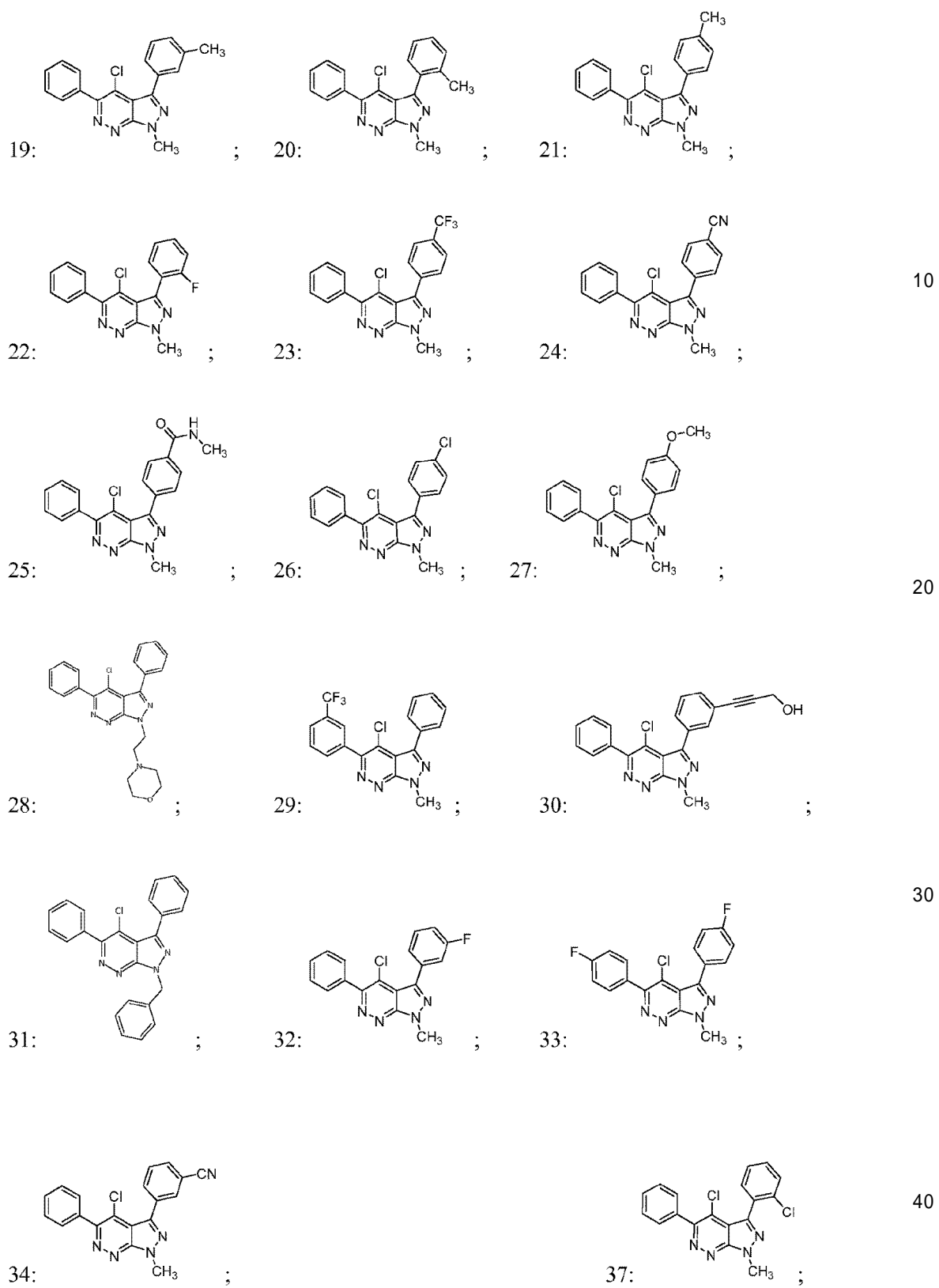
R₃ が - C₁ - C₃ アルキルである場合、R₇ は - H である。)。

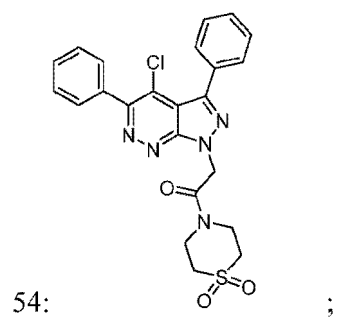
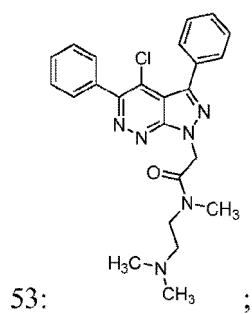
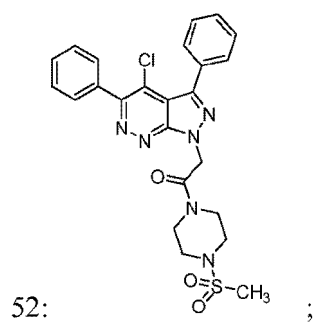
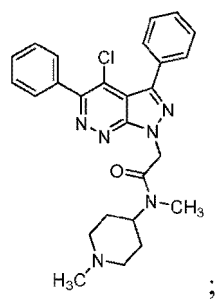
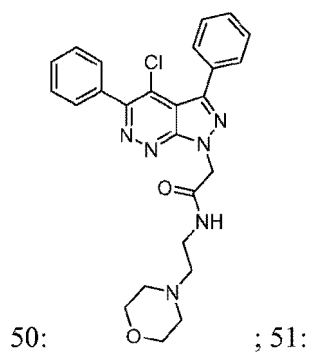
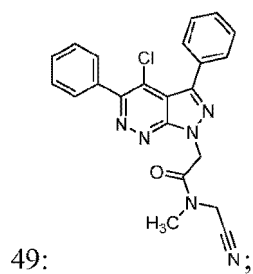
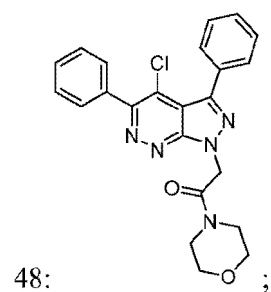
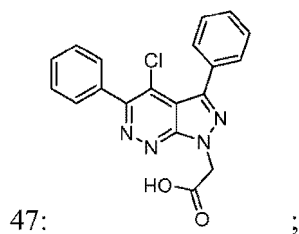
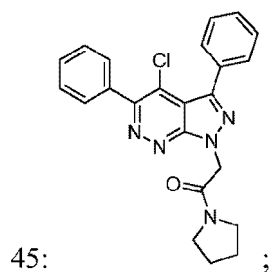
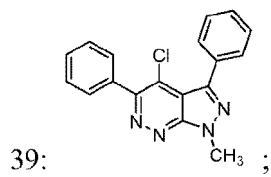
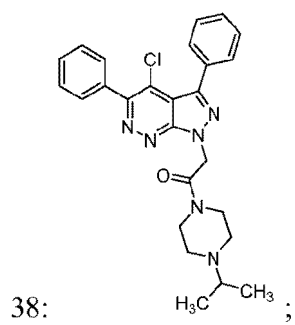
【請求項 3】

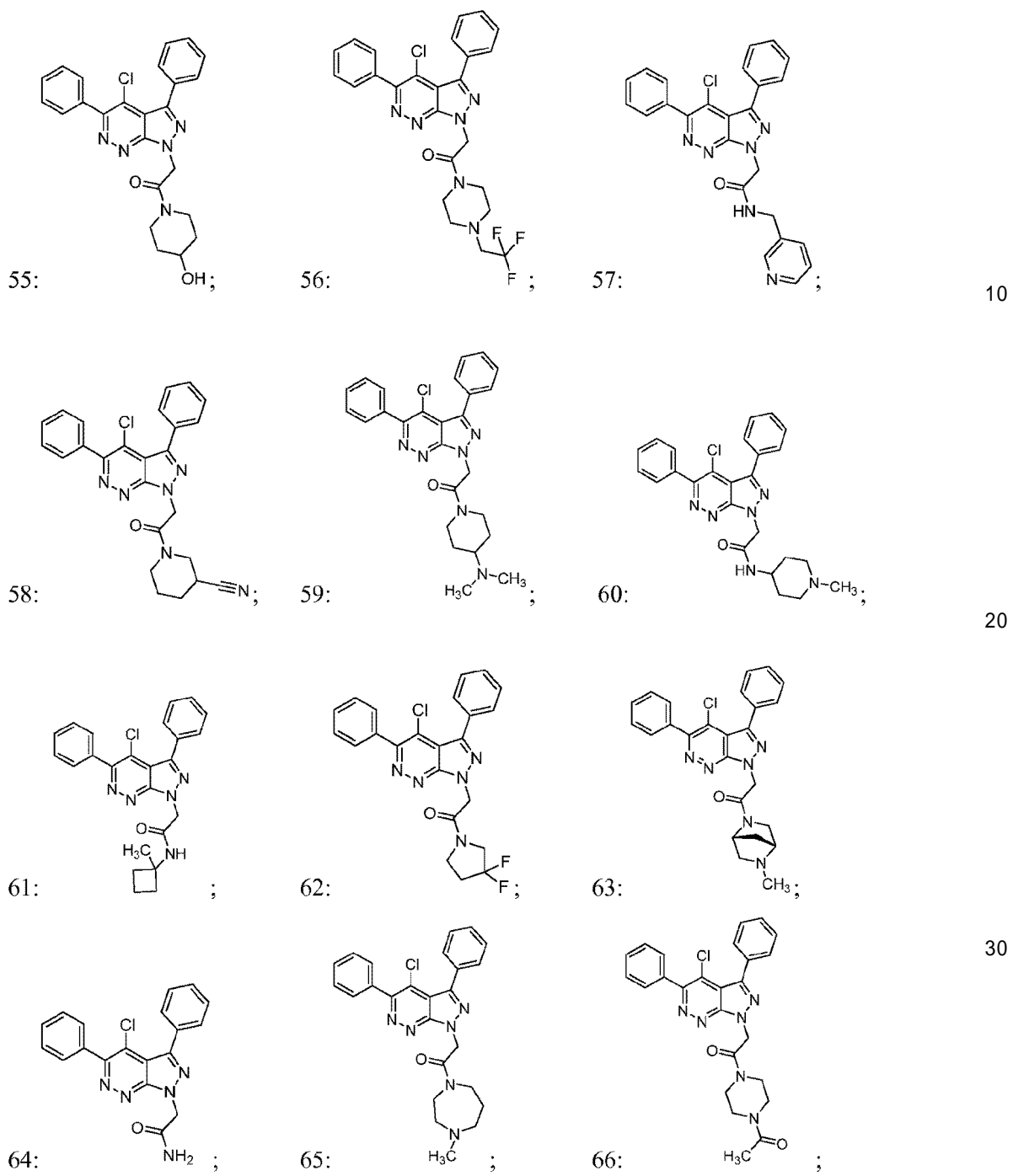
構造

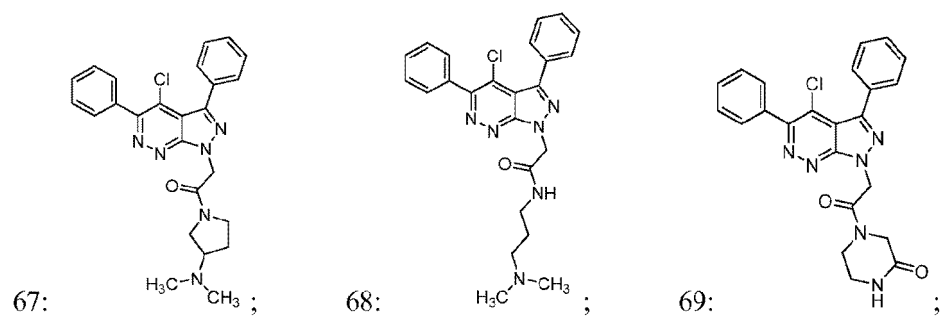
【化 9】



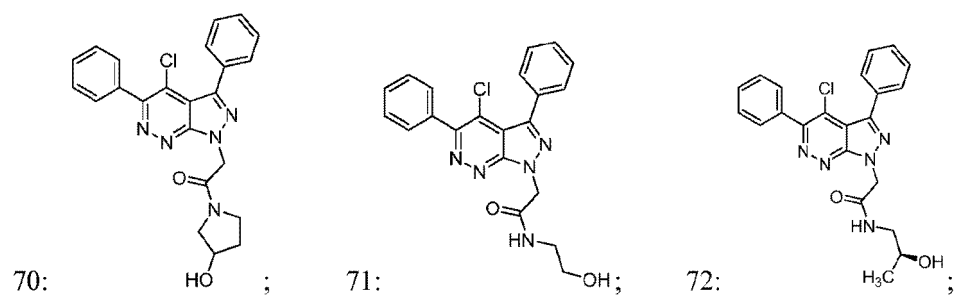




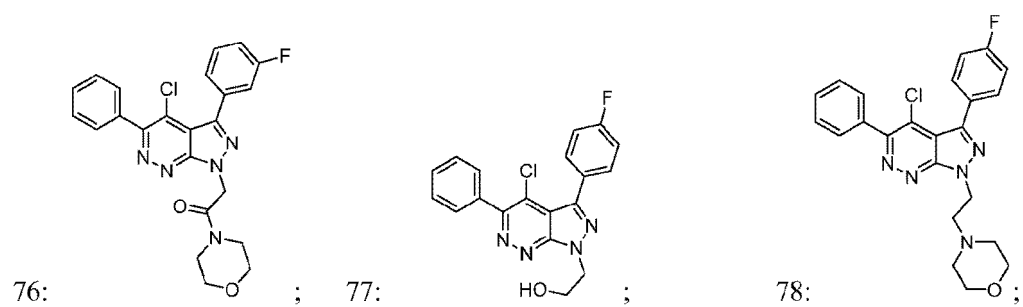
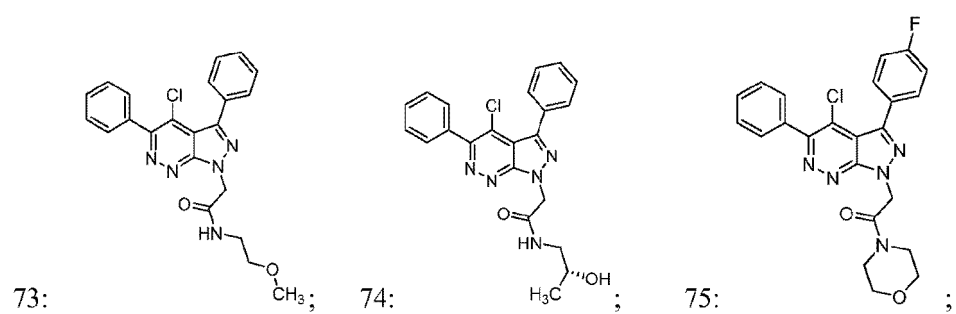




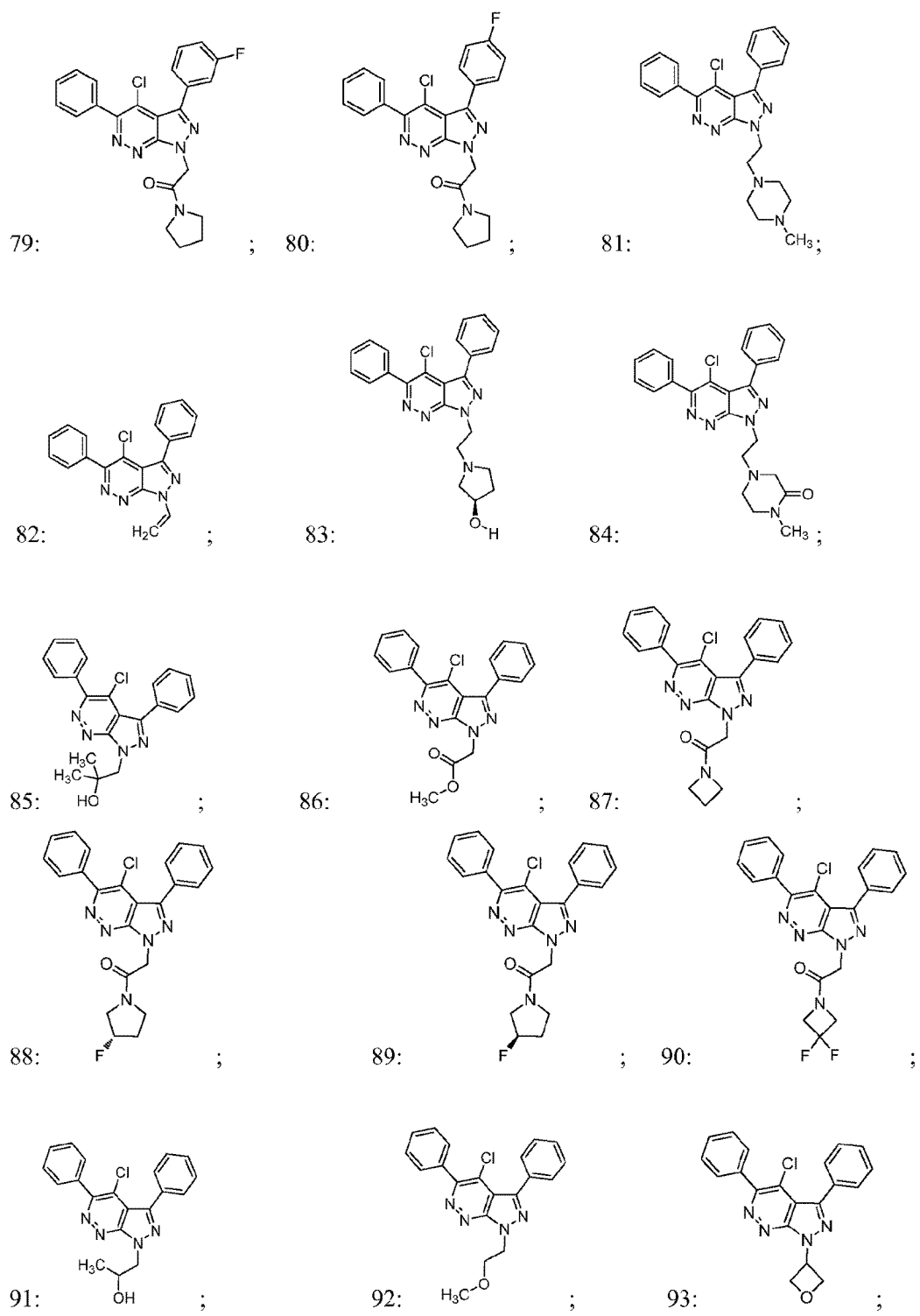
10



20



30

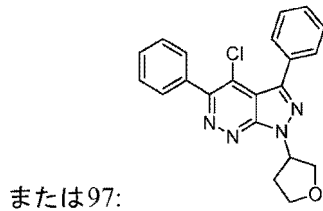
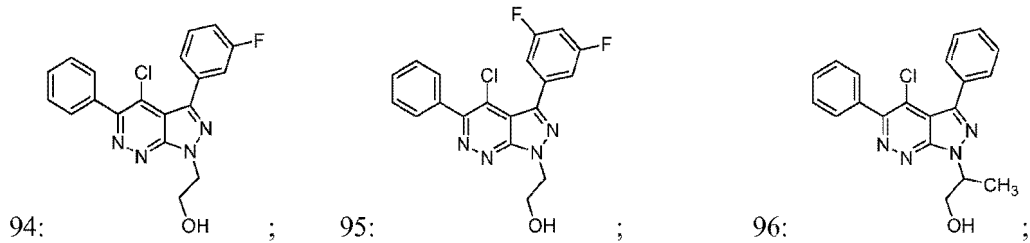


10

20

30

40



10

を有する、請求項 1 に記載の化合物または医薬として許容される該化合物の塩。

【請求項 4】

請求項 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩および医薬として許容される担体またはビヒクルを含む組成物。

【請求項 5】

20

請求項 2 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩および医薬として許容される担体またはビヒクルを含む組成物。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩を含む、網膜変性疾患を治療するための組成物。

【請求項 7】

請求項 2 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩を含む、網膜変性疾患を治療するための組成物。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩を含む、アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための組成物。

30

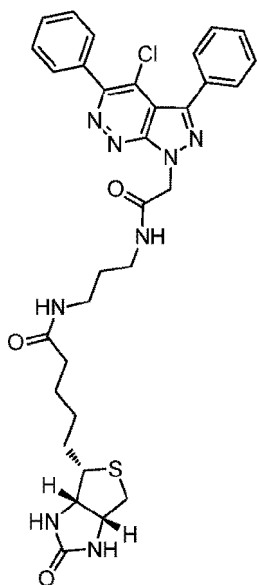
【請求項 9】

請求項 2 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩を含む、アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための組成物。

【請求項 10】

構造

【化 1 0】



を有する化合物または該化合物の塩。

【請求項 1 1】

請求項 10 に記載の化合物または該化合物の塩に結合することが可能なタンパク質を特定するための方法であって、

- a. 前記タンパク質を前記化合物または該化合物の塩に結合させるために効果的な条件下で、HEK293-クラリン-1 N48K-HA D9細胞を前記化合物または該化合物の塩と接触させること、
- b. 前記細胞を細胞可溶化物に変換すること、
- c. 前記細胞可溶化物をストレプトアビジンコーティングしたビーズに塗布すること、
- d. 前記ビーズを洗浄すること、
- e. 前記ビーズから、結合したタンパク質を溶離させること、および
- f. 前記溶離したタンパク質の質量を測定すること

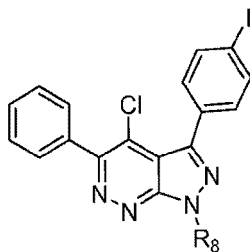
【請求項 1 2】

タンパク質および請求項 10 に記載の化合物または該化合物の塩の複合物。

【請求項 13】

式 I V

【化 1 1】



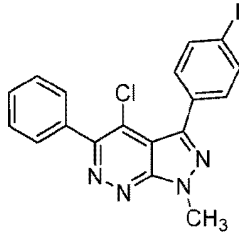
式 IV

(式中、 R_8 は $-C_1 - C_3$ アルキルである。)
 の化合物または医薬として許容される該化合物の塩。

【請求項 14】

構造

【化 1 2】

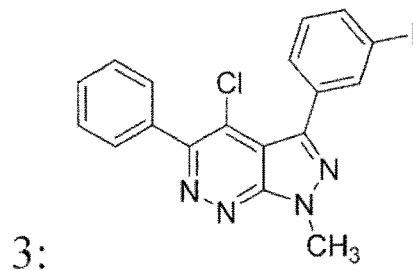


を有する請求項 1 3 に記載の化合物または 医薬として許容される該化合物の塩。

【請求項 1 5】

構造：

【化 1 3】



を有する、請求項 2 に記載の化合物または 医薬として許容される該化合物の塩。

【請求項 1 6】

網膜変性疾患を治療するための医薬の製造における、請求項 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩の使用。

【請求項 1 7】

網膜変性疾患を治療するための医薬の製造における、請求項 2 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩の使用。

【請求項 1 8】

アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための医薬の製造における、請求項 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩の使用。

【請求項 1 9】

アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための医薬の製造における、請求項 2 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩の使用。

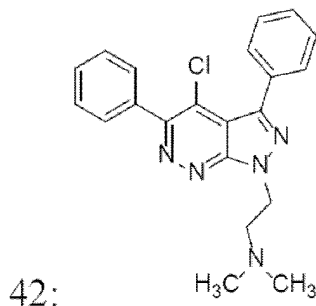
【請求項 2 0】

a が 0 から 5 の範囲の整数であり、b が 0 から 4 の範囲の整数である、請求項 1 または 2 に記載の化合物または医薬として許容される該化合物の塩。

【請求項 2 1】

構造

【化 1 4】



を有する化合物または 医薬として許容される該化合物の塩。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩および医薬として許容される担体またはピヒクルを含む組成物。

【請求項 2 3】

請求項 2 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩を含む、網膜変性疾患を治療するための組成物。

【請求項 2 4】

請求項 2 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩を含む、アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための組成物。

【請求項 2 5】

網膜変性疾患を治療するための医薬の製造における、請求項 2 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩の使用。

10

【請求項 2 6】

アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための医薬の製造における、請求項 2 1 に記載の化合物または該化合物の医薬として許容される塩の使用。

【請求項 2 7】

アッシャー症候群が、アッシャー I 症候群、アッシャー II 症候群またはアッシャー I II 症候群である、請求項 8、9 または 2 4 に記載の組成物。

【請求項 2 8】

アッシャー症候群が、アッシャー I 症候群、アッシャー II 症候群またはアッシャー I II 症候群である、請求項 1 8、1 9 または 2 6 に記載の使用。

20

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0 0 0 1】

アッシャー症候群は、稀な遺伝的障害であり、難聴および失明の主要な原因であって、1 0 個の遺伝子のうちのいずれか 1 個における変異に関連している。この症候群に対する他の名称として、Hallgren 症候群、Usher - Hallgren 症候群、RP - Dysacusis 症候群および Dystrophia Retinae Dysacusis 症候群が挙げられる。

【0 0 0 2】

アッシャー症候群は、難聴および徐々の失明を特徴とする。聴覚損失が内耳障害を伴うのに対し、視覚損失は、網膜色素変性症 (RP)、網膜細胞変性を伴う。普通、網膜の桿体細胞が最初に影響を受け、初期の夜盲症をもたらす、徐々に周辺視野が損失していく。網膜黄斑の錐体細胞の初期変性を含む場合もあり、中心明瞭度の損失をもたらす。患者の中心視覚 (foveal vision) がなくなる場合もあり、これは、中心および周辺の視覚はそのままの状態であるが、無視界のリングがこれを分断する「ドーナツ型の視覚」をもたらす。

30

【0 0 0 3】

アッシャー症候群は、I、II および III と表示されている 3 つの臨床サブタイプを有する。アッシャー I の対象は、生まれつき重度の難聴があり、1 0 年以内に視覚を失い始め、平衡性に問題を示し始める。彼らは、前庭に異常があるため、小児として歩行を習得するのが遅い。アッシャー II の対象は、聴覚損失はあまりなく、肉体的平衡異常はなく、思春期において視覚を失い始める。彼らの聴力の大半は、熟年まで維持することができる。アッシャー III の対象は、徐々に聴力および視力を失い、肉体的平衡異常に苦しむ可能性がある。

40

【0 0 0 4】

アッシャー症候群は、症状が不定であり；重症度の程度は、サブタイプとくっきりリンクしていない。例えば、アッシャー III の対象は、小児期においては無症候性であるが、成人早期から成人中期までに重度の聴覚損失および視覚損失を生じることがある。5 0 才以前の大幅な視力障害はアッシャー III の対象に共通している。他方では、アッシャー I の対象は、生まれつき難聴ではあるが、良好な中心視を老齢期まで維持し得る。

50

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

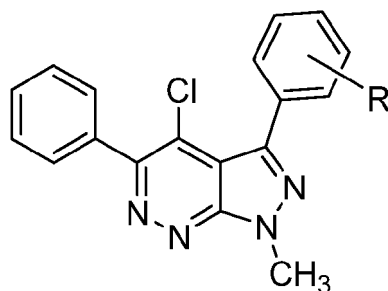
【0005】

(発明の要旨)

本発明は、式 I

【0006】

【化1】



式 I

(式中、Rは、フルオロ、クロロ、ヨード、メチル、メトキシ、シアノ、トリフルオロメチル、または(CO)NH(CH₃)である。)

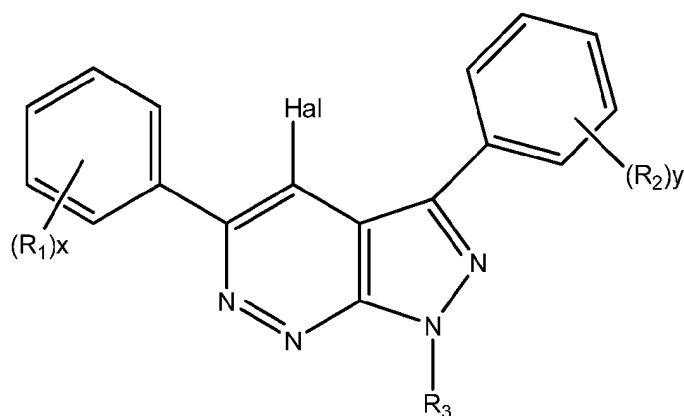
の化合物および医薬として許容される該化合物の塩を提供する。

【0007】

本発明は、式 I I

【0008】

【化2】



式 II

の化合物および医薬として許容される該化合物の塩を提供する

(式中、Halは、-Cl、-F、-I、または-Brであり、

xは、0から5の範囲の整数であり、

各R₁は、独立して、-Cl、-F、-I、-Br、-C₁-C₃アルキル、-O-C₁-C₃アルキル、-CN、-CF₃、-C(O)NH(CH₃)、または-C(CH₂)₂OHであり、

yは、0から5の範囲の整数であり、

各R₂は、独立して、-Cl、-F、-Br、-C₁-C₃アルキル、-O-C₁-C₃アルキル、-CN、-CF₃、-C(O)NH(CH₃)、または-C(CH₂)₂OHであり、

R₃は、-H、-C₁-C₆アルキル、-(C₁-C₆アルキレン)-OH、-(C₁-C₆アルキレン)-フェニル、-(C₁-C₆アルキレン)-O-(C₁-C₆アルキル)、-C₂-C₆アルケニル、-(C₁-C₆アルキレン)-C(O)R₄、-(C₁-

10

20

30

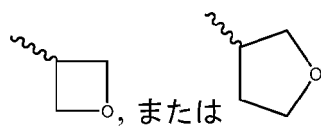
40

50

C₆ アルキレン) - R₅、

【 0 0 0 9 】

【 化 3 】

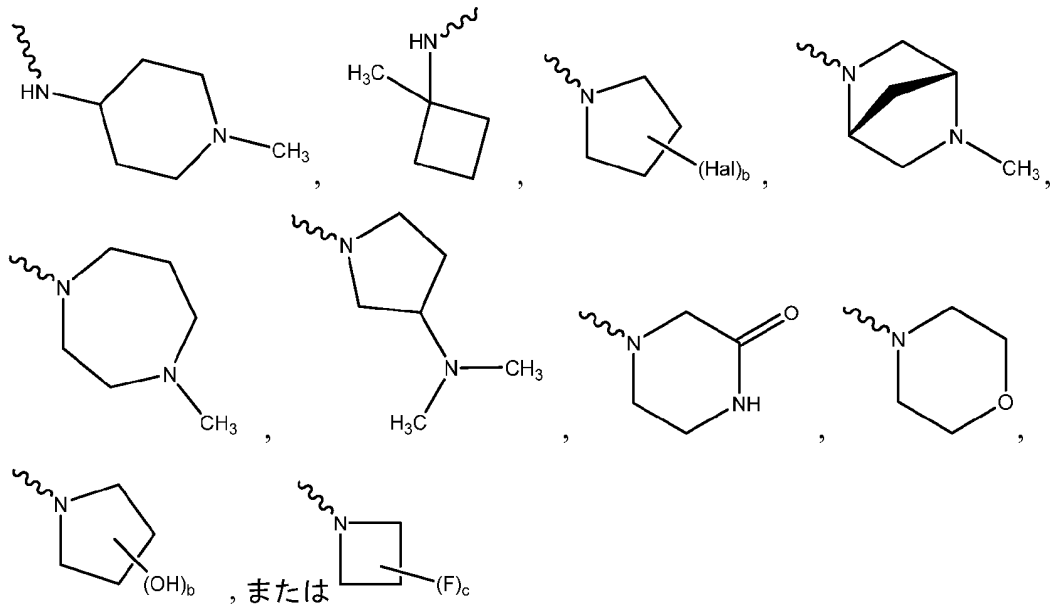


であり、

R₄ は、 - OH、 - O - (C₁ - C₆ アルキル)、 - NH₂、 - NH (C₁ - C₆ アルキル)、 - NH ((C₁ - C₆ アルキレン) - OH)、 - NH ((C₁ - C₆ アルキレン) N (C₁ - C₆ アルキル)₂)、 N (C₁ - C₆ アルキル) ((C₁ - C₆ アルキレン) - CN)、 - N (C₁ - C₆ アルキル) ((C₁ - C₆ アルキレン) N (C₁ - C₆ アルキル)₂)、 - NH (C₁ - C₆ アルキレン) - O - (C₁ - C₆ アルキル)、

【 0 0 1 0 】

Chemical structures of various substituents (R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶, R¹⁷, R¹⁸, R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²², R²³, R²⁴, R²⁵, R²⁶, R²⁷, R²⁸, R²⁹, R³⁰, R³¹, R³², R³³, R³⁴, R³⁵, R³⁶, R³⁷, R³⁸, R³⁹, R⁴⁰, R⁴¹, R⁴², R⁴³, R⁴⁴, R⁴⁵, R⁴⁶, R⁴⁷, R⁴⁸, R⁴⁹, R⁵⁰, R⁵¹, R⁵², R⁵³, R⁵⁴, R⁵⁵, R⁵⁶, R⁵⁷, R⁵⁸, R⁵⁹, R⁶⁰, R⁶¹, R⁶², R⁶³, R⁶⁴, R⁶⁵, R⁶⁶, R⁶⁷, R⁶⁸, R⁶⁹, R⁷⁰, R⁷¹, R⁷², R⁷³, R⁷⁴, R⁷⁵, R⁷⁶, R⁷⁷, R⁷⁸, R⁷⁹, R⁸⁰, R⁸¹, R⁸², R⁸³, R⁸⁴, R⁸⁵, R⁸⁶, R⁸⁷, R⁸⁸, R⁸⁹, R⁹⁰, R⁹¹, R⁹², R⁹³, R⁹⁴, R⁹⁵, R⁹⁶, R⁹⁷, R⁹⁸, R⁹⁹, R¹⁰⁰, R¹⁰¹, R¹⁰², R¹⁰³, R¹⁰⁴, R¹⁰⁵, R¹⁰⁶, R¹⁰⁷, R¹⁰⁸, R¹⁰⁹, R¹¹⁰, R¹¹¹, R¹¹², R¹¹³, R¹¹⁴, R¹¹⁵, R¹¹⁶, R¹¹⁷, R¹¹⁸, R¹¹⁹, R¹²⁰, R¹²¹, R¹²², R¹²³, R¹²⁴, R¹²⁵, R¹²⁶, R¹²⁷, R¹²⁸, R¹²⁹, R¹³⁰, R¹³¹, R¹³², R¹³³, R¹³⁴, R¹³⁵, R¹³⁶, R¹³⁷, R¹³⁸, R¹³⁹, R¹⁴⁰, R¹⁴¹, R¹⁴², R¹⁴³, R¹⁴⁴, R¹⁴⁵, R¹⁴⁶, R¹⁴⁷, R¹⁴⁸, R¹⁴⁹, R¹⁵⁰, R¹⁵¹, R¹⁵², R¹⁵³, R¹⁵⁴, R¹⁵⁵, R¹⁵⁶, R¹⁵⁷, R¹⁵⁸, R¹⁵⁹, R¹⁶⁰, R¹⁶¹, R¹⁶², R¹⁶³, R¹⁶⁴, R¹⁶⁵, R¹⁶⁶, R¹⁶⁷, R¹⁶⁸, R¹⁶⁹, R¹⁷⁰, R¹⁷¹, R¹⁷², R¹⁷³, R¹⁷⁴, R¹⁷⁵, R¹⁷⁶, R¹⁷⁷, R¹⁷⁸, R¹⁷⁹, R¹⁸⁰, R¹⁸¹, R¹⁸², R¹⁸³, R¹⁸⁴, R¹⁸⁵, R¹⁸⁶, R¹⁸⁷, R¹⁸⁸, R¹⁸⁹, R¹⁹⁰, R¹⁹¹, R¹⁹², R¹⁹³, R¹⁹⁴, R¹⁹⁵, R¹⁹⁶, R¹⁹⁷, R¹⁹⁸, R¹⁹⁹, R²⁰⁰, R²⁰¹, R²⁰², R²⁰³, R²⁰⁴, R²⁰⁵, R²⁰⁶, R²⁰⁷, R²⁰⁸, R²⁰⁹, R²¹⁰, R²¹¹, R²¹², R²¹³, R²¹⁴, R²¹⁵, R²¹⁶, R²¹⁷, R²¹⁸, R²¹⁹, R²²⁰, R²²¹, R²²², R²²³, R²²⁴, R²²⁵, R²²⁶, R²²⁷, R²²⁸, R²²⁹, R²³⁰, R²³¹, R²³², R²³³, R²³⁴, R²³⁵, R²³⁶, R²³⁷, R²³⁸, R²³⁹, R²⁴⁰, R²⁴¹, R²⁴², R²⁴³, R²⁴⁴, R²⁴⁵, R²⁴⁶, R²⁴⁷, R²⁴⁸, R²⁴⁹, R²⁵⁰, R²⁵¹, R²⁵², R²⁵³, R²⁵⁴, R²⁵⁵, R²⁵⁶, R²⁵⁷, R²⁵⁸, R²⁵⁹, R²⁶⁰, R²⁶¹, R²⁶², R²⁶³, R²⁶⁴, R²⁶⁵, R²⁶⁶, R²⁶⁷, R²⁶⁸, R²⁶⁹, R²⁷⁰, R²⁷¹, R²⁷², R²⁷³, R²⁷⁴, R²⁷⁵, R²⁷⁶, R²⁷⁷, R²⁷⁸, R²⁷⁹, R²⁸⁰, R²⁸¹, R²⁸², R²⁸³, R²⁸⁴, R²⁸⁵, R²⁸⁶, R²⁸⁷, R²⁸⁸, R²⁸⁹, R²⁹⁰, R²⁹¹, R²⁹², R²⁹³, R²⁹⁴, R²⁹⁵, R²⁹⁶, R²⁹⁷, R²⁹⁸, R²⁹⁹, R³⁰⁰, R³⁰¹, R³⁰², R³⁰³, R³⁰⁴, R³⁰⁵, R³⁰⁶, R³⁰⁷, R³⁰⁸, R³⁰⁹, R³¹⁰, R³¹¹, R³¹², R³¹³, R³¹⁴, R³¹⁵, R³¹⁶, R³¹⁷, R³¹⁸, R³¹⁹, R³²⁰, R³²¹, R³²², R³²³, R³²⁴, R³²⁵, R³²⁶, R³²⁷, R³²⁸, R³²⁹, R³³⁰, R³³¹, R³³², R³³³, R³³⁴, R³³⁵, R³³⁶, R³³⁷, R³³⁸, R³³⁹, R³⁴⁰, R³⁴¹, R³⁴², R³⁴³, R³⁴⁴, R³⁴⁵, R³⁴⁶, R³⁴⁷, R³⁴⁸, R³⁴⁹, R³⁵⁰, R³⁵¹, R³⁵², R³⁵³, R³⁵⁴, R³⁵⁵, R³⁵⁶, R³⁵⁷, R³⁵⁸, R³⁵⁹, R³⁶⁰, R³⁶¹, R³⁶², R³⁶³, R³⁶⁴, R³⁶⁵, R³⁶⁶, R³⁶⁷, R³⁶⁸, R³⁶⁹, R³⁷⁰, R³⁷¹, R³⁷², R³⁷³, R³⁷⁴, R³⁷⁵, R³⁷⁶, R³⁷⁷, R³⁷⁸, R³⁷⁹, R³⁸⁰, R³⁸¹, R³⁸², R³⁸³, R³⁸⁴, R³⁸⁵, R³⁸⁶, R³⁸⁷, R³⁸⁸, R³⁸⁹, R³⁹⁰, R³⁹¹, R³⁹², R³⁹³, R³⁹⁴, R³⁹⁵, R³⁹⁶, R³⁹⁷, R³⁹⁸, R³⁹⁹, R⁴⁰⁰, R⁴⁰¹, R⁴⁰², R⁴⁰³, R⁴⁰⁴, R⁴⁰⁵, R⁴⁰⁶, R⁴⁰⁷, R⁴⁰⁸, R⁴⁰⁹, R⁴¹⁰, R⁴¹¹, R⁴¹², R⁴¹³, R⁴¹⁴, R⁴¹⁵, R⁴¹⁶, R⁴¹⁷, R⁴¹⁸, R⁴¹⁹, R



であり、

a は、0 から 10 の範囲の整数であり、

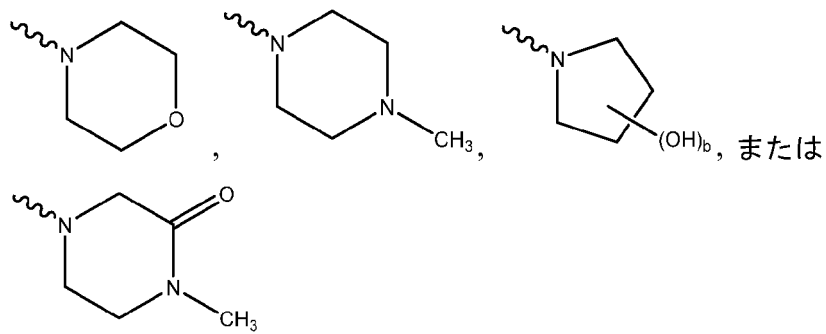
b は、0 から 8 の範囲の整数であり、

c は、0 から 6 の範囲の整数であり、

R₅ は、

【0011】

【化5】



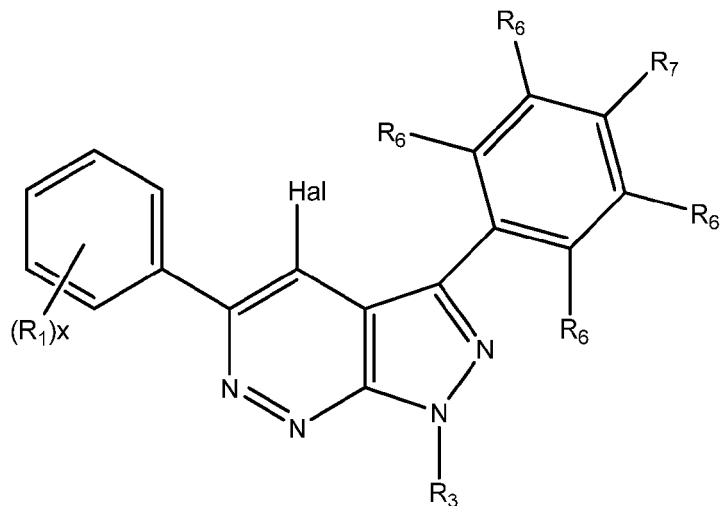
である。)。

【0012】

本発明は、式 I I I

【0013】

【化 6】



式 III

の化合物および医薬として許容される該化合物の塩を追加的に提供する

(式中、Hal は、- Cl、- F、- I、または - Br であり、

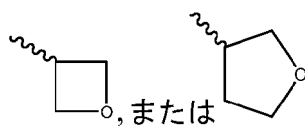
x は、0 から 5 の範囲の整数であり、

各 R_1 は、独立して、- Cl、- F、- I、- Br、- C_1 - C_3 アルキル、- O- C_1 - C_3 アルキル、- CN、- CF_3 、- $C(O)NH(CH_3)$ 、または - $C(CH_2OH)_2$ であり、

