

(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2021-518413

(P2021-518413A)

(43) 公表日 令和3年8月2日 (2021. 8. 2)

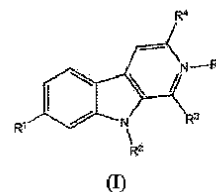
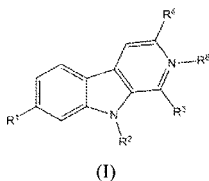
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 471/04 (2006. 01)	C 0 7 D 471/04 1 0 3 A	4 C 0 6 5
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 6
A 6 1 K 45/06 (2006. 01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 3/10 (2006. 01)	A 6 1 K 45/06	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 119 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2020-550798 (P2020-550798)	(71) 出願人	513321467
(86) (22) 出願日	平成31年3月20日 (2019. 3. 20)		アイカーン スクール オブ メディシン
(85) 翻訳文提出日	令和2年10月15日 (2020. 10. 15)		アット マウント サイナイ
(86) 国際出願番号	PCT/US2019/023206		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 ニュー
(87) 国際公開番号	W02019/183245		ヨーク ワン グスタフ エル. レビー
(87) 国際公開日	令和1年9月26日 (2019. 9. 26)		プレイス
(31) 優先権主張番号	62/645, 560	(74) 代理人	100102978
(32) 優先日	平成30年3月20日 (2018. 3. 20)		弁理士 清水 初志
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100102118
			弁理士 春名 雅夫
		(74) 代理人	100160923
			弁理士 山口 裕孝
		(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 キナーゼ阻害剤化合物及び組成物ならびに使用方法

(57) 【要約】

以下の構造：式Iを有する化合物、またはその立体異性体、薬学的に許容される塩、酸化物、もしくは溶媒和物が本明細書に記載される。本化合物を含む組成物、細胞における DYRK 1 A の活性を阻害する方法、膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させる方法、不十分なインスリン分泌に関連する状態について対象を治療する方法、及び神経障害について対象を治療する方法もまた開示される。

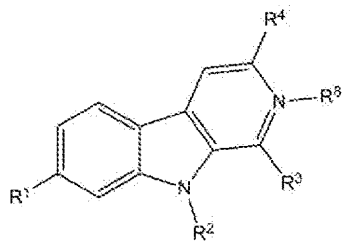


【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の構造を有する式 (I) の化合物：



(I)

10

またはその立体異性体、薬学的に許容される塩、酸化物、もしくは溶媒和物であって、式中、

R^1 が、Y、 $-NHR^5$ 、 $-C(O)NHCH(CH_3)_2$ 、または $-O(CH_2)_2OR^6$ で置換されていてもよい分岐または非分岐 C_{1-6} アルコキシであり、前記アルコキシが、ハロゲン化または重水素化されていてもよく、

R^2 が、H、または分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、または C_{2-6} アルキニルであり、前記分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、または C_{2-6} アルキニルが、Zで置換されていてもよく、

R^3 が、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 $-C(O)CH_3$ 、 $-OH$ 、または R^7 で置換されていてもよいヘテロシクリルであり、

R^4 が、H、 $-OH$ 、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、または $-C(O)CH_3$ であり、

R^5 が、H、 $-C(O)CH_3$ 、または $-C(O)Ar$ であり、

R^6 が、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_2NHBoc$ 、 $-(CH_2)_2NH(O)CH_3$ 、または $-(CH_2)_2NH_3Cl$ であり、

R^7 が、 $-ArX$ または $-CH_2ArX$ であり、

R^8 が任意であり、存在する場合はOであり、

Xが、Hまたはハロゲンであり、

Yが、 $-CO_2CH_3$ 、 $-NHBoc$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-NH_3Cl$ 、 $-NHC(O)CH_3$ であり、

Zが、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2H$ 、 $-C(O)NH_2$ 、またはフラン、チオフェン、ピロール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、イソキサゾール、イソチアゾール、1, 2, 3-オキサジアゾール、1, 2, 4-オキサジアゾール、1, 2, 3-チアジアゾール、1, 2, 3-トリアゾール、1, 2, 4-トリアゾール、テトラゾール、及び1, 2, 3, 4-オキサトリアゾールからなる群から選択されるアミノ置換ヘテロアリールであり、

以下：

R^1 が、 $-OCH_3$ である場合、 R^3 は、 $-CH_3$ であり、 R^4 は、Hであり、 R^2 は、 $-(CH_2)_2CO_2CH_3$ 、 $-(CH_2)_2CO_2H$ 、または $-(CH_2)_2C(O)NH_2$ であることはできず、

R^1 が、 $-OCH_3$ である場合、 R^2 はHであり、 R^4 は、Hであり、 R^3 は、 $-CH_2OH$ またはClであることはできず、

R^1 が、 $-OCH_3$ である場合、 R^2 は、Hであり、 R^3 は、 $-CH_3$ であり、 R^4 は、Hであることはできない

ということを条件とする、

前記式 (I) の化合物、またはその立体異性体、薬学的に許容される塩、酸化物、もしくは溶媒和物。

【請求項 2】

50

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ であり、

R^2 が、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ で置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

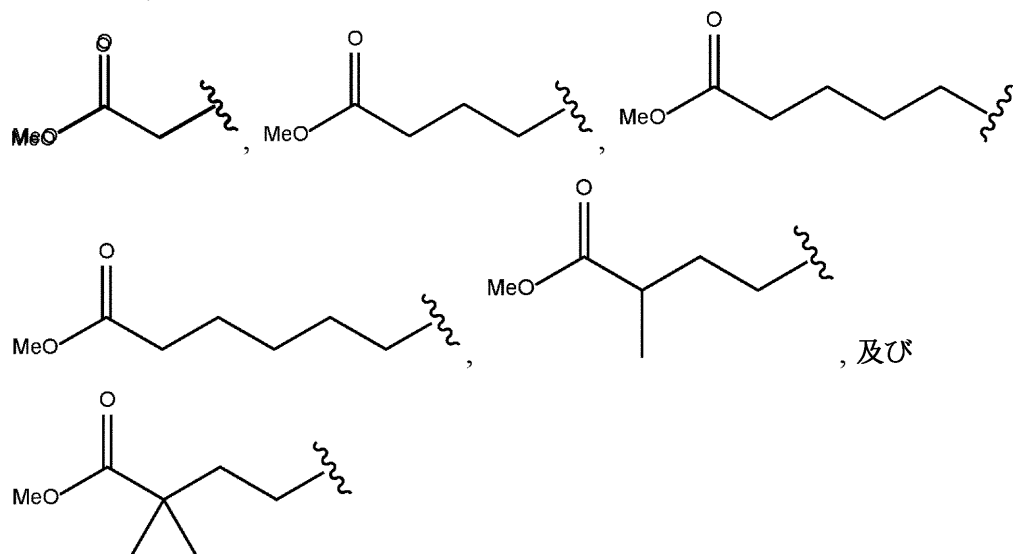
R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である、

請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

R^2 が、



10

20

からなる群から選択される、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ であり、

R^2 が、 $-\text{CO}_2\text{H}$ で置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

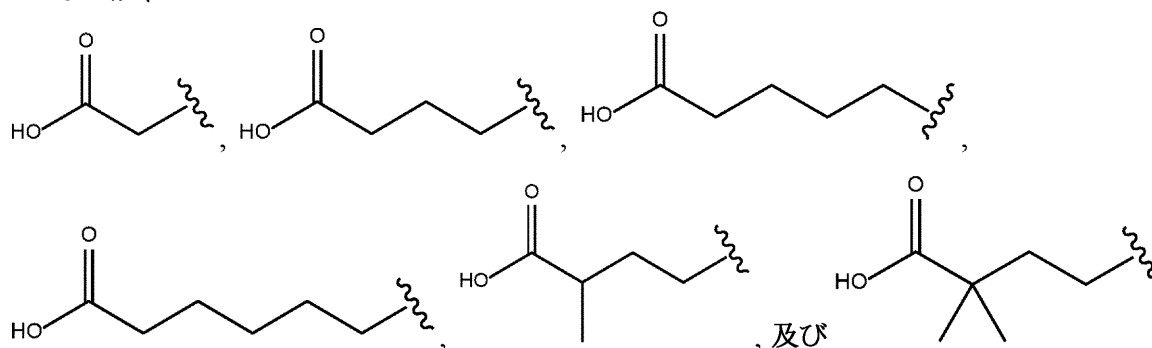
R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である、

請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R^2 が、



30

40

からなる群から選択される、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 6】

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ であり、

R^2 が、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ で置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

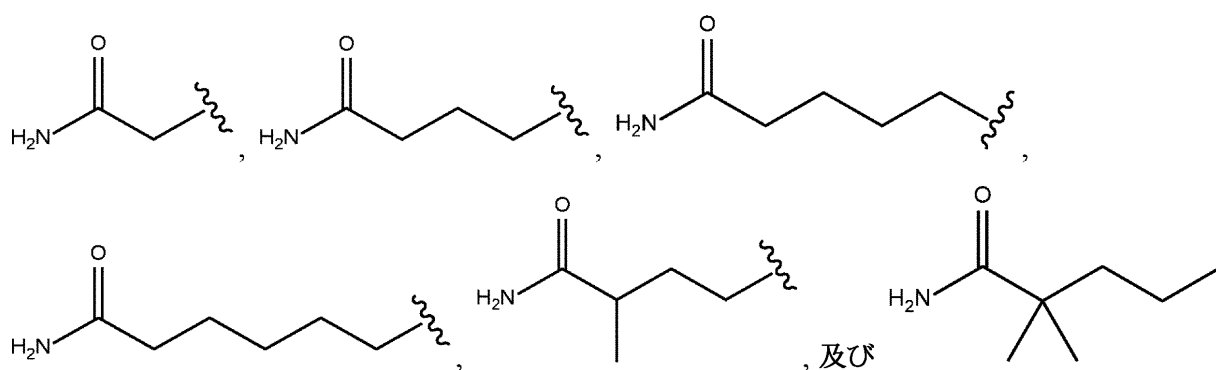
R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である、

請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

R^2 が、



10

からなる群から選択される、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

R^1 が、 $-OCH_3$ であり、

R^2 が、置換ヘテロアリールで置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

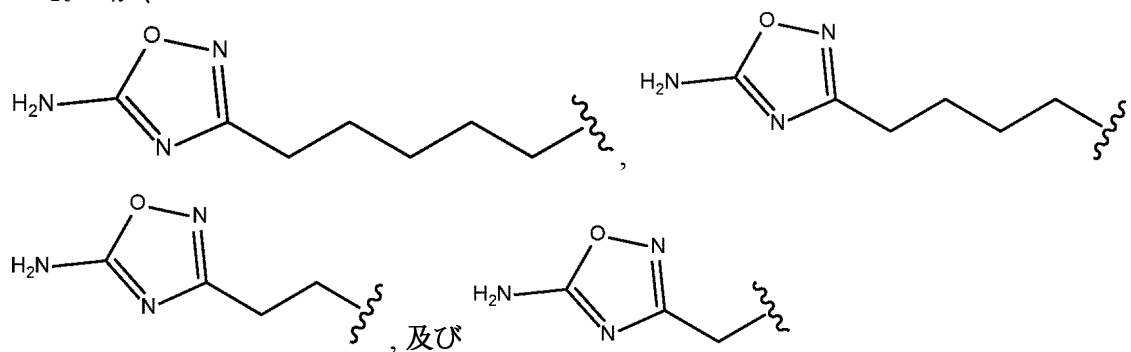
R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である、

請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

R^2 が、



20

からなる群から選択される、請求項 8 に記載の化合物。

【請求項 10】

R^2 が、H であり、

R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である、

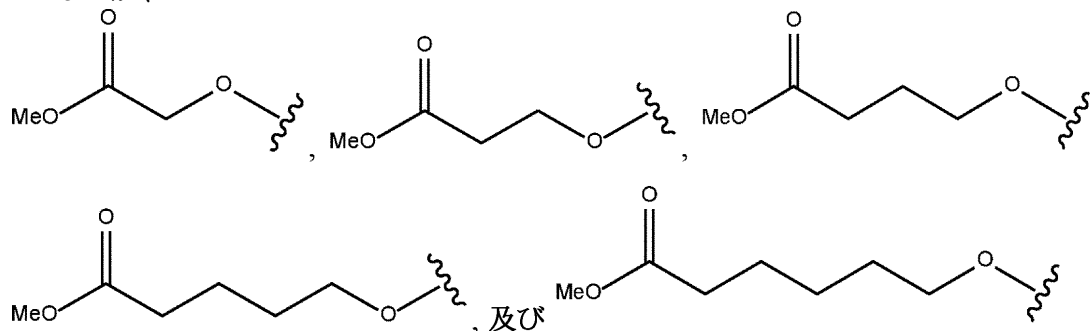
請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 11】

R^1 が、 $-CO_2CH_3$ で置換された C_{1-6} アルコキシである、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 12】

R^1 が、



40

からなる群から選択される、請求項 11 に記載の化合物。

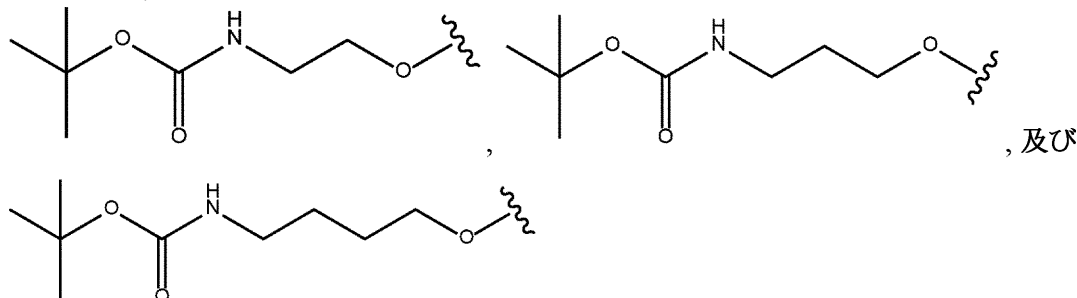
【請求項 13】

50

R^1 が、 $-NHBOc$ で置換された C_{1-6} アルコキシである、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 14】

R^1 が、



10

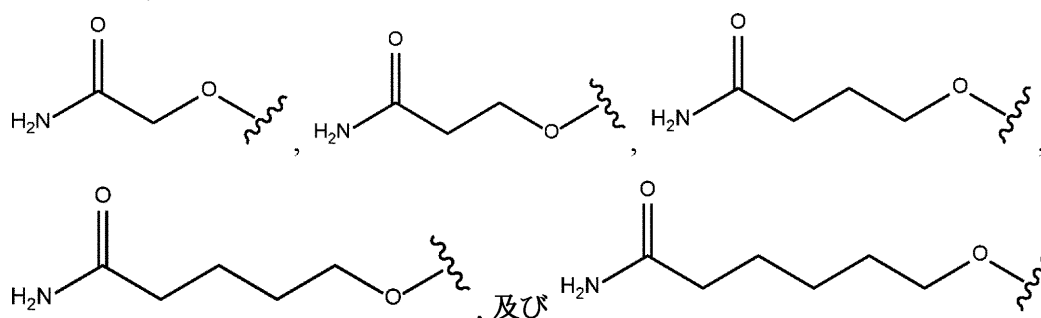
からなる群から選択される、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 15】

R^1 が、 $-C(O)NH_2$ で置換された C_{1-6} アルコキシである、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 16】

R^1 が、



20

からなる群から選択される、請求項 15 に記載の化合物。

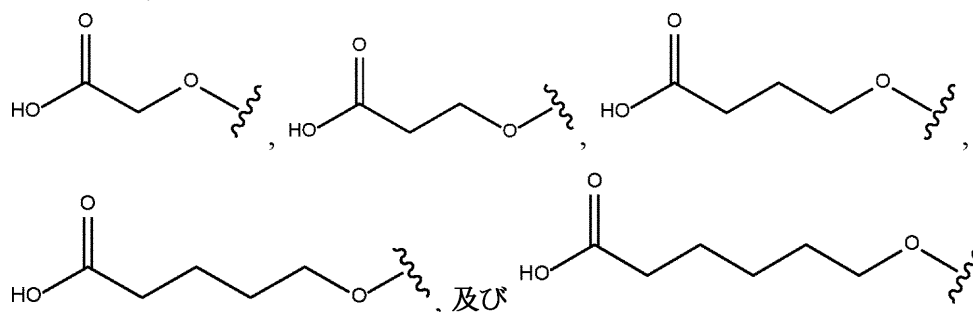
【請求項 17】

R^1 が、 $-CO_2H$ で置換された C_{1-6} アルコキシである、請求項 10 に記載の化合物。

30

【請求項 18】

R^1 が、



40

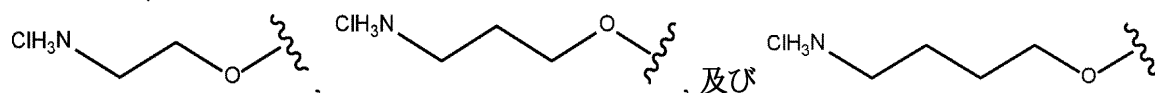
からなる群から選択される、請求項 17 に記載の化合物。

【請求項 19】

R^1 が、 $-NH_3Cl$ で置換された C_{1-6} アルコキシである、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 20】

R^1 が、



からなる群から選択される、請求項 19 に記載の化合物。

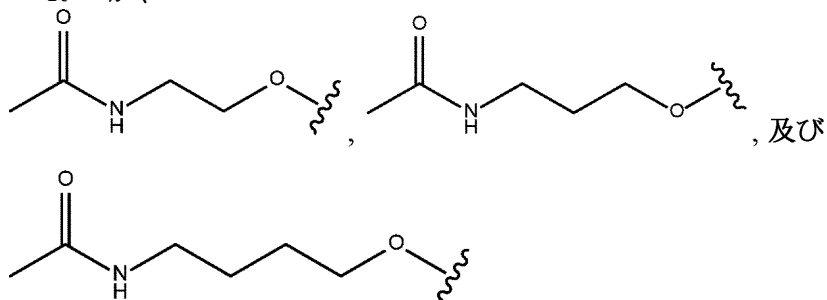
50

【請求項 21】

R^1 が、 $-NHC(O)CH_3$ で置換された C_{1-6} アルコキシである、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 22】

R^1 が、



10

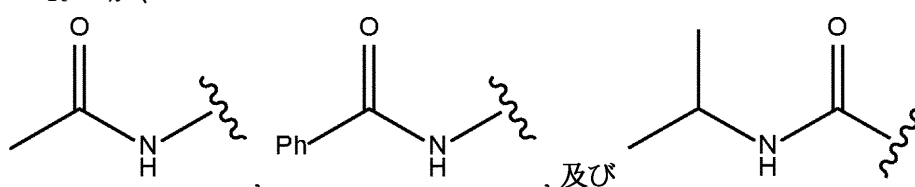
からなる群から選択される、請求項 21 に記載の化合物。

【請求項 23】

R^1 が、 $-NH_2$ である、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 24】

R^1 が、



20

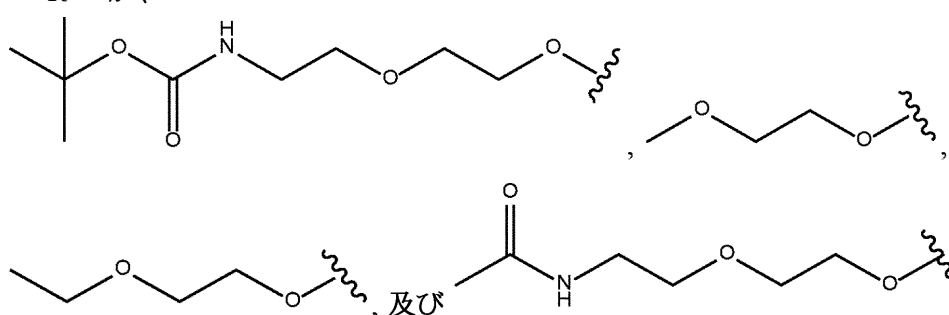
からなる群から選択される、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 25】

R^1 が、 $-O(CH_2)_2OR^6$ である、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 26】

R^1 が、



30

からなる群から選択される、請求項 25 に記載の化合物。

【請求項 27】

R^1 が、 $-OCD_3$ または $-OCF_3$ から選択される、請求項 10 に記載の化合物。

【請求項 28】

R^1 が、 $-OCH_3$ であり、

R^2 が、H であり、

R^4 が、H である、請求項 1 に記載の化合物。

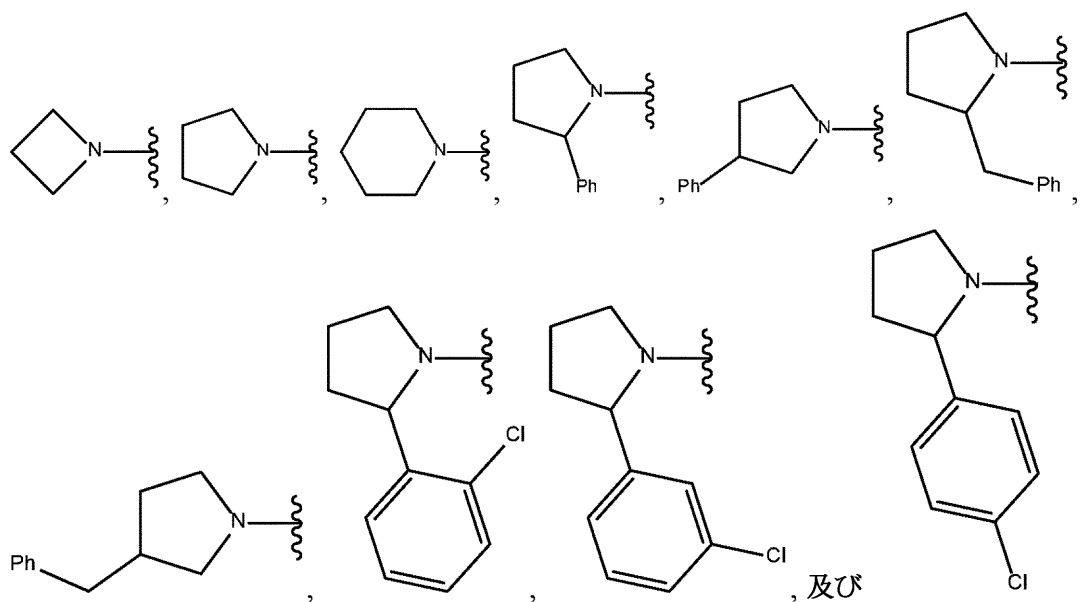
40

【請求項 29】

R^3 が、ハロゲンである、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 30】

R^3 が、



10

からなる群から選択される、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 31】

R^1 が、 $-OCD_3$ であり、

R^3 が、メチルであり、

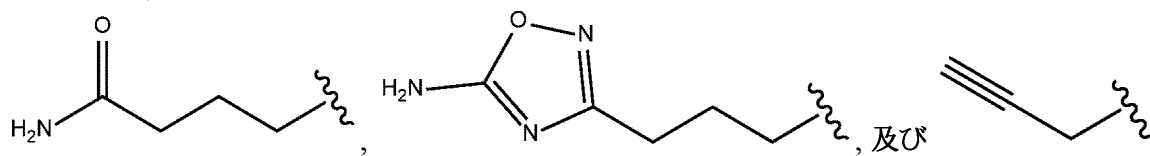
R^4 が、H である、

請求項 1 に記載の化合物。

20

【請求項 32】

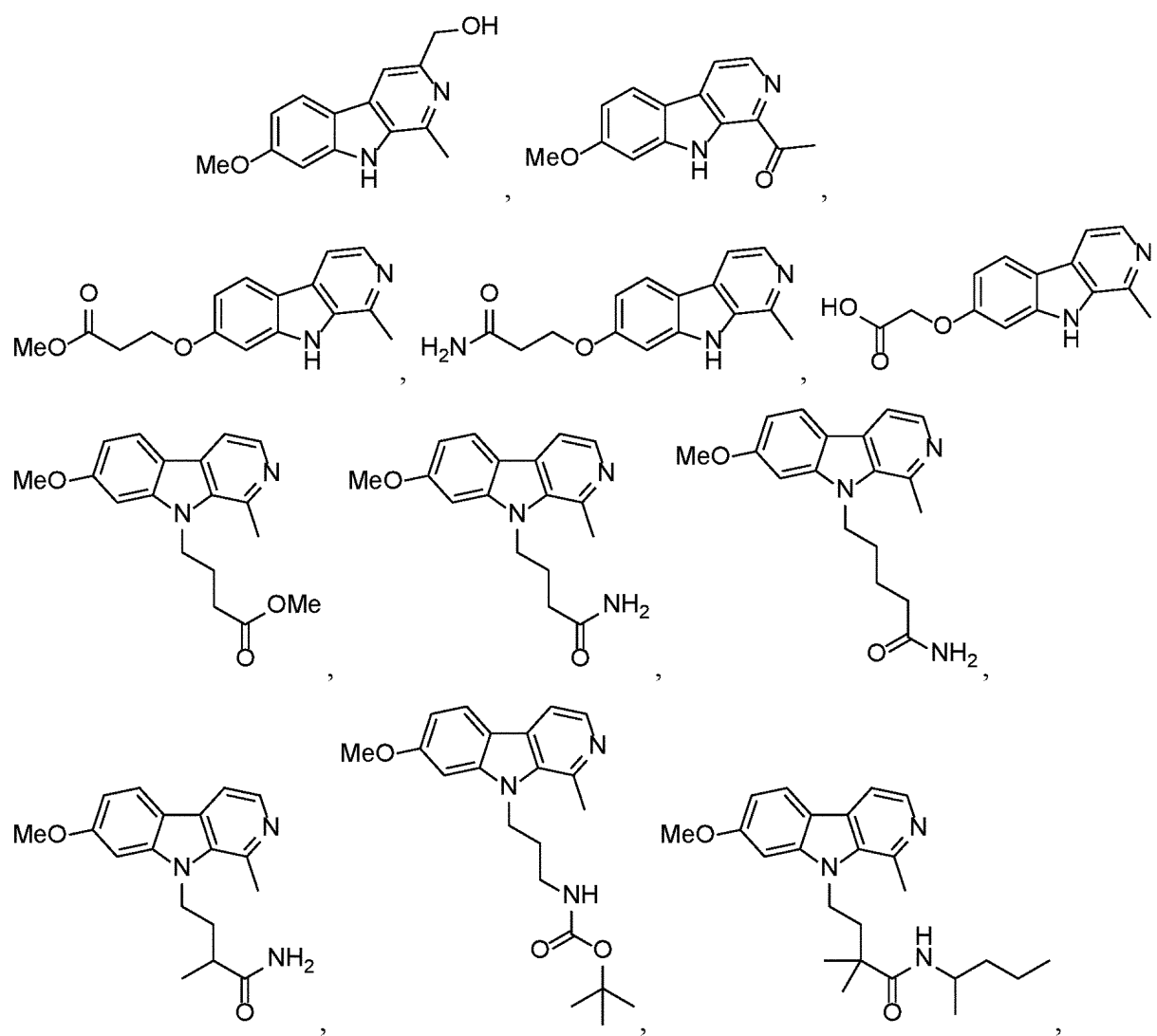
R^2 が、

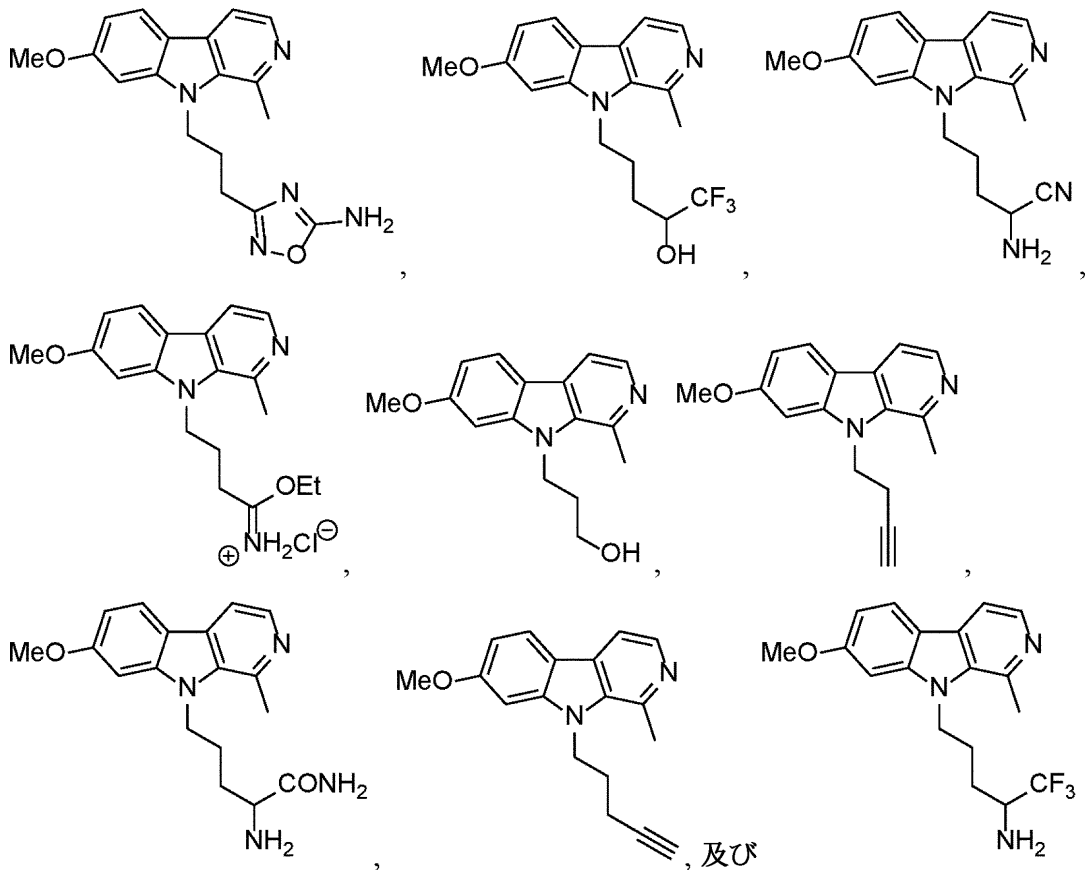


からなる群から選択される、請求項 31 に記載の化合物。

【請求項 33】

30





10

20

からなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3 4】

細胞における二重特異性チロシンリン酸化調節キナーゼ 1 A (D Y R K 1 A) の活性を阻害する方法であって、

前記細胞における D Y R K 1 A の活性を阻害するのに有効な条件下で、前記細胞を請求項 1 に記載の化合物と接触させる工程を含む、前記方法。

【請求項 3 5】

エキスピボで実施される、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

インピボで実施される、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 7】

膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させる方法であって、

膵臓ベータ細胞の集団を、前記膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させるのに有効な条件下で、請求項 1 に記載の化合物と接触させる工程を含む、前記方法。

【請求項 3 8】

前記膵臓ベータ細胞の集団を、形質転換成長因子ベータ (T G F β) スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤と接触させる工程をさらに含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記化合物及び前記 T G F β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤の両方を含む組成物を用いて実施される、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記 T G F β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤が、T G F β / T G F β 受容体結合、アクチビンまたはインヒビン / アクチビン受容体結合、及び骨形成タンパク質 (B M P) / B M P 受容体結合の阻害剤からなる群から選択される、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記 T G F β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤が、S B 4 3 1 5 4 2 及び A

30

40

50

1 k 5 阻害剤 I I からなる群から選択される、アクチビンまたはインヒビン／アクチビン受容体結合の阻害剤である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記 T G F β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤が、S M A D シグナル伝達経路阻害剤である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記膵臓ベータ細胞の集団を、グルカゴン様ペプチド-1 受容体 (G L P 1 R) アゴニストと接触させる工程をさらに含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記化合物及び前記グルカゴン様ペプチド-1 受容体 (G L P 1 R) アゴニストの両方を含む組成物を用いて実施される、請求項 4 3 に記載の方法。

10

【請求項 4 5】

前記 G L P 1 R アゴニストが、G L P 1 類似体、エクステンジン-4、リラグルチド、リキシセナチド、セマグルチド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記膵臓ベータ細胞の集団を、ジペプチジルペプチダーゼ I V (D P P 4) 阻害剤と接触させる工程をさらに含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記化合物及び前記ジペプチジルペプチダーゼ I V (D P P 4) 阻害剤の両方を含む組成物を用いて実施される、請求項 4 6 に記載の方法。

20

【請求項 4 8】

前記 D P P 4 阻害剤が、シタグリプチン、ビルダグリプチン、サクサグリプチン、アログリプチン、テネリグリプチン、及びアナグリプチンからなる群から選択される、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

エキスビボで実施される、請求項 3 7 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

インビボで実施される、請求項 3 7 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記膵臓ベータ細胞が、初代ヒト膵臓ベータ細胞である、請求項 3 7 ~ 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 5 2】

前記接触させる工程が、ベータ細胞死または D N A 損傷を誘導しない、請求項 3 7 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記接触させる工程が、ベータ細胞分化を誘導する、請求項 3 7 ~ 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記接触させる工程が、グルコース刺激インスリン分泌を増加させる、請求項 3 7 ~ 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 5 5】

請求項 1 に記載の化合物と、担体とを含む、組成物。

【請求項 5 6】

形質転換成長因子ベータ (T G F β) スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤をさらに含む、請求項 5 5 に記載の組成物。

【請求項 5 7】

グルカゴン様ペプチド-1 受容体 (G L P 1 R) アゴニストをさらに含む、請求項 5 5 に記載の組成物。

【請求項 5 8】

50

ジペプチジルペプチダーゼ I V (DPP4) 阻害剤をさらに含む、請求項 55 に記載の組成物。

【請求項 59】

前記担体が、薬学的に許容される担体である、請求項 55～58 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 60】

不十分なインスリン分泌に関連する状態について対象を治療する方法であって、

不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態の治療を必要とする対象に、前記状態について前記対象を治療するのに有効な条件下で、請求項 1 に記載の化合物を投与する工程を含む、前記方法。

10

【請求項 61】

形質転換成長因子ベータ (TGF β) スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤を投与する工程をさらに含む、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

グルカゴン様ペプチド-1 受容体 (GLP1R) アゴニストを投与する工程をさらに含む、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 63】

ジペプチジルペプチダーゼ I V (DPP4) 阻害剤を投与する工程をさらに含む、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 64】

前記投与する工程が、前記対象における膵臓ベータ細胞質量を増加させるのに有効な条件下で実施される、請求項 60～63 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 65】

前記対象が、I 型糖尿病 (T1D)、II 型糖尿病 (T2D)、妊娠糖尿病、先天性糖尿病、成人発症糖尿病 (MODY)、嚢胞性線維症関連糖尿病、ヘモクロマトーシス関連糖尿病、薬物誘発性糖尿病、または単一遺伝子糖尿病のうちの 1 つ以上を有すると診断されている、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 66】

前記対象が、代謝症候群またはインスリン抵抗性を有すると診断されている、請求項 60 に記載の方法。

30

【請求項 67】

前記対象が、膵切除、膵臓移植、または膵島移植を受けたことがある、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 68】

前記投与する工程が、経口、経皮、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、または腹腔内で実施される、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 69】

前記対象が、哺乳動物対象である、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 70】

前記対象が、ヒト対象である、請求項 60 に記載の方法。

40

【請求項 71】

神経障害について対象を治療する方法であって、

神経障害の治療を必要とする対象に、前記状態について前記対象を治療するのに有効な条件下で、請求項 1 に記載の化合物を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 72】

前記対象が、糖尿病、ダウン症候群、または神経変性疾患のうちの 1 つ以上を有すると診断されている、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 73】

前記投与する工程が、経口、経皮、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、または腹腔内で実施される、請求項 71 に記載の方法。

50

【請求項 7 4】

前記対象が、哺乳動物対象である、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記対象が、ヒト対象である、請求項 7 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2018年3月20日に出願された米国仮特許出願第62/645,560号の優先権利益を主張するものであり、その全体において参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0002】

この発明は、国立衛生研究所により付与された助成金番号R01 DK105015の下、政府の支援を受けて行われた。政府は、本発明においてある特定の権利を有する。

【0003】

分野

本開示は、キナーゼ阻害剤化合物及び組成物ならびにそれらの使用方法に関する。

【背景技術】

【0004】

背景

二重特異性チロシン調節キナーゼ（「DYRK」）は、CDK様キナーゼ（CLK）、グリコーゲンシンターゼキナーゼ3（GSK3）、サイクリン依存性キナーゼ（CDK）、及びマイトジェン活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）を含む真核生物タンパク質キナーゼのCMCGファミリーに属する。DYRKファミリータンパク質は、活性化ループ内の保存されたチロシン残基の自己リン酸化によって自己活性化し、その後、セリン及びスレオニン残基上でのみ基質をリン酸化する（Lochhead et al., "Activation-Loop Autophosphorylation is Mediated by a Novel Transitional Intermediate Form of DYRKs," Cell 121(6):925-936 (2005)、Walte et al., "Mechanism of Dual Specificity Kinase Activity of DYRK1A," FEBS J. 280(18):4495-4511 (2013)、及びBecker et al., "Activation, Regulation, and Inhibition of DYRK1A," FEBS J. 278(2):246-256 (2011)）。DYRKファミリーは、1A、1B、2、3、及び4を含む5つのサブタイプを有する。それらの中でも、DYRK1Aは、最も広く研究されているサブタイプである。DYRK1Aは普遍的に発現し、脳の発達及び機能（Becker et al., "DYRK1A: A Potential Drug Target for Multiple Down Syndrome Neuropathologies," CNS Neurol. Disord.: Drug Targets 13(1):26-33 (2014)）、神経変性疾患（Wegiel et al., "The Role of DYRK1A in Neurodegenerative Diseases," FEBS J. 278(2):236-245 (2011)）及びSmith et al., "Recent Advances in the Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Selective DYRK1A Inhibitors: A New Avenue for a Disease Modifying Treatment of Alzheimer's?", ACS Chem. Neurosci. 3(11):857-872 (2012)）、腫瘍形成、アポトーシス（Ionescu et al., "DYRK1A Kinase Inhibitors With Emphasis on Cancer," Mini-Rev. Med. Chem. 12(13):1315-1329 (2012)）及びFer

20

30

40

50

nandez-Martinez et al., "DYRK1A: The Double-Edged Kinase as a Protagonist in Cell Growth and Tumorigenesis," *Mol. Cell. Oncol.* 2 (1): e970048 (2015))、ならびにヒト膵臓β細胞増殖 (Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell Replication," *Nat. Med.* 21 (4): 383-388 (2015)、Shen et al., "Inhibition of DYRK1A and GSK3B Induces Human β-cell Proliferation," *Nat. Commun.* 6: 8372 (2015)、Rachdi et al., "Dyrk1A Induces Pancreatic β Cell Mass Expansion and Improves Glucose Tolerance," *Cell Cycle* 13 (14): 2221-2229 (2014)、及びDirice et al., "Inhibition of DYRK1A Stimulates Human Beta-Cell Proliferation," *Diabetes* 65: (6): 1660-1671 (2016))において重要な役割を果たすことが示されている。

【0005】

胎児、出生後生活の間、ならびに成人におけるDYRK1Aの制御された発現は、正常な神経発達及び脳機能に不可欠である。DYRK1Aは、最も一般的かつ頻繁なヒト遺伝性障害のうちの1つであるダウン症候群 (DS) の病因において重要な役割を有するゲノム領域である、ヒト染色体21のダウン症候群責任領域 (DSCR) に位置する (Becker et al., "Activation, Regulation, and Inhibition of DYRK1A," *FEBS J.* 278 (2): 246-256 (2011) 及びBecker et al., "Structural and Functional Characteristics of Dyrk, a Novel Subfamily of Protein Kinases With Dual Specificity," *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 62: 1-17 (1999))。マウス及びショウジョウバエモデルにおけるDYRK1Aの過剰発現は、DSに関連する神経発達異常を模倣する (Becker et al., "DYRK1A: A Potential Drug Target for Multiple Down Syndrome Neuropathologies," *CNS Neurol. Disord.: Drug Targets* 13 (1): 26-33 (2014)、Wegiel et al., "The Role of DYRK1A in Neurodegenerative Diseases," *FEBS J.* 278 (2): 236-245 (2011)、Park et al., "Function and Regulation of Dyrk1A: Towards Understanding Down Syndrome," *Cell. Mol. Life Sci.* 66 (20): 3235-3240 (2009)、及びOgawa et al., "Development of a Novel Selective Inhibitor of the Down Syndrome-Related Kinase Dyrk1A," *Nat. Commun.* 1: Article Number 86 (2010))。最近の証拠はまた、DYRK1Aを、アルツハイマー病 (AD)、レビー小体型認知症、及びパーキンソン病のタウ機能障害及びタウ病理に関連付けた (Wegiel et al., "The Role of DYRK1A in Neurodegenerative Diseases," *FEBS J.* 278 (2): 236-245 (2011)、Smith et al., "Recent Advances in the Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Selective DYRK1A Inhibi

tors: A New Avenue for a Disease Modifying Treatment of Alzheimer's?, "ACS Chem. Neurosci. 3 (11): 857-872 (2012)、及び Stotani et al., "DYRK1A Inhibition as Potential Treatment for Alzheimer's Disease, "Future Med. Chem. 8 (6): 681-696 (2016))。

