

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-509924

(P2007-509924A)

(43) 公表日 平成19年4月19日(2007.4.19)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 403/12 (2006.01)	C O 7 D 403/12 C S P	4 C O 6 3
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	4 C O 8 6
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00 I O 1	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	A 6 1 P 19/08	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 46 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2006-537458 (P2006-537458)
 (86) (22) 出願日 平成16年10月19日 (2004.10.19)
 (85) 翻訳文提出日 平成18年6月28日 (2006.6.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2004/003417
 (87) 国際公開番号 W02005/042519
 (87) 国際公開日 平成17年5月12日 (2005.5.12)
 (31) 優先権主張番号 60/516,591
 (32) 優先日 平成15年10月31日 (2003.10.31)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 503181266
 ワーナー・ランバート カンパニー リミ
 テッド ライアビリティー カンパニー
 アメリカ合衆国 10017 ニューヨー
 ク州 ニューヨーク市 イースト・フォー
 ティーセカンド・ストリート 235
 (74) 代理人 100096666
 弁理士 室伏 良信
 (72) 発明者 マイケル ケヴィン コナリー
 アメリカ合衆国 48105 ミシガン州
 アン・アーバー市 プリマス・ロード
 2800 ファイザー・グローバル・リサ
 ーチ・アンド・デベロップメント内

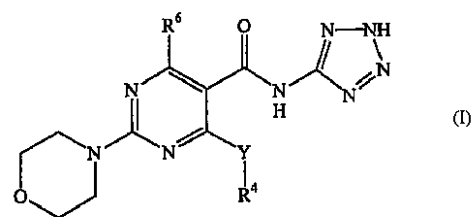
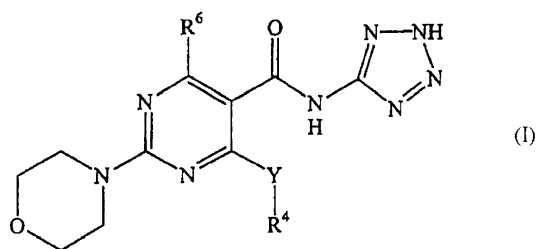
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ホスホイノシチド-3-キナーゼ (P I 3 K) 阻害剤としてのピリミジン

(57) 【要約】

本発明は、 R^4 、 R^6 、およびYが、本明細書でそのために規定する意味のいずれかである、炎症性疾患、心血管疾患、および癌を含む疾患および状態の治療において薬剤として有用な式 (I) のピリミジン、および薬学的に許容できるその塩を提供する。式 (I) の1種または複数の化合物を含む医薬組成物も提供する。

【化1】

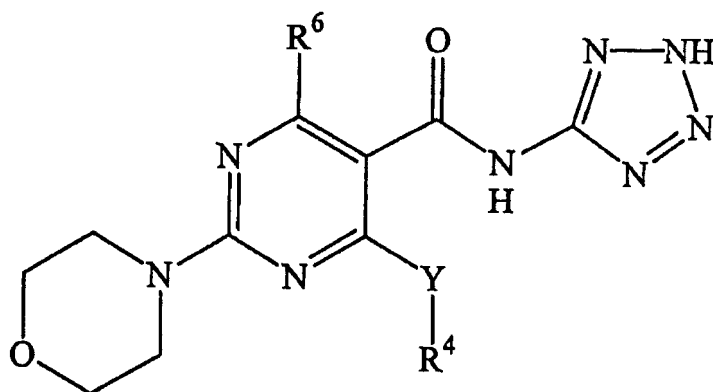


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次式 I の化合物

【化 1】



10

[式中、

R⁶ は、水素またはメチルであり、

Y は、O、NH、または S であり、

20

R⁴ は、C₂ ~ C₆ アルキル、-L-C₃ ~ C₈ シクロアルキル、アダマンチル、5 員または 6 員ヘテロシクロアルキル、および -J-R^c からなる群から選択され、

R^c は、フェニル基またはナフチル基であり、

L は、不在であり、または C₁ ~ C₃ アルキレンであり、

J は、不在であり、または C₁ ~ C₄ -アルキレンである] または薬学的に許容できるその塩。

【請求項 2】

Y が O であり、R⁶ が水素であり、R⁴ が -L-C₃ ~ C₈ シクロアルキルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

30

4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロペンチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロヘキシルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロオクチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-(2-シクロヘキシル-エトキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

40

4-シクロヘキシルメトキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-(3,3-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；および

4-(3,5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド

である、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

4-(アダマンタン-2-イルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド、および

50

4-（ビシクロ〔2.2.1〕ヘプタ-2-イルオキシ）-2-モルホリン-4-イル-
-ピリミジン-5-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド

からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項5】

YがOであり、R⁶が水素であり、R⁴がC₃～C₈シクロアルキルまたはC₁～C₃
アルキレン-C₃～C₈シクロアルキルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項6】

YがOであり、R⁶が水素であり、R⁴が5員または6員ヘテロシクロアルキルである
、請求項1に記載の化合物。

【請求項7】

R⁴がテトラヒドロピラニルである、請求項1に記載の化合物。

【請求項8】

YがOであり、R⁶が水素であり、R⁴がフェニル基である、請求項1に記載の化合物
。

【請求項9】

4-（4-イソプロピル-フェノキシ）-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド、および

4-（4-シクロヘキシル-フェノキシ）-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-
5-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド

からなる群から選択される、請求項8に記載の化合物。

【請求項10】

YがNHであり、R⁶が水素である、請求項1に記載の化合物。

【請求項11】

関節リウマチ、強直性脊椎炎、骨関節炎、乾癬性関節炎、乾癬、炎症性疾患、および自
己免疫疾患からなる群から選択される疾患に罹患している対象を治療する方法であって、

関節リウマチ、強直性脊椎炎、骨関節炎、乾癬性関節炎、乾癬、炎症性疾患、および自
己免疫疾患からなる群から選択される疾患に罹患している対象に、治療有効量の請求項1
に記載の化合物と薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物を投与することを含む方法
。

【請求項12】

前記化合物が請求項1から10のいずれか一項に記載の化合物である、請求項11に記
載の方法。

【請求項13】

治療有効量の請求項1に記載の化合物と薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。

【請求項14】

治療有効量の請求項1から10のいずれか一項に記載の化合物と、薬学的に許容できる
担体とを含む医薬組成物。

【請求項15】

治療有効量の、

4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド；

4-シクロペンチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド；

4-シクロヘキシルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド；

4-シクロオクチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド；

4-（2-シクロヘキシル-エトキシ）-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド；

4-シクロヘキシルメトキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン 50

10

20

30

40

50

酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド；

４－（３，３－ジメチル－シクロヘキシルオキシ）－２－モルホリン－４－イル－ピリミジン－５－カルボン酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド；

４－（３，５－ジメチル－シクロヘキシルオキシ）－２－モルホリン－４－イル－ピリミジン－５－カルボン酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド；

４－（アダマンタン－２－イルオキシ）－２－モルホリン－４－イル－ピリミジン－５－カルボン酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド；

４－（ビスクロ〔２．２．１〕ヘプト－２－イルオキシ）－２－モルホリン－４－イル－ピリミジン－５－カルボン酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド；

４－（４－イソプロピル－フェノキシ）－２－モルホリン－４－イル－ピリミジン－５－カルボン酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド；および

４－（４－シクロヘキシル－フェノキシ）－２－モルホリン－４－イル－ピリミジン－５－カルボン酸（２Ｈ－テトラゾール－５－イル）－アミド

からなる群から選択される化合物を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

【背景技術】

【０００２】

ホスホイノシチド－３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）は、ホスホイノシトールの３’－ＯＨをリン酸化してＰＩ－３－Ｐ（ホソファチジルイノシトール３リン酸）、ＰＩ－３，４－Ｐ２、およびＰＩ－３，４，５－Ｐ３を生成する脂質キナーゼの１ファミリーである。あるクラスのＰＩ３Ｋは、増殖因子によって刺激される。別のクラスのＰＩ３Ｋは、Ｇタンパク質結合受容体によって活性化され、これにはＰＩ３Ｋγが含まれる。増殖因子によって刺激されるＰＩ３Ｋ（たとえば、ＰＩ３Ｋα）は、細胞増殖および癌と関係付けられている。ＰＩ３Ｋγは、シグナル伝達カスケードに関与することが示されている。たとえば、ＰＩ３Ｋγは、Ｃ５α、ｆＭＬＰ、ＡＤＰ、およびＩＬ－８などのリガンドに応答して活性化される。ＰＩ３Ｋγはさらに、免疫疾患とも関係付けられている（Ｈｉｒｓｃｈら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２０００、第２８７巻：１０４９～１０５３ページ）。ＰＩ３Ｋγヌルマクロファージは、走化性応答が弱まっており、炎症と闘う能力が低下している（Ｈｉｒｓｃｈら、２０００年、前掲書）。また、ＰＩ３Ｋγは、血栓性疾患（たとえば、血栓塞栓症、虚血性疾患、心臓発作、および卒中）とも関係付けられている（Ｈｉｒｓｃｈら、ＦＡＳＥＢ Ｊ． ２０００年、第１５巻（１１）：２０１９～２０２１ページ；およびＨｉｒｓｃｈら、ＦＡＳＥＢ Ｊ．、２００１年７月９日、１０．１０９６／ｆｊ．００－０８１０ｆｊ（本明細書では、Ｈｉｒｓｃｈら、２００１年として引用する）。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【０００３】

ヒトの疾患の治療のためのＰＩ３Ｋのメンバーの阻害剤が開発されている（たとえば、ＷＯ０１／８１３４６、ＷＯ０１／５３２６６、およびＷＯ０１／８３４５６を参照されたい）。医薬品としての使用するためのＰＩ３Ｋを阻害できる更なる化合物が求められている。

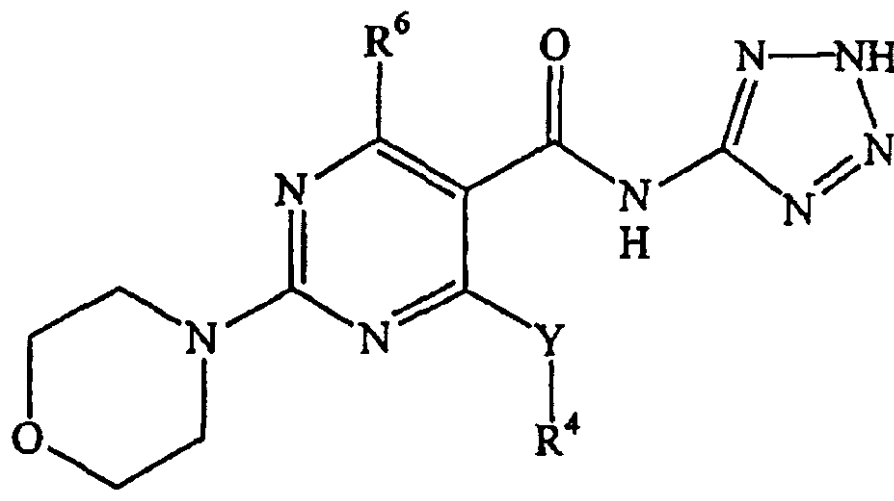
【課題を解決するための手段】

【０００４】

一態様では、本発明は、次式Ⅰのピリミジン

【０００５】

【化 1】



10

20

30

40

50

〔式中、

 R^6 は、水素またはメチルであり、

Y は、O、NH、または S であり、

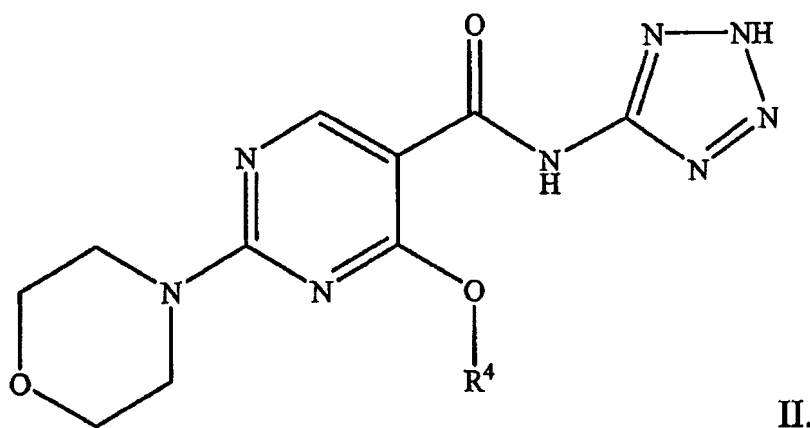
 R^4 は、 $C_2 \sim C_6$ アルキル、 $-L-C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、アダマンチル、5 員または 6 員ヘテロシクロアルキル、および $-J-R^c$ からなる群から選択され、 R^c は、フェニル基またはナフチル基であり、L は、不在であり、または $C_1 \sim C_3$ アルキレンであり、J は、不在であり、または $C_1 \sim C_4$ -アルキレンである〕または薬学的に許容できるその塩を提供する。

【0006】

ある式 I の実施形態では、Y は O であり、 R^6 は水素であり、 R^4 は $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルである。すなわち、次式 I I

【0007】

【化 2】



の化合物である。

【0008】

式 I I の化合物の例には、それらに限定されるものではないが、

4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロペンチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロヘキシルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロオクチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-(2-シクロヘキシル-エトキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-シクロヘキシルメトキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン
酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；

4-(3,3-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリ
ミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド；および

4-(3,5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリ
ミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド
が含まれる。

10

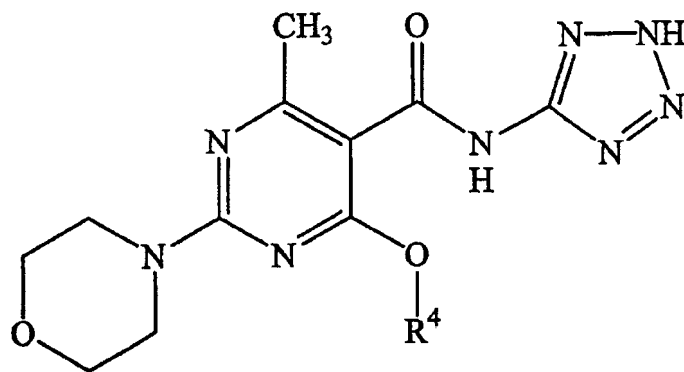
【0009】

ある式 I の実施形態では、Y は O であり、R⁶ はメチルであり、R⁴ は C₃ ~ C₈ シク
ロアルキルである。すなわち、次式 I I I

【0010】

【化3】

20



III.

30

の化合物である。

【0011】

式 I I I の化合物の例は、4-シクロヘプチルオキシ-6-メチル-2-モルホリン-
4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミドであ
る。

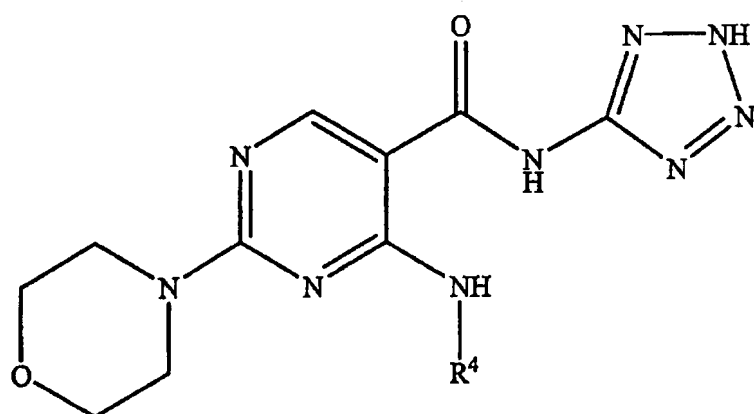
【0012】

ある式 I の実施形態では、Y は NH であり、R⁶ は水素である。すなわち、次式 I V

40

【0013】

【化 4】



10

の化合物である。

【0014】

式IVの化合物の例には、それらに限定されるものではないが、

4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(1H-テトラゾール-5-イル)-アミド、

4-ベンジルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (1H
-テトラゾール-5-イル)-アミド、および

4-シクロヘキシルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(1H-テトラゾール-5-イル)-アミド

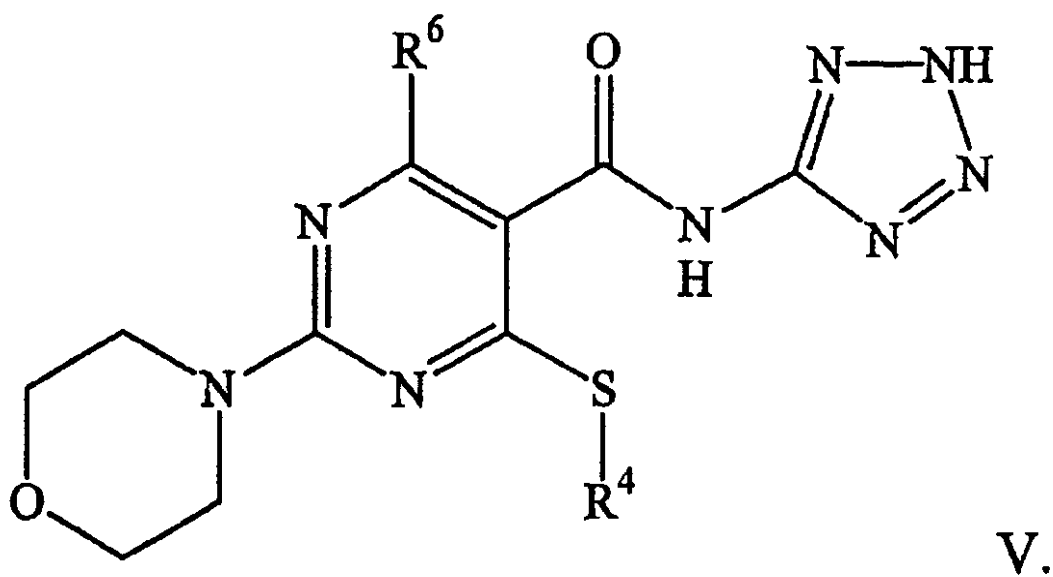
が含まれる。

【0015】

ある式Iの実施形態では、YはSである。すなわち、次式V

【0016】

【化 5】



30

40

の化合物である。

【0017】

式Vの化合物の例は、4-シクロヘプチルスルファニル-2-モルホリン-4-イル-

50

ピリミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミドである。

【0018】

別の態様では、本発明は、治療有効量の式I~Vのいずれか1種の化合物と、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物を提供する。ある実施形態では、これらの組成物は、PI3Kが仲介する障害または状態の治療に有用である。本発明の化合物は、癌、血栓性疾患、心疾患、卒中、関節リウマチなどの炎症性疾患、またはPI3Kが仲介する別の障害の治療に有用な化合物も含む医薬組成物中に配合してもよい。

