

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4405667号  
(P4405667)

(45) 発行日 平成22年1月27日(2010.1.27)

(24) 登録日 平成21年11月13日(2009.11.13)

(51) Int.Cl.

F 1

<b>C07D 498/22</b>	<b>(2006.01)</b>	C 07 D 498/22
<b>A61K 31/553</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 K 31/553
<b>A61P 35/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 P 35/00
<b>A61P 9/10</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 P 9/10
<b>A61P 21/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 P 21/00

請求項の数 12 (全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-526515 (P2000-526515)  
 (86) (22) 出願日 平成10年12月30日 (1998.12.30)  
 (65) 公表番号 特表2001-527079 (P2001-527079A)  
 (43) 公表日 平成13年12月25日 (2001.12.25)  
 (86) 國際出願番号 PCT/US1998/027644  
 (87) 國際公開番号 WO1999/033836  
 (87) 國際公開日 平成11年7月8日 (1999.7.8)  
 審査請求日 平成16年12月1日 (2004.12.1)  
 (31) 優先権主張番号 60/070,263  
 (32) 優先日 平成9年12月31日 (1997.12.31)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 599133646  
 セフアロン・インコーポレーテッド  
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州 1935  
 5フレーバー・ピーオーボックス 4011  
 ムーアズロード 41  
 (74) 代理人 100104411  
 弁理士 矢口 太郎  
 (74) 代理人 100158621  
 弁理士 佐々木 義行  
 (74) 代理人 100133503  
 弁理士 関口 一哉  
 (74) 代理人 110000741  
 特許業務法人小田島特許事務所

最終頁に続く

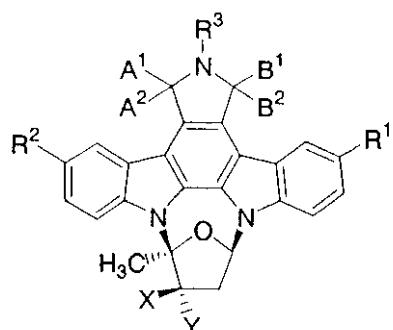
(54) 【発明の名称】 K-252aの3'-エピマー誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式:

【化1】



10

II

上式中:

R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は独立に:

水素; 低級アルキル; ハロゲン; アシル; ニトロ; スルホ;

-CH=NR<sup>4</sup> (ここで R<sup>4</sup> はグアニジノ、複素環基、もしくは -NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup> (ここで R<sup>5</sup>

20

5 もしくは  $R^6$  は水素もしくは低級アルキルであり、そして他方は水素、低級アルキル、アシル、アリール、複素環基、カルバモイルもしくは低級アルキルアミノカルボニルである)である) ;

-  $NR^5R^6$  ;

-  $CH(SR^7)_2$  (ここで  $R^7$  は低級アルキルもしくは2つの  $R^7$  が一緒にになってアルキレンを表す) ;

-  $(CH_2)_jR^8$  [ここで  $j$  は1 - 6であり、そして  $R^8$  はハロゲン；置換アリール；未置換アリール；置換ヘテロアリール；未置換ヘテロアリール； $N_3$  ;

-  $CO_2R^9$  (ここで  $R^9$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリールもしくは未置換ヘテロアリールである) ;

-  $C(=O)NR^{10}R^{11}$  (ここで  $R^{10}$  および  $R^{11}$  は独立に水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、置換アラルキル、未置換アラルキル、低級アルキルアミノカルボニルもしくは低級アルコキシカルボニルであるか、または  $R^{10}$  および  $R^{11}$  は窒素原子と結合して複素環基を形成する) ;

-  $OR^{12}$  (ここで  $R^{12}$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、または -  $C(=O)R^{13}$  (ここで  $R^{13}$  は水素、 $NR^{10}R^{11}$  、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、置換アラルキルもしくは未置換アラルキルである)である) ;

-  $NR^{10}R^{11}$  ;

-  $C(=O)R^{14}$  (ここで  $R^{14}$  は水素、低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリールもしくは未置換ヘテロアリールである) ; または

-  $SR^{15}$  (ここで  $r$  は0ないし2であり、そして  $R^{15}$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、置換アラルキル、未置換アラルキル、チアゾリニル、 $(CH_2)_aCO_2R^{16}$  (ここで  $a$  は1もしくは2であり、そして  $R^{16}$  は水素もしくは低級アルキルである)、または -  $(CH_2)_aC(=O)NR^{10}R^{11}$  である) ; である] ;

-  $OR^{17}$  (ここで  $R^{17}$  は水素、低級アルキルもしくは -  $C(=O)R^{18}$  (ここで  $R^{18}$  は置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリールもしくは未置換アリールである)である) ;

-  $C(=O)(CH_2)_jR^{19}$  (ここで  $R^{19}$  は水素、ハロゲン、 $NR^{10}R^{11}$  、 $N_3$  、 $SR^{15}$  もしくは  $OR^{20}$  (ここで  $R^{20}$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキルもしくは  $C(=O)R^{14}$  である)である) ;

-  $CH(OH)(CH_2)_jR^{19}$  ;

-  $(CH_2)_dCHR^{21}CO_2R^{16A}$  (ここで  $d$  は0 - 5であり、そして  $R^{21}$  は水素、 $CONR^{10}R^{11}$  もしくは  $CO_2R^{16A}$  (ここで  $R^{16A}$  は  $R^{16}$  と同義である)である) ;

-  $(CH_2)_dCHR^{21}CONR^{10}R^{11}$  ;

-  $CH=CH(CH_2)_mR^{22}$  (ここで  $m$  は0 - 4であり、そして  $R^{22}$  は水素、低級アルキル、 $CO_2R^9$  、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、 $OR^{12}$  もしくは  $NR^{10}R^{11}$  である) ;

-  $CH=C(CO_2R^{16A})_2$  ;

-  $C=C(CH_2)_mR^{22}$  ;

-  $SO_2NR^{23}R^{24}$  (ここで  $R^{23}$  および  $R^{24}$  は独立に水素、低級アルキル、もしくは隣接する窒素原子と複素環基を形成する基である) ;

-  $OCO_2R^{13A}$  (ここで  $R^{13A}$  は  $R^{13}$  と同義である) ; あるいは

-  $OC(=O)NR^{10}R^{11}$

であり；

$R^3$  は、水素；低級アルキル；カルバモイル；アミノ；テトラヒドロピラニル；ヒドロキ

10

20

30

40

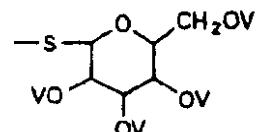
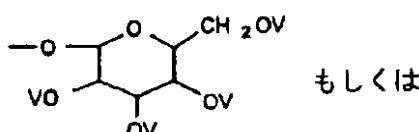
50

シル；C(=O)H；アラルキル；低級アルカノイル；もしくはCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>R<sup>2</sup><sup>5</sup>（ここでR<sup>2</sup><sup>5</sup>はハロゲン、アミノ、ジ低級アルキルアミノ、ヒドロキシルもしくはヒドロキシ置換された低級アルキルアミノである）であり；

Xは、水素；ホルミル；カルボキシル；低級アルコキシカルボニル；低級アルキルヒドロジカルボニル；-CN；低級アルキル；-C(=O)NR<sup>2</sup><sup>6</sup>R<sup>2</sup><sup>7</sup>（ここでR<sup>2</sup><sup>6</sup>およびR<sup>2</sup><sup>7</sup>は独立に水素、未置換低級アルキルもしくは未置換アリールであるか；またはR<sup>2</sup><sup>6</sup>およびR<sup>2</sup><sup>7</sup>は窒素原子と結合して複素環基を形成する）；-CH(R<sup>3</sup><sup>4</sup>)W（ここでR<sup>3</sup><sup>4</sup>は水素もしくは低級アルキルであり、そしてWは-N=CHN（アルキル）<sub>2</sub>；グアニジノ；N<sub>3</sub>；NR<sup>2</sup><sup>8</sup>R<sup>2</sup><sup>9</sup>（ここでR<sup>2</sup><sup>8</sup>もしくはR<sup>2</sup><sup>9</sup>は水素もしくは低級アルキルであり、そして他方は水素、アリル、アルカノイル、アリールオキシカルボニル、未置換アルキルもしくは-A-アミノ酸の残基、（その中でカルボキシル基のヒドロキシ基が排除される）である）；-CO<sub>2</sub>R<sup>9</sup>；-C(=O)NR<sup>1</sup><sup>0</sup>R<sup>1</sup><sup>1</sup>；-S(=O)<sub>r</sub>R<sup>3</sup><sup>0</sup>（ここでR<sup>3</sup><sup>0</sup>は置換もしくは未置換の低級アルキル、アリールもしくはヘテロアリールである）；あるいは-O-R<sup>3</sup><sup>1</sup>（ここでR<sup>3</sup><sup>1</sup>は水素、置換もしくは未置換のアルキル、または置換もしくは未置換のアルカノイルである）である；

-CH=N-R<sup>3</sup><sup>2</sup>（ここでR<sup>3</sup><sup>2</sup>はヒドロキシル、低級アルコキシ、アミノ、グアニジノ、ウレイド、イミダゾリルアミノ、カルバモイルアミノもしくはNR<sup>2</sup><sup>6</sup>AR<sup>2</sup><sup>7</sup>A（ここでR<sup>2</sup><sup>6</sup>AはR<sup>2</sup><sup>6</sup>と同義でありかつR<sup>2</sup><sup>7</sup>AはR<sup>2</sup><sup>7</sup>と同義である）である）；あるいは

-CH<sub>2</sub>Q（ここでQは  
【化2】



により表わされる糖残基であり、

上式中Vは水素、メチル、エチル、ベンジル、アセチルもしくはトリフルオロアセチルを表わす）

であり；

Yは、水素；-OH；-OC(=O)R<sup>3</sup><sup>3</sup>（ここでR<sup>3</sup><sup>3</sup>はアルキル、アリールもしくはアミノである）；-OCH<sub>2</sub>O-アルキル；-O-アルキル；またはアラルキルオキシであるか；またはXおよびYは-X-Y-として結合されて-CH<sub>2</sub>OCO<sub>2</sub>-もしくは

-CH<sub>2</sub>N(R<sup>1</sup><sup>6</sup><sup>B</sup>)CO<sub>2</sub>-（ここでR<sup>1</sup><sup>6</sup><sup>B</sup>はR<sup>1</sup><sup>6</sup>と同義である）を形成し；

A<sup>1</sup>およびA<sup>2</sup>は水素であるか、もしくは双方は結合されてOを表わすか；または

B<sup>1</sup>およびB<sup>2</sup>は水素であるか、もしくは双方は結合されてOを表わす；

の化合物、あるいはその製薬学的に許容できる塩であるが；ただしA<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>もしくはB<sup>1</sup>、B<sup>2</sup>の少なくとも一方がOを表わし；また、さらにただしXおよびYの双方が同時に水素ではない。