【0006】

DYRK1Aは、卵巣癌、結腸癌、肺癌、及び膵臓癌などの様々な腫瘍において過剰発現されることが報告されており、腫瘍形成及び制御されない細胞増殖におけるその役割を示している (Ionescu et al., "DYRK1A Kinase Inhibitors With Emphasis on Cancer, "Mini-Rev. Med. Chem. 12 (13): 1315-1329 (2012) 及び Fernandez-Martinez et al., "DYRK1A: The Double-Edged Kinase as a Protagonist in Cell Growth and Tumorigenesis, "Mol. Cell. Oncol. 2 (1): e970048 (2015))。DYRK1Aの阻害は、膠芽腫におけるEGFRの不安定化及びEGFR依存性腫瘍の成長の低減につながる (Pozo et al., "Inhibition of DYRK1A Destabilizes EGFR and Reduces EGFR-Dependent Glioblastoma Growth, "J. Clin. Invest. 123 (6): 2475-2487 (2013))。また、DYRK1A阻害は、カスパーゼ9の活性化を誘導し、これにより、特定のがん細胞型で大規模なアポトーシスが生じる (Seifert et al., "DYRK1A Phosphorylates Caspase 9 at an Inhibitory Site and is Potently Inhibited in Human Cells by Harmine, "FEBS J. 275 (24): 6268-6280 (2008))。

【0007】

がん細胞におけるその役割とは対照的に、DYRK1Aの阻害は、ヒトβ細胞の増殖を駆動し、1型及び2型糖尿病におけるβ細胞再生のための、可能性のある治療標的となることが示されている (Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell Replication, "Nat. Med. 21 (4): 383-388 (2015)、Shen et al., "Inhibition of DYRK1A and GSK3B Induces Human β-cell Proliferation, "Nat. Commun. 6: 8372 (2015)、Rachdi et al., "Dyrk1A Induces Pancreatic β Cell Mass Expansion and Improves Glucose Tolerance, "Cell Cycle 13 (14): 2221-2229 (2014)、及び Dirice et al., "Inhibition of DYRK1A Stimulates Human Beta-cell Proliferation, "Diabetes 65: (6): 1660-1671 (2016))。DYRK1A阻害は、転写因子の活性化T細胞 (NFAT) ファミリーの核因子の核への転座を誘導することによって、β細胞の増殖を駆動し、後にヒトβ細胞の増殖を活性化する遺伝子のプロモーターへのアクセスを可能にすることが提案されている (Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell Replication, "Nat. Med. 21 (4): 383-388 (2015) 及び Rachdi et al., "D

yrk1A Induces Pancreatic β Cell Mass Expansion and Improves Glucose Tolerance, "Cell Cycle 13(14):2221-2229(2014))。

【0008】

神経変性疾患、がん、及び糖尿病へのその関与のため、DYRK1Aは、可能性のある治療標的としてますます関心を集めている。疾患におけるその根本的な役割を理解するだけでなく、新規のDYRK1A阻害剤を特定するために、相当な研究が行われている (Becker et al., "Activation, Regulation, and Inhibition of DYRK1A, "FEBS J. 278(2):246-256(2011)、Becker et al., "DYRK1A: A Potent 10
ial Drug Target for Multiple Down Syndrome Neuropathologies, "CNS Neurol. Disord.: Drug Targets 13(1):26-33(2014)、Wegiel et al., "The Role of DYRK1A in Neurodegenerative Diseases, "FEBS J. 278(2):236-245(2011)、Smith et al., "Recent Advances in the Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Selective DYRK1A Inhibitors: A New Avenue for a Disease Modifying Treatment of Alzheimer's?, "ACS Chem. Neurosci. 3(11):857-872(2012)、Ionescu et al., "DYRK1A Kinase Inhibitors with Emphasis on Cancer, "Mini-Rev. Med. Chem. 12(13):1315-1329(2012)、Fernandez-Martinez et al., "DYRK1A: The Double-Edged Kinase as a Protagonist in Cell Growth and Tumorigenesis, "Mol. Cell Oncol. 2(1):e970048(2015)、Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell 20
Replication, "Nat. Med. 21(4):383-388(2015)、Shen et al., "Inhibition of DYRK1A and GSK3B Induces Human β -cell Proliferation, "Nat. Commun. 6:8372(2015)、及びDirice et al., "Inhibition of DYRK1A Stimulates Human Beta-cell Proliferation, "Diabetes 65:(6):1660-1671(2016))。

【0009】

いくつかのDYRK1A阻害剤が、特定、合成、及び特徴付けされている。ハルミンとは別に、DYRK1A及び他のキナーゼを阻害することが示されている他の天然生成物は 40
、EGCgならびに他のフラバン-3-オール (Guedj et al., "Green Tea Polyphenols Rescue of Brain Defects Induced by Overexpression of DYRK1A, "PLOS One 4(2):e4606(2009)及びBain et al., "The Specificities of Protein Kinase Inhibitors: An Update, "Biochem. J. 371(1):199-204(2003))、ロイセチン (leucettines) (Tahtouh et al., "Selectivity, Cocrystal Structures, and Neuroprotective Properties of Leucettines, a Family of Protein Kinase Inhibitors 50

Derived from the Marine Sponge Alkaloid Leucettamine B, "J. Med. Chem. 55 (21): 9312-9330 (2012) 及び Naert et al., "Leucettine L41, a DYRK1A-preferential DYRKs/CLKs Inhibitor, Prevents Memory Impairments and Neurotoxicity Induced by Oligomeric A β 25-35 Peptide Administration in Mice, "Eur. Neuropharmacol. 25 (11): 2170-2182 (2015))、キナリザリン (Cozza et al., "Quinalizarin as a Potent, Selective and Cell-permeable Inhibitor of Protein Kinase CK2, "Biochem. J. 421 (3): 387-395 (2009))、ペルトギノイドアカニロール (peltogynoids Acanilol) A及びB (Ahmadu et al., "Two New Peltogynoids from Acacia nilotica Delile with Kinase Inhibitory Activity, "Planta Med. 76 (5): 458-460 (2010))、ベンゾクマリン (dNBC) (Sarno et al., "Structural Features Underlying the Selectivity of the Kinase Inhibitors NBC and dNBC: Role of a Nitro Group that Discriminates Between CK2 and DYRK1A, "Cell. Mol. Life Sci. 69 (3): 449-460 (2012))、ならびにインドロカルバゾール (スタロスボリン、レベッカマイシン、及びそれらの類似体) (Sanchez et al., "Generation of Potent and Selective Kinase Inhibitors by Combinatorial Biosynthesis of Glycosylated Indolocarbazoles, "Chem. Commun. 27: 4118-4120 (2009)) である。小分子薬物の発見の試みから特定された他の骨格の中でも、INDY (Ogawa et al., "Development of a Novel Selective Inhibitor of the Down Syndrome-Related Kinase Dyrk1A, "Nat. Commun. 1: Article Number 86 (2010))、DANDY (Gourdain et al., "Development of DANDYs, New 3, 5-Diaryl-7-Azaindoles Demonstrating Potent DYRK1A Kinase Inhibitory Activity, "J. Med. Chem. 56 (23): 9569-9585 (2013))、FINDY (Kii et al., "Selective Inhibition of the Kinase DYRK1A by Targeting its Folding Process, "Nat. Commun. 7: 11391 (2016))、ピラゾリジンジオン (Koo et al., "QSAR Analysis of Pyrazolidine-3, 5-Diones Derivatives as Dyrk1A Inhibitors, "Bioorg. Med. Chem. Lett. 19 (8): 2324-2328 (2009)、Kim et al., "Putative Therapeutic Agents for the Learning and Memory Deficits of People with Down Syndrome, "Bioorg. Med. Chem. Lett. 16 (14): 3772-3776 (2006))、アミノキナゾリン (Rosenthal et al., "Potent and Selective Small Molecule Inhibitors of Specific Isoforms of Cdc2-Like Kinases (Clk) 及び Dual Specificity Tyrosine-Phosphorylation-Regulated Kinases (Dyrk), "Bioo

rg. Med. Chem. Lett. 21 (10) : 3152-3158 (2011))、メリオリン (meriolins) (Giraud et al., "Synthesis, Protein Kinase Inhibitory Potencies, and In Vitro Antiproliferative Activities of Meridianin Derivatives," J. Med. Chem. 54 (13) : 4474-4489 (2011)、Echalier et al., "Meriolins (3-(Pyrimidin-4-yl)-7-Azaindoles) : Synthesis, Kinase Inhibitory Activity, Cellular Effects, and Structure of a CDK2/Cyclin A/Meriolin Complex," J. Med. Chem. 51 (4) : 737-751 (2008)、ならびに Akue-Gedu et al., "Synthesis and Biological Activities of Aminopyrimidyl-indoles Structurally Related to Meridianins," Bioorg. Med. Chem. 17 (13) : 4420-4424 (2009))、ピリジン及びピラジン (Kassis et al., "Synthesis and Biological Evaluation of New 3-(6-hydroxyindol-2-yl)-5-(Phenyl) Pyridine or Pyrazine V-Shaped Molecules as Kinase Inhibitors and Cytotoxic Agents," Eur. J. Med. Chem. 46 (11) : 5416-5434 (2011))、クロメノイドール (chromenoidoles) (Neagoie et al., "Synthesis of Chromeno [3, 4-b] indoles as Lamellarin D Analogues: A Novel DYRK1A Inhibitor Class," Eur. J. Med. Chem. 49 : 379-396 (2012))、11H-インドロ [3, 2-c] キノリン-6-カルボン酸 (Falke et al., "10-Iodo-11H-Indolo [3, 2-c] Quinoline-6-Carboxylic Acids are Selective Inhibitors of DYRK1A," J. Med. Chem. 58 (7) : 3131-3143 (2015))、チアゾロ [5, 4-f] キナゾリン (EHT 5372) (Foucourt et al., "Design and Synthesis of Thiazolo [5, 4-f] Quinazolines as DYRK1A Inhibitors, Part I," Molecules 19 (10) : 15546-15571 (2014) 及び Coutadeur et al., "A Novel DYRK1A (Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation-Regulated Kinase 1A) Inhibitor for the Treatment of Alzheimer's Disease: Effect on Tau and Amyloid Pathologies In Vitro," J. Neurochem. 133 (3) : 440-451 (2015))、ならびに 5-ヨードツベルシジン (Dirice et al., "Inhibition of DYRK1A Stimulates Human Beta-cell Proliferation," Diabetes 65 : (6) : 1660-1671 (2016) 及び Annes et al., "Adenosine Kinase Inhibition Selectively Promotes Rodent and Porcine Islet β -cell Replication," Proc. Natl. Acad. Sci. 109 (10) : 3915-3920 (2012)) は、異なる程度のキナーゼ選択性を有する強力な DYRK1A 活性を示した。これらの化合物のほとんどは、DYRK1A の非選択的阻害剤であり、CNS 活性またはアポトーシスなどの薬理的副作用を呈する。特に、ハルミンは、セロトニン、トリプタミン、及び他の受容体に対する親和性により、CNS 刺激剤として作用する幻覚特性を呈することが知られている (Brierley et al., "Developmen

10

20

30

40

50

ts in Harmine Pharmacology—Implications for Ayahuasca Use and Drug-Dependence Treatment, ” *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 39 (2) : 263–272 (2012) 及び Airaksinen et al., “Tremorigenic Effect and Inhibition of Tryptamine and Serotonin Receptor Binding by β -Carbolines, ” *Pharmacol. Toxicol. (Copenhagen)* 60 (1), 5–8 (1987))。研究により、興奮、振戦、痙攣、及び不安を含む、ハルミンの複数の精神活性作用が明らかになった (Fuentes et al., “Central Effects of Harmine, Harmaline, and Related β -Carbolines, ” *Neuropharmacology* 10 (1) : 15–23 (1971))。

10

【0010】

全ての DYRK1A 阻害剤の中でも、ハルミン及びその類似体 (β -カルボリン) は、最も一般的に研究されており、依然としてこれまでに包含された最も強力で経口的に生物学的利用可能なクラスの阻害剤である (Becker et al., “Activation, Regulation, and Inhibition of DYRK1A, ” *FEBS J.* 278 (2) : 246–256 (2011) 及び Smith et al., “Recent Advances in the Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Selective DYRK1A Inhibitors: A New Avenue for a Disease Modifying Treatment of Alzheimer’s?, ” *ACS Chem. Neurosci.* 3 (11) : 857–872 (2012))。ハルミン及びいくつかの関連類似体は、タウタンパク質の DYRK1A 媒介リン酸化を阻害することが見出されており、これは AD 及び DS に関連すると考えられている (Frost et al., “ β -Carboline Compounds, Including Harmine, Inhibit DYRK1A and Tau Phosphorylation at Multiple Alzheimer’s Disease-Related Sites, ” *PLoS One* 6 : 5 e19264 (2011))。

20

30

【0011】

ハルミンはまた、がん治療に対しても重大な関心を集めている (Chen et al., “Antitumor and Neurotoxic Effects of Novel Harmine Derivatives and Structure-Activity Relationship Analysis, ” *Int. J. Cancer* 114 (5) : 675–682 (2005)、Ishida et al., “Antitumor Agents 201.1 Cytotoxicity of Harmine and β -carboline Analogs, ” *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9 (23) : 3319–3324 (1999)、Cao et al., “Synthesis, Acute Toxicities, and Antitumor Effects of Novel 9-Substituted β -Carboline Derivatives, ” *Bioorg. Med. Chem.* 12 (17) : 4613–4623 (2004)、Cao et al., “Synthesis and Structure-Activity Relationship of Harmine Derivatives as Potential Antitumor Agents, ” *Eur. J. Med. Chem.* 60 : 135–143 (2013)、及び Zhang et al., “Synthesis and Mechanisms of Action of Novel Harmine Derivatives as Potential Antitumor Agents, ” *Sci. Rep.* 6 : 33204 (2016))。体系的な構造修飾を使用して、いくつか

40

50

のハルミン類似体が、トポイソメラーゼⅠの阻害 (Cao et al., "DNA Binding Properties of 9-Substituted Harmine Derivatives," Biochem. Biophys. Res. Commun. 338 (3):1557-1563 (2005) 及び Sobhani et al., "An In Vitro Evaluation of Human DNA Topoisomerase I Inhibition by Peganum harmala L. Seeds Extract and its β -Carboline Alkaloids," J. Pharm. Pharm. Sci. 5 (1):18-22 (2002))、CDKの阻害 (Song et al., "Specific Inhibition of Cyclin-Dependent Kinases and Cell Proliferation by Harmine," Biochem. Biophys. Res. Commun. 317 (1):128-132 (2004))、細胞アポトーシスの誘導 (Cao et al., "Harmine Induces Apoptosis in HepG2 Cells via Mitochondrial Signaling Pathway," Hepatobiliary Pancreatic Dis. Int. 10 (6):599-604 (2011))、及び DNA インターカレーション (Taira et al., "Intercalation of Six β -Carboline Derivatives into DNA," Jpn. J. Toxicol. Environ. Health 43 (2):83-91 (1997)) を含む複数の作用機序を通じて、インビトロ及びインビボで強力な抗腫瘍活性を示すことが特定されている。

【0012】

ハルミンはまた、ヒト β 細胞増殖の約 10~15 倍の誘導を引き起こす新しいクラスの化合物として特定され、それは治療上のヒト β 細胞拡大の関連範囲内である (Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell Replication," Nat. Med. 21 (4):383-388 (2015))。DYRK1A は、おそらくヒト β 細胞増殖及び分化の媒介因子として転写因子の NFAT ファミリーを通じて働く、遺伝子サイレンシング及び他の研究により、ハルミンの可能性の高い標的として定義された (Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell Replication," Nat. Med. 21 (4):383-388 (2015))。3 匹の異なるマウス、ラット、及びヒト膵島移植モデルを使用すると、ハルミンは、 β 細胞増殖を誘導し、膵島の質量を増加させ、インビボでマウス及びラットにおいて血糖コントロールを改善することができることも示された (Wang et al., "A High-Throughput Chemical Screen Reveals That Harmine-Mediated Inhibition of DYRK1A Increases Human Pancreatic Beta Cell Replication," Nat. Med. 21 (4):383-388 (2015))。

【0013】

DYRK1A 及び NFAT は、 β 細胞外で広く発現されるため、ハルミン類似体は、オフターゲット効果を有し、CNS 及び抗腫瘍活性を含む薬理的副作用につながり、それによって、その治療上の有用性及び糖尿病のような慢性疾患のための医薬品開発の可能性が制限されることが知られている。したがって、キナーゼ及び他の受容体の両方でオフターゲット活性が制限された選択的ハルミン類似体を特定する戦略を開発する差し迫った必要性がある。 β 細胞への特定の標的化送達には、最適化された選択的ハルミン類似体が必

要である。

【0014】

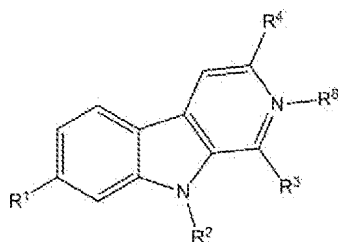
本開示は、当該技術分野における欠陥を克服することを対象とする。

【発明の概要】

【0015】

概要

本開示の一態様は、以下の構造を有する式 (I) の化合物、



(I)

またはその立体異性体、薬学的に許容される塩、酸化物、もしくは溶媒和物に関し、式中、

R¹ は、Y、-NHR⁵、-C(O)NHCH(CH₃)₂、または-O(CH₂)₂OR⁶で置換されていてもよい分岐または非分岐C₁₋₆アルコキシであり、アルコキシは、ハロゲン化または重水素化されていてもよく、

R² は、H、または分岐もしくは非分岐C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、またはC₂₋₆アルキニルであり、分岐もしくは非分岐C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、またはC₂₋₆アルキニルは、Zで置換されていてもよく、

R³ が、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、分岐もしくは非分岐C₁₋₆ヒドロキシアルキル、-C(O)CH₃、-OH、またはR⁷で置換されていてもよいヘテロシクリルであり、

R⁴ が、H、-OH、分岐もしくは非分岐C₁₋₆ヒドロキシアルキル、または-C(O)CH₃であり、

R⁵ が、H、-C(O)CH₃、または-C(O)Arであり、

R⁶ が、分岐もしくは非分岐C₁₋₆アルキル、-(CH₂)₂NHBOc、-(CH₂)₂NH(O)CH₃、または-(CH₂)₂NH₃Clであり、

R⁷ が、-ArXまたは-CH₂ArXであり、

R⁸ が任意であり、存在する場合はOであり、

Xが、Hまたはハロゲンであり、

Yが、-CO₂CH₃、-NHBOc、-C(O)NH₂、-CO₂H、-NH₃Cl、-NHC(O)CH₃であり、

Zは、-CO₂CH₃、-CO₂H、-C(O)NH₂、またはフラン、チオフェン、ピロール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、イソキサゾール、イソチアゾール、1,2,3-オキサジアゾール、1,2,4-オキサジアゾール、1,2,3-チアジアゾール、1,2,3-トリアゾール、1,2,4-トリアゾール、テトラゾール、及び1,2,3,4-オキサトリアゾールからなる群から選択されるアミノ置換ヘテロアリールであり、

以下：

R¹ が、-OCH₃である場合、R³ は、-CH₃であり、R⁴ は、Hであり、R² は、-(CH₂)₂CO₂CH₃、-(CH₂)₂CO₂H、または-(CH₂)₂C(O)NH₂であることはできず、

R¹ が、-OCH₃である場合、R² はHであり、R⁴ は、Hであり、R³ は、-CH₂OHまたはClであることはできず、

R¹ が、-OCH₃である場合、R² は、Hであり、R³ は、-CH₃であり、R⁴ は、Hであることはできない

10

20

30

40

50

ということを条件とする。

【0016】

本開示の別の態様は、細胞における二重特異性チロシンリン酸化調節キナーゼ1A（DYRK1A）の活性を阻害する方法に関する。この方法は、細胞におけるDYRK1Aの活性を阻害するのに有効な条件下で、細胞を式（I）の化合物と接触させることを含む。

【0017】

さらなる態様は、膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させる方法に関する。この方法は、膵臓ベータ細胞の集団を、膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させるのに有効な条件下で、式（I）の化合物と接触させることを含む。

【0018】

別の態様は、式（I）の化合物及び担体を含む組成物に関する。

【0019】

追加の態様は、不十分なインスリン分泌に関連する状態について対象を治療する方法に関する。この方法は、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態の治療を必要とする対象に、状態について対象を治療するのに有効な条件下で、本明細書に記載される化合物または組成物を投与することを含む。

【0020】

さらなる態様は、神経障害について対象を治療する方法に関する。この方法は、神経障害の治療を必要とする対象に、状態について対象を治療するのに有効な条件下で、式（I）の化合物を投与することを含む。

【0021】

強力で選択的なDYRK1A阻害剤の発見に向けて努力がなされているが、それらのほとんどは依然としてリード同定の初期段階にある。

【0022】

非常に強力で新規のクラスのハルミンベースのDYRK1A阻害剤の同定及び評価が本明細書の以下に記載される。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1】1-アミノハルミン類似体化合物の合成を示す概略図である。試薬及び条件：（a） NaNO_2 （1.03当量）、 HCl 、 10°C 、1時間；（b）2-オキソペリジン-3-カルボン酸エチル（1.05当量）、 KOH （1.2当量）、水、 150°C 、5時間；（c）ギ酸、還流、1時間；（d）DDQ（1.2当量）、1,4-ジオキサン、 0°C ～室温、1時間、23%（4ステップ）；（e） POCl_3 、 150°C 、24時間、79%；（f） $\text{R}_1\text{R}_2\text{NH}$ （10当量）、 170°C 、24時間、43～87%（1-6b～1-6jの場合）；（g） Ruphos （1mol%）、 Ruphos Precat （1mol%）、アゼチジン（1.2当量）、 LiHMDS （THF中1M、2.4当量）、 90°C 、96時間、12%（1-6aの場合）。

【図2】1-ヒドロキシメチル及び3-ヒドロキシメチルハルミン類似体化合物の合成を示す概略図である。試薬及び条件：（a） $m\text{-CPBA}$ （3当量）、 CHCl_3 、 70°C 、12時間、47%；（b） TFA 無水物（2.5当量）、 CH_2Cl_2 、還流、一晚、49%；（c） $\text{N}_2\text{H}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$ （1当量）、 MeOH 、 CHCl_3 、室温、24時間、81%；（d）2-3（1当量）、 K_2CO_3 （5.5当量）、 DCM 、室温、24時間、34%；（e）垂鉛ダスト、 AcOH 、室温、一晚、96%；（f）アセトアルデヒド（1当量）、 TFA （5%）、 DCM 、室温、一晚；（g） S （2当量）、キシレン、還流、一晚、75%；（h） LiAlH_4 （2当量）、THF、室温、12時間、91%；（i） Et_3SiH （16当量）、 PdCl_2 （0.2当量）、 EtOH 、 90°C 、5時間、27%。

【図3】1-（1-ヒドロキシ）エチル及び1-アセチルハルミン類似体化合物の合成を示す概略図である。試薬及び条件：（a（i））ピルビン酸アルデヒド（1.2当量）、 TFA （5%）、 DCM 、室温、12時間、（a（ii）） KMnO_4 （4当量）、TH

10

20

30

40

50

F、室温、12時間、16%（2ステップ）；（b） NaBH_4 （2当量）、 MeOH 、室温、12時間、49%。

【図4】図4A～図4Fは、ヒトベータ細胞の増殖に対する本開示のハルミン類似体化合物の効果を示す。図4Aは、 $10\text{ }\mu\text{M}$ でのヒトベータ細胞の増殖に対するハルミン類似体の初期スクリーニングの結果を示すグラフである。 DMSO は陰性対照として使用され、ハルミンは陽性対照として使用された（ $n=4$ ）。図4Bは、類似体2-8により誘導された Ki-67 及びインスリン二重陽性細胞の図4Aからの代表的な例を示す画像である。図4C～Dは、ヒト β 細胞における化合物2-2及び化合物2-8の用量応答曲線の結果を示すグラフである（各用量につき $n=4$ ）。図4Eは、ハルミン、化合物2-2、及び化合物2-8で処理された R7T1 げっ歯類ベータ細胞株における Ad.NFATC1-GFP の核周波数の定量化を示すグラフである（ $10\text{ }\mu\text{M}$ 、24時間；各化合物につき $n=3$ ）。図4Fは、 R7T1 げっ歯類ベータ細胞株におけるアデノウイルス NFATC1-GFP の核頻度を増加させる化合物2-8（ $10\text{ }\mu\text{M}$ 、24時間）の代表的な例を示す一対の画像である。関連する全てのパネルで、エラーバーは標準誤差* $p<0.05$ を示す。各グラフで最低1,000個のベータ細胞がカウントされた。

【図5-1】7-置換ハルミン類似体化合物の合成を示す概略図である。試薬及び条件：（a） AcOH 、48% HBr 、還流、12時間；（b） Cs_2CO_3 （1.5当量）、 RBr （1.5当量）、 DMF 、 50°C 、12時間；（c） MeOH 中の7 N NH_3 （20当量）、 90°C 、12時間；（d） TFA/DCM （1：1）、室温、12時間；（e）ジオキサン中の4 N HCl 、ジオキサン、室温、12時間；（f）無水酢酸（1当量）、 Et_3N （2.2当量）、 DCM 、室温、12時間；（g） TfO_2 （1.2当量）、ピリジン、 DCM 、 0°C ～室温、12時間；（h） NaNO_2 （2当量）、 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ （5 $\text{mol}\%$ ）、 BrettPhos （12 $\text{mol}\%$ ）、 TDA （5 $\text{mol}\%$ ）、 $t\text{-BuOH}$ 、 150°C 、24時間；（i）10重量% Pd/C 、 N_2H_4 、 H_2O （20当量）、 MeOH 、還流、2時間；（j）塩化ベンゾイル（1.05当量）、 Et_3N （2当量）、 THF 、 0°C ～室温、12時間；（k）無水酢酸（1.2当量）、 Et_3N （2当量）、 THF 、室温、24時間；（l）イソプロピルイソシアネート（1.1当量）、 DMF 、室温、12時間。

【図5-2】図5-1の続きの図である。

【図6-1】7-置換ハルミン類似体化合物の合成を示す概略図である。試薬及び条件：（a） NaH （2当量）、 RBr （2当量）、 DMF 、 50°C 、12時間；（b） MeOH 中の7 N NH_3 （20当量）、 90°C 、12時間；（c） TFA/DCM （1：1）、室温、12時間；（d） Et_3SiH （8当量）、 $\text{Pd}-\text{C}$ 、 MeOH 、還流；（e）ヒドラジン-水和物（20当量）、 MeOH 、還流、3時間；（f）無水酢酸（1当量）、 Et_3N （2.2当量）、 DCM 、室温、12時間；（g）（i）ギ酸エチル（0.5当量）、 EtOH 、マイクロ波、 150°C 、30分；（ii） LiAlH_4 （3当量）、 THF 、還流、4時間；（h）ホルムアルデヒド（2.5当量）、 NaCNBH_3 （5当量）、 EtOH 、室温、2時間；（i） HATU （1.1当量）、 DIPEA （2当量）、 RNH_2 （1当量）、 DMF 、室温、12時間；（j） $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ （1.5当量）、 Et_3N （1.5当量）、 EtOH 、還流、12時間；（k） CCl_3COCl （1.2当量）、ピリジン（4当量）、トルエン、 85°C 、24時間；（l） MeOH 中の7 N NH_3 、室温、12時間；（m）（i） EtMgBr （2当量）、 $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4$ （1.1当量）、 THF 、室温、1時間；（ii） $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ （2当量）、室温、1時間；（n） $\text{AcOH}:\text{THF}:\text{H}_2\text{O}$ （16：4：4 mL ）、還流、3時間；（o）（i） TMSCN （1.2当量）、 ZnI_2 （0.05当量）、 THF 、還流、12時間；（ii） MeOH 中の7 N NH_3 、室温、12時間；（p）1 N NaOH 、 H_2O_2 （35%）、 MeOH 、室温、1時間；（q）（i） TMSCF_3 （1.2当量）、 TBAF （0.01当量）、 THF 、 0°C 、室温、12時間；（ii） TBAF （0.1当量）、水（5.5当量）、 0°C 、室温、2時間；（r） Tf_2O （1.1当量）、ピリジン（2当量）、 DCM 、 -40°C ～室温、12時間；（s）アジ化ナトリウム（2当

量)、DMSO、40℃、4時間；(t) Pd-C (20mol%)、ギ酸アンモニウム (5当量)、MeOH、還流、3時間；(u) HClガス、EtOH、室温、12時間；(v) 2-オキシプロピルジアゾジメチルホスホネート (2当量)、MeOH/THF (1:1)、K₂CO₃ (3当量)、室温、24時間；(w) MeOCH₂CH₂N₃ (1.05当量)、CuSO₄·5H₂O (0.01当量)、アスコルビン酸ナトリウム (0.1当量)、t-BuOH/水、室温、12時間；(x) メチルプロパルギルエーテル (1当量)、CuSO₄·5H₂O (0.1当量)、アスコルビン酸ナトリウム (0.1当量)、t-BuOH/水、室温、12時間；(y) n-BuLi (1.2当量)、ZnCl₂ (1.1当量)、イソシアン酸トリクロロアセチル (1.1当量)、K₂CO₃ (1.5当量)、MeOH、THF、-20℃～室温、2時間；(z) LiAlH₄ (1.5当量)、THF、還流、6時間。

10

【図6-2】図6-1の続きの図である。

【図6-3】図6-2の続きの図である。

【図6-4】図6-3の続きの図である。

【図6-5】図6-4の続きの図である。

【図6-6】図6-5の続きの図である。

【図6-7】図6-6の続きの図である。

【図7-1】7-ジュウテロメトキシハルミン類似体の合成を示す概略図である。試薬及び条件：(a) Cs₂CO₃ (1.1当量)、CD₃I (1.1当量)、DMF、室温、12時間；(b) NaH (2当量)、4-ブロモアルキルニトリルまたは臭化プロパルギル (2当量)、DMF、50℃、12時間；(c) H₂O₂ (水中60%)、K₂CO₃ (0.15当量)、DMSO、室温、12時間；(d) NH₂OH、HCl (1.5当量)、Et₃N (1.5当量)、EtOH、還流、12時間；(e) CCl₃COCl (1.2当量)、トルエン、85℃、24時間；(f) MeOH中の7N NH₃、室温、12時間；(g) アセトアルデヒド (1当量)、TFA、DCM、室温、12時間；(h) 10%パラジウム炭素、Li₂CO₃ (2当量)、μW、150℃、10分。

20

【図7-2】図7-1の続きの図である。

【発明を実施するための形態】

【0024】

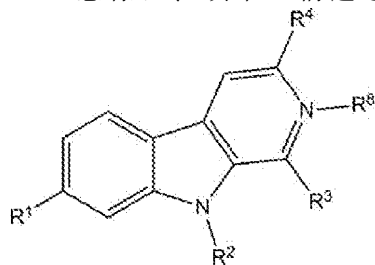
詳細な説明

30

キナーゼ阻害剤化合物及び組成物ならびにそれらの使用方法が本明細書に開示される。

【0025】

一態様は、以下の構造を有する式(I)の化合物、



(I)

40

またはその立体異性体、薬学的に許容される塩、酸化物、もしくは溶媒和物に関し、式中、

R¹は、Y、-NHR⁵、-C(O)NHCH(CH₃)₂、または-O(CH₂)₂OR⁶で置換されていてもよい分岐または非分岐C₁₋₆アルコキシであり、アルコキシは、ハロゲン化または重水素化されていてもよく、

R²は、H、または分岐もしくは非分岐C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、またはC₂₋₆アルキニルであり、分岐もしくは非分岐C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、またはC₂₋₆アルキニルは、Zで置換されていてもよく、

50

R^3 が、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、 $-C(O)CH_3$ 、 $-OH$ 、または R^7 で置換されていてもよいヘテロシクリルであり、

R^4 が、 H 、 $-OH$ 、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} ヒドロキシアルキル、または $-C(O)CH_3$ であり、

R^5 が、 H 、 $-C(O)CH_3$ 、または $-C(O)Ar$ であり、

R^6 が、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_2NHBOc$ 、 $-(CH_2)_2NH(O)CH_3$ 、または $-(CH_2)_2NH_3Cl$ であり、

R^7 が、 $-ArX$ または $-CH_2ArX$ であり、

R^8 が任意であり、存在する場合は O であり、

X が、 H またはハロゲンであり、

Y が、 $-CO_2CH_3$ 、 $-NHBOc$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-NH_3Cl$ 、 $-NHC(O)CH_3$ であり、

Z は、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2H$ 、 $-C(O)NH_2$ 、またはフラン、チオフェン、ピロール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、イソキサゾール、イソチアゾール、1, 2, 3-オキサジアゾール、1, 2, 4-オキサジアゾール、1, 2, 3-チアジアゾール、1, 2, 3-トリアゾール、1, 2, 4-トリアゾール、テトラゾール、及び 1, 2, 3, 4-オキサトリアゾールからなる群から選択されるアミノ置換ヘテロアリールであり、

以下：

R^1 が、 $-OCH_3$ である場合、 R^3 は、 $-CH_3$ であり、 R^4 は、 H であり、 R^2 は、 $-(CH_2)_2CO_2CH_3$ 、 $-(CH_2)_2CO_2H$ 、または $-(CH_2)_2C(O)NH_2$ であることはできず、

R^1 が、 $-OCH_3$ である場合、 R^2 は H であり、 R^4 は、 H であり、 R^3 は、 $-CH_2OH$ または Cl であることはできず、

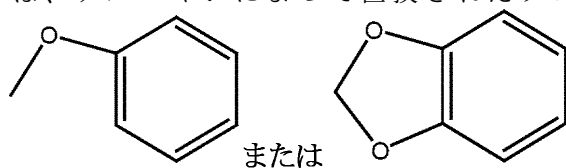
R^1 が、 $-OCH_3$ である場合、 R^2 は、 H であり、 R^3 は、 $-CH_3$ であり、 R^4 は、 H であることはできない
 ということを条件とする。

【0026】

上記及び本発明の明細書全体で使用される場合、以下の用語は、特に指定のない限り、以下の意味を有すると理解されるものとする。本明細書で特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、この技術が属する分野の当業者により一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0027】

「アルコキシ」という用語は、酸素を介して親構造に結合している、直線、分岐、または環状配置及びそれらの組み合わせの 1～6 個の炭素原子の基を意味する。例には、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、シクロプロピルオキシ、シクロヘキシルオキシなどが含まれる。アルコキシには、メチレンジオキシ及びエチレンジオキシも含まれ、各酸素原子は、メチレンジオキシまたはエチレンジオキシ基がペンダントされている原子、鎖、または環と結合し、それによって環を形成する。したがって、例えば、アルコキシによって置換されたフェニルは、例えば、



であり得る。

【0028】

「ハロゲン」という用語は、フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨードを意味する。「ハロゲン化」という用語は、ハロゲン置換基を含むことを意味する。したがって、例えば

、ハロゲン化アルコキシは、ハロゲンで置換されたアルコキシである。

【0029】

「重水素化」という用語は、化合物に含まれる水素原子のうちの1つ以上が、そのより重い安定した同位体重水素によって置き換えられていることを意味する。

【0030】

「ArX」という用語は、アリール-X、またはHもしくはハロゲンで置換されたアリール基を意味する。「アリール」という用語は、6～約19個の炭素原子、好ましくは6～約10個の炭素原子の芳香族単環式または多環式(multicyclic)(多環式(polycyclic))環系(縮合、架橋、またはスピロ環系を含む)を意味し、アリールアルキル基を含む。多環式環系の場合、環系が「アリール」として定義されるためには、環のうちの1つだけが芳香族である必要がある。アリール基の環系は、ハロゲンで任意で置換されていてもよい。代表的なアリール基には、これらに限定されないが、フェニル、ナフチル、アズレニル、フェナントレニル、アントラセニル、フルオレニル、ピレニル、トリフェニレニル、クリセニル、及びナフタセニルなどの基が挙げられる。

10

【0031】

「アルキル」という用語は、鎖中に約1～約6個の炭素原子(またはnが炭素原子の数値範囲である「C_n-C_n」で示される炭素の数)を有する、直鎖または分岐であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。分岐とは、メチル、エチル、またはプロピルなどの1つ以上の低級アルキル基が直鎖アルキル鎖に結合していることを意味する。例示的なアルキル基には、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル、及び3-ペンチルが挙げられる。

20

【0032】

「アルケニル」という用語は、炭素-炭素二重結合を含み、かつ鎖中に約2～約6個の炭素原子、または鎖中に2～約4個の炭素原子を有する直鎖もしくは分岐であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。分岐とは、メチル、エチル、またはプロピルなどの1つ以上の低級アルキル基が直鎖アルケニル鎖に結合していることを意味する。例示的なアルケニル基には、限定されないが、エテニル、プロペニル、n-ブテニル、及びi-ブテニルが挙げられる。

【0033】

「アルキニル」という用語は、炭素-炭素三重結合を含み、かつ鎖中に約2～約6個の炭素原子、または鎖中に2～約4個の炭素原子を有する直鎖もしくは分岐であり得る脂肪族炭化水素基を意味する。分岐とは、メチル、エチル、またはプロピルなどの1つ以上の低級アルキル基が直鎖アルキニル鎖に結合していることを意味する。例示的なアルキニル基には、エチニル、プロピニル、n-ブチニル、2-ブチニル、3-メチルブチニル、及びn-ペンチニルが挙げられる。

30

【0034】

「ヘテロシクリル」という用語は、炭素原子、ならびに窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～5個のヘテロ原子の安定した3～18員環(ラジカル)を指す。ヘテロシクリルは、単環式または多環式環系であり得、これには、縮合、架橋、またはスピロ環系が含まれてもよく、ヘテロシクリル中の窒素、炭素、または硫黄原子は任意で酸化されてもよく、窒素原子は、任意に四級化されてもよく、環は、部分的または完全に飽和されてもよい。そのようなヘテロシクリルの例としては、限定されないが、アゼピニル、アゾカニル、ピラニルジオキサニル、ジチアニル、1,3-ジオキサソラニル、テトラヒドロフリル、ジヒドロピロリジニル、デカヒドロイソキノリル、イミダゾリジニル、イソチアゾリジニル、イソキサゾリジニル、モルホリニル、オクタヒドロインドリル、オクタヒドロイソインドリル、2-オキサピペラジニル、2-オキサピペリジニル、2-オキサピロリジニル、2-オキサアゼピニル、オキサゾリジニル、オキシラニル、ピペリジニル、ピペラジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、チアゾリジニル、テトラヒドロピラニル、チアモルホリニル、チアモルホリニルスルホキシド、及びチアモルホリニルスルホンが挙げられる。

40

50

【0035】

「ヘテロアリアル」という用語は、約5～約14個の環原子、または約5～約10個の環原子の芳香族単環式もしくは多環式環系を意味し、そこで、環系内の原子のうちの1つ以上は、例えば、窒素、酸素、または硫黄などの炭素以外の元素（複数可）である。多環式環系の場合、環系が「ヘテロアリアル」として定義されるためには、環のうちの1つだけが芳香族である必要がある。ヘテロアリアルは、約5～6個の環原子を含み得る。ヘテロアリアルの前の接頭辞であるアザ、オキサ、チア、またはチオは、少なくとも窒素、酸素、または硫黄原子がそれぞれ環原子として存在することを意味する。ヘテロアリアルの窒素原子は、任意で、対応するN-オキシドに酸化される。代表的なヘテロアリアルには、ピリジル、2-オキソピリジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピラジニル、トリアジニル、フラニル、ピロリル、チオフエニル、ピラゾリル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、テトラゾリル、インドリル、イソインドリル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフエニル、インドリニル、2-オキソインドリニル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチオフエニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾイソキサゾリル、ベンゾイソチアゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾ[1, 3]ジオキサリル、キノリニル、イソキノリニル、キナゾリニル、シンノリニル、フタラジン、キノキサリニル、2, 3-ジヒドロベンゾ[1, 4]ジオキシニル、ベンゾ[1, 2, 3]トリアジニル、ベンゾ[1, 2, 4]トリアジニル、4H-クロメニル、インドリジニル、キノリジニル、6aH-チエノ[2, 3-d]イミダゾリル、1H-ピロロ[2, 3-b]ピリジニル、イミダゾ[1, 2-a]ピリジニル、ピラゾ[1, 5-a]ピリジニル、[1, 2, 4]トリアゾロ[4, 3-a]ピリジニル、[1, 2, 4]トリアゾロ[1, 5-a]ピリジニル、チエノ[2, 3-b]フラニル、チエノ[2, 3-b]ピリジニル、チエノ[3, 2-b]ピリジニル、フロ[2, 3-b]ピリジニル、フロ[3, 2-b]ピリジニル、チエノ[3, 2-c]ピリミジニル、フロ[3, 2-c]ピリミジニル、チエノ[2, 3-b]ピラジニル、イミダゾ[1, 2-a]ピラジニル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロイミダゾ[1, 2-a]ピラジニル、6, 7-ジヒドロ-4H-ピラゾロ[5, 1-c][1, 4]オキサジニル、2-オキソ-2, 3-ジヒドロベンゾ[d]オキサゾリル、3, 3-ジメチル-2-オキソインドリニル、2-オキソ-2, 3-ジヒドロ-1H-ピロロ[2, 3-b]ピリジニル、ベンゾ[c][1, 2, 5]オキサジアゾリル、ベンゾ[c][1, 2, 5]チアジアゾリル、3, 4-ジヒドロ-2H-ベンゾ[b][1, 4]オキサジニル、5, 6, 7, 8-テトラヒドロ-[1, 2, 4]トリアゾロ[4, 3-a]ピラジニル、[1, 2, 4]トリアゾロ[4, 3-a]ピラジニル、3-オキソ-[1, 2, 4]トリアゾロ[4, 3-a]ピリジン-2(3H)-イルなどが挙げられる。

