

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5844358号
(P5844358)

(45) 発行日 平成28年1月13日 (2016. 1. 13)

(24) 登録日 平成27年11月27日 (2015. 11. 27)

(51) Int. Cl.

F 1

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

C O 7 D 487/04 1 5 6

A 6 1 K 31/5517 (2006. 01)

C O 7 D 487/04 C S P

A 6 1 P 37/02 (2006. 01)

A 6 1 K 31/5517

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 29/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 16 (全 51 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-515827 (P2013-515827)
 (86) (22) 出願日 平成23年6月20日 (2011. 6. 20)
 (65) 公表番号 特表2013-529611 (P2013-529611A)
 (43) 公表日 平成25年7月22日 (2013. 7. 22)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2011/060179
 (87) 国際公開番号 W02011/161031
 (87) 国際公開日 平成23年12月29日 (2011. 12. 29)
 審査請求日 平成26年4月18日 (2014. 4. 18)
 (31) 優先権主張番号 1106801.2
 (32) 優先日 平成23年4月21日 (2011. 4. 21)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 1010514.6
 (32) 優先日 平成22年6月22日 (2010. 6. 22)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 509329523
 グラクソスミスクライン エルエルシー
 アメリカ合衆国 1 9 1 1 2 ペンシルベ
 ニア州, フィラデルフィア, クレセント
 ドライブ 5
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100122389
 弁理士 新井 栄一
 (74) 代理人 100111741
 弁理士 田中 夏夫

最終頁に続く

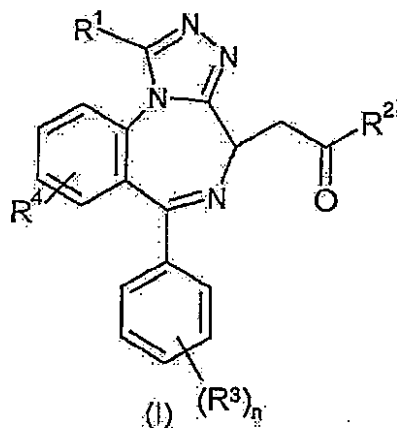
(54) 【発明の名称】 ベンゾトリアゾロジアゼピン化合物を含むプロモドメイン阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式(1)の化合物またはその塩

【化 1】



ここで、

 R^1 は C_{1-3} アルキルであり、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2'a}$ または $-OR^{2b}$ であり、

この中で、 R^{2a} または $R^{2'a}$ の1つは水素であり、 R^{2b} または R^{2a} もしくは $R^{2'a}$ の他の1つは C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 $R^{2c}R^{2'c}N-C_{2-6}$ アルキル、 $R^{2c}O-C_{2-6}$ アルキル、カルボシクリル、カルボシクリル C_{1-4} アルキル、ヘテロシクリルおよびヘテロシクリル C_{1-4} アルキルから選択され、

この中で、カルボシクリルまたはヘテロシクリル基のいずれも、場合により、ハロゲン、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、 $-CO-$ カルボシクリル、アミノ、ヒドロキシルおよびシアノから選択される1またはそれ以上の基によって置換され、

または、カルボシクリルまたはヘテロシクリル基のいずれかの二つの隣接した基は、これらを相互に結合している原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を含むことができる5-または6-員環を形成し、

または、 R^{2a} および $R^{2'a}$ は、これらが結合しているN原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を場合により含むことができる5-、6-または7員環を形成し、この中で、5-、6-または7員環は更に場合により C_{1-6} アルキルによって置換する事ができ、

R^{2c} および $R^{2'c}$ は、独立して、水素または C_{1-6} アルキルであり、

それぞれの R^3 は、独立して、水素、ヒドロキシ、ハロ、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、シアノ、 CF_3 、 $-OCF_3$ 、 $-COOR^5$ 、 $-C_{1-4}$ アルキルN R^6R^7 および C_{1-4} アルキルOHから選択され、

R^4 は、芳香族カルボシクリルまたは芳香族ヘテロシクリル基であり、

この中で、芳香族カルボシクリルまたはヘテロシクリル基は、場合により、ハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシおよび C_{1-4} アルキルN R^6R^7 基から選択される1またはそれ以上の基によって置換され、

R^5 は、 C_{1-3} アルキルであり、

R^6 および R^7 は、それぞれ独立して、水素、 C_{1-6} アルキルもしくは $C(O)C_{1-6}$ アルキルであるか、 R^6 および R^7 は、これらが結合しているN原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のさらなるヘテロ原子を場合により含んでいる5-、6-または7員環を形成し、この中で、5-、6-または7員環は、更に場合により1またはそれ以上の C_{1-6} アルキル、 $-C(O)C_{1-6}$ アルキル、アミノまたはヒドロキシル基によって置換する事ができ、
nは1から5の整数である。

【請求項2】

R^2 が OR^{2b} [ここで、 R^{2b} は C_{1-6} アルキルである]である請求項1に記載の化合物またはその塩。

【請求項3】

R^2 が $-NR^{2a}R^{2'a}$ である請求項1に記載の化合物またはその塩。

【請求項4】

R^{2a} が水素であり、 $R^{2'a}$ が C_{1-6} アルキルである請求項3に記載の化合物またはその塩。

【請求項5】

R^{2a} が水素であり、 $R^{2'a}$ が $R^{2c}R^{2'c}N-C_{1-6}$ アルキルである請求項3に記載の化合物またはその塩。

【請求項6】

R^{2a} が水素であり、 $R^{2'a}$ がヘテロシクリルである請求項3に記載の化合物またはその塩。

【請求項7】

R^{2a} が水素であり、 $R^{2'a}$ がヘテロシクリル C_{1-4} アルキルであり、この中でヘテロシクリルは場合によりアミノ、ヒドロキシルまたはメチルによって1度置換される請求項3に記載の化合物またはその塩。

【請求項8】

R^4 がフェニル、ピリジル、イミダゾリルまたはピラゾリルであり、この基は場合によりハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-4} アルキルN R^6R^7 基[ここで R^6 は水素であり、 R^7 は水素、 C_{1-6} アルキルまたは $C(O)C_{1-6}$ アルキルである]から選択される1またはそれ以上

10

20

30

40

50

の基によって置換される請求項1～7のいずれか1項に記載の化合物またはその塩。

【請求項9】

R⁴がC₁₋₄アルキルNR⁶R⁷基[ここで、R⁶およびR⁷は、これらが結合しているN原子と一緒に、ピロリジニル、ピペラジニル、ピペリジニルまたはモルホリニル環を形成し、この環は1もしくはそれ以上のC₁₋₆アルキル、-C(O)C₁₋₆アルキル、アミノまたはヒドロキシル基によって場合により置換されている]によって置換されているフェニルである請求項1～7のいずれか1項に記載の化合物またはその塩。

【請求項10】

R⁴基がトリアゾロベンゾジアゼピン環の8位にある請求項1～7のいずれか1項に記載の化合物またはその塩。

10

【請求項11】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

エチル [(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[4-(メチルオキシ)フェニル]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-5-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-4-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

20

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2-メチルフェニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-メトキシフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(ピリジン-4-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

30

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

40

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((ジメチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;および

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2H-テトラゾル-5-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

から選択される化合物またはその塩。

【請求項12】

50

請求項1～11のいずれか1項に記載の化合物、またはその医薬品として許容できる塩。

【請求項13】

請求項12で定義された式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩および1またはそれ以上の医薬品として許容されうる担体、希釈剤または賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項14】

治療における使用のための請求項12で定義された式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩。

【請求項15】

癌または慢性自己免疫および/もしくは炎症症状の治療における使用のための請求項12で定義された式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩。

10

【請求項16】

癌または慢性自己免疫および/もしくは炎症症状の治療における使用の為の薬剤の製造における、請求項12で定義された式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ベンゾジアゼピン化合物、このような化合物を含む医薬組成物、およびそれらの治療での使用に関する。

20

【背景技術】

【0002】

真核生物のゲノムは、細胞の核の中で高度に組織化されている。2本鎖DNAの長い鎖は、ヒストン蛋白質の8量体(大抵はヒストンH2A、H2B、H3およびH4の二つのコピーからなる)の周りに巻きついてヌクレオソームを形成している。この基本単位は、ヌクレオソームの集合および折りたたみによって更に圧縮され、高度に凝縮されたクロマチン構造を形成する。様々な異なる凝縮状態が可能であり、この構造の凝集度合いは細胞周期中に変わり、細胞分裂の過程でもっとも密になる。クロマチン構造は遺伝子転写を制御する上で重要な役割を担い、遺伝子転写は高度に凝縮されたクロマチンでは効率的に起こりえない。クロマチン構造は、ヒストン蛋白質、特にヒストンH3およびH4に対する、最も一般的にはヌクレオソーム構造のコアから伸びているヒストンテール中での一連の翻訳後修飾によって制御される。これらの修飾には、アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化、SUMO化がある。これらのエピジェネティックマークは特定の酵素によって書き込まれ削除され、その酵素はヒストンテール中の特定の残基にタグを取り付け、それによってエピジェネティックコードが形成され、その後細胞によって読み取られ、クロマチン構造の遺伝子特異的調節、従って転写が可能となる。

30

【0003】

ヒストンのアセチル化は、遺伝子転写の活性化に深く関係しており、修飾によって静電気の変化が起き、DNAとヒストン8量体の相互作用を緩める。この物理的な変化に加えて、特定の蛋白質がヒストン中のアセチル化リジン残基に結合し、エピジェネティックコードを読み取る。プロモドメインは、ヒストンのみに限らず一般的にアセチル化リジン残基と結合する、蛋白質内の小さな(～110アミノ酸)ドメインである。プロモドメインを含むことで知られる約50の蛋白質のファミリーがあり、それらは細胞内で様々な機能を有する。

40

【0004】

プロモドメインを含む蛋白質のBETファミリーは4種の蛋白質(BRD2、BRD3、BRD4、およびBRD-t)から構成され、それらはきわめて接近したところにある二つのアセチル化リジン残基に結合し、相互作用の特異性を増大することが可能であるタンデム型プロモドメインを含んでいる。BRD2およびBRD3は活発に転写される遺伝子に付随したヒストンに関連していることが報告されており、転写伸長の促進に関与している可能性があり(Leroy et al, Mol. Cell. 2008 30(1):51-60)、一方で、BRD4は誘導性遺伝子に対するpTEF- 複合体

50

の漸増に関与し、結果としてRNAポリメラーゼのリン酸化がおこり転写生成物が増大するようである(Hargreaves et al, Cell, 2009 138(1): 129-145)。また、BRD4またはBRD3は、NUT(精巣にある核蛋白質)と融合し、極めて悪性の上皮性腫瘍の形態の新規な融合発癌遺伝子であるBRD4-NUTまたはBRD3-NUTを形成する可能性があるとも報告されている(French et al. Cancer Research, 2003, 63, 304-307およびFrench et al. Journal of Clinical Oncology, 2004, 22(20), 4135-4139)。データはBRD-NUT融合蛋白質が発癌に寄与する事を示唆している(Oncogene, 2008, 27, 2237-2242)。BRD- t は精巣や卵巣の中で独自に発現される。全てのファミリーメンバーは細胞周期の複数の局面を制御または実行する上である機能を持っていると報告されており、細胞分裂の間、染色体と複合体を形成したままであることが示されている - これはエピジェネティックメモリーの維持における役割を示唆している。加えて、ウイルスの中には、ウイルスの複製の過程の一部としてウイルスのゲノムと宿主細胞クロマチンとを繋ぐ為にこれらの蛋白質を利用するものもある(You et al Cell, 2004 117(3):349-60)。

10

【 0 0 0 5 】

日本公開特許公報JP2008-156311には、ウイルス感染/増殖に対して有用であるBRD2プロモドメイン結合剤とされているベンゾイミダゾール誘導体が開示されている。

【 0 0 0 6 】

特許出願W02009084693A1には、アセチル化されたヒストンと、抗癌剤として有用であると言われているプロモドメイン含有蛋白質との結合を阻害するとされている一連のチエノトリアゾロジアゼピエン誘導体が開示されている。

20

【 0 0 0 7 】

PCT特許出願PCT/EP2010/066699には、BETファミリープロモドメインとアセチル化されたリジン残基の結合を阻害する一連のベンゾジアゼピン誘導体が開示されている。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 8 】

【 特許文献 1 】 特開2008-156311号公報

【 特許文献 2 】 国際公開第2009/084693号

【 特許文献 3 】 国際出願PCT/EP2010/066699号

【 非特許文献 】

30

【 0 0 0 9 】

【 非特許文献 1 】 Leroy et al, Mol. Cell. 2008 30(1):51-60

【 非特許文献 2 】 Hargreaves et al, Cell, 2009 138(1): 129-145

【 非特許文献 3 】 French et al. Cancer Research, 2003, 63, 304-307

【 非特許文献 4 】 French et al. Journal of Clinical Oncology, 2004, 22(20), 4135-4139

9

【 非特許文献 5 】 Oncogene, 2008, 27, 2237-2242

【 非特許文献 6 】 You et al Cell, 2004 117(3):349-60

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

40

【 0 0 1 0 】

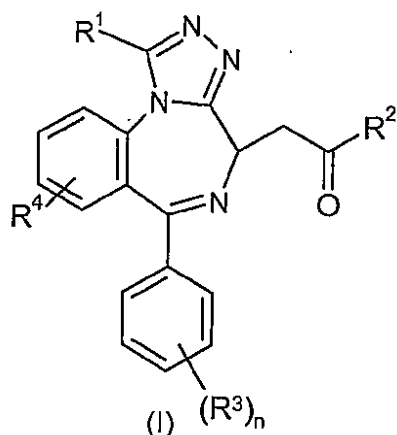
プロモドメインと、それと同種のアセチル化された蛋白質との結合を阻害する一群の新規な化合物、より詳しくは、アセチル化されたリジン残基へのBETファミリープロモドメインの結合を阻害する一群の化合物が発見された。本明細書では、このような化合物を“プロモドメイン阻害剤”という。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 1 】

本発明の最初の局面は、式(1)の化合物またはその塩、より詳しくは式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩を提供する。

【化 1】



10

【 0 0 1 2 】

本発明の第2の局面では、式(I)の化合物またはその医薬品として許容できる塩および一つのまたはそれ以上の医薬品として許容されうる担体、希釈剤または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【 0 0 1 3 】

本発明の第3の局面では、治療、特にプロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療に使用するための式(I)の化合物、またはその医薬品として許容できる塩を提供する。

20

【 0 0 1 4 】

本発明の第4の局面では、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療方法について提供し、それは、治療を必要としている被験者への式(I)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の治療的に効果のある量の投与を含む。

【 0 0 1 5 】

本発明の第5の局面では、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療の為に薬剤の製造における、式(I)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の使用を提供する。

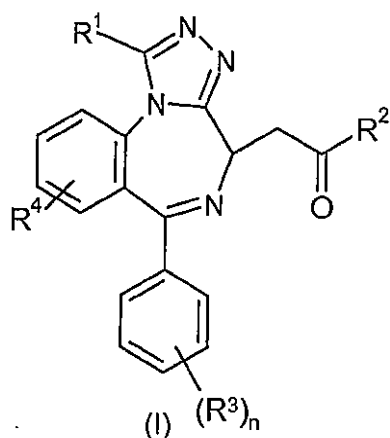
【発明を実施するための形態】

30

【 0 0 1 6 】

本発明は式(I)の化合物またはその塩に関する。

【化 2】



40

【 0 0 1 7 】

ここで、

R¹はC₁₋₃アルキルであり、

R²は-NR^{2a}R^{2a} または -OR^{2b}であり、

50

この中で R^{2a} または $R^{2' a}$ の1つは水素であり、 R^{2b} または R^{2a} もしくは $R^{2' a}$ の他の1つは C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 $R^{2c}R^{2' c}N-C_{1-6}$ アルキル、カルボシクリル、カルボシクリル C_{1-4} アルキル、ヘテロシクリルおよびヘテロシクリル C_{1-4} アルキルから選択され、この中で、カルボシクリルまたはヘテロシクリル基のいずれも、場合により、ハロゲン、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、カルボニル、-CO-カルボシクリル、アジド、アミノ、ヒドロキシル、ニトロおよびシアノから選択される1またはそれ以上の基によって置換され、

この中で、-CO-カルボシクリル基は更に場合により、ハロゲン、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、アジド、ニトロおよびシアノから選択される1またはそれ以上の基によって置換する事ができ、

10

または、カルボシクリルまたはヘテロシクリル基のいずれかの二つの隣接した基は、これらを相互に結合している原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を含むことができる5-または6-員環を形成し、

または、 R^{2a} および $R^{2' a}$ は、これらが結合しているN原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を場合により含むことができる5-、6-または7員環を形成し、この中で、5-、6-または7員環は更に場合により C_{1-6} アルキルによって置換することができる、

R^{2c} および $R^{2' c}$ は、独立して、水素または C_{1-6} アルキルであり、

それぞれの R^3 は、独立して、水素、ヒドロキシ、ハロ、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、ニトロ、シアノ、 CF_3 、-OCF₃、-COOR⁵、-C₁₋₄アルキルNR⁶R⁷および C_{1-4} アルキルOHから選択され、

20

R^4 は、芳香族カルボシクリルまたは芳香族ヘテロシクリル基であり、

この中で、芳香族カルボシクリルまたはヘテロシクリル基は、場合により、ハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシおよび C_{1-4} アルキルNR⁶R⁷基から選択される1またはそれ以上の基によって置換され、

R^5 は、 C_{1-3} アルキルであり、

R^6 および R^7 は、それぞれ独立して、水素、 C_{1-6} アルキルもしくはC(O) C_{1-6} アルキルであるか、または、 R^6 および R^7 は、これらが結合しているN原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を場合により含んでいる5-、6-または7員環を形成し、この中で、5-、6-または7員環は、更に場合により1またはそれ以上の C_{1-6} アルキル、-C(O) C_{1-6} アルキル、アミノまたはヒドロキシル基によって置換することができる、

30

nは1から5の整数である。

【0018】

1つの実施形態として式(I)の化合物を提供する。

【0019】

ここで、

R^1 は C_{1-3} アルキルであり、

R^2 は-NR^{2a}R^{2a'}または-OR^{2b}であり、

この中で、 R^{2a} または $R^{2' a}$ の1つは水素であり、 R^{2b} または R^{2a} もしくは $R^{2' a}$ の他の1つは C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 $R^{2c}R^{2' c}N-C_{2-6}$ アルキル、 $R^{2c}O-C_{2-6}$ アルキル、カルボシクリル、カルボシクリル C_{1-4} アルキル、ヘテロシクリルおよびヘテロシクリル C_{1-4} アルキルから選択され、

