

(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2010-507639

(P2010-507639A)

(43) 公表日 平成22年3月11日(2010.3.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07D 487/04 (2006.01)	C07D 487/04 147	4C050
A61K 31/519 (2006.01)	C07D 487/04 CSP	4C086
A61P 43/00 (2006.01)	A61K 31/519	
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 43/00 111	
A61P 35/02 (2006.01)	A61P 43/00 105	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 83 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2009-533934 (P2009-533934)
 (86) (22) 出願日 平成19年10月19日 (2007.10.19)
 (85) 翻訳文提出日 平成21年6月23日 (2009.6.23)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2007/003998
 (87) 国際公開番号 W02008/050096
 (87) 国際公開日 平成20年5月2日 (2008.5.2)
 (31) 優先権主張番号 0621205.4
 (32) 優先日 平成18年10月25日 (2006.10.25)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 0715614.4
 (32) 優先日 平成19年8月10日 (2007.8.10)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

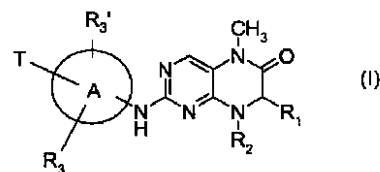
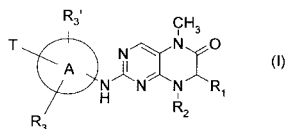
(71) 出願人 507288718
 クロマ セラピューティクス リミテッド
 CHROMA THERAPEUTICS
 LTD
 イギリス、オックスフォードシャー オー
 エックス14 4アールワイ、アビンドン
 、ミルトン パーク 93
 93 Milton Park, Abin
 gdon, Oxfordshire OX
 14 4RY, UNITED KINGD
 OM
 (74) 代理人 100065248
 弁理士 野河 信太郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌の治療に有用なポロ様キナーゼ阻害剤としてのプテリジン誘導体

(57) 【要約】

式(I)の化合物は、ポロ様キナーゼ(PLKs)の阻害剤であり、細胞増殖性疾患の治療に役立つ：



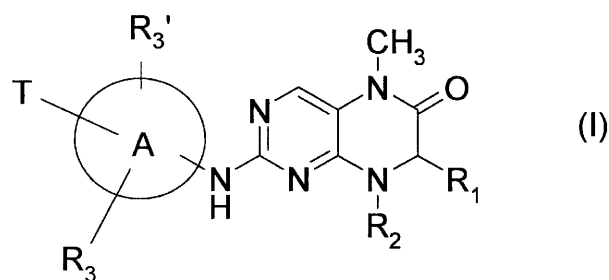
[式中、 R_1 および R_2 は水素、または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル基であり； R_3 および R_3' は独立して、水素、-CN、ヒドロキシ、ハロゲン、任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル、- NR_5R_6 (ここで、 R_5 および R_6 は独立して水素または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキルである) または C_1 - C_4 アルコキシから選択され；環Aは、任意に置換されていてもよい単環式もしくは2環式の炭素環もしくは複素環であるか、または12までの環原子を有する環系であり；Tは、請求項で定義されたリン

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式(I)：

【化 1】



10

[式中、

R_1 は水素、または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル基であり；

R_2 は水素、または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル基であり；

R_3 および R_3' は独立して、水素、-CN、ヒドロキシ、ハロゲン、任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル、- NR_5R_6 （ここで、 R_5 および R_6 は独立して水素または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキルである）または C_1 - C_4 アルコキシから選択され；

20

環Aは、任意に置換されていてもよい単環式もしくは2環式の炭素環もしくは複素環であるか、または12までの環原子を有する環系であり；

Tは式 $R-L^1-Y^1$ -

(式中、

Y^1 は結合手、-O-、-S-、- NR_6 -、-(C=O)-、- $S(O_2)$ -、-(C=O) NR_6 -、- NR_6 (C=O)-、- $S(O_2)NR_6$ -、- $NR_6S(O_2)$ -、または- NR_6 (C=O) NR_9 -（ここで、 R_6 および R_9 は独立して水素または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキルである）であり；

L^1 は式-(Alk^1) $_m$ (Q) $_n$ (Alk^2) $_p$ -

(式中、

30

m 、 n および p は独立して0または1であり、

Qは、(i) 任意に置換されていてもよい、5～13員の単環式もしくは2環式の2価の炭素環式基もしくは複素環式基であるか、または(ii) p が0である場合は、式- Q^1-X^2 -の2価基（式中、 X^2 は-O-、-S-または- NR^A -（ここで、 R^A は水素または任意に置換されていてもよい C_1 - C_3 アルキルである）であり、 Q^1 は任意に置換されていてもよい、5～13員の単環式もしくは2環式の2価の炭素環式基もしくは複素環式基である）であり、

Alk^1 および Alk^2 は独立して任意に置換されていてもよい2価の(C_3 - C_6)シクロアルキル基、または任意に置換されていてもよい直鎖状もしくは分枝鎖状の、(C_1 - C_6)アルキレン、(C_2 - C_6)アルケニレンもしくは(C_2 - C_6)アルキニレン基であり、それらは、任意にエーテル(-O-)、チオエーテル(-S-)もしくはアミノ(- NR^A -)結合（ここで、 R^A は水素または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_3)アルキルである）を含むか、またはこれらで終結していてもよい）の2価基であり；

40

Rは式(X)または(Y)：

【化 2】



(式中、

R_7 はカルボン酸基(-COOH)、または1以上の細胞内カルボキシルエステラーゼ酵素によりカルボン酸基に加水分解され得るエステル基であり；

10

R_8 は水素；または任意に置換されていてもよい C_1 - C_6 アルキル、 C_3 - C_7 シクロアルキル、アリールもしくはヘテロアリール、または $-(C=O)R_6$ 、 $-(C=O)OR_6$ もしくは $-(C=O)NR_6$ （ここで、 R_6 は水素または任意に置換されていてもよい $(C_1$ - $C_6)$ アルキルである）であり；

D は、5または6の環原子の単環式の複素環（ここで、 R_7 は示された環窒素に隣接する環炭素に結合している）であり、環 D は、5または6の環原子の第2の炭素環または複素環と任意に縮合していてもよく、その場合、波線と交差して示された結合は、前記の第2の環中の環原子からであり得る）の基である）の基である]

の化合物、またはその塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物。

【請求項 2】

20

R_1 がエチルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項 3】

R_2 がシクロペンチルである、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項 4】

環Aがフェニル環である、請求項1～3のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項 5】

R_3 および R_3' が水素、メトキシ、トリフルオロメトキシ、-CN、ヒドロキシ、クロロ、フルオロ、メチル、トリフルオロメチル、エチル、n-およびiso-プロピル、アリル、 $-CH_2CH$ 、シクロプロピル、シクロペンチル、シクロヘキシル、 $-NR_5R_6$ （ここで、 R_5 および R_6

は独立して水素、メチルまたはエチルである）である、請求項1～4のいずれか一つに記載の化合物。

30

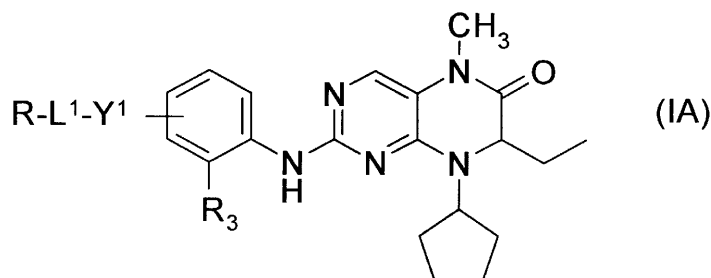
【請求項 6】

R_3 がメトキシ、フルオロまたはクロロであり、 R_3' が水素、フルオロまたはクロロである、請求項1～4のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項 7】

式(IA)：

【化 3】



40

(式中、 R_3 はメトキシ、フルオロまたはクロロであり、残りの可変部は請求項1で定義されたとおりである)

を有する、請求項1に記載の化合物。

【請求項 8】

R_7 が式 $-(C=O)OR_{10}$ [式中、 R_{10} は $R_{11}R_{12}R_{13}C-$ （ここで、

50

(i) R_{11} は水素または任意に置換されていてもよい (C_1-C_3) アルキル- $(Z^1)_a$ - $[(C_1-C_3)$ アルキル] $_b$ -もしくは (C_2-C_3) アルケニル- $(Z^1)_a$ - $[(C_1-C_3)$ アルキル] $_b$ - (ここで、 a および b は独立して0または1であり、 Z^1 は-O-、-S-または-NR $_{14}$ - (ここで、 R_{14} は水素または (C_1-C_3) アルキルであり； R_{12} および R_{13} は独立して水素または (C_1-C_3) アルキル-である)である)であるか；

(ii) R_{11} は水素または任意に置換されていてもよい $R_{15}R_{16}N$ - (C_1-C_3) アルキル- (ここで、 R_{15} は水素または (C_1-C_3) アルキルであり、 R_{16} は水素または (C_1-C_3) アルキルであるか；または R_{15} および R_{16} はそれらが結合する窒素と一緒にあって、任意に置換されていてもよい、5-もしくは6-環原子の単環式の複素環、または8~10の環原子の2環式の複素環系を形成し、 R_{12} および R_{13} は独立して水素または (C_1-C_3) アルキルである)であるか；または

(iii) R_{11} および R_{12} はそれらが結合する炭素と一緒にあって、任意に置換されていてもよい、3~7の環原子の単環式の炭素環、または8~10の環原子の2環式の炭素環系を形成し、 R_{13} は水素である)

である]である、請求項1~7のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項9】

R_{10} がメチル、エチル、 n -または iso -プロピル、 n -、 sec -または $tert$ -ブチル、シクロヘキシル、アリル、フェニル、ベンジル、2-、3-または4-ピリジルメチル、 N -メチルピペリジン-4-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、メトキシエチル、インダニル、ノルボニル、ジメチルアミノエチル、モルホリノエチルである、請求項8に記載の化合物。

【請求項10】

R_{10} がシクロペンチルまたは $tert$ -ブチルである、請求項8に記載の化合物。

【請求項11】

R が式(X)の基であり、 R_8 が水素である、請求項1~10のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項12】

基 L^1 において、 Y^1 が-NHC(=O)-である、請求項1~11のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項13】

基 L^1 において、存在するとき、 Alk^1 および Alk^2 基が-CH $_2$ -、-CH $_2$ CH $_2$ -、-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -、-CH $_2$ CH(OH)CH $_2$ -、-CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ -、-CH=CH-、-CH=CHCH $_2$ -、-CH $_2$ CH=CH-、-CH $_2$ CH=CHCH $_2$ -、-CC-、-CCCH $_2$ -、-CH $_2$ CC-、-CH $_2$ CCCH $_2$ -、-CH $_2$ W-、-CH $_2$ CH $_2$ W-、-CH $_2$ CH $_2$ WCH $_2$ -、-CH $_2$ CH $_2$ WCH(CH $_3$)-、-CH $_2$ WCH $_2$ CH $_2$ -、-CH $_2$ WCH $_2$ CH $_2$ WCH $_2$ -、-WCH $_2$ CH $_2$ -、-CH $_2$ CH $_2$ N(CH $_2$ CH $_2$ OH)CH $_2$ - (ここで、 W は-O-、-S-、-NH-または-N(CH $_3$)-である)ならびに2価のシクロプロピル、シクロペンチルおよびシクロヘキシル基から選択される、請求項1~12のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項14】

基 L^1 において、存在するとき、 Q が2価のフェニレン、ピリジニレン、ピリミジニレン、ピラジニレン、ピペリジニレン、ピペラジニレン、ピロリデニレン、ピロレン、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレンまたは3-アザ-ピシクロ[3.1.0]ヘキシレン基である、請求項1~13のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項15】

存在するとき、 Q が2価の1,4-フェニレン、1,4-ピペリジニレンまたは1,4-ピペラジニレン基である、請求項1~13のいずれか一つに記載の化合物。

【請求項16】

シクロペンチル 4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]- L -フェニルアラニネート、

シクロペンチル 0-(4-{[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル}フェニル)- L -ホモセリネート、

$tert$ -ブチル 4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]- L -フェニルアラ

10

20

30

40

50

ラニネート、

tert-ブチル 0-(4-{[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル}フェニル)-L-ホモセリネート、

シクロペンチル 4-{2-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]エチル}ピペラジン-2-カルボキシレート、

tert-ブチル 4-{2-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]エチル}ピペラジン-2-カルボキシレート、

シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート、

tert-ブチル 5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}-L-ノルバリネート、

シクロペンチル 5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}-L-ノルバリネート、

t-ブチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート、

t-ブチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メチルベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート、

シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メチルベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート、

t-ブチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-フルオロベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート、

シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-フルオロベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート、

からなる群から選択される請求項1に記載の化合物、およびその塩、N-オキサイド、水和物または溶媒和物。

【請求項 17】

請求項1～16のいずれか一つに記載の化合物を、医薬的に許容される担体とともに含む医薬組成物。

【請求項 18】

インビトロまたはインビボでのPLK1活性の阻害用組成物の製造における、請求項1～16のいずれか一つに記載の化合物の使用。

【請求項 19】

PLK1活性が介在する病態に罹患した患者に、請求項1～16のいずれか一つに記載の式(I)の化合物の有効量を投与することを含む、前記の病態の治療方法。

【請求項 20】

細胞増殖性疾患の治療のための、請求項18に記載の使用または請求項19に記載の方法。

【請求項 21】

固形癌の治療のための、請求項18に記載の使用または請求項19に記載の方法。

【請求項 22】

10

20

30

40

50

血液腫瘍の治療のための、請求項18に記載の使用または請求項19に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この発明は、一連のアミノ酸エステル、それらを含む組成物、それらの製造方法およびポロ様キナーゼ「PLK」阻害剤としての医薬におけるそれらの使用に関する。ポロ様キナーゼ(PLKs)は、増殖する細胞の有糸分裂開始を制御し、かつ細胞分裂がうまくいくために必要な有糸分裂の多くの様相を調節する重要な酵素である。4つの既知のヒトのPLKsのうちで、PLK1が最も特徴付けられているものであり、それは、弱い疾病成果の予後の指標を高い頻度で構成する、異常な上昇をとめない多くの腫瘍タイプで過剰発現される。本化合物は、癌のような細胞増殖性疾患の治療に有用であり得る。本発明は、ジヒドロプテリジン誘導体である化合物を包含する。

10

【背景技術】

【0002】

発明の背景

キイロショウジョウバエからの原型のポロキナーゼとそれらの機能および配列の類似性の後に命名されたSer/ThrプロテインキナーゼファミリーのPLKsは、有糸分裂において種々の役割を担っている(Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2001, 2, 21-32.)。酵母菌(サッカロミセス セレビジエおよびS. ポンベ)において、単一のPLKsが存在し、一方、4つの別個のPLKsが現在のところ哺乳類において確認されている。ヒトのPLK1 (Cell Growth Differ., 1994, 5, 249-257)、PLK2 (血清-誘導性キナーゼ, SNK, Mol. Cell. Biol., 1992, 12, 4164-4169)、PLK3 (増殖-関連キナーゼ, PRK J. Biol. Chem. 1997, 272, 28646-28651)およびPLK4 (Oncol. Rep., 1997, 4, 505-510)は、構造的に相同性であり、2つの保存ドメイン、N-末端触媒キナーゼドメインならびにいわゆるポロボックス(polo boxes)を構成するC-末端領域を含んでいる。一方、PLK1、PLK2およびPLK3は全ての組織中で発現されるのに対して、PLK4は独特の生理学的役割を有するように見え、大人におけるPLK4 mRNAの分布は、精巣および胸腺のような特定の組織に限定される。

20

【0003】

PLK1は、PLKファミリー中で最も特徴付けられているメンバーであり、それは、無脊椎動物に存在する単一のPLKsの既知の機能のほとんどを遂行するように思える(Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2004, 5, 429-441)。PLK1蛋白のレベルは、細胞周期依存性の様相で変動し、そのキナーゼ活性は、真核細胞分裂周期の第二間期と分裂期との間(G2/M)の移行期に頂点に達する。有糸分裂の終了時に、PLK1レベルはユビキチン依存性の蛋白質分解の結果として下がる。PLK1は、サイクリン依存性キナーゼCDK1/サイクリンB複合体の活性化、すなわち有糸分裂の入口のためのマスタースイッチによる有糸分裂の開始に関与することが報告されている(有糸分裂 - 促進因子, MPF Nature, 1990, 344, 503-508)。

30

【0004】

このことは、PLK1が、2種特異性ホスファターゼCDC25Cをリン酸化し、それにより活性化し、次いで、CDK1 pThr14およびpTyr15部位での脱リン酸化により、CDK1/サイクリンBの活性の分裂前のMYT1-およびWEE1-介在の抑制を除去するときに起こる(Cell, 1991, 67, 197-211)。有糸分裂の入口で、PLK1およびPLK3によるCDC25Cのリン酸化は、核中へのその転座をもたらす。CDK1活性化による有糸分裂への入口を制御すること以外に、PLK1は、有糸分裂による進行を調節するさらなる役割を有している。それは、中心体成熟および微小管形成中心の調節を含む双極子紡錘体形成に、姉妹染色分体の分離を含む有糸分裂の次の工程に、そして最終的に細胞質分裂に関与する(Dev. Cell, 2003, 5, 127-138)。

40

【発明の概要】

【0005】

本発明は、WO2004076454に開示されている化合物に関する。それらは、PLK1およびそのアイソフォームの阻害剤である。したがって、本化合物は、医薬、例えば癌を含む種々の増殖性の疾病状態の治療に役立つ。本化合物は、アミノ酸基調(motif)の分子または細胞

50

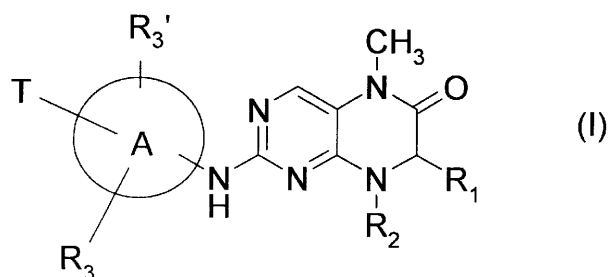
内カルボキシエステラーゼにより加水分解され得るアミノ酸エステル基調の分子中の存在により特徴付けられる。親油性アミノ酸エステル基調を有する本発明の化合物は、細胞膜を横断し、細胞内カルボキシエステラーゼにより酸に加水分解される。極性の加水分解生成物は細胞膜を容易に横断しないので、それが細胞に蓄積する。それゆえ、本化合物のPLK1活性は長期に及び、細胞内で高められる。

【 0 0 0 6 】

発明の詳細な説明

本発明によると、式(I)：

【化 1】



10

【 0 0 0 7 】

[式中、

R_1 は水素、または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル基であり；

20

R_2 は水素、または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル基であり；

R_3 および R_3' は独立して、水素、-CN、ヒドロキシ、ハロゲン、任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_2 - C_6)アルケニル、(C_2 - C_6)アルキニルもしくは(C_3 - C_6)シクロアルキル、- NR_5R_6 (ここで、 R_5 および R_6 は独立して水素または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキルである) または C_1 - C_4 アルコキシから選択され；

【 0 0 0 8 】

環Aは、任意に置換されていてもよい単環式もしくは2環式の炭素環もしくは複素環であるか、または12までの環原子を有する環系であり；

30

Tは式 $R-L^1-Y^1$ -

(式中、

Y^1 は結合手、-O-、-S-、- NR_6 -、-(C=O)-、- $S(O_2)$ -、-(C=O) NR_6 -、- NR_6 (C=O)-、- $S(O_2)N$ R_6 -、- $NR_6S(O_2)$ -、または- NR_6 (C=O) NR_9 - (ここで、 R_6 および R_9 は独立して水素または任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキルである) であり；

【 0 0 0 9 】

L^1 は式-(Alk^1) $_m$ (Q) $_n$ (Alk^2) $_p$ -

(式中、

m 、 n および p は独立して0または1であり、

Qは、(i) 任意に置換されていてもよい、5~13員の単環式もしくは2環式の2価の炭素環式基もしくは複素環式基であるか、または(ii) p が0である場合は、式- Q^1-X^2 -の2価基 (式中、 X^2 は-O-、-S-または- NR^A - (ここで、 R^A は水素または任意に置換されていてもよい C_1 - C_3 アルキルである) であり、 Q^1 は任意に置換されていてもよい、5~13員の単環式もしくは2環式の2価の炭素環式基もしくは複素環式基である) であり、

40

【 0 0 1 0 】

Alk^1 および Alk^2 は独立して任意に置換されていてもよい2価の C_3 - C_7 シクロアルキル基、または任意に置換されていてもよい直鎖状もしくは分枝鎖状の、 C_1 - C_6 アルキレン、 C_2 - C_6 アルケニレンもしくは C_2 - C_6 アルキニレン基であり、それらは、任意にエーテル(-O-)、チオエーテル(-S-)もしくはアミノ(- NR^A -)結合 (ここで、 R^A は水素または任意に置換されていてもよい C_1 - C_3 アルキルである) を含むか、またはこれらで終結していてもよい) の2

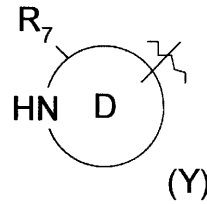
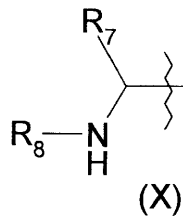
50

価基であり；

【 0 0 1 1 】

Rは式(X)または(Y)：

【 化 2 】



10

【 0 0 1 2 】

(式中、

R₇はカルボン酸基(-COOH)、または1以上の細胞内カルボキシルエステラーゼ酵素によりカルボン酸基に加水分解され得るエステル基であり；

R₈は水素；または任意に置換されていてもよいC₁-C₆アルキル、C₃-C₇シクロアルキル、アリールもしくはヘテロアリール、または-(C=O)R₆、-(C=O)OR₆もしくは-(C=O)NR₆（ここで、R₆は水素または任意に置換されていてもよい(C₁-C₆)アルキルである）であり；

【 0 0 1 3 】

Dは、5または6の環原子の単環式の複素環（ここで、R₇は示された環窒素に隣接する環炭素に結合している）であり、環Dは、5または6の環原子の第2の炭素環または複素環と任意に縮合していてもよく、その場合、波線と交差して示された結合は、前記の第2の環中の環原子からであり得る）の基である）の基である]

の化合物、またはその塩、N-オキシド、水和物もしくは溶媒和物が提供される。

20

【 0 0 1 4 】

本発明の化合物において、R₁が水素以外であるとき、R₁置換基が結合している炭素原子は不斉である。好ましくは、その不斉中心での立体化学はRである。

その他の広い観点において、本発明は、PLK1の活性を阻害するための組成物の製造における、前記で定義された式(1)の化合物、またはそのN-オキシド、塩、水和物もしくは溶媒和物の使用を提供する。

30

【 0 0 1 5 】

本発明に係る化合物は、エキスピボまたはインピボでのPLK1活性の阻害に役立ち得る。

本発明の一つの観点において、本発明の化合物は、固形癌ならびに白血病およびリンパ腫のような血液腫瘍のような細胞増殖性疾患の治療のための組成物の製造において用いられ得る。

別の観点において、本発明は、前記の疾病に罹患した患者に、前記で定義された式(1)の化合物の有効量を投与することを含む、前記疾病のタイプの治療のための方法を提供する。

【 0 0 1 6 】

用語

40

本明細書で用いられる用語、「(C_a-C_b)アルキル」(ここで、aおよびbは整数である)は、a~bの炭素原子を有する直鎖または分枝鎖状のアルキル基をいう。したがって、aが1でbが6である場合、例えば、該用語は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、n-ペンチルおよびn-ヘキシルを含む。

【 0 0 1 7 】

本明細書で用いられる用語、「2価の(C_a-C_b)アルキレン基」(ここで、aおよびbは整数である)は、a~bの炭素原子および2つの未飽和原子価を有する飽和炭化水素鎖をいう。

【 0 0 1 8 】

本明細書で用いられる用語、「(C_a-C_b)アルケニル」(ここで、aおよびbは整数である)は、a~bの炭素原子を有し、該当する場合にはEまたはZ立体化学のいずれかの2重結合の

50

少なくとも一つを有する、直鎖または分枝鎖状のアルケニル部分をいう。該用語は、例えば、ビニル、アリル、1-および2-ブテニル、ならびに2-メチル-2-プロペニルを含む。

【0019】

本明細書で用いられる用語、「2価の(C_a-C_b)アルケニレン基」は、a~bの炭素原子、少なくとも一つの2重結合、および二つの未飽和原子価を有する炭化水素鎖を意味する。

【0020】

本明細書で用いられる用語、「C_a-C_bアルキニル」(ここで、aおよびbは整数である)は、2~6の炭素原子を有し、加えて一つの3重結合を有する直鎖または分枝鎖状の炭化水素基をいう。該用語は、例えば、エチニル、1-プロピニル、1-および2-ブチニル、2-メチル-2-プロピニル、2-ペンチニル、3-ペンチニル、4-ペンチニル、2-ヘキシニル、3-ヘキシニル、4-ヘキシニルならびに5-ヘキシニルを含むだろう。

10

【0021】

本明細書で用いられる用語、「2価の(C_a-C_b)アルキニレン基」(ここで、aおよびbは整数である)は、2~6の炭素原子および少なくとも一つの3重結合を有する2価の炭化水素鎖をいう。

【0022】

本明細書で用いられる用語、「炭素環式」は、環原子が全て炭素である、16までの環原子を有する単環、2環または3環式基をいい、アリールおよびシクロアルキルを含む。

【0023】

本明細書で用いられる用語、「シクロアルキル」は、3~8の炭素原子を有する単環式の飽和炭素環式基をいい、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルを含む。

20

【0024】

本明細書で用いられる非限定的な用語、「アリール」は、単環、2環または3環式の炭素環式芳香族基をいい、共有結合により直接連結された二つの単環式の炭素環式芳香族環を有する基を含む。そのような基の例は、フェニル、ビフェニルおよびナフチルである。

【0025】

本明細書で用いられる非限定的な用語、「ヘテロアリール」は、S、NおよびOから選択される一つ以上のヘテロ原子を含む単環、2環または3環式の芳香族基であり、そのような二つの単環式環を有する基、またはそのような一つの単環式環と一つの単環式アリール環を含み、それらは共有結合により直接連結される。そのような基の例は、チエニル、ベンゾチエニル、フリル、ベンゾフリル、ピロリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、チアゾリル、ベンゾチアゾリル、イソチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、ベンズオキサゾリル、イソオキサゾリル、ベンズイソオキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、ベンゾトリアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、インドリルおよびインダゾリルである。

30

【0026】

本明細書で用いられる非限定的な用語、「ヘテロサイクリル(heterocyclyl)」または「複素環式」は、上で定義した「ヘテロアリール」を含み、その非芳香族の意味において、S、NおよびOから選択される一つ以上のヘテロ原子を含む単環、2環または3環式、非芳香族基、ならびにそのような一つ以上のヘテロ原子を含み、そのようなもう一つの基もしくは単環式の炭素環式基と共有的に結合した単環式の非芳香族基からなる基に関する。

40

【0027】

そのような基の例は、ピロリル、フラニル、チエニル、ピペリジニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、チアジアゾリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピロリジニル、ピリミジニル、モルホリニル、ピペラジニル、インドリル、モルホリニル、ベンゾフラニル、ピラニル、イソオキサゾリル、ベンズイミダゾリル、メチレンジオキシフェニル、エチレンジオキシフェニル、マレイミドおよびスクシンイミド基である。

50

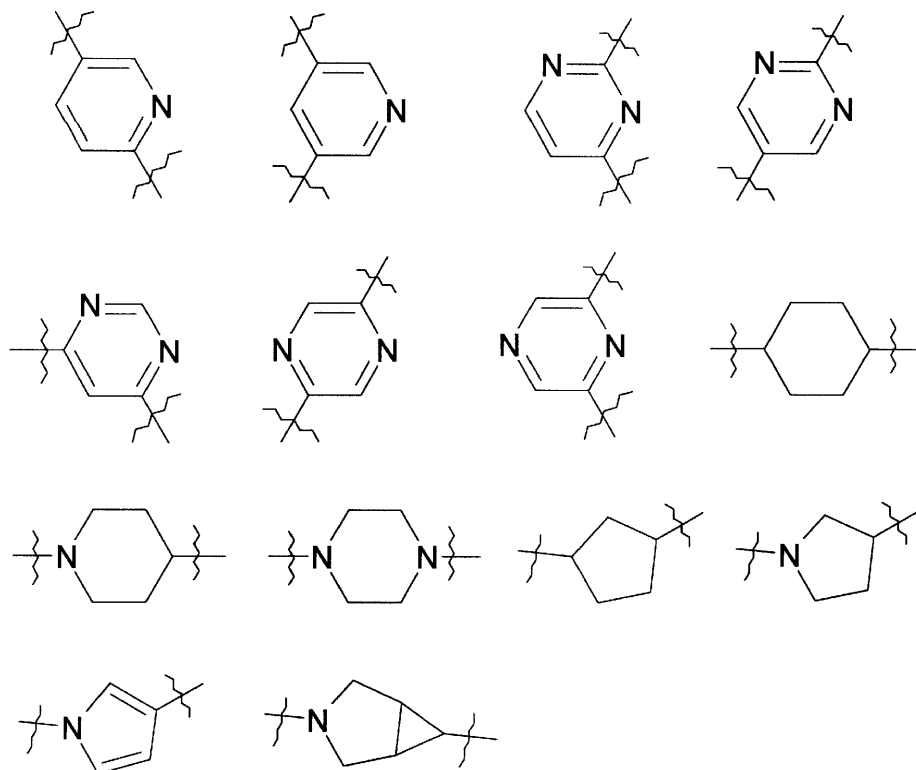
【 0 0 2 8 】

「2価のフェニレン、ピリジニレン、ピリミジニレン、ピラジニレン、ピペリジニレン、ピペラジニレン、ピロリデニレン、ピロレン、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレンまたは3-アザ-ビスクロ[3.1.0]ヘキシレン基」は、二つの未飽和原子価を有する、ベンゼン、ピリジン、ピリミジン、ピラジン、ピペリジン、ピペラジン、ピロリデン、ピロール、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルまたは3-アザ-ビスクロ[3.1.0]ヘキシル環であり、1,3-フェニレン、1,4-フェニレン、および次の：