【0036】

さらなるヘテロシクリル及びヘテロアリアルは、Katritzky et al., eds., Comprehensive Heterocyclic Chemistry: The Structure, Reactions, Synthesis and Use of Heterocyclic Compounds, Vol. 1-8, Pergamon Press, N. Y. (1984)に記載されており、その全体において参照により本明細書に組み込まれる。

【0037】

「置換または非置換」及び「置換されていてもよい」という句は、基が、基の各置換可能な原子（単一の原子上の2つ以上の置換基を含む）に置換基を有し得る（ただし必ずしもそうではない）ことを意味し、各置換基の同一性は、その他のものから独立している。

【0038】

「置換された」という用語は、指定された原子の通常の原子価を超えないという条件で、指定された原子上の1つ以上の水素が、示される基からの選択で置き換えられることを意味する。「非置換」原子は、それらの原子価によって決まる全ての水素原子を有する。

置換基がオキシ（すなわち、 $=O$ ）である場合、原子上の2つの水素が置き換えられる。しかしながら、これらの規則に対する例外は、特にN-オキシドに関して（すなわち、 R^8 がOとして存在する場合）、式（I）の化合物に存在する。置換基及び／または変数の組み合わせは、そのような組み合わせが安定した化合物をもたらす場合にのみ許容可能である。「安定した化合物」とは、反応混合物及び製剤から有効な治療薬への有用な純度の単離まで生き残るのに十分にロバストな化合物を意味する。

【0039】

「化合物」という用語及び同等の表現は、本明細書に記載される化合物を意味し、その表現には、文脈が許す限り、プロドラッグ、薬学的に許容される塩、酸化物、及び溶媒和物、例えば、水和物が含まれる。

10

【0040】

本明細書に開示される化合物は、1つ以上の不斉中心を含んでもよく、したがって、エナンチオマー、ジアステレオマー、及び他の立体異性体形態を生じ得る。各キラル中心は、絶対立体化学に関して（R）－または（S）－として定義され得る。本発明は、ラセミ形態及び光学的に純粋な形態を含む、全てのそのような可能な異性体、ならびにそれらの混合物を含むことを意味する。光学的に活性な（R）－及び（S）－、（－）－及び（＋）－、または（D）－及び（L）－異性体は、キラルシントンもしくはキラル試薬を使用して調製することができるか、または従来の技術を使用して分割することができる。全ての互変異性形態も含まれることが意図される。

【0041】

20

「化合物」の列挙は、その化合物の塩、溶媒和物、酸化物、及び包接錯体、ならびに任意の立体異性体形態、または任意の比率にあるそのような任意の形態のその化合物の混合物を含むことが意図される。したがって、いくつかの実施形態によれば、薬学的組成物、治療方法、及び化合物それ自体の文脈を含む、本明細書に記載される化合物は、塩形態として提供される。

【0042】

「溶媒和物」という用語は、好適な溶媒の分子が結晶格子に組み込まれている、固体状態の化合物を指す。治療的投与に好適な溶媒は、投与された用量で生理学的に許容可能である。治療的投与に好適な溶媒の例は、エタノール及び水である。溶媒が水である場合、溶媒和物は、水和物と称される。一般に、溶媒和物は、化合物を適切な溶媒に溶解し、冷却または貧溶媒を使用して溶媒和物を単離することにより形成される。溶媒和物は、典型的には、周囲条件下で乾燥または共沸される。

30

【0043】

包接錯体は、Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 19th Ed. 1:176-177 (1995)に記載されており、その全体において参照により本明細書に組み込まれる。最も一般的に使用される包接錯体は、シクロデキストリンを有するものであり、天然及び合成の全てのシクロデキストリン錯体は、本発明によって具体的に包含される。

【0044】

「薬学的に許容される塩」という用語は、無機酸または無機塩基ならびに有機酸及び有機塩基を含む、薬学的に許容される非毒性の酸または塩基から調製される塩を含む。

40

【0045】

「薬学的に許容される」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激性、アレルギー応答などを起こさずに、ヒト及び下等動物の細胞と接触させて使用するのに好適であり、かつ合理的な利益／リスク比と釣り合う塩を指す。

【0046】

式（I）の化合物の一実施形態では、 R^1 は、分岐または非分岐 C_{1-6} アルコキシである。例えば、限定されないが、 R^1 は、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、シクロプロピルオキシ、シクロヘキシルオキシであり得る。一実施形態では、 C_{1-6} アルコキシは、非分岐である。別の実施形態では、 C_{1-6} アルコキシは

50

、分岐である。一実施形態では、分岐または非分岐 C_{1-6} アルコキシは、本明細書で定義されるように、Yで置換されている（すなわち、 $-CO_2CH_3$ 、 $-NHBOc$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-NH_3Cl$ 、 $-NHC(O)CH_3$ ）。別の実施形態では、分岐または非分岐 C_{1-6} アルコキシは、 $-NHR^5$ 、 $-C(O)NHCH(CH_3)_2$ 、または $-O(CH_2)_2OR^6$ で置換されている。一実施形態では、アルコキシは、ハロゲン化されている。別の実施形態では、アルコキシは、重水素化されている。

【0047】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^2 は、Hである。別の実施形態では、 R^2 は、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、分岐もしくは非分岐 C_{2-6} アルケニル、または分岐もしくは非分岐 C_{2-6} アルキニルである。分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、分岐もしくは非分岐 C_{2-6} アルケニル、または分岐もしくは非分岐 C_{2-6} アルキニルは、一実施形態では、本明細書で定義されるように、Zで置換されていてもよい。

10

【0048】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^3 は、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} ヒドロシアルキル、 $-C(O)CH_3$ 、 $-OH$ 、または本明細書で定義されるように、 R^7 で置換されていてもよいヘテロシクリルから選択される（すなわち、 $-ArX$ または $-CH_2ArX$ ）。

【0049】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^4 は、H、 $-OH$ 、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} ヒドロシアルキル、または $-C(O)CH_3$ から選択される。

20

【0050】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^5 は、H、 $-C(O)CH_3$ 、または $-C(O)Ar$ である。

【0051】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^6 は、分岐もしくは非分岐 C_{1-6} アルキル、 $-(CH_2)_2NHBOc$ 、 $-(CH_2)_2NH(O)CH_3$ 、または $-(CH_2)_2NH_3Cl$ である。

【0052】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^7 は、 $-ArX$ または $-CH_2ArX$ であり、「Ar」は、本明細書で定義される「アリール」を意味する。「アリール-X」は、Hまたはハロゲンで置換されたアリール基を意味する。

30

【0053】

式(I)の化合物の一実施形態では、 R^8 は任意であり、存在する場合はOである。したがって、 R^8 が存在する場合、式(I)の化合物は、N-オキシドである。

【0054】

式(I)の化合物の一実施形態では、Xは、Hまたはハロゲンである。

【0055】

式(I)の化合物の一実施形態では、Yは、以下の置換基： $-CO_2CH_3$ 、 $-NHBOc$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-CO_2H$ 、 $-NH_3Cl$ 、 $-NHC(O)CH_3$ から選択される。

40

【0056】

式(I)の化合物の一実施形態では、Zは、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2H$ 、 $-C(O)NH_2$ 、またはアミノ置換ヘテロアリールである。Zがアミノ置換ヘテロアリールである場合、好適なヘテロアリール置換基には、フラン、チオフェン、ピロール、オキサゾール、チアゾール、イミダゾール、ピラゾール、イソキサゾール、イソチアゾール、1,2,3-オキサジアゾール、1,2,4-オキサジアゾール、1,2,3-チアジアゾール、1,2,3-トリアゾール、1,2,4-トリアゾール、テトラゾール、及び1,2,3,4-オキサトリアゾールが含まれる。

【0057】

式(I)の化合物は、以下の条件を有する：

50

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ である場合、 R^3 は、 $-\text{CH}_3$ であり、 R^4 は、 H であり、 R^2 は、 $-(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$ 、または $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ であることはできず、

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ である場合、 R^2 は H であり、 R^4 は、 H であり、 R^3 は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ または Cl であることはできず、

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ である場合、 R^2 は、 H であり、 R^3 は、 $-\text{CH}_3$ であり、 R^4 は、 H であることはできない。

【0058】

式 (I) の化合物の一実施形態では、

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ であり、

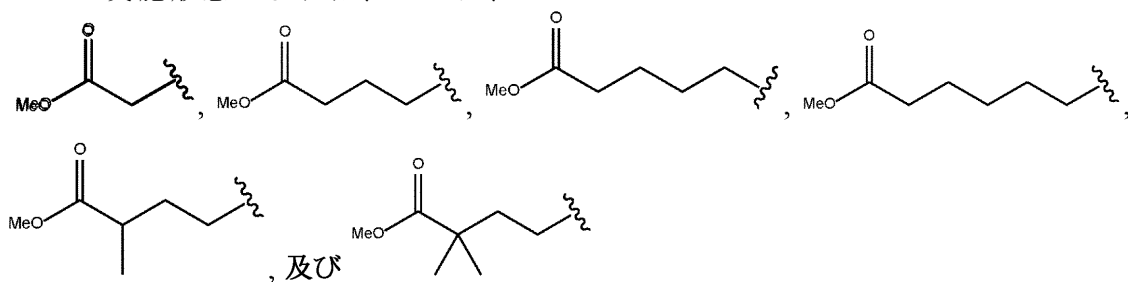
R^2 が、 $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ で置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

R^3 が、メチルであり、

R^4 が、 H である。

【0059】

この実施形態によれば、 R^2 は、



からなる群から選択される。

【0060】

式 (I) の化合物の別の実施形態では、

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ であり、

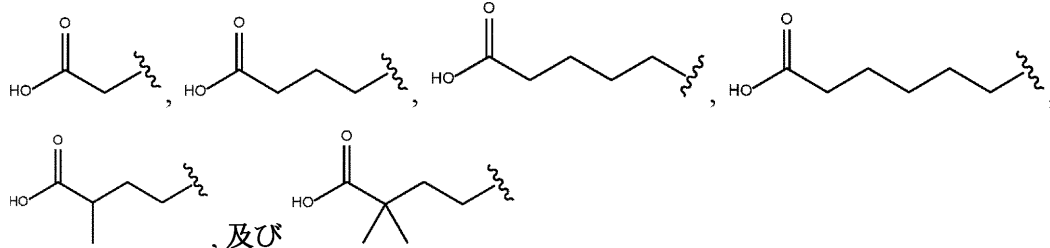
R^2 が、 $-\text{CO}_2\text{H}$ で置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

R^3 が、メチルであり、

R^4 が、 H である。

【0061】

この実施形態によれば、 R^2 は、



からなる群から選択される。

【0062】

式 (I) の化合物のさらに別の実施形態では、

R^1 が、 $-\text{OCH}_3$ であり、

R^2 が、 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ で置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

R^3 が、メチルであり、

R^4 が、 H である。

【0063】

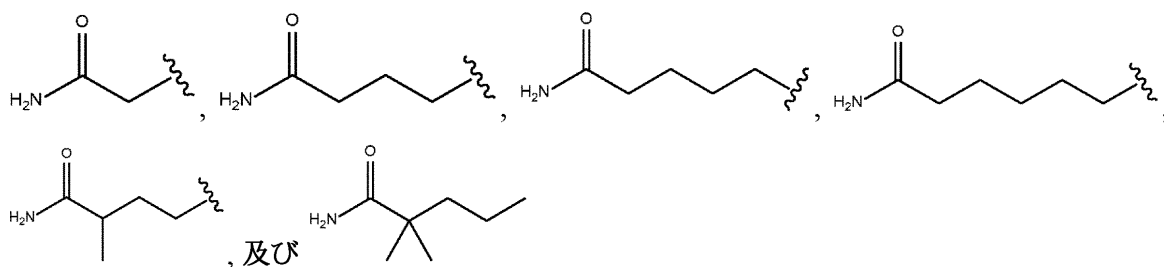
この実施形態によれば、 R^2 は、

10

20

30

40



からなる群から選択される。

【0064】

式 (I) の化合物のさらなる実施形態では、

R^1 が、 $-OCH_3$ であり、

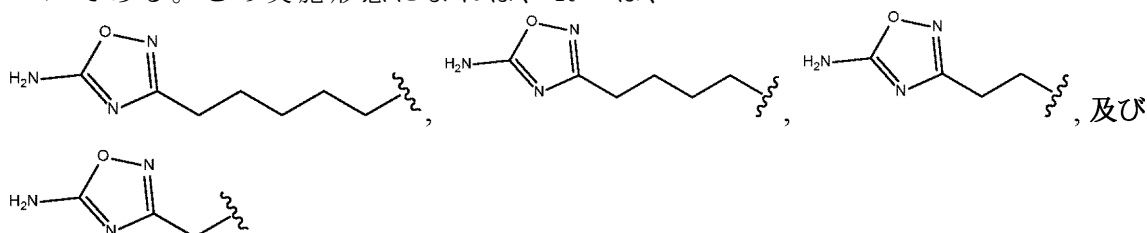
R^2 は、アミノ置換ヘテロアリールで置換された分岐または非分岐 C_{1-6} アルキルであり、

R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である。

【0065】

1 つの特定の実施形態では、アミノ置換ヘテロアリールは、1, 2, 4-オキサジアゾールである。この実施形態によれば、 R^2 は、



からなる群から選択される。

【0066】

式 (I) の化合物のさらなる実施形態では、

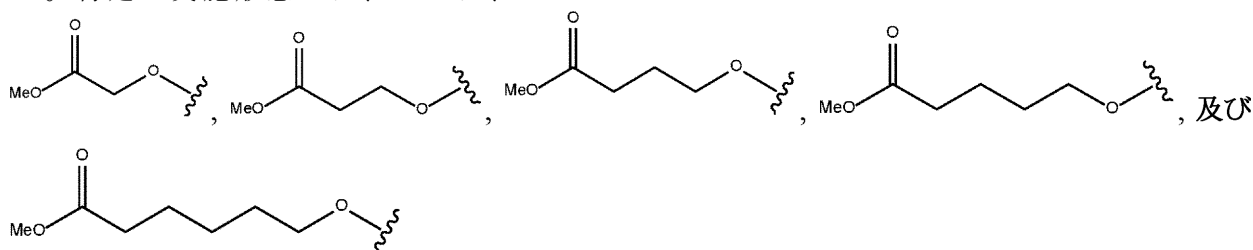
R^2 が、H であり、

R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である。

【0067】

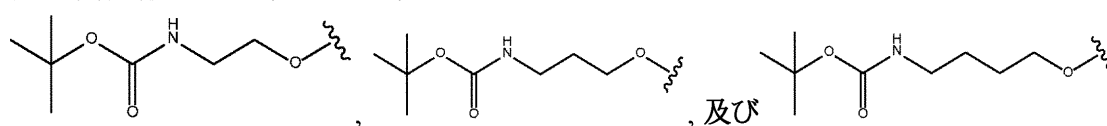
この実施形態によれば、 R^1 は、 $-CO_2CH_3$ で置換された C_{1-6} アルコキシである。特定の実施形態では、 R^1 は、



からなる群から選択される。

【0068】

別の実施形態では、 R^1 は、 $-NHBOc$ で置換された C_{1-6} アルコキシである。特定の実施形態では、 R^1 は、



からなる群から選択される。

【0069】

さらなる実施形態では、 R^1 は、 $-C(O)NH_2$ で置換された C_{1-6} アルコキシで

10

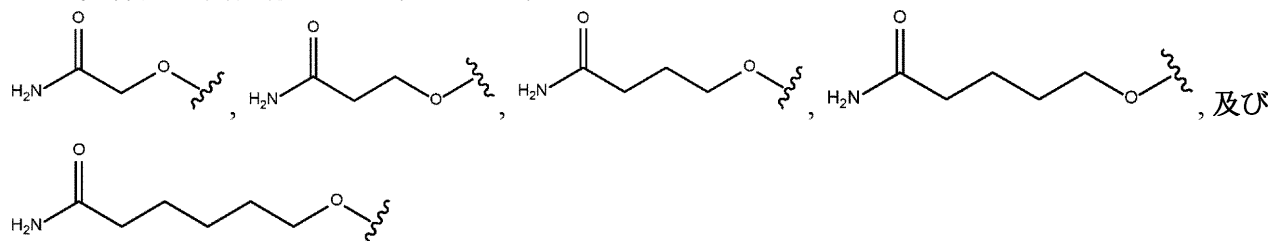
20

30

40

50

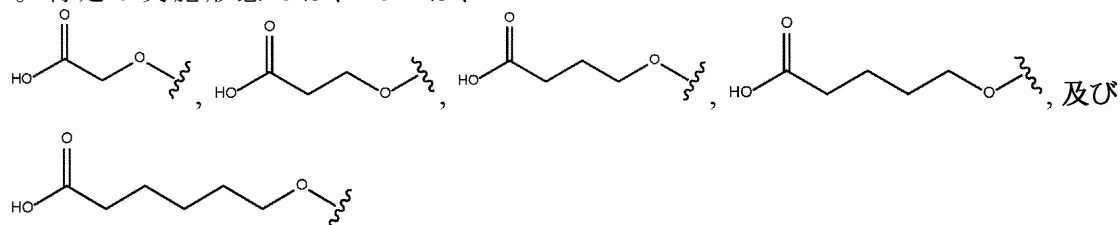
ある。特定の実施形態では、 R^1 は、



からなる群から選択される。

【0070】

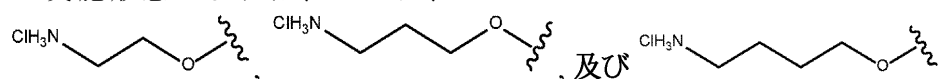
さらに別の実施形態では、 R^1 は、 $-\text{CO}_2\text{H}$ で置換された $\text{C}_1 - 6$ アルコキシである。特定の実施形態では、 R^1 は、



からなる群から選択される。

【0071】

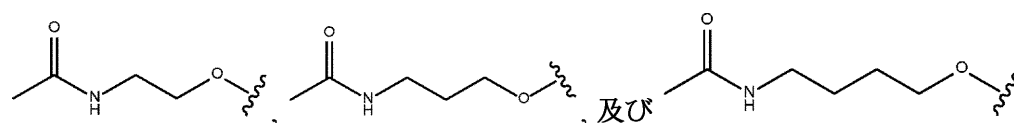
別の実施形態では、 R^1 は、 $-\text{NH}_3\text{Cl}$ で置換された $\text{C}_1 - 6$ アルコキシである。この実施形態によれば、 R^1 は、



からなる群から選択され得る。

【0072】

一実施形態では、 R^1 は、 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_3$ で置換された $\text{C}_1 - 6$ アルコキシである。特定の実施形態では、 R^1 は、



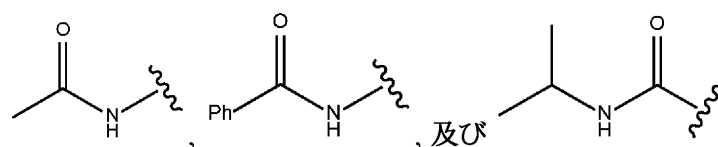
からなる群から選択される。

【0073】

別の実施形態では、 R^1 は、 $-\text{NH}_2$ である。

【0074】

さらなる実施形態では、 R^1 は、



からなる群から選択される。

【0075】

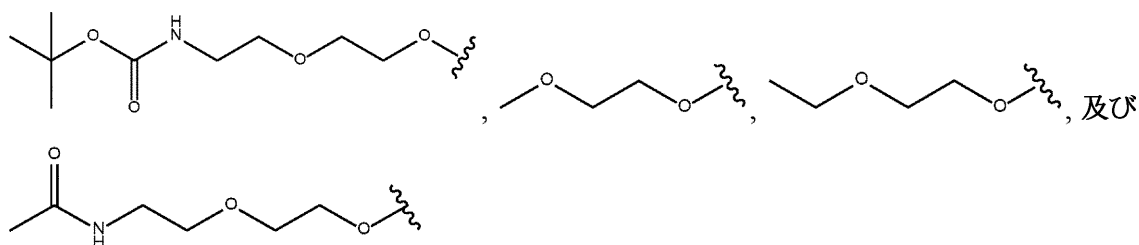
さらに別の実施形態では、 R^1 は、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OR}^6$ である。特定の実施形態では、 R^1 は、

10

20

30

40



【0076】

さらに別の実施形態では、 R^1 は、 $-OC D_3$ または $-OC F_3$ から選択される。

10

【0077】

式 (I) の化合物の別の実施形態では、

R^1 が、 $-OCH_3$ であり、

R^2 が、H であり、

R^4 が、H である。

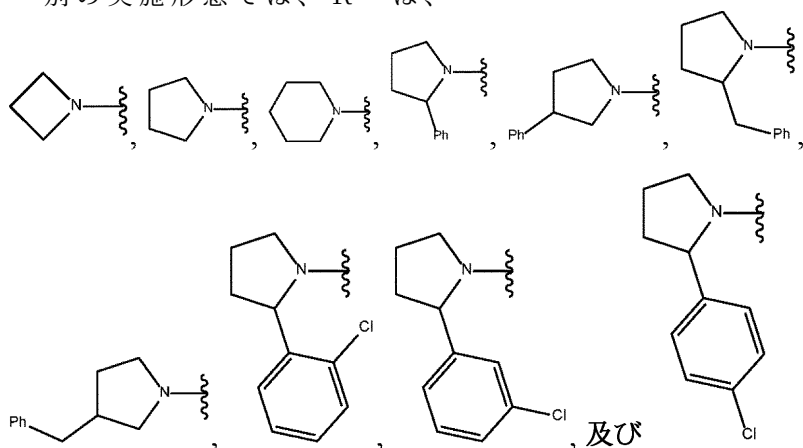
【0078】

この実施形態によれば、 R^3 は、ハロゲンであり得る。1つの特定の実施形態では、 R^3 は、Cl である。

【0079】

別の実施形態では、 R^3 は、

20



30

【0080】

式 (I) の化合物の別の実施形態では、

R^1 が、 $-OCH_3$ であり、

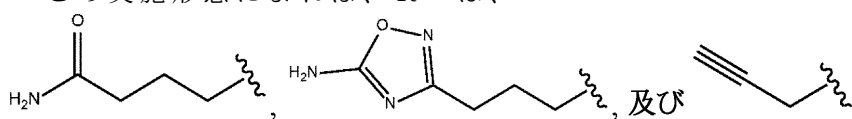
R^3 が、メチルであり、

R^4 が、H である。

【0081】

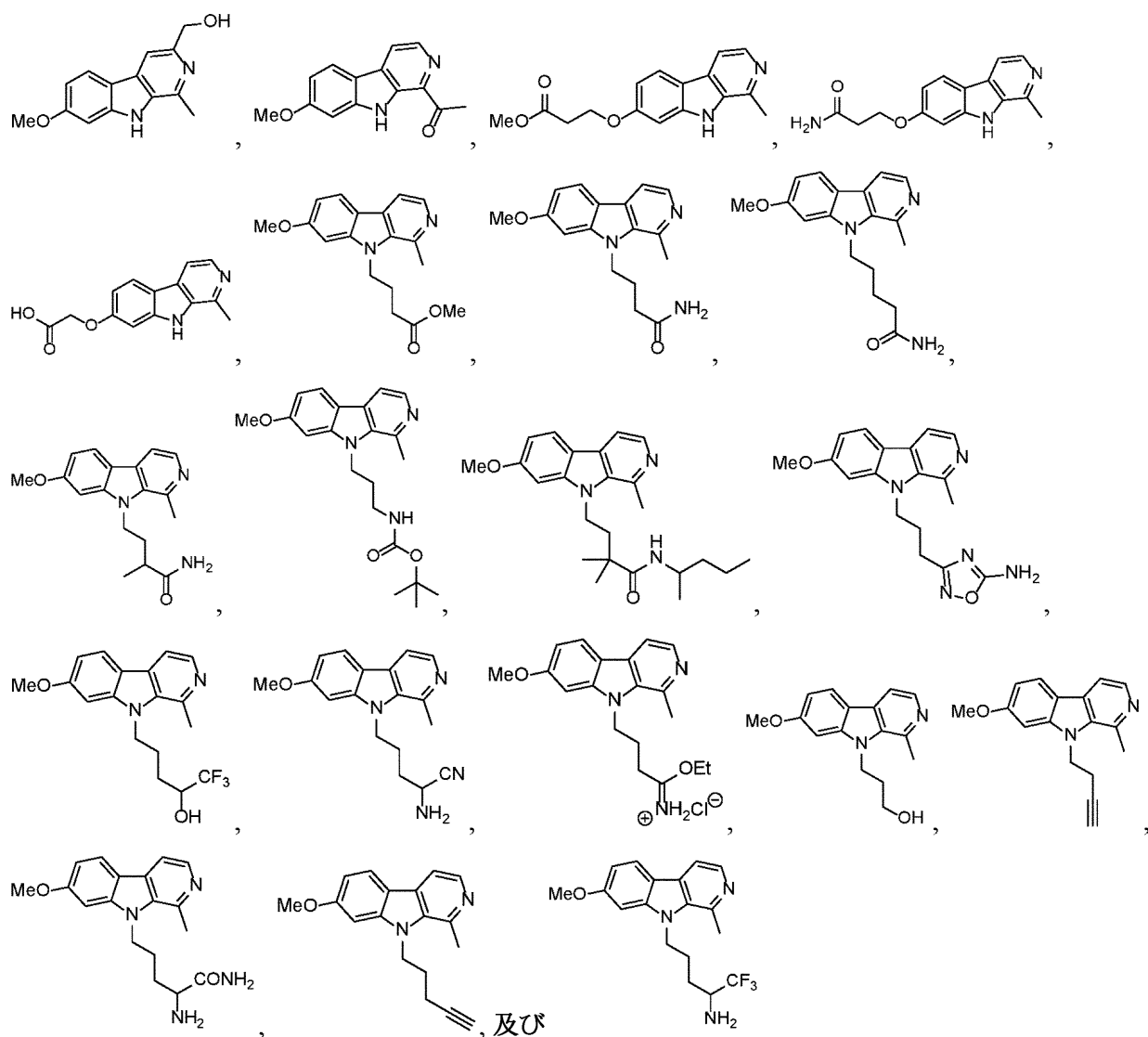
この実施形態によれば、 R^2 は、

40



【0082】

別の実施形態では、式 (I) の化合物は、



10

20

30

からなる群から選択される。

【0083】

別の態様は、細胞における二重特異性チロシンリン酸化調節キナーゼ1A（DYRK1A）の活性を阻害する方法に関する。この方法は、細胞を式（I）の化合物と接触させて、細胞におけるDYRK1Aの活性を阻害することを含む。

【0084】

この態様によれば、一実施形態では、細胞は、哺乳動物細胞である。哺乳動物細胞には、例えば、マウス、ハムスター、ラット、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウマ、サル、イヌ（例えば、イエイヌ（*Canis familiaris*））、ネコ、ウサギ、モルモット、及びヒトを含む霊長類からの細胞が含まれ得る。例えば、細胞は、ヒト細胞であり得る。

40

【0085】

一実施形態では、細胞は、膵臓ベータ細胞である。必要な場合、細胞が膵臓ベータ細胞表現型を有するかどうかを決定する方法は、当該技術分野で知られており、限定されないが、細胞をグルコースとともにインキュベートし、細胞におけるインスリン発現が増加または誘導されるかどうかを試験することを含む。他の方法には、ベータ細胞特異的転写因子が発現されるかどうかを試験すること、RNA定量的PCRの補助によるベータ細胞特異的遺伝子生成物の検出、糖尿病マウスにおける候補細胞の移植、ならびに当該移植後の生理学的応答をその後に試験すること及び電子顕微鏡で細胞を分析することを含む。

【0086】

別の実施形態では、細胞は、がん細胞である。

50

【0087】

さらに別の実施形態では、細胞は、神経細胞である。

【0088】

本明細書に記載される方法は、エキスピボまたはインピボで実施され得る。エキスピボで実施される場合、細胞の集団は、一実施形態によれば、膵臓から細胞を得て、哺乳動物細胞、特にヒト細胞のインピトロまたはエキスピボ培養に好適な液体培地で細胞を培養することによって提供され得る。例えば、限定されないが、好適で非限定的な培養培地は、InvitrogenからのRPMI 1640などの市販の培地に基づくことができる。

【0089】

さらなる態様は、膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させる方法に関する。この方法は、膵臓ベータ細胞の集団を、式(I)の化合物と接触させて、膵臓ベータ細胞の集団における細胞増殖を増加させることを含む。

10

【0090】

一実施形態では、接触させることは、化合物を含む組成物（すなわち、単一の組成物）を用いて実施される。

【0091】

方法は、膵臓ベータ細胞の集団を、形質転換成長因子ベータ(TGF β)スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤と接触させることをさらに含み得る。この実施形態によれば、方法は、式(I)の化合物及びTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤を含む組成物を用いて実施され得る。別の実施形態では、式(I)の化合物及びTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、膵臓ベータ細胞の集団と同時にまたは順番に、別々に接触する。

20

【0092】

TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤には、小分子及び受容体のBMPファミリーの他の（例えば、中和モノクローナル抗体、合成／組換えペプチド阻害剤、及びsiRNA）阻害剤、アクチビン及びインヒビン受容体、ならびにGDF11受容体及び関連受容体が含まれる。

【0093】

TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、当該技術分野で知られており、限定されないが、SB431542、SB505124、A-83-01、デコリン、可溶性TGF- β 受容体、エルデリムマブ、メテリムマブ、AP-12009、フォリスタチン、FLRG、GAST-1、GDF8プロペプチド、MYO-029、ノギン、コーディン、Cer／Dan、エクトジン、及びスクレロスチンを含む（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Tsuchida et al., "Inhibitors of the TGF-beta Superfamily and their Clinical Applications," Mini Rev. Med. Chem. 6(11):1255-61(2006)を参照されたい）。

30

【0094】

TGF- β シグナル伝達の他の阻害剤には、限定されないが、2-(3-(6-メチルピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-4-イル)-1,5ナフチリジン、[3-(ピリジン-2-イル)-4-(4-キノイル)]-1H-ピラゾール、3-(6-メチルピリジン-2-イル)-4-(4-キノリル)-1-フェニルチオカルバモイル-1H-ピラゾール、SB-431542、SM16、SB-505124、及び2-(3-(6-メチルピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-4-イル)-1,5ナフチリジン(ALK5阻害剤II)が含まれる（全体において参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第8,298,825号を参照されたい）。

40

【0095】

TGF- β シグナル伝達の阻害剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Callahan et al., "Identification of Novel Inhibitors of the Transforming Growth

50

Factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) Type 1 Receptor (ALK5), " J. Med. Chem. 45:999-1001 (2002)、Sawyer et al., " Synthesis and Activity of New Aryl- and Heteroaryl-substituted Pyrazole Inhibitors of the Transforming Growth Factor-beta Type I Receptor Kinase Domain, " J. Med. Chem. 46:3953-3956 (2003)、Gellibert et al., " Identification of 1,5-naphthyridine Derivatives as a Novel Series of Potent and Selective TGF-beta Type I Receptor Inhibitors, " J. Med. Chem. 47:4494-4506 (2004) 10、Tojo et al., Cancer Sci. 96:791-800 (2005)、Valdimarsdottir et al., " Functions of the TGFbeta Superfamily in Human Embryonic Stem Cells, " APMIS 113:773-389 (2005)、Petersen et al., " Oral Administration of GW788388, an Inhibitor of TGF-beta Type I and II Receptor Kinases, Decreases Renal Fibrosis, " Kidney International 73:705-715 (2008)、Yingling et al., " Development of TG 20 F-beta Signalling Inhibitors for Cancer Therapy, " Nature Rev. Drug Disc. 3:1011-1022 (2004)、Byfield et al., " SB-505124 Is a Selective Inhibitor of Transforming Growth Factor- β Type Receptors ALK4, ALK5, and ALK7, " Mol. Pharmacol. 65:744-752 (2004)、Dumont et al., " Targeting the TGF Beta Signalling Network in Human Neoplasia, " Cancer Cell 3:531-536 (2003)、PCT公開第WO2002/094833号、PCT公開第WO2004/026865号、PCT公開第WO2004/0675 30 30号、PCT公開第WO2009/032667号、PCT公開第WO2004/013135号、PCT公開第WO2003/097639号、PCT公開第WO2007/048857号、PCT公開第WO2007/018818号、PCT公開第WO2006/018967号、PCT公開第WO2005/039570号、PCT公開第WO2000/031135号、PCT公開第WO1999/058128号、米国特許第6, 509, 318号、米国特許第6, 090, 383号、米国特許第6, 419, 928号、米国特許第9, 927, 738号、米国特許第7, 223, 766号、米国特許第6, 476, 031号、米国特許第6, 419, 928号、米国特許第7, 030, 125号、米国特許第6, 943, 191号、米国特許出願公開第2005/0245520号、米国特許出願公開第2004/0147574号、米国特許出願公開第2007/006 40 6632号、米国特許出願公開第2003/0028905号、米国特許出願公開第2005/0032835号、米国特許出願公開第2008/0108656号、米国特許出願公開第2004/015781号、米国特許出願公開第2004/0204431号、米国特許出願公開第2006/0003929号、米国特許出願公開第2007/0155722号、米国特許出願公開第2004/0138188号、及び米国特許出願公開第2009/0036382号に記載されている。

【0096】

TGF- β シグナル伝達の例示的な阻害剤には、これらに限定されないが、AP-12009 (TGF- β II型受容体アンチセンスオリゴヌクレオチド)、レルデリムマブ (CAT 152、TGF- β II型受容体に対する抗体) GC-1008 (ヒトTG 50

F- β の全てのアイソフォームに対する抗体)、ID11(マウスTGF- β の全てのアイソフォームに対する抗体)、可溶性TGF- β 、可溶性TGF- β I I型受容体、ジヒドロピロロイミダゾール類似体(例えば、SKF-104365)、トリアリールイミダゾール類似体(例えば、SB-202620(4-(4-(4-フルオロフェニル)-5-(ピリジン-4-イル)-1H-イミダゾール-2-イル)安息香酸)及びSB-203580(4-(4-フルオロフェニル)-2-(4-メチルスルフィニルフェニル)-5-(4-ピリジル)-1H-イミダゾール))、RL-0061425、1, 5-ナフチリジンアミノチアゾール及びピラゾール誘導体(例えば、4-(6-メチル-ピリジン-2-イル)-5-(1, 5-ナフチリジン-2-イル)-1, 3-チアゾール-2-アミン及び2-[3-(6-メチル-ピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-4-イル]-1, 5-ナフチリジン)、SB-431542(4-(5-ベンゾール[1, 3]ジオキソール-5-イル-4-ピリジン-2-イル-1H-イミダゾール-2-イル)-ベンズアミド)、GW788388(4-(4-(3-(ピリジン-2-イル)-1H-ピラゾール-4-イル)ピリジン-2-イル)-N-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)ベンズアミド)、A-83-01(3-(6-メチル-2-ピリジニル)-N-フェニル-4-(4-キノリニル)-1H-ピラゾール-1-カルボチオアミド)、デコリン、レフティ1、レフティ2、フォリスタチン、ノギン、コーディン、ケルベロス、グレムリン、インヒピン、BIO(6-プロモ-インジルビン-3'-オキシム)、Smadタンパク質(例えば、SMAD6、Smad7)、ならびにシスタチンCが挙げられる。

10

20

【0097】

TGF- β シグナル伝達の阻害剤にはまた、TGF- β I型受容体を阻害する分子も含まれる。TGF- β I型受容体の阻害剤には、これらに限定されないが、可溶性TGF- β I型受容体、AP-11014(TGF- β 受容体 I型アンチセンスオリゴヌクレオチド)、メテリムマブ(CAT 152、TGF- β I型受容体抗体)、LY550410、LY580276(3-(4-フルオロフェニル)-5, 6-ジヒドロ-2-(6-メチルピリジン-2-イル)-4H-ピロロ[1, 2-b]ピラゾール)、LY364947(4-[3-(2-ピリジニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-キノリン)、LY2109761、LY573636(N-(5-プロモ-2-チエニル)スルホニル)-2, 4-ジクロロベンズアミド)、SB-505124(2-(5-ベンゾ[1, 3]ジオキソール-5-イル-2-tert-ブチル-3H-イミダゾール-4-イル)-6-メチルピリジン)、SD-208(2-(5-クロロ-2-フルオロフェニル)-4-[4-(ピリジル)アミノ]プテリジン)、SD-093、KI2689、SM16、FKBP12タンパク質、及び3-(4-(2-(6-メチルピリジン-2-イル)H-イミダゾ[1, 2-a]ピリジン-3-イル)キノリン-7-イルオキシ)-N, N-ジメチルプロパン-1-アミンが含まれる。

30

【0098】

TGF- β I型受容体の阻害剤は、それらの全てがそれらの全体において本明細書に組み込まれている、Byfield and Roberts, "Lateral Signaling Enhances TGF-beta Response Complexity," Trends Cell Biol. 14:107-111(2004)、Sawyer et al., "Synthesis and Activity of New Aryl-and Heteroaryl-substituted 5, 6-dihydro-4H-pyrrolo[1, 2-b]pyrazole Inhibitors of the Transforming Growth Factor-beta Type I Receptor Kinase Domain," Bioorg. Med. Chem. Lett. 14:3581-3584(2004)、Sawyer et al., "Synthesis and Activity of New Aryl-and Heteroaryl-substituted Pyrazole Inhibitors of the Transforming Growth

40

50

Factor-beta Type I Receptor Kinase Domain, "J. Med. Chem. 46:3953-3956 (2003)、Byfield et al., "SB-505124 Is a Selective Inhibitor of Transforming Growth Factor-beta Type I Receptors ALK4, ALK5, and ALK7, "Mol. Pharmacol. 65:744-752 (2004)、Gellibert et al., "Identification of 1,5-naphthyridine Derivatives as a Novel Series of Potent and Selective TGF-beta Type I Receptor Inhibitors, "J. Med. Chem. 47:4494-4506 (2004)、Yingling et al., "Development of TGF-beta Signalling Inhibitors for Cancer Therapy, "Nature Rev. Drug Disc. 3:1011-1022 (2004)、Dumont et al., "Targeting the TGF Signaling Network in Human Neoplasia, "Cancer Cell 3:531-536 (2003)、Tojo et al., "The ALK-5 Inhibitor A-83-01 Inhibits Smad Signaling and Epithelial-to-mesenchymal Transition by Transforming Growth Factor-beta, "Cancer Sci. 96:791-800 (2005)、PCT公開第WO2004/026871号、PCT公開第WO2004/021989号、PCT公開第WO2004/026307号、PCT公開第WO2000/012497号、米国特許第5,731,424号、米国特許第5,731,144号、米国特許第7,151,169号、米国特許出願公開第2004/00038856号、及び米国特許第2005/0245508号に記載されている。

【0099】

一実施形態では、TGFβスーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤には、TGFβスーパーファミリーリガンド、受容体、及び／または下流シグナル伝達分子（例えば、SMAD）または核標的（例えば、クロマチン修飾錯体及び転写因子）が含まれる。

【0100】

一実施形態では、TGFβスーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、例えば、TGFβリガンドを中和する抗血清であり得る。

【0101】

別の実施形態では、TGFβスーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、TGFβ/TGFβ受容体結合、アクチビンまたはインヒビン/アクチビン受容体結合、及び骨形成タンパク質（BMP）/BMP受容体結合の阻害剤からなる群から選択される。

【0102】

特定の実施形態では、TGFβスーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、LY364947及びGW788388からなる群から選択されるTGFβ/TGFβ受容体結合の阻害剤である。

【0103】

別の特定の実施形態では、TGFβスーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤が、SB431542及びAlk5阻害剤I Iからなる群から選択される、アクチビンまたはインヒビン/アクチビン受容体結合の阻害剤である。アクチビンまたはインヒビン/アクチビン受容体結合の追加の例示的な阻害剤は、SB-505124、BYM388、フォリスタチン、フォリスタチン関連タンパク質（FSRP）、フォリスタチンドメイン（すなわち、Fs2、Fs12、Fs123）、A-83-01、クリプト（Cripito）、GW788388、BAMBI、及びソタテルセプト（Sotatercept）（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Byfield et al., "SB-505124 is a Selective Inhibitor of Transf

orming Growth Factor-Beta Type I Receptors ALK4, ALK5, and ALK7, "Mol. Pharmacol. 65 (3): 744-52 (2004)、Lach-Trifilieff et al., "An Antibody Blocking Activin Type II Receptors Induces Strong Skeletal Muscle Hypertrophy and Protects from Atrophy, "Mol. Cell. Biol. 34 (4): 606-18 (2014)、Zhang et al., "Inhibition of Activin Signaling Induces Pancreatic Epithelial Cell Expansion and Diminishes Terminal Differentiation of Pancreatic β -Cells, "Diabetes 53 (8): 2024-33 (2004)、Harrington et al., "Structural Basis for the Inhibition of Activin Signalling by Follistatin, "EMBO J. 25 (5): 1035-45 (2006)、Tojo et al., "The ALK-5 Inhibitor A-83-01 Inhibits Smad Signaling and Epithelial-to-Mesenchymal Transition by Transforming Growth Factor-Beta, "Cancer Sci. 96 (11): 790-800 (2005)、Yan et al., "Human BAMBI Cooperates with Smad7 to Inhibit Transforming Growth Factor-Beta Signaling, "J. Biol. Chem. 284 (44): 30097-104 (2009)、Tan et al., "Targeted Inhibition of Activin Receptor-Like Kinase 5 Signaling Attenuates Cardiac Dysfunction Following Myocardial Infarction, "Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 298 (5): H1415-25 (2010)、及び Gokoffski et al., "Activin and GDF11 Collaborate in Feedback Control of Neuroepithelial Stem Cell Proliferation and Fate, "Develop. 138 (19): 4131-42 (2011)を参照されたい)。