40

この中で、カルボシクリルまたはヘテロシクリル基のいずれも、場合により、ハロゲン、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、カルボニル、-CO-カルボシクリル、アミノ、ヒドロキシルおよびシアノから選択される1またはそれ以上の基によって置換され、

または、カルボシクリルまたはヘテロシクリル基のいずれかの二つの隣接した基は、これらを相互に結合している原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を含むことができる5-または6-員環を形成し、

または、 R^{2a} および $R^{2' a}$ は、これらが結合しているN原子と一緒に、O、SおよびNから独立

50

して選択される1または2のヘテロ原子を場合により含むことができる5-、6-または7員環を形成し、この中で、5-、6-または7員環は、更に場合により C_{1-6} アルキルによって置換することができる、

$R^{2'}$ および $R^{2''}$ は、独立して、水素または C_{1-6} アルキルであり、

それぞれの R^3 は、独立して、水素、ヒドロキシ、ハロ、 C_{1-6} アルキル、ハロ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、ハロ C_{1-6} アルコキシ、シアノ、 CF_3 、 $-OCF_3$ 、 $-COOR^5$ 、 $-C_{1-4}$ アルキルN R^6R^7 および C_{1-4} アルキルOHから選択され、

R^4 は、芳香族カルボシクリルまたは芳香族ヘテロシクリル基であり、

この中で、芳香族カルボシクリルまたはヘテロシクリル基は、場合により、ハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシおよび C_{1-4} アルキルN R^6R^7 基から選択される1またはそれ以上の基によって置換され、

R^5 は、 C_{1-3} アルキルであり、

R^6 および R^7 は、それぞれ独立して、水素、 C_{1-6} アルキルもしくは $C(=O)C_{1-6}$ アルキルであるか、または、 R^6 および R^7 は、これらが結合しているN原子と一緒に、O、SおよびNから独立して選択される1または2のヘテロ原子を場合により含んでいる5-、6-または7員環を形成し、この中で、5-、6-または7員環は、更に場合により1またはそれ以上の C_{1-6} アルキル、 $-C(=O)C_{1-6}$ アルキル、アミノまたはヒドロキシ基によって置換することができる、

nは1から5の整数である。

【0020】

本発明の1つの実施形態ではS-エナンチオマーが好ましい。

【0021】

ここで使われている“アルキル”の用語は、指定された数の炭素原子を含む直鎖状または分枝状の炭化水素鎖をさす。例えば、 C_{1-6} アルキルは、少なくとも1の、多くて6つの炭素原子を含む直鎖または分枝アルキルを意味する。ここで使われている“アルキル”の例は、メチル、エチル、n-プロピル、n-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル、イソブチル、イソプロピル、t-ブチルおよび1,1-ジメチルプロピルを含むが、これらに限定されない。

【0022】

ここで使われているように、“アルコキシ”の用語は、指定された数の炭素原子を含む直鎖状または分枝状のアルコキシ基をさす。例えば、 C_{1-6} アルコキシは、少なくとも1の、多くて6つの炭素原子を含んだ直鎖または分枝アルコキシ基を意味する。ここで使われている“アルコキシ”の例は、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、プロポ-2-オキシ、ブトキシ、ブト-2-オキシ、2-メチルプロポ-1-オキシ、2-メチルプロポ-2-オキシ、ペントキシ、ヘキシロキシを含むが、それらに限定されない。

【0023】

ここで使われているように、“ハロゲン”または“ハロ”の用語は、フッ素、塩素、臭素およびヨウ素の元素をさす。好適なハロゲンの例は、フッ素、塩素、臭素である。

【0024】

特に明記しない限り、いずれのカルボシクリル基も3から8の環原子を含み、飽和でも、不飽和でも、または芳香族でも良い。飽和カルボシクリル基の例にはシクロプロピル、シクロペンチルまたはシクロヘキシルが含まれる。不飽和カルボシクリル基の例には、最高3つの二重結合を含有するものが含まれる。好適な芳香族カルボシクリル基の例はフェニルである。カルボシリックの用語は同様に解釈されるべきである。加えて、カルボシクリルの用語は、複数のカルボシクリル基が縮合したあらゆる化合物、例えば、ナフチル、アントリル、フェナントリル、インダニル、インデニル、アズレニル、アズラニルおよびフルオレニルを含む。

【0025】

特に明記しない限り、いずれのヘテロシクリル基も、窒素、酸素および硫黄のようなヘテロ原子が最高4つである5から7の環原子を含み、そして、飽和、不飽和または芳香族でも良い。ヘテロシクリル基の例は、フリル、チエニル、ピロリル、ピロリニル、ピロリジニル、イミダゾリル、ジオキサニル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、イミ

10

20

30

40

50

ダゾリニル、イミダゾリジニル、ピラゾリル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピラニル、ピリジル、ピペリジニル、ホモピペラジニル、ジオキサニル、モルホリノ、ジチアニル、チオモルホリノ、チオモルホリノ-1,1-ジオキシド、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピペラジニル、スルホラニル、テトラゾリル、トリジニル、アゼピニル、オキサゼピニル、チアゼピニル、ジアゼピニルおよびチアゾリニルである。加えて、ヘテロシクリルの用語は、縮合したヘテロシクリル基、例えば、ベンジミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、イミダゾピリジニル、ベンゾオキサジニル、ベンゾチアジニル、オキサゾロピリジニル、ベンゾフラニル、キノリニル、キナゾリニル、キノキサリニル、ジヒドロキナゾリニル、ベンゾチアゾリル、フタルイミド、ベンゾフラニル、ベンゾジアゼピニル、インドリルおよびイソインドリルを含む。ヘテロシクリックの用語は同様に解釈されるべきである。

10

【0026】

ここで使われているように、“置換される”の用語は、指定された1の置換基または複数の置換基による置換をさす。置換が複数にわたる(例えば1または2)場合、置換基は同じであっても、異なっているもよい。

【0027】

1つの実施形態として、 R^1 はメチルである。

【0028】

1つの実施形態として、 R^2 は $-OR^{2b}$ である。更に別の実施形態として、 R^2 は $-OR^{2b}$ であり、その中の R^{2b} は C_{1-6} アルキルである。更に他の実施形態として、 R^{2b} はメチル、エチル、イソプロピルおよびブチルから選択される。

20

【0029】

1つの実施形態として、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2a'}$ である。

【0030】

もう1つの実施形態として、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2a'}$ であり、その中の R^{2a} は水素であり、そして、 $R^{2'a}$ は、 C_{1-6} アルキルである。更なる実施形態として、 $R^{2'a}$ は、エチルである。

【0031】

もう1つの実施形態として、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2a'}$ であり、その中の R^{2a} は水素であり、そして、 $R^{2'a}$ は、 $R^{2c}R^{2'c}N-C_{1-6}$ アルキルである。もう1つの実施形態として、 $R^{2'a}$ は、 $R^{2c}R^{2'c}N-CH_2CH_2-$ 、 $R^{2c}R^{2'c}N-CH_2CH_2CH_2-$ および $R^{2c}R^{2'c}N-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ から選択される。更に実施形態として、 R^{2c} および $R^{2'c}$ は、水素およびメチルから選択される。

30

【0032】

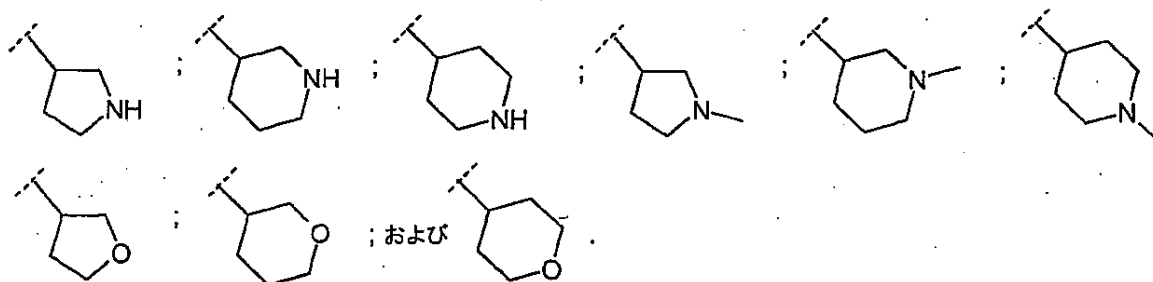
もう1つの実施形態として、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2a'}$ であり、その中の R^{2a} は水素であり、そして、 $R^{2'a}$ はカルボシクリルである。更に実施形態として、 $R^{2'a}$ はシクロペンチルまたはシクロヘキシルであり、その中で、それぞれの基は場合によりアミノまたはヒドロキシルにより一度置換される。

【0033】

もう1つの実施形態として、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2a'}$ であり、その中の R^{2a} は水素であり、そして、 $R^{2'a}$ はヘテロシクリルである。もう1つの実施形態として $R^{2'a}$ はピロリジニル、ピペリジニル、テトラヒドロフラニルおよびテトラヒドロピランから選択され、その中でそれぞれの基は場合により C_{1-6} アルキルによって置換される。更に実施形態として $R^{2'a}$ は

40

【化3】



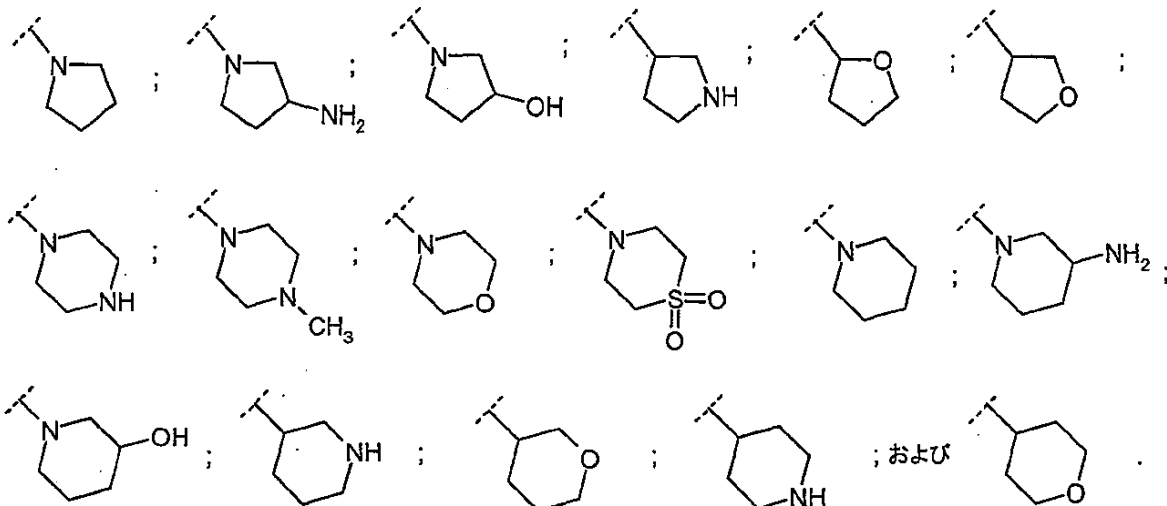
【0034】

から選択される。

【0035】

もう1つの実施形態として、 R^2 は $-NR^{2a}R^{2a'}$ であり、その中の R^{2a} は水素であり、そして、 $R^{2a'}$ はヘテロシクリル C_{1-4} アルキルであり、その中でヘテロシクリルは場合によりアミノ、ヒドロキシルまたはメチルによって一度置換される。もう1つの実施形態として、 $R^{2a'}$ はヘテロシクリル- CH_2 -、ヘテロシクリル- CH_2CH_2 -、ヘテロシクリル- $CH_2CH_2CH_2$ -およびヘテロシクリル- $CH_2CH_2CH_2CH_2$ -から選択され、その中で、ヘテロシクリルは場合によりアミノ、ヒドロキシルまたはメチルによって一度置換される。もう1つの実施形態として、ヘテロシクリルはピロリジニル、ピペリジニル、テトラヒドロピラニル、ピペラジニル、モルホリノおよびチオモルホリノジオキシドから選択され、その中で、それぞれの基は場合によりアミノ、ヒドロキシルまたはメチルによって一度置換される。更に実施形態として、ヘテロシクリルは

【化4】



【0036】

から選択される。

【0037】

n は例えば1のように1から3の範囲の整数を表すことができる。

【0038】

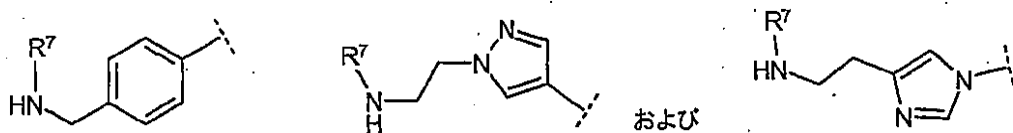
1つの実施形態として、 R^3 はハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは CF_3 である。もう1つの実施形態は、 R^3 はクロロ、フルオロ、メトキシまたは CF_3 である。更に実施形態として、 R^3 は3-フルオロ、4-クロロ、4-フルオロ、4-メトキシまたは4- CF_3 である。更に実施形態として R^3 は4-クロロである。

【0039】

1つの実施形態として、 R^4 はフェニル、ピリジル、イマドルゾリルまたはピラゾリルであり、この基は場合によりハロ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-4} アルキル NR^6R^7 基[ここで R^6 は水素、そして R^7 は水素、 C_{1-6} アルキルまたは $C(=O)C_{1-6}$ アルキルである]が

ら選択される1またはそれ以上の基によって置換される。更に実施形態として R^4 は、

【化5】



【0040】

から選択される。

【0041】

ここで、 R^7 は水素、メチルまたは $C(0)Me$ である。

【0042】

1つの実施形態として、 R^4 は C_{1-4} アルキル NR^6R^7 基[ここで、 R^6 および R^7 は、これらが結合しているN原子と一緒に、ピロリジニル、ピペラジニル、ピペリジニルまたはモルホリニル環を形成し、この環は1もしくはそれ以上(例えば2)の C_{1-6} アルキル(メチルのような)、 $-C(0)C_{1-6}$ アルキル($COMe$ のような)、アミノまたはヒドロキシル基によって場合により置換されている]によって置換されているフェニルである。更に実施形態として、 R^4 は $H_2NR^6R^7$ 基[ここで、 R^6 および R^7 は、これらが結合しているN原子と一緒に、メチル基によって置換されているピロリジニル環またはピペラジニル環を形成している]によって置換されているフェニルである。

【0043】

1つの実施形態として、 R^4 基はベンゾジアゼピン環の8位にある。

【0044】

それぞれの変量の具体例を、それぞれの変量に対して個別に広く記載したが、本発明には、式(1)のいくつかのまたはそれぞれの具体例が上に記載した具体例のそれぞれから選択される化合物が含まれる。それ故、本発明には、その塩を含めて、上に記載したそれぞれの変量に対する具体例の全ての組み合わせが含まれる。

【0045】

1つの実施形態として、

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

エチル [(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート;

2-{(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[4-(メチルオキシ)フェニル]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル}-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-5-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-4-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2-メチルフェニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-メトキシフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(ピリジン-4-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド;

10

20

30

40

50

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド ;
(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド ;
(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド ;
(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド ;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド ;

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((ジメチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド ;

および

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2H-テトラゾル-5-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

から選択される化合物またはその塩がある。

【 0 0 4 6 】

特定の実施形態として、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミドまたはその塩が提供される。

【 0 0 4 7 】

本発明は、遊離塩基としておよびその塩として、例えばその医薬品として許容できる塩として、式(1)の化合物を含むことが理解されるであろう。1つの実施形態として、本発明は遊離塩基としての式(1)の化合物に関する。もう1つの実施形態として、本発明は式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩に関する。

【 0 0 4 8 】

それらの薬への使用の可能性の為、式(1)の化合物の塩は医薬品として許容されうる事が望ましい。医薬品として許容されうる適した塩は、酸または塩基付加塩を含むことができる。適した塩のレビューについては、Berge et al., J. Pharm. Sci., 66:1-19, (1977)を参照されたい。一般的に、医薬品として許容できる塩は、適切な方法で、望ましい酸または塩基を使用することで容易に調製することができる。結果として生じる塩は、溶液から沈殿し、そしてろ過することで収集する、または、溶媒の蒸発により回収することができる。

【 0 0 4 9 】

医薬品として許容できる塩基付加塩は、場合により適した溶媒中で、式(1)の化合物と適した無機または有機塩基(例えば、トリエチルアミン、エタノールアミン、トリエタノールアミン、コリン、アルギニン、リジンまたはヒスチジン)との反応によって形成する事ができ、得られた塩基付加塩は一般的に、例えば結晶化およびろ過によって分離される。医薬品として許容できる塩基塩にはアンモニウム塩、アルカリ金属塩、例えばナトリウムおよびカリウムの塩、アルカリ土類金属塩、例えばカルシウムおよびマグネシウムの塩並びに、イソプロピルアミン、ジエチルアミン、エタノールアミン、トリメチルアミン、ジシクロヘキシルアミンおよびN-メチル-D-グルカミンのような1級、2級および3級アミンの塩を含む有機塩基との塩がある。

【 0 0 5 0 】

医薬品として許容されうる酸付加塩は、場合により有機溶媒のような適した溶媒中で、式(1)の化合物と適した無機または有機酸(例えば、臭化水素酸、塩化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、こはく酸、マレイン酸、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、クエン酸、酒石酸、乳酸、安息香酸、サリチル酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、p-トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸の

10

20

30

40

50

ようなナフタレンスルホン酸またはヘキサン酸)との反応によって形成する事ができ、その塩は一般的に、例えば結晶化およびろ過によって分離される。式(1)の化合物の医薬品として許容されうる酸付加塩は、例えば、臭化水素酸塩、塩化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩、こはく酸塩、マレイン酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、乳酸塩、安息香酸塩、サリチル酸塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ナフタレンスルホン酸塩(例えば、2-ナフタレンスルホン酸塩)またはヘキサン酸塩であるかまたはこれを含むことができる。

【0051】

他の医薬品として許容できない塩、例えば、ギ酸塩、シュウ酸塩またはトリフルオロ酢酸塩は、例えば、式(1)の化合物の分離に使用する事ができ、本発明の範囲に含まれる。

【0052】

本発明の範囲内には、式(1)の化合物の全ての可能な化学量論的および非化学量論的な形態の塩が含まれる。

【0053】

多くの有機化合物は溶媒と反応して複合体を形成することができ、またそれらの複合体から沈殿または結晶化することが理解されよう。これらの複合体は“溶媒和化合物”として知られている。例えば、水との複合体は水和物として知られている。高い沸点を持つおよび/または水素結合を形成する事が可能である溶媒、例えば、水、キシレン、N-メチルピロリジノン、メタノールおよびエタノールは、溶媒和化合物を形成する為に使うことが出来る。溶媒和化合物の同定方法には、NMRおよび微量分析が含まれるが、これに限定されない。式(1)の化合物の溶媒和化合物は本発明の範囲内である。