【 0 0 2 9 】

【 化 3 】

10



20

30

を含む。

【 0 0 3 0 】

本明細書で特に特定されていない限り、ここで用いられている用語、「置換(された)」は、四つまでの共存可能な置換基で置換されていることを意味し、それらの各々は独立して、例えば、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_1-C_6) アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ (C_1-C_6) アルキル、メルカプト、メルカプト (C_1-C_6) アルキル、 (C_1-C_6) アルキルチオ、フェニル、ハロ(フルオロ、ブロモおよびクロロを含む)、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ニトロ、ニトリル $(-CN)$ 、オキソ、 $-COOH$ 、 $-COOR^A$ 、 $-COR^A$ 、 $-SO_2R^A$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-CONHR^A$ 、 $-SO_2NHR^A$ 、 $-CONR^AR^B$ 、 $-SO_2NR^AR^B$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^A$ 、 $-NR^AR^B$ 、 $-OCONH_2$ 、 $-OCONHR^A$ 、 $-OCONR^AR^B$ 、 $-NHCOR^A$ 、 $-NHCOOR^A$ 、 $-NR^BCOOR^A$ 、 $-NHSO_2OR^A$ 、 $-NR^BSO_2OH$ 、 $-NR^BSO_2OR^A$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-NR^ACONH_2$ 、 $-NHCONHR^B$ 、 $-NR^ACONHR^B$ 、 $-NHCONR^AR^B$ または $-NR^ACONR^AR^B$ (ここで、 R^A および R^B は独立して (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_6) シクロアルキル、フェニルまたは5もしくは6の環原子を有する単環式のヘテロアリールであるか、または R^A および R^B が同じN原子に結合している場合には、環式アミノ基(例えばモルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニル、またはテトラヒドロピロリル)を形成する)であり得る。「任意の置換基」は、前記の置換基の一つであり得る。

40

【 0 0 3 1 】

本明細書で用いられる用語、「塩」は、塩基付加塩、酸付加塩および四級塩を含む。酸性である本発明の化合物は、アルカリ金属水酸化物(例えば、ナトリウムおよびカリウム

50

の水酸化物)；アルカリ土類金属水酸化物(例えば、カルシウム、バリウムおよびマグネシウムの水酸化物)のような塩基；有機塩基(例えば、N-メチル-D-グルカミン、コリントリス(ヒドロキシメチル)アミノ-メタン、L-アルギニン、L-リジン、N-エチルピペリジン、ジベンジルアミン等)と塩(医薬的に許容される塩を含む)を形成することができる。

【0032】

塩基であるこれらの化合物(1)は、無機酸(例えば、塩酸もしくは臭化水素酸のようなハロゲン化水素酸、硫酸、硝酸もしくはリン酸等)、および有機酸(例えば、酢酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、サリチル酸、クエン酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、安息香酸、ベンゼンスルホン酸、グルタミン酸、乳酸、およびマンデル酸等)と塩(医薬的に許容される塩を含む)を形成することができる。

10

【0033】

一つ以上の実質的または潜在的なキラル中心を含む本発明の化合物は、不斉炭素原子が存在するために、各キラル中心においてRもしくはSの立体化学を有する数多くのジアオステレオマーとして存在することができる。本発明はそのようなジアオステレオマーおよびそれらの混合物をすべて含む。

【0034】

前記の置換基 R_7 に関する用語の「エステル」または「エステル化されたカルボキシ基」は、基 $R_xO(C=O)-$ (ここで、 R_x は、概念的にアルコール R_xOH から誘導される、エステルを特徴付ける基である)を意味する。

【0035】

置換基 $R_1 \sim R_3$

R_1 は水素、(C_1-C_6)アルキル(例えば、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル)、(C_2-C_6)アルケニル(例えば、アリル)、(C_2-C_6)アルキニル(例えば、 $-CH_2C \equiv CH$)または(C_3-C_6)シクロアルキル(例えば、シクロプロピル、シクロペンチルまたはシクロヘキシル)である。本発明の一つのサブクラスの化合物において、 R_1 はエチルである。

20

【0036】

R_2 は水素、(C_1-C_6)アルキル(例えば、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル)、(C_2-C_6)アルケニル(例えば、アリル)、(C_2-C_6)アルキニル(例えば、 $-CH_2C \equiv CH$)または(C_3-C_6)シクロアルキル(例えば、シクロプロピル、シクロペンチルまたはシクロヘキシル)であるか、または C_{6-14} アリール(例えば、フェニルまたはナフチル)である。本発明の一つのサブクラスの化合物において、 R_2 はシクロペンチルである。

30

【0037】

R_3 および R_3' は独立して、水素、-CN、ヒドロキシ、ハロゲン、(C_1-C_6)アルキル(例えば、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル、(C_2-C_6)アルケニル(例えば、アリル)、(C_2-C_6)アルキニル(例えば、 $-CH_2C \equiv CH$)または(C_3-C_6)シクロアルキル(例えば、シクロプロピル、シクロペンチルまたはシクロヘキシル)、 $-NR_5R_6$ (ここで、 R_5 および R_6 は独立して、水素または任意に置換されていてもよい(C_1-C_6)アルキル(例えば、メチルまたはエチル)である)および C_1-C_4 アルコキシから選択される。本発明の一つのサブクラスの化合物において、 R_3 はメトキシ、フルオロまたはクロロであり、 R_3' は水素、フルオロまたはクロロである。

40

【0038】

環A

環Aは、単環もしくは2環式の炭素環もしくは複素環、または12の環原子までの環系である。そのような環の例は、ピペリジン、ピペラジン、ピリジン、ピリミジン、ピラゾリン、トリアゾリン、フラン、チオフェン、ピロール、チアゾール、イソチアゾール、オキサゾール、イソオキサゾールおよびチアジアゾール環である。現在のところ好ましい環Aは、フェニル、ピリジニルおよびピリミジニルである。

環Aは、前記の任意の置換基、例えばクロロ、プロモまたはフルオロ、トリフルオロメチル、メトキシおよびトリフルオロメトキシのいずれかで置換され得る。

【0039】

50

置換基T

この置換基は、環Aにリンカー基で結合した、式(X)または(Y)の アミノ酸または アミノ酸エステル部分を含む。

本発明のエステル化合物は、細胞内エステラーゼによりカルボン酸に変換される。エステルおよびカルボン酸の両方ともそれ自身でPLK阻害活性を有し得る。それゆえ、本発明の化合物は、エステル体だけでなく、その対応するカルボン酸加水分解生成物も含む。

【0040】

置換基Tにおけるエステル基 R_7 は、1以上の細胞内カルボキシルエステラーゼ酵素によりカルボン酸基に加水分解され得るものでなければならない。本発明の化合物のエステル基を対応する酸に加水分解することができる細胞内カルボキシルエステラーゼ酵素は、3つの既知のヒト酵素アイソタイプのhCE-1、hCE-2およびhCE-3を含む。これらが主酵素である考えられるが、ピフェニルヒドロラーゼ(BHP)のようなその他の酵素もその接合体(conjugates)を加水分解するときに役割を有し得る。一般的に、もしカルボキシルエステラーゼが遊離のアミノ酸エステルをもとの酸に加水分解するならば、それは修飾物質に共有結合するエステル基調も加水分解するであろう。それゆえ、本明細書に記載されたブロークンセルアッセイ(broken cell assay)は、所望の加水分解プロファイルを有するエステルのための単純、迅速かつ簡単な1次スクリーン(screen)を提供する。次いで、そのような方法で選択されたエステル基調が、選ばれた接合化学(chosen conjugation chemistry)により分子の残りとは接合されたとき、それがそのような背景においてもまだカルボキシルエステラーゼ基質であることを確認するために、同じカルボキシルエステラーゼで再アッセイされ得る。

10

20

【0041】

それらが細胞内カルボキシルエステラーゼで加水分解され得るとの要件を前提として、特定のエステル基 R_7 の例は、式 $-(C=O)OR_{10}$

[式中、 R_{10} は $R_{11}R_{12}R_{13}C-$ (ここで、

(i) R_{11} は水素または任意に置換されていてもよい (C_1-C_3) アルキル- $(Z^1)_a$ - $[(C_1-C_3)$ アルキル] $_b$ -もしくは (C_2-C_3) アルケニル- $(Z^1)_a$ - $[(C_1-C_3)$ アルキル] $_b$ - (ここで、aおよびbは独立して0または1であり、 Z^1 は-O-、-S-または-N R_{14} - (ここで、 R_{14} は水素または (C_1-C_3) アルキルである)である)であり； R_{12} および R_{13} は独立して水素または (C_1-C_3) アルキル-であるか；

30

【0042】

(ii) R_{11} は水素または任意に置換されていてもよい $R_{15}R_{16}N-(C_1-C_3)$ アルキル- (ここで、 R_{15} は水素または (C_1-C_3) アルキルであり、 R_{16} は水素または (C_1-C_3) アルキルであるか；または R_{15} および R_{16} はそれらが結合する窒素と一緒に、任意に置換されていてもよい、5-もしくは6-環原子の単環式の複素環、または8~10の環原子の2環式の複素環系を形成する)であり、 R_{12} および R_{13} は独立して水素または (C_1-C_3) アルキル-であるか；または

【0043】

(iii) R_{11} および R_{12} はそれらが結合する炭素と一緒に、任意に置換されていてもよい、3~7の環原子の単環式の炭素環、または8~10の環原子の2環式の炭素環系を形成し、 R_{13} は水素である]

40

のものを含む。

【0044】

これらのクラスの中で、 R_{10} は、例えばメチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル、n-、sec-もしくはtert-ブチル、シクロヘキシル、アリル、フェニル、ベンジル、2-、3-もしくは4-ピリジルメチル、N-メチルピペリジン-4-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、メトキシエチル、インダニル、ノルボニル、ジメチルアミノエチル、またはモルホリノエチルである。現在のところ、 R_{10} がシクロペンチルまたはtert-ブチルであるのが好ましい。

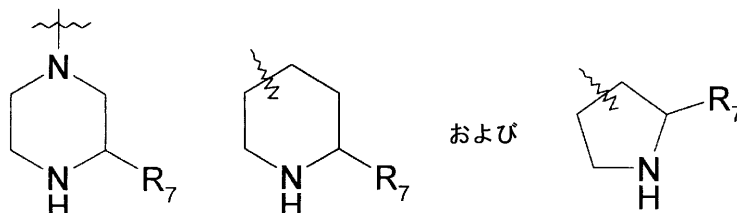
【0045】

環D

Rが式(Y)の基である場合、Rの例は、

50

【化 4】



(ここで、 R_7 は前記で定義および議論されたとおりである)

を含む。

10

【0046】

基 R_8

基 R_8 は、式(1)中のRが式(X)の基である場合に本発明の化合物中に存在する。

R_8 は、例えば、任意に置換されていてもよい(C_1 - C_6)アルキル、(C_3 - C_6)シクロアルキル、アリールまたはヘテロアリール(例えば、メチル、エチル、*n*-もしくはイソプロピル、シクロプロピル、シクロペンチル、シクロヘキシル、フェニル、またはピリジル)であり得る。 R_8 は、例えば、水素または $-(C=O)R_{16}$ (ここで、 R_{16} は任意に置換されていてもよい、メチル、エチル、*n*-もしくはイソプロピル、または *n*-、*iso*-もしくは*sec*-ブチルのような(C_1 - C_6)アルキル、シクロプロピル、シクロペンチル、シクロヘキシルのような(C_3 - C_6)シクロアルキル、フェニル、ピリジル、チエニル、ベンジルのようなフェニル(C_1 - C_6 アルキル)-、チエニル(C_1 - C_6 アルキル)-もしくはピリジル(C_1 - C_6 アルキル)-、4-メトキシフェニルメチルカルボニル、チエニルメチルまたはピリジルメチルである)でもあり得る。

20

【0047】

R_8 は、例えば $-(C=O)OR_{17}$ または $-(C=O)NHR_{17}$ (ここで、 R_{17} は水素または任意に置換されていてもよい、メチル、エチル、または*n*-もしくはイソプロピルのような(C_1 - C_6)アルキルである)でもあり得る。

現在のところ、 R_8 が水素であるのが好ましい。

【0048】

全身に投与される本発明の化合物に対しては、前全身的(pre-systemic)代謝に対する感受性がより低いので、遅い速度のエステラーゼ開裂を有するエステルが好ましい。それゆえに、標的組織に原型を保って到達する能力が増加し、エステルを、標的組織の細胞内で酸生成物に変換することができる。しかしながら、エステルが、標的組織に直接適用されるか、または例えば吸入により、そこに導かれるかのどちらかの場合の局所投与に対しては、全身の曝露を最小限にし、その結果副作用を最小限にするために、エステルが早い速度のエステラーゼ開裂を有することがしばしば望まれるであろう。もし基Rが結合する炭素原子が無置換である、すなわちRがメチレン($-\text{CH}_2$)-基に結合する場合、そのときエステルは、該炭素が置換されているか、またはフェニルまたはシクロヘキシル環のように環系の一部である場合より、速く開裂する傾向がある。

30

【0049】

基 $-L^1-Y^1-$

40

この基(または結合)は、本阻害剤の環Aに、置換基T中のアミノ酸エステル基調Rを結合するために選ばれる特定の化学戦略から生じる。明らかに、その連結のための化学戦略は広く変化し得る、したがって、可変部 Y^1 と L^1 との多くの組合せが可能である。しかしながら、本阻害剤がその活性部位で酵素と結合する場合、一般的に、アミノ酸エステル基調は、酵素から離れる方向に広がり、それにより阻害剤の結合様式を妨害することを最小限にするかまたは避ける。それゆえ、アミノ酸エステル基調と分子の残りとの結合化学を構成する可変部の正確な組合せは、全体としては、最初の結合様式には多くの場合関連性がないであろう。

【0050】

前述の一般的な所見を考慮に入れて、次に基 $-L^1-Y^1-$ を構成する可変部は：

50

Y^1 は、例えば、 $-NR_3-$ 、 $-S-$ 、 $-O-$ 、 $-C(=O)NR_3-$ 、 $-NR_3C(=O)-$ または $-C(=O)O-$ （ここで、 R_3 は水素または $-CH_2CH_2OH$ のような任意に置換されていてもよい C_1 - C_6 アルキルである）であり得る；

【0051】

基 L^1 において、存在するとき Alk^1 および Alk^2 基の例は、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(OH)CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-CH=CHCH_2-$ 、 $-CH_2CH=CH-$ 、 $-CH_2CH=CHCH_2-$ 、 $-C \equiv C-$ 、 $-C \equiv CCH_2-$ 、 $-CH_2C \equiv C-$ および $-CH_2C \equiv CCH_2-$ を含む。 Alk^1 および Alk^2 の追加の例は、いずれかの向きの、 $-CH_2W-$ 、 $-CH_2CH_2W-$ 、 $-CH_2CH_2WCH_2-$ 、 $-CH_2CH_2WCH(CH_3)-$ 、 $-CH_2WCH_2CH_2-$ 、 $-CH_2WCH_2CH_2WCH_2-$ および $-WCH_2CH_2-$ （ここで、 W は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(CH_3)-$ または $-CH_2CH_2N(CH_2CH_2OH)CH_2-$ である）を含む。 Alk^1 および Alk^2 のさらなる例は、2価のシクロプロピル、シクロペンチルおよびシクロヘキシル基を含む。

10

存在するとき、 Alk^1 および Alk^2 は、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ またはいずれかの向きの $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ のような分枝鎖状のアルキルでもあり得る。

【0052】

L^1 において、 n が0のとき、該基は炭化水素鎖（任意に、例えばヒドロキシで置換されていてもよい）であり、エーテル、チオエーテルまたはアミノ結合を有することもあり得る。現在のところ、 L^1 において任意の置換基が存在しないのが好ましい。 m および p が両方0であるとき、 L^1 は、5～13の環原子を有する2価の単環または2環式の炭素環式基または複素環式基（任意に置換されていてもよい）である。 n が1であり、 m および p の少なくとも一つが1であるとき、 L^1 は一つの炭化水素鎖または複数の炭化水素鎖および5～13の環原子を有する単環または2環式の炭素環式基または複素環式基（任意に置換されていてもよい）を含む2価の基である。存在するとき、 Q は、例えば2価のフェニレン、ピリジニレン、ピリミジニレン、ピラジニレン、ピペリジニレン、ピペラジニレン、ピロリデニレン、ピロレン、シクロプロピレン、シクロブチレン、シクロペンチレン、シクロヘキシレンまたは3-アザ-ピシクロ[3.1.0]ヘキシレン基であり得るが、1,4-フェニレン、1,4-ピペリジニレンまたは1,4-ピペラジニレンが現在のところ好ましい。

20

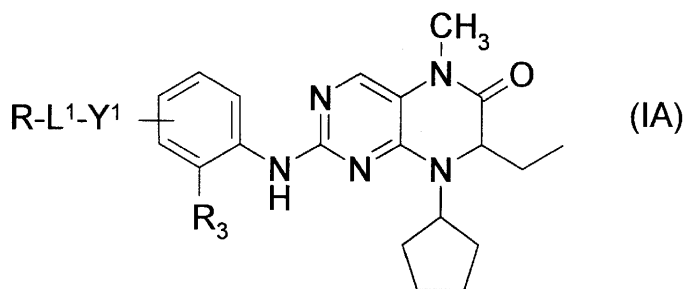
基 $-L^1-Y^1-$ の具体的な例は、本明細書の実施例の化合物中に存在するものである。

【0053】

本発明の化合物の特定のクラスは、式(IA)：

【化5】

30



（式中、 R_3 はメトキシ、フルオロまたはクロロであり、残りの可変部は前記で定義され議論されたとおりである）のものからなる。

40

【0054】

前記のように、本発明に係る化合物は、PLK1キナーゼ活性の阻害剤であり、それゆえ、癌のような細胞増殖性疾患の治療に有用である。

任意の特定の患者に対する具体的な用量レベルは、用いられる特定化合物の活性、患者の年齢、体重、身体全体の健康、性別、食事、投与時間、投与経路、排泄の速度、薬物の組合せおよび治療を受ける特定の疾患の重篤度を含む種々の要因に左右されると理解されるであろう。投与量の最適な用量レベルおよび回数は、臨床試験により決定されるであろう。

50

【 0 0 5 5 】

本発明に係る化合物は、それらの薬物動態学的性質に矛盾しない任意の経路による投与に製造され得る。経口的に投与可能な組成物は、経口、局所、または無菌の非経口の溶液または懸濁液のような、錠剤、カプセル剤、粉末、顆粒、トローチ、液体またはゲル製剤の形状であり得る。

【 0 0 5 6 】

経口投与用の錠剤およびカプセル剤は、単位用量提示形態であり得、慣用の賦形剤：結合剤(例えば、シロップ、アカシア、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、またはポリビニル-ピロリドン)；充填剤(例えば、乳糖、砂糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトールまたはグリシン)；打錠用滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコールまたはシリカ)；崩壊剤(例えば、馬鈴薯デンプン)、または許容される湿潤剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウム)を含有していてもよい。錠剤は、通常の製薬実務で周知の方法に従ってコーティングされてもよい。

【 0 0 5 7 】

経口液体製剤は、例えば水性もしくは油性の懸濁液、溶液、エマルジョン、シロップまたはエリキシルの形状であってもよいし、あるいは使用前に水または他の適切なビヒクルで溶解する乾燥製品として提示されてもよい。そのような液体製剤は、慣用の添加剤：懸濁化剤(例えば、ソルビトール、シロップ、メチルセルロース、グルコースシロップ、ゼラチン食用硬化油脂)；乳化剤(例えば、レシチン、ソルビタンモノオレエート、またはアカシア)；非水性ビヒクル(食用油を含み得る)(例えば、アーモンド油、ヤシ油、グリセリンのような油状エステル、プロピレングリコール、またはエチルアルコール)；防腐剤(例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸)、および所望により慣用の矯味矯臭剤または着色剤を含有していてもよい。

【 0 0 5 8 】

皮膚への局所適用のためには、薬物は、クリーム、ローションまたは軟膏に調合し得る。薬物に使用し得るクリーム製剤または軟膏製剤は、当該分野において周知の慣用の製剤であり、例えば英国薬局方のような薬学の標準的な教科書に記載されるものである。

【 0 0 5 9 】

吸入による局所投与のために、薬剤は、例えば圧力駆動噴射アトマイザもしくは超音波アトマイザによるか、または好ましくは噴射剤駆動計量(metered)エアロゾルまたは微粉末の噴射剤フリーの投与、例えば吸入カプセルもしくはその他の「乾燥粉末」送達システムによる、エアロゾル送達用に処方され得る。例えば噴射剤(例えば計量エアロゾルの場合はFrigen)、界面活性物質、乳化剤、安定剤、保存剤、着香剤および充填剤(例えば粉末吸入器の場合はラクトース)のような賦形剤は、このような吸入製剤に存在し得る。吸入の目的のために、患者に適する吸入技術を用いた、それを用いて最適な粒子サイズのエアロゾルを発生させて投与できる多くの装置が利用可能である。アダプタ(スパーサ、エキスパンダ)および洋ナシ形の容器(例えばNebulator (登録商標)、Volumatic (登録商標))、および特に粉末吸入器の場合の計量エアロゾルのための吹き付ける(puffer)スプレーを発射する自動化デバイス(Autohaler (登録商標))に加えて、いくつかの技術的解決が利用可能である(例えばDiskhaler (登録商標)、Rotadisk (登録商標)、Turbohaler (登録商標)または例えば欧州特許出願EP 0 505 321に記載されるような吸入器)。

【 0 0 6 0 】

眼への局所投与のために、薬剤は、適切な滅菌の水性または非水性のビヒクル中の溶液または懸濁液にすることができる。添加剤、例えば緩衝剤、例えばメタ重亜硫酸ナトリウム(sodium metabisulphite)またはエデト酸二ナトリウム；殺菌剤および抗真菌剤を含む保存剤、例えば酢酸フェニル水銀または硝酸フェニル水銀、塩化ベンザルコニウムまたはクロルヘキシジン、および増粘剤、例えばヒプロメロース(hypromellose)も含み得る。

【 0 0 6 1 】

活性成分は、滅菌媒体中で非経口投与もできる。用いるビヒクルおよび濃度に応じて、薬剤は、ビヒクル中に懸濁または溶解できる。有利には、局所麻酔剤のようなアジュバン

10

20

30

40

50

ト、保存剤および緩衝剤をビヒクルに溶解できる。

【0062】

本発明の化合物は、多くの既知の医薬的に活性な物質と共に用いられ得る。例えば、本発明の化合物は、細胞毒剤(cytotoxics)、HDAC阻害剤、キナーゼ阻害剤、アミノペプチダーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、bcl-2拮抗剤、mTor阻害剤およびモノクローナル抗体(例えば成長因子受容体に対するもの)と共に用いられ得る。好ましい細胞毒剤は、例えばタキサン(taxanes)、プラチン(platins)、5-ウラシルのような代謝拮抗剤、トポイソメラーゼ阻害剤等を含む。それゆえ、式(1)のアミノ酸誘導体、その互変異性体またはそれらの医薬的に許容される塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物を含む本発明の医薬は、一般的に、細胞毒剤、HDAC阻害剤、キナーゼ阻害剤、アミノペプチダーゼ阻害剤および/またはモノクローナル抗体をさらに含む。

10

【0063】

さらに、本発明は、

(a) 化合物(1)、またはその医薬的に許容される塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物；

(b) 細胞毒剤、HDAC阻害剤、キナーゼ阻害剤、アミノペプチダーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、bcl-2拮抗剤、mTor阻害剤および/またはモノクローナル抗体；および

(c) 医薬的に許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。

20

【0064】

人体または動物体の治療における独立、同時または連続使用のための、

(a) 化合物(1)、またはその医薬的に許容される塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物；および

(b) 細胞毒剤、HDAC阻害剤、キナーゼ阻害剤、アミノペプチダーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、bcl-2拮抗剤、mTor阻害剤および/またはモノクローナル抗体を含む製品も提供する

【0065】

合成

本発明に係る化合物(1)の合成には複数の合成方法が存在するが、その全てが合成有機化学者に公知である既存の化学に基づく。したがって、式(1)の化合物は、標準的な文献に記載され、当業者に周知の手順に従い合成することができる。代表的な文献ソースは、「Advanced organic chemistry」第4版(Wiley)、J March；「Comprehensive Organic Transformation」第2版(Wiley)、R.C. Larock；「Handbook of Heterocyclic Chemistry」第2版(Pergamon)、A.R. Katritzky；「Synthesis」、「Acc. Chem. Res.」、「Chem. Rev」に見られるような総説論文、もしくは標準的なオンライン文献検索により特定される一次文献ソース、または「Chemical Abstracts」もしくは「Beilstein」のような二次文献ソースからである。

30

【0066】

本発明の化合物は、そのいくつかが以下の実施例に具体的に記載されている多くの方法により製造され得る。以下に記載の反応において、反応性官能基、例えばヒドロキシ、アミノおよびカルボキシ基(ここで、これらは最終生成物において望まれる)を、それらが望まない反応を起こさないように、保護することが必要となり得る[例えば、「Protecting Groups in Organic Synthesis」、第3版、(Wiley)、T.W. Greeneを参照]。慣用の保護基が、標準的な手法と一緒に用いられ得る。いくつかの場合、脱保護は、一般式(1)の化合物の合成の最終工程であり得るし、本明細書の後で記載される本発明の方法は、保護基のそのような除去にまで及ぶと理解される。

40

【実施例】

【0067】

略語

AcOH = 酢酸

50

Bocまたはboc = tert-ブトキシカルボニル

BOC₂O = ジ-tert-ブチルジカーボネート

Cbz = ベンジルオキシカルボニル

DBU = 1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデセ-7-エン

DCE = ジクロロエタン

DCM = ジクロロメタン

DIPEA = ジイロプロピルエチルアミン

DMAP = ジメチルアミノピリジン

DMF = ジメチルホルムアミド

【 0 0 6 8 】

DMSO = ジメチルスルホキシド

EDC = 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド

EtOAc = 酢酸エチル

EtOH = エタノール

Et₂O = ジエチルエーテル

Et₃N = トリエチルアミン

H₂SO₄ = 硫酸

HCl = 塩酸

HOBt = N-ヒドロキシベンゾトリアゾール

K₂CO₃ = 炭酸カリウム

【 0 0 6 9 】

LiOH = 水酸化リチウム

MeOH = メタノール

MgSO₄ = 硫酸マグネシウム

Na₂CO₃ = 炭酸ナトリウム

NaH = 水素化ナトリウム

NaHCO₃ = 炭酸水素ナトリウム

NaI = ヨウ化ナトリウム

NaOH = 水酸化ナトリウム

NBS = N-ブロモスクシンイミド

NBu₄Br = テトラブチルアンモニウムブロマイド

【 0 0 7 0 】

NMM = N-メチルモルホリン

Pd(dppf)Cl₂ = ジクロロ-(1,2-ビス-(ジフェニルホスフィノ)エタン)-パラジウム(II)

Pd/C = パラジウム / 炭

PPh₃ = トリフェニルホスフィン

PyBrOP = ブロモ-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

STAB = ナトリウム トリアセトキシボロハイドライド

TBTU = O-ベンゾトリアゾール-1-イル-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム テトラフルオロボレート

TFA = トリフルオロ酢酸

THF = テトラヒドロフラン

aq = 水性

【 0 0 7 1 】

g = グラム

LCMS = 高性能液体クロマトグラフィー / 質量分析

mg = ミリグラム

min = 分

mL = ミリリットル

μL = マイクロリットル

10

20

30

40

50

mol = モル
mmol = ミリモル
NMR = 核磁気共鳴
RTまたはrt = 室温
sat = 飽和(された)

【 0 0 7 2 】

さらに精製することなく、市販の試薬および溶媒(HPLCグレード)を用いた。溶媒はBuch i ロータリーエバポレーターを用いて除去した。マイクロウェーブ照射は、Biotage Initi ator(商標) Eightマイクロウェーブシンセサイザーを用いて行なった。フラッシュクロマトグラフィーカラムによる化合物の精製は、Fluorochemから得られる、粒径40~63 μ m (2 30~400メッシュ)のシリカゲルを用いて行なった。分取(preparative)HPLCによる化合物の精製は、逆相Axia(商標) prep Luna C18カラム (10 μ m, 100 \times 21.2mm)、10分で勾配0~100% B (A = 水 / 0.05% TFA, B = アセトニトリル / 0.05% TFA)、流速 = 25mL/分、254 nmでのUV検出を用いるGilson系で行なった。

10

【 0 0 7 3 】

^1H NMRスペクトルは、重水素化溶媒中Bruker 300 MHz AVスペクトロメータで測定した。ケミカルシフト()は、ppmである。薄層クロマトグラフィー(TLC)分析は、Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck)プレートで行い、UVライトを用いて可視化した。

【 0 0 7 4 】

分析HPLC/MSは、逆相Luna C18カラム (3 μ m, 50 \times 4.6mm)、2.25分で勾配5~95% B (A = 水 / 0.1%ギ酸, B = アセトニトリル / 0.1%ギ酸)、流速 = 2.25mL/分を用いるAgilent HP1100 LC系で行なった。UVスペクトルは、G1315B DAD検出器を用いる220および254nmで測定した。Massスペクトルは、LC/MSD SL G1956B検出器で、m/z 150~800の範囲で得た。データはChemStationおよびChemStation Data Browserソフトウェアを用いて積算して示した。

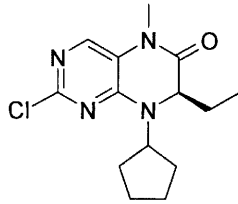
20

【 0 0 7 5 】

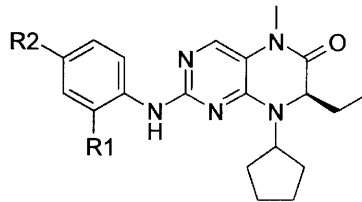
中間体

明細書に記載した実施例の製造のための中間体を次に示す(図1)：

【化 6 - 1】

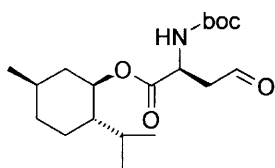
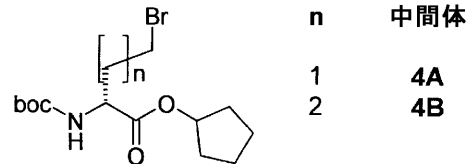
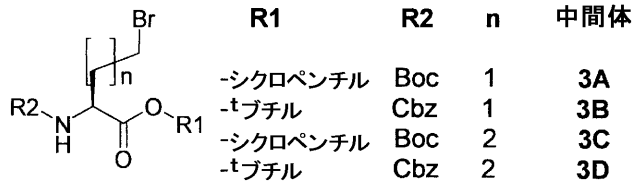


