

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-523867

(P2013-523867A)

(43) 公表日 平成25年6月17日(2013.6.17)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C07D 249/08 (2006.01)	C07D 249/08	535 4C063
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00	111 4C069
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00	4C084
A61P 35/02 (2006.01)	A61P 35/02	4C085
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00	4C086
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 85 頁) 最終頁に続く

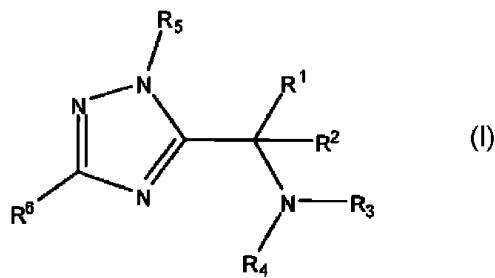
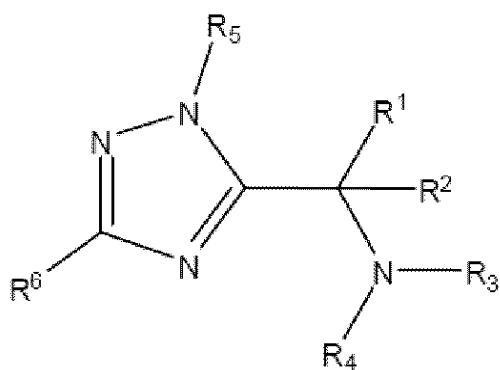
(21) 出願番号	特願2013-504265 (P2013-504265)	(71) 出願人	504389991 ノバルティス アーゲー
(86) (22) 出願日	平成23年4月13日 (2011.4.13)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ 35
(85) 翻訳文提出日	平成24年12月11日 (2012.12.11)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 葉
(86) 國際出願番号	PCT/EP2011/055840	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
(87) 國際公開番号	W02011/128381	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(87) 國際公開日	平成23年10月20日 (2011.10.20)	(74) 代理人	100067035 弁理士 岩崎 光隆
(31) 優先権主張番号	61/324,651	(74) 代理人	100156144 弁理士 落合 康
(32) 優先日	平成22年4月15日 (2010.4.15)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 K S P阻害剤としてのトリアゾール化合物

(57) 【要約】

本発明は、明細書にさらに記載する式(I) :



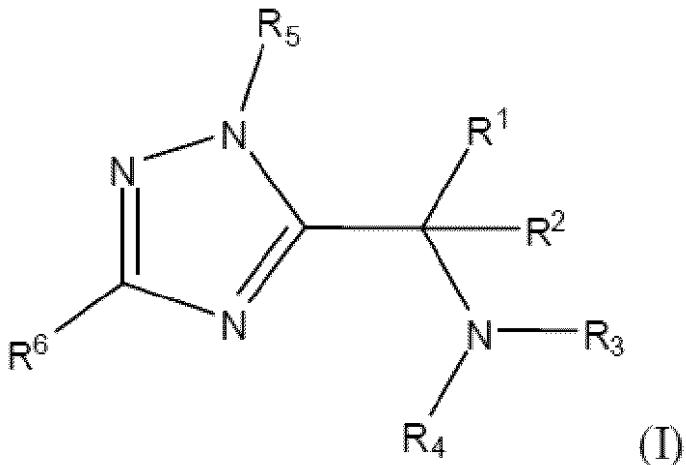
のトリアゾール化合物を提供する。本発明はまた、治療有効量の式(I)の化合物を含む医薬組成物および哺乳動物患者における少なくとも一部KSPにより介される障害を処置する方法であって、かかる処置を必要とする哺乳動物患者に治療有効量の式(I)の化合物を投与することを含む、方法も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式(I)

【化 1】



10

〔式中、

20

R¹はC₁-₆アルコキシ-C₁-₄-アルキル、C₁-₆直鎖アルキル、C₃-₆分枝鎖アルキルおよび-C₃-₆シクロアルキルから選択され；

20

R²はHおよびC₁-₆直鎖アルキルから選択され；R³は-(CH₂)₀-₃置換または非置換ピロリジニルであり；R⁴は-C(O)-CH₂OH、-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-非置換モルホリニルおよび3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、BrおよびIから選択され；R⁶は3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。〕

の化合物。

30

【請求項 2】

R¹がC₁-₆直鎖アルキル、C₃-₆分枝鎖アルキルおよび-C₃-₆シクロアルキルから選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項 3】

R¹がC₁-₆アルコキシ-C₁-₄-アルキルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項 4】

R¹がC₃-₆分枝鎖アルキルから選択され；

40

R²がHであり；

40

R³が-(CH₂)₁-₃置換ピロリジニルであり；R⁴が-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；R⁵がベンジルまたは2個までのフルオロ原子で置換されているベンジルであり；R⁶が2個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される、

請求項1に記載の化合物。

50

【請求項 5】

R¹がt-ブチルであり；

50

R³が-(CH₂)-フルオロ-ピロリジニルであり；R⁴が-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-2,6-ジメチルモルホリニルから選択され；R⁵がベンジルまたは1個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

50

R⁶が2個までのフルオロ原子で置換されているフェニルから選択される、

請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 6】

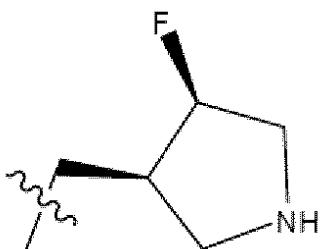
R³ が - C H₂ - ₃ - フルオロ - ピロリジニルであり；
 R⁴ が - C (O) - 2 - テトラヒドロフラニル、- C (O) - C H (C H₃) - O H、- C (O)
 - 2,6 - ジメチルモルホリニルである、

請求項 4 または 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

R³ が

【化 2】

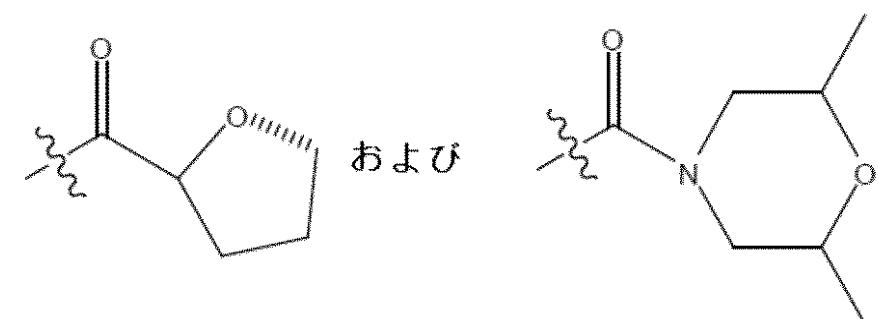


10

であり；

R⁴ が - C (O) - C H (C H₃) - O H および

【化 3】



20

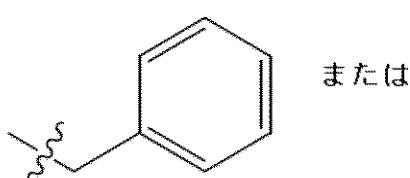
から選択される、

請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

R⁵ が

【化 4】

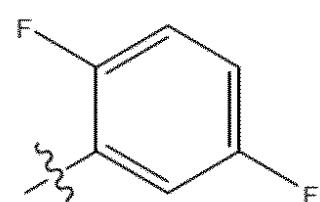


30

であり；

R⁶ が

【化 5】



40

40

50

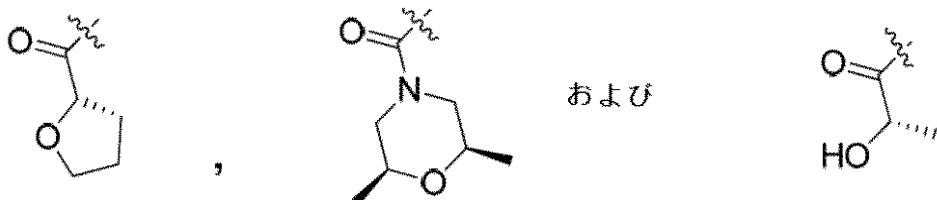
である、

請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

R^4 が：

【化 6】



10

から選択される、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 10】

次のものから選択される、請求項 1 に記載の化合物：

N - ((R) - 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R, 4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2, 6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド；

N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R, 4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2, 6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド；

(S) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R, 4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド；

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R, 4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド；

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R, 4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド；

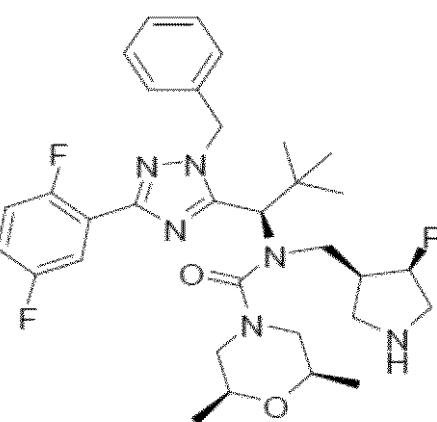
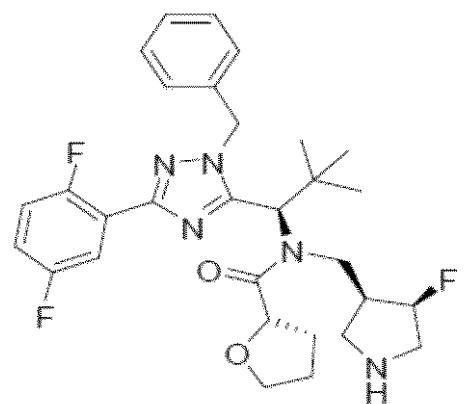
およびこれらの化合物のいずれかの薬学的に許容される塩類。

【請求項 11】

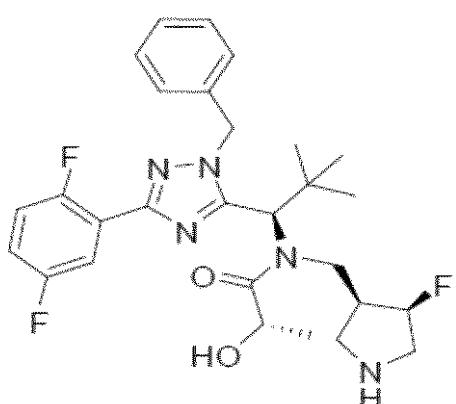
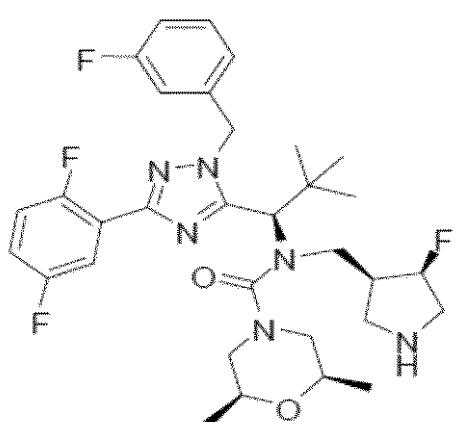
20

30

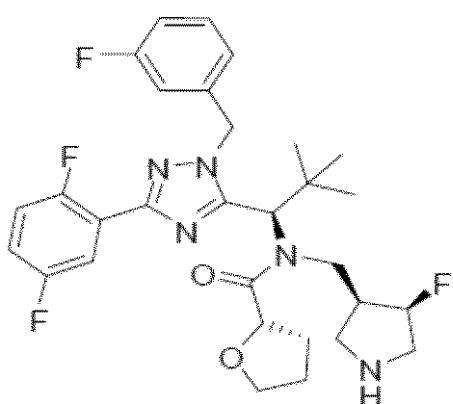
【化 7】



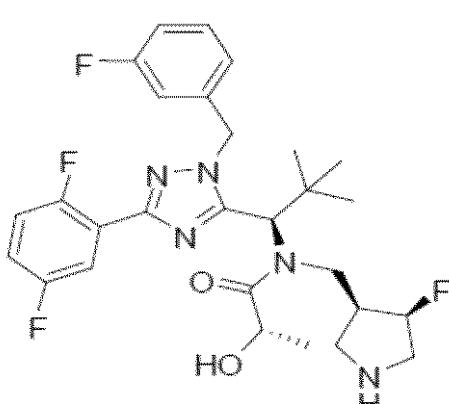
10



20



および



30

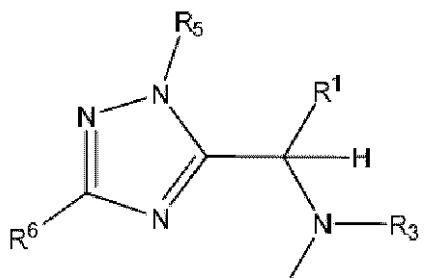
およびそれらの化合物の薬学的に許容される塩類
から選択される、式(I)の化合物。

【請求項 1 2】

40

式(II)：

【化 8】



(II)

10

〔式中、

R¹ は C₁ ~ C₆ アルコキシ - C₁ ~ C₄ - アルキル、C₁ ~ C₆ 直鎖アルキル、C₃ ~ C₆ 分枝鎖アルキルおよび - C₃ ~ C₆ シクロアルキルから選択され；

R³ は - (C H₂)₀ ~ 3 置換または非置換ピロリジニルまたは 3 個までのアミノおよびハロから選択される基で置換されている C₃ ~ C₅ アルキルであり；

R⁴ は - C(O) - C H₂ O H、- C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - O H、- C(O) - 非置換モルホリニルおよび 3 個までのアルキル基で置換されている - C(O) - モルホリニルから選択され；

R⁵ は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基は C l、F、Br および I から選択され；

R⁶ は 3 個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。〕の化合物。

【請求項 1 3】

R¹ が C₁ ~ C₆ アルコキシ - C₁ ~ C₄ - アルキル、C₃ ~ C₆ 分枝鎖アルキルおよび C₃ ~ C₆ シクロアルキルから選択され；

R³ が - (C H₂)₀ ~ 3 置換ピロリジニルまたは - C H₂ - C H₂ - C H(N H₂) - C H₂ F であり；

R⁴ が - C(O) - C H₂ O H、- C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - O H、- C(O) - 非置換モルホリニルおよび 3 個までのアルキル基で置換されている - C(O) - モルホリニルから選択され；

R⁵ が置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基は C l、F、Br および I から選択され；

R⁶ が 3 個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される、請求項 1 2 に記載の化合物。

【請求項 1 4】

R¹ がメトキシ置換 C₁ ~ C₄ アルキルである、請求項 1 2 または 1 3 に記載の化合物。

【請求項 1 5】

R¹ が 2 - メトキシ - 2 - プロピルである、請求項 1 4 に記載の化合物。

【請求項 1 6】

R² が H であり；

R³ が - (C H₂)₁ ~ 3 置換ピロリジニルまたは - C H₂ - C H₂ - C H(N H₂) - C H₂ F であり；

R⁴ が - C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - O H および 3 個までのアルキル基で置換されている - C(O) - モルホリニルから選択され；

R⁵ がベンジルまたは 2 個までのフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

R⁶ が 2 個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される、

請求項 1 2 ~ 1 5 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 1 7】

R¹ が 2 - メトキシ - 2 - プロピルであり；

40

50

R³ が - (C H₂)_{1~3} - フルオロ - ピロリジニルまたは - C H₂ - C H₂ - C H(NH₂) - C H₂F であり；

R⁴ が - C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - OH および - C(O) - 2,6 - ジメチルモルホリニルから選択され；

R⁵ がベンジルまたは 1 個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

R⁶ が 2 個までのフルオロ原子で置換されているフェニルから選択される、

請求項 16 に記載の化合物。

【請求項 18】

R³ が - (C H₂)_{1~3} - フルオロ - ピロリジニルまたは - C H₂ - C H₂ - C H(NH₂) - C H₂F であり；

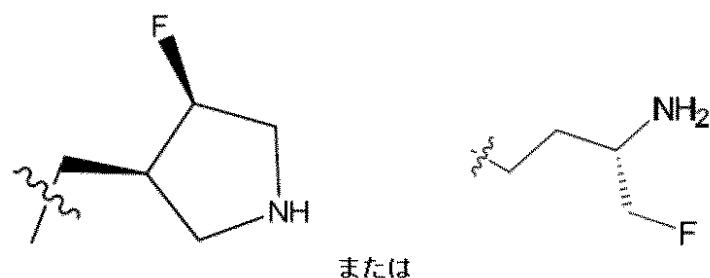
R⁴ が - C(O) - 2 - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - OH および - C(O) - 2,6 - ジメチルモルホリニルである、

請求項 17 に記載の化合物。

【請求項 19】

R³ が

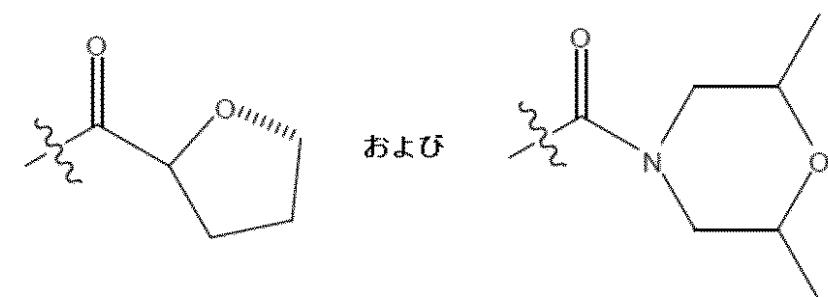
【化 9】



であり；

R⁴ が - C(O) - C H(C H₃) - OH、

【化 10】



から選択され；

R⁵ が

【化 11】



であり；

R⁶ が

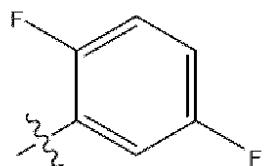
10

20

30

40

【化12】

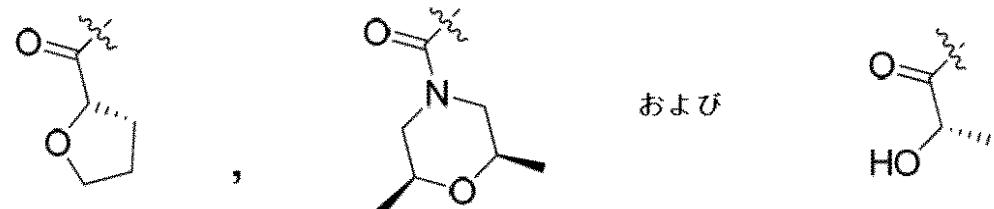


である、請求項18に記載の化合物。

【請求項20】

R^4 が：

【化13】

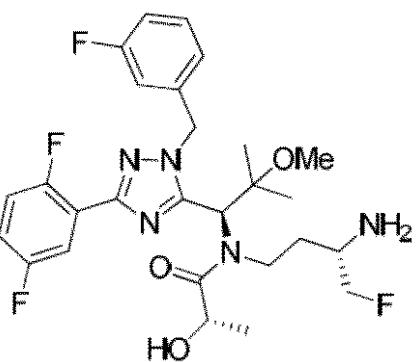
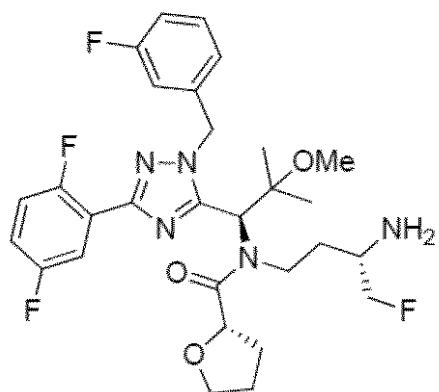


から選択される、請求項12～19のいずれかに記載の化合物。

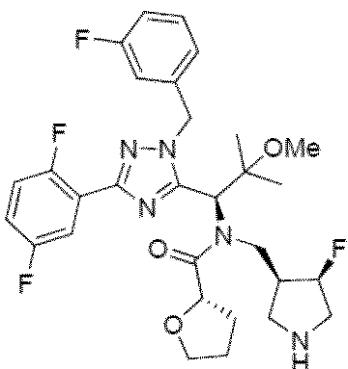
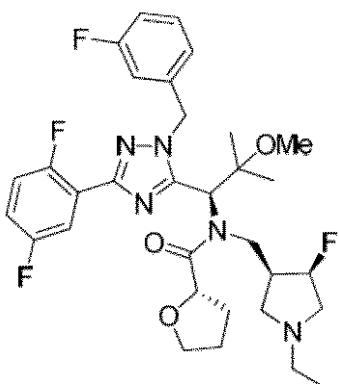
【請求項21】

次のものからなる群から選択される、請求項12に記載の化合物：

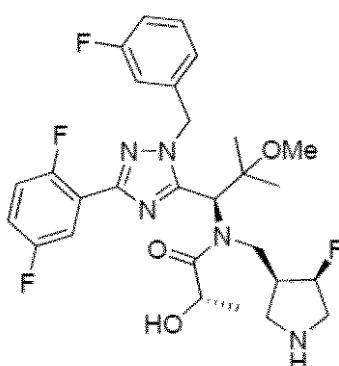
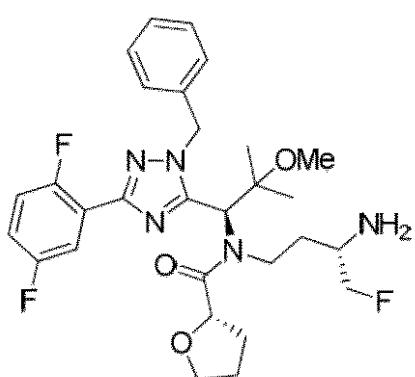
【化14】



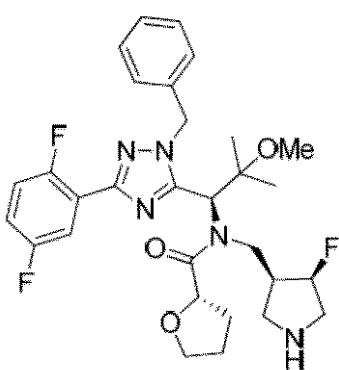
10



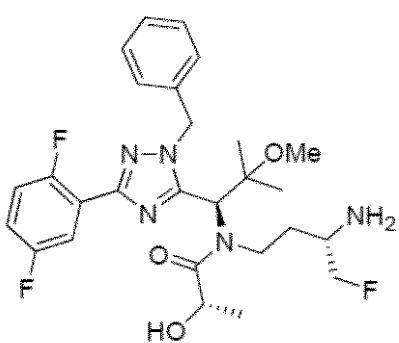
20



30



および



40

およびその薬学的に許容される塩類。

50

【請求項 2 2】

治療有効量の請求項 1 ~ 2 1 のいずれかに記載の化合物および薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 2 3】

さらに少なくとも 1 種の付加的癌処置剤を含む、請求項 2 2 に記載の組成物。

【請求項 2 4】

付加的癌処置剤がイリノテカン、トポテカン、ゲムシタビン、イマチニブ、トラスツマブ、5 - フルオロウラシル、ロイコボリン、カルボプラチン、シスプラチン、ドセタキセル、パクリタキセル、テザシタビン、シクロホスファミド、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン系、リツキシマブおよびトラスツマブから成る群から選択される、請求項 2 3 に記載の組成物。10

【請求項 2 5】

哺乳動物患者における少なくとも一部 K S P により仲介される障害を処置する方法であって、該処置を必要とする哺乳動物患者に治療有効量の請求項 1 ~ 2 4 のいずれかに記載の化合物または医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 2 6】

障害が細胞増殖性疾患である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

細胞増殖性疾患が癌である、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

癌が肺および気管支；前立腺；乳；脾臓；結腸および直腸；甲状腺；胃；肝臓および肝内胆管；腎臓および腎孟；膀胱；子宮体；子宮頸；卵巣；多発性骨髄腫；食道；急性骨髓性白血病；慢性骨髓性白血病；リンパ性白血病；骨髓球性白血病；脳；口腔および咽頭；喉頭；小腸；非ホジキンリンパ腫；黒色腫；および絨毛結腸腺腫から成る群から選択される、請求項 2 7 に記載の方法。20

【請求項 2 9】

付加的癌処置剤がイリノテカン、トポテカン、ゲムシタビン、イマチニブ、トラスツマブ、5 - フルオロウラシル、ロイコボリン、カルボプラチン、シスプラチン、ドセタキセル、パクリタキセル、テザシタビン、シクロホスファミド、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン系、リツキシマブおよびトラスツマブから成る群から選択される、請求項 2 8 に記載の方法。30

【請求項 3 0】

哺乳動物患者における K S P を阻害する方法であって、該患者に有効な K S P 阻害量の請求項 1 ~ 2 1 のいずれかに記載の化合物を投与することを含む、方法。

【請求項 3 1】

治療に使用するための、請求項 1 ~ 2 1 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 2】

化合物を細胞増殖性障害の処置に使用する、請求項 3 1 に記載の化合物。

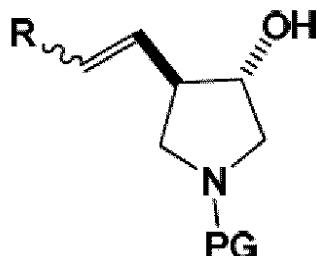
【請求項 3 3】

細胞増殖性障害が肺および気管支；前立腺；乳；脾臓；結腸および直腸；甲状腺；胃；肝臓および肝内胆管；腎臓および腎孟；膀胱；子宮体；子宮頸；卵巣；多発性骨髄腫；食道；急性骨髓性白血病；慢性骨髓性白血病；リンパ性白血病；骨髓球性白血病；脳；口腔および咽頭；喉頭；小腸；非ホジキンリンパ腫；黒色腫；および絨毛結腸腺腫から成る群から選択される癌である、請求項 3 2 に記載の方法。40

【請求項 3 4】

フッ素化ピロリジンの製造方法であって、式(V)

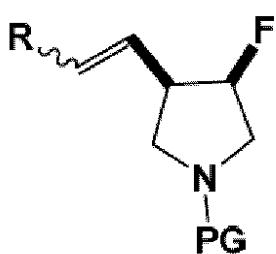
【化15】



10

のtrans-3,4-二置換保護ピロリジンとフッ素化剤を反応させて、式(VI)：

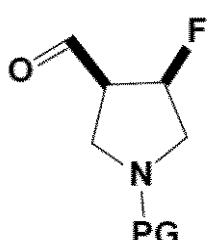
【化16】



20

の化合物を得て、式(VI)の化合物を酸化して、式(VII)：

【化17】



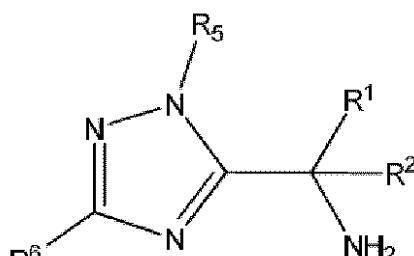
30

のアルデヒドを得ることを含む、方法(上記式中、PGは保護基であり、RはHおよび場合により置換されていてよいアルキルまたはアリール基から選択される)。

【請求項35】

さらに式(VII)の化合物を式(Ia)：

【化18】



40

(Ia)

〔式中、

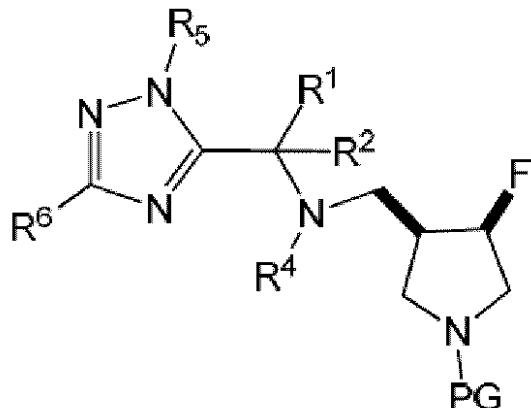
R¹はC₁-₆アルコキシ-C₁-₄-アルキル、C₁-₆直鎖アルキル、C₃-₆分枝鎖アルキルおよび-C₃-₆シクロアルキルから選択され；R²はHおよびC₁-₆直鎖アルキルから選択され；R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、Brおよび

50

I から選択され；

R⁶ は 3 個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される] の化合物で還元的アミノ化して、式(Ib)：

【化 19】



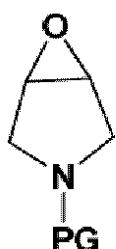
(Ib)

の化合物を得る工程を含む、請求項 3~4 に記載の方法。

【請求項 3~6】

さらに式(V)の化合物を式(IV)

【化 20】



(IV)

のエポキシドから、該エポキシドを式

【化 21】



〔式中、

R は H または場合により置換されていてよいアルキルまたはアリール基であり、M は Li、MgX および ZnX から選択される金属基であり、ここで、X はハロゲンである。〕 の有機金属反応材で開環させることにより合成する工程を含む、請求項 3~4 に記載の方法。

【請求項 3~7】

有機金属反応材が

【化 22】



〔式中、X は Cl、Br または I である。〕

である、請求項 3~6 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

10

20

30

40

50

本出願は、2010年4月15日出願の米国仮出願番号61/324,651に対して、35 U.S.C. §119(e)に基づく優先権の利益を主張し、これを、その全体を引用により本明細書に包含させる。

【0002】

発明の分野

本発明は、一般的にトリアゾール化合物およびその薬学的に許容される塩類、エステル類またはプロドラッグに関する。本発明は、さらに、薬学的に許容される担体と一体となった当該化合物の組成物、当該化合物の使用、その製造および関連中間体に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

キネシン類は、微小管に結合し、機械力を発生させるためにアデノシン三リン酸を使用するモータータンパク質である。キネシン類は、約350アミノ酸残基を有するモータードメインにより特徴付けられる。数種のキネシンモータードメインの結晶構造が解析されている。

【0004】

現在、約100種のキネシン関連タンパク質(KRP)が同定されている。キネシン類は、小器官および小胞の輸送および小胞体の維持を含む多様な細胞生物学的過程に関与する。数種のKRPは紡錘体の微小管と相互作用するかまたは染色体と直接相互作用し、細胞周期の有糸分裂段階で中心的役割を有するように見える。これらの有糸分裂KRPは、癌治療の開発上特に興味深い。