【請求項2】

Xが-C(=O)NR<sup>2</sup><sup>6</sup>R<sup>2</sup><sup>7</sup>、カルボキシル、低級アルコキシカルボニル、ホルミル、低級アルキル、-CH<sub>2</sub>OR<sup>3</sup><sup>1</sup>、-CH<sub>2</sub>NR<sup>2</sup><sup>8</sup>R<sup>2</sup><sup>9</sup>、もしくは-CH<sub>2</sub>S(O)<sub>r</sub>R<sup>3</sup><sup>0</sup>である、請求項1の化合物。

【請求項3】

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>がHである、請求項1の化合物。

【請求項4】

R<sup>3</sup>が水素である、請求項1の化合物。

【請求項5】

化合物が、化合物V I、V I I、V I I I、X、X I I、X I V、X V、X V I、X V

10

20

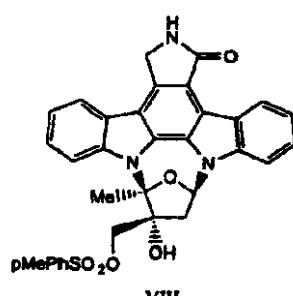
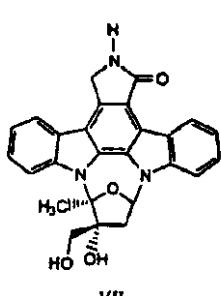
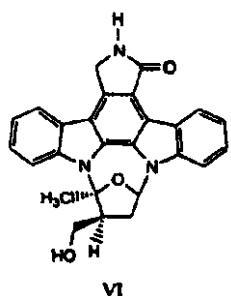
30

40

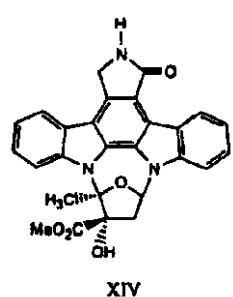
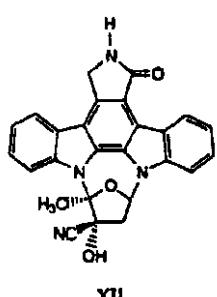
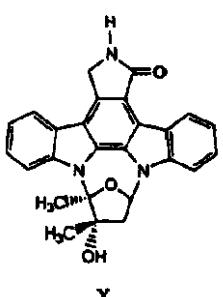
50

I I、X V I I I I、X I X、X X V およびX X V I Iより成る群から選ばれる請求項1の化合物。

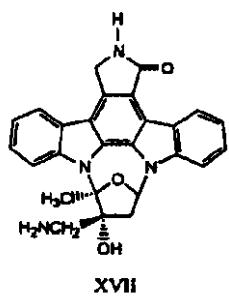
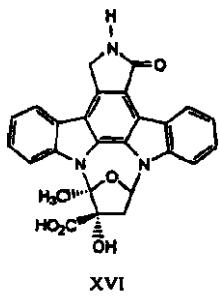
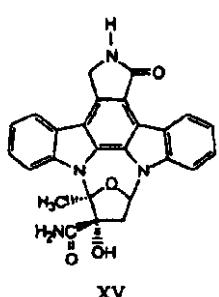
【化3】



10

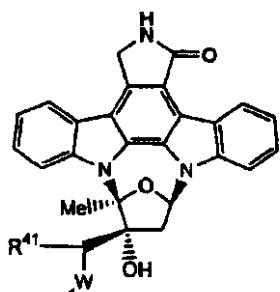
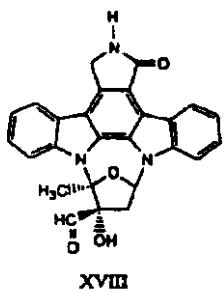


20



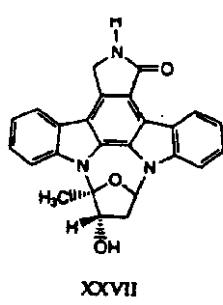
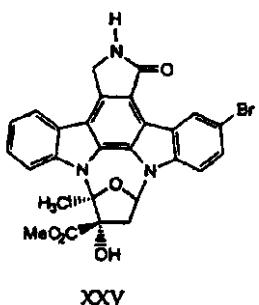
30

## 【化4】



10

$W = \text{CH}_2, \text{O}, \text{S}, \text{NH}$ , しくは  $R^{42}W = X$   
 $R^{41} = \text{H}$  しくは 低級アリル  
 $R^{42} = \text{低級アリル}$



20

XXV

XXVI

## 【請求項6】

請求項1に記載の化合物を含んで成る製薬学的組成物。

## 【請求項7】

チロシンキナーゼの活性を阻害する阻害剤であって、請求項1記載の化合物を有するものである、阻害剤。

## 【請求項8】

請求項7記載の阻害剤において、

前記チロシンキナーゼは、プロテインキナーゼCである。

30

## 【請求項9】

請求項7記載の阻害剤において、

前記チロシンキナーゼは、trkAである。

## 【請求項10】

第二のキナーゼによるチロシンキナーゼのホスリル化を阻害する阻害剤であって、

請求項1記載の化合物を有するものである、阻害剤。

## 【請求項11】

コリン作動性ニューロンの機能を高める組成物であって、

請求項1記載の化合物を有するものである、組成物。

40

## 【請求項12】

コリン作動性ニューロンの生存を高める組成物であって、

請求項1記載の化合物を有するものである、組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

本出願は1997年12月31日に出願された仮出願番号第60/070,263号の利益を請求する。

## 【0002】

(発明の分野)

50

本発明の分野は製薬化学である。

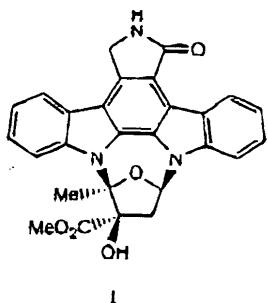
【0003】

(発明の背景)

K-252aは、その立体化学が下(式I)すなわち

【0004】

【化5】



10

【0005】

に示されるインドロカルバゾールである。

【0006】

K-252aは細胞機能の調節においてある役割を演じるプロテインキナーゼC (PKC)を阻害する。K-252aは、多様な活性、例えば、平滑筋収縮を阻害すること (Jap. J. Pharmacol. 43 (suppl.): 284, 1987)、セロトニン分泌を阻害すること (Biochem. Biophys. Res. Commun. 144: 35, 1987)、軸索の伸長を阻害すること (J. Neurosci. 8: 715, 1988)、ヒスタミン放出を阻害すること (Allergy 43: 100, 1988)、平滑筋MLCKを阻害すること (J. Biol. Chem. 263: 6215, 1988)、抗炎症作用 (Acta Physiol. Hung. 80: 423, 1992) および細胞の生存の促進 (J. Neurochem. 64: 1502, 1995) を有する。K-252aはまたIL-2産生も阻害する (Exper. Cell Res. 193: 175-182, 1991)。K-252aの天然の(+)異性体およびその鏡像異性の(-)異性体(糖部分の全3個のキラル炭素が反転される)の全合成が達成されている (ウッド (Wood) ら、J. Am. Chem. Soc. 117: 10413, 1995; およびWO 97/07081)。

20

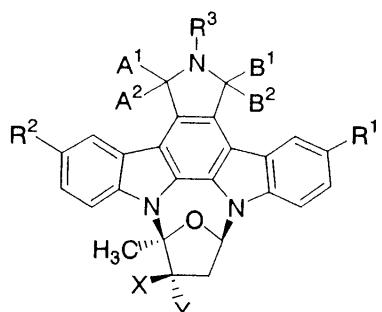
【0007】

(発明の要約)

われわれは、K-252aのある3'-エピマー誘導体が生物学的に活性であることを発見した。これらの化合物は以下の一般式(式II)すなわち

【0008】

【化6】



30

【0009】

50

上式中：

$R^1$  および  $R^2$  は独立に：

水素；低級アルキル；ハロゲン；アシル；ニトロ；スルホ；

-  $CH = NR^4$  (ここで  $R^4$  はグアニジノ、複素環基、もしくは  $-NR^5R^6$  (ここで  $R^5$  もしくは  $R^6$  は水素もしくは低級アルキルであり、そして他方は水素、低級アルキル、アシル、アリール、複素環基、カルバモイルもしくは低級アルキルアミノカルボニルである) である)；

-  $NR^5R^6$ ；

-  $CH(SR^7)_2$  (ここで  $R^7$  は低級アルキルもしくは 2つの  $R^7$  が一緒になってアルキレンを表す)；

-  $(CH_2)_jR^8$  [ここで  $j$  は 1 - 6 であり、そして  $R^8$  はハロゲン；置換アリール；未置換アリール；置換ヘテロアリール；未置換ヘテロアリール； $N_3$ ；

-  $CO_2R^9$  (ここで  $R^9$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリールもしくは未置換ヘテロアリールである)；

-  $C(=O)NR^{10}R^{11}$  (ここで  $R^{10}$  および  $R^{11}$  は独立に水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、置換アラルキル、未置換アラルキル、低級アルキルアミノカルボニルもしくは低級アルコキシカルボニルであるか、または  $R^{10}$  および  $R^{11}$  は窒素原子と結合して複素環基を形成する)；

-  $OR^{12}$  (ここで  $R^{12}$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、または  $-C(=O)R^{13}$  (ここで  $R^{13}$  は水素、 $NR^{10}R^{11}$ 、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、置換アラルキルもしくは未置換アラルキルである) である)；

-  $NR^{10}R^{11}$ ；あるいは

-  $C(=O)R^{14}$  (ここで  $R^{14}$  は水素、低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリールもしくは未置換ヘテロアリールである)；または

-  $SR^{15}$  (ここで  $r$  は 0 ないし 2 であり、そして  $R^{15}$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、置換アラルキル、未置換アラルキル、チアゾリニル、 $(CH_2)_aCO_2R^{16}$  (ここで  $a$  は 1 もしくは 2 であり、そして  $R^{16}$  は水素もしくは低級アルキルである)、または  $-(CH_2)_aC(=O)NR^{10}R^{11}$  である)；

である]；

-  $OR^{17}$  (ここで  $R^{17}$  は水素、低級アルキルもしくは  $-C(=O)R^{18}$  (ここで  $R^{18}$  は置換低級アルキル、未置換低級アルキル、置換アリールもしくは未置換アリールである) である)；

-  $C(=O)(CH_2)_jR^{19}$  (ここで  $R^{19}$  は水素、ハロゲン、 $NR^{10}R^{11}$ 、 $N_3$ 、 $SR^{15}$  もしくは  $OR^{20}$  (ここで  $R^{20}$  は水素、置換低級アルキル、未置換低級アルキルもしくは  $C(=O)R^{14}$  である) である)；

-  $CH(OH)(CH_2)_jR^{19}$ ；

-  $(CH_2)_dCHR^{21}CO_2R^{16A}$  (ここで  $d$  は 0 - 5 であり、そして  $R^{21}$  は水素、 $CONR^{10}R^{11}$  もしくは  $CO_2R^{16A}$  (ここで  $R^{16A}$  は  $R^{16}$  と同義である) である)；

