

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6023204号
(P6023204)

(45) 発行日 平成28年11月9日(2016.11.9)

(24) 登録日 平成28年10月14日(2016.10.14)

(51) Int.Cl.

F 1

C07D 403/12	(2006.01)	C07D 403/12	C S P
A61K 31/506	(2006.01)	A61K 31/506	
A61P 11/00	(2006.01)	A61P 11/00	
A61P 11/06	(2006.01)	A61P 11/06	
A61P 37/08	(2006.01)	A61P 37/08	

請求項の数 18 (全 57 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-532481 (P2014-532481)
 (86) (22) 出願日 平成24年10月3日 (2012.10.3)
 (65) 公表番号 特表2014-528403 (P2014-528403A)
 (43) 公表日 平成26年10月27日 (2014.10.27)
 (86) 國際出願番号 PCT/GB2012/052444
 (87) 國際公開番号 WO2013/050756
 (87) 國際公開日 平成25年4月11日 (2013.4.11)
 審査請求日 平成27年8月20日 (2015.8.20)
 (31) 優先権主張番号 11183688.8
 (32) 優先日 平成23年10月3日 (2011.10.3)
 (33) 優先権主張国 歐州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 511079148
 レスピバート・リミテツド
 イギリス・バツキンガムシャー エイチピ
 -12 4イージー・ハイワイクーム・ホ
 ルマーズファームウエイ50-100
 (74) 代理人 110000741
 特許業務法人小田島特許事務所
 (72) 発明者 キングーアンダーウッド, ジヨン
 イギリス・ウスター・ジーエル19
 3ビーダブリュー・ペンドツク・スク
 ルレーン・ムーレンドコテージ

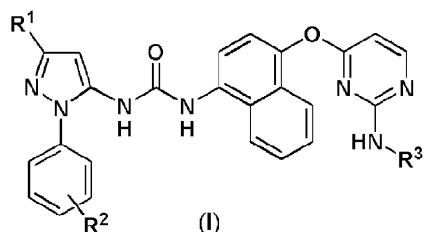
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 p 3 i MAP キナーゼ阻害剤としての 1-ピラゾリル-3-(4-(2-アニリノピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

その全部の立体異性体および互変異性体を包含する、式(I)の化合物
 【化1】



10

ここで：

R¹はC₁₋₁₀アルキル、C₃₋₁₀シクロアルキル若しくはハロ置換C₁₋₁₀アルキルを表し、
 R²は水素、ヒドロキシル、ハロゲン、C₁₋₆アルキル若しくはC₁₋₆アルコキシを表し、
 R³は、ヒドロキシル、ハロゲン、C₁₋₆アルキルおよびC₁₋₆アルコキシから独立に選択
 される1ないし3置換基で場合によっては置換されているフェニルを表す、
 またはその製薬学的に許容できる塩。

【請求項 2】

R¹がt-ブチルを表す、請求項1に記載の化合物。

20

【請求項 3】

R²がメタ若しくはパラ置換基である、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

R²がパラ置換基である、請求項 3 に記載の化合物。

【請求項 5】

R²が水素、メチル、メトキシ若しくはヒドロキシルを表す、請求項 1 ないし4のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 6】

R²がメチル若しくはメトキシを表す、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

R²がメチルを表す、請求項 6 に記載の化合物。

10

【請求項 8】

R³が未置換フェニルを表す、請求項 1 ないし7のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 9】

R³が、メチル、エチル、イソプロピル、ヒドロキシル、メトキシ、フルオロ若しくはクロロから独立に選択される 1 ないし 3 置換基を担持するフェニルを表す、請求項 1 ないし8のいずれか 1 つに記載の化合物。

【請求項 10】

R³のフェニルが、パラ位に水素を有するか、またはそれがパラ位に 1 置換基を担持する場合前記置換基がメチル、ヒドロキシル、メトキシ、フルオロ若しくはクロロから選択されるかのいずれかである、請求項 1 ないし9のいずれか 1 つに記載の化合物。

20

【請求項 11】

その全部の立体異性体および互変異性体を包含する、

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - (2 - (フェニルアミノ) ピリミジン - 4 - イルオキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - ((2 - ((3 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

30

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) - 3 - (4 - ((2 - (フェニルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - ((2 - ((2 - フルオロフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - ((2 - ((2 - メトキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - ((2 - ((2 - クロロフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

40

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (4 - メトキシフェニル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) - 3 - (4 - ((2 - (フェニルアミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - ((2 - ((2 , 4 - ジメトキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
3 - (4 - ((2 - ((4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素；

50

- イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 , 4 - ジメトキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル)
 オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 - クロロ - 4 - メトキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 -
 イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン -
 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン -
 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((2 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 -
 イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ; および
 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (4 - メトキシフェニル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル)
 オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ; および
 ならびにそれらのいずれか 1 つの製薬学的に許容できる塩
 よりなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 12】

1 種若しくはそれ以上の製薬学的に許容できる希釈剤若しくは担体と組合せられた請求項 1 ないし 1 1 のいずれか 1 つに記載の化合物を含んでなる製薬学的組成物。

【請求項 13】

医薬品としての使用のための請求項 1 ないし 1 1 のいずれか 1 つに記載の式 (I) の化合物。

【請求項 14】

COPD (慢性気管支炎および肺気腫を包含する) 、喘息、小児喘息、囊胞性線維症、
 サルコイドーシス、特発性肺線維症、アレルギー性鼻炎、鼻炎、副鼻腔炎、アレルギー性
 結膜炎、結膜炎、アレルギー性皮膚炎、接触皮膚炎、乾癬、潰瘍性大腸炎、慢性関節リウ
 マチ若しくは変形性関節症に二次的な炎症部関節、慢性関節リウマチ、膵炎、悪液質から
 選択される状態の処置若しくは予防、非小細胞肺癌、乳癌、胃癌、結腸直腸癌および悪性
 メラノーマを包含する腫瘍の増殖および転移の阻害における使用のための、請求項 1 2 に
 記載の製薬学的組成物。

【請求項 15】

COPD (慢性気管支炎および肺気腫を包含する) 、喘息、小児喘息、囊胞性線維症、
 サルコイドーシス、特発性肺線維症、アレルギー性鼻炎、鼻炎、副鼻腔炎、肺高血圧症、
 アレルギー性結膜炎、結膜炎、アレルギー性皮膚炎、接触皮膚炎、乾癬、潰瘍性大腸炎、
 慢性関節リウマチ若しくは変形性関節症に二次的な炎症部関節、慢性関節リウマチ、膵炎
 、悪液質から選択される状態の処置若しくは予防、非小細胞肺癌、乳癌、胃癌、結腸直腸
 癌および悪性メラノーマを包含する腫瘍の増殖および転移の阻害のための医薬品の製造の
 ための、請求項 1 2 に記載の製薬学的組成物の使用。

【請求項 16】

うつ血性心不全、糖尿病および癌からなる群から選択される慢性状態を伴う患者、若しくは免疫抑制された患者における呼吸器ウイルス感染症の処置若しくは予防における使
 用のための、抗ウイルス治療と組合せの、請求項 1 2 に記載の製薬学的組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

うっ血性心不全、糖尿病および癌からなる群から選択される慢性状態を伴う患者、若しくは免疫抑制された患者における、呼吸器ウイルス感染症の処置若しくは予防における使用のための、請求項12に記載の製薬学的組成物。

【請求項 18】

ステロイド、刺激薬、キサンチン、抗コリン薬および抗ウイルス薬：から選択される1またはそれ以上の他の有効成分との組み合わせでの呼吸障害の処置における使用のための、請求項12に記載の製薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】**

10

【0001】

本発明はp38マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ酵素例えばそれらの およびキナーゼサブタイプのファミリーの阻害剤（本明細書でp38 MAPキナーゼ阻害剤と称される）である化合物、ならびに、とりわけ炎症性疾患、具体的には喘息およびCOPDのような肺の炎症性疾患、ならびに潰瘍性大腸炎およびクローン病のような消化管ならびにブドウ膜炎のような眼のものの処置における製薬学的組合せを包含する治療におけるそれらの使用に関する。

【背景技術】**【0002】**

4種のp38 MAPKアイソフォーム（それぞれ 、 、 および ）が同定されており、それぞれヒトにおいて異なるパターンの組織発現を表す。p38 MAPK および アイソフォームは体内に遍在して見出され、多くの異なる細胞型に存在している。アイソフォームは炎症におけるその役割に関して十分に特徴づけられている。マウスにおける化学的遺伝的アプローチを使用する研究が、p38 MAPK アイソフォームが炎症である役割を演じないことを示している（非特許文献1）とは言え、それはCOX2発現の制御により疼痛の機序に関与しうる（非特許文献2）。これらのアイソフォームは多数の以前に記述された小分子量化合物により阻害される。初期の分類の阻害剤は、該化合物の複数のオフターゲット効果をもたらしたこれらのアイソフォームの広範な組織分布により高度に毒性であった。さらに、相当な数の阻害剤の開発が臨床試験における許容できない安全性プロファイルにより中断された（非特許文献3）。これらの副作用は化学型とともに変動し、そして該化合物は際立ったキナーゼ選択性パターンを有するため、観察される毒性はp38機序に基づくよりはむしろ構造関連でありうる。

20

【0003】

p38 MAPK および アイソフォームについてより少なく知られており、それらは および イソ酵素と異なり特定の組織および細胞中で発現される。p38 MAPK - アイソフォームは臍、精巣、肺、小腸および腎でより高度に発現される。それはまたマクロファージ中で豊富であり、そして好中球、CD4+ T細胞および内皮細胞中で検出可能である（非特許文献4；非特許文献5；非特許文献6；非特許文献7）。p38 MAPK の分布についてほとんど知られていないとは言え、それは脳、骨格筋および心ならびにリンパ球およびマクロファージ中でより高度に発現される（非特許文献4；非特許文献6；非特許文献8；非特許文献9）。

30

【0004】

p38 MAPK および p38 MAPK の選択的小分子阻害剤は現在利用可能でないとは言え、1つの以前に開示された化合物BIRB 796が汎アイソフォーム阻害活性を保有することが知られている。p38 MAPK および アイソフォームの阻害は、p38 MAPK および p38 を阻害するのに必要とされるものより高濃度の化合物で観察される（非特許文献10）。加えて、BIRB 796は上流のキナーゼMKK6若しくはMKK4によるp38 MAPK若しくはJNKのリン酸化もまた損なった。Kumadaは、MAPKタンパク質への該阻害剤の結合により引き起こされるコンホーメーション変化がそのリン酸化部位および上流の活性化因子のドッキング部位の構造

40

50

に影響を及ぼしてそれにより p 3 8 MAPK 若しくは JNK のリン酸化を損なうかもしれない可能性を論考した。

【 0 0 0 5 】

p 3 8 MAPK キナーゼはヒト疾患、例えば重度喘息および COPD における慢性の持続性炎症の開始および維持に関するシグナル伝達経路の多くで中枢的役割を演じていると考えられている（非特許文献 11）。現在、p 3 8 MAPK キナーゼが広範な炎症前サイトカインにより活性化されること、ならびにその活性化が付加的な炎症前サイトカインの補充および放出をもたらすことを示す豊富な文献が存在する。事実、いくつかの臨床研究からのデータは、p 3 8 MAPK キナーゼ阻害剤での処置中の患者における疾患活動性の有益な変化を示している。例えば、Smith はヒト PBMC からの TNF （しかし IL-8 ではない）放出に対する p 3 8 MAPK キナーゼ阻害剤の阻害効果を記述している。
10

【 0 0 0 6 】

慢性閉塞性肺疾患（COPD）の処置における p 3 8 MAPK の阻害剤の使用もまた提案されている。p 3 8 MAPK / に標的を定められた小分子阻害剤が、全身性にコルチコステロイド非感受性である COPD を伴う患者から得られた細胞および組織（非特許文献 5）ならびに多様な in vivo 動物モデル（非特許文献 12；非特許文献 13）における炎症の多様なパラメータの低下において有効であることが判明した。Irusen らもまた、核中のグルココルチコイド受容体（GR）の結合親和性の低下を介するコルチコステロイド非感受性との p 3 8 MAPK / の可能な関与を示唆している（非特許文献 14）。AMG 548、BIRB 796、VX 702、SCIO 469 および SCIO 323 を包含する広範な p 3 8 MAPK キナーゼ阻害剤での臨床経験が記述されている（非特許文献 15）。

【 0 0 0 7 】

COPD は、基礎的炎症が吸入コルチコステロイドの抗炎症効果に対し実質的に抵抗性であることが報告されている状態である。結果、COPD を処置するための優れた一戦略は、固有の抗炎症効果および吸入コルチコステロイドに対する COPD 患者の肺組織の感受性を増大させる能力の双方を有する介入を開発することであるとみられる。Mercadó の最近の刊行物（非特許文献 16）は、p 3 8 MAPK を発現停止することがコルチコステロイドに対する感受性を復帰させる可能性を有することを示している。結果、COPD および重度喘息の処置のための p 3 8 MAPK キナーゼ阻害剤の使用において患者に対する二重の利益が存在するかもしれない。しかしながら、ヒト慢性炎症性疾患の処置における p 3 8 MAPK キナーゼ阻害剤の利用性を妨げる主要な障害は、とりわけ上に挙げられた全部のものを包含する多くの化合物の臨床開発からの撤退をもたらす患者で観察される重度毒性であった。
30

【 0 0 0 8 】

喘息若しくは COPD と診断される多くの患者は、入院をもたらし得る制御されない症状および彼らの医学的状態の悪化に苦しめられることを継続する。これは、吸入コルチコステロイドおよび長時間作用型 刺激薬の組合せ製品より構成する最も進歩した現在利用可能な処置レジメンの使用にも拘わらず起こる。過去 10 年にわたり蓄積されたデータは、肺の疾患の基礎炎症成分を効果的に管理することの失敗は悪化が起こる最もありそうな理由であることを示す。抗炎症薬としてのコルチコステロイドおよび具体的には喘息の処置における吸入コルチコステロイドの確立された有効性を考えれば、これらの知見は真剣な検討を惹起した。生じる研究は、数種の環境刺激が患者の肺においてコルチコステロイド非感受性の炎症性の変化を引き起こすことを同定した。一例はウイルス媒介性の上気道感染症（URT I）から生じる反応であり、これは喘息および COPD に伴う罹病率の増大において特別の意義を有する。
40

【 0 0 0 9 】

疫学調査は、上気道のウイルス感染症と、慢性呼吸器疾患と既に診断されている患者により苦しまれる相当の比率の悪化の間の強い関連を示した。この点に関して最も説得力の
50

あるデータのいくつかは喘息に苦しめられる小児の縦断研究に由来する（非特許文献 17）。多様な付加的な研究が、ウイルス感染症が悪化に参画しつつ疾患の重症度を増大させ得るという結論を裏付けている。例えば、ライノウイルスへの実験的臨床感染が、コルチコステロイドでの処置に不応性である喘息患者においてヒスタミンに対する気管支の応答性亢進を引き起こすことが報告されている（非特許文献 18）。さらなる証拠は、囊胞性線維症を伴う患者における疾患悪化と HRV 感染の間の観察される関連に由来する（非特許文献 19）。また、この多数のデータと矛盾しないのは、ライノウイルスを包含する呼吸器ウイルス感染が小児の肺移植レシピエントでの 12か月生存率と逆相関する独立した危険因子を表すという知見である（非特許文献 20）。

【0010】

10

臨床研究は、ウイルス量が観察される症状および合併症、ならびに暗に炎症の重症度に比例することを示している。例えば、実験的ライノウイルス感染後に、下気道の症状および気管支応答性亢進がウイルス量と有意に相關した（非特許文献 21）。同様に、他のウイルス病原体の非存在下で、ライノウイルス感染は一般に、ウイルス量が免疫適格性の小児患者で高かった場合に下気道感染症および喘鳴と関連した（非特許文献 22）。

【0011】

20

興味深いことに、ライノウイルスへの以前の曝露がヒト肺胞マクロファージ中の細菌産物により誘起されるサイトカイン応答を低下させたことが最近報告されている（非特許文献 23）。加えて、鼻上皮細胞のライノウイルスへの感染が、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) およびインフルエンザ菌 (H. influenzae) を包含する細菌の接着を促進することが報告された（非特許文献 24）。こうした細胞性効果が、上気道の感染後に下気道感染症に苦しむ患者の増大される確率に寄与しうる。従って、臨床の状況でそれらの利益の代理予測因子としての多様な *in vitro* 系におけるウイルス量を減少させる新規介入の能力に集中することが治療上適切である。

【0012】

30

上気道のライノウイルス感染が重度の二次的合併症につながり得る高リスク群は慢性呼吸器疾患を伴う患者に制限されない。彼らは、例えば、下気道感染症になりやすい免疫が損なわれた者、ならびに急性の生命を脅かす発熱に直面している化学療法を受けている患者を包含する。糖尿病のような他の慢性疾患が損なわれた免疫防御応答と関連することもまた示唆されている。これは、気道感染症を獲得するおよび結果として入院するの双方の見込みを増大させる（非特許文献 25；非特許文献 26）。

【0013】

40

上気道ウイルス感染症は基礎疾患若しくは他の危険因子をもつ患者においてかなりの罹病および死亡の原因である一方；それらはまた、一般集団におけるかなりの健康上の負担を表し、かつ、学校の欠席日数および職場での損失時間の主原因でもある（非特許文献 27）。これらの考慮事項は、現在の治療を上回る改良された有効性を保有する新規医薬品がライノウイルス媒介性の上気道感染症を予防および処置するために緊急に必要とされることを明確にする。一般に、改良された抗ウイルス薬の発見に採用される戦略は、治療的介入の点として該ウイルスにより產生される多様なタンパク質を標的とした。しかしながら、広範なライノウイルス血清型は、これを、追跡するためのとりわけ困難なアプローチにしており、そして、現時点で、ライノウイルス感染症の予防および処置のための医薬品がなぜいずれかの規制当局により未だ承認されなければならないかを説明しうる。