【0019】

別の態様では、本発明は、PI3Kが仲介する障害または状態に罹患している対象を治療する方法であって、PI3Kが仲介する状態または障害に罹患している対象に、治療有効量の式I~Vのいずれか1種の化合物と薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。ある実施形態では、PI3Kが仲介する状態または障害は、関節リウマチ、強直性脊椎炎、骨関節炎、乾癬性関節炎、乾癬、炎症性疾患、および自己免疫疾患からなる群から選択される。他の実施形態では、PI3Kが仲介する状態または障害は、心血管疾患、アテローム性動脈硬化症、高血圧、深在静脈血栓症、卒中、心筋梗塞、不安定狭心症、血栓塞栓症、肺塞栓症、血栓性疾患、急性動脈虚血、末梢血栓性閉塞、および冠動脈疾患からなる群から選択される。その他の実施形態では、PI3Kが仲介する状態または障害は、癌、大腸癌、グリア芽細胞腫、子宮体癌、肝細胞癌、肺癌、黒色腫、腎細胞癌、甲状腺癌、細胞リンパ腫(cell lymphoma)、リンパ球増殖性障害、小細胞肺癌、扁平上皮肺癌、神経膠腫、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、および白血病からなる群から選択される。さらに別の実施形態では、PI3Kが仲介する状態または障害は、II型糖尿病からなる群から選択される。その他の実施形態では、PI3Kが仲介する状態または障害は、呼吸器疾患、気管支炎、喘息、および慢性閉塞性肺疾患からなる群から選択される。ある実施形態では、対象はヒトである。

【0020】

定義

本明細書では、以下の用語は、別段の指定がない限り、割り当てられた意味を有する。

【0021】

「PI3Kが仲介する障害または状態」は、1種または複数のPI3KまたはPI3Pホスファターゼ(たとえば、PTENなど)が、障害または状態の開始、1つまたは複数の症状もしくは疾患マーカーの出現、重症度、または進行に関与していることを特徴とする。PI3Kが仲介する障害および状態には、関節リウマチ、強直性脊椎炎、骨関節炎、乾癬性関節炎、乾癬、炎症性疾患、肺線維症、自己免疫疾患、心血管疾患、アテローム性動脈硬化症、高血圧、深在静脈血栓症、卒中、心筋梗塞、不安定狭心症、血栓塞栓症、肺塞栓症、血栓性疾患、急性動脈虚血、末梢血栓性閉塞、冠動脈疾患、癌、乳癌、グリア芽細胞腫、子宮体癌、肝細胞癌、大腸癌、肺癌、黒色腫、腎細胞癌、甲状腺癌、小細胞肺癌、扁平上皮肺癌、神経膠腫、前立腺癌、卵巣癌、子宮頸癌、白血病、細胞リンパ腫、リンパ球増殖性障害、II型糖尿病、呼吸器疾患、気管支炎、喘息、および慢性閉塞性肺疾患が含まれるが、それらに限定されるものではない。

【0022】

PI3Kは、ホスホイノシトールの3'-OHをリン酸化して、PI3Pを生成することのできる酵素である。PI3Kには、PI3K α 、PI3K β 、PI3K γ 、およびPI3K δ が含まれるが、それらに限定されるものではない。PI3Kは通常、少なくとも1個の触媒サブユニット(たとえば、p110 α など)を含み、調節サブユニット(たとえば、p101 γ など)をさらに含んでもよい。

【0023】

用語「アルキル基」または「アルキル」は、直鎖状および分枝鎖状の炭素基を含む。用語「アルキレン」とは、非置換または置換アルカンジラジカルを指す。たとえば、「C₂~₆アルキル」は、2~6個の炭素原子を有するアルキル基である。C₂~C₆直鎖状アルキル基の例には、それらに限定されるものではないが、エチル、n-プロピル、n-ブ

10

20

30

40

50

チル、 n -ペンチル、および n -ヘキシルが含まれる。分枝鎖アルキル基の例には、それらに限定されるものではないが、イソプロピル、 t -ブチル、イソブチルなどが含まれる。アルキレン基の例には、それらに限定されるものではないが、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH(CH_3)-CH_2-$ 、および $-(CH_2)_{1\sim 3}$ が含まれる。アルキレン基は、以下でアルキルについて述べる基で置換されていてもよい。

【0024】

用語アルキルは、「非置換アルキル」および「置換アルキル」の両方を含み、後者は、炭化水素主鎖の1個または複数の炭素上で置換基が水素と入れ替わっているアルキル部分を指す。そのような置換基は、ハロ、I、Br、Cl、F、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、トリフルオロメチル、 NH_2 、 $-OCF_3$ 、および $O-C_1\sim C_3$ アルキルからなる群からそれぞれ独立に選択される。

10

【0025】

典型的な置換アルキル基は、したがって、2,3-ジクロロペンチル、3-ヒドロキシ-5-カルボキシヘキシル、2-アミノプロピル、ペンタクロロブチル、トリフロロメチル、メトキシエチル、3-ヒドロキシペンチル、4-クロロブチル、1,2-ジメチルプロピル、およびペンタフルオロエチルである。

【0026】

「ハロ」には、フルオロ、クロロ、プロモ、およびヨードが含まれる。

【0027】

用語「 $C_3\sim C_8$ シクロアルキル」とは、3~8個の炭素を含むシクロアルキル基を指す。したがって、用語「 $C_3\sim C_8$ シクロアルキル」は、3~8個の炭素を含む単環式シクロアルキル基、および7または8個の炭素を含む二環式シクロアルキル基を含む。「 $C_3\sim C_8$ シクロアルキル」の例には、それらに限定されるものではないが、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、およびビシクロ[2.2.1]ヘプチルが含まれる。シクロアルキル基は、1または2個の二重結合（すなわち、シクロアルキレニル）を含んでいてもよく、それらに限定されるものではないが、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、およびシクロヘプテニルを含めることができる。「 $C_3\sim C_8$ シクロアルキル」は、 $C_1\sim C_3$ アルキル（たとえば、メチル）および $O-C_1\sim C_3$ アルキル（たとえば、メトキシ）からそれぞれ独立に選択される1または2個の基で置換されていてもよい。置換シクロアルキル基の例には、メチル-シクロプロピル、ジメチル-シクロヘキシル、2-メチル-シクロヘキシル、3-メチル-シクロヘキシル、3,5-ジメチル-シクロヘキシル、および4-メチル-シクロヘキシルが含まれるが、それらに限定されるものではない。

20

30

【0028】

用語「アダマンチル」は、非置換アダマンチル、および $C_1\sim C_3$ アルキル（たとえば、メチル）および $O-C_1\sim C_3$ アルキル（たとえば、メトキシ）からそれぞれ独立に選択された1または2個の基で置換されているアダマンチルを含む。

【0029】

語句「5員または6員ヘテロシクロアルキル」とは、炭素原子と、S、N、またはOからそれぞれ独立に選択される1~3個のヘテロ原子とを有する安定な環状基を意味し、2個のO原子、または1個のO原子および1個のS原子が存在するとき、その2個のO原子、または1個のO原子および1個のS原子は、それぞれ互いに直接には結合しない。5または6員ヘテロシクロアルキルは、1または2個の炭素-炭素に重結合または炭素-窒素二重結合を含んでいてもよい。5員または6員ヘテロシクロアルキルの実例には、テトラヒドロフラン-3-イル、モルホリン-4-イル、テトラヒドロチオピラン-4-イル、ピペリジニル、テトラヒドロピラニル、および4-メチル-ピペラジーン-2-イルが含まれる。

40

【0030】

別段の指摘がない限り、前述のヘテロシクロアルキルは、それが可能であり、安定な構造をもたらす場合には、C結合型でもN結合型でもよい。たとえば、ピペリジニルは、ピ

50

ペリジーン-1-イル（N結合型）でもよいし、またはピペリジーン-4-イル（C結合型）でもよい。

【0031】

用語「5または6員ヘテロシクロアルキル」の範囲には、環中に1個の炭素-炭素二重結合または1個の炭素-窒素二重結合を有する5員環（たとえば、2-ピロリニル、3-ピロリニルなど）、および環中に1個の炭素-炭素二重結合または1個の炭素-窒素二重結合を有する6員環（たとえば、ジヒドロ-2H-ピラニル、1, 2, 3, 4-テトラヒドロピリジン、3, 4-ジヒドロ-2H-[1, 4]オキサジンなど）が含まれる。

【0032】

「5員ヘテロシクロアルキル」とは、2～4個の炭素原子と、1 O、1 S、1 N、2 N、3 N、1 Sおよび1 N、1 Sおよび2 N、1 Oおよび1 N、ならびに1 Oおよび2 Nからなる群から選択される1～3個のヘテロ原子とを有する安定な5員単環式シクロアルキル環である。安定な5員ヘテロシクロアルキルの実例には、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、ジヒドロチエニル、イミダゾリジニル、オキサゾリジニル、イミダゾリニル、イソオキサゾリジニル、ピロリジニル、2-ピロリニル、および3-ピロリニルが含まれる。

【0033】

「6員ヘテロシクロアルキル」とは、3～5個の炭素原子と、1 O、2 O、1 S、2 S、1 N、2 N、3 N、1 S、1 Oおよび1 N、1 Sおよび1 N、1 Sおよび2 N、1 Sおよび1 O、1 Sおよび2 O、1 Oおよび1 N、ならびに1 Oおよび2 Nからなる群から選択される1～3個のヘテロ原子とを有する安定な6員単環式シクロアルキル環である。安定な6員ヘテロシクロアルキルの実例には、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピラニル、ジオキサニル、1, 3-ジオキサニル、1, 4-ジオキサニル、ヘキサヒドロピリミジン、モルホリニル、ピペラジニル、ピペリジニル、2H-ピラニル、4H-ピラニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロチオピラニル、1, 1-ジオキソヘキサヒドロ-1λ⁶-チオピラニル、1, 1-ジオキソ-1λ⁶-チオモルホリニル、チオモルホリニル、チオキサニル、およびトリチアニルが含まれる。

【0034】

用語「5員または6員ヘテロシクロアルキル」は、飽和および不飽和の「5員または6員ヘテロシクロアルキル」を含む。「5員または6員ヘテロシクロアルキル」は、可能な場合では上でC₃～C₈シクロアルキルについて述べたように置換されていてもよい。

【0035】

用語「フェニル」とは、非置換および置換フェニル基を指す。フェニル基は、C₁～C₃アルキル、-O-C₁～C₃アルキル、-OCF₃、ハロ、およびC₅～C₆シクロアルキルからなる群からそれぞれ独立に選択される1～3個の置換基で置換されていてもよい。

【0036】

典型的な置換フェニル基には、それらに限定されるものではないが、3-クロロフェニル、2, 6-ジブロモフェニル、2, 4, 6-トリブロモフェニル、2, 6-ジクロロフェニル、4-トリフルオロメチルフェニル、3-メチルフェニル、4-メチルフェニル、3, 5-ジメチルフェニル、3, 4, 5-トリメトキシフェニル、3, 5-ジメトキシフェニル、3, 4-ジメトキシフェニル、3-メトキシフェニル、4-メトキシフェニル、3, 5-ジフルオロフェニル、4-クロロフェニル、3-トリフルオロメチルフェニル、3, 5-ジクロロフェニル、2-メトキシ-5-メチルフェニル、2-フルオロ-5-メチルフェニル、4-クロロ-2-トリフルオロメチルフェニルなどが含まれる。

【0037】

「ナフチル基」とは、非置換および置換ナフチル基を指す。ナフチル基は、C₁～C₃アルキル、-O-C₁～C₃アルキル、-OCF₃、ハロ、およびC₅～C₆シクロアル

キルからなる群からそれぞれ独立に選択される 1 ～ 4 個の置換基で置換されていてもよい。

【0038】

本発明の一部の化合物は、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、および幾何異性体を含む立体異性体として存在する場合がある。幾何異性体としては、E 立体配置または Z 立体配置として存在し得るアルケニル基を有する本発明の化合物が挙げられ、この場合では、そのすべての幾何学的形態、すなわち、E および Z、シスおよびトランス、ならびにこれらの混合物が本発明の範囲内である。ある本発明の化合物は、1 箇所を超える炭素原子のところで置換されていてもよいシクロアルキル基を有し、この場合では、そのすべての幾何学的形態、すなわち、シスおよびトランス、ならびにこれらの混合物が本発明の範囲内である。これらの形態には、(R)、(S)、エピマー、ジアステレオ異性体、シス、トランス、シン、アンチ、(E)、(Z)、互変異性体、およびこれらの混合物が含まれ、これら

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0039】

I. 序文

本発明は、 R^4 、 R^6 、および Y が、本明細書でそのために規定する意味のいずれかである、炎症性疾患、心血管疾患、および癌を含む疾患および状態の治療において薬剤として有用な式 I ～ V のピリミジン、および薬学的に許容できるその塩に関する。式 I ～ V の 1 種または複数の化合物を含む医薬組成物も提供する。

20

【0040】

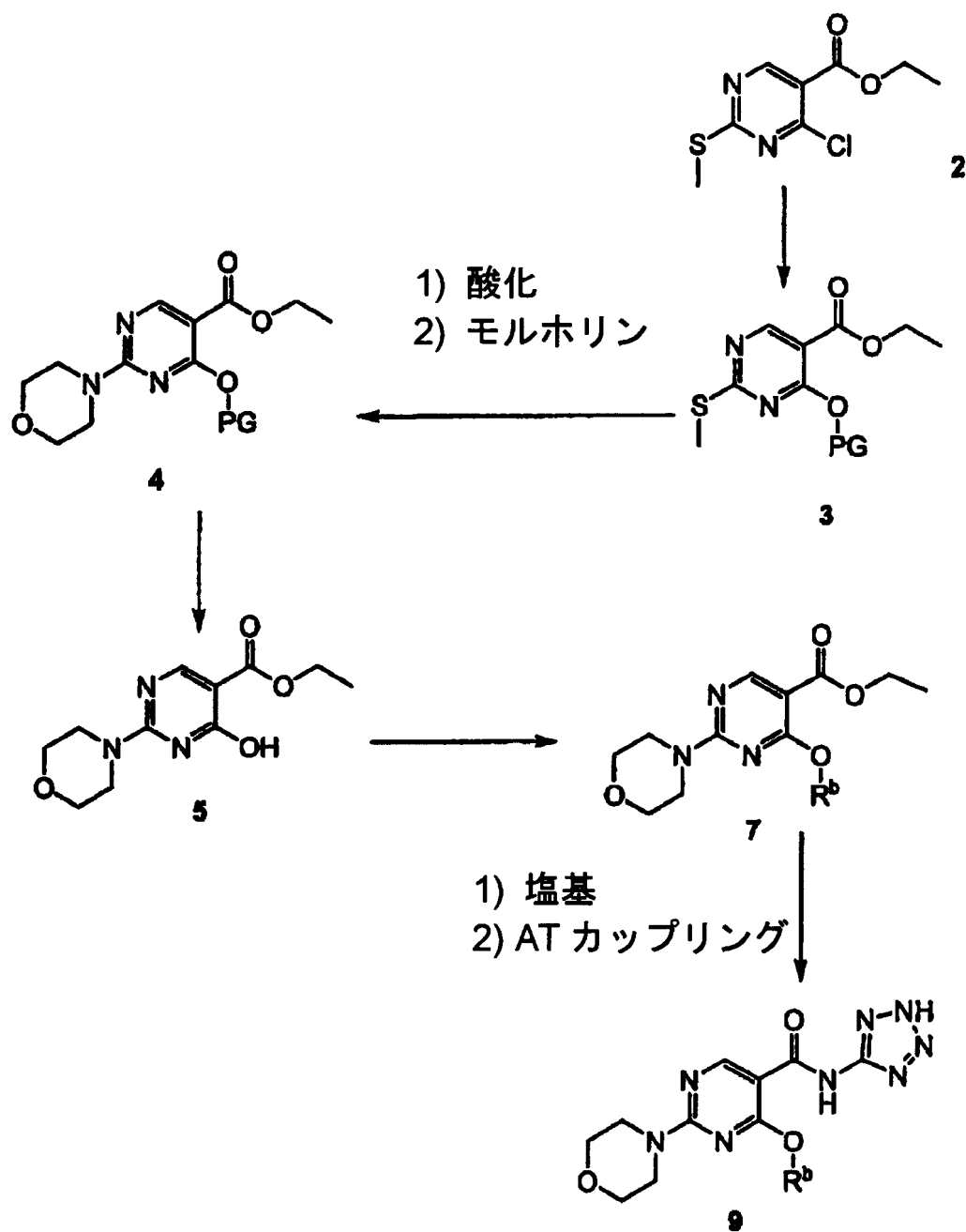
II. 化合物の調製

本発明の化合物（たとえば、式 I ～ V の化合物）は、当技術分野で知られている合成法、および以下に記載するスキームで概略を述べる合成法を適用して調製することができる。

【0041】

【化 6】

スキーム 1



【0042】

スキーム1では、2 (4-クロロ-2-メチルスルファニル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル、Sigma-Aldrich Co.) を適切なヒドロキシル保護基試薬 PG (たとえば、(4-ニトロフェニル)-メタノール) と反応させて、3 (たとえば、2-メチルスルファニル-4-(4-ニトロベンジルオキシ)-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル) を得る。当業者ならば、ヒドロキシル基に適する保護基として広範な種類の保護基がスキーム1で使用できることを承知されよう。(たとえば、GreeneおよびWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」第2版、第2章 (John Wiley & Sons, Inc.、1991年) を参照のこと)。たとえば、2と、アルキル-リチウム (たと