【0054】

本発明は、式(1)の化合物の溶媒和化合物の全ての可能な化学量論的および非化学量論的な形態を、その範囲内に含んでいる。

【0055】

本発明は、式(1)の化合物およびその医薬品として許容できる塩の全てのプロドラッグを包含する。これらプロドラッグは、受容者への投与によって、式(1)の化合物もしくはその医薬品として許容できる塩、またはその活性のある代謝物質もしくは残留物を(直接または間接的に)提供する事が可能である。このような誘導体は過度の実験なしに当業者により認識される。Burger's Medicinal ChemistryおよびDrug Discovery, 5th Edition, Vol 1: Principles and Practiceを参照されたい。これらの文献は、このような誘導体を教示する範囲で、援用により本明細書に含まれる。

【0056】

式(1)の化合物は、結晶または非晶質の形をとることができる。その上、式(1)の化合物の結晶形のいくつかは、多形として存在する事ができ、これらは本発明の範囲に含まれる。式(1)の化合物の多形の形態は、多数の従来 of 分析技術を使用することで特徴付けられそして識別する事ができ、分析技術にはX線粉体回折(XRPD)パターン、赤外線(IR)スペクトル、ラマンスペクトル、示差走査熱量測定(DSC)、熱重量分析(TGA)および固体核磁気共鳴(SSNMR)が含まれるが、これに限定されない。

【0057】

本明細書に記載された化合物は、1つまたはそれ以上のキラル原子を含んでいる為、光学異性体、例えば-エナンチオマーまたはジアステレオマーを形成することができる。よって、本発明には式(1)の化合物の全ての異性体が、それが実質上他の異性体を含まないように単離された個々の異性体(すなわち純粋)であれ、混合物(すなわちラセミ体およびラセミ混合物)であれ、含まれる。

【0058】

同様に、本発明はまた、式(1)の化合物の立体構造異性体と、式(1)の化合物の全ての幾何学的(cisおよび/またはtrans)異性体にも及ぶ。

【0059】

10

20

30

40

50

実質上他の異性体を含まないように単離された個々の異性体(すなわち純粋)は、10%未満、特に約1%未満、例えば約0.1%未満の他の異性体が存在するように単離され得る。

【0060】

異性体の分離は、当業者に知られている一般的な技術、例えば分別結晶、クロマトグラフィーまたはHPLCによって達成することができる。

【0061】

式(1)のある化合物は、いくつかの互変異体の1つとして存在することができる。本発明には式(1)の化合物の全ての互変異性体が、それが個々の互変異性体であれ、それらの混合物であれ、含まれると理解される。

【0062】

以上より、本発明の範囲には、式(1)の化合物およびその塩の溶媒和化合物、異性体並びに多形態が含まれることが了解される。

【0063】

式(1)の化合物およびその医薬品として許容できる塩は、標準的な化学を含む様々な方法によって作ることができる。全ての上で定義した変量は、特に記載がない限り、その定義の意味を持つ。実例として一般的な合成方法を以下に示す。

【0064】

式(1)の化合物は図式1に記載の方法により調製することができる。

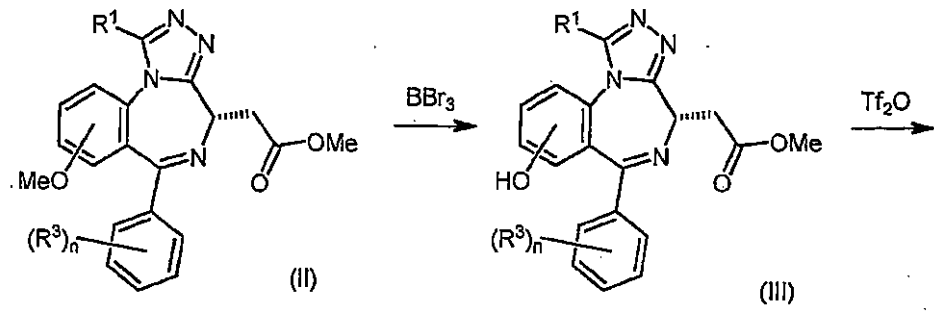
【0065】

図式1

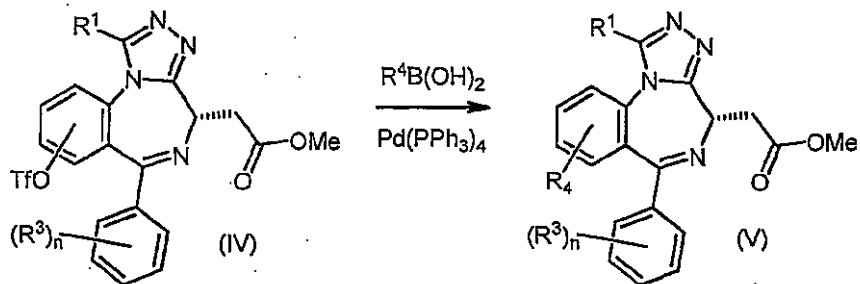
10

20

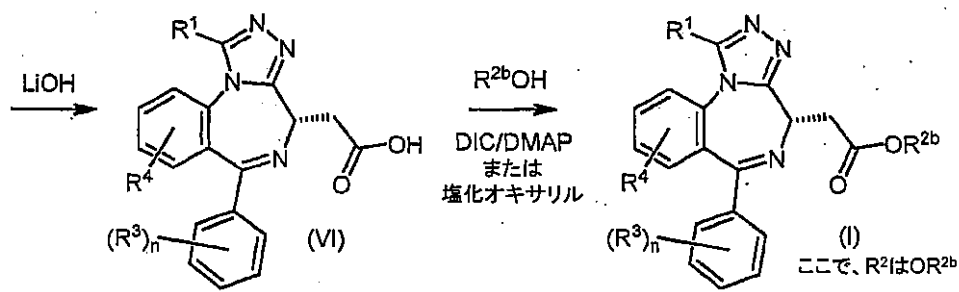
【化6】



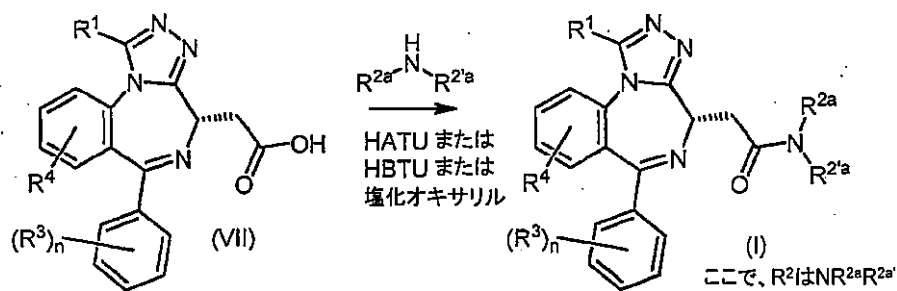
10



20



30



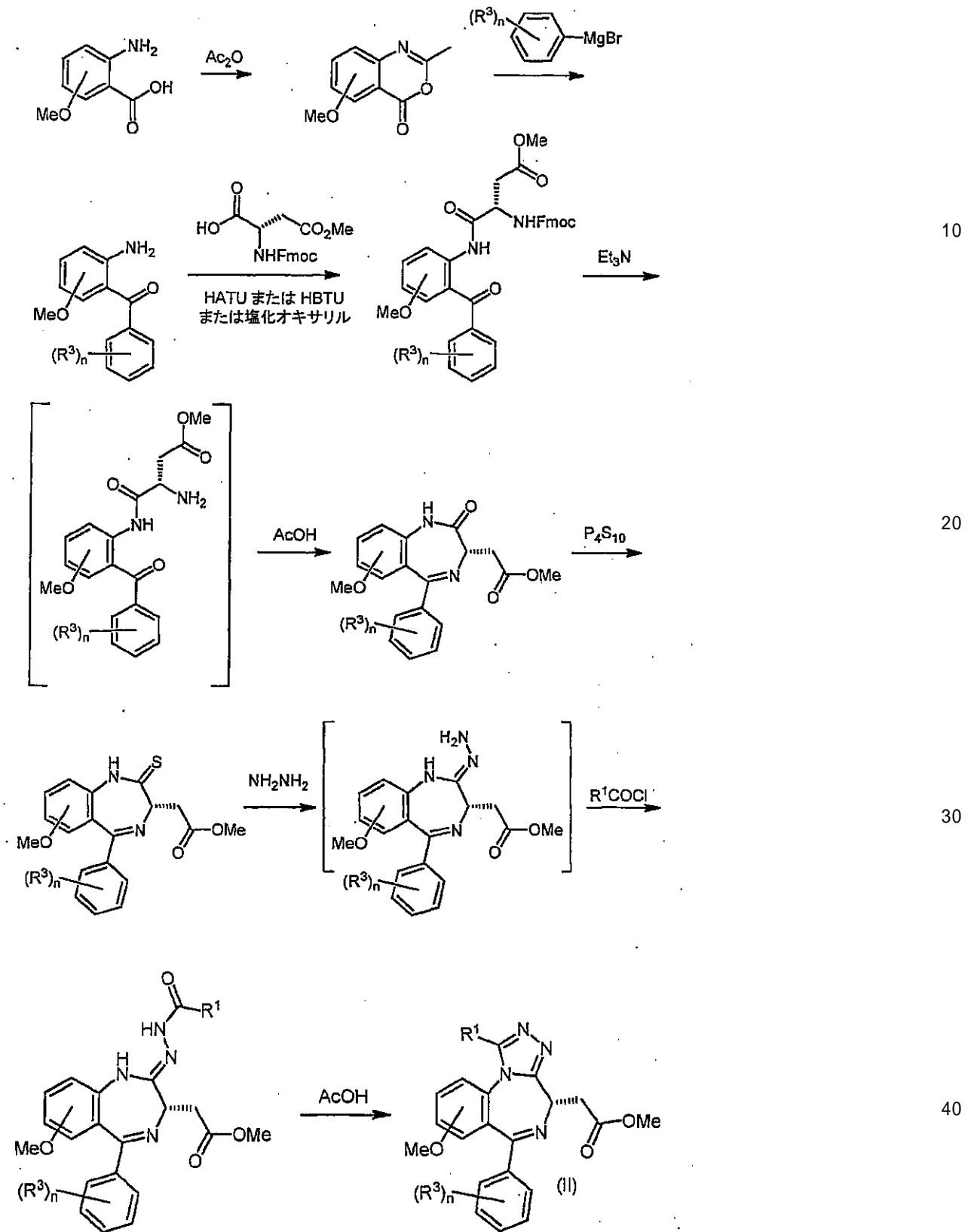
式(II)の化合物は図式2に記載の方法によって調製することができる。

40

【0066】

図式2

【化7】

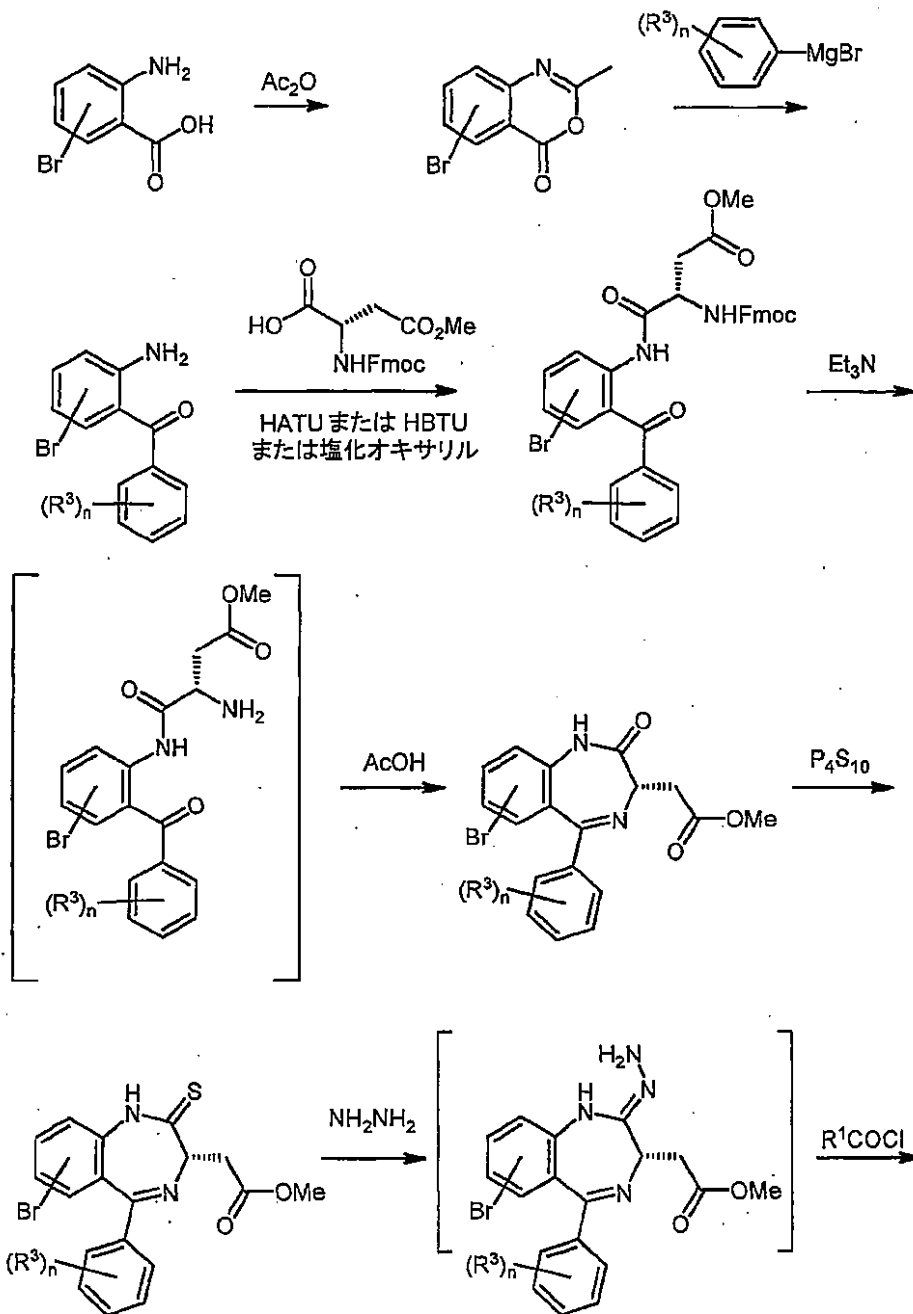


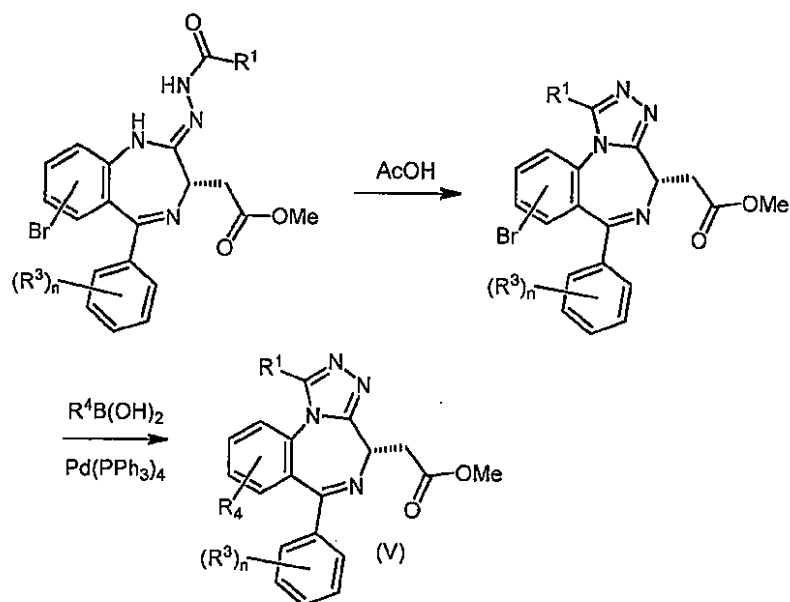
また、式(V)の化合物は図式3に記載の方法によって調製することができる。

【0067】

図式3

【化 8】





10

当業者には、上記の工程において記載した化合物の1またはそれ以上の官能基を保護する事が有利である事が認識される。保護基の例とそれらの除去方法はT. W. Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (4th edition, J. Wiley and Sons, 2006) に見ることができる。適したアミン保護基にはアシル(例えばアセチル)、カルバメート(例えば2',2',2'-トリクロロエトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニルまたはt-ブトキシカルボニル)およびアリールアルキル(例えばベンジル)が含まれ、これらは適宜、加水分解(例えば、ジオキサン中での塩酸またはジクロロメタン中でのトリフルオロ酢酸のような酸を使用することで)または還元的に(例えばベンジルもしくはベンジルオキシカルボニル基の水素化分解または酢酸中で亜鉛を使用する2',2',2'-トリクロロエトキシカルボニル基の還元的除去)除去することができる。その他の適したアミン保護基には、トリフルオロアセチル(-COCF₃)が含まれ、これは、塩基触媒作用による加水分解で除去することができる。

20

【0068】

30

上記の経路のいずれにおいても、分子に導入される様々な基と部分によって、合成ステップの正確な順序は異なるであろう事が理解される。工程の1つの段階で導入された基または部分が、続いて起こる変換や反応によって影響されないように確保する事、それに応じて合成ステップの順序を選択する事は当該技術における専門家の知識の範囲内のことである。

【0069】

上記のいくつかの中間化合物は新規であると考えられ、それ故本発明の更に別の局面を形成する。

【0070】

式(1)の化合物およびその塩は、プロモドメイン阻害剤であり、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療において潜在的な有用性があると考えられる。

40

【0071】

本発明はこのように、治療で使用する為の式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩を提供する。式(1)の化合物またはその医薬品としての塩はプロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療に使用することができる。

【0072】

1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気もしくは状態の治療に使用する為の式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩を提供する。もう1つの実施形態として、慢性自己免疫および/または炎症性の状態の治療に使用する為の化合物またはその医薬品として許容できる塩を提供する。更なる実施形態として、癌、例え

50

ば正中線癌の治療に使用する為の化合物またはその医薬品として許容できる塩を提供する。

【 0 0 7 3 】

1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療の為の薬の製造における式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の使用を提供する。もう1つの実施形態として、慢性自己免疫および/または炎症性の状態の治療の為の薬の製造における式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の使用を提供する。更に実施形態として、癌、例えば正中線癌の治療の為の薬の製造における式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の使用を提供する。