【0014】

50

宿主細胞へのウイルス進入は、炎症過程（非特許文献 28 により総説される）ならびにウイルスの増殖およびその後の放出の開始において顕著な役割を演じていると考えられる多数の細胞内シグナル伝達経路の活性化を伴う。*in vitro* のインフルエンザウイルス増殖においてある役割を演じていることが確認された 1 つのこうした機序は、ホスホイノシチド 3 - キナーゼ / Akt 経路の活性化である。このシグナル伝達経路がウイルスの NS1 タンパク質により活性化されること（非特許文献 29）およびその阻害が子孫ウイルスの力値を低下させること（非特許文献 30）が報告されている。

【0015】

さらに、M E K 阻害剤 U 0 1 2 6 が該ウイルスの耐性バリアントの出現を導き出すことなくウイルス増殖を阻害することが報告されている（非特許文献 3 1）。より最近、S y k キナーゼの阻害を標的とする研究が、該酵素が細胞へのライノウイルスの進入およびまた I C A M - 1 上方制御を包含するウイルス誘発性炎症反応の媒介において重要な役割を演じていることを示した（非特許文献 3 2）。S y k 活性が H R V 感染における上流のキナーゼとしての c - S r c により制御されることが報告されている（非特許文献 3 3）。細胞の S r c (S r c 1 若しくは p 6 0 - S r c) または S r c ファミリーキナーゼの活性化をウイルスへの感染に結び付ける少数の研究が出現した。これらは、アデノウイルスが c - S r c 依存性の機序により A k t の P I 3 キナーゼ媒介性の活性化を導き出すという報告を包含する。上皮細胞におけるライノウイルス 3 9 誘発性の I L - 8 産生が S r c キナーゼ活性化に依存することもまた示唆されている（非特許文献 3 4）。最後に、S r c キナーゼの活性化が上皮細胞および粘膜下腺中のライノウイルス 1 4 によるムチン産生の誘導に関与していることが提案されている（非特許文献 3 5）。

【0016】

c - S r c および S y k 双方のキナーゼの活性を阻害する化合物がライノウイルス複製に対し有効な化合物であること（特許文献 1）、および p 5 9 - H C K を阻害する化合物がインフルエンザウイルス複製に対し有効であること（特許文献 2）が以前に開示されている。上に要約される理由から、これらの固有の特性を p 3 8 MAPK の阻害と組み合わせる慢性呼吸器疾患を処置するよう設計された化合物がとりわけ有効であることが期待される。

【0017】

ある種の p 3 8 MAPK 阻害剤が R S ウィルスの複製の阻害剤としてもまた記述されている（特許文献 3）。

【0018】

さらに、p 3 8 MAPK 阻害剤が、4 週の処置経過にわたり持続されなかった 1 週の処置後に I B D を伴う患者のための利益を届けることが見出されたことは注目に値する（非特許文献 3 6）。

【0019】

炎症前経路の活性を制御する細胞シグナル伝達事象における重要な役割を演じることに加え、キナーゼ酵素は広範な細胞機能の活性を調節することもまた今や認識されている。最近論考されたもののなかに、D N A の完全性の維持（非特許文献 3 7）および細胞分裂の複雑な過程の協調がある。最近の知見の 1 つの具体的説明は、in vitroでの小核形成の頻度に対するいわゆる「O l a h a r s k y キナーゼ」に作用する一組の阻害剤の影響を記述する刊行物である（非特許文献 3 8）。小核形成は有糸分裂過程の破壊に関与され若しくはこれを伴い、そして従って潜在的毒性の望ましくない明示である。グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 (G S K 3) の阻害が、小核形成を促進するキナーゼ阻害剤の見込みを増大させるとりわけ重要な因子であることが見出された。最近、R N A i でのキナーゼ G S K 3 の阻害が小核形成を促進することもまた報告された（非特許文献 3 9）。

【0020】

用量の最適化および／若しくは投与経路を変更することにより G S K 3 のような O l a h a r s k y キナーゼとの薬物の相互作用から生じる副作用を弱めることができて有利である。しかしながら、これらのオフターゲット酵素に対する低い若しくは検出できない活性を示しあつ結果として有糸分裂アッセイで測定されるところの有糸分裂過程の破壊をほとんど若しくは全く導き出さない治療上有用な分子を同定することが、より有利であるとみられる。

【0021】

現在利用可能な処置を上回る改良された治療的潜在能力を有する新たな p 3 8 MAP キナーゼ阻害剤を同定および開発することの必要性が存続していることが、上で引用され

10

20

30

40

50

る文献の考慮から明白である。望ましい化合物は、従来の剤と少なくとも等しく有効な効果を発揮することにより優れた治療指数を表すが、しかし1つ若しくはそれ以上の点において適切な治療用量でより少なく毒性であるものである。本発明の一目的は、従って、好ましくはS y k キナーゼおよびS r c ファミリー内のチロシンキナーゼ（具体的にはc - S r c ）と一緒にになって例えばある種のサブタイプ特異性をもつp 3 8 MAP キナーゼの酵素活性を阻害して、それにより良好な抗炎症特性を保有しかつ治療での使用に適するような新規化合物を提供することである。

【0 0 2 2】

本明細書に開示される本発明の1若しくはそれ以上の態様において、式（I）の化合物は、以前に開示されたアロステリックp 3 8 MAP キナーゼ阻害剤B I R B 7 9 6（非特許文献40）に比較してより長い作用持続時間および／若しくは作用持続性を表す。 10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0 0 2 3】

【特許文献1】Charron, C. E. ら、第WO 2 0 1 1 / 1 5 8 0 4 2号明細書

【特許文献2】Charron, C. E. ら、第WO 2 0 1 1 / 0 7 0 3 6 9号明細書

【特許文献3】Cass, L. ら、第WO 2 0 1 1 / 1 5 8 0 3 9号明細書

【非特許文献】

【0 0 2 4】

【非特許文献1】O'Keefe, S. J. ら、J. Biol. Chem., 2 0 0 7, 2 8 2 (48) : 3 4 6 6 3 - 7 1

【非特許文献2】Fitzsimmons, B. L. ら、Neuroreport, 2 0 1 0, 2 1 (4) : 3 1 3 - 7

【非特許文献3】Pettus, L. H. とWurz, R. P. 、Curr. Top. Med. Chem., 2 0 0 8, 8 (16) : 1 4 5 2 - 6 7

【非特許文献4】Shmueli, O. ら、Comptes Rendus Biologie, 2 0 0 3, 3 2 6 (10 - 11) : 1 0 6 7 - 1 0 7 2

【非特許文献5】Smith, S. J. Br. J. Pharmacol., 2 0 0 6, 1 4 9 : 3 9 3 - 4 0 4

【非特許文献6】Hale, K. K. 、J. Immunol., 1 9 9 9, 1 6 2 (7) : 4 2 4 6 - 5 2

【非特許文献7】Wang, X. S. ら、J. Biol. Chem., 1 9 9 7, 2 7 2 (38) : 2 3 6 6 8 - 2 3 6 7 4

【非特許文献8】Court, N. W. ら、J. Mol. Cell. Cardiol., 2 0 0 2, 3 4 (4) : 4 1 3 - 2 6

【非特許文献9】Mertens, S. ら、FEBS Lett., 1 9 9 6, 3 8 3 (3) : 2 7 3 - 6

【非特許文献10】Kuma, Y. 、J. Biol. Chem., 2 0 0 5, 2 8 0 : 1 9 4 7 2 - 1 9 4 7 9

【非特許文献11】Chung, F. 、Chest, 2 0 1 1, 1 3 9 (6) : 1 4 7 0 - 1 4 7 9

【非特許文献12】Underwood, D. C. ら、Am. J. Physiol., 2 0 0 0, 2 7 9 : L 8 9 5 - 9 0 2

【非特許文献13】Nath, P. ら、Eur. J. Pharmacol., 2 0 0 6, 5 4 4 : 1 6 0 - 1 6 7

【非特許文献14】Irusen, E. ら、J. Allergy Clin. Immunol., 2 0 0 2, 1 0 9 : 6 4 9 - 6 5 7

【非特許文献15】Lee, M. R. とDominguez, C. 、Current Med. Chem., 2 0 0 5, 1 2 : 2 9 7 9 - 2 9 9 4

【非特許文献16】Mercado, N. ら、Mol. Pharmacol., 2 0 1 1 50

- 、80(6):1128-1135
- 【非特許文献17】Papadopoulos, N. G., Papi, A., Psarras, S. と Johnston, S. L. 、 Paediatr. Respir. Rev., 2004, 5(3): 255-260
- 【非特許文献18】Grunberg, K., Sharon, R. F. ら、 Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2001, 164(10): 1816-1822
- 【非特許文献19】Wat, D., Gelder, C. ら、 J. Cyst. Fibros., 2008, 7: 320-328
- 【非特許文献20】Liu, M., Worley, S. ら、 Transpl. Infect. Dis., 2009, 11(4): 304-312 10
- 【非特許文献21】Message, S. D., Lazza-Stanca, V. ら、 PNAS, 2008; 105(36): 13562-13567
- 【非特許文献22】Gerna, G., Piralla, A. ら、 J. Med. Virol., 2009, 81(8): 1498-1507
- 【非特許文献23】Oliver, B. G., Lim, S. ら、 Thorax, 2008, 63: 519-525
- 【非特許文献24】Wang, J. H., Kwon, H. J. と Yong, J. J. 、 The Laryngoscope, 2009, 119(7): 1406-1411
- 【非特許文献25】Peleg, A. Y., Weerarathna, T. ら、 Diabetes Metab. Res. Rev., 2007, 23(1): 3-13 20
- 【非特許文献26】Kornum, J. B., Reimann, W. ら、 Diabetes Care, 2008, 31(8): 1541-1545
- 【非特許文献27】Rollinger, J. M. と Schmidtke, M. 、 Med. Res. Rev., 2010, DOI 10.1002/med.20176
- 【非特許文献28】Ludwig, S. 2007; Signal Transduction, 7: 81-88
- 【非特許文献29】Shin, Y. K., Liu, Q. ら、 J. Gen. Virol., 2007, 88: 13-18
- 【非特許文献30】Ehrhardt, C., Marjuki, H. ら、 Cell Microbiol., 2006, 8: 1336-1348 30
- 【非特許文献31】Ludwig, S., Wolff, T. ら、 FEBS Lett., 2004, 561(1-3): 37-43
- 【非特許文献32】Sanderson, M. P., Lau, C. W. ら、 Inflamm. Allergy Drug Targets, 2009, 8: 87-95
- 【非特許文献33】Lau, C. ら、 J. Immunol., 2008, 180(2): 870-880
- 【非特許文献34】Bentley, J. K., Newcomb, D. C. 、 J. Virol., 2007, 81: 1186-1194
- 【非特許文献35】Inoue, D. と Yamaya, M. 、 Respir. Physiol. Neurobiol., 2006, 154(3): 484-499 40
- 【非特許文献36】Schreiber, S. ら、 Clin. Gastro. Hepatology, 2006, 4: 325-334
- 【非特許文献37】Shillo, Y. Nature Reviews Cancer, 2003, 3: 155-168
- 【非特許文献38】Olaharsky, A. J. ら、 PLoS Comput. Biol., 2009, 5(7): e1000446
- 【非特許文献39】Tighe, A. ら、 BMC Cell Biology, 2007, 8: 34
- 【非特許文献40】Pargellis, C. ら、 Nature Struct. Bio 50

1 . 、 2 0 0 2 、 9 (4) : 2 6 8 - 2 7 2

【発明の概要】

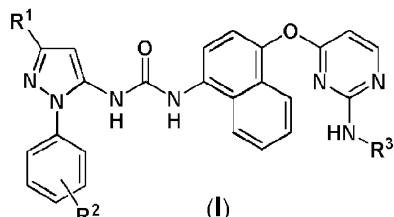
【0025】

【発明の要約】

従つて、本発明の一局面において、その全部の立体異性体および互変異性体を包含する式(I)の化合物：

【0026】

【化1】



10

【0027】

ここで：

R¹はC₁₋₁₀アルキル、C₃₋₁₀シクロアルキル若しくはハロ置換C₁₋₁₀アルキルを表し、R²は水素、ヒドロキシリ、ハロゲン、C₁₋₆アルキル若しくはC₁₋₆アルコキシを表し、R³は、ヒドロキシリ、ハロゲン、C₁₋₆アルキルおよびC₁₋₆アルコキシから独立に選択される1ないし3置換基で場合によっては置換されているフェニルを表す、

20

またはその製薬学的に許容できる塩若しくは溶媒和物が提供される。

【発明を実施するための形態】

【0028】

【発明の詳細な記述】

本明細書で使用されるところのアルキルは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、n-ブチルおよびt e r t - ブチルを制限なしに挙げることができる直鎖若しくは分枝状鎖アルキルを指す。一態様において、アルキルは直鎖アルキルを指す。

30

【0029】

本明細書で使用されるところのアルコキシは直鎖若しくは分枝状鎖アルコキシ、例えばメトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシを指す。本明細書で使用されるところのアルコキシは、酸素原子がアルキル鎖内に配置されている態様、例えば-C H₂C H₂O C H₃若しくは-C H₂O C H₃のような-C₁₋₃アルキルO C₁₋₃アルキルにもまた広がる。従つて、一態様において、アルコキシは炭素により分子の残部に連結されている。一態様において、アルコキシは酸素により分子の残部に連結されている（例えば-O C₁₋₆アルキル）。一態様において該開示は直鎖アルコキシに関する。

【0030】

ハロゲンは、フルオロ、クロロ、ブロモ若しくはヨード、とりわけフルオロ、クロロ若しくはブロモ、とりわけフルオロ若しくはクロロを包含する。

40

【0031】

本明細書で使用されるところのハロにより置換されているアルキルは、ハロアルキル、具体的にはパーフルオロアルキル、より具体的には-C F₂C F₃若しくはC F₃のような1ないし6個のハロゲン原子、例えば1ないし5個のハロゲンを有するアルキル基を指す。

【0032】

C₁₋₁₀アルキルはC₂、C₃、C₄、C₅、C₆、C₇、C₈若しくはC₉ならびにC₁およびC₁₀を包含する。

【0033】

一態様において、R¹はt - ブチルである。

50

【0034】

一態様において、R²はメタ若しくはパラ置換基、とりわけパラ置換基を表す。

【0035】

一態様において、R²は水素、メチル、メトキシ若しくはヒドロキシル、例えばメチルのようなメチル若しくはメトキシを表す。

【0036】

一態様においてR³は未置換フェニルを表す。

【0037】

一態様において、R³は、メチル、ヒドロキシル、メトキシ若しくはクロロから独立に選択されるようなメチル、エチル、イソプロピル、ヒドロキシル、メトキシ、エトキシ、フルオロ若しくはクロロから独立に選択される1ないし3置換基を担持するフェニルを表す。10

【0038】

一態様において、R³のフェニルは1置換基を担持する。該選択される置換基は、例えば、3若しくは4位例えれば4位のような2、3若しくは4位に位置しうる。

【0039】

一態様において、R³のフェニルは例えれば3、4位に配置される2置換基を担持する。別の態様において、該2置換基は2、4位に位置しうる。別の態様において、該2置換基は2、5位に位置しうる。

【0040】

二置換フェニルの例は、2,4-ジメトキシ、2,5-ジメチル、2-メチル-4-クロロ、2-メチル-4-ヒドロキシル、3-メトキシ-4-ヒドロキシル、3-ヒドロキシル-4-メチル、3,4-ジメトキシ、3-クロロ-4-メトキシ、3-フルオロ-4-ヒドロキシル、2-フルオロ-4-ヒドロキシル、2-クロロ-4-ヒドロキシルおよび2,4-ジヒドロキシルを包含する。20

【0041】

一態様において、R³のフェニルは、パラ位に水素を有するか、またはそれがパラ位に1置換基を担持する場合、前記置換基はメチル、ヒドロキシル、メトキシ、フルオロ若しくはクロロから選択されるかのいずれかである。

【0042】

式(I)の例示的化合物は、

それらの全部の立体異性体および互変異性体を包含する、

1-(3-(tert-ブチル)-1-(p-トリル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-(4-(2-(フェニルアミノ)ピリミジン-4-イルオキシ)ナフタレン-1-イル)尿素；

1-(3-(tert-ブチル)-1-(p-トリル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(3-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素；

1-(3-(tert-ブチル)-1-(4-ヒドロキシフェニル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(フェニルアミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素；40

1-(3-(tert-ブチル)-1-(p-トリル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(フルオロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素；

1-(3-(tert-ブチル)-1-(p-トリル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素；

1-(3-(tert-ブチル)-1-(p-トリル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(クロロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素；50

) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((4 - ヒドロキシ - 2 - メチルフェニル) アミノ) ピリミジン - 4
 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシフェニル) アミノ) ピリミジン -
 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 - ヒドロキシ - 4 - メチルフェニル) アミノ) ピリミジン - 4
 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 , 4 - ジメトキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル)
 オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 - クロロ - 4 - メトキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 -
 イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((3 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン -
 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン -
 4 - イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((2 - クロロ - 4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 -
 イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) -
 3 - (4 - ((2 - ((2 , 4 - ジヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 - イル
) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ; および
 1 - (3 - (t e r t - ブチル) - 1 - (4 - メトキシフェニル) - 1 H - ピラゾル - 5
 - イル) - 3 - (4 - ((2 - ((4 - ヒドロキシフェニル) アミノ) ピリミジン - 4 -
 イル) オキシ) ナフタレン - 1 - イル) 尿素 ;
 ならびにそれらのいずれか 1 種の製薬学的に許容できる塩および溶媒和物
 よりなる群から選択される。