10

20

30

40

50

ば、s-ブチルリチウム、n-ブチルリチウム)で処理した置換型または非置換のベンジルアルコール(たとえば、(4-ニトロフェニル)-メタノール)とを、THF(テトラヒドロフラン)などの溶媒中で反応させて、3(たとえば、2-メチルスルファニル-4-(4-ニトロベンジルオキシ)-ピラニジン-5-カルボン酸エチルエステル)を得ることができる。

【0043】

次いで、クロロホルムやジクロロメタンなどの溶媒中で、適切なオキサジリジン(たとえば、Davisオキサジリジン((IS)-(+)-(10-カンファースルホニル)オキサジリジン)や、3-フェニル-2-(フェニルスルホニル)-1,2-オキサジリジンなど)、ジメチルジオキシラン、またはmCPBA(3-クロロペルオキシ安息香酸)を使用して、3のメチルチオ基を酸化させ、対応するメチルスルフィニル誘導体にする。次いで、メチルスルフィニル基をモルホリンで置換して、4(たとえば、2-モルホリン-4-イル-4-(4-ニトロベンジルオキシ)-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル)を得る。

10

【0044】

次いで、4のヒドロキシル保護基を除去して、5(たとえば、4-クロロ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル)を得る。たとえば、適切な圧力の水素ガス中に置いたエタノールなどのアルコール溶媒中でパラジウム/炭素触媒を用いる還元によってニトロベンジルオキシ基を切断すると、ヒドロキシルにすることができる。ある実施形態で、保護基が置換されていてもよいフェニル基またはナフチル基 R^4 であるならば、保護基は除去しない。そして、以下に記載するように、4を塩基で処理し、アミノテトラゾールと反応させて9を得る。

20

【0045】

5は、テトラヒドロフラン(THF)などの溶媒中でDEAD(アゾジカルボン酸ジエチル)およびPPh₃(トリフェニルホスフィン)を用いる光延反応で、 R^b-OH (たとえば、シクロヘプタノール)と反応させて、7(たとえば、4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル)にする。 R^b-OH は、それらに限定されるものではないが、式 $HO-L-C_3 \sim C_8$ シクロアルキル(ここで、Lは不在または存在する)の化合物、ビスクロ[2.2.1]ヘプタノール、アダマンタノールを含む化合物であり、Lは、不在または $C_1 \sim C_3$ アルキレンである。 R^b-OH の例には、それらに限定されるものではないが、シクロヘキシル-メタノール、シクロヘキサノール、フェニル-メタノール、シクロヘプタノール、およびシクロオクタノールが含まれる。

30

【0046】

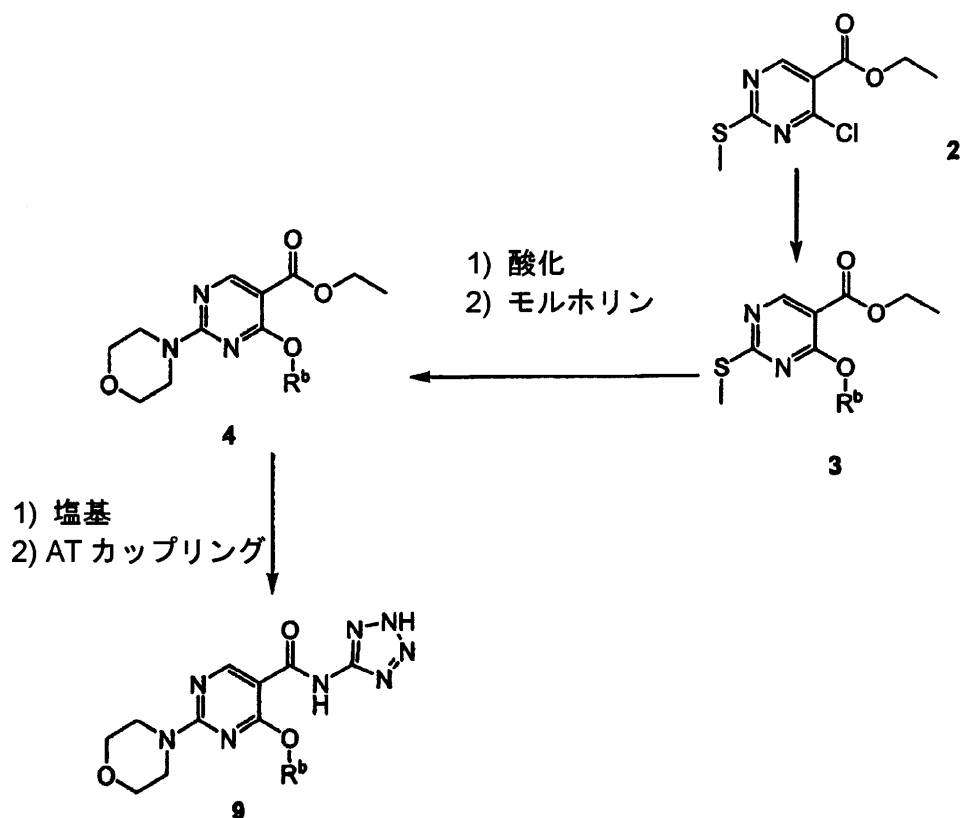
次いで、MeOHおよびTHF、ジオキサン、ジオキサンおよび水、またはメタノールおよび水中で、7を無機塩基(たとえば、LiOH、NaOHなど)によってけん化して、対応するカルボン酸8(たとえば、4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸)を得る。次いで、THF(テトラヒドロフラン)などの非プロトン性溶媒中でカルボニルジイミダゾール(CDI)を使用して、このカルボン酸を5-アミノテトラゾールと結合させ、カルボキサミド9(たとえば、4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド)を得る。あるいは、無水 CH_2Cl_2 中の8を、触媒量のDMF、次いで塩化オキサリルで処理することもできる。次いで、5-アミノテトラゾールおよびトリエチルアミンをその混合物に加えた後、アセトニトリルを加えて9を得る。

40

【0047】

【化 7】

スキーム 2



10

20

【0048】

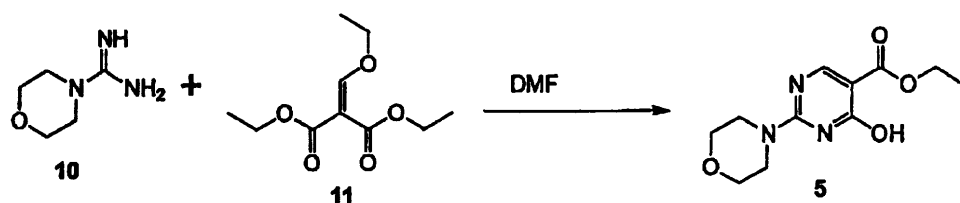
スキーム 2 では、無水 THF 中で、2 と、*n*-ブチルリチウムなどのアルキルリチウム試薬または水素化物塩基（たとえば、NaH）で処理してある R^b-OH 化合物とを反応させて、3 を生成する。次いで、3 を、スキーム 1 のように酸化させ、モルホリンと反応させて 4 を得る。次に 4 を、スキーム 1 のようにアミノテトラゾールと反応させて 9 を得る。

30

【0049】

【化 8】

スキーム 3



40

【0050】

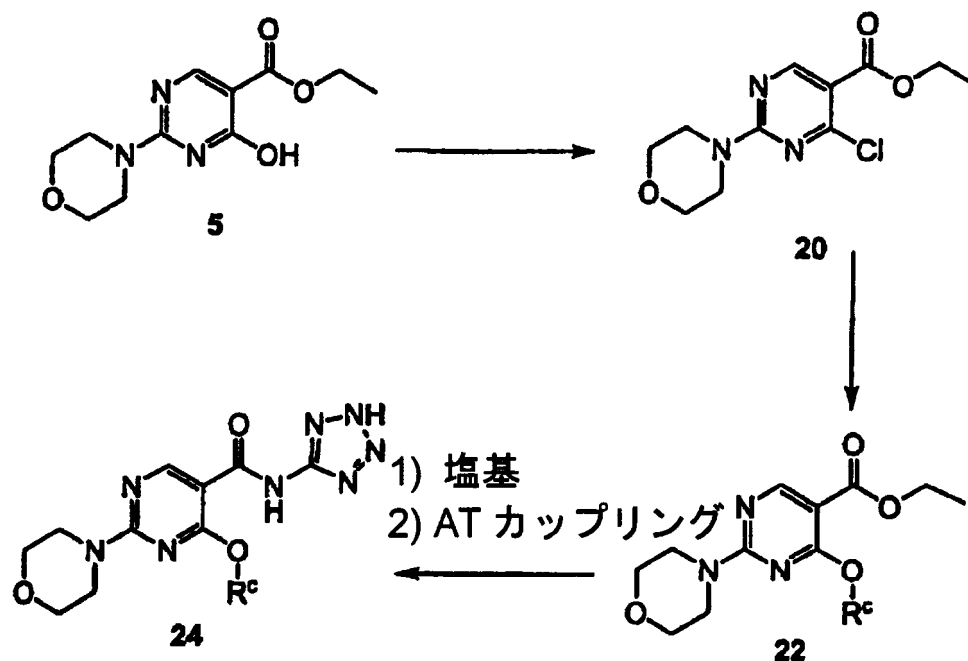
スキーム 3 では、10（モルホリン-4-カルボキサミジン）と 11（2-エトキシメチレン-マロン酸ジエチルエステル）および酢酸ナトリウムとを DMF 中で反応させて、5（4-ヒドロキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル）を得る。

50

【0051】

【化9】

スキーム4



10

20

30

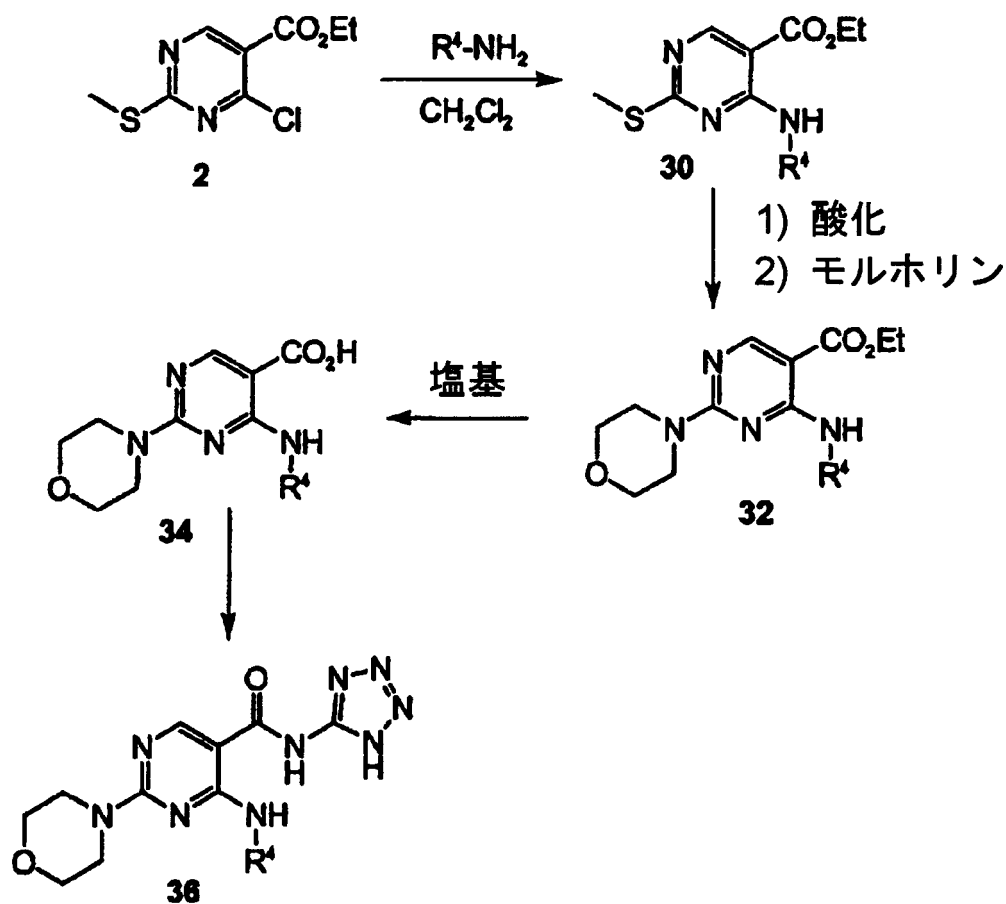
【0052】

スキーム4では、ジクロロメタン中の5を塩化オキサリルおよび触媒量のDMF（ジメチルホルムアミド）と反応させて、20（たとえば、4-クロロ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル）を得る。20を、水素化物塩基（たとえば、NaH）で処理したアルコール（ R^c-OH ）またはチオール（ R^c-SH ）と反応させて、22（たとえば、2-モルホリン-4-イル-4-フェノキシ-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル）を得る。 R^c-OH は、それらに限定されるものではないが、式 $HO-L-R^d$ （ここで、Lは存在し、 R^d は、置換されていてもよいフェニル基またはナフチル基である）の化合物を含む化合物である。 R^c-OH の例には、それらに限定されるものではないが、4-シクロヘキシルフェノールおよび4-イソプロピルフェノールが含まれる。次いで、22を、スキーム1のように塩基で処理し、アミノテトラゾールと反応させて24を得る。

【0053】

【化 1 0】

スキーム 5



10

20

30

40

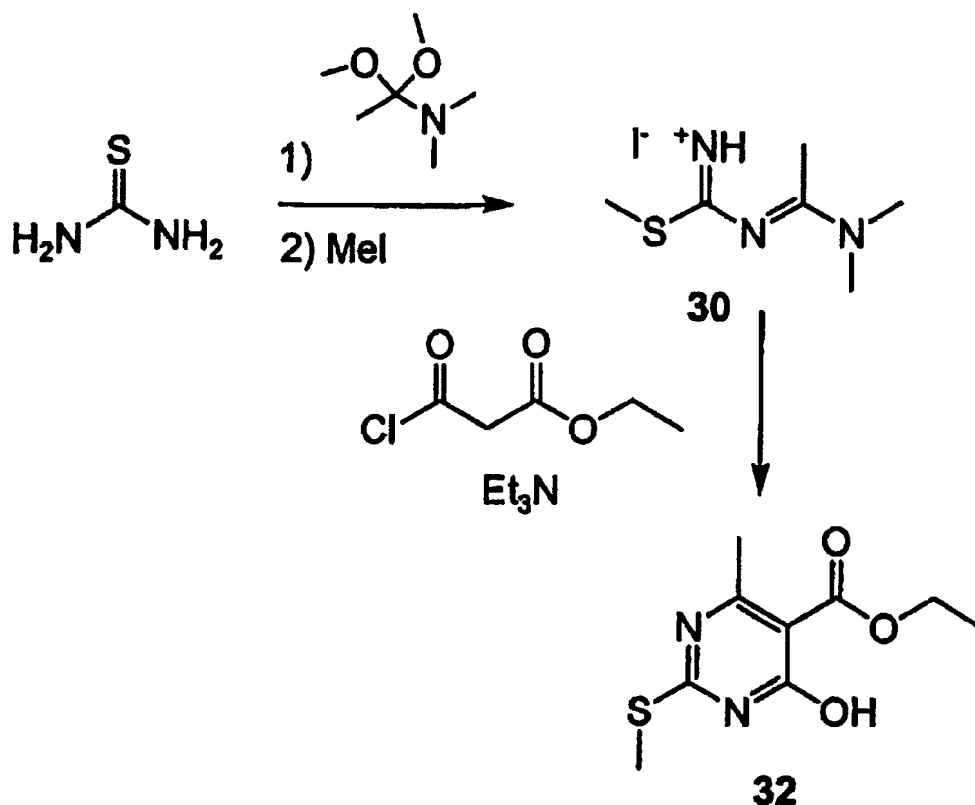
【0054】

スキーム 5 では、ジクロロメタンまたは塩化メチレン中の **2** を、トリエチルアミンなどの塩基性アミンと反応させた後、 R^4-NH_2 (たとえば、シクロペンチルアミン、ベンジルアミン、シクロヘキシルアミンなど) と反応させて、**30** (たとえば、4-シクロペンチルアミノ-2-メチルスルファニル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル) を得る。次いで、**30** を、スキーム 1 のように酸化させ、モルホリンと反応させて、**32** (たとえば、4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル) を生成する。次いで、**32** をけん化して、**34** (たとえば、4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸) を生成し、次いでこれを、スキーム 1 で述べたように 5-アミノ-テトラゾールに結合させて、**36** (たとえば、4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (1H-テトラゾール-5-イル) -アミド) を得る。

【0055】

【化 1 1】

スキーム 6



10

20

【0056】

スキーム 6 では、無水ジクロロメタン中のチオ尿素を、窒素ガス中で N, N-ジメチルアセトアミドジメチルアセタールと反応させる。この反応の生成物を後処理し、無水 THF に新たに懸濁させ、窒素ガス中で MeI と反応させて、30 (1- [1- (ジメチルアミノ) エチリデン] -2-メチルイソチオ尿素ヨウ化水素酸塩) にする。次いで、窒素ガス中で、30 と塩化マロニルとを無水ジクロロメタンまたはクロロホルム中で反応させ、その後トリエチルアミンなどの塩基を加えて、32 (エチル-4-ヒドロキシ-6-メチル-2- (メチルチオ) -5-ピリミジンカルボキシラート) を得る。32 を出発材料として使用する合成を、上のスキーム 1~5 で述べたのと同様にして実施すると、R⁶ がメチルである本発明の化合物を得ることができる。

30

【0057】

I I I . 化合物の評価

本発明の化合物 (たとえば、式 I~V の化合物および薬学的に許容できるその塩) を、PI3K を阻害する能力について検定することができる。そうした検定の例を以下で述べるが、それらは、PI3K 活性の *in vitro* アッセイおよび *in vivo* アッセイを含む。

40

【0058】

本発明のある実施形態では、化合物は、環状ヌクレオチド依存性プロテインキナーゼ、PDGF、チロシンキナーゼ、MAPキナーゼ、MAPキナーゼキナーゼ、MEKK、サイクリン依存性プロテインキナーゼを含むがこれに限定されない 1 種または複数の酵素と比べて 1 種または複数の PI3K を選択的に阻害する。本発明の他の実施形態では、化合物は、一方の PI3K と比べてもう一方の PI3K を選択的に阻害する。たとえば、ある実施形態では、本発明の化合物は、PI3K α または PI3K β と比べて PI3K γ を選