R_3 は、- H、- C_1 - C_6 アルキル、- (C_1 - C_6 アルキレン)-OH、- (C_1 - C_6 アルキレン)-フェニル、- (C_1 - C_6 アルキレン)-O(C_1 - C_6 アルキル)、- C_2 - C_6 アルケニル、- (C_1 - C_6 アルキレン)- $C(O)R_4$ 、- (C_1 - C_6 アルキレン)- R_5 、

【0014】

【化 7】

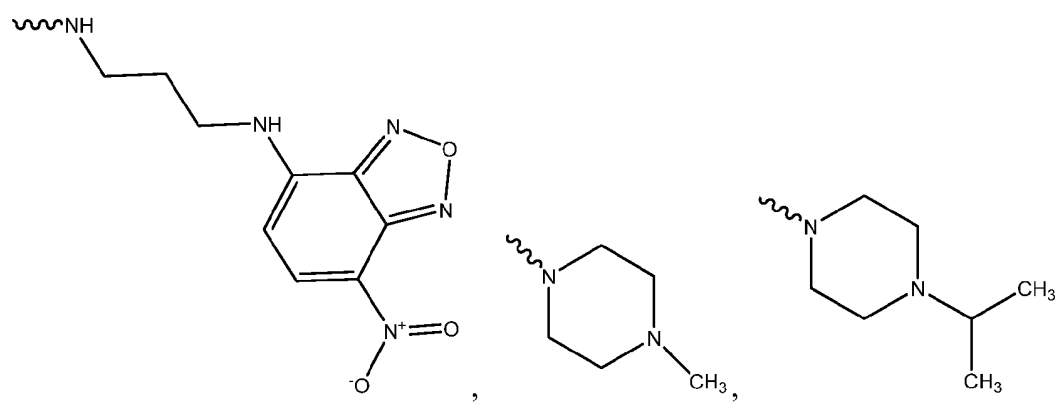


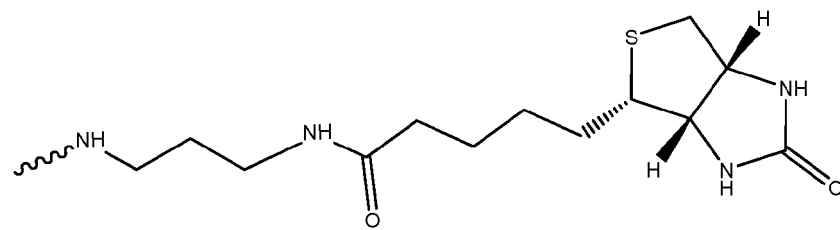
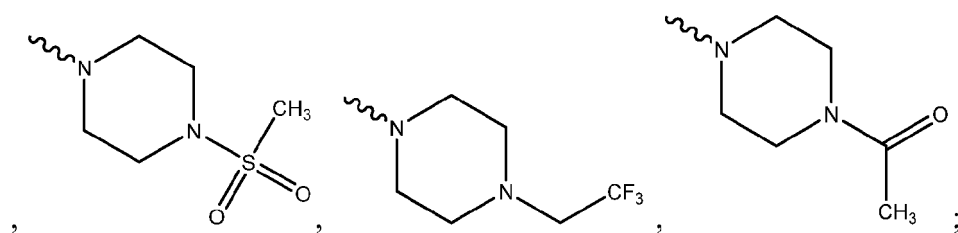
であり、

R_4 は、- OH、- O- (C_1 - C_6 アルキル)、- NH_2 、- $NH(C_1$ - C_6 アルキル)、- $NH((C_1$ - C_6 アルキレン)-OH)、- $NH((C_1$ - C_6 アルキレン)- $N(C_1$ - C_6 アルキル) $_2$)、- $N(C_1$ - C_6 アルキル)-(C_1 - C_6 アルキレン)-CN)、- $N(C_1$ - C_6 アルキル)-(C_1 - C_6 アルキレン)- $N(C_1$ - C_6 アルキル) $_2$)、- $NH(C_1$ - C_6 アルキレン)-O- (C_1 - C_6 アルキル)、

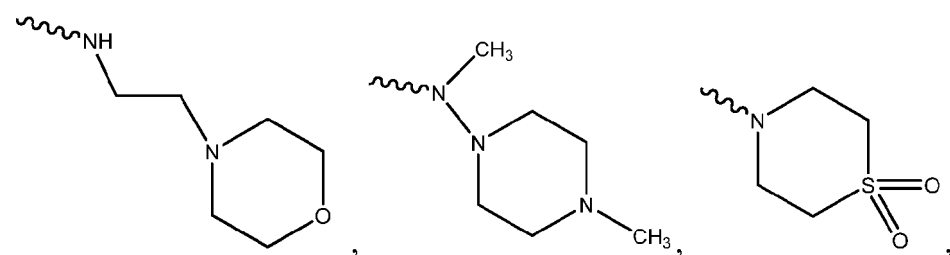
【0015】

【化 8】

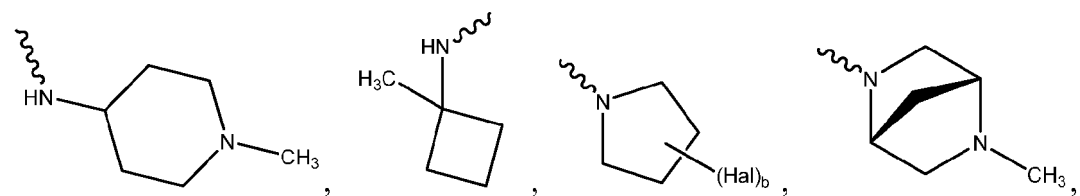
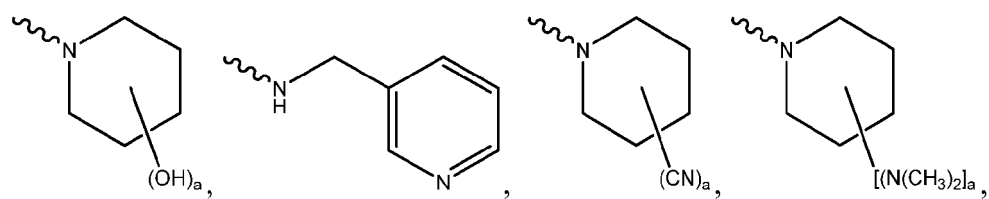




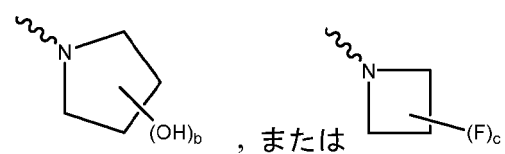
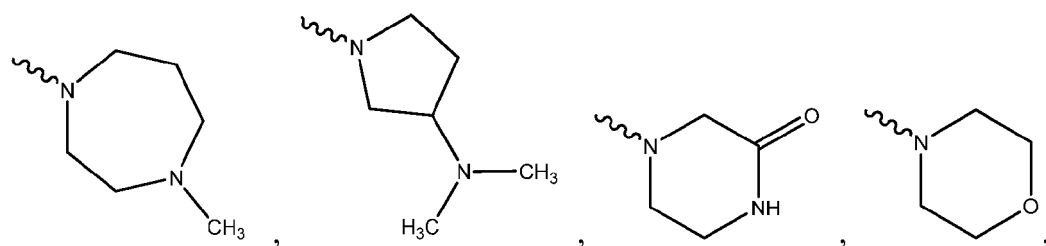
10



20



30



40

であり、

a は、0 から 10 の範囲の整数であり、

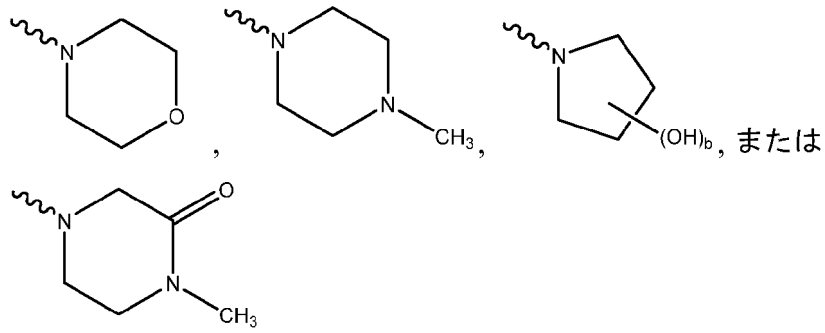
b は、0 から 8 の範囲の整数であり、

c は、0 から 6 の範囲の整数であり、

R₅ は、

【 0 0 1 6 】

【化 9】



10

であり、

各 R_6 および R_7 は、独立して、- H または - I であり、 R_6 および R_7 のうちの少なくとも 1 つは - I であり、

R_3 が - C_1 - C_3 アルキルである場合、 R_7 は - H である。)。

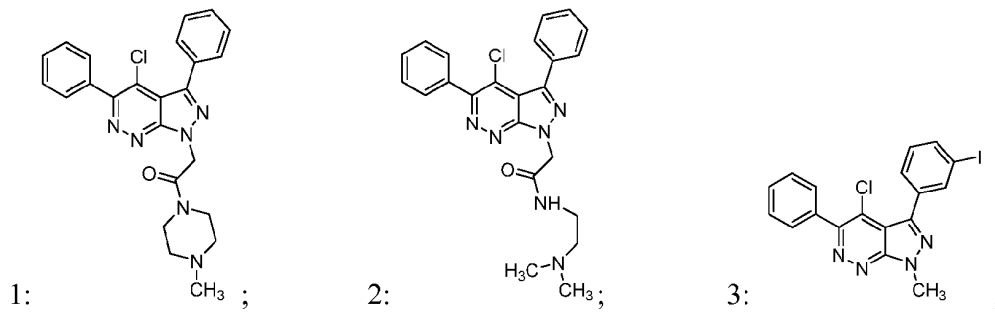
【 0 0 1 7 】

本発明は、以下の構造

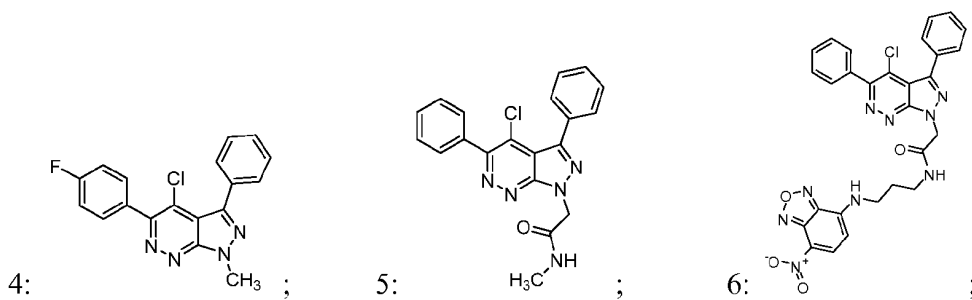
【 0 0 1 8 】

【化 1 0】

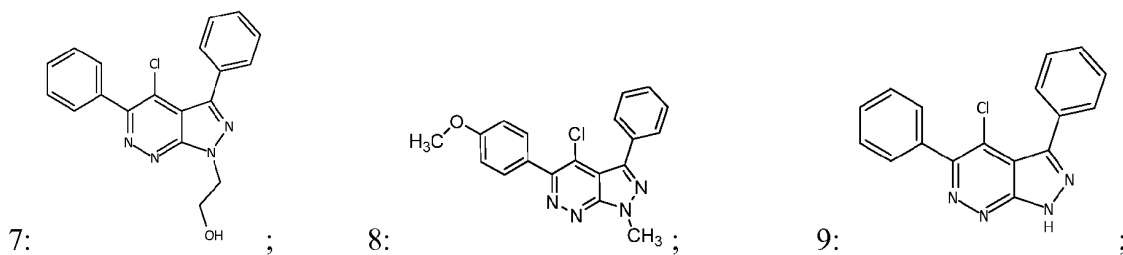
20

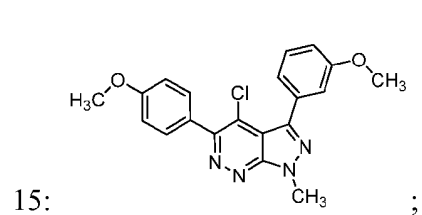
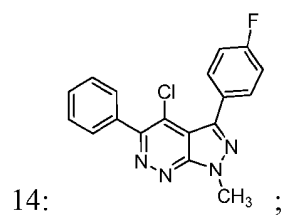
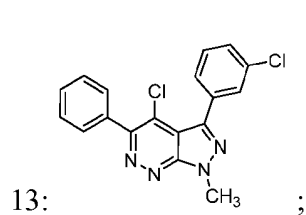
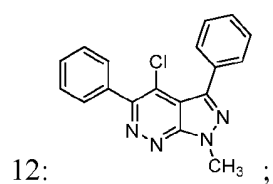
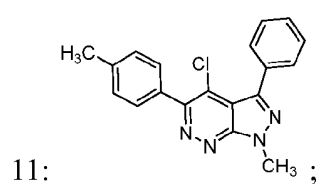
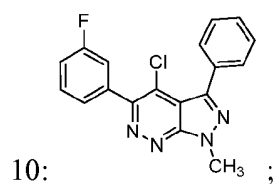


30

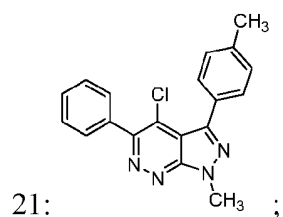
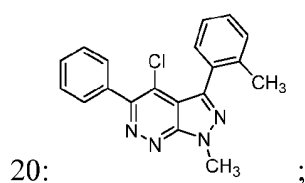
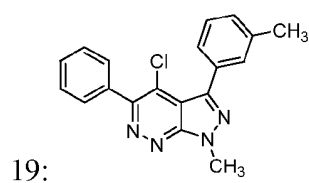
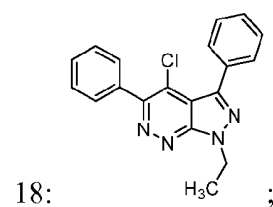
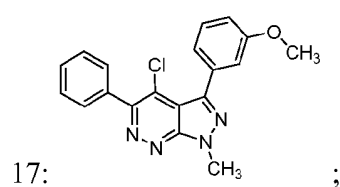
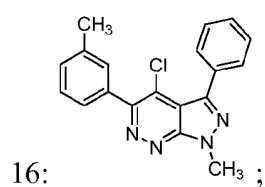


40

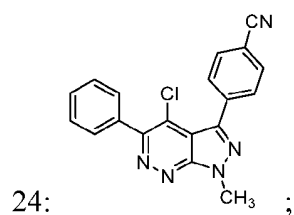
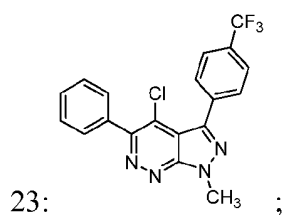
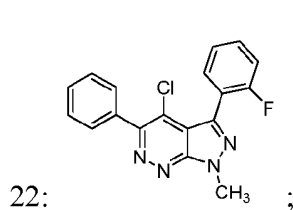




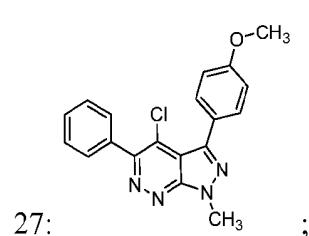
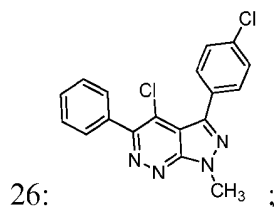
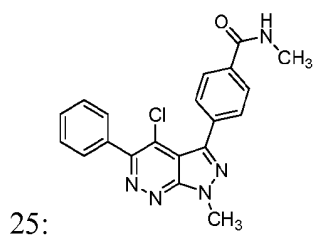
10



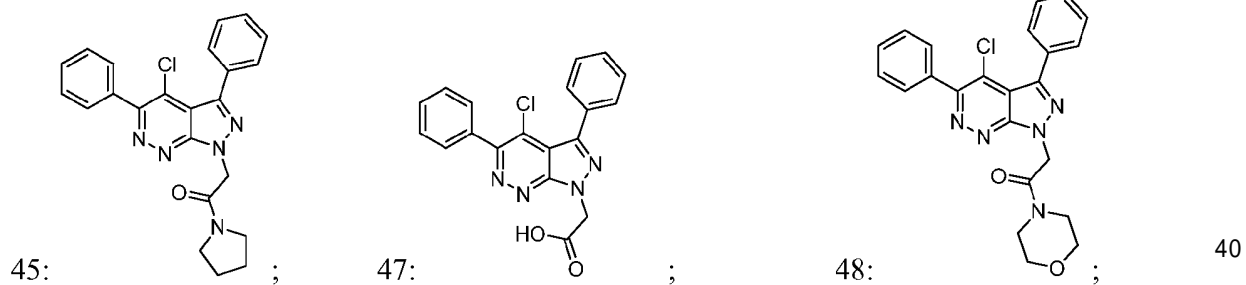
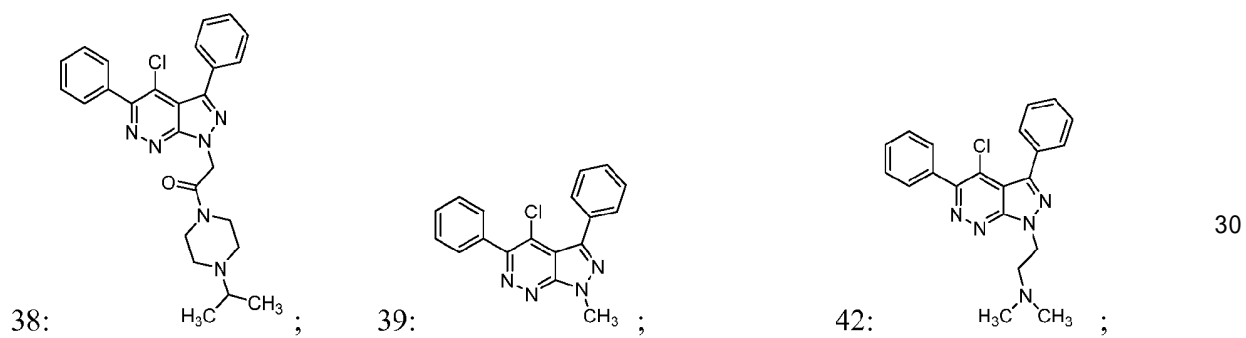
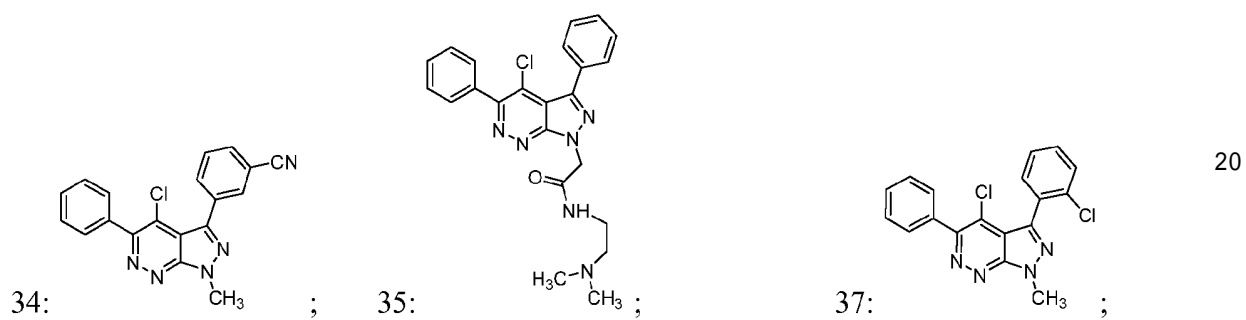
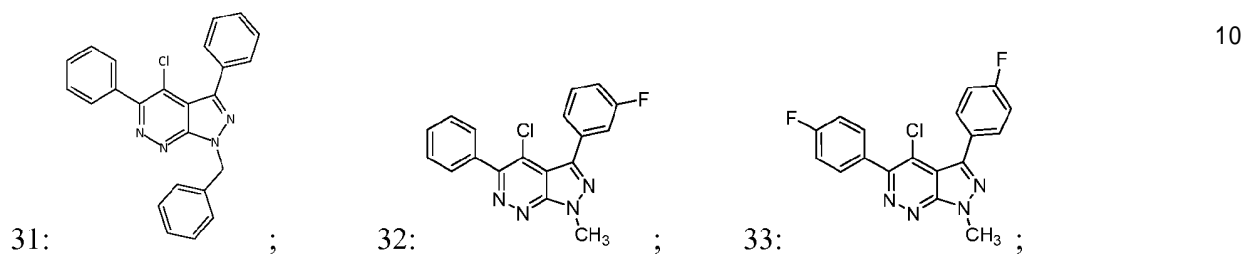
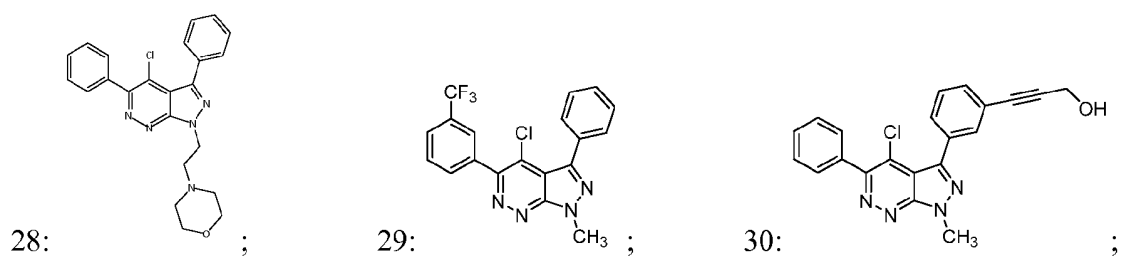
20

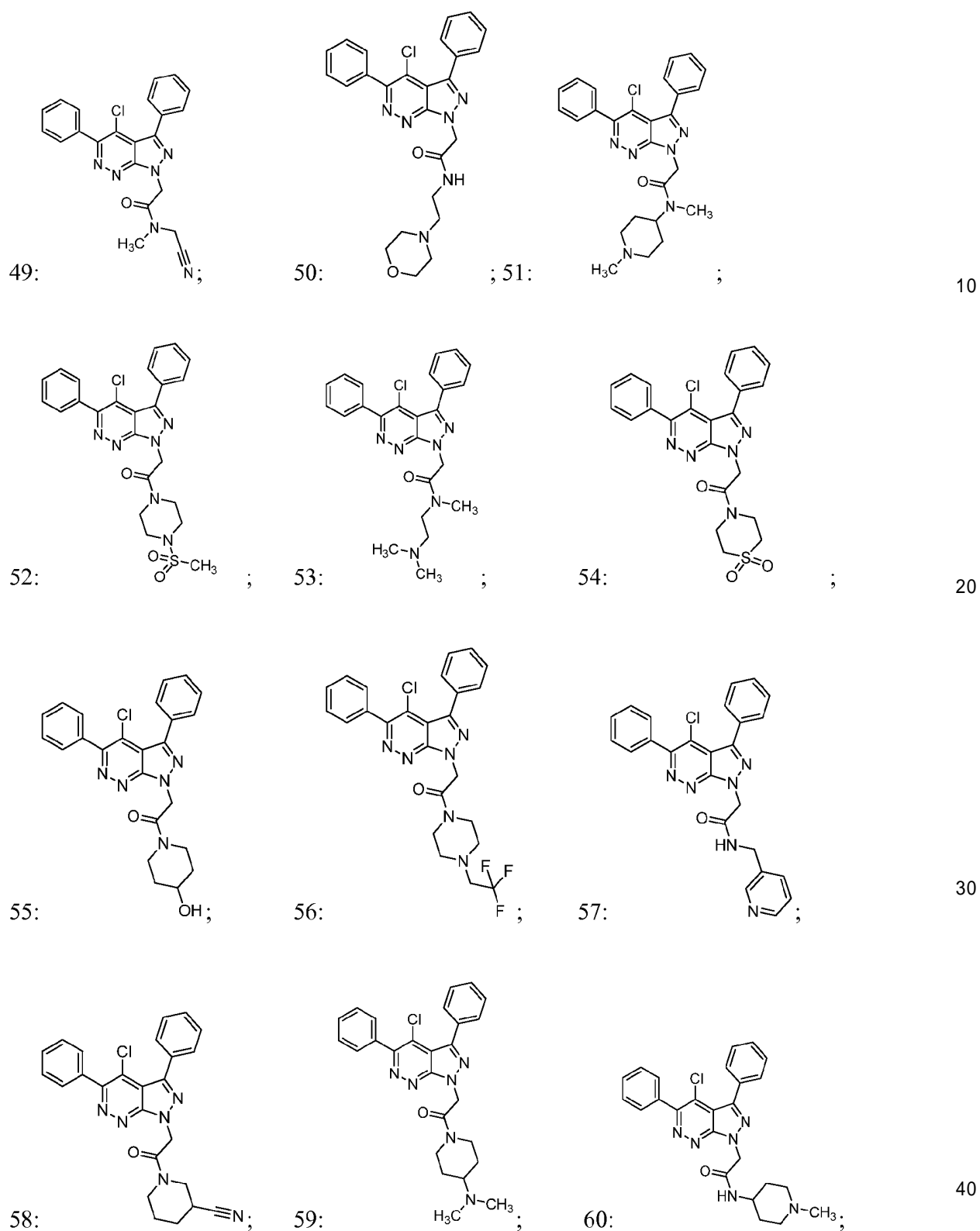


30



40



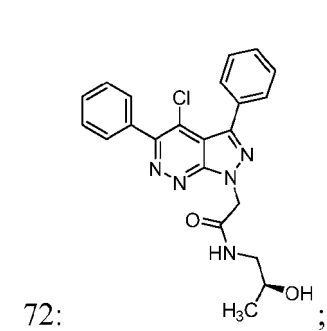
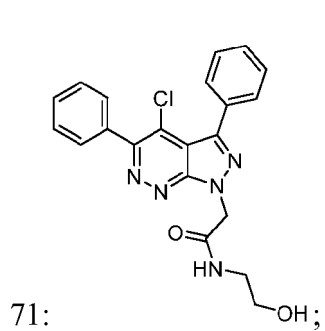
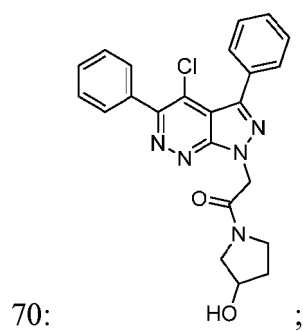
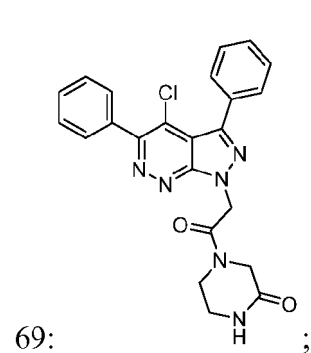
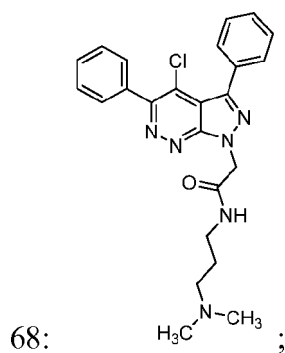
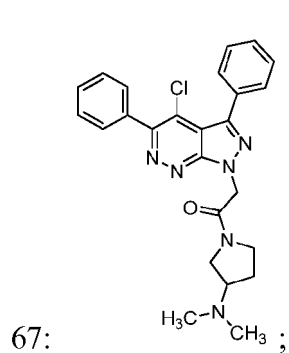
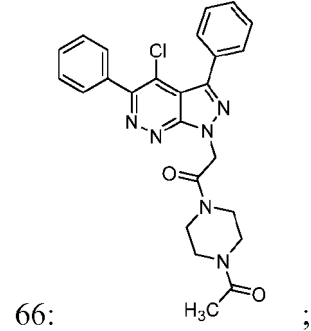
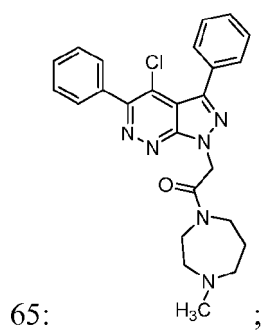
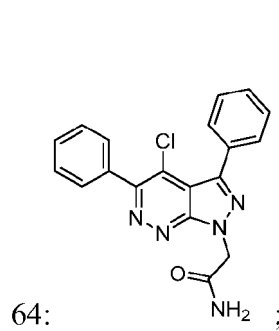
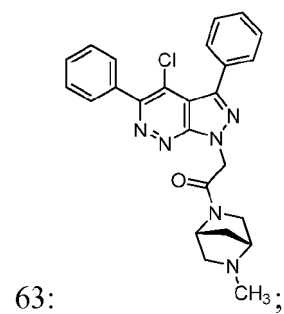
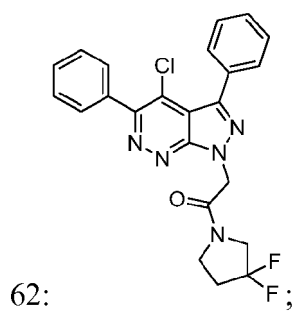
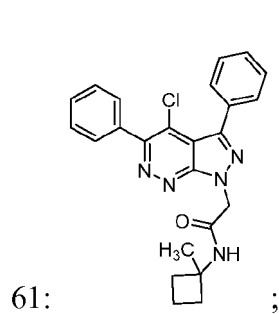


10

20

30

40

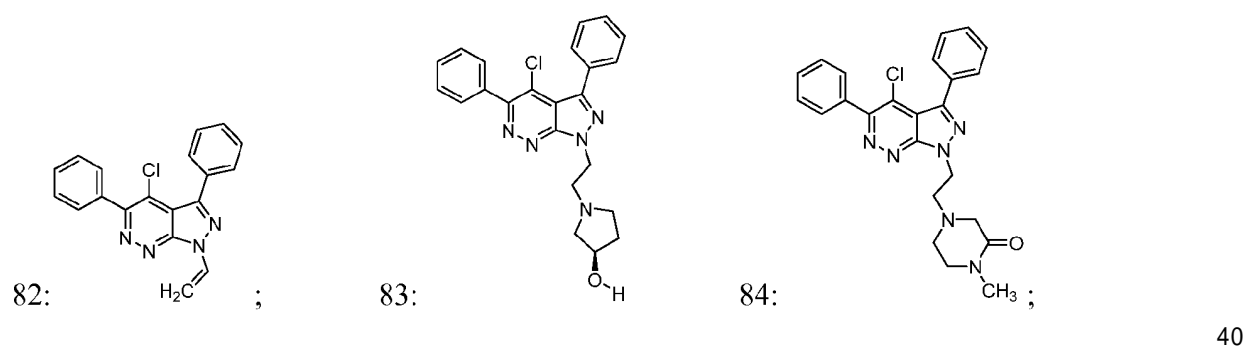
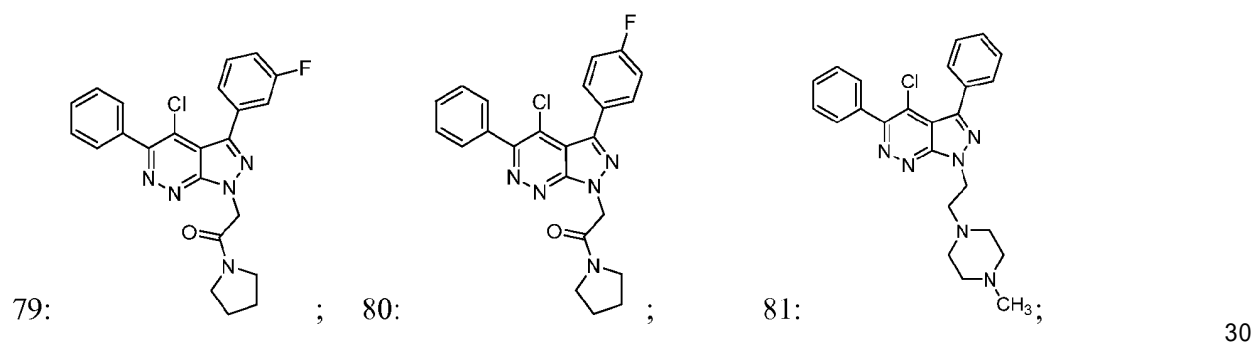
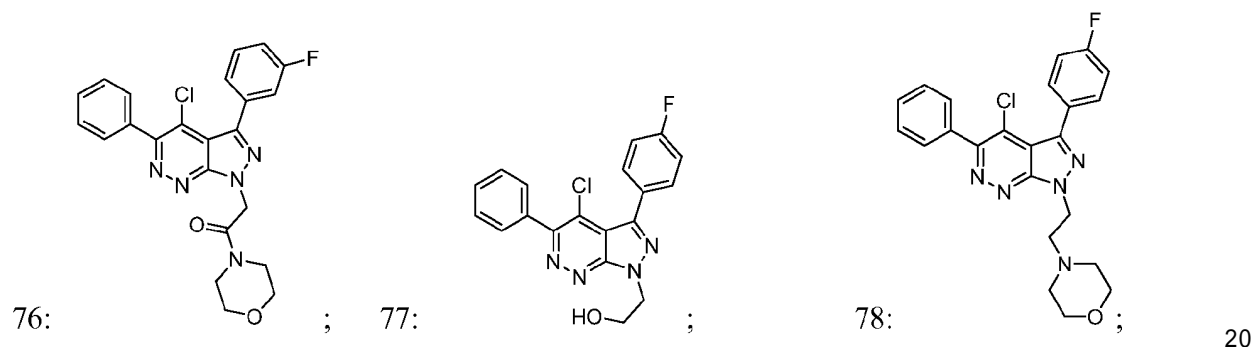
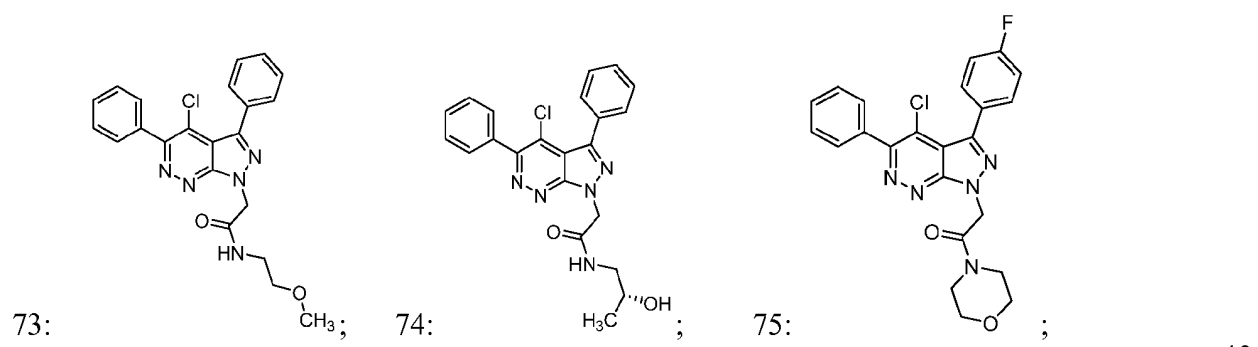


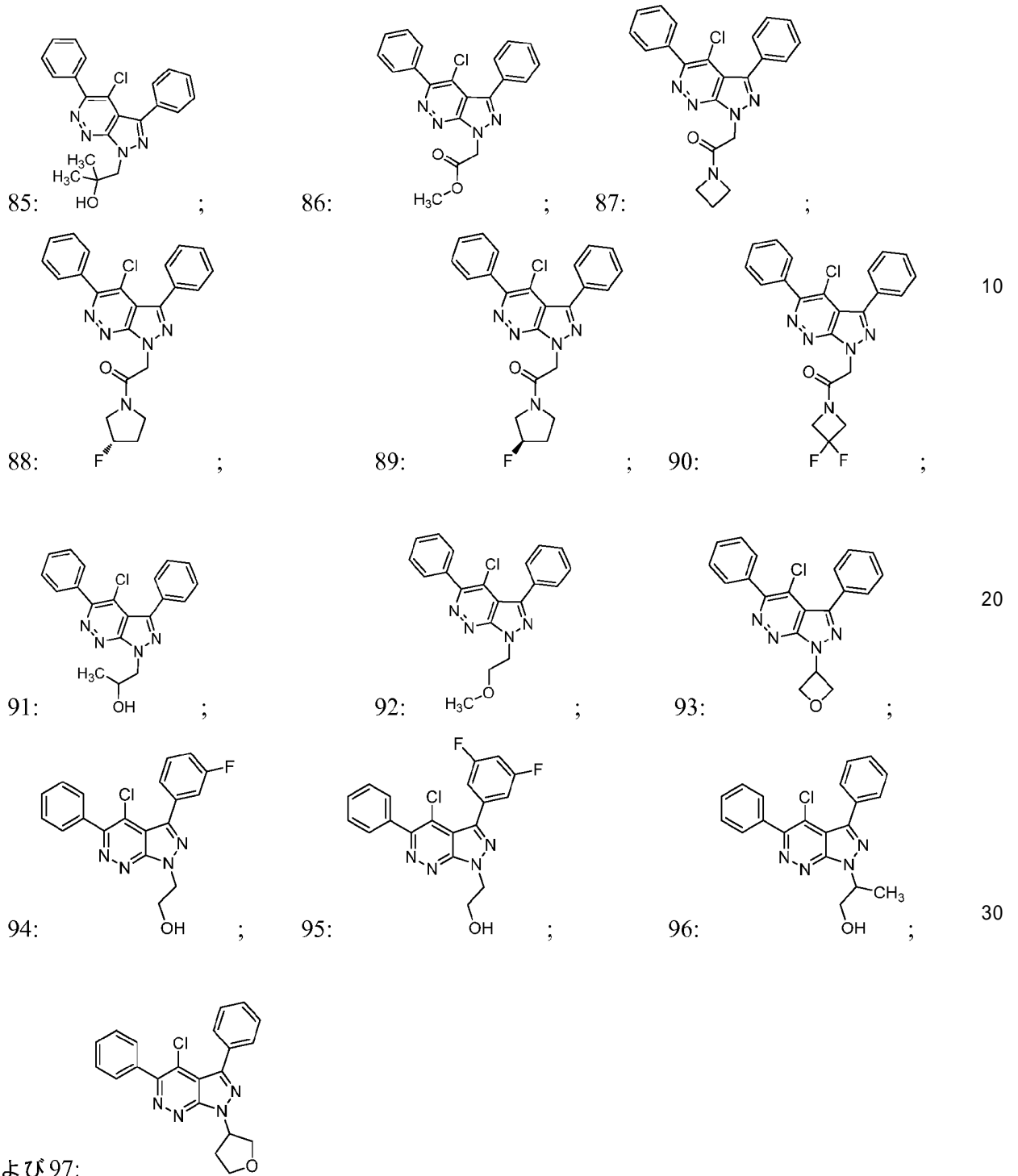
10

20

30

40





を有する化合物および医薬として許容される該化合物の塩をさらに提供する。

【 0 0 1 9 】

化合物 1 - 2、4 - 35、37 - 39、42、45 および 47 - 97 は、式 I I の例示的化合物である。化合物 3 は、式 I I I の例示的化合物である。

【 0 0 2 0 】

式 I、I I および I I I の化合物ならびに上記化合物 1 - 35、37 - 39、42、45 および 47 - 97、または医薬として許容される該化合物の塩（「ピラゾロピリダジン化合物」）のそれぞれは、アッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失を治療するのに有用である。

【 0 0 2 1 】

40

50

本発明は、有効量のピラゾロピリダジン化合物および医薬として許容される担体またはビヒクルを含む組成物をさらに提供する。組成物は、アッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失を治療するのに有用である。

【 0 0 2 2 】

本発明は、網膜変性疾患を治療するための方法であって、有効量のピラゾロピリダジン化合物を、治療を必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。

【 0 0 2 3 】

本発明は、アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための方法であって、有効量のピラゾロピリダジン化合物を、治療を必要とする対象に投与することを含む方法をさらに提供する。

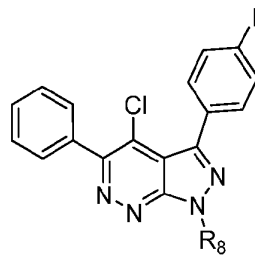
10

【 0 0 2 4 】

本発明は、式 I V

【 0 0 2 5 】

【 化 1 1 】



式 IV

20

の化合物および該化合物の塩

(式中、 R_8 は - C_1 - C_3 アルキルである。)

