

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4497930号
(P4497930)

(45) 発行日 平成22年7月7日 (2010.7.7)

(24) 登録日 平成22年4月23日 (2010.4.23)

(51) Int. Cl. F I
CO7D 401/12 (2006.01) CO7D 401/12
CO7D 401/14 (2006.01) CO7D 401/14
CO7D 403/12 (2006.01) CO7D 403/12
CO7D 405/14 (2006.01) CO7D 405/14
CO7D 409/12 (2006.01) CO7D 409/12

請求項の数 10 (全 112 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-587780 (P2003-587780)
 (86) (22) 出願日 平成15年4月23日 (2003.4.23)
 (65) 公表番号 特表2005-529135 (P2005-529135A)
 (43) 公表日 平成17年9月29日 (2005.9.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2003/012661
 (87) 国際公開番号 W02003/091215
 (87) 国際公開日 平成15年11月6日 (2003.11.6)
 審査請求日 平成18年1月13日 (2006.1.13)
 (31) 優先権主張番号 60/375,304
 (32) 優先日 平成14年4月23日 (2002.4.23)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 0217920.8
 (32) 優先日 平成14年8月2日 (2002.8.2)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 500137976
 アベンティス・ファーマスーティカルズ・
 インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国ニュージャージー州088
 07、ブリッジウォーター、コーポレイト
 ドライブ55
 (74) 代理人 100091731
 弁理士 高木 千嘉
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100105290
 弁理士 三輪 昭次

最終頁に続く

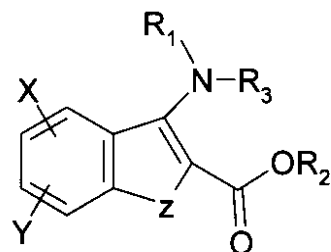
(54) 【発明の名称】 インターロイキン-4 遺伝子発現抑制剤としての3-置換アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸および3-置換アミノ-ベンゾ (b) チオフェン-2-カルボン酸誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記式 I :

【化1】



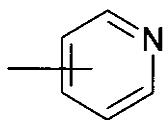
(I)

[式中、XおよびYは同じかまたは異なっていて、そして独立してハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、C₁-6アルコキシ、C₁-6パーフルオロアルコキシおよびフェニルよりなる群から選択され、ここで、フェニルは場合によりC₁-6アルキル、C₁-6パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたはC₁-6パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

ZはN-R、ここで、Rは水素、C₁-6アルキルおよびC₁-6アルキルカルボニルよりなる群から選択され；

R₁は水素であり；

R₃ は下記式：
【化 2】



であり；そして、

R₂ は C₁₋₆ アルキルである]
の化合物、または製薬上許容しうるその塩。

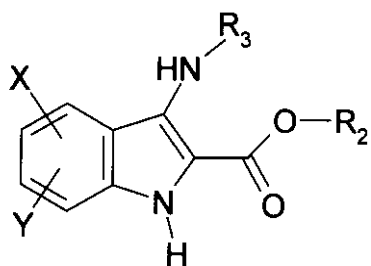
【請求項 2】

5, 6-ジメトキシ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステルである、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

下記式 (11A)：

【化 3】

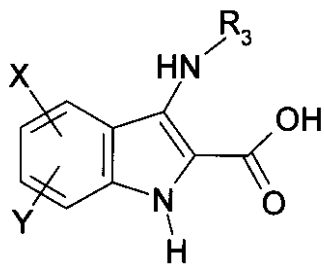


(11A)

の化合物の製造方法であって、下記工程：

(a) 下記式 (13)：

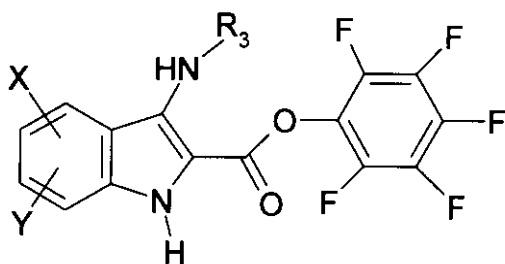
【化 4】



(13)

の化合物をペンタフルオロフェニルトリフルオロアセテートと反応させて下記式 (14)：
：

【化 5】



(14)

の化合物を生成すること；

(b) 式 (14) の化合物を R₂ OH と反応させて式 (11A) の化合物を生成すること

10

20

30

40

50

；
を包含し、
上記式中、

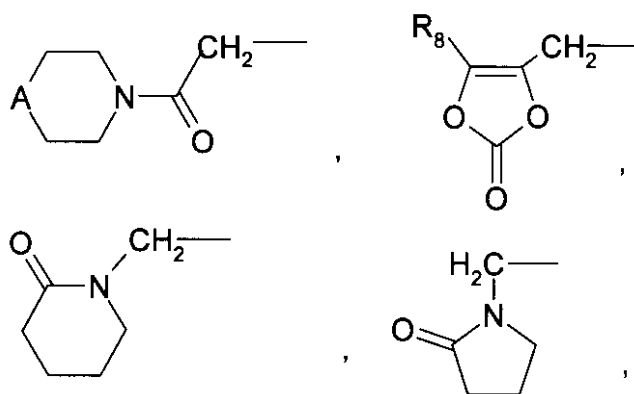
XおよびYは同じかまたは異なっていて、そして独立して水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルキルまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

10

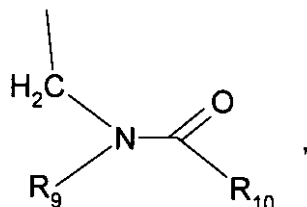
R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、パーフルオロアリール、インダニル、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アシルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコシカルボニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{3-8} シクロアルコシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、アダマンチルオキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルコシカルボニル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルアミノ- C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイル- C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコシカルボニルアミノ-オキソ- C_{1-6} アルキル、下記式：

20

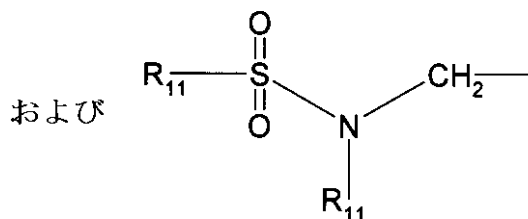
【化6】



30



40

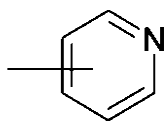


(式中、

R_8 は水素または C_{1-6} アルキルであり、

50

R₉ は C₁₋₆ アルキルまたはフェニルであり、
 R₁₀ は水素、C₁₋₆ アルキルまたは C₁₋₆ アルコキシカルボニル C₁₋₆ アルキルで
 あり、
 R₁₁ は C₁₋₆ アルキル、フェニルまたはトリルであり、そして、
 A は CH₂、NH または O である) よりなる群から選択され；そして、
 R₃ は下記式：
 【化 7】



10

である、
 上記方法。

【請求項 4】

工程 (a) を有機塩基の存在下に行う請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

塩基がピリジンである請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

工程 (b) を適当な有機溶媒中、塩基の存在下に行う請求項 3 記載の方法。

【請求項 7】

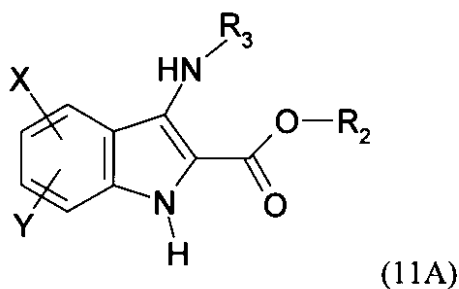
塩基が水素化ナトリウムであり、溶媒が 1-メチル-2-ピロリジノン (NMP) また
 はジメチルホルムアミド (DMF) である請求項 6 記載の方法。

20

【請求項 8】

下記式 (11A)：

【化 8】

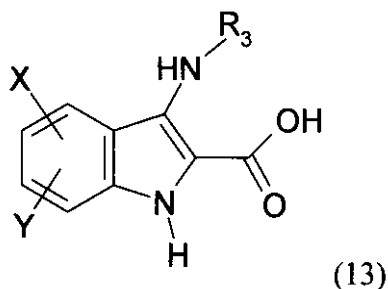


30

の化合物の製造方法であって、下記工程：

(a) 下記式 (13)：

【化 9】



40

の化合物を R₂ OH と反応させて式 (11A) の化合物を生成すること；
 を包含し、

上記式中、

X および Y は同じかまたは異なっていて、そして独立してハロゲン、アミノ、ヒドロキ

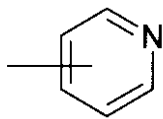
50

シ、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシおよびフェニルよりなる群から選択され、ここで、フェニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で置換されており；

R_2 は C_{1-6} アルキルであり；そして、

R_3 は下記式：

【化 10】



10

である、

上記方法。

【請求項 9】

反応を適当なカルボン酸活性化剤の存在下に行う請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

活性化剤がベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（BOP）またはベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス（ピロリジノ）-ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（PYBOP）である請求項 9 記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はインドール誘導体のシリーズに関する。より詳しくは、本発明は置換 3-アミノインドールカルボン酸誘導体のシリーズおよびそのバイオプレカーサーに関する。本発明の化合物は、活性親化合物のプロドラッグ、類縁体および／またはバイオプレカーサーを包含する。本発明の化合物は T ヘルパー（Th）細胞を調節することができ、従って、インターロイキン-4（IL-4）メッセージの転写、IL-4 放出または IL-4 生産を抑制することができる。

【背景技術】

30

【0002】

骨髄において生産されるリンパ球は免疫系を制御する細胞のクラスであることが一般的に知られている。更に当該技術分野においては、胸腺において育成される T 細胞として知られているリンパ球のクラスが更に、ヘルパー T 細胞に再分化されており、これは種々の局所的メディエーター、リンホカイン、インターロイキンおよび／またはサイトカインを分泌することによりマクロファージまたは B 細胞のような他の白血球の応答を増強または活性化する。このクラスの T 細胞内に、通常はサイトカイン遺伝子のアレイにより識別される Th1 および Th2 細胞と称される 2 種の T 細胞のサブセットが存在し、各細胞型は異なる方の免疫応答を発現し、それらに関与していると考えられる。

【0003】

40

未制御の場合、Th1 細胞は 1 型糖尿病、慢性関節リウマチおよび多発性硬化症（MS）のような自己免疫疾患の発症に関わっている。更にまた、Th2 細胞は蠕虫および他の細胞外寄生虫の根絶において重要であり、アレルギーおよびアトピー反応に関与していることがわかっている。Th2 細胞により生産されるサイトカインは気道の過敏症並びに IgE の生産を誘導することができる。Th2 細胞はサイトカイン IL-4、IL-5 および IL-13 を発現し、そして、肥満細胞と好酸球を活性化することができる。Th2 細胞は B 細胞を刺激して増殖と抗体の分泌を効果的に行わせる（体液性免疫）。

【0004】

インターロイキン-4 は受容体媒介活性化事象に応答して Th2 細胞、好塩基球および肥満細胞により生産される多面的な I 型サイトカインである。IL-4 はまた T 細胞の特

50

殊化されたサブセットにより生産され、その一部はNK1.1を発現しCD-1（NK T細胞）に特異的であると考えられる。Yoshimoto, T., et al., Science, (1995), 270, 1845-1847。T細胞はIL-4を生産し、これらの細胞を有さないマウスは明礬中卵白アルブミンを用いた免疫化によるIL-4依存性気道過敏症を発症することができないと報告されている。好酸球はIL-4の生産が可能であるとも報告されている。

【0005】

IL-4は抗原刺激ネイティブT細胞の分化の調節において中枢的役割を果たす、IL-4はこのような細胞をIL-4および一連の他のサイトカイン、例えばIL-5、IL-10およびIL-13を生産できる細胞（即ちTh2様細胞）に発達させる。IL-4はINF- γ 生産CD4⁺T細胞、例えばTh1細胞の発生を強力に抑制する。主要な生理学的重要性の第2の機能は免疫グロブリンクラスの切り替えの特異性のIL-4による制御である。IL-4はヒトB細胞がIgEおよびIgG4、および、マウスB細胞がIgEおよびIgG1の発現に切り替わることを決定する。IL-4およびIL-4受容体ノックアウトマウスにおいて、並びに、IL-4受容体の主要基質であるStat-6を有さないマウスにおいて、IgE生産が100倍以上のファクターで低下した。IL-4受容体ノックアウトマウスおよびStat-6ノックアウトマウスはまた蠕虫性寄生虫のNippostrongylus brasiliensisに感染したマウスにおけるIL-4生産T細胞の発生においても不全である。IL-4のこれらの生理学的功能のためアレルギー状態の調節において顕著な役割が与えられ；蠕虫および他の細胞外寄生虫への保護的免疫応答の発生において主要な役割を果たしている。実験的および臨床的な状況において、IL-4は組織損傷性の自己免疫の作用を緩解することが可能であると考えられる。

【0006】

即ち、本発明の目的はTh1/Th2細胞の不均衡により生じる疾患状態の種々のものを治療するのに有用な化合物のシリーズを提供することである。このような疾患状態には、例えばアレルギー、喘息、鼻炎、皮膚炎、B細胞リンパ腫、腫瘍および細菌、ライノウィルスまたは呼吸器合胞体ウィルス（RSV）の感染に関わる疾患が包含される。

【0007】

また本発明の目的は、Tヘルパー（Th）細胞、Th1/Th2を調節することができ、これによりTh1細胞と比較した場合のTh2細胞の数を低減する化合物を提供することである。

【0008】

本発明の更に別の目的は、インターロイキン-4（IL-4）メッセージの転写、IL-4放出またはIL-4生産を抑制することができる化合物を提供することである。

【0009】

最後に、本発明の目的は上記した目的の全てを満足するインドール誘導体である化合物を提供することである。

【0010】

本発明の他の目的および利用性の別の範囲は以下の詳細な説明から明らかにされる。

【0011】

本明細書に記載した全ての参考文献はその全体が参照として本明細書に組み入れられる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

即ち、本発明の実施によれば、下記式（I）：

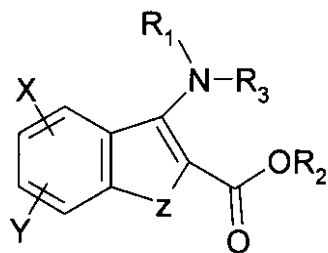
10

20

30

40

【化 1】



(I)

〔式中、XおよびYは同じかまたは異なっていて、独立して、水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここでフェニルまたはベンジルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルキルまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

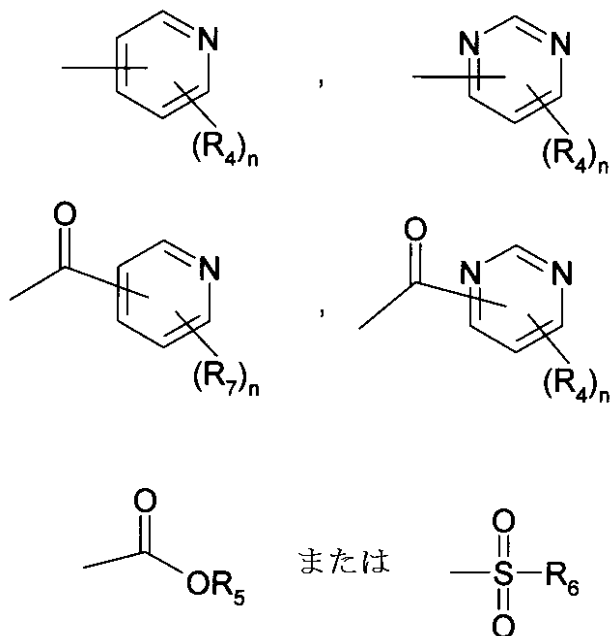
ZはN-RまたはSであり、ここでRは水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルカルボニル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルカルバモイル- C_{1-6} アルキルおよび C_{1-6} ジアルキルカルバモイル C_{1-6} アルキルよりなる群から選択され；

R_1 は水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{3-8} シクロアルキル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、アミノ C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキル、ホルミル、 C_{1-6} アルキルカルボニル、アミノ C_{1-6} アルキルカルボニル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル、フェニル、ジフェニル C_{1-6} アルキルおよびフェニル C_{1-6} アルキル、フェニルカルボニル C_{1-6} アルキル、フェノキシ C_{1-6} アルキルよりなる群から選択され、ここでフェニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルキルまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

【0013】

R_3 は下記：

【化 2】



10

20

30

40

50

{式中、 R_4 は水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、 N -モルホリニルカルボニル、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここでフェニルまたはベンジルは場合により、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；そして、

【0014】

R_5 は C_{2-8} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、ピリジル、フェニル、スチリル、ベンジル、ジアゾフェニル、ナフチルおよびキノリニルよりなる群から選択され、ここで、シクロアルキル、ピリジル、フェニル、スチリル、ベンジル、ジアゾフェニル、ナフチルまたはキノリニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ニトロ、アミノ、ジメチルアミノ、アセトアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または1個より多くで置換されており；

R_6 は C_{6-12} ビシクロアルキル、スチリル、チアゾリル、ジアゾフェニル、ナフチルおよびキノリニルよりなる群から選択され、ここで、ビシクロアルキル、スチリル、チアゾリル、ジアゾフェニル、ナフチルまたはキノリニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ニトロ、アミノ、ジメチルアミノ、アセトアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または1個より多くで置換されており；

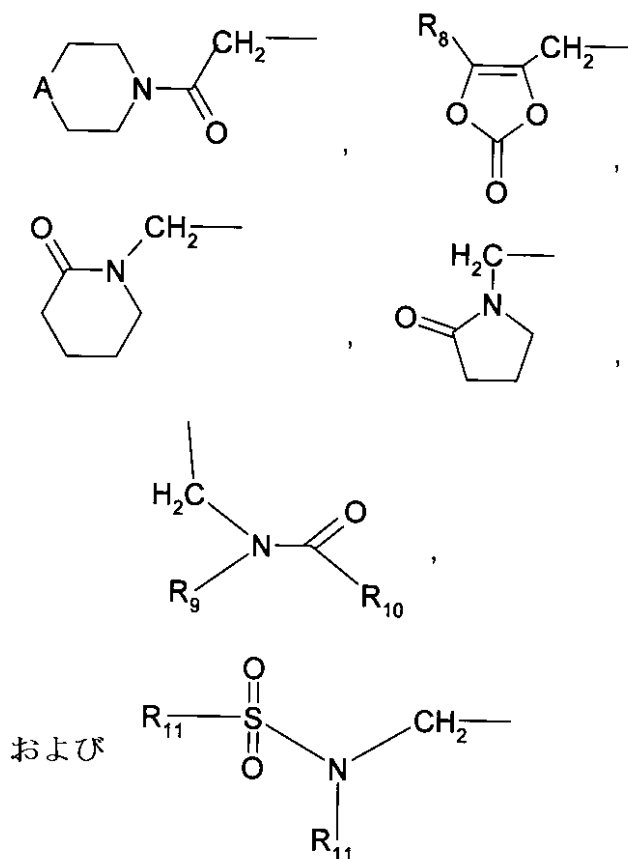
R_7 はハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、 N -モルホリニルカルボニル、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；そして

n は0～3の整数である} であり；そして、

【0015】

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、パーフルオロアリール、インダニル、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アシルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{3-8} シクロアルコキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、アダマンチルオキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルアミノ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイル C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニルアミノ C_{1-6} アルキル、下記：

【化 3】



10

20

{式中、

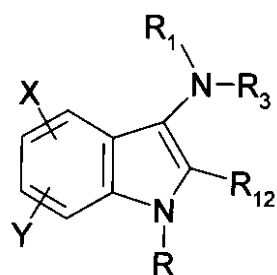
 R_8 は水素または C_{1-6} アルキルであり、 R_9 は C_{1-6} アルキルまたはフェニルであり、 R_{10} は水素、 C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキルであり、 R_{11} は C_{1-6} アルキル、フェニルまたはトリルであり、そして、A は CH_2 、 NH または O である} よりなる群から選択される] の化合物、または製薬上許容しうるその塩、ただし Z が $\text{N}-\text{R}$ であり、そして X および Y の両方が水素である場合は、 R_2 は水素または C_{1-6} アルキルではない上記化合物が提供される。

30

【0016】

本発明の別の特徴において、更に、下記式 (II) :

【化 4】



(II)

40

[式中、

X および Y は同じかまたは異なっていて、そして独立して水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合に

50

より C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルキルまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で置換されており；

【0017】

R は水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルカルボニル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルカルバモイル C_{1-6} アルキルおよび C_{1-6} ジアルキルカルバモイル C_{1-6} アルキルよりなる群から選択され；

R₁ は水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{3-8} シクロアルキル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル、ヒドロキシ C_{1-6} アルキル、アミノ C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキル-アミノ C_{1-6} アルキル、ホルミル、 C_{1-6} アルキルカルボニル、アミノ C_{1-6} アルキルカルボニル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル、フェニル、di フェニル C_{1-6} アルキルおよびフェニル C_{1-6} アルキル、フェニルカルボニル C_{1-6} アルキル、フェノキシ C_{1-6} アルキルよりなる群から選択され、ここで、フェニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルキルまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で置換されており；

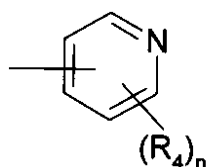
10

【0018】

R₃ は下記：

【化 5】

20



{ここで、

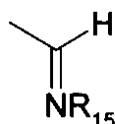
R₄ は水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、N-ホルニルカルボニル、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 1 個より多くで置換されている} であり；

30

【0019】

R₁₂ はヒドロキシメチル、 C_{1-6} アルコキシメチル、アミノメチル、モノまたはジ- C_{1-6} アルキルアミノメチル、-C(O)H、 C_{2-6} アシルオキシメチル、-CN、-CONR₁₃R₁₄；および下記：

【化 6】



40

であり、ここで、R₁₃ および R₁₄ は同じかまたは異なっていて、そして独立して水素、 C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} アルコキシから選択され、そして、

R₁₅ は水素または C_{1-6} アルキルである」の化合物または製薬上許容しうるその塩が提供される。

【0020】

本発明の更に別の実施形態において、本発明の化合物の種々のものを製造するために用いる種々の方法もまた開示され、特許請求される。

【0021】

本明細書において使用する用語は以下の意味を有する。

50

【0022】

本明細書においては、「C₁₋₆ アルキル」という用語はメチルおよびエチル基、そして、直鎖または分枝鎖のプロピル、ブチル、ペンチルおよびヘキシル基を包含する。特定のアルキル基はメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、t-ブチルおよびアミルである。「C₁₋₆ アルコキシ」、「C₁₋₆ アルコキシC₁₋₆ アルキル」、「ヒドロキシC₁₋₆ アルキル」、「C₁₋₆ アルキルカルボニル」、「C₁₋₆ アルコキシカルボニルC₁₋₆ アルキル」、「C₁₋₆ アルコキシカルボニル」、「アミノC₁₋₆ アルキル」、「C₁₋₆ アルキルカルバモイルC₁₋₆ アルキル」、「C₁₋₆ ジアルキルカルバモイルC₁₋₆ アルキル」「モノ-またはジ-C₁₋₆ アルキルアミノC₁₋₆ アルキル」、「アミノC₁₋₆ アルキルカルボニル」「ジフェニルC₁₋₆ アルキル」、「フェニルC₁₋₆ アルキル」、「フェニルカルボニルC₁₋₆ アルキル」および「フェノキシC₁₋₆ アルキル」のような派生した表現は相応に解釈されるものとする。

10

【0023】

本明細書においては、「C₂₋₆ アルケニル」という表現はエテニル、および直鎖または分枝鎖のプロペニル、ブテニル、ペンテニルおよびヘキシニル基を包含する。同様に、「C₂₋₆ アルキニル」という表現はエチニルおよびプロピニル、および直鎖または分枝鎖のブチニル、ペンチニルおよびヘキシニル基を包含する。

【0024】

本明細書においては、「C₁₋₆ パーフルオロアルキル」という表現は、該アルキル基の水素原子全てがフッ素原子で置き換えられていることを意味する。代表的な例にはトリフルオロメチルおよびペンタフルオロメチルおよび、直鎖または分枝鎖のヘプタフルオロプロピル、ノナフルオロブチル、ウンデカフルオロペンチルおよびトリデカフルオロヘキシル基が包含される。派生した表現である「C₁₋₆ パーフルオロアルコキシ」は相応に解釈するものとする。

20

【0025】

本明細書においては、「C₃₋₈ シクロアルキル」という表現はシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルを意味する。

【0026】

本明細書においては、「C₃₋₈ シクロアルキルC₁₋₆ アルキル」という表現は本明細書において定義したC₃₋₈ シクロアルキルが更に本明細書において定義したC₁₋₆ アルキルに結合していることを意味する。代表的な例としては、シクロプロピルメチル、1-シクロブチルエチル、2-シクロペンチルプロピル、シクロヘキシルメチル、2-シクロヘプチルエチルおよび2-シクロオクチルブチル等が挙げられる。

30

【0027】

本発明においては、「C₁₋₆ アシル」という表現は「C₁₋₆ アルカノイル」と同様の意味を有し、これはまた構造的には「R-CO-」基として示すことができ、ここでRは本明細書において定義されるC₂₋₆ アルキルである。更にまた「C₁₋₆ アルキルカルボニル」とはC₂₋₆ アシルを意味する。特に「C₁₋₆ アシル」はホルミル、アセチルまたはエタノイル、プロパノイル、n-ブタノイル等を意味する。「C₂₋₆ アシルオキシメチル」および「C₂₋₆ アシルオキシアルキル」のような派生した表現も相応に解釈するものとする。

40

【0028】

「CsA」とはシクロスポリンAを意味する。

【0029】

「ハロゲン」または「ハロ(halo)」とはクロロ、フルオロ、プロモおよびヨードを意味する。

【0030】

「IL」とはインターロイキンを意味する。

50

【0031】

「Luc」とはルシフェラーゼを意味する。

【0032】

本明細書においては用語「調節(modulation)」の種々の形態は、刺激(例えば特定の応答または活性を増大またはアップレギュレートすること)および抑制(例えば特定の応答または活性を現象またはダウンレギュレートすること)を含むものとする。

【0033】

本明細書においては、「患者」とは温血動物、例えばマウス、イヌ、ネコ、モルモット、およびヒトのような霊長類を意味する。

【0034】

本明細書においては、「製薬上許容しうる担体」とは非毒性の溶媒、分散液、賦形剤、補助剤または本発明の化合物と混合することにより医薬組成物、即ち患者に投与することができる剤型の形成を可能とする他の物質を意味する。このような担体の一例は非経腸投与のために典型的に使用される製薬上許容しうる油である。

【0035】

「製薬上許容しうる塩」という用語は、本明細書においては、医薬調製物中に本発明の化合物の塩を使用できることを意味する。しかしながら本発明の化合物または製薬上許容しうるその塩の調製物中にその他の塩も使用してよい。本発明の化合物の適当な製薬上許容しうる塩は例えば本発明の化合物の溶液を塩酸、臭化水素酸、硫酸、メタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、フマル酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、コハク酸、グルタル酸、酢酸、サリチル酸、ケイヒ酸、2-フェノキシ安息香酸、ヒドロキシ安息香酸、フェニル酢酸、安息香酸、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、グリコール酸、乳酸、ピルビン酸、マロン酸、炭酸またはリン酸のような製薬上許容しうる酸の溶液と混合することにより形成できる酸付加塩を包含する。オルトリン酸1水素ナトリウムおよび硫酸水素カリウムのような酸の金属塩も形成できる。更にまた、このようにして形成された塩は、モノまたはジ酸の塩の何れかとして存在してよく、または、水和状態で存在でき、または、実質的に無水であることもできる。更にまた、本発明の化合物が酸性の部分を持つ場合、その適当な製薬上許容しうる塩はアルカリ金属塩、例えばナトリウムまたはカリウム塩；アルカリ土類金属塩、例えばカルシウムまたはマグネシウム塩；および、適当な有機リガンドとともに形成される塩、例えば第四級アンモニウム塩を包含する。

【0036】

「プロドラッグ」という表現は一般的に許容される意味を有する。一般的に本明細書においては、「プロドラッグ」とはその薬理活性を示す前に生体変換を受ける何れかの化合物である。説明のための例として、それには限定されないが、プロドラッグは一般的に親分子における望ましくない特性を改変または排除するために一過性の態様で使用される特殊な非毒性の保護基を含む薬剤分子とみなすことができる。「ダブルプロドラッグ」という表現は本明細書においては、インビボで2段階で変換(酵素的および/または化学的)されて活性種となる生物学的に不活性の分子を意味する。「バイオプレカーサー」および/または「バイオプレカーサープロドラッグ」という表現もまた本明細書においては一般的に許容されている意味を有する。更に、例えば、それには限定されないが、加水分解的な切断以外の経路を一般的に経由した分子の修飾により不活性の分子が活性の分子に変換されて活性原体となるような場合も意味する。「類縁体」という表現は本明細書においては一般的に許容される意味を有する。更に、例えばそれには限定されないが、構造が別の薬剤の構造と関連しているがその化学的生物学特性は全く異なるような薬剤も意味する。

【0037】

「立体異性体」という用語は空間中のその原子の方向においてのみ異なる個々の分子の全ての異性体について使用される一般的用語である。典型的には、少なくとも1個の不斉中心により通常は形成される鏡像異性体(エナンチオマー)を包含する。本発明の化合物が

10

20

30

40

50

不斉中心を2個以上有する場合、それらは更にジアステレオ異性体として存在してよく、また特定の個々の分子は幾何異性体(シス/トランス)として存在してよい。これらの異性体および何れかの比率におけるその混合物の全てが本発明の範囲内に包含されるものとする。

【0038】

「置換された」とは、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ヒドロキシ、 $-CO_2H$ 、エステル、アミド、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 パーフルオロアルコキシ、 $-NH_2$ 、Cl、Br、I、F、 $-NH-$ 低級アルキルおよびN(低級アルキル)₂よりなる群から独立して選択される置換基1個または2個により置換されていることを意味する。

10

【0039】

「治療有効量」とは、所定の障害または状態を治療する際に有効である化合物の量を意味する。

【0040】

以下に記載する実施例および製造例において、そこで使用される用語は以下に示す意味を有するものとする。即ち「kg」とはキログラムを指し、「g」とはグラムを指し、「mg」とはミリグラムを指し、「μg」とはマイクログラムを指し、「pg」とはピコグラムを指し、「mol」とはモルを指し、「mmol」とはミリモルを指し、「nmole」とはナノモルを指し、「L」とはリットルを指し、「mL」または「ml」とはミリリットルを指し、「μL」とはマイクロリットルを指し、「°C」とは摂氏温度を指し、「R_f」とは保持ファクターを指し、「mp」または「m. p.」とは融点を指し、「dec」とは分解を指し、「bp」または「b. p.」とは沸点を指し、「mmHg」とはミリメートル水銀圧を指し、「cm」とはセンチメートルを指し、「nm」とはナノメートルを指し、「 $[\alpha]^{20}_D$ 」とは1デシメートルのセル中において得られた20°CにおけるナトリウムのD線の比旋光度を指し、「c」とはg/mL単位の濃度を指し、「THF」とはテトラヒドロフランを指し、「DMF」とはジメチルホルムアミドを指し、「NMP」とは1-メチル-2-ピロリジノン

を指し、「塩水」とは塩化ナトリウム飽和水溶液を指し、「M」とはモルを指し、「mM」とはミリモルを指し、「μM」とはマイクロモルを指し、「nM」とはナノモルを指し、「TLC」とは薄層クロマトグラフィーを指し、「HPLC」とは高速液体クロマトグラフィーを指し、「HRMS」とは高分解能質量スペクトルを指し、「lb」とはポンドを指し、「gal」とはガロンを指し、「L. O. D.」とは乾燥減量を指し、「μCi」とはマイクロキュリーを指し、「i. p.」とは腹腔内を指し、「i. v.」とは静脈内を指す。

20

30

【0041】

本発明の1つの特徴において、プロドラッグ(即ちR₂が式(I)の化合物における水素およびそれに続く定義のものではない)として有効である化合物のシリーズが提供される。本発明のプロドラッグは一般的に活性化化合物のエステルである。これらのプロドラッグは改善された薬剤効力を得る1つの手段を与える。一般的に、本発明のプロドラッグは酵素的加水分解によりインビボで親活性薬剤(即ち式(I)においてR₂=水素)に変換される(例えばエステラーゼはエステルをカルボン酸に変換し、アミダーゼはアミドをカルボン酸に変換する、等)。一般的にプロドラッグは親化合物よりも好都合な点が多い。例えば、本発明のプロドラッグの好都合な数点を以下に記載する。

40

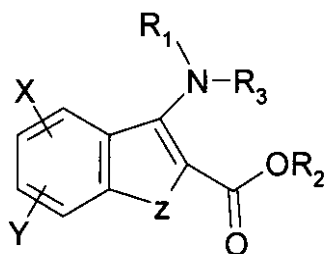
1. 増強された物理化学的特性、即ち改善された溶解度等、
2. 生理学的条件下における改善された吸収および分布、
3. 部位特異性、
4. 安定性、
5. 延長された放出、
6. 親活性分子と比較した場合の低い毒性、
7. 患者の許容性、および、
8. 改善された製剤特性。

50

【0042】

本発明の化合物は一般的にカルボン酸、および、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）のエステル誘導体である。遊離の酸である3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸は一般的に比較的低い溶解度および比較的低い経口生物学的利用能を特徴としている。一方これより誘導されたエステルプロドラッグは増強された溶解度、並びに、とりわけ経口投与された場合の改善された生物学的利用能を示す。エステルプロドラッグおよび類縁体を包含する本発明の化合物は下記式(I)：

【化7】



(I)

[式中、XおよびYは同じかまたは異なっていて、独立して、水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆アルコキシ、C₁₋₆パーフルオロアルキル、C₁₋₆パーフルオロアルコキシ、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここでフェニルまたはベンジルは場合によりC₁₋₆アルキル、C₁₋₆パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたはC₁₋₆パーフルオロアルキルまたはC₁₋₆パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

【0043】

ZはN-RまたはSであり、ここでRは水素、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキルカルボニル、C₁₋₆アルコキシカルボニルC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキルカルバモイル-C₁₋₆アルキルおよびC₁₋₆ジアルキルカルバモイルC₁₋₆アルキルよりなる群から選択され；

R₁は水素、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆パーフルオロアルキル、C₃₋₈シクロアルキル、C₃₋₈シクロアルキルC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシC₁₋₆アルキル、ヒドロキシC₁₋₆アルキル、アミノC₁₋₆アルキル、モノ-またはジ-C₁₋₆アルキルアミノC₁₋₆アルキル、ホルミル、C₁₋₆アルキルカルボニル、アミノC₁₋₆アルキルカルボニル、C₁₋₆アルコキシカルボニル、フェニル、ジフェニルC₁₋₆アルキルおよびフェニルC₁₋₆アルキル、フェニルカルボニルC₁₋₆アルキル、フェノキシC₁₋₆アルキルよりなる群から選択され、ここでフェニルは場合によりC₁₋₆アルキル、C₁₋₆パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたはC₁₋₆パーフルオロアルキルまたはC₁₋₆パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

【0044】

R₃は下記：

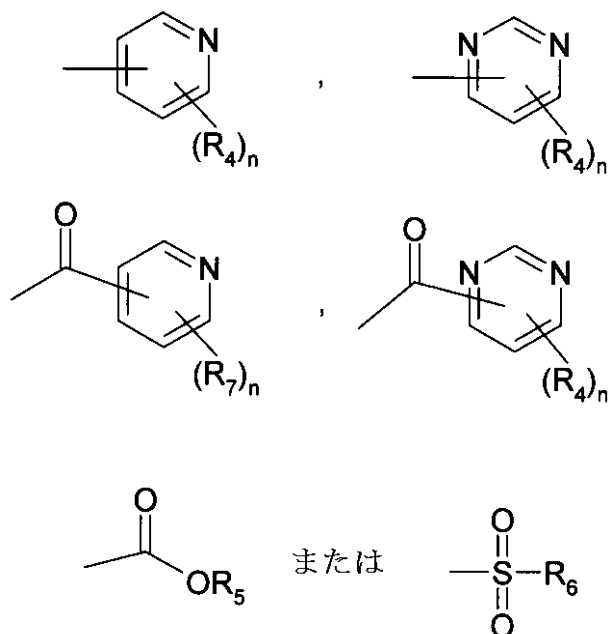
10

20

30

40

【化 8】



10

{式中、 R_4 は水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、 N -モルホリニルカルボニル、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここでフェニルまたはベンジルは場合により、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で置換されており；そして、

20

【0045】

R_5 は C_{2-8} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、ピリジル、フェニル、スチリル、ベンジル、ジアゾフェニル、ナフチルおよびキノリニルよりなる群から選択され、ここで、シクロアルキル、ピリジル、フェニル、スチリル、ベンジル、ジアゾフェニル、ナフチルまたはキノリニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ニトロ、アミノ、ジメチルアミノ、アセトアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 1 個より多くで置換されており；

30

R_6 は C_{6-12} ビシクロアルキル、スチリル、チアゾリル、ジアゾフェニル、ナフチルおよびキノリニルよりなる群から選択され、ここで、ビシクロアルキル、スチリル、チアゾリル、ジアゾフェニル、ナフチルまたはキノリニルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ニトロ、アミノ、ジメチルアミノ、アセトアミド、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 1 個より多くで置換されており；

R_7 はハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、 N -モルホリニルカルボニル、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で置換されており；そして

40

n は 0～3 の整数である} であり；そして、

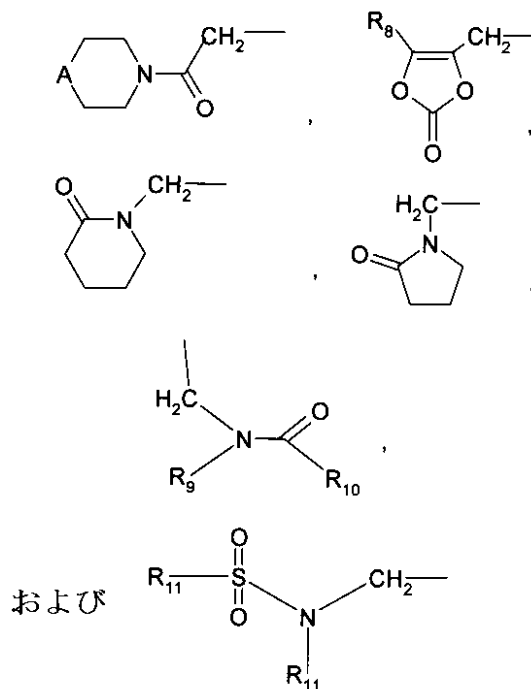
【0046】

R_2 は水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、パーフルオロアリール、インダニル、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アシルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル オキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{3-8} シクロアルコキシカルボニ

50

ルオキシ- C_{1-6} アルキル、アダマンチルオキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルコキシカルボニル- C_{1-6} アルキル、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルアミノ- C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキル C_{1-6} アルキル、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイル- C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイル C_{1-6} アルキル、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ- C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニルアミノ-オキシ- C_{1-6} アルキル、下記：

【化9】



および

{式中、

R_8 は水素または C_{1-6} アルキルであり、

R_9 は C_{1-6} アルキルまたはフェニルであり、

R_{10} は水素、 C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキルであり、

R_{11} は C_{1-6} アルキル、フェニルまたはトリルであり、そして、

Aは CH_2 、NHまたはOである}よりなる群から選択される]で表され、または製薬上許容しうるその塩、ただしZがN-Rであり、そしてXおよびYの両方が水素である場合は、 R_2 は水素または C_{1-6} アルキルではないものとして表される。