【 0 0 7 4 】

1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態の治療方法について提供し、それは、治療を必要としている被験者への式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の治療的に効果のある量の投与を含む。もう1つの実施形態として、慢性自己免疫および/または炎症性の状態の治療方法について提供し、それは、治療を必要としている被験者への式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の治療的に効果のある量の投与を含む。更に実施形態として、癌、例えば正中線癌の治療方法について提供し、それは、治療を必要としている被験者への式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の治療的に効果のある量の投与を含む。

【 0 0 7 5 】

1つの実施形態として治療を必要としている被験者は哺乳類、特に人である。

【 0 0 7 6 】

ここで使われている“効果のある量”という用語は、例えば研究者または臨床医によって求められている組織、器官、動物または人の生物学的または医学的反応を誘発する薬剤または医薬の量を意味する。さらに、“治療的に効果のある量”の用語は、そのような量を与えていない対応する被験者と比較して、病気、疾患もしくは副作用の向上した治療、治癒、予防もしくは回復または病気もしくは疾患の進行速度の低下という結果が得られる量を意味する。この用語はまた、正常な生理学上の機能を増大させるのに効果的である量もその範囲内に含んでいる。

【 0 0 7 7 】

プロモドメイン阻害剤は、全身もしくは組織の炎症、感染もしくは低酸素症に対する炎症反応、細胞の活性化および増殖、脂質代謝、線維症に関連する様々な病気または状態の治療並びにウイルス感染の予防および治療に有用であると考えられる。

【 0 0 7 8 】

プロモドメイン阻害剤は、多種多様な慢性自己免疫並びに炎症性の状態、例えば、関節リウマチ、変形性関節炎、急性通風、乾癬、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、炎症性腸疾患(クローン病と潰瘍性大腸炎)、ぜんそく、慢性閉塞性気道疾患、肺炎、心筋炎、心膜炎、筋炎、湿疹、皮膚炎、脱毛症、白斑、水疱性皮膚症、腎炎、脈管炎、アテローム硬化症、アルツハイマー病、うつ病、網膜炎、涙液減少症、ぶどう膜炎、強膜炎、肝炎、脾炎、原発性胆汁性肝硬変症、硬化性胆管炎、アディソン病、下垂体炎、甲状腺炎、タイプ1糖尿病および移植臓器の急性拒絶反応の治療に有用であり得る。

【 0 0 7 9 】

プロモドメイン阻害剤は、多種多様な急性の炎症性のある状態、例えば、急性通風、巨細胞動脈炎、ループス腎炎を含む腎炎、糸球体腎炎のような臓器障害を伴う脈管炎、巨細胞動脈炎を含む脈管炎、ヴェグナー肉芽腫症、結節性多発動脈炎、ベーチェット氏病、川崎病、高安動脈炎、壊疽性膿皮症および内臓移植の急性拒絶反応の治療に有用であり得る。

【 0 0 8 0 】

プロモドメイン阻害剤は、バクテリア、ウイルス、真菌、寄生虫もしくはそれらの毒素の感染に対する炎症反応を含む病気または状態、例えば、敗血症、敗血症症候群、感染性ショック、内毒血症、全身性炎症反応症候群(SIRS)、多臓器機能障害症候群、毒性ショッ

10

20

30

40

50

ク症候群、急性肺損傷、ARDS(成人呼吸窮迫症候群)、急性腎不全、劇症肝炎、火傷、急性膵炎、術後症候群、サルコイドーシス、ヘルクスハイマー反応、脳炎、脊髄炎、髄膜炎、マラリア、インフルエンザのようなウイルス感染と関連したSIRS、带状疱疹、単純疱疹およびコロナウイルス、の予防または治療に有用であり得る。

【0081】

プロモドメイン阻害剤は、虚血再灌流障害に関連した状態、例えば、心筋梗塞、脳血管虚血(脳卒中)、急性冠動脈症候群、腎臓再灌流損傷、臓器移植、冠状動脈バイパス移植、心肺バイパス処置および肺、腎臓、肝臓、胃腸もしくは末梢肢の塞栓の予防または治療に有用であり得る。

【0082】

プロモドメイン阻害剤は、APO-A1の調節を介した脂質代謝の疾患、例えば、高コレステロール血症、アテローム硬化症およびアルツハイマー病の治療に有用であり得る。

【0083】

プロモドメイン阻害剤は、線維症状態、例えば、特発性肺線維症、腎臓線維症、術後狭窄、ケロイド形成、強皮症および心臓線維症の治療に有用であり得る。

【0084】

プロモドメイン阻害剤は、ウイルス感染、例えば、ヘルペスウイルス、ヒト乳頭腫ウイルス、アデノウイルス、ポックスウイルスおよび他のDNAウイルスの感染の予防と治療に有用であり得る。

【0085】

プロモドメイン阻害剤は、血液の癌、肺、胸および結腸の上皮癌、正中線癌並びに間葉、肝臓、腎臓および神経性の腫瘍の治療に有用であり得る。

【0086】

1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態は、全身性炎症反応症候群に関連する病気、例えば、敗血症、火傷、膵炎、主要な精神的外傷、出血および虚血から選択される。この実施形態として、プロモドメイン阻害剤は、SIRS、ショックの徴候、多臓器機能障害症候群、これは急性肺損傷、ARDS、急性の腎臓、肝臓、心臓および胃腸の傷害の発症を含み、これらの発生率そして死亡率を減少させる為に、診断の際に投与される。もう1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤は、敗血症、出血、広範囲な組織損傷、SIRSもしくはMODSの高い危険性を伴う外科手術または他の処置の前に投与される。特定の実施形態として、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態は敗血症、敗血症症候群、感染性ショックおよび内毒血症である。もう1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤は、急性または慢性の膵炎の治療のために必要とされる。もう1つの実施形態として、プロモドメインは火傷の治療のために必要とされる。

【0087】

1つの実施形態として、プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態は、単純疱疹感染症および再活化、口唇ヘルペス、带状疱疹感染症および再活化、水痘、带状疱疹、ヒト乳頭腫ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、頸部腫瘍、急性呼吸器病を含むアデノウイルス感染症、並びにポックスウイルス感染症、例えば牛痘および天然痘およびアフリカ豚コレラウイルス、から選択される。1つの特定の実施形態として、プロモドメイン阻害剤は皮膚または頸部上皮のヒト乳頭腫ウイルス感染症の治療に必要とされる。

【0088】

“プロモドメイン阻害剤が必要とされる病気または状態”の用語は、上記の疾病状態の全てを含むと意図される。

【0089】

治療での使用のために、式(1)の化合物ならびにその医薬品として許容できる塩はそのままの化学薬品として投与する事ができるが、活性成分を医薬組成物として提供する事が一般的である。

【0090】

それゆえに、本発明では更に、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩お

10

20

30

40

50

よびひとつまたはそれ以上の医薬品として許容されうる担体、希釈剤または賦形剤を含む医薬組成物の面も提供する。式(1)の化合物およびその医薬品として許容できる塩は、上記の通りである。担体、希釈剤または賦形剤は、組成物の他の成分と適合性であることおよびそれが受容者にとって有害でないことという意味で許容出来る必要がある。したがって、本発明のもう1つの面は、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩と1またはそれ以上の医薬品として許容されうる担体、希釈剤または賦形剤を混合する事を含む医薬組成物の調製方法を提供する。医薬組成物は、本明細書に記載したあらゆる状態の治療に使用することができる。

【0091】

式(1)の化合物は、医薬組成物として使用される事が意図される為、それらはそれぞれ実質的に純粋な形態で供給される事が好ましい事は容易に理解され、例えば、少なくとも60%純粋、より適切には少なくとも75%純粋、更には少なくとも85%純粋、特には少なくとも98%純粋(重量基準での重量%)である事が好まれる。

【0092】

医薬組成物は、単位服用量あたり既定量の有効成分を含んだ単位投与形態とすることができる。好ましい単位投与組成物は、有効成分について、一日量もしくは分割用量またはその適切な部分量を含んだ組成物である。それゆえに、このような単位服用量は一日につき一回以上投与することができる。好ましい単位投与組成物は、上に記載したように、有効成分の一日量もしくは分割用量(一日につき一回以上の投与)またはその適切な部分量を含んだ組成物である。

【0093】

医薬組成物は、任意の適切な経路による、例えば、経口(口腔または舌下を含む)、直腸、吸入、鼻腔、局所(口腔、舌下または経皮を含む)、膻または非経口(皮下、筋肉内、静脈内または皮内を含む)の経路による投与に適合させ得る。このような組成物は、調剤学の分野で知られている任意の方法によって、例えば、担体または賦形剤を有効成分と一緒に混合することによって調製することができる。

【0094】

1つの実施形態において、医薬組成物は、非経口投与、特に静脈内投与に適している。

【0095】

1つの実施形態において、医薬組成物は、経口投与に適している。

【0096】

1つの実施形態において、医薬組成物は、局所投与(例えば皮膚または眼への局所投与)に適している。

【0097】

非経口投与に適している医薬組成物には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および組成物を対象とする受容者の血液と等張にする溶質を含有し得る水性および非水性無菌注射溶液；並びに懸濁化剤および増粘剤を含み得る水性および非水性無菌懸濁液がある。組成物は、単位服用または複数回服用の容器、例えば密閉されたアンプルおよびバイアルに収める事ができ、そして使用直前に無菌液体担体、例えば注射用水を加えることだけが必要とされる冷凍乾燥した(凍結乾燥した)状態で貯蔵することができる。即時注射用液および懸濁液は無菌粉末、顆粒および錠剤から調製することができる。

【0098】

経口投与に適している医薬組成物は、カプセルもしくは錠剤；粉末もしくは顆粒；水性もしくは非水性液体中の溶液もしくは懸濁液；食用のフォーム(泡)もしくはホイップ；または水中油型液体エマルジョンもしくは油中水型液体エマルジョン等の個別のユニットとして呈することができる。

【0099】

例えば、錠剤またはカプセルの形での経口投与では、活性薬物の成分は、経口で無毒の医薬品として許容されうる不活性担体、例えばエタノール、グリコール、水等と組み合わせることができる。錠剤またはカプセルに組み込むのに適している粉末は、化合物を適当

な細かいサイズまで(例えば、微粒子化によって)小さくし、同様に調製された食用の炭水化物のような医薬用担体、例えば澱粉またはマンニトールと混合して調製することができる。香料、保存剤、分散剤および着色剤も含めることができる。

【0100】

カプセルは、上記のように粉末混合物を調製し、成形ゼラチン鞘に充填することによって作ることができる。滑剤と潤滑剤、例えば、コロイドシリカ、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウムまたは固体ポリエチレングリコールを、充填操作の前に粉末混合物に加えることができる。崩壊剤または可溶化剤、例えば、寒天、炭酸カルシウムまたは炭酸ナトリウムもまた、カプセルを摂取した時に薬剤の有効性を改善する為に加えることができる。

10

【0101】

さらに、望ましい場合または必要な場合は、好適な結合剤、滑剤、潤滑剤、甘味料、香料、崩壊剤および着色剤もまた、混合物に組み込むことができる。好適な結合剤には澱粉、ゼラチン、ブドウ糖またはラクトースのような天然の糖、コーン甘味料、アカシア、トラガカントまたはアルギン酸ナトリウムのような天然および合成ゴム、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、ワックス等が含まれる。これらの剤形に使われる潤滑剤には、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム等が含まれる。崩壊剤には、澱粉、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサントガム等が含まれるが、これに限定されない。錠剤は、例えば粉末混合物の調製、造粒またはスラッグイング、潤滑剤と崩壊剤の添加そして圧縮して錠剤にすることで製剤化される。粉末混合物は、好適に粉碎された化合物を上記の希釈剤または基材と混合し、場合により、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチンまたはポリビニルピロリドンのような結合剤、パラフィンのような溶解遅延剤、四級塩のような吸収促進剤および/またはベントナイト、カオリンまたはリン酸二カルシウムのような吸収剤と混合して調製される。粉末混合物は、結合剤、例えばシロップ、澱粉のり、アラビアゴムのり(acacia mucilage)またはセルロースもしくは高分子材料の溶液で湿らせて、そして強制的にふるいに通す事で造粒することができる。造粒に代わるものとして、粉末混合物は錠剤機に通すことができ、その結果、不完全に成形されたスラッグが顆粒に粉碎される。顆粒は、ステアリン酸、ステアリン酸塩、タルクまたは鉱物油の添加により、錠剤成形ダイへの粘着を妨げる為に滑らかにすることができる。滑らかになった混合物は、その後、錠剤へと圧縮される。本発明の化合物はまた、自由流動性不活性担体と組み合わせ、造粒またはスラッグイングの工程を経ることなく直接圧縮して錠剤にする事も出来る。シェラックのシール材からなる透明または不透明な保護コーティング、砂糖またはポリマー材料のコーティングおよびワックスの光沢コーティングを与えることが出来る。これらのコーティングに染料を加える事で、いろいろな単位投薬量を識別することができる。

20

30

【0102】

溶液、シロップおよびエリキシル剤のような経口流体は、所与の量が化合物の所定量を含むように単位投与形態で調製することができる。シロップは好適に風味をつけた水溶液に化合物を溶解させることによって調製する事ができ、一方で、エリキシル剤は無毒のアルコールビヒクルを使用する事で調製される。懸濁液は化合物を無毒のビヒクル中に分散させることで処方することができる。可溶化剤および乳化剤、例えばエトキシ化されたイソステアリルアルコールおよびポリオキシエチレンソルビトールエーテル、保存剤、はっか油のような風味添加剤または天然甘味料またはサッカリンもしくは他の人工甘味剤等もまた添加することができる。

40

【0103】

必要に応じて、経口投与の投薬単位組成物は、マイクロカプセル化することができる。製剤はまた、例えばポリマーまたはワックス等に微粒子材料をコーティングまたは埋め込む事によって、放出を延長または持続するよう調製することができる。

【0104】

50

式(1)の化合物およびその医薬品として許容できる塩はリポソーム送達系、例えば、小さな単一ラメラ小胞、大きな単一ラメラ小胞および多層状小胞の形で投与することもできる。リポソームは様々なりん脂質、例えばコレステロール、ステアリルアミンまたはホスファチジルコリンから形成することができる。

【0105】

局所投与に適している医薬組成物は、軟膏、クリーム、懸濁液、ローション、粉末、溶液、ペースト、ゲル、フォーム、スプレー、エアゾールまたは油として製剤化出来る。このような医薬組成物は、従来の添加物を含み、それらには保存剤、薬剤浸透を助ける溶媒、共溶剤、軟化薬、推進剤、粘度調整剤(ゲル化剤)、界面活性剤および担体が含まれるが、これに限定されない。1つの実施形態として、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の、組成物の重量で0.01-10%または0.01-1%を含む局所投与に適している医薬組成物が提供される。

10

【0106】

眼またはその他外部組織、例えば、口と皮膚の治療にとっては、組成物は局所用の軟膏、クリーム、ジェルまたはスプレーフォームとして適用する事が好ましい。軟膏に処方される場合は、有効成分はパラフィンまたは水混和性軟膏ベースと共に使用することができる。あるいは、有効成分は、水中油型クリームベースまたは油中水型ベースのクリームに処方することができる。

【0107】

眼への局所投与に適した医薬組成物には点眼剤があり、有効成分は適した担体、特に水性溶媒の中に溶解または懸濁している。

20

【0108】

経鼻または吸入投与での剤形は、従来通り、エアゾール、溶液、懸濁液、ゲルまたは乾燥粉末として処方することができる。

【0109】

吸入投与として好適なおよび/または適合させた組成物にとっては、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩は、例えば微粒子化によって得られる粒子サイズを小さくした形が好まれる。サイズを小さくした(例えば微粒子化)化合物または塩の好ましい粒子サイズは、D50値によって、約0.5から約10ミクロン(例えばレーザー回折を使用して測定される)と既定される。

30

【0110】

例えば吸入投与のためのエアゾール製剤は、医薬品として許容されうる水性または非水性溶媒中の、有効成分の溶液または微細懸濁液からなることができる。エアゾール製剤は、密閉された容器中無菌状態の一回または複数回量であることができ、噴霧装置もしくは吸入器と共に使用するカートリッジまたは詰め替えの形をとることができる。あるいは、密閉された容器は、鼻からの一回投薬用吸入器のような単一の分配装置でも、または一旦容器の中身を使い果たしたら廃棄されることになる絞り弁(定量噴霧式吸入器)を備えたエアゾールディスペンサーでも良い。

【0111】

剤形がエアゾールディスペンサーを含む場合は、圧縮空気、二酸化炭素またはヒドロフルオロカーボン(HFC)のような有機推進剤のような加圧下での好適な推進剤を含む事が好ましい。好適なHFC推進剤には1,1,1,2,3,3,3-ヘプタフルオロプロパンおよび1,1,1,2-テトラフルオロエタンがある。エアゾール剤形はまた、ポンプ-アトマイザーの形をとることも出来る。加圧エアゾールは活性化合物の溶液または懸濁液を含むことができる。これには、分散特性および懸濁処方の均質性を改善する追加の賦形剤、例えば共溶剤および/または界面活性剤の使用を必要とする事がある。溶液処方またはエタノールのような共溶剤の添加が必要とされることもある。

40

【0112】

吸入投与として好適なおよび/または適した医薬組成物の場合、医薬組成物は吸入できる乾燥粉末組成物とすることができる。このような組成物は、ラクトース、ブドウ糖、ト

50

レハロース、マンニトールまたは澱粉のような粉末基材、式(1)の化合物またはその塩(好ましくは、粒子サイズが小さい形、例えば微粒子化された形)および、場合により、L-ロイシンまたは他のアミノ酸および/またはマグネシウムもしくはカルシウムのステアリン酸塩のようなステアリン酸の金属塩のような性能改良剤を含むことができる。好ましくは、吸入できる乾燥粉末組成物は、ラクトース例えばラクトース水和物および式(1)の化合物またはその塩の乾燥粉末混合物を含む。このような組成物は、GlaxoSmithKlineより販売されている、例えばGB 2242134 A に記載されているDISKUS(登録商標)デバイスのような好適な装置を使用することで患者に投与することができる。

【0113】

式(1)の化合物とその医薬品として許容できる塩は、流体ディスペンサーから放出するために流体の形で処方する事ができ、流体ディスペンサーは例えば、分配ノズルまたは分配オリフィスをもっており、流体ディスペンサーのポンプメカニズムに使用者が圧力をかけると前記ノズルまたオリフィスを通して計量服用量の流体製剤分配される。このような流体ディスペンサーは一般的に流体製剤の複数回分の計量用量のリザーバを備えており、これらの用量は連続的なポンプ作動の際に分配され得る。分配ノズルまたはオリフィスは、鼻腔への流体製剤のスプレー分配の為に、使用者の鼻孔への挿入に適するように形成することができる。前述のタイプの流体ディスペンサーはWO-A-2005/044354に記載され例示されている。