【0005】

キネシン紡錘体タンパク質(KSP)(Eg5、HsEg5、KNSL1またはKIF11としても知られる)は、紡錘体に位置し、双極性紡錘体の形成および/または機能に必要であることが知られる数種のキネシン様モータータンパク質の一つである。

【0006】

1995年に、KSPのC末端に対する抗体を使用したKSPの涸渴が、HeLa細胞の有糸分裂を一星状細胞微小管配列で停止させることが示された(Blangy et al., Cell 83:1159-1169, 1995)。KSPのホモログと見なされているbimCおよびcut7遺伝子の変異は、アスペルギルス・ニデュランス(*Aspergillus nidulans*)(Enos, A.P., and N.R. Morris, Cell 60:1019-1027, 1990)およびシゾサッカロミセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)(Hagan, I., and M. Yanagida, Nature 347:563-566, 1990)における中心体分離を阻止した。タンパク質レベルでKSP発現を減少させるATRA(全トランスレチノイン酸)またはアンチセンスオリゴヌクレオチド類を使用するKSP涸渴のいずれかでの細胞の処置はDAN-G臍臓癌細胞の顕著な増殖阻害を示し、KSPが全トランスレチノイン酸の抗増殖作用に関与することを示唆する(Kaiser, A., et al., J. Biol. Chem. 274, 18925-18931, 1999)。興味深いことに、アフリカツメガエルオーロラ関連タンパク質キナーゼpEg2はX1Eg5への結合およびリン酸化を示した(Giet, R., et al., J. Biol. Chem. 274:15005-15013, 1999)。オーロラ関連キナーゼ類の潜在的基質は、抗癌剤開発上特に興味深い。例えば、オーロラ1キナーゼおよび2キナーゼは結腸癌患者でタンパク質レベルおよびRNAレベルで過発現し、遺伝子は増幅されている。

【0007】

KSPに対する最初の細胞透過性小分子阻害剤である“モナストロール”は、タキサン類およびピンカアルカロイドのような慣用の治療剤のように微小管重合に影響することなく、単極性紡錘体で細胞を停止させることが示された(Mayer, T.U., et al., Science 286:971-974, 1999)。モナストロールは、表現型ベースのスクリーニングで阻害剤として同定され、この化合物が抗癌剤開発のリード化合物となり得ることが示唆された。阻害はアデノシン三リン酸に関して競合的ではなく、速やかに可逆性となることが解明された(DeBonis, S., et al., Biochemistry, 42:338-349, 2003; Kapoor, T.M., et al., J. Cell Biol., 150:975-988, 2000)。

【0008】

化学療法剤の改良が重要であることを考慮すると、KSPおよびKSP関連タンパク質の有効なインビボ阻害剤であるKSP阻害剤の必要性がある。

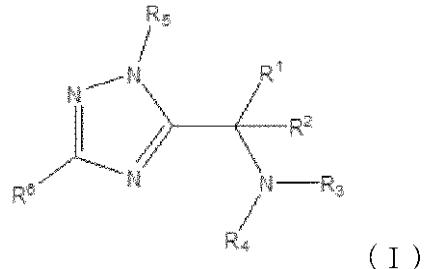
【発明の概要】

【0009】

発明の要約

一つの態様において、本発明は置換トリアゾール化合物およびその薬学的に許容される塩類、エステル類またはプロドラッグ、その製造、医薬組成物およびKSP仲介疾患の処置のための使用に関し、ここで、該化合物は一般式：

【化1】



〔式中、

R¹はC₁-₆アルコキシ-C₁-₄-アルキル、C₁-₆直鎖アルキル、C₃-₆分枝鎖アルキルおよび-C₃-₆シクロアルキルから選択でき；

R²はHおよびC₁-₆直鎖アルキルから選択され；

R³は-(CH₂)₀-₃置換または非置換ピロリジニルまたは場合により置換されていてよいC₃-₅アルキルであり；

R⁴は-C(O)-CH₂OH、-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-非置換モルホリニルおよび3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；

R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、BrおよびIから選択され；

R⁶は3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。〕

により表される。

【0010】

これらの式(I)の化合物のある態様において：

R¹はC₁-₆直鎖アルキル、C₃-₆分枝鎖アルキルおよび-C₃-₆シクロアルキルから選択され；

R²はHおよびC₁-₆直鎖アルキルから選択され；

R³は-(CH₂)₀-₃置換または非置換ピロリジニルであり；

R⁴は-C(O)-CH₂OH、-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-非置換モルホリニルおよび3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；

R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、BrおよびIから選択され；

R⁶は3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。

【0011】

他の態様において、R¹はメトキシ置換C₁-₄アルキルおよび2-メトキシ-2-プロピルのようなC₁-₆アルコキシ-C₁-₄アルキルである。

【0012】

本発明はまた、さらにここに記載するとおり、これらの化合物およびこれらの化合物を含む医薬組成物の製造方法および使用方法も提供する。

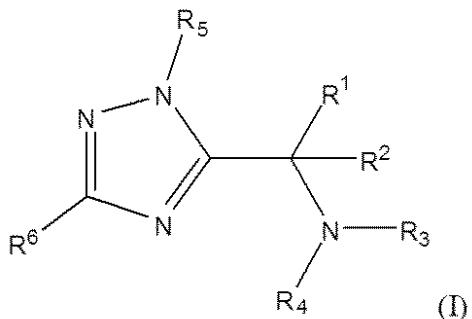
【発明を実施するための形態】

【0013】

本発明の態様の詳細な記載

本発明の化合物は、式(I)：

【化2】



10

〔式中、

R¹はC₁～₆アルコキシ-C₁～₄アルキル、C₁～₆直鎖アルキル、C₃～₆分枝鎖アルキルおよびC₃～₆シクロアルキルから選択され；

R²はHおよびC₁～₆直鎖アルキルから選択され；

R³は-C₁H₂-ピロリジニルのような-(C₁H₂)₀～₃-置換または非置換ピロリジニル、であり

R⁴は-C(O)-C₁H₂O H、-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-C₁H(C₁H₃)-OH、-C(O)-非置換モルホリニルおよび3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；

R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、BrおよびIから選択され；

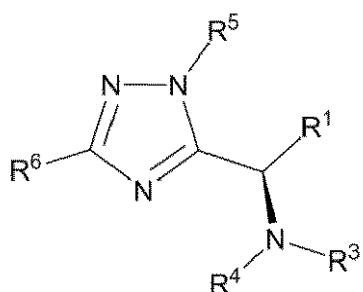
R⁶は3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。〕

の化合物またはその薬学的に許容される塩、エステルまたはプロドラッグを含む。

【0014】

式(I)の化合物において、R¹はしばしば分枝鎖アルキルまたはアルコキシアルキルであり、R²はしばしばHである。好ましい態様において、式(I)の化合物は次の異性体である：

【化3】



30

40

【0015】

これらの化合物において、R⁵はしばしばベンジルであり、それは場合によりベンジル基のフェニル環を3個までのハロゲン基で置換されていてよい。R⁵は非置換でよい；それが置換されているとき、それはしばしば1個または2個のフッ素原子で置換されている。

【0016】

R⁶は典型的に場合により置換されていてよいフェニル環である；ある態様において、それは1～2個のハロ基で置換されているフェニルである。好ましい態様において、R⁶はフルオロフェニルまたはジフルオロフェニル、特に2,5-ジフルオロフェニルである

50

。

【 0 0 1 7 】

これらの式(I)の化合物のある態様において、R¹はC₁ - C₆直鎖アルキル、C₃ - C₆分枝鎖アルキルおよび-C₃ - C₆シクロアルキルから選択される。

【 0 0 1 8 】

本発明の特定の態様は：

R¹がC₁ - C₆アルコキシ-C₁ - C₄アルキル、好ましくはメトキシ置換C₁ - C₄アルキルから選択され；

R²がHであり；

R³が-(CH₂)₁ - CH₃置換ピロリジニルであり；

R⁴が-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；

R⁵がベンジルまたは2個までのフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

R⁶が2個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される式(I)の化合物を提供する。

10

【 0 0 1 9 】

本発明のさらに好ましい態様は：

R¹がC₃ - C₆分枝鎖アルキルから選択され；

R²がHであり；

R³が-(CH₂)₁ - CH₃置換ピロリジニルであり；

R⁴が-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；

R⁵がベンジルまたは2個までのフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

R⁶が2個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される式(I)の化合物を提供する。

20

【 0 0 2 0 】

本発明のさらに好ましい態様は：

R¹がt-ブチルであり；

R³が-(CH₂)-フルオロ-ピロリジニルであり；

R⁴が-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-2,6-ジメチルモルホリニルから選択され；

R⁵がベンジルまたは1個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

R⁶が2個までのフルオロ原子で置換されているフェニルから選択される式(I)の化合物を提供する。

30

【 0 0 2 1 】

本発明のさらに好ましい態様は：

R¹がメトキシ-C₁ - C₄アルキルであり；

R³が-(CH₂)-フルオロ-ピロリジニルであり；

R⁴が-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-2,6-ジメチルモルホリニルから選択され；

R⁵がベンジルまたは1個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；

R⁶が2個までのフルオロ原子で置換されているフェニルから選択される式(I)の化合物を提供する。

40

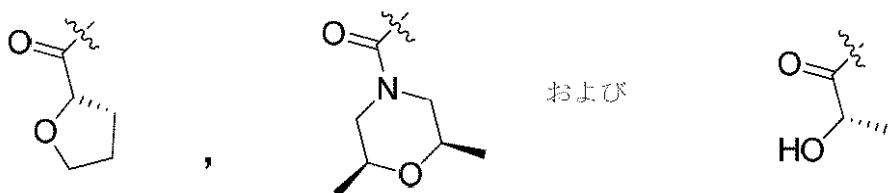
【 0 0 2 2 】

他の好ましい態様は、

R³が-(CH₂)₁ - CH₃-フルオロ-ピロリジニルであり；

R⁴が-C(O)-2-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-2,6-ジメチルモルホリニルである式(I)の化合物を提供する。特に好ましい態様において、R⁴は：

【化4】



から選択される。

【0023】

10

これらのR⁴基はラセミ体でも光学活性体でもよい；好ましい態様において、R⁴は、ここに記載する絶対立体化学を有する光学活性基である。典型的に、それは一つのエナンチオマーであり、その逆のエナンチオマーを実質的に有さず、すなわち、R⁴基は少なくとも90%およびしばしば少なくとも95%のエナンチオマー過剰率を有する。

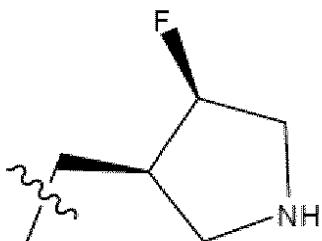
【0024】

本発明のさらに別の好ましい態様は：

R³が((3R,4R)-4-フルオロピロリジン-3-イル)メチル基

【化5】

20

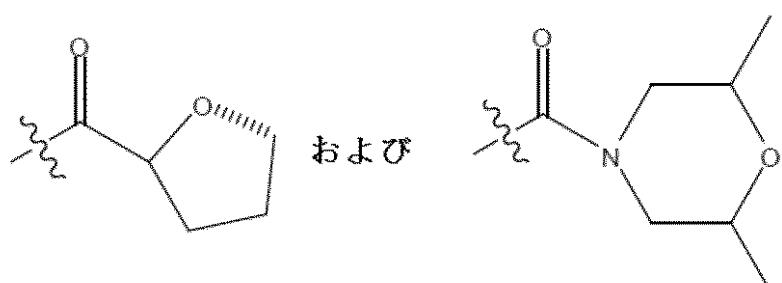


であり；

R⁴が-C(O)-CH(CH₃)-OH、

【化6】

30



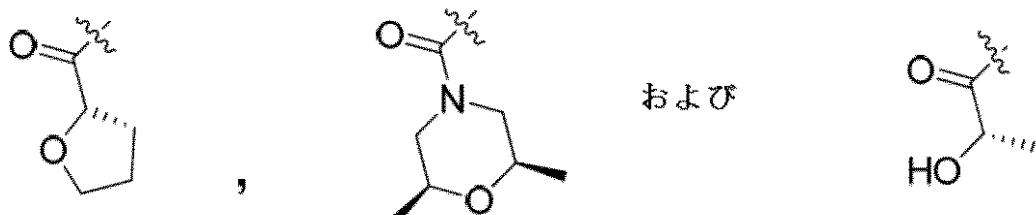
から選択される、式(I)の化合物を提供する。

【0025】

40

特に好ましい態様において、R⁴は：

【化7】



から選択される。

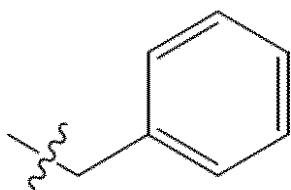
【0026】

50

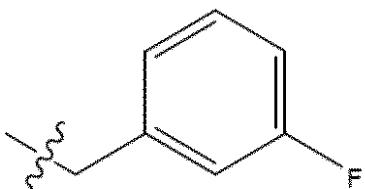
本発明のさらに好ましい態様は：

R⁵ が

【化 8】



または

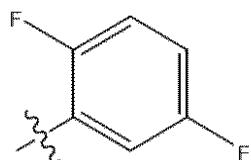


10

であり；

R⁶ が

【化 9】



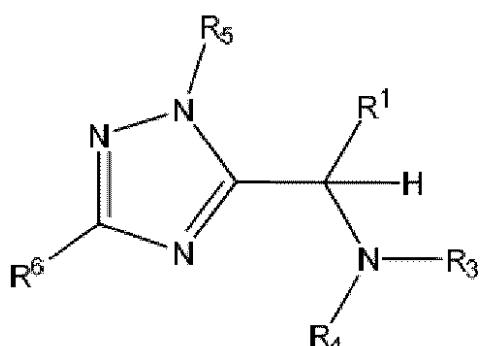
20

である、式(I)の化合物を提供する。

【0027】

他の態様において、本発明は、式(II)：

【化 10】



(II)

30

〔式中、

R¹ は C₁ - C₆ アルコキシ - C₁ - C₄ - アルキル、C₁ - C₆ 直鎖アルキル、C₃ - C₆ 分枝鎖アルキルおよび - C₃ - C₆ シクロアルキルから選択でき；

R³ は - (CH₂)₀ - C₃ 置換または非置換ピロリジニルまたは 3 個までのアミノおよびハロから選択される基で置換されている C₃ - C₅ アルキルであり；

R⁴ は - C(O) - CH₂ OH、- C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - CH(CH₃) - OH、- C(O) - 非置換モルホリニルおよび 3 個までのアルキル基で置換されている - C(O) - モルホリニルから選択され；

R⁵ は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基は Cl、F、Br および I から選択され(好ましくは F)；

R⁶ は 3 個までのハロゲン原子、好ましくは F または Cl またはその両方で置換されているフェニルから選択される。〕

の化合物を提供する。

【0028】

式(II)の化合物において、R⁵ または R⁶ が置換されているとき、好ましい置換基は F

40

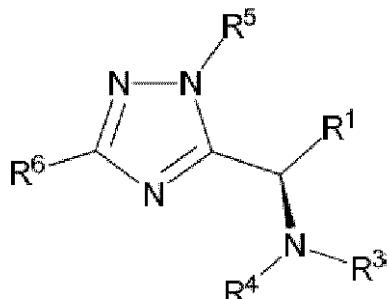
50

および C 1 である。

【 0 0 2 9 】

式(II)の化合物において、R¹ はしばしばメトキシのようなアルコキシ基で置換されている分枝鎖アルキルであり、R² はしばしば H である。好ましい態様において、式(II)の化合物は、下に示す絶対立体化学を有するこの異性体であり得る：

【 化 1 1 】

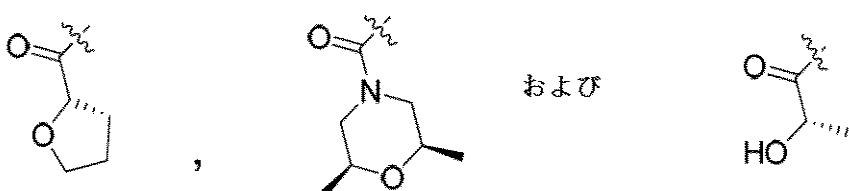


。

【 0 0 3 0 】

式(II)の化合物の特に好ましい態様において、R⁴ は：

【 化 1 2 】



から選択される。

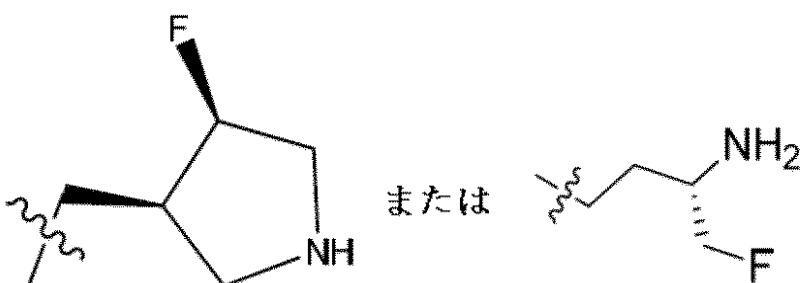
【 0 0 3 1 】

好ましくは、これらの基は光学活性であり、示す絶対立体化学を有する。

【 0 0 3 2 】

本発明のさらに別の好ましい態様は、R³ が

【 化 1 3 】



である、式(II)の化合物を提供する。

【 0 0 3 3 】

これらの R³ 基はラセミ体でも光学活性体でもよい；好ましい態様において、R³ は、ここに記載する絶対立体化学を有する光学活性基である。典型的に、それは一つのエナンチオマーであり、その逆のエナンチオマーを実質的に有さず、すなわち、R³ 基は少なくとも 90 % およびしばしが少なくとも 95 % のエナンチオマー過剰率を有する。

【 0 0 3 4 】

式(II)の化合物において、R⁵ はしばしばベンジルであり、それは場合によりベンジル基のフェニル環を 3 個までのハロゲン基で置換されていてよい。R⁵ は非置換でよい；それが置換されているとき、それはしばしば 1 個または 2 個のフッ素原子で置換されている。

10

20

30

40

50

【0035】

式(II)の化合物において、R⁶は典型的に場合により置換されていてよいフェニル環であり；ある態様において、それは1～2個のハロ基で置換されているフェニルである。好ましい態様において、R⁶はフルオロフェニルまたはジフルオロフェニル、特に2,5-ジフルオロフェニルである。

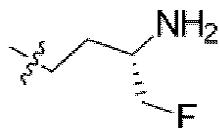
【0036】

これらの式(II)の化合物のある態様において：

R¹はC₁～₆アルコキシ-C₁～₄-アルキル、C₃～₆分枝鎖アルキルおよびC₃～₆シクロアルキルから選択され；

R³は((3R,4R)-4-フルオロピロリジン-3-イル)メチル基のような-(CH₂)₀～₃置換ピロリジニル基または好ましくは

【化14】



である-CH₂-CH₂-CH(NH₂)-CH₂Fであり；

R⁴は-C(O)-CH₂OH、-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-非置換モルホリニルおよび3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され；

R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、BrおよびIから選択され；

R⁶は3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。

【0037】

式(II)の化合物のある態様において、R¹はメトキシ置換C₁～₄アルキルである。これらの化合物の好ましい態様において、R¹は2-メトキシ-2-プロピルである。

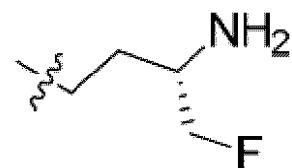
【0038】

式(II)の化合物において、R³は置換ピロリジニルを含み得る；例えば、それは例えば((3R,4R)-4-フルオロピロリジン-3-イル)メチル基のような-(CH₂)₁～₂置換ピロリジニルである。ピロリジニルは環の任意の位置で結合してよく、典型的に炭素原子で、および好ましくは窒素原子を1位として番号付けしたとき3位で結合する。ピロリジニル基はハロ、低級アルキルおよび低級アルコキシのような基で置換できる。好ましくは、ピロリジニル環は、環炭素原子を少なくとも1個のハロで、一般的にFで置換されている；加えて、それは場合により低級アルキル、典型的にMeまたはEtで置換されてよく、場合により低級アルキルはN上にある。

【0039】

上記の式(II)の化合物の全ての好ましい態様において、R³は

【化15】



のような-CH₂-CH₂-CH(NH₂)-CH₂Fまたは-(CH₂)₁～₂置換ピロリジニル、であり、ここで、基-(CH₂)₁～₂置換ピロリジニルは、例えば：

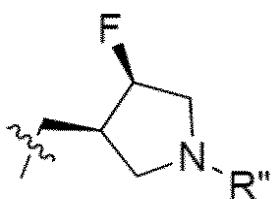
10

20

30

40

【化16】



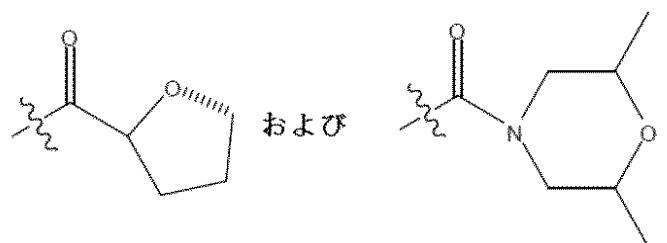
(式中、R''はH、Me、Et、イソプロピルまたはn-プロピルである)

であり得る。好ましくは、ピロリジニル基はここに示す絶対立体化学配置を有し、すなわち、それは、式中、R''がH、Me、Et、イソプロピルまたはn-プロピルである((3R,4R)-4-フルオロピロリジン-3-イル)メチル基である。

10

【0040】

式(II)の化合物の好ましい態様において、R⁴は-C(O)-CH(CH₃)-OH、
【化17】



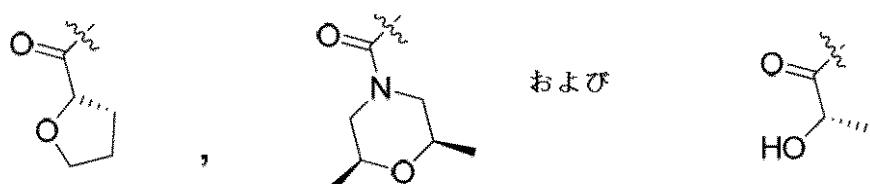
20

から選択される。

【0041】

特にこれらの化合物の好ましい態様において、R⁴は：

【化18】



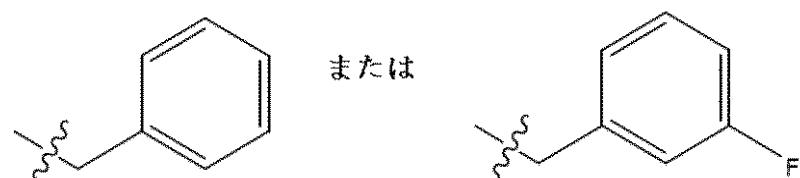
30

から選択される。

【0042】

また好ましくはこれらの化合物において、R⁵は

【化19】

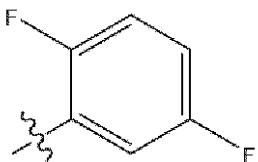


40

であり；

このような態様のいくつかにおいて、R⁶は

【化20】



50

である。

【 0 0 4 3 】

本発明の特に好ましい態様は、次のものから選択される式(I)または(II)の化合物を提供する:

N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 -ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2,6 -ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド;

N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 -ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2,6 -ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド;

(S) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 -ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド;

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 -ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド;

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 -ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド; および

(S) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 -ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド。

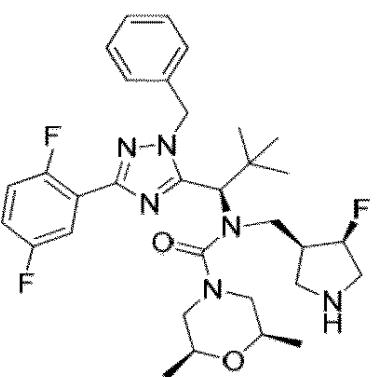
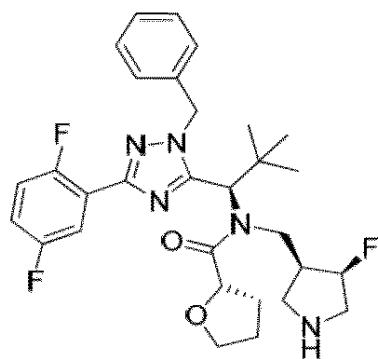
【 0 0 4 4 】

本発明の他の特に好ましい態様は、次のものから選択される式(I)または(II)の化合物:

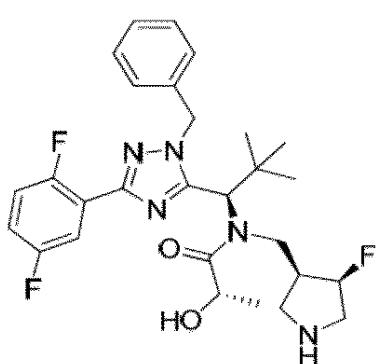
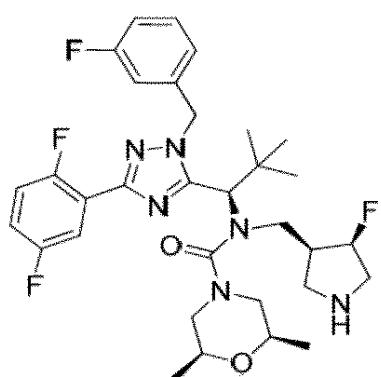
10

20

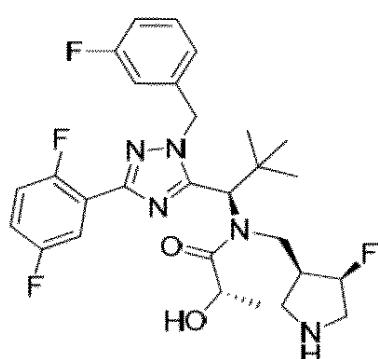
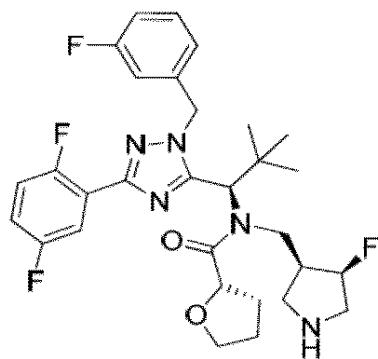
【化 2 1】



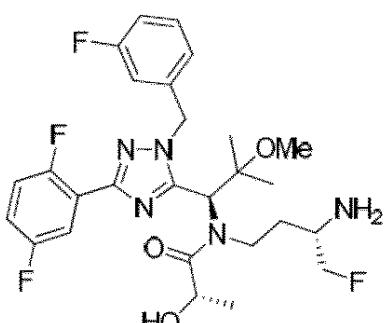
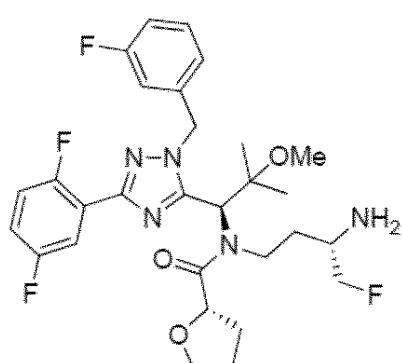
10



20

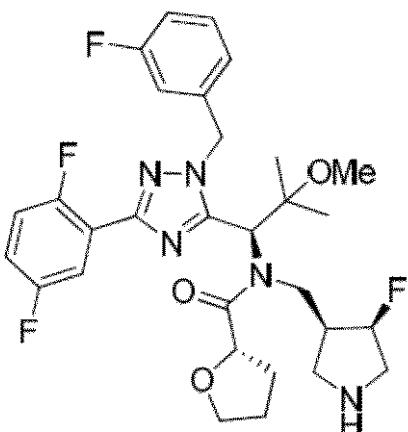
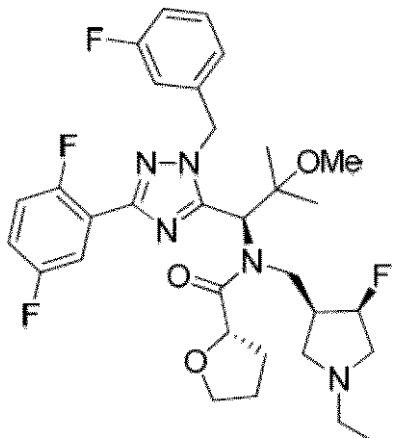


30

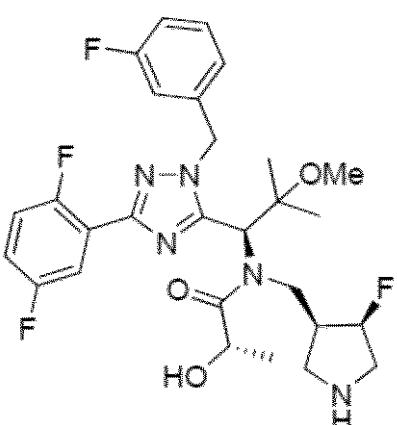
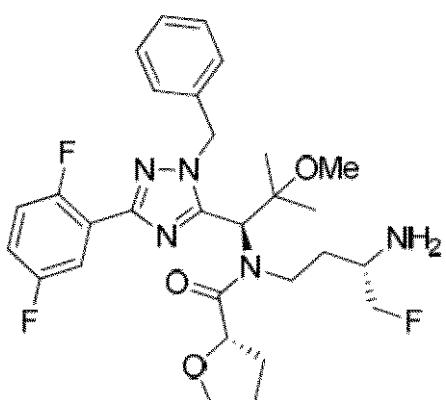


40

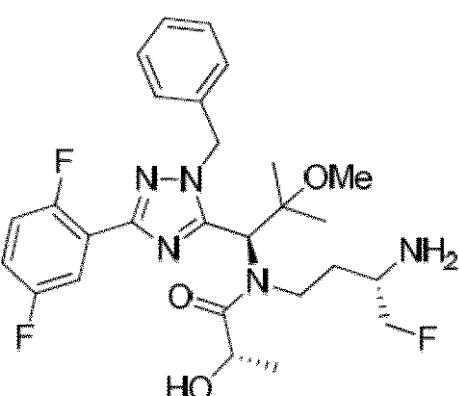
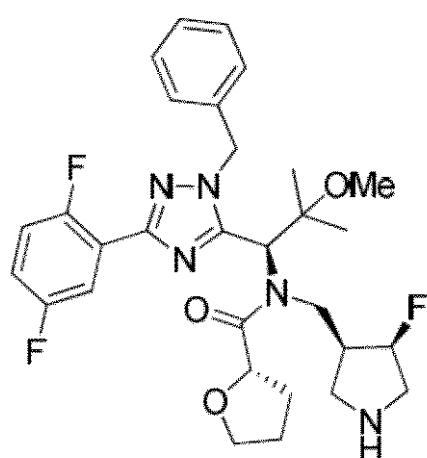
【化 2 2】