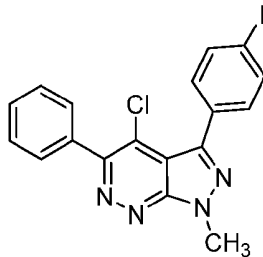
をさらに提供する。

【 0 0 2 6 】

本発明は、構造

【 0 0 2 7 】

【 化 1 2 】



を有する式 I V の例示的化合物である化合物 4 3 および該化合物の塩をさらに提供する。

【 0 0 2 8 】

式 I V の化合物および該化合物の塩は、ピラゾロピリダジン化合物を合成するための中間体として有用である。

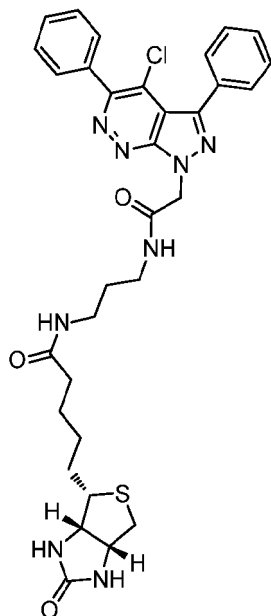
【 0 0 2 9 】

本発明は、構造

【 0 0 3 0 】

40

【化 1 3】



10

を有する化合物 4 4 および該化合物の塩をさらに提供する。

【 0 0 3 1】

20

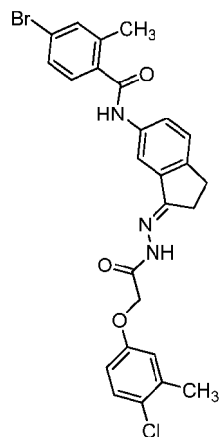
化合物 4 4 は、そのビスフェニルピラゾロピリダジン部分と結合するタンパク質を特定するためのプローブとして有用である。

【 0 0 3 2】

本発明は、構造

【 0 0 3 3】

【化 1 4】



30

を有する化合物 4 6 および医薬として許容される該化合物の塩をさらに提供する。

【 0 0 3 4】

40

化合物 4 6 または医薬として許容される該化合物の塩はまた、アッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失を治療することにも有用である。

【 0 0 3 5】

本発明は、有効量の化合物 4 6、または医薬として許容される該化合物の塩および医薬として許容される担体またはビヒクルを含む組成物をさらに提供する。この組成物は、アッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失を治療するのに有用である。

【 0 0 3 6】

本発明は、網膜変性疾患を治療するための方法であって、有効量の化合物 4 6 または医薬として許容される該化合物の塩を、治療を必要とする対象に投与することを含む方法をさらに提供する。

50

【 0 0 3 7 】

本発明は、アッシャー症候群に伴う聴覚損失を治療するための方法であって、有効量の化合物 4 6 または医薬として許容される該化合物の塩を、治療を必要とする対象に投与することを含む方法をさらに提供する。

【 0 0 3 8 】

以下のそれぞれは、「本発明の化合物」である：ピラゾロピリダジン化合物、化合物 1 - 3 5、3 7 - 3 9 もしくは 4 2 - 9 7 または該化合物の塩、および式 I、I I もしくは I I I の構造を有する化合物または該化合物の塩。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 9 】

10

【図 1】細胞中における N 4 8 K クラリン - 1 の発現密度を示す画像である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 0 】

本発明は、本発明の化合物、本発明の化合物を含む組成物、およびアッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失を治療するための方法であって、ピラゾロピリダジン化合物もしくは化合物 4 6 または医薬として許容される該化合物の塩を投与することを含む方法を提供する。

【 0 0 4 1 】

本発明の化合物

「アルキル」という用語は、直鎖または分枝の飽和した炭化水素基を指す。例示的アルキル基として、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2C(CH_3)_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ および $-CH(CH_3)C(CH_3)_3$ 基が挙げられる。

20

【 0 0 4 2 】

「アルキレン」という用語は、別の原子または基に結合したアルキル基を指す。例示的アルキレン基として、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH(CH_3)CH_2-$ および $-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-$ 基が挙げられる。

30

【 0 0 4 3 】

「アルケニル」という用語は、1 つ以上の二重結合を有する直鎖または分枝の炭化水素基を指す。例示的アルケニル基として $-CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH=CH_2$ 、*cis* - $CH=CHCH_3$ 、*trans* - $CH=CHCH_3$ 、 $-C(CH_3)=CH_2$ 、*cis* - $CH=CHCH_2CH_3$ 、*trans* - $CH=CHCH_2CH_3$ 、*cis* - $CH_2CH=CHCH_3$ 、*trans* - $CH_2CH=CHCH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH=CH_2$ 、*cis* - $CH=CHCH_2CH_2CH_3$ 、*trans* - $CH=CHCH_2CH_2CH_3$ 、*cis* - $CH_2CH_2CH=CHCH_3$ 、*trans* - $CH_2CH_2CH=CHCH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH=C(CH_3)_2$ 、*cis* - $CH=CHCH_2CH_2CH_3$ 、*trans* - $CH=CHCH_2CH_2CH_3$ 、*cis* - $CH_2CH_2CH_2CH=CHCH_3$ 、*trans* - $CH_2CH_2CH_2CH=CHCH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH=CH_2$ および $-CH_2CH_2CH=C(CH_3)_2$ 基が挙げられる。

40

50

【 0 0 4 4 】

「約」という単語が数値の直前に置かれている場合には、この値のプラスまたはマイナス 10 % の範囲を意味し、例えば、「約 1 0 0 m g」は 9 0 m g - 1 1 0 m g を意味し、「約 3 0 0 m g」は 2 7 0 m g - 3 3 0 m g を意味する。

【 0 0 4 5 】

略語：

A P C I 大気圧化学イオン化
 D A P I 4', 6 - ジアミジノ - 2 - フェニルインドール
 D I P E A ジイソプロピルエチルアミン
 D M E M D u l b e c c o 変法イーグル培地 10
 D M F ジメチルホルムアミド
 D M S O ジメチルスルホキシド
 E D A C 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド塩酸塩
 E S I エレクトロスプレーイオン化
 E S I - T O F エレクトロスプレーイオン化 - 飛行時間
 H A T U 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 -
 テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート
 H O P O 2 - ヒドロキシピリジン - N - オキシド
 H P L C 高速液体クロマトグラフィー
 L C M S 液体クロマトグラフィー - 質量分析法 20
 L D A リチウムジイソプロピルアミド
 m / z 質量電荷比
 M A L D I - T O F マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 - 飛行時間
 M S 質量分析法
 P B S リン酸緩衝食塩水
 R t 保持時間
 S D S ドデシル硫酸ナトリウム
 T H F テトラヒドロフラン

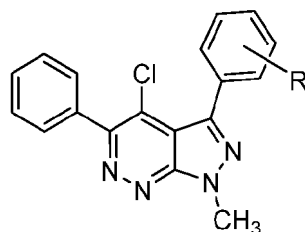
【 0 0 4 6 】

式 I の化合物 30

一実施形態において、ピラゾロピリダジン化合物は、式 I

【 0 0 4 7 】

【 化 1 5 】



式 I

の化合物または医薬として許容される該化合物の塩である

(式中、R は、フルオロ、クロロ、ヨード、メチル、メトキシ、シアノ、トリフルオロメチル、または - (C O) N H (C H ₃) である。)。一実施形態において、式 I の R は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある。一実施形態において、式 I の R は、ピラゾロピリダジノ環系に対してメタ位にある。一実施形態において、式 I の R は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある。

【 0 0 4 8 】

式 I I の化合物

本発明はまた、式 I I

10

20

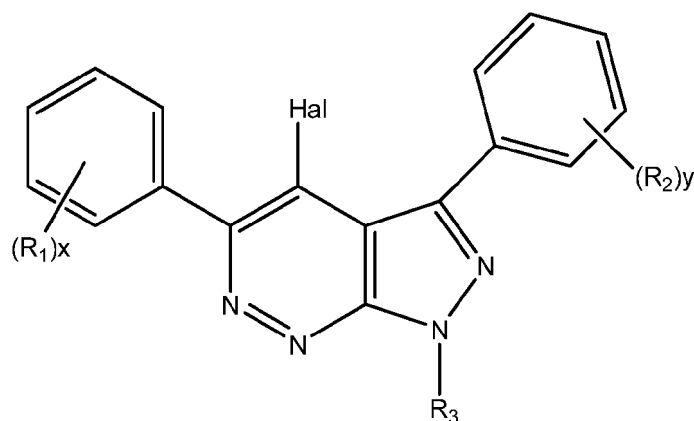
30

40

50

【 0 0 4 9 】

【 化 1 6 】



10

式 II

の化合物および医薬として許容される該化合物の塩を提供する

(式中、Hal は、- Cl、- F、- I、または - Br であり、

x は、0 から 5 の範囲の整数であり、

各 R_1 は、独立して、- Cl、- F、- I、- Br、- $C_1 - C_3$ アルキル、- O - $C_1 - C_3$ アルキル、- CN、- CF_3 、- $C(O)NH(CH_3)$ 、または - $C(CH_2OH)$ であり、

20

y は、0 から 5 の範囲の整数であり、

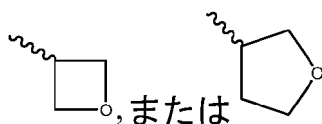
各 R_2 は、独立して、- Cl、- F、- Br、- $C_1 - C_3$ アルキル、- O - $C_1 - C_3$ アルキル、- CN、- CF_3 、- $C(O)NH(CH_3)$ 、または - $C(CH_2OH)$ であり、

R_3 は、- H、- $C_1 - C_6$ アルキル、- ($C_1 - C_6$ アルキレン) - OH、- ($C_1 - C_6$ アルキレン) - フェニル、- ($C_1 - C_6$ アルキレン) - O - ($C_1 - C_6$ アルキル)、- $C_2 - C_6$ アルケニル、- ($C_1 - C_6$ アルキレン) - $C(O)R_4$ 、- ($C_1 - C_6$ アルキレン) - R_5 、

【 0 0 5 0 】

30

【 化 1 7 】



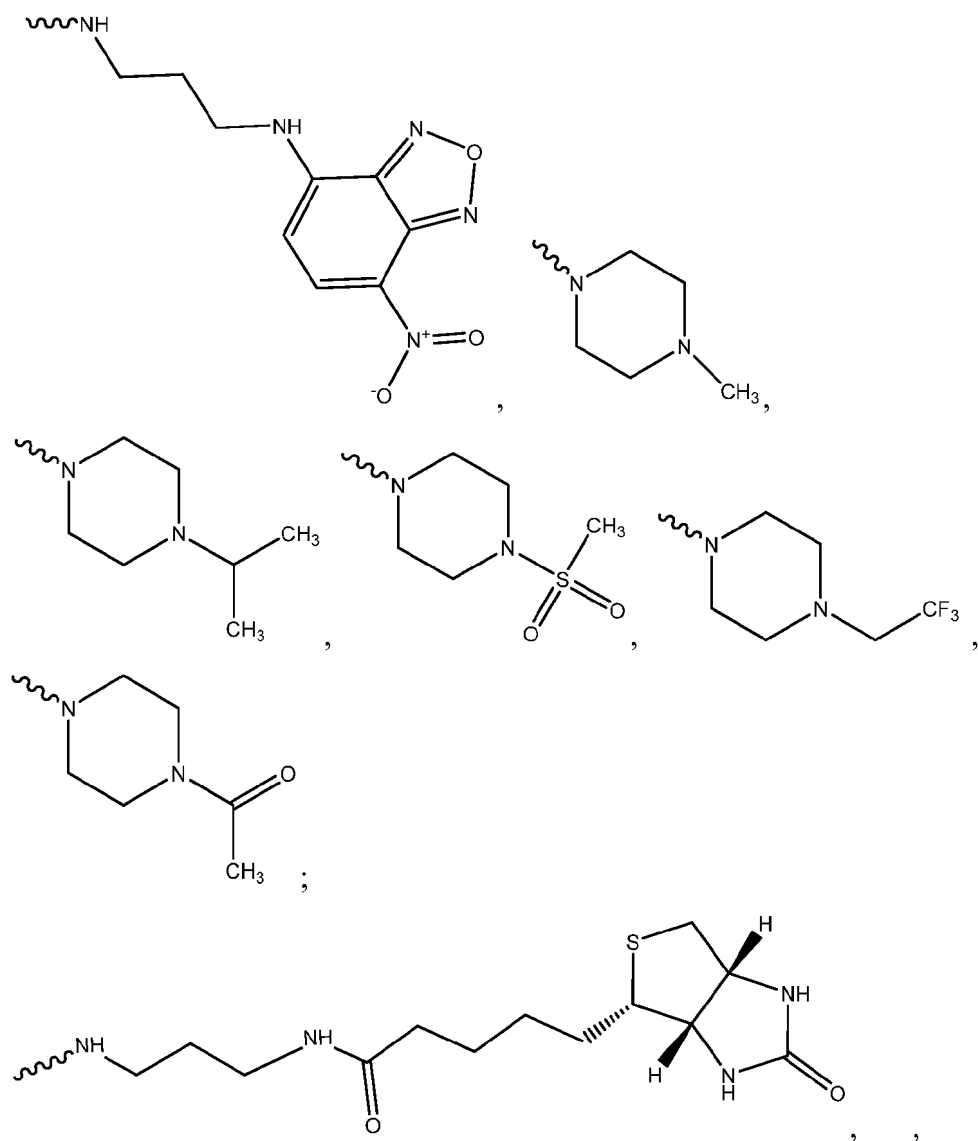
であり、

R_4 は、- OH、- O - ($C_1 - C_6$ アルキル)、- NH_2 、- $NH(C_1 - C_6$ アルキル)、- $NH((C_1 - C_6$ アルキレン) - OH)、- $NH((C_1 - C_6$ アルキレン) $N(C_1 - C_6$ アルキル) $_2$)、- $N(C_1 - C_6$ アルキル) ($(C_1 - C_6$ アルキレン) - CN)、- $N(C_1 - C_6$ アルキル) ($(C_1 - C_6$ アルキレン) $N(C_1 - C_6$ アルキル) $_2$)、- $NH(C_1 - C_6$ アルキレン) - O - ($C_1 - C_6$ アルキル)、

40

【 0 0 5 1 】

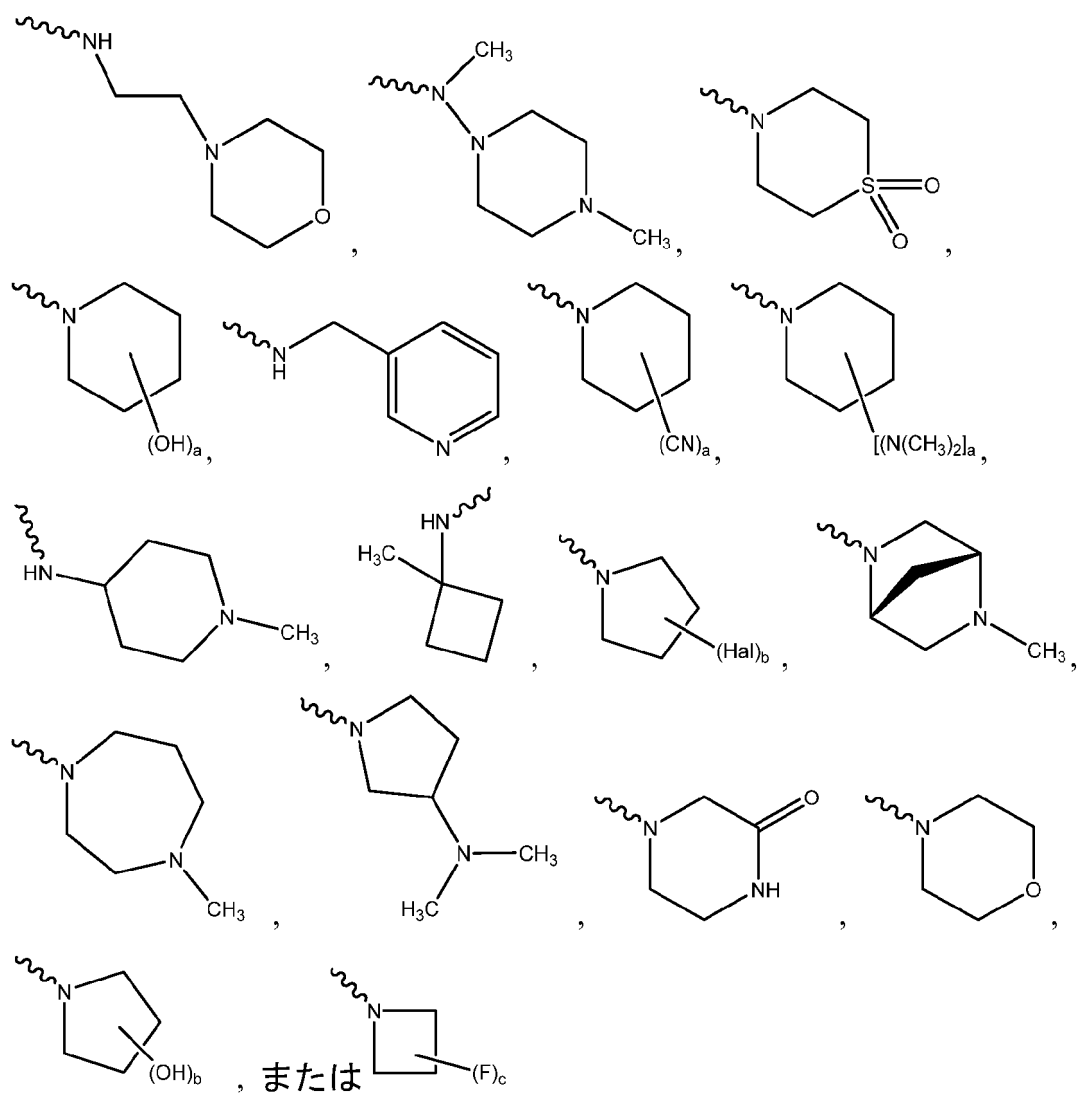
【化 18】



10

20

30



であり、

a は、0 から 10 の範囲の整数であり、

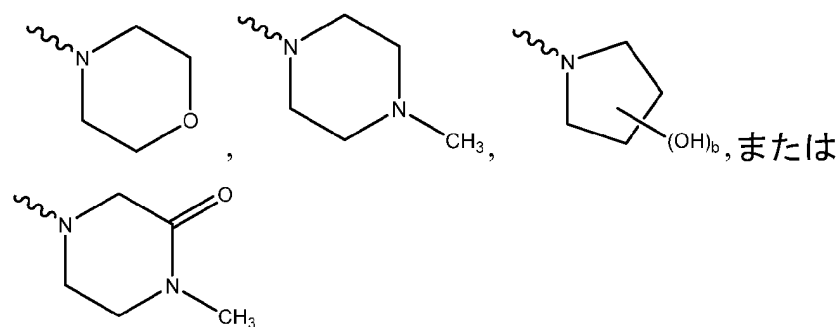
b は、0 から 8 の範囲の整数であり、

c は、0 から 6 の範囲の整数であり、

R₅ は、

【 0 0 5 2 】

【化 1 9】



である。)。

【 0 0 5 3 】

特定の実施形態において、Hallは-clである。さらに別の実施形態において、xおよびyは0である。

【 0 0 5 4 】

特定の実施形態において、 x および y は0であり、 x は0で、 y は1であり、 x は1で、 y は2であり、 x は1で、 y は0であり、 x は1で、 y は1であり、 x は1で、 y は2であり、 x は2で、 y は0であり、 x は2で、 y は1であり、または x は2で、 y は2である。

【 0 0 5 5 】

特定の実施形態において、 Hal は $-Cl$ であり、 x および y は0であり、 x は0で、 y は1であり、 x は1で、 y は2であり、 x は1で、 y は0であり、 x は1で、 y は1であり、 x は1で、 y は2であり、 x は2で、 y は0であり、 x は2で、 y は1であり、または x は2で、 y は2である。

10

【 0 0 5 6 】

特定の実施形態において、 x は1であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある。特定の実施形態において、 x は1であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある。さらなる実施形態において、 x は1であり、 R_1 はピラゾロピリダジノ環系に対してメタ位にある。

【 0 0 5 7 】

特定の実施形態において、 y は1であり、 R_2 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある。特定の実施形態において、 y は1であり、 R_2 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある。さらなる実施形態において、 y は1であり、 R_2 はピラゾロピリダジノ環系に対してメタ位にある。

20

【 0 0 5 8 】

特定の実施形態において、 x は2であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルトおよびメタ位にある。特定の実施形態において、 x は2であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルトおよびパラ位にある。さらなる実施形態において、 x は2であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラおよびメタ位にある。

【 0 0 5 9 】

特定の実施形態において、 y は2であり、 R_2 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルトおよびメタ位にある。特定の実施形態において、 y は2であり、 R_2 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルトおよびパラ位にある。さらなる実施形態において、 y は2であり、 R_2 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラおよびメタ位にある。

30

【 0 0 6 0 】

さらに他の実施形態において、 R_1 はクロロである。特定の実施形態において、 R_1 はフルオロである。特定の実施形態において、 R_1 はヨードである。他の実施形態において、 R_1 は $-Br$ である。さらなる実施形態において、 R_1 は $-OCH_3$ である。他の実施形態において、 R_1 は $-CH_3$ である。さらに他の実施形態において、 R_1 は $-C(O)N(H)CH_3$ である。特定の実施形態において、 R_1 は $-CF_3$ である。さらなる実施形態において、 R_1 は $-CN$ である。追加的実施形態において、 R_1 は $-C(CCH_2OH)$ である。

【 0 0 6 1 】

さらに他の実施形態において、 x は1または2であり、 R_1 は $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CH_3$ 、 $-C(O)N(H)CH_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ または $-C(CCH_2OH)$ である。

40

【 0 0 6 2 】

さらに他の実施形態において、 Hal は、 $-Cl$ であり、 x は1または2であり、 R_1 は、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-I$ 、 $-Br$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CH_3$ 、 $-C(O)N(H)CH_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ または $-C(CCH_2OH)$ である。

【 0 0 6 3 】

さらに他の実施形態において、 R_2 は $-Cl$ である。特定の実施形態において、 R_2 は $-F$ である。他の実施形態において、 R_2 は $-Br$ である。さらなる実施形態において、 R_2 は $-OCH_3$ である。他の実施形態において、 R_2 は $-CH_3$ である。さらに他の実

50

施形態において、 R_2 は $-C(O)N(H)CH_3$ である。特定の実施形態において、 R_2 は $-CF_3$ である。さらなる実施形態において、 R_2 は $-CN$ である。追加的実施形態において、 R_2 は $-C(C)CH_2OH$ である。

【0064】

さらに他の実施形態において、 y は 1 または 2 であり、 R_2 は $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-Br$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CH_3$ 、 $-C(O)N(H)CH_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ または $-C(C)CH_2OH$ である。

【0065】

さらに他の実施形態において、 Hal は $-Cl$ であり、 y は 1 または 2 であり、 R_2 は $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-Br$ 、 $-OCH_3$ 、 $-CH_3$ 、 $-C(O)N(H)CH_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ または $-C(C)CH_2OH$ である。

10

【0066】

特定の実施形態において、 R_3 は $-H$ である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_3$ である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2CH_3$ である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CHCH_2$ である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2CH_2OH$ である。特定の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2C_6H_5$ である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)OH$ である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)N(H)CH_3$ である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)N(H)((CH_2)_2N(CH_3)_2)$ である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)N(H)((CH_2)_3N(CH_3)_2)$ である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)N(CH_3)CH_2CN$ である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)NH_2$ である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)N(H)((CH_2)_2OH)$ である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)N(H)((CH_2)_2OCH_3)$ である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(CH_3)_2OH$ である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)OCH_3$ である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2CH(OH)CH_3$ である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2CH_2OH$ である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH(CH_3)CH_2OH$ である。

20

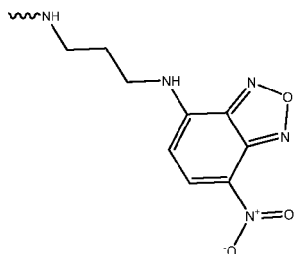
【0067】

さらなる実施形態において、 R_3 は $CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

30

【0068】

【化20】

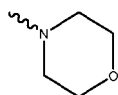


40

である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0069】

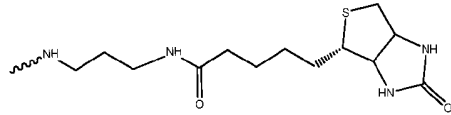
【化21】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0070】

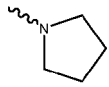
【化 2 2】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0071】

【化 2 3】

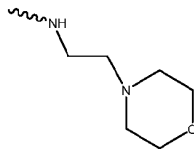


10

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0072】

【化 2 4】

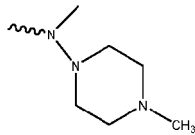


20

である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0073】

【化 2 5】

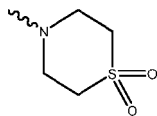


である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0074】

30

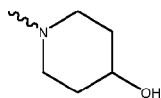
【化 2 6】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0075】

【化 2 7】

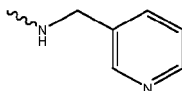


40

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0076】

【化 2 8】

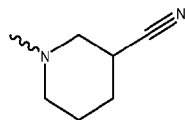


である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0077】

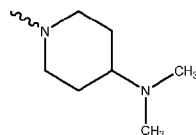
50

【化 29】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0078】

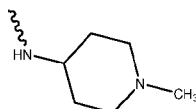
【化 30】



10

である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0079】

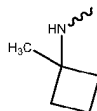
【化 31】



20

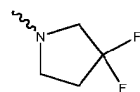
である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0080】

【化 32】



である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0081】

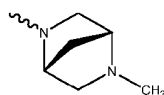
【化 33】



30

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0082】

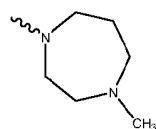
【化 34】



40

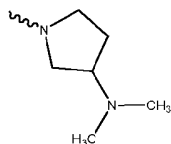
である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0083】

【化 35】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【0084】

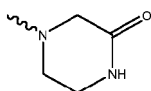
【化 3 6】



である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0085】

【化 3 7】

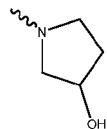


10

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0086】

【化 3 8】

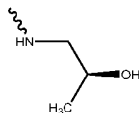


20

である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0087】

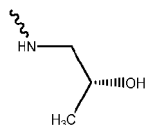
【化 3 9】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0088】

【化 4 0】



30

である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0089】

【化 4 1】

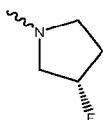


40

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0090】

【化 4 2】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0091】

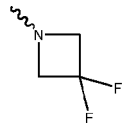
【化 4 3】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0092】

【化 4 4】

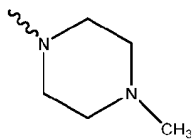


10

である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0093】

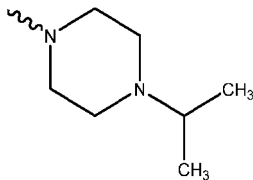
【化 4 5】



である。さらなる本発明の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、 20

【0094】

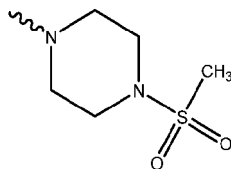
【化 4 6】



である。特定の本発明の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は 30

【0095】

【化 4 7】

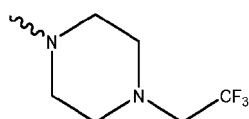


である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

40

【0096】

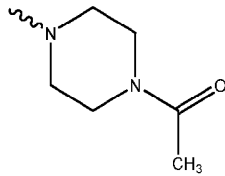
【化 4 8】



である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0097】

【化 4 9】

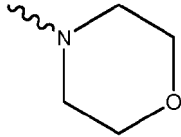


である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0098】

【化 5 0】

10



である。

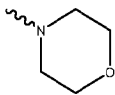
【0099】

特定の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2R_5$ であり、 R_5 は、

【0100】

【化 5 1】

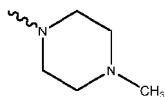
20



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2R_5$ であり、 R_5 は、

【0101】

【化 5 2】

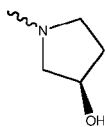


30

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2R_5$ であり、 R_5 は、

【0102】

【化 5 3】

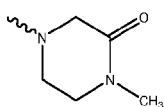


である。本発明の他の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2R_5$ であり、 R_5 は、

【0103】

【化 5 4】

40



である。

【0104】

一部の実施形態において、 a は 0 から 5 の範囲の整数である。一部の実施形態において、 b は 0 から 4 の範囲の整数である。一部の実施形態において、 c は、0 から 6 の範囲の整数である。

50

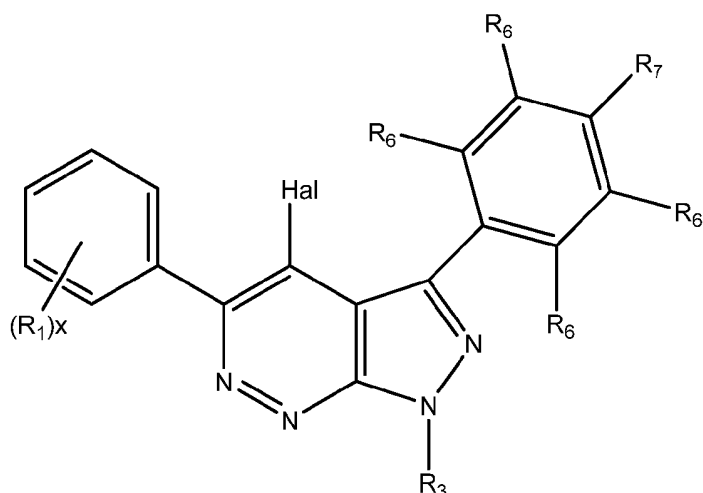
【 0 1 0 5 】

式 I I I の化合物

本発明はさらに、式 I I I

【 0 1 0 6 】

【 化 5 5 】



式 III

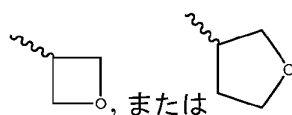
の化合物および医薬として許容される該化合物の塩を提供する
 (式中、Hal は、- Cl、- F、- I、または - Br であり、
 x は、0 から 5 の範囲の整数であり、

各 R₁ は、独立して、- Cl、- F、- I、- Br、- C₁ - C₃ アルキル、- O - C₁ - C₃ アルキル、- CN、- CF₃、- C(O)NH(CH₃)、または - C(CH₂)₂OH であり、

R₃ は、- H、- C₁ - C₆ アルキル、- (C₁ - C₆ アルキレン) - OH、- (C₁ - C₆ アルキレン) - フェニル、- (C₁ - C₆ アルキレン) - O(C₁ - C₆ アルキル)、
 - C₂ - C₆ アルケニル、- (C₁ - C₆ アルキレン) - C(O)R₄、- (C₁ - C₆ アルキレン) - R₅、

【 0 1 0 7 】

【 化 5 6 】



であり、

R₄ は、- OH、- O - (C₁ - C₆ アルキル)、- NH₂、- NH(C₁ - C₆ アルキル)、
 - NH((C₁ - C₆ アルキレン) - OH)、- NH((C₁ - C₆ アルキレン) N(C₁ - C₆ アルキル)₂)、
 N(C₁ - C₆ アルキル)(C₁ - C₆ アルキレン) - CN)、- N(C₁ - C₆ アルキル)((C₁ - C₆ アルキレン) N(C₁ - C₆ アルキル)₂)、
 - NH(C₁ - C₆ アルキレン) - O - (C₁ - C₆ アルキル)、

【 0 1 0 8 】

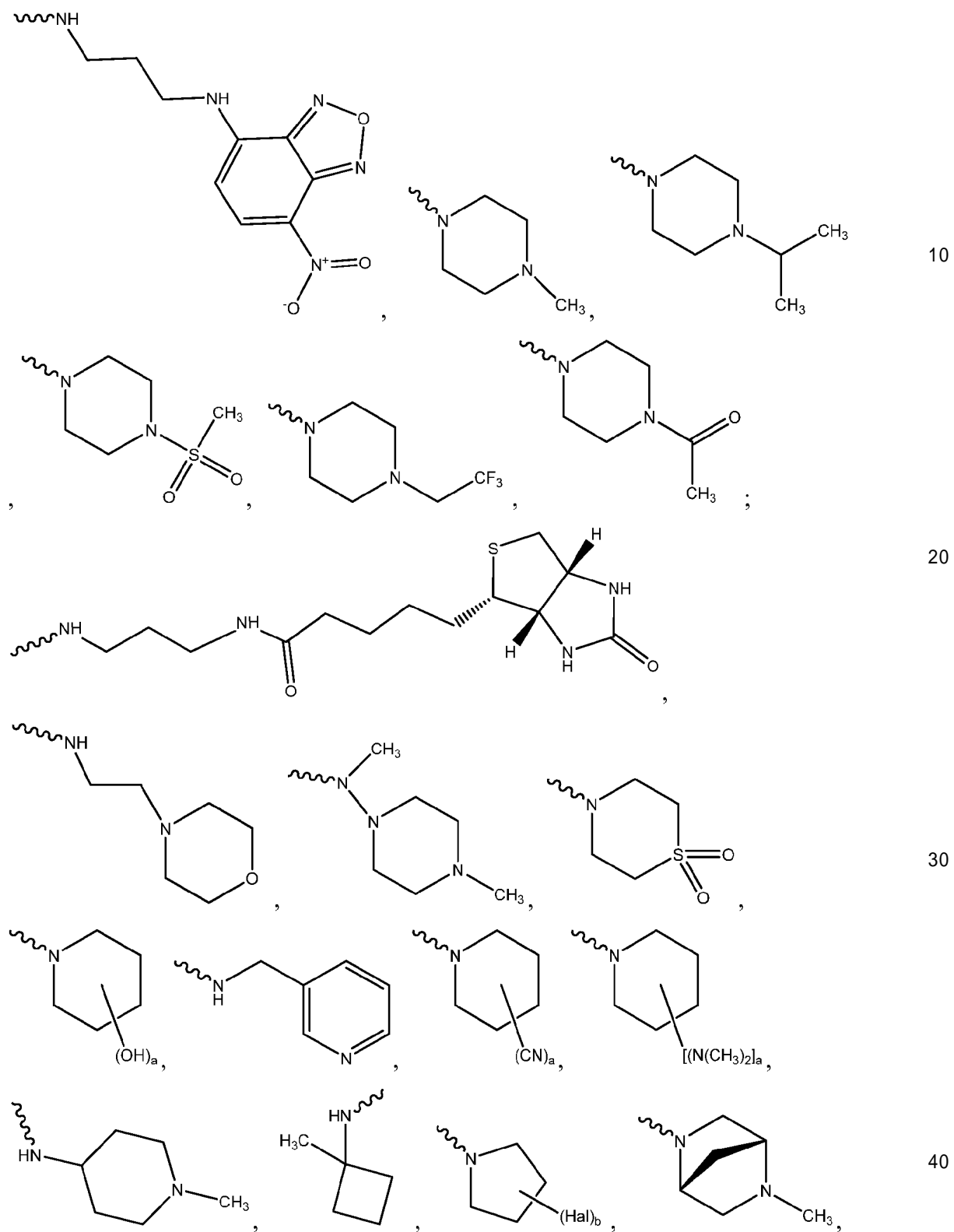
10

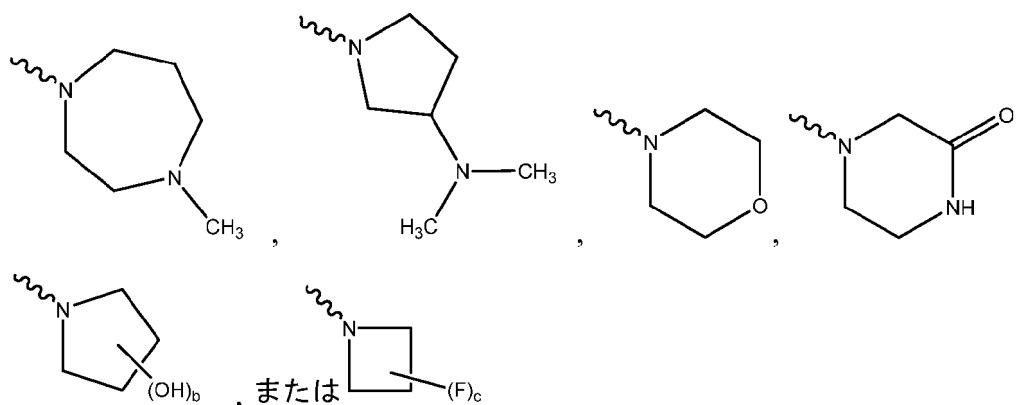
20

30

40

【化 5 7】





であり、

a は、0 から 10 の範囲の整数であり、

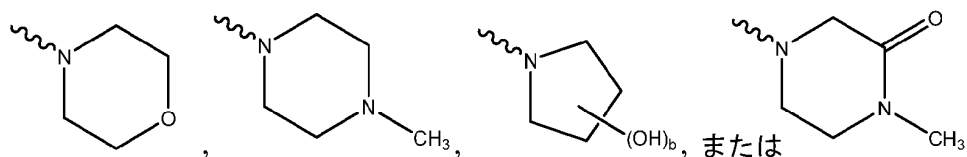
b は、0 から 8 の範囲の整数であり、

c は、0 から 6 の範囲の整数であり、

R₅ は、

【0109】

【化58】



であり、

各 R₆ および R₇ は、独立して、- H または - I であり、R₆ および R₇ のうちの少なくとも 1 つは - I であり、

R₃ が - C₁ - C₃ アルキルである場合、R₇ は - H である。)。

【0110】

特定の実施形態において、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある 1 つの R₆ はヨードであり、残りの R₆ および R₇ 基は水素である。他の実施形態において、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある 1 つの R₆ はヨードであり、残りの R₆ および R₇ 基は水素である。さらなる実施形態において、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある 1 つの R₆ およびピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある 1 つの R₆ はヨードであり、残りの R₆ および R₇ 基は水素である。さらなる実施形態において、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある 2 つの R₆ 基およびピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある 1 つの R₆ はヨードであり、残りの R₆ および R₇ 基は水素である。さらなる実施形態において、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある 2 つの R₆ 基およびピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある 1 つの R₆ はヨードであり、残りの R₆ および R₇ は水素である。特定の実施形態において、すべての R₆ 基はヨードであり、R₇ は水素である。さらなる実施形態において、R₇ はヨードであり、R₆ 基は水素である。

【0111】

ある特定の実施形態において、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある 1 つの R₆ はヨードであり、R₃ は - CH₃ である。

【0112】

特定の実施形態において、Hal は - Cl である。さらに別の実施形態において、x は 0 である。別の実施形態において、x は 1 である。特定の実施形態において、x は 2 である。

【0113】

10

20

30

40

50

特定の実施形態において、 x は 1 であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルト位にある。特定の実施形態において、 x は 1 であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラ位にある。さらなる実施形態において、 x は 1 であり、 R_1 はピラゾロピリダジノ環系に対してメタ位にある。

【0114】

特定の実施形態において、 x は 2 であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルトおよびメタ位にある。特定の実施形態において、 x は 2 であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してオルトおよびパラ位にある。さらなる実施形態において、 x は 2 であり、 R_1 は、ピラゾロピリダジノ環系に対してパラおよびメタ位にある。

【0115】

さらに他の実施形態において、 R_1 は - Cl である。特定の実施形態において、 R_1 は - F である。特定の実施形態において、 R_1 は - I である。さらなる実施形態において、 R_1 は - OCH₃ である。他の実施形態において、 R_1 は - CH₃ である。さらに他の実施形態において、 R_1 は - C(O)N(H)CH₃ である。特定の実施形態において、 R_1 は - CF₃ である。さらなる実施形態において、 R_1 は - CN である。追加的実施形態において、 R_1 は - C(C)CH₂OH である。

【0116】

さらに他の実施形態において、 x は 1 または 2 であり、 R_1 は - Cl、- F、- Br、- I、- OCH₃、- CH₃、- C(O)N(H)CH₃、- CF₃、- CN または - C(C)CH₂OH である。

【0117】

さらに他の実施形態において、Hal は、- Cl であり、 x は 1 または 2 であり、 R_1 は、- Cl、- F、- Br、- I、- OCH₃、- CH₃、- C(O)N(H)CH₃、- CF₃、- CN または - C(C)CH₂OH である。

【0118】

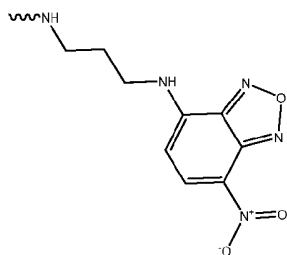
特定の実施形態において、 R_3 は - H である。特定の実施形態において、 R_3 は - CH₃ である。さらなる実施形態において、 R_3 は - CH₂CH₃ である。なおさらなる実施形態において、 R_3 は - CHCH₂ である。他の実施形態において、 R_3 は - CH₂CH₂OH である。特定の実施形態において、 R_3 は - (CH₂)₂C₆H₅ である。他の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)OH である。さらに他の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)N(H)CH₃ である。特定の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)N(H)((CH₂)₂N(CH₃)₂) である。さらに他の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)N(H)((CH₂)₃N(CH₃)₂) である。他の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)N(CH₃)CH₂CN である。特定の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)NH₂ である。特定の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)N(H)((CH₂)₂OH) である。他の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)N(H)((CH₂)₂OCH₃) である。なおさらなる実施形態において、 R_3 は - CH₂C(CH₃)₂OH である。さらに他の実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)OCH₃ である。さらなる実施形態において、 R_3 は - CH₂CH(OH)CH₃ である。なおさらなる実施形態において、 R_3 は - CH₂CH₂OH である。特定の実施形態において、 R_3 は - CH(CH₃)CH₂OH である。

【0119】

さらなる実施形態において、 R_3 は - CH₂C(O)R₄ であり、 R_4 は、

【0120】

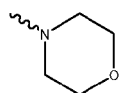
【化 5 9】



である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 2 1】

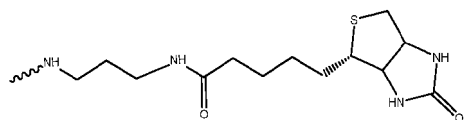
【化 6 0】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 2 2】

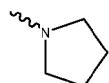
【化 6 1】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 2 3】