【0104】

別の特定の実施形態では、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、BMP/BMP受容体結合の阻害剤である。BMP/BMP受容体結合の例示的な阻害剤は、LDN193189である。追加の例示的なBMP阻害剤は、ノギン、スクロスチン、コーディン、CTGF、フォリスタチン、グレムリン、インヒビン、DMH1、DMH2、ドルソモルフィン、K02288、LDN212854、DM 3189、BMP-3、及びBAMBIからなる群から選択され得る（全体において参照により本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO2014/018691号、及びMohedas et al., "Development of an ALK2-Biased BMP Type I Receptor Kinase Inhibitor, "ACS Chem. Biol. 8 (6): 1291-302 (2013)、Yan et al., "Human BAMBI Cooperates with Smad7 to Inhibit Transforming Growth Factor-Beta Signaling, "J. Biol. Chem. 284 (44): 30097-104 (2009)を参照されたい)。

【0105】

別の実施形態によれば、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、SMADシグナル伝達経路阻害剤である。例示的なSMADシグナル伝達経路阻害剤は、限定されないが、SMAD3 siRNA、SMAD 2/3 siRNA、PD16931

6、SB203580、SB202474、Smad3 (SIS3) の特定の阻害剤、HSc025、及びSB525334を含む群から選択され得る（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Qureshi et al., "Smad Signaling Pathway is a Pivotal Component of Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-3 Regulation by Transforming Growth Factor Beta in Human Chondrocytes," BBA Mol. Cell Res. 1783 (9):1605-12 (2008)、Hasegawa et al., "A Novel Inhibitor of Smad-Dependent Transcriptional Activation Suppresses Tissue Fibrosis in Mouse Models of Systemic Sclerosis," Arthritis Rheum. 60 (11):3465-75 (2009)、及びRamdas et al., "Canonical Transforming Growth Factor- β Signaling Regulates Disintegrin Metalloprotease Expression in Experimental Renal Fibrosis via miR-29," Am. J. Pathol. 183 (6):1885-96 (2013) を参照されたい。

【0106】

追加の例示的なSMADシグナル伝達経路阻害剤には、限定されないが、miR-100、LDN 193189、SMAD結合ペプチドアプタマー（例えば、Trx-FoxH1、Trx-Le1、Trx-CBP、Trx-SARA）、ピルフェニドン、及びLDN193189が含まれる（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Fuet al., "MicroRNA-100 Inhibits Bone Morphogenetic Protein-Induced Osteoblast Differentiation by Targeting Smad," Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 20 (18):3911-19 (2016)、Boergermann et al., "Dorsomorphin and LDN-193189 Inhibit BMP-Mediated Smad, p38 and Akt signalling in C2C12 Cells," Int. J. Biochem. Cell Biol. 42 (11):1802-7 (2010)、Cui et al., "Selective Inhibition of TGF-Responsive Genes by Smad-Interacting Peptide Aptamers from FoxH1, Lef1 and CBP," Oncogene 24:3864-74 (2005)、Zhao et al., "Inhibition of Transforming Growth Factor-Betal-Induced Signaling and Epithelial-to-Mesenchymal Transition by the Smad-Binding Peptide Aptamer Trx-SARA," Mol. Biol. Cell 17:3819-31 (2006)、Li et al., "Oral Pirfenidone Protects Against Fibrosis by Inhibiting Fibroblast Proliferation and TGF- β Signaling in a Murine Colitis Model," Biochem. Pharmacol. 117:57-67 (2016)、及びCook et al., "BMP Signaling Balances Murine Myeloid Potential Through SMAD-Independent p38MAPK and NOTCH Pathways," Blood 124 (3):393-402 (2014) を参照されたい。

【0107】

別の特定の実施形態では、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、ト

ライソラックス錯体の阻害剤である。例示的なライソラックス錯体阻害剤には、限定されないが、WDR5-0103、MI-1、MI-2、MI-2-2、MLS001171971-01、ML227、MCP-1、RBB5 siRNA、及びMLL1 siRNAが含まれる（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Senister et al., "Small-Molecule Inhibition of MLL Activity by Disruption of its Interaction with WDR5," *Biochem. J.* 449 (1):151-9 (2013)、Cierpicki et al., "Challenges and Opportunities in Targeting the Menin-MLL Interaction," *Future Med. Chem.* 6 (4):447-62 (2014)、Lee et al., "Roles of DPY30 in the Proliferation and Motility of Gastric Cancer Cells," *PLOS One* 10 (7):e0131863 (2015)、及びZhou et al., "Combined Modulation of Polycomb and Trithorax Genes Rejuvenates β Cell Replication," *J. Clin. Invest.* 123 (11):4849-4858 (2013)を参照されたい。

【0108】

別の実施形態では、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、ポリコム抑制錯体2（「PRC2」）の阻害剤である。例示的なPRC2阻害剤には、GSK926、EPZ005687、GSK126、GSK343、E11、UNC1999、EPZ6438、コンステレーション化合物3、EZH2 siRNA、及び3-デアザネプラノシンAが含まれる（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Verma et al., "Identification of Potent, Selective, Cell-Active Inhibitors of the Histone Lysine Methyltransferase EZH2," *ACS Med. Chem. Lett.* 3:1091-6 (2012)、Xu et al., "Targeting EZH2 and PRC2 Dependence as Novel Anticancer Therapy," *Exp. Hematol.* 43:698-712 (2015)、Knutson et al., "A Selective Inhibitor of EZH2 Blocks H3K27 methylation and Kills Mutant Lymphoma Cells," *Nat. Chem. Biol.* 8:890-6 (2012)、Qi et al., "Selective Inhibition of Ezh2 by a Small Molecule Inhibitor Blocks Tumor Cells Proliferation," *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 109:21360-65 (2012)、McCabe et al., "EZH2 Inhibition as a Therapeutic Strategy for Lymphoma with EZH2-Activating Mutations," *Nature* 492:108-12 (2012)、Nasveschuk et al., "Discovery and Optimization of Tetramethylpiperidinyll Benzamides as Inhibitors of EZH2," *ACS Med. Chem. Lett.* 5:378-83 (2014)、Brooun et al., "Polycomb Repressive Complex 2 Structure with Inhibitor Reveals a Mechanism of Activation and Drug Resistance," *Nature Comm.* 7:11384 (2016)、Fiskus et al., "Histone Deacetylase Inhibitors Deplete Enhancer of Zeste 2 and Associated Polycomb Repressive Complex 2 Proteins in Human

Acute Leukemia Cells, "Mol. Cancer Ther. 5 (12): 3096-104 (2006)、及びFiskus et al., "Combined Epigenetic Therapy with the Histone Methyltransferase EZH2 Inhibitor 3-Deazaneplanocin A and the Histone Deacetylase Inhibitor Panobinostat Against Human AML Cells, "Blood 114 (13): 2733-43 (2009)を参照されたい)。方法は、脾臓ベータ細胞を、グルカゴン様ペプチド-1受容体 (GLP1R) アゴニストまたはジペプチジルペプチダーゼIV (「DPP4」) 阻害剤と接触させることをさらに含み得る。この実施形態によれば、方法は、本発明の式 (I) による化合物及びグルカゴン様ペプチド-1受容体 (GLP1R) アゴニストまたはDPP4阻害剤、ならびに任意にTGF β スーパーファミリーのシグナル伝達経路阻害剤を含む組成物を用いて実施され得る。別の実施形態では、式 (I) の化合物、GLP1Rアゴニスト、またはDPP4阻害剤、及び任意にTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤はそれぞれ、脾臓ベータ細胞の集団と同時にまたは順番に接触する。

【0109】

グルカゴン様ペプチド-1受容体アゴニストは、食物摂取に応答して腸から放出されるインクレチンホルモンGLP-1の効果を模倣する。それらの効果には、インスリン分泌を増加させること、グルカゴン放出を減少させること、満腹感を増加させること、及び胃排出を遅延させることが含まれる。血液中のGLP1濃度を高める別のアプローチは、酵素ジペプチジルペプチダーゼIV (「DPP4」) によるその分解の防止である。GLP1受容体アゴニスト及びDPP4阻害剤は、2型糖尿病の治療に最も広く使用されている薬物の1つである (全体において参照により本明細書に組み込まれる、Campbell et al., "Pharmacology, Physiology and Mechanisms of Incretin Hormone Action, "Cell Metab. 17: 819-37 (2013)、Guo X-H., "The Value of Short-and Long-Acting Glucagon-Like Peptide Agonists in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus: Experience with Exenatide, "Curr. Med. Res. Opinion 32 (1): 61-76 (2016)、Deacon et al., "Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors for the Treatment of Type 2 Diabetes: Comparison, Efficacy and Safety, "Expert Opinion on Pharmacotherapy 14: 2047-58 (2013)、Lovshin, "Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists: A Class Update for Treating Type 2 Diabetes, "Can. J. Diabetes 41: 524-35 (2017)、及びYang et al., "Lixisenatide Accelerates Restoration of Normoglycemia and Improves Human Beta Cell Function and Survival in Diabetic Immunodeficient NOD-scid IL2rg (null) RIP-TR Mice Engrafted With Human Islets, "Diabetes Metab. Syndr. Obes. 8: 387-98 (2015)を参照されたい)。

【0110】

好適なGLP1Rアゴニストには、例えば、限定されないが、エクセナチド、リラグルチド、エクセナチドLAR、タスポグルチド、リキシセナチド、アルビグルチド、デュラグルチド、及びセマグルチドが挙げられる。エクセナチド及びエクセナチドLARは、アメリカドクトカゲ (Heloderma suspectum) (トカゲ) の唾液から得

10

20

30

40

50

られる合成エキセンディン-4類似体である。リラグルチドは、皮下注射部位からの吸収を遅らせる七量体構造に自己会合するGLP-1のアシル化された類似体である。タスボグルチドは、ネイティブGLP-1と3%相同性を共有し、DPP-4分解に対して完全に耐性である。リキシセナチドは、ヒトGLP1Rアゴニストである。アルビグルチドは、DPP-4分解に対して耐性である長時間作用型GLP-1模倣体である。デュラグルチドは、長時間作用型GLP1類似体である。セマグルチドは、T2Dの使用に承認されたGLP1Rアゴニストである。臨床的に利用可能なGLP1Rアゴニストには、例えば、エクセナチド、リラグルチド、アルビグルチド、デュラグルチド、リキシセナチド、セマグルチドが含まれる。

【0111】

10

本明細書に開示される方法及び組成物のいくつかの実施形態では、GLP1Rアゴニストは、GLP1(7-36)、GLP1類似体、エクステンジン-4、リラグルチド、リキシセナチド、セマグルチド、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0112】

追加の好適なGLP1アゴニストには、限定されないが、二置換-7-アリール-5, 5-ビス(トリフルオロメチル)-5, 8-ジヒドロピリミド[4, 5-d]ピリミジン-2, 4(1H, 3H)-ジオン化合物及びその誘導体、例えば、7-(4-クロロフェニル)-1, 3-ジメチル-5, 5-ビス(トリフルオロメチル)-5, 8-ジヒドロピリミド[4, 5-d]ピリミジン-2, 4(1H, 3H)-ジオンが挙げられる(例えば、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Nance et al., "Discovery of a Novel Series of Orally Bioavailable and CNS Penetrant Glucagon-like Peptide-1 Receptor (GLP-1R) Noncompetitive Antagonists Based on a 1, 3-Disubstituted-7-aryl-5, 5-bis(trifluoromethyl)-5, 8-dihydropyrimido[4, 5-d]pyrimidine-2, 4(1H, 3H)-dione Core," J. Med. Chem. 60:1611-1616(2017)を参照されたい)。

20

【0113】

さらなる好適なGLP1アゴニストには、GLP1Rのポシティブアロステリック調節因子(「PAMS」)、例えば、(S)-2-シクロペンチル-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(R)-2-シクロペンチル-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、2-シクロペンチル-N-(((S)-1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、N-(((S)-1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-2-(((S)-テトラヒドロフラン-3-イル)-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、N-(((R)-1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-2-(((S)-テトラヒドロフラン-3-イル)-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(S)-2-シクロペンチル-8-フルオロ-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(R)-2-シクロペンチル-8-フルオロ-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(R)-2-シクロペンチル-N-(((S)-1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(S)-2-シクロ

30

40

50

ペンチル-N-((S)-1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-
 メチル-1-オキソ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール
 -4-カルボキサミド、(S)-10-クロロ-2-シクロペンチル-N-((1-イソ
 プロピルピロリジン-2-イル)メチル)-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1
 , 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(R)-10-クロロ-2-シクロペンチ
 ル-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-1-オキソ-1, 2-
 ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(S)-10-プロ
 モ-2-シクロペンチル-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-
 1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド
 、(R)-10-プロモ-2-シクロペンチル-N-((1-イソプロピルピロリジン-
 2-イル)メチル)-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール
 -4-カルボキサミド、(R)-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチ
 ル)-10-メチル-1-オキソ-2-フェニル-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-
 a]インドール-4-カルボキサミド、(S)-10-シアノ-2-シクロペンチル-N
 -((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-1-オキソ-1, 2-ジヒド
 ロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(S)-2-シクロペンチ
 ル-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-1-オキソ-10-ビ
 ニル-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(S
)-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10-メチル-2-(
 1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[
 1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(R)-N-((1-イソプロピルピロ
 リジン-2-イル)メチル)-10-メチル-2-(1-メチル-1H-ピラゾール-4
 -イル)-1-オキソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カル
 ボキサミド、(S)-N-((1-イソプロピルピロリジン-2-イル)メチル)-10
 -メチル-1-オキソ-2-(ピリジン-3-イル)-1, 2-ジヒドロピラジノ[1,
 2-a]インドール-4-カルボキサミド、(R)-N-((1-イソプロピルピロリジ
 ン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オキソ-2-(ピリジン-3-イル)-1
 , 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、N-(アゼチ
 ジン-2-イルメチル)-2-シクロペンチル-10-メチル-1-オキソ-1, 2-ジ
 ヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、及び2-シクロペンチ
 ル-N-((1-イソプロピルアゼチジン-2-イル)メチル)-10-メチル-1-オ
 キソ-1, 2-ジヒドロピラジノ[1, 2-a]インドール-4-カルボキサミド、また
 はその薬学的に許容される塩が挙げられる(全体において参照により本明細書に組み込ま
 れる、PCT公開第WO2017/117556号を参照されたい)。

10

20

30

【0114】

好適なDPP4阻害剤には、限定されないが、シタグリプチン、ビルダグリプチン、サ
 クサグリプチン、アログリプチン、テネリグリプチン、及びアナグリプチンが含まれる。

【0115】

一実施形態によれば、「膵臓ベータ細胞」は、初代ヒト膵臓ベータ細胞である。

【0116】

本明細書に記載されるこの方法及び他の方法を実施する一実施形態では、接触させるこ
 とは、ベータ細胞死またはDNA損傷を誘導しない。さらに、接触させることは、ベータ
 細胞の分化を誘導し、グルコース刺激インスリン分泌を増加させ得る。

40

【0117】

別の実施形態では、方法は、細胞生存を増強するために実施される。例えば、方法は、
 未処理の細胞の集団と比較して、処理された細胞の集団の細胞生存を増強するために実施
 され得る。あるいは、方法は、未処理の細胞の集団と比較して、処理された細胞の集団の
 細胞死またはアポトーシスを減少させるために実施され得る。

【0118】

さらなる態様は、式(I)の化合物及び担体を含む組成物に関する。

50

【0119】

一実施形態では、組成物は、形質転換成長因子ベータ（TGF β ）スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤をさらに含み得る。

【0120】

別の実施形態では、組成物は、グルカゴン様ペプチド-1受容体（GLP1R）アゴニストまたはジペプチジルペプチダーゼIV（DPP4）阻害剤をさらに含み得る。

【0121】

担体は、薬学的に許容可能な担体であり得る。

【0122】

式（I）の化合物を未加工の化学物質として投与することは可能であり得るが、それらを薬学的組成物として提供することが好ましい場合がある。一実施形態によれば、式（I）の化合物またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を、1つ以上のその薬学的担体及び任意に1つ以上の他の治療成分と一緒に含む薬学的組成物が提供される。

10

【0123】

担体（複数可）は、製剤の他の成分と適合し、かつそのレシピエントに有害でないという意味において「許容され」なければならない。さらに、その塩もまた含む「化合物」という用語に関する本明細書の記述にも関わらず、「化合物」を引用する独立請求項は、独立請求項で化合物またはその薬学的に許容される塩に対して言及される場合、その塩も参照するとして理解されるように、従属請求項の塩に対して明示的な言及がされていなくても、そのような化合物を指すその独立請求項に従属する請求項はまた、化合物の薬学的に許容される塩を含むことが理解されるであろう。

20

【0124】

製剤には、経口、非経口（皮下、皮内、筋肉内、静脈内、及び関節内を含む）、直腸、及び局所（皮膚、頬側、舌下、及び眼内を含む）投与に好適なものが含まれる。最も好適な経路は、レシピエントの状態及び障害に依存し得る。製剤は、好都合に単位剤形で提供することができ、薬学の分野において周知である方法のうちのいずれかによって調製することができる。そのような方法は、式（I）の化合物またはその薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物（「活性成分」）を、1つ以上の副成分を構成する担体と会合させるステップを含む。一般に、製剤は、活性成分を液体担体または微粉化固体担体またはその両方と均一かつ密接に会合させ、次いで、必要な場合、生成物を所望の製剤に成形することによって調製される。

30

【0125】

経口投与に好適な製剤は、それぞれが所定の量の活性成分を含むカプセル、カシエ剤、もしくは錠剤などの個別の単位として、粉末もしくは顆粒として、水性液体または非水性液体中の溶液もしくは懸濁液として、または水中油型乳剤もしくは油中水型乳剤として提供されてもよい。活性成分はまた、ボラス、舐剤、またはペーストとして提供されてもよい。

【0126】

錠剤は、圧縮または成形によって、任意に1つ以上の副成分とともに、作製され得る。圧縮された錠剤は、好適な機械内で、任意に、結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、滑沢剤、表面活性剤、または分散剤と混合された、粉末または顆粒などの自由流動形態の活性成分を圧縮することによって調製され得る。成形錠剤は、不活性液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を好適な機械で成形することによって作製され得る。錠剤は、任意に、コーティングされるか、またはスコアリングされてもよく、その中の活性成分の除法、遅延、または制御された放出を提供するように製剤化され得る。

40

【0127】

薬学的組成物は、「薬学的に許容される不活性担体」を含むことができ、この表現は、例えば、限定されないが、デンプン、ポリオール、造粒剤、微結晶セルロース、希釈剤、潤滑剤、結合剤、崩壊剤などを含む、1つ以上の不活性賦形剤を含むことが意図される。所望である場合、開示される組成物の錠剤投与量は、標準的な水性または非水性技術によ

50

ってコーティングされ得る。「薬学的に許容される担体」はまた、制御放出手段を包含する。

【0128】

薬学的組成物はまた、任意に、他の治療成分、固化防止剤、保存剤、甘味剤、着色剤、香料、乾燥剤、可塑剤、染料などを含んでもよい。そのような任意の成分は、製剤の安定性を保証するために、式（I）の化合物と適合性でなければならない。組成物は、必要な場合、例えば、ラクトース、グルコース、フルクトース、ガラクトース、トレハロース、スクロース、マルトース、ラフィノース、マルチトール、メレジトース、スタキオース、ラクチトール、パラチナイト、デンプン、キシリトール、マンニトール、ミオイノシトールなどを含む他の添加剤、及びその水和物、ならびにアミノ酸、例えば、アラニン、グリシン、及びベタイン、ならびにペプチド及びタンパク質、例えば、アルブメン（albumen）を含み得る。

10

【0129】

薬学的に許容される担体及び薬学的に許容される不活性担体及び前述の追加の成分として使用するための賦形剤の例には、これらに限定されないが、結合剤、充填剤、崩壊剤、潤滑剤、抗細菌剤、及びコーティング剤が挙げられる。

【0130】

成人の用量範囲は様々であるが、一般的には経口で約0.005mg～10g／日であり得る。個別の単位で提供される錠剤または他の形態の提示は、そのような投与量またはその倍数として、例えば、5mg～500mg、または約10mg～200mgを含む単位で有効である式（I）の化合物の量を好都合に含むことができる。患者に投与される化合物の正確な量は、主治医の責任である。しかしながら、用いられる用量は、患者の年齢及び性別、治療されている正確な障害、及びその重症度を含むいくつかの要因に依存するであろう。

20

【0131】

投与量単位（例えば、経口投与量単位）は、例えば、1～30mg、1～40mg、1～100mg、1～300mg、1～500mg、2～500mg、3～100mg、5～20mg、5～100mg（例えば、1mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg、16mg、17mg、18mg、19mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、150mg、200mg、250mg、300mg、350mg、400mg、450mg、500mg）の本明細書に記載される化合物を含み得る。

30

【0132】

薬学的組成物及びそれらの製剤についてのさらなる情報は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, 2000に記載されている。

【0133】

薬剤は、例えば、静脈内注射、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内注射、局所、舌下、関節内（関節中）、皮内、頬側、眼（眼内を含む）、鼻腔内（カニューレの使用を含む）で、または他の経路によって投与することができる。薬剤は、例えば、所定量の活性成分、ゲル、ペレット、ペースト、シロップ、ボラス、舐剤、スラリー、カプセル、粉末、顆粒を含む錠剤またはカシェ剤として、水性液体または非水性液体中の溶液もしくは懸濁液として、水中油型液体乳剤または油中水型液体乳剤として、ミセル製剤を介して（例えば、全体において参照により本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO97/11682号を参照されたい）、リポソーム製剤を介して（例えば、全体において参照により本明細書に組み込まれる、欧州特許第736299号、PCT公開第WO99/59550号、及びPCT公開第WO97/13500号を参照されたい）、PCT公開第WO03/09

40

50

4886号に記載されている製剤を介して（全体において参照により本明細書に組み込まれる）、またはいくつかの他の形態で、経口で投与することができる。薬剤はまた、経皮的に投与することもできる（すなわち、リザーバー型またはマトリックス型パッチ、マイクロニードル、サーマルポレーション、皮下注射針、イオントフォレシス、電気穿孔法、超音波、もしくは他の形態のソノフォレシス、ジェット注射、または前述の方法のうちのいずれかの組み合わせ（全体において参照により本明細書に組み込まれる、P r a u s n i t z e t a l . , “ C u r r e n t S t a t u s a n d F u t u r e P o t e n t i a l o f T r a n s d e r m a l D r u g D e l i v e r y , ” N a t u r e R e v i e w s D r u g D i s c o v e r y 3 : 1 1 5 (2 0 0 4) ）を介する）。薬剤は、局所的に投与することができる。

10

【0134】

薬剤は、坐剤の形態で、または他の腔もしくは直腸手段によって投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、P C T 公開第 W O 9 0 / 0 7 9 2 3 号に記載されているように、膜貫通製剤で投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第 6, 4 8 5, 7 0 6 号に記載されている脱水粒子を介して非侵襲的に投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、P C T 公開第 W O 0 2 / 4 9 6 2 1 号に記載されているように、腸溶性コーティング薬物製剤で投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第 5, 1 7 9, 0 7 9 号に記載されている製剤を使用して、鼻腔内投与することができる。非経口注射に好適な製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、P C T 公開第 W O 0 0 / 6 2 7 5 9 号に記載されている。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 2 0 6 9 3 9 号及び P C T 公開第 W O 0 0 / 0 6 1 0 8 号に記載されているカゼイン製剤を使用して投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第 2 0 0 2 0 0 3 4 5 3 6 号に記載されている粒子状製剤を使用して投与することができる。

20

【0135】

薬剤は、単独で、または他の好適な構成成分と組み合わせて、これらに限定されないが、気管内注入（シリンジによる肺への溶液の送達）、リボソームの気管内送達、吹送（シリンジまたは他の同様のデバイスによる肺への粉末製剤の投与）、及びエアロゾル吸入を含むいくつかの技術を利用して、肺経路によって投与することができる。エアロゾル（例えば、ジェットまたは超音波ネブライザ、定用量吸入器（「M D I」）、及び乾燥粉末吸入器（「D P I」））は、鼻腔内用途でも使用することができる。エアロゾル製剤は、気体媒体中の固体材料及び液滴の安定した分散液または懸濁液であり、ハイドロフルオロアルカン（H F A、すなわち、H F A - 1 3 4 a 及び H F A - 2 2 7、またはそれらの混合物）、ジクロロジフルオロメタン（または、推進剤 1 1、1 2、及び／または 1 1 4 の混合物などの他のクロロフルオロカーボン推進剤）、プロパン、窒素などの加圧された許容される推進剤に投入され得る。肺製剤には、脂肪酸、及び糖類、キレート剤、酵素阻害剤（例えば、プロテアーゼ阻害剤）、アジュバント（例えば、グリココール酸塩、サーファクチン、スパン 8 5、及びナファモスタット）、保存剤（例えば、塩化ベンザルコニウムまたはクロブタノール）、及びエタノール（通常は、最大 5 重量％であるが、おそらく最大 2 0 重量％）などの透過増強剤が含まれ得る。エタノールは、定量バルブの機能を改善することができ、いくつかの場合では分散液の安定性も改善することができるため、エアロゾル組成物に一般的に含まれる。

30

40

【0136】

肺製剤はまた、これらに限定されないが、胆汁酸塩、ならびに全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第 6, 5 2 4, 5 5 7 号及びその中の参考文献に記載されているものを含む界面活性剤を含み得る。米国特許第 6, 5 2 4, 5 5 7 号に記載されている界面活性剤、例えば、C₈ - C₁₆ 脂肪酸塩、胆汁酸塩、リン脂質、またはアルキル糖類は、それらのいくつかもまた製剤における化合物の吸収を高めると報告されてい

50

る点で有利である。

【0137】

適切な担体と混合され、かつ乾燥粉末吸入器に関連する使用に適合された治療有効量の活性化化合物を含む乾燥粉末製剤もまた好適である。乾燥粉末製剤に添加され得る吸収促進剤には、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第6,632,456号に記載されているものが含まれる。全体において参照により本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO02/080884号は、粉末の表面改質のための新しい方法を記載している。エアロゾル製剤には、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5,230,884号及び第5,292,499号、PCT公開第WO017/8694号及び第01/78696号、ならびに米国特許出願公開第2003/019437号、第2003/0165436号、及びPCT公開第WO96/40089号（植物油を含む）に記載されているものが含まれ得る。吸入に好適な徐放性製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2001/0036481号、第2003/0232019号、及び第2004/0018243号、ならびにPCT公開第WO01/13891号、第02/067902号、第03/072080号、及び第03/079885号に記載されている。

10

【0138】

微粒子を含む肺製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO03/015750号、特許出願公開第2003/0008013、及びPCT公開第WO00/00176号に記載されている。安定したガラス状の粉末を含む肺製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2002/0141945号及び米国特許第6,309,671号に記載されている。他のエアロゾル製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、欧州特許第1338272号、PCT公開第WO90/09781号、米国特許第5,348,730号及び第6,436,367号、PCT公開第WO91/04011号、ならびに米国特許第6,294,153号及び第6,290,987号に記載されており、それらはエアロゾルまたは他の手段を介して投与することができるリポソームベースの製剤を記載している。

20

【0139】

吸入用の粉末製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2003/0053960号及びPCT公開第WO01/60341号に記載されている。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2001/0038824号に記載されているように、鼻腔内投与することができる。

30

【0140】

緩衝食塩水及び類似のビヒクル中の医薬品の溶液は、ネブライザでエアロゾルを生成するために一般的に用いられている。簡単なネブライザは、ベルヌーイの原理に基づいて動作し、空気または酸素の流れを用いて噴霧粒子を生成する。より複雑なネブライザは、超音波を用いて噴霧粒子を作製する。どちらの種類も当該技術分野で周知であり、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Joseph Barnett Sprowls, Sprowls' American Pharmacy (7th ed., Lippincott 1974) 及び Remington: The Science and Practice of Pharmacy (21st ed., Lippincott 2005) などの標準的な薬学の教科書に記載されている。

40

【0141】

エアロゾルを生成するための他のデバイスは、圧縮ガス、通常はハイドロフルオロカーボン及びクロロフルオロカーボンを用い、これらは、加圧容器内で医薬品及び任意の必要な賦形剤と混合される。同様に、これらのデバイスは、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Joseph Barnett Sprowls, Sprowls' American Pharmacy (7th ed., Lippincott 1974) 及び Remington: The Science and Practice of Pharmacy (21st ed., Lippincott 2005) などの標準

50

的な教科書に記載されている。

【0142】

薬剤は、リポソームに組み込まれて、半減期を改善することができる。薬剤はまた、ポリエチレングリコール（「PEG」）鎖に複合体化され得る。ペグ化の方法及びPEG複合体（すなわち、PEGベースのヒドロゲル、PEG修飾リポソーム）を含む追加の製剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Harris and Chess, "Effect of Pegylation on Pharmaceuticals," Nature Reviews Drug Discovery 2:214-221、及びその中の参考文献に見出され得る。薬剤は、ナノ渦巻状または渦巻状の送達ビヒクル（BioDelivery Sciences International）を介して投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5,204,108号に記載されているものなどの製剤を使用して、経粘膜的に（すなわち、膣、目、または鼻などの粘膜表面を通して）送達することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO88/01165に記載されているように、マイクロカプセルに製剤化することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願公開第2002/0055496、PCT公開第WO00/47203、及び米国特許第6,495,120号に記載されている製剤を使用して口腔内投与することができる。薬剤は、全体において参照により本明細書に組み込まれる、PCT公開第WO01/91728号に記載されているナノ乳剤製剤を使用して送達することができる。

10

20

【0143】

別の態様は、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態について対象を治療する方法に関する。この方法は、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態の治療を必要とする対象に、状態について対象を治療するのに有効な条件下で、本明細書に記載される化合物または組成物を投与することを含む。

【0144】

一実施形態では、本明細書に記載される治療方法は、不十分なレベルのインスリン分泌について対象を治療するために、対象における膵臓ベータ細胞質量を増加させるのに有効な条件下で実施される。

【0145】

一実施形態では、化合物または組成物は、TGFβスーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤と一緒にまたは同時に投与され得る。好適な形質転換成長因子ベータ（TGFβ）スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、上に詳細に記載されている。

30

【0146】

別の実施形態では、化合物または組成物は、グルカゴン様ペプチド-1受容体（GLP1R）アゴニストまたはジペプチジルペプチダーゼIV（DPP4）阻害剤と一緒にまたは同時に投与され得る。好適なグルカゴン様ペプチド-1受容体（GLP1R）アゴニストまたはジペプチジルペプチダーゼIV（DPP4）阻害剤は、上に詳細に記載されている。この実施形態によれば、投与することは、不十分なレベルのインスリン分泌について対象を治療するために、対象における膵臓ベータ細胞質量の相乗的増加を引き起こすのに有効な条件下で実施される。

40

【0147】

本明細書で使用される場合、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態とは、不十分なインスリン分泌に関連する状態を有する対象が高血糖になるように、対象が血液中の正常なグルコースレベルを維持するのに必要とされるインスリンのより低い血漿レベルを生成する状態を意味する。そのような状態では、罹患した対象の膵臓ベータ細胞は、血液中のグルコースの正常な濃度の存在（すなわち、正常血糖）を維持するのに不十分なレベルのインスリンを分泌する。

【0148】

一実施形態によれば、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態のうちの1つは

50

、インスリン抵抗性である。インスリン抵抗性は、対象の細胞がインスリンのグルコース低下作用に対して感受性がより低くなる状態である。筋肉及び脂肪細胞におけるインスリン抵抗性は、グルコースの取り込み（したがって、グリコーゲン及びトリグリセリドとしてのグルコースの局所的貯蔵）を低減するが、肝細胞におけるインスリン抵抗性は、グリコーゲンの合成及び貯蔵を低減させ、グルコース生成の抑制及び血液中の放出の失敗をもたらす。インスリン抵抗性は、通常、インスリンのグルコース低下作用の低減を指す。しかしながら、インスリンの他の機能も影響され得る。例えば、脂肪細胞におけるインスリン抵抗性は、脂質に対するインスリンの正常な影響を低減し、循環する脂質の取り込みの低減、及び貯蔵されたトリグリセリドの加水分解の増加をもたらす。これらの細胞において貯蔵された脂質の動員が増加すると、血漿中の遊離脂肪酸が上昇する。血中脂肪酸濃度の上昇、筋肉のグルコース取り込みの低減、及び肝臓のグルコース生成の増加は全て、血中グルコースレベルの上昇に寄与する。インスリン抵抗性が存在する場合、より多くのインスリンが膵臓から分泌される必要がある。この代償的な増加が起こらない場合、血中グルコース濃度が増加し、I I 型糖尿病が発生する。

10

【0149】

別の実施形態によれば、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態のうちの1つは、糖尿病である。糖尿病は、大きく2種類の疾患：I 型（T 1 D）及びI I 型（T 2 D）に分類することができる。「糖尿病」という用語は、患者が、I 型糖尿病（T 1 D）、I I 型糖尿病（T 2 D）、妊娠糖尿病、先天性糖尿病、成人発症糖尿病（M O D Y）、嚢胞性線維症関連糖尿病、ヘモクロマトーシス関連糖尿病、薬物誘発性糖尿病（例えば、ステロイド糖尿病）、及び単一遺伝子糖尿病のうちのいくつかの形態を含む高血中グルコースレベルを有する一群の代謝疾患を本明細書で指す。

20

【0150】

したがって、一実施形態では、対象は、I 型糖尿病（T 1 D）、I I 型糖尿病（T 2 D）、妊娠糖尿病、先天性糖尿病、成人発症糖尿病（M O D Y）、嚢胞性線維症関連糖尿病、ヘモクロマトーシス関連糖尿病、薬物誘発性糖尿病、または単一遺伝子糖尿病のうちの1つ以上を有すると診断されている。例えば、対象は、I 型糖尿病と診断されている。または、対象は、I I 型糖尿病と診断されている。

【0151】

別の実施形態によれば、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態は、代謝症候群である。代謝症候群は、概して、I I 型糖尿病及びアテローム性動脈硬化症の発症のリスクの増加に関連する異常群を定義するために使用される。関連する状態及び症状には、これらに限定されないが、空腹時高血糖症（I I 型真性糖尿病もしくは空腹時グルコース障害、耐糖能障害、またはインスリン抵抗性）、高血圧；主に腰周りの脂肪沈着を伴う過体重を意味する、中心性肥満（内臓肥満、男性型肥満、またはリング型肥満としても知られている）；H D L コレステロールの減少；及びトリグリセリドの上昇が挙げられる。

30

【0152】

一実施形態では、対象は、代謝症候群またはインスリン抵抗性を有すると診断されている。

【0153】

不十分なレベルのインスリン分泌に関連し得る他の状態には、限定されないが、高尿酸血症、非アルコール性脂肪肝疾患に進行する脂肪肝（特に同時肥満の場合）、多嚢胞性卵巣症候群（女性における）、及び黒色表皮腫が含まれる。

40

【0154】

正常範囲外の血中または血漿グルコースレベル、好ましくは高血糖症に関連する任意の疾患を含むがこれらに限定されない、関連する障害も治療され得る。したがって、「関連障害」という用語には、耐糖能障害（I G T）、空腹時血糖障害（I F G）、インスリン抵抗性、代謝症候群、食後高血糖、及び過体重／肥満が含まれる。そのような関連疾患はまた、異常な血中及び／または血漿インスリンレベルによって特徴付けることができる。

【0155】

50

別の実施形態によれば、本明細書に記載される方法は、ベータ細胞不全または欠乏に関連する状態を有する対象を治療するために実施される。そのような状態には、限定されないが、I型糖尿病（T1D）、II型糖尿病（T2D）、妊娠糖尿病、先天性糖尿病、成人発症糖尿病（MODY）、嚢胞性線維症関連糖尿病、ヘモクロマトーシス関連糖尿病、薬物誘発性糖尿病、または単一遺伝子糖尿病が含まれる。薬物誘発性糖尿病は、ベータ細胞に対して毒性のある薬物（例えば、ステロイド、抗うつ薬、第二世代抗精神病薬、及び免疫抑制薬）の使用によって引き起こされる状態に関する。例示的な免疫抑制薬には、これらに限定されないが、コルチゾンファミリーのメンバー（例えば、プレドニゾン及びデキサメタゾン）、ラパマイシン／シロリムス、エベロリムス、及びカルシニューリン阻害剤（例えば、FK-506／タクロリムス）が含まれる。

10

【0156】

ベータ細胞欠乏に関連する追加の状態には、限定されないが、無自覚性低血糖、不安定なインスリン依存性糖尿病、膵切除、膵部分切除、膵臓移植、膵島同種移植、膵島自家移植、及び膵島異種移植が含まれる。したがって、本明細書に記載される方法は、膵切除により誘発された糖尿病を有する対象を治療するために実施され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される方法は、膵島同種移植（例えば、T1Dの場合）または膵島自家移植（例えば、慢性膵炎により膵切除を受けている対象の場合）を受けたことがある対象を治療するために実施される。

【0157】

本明細書で使用される場合、無自覚性低血糖は、血糖値の低下を患者に警告する働きをする高血糖の特徴的な症状（例えば、動悸、発汗、不安）を生成するエピネフリンの分泌を誘発することに失敗したため、患者が血糖値の大幅な低下に対して無自覚である、糖尿病の合併症である。

20

【0158】

膵臓移植は、単独で、腎臓移植後に、または腎臓移植と組み合わせて行われ得る。例えば、無自覚性低血糖、及び最適な医療管理にもかかわらず持続する不安定なインスリン依存性糖尿病が原因により、重度の障害、及び生命を脅かす可能性のある合併症を有する患者においては、膵臓移植のみが医学的に必要であると考えられ得る。以前の腎臓移植後の膵臓移植は、インスリン依存性糖尿病を有する患者において発生し得る。脾臓移植は、尿毒症を有するインスリン依存性糖尿病患者において、腎臓移植と組み合わせて行われ得る。膵臓の再移植は、失敗した一次膵臓移植後に考慮され得る。

30

【0159】

本明細書で使用される場合、膵島移植は、インスリン生成ベータ細胞及びグルカゴン生成アルファ細胞を含む膵臓の内分泌細胞を含むランゲルハンス島のみが単離され、患者に移植される手順である。膵島同種移植は、ランゲルハンス島が1名以上のヒトのドナーの膵臓から単離されたときに行われる。膵島はまた、ヒト胚性幹細胞または人工多能性幹細胞に由来し得る。膵島異種移植は、ランゲルハンス島が1以上の非ヒト膵臓（例えば、ブタの膵臓または霊長類の膵臓）から単離されたときに行われる。膵島の自家移植は、ランゲルハンス島が膵切除を受けている患者の膵臓から単離されたときに行われ（例えば、胆石、薬物、及び／または家族性遺伝的原因からの慢性膵炎の場合）、例えば、門脈への注入を介して、大網への腹腔鏡検査を介して、胃壁への内視鏡検査を介して、または小切開を介する皮下から同じ患者に戻される。膵臓移植と同様に、膵島移植は、単独で、腎臓移植後に、または腎臓移植と組み合わせて行うことができる。例えば、膵島移植は、自覚性低血糖を回復し、血糖コントロールを提供し、及び／または重度の低血糖イベントから患者を保護するために単独で行われ得る（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Hering et al., "Phase 3 Trial of Transplantation of Human Islets in Type 1 Diabetes Complicated by Severe Hypoglycemia," Diabetes Care 39 (7): 1230-1240 (2016)）。

40

【0160】

50

膵島移植は、膵全摘術と組み合わせて行われ得る。例えば、膵島移植は、膵臓全摘術後に行われ、 β 細胞機能を維持することにより外科的に誘導された糖尿病を予防または改善し得る（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Johnston et al., “Factors Associated with Islet Yield and Insulin Independence after Total Pancreatectomy and Islet Cell Autotransplantation in Patients with Chronic Pancreatitis Utilizing Off-Site Islet Isolation: Cleveland Clinic Experience,” J. Chem. Endocrinol. Metab. 100 (5): 1765–1770 (2015)）。したがって、膵島移植は、持続的な長期のインスリン非依存性を提供し得る。

10

【0161】

いくつかの実施形態では、膵島移植は、グルコース及び栄養素が移植された膵島細胞に到達することを可能にしながら、移植された膵島細胞を宿主の自己免疫応答から保護するカプセル化デバイスの状況で行われる。

【0162】

本明細書に記載される方法は、患者における膵臓 β 細胞を再生成することによって、膵臓、膵島同種移植、膵島自家移植、及び／または膵島異種移植を増強するために実施され得る。例えば、方法は、 β 細胞機能を維持することにより外科的に誘導された糖尿病を予防または改善し、自覚性低血糖を回復し、血糖コントロールを提供し、及び／または重度の低血糖イベントから患者を保護するために使用され得る。したがって、本開示の別の態様は、移植患者において膵臓ベータ細胞を再生成する方法に関する。この方法は、式（I）の化合物、及び任意に、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1受容体（GLP1R）アゴニスト、及び／またはジペプチジルペプチダーゼIV（DPP4）阻害剤を移植患者に投与することを含み、当該投与することは、患者における膵臓ベータ細胞を再生成するのに有効な条件下で実施される。