【0047】

上記した通り、上記の包括的な式(I)により含まれる化合物の数種は文献既知である。特に下記式(IA)：

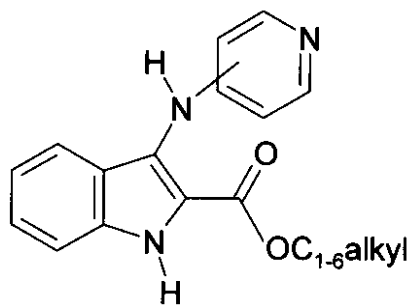
10

20

30

40

【化 10】



(IA)

10

の 3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸の遊離のカルボン酸およびアルキルエステルは文献既知である。米国特許 5,177,088 号および 5,328,920 号を参照できる。

【0048】

本発明の好ましい実施形態においては、以下の部分、即ち：

X および Y は同じかまたは異なっていて、そして、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、C₁₋₆ アルコキシ、C₁₋₆ パーフフルオロアルコキシおよびフェニルよりなる群から独立して選択され、ここで、フェニルは C₁₋₆ アルキル、C₁₋₆ パーフフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、C₁₋₆ パーフフルオロアルキルまたは C₁₋₆ パーフフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で場合により置換されており；

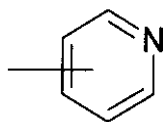
20

Z は N - R であり、ここで、R は水素、C₁₋₆ アルキルおよび C₁₋₆ アルキルカルボニルよりなる群から選択され；

R₁ は水素であり；

R₃ は下記：

【化 11】



であり；そして、

30

R₂ は C₁₋₆ アルキルを有する化合物、または製薬上許容しうるその塩が好ましい。

【0049】

この好ましい実施形態に属する特定の化合物は 5,6 - ジメトキシー - 3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸エチルエステルを包含する。

【0050】

本発明の更に別の実施形態において、Z が N - R であり、R が水素、C₁₋₆ アルキルまたは C₁₋₆ アルキルカルボニルである上記一般的構造 (I) により含まれるプロドラッグが好ましい。

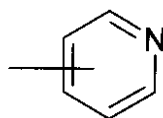
【0051】

実施形態のこの特徴において、好ましいものは、X が水素またはハロゲンであり；Y はフェニルであり、そしてここでフェニルは C₁₋₆ アルキル、C₁₋₆ パーフフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたは C₁₋₆ パーフフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 2 個で場合により置換されており；R は水素または C₁₋₆ アルキルであり；R₁ は水素であり；

40

R₃ は下記：

【化 12】



50

であり；そして、

R_2 は C_{1-6} アルキルである化合物、または製薬上許容しうるその塩である。

【0052】

この実施形態に含まれる特定の化合物は、6-フェニル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステルを包含する。

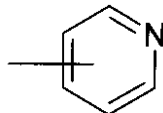
【0053】

更に別の実施形態においては、X、YおよびRが水素である式(I)を有する本発明の化合物が好ましい。本実施形態において、好ましいものは、

R_1 が水素であり；

R_3 は下記：

【化13】



であり；そして、

【0054】

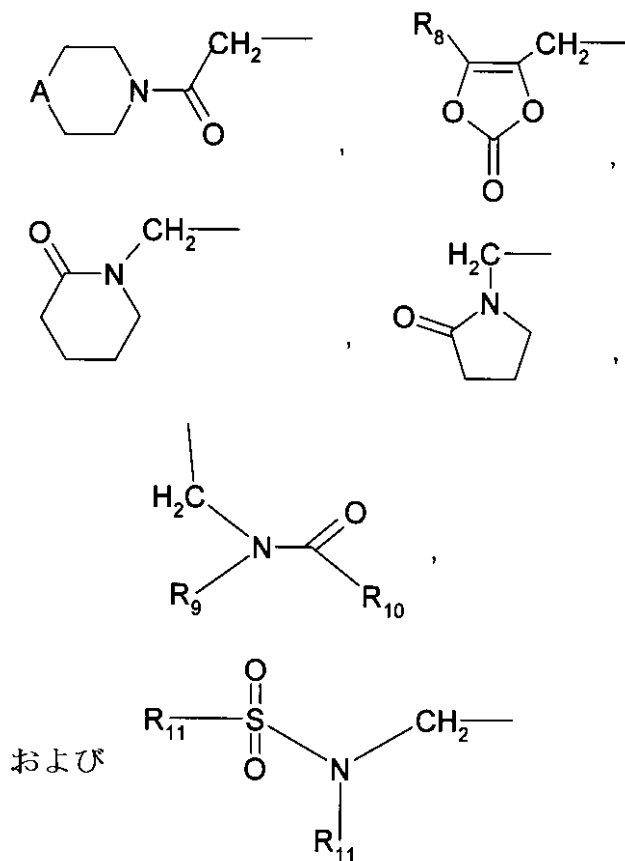
R_2 は C_{1-6} パーフルオロアルキル、パーフルオロアリール、インダニル、 C_{1-6} アルコキシ C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アシルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルキル、 C_{3-8} シクロアルコキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、アダマンチルオキシカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} シクロアルコキシカルボニル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルアミノ- C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイル- C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイル C_{1-6} アルキル、モノーまたはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{3-8} アザシクロアルキルカルボニルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジル C_{1-6} アルキルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、ベンジルカルバモイルオキシ C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシカルボニルアミノ-オキソ- C_{1-6} アルキル、下記：

10

20

30

【化 1 4】



10

20

{式中、

R₈ は水素または C₁ - 6 アルキルであり、R₉ は C₁ - 6 アルキルまたはフェニルであり、R₁₀ は水素、C₁ - 6 アルキルまたは C₁ - 6 アルコキシカルボニル C₁ - 6 アルキルであり、R₁₁ は C₁ - 6 アルキル、フェニルまたはトリルであるり、そして、A は CH₂、NH または O である} である化合物である。

30

【0055】

本実施形態に包含される代表的な化合物を以下に列挙する。

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸ペンタフルオロエステル、

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 2 - ジエチルアミノ - エチルエステル、

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 2 - ジメチルアミノ - エチルエステル、

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 2 - ピペリジン - 1 - イル - エチルエステル、

40

3 - (ピリジン - 4 - イルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 (S) - 1 - メトキシカルボニル - エチルエステル、

3 - (ピリジン - 4 - イルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸エトキシカルボニルメチルエステル、

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 2 - メトキシエチルエステル、

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 3 - エトキシプロピルエステル、

3 - (ピリジン - 4 - イルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸インダン - 5

50

－イルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸ジエチルカルバモイルメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2－モルホリン－4－イル－2－オキソ－エチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2－オキソ－2－ピロリジン－1－イル－エチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2－アゼチジン－1－イル－2－オキソ－エチルエステル、

【0056】

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸（ベンジル－エチル－カルバモイル）－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸ジエチルカルバモイルオキシ－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸ベンジルカルバモイルオキシメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸ピペリジン－1－カルボニルオキシメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸モルホリン－4－カルボニルオキシメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2－エトキシカルボニルアミノ－2－オキシ－エチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸イソプロポキシカルボニルオキシ－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸1，1，2－トリメチルプロポキシ－カルボニルオキシ－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸シクロヘキシルオキシ－カルボニルオキシ－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸アダマンタン－1－イルオキシカルボニルオキシメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸アセトキシメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2，2－ジメチル－プロピオニルオキシメチルエステル、

【0057】

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸ペンタノイルオキシメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2－オキソ－ピペリジン－1－イルメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸（ベンゾイル－エトキシカルボニルメチル－アミノ）－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸2－オキソ－ピロリジン－1－イルメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸5－メチル－2－オキソ－（1，3）ジオキソ－4－イルメチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸（フェニル－（トルエン－4－スルホニル）－アミノ）－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸（ベンゼンスルホニル－メチル－アミノ）－メチルエステル、

3－（ピリジン－4－イルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸（メチル－（

10

20

30

40

50

トルエン-4-スルホニル)-アミノ)-メチルエステル、および

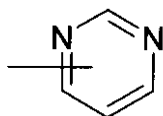
3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 t-ブトキシカルボニルオキシ-メチルエステル。

【0058】

本発明の別の実施形態において、本発明の好ましい化合物は、式中、

R₃ が下記：

【化15】



10

である化合物である。

【0059】

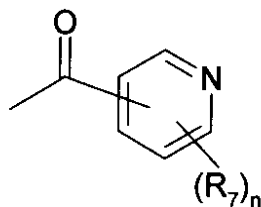
本実施形態の特定の化合物は3-(ピリジン-2-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステルである。

【0060】

本発明の更に別の実施形態においては、包括的な構造(I)に含まれる化合物の数種は活性化合物の類縁体である。本実施形態において、化合物の特定の例は、式中、

R₃ が下記：

【化16】



20

であり、ここでR₇がクロロ、メチル、メトキシまたはN-モルホリニルカルボニルであり、nが1または2である化合物である。

【0061】

この実施形態の範囲内に入る化合物の代表例は以下の通りである。

30

3-(2-クロロ-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル、

3-(2,6-ジクロロ-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル、

3-(2-クロロ-6-メチル-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル、

3-(2-クロロ-6-メトキシ-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル、

3-(2-クロロ-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

40

3-(2,6-ジクロロ-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(2-クロロ-6-メトキシ-ピリジン-4-カルボニル)-アミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、および

3-{[6-(モルホリン-4-カルボニル)-ピリジン-3-カルボニル]-アミノ}-3H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル。

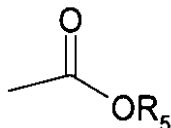
【0062】

別の実施形態において、活性化合物の類縁体の別の例を挙げる。本実施形態において、化合物の特定の型は式中、

R₃ が下記：

50

【化 17】



である化合物である。

【0063】

本実施形態に属する化合物の代表例を以下に列挙する。

【0064】

3-(1-エチル-ペンチルオキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、 10

3-n-ヘキシルオキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(2,2-ジメチル-プロポキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-t-ブトキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-n-ブトキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-n-プロポキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、 20

3-エトキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-アリルオキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-ブタ-3-エニルオキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-プロパー-2-イニルオキシカルボニルアミノ-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-((R)-2-t-ブチル-(S)-5-メチル-シクロヘキシルオキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、 30

【0065】

3-((S)-2-t-ブチル-(R)-5-メチル-シクロヘキシルオキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(4-ニトロ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(4-メトキシ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(4-ブロモ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、 40

3-(4-フルオロ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(4-メチル-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(4-クロロ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、

3-(2-ニトロ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル、および

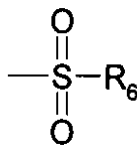
3-(2-ニトロ-3,4-ジメトキシ-フェノキシカルボニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル。 50

【0066】

更に別の実施形態においては、活性化合物の類縁体の別の例示が行われ、その場合、式中、

R₃ は下記：

【化18】



10

である。

【0067】

本発明の範囲内の特定の例を以下に示す。

3-(2-フェニル-エテンスルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸
t-ブチルエステル、

3-[4-(4-ジメチルアミノ-フェニルアゾ)-ベンゼンスルホニルアミノ]-3H-
インドール-2-カルボン酸t-ブチルエステル、

3-(ナフタレン-1-スルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸t-
ブチルエステル、

3-(5-ジメチルアミノ-ナフタレン-1-スルホニルアミノ)-3H-インドール
-2-カルボン酸t-ブチルエステル、 20

3-(7,7-ジメチル-3-オキソ-ビシクロ[2.2.1]ヘプタ-2-イルメタ
ンスルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸t-ブチルエステル、

3-(2-アセチルアミノ-チアゾール-5-スルホニルアミノ)-3H-インドール
-2-カルボン酸t-ブチルエステル、

3-(キノリン-8-スルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸t-ブ
チルエステル、

3-(2-フェニル-エテンスルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸
、

3-[4-(4-ジメチルアミノ-フェニルアゾ)-ベンゼンスルホニルアミノ]-3
H-インドール-2-カルボン酸、 30

3-(ナフタレン-1-スルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸、

3-(5-ジメチルアミノ-ナフタレン-1-スルホニルアミノ)-3H-インドール
-2-カルボン酸、

3-(7,7-ジメチル-3-オキソ-ビシクロ[2.2.1]ヘプタ-2-イルメタ
ンスルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸、

3-(2-アセチルアミノ-チアゾール-5-スルホニルアミノ)-3H-インドール
-2-カルボン酸、および

3-(キノリン-8-スルホニルアミノ)-3H-インドール-2-カルボン酸。

【0068】

40

本発明の好ましい実施形態においては、ZがSである式(I)の化合物が好ましい。本
実施形態の代表例を以下に示す。

3-(4-ピリジニルアミノ)-ベンゾ(b)チオフェン-2-カルボン酸エチルエス
テル、

6-フルオロ-3-(4-ピリジニルアミノ)-ベンゾ(b)チオフェン-2-カルボ
ン酸エチルエステル、

エチル3-((4-ピリジル)アミノ-N-メチル)-ベンゾ(b)チオフェン-2-
カルボキシレート、

3-(4-ピリジニルアミノ)-6-トリフルオロメチル-ベンゾ(b)チオフェン-
2-カルボン酸メタンスルホネート塩、 50

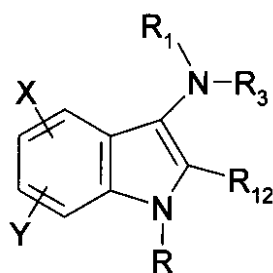
3-(4-ピリジニルアミノ)-ベンゾ(b)チオフェン-2-カルボン酸塩酸塩、
 3-(4-ピリジニルアミノ)-6-トリフルオロメチル-ベンゾ(b)チオフェン-
 2-カルボン酸エチルエステル塩酸塩、および
 3-(プロピル-4-ピリジニルアミノ)-ベンゾ(b)チオフェン-2-カルボン酸
 エチルエステル。

【0069】

本発明の別の特徴において、活性化合物のバイオペレーサーも提供される。上記した
 通り、「バイオペレーサー」という表現は、本明細書においては、一般的に許容されて
 いる意味を有する。更に「バイオペレーサー」とは、本明細書においては、それが加水
 分解経路以外の手段で親活性化合物に変換されることも意味する。例えば、本発明のバイ
 オプレーサーは酵素的酸化により生理学的条件下に活性化合物に変換されてよい。この
 ような酵素的酸化の例は、モノアミノオキシダーゼまたはチトクロームP450の関与す
 る酸化を包含する。本発明の生体前駆体化合物は下記式(II)：

10

【化19】



(II)

20

[式中、

XおよびYは同じかまたは異なっていて、そして独立して水素、ハロゲン、ニトロ、ア
 ミノ、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆
 アルコキシ、C₁₋₆パーフルオロアルキル、C₁₋₆パーフルオロアルコキシ、フェ
 ニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合
 によりC₁₋₆アルキル、C₁₋₆パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシまたはC
₁₋₆パーフルオロアルキルまたはC₁₋₆パーフルオロアルコキシから各々独立して選
 択される置換基1個または2個で置換されており；

30

【0070】

Rは水素、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキルカルボニル、C₁₋₆アルコキシカル
 ボニルC₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルキルカルバモイル-C₁₋₆アルキルおよびC₁₋₆
 ジアルキルカルバモイルC₁₋₆アルキルよりなる群から選択され；

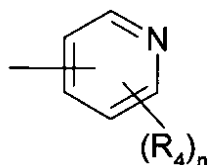
R₁は水素、C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₂₋₆アルキニル、C₁₋₆パー
 フルオロアルキル、C₃₋₈シクロアルキル、C₃₋₈シクロアルキルC₁₋₆アルキ
 ル、C₁₋₆アルコキシC₁₋₆アルキル、ヒドロキシC₁₋₆アルキル、アミノC₁₋₆
 アルキル、モノ-またはジ-C₁₋₆アルキル-アミノC₁₋₆アルキル、ホルミル、
 C₁₋₆アルキルカルボニル、アミノC₁₋₆アルキルカルボニル、C₁₋₆アルコキシ
 カルボニル、フェニル、ジフェニルC₁₋₆アルキルおよびフェニルC₁₋₆アルキル、
 フェニルカルボニルC₁₋₆アルキル、フェノキシC₁₋₆アルキルよりなる群から選択
 され、ここで、フェニルは場合によりC₁₋₆アルキル、C₁₋₆パーフルオロアルキル
 、ハロゲン、ヒドロキシまたはC₁₋₆パーフルオロアルキルまたはC₁₋₆パーフルオ
 ロアルコキシから各々独立して選択される置換基1個または2個で置換されており；

40

【0071】

R₃は下記：

【化 20】



{ここで、

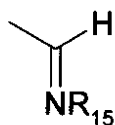
R_4 は水素、ハロゲン、ニトロ、アミノ、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルコキシ、N-モルホリニルカルボニル、フェニルおよびベンジルよりなる群から選択され、ここで、フェニルまたはベンジルは場合により C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} パーフルオロアルキル、ハロゲン、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルコキシまたは C_{1-6} パーフルオロアルコキシから各々独立して選択される置換基 1 個または 1 個より多くで置換されている} であり；

10

【0072】

R_{12} はヒドロキシメチル、 C_{1-6} アルコキシメチル、アミノメチル、モノまたはジ- C_{1-6} アルキルアミノメチル、 $-C(O)H$ 、 C_{2-6} アシルオキシメチル、 $-CONR_{13}R_{14}$ ；および下記：

【化 21】



20

であり、ここで、 R_{13} および R_{14} は同じかまたは異なっていて、そして独立して水素、 C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} アルコキシから選択され、そして、 R_{15} は水素または C_{1-6} アルキルである」の化合物または製薬上許容しうるその塩として表される。

【0073】

本発明の生体前駆体の代表例を以下に示す。

3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸メトキシメチル-アミド、

30

3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボキシアルデヒド、

[3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-イル]-メタノール、

3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボキシアミド、および

(2-アミノメチル-1H-インドール-3-イル)-ピリジン-4-イル-アミン。

【0074】

上記した通り、本発明の包括的な式 (I) に包含される化合物の数種は既知化合物である (例えば図 I A)。一般的に、本発明の化合物は当業者の知る操作法の何れかにより容易に合成できる。典型的には、本発明の方法において使用される既知化合物は米国特許 5,177,088 号、5,189,054 号、5,328,920 号、5,491,153 号および 5,675,018 号に記載の操作法に従って製造できる。これらの特許の各々の全体が参照として本明細書に組み入れられる。

40

【0075】

より典型的には、本明細書に記載する化合物は X、Y、Z、 R_1 、 R_2 および R_3 置換基が特段の記載が無い限り式 (I) において定義したものであるような後記スキーム A~H の操作法に従って合成できる。

【0076】

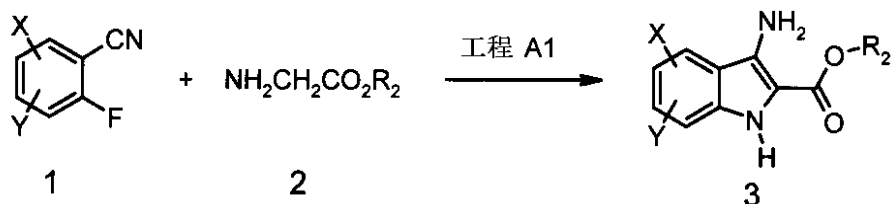
一般的に、本発明の方法において使用するインドール誘導体については原料の 3-アミノインドールはスキーム A~D に示す操作法に従って製造できる。

【0077】

50

【化 2 2】

スキーム A



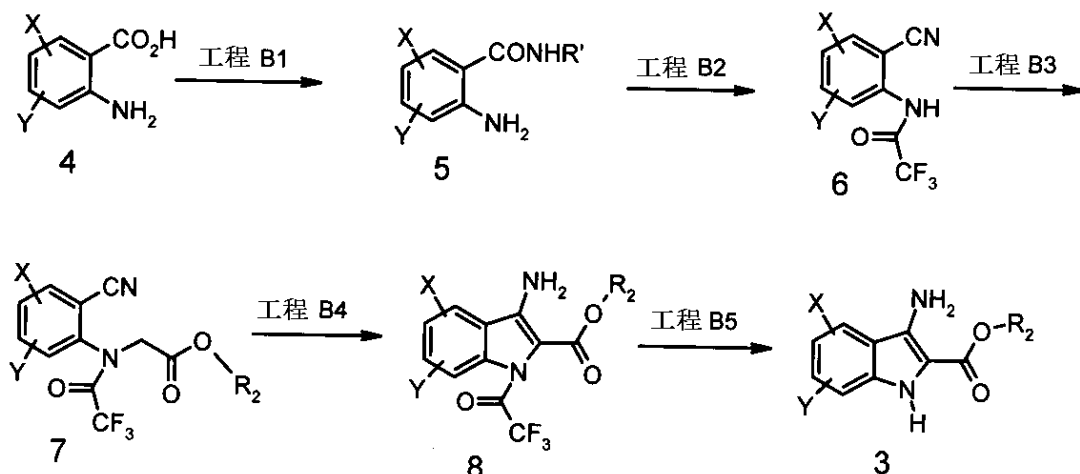
【0078】

スキーム A において、工程 A 1 では置換 2-ブロオロベンゾニトリル 1 を α -アミノカルボン酸エステル 2 と反応させて 3-アミノインドール誘導体 3 を形成する。反応は一般的に、無溶媒か、または適当な有機溶媒の存在下、塩基性反応条件下に行う。適当な塩基にはアルカリ水酸化物、例えばナトリウムまたはカリウムの水酸化物、アルカリ炭酸塩、例えばナトリウムまたはカリウムの炭酸塩、アンモニアまたは水酸化アンモニウム等が含まれる。反応は一般的には窒素またはアルゴンのような不活性雰囲気中、周囲温度または約 80 ~ 150 °C の範囲の高められた温度において行う。

【0079】

【化 2 3】

スキーム B



【0080】

スキーム B は置換 2-アミノ安息香酸 4 を原料とした 5 工程を包含する 3-アミノインドール誘導体 3 の合成の別の経路を示す。この経路においては、カルボン酸基をまず工程 B 1 および B 2 においてニトリル基に変換する。このような変換を容易にする当該分野で知られた如何なる操作法も使用できる。即ち、スキーム B の工程 B 1 においては、置換 2-アミノ安息香酸 4 を適当な有機溶媒中適当な脱水剤の存在下、N-ヒドロキシスクシンイミドのような活性化部分で処理する。次に活性化されたカルボン酸をアミン、例えば α -ブチルアミンと反応させてベンズアミド誘導体 5 を形成する。適当な脱水剤はジクロロヘキシルカルボジイミド、シアヌール酸クロリド等である。反応は周囲温度または周囲温度未満、例えば -20 °C ~ 25 °C ので行うことができる。

【0081】

スキーム B の工程 B 2 においては、工程 B 1 で形成したベンズアミド 5 を更に反応させてベンゾニトリル誘導体 6 を形成する。一般的に、これは無水トリフルオロ酢酸のような適当なカルボン酸無水物とベンズアミド 5 を反応させることにより行うことができ、これによりベンゾニトリル誘導体 6 が形成する。この工程の反応は周囲温度または周囲温度未満の温度、好ましくは約 0 °C においてジクロロメタンのような適当な有機溶媒中で行うこ

10

20

30

40

50

とができる。

【0082】

スキーム B の工程 B 3 においては、ベンゾニトリル誘導体 6 を更に DMF のような有機溶媒中適当な塩基の存在下所望の α -ハロカルボン酸エステル 7 と反応させる。適当な塩基にはアルカリ水素化物、例えば水素化ナトリウム、または、アルキルアルカリ化合物、例えばブチルリチウム等が包含される。反応は一般的に不活性雰囲気下、例えば窒素またはアルゴン下、そして、周囲温度未満の温度、例えば 0℃で行われるが、周囲温度～周囲温度超の反応温度も使用できる。

【0083】

スキーム B の工程 B 4 において、工程 B 3 で得られた付加生成物 8 を典型的には 0℃のような周囲温度未満の温度で不活性反応条件下塩基の存在下に環化する。この環化反応を行うために有効な何れかの塩基を使用し、その例としては、アルカリ水酸化物、例えばナトリウムまたはカリウムの水酸化物、アルカリの炭酸塩、例えばナトリウムまたはカリウムの炭酸塩、アルカリアルコキシ度、例えばカリウム *tert*-ブトキシド、アンモニアまたは水酸化アンモニウム等が包含される。カリウム *tert*-ブトキシドが特に好ましい。

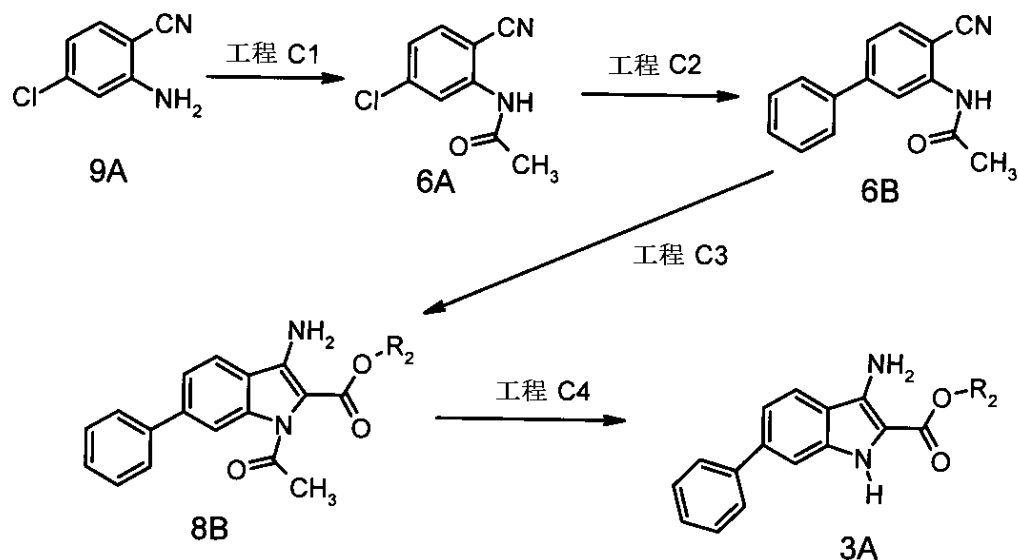
【0084】

最後に、スキーム B の工程 B 5 において、インドール化合物 8 のアミノ基上のトリフルオロアセチル基を脱離させることにより原料のインドール化合物 3 を製造する。この脱離は当該分野で知られた何れかの方法を用いて行うことができる。例えば、脱離は B 4 の生成物 8 を周囲温度または周囲温度超の反応温度において炭酸カリウムのような塩基で処理することにより行うことができ；50～80℃の範囲の温度が特に好ましい。

【0085】

【化 2 4】

スキーム C



【0086】

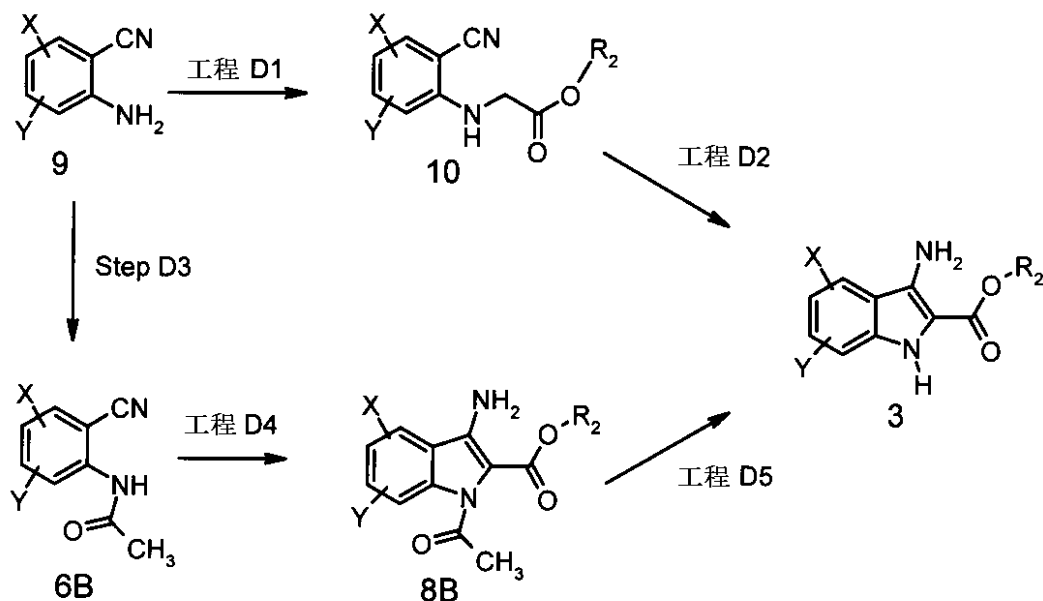
スキーム C はインドール環上の置換基がフェニルである置換 3-アミノインドール誘導体 3 A の特定の 1 種の合成を説明するものである。種々の他のモノまたはジアリール置換の 3-アミノインドール誘導体をスキーム C の工程に従って合成できる。スキーム C の工程 C 1 においては、2-アミノ-4-クロロベンゾニトリル 9 A のアミノ基を無水酢酸で処理することによりアセチル基で保護する。種々の他の保護基を同様の態様で使用する事ができる。スキーム C の工程 C 2 において、保護されたアミノ化合物 6 A を酢酸パラジウムのような遷移金属触媒の存在下にフェニルボロン酸のようなフェニル化剤を用いてフェニル化する。スキーム C の工程 C 3 において、フェニル化された化合物 6 B をス

キーム B の工程 B 3 および B 4 で記載したものと同様の操作法を用いて α -ハロカルボン酸エステルと反応させる。興味深いことに、この工程において、付加と環化の双方を単一の工程で行うことができ、これによりインドール誘導体 8 B が形成される。反応のこの組み合わせは典型的にはカリウム t -ブトキシドのような適当な塩基の存在下に行うことができる。反応は典型的には約 0 ~ 40 °C の範囲の温度で NMP、THF またはその混合物のような有機溶媒中で行う。最後に、スキーム C の工程 C 4 において、アセチルインドール誘導体 8 B をスキーム B の工程 B 5 の操作法に従って脱保護する。

【0087】

【化25】

スキーム D



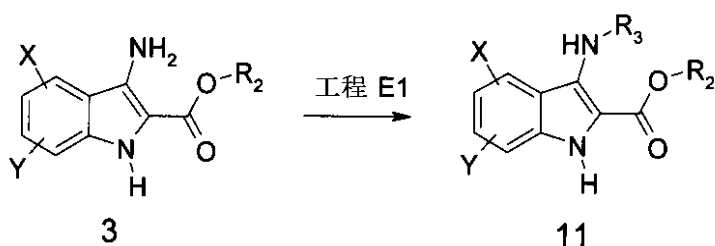
【0088】

スキーム D は本発明の化合物の合成において有用な 3-アミノインドール誘導体の合成の別の変法を説明するものである。スキーム D の工程 D 3 ~ D 5 はスキーム B および C において上記したものと同様である。即ち、上記した合成操作法を工程 D 3 ~ D 5 において利用することができる。しかしながら、場合により、アミノ基は保護する必要がなく、そして、スキーム D の工程 D 1 および D 2 に従って所望の α -ハロカルボン酸エステルと直接反応させることにより 3-アミノインドール誘導体 3 を形成することができる。即ちスキーム D の工程 D 1 において、反応は、置換 2-アミノベンズニトリル 9 を α -ハロカルボン酸エステルで適当な塩基、例えばカリウムまたはナトリウムの炭酸塩の存在下に処理して生成物 10 を形成し、これをその後カリウム t -ブトキシドのような塩基の存在下に環化することによりインドール化合物 3 とすることができる。

【0089】

【化26】

スキーム E



【0090】

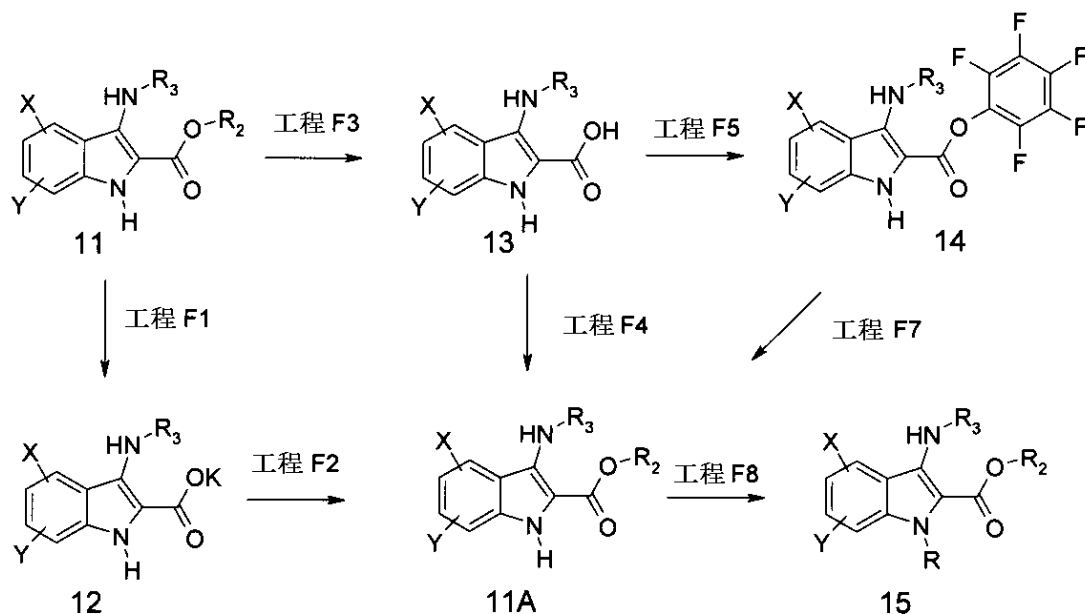
スキーム E は本発明の種々のインドール化合物の製造を説明するものである。スキーム E の工程 E 1 において、上記したスキーム A ～ D の何れか 1 つに従って製造された 3-アミノインドール誘導体 3 を米国特許 5,328,920 号に記載の通り、適当な有機溶媒の存在下、適当なハロ置換 R_3 化合物と反応させる。反応は典型的には周囲温度～周囲温度超の温度条件下、典型的には $20^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$ の温度範囲において実施する。スキーム E は R_2 が C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} パーフルオロアルキルである本発明の方法の化合物の製造に特に適しており； C_{1-4} アルキルがより好ましく、エチルまたは n-ブチルがより好ましい。

【0091】

【化 27】

10

スキーム F



20

【0092】

スキーム F は本発明の化合物の製造のための種々の別の合成経路を示す。総括して、スキーム F はエステル転移反応を用いた本発明の種々の化合物の製造のための 2 種の経路を示す。他の知られたエステル転移反応のいずれも、これらの化合物の製造のために利用できる。最後に、スキーム F はまた工程 F 8 における N-置換インドールの製造も示している。

30

【0093】

スキーム F の工程 F 1 において、カルボン酸エステル、好ましくはインドール誘導体 11 のアルキルエステルを水酸化カリウムのような適当な塩基を使用して加水分解し、相当するカリウム塩 12 を形成する。典型的には加水分解は水性媒体、アルコール性媒体またはこれらの混合物中において行う。反応は一般的には周囲温度または周囲温度超の温度で、典型的には $25^{\circ}\text{C} \sim 80^{\circ}\text{C}$ の温度範囲で行う。

40

【0094】

スキーム F の工程 F 2 において、スキーム F の工程 F 1 でこのように製造されたカリウム塩 12 を適当なハロ化合物と反応させ、本発明の方法において使用される所望のエステル転移インドール化合物を製造する。反応は典型的には極性または非極性の無水溶媒中で行う。適当な溶媒にはエーテル系溶媒、例えばテトラヒドロフランまたは極性溶媒、例えばジメチルホルムアミド (DMF) が包含される。反応は周囲温度または周囲温度超の温度で行うことができ、典型的には $30^{\circ}\text{C} \sim 100^{\circ}\text{C}$ の範囲の温度が好ましい。反応はまたヨウ化カリウムのような触媒の存在下に行うこともできる。

【0095】

スキーム F の工程 F 3 および F 4 は本発明のエステル転移インドール化合物 11A の製

50

造のための別の経路を説明するものである。スキーム F の工程 F 3 において、インドール化合物 11 のエステル誘導体を酸性反応条件下、周囲温度、周囲温度未満または周囲温度超の反応条件において加水分解することにより遊離のカルボン酸誘導体 13 を形成する。適当な酸触媒には無機酸、例えば塩酸または硫酸；有機スルホン酸、例えばメタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸または p-トルエンスルホン酸；およびカルボン酸、例えば酢酸またはトリフルオロ酢酸等が包含される。固体の酸触媒、例えば $\text{Na}^+\text{F}^-\text{ion-H}^{(R)}$ または H-ZSM-5 もまた使用できる。典型的な反応温度は約 $0^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$ の範囲である。

【0096】

スキーム F の工程 F 4 において、スキーム F の工程 F 3 で製造したカルボン酸誘導体 13 をエステル化することにより本発明の所望のインドール化合物 11A を得る。このエステル化反応のための条件は形成されるエステルにより異なる。このような反応条件の差異については当業者のよく知るとおりである。

【0097】

例えば、エステル化反応はカルボン酸活性化剤の存在下本質的には中性の条件下において行われ、その場合形成される生成物は加水分解されやすい部分を含む。しかしながら、場合によりエステル化はジエチルイソプロピルアミンのようなヒンダード塩基の存在下に行うことができる。適当なエステル化活性化剤にはベンゾトリアゾール-1-イルオキシ（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（BOP）またはベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリリス（ピロリジノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（PYBOP）が包含される。反応は典型的には 1-メチル-2-ピロリジノン（NMP）または DMF のような極性溶媒中に行う。反応は一般的に周囲温度未満または周囲温度、即ち、約 $-20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$ の温度範囲で行う。

【0098】

或いは、スキーム F の工程 F 4 において、エステル化反応は適当な触媒の存在下穏やかな塩基性の条件下に行うこともできる。適当な塩基には炭酸セシウムおよび炭酸カリウムが包含される。任意の触媒にはヨウ化カリウムが包含される。反応は典型的には約 $40^\circ\text{C} \sim 80^\circ\text{C}$ の温度範囲で行う。

【0099】

更に別の経路において、スキーム F の工程 F 5 および F 7 は本発明のインドール化合物 11A の製造のため別の方法を説明するものである。スキーム F の工程 F 5 において、カルボン酸誘導体をまずエステル化してペンタフルオロフェニルエステル誘導体 14 を形成する。反応は典型的にはエステル化剤としてピリジンおよびペンタフルオロフェニルトリフルオロアセタートのような有機塩基の存在下に行う。反応は典型的には $20^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ のような周囲温度で行う。

【0100】

スキーム F の工程 F 7 において、ペンタフルオロフェニルエステルを水素化ナトリウムのような塩基の存在下に所望のエステル化剤と反応させることにより所望のインドール化合物 11A を形成する。この反応のために適する典型的な溶媒は NMP または DMF を包含する。反応は一般的に周囲温度未満で、典型的には約 $-20^\circ\text{C} \sim 0^\circ\text{C}$ の範囲で行う。