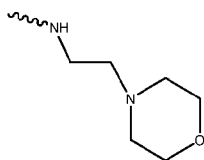
【化 6 2】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 2 4】

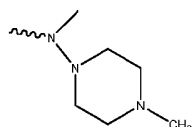
【化 6 3】



である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 2 5】

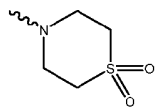
【化 6 4】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

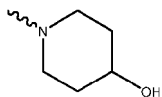
【0 1 2 6】

【化 6 5】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【 0 1 2 7】

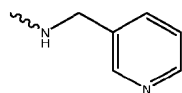
【化 6 6】



10

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【 0 1 2 8】

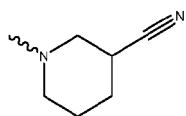
【化 6 7】



である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【 0 1 2 9】

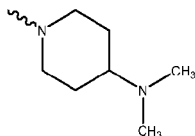
20

【化 6 8】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【 0 1 3 0】

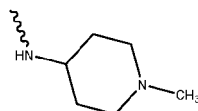
【化 6 9】



30

である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【 0 1 3 1】

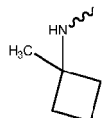
【化 7 0】



40

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、
【 0 1 3 2】

【化 7 1】

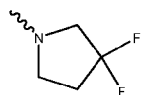


である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

50

【 0 1 3 3 】

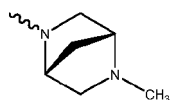
【 化 7 2 】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 3 4 】

【 化 7 3 】

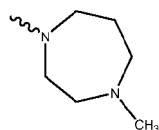


10

である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 3 5 】

【 化 7 4 】

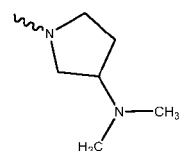


20

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 3 6 】

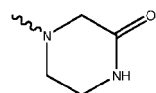
【 化 7 5 】



である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 3 7 】

【 化 7 6 】

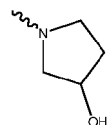


30

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 3 8 】

【 化 7 7 】

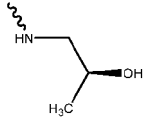


40

である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 3 9 】

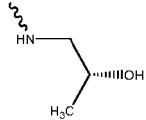
【化 7 8】



である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 4 0】

【化 7 9】



10

である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 4 1】

【化 8 0】

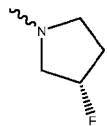


である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 4 2】

20

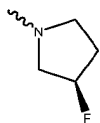
【化 8 1】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 4 3】

【化 8 2】

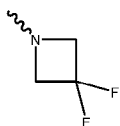


30

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 4 4】

【化 8 3】

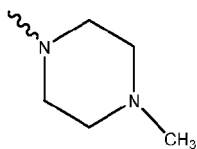


40

である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【0 1 4 5】

【化 8 4】

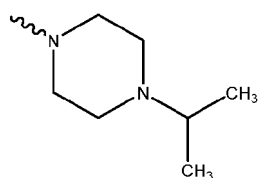


である。さらなる本発明の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

50

【 0 1 4 6 】

【 化 8 5 】

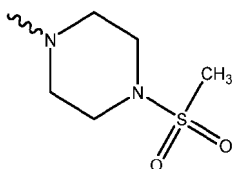


である。特定の本発明の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

10

【 0 1 4 7 】

【 化 8 6 】

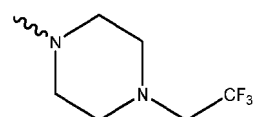


である。他の実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 4 8 】

20

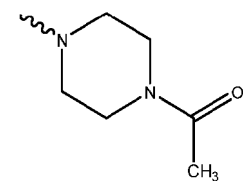
【 化 8 7 】



である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 4 9 】

【 化 8 8 】

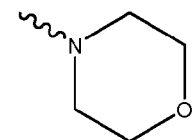


30

である。さらなる実施形態において、 R_3 は $-CH_2C(O)R_4$ であり、 R_4 は、

【 0 1 5 0 】

【 化 8 9 】



40

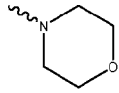
である。

【 0 1 5 1 】

特定の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2R_5$ であり、 R_5 は、

【 0 1 5 2 】

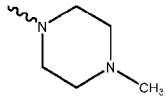
【化 9 0】



である。さらに他の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2 R_5$ であり、 R_5 は、

【0 1 5 3】

【化 9 1】

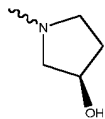


10

である。特定の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2 R_5$ であり、 R_5 は、

【0 1 5 4】

【化 9 2】

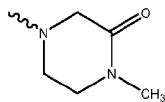


である。本発明の他の実施形態において、 R_3 は $-(CH_2)_2 R_5$ であり、 R_5 は、

【0 1 5 5】

20

【化 9 3】



である。

【0 1 5 6】

一部の実施形態において、 a は 0 から 5 の範囲の整数である。一部の実施形態において、 b は 0 から 4 の範囲の整数である。一部の実施形態において、 c は、0 から 6 の範囲の整数である。

30

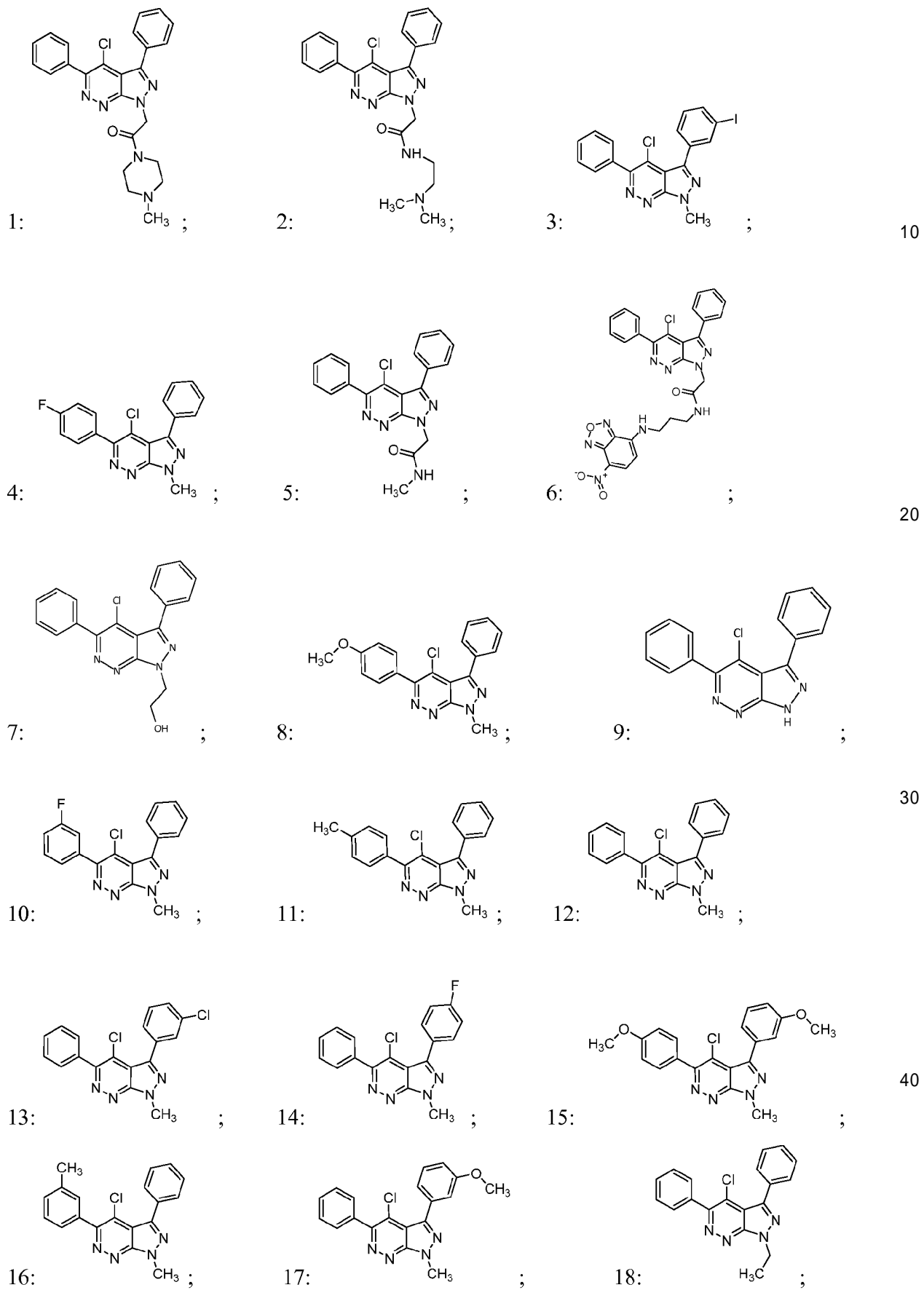
【0 1 5 7】

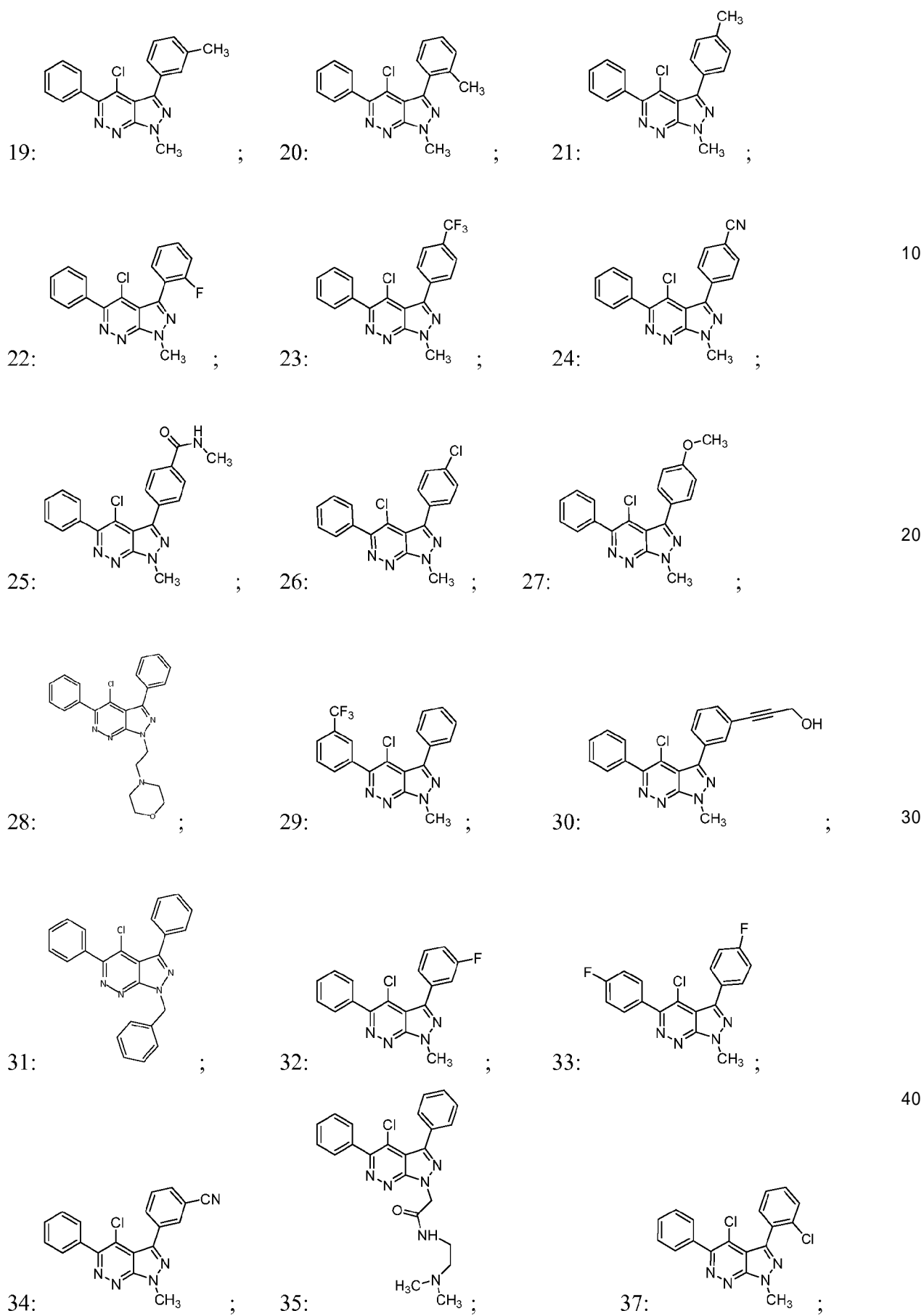
例示的なピラゾロピリダジン化合物

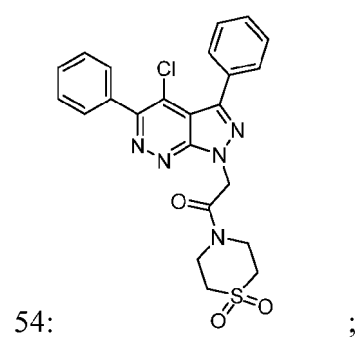
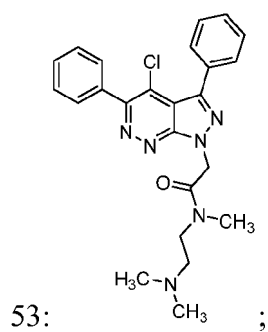
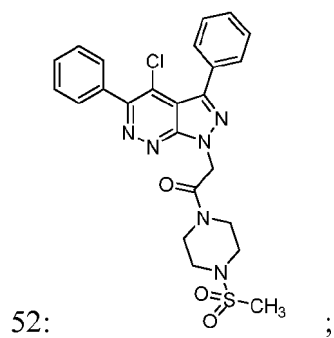
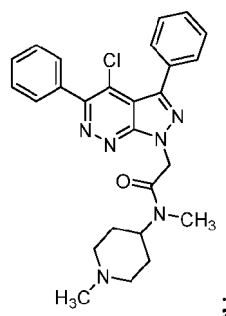
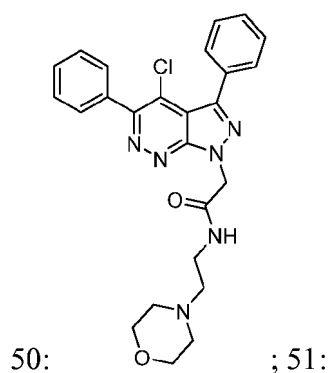
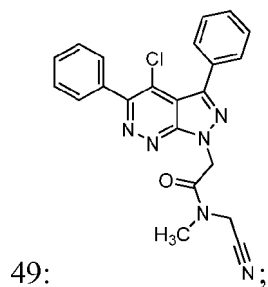
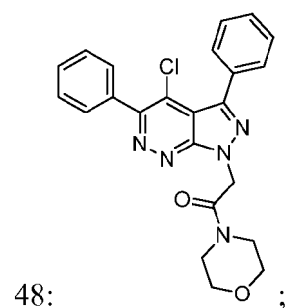
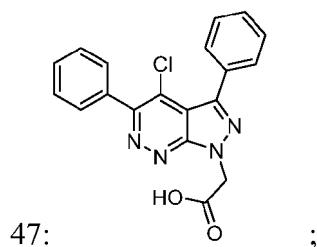
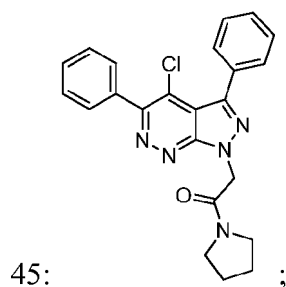
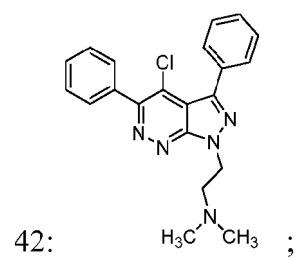
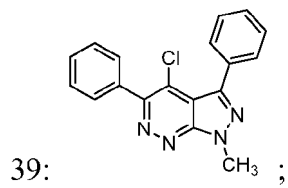
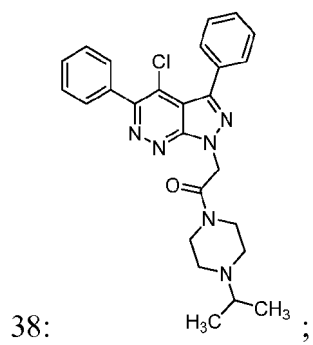
特定のピラゾロピリダジン化合物の非限定的例として、

【0 1 5 8】

【化 9 4】





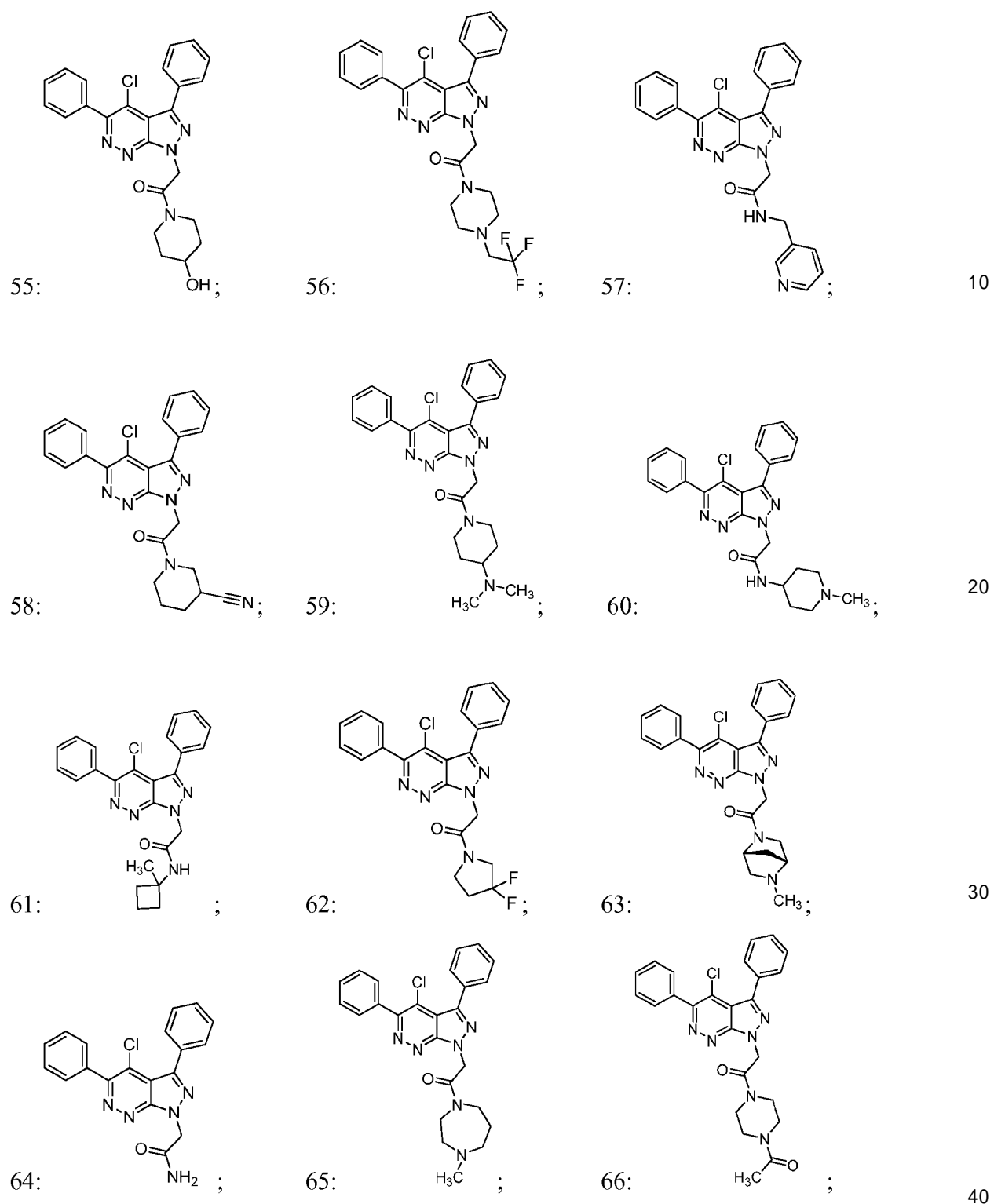


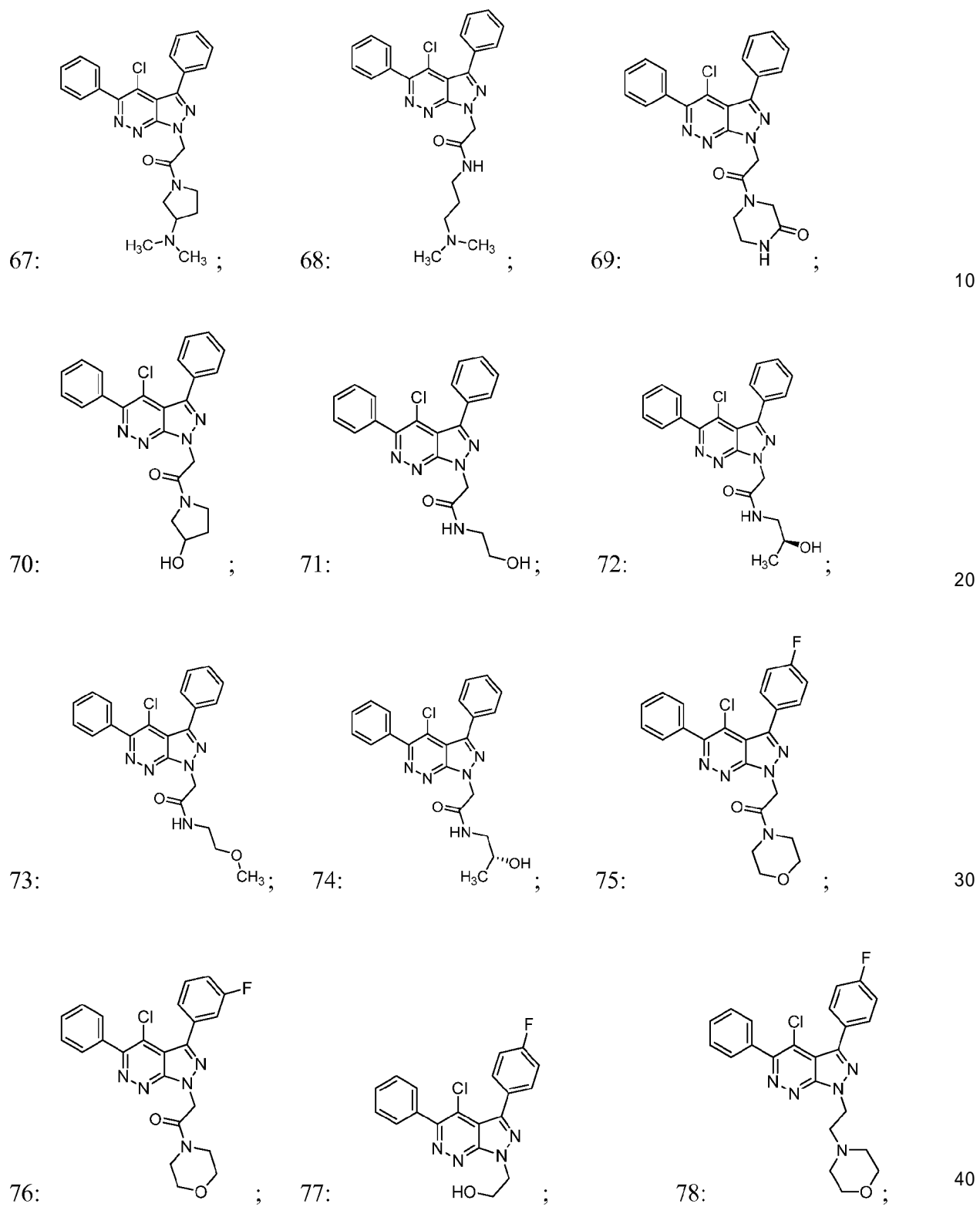
10

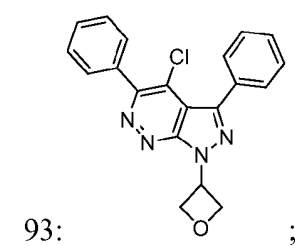
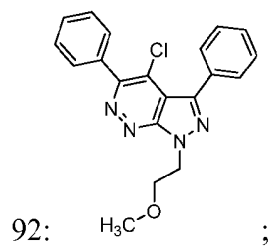
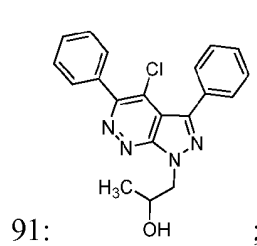
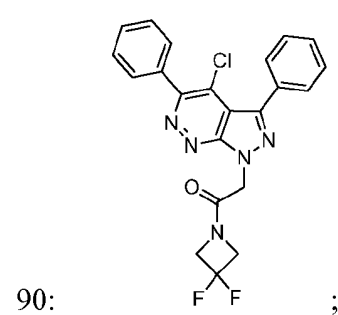
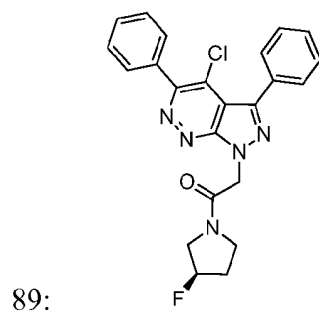
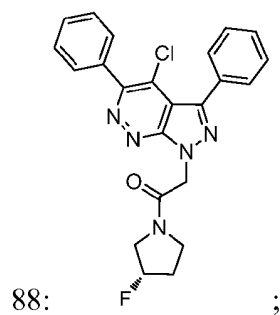
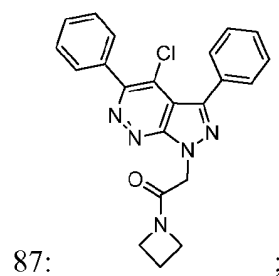
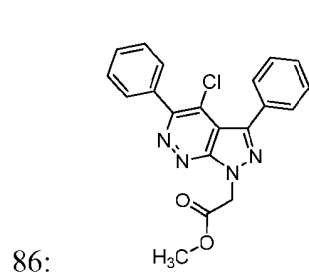
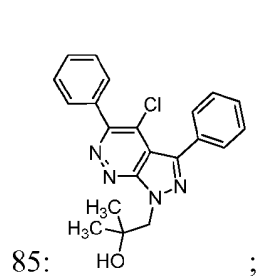
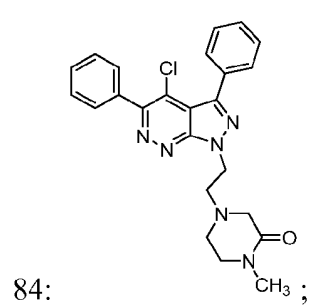
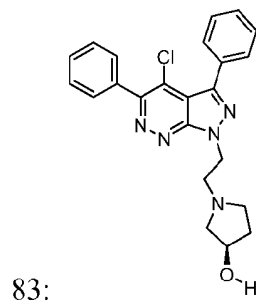
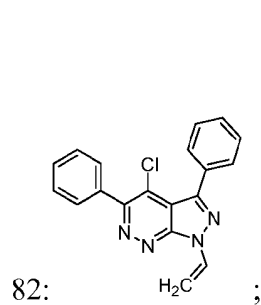
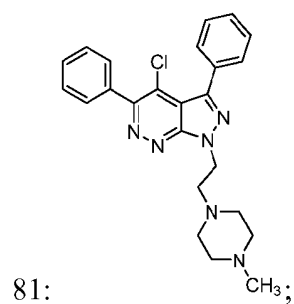
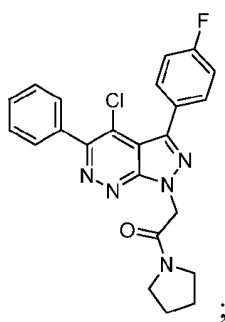
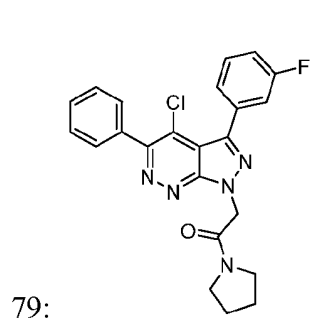
20

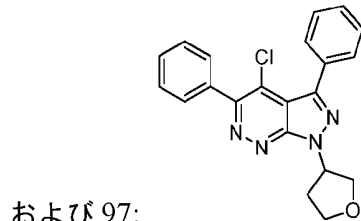
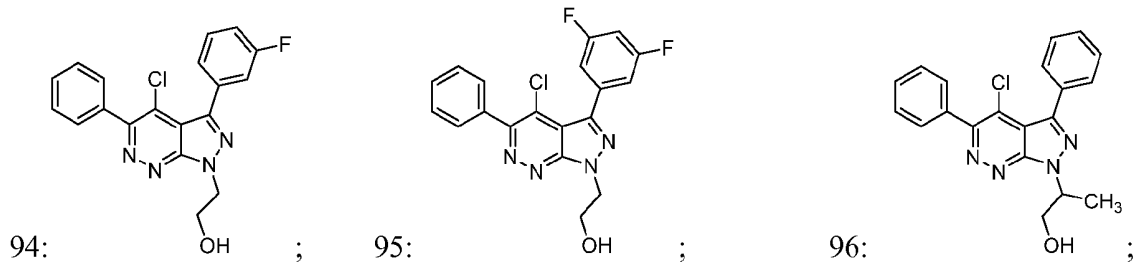
30

40









ならびに医薬として許容される該化合物の塩が挙げられる。

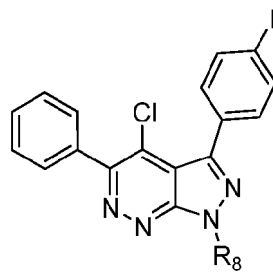
【 0 1 5 9 】

式 I V の化合物

本発明はさらに、式 I V

【 0 1 6 0 】

【 化 9 5 】



式 IV

(式中、 R_8 は - C_1 - C_3 アルキルである。)

の化合物および該化合物の塩を提供する。

【 0 1 6 1 】

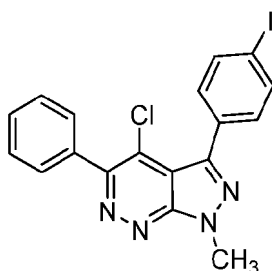
本発明の特定の実施形態において、 R_8 は - CH_3 であり、本発明のさらなる実施形態において、 R_8 は - CH_2CH_3 である。本発明の他の実施形態において、 R_8 は - $CH_2CH_2CH_3$ である。本発明の他の実施形態において、 R_8 は - $CH(CH_3)_2$ である。

【 0 1 6 2 】

本発明は、構造

【 0 1 6 3 】

【 化 9 6 】



を有する化合物 4 3 および該化合物の塩をさらに提供する。このような塩は、化合物 4 3

10

20

30

40

50

と無機酸または有機酸との反応生成物である。一実施形態において塩は、医薬として許容される塩である。

【 0 1 6 4 】

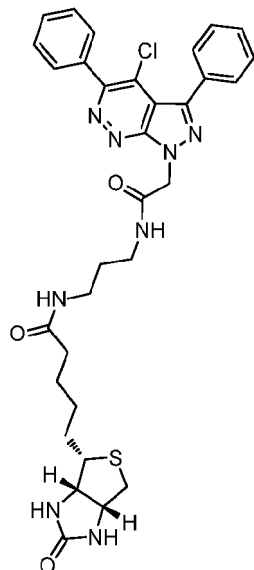
式 I V の化合物、化合物 4 3 および該化合物の塩は、ピラゾロピリダジン化合物のための合成のための中間体として有用である。

【 0 1 6 5 】

本発明は、構造

【 0 1 6 6 】

【 化 9 7 】



10

20

を有する化合物 4 4 および該化合物の塩をさらに提供する。このような塩は、化合物 4 4 と無機酸または有機酸との反応生成物である。一実施形態において、塩は医薬として許容される塩である。

【 0 1 6 7 】

化合物 4 4 は、そのビスフェニルピラゾロピリダジン部分に結合するタンパク質を特定するためのプローブとして有用である。

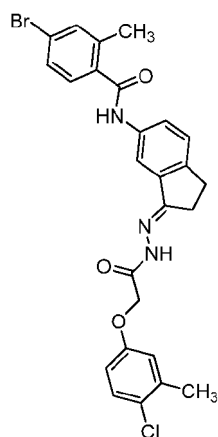
30

【 0 1 6 8 】

本発明は、構造

【 0 1 6 9 】

【 化 9 8 】



40

を有する化合物 4 6 および医薬として許容される該化合物の塩をさらに提供する。

【 0 1 7 0 】

本明細書中に開示されている化合物のいくつか、例えば、化合物 4 4、6 3、7 2、7 4、8 3、8 8 および 8 9 には、ボールド体または斜線くさび形が描写されており、これ

50

は絶対立体化学配置を示している。

【0171】

何ら特定のメカニズムに制約されるものではないが、ピラゾロピリダジン化合物のビスフェニルピラゾロピリダジン部分は、アッシャーⅠⅠⅠ症候群において変異した遺伝子によりコードされているタンパク質である、クラリンⅠの活性およびトラフィッキングの回復に関与していると考えられている (Adatoら、Eur J Hum Genet、2002年6月；10巻(6号)：339-50頁)。

【0172】

クラリンⅠと相互作用することができ、したがって化合物44のビスフェニルピラゾロピリダジン部分に結合することができるタンパク質またはこのドメインとして、これらに限定されないが、表1に列挙したタンパク質が挙げられる、(Tianら、J Biol Chem、2009年7月10；284巻(28号)：18980-93頁)：

【0173】

【表 1】

表 1

4F2細胞表面抗原重鎖

78-kDaグルコース調節タンパク質

ミトコンドリアのATPシンターゼ γ サブユニット

ベイシジン

N-カドヘリン

10

カルネキシン

カルボキシペプチダーゼD

カテニンa-1

カチオン非依存性マンノース6リン酸受容体

CD166抗原

CD276抗原

20

細胞接着分子1

クラリン-1

コクサッキーウイルスおよびアデノウイルス受容体

グアニンヌクレオチド-結合タンパク質G(i)、a-2サブユニット

グアニンヌクレオチド-結合タンパク質G(I)/G(S)/G(T)サブユニットベータ-1

熱ショック70-kDaタンパク質1

インテグリン α -5

30

インテグリン α -6インテグリン α -Vインテグリン β -1

接合部接着分子A

接合部接着分子C

モノカルボキシレートトランスポーター1

ミエリタンパク質ゼロ様タンパク質1

40

ミオシン光ポリペプチド6

ニューロピリン-1	
中性アミノ酸トランスポーターB(0)	
細胞膜カルシウム輸送ATPアーゼ1	
細胞膜カルシウム輸送ATPアーゼ4	
プロスタグランジンF2受容体ネガティブレギュレーター	
タンパク質4.1	10
Ras関連C3ボツリヌス毒素基質1	
Ras関連タンパク質Rab-14	
Ras関連タンパク質Rab-9A	
Ras関連タンパク質Ral-A	
Ras関連タンパク質Rap-1A	
分泌性キャリア関連膜タンパク質1	
分泌性キャリア関連膜タンパク質3	20
ナトリウム/カリウム輸送ATPアーゼサブユニット α -1	
ナトリウム/カリウム輸送ATPアーゼサブユニット β -3	
溶質キャリアファミリー12メンバー2	
シンタキシン-12	
シンタキシン-4	
シンタキシン-6	30
シンタキシン-7	
トランスフェリン受容体タンパク質1	
腫瘍関連カルシウムシグナル伝達物質1	
タイプ-1アンジオテンシンII受容体関連タンパク質	
チロシン-タンパク質キナーゼ-様7	
小胞会合膜タンパク質3	
電圧依存性アニオン選択性チャネルタンパク質1	40
電圧依存性アニオン選択性チャネルタンパク質2	
亜鉛トランスポーターZIP 14	

【 0 1 7 4 】

本発明の化合物は、塩の形態であってよい。一部の実施形態において、塩は医薬として許容される塩である。医薬として許容される塩として、例えば、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩を形成する酸は、有機酸または無機酸であってよい。塩基付加塩を形成する塩基は、有機塩基または無機塩基であってよい。一部の実施形態において、

医薬として許容される塩は金属塩である。一部の実施形態において、医薬として許容される塩はアンモニウム塩である。

【0175】

酸付加塩は、遊離塩基形態の本発明の化合物への酸の添加から生じ得る。一部の実施形態において、酸は有機である。一部の実施形態において、酸は無機である。適切な酸の非限定的例として、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、亜硝酸、硫酸、亜硫酸、リン酸、ニコチン酸、イソニコチン酸、乳酸、サリチル酸、4 - アミノサリチル酸、酒石酸、アスコルビン酸、ゲンチジン酸、グルコン酸、グルクロン酸、サッカリン酸、ギ酸、安息香酸、グルタミン酸、パントテン酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、フマル酸、コハク酸、クエン酸、シュウ酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、メチルマレイン酸、グリコール酸、リンゴ酸、ケイヒ酸、マンデル酸、2 - フェノキシ安息香酸、2 - アセトキシ安息香酸、エンボン酸、フェニル酢酸、N - シクロヘキシルスルファミン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、2 - ヒドロキシエタンスルホン酸、エタン - 1, 2 - ニスルホン酸、4 - メチルベンゼンスルホン酸、ナフタレン - 2 - スルホン酸、ナフタレン - 1, 5 - ニスルホン酸、2 - ホスホグリセリン酸、3 - ホスホグリセリン酸、グルコース - 6 - リン酸およびアミノ酸が挙げられる。

10

【0176】

適切な酸付加塩の非限定的例として、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、亜硝酸塩、硫酸塩、スルファイト塩、リン酸塩、リン酸水素塩、二水素リン酸塩、炭酸塩、炭酸水素塩、ニコチン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、4 - アミノサリチル酸塩、酒石酸塩、アスコルビン酸塩、ゲンチジン酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩、サッカル酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、パントテン酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、メチルマレイン酸塩、グリコール酸塩、リンゴ酸塩、ケイヒ酸塩、マンデル酸塩、2 - フェノキシ安息香酸塩、2 - アセトキシ安息香酸塩、エンボン酸塩、フェニル酢酸塩、N - シクロヘキシルスルファミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、2 - ヒドロキシエタンスルホン酸塩、エタン - 1, 2 - ジスルホン酸塩、4 - メチルベンゼンスルホン酸塩、ナフタレン - 2 - スルホン酸塩、ナフタレン - 1, 5 - ジスルホン酸塩、2 - ホスホグリセリン酸塩、3 - ホスホグリセリン酸塩、グルコース - 6 - リン酸塩およびアミノ酸塩が挙げられる。

20

30

【0177】

金属塩は、カルボキシル基を有する本発明の化合物への無機塩基の添加から生じ得る。無機塩基は、塩基性対イオンと対になった金属カチオンからなり、例えば、水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩、またはリン酸塩などである。金属は、アルカリ金属、アルカリ土類金属、遷移金属、または主族金属であってよい。適切な金属の非限定的例として、リチウム、ナトリウム、カリウム、セシウム、セリウム、マグネシウム、マンガン、鉄、カルシウム、ストロンチウム、コバルト、チタン、アルミニウム、銅、カドミウムおよび亜鉛が挙げられる。

【0178】

適切な金属塩の非限定的例として、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、セシウム塩、セリウム塩、マグネシウム塩、マンガン塩、鉄塩、カルシウム塩、ストロンチウム塩、コバルト塩、チタン塩、アルミニウム塩、銅塩、カドミウム塩および亜鉛塩が挙げられる。

40

【0179】

アンモニウム塩は、カルボキシル基を有する本発明の化合物へのアンモニアまたは有機アミンの添加から生じ得る。適切な有機アミンの非限定的例として、トリエチルアミン、ジイソプロピルアミン、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、モルホリン、N - メチルモルホリン、ピペリジン、N - メチルピペリジン、N - エチルピペリジン、ジベンジルアミン、ピペラジン、ピリジン、ピラゾール (pyrrazol

50

e)、イミダゾール、ピラジン、ピピラジン (p i p y r a z i n e)、エチレンジアミン、N, N' - ジベンジルエチレンジアミン、プロカイン、クロロプロカイン、コリン、ジシクロヘキシルアミンおよびN - メチルグルカミンが挙げられる。

【0180】

適切なアンモニウム塩の非限定的例として、トリエチルアンモニウム塩、ジイソプロピルアンモニウム塩、エタノールアンモニウム塩、ジエタノールアンモニウム塩、トリエタノールアンモニウム塩、モルホリニウム塩、N - メチルモルホリニウム塩、ピペリジニウム塩、N - メチルピペリジニウム塩、N - エチルピペリジニウム塩、ジベンジルアンモニウム塩、ピペラジニウム塩、ピリジニウム塩、ピラゾリウム (p y r r a z o l i u m) 塩、イミダゾリウム塩、ピラジニウム塩、エチレンジアンモニウム塩、N, N' - ジベン