中間体 1

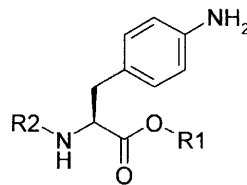


R1	R2	中間体
-H	-OH	2A
-OMe	-OH	2B
-OMe	-CO ₂ H	2C
-Me	-CO ₂ H	2D
-F	-CO ₂ H	2E
-H	-I	2F

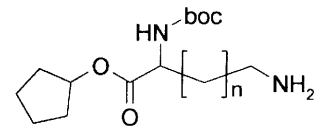
10



中間体 5

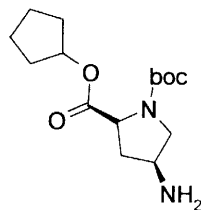


R1	R2	中間体
-シクロペンチル	Boc	6A
-tブチル	Boc	6B

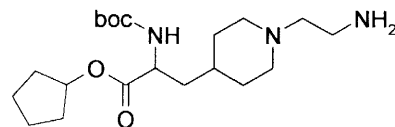


n = 1	中間体 7A
n = 3	中間体 7B

20



中間体 8



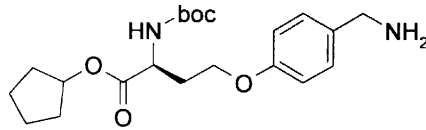
中間体 9

30

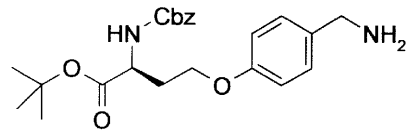
図 1

【 0 0 7 6 】

【化 6 - 2】

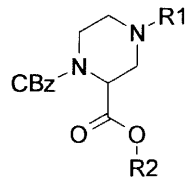


中間体 10



中間体 11

10



R1

R2

中間体

-H

-シクロペンチル

12A

-CH₂CH₂NH₂

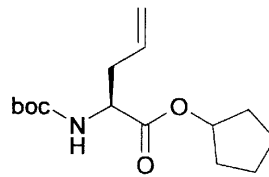
-シクロペンチル

12B

-CH₂CH₂NH₂

-tブチル

12C



中間体 13

20

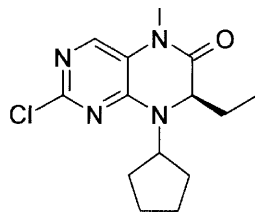
図 1 (続き)

【 0 0 7 7 】

中間体 1 :

(7R)-2-クロロ-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン

【化 7】



30

標記の中間体は、W02004076454に記載の方法を用いて製造した。

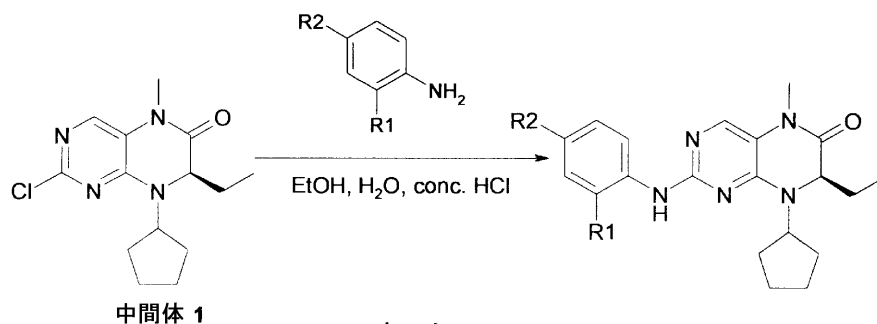
【 0 0 7 8 】

中間体 2A ~ 2F

一般的手順

【化 8】

40



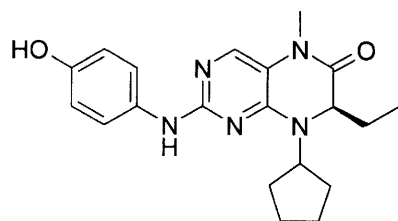
50

【 0 0 7 9 】

中間体2A：

(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヒドロキシフェニル)アミノ]-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン

【化 9】



10

標記の中間体は、一般的手順(スキーム1)に従って、中間体1から製造した。

【 0 0 8 0 】

EtOH (2mL)、水 (8mL) および濃HCl (0.2mL) 中の(7R)-2-クロロ-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン [中間体1] (200mg, 0.68mmol) の溶液に、4-アミノフェノール (148mg, 1.36mmol) を加えた。反応混合物を18時間還流し、減圧下に濃縮した。残渣を飽和NaHCO₃ (20mL) とMeOH/DCM(1:3, 20mL) の混液との間で分配した。水層を分離し、MeOH/DCM (1:3, 20 mL) で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮し、褐色の固体を得た。Et₂Oで摩砕し、標記の中間体を灰色の固体 (125m

20

g, 収率50%)として得た。

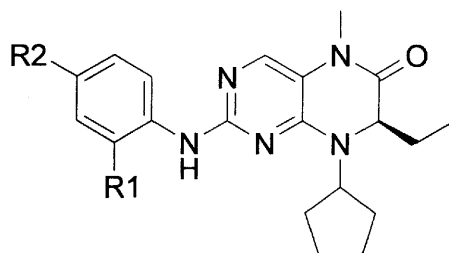
【 0 0 8 1 】

ESMS: m/z 368 [M+H]⁺. ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) 8.90 (1H, s), 8.64 (1H, s), 7.74 (1H, s), 7.43 (2H, d, J=8.9 Hz), 6.64 (2H, d, J=8.9 Hz), 4.39-4.29 (1H, m), 4.16 (1H, dd, J=3.6, 7.8 Hz), 3.22 (3H, s), 1.99-1.54 (10H, m), 0.77 (3H, t, J=7.4 Hz)

【 0 0 8 2 】

次の表中の中間体は、上記の方法と類似の方法により製造した。

【表 1】



10

中間体	R1	R2	名前	ESMS
2B	-OMe	-OH	(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヒドロキシ-2-メトキシフェニル)アミノ]-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン	m/z 398 [M+H] ⁺
2C	-OMe	-CO ₂ H	4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシ安息香酸	m/z 426 [M+H] ⁺
2D	-Me	-CO ₂ H	4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メチル安息香酸	m/z 410 [M+H] ⁺
2E	-F	-CO ₂ H	4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-トリフルオロ安息香酸	m/z 414 [M+H] ⁺
2F	-H	-I	(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヨードフェニル)アミノ]-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン	m/z 478 [M+H] ⁺

20

30

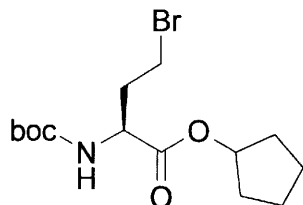
40

【0083】

中間体3A:

シクロペンチル (2S)-4-ブロモ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート

【化 1 0】

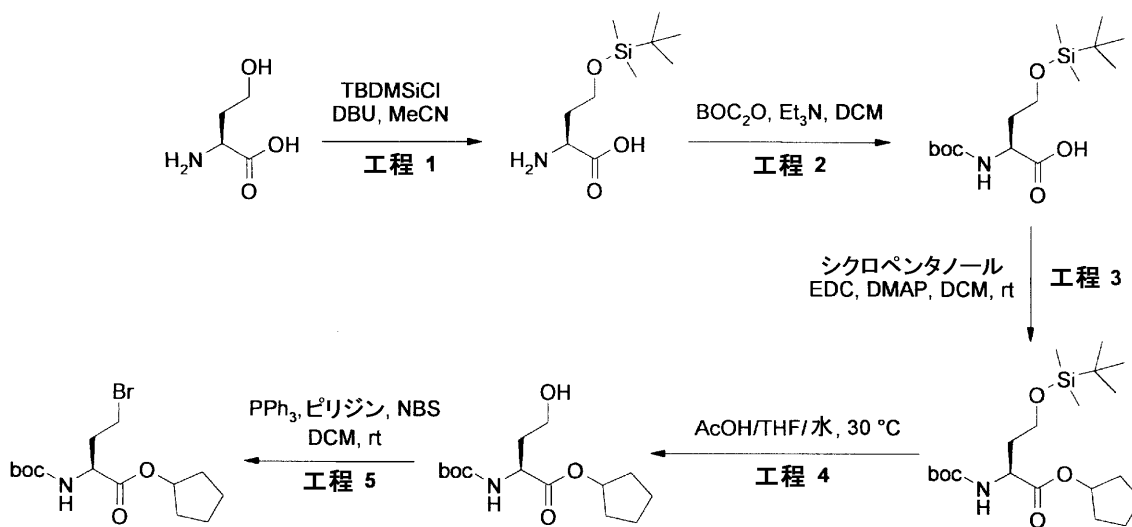


【 0 0 8 4】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム2)。

10

【化 1 1】



20

スキーム2

【 0 0 8 5】

工程1- O-[tert-ブチル(ジメチルシリル)]-L-ホモセリン

アセトニトリル (10mL) 中のL-ホモセリン (1.00g, 8.40mmol) の懸濁液に、0 でDBU (1.32mL, 8.80mmol) を加えた。次いで、tert-ブチル-ジメチルシリル クロライド (1.33g, 8.80mmol) を5分で少しずつ加え、反応混合物をRTに温まるままにし、16時間撹拌した。白色の固体を濾過し、アセトニトリルで洗浄し、生成物 (1.80g, 収率92%) を得た。

ESMS: m/z 234 [M+H]⁺.

30

【 0 0 8 6】

工程2- N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチルシリル)]-L-ホモセリン

DCM (100mL) 中のO-[tert-ブチル(ジメチルシリル)]-L-ホモセリン (1.80g, 7.70mmol) の懸濁液に、0 でEt₃N (2.15mL, 15.4mmol) およびBOC₂O (1.77g, 8.10mmol) を加えた。反応混合物をRTで16時間撹拌した。DCMを減圧下に除去し、残渣をEtOAc (20ml) および食塩水 (10ml) に再溶解した。EtOAc層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮して、さらに精製することなく粗生成物 (2.53g, 収率99%) を得た。

ESMS: m/z 356 [M+H]⁺.

40

【 0 0 8 7】

工程3- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチルシリル)]-L-ホモセリネート

DCM (50mL) 中のN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチルシリル)]-L-ホモセリン (2.53g, 7.6mmol) の溶液に、0 でシクロペンノール (1.39mL, 15.3mmol)、EDC (1.61g, 8.40mmol) およびDMAP (93mg, 0.76mmol) を加えた。反応混合物をRTで16時間撹拌した後、減圧下に濃縮した。粗残渣をEtOAc (100 mL) に溶解し、1M HCl (30ml)、1M Na₂CO₃ (30ml) および食塩水 (20ml) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮し

50

た。残渣をカラムクロマトグラフィー (25% EtOAc/ヘプタン) で精製し、生成物 (2.24g, 収率73%) を得た。

ESMS: m/z 402 $[M+H]^+$

【 0 0 8 8 】

工程4- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ホモセリネート

酢酸:THF:水 (3:1:1, 100mL) 中のシクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-L-ホモセリネート (1.57g, 3.90mmol) の溶液を、30 で16時間撹拌した。EtOAc (200mL) を加え、1M Na_2CO_3 (10ml)、1M HCl (10ml) および食塩水 (10ml) で洗浄した。EtOAc層を乾燥($MgSO_4$) し、減圧下に濃縮し、放置により固化する透明な油状物として生成物 (1.00g, 収率95%) を得た。

10

ESMS: m/z 310 $[M+Na]^+$

【 0 0 8 9 】

工程5- シクロペンチル (2S)-4-プロモ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート

DCM (16mL) 中のNBS (1.86g, 10.4mmol) の懸濁液に、DCM (7mL) 中のトリフェニルホスフィン (2.56g, 9.70mmol) の溶液を加えた。添加後、溶液を5分間撹拌した。ピリジン (0.34mL, 4.20mmol)、続いてDCM (9mL) 中のシクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ホモセリネート (1.00g, 3.5mmol) の溶液を加えた。溶液をRTで18時間撹拌し、減圧下に濃縮し、残渣溶媒をトルエン (3×16mL) で共沸した。残渣を Et_2O (10mL) およびEtOAc:ヘプタン (1:9, 2×10mL) で摩砕した。合わせた有機溶液をシリカの上に濃縮し、カラムクロマトグラフィー (10%~25% EtOAc/ヘプタン) で精製し、標記の中間体 (1.02g, 収率84%) を得た。

20

【 0 0 9 0 】

ESMS: m/z 351 $[M+H]^+$. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) 5.30-5.05 (2H, m), 4.45-4.30 (1H, m), 3.45 (2H, t, $J=7.3$ Hz), 2.50-2.30 (1H, m), 2.25- 2.10 (1H, m), 1.95-1.60 (8H, br m) および 1.47 (9H, s)

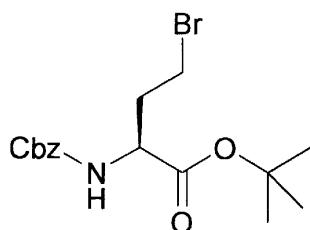
【 0 0 9 1 】

中間体3B:

tert-ブチル (2S)-2- { [(ベンジルオキシ)カルボニル]アミノ } -4-プロモブタノエート

【 化 1 2 】

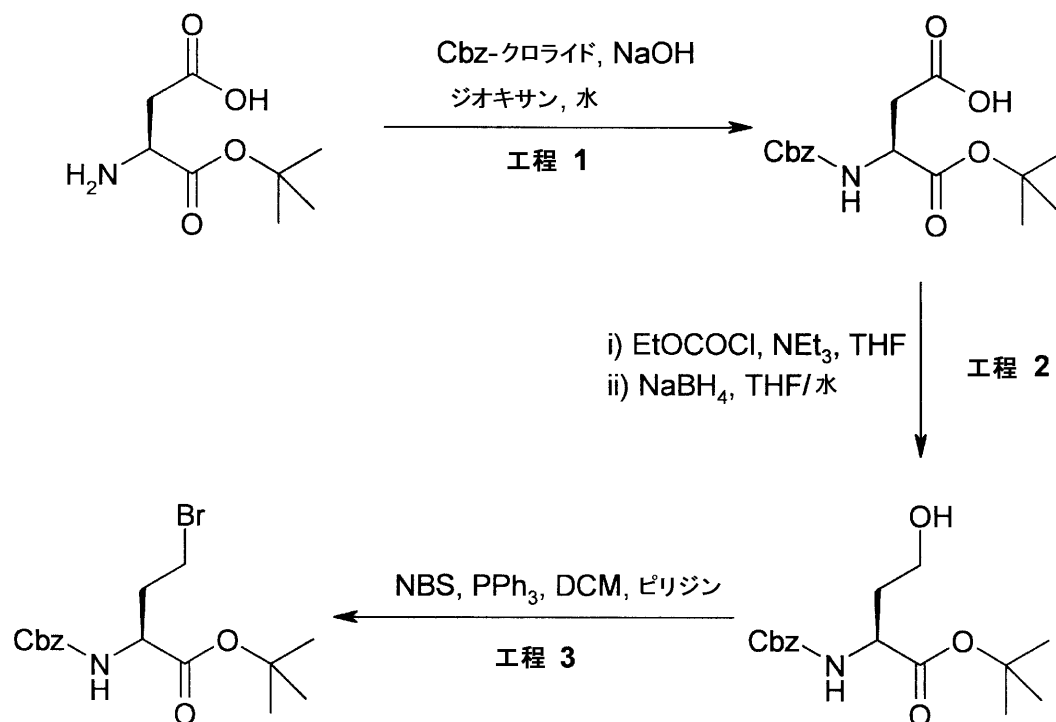
30



【 0 0 9 2 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム3)。

【化 1 3】



スキーム3

【0093】

工程1- (3S)-3- { [(ベンジロキシ)カルボニル]アミノ } -4-tert-ブトキシ-4-オキソブタン酸

25% 水/ジオキサン (50mL) 中の (3S)-3-アミノ-4-tert-ブトキシ-4-オキソブタン酸 (900mg, 4.75mmol) と水酸化ナトリウム (280mg, 7.13mmol) の溶液に、0 °C でジオキサン (10mL) 中のベンジルクロロホルメート (2g, 4.13mmol) を加えた。混合物を0 °C で1時間、次いでRTで一晩攪拌した。水 (10mL) を加え、混合物をEtOAc (2 × 20mL) で抽出した。有機相をNaHCO₃ の飽和水溶液 (2 × 10mL) で逆抽出した。合わせた水層を1M HClでpH 1に酸性化し、EtOAc (3 × 10mL) で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (35% EtOAc/ヘプタン) で精製し、無色の油状物として生成物 (0.76g, 収率50%) を得た。

ESMS: m/z 346 [M+23]⁺

【0094】

工程2- tert-ブチル N-[(ベンジロキシ)カルボニル]-L-ホモセリネート

無水THF (20mL) 中の (3S)-3- { [(ベンジロキシ)カルボニル]アミノ } -4-tert-ブトキシ-4-オキソブタン酸 (600mg, 1.87mmol) の溶液に、-20 °C で、Et₃N (32 μL, 2.24mmol) およびエチルクロロホルメート (21 μL, 2.24mmol) をゆっくりと加えた。混合物を-20 °C で2時間攪拌した。生じた固体を濾別し、THF (2 × 10mL) で洗浄した。濾液をナトリウム ボロハイドライド (0.2g, 5.61mmol) の溶液に、0 °C で10分かけて滴下し、次いでRTに温まるままにした。混合物をさらに4時間攪拌した。溶媒を減圧下に除去し、残渣を水 (10mL) で希釈し、1M HClでpH 5に酸性化し、EtOAc (2 × 20mL) で抽出した。合わせた有機層を10% NaOH水溶液 (10mL)、水 (10mL) および食塩水 (10mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮し、透明な油状物として生成物 (0.3g, 収率51%) を得た。

ESMS: m/z 332 [M+23]⁺

【0095】

工程3- tert-ブチル (2S)-2- { [(ベンジロキシ)カルボニル]アミノ } -4-ブロモブタノエート

DCM (10mL) 中のNBS (520mg, 2.91mmol) の溶液に、DCM (10mL) 中のトリフェニルホスフ

イン (0.71g, 2.72mmol) の溶液をゆっくりと加えた。混合物をRTで5分間攪拌した後、ピリジン (94 μ L, 1.16mmol) およびDCM (20mL) 中のtert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-L-ホモセリネート (0.30g, 0.97mmol) の溶液を滴下した。混合物をRTでさらに18時間攪拌した。溶媒を減圧下に除去し、残渣をトルエン (2 \times 15mL) で共沸し、Et₂O (2 \times 25mL) およびヘプタン中10% EtOAcで摩砕した。摩砕からの濾液を合わせ、減圧下に濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィー (15% EtOAc/ヘプタン) で精製し、標記の中間体を透明な油状物 (0.16g, 収率44%) として得た。

【0096】

ESMS: m/z 395 [M+23]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), ppm 7.39-7.30 (5H, m), 5.40 (1H, d, J=6.8Hz), 5.12 (2H, s), 4.38 (1H, q, J=7.7Hz), 3.47-3.38 (2H, m), 5.49-2.33 (1H, m), 2.28-2.13 (1H, m) および 1.48 (9H, s)

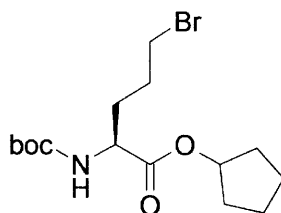
10

【0097】

中間体3C:

シクロペンチル 5-ブromo-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ノルバリネート

【化14】

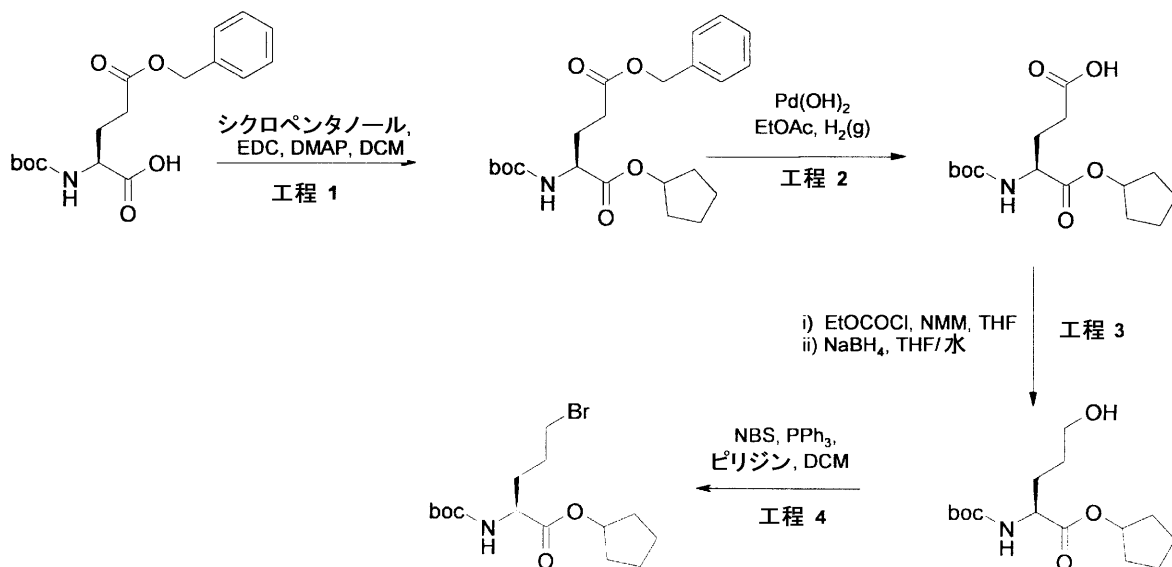


20

【0098】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム4)。

【化15】



30

40

スキーム4

【0099】

工程1- 5-ベンジル 1-シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-グルタメート
DCM (220mL) 中の(2S)-5-(ベンジルオキシ)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-5-オキソペンタン酸 (15g, 44.5mmol) の溶液に、0 で、シクロペンタノール (4.8mL, 53.3mmol)、EDC (9.4g, 48.9mmol) およびDMAP (543mg, 4.4mmol) を加えた。反応混合物をRTに温まるままにし、さらに12時間攪拌した。反応混合物をDCM (200mL) で希釈し、1M HCl (50mL)、1M Na₂CO₃ (30mL) および食塩水 (50mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (25% EtOAc/ヘプタン) で精製し、生成

50

物を白色の固体 (12.4g, 収率69%)として得た。

ESMS: m/z 406 [M+H]⁺

【 0 1 0 0 】

工程2- 1-シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-グルタミン酸(glutamic acid)

5-ベンジル 1-シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-グルタメート (12.4g, 30.5mmol)をEtOAc (200mL)に溶解し、窒素でバージした後、Pd(OH)₂/炭触媒 (1.3g, 20% w/w)を加えた。次いで、反応フラスコを水素ガスで5分間バージした後、水素バルーン下で5時間放置した。セライト(登録商標)での濾過により触媒を除去し、EtOAc (50 ml)で十分に洗浄した。溶媒を減圧下に除去し、生成物を透明な油状物 (7.73g, 収率85%)として得た。

10

ESMS: m/z 316 [M+H]⁺

【 0 1 0 1 】

工程3- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-5-ヒドロキシ-L-ノルバリネート

THF (150mL)中の1-シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-グルタミン酸 (6.73g, 21.4mmol)の攪拌溶液に、-20 で、NMM (3.05mL, 27.8mmol)およびエチルクロロホルメート (2.45mL, 25.6mmol)を加えた。反応混合物を、-20 で2時間攪拌した。固体を濾過により除き、THF (20mL)と水 (5mL)中のナトリウム ボロハイドライド (2.43g, 64.1mmol)の溶液に、0 で20分間かけて滴下した。反応混合物をRTに温まるままにし、さらに4時間放置した。混合物を1M HClでpH 5に酸性化し、減圧下にTHFを除去した。水性溶液をEtOAc (3×100mL)で抽出し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (0~5% MeOH/DCM)で精製し、生成物を透明な油状物 (5.0g, 収率78%)として得た。

20

ESMS: m/z 302 [M+H]⁺

【 0 1 0 2 】

工程4- シクロペンチル 5-ブロモ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ノルバリネート

DCM (30mL)中のNBS (3.54g, 19.9mmol)の懸濁液に、DCM (15mL)中のトリフェニルホスフィン (4.87g, 18.8mmol)の溶液を加えた。溶液をさらに5分間攪拌した後、ピリジン (644 μL, 7.96mmol)およびDCM (20mL)中のシクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-5-ヒドロキシ-L-ノルバリネート (2.0g, 6.64mmol)の溶液を加えた。溶液を18時間攪拌し、減圧下に濃縮し、残渣溶媒をトルエン (3×30mL)で共沸した。残渣をEt₂O (30mL)および10% EtOAc/ヘプタン (2×30mL)で摩砕した。合わせたEt₂OおよびEtOAc/ヘプタン溶液をシリカの上に濃縮し、カラムクロマトグラフィー (10%~25% EtOAc/ヘプタン)で精製し、標記の中間体を透明な油状物 (1.34g, 収率55%)として得た。

30

【 0 1 0 3 】

ESMS: m/z 365 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), 5.25 (1 H, m), 5.05 (1H, bd), 3.45 (2H, m), 2.00-1.55 (12H, bm)および1.45 (9H, s)

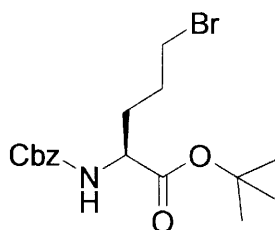
【 0 1 0 4 】

中間体3D:

tert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-5-ブロモ-L-ノルバリネート

40

【 化 1 6 】



標記の中間体は、(4S)-4-アミノ-5-tert-ブトキシ-5-オキソペンタン酸より出発し、中間体3Bに対して概略した手順 [スキーム3] に従って製造した。

50

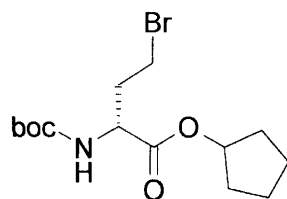
ESMS: m/z 409 $[M+Na]^+$

【 0 1 0 5 】

中間体4A:

シクロペンチル (2R)-4-ブロモ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート

【化17】



10

標記の中間体は、D-ホモセリンより出発し、中間体3Aに対して概略した手順[スキーム2]に従って製造した。

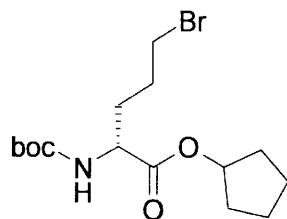
ESMS: m/z 351 $[M+H]^+$

【 0 1 0 6 】

中間体4B:

シクロペンチル 5-ブロモ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-D-ノルバリネート

【化18】



20

標記の中間体は、(2R)-5-(ベンジルオキシ)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-5-オキソペンタン酸より出発し、中間体3Cに対して概略した手順[スキーム4]に従って製造した。

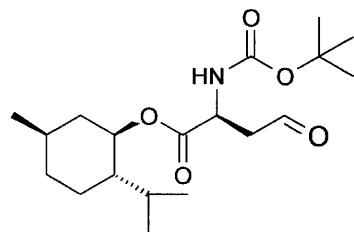
ESMS: m/z 365 $[M+H]^+$

【 0 1 0 7 】

中間体5

(1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-オキソブタノエート

【化19】

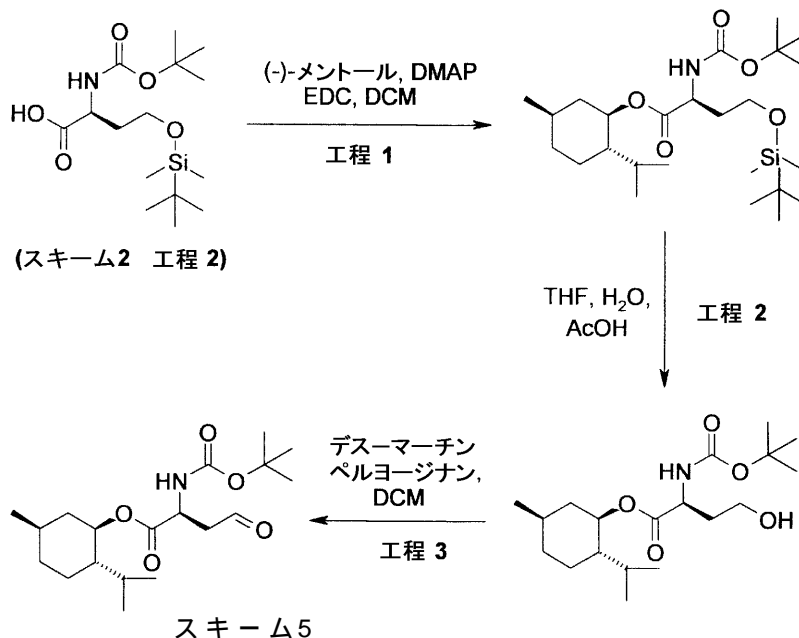


40

【 0 1 0 8 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム5)。

【化 2 0】



10

【 0 1 0 9】

工程1- (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-L-ホモセリネート

20

DCM (120mL)中のN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-L-ホモセリン [スキーム2 工程2] (6.22g, 19mmol)の懸濁液に、0 で、(-)-メントール (5.85g, 37.0mmol)、DMAP (228mg, 1.87mmol)およびEDC (3.93g, 20.3mmol)を加えた。溶液をRTに温まるままにし、さらに18時間撹拌した。反応混合物を減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (20% EtOAc/ヘプタン)で精製し、生成物を透明な油状物 (4.86g, 粒率55%)を得た。

ESMS: m/z 394 [M+Na]⁺

【 0 1 1 0】

工程2- (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ホモセリネート

30

THF / 水 / 酢酸 (60mL : 60mL : 180mL)中の(1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-L-ホモセリネート (4.86g, 14.0mmol)の懸濁液を30 で20時間加熱した。反応体(the reaction)をEtOAc (60mL)で希釈し、飽和NaHCO₃溶液 (20mL)、1M HCl (30mL)および食塩水 (30mL)で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮し、生成物 (3.45g, 収率69%)を得た。