-  $(CH_2)_dCHR^{21}CONR^{10}R^{11}$ ；

-  $CH=CH(CH_2)_mR^{22}$  (ここで  $m$  は 0 - 4 であり、そして  $R^{22}$  は水素、低級アルキル、 $CO_2R^9$ 、置換アリール、未置換アリール、置換ヘテロアリール、未置換ヘテロアリール、 $OR^{12}$  もしくは  $NR^{10}R^{11}$  である)；

-  $CH=C(CO_2R^{16A})_2$ ；

-  $C=C(CH_2)_mR^{22}$ ；

-  $SO_2NR^{23}R^{24}$  (ここで  $R^{23}$  および  $R^{24}$  は独立に水素、低級アルキル、もしくは隣接する窒素原子と複素環基を形成する基である)；

-  $OCO_2R^{13A}$  (ここで  $R^{13A}$  は  $R^{13}$  と同義である)；あるいは

10

20

30

40

50

- O C ( = O ) N R<sup>10</sup> R<sup>11</sup>

であり；

R<sup>3</sup>は、水素；低級アルキル；カルバモイル；アミノ；テトラヒドロピラニル；ヒドロキシル；C ( = O ) H；アラルキル；低級アルカノイル；もしくはC H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> R<sup>25</sup>（ここでR<sup>25</sup>はハロゲン、アミノ、ジ低級アルキルアミノ、ヒドロキシルもしくはヒドロキシ置換された低級アルキルアミノである）であり；

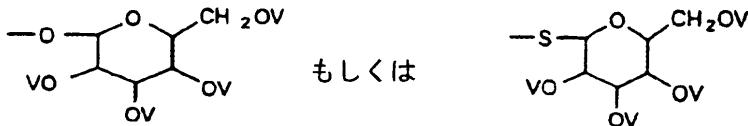
Xは、水素；ホルミル；カルボキシル；低級アルコキシカルボニル；低級アルキルヒドロジノカルボニル；- C N；低級アルキル；- C ( = O ) N R<sup>26</sup> R<sup>27</sup>（ここでR<sup>26</sup>およびR<sup>27</sup>は独立に水素、未置換低級アルキルもしくは未置換アリールであるか；またはR<sup>26</sup>およびR<sup>27</sup>は窒素原子と結合して複素環基を形成する）；- C H ( R<sup>34</sup> ) W（ここでR<sup>34</sup>は水素もしくは低級アルキルであり、そしてWは- N = C H N（アルキル）<sub>2</sub>；グアニジノ；N<sub>3</sub>；N R<sup>28</sup> R<sup>29</sup>（ここでR<sup>28</sup>もしくはR<sup>29</sup>は水素もしくは低級アルキルであり、そして他方は水素、アリル、アルカノイル、アリールオキシカルボニル、未置換アルキルもしくは- アミノ酸の残基（その中でカルボキシル基のヒドロキシ基が排除される）である）；- C O<sub>2</sub> R<sup>9</sup>；- C ( = O ) N R<sup>10</sup> R<sup>11</sup>；- S ( = O ) , R<sup>30</sup>（ここでR<sup>30</sup>は置換もしくは未置換の低級アルキル、アリールもしくはヘテロアリールである）；あるいは- O R<sup>31</sup>（ここでR<sup>31</sup>は水素、置換もしくは未置換のアルキル、または置換もしくは未置換のアルカノイルである）である；

- C H = N - R<sup>32</sup>（ここでR<sup>32</sup>はヒドロキシル、低級アルコキシ、アミノ、グアニジノ、ウレイド、イミダゾリルアミノ、カルバモイルアミノもしくはN R<sup>26A</sup> R<sup>27A</sup>（ここでR<sup>26</sup><sup>A</sup>はR<sup>26</sup>と同義でありかつR<sup>27A</sup>はR<sup>27</sup>と同義である）である）；あるいは

- C H<sub>2</sub> Q（ここでQは

【0010】

【化7】



30

【0011】

により表わされる糖残基であり、

上式中Vは水素、メチル、エチル、ベンジル、アセチルもしくはトリフルオロアセチルを表わす）

であり；

Yは、水素；- O H；- O C ( = O ) R<sup>33</sup>（ここでR<sup>33</sup>はアルキル、アリールもしくはアミノである）；- O C H<sub>2</sub> O - アルキル；- O - アルキル；またはアラルキルオキシであるか；またはXおよびYは- X - Y - として結合されて- C H<sub>2</sub> O C O<sub>2</sub> - もしくは- C H<sub>2</sub> N ( R<sup>16B</sup> ) C O<sub>2</sub> - （ここでR<sup>16B</sup>はR<sup>16</sup>と同義である）を形成し；

A<sup>1</sup>およびA<sup>2</sup>は水素であるか、もしくは双方は結合されてOを表わすか；またはB<sup>1</sup>およびB<sup>2</sup>は水素であるか、もしくは双方は結合されてOを表わす；

あるいはその製薬学的に許容できる塩を有するが；ただしA<sup>1</sup>、A<sup>2</sup>もしくはB<sup>1</sup>、B<sup>2</sup>の少なくとも一方がOを表わし；また、さらにただしXおよびYの双方が同時に水素ではない。

【0012】

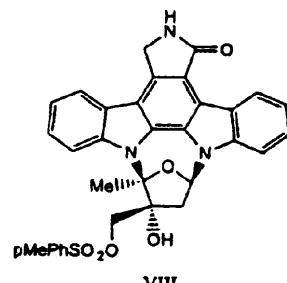
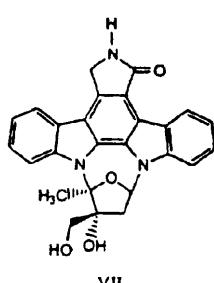
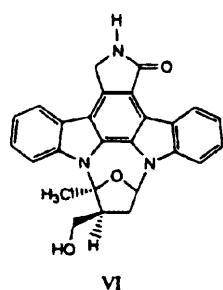
好ましくは、Xは- C ( = O ) N R<sup>26</sup> R<sup>27</sup>、カルボキシル、低級アルコキシカルボニル、ホルミル、低級アルキル、- C H<sub>2</sub> O R<sup>31</sup>、- C H<sub>2</sub> N R<sup>28</sup> R<sup>29</sup>、もしくは- C H<sub>2</sub> S ( O ) , R<sup>30</sup>である。好ましくは、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>はHである。好ましくは、R<sup>3</sup>は水素もしくは保護基である。特に好ましいのは、下に示される化合物VI、VII、VIII、X、XI、XIV、XV、XVI、XVII、XVIII、XIX、XXXVおよびXXXVIIである。

40

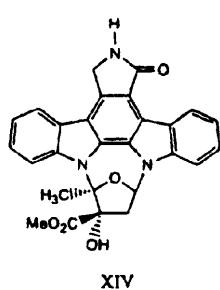
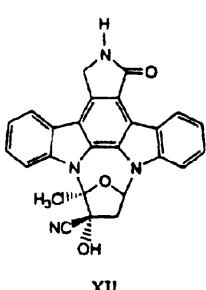
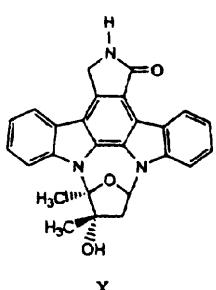
50

【0013】

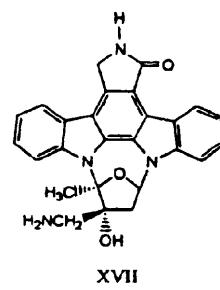
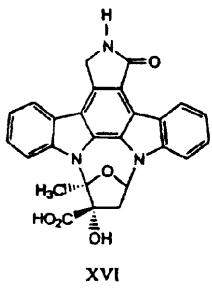
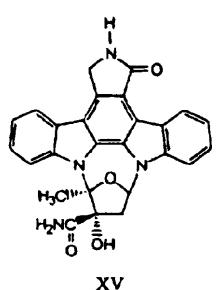
【化8】



10



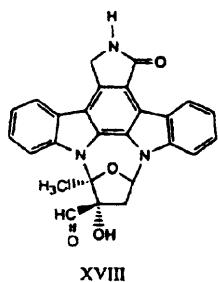
20



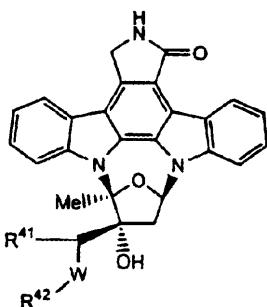
30

【0014】

【化9】

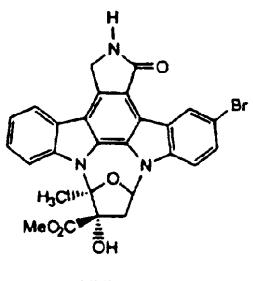


XVIII

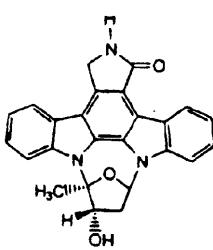


XIX

W = CH<sub>2</sub>, O, S, NH, もしくは R<sup>42</sup>W = H  
 R<sup>41</sup> = H もしくは 低級アルキル  
 R<sup>42</sup> = 低級アルキル



xxv



xxvi

〔 0 0 1 5 〕

本発明のいくつかの態様において、K-252aの3'-エピマー誘導体は製薬学的組成物に処方される。

〔 0 0 1 6 〕

本発明はまた、チロシンキナーゼ、たとえばプロテインキナーゼC (PKC) の活性の阻害方法も提供する。当該方法はチロシンキナーゼを請求項1の化合物と接触させることを包含する。チロシンキナーゼはインビボもしくはインビトロであり得る。

〔 0 0 1 7 〕

本発明はまた、第二のキナーゼによるチロシンキナーゼのホスホリル化の阻害方法も提供する。当該方法は第二のキナーゼを請求項1の化合物と接触させることを包含する。チロシンキナーゼはインビボもしくはインビトロであり得る。

[ 0 0 1 8 ]

本発明はまた、コリン作動性ニューロンの機能を高める方法も提供する。当該方法はコリン作動性ニューロンを請求項1の化合物と接触させることを包含する。コリン作動性ニューロンはインビボもしくはインビトロであり得る。

[ 0 0 1 9 ]

本発明はまた、コリン作動性ニューロンの生存を高める方法も提供する。当該方法はコリン作動性ニューロンを請求項1の化合物と接触させることを包含する。コリン作動性ニューロンはインビオもしくはインビトロであり得る。

( 0 0 2 0 )

別に定義されない限り、本明細書で使用される全部の技術的および学術的用語は、本発明が属する技術分野の通常の技能を有する者により普遍的に理解されているのと同一の意味を有する。対立する場合は、定義を包含する本出願が支配する(control)。本明細書で挙げられる全部の刊行物、特許出願、特許および他の参考文献は引用により組み込まれる。