10

【0181】

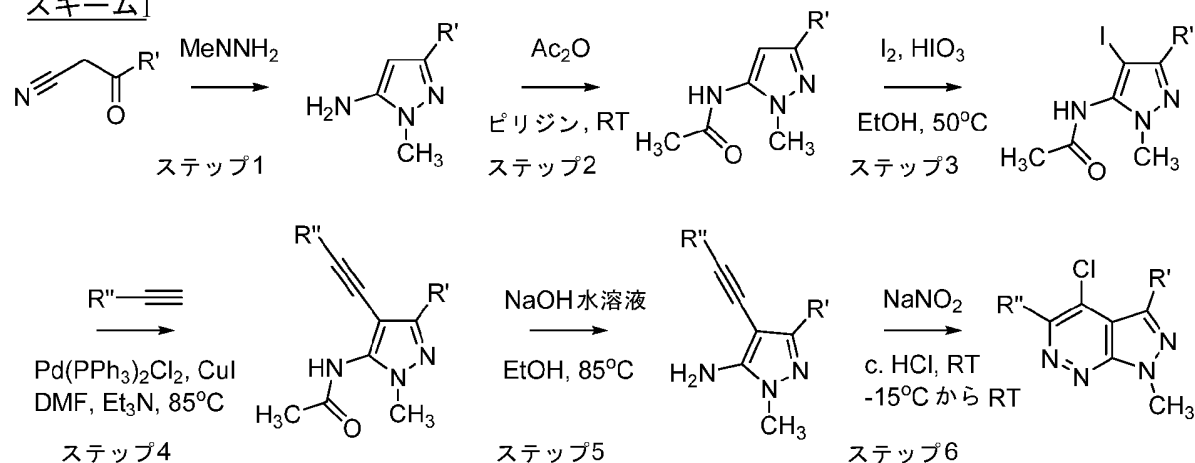
ピラゾロピリダジン化合物を作製するための方法

ピラゾロピリダジン化合物を合成するのに有用な合成スキーム (s c h e m a) の非限定的例として、以下が挙げられる。

【0182】

【化99】

スキーム1



20

30

【0183】

スキーム1は、1 - N - メチル基を有し、R' および R'' が、独立して、非置換または置換フェニル基である、ピラゾロピリダジン化合物の調製を全般的に記載している。例えば、2 - シアノカルボニル化合物 (式中、R' は、非置換または置換フェニルである。) をN - メチルヒドラジンと縮合することによって、3 - 置換 - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを得る。ピリジンなどの塩基の存在下で5 - アミノ基を、例えば無水酢酸を用いてアシル化することによって、5 - アミド化合物を得る。エタノール (E t O H) などの溶媒中、ヨウ素およびヨウ素酸の混合物を用いて5 - アミド化合物をヨウ素化することによって、N - (3 - 置換 - 4 - ヨード - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを得る。アセトアミドと、R'' 置換末端アルキン (ヨウ化銅 (I) の存在下、ジメチルホルムアミド (D M F) などの溶媒中、トリエチルアミンなどの塩基を用いて、パラジウム (I I) ビストリフェニルホスフィンジクロリドなどのパラジウム錯体により触媒したもの) とのパラジウム媒介クロスカップリング、例えばS o n a g a s h i r aクロスカップリングなどにより、二置換アルキン (式中、R'' は、非置換または置換フェニルである。) を得る。エタノールなどの溶媒中、水酸化ナトリウムなどの塩基を用いた、アルキンアセトアミドのけん化により、第一級アミンを得る。濃塩酸中での亜硝酸ナトリウムを用いた第一級アミンのジアゾ化により、ジアゾ中間体を得て、このジアゾ中間体を環化することによって、1 - N - メチル基を有し、R' および R'' が独立して、非置換または置換フェニル基であるピラゾロピリダジン化合物を得る。

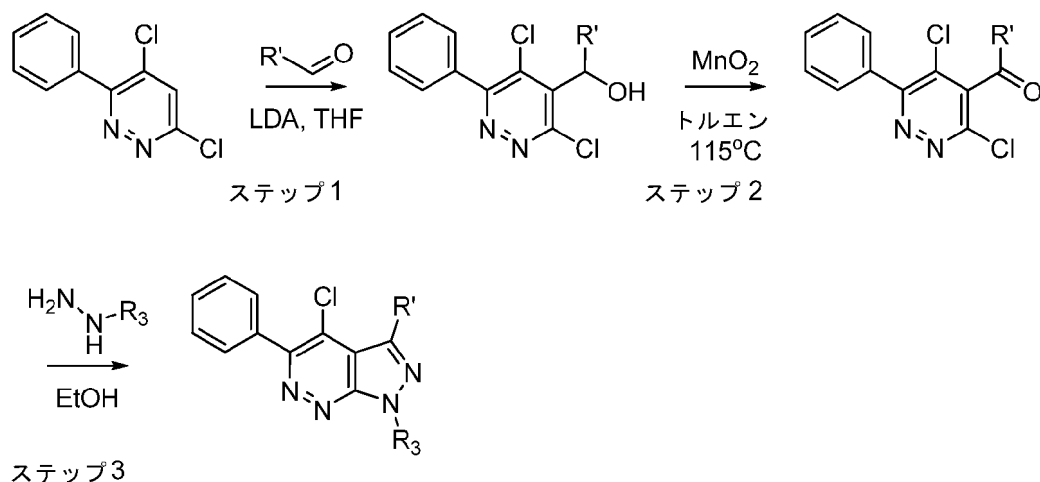
40

50

【 0 1 8 4 】

【 化 1 0 0 】

スキーム2



10

【 0 1 8 5 】

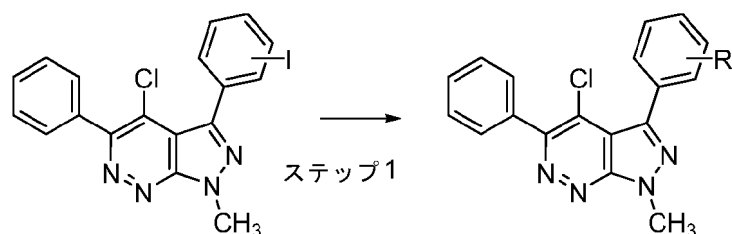
スキーム2は、R₃基を有し、R'が非置換または置換フェニル基であるピラゾロピリダジン化合物の調製を全般的に記載している。R'およびR₃は、同一でありまたは異なることができる。例えば、4,6-ジクロロ-3-フェニルピリダジンを、リチウムジイソプロピルアミド(LDA)などの塩基を用いて、テトラヒドロフラン(THF)などの溶媒中で脱プロトン化し、生成した5-リチオ種を、非置換または置換ベンズアルデヒドと縮合することによって、第二級アルコールを得る。二酸化マンガンなどの酸化剤を用いて、トルエンなどの溶媒中でアルコールをケトンに酸化する。エタノールなどの溶媒中、ケトンとR₃置換ヒドラジンと縮合することによって、中間体ヒドラゾンを得て、この中間体ヒドラゾンを環化することによって、1-N-R₃基を有し、R₃が式IIおよびIIIにおける場合のように定義され、R'が非置換または置換フェニル基であるピラゾロピリダジン化合物を得る。

20

【 0 1 8 6 】

【 化 1 0 1 】

スキーム3



30

【 0 1 8 7 】

スキーム3は、1-N-メチル基を有し、R'がシアノ基、アルキン、アルケンまたはアリール基である、ピラゾロピリダジン化合物の調製を全般的に記載している。例えば、場合によって、亜鉛または銅塩などの非パラジウム遷移金属塩の存在下で、場合によってパラジウム錯体などの適切な触媒の存在下で、場合によって、トリフェニルホスフィンまたは有機アミン塩基などの添加剤の存在下で、1-メチル-3-ヨードフェニル-4-クロロ-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジンを、シアニド塩、末端アルキン、ハロゲン化アルケニル、またはハロゲン化アリールなどの適切なカップリングパートナーとカップリングすることによって、1-N-メチル基を有し、R'が、シアノ基、アルキン、アルケンまたはアリール基である、ピラゾロピリダジン化合物を得る。生成物中のR'の位置、すなわち、オルト、メタまたはパラは、出発物質におけるヨード基の

40

50

位置と同じである。

【0188】

治療的使用

本発明の化合物は、治療を必要とする対象に、網膜変性疾患の治療のために投与することができる。網膜変性疾患の非限定的例として以下が挙げられる：網膜色素変性症、レーバー先天性黒内障、症候性網膜変性症、湿性および乾性加齢黄斑変性を含めた加齢黄斑変性、ならびにアッシャー症候群。一部の実施形態において、アッシャー症候群はアッシャー症候群のサブタイプである。一部の実施形態において、サブタイプはアッシャーⅠである。一部の実施形態において、サブタイプはアッシャーⅠⅠである。一部の実施形態において、サブタイプはアッシャーⅠⅠⅠである。

10

【0189】

本発明のさらなる実施形態において、本発明の化合物は、治療を必要とする対象に、アッシャー症候群に伴う聴覚損失の治療のために投与することができる。一部の実施形態において、アッシャー症候群はアッシャー症候群のサブタイプである。一部の実施形態において、サブタイプはアッシャーⅠである。一部の実施形態において、サブタイプはアッシャーⅠⅠである。一部の実施形態において、サブタイプはアッシャーⅠⅠⅠである。

【0190】

「対象」とは、哺乳動物、例えば、ヒト、マウス、ラット、モルモット、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、または非ヒト霊長類、例えば、サル、チンパンジー、ヒヒまたは赤毛猿などである。一実施形態において、対象はヒトである。

20

【0191】

本発明の化合物は、医薬として許容される担体またはビヒクルを含む組成物の成分として、対象に投与することができる。適切な医薬としての担体またはビヒクルの非限定的例として、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョーク、シリカゲル、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール、緩衝水およびリン酸緩衝生理食塩水が挙げられる。これらの組成物は、例えば、ドロップ剤、液剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤および持続放出性製剤として投与することができる。一部の実施形態において、組成物は、例えば、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアガム、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水シロップ、メチルセルロース、ヒドロキシ安息香酸メチルおよびヒドロキシ安息香酸プロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウムならびに鉱油を含む。組成物は、滑沢剤、湿潤剤、乳化剤および懸濁剤、保存料、甘味料または着香料をさらに含むことができる。

30

【0192】

組成物は、有効量の本発明の化合物を含むことができる。本発明の化合物の「有効量」とは、対象におけるアッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失を治療するのに効果的な量である。組成物は、有効量の本発明の化合物を含む単位剤形中に製剤化することができる。一部の実施形態において、組成物は、例えば、約1 ngから約1,000 mgの本発明の化合物を含む。一部の実施形態において、組成物は、約100 mgから約1,000 mgの本発明の化合物を含む。一部の実施形態において、組成物は、約100 mgから約500 mgの本発明の化合物を含む。一部の実施形態において、組成物は、約200 mgから約300 mgの本発明の化合物を含む。

40

【0193】

本発明の化合物の用量は、対象の症状、年齢および体重、アッシャー症候群に伴う網膜変性疾患または聴覚損失の性質および重症度、投与経路、ならびに組成物の形態に応じて異なる可能性がある。本明細書中に記載されている組成物は、単回投与または分割投与で投与することができる。一部の実施形態において、本発明の化合物の用量は、対象の体重

50

1 kg 当たり約 0.01 ng から約 10 g、1 kg 当たり約 1 ng から約 0.1 g、または 1 kg 当たり約 100 ng から約 10 mg の範囲である。

【0194】

投与は、例えば、局所的、耳内、眼内、非経口、静脈内、動脈内、皮下、筋肉内、頭蓋内、眼窩内、側脳室内、嚢内、脊髄内、嚢内、腹腔内、鼻腔内、エアゾール、坐剤、または経口であってよい。経口使用のための製剤は、無毒性の、医薬として許容される賦形剤との混合物中に本発明の化合物を含有する錠剤を含む。これらの賦形剤は、例えば、不活性希釈剤または充填剤（例えば、スクロースおよびソルビトール）、滑沢剤、摺滑剤および抗接着剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸、シリカ、水素化植物油、またはタルク）であってよい。眼に使用するための製剤は、点眼剤の形態であってよい。

10

【0195】

本発明の化合物またはこの組成物は、非経口、皮下、皮内、筋肉内、または静脈内投与などのために、例えば等張緩衝液、水性緩衝液、または生理食塩緩衝液中で再構成するための凍結乾燥された形態で提供することができる。本発明の組成物はまた、経口、耳内、経鼻、または舌下投与に対して有用な液体製剤、例えば、懸濁剤、シロップ剤またはエリキシル剤などの形態とすることもできる。本発明の組成物はまた、経口投与に対して適切な形態、例えば、カプセル剤、錠剤、丸剤およびチュアブル固形製剤などの形態であってもよい。本発明の組成物はまた、液体、粘性液体、ペースト剤、または散剤として、皮膚投与のためのクリーム剤として調製することもできる。本発明の組成物はまた、エアゾール化成分有り無しで、肺投与のための散剤として調製することもできる。

20

【0196】

組成物は、経口、耳内、鼻腔内、舌下、十二指腸内、皮下、口腔、結腸内、直腸、経膈、粘膜、肺、経皮、皮内、非経口、静脈内、筋肉内および眼用の剤形であってよく、血液脳障壁を横断することができる。

【0197】

本発明の組成物は、当技術分野で公知の様々な手段で投与することができる。例えば本発明の組成物は、経口投与することができ、錠剤、カプセル剤、粒剤、散剤またはシロップ剤として製剤化することができる。代わりに、本発明の組成物は、注射（例えば、静脈内、筋肉内または皮下）、点滴調製物または坐剤として非経口的に投与することができる。眼科用途のために、本発明の組成物は、点眼剤または眼軟膏として製剤化することができる。耳用組成物は点耳薬、軟膏剤、クリーム剤、液体、ゲル、または内部もしくは表面のいずれからの耳への適用のための軟膏として製剤化することができる。これらの製剤は、従来の手段で調製することができ、組成物は、任意の従来の添加剤、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、可溶化剤、懸濁助剤、乳化剤、またはコーティング剤などと混合することができる。

30

【0198】

本発明の組成物は、湿潤剤、乳化剤および滑沢剤、着色剤、剥離剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤および芳香剤、保存剤ならびに抗酸化剤を含むことができる。

【0199】

組成物は、例えば、経口、耳内、眼内、経鼻、局所的（口腔および舌下を含む。）、直腸、経膈、エアゾールおよび/または非経口投与に対して適切となり得る。組成物は、単位剤形で提供することができ、当技術分野で公知の任意の方法により調製することができる。

40

【0200】

経口投与に対して適切な製剤は、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、錠剤、ロゼンジ剤、散剤、粒剤の形態で、または水性もしくは非水性液体中の液剤もしくは懸濁剤として、または水中油型もしくは油中水型の液体乳剤として、またはエリキシル剤もしくはシロップ剤として、またはパステル剤として（不活性塩基、例えばゼラチンなどおよびグリセリン、またはスクロースおよびアカシアを使用）の形態であってよい。本発明の組成物はまた、

50

ポーラス、舐剤、またはペースト剤として投与することもできる。

【0201】

医薬として許容される担体またはビヒクルのさらなる例として、以下が挙げられる：(1) 充填剤または増量剤、例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトールなどおよび/またはケイ酸；(2) 結合剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロースおよび/またはアカシアなど；(3) 保湿剤、例えば、グリセロールなど；(4) 崩壊剤、例えば、寒天、炭酸カルシウム、バレイショまたはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のシリケートおよび炭酸ナトリウムなど；(5) 溶解遅延剤、例えばパラフィンなど；(6) 吸収促進剤、例えば、第四級アンモニウム化合物など；(7) 湿潤剤、例えば、アセチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロールなど；(8) 吸収剤、例えば、カオリンおよびベントナイト粘土など；(9) 滑沢剤、例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固形ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムおよびこれらの混合物など；(10) 着色剤；ならびに(11) 緩衝剤。類似の組成物を、軟質または硬質のゼラチン充填カプセル剤の充填剤として利用することができる。

10

【0202】

経口投与のための液体剤形として、医薬として許容される乳剤、マイクロエマルジョン、ゲル剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤が挙げられる。液体剤形は、当技術分野で共通して使用されている不活性希釈剤、例えば、水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸ジエチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコールなど、油、例えば、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油およびゴマ油など、グリセロール、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール、ソルビタンの脂肪酸エステルおよびこれらの混合物を含有することができる。

20

【0203】

懸濁剤形は、懸濁させた、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルビタンエステル、微結晶性セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天およびトラガント、ならびにこれらの混合物を含有することができる。

30

【0204】

対象組成物の経皮的投与のための剤形として、ドロップ剤、散剤、スプレー剤、軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、液剤およびパッチが挙げられる。軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤およびゲル剤は、賦形剤、例えば、動物および植物脂肪、油、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベントナイト、ケイ酸、タルクおよび酸化亜鉛、またはこれらの混合物を含有することができる。

【0205】

散剤およびスプレー剤は、賦形剤、例えば、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、ポリアミド散剤、またはこれらの混合物などを含有することができる。スプレー剤は、従来通りの噴射剤、例えば、クロロフルオロ炭化水素などおよび揮発性非置換炭化水素、例えば、ブタンおよびプロパンなどをさらに含有してもよい。

40

【0206】

組成物は、固形粒子のエアゾール剤で投与することができる。非水系（例えば、フルオロカーボン噴射剤）懸濁剤も使用し得る。音波ネブライザーは、分解を引き起こしかねない剪断への曝露を最小限に抑えるので、使用することができる。

【0207】

水性エアゾール剤は、本発明の化合物の水溶液または懸濁液を、任意の従来の医薬として許容される担体またはビヒクル、例えば非イオン性界面活性剤（T w e e n、P l u r

50

onic、またはポリエチレングリコール)；タンパク質、例えば、血清アルブミンなど；ソルビタンエステル；脂肪酸；レシチン；アミノ酸；緩衝剤；塩；糖；または糖アルコールなどを用いて製剤化することによって作製することができる。

【0208】

非経口投与に対して適切な組成物は、本発明の化合物および1種以上の医薬として許容される無菌性、等張性、水性または非水性の溶液、分散液、懸濁液、もしくは乳濁液、または使用直前に無菌注射液剤または分散液へと再構成することができる無菌の粉末を含み、この組成物は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、または対象の血液との等張性を製剤に付与する溶質および懸濁化剤もしくは粘稠化剤を含有することができる。

【0209】

特定の実施形態を参照して本発明について記載してきたが、他の実施形態は、明細書を考慮すれば当業者には明らかとなる。本発明は、以下の実施例の参照によりさらに定義される。材料および方法の両方に対する多くの修正が、本発明の範囲から逸脱することなく実施され得ることは、当業者には明らかである。

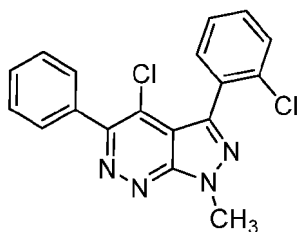
【実施例】

【0210】

実施例1：4-クロロ-3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物37)

【0211】

【化102】

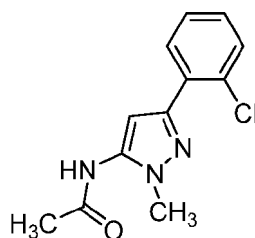


【0212】

ステップ1：3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-アミン

【0213】

【化103】



【0214】

2-クロロベンゾイルアセトニトリル(540mg、3mmol)およびメチルヒドラジン(158μl、3mmol)のメタノール(3mL)中混合物を、電子レンジで、120℃で1時間加熱した。この反応混合物を真空中で濃縮することによって、3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-アミンを固体(617mg)として得た。これを、その後のステップでそのまま使用した。

ステップ2：N-(3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アセトアミド

【0215】

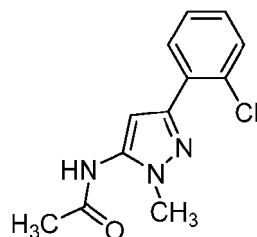
10

20

30

40

【化 104】



【0216】

10

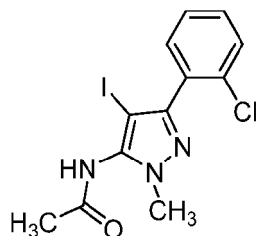
3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - アミン (617 mg、3 mmol) のピリジン (6 mL) 中溶液に、無水酢酸 (425 μ l、4.5 mmol) を加えた。この反応物を室温で16時間撹拌した。この混合物を真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配0から100%酢酸エチル/イソヘキサン) で精製し、N - (3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを固体 (526 mg) として得た。

ステップ3: N - (3 - (2 - クロロフェニル) - 4 - ヨード - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド

【0217】

【化 105】

20



【0218】

30

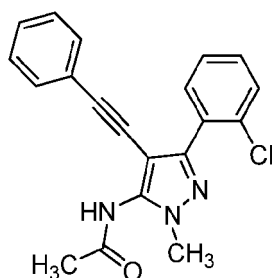
N - (3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド (526 mg、2.12 mmol) のエタノール (16 mL) 中溶液に、ヨウ素酸 (93 mg、0.53 mmol) およびヨウ素 (294 mg、1.16 mmol) を加えた。この反応物を50℃で18時間撹拌した。この反応混合物を真空中で濃縮し、残渣をCH₂Cl₂中に溶解し、2N Na₂SO₃溶液で洗浄した。有機相をMgSO₄で脱水し、濾過し、蒸発させることによって、N - (3 - (2 - クロロフェニル) - 4 - ヨード - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを、薄オレンジ色の固体 (756 mg) として得た。これを、その後のステップでそのまま使用した。

ステップ4: N - (3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 4 - (フェニルエチニル) - 1H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド

【0219】

40

【化 106】



【0220】

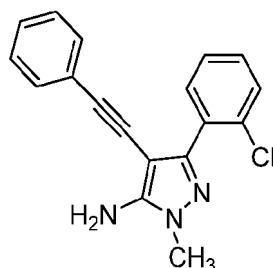
50

フェニルアセチレン (157 μ l、1.43 mmol) および Et_3N (3.3 mL) の DMF (1.2 mL) 中脱気溶液に、N-(3-(2-クロロフェニル)-4-ヨード-1-メチル-1H-ピラゾール-5-イル)アセトアミド (413 mg、1.1 mmol)、CuI (42 mg、0.22 mmol) および $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (77 mg、0.11 mmol) を加えた。この混合物を N_2 でフラッシュし、次いで 85 に 3 時間加熱した。この反応混合物を真空中で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 100% 酢酸エチル/イソヘキサン) で精製することによって、N-(3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-5-イル)アセトアミドを固体 (181 mg) として得た。

ステップ 5: 3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-5-アミン

【0221】

【化107】



20

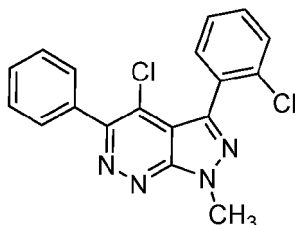
【0222】

N-(3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-5-イル)アセトアミド (170 mg、0.49 mmol) のエタノール (1 mL) および 25% NaOH (1.4 mL) 中溶液を 85 に 30 時間加熱した。この反応混合物を酢酸エチルおよび水の間で分配した。水相を酢酸エチルで洗浄し、有機相を合わせ、 MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させることによって、3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-5-アミンを固体 (136 mg) として得た。これを、その後のステップでそのまま使用した。

ステップ 6: 4-クロロ-3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン (化合物 37)

【0223】

【化108】



40

【0224】

3-(2-クロロフェニル)-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-5-アミン (136 mg、0.44 mmol) の濃縮 HCl (3.7 mL) 中冷却攪拌懸濁液 (冷却槽 -15) に、亜硝酸ナトリウム (34 mg、0.49 mmol) の水 (0.3 mL) 中溶液を加えた。5 分後、冷却槽を除去し、この反応混合物を室温で 1 時間攪拌した。反応物を再び冷却し (0)、 NaHCO_3 飽和溶液に注入した。酢酸エチルを加え、飽和 NaHCO_3 で pH を 7-8 に調節した。水相を酢酸エチルで抽出し、有機相を合わせ、 MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗製材料をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 4% 酢酸エチル/ CH_2Cl_2) で精製して、化合物 37 を固体 (47 mg) として得た。

50

【 0 2 2 5 】

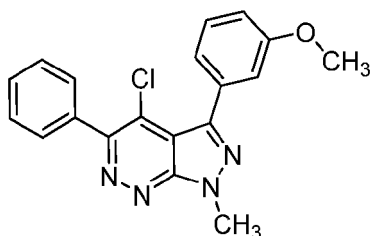
LCMS (1 0 c m _ E S C I _ ギ酸) R t 4 . 7 2 分 ; m / z 3 5 5 [M + H]
9 7 . 9 6 % 純度。

【 0 2 2 6 】

実施例 2 : 4 - クロロ - 3 - (3 - メトキシフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル -
1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 7)

【 0 2 2 7 】

【 化 1 0 9 】



10

【 0 2 2 8 】

ステップ 1 における 2 - クロロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 3 - メトキシベン
ゾイルアセトニトリルを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられてい
る類似の手順に従い、化合物 1 7 を合成した。

【 0 2 2 9 】

LCMS (1 0 c m _ E S C I _ ギ酸) R t 4 . 6 分 ; m / z 3 5 1 [M + H] 9
6 . 2 3 % 純度。

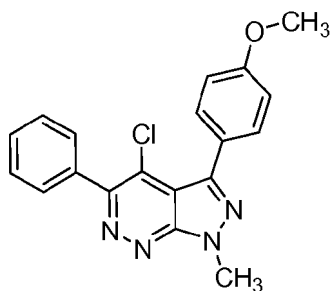
20

【 0 2 3 0 】

実施例 3 : 4 - クロロ - 3 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル -
1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 2 7)

【 0 2 3 1 】

【 化 1 1 0 】



30

【 0 2 3 2 】

ステップ 1 における 2 - クロロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 4 - メトキシベン
ゾイルアセトニトリルを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられてい
る類似の手順に従い、化合物 2 7 を合成した。

【 0 2 3 3 】

LCMS (1 0 c m _ E S C I _ B i c a r b) R t 3 . 9 7 分 ; m / z 3 5 1 [M + H] 9 6 . 7 7 % 純度。

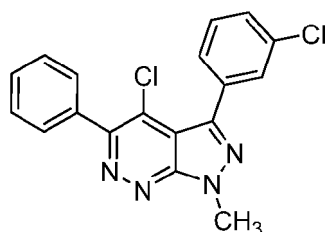
40

【 0 2 3 4 】

実施例 4 : 4 - クロロ - 3 - (3 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル - 1
H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 3)

【 0 2 3 5 】

【化 1 1 1】



【0 2 3 6】

ステップ 1 における 2 - クロロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 3 - クロロベンゾイルアセトニトリルを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 3 を合成した。

10

【0 2 3 7】

LCMS (10 cm __ESI__ Bicarb) Rt 4.16 分; m/z 355 [M + H] 98.38 % 純度。

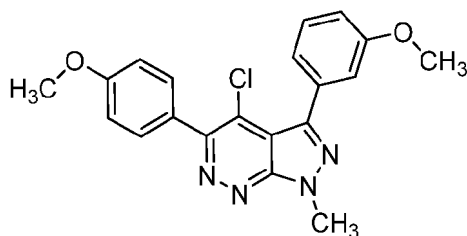
【0 2 3 8】

実施例 5: 4 - クロロ - 3 - (3 - メトキシフェニル) - 5 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 1 5)

【0 2 3 9】

【化 1 1 2】

20



【0 2 4 0】

ステップ 1 における 2 - クロロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 3 - メトキシベンゾイルアセトニトリルを使用し、ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 4 - メトキシフェニルアセチレンを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 5 を合成した。

30

【0 2 4 1】

LCMS (10 cm __ESI__ Bicarb) Rt 4.3 分; m/z 381 [M + H] 95.3 % 純度。

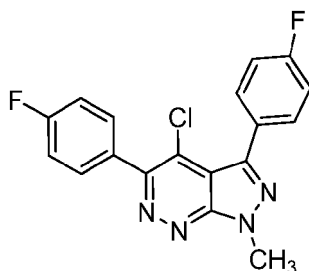
【0 2 4 2】

実施例 6: 4 - クロロ - 3, 5 - ビス (4 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 3 3)

【0 2 4 3】

【化 1 1 3】

40



【0 2 4 4】

ステップ 1 における 2 - クロロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 4 - フルオロベン

50

ゾイルアセトニトリルを使用して、実施例 1 (化合物 37) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 33 を合成した。わずかに修正された手順として、ステップ 1 の残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 30 から 100 % EtOAc / イソヘキサン) で精製した。ステップ 3 の残渣を CH_2Cl_2 中に溶解し、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液で洗浄した。ステップ 3 の生成物をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 100 % 酢酸エチル / CH_2Cl_2) で精製した。ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 4 - フルオロフェニルアセチレンを使用した。EtOAc、 NaHCO_3 飽和水溶液の代わりに CH_2Cl_2 、水および K_2CO_3 を用いてステップ 4 の反応混合物にワークアップを行った。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 10 から 100 % EtOAc / イソヘキサン) で精製することによって、化合物 33 を得た。

10

【0245】

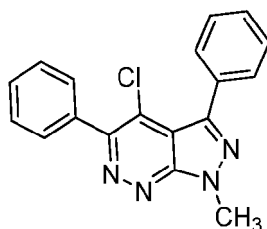
LCMS (10 cm __ ESCI __ ギ酸) Rt 4.18 分; m/z 357 [M+H]
99.63 % 純度。

【0246】

実施例 7: 4 - クロロ - 1 - メチル - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 39)

【0247】

【化 114】



20

【0248】

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンを使用して、実施例 1 (化合物 37) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 39 を合成した。

30

【0249】

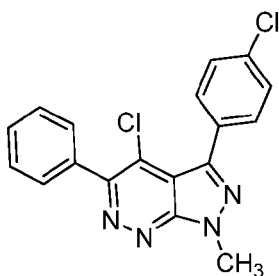
LCMS (10 cm __ ESCI __ Bicarb) Rt 4.39 分; m/z 321 [M+H]
95.87 % 純度。

【0250】

実施例 8: 4 - クロロ - 3 - (4 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 26)

【0251】

【化 115】



40

【0252】

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 3 - (4 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール -

50

5 - アミンを使用して、実施例 1 (化合物 37) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 26 を合成した。

【0253】

LCMS (10 cm __ESI__ 酸) Rt 4.91 分; m/z 355 [M+H]
99.36% 純度。

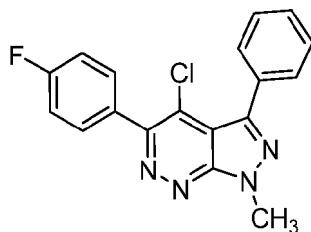
【0254】

実施例 9: 4 - クロロ - 5 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 3 - フェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 4)

【0255】

【化 116】

10



【0256】

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンを使用し、ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 4 - フルオロフェニルアセチレンを使用して、実施例 1 (化合物 37) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 4 を合成した。

20

【0257】

LCMS (15 cm __Bicarbo__ Gemini NX __HPLC) Rt 11.15 分; m/z 339 [M+H] 97.86% 純度。

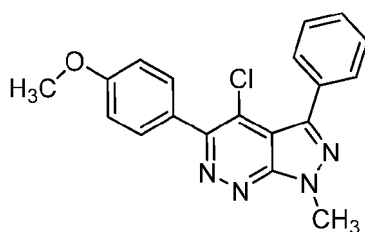
【0258】

実施例 10: 4 - クロロ - 5 - (4 - メトキシフェニル) - 1 - メチル - 3 - フェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 8)

【0259】

【化 117】

30



【0260】

ステップ 2 から出発し、3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1H - ピラゾール - 5 - アミンを使用して、実施例 6 (化合物 33) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 8 を合成した。

40

【0261】

LCMS (15 cm __酸__ ASCENTIS __HPLC) Rt 10.61 分; m/z 351 [M+H] 98.07% 純度。

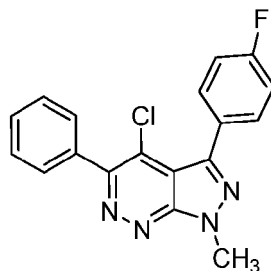
【0262】

実施例 11: 4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (化合物 14)

【0263】

50

【化 1 1 8】



【0 2 6 4】

10

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 4 を合成した。

【0 2 6 5】

LCMS (1 0 c m _ _ E S I _ _ B i c a r b) R t 3 . 8 8 分 ; m / z 3 3 9 [M + H] 9 8 . 1 7 % 純度。

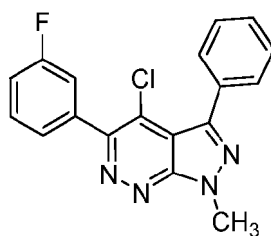
【0 2 6 6】

実施例 1 2 : 4 - クロロ - 5 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 3 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 0)

20

【0 2 6 7】

【化 1 1 9】



【0 2 6 8】

30

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを使用し、ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 3 - フルオロフェニルアセチレンを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 0 を合成した。

【0 2 6 9】

LCMS (1 0 c m _ _ E S I _ _ ギ酸) R t 4 . 1 8 分 ; m / z 3 3 9 [M + H] 9 6 . 5 % 純度。

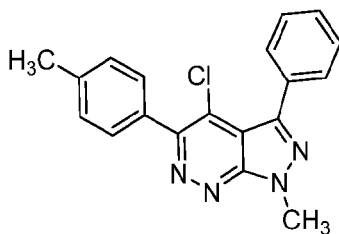
【0 2 7 0】

実施例 1 3 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - フェニル - 5 - p - トリル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 1)

40

【0 2 7 1】

【化 1 2 0】



50

【 0 2 7 2 】

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを使用し、ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 4 - トリルアセチレンを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 1 を合成した。

【 0 2 7 3 】

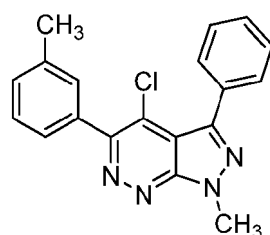
LCMS (1 0 c m __ E S I __ B i c a r b) R t 4 . 0 7 分 ; m / z 3 3 5 [M + H] 9 8 . 5 4 % 純度。

【 0 2 7 4 】

実施例 1 4 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - フェニル - 5 - m - トリル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 6)

【 0 2 7 5 】

【 化 1 2 1 】



【 0 2 7 6 】

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを使用し、ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 3 - トリルアセチレンを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 6 を合成した。

【 0 2 7 7 】

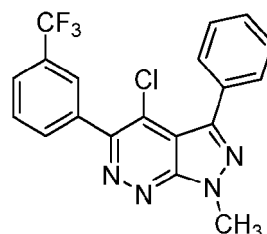
LCMS (1 0 c m __ E S I __ B i c a r b) R t 4 . 0 7 分 ; m / z 3 3 5 [M + H] 9 8 . 3 6 % 純度。

【 0 2 7 8 】

実施例 1 5 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 3 - フェニル - 5 - (3 - (トリフルオロメチル) フェニル) - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 2 9)

【 0 2 7 9 】

【 化 1 2 2 】



【 0 2 8 0 】

ステップ 2 から出発し、3 - (2 - クロロフェニル) - 1 - メチル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンの代わりに 1 - メチル - 3 - フェニル - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを使用し、ステップ 4 におけるフェニルアセチレンの代わりに 3 - (トリフルオロメチル) - フェニルアセチレンを使用して、実施例 1 (化合物 3 7) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 2 9 を合成した。

【 0 2 8 1 】

LCMS (1 5 c m __ ギ酸 __ A S C E N T I S __ H P L C) R t 1 3 . 1 1 分 ; m /

10

20

30

40

50

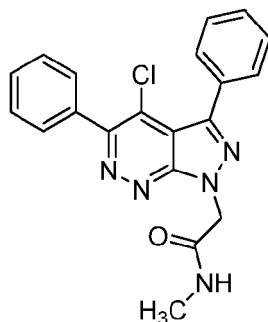
z 389 [M + H] 86.58% 純度。

【0282】

実施例 16: 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) - N - メチルアセトアミド (化合物 5)

【0283】

【化123】



10

【0284】

2 - クロロベンゾイルアセトニトリルおよびエチルヒドラジノアセテート塩酸塩の代わりにベンゾイルアセトニトリルを使用し、ステップ 1 におけるメチルヒドラジンの代わりに 1.5 当量のトリエチルアミンを使用して、実施例 1 (化合物 37) において概要が述べられている類似の手順に従い合成した、2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) 酢酸から化合物 5 を合成した。2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (73 mg, 0.2 mmol) の CH₂Cl₂ (1 mL) 中懸濁液に、2 - ヒドロキシピリジン - N - オキシド (HOPPO) (22 mg, 0.2 mmol)、メチルアミン塩酸塩 (14 mg, 0.2 mmol)、1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDAC) (50 mg, 0.25 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (90 μl, 0.2 mmol) および DMF (0.5 mL) を加えた。この反応混合物を室温で 90 分間攪拌し、次いで真空中で濃縮した。残渣を分取 HPLC で精製して、化合物 5 をオフホワイト色の固体 (6 mg) として得た。

20

【0285】

LCMS (15 cm Bicarbo Gemini NX HPLC) Rt 10.02 分; m/z 378 [M + H]
94.61% 純度。

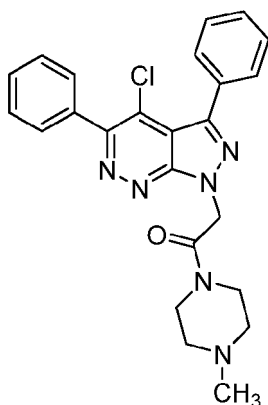
30

【0286】

実施例 17: 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (4 - メチルピペラジン - 1 - イル) エタノン (化合物 1)

【0287】

【化124】



40

50

【 0 2 8 8 】

最終ステップにおけるメチルアミン塩酸塩の代わりにN - メチルピペラジンを使用して、実施例 1 6 (化合物 5) において概要が述べられている類似の手順に従い、2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸から化合物 1 を合成した。最終ステップにおける残渣を分取 H P L C で精製し、続いてカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 5 % トリエチルアミン / アセトン) で精製して、化合物 1 をオフホワイト色の固体 (6 m g) として得た。

【 0 2 8 9 】

L C M S (1 5 c m _ _ B i c a r b _ _ G e m i n i N X _ _ H P L C) R t 1 0 . 1 2 分 ; m / z 4 4 7 [M + H] 9 6 . 8 % 純度。

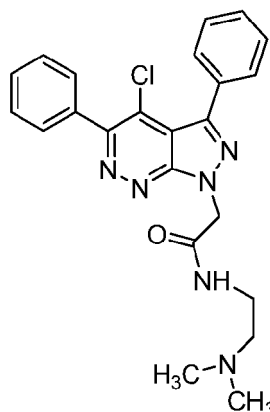
10

【 0 2 9 0 】

実施例 1 8 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (2 - (ジメチルアミノ) エチル) アセトアミド (化合物 2)

【 0 2 9 1 】

【 化 1 2 5 】



20

【 0 2 9 2 】

最終ステップにおけるN - メチルピペラジンの代わりにN , N ' - ジメチルエチレンジアミンを使用して、実施例 1 7 (化合物 1) において概要が述べられている類似の手順に従い、2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸から化合物 2 を合成した。

30

【 0 2 9 3 】

L C M S (1 5 c m _ _ ギ酸 _ _ A S C E N T I S _ _ H P L C) R t 7 . 6 8 分 ; m / z 4 3 5 [M + H] 9 5 . 5 1 % 純度。

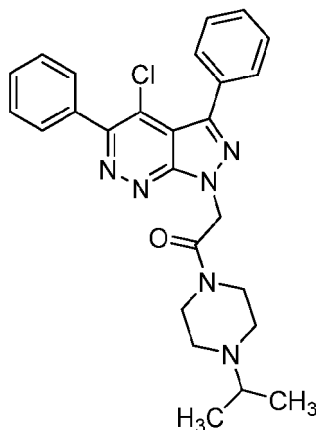
【 0 2 9 4 】

実施例 1 9 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (4 - イソプロピルピペラジン - 1 - イル) エタノン (化合物 3 8)

【 0 2 9 5 】

40

【化 1 2 6】



10

【0 2 9 6】

最終ステップにおけるN-メチルピペラジンの代わりにN-イソプロピルピペラジンを使用して、実施例17(化合物1)において概要が述べられている類似の手順に従い、2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸から化合物38を合成した。

【0 2 9 7】

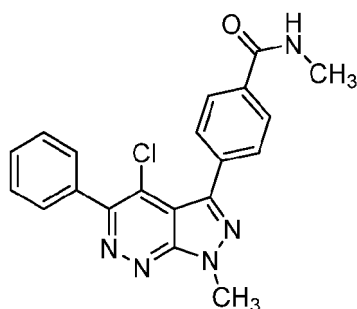
LCMS(15cm__ギ酸__ASCENTIS__HPLC) Rt 12.54分; m/z 475 [M+H] 95.82%純度。 20

【0 2 9 8】

実施例20: 4-(4-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-3-イル)-N-メチルベンズアミド(化合物25)

【0 2 9 9】

【化 1 2 7】



30

【0 3 0 0】

ステップ1における2-クロロベンゾイルアセトニトリルの代わりにメチル4-(シアノアセチル)安息香酸塩を使用して、実施例1(化合物37)において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物25を合成した。実施例16(化合物5)において概要が述べられている類似の手順に従い、ステップ5で得た4-(5-アミノ-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-3-イル)安息香酸を4-(5-アミノ-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-3-イル)-N-メチルベンズアミドに変換した。実施例5のステップ5において概要が述べられている類似の手順に従い、4-(5-アミノ-1-メチル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-3-イル)-N-メチルベンズアミドを化合物25に変換した。 40

【0 3 0 1】

LCMS(10cm__ESI__ギ酸) Rt 3.1分; m/z 378 [M+H] 99.89%純度。

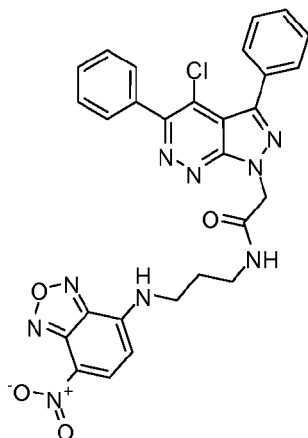
【0 3 0 2】

実施例21: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c] 50

ピリダジン - 1 - イル) - N - (3 - (7 - ニトロベンゾ [c] [1 , 2 , 5] オキサジアゾール - 4 - イルアミノ) プロピル) アセトアミド (化合物 6)

【 0 3 0 3 】

【 化 1 2 8 】



10

【 0 3 0 4 】

最終ステップにおけるメチルアミン塩酸塩の代わりに N 1 - (7 - ニトロベンゾ [c] [1 , 2 , 5] オキサジアゾール - 4 - イル) プロパン - 1 , 3 - ジアミンを使用して、
実施例 1 6 (化合物 5) において概要が述べられている類似の手順に従い、2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸から化合物 6 を合成した。