【 0 0 4 3 】

式 (I) の化合物の塩の例は、制限なしに、H C l および H B r 塩のような強無機酸の
 酸付加塩ならびにメタンスルホン酸のような強有機酸の付加塩のような全部の製薬学的に
 許容できる塩を包含する。

【 0 0 4 4 】

本明細書で下で使用されるところの式 (I) の化合物の定義は、文脈が別の方で特別
 に示さない限り前記化合物の塩、溶媒和物および全部の互変異性体を包含することを意図
 している。溶媒和物の例は水和物を包含する。

【 0 0 4 5 】

本明細書に提供される本発明は、式 (I) の化合物のプロドラッグ、すなわち i n v
 i v o で分解しかつ / 若しくは代謝されて式 (I) の活性の化合物を提供する化合物まで
 広がる。プロドラッグの一般的な例は、単純エステルおよび混合炭酸エステルのような他の
 エステル、カルバメート、グリコシド、エーテル、アセタールおよびケタールを包含する。

【 0 0 4 6 】

本発明のさらなる一局面において、式 (I) の化合物の 1 種若しくはそれ以上の代謝物
 、具体的には式 (I) の化合物の治療活性の 1 種若しくはそれ以上を保持する代謝物が提

10

20

30

40

50

供される。本明細書で使用されるところの代謝物は、制限なしに、酸化代謝物および／若しくは例えばO-脱アルキル化から生成される代謝物のような式(I)の化合物の代謝からin vivoで產生される化合物である。

【0047】

本開示の化合物は、指定される原子が天然に存在する若しくは天然に存在しない同位元素であるものを包含する。一態様において、同位元素は安定同位元素である。従って、本開示の化合物は例えば重水素を含有する化合物などを包含する。

【0048】

本開示は本明細書に定義される化合物の全部の多形にもまた広がる。

【0049】

それにより本発明の化合物実施例を便宜的に製造しうる2種の一般的経路を下に要約する(スキーム1)。

【0050】

従って、式(I)の化合物は、それにより中間体Bにより表されるナフチルアミン前駆体が、対応するアミン前駆体、中間体A(X=H)から製造される中間体A*により表される活性化された親電子誘導体とカップリングされる一般的方法すなわち経路Aにより得ることができる。中間体A*中のフラグメントLG₁はイミダゾリル(C₃H₃N₂)若しくはフェノキシ(C₆H₅O)基のような適する脱離基である。

【0051】

第一の場合、親電子化合物中間体A*はDCMのような非極性非プロトン性溶媒中の対応するアミンのCDIとの反応により得られ、そして便宜的にはRTでその場で生成され、そしてその後中間体Bにより表される化合物と単離を伴わず反応される。第二の場合、必要とされる活性化されたアミン成分は、塩基の存在下に例えばクロロギ酸フェニルのような適するクロロギ酸エステルでのアミン前駆体の処理により生成しうる。該活性化方法は、便宜的には、aq炭酸ナトリウムのような水性塩基を使用しておりかつ二相条件下であるショッテン・バウマン型条件下で実施される。LG₁がアリールオキシ例えばフェノキシである中間体Aにより表される活性化されたアミン誘導体は、場合によってはその場で生成してもまたよく、そしてその後単離を伴わずに中間体Bにより表される化合物と反応されて式(I)の化合物実施例を提供する。

【0052】

加えて、本発明の化合物は、適切なアミン(R³NH₂)と、LG₂がハロゲン例えば塩素原子のような適する脱離基である中間体Cにより表されるピリミジン化合物の間の置換反応を使用して代替合成方法の経路Bにより生成しうる。該反応は、酸性条件下、適する有機溶媒中例えばp-TSAの存在下かつTHF中で進行する。

【0053】

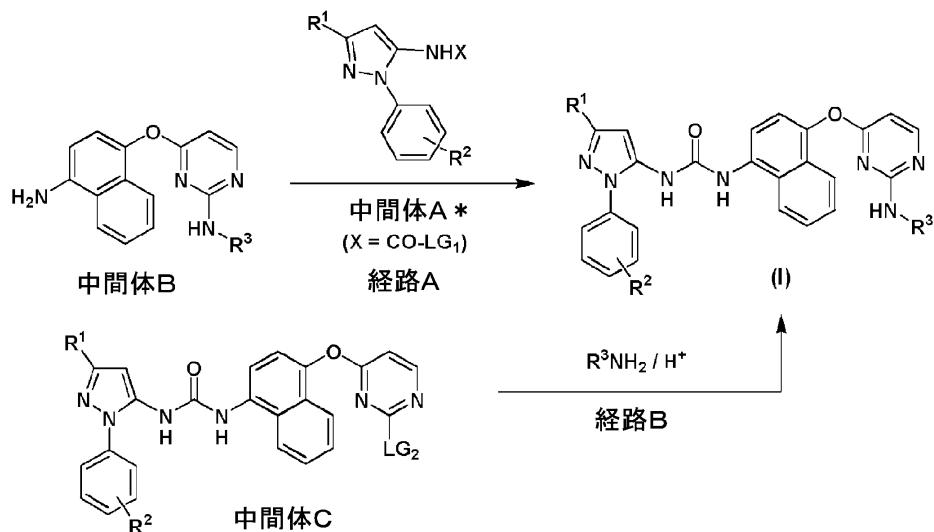
10

20

30

【化2】

スキーム1



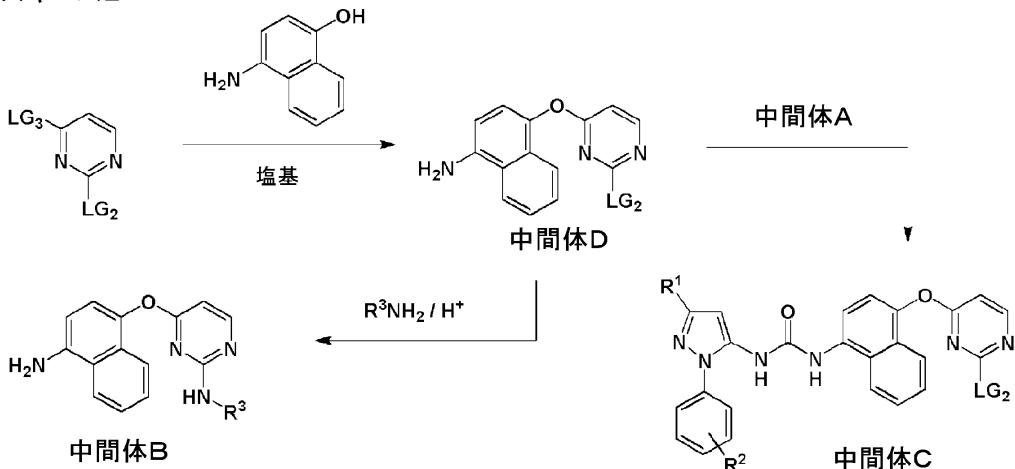
【0054】

中間体Bおよび中間体Cにより表される化合物は、中間体Dにより表される化合物から出発して上で本明細書に記述される同一の2種の変換方法を使用して得ることができる(スキーム2)。

【0055】

【化3】

スキーム2



【0056】

中間体Dにより表される共通の前駆体は、順に、適して官能性化されたピリミジンと、LG₃がハロゲン原子例えは塩素のような脱離基である4 - アミノナフタレン - 1 - オールの間の位置選択的S_NA_r置換反応により容易に製造される。該反応は、便宜的に、トリエチルアミンのような塩基の存在下かつジクロロメタンのような非極性非プロトン性溶媒中で実施される。ピリミジン出発原料は商業的に入手可能であるか、若しくは当該技術分野で十分に確立されている合成プロトコルにより容易に製造されるかのいずれかである。

【0057】

保護基が、上述された反応の1つ若しくはそれ以上の間に化学的に感受性の基を保護し

40

50

て該方法が実施され得かつ／若しくは効率的であることを確實にするために必要とされる。従って、所望の若しくは必要な場合は、中間体化合物を慣習的保護基の使用により保護しうる。保護基およびそれらの除去手段は、Theodora W. GreeneとPeter G. M. Wutsによる“Protective Groups in Organic Synthesis”、John Wiley & Sons Incにより刊行；第4改訂版、2006、ISBN-10: 0471697540に記述されている。

【0058】

本明細書に記述されるところの新規中間体が本発明の一局面を形成する。

【0059】

式(I)の化合物はp38 MAPキナーゼ阻害剤(とりわけサブタイプの)であり、また、一局面において、該化合物は炎症性疾患例えばCOPDおよび／若しくは喘息の処置で有用である。

【0060】

一態様において、式(I)の化合物はGSK-3を強く阻害しない。例えば、それは、2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000若しくは10,000nMまたはそれ以上のような1500nM若しくはそれ以上のGSK-3に対するIC₅₀を有する。

【0061】

本明細書で使用されるところの作用の持続性は、標的(受容体のような)からの該化合物の解離速度若しくは解離定数に関する。低い解離速度は持続性につながりうる。

【0062】

高い会合速度と組合せの低い解離速度は強力な治療実体を提供する傾向がある。

【0063】

式(I)の化合物はin vivoで強力であることが期待される。

【0064】

典型的には、今日までに開発された従来技術の化合物は経口投与を意図している。この戦略は、適切な薬物動態プロファイルによりそれらの作用持続時間を達成する化合物を最適化することを必要とする。これは、臨床的有益性を提供するために十分に高い薬物濃度が確立されかつ投与間で維持されることを確実にする。このアプローチの不可避的結果は、全部の身体組織ならびにとりわけ肝および消化管が、それらが処置されている疾患により悪影響を及ぼされていようといなかろうと、該薬物の治療的有効より上の濃度に曝露されることがありそうであることである。

【0065】

代替の一戦略は、炎症の器官に薬物を直接投与する処置規範(局所治療)を設計することである。このアプローチは全部の慢性炎症性疾患を処置するのに適しているわけではない一方、それは、肺疾患(喘息、COPD)、皮膚疾患(アトピー性皮膚炎および乾癬)、鼻疾患(アレルギー性鼻炎)ならびに胃腸疾患(潰瘍性大腸炎)で広範囲に活用されている。

【0066】

局所治療において、有効性は、(i)該薬物が持続する作用持続時間を持つ適切な器官に保持されて全身毒性の危険性を最小限とすることを確実にすること、若しくは(ii)該薬物の所望の効果を持続するために利用可能である有効成分の「貯蔵所」を生成する製剤を製造すること、のいずれかにり達成し得る。アプローチ(i)は抗コリン薬チオトロピウム(Spiriva)により例示され、それは、COPDの処置として肺に局所投与され、そしてその標的受容体に対する例外的に高い親和性を有して非常に遅いオフ速度および結果としての持続する作用持続時間をもたらす。

【0067】

本開示の一局面において、式(I)の化合物は、とりわけ呼吸器疾患例えばCOPDおよび／若しくは喘息のような慢性呼吸器疾患の処置のための肺への局所送達のような局所

10

20

30

40

50

送達にとりわけ適する。

【0068】

一態様において、式(I)の化合物はこうした処置レジメンに抵抗性となったコルチコステロイドでの処置に対し患者を感作するために適する。

【0069】

式(I)の化合物は慢性関節リウマチの処置にもまた有用でありうる。

【0070】

式(I)の化合物は抗ウイルス特性、例えばピコルナウイルス、具体的にはライノウイルス、インフルエンザ若しくはRSウイルスへの細胞(呼吸器上皮細胞のような)の感染を予防する能力を有しうる。

10

【0071】

従って、該化合物は、ライノウイルス感染症、インフルエンザ若しくはRSウイルスのようなピコルナウイルス感染症の予防、処置若しくは軽減にとりわけ適する抗ウイルス薬であると考えられる。

【0072】

一態様において、式(I)の化合物は、ライノウイルス感染のようなウイルス感染、および具体的にはとりわけ *in vivo* で IL-8 のようなサイトカインの放出をもたらすウイルス感染により誘発される炎症を低減することが可能である。この活性は、例えば、本明細書の実施例に記述されるところのライノウイルス誘発性 IL-8 アッセイを使用して *in vitro* で試験しうる。

20

【0073】

一態様において、式(I)の化合物はとりわけ *in vivo* でライノウイルスにより誘発される ICAM1 発現を低減することが可能である。ICAM1 は細胞を感染させるためにいわゆる主溝(major groove)ライノウイルス血清型により使用される受容体機構である。この活性は例えば本明細書の実施例に記述される方法により測定しうる。

【0074】

上の特性が、式(I)の化合物を、うつ血性心不全、COPD、喘息、糖尿病、癌のような以下の慢性状態の1種若しくはそれ以上を伴う患者、および/または免疫抑制された患者例えば臓器移植後における炎症性疾患の悪化、具体的にはウイルス性の悪化の処置および/若しくは予防における使用にとりわけ適するようにすることができる。

30

【0075】

具体的には、式(I)の化合物は、COPD(慢性気管支炎および肺気腫を包含する)、喘息、小児喘息、囊胞性線維症、サルコイドーシス、特発性肺線維症、アレルギー性鼻炎、鼻炎、副鼻腔炎、とりわけ喘息、ならびに COPD(慢性気管支炎および肺気腫を包含する)を包含する1種若しくはそれ以上の呼吸障害の処置で有用でありうる。

式(I)の化合物は、アレルギー性結膜炎、結膜炎、アレルギー性皮膚炎、接触皮膚炎、乾癬、潰瘍性大腸炎、慢性関節リウマチ若しくは変形性関節症に二次的な炎症部関節を包含する、局所(*topical*)若しくは局所(*local*)治療により処置しうる1種若しくはそれ以上の状態の処置でもまた有用でありうる。

40

【0076】

式(I)の化合物が、慢性関節リウマチ、肺炎、悪液質、成長阻害、ならびに、非小細胞肺癌、乳癌、胃癌、結腸直腸癌および悪性メラノーマを包含する腫瘍の転移を包含するある種の他の状態の処置で有用でありうることもまた期待される。

【0077】

式(I)の化合物は、アレルギー性結膜炎、結膜炎、糖尿病性網膜症、黄斑浮腫(滲出型黄斑浮腫および乾燥型黄斑浮腫を包含する)、白内障術後炎症、若しくはとりわけブドウ膜炎(後方、前方および全ブドウ膜炎)を包含する眼の疾患若しくは障害の処置で有用でありうる。

【0078】

50

式(Ⅰ)の化合物は潰瘍性大腸炎若しくはクローン病を包含する胃腸疾患若しくは障害の処置で有用でありうる。

【0079】

式(Ⅰ)の化合物はまた、患者の状態がそれに対し抵抗性となつた場合にコルチコステロイドでの処置に対し患者の状態を再感作しうる。

【0080】

さらに、本発明は、1種若しくはそれ以上の製薬学的に許容できる希釈剤若しくは担体と場合によっては組合せの本開示の化合物を含んでなる製薬学的組成物を提供する。

【0081】

希釈剤および担体は、非経口、経口、局所、粘膜および直腸投与に適するものを包含し10
うる。

【0082】

上で挙げられたとおり、こうした組成物は、例えば、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内若しくは関節周囲投与のためとりわけ液体の溶液若しくは懸濁液の形態で；経口投与のためとりわけ錠剤若しくはカプセル剤の形態で；局所例えば肺若しくは鼻内投与のためとりわけ粉末、点鼻薬若しくはエアゾルの形態で、および経皮投与；例えば頬側、舌下若しくは腔粘膜への粘膜投与のため、ならびに直腸投与のため例えば坐剤の形態で製造しうる。

【0083】

該組成物は、便宜的には単位剤形で投与することができ、そして例えばRemington's Pharmaceutical Sciences、第17版、Mack Publishing Company、ペンシルバニア州イーストン(1985)に記述されるところの製薬学の技術分野で公知の方法のいずれかにより製造しうる。非経口投とのための製剤は、賦形剤として無菌水若しくは生理的食塩液、プロピレングリコールのようなアルキレングリコール、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化ナフタレンなどを含有しうる。鼻投与のための製剤は固体であることができかつ賦形剤例えば乳糖若しくはデキストランを含有しうるか、または点鼻薬若しくは計量スプレーの形態での使用のため水性若しくは油性溶液でありうる。頬側投とのため、典型的な賦形剤は、糖、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、前ゼラチン化(pregelatinated)デンプンなどを包含する。

【0084】

経口投与に適する組成物は1種若しくはそれ以上の生理学的に適合性の担体および／若しくは賦形剤を含むことができ、そして固体若しくは液体の形態にありうる。錠剤およびカプセル剤は、結合剤例えばシロップ、アカシア、ゼラチン、ソルビトール、トラガカルント若しくはポリビニルピロリドン；乳糖、ショ糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトール若しくはグリシンのような増量剤；ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール若しくはシリカのような滑沢剤；およびラウリル硫酸ナトリウムのような界面活性剤を伴い製造しうる。液体組成物は、懸濁化剤例えばソルビトールシロップ、メチルセルロース、シュガーシロップ、ゼラチン、カルボキシメチルセルロース若しくは可食脂肪；レシチン若しくはアカシアのような乳化剤；アーモンド油、ココナッツ油、タラ肝油若しくはラッカセイ油のような植物油；ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)およびブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)のような保存剤のような慣習的添加物を含有しうる。液体組成物は単位剤形を提供するため例えばゼラチン中に被包化されうる。

【0085】

固体の経口剤形は錠剤、二片ハードシェルカプセルおよびソフト弾性ゼラチン(SEG)カプセルを包含する。

【0086】

ドライシェル(dry shell)製剤は、典型的には、約40%ないし60%w/w濃度のゼラチン、約20%ないし30%濃度の可塑剤(グリセリン、ソルビトール若し50