10



20



30

および

40

およびそれらの化合物の薬学的に許容される塩類を提供する。

【0045】

本発明の他の面は、治療有効量の式(I)または(II)の化合物(これらの化合物について上記の全ての態様を含む)および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。本発明のこの面の好ましい態様は、さらに少なくとも1種の付加的癌処置剤を含む組成物を提供する。さらに好ましい態様で提供されるのは、付加的癌処置剤がイリノテカン、ト

50

ポテカン、ゲムシタビン、イマチニブ、トラスツマブ、5 - フルオロウラシル、ロイコボリン、カルボプラチン、シスプラチン、ドセタキセル、パクリタキセル、テザシタビン、シクロホスファミド、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン系、リツキシマブおよびトラスツマブから成る群から選択される、組成物である。

【0046】

本発明のさらに別の面で提供されるのは、哺乳動物患者における少なくとも一部KSPにより仲介される障害の処置方法であって、当該処置を必要とする哺乳動物患者に治療有効量の式(I)または(II)の化合物(これらの化合物について上記の全ての態様を含む)を含む組成物を投与することを含む、方法である。好ましい態様は、哺乳動物患者における少なくとも一部KSPにより仲介される障害の処置方法であって、当該処置を必要とする哺乳動物患者に、治療有効量の上記式(I)または(II)の化合物のいずれかの態様の化合物および少なくとも1種の付加的癌処置剤を含む組成物を投与することを含む、方法である。本発明のこの面の好ましい態様は、哺乳動物患者における、細胞増殖性疾患である、少なくとも一部KSPにより仲介される障害の処置方法である; 好ましくは細胞増殖性疾患は癌である。

10

【0047】

本発明のこの面のさらに好ましい態様は上記の細胞増殖性疾患の処置方法を提供し、ここで、細胞増殖性疾患は、肺および気管支; 前立腺; 乳; 脾臓; 結腸および直腸; 甲状腺; 胃; 肝臓および肝内胆管; 腎臓および腎孟; 膀胱; 子宮体; 子宮頸; 卵巣; 多発性骨髄腫; 食道; 急性骨髄性白血病; 慢性骨髄性白血病; リンパ性白血病; 骨髄球性白血病; 脳; 口腔および咽頭; 喉頭; 小腸; 非ホジキンリンパ腫; 黒色腫; および絨毛結腸腺腫から成る群から選択される癌である。

20

【0048】

本発明のこの面のさらに好ましい態様は、付加的癌処置剤がイリノテカン、トポテカン、ゲムシタビン、イマチニブ、トラスツマブ、5 - フルオロウラシル、ロイコボリン、カルボプラチン、シスプラチン、ドセタキセル、パクリタキセル、テザシタビン、シクロホスファミド、ピンカアルカロイド、アントラサイクリン系、リツキシマブおよびトラスツマブから成る群から選択される方法を提供する。

【0049】

この面の特に好ましい態様は、哺乳動物患者においてKSPを阻害する方法であって、該患者に有効なKSP阻害量のここに記載する態様のいずれかに従う式(I)または(II)の化合物を投与することを含む、方法を提供する。ある態様において、本方法は上記式(I)または(II)の化合物; 例えば:

30

R¹がC₁ - C₆直鎖アルキル、C₃ - C₆分枝鎖アルキルおよび-C₃ - C₆シクロアルキルから選択され;

R²がHおよびC₁ - C₆直鎖アルキルから選択され;

R³が-(CH₂)₀ - C₃置換または非置換ピロリジニルであり;

R⁴が-C(O)-CH₂OH、-C(O)-テトラヒドロフラニル、-C(O)-CH(CH₃)-OH、-C(O)-非置換モルホリニルおよび3個までのアルキル基で置換されている-C(O)-モルホリニルから選択され;

40

R⁵が置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はC₁、F、BrおよびIから選択され;

R⁶が3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される、式(I)の化合物を使用する。

【0050】

当該方法の対象は一般的にヒトであり、典型的にこれらの方針の開始前に当該処置が必要であると診断されている。

【0051】

他の好ましい態様は、患者に有効なKSP阻害量の上記態様のいずれかに従う式(I)または(II)の化合物を投与することを含む、方法を提供する。ある態様において、本方法は

50

:

R¹ が C₃ - C₆ 分枝鎖アルキルから選択され；
R² が H であり；
R³ が - (C H₂)₁ - C 置換ピロリジニルであり；
R⁴ が - C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - OH、3 個までのアルキル基で置換されている - C(O) - モルホリニルから選択され；
R⁵ がベンジルまたは少なくとも 2 個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；
R⁶ が 2 個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される、式(I)の化合物を使用する。

【0052】

10

さらに特に好ましい態様は：

R¹ が t - プチルであり；
R³ が - (C H₂) - フルオロ - ピロリジニルであり；
R⁴ が - C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - OH、- C(O) - 2, 6 - ジメチルモルホリニルから選択され；
R⁵ がベンジルまたは 1 個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；
R⁶ が 2 個までのフルオロ原子で置換されているフェニルから選択される、式(I)の化合物を投与することを含む、方法を提供する。

【0053】

20

さらに好ましい態様は：

R¹ が 2 - メトキシ - 2 - プロピルであり；
R³ が - (C H₂) - フルオロ - ピロリジニルまたは - C H₂ - C H₂ - C H(NH₂) - C H₂ F であり；
R⁴ が - C(O) - テトラヒドロフラニル、- C(O) - C H(C H₃) - OH、- C(O) - 2, 6 - ジメチルモルホリニルから選択され；
R⁵ がベンジルまたは 1 個のフルオロ原子で置換されているベンジルであり；
R⁶ が 2 個までのフルオロ原子で置換されているフェニルから選択される、式(II)の化合物を投与することを含む方法を提供する。

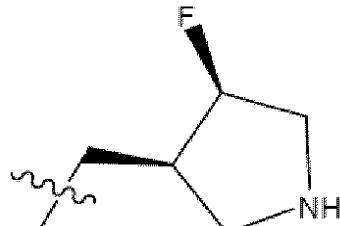
【0054】

30

さらに別の特に好ましい態様は、癌のような状態の処置のために式(I)または(II)の化合物を投与する方法を含む。本方法は、上記態様のいずれかに従う化合物を使用でき：

R³ が

【化23】

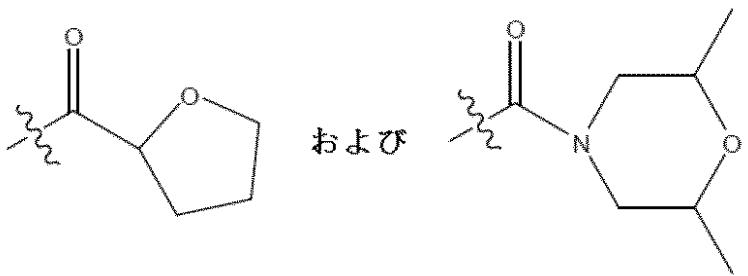


40

であり；

R⁴ が - C(O) - C H(C H₃) - OH、

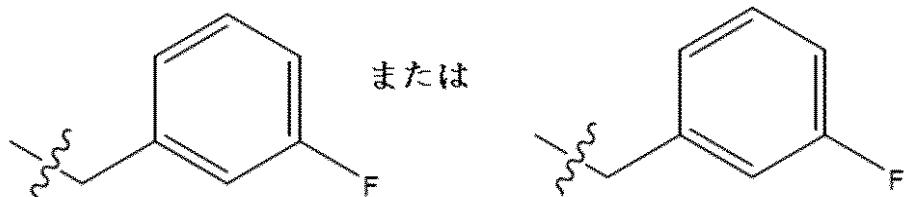
【化24】



から選択され；

 R^5 が

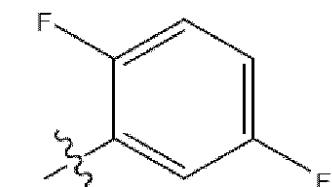
【化25】



であり；

 R^6 が

【化26】



である、式(I)または(II)の化合物を含む。

【0055】

上記処置方法の特に好ましい態様は、哺乳動物患者におけるKSPの阻害方法であって、該患者に有効なKSP阻害量の次のものから選択される式(I)の化合物を投与することを含む、方法を提供する：

N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2,6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド；

N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド；

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド；

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド；および

10

20

30

40

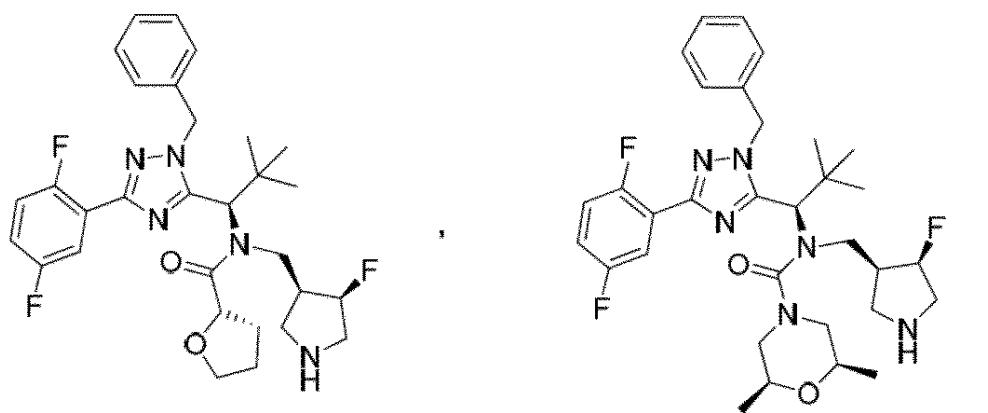
50

(S) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2 , 4 - トリアゾール - 5 -イル) - 2,2 -ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 -イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド。

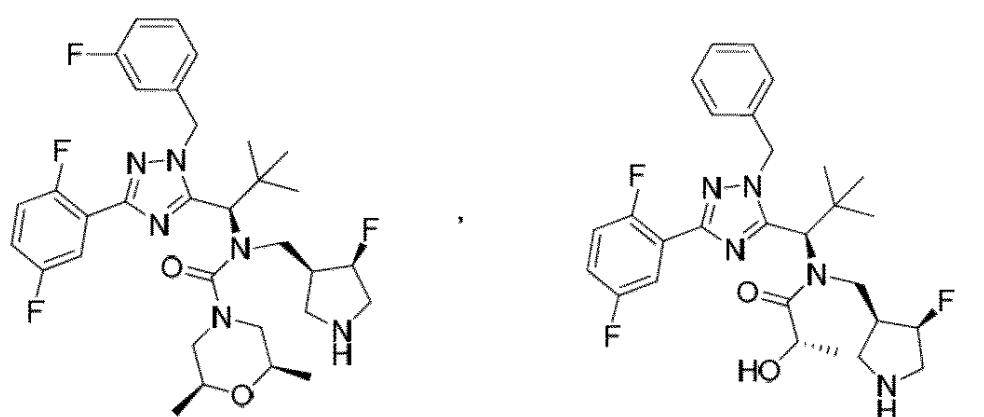
【0056】

他の特に好ましい態様は、哺乳動物患者におけるKSPを阻害する方法であって、該患者に有効量なKSP阻害量の次のものから選択される式(I)または(II)の化合物を投与することを含む、方法を提供する：

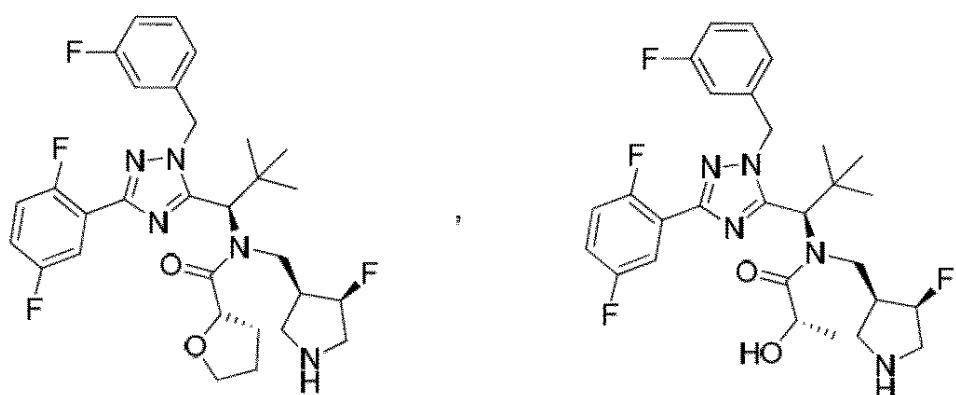
【化 27】



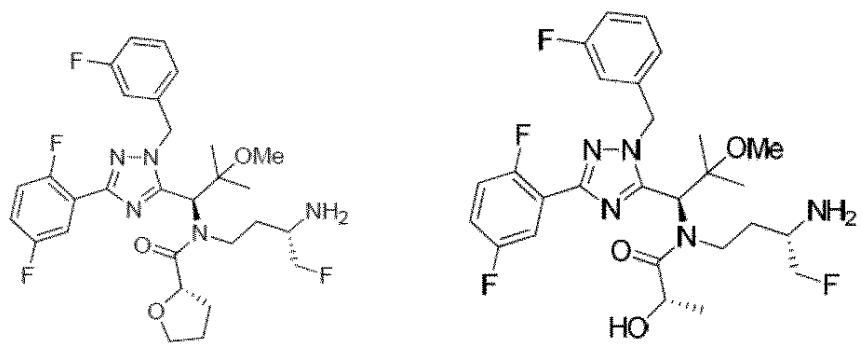
10



20

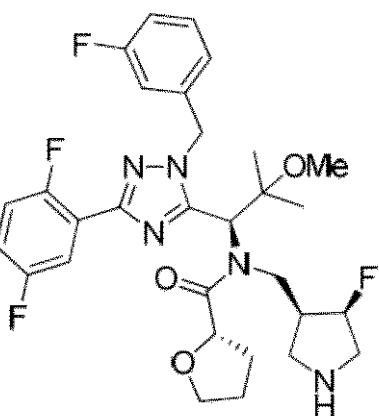
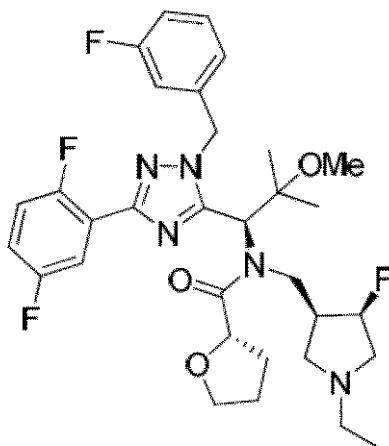


30

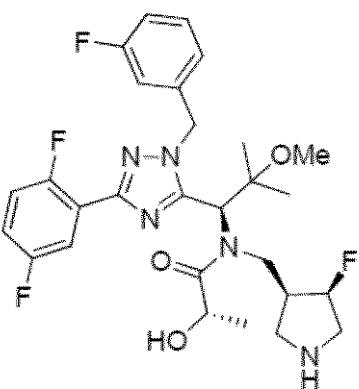
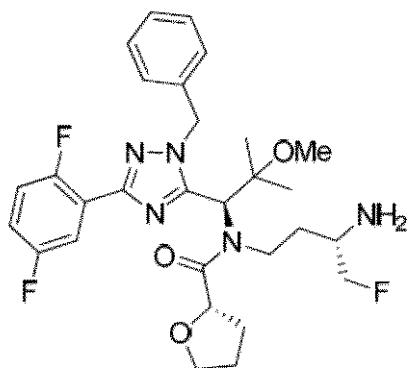


40

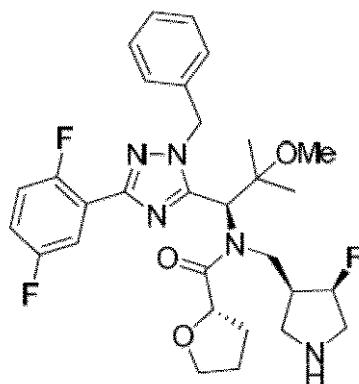
【化 2 8】



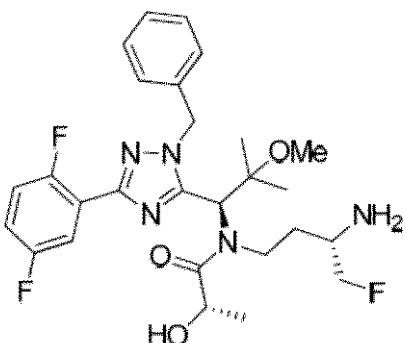
10



20



および



30

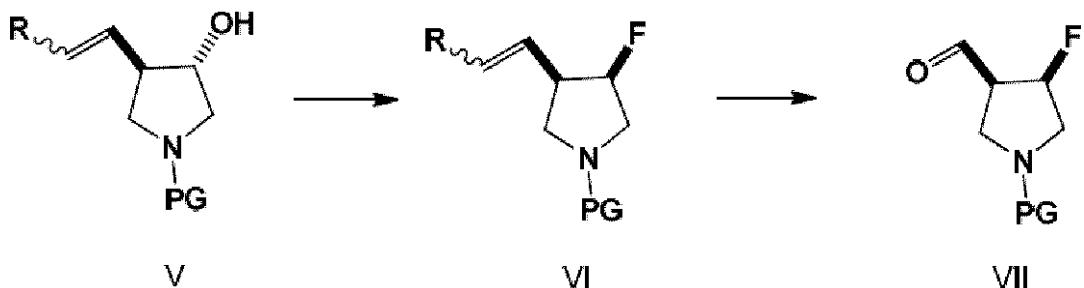
40

またはこれらの化合物の一つの薬学的に許容される塩。

【0057】

他の面において、本発明は、ある式(I)または(II)の化合物およびおよびその合成のための重要な中間体の製造方法を提供する。本明細書のスキーム2は、上記のような化合物のための好ましいピロリジン環部分を形成する当該方法の一つを記載する。このこのフッ素化ピロリジンの合成法は、下記のとおり、式(V)の *trans*-3,4-二置換ピロリジンをフッ素化して、式(VI)の *cis*-フッ素化ビニルピロリジン化合物を得て、式(VI)の化合物のオレフィンを酸化して、式(VII)のアルデヒドを得ることを含む：

【化 2 9】



10

【 0 0 5 8 】

これらの変換はラセミ化合物または光学活性化合物で行うことができる；ある態様において、式(V)または(VI)または(VII)の化合物は光学活性体であり、ここに示す絶対立体化学を、少なくとも90%のエナンチオマー過剰率で示す。式(V)～(VII)の化合物において、RはHまたは場合により置換されていてよいC₁～C₆アルキルまたはアリールであり、PGは脂肪族窒素原子で使用するのに適当な保護基である。ある態様において、RはHであり、式(V)の化合物を、例えば、被保護3-ピロリン(スキーム2の化合物2.3参照)のエポキシドから、該エポキシドとグリニヤール試薬の反応により製造できる。式(V)のtrans-ヒドロキシ基を、キラル中心の反転を達成するためのS_N2交換を提供する任意の適当な試薬を使用して、式(VI)におけるcis-フルオロ基に変換できる。ある態様において、これは、不活性溶媒中のフルオライド源およびヒドロキシルを適当な脱離基へと活性化する試薬を使用して達成する。例えば、トリアルキルアミントリヒドロフルオライド(例えば、Et₃N-トリヒドロフルオライド)またはHF-ピリジンのようなフルオライド塩を、本反応条件に不活性な適当な溶媒中、アルキルまたはC₁～C₆ペルフルオロアルキルスルホニルフルオライドのようなアリールスルホニルフルオライドと共に使用して、立体化学反転を伴い、ヒドロキシルをFに変換できる。

20

【 0 0 5 9 】

式(VI)の化合物のビニル性基を、四酸化オスミウムおよび過ヨウ素酸ナトリウムでの処理またはオゾンの使用のような種々の慣用法を使用してアルデヒドに酸化し、式(VII)の化合物を得ることができる。この変換の方法は当分野で既知である。

30

【 0 0 6 0 】

次いで、式(VII)の化合物を、ここに記載する還元的アミノ化反応；または当該アルデヒド類および所望の標的化合物に適当な求核性炭素基を使用する当分野で既知の種々の求核性付加反応を含む種々の方法により式(I)の化合物に取り込むことができる。一つの態様において、式(VII)の化合物を、スキーム3に示すとおり還元的アミノ化により式(Ia)の化合物に結合させて、下に示す式(Ib)の化合物を提供する。 R^3 がHである式(Ia)の化合物は、保護を必要とする遊離アミンまたはヒドロキシルのような基を含むならば、場合により保護されている。

【 0 0 6 1 】

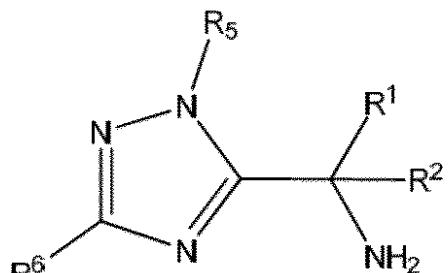
これらの反応および中間体で使用する適当な保護基(PG)は、アミド類(例えば、ホルムアミド、アセトアミド、トリクロロアセトアミド)およびカルバメート類(例えば、メチル、エチル、トリクロロエチル、t-ブチルまたはベンジルカルバメート)を含む。アミド類およびカルバメート類は、一般式 - C(O) - L - A(式中、Lは結合(アミド類について)または - O - (カルバメート類について)であり、Aは場合により置換されていてよいアルキル(好ましくはC₁-₆)またはアリール(好ましくはフェニル)である;またはLが結合であるとき、AはHであり得る)のものである。

40

【 0 0 6 2 】

ある態様において、この方法は、さらに式(VII)の化合物を式(Ia)：

【化30】



(Ia)

10

〔式中、

R¹はC₁～₆アルコキシ・C₁～₄アルキル、C₁～₆直鎖アルキル、C₃～₆分枝鎖アルキルおよび-C₃～₆シクロアルキルから選択され；

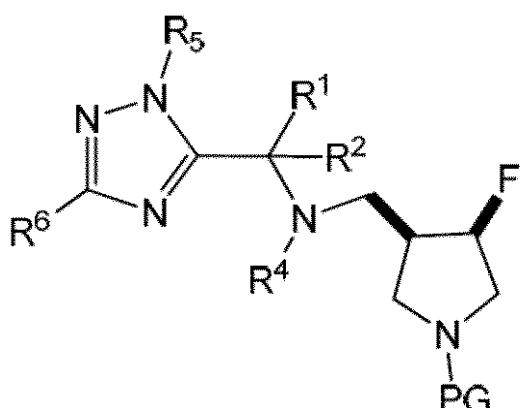
R²はHおよびC₁～₆直鎖アルキルから選択され；

R⁵は置換または非置換ベンジルから選択され、ここで、置換基はCl、F、BrおよびIから選択され；

R⁶は3個までのハロゲン原子で置換されているフェニルから選択される。〕

の化合物で還元的アミノ化して、式(Ib)：

【化31】



(Ib)

20

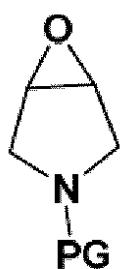
30

の化合物を得ることを含む。

【0063】

ある態様において、前記合成方法のいずれも、式(IV)

【化32】



(IV)

40

のエポキシドを、該エポキシドを式

【化33】

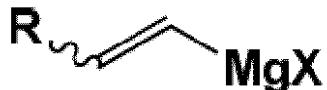


50

[式中、RはHまたは場合により置換されていてよいアルキルまたはアリール基であり、MはLi、MgXおよびZnXから選択される金属基であり、ここで、Xはハロゲンである。]

の有機金属反応材で開環して、式(V)の化合物を得る、式(V)の化合物の合成を含む。この工程について、好ましい有機金属反応材は：

【化34】



10

[式中、XはCl、BrまたはIである。]

である。

【0064】

それ故に、本発明は、上記式(VI)および(VII)の新規中間体、ならびに式(I)または(Ib)の化合物の製造のためこれらの中間体の使用方法を提供する。

【0065】

これらの方法で使用するおよび製造される化合物はラセミ体でよく、または少なくとも1個のキラル中心を有するいずれの化合物も、適宜単一エナンチオマーまたは单ジアステレオマーに分割してよい。本発明において、好ましくは式(I)または(Ib)の化合物を製造するために単一エナンチオマーで使用するために、式(V)または(VI)の化合物の2個のエナンチオマーを分割することがある。ある態様において、式(V)または(VI)の化合物をラセミ体で製造し、次いでキラルクロマトグラフィーまたは他の慣用の手段で分割して、好ましくは本質的にそのエナンチオマーがない、光学活性化合物を得る。好ましい態様において、式(V)または(VI)の化合物は光学活性体であり、ここに記載する絶対立体化学である。この態様のいくつかにおいて、それは逆のエナンチオマーを実質的に含まない。

20

【0066】

代表的本発明の化合物

本発明の範囲内の具体的化合物を表1および実験の章に例示する。

【0067】

B. 定義および大要

30

上記のとおり、本発明は、一部新規置換トリアゾール化合物に関する。

【0068】

ここで使用する用語は単に特定の態様を述べる目的であり、本発明の範囲を限定しないことは当然である。本明細書および特許請求の範囲で、単数表現は、文脈から他の解釈が必要でない限り複数も含むことは注意すべきである。本明細書および添付する特許請求の範囲において、次の意味を有すると定義する多くの用語をについて述べる：

【0069】

ここで使用する“アルキル”または“直鎖アルキル”は、1~6個の炭素原子およびより好ましくは1~3個の炭素原子を有する一価飽和脂肪族ヒドロカルビル基に関する。本用語はメチル、エチル、n-プロピル、n-ペンチルなどのような基により例示される。

40

【0070】

ここで使用する用語“分枝鎖アルキル”は、3~6個の炭素原子を有する一価飽和分枝鎖アルキル基に関する。本用語はi-ブチル、i-プロピル、t-ブチルなどのような基により例示される。

【0071】

“シクロアルキル”は、3~6個の炭素原子を有し、3個以上の炭素原子が互いに環状構造を形成するように結合しているアルキル基を意味する。説明的例はシクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基およびシクロヘキシリル基を含む。

【0072】

ここで使用する“アルコキシアルキル”は、少なくとも1個のアルコキシ基で置換され

50

ているアルキル基を意味する。特にことわらない限り、アルコキシアルキル基は最大10個の炭素原子をアルコキシ基に有し、最大10個の炭素原子をアルキル基に有する。それは、基本骨格(base molecule)にアルキル基を介して結合する。いくつかの例では、これらの基を、例えばC₁ - C₆アルコキシ基で置換された1~4個の炭素原子を有するアルキル基を意味するC₁ - C₆アルコキシ-C₁ - C₄-アルキルのようにアルコキシ基および/またはアルキル基中の炭素原子数に従い記載する。適当なアルコキシアルキル基はメトキシメチル；メトキシエチル；エトキシメチル；エトキシエチル；メトキシプロピル；およびメトキシ-イソプロピル(2-メトキシ-2-プロピル)を含む。

【0073】

“ハロ”または“ハロゲン”はフルオロ、クロロ、ブロモおよび/またはヨードを意味し、好ましくはフルオロまたはクロロである。

【0074】

ここで使用する“生物学的活性”は、実施例12~14のいずれかに概説したアッセイの少なくとも1種で試験したときおよび、少なくともその一つの例で定義したとおり、阻害濃度を意味する。

【0075】

ここで使用する用語“薬学的に許容される塩類”は、式(I)または(II)の化合物の非毒性酸塩類またはアルカリ土類金属塩類を意味する。これらの塩類は、式(I)または(II)の化合物の最終の単離および精製中にインサイチュでまたは別途塩基または酸と適当な有機または無機酸または塩基をそれぞれ反応させることにより、製造できる。代表的塩類は次のものを含むが、これらに限定されない：酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、クエン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、重硫酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、ジグルコン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、デシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、グルコヘプト酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、フマル酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、メタンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアノ酸塩、p-トルエンスルホン酸塩およびウンデカン酸塩。また、塩基性窒素含有基を、アルキルハライド類、例えばメチル、エチル、プロピルおよびブチルの塩化物、臭化物およびヨウ化物；ジメチル、ジエチル、ジブチルおよびジアミルの硫酸エステルのような硫酸ジアルキル、長鎖ハライド類、例えばデシル、ラウリル、ミリスチルおよびステアリルの塩化物、臭化物およびヨウ化物、ベンジルおよびフェニルの臭化物のようなアラルキルハライド類などのような試薬で4級化できる。それにより、水または油可溶性または分散性生成物を得る。

【0076】

薬学的に許容される酸付加塩類の製造に用い得る酸類の例は、塩酸、硫酸およびリン酸のような無機酸類およびシュウ酸、マレイン酸、メタンスルホン酸、コハク酸およびクエン酸のような有機酸類を含む。塩基付加塩類は、式(I)または(II)の化合物の最終単離および精製中にインサイチュでまたは別途カルボン酸基と適当な薬学的に許容される金属力チオンの水酸化物、炭酸塩または重炭酸塩またはアンモニアまたは有機1級、2級または3級アミンのような塩基を反応させることにより、製造できる。薬学的に許容される塩類は、アルカリ金属およびアルカリ土類金属に基づくカチオン、例えばナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム塩類など、ならびにアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含むが、これらに限定されないアンモニウム、4級アンモニウムおよびアミンカチオンを含むが、これらに限定されない。塩基付加塩類の形成に有用な他の代表的有機アミン類は、ジエチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジンなどを含む。