20

【 0 3 0 5 】

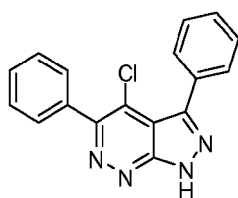
L C M S (1 0 c m _ _ E S I _ _ B i c a r b) R t 3 . 5 9 分 ; m / z 5 8 4 [M + H] 9 7 . 7 4 % 純度。

【 0 3 0 6 】

実施例 2 2 : 4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 9)

【 0 3 0 7 】

【 化 1 2 9 】



30

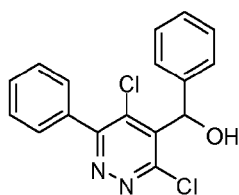
【 0 3 0 8 】

ステップ 1 : (3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (フェニル) メタノール

40

【 0 3 0 9 】

【 化 1 3 0 】



【 0 3 1 0 】

L D A (T H F 中 2 M 、 2 . 4 m L 、 4 . 7 m m o l) の T H F (8 m L) 中溶液に、

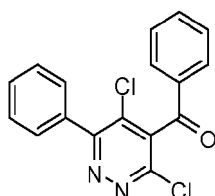
50

- 78 で、3 - フェニル - 4 , 6 - ジクロロピリダジン (7 0 0 m g 、 3 . 1 m m o l) の T H F (2 m L) 中溶液を滴加した。 - 78 で 3 0 分後、ベンズアルデヒド (4 0 0 m g 、 3 . 7 5 m m o l) を加えた。この反応混合物を室温まで終夜温めておいた。この反応混合物を酢酸エチルおよび水の間に分配した。水相を酢酸エチルで抽出し、有機相を合わせ、水およびブラインで洗浄し、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 1 0 から 2 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製して、3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (フェニル) メタノールを黄色の固体 (2 0 0 m g) として得た。

ステップ 2 : (3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (フェニル) メタノン

【 0 3 1 1 】

【 化 1 3 1 】



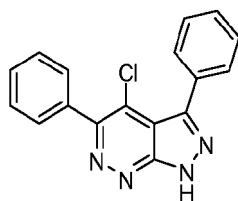
【 0 3 1 2 】

(3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (フェニル) メタノール (2 0 0 m g 、 0 . 6 m m o l) 、 二酸化マンガン (7 0 0 m g 、 8 m m o l) の乾燥トルエン (2 0 m L) 中混合物を、D e a n S t a r k 条件下 1 1 5 で 3 時間加熱した。この反応混合物を冷却し、濾過し、残渣を C H ₂ C l ₂ で洗浄した。濾液を真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 1 0 から 2 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製して、(3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (フェニル) メタノンを固体 (1 5 0 m g) として得た。

ステップ 3 : 4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 9)

【 0 3 1 3 】

【 化 1 3 2 】



【 0 3 1 4 】

(3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (フェニル) メタノン (1 5 0 m g 、 0 . 4 6 m m o l) およびヒドラジン水和物 (2 7 m g 、 0 . 5 5 m m o l) のエタノール (0 . 5 m L) 中混合物を封管内で、4 0 で 1 時間撹拌した。この反応混合物を冷却し、濾過し、残渣をジエチルエーテルで洗浄した。濾液を真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 2 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製して、化合物 9 を白色の固体 (1 2 m g) として得た。

【 0 3 1 5 】

L C M S (1 0 c m _ E S C I _ ギ酸) R t 4 . 1 6 分 ; m / z 3 0 7 [M + H] 9 5 . 8 % 純度。

【 0 3 1 6 】

実施例 2 3 :

4 - クロロ - 3 - (4 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 4 3)

10

20

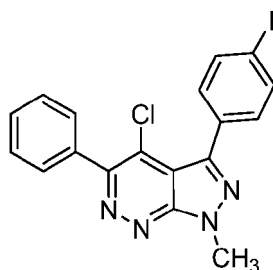
30

40

50

【 0 3 1 7 】

【 化 1 3 3 】



10

【 0 3 1 8 】

ステップ 1 におけるベンズアルデヒドの代わりに 4 - ヨードベンズアルデヒドを使用し、ステップ 3 におけるヒドラジン水和物の代わりにメチルヒドラジンを使用して、実施例 2 2 (化合物 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 4 3 を合成した。わずかに修正した手順として、封管内でステップ 3 を 6 0 で 4 時間実施した。その後、この混合物を冷却し、濾過し、残渣を冷たいエタノールで洗浄した。濾過した残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 5 から 1 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製して、化合物 4 3 をオフホワイト色の固体として得た。

【 0 3 1 9 】

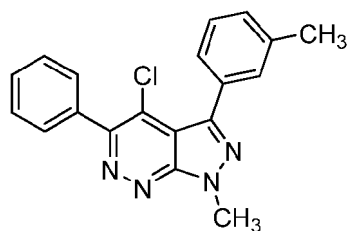
LCMS (15 cm __ B i c a r b __ G e m i n i N X __ H P L C) R t 12.63 20
分; m/z 447 [M+H]
97.4% 純度。

【 0 3 2 0 】

実施例 2 4 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 5 - フェニル - 3 - m - トリル - 1 H - ピラゾ
ロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 9)

【 0 3 2 1 】

【 化 1 3 4 】



30

【 0 3 2 2 】

ステップ 1 におけるベンズアルデヒドの代わりに 3 - メチルベンズアルデヒドを使用し、ステップ 3 におけるヒドラジン水和物の代わりにメチルヒドラジンを使用して、実施例 2 2 (化合物 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 9 を合成した。わずかに修正した手順として、封管内でステップ 3 を 6 0 で 1 6 時間実施した。その後、この反応混合物を C H ₂ C l ₂ および水の間に分配した。相分離カートリッジを 40
使用して有機相を分離し、真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 5 から 2 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製して、化合物 1 9 を固体として得た。

【 0 3 2 3 】

LCMS (15 cm __ B i c a r b __ G e m i n i N X __ H P L C) R t 11.47
分; m/z 335 [M+H] 97.18% 純度。

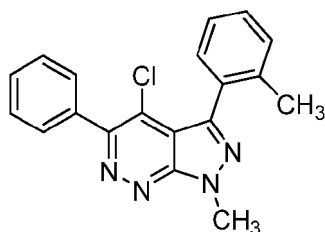
【 0 3 2 4 】

実施例 2 5 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 5 - フェニル - 3 - o - トリル - 1 H - ピラゾ
ロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 2 0)

【 0 3 2 5 】

50

【化 1 3 5】



【0 3 2 6】

ステップ 1 におけるベンズアルデヒドの代わりに 2 - メチルベンズアルデヒドを使用し、ステップ 3 におけるヒドラジン水和物の代わりにメチルヒドラジンを使用して、実施例 2 2 (化合物 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 2 0 を合成した。

10

【0 3 2 7】

L C M S (1 0 c m _ _ E S I _ _ ギ酸) R t 4 . 2 分 ; m / z 3 3 5 [M + H] 9 8 . 4 8 % 純度。

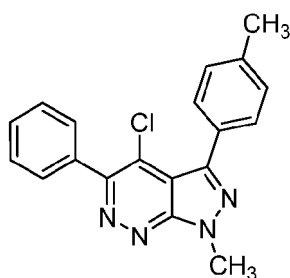
【0 3 2 8】

実施例 2 6 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 5 - フェニル - 3 - p - トリル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 2 1)

【0 3 2 9】

【化 1 3 6】

20



【0 3 3 0】

ステップ 1 における 3 - メチルベンズアルデヒドの代わりに 4 - メチルベンズアルデヒドを使用して、実施例 2 4 (化合物 1 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 2 1 を合成した。わずかに修正した手順として、封管内でステップ 3 を 7 0 で 1 6 時間実施した。

30

【0 3 3 1】

L C M S (1 5 c m _ _ B i c a r b _ _ G e m i n i N X _ _ H P L C) R t 1 1 . 4 4 分 ; m / z 3 3 5 [M + H] 9 7 . 1 3 % 純度。

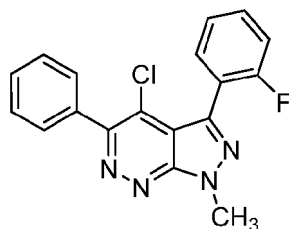
【0 3 3 2】

実施例 2 7 : 4 - クロロ - 3 - (2 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 2 2)

40

【0 3 3 3】

【化 1 3 7】



【0 3 3 4】

50

ステップ 1 における 3 - メチルベンズアルデヒドの代わりに 2 - フルオロベンズアルデヒドを使用して、実施例 2 4 (化合物 1 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 2 2 を合成した。

【 0 3 3 5 】

L C M S (1 0 c m _ _ E S I _ _ ギ酸) R t 4 . 0 4 分 ; m / z 3 3 9 [M + H] 9 6 . 3 6 % 純度。

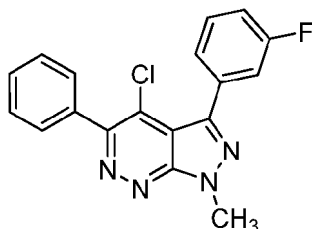
【 0 3 3 6 】

実施例 2 8 : 4 - クロロ - 3 - (3 - フルオロフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 3 2)

【 0 3 3 7 】

【 化 1 3 8 】

10



【 0 3 3 8 】

ステップ 1 における 3 - メチルベンズアルデヒドの代わりに 3 - フルオロベンズアルデヒドを使用して、実施例 2 4 (化合物 1 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 3 2 を合成した。

20

【 0 3 3 9 】

L C M S (1 5 c m _ _ ギ酸 _ _ A S C E N T I S _ _ H P L C) R t 1 2 . 7 9 分 ; m / z 3 3 9 [M + H] 9 8 . 5 8 % 純度。

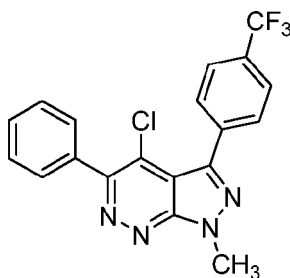
【 0 3 4 0 】

実施例 2 9 : 4 - クロロ - 1 - メチル - 5 - フェニル - 3 - (4 - (トリフルオロメチル) フェニル) - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 2 3)

【 0 3 4 1 】

【 化 1 3 9 】

30



【 0 3 4 2 】

ステップ 1 における 3 - メチルベンズアルデヒドの代わりに 4 - トリフルオロメチルベンズアルデヒドを使用して、実施例 2 4 (化合物 1 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 2 3 を合成した。わずかに修正した手順として、ステップ 2 において、この反応混合物を濾過し、濾液の蒸発に続いて、ジエチルエーテル中で固体残渣を粉砕することによって、(3 , 5 - ジクロロ - 6 - フェニルピリダジン - 4 - イル) (4 - (トリフルオロメチル) フェニル) メタノンの精製を行った。

40

【 0 3 4 3 】

L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ B i c a r b) R t 4 . 6 8 分 ; m / z 3 8 9 [M + H] 9 8 . 9 6 % 純度。

【 0 3 4 4 】

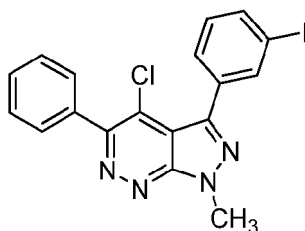
実施例 3 0 : 4 - クロロ - 3 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 5 - フェニル -

50

1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 3)

【 0 3 4 5 】

【 化 1 4 0 】



10

【 0 3 4 6 】

ステップ 1 における 2 - メチルベンズアルデヒドの代わりに 3 - ヨードベンズアルデヒドを使用して、実施例 2 5 (化合物 2 0) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 3 を合成した。わずかに修正した手順として、ステップ 3 の粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 8 0 から 1 0 0 % CH_2Cl_2 / イソヘキサンから 2 % ジエチルエーテル / CH_2Cl_2) で精製して、化合物 3 を固体として得た。

【 0 3 4 7 】

LCMS (1 0 c m _ _ E S C I _ _ ギ酸) R t 5 . 0 3 分 ; m / z 4 4 7 [M + H] 9 9 . 1 3 % 純度。

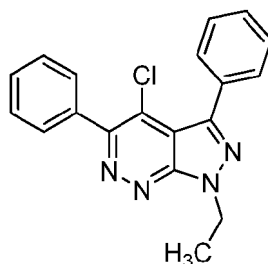
【 0 3 4 8 】

20

実施例 3 1 : 4 - クロロ - 1 - エチル - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 1 8)

【 0 3 4 9 】

【 化 1 4 1 】



30

【 0 3 5 0 】

ステップ 3 におけるヒドラジン水和物の代わりにエチルヒドラジンを使用して、実施例 2 2 (化合物 9) において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 1 8 を合成した。わずかに修正した手順として、封管内でステップ 3 を 9 0 ° で 1 6 時間実施した。その後、この反応混合物を CH_2Cl_2 および水の間に分配した。相分離カートリッジを使用して有機相を分離し、真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、5 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製し、化合物 1 8 を固体として得た。

【 0 3 5 1 】

40

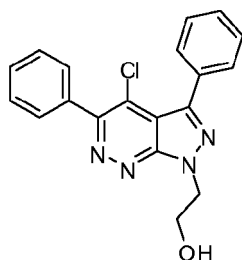
LCMS (1 5 c m _ _ B i c a r b _ _ G e m i n i N X _ _ H P L C) R t 1 1 . 5 2 分 ; m / z 3 3 5 [M + H] 9 4 . 7 % 純度。

【 0 3 5 2 】

実施例 3 2 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エタノール (化合物 7)

【 0 3 5 3 】

【化 1 4 2】



【0 3 5 4】

10

ステップ3におけるエチルヒドラジンの代わりに2-ヒドロキシエチルヒドラジンを使用して、実施例31（化合物18）において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物7を合成した。わずかに修正した手順として、電子レンジでステップ3を90で30分間実施した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、勾配10から50%酢酸エチル/イソヘキサン）で精製して、化合物7を固体として得た。

【0 3 5 5】

LCMS（15cm__Bicarbo__GeminiNX__HPLC）Rt 10.29分；m/z 351 [M+H] 95.59%純度。

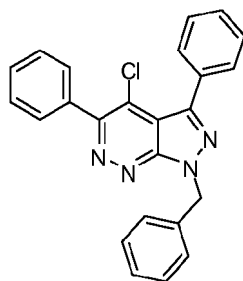
【0 3 5 6】

実施例33：1-ベンジル-4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン（化合物31）

20

【0 3 5 7】

【化 1 4 3】



30

【0 3 5 8】

ステップ3におけるエチルヒドラジンの代わりにベンジルヒドラジンジヒドロクロリドを使用して、実施例31（化合物18）において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物31を合成した。わずかに修正した手順としてステップ3を50で16時間実施した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、勾配5から10%酢酸エチル/イソヘキサン）、続いて分取HPLCで精製し、化合物31を固体として得た。

【0 3 5 9】

LCMS（15cm__ギ酸__ASCENTIS__HPLC）Rt 11.04分；m/z 397 [M+H] 98.71%純度。

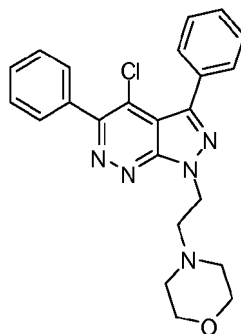
40

【0 3 6 0】

実施例34：4-（2-（4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル）エチル）モルホリン（化合物28）

【0 3 6 1】

【化 1 4 4】



10

【0 3 6 2】

ステップ3におけるエチルヒドラジンの代わりに4-(2-ヒドラジニルエチル)モルホリンを使用して、実施例31(化合物18)において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物28を合成した。わずかに修正した手順としてステップ3を60で16時間実施した。この反応混合物を真空中で濃縮し、粗残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、勾配50から100%酢酸エチル/イソヘキサン)で精製し、続いて分取HPLCで精製し、化合物28を固体として得た。

【0 3 6 3】

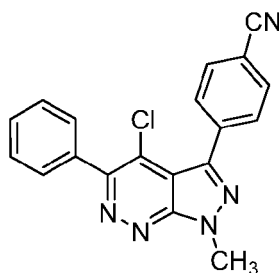
LCMS(10cm __ESI__ギ酸) Rt 2.85分; m/z 420 [M+H]⁺ 97.41%純度。 20

【0 3 6 4】

実施例35: 4-(4-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-3-イル)ベンゾニトリル(化合物24)

【0 3 6 5】

【化 1 4 5】



30

【0 3 6 6】

電子レンジで、4-クロロ-3-(4-ヨードフェニル)-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物43、実施例23)(70mg、0.16mmol)、Zn(CN)₂(18mg、0.094mmol)およびPd(PPh₃)₄(18mg、0.016mmol)のDMF(1mL)中脱気混合物を100で40分間加熱した。この反応混合物を酢酸エチルおよび水の間に分配した。有機相を水およびブラインで洗浄し、相分離カートリッジを使用して乾燥し、真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、10から20%酢酸エチル/イソヘキサン)で精製して、化合物24を固体(30mg)として得た。 40

【0 3 6 7】

LCMS(10cm ESI ギ酸) Rt 4.4分; m/z 346 [M+H]⁺ 6.24%純度。

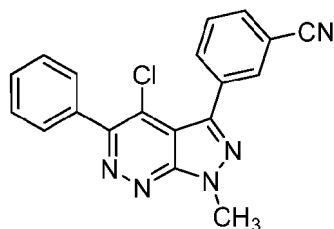
【0 3 6 8】

実施例36: 3-(4-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-3-イル)ベンゾニトリル(化合物34)

【0 3 6 9】

50

【化 1 4 6】



【0370】

出発物質として、4-クロロ-3-(4-ヨードフェニル)-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物43、実施例23)の代わりに、4-クロロ-3-(3-ヨードフェニル)-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物3、実施例30)を使用して、実施例35(化合物24)において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物34を合成した。

10

【0371】

LCMS(10cm__ESI__ギ酸)Rt 4.36分;m/z 346[M+H]
99.13%純度。

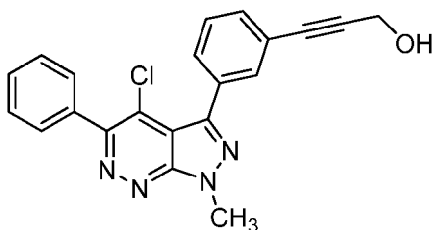
【0372】

実施例37: 3-(3-(4-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-3-イル)フェニル)プロパ-2-イン-1-オール(化合物30)

20

【0373】

【化 1 4 7】



30

【0374】

封管内で、4-クロロ-3-(3-ヨードフェニル)-1-メチル-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物7、実施例32)(80mg、0.18mmol)、プロパルギルアルコール(41mg、0.74mmol)、トリエチルアミン(87μl、0.63mmol)、CuI(3.5mg、0.018mmol)、トリフェニルホスフィン(5mg、0.018mmol)およびPd(PPh₃)₄(20mg、0.018mmol)の1,4-ジオキサン(1.5mL)中混合物を100℃で4時間加熱した。この反応混合物をCH₂Cl₂および水の間に分配した。有機相を分離し、相分離カートリッジを使用して乾燥し、次いで真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、20から30%の酢酸エチル/イソヘキサン)で精製して、化合物30を固体(26mg)として得た。

40

【0375】

LCMS(15cm__ギ酸__ASCENTIS__HPLC)Rt 9.67分;m/z 375[M+H] 86.09%純度。

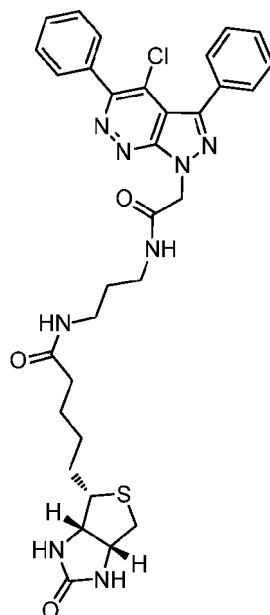
【0376】

実施例38: N-(3-(2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)アセトアミド)プロピル)-5-((4S)-2-オキソヘキサヒドロ-1H-チエノ[3,4-d]イミダゾール-4-イル)ペンタンアミド(化合物44)

【0377】

50

【化 1 4 8】



10

【 0 3 7 8 】

N - (3 - アミノプロピル) - 5 - ((3 a S , 4 S , 6 a R) - 2 - オキソヘキサヒ
ドロ - 1 H - チエノ [3 , 4 - d] イミダゾール - 4 - イル) ペンタンアミド (N - (3
- アミノプロピル) ピオチンアミドトリフルオロアセテートとしても公知、 S i g m a -
A l d r i c h または J & K S c i e n t i f i c L t d から市販) (0 . 2 2 m m o l) の無水 D M F (1 . 1 m L) 中溶液に、 D I P E A (5 7 μ L 、 0 . 3 3 m m o l)
、 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン
- 1 - イル) 酢酸 (8 0 m g 、 0 . 2 2 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾ
トリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホ
スフェート (H A T U 、 S i g m a - A l d r i c h または N o v a b i o c h e m から
市販) (1 2 5 m g 、 0 . 3 3 m m o l) を逐次的に加えた。この反応混合物を室温で 2
時間攪拌し、次いで酢酸エチルで希釈し、水性 N a H C O ₃ および 4 % 水性 L i C l で洗
浄した。次いで有機相を M g S O ₄ で脱水し、真空下で蒸発させた。残渣を分取 H P L C
で精製して、化合物 4 4 をベージュ色の固体 (3 4 m g) として得た。

20

30

【 0 3 7 9 】

L C M S (1 5 c m _ B i c a r b _ G e m i n i N X _ H P L C) R t 9 . 2 6 分
; m / z 6 4 7 [M + H] 9 0 . 1 5 % 純度。

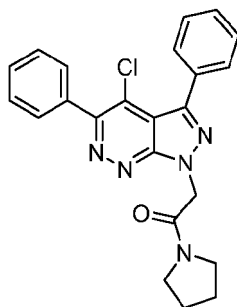
【 0 3 8 0 】

実施例 3 9 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c]
ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (ピロリジン - 1 - イル) エタノン (化合物 4 5)

【 0 3 8 1 】

【化 1 4 9】

40



【 0 3 8 2 】

50

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (5 1 0 m g 、 1 . 4 m m o l) の CH_2Cl_2 (9 m L) 中懸濁液に、ピロリジン (1 7 4 μL 、 2 . 1 m m o l) 、 ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (3 6 6 μL 、 2 . 1 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (7 9 8 m g 、 2 . 1 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 9 0 分間攪拌し、次いで CH_2Cl_2 で希釈した。有機相を水性 NaHCO_3 で洗浄し、相分離器に通し、真空中で濃縮した。生成した残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 7 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) を使用して精製し、続いて第 2 のクロマトグラフィー精製 (シリカゲル、勾配 0 から 2 5 % ジクロロメタン / エーテル) を行い、化合物 4 5 を固体 (1 6 5 m g) として得た。

10

【 0 3 8 3 】

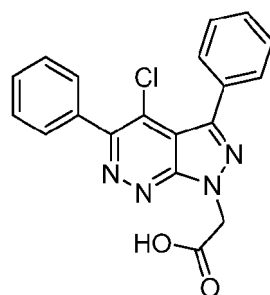
L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ ギ酸) R t 4 . 2 7 分 ; m / z 4 1 8 [M + H] 9 9 . 9 2 % 純度。

【 0 3 8 4 】

実施例 4 0 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (化合物 4 7)

【 0 3 8 5 】

【 化 1 5 0 】



20

【 0 3 8 6 】

2 - (5 - アミノ - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) 酢酸ナトリウム (2 g 、 6 . 0 m m o l) のジエチルエーテル (1 0 m L) および濃縮 HCl (5 0 m L) 中懸濁液を - 1 5 で冷却してから、水 (5 m L) 中亜硝酸ナトリウム (0 . 6 2 g 、 8 . 0 m m o l) を滴加した。この溶液を室温まで温めておき、さらに 1 8 時間攪拌したまま放置した。pH が塩基になるまでこの反応混合物を、 Na_2CO_3 水溶液を用いて、1 0 で慎重にクエンチし、次いで EtOAc で抽出し、水、次いでブラインで逆洗し、脱水し (MgSO_4) 、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 2 から 1 0 % ジエチルエーテル / CH_2Cl_2) を使用して生成した残渣を精製し、化合物 4 7 を黄色の発泡体 (5 8 0 m g) として得た。

30

【 0 3 8 7 】

L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ ギ酸) R t 3 . 7 3 分 ; m / z 3 6 5 [M + H] 9 4 . 8 2 % 純度。

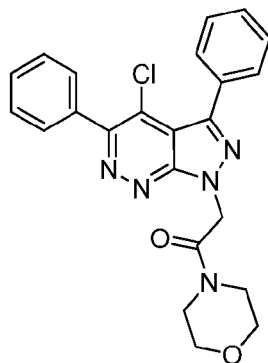
40

【 0 3 8 8 】

実施例 4 1 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - モルホリノエタノン (化合物 4 8)

【 0 3 8 9 】

【化 1 5 1】



10

【0390】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(60mg、0.16mmol)のDMF(1mL)中懸濁液に、モルホリン(17mg、0.20mmol)および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC・HCl)(38mg、0.20mmol)を加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー(シリカゲル、酢酸エチル)を使用して生成した残渣を精製して、化合物48を固体(20mg)として得た。

20

【0391】

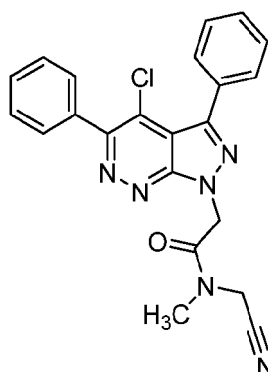
LCMS(10cm__ESI__ギ酸)Rt 3.67分;m/z 434[M+H]
95.17%純度。

【0392】

実施例42: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-N-(シアノメチル)-N-メチルアセトアミド(化合物49)

【0393】

【化 1 5 2】



30

【0394】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(60mg、0.16mmol)のDMF(1mL)中懸濁液に、N-メチルアミノアセトニトリル(14mg、0.20mmol)および1,1'-カルボニルジイミダゾール塩酸塩(CDI・HCl)(38mg、0.20mmol)を加えた。得た溶液を室温で2時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー(シリカゲル、勾配1/1酢酸エチル/イソヘキサン)を使用して生成した残渣を精製して、化合物49を固体(30mg)として得た。

40

【0395】

LCMS(10cm__ESI__ギ酸)Rt 4.17分;m/z 417[M+H]

50

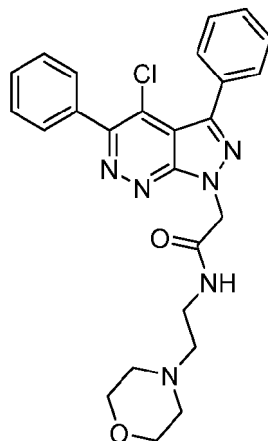
94.82%純度。

【0396】

実施例43：2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-N-(2-モルホリノエチル)アセトアミド(化合物50)

【0397】

【化153】



10

【0398】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(60mg、0.16mmol)のDMF(1mL)中懸濁液に、4-(2-アミノエチル)モルホリン(32mg、0.25mmol)および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)(38mg、0.20mmol)を加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー(シリカゲル、勾配10%MeOH/酢酸エチル)を使用して生成した残渣を精製して、化合物50を固体(10mg)として得た。

20

【0399】

LCMS(10cm__ESI__ギ酸)Rt 3.64分;m/z 477[M+H]
95.28%純度。

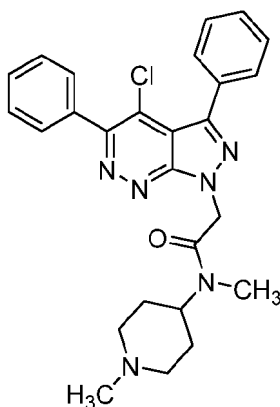
30

【0400】

実施例44：2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-N-メチル-N-(1-メチルピペリジン-4-イル)アセトアミド(化合物51)

【0401】

【化154】



40

【0402】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(60mg、0.16mmol)のDMF(1mL)中懸濁液に、1-メ

50

チル - 4 - (メチルアミノ)ピペリジン (23 mg、0.18 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (63 μ L、0.36 mmol) および 2 - (7 - アザ - 1H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1, 1, 3, 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (HATU) (75 mg、0.20 mmol) を加えた。得た溶液を室温で1時間攪拌し、次いで EtOAc で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (MgSO₄)、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 10 - 20 % MeOH / 酢酸エチル中 1 % Et₃N) を使用して、生成した残渣を精製して、化合物 51 を固体 (2 mg) として得た。

【0403】

LCMS (15 cm __ギ酸__ ASCENTIS __HPLC) R_t 7.79 分; m/z 475 [M + H]⁺ 94.53 % 純度。

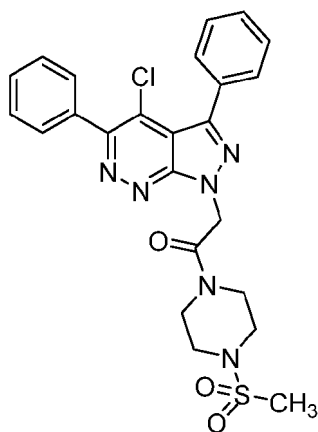
10

【0404】

実施例 45: 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (4 - (メチルスルホニル) ピペラジン - 1 - イル) エタノン (化合物 52)

【0405】

【化155】



20

【0406】

2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (56 mg、0.15 mmol) の DMF (1 mL) 中懸濁液に、1 - (メチルスルホニル) ピペラジン (28 mg、0.17 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (59 μ L、0.34 mmol) および 2 - (7 - アザ - 1H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1, 1, 3, 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (HATU) (70 mg、0.18 mmol) を加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いで EtOAc で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (MgSO₄)、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 20 - 40 % 酢酸エチル / イソヘキサン) を使用して、生成した残渣を精製し、続いて第2のクロマトグラフィー精製 (シリカゲル、勾配 10 % エーテル / CH₂Cl₂) を行い、化合物 52 を固体 (11 mg) として得た。

30

40

【0407】

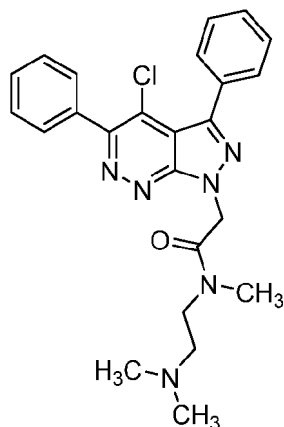
LCMS (15 cm __Bicarbo__ Gemini NX __HPLC) R_t 10.35 分; m/z 511 [M + H]⁺ 92.47 % 純度。

【0408】

実施例 46: 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (2 - (ジメチルアミノ)エチル) - N - メチルアセトアミド (化合物 53)

【0409】

【化 1 5 6】



10

【0 4 1 0】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (5 6 m g 、 0 . 1 5 m m o l) の D M F (1 m L) 中懸濁液に、 N^1 , N^1 , N^2 - トリメチルエタン - 1 , 2 - ジアミン (1 7 m g 、 0 . 1 7 m m o l) 、ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (5 9 μ L 、 0 . 3 4 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (7 0 m g 、 0 . 1 8 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 1 8 時間攪拌し、次いで E t O A c で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (M g S O ₄) 、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取 H P L C で精製し、化合物 5 3 を固体 (1 1 m g) として得た。

20

【0 4 1 1】

L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ B i c a r b) R t 3 . 3 5 分 ; m z 4 4 9 [M + H] 9 5 . 5 6 % 純度。

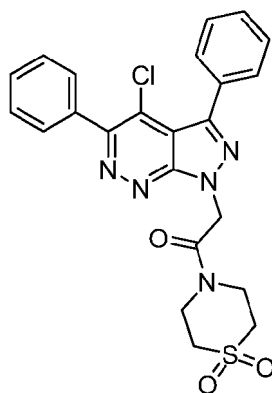
【0 4 1 2】

実施例 4 7 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 , 1 - ジオキシド - 4 - チオモルホリノエタノン (化合物 5 4)

30

【0 4 1 3】

【化 1 5 7】



40

【0 4 1 4】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) の D M F (2 m L) 中懸濁液に、チオモルホリン 1 , 1 - ジオキシド (4 0 m g 、 0 . 3 0 m m o l) 、ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (1 0 5 μ L 、 0 . 6 0 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (1 2 5 m g 、 0 . 3 3 m m o l) を加えた。得た溶液を

50

室温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取HPLCで精製し、続いて第2のクロマトグラフィー精製(シリカゲル、勾配1/1酢酸エチル/イソヘキサン)を行い、化合物54を固体(33mg)として得た。

【0415】

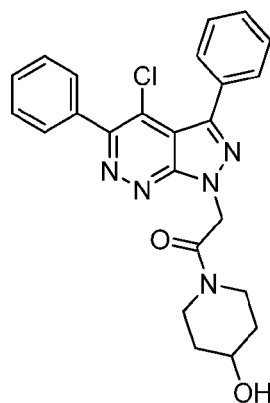
LCMS(10cm__ギ酸__ACE 3 C18 AR__HPLC)Rt 11.54分; m/z 482 [M+H]⁺ 90.61%純度。

【0416】

実施例48: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-1-(4-ヒドロキシピペリジン-1-イル)エタノン(化合物55)

【0417】

【化158】



【0418】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(100mg、0.27mmol)のDMF(2mL)中懸濁液に、ピペリジン-4-オール(30mg、0.30mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(105μL、0.60mmol)および2-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HATU)(125mg、0.33mmol)を加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取HPLCで精製し、続いて第2のクロマトグラフィー精製(シリカゲル、勾配1/1酢酸エチル/イソヘキサン)を行い、化合物55を固体(10mg)として得た。

【0419】

LCMS(15cm__Bicarb__GeminiNX__HPLC)Rt 9.83分; m/z 448 [M+H]⁺ 95.96%純度。

【0420】

実施例49: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-1-(4-(2,2,2-トリフルオロエチル)ピペラジン-1-イル)エタノン(化合物56)

【0421】

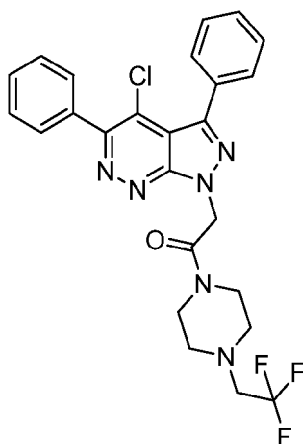
10

20

30

40

【化 1 5 9】



10

【0 4 2 2】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(100mg、0.27mmol)のDMF(2mL)中懸濁液に、1-(2,2,2-トリフルオロエチル)ピペラジン(50mg、0.30mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(105μL、0.60mmol)および2-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HATU)(125mg、0.33mmol)を加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取HPLCで精製し、化合物56を固体(41mg)として得た。

20

【0 4 2 3】

LCMS(15cm__Bicarbo__GeminiNX__HPLC)Rt 10.93分; m/z 515 [M+H]⁺ 93.62%純度。

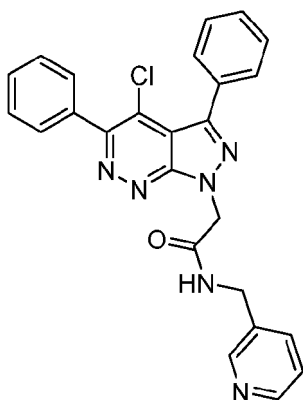
【0 4 2 4】

実施例50: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-N-(ピリジン-3-イルメチル)アセトアミド(化合物57)

30

【0 4 2 5】

【化 1 6 0】



40

【0 4 2 6】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(100mg、0.27mmol)のDMF(2mL)中懸濁液に、ピリジン-3-イルメタンアミン(33mg、0.30mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(105μL、0.60mmol)および2-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HATU)(125mg、0.33mmol)を加えた。得た溶液を室

50

温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取HPLCで精製し、化合物57を固体(37mg)として得た。

【0427】

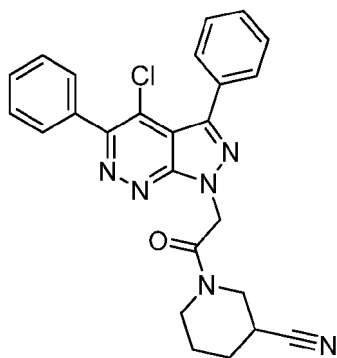
LCMS(10cm__ESI__ギ酸)Rt 3.24分; m/z 455 [M+H]
99.50%純度。

【0428】

実施例51: 1-(2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)アセトイル)ピペリジン-3-カルボニトリル(化合物58)

【0429】

【化161】



【0430】

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(100mg、0.27mmol)のDMF(2mL)中懸濁液に、ピペリジン-3-カルボニトリル(33mg、0.30mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(105μL、0.60mmol)および2-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HATU)(125mg、0.33mmol)を加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いでEtOAcで希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し(MgSO₄)、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取HPLCで精製し、続いて第2のクロマトグラフィー精製(シリカゲル、勾配1/1酢酸エチル/イソヘキサン)を行い、化合物58を固体(28mg)として得た。

【0431】

LCMS(10cm__ギ酸__ACE 3 C18 AR__HPLC)Rt 12.04分; m/z 457 [M+H] 97.93%純度。

【0432】

実施例52: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-1-(4-(ジメチルアミノ)ピペリジン-1-イル)エタノン(化合物59)

【0433】

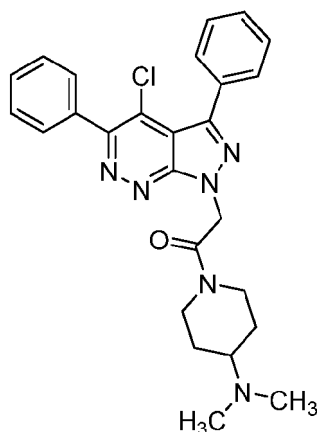
10

20

30

40

【化 1 6 2】



10

【0 4 3 4】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) の D M F (2 m L) 中懸濁液に、N , N - ジメチルピペリジン - 4 - アミン (4 0 m g 、 0 . 3 0 m m o l) 、ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (1 0 5 μ L 、 0 . 6 0 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (1 2 5 m g 、 0 . 3 3 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 1 8 時間攪拌し、次いで E t O A c で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (M g S O ₄) 、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取 H P L C で精製し、化合物 5 9 を固体 (1 0 m g) として得た。

20

【0 4 3 5】

L C M S (1 5 c m __ギ酸__ A S C E N T I S __ H P L C) R t 7 . 9 9 分 ; m / z 4 7 5 [M + H] 9 1 . 1 4 % 純度。

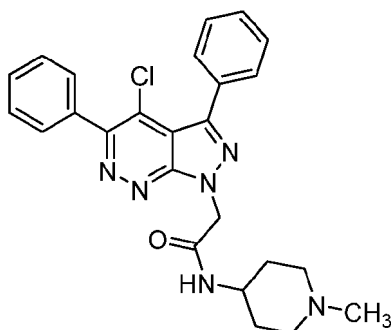
【0 4 3 6】

実施例 5 3 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (1 - メチルピペリジン - 4 - イル) アセトアミド (化合物 6 0)

30

【0 4 3 7】

【化 1 6 3】



40

【0 4 3 8】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) の D M F (2 m L) 中懸濁液に、1 - メチルピペリジン - 4 - アミン (3 5 m g 、 0 . 3 0 m m o l) 、ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (1 0 5 μ L 、 0 . 6 0 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (1 2 5 m g 、 0 . 3 3 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 1 8 時間攪拌し、次いで E t O A c で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (M g S O ₄) 、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取 H P L C で精製し、

50

化合物 60 を固体 (22 mg) として得た。

【 0439 】

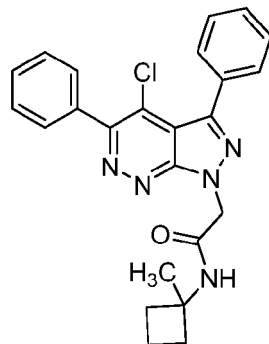
LCMS (15 cm __ギ酸__ ASCENTIS __HPLC) Rt 7.90 分 ; m/z 461 [M + H] 94.77 % 純度。

【 0440 】

実施例 54 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (1 - メチルシクロブチル) アセトアミド (化合物 61)

【 0441 】

【 化 164 】



10

【 0442 】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (100 mg、0.27 mmol) の DMF (2 mL) 中懸濁液に、1 - メチル - シクロブチルアミン塩酸塩 (37 mg、0.30 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (150 μ L、0.60 mmol) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (HATU) (125 mg、0.33 mmol) を加えた。得た溶液を室温で 2 時間攪拌し、次いで EtOAc で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (MgSO₄)、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー精製 (シリカゲル、勾配 10 - 20 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で、生成した残渣を精製し、化合物 61 を固体 (22 mg) として得た。

20

【 0443 】

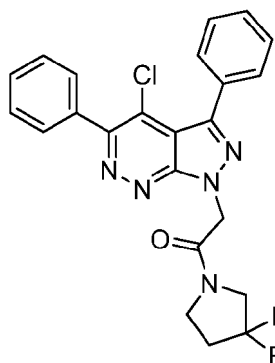
LCMS (15 cm __Bicarbo__ GeminiNX __HPLC) Rt 10.96 分 ; m/z 432 [M + H] 96.73 % 純度。

【 0444 】

実施例 55 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 , 3 - ジフルオロピロリジン - 1 - イル -) エタノン (化合物 62)

【 0445 】

【 化 165 】



40

【 0446 】

50

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) の D M F (2 m L) 中懸濁液に、3 , 3 - ジフルオロピロリジン塩酸塩 (4 3 m g 、 0 . 3 0 m m o l) 、 ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (1 5 0 μ L 、 0 . 6 0 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (1 2 5 m g 、 0 . 3 3 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 2 時間攪拌し、次いで E t O A c で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (M g S O ₄) 、真空中で濃縮した。生成した残渣をクロマトグラフィー精製 (シリカゲル、勾配 1 0 - 2 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製し、化合物 6 2 を固体 (1 8 m g) として得た。