50

択的に阻害する能力を示す。第一の酵素に対する化合物の IC_{50} が、第二の化合物に対する化合物の IC_{50} よりも小さいとき、その化合物は、第二の酵素と比べて第一の酵素を選択的に阻害する。 IC_{50} は、たとえば、*in vitro* PI3Kアッセイで測定することができる。

【0059】

現時点で好ましい実施形態では、本発明の化合物は、そのPI3K活性阻害能を *in vitro* アッセイまたは *in vivo* アッセイで評価することができる（以下を参照のこと）。

【0060】

PI3Kアッセイは、PI3K阻害化合物の存在下または不在下で実施し、酵素活性の量を比較して、PI3K阻害化合物の阻害活性を決定する。

10

【0061】

PI3K阻害化合物を含まないサンプルに、相対PI3K活性値100を割り当てる。PI3K阻害化合物存在下でのPI3K活性が、対照サンプル（すなわち、阻害化合物なし）よりも低いとき、PI3K活性は阻害されている。化合物の IC_{50} を、対照サンプル活性の50%を示す化合物濃度である。ある実施形態では、本発明の化合物の IC_{50} は、約100 μ M未満である。他の実施形態では、本発明の化合物の IC_{50} は、約1 μ M以下である。さらに別の実施形態では、本発明の化合物の IC_{50} は、約200 nM以下である。

【0062】

20

PI3K γ アッセイについては、当技術分野で記載されている（たとえば、Leopoldtら、J. Biol. Chem.、1998年、第273巻：7024～7029ページを参照のこと）。通常、p101タンパク質とp110 γ タンパク質からなる複合体を含有するサンプルに、G β タンパク質およびG γ タンパク質（たとえば、Gタンパク質 β_1 / γ_2 サブユニット）を配合する。次いで、この混合物に放射標識ATP（たとえば、 γ - 32 P-ATP）を加える。PIP₂を含有する脂質ミセルを作製して脂質基質を生成する。次いで、脂質および酵素混合物を加えて反応を開始し、H₃PO₄を加えて反応を停止する。次いで、脂質生成物をガラスファイバー製フィルタープレートに移し、H₃PO₄で数回洗浄する。当技術分野でよく知られている放射分析法を使用して、放射性脂質生成物（PIP₃）の存在を測定することができる。

30

【0063】

増殖因子によって調節されるPI3Kの活性も、脂質キナーゼアッセイを使用して測定することができる。たとえば、PI3K α は、調節サブユニットおよび触媒サブユニットを含むサンプルを使用して検定することができる。放射標識ATPを加えたサンプルに、活性ペプチド（たとえば、pYペプチド、Syn Pep Corp.）を加える。次いで、PIP₂を含有する脂質ミセルをサンプルに加えて、反応を開始する。直前で記載したPI3K γ アッセイについて述べたとおりに反応の後処理および分析を行う。細胞抽出物を使用してアッセイを実施することもできる（Susaら、J. Biol. Chem.、1992年、第267巻：22951～22956ページ）。

【0064】

40

IV. 化合物の *in vivo* 評価

本発明の化合物（たとえば、式I～Vの化合物および薬学的に許容できるその塩）を、炎症などの過程の量的または質的なマーカーを低減し得る能力について検定することができる。本発明の化合物が関節リウマチを治療し得る能力の検定に使用できる関節炎動物モデルの例を以下で述べる。

【0065】

連鎖球菌細胞壁（SCW）誘発関節炎アッセイ

少しの変更を加えて、Schwabら（1991年）、Infection and Immunity第59巻：4436～4442ページに記載されているとおりに関節炎を誘発させる。0日目に右脛距関節への関節内注射を行って、ラットに超音波処理した6

50

μg のSCW ($10\mu\text{l}$ のダルベッコPBS (DPBS) 中) を与える。21日目に、 $100\mu\text{g}$ のSCW ($250\mu\text{l}$) を静脈内投与して、全身性のSCWによる遅延型過敏反応を惹起することができる。経口化合物試験については、化合物を適切な賦形剤 (たとえば、 0.5% のヒドロキシプロピルメチルセルロース/ 0.2% のTween 80) に懸濁させ、超音波処理し、SCWの静脈内注射によって遅延型過敏性反応を惹起する1時間前から始めて1日2回 ($10\text{ml}/\text{kg}$ の体積) 投与する。化合物は、通常、 20 、 30 、 60 、 100 、 200 、および $300\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ など、1日に体重 1kg あたり 10mg と 500mg の間の量を投与する。21日目の新たな活性化の前に、感作された後足のベースライン体積を求め、その体積を、22日目、23日目、24日目、25日目などのその後の時点の体積と比較することによって、浮腫測定値を得る。水銀式体積変動記録法は、動物の足体積の検定に使用することのできる一方法である。 10

【0066】

痛みを測定するために、ラットを、各後足にかかる圧力量を測定する装置に入れる。関節炎の足と正常な足の平均の差は、痛みの測定に使用される一方法である。さらに、関節炎のある動物の関節から洗い出した材料中の炎症性サイトカインレベルを測定し、関節炎でない関節のレベルまたは典型的な非関節炎関節レベルと比較する。

【0067】

コラーゲン関節炎アッセイ

マウスのII型コラーゲン関節炎(CIA)は、関節リウマチの実験モデルである (たとえば、Stuartら(1984年)、Annual Rev. Immunol. 第2 20
巻: 199~218ページ、Wooley(1988年)、Meth. Enzymol. 第162巻: 361~373ページを参照のこと)。この疾患は通常、フロイント完全アジュバント中の $100\mu\text{g}$ のII型コラーゲン(「CII」) (たとえば、ウシまたはニワトリのII型コラーゲン) を尾の付け根から皮内投与して送達することによる、DBA/1マウスの免疫感作によって誘発される。

【0068】

足幅が 100% にまで増大していることを特徴とする免疫感作マウスの大半が、進行性かつ炎症性の関節炎になる。試験化合物は、 20 、 60 、 100 、および $200\text{mg}/\text{体重kg}/\text{日}$ などの範囲の量でマウスに投与することができる。試験期間は、 40 日、 60 日、または 80 日などの数週間から2~3カ月でよい。臨床スコア指数を使用して、紅斑 30
および浮腫(1期)、関節破壊(2期)、関節強直(3期)からの疾患の進行を評価することができる。疾患は、動物の1本またはすべての足を侵すことがあり、各マウスについて12の合計スコアが取得可能となり得る。関節炎関節の組織病理学では、一般に、滑膜炎、パンプス生成、軟骨および骨の腐食が明らかになる。CIAに罹りやすいすべてのマウス系統で、II型コラーゲンに対する抗体応答が高く、CIIに対する細胞性応答が顕著である。

【0069】

試験化合物の投与は、普通は予防目的(10週間)または治療目的(疾患が最初に認められたときに10日間)で行われる。マウスは、関節炎が発症しているかどうか通常は毎日検査し、多くの場合臨床スコアを割り当てる。(必要に応じて)抗体またはサイトカインを測定するために、様々な時点で各動物から血清を回収することもできる。試験の終わりに、マウスを安楽死させ、定量的な組織病理学スコアを割り当てる。 40

【0070】

モノクローナル抗体関節炎アッセイ

関節リウマチの別の実験モデルは、II型コラーゲンエピトープに対する抗体をマウスに注射して、2~3日で関節炎を誘発するものである (たとえば、Burkhardtら(2002年)、Arthritis & Rheumatism第46巻: 2339~2348ページ、Teratoら(1992年)、J. Immunol. 第148巻: 2103~2108ページを参照のこと)。このモデルでの使用向けに、4種の抗体からなるカクテルが市販されている (Arthrogen-CIA (登録商標) モノクローナル 50

抗体カクテル、CHEMICON International, Inc.、米国カリフォルニア州 Temecula)。このモデルは、DBA/1 系統のマウスを必要としない。試験化合物は、1 日に体重 1 kg あたり 20 mg/kg、60 mg/kg、100 mg/kg、および 200 mg/kg などの範囲の量を、1 回または複数回、試験中のどの時点でマウスに投与してもよい。くるぶしおよび足の腫脹は通常、端点 (end point) としてだけでなく組織学として量的または質的に測定する。さらに、抗体またはサイトカインを測定するために、様々な時点で各動物から血清を回収することもできる。

【0071】

V. 薬学的に許容できる塩および溶媒和化合物

本発明で使用する化合物は、溶媒和でない形態だけでなく、水和した形態を含めて溶媒和の形態で存在し得る。一般に、水和形態を含む溶媒和形態は、溶媒和でない形態に等しく、本発明の範囲内に含まれるものとする。

【0072】

本発明の化合物 (たとえば、式 I ~ V の化合物) は、酸の付加塩および/または塩基の塩を含むが、それらに限定されるものではない、薬学的に許容できる両方の塩をさらに生成し得る。式 (I) の化合物の薬学的に許容できる塩には、その酸の付加塩および塩基の塩 (複塩 (disalt) を含む) が含まれる。適切な塩の例は、たとえば、Stahl および Wermuth の「Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use」、Wiley-VCH、ドイツ Weinheim (2002 年) および Berge の「Pharmaceutical Salts」、J. of Pharmaceutical Science、1977 年、第 66 巻: 1 ~ 19 ページの中に見ることができる。

【0073】

式 I ~ V の化合物の薬学的に許容できる酸付加塩には、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸などの無機酸由来の非毒性の塩、ならびに脂肪族モノおよびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、アルカン二酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族のスルホン酸などの有機酸由来の塩が含まれる。たとえば、そのような塩には、式 I ~ V の化合物の酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベシラート (ベンゼンスルホン酸塩)、重炭酸塩/炭酸塩、重硫酸塩、カプリル酸塩、カムシラート (カンファースルホン酸塩)、クロロ安息香酸塩、クエン酸塩、エジシラート (1, 2-エタンジスルホン酸塩)、リン酸二水素塩、ジニトロ安息香酸塩、エシラート (エタンスルホン酸塩)、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、ヒベンズ酸、塩酸塩/塩化物、臭化水素酸塩/臭化物、ヨウ化水素酸/ヨウ化物、イソ酪酸塩、一水素リン酸塩、イセチオン酸塩、D-乳酸塩、L-乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシラート (メタンスルホン酸塩)、メタリン酸塩、メチル安息香酸塩、メチル硫酸塩、2-ナフシラート (2-ナフタレンスルホン酸塩)、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パモ酸塩、フェニル酢酸塩、リン酸塩、フタル酸塩、プロピオン酸塩、ピロリン酸塩、ピロ硫酸塩、サッカレート、セバシン酸塩、ステアリン酸塩、スベリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、亜硫酸塩、D-酒石酸塩、L-酒石酸塩、トシラート (トルエンスルホン酸塩)、およびキシナホ酸塩などが含まれる。アルギン酸塩、グルコン酸塩、ガラクトロン酸塩などのアミノ酸の塩も企図する。

【0074】

塩基性の化合物の酸付加塩は、従来の方式で遊離塩基形態を十分な量の所望の酸と接触させて塩を生成して調製する。遊離塩基形態は、従来の方式で、塩形態を塩基と接触させ、遊離塩基を単離することで再生できる。遊離塩基形態は、極性溶媒への溶解性などのある種の物理的性質がそのそれぞれの塩形態と多少異なるが、他の点では、塩は、本発明の目的に関してそのそれぞれの遊離塩基と同等である。

【0075】

薬学的に許容できる塩基付加塩は、アルカリ金属およびアルカリ土類金属の水酸化物や、有機アミンなどの、金属またはアミンを相手に生成される。カチオンとして使用される

金属の例は、アルミニウム、カルシウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウムなどである。適切なアミンの例には、アルギニン、コリン、クロロプロカイン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、ジエチルアミン、ジエタノールアミン、ジオールアミン、エチレンジアミン（エタン-1, 2-ジアミン）、グリシン、リシン、メグルミン、N-メチルグルカミン、オールアミン、プロカイン（ベンザチン）、およびトロメタミンが含まれる。

【0076】

酸性化合物の塩基付加塩は、従来の方式で遊離酸形態を十分な量の所望の塩基と接触させて塩を生成して調製する。遊離酸形態は、従来の方式で、塩形態を酸と接触させ、遊離酸を単離することで再生できる。遊離酸形態は、極性溶媒への溶解性などのある種の物理的性質がそのそれぞれの塩形態と多少異なるが、他の点では、塩は、本発明の目的に関してそのそれぞれの遊離酸と同等である。

10

【0077】

V I. 医薬組成物および投与方法

本発明は、治療有効量の式 I ~ V の化合物もしくは薬学的に許容できるその塩と、薬学的に許容できるそのための担体、希釈剤、または賦形剤とを含む医薬組成物も提供する。語句「医薬組成物」とは、医学的または獣医学的用途での投与に適する組成物を指す。語句「治療有効量」とは、特定の対象または対象集団において、単独で投与し、または別の医薬品もしくは治療と併せて投与したとき、治療中の障害または状態を抑制し、休止させ、または改善させるのに十分な、化合物または薬学的に許容できるその塩の量を意味する。たとえば、ヒトまたは他の哺乳動物では、治療有効量は、検査室または臨床的な状況で経験的に決定することができ、あるいは治療がなされる特定の疾患および対象向けに米国食品医薬局または外国の同等機関のガイドラインによって義務付けられる量でよい。

20

【0078】

適正な剤形、投与量、および投与経路の決定については、以下で記載するが、製薬業界および医療業界の標準の範囲内であることを理解されたい。

【0079】

本発明の化合物は、シロップ、エリキシル、懸濁液、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、ロゼンジ、トローチ剤、水溶液、クリーム、軟膏、ローション、ゲル、乳濁液などの形の医薬組成物として製剤することができる。本発明の化合物は、P I 3 K が仲介する障害に随伴する症状または疾患徴候を、量的または質的に測定したとき、軽減させることが好ましい。

30

【0080】

本発明の化合物から医薬組成物を調製するための薬学的に許容できる担体は、固体または液体のどちらでもよい。固体形態の製剤には、粉末、錠剤、丸剤、カプセル剤、カシェ剤、坐剤、および分散性顆粒が含まれる。固体担体は、希釈剤、着香剤、結合剤、保存剤、錠剤崩壊剤、またはカプセル化材料としても働き得る 1 種または複数の物質でよい。

【0081】

粉末では、担体は、固体を砕いたものであり、これを砕いた活性成分との混合物にする。錠剤では、活性成分を、必要な結合特性を有する担体と適切な割合で混合し、所望の形状および大きさに圧縮する。

40

【0082】

粉末および錠剤は、活性化合物を 1 % ~ 95 % (w/w) 含有する。ある実施形態では、活性化合物は、5 % ~ 70 % (w/w) の範囲である。適切な担体は、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、糖、ラクトース、ペクチン、デキストリン、デンプン、ゼラチン、トラガカント、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、低融点ろう、カカオ脂などである。用語「製剤」は、活性成分が担体によって他の担体と一緒にまたは他の担体なしで包囲され、したがって担体と共同関係にあるカプセルをもたらず担体としてのカプセル化材料が加えられた活性化合物配合物を含むものとする。同様に、カシェ剤およびロゼンジも含まれる。錠剤、粉末、カプセル剤、丸剤、カシ

50

ェ剤、およびロゼンジは、経口投与に適する固体剤形として使用することができる。

【0083】

坐剤を調製するには、まず脂肪酸グリセリドまたはカカオ脂の混合物などの低融点ろうを融解させ、その中に、活性成分を攪拌しながら均質に分散させる。次いで、融解した均質混合物を好都合な大きさの型に注ぎ、冷まし、それによって凝固させる。

【0084】

液状の製剤には、溶液、懸濁液、および乳濁液、たとえば、水や水／プロピレングリコール溶液が含まれる。非経口注射用の液体製剤は、ポリエチレングリコール水溶液の溶液に製剤することができる。

【0085】

経口での使用に適する水溶液は、活性成分を水に溶解させ、所望に応じて適切な着色剤、フレーバー、安定剤、および増粘剤を加えて調製することができる。経口での使用に適する水性懸濁液は、砕いた活性成分を、天然または合成のゴム、樹脂、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、他のよく知られている懸濁化剤などの粘性の材料と共に水中に分散させて製することができる。

【0086】

使用直前に経口投与用の液状製剤に変換されることになる固体状製剤も含まれる。そのような液体形態には、溶液、懸濁液、および乳濁液が含まれる。これらの製剤は、活性成分に加えて、着色剤、フレーバー、安定剤、緩衝剤、合成および天然の甘味剤、分散剤、増粘剤、溶解補助剤などを含有して差し支えない。

【0087】

医薬製剤は、単位投与形態にすることが好ましい。そのような形態では、製剤が、適切な量の活性成分を含有する単位用量に細分されている。単位投与形態は、錠剤、カプセル剤、および粉末をバイアルまたはアンプルに詰めたものなどの、分量別の製剤を含む包装製品にすることができる。単位投与形態は、カプセル剤、錠剤、カシェ剤、またはロゼンジそれ自体でもよいし、あるいは包装形態にしたもののいずれかを適切な個数としてもよい。

【0088】

単位用量製剤中の活性成分の分量は、特定の適用例および活性成分の効力に応じて、0.1mg～1000mg、好ましくは1.0mg～100mg、または単位用量の1%～95%(w/w)と変動させ、またはこの範囲に調整することができる。組成物は、所望であれば、他の適合する治療薬を含んでいてもよい。

【0089】

薬学的に許容できる担体は、一部には、投与する特定の組成物のみならず、組成物の投与に使用される特定の方法によって決められる。したがって、本発明の医薬組成物の適切な配合法はバラエティーに富む(たとえば、「Remington: The Science and Practice of Pharmacy」第20版、Gennaroら編、Lippincott Williams and Wilkins、2000年を参照のこと)。

【0090】

本発明の化合物は、単独または他の適切な成分との合剤としてエアロゾル製剤にする(すなわち、化合物を「噴霧する」ことができる)と、吸入によって投与することができる。エアロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン窒素などの許容できる加圧噴射剤中に入れることができる。

【0091】

たとえば、静脈内、筋肉内、皮内、および皮下の経路によるものなどの、非経口投与に適する製剤としては、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を目的のレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有してよい水性および非水性の等張性無菌注射溶液、ならびに懸濁化剤、溶解補助剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含んでよい水性および非水性の無菌懸濁液が挙げられる。本発明の実施では、組成物の投与は、たとえば、静脈内注入に