【0077】

10

20

30

40

50

ここで使用する用語“薬学的に許容されるエステル”は、インビポで加水分解可能なエステル類を意味し、ヒト体内で分解して親化合物、その塩または薬学的に活性な代謝物を遊離するものを含む。適当なエステル基は、例えば、薬学的に許容される脂肪族カルボン酸類、特にアルカン酸、アルケン酸、シクロアルカン酸およびアルカンジオイック酸(ここで、各アルキルまたはアルケニル基は有利には6個を超えない炭素原子を有する)由來のものを含む。特定のエステル類の代表例は、ギ酸エステル類、酢酸エステル類、プロピオン酸エステル類、酪酸エステル類、アクリル酸エステル類およびエチルコハク酸エステル類を含むが、これらに限定されない。

【0078】

ここで使用する用語“薬学的に許容されるプロドラッグ”は、合理的な医学的判断の範囲内で、ヒトおよび下等動物組織と接触させる使用に、合理的な利益／リスク比に釣り合い、過度の毒性、刺激、アレルギー応答などがなく適当であり、その意図する使用に有用である本発明の化合物のプロドラッグ、ならびに可能であるならば本発明の化合物の双性イオン形態を意味する。用語“プロドラッグ”は、インビポで急速に、血中の加水分解により変換されて、例えば上記式の親化合物または薬学的に活性な代謝物を生じる化合物を意味する。T. Higuchi and V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 of the A.C.S. Symposium SeriesおよびEdward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987に議論されており、これらのいずれも引用により本明細書に包含される。

【0079】

ここで使用する“抗癌剤”または“癌の処置用医薬”は、例示のためだけであるが、アポトーシス誘発剤；ポリヌクレオチド類(例えば、リボザイム類)；ポリペプチド類(例えば、酵素群)；薬物；生物学的模倣剤；アルカロイド類；アルキル化剤；抗腫瘍抗生物質；代謝拮抗剤；ホルモン類；白金化合物；抗癌剤、毒素および／または放射性核種とコンジュゲートしたモノクローナル抗体；生物学的応答調節剤(例えばインターフェロン類およびインターロイキン類など)；養子免疫療法剤；造血増殖因子；腫瘍細胞分化誘発剤(例えば全トランスレチノイン酸など)；遺伝子治療剤；アンチセンス治療剤およびヌクレオチド類；腫瘍ワクチン；血管形成阻害剤などを含む。多くの他の薬剤が当業者の専門に十分に入る。

【0080】

上に定義した全ての置換基において、置換基とそれについての置換基を定義することにより到達する重合体は、本発明に包含することを意図しないことは理解すべきである。この場合、そのような置換基の最大数は3個である。例えば、置換アリール基の別の2個の置換アリール基での連続置換は、-置換アリール-(置換アリール)-置換アリールに限定される。

【0081】

同様に、上の定義は許容されない置換パターン(例えば、5個のフルオロ基で置換されたメチルまたはエテニルまたはアセチル不飽和に対しアルファ位のヒドロキシ基)。このような許容されない置換パターンは当業者に周知である。

【0082】

本発明の化合物は、化合物中の1個以上上の不斉またはキラル中心の存在により、立体異性を示し得る。本発明は種々の立体異性体およびそれらの混合物を意図する。ある本発明の化合物は、不斉に置換された炭素原子を含む。かかる不斉に置換された炭素原子は、特定の不斉に置換された炭素原子での立体異性体混合物または単一立体異性体を含む本発明の化合物を生じ得る。結果として、本発明の化合物のラセミ混合物、ジアステレオマー混合物、単一エナンチオマー、ならびに单ージアステレオマーが本発明に包含される。ここで使用する用語“S”および“R”配置は、IUPAC 1974 “RECOMMENDATIONS FOR SECTION E, FUNDAMENTAL STEREOCHEMISTRY,” Pure Appl. Chem. 45:13-30, 1976により規定される。所望のエナンチオマーは、市販のキラル出発物質から当分野で既知の方法によるキラル合成により得ることができまたはエナンチオマー混合物から、既知方法を使用して所

10

20

30

40

50

望のエナンチオマーを分離することにより得ることができる。

【0083】

本発明の化合物はまた幾何異性も示し得る。幾何異性体は、アルケニル基またはアルケニレニル基を有する本発明の化合物の *cis* および *trans* 形態を含む。本発明はココの幾何異性体および立体異性体およびそれらの混合物を含む。

【0084】

C. 化合物製造

本発明の化合物は容易に入手可能な出発物質から、下記の一般的な方法および手順を使用して製造できる。特記しない限り、出発物質は市販されており、当分野で周知である。典型的なまたは好ましい工程条件(すなわち、反応温度、時間、反応物のモル比、溶媒、圧力)が記載されているとき、特記しない限り、他の工程条件も使用できることは当然である。最適な反応条件は、使用する特定の反応物または溶媒により変わるが、かかる条件は、日常的な最適化方法により当業者が決定できる。

10

【0085】

さらに、当業者には当然であるが、ある官能基が望まない反応を受けることを阻止するために慣用の保護基を必要とすることがある。種々の官能基のための適当な保護基ならびに特定の官能基の保護および脱保護のための適当な条件は当分野で既知である。例えば、多くの保護基が T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, Second Edition, Wiley, New York, 1991 およびその中に引用された文献に記載されている。

20

【0086】

さらに、本発明の化合物は 1 個以上上のキラル中心を含み得る。従って、所望により、かかる化合物を純粋立体異性体として、すなわち、個々のエナンチオマーまたはジアステレオマーとしてまたは立体異性体富化混合物として製造または単離できる。すべてのかかる立体異性体(および富化混合物)は、特記しない限り本発明の範囲に含まれる。純粋立体異性体(または富化混合物)は、例えば、当分野で既知の光学活性出発物質または立体選択的試薬を使用して製造できる。あるいは、かかる化合物のラセミ混合物を、例えば、キラルカラムクロマトグラフィー、キラル分割剤などを使用して分割できる。

30

【0087】

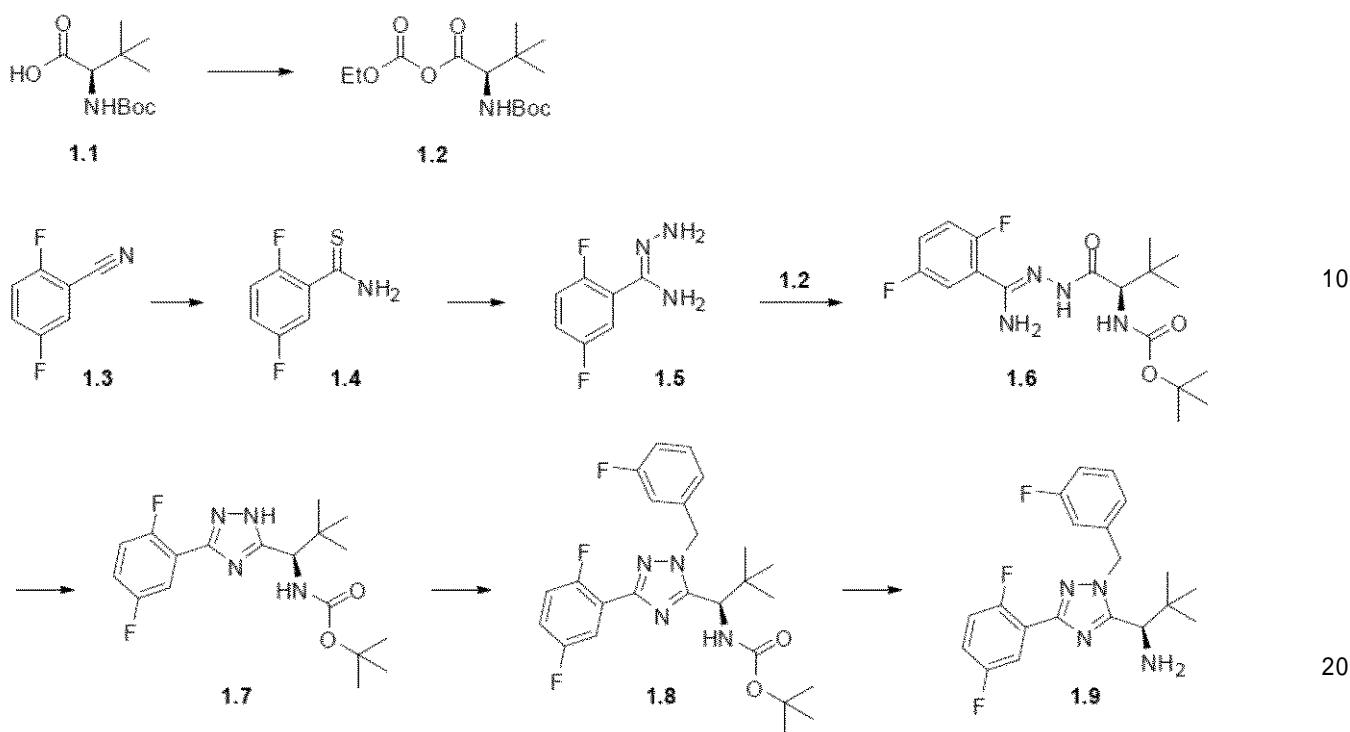
本発明の化合物は当分野で既知の、および、さらにここに記載する方法により製造できる。例えば、式(I)の化合物の製造方法は、公開公報 PCT / US 2007 / 084154 (WO 2008 / 063912) に記載されている。式(I)の化合物の晴雨増に適用可能なさらなる合成法の例をここに提供する。

【0088】

ある種の式(I)の KSP 阻害剤の製造例を、下のスキーム 1 に示す。

【化35】

スキーム1



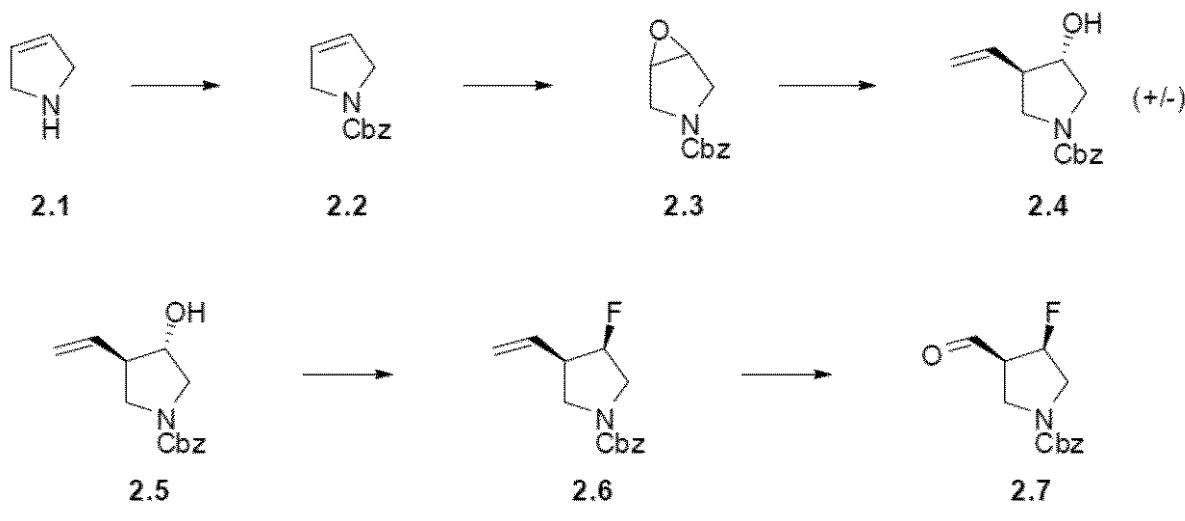
【0089】

ブチルグリシン1.1をクロロギ酸エチルで処理して、混合無水物1.2を形成する。ベンゾニトリル1.3を硫化アンモニウムで処理して、チオアミド1.4を形成し、それを次いでヒドラジンで処理して、式1.5のヒドラジドを得る。ヒドラジド1.5を1.2およびトリエチルアミンと反応させて、カルバメート1.6を得る。次いで、カルバメート1.6をキシレン中酢酸アンモニウム(NH₄OAc)と還流して、トリアゾール1.7を得る。1.7とフッ化臭化ベンジル((2-フルオロフェニル)メチルプロマイドまたは(3-フルオロフェニル)メチルプロマイド)およびCs₂CO₃のジメチルホルムアミド中の反応により、1.8をその位置異性体と共に得る(カラムクロマトグラフィーから分離)。1.8をトリフルオロ酢酸で処理して、1.8のTFA塩を得て、次いで、NaOH/メタノール溶液で滴定したとき、それを遊離塩基に変換できる。1.1および1.3からの1.8の形成は、フッ素化臭化ベンジルではなく臭化ベンジルを使用した類似の方法で、高収率および高純度(HPLCで決定して>97%)および高光学純度(>99%e.e.)で進む。

【0090】

【化36】

スキーム2



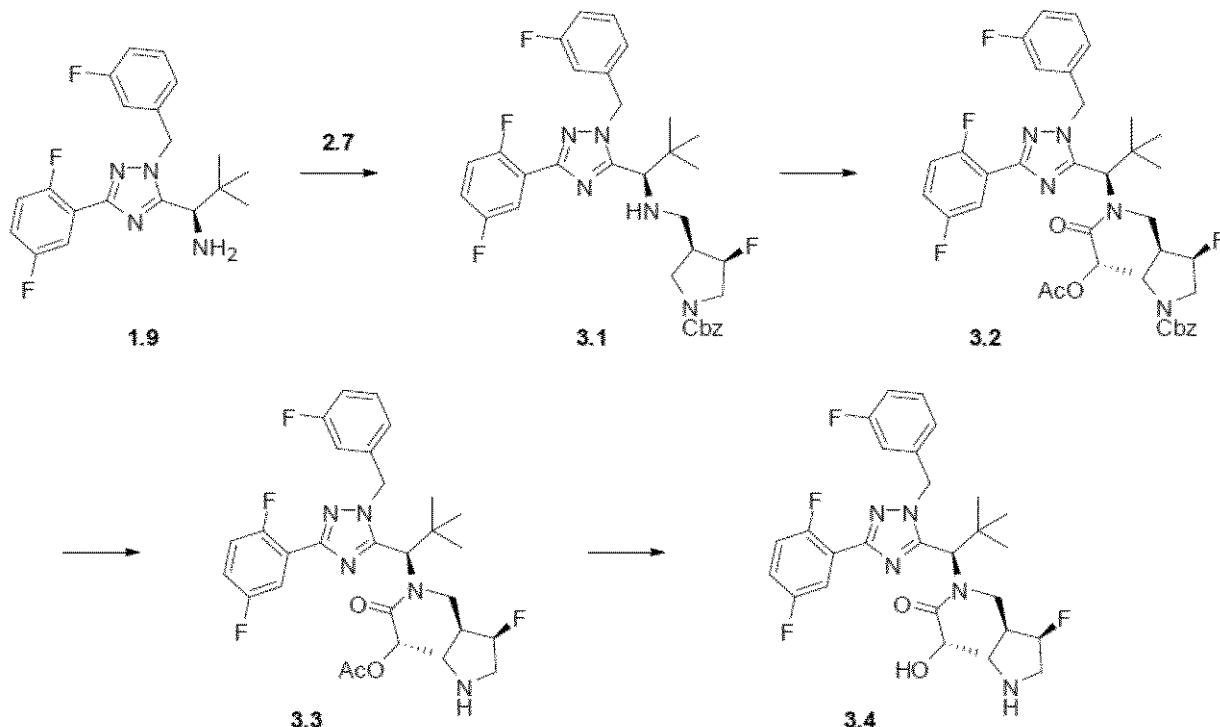
单一エナンチオマー

化合物1.9をアルデヒド2.7と還元的アミノ化条件下に反応させて、2級アミン3.1を得ることができ、次いで、これをアシル化して、式(I)の化合物を得ることができる。スキーム2は、式(I)の化合物、特に式(Ia)の化合物を製造するための還元的アミノ化工程に使用できるアルデヒド2.7の製造を説明する。環状アミン2.1をCbz基で保護して、化合物2.2を得る。エポキシド2.3を、化合物2.2のMCPBAエポキシド化により得る。エポキシドは、ビニルマグネシウムプロマイドおよび臭化銅の反応によりアルコール2.4のラセミ混合物となる。単一エナンチオマーとしてのアルコール2.5をキラルカラムクロマトグラフィーにより得る。アルコール2.5をフッ素化条件に付して、ビニルフルオロピロリジン2.6を得る。ビニルフルオロピロリジン2.6を続いて、ジヒドロキシリル化/酸化的開裂して、アルデヒド2.7を得る。

【0091】

【化37】

スキーム3



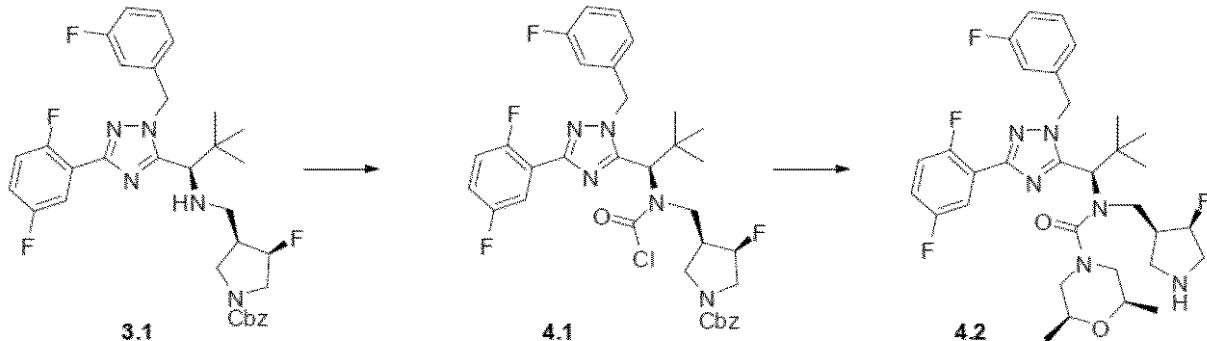
フルオロピロリジン部分の結合後、環状アミンを既知アシル化剤および条件を使用してアシル化して式(I)の化合物を得て、その後、ピロリジン環の窒素上の保護基および/またはアシル化部分の保護基を脱保護する。スキーム3は、2級アミン3.1を得るための還元的アミノ化を説明する。アミン3.1のアシル化と、続くCbz基の脱保護および遊離ヒドロキシル基上の保護基の除去により、化合物3.4を得る。ピロリジン環窒素の適当な保護基は、例えば、加水素分解により除去できるベンジルカルバメート類およびトリメチルシリルアイオダイドまたは酸のような反応材で選択的に除去できるt-ブチルカルバメート類である。

【0092】

【化38】

10

スキーム4



20

スキーム4は、2級アミン3.1からのウレア形成の一般的記載である。2級アミン3.1をホスゲンまたはトリホスゲンと反応させてクロロ化合物4.1を得て、それを直接アミンと反応させて式(I)のウレア化合物を得て、その後ピロリジン環の窒素上の保護基を脱保護する。スキーム4は、2級アミン3.1をクロロカルボニル化して化合物4.1を得て、それを直ぐにモルホリンと反応させ、その後Cbz基を除去して化合物4.2を得ることを説明する。

【0093】

本分子のキラル中心の絶対立体化学を、既知出発物質または中間体のキラリティーに基づき同定することは注意すべきである。HPLCおよびnmrデータは、上記方法が单一異性体として本化合物を提供するとの結論を支持する。

30

【0094】

アシル化工程のための適当なアシル化剤および酸類は、適当な構造(式(I)参照)を有するアシルハライド類、無水物および酸類を含む。適当なアミドカップリング条件は、カルボジイミド類N-N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、N-N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIPCDI)および1-エチル-3-(3'-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDCI)のようなアミド結合を形成するための種々のアミドカップリング剤を含む。カルボジイミド類を、ジメチルアミノピリジン(DMAP)または7-アザ-1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOAt)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)および6-クロロ-1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(C1-HOBt)のようなベンゾトリアゾール類と組み合わせて使用してよい；かかるアミド結合形成のための条件は当分野で既知である。

40

【0095】

さらなるアミドカップリング剤はまたアミニウムおよびホスホニウムベースの反応材を含む。アミニウム塩類はN-[(ジメチルアミノ)-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジン-1-イルメチレン]-N-メチルメタンアミニウムヘキサフルオロスフェートN-オキシド(HATU)、N-[(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)(ジメチルアミノ)メチレン]-N-メチルメタンアミニウムヘキサフルオロスフェートN-オキシド(HBTO)、N-[(1H-6-クロロベンゾトリアゾール-1-イル)(ジメチルアミノ)メチレン]-N-メチルメタンアミニウムヘキサフルオロスフェートN-オキシド(HC

50

T U)、N - [(1 H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル)(ジメチルアミノ)メチレン] - N - メチルメタンアミニウムテトラフルオロボレートN - オキシド(T B T U)およびN - [(1 H - 6 - クロロベンゾトリアゾール - 1 - イル)(ジメチルアミノ)メチレン] - N - メチルメタンアミニウムテトラフルオロボレートN - オキシド(T C T U)を含む。ホスホニウム塩類はベンゾトリアゾール - 1 - イル - オキシ - トリス - (ジメチルアミノ) - ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(B O P)、7 - アザベンゾトリアゾール - 1 - イル - N - オキシ - トリス(ピロリジノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(P y A O P)およびベンゾトリアゾール - 1 - イル - N - オキシ - トリス(ピロリジノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(P y B O P)を含む。

【0096】

10

アミド形成工程を、ジメチルホルムアミド(D M F)のような極性溶媒中で行ってよく、またジイソプロピルエチルアミン(D I E A)またはジメチルアミノピリジン(D M A P)のような有機塩基を含んでよい。

【0097】

表1中の次の化合物を上に概説した方法の一つを使用して製造した。表Iはまた、種々の実施例化合物のI C₅₀値も記載する。

【0098】

D. 医薬製剤

医薬として用いるとき、本発明の化合物は通常医薬組成物の形態で投与される。これらの組成物は、経口、非経腸、経皮、局所、直腸および鼻腔内を含む多様な経路で投与できる。これらの化合物は、例えば、注射用組成物および経口組成物の両方として、有効である。かかる組成物は医薬分野で周知の方法により製造し、少なくとも1種の活性化合物を含む。

20

【0099】

本発明はまた活性成分として、1種以上の上記本発明の化合物を薬学的に許容される担体と共に含む医薬組成物も含む。本発明の組成物の製造に際し、活性成分を通常添加物と混合するか、添加物で希釈するかまたはカプセル、小袋、紙もしくは他の容器の形であり得るかかる担体に包含させる。用いる添加物は、典型的にヒト対象または他の哺乳動物への投与に適当な添加物である。添加物が希釈剤として提供されるとき、それは活性成分の賦形剤、担体または媒体として作用する固体、半固体または液体物質であり得る。故に、組成物は錠剤、丸剤、散剤、ロゼンジ剤、サシェ剤、カシェ剤、エリキシル剤、懸濁液剤、エマルジョン剤、溶液剤、シロップ剤、エアロゾル剤(固体としてまたは液体媒体中)、例えば、最大10重量%の活性化合物を含む軟膏剤、軟および硬ゼラチンカプセル剤、坐剤、滅菌注射用液および滅菌封入粉末の形であり得る。

30

【0100】

製剤の製造において、他の成分と合わせる前に、活性化合物を粉碎して、適当な粒子径とすることが必要であり得る。活性化合物が実質的に不溶性であるとき、通常200メッシュ未満の粒子径に粉碎する。活性化合物が実質的に水溶性であるとき、粒子径は通常製剤に実質的に均一な分散を提供するために粉碎により調節し、例えば、約40メッシュである。

40

【0101】

適当な添加物の数例は、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン類、アカシアガム、カルシウムホスフェート、アルギネート類、トラガカント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、滅菌水、シロップおよびメチルセルロースを含む。製剤はさらに：タルク、ステアリン酸マグネシウムおよび鉱油のような滑剤；湿潤剤；乳化剤および懸濁化剤；ヒドロキシ安息香酸メチルおよびヒドロキシ安息香酸プロピルのような防腐剤；甘味剤；および風味剤を含む。本発明の組成物は、当分野で既知の方法を用いることにより、患者への投与後に活性成分の急速な、持続したまたは遅延した放出を提供するように製剤できる。

50

【0102】

本発明の化合物である活性のその医薬組成物および単位投与量形態中の量は、特定の適用、特定の化合物の効果および望む濃度によって、変えても調節してもよい。

【0103】

本組成物は、好ましくは単位投与量形態に製剤し、各投与量は約1～約500mg、通常約5～約100mg、時々約10～約30mgの活性成分を含む。用語“単位投与量形態”は、ヒト対象および他の哺乳動物への単一の投与量として適当な物理的に分けられた単位であり、各単位は、所望の治療効果を生じるように計算された予定量の活性物質を適当な医薬添加物と共に含む。好ましくは、上記本発明の化合物を、医薬組成物の約20重量%未満、より好ましくは約15重量%未満で用い、残りは薬学的に不活性な担体である。

10

【0104】

活性化合物は広範囲の投与量範囲で有効であり、一般的に薬学的にまたは治療的に有効な量で投与する。しかしながら、実際に投与する化合物の量は、処置する状態、処置する状態の重症度、選択した投与経路、実際に投与する化合物、個々の患者の年齢、体重および応答、患者の症状の重症度などを含む関連する状況を考慮して、医師により決定されることはある。

20

【0105】

哺乳動物における癌の処置または癌と闘うための治療的使用において、化合物またはその医薬組成物を、処置を受けている哺乳動物における、活性成分の治療的効力のある濃度、すなわち量または血中レベルを達成し、維持するための投与量で、経口、局所、経皮および/または非経腸のような任意の適当な経路で投与する。一般的に、活性成分のかかる治療有効量の投与量(すなわち、有効投与量)は約0.1～約100、より好ましくは約1.0～約50mg/kg体重/日の範囲である。

30

【0106】

固体組成物、例えば錠剤の製造のために、主活性成分を医薬添加物と混合して、本発明の化合物の均一混合物を含む固体予備処方組成物を形成する。これらの予備処方組成物を均一と言うとき、本組成物を容易に錠剤、丸剤およびカプセル剤のような等しく有効な単位投与量形態に分配し得るように、活性成分が組成物全体に均一に分散されていることを意味する。次いで、この固体予備処方を、例えば、0.1～約500mgの本発明の活性成分を含む、上記タイプの単位投与量形態に分配する。

30

【0107】

本発明の錠剤または丸剤は長期作用の利益を提供する投与量形態を提供するようにコーティングするかまたは別の方法で調合してよい。例えば、錠剤または丸剤は、内部投与量および外部投与量成分を有し、後者は前者を覆う外皮の形である。2成分を、胃での分解に抵抗するために働き、内部成分を無傷で十二指腸まで通過させるかまたは放出を遅延させる腸溶層で分離し得る。多様な物質をかかる腸溶層またはコーティングに使用でき、かかる物質は多くの重合酸類および重合酸類とシェラック、セチルアルコールおよび酢酸セルロースのような物質の混合物を含む。

【0108】

本発明の新規組成物を経口または注射により投与するために包含させ得る液体形態は、水溶液剤、適当に風味付けされたシロップ剤、水性または油性懸濁液およびコーン油、綿実油、ゴマ油、ココナッツ油またはピーナツ油のような食用油を含む風味付けされたエマルジョン剤、ならびにエリキシル剤および類似の医薬賦形剤を含む。

40

【0109】

吸入または吹き入れ(insufflation)用組成物は、薬学的に許容される水性または有機溶媒またはそれらの混合物中の溶液および懸濁液および粉末を含む。液体または固体組成物は、前記の適当な薬学的に許容される添加物を含む。好ましくは本組成物を、局所または全身作用のために経口または経鼻呼吸器経路で投与する。好ましくは薬学的に許容される溶媒中の組成物を、不活性ガスの使用により霧化し得る。霧化溶液は、噴霧装置から直接吸入してよくまたは噴霧装置をフェースマスクテントもしくは間欠的陽圧人工呼吸器に接

50

続してよい。溶液、懸濁液または粉末組成物を、好ましくは経口的または経鼻的に、適当な方法で製剤を送達するデバイスから投与し得る。

【0110】

次の製剤例は、本発明の代表的医薬組成物を説明する。

製剤例 1

次の成分を含む硬ゼラチンカプセルを製造する：

【表 1】

成分	量(mg／カプセル)	
活性成分	30.0	
デンプン	305.0	10
ステアリン酸マグネシウム	5.0	

上記成分を混合し、硬ゼラチンカプセルに340mg量で充填する。

【0111】

製剤例 2

錠剤製剤を次の成分を使用して製造する：

【表 2】

成分	量(mg／錠剤)	
活性成分	25.0	20
セルロース、微結晶性	200.0	
コロイド状二酸化ケイ素	10.0	
ステアリン酸	5.0	

これら成分を混合し、各240mg重量の錠剤に圧縮する。

【0112】

製剤例 3

次の成分を含む乾燥粉末吸入製剤を、製造する：

【表 3】

成分	重量%	
活性成分	5	30
ラクトース	95	

活性成分をラクトースと混合し、混合物を乾燥粉末吸入装置に添加する。

【0113】

製剤例 4

それぞれ30mgの活性成分を含む錠剤を次のとおり製造する：

【表4】

成分	量(mg／錠剤)	
活性成分	3 0 . 0 mg	
デンプン	4 5 . 0 mg	
微結晶性セルロース	3 5 . 0 mg	
ポリビニルピロリドン (滅菌水中 10 % 溶液として)	4 . 0 mg	
ナトリウムカルボキシメチルデンプン	4 . 5 mg	10
ステアリン酸マグネシウム	0 . 5 mg	
タルク	1 . 0 mg	
合計	1 2 0 mg	

活性成分、デンプンおよびセルロースを、米国 20 番メッシュ篩を篩過させ、徹底的に混合する。ポリビニルピロリドンの溶液を得られた混合物と混合し、米国 16 メッシュ篩を篩過させる。そして製造した顆粒を 50 ~ 60 で乾燥させ、米国 16 メッシュ篩を篩過させる。予め米国 30 番メッシュ篩を篩過させたナトリウムカルボキシメチルデンプン、ステアリン酸マグネシウムおよびタルクを顆粒に添加し、混合後、打錠機で圧縮して、各 120 mg 重量の錠剤を得る。