10

【 0 4 4 7 】

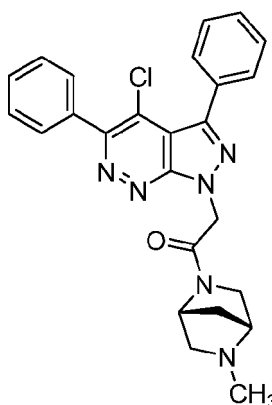
L C M S (1 5 c m _ B i c a r b _ G e m i n i N X _ H P L C) R t 1 0 . 7 2 分 ; m / z 4 5 4 [M + H] 9 3 . 0 8 % 純度。

【 0 4 4 8 】

実施例 5 6 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - ((1 R , 4 R) - 5 - メチル - 2 , 5 - ジアザビシクロ [2 . 2 . 1] ヘプタン - 2 - イル) エタノン (化合物 6 3)

【 0 4 4 9 】

【 化 1 6 6 】



20

30

【 0 4 5 0 】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) の D M F (2 m L) 中懸濁液に、(1 R , 4 R) - 2 - メチル - 2 , 5 - ジアザビシクロ [2 . 2 . 1] ヘプタン (2 6 m g 、 0 . 3 0 m m o l) 、 ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (1 0 5 μ L 、 0 . 6 0 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (1 2 5 m g 、 0 . 3 3 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 1 8 時間攪拌し、次いで E t O A c で希釈した。有機相を水およびブラインで洗浄し、脱水し (M g S O ₄) 、真空中で濃縮した。生成した残渣を分取 H P L C で精製し、化合物 6 3 を固体 (1 1 m g) として得た。

40

【 0 4 5 1 】

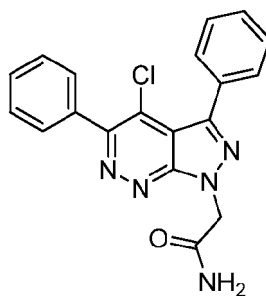
L C M S (1 5 c m _ ギ酸 _ A S C E N T I S _ H P L C) R t 7 . 8 2 分 ; m / z 4 5 9 [M + H] 9 4 . 3 9 % 純度。

【 0 4 5 2 】

実施例 5 7 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) アセトアミド (化合物 6 4)

【 0 4 5 3 】

【化 1 6 7】



【0 4 5 4】

10

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 6 0 m g 、 0 . 4 4 m m o l) の CH_2Cl_2 (6 m L) 中溶液に、塩化オキサリル (5 5 μl 、 0 . 6 6 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 1 時間攪拌した。この反応混合物を真空中で濃縮した。残渣を CH_2Cl_2 (6 m L) 中に溶解し、アンモニアのメタノール中溶液 (7 N) を滴加した (1 2 5 μl 、 0 . 8 m m o l) 。この反応混合物を 1 時間攪拌し、次いで真空中で濃縮した。生成した残渣を分取 H P L C で精製して、化合物 6 4 を固体 (3 2 m g) として得た。

【0 4 5 5】

L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ B i c a r b _ _ M e C N) R t 3 . 6 2 分 ; m / z 3 6 4 [M + H] 9 9 . 1 % 純度。

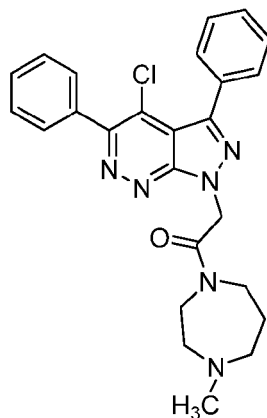
20

【0 4 5 6】

実施例 5 8 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (4 - メチル - 1 , 4 - ジアゼパン - 1 - イル) エタノン (化合物 6 5)

【0 4 5 7】

【化 1 6 8】



30

【0 4 5 8】

ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (1 2 0 μL 、 0 . 6 7 m m o l) および 1 - メチル - 1 , 4 - ジアゼパン (3 4 m g 、 0 . 3 m m o l) の CH_2Cl_2 (1 m L) 中溶液を、2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 0 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) 、 N - (3 - ジメチルアミノプロピル) - N ' - エチルカルボジイミド塩酸塩 (E D C) (6 0 m g 、 0 . 3 m m o l) および 2 - ヒドロキシピリジン - N - オキシド (H O P O) (3 0 m g 、 0 . 2 7 m m o l) の混合物に加えた。得た溶液を室温で 1 8 時間攪拌した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 5 % トリエチルアミン / アセトン) を使用し、続いて分取 H P L C を使用してこの反応物を精製し、化合物 6 5 を白色の固体 (2 5 m g) として得た。

40

【0 4 5 9】

L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ ギ酸) R t 2 . 7 3 分 ; m / z 4 6 1 [M + H]

50

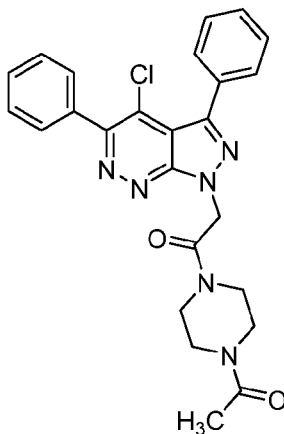
99.86%純度。

【0460】

実施例59：1-(4-アセチルピペラジン-1-イル)-2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)エタノン(化合物66)

【0461】

【化169】



10

【0462】

ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(120 μ L、0.67 mmol)および1-アセチルピペラジン(38 mg、0.3 mmol)のCH₂Cl₂(1 mL)中溶液を、2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(100 mg、0.27 mmol)、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC)(60 mg、0.3 mmol)および2-ヒドロキシピリジン-N-オキsid(HOPO)(30 mg、0.27 mmol)の混合物に加えた。得た溶液を室温で18時間攪拌し、次いで1-アセチルピペラジン(10 mg、0.08 mmol)およびN-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC)(30 mg、0.15 mmol)を加えた。さらに3.5時間後、クロマトグラフィー(シリカゲル、勾配0から5%トリエチルアミン/アセトン)を使用し、続いて分取HPLCを使用してこの反応物を精製し、化合物66を白色の固体(32.2 mg)として得た。

30

【0463】

LCMS(10 cm ESCI_ギ酸) Rt 3.67分; m/z 475 [M+H]
99.58%純度。

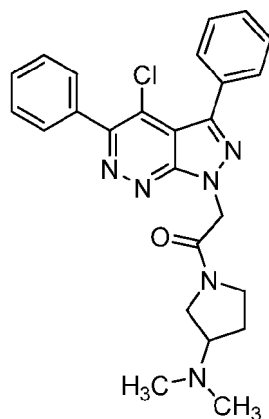
【0464】

実施例60：2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-1-(3-(ジメチルアミノ)ピロリジン-1-イル)エタノン(化合物67)

【0465】

40

【化 1 7 0】



10

【0 4 6 6】

ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (120 μ L、0.67 mmol) および N, N - ジメチルピロリジン (34 mg、0.3 mmol) の CH_2Cl_2 (1 mL) 中溶液を、2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (100 mg、0.27 mmol)、N - (3 - ジメチルアミノプロピル - N' - エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC) (60 mg、0.3 mmol) および 2 - ヒドロキシピリジン - N - オキシド (HOPO) (30 mg、0.27 mmol) の混合物に加えた。得た溶液を室温で 18 時間攪拌し、次いで N, N - ジメチルピロリジン (10 mg、0.09 mmol) および N - (3 - ジメチルアミノプロピル) - N' - エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC) (30 mg、0.15 mmol) を加えた。さらに 3.5 時間後、クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 5 % トリエチルアミン / アセトン) を使用し、続いて分取 HPLC を使用してこの反応物を精製し、化合物 67 を白色の固体 (27.3 mg) として得た。

20

【0 4 6 7】

LCMS (10 cm __ESI__ ギ酸) Rt 2.73 分; m/z 461 [M + H]
99.54 % 純度。

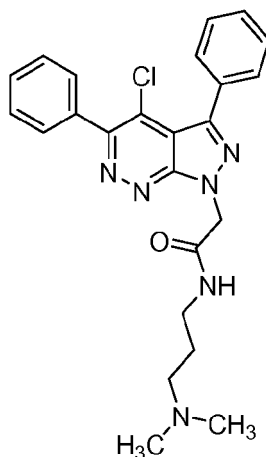
【0 4 6 8】

実施例 61: 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (3 - (ジメチルアミノ) プロピル) アセトアミド (化合物 68)

30

【0 4 6 9】

【化 1 7 1】



40

【0 4 7 0】

1 - メチル 1, 4 - ジアゼパンの代わりに 3 - ジメチルアミノプロピルアミンを使用して、実施例 58 において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 61 を合成した

50

。化合物 68 を無色の固体 (16 mg) として得た。

【 0471 】

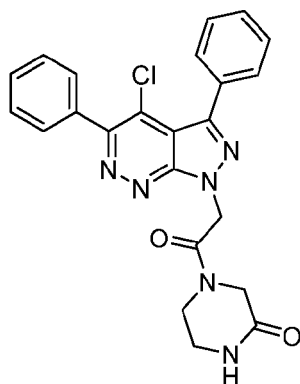
LCMS (10 cm __ E S C I __ ギ酸) Rt 2.68 分 ; m / z 449 [M + H]
97.9 % 純度。

【 0472 】

実施例 62 : 4 - (2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c]
ピリダジン - 1 - イル) アセトイル) ピペラジン - 2 - オン (化合物 69)

【 0473 】

【 化 172 】



10

【 0474 】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン -
1 - イル) 酢酸 (111 mg、0.33 mmol) の CH₂Cl₂ (2 mL) 中懸濁液に、
2 - オキソピペラジン (33 mg、0.33 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (
DIPEA) (80 μL、0.45 mmol) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリ
アゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフ
ェート (HATU) (130 mg、0.33 mmol) を加えた。得た溶液を室温で 2 時
間攪拌し、次いで CH₂Cl₂ で希釈した。有機相を水で洗浄し、MgSO₄ で脱水し、
濾過し、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 20 から 100 % 酢
酸エチル / イソヘキサン、次いで 0 から 100 % 酢酸エチル / アセトン) を使用し、続い
て分取 HPLC を使用して、生成した残渣を精製し、化合物 69 を茶色の固体 (69.7
mg) として得た。

20

【 0475 】

LCMS (10 cm __ E S C I __ B i c a r b) Rt 3.52 分 ; m / z 447 [
M + H] 98.17 % 純度。

【 0476 】

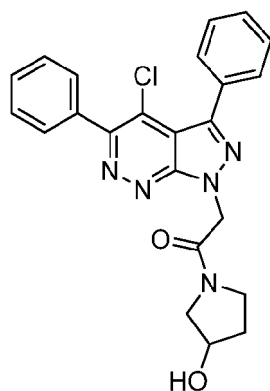
実施例 63 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c]
ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 - ヒドロキシピロリジン - 1 - イル) エタノン (化
合物 70)

【 0477 】

30

40

【化 1 7 3】



10

【0 4 7 8】

2 - オキソピペラジンの代わりに 3 - ヒドロキシピロリジンを使用して、実施例 6 2 において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 6 3 を合成した。化合物 7 0 を白色の固体 (4 6 m g) として得た。

【0 4 7 9】

L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ ギ酸) R t 3 . 7 3 分 ; m / z 4 3 4 [M + H] 9 9 . 7 9 % 純度。

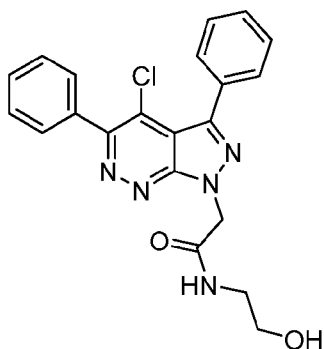
【0 4 8 0】

20

実施例 6 4 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (2 - ヒドロキシエチル) アセトアミド (化合物 7 1)

【0 4 8 1】

【化 1 7 4】



30

【0 4 8 2】

2 - オキソピペラジンの代わりにエタノールアミンを使用して、実施例 6 2 において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 6 4 を合成した。化合物 7 1 を白色の固体 (1 3 m g) として得た。

【0 4 8 3】

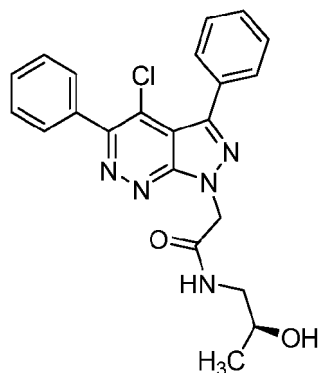
L C M S (1 0 c m _ _ E S C I _ _ B i c a r b _ _ M e C N) R t 3 . 5 0 分 ; m / z 4 0 8 [M + H] 9 9 . 7 8 % 純度。 40

【0 4 8 4】

実施例 6 5 : (S) - 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - N - (2 - ヒドロキシプロピル) アセトアミド (化合物 7 2)

【0 4 8 5】

【化 1 7 5】



10

【0 4 8 6】

2 - オキサピペラジンの代わりに (S) - 1 - アミノ - 2 - プロパノールを使用して、実施例 6 2 において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 6 5 を合成した。化合物 7 2 を白色の固体 (29 mg) として得た。

【0 4 8 7】

LCMS (10 cm ESCI Bicarb MeCN) Rt 3.58 分; m/z 422 [M+H]⁺ 98.12% 純度。

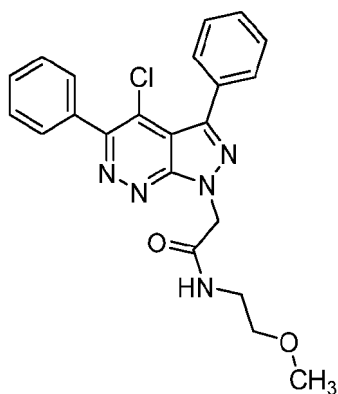
【0 4 8 8】

実施例 6 6: 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) - N - (2 - メトキシエチル) アセトアミド (化合物 7 3)

20

【0 4 8 9】

【化 1 7 6】



30

【0 4 9 0】

2 - オキサピペラジンの代わりにメトキシエチルアミンを使用して、実施例 6 2 において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 6 6 を合成した。化合物 7 3 を白色の固体 (25.7 mg) として得た。

【0 4 9 1】

LCMS (10 cm ESCI ギ酸 MeCN) Rt 4.05 分; m/z 422 [M+H]⁺ 99.65% 純度。

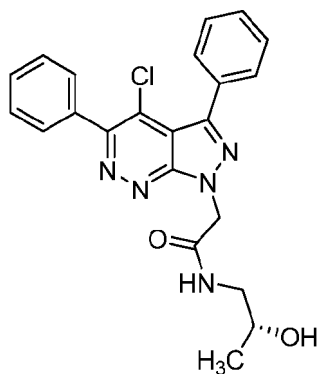
40

【0 4 9 2】

実施例 6 7: (R) - 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) - N - (2 - ヒドロキシプロピル) アセトアミド (化合物 7 4)

【0 4 9 3】

【化 1 7 7】



10

【 0 4 9 4】

2 - オキソピペラジンの代わりに (R) - 1 - アミノ - 2 - プロパノールを使用して、実施例 6 2 において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 6 7 を合成した。化合物 7 4 を白色の固体 (3 7 m g) として得た。

【 0 4 9 5】

L C M S (1 0 c m _ E S C I _ B i c a r b _ M e C N) R t 3 . 1 4 分 ; m / z 4 2 2 [M + H] 9 9 . 7 % 純度。

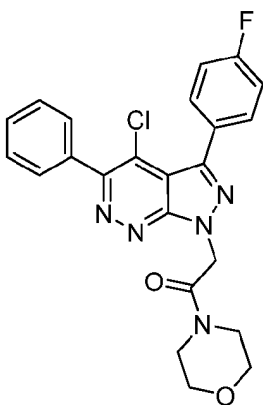
【 0 4 9 6】

20

実施例 6 8 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - モルホリノエタノン (化合物 7 5)

【 0 4 9 7】

【化 1 7 8】



30

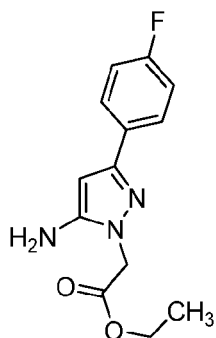
【 0 4 9 8】

ステップ 1 : エチル 2 - (5 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート

【 0 4 9 9】

40

【化 1 7 9】



10

【0500】

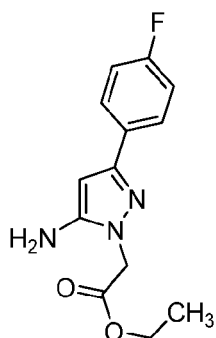
4 - フルオロベンゾイルアセトニトリル (5 g、30.7 mmol) およびエチルヒドラジノアセテート塩酸塩 (4.74 g、30.7 mmol) のエタノール (50 mL) 中混合物を2時間加熱還流した。この反応混合物を真空中で濃縮した。粗製の反応混合物を CH_2Cl_2 および濃縮アンモニア水の間に分配した。水相を CH_2Cl_2 で抽出し、有機相を合わせ、 MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させることによって、エチル2-(5-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)アセテートを固体 (7.4 g) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

ステップ2：エチル2-(5-アセトアミド-3-(4-フルオロフェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)アセテート

20

【0501】

【化 1 8 0】



30

【0502】

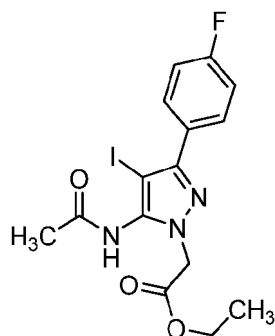
エチル2-(5-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)アセテート (6.91 g、26.3 mmol) のピリジン (62 mL) 中溶液に、無水酢酸 (3 mL、31.5 mmol) を加えた。この反応物を室温で16時間攪拌した。エタノールを加え、この混合物を真空中で濃縮した。粗残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配10から100%酢酸エチル/イソヘキサン) で精製して、エチル2-(5-アセトアミド-3-(4-フルオロフェニル)-1H-ピラゾール-1-イル)アセテートを固体 (7.6 g) として得た。

40

ステップ3：エチル2-(5-アセトアミド-3-(4-フルオロフェニル)-4-ヨード-1H-ピラゾール-1-イル)アセテート

【0503】

【化 1 8 1】



10

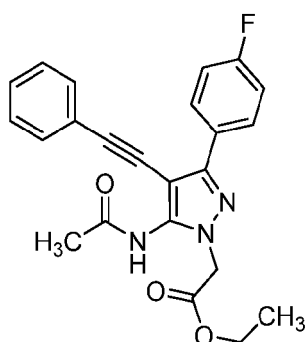
【0504】

エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート (1 . 1 g 、 3 . 7 m m o l) のエタノール (3 3 m L) 中溶液に、ヨウ素酸 (1 7 0 m g 、 0 . 9 5 m m o l) およびヨウ素 (4 8 0 m g 、 1 . 9 m m o l) を加えた。この反応物を 6 0 で 9 0 分間攪拌した。この反応混合物を真空中で濃縮し、残渣を CH_2Cl_2 中で溶解し、2 N Na_2SO_3 溶液で洗浄した。有機相を MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させることによって、エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - ヨード - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテートを白色の固体 (1 . 6 3 g) として得た。これを、その後のステップでそのまま使用した。

20

【0505】

【化 1 8 2】



30

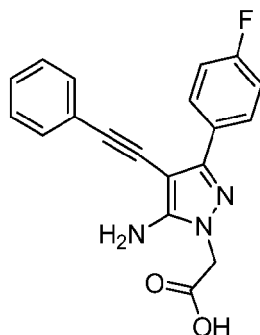
【0506】

フェニルアセチレン (2 9 0 m g 、 2 . 8 m m o l) および Et_3N (1 1 m L) の DMF (4 m L) 中脱気溶液を、 N_2 雰囲気下、エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート (1 . 0 g 、 2 . 3 m m o l) 、 CuI (9 0 m g 、 0 . 4 6 m m o l) および $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (1 6 0 m g 、 0 . 2 3 m m o l) に加えた。次いで反応物を 8 5 に 5 時間加熱した。この反応混合物を真空中で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 1 0 から 1 0 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製して、エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテートを黄褐色の固体 (6 2 0 m g) として得た。

40

【0507】

【化 183】



10

【0508】

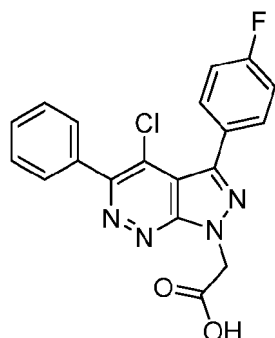
エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート (6 2 0 m g 、 1 . 5 m m o l) のエタノール (7 m L) および 2 5 % N a O H (7 m L) 中溶液を 8 3 に 1 6 時間加熱した。生成した固体を濾過し、エタノールおよび水で洗浄し、次いで真空中で乾燥することによって、2 - (5 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) 酢酸を固体 (5 2 1 m g) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

ステップ 6 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸

20

【0509】

【化 184】



30

【0510】

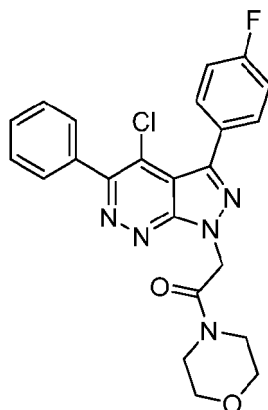
亜硝酸ナトリウム (3 2 0 m g 、 4 . 6 5 m m o l) の濃縮 H C l (5 m L) 中冷却攪拌懸濁液 (冷却槽 - 5) に、2 - (5 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) 酢酸 (5 2 1 m g 、 1 . 5 5 m m o l) を加えた。さらに 5 m l の濃縮 H C l を加え、冷却槽を除去し、この反応混合物を室温で 3 . 5 時間攪拌した。水および C H ₂ C l ₂ をこの反応混合物に加えた。水相を C H ₂ C l ₂ で抽出し、有機相を合わせ、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、蒸発させることによって、2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸を固体 (4 1 9 m g) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

40

ステップ 7 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - モルホリノエタノン

【0511】

【化 1 8 5】



10

【0 5 1 2】

2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (1 5 0 m g 、 0 . 3 9 m m o l) の CH_2Cl_2 (3 m L) 中懸濁液に、モルホリン (3 4 m g 、 0 . 3 9 m m o l) 、ジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (2 0 0 μL 、 1 . 2 m m o l) および 2 - (7 - アザ - 1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (H A T U) (1 8 0 m g 、 0 . 4 7 m m o l) を加えた。得た溶液を室温で 7 5 分間攪拌してから、クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 2 0 から 1 0 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) を使用し、続いて分取 H P L C を使用して精製し、化合物 7 5 を透明ガラス固体 (1 1 . 5 m g) として得た。

20

【0 5 1 3】

L C M S (1 0 c m _ E S C I _ ギ酸 _ M e C N) R t 4 . 1 2 分 ; m/z 4 5 2 [$M + H$] 9 9 . 3 2 % 純度。

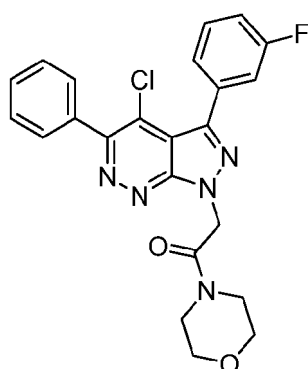
【0 5 1 4】

実施例 6 9 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (3 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - モルホリノエタノン (化合物 7 6)

【0 5 1 5】

30

【化 1 8 6】



40

【0 5 1 6】

ステップ 1 における 4 - フルオロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 3 - フルオロベンゾイルアセトニトリルを使用して、実施例 6 8 (化合物 7 5) において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 6 9 (化合物 7 6) を合成した。化合物 7 6 を黄色の固体 (4 . 8 m g) として得た。

【0 5 1 7】

L C M S (1 5 c m _ B i c a r b _ G e m i n i N X _ H P L C _ CH_3CN) R t 1 0 . 3 9 分 ; m/z 4 5 2 [$M + H$] 9 5 . 0 1 % 純度。

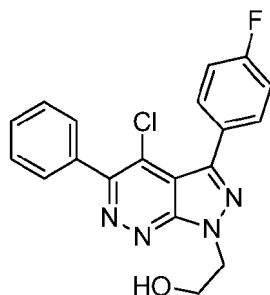
【0 5 1 8】

50

実施例 70 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エタノール (化合物 77)

【 0 5 1 9 】

【 化 1 8 7 】



10

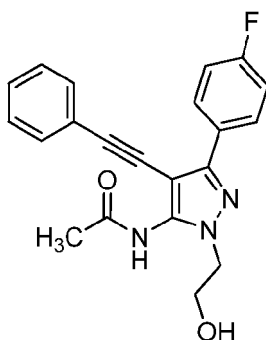
【 0 5 2 0 】

エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート (実施例 68、ステップ 4) から出発して化合物 77 を合成した :

ステップ 1 : N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド

【 0 5 2 1 】

【 化 1 8 8 】



20

【 0 5 2 2 】

エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート (1 g、2.5 mmol) のエタノール (40 mL) およびメタノール (10 mL) 中溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (466 mg、12.3 mmol) を加え、この反応物を室温で 16 時間攪拌した。この反応混合物を真空中で濃縮し、残渣を CH_2Cl_2 中に溶解し、 NH_4Cl 希釈溶液で洗浄した。水性を CH_2Cl_2 で抽出し、合わせた有機抽出物を MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗生成物を CH_2Cl_2 (20 mL) 中に懸濁させ、加熱還流し、冷却させ、生成物を濾過し、真空中で乾燥させることによって、N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを白色の固体 (659 mg) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

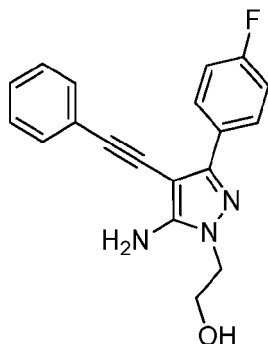
ステップ 2 : 2 - (5 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) エタノール

【 0 5 2 3 】

30

40

【化 1 8 9】



10

【0 5 2 4】

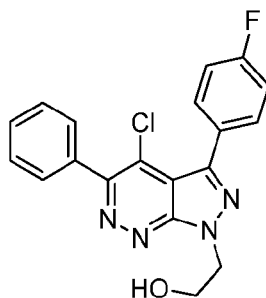
N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド (3 8 2 m g 、 1 . 0 5 m m o l) のエタノール (4 m L) および 2 5 % N a O H (6 m L) 中溶液を 8 3 に 1 6 時間加熱した。この反応混合物を酢酸エチルおよび水の間に分配した。水相を酢酸エチルで 2 回洗浄し、有機相を合わせ、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、蒸発させ、クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 1 0 % メタノール / C H ₂ C l ₂) を使用する精製により、2 - (5 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) エタノールを固体 (1 2 2 m g) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

20

ステップ 3 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エタノール

【0 5 2 5】

【化 1 9 0】



30

【0 5 2 6】

亜硝酸ナトリウム (1 2 0 m g 、 1 . 7 m m o l) の濃縮 H C l (3 . 6 m L) 中冷却攪拌懸濁液 (冷却槽 - 1 0) に、2 - (5 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) エタノール (1 8 3 m g 、 0 . 5 7 m m o l) を加え、周辺温度に 9 0 分間にわたりこの反応混合物を温めておいた。水および C H ₂ C l ₂ をこの反応混合物に加えた。水相を C H ₂ C l ₂ (× 4) で抽出し、有機相を合わせ、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、蒸発させた。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 2 0 から 1 0 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) を使用し、続いて分取 H P L C を使用して、粗製材料を精製し、化合物 7 7 を白色の固体 (6 . 5 m g) として得た。

40

【0 5 2 7】

L C M S (1 0 c m _ E S C I _ ギ酸 _ M e C N) R t 4 . 0 7 分 ; m / z 3 6 9 [M + H] 9 9 . 7 6 % 純度。

【0 5 2 8】

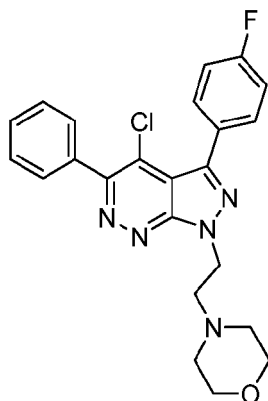
実施例 7 1 : 4 - (2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エチル) モルホリン (化合物 7

50

8)

【 0 5 2 9 】

【 化 1 9 1 】



10

【 0 5 3 0 】

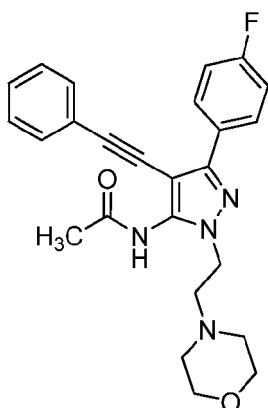
N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド (実施例 7 0 ステップ 1) (化合物 7 7) から出発して実施例 7 1 (化合物 7 8) を合成した。

ステップ 1 : N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド

20

【 0 5 3 1 】

【 化 1 9 2 】



30

【 0 5 3 2 】

N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - ヒドロキシエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド (2 6 9 m g 、 0 . 7 4 m m o l) の CH_2Cl_2 (9 m L) およびトリエチルアミン (1 5 5 μL 、 1 . 1 1 m m o l) 中懸濁液に、メタンスルホニルクロリド (6 5 μL 、 0 . 8 1 m m o l) を加え、この反応物を室温で 1 6 時間撹拌した。この反応混合物を氷 / 水上に注入し、有機層を MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗生成物を THF (1 0 m L) 中に溶解し、モルホリン (3 2 0 μL 、 3 . 7 m m o l) を加えた。反応物を 5 5 に 2 4 時間加熱してから、溶媒を真空中で蒸発させた。粗製物を CH_2Cl_2 および水性の希釈 NaHCO_3 の間に分配し、有機層を MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させた。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 1 0 % メタノール / CH_2Cl_2) を使用する精製によって、N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを白色の固体 (1 4 1 m g) として得た。これを、その後のステップでそのまま使用した。

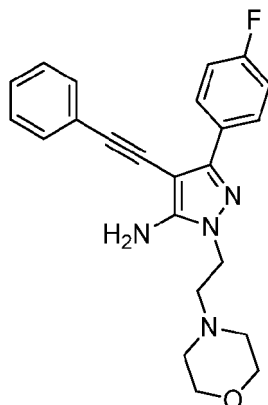
40

ステップ 2 : 3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - アミン

【 0 5 3 3 】

50

【化 1 9 3】



10

【0 5 3 4】

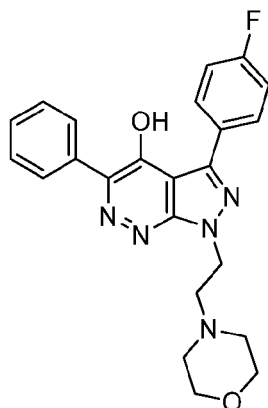
N - (3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド (1 4 1 m g 、 0 . 3 2 m m o l) のエタノール (1 . 5 m L) および 2 5 % N a O H (1 . 5 m L) 中溶液を 8 3 に 1 6 時間加熱した。この反応混合物を酢酸エチルおよび水の間に分配した。水相を酢酸エチルで洗浄し、有機相を合わせ、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、蒸発させることによって、3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - アミンを固体 (1 2 9 m g) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

20

ステップ 3 : 3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 4 - オール

【0 5 3 5】

【化 1 9 4】



30

【0 5 3 6】

亜硝酸ナトリウム (8 2 m g 、 1 . 2 m m o l) の濃縮 H C l (2 . 6 m L) 中冷却攪拌懸濁液 (冷却槽 - 1 0) に、3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - アミン (1 2 9 m g 、 0 . 3 3 m m o l) のトリフルオロ酢酸 (0 . 5 m l) 中溶液を加え、この反応混合物を 2 時間にわたり周辺温度に温めておいた。水および C H ₂ C l ₂ を加えた。水相を C H ₂ C l ₂ (× 3) で抽出し、有機相を合わせ、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗製材料を分取 H P L C で精製することによって、3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 4 - オールを固体 (2 7 . 8 m g) として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

40

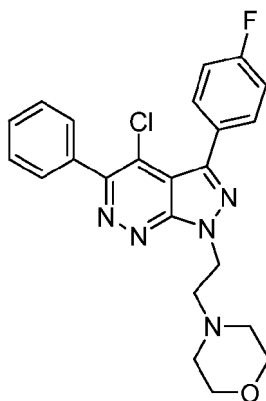
ステップ 4 : 4 - (2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エチル) モルホリン (化合物 7 8

50

)

【 0 5 3 7 】

【 化 1 9 5 】



10

【 0 5 3 8 】

3 - (4 - フルオロフェニル) - 1 - (2 - モルホリノエチル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 4 - オール (2 7 . 8 m g 、 0 . 0 7 m m o l) を、 POCl_3 (0 . 5 m l) 中で 8 0 に 2 . 7 5 時間加熱した。溶媒を真空中で除去し、粗製物を分取 H P L C で精製することによって、化合物 7 8 をオレンジ色の固体 (1 0 . 7 m g) として得た。

20

【 0 5 3 9 】

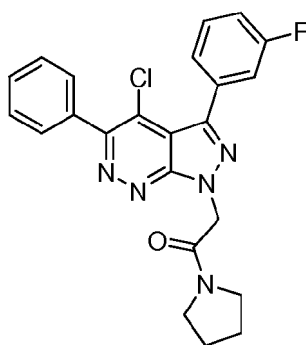
L C M S (1 0 c m _ E S C I _ ギ酸 _ M e C N) R t 2 . 8 7 分 ; m / z 4 3 8 [M + H] 9 9 . 7 3 % 純度。

【 0 5 4 0 】

実施例 7 2 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (3 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (ピロリジン - 1 - イル) エタノン (化合物 7 9)

【 0 5 4 1 】

【 化 1 9 6 】



30

【 0 5 4 2 】

ステップ 1 における 4 - フルオロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 3 - フルオロベンゾイルアセトニトリルを使用し、ステップ 7 におけるモルホリンの代わりにピロリジンを使用して、実施例 6 8 (化合物 7 5) において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例 7 2 (化合物 7 9) を合成した。化合物 7 9 を黄色の固体 (1 3 . 1 m g) として得た。

40

【 0 5 4 3 】

L C M S (1 5 c m _ B i c a r b _ G e m i n i N X _ H P L C _ C H _ 3 C N) R t 1 0 . 6 8 分 ; m / z 4 3 6 [M + H] 9 6 . 6 % 純度。

【 0 5 4 4 】

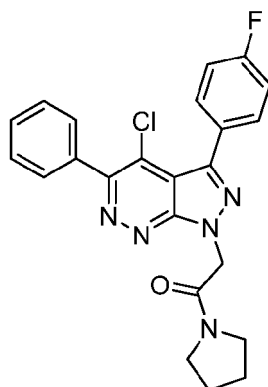
実施例 7 3 : 2 - (4 - クロロ - 3 - (4 - フルオロフェニル) - 5 - フェニル - 1 H

50

- ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-1-(ピロリジン-1-イル)エタノン(化合物80)

【0545】

【化197】



10

【0546】

ステップ7におけるモルホリンの代わりにピロリジンを使用して、実施例68において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例73(化合物80)を合成した。化合物80を黄色の固体(13.1mg)として得た。

【0547】

LCMS(15cm__Bicarbo__GeminiNX__HPLC__CH₃CN)Rt 10.66分;m/z 436[M+H]⁺95.6%純度。

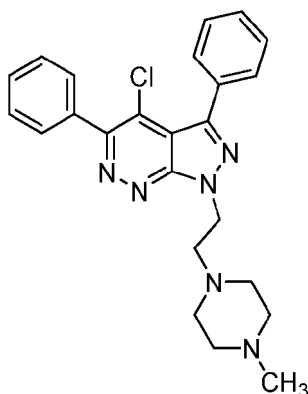
20

【0548】

実施例74: 4-クロロ-1-(2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エチル)-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物81)

【0549】

【化198】



30

【0550】

ステップ1におけるモルホリンの代わりにN-メチルピペラジンを使用して、実施例71において概要が述べられている類似の手順に従い、実施例74を合成した。化合物81を黄色の固体(6.0mg)として得た。

40

【0551】

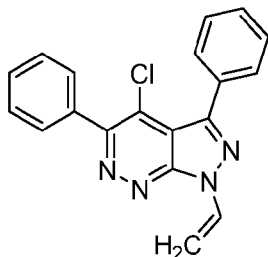
LCMS(15cm__ギ酸__ASCE+NTIS__HPLC__CH₃CN)Rt 8.01分;m/z 433[M+H]⁺98.4%純度。

【0552】

実施例75: 4-クロロ-3,5-ジフェニル-1-ビニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物82)

【0553】

【化 1 9 9】



【0554】

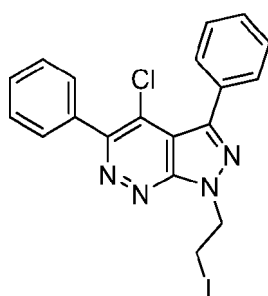
10

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)エタノール(実施例32)から出発して、化合物82を合成した。

ステップ1: 4-クロロ-1-(2-ヨードエチル)-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン

【0555】

【化200】



20

【0556】

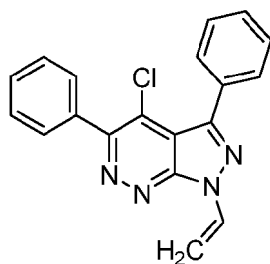
トリフェニルホスフィン(160mg、0.62mmol)、イミダゾール(42mg、0.62mmol)およびヨウ素(160mg、0.62mmol)を、2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)エタノール(181mg、0.52mmol)の CH_2Cl_2 (6ml)中溶液に加えた。周辺温度で1時間攪拌後、この反応物を濾過し、溶媒を真空中で除去した。クロマトグラフィー(シリカゲル、勾配10から60%酢酸エチル/イソヘキサン)を使用する精製により、4-クロロ-1-(2-ヨードエチル)-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジンを透明な油(202mg)として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

30

ステップ2: 4-クロロ-3,5-ジフェニル-1-ビニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物82)

【0557】

【化201】



40

【0558】

4-クロロ-1-(2-ヨードエチル)-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(53mg、0.11mmol)の CH_2Cl_2 (1.5ml)中溶

50

液を、トリメチルエチレンジアミン (97 mg、0.95 mmol) に加え、この混合物を周辺温度で3日間撹拌した。溶媒を真空中で除去し、粗製物をクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配5から100%酢酸エチル/イソヘキサン) で精製することによって、化合物82を黄色の固体 (12 mg) として得た。

【0559】

LCMS (15 cm__Bicar__GeminiNX__HPLC__CH₃CN) Rt 11.63分; m/z 333 [M+H] 95.16%純度。

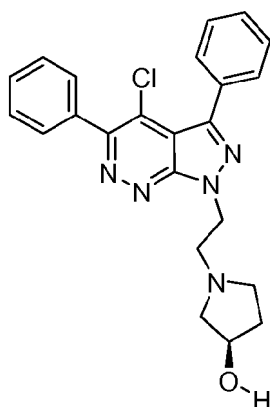
【0560】

実施例76: (R) - 1 - (2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エチル) ピロリジン - 3 - オール (化合物83)

10

【0561】

【化202】



20

【0562】

(R) - 3 - ピロリジノール (166 mg、1.9 mmol) の CH₂Cl₂ (1.5 ml) 中溶液を、4 - クロロ - 1 - (2 - ヨードエチル) - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (実施例74ステップ1) (113 mg、0.24 mmol) に加え、この反応物を周囲条件で24時間撹拌した。生成した残渣をクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配20から100%酢酸エチル/イソヘキサン、次いで勾配0から100%酢酸エチル/アセトン) を使用して精製し、続いて分取HPLCで精製することによって、化合物83をオレンジ色の固体 (17 mg) として得た。

30

【0563】

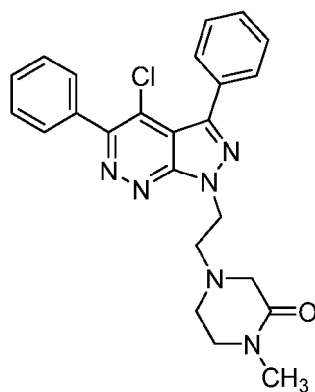
LCMS (15 cm__Bicar__GeminiNX__HPLC__CH₃CN) Rt 10.32分; m/z 420 [M+H] 97.06%純度。

【0564】

実施例77: 4 - (2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) エチル) - 1 - メチルピペラジン - 2 - オン (化合物84)

【0565】

【化 2 0 3】



10

【0 5 6 6】

4 - クロロ - 1 - (2 - ヨードエチル) - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (実施例 7 4 ステップ 1 (化合物 8 1)) (1 0 0 m g 、 0 . 2 1 m m o l) の CH_2Cl_2 (1 m l) 中溶液を、 CH_2Cl_2 (0 . 5 m l) 中のピペラジノン塩酸塩 (1 6 0 m g 、 1 . 0 5 m m o l) およびジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (2 2 0 μ l 、 1 2 . 6 m m o l) に加え、この反応物を周囲条件で 2 日間撹拌した。さらにピペラジノン塩酸塩 (1 6 0 m g 、 1 . 0 5 m m o l) およびジイソプロピルエチルアミン (D I P E A) (2 2 0 μ l 、 1 2 . 6 m m o l) を加え、この反応物をさらに 2 4 時間撹拌した。生成した残渣を、クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 2 0 から 1 0 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン、次いで勾配 0 から 1 0 0 % 酢酸エチル / アセトン) を使用して精製し、続いて分取 H P L C で精製することによって、化合物 8 4 を黄色のガラス固体 (1 7 m g) として得た。

20

【0 5 6 7】

L C M S (1 5 c m _ B i c a r b _ G e m i n i i N X _ H P L C _ CH_3CN) R t 1 0 . 2 1 分 ; m / z 4 4 7 [M + H] 9 7 . 7 6 % 純度。

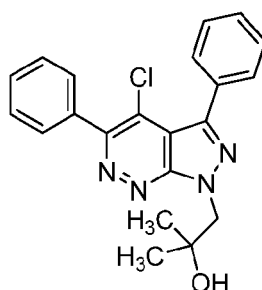
【0 5 6 8】

実施例 7 8 : 1 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 2 - メチルプロパン - 2 - オール (化合物 8 5)