ESMS: m/z 380 [M+Na]⁺

【 0 1 1 1】

工程3- (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-オキソブタノエート

40

DCM (20mL)中の(1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ホモセリネート (500mg, 1.40mmol)の懸濁液に、0 で、デス-マーチンペルヨージナン(Dess-Martin periodinane) (595mg, 1.54mmol)を加えた。反応体をRTに温まるままにし、3時間撹拌した。その溶液に、1:1 Na₂SO₃ / NaHCO₃ 飽和溶液 (30mL)を加え、混合物を15分間撹拌した。有機層を分離し、水層をDCM (2 × 10mL)で抽出した。合わせた有機層を1:1 Na₂SO₃ / NaHCO₃ 溶液 (15mL)で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、標記の中間体を無色の油状物 (480g, 収率97%)として得た。

【 0 1 1 2】

ESMS: m/z 378 [M+Na]⁺. ¹H NMR (CDCl₃) : 7.90 (1H, m), 5.30 (1H, d J=4.7Hz), 4

50

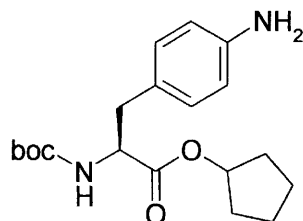
.70-4.57 (2H, m), 4.45 (1H, br. s), 2.92 (2H, t, J=5.7Hz), 1.91-1.68 (6H, m), 1.58 (9H, s), 1.05-0.85 (4H, m)および0.66 (6H, d, J=7.0Hz)

【 0 1 1 3 】

中間体6A

シクロペンチル 4-アミノ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-フェニルアラニネート

【 化 2 1 】

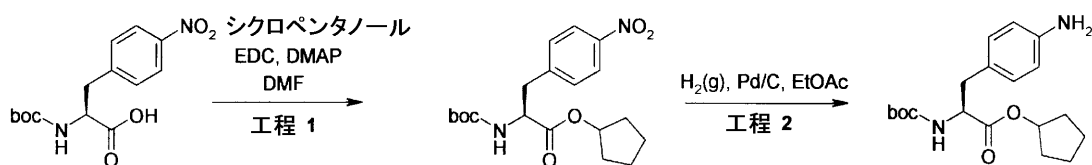


10

【 0 1 1 4 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム6)。

【 化 2 2 】



20

スキーム6

【 0 1 1 5 】

工程1- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ニトロ-L-フェニルアラニネート

DMF (10mL)中のN-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ニトロ-L-フェニルアラニン (1.00g, 3.23mmol)の溶液に、0 で、シクロペンタノール (0.585mL, 6.44mmol)、DMAP (39mg, 0.32mmol)およびEDC (0.655g, 3.39mmol)を加えた。反応混合物をRTに温まるままにし、さらに16時間撹拌した。混合物を水 (200mL)とEtOAc (200mL)との間で分配した。有機層を水 (3×50mL)で抽出し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (33% ヘプタン/EtOAc)で精製し、生成物を淡黄色の油状物 (1.12g, 収率95%)として得た。

30

ESMS: m/z 365 [M+H]⁺

【 0 1 1 6 】

工程2- シクロペンチル 4-アミノ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-フェニルアラニネート

EtOAc (10mL)中のシクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ニトロ-L-フェニルアラニネート (480mg, 1.32mmol)の溶液に、10% Pd /C (48mg, 10% w/w)を加えた。フラスコを真空にし、水素雰囲気下に2時間置いた。反応体を真空にし、混合物をセライト(登録商標)により濾過し、過剰のEtOAc (20mL)で洗浄した。濾液を減圧下に濃縮し、標記の中間体を桃色の油状物 (432mg, 収率98%)として得た。

40

【 0 1 1 7 】

ESMS: m/z 335 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 6.62 (2H, d, J = 8.4Hz), 5.15-5.25 (1H, m, CH), 4.95 (1H, d, J = 4.2Hz), 4.40-4.55 (1H, m), 6.94 (2H, d, J = 8.1Hz), 3.62 (2H, br s), 2.97 (2H, d, J = 5.7Hz), 1.50-1.96 (9H, m)および1.44 (9H, s)

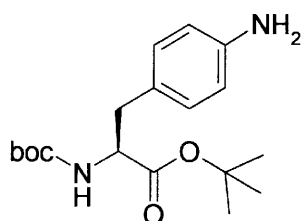
【 0 1 1 8 】

中間体6B

tert-ブチル 4-アミノ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-フェニルアラニネート

50

【化 2 3】

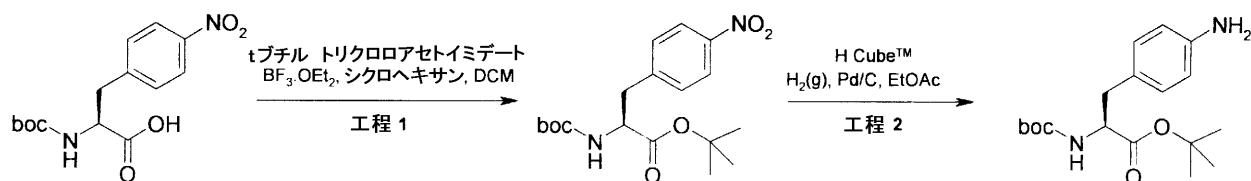


【0119】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム7)。

10

【化 2 4】



スキーム7

【0120】

工程1- tert-ブチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ニトロ-L-フェニルアラニネート
66% DCM / シクロヘキサン (30mL)中のN-(tert-ブトキシカルボニル)-4-ニトロ-L-フェニルアラニン (500mg, 1.61mmol)の溶液に、0 で、ボロン トリフルオライド ジエチルエーテレート (10 μ L)を加え、続いてすぐにシクロヘキサン (10mL)中のtert-ブチル トリクロロアセトイミデート (704mg, 3.22mmol)を10分かけて滴下した。混合物をRTに温まるままにし、30分間攪拌した後、NaHCO₃ 粉末 (80mg)でクエンチした。粗混合物をセライト(登録商標)により濾過し、減圧下に濃縮し、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー (20% EtOAc / ヘプタン)で精製し、生成物を黄色の固体 (320mg, 収率54%)として得た。

20

ESMS: m/z 389 [M+Na]⁺

【0121】

工程2- tert-ブチル 4-アミノ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-フェニルアラニネート
工程1の生成物(0.53g, 1.40mmol)をMeOH (29mL)に溶解し、0.05M 溶液とした。その溶液を、H-Cube(商標)連続水素化装置 (Thales Nanotechnology, HC-2, SS)を通した。30mm CatCart(商標) (10% Pd/C)を用い、フルH₂ モードで反応を行なった。25 の温度、1バールのH₂ 圧力で、流速1mL/分を維持した。生成物を2M NaOH (20mL)中に溶出し、MeOHを減圧下に除去した。水性溶液をEtOAc (2 \times 20mL)で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、標記の中間体を黄色の油状物 (0.15g, 収率31%)として得た。
ESMS: m/z 359 [M+Na]⁺. ¹H NMR (300 MHz, MeOD) : 6.97 (2H, d, J=8.5 Hz), 6.68 (2H, d, J=8.3 Hz), 4.15 (1H, t, J=5.9 Hz), 2.85 (2H, dd, J=19.0, 7.2 Hz)および1.42 (18H, s)

30

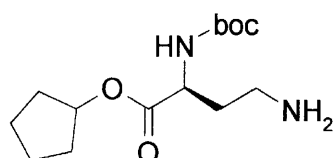
40

【0122】

中間体7A

シクロペンチル (2S)-4-アミノ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート

【化 2 5】

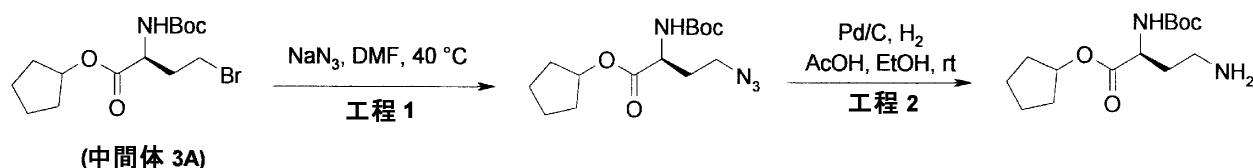


50

【 0 1 2 3 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム8)。

【 化 2 6 】



スキーム 8

10

【 0 1 2 4 】

工程1- シクロペンチル (2S)-4-アジド-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート

DMF (30mL)中のシクロペンチル (2S)-4-ブromo-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート [中間体3A] (1.00g, 2.90mmol)の溶液に、アジ化ナトリウム (0.93g, 14.3 mmol)を加えた。反応混合物を40 で32時間攪拌し、減圧下に濃縮した。残渣をEt₂O (100 mL)と飽和Na₂CO₃ (100mL)との間で分配した。有機層を分離し、飽和Na₂CO₃ (100mL)および食塩水 (100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、生成物を黄色の油状物 (1.05g)として得た。この生成物をさらに精製することなく用いた。

ESMS: m/z 335 [M+Na]⁺

20

【 0 1 2 5 】

工程2- シクロペンチル (2S)-4-アミノ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート

エタノール (50mL)中の粗シクロペンチル (2S)-4-アジド-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート (1.05g, 2.90mmol)の溶液に、酢酸 (0.16mL, 2.90mmol)を加えた。反応混合物を窒素で3回フラッシュした。Pd/C (50 mg, 10% w/w)を加えた。混合物を窒素で3回フラッシュし、最後に水素雰囲気下、RTで2時間攪拌した。反応混合物をセライト(登録商標)の短いパッドにより濾過し、濾液を減圧下に濃縮した。残渣をEtOAc (50mL)と飽和Na₂CO₃ (50mL)との間で分配した。有機層を分離し、食塩水 (50mL)で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (2% アンモニア : DCM中の5% MeOH)で精製し、標記の中間体を無色の油状物 (638mg, 2工程で収率78%)として得た。

30

【 0 1 2 6 】

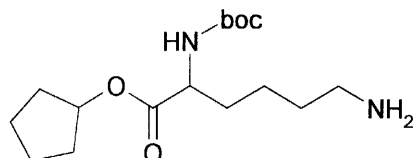
ESMS: m/z 287 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 5.55 (1H, br d), 5.21 (1H, m), 4.35 (1H, m), 2.81 (2H, m), 1.89 (2H, m), 1.81-1.55 (8H, m)および1.45 (9H, s)

【 0 1 2 7 】

中間体7B

シクロペンチル N²-(tert-ブトキシカルボニル)リジネート

【 化 2 7 】

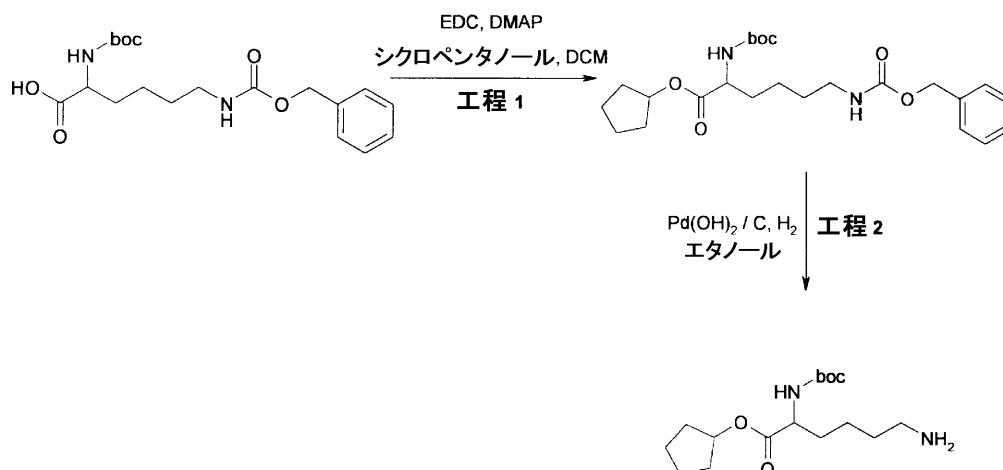


40

【 0 1 2 8 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム9)。

【化 2 8】



10

スキーム 9

【 0 1 2 9】

工程1- シクロペンチル N⁶-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-N²-(tert-ブトキシカルボニル)リジネート

無水DCM (20mL) 中のN⁶-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-N²-(tert-ブトキシカルボニル)リジン (1.00g, 2.63mmol) の溶液に、0 で、DMAP (32mg, 0.26mmol)、シクロペンタノール (0.48mL, 5.23mmol) およびEDC (552mg, 2.89mmol) を加えた。反応体をRTに温まるままにし、さらに16時間撹拌した。混合物をDCM (50mL) で希釈し、食塩水 (50mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮し、粗生成物を油状物 (1.18g, 収率100%) として得、これをさらに精製することなく用いた。

20

ESMS: m/z 471 [M+Na]⁺

【 0 1 3 0】

工程2- シクロペンチル N²-(tert-ブトキシカルボニル)リジネート

エタノール (5mL) 中のシクロペンチル N⁶-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-N²-(tert-ブトキシカルボニル)リジネート (1.18g, 2.63mmol) の溶液に、窒素雰囲気下、注意深く、水酸化パラジウム / 炭 (235mg, 20%w/w) を加えた。反応混合物を真空にし、H₂雰囲気下に置いた。これをさらに2回繰り返さし、反応体をH₂雰囲気下で2時間撹拌し続けた。反応混合物をセライト(登録商標)により濾過し、濃縮して、標記の中間体を (250mg) を得た。

30

【 0 1 3 1】

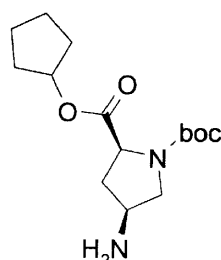
ESMS: m/z 315 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, DMSO) : 6.70-6.77 (1H, m), 5.13-5.15 (1H, m), 4.08-4.09 (1H, m), 2.88-2.90 (2H, m), 1.82 (2H, m), 1.57-1.66 (10H, m) および1.03-1.37 (11H, m)

【 0 1 3 2】

中間体8

1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4S)-4-アミノピロリジン-1,2-ジカルボキシレート
【化 2 9】

40

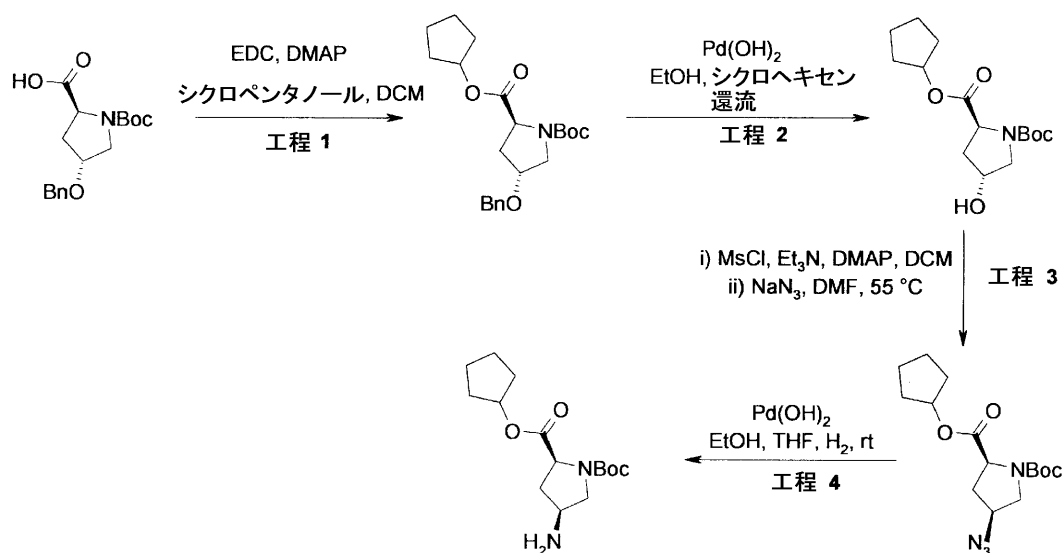


【 0 1 3 3】

50

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム10)。

【化 3 0】



10

20

【 0 1 3 4】

工程1- 1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4R)-4-(ベンジルオキシ)ピロリジン-1,2-ジカルボキシレート

DCM (50mL) 中の(4R)-4-(ベンジルオキシ)-1-(tert-ブトキシカルボニル)-L-プロリン (5.06g, 15.7mmol) の溶液に、0 で、シクロペンタノール (2.9mL, 31.4mmol)、DMAP (192 mg, 1.60mmol) およびEDC (3.32g, 17.3mmol) を加えた。反応混合物をRTに温まるままにし、さらに18時間攪拌した。混合物を飽和Na₂CO₃ (30mL)、1M HCl (30mL) および食塩水 (30 mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮して、淡黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (15% EtOAc/ヘプタン) で精製し、生成物を無色の油状物 (5.21g, 収率85%) として得た。

ESMS: m/z 412 [M+Na]⁺ および 801 [2M+Na]⁺

30

【 0 1 3 5】

工程2- 1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4R)-4-ヒドロキシピロリジン-1,2-ジカルボキシレート

EtOH: シクロヘキセン (5:1, 120 mL) 中の1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4R)-4-(ベンジルオキシ)ピロリジン-1,2-ジカルボキシレート (5.21 g, 13.4 mmol) の溶液に、注意深く、水酸化パラジウム / 炭 (521mg, 20%w/w) を加えた。反応混合物を真空にし、窒素で3回フラッシュし、21時間還流した。反応混合物をセライト(登録商標)により濾過し、濾液を減圧下に濃縮して、淡黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (50% EtOAc/ヘプタン) で精製し、生成物を薄桃色の油状物 (3.77g, 収率100 %) として得た。

ESMS: m/z 621 [2M+Na]⁺

40

【 0 1 3 6】

工程3- 1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4S)-4-(2¹⁵-トリアゼ-1-エニ-2-イニ-1-イル)ピロリジン-1,2-ジカルボキシレート

DCM (100mL) 中の1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4R)-4-ヒドロキシ-ピロリジン-1,2-ジカルボキシレート (3.07g, 10.3mmol) の溶液に、0 で、Et₃N (2.90mL, 20.5mmol)、DMAP (125mg, 1.02mmol) およびメタンスルホニル クロライド (0.87mL, 11.3mmol) を加えた。反応混合物をRTに温まるままにし、1時間攪拌した。混合物を水 (50mL) および食塩水 (50mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮した。残渣をDMF (100mL) に溶解し、アジ化ナトリウム (100mg, 15.5mmol) を加えた。反応混合物を60 で3日間攪拌し、RTに冷えるままにし、水 (200mL) とEtOAc (200mL) との間で分配した。有機層を分

50

離し、食塩水 (200mL) で洗浄し、乾燥 (MgSO_4) し、減圧下に濃縮して、淡黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (30% EtOAc/ヘプタン) で精製し、標記の化合物を無色の油状物 (3.26g, 収率98%) として得た。

ESMS: m/z 671 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$

【0137】

工程4- 1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4S)-4-アミノピロリジン-1,2-ジカルボキシレート

EtOH : THF (5:1, 120mL) 中の1-tert-ブチル 2-シクロペンチル (2S,4S)-4-(2I⁵-トリアゼ-1-エニ-2-イニ-1-イル)ピロリジン-1,2-ジカルボキシレート (3.26g, 10.0mmol) の溶液に、水酸化パラジウム / 炭 (326mg, 20% w/w) を加えた。反応混合物を真空にし、 H_2 雰囲気下に置いた。これをさらに2回繰り返えし、反応体を H_2 雰囲気下で16時間撹拌を続けた。反応混合物をセライト (登録商標) により濾過し、濾液を減圧下に濃縮して、淡黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (5~10% MeOH/DCM) で精製し、標記の中間体を濃い透明な油状物 (1.34g, 収率45%) として得た。

【0138】

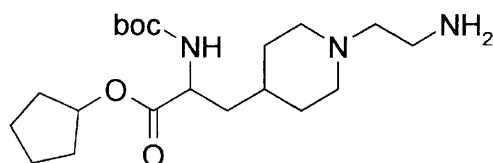
ESMS: m/z 299 $[\text{M}+\text{H}]^+$ および 597 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : 5.27-5.19 (1H, m), 4.31-4.18 (1H, m), 3.75-3.63 (1H, m), 3.57-3.50 (2H, m), 3.31-3.22 (1H, m), 2.52-2.43 (1H, m) および 1.91-1.38 (15H, m)

【0139】

中間体9

シクロペンチル 3-[1-(2-アミノエチル)ピペリジン-4-イル]-N-(tert-ブトキシカルボニル)アラニネート

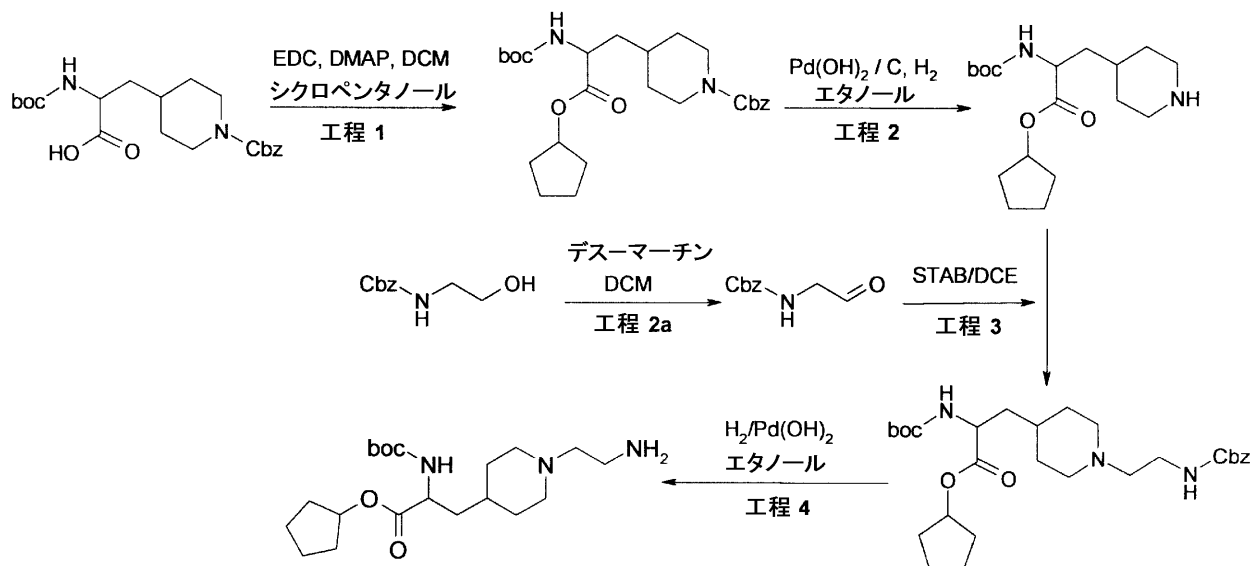
【化31】



【0140】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム11)。

【化32】



スキーム11

【0141】

工程1- ベンジル 4- {2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-3-(シクロペンチルオキシ)-3-オキソプロピル} ピペリジン-1-カルボキシレート

DCM (5mL)中の3- {1-[(ベンジルオキシ)カルボニル]ピペリジン-4-イル}-N-(tert-ブトキシカルボニル)アラニン (250mg, 0.62mmol)の溶液に、0 で、シクロペンタノール (0.11mL, 1.23mmol)、DMAP (9.6mg, 0.06mmol)およびEDC (180mg, 0.68mmol)を加えた。反応混合物をRTに温まるままにし、さらに16時間撹拌した。反応混合物を水 (30mL)およびEtOAc (30mL)で希釈した。水層をEtOAc (2×30mL)で再抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、粗生成物 (340mg, >収率100%)を得、これをさらに精製することなく用いた。

ESMS: m/z 475 [M+H]⁺

10

【0142】

工程2- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-3-ピペリジン-4-イルアラニネート

エタノール (5mL)中のN-(tert-ブトキシカルボニル)-3-ピペリジン-4-イルアラニン (340mg, 0.72mmol)の溶液に、窒素雰囲気下、注意深く、水酸化パラジウム/炭 (68mg, 20% w/w)を加えた。反応混合物を真空にし、H₂雰囲気下に置いた。これをさらに2回繰り返えし、反応体をH₂雰囲気下で、3時間撹拌を続けた。反応混合物をセライト(登録商標)により濾過し、減圧下に濃縮して、生成物(250mg, >収率100%)を得た。

ESMS: m/z 341 [M+H]⁺

20

【0143】

工程2a- ベンジル (2-オキソエチル)カーバメート

DCM (3mL)中のベンジル (2-ヒドロキシエチル)カーバメート (210mg, 1.08mmole)の溶液に、-78 で、デス-マーチン ペルヨージナン (504mg, 1.19mmole)を加えた。反応体をRTに温まるままにし、さらに2時間撹拌した。反応体を1:1 Na₂SO₃ /NaHCO₃の飽和溶液 (20mL)を加えてクエンチし、次いでDCM (3×30mL)で抽出した。合わせた有機物を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、さらに精製する必要のない所期の生成物 (150mg, 収率70%)を得た。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 9.59 (1H, s), 7.28-7.30 (5H, m), 5.06 (2H, s)および4.08 (2H, d, J=5.0Hz)

30

【0144】

工程3- シクロペンチル 3-[1-(2-{[(ベンジルオキシ)カルボニル]アミノ}エチル)ピペリジン-4-イル]-N-(tert-ブトキシカルボニル)アラニネート

DCE (5mL)中のシクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-3-ピペリジン-4-イルアラニネート (250mg, 0.74mmol)の溶液に、ベンジル (2-オキソエチル)カーバメート (131mg, 0.67mmol)を加えた。反応体を30分間撹拌し続け、次いでSTAB (424mg, 2.01mmol)を加えた。反応体をさらに16時間撹拌し続け、次いで飽和NaHCO₃溶液 (10mL)を加えてクエンチした。混合物をDCM (3×30mL)で抽出し、有機層を合わせ、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、生成物 (240mg, 収率69%)を得た。

ESMS: m/z 518 [M+H]⁺

40

【0145】

工程4- シクロペンチル 3-[1-(2-アミノエチル)ピペリジン-4-イル]-N-(tert-ブトキシカルボニル)アラニネート

エタノール (5mL)中のシクロペンチル 3-[1-(2-{[(ベンジルオキシ)カルボニル]アミノ}エチル)ピペリジン-4-イル]-N-(tert-ブトキシカルボニル)アラニネート (240mg, 0.46mmol)の溶液に、窒素雰囲気下、注意深く水酸化パラジウム/炭 (48mg, 20%w/w)を加えた。反応混合物を真空にし、H₂雰囲気下に置いた。これをさらに2回繰り返えし、反応体を、H₂雰囲気下で3時間撹拌し続けた。水酸化パラジウム/炭 (48mg, 20%w/w)をさらに加え、反応体をさらに16時間撹拌した。反応混合物をセライト(登録商標)により濾過し、減圧下に濃縮して、標記の中間体 (250mg)を得た。

ESMS: m/z 384 [M+H]⁺

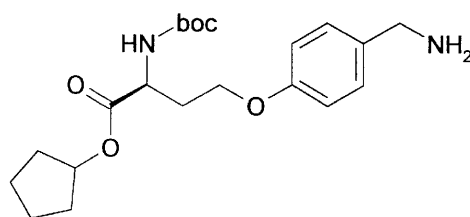
50

【 0 1 4 6 】

中間体10

シクロペンチル O-[4-(アミノメチル)フェニル]-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ホモセリネート

【化 3 3】

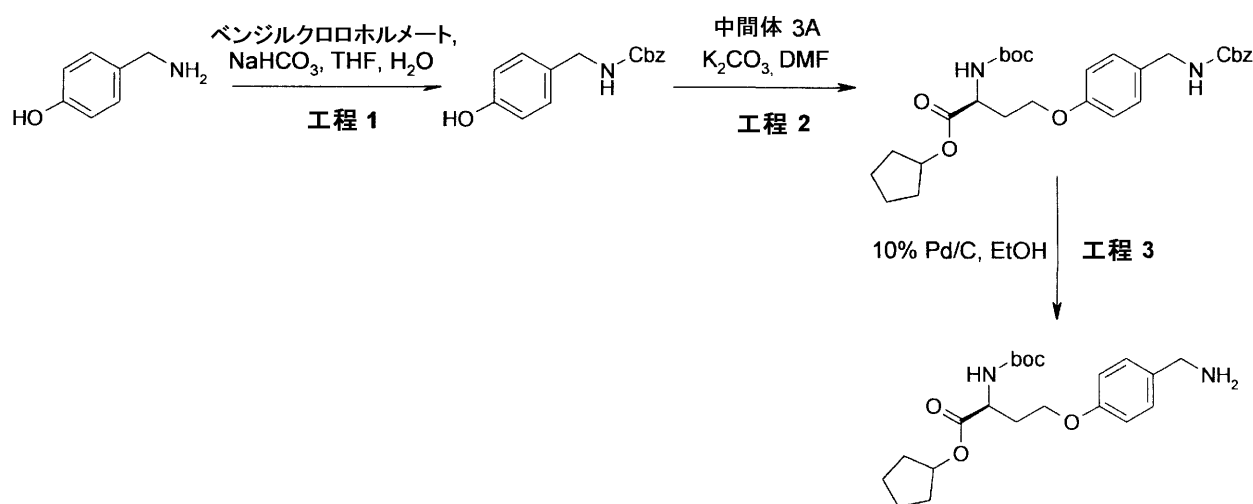


10

【 0 1 4 7 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム12)。

【化 3 4】



20

スキーム12

30

【 0 1 4 8 】

工程1- ベンジル (4-ヒドロキシベンジル)カーバメート

10% THF/H₂O (10mL)中の4-(アミノメチル)フェノール (300mg, 2.44mmol)の懸濁液に、NaHCO₃ (266mg, 3.17mmol)を加えた。混合物を0℃に冷却し、ベンジルクロロホルメート (344 μL, 2.44mmol)をゆっくりと加えた。反応体をRTで1.5時間撹拌した。反応混合物を水 (40mL)とEtOAc (40mL)との間で分配した。有機層を分離し、水層をEtOAc (20mL)で再抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮した。残渣をヘプタンで摩砕し、生成物を白色の固体 (610mg, 収率97%)として得た。

ESMS: m/z 258 [M+H]⁺

【 0 1 4 9 】

工程2- (S)-4-[4-(ベンジロキシカルボニルアミノ-メチル)-フェノキシ]-2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-酪酸 シクロペンチルエステル

