

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7508449号
(P7508449)

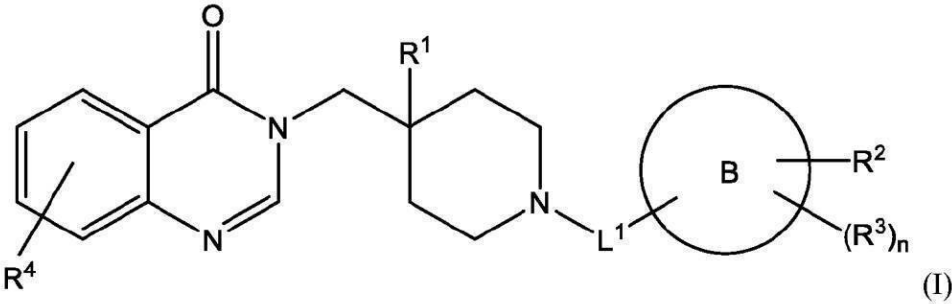
(45)発行日 令和6年7月1日(2024.7.1)

(24)登録日 令和6年6月21日(2024.6.21)

(51)国際特許分類		F I		
C 0 7 D	401/14 (2006.01)	C 0 7 D	401/14	C S P
A 6 1 K	31/517(2006.01)	A 6 1 K	31/517	
A 6 1 K	31/5355(2006.01)	A 6 1 K	31/5355	
A 6 1 K	38/05 (2006.01)	A 6 1 K	38/05	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
請求項の数 41 (全151頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2021-516943(P2021-516943)	(73)特許権者	399052796	
(86)(22)出願日	令和1年10月22日(2019.10.22)		デyna ファーバー キャンサー インス	
(65)公表番号	特表2022-503821(P2022-503821		ティチュート, インコーポレイテッド	
	A)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2	
(43)公表日	令和4年1月12日(2022.1.12)		2 1 5, ボストン, ブルックライン ア	
(86)国際出願番号	PCT/US2019/057456		ベニュー 4 5 0	
(87)国際公開番号	WO2020/086595	(74)代理人	100078282	
(87)国際公開日	令和2年4月30日(2020.4.30)		弁理士 山本 秀策	
審査請求日	令和4年10月20日(2022.10.20)	(74)代理人	100113413	
(31)優先権主張番号	62/748,910		弁理士 森下 夏樹	
(32)優先日	平成30年10月22日(2018.10.22)	(74)代理人	100181674	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 飯田 貴敏	
		(74)代理人	100181641	
			弁理士 石川 大輔	
		(74)代理人	230113332	
				最終頁に続く

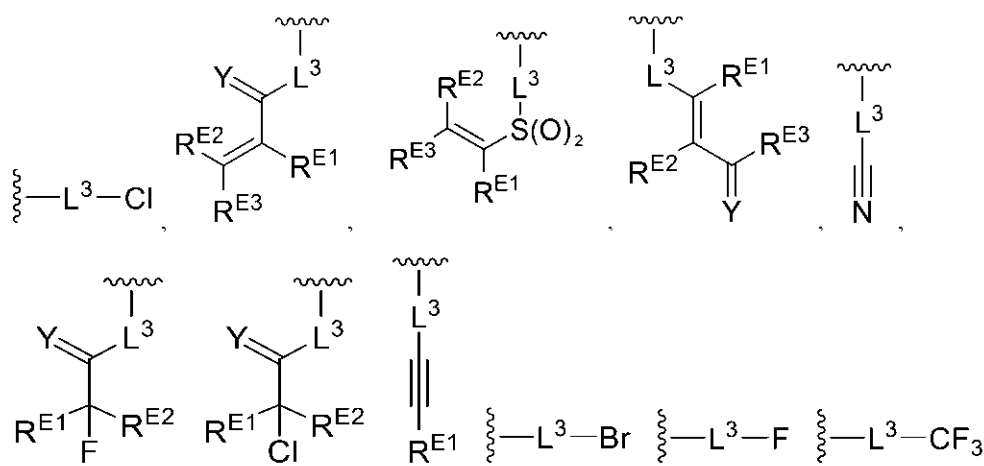
(54)【発明の名称】 U S P 7 の阻害

(57)【特許請求の範囲】
【請求項1】
式(I)の化合物
【化73】



またはその薬学的に許容される塩であって、式中、
環Bは、ヘテロアリール、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはアリールであり、
L¹は、-C(=O)アルキル-[NR⁵C(=O)-アルキル]_p-NR⁵C(=O)であり、各アルキルは、独立して、1つ以上のR⁷で任意選択的に置換され、
L³は、結合、-NR⁵R⁶、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、
各アルキルは、独立して、1つ以上のR⁸で任意選択的に置換され、

Y は、O であり、
 R^1 は、 $-OR^5$ 、H、または $-NR^5R^6$ であり、
 R^2 は、
 【化 101】



10

または不在であり、
 R^3 は、アルキル、ヒドロキシル、 CF_3 、ハロ- $NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり、

20

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

30

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

40

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、

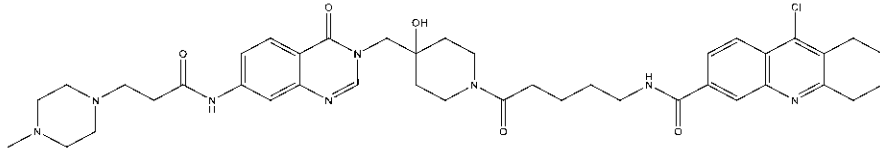
n は、0、1、2、3、または4であり、

p は、0、1、2、3、または4であり、

前記化合物が、

50

【化 1 0 2】



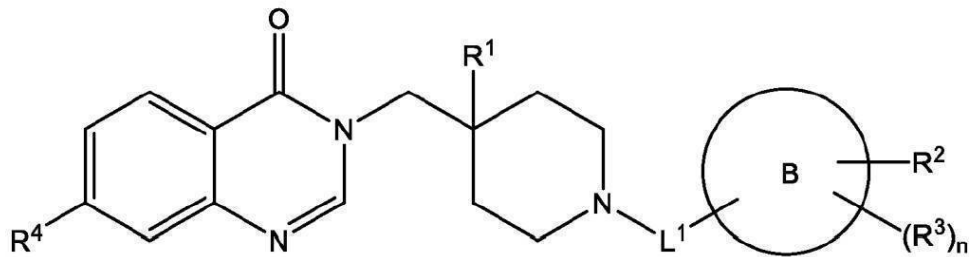
ではない、

化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 2】

以下の構造式

【化 7 5】



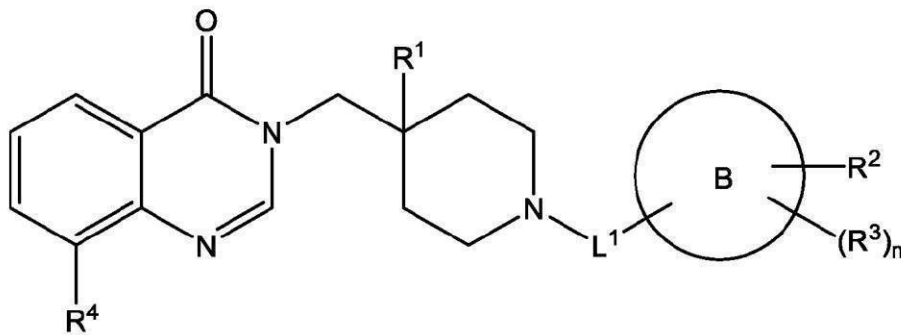
(1 a)

を有する請求項 1 に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 3】

以下の構造式

【化 7 6】



(1 b)

を有する請求項 1 に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 4】

以下の構造式

10

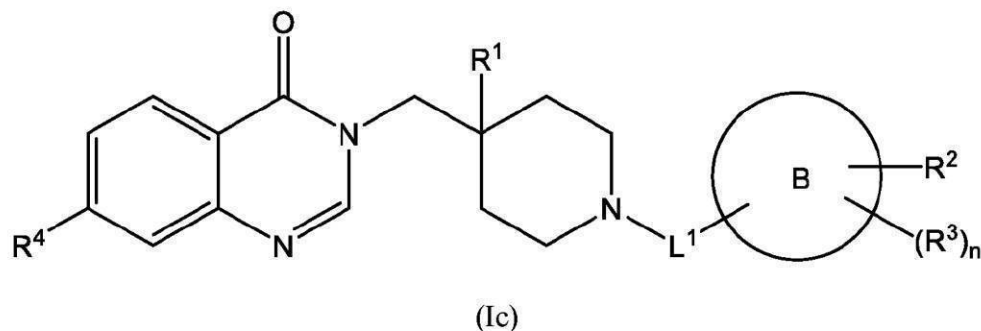
20

30

40

50

【化 7 7】

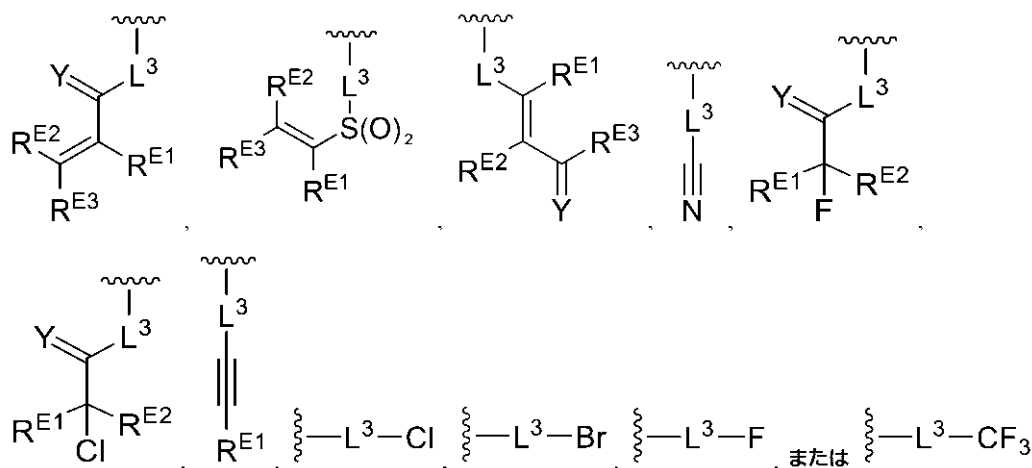


10

を有する請求項 1 に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、式中、
 環 B は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル、 $[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、
 各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、
 Y は、O であり、
 R^1 は、H、 $-OR^5$ 、または $-NR^5R^6$ であり、
 R^2 は、

20

【化 7 8】



30

R^3 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、
 R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは
 R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、
 各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、
 各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、
 各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

40

50

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、
 各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、
 各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、
 あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ 、
 シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、
 n は、0、1、2、3、または4であり、
 p は、0、1、2、3、または4である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

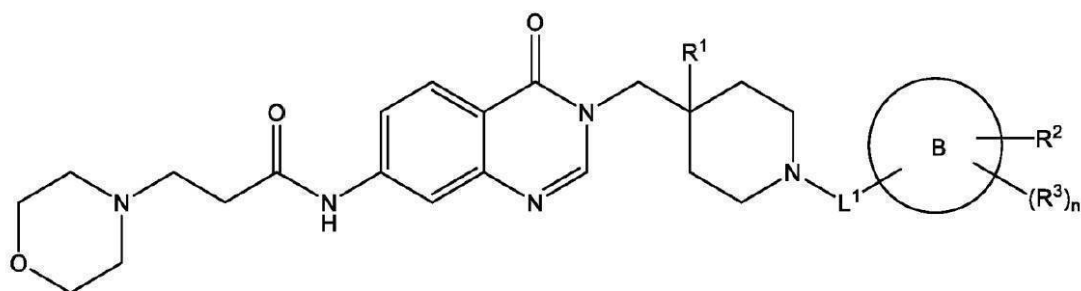
【請求項5】

前記ヘテロシクリルが、メチルピペリジニルまたはモルホリニルである、請求項1～4のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項6】

以下の構造式

【化81】



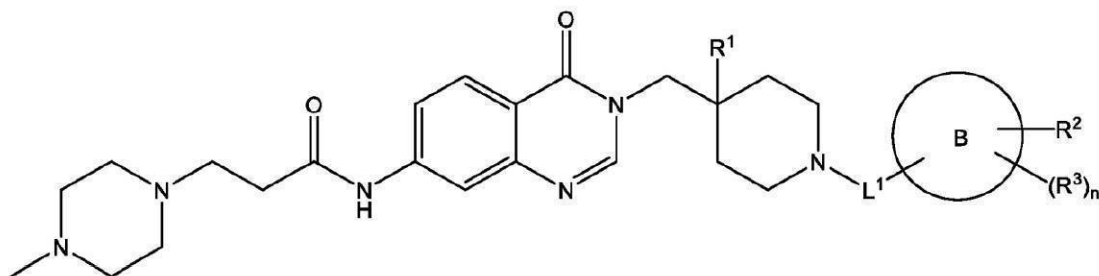
(IIIa)

を有する請求項1、2または4のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項7】

以下の構造式

【化82】



(IIIb)

を有する請求項1、2または4のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項8】

p が、0、1、または2である、請求項1～7のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項9】

以下の構造式

10

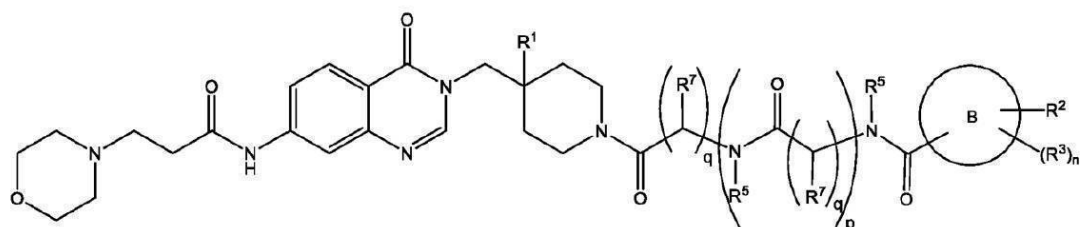
20

30

40

50

【化 8 3】



(IVa)