【0114】

式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の治療上有効な量は、例えば、動物の年齢および体重、治療を必要とする正確な症状およびその重症度、製剤の性質並びに投薬の経路を含む多くの要因に依存し、結局は、治療を行う医者または獣医の裁量による。医薬組成物の場合、経口または非経口投与のためのそれぞれの服用単位量は、遊離塩基として計算して、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩を、好ましくは0.01から3000mg、より好ましくは0.5から1000mg含む。経鼻または吸入投与の為にそれぞれの服用単位量は、遊離塩基として計算して、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩を、好ましくは0.001から50mg、より好ましくは、0.01から5mg含む。

【0115】

式(1)の医薬品として許容されうる化合物およびその医薬品として許容できる塩は、1日量(成人患者の為に)、例えば、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩を遊離塩基として計算して、1日につき0.01mgから3000mgもしくは1日につき0.5から1000mgの経口もしくは非経口服用量または1日につき0.001から50mgもしくは1日につき0.01から5mgの経鼻もしくは吸入服用量を投与することができる。この量は、1日につき一回の服用量またはより一般的には1日につき多くの回数(2、3、4、5または6回のように)の分割用量で全体での一日服用量が同じになるようにすることができる。その塩の有効な量は、式(1)の化合物それ自体の有効量に比例して決定され得る。

【0116】

式(1)の化合物とその医薬品として許容できる塩は、単独で、または他の治療薬と併用して使用することができる。本発明による併用療法はこのように、少なくとも1つの式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩の投与、および少なくとも1つの他の医薬品として有効な化学物質の使用を含む。好ましくは、本発明による併用療法は、少なくとも1つの式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩、および少なくとも1つの他の医薬品として有効な化学物質の投与を含む。式(1)の化合物およびその医薬品として許容できる塩並びに他の医薬品として有効な化学物質は、1つの医薬組成物として一緒に、または別々に投与する事ができ、そして別々に投与されるときは、同時にまたは任意の順序で順番に投与することができる。式(1)の化合物およびその医薬品として許容できる塩並びに他の医薬品として有効な化学物質の量および投与の相対的なタイミングは、望ましい協同の治療効果が達成できるように選択される。従って、更なる面において、式(1)の化合物またはその医薬品として許容できる塩および少なくとも1つの他の医薬品として有効な化学物質を含む組み合わせが提供される。1つの実施形態として、式(1)の化合

10

20

30

40

50

物またはその医薬品として許容できる塩と1つのまたはそれ以上の他の治療上有効な化学物質とを併用した組み合わせ医薬製品が提供される。

【0117】

従って、ある面では、本発明による化合物および医薬組成物は、1またはそれ以上の他の治療薬、例えば、抗生物質、抗ウイルス剤、糖質副腎皮質ステロイド、ムスカリン性拮抗薬、ベータ-2作用薬およびビタミンD3類似物から選択される化学物質と併用するか、または含むことができる。

【0118】

本発明の化合物を、吸入、静脈、経口または鼻腔からの経路によって通常投与される他の治療薬と組み合わせて投与する場合、結果として生じる医薬組成物は同じ経路で投与され得ることが分かる。あるいは、組成物の個々の成分は異なる経路によって投与する事も出来る。

10

【0119】

本発明の1つの実施形態には、1または2種の他の治療薬を含む組み合わせを含む。

【0120】

当業者にとって明らかなように、必要に応じて、他の治療成分は塩の形、例えばアルカリ金属またはアミン塩として、または酸付加塩として、またはプロドラッグ、またはエステル、例えば低級アルキルエステルとして、または溶媒和化合物、例えば水和物として、治療成分の活性および/または安定性および/または物理的特性、例えば溶解性を最適化するために使用することができる。また、必要に応じて、治療成分を光学的に純粋な形で使用することができることも明らかである。

20

【0121】

上記に言及した組み合わせは、便宜的に医薬組成物の形で使用する事ができ、したがって、医薬品として許容されうる希釈剤または担体と共に上記に定義された組み合わせを含む医薬組成物は本発明の更なる面を表す。

【実施例】

【0122】

全般的な実験の詳細

全ての温度は で示す。

【0123】

30

以下の化合物の名前は、化合物ネーミングプログラム“ACD Name Pro 6.02”または Chem Draw Ultra 12.0を使用して得られた。

【0124】

略語

AcOHは、酢酸を、

BINAPIは、2,2'-ビス(ジフェニルホスフィノ)-1,1'-ビナフチルを、

BOCは、tert-ブトキシカルボニルを、

CVは、カラム体積を、

DCMは、ジクロロメタンを、

1,2-DCEは、1,2-ジクロロエタンを、

40

DICは、ジイソプロピルカルボジイミドを、

DIPEAは、ジイソプロピルエチルアミンを、

DMAPは、4-ジメチルアミノピリジンを、

DMSOは、ジメチルスルホキシドを、

DMEは、1,2-ジメトキシエタノールを、

DMFは、N,N-ジメチルホルムアミドを、

Et₂Oは、ジエチルエーテルを、

EtOAcは、酢酸エチルを、

FMOCは、9-フルオレニルメトキシカルボニルを、

HATUは、O-(7-アザベンゾトリアゾル-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム ヘキ

50

サフルオロホスフェートを、
 HBTUは、O-(ベンゾトリアゾル-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロホスフェートを、
 HPLCは、高速液体クロマトグラフィーを、
 IPAは、プロパン-2-オールを、
 i-Pr₂Oは、ジ-イソプロピルエーテルを、
 LiAlH₄は、水素化アルミニウムリチウムを、
 LCMS = 液体クロマトグラフィー/質量分析法、
 MDAP = マスダイレクテッド自動分取/マスダイレクテッドHPLC、
 MeCNは、アセトニトリルを、
 MeOHは、メタノールを、
 MgSO₄は、硫酸マグネシウムを、
 Mpは、融点を、
 r. t. は、室温を、
 RT = 保持時間、
 Na₂SO₄は、硫酸ナトリウムを、
 TFAは、トリフルオロ酢酸を、
 THFは、テトラヒドロフランを示す。

10

【 0 1 2 5 】

LCMS方法論

20

ギ酸法LC条件

UPLC分析は、40 でAcquity UPLC BEH C18 カラム (50mm×2.1mm、内径1.7 μm 充填直径)で行った。

【 0 1 2 6 】

使用した溶媒は：

A = 0.1%v/vギ酸水溶液

B = 0.1%v/vギ酸アセトニトリル溶液

であった。

【 0 1 2 7 】

使用したグラディエントは次表の通り。

【表 1】

時間(分)	流量(ml/分)	%A	%B
0	1	99	1
1.5	1	3	97
1.9	1	3	97
2.0	1	0	100

30

【 0 1 2 8 】

UV検出は、210nmから350nmの波長の総和信号で行った。

【 0 1 2 9 】

MS条件

MS : Waters ZQ
 イオン化モード : 交互スキャン正および負エレクトロスプレー
 スキャン範囲 : 100から1000AMU
 スキャン時間 : 0.27秒
 インタースキャンディレイ : 0.10秒。

40

【 0 1 3 0 】

50

MDAP方法論改変ギ酸法LC条件

HPLC分析は、雰囲気温度でSunfire C18 カラム(100mm×19mm、内径5μm 充填直径)またはSunfire C18 カラム(150mm×30mm、内径5μm 充填直径)で行った。

【 0 1 3 1 】

使用した溶媒は：

A = 0.1%v/vギ酸水溶液

B = 0.1%v/vギ酸アセトニトリル溶液

であった。

10

【 0 1 3 2 】

グラディエントとしては、20ml/分(100mm×19mm、内径5μm 充填直径)または40 ml/分(150mm×30mm、内径5μm 充填直径)の流量で、15または25分(延長した操作)にわたって操作した。

【 0 1 3 3 】

UV検出は、210nmから350nmの波長の総和信号で行った。

【 0 1 3 4 】MS条件

MS : Waters ZQ

イオン化モード : 交互スキャン正および負エレクトロスプレー

20

スキャン範囲 : 100から1000AMU

スキャン時間 : 0.50秒

インタースキャンディレイ : 0.20秒。

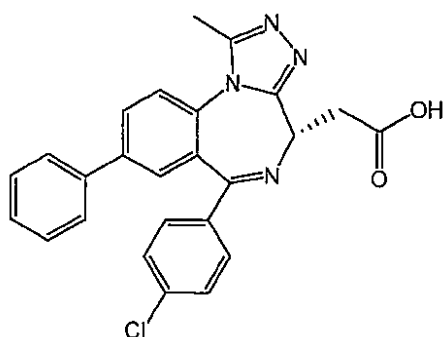
【 0 1 3 5 】

以下に記載する手順では、通例、それぞれの出発原料の後に、中間体を番号により特定するが、これは単に熟練した化学者のために示すものであり、出発原料は必ずしも言及しているバッチから調製する必要はない。

【 0 1 3 6 】

中間体1：[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]酢酸

30

【 化 9 】

40

【 0 1 3 7 】

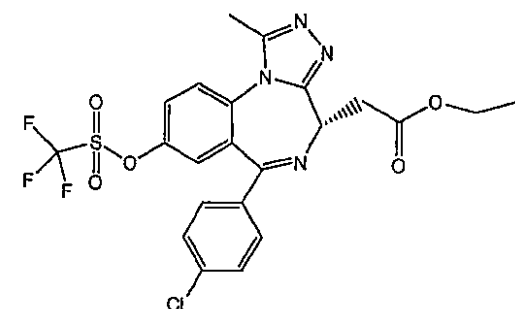
炭酸ナトリウム(35.8mg)、フェニルボロン酸(22.5mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(10.8mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml) および水(1ml)中のエチル((4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[(トリフルオロメチル)スルホニル]オキシ}-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル)アセテート(調製は中間体2を参照)(83.4mg)の溶液をマイクロ波バイアルに加えた。反応混合物を120 に、90分間(マイクロ波)加熱した。酢酸エチル(2ml)を加え、水層を分離し、氷酢酸で酸性にした。水層を酢酸エチル(3×5ml)で抽出し、有機層を乾燥させ、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-10% メタノール:DCM)し、[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]

50

酢酸を白色の油(30.1mg)として得、更なる精製をしないで、次の反応で使用した。LCMS (ギ酸): MH^+ 443 / 445, RT 1.09 分。

【0138】

中間体2: エチル((4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[[[(トリフルオロメチル)スルホニル]オキシ]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル)アセテート



10

【0139】

エチル[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート(508mg、調製は中間体8を参照)をDCM(30ml)に溶解した。ピリジン(500 μ l)を加え、反応混合物を攪拌し、氷浴で冷却した。トリフルリン酸無水物(251 μ l)をゆっくりと加えた。添加後、混合物を氷浴中で2.5時間攪拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、エチル((4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[[[(トリフルオロメチル)スルホニル]オキシ]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル)アセテート(295mg)が橙色の油として、更に純粋でないエチル((4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[[[(トリフルオロメチル)スルホニル]オキシ]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル)アセテートが得られた。純粋でない物質をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、純粋なエチル((4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[[[(トリフルオロメチル)スルホニル]オキシ]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル)アセテート(88mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 543 / 545, RT 1.22 分。

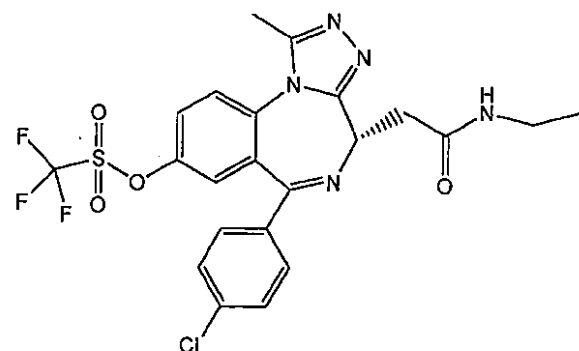
20

30

【0140】

中間体3: (4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート

【化11】



40

【0141】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド(調製は中間体4を参照)(104.2mg)をDCM(10ml)に溶解した。DIPEA(53 μ l)とN-フェニル-ビス(トリフルオロメタンスルホン

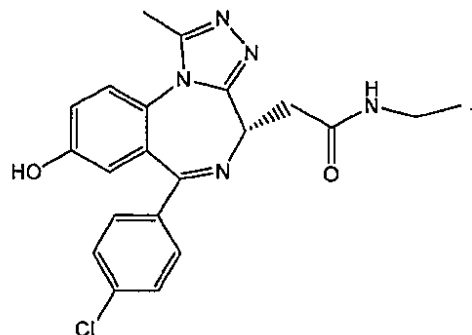
50

アミド)(100mg)を添加し、反応混合物を室温で3.5時間撹拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、(4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(130mg)が白色ガラス状固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 542 / 544、RT 1.10 分。

【0142】

中間体4: 2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

【化12】



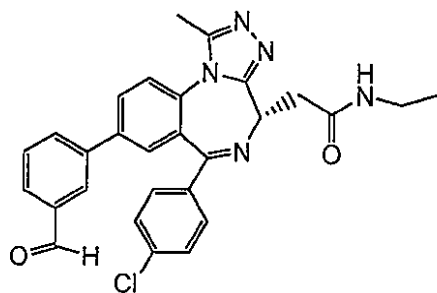
【0143】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド(これは、例えば参照化合物Hとエチルアミンの反応によって調製される)(0.424g)をDCM(8ml)に溶解し、-78℃まで冷却した。DCM(2ml)の3臭化ほう素溶液(0.945ml)をゆっくりと反応混合物に添加した。反応は-78℃で35分間、窒素雰囲気下で撹拌し、その後、室温で2.5時間撹拌した。反応は、DCM(5ml)のエタノール(1ml)溶液を滴下添加することで終了した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-10% メタノール:DCM)し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが黄色固体として得られた。水層を予め平衡化したBiotage 103カラムに通し、有機物をメタノールで溶出し、メタノール性溶液を蒸発させ、更にある量の2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが黄色固体(全収量271.3mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 410 / 412、RT 0.76 分。

【0144】

中間体5: (S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化13】



【0145】

(S)-6-(4-クロロフェニル)-4-(2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(500mg)、炭酸カリウム(638mg)、3-ホルミルフェニルボロン酸(166mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(64.8mg)を20mlのマ

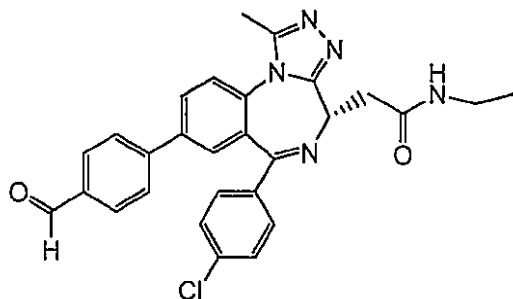
マイクロ波バイアルに加えた。エタノール(9ml)およびトルエン(9ml)をバイアルに加え、反応混合物を120 に20分間(マイクロ波)加熱した。反応混合物をCelite™に通してろ過し、フィルターベッドをエタノールで洗浄した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-10% メタノール:DCM)し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミドが淡褐色固体(287mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 498 / 500、RT 0.99 分。

【 0 1 4 6 】

中間体6: (S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

10

【 化 1 4 】



20

【 0 1 4 7 】

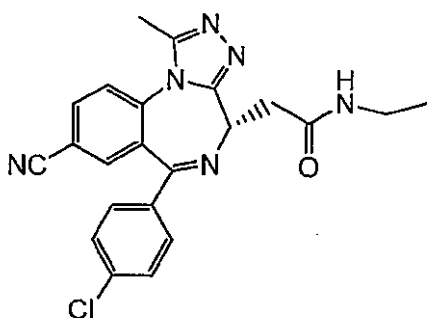
(S)-6-(4-クロロフェニル)-4-(2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(500mg)、4-ホルミルフェニルボロン酸(166mg)、炭酸カリウム(638mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(64.8mg)を20mlのマイクロ波バイアルに加えた。エタノール(9ml)およびトルエン(9ml)をバイアルに加えた。反応混合物をマイクロ波で120 に20分間加熱した。反応混合物をCelite™に通してろ過し、フィルターベッドをエタノールで洗浄した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(327mg)が茶色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 498 / 500、RT 0.98 分。

30

【 0 1 4 8 】

中間体7: (S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-シアノ-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【 化 1 5 】



40

【 0 1 4 9 】

DMF(4ml)を20分間脱気した。(S)-6-(4-クロロフェニル)-4-(2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(250mg)、シアン化亜鉛(54.2mg)およびテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(53.3mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。脱気したDMF(4ml)を添加し、反応を140 に2時間(マイクロ波)加熱

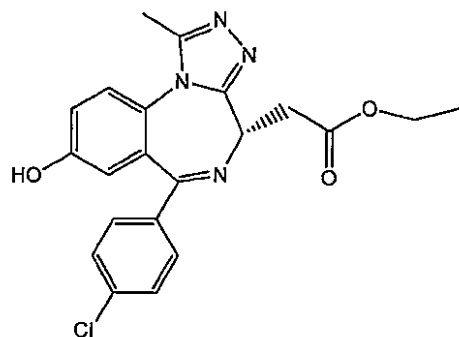
50

した。反応混合物をCeliteTMに通してろ過し、フィルターベッドを酢酸エチルで洗浄した。ろ過液を酢酸エチルと水に分配した。有機層を水(2×10ml)と塩水(10ml)で洗浄した。有機物を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-シアノ-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(73.5mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH⁺ 419 / 421、RT 0.86 分。

【0150】

中間体8: エチル[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート

【化16】



【0151】

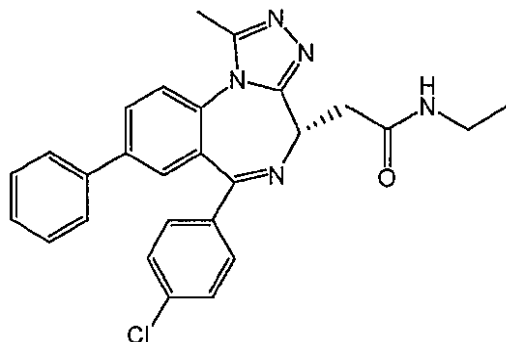
[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]酢酸(1.2g)をDCM(30ml)に溶解し、-78℃に冷却した。DCM(6ml)の3臭化ほう素(2.86ml)溶液をゆっくりと混合物に添加した。反応は-78℃で25分間、その後室温で一晩撹拌した。反応は、DCM(30ml)のエタノール(6ml)溶液を滴下添加することで終了した。溶媒を蒸発させ、残渣をエタノール(20ml)に溶解した。濃硫酸(1ml)を添加し、混合物を3.5時間還流させた。溶媒を蒸発させ、残渣を酢酸エチル(45ml)に溶解した。溶液を水(2×30ml)、その後塩水(10ml)で洗浄し、有機層を乾燥し、溶媒を蒸発させ、エチル[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-8-ヒドロキシ-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート(519mg)が黄色固体として得られ、これは、更なる精製をしないで、次の反応で使用した。LCMS (ギ酸): MH⁺ 411 / 413、RT 0.90 分。