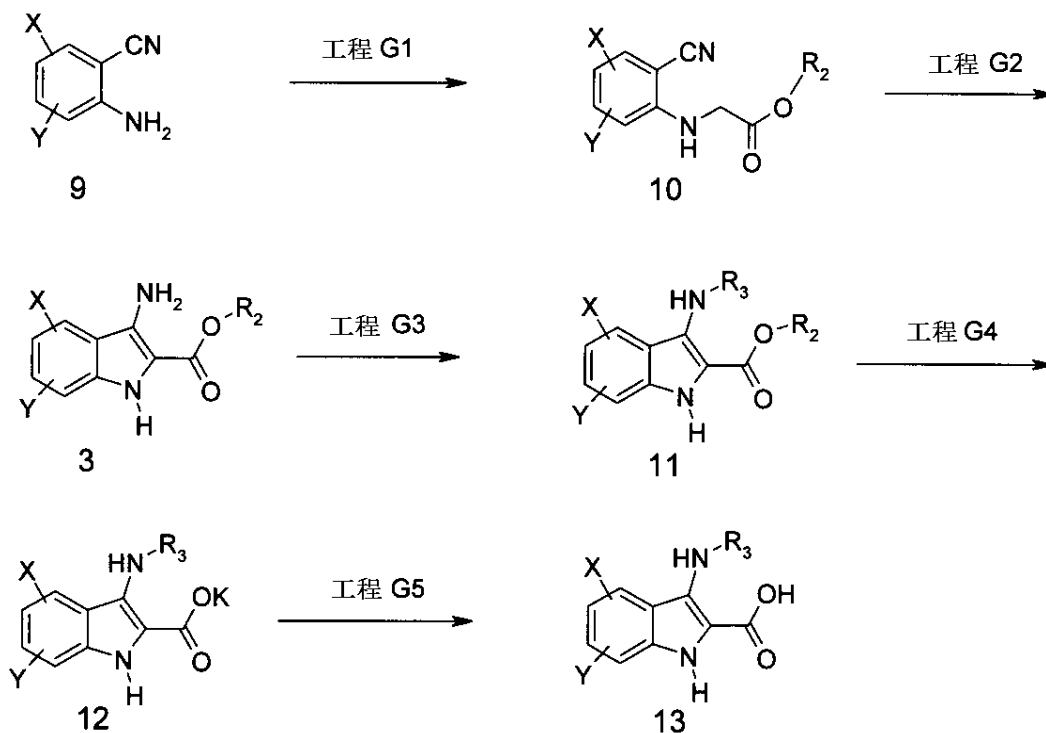
【0101】

スキーム F の工程 F 8 において、インドール化合物 11A を本明細書において定義した R 部分で 1 位窒素において置換し、所望のインドール化合物 15 を形成する。知られた N-置換反応の何れかをこの目的のために使用できる。典型的には、N-アルキル化は未置換のインドール化合物をヨードアルカンまたはアルキルスルフェートのような適当なアルキル化剤と反応させることにより行うことができる。このようなアルキル化剤の特定の例にはヨードメタン、ヨードエタン、ジメチルスルフェート、ジエチルスルフェート、メチルトリフレート等が包含される。反応は典型的には DMF のような適当な極性溶媒中約 0°C でカリウム t-ブトキシドのような塩基の存在下に行う。

【0102】

【化 28】

スキーム G



10

20

【0103】

スキーム G は本発明の種々のインドール化合物の製造のための別の好ましい方法を説明するものである。スキーム G の工程 G 1 において、所望の置換 2-アミノベンズニトリルを、エタノールのような適当な有機溶媒中、重炭酸ナトリウムのような適当な塩基の存在下、そして、ヨウ化ナトリウムのような触媒の存在下にプロモ酢酸エチルのような α-ハロカルボン酸エステルと反応させる。反応は一般的には約 60℃～120℃の温度範囲で行う。より高い反応温度が望ましい場合はより高沸点の溶媒を用いることができる。一般的に、より高い温度は反応速度を加速し、より短い反応時間となる。

30

【0104】

スキーム G の工程 G 2 において、N-置換されたベンズニトリル誘導体 10 を窒素のような不活性雰囲気下 THF のような溶媒中カリウム t-ブトキシドのような適当な塩基の存在下に環化反応に付す。典型的には反応温度は水のような何れかの適当な冷却剤を用いて反応混合物を冷却することにより、周囲温度、即ち約 25℃、またはそれ未満に維持する。得られた置換インドール誘導体 3 を単離する。

【0105】

スキーム G の工程 G 3 において、置換インドール誘導体 3 をスキーム E に記載したとおり N-置換反応に付す。これは典型的には 4-クロロピリジンのような適当なハロ化合物にインドール誘導体 3 を反応させて相当するピリジニルアミノ化合物 11 を形成することにより行うことができる。この置換反応は典型的には NMP のような適当な有機溶媒中で行う。反応は典型的には高められた温度、一般的には約 80℃～120℃の範囲で行う。

40

【0106】

スキーム G の工程 G 4 において、N-置換化合物 11 を加水分解してインドール化合物 12 のカリウム塩を形成する。この工程はスキーム F の工程 F 1 において上記したものと同様である。加水分解は好ましくは溶媒としてのエタノール中水酸化カリウムを用いて行う。

【0107】

スキーム G の工程 G 5 において、カリウム塩 11 を周囲温度の反応温度で塩酸のような

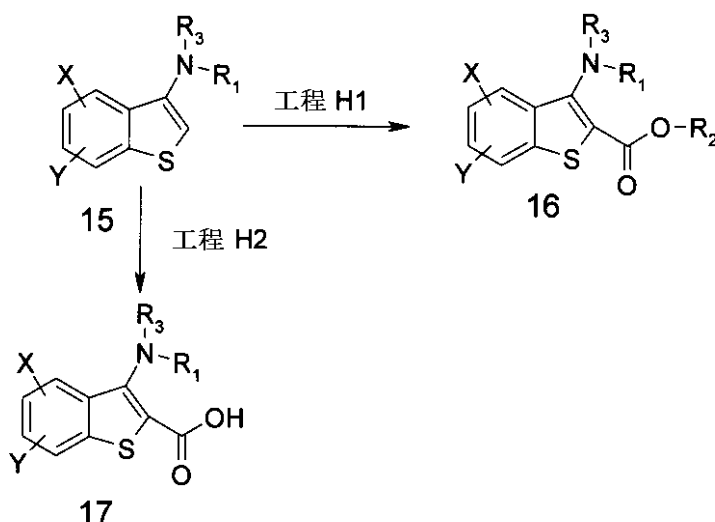
50

適当な酸で処理することにより遊離のカルボン酸 13 を製造する。

【0108】

【化29】

スキーム H



10

【0109】

スキーム H は本発明のベンゾ (b) チオフェン化合物 16 および 17 の製造のための 2 種の操作法を示している。原料である置換 3-アミノベンゾ (b) チオフェン 15 は当該分野で知られた種々の方法により製造できる。例えば上記した米国特許 5,328,920 号は数種のこのような操作法を記載している。

20

【0110】

スキーム H の工程 H1 において、置換 3-アミノベンゾ (b) チオフェン 15 をリチウムジイソプロピルアミドのような適当な塩基と反応させて化合物 15 のアニオンをインサイチュで発生させる。この反応は典型的には、一般的に約 -120℃～0℃ の周囲温度未満の反応温度において行う。反応はまた、窒素のような不活性雰囲気下、そして非極性の溶媒、例えばエーテル系溶媒、例えばジエチルエーテル、THF、アルカン溶媒、例えばヘプタン、ヘキサン等、および、芳香族炭化水素、例えばエチルベンゼンまたはこれらの組み合わせのような溶媒中で行う。この工程においてこのようにして形成された化合物 15 のアニオンを次に何れかの所望のカルボン酸エステル、例えば炭酸ジアルキル、例えば炭酸ジエチルと反応させる。これにより化合物 16 が得られる。

30

【0111】

或いはスキーム H の工程 H2 において、化合物 15 をアルキルリチウムのような適当な塩基と反応させてアニオンを生成し、これを二酸化炭素と反応させて遊離のカルボン酸化合物 17 を形成する。化合物 15 のアニオンは典型的には上記した周囲温度未満の反応条件下に形成し、次に、ドライアイス、即ち固体形態の二酸化炭素と反応させる。

【0112】

本発明はまた製薬上許容しうる担体と組み合わせて本発明の化合物 1 種または 1 種より多くを含有する医薬組成物を提供する。好ましくはこれらの組成物は錠剤、丸薬、カプセル、粉末、顆粒、滅菌非経腸溶液または懸濁液、計量されたエアロゾルまたは液体スプレー、ドロップ、アンプル、自動注射装置または座剤のような単位剤型であり；経口、非経腸、鼻内、舌下または直腸投与のため、または吸入器や吸引器による投与のためのものである。或いは、組成物は週一回または月 1 回投与のために適する剤型で提供してよく；例えば、活性化合物の不溶性の塩、例えばデカノエート塩を適用して筋肉注射用のデポ製剤を得てよい。活性成分を含有する崩壊性の重合体も包含される。錠剤のような固体組成物の製造のためには、主要活性成分を薬品用担体、例えば従来の錠剤成分、例えばコーンスターチ、乳糖、スクロース、ソルビトール、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネ

40

50

シウム、リン酸二カルシウムまたはガム類、および他の薬品用希釈剤、例えば水と混合することにより本発明の化合物または製薬上許容しうるその塩の均質な混合物を含有する固体の予備製剤組成物を形成する。これらの予備形成組成物を均質であると称する場合、これは、活性成分が組成物全体にわたって均一に分散しており、これにより組成物を錠剤、丸薬およびカプセルのような等しく有効な単位剤型に容易に細分できることを意味する。

【0113】

次にこの固体予備製剤組成物を本発明の活性成分0.1～約500mgを含有する上記した型の単位剤型に細分する。好ましい単位剤型は活性成分1～100mg、例えば1、2、5、10、25、50または100mgを含有する。新しい組成物の錠剤または丸薬は、コーティングするか、その他の複合化を行うことにより長時間作用する利点を与えられる剤型とすることができる。例えば、錠剤または丸薬は内部薬剤成分および外部薬剤成分を含有することができ、後者は前者を包囲するエンベロープの形態とする。2成分は胃において崩壊に抵抗し、内部の成分を未損傷のまま十二指腸まで送るか、放出を遅延させるための腸溶性の層により分離することができる。このような腸溶性の層またはコーティングのために種々の物質が使用でき、そのような物質には多数の重合体の酸および重合体の酸とシェラック、セチルアルコールおよび酢酸セルロースのような物質との混合物が含まれる。

10

【0114】

本発明の新しい組成物が経口投与または注射により投与するために配合してよい液体剤型は、水溶液、適当にフレーバー添加されたシロップ、水性または油性の懸濁液、および、綿実油、ゴマ油、ココナツ油またはピーナツ油のような食用油のフレーバー添加乳液、並びにエリキシルおよび同様の薬剤用ベヒクルである。水性懸濁液のための適当な分散剤または懸濁剤には、合成または天然のガム類、例えばトラガカント、アカシア、アルギネート、デキストラン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ポリビニルピロリドンまたはゼラチンが含まれる。

20

【0115】

本発明の医薬組成物の好ましい投与は鼻内経路によるものである。鼻内経路により医薬組成物を投与する何れかの知られた方法を用いて本発明の組成物を投与することができる。

【0116】

本明細書に記載した種々の疾患状態の治療においては、適当な用量水準は一日当たり約0.01～250mg/kg、好ましくは一日当たり約0.05～100mg/kg、そして特に一日当たり約0.05～20mg/kgである。組成物は一日当たり1～4回の用法で投与してよい。

30

【0117】

生物学的実施例

以下の試験プロトコルを用いて本発明の化合物の生物学的特性を確認する。

【0118】

第1の方法は検出可能な蛋白の発現を可能とする条件下で検出可能な蛋白をコードする遺伝子に作動可能に連結した外因性ヒトインターロイキン-4プロモーターの少なくとも100個の連続したヌクレオチドを有するベクターを含む細胞に化合物を添加すること、および、検出可能な蛋白を検出することを包含する。

40

【0119】

適当な検出可能な蛋白には、染色法のような標準的な実験室手法により測定できる蛋白、例えばβ-ガラクトシダーゼ、イムノアッセイによるもの、例えばFLAGタグ蛋白、ルミネセント蛋白、例えばルシフェラーゼまたはGFPを包含する。

【0120】

検出可能な蛋白の相対量は検出可能な蛋白のための適当な標準的な実験室手法、例えば免疫化学またはルミネセンスによる方法を用いて直接測定できる。或いは、検出可能な蛋白の相対量は検出可能な蛋白に相当するmRNAまたはcDNAの濃度を測定することによ

50

り間接的に測定できる。

【0121】

本発明の方法において使用する蛋白は内因的に検出可能な蛋白を発現しないことが好ましい。しかしながら、別の実施形態においては、試験条件は、化合物を細胞に添加した場合に内因性蛋白が発現されないように変更してよい。

【0122】

本発明の方法において使用する蛋白は細胞培養技術が可能な細胞である。適当な細胞の入手元はよく知られており、アメリカンタイプカルチャーコレクション（ATCC）および他のベンダーを含む。適当な細胞の例は、標準的な培養細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）、リンパ球、T細胞、ネイティブのT細胞、Th1細胞、Th2細胞、マクロファージまたは他の免疫系由来細胞を包含する。一般的にはヒトの細胞が好ましい。初代細胞もまた本発明において使用してよい。

10

【0123】

哺乳類細胞の使用がTh2サイトカイン1種以上を調節できる化合物の発見のための試験のセットアップにおいて好ましい。初代細胞の使用はこのような試験においてより好ましく、ヒト細胞の使用はこのような試験において特に好ましい。

【0124】

細胞は身体の何れの組織に由来のものであってもよいが、一般的に細胞は免疫系由来、例えばリンパ球、T細胞、ネイティブT細胞、Th1細胞、Th2細胞、マクロファージまたは他の免疫系由来細胞であることが好ましい。

20

【0125】

検出可能な蛋白は、例えばβ-ガラクトシダーゼ、FLAGタグ蛋白、ルシフェラーゼまたはGFPのような、上記した直接測定可能または検出可能な蛋白であってよい。或いは、検出可能な蛋白は、経路を開始する蛋白であって、その開始が検出可能であるような間接的に測定可能であってよい。後者の例は、発現が第2の遺伝子の検出可能なアップまたはダウンレギュレートされた転写を可能とする転写因子である。間接的に測定可能な蛋白は表現型の変化、例えばアポトーシスを包含してよい。

【0126】

本発明の1つの実施形態において、検出可能な蛋白の濃度を化合物の非存在下の検出可能な蛋白の濃度と比較する。

30

【0127】

本発明の別の実施形態においては、検出可能な蛋白の濃度は比較対照化合物の存在下の検出可能な蛋白の濃度と比較する。比較対照化合物はシクロスポリンA、FK-506ラパマイシンのようなTh2サイトカインの知られた調節物質であってよく、または、Th2サイトカインのこれまで知られていない調節物質であってよい。

【0128】

本発明のTh2サイトカインはIL-4、IL-5およびIL-13である。

【0129】

以下の生物学的実施例において、以下の略記法を用いる。

【0130】

40

Al(OH) ₃	水酸化アルミニウム
抗DNP	抗ジニトロフェニル抗体
抗OVA	抗オブアルブミン抗体
BALF	気管支肺胞洗浄液
CsA	シクロスポリンA
DMSO	ジメチルスルホキシド
DNP-KLH	ジニトロフェノールキーホルリンペットヘモシアニン
ED ₅₀	50%有効用量
ELISA	酵素結合免疫吸着試験
GFP	緑色蛍光蛋白

50

I C ₅₀	50%抑制濃度	
I F N-γ	インターフェロン-γ	
I g E	免疫グロブリン E	
I g G 1	免疫グロブリン G 1	
I g G 2 a	免疫グロブリン G 2 a	
I L-4	インターロイキン-4	
I L-5	インターロイキン-5	
I L-13	インターロイキン-13	
i. n.	鼻内	
i. p.	腹腔内	10
i. v.	静脈内	
L D ₅₀	50%致死用量	
N Y-1	N Y-T h 1 と名付けられた T h 1 細胞系統	
N Y-2	N Y-T h 2 と名付けられた T h 2 細胞系統	
P C ₄₀₀	ベースラインより 400%まで S R _L を増大させるカルバコール後の濃度	
p. o.	経口 (p e r o s)	
P H A	フィトヘマグルチニン	
R _L	肺における抵抗性 (肺の)	
S D	標準偏差	20
S E	標準誤差	
S E M	平均の標準誤差	
S T A T-6	シグナル伝達性転写因子-6	
S R _L	肺における特異的抵抗性	
s. c.	皮下	
T h	T ヘルパー	
T h 1	T-ヘルパー 1	
T h 2	T-ヘルパー 2	

【0131】

J u r k a t 細胞における I L-4 ルシフェラーゼ試験

30

I L-4 ルシフェラーゼ試験を用いて I L-4 転写の程度を調節する化合物をスクリーニングできる。遺伝子発現を転写調節するために有効であり、これにより細胞において発現される遺伝子にコードされる蛋白の濃度に影響する化合物のスクリーニングのために数種類のルシフェラーゼ試験が開発されている。例えば、転写試験法を用いて 11 塩基対の DNA 配列モチーフが T 細胞活性化シグナルに関わっているヒト I L-4 遺伝子に関与していることが明らかにされており、A b e, E., e t a l., P r o c. N a t l. A c a d. S c i. U S A, (1992), 89, 2864-2868 を参照できる。更にまた、J u r k a t T 細胞の c D N A 発現ライブラリをスクリーニングし、N F-I L-6 をコードする c D N A を単離することにより、核因子 I L-6 (N F-I L-6) が、T 細胞中のヒト I L-4 プロモーターの転写活性化に関与することが明らかにされており、D a v y d o v, I. V., e t a l., J. I m m u n o l., (1995), 155 (11), 5273-5279 を参照できる。

40

【0132】

他のプロモーター部位により T 細胞特異的発現への寄与はルシフェラーゼ遺伝子に連結した I L-13 プロモーターコンストラクトを用いた一過性発現試験において評価されており、これはまずコア結合因子 (C B F) 部位に着目し、これは T 細胞活性化の際にインビボでフットプリントされ、T a y l o r, D. S., e t a l., J. B i o l. C h e m., (1996), 271 (14), 14020-14027 を参照できる。近年、ヒト I L-4 プロモーターが I L-4 陽性 T 細胞中で異なる転写活性を示す複数の対立遺伝子型において存在することが報告されており、S o n g, Z. e t a l., J. I

50

mmunol., (1996), 156(2), 424-429を参照できる。より最近では、米国特許5,863,733号および5,976,793号が遺伝子発現を転写調節し、遺伝子発現調節因子として可能な物質を発見する方法を開示している。

【0133】

ヒトIL-4遺伝子プロモーターの単離：

IL-4遺伝子プロモーターのヌクレオチド-6635～+66を含む6.7kbのフラグメント(図4A～4E、配列番号1)を、IL-4特異的な5'末端バイアスのプローブを用いてBIO S Laboratories (New Haven, CT)より入手したヒトゲノムP1ライブラリ、クローンF0178から単離した(Arai et al., J. of Immunol., (1989), 142, 274-282)。プロモーターコンストラクトはそれぞれ5.5および1.2KBのEcoRI制限フラグメント2種をライゲーションすることにより作成した。HindIII制限部位を1.2KBのEcoRIフラグメントの3'末端に付加し、pGL3Neoのマルチクロニング領域の同様の部位にクロニングした。同様に、XhoI制限部位を5.5KBのEcoRIフラグメントの5'末端に付加し、pGL3Neo上のXhoI部位にクロニングした。IL-4プロモーターコンストラクトは配列決定により確認した。

【0134】

Jurkat細胞をRPMI 1640, Gibco/BRL、カタログ番号：11875-093; 10% FBS Gibco/BRL、カタログ番号：16000-096; 1%抗生物質/抗真菌剤、Gibco/BRL、カタログ番号：15240-096中で生育させ、Staynov et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1995), 92, 3606-3610のプロトコルに従って上記DNAでトランスフェクトし、800 μg/mlのG418 (Geneticin, Gibco/BRL、カタログ番号：10131-035)で選択した。モノクローナル系統1F7、F8およびC5を安定にトランスフェクトされたポリクローナル集団から限界希釈法により得て、試験に用いた。モノクローナル細胞系統は上記した培地中、400 μg/mlのG418の存在下で培養した。

【0135】

IL-4 6.7 Lu cモノクローナル系統を2日間100,000個/mlで播種された150cmの通気したTフラスコ中生育させた。細胞を採取し、新しい培地に再懸濁し、96穴プレート中120 μL容量中50,000個/ウェルの密度でプレーティングし、16時間生育させた。被験化合物を15 μL容量中3連または4連で培地中に添加した(DMSO集濃度0.5%中)。典型的には、用量応答曲線は3濃度(10、1および0.1 μM)または5濃度(10、1、0.1、0.01および0.001 μM)を用いて作成した。次に培養物を8時間25 μL中50 ng/mlのホルボール12-ミリスレート13-アセテート(PMA, Sigma、カタログ番号：P-8139); および1.0 μMカルシウムイオノフォア(A₂₃₁₈₇, Sigma、カタログ番号：C-7522)で刺激した。刺激過程は50 μLの1×細胞溶解緩衝液(25 mMトリスホスフェート、pH 7.8、2.0 mM DTT、2.0 mM EDTA、100 ml/Lグリセロール、1.0% Triton X-100 (v/v))の添加により停止させた。細胞を5分間細胞溶解緩衝液の存在下にインキュベートし、ピペッティング操作を5回繰り返すことにより完全に細胞溶解した。細胞溶解液のうち100 μLを白色ルミノメータープレート(Dynatech)に移し、Dynatechルミノメーターでルシフェラーゼ活性を測定した。基質であるルシフェラーゼ試薬(470 μMルシフェリン、530 μM ATP、270 μM補酵素Aおよび33.3 mM DTT)を2×ルシフェラーゼ試験緩衝液(20 mMトリシン、1.07 mM (MgCO₃)₄Mg(OH)₂·5H₂O、2.67 mM MgSO₄、0.1 mM EDTA、pH 7.8)中に溶解した。

【0136】

全実験プレートには非誘導および誘導された対照ウェルが包含されていた。更にCsA(シクロスポリンA, Sigmaカタログ番号：C-3662)を1、0.3、0.1、

10

20

30

40

50

0.03および0.01 μ Mの濃度で陽性対照としてプレート上で使用した。

【0137】

分析結果：5-6倍の誘導（非刺激に対する刺激の比率により決定）が6.7 IL-4-Lucにおいて観察された。試験により得られた結果は%活性として表示した。

(化合物存在下のルシフェラーゼ活性)-(非誘導の平均)/(誘導対照の平均)-(非誘導の平均) $\times 100$

【0138】

第1の試験においてはヒトJurkat細胞系統にトランスフェクトされたヒトIL-4プロモーターに連結したレポーター遺伝子、ルシフェラーゼの濃度を調節する化合物の能力の作用を測定した。この試験を用いて、250個の陽性化合物がIL-4の濃度を調節可能であることがわかった。

【0139】

別の試験を用いて更に他のTh2サイトカイン、例えばIL-13を調節する化合物の能力を検索するか、Th1サイトカイン、例えばIFN- γ を調節する化合物の能力を検索できる。

【0140】

表1において、IL-4、IL-13およびIFN- γ でトランスフェクトされたJurkat細胞の遺伝子発現に対する本発明の化合物の作用を示す。

【0141】

【表1】

表1：本発明の化合物によるJurkat細胞系統におけるIL-4およびIL-13遺伝子発現の抑制

化合物	6.7-IL-4-Luc (%対照)	2.1-IL-13-Luc (%対照)	2.7-IFN- γ -Luc (%対照)
3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドル-2-カルボン酸(実施例28)	62 $\pm$ 29	50 $\pm$ 12	100 $\pm$ 15
CsA (IC ₅₀ , μ M)	0.06 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.001	0.06 $\pm$ 0.001

【0142】

IFN- γ Luc 試験：

ヌクレオチド-3218~+128を含むヒトIFN- γ プロモーターフラグメントをpGL3NEO (Sst I/Hind III)にクローニングし、IFN- γ Lucを作成した。Jurkat細胞(RPMI1640、10%FBS、1%抗生物質/抗真菌剤中で生育)を上記DNAでトランスフェクトし(Staynov et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1995), 92, 3606-3610のプロトコルによる)し、800 μ g/mlのG418 (Geneticin)で選択した。モノクローナル系統を安定にトランスフェクトされたポリクローナル集団から分離し、試験に用いた。モノクローナル細胞系統は上記した培地中、400 μ g/mlのG418の存在下で培養した。

【0143】

2.3 IFN- γ Lucを含むJurkat (モノクローナル系統)をウェル当たり120 μ L中50,000個の密度でプレーティングし、16時間生育させた。次に培養物を培地10 μ L中10 ng/mlのホルボール12-ミリステート13-アセテート(PMA)および1.0 μ MのカルシウムイオノフォアA₂₃₁₈₇で8時間刺激した。刺激過程は50 μ Lの1 $\times$ 細胞溶解緩衝液(25 mMトリスホスフェート、pH 7.8、2.0 mM DTT、2.0 mM EDTA、100 ml/Lグリセロール、1.0% Triton X

ー100 (v/v))で停止させた。細胞を5分間細胞溶解緩衝液存在下にインキュベートし、ピペッティング操作を5回繰り返すことにより完全に細胞溶解した。細胞溶解液のうち100 μ Lを白色ルミノメータープレート (Dynatech)に移し、Dynatechルミノメーターでルシフェラーゼ活性を測定した。基質であるルシフェラーゼ試薬 (7.1mgルシフェリン、14.6mg ATP、10.4mg補酵素Aおよび250mg DTT、50ml容量中)を2 $\times$ ルシフェラーゼ試験緩衝液 (14.33gトリシン、2.07g (MgCO₃)₄Mg(OH)₂·5H₂O、2.63g MgSO₄、0.15g EDTA、水2L中、pHは7.8に調整)に溶解した。

【0144】

この試験を用いて化学物質ライブラリからアゴニストまたは拮抗剤をスクリーニングするために、化合物の所望の用量をPMA/A₂₃₁₈₇ミックスとともに直接添加した。

10

【0145】

20倍超の誘導 (非刺激に対する刺激の比により決定)がIFN- γ Lucで観察された。HTPSで得られた結果は所定の濃度 (viz.: 0.1 μ M、1 μ M、10 μ M)において対照のパーセントとして表示する。

参考文献: Staynov, D. Z., Cousins, D. J., and Lee, T. K., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1995), 92, 3606-3610.

【0146】

IL-13Luc試験

20

ヌクレオチド-2154~+53を含むヒトIL-13プロモーターフラグメント (Dulganov et al., Blood, (1996), 87, 3316-3326に記載)をpGL3NEO (KpNI/HindIII)にクローニングして2.1IL-13Lucを作成した。Jurkat細胞 (RPMI1640、10% FBS、1%抗生物質/抗真菌剤中で生育)を上記DNAでトランスフェクトし (Staynov et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1995), 92, 3606-3610のprotocolsによる)し、800 μ g/mlのG418 (Geneticin)で選択した。モノクローナル系統を安定にトランスフェクトされたポリクローナル集団から誘導し、試験に用いた。モノクローナル細胞系統は上記した培地中、400 μ g/mlのG418の存在下で培養した。

30

【0147】

2.1IL-13Lucを含むJurkat (モノクローナル系統)をウェル当たり120 μ L中50,000個の密度でプレティングし、16時間生育させた。次に培養物を培地10 μ L中10ng/mlのホルボール12-ミリスレート13-アセテート (PMA)および1.0 μ MのカルシウムイオノフォアA₂₃₁₈₇で8時間刺激した。刺激過程は50 μ Lの1 $\times$ 細胞溶解緩衝液 (25mMトリスホスフェート、pH7.8、2.0mMジチオスレイトール (DTT)、2.0mMエチレンジアミン4酢酸 (EDTA)、100ml/Lグリセロール、1.0% Triton X-100 (v/v))で停止させた。細胞を5分間細胞溶解緩衝液存在下にインキュベートし、ピペッティング操作を5回繰り返すことにより完全に細胞溶解した。細胞溶解液のうち100 μ Lを白色ルミノメータープレート (Dynatech)に移し、Dynatechルミノメーターでルシフェラーゼ活性を測定した。基質であるルシフェラーゼ試薬 (7.1mgルシフェリン、14.6mg ATP、10.4mg補酵素Aおよび250mg DTT、50ml容量中)を2 $\times$ ルシフェラーゼ試験緩衝液 (14.33gトリシン、2.07g (MgCO₃)₄Mg(OH)₂·5H₂O、2.63g MgSO₄、0.15g EDTA、水2L中、pHは7.8に調節)に溶解した。

40

【0148】

この試験を用いて化学物質ライブラリからアゴニストまたは拮抗剤をスクリーニングするために、化合物の所望の用量をPMA/A₂₃₁₈₇ミックスとともに直接添加した。

【0149】

50

15倍超の誘導（非刺激に対する刺激の比により決定）がIL-3Lucで観察された。ハイスループットスクリーニング（HTPS）で得られた結果は所定の濃度（viz. : 0.1 μ M、1 μ M、10 μ M）において対照のパーセントとして表示する。

参考文献：Staynov, D. Z., Cousins, D. J., and Lee, T. K., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, (1995), 92, 3606-3610。

【0150】

第2の方法では、検出可能な蛋白の発現を可能とする条件下、特定のIL-4蛋白中に検出可能なサイトカインを分泌する一次ヒト細胞に化合物を添加し、検出可能な蛋白を検出する。

【0151】

ヒト初代Th1およびTh2細胞の作成および使用：

本明細書に記載されている方法は、初代ヒト末梢血液細胞のTh1およびTh2細胞への分極、および、薬剤スクリーニングができるような十分大量のTh1およびTh2細胞、例えば数百万個の細胞の作成を可能とする。該略を述べれば、健常者ドナーのドナー末梢血液単核細胞から単離されたCD4⁺CD45RA⁺T細胞を抗CD3/CD28抗体および種々の成長因子の存在下に成育させ、これら2種の細胞型の既知サイトカインプロファイルにより決定されるTh1様またはTh2様の表現型の何れかを得た。初代ヒトTh1細胞はIFN- γ およびIL-2を分泌したが、初代ヒトTh2細胞はIL-4、IL-5、IL-3および酵素結合免疫吸着試験（ELISA）で測定可能な基礎量のIFN- γ を分泌した。

【0152】

ヒト血液からのTh1およびTh2細胞系統の作成および維持：

末梢血液単核細胞（PBMC）をFicoll-Hypaque（Pharmacia）によりヒト血液より調製した。細胞を2回Hanks平衡塩溶液（HBSS）中で洗浄し、計数した。

【0153】

ナイーブのT細胞（CD4⁺/CD45RA）を以下の抗体およびDynabeadsを用いて調製した。即ち、抗CD8、抗HLA-DR、（HLAとはヒト白血球抗原）抗CD14、抗CD16、抗CD19、抗CD45RO抗体（全てR&D Systemsより入手、1-2 μ g/ml）を細胞に添加し、細胞を30分間氷上に維持した。細胞を2回HBSSで洗浄し、ヤギ抗マウスIgビーズ（ビーズ：標的比、5：1）を添加した。細胞およびビーズを20分間4℃でゆっくり回転させた（Dynalのプロトコルに従う）。上澄みを除去し、新しいヤギ抗マウスIgビーズを上澄みに添加し、これを20分間4℃でゆっくり回転させた。細胞を計数し、フローサイトメトリー分析により表現型を特性づけた。典型的には、CD4⁺/CD45RA⁺細胞の陰性選択の純度は、96%であった。CD8⁺、CD14⁺、CD16⁺CD19⁺およびCD45RO⁺細胞の汚染は検出限界未満であった（<0.1%）。

【0154】

Th1/Th2細胞の作成：24穴プレートを300 μ Lの抗CD3Ab（10 μ g/ml、PBS中1~2時間、37℃、または、一夜4℃）でコーティングし、PBSで2回洗浄した。RPMI中10⁶個/mlの密度のCD4⁺/CD45RA⁺細胞を調製し、10%HyClone血清/グルタミンおよび1-2 μ g/ml抗CD28抗体を含有するRPMI培地に添加した。細胞を2分した。Th1細胞については抗IL-4抗体（1-2 μ g/ml）、IFN- γ （1 μ g/ml、または5000単位/ml）をウェルに添加した。Th2細胞については、IL-4（100-200 ng/ml）、抗IFN- γ 中和抗体（1-2 μ g/ml）、抗IL-12中和抗体（1-2 μ g/ml）をウェルに添加した。細胞を37℃で2~3日間インキュベートした。細胞を新しいウェルに移し、IL-2含有培地を一日おきに供給し、培養物を必要に応じて1：2または1：3に分割することにより2週間200単位/mlのIL-2中で生育させた。分極の程度はPa

r m i n g e n より入手した抗 I F N - γ および抗 I L - 4 抗体で細胞を細胞内染色し、そして、B e c t o n D i c k i n s o n (B D) のフローサイトメトリーを用いて製造元の説明書に従って測定した。細胞は以下に記載するとおり第 1 4 日および 2 8 日に P H A および同種抗原で刺激した。第 2 の同種刺激の 8 日後、細胞を用いて化合物のスクリーニングを行うか、または後の使用のために凍結した。化合物の試験のためには、所定のドナー (N Y T h 1 および N Y T h 2) に由来する大量の T h 1 および T h 2 細胞を増殖させ、液体窒素中、細分して凍結した。細胞は必要時に解凍して培養した。解凍した細胞は同種抗原 / P H A 複合物で刺激した。細胞は培養 8 ~ 1 0 日の後に化合物スクリーニングに用いた。

【 0 1 5 5 】

10

同種異系細胞による再刺激：同種抗原として使用するべきヒト P B M C を F i c o l l 分離により新しく採取した血液から単離した。細胞を $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ のマイトマイシン C を含有する培地中に再懸濁し、 37°C で 4 0 分間インキュベートし、次に十分洗浄して全てのマイトマイシン C を除去した。細胞を計数し、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の P H A および 200 単位 / ml の I L - 2 を含有する培地中終濃度 2×10^6 個 / ml まで希釈した。T h 1 または T h 2 細胞 (3×10^5 個 / ml) を 2 4 穴プレート中 1 : 1 の比で上記 P B M C と混合し、 37°C でインキュベートした。このようにして形成された細胞を典型的には 8 ~ 1 0 日後に化合物の試験に用いた。

【 0 1 5 6 】

化合物試験：

20

実験前日、9 6 穴の F a l c o n 組織培養プレート (F i s h e r S c i e n t i f i c) をウェル当たり 1 0 0 マイクロリットルのリン酸緩衝食塩水 (P B S) 中 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗 C D 3 (P h a r M i n g e n) 抗体でコーティングし、 4°C で保存した。

【 0 1 5 7 】

試験当日、抗 C D 3 抗体コーティングプレートを 1 回 P B S で洗浄し、可溶性の抗 C D 3 抗体を全て除去した。T 細胞を遠心分離し、I L - 2 を含有しない 1640 RPMI 細胞培養用培地 (G i b c o) で洗浄し、計数し、終濃度 1×10^6 個 / ml となるように再懸濁した。本発明の化合物の保存溶液 (10 mM 濃度) を 0.1% D M S O (ジメチルスルホキシド) 中 $10 \mu\text{M}$ の終濃度に希釈し、 IC_{50} 測定のために 7 段に渡る 3 倍希釈物を用いて滴定した。全ての化合物および対照を 3 連で試験した。対照ウェルは 0.25% エタノール、 0.1% D M S O、抗 C D 3 および抗 C D 2 8 刺激細胞 (陽性対照として使用) または未刺激の細胞 (陰性対照) の 3 連よりなるものとした。7 段に渡り滴定したエタノール中シクロスポリン A (C s A) ($1 \mu\text{M}$ 濃度) を各試験の第 1 のプレート内にプレート対照として含めた。同時刺激物質としての $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗 C D 2 8 抗体 (R & D S y s t e m s) を全ウェルに添加し、 1×10^5 個の 1 0 0 マイクロリットルを各ウェルにピペティングした。

30

【 0 1 5 8 】

細胞を $5\% \text{ CO}_2$ 雰囲気中 37°C でインキュベートした。4 8 時間後、E L I S A 試験のために上澄みを除去した。 $\%$ 対照は 3 連の平均 O D からバックグラウンドを差し引くことにより求め、対照の平均 O D マイナスバックグラウンドと比較し、即ち $(x \text{ 化合物 O D } - \text{バックグラウンド}) / (x \text{ 対照 O D } - \text{バックグラウンド}) \times 100$ I L - 5 (P h a r M i n g e n)、I L - 4 (R & D S y s t e m s)、I L - 1 3 (R & D S y s t e m s) および I F N - γ (R & D S y s t e m s) を E L I S A キットにより測定し、結果を $\%$ 対照として表示した。4 8 時間後、残余の細胞を用い、P r o m e g a より購入した非放射性 M T S A s s a y K i t を使用して「生存性試験」を行った。生存細胞は増殖を継続するため、結果は表中では「増殖」と表示した。(毒性化合物が T h 細胞の増殖を抑制した。)

40

【 0 1 5 9 】

表 2 において、本発明の化合物、3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸のヒト初代 T h 2 細胞に対する作用を示した。T h 2 細胞は方法の本発明

50

の化合物の非存在下または存在下、セクションに記載したとおり、抗CD3および抗CD28で活性化した。刺激後48時間に標準的ELISAによるサイトカイン測定のために上澄みを採取した、細胞数は更に20時間残余の細胞をインキュベートすることによりMTS Assay Kit (Promega) により測定した。3連の培養の標準偏差を示す。

【0160】

【表2】

表2：ヒトTh2細胞のサイトカイン発現および増殖に対する3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）の作用

μM	増殖 (%対照)		IL-5 (%対照)		IL-4 (%対照)		IFN- γ (%対照)		IL-13 (%対照)	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD
10	71.55	0.07	53.90	3.96	30.80	4.95	75.00	10.32	68.40	4.10
3	72.05	0.64	70.40	0.00	36.40	0.00	83.50	7.07	73.40	0.71
1	77.25	1.06	70.70	2.12	42.55	2.90	89.25	5.30	75.15	1.77
0.3	80.60	3.68	70.80	7.21	45.00	0.00	92.10	2.26	80.60	0.00
0.1	86.70	1.84	78.60	5.37	59.75	1.77	91.75	0.21	82.30	0.85
0.03	85.05	6.86	85.20	0.00	65.30	0.00	91.60	2.97	86.40	0.00
0.01	89.50	8.34	102.45	3.46	102.15	3.61	96.90	1.70	91.05	1.91

【0161】

表3においては10種の異なる実験から得た複合データを示す。Th2細胞は上記した通り活性化した。標準偏差は15%未満であり、従って記載しなかった。対照として非選択性のサイトカイン阻害剤CsAを使用した。本発明の化合物3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸はIL-4を選択的に抑制したが、IFN- γ および細胞増殖は抑制しなかったのに対し、CsAはIL-4、IFN- γ および細胞増殖を抑制した。

【0162】

【表3】

表3：ヒトTh2細胞に対する3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）の作用のまとめ

下記を投与されたヒト 初代Th2細胞:	IL-4 IC ₅₀ (μM)	IL-13 IC ₅₀ (μM)	IL-5 IC ₅₀ (μM)	IFN- γ IC ₅₀ (μM)	ProI. IC ₅₀ (μM)	IFN- γ / IL-4 比
3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (n=10)	0.24	≈ 10	≈ 10	>10	>10	> 41
シクロスポリンA (CsA) (n=25)	0.006	0.008	0.008	0.008		1.0

【0163】

表4において本発明の化合物である3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸のヒト初代NYTh1細胞に対する作用を示す。NYTh1細胞は表1および2に記載するとおり抗CD3および抗CD28で活性化した。全て3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸を用いた8種の異なる実験から得られたデータを合わせた。標準偏差は15%未満であり、従って記載しなかった。非特異的免疫抑制剤であるCsAを対照として使用した。これらの実験は本発明の化合物がTh1細胞に対して作用を有さないことを示している。

【0164】

【表4】

10

表4：ヒトTh1細胞に対する3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）の作用のまとめ

<u>下記を投与されたヒト初代 Th1細胞</u>	IFN- γ IC ₅₀ (μ M)	増殖 IC ₅₀ (μ M)	IFN- γ / IL-4 比
3-(4-ピリジニルアミノ)- 1H-インドール-2-カルボ ン酸 (n=8)	>10	>10	—
シクロスポリンA	0.006	0.005	1.0