10

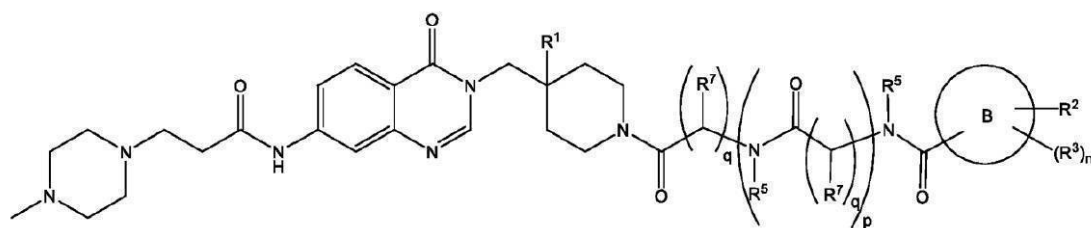
を有する請求項 1、2、もしくは 4 のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、

式中、q は、0、1、2、3、4、5、または 6 である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 10】

以下の構造式

【化 8 4】



(IVb)

20

を有する請求項 1、2、もしくは 4 のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、

式中、q は、0、1、2、3、4、5、または 6 である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

30

【請求項 11】

環 B が、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールである、請求項 1～10 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 12】

R⁷ の各アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールが、1 つ以上の R¹⁰ で置換される、請求項 1～11 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 13】

各 R¹⁰ が、各出現時に独立して、ハロゲン、-OR⁵、-NR⁵R⁶、またはアルキルである、請求項 12 に記載の化合物。

40

【請求項 14】

q が、1、2、3、または 4 である、請求項 9～13 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 15】

R² が、

50

$$\begin{array}{ccccccc} \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{C}=\text{C}(\text{R}^{\text{E}1}) \\ | \quad \diagup \\ \text{R}^{\text{E}2} \quad \text{C}=\text{Y}(\text{R}^{\text{E}3}) \end{array} & , & \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{N} \equiv \text{N} \end{array} & , & \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{Y}=\text{C} \\ | \\ \text{C}(\text{R}^{\text{E}1})(\text{R}^{\text{E}2})\text{F} \end{array} & , & \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{Y}=\text{C} \\ | \\ \text{C}(\text{R}^{\text{E}1})(\text{R}^{\text{E}2})\text{Cl} \end{array} & , & \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3\text{---Cl} \\ | \\ \text{---} \end{array} & , & \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3\text{---Br} \\ | \\ \text{---} \end{array} \\ & & & & & & & & & & \\ \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3\text{---F} \\ | \\ \text{---} \end{array} & , & \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3\text{---CF}_3 \\ | \\ \text{---} \end{array} & & & & & & & & \\ \text{, または} & & & & & & & & & & \end{array}$$

$$\begin{array}{c}
 \text{---} \text{L}^3 \\
 | \\
 \text{R}^{\text{E}1} \\
 \text{C} = \text{C} \\
 | \quad \quad | \\
 \text{R}^{\text{E}2} \quad \quad \text{R}^{\text{E}3} \\
 \quad \quad \quad \text{Y}
 \end{array}
 \quad , \quad
 \begin{array}{c}
 \text{---} \text{L}^3 \\
 | \\
 \text{Y} = \text{C} \\
 | \\
 \text{C} \\
 | \quad \quad | \\
 \text{R}^{\text{E}1} \quad \quad \text{R}^{\text{E}2} \\
 \quad \quad \quad \text{F}
 \end{array}
 \quad , \quad
 \begin{array}{c}
 \text{---} \text{L}^3 \\
 | \\
 \text{Y} = \text{C} \\
 | \\
 \text{C} \\
 | \quad \quad | \\
 \text{R}^{\text{E}1} \quad \quad \text{R}^{\text{E}2} \\
 \quad \quad \quad \text{Cl}
 \end{array}
 \quad , \quad
 \begin{array}{c}
 \text{---} \text{L}^3 - \text{Cl} \\
 \text{---} \text{L}^3 - \text{Br} \\
 \text{---} \text{L}^3 - \text{F}
 \end{array}
 \quad , \quad
 \begin{array}{c}
 \text{---} \text{L}^3 - \text{CF}_3
 \end{array}$$

または

$$\begin{array}{c}
 \text{---} \\
 | \\
 \text{L}^3 \\
 | \\
 \text{C}=\text{C} \\
 / \quad \backslash \\
 \text{R}^{\text{E}2} \quad \text{R}^{\text{E}3} \\
 \quad \quad \quad \backslash \\
 \quad \quad \quad \text{Y}
 \end{array}$$
,
$$\begin{array}{c}
 \text{---} \\
 | \\
 \text{L}^3 \\
 | \\
 \text{C}=\text{Y} \\
 | \\
 \text{C} \\
 / \quad \backslash \\
 \text{R}^{\text{E}1} \quad \text{R}^{\text{E}2} \\
 \quad \quad \quad \text{F}
 \end{array}$$
, または
$$\begin{array}{c}
 \text{---} \\
 | \\
 \text{L}^3 \\
 | \\
 \text{C}=\text{Y} \\
 | \\
 \text{C} \\
 / \quad \backslash \\
 \text{R}^{\text{E}1} \quad \text{R}^{\text{E}2} \\
 \quad \quad \quad \text{Cl}
 \end{array}$$

L³が、結合、 $-NR^5R^6$ 、またはヘテロシクリルである、請求項1～19のいずれか

一項に記載の化合物。

【請求項 2 1】

R^1 が、H または $-OR^5$ である、請求項 1 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 2】

R^3 が、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）である、請求項 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 3】

n が、1 である、請求項 1 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 4】

n が、0 である、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか一項に記載の化合物。

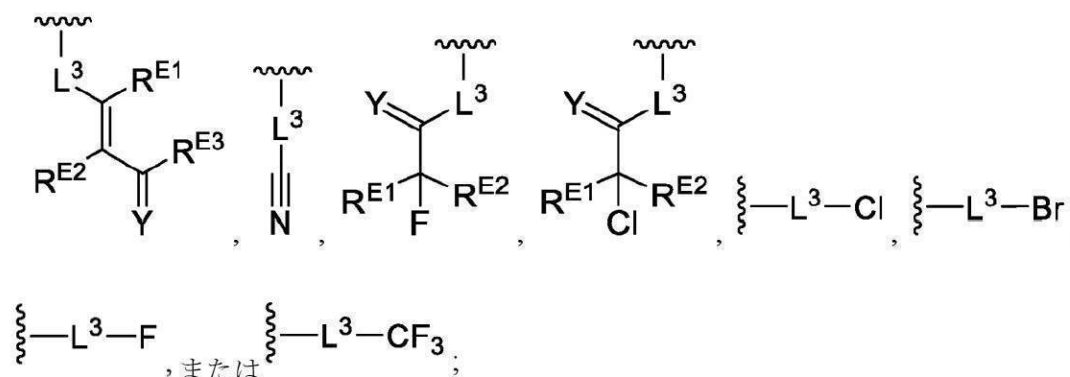
【請求項 2 5】

環 B は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル、 $[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1 つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は結合、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、
 Y は、O であり、

R^1 は、H または $-OR^5$ であり、

R^2 は、

【化 8 8】



であり、

R^3 は、アルキルまたは $-NR^5R^6$ であり、

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1 つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2 つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1 つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラキリルであり、各シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1 つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各

R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0、1、または 2 であり、

p は、0、1、または 2 である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 26】

環 B は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、

L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)-$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

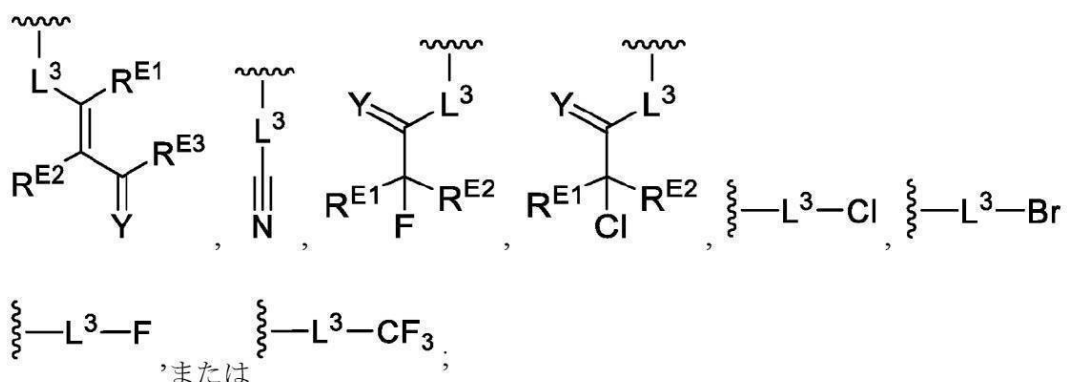
L^3 は結合、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、

Y は、O であり、

R^1 は、H または $-OR^5$ であり、

R^2 は、

【化 89】



であり、

R^3 は、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）であり、

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリル（例えば、メチルピペラジニルまたはモルホリニル）を共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、各シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0、1、または 2 であり、

p は、0、1、または 2 である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 27】

環 B は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールであり、

L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)-$ であり、

10

20

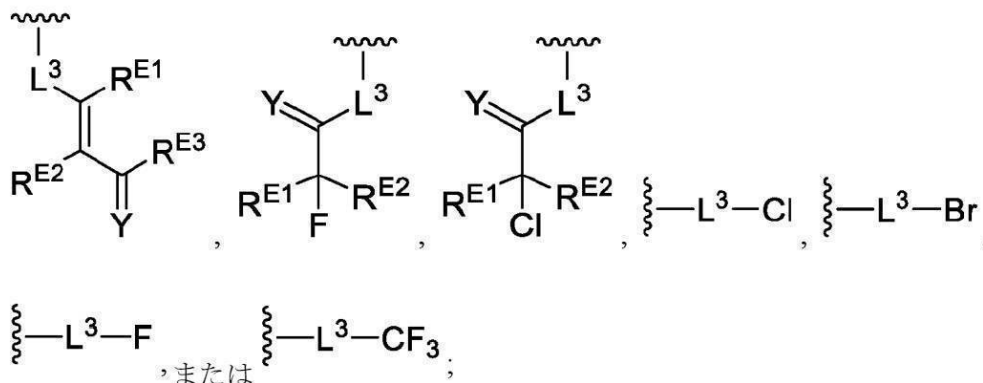
30

40

50

あり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は、結合であり、
 Y は、Oであり、
 R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、
 R^2 は、

【化90】



10

であり、

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

20

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、Hであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

30

あるいは R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルを共に形成し、

各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0であり、

p は、0、1、または2である、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項28】

環Bは、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールであり、

L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)-$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

L^3 は、結合であり、

40

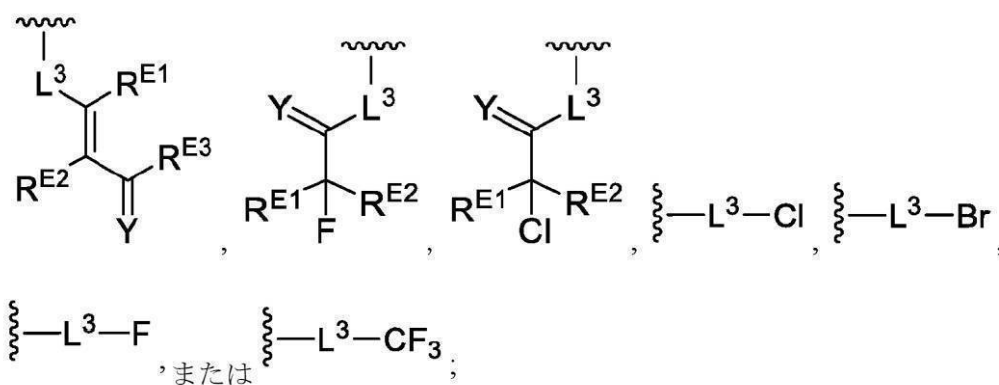
Y は、Oであり、

R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、

R^2 は、

50

【化 9 1】



10

であり、

R^3 は、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）であり、

R^4 は、アルキル、 $-\text{NR}^5\text{C}(=\text{O})$ アルキル、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^5$ アルキル、ヘテロシクリル、または $-\text{NR}^5\text{R}^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

20

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリル（例えば、メチルピペラジニルまたはモルホリニル）を共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、Hであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

あるいは R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルを共に形成し、

各 $\text{R}^{\text{E}1}$ 、 $\text{R}^{\text{E}2}$ 、および $\text{R}^{\text{E}3}$ は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-\text{OR}^{11}$ 、または $-\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$ であり、 n は、0であり、