【0114】

製剤例 5

それぞれ 40 mg の医薬を含むカプセルを次のとおり製造する：

【表5】

成分	量(mg／カプセル)	
活性成分	4 0 . 0 mg	
デンプン	1 0 9 . 0 mg	
ステアリン酸マグネシウム	1 . 0 mg	
合計	1 5 0 . 0 mg	30

活性成分、デンプンおよびステアリン酸マグネシウムを混合し、米国 20 番メッシュ篩を篩過させ、150 mg 量で硬ゼラチンカプセルに充填する。

【0115】

製剤例 6

それぞれ 25 mg の活性成分を含む坐剤を次の通り製造する：

【表6】

成分	量	
活性成分	2 5 mg	
飽和脂肪酸グリセリド類	2 , 0 0 0 mg まで	40

活性成分を米国 60 番メッシュ篩を篩過させ、予め必要最小限の加熱で融解させた飽和脂肪酸グリセリド類に懸濁する。混合物を、名目上 2.0 g 容量の坐剤鋳型に注ぎ、冷ます。

【0116】

製剤例 7

それぞれ 5.0 mL 投与量あたり 50 mg の医薬を含む懸濁液を次のとおり製造する：

【表7】

成分	量
活性成分	5 0 . 0 mg
キサンタンゴム	4 . 0 mg
ナトリウムカルボキシメチルセルロース (11%)／微結晶性セルロース(89%)	5 0 . 0 mg
スクロース	1 . 7 5 g
安息香酸ナトリウム	1 0 . 0 mg
風味剤および着色剤	適量
精製水	5 . 0 mLまで

10

活性成分、スクロースおよびキサンタンゴムを混合し、米国10番メッシュ篩を篩過させ、予め製造した微結晶性セルロースおよびナトリウムカルボキシメチルセルロースの水溶液と混合する。安息香酸ナトリウム、風味剤および着色剤を幾分かの水で希釈し、攪拌しながら添加する。次いで、必要量とするのに十分な量の水を添加する。

【0117】

製剤例8

【表8】

成分	量(mg／カプセル)
活性成分	1 5 . 0 mg
デンプン	4 0 7 . 0 mg
ステアリン酸マグネシウム	3 . 0 mg
合計	4 2 5 . 0 mg

20

活性成分、デンプンおよびステアリン酸マグネシウムを混合し、米国20番メッシュ篩を篩過させ、425.0mg量で硬ゼラチンカプセルに充填する。

【0118】

製剤例9

30

皮下製剤を次のとおり製造し得る：

【表9】

成分	量
活性成分	5 . 0 mg
コーン油	1 . 0 mL

【0119】

製剤例10

40

局所製剤を次のとおり製造し得る：

【表10】

成分	量
活性成分	1 ~ 1 0 g
乳化蠅	3 0 g
液体パラフィン	2 0 g
白色軟パラフィン	1 0 0 gまで

白色軟パラフィンヲ融解するまで加熱する。液体パラフィンおよび乳化蠅を入れ、溶解するまで攪拌する。活性成分を添加し、分散するまで攪拌を続ける。次いで、混合物を固

50

体になるまで冷ます。

【0120】

製剤例 11

静脈内製剤の説明的例を次のとおり製造し得る：

【表11】

成分	量
活性成分	250mg
等張食塩水	1000mL

10

【0121】

本発明の方法に用いる他の好ましい製剤は、経皮送達デバイス(“パッチ”)を用いる。かかる経皮パッチを、本発明の化合物の制御された量での連続的または断続的注入に使用し得る。薬剤の送達のための経皮パッチの構築および使用は当分野で既知である。例えば、引用により本明細書に包含させる、1991年6月11日公開の米国特許5,023,252参照。かかるパッチは、薬剤の連続的な、脈動的なまたは必要に応じた送達のために構築し得る。

【0122】

しばしば、医薬組成物を脳に直接的または間接的に通過させることが望ましいまたは必要である。直接的技術は、通常、医薬送達カテーテルを宿主脳室系に設置して血液・脳関門を迂回することを含む。生物学的因素を体の特定の解剖学的領域に輸送するために使用する一つのかかる植え込み型送達系は、本明細書に引用して包含する米国特許5,011,472に記載されている。

20

【0123】

一般的に好ましい間接的技術は、通常、親水性薬物を脂質可溶性薬物に変換することによる薬物潜在化(latentiation)を提供するための組成物の製剤を含む。潜在化は、一般的に薬物に存在するヒドロキシ基、カルボニル基、スルフェート基および1級アミン基をブロックして、薬物をより脂質可溶性にして、血液・脳関門を超える輸送を可能とすることにより達成する。あるいは、親水性薬物の送達を、血液・脳関門を一過性に開放できる高張溶液の動脈内輸液により亢進できる。

30

【0124】

本発明で使用するための他の適当な製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985)に見ることができる。

【0125】

E. 投与量および投与

上記のとおり、ここに記載する化合物は、上に記載する多様な医薬送達系で使用するのに適当である。加えて、投与された化合物のインビポ血清半減期を延長するために、化合物をカプセル封入してよく、リポソームの内腔に導入してよく、コロイドとして製造してよくまたは本化合物の長い清半減期を提供する他の慣用の技術を用い得る。例えば、Szoka, et al.、米国特許番号4,235,871、4,501,728および4,837,028(この各々を引用により本明細書に包含させる)に記載のとおり、多様な方法がリポソームの製造に利用可能である。

40

【0126】

本発明の化合物は少なくとも一部KSPの活性により仲介される障害の阻止または処置に有用である。一つの面において、少なくとも一部KSPにより仲介される障害は細胞増殖性障害である。用語“細胞性増殖性障害”または“細胞増殖性障害”は、例えば、癌、腫瘍、過形成、再狭窄、心肥大、免疫障害および炎症のような疾患を含む。本発明は、処置を必要とするヒトまたは哺乳動物対象を処置する方法であって、治療有効量の式(I)または(II)の化合物を、単独でまたは他の抗癌剤と組み合わせて対象に投与することを含む、方法を提供する。

50

【0127】

本発明の化合物は、インピトロまたはインピボで癌細胞の増殖阻害に有用である。用語“癌”は、例えば、肺および気管支；前立腺；乳；膵臓；結腸および直腸；甲状腺；胃；肝臓および肝内胆管；腎臓および腎孟；膀胱；子宮体；子宮頸；卵巣；多発性骨髄腫；食道；急性骨髓性白血病；慢性骨髓性白血病；リンパ性白血病；骨髓球性白血病；脳；口腔および咽頭；喉頭；小腸；非ホジキンリンパ腫；黒色腫；および絨毛結腸腺腫を含む癌疾患を意味する。

【0128】

癌はまた、癌腫、腺癌、肉腫および血液系腫瘍から成る群から選択される腫瘍または新生物も含む。

10

【0129】

加えて、癌のタイプは固形腫瘍／悪性腫瘍、粘液型および円形細胞癌、局所的に進行した腫瘍、ヒト軟組織癌、癌転移、扁平上皮細胞癌、食道扁平上皮細胞癌、口腔癌、皮膚T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、副腎皮質の癌、ACTH産生腫瘍、非小細胞癌、乳癌、消化器癌、泌尿器科癌、女性生殖系の悪性腫瘍、男性生殖系の悪性腫瘍、腎臓癌、脳の癌、骨の癌、皮膚癌、甲状腺癌、網膜芽細胞腫、神経芽腫、腹水、悪性胸水、中皮腫、ウィルムス腫瘍、胆嚢癌、栄養芽細胞新生物、血管外皮腫およびカポジ肉腫の増殖からなる群から選択できる。

【0130】

本発明の化合物または組成物は哺乳動物に経口、静脈内、非経腸、経皮、局所、直腸または鼻腔内のような適当な経路で投与し得る。

20

【0131】

哺乳動物は、例えば、ヒトおよび他の靈長類、イヌおよびネコのようなペットまたはコンパニオンアニマル、ラット、マウスおよびウサギのような実験動物およびウマ、ブタ、ヒツジおよびウシのような家畜を含む。

【0132】

腫瘍または新生物は、細胞の増殖が制御されず、かつ進行性である組織細胞の増殖を含む。ある種のかかる増殖は良性であるが、他は“悪性”と呼ばれ、生物を死に至らしめる。悪性新生物または“癌”は、攻撃的細胞増殖を示すのに加えて、周囲組織に浸潤でき、転移できる点で良性増殖と区別される。さらに、悪性新生物は、互いにおよび周囲組織と比較して、大きな分化喪失(大きな“脱分化”)および器質化喪失を示すことにより特徴付けられる。この特性は“退形成”と呼ばれる。

30

【0133】

所望の生物学的活性を有する化合物は、薬理学的特性(例えば、インピボ安定性、バイオアベイラビリティ)の改善または診断的適用における検出能のような所望の特性を提供するために必要に応じて修飾され得る。安定性は、ペプチダーゼ類またはヒト血漿または血清とのインキュベーション中の化合物の半減期測定のような多様な方法でアッセイできる。

【0134】

診断目的で、広範な標識を化合物に結合でき、それは、直接的または間接的に、検出可能なシグナルを提供し得る。故に、本発明の化合物および／または組成物は、なお生物学的活性を維持したまま、多様な最終目的のために多様な方法で修飾してよい。加えて、粒子、固体基質、高分子などと結合させるために種々の反応部位を導入してよい。

40

【0135】

標識化合物を多様なインピボまたはインピトロ適用に使用できる。放射性核種(例えば、テクネチウム-99またはインジウム-111のようなガンマ放射放射性同位体)、蛍光物質(fluorescers)(例えば、フルオレセイン)、酵素群、酵素基質、酵素補因子、酵素阻害剤、化学発光化合物、生物発光化合物などの広範な標識を用い得る。当業者は、複合体に結合させるための他の適当な標識を知っているかまたは日常的な実験を使用してそのようなものを確認できる。これらの標識の結合は、当業者に慣用の標準法を使用し

50

て達成する。

【0136】

本発明の医薬組成物は、多様な医薬送達系に使用するための適当である。本発明で使用するのに適当な製剤はRemington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed. (1985)に見られる。

【0137】

患者に投与する量は何を投与するか、予防であるか治療であるかのような投与の目的、患者の状態、投与方法などにより変わる。治療適用においては、本組成物を既に疾患を有している患者に、該疾患およびその合併症を治癒するかまたは少なくとも一部進行を阻止するのに十分な量で投与する。これを達成する適切な量を“治療有効量”と定義する。この使用に有効な量は処置する疾患状態ならびに疾患、障害または状態の重症度、患者の年齢、体重および一般的な状態などのような因子による担当医の判断による。

10

【0138】

患者に投与する本化合物は、典型的に上記の医薬組成物の形態である。これらの組成物は慣用の滅菌法により滅菌されていてよくまたは滅菌濾過してよい。得られた水溶液をそのまままたは凍結乾燥して使用のために包装してよく、凍結乾燥製剤は、投与前に滅菌水性担体と合わせる。化合物製剤のpHは、典型的に約3～11、より好ましくは約5～9および最も好ましくは約7～8である。前記のある添加物、担体または安定化剤の使用が医薬的塩類の形成をもたらすことは理解されよう。

20

【0139】

本発明の化合物および/または組成物の治療投与量は、例えば、処置を行う特定の使用、化合物の投与方法、患者の健康状態および担当医の判断により変わる。例えば、経口投与について、投与量は典型的に約5μg～約50mg/kg体重/日、好ましくは約1mg～約10mg/kg体重/日の範囲である。あるいは、静脈内投与について、投与量は典型的に約5μg～約50mg/kg体重、好ましくは約500μg～約5000μg/kg体重の範囲である。意図される別の投与経路は、鼻腔内、経皮、吸入、皮下および筋肉内を含むが、これらに限定されない。有効量は、インビトロまたは動物モル系に由来する用量・応答曲線から外挿できる。

20

【0140】

一般に、本発明の化合物および/または組成物を、類似の有用性を提供する薬剤について承認されている投与方法のいずれかで、治療有効量を投与する。かかる化合物の毒性および治療効果は、例えば、LD₅₀(集団の50%に致死的な量)およびED₅₀(集団の50%に治療効果のある量)を決定するための、細胞培養または実験動物における標準的薬事的方法により決定できる。毒性と治療効果の量の比は治療指数であり、比LD₅₀/ED₅₀として表すことができる。大きい治療指数を示す化合物が好ましい。

30

【0141】

細胞培養アッセイおよび動物試験で得たデータを、ヒトに使用する投与量の定式化に使用できる。かかる化合物の投与量は、好ましくは、毒性がほとんどまたは全くなく、ED₅₀を含む循環濃度の範囲内に入る。投与量はこの範囲内で用いる投与形態および利用する投与経路により代わり得る。本発明の方法で使用するいずれの化合物および/または組成物についても、治療有効量は、最初に細胞培養アッセイから推定できる。投与量を、細胞培養で決定したIC₅₀(最大活性の半分の阻害を達成する試験化合物の濃度)を含む循環血漿濃度範囲を達成するために動物モデルで定式化できる。かかる情報を使用して、ヒトで有用な投与量をより正確に決定できる。血漿レベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーにより測定できる。

40

【0142】

次の合成および生物学的実施例は、本発明を説明するために提供し、決して本発明の範囲を限定すると解釈してはならない。

【実施例】

【0143】

50

下の実施例に関して、本発明の化合物をここに記載の方法でまたは当業者に周知の他の方法で合成した。製造または分析していない化合物を、ここに記載の方法でまたは当業者に周知の他の方法で製造または分析し得ることは当然である。

【0144】

化合物および／または中間体は、Waters Milleniumクロマトグラフィー系と2690 Separation Module(Milford, MA)を使用する高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により特徴付けした。分析カラムは、Alltech(Deerfield, IL)のAlltima C-18逆相、 4.6×25 0 mmであった。典型的に5%アセトニトリル／95%水から出発し、40分間かけて10 0%アセトニトリルへと進む勾配を使用した。全ての溶媒は0.1%トリフルオロ酢酸(TFA)を含んだ。化合物を、220 nmまたは254 nmの紫外線(UV)吸収により検出した。HPLC溶媒はBurdick and Jackson(Muskegan, MI)またはFisher Scientific(Pittsburgh, PA)であった。いくつかの例で、純度を薄層クロマトグラフィー(TLC)で、例えば、Baker-Flex Silica Gel 1B2-F軟質シートのような、裏板がガラスまたはプラスチックのシリカゲルプレートを使用して評価した。TLC結果は、紫外線光下でまたは周知のヨウ素蒸気および他の種々の染色技術を用いて、直ぐに可視的に検出した。10

【0145】

質量分光分析は2種のLC/MS装置：Waters System(Alliance HT HPLCおよびMicromass ZQ mass分光計；カラム：Eclipse XDB-C18、 2.1×50 mm；溶媒系：0.05%TFA含有5～95%(または35～95%または65～95%または95～95%)アセトニトリル水溶液；流速0.8 mL/分；分子量範囲500～1500；コーン電圧20 V；カラム温度40)またはHewlett Packard System(Series 1100 HPLC；カラム：Eclipse XD B-C18、 2.1×50 mm；溶媒系：0.05%TFA含有1～95%アセトニトリル水溶液；流速0.4 mL/分；分子量範囲150～850；コーン電圧50 V；カラム温度30)の一方で行った。全ての質量をプロトン化親イオンのものとして記載した。20

【0146】

GC/MS分析をHewlett Packard装置(HP6890 SeriesガスクロマトグラフとMass Selective Detector 5973；注入量：1 mL；初期カラム温度：50 ；最終カラム温度：250 ；傾斜時間：20分間；ガス流速：1 mL/分；カラム：5%フェニルメチルシロキサン、Model No. HP 190915-443、寸法： $30.0 \text{ m} \times 25 \text{ m} \times 0.25 \text{ m}$)で行う。30

【0147】

核磁気共鳴(NMR)分析を、いくつかの化合物で、Varian 300 MHz NMR(Palo Alto, CA)で行った。参照スペクトルは、TMSまたは溶媒の既知化学シフトであった。いくつかの化合物サンプルを、高いサンプル溶解性を促進するために高温(例えば、75)で流した。30

【0148】

本発明化合物のいくつかの純度を元素分析(Desert Analytics, Tucson, AZ)により評価する。

【0149】

融点をLaboratory Devices Mel-Temp装置(Holliston, MA)で決定する。

【0150】

予備分離をFlash 40クロマトグラフィー系およびKP-Sil、60A(Biotage, Charlotteville, VA)またはシリカゲル($230 - 400$ メッシュ)充填材を使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーまたはC-18逆相カラムを使用するHPLCにより行った。Flash 40 Biotage系およびフラッシュカラムクロマトグラフィーに使用する典型的溶媒は、ジクロロメタン、メタノール、EtOAc、ヘキサン、アセトン、ヒドロキシアミン水溶液およびトリエチルアミンであった。逆相HPLCに用いる典型的溶媒は、種々の濃度のアセトニトリルおよび0.1%トリフルオロ酢酸含有水であった。40

【0151】

特記しない限り、全ての温度は摂氏度である。また、これらの実施例および他の場所で、略語は次の意味を有する：

10

20

30

30

40

50

【表12】

A c O H	=	酢酸
a q.	=	水性
A T P	=	アデノシントリホスフェート
B o c	=	t e r t -ブチルオキシカルボニル
B S A	=	ウシ血清アルブミン
C A M	=	モリブデン酸アンモニウムセリウム
D C M	=	ジクロロメタン
D I A D	=	アゾジカルボン酸ジイソプロピル
D I B A L	=	水素化ジイソブチルアルミニウム
D I E A	=	ジイソプロピルエチルアミン
D I P E A	=	ジイソプロピルエチルアミン
D M A P	=	ジメチルアミノピリジン
D M F	=	ジメチルホルムアミド
D M S O	=	ジメチルスルホキシド
D T T	=	ジチオスレイトイール
e q.	=	当量
E t 2 O	=	ジエチルエーテル
E t 3 N	=	トリエチルアミン
E t O A c	=	酢酸エチル
E t O H	=	エタノール
g	=	グラム
h	=	時間
H P L C	=	高速液体クロマトグラフィー
L	=	リットル
L C / M S	=	液体クロマトグラフィー／質量分析
M	=	モル濃度
m	=	メートル

10

20

30

【表13】

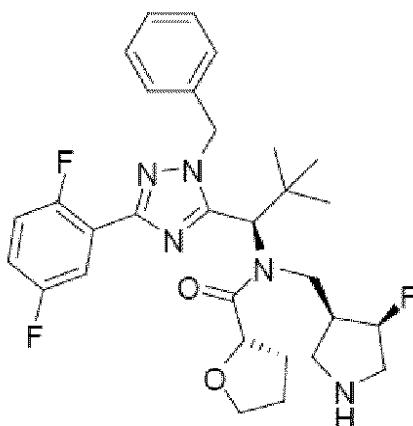
m/z	=	質量／電荷比	
$M e N H_2$	=	メチルアミン	
$m g$	=	ミリグラム	
$m i n$	=	分間	
mL	=	ミリリットル	
mm	=	ミリメートル	
MM	=	ミリモル濃度	
$mmol$	=	ミリモル	10
mol	=	モル	
N	=	規定	
nm	=	ナノメートル	
nM	=	ナノモル濃度	
NMR	=	核磁気共鳴	
PPh_3	=	トリフェニルホスフィン	
$PhCF_3$	=	トリフルオロメチルベンゼン	
psi	=	ポンド／平方インチ	
RT	=	室温	
$s.a.t.$	=	飽和	20
TEA	=	トリエチルアミン	
THF	=	テトラヒドロフラン	
TFA	=	トリフルオロ酢酸	
TLC	=	薄層クロマトグラフィー	
TMS	=	トリメチルシリル	
$TMSCl$	=	トリメチルシリルクロライド	
μg	=	マイクログラム	
μL	=	マイクロリットル	
μM	=	マイクロモル濃度	
$UPLC$	=	超高速液体クロマトグラフィー	30

【0152】

実施例1

(S)-N-((R)-1-(1-ベンジル-3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピル)-N-(((3R,4R)-4-フルオロピロリジン-3-イル)メチル)テトラヒドロフラン-2-カルボキサミド

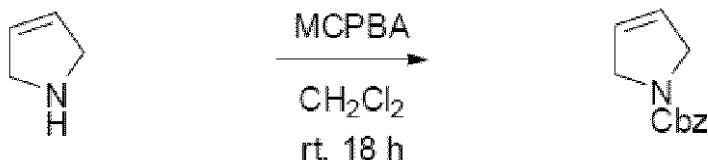
【化39】



【0153】

方法2,5-ジヒドロ-1H-ピロールのCbz保護

【化40】



2,5-ジヒドロ-1H-ピロール(3.0 g、43.4 mmol、96%、Alfa Aesarから)のジオキサン(1000 mL、0.43 M溶液)溶液に、CbzOSu(13.0 g、52.1 mmol)を添加した。室温で18時間攪拌後、反応混合物を約300 mLまで濃縮し、1000 mLのEtOAcで希釈した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。所望の2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボン酸ベンジルを91%収率(8.0.0 g)で無色油状物として、フラッシュカラムクロマトグラフィーにより得た。R_f = 0.6 (30% EtOAcのヘキサン溶液)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.32 (5H, m), 5.80 (2H, m), 5.77 (2H, s), 4.22 (4H, m). LC/MS (uplc): MH⁺ 204.2, 160.1 (-44), 0.86 min.

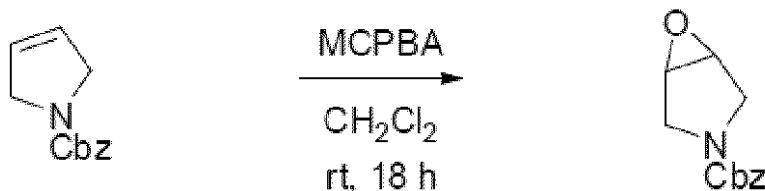
10

【0154】

2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボン酸ベンジルのエポキシド化

【化41】

20



2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボン酸ベンジル(3.3 g、16.3 mmol; 90%、Aldrichから)のジクロロメタン(54.0 mL、0.3 M溶液)の溶液に、MCPBA(4.4 g、34.0 mmol、77%、Aldrichから)を添加した。反応混合物を室温で18時間攪拌後、500 mLの飽和Na₂CO₃水溶液を添加し、得られた混合物を室温で1時間攪拌した。有機層を分離し、水および塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。黄色油状物としての所望の生成物を83%収率(2.9.5 g)でフラッシュカラムクロマトグラフィーにより得た。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 3.38 (2H, m), 3.68 (2H, m), 3.87 (2H, m), 5.11 (2H, s), 7.33 (5H, m). LC/MS (uplc): MH⁺ 220.0, 0.69 min.

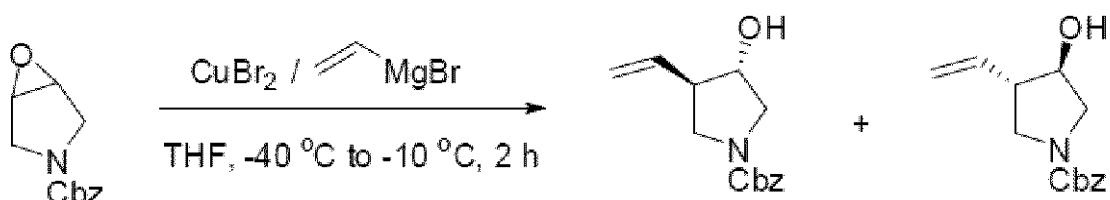
30

【0155】

6-オキサ-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-カルボン酸ベンジルの開環

【化42】

40



6-オキサ-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-カルボン酸ベンジル(2.8.5 g、13.0 mmol)およびCuBr₂·SMe₂(26.7 g、13.0 mmol)の無水THF(260 mL、0.5 M溶液)溶液に、-40でビニルマグネシウムプロマイド(52.0 mL、THF中1.0 M溶液)をゆっくり添加した。反応混合物を-20まで2時間かけて温めた。飽和NH₄Cl水溶液(200 mL)で反応停止後、反応混合物をEtOAc(500 mL)で抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空で

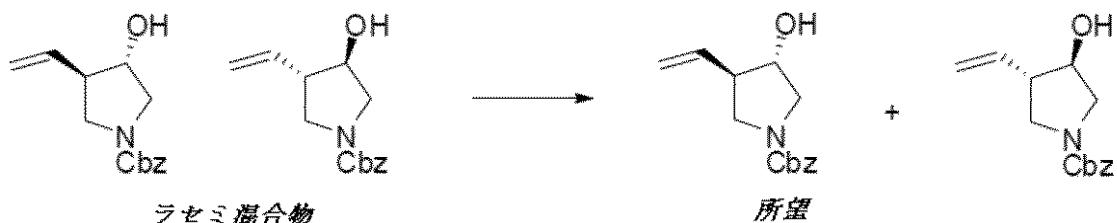
50

濃縮した。所望の 3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 *trans* - (\pm) - ベンジルのラセミ混合物を 48 % 収率 (15.5 g) で黄色油状物として、フラッシュカラムクロマトグラフィーにより得た。R_f = 0.2 (30% EtOAc のヘキサン溶液)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 2.71 (1H, m), 3.28 (2H, m), 3.72 (2H, m), 4.11 (1H, m), 5.14 (2H, s), 5.16-5.23 (2H, m), 5.69 (1H, m), 7.33 (5H, m). LC/MS (uplc): MH⁺ 248.0, 0.78 min.

【0156】

3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 *trans* - (\pm) - ベンジルの分割

【化43】



10

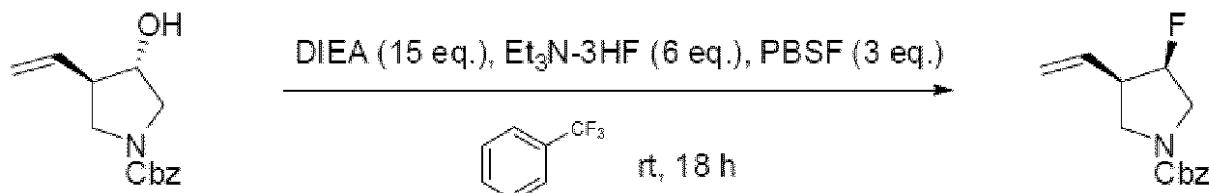
3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 *trans* - (\pm) - ベンジルのラセミ混合物 (14 g) を、キラル HPLC (Chiralpak AD-H ヘプタン : EtOH : MeOH, 8 : 1 : 1) を使用して分割した。所望のエナンチオマー富化された 3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 (3S, 4R) - ベンジル (6.7 分; 6.3 g, > 99.5% ee) および不所望の 3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 (3R, 4S) - ベンジル (9.3 分; 6.7 g, 99.5% ee) を、92 % 回収率で得た。

20

【0157】

3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 (3S, 4R) - ベンジルのフッ素化

【化44】



30

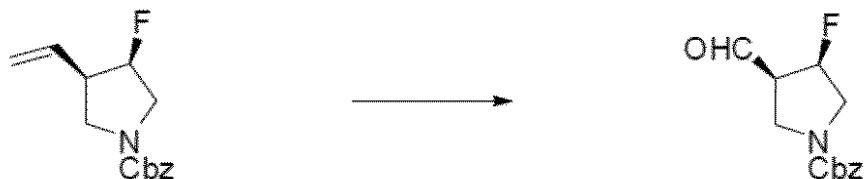
3 - ヒドロキシ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 (3S, 4R) - ベンジル (5.0 g, 20.2 mmol) の PhCF₃ (8.1 mL, 0.25 M 溶液) 溶液に、N,N - デイソプロピルエチルアミン (5.3 mL, 30.3 mmol)、トリエチルアミントリヒドロフルオライド (1.98 mL, 1.21 mmol) およびペルフルオロ - 1 - プタンスルホニルフルオライド (PBSF, 3.6 mL, 20.2 mmol) を添加した。得られた混合物を室温で攪拌した。60 分間および 120 分間後、さらにペルフルオロ - 1 - プタンスルホニルフルオライド (3.6 mL, 20.2 mmol) を添加した。18 時間後、反応混合物を分液漏斗に移し、5.0 mL の 1.0 N HCl (注！相当発熱する) で 2 回、飽和 NaHCO₃ 水溶液で 2 回および H₂O および塩水で 1 回洗浄した。有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮して、粗褐色油状物を得た。純粋 3 - フルオロ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸 (3R, 4R) - ベンジルを 81 % 収率 (4.1 g) で黄色油状物として、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 10% ~ 30% EtOAc のヘキサン溶液) により得た。R_f = 0.55 (30% EtOAc のヘキサン溶液)。¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.37-7.25 (5H, m), 5.9 (1H, m), 5.24 (2H, m), 5.14 (2H, m), 5.03 (1H, dt, J = 52.8, 3.2 Hz), 3.9-3.5 (3H, m), 3.53 (1H, m), 2.83 (1H, m). ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): 154.7, 154.6, 136.6, 131.89, 131.83, 128.48, 128.02, 127.94, 119.00, 118.94, 95.23, 94.47, 93.50

42, 92.67, 66.99, 66.94, 53.16, 52.94, 52.83, 52.60, 48.17, 48.02, 47.91, 47.83, 47.2, 47.1. LC/MS (uplc): MH^+ 250.0, 0.93 min.

【0158】

ビニルフルオロピロリジンの酸化的開裂

【化45】



10

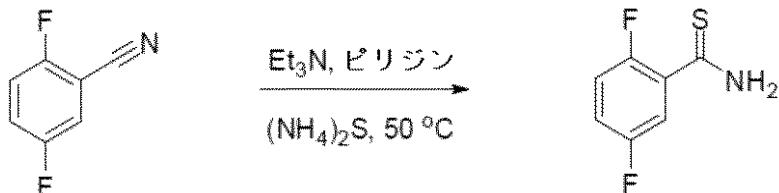
3 - フルオロ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(1.78 g、7.15 mmol)のCH₃OHおよびH₂O(2 : 1、30 mL、0.2 M溶液)溶液に、OsO₄のH₂O溶液(3 mLの4% w/v溶液、0.5 mmol)を添加した。NaIO₄(4.6 g、21.5 mmol)を一度に添加し、得られた混合物を室温で攪拌した。2時間後、混合物を濾過して、沈殿した白色固体を除去し、フィルターケーキをEtOAcで洗浄した。濾液を真空で濃縮して、有機溶媒の大部分を除去した。残留物をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗3 - フルオロ - 4 - ホルミルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 S) - ベンジルを、さらに精製せずに次工程に使用した。LC/MS (uplc): MH^+ 208.2 (-44), 252.0, 0.69 min.