【 0 0 2 1 】

本明細書に記述されるものに類似もしくは同等な方法および材料が本発明の実施もしくは試験で使用され得るとは言え、好ましい方法および材料が下に記述される。該材料、方法

10

20

30

40

50

および実施例は具体的に説明することを意図するにすぎず、制限することを意図するものでない。本発明の他の特徴および利点が詳述される記述および請求の範囲から明らかとなるであろう。

【0022】

本発明のK-252aの3'-エピマー誘導体は、チロシンキナーゼ活性の阻害、例えばPKCもしくはtrkチロシンキナーゼの阻害（この阻害は癌を包含する疾患の治療に有用でありうる）を包含する薬理学的活性を示す。本発明の化合物は栄養因子応答性細胞、例えばコリン作動性ニューロンの機能および／もしくは生存を高めるのに有用である。ニューロンに対する影響は以下、すなわち（1）培養された脊髄のコリンアセチルトランスフェラーゼ（「ChAT」）アッセイ；および（2）培養された基底前脳ニューロン（「BFN」）のChAT活性アッセイを始めとするアッセイで立証され得る。 10

【0023】

ChATはアセチルコリンにつながる生合成経路中の酵素である。コリン作動性ニューロンに関連するChAT活性はそのニューロンが機能性であることを示す。ニューロンの生存はニューロンによる色素、例えばカルセインAMの取り込みおよび酵素的変換を測定することによりアッセイされ得る。

【0024】

多様な神経学的障害は、傷害されている、機能的に損なわれている（functionally compromised）、軸索変性を受けている、死につつあるかもしくは死亡の危険にさらされているニューロン細胞を特徴とする。これらの障害は：アルツハイマー病、筋委縮性側索硬化症のような運動ニューロンの障害、パーキンソン病；卒中もしくは虚血のような脳血管障害、ハンチントン病、 AIDS痴呆、癲癇、多発性硬化症、末梢ニューロパシー、興奮性アミノ酸により誘発される障害、および脳もしくは脊髄の震盪性もしくは浸透性傷害を伴う障害を包含する。 20

【0025】

栄養因子応答性細胞の栄養因子誘発活性を高めるため、本発明の化合物は、哺乳動物、例えばヒトでのニューロン系統の細胞の機能および／もしくは生存を高める治療薬として使用され得る。とりわけ、それらは、低下されたChAT活性もしくは脊髄の運動ニューロンに対する傷害を伴う障害の治療で有用である。

化学合成

本発明の化合物は後述されるとおり製造され得る（図1-7）。当該化合物は適当に保護されたK-252a誘導体を用いて出発することにより製造され得る。K-252aは例えばアセテートもしくはシリル誘導体としてラクタムのアミドの窒素を保護され得る。 30

【0026】

チオノカーボネートIVa（図1）が、米国特許第4,923,986号に記述されるような手順を使用してジオールIIaから製造され得る。トリメチルホスファイトでのIVaの処理は環外アルケンVを与える。アルケンVはヒドロホウ素化条件を使用して（S）-メタノール誘導体VIに転化され得るか、もしくはテトラヒドロフラン（THF）中、四酸化オスミウムを使用して（R）-ジオールVIIに転化され得る。化合物VIIにおいて、糖の3'位置の配置は、米国特許第4,923,986号中に（S）-ジオールIIとして報告された配置と反対である。 40

【0027】

（R）-エポキシドIXa（図2）は、（R）-ジオールVIIをトシリル中間体VIIIに転化すること、次いで水素化ナトリウムもしくは水酸化ナトリウムのような塩基での処理により製造され得る。水素化トリエチルホウ素リチウムのような水素化物還元剤での（R）-エポキシドIXaの処理は、t-ブチルジメチルシリル（TBDMS）基の脱保護後に第三級（S）-アルコールXを与える。化合物VII、VIIIもしくはXのようなキラルなアルコール誘導体が、慣習的技術を使用して塩基およびハロゲン化物もしくはトシリル化物との反応によりエーテル誘導体にさらに転化され得る。アルコール誘導体は、酸の塩化物もしくは酸無水物での処理によりエステル誘導体、または既知の手順による適当なイ 50

ソシアナートとの反応によりカルバメートにもまた転化され得る。例えば化合物VIもしくはVIIのハロゲン化物もしくはスルホネートの誘導体は多様なO、S、NもしくはC求核体で置き換えられて適当な誘導体を生じ得る。

【0028】

3'-(R)-K-252aXIVの製造(図3)はケトンXIで開始する。化合物XI-Vは3'の糖の位置でのみ天然のK-252a異性体と異なる。シアノ化物塩(NaCN、KCN、シアノ化テトラブチルアンモニウムもしくはTMS-CN)でのケトンXIaの処理はシアノヒドリンXI-IおよびXI-IIの混合物を与える。シアノヒドリン異性体の混合物はクロマトグラフィーにより分離され得るか、またはメタノール中HC1を使用してエステルXIVもしくはアミドXVに直接転化され得る。3'エピ-K-252aXIVは天然のK-252aについて使用されるような手順を使用してヒドロキシ酸XVIに加水分解され得る。例えばJ.Antibiot.39:1072、1986を参照。酸XVIはK-252aについて記述される類似の手順を使用して多様なエステルもしくはアミド誘導体に転化され得る。例えば、米国特許第4,923,986;5,461,146;および5,654,427号を参照。アミドXVは、天然のK-252aの転化について記述される手順を使用して、対応するメチルアミン誘導体XVI-Iに還元され得、そして、XVI-Iが多数のメチルアミドおよびメチル尿素誘導体を製造するのに使用され得る。例えば、米国特許第4,923,986;5,461,146;および5,654,427号を参照。3'エピ-K-252aはアルデヒドXVI-IIに還元され得、そして多様なアミン、ヒドラジンもしくはヒドロキシルアミンと縮合されて対応する類縁体を生じ得る。アルデヒドXVI-IIが多様な金属アルキル、アリールアルキル、アリールもしくはヘテロアリールアルキル試薬、例えば、Li、Mg、ZnもしくはCu試薬で処理されて対応するアルコール付加生成物を生じうる。アルデヒドXVI-IIは、ホスホニウムイリド(Quart Rev.17:406、1963;Angew Int.16:423、1977)、ホスホネート(ホーナー-ワズワース-エモンズ(Horner-Wadsworth-Emmons)試薬:Chem.Ber.91:61、1958;J.Am.Chem.Soc.83:1733、1961;Org.React.25:73;1977)、シラン(J.Org.Chem.33:780、1968;Synthesis 384、1984)、テルル試薬(Tetrahedron Lett.28:801、1987)もしくはボロン試薬(Tetrahedron Lett.24:635、1983)での処理、次いで例えば触媒的水素化によるアルケンの還元により、官能化された(functionalized)オレフィンおよびそれらの還元された生成物に転化されうる。アルデヒドXVI-IIから生じるアルケンがエポキシドに転化され得、そして例えばエポキシドIXについて記述されるように求核剤で処理され得る。

【0029】

エポキシドIX(図4)は多様な求核剤で処理されて構造IXの第三級アルコールを形成し得る。求核剤は置換され得る。アルコールのエポキシドおよび三級の3'エピ-OH配置を製造するための代替の一方法(図5)は、ケトンXIを、例えばアルデヒドXVI-IIについて記述されるような慣習的オレフィン化反応を使用して構造XXのオレフィンに転化することである。

【0030】

構造XXIのエポキシドは既知の方法を使用して不斉で製造され得る。例えば、J.Org.Chem.32:1363;Synthesis 89、1986;1967;J.Org.Chem.60:3692、1995;J.Am.Chem.Soc.112:2801、1990;J.Am.Chem.Soc.116:6937、1994;J.Org.Chem.58:7615、1993を参照。エポキシドIXで使用されるものに類似の様式での求核的エポキシド開環は3'エピ配置にOH基をもつ置換第三級アルコールを与える。

【0031】

既知の(R)-アルコールXXVI(図6)は第二級アルコールの反転のための慣習的方

10

20

30

40

50

法を使用して(S)-アルコールXXVIIに転化され得る。例えば、*Tetrahedron Lett.* 34: 6145, 1996; *Synthesis Letters*, 1995, 336を参照。あるいは、XXVIIは水素化トリエチルホウ素リチウムのような水素化物試薬でのエポキシドXXIVの処理により製造され得る。ケトンXI(図6)はトリフラートXXIIに転化され得、次いで水素化トリブチルスズで処理されてアルケンXXIIIを与える。

#### 【0032】

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>の位置に置換基をもつK-252a誘導体を製造するのに使用される既知の方法が、3'-エピ-K-252a上で対応するR<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>の位置に置換基を得るのに使用され得る。例えば、米国特許第4,923,986; 5,461,146:および5,654,427号を参照。例えば、1等量のN-プロモスクシンイミド(NBS)でのXIVの処理(図7)はR<sup>1</sup>がBrである誘導体XXVを生じる。2等量のNBSはR<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>双方がBrである誘導体を与えるとみられる。

#### 【0033】

(S)-メタノールVIのアルデヒドもしくはカルボン酸誘導体への酸化は、適切な酸化試薬(Oxidations in Organic Chemistry、アメリカ化学会モノグラフ(American Chemical Society Monograph)186、ACSワシントンDC 1990に記述されるような)を使用して達成され得る。このアルデヒドもしくはカルボン酸誘導体は記述された手順を使用して誘導体XVIおよびXVIIを製造するためにさらに転換され得る(図3)。

#### 製薬学的組成物

本発明のある化合物は、単一の有効成分としてもしくは他の治療剤とともに、哺乳動物、例えばヒト患者に投与され得る。本発明の化合物は、製薬学的に許容できる賦形剤および担体との混合状態により製薬学的組成物に処方され得る。こうした組成物は、いずれかの投与経路、例えば、非経口、経口、鼻もしくは局所のために処方され得る。当該組成物は、慣習的方法による製造の後に単位投与剤形で投与され得る。例えば、*Remington's Pharmaceutical Sciences*(マック パブリッシングカンパニー(Mack Pub. Co.))、フィラデルフィア州イーストン)を参照。有効成分の量および濃度は変動し得る。濃度は、有効成分の総投薬量、使用される化合物の化学的特徴(例えば疎水性)、投与経路、患者の年齢、患者の体重、および治療されている病態のような因子に依存する。

#### 【0034】

本発明の化合物は、非経口投与のために例えば0.1ないし10w/v%の化合物を含有する生理学的緩衝溶液中で提供され得る。典型的な用量範囲は1日あたり約1μg/kgから約1g/kg体重までであり;好ましい用量範囲は1日あたり約0.01mg/kgから100mg/kg体重まで、そして好ましくは1日あたり約0.1ないし20mg/kg 1回ないし4回である。