30

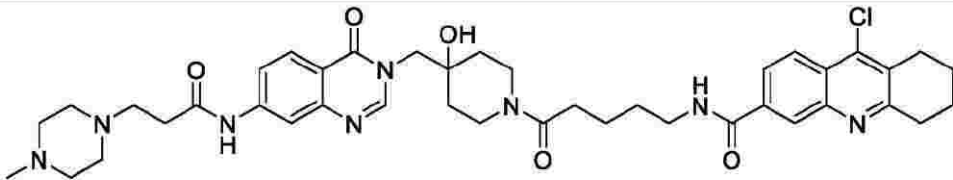
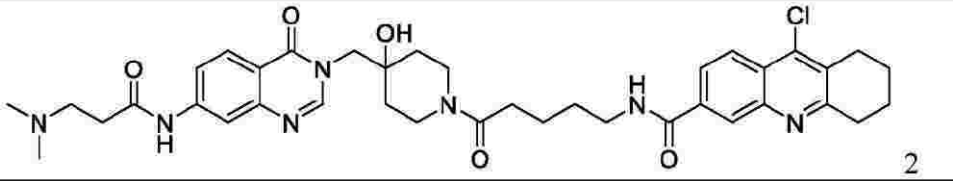
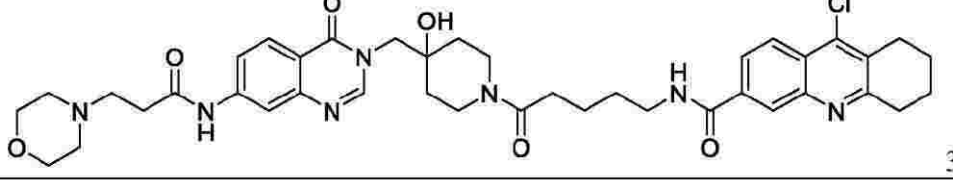
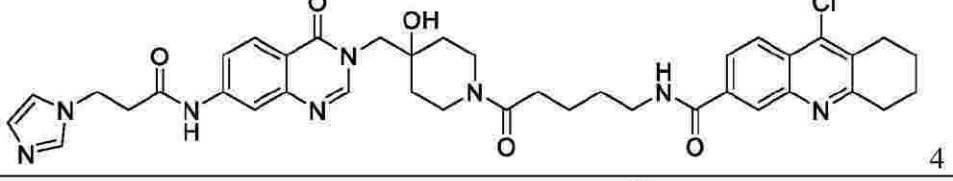
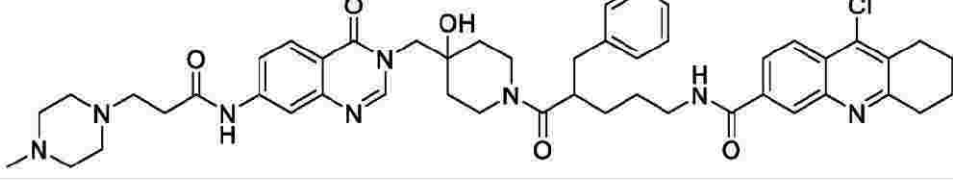
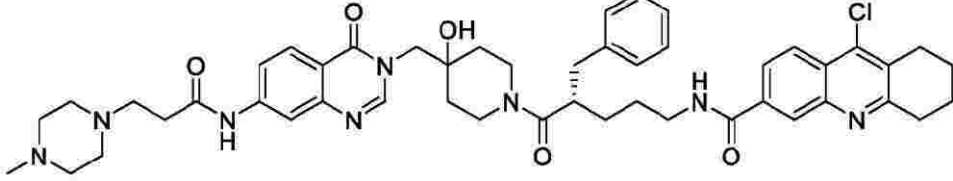
p は、0、1、または2である、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 9】

40

50

【表 4 - 1】

化合物	
	1
	2
	3
	4
	5
	6

10

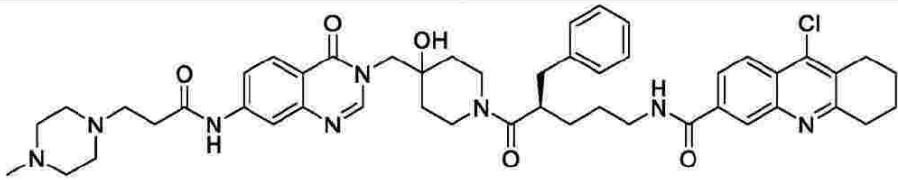
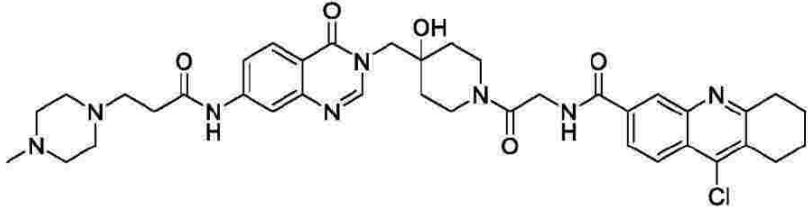
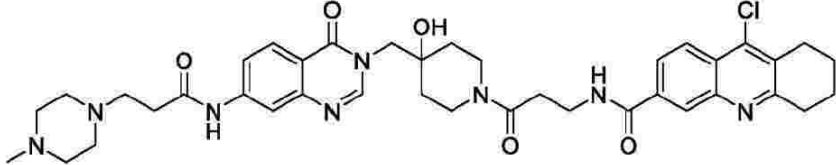
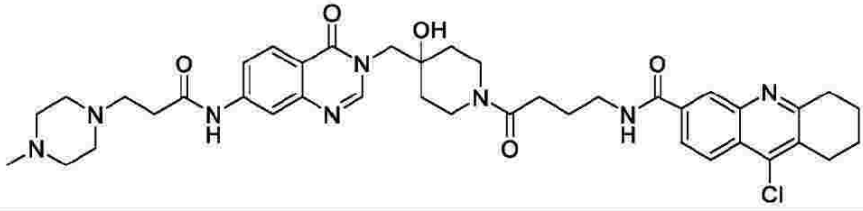
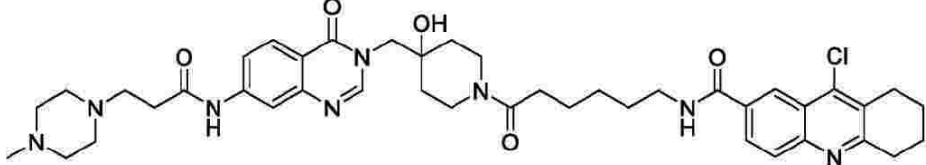
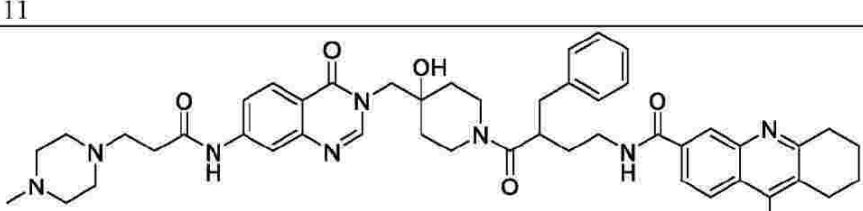
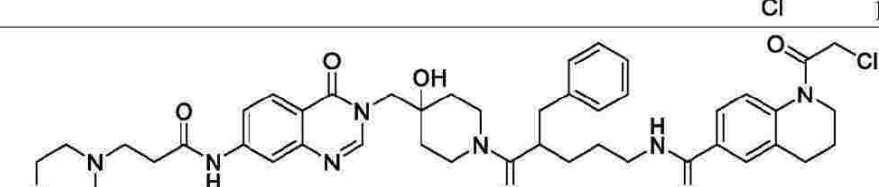
20

30

40

50

【表 4 - 2】

化合物	
	7
	8
	9
	10
	11
	12
	13

10

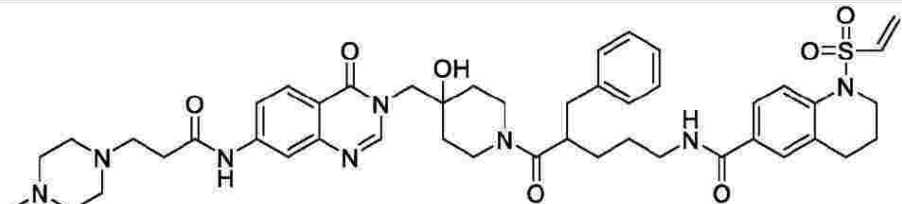
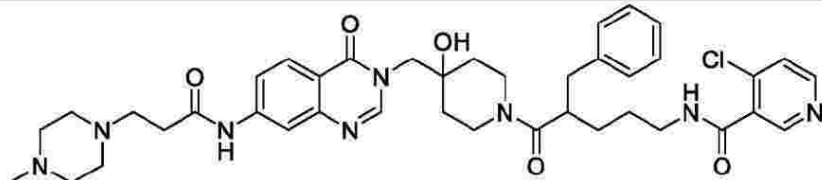
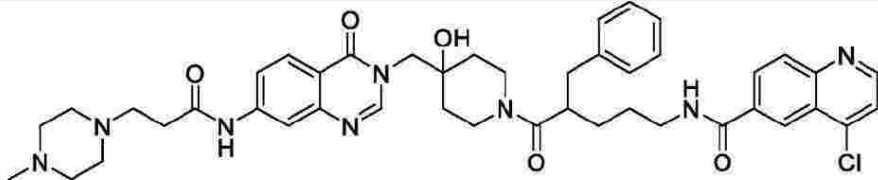
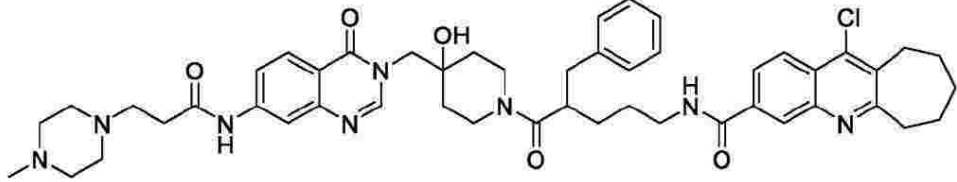
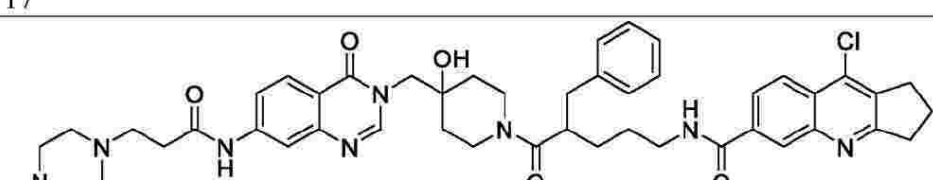
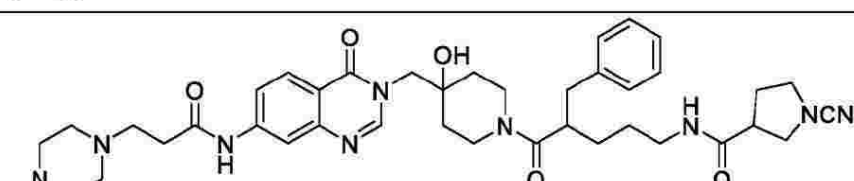
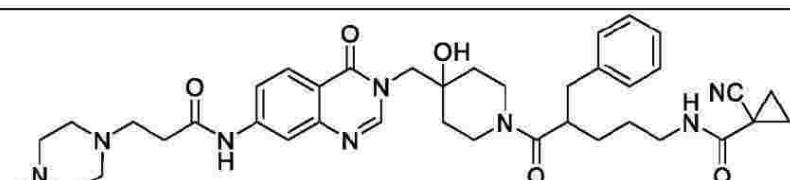
20

30

40

50

【表 4 - 3】

化合物	
	14
	15
	16
	17
	18
	19
	20

10

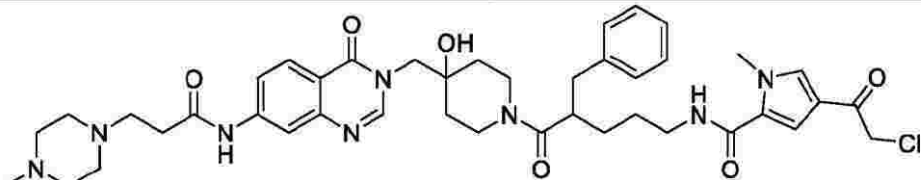
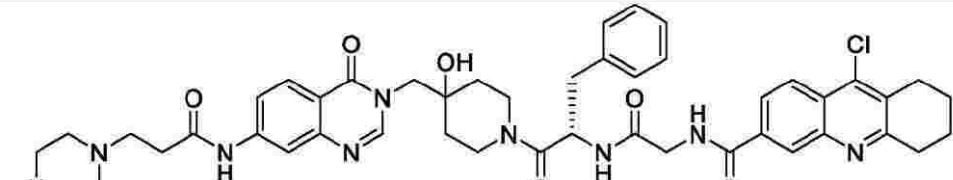
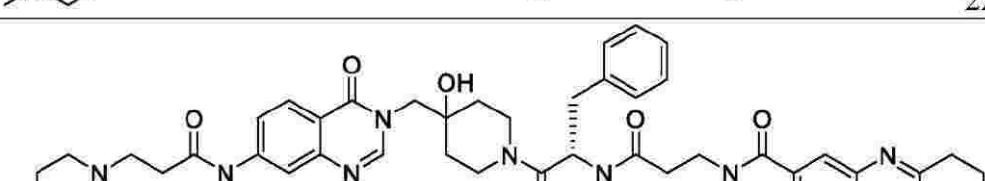
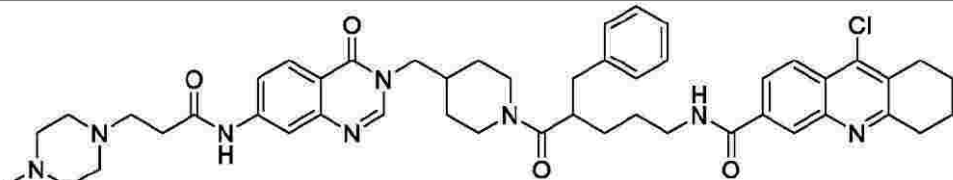
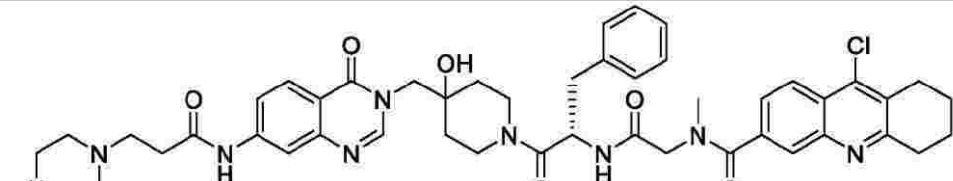
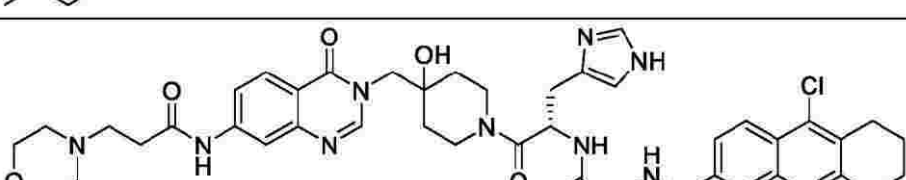
20