20

【0163】

別の実施形態では、本明細書に記載される方法は、II型糖尿病を発症するリスクのある対象を治療するために実施される。一実施形態では、II型糖尿病を発症するリスクのある患者は、前糖尿病／代謝症候群を有する。別の実施形態では、II型糖尿病を発症するリスクのある患者は、うつ病、強迫性障害（「OCD」）などに対する選択的セロトニン再取り込み阻害剤（「SSRI」）を含むがこれらに限定されない向精神薬で治療されている。

30

【0164】

治療方法の実施において、本発明の化合物または組成物、及び任意に、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1受容体（GLP1R）アゴニスト、及び／またはDPP4阻害剤は、不十分なレベルのインスリン分泌に関連する状態について対象を治療するために、対象における膵臓ベータ細胞質量を増加させるのに有効な条件下で投与される。

【0165】

一実施形態によれば、式（I）の化合物もしくは式（I）の化合物を含む組成物、及び／またはTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、対象における膵臓ベータ細胞質量を増加させるために投与され、これにより対象におけるインスリン分泌レベルの増加がもたらされる。

40

【0166】

化合物及び／または組成物ならびにTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤は、一実施形態によれば、式（I）の化合物及びTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤の両方を含む別個の薬学的組成物または単一の薬学的組成物として製剤化される。一実施形態によれば、そのような薬学的組成物（複数可）は、治療有効量の式（I）の化合物及び／またはTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤を含む。

50

【0167】

したがって、一実施形態によれば、本発明の化合物及びTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤の組み合わせまたは併用療法もしくは併用治療が投与される。「組み合わせ」または「併用療法」または「併用治療」という用語は、少なくとも2つの化合物が、対象に同時投与され、生物学的効果、この場合は相乗効果を引き起こす治療を意味する。併用療法では、少なくとも2つの薬物は、一緒にまたは別々に、同時にまたは逐次的に投与され得る。薬物が対象において相乗効果を生成し、対象の状態を改善する限り、同時投与は必要とされない。また、少なくとも2つの薬物は、異なる経路及びプロトコルを介して投与され得る。結果として、それらは一緒に製剤化され得るが、組み合わせの薬物はまた、別々に製剤化され得る。

10

【0168】

さらなる態様は、神経障害について対象を治療する方法に関する。この方法は、神経障害の治療を必要とする対象に、状態について対象を治療するのに有効な条件下で、本発明の化合物を投与することを含む。

【0169】

一実施形態では、対象は、糖尿病を有するか、及び／またはダウン症候群及び神経変性疾患のうちの1つ以上を有すると診断されている。

【0170】

治療方法の実施において、対象への化合物の投与は、化合物（複数可）（すなわち、式（I）の化合物及びTGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤）を含む薬学的組成物を、対象における示された状態及び／または障害を治療するのに有効な化合物の量を意味する治療有効量で投与することを含み得る。そのような量は、概して、当業者の十分な範囲内でのいくつかの要因に従って変化する。これらには、限定されないが、特定の対象、ならびにその年齢、体重、身長、全身的な健康状態、及び病歴、使用される特定の化合物、ならびにそれが製剤化される担体及びそのために選択された投与経路、治療の長さまたは期間、ならびに治療されている状態の性質及び重症度が含まれる。

20

【0171】

投与することは、典型的には薬学的に許容される剤形を投与することを含み、薬学的に許容される剤形とは、本明細書に記載される化合物の剤形を意味し、例えば、錠剤、糖衣錠、粉末、エリキシル、シロップ、懸濁液、噴霧、吸入剤錠剤、ロゼンジ、乳剤、溶液を含む液体製剤、顆粒、カプセル、及び坐剤、ならびにリボソーム製剤を含む注射用の液体製剤を含む。技術及び製剤は、一般に、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., latest editionに見出され得る。

30

【0172】

治療方法を実施することにおいて、薬物（すなわち、式（I）の化合物、及び任意に、TGF β スーパーファミリーシグナル伝達経路阻害剤、グルカゴン様ペプチド-1受容体（GLP1R）アゴニスト、及び／またはジペプチジルペプチダーゼIV（DPP4）阻害剤）は、任意の適切な量で、任意の好適な担体物質に含まれ得る。薬物は、組成物の総重量の最大99重量%の量で存在し得る。組成物は、経口、非経口（例えば、皮下、静脈内）、直腸、皮膚、鼻腔、膈、吸入、皮膚（パッチ）、または眼の投与経路に好適な剤形で提供され得る。したがって、組成物は、例えば、錠剤、カプセル、ビル、粉末、顆粒、懸濁液、乳剤、溶液、ヒドロゲルを含むゲル、ペースト、軟膏、クリーム、プラスター、ドレンチ、浸透圧送達デバイス、坐剤、浣腸剤、注射剤、インプラント、噴霧、またはエアロゾルの形態であり得る。

40

【0173】

本発明による薬学的組成物は、投与直後に、または投与後の任意の所定時間もしくは期間に活性薬物を実質的に放出するように製剤化され得る。

【0174】

50

徐放性製剤には、(i) 長期間にわたって体内で薬物(複数可)の実質的に一定の濃度を作り出す製剤；(ii) 所定のラグタイム後、長期間にわたって体内で薬物(複数可)の実質的に一定の濃度を作り出す製剤；(iii) 活性原薬の血漿中レベルの変動に関連する望ましくない副作用を同時に最小化することによって、体内で比較的一定の有効な薬物レベルを維持することにより、所定期間の間、薬物(複数可)作用を持続する製剤；(iv) 例えば、疾患組織もしくは器官に隣接するか、またはその中にある徐放性組成物の空間配置によって薬物(複数可)作用を局在化する製剤；及び(v) 特定の標的細胞型に薬物を送達するために担体または化学誘導体を使用することによって、薬物(複数可)作用を標的とする製剤が含まれる。

【0175】

徐放性製剤の形態での薬物の投与は、薬物が、(i) 狭い治療指数(すなわち、有害な副作用または毒性反応をもたらす血漿濃度と、治療効果をもたらす血漿濃度との差が小さい；一般に、治療指数(「TI」)は、中央値の致死量(LD₅₀)と中央値の有効量(ED₅₀)の比として定義される)；(ii) 胃腸管の狭い吸収ウィンドウ；または(iii) 血漿レベルを治療レベルに維持するために日中の頻繁な投与が必要とされるような、非常に短い生物学的半減期を有する場合に特に好ましい。

【0176】

放出速度が問題の薬物の代謝速度を超える制御放出を得るために、いくつかの戦略のうちのいずれかを遂行することができる。制御放出は、例えば、様々な種類の制御放出組成物及びコーティングを含む、様々な製剤パラメータ及び成分の適切な選択によって得ることができる。したがって、薬物は、投与すると、制御された様式で薬物を放出する薬学的組成物に適切な賦形剤とともに製剤化される(単一もしくは複数単位の錠剤またはカプセル組成物、油性溶液、懸濁液、乳剤、マイクロカプセル、ミクロスフェア、ナノ粒子、パッチ、及びリポソーム)。

【0177】

したがって、投与することは、経口、局所、経皮、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、鼻腔内注入によって、腔内もしくは膀胱内注入によって、眼内、動脈内、病変内、または粘膜への適用によって実施され得る。一実施形態では、投与することは、経口、経皮、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、または腹腔内で実施される。化合物は、単独で、または好適な薬学的担体とともに投与することができ、錠剤、カプセル、粉末、溶液、懸濁液、または乳剤などの固体または液体形態であり得る。

【0178】

対象は、哺乳動物対象であり得る。一実施形態では、対象は、ヒト対象である。好適なヒト対象には、限定されないが、ベータ細胞及び／インスリン欠乏を有する小児、成人、及び高齢者対象が含まれる。

【0179】

他の実施形態では、対象は、ウシ、ヒツジ、ブタ、ネコ、ウマ、ネズミ、イヌ、ウサギなどであり得る。

【0180】

一実施形態では、投与ステップは、対象における増殖性膵臓ベータ細胞の数を少なくとも約5%、6%、7%、またはそれ以上増加させ得る。

【0181】

いくつかの実施形態では、投与することは、対象の膵臓ベータ細胞におけるグルコース刺激インスリン分泌を増加させる。

【0182】

この態様及び他の態様の一実施形態では、化合物の指定は、化合物自体、ならびにその任意の薬学的に許容される塩、水和物、異性体、ラセミ体、エステル、またはエーテルを指定することを意味する。化合物の指定は、それ自体具体的に指定された化合物、ならびにその任意の薬学的に許容される塩を指定することを意味する。

【0183】

10

20

30

40

50

本発明の文脈内で、「治療する」とは、予防的または治癒的治療を意味する。

【0184】

一実施形態では、治療という用語は、特に、グルコース恒常性障害の修正、変化率の低減、または低減を指定する。血液中のグルコースのレベルは、一日を通して変動する。グルコースレベルは、通常、その日の最初の食事の前の朝はより低く、食後数時間は上昇する。その結果、治療という用語は、正常なグルコースレベルに到達させるために、対象の状態及び昼間に応じて血中グルコースレベルを増加または減少させることによる、血中グルコースレベルの制御を含む。より具体的には、治療という用語は、糖尿病または関連障害を有する対象における血中グルコースレベルの一時的または持続的な低減を含む。「治療」または「治療する」という用語はまた、インスリン放出の改善（例えば、膵臓ベータ細胞による）を指定する。

10

【0185】

本明細書で使用される場合、「血中グルコースレベルの制御」という語句は、異常なレベル（すなわち、正常なグルコース恒常性を有する対応する対象の既知の基準値、中央値、または平均値より下または上にあるレベル）を有する対象における血中または血漿グルコースレベルの正常化または調節を指す。

【実施例】

【0186】

実施例1－実施例2～5の材料及び方法

^1H 及び ^{13}C NMRスペクトル。 ^1H 及び ^{13}C NMRスペクトルを、Bruker DRX-600分光計で、 ^1H については600MHz、及び ^{13}C については150MHzで取得した。TLCを、Sorbent Technologiesにより提供されるシリカコーティングアルミニウムシート（厚さ200 μm ）またはアルミナコーティング（厚さ200 μm ）アルミニウムシートで行い、カラムクロマトグラフィーを、可変波長検出器及びフラクションコレクターを備えたTeledyne ISCOコンビフラッシュで、Teledyne ISCOのRediSep Rf高性能シリカフラッシュカラムを使用して実施した。Agilent Technologies 1200 HPLCシステムに接続されたAgilent Technologies G1969A高分解能API-TOF質量分析計で、LCMS分析を行った。ポジティブモードでエレクトロスプレーイオン化（ESI）により試料をイオン化した。クロマトグラフィーを、2.1 $\times$ 150mm Zorbax 300SB-C18 5 μm カラムで、溶媒Aとして0.1%ギ酸を含む水及び溶媒Bとして0.1%ギ酸を含むアセトニトリルを用いて、0.4mL/分の流量で行った。勾配プログラムは次の通りであった：1%B（0～1分）、1～99%B（1～4分）、及び99%B（4～8分）。分析全体を通して、カラムの温度を50 $^{\circ}\text{C}$ に維持した。化学物質及び試薬は、Aldrich Co.、Alfa Aesar, Enamine, TCI USAから購入した。全ての溶媒は、Acros Organicsから無水で購入し、さらなる精製なしで使用した。

20

30

【0187】

DYRK1A結合アッセイ。化合物を、FRETベースのLanthaScreen（登録商標）Euキナーゼ結合アッセイを使用する市販のキナーゼプロファイリングサービスであるLife TechnologiesでDYRK1A結合活性について試験した。化合物を、2つ組で、1000nM及び300nMの濃度でDYRK1A活性についてスクリーニングした。IC₅₀を、2つ組で10点のLanthaScreen（登録商標）Euキナーゼ結合アッセイによって決定した。

40

【0188】

B細胞増殖アッセイ。ヒト膵島を、NIH/NIHDDK支援統合膵島配布プログラム（IIDP）から得た。膵島を、最初に、前述のようにAccutase（Sigma, St. Louis, MO）でカバーガラス上に分散させた（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015）。2時間後、分散したヒト膵島細胞を、RPMI 1640完全培地中の化合物で96時間処理した。次いで、細胞を固定

50

し、インスリン及びKi 67染色のために染色した（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015）。総インスリン陽性細胞及び二重Ki 67及びインスリン陽性細胞を撮像してカウントした。少なくとも1000個の細胞がカウントされた。

【0189】

NFAT2T転座アッセイ。R7T1げっ歯類ベータ細胞に、NFAT2-GFPを発現するアデノウイルスを48時間感染させ、次いで、細胞を異なる化合物で、10 μMでさらに24時間処理した。細胞を撮像し、NFAT2-GFP核転座についてカウントした。少なくとも1000個の細胞がカウントされた。

【0190】

Kinomeスキャンプロファイル。化合物を、それらの独自のKINOMEScan（登録商標）アッセイを使用してDiscover Xで、2つ組で、10 μMの単一濃度で468個のキナーゼに対してスクリーニングした（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Fabian et al., "A Small Molecule-Kinase Interaction Map for Clinical Kinase Inhibitors," Nat. Biotechnol. 23(3):329-336(2005)）。一次スクリーニング結合相互作用の結果は、値が小さいほどより強い親和性を示す、「DMSO対照%」として報告される。

【0191】

7-メトキシ-2, 9-ジヒドロ-β-カルボリン-1-オンの合成(1-4)。m-アニシジン(1.096 mL、38.56 mmol)を15 mLの濃塩酸に溶解し、冷却後、15 mLの水を溶液に添加した。15 mLの水中の亜硝酸ナトリウム(2.74 g、39.71 mmol)を、冷たい懸濁液に滴下で添加し、温度を10℃未満に維持しながら1時間攪拌した。この溶液を、室温で一晩維持されていた20 mLの水中のエチル3-カルボキシ-2-ピペリドン(7.0 g、40.88 mmol)及び水酸化カリウム(2.63 g、47.01 mmol)の冷溶液に添加した。反応混合物のpHを、酢酸ナトリウムの飽和水溶液により4~5に調整した。得られた混合物を、室温で5時間攪拌した。黄色の固体を濾過し、少量の水及びエタノールで洗浄して、6-メトキシフェニルヒドラゾン1-2を得、これをすぐに次のステップのために取り出した。フェニルヒドラゾン1-2を、25 mLのギ酸中で1時間還流した。溶液を炭酸ナトリウムの飽和水溶液で中和し、100 mLの酢酸エチルで3回抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、溶媒を回転蒸発させて、所望のテトラヒドロ-オキソ-β-カルボリン2-3を得た。60 mLの1, 4-ジオキサン中の化合物2-3の溶液に、40 mLの1, 4-ジオキサン中のDDQ(2.65 g、11.7 mmol)を0℃で、滴下で添加し、室温で1時間攪拌した。反応の完了時に、100 mLの水を反応物に添加した。生成物混合物を分液漏斗に移し、酢酸エチル(100 mL×3)で3回抽出した。有機層を0.1 Nの水酸化ナトリウム溶液(50 mL×3)で洗浄した。次いで、組み合わせた有機層を、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮して、所望の7-メトキシ-2, 9-ジヒドロ-β-カルボリン-1-オン1-4(4ステップで1.91 g、23%)を黄色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 7.85 (d, 1H, *J*=9 Hz), 7.12 (d, 1H, *J*

=4.8 Hz), 7.06-7.08 (m, 2H), 6.86 (d, 1H, *J*=6.6 Hz), 3.89 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-

DMSO): δ159.40, 155.72, 140.74, 127.75, 125.12, 122.58, 116.40, 110.78, 99.85, 94.69, 55.61;

HRMS (ESI): *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₂H₁₁N₂O₂⁺: 215.0815, found: 215.0806

【0192】

1-クロロ-7-メトキシ-9H-β-カルボリンの合成(1-5)。POCl₃(20 mL)中の7-メトキシ-2, 9-ジヒドロ-β-カルボリン-1-オン(1.80 g、8.49 mmol)の溶液を、150℃で24時間攪拌した。混合物を炭酸ナトリウム

の飽和水溶液で中和した。溶液を分液漏斗に移し、酢酸エチル（50 mL × 3）で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮して、所望の1-クロロ-7-メトキシ-9H-β-カルボリン1-5（1.56 g、79%）を黄色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.31 (s, 1H), 8.19 (d, 1H, J = 5.4 Hz), 7.96 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 7.78 (s, 1H, J = 5.4 Hz), 7.0 (s, 1H), 6.95 (m, 1H), 3.93 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz, d₆-DMSO): δ 161.14, 142.87, 138.10, 132.93, 132.83, 130.73, 123.44, 115.06, 114.39, 110.60, 95.28, 55.78; HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ calculated for C₁₂H₁₀ClN₂O⁺: 233.0476, found: 233.0471

10

【0193】

1-アミノ-7-メトキシ-9H-β-カルボリン（1-6）の合成の一般的な手順。密封された圧力容器中の1-クロロ-7-メトキシ-9H-β-カルボリン（1 mmol）及びアミン（10 mmol）の溶液を、170℃で24時間加熱した。LCMSによって監視した反応の完了時に、反応混合物を濃縮し、DCM/MeOHを溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の1-アミノ-7-メトキシ-9H-β-カルボリン1-6を白色の固体として得た。

【0194】

1-（アゼチジン-1-イル）-7-メトキシ-9H-β-カルボリンの合成（1-6a）。磁気攪拌棒を備えたスクリュウキャップ圧力容器に、1-5（50 mg、0.21 mmol）のRuPhos（1 mg、1 mol%）及びRuPhosプレ触媒（P1）（1.75 mg、1 mol%）を充填した。バイアルを排気し、アルゴンを再充填し、テフロンスクリュウキャップで密封した。LiHMDS（THF中1 M、2.4当量）をシリンジを介して添加し、続いて、アゼチジン（0.25 mmol、1.2当量）を添加した。反応混合物を90℃で96時間加熱した。溶液を室温まで冷却させ、次いで、1 M HCl（1 mL）を添加することによりクエンチし、EtOAcで希釈し、飽和NaHCO₃に注ぎ入れた。EtOAcで抽出した後、組み合わせた有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄で乾燥させ、次いで濃縮し、MeOH/DCM（10/90）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物1-6a（6.5 mg、12%）を白色の固体として得た。収率64%。

20

30

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.98 (m, 1H), 7.90 (d, 1H, J = 9 Hz), 7.30 (m, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.89 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 4.38 (t, 4H, J = 7.2 Hz), 3.90 (s, 3H), 2.52 (m, 2H); ¹³C-NMR (150 MHz, d₆-DMSO): 159.83, 149.05, 141.87, 136.84, 128.30, 123.52, 122.33, 115.48, 109.56, 106.39, 95.22, 55.61, 51.82, 17.42; HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ calculated for C¹⁵H₁₆N₃O⁺: 254.1288, found: 254.1284; 純度 >95%

【0195】

1-（ピロリジン-1-イル）-7-メトキシ-9H-β-カルボリン（1-6b）。白色の固体。収率64%。

40

¹H-NMR (600 MHz, d₆-DMSO): δ 8.32 (s, 1H), 7.94 (d, 1H, J = 5.4 Hz), 7.89 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 7.22 (d, 1H, J = 5.4 Hz), 6.93 (s, 1H), 6.88 (d, 1H, J = 8.4 Hz), 3.90 (m, 7H), 2.07 (s, 4H); ¹³C-NMR (150 MHz, d₆-DMSO): δ 159.64, 146.72, 141.52, 136.88, 128.60, 123.63, 122.09, 115.48, 109.43, 104.82, 95.28, 55.58, 48.39, 25.35; HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ calculated for C₁₆H₁₈N₃O⁺: 268.1444, found: 268.1460; 純度 >95%

【0196】

1-（ピペリジン-1-イル）-7-メトキシ-9H-β-カルボリン（1-6c）。50

50

白色の固体。収率 87 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.05 (d, 1H, $J=5.4$ Hz), 7.90 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.48 (d, 1H, $J=4.8$ Hz), 7.04 (s, 1H), 6.90 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.48 (broad s, 4H), 1.84 (broad s, 4H), 1.70 (m, 2H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, d_6 -DMSO): δ 159.98, 149.23, 141.74, 136.57, 129.05, 126.62, 122.33, 115.66, 109.43, 108.75, 95.20, 55.60, 49.92, 26.09, 24.82; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}^+$: 282.1601, found: 282.1590; 純度 >95%

【0197】

1 - (2-フェニルピロリジン-1-イル) - 7-メトキシ-9H- β -カルボリン (1-6 d)。茶色の固体。収率 80 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.98 (d, 1H, $J=5.4$ Hz), 7.82 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 7.61 (s, 1H), 7.51 (d, 2H, $J=7.2$ Hz), 7.44 (t, 2H, $J=7.8$ Hz), 7.34 (t, 2H, $J=7.2$ Hz), 7.24 (d, 1H, $J=5.4$ Hz), 6.79 (m, 1H), 6.49 (d, 1H, $J=1.8$ Hz), 5.48 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 4.06 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.46 (m, 1H), 2.04 (m, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, d_6 -DMSO): δ 159.75, 146.24, 145.92, 141.60, 136.78, 128.85, 128.39, 126.45, 126.28, 124.43, 122.15, 115.49, 109.43, 105.63, 95.25, 61.35, 55.62, 50.48, 24.53; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$: 344.1757, found: 344.1761; 純度 >95%

【0198】

1 - (3-フェニルピロリジン-1-イル) - 7-メトキシ-9H- β -カルボリン (1-6 e)。茶色の固体。収率 59 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, $J=6$ Hz), 7.91 (d, 1H, $J=9$ Hz), 7.37 (m, 4H), 7.27 (m, 2H), 6.91 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, $J=9$ Hz), 4.33 (t, (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 4.09 (m, 1H), 4.01 (m, 1H), 3.94 (t, 1H, $J=8.4$ Hz), 3.81 (s, 3H), 3.60 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.24 (m, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ 161.19, 143.50, 141.54, 139.47, 130.03, 128.60, 126.97, 121.83, 114.64, 112.61, 104.69, 95.30, 55.53, 50.12, 43.47, 32.24; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$: 344.1757, found: 344.1750; 純度 >95%

【0199】

1 - (2-ベンジルピロリジン-1-イル) - 7-メトキシ-9H- β -カルボリン (1-6 f)。茶色の固体。収率 65 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.05 (d, 1H, $J=5.4$ Hz), 7.91 (d, 2H, $J=9$ Hz), 7.28 (m, 5H), 6.88 (m, 2H), 4.68 (s, 1H), 3.90 (m, 5H), 3.22 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 1.97 (m, 3H), 1.84 (m, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ 160.66, 142.04, 138.44, 129.63, 128.26, 126.31, 121.94, 115.48, 110.80, 105.33, 94.95, 60.45, 55.54, 50.04, 39.36, 29.77, 23.65; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}^+$: 358.1914, found: 358.1900; 純度 >95%

【0200】

1 - (3-ベンジルピロリジン-1-イル) - 7-メトキシ-9H- β -カルボリン (1-6 g)。茶色の固体。収率 71 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.14 (s, 1H), 7.96 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz), 7.90 (d, 2H, $J = 9$ Hz), 7.32 (m, 2H), 7.25 (m, 4H), 6.93 (s, 1H), 6.87 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz), 4.01 (m, 2H), 3.90 (m, 4H), 1.08 (t, 1H, $J = 9$ Hz), 2.87 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 2.69 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 1.83 (m, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, d_6 -DMSO): δ 159.62, 146.71, 141.52, 141.15, 137.03, 129.15, 128.76, 126.38, 123.56, 122.08, 115.49, 109.41, 104.81, 95.29, 55.58, 53.80, 47.95, 31.18; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}^+$: 358.1914, found: 358.1901; 純度 >95%

【 0 2 0 1 】

10

1 - (2 - (2 - クロロフェニル) ピロリジン - 1 - イル) - 7 - メトキシ - 9 H - β - カルボリン (1 - 6 h) 。黄色の固体。収率 7 7 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.98 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz), 7.83 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.52 (m, 3H), 7.25 (m, 3H), 6.80 (m, 1H), 6.59 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 5.80 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 4.10 (m, 2H), 3.84 (s, 3 H), 2.54 (m, 1H), 2.04 (m, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, d_6 -DMSO): δ 159.82, 145.77, 142.92, 141.72, 136.88, 131.91, 129.73, 129.08, 128.20, 127.30, 124.39, 122.17, 115.53, 109.47, 105.73, 95.33, 59.41, 55.62, 50.31, 32.65, 24.60; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}^+$: 378.1368, found: 378.1366; 純度 >95%

20

【 0 2 0 2 】

1 - (2 - (3 - クロロフェニル) ピロリジン - 1 - イル) - 7 - メトキシ - 9 H - β - カルボリン (1 - 6 i) 。黄色の固体。収率 6 8 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.96 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz), 7.86 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.69 (s, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.37 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.33 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 7.28 (m, 2H), 6.83 (m, 1H), 6.65 (m, 1H), 5.51 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 4.07 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.46 (m, 1H), 2.04 (m, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, d_6 -DMSO): δ 159.84, 148.77, 146.08, 141.72, 136.73, 133.18, 130.33, 129.03, 126.48, 125.14, 122.20, 115.53, 109.51, 105.94, 95.30, 61.51, 55.62, 50.60, 35.23, 24.75; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}^+$: 378.1368, found: 378.1377; 純度 >95%

30

【 0 2 0 3 】

1 - (2 - (4 - クロロフェニル) ピロリジン - 1 - イル) - 7 - メトキシ - 9 H - β - カルボリン (1 - 6 j) 。黄色の固体。収率 4 3 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.97 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz), 7.84 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 7.66 (s, 1H), 7.44 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.38 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.27 (m, 1H), 6.83 (m, 1H), 6.64 (m, 1H), 5.50 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 4.06 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 2.47 (m, 1H), 2.04 (m, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, d_6 -DMSO): δ 159.80, 146.08, 144.98, 141.66, 136.78, 130.85, 128.95, 128.33, 124.47, 122.16, 115.51, 109.46, 105.81, 95.28, 60.99, 55.61, 50.49, 35.26, 24.63; HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}^+$: 378.1368, found: 378.1365; 純度 >95%

40

【 0 2 0 4 】

β - カルボリン - N - オキシドの合成 (2 - 1) 。 8 m L のクロロホルム中のハルミン (5 0 0 m g 、 2 . 3 5 m m o l) の溶液に、 3 - クロロペルオキシ安息香酸 (1 . 2 2 g 、 7 . 0 5 m m o l) を添加し、 2 4 時間還流した。反応混合物を濃縮し、 D C M / M

50

e OHを溶離液として使用するフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物であるβ-カルボリン-N-オキシド2-1 (255mg、47%)を白色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.60 (s, 1H), 8.04 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz), 8.00 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 7.86 (d, 1H, *J* = 6.6 Hz), 6.97 (s, 1H), 6.85 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.61 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ 159.82, 143.39, 136.55, 132.79, 131.31, 122.35, 119.13, 115.62, 113.67, 109.57, 95.18, 55.78, 13.00; HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calculated for C₁₃H₁₃N₂O₂⁺: 229.0972, found: 229.0962; 純度 >95%

10

【0205】

1-ヒドロキシメチル-7-メトキシ-9H-β-カルボリンの合成(2-2)。無水トリフルオロ酢酸(2.20mL、15.87mmol)を、β-カルボリン-N-オキシド(2-1)(724mg、3.17mmol)及びCH₂Cl₂(20mL)の攪拌混合物に0℃で添加した。30分間攪拌した後、混合物を12時間還流した。TLCによって監視した反応の完了時に、混合物を濃縮し、DCM/MeOHを溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、1-ヒドロキシメチル-7-メトキシ-9H-β-カルボリン2-2(358mg、49%)を白色の固体として得た。

¹H-

20

NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.39 (d, 1H, *J* = 6 Hz), 8.27 (d, 1H, *J* = 6 Hz), 8.22 (d, 1H, *J* = 9 Hz), 7.15 (s, 1H), 7.06 (m, 1H), 5.31 (s, 2H), 3.96 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ 163.11, 145.98, 140.04, 133.09, 131.95, 129.49, 124.80, 115.17, 113.83, 112.77, 94.96, 58.27, 56.10; HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calculated for C₁₃H₁₃N₂O₂⁺: 229.0972, found: 229.0967;

純度 >95%

【0206】

3-ブロモ-2-ヒドロキシイミノ-プロピオン酸エチルエステルの合成(2-3)。塩酸ヒドロキシルアミン(1.81g、25.63mmol)を、室温でクロロホルム(50mL)及びメタノール(70mL)中プロモピルビン酸エチル(5.01g、25.63mmol)の攪拌溶液に添加した。反応混合物を18時間攪拌し、減圧下で濃縮した。粗製物をジクロロメタン(300mL)に溶解し、0.1Nの塩酸及びブラインで洗浄した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮して、3-ブロモ-2-ヒドロキシイミノ-プロピオン酸エチルエステル2-3(4.36g、81%)を白色の固体として得た。

30

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 10.08 (bs, 1H), 4.38 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H),

4.27 (s, 2H), 1.39 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ESI: *m/z* [M + H]⁺ 209.97

【0207】

40

3-(6-メトキシ-1H-インドール-3-イル)-プロピオン酸エチルエステルの合成(2-4)。CH₂Cl₂(20mL)中3-ブロモ-2-ヒドロキシイミノ-プロピオン酸エチルエステル2-2(1.75g、8.35mmol)の溶液を、室温でCH₂Cl₂(20mL)中6-メトキシインドール(1.23g、8.35mmol)及びNa₂CO₃(4.86g、45.92mmol)の攪拌混合物に滴下でゆっくり添加した。混合物を48時間攪拌し、セライトを通して濾過し、濃縮し、酢酸エチル/ヘキサンを溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、3-(6-メトキシ-1H-インドール-3-イル)-プロピオン酸エチルエステル2-4(800mg、34%)を白色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ

7.91 (s, 1 H), 7.65 (d, 1 H, *J* = 12 Hz), 7.00 (s, 1 H), 6.81 (m, 1 H), 4.05 (s, 2 H), 4.26 (m, 2 H), 1.31 (t, 3 H, *J* = 6 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ164.20, 155.94, 150.66, 137.05, 122.75, 121.74, 119.65, 109.07, 94.78, 61.15, 55.53, 20.47, 14.36; HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calculated for C₁₄H₁₇N₂O₄⁺: 227.1183, found: 227.1192; 純度 >95%

【 0 2 0 8 】

2-アミノ-3-(6-メトキシ-1*H*-インドール-3-イル)-プロピオン酸エチルエステルの合成 (2-5)。Znダスト (3.11 g、47.62 mmol) を、酢酸 (20 mL) 中の 2-4 (1.64 g、5.95 mmol) の攪拌溶液に 30 分にわたって少しずつ添加した。添加後、混合物を室温で一晩攪拌した。LCMSによって監視した反応の完了後、混合物をセライトを通して濾過し、酢酸 (20 mL) で洗浄し、濃縮した。残留物を、重炭酸ナトリウムの飽和水溶液で中和し、酢酸エチル (30 mL × 3) で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮して、2-アミノ-3-(6-メトキシ-1*H*-インドール-3-イル)-プロピオン酸エチル 2-5 (1.5 g、96%) を白色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 10.64 (s, 1H), 7.35 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 6.96 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.63 (m, 1H), 3.99 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.56 (m, 1H), 2.86-2.97 (m, 2H), 1.90 (s, 1H), 1.10 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ155.85, 137.21, 122.60, 119.31, 110.32, 108.92, 94.81, 60.28, 55.60, 31.29, 14.42; HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calculated for C₁₄H₁₉N₂O₃⁺: 263.1390, found: 263.1399; 純度 >95%

【 0 2 0 9 】

エチル 1-メチル-7-メトキシ-9*H*-ピリド [3, 4-*b*] インドール-3-カルボキシレートの合成 (2-7)。15 mL のジクロロメタン中の 2-4 (1 g、3.81 mmol) 及びアセトアルデヒド (水中 40%、0.46 mL、4.19 mmol) の混合物に、0.4 mL のトリフルオロ酢酸を 0 °C で、滴下で添加した。次いで、反応混合物を室温で 18 時間攪拌した。TLCによって監視した反応の完了後、反応混合物を分液漏斗に移し、50 mL の飽和重炭酸ナトリウム溶液及びブラインで洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空下で濃縮して、2-6 を白色の固体として得て、これを精製せずに次のステップのために取り出した。キシレン (150 mL) 中の 2-6 (1.04 g、3.81 mmol) 及び硫黄 (248 mg、7.63 mmol) の混合物を、12 時間還流で加熱した。次いで、混合物を減圧下で濃縮し、DCM / MeOH を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、エチル 1-メチル-7-メトキシ-9*H*-ピリド [3, 4-*b*] インドール-3-カルボキシレート 2-7 (755 mg、75%) を茶色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.49 (s, 1 H), 9.10 (s, 1 H), 8.62 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.54 (s, 1 H), 7.38 (m, 1 H), 4.84 (q, 2 H, *J* = 7.2 Hz), 4.33 (s, 3 H), 3.22 (s, 3 H), 1.82 (t, 1 H, *J* = 6.6 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-Acetone): δ166.31, 161.50, 143.09, 141.66, 137.98, 136.84, 128.25, 123.03, 116.01, 115.32, 110.61, 95.33, 60.72, 55.36, 19.94, 14.30; HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₁₆H₁₇N₂O₃⁺: 185.1234, found: 285.1237; 純度 >95%

【 0 2 1 0 】

(1-メチル-7-メトキシ-9*H*-ピリド [3, 4-*b*] インドール-3-イル) メタノールの合成 (2-8)。THF (15 mL) 中のエステル 2-7 (160 mg、0.

56 mmol) の溶液に、LiAlH₄ (44 mg、1.17 mmol) を 0℃ で少しずつ添加し、次いで、混合物を室温で一晩攪拌した。次いで、反応を水によってクエンチし、室温で 2 時間攪拌し、スラリーを濾過し、ケーキをジクロロメタンで洗浄し、濾液を濃縮して、2-8 (135 mg、91%) を白色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.31 (s, 1H), 8.05 (d, 1H, *J* =

8.4 Hz), 7.83 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.82 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 5.25 (s, 1H), 4.64 (d, 2H, *J* = 5.4

Hz) 3.86 (s, 3H), 2.68 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ 160.43, 150.39, 142.71,

140.30, 133.87, 128.53, 122.95, 115.41, 109.31, 108.51, 94.99, 65.02, 55.71, 20.56; HRMS

(ESI): *m/z* [M + H]⁺ calcd for C₁₄H₁₅N₂O₂⁺: 243.1128, found: 243.1131; 純度 >95%

10

【0211】

1-メチル-3-メチル-7-メトキシ-9H-β-カルボリンの合成 (2-9)。EtOH (1 mL) 中の 2-8 (20 mg、0.082 mmol) 及び PdCl₂ (4 mg、0.016 mmol) の溶液に、Et₃SiH (0.201 mL、1.28 mmol) を添加し、混合物を 90℃ で 5 時間攪拌した。TLC によって監視した反応の完了時に、触媒をセライトで濾過し、濾液を蒸発させた。粗反応混合物を、酢酸エチルを溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、2-9 (5 mg、27%) を白色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.01 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz

20

), 7.66 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.81 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 3.86 (s, 3H), 2.68 (s, 3H), 2.53 (s, 3H)

【0212】

1-アセチル-7-メトキシ-9H-β-カルボリンの合成 (3-2)。6 mL のジクロロメタン中の 6-メトキシトリプタミン (300 mg、1.57 mmol) 及びピルビン酸アルデヒド (水中 45%、0.34 mL、1.89 mmol) の混合物に、0.157 mL のトリフルオロ酢酸を 0℃ で、滴下で添加した。次いで、反応混合物を室温で 18 時間攪拌した。TLC によって監視した反応の完了後、反応混合物を分液漏斗に移し、50 mL の飽和重炭酸ナトリウム溶液及びブラインで洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空下で濃縮して、3-1 を黄色の固体として得て、これを精製せずに次のステップのために取り出した。THF (5 mL) 中の 3-1 (1.57 mmol) 及び KMnO₄ (744 mg、4.71 mmol) の混合物を、室温で 12 時間攪拌した。次いで、混合物を減圧下で濃縮し、酢酸エチルを溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、1-アセチル-7-メトキシ-9H-β-カルボリン 3-2 (60 mg、16%) を茶色の固体として得た。

30

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.75 (s, 1H), 8.45 (d, 1H, *J*

= 5.4 Hz), 8.30 (d, 1H, *J* = 4.8 Hz), 8.16 (d, 1H, *J* = 8.4 Hz), 7.31 (m, 1H), 6.92 (m, 1H), 3.86

(s, 3H), 2.77 (s, 3H); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ 201.88, 161.20, 144.06, 138.14,

135.78, 134.69, 131.58, 123.18, 118.88, 113.89, 110.24, 96.40, 55.76, 26.32; HRMS (ESI): *m/z*

40

[M + H]⁺ calculated for C₁₄H₁₃N₂O₂⁺: 241.0972, found: 241.0966; 純度 >95%

【0213】

1-(1-ヒドロキシエチル)-7-メトキシ-9H-β-カルボリンの合成 (3-3)。MeOH (2 mL) 中の 3-2 (12 mg、0.05 mmol) の溶液に、NaBH₄ (4 mg、0.1 mmol) を添加し、混合物を室温で一晩攪拌した。次いで、反応物を水によってクエンチし、分液漏斗に移し、酢酸エチルで抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、回転蒸発させて、所望の化合物 3-3 (6 mg、49%) を黄色の固体として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.09 (s, 1 H), 8.17 (d, 1 H, *J* = 4.8 Hz), 8.05 (d, 1 H, *J* = 8.4 Hz), 7.86 (d, 1 H, *J* = 4.8 Hz), 7.17 (m, 1 H), 6.82 (m, 1 H), 5.67 (d, 1 H, *J* = 4.8 Hz), 5.16 (m, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 1.53 (d, 3 H, *J* = 6 Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, *d*₆-DMSO): δ 160.46, 148.37, 142.56, 137.25, 132.78, 128.93, 122.66, 114.66, 113.15, 109.32, 95.46, 69.59, 55.67, 23.36; HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ calculated for C₁₄H₁₅N₂O₂⁺: 243.1128, found: 243.1131; 純度 >95%

【0214】

10

実施例 2－選択したハルミン類似体の化学合成

1 位ハルミンアミン類似体を、図 1 に概説される反応順序に従うことによって合成した。m-アニシジンは古典的なジアゾ化を受け、3-カルボキシ-2-ピペリドンとカップリングした対応するアリールジアゾニウム塩を形成して、アリールヒドラゾン 1-2 を得た（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Luis et al., “The Fischer Indole Synthesis of 8-Methyl-5-Substituted-1-Oxo-β-Carbolines: A Remarkable High Yield of a [1, 2]-Methyl Migration,” *Tetrahedron* 47 (9): 1737-44 (1991)）。ギ酸の存在下で得られたアリールヒドラゾンのフィッシャーインドール環化により、1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-1-オキソ-β-カルボリン 1-3 を得た（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Luis et al., “The Fischer Indole Synthesis of 8-Methyl-5-Substituted-1-Oxo-β-Carbolines: A Remarkable High Yield of a [1, 2]-Methyl Migration,” *Tetrahedron* 4 (9): 1737-44 (1991)）。DDQ を使用した 1-3 の酸化、それに続くオキシ塩化リンによる塩素化により、1-クロロ-β-カルボリン 1-5 を 79 % の収率で生成した（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Roger et al., “Efficient Synthesis of Eudistomin U and Evaluation of its Cytotoxicity,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 24 (15): 3549-3551 (2014) 及び Thompson et al., “Synthesis and Evaluation of 1-Amino-6-Halo-β-Carbolines as Antimalarial and Antiprion Agents,” *ChemMedChem* 7 (4): 578-586 (2012)）。最後に、1-アミノ-β-カルボリン 1-6（10 個の類似体）を、過剰なニートアミンを用いて 170 °C で加熱することによって、1-クロロ-前駆体 1-5 のアミノ化を介して、43 ~ 87 % の収率で調製した（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Thompson et al., “Synthesis and Evaluation of 1-Amino-6-Halo-β-Carbolines as Antimalarial and Antiprion Agents,” *ChemMedChem* 7 (4): 578-586 (2012)）。類似体 1-6a を、1-5 の Pd 触媒アミノ化によって合成した（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Henderson et al., “Palladium-Catalyzed Amination of Unprotected Halo-7-Azaindoles,” *Org. Lett.* 12 (20): 4438-4441 (2010)）。

20

30

40

【0215】

1-ヒドロキシメチル及び 3-ヒドロキシメチル置換-β-カルボリンを、図 2 に示される順序を使用して合成した。m-CPBA によるハルミンの酸化は、対応する N-オキシド 2-1 を生成し、それは逐次的に無水トリフルオロ酢酸の存在下で Boekelhe