#### 【0035】

本発明はK-252aの3'-エピマー誘導体の製薬学的に許容できる塩を包含する。製薬学的に許容できる塩は、製薬学的に許容できる酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、およびアミノ酸付加塩を包含する。酸付加塩は、塩酸塩、硫酸塩およびリン酸塩のような無機酸付加塩、ならびに酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩および乳酸塩のような有機酸付加塩を包含する。金属塩の例は、リチウム塩、ナトリウム塩およびカリウム塩のようなアルカリ金属塩、マグネシウム塩およびカルシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩ならびに亜鉛塩である。アンモニウム塩の例はアンモニウム塩およびテトラメチルアンモニウム塩である。有機アミン付加塩の例はモルホリンおよびピペリジンとの塩である。アミノ酸付加塩の例は、グリシン、フェニルアラニン、グルタミン酸およびリシンとの塩である。

#### 【0036】

本明細書で使用されるところの「低級アルキル」は1ないし6個の炭素を含むアルキル基

10

20

30

40

50

を意味する。本明細書で使用されるところの「アリール」（単独でもしくはアリールカルボニルおよびアリールアミノカルボニルのような用語中で）は、単一の環もしくは2個の縮合環中に6ないし12個の炭素原子を有する基を意味する。アリール基の例はフェニル、ビフェニルおよびナフチルである。ヘテロアリール基は最低1個のヘテロ原子を含有する。好ましくは、ヘテロ原子はO、SもしくはNである。ヘテロアリール基の例は、ピリジル、ピリミジル、ピロリル、フリル、チエニル、イミダゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、キノリル、イソキノリル、ベンゾイミダゾリル、チアゾリルおよびベンゾチアゾリルである。置換アルキル基は1ないし3個の独立に選択される置換基を有する。アルキル基の好ましい置換基は、ヒドロキシ、低級アルコキシ、置換もしくは未置換のアリールアルコキシ-低級アルコキシ、置換もしくは未置換のヘテロアリールアルコキシ-低級アルコキシ、ハロゲン、カルボキシル、低級アルコキシカルボニル、ニトロ、アミノ、モノもしくはジ-低級アルキルアミノ、ジオキソラン、ジオキサン、ジチオランおよびジチオンである。置換アリール、ヘテロアリールもしくはアリールアルキル基は1ないし3個の独立に選択される置換基を有する。好ましい置換基は、低級アルキル、ヒドロキシ、低級アルコキシ、カルボキシ、低級アルコキシカルボニル、ニトロ、アミノ、モノもしくはジ低級アルキルアミノおよびハロゲンである。

#### 【0037】

本明細書で使用されるところの「コリン作動性ニューロン」は、神経伝達物質としてアセチルコリンを使用するニューロンを意味する。コリン作動性ニューロンの例は、基底前脳ニューロン、線条体ニューロンおよび脊髄ニューロンである。本明細書で使用されるところの「感覚ニューロン」は、温度もしくは動きのような環境の刺激に応答するニューロンを意味する。感覚ニューロンは、皮膚、筋および関節を包含する構造で見出される。後根神経節ニューロンは感覚ニューロンの一例である。本明細書で使用されるところの「栄養因子応答性細胞」はそれに栄養因子が結合する細胞を意味する。栄養因子応答性細胞は、コリン作動性ニューロン、感覚ニューロン、単球および腫瘍細胞を包含する。

#### 【0038】

本発明は以下の実施例によりさらに具体的に説明される。当該実施例はいかなる様式でも本発明の範囲もしくは内容を制限するとして解釈されるべきでない。

#### 【0039】

##### 実験実施例

チロシンキナーゼ活性の阻害

K-252aのエピマー誘導体を、アンジェレ(Angeles)らにより記述された(Anal. Biochem. 236: 49-55, 1996)とおり、ELISAを基礎としたアッセイを使用して、バキュロウイルスで発現されたヒトtrkAの細胞質ドメインのキナーゼ活性の阻害について試験した。96穴マイクロタイタープレートを基質溶液(組換えヒトホスホリバーゼC-βグルタチオンS-トランスフェラーゼ融合タンパク質；ロティン(Rotin)ら、EMBO J., 11: 559-567, 1992)で被覆した。阻害を、50mM Hepes、pH 7.4、40μM ATP、10mM MnCl<sub>2</sub>、0.1%BSA、2%DMSOおよび多様な濃度の阻害剤を含有する100μlのアッセイ混合物中で測定した。反応を、trkAキナーゼの添加により開始し、そして37℃で15分間進行させた。ホスホチロシンに対する抗体(UBI)、次いで二次酵素結合抗体、アルカリホスファターゼ標識ヤギ抗マウスIgG(バイオラッド(Bio-Rad))をその後添加した。

#### 【0040】

結合された酵素の活性を增幅検出系(ギブコ(Gibco)-BRL)を使用して測定した。阻害データを、グラフパッドプリズム(GraphPad Prism)中のS字形の用量応答(変動する傾き)等式を使用して分析した。キナーゼ活性の50%阻害を与えた濃度をIC<sub>50</sub>と称した。結果を表1に要約する。

#### 【0041】

##### 【表1】

10

20

30

40

50

表1

K-252aの3'-I<sup>125</sup>I-誘導体による  
trkA活性の阻害

化合物	trk IC <sub>50</sub> (nM)
VI	2
VII	2
X	2
XIV	1.4
XV	21
XXIX (対照)	7

10

## 【0042】

NGFで刺激されたtrkのホスホリル化の阻害

選択されたK-252aのエピマー誘導体によるtrkのNGFで刺激されたホスホリル化の阻害を、米国特許第5,516,771号に記述された手順から改変された手順を使用して測定した。trkAでトランスフェクションされたNIH3T3細胞を100mm皿中で成長させた。コンフルエント以下の(subconfluent)細胞から、培地を化合物(1~100nM)もしくはDMSO(対照に添加された)を含有する血清を含まない0.05%BSA-DMEMで37℃で1時間置き換えることにより血清を欠乏させた(serum-starved)。NGF(ハルラン(Harlan)/バイオプロダクツ フォー サイエンス(Bioproducts for Science))をその後10ng/mlの濃度で5分間細胞に添加した。細胞を、洗剤およびプロテアーゼ阻害剤を含有する緩衝液中で溶解した。透明にされた細胞ライセートを、BCA法を使用してタンパク質に対して正規化し、そして抗trk抗体を用いて免疫沈降させた。

20

## 【0043】

ポリクローナル抗trk抗体を、trkのカルボキシ末端の14アミノ酸(マーティン・ザンカ(Martin-Zanca)ら、Mol. Cell. Biol. 9:24-33、1989)に対応するペプチドに対して調製した。免疫複合体を、プロテインAセファロースビーズ(シグマ(Sigma))上で収集し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)により分離し、そしてポリビニリデンジフルオリド(PVDF)メンブレンに移した。このメンブレンを抗ホスホチロシン抗体(UBI)でイムノプロットし、次いでワサビペルオキシダーゼを結合されたヤギ抗マウスIgG(バイオラッド(Bio-Rad))とともにインキュベーションした。ホスホリル化されたタンパク質をECL(アマーシャム(Amersham))を使用して可視化した。

30

## 【0044】

trkタンパク質のバンドの面積を測定し、そしてNGF刺激された対照に比較した。trkタンパク質のバンド中の減少パーセントを基礎として、使用された阻害得点(scoring)系は以下のとおりであった。すなわち、0=減少なし；1=1~25%；2=26~49%；3=50~75%；4=76~100%。

40

## 【0045】

trk阻害データ(表2)は、3'エピ-OH異性体が、対応する天然の異性体より全細胞調製物中でのtrkを阻害することについて、より強力であることを示した。3'エピ-K-252a(XIV)は<10nMのIC<sub>50</sub>を示した一方、K-252aはおよそ50nMのIC<sub>50</sub>を示した。化合物Xは、<50nMでtrkAの完全な阻害、また、細胞で<10nMのIC<sub>50</sub>を示した。天然の異性体XXIXは100nMでも完全な阻害を示さなかった。ジオールVIIは、NIH3T3細胞でのtrkA阻害について天然の異

50

性体 I I I より大きな活性を示した。

【 0 0 4 6 】

【表 2 】

表2

NIH3T3細胞でのNGF刺激されたtrk Aのホスホリル化に対するK-252aの3'-イヒマ-誘導体の影響

化合物	阻害得点			
	1 nM	10 nM	50 nM	100 nM
K-252a (対照)	1	2	3	3
XIV	2	4	4	4
VII	1	2	4	4
III (対照)	1	2	3	4
X	2	3	4	4
XXIX (対照)	2	3	3	3

【 0 0 4 7 】

VEGFレセプターキナーゼ活性の阻害

K-252aの3'-エピマー誘導体を、上述された手順を使用して、バキュロウイルスで発現されたVEGFレセプターキナーゼドメインのキナーゼ活性の阻害について試験した。50 mM Hepes、pH 7.4、40 μM ATP、10 mM MnCl<sub>2</sub>、0.1% BSA、2% DMSOおよび多様な濃度の阻害剤より成るキナーゼ反応混合物を、PLC- / GST被覆されたプレートに移した。VEGFRキナーゼを添加し、そして反応を37℃で15分間進行させた。ホスホリル化生成物を抗ホスホチロシン抗体(UBI)により検出した。二次酵素結合抗体を使用して、抗体-ホスホリル化PLC- / GST複合体を捕捉した。結合された酵素の活性を、增幅検出系(ギブコ(Gibco)-BRL)により測定した。阻害データを、グラフパッドプリズム(GraphPad Prism)中のS字形の用量応答(変動する傾き)等式を使用して分析した。結果を表3に要約する。

【 0 0 4 8 】

【表 3 】

表3

K-252aの3'-イヒマ-誘導体による  
VEGFRレセプターキナーゼ活性の阻害

化合物	VEGFR kinase IC <sub>50</sub> (nM)	阻害得点			
		1 nM	10 nM	50 nM	100 nM
VI	7	1	2	3	3
VII	8	1	2	3	3
X	17	1	2	3	3
XIV	19	1	2	3	3
XXIX (対照)	146	1	2	3	3

【 0 0 4 9 】

プロテインキナーゼC活性の阻害

10

20

30

40

50

プロテインキナーゼC活性を、ミリポア マルチスクリーン (Millipore Multiscreen) TCAインプレート(in-plate)アッセイ(ピット(Pitt)ら、J. Biomol. Screening, 1:47-51, 1996)を使用して測定した。アッセイを、96穴マルチスクリーン (Multiscreen) - DPプレート(ミリポア(Millipore))中で実施した。各40  $\mu$ lのアッセイ混合物は、20 mM Hepes、pH 7.4、10 mM MgCl<sub>2</sub>、2.5 mM EGTA、2.5 mM CaCl<sub>2</sub>、80 mg/ml ホスファチジルセリン、3.2 mg/ml ジオレン、200 mg/ml ヒストンH-1(フルカ(Fukaku))、5 mM [-<sup>32</sup>P] ATP、1.5 ng プロテインキナーゼC (UBI; a, b, gのアイソザイムの混合物)、0.1% BSA、2% DMSOおよびK-252aの3'-エピマー誘導体を含有した。反応を37℃で10分間進行させた。反応を氷冷50%トリクロロ酢酸(TCA)でクエンチした。プレートを4℃で30分間平衡化し、その後氷冷25%TCAで洗浄した。シンチレーションカクテルをプレートに添加し、そして放射活性をワラックマイクロベータ1450プラス(Wallac MicroBeta 1450 PLUS)シンチレーション計数器を使用して測定した。IC<sub>50</sub>値を、データをグラフパッドプリズム(GraphPad Prism)中のS字形の用量応答(変動する傾き)等式に適合させることにより算出した。結果を表4に要約する。