30

40

50

【表 4 - 4】

化合物	
	21
	22
	23
	24
	25
	26

10

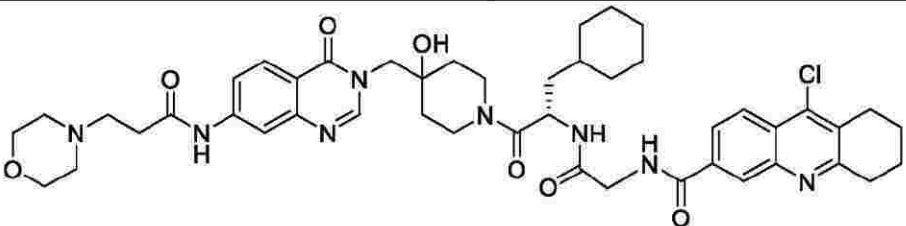
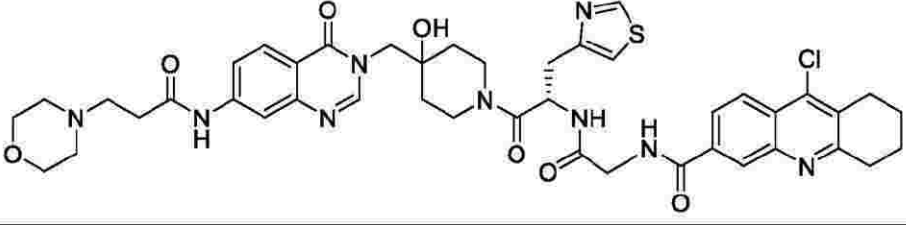
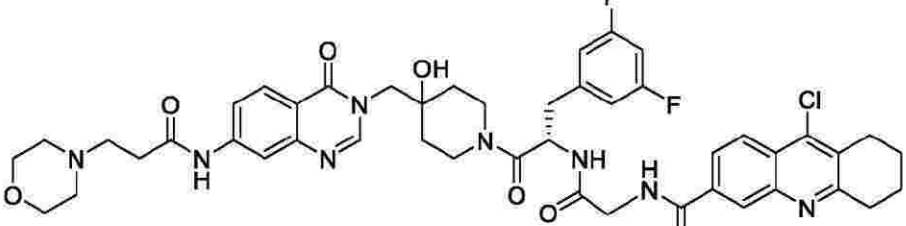
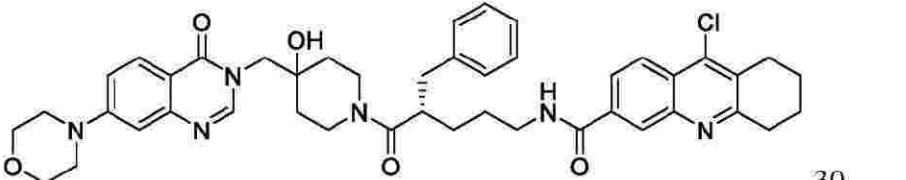
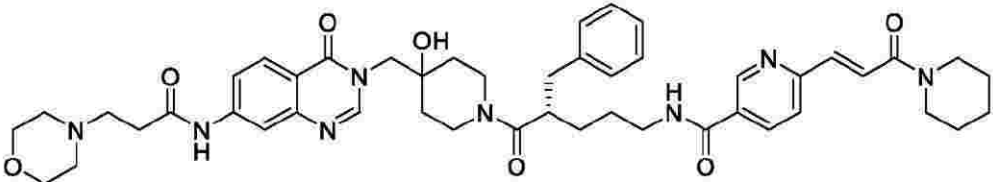
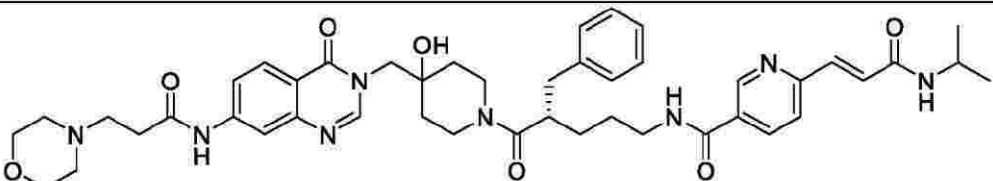
20

30

40

50

【表 4 - 5】

化合物	
	27
	28
	29
	30
	31
	32

10

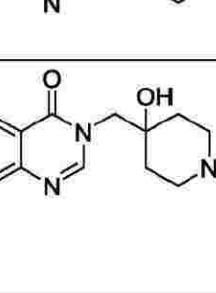
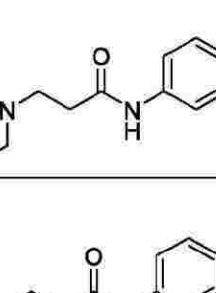
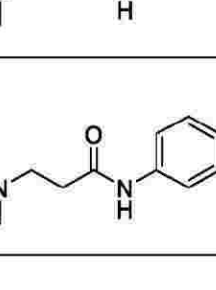
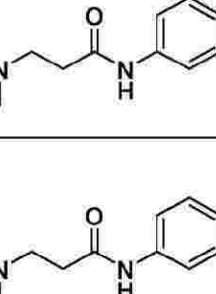
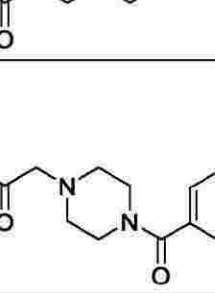
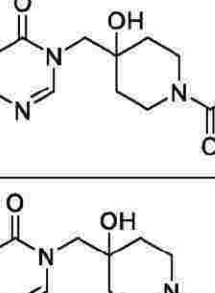
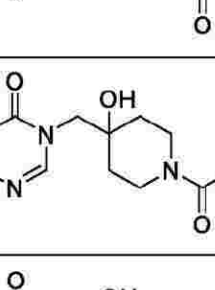
20

30

40

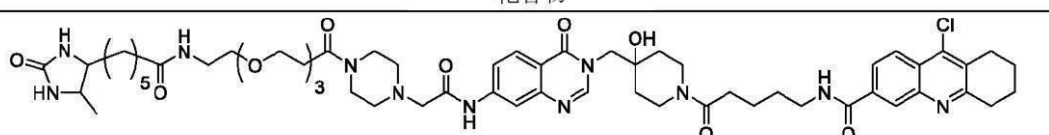
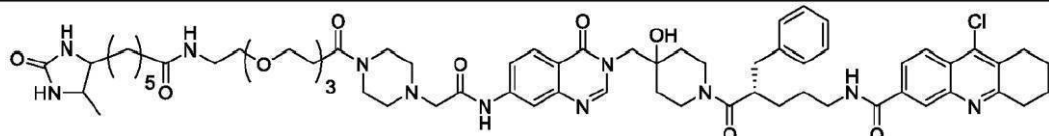
50

化合物

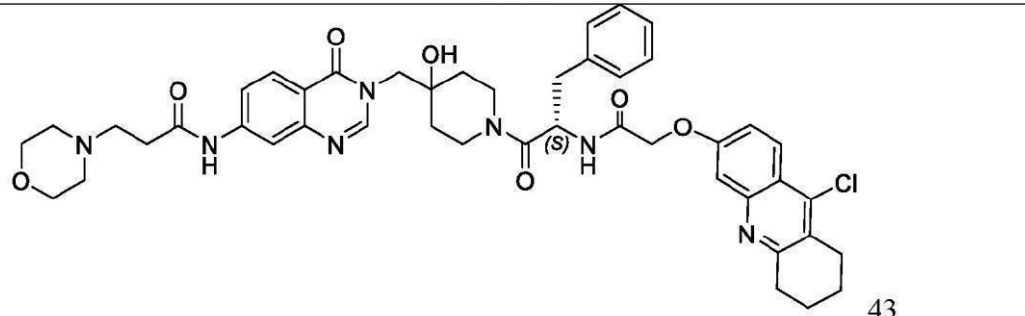
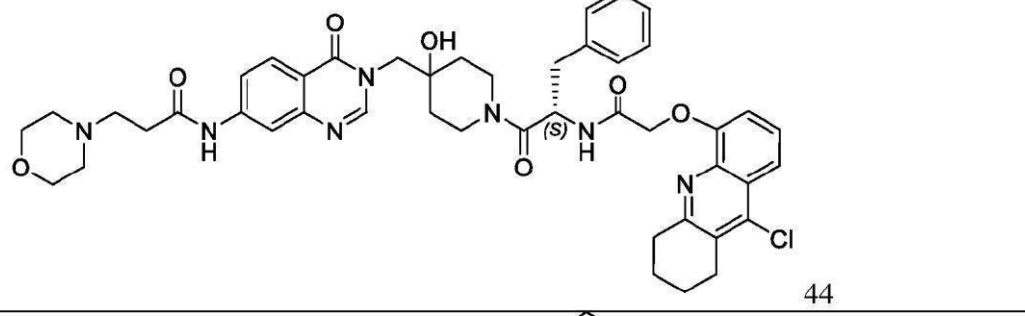
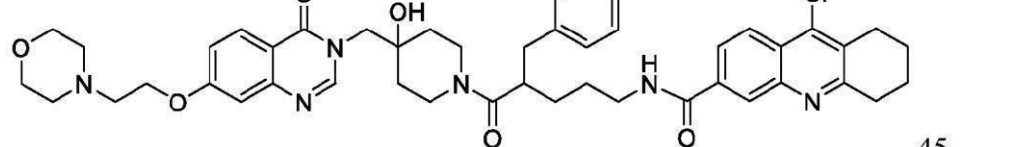
	34
	35
	36
	37
	38
	39
	40

40

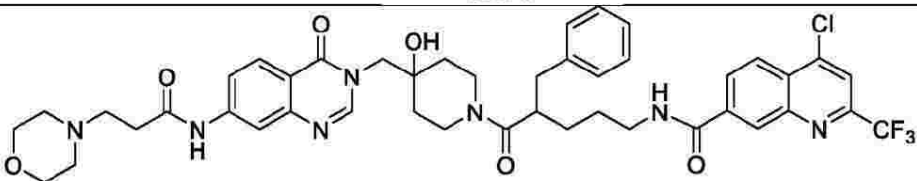
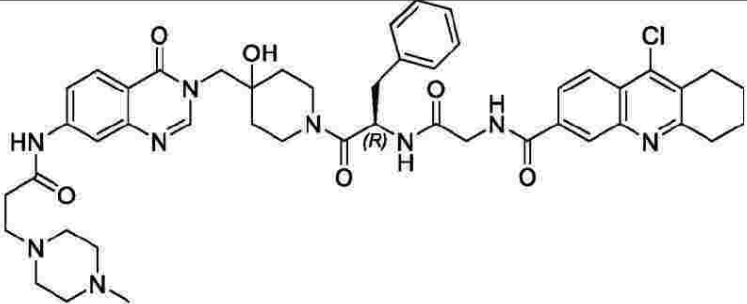
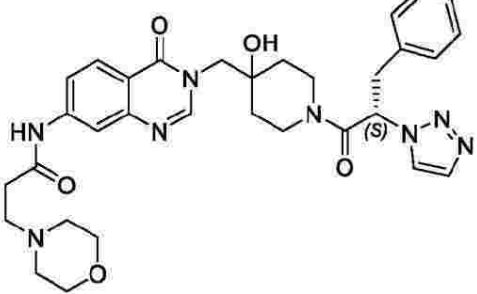
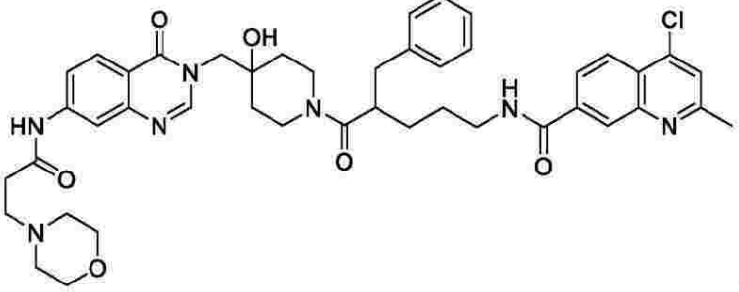
【表 5 - 2】