くはプロピレングリコールのような)および約30%ないし40%濃度の水より構成する。保存剤、色素、乳白剤および香料のような他物質もまた存在しうる。液体充填物質は、鉱物油、植物油、トリグリセリド、グリコール、ポリオールおよび界面活性剤のようなベヒクル若しくはベヒクルの組合せ中に溶解、可溶化若しくは分散(ミツロウ、硬化ヒマシ油若しくはポリエチレングリコール4000のような懸濁化剤で)されている固体薬物または液体薬物を含んでなる。

【0087】

適しては、式(I)の化合物は肺に局所投与される。これゆえに、われわれは、本発明により、1種若しくはそれ以上の局所で許容できる希釈剤若しくは担体と場合によっては組合せの本開示の化合物を含んでなる製薬学的組成物を提供する。肺への局所投与はエアゾル製剤の使用により達成しうる。エアゾル製剤は、典型的には、クロロフルオロカーボン(CFC)若しくはヒドロフルオロカーボン(HFC)のような適するエアゾル噴射剤に懸濁若しくは溶解された有効成分を含んでなる。適するCFC噴射剤は、トリクロロモノフルオロメタン(噴射剤11)、ジクロロテトラフルオロメタン(噴射剤114)およびジクロロジフルオロメタン(噴射剤12)を包含する。適するHFC噴射剤はテトラフルオロエタン(HFC-134a)およびヘプタフルオロプロパン(HFC-227)を包含する。噴射剤は典型的には総吸入組成物の40%ないし99.5%、例えば40%ないし90重量%を含んでなる。該製剤は、補助溶媒(例えばエタノール)および界面活性剤(例えばレシチン、ソルビタントリオレエートなど)を包含する賦形剤を含みうる。エアゾル製剤はキャニスターに包装され、そして適する用量が計量バルブ(例えばBespak、Valois若しくは3Mにより供給されるところの)によって送達される。10

【0088】

肺への局所投与は水性溶液若しくは懸濁液のような加圧されない製剤の使用によってもまた達成しうる。これはネブライザーによって投与しうる。肺への局所投与は乾燥粉末製剤の使用によってもまた達成しうる。乾燥粉末製剤は、典型的には1~10μmの平均空気力学粒子径(mass mean aerodynamic diameter)(MMAD)をもつ微細に分割された形態の本開示の化合物を含有することができる。該製剤は、典型的には、通常は大きな粒子径例えば100μm若しくはそれ以上のMMADの乳糖のような局所で許容できる希釈剤を含有することができる。乾燥粉末送達系の例は、SPINHALER、DISKHALER、TURBOHALER、DISKUSおよびCLICKHALERを包含する。式(I)の化合物は治療活性を有する。さらなる一局面において、本発明は医薬品としての使用のための本開示の化合物を提供する。従って、さらなる一局面において、本発明は上で挙げられた状態の1種若しくはそれ以上の処置での使用のための本明細書に記述されるところの化合物を提供する。20

【0089】

さらなる一局面において、本発明は、上で挙げられた状態の1種若しくはそれ以上の処置のための医薬品の製造のための本明細書に記述されるところの化合物の使用を提供する。30

【0090】

さらなる一局面において、本発明は、有効量の本開示の化合物若しくは該化合物を含んでなる製薬学的組成物を被験体に投与することを含んでなる、上で挙げられた状態の1種若しくはそれ以上の処置方法を提供する。40

【0091】

「処置」という語は予防ならびに治療的処置を包含することを意図している。

【0092】

本開示の化合物は、1種若しくはそれ以上の他の有効成分例えば上で挙げられた状態を処置するのに適する有効成分と組合せでもまた投与しうる。例えば、呼吸障害の処置のための可能な組合せは、ステロイド(例えばブデソニド、ベクロメタゾンプロピオン酸エステル、フルチカゾンプロピオン酸エステル、モメタゾンフロ酸エステル、フルチカゾンフロ酸エステル)、刺激薬(例えばテルブタリン、サルブタモール、サルメテロール、ホ50

ルモテロール) および / 若しくはキサンチン(例えばテオフィリン)との組合せを包含する。他の適する有効成分は、チオトロピウムのような抗コリン薬、および例えばリン酸エステルとしての限定されるものでないがザナミビル若しくはオセルタミビルのような抗ウイルス薬を包含する。他の抗ウイルス薬はペラミビルおよびラニナミビルを包含する。

【 0093 】

式(I)の化合物の抗ウイルス特性に関して下で生成されるデータは、発明者が、他の抗ウイルス治療が、COPD および / 若しくは喘息のような呼吸器疾患ならびに / または上で列挙された適応症の 1 種若しくはそれ以上を伴う患者により苦しまれる悪化の処置若しくは予防で有用であるとみられると考えることに導く。従って、一局面において、うつ血性心不全、糖尿病、癌のような慢性状態を伴う患者、若しくは免疫抑制された患者例えば臓器移植後における呼吸器ウイルス感染症の処置若しくは予防における、限定されるものでないがザナミビル若しくはオセルタミビル(例えばオセルタミビルリン酸エステル)を挙げることができる抗ウイルス治療の使用が提供される。

10

【 0094 】

実験の節

本明細書で使用される略語を下に定義する(表 1)。定義されないいずれの略語もそれらの一般に許容される意味するところを伝えることを意図している。

【 0095 】

表 1 : 略語

A c O H	氷酢酸	20
a q	水性	
A T P	アデノシン - 5' - 三リン酸	
B A L F	気管支肺胞洗浄液	
b r	broad	
B S A	ウシ血清アルブミン	
C a t C a r t ^(R)	触媒カートリッジ	
C D I	1 , 1 - カルボニル - ジイミダゾール	
C O P D	慢性閉塞性肺疾患	
d	二重項	
D C M	ジクロロメタン	30
D M S O	ジメチルスルホキシド	
d - U 9 3 7 細胞	PMA 分化 U - 9 3 7 細胞	
(E S ⁺)	電子スプレーイオン化、正モード	
E t	エチル	
E t O A c	酢酸エチル	
F C S	ウシ胎児血清	
F R E T	蛍光共鳴エネルギー転移	
G S K 3	グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3	
H B E C	初代ヒト気管支上皮細胞	
h r	時間(1 若しくは複数)	40
H R P	ワサビペルオキシダーゼ	
H R V	ヒトライノウイルス	
I C A M - 1	細胞間接着分子 1	
J N K	c - Jun N 末端キナーゼ	
L P S	リポ多糖	
(M + H) ⁺	プロトン化分子イオン	
M A P K	マイトジエンタンパク質活性化タンパク質キナーゼ	
M A P K A P - K 2	マイトジエン活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ - 2	
M e	メチル	50

M e C N	アセトニトリル	
M e O H	メタノール	
M H z	メガヘルツ	
M M A D	平均空気力学粒子径	
M O I	感染多重度	
m i n	分（1若しくは複数）	
M T T	臭化3-(4,5-ジメチルチアゾル-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウム	
m / z :	質量対電荷比	
N M R	核磁気共鳴（分光法）	10
P B M C	末梢血単核細胞	
P B S	リン酸緩衝生理的食塩液	
P h	フェニル	
P H A	フィトヘマグルチニン	
P M A	ホルボールミリストートアセテート	
p T S A	4-メチルベンゼンスルホン酸	
q	四重項	
R T	室温	
R P H P L C	逆相高速液体クロマトグラフィー	
R S V	R S ウィルス	20
s	一重項	
s a t	飽和	
S C X	固体担持陽イオン交換（樹脂）	
S D S	ドデシル硫酸ナトリウム	
S _N A r	親核芳香族置換	
t	三重項	
T B D M S	t e r t - プチルジメチルシリル	
T C I D ₅₀	50%組織培養物感染用量	
T H F	テトラヒドロフラン	
T N F	腫瘍壞死因子	30

【0096】

一般的手順

全部の出発原料および溶媒は商業的供給源から得たか若しくは文献の引用に従って製造したかのいずれかであった。別 の方法で述べられない限り全部の反応は攪拌した。有機溶液は無水硫酸マグネシウムで慣例に乾燥した。水素化は述べられる条件下で Thales H - cube 流通式反応器で実施した。

【0097】

カラムクロマトグラフィーは示される量を使用して充填済みシリカ(230~400メッシュ、40~63μm)カートリッジで実施した。S C XはSupelcoから購入しつつ使用前に1M塩酸で処理した。別 の方法で述べられない限り、精製されるべき反応混合物は最初にM e O Hで希釀しつつ数滴のA c O Hで酸性にした。この溶液をS C Xに直接負荷しつつM e O Hで洗浄した。所望の物質をその後M e O H中1%N H₃での洗浄により溶出した。

【0098】

調製的逆相高速液体クロマトグラフィー：Agilent ScalarカラムC18、5μm(21.2×50mm)、215および254nmでのUV検出を使用する10minにわたる0.1%v/vギ酸を含有するH₂O-MeCN勾配を用いて溶出する流速2.8mL min⁻¹。勾配情報：0.0~0.5min；95%H₂O-5%MeCN；0.5~7.0min；95%H₂O-5%MeCNから5%H₂O-95%MeCNまで傾斜；7.0~7.9min；5%H₂O-95%MeCNで保持；7.9~8.0m

40

50

in ; 95% H₂O - 5% MeCNに戻す；8.0 ~ 10.0 min；95% H₂O - 5% MeCNで保持。

【0099】

分析方法

逆相高速液体クロマトグラフィー：(方法1)：Agilent Scalarカラム C18、5 μm (4.6 × 50 mm) 若しくはWaters XBridge C18、5 μm (4.6 × 50 mm) 215および254 nmでのUV検出を使用する7 min にわたる0.1% v/v ギ酸(方法1 酸性)若しくはNH₃(方法1 塩基性)いずれかを含有するH₂O - MeCN勾配を用いて溶出する流速2.5 mL min⁻¹。勾配情報：0.0 ~ 0.1 min、95% H₂O - 5% MeCN；0.1 ~ 5.0 min、95% H₂O - 5% MeCNから5% H₂O - 95% MeCNまで傾斜；5.0 ~ 5.5 min、5% H₂O - 95% MeCNで保持；5.5 ~ 5.6 min、5% H₂O - 95% MeCNで保持、流速3.5 mL min⁻¹に増加；5.6 ~ 6.6 min、5% H₂O - 95% MeCNで保持、流速3.5 mL min⁻¹；6.6 ~ 6.75 min、95% H₂O - 5% MeCNに戻す、流速3.5 mL min⁻¹；6.75 ~ 6.9 min、95% H₂O - 5% MeCNで保持、流速3.5 mL min⁻¹；6.9 ~ 7.0 min、95% H₂O - 5% MeCNで保持、流速を2.5 mL min⁻¹に減少。

【0100】

逆相高速液体クロマトグラフィー：方法2：40でのAgilent Extend C18カラム、1.8 μm (4.6 × 30 mm)；254 nmでのUV検出を使用する4 minにわたる0.1% v/v ギ酸を含有するH₂O - MeCN勾配を用いて溶出する流速2.5 ~ 4.5 mL min⁻¹。勾配情報：0.0 ~ 3.00 min、95% H₂O - 5% MeCNから5% H₂O - 95% MeCNまで傾斜；3.00 ~ 3.01 min、5% H₂O - 95% MeCNで保持、流速を4.5 mL min⁻¹に増加；3.01 ~ 3.50 min、5% H₂O - 95% MeCNで保持；3.50 ~ 3.60 min、95% H₂O - 5% MeCNに戻す、流速3.50 mL min⁻¹に減少；3.60 ~ 3.90 min、95% H₂O - 5% MeCNで保持；3.90 ~ 4.00 min、95% H₂O - 5% MeCNで保持、流速を2.5 mL min⁻¹に減少。

【0101】

¹H NMR分光法：¹H NMRスペクトルは、残余の重水素化されない溶媒を参照として使用して400 MHzでBruker Avance III分光計で取得し、そして別の方で明記されない限りDMSO-d₆中で運転した。

【0102】

本発明の化合物(I)を製造するために使用された以下の中間体は以前に記述されており、そして下で引用される参考文献に含有される手順を使用して製造した(表2)。

【0103】

【表1】

表2: 以前に記述された中間体

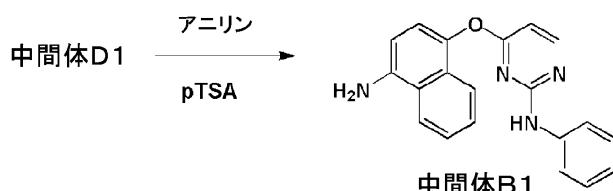
中間体	構造	名称、LCMSデータおよび参考文献
A1		3- <i>tert</i> -ブチル-1- <i>p</i> -トリル-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-アミン。 R ^t 2.46min(方法1 塩基性); m/z 230(M+H) ⁺ 、(ES ⁺)。 Cirillo, P. F. ら、第WO 2000/43384号明細書、 2000年7月27日。 10
A2		3- <i>tert</i> -ブチル-1-(4-メトキシフェニル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-アミン。 R ^t 1.32min(方法2); m/z 246(M+H) ⁺ 、 (ES ⁺). Mathias, J. P. ら、第US 2006/0035922号 明細書、2005年8月10日。
A3		3- <i>tert</i> -ブチル-1-(4-(<i>tert</i> -ブチルジメチルシリルオキシ)フェニル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-アミン。 R ^t 2.80min(方法2); m/z 346(M+H) ⁺ 、 (ES ⁺). Mathias, J. P. ら、第US 2006/0035922号 明細書、2005年8月10日。 20
D1		4-((2-クロロピリミジン-4-イル)オキシ) ナフタレン-1-アミン。 R ^t 1.80min(方法2); m/z 272/274(M+H) ⁺ 、(ES ⁺)。 Cirillo, P. F. ら、第WO 2002/92576号明細書、 2000年11月21日。 30

【0104】

中間体B1: 4-((4-アミノナフタレン-1-イル)オキシ)-N-フェニルピリミジン-2-アミン。

【0105】

【化4】



【0106】

THF(200mL)中の中間体D1(50.0g, 184mmol)およびアニリン(42.0mL, 460mmol)の混合物の窒素バージされた溶液にpTSA(17.5g, 92.0mmol)を単一部分で添加した。該反応混合物を70℃に1.5h加熱し、その時間の間にそれは沈殿物を形成した。該混合物をRTに冷却しつつTHF(2

40
50

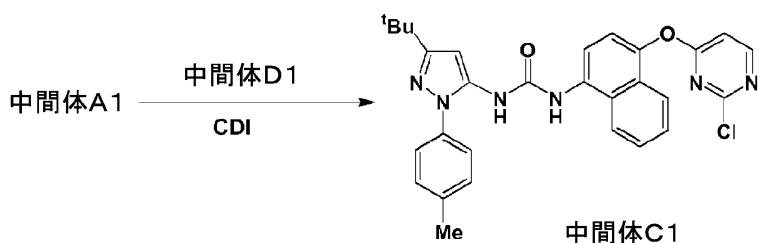
0.0 mL) で希釈した。沈殿物を濾過により収集し、THF (2 × 100 mL) で洗浄しがつその後 DCM (600 mL) および aq. NaOH (2 M, 200 mL) の不均質な混合物に懸濁しがつ 1 hr 活発に攪拌し、その時間の間に懸濁された固体物が溶解した。層を分離しがつ aq 層を DCM (200 mL) で抽出した。DCM 抽出液を合わせ、乾燥しがつ真空中で蒸発させた。残渣をエーテル (150 mL) とともに摩碎し、そして生じる固体物をエーテル (2 × 50 mL) で洗浄して中間体 B1 を灰白色固体物 (2.6 g, 43%) ; R^t 1.95 min (方法 2) ; m/z 329 (M + H)⁺ (ES⁺) として提供した。

【0107】

中間体 C1 : 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1H - ピラゾル - 5 - イル) - 3 - (4 - ((2 - クロロピリミジン - 4 - イル)オキシ)ナフタレン - 1 - イル)尿素。

【0108】

【化5】



10

20

【0109】

DCM (60 mL) 中の CDI (4.81 g, 29.7 mmol) の懸濁液に中間体 A1 (8.50 g, 29.7 mmol) を一部分ずつ添加した。3 hr 後、活性化された CDI 付加物を含有するこの溶液のアリコート (30 mL, 15 mmol) を DCM (60 mL) 中の中間体 D1 (3.01 g, 9.97 mmol) の溶液に添加し、そして該反応混合物を RT で維持した。2 hr 後に CDI 付加物溶液の第二のアリコート (6.0 mL, 6.0 mmol) を添加し、そして反応混合物をさらなる 16 hr, RT に保った。生じる混合物を DCM (100 mL) で希釈しがつ飽和 aq. NaHCO₃ (100 mL) および水 (2 × 100 mL) で洗浄し、そしてその後乾燥しがつ真空中で蒸発させた。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, DCM 中 [DCM 中 10% MeOH] ; 0 ~ 100%, 勾配溶出、その後 SiO₂、イソヘキサン中 EtOAc, 0 ~ 100%, 勾配溶出) により精製して、表題化合物中間体 C1 を黄色固体物 (3.07 g, 55%) ; R^t 2.59 min (方法 2) ; m/z 527 / 529 (M + H)⁺ (ES⁺) として提供した。