20

【0165】

表5においてヒト初代Th2細胞に対する3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸の数種の緊密な類縁体の作用を示す。細胞は本発明の化合物の非存在下または存在下に方法のセクションに記載したとおり抗CD3および抗CD28で活性化し、結果はIC₅₀として μ M単位で示した。標準偏差は15%未満であり、従って記載しなかった。これよりわかるとおり、本発明の種々の化合物はIL-4の発現を選択的に抑制し、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸と同様の選択性の特徴を有する。

30

【0166】

【表 5】

表 5：本発明の化合物の活性および選択性の特徴のまとめ

	IL-4 IC ₅₀	増殖 IC ₅₀	IL-5 IC ₅₀	IFN- γ IC ₅₀	IL-13 IC ₅₀
化合物番号	μ M	μ M	μ M	μ M	μ M
実施例11	>10	>10	>10	>10	>10
実施例24A	2.0	>10	>10	>10	>10
実施例28 (マレエート塩)	0.24	>10	>10	>10	~10
実施例76	4.0	>10	>10	>10	>10
実施例77	3.6	>10	>10	>10	>10
実施例78	0.3	>10	>10	>10	>10
実施例79	5.0	>10	>10	>10	>10
実施例80	6.0	>10	>10	>10	>10
実施例81	6.0	>10	7.0	9.5	>10
実施例82	0.15	>10	>10	>10	>10
実施例83	1.0	>10	>10	>10	>10
実施例84	1.0	>10	>10	>10	>10
実施例85	0.9	>10	>10	>10	>10
実施例86	1.0	>10	>10	>10	>10
実施例87	0.6	>10	2.0	>10	>10
実施例88	2.5	>10	>10	>10	>10
実施例89	2.5	4.0	8	>10	>10
実施例90	1.0	>10	>10	>10	>10
実施例91	1.0	>10	>10	>10	>10
実施例92	0.45	>10	>10	>10	>10

【0167】

表 6 において定常状態の IL-4 mRNA 濃度に対する 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸の作用を示す。ヒト Th2 細胞を 18 時間、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸の 10 μ M 溶液または 100 nM シクロスポリン A (CsA) の存在下、抗 CD3 および抗 CD28 で活性化した (方法に記載の通り)。RNA は採取した細胞から単離し、Taqman により IL-4 メッセージについて分析した。GAPDH メッセージを標準化のための内標準として使用した。% 活性は非薬剤投与の抗 CD3 および抗 CD28 刺激 Th2 細胞の数値を 100 % と

して計算した。表6は2つの独立した実験から得たデータをまとめたものである。第2の実験において、IL-4蛋白濃度は前記したとおり培養上澄み中の標準的ELISAによっても測定した。結果は3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸が初代ヒトT細胞においてIL-4 mRNAを抑制することを示している。

【0168】

【表6】

表6： ヒトTh2IL-4転写試験

ヒト初代Th2細胞の18時間処置	RNA Exp #1	RNA Exp #2	IL-4蛋白 Exp #2
	% 活性	% 活性	pg/ml
未刺激	6	24	3.2+/-0.0
刺激: CD3/CD28	100	100	625.0+/- 23
刺激: CD3/CD28+ 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例28)	44	45	286.2+/- 19
刺激: CD3/CD28+ シクロスポリンA	12	ND	ND

ND - 測定せず。

【0169】

本発明において利用する第3の試験はインビトロ細胞毒性試験を含む。この試験は接触抑制された非分裂の3T3線維芽細胞に対する本発明の毒性活性を評価するために化合物を更に特徴づけるものである。他の毒性試験も使用してよい。

【0170】

3T3線維芽細胞を殺傷する化合物はいずれもその後の試験から除外した。

【0171】

接触抑制されたSwiss3T3線維芽細胞はATCCより購入した。細胞は10%ウシ胎児血清(Gibco)を添加した1640RPMI中に維持培養した。

【0172】

試験当日、細胞をトリプシン処理によりフラスコから脱着させ、培地で洗浄し、計数した。ウェル当たり 2.5×10^4 個含む100マイクロリットルをFalconブランドの96穴組織培養プレートにいれ、細胞を2日間、または、コンフルエントとなるまで5%CO₂中37℃でインキュベートした。

【0173】

試験第2日に、培地75マイクロリットルを各ウェルに添加し、10~0.01μMの範囲の濃度で被験化合物25μLを添加した。全ての化合物の希釈物は3連で試験した。対照群には10μMメトトレキセート(Sigma)、10μMアクチノマイシンD(Sigma)および10μMシクロスポリンA(Sigma)を含めた。細胞は2日間インキュベートに戻した。

【0174】

2日間インキュベートの後、3T3細胞の生存性をMTS Assay Kit(Promega)を使用して調べた。培地をブランクウェルに添加することによりバックグラウンドを計算した。キット試薬中2日間インキュベートした後、各化合物および対照について490nmにおける光学密度をプレートリーダーで測定した。

【0175】

結果は%毒性、即ち、（化合物ウェルの平均OD－バックグラウンドOD）／（対照群の平均OD－バックグラウンド）として表示した。

【0176】

臨床使用されている薬剤を本試験において対照として使用してよく、そして、3T3細胞に対して作用がないと推定される薬剤が包含され、例えばステロイド、シクロスポリンA、メトトレキセート等、または、知られた毒性作用を有する薬剤、例えばアクチノマイシンDが挙げられる。

【0177】

表7において、静止期の3T3細胞の生存性に対する3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸および特定の既知標準化合物の作用を示す。予測されたとおりアクチノマイシンDは非分裂細胞の生存性に影響した唯一の化合物であった。CsAの初期濃度は1μMであったことに留意しなければならない。3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸はこれらの細胞に対して毒性作用を示さなかった（本発明の種々の他の化合物も本試験において陰性であった）。

【0178】

【表7】

表7： 3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸
（実施例28）のインビトロ細胞毒性の欠如

化合物 μM	培地 %対照	実施例28 %対照	アクチノマ イシンD %対照	メトトレ キセート %対照	デキサメ タゾン %対照	シクロス ポリンA %対照
10	100	99.1	16.8	92.4	60.5	99.8
3	100	109.7	29.7	93.8	60.7	103.0
0.1	100	110.7	28.2	98.9	64.2	104.0
0.03	100	111.1	33.9	100.0	67.8	105.0
0.01	100	111.8	67.2	102.8	71.6	105.5
0.003	100	1116.3	74.9	105.2	77.9	114.4
0.001	100	124.0	79.0	113.2	100.0	121.0

【0179】

インビボの実験

インビボの免疫学的試験または疾患モデルを用いてTh2サイトカイン濃度を調節する化合物の能力を更に特徴づけてよい。このような試験は当該分野でよく知られており、多くのプロトコルが公開されている。以下に記載するものはTh2サイトカイン濃度を調節する化合物の能力を更に特徴づけ、これによりIL-4抑制の効力を明らかにするために使用してよいインビボの試験の例である。

特段の記載が無い限り、以下のインビボの実験の全てにおいて、3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）のマレエート塩を使用した。

【0180】

インビボオブアルブミン（OVA）マウスモデル：

本モデルはCharles River Laboratoriesより入手した感作Balb/cマウスにおける抗原誘導肺炎細胞の蓄積を調節する被験物質の能力を測定するために設計されている。マウスには到着日から2週間後に感作した。

【0181】

感作および負荷

第0、7、14日に、各動物に0.2mlのオブアルブミンヒドラゲル溶液を腹腔内（i.p.）注射した。各動物にはヒドラゲル、即ち2%酸化アルミニウム含有水酸化アルミニウム吸着ゲル0.2ml中のオブアルブミン10μgを与えた。第21日に、5%オブアルブミンエアロゾル負荷の30～60分前に動物に被験化合物を添加した。第22日に、BALF試料を1動物群から採取し、サイトカイン分析のために使用した。第24日に、BALFを第2の動物群から採取し、細胞分画の計数に用いた。

方法および実験デザイン

試験系：各々体重約20～25グラムの約6～9週齢の雌性Bab1/cJマウス（Jackson Laboratories）を一群当たり10匹に分割した。

10

【0182】

馴化／検疫：マウス到着後、その全身状態を獣医スタッフまたは適当な担当者のメンバーにより評価した。実験前、動物を最低7日間飼育することにより実験室環境に馴化させ、感染症の発症がないかどうか観察した。本試験での使用について許容できないと考えられる動物は全て、同じ入手元の同じ齢および同じ体重の動物と交換した。

【0183】

動物の飼育：全動物ともUSDAガイドラインを遵守して飼育した（群および個体）。動物室の環境は目標条件、即ち温度18～26℃、相対湿度30～70%、人工照明12時間および消灯12時間に制御した。温度および相対湿度は毎日モニタリングした。

【0184】

20

全動物にHarlan Teklad Rodent Diet^(R)を自由摂取させるか、または、他の許容できる実験室用食餌を与え、毎日確認し、必要に応じて追加または交換した。給餌器は汚染、ブリッジングおよび散乱を低減するように設計した。水は自由摂取させた。

【0185】

感作方法：マウスは第0、7および14日に0.2mlの滅菌食塩水中4mgの水酸化アルミニウムAl(OH)₃ゲル懸濁液と混合した10μgオブアルブミン（OVA）の腹腔内注射により感作した。この懸濁液は各マウスへの腹腔内注射の1時間前に調製した。動物は第21日にOVA負荷可能とした。

【0186】

30

抗原負荷：第21日に動物をエアロゾル化したOVA（滅菌食塩水中5%w/v）に20分間曝露した。エアロゾルは動物の入った小型のPlexiglas^(R)チャンバーに出口が連結しているPARI-Masterネブライザーにより発生させた。気管支肺洗浄は第22日に行った。

【0187】

試験実施の方法：第24日、エアロゾルOVA曝露後72時間に、別の群の動物をウレタン（0.15～0.2gm/kg）麻酔し、気管を曝露し、挿管した。肺を0.1%EDTA含有のCa²⁺およびMg²⁺非含有のHank's平衡塩溶液（HBSS；Gibco、Grand Island、NY）2×0.5mlで洗浄した。洗浄液を30秒後穏やかな吸引により採取し、各動物についてプールした。試料を5℃で15分間2000rpmで遠心分離した。遠心分離の後、個々の上澄みを-80℃で凍結保存した。得られたペレットを0.1%EDTA含有HBSS0.5ml中に再懸濁した。総細胞および好酸球をそれぞれTechnicon H1およびサイトスライドを用いて測定した。

40

【0188】

被験物質／対照物質の投与：被験物質および溶媒の投与調製物をOVA負荷の30～60分前に200μlのピペットを用いて各麻酔マウス鼻内に1回投与した。各動物には各時点において50μl（25μl／鼻腔）を投与した。

安楽死法：生存終了時のウレタン過剰投与。

【0189】

統計学的分析：種々の投与群の総細胞数および好酸球数をANOVA次いで多重比較試

50

験により比較した。

【0190】

マウス実験の結果を表8に示す。化合物はOVA感作マウスにおいてエアロゾルオプアルブミン負荷30分前に投与した。BALFはエアロゾル負荷24時間後に採取した。N = 6/群とした。3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸は用量依存的にBALF中のIL-4およびIL-13の濃度の両方を有意に抑制した。

【0191】

【表8】

表8：マウスにおけるインビボ抗原誘導肺炎症。気管支肺胞洗浄液（BALF）サイトカインに対する3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）の作用。

化合物	用量 (mg/kg) (鼻内)	IL-4 pg/ml (± SEM)	IL-13 pg/ml (± SEM)
溶媒	—	1220.4 ± 207.7	120.2 ± 19.8
シクロスポリンA	30	144.4 ± 35.7	15.9 ± 2.4
実施例28	30	123.9 ± 48.7	15.1 ± 7.1
実施例28	10	414.3 ± 115.5	59.9 ± 12.7
実施例28	3	835.1 ± 40.4	ND

pg =ピコグラム；ND -測定せず

【0192】

図1はBALFサイトカインに加えて肺好酸球も測定した（3つのうちの）1つの代表的実験の結果をまとめたものである。マウス（群当たり12匹）を0、7および14日に50 μg/mlのオプアルブミンを含有するAl(OH)₃ヒドロゲル懸濁液（2% Al(OH)₃）0.2 mlで感作した。第21日に、マウスに種々の用量の3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）、即ち3、10および30 mg/kgを5%オプアルブミン（OVA）の20分負荷の30分前に投与した。グルココルチコイドであるブデゾニド（10 mg/kg）を対照として含めた。全化合物とも0.5%メチルセルロース/0.2%ツイーン80中で鼻内（50 μl）に投与した。24時間OVA負荷後、マウスを気管支肺胞洗浄に付し、BALF中のIL-4およびIL-13の濃度をELISAにより測定した。別の群のマウスは気管支肺胞洗浄（投与後72時間）に付し、好酸球数を測定した（*p<0.05、**p<0.01）。図1に示すとおり3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）は各サイトカインにつき約10 mg/kgのED₅₀でBALF中のアレルゲン誘導IL-4およびIL-13の濃度を有意に抑制した。3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸はインビトロではIL-13の比較的劣った抑制剤であったが、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸はインビボではIL-4とほぼ同様にIL-13を抑制した。

【0193】

表9はBALF中のOVA誘導IL-4および好酸球増多症に対する3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）および種々の本発明の化合物の作用をまとめたものである。化合物は特段の記載が無い限りOVA負荷の30分前に鼻内投与した（30 mg/kg）。BALFはOVA負荷24時間後に採取し、サイトカイン濃度は標準的なELISAで測定した。平行したセットの動物から、48時間に

BALを採取し、好酸球数を測定した。マレエート塩、メタンスルホン酸塩（EF、実験番号146）およびカリウム塩（ZD、実験番号146）を含む3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸の種々の塩を表9にまとめるとおり試験した。

【0194】

【表9】

表9：マウスにおけるインビボのアレルゲン誘導肺炎症：3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）の種々の塩および類縁体のインビボの作用のまとめ。

実験番号	化合物番号	経路	用量 (mg/kg)	IL-4%対照 24時間	Eos%対照 72時間
109	実施例24A (マレエート塩)	i. n.	30	3	8
130	実施例24A (マレエート塩)	i. p.	12	50	
140	実施例28 (マレエート塩)	i. n.	12	50	実施せず
146	実施例28 (マレエート塩)	i. n.	10	57	53
146	実施例28 (マレエート塩)	i. n.	30	34	28
146	実施例28-EF	i. n.	30	27	42
146	実施例28-ZD	i. n.	30	49.6	37.4
115	実施例28 (マレエート塩)	i. p.	30	43	実施せず
109	実施例90	i. n.	30	37	71

i. n. = 鼻内；i. p. = 腹腔内；およびp. o. = *per os*（経口）

【0195】

表10はマウスにおけるOVA誘導IGEに対する3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸の作用をまとめたものである。雌性マウス（5～8週齢、Balb/c、Charles River）を本試験に使用した。オブアルブミン（Sigma）を水酸化アルミニウム吸着ゲルInterに吸着させ、実験第0日および第7日に10μg/0.2ml/マウスを腹腔内注射した。デキサメタゾン（Sigma）および3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）を10%HPCD（ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン、Aldrich）に添加した。デキサメタゾン（10mg/kg）、3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸（実施例28）（3および10mg/kg）および10%HPCD（0.2ml/マウス）を第6日～第14日まで1日1回マウスに腹腔内注射した。第15日に放血させた。血清オブアルブミン特異的IGE濃度をアルカリホスファターゼ標識ヤギ抗マウスIGE抗体を用いて標準的なELISAにより測定した。抗OVA力価は被験血清の連続希釈を行い溶媒対照と比較することにより測定した。

【0196】

【表 10】

表 10 : マウスにおける 3- (4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) によるアレルゲン特異的 IgE 抗体の抑制

投与	抗OVA IgE	SE
溶媒	150.8	52.9
デキサメタゾン	27.4	9.4
実施例 28 (3mg/kg)	41.8	8.5
実施例 28 (10mg/kg)	45.6	15.7

10

【0197】

OVA 誘導肺炎症に対する 3- (4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸の作用をラットにおいても試験した。ラットモデルは前述したマウスモデルと極めて類似していた。該略を述べれば、Haczku et al. 2 より記載された肺炎症モデルを多少の変更を加えて使用した (Haczku A., et al., Immunology, (1996), 88, 247-251)。体重 160~200g の雄性 Brown Norway ラットを第 1, 2 および 3 日にオブアルブミン (1mg) および Al(OH)₃ (100mg) を含有する懸濁液 1ml の腹腔内注射により感作した。3 週間後、ラットに溶媒または薬剤を腹腔内注射により投与した。1 時間後、1 リットル/分のキャリア空気流量で DeVilbiss (Ultra-NEB^(R) 99) ネブライザーに連結した 10 リットルの Plexiglas チャンバー中 20 分間オブアルブミン吸入 (1% 溶液、滅菌食塩水中 10mg/ml) で負荷した。

20

【0198】

オブアルブミン感作および負荷した Brown Norway ラットの気管支肺胞液中への好酸球流入に対する 3- (4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸の用量応答試験の結果を図 2 に棒グラフで示した。単回投与のシクロスポリン A (CsA) およびデキサメタゾン (Dex) もまた比較対照標準物質として含めた。腹腔内注射により投与された 3- (4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸は 10.07mg/kg の ED₅₀ で用量依存的に好酸球の流入を抑制した。

30

【0199】

マウスにおける体液性免疫のインビボモデル

本試験の目的は B 細胞が抗体を生成することを調節する T ヘルパー細胞に依存していることがわかっている正常な抗体応答に対して IL-4 抑制剤が作用を有するかどうかを調べることであった。このモデルはマウスにおけるその一般的免疫抑制活性に対する 3- (4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸の作用を示す。

【0200】

体重約 20~25 グラム、5~8 週齢の雌性 Balb/c マウスを用いた。各実験で 30 匹を用いた。

40

【0201】

マウスの免疫化：

免疫化のための抗原はキーホールリンペットヘモシアニン (KLH) にコンジュゲートした 2, 4-ジニトロフェニル (DNP) または 2, 4, 6-トリニトロフェニルとした。抗原 (100 μg/マウス) をアジュバント (コロイド状水酸化アルミニウム) に吸着させ、総容量 0.2~0.3 ml で動物に腹腔内投与した。免疫応答の作成のための本明細書に記載した方法は他の研究者等の用いた方法と同様である (例えば Wilder, J. A., et al., J. Immunol., (1996), 156, 146-152; および Leenaars et al., Immunology, (1997), 90

50

， 3 3 7－3 4 3 参照）。

【0202】

プロトコルおよび化合物の投与：

動物は無作為に各々6匹の5群に分割した。群1は陽性対照群、群2、3および4は被験化合物群、そして、群5は溶媒対照群である。化合物はi. n.、i. p.、p. o.、s. c.、i. m. またはi. v. で投与した。一般的に、本発明の化合物は免疫化の1または2日前から始めて免疫後7日までマウスに毎日投与した。免疫8日後に、マウスを麻酔（イソフラン）下に心臓穿刺により放血させ、血清試料を抗体分析に必要となるまで－20℃で保存した。麻酔した動物は実験終了時にナトリウムペントバルビタールの過剰投与により安楽死させた。データの統計学的分析はANOVAを用いて実施した。

10

【0203】

表11に示した結果はインビボの3－（4－ピリジニルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸のTh2サイトカイン選択性を示している。マウスをハプテン担体コンジュゲートDNP－KLHで免疫化し、そして、抗DNP抗体濃度を上記した通りアイソタイプ特異的方法で測定した。3－（4－ピリジニルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸の投与によりIgG1抗DNP抗体濃度（部分的にTh2、IL－4依存性）の顕著な低下が起こったが、IgG2a抗体濃度（Th1、IFN－γ依存性）には有意な影響は観察されなかった。本試験において10mg/kgで対照として使用したCsAはIgG2aおよびIgG1抗体の両方を完全に抑制した。

20

【0204】

【表11】

表11：抗ハプテン抗体の種々のアイソタイプに対する3－（4－ピリジニルアミノ）－1H－インドール－2－カルボン酸（実施例28）の異なる作用

動物番号	IgG2a 抗 DNP 抗体力価		IgG1 抗 DNP 抗体力価	
	溶媒	実施例 28	溶媒	実施例 28
1	31.40	30.59	123.14	72.42
2	30.64	38.60	149.30	185.22
3	38.46	14.09	205.93	19.83
4	24.21	17.45	236.97	40.19
5	27.64	30.21	158.70	83.11
6	-	27.98	132.12	37.83
平均+/-SE	30.47 +/- 2.37	26.49 +/- 3.72	167.69 +/- 18.19	73.10 +/- 24.38
抑制	-	13%	-	56.5%

30

【0205】

ヒツジ喘息モデル：

以下のインビボモデルはTh2サイトカイン、特にIL－4を調節することのできる化合物が肺機能を改善しインビボの肺抵抗性を低減することが可能であることを示すものである。以下の肺機能試験はAbrahamにより以前に報告されたとおり、Ascaris suum、に対してアレルギー性であるヒツジにおいて実施した（Abraham, W. M., “Sheep Models of Allergic Bronchoconstriction” in “Allergy and Allergic Diseases,” Kay, A. B., Ed. Blackwell Science-Oxford, (1997), 1045－1055）。本試験において使用したヒツジはAscaris suum抽出液による吸入負荷の後、カルバコールに対して早期および遅発

40

50

性の応答および気道応答性亢進を以前に示している。該略を述べれば、経肺圧、肺抵抗性 (R_L)、特異的肺抵抗性 (SR_L)、気道反応亢進、気道応答性を測定した。

【0206】

方法

動物の準備：全動物は *Ascaris suum* 抗原による吸入負荷への早期および遅発性の気道応答の両方を示していた。静脈血液試料 (〜5 ml) を末梢脚部静脈または頸静脈より採取し、薬物動態データ用とした。

【0207】

気道力学の測定：非鎮静化ヒツジを頭部を固定しながら腹臥位でカート内に拘束した。2%リドカイン溶液を鼻部に通過させて局所麻酔した後、バルーンカテーテルを鼻腔の一方から下部食道内に侵入させた。ガイドとして可撓性の光ファイバー気管支鏡を用いてもう一方の鼻腔からカフ付き気管内チューブを用いて動物をインキュベートした。(気管内チューブのカフは気道力学の測定のため、およびエアロゾル負荷の間のみ膨大化することにより不必要な不快感を防止した。この操作法は気道力学には影響しなかった。胸膜圧力は胃食道連結部から5〜10 cmに位置する食道バルーンカテーテル (空気1 ml 充填) を用いて測定した。この位置において、呼気末期の胸膜圧は $-2 \sim -5 \text{ cmH}_2\text{O}$ の範囲であった。バルーンを設置した後、実験の期間中その位置に存続するように固定した。気管の外側圧力は気管内チューブの先端を通過して遠位に位置づけたサイドホールカテーテル (内径2.5 mm) を用いて測定した。経肺圧、即ち、気管および胸膜の圧力差は圧力差トランスデューサーカテーテルシステムを用いて測定した。肺圧力 (R_L) の測定のためには、気管内チューブの近位の末端を呼吸タコメーター (Fleisch, Dyna Sciences, Blue Bell, PA) に連結した。シグナルのフローおよび経肺圧は、経肺圧、呼吸量 (デジタル積分で得られる) およびフローからの R_L のオンライン計算のためのコンピューターに連結されたオシロスコープレコーダー上で記録した。5〜10呼吸の分析を用いて R_L の測定を行った。 R_L の測定の直後、胸部ガス容量 (V_{tg}) を一定容量身体プレチスモグラフにおいて測定し、比肺抵抗 ($SR_L = R_L \cdot V_{tg}$) を $\text{L} \times \text{cm H}_2\text{O} / \text{LPS}$ 単位で求めた。

【0208】

エアロゾルデリバリーシステム：*Ascaris suum* 抽出液のエアロゾル (リン酸塩緩衝食塩水で20:1に希釈; 82,000 PNU/ml) は7段階 Andersen カスケードインパクトを用いて測定した場合に3.2 μm の質量メジアン空気力学的直径を有するエアロゾルを発生させる使い捨ての医療用ネブライザー (Raindrop^R, Puritan Bennett) を用いて発生させた。ネブライザーからの出力は、Harvard呼吸器の吸入ポートに一端を連結したプラスチックtピース内に導入した。エアロゾルデリバリーを良好に制御するために、ソレノイドバルブおよび圧縮空気源 (20 psi) よりなる線量計を1秒間Harvard呼吸器システムの吸入サイクルの開始時に駆動させた。エアロゾルは1回換気量500 ml、分当たり20呼吸の速度で20分間供給した。各ヒツジは対照および薬剤試験において抗原の等しい用量 (400呼吸) で負荷した。カルバコールエアロゾルもまた上記したネブライザーシステムにより発生させた。

【0209】

吸入カルバコールの用量応答曲線：カルバコール用量応答曲線のために、 SR_L の測定を緩衝液吸入直後およびカルバコール溶液の漸増濃度 (0.25%, 0.5%, 1.0%, 2.0% および 4.0% w/v) の10呼吸の各投与後に反復した。気道応答性を評価するために、後緩衝値 (post-buffer value) を400%超過して SR_L を増大させる呼吸単位 (BU) 中の累積カルバコール用量 (即ち PC_{400}) を用量応答曲線から計算した。1呼吸単位は1% w/v カルバコール溶液の1呼吸として定義される。

【0210】

実験プロトコル

エアロゾルカルバコールに対するベースライン用量応答を抗原負荷1〜3日前に得た。

少なくとも2週間の間隔で比肺抵抗 (SR_L) のベースライン値を求め、次にヒツジに食塩水 (対照) または薬剤 ($NaOH$ /食塩水中、被験化合物 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) 3mg の用量) を抗原負荷 30 分前に投与した。これらの試験の場合、化合物 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) をエアロゾルにより投与した。次にヒツジを *Ascaris suum* 抗原で負荷した。 SR_L の測定値は負荷直後、負荷後 1~6 時間は毎時、そして負荷後 6 1/2~8 時間は 30 分間おきに得た。 SR_L の測定値を抗原負荷 24 時間後に求め、その後は 24 時間負荷後カルバコール用量応答曲線とした。この初回試験においては、薬剤試験は動物のこれまでの対照データと比較した。

【0211】

10

3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) の評価のために、 SR_L のベースライン値を求め、次にヒツジに溶媒または薬剤 (3mg/kg) を $PEG 400$ 溶媒中のエアロゾルとして投与した。 SR_L を再測定し、そして、投与 30 分後、動物を *Ascaris suum* 抗原を含有するエアロゾルにより負荷した。 SR_L の測定値は負荷直後、負荷後 1~6 時間は毎時、そして負荷後 6.5~8 時間は 30 分間おきに得た。

【0212】

図 3 に示した結果は群当たり 2 匹のヒツジの平均土標準偏差を示す。図 3A は抗原誘導の早期および遅発性の気管支応答に対する 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) の作用を示す。3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) (3mg/kg) はエアロゾルとして抗原負荷の 30 分前に投与した。これは比肺抵抗 (SR_L) の急性期の増大に影響しなかったが、対照と比較して遅発性の応答をブロックした。

20

【0213】

図 3B は負荷後の気道の応答性に対する 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) の作用を示す。対照試験において、 PC_{400} (SR_L を 400% 増大させるカルバコールの量) は抗原負荷後に低下した (即ちヒツジは過剰応答性となった)。3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) の投与はこの作用を防止した。全ての値は 2 匹のヒツジの平均土 SE である。応答はこれまでの対照値 (対照) および溶媒対照と比較した。

30

【0214】

本発明を使用した化合物の以下の実施例により更に説明するが、これらは例示を目的としており、本発明の範囲を全く制限しない。

【0215】

実施例 (一般)

特徴づけに使用した一般的分析手法：以下に示す多くの分析手法を用いて本発明の方法において使用した化合物を特徴づけた。

【0216】

「真空下に濃縮、または、ロータリーエバポレーターに付す」という表現は KNF ネブライザーダイアフラムポンプを用いて 20~60°C および 15~30 torr で *Buchi* 装置を用いたロータリーエバポレーター処理を指す。室温は「rt」と略記する。

40

【0217】

分取用逆相 $HPLC$ は *Dynamax C18* カラム (60 Å 球状、13 μm 粒子) を用いて *Rainin SD1* 装置上で実施した。移動層はアセトニトリル/緩衝液混合物よりなり、緩衝液は実験操作法において記載した比の蒸留水、アセトニトリルおよびトリフルオロ酢酸 (TFA) よりなるものとした。

【0218】

$^1H NMR$ スペクトルは *Varian Gemini 300*、*Unity 300*、*Unity 400* または *Unity 500* スペクトル分析器上で記録し、化学シフト (δ) は比較対照物質としてのテトラメチルシラン (0.00 ppm) またはクロロホルム (7.26 ppm) を用いて測定した。

50

26 ppm) に対する相対 ppm として報告した。シグナルは s (一重線)、d (二重線)、t (三重線)、q (四重線)、p (五重線)、m (多重線)、br (ブロード) と示した。

【0219】

シリカゲル上のクロマトグラフィー (フラッシュ) 精製は予備充填された Isco または Biotage のカートリッジ (32-63 μ m, 60 Å) を用いて行った。

【0220】

質量スペクトル (MS) はメタンを用いた 120 eV の化学イオン化 (CI, 120 eV) により Finnigan MAT Model TSQ 700 の質量スペクトルシステム上で求めた。 $(M^+ + 1)$ と示したプロトン化分子イオンをカッコ内に示した。

10

【0221】

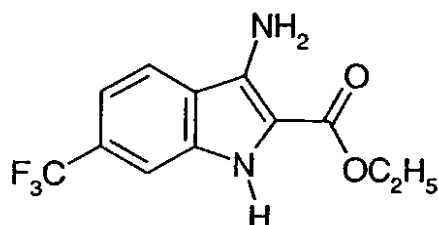
液体クロマトグラフィー/質量スペクトル分析 (LC/MS) : HPLC : カラム : 50 $\times$ 4.6 mm、Hypersil BDS C18 3 μ m。移動相 : A = 0.05 % トリフルオロ酢酸含有水、B = 0.05 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル、流速 = 1.0 ml / 分、勾配 5 % B ~ 100 % B を 3 分、100 % のまま 2 分保持。質量スペクトル分析 : Lcrt API LC / 直角飛行時間質量スペクトル分析および Masslynx データシステム、Micromass 製。イオン化モード : 電子スプレー (ESI)、線源温度 = 120 $^{\circ}$ C、脱溶媒和温度 = 250 $^{\circ}$ C、円錐電圧 = 25 ボルト、獲得質量範囲 m/z は 145 ~ 1000。値はプロトン化された分子イオン ($M^+ + 1$) について測定した。

20

【0222】

実施例 1

【化 30】



30

スキーム A、工程 A1 : 3-アミノ-6-トリフルオロメチル-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

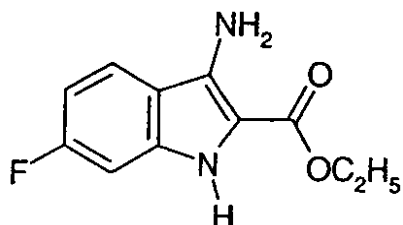
窒素下、2-フルオロ-4-(トリフルオロメチル)ベンズニトリル (1.0 g、5.29 ミリモル)、塩酸エチルグリシネート (886 mg、6.3 ミリモル)、炭酸カリウム (1.46 g、6.3 ミリモル) および 1-メチル-2-ピロリジノン (20 mL) の混合物を 115-120 $^{\circ}$ C で攪拌加熱した。6 時間後、カリウム t-ブトキシド (700 mg、6.2 ミリモル) を添加し、そして、2 時間周囲温度で攪拌した。氷/水中に投入してクエンチングし、水性混合物をエーテルで抽出し、抽出液を水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過して真空下に濃縮し、粗生成物を得た。溶離剤としてジクロロメタンを用いて粗生成物をシリカゲル (10 g、Sepack カートリッジ) 上のクロマトグラフィーに付し、標題化合物 332 mg (23 %) を得た。米国特許 5,189,054 に開示されている化合物と TLC (シリカゲル、ジクロロメタン) 上で同一。

40

【0223】

実施例 2

【化 3 1】



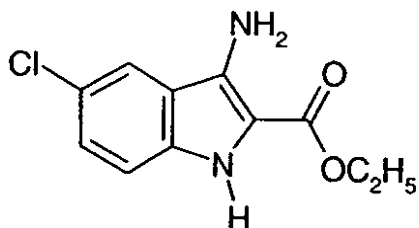
スキーム A、工程 A 1： 3-アミノ-6-フルオロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

窒素下、2, 4-ジフルオロベンゾニトリル (1.14 g、8.2 ミリモル)、塩酸エチルグリシネート (1.5 mg、10.7 ミリモル)、炭酸カリウム (3.4 g、24.6 ミリモル) および 1-メチル-2-ピロリジノン (20 mL) の混合物を攪拌加熱した。2 時間後、反応混合物を 40 °C に冷却し、カリウム t-ブトキシド (300 mg、2.7 ミリモル) を添加した。反応混合物を 1 時間攪拌し、次に更にカリウム t-ブトキシド (500 mg、4.4 ミリモル) を添加した。一夜室温に冷却し、反応混合物を氷上に注ぎ込んだ。水を添加して反応フラスコ中の固体を溶解し、そして、反応クエンチングに添加した。沈殿した茶色個体を濾過し、濾液を酢酸エチルで抽出した。抽出液を水 (2×)、塩水で洗浄し、硫酸マグネシウム上に乾燥した。濾過して真空下に濃縮し、得られた残存物をジクロロメタンで磨砕し、固体を得た。固体を収集し、濾液を濃縮し、個体を溶離剤としてジクロロメタンを用いたシリカゲル (10 g、Sepac k カートリッジ) 上のクロマトグラフィーに付した。適切な画分を収集して濃縮し、固体を得た。前に収集された固体とあわせ、標題化合物 136.7 mg (7.5 %) を得た：MS 223 (M+H)。

【0224】

実施例 3

【化 3 2】



スキーム B： 3-アミノ-5-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

【0225】

工程 B 1： 2-アミノ-N-t-ブチル-5-クロロベンズアミド

ジクロロメタン (12 mL) 中の 2-アミノ-5-クロロ安息香酸 (1.21 g、10 ミリモル) および N-ヒドロキシスクシンイミド (1.38 g、12 ミリモル) の溶液を 0 °C で攪拌冷却した。ジクロロメタン中のジシクロヘキシルカルボジイミドの 1 M 溶液 (12 mL、12 ミリモル) を滴加し、そして、1 時間 0 °C で攪拌した。t-ブチルアミン (1.74 g、23.79 ミリモル) をシリンジで添加し、そして、一夜周囲温度で攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を水性重炭酸ナトリウムで洗浄した。有機層を Mg SO₄ で乾燥し、4 % 酢酸エチル/ジクロロメタンを溶離剤とするシリカゲル上のクロマトグラフィーに付し、標題化合物 1.74 g を得た：MS 227 (M+H)、融点 126-127 °C。

【0226】

工程 B 2： N-(4-クロロ-2-シアノフェニル)-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド

10

20

30

40

50

ジクロロメタン (200 mL) 中 2-アミノ-N-tert-ブチル-5-クロロベンズアミド (5.07 g、22.36 ミリモル) の溶液を 0℃ で攪拌冷却し、そして無水トリフルオロ酢酸を滴加した。一夜周囲温度で攪拌し、減圧下に濃縮した。クロロホルムと水性重炭酸ナトリウムとの間に分配し、有機層を収集した。抽出液を MgSO_4 で乾燥し、濾過し、溶媒を蒸発させた。残存物をヘプタンで磨砕し、白色個体を収集し、標題化合物 4.80 g (82%) を得た。: MS 249 (M+H)、融点 105–107℃。

【0227】

工程 B3: (4-クロロ-2-シアノフェニル)-(2,2,2-トリフルオロエタノイル)アミノ-酢酸エチルエステル

窒素下、ジメチルホルムアミド (50 mL) 中の N-(4-クロロ-2-シアノフェニル)-(2,2,2-トリフルオロアセトアミド (4.80 g、19.31 ミリモル) の溶液を 0℃ で攪拌冷却し、NaH (0.7 g、29.1 ミリモル) を添加した。周囲温度で 1 時間反応混合物を攪拌し、プロモ酢酸エチル (4.3 mL、38.77 ミリモル) をシリンジを用いて添加した。一夜 50℃ で攪拌し、次に反応混合物を水性塩化アンモニウム-酢酸エチルに注ぎ込んだ。有機層を塩水 (2×) で洗浄し、 MgSO_4 上に乾燥し、濾過し、蒸発させ、油状物を得た。油状物をクロマトグラフィーに付し、20% 酢酸エチル/ヘプタン次いで 30% 酢酸エチル/ヘプタンで溶離剤した。適切な画分を濃縮し、固体 6.0 g を得た。MS 335 (M+H)、融点 71–73℃。

【0228】

工程 B4: 3-アミノ-5-クロロ-1-(2,2,2-トリフルオロエタノイル)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

窒素下、テトラヒドロフラン (20 mL) 中の [(4-クロロ-2-シアノフェニル)-(2,2,2-トリフルオロエタノイル)アミノ]-酢酸エチルエステル (93.34 g、10 ミリモル) の溶液を 0℃ で攪拌冷却し、そして、テトラヒドロフラン中のカリウムtert-ブトキシドの 1M 溶液 (12 mL、12 ミリモル) を滴加した。2 時間周囲温度で反応混合物を攪拌し、次に、水性塩化アンモニウム/酢酸エチルの間に分配した。有機層を分離し、 MgSO_4 上に乾燥し、濾過し、濃縮し、固体とした。固体をヘプタンで磨砕し、固体を濾過し、風乾し、標題化合物 2.86 g (86%) を得た: MS 335 (M+H)、融点 249–251℃。

【0229】

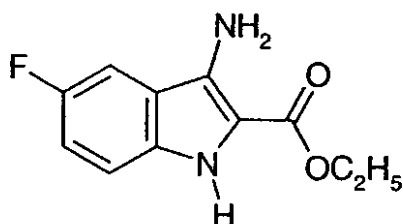
工程 B5: 3-アミノ-5-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

3-アミノ-5-クロロ-1-(2,2,2-トリフルオロエタノイル)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル (3.34 g、10 ミリモル)、エタノール (50 mL) および炭酸カリウム (1.50 g、10.85 ミリモル) の混合物を 70℃ で加熱攪拌した。1.75 時間後、水 (20 mL) を添加し、更に 1 時間の後、更に炭酸カリウム (0.58 g、4.20 ミリモル) を添加した。周囲温度に反応混合物を冷却し、水/酢酸エチルに分配した。有機層を分離し、 MgSO_4 上に乾燥し、濾過し、濃縮し、固体として標題化合物 1.70 g を得た。MS 239 (M+H)。

【0230】

実施例 4

【化 33】



スキーム B: 3-アミノ-5-フルオロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチル

エステル

【0231】

工程B1： 2-アミノ-N-tert-ブチル-5-フルオロベンズアミド

ジクロロメタン（200 mL）中の2-アミノ-5-フルオロ安息香酸（7.75 g、50ミリモル）、N-ヒドロキシスクシンイミド（6.9 g、60ミリモル）およびジメチルアミノピリジン（1.0 g）の溶液を0℃で攪拌冷却した。ジクロロメタン中のジシクロヘキシルカルボジイミドの1 M溶液（60 mL、60ミリモル）を滴加し、1時間0℃で攪拌した。tert-ブチルアミン（20 mL、190.3ミリモル）をシリンジで添加し、更に3時間0℃、次に一夜周囲温度で攪拌した。シリカゲルパッドに注ぎ込み、5%酢酸エチル/ジクロロメタンで溶離した。同様の画分を合わせ、濃縮し、粗製の固体を得た。固体をヘプタンで磨砕し、濾過し、標題化合物7.7 g（73%）を得た：MS 211（M+H）、融点77-78℃。