【0050】

【表4】

表4

20

プロテインキナーゼC活性に対する  
K-252aの3'-エピマー誘導体の阻害効果

化合物	PKC IC <sub>50</sub> (nM)
VI	95
VII	79
X	>1000
XIV	114
XXIX (対照)	310

30

【0051】

脊髄のChAT活性の増強

ChATは、機能的コリン作動性ニューロンについての生化学的マーカーとして使用された。ChAT活性を使用して、コリン作動性ニューロンの生存および/もしくは機能に対するニューロトロフィン(例えばNGFもしくはNT-3)の効果を研究した。ChATアッセイはコリン作動性ニューロン内のChATレベルの調節の指標としてもまた使用されている。

【0052】

40

K-252aの3'-エピマー誘導体は、解離されたラット胚脊髄培養物アッセイでChAT活性を増大させた(表5)。化合物XVIIは、細胞が対照の組織培養ウェルに付着するための2~3時間のプレート培養期間の後に、ChAT活性を、対照培養物(K-252aの3'-エピマー誘導体で処理されない)に対して195%まで増大させた。これらのアッセイでは、化合物を解離された脊髄培養物に直接添加した。ChAT活性を対照活性の少なくとも120%まで増大させた化合物を活性があるとみなした。増大されたChAT活性が、選択されたK-252aの3'-エピマー誘導体の単回の適用後に観察された。結果を表5に要約する。

【0053】

【表5】

50

表5

K-252aの3'-エピマ-誘導体による脊髄ChAT活性の増強

脊髄ChAT % 対照		
化合物	50nMでの活性	最大活性
VI	<120	125
VII	<120	122
X	<120	127
XIV	147	195
XV	-	129

## 【0054】

ラット胎児脊髄細胞を解離させ、そして実験を、本質的にスミス(Smith)ら(J. Cell Biology 101: 1608 - 1621, 1985)およびグリックスマン(Glicksman)ら(J. Neurochem. 61: 210 - 221, 1993)により記述されるとおりに実施した。解離された細胞を、慣習的トリプシン解離技術によりラット(胚第14~15日)から切開された脊髄から調製した。細胞を、0.05%ウシ血清アルブミン( BSA )で補充された血清を含まないN2培地中でポリ-1-オルニチン被覆されたプラスチック組織培養ウェル上で細胞  $6 \times 10^5$  個 /  $\text{cm}^2$  でプレート培養した(ボッテンシュタイン(Bottenstein)ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 514 - 517, 1979)。培養物を、5%CO<sub>2</sub> / 95%空気の加湿雰囲気中37℃で48時間インキュベーションした。ChAT活性を、マクマナマン(McManaman)ら(Developmental Biology 125: 311 - 320, 1988)およびグリックスマン(Glicksman)ら(上記)に従ったフォンナム(Fonnum)の手順(フォンナム(Fonnum)、J. Neurochem. 24: 407 - 409, 1975)の変法を使用して、2日後にインピトロで測定した。

ラット脊髄運動ニューロンを使用する生存アッセイ

選択されたK-252aの3'-エピマ-誘導体を、ラット脊髄運動ニューロンにおける生存増強活性についてアッセイした。化合物XIVは脊髄運動ニューロンの生存を有意に高めた(図8)。

## 【0055】

脊髄を、胚齢(E)14.5-15のシュプラグ-ドーレイ(Sprague-Dawley)ラット胎児(チャールズリバー・ラボラトリーズ(Charles River Laboratories)、マサチューセッツ州ウィルミントン)から切り出した。脊髄の腹側部分のみからの細胞を解離し、そして6.5%段階メトリザミド勾配上での遠心分離により運動ニューロンについてさらに濃縮し、そして低親和性ニューロトロフィンレセプター抗体(IgG-192、ベーリンガー・マンハイム(Boehringer-Mannheim))で染色することにより純度について分析した。細胞を、ポリ-1-オルニチンおよびラミニン(それぞれ5 μg / ml)で既に被覆された96穴プレート上に、細胞  $6 \times 10^4$  個 /  $\text{cm}^2$  の密度で、化学的に定義された血清を含まないN2培地(ボッテンシュタイン(Bottenstein)とサト(Sato)、1979)中で植え付けた。生存の効果と付着を区別するため、3,9-ビス[(エチルチオ)メチル]-K-252a(金子(Kaneko)ら、J. Med. Chem. 40: 1863 - 1869, 1997)を、1~3時間の初期付着期間の後に培養物に添加した。

## 【0056】

ニューロンの生存を、蛍光定量的生存率アッセイ(ボジツコ・コイネ(Bozyczek)

10

20

30

40

50

o - Coyne) ら、 J . Neurosci . Meth . 50 : 205 - 216, 1993 ) でカルセイン AM ( モレキュラー プローブス ( Molecular Probes ) 、オレゴン州ユージーン ) により 4 日後に評価した。培養培地を、ダルベッコのリン酸緩衝生理的食塩水 ( D P B S ) で連続的に希釈した。  $6 \mu M$  の最終濃度のカルセイン AM ストックを各ウェルに添加した。プレートを 37 度 30 分間インキュベーションし、次いで D P B S で連続的に希釈洗浄した。蛍光シグナルを、プレート読み取り蛍光定量器 ( サイトフルオル ( C y t o f l u o r ) 2350 ) ( 励起 = 485 nm ; 発光 = 538 nm ) を使用して読み取った。各プレートについて、カルセイン AM を受領するがしかし細胞を含有しないウェルから生じた平均の背景を全部の値から差し引いた。蛍光シグナルの直線性を、細胞密度の範囲での濃度およびインキュベーション時間について確かめた。ニューロンの顕微鏡での計数は相対的蛍光値と直接相關した。 10

#### 化合物 V の製造

化合物 I V b ( 米国特許第 4,923,986 号 ) をトリメチルホスファイト ( 2 mL ) に溶解し、そして 3 時間還流下に加熱した。反応混合物を室温に冷却し、そして、クロロホルム - メタノール ( 20 : 1 ) を使用してフラッシュシリカゲルカラムを通して洗い流してトリメチルホスファイトを除去した。生成物をフラッシュクロマトグラフィー ( シリカゲル ; 酢酸エチル : ヘキサン ; 1 : 1 ) により精製して化合物 V を淡黄色固体物 ( 15 mg, 95 % 収率 ) として得た。 MS ( E S I<sup>+</sup> ) : m / e 406 ( M + H )<sup>+</sup> , <sup>1</sup>H NMR ( C D C l<sub>3</sub> , 300 MHz ) : 2.62 ( s, 3 H ) , 2.85 ( d, 1 H ) , 3.37 - 3.45 ( m, 1 H ) , 4.95 ( s, 1 H ) , 5.00 ( s, 2 H ) , 5.09 ( s, 1 H ) , 6.29 ( s, 1 H ) , 6.90 ( d, 1 H ) , 7.33 - 7.53 ( m, 5 H ) , 7.91 ( d, 1 H ) , 9.41 ( d, 1 H ) 。 20

#### 化合物 V I の製造

窒素下、 0 度の化合物 V ( 161 mg, 0.397 mmol ) の攪拌された T H F ( 8 mL ) 溶液に、 B H<sub>3</sub> T H F ( 1.59 mL の 1M 溶液、 1.59 mmol ) を添加した。反応混合物を 0 度で 30 分間攪拌し、そしてその後一夜室温に温めた。混合物を 0 度に再冷却し、そして 10 % N a O H ( 0.1 mL ) を気体の活発な発生を伴い添加した。過酸化水素 ( 80 mL ) をその後一滴ずつ添加した。 0 度で 30 分間攪拌した後に、反応を酢酸エチル ( 15 mL ) で希釈し、そして水 ( 3 × 10 mL ) で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、そして淡緑色固体物まで真空中で濃縮した。生成物をクロマトグラフィー ( シリカゲル : ヘキサン : 酢酸エチル ; 1 : 1 ) により精製して化合物 V I を白色固体物 ( 0.12 g, 71 % 収率 ) として得た。 MS ( E S I<sup>+</sup> ) : m / e 424 ( M + H )<sup>+</sup> ; <sup>1</sup>H NMR ( C D C l<sub>3</sub> , 300 MHz ) : 2.54 ( s, 3 H ) , 2.51 ( m, 1 H ) , 2.99 - 3.01 ( m, 2 H ) , 3.47 ( m, 1 H ) , 3.8 ( m, 1 H ) , 5.049 ( s, 2 H ) , 6.21 ( broad s, 1 H ) , 6.98 ( m, 1 H ) , 7.13 - 7.49 ( m, 6 H ) , 7.94 - 8.02 ( m, 2 H ) , 9.34 ( d, 1 H ) 。 30

#### 化合物 V I I の製造

室温で窒素下の化合物 V a ( T B D M S - V ) ( 350 mg, 0.673 mmol ) の攪拌された T H F ( 10 mL ) 溶液に、ピリジン ( 0.435 mL, 5.39 mmol ) 、次いで四酸化オスミウム ( 6.73 mL, 0.673 mmol, C C l<sub>4</sub> 中 0.1 M ) を添加した。反応混合物を室温で 36 時間攪拌した。この時間の間に混合物は色を黄色から橙褐色まで変化させた。水性重亜硫酸ナトリウム ( 30 mL ) を反応混合物に添加し、そして反応を 30 分間攪拌した。反応混合物を酢酸エチル ( 2 × 20 mL ) で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、そして真空中で濃縮して淡褐色薄膜を得た。混合物を、酢酸エチルを使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、化合物 V I I a ( T B D M S - V I I ) を黄色固体物 ( 280 mg, 76 % 収率 ) として得た。 MS ( E S I<sup>+</sup> ) : m / e 544 ( M + H )<sup>+</sup> , <sup>1</sup>H NMR ( C D C l<sub>3</sub> , 300 MHz ) : 0.56 ( d, 6 H ) , 1.079 ( s, 9 H ) , 2.04 ( dd, 1 H ) , 2.12 ( broad s, 1 H ) , 2.40 ( s, 3 H ) , 2.86 ( dd, 1 H ) , 50

3.52 (broad s, 3H)、4.99 (s, 2H)、6.98 (dd, 1H)、  
7.32 (t, 1H)、7.39 - 7.46 (m, 4H)、7.97 (dd, 2H)、9.  
35 (d, 1H)。