30

【実施例】

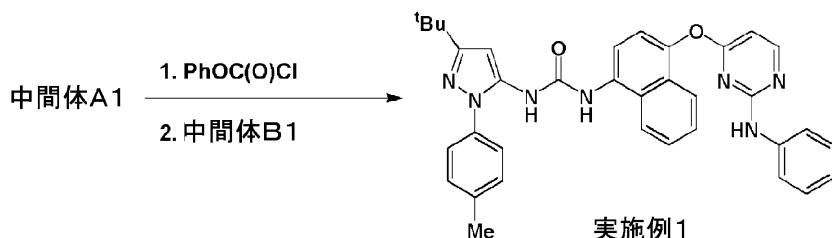
【0110】

実施例 1 : 1 - (3 - (tert - ブチル) - 1 - (p - トリル) - 1H - ピラゾル - 5 - イル) - 3 - (4 - (フェニルアミノ)ピリミジン - 4 - イルオキシ)ナフタレン - 1 - イル)尿素。

40

【0111】

【化6】



【0112】

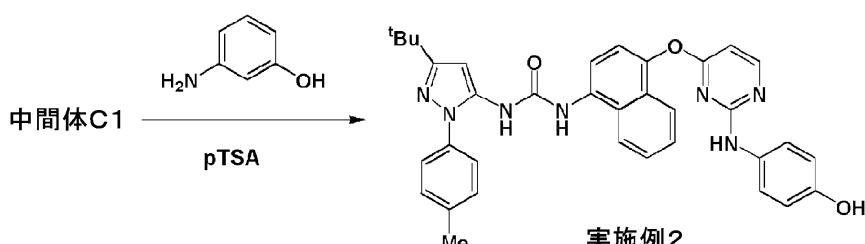
水(42mL)中のNa₂CO₃(3.84g、36mmol)の溶液および酢酸イソブロピル(130mL、1.082mol)の中の中間体A1(10.5g、45.7mmol)の不均質な混合物をRTで5min活発に攪拌し、そしてその後フェニルカルボノクロリデート(phenyl carbonochloride) (5.77mL、45.7mmol)で処理した。該混合物の攪拌をさらなる4hr継続し、その後層を分離した。有機層を酢酸イソブロピル(60mL、511mmol)の中の中間体B1(10.0g、30.5mmol)およびトリエチルアミン(423μL、3.05mmol)の溶液に添加した。該反応混合物を48に1hr加温し、その後酢酸イソブロピル(190mL)で希釈し、そしてさらなる18hr、RTに冷却し、その時間の間に沈殿物が生じた。沈殿物を濾過により単離し、酢酸イソブロピルで洗浄しそしてその後真空中40で乾燥して、表題化合物、実施例1を白色固体物(16.5、92%)；R^t 2.74min(方法2)；m/z 584(M+H)⁺(ES⁺)；¹H NMR(400MHz、DMSO-d₆)：1.30(9H,s)、2.41(3H,s)、6.43(1H,s)、6.58(1H,d)、6.78(1H,t)、6.97(2H,t)、7.28(2H,b r m)、7.39(2H,d)、7.40(1H,d)、7.49(2H,d)、7.56(1H,m)、7.63(1H,m)、7.82(1H,dd)、7.95(1H,d)、8.10(1H,d)、8.40(1H,d)、8.77(1H,s)、9.16(1H,b r s)、9.50(1H,b r s)として提供した。

【0113】

実施例2：1-(3-(tert-ブチル)-1-(p-トリル)-1H-ピラゾル-5-イル)-3-((2-((3-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。

【0114】

【化7】



【0115】

DMF(2.0mL)の中の中間体C1(150mg、0.285mmol)の溶液に3-アミノフェノール(52mg、0.477mmol)およびpTSA(96mg、0.51mmol)を添加し、そして生じる帯黒色溶液を60に16hr加熱した。該反応混合物をRTに冷却し、そしてその後EtOAc(20mL)と飽和aq.NaHCO₃(20mL)の間で分配した。有機層を分離しそして飽和aq.NaHCO₃(20mL)、水(20×20mL)および塩水(2×20mL)で順次洗浄し、そしてその後乾燥しつつ真空中で蒸発させた。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー(SiO₂、40

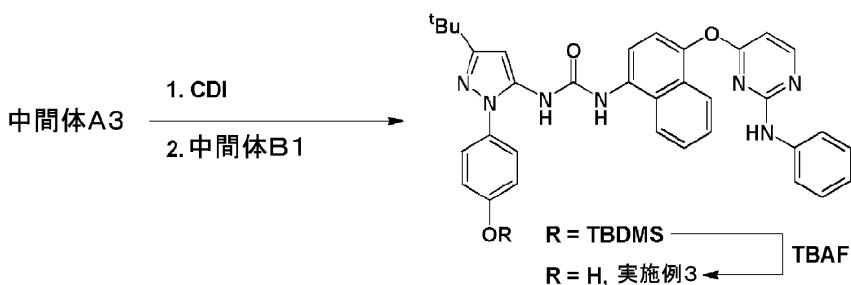
0 g、イソヘキサン中 E t O A c、0 ~ 1 0 0 %、勾配溶出)により精製し、そしてそのように得られた部分的に精製された生成物を I P A とともに摩碎して、表題化合物、実施例 2 を灰白色固体物(56 mg、32%) ; R^t 2.52 min(方法2) ; m/z 600 (M+H)⁺ (E S⁺) ; ¹H N M R (400 MHz, D M S O - d₆) a : 1.29 (9 H, s)、2.40 (3 H, s)、6.24 (1 H, dd)、6.41 (1 H, s)、6.47 (1 H, d)、6.74 (1 H, br t)、6.82 (1 H, br d)、6.99 (1 H, br s)、7.38 - 7.39 (3 H, 重なるm)、7.46 (2 H, d)、7.56 (1 H, dt)、7.62 (1 H, dt)、7.81 (1 H, dd)、7.92 (1 H, d)、8.07 (1 H, d)、8.35 (1 H, d)、8.74 (1 H, s)、9.12 (2 H, s)、9.36 (1 H, s)として提供した。 10

【0116】

実施例 3 : 1 - (3 - (tert - プチル) - 1 - (4 - ヒドロキシフェニル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) - 3 - (4 - ((2 - (フェニルアミノ)ピリミジン - 4 - イル)オキシ)ナフタレン - 1 - イル)尿素。

【0117】

【化8】



【0118】

R T の D C M (2.0 mL) 中の C D I (148 mg、0.914 mmol) の溶液に中間体 A 3 (316 mg、0.914 mmol) を添加した。2 h r 後、生じる溶液のアリコート (1.0 mL、0.50 mmol) を T H F (3.0 mL) 中の中間体 B 1 (100 mg、0.305 mmol) の溶液に添加し、そして該反応混合物を R T で 18 h r 維持し、そしてその後 D C M (25 mL) と飽和 a q . N a H C O₃ (25 mL) の間で分配した。a q . 層を分離しあつ D C M (25 mL) で抽出し、そして合わせた有機抽出液を乾燥しあつ真空中で蒸発させた。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (S i O₂、12 g、イソヘキサン中 E t O A c、20 ~ 100%、勾配溶出) により精製し、そしてそのように得られた不純な生成物を M e O H とともに摩碎して、1 - (3 - (tert - プチル) - 1 - (4 - ((tert - プチルジメチルシリル)オキシ)フェニル) - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) - 3 - (4 - ((2 - (フェニルアミノ)ピリミジン - 4 - イル)オキシ)ナフタレン - 1 - イル)尿素を灰白色固体物(70 mg、33%) ; R^t 3.74 min(方法2) ; m/z 700 (M+H)⁺ (E S⁺) として提供した。 40

【0119】

T H F (1.0 mL) 中の上で得られた T B D M S 保護された中間体 (70 mg、0.100 mmol) の溶液に T B A F (T H F 中 1 M 溶液、120 μL、0.12 mmol) を添加し、そして該反応混合物を R T に 1 h r 保ち、そしてその後 D C M (50 mL) と飽和 a q . N a H C O₃ (50 mL) の間で分配した。a q . 層を分離しあつ D C M (50 mL) で抽出し、そして合わせた有機抽出液を乾燥しあつ真空中で蒸発させた。残渣を S C X 捕捉および放出 (c a p t u r e a n d r e l e a s e) により精製して、表題化合物、実施例 3 を灰白色固体物(25 mg、41%) ; R^t 2.38 min(方法2) ; m/z 586 (M+H)⁺ (E S⁺) ; ¹H N M R (400 MHz, D M S O - d₆) a : 1.28 (9 H, s)、6.38 (1 H, s)、6.57 (1 H, d)、6. 50

7.7 (1H, t)、6.94 - 6.96 (4H, 重なるm)、7.26 - 7.28 (2H, 重なるm)、7.35 (2H, d)、7.39 (1H, d)、7.55 (1H, dt)、7.62 (1H, dt)、7.80 (1H, d)、7.94 (1H, d)、8.08 (1H, d)、8.38 (1H, d)、8.67 (1H, s)、9.16 (1H, s)、9.51 (1H, s)、9.81 (1H, s)として提供した。

【0120】

【表2】

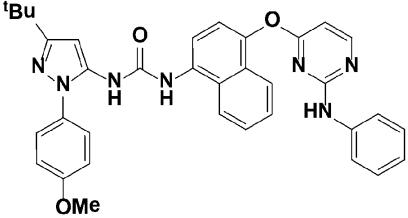
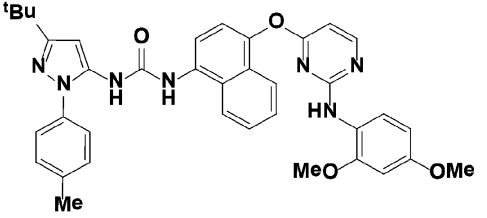
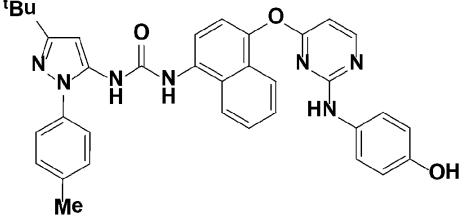
本発明の付加的な化合物実施例

実施例 番号	構造	名称および分析データ[経路]	10
4		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-(2-フロロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2.85min(方法2); m/z 602(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1.28(9H, s), 2.40(3H, s), 6.42(1H, s), 6.51(1H, d), 6.83(1H, t), 6.99(1H, m), 7.09(1H, m), 7.29(1H, dt), 7.37-7.39(3H, 重なるm), 7.47(2H, d), 7.57(1H, dt), 7.63(1H, dt), 7.81(1H, dd), 7.90(1H, d), 8.06(1H, d), 8.31(1H, d), 8.76(1H, s), 9.01(1H, s), 9.13(1H, s)。[B]	20
5		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-(2-メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2.84min(方法2); m/z 614(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1.29(9H, s), 2.40(3H, s), 3.76(3H, s), 6.42(1H, s), 6.51(1H, t), 6.56(1H, d), 6.85(1H, t), 6.91(1H, dd), 7.38-7.43(4H, 重なるm), 7.47(2H, d), 7.56(1H, dt), 7.62(1H, dt), 7.81(1H, dd), 7.86(1H, s), 7.95(1H, d), 8.09(1H, d), 8.36(1H, d), 8.76(1H, s), 9.14(1H, s)。[B]	30
6		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-(2-クロロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 3.05min(方法2); m/z 618(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1.29(9H, s), 2.40(3H, s), 6.42(1H, s), 6.51(1H, d), 6.99-7.01(2H, 重なるm), 7.36-7.38(5H, 重なるm), 7.46(2H, d), 7.57(1H, dt), 7.63(1H, dt), 7.81(1H, dd), 7.91(1H, d), 8.07(1H, d), 8.31(1H, d), 8.65(1H, s), 8.76(1H, s), 9.12(1H, s)。[B]	40

【0121】

50

【表3】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(4-メトキシフェニル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(フェニルアミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 69min(方法2); m/z 600(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 3. 84(3H, s), 6. 40(1H, s), 6. 57(1H, d), 6. 77(1H, t), 6. 96(1H, t), 7. 13(2H, d), 7. 27(2H, d), 7. 39(1H, d), 7. 49(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 81(1H, d), 7. 94(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 38(1H, d), 8. 70(1H, s), 9. 13(1H, s), 9. 50(1H, s)。[B]	10
7		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(4-ジメトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 78min(方法2); m/z 644(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 99(3H, s), 3. 67(3H, s), 3. 71(3H, s), 6. 19(1H, d), 6. 41(1H, s), 6. 46(1H, d), 6. 49(1H, d), 7. 18(1H, d), 7. 36(1H, d), 7. 39(2H, d), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 80(1H, d), 7. 85(1H, s), 7. 92(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 28(1H, d), 8. 78(1H, s), 9. 14(1H, s)。[B]	20
8		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(4-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 42min(方法2); m/z 600(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 6. 40-6. 45(4H, 重なるm), 7. 08(2H, br s), 7. 36-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 62(1H, dt), 7. 80(1H, d), 7. 94(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 30(1H, d), 8. 82(1H, s), 8. 93(1H, s), 9. 17(1H, s), 9. 20(1H, br s)。[B]	30
9			40

【0122】

【表4】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((2,5-ジメチルフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 91min(方法2);m/z 612(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 28(9H,s)、2. 00(3H,s)、2. 06(3H,s)、2. 39(3H,s)、6. 39-6. 40(2H,重なるm)、6. 72(1H,d)、6. 95-6. 98(2H,重なるm)、7. 35-7. 38(3H,重なるm)、7. 46(2H,d)7. 57(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 81(1H,d)、7. 90(1H,d)、8. 06(1H,d)、8. 25(1H,d)、8. 58(1H,s)、8. 87(1H,s)、9. 18(1H,s)。[B]	10
11		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(<i>p</i> -トリルアミノ)ピリミジン-4-yl)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 81min(方法2);m/z 598(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、2. 13(3H,s)、2. 40(3H,s)、6. 43(1H,s)、6. 54(1H,d)、6. 80(2H,d)、7. 16(2H,br s)、7. 37-7. 39(3H,重なるm)7. 47(2H,d)、7. 55(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 80(1H,d)、7. 92(1H,d)、8. 09(1H,d)、8. 37(1H,d)、8. 79(1H,s)、9. 16(1H,s)、9. 40(1H,s)。[B]	20
12		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(<i>m</i> -トリルアミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 88min(方法2);m/z 598(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、1. 95(3H,s)、2. 40(3H,s)、6. 41(1H,s)、6. 57-6. 60(2H,重なるm)、6. 85(1H,t)、7. 04(1H,br d)、7. 11(1H,br s)、7. 37-7. 40(3H,重なるm)、7. 47(2H,d)、7. 55(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 80(1H,d)、7. 97(1H,d)、8. 09(1H,d)、8. 39(1H,d)、8. 82(1H,s)、9. 18(1H,s)、9. 46(1H,s)。[B]	30

【0 1 2 3】

【表5】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-((3-クロロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 95min(方法2);m/z 618(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、2. 40(3H,s)、6. 41(1H,s)、6. 65(1H,d)、6. 81(1H,d)、7. 00(1H,t)、7. 23(1H,br d)7. 36-7. 41(3H,重なるm)、7. 46-7. 49(3H,重なるm)、7. 55(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 80(1H,d)、7. 96(1H,d)、8. 08(1H,d)、8. 46(1H,d)、8. 80(1H,s)、9. 14(1H,s)、9. 71(1H,s)。[B]	10
13		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-((3-メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 74min(方法2);m/z 614(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、2. 40(3H,s)、3. 52(3H,s)、6. 38(1H,dd)、6. 42(1H,s)、6. 56(1H,d)、6. 88-6. 95(2H,重なるm)、7. 08(1H,br s)7. 37-7. 40(3H,重なるm)、7. 47(2H,d)、7. 55(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 81(1H,d)、7. 95(1H,d)、8. 08(1H,d)、8. 39(1H,d)、8. 78(1H,s)、9. 14(1H,s)、9. 48(1H,s)。[B]	20
14		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-((3-フルオロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 80min(方法2);m/z 602(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、2. 40(3H,s)、6. 42(1H,s)、6. 57(1H,dt)、6. 65(1H,d)、7. 02(1H,q)、7. 24(1H,br d)7. 37-7. 41(3H,重なるm)、7. 48(2H,d)、7. 55(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 80(1H,dd)、7. 96(1H,d)、8. 10(1H,d)、8. 45(1H,d)、8. 84(1H,s)、9. 19(1H,s)、9. 74(1H,s)。[B]	30
15		40	

【表6】

16	<p>1-(3-(<i>tert</i>-ブチル)-5-メチルイソアザロイド-4-イル)-1<i>H</i>-ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((4-クロロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。</p> <p>R^t 2. 90min(方法2); m/z 618(M+H)⁺(ES⁺); ¹H NMR δ: 1. 28(9H, s), 2. 40(3H, s), 6. 46(1H, s), 6. 65(1H, d), 6. 65(1H, d), 7. 04(2H, d), 7. 27(1H, br d)7. 37—7. 42(3H, 重なるm), 7. 48(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 62(1H, dt), 7. 80(1H, dd), 7. 90(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 41(1H, d), 8. 79(1H, s), 9. 17(1H, s), 9. 70(1H, s)。[B]</p>	10
17	<p>1-(3-(<i>tert</i>-ブチル)-5-メチルイソアザロイド-4-イル)-1<i>H</i>-ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((4-メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。</p> <p>R^t 2. 66min(方法2); m/z 614(M+H)⁺(ES⁺); ¹H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 3. 62(3H, s), 6. 40(1H, s), 6. 52(1H, d), 6. 58(2H, d), 7. 15(2H, br s), 7. 37—7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 54(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 80(1H, dd), 7. 91(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 34(1H, d), 8. 83(1H, s), 9. 20(1H, s), 9. 32(1H, s)。[B]</p>	20
18	<p>1-(3-(<i>tert</i>-ブチル)-5-メチルイソアザロイド-4-イル)-1<i>H</i>-ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((4-クロロ-2-メチルフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。</p> <p>R^t 2. 95min(方法2); m/z 632(M+H)⁺(ES⁺); ¹H NMR δ: 1. 28(9H, s), 2. 11(3H, s), 2. 40(3H, s), 6. 42(1H, s), 6. 44(1H, d), 6. 91(1H, dd), 7. 15—7. 17(2H, 重なるm), 7. 35—7. 38(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 57(1H, dt), 7. 63(1H, dt), 7. 80(1H, dd), 7. 88(1H, d), 8. 06(1H, d), 8. 27(1H, d), 8. 73(2H, d), 9. 09(1H, s)。[B]</p>	30