10

【0232】

工程B2-B5： 3-アミノ-5-フルオロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

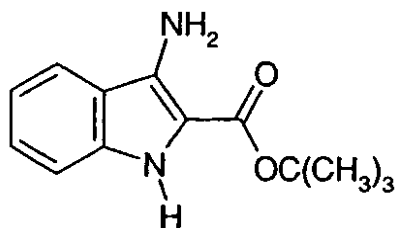
実施例3（工程B2-B5）の操作法に従い、3-アミノ-5-フルオロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステルを得た：MS 223（M+H）、TLC（シリカゲル、4%酢酸エチル/ジクロロメタン） $R_f = 0.50$ 。

【0233】

実施例5

【化34】

20



スキームB、工程B3-B5： 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸、tert-ブチルエステル

30

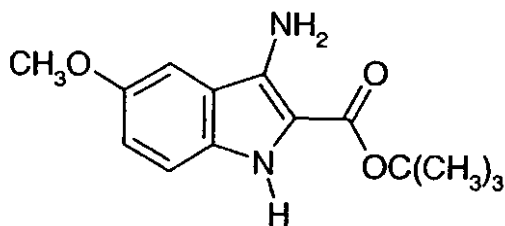
実施例3（工程B3-B5）の操作法に従ったが、原料をN-(2-シアノフェニル)-2,2,2-トリフルオロアセトアミド（合成はJ. Fluorine Chem. 1981, 18, (2)、185-95に記載）およびプロモ酢酸tert-ブチルとし、標題化合物を得た：MS 310（M+H）、TLC（シリカゲル、ジクロロメタン/メタノール、7:1） $R_f = 0.38$ 。

【0234】

実施例6

【化35】

40



スキームB、工程B1-B5： 3-アミノ-5-メトキシ-1H-インドール-2-カルボン酸、tert-ブチルエステル

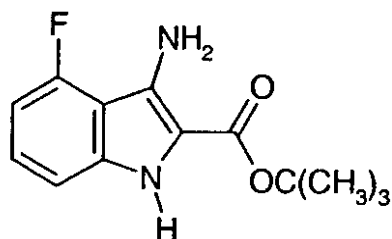
実施例3の操作法に従ったが、原料として2-アミノ-5-メトキシ安息香酸を用い、そして、工程B3において、プロモ酢酸tert-ブチルをプロモ酢酸エチルの代わりに用い、標題化合物を得た：MS 263（M+H）、融点146-147℃。

50

【0235】

実施例7

【化36】



10

スキームB、 工程B3-B5： 3-アミノ-4-フルオロ-1H-インドール-2-カルボン酸、tertブチルエステル

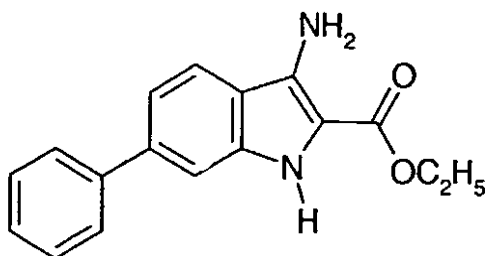
実施例5の操作法に従ったが、原料として3-フルオロ-N-(2-シアノフェニル)-2,2,2-トリフルオロアセトアミド(合成はJ. Fluorine Chem. 1981, 18, (2)、185-95に記載)およびブromo酢酸tertブチルを用いて標題化合物を得た：MS251 (M+H)、TLC(シリカゲル、ジクロロメタン/メタノール、7:1) $R_f=0.38$ 。

【0236】

実施例8

【化37】

20



スキームC： 3-アミノ-6-フェニル-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

30

【0237】

工程C1： N-(5-クロロ-2-シアノフェニル)アセトアミド

2-アミノ-4-クロロベンズニトリル(20.0g、131ミリモル)および無水酢酸(80mL)の混合物を40分間スチームバス上で加熱した。水(300mL)を添加し、1時間攪拌した。得られた固体を濾過し、これを水で洗浄し、40℃で真空下に乾燥し、生成物22.9gを得た。試料12.8gをエタノール-酢酸エチルから再結晶して標題化合物9.83gを得た：MS195 (M+H)、TLC(シリカゲル、酢酸エチル/ヘプタン1:1) $R_f=0.38$ 。

【0238】

工程C2： N-(2-シアノフェニル-5-フェニル)アセトアミド

40

N-(5-クロロ-2-シアノフェニル)-アセトアミド(0.389g、2.0ミリモル)、フェニル硼酸(0.366g、3.0ミリモル)、酢酸パラジウム(II)(8.8mg)、2-(ジシクロヘキシルホスフィノ)ビフェニル(28.0mg)、フッ化カリウム(0.348g、5.99ミリモル)およびテトラヒドロフラン(5mL)の混合物を一夜周囲温度で攪拌した。反応混合物を炭酸カリウム(30mL)の水溶液に注ぎ込み、そして、酢酸エチル(2×25mL)で抽出した。抽出液を合わせ、水および塩水で洗浄した。MgSO₄上に乾燥し、真空下に濃縮し、固体を得た。固体をエーテルで磨砕し、オフホワイトの粉末として標題化合物0.365g(77%)を収集した：MS237 (M+H)、融点168-170℃。

【0239】

50

工程 C 3 : 3-アミノ-1-(エタノイル)-6-フェニル-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

1-メチル-2-ピロリジノン (150 mL) 中の N-(2シアノフェニル-5-フェニル) アセトアミド (15.0 g、63.5 ミリモル) の溶液を 4℃ に冷却し、テトラヒドロフラン中のカリウム t-ブトキシドの 1 M 溶液 (77.0 mL、77.0 ミリモル) を滴加した。30 分間 0℃ で反応混合物をエージングし、次にブromo酢酸エチル (12.0 g、72.1 ミリモル) を添加した。一夜室温で攪拌し、水 (600 mL) 中に反応混合物を入れてクエンチングした。水性の混合物をエーテル (3×300 mL) で抽出し、抽出液を合わせ、抽出液を水および塩水で洗浄し、MgSO₄ 上に乾燥した。抽出液を濾過し、真空下に濃縮し、暗色の油状物 20.6 g を得た。Waters Prep Pak シリカゲルカートリッジ (500 g) 上のクロマトグラフィーに付し、酢酸エチル/ジクロロメタンの段階的勾配 5%、10% および 20% でそれぞれ溶離した。出発物質を含有する画分を濃縮し、黄色固体を得た。固体をエーテルで磨砕し、濾過し、白色固体 2.61 g を得た。

【0240】

上記画分の濾液と生成物を含有するクロマトグラフィーの画分を合わせ、濃縮し、暗色油状物 16.2 g を得た。油状物を Waters Prep Pak シリカゲルカートリッジ上のクロマトグラフィーに付し、酢酸エチル/ジクロロメタンの段階的勾配 2%、5% および 10% でそれぞれ溶離した。同様の画分を合わせ、濃縮し、標題化合物 7.33 g を得た：MS 323 (M+H)、TLC (シリカゲル、20% 酢酸エチル/ジクロロメタン) R_f = 0.67。

【0241】

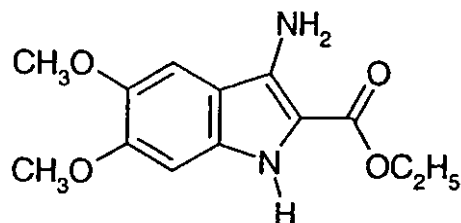
工程 C 4 : 3-アミノ-6-フェニル-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

3-アミノ-1-(エタノイル)-6-フェニル-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル (7.3 g、22.6 ミリモル)、20% 水性炭酸カリウム (100 mL) およびエタノール (100 mL) の混合物を 1.75 時間還流した。反応混合物を一夜周囲温度に放置し、水 (500 mL) で希釈した。0℃ に冷却し、紫色の固体を収集した。固体を水で洗浄し、真空下に 40℃ で乾燥し、紫色固体 5.7 g を得た。固体をジクロロメタン (40 mL) で磨砕し、固体をジクロロメタンおよび酢酸エチルで洗浄し、次に、真空下に 40℃ で乾燥し、固体として標題化合物 2.5 g を得た：ESI/MS 281 (M+H)、HPLC : R_t = 1.83 分、融点 181–183℃。

【0242】

実施例 9

【化 38】



スキーム D : 3-アミノ-5,6-ジメトキシ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

【0243】

工程 D 1 : (2-シアノ-4,5-ジメトキシフェニルアミノ)-酢酸エチルエステル
窒素下、エタノール (50 mL) 中に 2-アミノ-4,5-ジメトキシベンズニトリル (2.0 g、12.25 ミリモル) を懸濁し、そして、重炭酸ナトリウム (3.09 g、36.78 ミリモル) を 1 回で添加した。シリンジを用いて、ゆっくりブromo酢酸エチル (2.72 mL、24.5 ミリモル)、次にヨウ化ナトリウム (10 mg) を添加した。

反応混合物を 65℃ で加熱し、次に周囲温度に冷却した。得られた固体を濾過し、酢酸エチルで洗浄し、有機物を溶解した。濾液を濃縮し、標題化合物 0.66 g (23%) を得た； MS 265 (M+H)。

【0244】

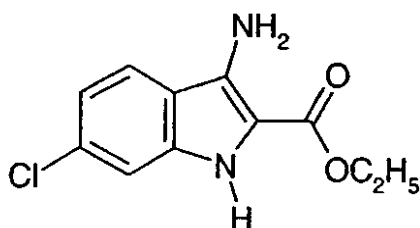
工程 D2： 3-アミノ-5,6-ジメトキシ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

窒素下テトラヒドロフラン (6 mL) 中の (2-シアノ-4,5-ジメトキシフェニルアミノ)-酢酸エチルエステル (0.124 g, 0.47 ミリモル) の溶液を攪拌し、そして、テトラヒドロフラン中 1 M のカリウム t-ブトキシド (0.66 mL, 0.66 ミリモル) を滴加した。周囲温度で 1 時間攪拌し、氷/水中に注ぎ込んだ。酢酸エチルで抽出し、MgSO₄ 上に乾燥し、濾過して真空下に濃縮し、固体とした。Sep Pak シリカゲルカートリッジ (2 g) 上のクロマトグラフィーに付し、ジクロロメタン次いで 2:1 ヘプタン-酢酸エチルで溶離した。同様の画分を合わせ、濃縮し、固体として標題化合物 61.9 mg (49%) を得た：MS 265 (M+H)。

【0245】

実施例 10

【化39】



スキーム D： 3-アミノ-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

【0246】

工程 D4： 3-アミノ-1-(エタノイル)-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

N-(5-クロロ-2-シアノフェニル)アセトアミド (実施例 8 参照, 1.0 g, 5.14 ミリモル) および THF (10 mL) の混合物を 0℃ で攪拌冷却し、そして、カリウム t-ブトキシド (6.2 mL, THF 中 1 M 溶液) を添加し、そして、0℃ で 30 分間攪拌した。プロモ酢酸エチル (0.6 mL) を 1 回で添加した。2 時間室温で攪拌した。水 (40 mL) で反応混合物をクエンチングし、次に酢酸エチルとともに攪拌した。層を分離させ、水層を酢酸エチルで再抽出した。有機抽出液を合わせ、水および塩水で洗浄した。MgSO₄ 上に乾燥し、そして減圧下に濃縮し、茶色固体を得た。固体をエーテルで磨砕し、ベージュ色の固体を収集した。固体を 2% 酢酸エチル/ジクロロメタンついで 10% 酢酸エチル/ジクロロメタンを用いたシリカゲル上のクロマトグラフィーに付し、ベージュ色の固体として標題化合物 0.65 g (45%) を得た：MS 281 (M+H)、HPLC：R_t=3.20 分間、TLC (シリカゲル、10% 酢酸エチル/ジクロロメタン) R_f=0.53。

【0247】

工程 D5： 3-アミノ-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸、エチルエステル

1 N エタノール性水酸化カリウム溶液 (100 mL) を 3-アミノ-1-(エタノイル)-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル (3.5 g, 12.5 ミリモル) に添加し、20 分間反応混合物を放置した。得られたスラリーを急速に攪拌視ながら 5℃ の水に注ぎ込んだ。0℃ で 10 分間エージングし、個体を収集し、水で洗浄し、真空下に 40℃ で乾燥し、標題化合物 2.42 g (81%) を得た：MS 239 (M+H)。

【0248】

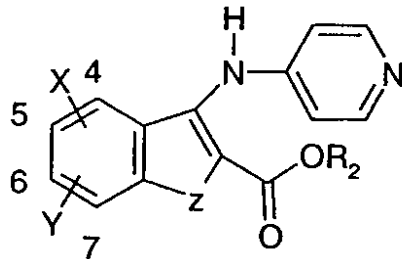
実施例11～22

スキームE、工程E1： 表12は本発明の3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エステルを示しており、これらは米国特許5,328,920に開示されている方法と同様にして合成できる。従って、1-メチル-2-ピロリジノン中の適切な3-アミノ-インドール-2-カルボキシレートと塩酸 4-クロロピリジンとの反応により所望の化合物が製造される。参照される操作法との反応時間および温度の違いは表に記載するとおりである。表13は相当する物理的特性を示す。

【0249】

【化40】

10



【0250】

【表12】

20

表12：反応条件

実施例	X	Y	Z	R	R ₂	温度℃	時間
11	H	H	NH	H	C ₂ H ₅	165°	6
12	6-CF ₃	H	NH	H	C ₂ H ₅	80	18
13	6-Cl	H	NH	H	C ₂ H ₅	100	5
14	5-Cl	H	NH	H	C ₂ H ₅	100	4.5
15	6-F	H	NH	H	C ₂ H ₅	80	d
16	5-F	H	NH	H	C ₂ H ₅	100	2
17	4-F	H	NH	H	C(CH ₃) ₃	75	16
18	6-フェニル	H	NH	H	C ₂ H ₅	100	d
19	H	H	NH	H	C(CH ₃) ₃	100	2
20	5-OCH ₃	6-OCH ₃	NH	H	C ₂ H ₅	80	6
21	5-OCH ₃	H	NH	H	C(CH ₃) ₃	80	3.5

30

d＝一夜、約16～20時間

40

【0251】

【表 1 3】

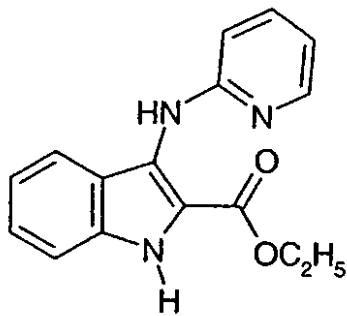
表 1 3 : 物理的特徴

実施例	MS (M+H)	保持時間 分 (HPLC)	融点°C
1 1	2 8 2		2 4 8 - 2 5 0
1 2	3 5 0		
1 3	3 1 6	1. 9 0	2 5 8 - 2 6 1 (d e c)
1 4	3 1 6		
1 5	3 0 0		
1 6	3 0 0		
1 7	3 2 8	1. 5 8	2 1 0 - 2 1 2
1 8	3 5 8		2 4 1 - 2 4 3
1 9	3 1 0		
2 0	3 4 2	1. 2 0	
2 1	3 4 0	1. 1 3	2 1 7 - 2 1 9

【 0 2 5 2 】

実施例 2 2

【化 4 1】



スキーム E、工程 E 1 : 3 - (2 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸、エチルエステル

エチル 3 - アミノインドール - 2 - カルボキシレート (2 5 0 m g 、 1 . 2 ミリモル) および 2 - ブロモピリジン (1 . 0 m L 、 1 0 ミリモル) の混合物を 1 5 0 ° C で 1 時間加熱した。反応混合物を冷却し、水性塩化アンモニウムと酢酸エチルとの間に分配した。有機層を分離し、濃縮し、粗製の混合物を得た。混合物をシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーに付し、2 5 % 酢酸エチル / ジクロロメタンで溶離し、標題化合物 5 0 m g を得た : M S 2 8 2 (M + H) 。

【 0 2 5 3 】

実施例 2 3

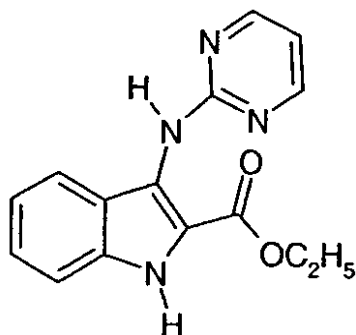
10

20

30

40

【化 4 2】



10

スキーム E、工程 E 1： 3-（ピリミジン-2-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

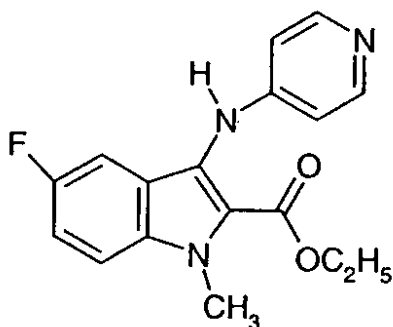
エチル 3-アミノインドール-2-カルボキシレート（204 mg、1.0 mmol）および 2-クロロピリミジン（1.2 g、10.5 mmol）の混合物を 100℃で 16 時間加熱した。反応混合物を冷却し、水性塩化アンモニウムおよび酢酸エチルを添加した。過剰の 2-クロロピリミジンを濾去し、有機層を分離し、MgSO₄上に乾燥し、濾過し、濃縮し、粗製の混合物を得た。混合物をシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーに付し、25%酢酸エチル/ジクロロメタンで溶離し、標題化合物 50 mg を得た：MS 283（M+H）、TLC（シリカゲル、25%酢酸エチル/ジクロロメタン）R_f= 0.44。

20

【0254】

実施例 24

【化 4 3】



30

スキーム F、工程 F 8： 5-フルオロ-1-メチル-3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

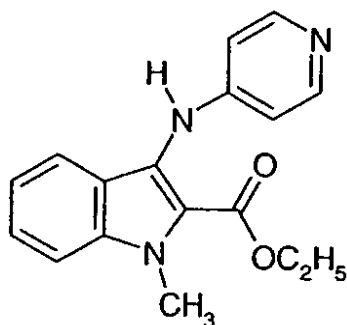
ジメチルホルムアミド（3.0 mL）中の 5-フルオロ-3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル（0.195 mg、0.65 mmol）の溶液を 0℃で攪拌し、そして、テトラヒドロフラン中 1M のカリウム t-ブトキシドの溶液（0.8 mL、0.8 mmol）を添加した。0℃で 0.5 時間攪拌し、ヨードメタン（0.05 mL、0.78 mmol）を添加した。1 時間後、飽和水性塩化アンモニウム溶液（5 mL）および酢酸エチル（10 mL）を添加した。層を分離させ、酢酸エチルで再度抽出した。有機層を合わせ、水（3×）、塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥した。抽出液を濃縮し、茶色固体として標題化合物 60 mg（30%）を得た：ESI/MS 314（M+H）；HPLC：R_t=1.50 分。

40

【0255】

実施例 24A

【化 4 4】



10

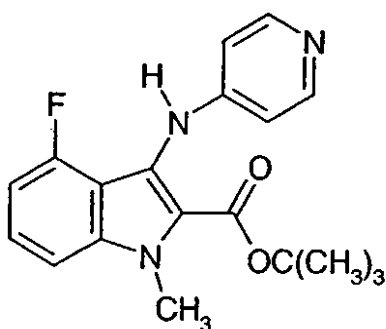
スキーム F、工程 F 8： 1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

実施例 2 4 の操作法を本実施例において本質的に反復したが、ただし、使用出発物質を 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステルとした。本化合物はまた、米国特許 5,328,920 に記載されている。本化合物のマレーエート塩は融点 169-170 °C (分解) を示す。

【0256】

実施例 2 5

【化 4 5】



20

スキーム F、工程 F 8： 4-フルオロ-1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸tertブチルエステル

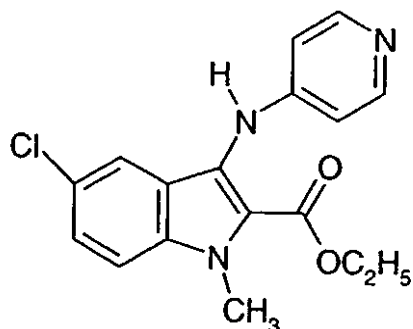
30

実施例 2 4 の操作法に従ったが、出発物質として 4-フルオロ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸tertブチルエステルを用い、テトラヒドロフランでジメチルホルムアミドを置き換え、標題化合物を得た：ESI/MS 342 (M+H)；HPLC：R_t=1.41 分。

【0257】

実施例 2 6

【化 4 6】



40

スキーム F、工程 F 8： 5-クロロ-1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

実施例 2 4 の操作法に従ったが、出発物質として 5-クロロ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステルを用い、標題化合物を得た：

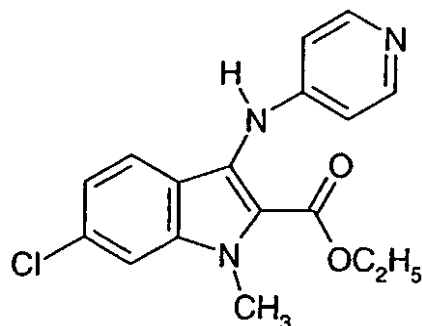
50

ESI/MS 330 (M+H) ; HPLC : $R_t = 1.58$ 分。

【0258】

実施例 27

【化 47】



10

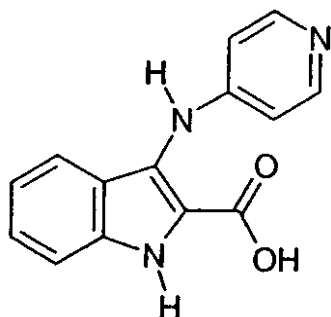
スキーム F、工程 F8 : 6-クロロ-1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

実施例 24 の操作法に従ったが、出発物質として 6-クロロ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステルを用い、標題化合物を得た : ESI/MS 330 (M+H) ; HPLC : $R_t = 1.64$ 分、融点 $154-155^{\circ}\text{C}$ 。

【0259】

実施例 28

【化 48】



30

スキーム G : 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸

【0260】

工程 G1 : (2-シアノフェニルアミノ) 酢酸エチルエステル

アントラニロニトリル 10.0 kg (84.6 mol)、ブromo酢酸エチル 21.2 kg (127.0 mol 、 1.5 等量)、 NaHCO_3 12.0 kg (143.0 mol 、 1.7 等量)、ヨウ化ナトリウム 10.0 g (触媒量) およびエタノール 33.0 L の混合物を 30 ガロンの反応器に入れた。反応混合物を窒素下 $78-80^{\circ}\text{C}$ に加熱して維持した。反応の進行のモニタリングは HPLC (カラム $150 \times 3.9\text{ mm}$ Waters Symmetry C18, $5\text{ }\mu\text{m}$; 移動相 60% アセトニトリル / 40% 水中 0.1% TFA ; 流速 1.0 mL/分 ; 波長 225 nm ; R_T : アントラニロニトリル 1.8 分間 (2-シアノフェニルアミノ) 酢酸エチルエステル 2.7 分間) で行った。典型的には、約 $40-44$ 時間で $70-72\%$ 変換を達成した。反応混合物を 60°C に冷却し、温時濾過して無機固体を除去した。フィルターケーキを 10.0 L の温 (70°C) エタノールで洗浄した。濾液を冷却し 4 時間 -20°C に保持した。形成した固体を濾去し、 6.0 L の冷 (-20°C) エタノールで洗浄し、風乾して標題化合物 11.02 kg 、 64.0% 収率を得た : HPLC 分析 100% 純度。

40

【0261】

工程 G2 : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

総量で 30.0 L のテトラヒドロフランを 30 ガロンの反応器に窒素下に添加した。総量で 4.0 kg (32.72 mol 、 1.045 等量) のカリウム t -ブトキシドを添加

50

した。20℃から25℃への発熱が観察された。混合物を20℃に冷却した。テトラヒドロフラン30.0L中総量で6.40kg (31.3mol) の(2-シアノフェニルアミノ) 酢酸エチルエステルを20~25℃で5時間かけて添加した。18時間20~23℃で反応混合物を攪拌した。反応の進行のモニタリングはHPLC (カラム-150×3.9mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-60%アセトニトリル/40%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル-1.5分間; (2-シアノフェニルアミノ) 酢酸エチルエステル-2.7分間) で行った。典型的には97%変換が達成された。混合物を30℃/50 torrで濃縮し、固体の残存物とした。総量で60.0Lの水を残存物に添加し、混合物を2時間23℃で攪拌した。固体を濾過し、水60.0Lで洗浄し、風乾した。24時間55℃で強制エアオープン中で更に固体を乾燥し、標題化合物4.45kg、69.5%収率を得た: HPLC分析79.2%純度。

10

【0262】

工程G3: 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

総量で4.0kg (19.56mol) の3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル、4.10kg (27.33mol、1.4等量) の塩酸4-クロロピリジンおよび8.0Lの1-メチル-2-ピロリジノンに30-ガロンの反応器に添加し、窒素下100℃に加熱した。反応の進行のモニタリングはHPLC (カラム-150×3.9mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-60%アセトニトリル/40%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル-1.5分間; 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル-6.0分間; 4-クロロピリジン-1.1分間) で行った。典型的には99%変換が1時間以内に達成された。混合物を20℃に放冷し、総量で55.0Lの水を添加した。混合物を総量20.0Lの酢酸エチルで抽出し、層を分離させた。水層のpHを25%水酸化ナトリウム溶液を用いてpH=9.3とした。形成した固体を濾過し、水45.0Lで洗浄し、風乾した。24時間50℃で強制エアオープン中で更に固体を乾燥し、標題化合物4.20kg、77%収率を得た: HPLC分析95.8%純度。

20

30

【0263】

工程G4: 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩

3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル7.50kg (26.66mol)、エタノール37.5Lおよび4MKOH37.5Lの混合物を30ガロンの反応器に添加し。30分間75℃に加熱した。反応の進行のモニタリングはHPLC (カラム-150×3.9mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-20%アセトニトリル/80%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩-3.3分間; 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル-6.0分間) で行った。典型的には3時間以内に100%変換を達成した。混合物を2時間かけて25℃に冷却し、50-60℃/50 torrで濃縮して残存物とした。総量で37.5Lの水を添加し、混合物を85℃に加熱して30分間維持した。混合物を2時間かけて10℃に冷却し、更に5℃に冷却して2時間保持した。

40

【0264】

形成した固体を濾過し、総量10Lの4MKOH溶液で洗浄し、風乾した。72時間35℃で強制エアオープン中で更に固体を乾燥し、標題化合物10.9kg、140%収率を得た: HPLC分析70.7%純度。

【0265】

工程G5: 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸

50

総量で10.9 kg (37.4 mol、エステル加水分解で140%収率)の3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩 および水75.0 Lを30ガロンのガラスライニング反応器に添加した。攪拌混合物を酢酸エチル75.0 L (3×25.0 L)で抽出した。20~22℃で6 N HClを7.0 L添加することにより水層のpHをpH=6.0に調整し、生成物の純度のモニタリングは、HPLC (カラム-150×3.9 mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-20%アセトニトリル/80%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225 nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸-3.3分間)で行った。混合物を45分間攪拌し、pHを測定したところpH=6.0であった。形成した固体を濾過し、総量50 Lの水で洗浄し、風乾した。24時間強制エアオープン中35℃で固体を更に乾燥し、3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸6.15 kg、65.5%収率を得た。HPLC分析によれば化合物は93.8%純度であった。総量6.15 kg (24.28 mol)の生成物、マレイン酸11.3 kg (97.35 mol、4.0等量)、メタノール62.0 Lおよび水6.2 Lを30ガロンの反応器に添加し、窒素下70℃に加熱して45分間保持した。1.5時間かけて30℃まで混合物を冷却し、60℃/50 torrで濃縮して湿潤した固体とした。総量20.0 LのIPAを添加し、混合物を60℃/50 torrで濃縮して固体とした。この操作を反復した。総量50.0 LのIPAを残存物に添加し、混合物を70℃に加熱して60分間維持し、次に、16時間16時間かけて20℃に冷却した。混合物を2℃に冷却し1時間維持した。生成物の純度のモニタリングはHPLC (カラム-150×3.9 mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-20%アセトニトリル/80%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225 nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸-3.3分間; マレイン酸-1.2分間)で行った。固体を濾過し、冷(5℃)IPA 10.0 Lで洗浄し強制エアオープン中35℃で乾燥し、3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸マレエート塩5.4 kg、60.6%収率を得たHPLC分析99.0%純度。

【0266】

総量7.9 kg (2回分で5.4 kg+2.5 kg)の3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸マレエート塩および50.0 Lの4 M KOHを30ガロンの反応器に添加し、70℃に加熱して保持した。70℃で混合物が均質になるまで総量12.0 Lのエタノールを添加した。混合物を2時間かけて20℃に冷却した。混合物を更に冷却し1時間4℃に維持した。生成物の純度のモニタリングはHPLC (カラム-150×3.9 mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-20%アセトニトリル/80%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225 nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩-3.3分間)で行った。固体を濾過し、4 M KOH (22.5%溶液) 10.0 Lで洗浄し、窒素下に乾燥し、3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩9.4 kg、151%収率を得た。HPLC分析97.4%純度。

【0267】

総量18.1 kg (2回分で9.4 kg+8.7 kg)の3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩および100.0 Lを30ガロンの反応器に添加した。混合物のpHを23~27℃で6 N HClを13.0 L添加することによりpH=5.95とした。22~25℃で1.5時間混合物を攪拌した。形成した固体を濾過し、水60.0 Lで洗浄した。生成物の純度のモニタリングはHPLC (カラム-150×3.9 mm Waters Symmetry C18、5ミクロン; 移動相-20%アセトニトリル/80%水中0.1% TFA; 流速-1.0 mL/分; 波長-225 nm; R_T : 3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸-3.3分間)を行った。固体を60℃/50 torrで乾燥し、標題化合物10.2 kg、41.1%収率を得た: HPLC分析98.4%純度。

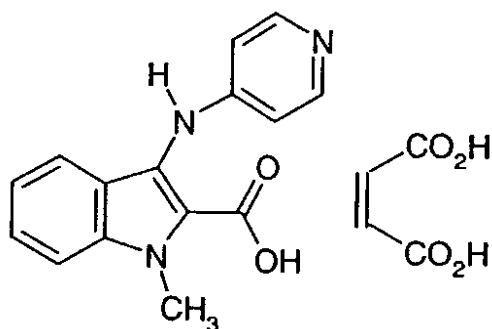
元素分析値: $C_{14}H_{11}N_3O_2 \cdot 1.21 H_2O$: 計算値: %C 61.15%; %H

4.91%; %N 15.28%. 測定値: %C 60.83%; %H 5.05%; %N 15.37%。

【0268】

実施例29

【化49】



10

塩形成: 1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸マレエート

窒素下、1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル（製造は実施例24Aに記載、米国特許5,328,920も参照、0.5g、1.69ミリモル）、水酸化リチウム水和物（0.106g、2.53ミリモル）および水-エタノール1:4の混合物を50℃で4時間攪拌した。エタノールの一部を除去し、反応混合物を一夜約5℃で保存した。得られた固体を濾過し、水で洗浄し、高真空下40℃で乾燥し、白色固体0.41gを得た。固体をメタノール中に懸濁しマレイン酸（0.346g）を添加し、0.5時間放置した。濾過し、濾液を濃縮し、黄褐色の固体を得た。メタノール/酢酸エチルから固体を再結晶させ、標題化合物0.19g（29%）を得た: MS 224（-CO₂, M+H）、融点192-194℃（分解）。

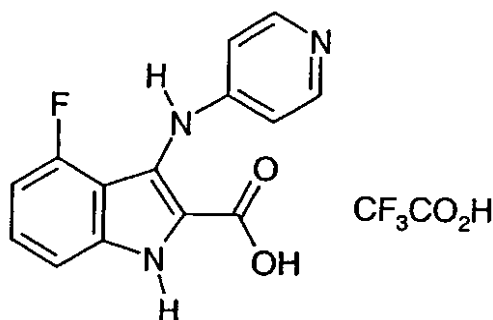
20

元素分析値: C₁₅H₁₃N₃O₂·C₄H₄O₄: 計算値: 59.53%C; 4.47%H; 10.96%N; 測定値: 59.47%C; 4.56%H; 10.86%N。

【0269】

実施例30

【化50】



30

スキームF、工程F3: 4-フルオロ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸トリフルオロアセテート塩

40

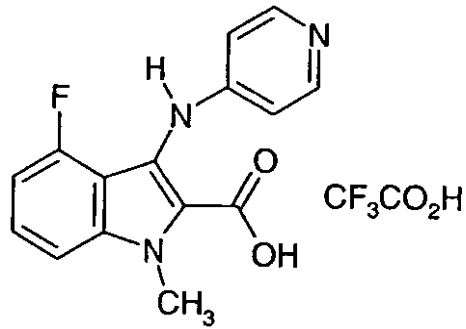
35%トリフルオロ酢酸/ジクロロメタン中の4-フルオロ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸t-ブチルエステル（実施例17、0.15g、0.458ミリモル）の溶液を3時間周囲温度で攪拌した。反応混合物を真空下に濃縮し、灰色の固体を得た。固体を真空下に40℃で乾燥し、次に熱酢酸エチルで磨砕した。周囲温度に戻し、明灰色の粉末を収集した。粉末を2時間真空下に45℃で乾燥し、標題化合物0.15g（88%）を得た: MS 272（M+H）、融点231-234℃（分解）。

【0270】

実施例31

50

【化 5 1】



10

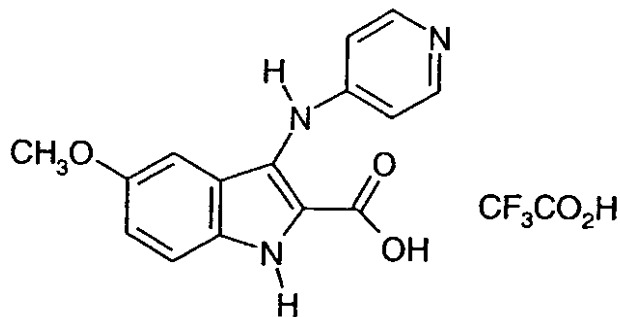
スキーム F、工程 F 3： 4-フルオロ-1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸トリフルオロアセテート塩

実施例 30 の操作法に従い、出発物質として 4-フルオロ-1-メチル-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル (実施例 25) を用いてオフホワイト粉末として標題化合物を得た：MS 286 (M+H)、融点 197-199℃。

【0271】

実施例 32

【化 5 2】



20

スキーム F、工程 F 3： 5-メトキシ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸トリフルオロアセテート塩

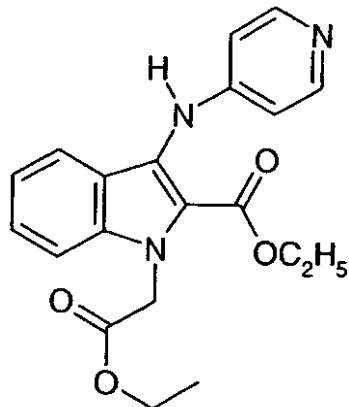
30

実施例 30 の操作法に従い、出発物質として 5-メトキシ-3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 t-ブチルエステル (実施例 21) を用い、オフホワイトの粉末として標題化合物を得た：ESI/MS 284 (M+H)、融点 211-213℃。

【0272】

実施例 33

【化 5 3】



40

スキーム F、工程 F 8： 1-エトキシカルボニルメチル-3-(ピリジン-4-イルア

50

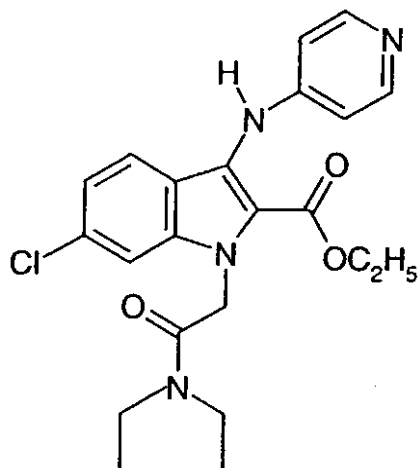
ミノ) - 1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

窒素下、ジメチルホルムアミド (5 mL) 中のエチル 3- (4-ピリジニルアミノ) インドール-2-カルボキシレート (米国特許 5,328,920 参照; 0.20 g、0.711 ミリモル) の混合物を 0℃ に攪拌冷却した。テトラヒドロフラン中のカリウム *t*-ブトキシドの 1 M 溶液 (0.75 mL、0.75 ミリモル) を 1 回で添加し、10 分間攪拌し、次にブromo酢酸エチル (0.12 g、0.72 ミリモル) を 1 回で添加した。0℃ で 50 分間攪拌し、反応混合物を水 (30 mL) 中に入れてクエンチングした。水性混合物を酢酸エチル (2×20 mL) で抽出し、抽出液を合わせ、水 (25 mL)、塩水 (25 mL) で洗浄し、MgSO₄ 上に乾燥した。真空下に濃縮し、残存物を Redisep シリカゲルカートリッジ (10 g) 上のクロマトグラフィーに付し、5%メタノール/ジクロロメタン~20%メタノール/ジクロロメタンで溶離した。非均質な画分を合わせ、濃縮し、上記した通りクロマトグラフィーに付した。均質な画分を濃縮し、白色固体として標題化合物 0.13 g (50%) を得た: MS 368 (M+H)。

【0273】

実施例 34

【化54】



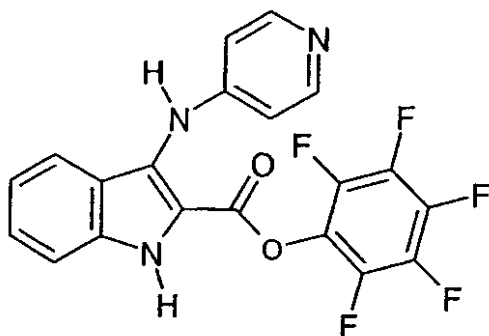
スキーム F、工程 F8: 6-クロロ-1-ジエチルカルバモイルメチル-3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

窒素下、ジメチルホルムアミド (5 mL) 中のエチル 6-クロロ-3-(4-ピリジニルアミノ) インドール-2-カルボキシレート (0.50 g、1.58 ミリモル) の混合物を 0℃ で攪拌冷却した。テトラヒドロフラン中のカリウム *t*-ブトキシドの 1 M 溶液 (1.7 mL、1.7 ミリモル) を 2 分間かけて添加し、そして 10 分間攪拌した。2-クロロ-N,N-ジエチルアセトアミド (0.22 mL、1.6 ミリモル) を 1 回で添加し、そして一夜周囲温度で攪拌した。反応混合物を水 (35 mL) に入れてクエンチングし、水層を酢酸エチル (2×20 mL) で抽出した。抽出液を合わせ、水 (25 mL)、塩水 (25 mL) で洗浄し、MgSO₄ 上に乾燥した。真空下に濃縮し、残存物を Redisep シリカゲルカートリッジ (10 g) 上のクロマトグラフィーに付し、5%メタノール/ジクロロメタン~20%メタノール/ジクロロメタンで溶離した。全ての均質な画分を合わせ、濃縮し、固体を得た。固体を酢酸エチルから再結晶し、白色固体として標題化合物 0.1 g を得た: MS 429 (M+H)、融点 212-214℃。

【0274】

実施例 35

【化 5 5】



10

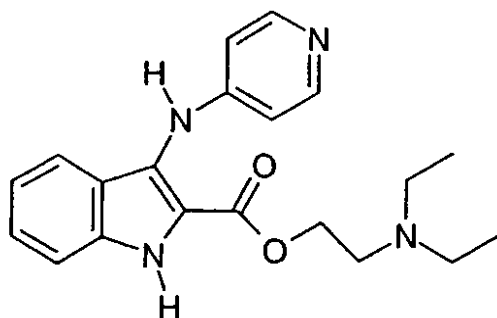
スキーム F、工程 F 5： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸ペンタフルオロフェニルエステル