50

ide 転位を受けて、所望の 1-ヒドロキシメチル-β-カルボリン 2-2 を白色の固体として 49% の収率で得た（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Lin et al., "A Facile Synthesis of 3-Substituted 9H-Pyrido[3,4-b]Indol-1(2H)-One Derivatives from 3-Substituted β-Carbolines," *Molecules* 15:5680-5691 (2010) 及び Fontenas et al., "The Boekelheide Reaction: Trifluoroacetic Anhydride as a Convenient Acylating Agent," *Synth. Commun.* 25(5):629-33 (1995)）。あるいは、6-メトキシインドールを、炭酸ナトリウムの存在下で、室温でエチル 3-ブロモ-2-オキシプロパン酸から調製されたオキシム 2-3 と反応させて、インドール-オキシム 2-4 を得た（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Park et al., "Synthesis and Activity of Tryptophan Sulfonamide Derivatives as Novel Non-Hydroxamate TNF-α Converting Enzyme (TACE) Inhibitors," *Bioorg. Med. Chem.* 17(11):3857-3865 (2009)）。次いで、酢酸中の亜鉛粉末による 2-4 のオキシム還元によって、アセトアルデヒドによるピクテ・スペングラ-環化を受けたトリプトファニルエステル 2-5 が提供され、1-メチル-3-ヒドロキシテトラヒドロ-β-カルボリン 2-6 が提供された（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Park et al., "Synthesis and Activity of Tryptophan Sulfonamide Derivatives as Novel Non-Hydroxamate TNF-α Converting Enzyme (TACE) Inhibitors," *Bioorg. Med. Chem.* 17(11):3857-3865 (2009) 及び Song et al., "Synthesis and Antiviral and Fungicidal Activity Evaluation of β-Carboline, Dihydro-β-carboline, Tetrahydro-β-carboline Alkaloids, and Their Derivatives," *J. Agric. Food Chem.* 62(5):1010-1018 (2014)）。化合物 2-6 の芳香族化、それに続くエステルの還元によって、最終化合物 2-8 を白色の固体として得た（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Song et al., "Synthesis and Antiviral and Fungicidal Activity Evaluation of β-Carboline, Dihydro-β-carboline, Tetrahydro-β-carboline Alkaloids, and Their Derivatives," *J. Agric. Food Chem.* 62(5):1010-1018 (2014)）。

【0216】

1-(1-ヒドロキシ)エチル及び 1-アセチルハルミン類似体の合成を、図 3 に概説する。6-メトキシトリプタミンは、5% TFA の存在下でビルビン酸アルデヒドによるピクテ・スペングラ-環化を受けて、1-アセチル-7-メトキシテトラヒドロ-β-カルボリン 3-1 を提供した。化合物 3-1 の芳香族化、それに続くアセチル基の還元によって、1-(1-ヒドロキシエチル)ハルミン類似体 3-3 を白色の固体として 49% の収率で得た。

【0217】

実施例 3-選択したハルミン類似体の構造活性相関研究 (SAR)

構造修飾をハルミンの 1 位に導入し、β 細胞標的送達のために GLP-1 アゴニストに結合することができる新しいハルミンベースの DYRK1A 阻害剤を特定した。図 1~2 に記載される経路に従って、合計 15 個のハルミン類似体を合成した。これらの類似体の DYRK1A 結合活性を、FRET ベースの Lanthascreen 結合アッセイ (L

10

20

30

40

50

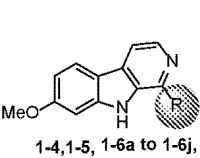
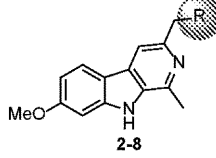
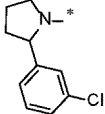
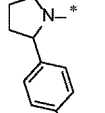
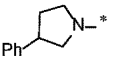
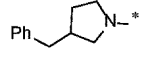
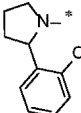
ife Technologies) を使用して、最初は 1000 nM 及び 300 nM でスクリーニングした。300 nM で $\geq 50\%$ の阻害を示すこれらの化合物を、 IC_{50} の決定のために、10 回連続 3 倍希釈 (2 つ組) を用いて滴定した。

【0218】

DYRK1A 結合に対するハルミンの 1 位のシクロアルキルアミンの効果を調査した。最初に、1 位でアゼチジン (1-6a)、ピロリジン (1-6b)、及びピペリジン (1-6c) 置換基を有する 3 個の類似体を合成した。化合物 1-6a は、159 nM の IC_{50} で最高の活性を示した。しかしながら、この化合物はハルミンよりも 5 倍活性が低かった。環のサイズを 5 員 (ピロリジン、1-6b) 及び 6 員 (ピペリジン、1-6c) に増加させることによって、それぞれ 264 nM 及び 1500 nM の DYRK1A IC_{50} で DYRK1A 阻害活性が低減された。7 個のハルミン類似体を、ハルミンの 1 位でピロリジンの置換基を有する市販のビルディングブロックから合成した。予測されたように、ピロリジン環の置換パターンは、DYRK1A 阻害活性に非常に感受性であった。これらの類似体の中でも、1-6d 及び 1-6f は、強力な DYRK1A 阻害活性を示した (表 1)。2-置換ピロリジン類似体は、それらの 3-置換類似体と比較してより強力な阻害剤であった。2-フェニルピロリジン置換基を有する化合物 1-6d は、1-6a (アゼチジン) に匹敵する 123 nM の DYRK1A IC_{50} 、及び対応する類似体 1-6b より 2 倍の改善を示した (表 1)。ピロリジン-1-ハルミン類似体の 2-フェニルへの 3-クロロ基の導入は、活性に有害であった (化合物 1-6i、300 nM で 22% 阻害) (表 1)。

【0219】

(表 1) 実施例の DYRK1A 阻害

 1-4, 1-5, 1-6a to 1-6j, 2-2					 2-8				
化合物	R	DYRK1A 阻害		IC_{50} (nM) ^a	化合物	R	DYRK1A 阻害		IC_{50} (nM) ^a
		1000 nM	300 nM				1000 nM 阻害	300 nM	
1-6a		89	72	159	1-6i		22	1	nd
1-6b		97	90	264	1-6j		60	27	nd
1-6c		81	57	1500	1-5		100	98	8.8
1-6d		91	71	123	1-4		38	17	nd
1-6e		61	34	nd	2-2		75	49	54.8
1-6f		84	57	221	2-8		98	90	49.5
1-6g		38	15	nd	2-9		-	-	971
1-6h		49	12	nd	3-2		92	85	66.7
ハルミン		nd	nd	28	3-3		67	38	858

a = IC_{50} 値を、10 回連続 3 倍希釈 (2 つ組) を使用して決定した。

nd = 決定されず

【0220】

表 1 に示されるように、塩素原子 (1-5) とのハルミン 1-メチル基の単純な置換は、8.81 nM の IC₅₀ でハルミンと比較して 3 倍 D Y R K 1 A 阻害を著しく改善した。ハルミンの 1 位でヒドロキシル、ヒドロキシルメチル、及びアセチルなどの極性基を導入する効果も調査した。1-メチルをヒドロキシル置換基で置き換えることによって、D Y R K 1 A 阻害が劇的に低減され、化合物が不活性になる。対照的に、1-ヒドロキシメチル基 (2-2) の導入は、匹敵するが、ハルミンよりもわずかに弱い、55 nM の IC₅₀ で強力な D Y R K 1 A 阻害、及び 1-(2-フェニルピロリジン-1-イル) ハルミン類似体 1-6 d の 2 倍の改善を示した (表 1)。図 4 B に示されるように、ハルミンの 3-カルボリン位でヒドロキシメチル基を有する化合物 2-2 のバージョンを合成した。3-ヒドロキシメチル置換類似体 2-8 は、化合物 2-2 に匹敵する IC₅₀ を示した (表 1)。ヒドロキシル基 (3-メチルカルボリン類似体) の除去は、2-8 においてヒドロキシル基の重要性を示す 971 nM の IC₅₀ を有した。

10

【0221】

ハルミン 3-3 の 1-ヒドロキシメチル置換基へのアルファメチル基の導入は、スクリーニング濃度で D Y R K 1 A 結合活性の完全な損失をもたらしたが、平面 1-アセチル置換アナログ (3-2) は、化合物 2-2 及び 2-8 と同様の IC₅₀ (66.7 nM) を有した。これは、2-2 の 1-ヒドロキシメチル基が、おそらくどちらの結合モードでもさらなる立体バルクを収容しない制約された空間を占めていることを示す。

【0222】

実施例 4-ヒト β 細胞増殖アッセイ

20

IC₅₀ < 250 nM の D Y R K 1 A 阻害を示した 1-5、1-6 a、1-6 b、1-6 d、1-6 f、2-2、2-8、及び 3-2 の 8 個の化合物 (表 1) を、インビトロでヒト β 細胞増殖を誘導するそれらの能力について評価した。ハルミン類似体の中でも、化合物 2-2、2-8、及び 1-5 は、インスリン細胞の K I 6 7 標識によって測定された場合、ハルミンに匹敵する 10 μM で非常に優れたヒト β 細胞増殖を呈した (図 4 A ~ 図 4 B) (全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015)。2-2 及び 2-8 (表 1) に匹敵する IC₅₀ を有しているにもかかわらず、ハルミン 1 位でアセチル置換基を有する化合物 3-2 は、10 μM で β 細胞増殖の低減を示した (表 2)。しかしながら、化合物を 30 μM の高濃度で試験すると、ハルミンに匹敵する範囲の増殖が観察された。化合物 2-2 及び 2-8 の両方は、用量依存的様式で増殖を引き起こし (図 4 C ~ 4 D)、化合物 2-8 では 2-2 と比較してより低い用量で優れたヒト β 細胞増殖を示した。10 μM より高い用量でベータ細胞毒性を引き起こすハルミンとは異なり、化合物 2-2 及び 2-8 は、30 μM でも毒性を引き起こさなかった。これは、これらの化合物が、細胞毒性の可能性が低減した β 細胞増殖のために、インビボ/インビトロで、高濃度 (> 10 μM) で投与され得ることを示唆する。化合物 2-2 及び 2-8 もまた、ハルミンについて観察されたように、核への NFAT2 転座を駆動した。これらのデータは、これらの化合物が、核への NFAT の転座を誘導することにより、ハルミンのように β 細胞増殖を駆動することを示し、ヒト β 細胞増殖をその後に駆動する遺伝子のプロモーターにアクセスすることを可能にする可能性が高い (図 4 E ~ 図 4 F)。

30

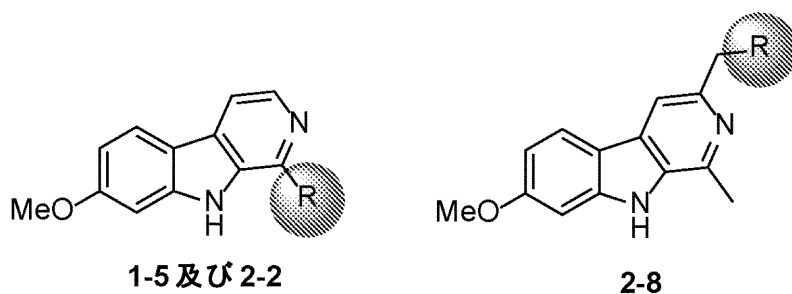
40

【0223】

残念ながら、1-アミノ置換ハルミン類似体 1-6 a、1-6 b、1-6 d、及び 1-6 f は、< 200 nM の D Y R K 1 A 阻害を示しているにもかかわらず、β 細胞増殖を示さず、それは β 細胞増殖の D Y R K 1 A 効力の閾値を示し得る。1 つの代替的な説明は、β 細胞増殖の低減を伴う化合物のうちのいくつかは、D Y R K 1 A に加えて、他の抗増殖性キナーゼを標的とし得ることである。

【0224】

(表 2) 例示的なハルミン類似体の β 細胞増殖



化合物	R	ヒトβ細胞増殖 (濃度 μM)	DYRK1A IC ₅₀ (nM) ^a
1-5	Cl- [*]	1.7 (10)	-
2-2	HO-CH ₂ - [*]	1.5 (10)	54.8
2-8	HO- [*]	1.7 (10)	49.5
	ハルミン	1.5 (10)	27

10

20

【0225】

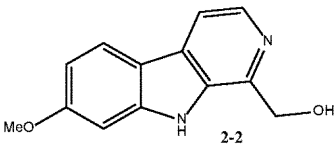
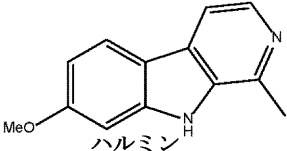
実施例5-Kinome スキャンプロファイル

化合物のサブセット上のキナーゼ選択性を理解するために、化合物2-2及びハルミンのkinomeプロファイリングを、10 μMの濃度で、468個のキナーゼで実施した（表3、<20%の活性は以下に示される）。ハルミンは、10 μMのスクリーニング濃度でDYRK1Aに加えて16個のキナーゼを阻害した（残り<20%活性）。化合物2-2は、10 μMで、DYRK1B、CSNK1G2、CSNK2A1、HIPK2、HIPK3、IRAK1、及びVPS3に対して阻害なしで、ハルミンと比較して、より綺麗なkinomeプロファイルを呈した（表3）。さらに、ハルミンと比較して、それはスクリーニング濃度でPIK4CBに対してハルミンよりも大きな親和性のみを示した。より選択的なKinomeプロファイルは、ハルミンと比較して、化合物2-2について選択性の改善が達成されたことを示す。

30

【0226】

（表3）化合物2-2及びハルミン^aのKinome スキャン

標的		
CDK7	27	21
CLK1	3.5 ^b	0.35 ^b
CLK2	5.5 ^b	2.4 ^b
CLK4	17 ^c	13 ^c
CSNK1A1	10 ^b	5 ^b
CSNK1D	17 ^c	13 ^c
CSNK1E	6.5 ^b	1.7 ^b
CSNK1G2	30	19 ^c
CSNK2A1	34	11 ^c
DYRK1A	0 ^b	0 ^b
DYRK1B	66	6.1 ^b
DYRK2	6.5 ^b	3.2 ^b
FLT3(D835V)	37	25
HASPIN	4.8 ^b	2 ^b
HIPK2	30	8.6 ^b
HIPK3	21	9.4 ^b
IRAK1	32	17 ^c
IRAK3	39	35
JAK3(JH1ドメイン- 触媒)	99	61
PIK3CG	44	49
PIK4CB	3.7 ^b	12 ^c
PIM1	65	45
PIM2	58	39
PIM3	77	43
ROCK1	53	26
VPS34	53	13 ^c

10

20

30

40

50

^a 化合物を、468キナーゼに対して10 μMでスクリーニングし、一次スクリーニング結合相互作用の結果は、値が小さいほどより強い親和性を示す、「DMSO対照%」として報告される。

^b ≤ 10。

^c 11 ≤ 20。

【0227】

実施例 6－実施例 1～5 の議論

実施例 1～4 は、新しいハルミン類似体についての D Y R K 1 A 阻害及び β 細胞増殖の構造－活性関係を説明する。いくつかの 1－アミノハルミン類似体（1－6 a～1－6 j）を合成して、D Y R K 1 A キナーゼ結合及びヒト β 細胞増殖へのそれらの影響を調査した。化合物のほとんどは、ハルミン類似体 1－6 a、1－6 b、1－6 d を除いて、10 μ M のスクリーニング濃度で D Y R K 1 A 阻害活性の低減を示した。これらの類似体は、ハルミンと比較して、5～9 倍低減された D Y R K 1 A 阻害活性を示した。

【0228】

対照的に、ハルミン類似体 2－2、2－8、及び 3－2（各々が小極性基、例えば、ヒドロキシメチルまたはアセチルを有する）は、1－アゼチジンハルミン類似体 1－6 b よりも 2 倍より活性である、49～67 nM の範囲の IC_{50} を有する強力な D Y R K 1 A 阻害を示した。しかしながら、直接結合された 1－ヒドロキシ置換基の導入は、D Y R K 1 A 阻害にとって有害であった。1－クロロ置換ハルミン類似体は、D Y R K 1 A 阻害を著しく改善し、8.8 nM の IC_{50} で最も強力な化合物であった。D Y R K 1 A に対して $IC_{50} < 250$ nM の 8 個の化合物（1－5、1－6 a、1－6 b、1－6 d、1－6 f、2－2、2－8、3－2）の中でも、1－5、2－2、2－8、及び 3－2 は、類似または低減された濃度でハルミンのそれに匹敵するヒト β 細胞増殖を呈した。ハルミン類似体 2－2 及び 2－8 は、ヒト β 細胞増殖を誘導するのに最も効果的であり、ハルミンの 1 位及び 3 位でのヒドロキシメチルのような極性基の導入が、キナーゼ選択性を改善することにより、 β 細胞増殖を改善することを示す。1－アミノハルミン類似体は、いかなる増殖も引き起こさなかった。468 個のキナーゼの化合物 2－2 の K i n o m e スキャンは、ハルミンと比較してより綺麗な K i n o m e プロファイルを示すことを示した。これらのデータは、キナーゼ選択性のためのハルミン骨格の改善の可能性を示し、インビトロでより低濃度の β 細胞増殖をもたらし、おそらくより安全なオフターゲットプロファイルにつながる。これらの結果は、改善された β 細胞増殖能力を有する新規キナーゼ選択的 D Y R K 1 A 阻害剤 2－8 を特定するためのハルミンの成功した修飾を示す。

【0229】

実施例 7－実施例 8 の材料及び方法

1－メチル－9H－ピリド [3, 4－b] インドール－7－オール の合成（10－1）。氷酢酸（16 mL）及び 48% 臭化水素酸溶液（20 mL）中のハルミン（1.0 g、4.02 mmol）の溶液を、10 時間還流で加熱した。室温に冷却した後、混合物を $NaHCO_3$ の飽和水溶液で pH 8 に調整した。黄色のスラリーを濾過し、ケーキを水で洗浄して、ハルモール 10－1 を白色の固体（0.91 g、99%）として得た。

^1H -NMR (600

MHz, d_6 -DMSO): δ 11.24 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.69 (dd, $J = 8.4$ Hz, 1H), 2.69 (s, 3H);

MS (ESI) m/z 199.08 (M+H)⁺

【0230】

10－2 の合成の一般的な手順。DMF（7 mL）中のハルマロール 10－1（2.02 mmol）及び炭酸セシウム（1.5 当量）の溶液を、60℃で 1 時間攪拌した。この溶液に、臭化アルキル（1.5 当量）を添加し、50℃で 12 時間攪拌した。TLC によって確認した反応の完了後、反応混合物を水で希釈し、分液漏斗に移し、酢酸エチル（50 mL $\times$ 2）で抽出した。有機層を水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させ、フラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 10－2 を白色の固体として得た。

【0231】

2－（7－オキシ－1－メチル－9－H－b－カルボリン）酢酸メチルエステル（10－2 a）。白色の固体。収率 59%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.07 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.79 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.73 (s, 3H); MS (ESI) m/z 271.18 (M+H)⁺
【 0 2 3 2 】

3 - (7-オキシ-1-メチル-9-H-b-カルボリン) プロピオン酸メチルエステル (10-2 b)。白色の固体。収率 44 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.79 (m, 1H), 4.84 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.57 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.80 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 285.6 (M+H)⁺
【 0 2 3 3 】

4 - (7-オキシ-1-メチル-9-H-b-カルボリン) ブタン酸メチルエステル (10-2 c)。白色の固体。収率 68 %

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.84 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.11 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 2.56 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.13 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 299.8 (M+H)⁺

【 0 2 3 4 】

5 - (7-オキシ-1-メチル-9-H-b-カルボリン) ペンタン酸メチルエステル (10-2 d)。白色の固体。収率 50 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.85 (m, 1H), 4.10 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 2.45 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.85 (m, 2H); MS (ESI) m/z 313.6 (M+H)⁺
【 0 2 3 5 】

6 - (7-オキシ-1-メチル-9-H-b-カルボリン) ヘキサン酸メチルエステル (10-2 e)。白色の固体。収率 50 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.83 (m, 1H), 4.06 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 2.75 (s, 3H), 2.38 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.54 (m, 2H); MS (ESI) m/z 327.5 (M+H)⁺

【 0 2 3 6 】

2 - (7-オキシ-1-メチル-9-H-b-カルボリン) 酢酸 *tert*-ブチルエステル (10-2 f)。白色の固体。収率 42 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.49 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.83 (m, 1H), 4.77 (s, 2H), 2.73 (s, 3H), 1.45 (s, 9H); MS (ESI) m/z 313.1 (M+H)⁺

【 0 2 3 7 】

3 - (7-オキシ-1-メチル-9-H-b-カルボリン) プロピオン酸 *tert*-ブチルエステル (10-2 g)。白色の固体。収率 32 %。

10

20

30

40

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 9.82 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.74 (m, 1H), 4.72 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.62 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.24 (s, 9H); MS (ESI) m/z 327.1 (M+H)+

【 0 2 3 8 】

4 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ブタン酸 *tert*-ブチルエステル (10 - 2 h)。白色の固体。収率 55 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.37 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.83 (m, 1H), 4.08 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.41 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.99 (m, 2H), 1.41 (s, 9H); MS (ESI) m/z 341.1 (M+H)+

10

【 0 2 3 9 】

5 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ペンタン酸 *tert*-ブチルエステル (10 - 2 i)。白色の固体。収率 40 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 9.40 (s, 1H), 8.31 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.86 (m, 1H), 4.00 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2.79 (s, 3H), 2.31 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.81 (m, 4H), 1.45 (s, 9H); MS (ESI) m/z 355.2 (M+H)+

20

【 0 2 4 0 】

6 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ヘキサン酸 *tert*-ブチルエステル (10 - 2 j)。白色の固体。収率 39 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 9.83 (s, 1H), 8.31 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.84 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.96 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.79 (s, 3H), 2.25 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.44 (s, 9H); MS (ESI) m/z 369.2 (M+H)+

30

【 0 2 4 1 】

2 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) エチル *tert*-ブチルカルバメート (10 - 2 k)。白色の固体。収率 67 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.10 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.48 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2.75 (s, 3H), 1.44 (s, 9H); MS (ESI) m/z 342.21 (M+H)+

40

【 0 2 4 2 】

3 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) プロピル *tert*-ブチルカルバメート (10 - 2 l)。白色の固体。収率 57 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.38 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.94 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.82 (m, 1H), 4.07 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.12 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.89 (m, 2H), 1.38 (s, 9H); MS (ESI) m/z 356.21 (M+H)+

【 0 2 4 3 】

50

4 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ブチル t e r t - ブチルカルバメート (10 - 2 m)。白色の固体。収率 67 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.39 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.87 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.82 (m, 1H), 4.06 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2.99 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.75 (m, 2H), 1.56 (m, 2H), 1.37 (s, 9H); MS (ESI) m/z 370.22 (M+H)⁺

【0244】

2 - ((7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) エトキシ) エチル t e r t - ブチルカルバメート (10 - 2 n)。白色の固体。収率 46 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.40 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.0 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.81 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.19 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.78 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.48 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.12 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.37 (s, 9H); MS (ESI) m/z 386.22 (M+H)⁺

【0245】

2 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) メトキシエチル (10 - 2 o)。白色の固体。収率 38 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.10 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 4.22 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.45 (s, 3H), 2.77 (s, 3H); MS (ESI) m/z 257.34 (M+H)⁺

【0246】

3 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) エトキシエチル (10 - 2 p)。白色の固体。収率 48 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.10 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.0 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 4.22 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.84 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.63 (m, 2H), 3.45 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 1.23 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 271.76 (M+H)⁺

【0247】

10 - 3 の合成の一般的な手順。密封された圧力容器中のメタノール (4 mL) 中の 10 - 2 a ~ 10 - 2 e (0.175 mmol) 及び 7 N アンモニアの溶液を、90 °C で 12 時間攪拌した。反応の完了後、混合物を蒸発させ、DCM / MeOH / アンモニア (90 / 9 / 1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の最終化合物 10 - 3 を白色の固体として得た。

【0248】

2 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) アセトアミド (10 - 3 a)。白色の固体。収率 91 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.45 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.0 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 4.53 (s, 2H), 2.71 (s, 3H); MS (ESI) m/z 256.1 (M+H)⁺

【0249】

3 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) プロピオンアミド (10 - 3 b)。白色の固体。収率 97 %。

MS (ESI) m/z 270.1 (M+H)⁺. ¹H-NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 9.84 (s, 1H), 8.13 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 6.96 (s, 2H), 6.73 (m, 1H), 4.67 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.54 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 2.71 (s, 3H); MS (ESI) m/z 270.1 (M+H)⁺

【 0 2 5 0 】

4 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ブタンアミド (10 - 3 c)。白色の固体。収率 84 %。

MS (ESI) m/z 284.16 (M+H)⁺. ¹H-NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.39 (s, 1H), 8.13 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.82 (m, 2H), 4.06 (t, J = 6 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.27 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 1.98 (m, 2H); MS (ESI) m/z 284.16 (M+H)⁺

【 0 2 5 1 】

5 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ペンタンアミド (10 - 3 d)。白色の固体。収率 85 %。

¹H-NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.38 (s, 1H), 8.13 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.98 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.82 (m, 1H), 6.75 (s, 1H), 4.07 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.13 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.76 (m, 2H), 1.69 (m, 2H); MS (ESI) m/z 298.1 (M+H)⁺

【 0 2 5 2 】

6 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ヘキサンアミド (10 - 3 e)。白色の固体。収率 94 %。

MS (ESI) m/z 312.1 (M+H)⁺. ¹H-NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.38 (s, 1H), 8.13 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.98 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.82 (m, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.07 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 2.09 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.77 (m, 2H), 1.57 (m, 2H), 1.45 (m, 2H); MS (ESI) m/z 312.1 (M+H)⁺

【 0 2 5 3 】

10 - 4 の合成の一般的な手順。10 - 2 f ~ 10 - 2 j (0.18 mmol) 及び TFA / DCM (1 : 1、4 mL) の溶液を、室温で 24 時間攪拌した。反応混合物を蒸発させ、ジエチルエーテルで粉砕して、所望の酸 10 - 4 を白色の固体として得た。

【 0 2 5 4 】

2 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) 酢酸 (10 - 4 a)。白色の固体。収率 89 %。

¹H-NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.73 (s, 1H), 8.48 (d, J = 6 Hz, 1H), 8.43 (d, J = 6 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 9 Hz, 1H), 7.09 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 2.97 (s, 3H); MS (ESI) m/z 257.1 (M+H)⁺

【 0 2 5 5 】

3 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) プロピオン酸 (10 - 4 b)。白色の固体。収率 98 %。

¹H-NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.59 (s, 1H), 10.64 (s, 1H), 8.45 (d, J = 6 Hz, 1H), 8.40 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 8.30 (d, J = 9 Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 6.97 (d, J = 9 Hz, 1H), 4.81 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.82 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.97 (s, 3H); MS (ESI) m/z 271.4 (M+H)⁺

【 0 2 5 6 】

4 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ブタン酸 (1 0 - 4 c) 。
白色の固体。収率 8 2 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.71 (s, 1H), 12.23 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.05 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.17 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.45 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.03 (m, 2H); MS (ESI) m/z 285.4 (M+H)+

【 0 2 5 7 】

5 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ペンタン酸 (1 0 - 4 d)
。白色の固体。収率 8 5 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.68 (s, 1H), 12.10 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.05 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.16 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.32 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.83 (m, 2H), 1.83 (m, 2H); MS (ESI) m/z 299.8 (M+H)+

【 0 2 5 8 】

6 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ヘキサン酸 (1 0 - 4 e)
。白色の固体。収率 9 1 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.71 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.05 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.16 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.97 (s, 3H), 2.26 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.47 (m, 2H); MS (ESI) m/z 313.5 (M+H)+

【 0 2 5 9 】

1 0 - 5 の合成の一般的な手順。1 , 4 - ジオキサン (4 m L) 中の 1 0 - 2 k ~ 1 0 - 2 n (1 . 9 3 m m o l) の溶液に、ジオキサン中の 4 N H C l (4 当量) を添加し、室温で 2 4 時間攪拌した。LCMSによって監視した反応の完了後、混合物を蒸発させて、所望の生成物 1 0 - 5 を白色の固体として得た。

【 0 2 6 0 】

2 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) エチルアミン塩酸 (1 0 - 5 a) 。白色の固体。収率 9 0 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 13.08 (s, 1H), 8.47 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.38 (m, 2H), 8.33 (bs, 2H), 7.19 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.10 (m, 1H), 4.37 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.30 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.03 (s, 3H); MS (ESI) m/z 242.22 (M+H)+

【 0 2 6 1 】

3 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) プロピルアミン塩酸 (1 0 - 5 b) 。白色の固体。収率 9 8 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 13.03 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.09 (bs, 2H), 7.15 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.06 (m, 1H), 4.25 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.03 (m, 5H), 2.12 (m, 2H); MS (ESI) m/z 256.11 (M+H)+

【 0 2 6 2 】

4 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) ブチルアミン塩酸 (1 0 - 5 c) 。白色の固体。収率 9 9 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.98 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.97 (bs, 2H), 7.14 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.17 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.02 (s, 3H), 2.87 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.87 (m, 2H), 1.77 (m, 2H); MS (ESI) m/z 270.45 (M+H)⁺

【 0 2 6 3 】

2 - ((7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) エトキシ) エチルアミン塩酸 (1 - 5 d) 。白色の固体。収率 9 7 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 13.14 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.36 (m, 2H), 8.10 (bs, 2H), 7.18 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.31 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.88 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.73 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.03 (s, 3H), 3.0 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 1.87 (m, 2H), 1.77 (m, 2H); MS (ESI) m/z 286.27 (M+H)⁺

10

【 0 2 6 4 】

1 0 - 6 の合成の一般的な手順。DCM中の1 0 - 5 (0 . 3 6 mmol) 及びトリエチルアミン (2 . 2 当量) の溶液に、無水酢酸を滴下で添加し、反応混合物を室温で1 時間攪拌した。反応の完了時に、混合物をDCMで希釈し、分液漏斗に移し、水で洗浄した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させて、所望の生成物1 0 - 6 を白色の固体として得た。

20

【 0 2 6 5 】

2 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) - 2 - アセチル - エチルアミン (1 0 - 6 a) 。白色の固体。収率 7 4 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.39 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.95 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.90 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.82 (m, 1H), 4.08 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.21 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.81 (s, 3H); MS (ESI) m/z 284.62 (M+H)⁺

30

【 0 2 6 6 】

3 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) - 2 - アセチル - プロピルアミン (1 0 - 6 b) 。白色の固体。収率 7 9 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.39 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.95 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.90 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.82 (m, 1H), 4.08 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.22 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.81 (s, 3H); MS (ESI) m/z 298.71 (M+H)⁺

40

【 0 2 6 7 】

4 - (7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) - 2 - アセチル - ブチルアミン (1 0 - 6 c) 。白色の固体。収率 7 0 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 11.47 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.93 (m, 1H), 7.80 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 4.08 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.10 (m, 2H), 2.73 (s, 3H), 1.80 (m, 5H), 1.59 (m, 2H); MS (ESI) m/z 312.18 (M+H)⁺

【 0 2 6 8 】

2 - ((7 - オキシ - 1 - メチル - 9 - H - b - カルボリン) エトキシ) - 2 - アセチル

50

ルーエチルアミン（10-6d）。白色の固体。収率49%

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.40 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.84 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 4.20 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.79 (m, 2H), 3.50 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 3.55 (m, 2H), 2.71 (s, 3H), 1.79 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 328.44 (M+H)⁺

【0269】

オトリフルオロメタンスルホニル-1-メチル-9H-*b*-カルボリン-7-オール（10-7）。DCM（4 mL）中の10-1（500 mg、2.52 mmol）及びピリジン（25.2 mmol）の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸無水物（1.2当量）を0℃で、滴下で添加した。反応混合物を室温に温め、12時間攪拌した。反応の完了時に、混合物を蒸発させ、DCM/MeOH（95/5）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物10-7を白色の固体（875 mg、92%）として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 13.01 (s, 1H), 8.67 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 8.61 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 8.51 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 2.99 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 331.5 (M+H)⁺

【0270】

7-ニトロ-1-メチル-9H-*b*-カルボリン（10-8）。圧力容器に、1-7（100 mg、0.30 mmol）、Pd2(dba)₃（5 mol%）、BrettPhos（6 mol%）、及び亜硝酸ナトリウム（42 mg、0.6 mmol）を充填し、排気し、アルゴンで3回再充填した。混合物に、tert-ブタノール（0.6 mL）及びTDA（5 mol%）をアルゴン下で添加した。圧力を密封し、150℃で24時間加熱した。反応の完了時に、混合物を蒸発させ、カラムクロマトグラフィーによって精製して、10-8を黄色の固体（80 mg、77%）として得た。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.41 (m, 1H), 8.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.23 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.08 (m, 1H), 8.01 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 2.82 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 228.31 (M+H)⁺

【0271】

7-アミノ-1-メチル-9H-*b*-カルボリン（10-9）。メタノール（4 mL）中の10-8（80 mg、0.35 mmol）及びパラジウム炭素（10重量%、100 mg）の溶液に、ヒドラジン-水和物（0.34 mL、7 mmol）を添加し、85℃で1時間加熱した。反応の完了時に、触媒をセライトで濾過し、濾液を蒸発させ、DCM/MeOH（90/10）を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望のアミノ化合物10-9を茶色の固体（65 mg、98%）として得た。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.02 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.71 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 198.16 (M+H)⁺

【0272】

7-ベンズアミド-1-メチル-9H-*b*-カルボリン（10-10）。THF（1 mL）中の10-9（20 mg、0.10 mmol）及びトリエチルアミン（0.028 mL、0.20 mmol）の溶液に、塩化ベンゾイルを0℃で添加し、室温で2時間攪拌した。LCMSによって監視した反応の完了時に、混合物を蒸発させ、DCM/MeOH（95/5）を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物10-10を白色の固体（23 mg、77%）として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.53 (s, 1H), 10.47 (s, 2H), 8.32 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.0 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.61 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.55 (m, 3H), 2.74 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 302.29 (M+H)⁺
【0273】

7-アセトアミド-1-メチル-9H-β-カルボリン(10-11)。THF(2 mL)中の10-9(20 mg、0.10 mmol)及びトリエチルアミン(0.028 mL、0.20 mmol)の溶液に、無水酢酸を0℃で、滴下で添加し、反応混合物を室温で12時間攪拌した。反応の完了時に、混合物をDCMで希釈し、分液漏斗に移し、水で洗浄した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させて、所望の生成物10-6を白色の固体(18 mg、75%)として得た。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.44 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.15 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (m, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.71 (s, 3H), 2.10 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 240.52 (M+H)⁺
【0274】

1-メチル-9H-ピリド[3,4-*b*]インドール-7-イルイソプロピルカルバメート(10-12)。DMF(2 mL)中のハルマロール10-1(50 mg、0.25 mmol)の溶液に、イソプロピルイソシアネート(0.030 mL、0.3 mmol)を添加し、室温で12時間攪拌した。反応混合物を蒸発させ、DCM/MeOH(95/5)を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物10-12を白色の固体(23 mg、32%)として得た。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.09 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.31 (m, 1H), 7.09 (m, 1H), 3.80 (m, 1H), 2.79 (s, 3H), 1.23 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H); MS (ESI) *m/z* 298.77 (M+H)⁺
【0275】

DYRK1A結合アッセイ化合物を、FRETベースのLanthaScreen(登録商標)Euキナーゼ結合アッセイを使用する市販のキナーゼプロファイリングサービスであるLife TechnologiesでDYRK1A結合活性について試験した。化合物を、2つ組で、1000 nM及び300 nMの濃度でDYRK1A活性についてスクリーニングした。IC₅₀を、2つ組で10点のLanthaScreen(登録商標)Euキナーゼ結合アッセイによって決定した。

【0276】
B細胞増殖アッセイ。ヒト臍島を、NIH/NIHDK支援統合臍島配布プログラム(IIDP)から得た。臍島を、最初に、前述のようにAccutase(Sigma, St. Louis, MO)で分散させ、カバーガラス上に播種した(全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015)。2時間後、分散したヒト臍島細胞を、RPMI 1640完全培地中の化合物で96時間処理した。次いで、細胞を固定し、インスリン及びKi67のために染色した(全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015)。総インスリン陽性細胞及び二重Ki67及びインスリン陽性細胞を撮像してカウントした。少なくとも1000個の細胞がカウントされた。

【0277】

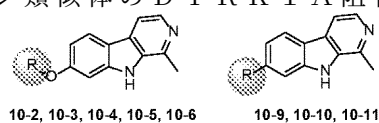
実施例8-7置換ハルミン類似体の合成、SAR分析、及びヒトβ細胞増殖アッセイ

7-置換ハルミン類似体を、図5に概説される反応順序に従うことによって合成した。表4は、類似体10-3bがDYRK1Aに対して91 nMのIC₅₀を有したのに対し、類似体10-4aは71 nMのIC₅₀でDYRK1Aを阻害したことを示す。対照的に、類似体10-4b及び10-11は、DYRK1Aに対してそれぞれ1810 nM及び389 nMのIC₅₀を有した。化合物10-2b、10-3b、及び10-3eを、

インビトロでヒト β 細胞増殖を誘導するそれらの能力について評価した。表 5 は、これらの化合物が、試験した投与量で、ハルミンと比較して β 細胞増殖の低減を示したことを示す。

【0278】

(表 4) 例示的な置換ハルミン類似体の DYRK1A 阻害



化合物	R	% DYRK1A 阻害		IC ₅₀ (nM) ^a	化合物	R	% DYRK1A 阻害		IC ₅₀ (nM) ^a
		1000 nM	300 nM				1000 nM	300 nM	
10-2a		85	58	-	10-4c		19	6	-
10-2b		-	-	89.7	10-4d		44	20	-
10-2c		78	47	-	10-4e		74	43	-
10-2d		67	35	-	10-5a		25	12	-
10-2e		81	56	-	10-5b		28	8	-
10-2k		61	35	-	10-5c		42	15	-
10-2l		50	24	-	10-5d		32	15	-
10-2m		58	31	-	10-6a		49	24	-
10-2n		48	27	-	10-6b		49	22	-
10-2o		48	23	-	10-6c		69	45	-
10-2p		37	19	-	10-6d		41	17	-
10-3a		30	10	-	10-9		21	8	-
10-3b		-	-	91	10-10		65	37	-
10-3c		58	32	-	10-11		77	48	389
10-3d		88	67	-	10-12		69	42	n.d.
10-3e		67	39	-	ハルミン		-	-	27
10-4a		6	3	71					
10-4b		-	-	1810					

a = IC₅₀ 値を、10 回連続 3 倍希釈 (2 つ組) を使用して決定した。

【0279】

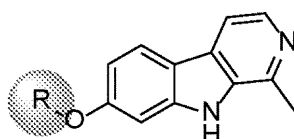
(表 5) 例示的な置換されたハルミン類似体の β 細胞増殖

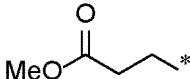
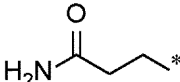
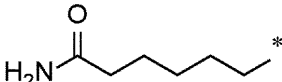
10

20

30

40



化合物	R	ヒトβ細胞増殖 (濃度 μM)	IC ₅₀ (nM)
10-2b		0.8 (30)	89.7
10-3b		0.4 (30)	91
10-3e		0.2 (10)	-
	ハルミン	1.5 (10)	27

10

20

30

30

40

40

40

40

40

50

50

50

50

【 0 2 8 4 】

5 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ペンタン酸メチルエステル (20-1 d)。白色の固体。収率 79 %。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.08 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.85 (m, 1H), 4.52 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 2.96 (s, 3H), 2.37 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.70 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 327.19 (M+H)⁺

【 0 2 8 5 】

10

6 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ヘキサン酸メチルエステル (20-1 e)。白色の固体。収率 82 %。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.08 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.50 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.29 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 1.40 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 341.23 (M+H)⁺

【 0 2 8 6 】

2-メチル-4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) 酪酸メチルエステル (20-1 f)。白色の固体。収率 72 %。

20

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.09 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.50 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.23 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z* 327.76 (M+H)⁺

【 0 2 8 7 】

2, 2-ジメチル-4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) 酪酸メチルエステル (20-1 g)。白色の固体。収率 68 %。

30

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.90 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 4.49 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 1.92 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 1.30 (s, 6H); MS (ESI) *m/z* 341.92 (M+H)⁺

【 0 2 8 8 】

2-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) 酢酸 *t*-ブチルエステル (20-1 h)。白色の固体。収率 100 %。

40

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.13 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.03 (bs, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.89 (s, 3H), 1.42 (s, 9H); MS (ESI) *m/z* 327.44 (M+H)⁺

【 0 2 8 9 】

3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) プロピオン酸 *t*-ブチルエステル (20-1 i)。白色の固体。収率 21 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.84 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.71 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.23 (s, 9H); MS (ESI) m/z 341.54 (M+H)+

【 0 2 9 0 】

4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) 酪酸 t -ブチルエステル (20-1 j)。白色の固体。収率 82 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.55 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.94 (m, 2H), 1.38 (s, 9H); MS (ESI) m/z 355.31 (M+H)+

10

【 0 2 9 1 】

5 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ペンタン酸 t -ブチルエステル (20-1 k)。白色の固体。収率 80 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.28 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.48 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.02 (s, 3H), 2.28 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.86 (m, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.41 (s, 9H); MS (ESI) m/z 369.45 (M+H)+

20

【 0 2 9 2 】

6 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ヘキサン酸 t -ブチルエステル (20-1 l)。白色の固体。収率 76 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.28 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 4.46 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.01 (s, 3H), 2.21 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.84 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 1.41 (m, 11H); MS (ESI) m/z 383.81 (M+H)+

30

【 0 2 9 3 】

N - (3 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) プロピル) フタルイミド (20-1 m)。白色の固体。収率 60 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.08 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.83-7.78 (m, 5H), 7.02 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.85 (m, 1H), 4.64 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.92 (s, 3H), 2.24 (m, 2H); MS (ESI) m/z 400.71 (M+H)+

40

【 0 2 9 4 】

N - (4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ブチル) フタルイミド (20-1 n)。白色の固体。収率 84 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.14 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.83 (m, 4H), 7.20 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 4.57 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.61 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 2.90 (s, 3H), 1.74 (m, 4H); MS (ESI) m/z 414.23 (M+H)+