【実施例1】

【0152】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

【化17】



【0153】

[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]酢酸(調製は中間体1を参照)(29mg)をDMF(2ml)に溶解した。DI

10

20

30

40

50

PEA(23 μ l)、HATU(29.9mg)および塩酸エチルアミン(10.68mg)を反応混合物に加えた。反応は室温で一晩撹拌した。混合物を酢酸エチル(10ml)に溶解し、飽和炭酸水素溶液(5ml)で洗浄した。有機層を水(5ml)および塩水(5ml)で洗浄した。有機層を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、その後更にMDAP(ギ酸修飾)で精製し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-フェニル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド(7.5mg)が白色の油として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 470 / 472、RT 1.10 分。

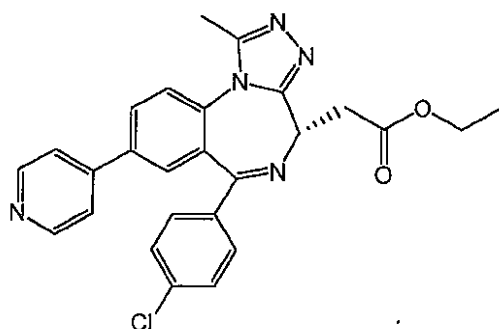
【実施例 2】

【0154】

エチル [(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート

10

【化18】



20

【0155】

炭酸ナトリウム(66.3mg)、4-ピリジニルボロン酸(22.5mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(19.1mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml)および水(1ml)中のエチル[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[(トリフルオロメチル)スルホニル]オキシ]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテート(調製は中間体2を参照)(147.5mg)溶液をマイクロ波バイアルに加えた。反応混合物を120 に90分間(マイクロ波)加熱した。酢酸エチル(2ml)を加え、水層を分離し、氷酢酸で酸性にした。水層を酢酸エチル(3×5ml)で抽出し、有機画分を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-10% メタノール:DCM)し、その後更にMDAP(ギ酸修飾)で精製し、エチル [(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセテートが白色固体(5.5mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 472 / 474、RT 0.79 分。

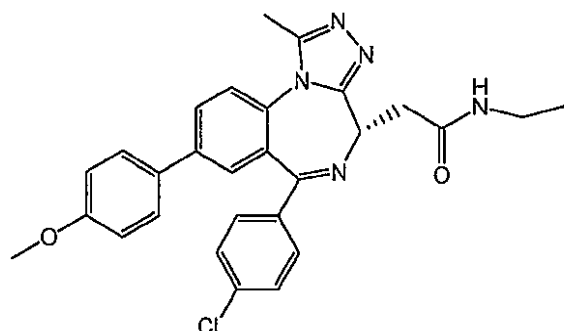
30

【実施例 3】

【0156】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[4-(メチルオキシ)フェニル]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

【化19】



40

【0157】

50

4-メトキシベンゼンボロン酸(50.5mg)、炭酸ナトリウム(64.5mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(19.4mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml) および水(1ml)中の(4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキシエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(150mg)溶液を加え、反応混合物を120に20分間(マイクロ波)加熱した。反応混合物を酢酸エチル(10ml)と水(10ml)の間に分配した。有機層を分離し、水(10ml)および塩水(10ml)で洗浄した。有機層を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-[4-(メチルオキシ)フェニル]-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが淡褐色固体(84mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 500 / 502、RT 1.08 分。

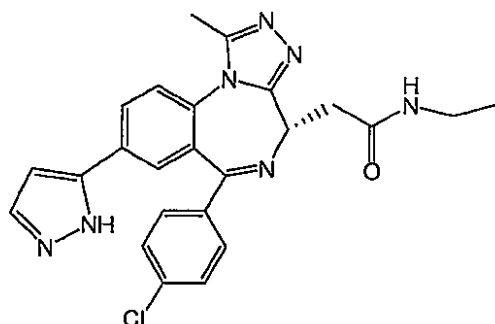
10

【実施例4】

【0158】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-5-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

【化20】



20

【0159】

炭酸ナトリウム (43.0mg)、1H-ピラゾール-5-ボロン酸(24.8mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(13.0mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml) および水(1ml)中の(4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキシエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(100mg)溶液を加えた。反応混合物を120に30分間(マイクロ波)加熱した。酢酸エチル(2ml)を加え、水層を分離した。有機層を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、生成物を更にMDAP(ギ酸修飾)で精製した。結果として得られたガムを1g SCX-2 カラムにロードし、メタノール(2M)中のアンモニアで洗浄し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-5-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが茶色油(15.6mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 460 / 462、RT 0.80 分。

30

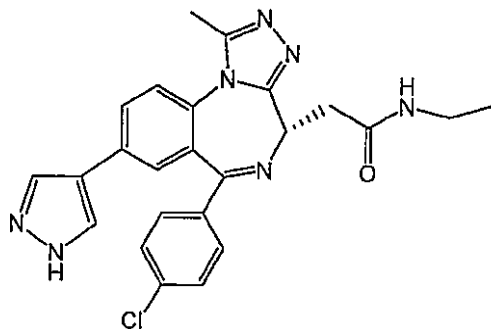
【実施例5】

【0160】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾル-4-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

40

【化 2 1】



10

【0161】

炭酸ナトリウム (43.0mg)、1H-ピラゾール-4-ボロン酸(24.8mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II) (13.0mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml) および水(1ml)中の(4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(100mg、中間体3)溶液を加えた。反応混合物を120℃に30分間(マイクロ波)加熱した。酢酸エチル(2ml)を加え、水層を分離した。有機層を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をMDAP(ギ酸修飾)で精製した。生成物をメタノール中で1g SCX-2 カラムに通し、メタノールのアンモニア(2M)で溶出し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(1H-ピラゾール-4-イル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが白色の油(6.1mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 460 / 462、RT 0.79 分。

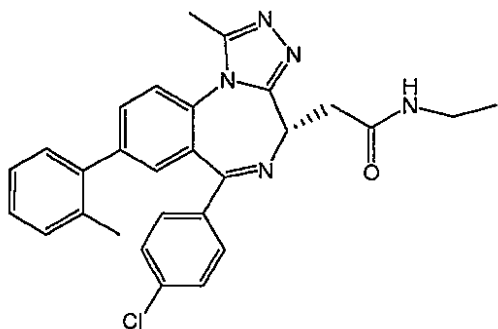
20

【実施例 6】

【0162】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2-メチルフェニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

【化 2 2】



30

【0163】

o-トリルボロン酸(30.1mg)、炭酸ナトリウム(43.0mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II) (12.95mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml) および水(1ml)中の(4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(100mg)溶液を加え、反応混合物を120℃で20分間(マイクロ波)、その後120℃で更に30分間(マイクロ波)加熱した。塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II) (12.7 mg)を加え、反応混合物を120℃に30分間(マイクロ波)加熱した。反応混合物を酢酸エチル(10ml)と水(10ml)の間に分配した。有機層を分離し、水(10ml)および塩水(10ml)で洗浄し、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)した。結果として得られた混合物をMDAP(ギ酸修飾)で再精製し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2-メチルフェニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが白色の油(16.8mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 484 / 486、RT 1.14 分。

40

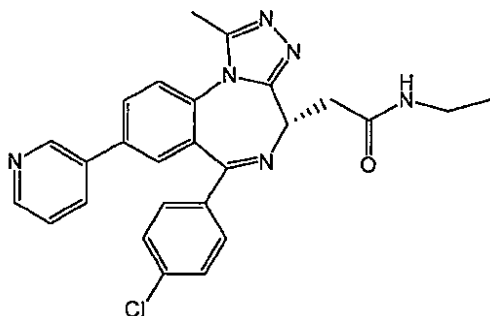
50

【実施例 7】

【0164】

2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミド

【化23】



10

【0165】

3-ピリジニルボロン酸(27.2mg)、炭酸ナトリウム(43.0mg)および塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(12.95mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。DME(3ml)および水(1ml)中の(4S)-6-(4-クロロフェニル)-4-[2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル]-1-メチル-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(100mg)溶液を加え、反応混合物を120℃に20分間(マイクロ波)加熱した。反応混合物を酢酸エチル(10ml)と水(10ml)の間に分配した。有機層を分離し、水(10ml)および塩水(10ml)で洗浄した。有機層を乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-10% メタノール:DCM)し、生成物を更にMDAP(ギ酸修飾)で精製し、2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-ピリジニル)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]-N-エチルアセトアミドが白色の油(11.9mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH⁺ 471 / 473、RT 0.73 分。

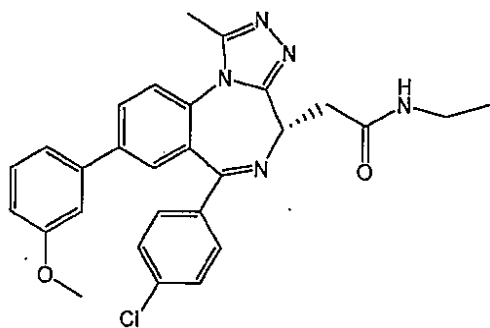
20

【実施例 8】

【0166】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-メトキシフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化24】



30

40

【0167】

(S)-6-(4-クロロフェニル)-4-(2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-8-イル トリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(100mg)、塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(12.95mg)、炭酸カリウム(128mg)および3-メトキシフェニルボロン酸(33.6 mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。トルエン(2ml)およびエタノール(2ml)をバイアルに加え、反応混合物を120℃に20分間(マイクロ波)加熱した。反応混合物をCelite™に通してろ過し、フィルターベッドをエタノールで洗浄した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-5% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、40℃の減圧乾燥機で一晩乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-メトキシフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]

50

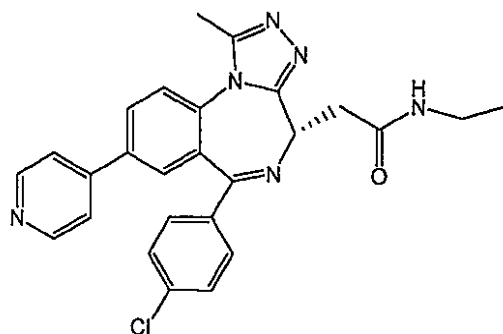
]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミドがクリーム状固体(59.6mg)として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 500 / 502、RT 1.09 分。

【実施例 9】

【0168】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(ピリジン-4-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化25】



10

【0169】

(S)-6-(4-クロロフェニル)-4-(2-(エチルアミノ)-2-オキソエチル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-8-イルトリフルオロメタンスルホネート(調製は中間体3を参照)(100mg)、塩化ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(12.95mg)、炭酸カリウム(128mg)および4-ピリジンボロン酸(27.2mg)を2-5mlのマイクロ波バイアルに加えた。トルエン(2ml)およびエタノール(2ml)をバイアルに加え、反応混合物を120℃に20分間(マイクロ波)加熱した。反応混合物をCelite™に通してろ過し、フィルターベッドをエタノールで洗浄した。溶媒を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(0-5%メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機中40℃で一晩乾燥し、生成物がクリーム状固体として得られた。(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(ピリジン-4-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(51.7mg)。LCMS (ギ酸): MH^+ 471 / 473、RT 0.67 分。

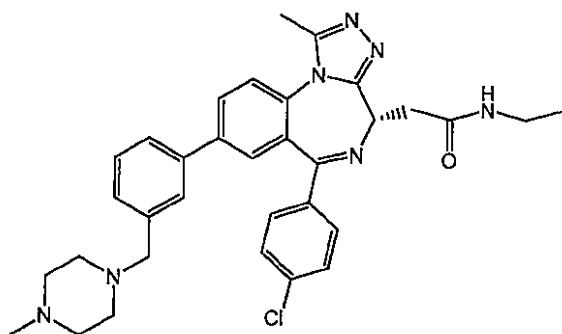
20

【実施例 10】

【0170】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化26】



40

【0171】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体5を参照)(75ml)をDCM(5ml)に溶解した。1-メチルピペラジン(25μl)および酢酸(8.62μl)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(160mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で一晩撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液

50

をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物を合わせて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機中40℃で週末を通じて乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(49.2mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 582 / 584、RT 0.77 分。

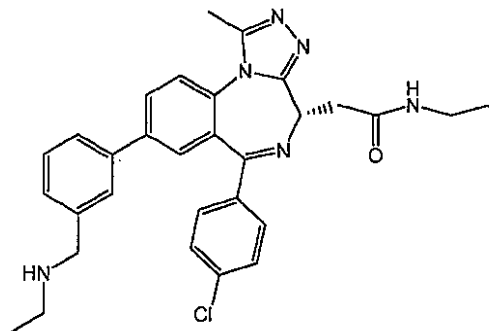
【実施例 1 1】

【0 1 7 2】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

10

【化 2 7】



20

【0 1 7 3】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体5を参照)(75mg)をDCM(5ml)に溶解した。塩酸エチルアミン(18.42mg)および酢酸(8.62 μ l)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(160mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で一晩撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物をまとめて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕した。固体を減圧乾燥機40℃で週末を通じて乾燥させ、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(52.4mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 527、RT 0.75 分。

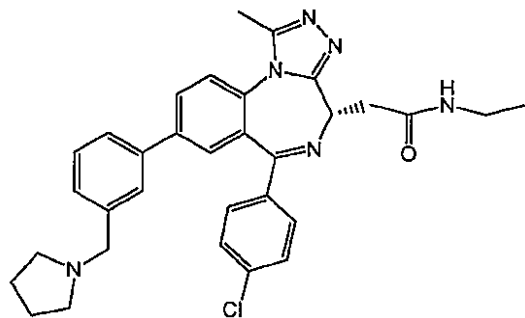
30

【実施例 1 2】

【0 1 7 4】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化 2 8】



40

【0 1 7 5】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(3-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]

50

]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体5を参照)(95mg)をDCM(5ml)に溶解した。ピロリジン(24 μ l)および酢酸(8.62 μ l)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(202mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で一晩撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物をまとめて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機40 で週末を通じて乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(3-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(71.7mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 553 / 555、RT 0.76 分

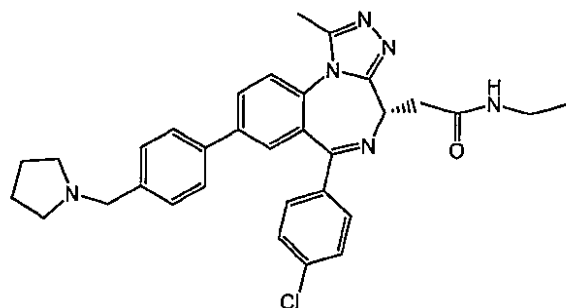
10

【実施例 13】

【0176】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化 29】



20

【0177】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体6を参照)(75mg)をDCM(5ml)に溶解した。ピロリジン(19 μ l)および酢酸(8.62 μ l)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(160mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で一晩撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物をまとめて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機40で一晩乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-(ピロリジン-1-イルメチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(59.2mg)が白色固体として得られた。

30

【0178】

LCMS (ギ酸): MH^+ 553、RT 0.69 分

NMR (D_6 -DMSO): 1H 8.25(1H, t), 8.10(1H, dd), 7.94(1H, d), 7.65(2H, d), 7.62(1H, d), 7.55(2H, d), 7.49(2H, d), 7.40(2H, d), 4.55(1H, m), 3.62(2H, bs), 3.29-3.07(4H, m), 2.61(3H, s), 2.45(4H, bs), 1.70(4H, bs), 1.07(3H, t)。

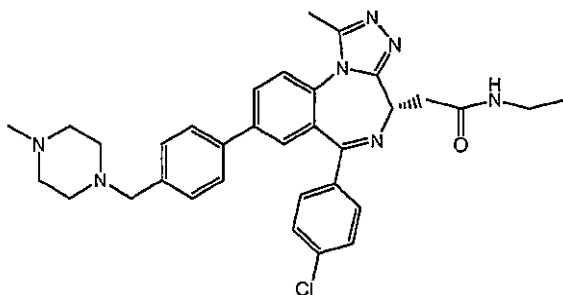
40

【実施例 14】

【0179】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-(4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化 3 0】



【 0 1 8 0】

10

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体6を参照)(90mg)をDCM(5ml)に溶解した。1-メチルピペラジン(30 μ l)および酢酸(10.35 μ l)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(192mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で週末を通じて撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物をまとめて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機40 で一晩乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(4-((4-メチルピペラジン-1-イル)メチル)フェニル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(66.5mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 582、RT 0.65 分。

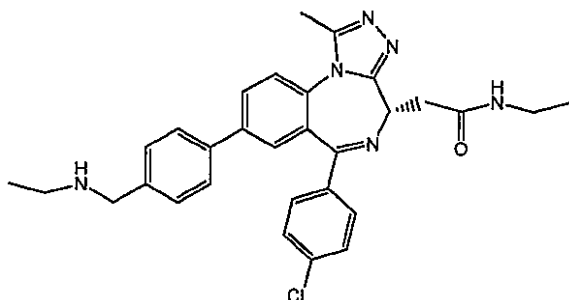
20

【実施例 1 5】

【 0 1 8 1】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化 3 1】



30

【 0 1 8 2】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体6を参照)(75mg)をDCM(5ml)に溶解した。塩酸エチルアミン(18.42mg)および酢酸(8.62 μ l)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(160mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で週末を通じて撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物をまとめて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機40 で一晩乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((エチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(28.7mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 527 / 529、RT 0.67 分。

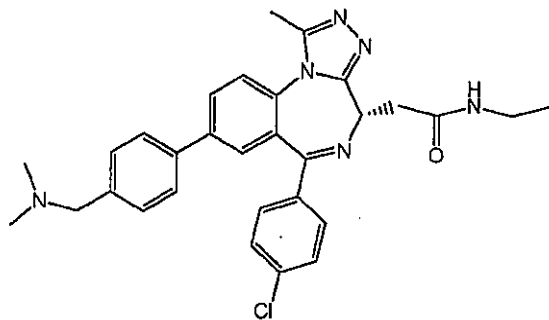
40

【実施例 1 6】

【 0 1 8 3】

50

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((ジメチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド
【化 3 2】