20

【0159】

2,5 - ジフルオロベンゾチオアミドの合成

【化46】



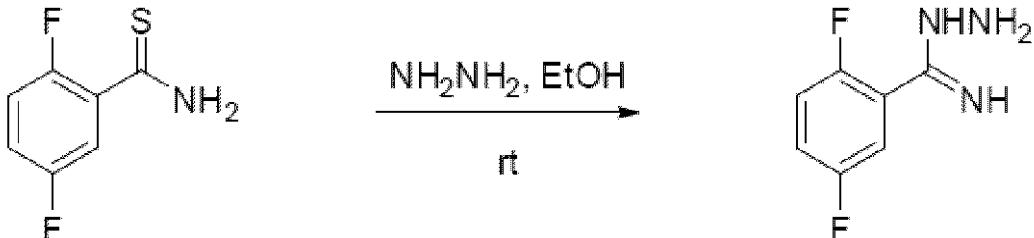
搅拌中の2,5 - ジフルオロベンゾニトリル(2.5 g、18.0 mmol)のピリジン(9.0 mL)溶液を、20 wt % 硫化アンモニウム水溶液(67.4 mL、19.8 mmol)およびトリエチルアミン(27.4 mL、19.8 mmol)で処理した。反応混合物を50 °Cで5時間、反応が完了するまで搅拌した。室温に冷却後、混合物を冷水で希釈し、EtOAcで抽出した。有機層を分離し、H₂O(x3)、塩水(x3)で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて、粗生成物を得た。シリカゲルカラム(20% EtOAcのヘキサン溶液)で精製して、2,5 - ジフルオロベンゾチオアミドを黄色固体(31.0 g、99%)として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.12 (m, 2H), 7.90 (br, 2H), 8.08 (m, 1H). LC/MS (uplc): MH^+ 174.0, 0.64 min.

30

【0160】

2,5 - ジフルオロベンズイミドヒドラジドの合成

【化47】



40

搅拌中の2,5 - ジフルオロベンゾチオアミド(22.5 g、129.7 mmol)のEtOH(150 mL)溶液に、ヒドラジン(6.1 mL、19.45 mmol)を添加した。室温で30分間攪

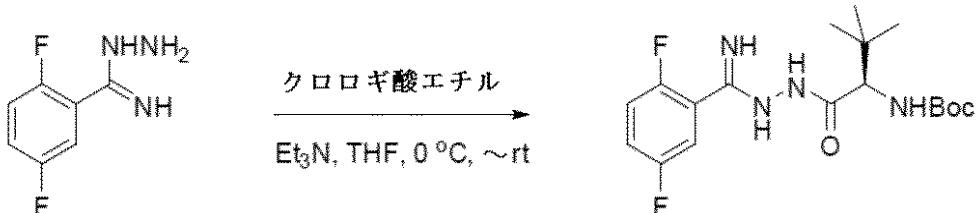
50

拌後、LC / M S によると反応は完了し、白色固体が沈殿した。沈殿を濾過し、ヘキサンで洗浄して、2,5-ジフルオロベンズイミドヒドラジド(5.52 g、94%)を得た。

【0161】

2,5-ジフルオロベンズイミドヒドラジドのアシリ化

【化48】



10

N - B o c - D - t e r t - ブチルグリシン(7.5 g、32.4 mmol)を、クロロギ酸エチル(3.41 mL、35.6 mmol)、Et₃N(6.8 mL、48.6 mmol)の無水THF溶液(6.5 mL、0.5 M)を-5 ~ 0 で添加することにより混合無水物に変換した。混合物を-5 で30分間攪拌した。得られた固体を濾別し、さらに無水THFを添加して、沈殿を洗浄した。得られた反応溶液を2,5-ジフルオロベンズイミド-ヒドラジド(5.53 g、32.4 mmol)のTHF溶液に-5 で添加した。反応物を室温まで徐々に温め、一夜攪拌した。反応が完了したら、混合物をEtOAcおよびH₂Oに分配した。有機層を分離し、H₂O、塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて、粗生成物を得て、それをシリカゲルカラム(50%EtOAcのヘキサン溶液)で精製して、1-(2-((2,5-ジフルオロフェニル)(イミノ)メチル)ヒドラジニル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イルカルバミン酸(R)-tert-ブチル(67%)を得た。R_f = 0.4(50%EtOAcのヘキサン溶液)。LC/MS (uplc): MH⁺ 385.3, 0.65 min.

20

【0162】

1-(3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピルカルバミン酸(R)-tert-ブチルの合成

【化49】



30

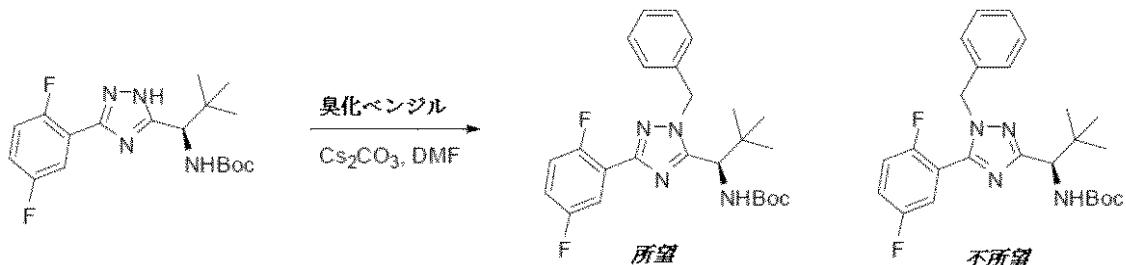
1-(2-((2,5-ジフルオロフェニル)(イミノ)メチル)ヒドラジニル)-3,3-ジメチル-1-オキソブタン-2-イルカルバミン酸(R)-tert-ブチル(8.35 g、21.7 mmol)をキシレン(200 mL)に溶解した。Dean-Starkトラップを据え付け、反応混合物を150 に加熱した。反応が完了したら、混合物を室温に冷却し、EtOAcおよび飽和NaHCO₃水溶液に分配した。有機層を分離し、飽和NaHCO₃水溶液、H₂Oおよび塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下蒸発させて、1-(3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピルカルバミン酸(R)-tert-ブチル(7.81 g、98%)を得て、それをさらに精製せずに次工程に使用した。LC/MS (uplc): MH⁺ 367.2, 0.98 min.

40

【0163】

臭化ベンジルによる1-(3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピルカルバミン酸(R)-tert-ブチルのアルキル化(Alkylation)

【化 5 0】



攪拌中の 1 - (3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - ブチル(5 . 8 9 g、16 . 1 mmol)およびCs₂CO₃(10 . 5 g、32 . 2 mmol)のDMF(46 mL、0 . 3 5 M)懸濁液に臭化ベンジル(2 . 1 1 mL、17 . 7 mmol)を添加した。有機層を分離し、H₂O、塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空で蒸発させて、1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピル - カルバミン酸(R) - t e r t - ブチルを得た。所望の位置異性体をシリカゲルカラム(0 % ~ 100 % EtOAcのヘキサン溶液、3 . 2 5 g、44 . 3 %)で得た。構造を¹H NMR nOe実験で確認した。

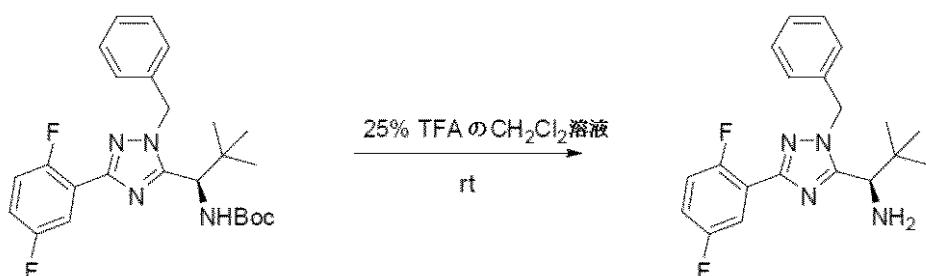
【0164】

所望の異性体、(1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - ブチル)について：結晶、LC/MS (uplc)：MH⁺ 457.2, 1.36 min. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz)：7.78 (m, 1H), 7.29-7.39 (m, 5H), 7.00-7.18 (m, 2H), 5.53 (s, 2H), 5.20 (d, 2H), 4.83 (m, 2H), 1.41 (s, 9H), 0.91 (s, 9H)。不所望の異性体、(1 - (1 - ベンジル - 5 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 3 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - ブチル)について：無色油状物、LC/MS (uplc)：MH⁺ 457.2, 1.25 min. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz)：7.25 (m, 5H), 7.15 (m, 2H), 7.05 (m, 1H), 5.45 (d, 2H), 5.28 (s, 2H), 4.85 (d, 2H), 1.43 (s, 9H), 0.97 (s, 9H)。

【0165】

1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - ブチルの脱保護

【化 5 1】



1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - ブチル(3 . 2 5 g、7 . 1 3 mmol)をTFA(10 mL)のCH₂Cl₂(30 mL)溶液で処理した。反応が完了したら、反応物を真空で濃縮し、EtOAcおよび飽和NaHCO₃水溶液に分配した。有機物を分離し、H₂O、塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下蒸発させて、(R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロパン - 1 - アミンを得て、それをさらに精製せずに直接次工程に使用した(2 . 3 2 g、91 %)。LC/MS (uplc)：MH⁺ 357.1, 0.82 min.

10

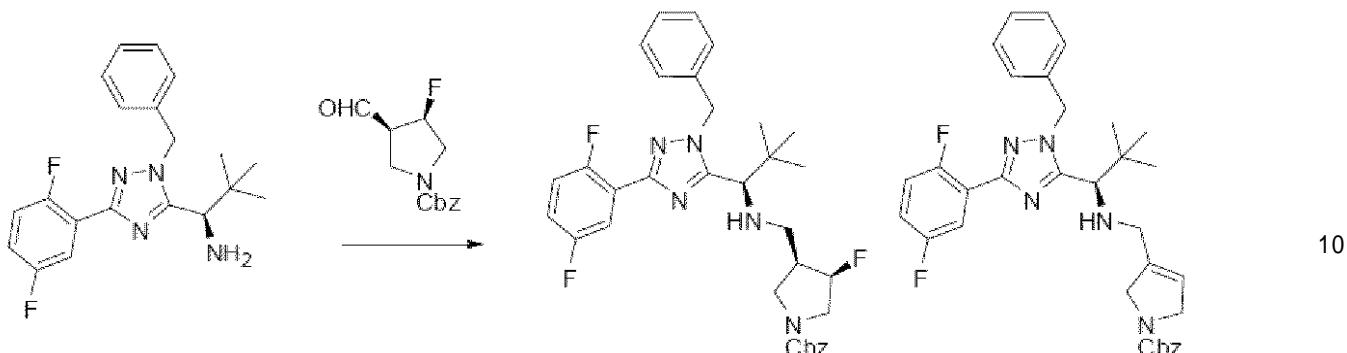
20

30

40

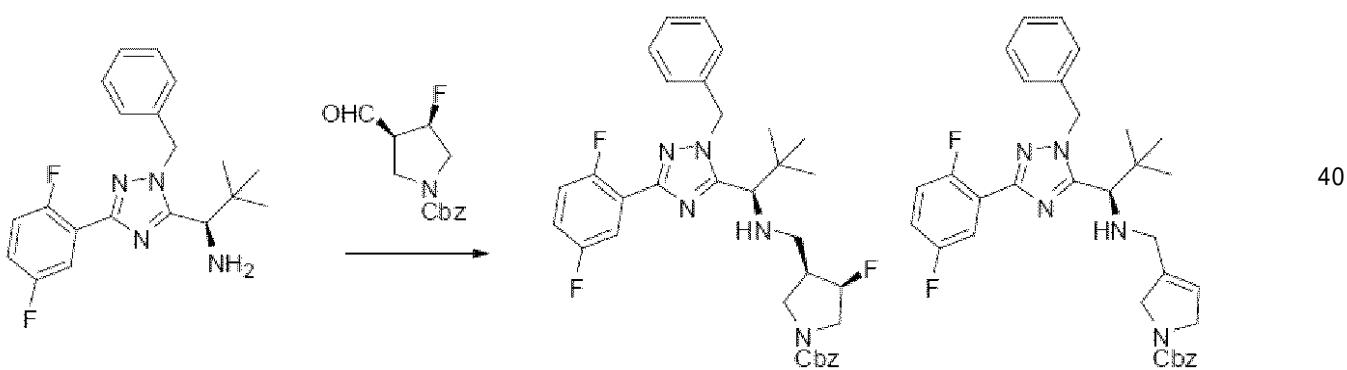
50

【0166】
還元的アルキル化
【化52】



(R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロパン - 1 - アミン(2 . 5 5 g、7 . 1 5 mmol)のC H₂ C l₂(5 9 mL)溶液に、粗3 - フルオロ - 4 - ホルミルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 S) - ベンジル(1 . 4 当量の3 - フルオロ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジルから得た)のC H₂ C l₂(1 0 mL)溶液およびN a B H(O A c)₃(2 . 3 g、1 0 . 7 mmol)を添加した。反応混合物を1 6 時間、室温で攪拌した。飽和N a H C O₃水溶液で反応停止後、反応混合物をE t O A cで抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水N a₂ S O₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗還元的アミノ化生成物は、H F除去アルケン生成物で汚染されており、それはシリカカラムクロマトグラフィーまたは分取逆相H P L Cで分離不可能であった。それ故、粗混合物(3 . 0 g)をアセトンおよび水(5 : 1、1 2 0 mL)に溶解した。4 - メチルモルホリンN - オキシド(7 1 5 mg、6 . 1 mmol)およびO s O₄(2 . 1 5 mLの4 % w / v溶液)をこの反応混合物に添加し、これを週末の間室温で攪拌した。アセトンを真空で除去後、得られた水層をE t O A cで抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水N a₂ S O₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。所望の3 - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジルをシリカカラムクロマトグラフィー(3 5 % ~ 8 0 % E t O A cのヘキサン溶液、1 . 5 g、3 5 %)で得た。LC/MS (upl c) M H+ 592 . 3, 0 . 97 min。

【0167】
還元的アルキル化
【化53】



(R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロパン - 1 - アミン(2 . 5 5 g、7 . 1 5 mmol)のC H₂ C l₂(5 9 mL)溶液に、粗3 - フルオロ - 4 - ホルミルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 S) - ベンジル(1 . 4 当量の3 - フルオロ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジルから得た)のC H₂ C l₂(1 0 mL)溶液およびN a B H(O A c)₃(2 . 3 g、1 0 . 7 mmol)を添加した。反応混合物を1 6 時間、室温で攪拌した。飽和N a H C O₃水溶液で反応停止後、反応混合物をE t O A cで抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水N a₂ S O₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗還元的アミノ化生成物は、H F除去アルケン生成物で汚染されており、それはシリカカラムクロマトグラフィーまたは分取逆相H P L Cで分離不可能であった。それ故、粗混合物(3 . 0 g)をアセトンおよび水(5 : 1、1 2 0 mL)に溶解した。4 - メチルモルホリンN - オキシド(7 1 5 mg、6 . 1 mmol)およびO s O₄(2 . 1 5 mLの4 % w / v溶液)をこの反応混合物に添加し、これを週末の間室温で攪拌した。アセトンを真空で除去後、得られた水層をE t O A cで抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水N a₂ S O₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。所望の3 - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジルをシリカカラムクロマトグラフィー(3 5 % ~ 8 0 % E t O A cのヘキサン溶液、1 . 5 g、3 5 %)で得た。LC/MS (upl c) M H+ 592 . 3, 0 . 97 min。

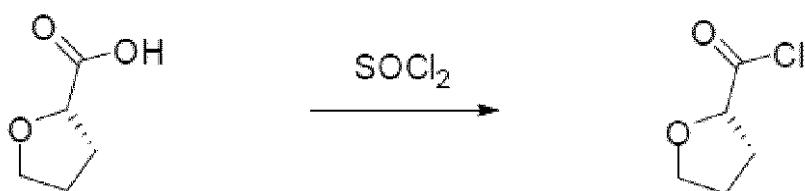
50

OAc₃ (2.3 g、10.7 mmol)を添加した。反応混合物を16時間、室温で攪拌した。飽和NaHCO₃水溶液で反応停止後、反応混合物をEtOAcで抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗還元的アミノ化生成物は、HF除去アルケン生成物で汚染されており、それはシリカカラムクロマトグラフィーまたは分取逆相HPLCで分離不可能であった。それ故、粗混合物(3.0 g)をアセトンおよび水(5:1、120mL)に溶解した。4-メチルモルホリンN-オキシド(715 mg、6.1 mmol)およびOsO₄(2.15 mLの4% w/v溶液)をこの反応混合物に添加し、これを週末の間室温で攪拌した。アセトンを真空で除去後、得られた水層をEtOAcで抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、濃縮した。所望の3-(((R)-1-(1-ベンジル-3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピルアミノ)メチル)-4-フルオロピロリジン-1-カルボン酸(3R,4R)-ベンジルをシリカカラムクロマトグラフィー(35%~80% EtOAcのヘキサン溶液、1.5 g、35%)で得た。LC/MS (uplc) MH+ 592.3, 0.97 min。

【0168】

酸クロライドの製造

【化54】

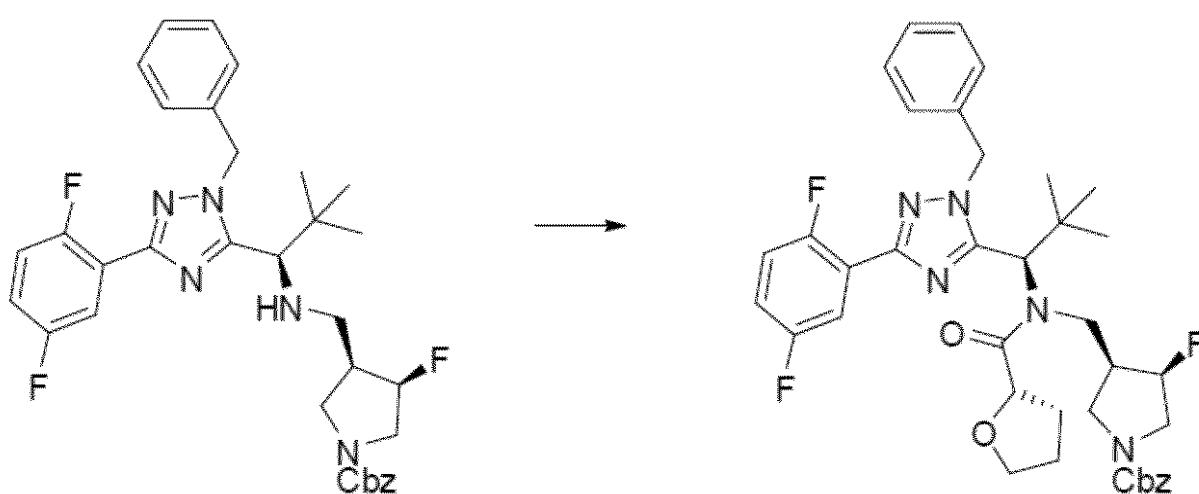


(S)-テトラヒドロフラン-2-カルボン酸(5.1 g、4.4 mmol)をSOC1₂(15 mL)に溶解した。反応混合物を30分間還流した。揮発物を真空で除去後、粗(S)-テトラヒドロフラン-2-カルボニルクロライド(6.0 g、>99%)を次工程に使用した。

【0169】

アミド結合形成

【化55】



3-(((R)-1-(1-ベンジル-3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピルアミノ)メチル)-4-フルオロピロリジン-1-カルボン酸(3R,4R)-ベンジル(500 mg、0.845 mmol)のジクロロメタン(8.5 mL、0.1 M 溶液)溶液に、室温でトリエチルアミン(236 μL、1.69 mmol)を添加した。粗(S)-テトラヒドロフラン-2-カルボニルクロライド(227 mg、1.69 mmol)を2分間かけて滴下した。得られた溶液を室温で一夜攪拌した。反応混合物をH₂Oで反応停止させ、EtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。揮発性有機物を真空で除去後、所望の3-(((S)-N-((R)-1-(1-ベ

10

20

30

40

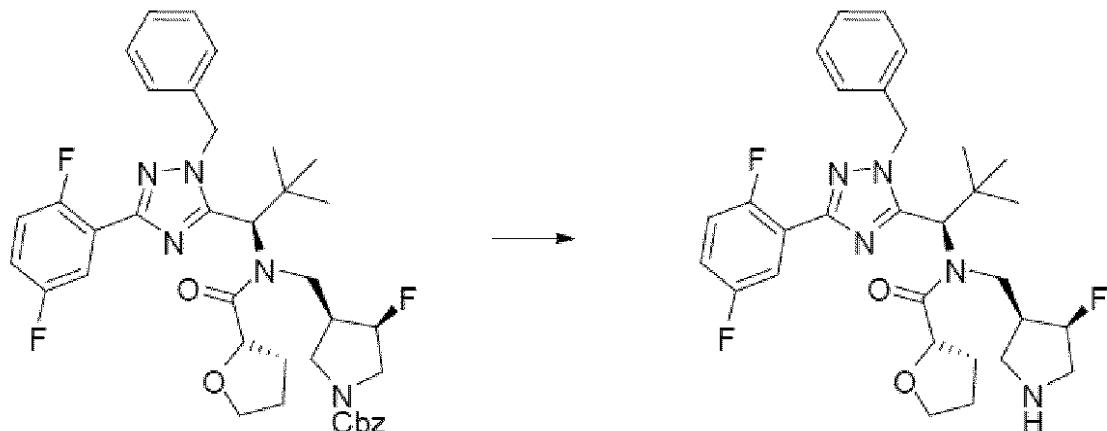
50

ンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3R,4R) - ベンジルをフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製した((収率 : N/A) 0% ~ 100%、EtOAc のヘキサン溶液)。LC/MS (uplc) : MH⁺ 690.5, 1.35 min.

【0170】

脱保護

【化56】



3 - (((S)-N-((R)-1-(1-benzyl-3-(2,5-difluorophenyl)-1H-1,2,4-triazole-5-yl)-2,2-dimethylpropyl)tetrahydropyran-2-carbonyl)amino-4-fluoropyrrolidine-1-carboxylic acid methyl ester(583 mg, 0.845 mmol)の脱気EtOAc(8 mL, 0.1 M 溶液)溶液に、Pd/C(899 mg, 10 wt %)を無水N₂雰囲気下に添加した。水素ガスを通気後、水素ガスバルーンを付して反応混合物を室温で一夜攪拌した。反応混合物をセライト(登録商標)パッドで濾過し、それをEtOAcで洗浄した。揮発性有機濾液を真空で除去して粗生成物を得て、それを分取逆相HPLCで精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和NaHCO₃溶液で中和し、それをEtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。乾燥生成物をアセトニトリルおよび水(1:1比)に溶解し、48時間凍結乾燥させた。白色粉末状(S)-N-((R)-1-(1-benzyl-3-(2,5-difluorophenyl)-1H-1,2,4-triazole-5-yl)-2,2-dimethylpropyl)-N-(((3S,4R)-4-fluoropyrrolidine-3-yl)methyl)tetrahydropyran-2-carbonyl)amino-4-fluoropyrrolidineを27.9%収率(131 mg)で遊離アミンとして得た。¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz) : 7.82 (1H, m), 7.53 (2H, m), 7.35-7.27 (3H, m), 7.14 (1H, m), 7.06 (1H, m), 6.14 (1H, s), 5.45 (2H, m), 4.85 (2H, m), 4.72 (1H, m), 4.21 (1H, m), 3.97 (1H, m), 3.83 (1H, m), 3.02 (1H, m), 2.80 (1H, m), 2.33-1.80 (6H, m), 1.25 (1H, s), 1.01 (1H, m), 0.99 (9H, s). LC/MS (uplc) : MH⁺ 556.4, 0.99 min.

【0171】

実施例2

N - ((R)-1-(1-benzyl-3-(2,5-difluorophenyl)-1H-1,2,4-triazole-5-yl)-2,2-dimethylpropyl)-N-(((3R,4R)-4-fluoropyrrolidine-3-yl)methyl)-2,6-dimethylmorpholin-4-carbonyl

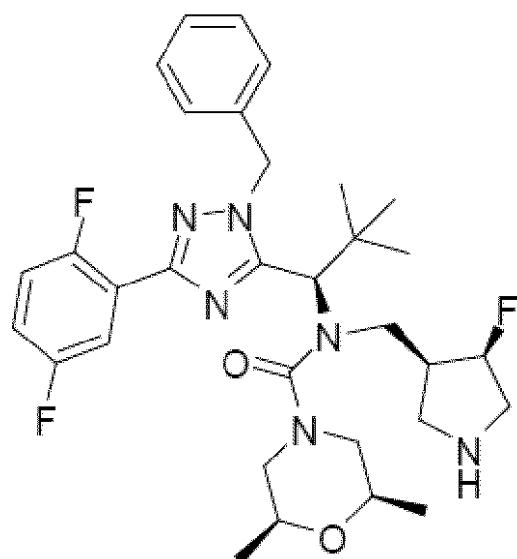
10

20

30

40

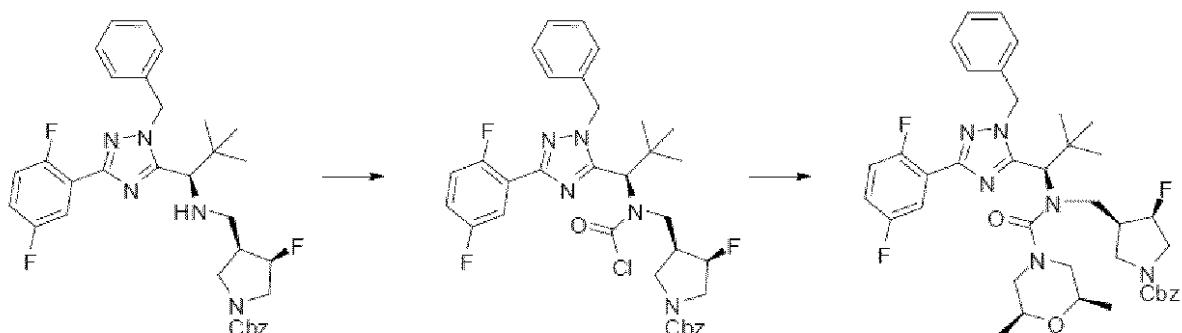
【化57】



【0172】

方法ウレア形成

【化58】



3 - (((R) - 1 - (3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - デメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(110 mg, 0.186 mol)のジクロロメタン(1.9 mL, 0.1 M 溶液)溶液にトリエチルアミン(78 μ L, 0.58 mmol)を添加し、20% ホスゲンのトルエン溶液(66 mg, 0.223 mmol)を室温で添加した。得られた溶液を室温で15分間攪拌後(3 - (((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - デメチルプロピル)(クロロカルボニル)アミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 S, 4 R) - ベンジルについてはLC/MS (uplc): MH^+ 654.3, 1.37 min)、2,6 - デメチルモルホリン(64 mg, 0.558 mmol)を添加し、40℃で一夜加熱した(封管中)。反応混合物をH₂Oで反応停止させ、EtOAcで抽出した。有機層をNaHCO₃溶液および塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮した。揮発性有機物を真空で除去後、粗生成物を分取逆相HPLCで精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和NaHCO₃溶液で中和し、それをEtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮して、所望の3 - (((2 S, 6 R) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - デメチルプロピル) - 2,6 - デメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(91

30

40

50

40

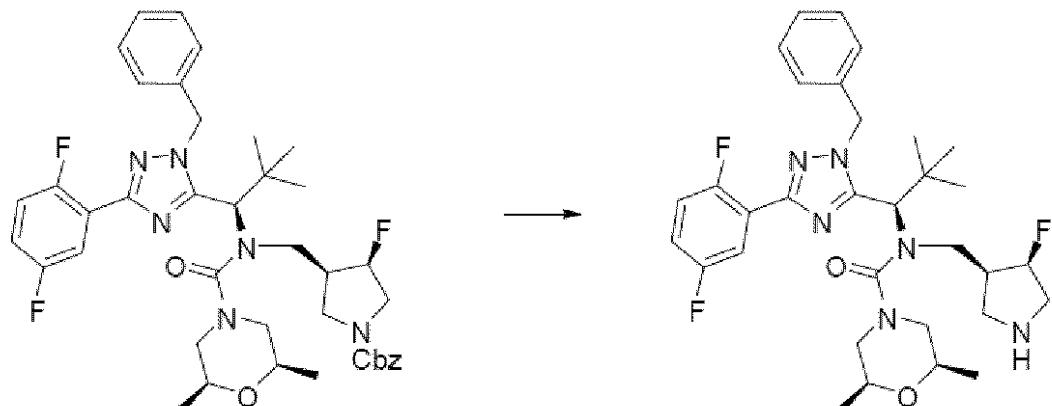
50

mg、66.7%、2工程で)を得た。LC/MS (uplc): MH^+ 733.5, 1.41 min.