【 0 2 9 5 】

50

4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) プロピオニトリル (20-1 o)。白色の固体。収率 80 %。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.11 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.90 (m, 1H), 4.65 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.54 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.11 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 280.71 (M+H)⁺
【0296】

3 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) プロピオンアルデヒドジメチルアセタール (20-1 p)。白色の固体。収率 100 %。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.60 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.42 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.23 (s, 6H), 2.95 (s, 3H), 2.11 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 315.90 (M+H)⁺
【0297】

4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ブチルアルデヒドジメチルアセタール (20-1 q)。白色の固体。収率 100 %。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.09 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.52 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.36 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.27 (s, 6H), 2.95 (s, 3H), 1.81 (m, 2H), 1.68 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 329.96 (M+H)⁺
【0298】

5 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) -ペンタ-1-イン (20-1 r)。白色の固体。収率 63 %。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.98 (m, 1H), 4.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.22 (s, 3H), 2.35 (m, 2H), 2.15 (m, 1H), 2.07 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 279.52 (M+H)⁺
【0299】

6 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) -ヘキサ-1-イン (20-1 s)。白色の固体。収率 62 %。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.56 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.78 (m, 1H), 2.23 (m, 2H), 1.83 (m, 2H), 1.54 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 293.36 (M+H)⁺
【0300】

3 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) -プロパン-1-エン (20-1 t)。白色の固体。収率 72 %。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.66 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.29 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 6.64 (m, 1H), 5.72 (m, 2H), 5.59 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 4.37 (s, 3H), 3.38 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 253.23 (M+H)⁺
【0301】

10

20

30

40

50

4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - ブタ-1-エン (20-1 u)。白色の固体。収率 81%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.66 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.52 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.63 (m, 1H), 7.35 (m, 1H), 6.37 (m, 1H), 5.61 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.49 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 5.15 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.30 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 3.08 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 267.44 (M+H)⁺

【0302】

5 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - ペンタ-1-エン (20-1 v)。白色の固体。収率 77%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.65 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.52 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 6.37 (m, 1H), 5.55 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.47 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.08 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.39 (s, 3H), 3.44 (s, 3H), 2.69 (m, 2H), 2.40 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 281.28 (M+H)⁺

【0303】

6 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - ヘキサ-1-エン (20-1 w)。白色の固体。収率 82%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 5.78 (m, 1H), 5.00 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 4.94 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 4.55 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.93 (s, 3H), 2.07 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.47 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 295.66 (M+H)⁺

【0304】

1 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - 1-フェニルメタン (20-1 x)。白色の固体。収率 69%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.18 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.28 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.19 (s, 1H), 6.91 (m, 3H), 5.89 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.73 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 303.54 (M+H)⁺

【0305】

2 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - 1-フェニルエタン (20-1 y)。白色の固体。収率 54%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.24 (m, 5H), 7.08 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.85 (m, 1H), 4.78 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.87 (m, 3H), 3.06 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.93 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 317.82 (M+H)⁺

【0306】

3 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - 1-フェニルプロパン (20-1 z)。白色の固体。収率 55%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.15 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.30 (m, 4H), 7.20 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.86 (m, 1H), 4.53 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.79 (s, 3H), 2.73 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.06 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 331.52 (M+H)⁺

【0307】

4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - 1-フェニルブタン (20-1 z')。白色の固体。収率 74%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.64 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.70 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.58 (m, 2H), 7.32 (m, 1H), 5.09 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.37 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.15 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.35 (m, 2H), 2.27 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 345.13 (M+H)⁺

【0308】

1-アジド-3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロパン (20-1 a')。白色の固体。収率 100%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.95 (s, 1H), 6.94 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.86 (m, 1H), 4.61 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.40 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.09 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 297.15 (M+H)⁺

【0309】

1-アジド-4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)ブタン (20-1 b')。白色の固体。収率 100%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.53 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.35 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 3.12 (s, 3H), 1.95 (m, 2H), 1.69 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 311.16 (M+H)⁺

【0310】

3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)ト-ブチカルボキシ-1-プロパンアミド (20-1 c')。白色の固体。収率 78%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 6.95 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.54 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.23 (m, 2H), 3.04 (s, 3H), 2.03 (m, 2H), 1.44 (s, 9H); MS (ESI) *m/z* 370.21 (M+H)⁺

【0311】

20-2の合成の一般的な手順。密封された圧力容器中のメタノール (4 mL) 中の 20-1 a ~ 20-1 f (0.175 mmol) 及び 7 N アンモニアの溶液を、90℃で 12 時間攪拌した。反応の完了後、混合物を蒸発させ、DCM/MeOH/アンモニア (90/9/1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の最終化合物 20-2 を白色の固体として得た。

【0312】

2-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)アセトアミド (20-2 a)。白色の固体。収率 100%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.15 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.15 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 5.18 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.85 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 270.61 (M+H)⁺

【0313】

3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロピオンアミド (20-2 b)。白色の固体。収率 100%。

10

20

30

40

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.78 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.57 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 284.43 (M+H)+

【 0 3 1 4 】

4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-2 c)。白色の固体。収率 99 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.86 (m, 1H), 4.53 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.19 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.94 (m, 2H); MS (ESI) m/z 298.31 (M+H)+

10

【 0 3 1 5 】

5 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ペンタンアミド (20-2 d)。白色の固体。収率 99 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.19 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 6.73 (s, 1H), 4.54 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.10 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.59 (m, 2H); MS (ESI) m/z 312.26 (M+H)+

20

【 0 3 1 6 】

6 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ヘキサンアミド (20-2 e)。白色の固体。収率 80 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.53 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.02 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.53 (m, 2H), 1.36 (m, 2H); MS (ESI) m/z 326.66 (M+H)+

30

【 0 3 1 7 】

2-メチル-4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-2 f)。白色の固体。収率 40 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.91 (bs, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.52 (m, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.46 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.11 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 312.21 (M+H)+

40

【 0 3 1 8 】

20-3 の合成の一般的な手順。20-1 h ~ 20-1 l (0.18 mmol) 及び TFA / DCM (1 : 1、4 mL) の溶液を、室温で 24 時間攪拌した。反応混合物を蒸発させ、ジエチルエーテルで粉砕して、所望の酸 1-3 を白色の固体として得た。

【 0 3 1 9 】

2 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) 酢酸 (20-3 a)。白色の固体。収率 91 %。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.54 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.41 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.07 (m, 1H), 5.60 (s, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.10 (s, 3H); MS (ESI) m/z 271.17 (M+H)+
【 0 3 2 0 】

3 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) プロピオン酸塩酸塩 (20-3b)。白色の固体。収率 60%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.31 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.37 (s, 1H), 6.99 (m, 1H), 4.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 2.82 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 285.67 (M+H)+
【 0 3 2 1 】

10

4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) 酪酸塩酸塩 (20-3c)。白色の固体。収率 100%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.53 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.44 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.66 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 2.44 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.00 (m, 2H); MS (ESI) m/z 299.13 (M+H)+

20

【 0 3 2 2 】

5 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ペンタン酸塩酸塩 (20-3d)。白色の固体。収率 99%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.53 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.43 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.68 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.16 (s, 3H), 2.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.63 (m, 2H); MS (ESI) m/z 313.38 (M+H)+

30

【 0 3 2 3 】

6 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ヘキサン酸塩酸塩 (20-3e)。白色の固体。収率 100%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.53 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.43 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 8.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.08 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 4.66 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.16 (s, 3H), 2.20 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.79 (m, 2H), 1.56 (m, 2H), 1.41 (m, 2H); MS (ESI) m/z 327.17 (M+H)+

【 0 3 2 4 】

40

2-メチル-4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) 酪酸 (20-4a)。MeOH (3 mL) 中の 2-メチル-4 - (7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) 酪酸ベンジルエステル (216 mg、0.53 mmol) 及び Pd-C (45 mg) の溶液に、トリエチルシラン (0.84 mL、5.3 mmol) を滴下で添加し、室温で 1 時間攪拌した。反応の完了時に、触媒をセライトで濾過し、濾液を回転蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH (9/1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の酸 20-4a を白色の固体として得た。収率 64%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.89 (bs, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.55 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.59 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 1.19 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 313.63 (M+H)+

【 0 3 2 5 】

2, 2-ジメチル-4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)酪酸(20-4b)。化合物20-4aと同様に、2, 2-ジメチル-4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)酪酸(20-4b)を白色の固体として得た。収率60%。

10

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 4.51 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.96 (s, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.27 (s, 6H); MS (ESI) m/z 327.99 (M+H)+

【 0 3 2 6 】

20-5の合成の一般的な手順。メタノール(4 mL)中の20-1mまたは20-1n(0.12 mmol)及びヒドラジン-水和物(20当量)の溶液を、4時間還流した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗生成物を、DCM/MeOH/Et₃N(9:1:0.1)を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-5を白色の固体として得た。

20

【 0 3 2 7 】

3-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)プロピルアミン(20-5a)。白色の固体。収率36%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD): δ 8.11 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.61 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.75 (m, 2H), 1.97 (m, 2H); MS (ESI) m/z 270.30 (M+H)+

30

【 0 3 2 8 】

4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)ブチルアミン(20-5b)。白色の固体。収率34%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.13 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.84 (m, 1H), 4.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.93 (s, 3H), 2.54 (m, 2H), 1.72 (m, 2H), 1.40 (m, 2H); MS (ESI) m/z 284.27 (M+H)+

【 0 3 2 9 】

20-6の合成の一般的な手順。塩化メチレン(2 mL)中の20-5(0.21 mmol)及びDIPEA(1.2当量)の溶液に、無水酢酸(1.1当量)を0℃で添加し、室温で1時間攪拌した。反応混合物を蒸発させ、DCM/MeOH(9:1)を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-6を白色の固体として得た。

40

【 0 3 3 0 】

N-アセチル-3-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)プロピルアミン(20-6a)。白色の固体。収率47%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl₃): δ 8.20 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 8.06 (m, 2H), 7.40 (m, 1H), 7.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 4.67 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.52 (m, 5H), 2.16 (m, 2H), 2.08 (s, 3H); MS (ESI) m/z 312.39 (M+H)+

50

【0331】

N-アセチル-4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)ブチルアミン(20-6b)。白色の固体。収率63%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.12 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.09 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 4.61 (m, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.00 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.58 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 326.34 (M+H)+

【0332】

20-7の合成の一般的な手順。エタノール(1 mL)中の20-5(0.35 mmol)及びギ酸エチル(0.5当量)の溶液を、CEMマイクロ波で、150℃で30分間加熱した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗反応混合物をTHF(2 mL)に溶解し、LiAlH₄(3当量)を室温で少しずつ添加した。添加後、反応混合物を4時間還流した。溶媒を蒸発させ、粗反応混合物を、DCM/MeOH(9:1)を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-7を白色の固体として得た。

10

【0333】

N-メチル-3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロピルアミン(20-7a)。白色の固体。収率41%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.10 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 4.60 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.04 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.96 (s, 3H), 2.61 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 284.53 (M+H)+

20

【0334】

N-メチル-4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)ブチルアミン(20-7b)。白色の固体。収率27%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.07 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.98 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 4.46 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.92 (s, 3H), 2.53 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.78 (s, 2H), 1.54 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 298.41 (M+H)+

30

【0335】

20-8の合成の一般的な手順。塩化メチレン(1 mL)中の20-7(0.03 mmol)及びDIPA(1.2当量)の溶液に、無水酢酸(1.1当量)0℃で添加し、1時間室温で攪拌した。反応混合物を蒸発させ、DCM/MeOH(9:1)を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-8を白色の固体として得た。

【0336】

N-アセチル-N-メチル-3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロピルアミン(20-8a)。白色の固体。収率41%。

40

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.86 (m, 1H), 4.51 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.52 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 326.80 (M+H)+

【0337】

N-アセチル-N-メチル-4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)ブチルアミン(20-8b)。白色の固体。収率38%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.26 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.94 (m, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.51 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.41 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.03 (s, 3H), 2.89 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.79 (m, 2H), 1.62 (m, 2H); MS (ESI) m/z 340.83 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

【0338】

20-9の合成の一般的な手順。エタノール (1 mL) 中の20-5 (0.21 mmol) 及びホルムアルデヒド (水中37%、2.5当量) の溶液に、シアノ水素化ホウ素ナトリウム (5当量) 及び数滴の酢酸を添加した。反応混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物を蒸発させ、DCM/MeOH (9:1) を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-9を白色の固体として得た。

【0339】

N, N-ジメチル-3-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) プロピルアミン (20-9a)。白色の固体。収率38%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.27 (s, 1H), 7.97 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 6.97 (m, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.56 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 2.33 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.24 (s, 6H), 1.98 (m, 2H); MS (ESI) m/z 298.27 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

【0340】

N, N-ジメチル-4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) プチルアミン (20-9b)。白色の固体。収率100%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.44 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.34 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.35 (m, 1H), 6.51 (m, 1H), 4.65 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.03 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.70 (s, 6H), 2.46 (s, 3H), 1.76 (m, 2H), 1.70 (m, 2H); MS (ESI) m/z 312.42 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

【0341】

20-10の合成の一般的な手順。DMF (2 mL) 中の20-3cまたは20-4a、4b (0.24 mmol) 及びHATU (1.2当量) の溶液に、DIPEA (2当量) を添加し、反応物を室温で2時間攪拌した。アルキルアミン (1当量) を反応混合物に添加し、室温でさらに12時間攪拌した。反応の完了時に、反応混合物を水 (50 mL) でクエンチし、分液漏斗に移した。反応混合物を酢酸エチルで3回抽出し、その後、組み合わせた有機層をブライン及び水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させ、DCM/MeOH (9:1) を溶離液として使用するカラムクロマトグラフィーによって精製して、目的の生成物20-10を白色の固体として得た。

【0342】

N-(イソプロピル)-4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-10a)。白色の固体。収率31%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.28 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.21 (m, 2H), 7.82 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.06 (m, 1H), 4.68 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.91 (m, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.32 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.16 (m, 2H), 1.10 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H); MS (ESI) m/z 340.42 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

【0343】

N-(t-ブチル)-4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-10b)。白色の固体。収率52%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.32 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 8.22 (m, 2H), 7.52 (bs, 1H), 7.30 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.08 (m, 1H), 4.67 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 2.31 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.14 (m, 2H), 1.30 (s, 9H); MS (ESI) *m/z* 354.37 (M+H)⁺ 【0344】

N - (2-メトキシエチル) - 4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-10c)。収率 36%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.28-8.33 (m, 2H), 7.96 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.38 (bs, 1H), 7.02 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.31 (m, 5H), 3.21 (m, 2H), 3.10 (s, 3H), 2.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.99 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 356.51 (M+H)⁺ 【0345】

N - (ブチル) - 4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-10d)。白色の固体。収率 44%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.29 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 8.21 (m, 2H), 7.90 (bs, 1H), 7.28 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.06 (m, 1H), 4.69 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 3.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.39 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.17 (m, 2H), 1.44 (m, 2H), 1.34 (m, 2H), 0.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z* 354.90 (M+H)⁺

【0346】

N - (1-メチルブチル) - 4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ブタンアミド (20-10e)。白色の固体。収率 46%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.43 (bs, 1H), 8.39 (m, 1H), 8.35 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.64 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.76 (m, 1H), 3.14 (s, 3H), 2.22 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.00 (m, 2H), 1.25 (m, 4H), 2.75 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 2.70 (s, 6H), 0.84 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z* 368.45 (M+H)⁺

【0347】

N - (イソプロピル) - 4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - α-メチルブタンアミド (20-10f)。白色の固体。収率 33%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.14 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.10 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.96 (m, 1H), 4.61 (m, 1H), 4.47 (m, 1H), 3.99 (m, 4H), 3.05 (s, 3H), 2.48 (m, 1H), 2.14 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 1.14-1.18 (m, 9H); MS (ESI) *m/z* 354.57 (M+H)⁺

【0348】

N - (t-ブチル) - 4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) - α-メチルブタンアミド (20-10g)。収率 28%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.11-8.16 (m, 3H), 7.60 (bs, 1H), 7.15 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.00 (m, 1H), 4.59 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 2.53 (m, 1H), 2.13 (m, 1H), 1.83 (m, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.16 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z* 368.59 (M+H)⁺

【0349】

N - (2-メトキシエチル) - 4 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9

10

20

30

40

50

－イル)－ α －メチルブタンアミド (20-10h)。白色の固体。収率 41%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16

(d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.99 (m, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.00 (m, 3H), 3.39-3.48 (m, 3H), 3.33-3.35 (m, 4H), 3.09 (s, 3H), 2.56 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.20 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 370.87 (M+H)+

【0350】

N－(ブチル)－4－(7－メトキシ－1－メチル－ β －カルボリン－9－イル)－ α －メチルブタンアミド (20-10i)。白色の固体。収率 42%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.16-8.19 (m, 3H), 7.96 (bs, 1H),

7.18 (bs, 1H), 7.03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.18 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.52 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 1.49 (m, 2H), 1.36 (m, 2H), 1.20 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.94 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 368.87 (M+H)+

【0351】

N－(1－メチルブチル)－4－(7－メトキシ－1－メチル－ β －カルボリン－9－イル)－ α －メチルブタンアミド (20-10j)。白色の固体。収率 44%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.11 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H),

8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.92 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 3.96 (m, 4H), 3.00 (s, 3H), 2.49 (m, 1H), 2.15 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 1.38-1.45 (m, 4H), 1.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.14 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 382.60 (M+H)+

【0352】

N－(2－メトキシエチル)－4－(7－メトキシ－1－メチル－ β －カルボリン－9－イル)－ α ， α －ジメチルブタンアミド (20-10k)。白色の固体。収率 31%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.12

(d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 7.73 (bs, 1H), 7.13 (bs, 1H), 6.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.52 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.53 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 3.34 (s, 3H), 3.05 (s, 3H), 2.01 (m, 2H), 1.34 (s, 6H); MS (ESI) m/z 385.02 (M+H)+

【0353】

N－(1－メチルブチル)－4－(7－メトキシ－1－メチル－ β －カルボリン－9－イル)－ α ， α －ジメチルブタンアミド (20-10l)。白色の固体。収率 29%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.15 (d,

$J = 6$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.20 (bs, 1H), 6.99 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.57 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.11 (s, 3H), 3.05 (s, 3H), 2.04 (m, 2H), 1.56 (m, 1H), 1.46 (m, 1H), 1.38 (m, 8H), 1.18 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.94 (t, $J = 7.8$ Hz, 3H); MS (ESI) m/z 396.99 (M+H)+

【0354】

N'－ヒドロキシ－4－(7－メトキシ－1－メチル－ β －カルボリン－9－イル)ブタンイミダミド (20-11)。エタノール (2 mL) 中の 20-10 (300 mg、1.07 mmol)、ヒドロキシルアミン塩酸塩 (93 mg、1.34 mmol)、及びト

リメチルアミン（0.22 mL、1.60 mmol）の溶液を、12時間還流した。溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH/NH₃（9：1：0.5）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-11を白色の固体として得た。収率74%。

¹H-NMR (600

MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.15 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 5.50 (bs, 2H), 4.54 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.76 (m, 1H), 2.94 (s, 3H), 2.10 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.95 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 313.46 (M+H)⁺

10

【0355】

3-（3-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）プロピル）-5-トリクロロメチル-1, 2, 4-オキサジアゾール（20-12）。トルエン中の20-11（150 mg、0.48 mmol）及びピリジン（0.154 mL、1.92 mmol）の溶液に、塩化トリクロロアセチル（0.06 mL、0.57 mmol）を0℃で添加し、同じ温度でさらに1時間攪拌した。次いで、反応混合物を85℃に12時間加熱した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH（9：1）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-12を白色の固体として得た。収率8%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.31 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.01

20

(d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 6.98 (m, 2H), 4.66 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 3.15 (s, 3H), 2.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.38 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 439.27 (M+H)⁺

【0356】

3-（3-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）プロピル）-5-アミノ-1, 2, 4-オキサジアゾール（20-13）。メタノール（2 mL）中の20-12（18 mg、0.04 mmol）及び7Nアンモニアの溶液を、室温で12時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH/NH₃（9：1：1）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-13を白色の固体として得た。収率46%。

30

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-

DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.72 (bs, 2H), 7.23 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.62 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.90 (s, 3H), 2.57 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.06 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 338.43 (M+H)⁺

【0357】

1-（3-（3-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル））プロピル）-1-アミノシクロプロパン（20-14）。THF（5 mL）中の20-10（146 mg、0.52 mmol）及びチタン（IV）イソプロポキシド（0.168 mL、0.57 mmol）の溶液に、臭化エチルマグネシウム（THF中1M、1.04 mL、1.04 mmol）を室温で、滴下で添加し、1時間攪拌した。その後、BF₃・OEt₂（0.128 mL、1.04 mmol）を反応物に添加し、さらに30分間攪拌した。水（10 mL）及び重炭酸ナトリウムの飽和水溶液（15 mL）を添加することにより、反応物をクエンチした。溶液を分液漏斗に移し、酢酸エチル（3回、20 mL）で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させ、DCM/MeOH（9：1）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-14を白色の固体として得た。収率5%。

40

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.17 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.07 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.66 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 2.01 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 0.88 (m, 2H), 0.80 (m, 2H); MS (ESI) m/z 310.55 (M+H)+

【 0 3 5 8 】

20-15の合成の一般的な手順。AcOH/1, 4-ジオキサン/水(4:2:1、14 mL)中の20-1pまたは20-1q(5.44 mmol)の溶液を、110℃で4時間加熱した。反応物を冷却し、重炭酸ナトリウムの飽和溶液で中和した。反応混合物を分液漏斗に移し、酢酸エチル(3回、50 mL)で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させて、最終化合物20-15を白色の固体として得た。

10

【 0 3 5 9 】

3-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)プロパナール(20-15a)。収率95%。

$^1\text{H-NMR}$

(600 MHz, CD_3OD): δ 8.11 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.70 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.02 (s, 3H), 2.06 (m, 2H); MS (ESI) m/z 269.20(M+H)+

20

【 0 3 6 0 】

4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)ブタナール(20-15b)。収率92%。

$^1\text{H-NMR}$

(600 MHz, CD_3OD): δ 8.09 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.54 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 1.88 (m, 2H), 1.67 (m, 2H); MS (ESI) m/z 283.50 (M+H)+

30

【 0 3 6 1 】

20-16の合成の一般的な手順。アモニウムヒドロキシド(1.59 mL)を、シアニ化カリウム(109 mg、1.67 mmol)及び塩化アンモニウム(89 mg、1.67 mmol)の混合物に0℃で添加し、溶液を室温で30分間攪拌した。反応混合物に、20-15(150 mg、0.56 mmol)及びMeOH(2 mL)の溶液を添加し、80℃で12時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH/ NH_3 (9:1:1)を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-16を白色の固体として得た。

40

【 0 3 6 2 】

3-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)-1-シアノプロピルミン(20-16a)。収率31%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 4.64 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.82 (m, 1H), 2.97 (s, 3H), 2.12 (m, 1H), 2.04 (m, 1H); MS (ESI) m/z 295.28 (M+H)+

【 0 3 6 3 】

4-(7-メトキシ-1-メチル- β -カルボリン-9-イル)-1-シアノブチルア

50

ミン (20-16b)。収率 61%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.23 (bs, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.59 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.77 (m, 1H), 2.95 (s, 3H), 1.85 (m, 2H), 1.75 (m, 2H); MS (ESI) m/z 309.36 (M+H)⁺ 【0364】

20-17の合成の一般的な手順。20-16 (15 mg、0.05 mmol) 及び MeOH (0.5 mL) の溶液に、1 N NaOH 溶液 (0.104 mL)、続いて 35% 過酸化水素 (0.02 mL) を添加し、室温で 1 時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH/NH₃ (9:1:1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-17 を白色の固体として得た。

【0365】

3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-1-(カルボキシルアミド) プロピルミン (20-17a)。収率 60%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD): δ 8.11 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 4.68 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.54 (m, 1H), 3.01 (s, 3H), 2.17 (m, 1H), 2.04 (m, 1H); MS (ESI) m/z 313.42 (M+H)⁺ 【0366】

4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-1-(カルボキシルアミド) ブチルアミン (20-17b)。収率 61%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD): δ 8.10 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.59 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.41 (m, 1H), 2.99 (s, 3H), 1.91 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.68 (m, 1H); MS (ESI) m/z 327.18 (M+H)⁺

【0367】

4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-1-トリフルオロメチルブタノール (20-18)。THF (2 mL) 中に 20-15b (384 mg、1.36 mmol) 及び TMSCF₃ (THF 中 0.5 M、1.77 mmol) の溶液に、TBAF (THF 中 1 M、0.013 mL、0.013 mmol) を 0℃ で添加し、溶液をその温度で 30 分間及び室温で 12 時間攪拌した。反応物を 0℃ に冷却し、水 (0.134 mL、7.48 mmol) 及び TBAF (THF 中 1 M、0.136 mL、0.136 mmol) を添加し、室温で 4 時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、酢酸エチルを溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-18 を白色の固体として得た。収率 75%。

$^1\text{H-NMR}$

(600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.11 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.09 (bs, 1H), 6.90 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 3.94 (m, 4H), 2.99 (s, 3H), 1.94-2.04 (m, 2H), 1.79 (m, 1H), 1.66 (m, 1H); MS (ESI) m/z 353.79 (M+H)⁺

【0368】

4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-1-トリフルオロメチルブチルアミン (20-21)。ジクロロメタン (1.5 mL) 中の 20-18 (78 mg、0.22 mmol) 及び ピリジン (0.035 mL、0.44 mmol) の溶液に、ジクロロメタン (0.2 mL) 中の トロフルオロメタン スルホン酸無水物 (0.044 mL、0.265 mmol) 溶液を -40℃ で、滴下で添加した。溶液を攪拌し、室温に

一晚温めた。水（10 mL）を添加することによって反応混合物をクエンチし、酢酸エチル（3回、20 mL）で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させて、化合物20-19を白色の固体として得て、これを精製することなく次のステップのために取り出した。DMSO（2 mL）中の20-19（115 mg、0.23 mmol）及びアジ化ナトリウム（30 mg、0.47 mmol）の溶液を、40℃で5時間加熱した。水（10 mL）を添加することによって反応混合物をクエンチし、酢酸エチル（3回、20 mL）で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させて、化合物20-20を白色の固体として得て、これを精製することなく次のステップのために取り出した。メタノール（2 mL）中の20-20（60 mg、0.16 mmol）、ギ酸アンモニウム（50 mg、0.80 mmol）、及び10 mol %のPd/Cの溶液を、3時間還流した。触媒をセライトで濾過し、溶媒を蒸発させた。粗反応混合物を、DCM/MeOH（9：1：1）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-21を白色の固体として得た。収率51%。

10

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.57 (m, 2H), 3.90 (m, 3H), 3.24 (m, 1H), 2.96 (s, 3H), 1.94 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.46 (m, 1H); MS (ESI) *m/z* 352.42 (M+H)⁺

20

【0369】

エチル4-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）ブタンカルボキシミデート塩酸塩（20-22）。エタノール（0.3 mL）中の1-10（100 mg、0.35 mmol）の溶液に、塩酸ガスを1時間バブリングし、反応物を室温で12時間攪拌した。LCMSによって監視した反応の完了時に、溶媒を蒸発させて、最終化合物20-22を白色の固体として得た。収率100%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.38 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.23 (m, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.09 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 4.60 (m, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.88 (m, 2H), 3.11 (s, 3H), 2.43 (m, 2H), 2.02 (m, 2H), 1.06 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); MS (ESI) *m/z* 327.39 (M+H)⁺

30

【0370】

20-23の合成の一般的な手順。MeOH/THF（1：1、3 mL）中の3-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）プロパナールまたは2-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）エタナール（1.12 mmol）及びK₂CO₃（3当量）の溶液に、ジメチル（1-ジアゾ-2-オキシプロピル）ホスホネート（アセトニトリル中10%、2当量）を添加し、室温で24時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH（9：1）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-23を白色の固体として得た。

40

【0371】

3-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）-プロパン-1-イン（20-23a）。収率71%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.20 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.91 (m, 1H), 5.45 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.37 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.04 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 251.94 (M+H)⁺

【0372】

4-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）-ブタ-1-イン（2

50

0-23b)。収率67%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.91 (m, 2H), 4.70 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.05 (s, 3H), 2.70 (m, 2H), 2.05 (t, *J* = 3 Hz, 1H); MS (ESI) *m/z* 265.86 (M+H)⁺

【0373】

20-24の合成の一般的な手順。t-ブタノール/水(1:1、4 mL)中の3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-プロパン-1-インまたは4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-ペンタン-1-イン(0.44 mmol)及び1-アジド-2-メトキシエタン(10当量)の溶液に、アスコルビン酸ナトリウム(0.1当量)及び硫酸銅五水和物(0.01当量)を逐次的に添加し、室温で24時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH(9:1)を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-24を白色の固体として得た。

【0374】

4-(2-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)エチル)-1-(2-メトキシエチル)-1,2,3-トリアゾール(20-24a)。収率73%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.69 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 4.86 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.34 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.53 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.22 (m, 5H), 3.01 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 367.14 (M+H)⁺

【0375】

4-(3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロピル)-1-(2-メトキシエチル)-1,2,3-トリアゾール(20-24b)。収率64%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.96 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.76 (bs, 1H), 7.40 (s, 1H), 6.93 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.61 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.49 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.73 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.34 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.82 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.26 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 381.07 (M+H)⁺

【0376】

20-25の合成の一般的な手順。t-ブタノール/水(1:1、4 mL)中の3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-プロピルアジドまたは4-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-ペンチルアジド(0.31 mmol)及びメチルプロパルギルエーテル(1.05当量)の溶液に、アスコルビン酸ナトリウム(0.1当量)及び硫酸銅五水和物(0.01当量)を逐次的に添加し、室温で24時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH(9:1)を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物20-25を白色の固体として得た。

【0377】

1-(3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロピル)-4-(メトキシメチル)-1,2,3-トリアゾール(20-25a)。収率72%。

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 6.89 (m, 1H), 6.81 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 4.61 (m, 4H), 4.40 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.43 (s, 3H), 2.92 (s, 3H), 2.47 (m, 2H), 3.01 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 366.96 (M+H)⁺

10

20

30

40

50

【 0 3 7 8 】

1 - (4 - (7 - メトキシ - 1 - メチル - β - カルボリン - 9 - イル) ブチル) - 1 - (メトキシメチル) - 1 , 2 , 3 - トリアゾール (2 0 - 2 5 b) 。収率 6 3 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 8.30 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.89 (m, 1H), 6.84 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 4.55 (s, 2H), 4.51 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.00 (m, 2H), 1.86 (m, 2H); MS (ESI) m/z 381.04 (M+H)+

【 0 3 7 9 】

10

2 0 - 2 6 の合成の一般的な手順。THF (0 . 2 m L) 中の 2 0 - 1 r ~ 2 0 - 1 s または 2 0 - 2 3 (0 . 1 7 9 m m o l) の溶液に、BuLi (ヘキサン中 2 . 5 M、1 . 0 5 当量) を - 2 0 °C で添加し、3 0 分間攪拌し、続いて、- 2 0 °C の温度を維持しながら塩化亜鉛 (THF 中 0 . 7 M、1 . 1 当量) を添加した。5 分間攪拌した後、トリクロロアセチルイソシアネート (1 . 1 当量) を、反応物に添加し、2 時間にわたって室温に温めた。続いて、炭酸カリウム (1 . 5 当量) 及び MeOH (2 m L) を逐次的に、反応物を室温で 1 2 時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM / MeOH (9 : 1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 2 0 - 2 5 を白色の固体として得た。

【 0 3 8 0 】

20

4 - (7 - メトキシ - 1 - メチル - β - カルボリン - 9 - イル) - ブター - 1 - インアミド (2 0 - 2 6 a) 。収率 7 5 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.31 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.92 (m, 1H), 5.65 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.04 (s, 3H); MS (ESI) m/z 294.26 (M+H)+

【 0 3 8 1 】

5 - (7 - メトキシ - 1 - メチル - β - カルボリン - 9 - イル) - ペンター - 1 - インアミド (2 0 - 2 6 b) 。収率 7 0 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.31 (s, 1H), 8.18 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.80 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 2.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 308.22 (M+H)+

30

【 0 3 8 2 】

6 - (7 - メトキシ - 1 - メチル - β - カルボリン - 9 - イル) - ヘキサ - 1 - インアミド (2 0 - 2 6 c) 。収率 2 8 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.18 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.89 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.65 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.45 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.96 (m, 2H); MS (ESI) m/z 322.67 (M+H)+

40

【 0 3 8 3 】

2 0 - 2 7 の合成の一般的な手順。THF (2 5 m) 中の 1 0 - 1 a / b (2 . 3 2 m m o l) の溶液に、LiAlH₄ (1 . 5 当量) を 0 °C で少しずつ添加した。添加後、反応物を 6 時間還流した。反応物を水でクエンチし、室温で 1 時間攪拌した。沈殿物を濾過し、濾液を分液漏斗に移し、酢酸エチル (5 0 m L $\times$ 3) で抽出した。有機層を回収し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させ、粗製物を、DCM / MeOH (9 : 1

50

）を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-27 を白色の固体として得た。

【0384】

2-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）エタノール（20-27a）。収率 100%。

¹H-NMR

(600 MHz, CD₃OD): δ 8.10 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 4.69 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 3.92 (m, 5H), 3.01 (s, 3H);

MS (ESI) *m/z* 257.42 (M+H)⁺

10

【0385】

3-（7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル）プロパノール（20-27b）。収率 100%。

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ 8.10 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.63 (t, *J* = 6 Hz,

2H), 3.00 (s, 3H), 2.01 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 271.69 (M+H)⁺

【0386】

DYRK1A 結合アッセイ化合物を、FRET ベースの Lanthascreen（登録商標）Eu キナーゼ結合アッセイを使用する市販のキナーゼプロファイリングサービスである Life Technologies で、DYRK1A 結合活性について試験した。化合物を、2 つ組で、1000 nM 及び 300 nM の濃度で DYRK1A 活性についてスクリーニングした。IC₅₀ を、2 つ組で 10 点の Lanthascreen（登録商標）Eu キナーゼ結合アッセイによって決定した。

20

【0387】

B 細胞増殖アッセイ。ヒト臍島を、NIH/NIDDK 支援統合臍島配布プログラム（IIDP）から得た。臍島を、最初に、前述のように Accutase（Sigma, St. Louis, MO）でカバーガラス上に分散させた（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015）。2 時間後、分散したヒト臍島細胞を、RPMI 1640 完全培地中の化合物で 96 時間処理した。次いで、細胞を固定し、インスリン及び Ki67 染色のために染色した（全体において参照により本明細書に組み込まれる、Wang et al., 2015）。総インスリン陽性細胞及び二重 Ki67 及びインスリン陽性細胞を撮像してカウントした。少なくとも 1000 個の細胞がカウントされた。

30

【0388】

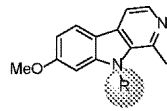
実施例 10-9-置換ハルミン類似体の SAR 分析及びヒト β 細胞増殖アッセイ

図 6 に記載されるように、9-置換ハルミン類似体を合成した。表 6 は、様々な 9-置換ハルミン類似体が、DYRK1A に対してハルミンのそれに匹敵する IC₅₀ を有することを示す。より具体的には、化合物 20-1c 及び 20-2c は、それぞれ 26.8 nM 及び 25 nM の IC₅₀ を有する（表 6）。表 7 及び表 8 は、DYRK1A を阻害する様々な追加の 9-置換ハルミン類似体の能力を示す。表 9 は、これらの化合物が β 細胞増殖を特異的に調節することを示す。特に、表 6 からの 5 μM の濃度の化合物 20-13 は、10 μM の濃度でハルミンより大きな程度までヒト β 細胞増殖を誘導した。

40

【0389】

（表 6）例示的な置換ハルミン類似体の DYRK1A 阻害



化合物	R	% DYRK1A 阻害		IC ₅₀ (nM) ^a	化合物	R	% DYRK1A 阻害		IC ₅₀ (nM) ^a
		1000 nM	300 nM				1000 nM	300 nM	
20-1a		94	82	-	20-3e		56	28	-
20-1b		94	82	-	20-4a		68	42	-
20-1c		97	89	26.8	20-4b		70	43	-
20-1d		91	75	-	20-2a		52	26	-
20-1e		91	75	-	20-2b		-	-	139
20-1f		99	96	-	20-2c		-	-	25
20-1g		99	96	-	20-2d		93	77	83.5
20-3a		23	11	-	20-2e		86	65	-
20-3b		-	-	1020	20-2f		99	96	13.9
20-3c		-	-	950	ハルミン		-	-	27
20-3d		47	23	-					

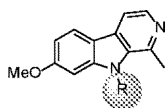
a = IC₅₀ 値を、10回連続3倍希釈（2つ組）を使用して決定した。

【0390】

（表7）追加の例示的なハルミン類似体のDYRK1A阻害

10

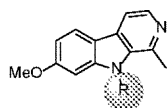
20

20

30

40

(表 8) 追加の例示的な置換ハルミン類似体の D Y R K 1 A 阻害



化合物	R	% DYRK1A阻害		IC ₅₀ (nM) ^a	化合物	R	% DYRK1A阻害		IC ₅₀ (nM) ^a
		1000 nM	300 nM				1000 nM	300 nM	
20-23a		100	98	8	20-26a		90	75	136
20-23b		97	89	33	20-26b		78	50	437
20-1r		98	95	14	20-26c		92	78	117
20-1s		99	97	11	20-27a		90	76	109
20-1t		97	90	42	20-27b		94	82	60
20-1u		99	96	21	20-15b		98	95	-
20-1v		98	95	16	20-10		94	86	-
20-1w		99	97	14	ハルミン		-	-	27
20-1x		-	-	275					
20-1y		98	93	31					
20-1z		99	97	16					
20-1z'		94	84	73					

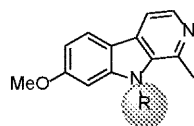
10

20

a = IC₅₀ 値を、10回連続3倍希釈（2つ組）を使用して決定した

【0392】

（表9）例示的な置換ハルミン類似体のβ細胞増殖



化合物	R	ヒトβ細胞増殖 (濃度 μM)	IC ₅₀ (nM)
20-1c		0.5 (10)	27
20-2c		2 (5)	28
20-2d		1.2 (10)	83
20-13		1.3 (10)	21
20-2f		1.6 (5)	13.9
20-1f		1.4 (5)	-
20-1g		1.5 (10)	-
20-17b		0.2 (5)	100
20-18		0.6 (10)	21
20-21		0.5 (10)	97
20-1o		1 (10)	-
20-15b		0.6 (5)	-
20-22		0.8 (10)	75
20-23a		3 (10)	8
20-23b		1 (10)	33
20-1r		1.2 (10)	14
ハルミン		1.5 (10)	27

10

20

30

40

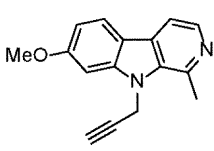
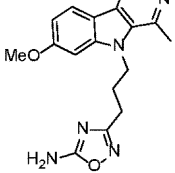
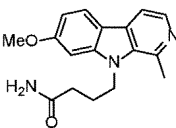
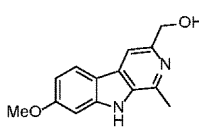
【0393】

実施例 11-Kinome スキャンプロファイル

化合物のサブセット上のキナーゼ選択性を理解するために、化合物 2-23a、20-13、20-2c、及び 2-8 の kinome プロファイリングを、10 μM の濃度で、468 個のキナーゼで実施した（表 10、<20% の活性は以下に示される）。

【0394】

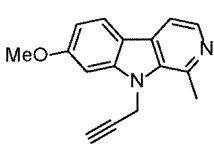
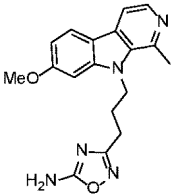
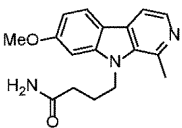
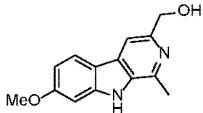
（表 10）化合物 2-23a、20-13、20-2c、及び 2-8^a の Kinome スキャン

標的	 20-23a	 20-13	 20-2c	 2-8
ADCK4	9.3 ^b	100	100	84
CAMK2A	13 ^c	72	57	53
CAMK2B	3 ^b	69	39	42
CDK11	40	81	75	4.8 ^b
CDK7	0.8 ^b	51	17 ^c	0.65 ^b
CDK8	26	100	62	0 ^b
CDKL5	22	21	49	6.1 ^b
CIT	26	66	45	8.1 ^b
CLK1	1.9 ^b	4.1 ^b	1.6 ^b	7.2 ^b
CLK2	0.9 ^b	4.2 ^b	3.2 ^b	1.8 ^b
CLK3	19 ^c	54	42	36
CLK4	1.1 ^b	1.7 ^b	18 ^c	5 ^b
CSNK1A1	13 ^c	33	46	7.8 ^b
CSNK1D	38	65	60	8 ^b
CSNK1E	26	61	47	1 ^b
CSNK1G2	56	91	83	18 ^c
CSNK2A1	46	49	31	8.3 ^b
CSNK2A2	54	50	52	2.3 ^b
DAPK1	89	91	92	8.8 ^b
DAPK2	70	92	86	2.8 ^b
DAPK3	75	91	90	1.4 ^b