30

【0 5 6 9】

【化 2 0 4】



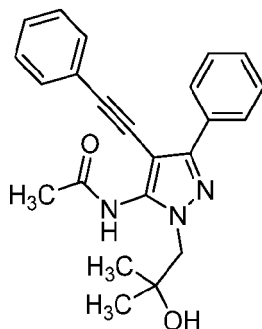
40

【0 5 7 0】

ステップ 1 : N - (1 - (2 - ヒドロキシ - 2 - メチルプロピル) - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミド

【0 5 7 1】

【化 2 0 5】



10

【0 5 7 2】

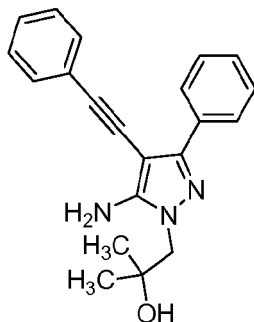
エチル 2 - (5 - アセトアミド - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) アセテート (1 . 0 g 、 2 . 5 8 m m o l) のテトラヒドロフラン (T H F 、 2 6 m L) 中溶液に、メチルマグネシウムクロリド (T H F 中 3 M 溶液、 3 m L 、 9 m m o l) を 0 で加えた。得た溶液を室温で 3 . 5 時間攪拌し、次いで引き続き酢酸エチルで希釈し、1 M 塩酸の添加によってクエンチした。水相を酢酸エチルで抽出し、合わせた有機層を $MgSO_4$ で脱水し、真空中で濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 7 5 % 酢酸エチル / イソヘキサン) を使用して生成した残渣を精製し、N - (1 - (2 - ヒドロキシ - 2 - メチルプロピル) - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを固体 (5 2 9 m g) として得た。

20

ステップ 2 : 1 - (5 - アミノ - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) - 2 - メチルプロパン - 2 - オール

【0 5 7 3】

【化 2 0 6】



30

【0 5 7 4】

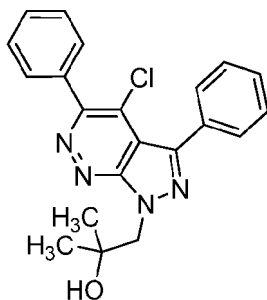
ステップ 5 における N - (1 - (2 - ヒドロキシ - 2 - メチルプロピル) - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 5 - イル) アセトアミドを使用して、実施例 1 において概要が述べられている類似の手順に従い、1 - (5 - アミノ - 3 - フェニル - 4 - (フェニルエチニル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル) - 2 - メチルプロパン - 2 - オールを合成した。

40

ステップ 3 : 1 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 2 - メチルプロパン - 2 - オール

【0 5 7 5】

【化 207】



10

【0576】

冷却濃縮HCl(9mL)(冷却槽-15℃)に、亜硝酸ナトリウム(121mg、1.75mmol)を一度に加え、この懸濁液を10分間攪拌したままおき、この後で1-(5-アミノ-3-フェニル-4-(フェニルエチニル)-1H-ピラゾール-1-イル)-2-メチルプロパン-2-オール(290mg、0.88mmol)を加えた。5分後、冷却槽を除去し、この反応混合物を室温で3時間攪拌した。この反応物を再び冷却(0℃)し、DCMを加え、続いて水を加えた。水相をDCMで抽出し、有機相を合わせ、MgSO₄で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗製材料をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、勾配0から50%酢酸エチル/イソヘキサン)で精製して、1-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)-2-メチルプロパン-2-オールをオレンジ色の油(56mg)として得た。得た物質を分取HPLCでさらに精製することによって、34mgの化合物85を固体として得た。

20

【0577】

LCMS(10cm ESCI_ギ酸_MeCN)Rt 4.49分; m/z 379 [M+H]⁺99.71%純度。

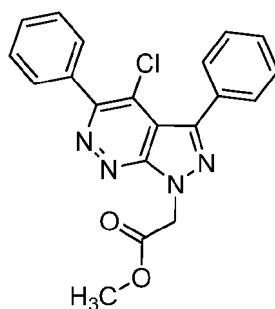
【0578】

実施例79:メチル2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)アセテート(化合物86)

【0579】

【化208】

30



【0580】

40

2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)酢酸(528mg、1.45mmol)の塩化チオニル(10mL)中懸濁液を70℃で1時間加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を無水CH₂Cl₂中に溶解した。無水メタノール(65μL、1.6mmol)を0℃で加え、この反応混合物を終夜ゆっくりと室温に到達させた。減圧下での溶媒の除去後、粗混合物をシリカゲルカラムに直接充填し、酢酸エチル/イソヘキサンの混合物(勾配0から40%)を使用して生成物を溶出した。得た材料の半分を分取HPLCでさらに精製して、13.4mgの化合物86を生成した。

【0581】

LCMS(10cm ESCI_Bicar_b_MeCN)Rt 10.9分; m/z

50

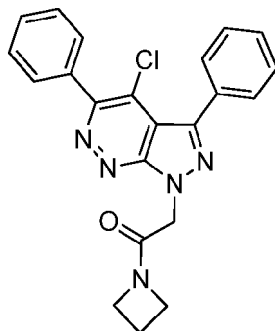
379 [M + H] 94.66% 純度。

【0582】

実施例 80: 1 - (アゼチジン - 1 - イル) - 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) エタノン (化合物 87)

【0583】

【化209】



10

【0584】

2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) 酢酸を使用して、実施例 39 において概要が述べられている類似の手順に従い、1 - (アゼチジン - 1 - イル) - 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) エタノンを合成した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 70% 酢酸エチル / イソヘキサン)、続いて分取 HPLC 精製により 17 mg の化合物 87 を生成した。

20

【0585】

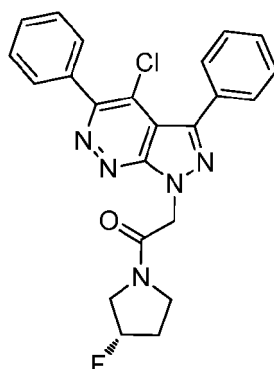
LCMS (10 cm __ESI__ ギ酸) Rt 10.34 分; m/z 404 [M + H] 97.37% 純度。

【0586】

実施例 81: (S) - 2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 - フルオロピロリジン - 1 - イル) エタノン (化合物 88)

【0587】

【化210】



30

40

【0588】

2 - (4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ[3, 4 - c]ピリダジン - 1 - イル) 酢酸 (170 mg、0.47 mmol) の塩化チオニル (4.7 mL) 中溶液を 60 で 1.5 時間加熱した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を無水 CH₂Cl₂ (4.7 mL) 中に溶解した。この反応混合物を 2 本の管に分割し、(S) - フルオロピロリジン塩酸塩 (125 mg、0.26 mmol)、続いてトリエチルアミン (72 μL、0.52 mmol) をこれらのうちの 1 本に加えた。この反応混合物を室温で終夜攪拌し、次いで減圧下で濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 25% ジエチルエーテル / CH₂Cl₂) を使用して生成した残渣を精製することによって、15 mg の

50

化合物 88 を生成した。

【 0 5 8 9 】

LCMS (10 cm __ E S C I __ B i c a r b __ M e C N) R t 4 . 0 分 ; m / z 436 [M + H] 96 . 15 % 純度。

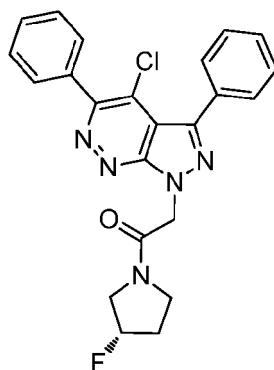
【 0 5 9 0 】

実施例 82 : (R) - 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 - フルオロピロリジン - 1 - イル) エタノン (化合物 89)

【 0 5 9 1 】

【 化 2 1 1 】

10



20

【 0 5 9 2 】

実施例 81 において概要が述べられている類似の手順に従い、(R) - 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 - フルオロピロリジン - 1 - イル) エタノンを合成し、クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 0 から 25 % ジエチルエーテル / C H ₂ C l ₂) で精製することによって、17 mg の化合物 89 を生成した。

【 0 5 9 3 】

LCMS (10 cm __ E S C I __ B i c a r b __ M e C N) R t 3 . 97 分 ; m / z 436 [M + H] 96 . 09 % 純度。

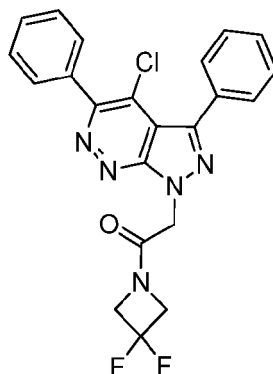
【 0 5 9 4 】

30

実施例 83 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 , 3 - ジフルオロアゼチジン - 1 - イル) エタノン (化合物 90)

【 0 5 9 5 】

【 化 2 1 2 】



40

【 0 5 9 6 】

実施例 81 において概要が述べられている類似の手順に従い、2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) - 1 - (3 , 3 - ジフルオロアゼチジン - 1 - イル) エタノンを合成し、分取 HPLC で精製して、29

50

mg の化合物 90 を白色の固体として得た。

【0597】

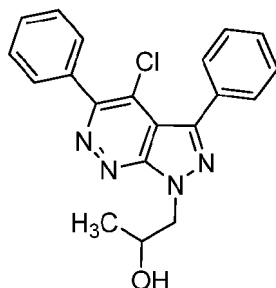
LCMS (10 cm __ E S C I __ B i c a r b __ M e C N) R t 3.71 分 ; m / z 440 [M + H] 98.92 % 純度。

【0598】

実施例 8.4 : 1 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c]
ピリダジン - 1 - イル) プロパン - 2 - オール (化合物 91)

【0599】

【化 213】



10

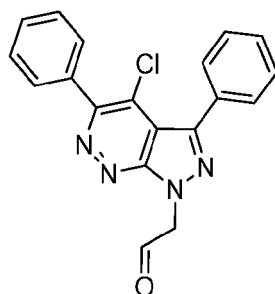
【0600】

ステップ 1 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c]
ピリダジン - 1 - イル) アセトアルデヒド

20

【0601】

【化 214】



30

【0602】

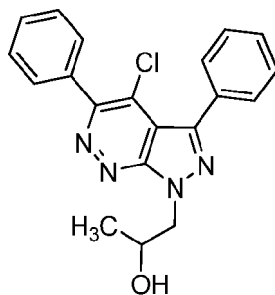
2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン -
1 - イル) エタノール (300 mg 、 0.86 mmol) の CH_2Cl_2 (5.7 mL)
中溶液に、Dess - Martin ペルヨージナン (DMP 、 437 mg 、 1.03 mmol) を室温で加えた。この混合物を室温で 35 分間攪拌し、次いで固体を濾別し、濾液を水性 NaHCO_3 および $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ と共に 1 時間攪拌した。水相を CH_2Cl_2 で再抽出し、合わせた有機層を相分離器に通し、減圧下で濃縮した。粗製アルデヒド 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) アセトアルデヒド (384 mg) を、以下のステップにおいてそのまま使用した。

40

ステップ 2 : 1 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c]
ピリダジン - 1 - イル) プロパン - 2 - オール (化合物 91)

【0603】

【化 2 1 5】



10

【0 6 0 4】

2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) アセトアルデヒド (1 2 8 m g 、 0 . 2 9 m m o l) の T H F (2 . 9 m L) 中溶液を、メチルマグネシウムクロリド溶液 (2 . 9 m L の T H F 中で希釈した 2 9 0 μ L の 3 M 溶液) に 0 で 3 0 分にわたり滴加した。粗混合物を、 CH_2Cl_2 および 2 M 塩酸の間に分配した。水相を CH_2Cl_2 で抽出し、合わせた有機層を相分離器に通し、減圧下で濃縮した。もう 8 0 m g の開始 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) アセトアルデヒドを用いてこの反応を繰り返す、合わせた粗混合物をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 5 0 から 1 0 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) で精製した。追加的な分取 H P L C 精製が、7 . 2 m g の化合物 9 1 を生成した。

20

【0 6 0 5】

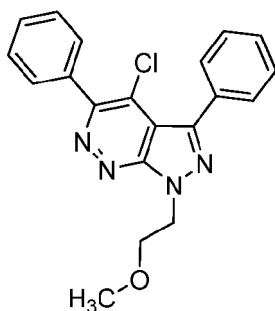
L C M S (1 0 c m _ E S C I _ B i c a r b _ M e C N) R t 1 0 . 5 7 分 ; m / z 3 6 5 [M + H] 9 6 . 2 % 純度。

【0 6 0 6】

実施例 8 5 : 1 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) プロパン - 2 - オール (化合物 9 2)

【0 6 0 7】

【化 2 1 6】



30

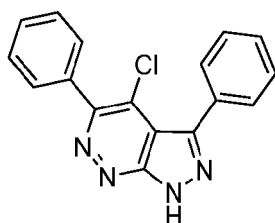
【0 6 0 8】

ステップ 1 : 4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン

40

【0 6 0 9】

【化 2 1 7】



50

【0610】

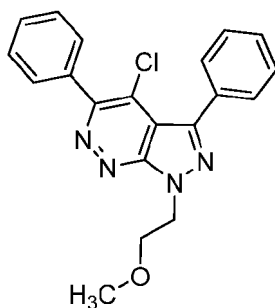
4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (50 mg、0.15 mmol) のアセトン (5 mL) 中溶液に、過マンガン酸カリウムの 2 % 水溶液 (71 mg、0.45 mmol、3.5 mL 水) を一度に加えた。この混合物を室温で 2 時間攪拌し、次いでもう 1 部分の過マンガン酸カリウム (12 mg、0.075 mmol) を加え、攪拌を 15 分間継続した。この固体を濾別し、濾液を水および CH_2Cl_2 の間に分配した。水相を CH_2Cl_2 で再抽出し、合わせた有機層を MgSO_4 で脱水し、減圧下で濃縮した。粗製 4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (64 mg) を、以下のステップにおいてそのまま使用した。

10

ステップ 2 : 1 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) プロパン - 2 - オール (化合物 92)

【0611】

【化218】



20

【0612】

4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (45 mg、0.15 mmol) のジメチルホルムアミド (DMF、1.5 mL) 中溶液を、引き続き炭酸セシウム (64 mg、0.2 mmol) および 2 - メトキシエチルプロミド (31.3 mg、0.23 mmol) で処理した。電子レンジで粗混合物を 130 ° で 30 分間加熱し、次いで濾別した。減圧下で濾液を蒸発除去し、分取 HPLC で精製して、27 mg の化合物 92 を生成した。

30

【0613】

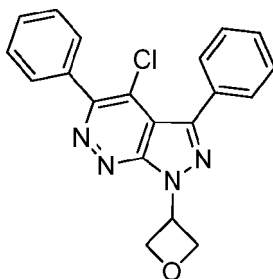
LCMS (10 cm __ E S C I __ B i c a r b __ M e C N) R t 11.16 分 ; m / z 365 [M + H] 97.33 % 純度。

【0614】

実施例 86 : 4 - クロロ - 1 - (オキセタン - 3 - イル) - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (化合物 93)

【0615】

【化219】



40

【0616】

4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン (50 mg、0.16 mmol) のジオキサン (0.5 mL) 中溶液をオキセタン - 3 - オール (24 mg、0.32 mmol)、トリフェニルホスフィン (84 mg、0.32 mmol)

50

）およびアゾジカルボン酸ジエチル（DEAD、56 mg、0.32 mmol）で処理し、電子レンジで、85℃で30分間加熱した。粗混合物を減圧下で蒸発除去し、分取HPLCで精製し、その後にカラムクロマトグラフィー（シリカゲル、勾配0から15%ジエチルエーテル/CH₂Cl₂）で精製することによって、23 mgの化合物93を白色の固体として得た。

【0617】

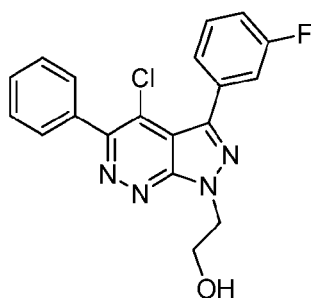
LCMS（10 cm ESCI_ギ酸_MeCN）Rt 10.95分；m/z 363 [M+H]⁺ 98.12%純度。

【0618】

実施例87：2-（4-クロロ-3-（3-フルオロフェニル）-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル）エタノール（化合物94）

【0619】

【化220】



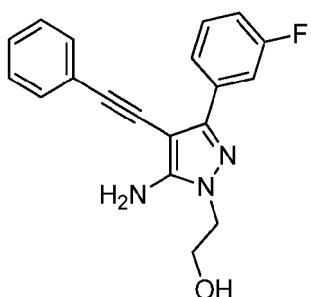
【0620】

エチル2-（5-アセトアミド-3-（3-フルオロフェニル）-4-（フェニルエチニル）-1H-ピラゾール-1-イル）アセテートから出発して化合物94を合成した。ステップ1における4-フルオロベンゾイルアセトニトリルの代わりに3-フルオロベンゾイルアセトニトリルを使用して、実施例68において概要が述べられている類似の手順に従い、（ステップ1から4）、エチル2-（5-アセトアミド-3-（3-フルオロフェニル）-4-（フェニルエチニル）-1H-ピラゾール-1-イル）アセテートを合成した。

ステップ1：2-（5-アミノ-3-（3-フルオロフェニル）-4-（フェニルエチニル）-1H-ピラゾール-1-イル）エタノール

【0621】

【化221】



【0622】

エチル2-（5-アセトアミド-3-（3-フルオロフェニル）-4-（フェニルエチニル）-1H-ピラゾール-1-イル）アセテート（3.25 g、8.02 mmol）のエタノール（90 mL）中溶液に、水素化ホウ素ナトリウム（610 mg、16.04 mmol）を加え、この反応物を室温で36時間撹拌した。追加の水素化ホウ素ナトリウム（305 mg、8.02 mmol）を加え、この反応物を室温で36時間撹拌した。25% NaOH（0.9 mL）を加え、この反応混合物を80℃で3.5時間撹拌した。この反応混合物を酢酸エチルおよび水の間で分配した。水相を酢酸エチルで2回洗浄し、有機

10

20

30

40

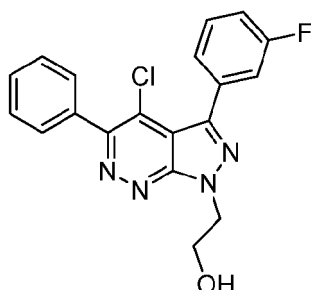
50

相を合わせ、 MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗製材料をジエチルエーテル（30 mL）中に懸濁させ、生成物を濾過し、真空中で乾燥することによって、2-（5-アミノ-3-（3-フルオロフェニル）-4-（フェニルエチニル）-1H-ピラゾール-1-イル）エタノールを白色の固体（2.2 g）として得た。これを、その後のステップでこのまま使用した。

ステップ2：2-（4-クロロ-3-（3-フルオロフェニル）-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル）エタノール

【0623】

【化222】



10

【0624】

亜硝酸ナトリウム（555 mg、8.04 mmol）を、濃縮 HCl （11.7 mL）の冷却攪拌溶液（冷却槽-10）に少しずつ加えた。15分後、2-（5-アミノ-3-（3-フルオロフェニル）-4-（フェニルエチニル）-1H-ピラゾール-1-イル）エタノール（860 mg、2.68 mmol）を少しずつ加え、この反応混合物を90分間にわたり室温まで温めておいた。水および CH_2Cl_2 をこの反応混合物に加えた。水相を CH_2Cl_2 （ $\times 4$ ）で抽出し、有機相を合わせ、 MgSO_4 で脱水し、濾過し、蒸発させた。粗製材料をクロマトグラフィー（シリカゲル、勾配0から50%酢酸エチル/イソヘキサン）を使用して精製し、続いて分取HPLCで精製し、化合物94を白色の固体（40 mg）として得た。

20

【0625】

LCMS（15 cm__Bicarbo__GeminiNX__HPLC__ CH_3CN ） R_t 10.39分； m/z 369 [M+H]⁺ 96.26%純度。

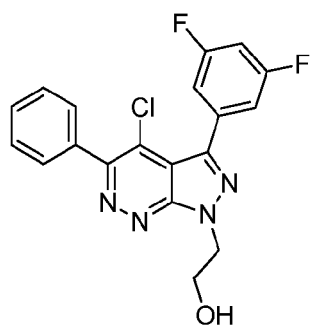
30

【0626】

実施例88：2-（4-クロロ-3-（3,5-ジフルオロフェニル）-5-フェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル）エタノール（化合物95）

【0627】

【化223】



40

【0628】

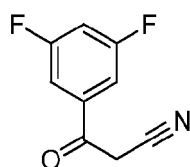
ステップ1における4-フルオロベンゾイルアセトニトリルの代わりに3-（3,5-ジフルオロフェニル）-3-オキソプロパンニトリルを使用して、実施例70において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物95を合成した。

3-（3,5-ジフルオロフェニル）-3-オキソプロパンニトリルの合成

50

【 0 6 2 9 】

【 化 2 2 4 】



【 0 6 3 0 】

ジイソプロピルアミン (1 0 . 6 m L 、 7 6 m m o l) を乾燥 T H F (1 0 m L) 中に溶解し、溶液を - 2 0 ° に冷却した。内部温度が 0 ° 未満に保たれるような速度で、n - ブチルリチウムの溶液 (ヘキサン中 2 . 5 N 、 3 0 . 5 m L 、 7 6 m m o l) をゆっくりと加えた。5 分間攪拌後、溶液を - 2 0 ° に冷却し、- 4 0 ° 未満の温度が保たれるような速度で、アセトニトリル (2 . 3 7 m L 、 4 5 . 3 m m o l) およびエチル 3 , 5 - ジフルオロベンゾエート (6 . 2 3 g 、 3 6 . 2 m m o l) の乾燥 T H F (1 8 m L) 中溶液に加えた。さらなる 1 0 m L の乾燥 T H F を使用することによって、残りのリチウムジイソプロピルアミドを反応物に移した。この反応物を 2 時間にわたり周囲条件に温めてから、塩化アンモニウム飽和水溶液でクエンチした。この反応物を酢酸エチルで抽出し (× 2) 、抽出物を廃棄した。水性を 2 N H C l で酸性化し、酢酸エチルで抽出した。有機抽出物を 2 N H C l およびブラインで洗浄してから、M g S O ₄ で脱水し、濾過し、蒸発させた。クロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 5 から 1 0 0 % 酢酸エチル / イソヘキサン) を使用する精製により、3 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) - 3 - オキソプロパンニトリルを黄色の固体 (2 . 8 2 g) として得た。

10

20

【 0 6 3 1 】

ステップ 1 における 4 - フルオロベンゾイルアセトニトリルの代わりに 3 - (3 , 5 - ジフルオロフェニル) - 3 - オキソプロパンニトリルを使用して、実施例 7 0 において概要が述べられている類似の手順に従い、化合物 9 5 を合成した。化合物 9 5 を黄褐色の固体 (3 0 . 6 m g) として得た。

【 0 6 3 2 】

L C M S (1 0 c m __ギ酸__ A C E 3 C 1 8 A R __ H P L C __ C H ₃ C N) R t 1 1 . 8 9 分 ; m / z 3 8 7 [M + H] 9 5 . 8 5 % 純度。

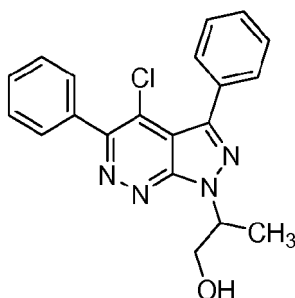
30

【 0 6 3 3 】

実施例 8 9 : 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) プロパン - 1 - オール (化合物 9 6)

【 0 6 3 4 】

【 化 2 2 5 】



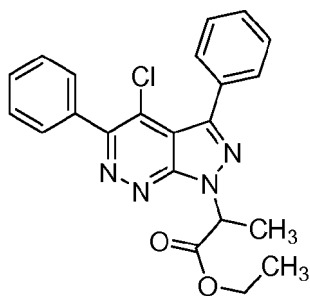
40

【 0 6 3 5 】

ステップ 1 : エチル 2 - (4 - クロロ - 3 , 5 - ジフェニル - 1 H - ピラゾロ [3 , 4 - c] ピリダジン - 1 - イル) プロパノエート

【 0 6 3 6 】

【化 2 2 6】



【0 6 3 7】

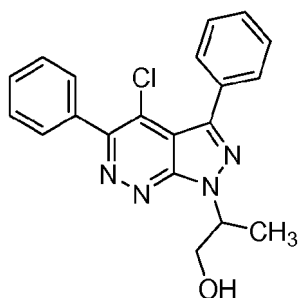
10

ステップ2における2-メトキシエチルブロミドの代わりにエチル2-ブロモプロピオネートを使用して、実施例85において概要が述べられている類似の手順に従い、エチル2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)プロパノエートを合成した。

ステップ2: 2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)プロパン-1-オール(化合物96)

【0 6 3 8】

【化 2 2 7】



20

【0 6 3 9】

エチル2-(4-クロロ-3,5-ジフェニル-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン-1-イル)プロパノエート(72mg、0.177mmol)のTHF(0.5mL)中冷却攪拌溶液(0)に、水素化ジイソブチルアルミニウムのシクロヘキサン(1mL、1.1mmol)中1.1M溶液を滴加した。15分後、塩化アンモニウム飽和溶液およびCH₂Cl₂を0でこの反応混合物に加えた。水相をCH₂Cl₂で抽出し、有機相を合わせ、MgSO₄で脱水し、濾過し、蒸発させた。分取HPLCを使用する精製によって、化合物96をオフホワイト色の固体(28mg)として得た。

30

【0 6 4 0】

LCMS(10cm ESCI_ギ酸_MeCN) Rt 4.32分; m/z 365 [M+H]⁺ 99.30%純度。

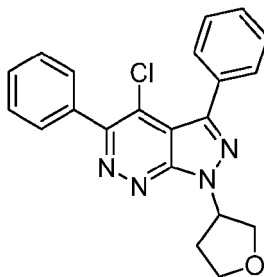
【0 6 4 1】

実施例90: 4-クロロ-3,5-ジフェニル-1-(テトラヒドロフラン-3-イル)-1H-ピラゾロ[3,4-c]ピリダジン(化合物97)

40

【0 6 4 2】

【化 2 2 8】



【0643】

10

オキセタン - 3 - オールの代わりに 3 - ヒドロキシテトラヒドロフラン (28 mg、0.32 mmol) を使用して、実施例 86 において概要が述べられている類似の手順に従い、4 - クロロ - 3, 5 - ジフェニル - 1H - ピラゾロ [3, 4 - c] ピリダジン (50 mg、0.16 mmol) から化合物 97 を合成した。分取 HPLC を使用し、続いてクロマトグラフィー (シリカゲル、勾配 CH_2Cl_2) を使用して化合物 97 を精製し、化合物 97 をオフホワイト色の固体 (21 mg) として得た。

【0644】

LCMS (10 cm __ESI__ ギ酸 __MeCN) Rt 4.64 分; m/z 377 [M+H]⁺ 99.42% 純度。

【0645】

20

実施例 91: 液体クロマトグラフィー - 質量分析法 (LC-MS)

本発明のピラゾロピリジン (pyrazolopyridizine) 化合物に対する LC-MS 条件

(a) 標準的酸性 LC-MS 条件: (10 cm __ESI__ ギ酸または 10 cm __ESI__ ギ酸)

0.1% (V/V) ギ酸を有するアセトニトリル (遠 UV 等級): 0.1% ギ酸勾配を有する水 (Pure Lab Option ユニットによる高純度) を使用する Phenomenex Luna 5 μm C18 (2)、100 \times 4.6 mm (プラスガードカートリッジ) カラムを使用した。流速は 2 mL / 分であった。Waters ダイオードアレイ検出器 (開始範囲 210 nm、終了範囲 400 nm、範囲間隔 4 nm) を使用して UV 検出を行った。質量検出を単一の四重極 (quadrupole) LC-MS 装置を介して実施した。イオン化は、化合物の種類に応じて、ESI または API のいずれかである。使用した勾配は、0.00 分の時点での水性溶媒 95% から、3.50 分の時点での水性溶媒 5% までとした。次いでこのパーセンテージをさらに 2 分間保持した。

30

(b) 標準的塩基性 LC-MS 条件: (10 cm __ESI__ Bicarb __または 10 cm __ESI__ Bicarb):

アセトニトリル (遠 UV 等級): 10 mM 炭酸水素アンモニウム (アンモニウム水素炭酸塩) 勾配を有する水 (Pure Lab Option ユニットによる高純度) を使用する Waters Xterra MS 5 μm C18、100 \times 4.6 mm (プラスガードカートリッジ) を使用した。流速は 2 mL / 分であった。Waters ダイオードアレイ検出器 (開始範囲 210 nm、終了範囲 400 nm、範囲間隔 4 nm) を使用して UV 検出を実施した。質量検出は、単一の四重極 (quadrupole) LC-MS 装置を介して実施した。イオン化は、化合物の種類に応じて ESI または API のいずれかである。使用された勾配は、0.00 分の時点での水性溶媒 95% から 4.0 分の時点での水性溶媒 5% までとした。次いでこのパーセンテージをさらに 1.5 分間保持した。

40

(c) 標準的酸性 HPLC 条件: (15 cm __ギ酸 __ASCENTIS __HPLC)

0.1% (V/V) ギ酸を有するアセトニトリル (遠 UV 等級): 0.1% ギ酸勾配を有する水 (Pure Lab Option ユニットによる高純度) を使用する Supelco Ascentis (登録商標) Express C18 または Hichrom Halo C18、2.7 μm C18、150 \times 4.6 mm カラムを使用した。流速は 1

50

mL/分であった。Agilentダイオードアレイ検出器(300nm、帯域幅200nm; ref. 450nm、帯域幅100nm)を使用してUV検出を行った。使用した勾配は、0.00分の時点での水性溶媒96%から、9.00分の時点での水性溶媒0%までとした。次いでこのパーセンテージをさらに4.5分間保持した。

(d) 標準的塩基性HPLC条件: (15cm__Bicar__GeminiNX__HPLC)

アセトニトリル(遠UV等級): 10mM炭酸水素アンモニウム勾配を有する水(PureLab Optionユニットによる高純度)を使用する、Phenomenex Gemini NX、3μm C18、150×4.6mmカラムを使用した。流速は1mL/分であった。Agilentダイオードアレイ検出器(300nm、帯域幅200nm; ref. 450nm、帯域幅100nm)を使用してUV検出を行った。使用した勾配は、0.00分の時点での水性溶媒95.5%から、9.00分の時点での水性溶媒0%までとした。次いでこのパーセンテージをさらに4.5分間保持した。

(e) 標準的酸性HPLC条件: (10cm__ギ酸__ACE3 C18 AR__HPLC__CH₃CN)

0.1%(V/V)ギ酸を有するアセトニトリル(遠UV等級): 0.1%ギ酸勾配を有する水(PureLab Optionユニットによる高純度)を使用する、Hichrom ACE3 C18-AR ミックスモード100×4.6mmカラムを使用した。流速は1mL/分であった。Agilentダイオードアレイ検出器(300nm、帯域幅200nm; ref. 450nm、帯域幅100nm)を使用してUV検出を行った。使用した勾配は、0.00分から3.00分の時点での水性溶媒98%から、12.00分の時点での水性溶媒100%のまでとした。次いでこのパーセンテージをさらに2.4分間保持した。

【0646】

実施例92: N48Kクラリン-1の発現を回復する本発明の化合物の活性を示すアッセイ法

クラリン-1は、アッシャーIII症候群において変異した遺伝子によりコードされているタンパク質である(Adatoら、2002年)。北アメリカにおいて、最も広がっているクラリン-1の変異はN48Kであり、このN48Kは、グリコシル化の損失およびトラフィッキングの欠陥を引き起こすことが報告されている(Tianら、2009年)。その結果、N48Kタンパク質は原形質膜に到達せず、プロテアソームにより分解される。したがって、N48Kクラリン-1の細胞表面へのトラフィッキングを修復することによって、アッシャーIII症候群への介入手段が得られると考えられている。

【0647】

N48Kクラリン-1の発現を回復する本発明の化合物の有用性を実証するための有用な細胞モデルは、HEK293-クラリン-1N48K-HA D9細胞株である(Tianら、2009)。典型的な実験において、これらの細胞は、コラーゲンコーティングされた96ウェルプレートに、1ウェル当たり細胞20,000個の細胞密度で、10%ウシ胎児血清を含有するDulbecco変法イーグル培地(DMEM)内、加湿したインキュベーター内で、37、5%CO₂で播種する。終夜のインキュベーション後、10%ウシ胎児血清を含有するDMEM培地内、加湿したインキュベーター内で、37、5%CO₂で、24時間インキュベーションするために化合物を加える。ネガティブコントロールとして、DMSOを最終濃度0.25%で使用する。化合物は通常、3回重複した方式で試験する。化合物を用いた24時間のインキュベーション後、10%緩衝ホルマリンの添加により細胞をウェルに固定して、最終濃度である4%ホルマリンを達成する。室温で20分間の固定後、トリトンX-100(0.02リン酸塩、150mM NaCl、0.1%トリトンX-100)を含有するリン酸緩衝食塩水(PBS)でウェルを3回洗浄する。

【0648】

トリトンX-100を含有するPBS中、1:1000の希釈で、HAタグ(HA.1

10

20

30

40

50

1 クローン 1 6 B 1 2 モノクローナル抗体、C o v a n c e # M M S - 1 0 1 P) に対する抗体を用いて、H A - タグ付の N 4 8 K クラリン - 1 を検出する。9 0 分間のインキュベーション後、ウェルを、トリトン X - 1 0 0 を含有する P B S で 3 回洗浄し、トリトン X - 1 0 0 を含有する P B S 中、1 : 2 5 0 の希釈で、二次抗体 (ヤギ抗 - マウス I g G - C y 3 (1 . 5 m g / m l) 、 J a c k s o n I R E u r o p e # 1 1 5 1 6 5 0 0 3) をこのウェルに 4 5 分間加える。その後トリトン X - 1 0 0 を含有する P B S でウェルを 3 回洗浄し、1 : 1 0 , 0 0 0 の希釈で D A P I (4 ' , 6 - ジアミジノ - 2 - フェニルインドール) を添加することによって、核に対する最終染色を実施する。染色された細胞の画像化を、例えば I n C e l l 1 0 0 0 H i g h C o n t e n t I m a g e r (G E H e a l t h c a r e) 上で実施し、N 4 8 K クラリン - 1 に対して C y 3 チャネル、核に対して D A P I チャネルを読み出す。画像を分析し、特定のアルゴリズムを使用して定量する。このアルゴリズムは D A P I シグナルの追加的核分裂に基づいて各細胞に対する H A - クラリン - 1 染色を測定する (図 1) 。このアルゴリズムは、細胞 1 個当たりの強度を測定し、したがって細胞数における変動にあまり影響されないことから好ましい。1 つのウェル当たり、約 2 , 0 0 0 個の細胞を測定することによって、測定細胞の平均密度を得る。

10

【 0 6 4 9 】

実施例 9 3 : 例示的本発明の化合物に対する IC_{50} データ

本発明の例示的ピラゾロピリミジン化合物の活性に対する IC_{50} 値を実施例 9 2 のアッセイ法に従い得た。化合物 1 - 3 5 、 3 7 - 3 9 、 4 2 、 4 4 、 4 5 および 4 7 - 9 7 に対する IC_{50} 値は、1 0 マイクロモル以下である。化合物 1 - 9 、 1 0 、 1 1 、 1 3 - 3 4 、 3 7 - 3 9 、 4 4 、 4 5 、 4 7 - 9 7 に対する IC_{50} 値はすべて 5 マイクロモル以下である。化合物 1 、 2 、 4 - 9 、 1 3 、 1 4 、 1 7 、 1 9 、 2 8 、 3 2 、 3 8 、 3 9 、 4 5 、 4 8 - 6 1 、 6 3 - 7 4 、 7 6 、 7 7 、 7 9 、 8 1 、 8 3 、 8 5 - 9 7 に対する IC_{50} 値はすべて 1 マイクロモル以下である。

20

【 0 6 5 0 】

実施例 9 4 : 化合物 4 4 のピラゾロピリミジン部分に結合する 1 種以上のタンパク質を特定するためのアッセイ法

化合物 4 4 は、ピラゾロピリミジン部分およびビオチン基を含み、ピラゾロピリミジン部分に結合するタンパク質を特定するためのプローブとして有用である。タンパク質は、以下の通り特定される：H E K 2 9 3 - クラリン - 1 N 4 8 K - H A D 9 細胞は、コラーゲンコーティングされた 9 6 - ウェルプレートに、1 ウェル当たり細胞 2 0 , 0 0 0 個の細胞密度で、1 0 % ウシ胎児血清を含有する D u l b e c c o 変法イーグル培地 (D M E M) 内、加湿したインキュベーター内で、3 7 °C、5 % CO_2 で播種する。終夜のインキュベーション後、2 4 時間インキュベーションするために、化合物 4 4 を 1 0 マイクロモル以下の濃度で各ウェルに加える。インキュベーションは、場合によって 3 回重複して実施する。化合物 4 4 を用いた 2 4 時間のインキュベーション後、細胞をリン酸緩衝食塩水 (P B S) で 3 回洗浄し、細胞可溶化物に変換する。次いで、化合物 4 4 に結合したタンパク質を分離し、当技術分野で公知の任意の適切な方法を使用して特定する。例えば、細胞可溶化物をストレプトアビジンコーティングしたビーズに塗布し、ドデシル硫酸ナトリウム (S D S) などの洗浄剤を含有する緩衝液でビーズを洗浄することによって、任意の非特異的結合タンパク質を除去する。次いで、例えば、8 M グアニジン \cdot H C l 、p H 1 . 5 を使用して、S D S - P A G E (- ポリアクリルアミドゲル電気泳動) 緩衝液中でビーズを沸騰させることによって、またはビーズのトリプシン消化により結合したタンパク質をビーズから溶離する。次いで放出されたペプチドの質量を、質量分析器、例えば、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 - 飛行時間 (M A L D I - T O F) またはエレクトロスプレーイオン化 - 飛行時間 (E S I - T O F) などを用いて測定することができる。次いでこれらの質量を、公知のタンパク質配列を含有するデータベースのものと比較することによって、タンパク質を特定する。化合物 4 4 に結合しているペプチドフラグメントもまた特定される。これは、ペプチドフラグメントの分子量が化合物 4 4 の分子量

30

40

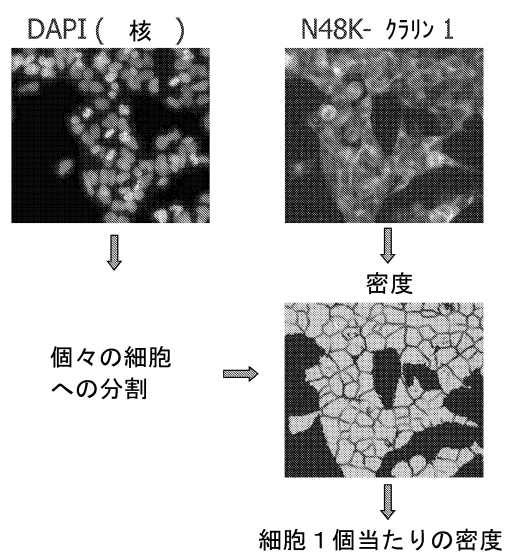
50

によって増加するからである。

【 0 6 5 1 】

本出願に開示されている各参考文献は、その全体が参照により本明細書により組み込まれる。

【 図 1 】



高含有量分析。DAPI 染色された核を使用して、個々の細胞への画像の分割を行う。
次いで、N48K クラリン-1 チャンネル (Cy3) において観察された密度を、
細胞 1 個当たりで計算し、区域にわたり平均する。

Fig. 1

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K	31/551	(2006.01)	A 6 1 K 31/5377
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 K 31/541
A 6 1 P	27/16	(2006.01)	A 6 1 K 31/551
C 0 7 K	14/46	(2006.01)	A 6 1 P 27/02
G 0 1 N	27/62	(2006.01)	A 6 1 P 27/16
			C 0 7 K 14/46
			G 0 1 N 27/62
			V

(31)優先権主張番号 61/576,471

(32)優先日 平成23年12月16日(2011.12.16)

(33)優先権主張国 米国(US)

- (72)発明者 エスミュ, ウイリアム・ラメシユチャンドラ・クリシュナ
イギリス国、ケンブリッジシャー・シー・ビー・5・8・キュー・キュー、ケンブリッジ、デイトン・フィールズ・97
- (72)発明者 ロック, クリストファー・ジエームズ
イギリス国、ケンブリッジシャー・シー・ビー・25・0・デー・テイー、ケンブリッジ、パーウエル、ムートン・クローズ・10
- (72)発明者 マラグ, カトリーヌ・ファビエンヌ
イギリス国、エセツクス・シー・ビー・10・2・イー・キュー、サフラン・ウエルデン、ドッデンヒル・クローズ・10
- (72)発明者 オーエンズ, アンドリユー・ペイト
イギリス国、ケンブリッジシャー・ビー・イー・28・0・エイ・ダブリュ、ハンティンドン、エリントン・スロープ、グラフハム・ロード、ウツドラング
- (72)発明者 ハート, ウイリアム・エドワード
アメリカ合衆国、カリフォルニア・93021、ムアパーク、ローレルビュー・ドライブ・4225

審査官 伊藤 幸司

- (56)参考文献 国際公開第2003/080616(WO, A1)
米国特許第07390808(US, B1)
米国特許第07812166(US, B1)
米国特許出願公開第2008/0194562(US, A1)
米国特許出願公開第2010/0029610(US, A1)
国際公開第2009/039420(WO, A1)
国際公開第2010/046013(WO, A1)
国際公開第2007/075911(WO, A1)
特表2008-527031(JP, A)
特表2011-503103(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D
A 6 1 K
CAplus/REGISTRY(STN)