化合物	
	41
	42

【表 6 - 1】

化合物	
	43
	44
	45

【表 6 - 2】

化合物	
	46
	47
	48
	49
	50

10

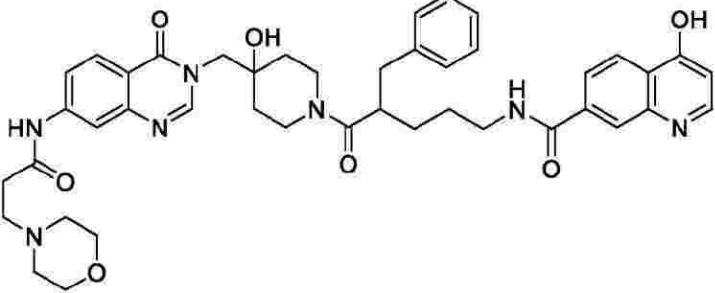
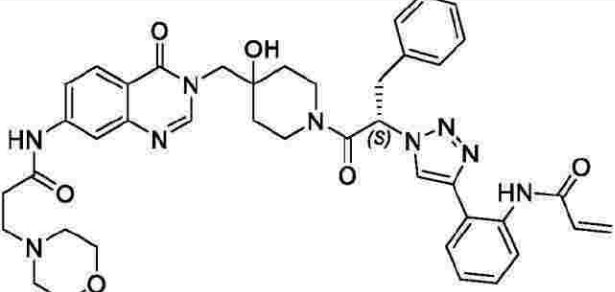
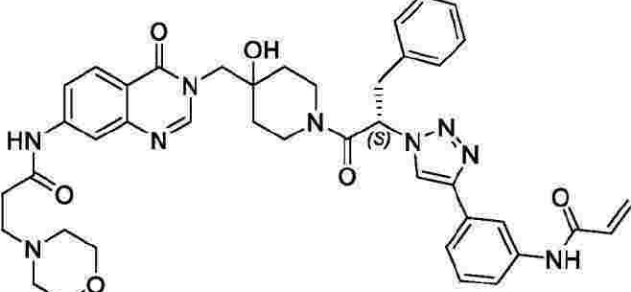
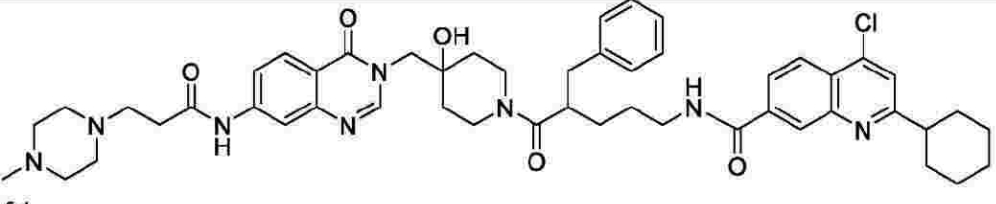
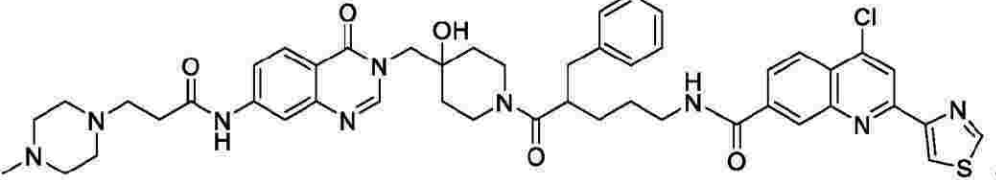
20

30

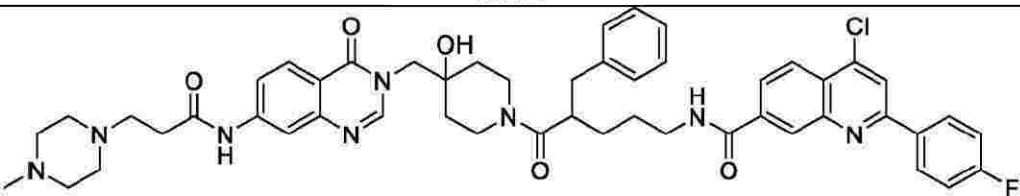
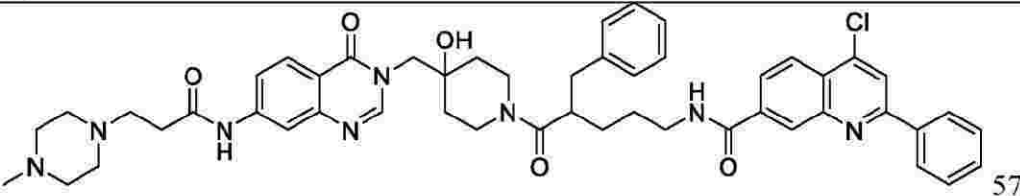
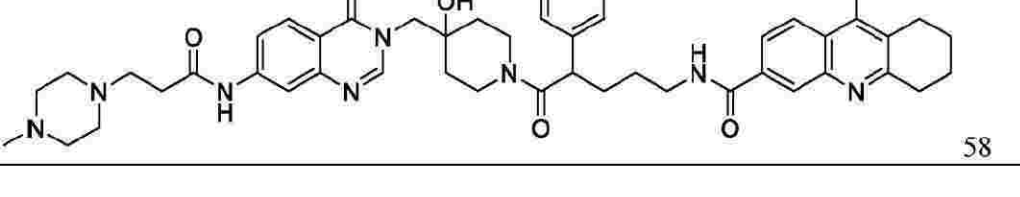
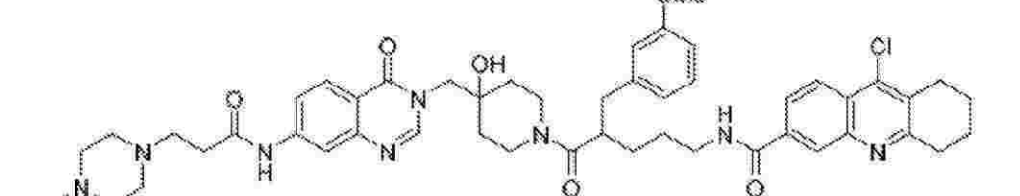
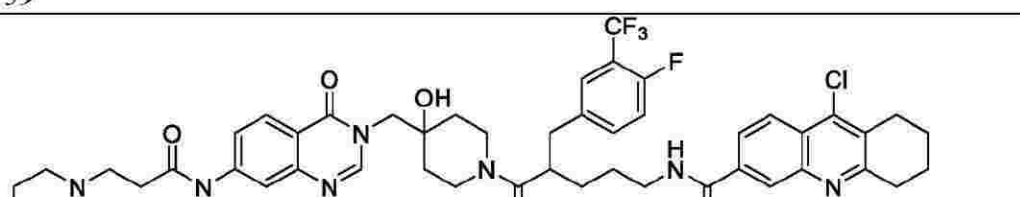
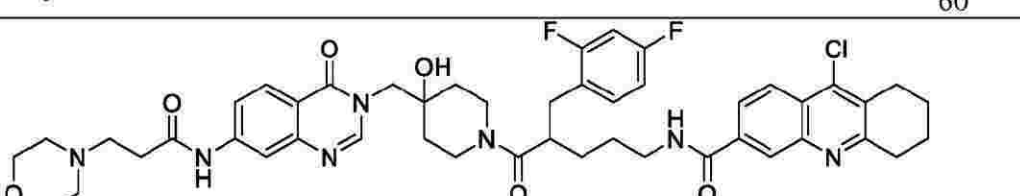
40

50

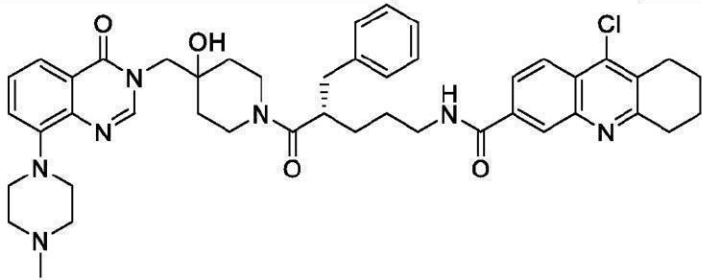
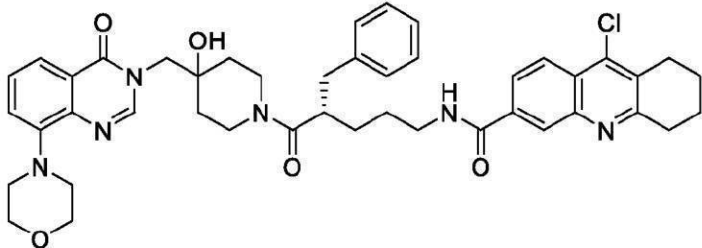
【表 6 - 3】

化合物	
	51
	52
	53
	54
	55

【表 6 - 4】

化合物	
	56
	57
	58
	59
	60
	61

【表 6 - 5】

化合物
 62
 63

からなる群から選択される化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 3 0】

癌および転移、神経変性疾患、免疫学的障害、糖尿病、骨関節疾患、骨粗鬆症、関節炎炎症性障害、心血管疾患、虚血性疾患、ウイルス感染症およびウイルス性疾患、ウイルス感染性および／またはウイルス潜伏性、ならびに細菌感染症および細菌性疾患の処置における使用のための医薬組成物であって、請求項 1 ～ 2 9 に記載の化合物を含む、医薬組成物。

【請求項 3 1】

癌の処置における使用のための医薬組成物であって、請求項 1 ～ 2 9 に記載の化合物を含む、医薬組成物。

【請求項 3 2】

前記癌が、脂肪肉腫、神経芽腫、神経膠芽腫、乳癌、膀胱癌、神経膠腫、副腎皮質癌、多発性骨髄腫、大腸癌、結腸癌、前立腺癌、非小細胞肺癌、ヒトパピローマウイルス関連子宮頸癌、中咽頭癌、陰茎癌、卵巢癌、肛門癌、甲状腺癌、膈癌、エプスタインバーウイルス関連上咽頭癌、胃癌、直腸癌、甲状腺癌、ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、およびユーイング肉腫である、請求項 3 1 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 3 3】

前記癌が、神経芽腫、多発性骨髄腫、乳癌、神経膠腫、結腸癌、前立腺癌、または卵巢癌である、請求項 3 1 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 3 4】

前記癌が、多発性骨髄腫である、請求項 3 1 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 3 5】

前記癌が、ユーイング肉腫である、請求項 3 1 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 3 6】

癌および転移、神経変性疾患、免疫学的障害、糖尿病、骨関節疾患、骨粗鬆症、関節炎炎症性障害、心血管疾患、虚血性疾患、ウイルス感染症およびウイルス性疾患、ウイルス感染性および／またはウイルス潜伏性、ならびに細菌感染症および細菌性疾患の処置のための医薬の製造における、請求項 1 ～ 2 9 に記載の化合物の使用。

【請求項 3 7】

癌の処置のための医薬の製造における、請求項 1 ～ 2 9 に記載の化合物の使用。

【請求項 3 8】

前記癌が、脂肪肉腫、神経芽腫、神経膠芽腫、乳癌、膀胱癌、神経膠腫、副腎皮質癌、

多発性骨髄腫、大腸癌、結腸癌、前立腺癌、非小細胞肺癌、ヒトパピローマウイルス関連子宮頸癌、中咽頭癌、陰茎癌、卵巣癌、肛門癌、甲状腺癌、膣癌、エプスタインバーウイルス関連上咽頭癌、胃癌、直腸癌、甲状腺癌、ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、およびユーイング肉腫である、請求項37に記載の使用。

【請求項39】

前記癌が、神経芽腫、多発性骨髄腫、乳癌、神経膠腫、結腸癌、前立腺癌、または卵巣癌である、請求項37に記載の使用。

【請求項40】

前記癌が、多発性骨髄腫である、請求項37に記載の使用。

【請求項41】

前記癌が、ユーイング肉腫である、請求項37に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年10月22日に出願された米国仮特許出願第62/748,910号の利益を主張するものであり、その内容は参照により完全に本明細書に援用される。

【0002】

政府の支援

本発明は、国立衛生研究所によって付与された助成金R01CA211681の下で政府の支援を受けて行われた。政府は本発明に一定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

脱ユビキチン化酵素 (deubiquitinating enzyme、DUB) は、過去5~10年間で薬物標的として注目を集めている。DUB阻害剤は、発癌性タンパク質、特に、DUBファミリーメンバーによって安定化されるために直接標的化することが困難なタンパク質の分解を効果的に促進する。したがって、高度に最適化され、十分に特徴付けられたDUB阻害剤は、非常に求められるツールとなっている。しかしながら、報告されているほとんどのDUB阻害剤は、一次標的に対する弱い (マイクロモル) 効力を有する複合薬剤であるため、標的の検証および機構の研究におけるそれらの有用性が制限される。高分解能のDUB小分子リガンド複合体の構造が欠如しているため、哺乳動物DUBについて構造に基づく最適化の試みは報告されていない。

【0004】

DUB酵素USP7 (ユビキチン特異的プロテアーゼ7) は、エピジェネティクス、細胞周期、DNA修復、免疫、ウイルス感染および腫瘍発生を含む多数の細胞プロセスの調節に関与することが示されている。USP7、別名ヘルペスウイルス関連ユビキチン特異的プロテアーゼ (HAUSP) は、ウイルスの溶解性増殖において役割を果たすタンパク質として最初に発見された。USP7が、p53、MDM2に対する主要なE3リガーゼを安定化させることによって腫瘍抑制因子p53の分解を調節していることが関連付けられると、この酵素への関心が高まった。