DMF (5mL)中のベンジル (4-ヒドロキシベンジル)カーバメート (150mg, 0.58mmol)の溶液に、炭酸カリウム (107mg, 0.77mmol)およびシクロペンチル (2S)-4-プロモ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート [中間体3A] (219mg, 0.64mmol)を加えた。反応体を60℃で20時間加熱した。反応混合物を減圧下に濃縮し、次いで水 (30mL)とEtOAc (30mL)との間で分配した。水層をEtOAc (20mL)で抽出し、合わせた有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (10~50% EtOAc/ヘプタン)で精製し、生成物 (250mg, 収率74%)を得た。

ESMS: m/z 527 [M+H]⁺

40

50

【 0 1 5 0 】

工程3- シクロペンチル O-[4-(アミノメチル)フェニル]-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-ホモセリネート

エタノール (8mL)中の(S)-4-[4-(ベンジルオキシカルボニルアミノ-メチル)-フェノキシ]-2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-酪酸 シクロペンチルエステル (250mg, 0.47mmol)の溶液に、EtOH (2mL)中のPd/C (50mg, 20% w/w)のスラリーを加えた。反応体を真空にし、H₂雰囲気下に2時間置いた。反応混合物をセライト(登録商標)により濾過し、エタノール (15mL)で洗浄した。濾液を減圧下に濃縮して、標記の中間体 (110mg, 収率59%)を得た。

【 0 1 5 1 】

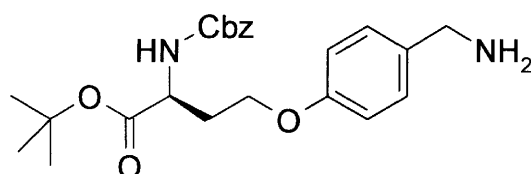
ESMS: m/z 393 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 7.21 (2H, d, 8.1Hz), 6.84 (2H, d, J=8.4Hz), 5.38 (1H, m), 5.22 (1H, m), 4.42 (1H, d, J=6.3Hz), 4.03 (2H, t, 6Hz), 3.80 (2H, s), 3.72 (1H, m), 2.29-1.51 (9H, m) 1.45 (9H, s), 1.28-1.20 (2H, m)

【 0 1 5 2 】

中間体11

tert-ブチル O-[4-(アミノメチル)フェニル]-N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-L-ホモセリネート

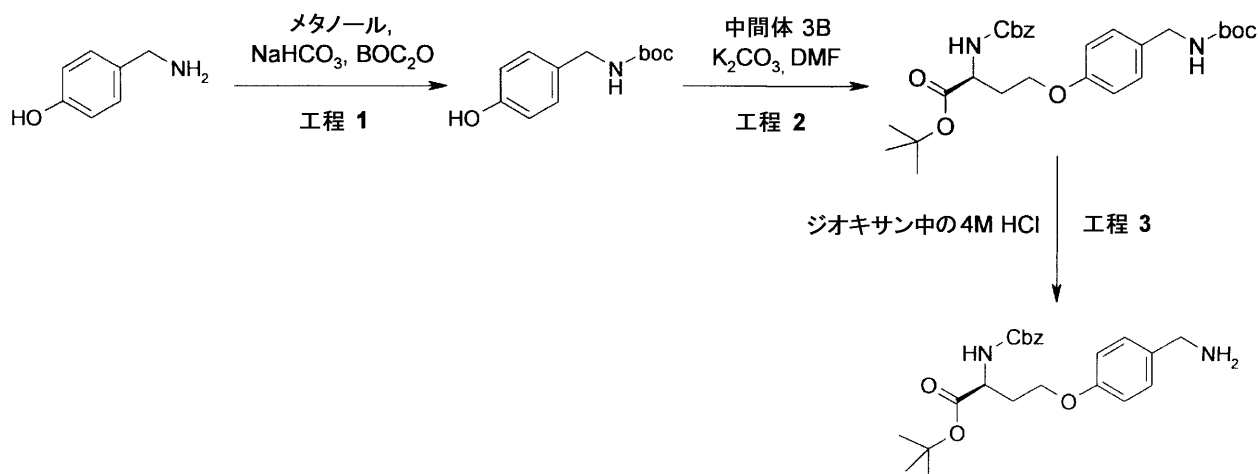
【 化 3 5 】



【 0 1 5 3 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム13)。

【 化 3 6 】



スキーム13

【 0 1 5 4 】

工程1- tert-ブチル (4-ヒドロキシベンジル)カーバメート

MeOH (2.5mL)中の4-(アミノメチル)フェノール (200mg, 1.62mmol)の溶液に、重炭酸ナトリウム (476mg, 5.68mmol)およびBOC₂O (390mg, 1.79mmol)を加えた。溶液をRTで72時間攪拌した。反応混合物を水 (20mL)とEtOAc (20mL)との間で分配した。有機層を分離し、水層をEtOAc (10mL)で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、生成物を黄色の油状物 (360mg)として得た。

ESMS: m/z 224 [M+H]⁺

【 0 1 5 5 】

工程2- tert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-O-(4- { [(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]メチル } フェニル)-L-ホモセリネート

中間体3Bを用いて、スキーム12 工程2におけるような手順。

ESMS: m/z 515 [M+H]⁺

【 0 1 5 6 】

工程3- tert-ブチル O-[4-(アミノメチル)フェニル]-N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-L-ホモセリネート

tert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-O-(4- { [(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]メチル } フェニル)-L-ホモセリネート (200mg, 0.39mmol) を4M HCl/ジオキサン (1.5mL) に溶解し、0 で20分間撹拌した。反応混合物をセライト(登録商標)により濾過し、エタノール (15mL) で洗浄した。残渣をEtOAc (15mL) で希釈し、1M NaOH溶液でpHを12に調整した。水層をEtOAc (3 × 10mL) で抽出し、合わせた有機物を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮して、標記の中間体を無色の油状物 (152mg, 収率95%) として得た。

10

【 0 1 5 7 】

ESMS: m/z 224 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 7.36 (5H, s), 7.19 (2H, d, J=8.5Hz), 6.83 (2H, d, J=8.3Hz), 5.12 (2H, s), 4.45 (1H, br. s.), 4.25 (2H, d, J=5.3Hz), 4.04 (2H, t, J=6.0Hz), 2.11-2.46 (2H, m) および 1.48 (9H, s)

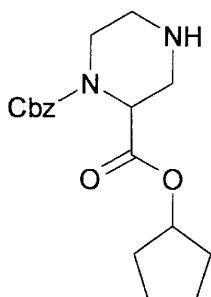
【 0 1 5 8 】

中間体12A

20

1-ベンジル 2-シクロペンチル ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

【 化 3 7 】

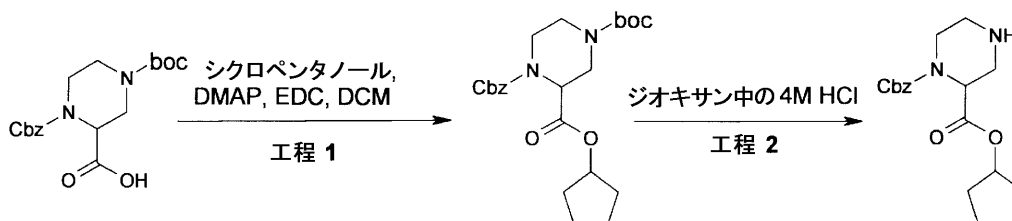


30

【 0 1 5 9 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム14)。

【 化 3 8 】



40

スキーム14

【 0 1 6 0 】

工程1- 1-ベンジル 4-tert-ブチル 2-シクロペンチル ピペラジン-1,2,4-トリカルボキシレート

DCM (20mL) 中の1-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン-2-カルボン酸 (1.00g, 2.85mmol) の溶液に、0 で、シクロペンタノール (520 μL, 5.70mmol)、EDC (602mg, 3.14mmol) および DMAP (35mg, 0.29mmol) を加えた。反応混合物をRTで48時間撹拌し、次いで、減圧下に溶媒を除去した。粗残渣をEtOAc (30mL) に溶解し、1M HCl (15mL)、1M Na₂CO₃ (15mL) および食塩水 (10mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgS

50

O₄)し、溶媒を減圧下に除去して、生成物 (1.23g, 収率95%)を得た。

ESMS: m/z 433 [M+H]⁺

【 0 1 6 1 】

工程2- 1-ベンジル 2-シクロペンチル ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

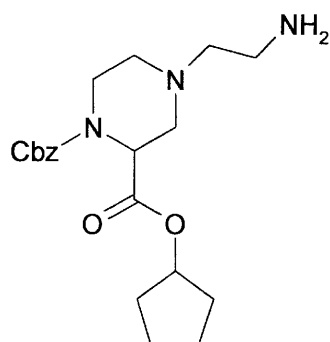
1-ベンジル 2-シクロペンチル ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート (200mg, 0.39mmol)を4M HCl/ジオキサン (3mL)に溶解し、0 で1時間撹拌した。反応混合物を減圧下に濃縮し、標記の中間体を無色の油状物 (145mg)として得た。 ESMS: m/z 333 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 7.20-7.28 (5H, m), 5.16-5.17 (1H, m), 5.01-5.09 (2H, m), 4.49-4.60 (1H, m), 3.82 (1H, t J=14.8Hz), 3.43 (1H, t J=12.9Hz), 2.26-3.12 (4H, m)および1.51-1.76 (8H, m)

10

【 0 1 6 2 】

中間体12B

1-ベンジル 2-シクロペンチル 4-(2-アミノエチル)ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート
【化 3 9】

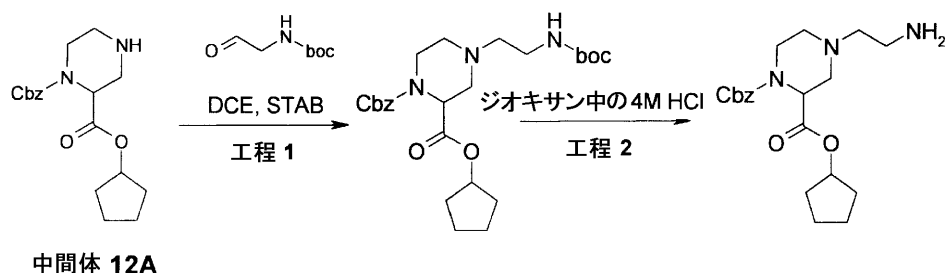


20

【 0 1 6 3 】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム15)。

【化 4 0】



30

スキーム15

【 0 1 6 4 】

工程1- 1-tert-ブチル 2-シクロペンチル 4-{2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]エチル}ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

DCE (8 mL)中の1-ベンジル 2-シクロペンチル ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート [中間体12A] (165mg, 0.50mmol)の溶液に、tert-ブチル (2-オキソエチル)カーバメート (72mg, 0.45mmol)を加えた。RTで10分間撹拌後、AcOH (35 μL)およびSTAB (287mg, 1.35mmol)を加えた。1時間撹拌後、混合物を飽和NaHCO₃ (2mL)でクエンチし、DCM (10mL)で希釈した。有機層を1M HCl (10mL)、1M Na₂CO₃ (10mL)および食塩水 (10mL)で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に蒸発して、粗生成物 (240mg)を単離した。

40

ESMS: m/z 476 [M+H]⁺

【 0 1 6 5 】

工程2- 1-ベンジル 2-シクロペンチル 4-(2-アミノエチル)ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

[スキーム14 工程2]におけるような手順。

50

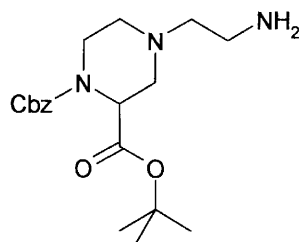
ESMS: m/z 376 $[M+H]^+$. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.17-7.31 (5H, m), 4.98-5.20 (3H, m), 4.44-4.91 (2H, m), 3.83 (1H, t, $J=14.8$ Hz), 3.04-3.52 (4H, m), 1.91-2.46 (4H, m) および 1.44-1.85 (8H, m)

【0166】

中間体12C

1-ベンジル 2-tert-ブチル 4-(2-アミノエチル)ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

【化41】

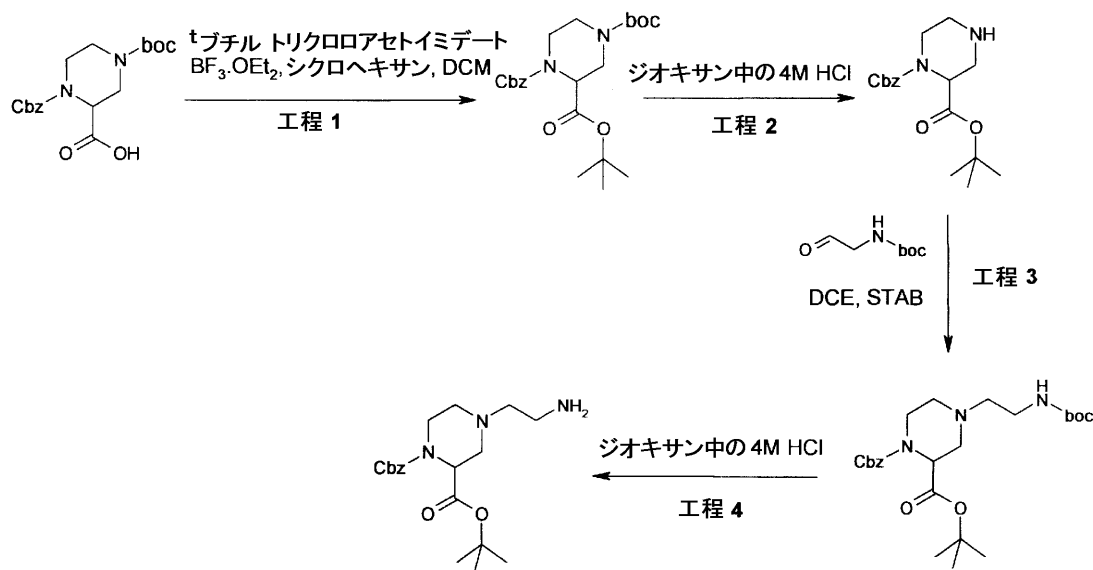


10

【0167】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム16)。

【化42】



20

30

スキーム16

【0168】

工程1- 1-ベンジル 2,4-ジ-tert-ブチル ピペラジン-1,2,4-トリカルボキシレート

DCM (10mL) およびシクロヘキサン (10mL) 中の1-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン-2-カルボン酸 (500mg, 1.37mmol) の溶液に、0 で、ボロントリフルオライド トリエチルエーテレートを加え、すぐにシクロヘキサン (10mL) 中のtert-ブチル トリクロロアセトイミデート (600mg, 2.74mmol) を15分かけてゆっくりと加えた。反応体をRTに温まるままにし、30分間攪拌した。炭酸水素ナトリウム (80mg) を加え、さらに10分間攪拌を続けた後、セライト(登録商標)により濾過した。セライト(登録商標)をDCMで十分に洗浄し、濾液溶媒を減圧下に除去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (10% EtOAc/ヘプタン) で精製し、生成物を白色の固体 (0.240g, 収率42%) として得た。

40

ESMS: m/z 443 $[M+H]^+$

【0169】

工程2- 1-ベンジル 2-tert-ブチル ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

1-ベンジル 2,4-ジ-tert-ブチル ピペラジン-1,2,4-トリカルボキシレート (240mg, 0.

50

57mmol)を4M HCl/ジオキサン (1.5mL)に溶解し、RTで1時間撹拌した。混合物をEtOAc (10 mL)に溶解し、2M NaOHで洗浄した。次いで、有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に蒸発して、粗生成物 (240mg)を得た。

ESMS: m/z 321 [M+H]⁺

【0170】

工程3- 1-ベンジル 2-tert-ブチル 4-{2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]エチル}ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

[スキーム15 工程1]におけるような手順。

ESMS: m/z 464 [M+H]⁺

【0171】

工程4- 1-ベンジル 2-tert-ブチル 4-(2-アミノエチル)ピペラジン-1,2-ジカルボキシレート

[スキーム13 工程3]におけるような手順。

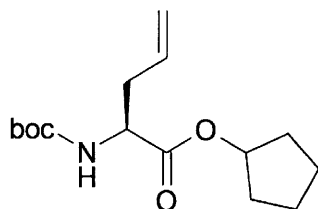
ESMS: m/z 364 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 7.17-7.31 (5H, m), 4.98-5.20 (3H, m), 4.44-4.91 (2H, m), 3.83 (1H, t, J=14.8 Hz), 3.04-3.52 (4H, m), 1.91-2.46 (4H, m)および1.35 (9H, s)

【0172】

中間体13

シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ペンテ-4-エノエート

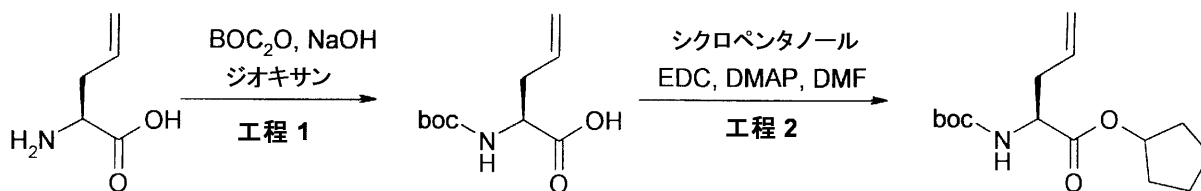
【化43】



【0173】

標記の中間体は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム17)。

【化44】



スキーム17

【0174】

工程1- (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ペンテ-4-エン酸

1M NaOH (20mL)およびジオキサン (10mL)中の(2S)-2-アミノペンテ-4-エン酸 (1.00g, 8.70mmol)の溶液に、0 で、BOC₂O (2.28g, 10.5mmol)を加えた。反応混合物をRTに温まるままにし、さらに18時間撹拌した。pHを調べ、必要な場合は塩基性に調整した。反応混合物を減圧下に濃縮し、水相をEt₂O (2×10mL)で洗浄し、過剰のBOC₂Oを除いた。水相を2 M H₂SO₄でpH2に酸性化し、その都度、水相を塩化ナトリウムで飽和させながら、EtOAc (4×20mL)で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、生成物 (2.2g, 収率100%)を得た。

ESMS m/z: 238 [M+Na]⁺

【0175】

工程2- シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ペンテ-4-エノエー

ト

DCM (50mL)中の(S)-2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-ペンテ-4-エン酸 (2.20g, 10.2 mmol)の溶液に、DMAP (125mg, 1.02mmol)、シクロペンタノール (1.1mL, 12.2mmol)およびEDC (2.15g, 11.2mmol)を加えた。反応体を65時間攪拌し、減圧下に濃縮した。カラムクロマトグラフィー (5% EtOAc/ヘプタン)で精製し、標記の中間体を透明な油状物 (1.75 g, 収率60%)として得た。

【0176】

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 5.61-5.79 (1H, m), 5.21 (1H, dd, J=8.3, 3.4 Hz), 5.15 (1H, dd, J=2.9, 1.2 Hz), 5.10 (1H, d, J=1.3 Hz), 4.25-4.38 (1H, m), 2.49 (1H, dd, J=12.8, 6.4 Hz), 1.53-1.92 (8H, m)および1.44 (9H, s)

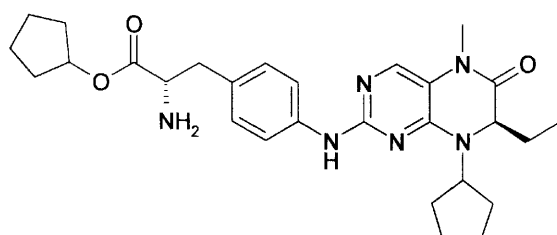
10

【0177】

実施例1

シクロペンチル 4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -L-フェニルアラニネート

【化45】

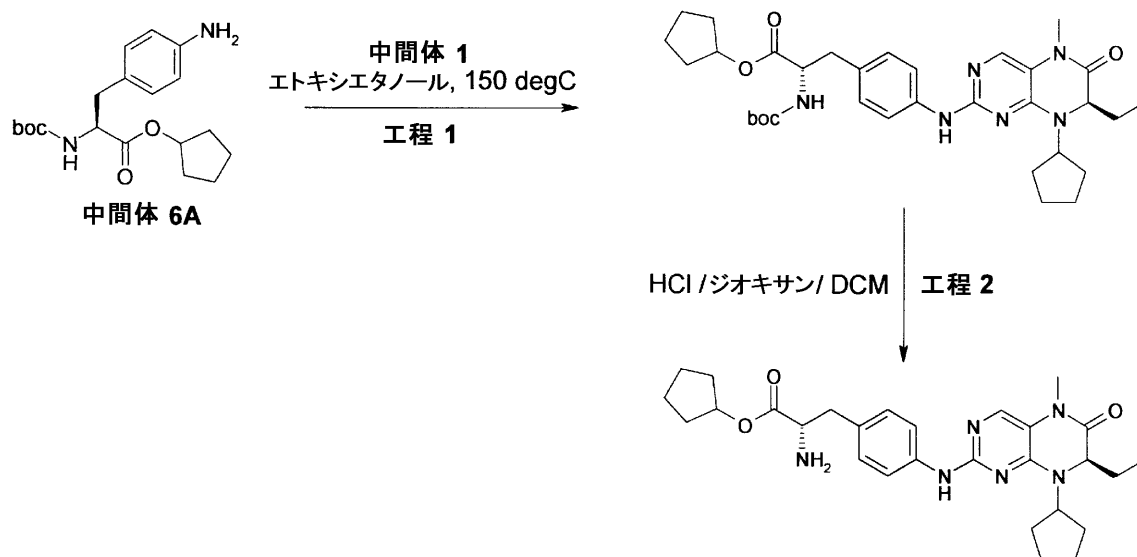


20

【0178】

標記の実施例は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム18)。

【化46】



30

40

スキーム18

【0179】

工程1- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -L-フェニルアラニネート

2-エトキシエタノール (2mL)中の(7R)-2-クロロ-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン [中間体1] (100mg, 0.34mmol)の溶液に、シクロペンチル 4-アミノ-N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-フェニルアラニネート [中間体6A] (170mg, 0.51mmol)を加えた。反応混合物を150 で4時間加熱し、冷却し、減圧下に濃縮し

50

て、褐色の残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー (5% メタノール / EtOAc中の1% NH_4OH)で精製し、生成物を黄色の固体 (89mg, 収率43%)として得た。

ESMS: m/z 607 $[\text{M}+\text{H}]^+$

【0180】

工程2- シクロペンチル 4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -L-フェニルアラニネート

DCM (3mL)中の(S)-2-tert-ブトキカルボニルアミノ-3-[4-((R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル)アミノ]-L-フェニルアラニネート (32mg, 0.05mmol)の溶液に、4M HCl/ジオキサン (3mL)を加えた。反応混合物をRTで4時間攪拌し、減圧下に濃縮して、褐色の残渣を得た。飽和 NaHCO_3 溶液 (3mL)で、残渣のpHを9に調整し、次いで、EtOAc (3×10mL)で抽出した。合わせた有機物を乾燥(MgSO_4)し、減圧下に濃縮して、標記の実施例を白色の固体 (9mg, 収率34%)として得た。

10

【0181】

ESMS: m/z 507 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : 7.43 (2H, d, $J = 7.7\text{Hz}$), 7.04-7.33 (3H, m), 5.06-5.24 (1H, m), 4.02-4.18 (1H, m), 4.20-4.44 (2H, m), 3.14 (2H, m), 2.83-11.04 (1H, s), 1.32-2.14 (18H, m)および0.80 (3H, t, $J = 7.4\text{Hz}$)

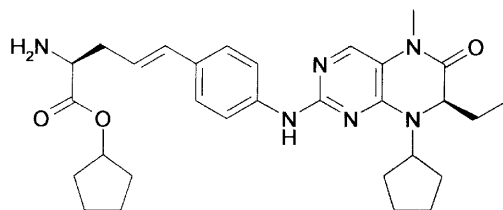
【0182】

実施例2

シクロペンチル (2S,4E)-2-アミノ-5-(4-{ [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ }フェニル)ペンテ-4-エノエート

20

【化47】

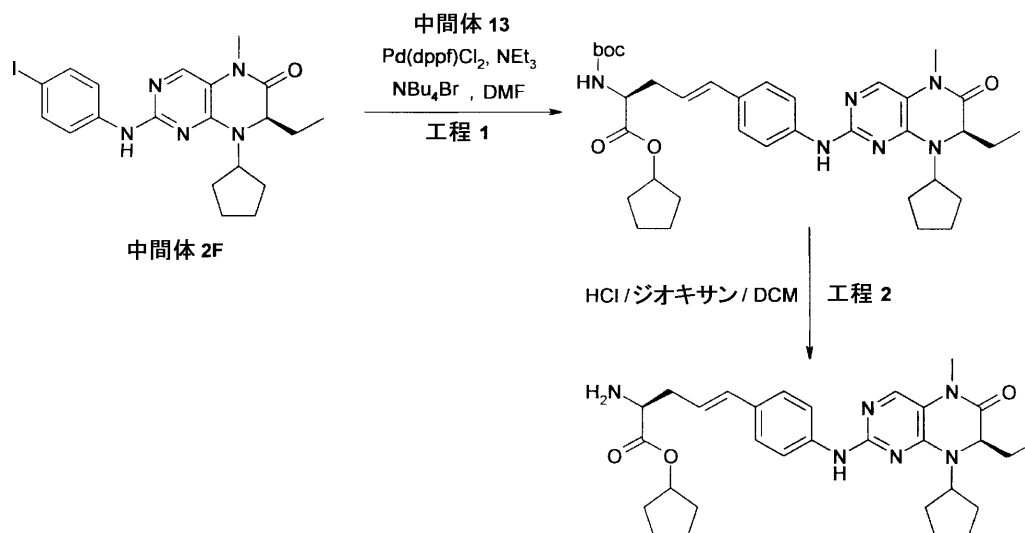


【0183】

30

標記の実施例は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム19)。

【化48】



40

スキーム19

【0184】

工程1- (7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヨードフェニル)アミノ]-5-メチル-7,8

50

-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン

DMF (3mL)中のシクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ペンテ-4-エノエート [中間体13] (175mg, 0.62mmol)の溶液に、(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヨード-フェニル)アミノ]-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン [中間体2F] (197mg, 0.41mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (34mg, 0.04mmol)、Et₃N (0.13mL, 0.90mmol)およびNBu₄Br (133mg, 0.40mmol)を加えた。反応混合物を、マイクロウェーブ中、120 で1時間加熱し、減圧下に濃縮した。粗残渣をシリカ上に吸着し、カラムクロマトグラフィー (40% EtOAc/ヘプタン)で精製し、生成物 (72mg, 収率30%)を得た。

ESMS m/z: 633 [M+H]⁺

【0185】

10

工程2- シクロペンチル (2S,4E)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-5-(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}フェニル)ペンテ-4-エノエート

DCM (2mL)中の(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヨードフェニル)アミノ]-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン (36mg, 0.06mmol)の溶液に、4M HCl/ジオキサン (20 μl, 0.08mmol)を加えた。反応混合物をRTで2時間攪拌し、次いで減圧下に濃縮した。残渣をDCM (10ml)に再溶解し、1M NaHCO₃ (10mL)で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に蒸発した。逆相クロマトグラフィーで精製して、標記の実施例を黄色の油状物 (3mg, 収率10%)として得た。

【0186】

20

ESMS m/z: 533 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, MeOD) : 7.55-7.62 (1H, m), 7.39-7.51 (4H, m), 6.61 (1H, d, J=15.6 Hz), 6.17 (1H, ddd, J=15.4, 7.6, 7.3 Hz), 5.26-5.34 (1H, m), 4.39 (1H, dd, J=6.3, 3.3 Hz), 4.32 (1H, t, J=8.8 Hz), 4.17 (1H, t, J=6.2 Hz), 3.25 (3H, s), 2.83 (2H, t, J=6.7 Hz), 1.79-2.06 (9H, m), 1.54-1.78 (9H, m) および0.86 (3H, t, J=7.4 Hz)

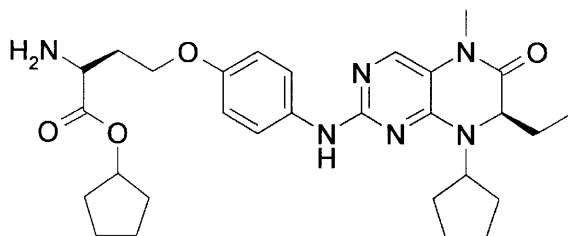
【0187】

実施例3

シクロペンチル 0-(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}フェニル)-L-ホモセリネート

【化49】

30

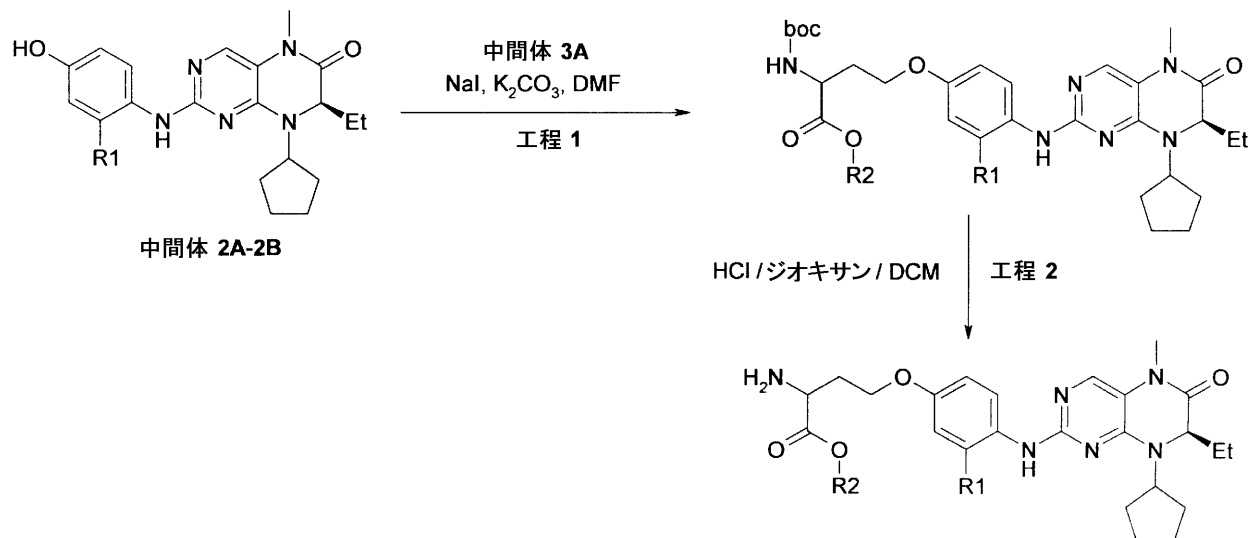


【0188】

標記の実施例は、次に概略した一般的手順に従って製造した(スキーム20)。

40

【化 5 0】



10

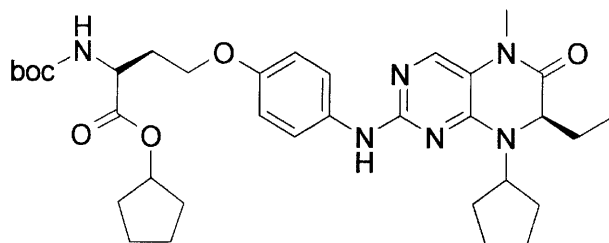
スキーム 20

【 0 1 8 9 】

工程1- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } フェニル)-L-ホモセリネート

20

【化 5 1】



30

【 0 1 9 0 】

DMF (2mL) 中の (7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-2-[(4-ヒドロキシフェニル)アミノ]-5-メチル-7,8-ジヒドロプテリジン-6(5H)-オン [中間体2A] (120mg, 0.33mmol) の溶液に、シクロペンチル (2S)-4-ブromo-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート [中間体3A] (114mg, 0.33mmol) および K₂CO₃ (90mg, 0.65mmol) を加えた。反応混合物を 40℃ で 40 時間攪拌し、次いで、反応混合物を EtOAc (25mL) で希釈した。混合物を水 (2 × 25mL) および食塩水 (25mL) で洗浄した。有機層を乾燥 (MgSO₄) し、減圧下に濃縮して、褐色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (100% EtOAc) で精製して、生成物を淡褐色の固体 (177 mg, 収率 85%) として得た。