【0173】

脱保護

【化59】



10

3 - (((2S,6R)-N - ((R)-1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - 2,6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸 (3R,4R) - ベンジル (91 mg, 0.124 mmol) の脱気エタノール (12 mL, 0.1 M 溶液) 溶液に、Pd/C (2.64 mg, 10 wt %) を無水 N_2 霧囲気下に添加した。水素ガスを通気後、水素ガスバルーンを付して反応混合物を室温で 45 分間攪拌した。反応混合物をセライト(登録商標)パッドで濾過し、それを EtOAc で洗浄した。揮発性有機濾液を真空で除去して粗生成物を得て、それを分取逆相 HPLC で精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和 $NaHCO_3$ 溶液で中和し、それを EtOAc で抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。乾燥生成物をアセトニトリルおよび水 (1 : 1 比) に溶解し、48 時間凍結乾燥させた。白色粉末状 (2S,6R) - N - ((R)-1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3S,4R)-4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2,6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミドを 94% 収率 (70 mg) で遊離アミンとして得た。 1H NMR (CD_3Cl , 300 MHz): 7.83 (1H, m), 7.52 (2H, m), 7.34-7.27 (3H, m), 7.08 (1H, m), 7.04 (1H, m), 5.94 (2H, m), 5.41 (1H, s), 3.92-3.62 (3H, m), 3.60-3.45 (3H, m), 3.17-2.58 (3H, m), 2.57-2.37 (1H, m), 2.35-2.04 (2H, m), 1.85 (2H, m), 1.20 (6H, s), 0.9 (1H, m), 0.8 (9H, s). LC/MS (uplc): MH^+ 599.5, 1.06 min.

20

【0174】

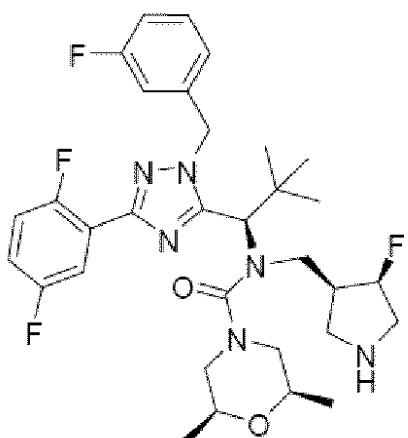
実施例 3

N - ((R)-1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3R,4R)-4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2,6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド

30

40

【化60】



10

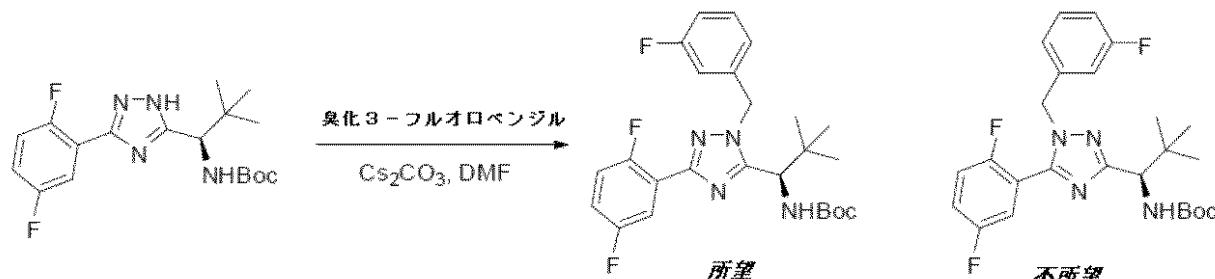
【0175】

方法

1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチルの臭化3 - フルオロベンジルでのアルキル化(Alkylation)(C H I R 7 8 2 9 0 3について)

20

【化61】



攪拌中の 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチル(5.89 g、16.1 mmol)およびCs₂CO₃(10.5 g、32.2 mmol)のDMF(4.6 mL、0.35 M)懸濁液に臭化3 - フルオロベンジル(2.17 mL、17.7 mmol)を添加した。反応が完了したら、混合物をEtOAcおよびH₂Oに分配した。有機層を分離し、H₂O、塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、真空で蒸発させて、1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチルを得た。所望の極性の低い位置異性体をシリカゲルカラム(0% ~ 100% EtOAcのヘキサン溶液、5.05 g、66.2%)により得た。

30

【0176】

所望の異性体である 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチルについて : LC/MS (uplc) 475.2, 1.35 min. 不所望の異性体である 1 - (5 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 3 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチルについて。LC/MS (uplc) MH+ 475.2, 1.24 min.

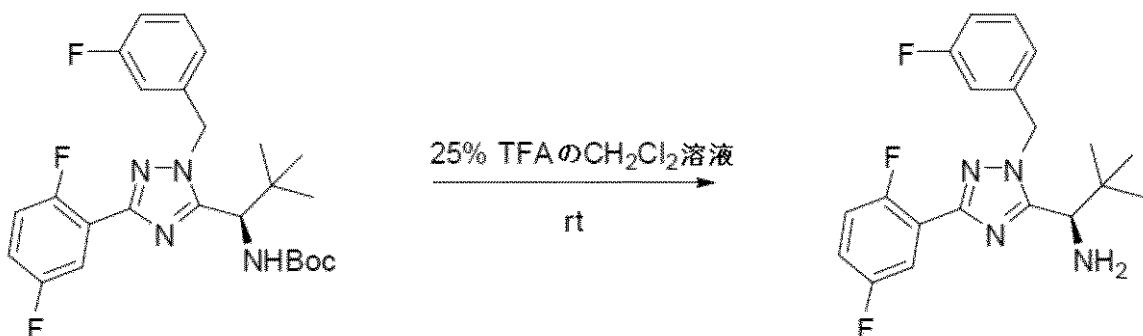
40

【0177】

1 - (1 - ベンジル - 3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチルの脱保護(C H I R 7 8 2 9 0 3について)

50

【化62】



10

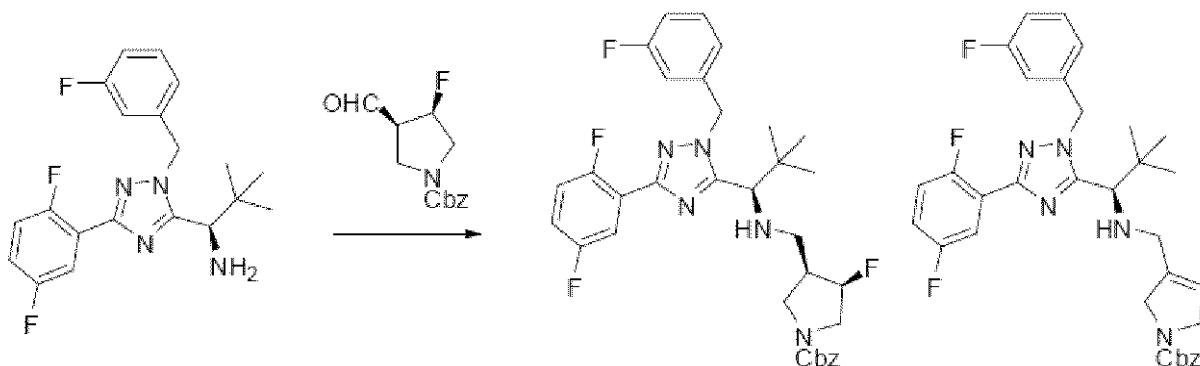
1 - (3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルカルバミン酸(R) - t e r t - プチル(5 . 0 5 g、1 0 . 7 mmol)をT F A (1 0 mL)のC H₂ C l₂ (3 0 mL)溶液で処理した。反応が完了したら、反応物を真空で濃縮し、E t O A c および飽和N a H C O₃ 水溶液に分配した。有機物を分離し、H₂ O、塩水で洗浄し、N a₂ S O₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下蒸発させて、(R) - 1 - (3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロパン - 1 - アミンを得て、それをさらに精製せずに直接次工程に使用した(2 . 5 5 g、6 4 %)。LC/MS (uplc) M_H+ 375 . 1, 0 . 83 min.

20

【0178】

還元的アルキル化

【化63】



30

(R) - 1 - (3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロパン - 1 - アミン(2 . 5 5 g、6 . 8 mmol)のC H₂ C l₂ (5 8 mL)溶液に、粗3 - フルオロ - 4 - ホルミルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 S) - ベンジル(1 . 4 当量の3 - フルオロ - 4 - ビニルピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジルから得た)のC H₂ C l₂ (1 0 mL)溶液およびN a B H(O A c)₃ (2 . 2 g、1 0 . 2 mmol)を添加した。反応混合物を1 6時間、室温で攪拌した。飽和N a H C O₃ 水溶液で反応停止後、反応混合物をE t O A c で抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水N a₂ S O₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。粗還元的アミノ化生成物は、H F 除去アルケン生成物で汚染されており、それはシリカカラムクロマトグラフィーまたは分取逆相H P L Cで分離不可能であった。それ故、粗混合物(2 . 8 9 g)をアセトンおよび水(5 : 1、1 2 0 mL)に溶解した。4 - メチルモルホリンN - オキシド(6 6 7 mg、5 . 7 mmol)およびO s O₄ (1 . 5 1 mLの4 % w / v 溶液)をこの反応混合物に添加し、これを週末の間室温で攪拌した。アセトンを真空で除去後、得られた水層をE t O A c で抽出した。有機層を水および塩水で洗浄し、無水N a₂ S O₄ で乾燥させ、濾過し、濃縮した。所望の3 - ((R) - 1 - (3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジ

40

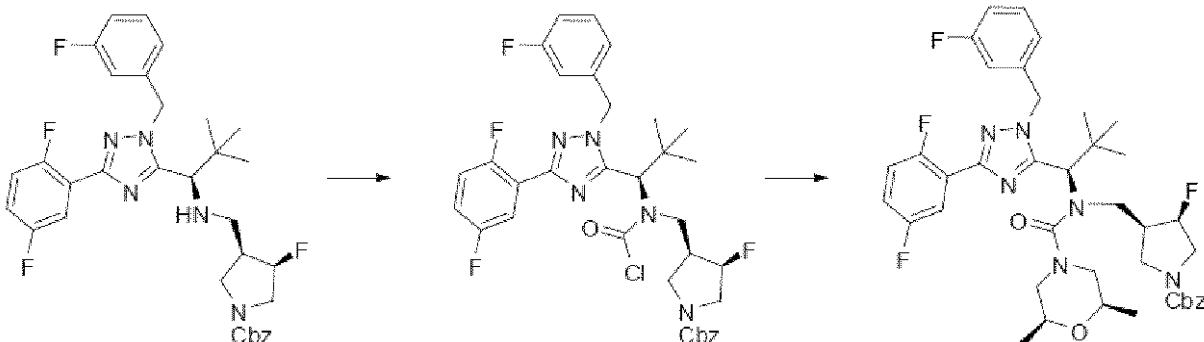
50

メチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジルをシリカカラムクロマトグラフィー(40% ~ 90% EtOAc のヘキサン溶液、2.16 g、52%)で得た。LC/MS (uplc): MH⁺ 610.2, 0.99 min。

【0179】

ウレア形成

【化64】



3 - (((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(30 mg、0.049 mmol)のジクロロメタン(450 μL、0.1 M 溶液)溶液に、トリエチルアミン(20.6 μL、0.148 mmol)を添加し、20% ホスゲンのトルエン溶液(6.2 μL、0.059 mmol)を室温で添加した。得られた溶液を室温で15分間攪拌後(3 - (((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル)(クロロカルボニル)アミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 S, 4 R) - ベンジルについてLC/MS (uplc): MH⁺ 654.3, 1.37 min)、2,6 - ジメチルモルホリン(64 mg、0.558 mmol)を添加し、15分間、室温で攪拌した。反応混合物をH₂Oで反応停止させ、EtOAcで抽出した。有機層をNaHCO₃溶液および塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、濃縮した。揮発性有機物を真空で除去後、粗生成物を分取逆相HPLCで精製した。合わせて生成物のフラクションを飽和NaHCO₃溶液で中和し、それをEtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮して、所望の3 - ((2S,6R) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - 2,6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(30 mg、81%、2工程で)を得た。LC/MS (uplc): MH⁺ 751.5, 1.39 min。

【0180】

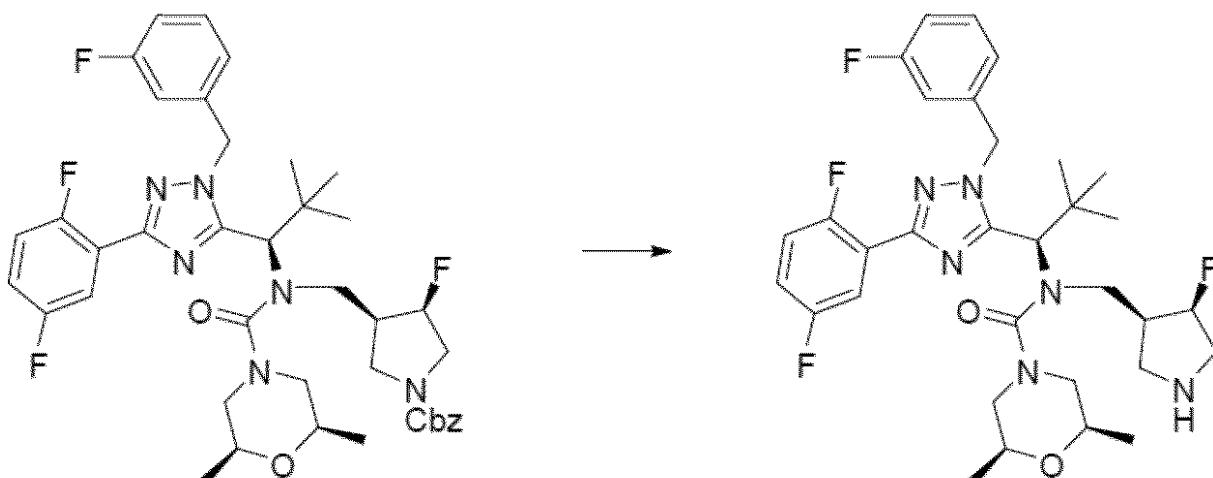
脱保護

10

20

30

【化65】



10

20

30

3 - (((2S, 6R) - N - ((R) - 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - 2, 6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(35 mg、0.047 mmol)の脱気エタノール(10 mL、4.7 mM溶液)に、Pd/C(0.99 mg、10 wt%)を無水N₂雰囲気下に添加した。水素ガスを通気後、水素ガスバルーンを付して反応混合物を室温で一夜攪拌した。反応混合物をセライト(登録商標)パッドで濾過し、それをEtOAcで洗浄した。揮発性有機濾液を真空で除去して粗生成物を得て、それを分取逆相HPLCで精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和NaHCO₃溶液で中和し、それをEtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。乾燥生成物をアセトニトリルおよび水(1:1比)に溶解し、48時間凍結乾燥させた。白色粉末状(2 S, 6 R) - N - ((R) - 1 - (3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - ((3 S, 4 R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2, 6 - ジメチルモルホリン - 4 - カルボキサミドを63%収率(18 mg)で遊離アミンとして得た。¹H NMR (CD₃Cl, 300 MHz): 7.84 (1H, m), 7.32-6.95 (6H, m), 5.79 (2H, m), 5.36 (1H, s), 4.58 (1H, m), 3.91-3.72 (3H, m), 3.65-3.50 (3H, m), 3.04 (1H, m), 2.97-2.65 (2H, m), 2.53 (1H, m), 2.36 (1H, m), 2.18 (1H, m), 1.20 (6H, s), 0.9 (1H, m), 0.84 (9H, s). LC/MS (uplc): MH⁺ 617.5, 1.06 min.

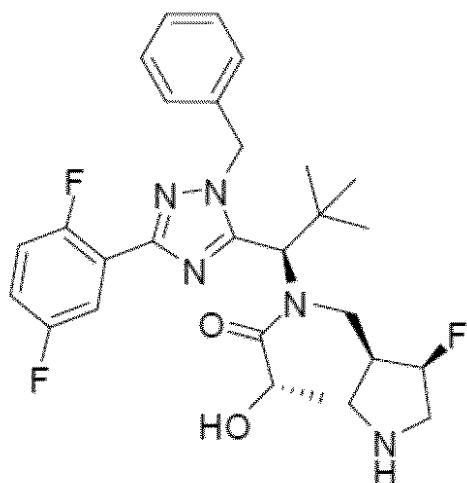
30

【0181】

実施例4

(S) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2, 5 - ジフルオロフェニル) - 1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2, 2 - ジメチルプロピル) - N - ((3 R, 4 R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド

【化66】



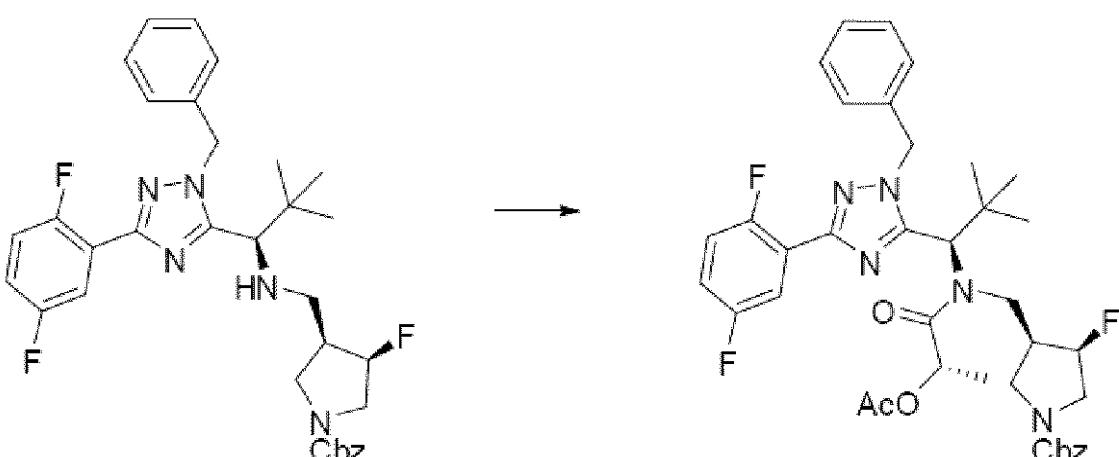
10

【0182】

方法

アミド結合形成

【化67】



20

30

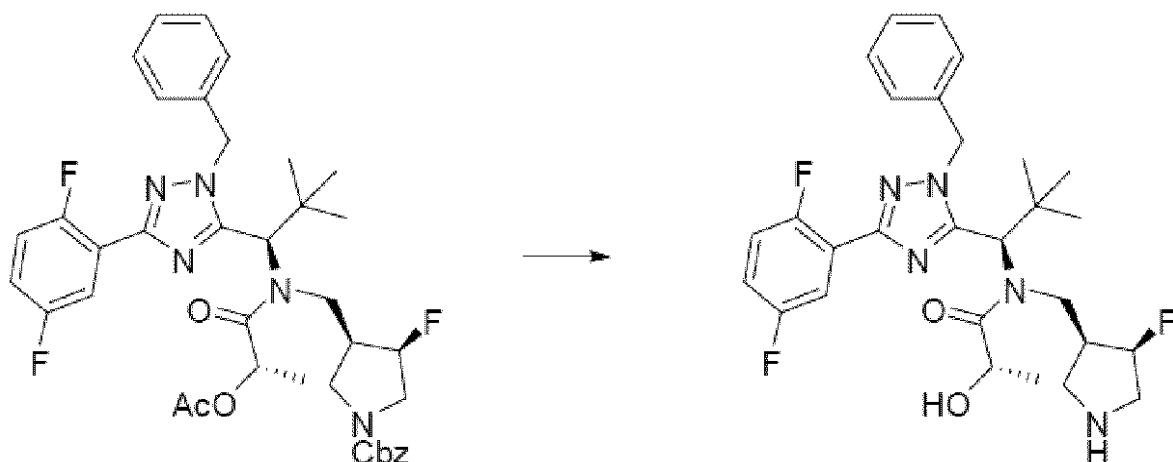
3 - (((R)-1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジル(1 . 5 g、2 . 5 3 mmol)のジクロロメタン(2 5 mL、0 . 1 M 溶液)溶液に、室温でトリエチルアミン(4 5 8 μL、3 . 2 9 mmol)を添加した。酢酸(S) - 1 - クロロ - 1 - オキソプロパン - 2 - イル(4 1 6 μL、3 . 2 9 mmol)を2分間かけて滴下した。得られた溶液を室温で一夜攪拌した。反応混合物をH₂Oで反応停止させ、EtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。揮発性有機物を真空で除去後、所望の3 - (((S)-2 - アセトキシ - N - ((R)-1 - (1 - ベンジル - 3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 , 2 - ジメチルプロピル) - プロパンアミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R , 4 R) - ベンジルをフラッシュカラムクロマトグラフィー(0 % ~ 1 0 0 %、EtOAcのヘキサン溶液)で精製した。LC/MS (uplc): MH⁺ 706.5, 1.34 min。

40

【0183】

包括的脱保護

【化 6 8】



10

20

30

3 - (((S) - 2 - アセトキシ - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) プロパンアミド) メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(1.78 g、2.53 mmol) の脱氣 EtOAc(25 mL、0.1 M 溶液) 溶液に Pd/C(178 mg、10 w t %) を無水 N₂ 霧囲気下に添加した。水素ガスを通気後、水素ガスバルーンを付して反応混合物を室温で一夜攪拌した。反応混合物をセライト(登録商標)パッドで濾過し、それを EtOAc で洗浄した。揮発性有機濾液を真空で除去して、粗アミン(LC/MS (uplc): MH⁺ 572.4, 1.11 min)を得た。粗生成物を MeOH(168 mL、0.015 M 溶液) に溶解し、無水炭酸カリウム(3.5 g、2.5 mmol) を添加した。反応物を 15 分間、室温で攪拌した。白色沈殿を濾過により除去後、有機濾液を真空で濃縮した。粗生成物を分取逆相 HPLC で精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和 NaHCO₃ 溶液で中和し、それを EtOAc で抽出した(200 mL)。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。乾燥生成物をアセトニトリルおよび水(1:1比)に溶解し、48 時間凍結乾燥させた。白色粉末状(S) - N - ((R) - 1 - (1 - ベンジル - 3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3 S, 4 R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル) メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミドを 65.5% 収率(876 mg、3 工程で)で遊離アミンとして得た。¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ 7.82 (1H, m), 7.52 (2H, m), 7.34-7.25 (3H, m), 7.16 (1H, m), 7.07 (1H, m), 6.09 (1H, s), 5.44 (2H, s), 4.61 (2H, m), 4.39 (1H, m), 3.78 (1H, m), 3.60 (1H, m), 2.92 (1H, m), 2.56 (1H, m), 2.16 (2H, m), 1.44 (3H, m), 1.22 (1H, m), 0.99 (9H, s), 0.42 (1H, m). LC/MS (uplc): MH⁺ 530.3, 1.05 min.

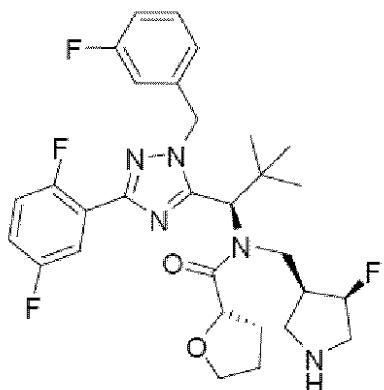
【0184】

実施例 5

(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3 R, 4 R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル) メチル) テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド

40

【化69】

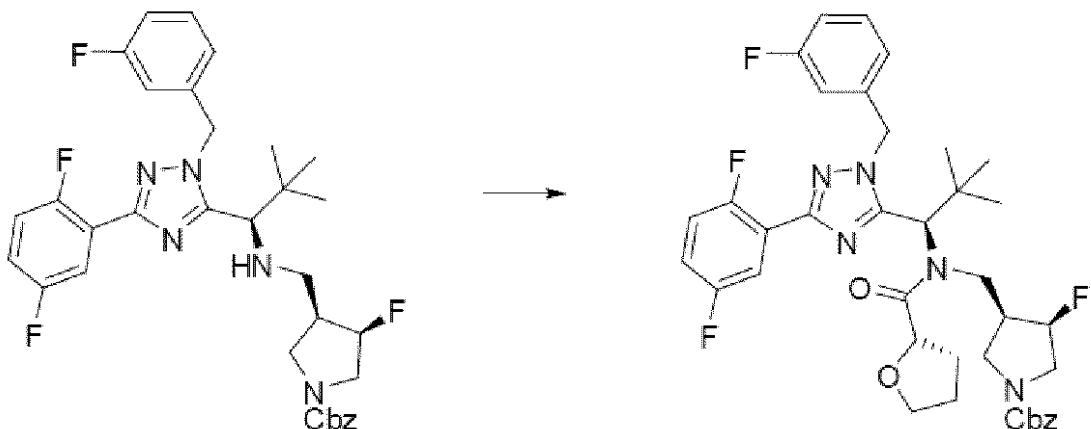


10

【0185】

方法アミド結合形成

【化70】



20

3 - (((R) - 1 - (3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - デメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(500 mg, 0.82 mmol)のジクロロメタン(4 mL, 0.2 M 溶液)溶液に、室温でトリエチルアミン(229 μL, 1.64 mmol)を添加した。粗(S) - テトラヒドロフラン - 2 - カルボニルクロライド(221 mg, 1.64 mmol)を2分間かけて滴下した。得られた溶液を室温で一夜攪拌した。反応混合物をH₂Oで反応停止させ、EtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。揮発性有機物を真空中で除去後、所望の3 - (((S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - デメチルプロピル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジルをフラッシュカラムクロマトグラフィー(収率N/A; 0% ~ 100%, EtOAcのヘキサン溶液)で精製した。LC/MS (uplc): MH⁺ 708.4, 1.35 min.

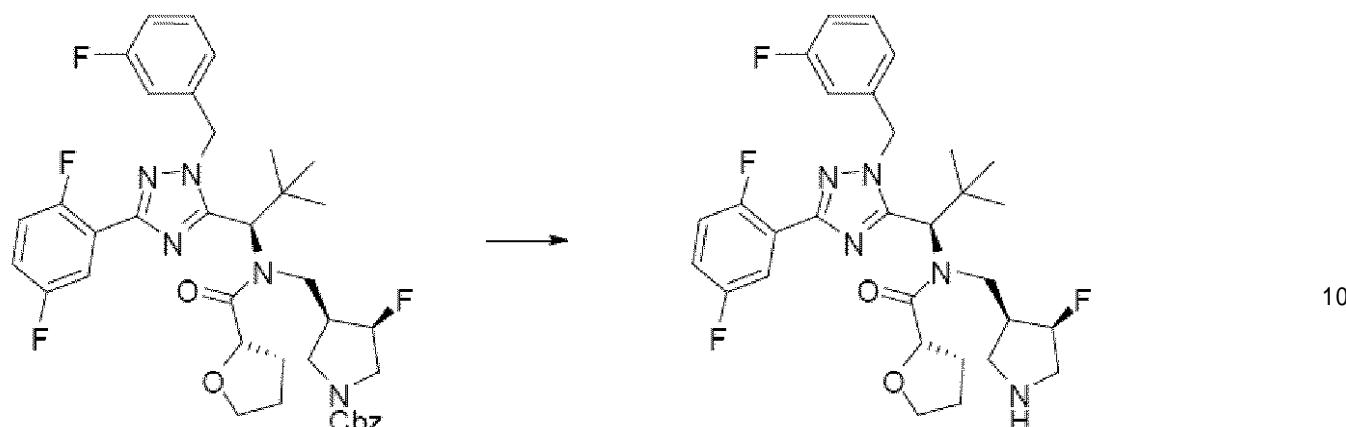
30

【0186】

脱保護

40

【化71】



3 - (((S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(580 mg、0.82 mmol)の脱気 E t O A c (80 mL、0.1 M 溶液)溶液に、Pd / C (873 mg、10 w t %)を無水N₂雰囲気下に添加した。水素ガスを通気後、水素ガスバルーンを付して反応混合物を室温で一夜攪拌した。反応混合物をセライト(登録商標)パッドで濾過し、それをE t O A cで洗浄した。揮発性有機濾液を真空中で除去して粗生成物を得て、それを分取逆相HPLCで精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和NaHCO₃溶液で中和し、それをE t O A cで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。乾燥生成物をアセトニトリルおよび水(1 : 1比)に溶解し、48時間凍結乾燥させた。白色粉末状(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3 S, 4 R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル)テトラヒドロフラン - 2 - カルボキサミドを10.4%収率(48.9 mg)で遊離アミンとして得た。¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): 7.82 (1H, m), 7.34-7.25 (3H, m), 7.22 (1H, m), 7.15 (1H, m), 7.07 (1H, m), 6.98 (1H, m), 6.10 (1H, s), 5.44 (2H, m), 4.86 (2H, m), 4.19 (1H, m), 3.96 (1H, m), 3.86 (2H, m), 3.05 (1H, m), 3.05 (1H, m), 2.37-1.70 (2H, m), 1.35-1.02 (5H, m), 0.99 (9H, s). LC/MS (uplc): MH⁺ 574.4, 0.98 min.