【0005】

多様な基質および生物学的プロセスのその調節と一致して、USP7は、多発性骨髄腫、乳癌、神経芽腫、神経膠腫、および卵巣癌を含む幅広い悪性腫瘍における薬物標的として浮かび上がってきた。しかしながら、既知のUSP7阻害剤は、USP7に対する効力が控えめであり、他のDUBに対して選択性が低いことが示されている。控えめな効力および選択性に加えて、既知のUSP7阻害剤化合物の欠点としては、低溶解性および一般毒性が挙げられる。したがって、より強力で選択的な不可逆的USP7阻害剤の開発が必要とされる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

10

20

30

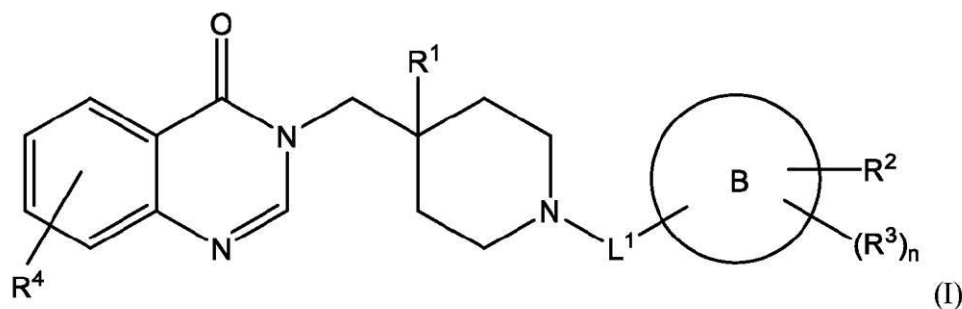
40

50

【0006】

本明細書で提供されるものは、式（I）の化合物

【化1】



10

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、結合、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

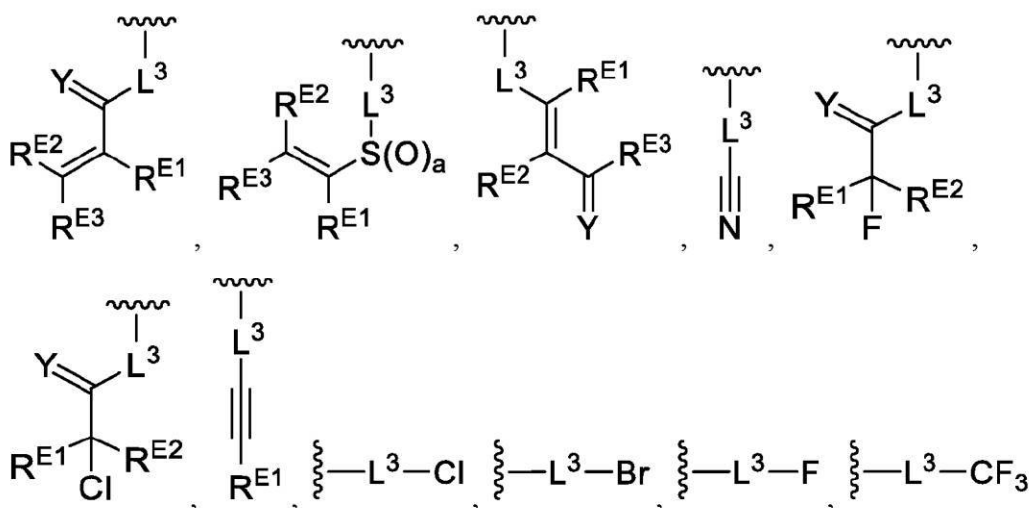
L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、
 各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、

20

Yは、Oであり、

 R^1 は、H、 $-OR^5$ 、または $-NR^5R^6$ であり、 R^2 は、

【化2】



30

または不在であり、

R^3 は、アルキル、ヒドロキシル、 CF_3 、ハロ $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

40

50

各 R^7 は、各出現時に独立して、 H 、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、 H 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、 H 、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、 H 、アルキル、 $-OR^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、

n は、0、1、2、3、または4であり、

p は、0、1、2、3、または4である。

【0007】

別の態様では、USP 7によって調節される疾患または障害を治療する方法が本明細書に開示され、それを必要とする対象に、本明細書に開示される化合物のうちのいずれか1つを投与することを含む。

【0008】

別の態様では、USP 7を阻害する方法が本明細書に開示され、それを必要とする対象に、本明細書に開示される化合物のうちのいずれか1つを投与することを含む。

【0009】

別の態様では、癌を治療する方法が本明細書に開示され、それを必要とする対象に、本明細書に開示される化合物のうちのいずれか1つを投与することを含む。

【0010】

別の態様では、USP 7を阻害する方法が本明細書に開示され、本明細書に開示される化合物のうちのいずれか1つは、USP 7と共有結合を形成する。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1A】USP 7の触媒ドメインに結合した化合物42の共結晶構造を図示し、リガンドの溶媒アクセシビリティおよび触媒システム(PDB: 5VS6)への距離を強調している。

【図1B】化合物42、化合物43、化合物6、および化合物7の化学構造を図示する。

【図1C】化合物6または化合物7で6時間前処理した後の、Ub-AMCの全長USP 7切断の例示的なミカエリス・メンテンプロットを図示する。

【図1D】化合物6または化合物7で30分または4時間前処理した後の、全細胞溶解物中のDUB ABPP HA-Ub-VSによるUSP 7標識を示す代表的なウエスタンブロットを図示する。

【図2A】化合物6または化合物7による6時間の細胞処理後の、HA-Ub-VSによるUSP 7標識を示す例示的なウエスタンブロットを図示する。

【図2B】化合物6または化合物7で2時間処理した後の、MCF7細胞の例示的な全細胞溶解物のウエスタンブロットを図示する。

【図2C】化合物6または化合物7で16時間処理した後のMCF7細胞の例示的な全細胞溶解物ウエスタンブロットを図示する。

【図2D】1 μM の化合物6で6時間または24時間処理したMCF7細胞の例示的な定

10

20

30

40

50

量的リアルタイムPCRを図示する。

【図2E】1 μ Mの化合物6または化合物7で24時間処理した後の、MCF7細胞のヨウ化プロピジウム染色に基づく例示的な細胞周期分析を図示する。

【図3A】化合物6と6時間ブレインキュベーションした後の、USP7-WT、USP7-Q351S、およびUSP7-F291Nの例示的な比較Ub-AMCミカエリス・メンテン曲線を図示する。

【図3B】化合物6で処理した後の、水素交換の増加または減少を有するUSP7CDの強調された領域の構造を図示する。

【図3C】化合物1で処理した後の、水素交換の増加または減少を有するUSP7CDの強調された領域の構造を図示する。

【図4A】化合物6で15分間前処理した後の、Ub-Rhoに対する41個の精製された組換えDUBの残存活性を図示する。

【図4B】DMSO対1 μ Mの化合物6で5時間前処理した試料間の、HEK293AD溶解物中の59個のDUBについてのBio-Ub-PA/VME標識の比を図示する。破線は、DMSO対化合物6試料の3倍過剰標識を表す。

【図4C】DMSO対1 μ Mの化合物6で5時間前処理した試料間の、HEK293AD溶解物中の566タンパク質についての化合物6-DTB標識の比を図示する。破線は、DMSO対化合物6試料の3倍過剰標識を表す。

【図5A】示された日数間、2つの細胞株の最初の1:1の混合物を、示されたsgRNAで処理した後の、A549-FF細胞対A549-sgTP53-ウミシイタケ細胞のlog₁₀比を示す。

【図5B】化合物6で3日間処理した後の、p53-WT（グレー）またはp53-変異体（黒）ユーイング肉腫細胞株のパネルの例示的な相対細胞力価グロー発光を示す。

【図5C】化合物6で3日間処理した後の、示されたsgRNAを発現するTC32細胞の例示的な相対細胞力価グロー発光を示す。

【図6A】1 μ Mの化合物6で24時間処理した後に濃縮または枯渇した遺伝子の例示的なボルケーノプロットを図示する。

【図6B】10 μ Mのヌトリン-3Aで24時間処理した後に濃縮または枯渇した遺伝子の例示的なボルケーノプロットを図示する。

【図6C】化合物6で5日間処理した後の、p53-WT細胞株のパネルの例示的な相対細胞力価グロー発光を示す。

【図6D】ヌトリン-3Aで5日間処理した後のp53-WT細胞株のパネルの例示的な相対細胞力価グロー発光を示す。

【発明を実施するための形態】

【0012】

USP7（ユビキチン特異的プロテアーゼ7）／HAUSP（ヘルペス関連ユビキチン特異的プロテアーゼ）は、135 kDaのUSPファミリーのタンパク質である。USP7は、ICP0（Vmw110）、ウイルス溶解サイクルの開始を刺激する単純ヘルペスウイルス最初期遺伝子、およびEBNA1（エプスタイン・バー核抗原-1）などのウイルスタンパク質と相互作用することが示されている。DUB USP7は、エピジェネティクス、細胞周期、DNA修復、免疫、ウイルス感染および腫瘍形成を含む多数の細胞プロセスの調節に関与することが示されている。USP7が、p53、MDM2に対する主要なE3リガーゼを安定化させることによって腫瘍抑制因子p53の分解を調節していることが関連付けられると、この酵素への関心が高まった。最近の報告と一致して、USP7サイレンシングはまた、Mdm2の分解を促進することによって定常状態のp53レベルを増加させることが示されている。USP7のp53への結合は、最近、TSPYL5により調節されることが示されており、TSPYL5は、USP7の同じ領域への結合についてp53との競合を通して乳房の発癌に潜在的に関与するタンパク質である。より最近、USP7の上方調節および下方調節の両方は、構成的に高いp53レベルをもたらすことによって、インビトロでの結腸癌の細胞増殖およびインビボでの腫瘍増殖を阻害する

10

20

30

40

50

ことが示されている。

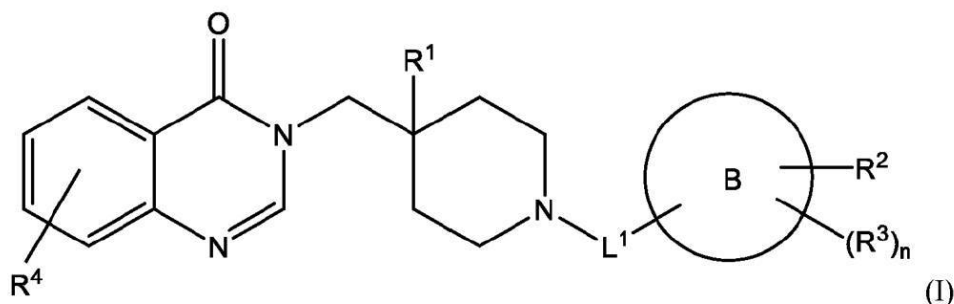
【0013】

小分子USP7阻害剤が、本明細書に開示される。一部の実施形態では、小分子USP7阻害剤は、USP7に共有結合する。

【0014】

本明細書で提供されるものは、式(I)の化合物

【化3】



またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、結合、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5$
 R^6 、または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$
)であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

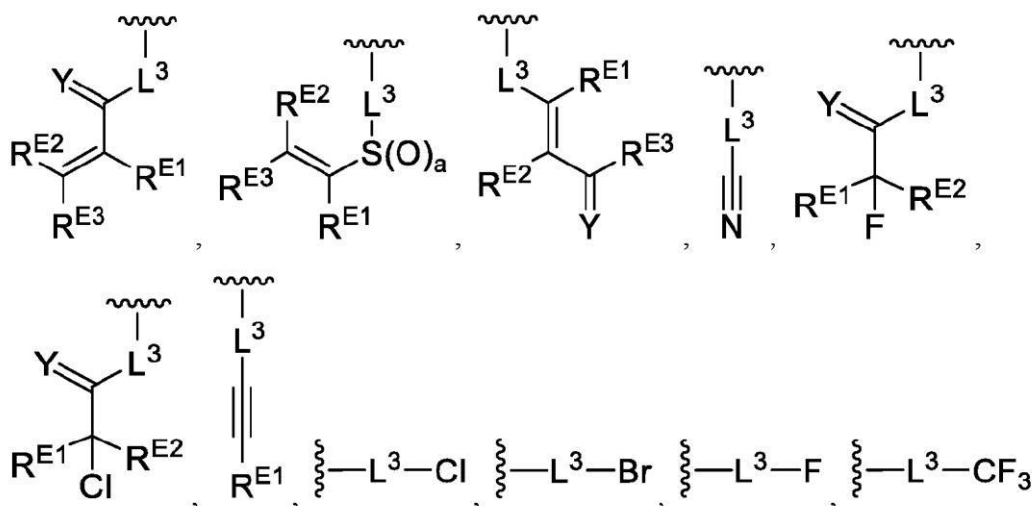
L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、
 各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、

Yは、Oであり、

R^1 は、H、 $-OR^5$ 、または $-NR^5R^6$ であり、

R^2 は、

【化4】



または不在であり、

R^3 は、アルキル、ヒドロキシル、 CF_3 、ハロ $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、

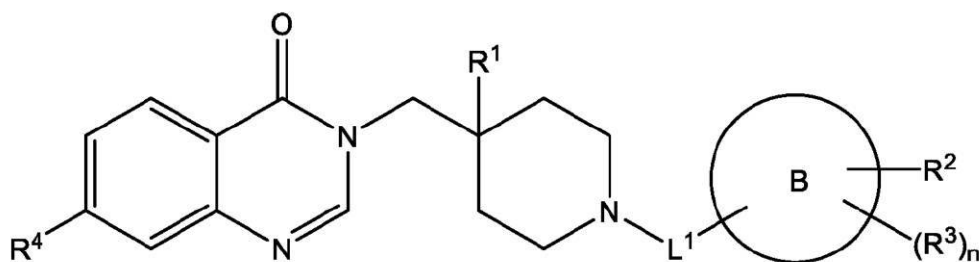
n は、0、1、2、3、または4であり、

p は、0、1、2、3、または4である。

【0015】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

【化5】



(1a)