【0125】

【表7】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((2-クロロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 3. 04min(方法2);m/z 662, 664 (M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H, s), 2. 39(3H, s), 6. 41(1H, s), 6. 49(1H, d), 6. 95(1H, dt), 7. 05(1H, dt), 7. 35–7. 39(4H, 重なるm), 7. 46(2H, d), 7. 54–7. 59(2H, 重なるm), 7. 63(1H, dt), 7. 81(1H, dd), 7. 90(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 31(1H, d), 8. 54(1H, s), 8. 79(1H, s), 9. 15(1H, s)。[B]	10
19		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((2-イソプロピルフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 92min(方法2);m/z 626(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 07(6H, d), 1. 29(9H, s), 2. 39(3H, s), 3. 09(1H, m), 6. 26(1H, d), 6. 38(1H, s), 7. 00(1H, dt), 7. 09–7. 12(2H, 重なるm), 7. 24(1H, dd), 7. 34–7. 36(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 57–7. 64(2H, 重なるm), 7. 81(1H, d), 7. 85(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 16(1H, d), 8. 72(1H, s), 9. 03(1H, s), 9. 33(1H, s)。[B]	20
20		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-(<i>o</i> -トリルアミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 78min(方法2);m/z 598(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H, s), 2. 12(3H, s), 2. 39(3H, s), 6. 36(1H, d), 6. 40(1H, s), 6. 89–6. 94(2H, 重なるm), 7. 09(1H, d), 7. 15(1H, d), 7. 35–7. 37(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 57–7. 64(2H, 重なるm), 7. 82(1H, d), 7. 87(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 24(1H, d), 8. 66(1H, s), 8. 88(1H, s), 9. 21(1H, s)。[B]	30
21		40	

【表 8】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((4-エトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 80min(方法2); m/z 28(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 20(3H, t), 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 3. 85(2H, q), 6. 42(1H, s), 6. 52-6. 56(3H, 重なるm), 7. 12(2H, br s), 7. 37-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, t), 7. 61(1H, t), 7. 80(1H, d), 7. 93(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 33(1H, d), 8. 78(1H, s), 9. 16(1H, s), 9. 32(1H, s)。[B]	10
22		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((4-フルオロフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 83min(方法2); m/z 602(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 39(3H, s), 6. 42(1H, s), 6. 59(1H, d), 6. 82(2H, br t), 7. 26(2H, br s), 7. 37-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 60(1H, dt), 7. 79(1H, dd), 7. 89(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 38(1H, d), 8. 84(1H, s), 9. 22(1H, s), 9. 56(1H, s)。[B]	20
23		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((4-ヒドロキシ-2-メチルフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 32min(方法2); m/z 614(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 28(9H, s), 2. 00(3H, s), 2. 39(3H, s), 6. 23(1H, d), 6. 38-6. 39(2H, 重なるm), 6. 52(1H, d), 6. 78(1H, d), 7. 36-7. 38(3H, 重なるm), 7. 46(2H, d), 7. 57(1H, dt), 7. 62(1H, dt), 7. 81(1H, dd), 7. 86(1H, d), 8. 05(1H, d), 8. 15(1H, d), 8. 47(1H, s), 8. 87(1H, s), 9. 12(1H, s), 9. 19(1H, s)。[B]	30

【0127】

【表9】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-((4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 43min(方法2); m/z 630(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 3. 43(3H, br s), 6. 42(2H, br s), 6. 46(1H, d), 6. 75(1H, br s), 7. 04(1H, br s), 7. 37-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 56(1H, dt), 7. 62(1H, dt), 7. 81(1H, dd), 7. 92(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 32(1H, d), 8. 44(1H, s), 8. 83(1H, s), 9. 18(1H, s), 9. 20(1H, br s)。[B]	10
25		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-((3-ヒドロキシ-4-メチルフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 59min(方法2); m/z 614(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 1. 97(3H, s), 2. 39(3H, s), 6. 41(1H, s), 6. 42(1H, d), 6. 70(2H, br dd), 7. 01(1H, br s), 7. 37-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 81(1H, dd), 7. 90(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 33(1H, d), 8. 88(1H, s), 9. 06(1H, s), 9. 22(1H, s), 9. 30(1H, s)。[B]	20
26		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-((2-((3, 4-ジメトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 58min(方法2); m/z 644(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 3. 44(3H, s), 3. 61(3H, s), 6. 40(1H, s), 6. 53(1H, d), 6. 61(1H, br d), 6. 85(1H, br s), 7. 03(1H, br s), 7. 37-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 81(1H, dd), 7. 91(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 35(1H, d), 8. 80(1H, s), 9. 16(1H, s), 9. 29(1H, s)。[B]	30
27		40	

【0128】

【表 10】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((3-クロロ-4-メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 82min(方法2); m/z 648(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 3. 70(3H, s), 6. 39(1H, s), 6. 60(1H, d), 6. 83(1H, br d), 7. 17(1H, br s), 7. 38-7. 40(4H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 54(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 79(1H, dd), 7. 93(1H, d), 8. 07(1H, d), 8. 38(1H, d), 8. 86(1H, s), 9. 19(1H, s), 9. 51(1H, s)。[B]	10
28		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((3-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 43min(方法2); m/z 618(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 29(9H, s), 2. 40(3H, s), 6. 42(1H, s), 6. 53(1H, d), 6. 61(1H, br t), 6. 89(1H, br s), 7. 18(1H, br s), 7. 37-7. 39(3H, 重なるm), 7. 47(2H, d), 7. 55(1H, dt), 7. 61(1H, dt), 7. 78(1H, dd), 7. 95(1H, d), 8. 08(1H, d), 8. 35(1H, d), 8. 87(1H, s), 9. 19(1H, s), 9. 29(1H, br s), 9. 40(1H, s)。[B]	20
29		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((2-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 49min(方法2); m/z 618(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 28(9H, s), 2. 39(3H, s), 6. 34(1H, d), 6. 38(1H, br d), 6. 41(1H, s), 6. 51(1H, dd), 7. 02(1H, t), 7. 36-7. 38(3H, 重なるm), 7. 46(2H, d), 7. 57(1H, dt), 7. 62(1H, dt), 7. 80(1H, dd), 7. 89(1H, d), 8. 05(1H, d), 8. 20(1H, d), 8. 68(1H, s), 8. 77(1H, s), 9. 11(1H, s), 9. 63(1H, s)。[B]	30
30		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イル)-3-(4-((2-((2-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 49min(方法2); m/z 618(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ: 1. 28(9H, s), 2. 39(3H, s), 6. 34(1H, d), 6. 38(1H, br d), 6. 41(1H, s), 6. 51(1H, dd), 7. 02(1H, t), 7. 36-7. 38(3H, 重なるm), 7. 46(2H, d), 7. 57(1H, dt), 7. 62(1H, dt), 7. 80(1H, dd), 7. 89(1H, d), 8. 05(1H, d), 8. 20(1H, d), 8. 68(1H, s), 8. 77(1H, s), 9. 11(1H, s), 9. 63(1H, s)。[B]	40

【0129】

【表 1 1】

		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((2-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 67min(方法2);m/z 634(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 28(9H,s)、2. 39(3H,s)、6. 33(1H,d)、6. 41(1H,s)、6. 54(1H,dd)、6. 78(1H,dd)、7. 09(1H,d)、7. 36-7. 38(3H,重なるm)、7. 46(2H,d)、7. 57(1H,dt)、7. 63(1H,dt)、7. 80(1H,dd)、7. 89(1H,d)、8. 05(1H,d)、8. 20(1H,d)、8. 57(1H,s)、8. 78(1H,s)、9. 12(1H,s)、9. 69(1H,s)。[B]	10
31		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((2,4-ジヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 24min(方法2);m/z 616(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、2. 40(3H,s)、5. 92(1H,br s)、6. 25(1H,d)、6. 38(1H,d)、6. 42(1H,s)、7. 00(1H,br s)、7. 36-7. 38(3H,重なるm)、7. 47(2H,d)、7. 56(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 80(1H,dd)、7. 89(1H,br s)、7. 93(1H,d)、8. 07(1H,d)、8. 24(1H,d)、8. 84(1H,s)、8. 97(1H,s)、9. 18(1H,s)、9. 61(1H,s)。[B]	20
32		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(<i>p</i> -トリル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((4-メトキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 31min(方法2);m/z 616(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、3. 84(3H,s)、6. 42-6. 45(4H,重なるm)、7. 08-7. 11(4H,重なるm)、7. 37(1H,d)、7. 50(2H,d)、7. 56(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 81(1H,dd)、7. 95(1H,d)、8. 08(1H,d)、8. 30(1H,d)、8. 77(1H,s)、8. 93(1H,br s)、9. 16(1H,s)、9. 19(1H,br s)。[A]	30
33		1-(3-(<i>tert</i> -ブチル)-1-(4-メトキシフェニル)-1 <i>H</i> -ピラゾル-5-イル)-3-(4-((2-((4-ヒドロキシフェニル)アミノ)ピリミジン-4-イル)オキシ)ナフタレン-1-イル)尿素。 R ^t 2. 31min(方法2);m/z 616(M+H) ⁺ (ES ⁺); ¹ H NMR δ:1. 29(9H,s)、3. 84(3H,s)、6. 42-6. 45(4H,重なるm)、7. 08-7. 11(4H,重なるm)、7. 37(1H,d)、7. 50(2H,d)、7. 56(1H,dt)、7. 62(1H,dt)、7. 81(1H,dd)、7. 95(1H,d)、8. 08(1H,d)、8. 30(1H,d)、8. 77(1H,s)、8. 93(1H,br s)、9. 16(1H,s)、9. 19(1H,br s)。[A]	40

【0130】

生物学的試験：実験方法

酵素阻害アッセイ

本明細書に開示される化合物のキナーゼ酵素結合活性を、固定されたリガンドへの活性部位に向けられた競合結合を測定する特許のアッセイ (F a b i a n , M . A . ら、Nature Biotechnol. , 2005, 23 : 329 - 336) を使用して測定した。これらのアッセイはDiscoverX (以前はAmbit; カリフォルニア州サンディエゴ) により実施された。K_d 値 (解離定数値) を各キナーゼに対する化合物の親

和性の指標として計算した。

【0131】

酵素阻害アッセイ

本明細書に開示される化合物の酵素阻害活性は、ドナーおよびアクセプター双方のフルオロフォアで標識された合成ペプチドを使用するFRETにより測定した(Z-LYTE、Invitrogen Ltd.、英国ペイズリー)。

【0132】

p38 MAPK 酵素阻害

p38 MAPK アイソフォーム(MAPK14: Invitrogen)に対する試験化合物の阻害活性を、下流の分子MAPKAP-K2の活性化/リン酸化のレベルを測定することにより間接的に評価した。p38 MAPK タンパク質(80ng/mL、2.5μL)を試験化合物(4μg/mL、0.4μg/mL、0.04μg/mL若しくは0.004μg/mLのいずれか2.5μL)とRTで2hr混合した。p38の不活性標的MAPKAP-K2(Invitrogen、600ng/mL)およびFRETペプチド(8μM; MAPKAP-K2のリン酸化標的)の混合溶液(2.5μL)をその後添加し、そしてキナーゼ反応をATP(40μM、2.5μL)を添加することにより開始した。該混合物をRTで1hrインキュベートした。発色試薬(プロテアーゼ、5μL)を蛍光マイクロプレートリーダー(Varioskan^(R) Flash、Thermo Fisher Scientific)での検出前に1hr添加した。

10

【0133】

p38 MAPK 酵素阻害

p38 MAPK (MAPK12: Invitrogen)に対する本発明の化合物の阻害活性を上述されたものと同様の様式で評価した。酵素(800ng/mL、2.5μL)を試験化合物(4μg/mL、0.4μg/mL、0.04μg/mL若しくは0.004μg/mLのいずれか2.5μL)とRTで2hrインキュベートした。FRETペプチド(8μM、2.5μL)および適切なATP溶液(2.5μL、400μM)をその後酵素/化合物の混合物に添加しそして1hrインキュベートした。発色試薬(プロテアーゼ、5μL)を蛍光マイクロプレートリーダー(Varioskan^(R) Flash、Thermo Scientific)での検出前に1hr添加した。

20

【0134】

c-SrcおよびSyk 酵素阻害

c-SrcおよびSyk酵素(Invitrogen)に対する本発明の化合物の阻害活性を上述されたものと同様の様式で評価した。適切な酵素(それぞれ3000ng/mL若しくは2000ng/mL、2.5μL)を試験化合物(4μg/mL、0.4μg/mL、0.04μg/mL若しくは0.004μg/mLのいずれか、各2.5μL)とRTで2hrインキュベートした。FRETペプチド(8μM、2.5μL)および適切なATP溶液(2.5μL、c-Srcについて800μM、およびSykについて60μMのATP)をその後酵素/化合物の混合物に添加しそして1hrインキュベートした。発色試薬(プロテアーゼ、5μL)を蛍光マイクロプレートリーダー(Varioskan^(R) Flash、Thermo Fisher Scientific)での検出前に1hr添加した。

30

【0135】

GSK 3 酵素阻害

GSK 3 酵素アイソフォーム(Invitrogen)に対する試験化合物の阻害活性を、標的ペプチドの活性化/リン酸化のレベルを測定することにより評価した。GSK3-タンパク質(500ng/mL、2.5μL)を、試験化合物(4μg/mL、0.4μg/mL、0.04μg/mL若しくは0.004μg/mLのいずれか2.5μL)とRTで2hr混合した。GSK3 のリン酸化標的であるFRETペプチド(8μM、2.5μL)およびATP(40μM、2.5μL)をその後、酵素/化合物の混合物に添加し、そして生じる混合物を1hrインキュベートした。発色試薬(プロテアーゼ、5μL)を蛍光マイクロプレートリーダー(Varioskan^(R) Flash、Thermo Fisher Scientific)での検出前に1hr添加した。

40

50

ゼ、 $5 \mu\text{L}$)を蛍光マイクロプレートリーダー(Varioskan^(R) Flash、Thermo Fisher Scientific)での検出前に1 hr 添加した。

【0136】

全部の場合で、部位特異的プロテアーゼはリン酸化されないペプチドのみを切断しそしてFRETシグナルを除外する。各反応のリン酸化レベルを、それについて低い比が高いリン酸化を示しかつ高い比が低いリン酸化レベルを示すフルオレセイン放出(アクセプター)に対するクマリン放出(ドナー)の比を使用して計算した。各反応の阻害パーセンテージを阻害されない対照に関して計算し、そして50%阻害濃度(IC_{50} 値)をその後濃度反応曲線から計算した。

【0137】

細胞アッセイ

d - U 9 3 7 細胞におけるLPS誘発性TNF / IL - 8 放出

ヒト単球細胞株U 9 3 7 細胞を、PMA(100 ng/mL)との48ないし72 hrのインキュベーションによりマクロファージ型細胞に分化させた。細胞を最終濃度の試験化合物と2 hr プレインキュベートし、そしてその後LPS(0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 大腸菌(E. Coli) : O 1 1 1 : B 4 から、Sigma)で4 hr 刺激した。上清を、サンドイッチELISA(Duo-set、R&D systems)によるTNF およびIL - 8 濃度の測定のため収集した。TNF 産生の阻害を、ベヒクル対照との比較により各濃度の試験化合物で10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のBIRB 796により達成されたもののパーセンテージとして計算した。相対50%有効濃度(REC_{50})を、結果として生じる濃度反応曲線から決定した。IL - 8 産生の阻害をベヒクル対照との比較により各濃度の試験化合物で計算した。50%阻害濃度(IC_{50})を、結果として生じる濃度反応曲線から決定した。

【0138】

THP - 1 細胞におけるLPS誘発性TNF 放出

ヒト単球細胞株THP - 1 細胞を3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のLPS(大腸菌(E. Coli) : O 1 1 1 : B 4 から、Sigma)で4 hr 刺激し、そして上清をサンドイッチELISA(Duo-set、R&D systems)によるTNF 濃度の測定のため収集した。TNF 産生の阻害をベヒクル対照との比較により各濃度で計算した。50%阻害濃度(IC_{50})を、結果として生じる濃度反応曲線から決定した。

【0139】

B E A S 2 B 細胞におけるポリI : C 誘発性ICAM - 1 発現

ポリI : Cをこれらの研究で単純なRNAウイルス模倣物として使用した。ポリI : CとOligofectamineの混合物(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のポリI : C、±2%のOligofectamine、25 μL ; それぞれInvitrogen Ltd.、カリフォルニア州サンディエゴおよびInvitrogen、カリフォルニア州カールズバッド)をBEAS 2 B細胞(ヒト気管支上皮細胞、ATCC)にトランスフェクトした。細胞を最終濃度の試験化合物と2 hr プレインキュベートし、そして細胞表面上のICAM - 1 発現のレベルを細胞に基づくELISAにより測定した。ポリI : Cトランスフェクション後18 hrの時点で、細胞をPBS中4%ホルムアルデヒド(100 μL)で固定し、そしてその後、内因性ペルオキシダーゼを、0.1%アジ化ナトリウムおよび1%過酸化水素を含有する洗浄緩衝液(100 μL 、PBS中0.05%Tween : PBS-Tween)の添加によりクエンチした。細胞を洗浄緩衝液(3 × 200 μL)で洗浄し、そしてウェルをPBS - Tween中5%乳(100 μL)で1 hr ブロッキングした後、細胞を1%BSA PBS中抗ヒトICAM - 1 抗体(50 μL ; Cell Signaling Technology、マサチューセッツ州ダンバーズ)と4 で一夜インキュベートした。