ESMS: m/z 637 [M+H]⁺

40

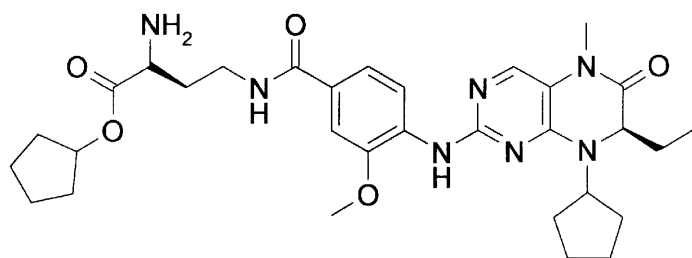
【 0 1 9 1 】

工程2- シクロペンチル O-(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } フェニル)-L-ホモセリネート

CC[C@H]1C(=O)N(C2CCCC2)c3nc(NC4=CC=C(C=C4)OCC[C@H](C(=O)N)C5CCCC5)cnc31

40

【化 5 3】

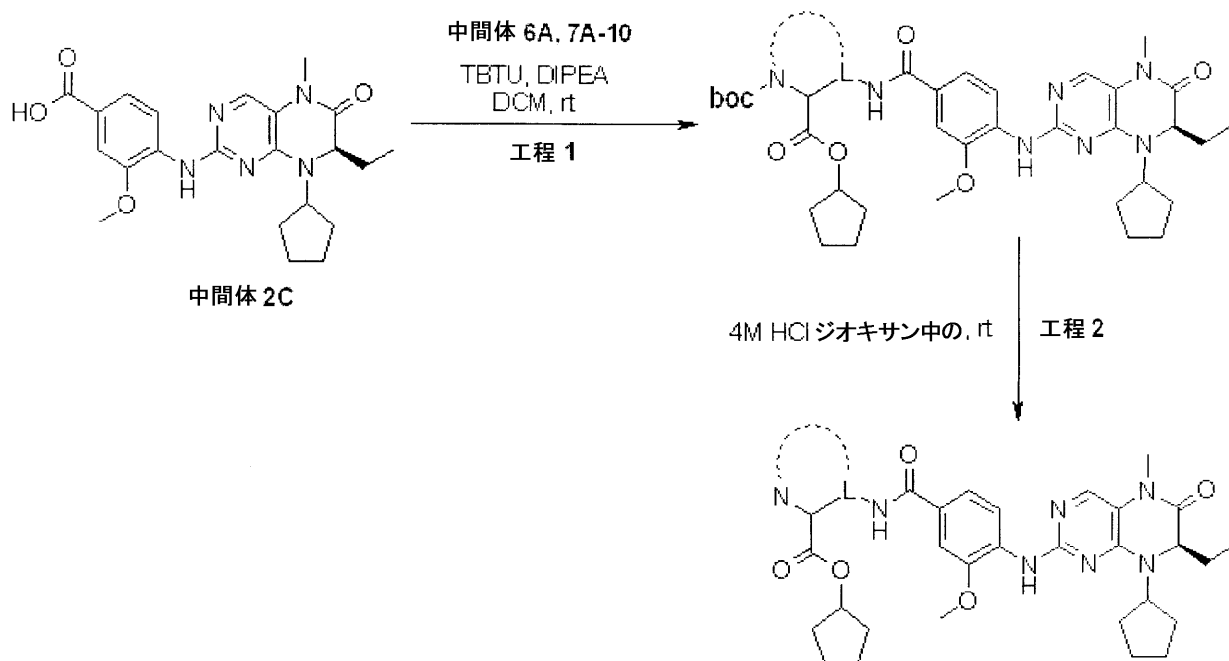


【 0 1 9 6 】

10

標記の実施例は、次に概略した一般的手順に従って製造した(スキーム21)。

【化 5 4】



20

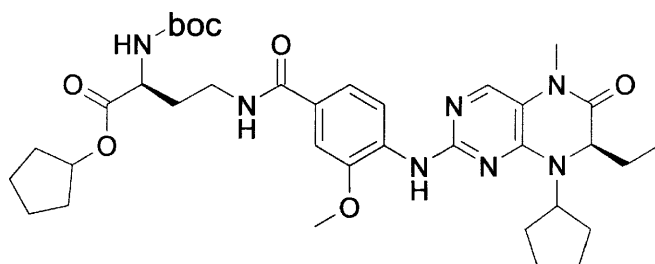
30

スキーム21

【 0 1 9 7 】

工程1- シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ブタノエート

【化 5 5】



40

【 0 1 9 8 】

DCM (5mL)中の4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシ安息香酸 [中間体2C] (200mg, 0.47mmol)の溶液に、0-ベンゾトリアゾール-1-イル-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム テトラフルオロボレート (166mg, 0.52mmol)およびDIPEA (0.16mL, 0.94mmol)を加えた。反応混合物をRTで30分間攪拌した後、シクロペンチル (2S)-4-アミノ-2-[(tert-ブトキシカル

50

ボニル)アミノ]ブタノエート [中間体7A] (269mg, 0.84mmol)を加えた。反応混合物をRTでさらに8時間攪拌し、次いでDCM (20mL)で希釈し、水 (2×20mL)で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (100 % EtOAc)で精製して、生成物を黄色の固体 (228mg, 収率70%)として得た。

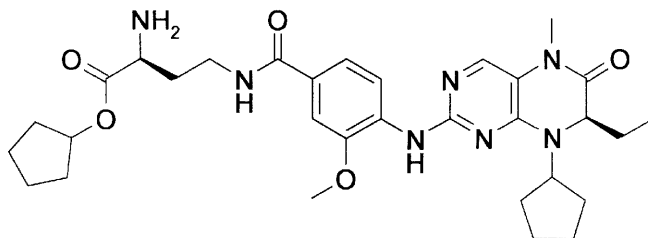
ESMS: m/z 694 [M+H]⁺

【0199】

工程2- シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ブタノエート

【化56】

10



【0200】

シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ブタノエート (228mg, 0.33mmol)をDCM (20mL)に溶解し、4M HCl/ジオキサン (10mL)を加えた。反応混合物をRTで2時間攪拌し、減圧下に濃縮した。残渣をEtOAc (50mL)中に採取し、飽和Na₂CO₃ (25mL)、食塩水 (25mL)で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、標記の実施例を白色の固体 (180mg, 収率92%)として得た。

20

【0201】

ESMS: m/z 594 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 8.55 (1H, d, J=8.4 Hz), 7.70 (2H, br s), 7.62 (1H, s), 7.48 (1H, d, J=1.5 Hz), 7.32 (1H, dd, J=2.0, 8.6 Hz), 5.23-5.19 (1H, m), 4.55-4.49 (1H, m), 4.24 (1H, dd, J=3.6, 7.8 Hz), 3.99 (3H, s), 3.92-3.80 (1H, m), 3.59-3.47 (2H, m), 3.35 (3H, s), 2.14-1.60 (22H, m)および0.90 (3H, t, J=7.4 Hz)

30

【0202】

次の表中の実施例は、適当な中間体を用いて、上記の方法 (スキーム21) と類似の方法により製造した。

【表 3】

実施例	工程 1 用いた中間体	名前	ESMS
6	2C & 8	シクロペンチル (4S)-4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-プロリネート	m/z 606 [M+H] ⁺
7	2C & 6A	シクロペンチル 4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-フェニルアラニネート	m/z 656 [M+H] ⁺
8	2C & 7B	シクロペンチル N ⁶ -(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)リジネート	m/z 622 [M+H] ⁺
9	2C & 10	シクロペンチル O-(4- {[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル} フェニル)-L-ホモセリネート	m/z 700 [M+H] ⁺
10	2C & 9	シクロペンチル 3-(1-{2-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]エチル} ピペリジン-4-イル)アラニネート	m/z 691 [M+H] ⁺
*11	2C & 6B	tert-ブチル 4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-フェニルアラニネート	m/z 644 [M+H] ⁺

10

20

30

40

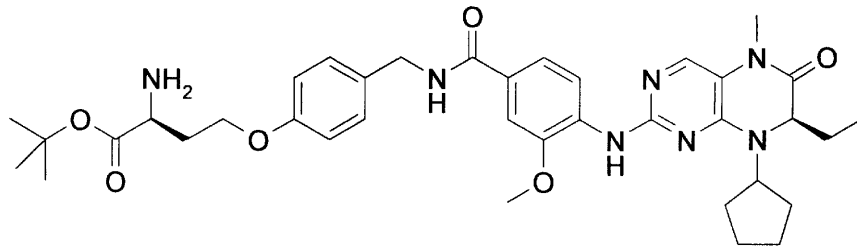
* 選択的なBoc脱保護 [スキーム21 工程2] を達成するため、混合物を、RTで2時間攪拌する代わりに、0 で30分間攪拌した。

【0203】

実施例12

tert-ブチル O-(4- {[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル} フェニル)-L-ホモセリネート

【化 5 7】

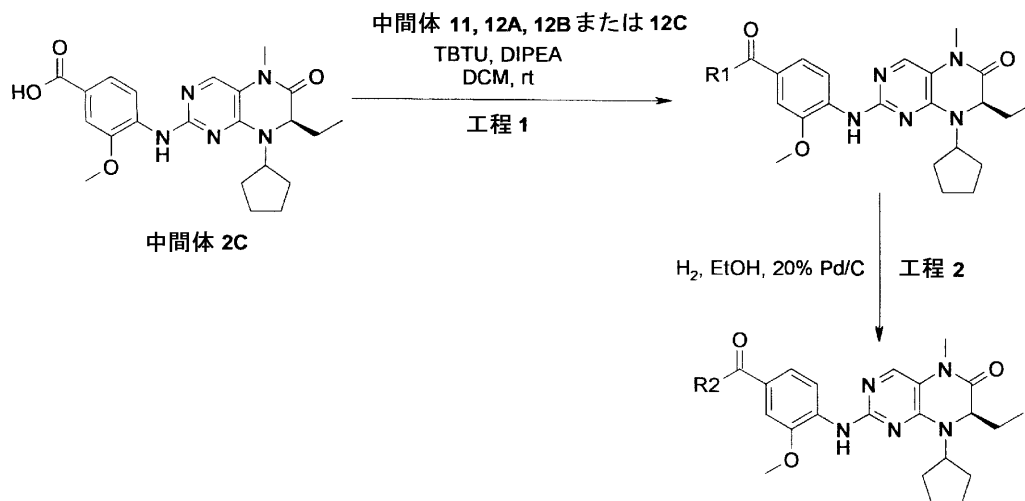


【 0 2 0 4】

10

標記の実施例は、次に概略した一般的手順に従って製造した(スキーム22)。

【化 5 8】



20

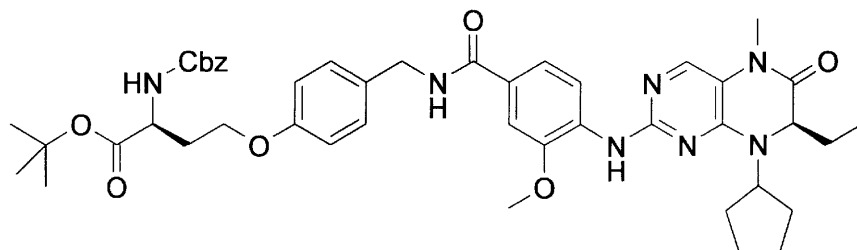
スキーム22

【 0 2 0 5】

工程1- tert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-O-(4-{[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル}フェニル)-L-ホモセリネート

30

【化 5 9】



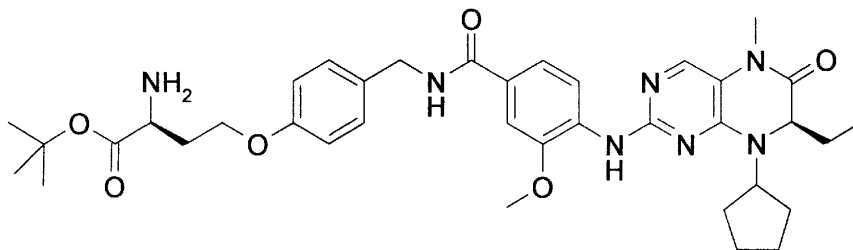
40

中間体2Cおよび11を用いて、[スキーム21 工程1]におけるような手順。

【 0 2 0 6】

工程2- tert-ブチル O-(4-{[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル}フェニル)-L-ホモセリネート

【化 6 0】



【 0 2 0 7】

10

EtOH (5mL)中のtert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-O-(4- { [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-メチル } フェニル)-L-ホモセリネート (132mg, 0.16mmol)の溶液に、窒素雰囲気下、Pd/C (30mg, 20% w/w)を加えた。反応混合物を真空にし、H₂雰囲気下に置いた。これをさらに2回繰り返えし、反応体をH₂雰囲気下で1時間攪拌を続けた。反応混合物を、セライト(登録商標)により濾過し、濾液を減圧下に濃縮し、カラムクロマトグラフィー (10% MeOH / DCM)で精製して、標記の実施例を白色の固体 (42mg, 収率38%)として得た。

【 0 2 0 8】

ESMS: m/z 688 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 8.52 (1H, d, J=8.5Hz), 7.56-7.70 (2H, m), 7.48 (1H, d, J=1.3Hz), 7.27-7.32 (2H, m), 6.88 (2H, d, J=8.5Hz), 6.53 (1H, t, J=5.5Hz), 4.44-4.62 (3H, m), 4.21 (1H, dd, J=7.7, 3.6Hz), 3.95 (3H, s), 3.59 (1H, dd, J=7.6, 5.0Hz), 3.31 (3H, s), 2.08-2.28 (4H, m), 1.66-2.01 (10H, m), 1.47 (9H, m)および0.87 (3H, t, J=7.5Hz)

20

【 0 2 0 9】

次の表中の実施例は、適当な中間体を用いて、上記の方法(スキーム22)と類似の方法により製造した。

【表 4】

実施例	工程 1 用いた中間体	名前	ESMS
13	2C & 12A	シクロペンチル 4-(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)ピペラジン-2-カルボキシレート	m/z 606 [M+H] ⁺
14	2C & 12B	シクロペンチル 4-{2-[4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]エチル}ピペラジン-2-カルボキシレート	m/z 325 [(M+2)/2] ⁺
15	2C & 12C	tert-ブチル 4-{2-[4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]エチル}ピペラジン-2-カルボキシレート	m/z 637 [M+H] ⁺

10

20

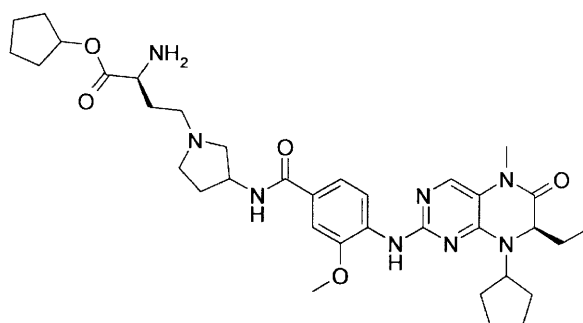
【0210】

実施例16

シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-イル}ブタノエート

30

【化 6 1】

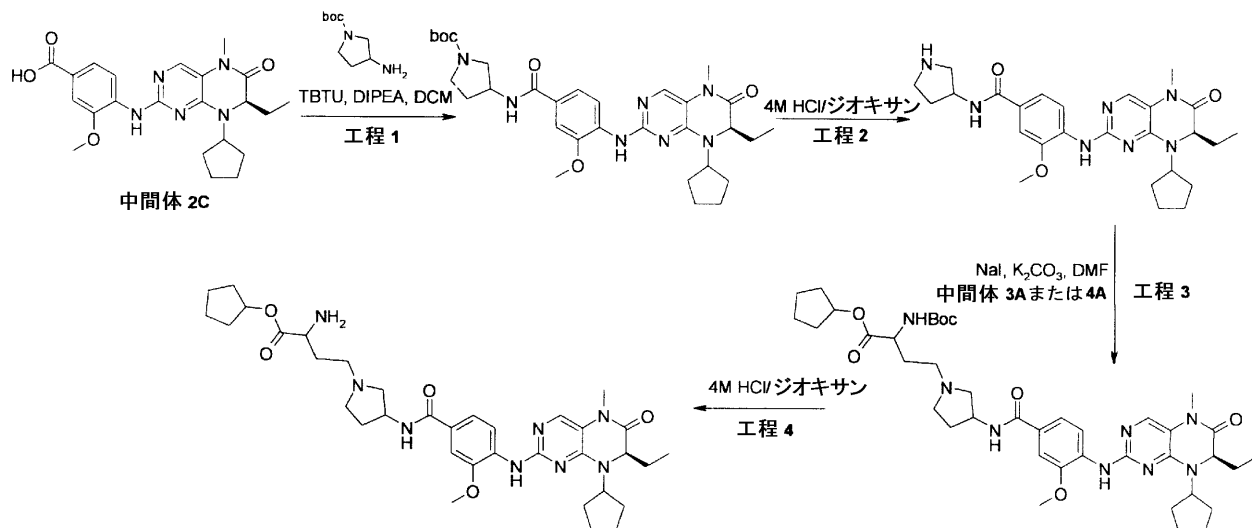


40

【0211】

標記の実施例は、次に概略した一般的手順に従って製造した(スキーム23)。

【化 6 2】



10

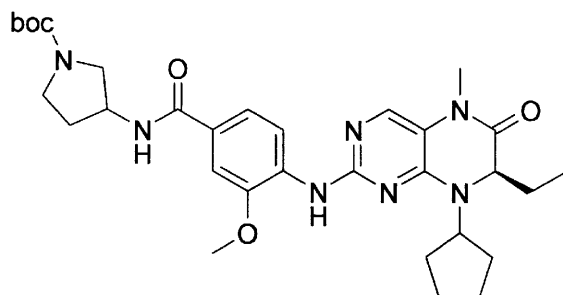
スキーム 23

【 0 2 1 2】

工程1- tert-ブチル 3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-カルボキシレート

20

【化 6 3】



30

【 0 2 1 3】

DCM (10mL) 中の 4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ安息香酸 [中間体 2C] (200mg, 0.47mmol) の溶液に、TBTU (170mg, 0.52mmol) および DIPEA (163 μ l, 0.94mmol) を加えた。混合物を RT で 30 分間攪拌した。tert-ブチル 3-アミノピロリジン-1-カルボキシレート (98 μ l, 0.56mmol) を加え、反応混合物を RT で、もう 2 時間攪拌した。混合物を DCM (10mL) で希釈し、水 (2 \times 20mL) および食塩水 (10mL) で洗浄した。有機層を乾燥 (MgSO_4) し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (DCM 中の 0 ~ 1%) で精製して、生成物を黄色の固体 (220mg, 収率 78%) として得た。

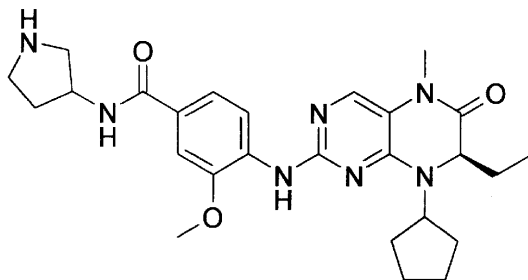
40

ESMS: m/z 594 $[\text{M}+\text{H}]^+$

【 0 2 1 4】

工程2- 4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ-N-ピロリジン-3-イルベンズアミド

【化 6 4】



10

【 0 2 1 5】

tert-ブチル 3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-カルボキシレート (22mg, 0.36mmol)を、4M HCl / ジオキサン (6mL)に溶解し、RTで1時間撹拌した。反応体を減圧下に濃縮して、生成物を白色の固体 (120mg, 収率68%)として得た。

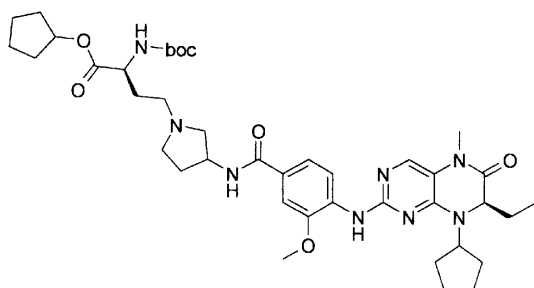
ESMS: m/z 494 [M+H]⁺

【 0 2 1 6】

工程3- シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-{3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-イル}ブタノエート

20

【化 6 5】



30

【 0 2 1 7】

DMF (5mL)中の4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシ-N-ピロリジン-3-イルベンズアミド (120mg, 0.25mmol)の溶液に、K₂CO₃ (140mg, 1.0mmol)、NaI (75 μl, 0.5mmol)および(S)-シクロペンチル (2S)-4-ブromo-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート [中間体3A] (130mg, 0.37mmol)を加えた。反応混合物を、80 °Cで一晩撹拌し、次いでEtOAc (10mL)で希釈した。混合物を水 (2 × 10mL)および食塩水 (10mL)で洗浄した。有機層を乾燥 (MgSO₄)し、減圧下に濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (0~2% MeOH/DCM)で精製して、生成物を淡黄色の固体 (140mg, 収率71%)として得た。

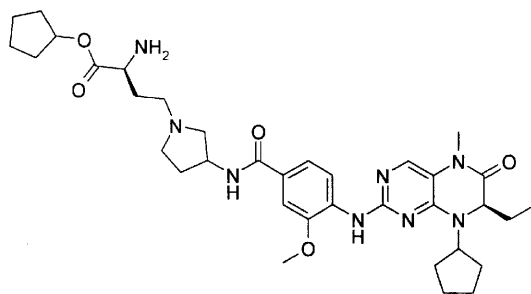
40

ESMS: m/z 522 [M+H]⁺

【 0 2 1 8】

工程4- シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-イル}ブタノエート

【化 6 6】



10

【 0 2 1 9】

シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-{3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-イル}ブタノエート (140mg, 0.18mmol) を4M HCl/ジオキサン (5mL) に溶解し、RTで2時間撹拌した。反応体を減圧下に濃縮した。残渣をEt₂Oで摩砕し、濾過し、減圧下に乾燥して、標記の実施例を白色の固体 (60mg, 収率50%) として得た。

【 0 2 2 0】

ESMS: m/z 663 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 8.56 (1H, d, J=8.5 Hz), 7.69 (1H, s), 7.61 (1H, s), 7.51 (1H, d, J=1.7 Hz), 7.44 (1H, d, J=8.7Hz), 6.66 - 6.72 (1H, m), 5.09 - 5.16 (1H, m), 4.47 - 4.69 (2H, m), 4.23 (1H, dd, J=7.9, 3.8 Hz), 3.99 (3H, s), 3.48 (1H, t, J=6.2 Hz), 3.34 (3H, s), 2.95 - 3.05 (1H, m), 2.83 (1H, d, J=10.0 Hz), 2.46 - 2.71 (3H, m), 2.11 - 2.45 (3H, m), 1.47 - 2.05 (22H, m), 0.89 (3H, t, J=7.5 Hz)

20

【 0 2 2 1】

次の表中の実施例は、適当な中間体を用いて、上記の方法 (スキーム23) と類似の方法により製造した。

【表 5】

実施例	工程3 用いた中間体	名前	ESMS
17	4A	シクロペンチル (2R)-2-アミノ-4-{3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-イル}ブタノエート	m/z 663 [M+H] ⁺

30

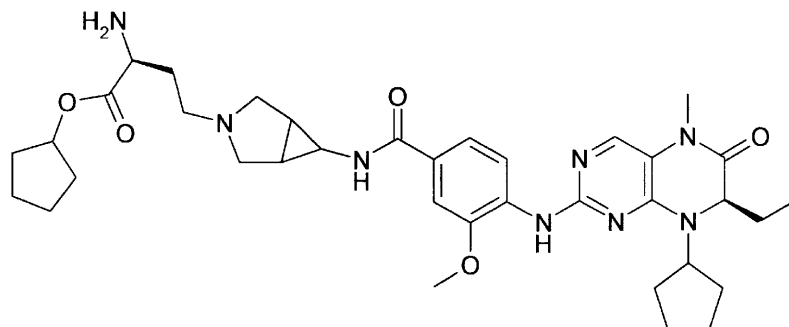
【 0 2 2 2】

実施例18

シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{6-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-3-イル}ブタノエート

40

【化 6 7】

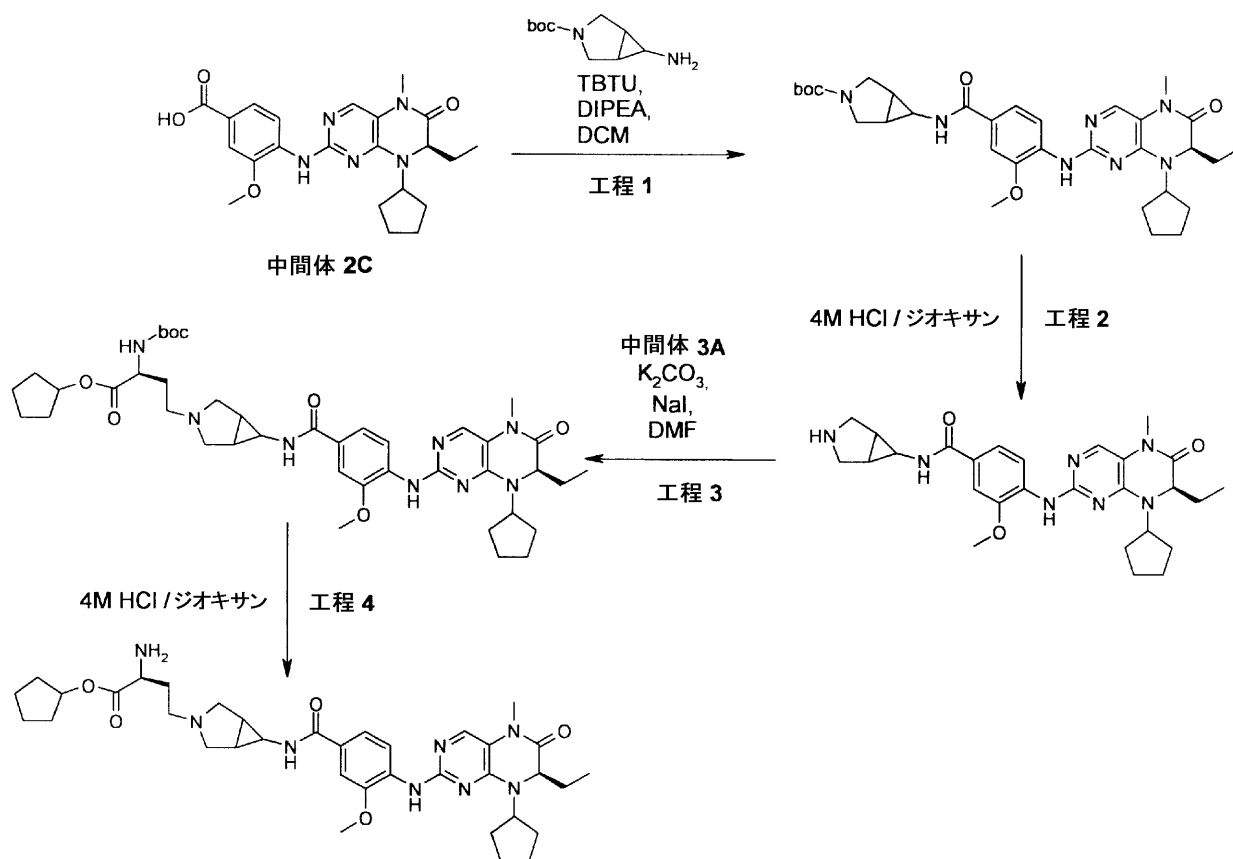


10

【 0 2 2 3】

標記の実施例は、次に概略した手順に従って製造した(スキーム24)：

【化 6 8】



20

30

スキーム24

【 0 2 2 4】

工程1- tert-ブチル 6-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-カルボキシレート

40

DCM (10mL) 中の4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ安息香酸 [中間体2C] (200mg, 0.47mmol) の攪拌溶液に、DIPEA (0.16mL, 0.94mmol) およびTBTU (167mg, 0.52mmol) を加えた。反応体をRTで30分間攪拌した後、tert-ブチル 6-アミノ-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-カルボキシレート [WO2006123121] (111mg, 0.56mmol) を加えた。反応体をさらに30分間攪拌し、次いで、混合物をDCM (15mL) で希釈し、水 (2 × 5mL) で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮した。得られた固体をEt₂Oで摩砕して、生成物を白色の固体 (230mg, 収率81%) として得た。