を有するか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0016】

他の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

10

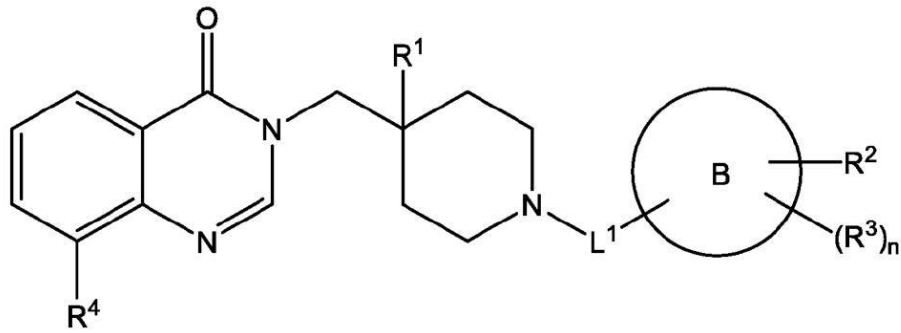
20

30

40

50

【化 6】



(1 b)

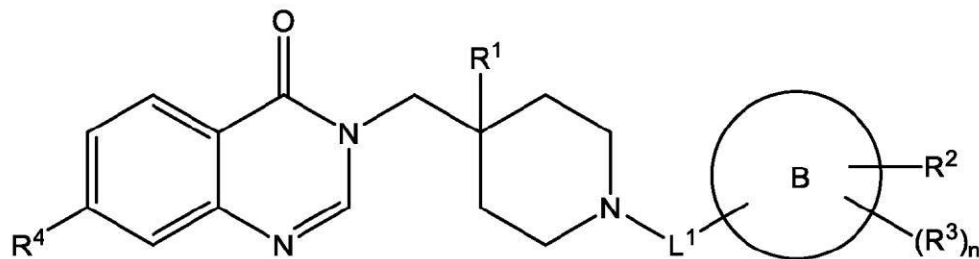
10

を有するか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0017】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

【化 7】



(Ic)

20

を有するか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

環 B は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、

L^1 は、結合、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5$

R^6 、または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$

であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、

Y は、O であり、

R^1 は、H、 $-OR^5$ 、または $-NR^5R^6$ であり、

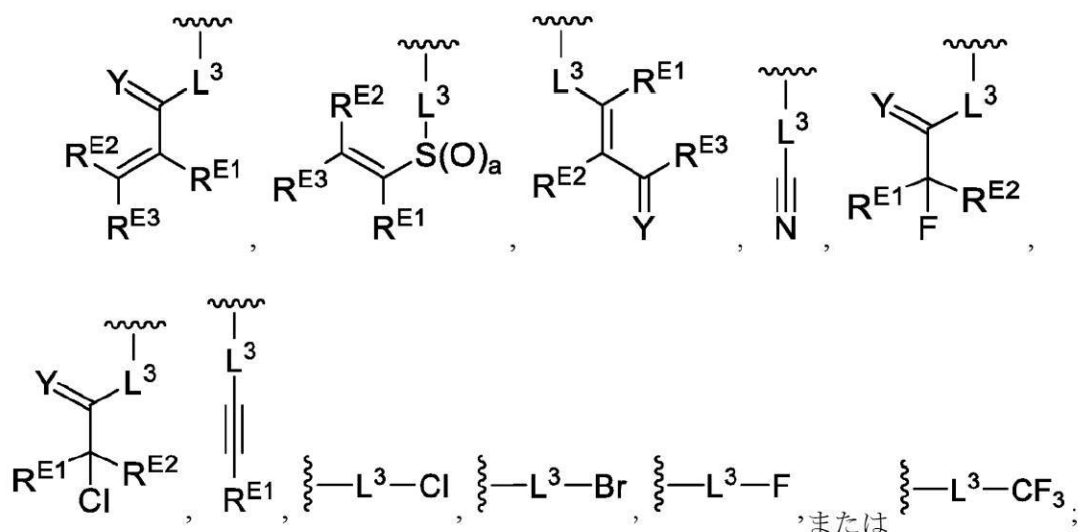
R^2 は、

30

40

50

【化 8】



10

R^3 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

20

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

30

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、

各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、

40

n は、0、1、2、3、または4であり、

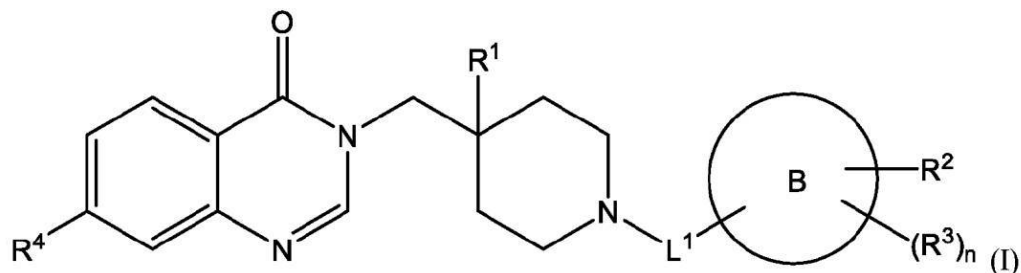
p は、0、1、2、3、または4である。

【0018】

特定の実施形態では、 R^4 は、ハロゲンではない。特定の実施形態では、 R^4 は、クロロではない。特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

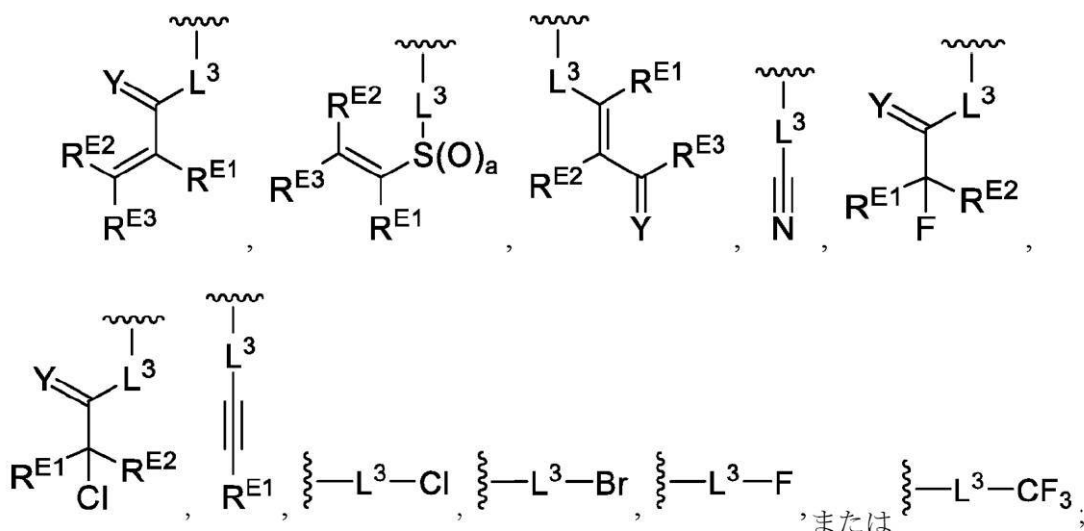
50

【化 9】



を有するか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
 環 B は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、結合、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、
 各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、
 Y は、O であり、
 R^1 は、H、 $-OR^5$ 、または $-NR^5R^6$ であり、
 R^2 は、

【化 10】



R^3 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、
 R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは
 R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、
 各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、
 各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選

択的に置換され、

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、

各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、

n は、0、1、2、3、または4であり、

p は、0、1、2、3、または4である。

【0019】

特定の実施形態では、式(I)の化合物は、化合物が以下から選択されないことを条件として、本明細書に記載の構造を有する。

10

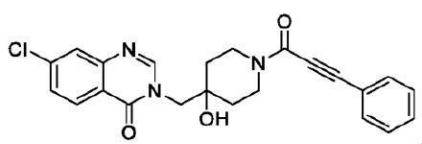
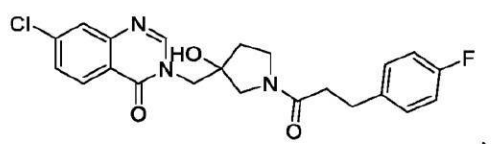
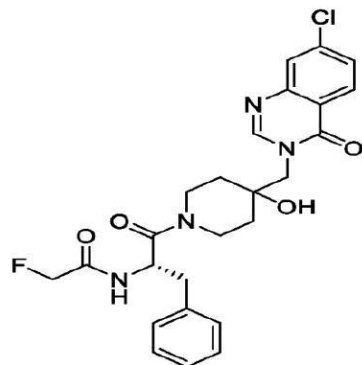
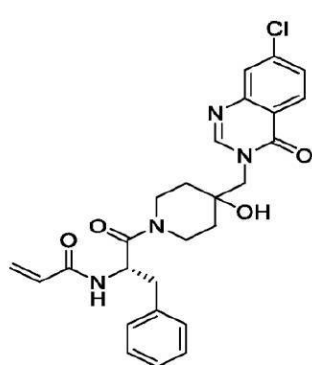
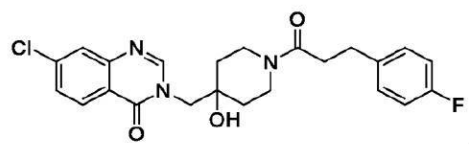
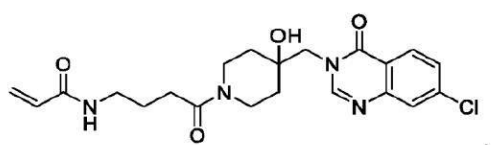
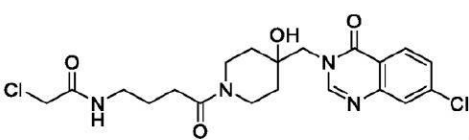
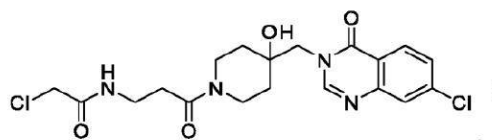
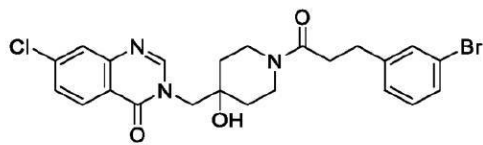
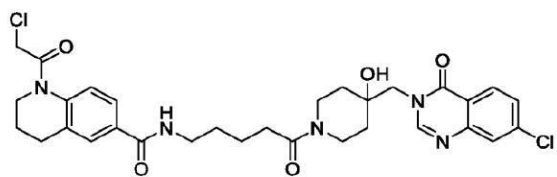
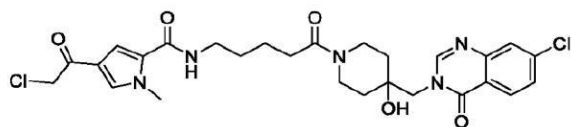
20

30

40

50

【化 1 1 - 1】



10

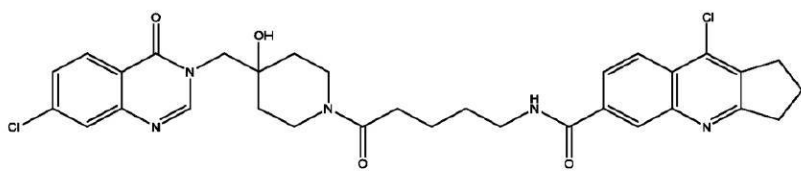
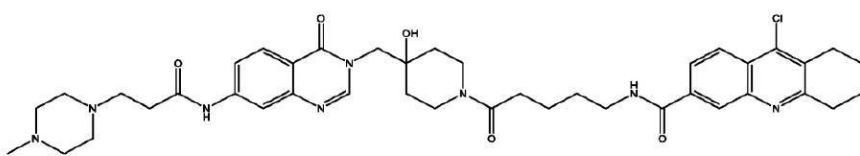
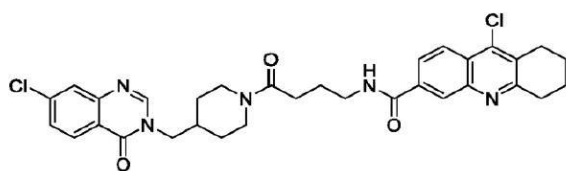
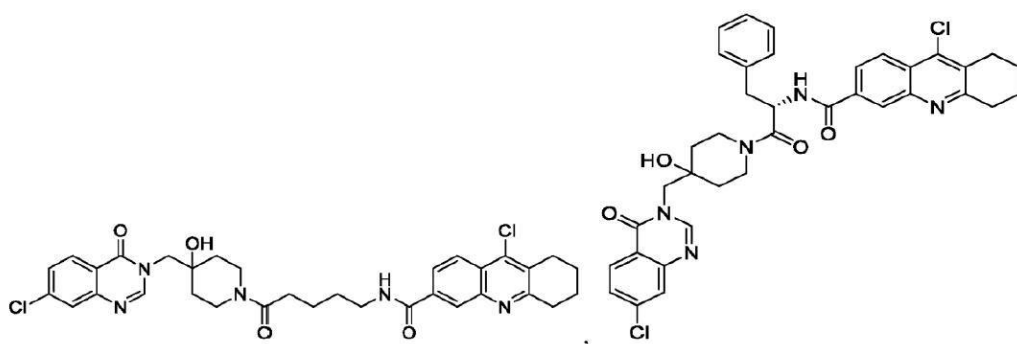
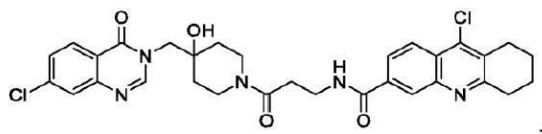
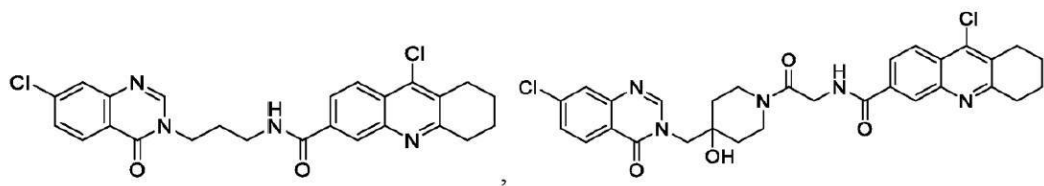
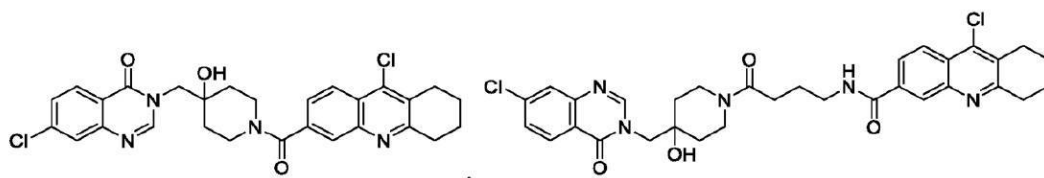
20