窒素下、ジメチルホルムアミド中の 3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸（0.2 g、0.78 ミリモル）の懸濁液を攪拌し、ピリジン（0.13 mL、1.6 ミリモル）を添加し、次にペンタフルオロフェニル トリフルオロアセテート（0.31 g、1.13 ミリモル）を滴加した。反応混合物を一夜周囲温度で攪拌し、水中に入れてクエンチングした。水層を酢酸エチルで抽出し、5%水性炭酸カリウム、塩水で洗浄し、MgSO₄上に乾燥した。真空下に濃縮し、得られた粗製の固体をエーテルで磨砕して、標題化合物 0.13 g（41%）を得た：MS 420（M+H）。 20

【0275】

実施例 36

【化 5 6】



30

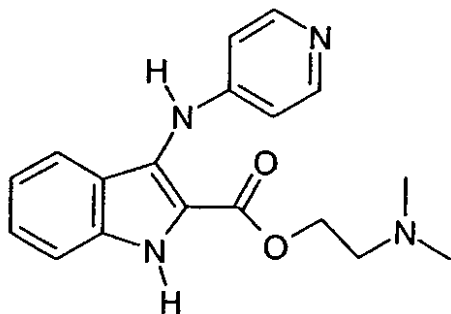
スキーム F、工程 F 7： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 2-ジエチルアミノエチルエステル

窒素下、0℃で 1-メチル-2-ピロリジノン（15 mL）中の NaH（29 mg、0.72 mmol、60%油分散液）の懸濁液を攪拌し、ゆっくり N,N-ジエチルエタノールアミン（0.095 mL、0.72 ミリモル）を添加した。10 分間攪拌し、次に 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸ペンタフルオロフェニルエステル（100 mg、0.24 ミリモル）を滴加した。反応混合物を周囲温度に戻し、一夜攪拌した。水に入れてクエンチングし、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水、塩水で洗浄し、乾燥（MgSO₄）し、濾過して真空下に濃縮し、粗生成物を得た。シリカゲル（10 g、Sepac k カートリッジ）上のクロマトグラフィーに付し、溶離剤として 1:1 メタノール/酢酸エチルを使用した。同様の画分を合わせ、真空下に濃縮し、標題化合物 26.3 mg（31%）を得た：MS 353（M+H）。 40

【0276】

実施例 37

【化 5 7】



10

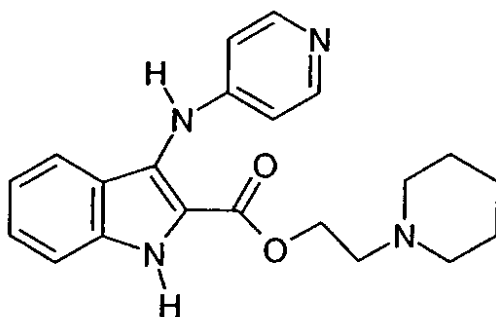
スキーム F、工程 F 7： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 2-ジメチルアミノ-エチルエステル

実施例 36 の操作法に従い、出発物質として N, N-ジメチル-エタノールアミンを用いて固体として標題化合物を得た：MS 325 (M+H)。

【0277】

実施例 38

【化 5 8】



20

スキーム F、工程 F 4： 3-(4-pyridylamino)-1H-インドール-2-カルボン酸 2-ピペリジン-1-イル-エチルエステル

窒素下、0℃で、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (0.25 g、1ミリモル)、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス (ピロリジノ) -ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (0.52 g、1ミリモル)、ジエチルイソプロピルアミン (0.175 mL、1ミリモル) および 1-メチル-2-ピロリジノン (4.0 mL) の混合物を攪拌した。1-ピペリジンエタノール (0.50 mL、3.8ミリモル) を 1 回で添加し、18.5 時間周囲温度で攪拌した。反応混合物を 5% 水性炭酸カリウムに注ぎ込み、酢酸エチル (2×20 mL) で抽出した。合わせた抽出液を水 (20 mL)、塩水 (20 mL) で洗浄し、MgSO₄ 上に乾燥し、濾過して真空下に濃縮し、暗色の残存物とした。シリカゲル (Redisepp カートリッジ、30 g) 上のクロマトグラフィーに付し、段階的勾配の 10% メタノール/ジクロロメタン (150 mL) ~ 20% メタノール/ジクロロメタンで溶離した。同様の画分を真空下に濃縮して油状物とした。油状物を周囲温度で高真空下に乾燥し、褐色の泡状物として標題化合物 0.14 g を得た：MS 365 (M+H)、TLC (シリカゲル、0.5/9.5/90 水酸化アンモニウム/メタノール/ジクロロメタン) R_f=0.25。

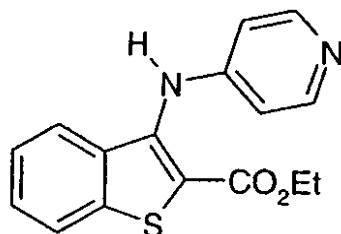
30

40

【0278】

実施例 39

【化 5 9】



スキームH、工程H1： 3-（4-ピリジニルアミノ）-ベンゾ（b）チオフェン-2-カルボン酸、エチルエステル

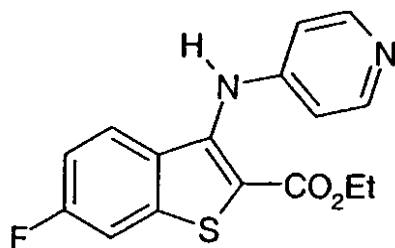
無水テトラヒドロフラン（25 mL）および3-（4-ピリジル）アミノ）ベンゾ（b）チオフェン HCl（米国特許5,328,920参照；298 mg、1.09ミリモル）の溶液を-78℃に冷却し、ヘプタン／テトラヒドロフラン／エチルベンゼン中のリチウムジイソプロピルアミドの2モル溶液（1.9 mL、3.8ミリモル）を添加した。2時間後、ジエチルカーボネート（1.2 mL、9.89ミリモル）を添加した。反応混合物を更に3時間攪拌し、その間、温度が-40℃に上昇した。冷却バスをはずし、30分後、水（10 mL）を添加して反応混合物をクエンチングした。反応混合物を酢酸エチルで抽出し、有機層を分離し、塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上に乾燥し、濾過し、濃縮した。残存物をISCO Redi Sep 10-グラムシリカゲルカートリッジ上で精製し、溶離剤として酢酸エチル-50%ヘプタンおよび酢酸エチルを用いた。生成物含有画

分を合わせ、濃縮し、エチル3-〔（4-ピリジル）アミノ〕-ベンゾ〔b〕チオフェニル-2-カルボキシレート褐色固体として得た（289 mg、86%）：ESI/MS 299（M+H）；¹H-NMR δ 1.41-1.43（m, 3H）、4.11-4.43（m, 2H）、6.81（2H）、7.23-7.52（m, 1H）、7.60（d, J=9 Hz, 1H）、7.84（d, J=9 Hz, 1H）、8.36（br d, 2H）、8.43（s, 1H, NH）；¹³C-NMR δ 14.29, 61.44, 112.61, 113.92, 123.36, 124.11, 125.15, 127.86, 132.53, 139.49, 141.75, 149.68, 150.36, 164.53。

【0279】

実施例40

【化 6 0】



スキームH、工程H1： 6-フルオロ-3-（4-ピリジニルアミノ）-ベンゾ〔b〕チオフェン-2-カルボン酸、エチルエステル

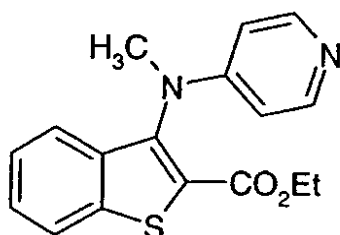
無水テトラヒドロフラン（20 mL）および6-フルオロ-3-〔（4-ピリジル）アミノ〕ベンゾ〔b〕チオフェン（米国特許5,177,088参照；181 mg、0.741ミリモル）の溶液を-78℃に冷却し、そしてヘプタン／テトラヒドロフラン／エチルベンゼン中のリチウムジイソプロピルアミドの2モル溶液（0.74 mL、1.5ミリモル）を添加した。2時間後、ジエチルカーボネート（0.8 mL、6.59ミリモル）を添加した。反応混合物を更に1時間攪拌し、ゆっくり室温に戻し、一夜攪拌を継続した。水（10 mL）を添加し手反応混合物をクエンチングした。ロータリーエバポレーターで溶媒を除去し、残存物を酢酸エチルに溶解した。酢酸エチルを水および塩水で洗浄し、硫酸

ナトリウム上に乾燥し、濾過し、濃縮した。ISCO Redi Sep 10-グラムシリカゲルカートリッジ上で残存物を精製し、酢酸エチル-50%ヘプタンおよび酢酸エチル-0.5%NH₄OHを溶離剤として使用した。生成物含有画分を合わせ、濃縮し、エチル6-フルオロ-3-[(4-ピリジル)アミノ]ベンゾ[b]チオフェニル-2-カルボキシレートを得た：ESI/MS 317 (M+H)；¹H-NMR δ 1.40-1.43 (m, 3H)；4.35-4.42 (m, 2H)；6.80 (br d, 2H)；7.04-7.10 (m, 1H)；7.48-7.57 (m, 2H)；8.37 (br s, 2H)；8.43 (s, 1H, NH)；¹³C-NMR δ 14.3；61.5；109.2 (J_{CF}=25 Hz)；112.7 (J_{CF}=4 Hz)；113.4；113.7 (J_{CF}=25 Hz)；126.7 (J_{CF}=9 Hz)；129.0；140.9 (J_{CF}=11 Hz)；141.4；149.5；150.5；162.4 (J_{CF}=260 Hz)；164.1；¹⁹F-NMR (282 MHz) δ -110.8。

【0280】

実施例41

【化61】



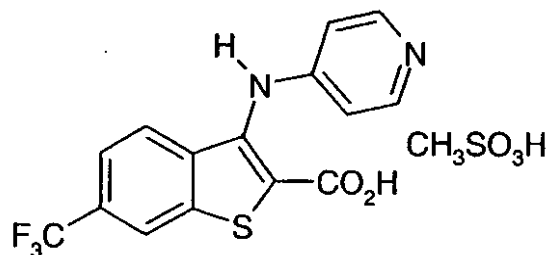
スキームH、工程H1： エチル 3-[(4-ピリジル)アミノ-N-メチル]ベンゾ[b]チオフェニル-2-カルボキシレート

窒素下、無水テトラヒドロフラン(4 mL)および3-[(4-ピリジル)アミノ-N-メチル]ベンゾ[b]チオフェンHCl(米国特許5,328,920参照；50 mg、0.18ミリモル)の溶液を-76℃に冷却し、ヘプタン/テトラヒドロフラン/エチルベンゼン中リチウムジイソプロピルアミドの2 M溶液(0.28 mL、0.54ミリモル)を添加した。20分後、ドライアイス/アセトンバスを氷/水バスに交換した。1時間後、ジエチルカーボネート(0.27 mL、2.23ミリモル)を添加し、この温度で4時間、その後室温で終夜反応混合物を攪拌した。水(3 mL)を添加して反応混合物をクエンチングした。反応混合物をエーテルで抽出し、抽出液を塩水で洗浄し、これを硫酸ナトリウム上に乾燥し、濾過し、濃縮した。残存物をISCO Redi Sep 4グラムシリカゲルカートリッジ上で精製し、酢酸エチル-3%メタノール-NH₄OHを溶離剤として使用した。生成物含有画分を合わせ、濃縮し、褐色固体としてエチル3-[(4-ピリジル)アミノ-N-メチル]ベンゾ[b]チオフェニル-2-カルボキシレートを得た(30 mg、53%)：ESI/MS 313 (M+H)；¹H-NMR δ 1.26 (t, 3H, J=9 Hz)、3.38 (s, 3H, Me)、4.30 (q, 2H, J=6 Hz)、6.42 (br s, 2H)、7.57 (m, 3H)、7.90 (d, 1H, J=9 Hz)、8.21 (br s, 2H)；¹³C-NMR δ 14.1, 38.2, 61.6, 107.7, 123.3, 123.4, 125.2, 127.9, 135.8, 139.3, 142.6, 149.9, 153.5, 161.2。

【0281】

実施例42

【化 6 2】



スキームH、工程H2： 3-(4-ピリジニルアミノ)-6-トリフルオロメチルベンゾ [b] チオフェン-2-カルボン酸メタンスルホネート塩

10

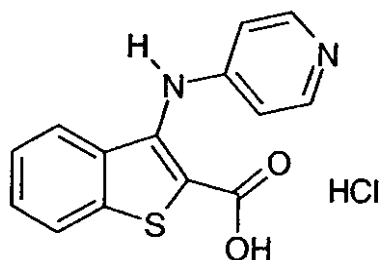
窒素下、無水テトラヒドロフラン (60 mL) および 3-(4-ピリジニルアミノ)-6-トリフルオロメチルベンゾ [b] チオフェン (米国特許 5,328,920 参照; 0.47 g、1.6 ミリモル) の溶液を -78 °C に冷却し、ヘキサン中 n-ブチルリチウム (1.3 mL、3.25 ミリモル) の 2.5 モル溶液をシリンジで添加した。反応混合物を 2 時間攪拌し、ドライアイス 140 g および無水テトラヒドロフラン 10 mL の入ったビーカーに注ぎ込んだ。反応混合物を 1 時間攪拌し、水 (50 mL) を添加し、10 % 水性水酸化ナトリウムで pH 13-14 まで塩基性化した。塩基性溶液をエーテル (2 × 10 mL) で抽出し、3 % 水性 HCl で水性部分を酸性化した。約 pH 7 において、白色固体が溶液から沈殿した。固体を収集し、真空下に一夜乾燥し、標題化合物の遊離の塩基 0.35 g (65 %) を得た。遊離の塩基の一部をメタンスルホン酸と反応させ、標題化合物 59.0 mg を得た：ESI/MS 339 (M+H) ; HPLC : R_t = 1.38 分間。(95/5/0.1 (A) 5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2 × 50 mm 1 mL/分、勾配組成：100 % A を 0.1 分間、直線勾配で 2 分に 100 % B、3.5 分まで保持)。

20

【0282】

実施例 43

【化 6 3】



30

スキームH、工程H2： 3-(4-ピリジニルアミノ)-ベンゾ [b] チオフェン-2-カルボン酸塩酸塩

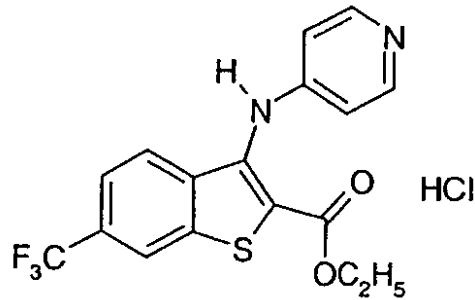
実施例 42 の操作法に従い、出発物質として 3-(4-ピリジニルアミノ)-6-ベンゾ [b] チオフェン (合成については米国特許 5,328,920 参照)。メタノールおよびエーテル性 HCl 中で塩酸塩を形成し、白色固体として標題化合物を得た：ESI/MS 271 (M+H)。

40

【0283】

実施例 44

【化 6 4】



10

スキームH、工程H1： 3-(4-ピリジニルアミノ)-6-トリフルオロメチルベンゾ [b] チオフェン-2-カルボン酸エチルエステル 塩酸塩

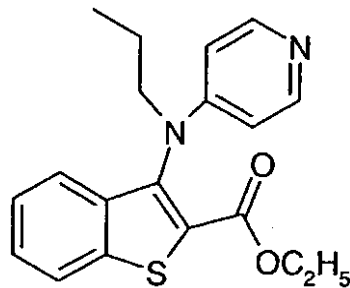
実施例40の操作法に従い、出発物質として3-(4-ピリジニルアミノ)-6-トリフルオロメチルベンゾ [b] チオフェン（合成は米国特許5,328,920参照）。エーテル性HCl中で塩酸塩を形成し、オフホワイトの固体として標題化合物を得た：MS 367 (M+H)、TLC（シリカゲル、酢酸エチル/メタノール/水酸化アンモニウム） $R_f = 0.80$ 。

【0284】

実施例45

【化 6 5】

20



スキームH、工程H1： 3-(プロピル-4-ピリジニルアミノ)ベンゾ [b] チオフェン-2-カルボン酸エチルエステル

30

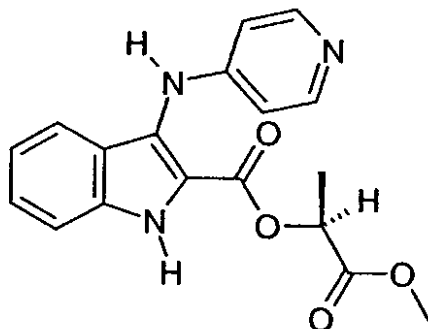
実施例40の操作法に従い、出発物質として3-(プロピル-4-ピリジニルアミノ)ベンゾ [b] チオフェン（合成は米国特許5,328,920参照）を使用した。黄褐色固体として標題化合物を得た：ESI/MS 341 (M+H)；HPLC： $R_t = 1.53$ 分間。（95/5/0.1 (A) 5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50mm 1mL/分勾配組成：100% Aを0.1分間、直線勾配で2分に100% B、3.5分まで保持）。

【0285】

実施例46

【化 6 6】

40



スキームF、工程F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-

50

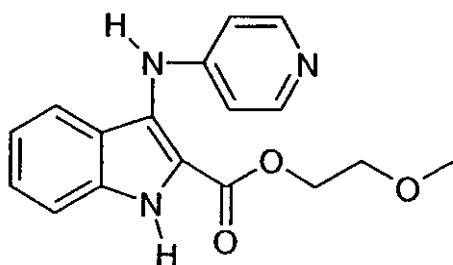
カルボン酸 (S) - 1 - メトキシカルボニル - エチルエステル

3 - (4 - ピリジニルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 (3.0 g、12 ミリモル)、メチル (S) - (-) - ラクテート (2.3 mL、24 ミリモル)、4 - メチルモルホリン (2.6 mL、24 ミリモル) および DMF (50.0 mL) の混合物を 0℃ で攪拌した。ベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシトリス (ジメチルアミノ) ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (BOP, 5.32 g、12 ミリモル) を 1 回で添加し、そして一夜周囲温度で攪拌した。塩水 (50 mL) を添加し、酢酸エチル (3 × 200 mL) で抽出した。真空下に濃縮し、油状物とした。シリカゲル (5 g) 上のクロマトグラフィーに付し、ジクロロメタン、EtOAc および MeOH で溶離した。同様の画分を真空下に濃縮し、油状物とした。油状物をエーテル (10 mL) 中 HCl で処理し、更にエーテル (50 mL) を添加し、真空下に濃縮し、油状物とした。油状物を 5% 水性 NaHCO₃ で処理し、EtOAc で抽出した。抽出液を Na₂SO₄ 上に乾燥し、濾過し、濃縮し、油状物とした。エーテル存在下に油状物をガラス棒でスクラッチングし、粘着性の固体とした。CH₃CN 次いでエーテルを添加し、黄色固体として標題化合物を得た。140 mg: MS 340 (M+H)、R_t = 2.73 分間。(95/5/0.1 (A) 5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2 × 50 mm 1 mL/分 勾配組成: 100% A を 0.1 分間、直線勾配で 2 分に 100% B、3.5 分まで保持)。

【0286】

実施例 47

【化 67】



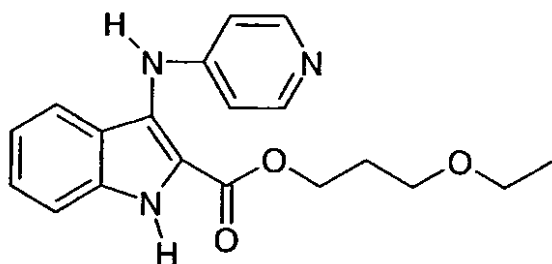
スキーム F、工程 F4: 3 - (ピリジン - 4 - イルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 2 - メトキシ - エチルエステル

実施例 46 の操作法に従ったが、反応混合物を -10 ~ -15℃ に冷却し、2 - メトキシエタノールでメチル (S) - (-) - ラクテートを置き換え、シリカゲル上のカラムクロマトグラフィーによる精製を 15% MeOH/ジクロロメタンを溶離剤として行い、標題化合物を得た: MS 312 (M+H)、TLC (シリカゲル、15% MeOH/ジクロロメタン) R_f = 0.53。

【0287】

実施例 48

【化 68】



スキーム F、工程 F4: 3 - (ピリジン - 4 - イルアミノ) - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 3 - エトキシ - プロピルエステル

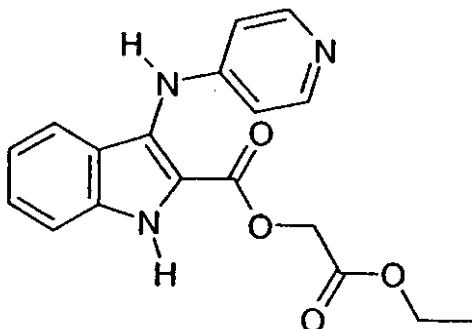
実施例 47 の操作法に従い、2 - エトキシエタノールで 2 - メトキシエタノールを置き

換え、シリカゲル上のカラムクロマトグラフィーによる精製を 8.5% MeOH/ジクロロメタンを溶離剤として行い、標題化合物を得た：MS 340 (M+H)、TLC (シリカゲル、8.5% MeOH/ジクロロメタン) $R_f = 0.30$ 。

【0288】

実施例 49

【化 69】



10

スキーム F、工程 F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エトキシカルボニルメチルエステル

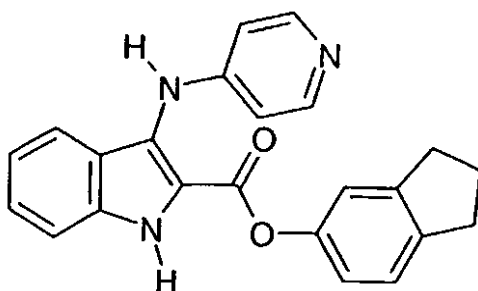
実施例 46 の操作法に従い、エチルグリコレートでメチル (S)-(-)-ラクテートを、そして、NMP で DMF を置き換え、シリカゲル上のクロマトグラフィーによる精製をジクロロメタン、EtOAc および 1% MeOH/ジクロロメタンを溶離剤として用い、標題化合物を得た：MS 340 (M+H)、 $R_t = 1.19$ 分、(95/5/0.1 (A) 5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50 mm 1 mL/分 勾配組成：100% A を 0.1 分間、直線勾配で 2 分に 100% B、3.5 分まで保持)。TLC $R_f = 0.51$ (3:1 EtOAc:CH₃OH、シリカゲル)。

20

【0289】

実施例 50

【化 70】



30

スキーム F、工程 F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸インダン-5-イルエステル

実施例 49 の操作法に従ったが、5-インダノールでエチルグリコレートを、そして、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス (ピロリジノ)-ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PYBOP) で BOP を置き換えた。シリカゲル上のクロマトグラフィーによる精製を EtOAc を溶離剤として行い標題化合物を得た：MS 370 (M+H)、 $R_t = 1.35$ 分。(95/5/0.1 (A) 5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50 mm 1 mL/分 勾配組成：100% A を 0.1 分間、直線勾配で 2 分に 100% B、3.5 分まで保持)。; TLC $R_f = 0.52$ (EtOAc、シリカゲル)。

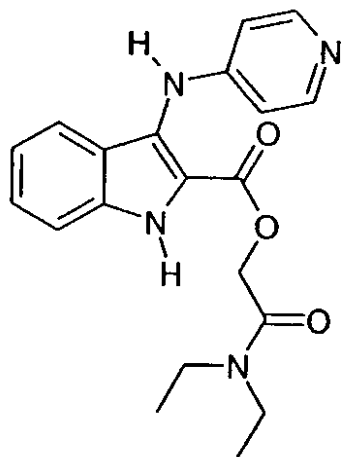
40

【0290】

実施例 51

50

【化 7 1】



10

スキーム F、工程 F 4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸ジエチルカルバモイルメチルエステル

DMF (125 mL) 中の 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (2.0 g、8 ミリモル)、KI (10 mg) および Cs_2CO_3 (2.8 g、8.6 ミリモル) の混合物を 50 °C で 10 分間攪拌した。周囲温度に戻し、次にアイスバス中で冷却した。2-クロロ-N,N-ジエチルアセトアミド (1.077 g、0.9 ミリモル) を添加し、周囲温度に戻した。塩水溶液を反応混合物に添加し EtOAc (3×) で抽出した。抽出液を塩水および水で洗浄し、乾燥 (MgSO_4)、濾過して真空下に濃縮し、半固体を得た。シリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーに付し、EtOAc および 10% MeOH/EtOAc で溶離し、固体として標題化合物 0.317 g を得た：MS 367 (M+H)；HPLC： R_t = 4.75 分間。(95/5/0.1 (A)

20

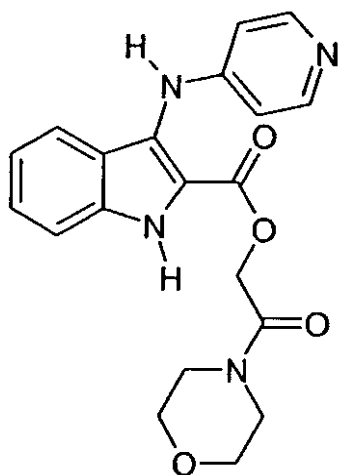
5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50 mm 1 mL/分 勾配組成：100% A を 0.1 分間、直線勾配で 2 分に 100% B、3.5 分まで保持)。

【0291】

実施例 52

30

【化 7 2】



40

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 2-モルホリン-4-イル-2-オキソ-エチルエステル

【0292】

中間体： 4-(クロロアセチル)モルホリン

Quest 205 パラレルシンセサイザーを用い、モルホリン (2.6 g、30 ミリモル)、ジクロロメタン (45 mL) および 2 M K_2CO_3 の混合物にゆっくりジクロロメ

50

タン（10 mL）中のクロロアセチルクロリド（3.73 g、33ミリモル）を添加した。反応混合物を一夜振とうし、有機層を濾過した。水層をジクロロメタン（20 mL）で抽出し、これを前に収集した有機層に添加した。有機層を乾燥（MgSO₄）し、真空下に濃縮し、標題化合物を得た。

【0293】

工程F4： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 2-モルホリン-4-イル-2-オキソ-エチルエステル

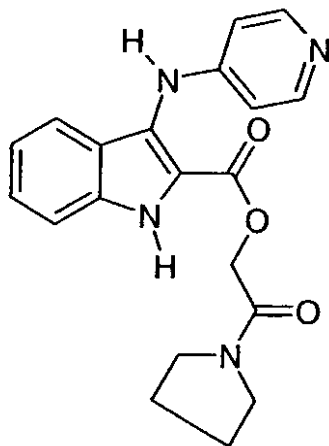
実施例51の操作法に従ったが、4-（クロロアセチル）モルホリンで2-クロロ-N, N-ジエチルアセトアミドを置き換えた。EtOAc抽出液中に形成した沈殿を収集し、エーテルで洗浄し、固体として標題化合物を得た：MS 381（M+H）；HPLC：R_t=2.48分間。（95/5/0.1（A）5/95/0.1（B）水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50mm 1mL/分 勾配組成：100% Aを0.1分間、直線勾配で2分に100% B、3.5分まで保持）。

10

【0294】

実施例53

【化73】



20

スキームF： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 2-オキソ-2-ピロリジン-1-イル-エチルエステル

30

【0295】

中間体： 1-クロロアセチルピロリジン

実施例53の操作法に従い、ピロリジンでモルホリンを置き換え、標題化合物を得た。

【0296】

工程F4： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 2-オキソ-2-ピロリジン-1-イル-エチルエステル

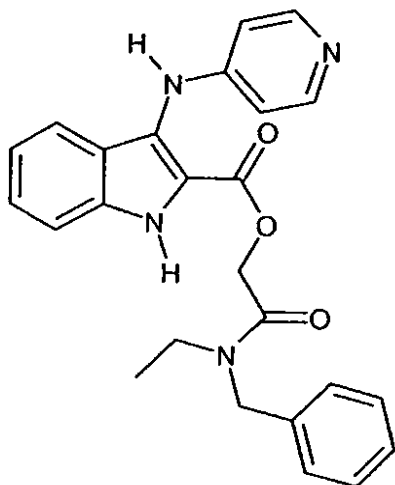
実施例51の操作法に従ったが、1-（クロロアセチル）ピロリジンで2-クロロ-N, N-ジエチルアセトアミドを置き換えた。EtOAc抽出液中に形成した沈殿を収集し、エーテルで洗浄し、固体として標題化合物を得た：MS 365（M+H）；HPLC：R_t=2.58分間。（95/5/0.1（A）5/95/0.1（B）水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50mm 1mL/分 勾配組成：100% Aを0.1分間、直線勾配で2分に100% B、3.5分まで保持）。

40

【0297】

実施例54

【化 7 4】



10

スキーム F : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
(ベンジル-エチル-カルバモイル)-メチルエステル

【0298】

中間体 : 2-クロロ-N-エチル-N-(フェニルメチル)アセトアミド

実施例 53 の操作法に従ったが、N-ベンジル-N-エチルアミンでモルホリンを置き換え、標題化合物を得た。

20

【0299】

工程 F4 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
(ベンジル-エチル-カルバモイル)-メチルエステル

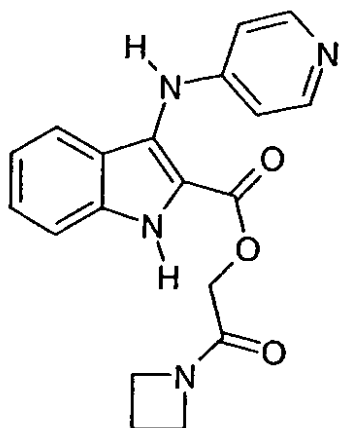
実施例 51 の操作法に従ったが、2-クロロ-N-エチル-N-(フェニルメチル)アセトアミドで 2-クロロ-N,N-ジエチルアセトアミドを置き換えた。EtOAc 抽出液中に形成した沈殿を収集し、エーテルで洗浄し、黄色固体として標題化合物を得た：MS 429 (M+H)；HPLC：R_t=2.72 分間。(95/5/0.1 (A) 5/95/0.1 (B) 水/CAN/ギ酸 YMC ODS-A 2×50 mm 1 mL/分 勾配組成：100% A を 0.1 分間、直線勾配で 2 分に 100% B、3.5 分まで保持)

30

【0300】

実施例 55

【化 7 5】



40

スキーム F : 3-(ピリジン-4-yl アミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
2-アゼチジン-1-yl-2-オキソ-エチルエステル

【0301】

中間体 : 1-(クロロアセチル)アゼチジン

50

ジクロロメタン-水（45-15 mL）中の塩化クロロアセチルおよび K_2CO_3 （4.14 g、30ミリモル）の攪拌溶液にアゼチジン（2.8 g、30ミリモル）をシリンジによりゆっくり添加した。添加後、周囲温度で1夜攪拌した。有機層を分離し、 H_2O （2回）および塩水（2回）で洗浄し、次に減圧下に濃縮し、標題化合物を得た。

【0302】

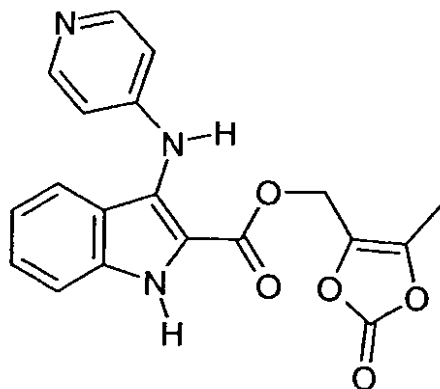
工程F4： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 2-アゼチジン-1-yl-2-オキソ-エチルエステル

実施例51の操作法に従い、1-（クロロアセチル）アゼチジンで2-クロロ-N,N-ジエチルアセトアミドを置き換えた。EtOAc中に形成した沈殿物を収集し、エーテルで洗浄し、黄色固体として標題化合物を得た：MS 351（M+H）；HPLC：
 $R_t = 2.52$ 分。（95/5/0.1（A） 5/95/0.1（B） 水/CA
 N/ギ酸 YMC ODS-A 2×50mm 1mL/分 勾配組成：100% Aを0.1分間、直線勾配で2分で100% Bとし3.5分まで保持）。

【0303】

実施例56

【化76】



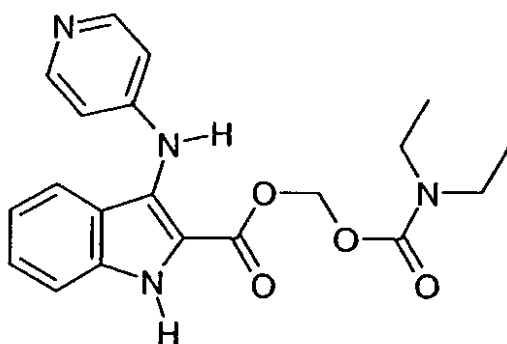
スキームF、工程F4： 3-（ピリジン-4-ylアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 5-メチル-2-オキソ-[1,3]ジオキソール-4-イルメチルエステル

実施例51の操作法に従い、4-（ブロモメチル）-5-メチル-1,3-ジオキソール-2-オン（Saari, W. S., et al., *J. Med. Chem.*, (1984), 27, 713-717に記載された操作法に従って製造）で2-クロロ-N,N-ジエチルアセトアミドを置き換えた。シリカゲル上のカラムクロマトグラフィーにより精製し、10% MeOH/EtOAc次に15% MeOH/EtOAcで溶離して、淡黄色粉末として標題化合物を得た：MS 366（M+H）。

【0304】

実施例57

【化77】



スキームF： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸 ジエチルカルバモイルオキシメチルエステル

【0305】

中間体： クロロメチルジエチルカーバメート

ヘプタン（100 mL）中のクロロメチル クロロホルメート（7.09 g、5.5ミリモル）の攪拌溶液に−20℃で、ヘプタン（50 mL）中のジエチルアミン（10.4 g、14.7ミリモル）の溶液を滴加した。−15℃から−5℃の間に内部温度を維持し、1時間後、反応混合物を水でクエンチングした。層を分離し、有機層を10% HCl水、水およびNaHCO₃溶液で洗浄した。有機層を乾燥（MgSO₄）し、濾過し、減圧下に濃縮し、標題化合物8.3 gを得た。

【0306】

工程F4： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸ジエチルカルバモイルオキシメチルエステル

10

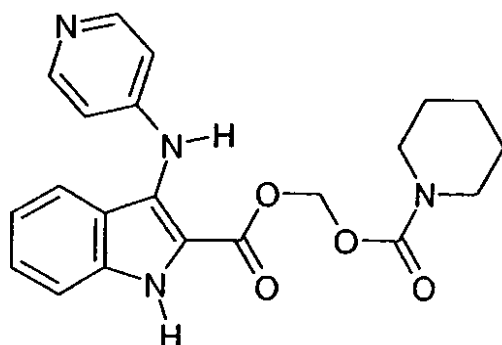
3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸（2.0 g、8.0ミリモル）、クロロメチルジエチルカーバメート（1.7 g、10.4ミリモル）およびDMF（50 mL）中のK₂CO₃の混合物を周囲温度で一晩攪拌した。反応混合物にEtOAc（400 mL）を添加し、有機層を塩水溶液（400 mL）で洗浄し、油状物に濃縮した。シリカゲル（40 g）上のフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、EtOAc次に10% MeOH/EtOAcで溶離した。同様の画分を収集し、真空下に濃縮して油状物を得た。ヘプタン-エーテルから結晶化し、白色粉末として標題化合物1.1 g（36%）を得た：MS 383（M+H）。

【0307】

20

実施例58

【化78】



30

スキームF： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸ピペリジン-1-カルボニルオキシメチルエステル

【0308】

中間体： 1-ピペリジincarボン酸、クロロメチルエステル

実施例57の操作法に従い、ピペリジンでジエチルアミンを置き換え、標題化合物を得た。

【0309】

工程F4： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸ピペリジン-1-カルボニルオキシメチルエステル

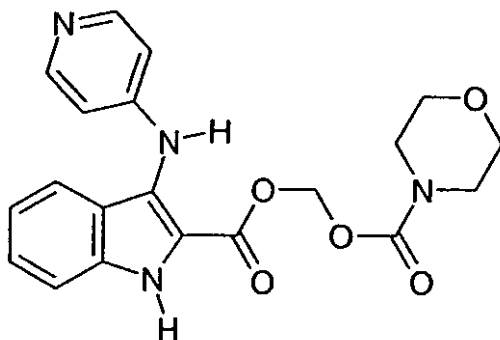
40

実施例57工程F4の操作法に従い、1-ピペリジincarボン酸、クロロメチルエステルでクロロメチルジエチルカーバメートを置き換え、固体として標題化合物を得た：MS 395（M+H）。

【0310】

実施例59

【化 7 9】



10

スキーム F : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
 モルホリン-4-カルボニルオキシメチルエステル

【0311】

中間体 : 4-モルホリンカルボン酸、クロロメチルエステル

実施例 57 の操作法に従い、モルホリンでジエチルアミンを置き換え、標題化合物を得た。

【0312】

工程 F 4 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸モ
 ルホリン-4-カルボニルオキシメチルエステル

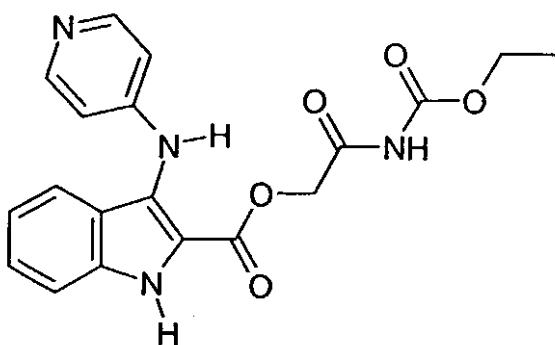
20

実施例 57 の操作法に従い、4-モルホリンカルボン酸クロロメチルエステルでクロロメチルジエチルカーバメートを置き換え、固体として標題化合物を得た：MS 397 (M+H)。

【0313】

実施例 60

【化 80】



30

スキーム F、工程 F 4 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-
 カルボン酸 2-エトキシカルボニルアミノ-2-オキソ-エチルエステル

実施例 57 の操作法に従って、N-クロロアセチルウレタンでクロロメチルジエチルカーバメートを置き換えた。カラムクロマトグラフィーにより精製し、10% MeOH/EtOAc 次

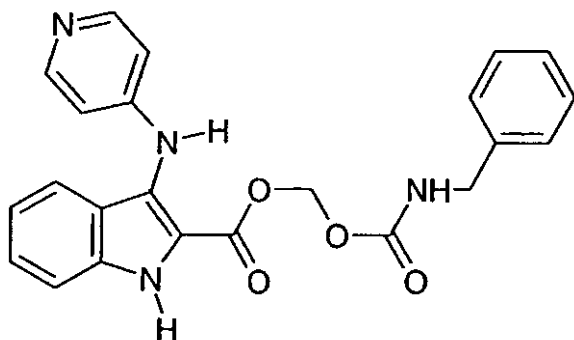
40

に 15% MeOH/EtOAc で溶離した。CH₃CN から再結晶化し、固体として標題化合物を得た：MS 383 (M+H)。

【0314】

実施例 61

【化 8 1】



10

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
ベンジルカルバモイルオキシメチルエステル

【0315】

中間体： (フェニルメチル) カルバミン酸、クロロメチルエステル

実施例 57 の操作法に従い、ベンジルアミンでジエチルアミンを置き換え、標題化合物を得た。

【0316】

工程 F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸ベ
ンジルカルバモイルオキシメチルエステル

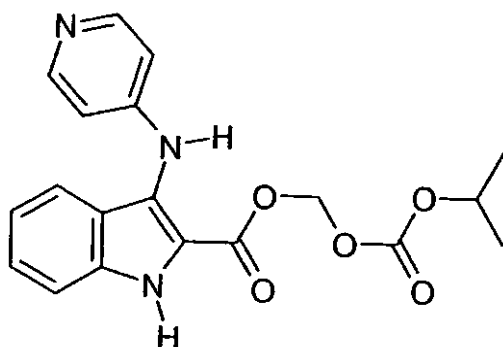
20

実施例 57 工程 B の操作法に従い、(フェニルメチル) カルバミン酸クロロメチルエ
ステルでクロロメチルジエチルカーバメートを置き換えた。カラムクロマトグラフィーによ
り精製し、10% MeOH/EtOAc 次に 20% MeOH/EtOAc で溶離して、固
体として標題化合物を得た：MS 417 (M+H)。