50

ESMS: m/z 606 [M+H]⁺

【0225】

工程2- N-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-6-イル-4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンズアミド

tert-ブチル 6-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-カルボキシレート (230mg, 0.38mmol)を、4M HCl/ジオキサン (5mL)に懸濁し、反応混合物をRTで1.5時間攪拌し、減圧下に濃縮した。残渣をEt₂Oで摩砕し、次いで、DCM (5mL)と飽和Na₂CO₃ (5mL)との間で分配した。有機層を飽和Na₂CO₃で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、生成物を白色の固体 (152mg, 収率80%)として得た。

ESMS: m/z 506 [M+H]⁺

【0226】

工程3- シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4- { 6-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-3-イル } ブタノエート

DMF (3mL)中のN-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-6-イル-4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンズアミド (152mg, 0.30mmol)の攪拌溶液に、シクロペンチル (2S)-4-プロモ-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート [中間体3A] (157mg, 0.45mmol)、K₂CO₃ (166mg, 1.20mmol)およびNaI (90mg, 0.60mmol)を加えた。混合物を80℃で24時間加熱した。反応混合物を減圧下に濃縮し、得られた残渣をEtOAc (10mL)に溶解し、食塩水 (10mL)で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、標記の生成物を褐色の固体 (228mg, 収率98%)として得た。

ESMS: m/z 775 [M+H]⁺

【0227】

工程4- シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4- { 6-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-3-イル } ブタノエート

シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4- { 6-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-3-イル } ブタノエート (228mg, 0.29mmol)を、4M HCl/ジオキサン (5mL)に懸濁し、反応混合物をRTで1.5時間攪拌し、減圧下に濃縮した。残渣を分取HPLCを用いて精製し、次いで、生成物を60時間凍結乾燥により濃縮した。得られた固体をDCM (5mL)およびNa₂CO₃ (5mL)に溶解し、20分間攪拌した。有機層を分離し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮して、標記の実施例を透明な油状物 (23mg, 収率12%)として得た。

【0228】

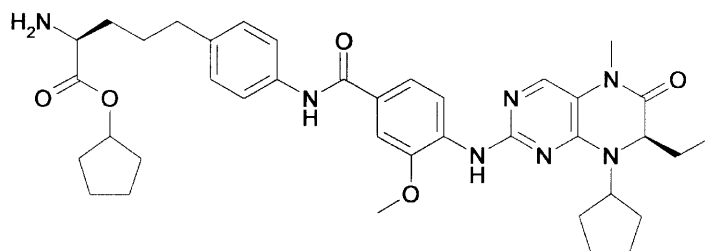
ESMS: m/z 675 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 8.47 (1H, d, J=8.5Hz), 7.43-7.65 (3H, m), 7.25 (1H, d, J=6.6Hz), 5.23 (2H, s), 5.16 (1H, t, J=5.9 Hz), 4.34-4.49 (1H, m), 4.15 (1H, dd, J=7.9, 3.8Hz), 3.92 (2H, s), 3.55 (1H, dd, J=8.4, 3.9 Hz), 3.22-3.31 (4H, m), 3.18 (1H, d, J=9.0Hz), 2.92 (1H, br. s), 2.57 (2H, t, J=8.3Hz), 2.34-2.44 (2H, m), 1.38-2.15 (20H, m)および0.81 (3H, t, J=7.4Hz)

【0229】

実施例19

シクロペンチル 5- { 4-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル } -L-ノルバリネート

【化 6 9】

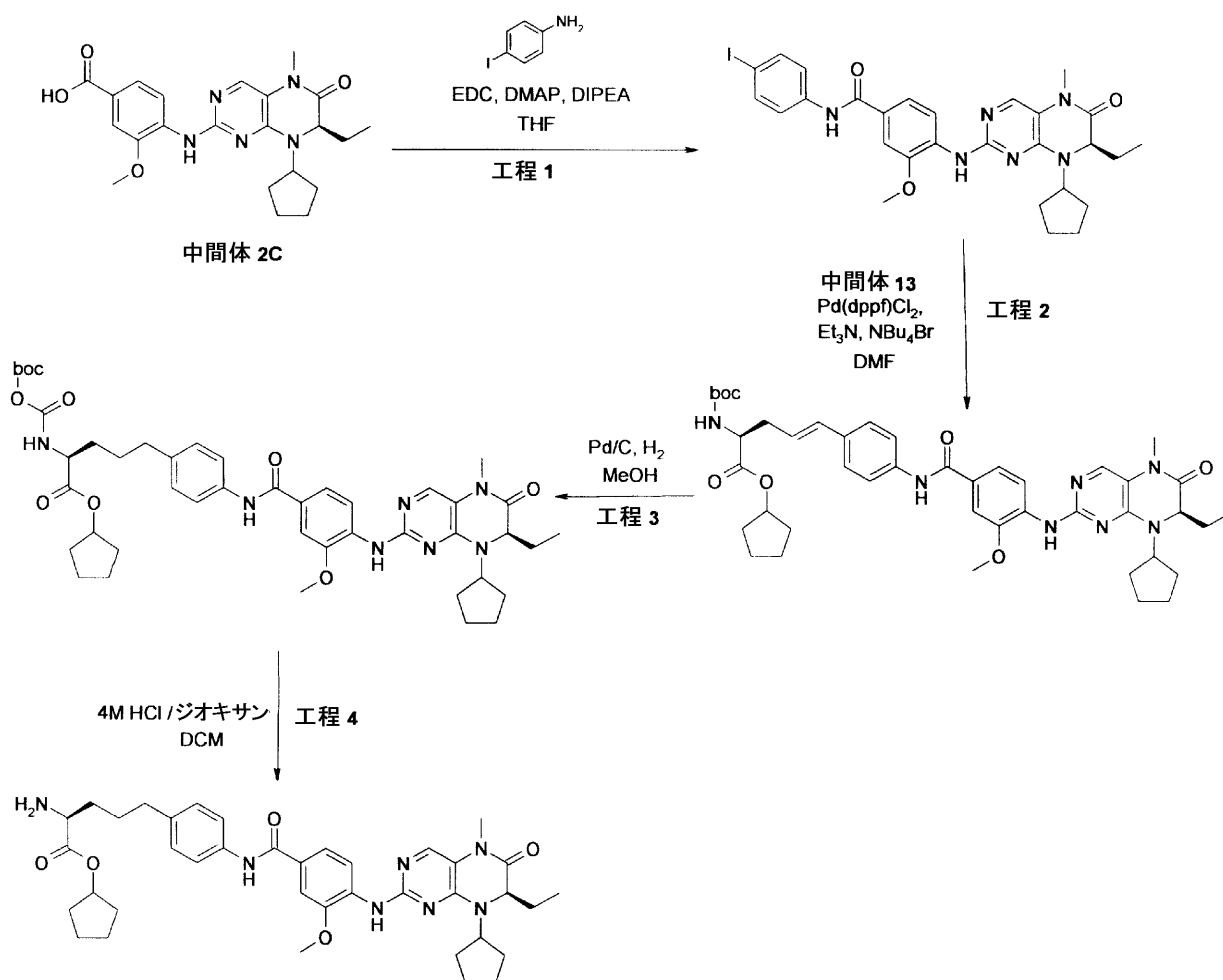


【 0 2 3 0】

10

標記の化合物は、次の方法により製造した(スキーム25)：

【化 7 0】



スキーム25

【 0 2 3 1】

40

工程1- 4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -N-(4-ヨードフェニル)-3-メトキシベンズアミド

THF (4mL) 中の4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ安息香酸 [中間体2C] (200mg, 0.47mmol) の攪拌溶液に、4-ヨードアニリン (154mg, 0.71mmol)、DMAP (6mg, 0.05mmol)、DIPEA (0.25mL, 1.41mmol) およびEDC (99mg, 0.52mmol) を加えた。反応混合物をRTで一晩攪拌し、水 (10mL) で洗浄し、乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮した。カラムクロマトグラフィー (40 ~ 50% EtOAc / ヘプタン) で精製し、生成物 (81.9mg, 収率28%) を得た。

ESMS m/z: 627 [M+H]⁺

【 0 2 3 2】

50

工程2- シクロペンチル (2S,4E)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}ペンテ-4-エノエート

DMF (3mL)中の4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-N-(4-ヨードフェニル)-3-メトキシベンズアミド (81.9mg, 0.13mmol)の攪拌溶液に、シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ペンテ-4-エノエート [中間体13] (56mg, 0.20mmol)、Pd(dppf)Cl₂ (11mg, 0.01mmol)、Et₃N (40 μl, 0.29mmol)およびNBu₄Br (42mg, 0.13mmol)を加えた。反応混合物をマイクロウェーブ中、120 °Cで1時間加熱し、減圧下に濃縮した。粗残渣をシリカに充填し、カラムクロマトグラフィー (40% EtOAc/ヘプタン)で精製して、生成物 (50mg, 収率30%)を得た。

10

ESMS m/z: NI

【0233】

工程3- シクロペンチル N-{[(tert-ブトキシカルボニル)オキシ]カルボニル}-5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}-L-ノルバリネート

MeOH (5mL)中のシクロペンチル (2S,4E)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}ペンテ-4-エノエート (50mg, 0.06mmol)を、H-Cube(商標)連続水素化装置 (Thales Nanotechnology, HC-2, SS)を通した。30mm CatCart(商標) (10% Pd/C)を用い、フルH₂ モードで反応を行なった。25 °Cの温度、1バールのH₂ 圧力で、流速1mL/分を維持した。次いで溶液を蒸発乾固し、生成物 (50mg, 収率100%)を得た。

20

ESMS m/z: 784 [M+H]⁺

【0234】

工程4- シクロペンチル 5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}-L-ノルバリネート

DCM (1mL)中のシクロペンチル N-{[(tert-ブトキシカルボニル)オキシ]カルボニル}-5-[4-[(4-[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}-L-ノルバリネート (25mg, 0.03mmol)の溶液に、4M HCl/ジオキサン (30 μl, 0.12mmol)を加えた。反応混合物をRTで1時間攪拌し、減圧下に蒸発した。分取HPLCで精製し、標記の実施例を白色の固体 (3mg, 収率14%)を得た。

30

【0235】

ESMS m/z: 342 [(M+2)/2]⁺. ¹H NMR (300 MHz, MeOD) : ppm 8.14 (1H, d, J=8.1 Hz), 7.66-7.78 (4H, m), 7.26-7.54 (3H, m), 5.37 (1H, dd, J=4.0, 1.9 Hz), 4.53 (1H, d, J=6.8, 3.4 Hz), 4.45 (1H, t, J=8.2 Hz), 4.09 (2H, s), 3.38 (3H, s), 2.73-2.95 (2H, m), 1.90-2.21 (10H, m), 1.62-1.87 (12H, m)および0.94 (3H, t, J=7.5 Hz)

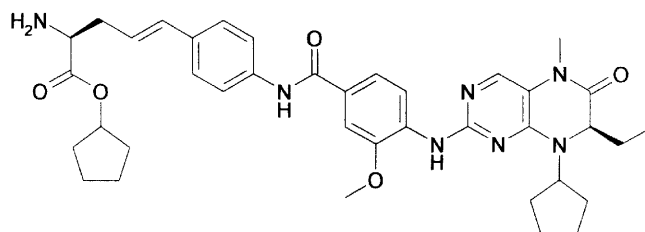
【0236】

40

実施例20

シクロペンチル (2S,4E)-2-アミノ-5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}ペンテ-4-エノエート

【化 7 1】

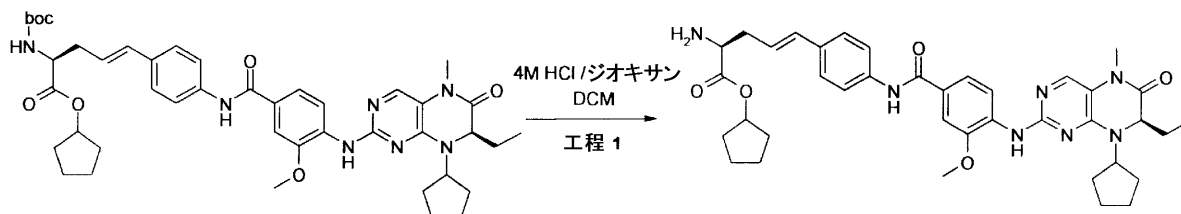


【 0 2 3 7】

標記の化合物は、次の方法により製造した(スキーム26)：

10

【化 7 2】



スキーム 25 工程 2

スキーム 26

20

【 0 2 3 8】

工程1- シクロペンチル (2S,4E)-2-アミノ-5- { 4- [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル } ペンテ-4-エノエート

DCM (2mL) 中のシクロペンチル (2S,4E)-2- [(tert-ブトキシカルボニル)アミノ] -5- { 4- [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル } ペンテ-4-エノエート [スキーム25, 工程2] (36mg, 0.06mmol) の攪拌溶液に、4M HCl/ジオキサン (20 μ L, 0.08mmol) を加えた。反応混合物をRTで2時間攪拌し、減圧下に濃縮し、DCM (10mL) に溶解した。有機層を1M NaHCO₃ (10mL) で洗浄し、乾燥(MgSO₄) し、蒸発乾固した。分取HPLCで精製し、標記の実施例を黄色の油状物 (3mg, 収率10%) として得た。

30

【 0 2 3 9】

ESMS m/z: 342 [M/2]⁺. ¹H NMR (300 MHz, MeOD) : 7.55-7.62 (1H, m), 7.39-7.51 (4H, m), 6.61 (1H, d, J=15.6 Hz), 6.17 (1H, ddd, J=15.4, 7.6, 7.3 Hz), 5.26-5.34 (1H, m), 4.39 (1H, dd, J=6.3, 3.3 Hz), 4.32 (1H, t, J=8.8 Hz), 4.17 (1H, t, J=6.2 Hz), 3.25 (3H, s), 2.83 (2H, t, J=6.7 Hz), 1.79-2.06 (9H, m), 1.54-1.78 (9H, m) および 0.86 (3H, t, J=7.4 Hz)

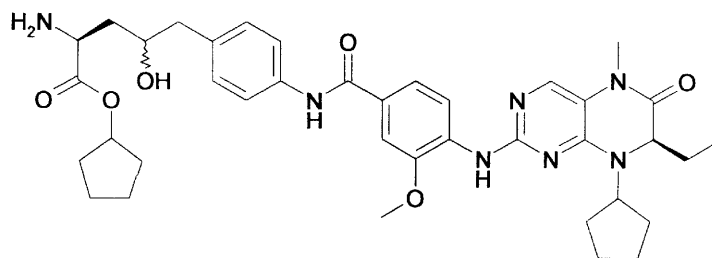
【 0 2 4 0】

実施例21

シクロペンチル 5- { 4- [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル } -4-ヒドロキシ-L-ノルバリネート

40

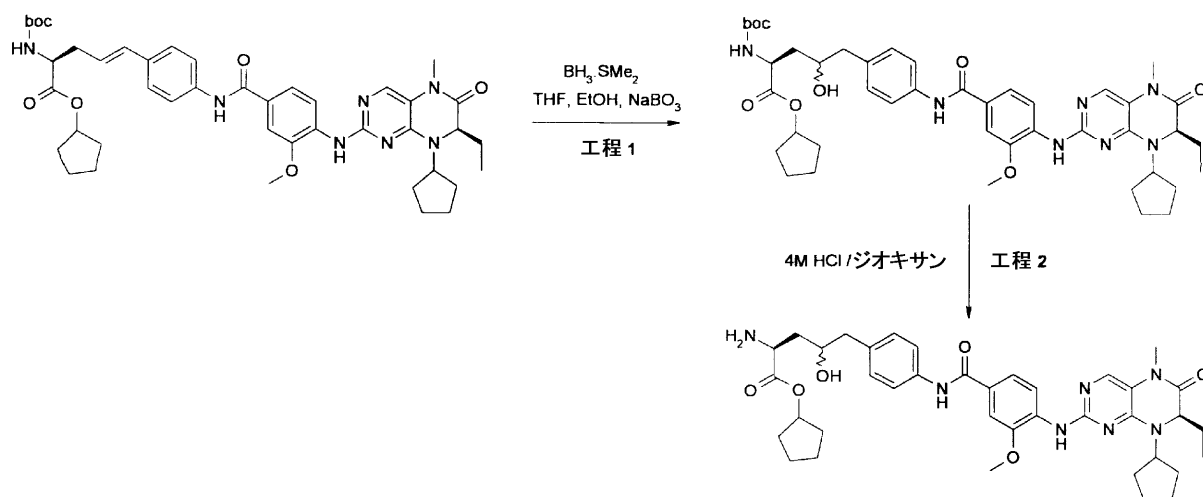
【化 7 3】



【 0 2 4 1】

標記の化合物は、次の方法により製造した(スキーム27)：

【化 7 4】



スキーム27

【 0 2 4 2】

工程1- シクロペンチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-5- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}-4-ヒドロキシ-L-ノルバリネート

THF (2mL)中のシクロペンチル (2S,4E)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-5- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}ペンテ-4-エノエート [スキーム25, 工程2] (130mg, 0.17mmol)の溶液に、0 で、ボラン-ジメチルスルホキシド複合体 (80 μ l, 0.87mmol)を加えた。混合物を0 で5時間攪拌した後、エタノール (0.3mL)、水 (0.27mL)および過ホウ素酸ナトリウム4水和物 (133mg, 0.87mmol)を加えた。反応体を0 でさらに3時間、次いでRTで8時間攪拌した。反応混合物を濃縮し、EtOAc (3 \times 50mL)で抽出し、乾燥(MgSO₄)し、濃縮して、生成物 (90mg, 収率75%)を得た。

ESMS: m/z 800 [M+H]⁺

【 0 2 4 3】

工程2- シクロペンチル 5- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]フェニル}-4-ヒドロキシ-L-ノルバリネート

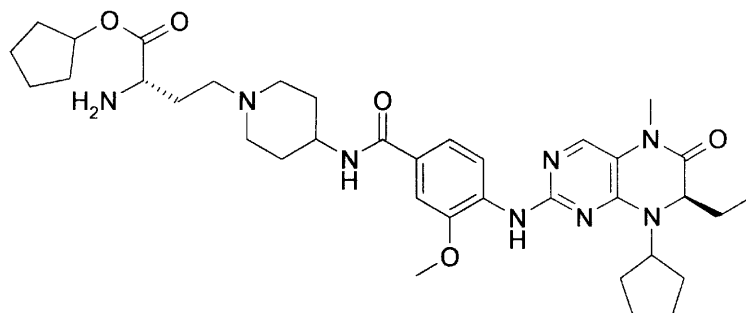
[スキーム26, 工程2]におけるような手順。

ESMS: m/z 700 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, MeOD) : 8.12 (1 H, d, J=8.3 Hz), 7.74-7.66 (5H, m), 7.40 (2 H, dd J=1.8, 8.6Hz), 5.31 (1 H, m), 4.49-4.38 (3H, m) 4.04 (3 H, s), 3.33 (3H, s), 3.10-3.09 (2H, m), 2.17-1.62 (22H, m)および0.89 (3 H, t, J=7.5 Hz)

【 0 2 4 4】

実施例22

シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-〔4-〔(4-〔[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ〕-3-メトキシベンゾイル)アミノ〕ピペリジン-1-イル〕ブタノエート
【化75】

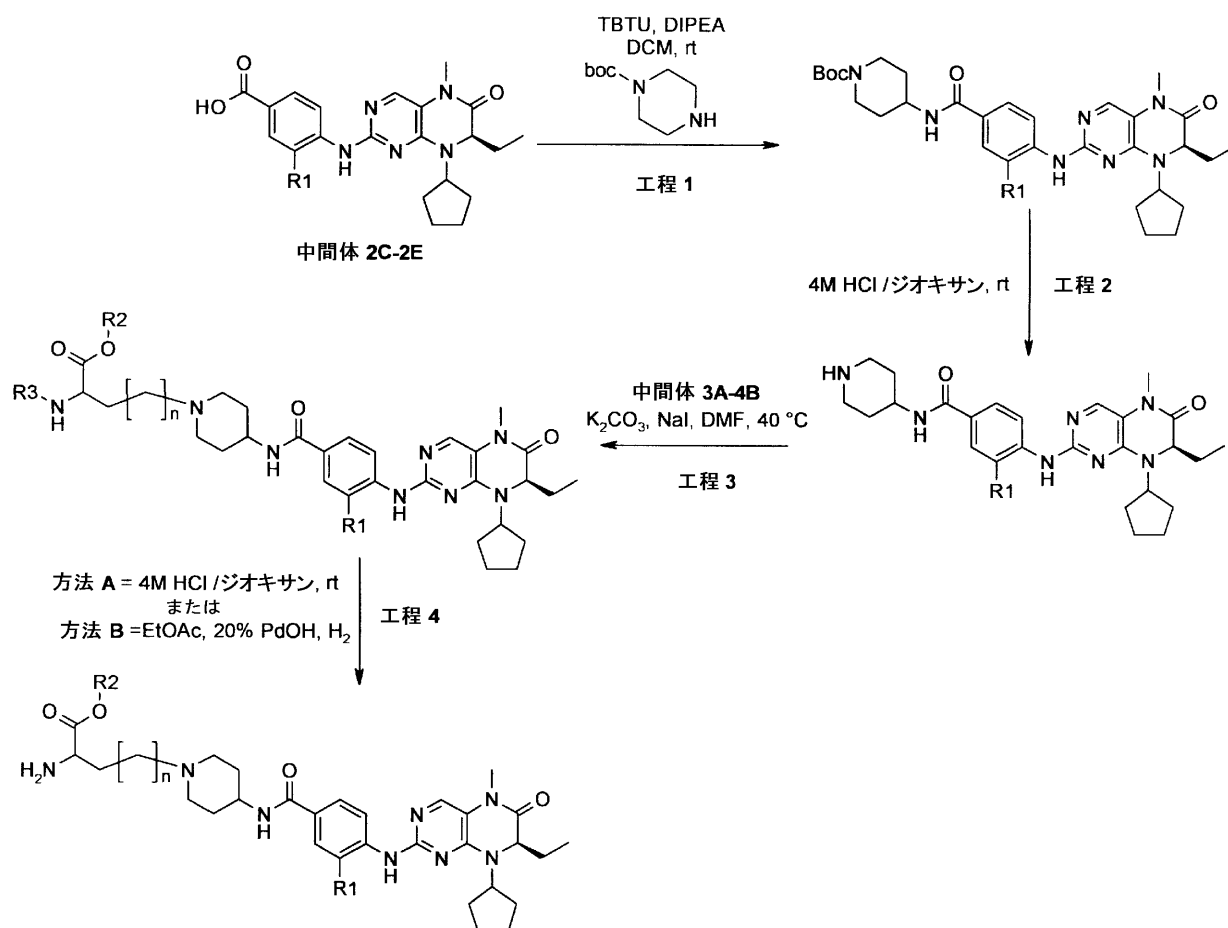


10

【0245】

標記の実施例は、次に概略した一般手順に従って製造した(スキーム28)：

【化76】



20

30

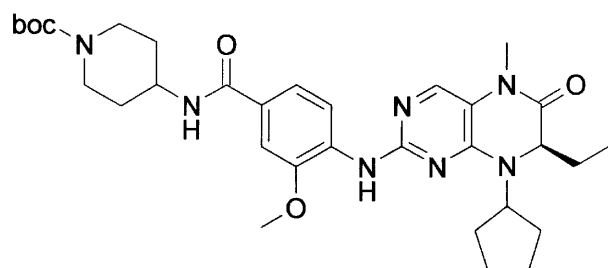
40

スキーム28

【0246】

工程1- tert-ブチル 4-〔(4-〔[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ〕-3-メトキシベンゾイル)アミノ〕ピペリジン-1-カルボキシレート

【化 7 7】



【 0 2 4 7】

10

DCM (20mL) 中の4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ安息香酸 [中間体2C] (500mg, 1.18mmol) の懸濁液に、TBTU (415mg, 1.29mmol) およびDIPEA (0.41mL, 2.35mmol) を加えた。反応混合物をRTで30分間攪拌し、次いでtert-ブチル 4-アミノピペリジン-1-カルボキシレート (282mg, 1.41mmol) を加えた。反応混合物をRTでもう30分間攪拌し、次いでDCM (30mL) で希釈した。溶液を水 (2×30mL) で洗浄し、乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮して、濃褐色の油状物を得た。Et₂O/ヘプタン (1:3) で摩砕して、生成物をベージュ色の固体 (528mg, 収率74%) として得た。

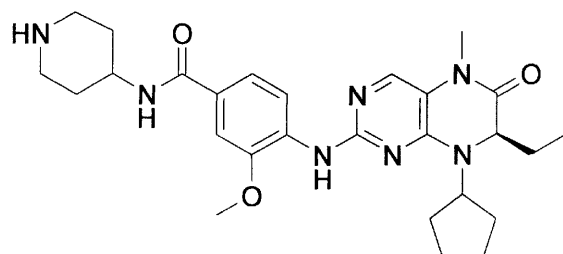
ESMS: m/z 608 [M+H]⁺

【 0 2 4 8】

20

工程2- 4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ-N-ピペリジン-4-イルベンズアミド

【化 7 8】



30

【 0 2 4 9】

tert-ブチル 4-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-カルボキシレート (528mg, 0.87mmol) を、4M HCl/ジオキサンの溶液 (10mL) に懸濁した。反応混合物をRTで1時間攪拌し、減圧下に濃縮した。残渣をEt₂Oで摩砕し、次いでDCM (100mL) と飽和Na₂CO₃ (50mL) との間で分配した。有機層を分離し、飽和Na₂CO₃ (50mL) で洗浄し、乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮して、生成物を、放置しておくでと固化する濃黄色の油状物 (407mg, 収率92%) として得た。

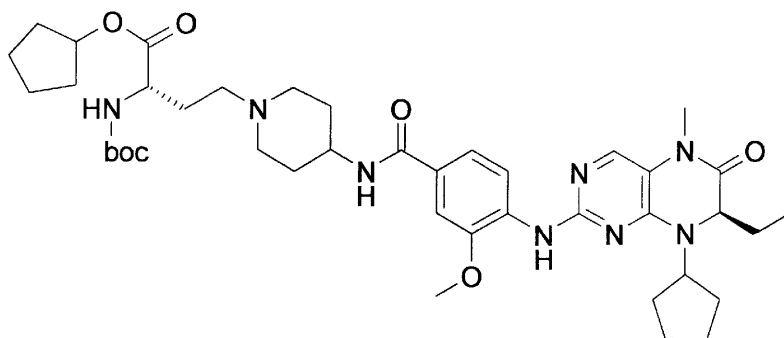
ESMS: m/z 508 [M+H]⁺

40

【 0 2 5 0】

工程3- シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4- { 4-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル } ブタノエート

【化 7 9】



10

【 0 2 5 1】

DMF (2mL) 中の4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシ-N-ピペリジン-4-イルベンズアミド (100mg, 0.20mmol) の溶液に、シクロペンチル (2S)-4-ブromo-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]ブタノエート [中間体3A] (103mg, 0.30mmol)、 K_2CO_3 (109mg, 0.79mmol) およびNaI (59mg, 0.40mmol) を加えた。反応混合物を80 で15時間攪拌し、EtOAc (20mL) で希釈し、水 (2 × 20mL)、食塩水 (20mL) で洗浄し、乾燥($MgSO_4$)した。溶媒を減圧下に濃縮し、黄色の油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (5% MeOH/DCM) で精製して、生成物を白色の固体 (86 mg, 収率56%) として得た。

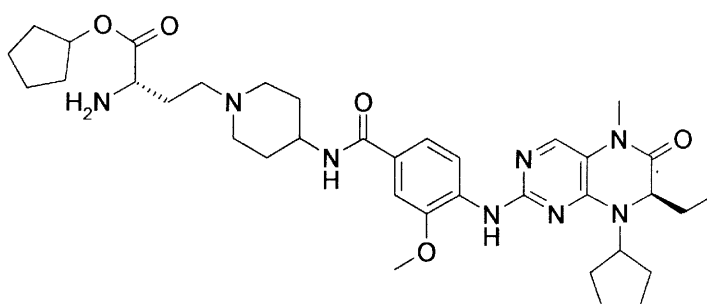
20

ESMS: m/z 777 $[M+H]^+$

【 0 2 5 2】

工程4 (方法A)- シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4- { 4-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル } ブタノエート

【化 8 0】



30

【 0 2 5 3】

シクロペンチル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4- { 4-[(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル } ブタノエート (86mg, 0.11mmol) を、4M HCl/ジオキサンの溶液 (5mL) に懸濁した。反応混合物をRTで20分間攪拌し、減圧下に濃縮した。残渣を Et_2O で摩砕し、次いでDCM (25mL) と飽和 Na_2CO_3 (25mL) との間で分配した。有機層を分離し、乾燥($MgSO_4$)し、減圧下に濃縮して、標記の実施例を白色の固体 (49 mg, 収率65%) として得た。

40

【 0 2 5 4】

ESMS m/z 677 $[M+H]^+$. 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) 8.49 (1H, d, $J=9.0$ Hz), 7.77 (1H, s), 7.50-7.47 (2H, m), 5.24-5.19 (1H, m), 4.54-4.47 (1H, m), 4.28 (1H, dd, $J=3.5$, 7.7 Hz), 4.01 (3H, s), 3.95-3.87 (1H, m), 3.66-3.59 (1H, m), 3.32 (3H, s), 3.01 (2H, s), 2.50 (2H, t, $J=7.2$ Hz), 2.19-2.10 (2H, m), 1.99-1.68 (23H, m) および 0.86 (3H, t, $J=7.5$ Hz)

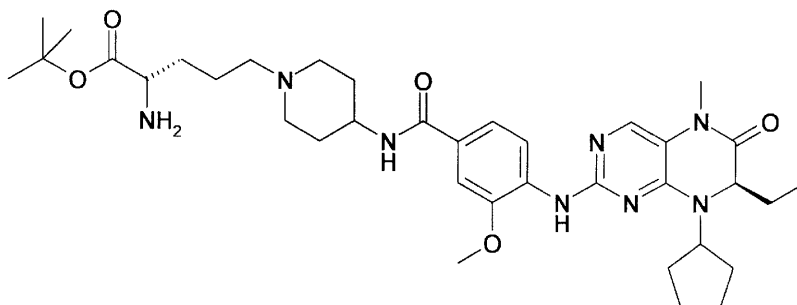
【 0 2 5 5】

50

実施例23

tert-ブチル 5- { 4- [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル } -L-ノルバリネート