【0140】

細胞をPBS - Tween(3 × 200 μL)で洗浄しそして二次抗体(100 μL ; HRP複合抗ウサギIgG、Dako Ltd.、デンマーク・グロストルップ)とイン

10

20

30

40

50

キュベートした。細胞をその後基質（ $50 \mu\text{L}$ ）のと $2 \sim 20 \text{ min}$ インキュベートし、次いで停止溶液（ $50 \mu\text{L}$ 、 $1\text{N H}_2\text{SO}_4$ ）を添加した。ICAM-1シグナルを、分光光度計を使用して 655 nm の参照波長に対し 450 nm の吸光度を読み取ることおよび読み取ることにより検出した。細胞をその後PBS-Tween（ $3 \times 200 \mu\text{L}$ ）で洗浄し、そして各ウェル中の総細胞数を、クリスタルバイオレット染色（ $50 \mu\text{L}$ のPBS中 2% 溶液）および蒸留水中 1% SDS溶液（ $100 \mu\text{L}$ ）による溶出後に 595 nm の吸光度を読み取ることにより決定した。測定されたOD $450 - 655$ 示度は各ウェル中のOD 595 示度で除算することにより細胞数について補正した。ICAM-1発現の阻害はベヒクル対照との比較により各濃度の試験化合物で計算した。 50% 阻害濃度（IC₅₀）を、結果として生じる濃度反応曲線から決定した。

10

【0141】

細胞有糸分裂アッセイ

健康被験者からの末梢血単核球（PBMC）を密度勾配（Histopaque^(R)-1077、Sigma-Aldrich、英国プール）を使用して全血（Quintiles、英国ロンドン）から分離した。PBMC（サンプルあたり 300 万細胞）をその後 2% PHA（Sigma-Aldrich、英国プール）で 48 hr 処理し、次いで変動する濃度の試験化合物に 20 hr 曝露した。収集前 2 hr にPBMCをデメコルチン（ $0.1 \mu\text{g/mL}$ ；Invitrogen、英国ペイズリー）で処理して細胞を中期で停止した。有糸分裂細胞を観察するため、PBMCを透過処理し、そしてIntraprep（ $50 \mu\text{L}$ ；Beckman Coulter、フランス）を添加することにより固定し、そして以前に記述された（Muehlbauer P.A.とSchuler M.J.、Mutation Research、2003、537：117-130）とおり抗ホスホヒストン3（ 0.26 ng/mL ；#9701；Cell Signalling、マサチューセッツ州ダンバーズ）およびヨウ化プロピジウム（ 1 mg/mL ；Sigma-Aldrich、英国プール）で染色した。蛍光をATTUNEフローサイトメーター（Invitrogen、英国ペイズリー）を使用して観察しリンパ球についてゲーティングした。有糸分裂の阻害パーセンテージを、ベヒクル（ 0.5% DMSO）処理に関して各処理について計算した。

20

【0142】

ライノウイルス誘発性IL-8放出およびICAM-1発現

30

ヒトライノウイルスRV16をAmerican Type Culture Collection（バージニア州マナサス）から得た。ウイルスストックは、HeLa細胞を細胞の 80% が細胞変性となるまでHRVに感染させることにより生成した。

【0143】

BEAS2B細胞を 5 のMOIでHRVに感染させ、そして吸収を促進するため穏やかな振とうを伴い 33°C で 2 hr インキュベートした。細胞をその後PBSで洗浄し、新鮮培地を添加しそして細胞をさらなる 72 hr インキュベートした。上清をDuoset ELISA発色キット（R&D systems、ミネソタ州ミネアポリス）を使用するIL-8濃度のアッセイのため収集した。

【0144】

細胞表面のICAM-1発現のレベルを細胞に基づくELISAにより測定した。感染後 72 hr に細胞をPBS中 4% ホルムアルデヒドで固定した。 0.1% アジ化ナトリウムおよび 1% 過酸化水素を添加することにより内因性ペルオキシダーゼをクエンチした後に、ウェルを洗浄緩衝液（PBS中 0.05% Tween：PBS-Tween）で洗浄した。ウェルをPBS-Tween中 5% 乳で 1 hr ブロッキングした後、細胞を 5% BSA PBS-Tween中抗ヒトICAM-1抗体（ $1:500$ ）と一夜インキュベートした。ウェルをPBS-Tweenで洗浄しつつ二次抗体（HRP複合抗ウサギIgG、Dako Ltd.）とインキュベートした。ICAM-1シグナルを、基質を添加すること、および分光光度計を使用して 655 nm の参照波長を用い 450 nm で読み取ることにより検出した。ウェルをその後PBS-Tweenで洗浄し、そして各ウェル中の

40

50

総細胞数を、クリスタルバイオレット染色および1% SDS溶液による溶出後に595 nmの吸光度を読み取ることにより決定した。測定されたOD₄₅₀₋₆₅₅示度は各ウェル中のOD₅₉₅示度で除算することにより細胞数について補正した。化合物はHRV感染2 hr前および感染されないHRVを洗い落とした感染2 hr後に添加した。

【0145】

MRC5細胞におけるHRV16誘発性のCPEの評価

MRC-5細胞を、5% FCSおよび1.5 mM MgCl₂を含有するD MEM中1のMOIでHRV16に感染させ、次いで吸着を促進するため33で1 hrインキュベートした。上清を吸引し、そしてその後新鮮培地を添加し、次いで4日間インキュベートした。適切な場合は細胞を化合物若しくはDMSOと2 hrプレインキュベートし、そして化合物およびDMSOをウイルスの洗い落とし後に再度添加した。
10

【0146】

上清を吸引し、そしてメチレンブルー溶液(100 μL、2% ホルムアルデヒド、10% メタノールおよび0.175% メチレンブルー)とRTで2 hrインキュベートした。洗浄した後、蒸留水中1% SDS溶液(100 μL)を各ウェルに添加し、そしてプレートを660 nmの吸光度を読み取る前に1~2 hr軽く振とうした。各ウェルの阻害パーセンテージを計算した。IC₅₀値を試験化合物の連続希釈により生成される濃度反応曲線から計算した。

【0147】

初代気管支上皮細胞におけるin vitro RSVウイルス量。
20

96ウェルプレート中で増殖された正常ヒト気管支上皮細胞(NHBE C)を、15 mM 塩化マグネシウムを含有するLHC8培地: RPMI-1640(50:50)中0.001のMOIでRSV A2(株A2、HPA、英国ソールズベリー)に感染させ、そして吸着のため37で1 hrインキュベートした。細胞をその後PBS(3×200 μL)で洗浄し、新鮮培地(200 μL)を添加しそしてインキュベーションを4日間継続した。適切な場合、細胞を化合物若しくはDMSOと2 hrプレインキュベートし、そしてその後ウイルスの洗い落とし後に再度添加した。

【0148】

細胞をPBS中4% ホルムアルデヒド溶液(50 μL)で20 min固定し、洗浄緩衝液(3×200 μL; 0.5% BSAおよび0.05% Tween-20を包含するPBS)で洗浄し、そしてプロッキング溶液(PBS中5% 加糖練乳)と1 hrインキュベートした。細胞をその後洗浄緩衝液(3×200 μL)で洗浄しそしてPBS-Tween中5% BSA中抗RSV(2F7)F-融合タンパク質抗体(40 μL; マウスモノクローナル、ロット798760、カタログ番号ab43812、Abcam)とRTで1 hrインキュベートした。洗浄した後に細胞をPBS-Tween中5% BSA中HRP複合二次抗体溶液(50 μL)(ロット00053170、カタログ番号P0447、Dakko)とインキュベートし、そしてその後TMB基質(50 μL; 基質試薬パック、ロット269472、カタログ番号DY999、R&D Systems, Inc.)を添加した。この反応を2N H₂SO₄(50 μL)の添加により停止し、そして結果として生じるシグナルをマイクロプレートリーダー(Varioskan^(R) Flash, Thermo Fisher Scientific)で比色的に測定した(OD: 655 nmの参照波長を伴う450 nm)。
40

【0149】

細胞をその後洗浄しあつ2.5%クリスタルバイオレット溶液(50 μL; ロット8656、カタログ番号PL7000、Pro-Lab Diagnostics)を30 min適用した。洗浄緩衝液で洗浄した後に蒸留水中1% SDS(100 μL)を各ウェルに添加し、そしてプレートを595 nmの吸光度を読み取る前に振とう機上で軽く1 hr振とうした。測定されたOD₄₅₀₋₆₅₅示度はOD₄₅₀₋₆₅₅をOD₅₉₅示度により除算することにより細胞数について補正した。各ウェルの阻害パーセンテージを計算し、そしてIC₅₀値を化合物の連続希釈から生成される濃度反応曲線から計算した。
50

【0150】

細胞生存率に対する試験化合物の影響：MTTアッセイ

分化されたU937細胞を、2種のプロトコル、すなわち、第一は5%FCS RPMI1640培地中4 hr、および第二は10%FCS RPMI1640培地中24 hrで、各試験化合物（下で示される培地200 μL中最終濃度1 μg/mL若しくは10 μg/mL）とプレインキュベートした。上清を新たな培地（200 μL）で置き換え、そしてMTTストック溶液（10 μL、5 mg/mL）を各ウェルに添加した。1 hrインキュベーション後に培地を除去し、DMSO（200 μL）を各ウェルに添加し、そしてプレートを550 nmの吸光度を読み取る前に1 hr軽く振とうした。細胞生存率の減少パーセンテージをベヒクル（0.5%DMSO）処理に関して各ウェルについて計算した。結果、ベヒクルに関する薬物処理の細胞生存率の明らかな増加を負のパーセンテージとして表にする。

【0151】

COPDからの喀痰マクロファージ中のサイトカイン産生。

COPDを伴う患者は、5 minの換気呼吸を伴い超音波ネブライザー（Devilbiss、ミズーリ州カーセジ）を使用して3%（w/v）高張食塩水の霧状にされた溶液で吸入された。この手順を十分な喀痰が得られるまで最大3回反復した。喀痰サンプルを均質化しそして0.02%v/vのジチオスレイトール（DTT）溶液中でボルテックスミキサーを使用して活発に混合した。サンプルをPBS（40 mL）に再懸濁し、次いで4で1500 rpmで10 min遠心分離して喀痰細胞ペレットを得た。ペレットをPBS（40 mL）で2回洗浄した。喀痰細胞をその後、20 U/mLペニシリン、0.02 mg/mLストレプトマイシンおよび5 μg/mLアムホテリシンBを含有するマクロファージ無血清培地（macrophage-SFM、Life technologies、英国ペイズリー；24ウェルプレート中 2×10^6 /ウェルを達成するため）に再懸濁し、そして高結合型96ウェルプレート上に播種し、次いで37および5%CO₂で2 hrインキュベートして、マクロファージをプレートの底部に付着させた。プレート上の細胞を新鮮macrophage-SFM（200 μL/ウェル）で洗浄して好中球および他の汚染された細胞を除去した。プレート上の接着細胞（主に喀痰マクロファージ）をさらなる分析に使用した。喀痰の誘導および単離はGuy's HospitalのQuintiles Drug Research Unitで実施し、そして倫理承認および文書でのインフォームド・コンセントはQuintilesにより得られた。

【0152】

適切な場合、述べられた濃度の試験化合物若しくは参照品目いずれかを含有する溶液1 μL、または、あるいはベヒクル対照としての1 μLのDMSOを各ウェル（培地中200 μL）に添加し、そして細胞を2 hrインキュベートした。細胞をLPS溶液（50 μL、最終濃度：1 μg/mL）で刺激しそして37および5%CO₂で4 hrインキュベートした。上清をその後収集しつつ-80で保管した。Milliporeのluminexキットを使用して4種の被検体を測定した。上清を融解した後に磁性抗体ビーズを多重化し、そして標準、バックグラウンド溶液若しくは適切な容量のサンプルと96ウェルプレート中4で振とうしながら一夜インキュベートした。磁性プレート洗浄装置を使用してウェルあたり該キットにより提供される洗浄緩衝液200 μLで2回洗浄した後、ビーズを該キットにより提供されるビオチン複合抗体溶液25 μLと振とうしながらRTで1 hrインキュベートした。ストレプトアビシン溶液をRTで振とうしながら30 min添加した。ウェルあたり200 μLの洗浄緩衝液で洗浄した後にビーズをシース液（sheath fluid）（150 μL）に再懸濁しつつ即座に分析した。上清中の各被検体の濃度を、各標準曲線を使用し4若しくは5パラメータの等式を用いてXcell Fitソフトウェアを使用して計算した。各サイトカイン産生の阻害はベヒクル対照との比較により各濃度で計算した。IC₅₀値はXL-Fit（idbs、英國ギルフォード）を使用して濃度阻害曲線から決定した。

【0153】

10

20

30

40

50

COPDからの初代気管支上皮細胞におけるサイトカイン産生。

COPDを伴う患者から得られた初代気道上皮細胞をAsterand(英国ロイストン)から購入し、そして、LHC9(Invitrogen)(500mL)および3μLのレチノイン酸溶液(未希釈DMSO中5mg/mL)とLHC8(Invitrogen)(500mL)と一緒に混合することにより調製した気管支上皮細胞増殖培地中で維持した。培地を吸引により除去しそして新鮮BEGM(200μL)を各ウェルに添加した。適切な場合、規定された濃度(state concentrations)の試験化合物の溶液1μL若しくはベヒクル対照としての1μLのDMSOを添加し、そして細胞を2hrインキュベートした。細胞をTNF(50μL;最終濃度50ng/mL)で刺激しそしてその後37および5%CO₂で4hrインキュベートした。上清をその後収集しあつ-20で保管した。10

【0154】

IL-6およびIL-8の濃度を、R&D SystemsのヒトIL-6およびIL-8 Duo set^(R) Elisaキットを使用するELISAにより測定した。IL-6およびIL-8産生の阻害をベヒクル対照との比較により各濃度で計算した。50%阻害濃度(IC₅₀)は、XL-Fit(idbs、英国ギルフォード)を使用して、結果として生じる濃度反応曲線から決定した。

【0155】

*in vivo*スクリーニング：薬力学および抗炎症活性
マウスにおけるLPS誘発性的好中球蓄積20

非絶食Balb/cマウスに、LPS攻撃の適用による炎症応答の刺激前にベヒクル若しくは試験物質いずれかを指定された時点(範囲2~8hr内)に気管内経路により投与した。T=0にマウスを曝露チャンバーに入れそしてLPS(7.0mL、PBS中0.5mg/mL溶液)に30min曝露した。さらなる8hr後に動物を麻酔し、それらの気管にカニューレ挿入し、そしてBALFを、1.0mLのPBSを気管カテーテルを介して注入しあつその後それらの肺から抜き出すことにより抽出した。BALFサンプル中の全白血球数および白血球百分率をNeubauer血球計算器を使用して測定した。BALFサンプルのサイトスピンスマアを、200rpmでRTで5minの遠心分離により調製しあつDiffQuick染色系(Dade Behring)を使用して染色した。細胞は油浸顕微鏡検査を使用して計数した。BAL中の好中球数のデータを平均±S.E.M.(平均の標準誤差)として示す。好中球蓄積の阻害パーセンテージを各処置についてベヒクル処置に関して計算した。30

【0156】

たばこ煙モデル

A/Jマウス(雄性、5週齢)を、小動物用たばこ煙吸入実験装置(SISS-CS型；柴田科学株式会社、東京)を使用して11日間30min/日たばこ煙(4%たばこ煙、空気で希釈された)に曝露した。試験物質は最終たばこ煙曝露後3日間1日1回鼻内で(50%DMSO/PBS中溶液35μL)投与した。最終投与後12hrに動物のそれを麻酔し、気管にカニューレ挿入しそして気管支肺胞洗浄液(BALF)を収集した。肺胞マクロファージおよび好中球の数を抗マウスMOMA2抗体(マクロファージ)若しくは抗マウス7/4抗体(好中球)を使用するFACS分析(EPICS^(R) ALTRA II、Beckman Coulter, Inc.、米国カリフォルニア州フラートン)により測定した。BALFを遠心分離しあつ上清を収集した。BALF中のケラチノサイト化学誘引物質(KC; CXCL1)の濃度をQuentikine^(R)マウスKC ELISAキット(R&D systems, Inc.、米国ミネソタ州ミネアポリス)を使用して定量した。40

【0157】

*in vitro*および*in vivo*スクリーニングの結果の要約
上述されたプロトコルを使用して決定されるところの本明細書に開示される本発明の化合物の*in vitro*プロファイルを、抗ウイルス活性をもつ強力な抗炎症薬として以50

前に記述されている(I t o , K . ら、第 WO 2 0 1 0 / 1 1 2 9 3 6 号明細書、第 P C T / G B 2 0 1 0 / 0 5 0 5 7 5 号明細書、2 0 1 0 年 1 0 月 7 日、および I t o , K . ら、第 WO 2 0 1 0 / 0 6 7 1 3 0 号明細書、第 P C T / G B 2 0 0 9 / 0 5 1 7 0 2 号明細書、2 0 1 0 年 7 月 1 7 日)、N - (4 - (4 - (3 - (3 - t e r t - プチル - 1 - p - トリル - 1 H - ピラゾル - 5 - イル) ウレイド) ナフタレン - 1 - イルオキシ) ピリジン - 2 - イル) - 2 - メトキシアセトアミドである構造的に関係する参照化合物と比較して下(表 3 a - h)に提示する。