10

20

30

40

50

よる投与、経口、局所、腹腔内、膀胱内、またはクモ膜下の各投与にすることができる。化合物製剤は、アンプルやバイアルなどの単位用量または多用量用の密閉容器に入れて提供することができる。注射溶液および注射懸濁液は、前に述べた種類の無菌の粉末、顆粒、および錠剤から調製することができる。

【0092】

対象に投与する用量は、本発明では、対象において徐々に有益な治療応答をもたらすのに十分にすべきである。用語「対象」とは、哺乳類綱のメンバーを指す。哺乳動物の例には、それらに限定されるものではないが、ヒト、霊長類、チンパンジー、げっ歯類、マウス、ラット、ウサギ、ウマ、家畜、イヌ、ネコ、ヒツジ、およびウシが含まれる。

【0093】

用量の決定は、使用する特定の化合物の有効性および対象の状態、ならびに治療を受ける対象の体重または体表面積によってなされる。用量の大きさの決定はまた、特定の対象における特定の化合物の投与に付随する有害な副作用の存在、性質、および程度によってなされる。治療しようとする障害の治療または予防において投与される化合物の有効量を決定する際、医師は、化合物の循環血漿レベル、化合物の毒性、および／または疾患の進行などの要素を評価することができる。一般に、化合物の用量当量は、典型的な対象で約 $1 \mu\text{g} / \text{kg} \sim 100 \text{mg} / \text{kg}$ である。異なる多くの投与法が当業者に知られている。

【0094】

投与については、本発明の化合物は、集団に適用したときの化合物の LD_{50} 、化合物の薬物動態プロファイル、禁忌薬物、および化合物の様々な濃度での副作用、ならびに対象の全般的な健康を含めることができるが、それらに限定されるものではない諸要素によって決定された速度で投与することができる。投与は、1回で、または数回に分けて行うことができる。

【0095】

典型的な錠剤、非経口製剤、およびパッチ製剤の例に含まれるものは以下のとおりである。

【0096】

【表1】

錠剤製剤実施例1

錠剤製剤	
成分	量
式I～Vの化合物	50 mg
ラクトース	80 mg
コーンスターチ (ミックス用)	10 mg
コーンスターチ (ペースト用)	8 mg
ステアリン酸マグネシウム (1%)	2 mg
	150 mg

本発明の化合物（たとえば、式I～Vの化合物または薬学的に許容できるその塩）は、ラクトースおよびコーンスターチ（ミックス用）と混合し、均質にブレンドして、一粉末にする。コーンスターチ（ペースト用）を6 mLの水に懸濁させ、攪拌しながら加熱してペーストにする。このペーストを混合粉末に加え、混合物を顆粒化する。湿った顆粒を8番の硬質のふるいに通し、50℃で乾燥させる。混合物を1%のステアリン酸マグネシウ

10

20

30

40

50

ムで滑らかにし、圧縮して錠剤にする。P I 3 Kが仲介する障害または状態の治療のために、錠剤は1日に1～4個の速度で患者に投与する。

【0097】

非経口溶液製剤実施例1

700 mLのプロピレングリコールと200 mLの水からなる注射用の溶液には、本発明の化合物20.0 gを加えることができる。混合物を攪拌し、塩酸を用いてpHを5.5に調整する。注射用の水で体積を1000 mLに調整する。溶液を滅菌し、5.0 mL容アンプルに、それぞれが2.0 mLを(40 mgの発明化合物)含有するように充填し、窒素中で密閉する。溶液は、P I 3 Kが仲介する障害または状態に罹患し、治療の必要がある対象に注射によって投与する。

10

【0098】

パッチ製剤実施例1

本発明の化合物10 mgは、プロピレングリコール1 mLおよび樹脂架橋剤を含有するアクリルポリマー接着剤2 mgと混合することができる。混合物を不浸透性の支持体(30 cm²)に塗布し、患者の上背にあてがって、P I 3 Kが仲介する障害または状態の徐放治療を行う。

【0099】

V I I. P I 3 Kが仲介する障害および状態の治療法

本発明の化合物および本発明の化合物を含む医薬組成物は、P I 3 Kが仲介する障害または状態に罹患している対象に投与することができる。P I 3 Kが仲介する障害および状態は、障害または状態の種類に応じて、本発明の化合物を使用しながら予防的、短期的、および長期的な治療を行うことができる。他の哺乳動物も本発明の化合物の投与の恩恵を受けることができるが、通常、これらの各方法の宿主または対象はヒトである。

20

【0100】

治療のための適用例では、本発明の化合物は、広範な種類の経口剤形および非経口剤形に調製し、そうした形態で投与することができる。用語「投与する」とは、化合物と対象とを接触させる方法を指す。たとえば、本発明の化合物は、注射によって、すなわち静脈内、筋肉内、皮内、皮下、十二指腸内、非経口、または腹腔内に投与することができる。本明細書に記載の化合物はまた、吸入によって、たとえば鼻腔内に投与することもできる。さらに、本発明の化合物は、経皮投与、局所投与、および植込みによる投与を行うことができる。ある実施形態では、本発明の化合物は、経口的に送達される。化合物を、直腸、頬側、腔内、眼内、アンディアリー(*andially*)に、または通気法によって送達することもできる。

30

【0101】

本発明の薬学的方法で利用する化合物は、1日約0.001 mg/kg～約100 mg/kgの初期量で投与することができる。ある実施形態では、1日の用量範囲は、約0.1 mg/kg～約10 mg/kgの範囲である。しかし、投与量は、対象の必要量、治療する状態の重症度、および使用する化合物に応じて様々となり得る。特定の状況のための適正な投与量の決定は、従事者の技量の範囲内である。一般に、治療は、化合物の適量を下回る少なめの投与量で開始する。その後は、その状況で最適な効果に到達するまで投与量を少しずつ増やす。便宜上、所望ならば合計1日投与量を分割し、1日の間に少量ずつ投与してもよい。用語「治療」は、治療する障害に伴伴し、またはそれによって引き起こされる少なくとも1種の症状または特性の、短期的、長期的、または予防的な軽減または緩和を含む。たとえば、治療には、障害のいくつかの症状の軽減、障害の病態の進行阻止、または障害の完全な根絶を含めることができる。本発明の化合物は、患者に同時投与することができる。用語「同時投与」とは、同じ医薬組成物または別々の医薬組成物の形で組み合わせて対象に投与される、2種以上の異なる医薬または治療(たとえば、放射線治療)を与えることを意味する。すなわち、同時投与は、2種以上の医薬品を含む単一の医薬組成物の同時の投与、または2種以上の異なる組成物の同じ対象への同じもしくは異なる時期での投与を含む。たとえば、本発明の化合物を含む最初の投与量が午前8時に与え

40

50

られ、次いで1～12時間後、たとえば同じ日の午後6時にCELEBREX（登録商標）が与えられる対象は、本発明の化合物とCELEBREX（登録商標）の同時投与を受けている。あるいは、たとえば、本発明の化合物とCELEBREX（登録商標）を含む単一剤形が午前8時に投与されることがあっても、対象は、本発明の化合物とCELEBREX（登録商標）の同時投与を受けている。

【0102】

たとえば、本発明の化合物は、癌の治療に有用な化合物（たとえば、TAXOL（登録商標）、タキソテル、GLEEVEC（登録商標）（メシル酸イマチニブ）、アドリアマイシン、ダウノマイシン、シスプラチン、エトポシド、ビンカアルカロイド、ビンブラスチン、ビンクリスチン、メトトレキサート、またはアドリアマイシンなどの細胞毒、ビンクリスチンなどのアルカロイド、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、エンドスタチンおよびアンギオスタチン、VEGF阻害剤、ならびにメトトレキサートなどの代謝拮抗薬）と同時投与することもできる。本発明の化合物は、タキサン誘導体、白金配位錯体、ヌクレオシド類似体、アントラサイクリン、トポイソメラーゼ阻害剤、またはアロマターゼ阻害剤と併せて使用してもよい。癌治療のために、放射線治療と本発明の化合物の同時投与を行うこともできる。

10

【0103】

本発明の化合物は、血栓性疾患、心疾患、卒中などの治療に有用な化合物（たとえば、アスピリン、ストレプトキナーゼ、組織プラスミノゲン活性化因子、ウロキナーゼ、抗凝固薬、抗血小板薬（たとえば、PLAVIX（登録商標）、重硫酸クロピドグレル）、スタチン（たとえば、LIPITOR（登録商標）（アトロバスタチンカルシウム）、ZOCOR（登録商標）（シンバスタチン）、CRESTOR（登録商標）（ロスバスタチン）など）、β遮断薬（たとえば、アテノロール）、NORVASC（登録商標）（ベシル酸アムロジピン）、およびACE阻害剤（たとえば、Accupril（登録商標）（塩酸キナプリル）、リシノプリルなど）と同時投与することもできる。

20

【0104】

本発明の化合物は、高血圧の治療に向けて、ACE阻害剤、スタチン、すなわちLIPITOR（登録商標）（アトロバスタチンカルシウム）などの脂質低下剤、NORVASC（登録商標）（ベシル酸アムロジピン）などのカルシウムチャンネル遮断薬といった化合物と同時投与することもできる。本発明の化合物は、フィブラート、β遮断薬、NEPI阻害剤、アンギオテンシン2受容体拮抗薬、および血小板凝固阻害剤と併せて使用してもよい。

30

【0105】

関節リウマチを含む炎症性疾患の治療では、本発明の化合物を、抗TNFαモノクローナル抗体（REMICADE（登録商標）、CDR-870、およびHUMIRA（商標）（アダリムマブ）など）やTNF受容体-免疫グロブリン融合分子（ENBREL（登録商標）など）などのTNF-α阻害剤、IL-1阻害剤、受容体拮抗薬、もしくは可溶性IL-1Ra（たとえば、KINERET（商標）またはICE阻害剤）、非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDS）、すなわち、ピロキシカム、ジクロフェナク、ナプロキセン、フルルビプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、イブプロフェン、フェナム酸系、メフェナム酸、インドメタシン、スリンダク、アパゾン（apazone）、ピラゾロン、フェニルブタゾン、アスピリン、COX-2阻害剤（CELEBREX（登録商標）（セレコキシブ）、VIOXX（登録商標）（ロフェコキシブ）、BEXTRA（登録商標）（バルデコキシブ）、およびエトリコキシブなど）、メタロプロテイナーゼ阻害剤（好ましくは、MMP-13選択的阻害剤）、NEUROTIN（登録商標）、プレガバリン、スルファサラジン、低用量メトトレキサート、レフルノミド、ヒドロキシクロロキン、d-ペニシルアミン、オーラノフィン、または非経口もしくは経口用の金などの薬剤と同時投与することができる。

40

【0106】

本発明の化合物は、骨関節炎治療用の既存の治療薬と同時投与してもよい。併せて使用

50

するのに適する薬剤には、ピロキシカム、ジクロフェナク、ナプロキセン、フルルビプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、およびイブプロフェンなどのプロピオン酸、メフェナム酸などのフェナム酸系、インドメタシン、スリンダク、アパゾン、フェニルブタゾンなどのピラズロン、アスピリンなどのサリチル酸系、セレコキシブ、バルデコキシブ、ロフェコキシブ、およびエトリコキシブなどのCOX-2阻害剤といった標準の非ステロイド系抗炎症薬（以下ではNSAID）、ならびにコルチコステロイド、およびヒアルガン（hyalgan）やシンビスク（synvisc）などのヒアルロン酸といった鎮痛薬および関節内治療薬が含まれる。

【0107】

本発明の化合物は、ビラセプト、AZT、アシクロビル、およびファムシクロビルなどの抗ウイルス薬、ならびにバラント（Valant）などの消毒薬化合物と同時投与してもよい。

10

【0108】

本発明の化合物はさらに、抗うつ薬（セルトラリンなど）、抗パーキンソン病薬（デプレニル、L-ドーパ、レキップ、ミラペックス、セレギンやラサギリンなどのMAOB阻害剤、タスマーなどのc o m P阻害剤、A-2阻害剤、ドーパミン再取込み阻害剤、NMDA拮抗薬、ニコチン作動薬、ドーパミン拮抗薬、神経性一酸化窒素シンターゼ阻害剤など）、NEURONTIN（登録商標）、プレガバリン、およびARICEPT（登録商標）、タクリン、プロベントフィリン、またはメトリホナートなどの抗アルツハイマー病薬といったCNS薬剤と同時投与してもよい。

20

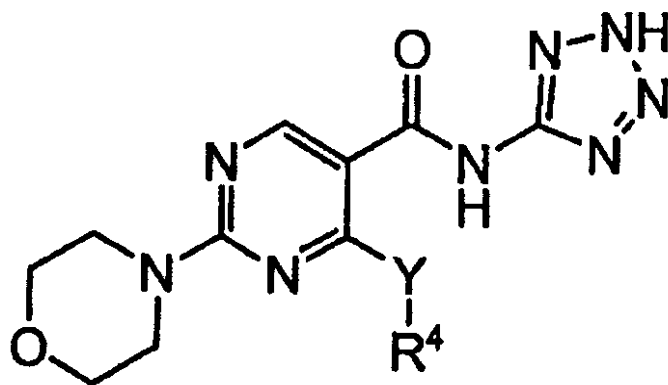
【0109】

本発明の化合物はまた、EVISTA（登録商標）（塩酸ラロキシフェン）、ドロロキシフェン、ラソフォキシフェン、またはFOSAMAX（登録商標）などの骨粗鬆症薬剤、およびFK-506やラパマイシンなどの免疫抑制剤と同時投与してもよい。

【実施例】

【0110】

【化12】

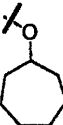
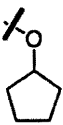
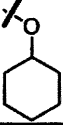
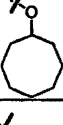
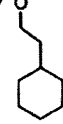
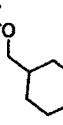


30

【0111】

40

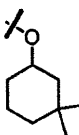
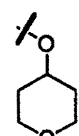
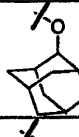
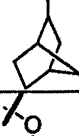
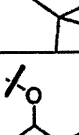
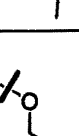
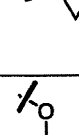
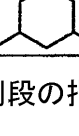
【表 2 - 1】

実施例	-Y-R ⁴	MS ^a	NMR ^b および / または燃焼分析	IC ₅₀ (μ M)
1		389.3	1.50 (m, 6H), 1.65 (m, 2H), 1.85 (m, 2H), 2.01 (m, 2H), 3.65 (m, 4H), 3.78 (m, 4H), 5.39 (m, 1H), 8.67 (s, 1H), 10.88 (s, 1H), 16.00 (s, 1H). 計算値 : C-52.57%, H-6.23%, N-28.85%, Cl-0%, H ₂ O-0%. 実測値C-52.36%, H-6.24%, N-28.72%, Cl-0%, H ₂ O-0%.	0.197
2		361.2	(CDCl ₃) 1.78 (m, 3H), 1.7-2.2 (m, 5H), 3.78 (m, 4H), 3.95 (m, 4H), 5.69 (m, 1H), 8.97 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 13.29 (s, 1H). 計算値 : C-49.99%, H-5.59%, N-31.09%. 実測値C-49.97%, H-5.54%, N-30.86%.	1.541
3		335.2	1.38 (d, J=6.34Hz, 6H), 3.65 (m, 4H), 3.80 (m, 4H), 5.40 (m, 1H), 8.66 (s, 1H), 11.01 (s, 1H), 16.01 (s, 1H).	87.4965
4		375.3	1.44 (m, 4H), 1.66 (m, 4H), 3.65 (m, 4H), 3.78 (m, 4H), 5.27 (m, 1H), 8.69 (s, 1H), 10.92 (s, 1H), 16.02 (s, 1H)	1.735
5		403.3	1.53-1.96 (m, 14H), 3.66 (m, 4H), 3.80 (m, 4H), 5.41 (m, 1H), 8.68 (s, 1H), 10.88 (s, 1H), 16.03 (s, 1H).	0.5025
6		403.2	0.91-1.73 (m, 13H), 3.65 (m, 4H), 3.80 (m, 4H), 4.47 (m, 2H), 8.65 (s, 1H), 10.96 (s, 1H). 計算値 : C-53.72%, H-6.51%, N-27.84%. 実測値C-53.56%, H-6.60%, N-27.64%.	10.07
7		389.2	1.05-1.79 (m, 11H), 3.64 (m, 4H), 3.80 (m, 4H), 4.27 (d, J=5.01Hz, 2H), 8.66 (s, 1H), 11.02 (s, 1H), 16.02 (s, 1H). 計算値 : C-52.57%, H-6.23%, N-28.85%. 実測値C-52.21%, H-6.19%, N-29.02%.	1.835