【0057】

0で窒素下のメタノール (2mL) を含有するフラスコに塩化アセチル (4滴) を添加した。メタノール (1mL) 中の化合物VIIa (40mg, 0.072mmol) をメタノール性HC1の溶液に一滴ずつ添加した。反応混合物を0で1時間攪拌し、その後一夜室温に温めた。溶媒を真空中で除去して化合物VIIを黄褐色固体物 (21mg, 66%収率) として得た。MS (ESI<sup>+</sup>) : m/e 440 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) : 2.052 (dd, 1H)、2.43 (s, 3H)、2.90 (dd, 1H)、3.57 (s, 1H)、3.61 (s, 2H)、5.04 (s, 2H)、6.28 (s, 1H)、7.02 (dd, 1H)、7.33 - 7.54 (m, 6H)、7.95 (d, 1H)、8.02 (d, 1H)、9.32 (d, 1H)。

化合物Xの製造

0で窒素下の中間体VIIa (図2; 0.23g, 0.415mmol) の攪拌されたTHF (10mL) 溶液に、トリエチルアミン (57.9mL, 0.415mmol)、DMAP (25.4mg, 0.208mmol) および塩化p-トルエンスルホニル (79.1mg, 0.415mmol) を添加した。反応混合物を0で1時間攪拌した。それをその後一夜室温にゆっくりと昇温した。反応混合物を、薄層クロマトグラフィー (ヘキサン:酢酸エチル、2:1) によりモニタリングする一方で1時間加温した。反応混合物を酢酸エチル (30mL) で希釈し、そして水 (3×15mL) で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、そして真空中で濃縮してトシリル中間体VIIIdを黄色薄膜として得た。反応混合物を、ヘキサン:酢酸エチル (2:1) を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによりさらに精製して淡黄色薄膜 (0.16g, 55%収率) を得た。MS (APCI) : m/e 708 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) : 0.57 (d, 6H)、1.08 (s, 9H)、2.01 (dd, 1H)、2.33 (s, 3H)、2.42 (s, 3H)、3.88 (dd, 1H)、3.86 (dd, 2H)、4.98 (s, 2H)、6.97 (dd, 1H)、7.14 (d, 2H)、7.24 - 7.49 (m, 7H)、7.75 (d, 1H)、7.91 (d, 1H)、9.35 (d, 1H)。

【0058】

0で窒素下の中間体VIIId (0.14g, 0.198mmol) の攪拌されたTHF (5mL) 溶液に水素化ナトリウム (15.8mg, 0.395mmol) を添加した。気体の活発な発生が観察され、そして反応混合物が畳ったようになった。追加の水素化ナトリウム (2等量) を添加し、そしてフラスコの内容物をさらに2時間攪拌し、その後穏やかに4時間加温した。反応混合物をその後0に冷却し、そして水でクエンチした。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、そして水および塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、そして真空中で濃縮して化合物IXaを黄色薄膜 (100.2mg, 95%収率) として得た。MS (APCI) : m/e 536 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) : 0.56 (d, 6H)、1.08 (s, 9H)、2.32 - 2.38 (m, 4H)、2.57 (d, 2H)、3.01 (dd, 1H)、4.99 (s, 2H)、7.01 (d, 1H)、7.33 - 7.56 (m, 5H)、7.73 (d, 1H)、7.94 (d, 1H)、9.46 (d, 1H)。

【0059】

0で窒素下の化合物IXa (100mg, 0.187mmol) の攪拌されたTHF (5mL) 溶液に、水素化トリエチルホウ素リチウム (0.37mL (THF中1M溶液)、0.374mmol) を、気体の発生を伴いながら一滴ずつ添加した。追加の水素化トリエチルホウ素リチウム (2等量) を0で添加し、そして反応を0で30分間攪拌し、そしてその後室温に温めた。反応混合物を0に冷却し、そして水でクエンチし、酢酸エチルで希釈し、そして水および塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、

10

20

30

40

50

濾過し、そして真空中で濃縮した。反応混合物を、ヘキサン：酢酸エチル（1：1）を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、X a（R = T B D M S）を淡黄色薄膜として得た。0 で窒素下の化合物X aの攪拌されたメタノール溶液に、メタノール中塩化アセチル（5滴）から作成された溶液を添加した。反応混合物を0 で30分間攪拌し、その後一夜室温に温めた。溶媒を真空中で除去して黄色固体を得、これをシリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル；1：1）により精製して化合物X（30mg、42%）を得た。MS（ESI<sup>+</sup>）：m/e 424（M + H）<sup>+</sup>、<sup>1</sup>H NMR（CDCl<sub>3</sub>、300MHz）：1.39（s、3H）、2.29（dd、1H）、2.37（s、3H）、2.91（dd、1H）、5.05（s、2H）、6.19（s、1H）、6.97（t、1H）、7.32-7.50（m、5H）、7.78（d、1H）、7.95（d、1H）、9.33（d、1H）。 10

#### 化合物X IV およびX V の製造

窒素下のケトンX I（米国特許第4,923,986号）（図5；451mg、1.11mmol）の攪拌されたCH<sub>2</sub>C<sub>12</sub>-ジオキサン混合（6mL；5：1）溶液に、シアノ化テトラブチルアンモニウム（740mg、2.77mmol）および酢酸（95mL、1.66mmol）を室温で添加した。黒ずんだ反応混合物を24時間攪拌し、そしてその後真空中で濃縮した。黒ずんだ油状物を酢酸エチル（20mL）およびジオキサン（2mL）に溶解し、そして水（3×10mL）および塩水（1×10mL）で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、そして真空中で褐色固体まで濃縮した。HPLC分析は2種のシアノヒドリン中間体X II a およびX II b の存在を示した。 20

#### 【0060】

メタノール（4mL）を含有するフラスコにHC1（g）を10分間添加した。段階1からの粗シアノヒドリン混合物（450mg、1.04mmol）のメタノール：ジオキサン（2：1、3mL）溶液を、0 でメタノール溶液中のHC1に添加した。反応混合物を封止し、そして0 で2時間攪拌し、その後冷蔵庫中に48時間置いた。フラスコを室温に温め、そして6NHC1を慎重に添加した。混合物を30分間攪拌し、そしてその後乾固まで濃縮した。残渣を50%メタノール：水に溶解し、そして室温で一夜攪拌する一方で沈殿物が生じた。反応混合物を乾固まで濃縮した。残渣を、ヘキサン：酢酸エチル（1：1）を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、化合物X IVを灰白色固体として得た。MS（ESI<sup>+</sup>）：m/e 468（M + H）<sup>+</sup>、<sup>1</sup>H NMR（CDCl<sub>3</sub>、300MHz）：2.416（s、3H）、2.77（dd、1H）、2.91（s、3H）、2.952（dd、1H）、4.99（s、2H）、7.13（dd、1H）、7.33（t、1H）、7.44（dd、2H）、7.64（t、2H）、7.98（d、1H）、9.16（d、1H）。カラムを酢酸エチルで溶出して、アミドX Vを淡橙色生成物（13mg）として得た。MS（ESI）：m/e 453（M + H）<sup>+</sup>、<sup>1</sup>H NMR（DMSO-d<sub>6</sub>、300MHz）：2.33（s、3H）、2.87（m、2H）、4.94（s、2H）、6.58（s、1H）、7.19-7.64（m、6H）、7.81（m、3H）、7.96（d、1H）、8.59（s、1H）、9.17（d、1H）。 30

#### 化合物XXIIの製造

-78 の窒素下のケトンX I a（図6；R = T B D M S）（95.4mg、0.183mmol）の攪拌されたTHF（5mL）溶液にジエチルアミドリチウム（0.12mL、シクロヘキサン中1.5M溶液）を添加した。反応混合物を-78 で30分間攪拌した。N-フェニルトリフルオロメタンスルホンイミド（71.9mg、0.201mmol）のTHF（1.5mL）溶液を反応混合物に一滴ずつ添加し、そして混合物を-78 で30分間攪拌した。反応混合物を0 に温め、1時間攪拌し、その後一夜室温に温めた。反応を塩化アンモニウム（飽和水性、2mL）でクエンチし、酢酸エチルで希釈し、そして水で洗浄した。混合物を、ヘキサン：酢酸エチル（2：1）を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、化合物XXII a（R = T B D M S）を灰白色固体（66mg、61%収率）として得た。MS（ESI<sup>+</sup>）：m/e 6 50

5.4 (M + H)<sup>+</sup>、<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>、300 MHz) : 0.58 (s, 6 H)、1.12 (s, 9 H)、2.66 (s, 3 H)、5.02 (dd, 2 H)、6.14 (s, 1 H)、7.31 - 7.62 (m, 6 H)、7.83 (d, 1 H)、7.98 (d, 1 H)、9.44 (d, 1 H)。

## 【0061】

段階1からの生成物(化合物XXIIa)(75 mg、0.115 mmol)の攪拌されたTHF(10 mL)溶液に、塩化リチウム(14.6 mg、0.345 mmol)およびテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(2.6 mg、0.0023 mmol)を添加した。水素化トリプチルスズ(37 mL、0.139 mmol)を一滴ずつ添加し、そして内容物を60℃に加熱した。反応混合物を4時間加熱し、その時間の間に反応の色が黄色から赤黒色に変化した。反応を真空中で濃縮し、そしてヘキサン：酢酸エチル(2:1)を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。2種の生成物、すなわちトリプチルスズが混じったTBDMsで保護されたXXIIa生成物(60 mg)および脱保護された生成物XXII(10 mg、22%)を単離した。MS(ESI) : m/e 392 (M + H)<sup>+</sup>、<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>、300 MHz) : 2.65 (s, 3 H)、4.978 (s, 2 H)、6.19 (d, 1 H)、6.28 (d, 1 H)、6.41 (s, 1 H)、7.26 - 7.62 (m, 5 H)、7.65 - 7.69 (m, 1 H)、7.87 (dd, 2 H)、9.39 (d, 1 H)。

## 【0062】

化合物XXIIは上述されたアッセイで以下のIC<sub>50</sub>値を示した。すなわち、trk Aキナーゼの阻害、4 nM; VEGFレセプターキナーゼの阻害、25 nM、およびプロテインキナーゼCの阻害、>1000 nM。

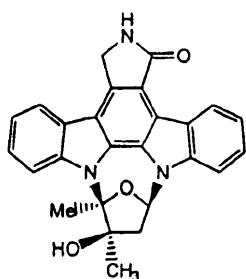
## 化合物XXVの製造

室温で窒素下の、化合物IV(30.4 mg、0.065 mmol)の攪拌されたTHF(5 mL)溶液に、N-プロモスクシンイミド(11.6 mg、0.065 mmol)を一度に添加した。反応混合物は当初色が淡橙色であり、そして徐々に淡紫色になった。反応混合物を室温で一夜攪拌した。溶媒を真空中で除去し、そして、固体物を、ヘキサン-酢酸エチル(2:1)を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。化合物XXVを灰白色固体物(31.2 mg、88%収率)として得た。MS(ESI) : m/e 547 (M + H)<sup>+</sup>、<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>、300 MHz) : 2.42 (s, 3 H)、2.77 - 2.83 (m, 1 H)、2.86 (3 H, s)、3.166 (dd, 1 H)、4.105 (s, 1 H)、5.07 (s, 2 H)、6.39 (s, 1 H)、7.01 (dd, 1 H)、7.95 (d, 1 H)、7.58 (d, 1 H)、7.34 - 7.57 (m, 4 H)、9.50 (s, 1 H)。