10

【 0 1 8 4 】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-ホルミルフェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体6を参照)(75mg)をDCM(5ml)に溶解した。塩酸ジメチルアミン(18.42mg)および酢酸(8.62 μ l)を加え、反応混合物を5分間撹拌した。トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(160mg)を添加し、反応混合物を室温、窒素雰囲気下で5時間撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム溶液(5ml)を加え、反応混合物を10分間撹拌した。有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液をDCM(10ml)で抽出した。DCM抽出物をまとめて、乾燥し、溶媒を蒸発させた。残渣をクロマトグラフ(0-15% メタノール:DCM)し、ジエチルエーテルで摩砕し、減圧乾燥機で一晩乾燥し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-(4-((ジメチルアミノ)メチル)フェニル)-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(48.2mg)が白色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 527 / 529、RT 0.66 分。

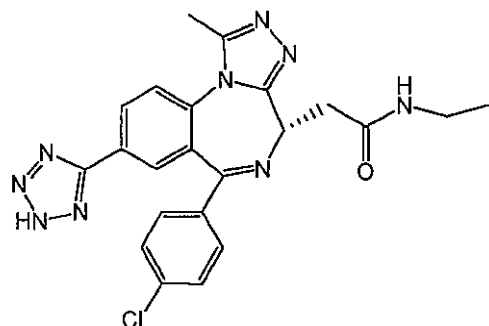
20

【実施例 1 7】

【 0 1 8 5 】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2H-テトラゾル-5-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド

【化 3 3】



30

【 0 1 8 6 】

(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-8-シアノ-1-メチル-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(調製は中間体7を参照)(68.4mg)をDCM(5ml)に溶解した。塩酸トリエチルアミン(45.0mg)およびアジ化ナトリウム(21.23mg)を加え、反応混合物を窒素雰囲気下で一晩100 に加熱した。温度を120 に上げ、反応混合物を一晩加熱した。反応混合物を室温まで冷却させ、酢酸エチルと水の間に分配した。有機層を水(2 \times 10ml)および塩水(10ml)で洗浄した。水層を予め平衡化したBiotage 103カラムに通し、有機物をメタノールで溶出し、メタノール性溶液を蒸発させ、残渣をクロマトグラフ(10-20% メタノール:DCM)した。ジエチルエーテルで摩砕し、(S)-2-(6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(2H-テトラゾル-5-イル)-4H-ベンゾ[f][1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ジアゼピン-4-イル)-N-エチルアセトアミド(25.6mg)が黄色固体として得られた。LCMS (ギ酸): MH^+ 462 / 464、RT 0.75 分。

40

50

【0187】

参照化合物

以下の記載で言及しているLC/MSの方法AおよびBの実験の詳細は次の通りである。

【0188】

LC/MS(方法A)は、Supelcosil LCABZ+PLUSカラム(3 μ m、3.3cm \times 4.6mm内径)で、0.1%HC₂O₄Hおよび0.01Mの酢酸アンモニウムの水溶液(溶媒A)並びに95%アセトニトリルおよび0.05%のHCO₂Hの水溶液(溶媒B)で溶出し、次に挙げる溶出グラディエント、0-0.7分が0%B、0.7-4.2分が0-100%B、4.2-5.3分が100%B、5.3-5.5分が100-0%Bを使用して3mL/分の流量で行った。質量分析スペクトル(MS)はエレクトロスプレー正イオン化([M+H]⁺と[M+N₄]⁺分子イオンを与えるES+ve)またはエレクトロスプレー負イオン化([M-H]⁻分子イオンを与えるES-ve)モードを使用するFisons VG Platform質量分析装置によって記録された。この装置からの分析データは次の形式で与えられる：[M+H]⁺または[M-H]⁻。

10

【0189】

LC/MS(方法B)は、Sunfire C18カラム(30mm \times 4.6mm内径、3.5 μ m充填直径)で、摂氏30度において、トリフルオロ酢酸の0.1%v/v水溶液(溶媒A)およびトリフルオロ酢酸の0.1%v/vアセトニトリル溶液(溶媒B)で溶出し、次に挙げる溶出グラディエント、0-0.1分が3%B、0.1-4.2分が3-100%B、4.2-4.8分が100%B、4.8-4.9分が100-3%B、4.9-5.0分が3%Bを使用して3mL/分の流量で行った。UV検出は210nmから350nmの波長の平均化信号で行い、そして質量分析スペクトルは正エレクトロスプレーイオン化を用いた質量分析装置によって記録された。イオン化データは四捨五入し最も近い整数とした。

20

【0190】

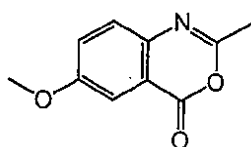
LC/HRMS:HPLC分析は、Uptisphere-hsc カラム(3 μ m 33 \times 3 mm 内径)を使用し、0.01M酢酸アンモニウム水溶液(溶媒A)および100%アセトニトリル溶液(溶媒B)で溶出し、次に挙げる溶出グラディエント、0-0.5分が5%B、0.5-3.75分が5-100%B、3.75-4.5分が100%B、4.5-5分が100-5%B、5-5.5分が5%Bを使用して1.3mL/分の流量で行った。質量分析スペクトル(MS)はエレクトロスプレー正イオン化[MH⁺分子イオンを与えるES+ve]またはエレクトロスプレー負イオン化([M-H]⁻分子イオンを与えるES-ve)モードを使用するMicromass LCT質量分析装置によって記録された。

【0191】

参照化合物A：2-メチル-6-(メチルオキシ)-4H-3,1-ベンゾキサジン-4-オン

30

【化34】



【0192】

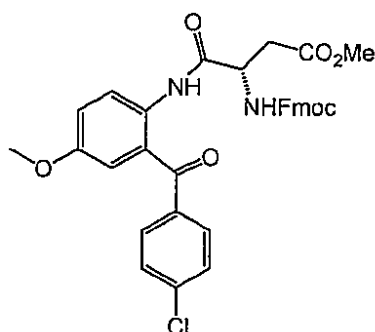
5-メトキシアンスラニル酸(Lancaster)(41.8g、0.25mol)溶液を、無水酢酸(230mL)中で3.5時間還流した後、減圧下で濃縮した。その後、粗製化合物をトルエンの存在下で2度濃縮し、その後ろ過、エーテルで2回洗浄することで、標記化合物(33.7g、71%収率)が茶色固体として得られた。LC/MS(方法A)：m/z 192 [M+H]⁺、Rt 1.69分。

40

【0193】

参照化合物B：[2-アミノ-5-(メチルオキシ)フェニル](4-クロロフェニル)メタノン

【化 3 5】



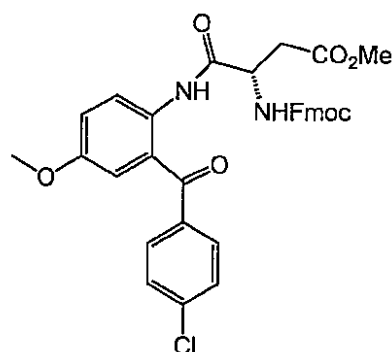
【0194】

トルエン/エーテル(2/1)混合物(760mL)の2-メチル-6-(メチルオキシ)-4H-3,1-ベンゾキサジン-4-オン(調製は参照化合物Aを参照)(40.0g、0.21mol)溶液に、0 で臭化4-クロロフェニルマグネシウム(170mL、Et₂O中1M、0.17mol)の溶液を滴下添加した。反応混合物を室温まで戻し、1時間攪拌後、1N塩酸(200mL)で反応を終了した。水層をEtOAc(3×150mL)で抽出し、集めた有機層を塩水(100mL)で洗浄、Na₂SO₄で乾燥、ろ過を行い、減圧下で濃縮した。その後、粗製化合物をEtOH(400mL)に溶解し、6N塩酸(160mL)を加えた。反応混合物を2時間還流し、体積で3分の1になるまで濃縮した。結果として得られた固体をろ過し、エーテルで2回洗浄後、EtOAc中に懸濁させ、1N水酸化ナトリウムで中和した。水層をEtOAc(3×150mL)で抽出し、集めた有機物を塩水(150mL)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥、ろ過を行い、減圧下で濃縮した。標記化合物が黄色固体(39g、88%収率)で得られた。LC/MS (方法A): m/z 262 [M+H]⁺、Rt 2.57 分。

【0195】

参照化合物C: メチルN¹-[2-[4-(クロロフェニル)カルボニル]-4-(メチルオキシ)フェニル]-N²-{[(9H-フルオレン-9-イルメチル)オキシ]カルボニル}-L- -アスパラギネート

【化 3 6】



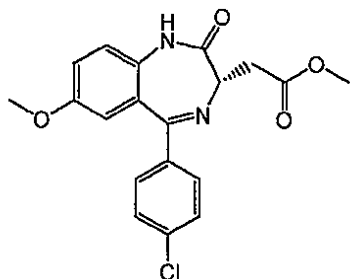
【0196】

塩化メチルN-{[(9H-フルオレン-9-イルメチル)オキシ]カルボニル}-L- -アスパルチル(Int. J. Peptide Protein Res. 1992, 40, 13-18)(93g、0.24mol)をトリクロロメタン(270mL)に溶解し、[2-アミノ-5-(メチルオキシ)フェニル](4-クロロフェニル)メタノン(調製は参照化合物Bを参照)(53g、0.2mol)を加えた。結果として得られる混合物を60 で1時間攪拌し、その後冷却し体積で60%になるまで濃縮した。エーテルを0 で加え、結果として得られる沈殿をろ過し、取り除いた。ろ過液を減圧下で濃縮し、更に精製することなく使用した。

【0197】

参照化合物D: メチル[(3S)-5-(4-クロロフェニル)-7-(メチルオキシ)-2-オキソ-2,3-ジヒドロ-1H-1,4-ベンゾジアゼピン-3-イル]アセテート

【化 3 7】



【 0 1 9 8 】

10

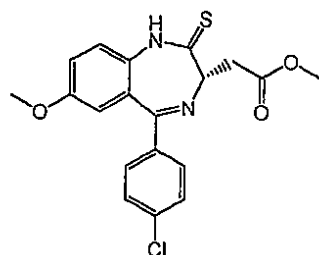
DCM(500mL)のメチルN¹-[2-[4-(クロロフェニル)カルボニル]-4-(メチルオキシ)フェニル]-N²-{[(9H-フルオレン-9-イルメチル)オキシ]カルボニル}-L- -アスパラギネート(調製は参照化合物Cを参照)(仮定0.2mol)溶液にEt₃N(500mL、3.65mol)を加え、結果として得られた混合物を24時間還流し、その後濃縮した。結果として得られた粗製アミンを1,2-DCE(1.5L)に溶解し、AcOH(104mL、1.8mol)を注意しながら加えた。その後、反応混合物を60℃で2時間攪拌後、真空下で濃縮し、DCMに溶解した。有機層を1N塩酸で洗浄し、水層をDCM(×3)で抽出した。集めた有機層を水および塩水で2回洗浄し、Na₂SO₄で乾燥、ろ過し、減圧下で濃縮した。粗製固体をMeCNで再結晶し、標記化合物(51g)が淡黄色固体として得られた。ろ過液を濃縮し、MeCNで再結晶する事で、別に10gの望ましい生成物Rf = 0.34(DCM/MeOH : 95/5)が得られた。HRMS (M+H)⁺ 計算値C₁₉H₁₈³⁵ClN₂O₄ 373.0955; 検出373.0957

20

【 0 1 9 9 】

参照化合物E: メチル[(3S)-5-(4-クロロフェニル)-7-(メチルオキシ)-2-チオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-1,4-ベンゾジアゼピン-3-イル]アセテート

【化 3 8】



30

【 0 2 0 0 】

1,2-DCE(700mL)のP₄S₁₀(36.1g、81.1mmol)およびNa₂CO₃(8.6g、81.1mmol)の懸濁液を室温で2時間攪拌し、その後メチル[(3S)-5-(4-クロロフェニル)-7-(メチルオキシ)-2-チオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-1,4-ベンゾジアゼピン-3-イル]アセテート(調製は参照化合物Dを参照)(16.8g、45.1mmol)を加えた。結果として得られた混合物を70℃で2時間攪拌し、その後冷却し、ろ過した。固体を2度DCMで洗浄し、ろ過液を飽和NaHCO₃および塩水で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥し、ろ過、減圧下で濃縮した。粗製生成物をシリカゲルのフラッシュクロマトグラフィー(DCM/MeOH : 99/1)で精製し、標記化合物(17.2g、98%収率)が黄色がかった固体として得られた。

40

【 0 2 0 1 】

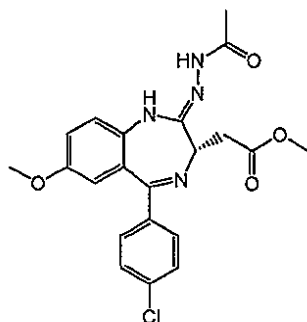
LC/MS (方法 A): m/z 389 [M(³⁵Cl)+H]⁺、Rt 2.64 分

HRMS (M+H)⁺ 計算値C₁₉H₁₈³⁵ClN₂O₃S 389.0727; 検出 389.0714。

【 0 2 0 2 】

参照化合物F: メチル[(3S)-2-[(1Z)-2-アセチルヒドラジノ]-5-(4-クロロフェニル)-7-(メチルオキシ)-3H-1,4-ベンゾジアゼピン-3-イル]アセテート

【化 3 9】



10

【 0 2 0 3】

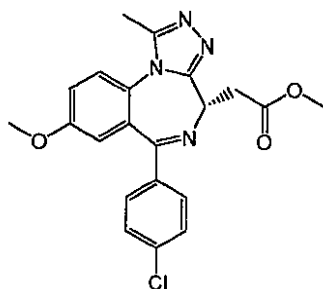
THF(300mL)のメチル[(3S)-5-(4-クロロフェニル)-7-(メチルオキシ)-2-チオキソ-2,3-ジヒドロ-1H-1,4-ベンゾジアゼピン-3-イル] アセテート(調製は参照化合物Eを参照)(9.0 g、23.2mmol)懸濁液を0 でヒドラジノー水和物(3.4mL、69.6mmol)を滴下添加した。反応混合物を5時間、5 から15 の間で攪拌し、その後、0 に冷却した。その後、Et₃N(9.7mL、69.6mmol)をゆっくりと加え、塩化アセチル(7.95mL、69.6mmol)を滴下添加した。その後、混合物を16時間で室温に戻した後、減圧下で濃縮した。粗製生成物をDCMに溶解し、水で洗浄した。有機層をNa₂SO₄で乾燥し、ろ過し、真空下で濃縮する事で、粗製標記化合物(9.7g、98%収率)が得られ、これは更に精製することなく使用された。R_f = 0.49(DCM/MeOH : 90/10)。

20

【 0 2 0 4】

参照化合物G：メチル[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル] アセテート

【化 4 0】



30

【 0 2 0 5】

粗製メチル[(3S)-2-[(1Z)-2-アセチルヒドラジノ]-5-(4-クロロフェニル)-7-(メチルオキシ)-3H-1,4-ベンゾジアゼピン-3-イル] アセテート(調製は参照化合物Fを参照)(仮定9.7g)をTHF(100ml)に懸濁させ、AcOH(60mL)を室温で加えた。反応混合物をこの温度で2日間攪拌し、その後、減圧下で濃縮した。粗製固体をi-Pr₂Oで摩砕し、ろ過する事で、標記化合物(8.7g、3ステップで91%)がわずかに灰色がかった白色固体として得られた。

【 0 2 0 6】

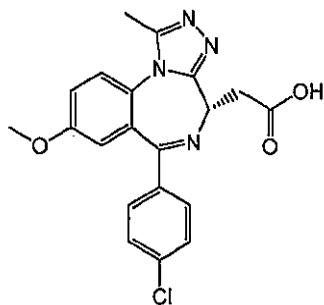
HRMS (M+H)⁺ 計算値 C₂₁H₂₀ClN₄O₃ 411.1229; 検出 411.1245。

40

【 0 2 0 7】

参照化合物H：[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]酢酸

【化 4 1】



10

【 0 2 0 8 】

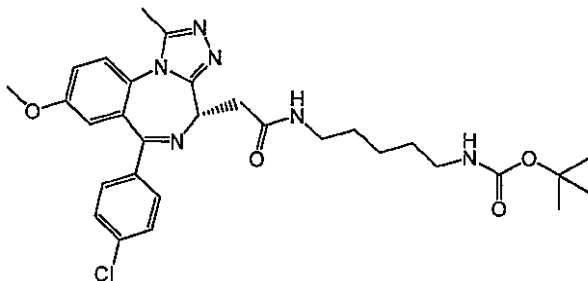
THF(130mL)のメチル[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル] アセテート(調製は参照化合物Gを参照)(7.4g、18.1mmol)溶液に、室温で1N水酸化ナトリウム(36.2mL、36.2mmol)を加えた。反応混合物をこの温度で、5時間攪拌し、その後、1N塩酸(36.2mL)で反応を終了し、真空下で濃縮した。その後水を加え、水層をDCM(×3)で抽出し、集めた有機層をNa₂SO₄で乾燥し、ろ過、減圧下での濃縮を行う事で、標記化合物(7g、98%収率)が淡黄色固体として得られた。

【 0 2 0 9 】

参照化合物I：1,1-ジメチルエチル[5-({[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセチル}アミノ)ペンチル]カルバメート

20

【化 4 2】



30

【 0 2 1 0 】

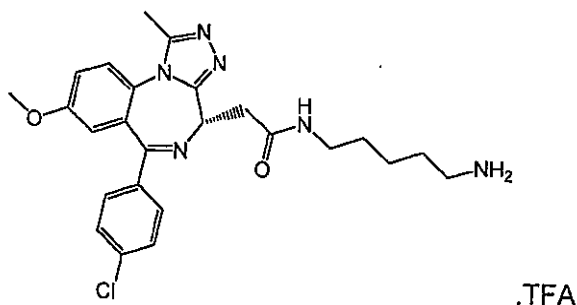
[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]酢酸(調製は参照化合物Hを参照)(1.0g、2.5mmol)、HATU(1.9g、5mmol)およびDIPEA(0.88mL、5mmol)の混合物を80分間室温で攪拌し、これに、1,1-ジメチルエチル(4-アミノペンチル)カルバメート(1.05mL、5.0mmol、Aldrichから入手可能)を加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌し、その後濃縮した。残渣をジクロロメタンに溶解し、1N塩酸で洗浄した。水層をジクロロメタンで2回抽出した。有機層を1N水酸化ナトリウム、続いて飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。残渣を、ジクロロメタン/メタノール95/5を使用したシリカのフラッシュクロマトグラフィーで精製し、標記化合物が黄色固体(1.2g)として得られた。LC/MS (方法 A): rt = 3.04 分。

40

【 0 2 1 1 】

参照化合物J：N-(5-アミノペンチル)-2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセトアミドトリフルオロアセテート

【化 4 3】



10

【 0 2 1 2】

ジクロロメタン(3ml)の1,1-ジメチルエチル[5-({[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセチル}アミノ)ペンチル]カルバメート(調製は参照化合物Iを参照)(0.2g、0.34mmol)溶液に、0 でトリフルオロ酢酸(0.053ml、0.68mmol)を滴下添加した。反応混合物を3時間、0 から室温で撹拌した。反応混合物を乾燥するまで濃縮する事で、標記化合物が吸湿性の黄色の油(200mg)として得られた。

【 0 2 1 3】

LC/MS (方法 A): $rt = 2.33$ 分。

【 0 2 1 4】

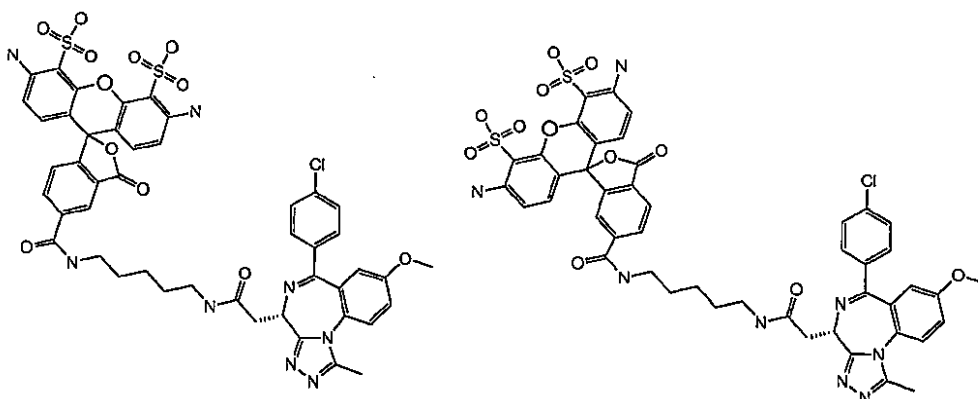
HRMS (M+H)⁺ 計算値 C₂₅H₂₉ClN₆O₂ 481.2119; 検出 481.2162。

20

【 0 2 1 5】

参照化合物K: Alexa Fluor 488-N-(5-アミノペンチル)-2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセトアミドの5-および6-異性体の混合物

【化 4 4】



30

【 0 2 1 6】

N-(5-アミノペンチル)-2-[(4S)-6-(4-クロロフェニル)-1-メチル-8-(メチルオキシ)-4H-[1,2,4]トリアゾロ[4,3-a][1,4]ベンゾジアゼピン-4-イル]アセトアミド トリフルオロアセテート(調製は参照化合物Jを参照)(7.65mg、0.013mmol)をN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)(300 μl)に溶解し、Eppendorf遠心管中でAlexa Fluor 488カルボン酸スクシンイミジルエステル(5mg、7.77 μmol、5と6異性体の混合物、Invitrogenから入手可能、製品番号A-20100)に加えた。Hunig's塩基(7.0 μl、0.040mmol)を加え、混合物を一晩ボルテックス混合した。18時間後、反応混合物を蒸発させて乾燥し、残渣をDMSO/水(50%、<1ml 全体)に再溶解し、調製用のPhenomenex Jupiter C18カラムにかけて、95%A:5%Bから100%B(A=0.1%トリフルオロ酢酸水溶液、B=0.1%TFA/90%アセトニトリル/10%水)のグラディエントで、10ml/分の流速で150分かけて溶出した。集められた不純物画分を同様のシステムを使用して再精製した。画分を集め、蒸発させる事で、標記化合物(2.8mg)が、上記に示した2つの位置異性体の混合物として得られた。LC/MS (方法 B):、MH⁺ = 999、 $rt =$

40

50

1.88分。

【 0 2 1 7 】

生物学的試験方法

式(1)の化合物は以下のアッセイで試験することができる。

【 0 2 1 8 】

蛍光異方性結合アッセイ

式(1)の化合物のプロモドメイン2、3および4への結合は、蛍光異方性結合アッセイを使用して評価することができる。

【 0 2 1 9 】

プロモドメイン蛋白質、蛍光性リガンド(上記の参照化合物K参照)および様々な濃度に調整した試験化合物を、試験化合物がない状態では蛍光性リガンドが有意に(>50%)結合し、効能のある阻害剤が十分な濃度で存在する状態では非結合の蛍光性リガンドの異方性が結合値から測定可能な程度に異なるという条件のもと、熱力学平衡に達するまで一緒にインキュベートする。

10

【 0 2 2 0 】

全てのデータは、それぞれのプレートにおける16の高コントロールウェルおよび16の低コントロールウェルの平均に対して規格化される。その後、次式の4パラメータ曲線に当て嵌める。

【数1】

$$y = a + ((b - a) / (1 + (10^x / 10^c)^d))$$

20

【 0 2 2 1 】

ここで、'a'は最小値、'b'はHill傾き、'c'はpIC50、'd'は最大値である。

【 0 2 2 2 】

組換え体ヒトプロモドメイン(プロモドメイン2(1-473)、プロモドメイン3(1-435)およびプロモドメイン4(1-477))は、大腸菌細胞(pET15bベクター)でN末端に6Hisのタグが付いて発現される。Hisタグを持つプロモドメインは、0.1mg/mlリゾチームと超音波処理を使用して大腸菌細胞から抽出された。その後、プロモドメインは、HisTRAP HPカラムにおいて10-500mMのイミダゾールのリニアグラディエントで20Cvで溶出するアフィニティークロマトグラフィーにより精製される。さらに、精製は、Superdex 200 prep gradeサイズ排除カラムによって完了する。精製した蛋白質は-80 で20mM HEPES (pH7.5)および100mM NaCl中に保存される。

30

【 0 2 2 3 】

プロモドメイン2のプロトコル：全ての成分を、50mMのHEPES、pH7.4、150mMのNaClおよび0.5mMのCHAPSの緩衝組成物に、プロモドメイン2が75nM、蛍光性リガンドが5nMの最終濃度となるように溶解する。この反応混合物の10 μlを、ミクロマルチドロップを使用して、Greiner384ウェルBlack小容積マイクロタイタープレートの様々な濃度に調整した試験化合物またはDMSOビヒクル(最終1%)100nlを含むウェルに加え、暗所、室温で60分間平衡化させる。蛍光異方性はEnvision(ex = 485nm、 EM = 530nm ; Dichroic-505nm)により読み取る。

40

【 0 2 2 4 】

プロモドメイン3のプロトコル：全ての成分を、50mMのHEPES、pH7.4、150mMのNaClおよび0.5mMのCHAPSの緩衝組成物に、プロモドメイン3が75nM、蛍光性リガンドが5nMの最終濃度となるように溶解する。この反応混合物の10 μlを、ミクロマルチドロップを使用して、Greiner384ウェルBlack小容積マイクロタイタープレートの様々な濃度に調整した試験化合物またはDMSOビヒクル(最終1%)100nlを含むウェルに加え、暗所、室温で60分間平衡化させる。蛍光異方性はEnvision(ex = 485nm、 EM = 530nm ; Dichroic-505nm)により読み取る。

【 0 2 2 5 】

プロモドメイン4のプロトコル：全ての成分を、50mMのHEPES、pH7.4、150mMのNaClおよび

50

0.5mMのCHAPSの緩衝組成物に、プロモドメイン4が75nM、蛍光性リガンドが5nMの最終濃度となるように溶解する。この反応混合物の10 μ lを、ミクロマルチドロップを使用して、Greiner384ウェルBlack小容積マイクロタイタープレートの様々な濃度に調整した試験化合物またはDMSOピヒクル(最終1%)100nlを含むウェルに加え、暗所、室温で60分間平衡化させる。蛍光異方性はEnvision(λ_{ex} = 485nm、 λ_{em} = 530nm ; Dichroic-505nm)により読み取る。

【0226】

時間分解蛍光共鳴エネルギー転移(TR-FRET)アッセイ

式(1)の化合物のBRD2、BRD3およびBRD4への結合を、時間分解蛍光共鳴エネルギー転移結合アッセイを使用して評価した。この方法は、アセチル化ヒストンペプチドのプロモドメイン蛋白質への結合を測定する。

10

【0227】

プロモドメイン蛋白質、ヒストンペプチドおよび様々な濃度に調整した試験化合物を、熱力学平衡状態に達するまで一緒にインキュベートする。このアッセイは、試験化合物がない状態ではプロモドメインとペプチドが十分に結合(~30%)し、効能のある阻害剤が十分な濃度で存在するとこの相互作用が乱されて、蛍光共鳴エネルギー転移に測定可能な低下が生じるように設定されている。

【0228】

ヒストンペプチド

H-Ser-Gly-Arg-Gly-Lys(Ac)-Gly-Gly-Lys(Ac)-Gly-Leu-Gly-Lys(Ac)-Gly-Gly-Ala-Lys(Ac)-Arg-His-Gly-Ser-Gly-Ser-Lys(ビオチン)-OH. 3TFA

20

この保護ペプチドは、予めロードしたWangレジンを使用し、標準のFmoc合成プロトコルを利用して固相合成機で組み立てた。C末端リジンは、酸に対して非常に不安定な基によって保護し、組立の最後に選択的に除去されビオチンを結合できるようにした。トリフルオロ酢酸(TFA)、トリイソプロピルシランおよび水(95:2.5:2.5)の混合物により室温で3時間かけてレジンから切り離すことによって粗製ペプチドを得、その後、0.1%TFAで緩衝された水/アセトニトリルグラディエントを利用したC18逆相カラムを使用して精製した。結果として得られた画分を分析し、分析HPLCによって>95%純粋であり正しい分子量(MALDI-TOF質量分析法による)を示す画分をプールし、フリーズドライした。最終的な物質は、HPLCによって分析して純粋なことを確認した。

30

【0229】

蛋白質の産生：組換えヒトプロモドメイン(プロモドメイン2(1-473)、プロモドメイン3(1-435)およびプロモドメイン4(1-477))は、大腸菌細胞(pET15bベクター)でN末端に6つのHisのタグが付いて発現される。Hisタグを持つプロモドメインを、超音波処理を使用して大腸菌細胞から抽出し、ニッケルセファロース6FFカラムを使用して精製し、その蛋白質を洗浄後、50mM Tris-HCl pH8.0 300mM NaCl、1mM β -メルカプトエタノールおよび20mMイミダゾールで溶出した。0-500mMの塩化ナトリウムのリニアグラディエントにて20カラム容積で溶出するHisTRAP HPカラムのアフィニティークロマトグラフィーで更に精製した。最終的な精製は、Superdex 200 prep gradeサイズ排除カラムによって完了した。精製した蛋白質は-80 $^{\circ}$ Cで20mM HEPES pH7.5および100mM NaCl中に保存した。蛋白質はペプチドマ

40

【0230】

プロモドメインBRD2、3および4アッセイのプロトコル：全てのアッセイ成分を、50mMのHEPES、pH7.4、50mMのNaClおよび0.5mMのCHAPSの緩衝組成物に溶解した。プロモドメイン蛋白質の最終濃度は100nM、ヒストンペプチドは300nMであった。これらの成分を、プレミックスし、1時間、暗所で平衡化させた。この反応混合物8 μ lを、Greiner384ウェルブラック小容積マイクロタイタープレートの様々な濃度に調整した試験化合物またはDMSOピヒクル(最終0.5%)50nlを含む全てのウェルに加え、暗所、60分間、室温でインキュベートした。抗-6his XL665標識抗体およびユーロピウムクリプテートで標識されたストレプトア

50

ビジンを含む2 μ lの検出混合物を全てのウェルに加え、更に少なくとも30分の暗所インキュベーションを行った。その後、プレートを、Envisionマイクロプレートリーダーで読取った (ex = 317nm、ドナー EM = 615nm、アクセプター EM = 665nm ; Dichroic LANCE dual)。時間分解蛍光強度測定を両方の発光波長で行い、アクセプター/ドナーの比を計算し、データ分析に使用した。全てのデータは、それぞれのプレートにおいて16の高コントロールウェルおよび16の低コントロールウェルの平均に対して規格化した。その後、次式の4パラメータ曲線に当て嵌めた。

【数 2】

$$y = a + ((b - a) / (1 + (10^x / 10^c)^d))$$

10

【 0 2 3 1 】

ここで、‘a’は最小値、‘b’はHill傾き、‘c’はpIC50、‘d’は最大値である。

【 0 2 3 2 】

実施例1および3-17では、上記アッセイの1以上で試験したところ、pIC50 5.5であることが判明した。実施例1、3-5および7-17では上記アッセイの1以上で試験したところ、pIC50 6.5であることが判明した。

【 0 2 3 3 】

LPS刺激全血測定TNF レベルアッセイ

細菌性リポ多糖(LPS)のようなToll様受容体の作用物質による単核球細胞の活性化は、TNFを含む重要な炎症性のメディエーターの生成を引き起こす。このような経路は、様々な自己免疫および炎症疾患の病態生理学にとって中心的役割を有すると広く考えられている。

20

【 0 2 3 4 】

試験化合物を、適切な濃度範囲にする為に希釈し、1 μ lの希釈ストックを96プレートのウェルに加える。全血(130 μ l)の添加後、プレートを37度(5%CO2)で30分インキュベートし、その後、10 μ lの2.8 μ g/ml LPSを添加、完全RPMI 1640(最終濃度 = 200ng/ml)で希釈し、1ウェルにつき140 μ lの全量容積とする。更に24時間37度でインキュベーション後、140 μ lのPBSをそれぞれのウェルに添加する。プレートを密封し、10分間震盪し、その後遠心分離(2500rpm \times 10分)する。上澄液100 μ lを取り除き、直後にまたは-20度での貯蔵後にTNF レベルを免疫測定法(一般にMesoScale Discovery技術による)によって分析する。それぞれの化合物の用量反応曲線をデータから求め、IC50値を計算する。

30

【 0 2 3 5 】

全血からのLPS誘導IL-6分泌の測定

細菌性リポ多糖(LPS)のようなToll様受容体の作用物質による単核球細胞の活性化は、IL-6を含む重要な炎症性のメディエーターの生成を引き起こす。このような経路は、様々な自己免疫および炎症疾患の病態生理学にとって中心的役割を有すると広く考えられている。

【 0 2 3 6 】

試験した化合物を適切な濃度範囲に希釈し、その希釈ストックの1 μ lを96プレートのウェルに加える。全血(130 μ l)の添加後、プレートを37度(5%CO2)で30分インキュベートし、その後、10 μ lの2.8 μ g/ml LPSを添加、完全RPMI 1640(最終濃度 = 200ng/ml)で希釈し、1ウェルにつき140 μ lの全量容積とする。更に24時間37度でインキュベートした後、140 μ lのPBSをそれぞれのウェルに添加する。プレートを密封し、10分間震盪し、その後遠心分離(2500rpm \times 10分)する。上澄液100 μ lを取り除き、直後にまたは-20度での貯蔵後にIL-6レベルを免疫測定法(一般にMesoScale Discovery技術による)によって分析する。それぞれの化合物の濃度反応曲線をデータから作成し、IC50値を計算する。

40

【 0 2 3 7 】

実施例1、3、4、5および13について上記アッセイで試験したところ、それぞれがpIC₅₀ 5.5であることが判明した。

50

【0238】

これらのデータは、上記全血アッセイで試験したプロモドメイン阻害剤が、重要な炎症性メディエーターIL-6の生成を阻害したことを実証している。

【0239】

生体内マウス内毒血症モデル

動物に投与された高用量の内毒素(細菌性リポ多糖)は、強い炎症性反応を含む重度のショック症候群、心血管機能の調節不全、臓器不全を引き起こし、最後には死に至らしめる。この反応のパターンは、人間の敗血症および敗血性ショックに良く類似しており、重大な細菌感染に対する身体の反応は、同様に重篤になりうる。

【0240】

式(1)化合物を試験する為に、8匹のBalb/c雄性マウスの群に腹腔内注射によって15mg/kgのLPSの致死量を与える。90分後、動物に、ビヒクル(20%シクロデキストリン 1%エタノール アピローゲン水溶液)または化合物(10mg/kg)を静脈内投与する。動物の生存を4日間モニターする。

【0241】

腫瘍学細胞増殖アッセイ

ヒト細胞株(15のヘム細胞株、14の乳房細胞株、4の他の細胞株を含むn=33)を、10%ウシ胎児血清を含むRPMI-1640で培養し、1ウェルにつき1000の生存細胞を、384-ウェルブラック平底ポリスチレンプレート(Greiner #781086)中の48 μ lの培地に蒔いた。全てのプレートを、5%CO₂、37℃に一晩置いた。翌日、1つのプレートをCellTiter-Glo(CTG, Promega #G7573)で収集し、その時間を0(T0)とし、残りのプレートには化合物(14.7 μ Mから7pMまでの20点の用量設定)を加えた。全てのウェルのDMSOの最終濃度は、0.15%とした。細胞を72時間または指示された時間培養し、それぞれのプレートをウェルの細胞培地と同量のCellTiter-Glo試薬を使用して発行させた。プレートを約2分間震盪し、化学発光信号はAnalyst GT(Molecular Devices)またはEnVisionマイクロプレートリーダー(Perkin Elmer)で読取った。

【0242】

結果は、T0のパーセントとして表し、化合物濃度に対してプロットした。T0値は100%とされ、化合物添加の時間における細胞数を表し、濃度反応データは、XLfit ソフトウェア(モデル205)を使用して、4パラメータ曲線フィッティングで当て嵌めた。による細胞増殖を50%阻害する濃度(gIC₅₀)は、‘増殖ウインドウ’(T0とDMSOコントロールの間)の間点である。Y分-T0値は、濃度反応曲線のあてはめから決定されるY分値(%)からT0値(100%)を減じる事で決定される。細胞のないウェルからの値は、バックグラウンド補正として全てのサンプルから減じられた。

【0243】

本明細書で引用した特許および特許出願に限られない全ての刊行物は、それぞれ個々の刊行物が参照により完全に本明細書に組み込まれているかのように、参照により、本明細書に組み込まれる事とする。

10

20

30

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 P 29/00

(72)発明者 バイリー, ジェームズ, マシュー

イギリス国 エスジー 1 2 エヌワイ ハートフォードシャー スティーヴネイジ, ガンネルズ
ウッド ロード, グラクソスミスクライン

審査官 早乙女 智美

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 9 / 0 8 4 6 9 3 (W O , A 1)

特開平 0 1 - 1 9 7 4 8 4 (J P , A)

特表 2 0 1 0 - 5 1 0 2 1 5 (J P , A)

国際公開第 2 0 0 7 / 0 1 8 6 6 0 (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C 0 7 D

A 6 1 K

A 6 1 P

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