【 0 1 5 8 】

本発明の化合物は、該分子が参照化合物より非常に弱い酵素 G S K 3 のに対し保有する阻害の顕著な例外を伴い、キナーゼ酵素アッセイの範囲で参照化合物に非常に類似の阻害プロファイルを示す(表 3 a および表 3 b)。

【 0 1 5 9 】

【表12】

表3a: 化合物実施例のp38 MAPKおよびGSK3 α 酵素プロファイル

試験化合物	酵素阻害のIC50値(nM)		
実施例番号	p38 MAPK α	p38 MAPK γ	GSK3 α
参照化合物	12	344	45
1	60	3739	>17000
2	164	557	>1670
3	173	1503	2494
4	165	8198	>16600
5	161	>16300	>16300
6	161	>16200	>16200
7	170	1702	3505
8	151	>15500	>15500
9	171	760	3260
10	195	>16300	>16300
11	356	>16730	>16700
12	169	>16700	>16730
13	262	>16200	>16200
14	119	>16300	>16300
15	155	>16600	>16600
16	616	>16200	>16200
17	83	>16300	>16300
18	133	>15800	>15800
19	98	>15100	>15100
20	9	>16000	>16000
21	33	>1670	>1670
22	281	>1590	>1590
23	212	>1660	>1660
24	36	695	>1590
25	77	281	>1590

【0160】

【表13】

26	549	>1630	>1630	
27	105	535	2108	
28	1422	>1540	>1540	
29	311	423	>1620	
30	68	>1620	>1620	
31	118	>1580	>1580	10
32	189	>1620	>1620	
33	60	264	2377	

【0161】

【表14】

表3b:化合物(I)のc-SrcおよびSyk酵素プロファイル

試験化合物	酵素阻害のIC ₅₀ 値(nM)		20
	c-Src	Syk	
実施例1	22	334	
参照化合物	5	42	

【0162】

本発明の実施例1のキナーゼ結合プロファイルもまた、p38 MAPK、HCK、cSrc、SykおよびGSK3 / に対し参照化合物と比較した。実施例1は非常に異なる表現型を表し、GSK3 に対する有意の影響を伴わずにp38 MAPK、HCK、cSrcおよびSykキナーゼに対し結合の顕著な阻害を示した(表3c)。

【0163】

【表15】

表3c:化合物(I)の酵素結合プロファイルの参照化合物との比較

試験化合物	キナーゼ結合のKd値(nM)						
	p38 MAPK α	p38 MAPK γ	HCK	cSrc	Syk	GSK3 α	GSK3 β
化合物1	20	43	8	10	14	20000	1200
参照化合物	1	5	5	4	9	180	24

【0164】

本発明の化合物は、TNF およびIL - 8 双方の内毒素媒介性放出に対し抗炎症特性を示す、細胞アッセイにおける参照化合物と類似のプロファイルを示す(表3d)。該化合物のプロファイルは、呼吸器ウイルス複製(HRV誘発性のICAM1およびCPE発現ならびにRSV刺激性のFタンパク質の発現)ならびにウイルス誘発性の炎症(IL - 8のHRVに惹起される放出)に対するそれらの影響を測定する細胞系でもまた同様である(表3eおよび表3f)。

【0165】

【表16】

表3d: 化合物実施例のLPS誘発性のTNF α およびIL-8放出ならびにポリIC誘発性ICAM-1発現の阻害

試験化合物 実施例番号	LPS誘発性放出(nM)			ポリIC/ ICAM1(nM)
	TNF α		IL-8	
	IC ₅₀ (THP1)	REC ₅₀ (dU937)	IC ₅₀ (dU937)	IC ₅₀ (BEAS2B)
参考化合物	13	0.13	1.3	2.1
1	3.4	2.3	2.2	10
2	2.8	2.4	2.7	4.3
3	1.2	1.7	1.8	4.1
4	4.6	3.1	2.3	144
5	66	2.9	6.2	17
6	225	7.0	15	56
7	10	1.7	2.1	23
8	225	227	235	22
9	1.3	1.7	2.2	3.0
10	45	15	15	43
11	21	35	>1675	11
12	30	2.0	2.4	2.7
13	1603	>1618	>1618	3.0
14	2.7	2.0	1.6	9.8
15	3.0	2.2	2.3	9.3
16	4.1	1.1	0.31	36
17	4.3	2.0	2.1	6.7
18	157	13	15	28
19	192	13	14	43
20	121	18	23	16
21	17.	9.7	>1677	36
22	30	17	>1592	13
23	24	8.0	22	4.2

【0166】

【表 1 7】

24	0.8	2.3	86	5.0
25	0.4	0.84	1.5	2.5
26	1.9	4.1	6.6	8.4
27	0.5	0.54	2.0	1.6
28	0.4	14	18	3.0
29	1.6	11	2.3	2.8
30	1.6	1	3.0	11
31	6.1	16	32	80
32	14	12	9.7	21
33	0.5	7.4	6.3	2.6

【0 1 6 7】

【表18】

表3e: HRV-16増殖(ICAM-1およびCPEの発現)ならびに炎症(IL-8放出)ならびにRSV増殖(Fタンパク質発現)に対する化合物実施例の影響

試験化合物	0.04 μg/mLでの IC ₅₀ 値(nM)および／若しくは%阻害		
実施例番号	HRV IL-8 (BEAS2B)	HRV CPE (MRC5)	RSV (F-Elisa) (HBEC)
参考化合物	0.065	4.7	22.0
1	0.036	17.1 (57%)	15.4 (85%)
2	100%	5%	42%
3	100%	100%	NT
4	100%	44%	NT
5	49%	91%	NT
6	77%	46%	NT
7	100%	NE	NT
8	100%	100%	NT
9	100%	100%	NT
10	100%	100%	NT
11	100%	100%	NT
12	100%	100%	NT
13	100%	100%	NT
14	100%	100%	NT
15	100%	100%	NT
16	100%	10%	NT
17	100%	NE	NT
18	100%	NE	NT
19	100%	NE	NT
20	100%	NE	NT
21	100%	3%	66%
22	100%	48%	78%
23	100%	18%	41%
24	100%	41%	NT

【0168】

【表19】

25	100%	33%*	NT	
26	100%	69%	NT	
27	100%	51%	NT	
28	100%	54%	NT	
29	100%	13%	NT	
30	100%	NE	NT	10
31	100%	NE	NT	
32	100%	26%	NT	
33	100%	44%	NT	

NE:影響なし、0.04 μg/mLで0%以下; *0.0008 μg/mLで試験、0.04 μg/mLで低い細胞生存率; NT:未試験

【0169】

【表20】

表3f: 炎症(ICAM-1の発現)に対する実施例1の影響

20

試験物質	HRV刺激性の放出／発現の
	IC ₅₀ 値(nM)
実施例1	ICAM1 (BEAS2B) 0.023
参照化合物	0.37

【0170】

30

本発明の実施例1は、コルチコステロイド、フルチカゾンプロピオン酸エステルにほとんど非感受性であったCOPD患者から得られた喀痰マクロファージおよび気管支上皮細胞での炎症前サイトカイン産生においてより高い有効性を示した(表3g)。

【0171】

【表21】

表3g:COPD患者からの喀痰マクロファージおよび気管支上皮細胞中の炎症前サイトカイン放出に対する実施例1およびフルチカゾンプロピオン酸エステルの影響

細胞型	サイトカイン	示される試験物質に対するIC ₅₀ 値(nM)および／ 若しくはEmax(カッコ内%) ¹	
		実施例1	フルチカゾンプロピオン酸 エステル
喀痰 マクロファージ	IL-6	43 (79)	(26)
	IL-8	68 (64)	(19)
	TNF α	17 (86)	(18)
	MIP1 α	7.5 (89)	(20)
気管支上皮細胞	IL-6	1.7 (100)	(38)
	IL-8	0.85 (100)	(17)

1. Emax値(最大阻害)は0.1 μg/mLで得られた阻害%として計算した

【0172】

しかしながら、有利には、本発明の化合物は細胞生存率および細胞分裂(有糸分裂)に対するその影響を測定するアッセイ系で顕著により少ない活性を示し、該化合物が参照化合物を上回る優れた治療指數を保有することがありそうであることを示す(表3h)。

【0173】

10

20

【表22】

表3h:細胞生存率および細胞分裂に対する化合物実施例の影響

試験化合物 実施例番号	MTTアッセイ ¹		有糸分裂アッセイ	
	d-U937細胞における 時点での細胞生存率 4h	24h	濃度でのPBMC細胞に おける阻害%	
参考化合物	-ve	+ve	NT	87.8
1	-ve	-ve	13.7	31.3
2	-ve	-ve	NT	70.6
3	-ve	-ve	NT	NT
4	-ve	-ve	NT	NT
5	-ve	-ve	NT	NT
6	-ve	-ve	NT	NT
7	-ve	-ve	NT	10.2
8	-ve	-ve	15.6	NT
9	-ve	-ve	NT	50.3
10	-ve	-ve	NT	NT
11	-ve	-ve	NT	NT
12	-ve	-ve	NT	NT
13	-ve	-ve	NT	NT
14	-ve	-ve	NT	NT
15	-ve	-ve	NT	NT
16	-ve	-ve	NT	NT
17	-ve	-ve	NT	NT
18	-ve	-ve	NT	NT
19	-ve	-ve	n.t.	NT
20	-ve	-ve	NT	NT
21	-ve	-ve	NT	NT
22	-ve	-ve	NT	70.8
23	-ve	-ve	NT	NT
24	-ve	-ve	NT	NT
25	-ve	-ve	29.1	63.5

【0174】

【表23】

26	-ve	-ve	NT	NT
27	+ve	-ve	NT	11.2
28	-ve	-ve	NT	NT
29	+ve	-ve	NT	NT
30	-ve	-ve	NT	NT
31	-ve	-ve	NT	NT
32	-ve	-ve	NT	33.0
33	-ve	-ve	NT	67.2

1. 細胞生存率スクリーニング: -veおよび+veは、値が、指定される時点で $1 \mu\text{g/mL}$ での

30%阻害と定義される有意な効果なし閾値のそれより下および上であることを示す;

NT:未試験

10

【0175】

実施例1でのマウスの処置はLPS誘発性好中球蓄積に対し用量依存性の阻害を生じることが見出され、また、時間経過実験は該薬物が長い作用持続時間有したこと示した(表4)。

20

【0176】

【表24】

表4:マウスにおけるLPS誘発性の気道好中球増加に対する実施例1での処置の影響

実施例1 (mg/mL)	示される投与前時点でのBALF中の好中球数 ($\times 10^5/\text{mL}$) (%阻害) ¹		
	2 hr	8hr	12hr
ベヒクル	18.9 ± 2.5	-	-
0.05	15.6 ± 2.1 (18)	-	-
0.2	9.8 ± 1.6 (48)	-	-
1.0	4.4 ± 0.89 (77)	9.9 ± 1.8 (48)	18.3 ± 2.3 (4)

30

1. N=群あたり8

【0177】

マウスたばこ煙モデルにおけるBALF中のマクロファージおよび好中球蓄積に対する実施例1での処置の結果を検討した(表5)。この研究に使用されるたばこ煙モデルはコルチコステロイド抵抗性の系であることが報告されており(Medicherla S.ら、J. Pharmacol. Exp. Ther.、2008、324(3):921-9)、そして、フルチカゾンプロピオン酸エステルは、LPS誘発性的好中球蓄積の80%超阻害を生じた同一用量である $1.75 \mu\text{g}/\text{マウス}$ ($35 \mu\text{L}$ 、bid、i.n.)で気道への好中球若しくはマクロファージいずれの蓄積も阻害しなかったことが確認された。

40

【0178】

実施例1でのマウスの処置は、たばこ煙により誘発されるBALF中のマクロファージおよび好中球双方の蓄積に対し用量依存性の阻害を生じることが見出された。

【0179】

【表25】

表5:マウスにおけるたばこ煙に対する実施例1での処置の影響

処置 実施例1(μg/mL)	BALF中の細胞数 × 10 ⁴ /mL(%阻害)	
	マクロファージ	好中球
ベヒクル+空気	4.3 ± 0.45	2.6 ± 0.21
ベヒクル+たばこ煙	14.4 ± 0.33	13.7 ± 0.31
0.32	13.3 ± 0.20 (11)	12.4 ± 0.32 (12)
1.6	11.6 ± 0.42 (28)	10.5 ± 0.06 (29)
8.0	10.1 ± 0.42 (43)	9.1 ± 0.28 (41)
40	7.9 ± 0.20 (64)	7.9 ± 0.34 (52)

細胞数についてのデータは平均±SEMとして示し、N=5

【0180】

実施例1でのマウスの処置は、BALF中のたばこ煙誘発性のCXCL1(KC)産生もまた用量依存性の様式で阻害した（表6）。

【0181】

【表26】

20

表6:マウスにおけるたばこ煙に対するBALF中のCXCL1(KC)放出に対する実施例1での処置の影響

処置 実施例1(μg/mL)	BALF中CXCL1 pg/mL(%阻害)	
ベヒクル+空気	8.2 ± 0.30	
ベヒクル+たばこ煙	13.6 ± 1.69	
0.32	13.6 ± 1.69 (0)	30
1.6	12.2 ± 0.96 (26)	
8.0	11.4 ± 0.15 (41)	
40	9.5 ± 0.84 (76)	

CXCLレベルのデータは平均±SEMとして示し、N=5

【0182】

要約すると、これらの結果は、本発明の化合物が上で開示される参照化合物に類似の抗炎症特性を有し、かつ、有利にはより大きい治療指数を伴うことを示唆する。

40

【0183】

製剤実施例 - 製薬学的製剤の製造

本発明の例示的一製薬学的製剤は、0.4重量%の実施例1（固体の結晶形の無水遊離塩基として）、9.8.6重量%の乳糖一水和物（吸入等級）および1.0重量%のステアリン酸マグネシウムよりなることができ、ここで、全成分の重量%は乾燥製薬学的製剤の重量に基づく。

【0184】

本明細および後に続く請求の範囲を通じて、文脈が別 の方法で要求しない限り、「含んでなる（comprise）」という語、ならびに「含んでなる（comprises）」および「含んでなること（comprising）」のような変形は、述べられる整数

50

、段階、整数の群若しくは段階の群の包含を意味すると理解されることができるが、しかしいかなる他の整数、段階、整数の群若しくは段階の群の排除と理解されないことができる。

【 0 1 8 5 】

本明細書で参照される全部の特許および特許出願はそっくりそのまま引用することにより組み込まれる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	11/02	(2006.01) A 6 1 P 11/02
A 6 1 P	27/02	(2006.01) A 6 1 P 27/02
A 6 1 P	17/06	(2006.01) A 6 1 P 17/06
A 6 1 P	1/04	(2006.01) A 6 1 P 1/04
A 6 1 P	17/00	(2006.01) A 6 1 P 17/00
A 6 1 P	19/02	(2006.01) A 6 1 P 19/02
A 6 1 P	29/00	(2006.01) A 6 1 P 29/00 1 0 1
A 6 1 P	35/00	(2006.01) A 6 1 P 29/00
A 6 1 P	35/04	(2006.01) A 6 1 P 35/00
A 6 1 K	45/00	(2006.01) A 6 1 P 35/04 A 6 1 K 45/00

(72)発明者 伊藤 一洋

イギリス・ロンドン エスタブリュー7 2エイゼット・インペリアルカレッジ・ベセマービルディング・レベル1・インペリアルカレッジバイオインキュベーター・レスピバート・リミテッド内

(72)発明者 シヤロン , キヤサリン・エリザベス

イギリス・ロンドン エスタブリュー7 2エイゼット・インペリアルカレッジ・ベセマービルディング・レベル1・インペリアルカレッジバイオインキュベーター・レスピバート・リミテッド内

(72)発明者 オニオンズ , スチュアート・トマス

イギリス・ノツテインガム エヌジー1 1ジーエフ・ペニーフットストリート・バイオシティノツテインガム・シグナチヤーケミカルサービスリミテッド内

(72)発明者 ロングショー , アリストア・イアン

イギリス・ノツテインガム エヌジー1 1ジーエフ・ペニーフットストリート・バイオシティノツテインガム・シグナチヤーケミカルサービスリミテッド内

審査官 早川 裕之

(56)参考文献 特表2005-518447(JP,A)

特表2005-507367(JP,A)

特表2014-528404(JP,A)

特表2012-511563(JP,A)

特表2013-530179(JP,A)

特表2012-504591(JP,A)

CIRILLO, Pier F. et al, Discovery and characterization of the N-phenyl-N'-naphthylurea class of p38 kinase inhibitors, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009年, Vol.19, No.9, p.2386-2391

MOSS, Neil et al, New modifications to the area of pyrazole-naphthyl urea based p38 MAP kinase inhibitors that bind to, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007年, Vol.17, No.15, p.4242-4247

REGAN, John et al, Pyrazole Urea-Based Inhibitors of p38 MAP Kinase: From Lead Compound to Clinical Candidate, Journal of Medicinal Chemistry, 2002年, Vol.45, No.14, p.2994-3008

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 07 D 403 / 12

A 6 1 K 31 / 506

A 6 1 K 45 / 00

A 6 1 P 1 / 0 4
A 6 1 P 1 1 / 0 0 ~ 0 6
A 6 1 P 1 7 / 0 0 ~ 0 6
A 6 1 P 1 9 / 0 2
A 6 1 P 2 7 / 0 2
A 6 1 P 2 9 / 0 0
A 6 1 P 3 5 / 0 0 ~ 0 4
A 6 1 P 3 7 / 0 8

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)