^a MS: 別段の指摘がない限り M+1 APCI. ^b DMSO、400MHz、 δ 値を報告。

【 0 1 1 2 】

【表 2 - 2】

実施例	-Y-R ⁴	MS ^a	NMR ^b および / または燃焼分析	IC ₅₀ (μ M)
8		351.2	3.32 (s, 3H), 3.65 (m, 4H), 3.71 (m, 2H), 3.81 (m, 4H), 4.56 (m, 2H), 8.69 (s, 1H), 10.95 (s, 1H). 計算値 : C-44.57%, H-5.18%, N-31.98%. 実測値C-44.81%, H-5.02%, N-31.60%.	2.32
9		403.3	0.94 (d, J=7.81 Hz, 6H), 1.30 (m, 3H), 1.46 (m, 2H), 1.67 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 3.66 (m, 4H), 3.79 (m, 4H), 5.30 (m, 1H), 8.66 (s, 1H), 10.96 (s, 1H), 15.97 (s, 1H).	1.36
10		377.3	1.76 (m, 2H), 2.04 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.65 (m, 4H), 3.78 (m, 4H), 3.82 (m, 2H), 5.40 (m, 1H), 8.67 (s, 1H), 11.06 (s, 1H), 16.01 (s, 1H). 計算値 : C-47.87%, H-5.36%, N-29.77%. 実測値C-47.74%, H-5.34%, N-29.85%.	10.48
11		427.2	1.59-2.21 (m, 14H), 3.64 (m, 4H), 3.77 (m, 4H), 5.38 (m, 1H), 8.70 (s, 1H), 10.95 (s, 1H).	0.485
12		387.2	1.08-2.22 (m, 10H), 3.64 (m, 4H), 3.78 (m, 4H), 5.28 (m, 1H), 8.65 (s, 1H), 10.98 (s, 1H).	0.845
13		363.2	1.01 (s, 9H), 3.65 (m, 4H), 3.80 (m, 4H), 4.15 (s, 2H), 8.67 (s, 1H), 10.96 (s, 1H), 16.03 (s, 1H).	2.06
14		363.2	0.95 (d, J=6.83Hz, 3H), 0.97 (d, J=6.83Hz, 3H), 1.30 (d, J=6.34 Hz, 3H), 1.98 (m, 1H), 3.66 (m, 4H), 3.79 (m, 4H), 5.22 (m, 1H), 8.69 (s, 1H), 10.91 (s, 1H), 16.01 (s, 1H).	1.16
15		361.2	0.41 (m, 2H), 0.59 (m, 2H), 1.18 (s, 3H), 3.62-3.65 (m, 4H), 3.78-3.82 (m, 4H), 4.27 (s, 2H), 8.68 (s, 1H), 10.98 (s, 1H), 16.02 (s, 1H). 計算値 : C-49.99%, H-5.59%, N-31.09%. 実測値C-49.94%, H-5.50%, N-31.26%.	1.69
16		403.3	0.60 (m, 1H), 0.92 (d, J=6.34 Hz, 6H), 1.06 (m, 2H), 1.60 (m, 3H), 2.12 (m, 2H), 3.66 (m, 4H), 3.79 (m, 4H), 5.17 (m, 1H), 8.67 (m, 1H), 10.93 (s, 1H).	0.21

^a MS: 別段の指摘がない限り M+1 APCI. ^b DMSO、400MHz、 δ 値を報告。

【0113】

中間体 1. 2-メチルスルファニル-4-(4-ニトロベンジルオキシ)-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。4-ニトロベンジルアルコール (16.7 g、109 ミリモル) を無水 THF (120 mL) に溶かした -78 °C の攪拌溶液に、n BuLi (ヘキサン中 1.6 M、75 mL、120 ミリモル) をシリンジで加えた。反応液を -78 °C で 10 分間攪拌し、次いで冷浴を取り外し、混合物が室温に温まるようにした。このニトロベンジルアルコキシド溶液を、4-クロロ-2-メチルチオ-5-ピリミジンカル

ボン酸エチル (25.0 g、107.3 ミリモル) を無水 THF (120 mL) に溶かした攪拌溶液中に注いだ。反応液を室温で15分間攪拌した。混合物を H₂O で希釈し、EtOAc での抽出に数回かけた。有機抽出物をブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、デカントし、濃縮して固体を得た。最少量のジクロロメタンを用いて固体をスラリーにし、濾過した。固体を収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物 (19.4 g、収率 51.8 %) を固体として得た。MS: M+1 = 350.1。

【0114】

中間体 2. 2-メタンスルフィニル-4-(4-ニトロベンジルオキシ)-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体 1 (19.4 g、55.6 ミリモル) をクロロホルム (185 mL) に溶かした攪拌溶液に、mCPBA (13.8 g、61.2 ミリモル) を少量ずつ加えた。発熱反応を氷水浴で和らげて、反応温度を室温付近に保った。次いで、反応液を室温で25分間攪拌した。混合物を NaHCO₃ 飽和水溶液で失活させ、水で希釈した。希釈物を EtOAc での抽出に数回かけた。有機抽出物をブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮して、所望の表題生成物 (18.84 g、収率 92.8 %) を橙色の固体として得た。この生成物をさらに精製せずそのまま使用した。MS: M+1 = 366.1 (APCI)。

10

【0115】

中間体 3. 2-モルホリン-4-イル-4-(4-ニトロベンジルオキシ)-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体 2 (35.4 g、97.0 ミリモル) を 100 °C のモルホリン (16.9 mL) 中で15分間攪拌した。反応液を室温に冷まし、次いでトルエン (約 100 mL) で希釈した。希釈混合物を真空中で濃縮した。残った残渣を EtOAc (約 300 mL) 中で煮沸し、次いで濾過した。液を真空中で濃縮した。残った固体を最少量のジクロロメタン中でスラリーにし、濾過した。固体を収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物 (12.8 g、収率 34.0 %) を白色の固体として得た。MS: M+1 = 389.1 (APCI)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.79 (s, 1H)、8.24 (m, 2H)、7.68 (m, 2H)、5.54 (s, 2H)、4.33 (q, J = 7.2 Hz, 2H)、3.99 (m, 2H)、3.85 (m, 2H)、3.74 (m, 2H)、3.23 (m, 2H)、1.36 (t, J = 7.2 Hz, 3H)。

20

【0116】

中間体 4. 4-ヒドロキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。水素バルーン中で、中間体 3 (4.00 g、10.3 ミリモル) を 20 % Pd/C (0.400 g) と共に室温のエタノール (52 mL) 中で16時間攪拌した。追加分の 20 % Pd/C (0.400 g) を加え、反応混合物中に水素を10分間バブルした。室温の水素バルーン中で反応液を4時間攪拌した。混合物をセライトで濾過した。濾過ケーキを EtOAc およびジクロロメタンですすいだ。液を濃縮して固体を得た。この固体を室温の最少量のジエチルエーテルで2時間かけてスラリーにし、次いで濾過した。固体を収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物 (2.49 g、収率 95.6 %) をオフホワイトの固体として得た。MS: M+1 = 254.1 (APCI)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) 8.67 (s, 1H)、4.38 (q, J = 7.1 Hz, 2H)、3.93 (m, 4H)、3.74 (m, 4H)、1.39 (t, J = 7.1 Hz, 3H)。

30

40

【0117】

中間体 5. 4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体 4 (10.00 g、39.49 ミリモル) を、THF (150 mL) 中でシクロヘプタノール (7.134 mL、59.23 ミリモル)、DEAD (8.25 g、47.4 ミリモル)、およびトリフェニルホスフィン (12.4 g、47.4 ミリモル) と合わせた。反応液を室温で18時間攪拌した。HPLC 分析にかけると、過剰のトリフェニルホスフィンおよびトリフェニルホスフィンオキシドと一緒に新しい生成物が示された。反応混合物を真空中で濃縮した。濃縮物をシリカゲルのクロマト

50

グラフィー（0～30%のEtOAc-ヘキサンによる勾配溶離、20%のEtOAc-ヘキサンでのTLC）によって精製して、所望の表題生成物（10.84g、収率78.57%）を淡桃色の油として得た。MS：M+1=350.3（APCI）。¹H-NMR（400MHz，CDCl₃）ppm 1.33（t，J=7.20Hz，3H）、1.54（m，5H）、1.75（m，2H）、1.94（m，5H）、3.74（m，1H）、3.92（m，4H）、4.28（q，J=7.08Hz，2H）、5.35（m，1H）、8.70（m，1H）。

【0118】

中間体6. 4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸。丸底フラスコ中で、中間体5（10.84g、31.02ミリモル）をジオキサン（60mL）および1N LiOH（40mL）と共に80℃で2時間攪拌した。混合物を室温に冷まし、次いで1N HClでゆっくりかつ慎重にpH約1に酸性化した。白色の固体が沈殿した。混合物を過剰のH₂Oで希釈し、次いで濾過した。濾過ケーキをH₂Oですすぎ、収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物（5.70g、収率57.2%）を淡黄色の固体として得た。MS：M+1=322.2（APCI）。¹H-NMR（400MHz，CDCl₃）ppm 1.4～1.7（m，8H）、1.89（s，2H）、2.09（m，2H）、3.76（m，4H）、3.89（m，4H）、5.45（m，1H）、8.86（s，1H）。

【0119】

（実施例1）

4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド。中間体6（5.70g、17.7ミリモル）を無水ジクロロメタン（50mL）と溶解はさせないが混合した。約5滴のDMFを加えた。塩化オキサリル（1.70mL、19.5ミリモル）をシリンジで加えた。混合物が泡立ち、ゆっくりと均質になった。反応液を室温で10分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、出発材料の酸が完全に消費され、新しい極性のより弱い生成物が生成していることが示された。5-アミノテトラゾール（3.17g、37.2ミリモル）、トリエチルアミン（5.19mL、37.3ミリモル）、そして最後にアセトニトリル（50mL）を加えた。反応液を80℃で60分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、新しい生成物が示された。反応容器を開き、煮沸してほぼ乾燥するようにした。油浴を取り外し、混合物を室温に冷ました。残ったタールを最少量のアセトニトリル（約15mL）に溶かした。混合物をH₂O（約100mL）で希釈し、綿毛状の白色固体が沈殿するまで1N HClで酸性化した。固体を濾別し、H₂Oですすいだ。ケーキを収集し、最少量のMeOHで30分間かけてスラリーにした。スラリーを濾過し、ケーキを最少量のMeOHですすいだ。固体を真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物（4.832g、収率70.14%）を細い淡黄色の針結晶として得た。融点：287.1～287.4℃（Buchi Melting Point B-545装置で測定）。

【0120】

実施例2～15の表題化合物は、シクロヘプタノールの代わりに相応しいアルコール（たとえば、シクロペンタノール）を用い、実施例1と同様に合成した。

【0121】

（実施例2）

4-シクロペンチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド。

【0122】

（実施例3）

4-イソプロポキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド。

10

20

30

40

50

【0123】

(実施例4)

4-シクロヘキシルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0124】

(実施例5)

4-シクロオクチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸
(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0125】

(実施例6)

4-(2-シクロヘキシル-エトキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

10

【0126】

(実施例7)

4-シクロヘキシルメトキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン
酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0127】

(実施例8)

4-(2-メトキシ-エトキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カル
ボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

20

【0128】

(実施例9)

4-(3,3-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリ
ミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0129】

(実施例10)

2-モルホリン-4-イル-4-(テトラヒドロピラン-4-イルオキシ)-ピリミ
ジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0130】

(実施例11)

4-(アダマンタン-2-イルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

30

【0131】

(実施例12)

4-(ビスクロ[2.2.1]ヘプト-2-イルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-
ピリミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0132】

(実施例13)

4-(2,2-ジメチル-プロポキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

40

【0133】

(実施例14)

4-(1,2-ジメチル-プロポキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-
カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0134】

(実施例15)

4-(1-メチル-シクロプロピルメトキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミ
ジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0135】

中間体7. 4-(3,5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-メチルスルファニ

50

ルーピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。3, 5-ジメチルシクロヘキサノール (6. 18 mL、43. 1ミリモル) の-78℃の無水THF (100 mL) 溶液に、n BuLi (ヘキサン中1. 6 M、26. 9 mL、43. 1ミリモル) をシリンジで加えた。冷浴を取り外し、反応液が室温に温まるようにした。次いで、反応混合物を、4-クロロ-2-メチルチオ-5-ピリミジンカルボン酸エチル (10. 0 g、43. 1ミリモル) を無水THF (100 mL) に溶かした攪拌溶液中に注いだ。混合物を室温で2時間攪拌した。この混合物をH₂Oで希釈し、EtOAcでの抽出に数回かけた。有機抽出物をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、デカントし、濃縮した。濃縮物をシリカゲルのクロマトグラフィー (0~12%のEtOAc-ヘキサンの勾配溶離、10%のEtOAc-ヘキサンでのTLC) によって精製して、所望の表題生成物 (5. 95 g、収率 42. 6%) を無色の油として得た。MS: M+1=325. 3 (APCI)。

10

【0136】

中間体8. 4-(3, 5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-メタンスルフィニル-ルーピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体8 (5. 89 g、18. 2ミリモル) をクロロホルム (60 mL) に溶かした攪拌溶液に、mCPBA (4. 90 g、21. 8ミリモル) を少量ずつ加えた。発熱反応を氷水浴で和らげて、反応温度を室温付近に保った。次いで、反応液を室温で25分間攪拌した。混合物をNaHCO₃飽和水溶液で失活させ、水で希釈した。希釈物をEtOAcでの抽出に数回かけた。有機抽出物をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮して、所望の表題生成物を定量的な収率で得た。この生成物をさらに精製せずそのまま使用した。MS: M+1=341. 1 (APCI)。

20

【0137】

中間体9. 4-(3, 5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ルーピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体8 (7. 13 g、21. 0ミリモル) を100℃のモルホリン (9. 14 mL) 中で1時間攪拌した。反応液を室温に冷ました。反応混合物全部をシリカゲルのクロマトグラフィー (0~16%のEtOAc-ヘキサンによる勾配溶離、20%のEtOAc-ヘキサンでのTLC) によって精製して、所望の表題生成物 (2. 68 g、収率35. 2%) を無色の油として得た。MS: M+1=364. 7 (APCI)。

【0138】

中間体10. 4-(3, 5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ルーピリミジン-5-カルボン酸。丸底フラスコ中で、中間体9 (2. 48 g、6. 83ミリモル) をジオキサン (19. 2 mL) および1N LiOH (12. 8 mL) と共に80℃で90分間攪拌した。混合物を室温に冷まし、次いで1N HClでゆっくりかつ慎重にpH約1に酸性化した。白色の固体が沈殿した。混合物を過剰のH₂Oで希釈し、次いで濾過した。濾過ケーキをH₂Oですすぎ、収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物 (1. 43 g、収率62. 2%) を白色の固体として得た。MS: M+1=336. 2 (APCI)。微量分析: 計算値C-60. 88%、H-7. 51%、N-12. 53%、実測値C-60. 87%、H-7. 67%、N-12. 24%。

30

40

【0139】

(実施例16)

4-(3, 5-ジメチル-シクロヘキシルオキシ)-2-モルホリン-4-イル-ルーピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。中間体10 (0. 750 g、2. 24ミリモル) を無水ジクロロメタン (11 mL) と溶解はさせないが混合した。約3滴のDMFを加えた。塩化オキサリル (0. 213 mL、2. 46ミリモル) をシリンジで加えた。混合物があわ立ち、ゆっくりと均質になった。反応液を室温で10分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃ 中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、出発材料の酸が完全に消費され、新しい極性のより弱い生成物が生成していることが示された。5-アミノテトラゾール (0. 400 g、4. 70ミリモル)、トリエ

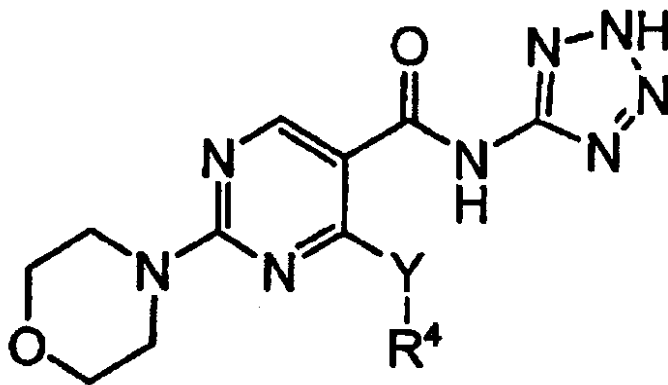
50

チルアミン（0.654 mL、4.70ミリモル）、そして最後にアセトニトリル（11 mL）を加えた。反応液を80℃で60分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃ 中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、新しい生成物が示された。反応容器を開き、煮沸してほぼ乾燥するようにした。油浴を取り外し、混合物を室温に冷ました。残ったタールを最少量のアセトニトリル（約15 mL）に溶かした。混合物をH₂O（約100 mL）で希釈し、綿毛状の白色固体が沈殿するまで1N HClで酸性化した。固体を濾別し、H₂Oですすいだ。ケーキを収集し、最少量のMeOHで30分間かけてスラリーにした。スラリーを濾過し、ケーキを最少量のMeOHですすいだ。固体を真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物（0.699 g、収率77.6%）を白色の固体として得た。

10

【0140】

【化13】



20

【0141】

【表3】

実施例	-Y-R ⁴	MS ^a	NMR ^b および / または燃焼分析	IC ₅₀ (μM)
17		411.3	1.20 (d, J=6.83Hz, 6H), 2.91 (m, 1H), 3.55 (m, 4H), 3.81 (m, 2H), 7.19 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 8.72 (m, 1H), 11.70 (s, 1H), 16.02 (s, 1H). 計算値 : C-54.68%, H-5.36%, N-28.53%. 実測値C-54.56%, H-5.07%, N-28.44%.	0.805
18		451.3	1.19-1.79 (m, 11H), 3.54 (m, 8H), 7.17 (d, J=8.54Hz, 2H), 7.27 (d, J=8.54Hz, 2H), 8.72 (s, 1H), 11.67 (s, 1H), 16.03 (s, 1H).	0.1545

30

40

^a MS: 別段の指摘がない限り M+1 APCI. ^b DMSO、400MHz、δ 値を報告。

【0142】

中間体 11. 4-（4-イソプロピルフェノキシ）-2-メチルスルファニルピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。4-イソプロピルフェノール（5.86 g、43.1ミリモル）を無水THF（100 mL）に溶かした攪拌溶液に、水素化ナトリウム（1.03 g、43.1ミリモル）をゆっくりかつ慎重に加えた。反応液を室温で20分間攪拌した。次いで、このフェノキシド溶液を、4-クロロ-2-チオメチル-5-ピリ

50

ミジンカルボン酸エチル（10.0 g、43.1ミリモル）を無水THF（100 mL）に溶かした攪拌溶液中に注いだ。反応液を室温で15分間攪拌した。この反応液をH₂Oで希釈し、EtOAcでの抽出に数回かけた。有機抽出物を合わせ、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、デカントし、濃縮した。濃縮物をシリカゲルのクロマトグラフィー（0～20%のEtOAc－ヘキサンによる勾配溶離、10%のEtOAc－ヘキサンのTLC）によって精製して、所望の表題生成物（9.88 g、収率69.0%）を淡黄色の油として得た。MS：M+1=333.5（APCI）。

【0143】

中間体12. 4-（4-イソプロピルフェノキシ）-2-メタンシルフィニルピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体11（9.03 g、27.2ミリモル）をクロロホルム（91 mL）に溶かした攪拌溶液に、mCPBA（7.32 g、32.6ミリモル）を少量ずつ加えた。発熱反応を氷水浴で和らげて、反応温度を室温付近に保った。次いで、反応液を室温で25分間攪拌した。混合物をNaHCO₃飽和水溶液で失活させ、水で希釈した。希釈物をEtOAcでの抽出に数回かけた。有機抽出物をブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮して、所望の表題生成物を無色の油として定量的な収率で得た。MS：M+1=349.1（APCI）。