【化 8 1】



10

【 0 2 5 6 】

標記の実施例は上記に概略した一般的手順および方法により製造した(スキーム28)。

工程1~3 中間体2C (工程1)および3D (工程 3)を用いて、スキーム28のようにして。

工程4 脱保護工程は、次に概略した方法Bを用いて行なった。

【 0 2 5 7 】

工程4 (方法B)- tert-ブチル 5- { 4- [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル } -L-ノルバリネート

20

EtOAc (6mL)中の工程3 生成物; tert-ブチル N-[(ベンジルオキシ)カルボニル]-5- { 4- [(4- { [(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ } -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル } -L-ノルバリネート (290mg, 0.36mmol)の溶液に、水酸化パラジウム (60mg, 20% wt/wt.)を加えた。(3方タップ装置と水素充填バルーンを使用し)系を真空にし、水素雰囲気下に置き、これを2回繰り返えし、混合物を水素雰囲気下、RTで90時間攪拌し続けた。系から水素を抜き、パラジウム残渣をセライト(登録商標)で濾過した。セライト(登録商標)をEtOAcで十分に洗浄し、合わせた濾液を減圧下に蒸発した。残渣をカラムクロマトグラフィー(不純物を除くために100% EtOAc、続いて生成物を溶出するために5~10% MeOH / DCM)により精製して、標記の実施例を白色の固体 (37mg, 収率15%)として得た。

30

【 0 2 5 8 】

ESMS: m/z 679 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : 8.53 (1 H, d, J=8.5 Hz), 7.67 (1 H, s), 7.58 (1 H, s), 7.47 (1 H, d, J=1.5 Hz), 7.34 (1 H, dd, J=8.5, 1.5 Hz), 6.45 (1 H, d, J=7.5 Hz), 4.50 (1 H, t, J=7.7 Hz), 4.21 (1 H, dd, J=7.8, 3.7 Hz), 4.00 - 4.10 (1H, m), 3.97 (3 H, s), 3.31 - 3.44 (1 H, m), 3.32 (3 H, s), 2.95 (2 H, d, J=8.9 Hz), 2.40 (2 H, t, J=6.7 Hz), 1.59 - 2.21 (20 H, m), 1.45 (9 H, s) および0.87 (3 H, t, J=7.4 Hz)

【 0 2 5 9 】

40

次の表中の実施例は、適当な中間体を用いて、上記の方法(スキーム28)と類似の方法により製造した。

【表 6 - 1】

実施 例	用いた中間 体		工程 4 方法	名前	ESMS
	工程 1	工程 3			
24	2C	3C	A	シクロペンチル 5- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} -L-ノルバリネート	m/z 691 [M+H] ⁺
25	2C	3B	B	t-ブチル (2S)-2-アミノ-4- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート	m/z 665 [M+H] ⁺
26	2D	3B	B	t-ブチル (2S)-2-アミノ-4- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メチルベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート	m/z 649 [M+H] ⁺
27	2C	4B	A	シクロペンチル 5- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} -D-ノルバリネート	m/z 691 [M+H] ⁺
28	2D	3A	A	シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メチルベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート	m/z 661 [M+H] ⁺
29	2E	3B	B	t-ブチル (2S)-2-アミノ-4- {4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-フルオロベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート	m/z 653 [M+H] ⁺

【表 6 - 2】

30	2E	3A	A	シクロペンチル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-フルオロベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート	m/z 665 [M+H] ⁺
31	2C	4A	A	シクロペンチル (2R)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート	m/z 677 [M+H] ⁺

10

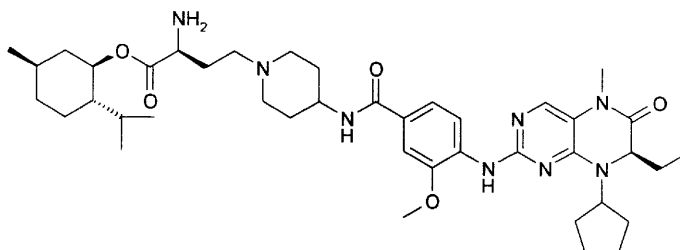
【0261】

実施例32

(1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタノエート

20

【化 8 2】

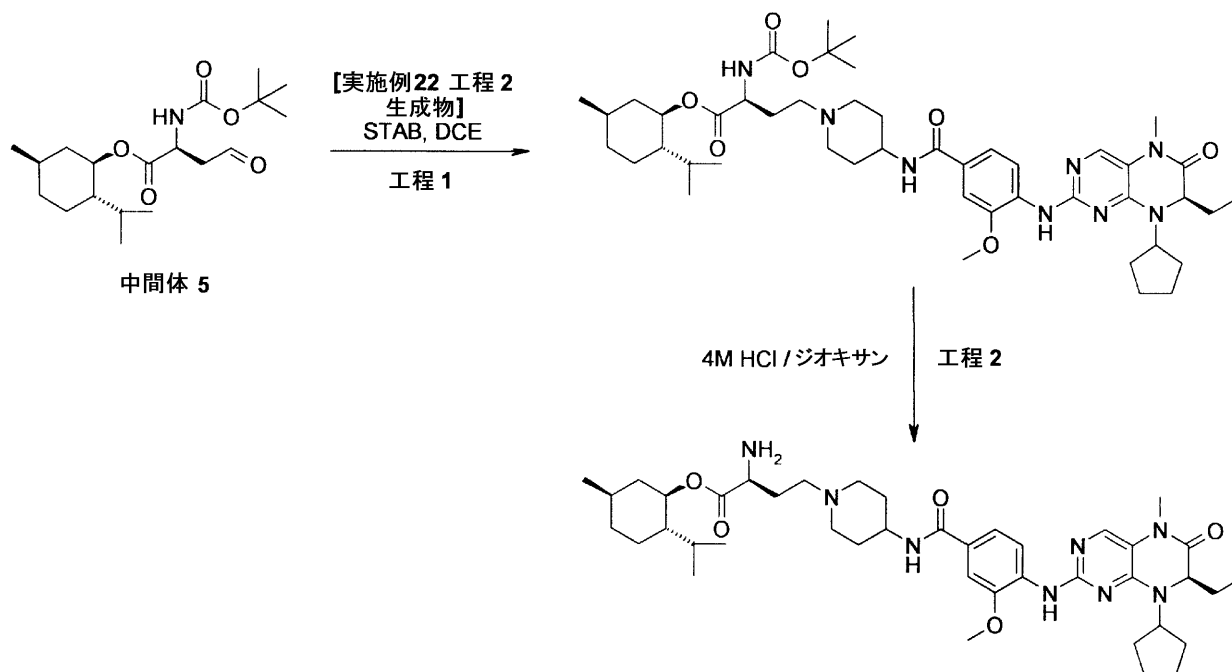


30

【0262】

標記の化合物は、次の方法により製造した(スキーム29)：

【化 8 3】



10

20

スキーム29

【0263】

工程1- (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート

DCE (15mL) 中の (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-オキソブタノエート [中間体5] (140mg, 0.39mmol) の溶液に、4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシ-N-ピペリジン-4-イルベンズアミド [実施例22, 工程2] (108mg, 0.30mmol) を加えた。溶液を30分間撹拌した後、ナトリウム トリアセトキシ-ボロハイドライド (193mg, 0.91mmol) を加えた。反応体をRTでさらに18時間撹拌した。飽和NaHCO₃ (10mL) を加え、反応体を20分間撹拌した。DCM (10mL) を加え、有機層を分離した。水層をDCM (2×10mL) で抽出した。合わせた有機層を乾燥(MgSO₄) し、減圧下に濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー (2% MeOH / DCM) で精製し、生成物を透明な油状物 (68mg, 収率24%) として得た。

ESMS m/z 847 [M+H]⁺

【0264】

工程2- (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート

DCM (1mL) 中の (1R,2S,5R)-2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキシル (2S)-2-[(tert-ブトキシカルボニル)アミノ]-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタノエート (11mg, 0.01mmol) の溶液に、4M HCl / ジオキサン (1mL) を加えた。溶液をRTで3時間撹拌した。次いで、混合物を減圧下に濃縮し、標記の実施例を白色の固体 (6.1mg, 収率63%) として得た。

【0265】

ESMS m/z 747 [M+H]⁺. ¹HNMR (300 MHz, MeOD) 7.90 (1H, d, J=8.3Hz), 7.68-7.55 (3H, m), 4.56-4.47 (1H, m), 4.45-4.07 (4H, m), 4.01 (3H, s), 3.75 (2H, m), 3.67 (

30

40

50

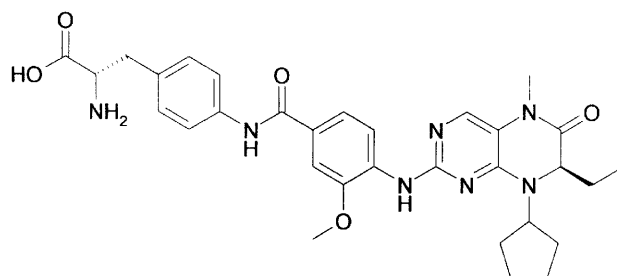
2H, s), 2.77 (1H, m), 2.64-1.06 (38H, m) および 0.82 (3H, d, J=7.0Hz)

【 0 2 6 6 】

実施例33

4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプ
テリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-フェニルアラニン

【 化 8 4 】

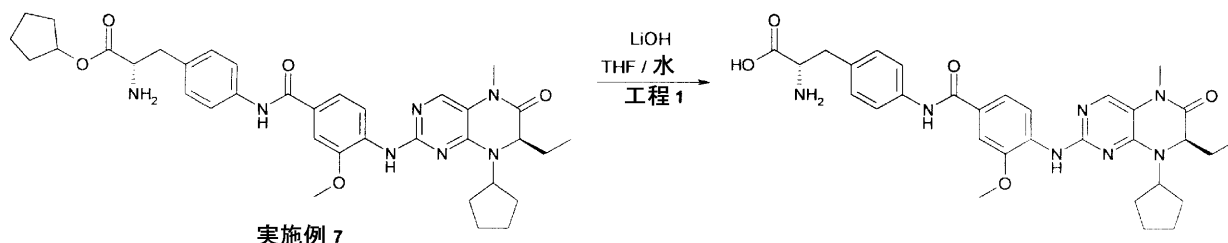


10

【 0 2 6 7 】

標記の化合物は、次の方法により製造した(スキーム30)：

【 化 8 5 】



20

スキーム30

【 0 2 6 8 】

工程1- 4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラ
ヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-フェニルアラニン

THF (3mL)中のシクロペンチル 4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-フェニルアラニネート [実施例7] (45mg, 70 μmol)に、水 (3mL)中の水酸化リチウム (8.4mg, 0.35mmol)の溶液を加えた。反応混合物をRTで一晩攪拌し、減圧下に濃縮した。水 (4mL)を加え、1M HClでpHをpH=5~6に調整した。水性物をn-ブタノール (3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を水 (5mL)、食塩水 (5mL)で洗浄し、乾燥(MgSO₄)し、減圧下に濃縮した。分取HPLCで精製し、標記の実施例を白色の固体 (37mg, 収率90%)として得た。

30

【 0 2 6 9 】

ESMS m/z: 588 [M+H]⁺. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) : 10.17 (1H, s), 8.48 - 8.75 (1H, m), 8.18-8.34 (4H, m), 7.83 (1H, s), 7.73 (2H, d, J=8.7Hz), 7.61-7.67 (2H, m), 7.23 (2H, d, J=8.5 Hz), 4.36 (1H, dd, J=6.8, 3.2 Hz), 4.14-4.30 (2H, m), 3.96 (3H, s), 3.23 (3H, s), 3.07 (2H, d, J=6.4 Hz), 1.43-2.04 (10 H, m) および 0.76 (3 H, t, J=7.4 Hz)

40

【 0 2 7 0 】

次の表中の実施例は、上記のエステル加水分解法(スキーム30)により製造した。

【表 7 - 1】

エステル 実施例番号	酸の名前	酸 実施例番号	ESMS	
1	4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -L-フェニルアラニン	34	m/z 439 [M+H] ⁺	
2	(2S,4E)-2-アミノ-5-(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} フェニル)ペンテ-4-エン酸	35	m/z: 465 [M+H] ⁺	10
3	0-(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} フェニル)-L-ホモセリン	36	m/z 469 [M+H] ⁺	
4	0-(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシフェニル)-L-ホモセリン	37	m/z 499 [M+H] ⁺	20
5	(2S)-2-アミノ-4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ブタン酸	38	m/z 526 [M+H] ⁺	
6	(4S)-4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-プロリン	39	m/z 538 [M+H] ⁺	30
8	N ⁶ -(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)リジン	40	m/z 554 [M+H] ⁺	
9	0-(4- {[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]メチル} フェニル)-L-ホモセリン	41	m/z 632 [M+H] ⁺	40
13	4-(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)ピペラジン-2-カルボン酸	42	m/z 538 [M+H] ⁺	

【表 7 - 2】

14	4-{2-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]エチル}ピペラジン-2-カルボン酸	43	m/z 581 [M+H] ⁺	
16	(2S)-2-アミノ-4-{3-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピロリジン-1-イル}ブタン酸	44	m/z 595 [M+H] ⁺	10
18	(2S)-2-アミノ-4-{6-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]-3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキシ-3-イル}ブタン酸	45	m/z 607 [M+H] ⁺	20
24	5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}-L-ノルバリリン	46	m/z 623 [M+H] ⁺	
27	5-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}-D-ノルバリリン	47	m/z 623 [M+H] ⁺	30
28	(2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メチルベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタン酸	48	m/z 593 [M+H] ⁺	
30	(2S)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-フルオロベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタン酸	49	m/z 598 [M+H] ⁺	40
31	(2R)-2-アミノ-4-{4-[(4-{[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ}-3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル}ブタン酸	50	m/z 609 [M+H] ⁺	

【表 7 - 3】

7	4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]-L-フェニルアラニン	51	m/z 588 [M+H] ⁺
13	4-(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)ピペラジン-2-カルボン酸	52	m/z 539 [M+H] ⁺
22	(2S)-2-アミノ-4-{4-[(4- {[(7R)-8-シクロペンチル-7-エチル-5-メチル-6-オキソ-5,6,7,8-テトラヒドロプテリジン-2-イル]アミノ} -3-メトキシベンゾイル)アミノ]ピペリジン-1-イル} ブタン酸	53	m/z 609 [M+H] ⁺

10

【 0 2 7 3 】

20

生物活性の測定

PLK1酵素アッセイ

化合物のPLK-1キナーゼ活性を阻害する能力は、Invitrogen (Paisley, UK)により行なわれたアッセイで測定された。Z'-LYTE(商標)生化学アッセイは、蛍光に基づく連結酵素フォーマット(fluorescence-based, coupled-enzyme format)を用い、リン酸化ペプチドと非リン酸化ペプチドの蛋白質分解開裂に対する感受性の較差に基づく。FRETペアを作る2つの蛍光体(各末端で1つ)でペプチド基質をラベル化する。最初の反応において、キナーゼはATPのγ-ホスフェートを合成FRET-ペプチド中のたった1つのセリンまたはスレオニン残基に移動する。第2の反応において、部位特異的プロテアーゼが、非リン酸化FRET-ペプチドを認識し、開裂する。FRET-ペプチドのリン酸化は、展開試薬(Development Reagent)による開裂を抑制する。開裂は、FRET-ペプチド上のドナー(すなわちクマリン)蛍光体とアクセプター(すなわちフルオレセイン)蛍光体との間のFRETを乱し、一方、非開裂のリン酸化FRET-ペプチドはFRETを維持する。400nmでのドナー蛍光体の励起後のアクセプター発光に対するドナー発光の割合(発光比(Emission Ratio))を算定する放射分析法が、反応の進行を定量するために用いられる。

30

【 0 2 7 4 】

最終10 μLのキナーゼ反応体は、50mM HEPES pH 7.5、0.01% BRIJ-35、10mM MgCl₂、1mM EGTA中、2.8-25.3ng PLK1、2 μM Ser/Thr 16ペプチドからなる。アッセイは、KmまたはKmに近いATP濃度で行われる。キナーゼ反応物のRTで60分のインキュベーション後、展開試薬の1:8希釈液 5 μLを加える。アッセイ プレートにRTでさらに60分間インキュベートし、蛍光プレートリーダーで読み取る。

40

【 0 2 7 5 】

重複のデータポイントがDMSO中の試験化合物の原液の1/3 log 希釈系列から生み出される。10 μMのトップ濃度から9段階希釈がなされ、そして「無化合物」ブランクが含まれる。データが集められ、IDBSからのXLfitソフトウェアを用いて解析される。用量レスポンス曲線は、モデル番号205(S字状用量-レスポンスモデル)に適合した曲線である。生じた曲線から、50%阻害を与える濃度が決定され示される。

【 0 2 7 6 】

IC50の結果は、次の3レンジの1つに配分された：

レンジA: IC50<100nM

レンジB: 100nM ~ 500nMのIC50

50

Range C: IC50 >500nM

NT = 無試験

本明細書の実施例の化合物に対して得られた結果を、以下の表に示す。

【0277】

細胞阻害アッセイ

細胞阻害アッセイは、方法Aまたは方法Bのどちらかを用いて行なった。

方法A

細胞を、適当な培養液（以下を参照）50 μ l中、ウエル当たり500細胞の密度で、96W組織培養プレート（1 ウエル = 30mm²）に播種した。24時間後、同じ培養液中で調製した化合物50 μ lを、4倍希釈に加え、最終濃度を0.15nM ~ 2500nM（各濃度に対してn=6）にした。次いで、プレートを37℃、5% CO₂ で120時間インキュベートした。細胞増殖を、WST-1（代謝指示染料、Roche Cat no. 1 644 807）を用いて、製造メーカーの指示書に従ってアッセイした。結果をビヒクル応答のパーセントとして計算し、IC50値は、ビヒクル応答を50%阻害する化合物の濃度を表わす。

10

【0278】

HCT-116培養液 - ダルベッコ(Dulbeccos) MEM (Sigma D6546) + 2mM グルタミン(Sigma cat no G-7513)および50U/ml ペニシリンと硫酸ストレプトマイシン (Sigma Cat no P-0781)を含む、10% 熱不活化ウシ胎仔血清(Hyclone SH30071 Thermo Fischer Scientific)

【0279】

方法B

細胞を、適当な培養液50 μ l中の96W組織培養プレート（1 ウエル = 30mm²）に、細胞タイプによる密度[HCT-116, 750細胞 / ウエル, Hut-78 & U937, 1500細胞 / ウエル]で播種した。

20

24時間後、同じ培養液中で調製した化合物50 μ lを加え、12倍希釈とし、最終濃度を1000nM ~ 0.28pM（各濃度に対してn=6）にした。

次いで、プレートを37℃、5% CO₂ で72時間インキュベートした。

細胞増殖の測定として、トリチウム化されたチミジン取り込みアッセイを用いた。要約すれば、細胞を0.4 μ Ci/ウエルで4時間インキュベートした後、フィルターマット上に回収した。それらを乾燥し、その上にメルティレックス(meltilex)シンチレーションシートを溶かし、次いでバッグ中に密封し、³H放射をTriluxマイクロベータ(microbeta)カウンタで計測した。

30

【0280】

結果をビヒクル応答のパーセントとして計算し、IC50値は、ビヒクル応答を50%阻害する化合物の濃度を表わす。

IC50の結果は、次の3レンジの1つに配分された：

レンジA: IC50<100nM

レンジB: 100nM ~ 500nMのIC50

Range C: IC50 >500nM

NT = 無試験

【0281】

本明細書の実施例の化合物に対して得られた結果を、次の表に示す。

40

【表 8 - 1】

実施例番号	PLK1 に対する 阻害活性	HCT 116 細胞株 に対する阻害活性 (方法 A)
1	A	B
2	A	A
3	A	B
4	A	A
5	A	A
6	A	A
7	B	A
8	A	A
9	B	A
10	A	A
11	A	B
12	A	A
13	A	B
14	A	A
15	A	A
16	A	A
17	A	A
18	A	A
19	A	A
20	A	A
21	NT	NT
22	A	A
23	A	A
24	A	A
25	A	A
26	A	A
27	A	A
28	A	A

10

20

30

40

【表 8 - 2】

実施例番号	PLK1 に対する 阻害活性	HCT 116 細胞株に 対する阻害活性 (方法 A)
29	A	A
30	A	A
31	A	A
32	A	NT
33	A	NT
34	A	NT
35	A	NT
36	A	NT
37	A	NT
38	A	NT
39	A	NT
40	A	NT
41	A	NT
42	A	NT
43	A	NT
44	A	NT
45	A	NT
46	A	NT
47	A	NT
48	A	NT
49	A	NT
50	A	NT
51	A	NT
52	A	NT
53	A	NT

10

20

30

40

【 0 2 8 3 】

ブローケン セル カルボキシルエステラーゼ アッセイ

50

R₇がエステル基である、本発明のあるゆる得られた化合物は、それが細胞内のエステラーゼにより加水分解されるという要件に合うかどうかを決定するために、次のアッセイでの試験によりテストされ得る。

【0284】

細胞抽出物の調製

U937またはHCT 116腫瘍細胞(～10⁹)を、ダルベッコPBSの4容積(～1リッター)中で洗浄し、4 で10分間、525 gでペレットにした。これを2回繰り返し、最終細胞ペレットを35 mLの冷ホモジナイズバッファー(トリズマ 10 mM, NaCl 130 mM, CaCl₂ 0.5 mM 25 でpH 7.0)に再懸濁した。ホモジネートを窒素キャビテーション(4 で50分間700 psi)により調製した。ホモジネートを氷の上に置き、

ロイペプチン 1 μM

アプロチニン 0.1 μM

E64 8 μM

ペプスタチン 1.5 μM

ベスタチン 162 μM

キモスタチン 33 μM

の最終濃度で阻害剤のカクテルを加えた。

525gで10分間の遠心分離による細胞ホモジネートの清澄化後、得られた上清液をエステラーゼ活性のソースとして用い、必要とされるまで-80 で保存した。

【0285】

エステル開裂の測定

エステルの対応するカルボン酸への加水分解は、上記のように調製した細胞抽出物を用いて測定することができる。この趣旨で、細胞抽出物(～30 μg / 0.5 mLの全アッセイ容積)をTris- HCl 25 mM、125 mM NaCl 緩衝液、25 でpH 7.5中、37 でインキュベートした。次いで、0時間に、最終濃度2.5 μMでエステル(基質)を加え、試料を適当な時間(通常、0 または 80分間)、37 でインキュベートした。アセトニトリルの3×容積の添加で反応を停止した。0時間の試料に対して、エステル化合物より前にアセトニトリルを加えた。12000 gで5分間の遠心分離後、RTでLCMS (Sciex API 3000、HP1100 バイナリポンプ、CTC PAL)により、試料をエステルとその対応するカルボン酸に対して分析した。クロマトグラフィーは、AceCN (75×2.1mm)カラムおよび、水 /0.1 % ギ酸中5～95 % アセトニトリルの移動相に基づいた。

【0286】

次の表は、いくつかの異なるリンカー化学により、種々の細胞内酵素阻害剤と結合されたいくつかのアミノ酸エステル基調は、細胞内カルボキシエステラーゼにより対応する酸に全て加水分解されることを示すデータを提供する。

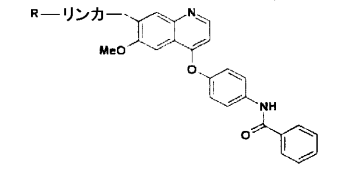
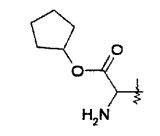
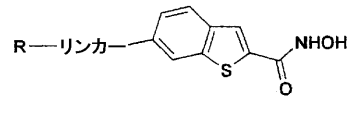
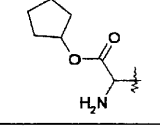
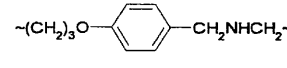
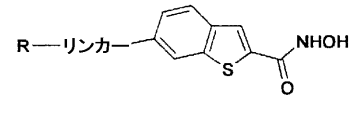
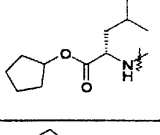
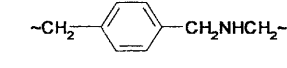
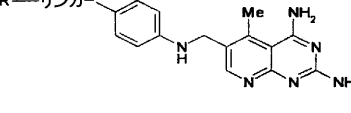
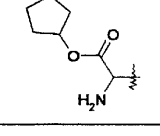
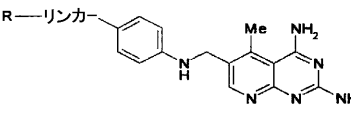
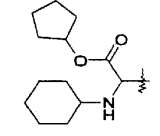
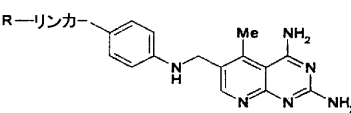
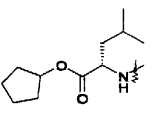
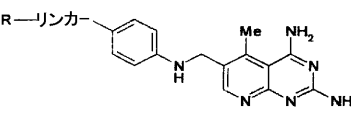
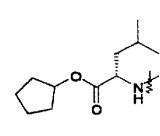
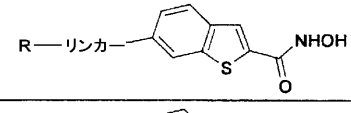
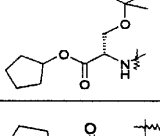
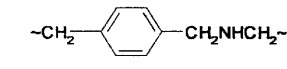
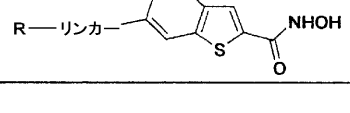
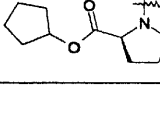
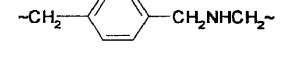
【0287】

10

20

30

【表 9】

アミノ酸エステル結合体の構造	R	リンカー	加水分解速度レンジ U937細胞 (pg/mL/分)	アミノエステル 結合体の製造
		~CH ₂ CH ₂ O~	100-1000	WO2006117552
		~(CH ₂) ₃ O~ 	1000-50000	WO2006117548
		~CH ₂ ~ 	>50000	WO2006117549
		~CH ₂ CH ₂ O~	>50000	WO2006117567
		~CH ₂ CH ₂ O~	1000-50000	WO2006117567
		~CH ₂ ~	1000-50000	WO2006117567
		~CO~	>50000	WO2006117567
		~CH ₂ ~ 	>50000	WO2006117549
		~CH ₂ ~ 	>50000	WO2006117549

10

20

30

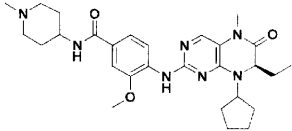
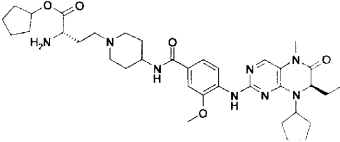
【0288】

次の表は、両者とも同様の酵素活性を有するけれども、細胞において、開裂可能なエステラーゼ基調を含む実施例22は、エステラーゼ基調を欠いている化合物、化合物I (WO04076454中の実施例46)より、ずっと大きな活性を有することを示している。

【0289】

40

【表 10】

化合物	構造	PLK の阻害 (IC ₅₀ , nM)		U937 細胞 増殖の阻 害 (IC ₅₀ , nM) (方法 B)	比 細胞/酵素
		エステル	酸		
化合物 I		4		1.6	0.4
実施例 22		6	6 (実施例 53)	0.09	0.015

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2007/003998

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D475/00 A61K31/519 A61P35/00

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 A61K A61P

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, WPI Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2006/046990 A1 (STADTMUELLER HEINZ [AT] ET AL) 2 March 2006 (2006-03-02) paragraphs [0006], [0007]; claims 1,9,10; compound 28	1-22
A	US 2006/047118 A1 (STADTMUELLER HEINZ [AT] ET AL) 2 March 2006 (2006-03-02) paragraphs [0005], [0007]; claim 1	1-22
A	EP 1 632 493 A (BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA [DE]) 8 March 2006 (2006-03-08) paragraphs [0003], [0004]; claim 1	1-22

☐ 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.

'Z' document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 January 2008

Date of mailing of the international search report

23/01/2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo.nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

MORIGGI, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2007/003998

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:
Although claim 19 and part of claims 21 and 22 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
—
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:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable 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.:
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 SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2007/003998

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006046990 A1	02-03-2006	CA 2578560 A1 WO 2006021548 A1	02-03-2006 02-03-2006
US 2006047118 A1	02-03-2006	CA 2575804 A1 WO 2006021547 A1	02-03-2006 02-03-2006
EP 1632493 A	08-03-2006	AR 050611 A1 CA 2578838 A1 WO 2006021378 A1 US 2006052383 A1	08-11-2006 02-03-2006 02-03-2006 09-03-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 モファット, デビッド, フェストゥス, チャールズ

イギリス、オックスフォードシャー オーエックス 1 4 4 アールワイ、アビンドン、ミルトン
パーク 9 3、クロマ セラピューティクス リミテッド

(72)発明者 バテル, サンジェイ, ラティラル

イギリス、オックスフォードシャー オーエックス 1 4 4 アールワイ、アビンドン、ミルトン
パーク 9 3、クロマ セラピューティクス リミテッド

(72)発明者 デイビス, ステファン, ジョン

イギリス、オックスフォードシャー オーエックス 1 4 4 アールワイ、アビンドン、ミルトン
パーク 9 3、クロマ セラピューティクス リミテッド

(72)発明者 ベーカー, ケネス, ウイリアム, ジョン

イギリス、オックスフォードシャー オーエックス 1 4 4 アールワイ、アビンドン、ミルトン
パーク 9 2、クロマ セラピューティクス リミテッド

(72)発明者 フィリップス, オリバー, ジェームス

イギリス、オックスフォードシャー オーエックス 1 4 4 アールワイ、アビンドン、ミルトン
パーク 9 2、クロマ セラピューティクス リミテッド

F ターム(参考) 4C050 AA01 BB08 CC08 EE04 FF02 GG03 GG04 HH01 HH04

4C086 AA01 AA02 AA03 CB09 GA16 MA01 MA04 NA14 ZB21 ZB26

ZB27 ZC20

【要約の続き】

カー $R-L^1-Y^1$ -により環Aと結合している、式 $R-L^1-Y^1$ - (式中、Rは アミノ酸または アミノ酸エステル基調である)の基である]

【選択図】なし