【0317】

実施例 62

【化 8 2】



30

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
イソプロポキシカルボニルオキシメチルエステル

【0318】

40

中間体： クロロメチル炭酸 1-メチルエステル

ジクロロメタン (30 mL) 中のクロロメチル クロロホルメート (3.55 g、27
.5 ミリモル) の溶液を -15℃ で攪拌冷却し、ピリジン (2.18 g、2.5 ミリモル)
中のイソプロピルアルコール (1.51 g、2.5 ミリモル) の溶液を滴加し、-18
℃ から -5℃ の間に内部温度を維持した。2 時間後、水中にクエンチングし、層を分離し
、有機層を 10% HCl 水、水、NaHCO₃ 溶液および水で洗浄した。MgSO₄ で乾
燥し、濾過し、濃縮して無色の油状物 3.6 g として標題化合物を得た。

【0319】

工程 F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸イ
ソプロポキシカルボニルオキシメチルエステル

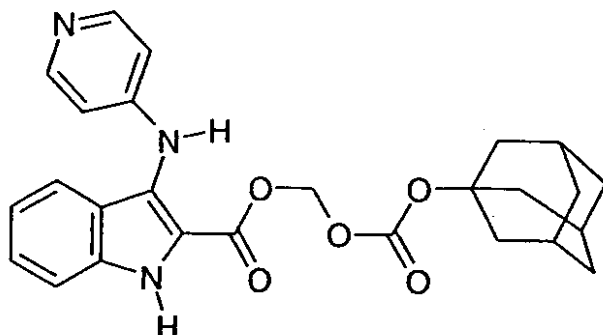
50

実施例 57 の操作法に従い、クロロメチル炭酸 1-メチルエステルでクロロメチルジエチルカーバメートを置き換え、反応混合物に KI (100 mg) を添加した。反応を 3 時間進行させ、固体として標題化合物を得た：MS 370 (M+H)。

【0320】

実施例 63

【化 83】



10

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
アダマンタン-1-イルオキシカルボニルオキシメチルエステル

【0321】

中間体： クロロメチル 1-アダマンチルカーボネート

20

実施例 62 の操作法に従い、1-アダマンタノールでイソプロピルアルコールを置き換え、標題化合物を得た。

【0322】

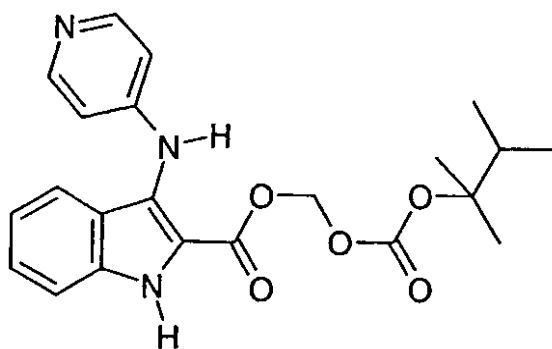
工程 F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
アダマンタン-1-イルオキシカルボニルオキシメチルエステル

実施例 62 の操作法に従い、クロロメチル 1-アダマンチルカーボネートでクロロメチル炭酸 1-メチルエステルを置き換えるが、反応を一夜進行させた。固体として標題化合物を得た：MS 462 (M+H)。

【0323】

実施例 64

【化 84】



40

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
1, 1, 2-トリメチル-プロポキシカルボニルオキシメチルエステル

【0324】

中間体： 炭酸クロロメチルエステル 1, 1, 2-トリメチル-プロピルエステル

実施例 62 の操作法に従い、2, 3-ジメチル-2-ブタノールでイソプロピルアルコールを置き換え、標題化合物を得た。

【0325】

工程 F4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
1, 1, 2-トリメチル-プロポキシカルボニルオキシメチルエステル

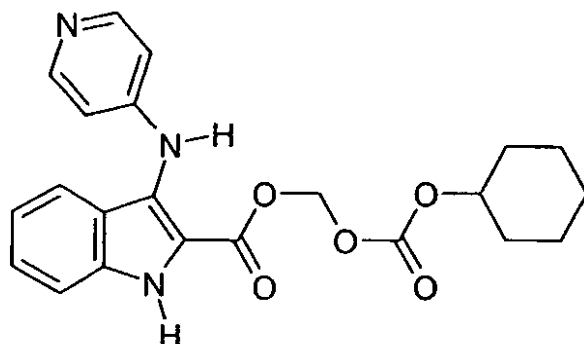
50

実施例 6 2 の操作法に従い、炭酸クロロメチルエステル 1, 1, 2-トリメチルプロピルエステルでクロロメチル炭酸 1-メチルエステルを置き換えるが、反応を一夜進行させた。固体として標題化合物を得た：MS 412 (M+H)。

【0326】

実施例 6 5

【化 8 5】



10

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
シクロヘキシルオキシカルボニルオキシメチルエステル

【0327】

中間体： 炭酸クロロメチルエステル 1, 1, 2-トリメチルプロピルエステル

20

実施例 6 2 の操作法に従い、シクロヘキサノールでイソプロピルアルコールを置き換え、標題化合物を得た。

【0328】

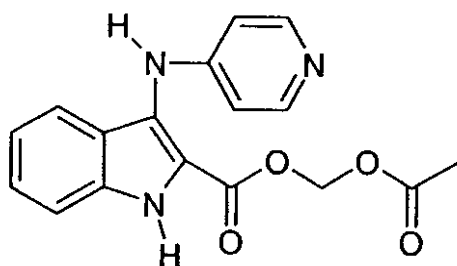
工程 F 4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
シクロヘキシルオキシカルボニルオキシメチルエステル

実施例 6 2 の操作法に従い、クロロメチルシクロヘキシルカーボネートでクロロメチル炭酸 1-メチルエステルを置き換えるが、反応を一夜進行させた。固体として標題化合物を得た：MS 410 (M+H)。

【0329】

実施例 6 6

【化 8 6】



30

スキーム F、工程 F 4： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-
カルボン酸アセトキシメチルエステル

40

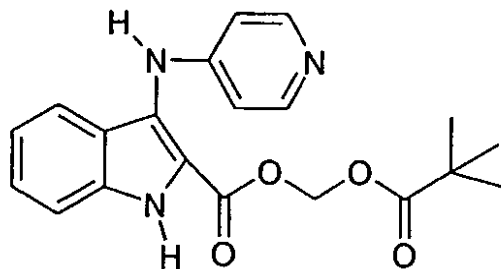
DMF (25 mL) 中の 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (1.27 g, 5 ミリモル) の混合物を 50 °C で 10 分間攪拌し、Cs₂CO₃ (1.63 g, 5 ミリモル) を添加した。10 分後、酢酸ブロメチル (0.95 g, 6.21 ミリモル) を添加し、その 1 分後に NH₄Cl 水溶液中にクエンチングした。EtOAc で抽出し、抽出物を NaHCO₃ 水溶液で洗浄した。抽出物を乾燥 (MgSO₄) し、濾過して真空下に濃縮し、固体を得た。固体を EtOAc で磨砕し、固体として標題化合物を得た：MS 326 (M+H)。

【0330】

実施例 6 7

50

【化 8 7】



スキーム F、工程 F 2： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 2,2-ジメチルプロピオニルオキシメチルエステル

10

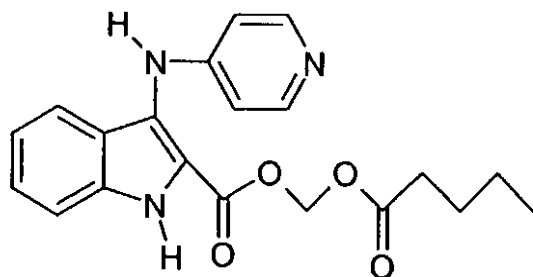
DMF (20 mL) 中の 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩 (1.0 g、3.43 ミリモル)、KI (0.16 g) 2,2-ジメチルプロピオン酸クロロメチルエステル (0.63 g、4.16 ミリモル) の混合物を 50℃ で 1.5 時間攪拌した。冷却し、H₂O-EtOAc の間に分配した。抽出物を NaHCO₃ 水溶液で洗浄し、抽出物を乾燥 (MgSO₄) し、濾過して真空下に濃縮し、粗生成物を得た。生成物をシリカゲルカラム上にクロマトグラフィーに付し、8% MeOH/EtOAc で溶離して、固体として標題化合物 0.64 g を得た； MS 326 (M+H)、融点 223-224℃, TLC (シリカゲル, 8% MeOH/EtOAc) R_f = 0.30。

20

【0331】

実施例 68

【化 8 8】



30

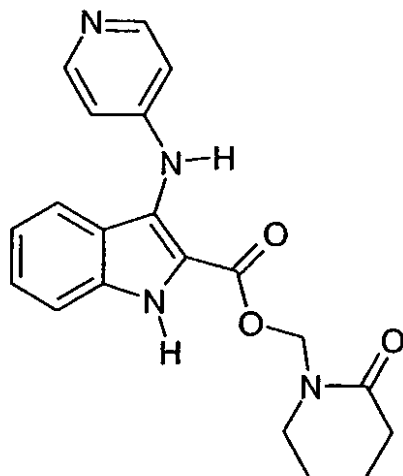
スキーム F、工程 F 2： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸ペンタノイルオキシメチルエステル

実施例 67 の操作法に従うが、ペンタノン酸クロロメチルエステルで 2,2-ジメチルプロピオン酸クロロメチルエステルで置き換え、反応を 50℃ で一夜進行させた。シリカ上のカラムクロマトグラフィーにより精製し、5% MeOH/EtOAc で溶離し、標題化合物を得た：MS 368 (M+H)。

【0332】

実施例 69

【化 89】



10

スキーム F : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
2-オキソ-N-ピペリジン-1-イルメチルエステル

【0333】

中間体 : N-(クロロメチル)-2-ピペリジノン

Moreira, R. et al., *Tet. Lett.*, (1994), 35, 7107-7110に記載された操作法に従って標題化合物を製造した。このように、2-ピペリジノン(1.0g、10.09ミリモル)およびパラホルムアルデヒド(500mg)の混合物を無水THF(30mL)およびクロロトリメチルシラン(30mL)中にN₂下に一夜還流した。溶媒を真空中に濃縮し、油状物としてN-(クロロメチル)-2-ピペリドン(1.30g)を得た。

20

【0334】

工程 F2 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 2-オキソ-N-ピペリジン-1-イルメチルエステル

無水THF(30mL)中の3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩(1.6g、5.49ミリモル)の懸濁液をオイルバス中に20分間50℃で加熱した。無水THF(5mL)中のN-(クロロメチル)-2-ピペリドン(850mg、5.76ミリモル)の溶液を滴加した。30分後、反応混合物を周囲温度に冷却した。水(100mL)を添加し、酢酸エチル(3×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、NaHCO₃(飽和)、水、塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥し、濃縮した。残存物をISCO Redi Sep 35グラムシリカゲルカートリッジ上に精製し、酢酸エチル中の5%メタノール次に酢酸エチル中の20%メタノールで溶離した。画分を含有する生成物を合わせ、濃縮し、白色固体(520mg、26%)として標題化合物を得た：MS 365 (M+H), TLC (シリカゲル, MeOH/EtOAc 25:75) R_f=0.18, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 11.77 (1H, s), 8.46 (1H, s), 8.08 (2H, d, J=5.7 Hz), 7.50 (3H, m), 7.09 (1H, m), 6.58 (2H, d, J=6 Hz), 5.54 (2H, s), 3.27 (2H, br 2), 2.23 (2H, br s), 1.66 (4H, br s)。¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 170.00, 160.43, 152.25, 149.44, 135.54, 125.60, 122.96, 121.84, 120.22, 119.87, 118.99, 113.00, 108.59, 70.99, 47.00, 31.99, 22.39, 20.60。

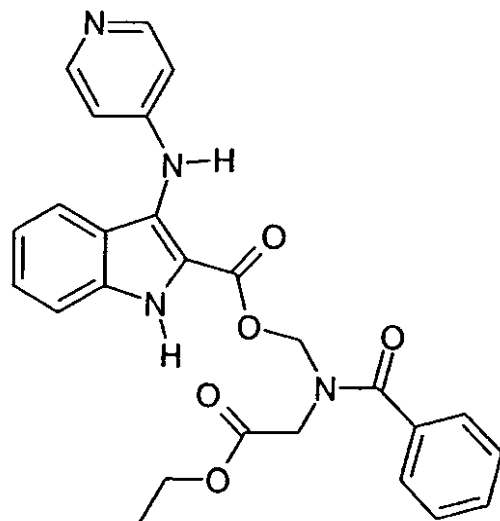
30

40

【0335】

実施例 70

【化 9 0】



10

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
(ベンゾイル-エトキシカルボニルメチル-アミノ)-メチルエステル

【0336】

中間体： N-クロロメチル-エチルベンズアミドアセテート

20

クロトリメチルシラン (40 mL) 中のエチルベンズアミドアセテート (1.0 g、4.83ミリモル) およびパラホルムアルデヒド (450mg) の混合物を一夜 N_2 下に還流した。溶媒を真空下に濃縮し、油状物として N-クロロメチル-エチルベンズアミドアセテート (1.2 g、98%) を得た。

【0337】

工程 F2： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (ベンゾイル-エトキシカルボニルメチル-アミノ)-メチルエステル

無水 THF (20 mL) 中の 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩 (1.3 g、4.46ミリモル) の懸濁液をオイルバス中の 20 分間

N_2 下に 50 °C で加熱した。無水 THF (5 mL) 中の N-クロロメチル-エチルベンズアミドアセテート (1.2 g、4.69ミリモル) の溶液を滴加した。30 分後、反応混合物を周囲温度に冷却した。水を添加し、酢酸エチルで抽出した。有機層を $NaHCO_3$ (飽和)、水、塩水で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥し、次に濃縮した。残存物を ISCO Redi Sep 35 グラムシリカゲルカートリッジ上に精製し、50%ヘプタン/酢酸エチル (200 mL)、100%酢酸エチル (300 mL) 次に 1%メタノール/酢酸エチルで溶離した。画分を含有する生成物を合わせ、濃縮し、黄色固体として標題化合物を得た (834 mg) : MS 473 (M+H), ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 11.81 (1H, s), 8.47 (1H, s), 8.10 (2H, d, $J=5.8$ Hz), 7.38 (8H, m), 7.08 (1H, m), 6.66 (2H, $J=6.0$ Hz), 5.49 (2H, s), 4.30 (2H, s), 4.09 (2H, m), 1.99 (3H, m). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 171.51, 168.86, 160.30, 152.07, 149.58, 135.72, 134.06, 130.51, 128.46, 127.13, 125.76, 122.65, 122.34, 120.50, 119.90, 118.51, 113.06, 108.89, 74.53, 60.79, 59.74, 47.52, 20.75, 14.07, 13.95.

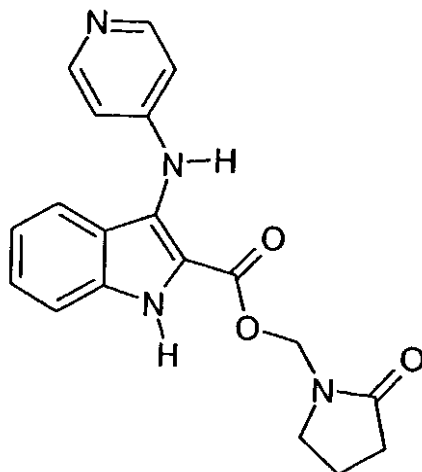
30

40

【0338】

実施例 71

【化 9 1】



10

スキーム F： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸
2-オキソ-ピロリジン-1-イルメチルエステル

【0339】

中間体： N-（クロロメチル）-2-ピロリジノン

クロトリメチルシラン（40 mL）中の2-ピロリジノン（1.0 g、11.75ミリモル）およびパラホルムアルデヒド（500 mg）の混合物を2時間 N_2 下に還流した。溶媒を真空下に蒸発させ、油状物としてN-（クロロメチル）-2-ピロリジノンを得た（1.55 g、99%）。

20

【0340】

工程 F2： 3-（ピリジン-4-イルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸
2-オキソ-ピロリジン-1-イルメチルエステル

無水THF（100 mL）中の3-（4-ピリジニルアミノ）-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩（2.0 g、6.86ミリモル）の懸濁液をオイルバス中に20分間50℃で加熱した。無水THF（5 mL）中のN-（クロロメチル）-2-ピロリジノン（1.10 g、8.23ミリモル）の溶液をこれに滴加した。3時間後、反応混合物を周囲温度に冷却した。水（100 mL）を添加し、酢酸エチル（3×100 mL）で抽出した。有機層を合わせ、 $NaHCO_3$ （飽和）、水、塩水で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥し、次に濃縮した。残存物をISCO Redi Sep 10-グラムシリカゲルカートリッジ上に精製し、酢酸エチル次に酢酸エチル中の5%メタノールで溶離した。画分を含有する生成物を合わせ、濃縮し、オフイエローの固体として標題化合物を得た（205 mg）：MS 313（M+H），TLC（シリカゲル，MeOH/EtOAc 1:1）。 $R_f=0.33$ ， ^1H NMR（DMSO- d_6 ） δ 11.78（1H，s），8.47（1H，s），8.09（2H，d， $J=6.2$ Hz），7.49（3H，m），7.09（1H，m），6.59（2H），5.76（残留 CH_2Cl_2 ），5.44（2H，s），3.37（2H，m），2.22（2H，m），1.87（2H，m）。

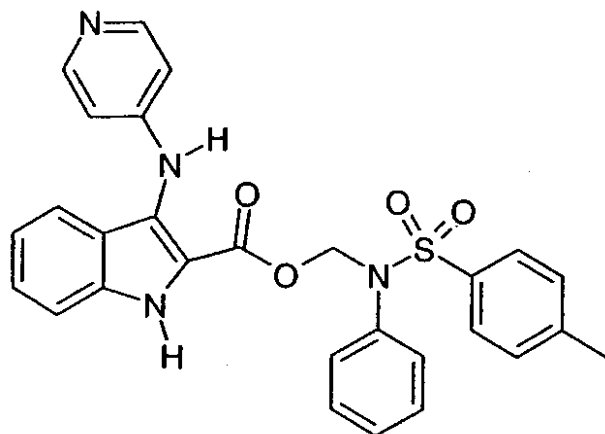
30

【0341】

実施例 72

40

【化 9 2】



10

スキーム F： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
[フェニル-(トルエン-4-スルホニル)-アミノ]-メチルエステル

【0342】

中間体： N-クロロメチル-N-フェニル-4-メチルベンゼンスルホンアミド

Iley, J. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, (2000),
8, 1629-1636 に記載された操作法に従って標題化合物を製造した。このように、N-フェニル-p-トルエンスルホンアミド (3.0 g、12.13 ミリモル) および
20
パラホルムアルデヒド (600 mg) の混合物をクロロトリメチルシラン (50 mL) 中に 3 時間還流した。溶媒を真空下に濃縮し、油状物として N-クロロメチル-N-フェニル-4-メチルベンゼンスルホンアミドを得た (3.2 g)。

【0343】

工程 F2： 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 [フェニル-(トルエン-4-スルホニル)-アミノ]-メチルエステル

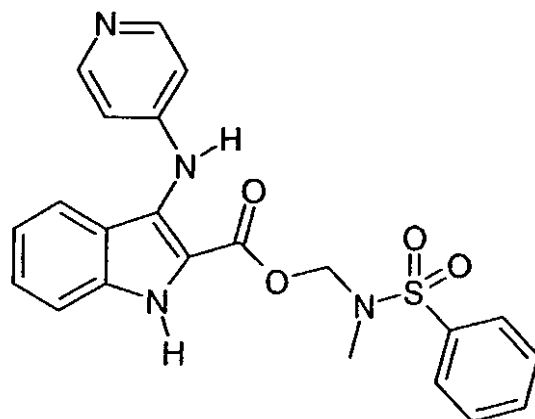
N₂ 下に 60℃ で、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩 (2.2 g、7.5 ミリモル) を無水 THF および DMF (0:10 mL) の混合物に溶解した。0℃ に冷却し、無水 THF (5 mL) 中の N-クロロメチル-N-フェニル-4-メチルベンゼンスルホンアミド (2.6 g、8.80 ミリモル) の溶液を
30
滴加した。20 分後、水 (100 mL) を添加し、次に酢酸エチル (4×50 mL) で抽出した。有機層を合わせ、NaHCO₃ (飽和)、水、塩水で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し、次に濃縮した。残存物を ISCO Redi Sep 35 グラムシリカゲルカートリッジ上に精製し、酢酸エチル次に 30% メタノール/酢酸エチルで溶離した。画分を含有する生成物を合わせ、固体に濃縮した。固体をメタノール中に溶解し、エーテルで沈殿させ、黄色固体として標題化合物を得た (390 mg)：ESI/MS 313 (M+H, ¹H NMR (CD₃OD) δ 8.05 (2H, 2br d, J=6.5 Hz, J=6.8 Hz), 7.38 (14H, m), 6.61 (2H, 2br d, J=7.0 Hz), 5.93 (2H, s), 2.44 (3H, s)。

【0344】

実施例 73

40

【化 9 3】



10

スキーム F : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
(ベンゼンスルホニル-メチル-アミノ)-メチルエステル

【0345】

中間体 : N-クロロメチル-N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミド

クロトリメチルシラン (40 mL) 中の N-メチルベンゼンスルホンアミド (2.0 g、11.68 ミリモル) およびパラホルムアルデヒド (600 mg) の混合物を 2.5 時間還流した。減圧下に濃縮し、白色固体として N-クロロメチル-N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミドを得た (2.5 g)。

20

【0346】

工程 F2 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (ベンゼンスルホニル-メチル-アミノ)-メチルエステル

N₂ 下に 60 °C で、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩 (2.2 g、7.55 ミリモル) を無水 THF および DMF (150 : 40 mL) の混合物に溶解した。0 °C に冷却し、無水 THF (10 mL) 中の N-クロロメチル-N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミド (2.0 g、9.10 ミリモル) を滴加した。20 分後、水 (100 mL) を加え、次にジクロロメタン (3 × 100 mL) で抽出した。有機層を合わせ、NaHCO₃ (飽和)、水、塩水で洗浄し Na₂SO₄ で乾燥し、次に濃縮した。残存物を ISCO Redi Sep 35-グラムシリカゲルカートリッジ上に精製し、50%ヘプタン/酢酸エチル、酢酸エチル次に 10%メタノール/酢酸エチルで溶離した。画分を含有する生成物を合わせ、油状物に濃縮した。油状物をメタノール中に溶解し、エーテルを添加し、白色固体として標題化合物を得た (800 mg) : MS : 437 (M+H), ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 11.52 (1H, s), 8.29 (1H, s), 8.04 (2H, d, J = 5.5 Hz), 7.76 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.43 (6H, m), 7.03 (1H, m), 6.46 (2H, d, J = 6.0 Hz), 5.60 (2H, s), 2.79 (3H, s)。

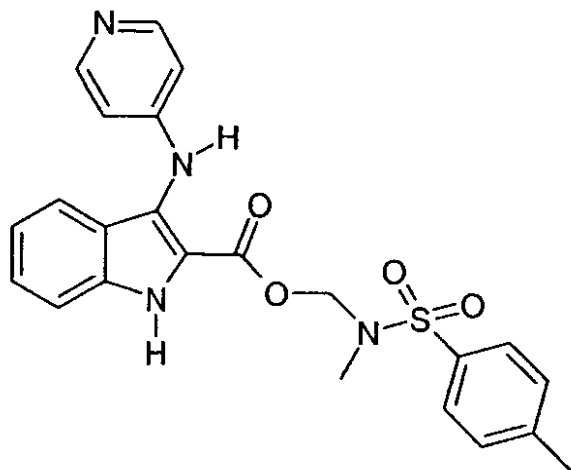
30

【0347】

実施例 74

40

【化 9 4】



10

スキーム F : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
[メチル-(トルエン-4-スルホニル)-アミノ]-メチルエステル

【0348】

中間体 : N-クロロメチル-N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミド

クロロトリメチルシラン (40 mL) 中の N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミド (2.3 g、12.4 ミリモル) およびパラホルムアルデヒド (600 mg) の混合物を 2 時間還流した。真空下に濃縮し、白色固体として N-クロロメチル-N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミドを得た (2.8 g)。

20

【0349】

工程 F2 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 [メチル-(トルエン-4-スルホニル)-アミノ]-メチルエステル

N₂ 下に 60℃ で、3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸カリウム塩 (2.0 g、6.89 ミリモル) を無水 THF および DMF (60:10 mL) -5℃ に冷却し、ピペリジノメチルポリスチレン HL 樹脂 (NOVA #01-64-0212, 30 mg) を添加) の混合物に溶解し、次いで無水 THF (10 mL) 中の N-クロロメチル-N-メチル-4-メチルベンゼンスルホンアミド (1.9 g、8.34 ミリモル) の溶液を滴加した。30 分後、水 (100 mL) を添加し、次にジクロロメタン (3×50 mL) で抽出した。有機層を合わせ、NaHCO₃ (飽和)、水、塩水で洗浄し MgSO₄ で乾燥し、次に濃縮した。残存物を ISCO Redi Sep 35-グラムシリカゲルカートリッジ上に精製し、50%ヘプタン/酢酸エチル、酢酸エチル

30

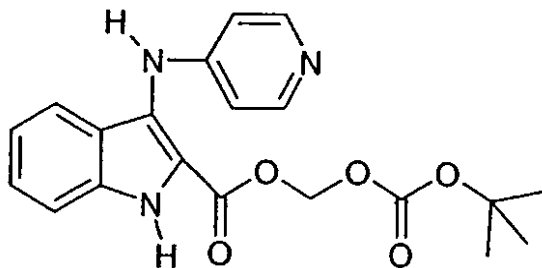
次に 10%メタノール/酢酸エチルで溶離した。画分を含有する生成物を合わせ、固体 (1.1 g) に濃縮した。固体をメタノール/エーテルで洗浄し、乾燥して白色固体として標題化合物を得た (720 mg) : TLC (シリカゲル、EtOAc/MeOH、8:2), R_f = 0.49, ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 11.47 (1H, s), 8.32 (1H, s), 8.09 (2H, d, J=5.7 Hz), 7.63 (2H, d, J=8.3 Hz), 7.48 (1H, d, J=8.3 Hz), 7.34 (2H, m), 7.14 (3H, m), 6.52 (2H, d, J=6.0 Hz), 5.61 (2H, s), 2.83 (3H, s), 2.05 (3H, s)。

40

【0350】

実施例 75

【化 9 5】



スキーム F : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
tert-ブトキシカルボニルオキシメチルエステル

10

【0351】

中間体 : tert-ブチル クロロメチルカーボネート

実施例 62 の操作法に従い、tert-ブタノールでイソプロピルアルコールを置き換え、標題化合物を得た。

【0352】

工程 F4 : 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 tert-ブトキシカルボニルオキシメチルエステル

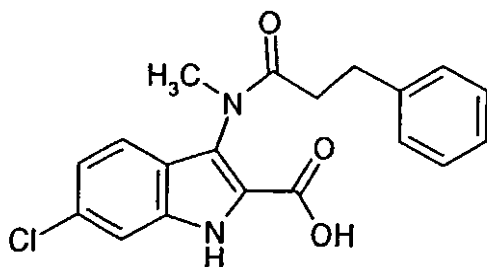
実施例 62 の操作法に従い、tert-ブチルクロロメチルカーボネートでクロロメチル炭酸 1-メチルエステルを置き換えたが、反応を一夜進行させた。固体として標題化合物を得た：MS 384 (M+H), HPLC: $R_t = 2.94$ 分。

20

【0353】

実施例 76

【化 9 6】



30

3-((3-フェニルプロパノイル)メチルアミノ)-1H-6-クロロインドール-2-カルボン酸

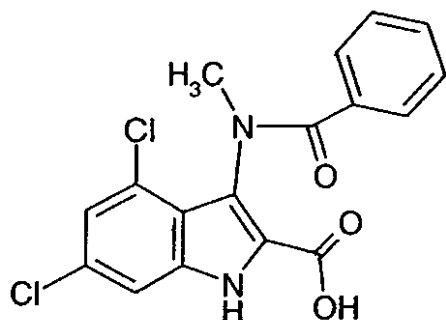
THF 5 mL および水 5 mL の溶媒混合物に溶解した 3-((3-フェニルプロパノイル)メチルアミノ)-1H-6-クロロインドール-2-カルボン酸エチルエステル (213 mg, 0.55 ミリモル) および水酸化リチウム (35 mg, 0.83 ミリモル) の溶液を室温で一夜攪拌した。反応混合物を水 (~10 mL) に希釈し、酢酸エチルで洗浄し、有機不純物を除去した。水層を 1 N 塩酸で酸性化し、標題化合物を沈殿させた。濾過により標題化合物を単離し、60 °C で真空下に乾燥し、197 mg (99% 収率) を得た；融点 220 °C ~ 221 °C。

40

【0354】

実施例 77

【化 9 7】



10

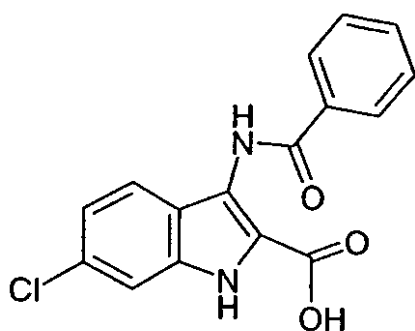
3-((ベンゾイル)メチルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 11 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した； 融点 275℃。

【0355】

実施例 78

【化 9 8】



20

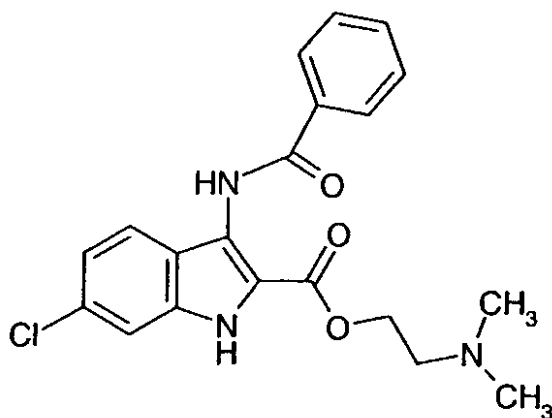
3-((ベンゾイル)アミノ)-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 4 に記載された操作法に従って、標題化合物を製造した；融点 205℃～210℃。(分解)。

【0356】

実施例 79

【化 9 9】



40

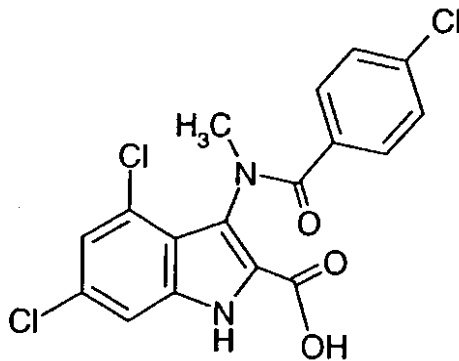
3-((ベンゾイル)アミノ)-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸 2-ジメチルアミノ-エチルエステル

米国特許番号 5,675,018 の実施例 5 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した。

【0357】

50

実施例 80
【化 100】



10

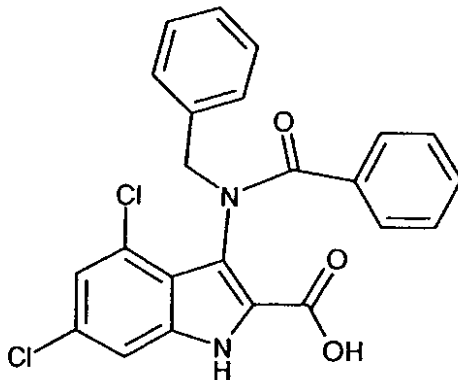
3-((4-クロロベンゾイル)メチルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 28 Q に記載の操作法に従い、標題化合物を得た；融点 279℃～283℃。元素分析値 $C_{17}H_{11}Cl_3N_2O_3$ ：計算値：C, 51.35；H, 2.79；N, 7.04；測定値：C, 51.30；H, 2.81；N, 7.00。

【0358】

実施例 81
【化 101】

20



30

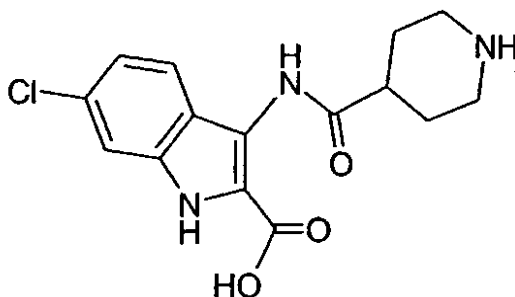
3-((ベンゾイル)ベンジルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 17 に記載の操作法に従い、標題化合物を製造した；融点 266℃～267℃。

【0359】

実施例 82
【化 102】

40



3-((4-ピペリジンアシル)メチルアミノ)-6-クロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

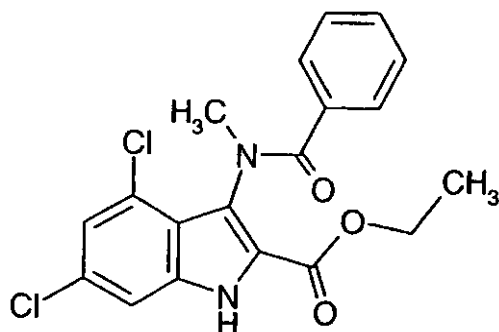
50

米国特許番号 5,675,018 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した。

【0360】

実施例 83

【化103】



10

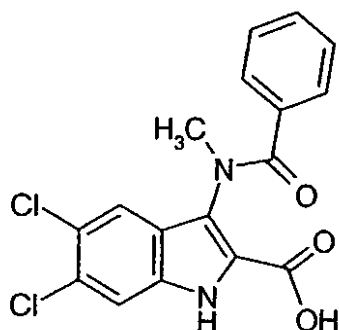
3-((ベンゾイル)メチルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

米国特許番号 5,675,018 の実施例 10 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点 143℃～144℃。

【0361】

実施例 84

【化104】



30

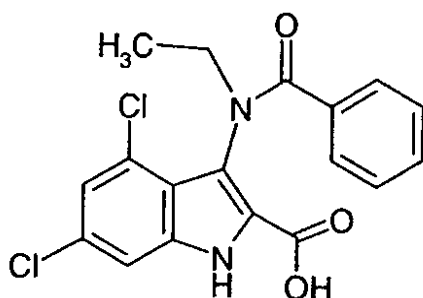
3-((ベンゾイル)メチルアミノ)-5,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 41c に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した。

【0362】

実施例 85

【化105】



40

3-((ベンゾイル)エチルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 15 に記載された操作法に従い、標題化合物を

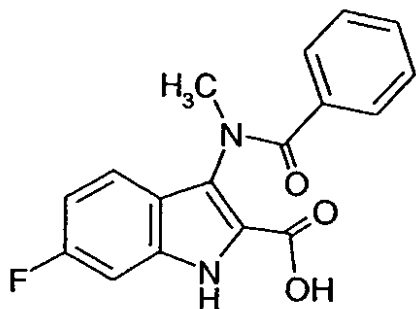
50

製造した；融点 254℃～256℃。

【0363】

実施例 86

【化106】



10

3-((ベンゾイル)メチルアミノ)-6-フルオロ-1H-インドール-2-カルボン酸

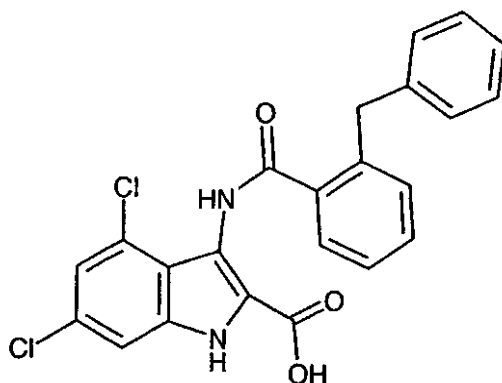
米国特許番号 5,675,018 の実施例 4 L に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点 142℃～143℃。元素分析値 $C_{11}H_{13}FN_2O_3$ ：計算値：C, 55.00；H, 5.45；N, 11.66；測定値：C, 55.09；H, 5.19；N, 11.63。

【0364】

実施例 87

【化107】

20



30

3-((2-ベンジルベンゾイル)アミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

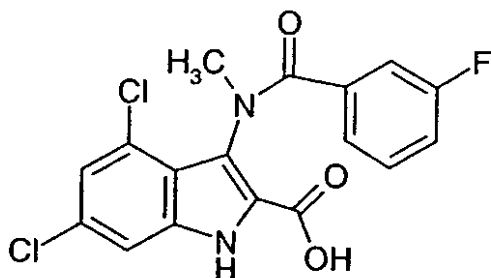
米国特許番号 5,675,018 の実施例 21 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点 234℃～235℃。元素分析値 $C_{23}H_{16}Cl_2N_2O_3$ ：計算値：C, 62.88；H, 3.67；N, 6.38；測定値：C, 63.04；H, 4.05；N, 5.97。

【0365】

実施例 88

【化108】

40



50

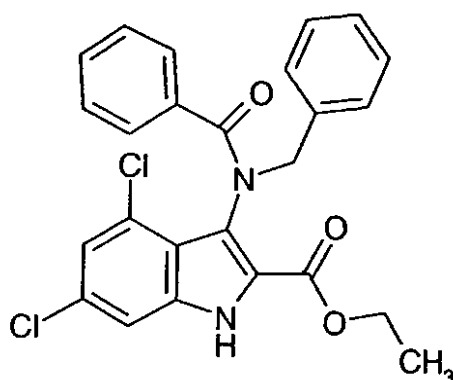
3-((3-フルオロベンゾイル)メチルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号5,675,018の実施例28jに記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点270℃～280℃。元素分析値 C₁₇H₁₁Cl₂FN₂O₃：計算値：C, 53.57；H, 2.91；N, 7.35；測定値：C, 53.54；H, 3.15；N, 7.24。

【0366】

実施例89

【化109】



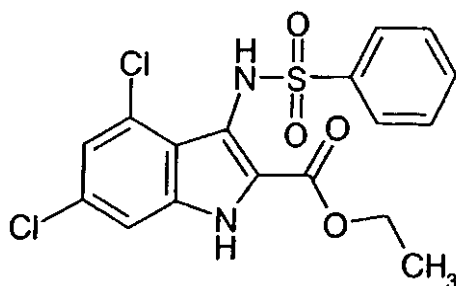
3-((ベンゾイル)ベンジルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

米国特許番号5,675,018の実施例16に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点174℃～175℃。

【0367】

実施例90

【化110】



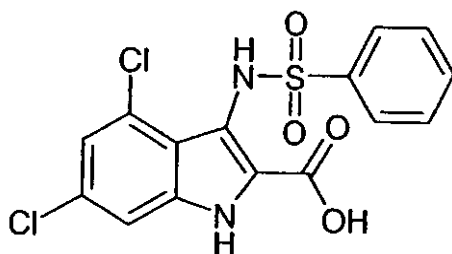
3-((フェニルスルホニル)アミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル

米国特許番号5,675,018の実施例29に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点245℃～247℃。