10

【0144】

中間体13. 4-（4-イソプロピルフェノキシ）-2-モルホリン-4-イルピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体12（9.82 g、28.2ミリモル）を100℃のモルホリン（12.3 mL）中で1時間攪拌した。反応液を室温に冷ました。反応混合物をシリカゲルのクロマトグラフィー（0～30%のEtOAc－ヘキサンによる勾配溶離、20%のEtOAc－ヘキサンのTLC）によって精製して、所望の表題生成物（2.56 g、収率24.4%）を淡黄色の油として得た。MS：M+1=372.5（APCI）。

20

【0145】

中間体14. 4-（4-イソプロピルフェノキシ）-2-モルホリン-4-イルピリミジン-5-カルボン酸。丸底フラスコ中で、中間体13（2.36 g、6.36ミリモル）をジオキサン（19.2 mL）および1N LiOH（12.8 mL）と共に80℃で90分間攪拌した。混合物を室温に冷まし、次いで1N HClでゆっくりかつ慎重にpH約2～3に酸性化した。白色の固体が沈殿した。混合物を過剰のH₂Oで希釈し、次いで濾過した。濾過ケーキをH₂Oですすぎ、収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物（1.81 g、収率82.9%）を白色の固体として得た。MS：M+1=344.2（APCI）。微量分析：計算値C-62.96%、H-6.16%、N-12.24%、実測値C-62.95%、H-6.20%、N-12.18%。

30

【0146】

（実施例17）

4-（4-イソプロピルフェノキシ）-2-モルホリン-4-イルピリミジン-5-カルボン酸（2H-テトラゾール-5-イル）-アミド。中間体14（0.800 g、2.33ミリモル）を無水ジクロロメタン（11 mL）と溶解はさせないが混合した。約5滴のDMFを加えた。塩化オキサリル（0.222 mL、2.56ミリモル）をシリンジで加えた。混合物があわ立ち、ゆっくりと均質になった。反応液を室温で10分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、出発材料の酸が完全に消費され、新しい極性のより弱い生成物が生成していることが示された。5-アミノテトラゾール（0.416 g、4.89ミリモル）、トリエチルアミン（0.680 mL、4.89ミリモル）、そして最後にアセトニトリル（11 mL）を加えた。反応液を80℃で60分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、新しい生成物が示された。反応容器を開き、煮沸してほぼ乾燥するようにした。油浴を取り外し、混合物を室温に冷ました。残ったタールを最少量のアセトニトリル（約1 mL）に溶かした。混合物をH₂O（約15 mL）で希釈し、綿毛状の白色固体が沈殿するまで1N HClで酸性化した。固体を濾別し、H₂O

40

50

ですすいだ。ケーキを収集し、最少量のMeOHで30分間かけてスラリーにした。スラリーを濾過し、ケーキを最少量のMeOHですすいだ。固体を真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物(0.739g、収率77.4%)を白色の固体として得た。

【0147】

中間体15. 4-クロロ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体4(3.46g、13.7ミリモル)およびDMF(約5滴)の室温の無水ジクロロメタン(70mL)溶液に、塩化オキサリル(1.31mL、15.0ミリモル)をシリンジで滴下した。反応液が発泡した。反応液を室温で20分間攪拌した。一定分量をHPLC分析にかけると、出発材料のピリミジンが完全に消費され、新しい極性のより弱い生成物が生成していることが示された。反応液をNaHCO₃飽和水溶液で希釈した。希釈物をジクロロメタンでの抽出に3回かけた。抽出物を合わせ、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮して、所望の表題生成物(1.056g、収率96.5%)を淡黄色の固体として得た。MS:M+1=272.1(APCI)。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ ppm 1.37(t, J=7.08Hz, 3H)、3.75(m, 4H)、3.90(m, 4H)、4.34(q, J=7.08Hz, 2H)、8.81(s, 1H)。

【0148】

中間体16. 4-(4-シクロヘキシルフェノキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。4-シクロヘキシルフェノール(0.290g、1.62ミリモル)を無水THF(5mL)に溶かした攪拌溶液に、水素化ナトリウム(0.040g、1.62ミリモル)をゆっくりかつ慎重に加えた。反応液を室温で20分間攪拌した。次いで、このフェノキシド溶液を、中間体15(0.440g、1.62ミリモル)を無水THF(5mL)に溶かした攪拌溶液中に注いだ。反応液を室温で15分間攪拌した。この反応液をH₂Oで希釈し、EtOAcでの抽出に数回かけた。有機抽出物を合わせ、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮した。濃縮物をシリカゲルのクロマトグラフィー(0~30%のEtOAc-ヘキサンによる勾配溶離)によって精製して、所望の表題生成物(0.445g、収率66.9%)を淡黄色の油として得た。MS:M+1=412.3(APCI)。

【0149】

中間体17. 4-(4-シクロヘキシルフェノキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸。丸底フラスコ中で、中間体16(0.445g、1.08ミリモル)をジオキサン(3.0mL)および1N LiOH(2.25mL)と共に80℃で15分間攪拌した。混合物を室温に冷まし、次いで1N HClでゆっくりかつ慎重にpH約2~3に酸性化した。白色の固体が沈殿した。混合物を過剰のH₂Oで希釈し、次いで濾過した。濾過ケーキをH₂Oですすぎ、収集し、真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物(0.369g、収率88.9%)を白色の固体として得た。MS:M+1=384.2(APCI)。

【0150】

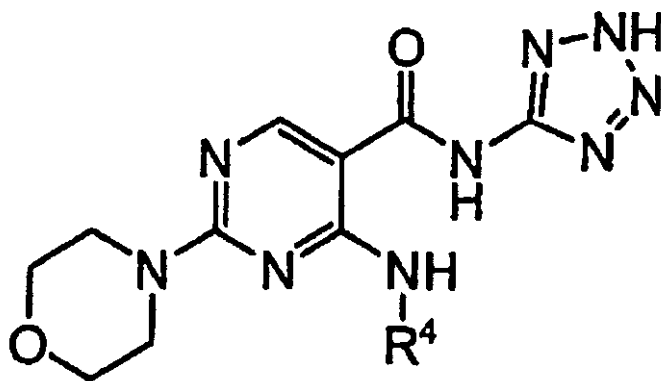
(実施例18)

4-(4-シクロヘキシルフェノキシ)-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。中間体17(0.369g、0.960ミリモル)を無水ジクロロメタン(5mL)と溶解はさせないが混合した。約3滴のDMFを加えた。塩化オキサリル(0.093mL、1.06ミリモル)をシリンジに加えた。混合物が泡立ち、ゆっくりと均質になった。反応液を室温で10分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、出発材料の酸が完全に消費され、新しい極性のより弱い生成物が生成していることが示された。5-アミノテトラゾール(0.204g、2.40ミリモル)、トリエチルアミン(0.330mL、2.40ミリモル)、そして最後にアセトニトリル(5mL)を加えた。反応液を80℃で60分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃中に入れて失活させた一定分量をHPLC分析にかけると、新しい生成物が示された。反応容器を開き、煮沸して

ほぼ乾燥するようにした。油浴を取り外し、混合物を室温に冷ました。残ったタールを最少量のアセトニトリル（約 1 mL）に溶かした。混合物を H_2O （約 15 mL）で希釈し、綿毛状の白色固体が沈殿するまで 1 N HCl で酸性化した。固体を濾別し、 H_2O ですすいだ。ケーキを収集し、最少量の $MeOH$ で 30 分間かけてスラリーにした。スラリーを濾過し、ケーキを最少量の $MeOH$ ですすいだ。固体を真空オーブン中で終夜乾燥させて、所望の表題生成物（0.246 g、収率 56.9%）を白色の固体として得た。

【0151】

【化14】



【0152】

【表4】

実施例	-R ⁴	MS ^a	NMR ^b および / または燃焼分析	IC ₅₀ (μ M)
19		360.3	1.37-1.45 (m, 2H), 1.53-1.70 (m, 4H), 1.96-2.04 (m, 2H), 3.61-3.63 (m, 4H), 3.75-3.78 (m, 4H), 7.28-4.34 (m, 1H), 8.55 (d, $J=6.83$ Hz), 8.76 (s, 1H)	32.72
20		382.2	3.57-3.60 (m, 4H), 3.73-3.76 (m, 4H), 4.62-4.64 (m, 2H), 7.22-7.30 (m, 1H), 7.30-7.35 (m, 4H), 8.78 (s, 1H), 8.87 (bt, 1H, $J=5.61$ Hz)	39.09
21		374.2	1.21-1.40 (m, 5H), 1.53-1.56 (m, 1H), 1.65-1.68 (m, 2H), 1.88-1.92 (m, 2H), 3.61-3.63 (m, 4H), 3.68-3.75 (m, 4H), 3.93-3.98 (m, 1H), 8.53 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 8.76 (s, 1H)	28.59

【0153】

中間体 18：4-シクロペンチルアミノ-2-メチルスルファニル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。4-クロロ-2-メチルチオ-5-ピリミジンカルボン酸エチル（2.00 g、8.59 ミリモル）の塩化メチレン溶液を攪拌したものに、トリエチルアミン（3.60 mL、25.8 ミリモル）を加えた後、シクロペンチルアミン（1.0 mL、10.12 ミリモル）を加えた。反応溶液を 45 分間加熱還流した。一定分量を HPLC 分析にかけると、出発材料のピリミジンが完全に消費され、新しい生成物が生成していることが示された。反応液を 1 M HCl 中に注ぎ、塩化メチレンで希釈した。有機層を水、ブラインで洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過し、濃縮してベージュ色の固体（2.3614 g、97%）を得た。

【0154】

中間体 19 : 4-シクロペンチルアミノ-2-メタンスルフィニル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体 19 は、中間体 18 (2.36 g、8.39 ミリモル) および mCPBA (2.14 g、1.14 ミリモル) を使用しながら、中間体 8 と同様にして調製し、淡黄色の油 (2.456 g、98%) を得た。

【0155】

中間体 20 : 4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体 20 は、中間体 19 (2.45 g、8.24 ミリモル) および モルホリン (20 mL、229.3 ミリモル) を使用しながら、中間体 9 と同様に調製し、オフホワイトの粗製固体を得た。これをシリカゲルのクロマトグラフィー (25% のエーテル/ヘキサン) によって精製して、綿毛状の白色固体 (2.52 g、95%) を得た。

10

【0156】

中間体 21 : 4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸。中間体 21 は、中間体 20 (0.971 g、3.03 ミリモル) および 6.2 mL の 1 M LiOH を使用しながら、中間体 10 と同様にして調製し、白色の固体 (0.700 g、79%) を得た。

【0157】

(実施例 19)

4-シクロペンチルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (1H-テトラゾール-5-イル)-アミド。実施例 19 は、中間体 21 (0.129 g、0.441 ミリモル) を使用しながら実施例 15 と同様にして調製し、表題生成物を白色の固体 (0.125 g、79%) として得た。MS : $M+1=360.3$ (APCI)。¹H-NMR (400 MHz, d6-DMSO) δ 1.37~1.45 (m, 2H)、1.53~1.70 (m, 4H)、1.96~2.04 (m, 2H)、3.61~3.63 (m, 4H)、3.75~3.78 (m, 4H)、7.28~4.34 (m, 1H)、8.55 (d, $J=6.83$ Hz)、8.76 (s, 1H)。

20

【0158】

実施例 20 および 21 の表題化合物は、シクロペンチルアミンの代わりにそれぞれベンジルアミンまたはシクロヘキシルアミンを用いて、実施例 19 と同様にして合成した。

【0159】

30

(実施例 20)

4-ベンジルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (1H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

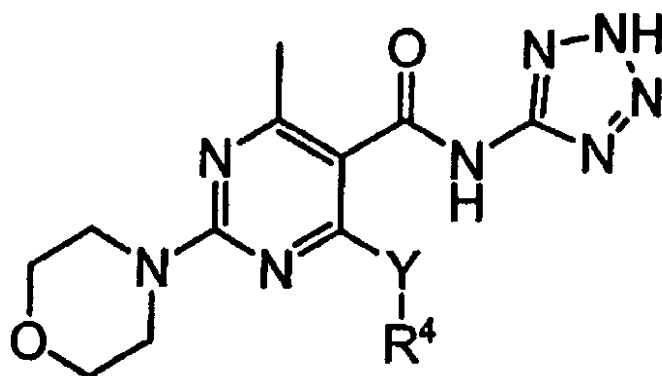
【0160】

(実施例 21)

4-シクロヘキシルアミノ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (1H-テトラゾール-5-イル)-アミド。

【0161】

【化 1 5】



10

【0 1 6 2】

【表 5】

実施例	-Y-R ⁴	MS ^a	NMR ^b および / または燃焼分析	IC ₅₀ (μM)
22		403.2	1.48 (m, 8H), 1.71 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 3.63 (m, 4H), 3.71 (m, 4H), 5.20 (m, 1H), 11.86 (s, 1H).	8.435

20

^a MS: 別段の指摘がない限り M+1 APCI. ^b DMSO、400MHz、 δ 値を報告。

【0 1 6 3】

中間体 22. 1- [1- (ジメチルアミノ) エチリデン] -2-メチルイソチオ尿素
ヨウ化水素酸塩。オーバーヘッドスターラー、還流冷却器、窒素取入口、および加熱マン
トルを据え付けた 5 L 容三つ口丸底フラスコに、チオ尿素 (162.8 g、2.14 モル) および無水ジクロロメタン (2.4 L) を装入した。N, N-ジメチルアセトアミドジ
メチルアセタール (399.9 g、3 モル、1.4 当量) をフラスコに加えた。反応混合
物を窒素中で 2 時間加熱還流し、次いで熱から離し、濃縮乾燥して、橙色の固体を得た。
この橙色の固体を無水 THF (1.5 L) に懸濁させ、オーバーヘッドスターラー、温度
プローブ、および N₂ 取入口付き滴下漏斗を据え付けた 5 L 容三つ口丸底フラスコに移し
た。この懸濁液を攪拌したものに、MeI (1668 mL) を少量ずつゆっくりと加えた。
最初に分 (80 mL) によって発熱が生じ、溶液の温度が 23℃ から 26℃ に上昇した。
反応混合物を外から氷水で冷却し、次の分 MeI (20 mL) を加えた。MeI を加え
続けるにつれて温度が下降し、発熱が認められない状態で次の分の MeI (780 mL)
を加えた。氷浴を取り外し、発熱が認められない状態で最後の分の MeI (788 mL)
を加えた。加え終えた後、反応混合物を N₂ 中で終夜攪拌し、次いで冷凍庫 (-20℃)
に 72 時間移しておいた。反応混合物を室温に温め、濾過し、固体を Et₂O (2×500 mL)
で洗浄すると、生成物が黄褐色の固体として得られた。この固体を室温の真空中
で終夜乾燥させて、所望の生成物 (556.6 g、91.0%) を黄褐色の固体として得
た。

30

40

【0 1 6 4】

中間体 23. エチル-4-ヒドロキシ-6-メチル-2-(メチルチオ)-5-ピリミ
ジンカルボキシレート。オーバーヘッドスターラー、N₂ 取入口付き滴下漏斗、および温
度計を据え付けた 12 L 容三つ口丸底フラスコに、中間体 22 (556.6 g、1.94
ミリモル) および無水ジクロロメタン (5 L) を装入した。反応混合物を、N₂ 中で攪拌

50

しながら -2°C （氷浴）に冷却し、塩化エチルマロニル（ethyl malonyl chloride）（350 g、2.33モル）を加えた。加えた後、反応液を -2°C でさらに1.5時間攪拌した。加える間（2.5時間）は反応液を 5°C 未満に保ちながら、この懸濁液にトリエチルアミン（648 mL、4.66モル）を滴下した。加え終えたら、反応液を N_2 中で終夜攪拌しながら室温に温めた。525 mLの10% HCl 水溶液を加えて反応混合物をpH約4に酸性化した。有機層を分離し、ブライン（ $1 \times 1050 \text{ mL}$ ）で洗浄した。有機層に別の750 mLのブラインを加え、 NaHCO_3 飽和水溶液（約225 mL）を少量ずつ加えて、ブライン層のpHを約5から約7に調整した。有機層を分離し、 MgSO_4 で1.5時間かけて乾燥させ、濾過し、ロータリーエバポレーターで濃縮して、橙色のゴム性固体を得、これを室温の高真空中で終夜乾燥させた。湿ったゴム性残渣（約579.5 g）を1.2 Lのヘキサン： EtOAc （1：1）で3時間かけて摩砕した。混合物を濾過してゴム性の黄色固体を得、これを高真空中で終夜乾燥させた。黄色の固体（約400 g）を2.8 Lのジクロロメタンに溶かし、得られる不均質な懸濁液を濾過した。透明なジクロロメタン溶液を、0～10%の EtOAc —ジクロロメタンを用いる SiO_2 のクロマトグラフィーにかけた。生成物を豊富に含む画分を収集し、濃縮し、0～10%の EtOAc —ジクロロメタンを用いるクロマトグラフィーにかけ直した。生成物を豊富に含む画分を濃縮し、800 mLのヘキサン： EtOAc （1：1）で一晩かけて摩砕し、濾過した。黄色の固体を高真空中で終夜乾燥させて、所望の生成物（113.6 g、26%）を淡黄色の固体として得た。

10

【0165】

20

中間体24. 4-シクロヘプチルオキシ-6-メチル-2-メチルスルファニル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体23（3.00 g、13.2ミリモル）を、 THF （60 mL）中でシクロヘプタノール（1.75 mL、14.5ミリモル）、 DEAD （3.12 mL、19.8ミリモル）、およびトリフェニルホスフィン（5.19 g、19.8ミリモル）と合わせた。反応液を室温で18時間攪拌した。 HPLC 分析にかけると、過剰のトリフェニルホスフィンおよびトリフェニルホスフィンオキシドと一緒に新しい生成物が示された。反応混合物を真空中で濃縮した。濃縮物をシリカゲルのクロマトグラフィー（0～17%の EtOAc —ヘキサンによる勾配溶離、10%の EtOAc —ヘキサンの TL C ）によって精製して、所望の表題生成物（3.64 g、収率85%）を淡桃色の油として得た。 $\text{MS} : \text{M} + 1 = 325.1$ （ APCI ）。