10

20

30

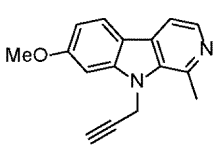
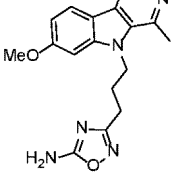
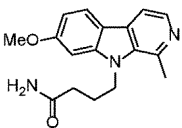
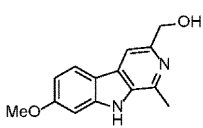
標的	 20-23a	 20-13	 20-2c	 2-8
DRAK2	100	100	100	11
DYRK1A	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
DYRK1B	1.1 ^b	1 ^b	8.5 ^b	0.35 ^b
DYRK2	5.2 ^b	9.1 ^b	10 ^b	4.1 ^b
EGFR(G719C) ^d	92	93	93	98
EGFR(L858R, T790M) ^d	100	9.2 ^b	100	79
FLT3	65	86	98	100
FLT3(D835V) ^d	2.5 ^b	2.6 ^b	9.2 ^b	42
FLT3(ITD) ^d	61	72	57	87
FLT3(ITD,D835V) ^d	11 ^c	11 ^c	38	37
FLT3(K663Q) ^d	93	98	81	100
FLT3(N841I) ^d	41	78	63	74
FLT3-自己阻害	100	85	100	100
HASPIN	1.7 ^b	0.35 ^b	5.2 ^b	0.75 ^b
HIPK1	12	9.5 ^b	27	2.7 ^b
HIPK2	7.1 ^b	2.3 ^b	10 ^b	1.3 ^b
HIPK3	4.5 ^b	6.2 ^b	14 ^c	2.1 ^b
IRAK1	42	58	74	18 ^c
IRAK3	34	62	20 ^c	70
IRAK4	6.4 ^b	90	100	70
JAK3(JH1ドメインー 触媒)	100	87	100	96
KIT	83	100	95	98
KIT(L576P) ^d	74	100	99	94
KIT(V559D) ^d	90	100	99	82
KIT(V559D,	100	98	100	100

10

20

30

40

標的	 20-23a	 20-13	 20-2c	 2-8
V654A) ^d				
LRRK2(G2019S) ^d	100	5.1 ^b	100	98
MEK2	96	0 ^b	97	100
PDGFRA	100	83	90	100
PDGFRB	77	100	96	97
PIK3C2G	38	1.2 ^b	30	36
PIK3CA(I800L) ^d	73	10 ^c	58	63
PIK3CG	42	3.3 ^b	13 ^c	67
PIK4CB	0 ^b	9.9 ^b	6.8 ^b	19 ^c
PIKFYVE	60	3.2 ^b	94	88
PIM1	26	28	34	19 ^c
PIM2	19 ^c	38	37	4.7 ^b
PIM3	32	39	54	15
PIP5K2C	41	13 ^c	42	5 ^b
ROCK1	9.2 ^b	24	33	33
ROCK2	16	86	50	88
RPS6KA4(Kin.Dom. 2-C末端)	55	85	100	1 ^b
SGK	63	90	92	31
TAOK3	93	77	100	70
TGFBR2	98	100	93	17 ^c
TYK2(JH1ドメイン- 触媒)	91	17 ^c	83	64
VPS34	89	42	75	28

^a 化合物を、468キナーゼに対して10 μMでスクリーニングし、一次スクリーニング結合相互作用の結果は、値が小さいほどより強い親和性を示す、「DMSO対照%」として報告される。

^b ≤ 10。

^c 11 ≤ 20。

^d 変異体

【0395】

10

20

30

40

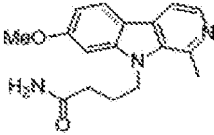
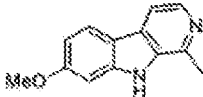
50

実施例 12－ハルミン及び化合物 20－2c の CNS オフターゲット活性

ハルミンは、セロトニン、トリプタミン、及び他の関連受容体に対するその親和性のため、中枢神経系刺激剤として作用することにより幻覚特性を呈することが知られているため、化合物 20－2c 及びハルミンを、 $10\ \mu\text{M}$ で、ハルミン（及び密接に関連する標的）で知られている CNS オフターゲットのパネルに対してスクリーニングした（Eurofins CEREP スクリーニング）（表 11）。化合物 20－2c は、ハルミンよりも選択的であり、スクリーニング用量でのモノアミンオキシダーゼ A を除いて、いずれの受容体に対しても結合活性を示さなかった。したがって、強力な D Y R K 1 A 阻害活性、改善された β 細胞増殖能力、及びより安全なオフターゲットプロファイルを有する類似体は、ハルミンの体系的な修飾によって特定することができる。

【0396】

（表 11）ハルミン類似体の CNS オフターゲット活性^a

標的	阻害% ^a	
	20-2c	ハルミン
		
モノアミンオキシダーゼ MAO-A	96 ^b	95 ^b
アドレナリン $\alpha 2A$	26	59 ^b
アドレナリン $\alpha 2B$	4	32
アドレナリン $\alpha 2C$	37	45 ^b
セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) 5-HT _{2A}	15	23
セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) 5-HT _{2C}	7	75 ^b
セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) 5-HT ₆	1	37
セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) 5-HT ₇	7	30
輸送体、ノルエピネフリン (NET)	19	86 ^b

^a いくつかの CNS 薬物標的での Eurofins CEREP スクリーニング；より高い数値は、標的に対する高い親和性を示す。化合物を $10\ \mu\text{M}$ でスクリーニングした

^b $\geq 45\%$ 阻害

【0397】

実施例 13－実施例 14 の材料及び方法

7-ジュウテロメトキシ-1-メチル-9H-ピリド [3, 4-b] -インドール (20-28)。DMF (10 mL) 中のハルマロール (600 mg、3.03 mmol) 及び炭酸セシウム (1.18 g、3.63 mmol) の溶液を、室温で 1 時間攪拌した。この溶液に、 d_3 -ヨウ化メチル (0.224 mL、3.63 mmol) を添加し、室温で 12 時間攪拌した。TLC によって確認した反応の完了後、反応混合物を水で希釈し、分液漏斗に移し、酢酸エチル (50 mL $\times$ 2) で抽出した。有機層を水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させ、DCM/MeOH (9:1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-28 を白色の固体として得た。収率 45%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.36 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.09 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 3.04 (s, 3H); MS (ESI) m/z 216.32 (M+H)⁺

【0398】

4- (7- ジュウテロメトキシ-1- メチル- β - カルボリン-9- イル) ブチロニトリル (20-29)。DMF (3 mL) 中の 20-28 (177 mg、0.82 mmol) の溶液に、NaH (66 mg、1.64 mmol) を添加し、室温で1時間攪拌した。この溶液に、4- ブロモブチロニトリル (0.163 mL、1.64 mmol) を50℃で添加し、その温度で12時間攪拌した。TLCによって確認した反応の完了後、反応混合物を水で希釈し、分液漏斗に移し、酢酸エチル (50 mL $\times$ 2) で抽出した。有機層を水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、蒸発させ、DCM/MeOH (9:1) を溶離剤として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-29 を白色の固体として得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.21 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.91 (m, 1H), 4.63 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.98

(s, 3H), 2.66 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.06 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H); MS (ESI) m/z 283.24 (M+H)⁺

同じ手順を 20-33、20-36a~20-36d、及び 20-39 の合成に使用した。

【0399】

20

4- (7- ジュウテロメトキシ-1- メチル- β - カルボリン-9- イル) ブタンアミド (20-30)。DMSO (0.5 mL) 中の 20-29 (60 mg、0.21 mmol) の溶液に、50% 過酸化水素溶液 (0.024 mL) を0℃で添加し、続いて、炭酸カリウム (5 mg、0.03 mmol) を添加した。反応混合物を室温に温め、一晚攪拌した。反応の完了時に、反応混合物を真空乾燥させ、DCM/MeOH (9:1) の混合物を溶離液として用いるフラッシュクロマトグラフィーを使用して精製して、最終生成物を白色の固体として得た。収率 81%。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (m, 1H), 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.87 (m, 2H), 4.54 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.19 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H),

30

1.94 (m, 2H); MS (ESI) m/z 301.42 (M+H)⁺

同じ手順を 20-40 の合成に使用した。

【0400】

N'-ヒドロキシ-4- (7- ジュウテロメトキシ-1- メチル- β - カルボリン-9- イル) ブタンイミダミド (20-31)。エタノール (2 mL) 中の 20-29 (142 mg、0.50 mmol)、塩酸ヒドロキシルアミン (139 mg、2.01 mmol)、及びトリメチルアミン (0.28 mL、2.01 mmol) の溶液を、12時間還流した。溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH (9:1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-31 を白色の固体として得た。収率 74%。

40

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.26 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 8.15 (m, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.96 (m, 1H), 4.60 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.04 (s, 3H), 2.23 (m, 2H), 2.02 (m, 2H);

MS (ESI) m/z 316.46 (M+H)⁺

同じ手順を 20-37a~20-37d の合成に使用した。

【0401】

3- (3- (7- ジュウテロメトキシ-1- メチル- β - カルボリン-9- イル) プロピル) 5- アミノ-1, 2, 4- オキサジアゾール (20-32)。トルエン中の 20-11 (150 mg、0.48 mmol) 及びピリジン (0.154 mL、1.92 mmol) の溶液に、塩化トリクロロアセチル (0.06 mL、0.57 mmol) を0℃で添

50

加し、同じ温度でさらに 1 時間攪拌した。次いで、反応混合物を 85℃に 12 時間加熱した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、メタノール (2 mL) 中の 7 N アンモニアを粗製物に添加し、室温で 12 時間攪拌した。反応の完了後、溶媒を蒸発させ、粗製物を、DCM/MeOH (9:1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 20-32 を白色の固体として得た。収率 46%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4

Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.72 (bs, 2H), 7.23 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.87 (m, 1H), 4.62 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.57 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.08 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 341.72

(M+H)⁺

10

同じ手順を 20-38a ~ 20-38d の合成に使用した。

【0402】

3-(7-ジュウテロメトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)-プロパン-1-イン (20-33)。白色の固体。収率 51%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.19 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4

Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.89 (m, 1H), 5.78 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 5.45 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 3.04 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 354.72 (M+H)⁺

【0403】

20

7-トリフルオロメトキシ-1-メチル-9H-ピリド [3, 4-b]-インドール (20-35)。1. 5 mL のジクロロメタン中の 6-トリフルオロメトキシトリプタミン (200 mg、0.81 mmol) 及びアセトアルデヒド (水中 40%、0.058 mL、0.81 mmol) の混合物に、0.08 mL のトリフルオロ酢酸を 0℃で、滴下で添加した。次いで、反応混合物を室温で 12 時間攪拌した。LCMS によって監視した反応の完了後、反応混合物を蒸発させて、20-34 を白色もの固体として得て、これを精製せずに次のステップのために取り出した。エタノール (2.5 mL) 中の 20-34、炭酸リチウム (60 mg、0.81 mmol)、及びパラジウム炭素 (10 mg、0.008 mmol) の混合物を、CEM マイクロ波反応器で、150℃で 10 分間加熱した。触媒をセライトで濾過し、減圧下で濃縮し、DCM/MeOH (9:1) を溶離液として使用するフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製して、20-35 を茶色の固体として得た。収率 25%。

30

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 11.82

(s, 1H), 8.34 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.21 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.76 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 367.72 (M+H)⁺

【0404】

2-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)アセトニトリル (20-36a)。白色の固体。収率 61%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.25 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H),

40

7.92 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 6.96 (m, 1H), 5.89 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.02 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 252.61 (M+H)⁺

【0405】

3-(7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル)プロピオニトリル (20-36b)。白色の固体。収率 57%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.19 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz,

1H), 7.89 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.90 (m, 1H), 4.92 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H),

3.91 (s, 3H), 3.09 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.98 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 266.45 (M+H)⁺

50

【 0 4 0 6 】

5 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ペンタンニトリル (20-36c)。白色の固体。収率 34%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.17 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 4.59 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 2.57 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.81 (m, 2H), 1.65 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 294.23 (M+H)⁺

【 0 4 0 7 】

10

6 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ヘキサンニトリル (20-36d)。白色の固体。収率 42%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.16 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.20 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.885(m, 1H), 4.55 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 1.73 (m, 2H), 1.60 (m, 2H), 1.48 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 308.33 (M+H)⁺

【 0 4 0 8 】

20

N'-ヒドロキシ-2 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) アセトアニミドアミド (20-37a)。白色の固体。収率 54%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 9.99 (bs, 2H), 8.48 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 8.36 (m, 2H), 7.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.06 (m, 1H), 1.86 (s, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.16 (s, 3H); MS (ESI) *m/z* 285.71 (M+H)⁺

【 0 4 0 9 】

N'-ヒドロキシ-3 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) プロピオンアニミドアミド (20-37b)。白色の固体。収率 69%。MS (ESI) *m/z* 299.53 (M+H)⁺。

【 0 4 1 0 】

30

N'-ヒドロキシ-5 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ペンタンイミドアミド (20-37c)。白色の固体。収率 44%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.17 (m, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.90 (m, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.50 (bs, 2H), 4.55 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.05 (m, 2H), 1.71 (m, 2H), 1.62 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 327.88 (M+H)⁺

【 0 4 1 1 】

40

N'-ヒドロキシ-6 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) ヘキサンアニミドアミド (20-37d)。白色の固体。収率 74%。

¹H-NMR (600 MHz, *d*₆-DMSO): δ 8.24 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.94 (m, 1H), 4.58 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 2.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.76 (m, 2H), 1.61 (m, 2H), 1.40 (m, 2H); MS (ESI) *m/z* 341.22 (M+H)⁺

【 0 4 1 2 】

1 - (1 - (7-メトキシ-1-メチル-β-カルボリン-9-イル) メチル) - 5 - アミノ-1, 2, 4-オキサジアゾール (20-38a)。白色の固体。収率 35%。

50

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.17 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H),
 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.85 (bs, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.89 (m, 1H),
 5.72 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.95 (s, 3H); MS (ESI) m/z 310.33 (M+H)+
 【 0 4 1 3 】

3 - (3 - (7 - メ ト キ シ - 1 - メ チ ル - β - カ ル ボ リ ン - 9 - イ ル) エ チ ル) - 5 -
 ア ミ ノ - 1 , 2 , 4 - オ キ サ ジ ア ゾ ー ル (2 0 - 3 8 b) 。 白 色 の 固 体 。 収 率 4 6 % 。 M
 S (E S I) m/z 3 2 4 . 5 5 (M + H) + 。

【 0 4 1 4 】

5 - (5 - (7 - メ ト キ シ - 1 - メ チ ル - β - カ ル ボ リ ン - 9 - イ ル) ブ チ ル) - 5 - 10
 ア ミ ノ - 1 , 2 , 4 - オ キ サ ジ ア ゾ ー ル (2 0 - 3 8 c) 。 白 色 の 固 体 。 収 率 7 2 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.26 (m, 1H), 8.21 (d, $J =$
 6.6 Hz, 1H), 8.15 (m, 1H), 7.63 (bs, 2H), 7.28 (s, 1H), 6.95 (m, 1H), 4.61 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H),
 3.94 (s, 3H), 3.03 (s, 3H), 1.80 (m, 2H), 1.71 (m, 2H); MS (ESI) m/z 352.27 (M+H)+
 【 0 4 1 5 】

6 - (6 - (7 - メ ト キ シ - 1 - メ チ ル - β - カ ル ボ リ ン - 9 - イ ル) ペ ン チ ル) - 5 -
 ア ミ ノ - 1 , 2 , 4 - オ キ サ ジ ア ゾ ー ル (2 0 - 3 8 d) 。 白 色 の 固 体 。 収 率 4 6 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.16 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 20
 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.62 (bs, 2H), 7.17 (s, 1H), 6.86 (m, 1H),
 4.54 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.93 (s, 3H), 2.42 (m, 2H), 1.74 (m, 2H), 1.65 (tm, 2H),
 1.42 (m, 2H); MS (ESI) m/z 366.82 (M+H)+

【 0 4 1 6 】

2 , 2 - ジ メ チ ル - 4 - (7 - メ ト キ シ - 1 - メ チ ル - β - カ ル ボ リ ン - 9 - イ ル) ブ
 チ ロ ニ ト リ ル (2 0 - 3 9) 。 黄 色 の 固 体 。 収 率 7 1 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD): δ 8.12 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 8.03 (d, J
 = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.91 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.67 (t, $J = 8.4$
 Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 2.03 (m, 2H), 1.49 (s, 6H); MS (ESI) m/z 308.23 (M+H)+ 30
 【 0 4 1 7 】

2 , 2 - ジ メ チ ル - 4 - (7 - メ ト キ シ - 1 - メ チ ル - β - カ ル ボ リ ン - 9 - イ ル) ブ
 タ ン ア ミ ド (2 0 - 4 0) 。 黄 色 の 固 体 。 収 率 8 1 % 。

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, d_6 -DMSO): δ 8.29 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 8.25 (d, J
 = 8.4 Hz, 1H), 7.21 (bs, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 6.99 (m, 1H),
 4.51 (m, 2H), 3.95 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 1.91 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 1.24 (s, 6H); MS (ESI) m/z
 326.71 (M+H)+ 40

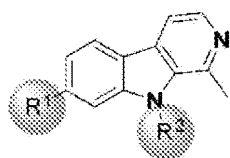
【 0 4 1 8 】

実施例 1 4 - 7 - ジ ユ ウ テ ロ メ ト キ シ ハ ル ミ ン 類 似 体 の D Y R K 1 A 阻 害

7 - ジ ユ ウ テ ロ メ ト キ シ ハ ル ミ ン 類 似 体 を 、 図 7 に 概 説 さ れ る 反 応 順 序 に 従 う こ と に よ
 っ て 合 成 し た 。 表 1 2 は 、 類 似 体 2 0 - 3 3 が 、 8 n M の IC_{50} で 最 適 活 性 を 示 し た こ
 と を 示 す 。 類 似 体 2 0 - 2 8 、 2 0 - 3 0 、 及 び 2 0 - 3 2 は 、 そ れ ぞ れ 、 3 9 n M 、 3
 7 n M 、 及 び 3 5 n M で D Y R K 1 A に 対 す る IC_{50} を 有 し て し た 。

【 0 4 1 9 】

(表 1 2) 新 規 ハ ル ミ ン 類 似 体 の D Y R K 1 A 阻 害



化合物	R ¹	R ²	% DYRK1A 阻害 1000 nM	IC ₅₀ (nM) ^a
20-28	D ₃ CO-*	H-*	-	39
20-30	D ₃ CO-*		-	37
20-32	D ₃ CO-*		-	35
20-33	D ₃ CO-*		-	8
20-35	F ₃ CO-*	H-*	31	-
20-38a	H ₃ CO-*		-	138
20-38b	H ₃ CO-*		-	66
20-38c	H ₃ CO-*		-	103
20-38d	H ₃ CO-*		-	178
20-40	H ₃ CO-*		-	20
	ハルミン		-	27

a = IC₅₀ 値を、10回連続3倍希釈（2つ組）を使用して決定した。

【0420】

本明細書では好ましい実施形態を示し、詳細に説明してきたが、本発明の趣旨から逸脱することなく様々な修正、追加、置換などを行うことができ、したがってこれらが以下の特許請求の範囲で定義される本発明の範囲内であることが考慮されることが当業者には明らかであろう。

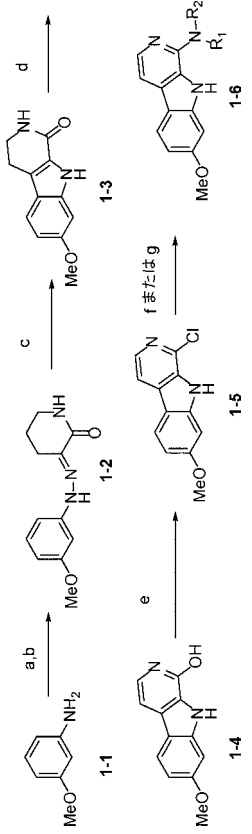
10

20

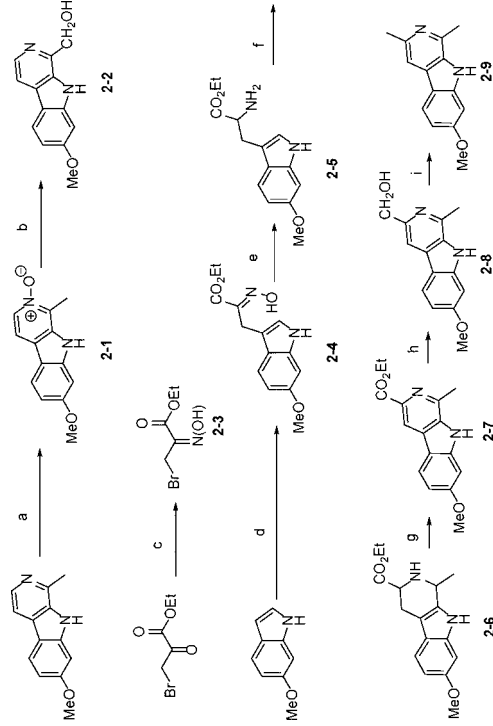
30

40

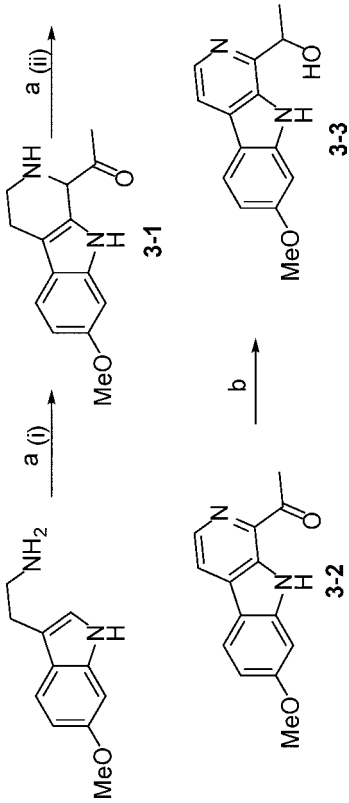
【図 1】



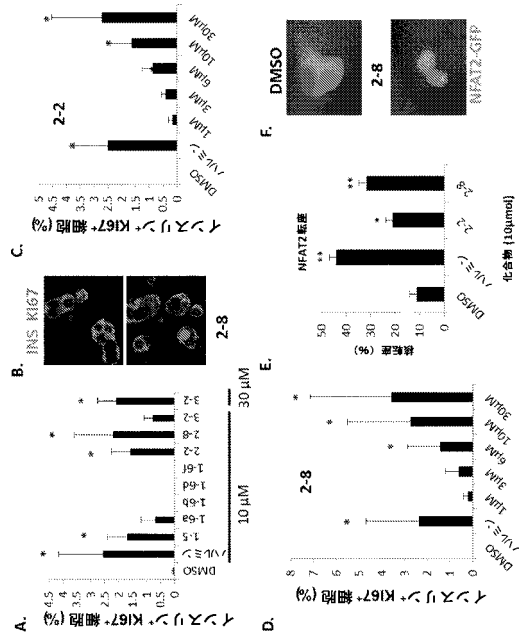
【図 2】



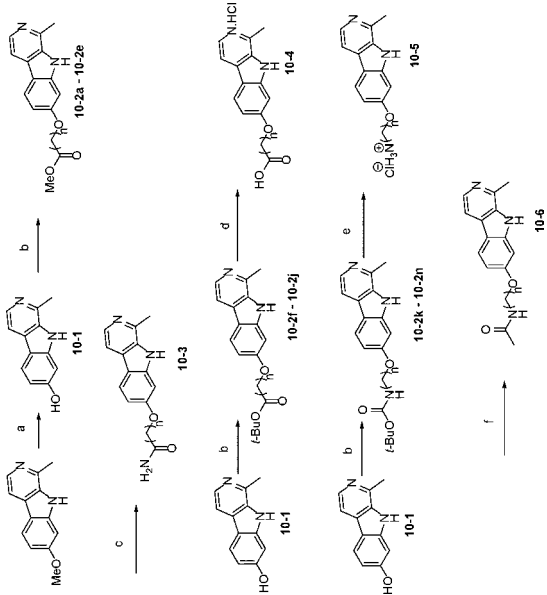
【図 3】



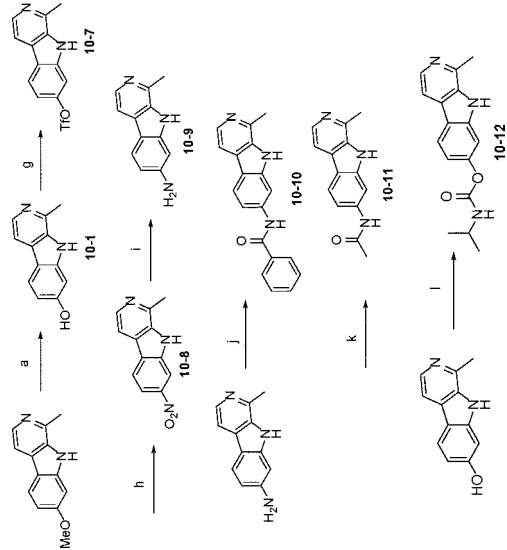
【図 4】



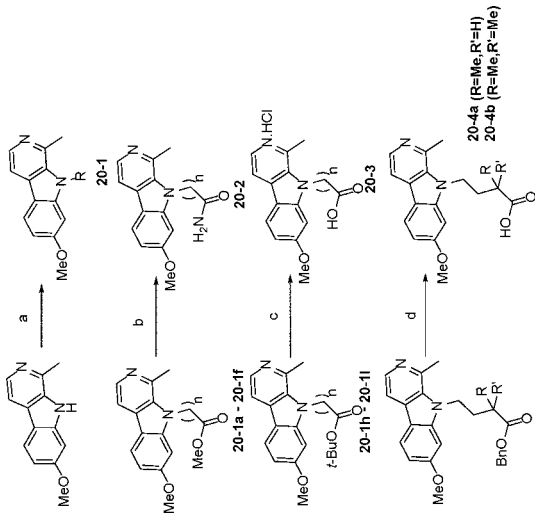
【図 5-1】



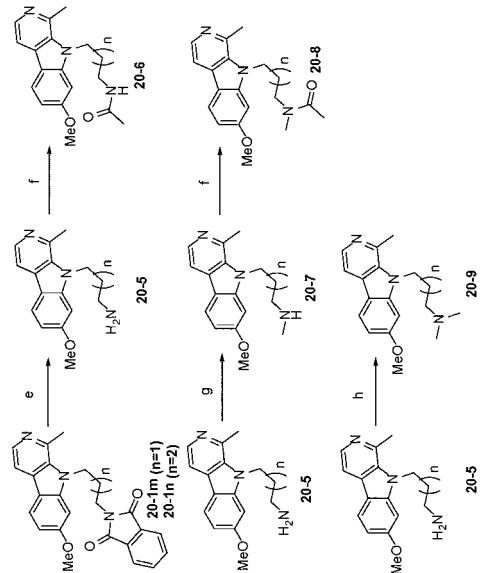
【図 5-2】



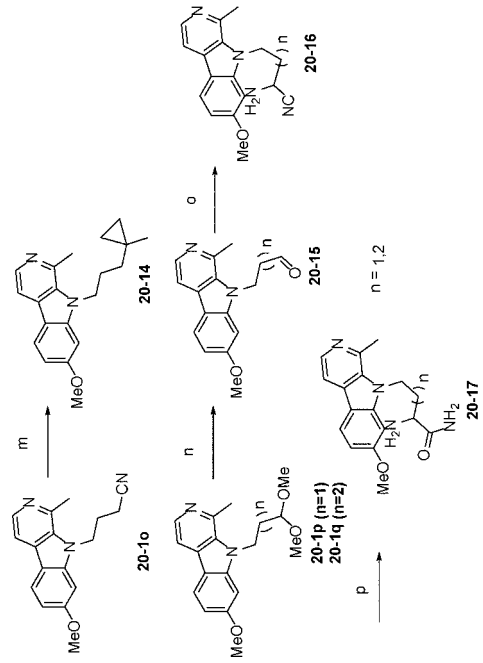
【図 6-1】



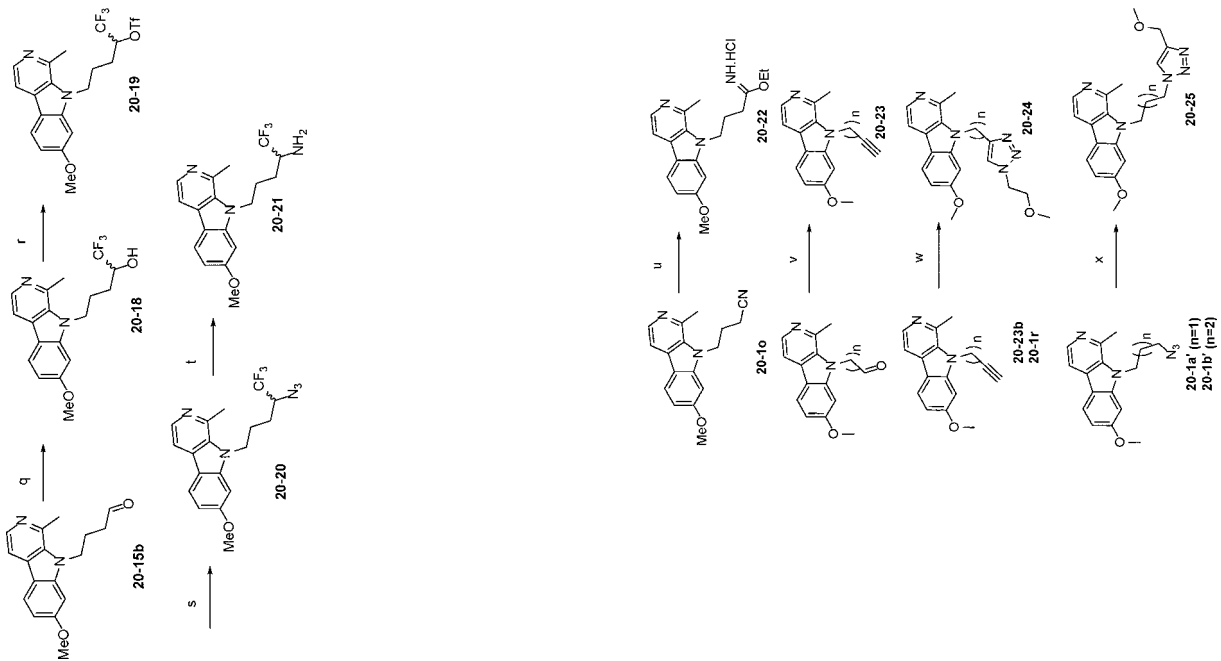
【図 6-2】



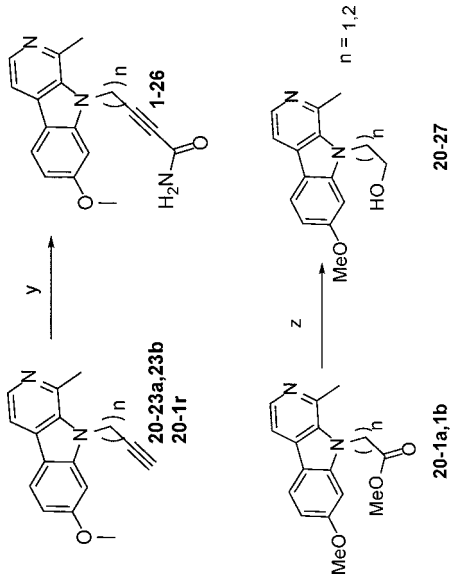
【图 6-4】



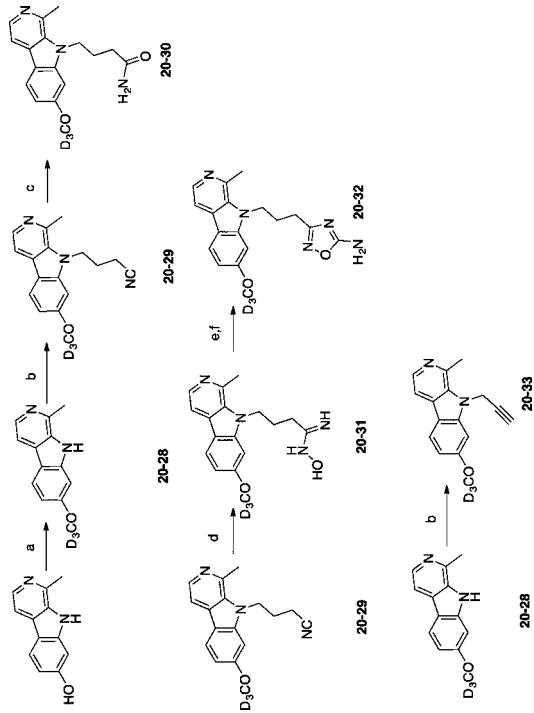
【图 6-6】



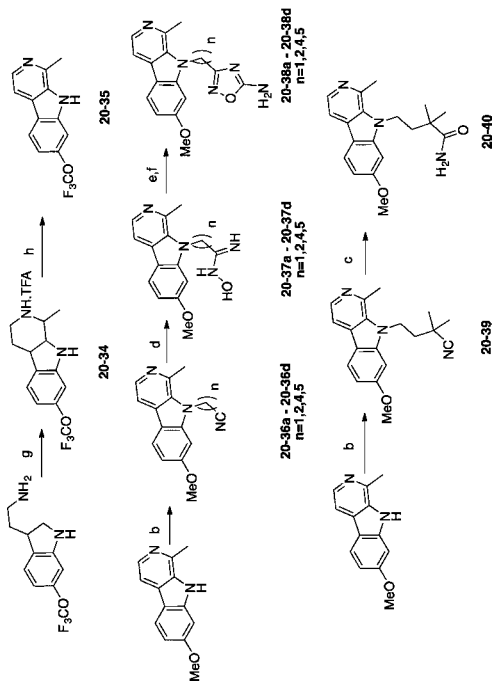
【図 6 - 7】



【図 7 - 1】



【図 7 - 2】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 19/23206		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(B) - A61K 31/4745; A61K 31/5383; A61K 31/542 (2019.01) CPC - A61K 31/4745; A61K 31/5383; A61K 31/542				
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)				
See Search History Document				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
See Search History Document				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)				
See Search History Document				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X — Y Y A A A A, P	US 2014/0288068 A1 (Ossifi Inc.) 25 September 2014 (25.09.2014); Abstract, para[0333], para[0051], para[0347], para[0448] US 2016/0289315 A1 (Xoma Technology Ltd) 06 October 2016 (06.10.2016); Abstract US 2016/0038500 A1 (Boehringer Ingelheim International GmbH) 11 February 2016 (11.02.2016); para[0001] Ishida et al. 'Antitumor agents 201. Cytotoxicity of harmine and B-carboline analogs', Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 19 January 2000 (19.01.2000), Vol.9, pages3319-3324; p3320 US 2016/0038845 A1 (Xinjiang Huashidan Pharmaceutical Research Co Ltd) 11 February 2016 (11.02.2016); entire document US 2010/0184758 A1 (Dobbelaar et al.) 22 July 2010 (22.07.2010); entire document WO 2018/083157 A1 (Sanofi) 11 May 2018 (11.05.2018); entire document	1, 55, 59 56-58 56 57-58 1, 55-59 1, 55-59 1, 55-59 1, 55-59		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> * 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 application or patent 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 </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* 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 application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* 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 application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 14 May 2019		Date of mailing of the international search report 29 JUL 2019		
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/23206

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 51-54
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

See Supplemental Box

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying 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.:
1, 55-59

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

International application No.

PCT/US 19/23206

Lack of unity Box III:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-33, and 55-59 directed to a compound of formula (I) in claim 1. The compound of formula (I) will be searched to the extent that it encompasses the compound of formula (I), or a stereoisomer, pharmaceutically acceptable salt, oxide, or solvate thereof, wherein R₁ is a branched or unbranched C₁ alkoxy; R₂ is H; R₃ is C₁ alkyl; R₄ is -OH; R₈ is optional; with the following provisos: when R₁ is -OCH₃, R₃ is -CH₃, and R₄ is H, R₂ cannot be -(CH₂)₂CO₂CH₃, -(CH₂)₂CO₂H, or -(CH₂)₂C(O)NH₂; when R₁ is -OCH₃, R₂ is H, and R₄ is H, R₃ cannot be -CH₂OH or Cl; and when R₁ is -OCH₃, R₂ is H, R₃ is -CH₃, R₄ cannot be H. It is believed that claims 1(in part), and 55-59 read on this first named invention, and thus these claims will be searched without fee. Applicant is invited to elect additional compounds of claim 1, wherein each additional compound elected will require one additional invention fee. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected compound. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the '+' group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Additionally, an exemplary election wherein different actual variables are selected is suggested. An exemplary election would be the compound of formula (I) wherein R₁ is a branched or unbranched C₁ alkoxy; R₂ is branched or unbranched C₁ alkyl substituted with Z; R₃ is C₁ alkyl; R₄ is H; R₈ is optional; Z is -CO₂CH₃; with the following provisos: when R₁ is -OCH₃, R₃ is -CH₃, and R₄ is H, R₂ cannot be -(CH₂)₂CO₂CH₃, -(CH₂)₂CO₂H, or -(CH₂)₂C(O)NH₂; when R₁ is -OCH₃, R₂ is H, and R₄ is H, R₃ cannot be -CH₂OH or Cl; and when R₁ is -OCH₃, R₂ is H, R₃ is -CH₃, R₄ cannot be H (i.e., claims 1-3(in part), and 55-59).

Group II: claims 34-50 directed to a method of inhibiting activity of dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A (DYRK1A) in a cell, or a method of increasing cell proliferation in a population of pancreatic beta cells, said method comprising: contacting the cell with a compound according to claim 1

Group III: claims 60-75 directed to a method of treating a subject for a condition associated with insufficient insulin secretion, or a method of treating a subject for a neurological disorder, said method comprising: administering to a subject in need of treatment a compound of claim 1

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I+ includes the technical feature of a unique compound of formula (I) in claim 1 containing the same, which is not required by any other invention of Group I+.

Group II includes the technical feature of a method of inhibiting activity of dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A (DYRK1A) in a cell, or a method of increasing cell proliferation in a population of pancreatic beta cells, not required by Group I+ and III.

Group III includes the technical feature of a method of treating a subject for a condition associated with insufficient insulin secretion, or a method of treating a subject for a neurological disorder, not required by Group I+ and II.

Common technical features:

The inventions of Group I+ share the technical feature of compound of formula (I) containing the same.

Groups I+, II and III share the technical feature of compound of formula (I) in claim 1.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by the journal article entitled 'Antitumor agents 201. Cytotoxicity of harmine and B-carboline analogs' by Ishida et al. (hereinafter 'Ishida'). Ishida discloses a compound of formula (I) having the following structure: wherein R₁ is an unbranched C₂ alkoxy; R₂ is H; R₃ is C₁ alkyl; R₄ is H; and R₈ is optional; with the following provisos: when R₁ is -OCH₃, R₃ is -CH₃, and R₄ is H, R₂ cannot be -(CH₂)₂CO₂CH₃, -(CH₂)₂CO₂H, or -(CH₂)₂C(O)NH₂; when R₁ is -OCH₃, R₂ is H, and R₄ is H, R₃ cannot be -CH₂OH or Cl; and when R₁ is -OCH₃, R₂ is H, R₃ is -CH₃, R₄ cannot be H (p3320, "Compound 5").

As said compound and compositions were known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions of Groups I+, II and III. The inventions of Group I+, II and III thus lack unity under PCT Rule 13.

Note:

claims 51-54 determined unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 K 38/26 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 K 31/4985 (2006.01)	A 6 1 K 38/26	
A 6 1 K 31/40 (2006.01)	A 6 1 K 31/4985	
A 6 1 K 31/403 (2006.01)	A 6 1 K 31/40	
A 6 1 K 31/513 (2006.01)	A 6 1 K 31/403	
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/513	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 K 31/437 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
	A 6 1 K 31/437	
	C 0 7 D 471/04	1 0 3 H
	C 0 7 D 471/04	C S P

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. テフロン

- (74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 クマール クナル
アメリカ合衆国 1 0 0 2 9 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル. レビー
プレイス アイカーン スクール オブ メディシン アット マウント サイナイ内
- (72)発明者 ワン ペン
アメリカ合衆国 1 0 0 2 9 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル. レビー
プレイス アイカーン スクール オブ メディシン アット マウント サイナイ内
- (72)発明者 サンチェス ロベルト
アメリカ合衆国 1 0 0 2 9 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル. レビー
プレイス アイカーン スクール オブ メディシン アット マウント サイナイ内

(72)発明者 オカーニャ アドルフォ ガルシア
アメリカ合衆国 10029 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル. レビー
プレイス アイカーン スクール オブ メディシン アット マウント サイナイ内

(72)発明者 スチュアート アンドリュー
アメリカ合衆国 10029 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル. レビー
プレイス アイカーン スクール オブ メディシン アット マウント サイナイ内

(72)発明者 デヴィータ ロバート
アメリカ合衆国 10029 ニューヨーク州 ニューヨーク ワン グスタフ エル. レビー
プレイス アイカーン スクール オブ メディシン アット マウント サイナイ内

Fターム(参考) 4C065 AA05 AA18 BB04 CC09 DD02 EE02 HH02 HH04 HH06 JJ01
KK01 KK09 LL03 PP01 PP16 QQ05
4C084 AA02 AA19 AA23 AA24 BA44 DB35 MA02 MA52 MA55 MA56
MA63 MA65 NA05 NA14 ZA011 ZA012 ZC202 ZC351 ZC352 ZC412
ZC75
4C086 AA01 AA02 AA03 BC07 BC10 BC43 BC50 CB05 GA07 GA10
GA12 GA16 MA01 MA02 MA03 MA04 MA52 MA55 MA56 MA63
MA65 NA05 NA14 ZA01 ZC20 ZC35 ZC41 ZC75