【0368】

実施例91

【化111】



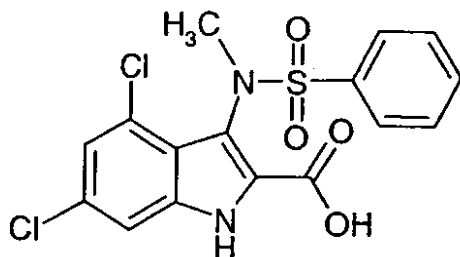
3-((フェニルスルホニル)アミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 30 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点 229℃～235℃。

【0369】

実施例 92

【化112】



10

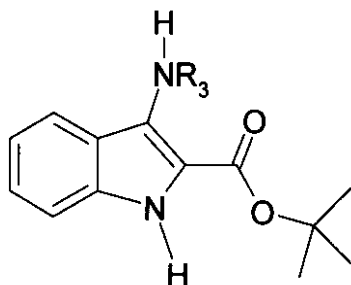
3-((フェニルスルホニル)メチルアミノ)-4,6-ジクロロ-1H-インドール-2-カルボン酸

米国特許番号 5,675,018 の実施例 32 に記載された操作法に従い、標題化合物を製造した；融点 286℃～290℃。

【0370】

実施例 93～112

【化113】



30

1H-インドール-2-カルボン酸-3-[(カルボニル)アミノ]t-ブチルエステルの平行合成

3-アミノ-1H-インドール-2-カルボン酸t-ブチルエステル(100mg)、適切なクロロホルメート(0.5ミリモル)、重合体結合ジイソプロピルアミン(200mg)を反応容器に投入し、Quest 210 平行合成装置上に置き、一夜攪拌した。トリスアミン(一般的に約2～5モル等量の過剰量)を添加し、濾過し、真空下に濃縮し、標題化合物を得た。

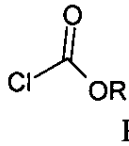
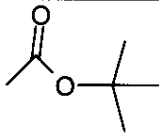
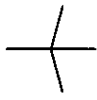
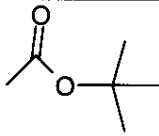
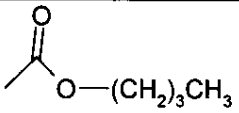
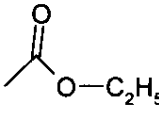
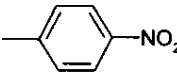
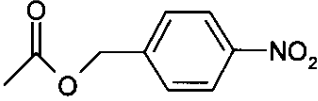
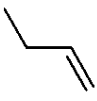
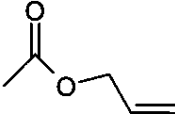
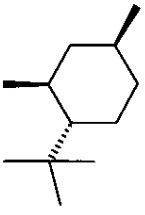
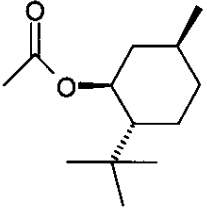
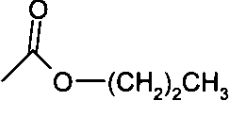
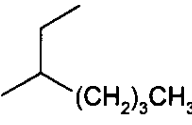
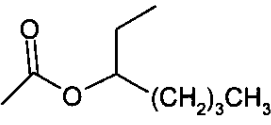
【0371】

表14は反応体クロロホルメート、得られた生成物および生成物の関連する分析データを示す。

40

【表 1 4】

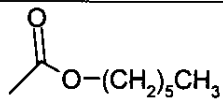
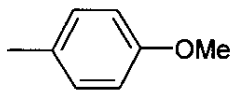
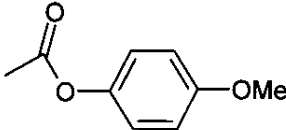
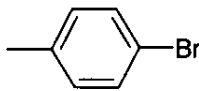
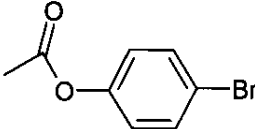
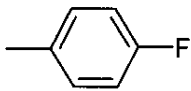
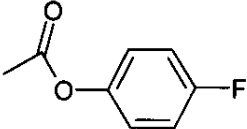
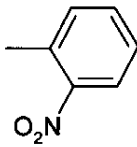
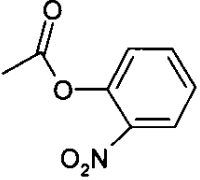
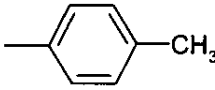
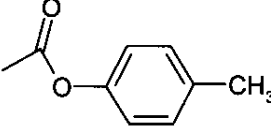
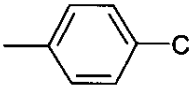
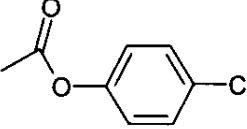
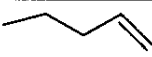
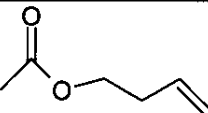
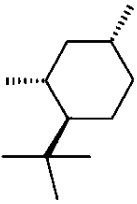
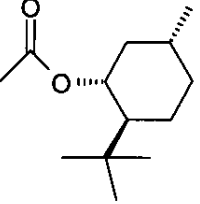
表 1 4

実施例	クロロホルメート  $\text{Cl}-\text{C}(=\text{O})-\text{OR}$ $\text{R} =$	生成物 $\text{R}_3 =$ 	MS (M+H)	HPLC (分) ^a
93			333	2.11
94	$-\text{O}-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$		333	2.15
95	$-\text{C}_2\text{H}_5$		305	1.95
96			412	2.06
97			317	1.97
98			-	2.64
99	$-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$		319	2.05
100			389	2.5

【 0 3 7 2 】

【表 1 5】

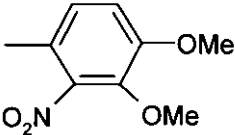
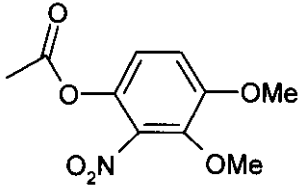
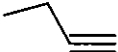
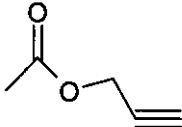
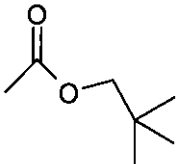
表 1 4 (続き)

101	$-(CH_2)_5CH_3$		361	2.35
102			383	2.05
103			-	2.21
104			-	1.88
105			-	-
106			-	2.61
107			-	2.07
108			331	2.16
109			-	2.13

【 0 3 7 3 】

【表 1 6】

表 1 4 (続き)

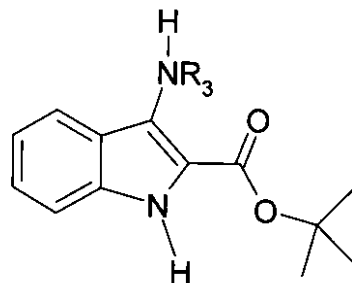
110			-	-
111			315	2.06
112			-	2.18

^a 保持時間 (分)

【0 3 7 4】

実施例 1 1 3 ~ 1 1 9

【化 1 1 4】



3 - (スルホニル) アミノ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 t - ブチルエステルの合成

【0 3 7 5】

一般的方法 (実施例 1 1 3 ~ 1 1 8)

3 - アミノ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 t - ブチルエステル (0. 43 ミリモル) をジクロロメタン (1 mL) 中に溶解し、N - メチルモルホリン (0. 2 mL) を添加し、次にジクロロメタン (1 mL) に溶解した適切なスルホニルクロリド (0. 5 ミリモル) を添加した。一夜攪拌し、1 N NaOH とジクロロメタンとの間に分配した。有機層を分離し、そして、水性 NH₄ Cl で洗浄した。有機層を MgSO₄ 上に乾燥し、濾過し、真空下に濃縮し、標題化合物を得た。

【0 3 7 6】

一般的方法 (実施例 1 1 9)

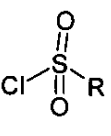
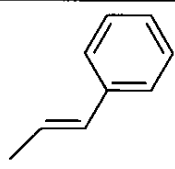
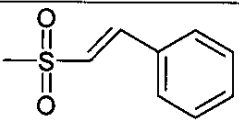
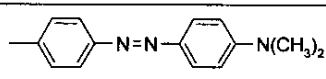
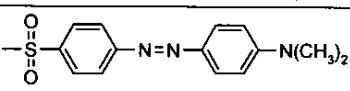
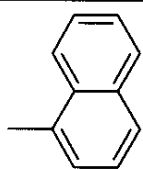
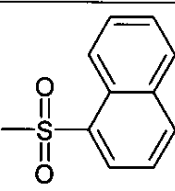
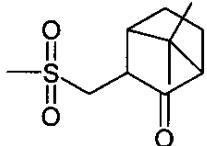
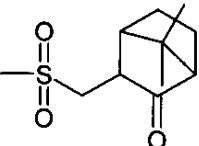
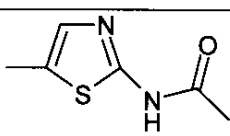
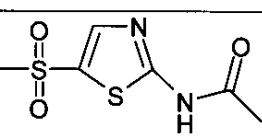
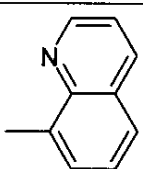
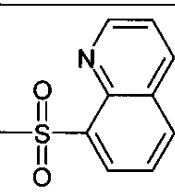
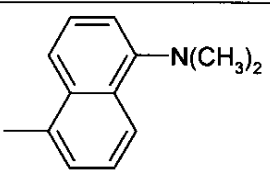
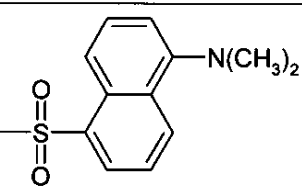
3 - アミノ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 t - ブチルエステル (0. 43 ミリモル) をジクロロメタン (2 mL) 中に溶解し、N - メチルモルホリン (0. 2 mL) を添加し、次にジクロロメタン (1 mL) に溶解した適切なスルホニルクロリド (0. 5 ミリモル) を添加した。J K E M ブロック装置上で 4 時間周囲温度で振とうした。反応混合物を飽和 NH₄ Cl 溶液でクエンチングし、有機層を分離し、真空下に蒸発させた。得られた固体をジクロロメタンに溶解し、濾過し、濾液を真空下に蒸発させ、標題化合物を得た。

【0 3 7 7】

表 1 5 は反応体スルホニルクロリド、得られた生成物および生成物の関連する分析データを示す。

【表 1 7】

表 1 5

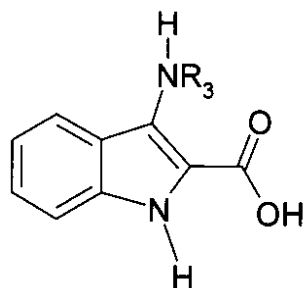
実施例	スルホニルクロリド  R=	生成物 R ₃	MS (M+H)	HPLC (分) ^a
113			399	2.27
114			520	2.28
115			423	2.08
116			-	-
117			451	1.8
118			-	-
119			466	2.16

^a 保持時間 (分) ; ^b 融点 = 179~181°C

【0378】

実施例 120 ~ 124

【化 1 1 5】



3 - (置換スルホニル) アミノ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸の合成 一般的方法

10

3 - (置換スルホニル) アミノ 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 *t* - ブチルエステルをジクロロメタン (2 mL) に溶解し、トリフルオロ酢酸 (1 mL) を添加し、2 時間周囲温度で攪拌した。反応混合物を真空下に濃縮し、残存物を EtOAc と水との間に分配した。有機層を収集し、MgSO₄ 上に乾燥し、濾過し、真空下に濃縮し、標題化合物を得た。

或いは、実施例 1 2 3 および 1 2 4 については、反応混合物を真空下に濃縮し、残存物をエーテルで磨砕した。濾過し、生成物をトリフルオロ酢酸塩として収集した。

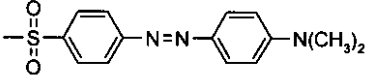
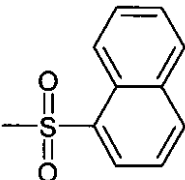
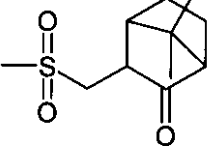
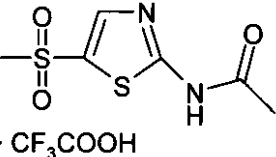
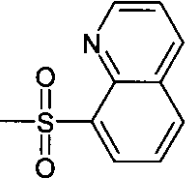
【0 3 7 9】

表 1 6 は 3 - (置換スルホニル) アミノ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸および関連の分析データを示す。

20

【表 18】

表 16

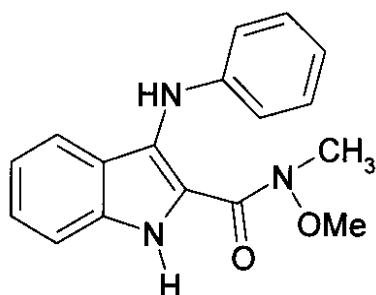
実施例	生成物 R ₃	MS (M+H)	HPLC (分) ^a
120		464	1.95
121		367	1.72
122		391	1.65
123	 ·CF ₃ COOH	395	1.52
124	 ·CF ₃ COOH	368	1.58

^a 保持時間 (分)

【0380】

実施例 125

【化116】



3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸メトキシメチル-アミド

室温で攪拌している DMF (15 mL) 中の 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (1.77 g、7.0 mmol) の溶液に、カップリング剤である 1,1'-カルボニルジイミダゾール (CDI) (1.13 g、7 mmol) を

10

20

30

40

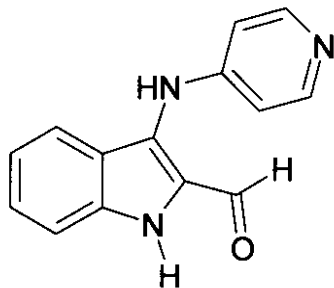
50

添加し、約30～40分間攪拌を継続した。次に塩酸N-メトキシ-N-メチルアミン（680mg、7ミリモル）を添加し、反応混合物を一夜攪拌放置した。反応をTLC（シリカゲル、ジクロロメタン／メタノール 7：3、v／v）でモニタリングした。出発物質は一夜攪拌した後に消費された。NH₄Cl水溶液、酢酸エチルおよび塩水を添加した。形成した固体を濾過し、排気した。水層を数回酢酸エチルで抽出した。抽出液をジクロロメタン／メタノールを用いたフラッシュクロマトグラフィーで精製し、標題化合物の黄色不定形固体300mg（15%）を得た。NMRおよびLC-MSデータは標題化合物の予測されたデータと合致していた。

【0381】

実施例126

【化117】



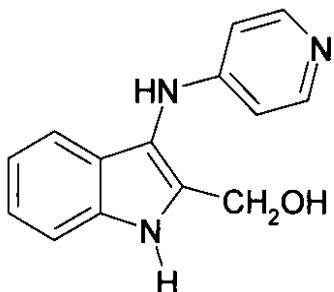
3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボキシアルデヒド

0℃で、THF（35mL）中の3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸メトキシメチルアミド（2.72g、7.2ミリモル）の懸濁液を攪拌し、そして、THF中のLAHの溶液（14.5mL、14.5ミリモル）を添加した。室温に戻し、20時間攪拌を継続した。水性NH₄Cl、次いでジクロロメタンを添加した。アンモニウム塩を濾過し、有機層を分離し、真空下に濃縮し、茶色固体を得た。油状物をフラッシュクロマトグラフィーに付し、黄色固体として標題化合物0.62g（36%）を得た。¹H NMR（DMSO-d₆）δ 11.8（1H, s）, 9.95（1H, s）, 9.1（1H, s）, 8.18（2H, br s）, 7.4（3H, m）, 7.1（1H, dd）, 6.7（2H, br d）。

【0382】

実施例127

【化118】



[3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-イル]-メタノール

0℃で、THF（15mL）中の3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸エチルエステル（1.4g、5ミリモル）の溶液を攪拌し、そして、THF中のLAHの1M溶液（8mL、8ミリモル）を添加した。反応混合物を室温に戻し、更に0.5時間攪拌した。NH₄Cl水溶液、酢酸エチルおよび塩水を添加した。2相の混合物中に形成した固体を濾過し、ベージュ色の固体として標題化合物0.56g（47%）を得た。MS 240（M+H）；HPLC：R_t = 1.04分；TLC（シリカゲル、ジクロロメタン／MeOH、4：1）、R_f = 0.6。

【0383】

10

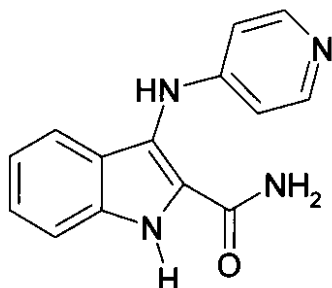
20

30

40

50

実施例 128
【化 119】



10

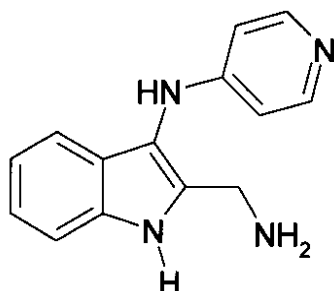
3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボキシアミド

−20℃において、DMF (12 mL) 中の 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (1.26 g、3.0 ミリモル) の溶液を攪拌し、そして、BOP (1.32 g、3.0 ミリモル)、次いでジイソプロピルアミン (0.8 mL、4.5 ミリモル) を添加した。反応混合物を 0.25 時間攪拌し、MeOH 中 7 M の NH_3 の溶液 (0.43 mL、3.0 ミリモル) を添加した。反応混合物を一夜室温で攪拌放置し、EtOAc を添加した。有機溶液を水性 NaHCO_3 、塩水で洗浄し、そして MgSO_4 上に乾燥した。濾過し、濾液を真空中に濃縮し、固体を得た。固体を EtOAc から再結晶させ、黄色固体として標題化合物 0.425 g を得た：MS 253 (M+H)；融点 230℃ (分解)；TLC (シリカゲル、ジクロロメタン/MeOH/ NH_4OH 、8:2:0.1 v/v)、 $R_f = 0.39$ 。

20

【0384】

実施例 129
【化 120】



30

(2-アミノメチル-1H-インドール-3-イル)-ピリジン-4-イルアミン

0℃で、THF (10 mL) 中の 3-(ピリジン-4-イルアミノ)-1H-インドール-2-カルボキシアミド (1.26 g、5 ミリモル) の溶液を攪拌し、THF 中の LAH の 1 M 溶液 (25 mL、25 ミリモル) を滴加した。反応混合物を室温に戻し、次に一夜還流した。10% ロッシェル塩水溶液を添加し、水性混合物を EtOAc で抽出した。抽出液を真空中に濃縮し、粗製の黄色固体 0.5 g を単離した。固体を分取 HPLC で精製し、固体として標題化合物 0.2 g を得た：MS 239 (M+H)。

【0385】

40

本発明を前述した実施例の特定のものにより説明したが、これにより制限されることはなく、むしろ本発明は開示した包括的領域を包含する。種々の変更および実施形態が本発明の精神および範囲を離れることなく行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【0386】

【図 1】マウスにおける気管支肺胞洗浄抽出 (BALF) サイトカインおよび肺の炎症に対する 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) の作用を示す棒グラフである。

【図 2】ラットにおけるアレルゲン誘導肺炎症の 3-(4-ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸 (実施例 28) による抑制を示す棒グラフである。

50

【図 3】 3 A は、抗原誘導の早期および遅発性の気管支応答に対する 3-（4-ピリジニルアミノ）-1 H-インドール-2-カルボン酸（実施例 28）による抑制を示す棒グラフである。3 B は、負荷後の気道の応答性に対する 3-（4-ピリジニルアミノ）-1 H-インドール-2-カルボン酸（実施例 28）による抑制を示す棒グラフである。

【図 4 A】 配列表の配列番号 1、即ち、ヒト IL-4 遺伝子プロモーターのヌクレオチド -6635～+66 を含む 6.7 kb のフラグメントである。

【図 4 B】 図 4 A の続きである。

【図 4 C】 図 4 B の続きである。

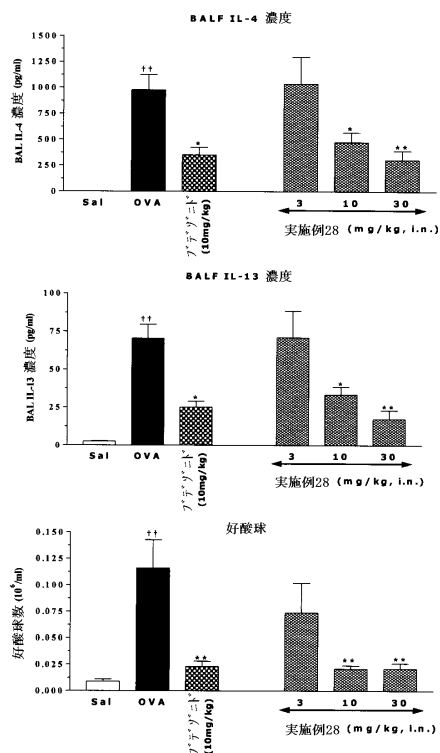
【図 4 D】 図 4 C の続きである。

【図 4 E】 図 4 D の続きである。

10

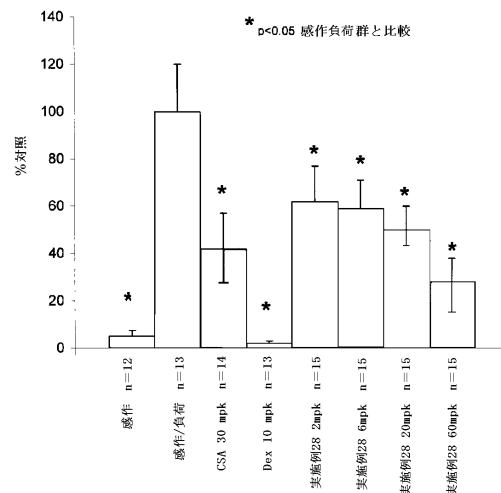
【図 1】

マウスにおける BALF サイトカインおよび肺炎症に対する、3-（4-ピリジニルアミノ）-1 H-インドール-2-カルボン酸（実施例 28）の作用



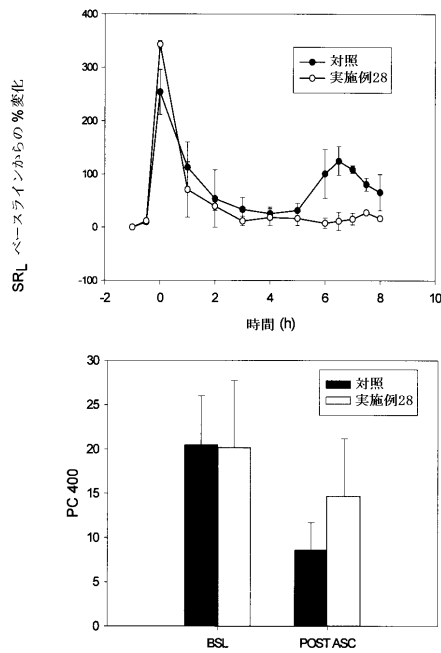
【図 2】

ラットにおけるアレルギー誘導肺炎症の 3-（4-ピリジニルアミノ）-1 H-インドール-2-カルボン酸（実施例 28）による抑制



【図 3】

Ascaris suum 抗原による負荷後のヒツジにおける早期
および遅発性のアレルギー性肺応答に対する 3-(4-
ピリジニルアミノ)-1H-インドール-2-カルボン酸
(実施例 28) の作用



【図 4 B】

配列番号 1 (続き)

TGCCAGGCCTACTTCTAAATACTTGAAAACCTTTAAATGTATTCTCCTCAGAGCA
ACTTCATGAGACAGGGACAGCTATGACCCTTATTTCACAGATGAGGCTGAGTAGC
GTGCCCAAGGTGCACACGCCAGGAGGCACAGAGCCAGGCTGACAGACCACCT
GGGCCACGCTCCGCTCTCTTAGCCACCGTGTACTATAGCAGCCTCTGTTAAACAG
ACCCCTTTCTGGATGACACATGGCCAAGTCTTTCATGGAAACCTCACTTGCTCT
TCACAAGGAAGAGCCACATTATTCCTATTCTACAGGTGAGAAAAATCGAGAACCCAG
AGAGAGTTAATGATCTACTCATGGTCACAGAGTTGATAAGGGCTCATTGCTGGA
CTCCCAAACGCAGTGCTCATAACTGCTACGTTCCAGGGCTGAAGGAAAACTCT
GCATCATGGAGGGGCGGGCGCTGGTTCTCAGCTCTCACACAGGGGAGGGGAAG
GGGCTGTGACCCACACAGCCAGGACAGCAGTATTCACTTCCCTCTGAACTTT
GGTGTGACGGCCACCACACCCCGCAGAGCATGCCATGCCCTTGAGGCTCGGA
GACTCTTCGCAAGTGGTGGTAGTGGTGGTATCACTGGCTTCTTTGTCCCTGC
AATGCAGGCACCCACCTTCCCATCTCTACCCACCTGCCGCACCTGCAGCTGCCAT
GGTGTGTCCCTGCAGGCGAGGATGGCCCATCCCCACTTCTGCCCTCTGGGGAG
ACTCTGTGTCACTCTCGAATGTTCTGGACAGTTATCTTTTCACTTTTGGCCTCATT
TCACCATGAAACAAACAAAAAGCTGGATTCTGCTTCTGAGCTGAAGGTGCCCA
CTCAATATTCCTTTTCACTACCAAGCTCTCCCTCAGAGCCTCAAGCCAGGTTCT
GCCCTTTAGTGGGTGCTTAGAAAAACCCACATGAGCTTAATTAAGGCTGTTCAC
TGCCCCCAGACAGCCCCAGAACCCCGCCTCCCCACCAGCTCCCTTCTGCATCC
CCGACTCTCCTTGAGAACCTATTGGCAGAAGCTCTCACCCAGCAAGTCCGCAG
CTTGATGAGCTCCCTCCTGTGTTAACTGGAACCGCTGTGTACTTCATTCCACATA
ATAGTTATCGGATCCAAAGTCCCCACCTGCTTTGGAAGCAACCAAGCTCTTCTC
ATAACTCTCTCATTTTGTGACAGTGAAGATCAACCTTATCCCAAGATCTGGCC
TTTGCTCTGGCTCTTGGGAGGTCCTACCAGCTACAAACCTTGAGTAAACA

【図 4 A】

配列番号1 ヒトインターロイキン-4 遺伝子プロモーターのヌクレオチド
-6635~+66を含む6.7kbのフラグメント

GAATTCCTTCTGTGCGAGATCCAAGAACTCTCTCGGGGTCTGAATCGGGACCCC
TTTTCCAGCAACACTGTGTCTTCCCTTGGCTTAGTCAACCTCCATGTCTACTGC
CTGCAGGCTGGACCTTCCCCTGTTCTCAGATATGGCCCGTAGCAGCCCTCAGACT
GGTGGCTCCACCCGGCGCTGCCCTTCCCCTGCCCTCTCCCACAGGCAGAAC
TGGGGCACTCGCATCTCTGCTCTCCCTACCCCAACTCAGTCACTTCCAAAG
TGCTATTAATGATGATGGTGGTGGTGGTATTGCTGGCAATTTCCGGGGGCTT
GCAATATGCCGGTCAACACACAAACACTTCATATTTGTACCTTCTATAGTATTC
CCTCGCCCTGTAATCAGCCCAAGTTTACAGAGAAAGCTGGATGGGGAACTTTT
CCAAGGTACACCCAGAGCTGGAGATTCAGAACCAGTCAAGTCCGTGGGACCAAG
ACACAGCTCTTAACATGACAGCTGTCTGGGCCAAATGACTCAAGAGCCACAG
CTCTCCGTGCACCATCCACCCGATTCGGCGCACTGCCTCTGTGACGGGCGCT
GCAATGCTCTGGCTGGGTCCCCTCGGCCCGTGCTCCCTCTGGGAGCCCTCTCTT
CAGTGACCTCGGGGCTTCCACCTGTCTGTCTCCCTTGGCCGCACTACCCACCCCTG
CAGCCCTGCTCTGTGCTAAAGCCGGCTCATCCCTAACTCTGCTTAAGTGGCCCTC
CCTCAGAGAAGTCTACCTTTTCCATGACTAAGCTGTGGGGGTGGAAAGCAC
TCTCTGGGTGCTGGCTCTCGAGGACTCAGACAGAGGAGGGAGTGAGATTCACC
CGACTCGGACCACAGGAATGCGTGGGACAGCAAGACTCATATGACAGAGGCCGT
GGAGACTGGGCTGCATTGTGCGACCTGTATTCCTTTCTCCTAGTACTGCCGGT
TTCTGACTCTTTGAAGCGAGCATCTGGCTTTTCCAATTAGATGAAGGCTGACAAG
CTGTGAGAGGGGAGGGCGCGAGATACCATGTACCTGTGTCATTACAGTATGGGGTGT
CCTGTAGCAGCTCATGGTGTGGAAGTCAGACCTGGGAGTCTCTGGAGCAGACT
ACAGTGTAGGGGCTCAGAGAGGCAGCACTTGGAAATCCCGGCATCGACGCTC
AGGGGTGGCTCGCTGAGTGGGTGAGCTCTTATGGGTTCTGGGCCACAGCTTGAGC
CTGGCCCTCCAGCCCTCTGACATTCTAGAAGCACCTACTTTCTGCCTAAATCC
TTTCTGACTAAAGCACCCACAGCTGTGTCTGTTCCTGTAATGAATCCAGATAC
TAAAGTAGCGGGGTGCAAGTGTGGAGACCGTGACCCACAGAAACAAGGACGGC
AATCAAAAGACGGAGGACATCCAGGAGGAACCTGTGGGGAGGGCCCGTCT
GGCAGATCTCCACTGCCCTGCCAGTCTGGCTTGGCTTGCCTAATAGATGAAGCAT
AGTCATTTCAGCAACTCAAGATGAGAGTCATATATCACTACACTCACTGTG

【図 4 C】

配列番号 1 (続き)

ACGTGGCTAGTCCCTGTGCACCAAGTTCGCCAGGAGGTAGCCCCAAATTCCTAGGAGT
TTCCAAAGTGATAGGAGATCTCTATTATTCATGGTGGTCTCTGAGAGTTATGCGA
GTGAAGTGACTCATGGTGGGCCCTAGGTAGTTTTGCTGACAATACGACATGGAG
GGCTGGCCACGCCCTACAGAGGTTGCTGATACAGCTGGCCCTCCGGGAAGGAGA
CAGGAAGATGATGATCAACCCAGTGGCCATAGAGTTCATCAACCAACCTATATGA
TAAGACTCAAAATAAAACTCTGGACCCCAAGCTCAAGTGAGCCTCCCTGCTTAG
AAATAGTCAGCATTTTGTACACGTCAAAGTGCTGAGAAGGTGATGCCCTCTGACG
CCACACGGGGAAGACAAATGAGACTTTGTGTTTGGGCCCTCTCTCATCTCGCCCT
GTGTCTCTCTTTTGGCTGGTTCTGATTTGATGGTTTGTATGATAAAACTGTGGC
CTTGCTATGACTCTCCGATGTTCTGAGTCTACGATCTCCAGTGCATTTGGAACCTG
AGGGGTAGTGGAACTCCAGATTGTGCAGCCAGTACGACGTAGAGTGGGGCTGGG
AACCCCTGAATGTGCAACTGGCGTCTGAAGCAAGGGCAGTGTGTGGGGGACCAT
ACCCCTACCTGTGAGGTGTGGCTCATCTCAGTGGTTTGGCATCTGAAGCCACTG
CATTGTGTGTAACCTGCTGCCAGTCCCAATGGAAGGATCTCAAAATATGGTCT
AAGGCACTCTGTGAACAAATTCCAGATCTCTCTCTACAGAAGCTTGAGGCACTG
CGATAAGATGTCAAAATATTATACACAGTGAATCTCTATACAGCTTTAAAAAGA
AGGAAACGCTGTCTATACCACAACAGGATGAACCTGGAGGACATATGTCTAAGT
GAAAAAATCCAGGCACAGACAGACAAATACCATGATCTCACGCATATGTGAA
ATATAAAAAAGCCAACTCAGGAGGCGAGAGATAGGATGAGTACCAGGGCCT
GGGAGGTTGGTGATCAGGAAGATGTTGCTCAAAAGGATATAAAATTTCAATGGGA
GGATGTAAAGTAAAGAGGCCATTGACGACATGGTGACCAAGCTTGATATCAAT
GTTGTATACTTAAAAATCATGAAGACAGCCGAGCCGAGGCTCAGCTCAAGCTGT
ATCCAGCATCTCAGGGGCTGAGGTGGGTAGATACGCTGAGGTACAGGAGTTCGAG
ACCAGCTGGCCAACTGGTAAACCCCTGTCTCTATTAATAATACAAAAATTAGC
TGGGCGTGGTGGCAGGCACCTGTAAACCAAGCTACTCGGAGGCTGAGGCAGGAGA
ATTGCTTGAGCTACAGGAGCAGAGTTTGAGTGGCTGAGACTGCGCCATTGCACT
CAGCTCTGGGCAACAGAGCAAGACTCTATCTCAAAATAAATATAAATCACAGACT
AGATTTTAAATGTTCTTACC

【図 4 D】

配列番号 1 (続き)

AAAAATAAATATGTGAAGTATTGTATAAGTAGCTTGATGTAGCAATTCATAACA
TGCACATTTCAAAACATTATATCATACAGCACAAATATGTGCAATACTTATTTGTC
AATTTAATAATAATAATAAAGGGAAGAAAAGATCCAAAACAGGCAAAACCTT
GGCCGGGCATGGTGGTTCACGCCTATAATCCAGCACTTTGGGAGGCTGAGGGGG
TGGATCATTTTGAGGCCAGGAGTTCGACACCAGCCTAGCCAACATGGTGAAACCC
CATCTTACTAAAAAATACAGAAATTAGCCAGGCGTGGTGCCATG
TGCCTGTAATCCCGCTACTCGGGAAGCTGAGGCTGGAGAAATGCCTTGAGCCAGG
AGATCAAGGCTACAGAAAGCTATGATCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGA
GTATGGGGCAGGGGGTGGTGAAGGGGGCGGGAAGTGAACAGAGCCAAAAC
CTTAGCAACACACATTTTAGATGATCTTCCAGAATATTCATAGGGAGGCCAGG
CACAGTGGCTCACGCCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGCAGGCGGATCA
CGAGGTCAGGAGATGGAGACCATCTGGCTAACACGGTGAAACCCCGTCTACT
AAAAATACAAAAATTAGCCGGGCGTGGTGGCAGGTGCCTGTAGTCCAGCTACT
CGGGAGGCTGAGGCAGGAGAACGGCATGAACCCAGGAGGCGGAGCTTGCAGTGA
ACTAAGATCCGCCACTGCACTCCAGCCTGGGTGACAGCAAGATTCCATCTCAA
AAAAAATACAAAAAAGAAATTCATAGGGAAGAAAGGTGAGAGACCAAGGG
AAGGGAAGGTTCTGGGAGAAAAGCGGGCAGGCAGGGCCCAAGAATCCTGCTGC
CCATGAGCCCTTACTGGGAGGTGGGTGGCCTGCACAGGCCCAGGCACCTGAGT
GAGTGGTGGGTCTTACGTTCACTGCTGGGTGAGGCATGAGCACCTTATTGTG
TCCACATGAATTCAATAAAAAACAAGCAGGGCGCGTGGTGGGGCACTAGGAGGG
CTGATTTGTAAGTTGGTAAGACTGTAGCTCTTTTCCTAAITAGCTGAGGATGTGT
TAGGTTCCATTCAAAAAGTGGGCATTCCTGGCCAGGCATGGTGGCTCACACCTGT
AATCTCAGGCTTTGGGAGACTGAGGTAGGAGGATCACTTGAGCCCAGGAATTGA
GATGAGCCTAGGCAACATAGTGAGACTCTTATCTCTATCAAAAAATAAAATAAA
AATGAGCCAGGCATGGTGCCTGACACGCACCTACTGCTAGGGGGCTGAGGT
GGGAGGATCATTTAGCCTGGGAGGTTGAGGTGCAGTGATCCCTGATCAAAATTG
CATTTAGCCTGGGTGACAGAGTGAGACCTGTCTCAGAAAAAAGT
CATTCCTGAAACCTCAG

【図 4 E】

配列番号 1 (続き)

AATAGACCTACCTTGCCAAGGGCTTCCTTAGGGTAAGGACCTTATGGACCTGCTG
GGACCCAACTAGGCCTCACCTGATACGACCTGTCTCTCAAAACACTAAACTTG
GGAGAACATTGTCCCCAGTGTGGGTAGGAGAGTCTGCCGTCTTCTGCCTCTAT
GCAGAGAAGGAGCCCCAGATCATCTTTCCATGACAGGACAGTTTCCAAGACCAC
CTGTACTTGGAAGAAGCCAGGTTAAAATACTTTTCAAGTAAACCTTCTTGATATT
ACTCTTCTTTCCCGAGGAGTGCATTACAACAAATTCGGACACCTGTGGCCTCT
CCCTTCTATGCAAGCAAAAAGCCAGCAGAGCCCAAGCTGATAAGATTAATCTA
AAGAGCAAATTATGGTGTAATTCCTATGCTGAAACTTTGTAGTTAATTTTTTAA
AAGGTTTCATTTTCCTATTGGTCTGATTCACAGGAACATTTACCTGTTGTGAGG
CATTTTCTCCTGGAAGAGAGGTGCTGATTGGCCAGTGACTGACAATCTGGTGTA
ACGAAAAATTCCAATGTAAACTCATTTCCCTCGGTTTCAGCATTTAAATCTATAT
ATAGAGATATCTTTGTCAGATTGCATCGTTAGCTTCTCCTGATAAACTAATGCCT
CACATTGCTACTGCAATCGACACCTATTA

【配列表】

0004497930000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 0 7 D 417/12 (2006.01) C 0 7 D 417/12

- (72)発明者 グレゴリー・エイチ・メリマン
アメリカ合衆国ニュージャージー州08865, フィリップスバーグ, ストーンヘンジドライブ248
- (72)発明者 フィリップ・エム・ワイントラウブ
アメリカ合衆国ニュージャージー州07059, ウォレン, カーサーレドライブサウス33
- (72)発明者 ジェフリー・エス・サーボル
アメリカ合衆国ニュージャージー州08807, ブリッジウォーター, パートランドドライブ24
- (72)発明者 ラマリンガ・ドハラニプラガダ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08502, ベルミード, タガートドライブ805
- (72)発明者 ニコラス・ジェイ・フリブ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08844, ヒルズバラ, ジェイムズタウンコモン2402
- (72)発明者 ジョン・ジー・ジュアカク
アメリカ合衆国ペンシルベニア州18020, ベスレヘム, 第13ストリート2431
- (72)発明者 アレグザンダー・グロス
アメリカ合衆国ニュージャージー州07302, ジャージーシティ, エイスストリート245
- (72)発明者 ブライアン・ホワイトリ
アメリカ合衆国ニュージャージー州08833, レバノン, ルート22ウェスト1404
- (72)発明者 クウォン・ヨン・ミュージック
アメリカ合衆国ニュージャージー州08869, ラリタン, ヒドゥンポンドコート13
- (72)発明者 ジョウゼフ・ティー・クライン
アメリカ合衆国ニュージャージー州08853, ネシャニックステーション, リーハイロード20

審査官 富永 保

- (56)参考文献 米国特許第05328920 (US, A)
特開平08-041061 (JP, A)
特表平11-513400 (JP, A)
国際公開第00/046199 (WO, A1)
特開昭61-191683 (JP, A)
J.Heterocycl.Chem.,(1987),24(2),p.437-9
J.Chem.Research,Synopses,(1985),(9),p.296-7
Canadian J.Chem.,(1984),62(8),p.1580-4

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D
CA/REGISTRY(STN)