## 化合物XXIXの製造

## 【0063】

## 【化10】



XXIX

## 【0064】

## 方法A

0℃で窒素下の、エポキシドXXVII(米国特許第4,923,986号、化合物I

10

20

30

40

50

-27) (90.1 mg, 0.152 mmol) の攪拌された THF (4 mL) 溶液に、水素化トリエチルホウ素リチウム (THF 溶液中 1 M の 0.455 mL, 0.455 mmol) を一滴ずつ添加した。反応混合物を 0 で 1 時間攪拌し、その後一夜室温に温めた。混合物を 0 に冷却し、そしてメタノールのゆっくりの添加によりクエンチした。攪拌を 0 で 15 分間継続し、その後に反応混合物を室温に昇温した。溶媒を真空中で除去した。黄色油状物を生じた。この油状物を、酢酸エチル : ヘキサン (1 : 1) を使用するシリカでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。化合物 XXIX を白色固体物 (75 mg, 83% 収率) として得た。MS (ESI) : m/e 424 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : 1.69 (s, 3H)、1.99 (s, 3H)、2.86 (dd, 1H)、3.03 (dd, 1H)、4.37 (m, 3H)、4.93 (s, 2H)、6.43 (t, 1H)、6.95 (d, 1H)、7.03 (t, 1H)、7.18 (t, 1H)、7.44 (t, 1H)、7.79 (d, 1H)、7.99 (d, 1H)、8.69 (d, 1H)。

#### 方法 B

0 で窒素下のケトン XI (図 3、R = H) (212 mg, 0.41 mmol) の攪拌された THF (6 mL) 溶液に、ヨウ化メチルマグネシウム (0.27 mL, 0.82 mmol) を一滴ずつ添加した。反応混合物を 0 で 1 時間攪拌し、その後一夜室温に温めた。混合物をその後還流下に 24 時間加熱し、その後室温に冷却した。反応を塩化アンモニウム (飽和水性) でクエンチし、酢酸エチル (20 mL) で希釈し、そして水 (3 × 10 mL) で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、そして真空中で黄色残渣まで濃縮した。生成物を、ヘキサン : 酢酸エチル (1 : 1) を使用するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、化合物 XXIX を黄褐色固体物 (0.11 g, 50% 収率) として得た。<sup>1</sup>H NMR および質量分析スペクトルのデータは方法 A から得られた生成物のデータと一致した。

#### 【0065】

他の態様は請求の範囲内にある。

#### 【図面の簡単な説明】

【図 1】 発明にかかる、既知のインドロカルバゾール IIa からの 3'-エピマーであるインドロカルバゾール VI および VII の合成の略図である。

【図 2】 発明にかかる、図 1 に示されるとおり製造された 3'-エピマーであるインドロカルバゾール VI からの 3'-エピマーであるインドロカルバゾール X の合成を示す図面である。

【図 3】 発明にかかる、中間体ケトン XIa からの 3'-エピマーであるインドロカルバゾール IIa、XIV、XV、XVI、XVII および XVIII の合成を示す図面である。

【図 4】 発明にかかる、中間体エポキシド IXa からの 3'-エピマーであるインドロカルバゾール XIX の合成を示す図面である。

【図 5】 発明にかかる、中間体ケトン XI からの 3'-エピマーであるインドロカルバゾール XIX の代替の合成を示す図面である。

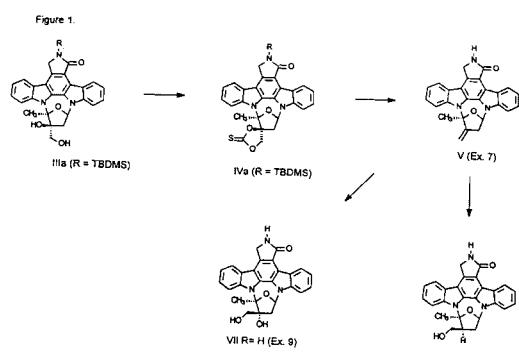
【図 6】 発明にかかる、中間体ケトン XI からのエピマーである 3'-ヒドロキシインドロカルバゾール XXVI の合成、および、代替の既知の 3'-ヒドロキシインドロカルバゾール XXVII のエピマー化によるエピマーである 3'-ヒドロキシインドロカルバゾール XXVIII の合成を示す図面である。

【図 7】 発明にかかる、対応する 3'-エピマーであるインドロカルバゾール XIX からの環が臭素化された 3'-エピマーであるインドロカルバゾール XXV の合成を示す図面である。

【図 8】 発明にかかる、運動ニューロンについて濃縮された培養物でのニューロンの生存に対する化合物 XIX の効果を決定するための実験からのデータを要約するグラフである。細胞生存率 (対照のパーセントとして) が細胞培養培地中の化合物 XIX の濃度に対してプロットされる。

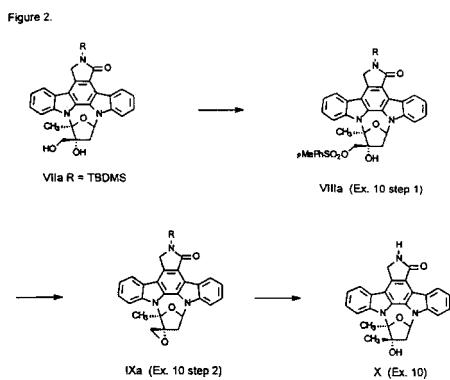
【図1】

1/6



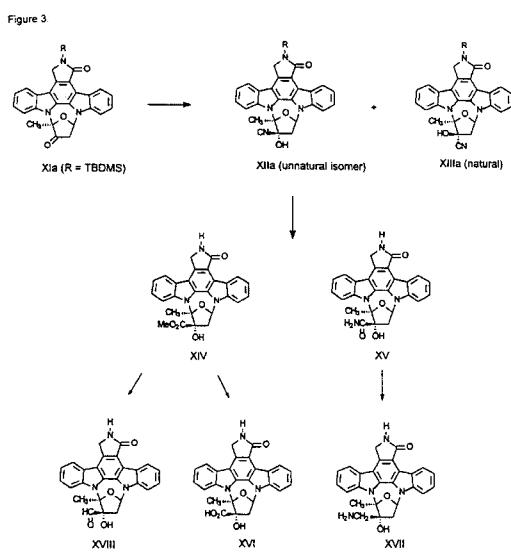
【図2】

2/6



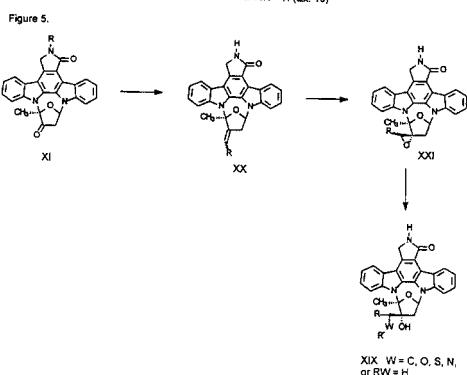
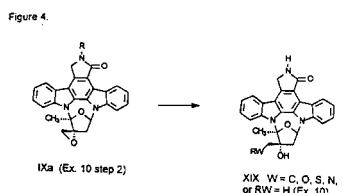
【図3】

3/6



【図4-5】

4/6



【図 6 - 7】

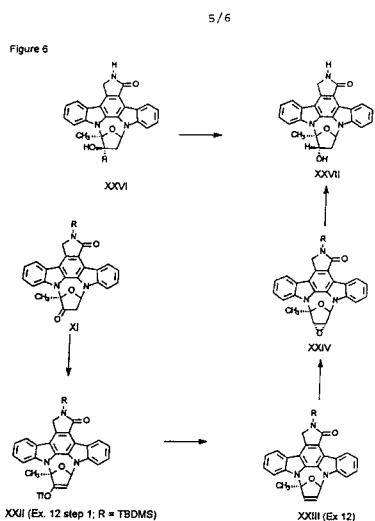
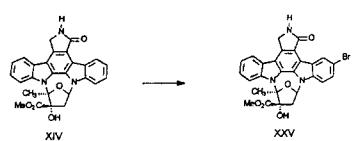
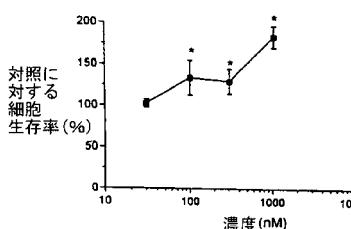
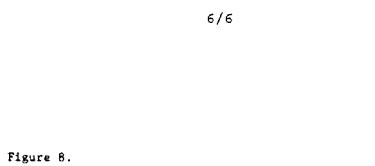


Figure 7.



【図 8】



\*  $p < 0.01$  対照からの統計的偏差

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	21/02	(2006.01) A 6 1 P 21/02
A 6 1 P	25/00	(2006.01) A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	25/08	(2006.01) A 6 1 P 25/08
A 6 1 P	25/14	(2006.01) A 6 1 P 25/14
A 6 1 P	25/16	(2006.01) A 6 1 P 25/16
A 6 1 P	25/28	(2006.01) A 6 1 P 25/28
A 6 1 P	43/00	(2006.01) A 6 1 P 43/00 1 1 1

(73)特許権者 000001029

協和発酵キリン株式会社

東京都千代田区大手町1丁目6番1号

(74)代理人 100104411

弁理士 矢口 太郎

(74)代理人 100158621

弁理士 佐々木 義行

(74)代理人 100133503

弁理士 関口 一哉

(72)発明者 ハドキンス, ロバート・エル

アメリカ合衆国ペンシルベニア州 19425 チエスター・プリングス・サウスサドルブルックサー  
クル 430

(72)発明者 ギングリツチ, ダイアン・イー

アメリカ合衆国ペンシルベニア州 19341 エクストン・ローズツリーレイン 143

審査官 谷尾 忍

(56)参考文献 国際公開第88/007045 (WO, A1)

国際公開第94/027982 (WO, A1)

特表平08-501080 (JP, A)

特開昭63-295588 (JP, A)

特開昭63-295589 (JP, A)

特開昭60-041489 (JP, A)

特開昭61-176531 (JP, A)

MCCOMBIE, S.W. et al., Indolocarbazoles. 1. Total synthesis and protein kinase inhibiting characteristics of compounds related to K-252c, Bioorganic &amp; Medicinal Chemistry Letters, 1993年 8月, Vol.3, No.8, p.1537-42

GALSKI, H. et al., KT-5720 reverses multidrug resistance in variant S49 mouse lymphoma cells transduced with the human MDR1 cDNA and in human multidrug-resistant carcinoma cells, Eur. J. Cancer, Part A, 1995年, Vol.31A, No.3, p.380-8

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C07D 498/22

A61K 31/553

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)