30

【0166】

中間体25. 4-シクロヘプチルオキシ-2-メタンスルフィニル-6-メチル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体24（3.252 g、10.04ミリモル）をクロロホルム（50 mL）に溶かした攪拌溶液に、 mCPBA （2.71 g、12.1ミリモル）を少量ずつ加えた。次いで、反応液を室温で40分間攪拌した。別の分の mCPBA （350 mg）を加え、反応液を室温で15分間攪拌した。混合物を NaHCO_3 飽和水溶液で失活させ、水で希釈した。希釈物をジクロロメタンでの抽出に数回かけた。有機抽出物をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮して、所望の表題生成物（3.57 g）を無色の油として得た。この生成物をさらに精製せずそのまま使用した。 $\text{MS} : \text{M} + 1 = 341.1$ （ APCI ）。

40

【0167】

中間体26. 4-シクロヘプチルオキシ-6-メチル-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル。中間体25（0.298 g、0.876ミリモル）を 100°C のモルホリン（0.381 mL）中で1時間攪拌した。反応液を室温に冷ました。反応混合物をシリカゲルのクロマトグラフィー（0～50%の EtOAc —ヘキサンによる勾配溶離、20%の EtOAc —ヘキサンの TL C ）によって精製して、所望の表題生成物（0.274 g、収率86.2%）を無色の油として得た。 $\text{MS} : \text{M} + 1 = 364.1$ （ APCI ）。微量分析：計算値 $\text{C}-62.79\%$ 、 $\text{H}-8.04\%$ 、 $\text{N}-11.56\%$ 、実測値 $\text{C}-62.42\%$ 、 $\text{H}-8.13\%$ 、 $\text{N}-11.59\%$ 。

【0168】

50

中間体 27. 4-シクロヘプチルオキシ-6-メチル-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸。丸底フラスコ中で、中間体 6 (0.237 g、0.653 ミリモル) をジオキサン (3 mL) および 1 N LiOH (2 mL) と共に 80℃ で 6 時間攪拌した。混合物を室温に冷まし、次いで 1 N HCl でゆっくりかつ慎重に pH 約 1 に酸性化した。酸性混合物を EtOAc での抽出に数回かけた。有機抽出物を合わせ、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮して、所望の表題生成物 (0.218 g、収率 100%) を油として得、これは放置すると凝固した。MS: M + 1 = 336.1 (APCI)。

【0169】

(実施例 22)

4-シクロヘプチルオキシ-6-メチル-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド。中間体 27 (0.131 g、0.391 ミリモル) を無水ジクロロメタン (2.5 mL) と溶解はさせないが混合した。1 滴の DMF を加えた。塩化オキサリル (0.0406 mL、0.469 ミリモル) をシリンジで加えた。混合物が泡立ち、ゆっくりと均質になった。反応液を室温で 10 分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃ 中に入れて失活させた一定分量を HPLC 分析にかけると、出発材料の酸が完全に消費され、新しい極性のより弱い生成物が生成していることが示された。5-アミノテトラゾール (0.0565 g、0.665 ミリモル)、トリエチルアミン (0.114 mL、0.821 ミリモル)、そして最後にアセトニトリル (2.5 mL) を加えた。反応液を 80℃ で 30 分間攪拌した。MeOH/K₂CO₃ 中に入れて失活させた一定分量を HPLC 分析にかけると、新しい生成物が示された。油浴を取り外し、混合物を室温に冷ました。混合物を 1 N HCl で酸性化し、H₂O で希釈し、EtOAc での抽出に数回かけた。有機抽出物を合わせ、ブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、セライトで濾過し、濃縮した。粗生成物を分取逆相 HPLC によって精製して、所望の表題生成物 (0.040 g、24.4%) を白色の固体として得た。

【0170】

中間体 4 はまた、以下の手順に従って調製した。臭化水素酸モルホリノホルムアミジン (10.00 g、77.42 ミリモル) を、110℃ の DMF (240 mL) 中でエトキシメチレンマロン酸ジエチル (23.5 mL、116 ミリモル) および酢酸ナトリウム (14.0 g、2.20 ミリモル) と共に 18 時間攪拌した。反応液が最初の数時間にかけて淡黄色から赤色に変わった。HPLC 分析にかけると、所望の生成物が生成していることが示された。反応混合物を真空中で濃縮した。残った残渣を室温の H₂O (約 150 mL) で 1 時間かけてスラリーにして、ベージュ色の固体沈殿を得た。固体を濾過し、H₂O ですすぎ、真空オーブンで乾燥させた。次いで乾燥したケーキを室温の Et₂O (約 70 mL) で 20 分間かけてスラリーにした。混合物を濾過し、ケーキを最少量の Et₂O ですすいだ。固体を収集し、真空中で終夜乾燥させて、所望の生成物、すなわち、ヒドロキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸エチルエステル (中間体 4、7.251 g、収率 59.9%) をベージュ色の綿毛状固体として得た。

【0171】

生物学実施例 1

PI3Kγ タンパク質の発現および精製プロトコル

ESF921 培地で増殖させた Spodtera frugiperda 細胞を、glutaグ付き p101 を発現させるバキュロウイルスと HA タグ付き p110γ を発現させるバキュロウイルスで、p101 バキュロウイルス対 p110γ バキュロウイルス比で 3:1 として同時感染させた。Sf9 細胞を、10 L 容バイオリアクター中で合計細胞 1 × 10⁷ 個/mL に増殖させ、感染させてから 48~72 時間後に収集した。次いで、感染させた細胞のサンプルを、p101/p110γ PI3 キナーゼの発現があるかどうか免疫沈降法およびウェスタンブロット分析法によって試験した (以下参照のこと)。

【0172】

PI3Kγ を精製するために、細胞ペースト 1 g あたり 4 体積の室温の低浸透圧性溶解

10

20

30

40

50

緩衝液（1 mMのMgCl₂、1 mMのDTT、5 mMのEGTA、1 mMのPefabloc、0.5 μMのアプロチニン、5 μMのロイペプチン、2 μMのペプスタチン、5 μMのE64、pH8）を、攪拌しながら凍結細胞ペレット上に注ぎ、次いで400 psiの窒素「ボンベ」（599HC T316、Parr Instrument Co.、イリノイ州モリーン）中で溶解させた。NaClを150 mMまで加え、コール酸ナトリウムを1%まで加え、さらに45分間混合した。可溶化液を14,000 rpmで25分間の遠心分離にかけて清澄化した。次いで、20 mLの樹脂／50 gの細胞ペーストを使用して、この可溶化液を、抗glu結合型Gタンパク質セファロースビーズ（Covance Research Products、米国カリフォルニア州リッチモンド）上に載せた。カラムを15体積の洗浄緩衝液（1 mMのDTT、0.2 mMのEGTA、1 mMのPefabloc、0.5 μMのアプロチニン、5 μMのロイペプチン、2 μMのペプスタチン、5 μMのE64、150 mMのNaCl、1%のコール酸ナトリウム、pH8）で洗浄した。PI3Kγを、gluタグを結合しようと競合する100 μg/mLのペプチドを含有する6カラム体積の洗浄緩衝液で溶出した。溶出されたタンパク質を含むカラム画分（OD₂₈₀の読みを計って画定した）を収集し、0.2 mMのEGTA、1 mMのDTT、1 mMのPefabloc、5 μMのロイペプチン、0.5%のコール酸ナトリウム、150 mMのNaCl、および50%のグリセロール、pH8中で透析した。この画分を、次に使用するまで-80℃で貯蔵した。

【0173】

生物学実施例 2

Gタンパク質サブユニットの発現

Spodoptera frugiperda細胞を、gluタグ付きGタンパク質β₁を発現させるバキュロウイルスおよびGタンパク質β₂を発現させるバキュロウイルスで、gluタグ付きGタンパク質β₁バキュロウイルス対Gタンパク質β₂バキュロウイルス比を1:1として同時感染させた。Sf9細胞を10 L容バイオリアクター中で増殖させ、感染させてから48～72時間後に収集した。感染させた細胞のサンプルを、Gタンパク質β₁/β₂の発現があるかどうかウェスタンブロット分析によって以下で述べるとおりに試験した。細胞可溶化液をホモジナイズし、生物学実施例1のようにgluタグ付きビーズカラムに載せ、gluペプチドによってカラムから追い出し、生物学実施例1に記載したように処理した。

【0174】

生物学実施例 3

ウェスタンブロット分析

タンパク質サンプルを8%のトリス-グリシンゲル上に流し、45 μMニトロセルロース膜に移した。次いで、5%のウシ血清アルブミン（BSA）および5%のオボアルブミンの入ったTBST（50 mMのトリス、200 mMのNaCl、0.1%のTween 20、pH7.4）によって、室温で1時間かけてブロットをブロックし、0.5%のBSAを加えたTBSTで1000倍に希釈した一次抗体と共に4℃で終夜インキュベートした。p110γ、p110α、p110β、p85α、Gタンパク質β1、およびGタンパク質γ2の各サブユニットに対する一次抗体は、Santa Cruz Biotechnology, Inc.、米国カリフォルニア州サンタクルーズから購入した。p101サブユニット抗体は、p101ペプチド抗原をもとにして、Research Genetics, Inc.、米国アラバマ州ハンツヴィルに開発してもらった。

【0175】

一次抗体と共にインキュベートした後、ブロットをTBSTで洗浄し、ヤギ抗ウサギHRPコンジュゲート（Bio-Rad Laboratories, Inc.、米国カリフォルニア州Hercules、製品番号170-6515）と共に室温で2時間インキュベートし、0.5%のBSAを加えたTBSTで10,000倍に希釈した。抗体をECL（商標）検出試薬（Amersham Biosciences Corp.、米国ニュージャージー州Piscataway）で検出し、Kodak ISO400F走査

装置で定量化した。

【0176】

生物学実施例 4

免疫沈降

生物学実施例 1 または 2 の細胞ペースト 100 μ L を解凍し、氷上で 400 μ L の低浸透圧性溶解緩衝液 (25 mM のトリス、1 mM の DTT、1 mM の EDTA、1 mM の Pe fab loc、5 μ M のロイペプチン、5 μ M の E-64 (Roche)、1 % の Nonidet P40、pH 7.5~8) に溶解させた。可溶化液を、glu タグ付きビーズ (Covance Research Products、英国ケンブリッジ、製品番号 AFC-115P) と共に室温で 2 時間インキュベートした。ビーズを洗浄緩衝液 (20 mM のトリス、pH 7.8~8、150 mM の NaCl₂、0.5 % の NP40) で 3 回洗浄し、2 倍に希釈したサンプル緩衝液 (Invitrogen Corporation、米国カリフォルニア州カールズバッド、製品番号 LC1676) 中で加熱して、ビーズからタンパク質を溶離した。

10

【0177】

生物学実施例 5

PI3K γ の in vitro キナーゼアッセイ

表 1 の化合物の阻害特性を in vitro PI3K アッセイで検定した。96 ウェルポリプロピレンプレートにおいて、各ウェルに、所望される最終濃度の 50 倍の DMSO 中化合物 2 μ L をスポットした。各反应用の精製組換え p101/p110 γ タンパク質 (0.03 μ g、約 2.7 nM) と G タンパク質 β 1/ γ 2 サブユニット (0.09 μ g、約 57.7 nM) とをアッセイ緩衝液 (30 mM の HEPES、100 mM の NaCl、1 mM の EGTA、および 1 mM の DTT) 中で合わせた。反応液中の最終 ATP 濃度が 20 μ M になるよう、この混合物に ATP および [γ -³²P-ATP] (0.09 μ Ci) を加えた。ホスファチジルイノシトール-4, 5-ニリン酸 (PIP₂)、ホスファチジルエタノールアミン (PE)、およびコール酸 Na をアッセイ緩衝液中で 10 分間超音波処理し、MgCl₂ を加え、20 分間氷上でインキュベートし、反応液中の最終濃度を 25 μ M の PIP₂、300 μ M の PE、0.02 % のコール酸 Na、および 10 mM の MgCl₂ にすることによって、脂質ミセルを形成した。合計体積 50 μ L の等体積の脂質と酵素の混合物を加えて反応を開始し、室温で 20 分間進行させ、75 mM の H₃PO₄ 100 μ L によって停止した。脂質生成物をガラスファイバー製フィルタープレートに移し、75 mM の H₃PO₄ で数回洗浄した。各ウェルに Wallac Optiphase ミックスを加え、Wallac 1450 Trilux プレートリーダー (PerkinElmer Life Sciences Inc.、米国マサチューセッツ州ボストン 02118) で計数することで、放射性脂質生成物 (PIP₃) の存在を測定した。試験した各化合物の IC₅₀ は、上記の表において μ M で報告している。

20

30

【0178】

生物学実施例 6

ネズミのコラーゲン関節炎

ウシ II 型コラーゲン (ユタ大学) を 0.01 N の酢酸で 2 mg/mL の濃度に希釈し、1 mg/mL の結核菌 Hra37 を補充した等体積のフロイント完全アジュバント (Difco、ミシガン州デトロイト) によって乳化した。齢の一致する (8~12 週齢) 雌性 DBA/J¹ LacJ マウス (Jackson Laboratories、米国メイン州バーハーバー) を、100 μ L の乳濁液 (コラーゲン 100 μ g) によって、尾の付け根の皮内から免疫感作した。免疫感作後 28 日目に、マウスに、50 μ g の Lipopolysaccharide (Sigma Aldrich、ミズーリ州セントルイス) の入った 100 μ L の生理食塩水を腹腔内 (IP) 投与した。実施例 1 の化合物 (4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸 (2H-テトラゾール-5-イル)-アミド) は、27 日目から初めて 2 週間、経口強制栄養によって、30 mg/kg を 1 日 4 回投与した。27 日目、31 日目、34 日目、37 日目、

40

50

および41日目に関節炎の発症を評価した。次の尺度、すなわち(0)正常、(1)紅斑および浮腫、(2)関節のゆがみ、(3)関節強直を使用して、各肢に臨床スコアを付けた。前足、後足、および足首の浮腫の測定は、定張力カリパス(Dyer、米国ペンシルヴェニア州Lancaster)を使用して行った。実施例1の化合物は、30mg/kgを1日4回では、このモデルの足の浮腫を52%に抑制し、臨床スコアを35%に抑制した。

【0179】

生物学実施例7

SCW-連鎖球菌細胞壁-によって誘発される足の浮腫

0日目に右脛距関節への関節内注射を行って、雌性Lewisラット(約150g)に10、6μのSCWの入った10μlのダルベッコPBSを与えた。21日目に、100μgのSCW(250μl、静脈内)によって再発応答を起こした。賦形剤(0.5%のヒドロキシプロピルメチルセルロース/0.2%のTween80)または実施例1の化合物(4-シクロヘプチルオキシ-2-モルホリン-4-イル-ピリミジン-5-カルボン酸(2H-テトラゾール-5-イル)-アミド)は、SCW静脈内投与の1時間前、およびその後の日々に、1日4回(10ml/kgの体積)を経口的に与えた。21日目の疾患発症前に、感作された後足のベースライン体積を水銀式体積変動記録法によって測定し、(各投与から24時間後に行った)その後の評価から差し引いて、Δ値(21日目の疾患を起こす前と各投与から24時間後の足体積の差)を求めた。実施例1の化合物は、21日目から始めて4日間、経口強制栄養によって、10、30、および100mg/kgを1日4回投与した。実施例1の化合物は、このモデルの足の浮腫を抑制し、ID₅₀は16.3mg/kgであった。 10 20

【0180】

本明細書に記載の実施例および実施形態は、例示を目的としたものにすぎず、それを考えて、当業者には様々な修正および変更が発想され、それらを本出願の精神および視野の範囲、ならびに添付の特許請求の範囲に含めるものとすることを理解されたい。本明細書で引用したすべての刊行物、特許、および特許出願は、いかようにもその全体が参照とし本明細書に援用される。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/IB2004/003417

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D403/06 A61K31/506 A61P19/02

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D

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

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/53266 A (THROMBOGENIX PTY LTD; ROBERTSON, ALAN, D; JACKSON, SHAUN; KENCHE, VIJA) 26 July 2001 (2001-07-26) cited in the application the whole document	1-15
A	STEPHEN WARD ET AL: "Therapeutic Potential of Phosphoinositide 3-Kinase Inhibitors" CHEMISTRY AND BIOLOGY, CURRENT BIOLOGY, LONDON, GB, vol. 10, no. 3, March 2003 (2003-03), pages 207-213, XP002289830 ISSN: 1074-5521 the whole document	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 February 2005

Date of mailing of the international search report

15/02/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Grassi, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/JP2004/003417

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0153266 A	26-07-2001	AU 3042601 A	31-07-2001
		CA 2398163 A1	26-07-2001
		CN 1418195 T	14-05-2003
		EP 1257537 A1	20-11-2002
		WO 0153266 A1	26-07-2001
		JP 2003530318 T	14-10-2003
		NZ 520300 A	28-05-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 17/06 (2006.01)		A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)		A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P	37/06	
		A 6 1 P	43/00	1 1 1

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

(72)発明者 ロコ ディーン ゴグリオッティ
アメリカ合衆国 4 8 1 0 5 ミシガン州 アン・アーバー市 プリマス・ロード 2 8 0 0 フ
ァイザー・グローバル・リサーチ・アンド・デベロップメント内

(72)発明者 マーク ステファン プラマー
アメリカ合衆国 4 8 1 0 5 ミシガン州 アン・アーバー市 プリマス・ロード 2 8 0 0 フ
ァイザー・グローバル・リサーチ・アンド・デベロップメント内

(72)発明者 メリーン ヴィスニック
アメリカ合衆国 4 8 1 0 5 ミシガン州 アン・アーバー市 プリマス・ロード 2 8 0 0 フ
ァイザー・グローバル・リサーチ・アンド・デベロップメント内

F ターム(参考) 4C063 AA01 BB09 CC47 DD29 EE01
4C086 AA01 AA02 AA03 BC73 GA07 GA09 MA01 MA04 NA14 ZA89
ZA96 ZB08 ZB11 ZB15 ZC20