20

【0187】

実施例6

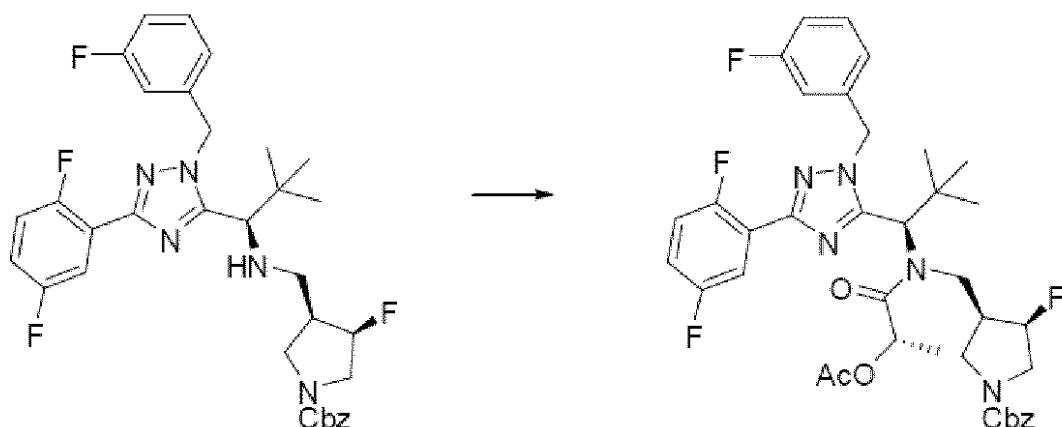
(S) - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - ジフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル) - N - (((3 R, 4 R) - 4 - フルオロピロリジン - 3 - イル)メチル) - 2 - ヒドロキシプロパンアミド

30

【化72】



【0188】
アミド結合形成
 【化73】



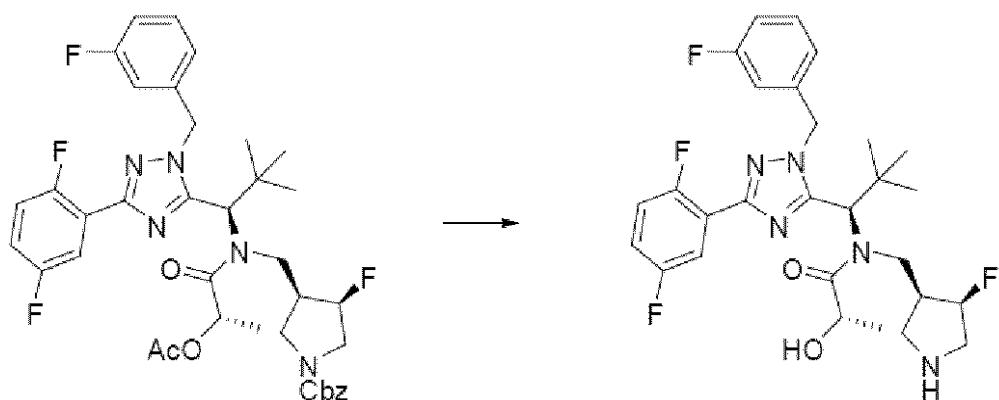
10

3 - (((R) - 1 - (3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピルアミノ)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(1.48 g、2.43 mmol)のジクロロメタン(25 mL、0.1 M 溶液)溶液に、室温でトリエチルアミン(440 μ L、3.16 mmol)を添加した。酢酸(S) - 1 - クロロ - 1 - オキソプロパン - 2 - イル(400 μ L、3.16 mmol)を2分間かけて滴下した。得られた溶液を室温で一夜攪拌した。反応混合物をH₂Oで反応停止させ、EtOAcで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過した。揮発性有機物を真空で除去後、所望の3 - (((S) - 2 - アセトキシ - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル)プロパンアミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジルをフラッシュカラムクロマトグラフィー(0% ~ 100%、EtOAcのヘキサン溶液)で精製した。LC/MS (uplc) MH⁺ 724.4, 1.34 min。

20

30

【0189】
包括的脱保護
 【化74】



40

3 - (((S) - 2 - アセトキシ - N - ((R) - 1 - (3 - (2,5 - デフルオロフェニル) - 1 - (3 - フルオロベンジル) - 1 H - 1,2,4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2,2 - ジメチルプロピル)プロパンアミド)メチル) - 4 - フルオロピロリジン - 1 - カルボン酸(3 R, 4 R) - ベンジル(2.24 g、3.09 mmol)の脱気EtOAc(25 mL、0.1 M 溶液)溶液に、Pd/C(224 mg、10 wt%)を、無水N₂雰囲気下に添加した。水素ガスを通気後、水素ガスバルーンを付して反応混合物を室温で一夜攪拌した。反応混合物をセライ

50

ト(登録商標)パッドで濾過し、それを EtOAc で洗浄した。揮発性有機濾液を真空で除去して、粗アミンを得た。粗生成物を MeOH (200mL, 0.015M 溶液)に溶解し、無水炭酸カリウム (4.2g, 30.9mmol) を添加した。反応物を 15 分間、室温で攪拌した。白色沈殿を濾過により除去後、有機濾液を真空で濃縮した。粗生成物を分取逆相 HPLC で精製した。合わせた生成物のフラクションを飽和 NaHCO₃ 溶液で中和し、それを EtOAc (200mL) で抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、真空で濃縮した。乾燥生成物をアセトニトリルおよび水 (1 : 1 比) に溶解し、48 時間凍結乾燥させた。白色粉末状 (S)-N-((R)-1-(3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1-(3-フルオロベンジル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2,2-ジメチルプロピル)-N-(((3S,4R)-4-フルオロピロリジン-3-イル)メチル)-2-ヒドロキシプロパンアミドを 57% 収率 (962mg, 3 工程で) で遊離アミンとして得た。
¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): 7.81 (1H, m), 7.40-7.16 (5H, m), 7.06 (1H, m), 6.12 (1H, s), 5.44 (2H, m), 4.77 (2H, m), 3.87 (1H, m), 2.82 (2H, m), 2.28 (1H, m), 2.17 (1H, m), 1.95 (1H, m), 1.43 (3H, m), 1.22 (1H, m), 0.91 (9H, s). LC/MS (uplc): MH⁺ 548.3, 0.94 min.

10

【0190】

実施例 7

KSP 活性測定用アッセイ

本実施例は、インビトロで KSP 活性を測定するための代表的インビトロアッセイを提供する。ウシ脳から得た精製微小管を Cytoskeleton Inc. (Denver, Colorado, USA) から購入した。ヒト KSP のモータードメイン (Eg5, KNSL1) をクローニングし、発現させ、95% 以上の均一性となるまで精製した。Biomol Green を BIOMOL International L.P. (Plymouth Meeting, Pennsylvania, USA) から購入した。微小管を、37 °C で 10 分間急速に融解し、希釈した。微小管および KSP モータータンパク質 (すなわち、KSP モータードメイン) をアッセイ緩衝液 (20 mM トリス-HCl (pH 7.5)、1 mM MgCl₂、10 mM DTT および 0.125% BSA) に最終濃度 50 μg/mL 微小管および 3 nM KSP まで希釈した。

20

【0191】

1.25 μL の阻害剤または試験化合物の DMSO 溶液 (または対照の場合 DMSO のみ) を含む試験プレート (96 ウェルハーフエリアプレート) の各ウェルに、2.5 μL の ATP 溶液 (アッセイ緩衝液で 250 μM 濃度に希釈した ATP) および 2.5 μL の上記微小管 / KSP 溶液を添加した。プレートを RT で 2 時間インキュベートした。インキュベーション後、6.5 μL の Biomol Green (無機ホスフェートの遊離を検出するマラカイトグリーン・ベースの色素) と 0.015% Tween 20 を各ウェルに添加した。プレートをさらに 15 ~ 20 分間インキュベートし、650 nm での吸光度を Molecular Devices 分光光度計を使用して測定した。650 nm の吸光度の量は、サンプル中の KSP 活性の量に比例する。各阻害剤または試験化合物の IC₅₀ を、各濃度での 650 nm の吸光度の低下に基づき、Excel 用 XLFit または GraphPad Software Inc. の Prism データ解析ソフトウェアを使用して、非線形回帰により決定した。

30

【0192】

好ましい本発明の化合物は、実施例 7 に記載のアッセイプロトコールで測定して、約 1 mM 未満の IC₅₀ の生物学的活性を有し、好ましい態様は約 2.5 μM 未満の生物学的活性を有し、特に好ましい態様は約 100 nM 未満の生物学的活性を有し、最も好ましい態様は、約 100 nM 未満の生物学的活性を有する。

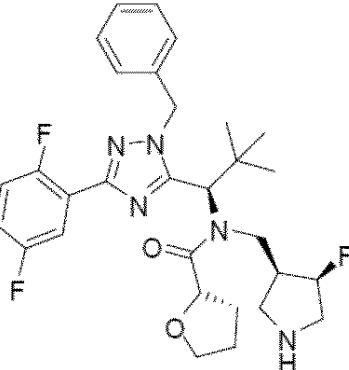
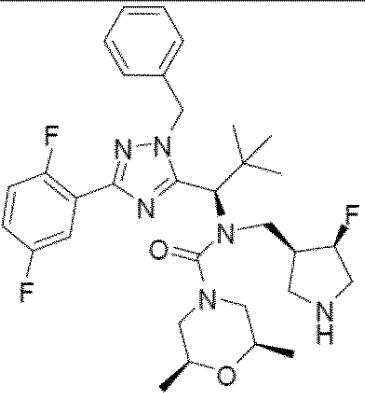
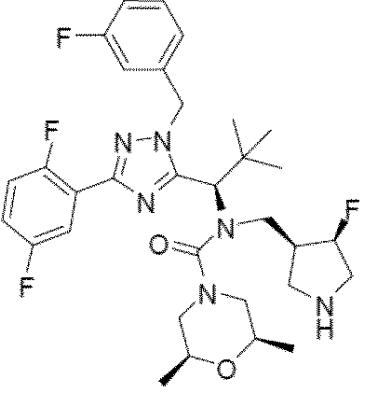
40

【0193】

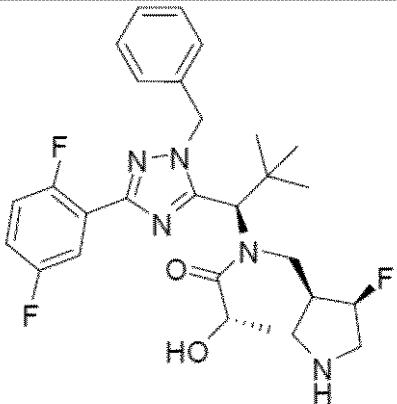
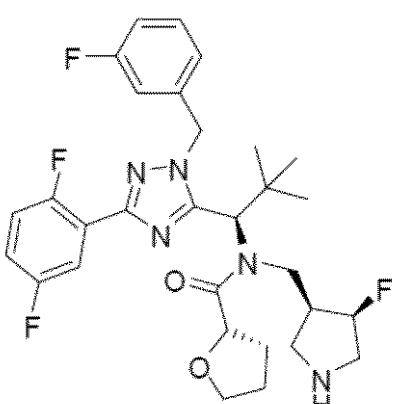
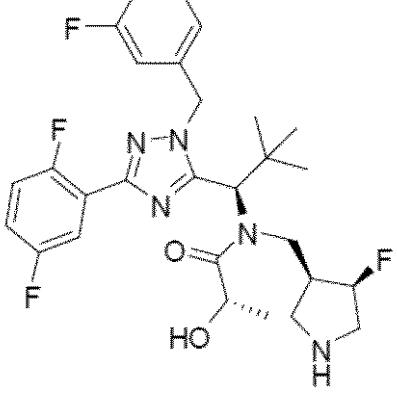
表 1 は本発明を代表する説明的例の化合物についての構造、IC₅₀ 値、マススペクトルデータおよび保持時間を示す。

【表 14】

表 1

化合物番号	構造	生物学的活性 (IC ₅₀)	保持時間 (min)	質量 (MH ⁺)	方法
1		0.96 nM	0.99	556.4	LC/MS (uplc)
2		0.83 nM	1.06	599.5	LC/MS (uplc)
3		0.74 nM	1.06	617.5	LC/MS (uplc)

【表 15】

化合物 #	構造	生物学的 活性 (IC ₅₀)	保持時間 (min)	質量 (MH ⁺)	方法
4		0.60 nM	1.05	530.3	LC/MS (uplc)
5		1.46 nM	0.98	574.4	LC/MS (uplc)
6		0.83 nM	0.94	548.3	LC/MS (uplc)

【0194】

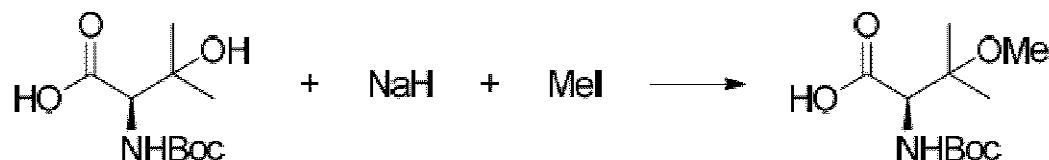
さらなる本発明の化合物は下の表2にある。これらの化合物を、上に記載のものに準じて製造し、R¹にアルコキシ基を挿入した。これらの化合物のアルコキシ含有部分は次の実施例に説明のとおり製造できる。

【0195】

実施例 9

(R)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-ヒドロキシ-3-メチルブタン酸のメチル化

【化75】

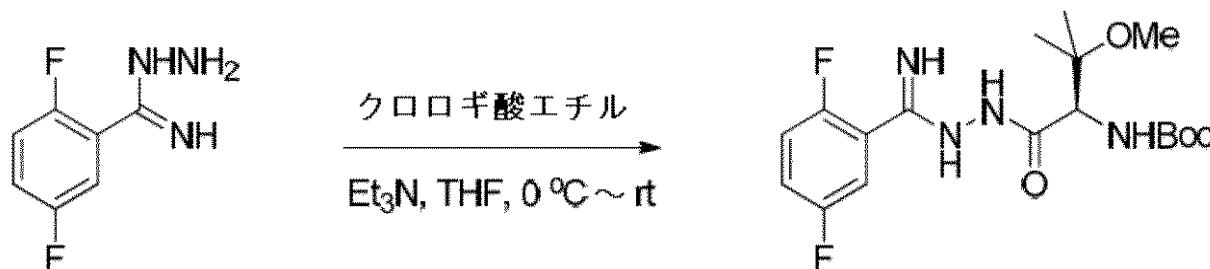


鉱油中の水素化ナトリウム懸濁液(60% w/t)(3.86 g、96 mmol)の乾燥 THF(60 mL)溶液に、(R)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-ヒドロキシ-3-メチルブタン酸(7.5 g、32.2 mmol)のTHF(50 mL)溶液を0℃でゆっくり添加した。1時間、室温で攪拌後、ヨードメタン(4.31 ml、38.6 mmol)を添加した。反応混合物を室温で一夜攪拌した。水で反応停止後、反応混合物をエーテルで抽出した。水層を、6N HClの添加によりpH=3まで酸性化し、EtOAcで抽出した。有機層を塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、ブフナー漏斗で濾過し、濃縮して、粗(R)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-メチルブタン酸(7 g、28.3 mmol、88%)を得て、それをさらに精製せずに次工程の反応に使用した。LC/MS (uplc): MH⁺ 160.1, 0.68 min.

【0196】

2,5-ジフルオロベンズイミドヒドラジドのアシリ化

【化76】



粗(R)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-メチルブタン酸(4 g、16.2 mmol)を、Et₃N(3.38 ml、24.26 mmol)、クロロギ酸エチル(1.931 g、17.79 mmol)の無水THF(32.4 ml、0.5 M)を-5℃～0℃で添加することにより混合無水物に変換した。混合物を-5℃で30分間攪拌した。得られた固体を濾別し、さらに無水THFを添加して、沈殿を洗浄した。得られた反応溶液を2,5-ジフルオロベンズイミドヒドラジド(2.77 g、16.18 mmol)のTHF溶液に-5℃で添加した。反応物を室温まで徐々に温め、一夜攪拌した。反応が完了したら、混合物をEtOAcおよびH₂Oに分配した。有機層を分離し、H₂O、塩水で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて、粗生成物を得て、それをシリカゲルカラム(50% EtOAcのヘキサン溶液)で精製して、(1-(2-((2,5-ジフルオロフェニル)(イミノ)メチル)ヒドラジニル)-3-メトキシ-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)カルバミン酸(R)-tert-ブチル(1 g、15%)を得た。LC/MS (uplc): MH⁺ 401.2, 0.61 min.

【0197】

(1-(3-(2,5-ジフルオロフェニル)-1H-1,2,4-トリアゾール-5-イル)-2-メトキシ-2-メチルプロピル)カルバミン酸(S)-tert-ブチルの合成

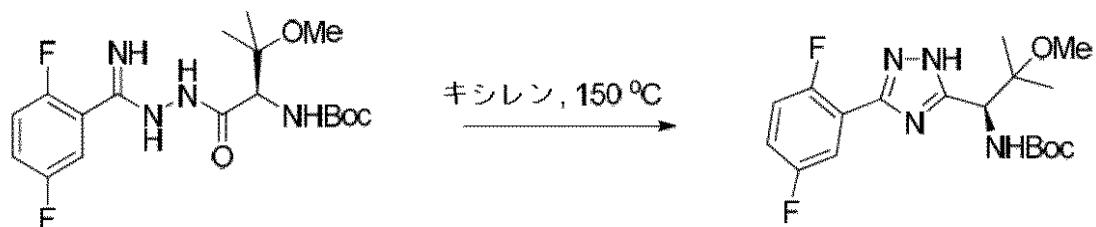
10

20

30

40

【化77】



1 - (2 - ((2 , 5 - ジフルオロフェニル)(イミノ)メチル)ヒドラジニル) - 3 , 3 - ジメチル - 1 - オキソブタン - 2 - イルカルバミン酸(R) - t e r t - ブチル(1 . 0 g , 2 . 4 9 7 mmol)をキシレン(8 mL)に溶解した。Dean-Starkトラップを据え付け、反応混合物を 160 °C に加熱した。反応が完了したら、混合物を室温に冷却し、 E t O A c および飽和 N a H C O 3 水溶液に分配した。有機層を分離し、飽和 N a H C O 3 水溶液、 H 2 O および塩水で洗浄し、 N a 2 S O 4 で乾燥させ、濾過し、減圧下蒸発させて、(1 - (3 - (2 , 5 - ジフルオロフェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 5 - イル) - 2 - メトキシ - 2 - メチルプロピル)カルバミン酸(S) - t e r t - ブチル(0 . 9 7 g , 9 8 %)を得て、それをさらに精製せずに次工程に使用した。LC/MS (uplc): M H + 383.2 , 0.9 min.

【0198】

【表 1 6】

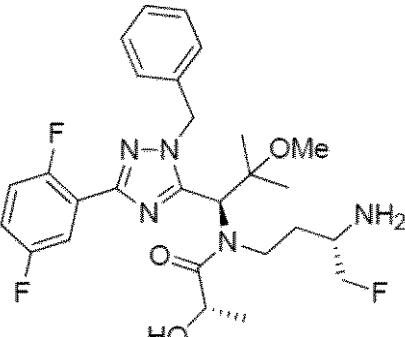
表2

化合物番号	分子構造	KSP IC ₅₀ (uM)	LCMS / Rt (min)	MH ⁺
7		0.00123	0.86	578.2
8		0.00149	0.82	552.3
9		0.04941	0.92	618.3

【表 17】

化合物番号	分子構造	KSP IC ₅₀ (uM)	LCMS / Rt (min)	MH ⁺
10		0.0009	0.88	590.2
11		0.0014	0.86	560.4
12		0.00087	0.85	564.4
13		0.00069	0.89	572.4

【表 18】

化合物番号	分子構造	KSP IC ₅₀ (uM)	LCMS / Rt (min)	MH ⁺
14		0.00234	0.82	534.4

【0199】

このタイプの代表的化合物のNMRデータをここに提供する：

【表 19】

化合物番号	¹ H NMR データ
7	¹ H NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) δ 7.87 - 7.73 (m, 1H), 7.45 - 7.31 (m, 1H), 7.32 - 7.11 (m, 4H), 7.11 - 6.95 (m, 1H), 6.2 (s, 1H), 5.61 - 5.29 (m, 2H), 4.81 - 4.69 (m, 1H), 4.51 - 4.3 (m, 1H), 4.29 - 3.97 (m, 3H), 3.95 - 3.80 (m, 1H), 3.75 - 3.61 (m, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.38 - 2.21 (m, 1H), 2.17 - 1.81 (m, 3H), 1.80 - 1.66 (m, 1H), 1.26 - 1.16 (m, 1H), 1.15 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 0.94 - 0.73 (m, 1H)
8	¹ H NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) δ 7.85 - 7.71 (m, 1H), 7.45 - 7.32 (m, 1H), 7.31 - 7.14 (m, 4H), 7.11 - 7.00 (m, 1H), 6.2 (s, 1H), 5.63 - 5.34 (m, 2H), 5.6 - 5.3 (m, 2H), 4.62 - 4.40 (m, 2H), 4.38 - 4.23 (m, 1H), 4.21 - 3.98 (m, 2H), 3.69 - 3.55 (m, 1H), 3.23 - 3.09 (m, 3H), 2.05 - 1.94 (m, 1H), 1.76 - 1.56 (m, 1H), 1.50 - 1.37 (m, 1H), 1.26 - 1.15 (m, 2H), 1.14 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.90 - 0.74 (m, 1H)
10	¹ H NMR (CD ₃ OD, 400 MHz) δ 7.8 (m, 1H), 7.4 (m, 1H), 7.34 - 7.14 (m, 4H), 7.09 (m, 1H), 6.2 (s, 1H), 5.67 - 5.39 (m, 2H), 4.78 (m, 1H), 4.36 - 3.99 (m, 3H), 3.99 - 3.80 (m, 1H), 3.55 - 3.37 (m, 1H), 3.38 - 3.32 (m, 1H), 3.12 (s, 3H), 2.87 - 2.69 (m, 1H), 2.55 - 2.22 (m, 2H), 2.22 - 2.04 (m, 2H), 2.04 - 1.79 (m, 2H), 1.46 - 1.31 (m, 1H), 1.28 - 1.10 (m, 4H), 1.10 - 0.93 (m, 3H)
14	¹ H NMR (CD ₃ Cl, 400 MHz): δ 7.80 - 7.68 (m, 1H), 7.4-7.26 (s, 4H), 7.22 - 6.97 (m, 3H), 6.10 - 5.97 (s, 1H), 5.56 - 5.25 (m, 2H), 4.68 (m, 1H), 4.30 - 3.89 (m, 3H), 3.86 - 3.51 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 1H), 3.07 (s, 3H), 1.58 - 1.43 (m, 2H), 1.35 (d, 3H), 1.25 (m, 1H), 1.05 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.5 (m, 1H)

【0200】

実施例 8

KSP 阻害剤で処置した腫瘍細胞株における細胞増殖阻害

細胞を、96 ウェルプレートに約 500 細胞 / 96 ウェルプレートウェルの密度で播種し、24 時間増殖させる。次いで、細胞を種々の濃度の化合物で 72 時間処理する。

10

20

30

40

50

0 μ l のCellTiter-Glo(登録商標)溶液を添加する。CellTiter-Glo(登録商標)アッセイは、細胞溶解後にウェルに存在するATPの量を測定する；遊離されたATPは、酵素ルシフェラーゼおよびその基質ルシフェリンを含む酵素反応に使用される。発光の量はATPの量に比例し、それはさらにウェル中の生存細胞数に比例する。(Promega product catalog #G7573, CellTiter-Glo(登録商標) Luminescent Cell Viability Assay参照)。次いで、細胞を暗所で30分間インキュベートする。発光の量を、ウェルあたりの細胞数と相關するWallac Triluxプレートリーダーを使用して各ウェルで測定する。DMSO(0.5%)のみを入れたウェル中の生存細胞数は0%阻害の指標として働き、細胞なしのウェルを細胞増殖の100%阻害として働く。50%増殖阻害(GI₅₀)を生じる化合物濃度を、連続72時間化合物暴露後に、ログ変換した用量値対細胞数(対照のパーセント)のシグモイド用量 - 応答曲線からグラフ的に決定する。

10

20

【0201】 細胞を、96ウェルプレートに約500細胞 / 96ウェルプレートウェルの密度で播種し、24時間増殖させる。次いで、細胞を種々の濃度の化合物で72時間処理する。100 μ l のCellTiter-Glo(登録商標)溶液を添加する。CellTiter-Glo(登録商標)アッセイは、細胞溶解後にウェルに存在するATPの量を測定する；遊離されたATPは、酵素ルシフェラーゼおよびその基質ルシフェリンを含む酵素反応に使用される。発光の量はATPの量に比例し、それはさらにウェル中の生存細胞数に比例する。(Promega product catalog #G7573, CellTiter-Glo(登録商標) Luminescent Cell Viability Assay参照)。次いで、細胞を暗所で30分間インキュベートする。発光の量を、ウェルあたりの細胞数と相關するWallac Triluxプレートリーダーを使用して各ウェルで測定する。DMSO(0.5%)のみを入れたウェル中の生存細胞数は0%阻害の指標として働き、細胞なしのウェルを細胞増殖の100%阻害として働く。50%増殖阻害(GI₅₀)を生じる化合物濃度を、連続72時間化合物暴露後に、ログ変換した用量値対細胞数(対照のパーセント)のシグモイド用量 - 応答曲線からグラフ的に決定する。

使用した細胞株を下に上げる。

細胞増殖アッセイを上記のとおり行う。

【表20】

癌細胞株

C o l o 2 0 5 — 結腸癌

R P M I 1 6 4 0 + 1 0 % F B S + 1 % L — グルタミン
+ 1 % P / S + 1 % N a P y r . + H e p e s
+ 4.5 g / L グルコース + 1 % 重炭酸 N a

M D A 4 3 5 — 乳癌 — 高転移性

E M E M + 1 0 % F B S + 1 % P / S + 1 % L — グルタミン + 1 % N E A A + 1 % N a P y r + 1 % ビタミン類

H C T - 1 5 および H C T 1 1 6 — 結腸癌

10

R P M I 1 6 4 0 + 1 0 % F B S + 1 % L — グルタミン + 1 % P / S

薬剤耐性細胞株

K B 3 . 1 — 結腸上皮癌；親細胞株

イスコブ + 1 0 % F B S + 1 % L — グルタミン + 1 % P / S

K B V 1 — p — 糖タンパク質関連多剤耐性細胞株

R P M I 1 6 4 0 + 1 0 % F B S + 1 % L — グルタミン + 1 % P / S + 0.2 μg / mL ビンブラスチン

K B 8 5 — p — 糖タンパク質関連多剤耐性細胞株

20

D M E M + 1 0 % F B S + 1 % L — グルタミン + 1 % P / S + 1 0 ng / mL コルヒチン

【0202】

好ましい本発明の化合物は、G I₅₀で測定して、記載するアッセイで約1mM未満の生物学的活性を有し、ある態様は約25μM未満の生物学的活性を有し、他の態様は約100nM未満の生物学的活性を有し、さらに別の態様は約100nM未満のG I₅₀を有する。

【0203】

30

実施例9

クローン形成性軟寒天アッセイプロトコール

ヒト癌細胞を、6ウェルプレートに 3×10^5 細胞 / ウェルで播種する。翌日、ある濃度の目的の化合物を各ウェルに添加する。24時間および48時間インキュベーション後、細胞を回収し、洗浄し、計数する。以下の工程をMultimek 96口ボットを使用して行う。ウェル辺り500個の生存細胞を、細胞がウェル底に接着することを防止するためにPolyHemaでコートした96ウェルプレートに播種する。アガロース(3%原液)を融解し、温媒体で希釈し、細胞に最終濃度0.5%で添加する。軟寒天が固化した後、プレートを37℃で6日間インキュベートする。アラマーブルー色素を添加し、プレートをさらに6時間インキュベートする。光学密度の変化をプレートリーダーで測定し、それは軟寒天に形成したコロニー数と相関する。癌性細胞は本寒天上で増殖でき、故に光学密度の増加を示す。光学密度読み取り値の減少は、癌細胞が阻害されていることを意味する。本発明の化合物は光学密度の減少を示すことが企図される。

40

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2011/055840

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D249/08 C07D403/12 C07D405/12 C07D405/14 A61P35/00 A61K31/55

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D A61P A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/063912 A1 (NOVARTIS AG [CH]; XIA YI [US]; MENDENHALL KRIS G [US]; BARSANTI PAUL A) 29 May 2008 (2008-05-29) pages 76-93; table 1 claim 45 -----	1-33
A	US 2006/009472 A1 (WANG WEIBO [US] ET AL) 12 January 2006 (2006-01-12) page 167; compound 326 page 49; example 9 -----	1-33

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

29 July 2011

05/08/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Duval, Eric

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2011/055840

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

1-33

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2011/ 055840

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-11(completely); 12-33(partially)

 triazole derivatives bearing a pyrrolidinyl group in R3

2. claims: 12-33(partially)

 triazole derivatives where R3 is substituted alkyl

3. claims: 34-37

 method for making fluoropyrrolidine intermediates

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2011/055840

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008063912 A1 29-05-2008	AR 063805 A1 AU 2007323998 A1 CA 2668661 A1 CL 32722007 A1 CN 101558049 A CR 10787 A EA 200900631 A1 EC SP099326 A EP 2091926 A1 JP 2010509365 A KR 20090081020 A MA 30959 B1 PE 11692008 A1 SM AP200900045 A US 2010034813 A1 US 2008200462 A1 ZA 200902940 A	18-02-2009 29-05-2008 29-05-2008 24-03-2008 14-10-2009 02-07-2009 30-12-2009 30-06-2009 26-08-2009 25-03-2010 27-07-2009 01-12-2009 24-09-2008 14-07-2009 11-02-2010 21-08-2008 26-05-2010	
US 2006009472 A1 12-01-2006	US 2009258016 A1		15-10-2009

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 D 405/14 (2006.01)	C 0 7 D 405/14 C S P	4 C 2 0 6
C 0 7 D 413/14 (2006.01)	C 0 7 D 413/14	
C 0 7 D 405/12 (2006.01)	C 0 7 D 405/12	
C 0 7 D 403/12 (2006.01)	C 0 7 D 403/12	
A 6 1 K 31/4196 (2006.01)	A 6 1 K 31/4196	
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
C 0 7 D 207/10 (2006.01)	C 0 7 D 207/10	
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 31/7068 (2006.01)	A 6 1 K 31/7068	
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 K 31/513 (2006.01)	A 6 1 K 31/513	
A 6 1 K 31/4375 (2006.01)	A 6 1 K 31/4375	
A 6 1 K 33/24 (2006.01)	A 6 1 K 33/24	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 31/282	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,R,S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ティニヤ・アブラムス

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

(72)発明者 ポール・エイ・バーサンティ

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

(72)発明者 ユ・ディング

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

(72)発明者 デイビッド・ダール

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

(72)発明者 ハン・ウソク

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

(72)発明者 フ・チェン

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

(72)発明者 パン・ユエ

アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 - 2 9 1 6 カリフォルニア州エメリービル、ホートン・ストリート 4 5
6 0 番、ノバルティス・パクシーンズ・アンド・ダイアグノスティックス・インコーポレイテッド

F ターム(参考) 4C063 AA01 AA03 BB09 CC41 CC54 CC73 DD03 DD41 EE01
4C069 AA09 AA13
4C084 AA19 MA02 NA14 ZB26 ZB27 ZC20
4C085 AA14
4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 BC50 BC60 CB09 CB22 EA10 EA17
GA02 GA07 GA08 GA09 GA12 HA12 MA01 MA02 MA04 NA14
ZA20 ZB26 ZB27 ZC20
4C206 AA01 AA02 AA03 AA04 JB16 MA02 NA14 ZB26 ZB27 ZC20