30

40

50

【化 1 1 - 2】



10

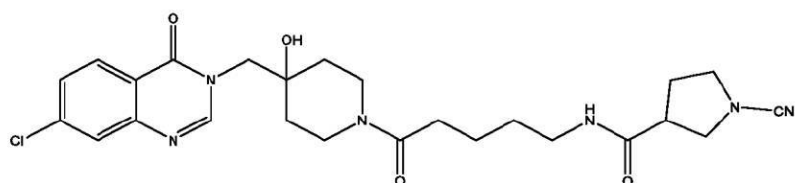
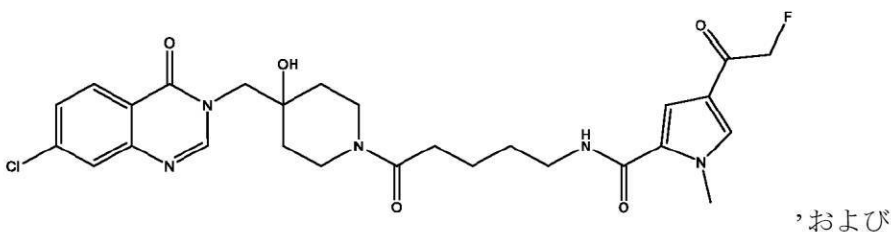
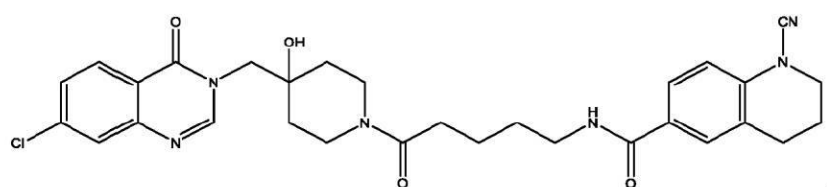
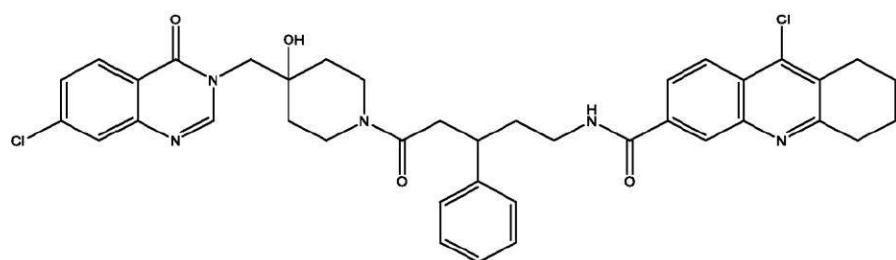
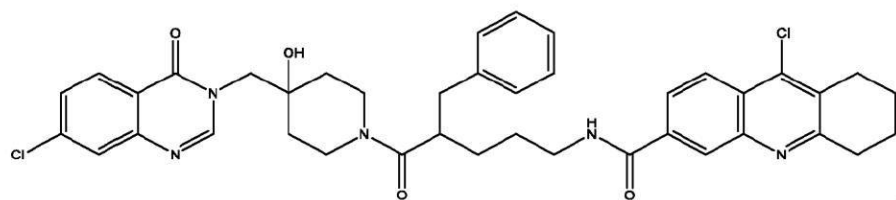
20

30

40

50

【化 1 1 - 3】



【0020】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、 R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは、 R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換される。特定の実施形態では、ヘテロシクリルは、メチルピペリジニルまたはモルホリニルである。

【0021】

特定の実施形態では、式(I)の化合物は、以下の構造式

10

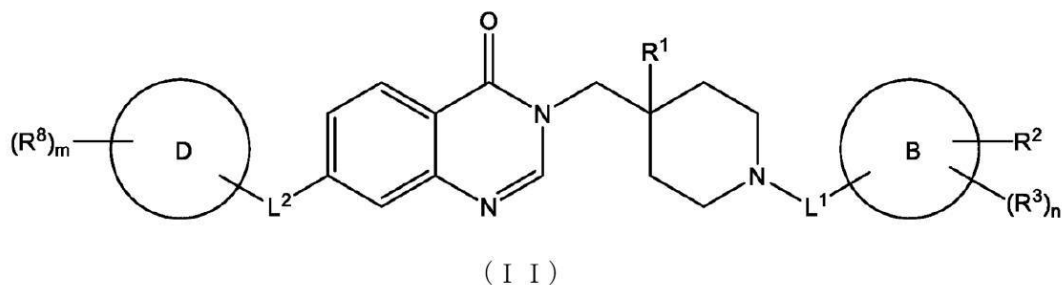
20

30

40

50

【化 1 2】



10

を有するか、またはその薬学的に許容される塩であり、
式中、

環 D は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、
L² は、アルキル、-NR⁵C(=O)アルキル、-C(=O)NR⁵アルキル、または-
NR⁵R⁶であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R⁸ で任意選択的に置換され、
m は、0、1、2、3、または 4 である。

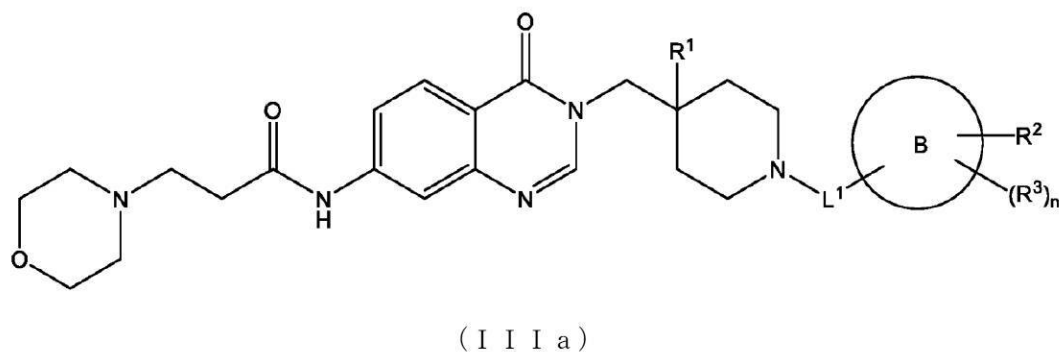
【0022】

本明細書に開示される化合物の一部の実施形態では、L² は、アルキルまたは -NR⁵
C(=O)アルキルである。

【0023】

一部の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

【化 1 3】



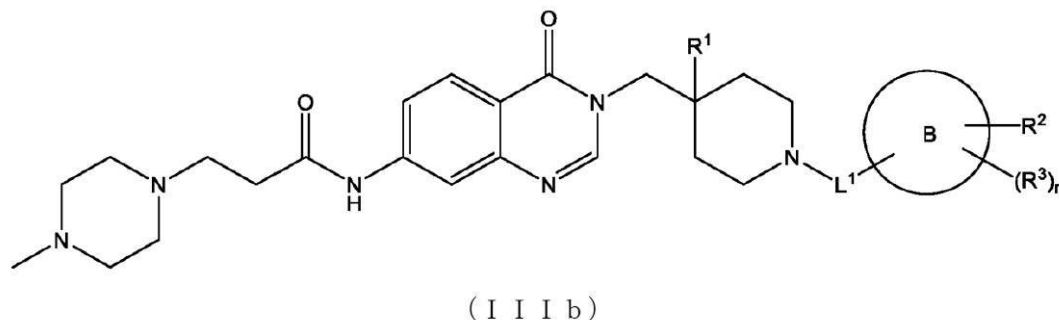
30

を有するか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0024】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

【化 1 4】



40

を有するか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0025】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、L¹ は、アルキル、-C(=O)

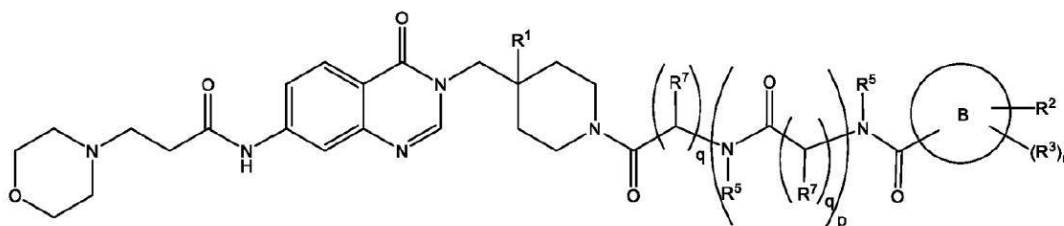
50

アルキル、または $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ である。一部の実施形態では、 L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ である。一部の実施形態では、 p は、0、1、または2である。

【0026】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

【化15】



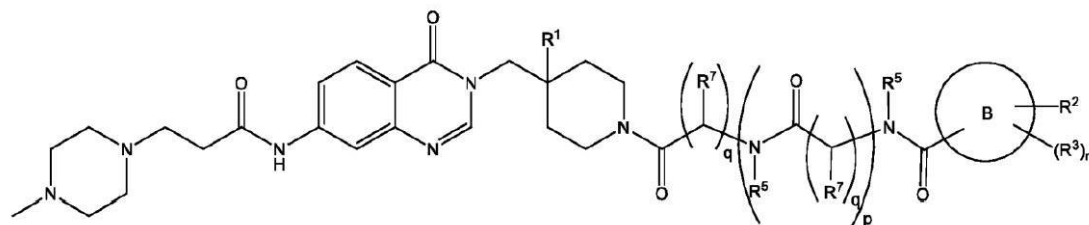
(IVa)

を有するか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 q は、0、1、2、3、4、5、または6である。

【0027】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、以下の構造式

【化16】



(IVb)

を有するか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 q は、0、1、2、3、4、5、または6である。

【0028】

式 (IVb) の化合物の特定の実施形態では、 R^1 は、OHであり、 q は、4であり、 R^7 の1つの例は、ベンジルであり、 R^7 の3つの例は、Hであり、 p は、0であり、 R^5 は、Hである。

【0029】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールである。

【0030】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、各アルキルは、1つ以上の R^7 で置換され、各 R^7 は、各出現時に独立して、H、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルである。

【0031】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、各 R^7 は、各出現時に独立して、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルである。特定の実施形態では、 R^7 の各アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、1つ以上の R^{10} で置換される。特定の実施形態では、各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルである。

【0032】

10

20

30

40

50

【 0 0 3 3 】

【化 1 7】



【 0 0 3 4 】

20

【化 1 8】



【 0 0 3 5 】

【化 1 9】



【 0 0 3 6 】

50

共に形成する。

【0037】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、 L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、またはヘテロシクリルである。

【0038】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、 R^1 は、Hまたは $-OR^5$ である。

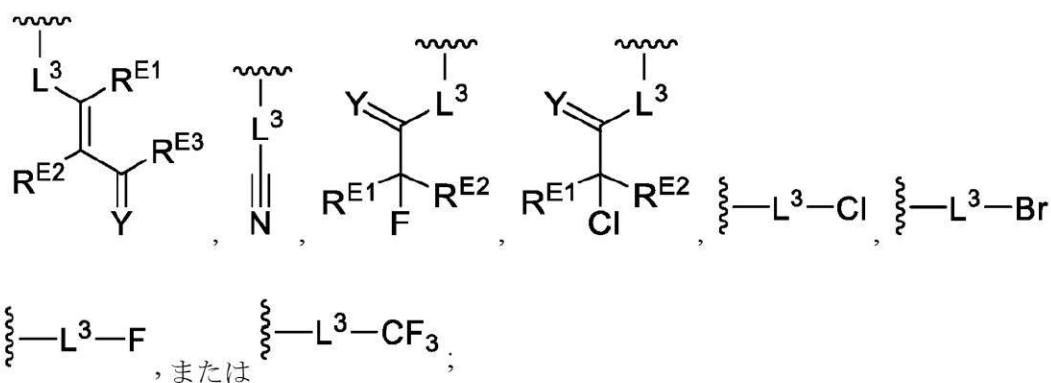
【0039】

本明細書に開示される化合物の特定の実施形態では、 n は、0である。他の実施形態では、 n は、1である。特定の実施形態では、 R^3 は、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）である。

【0040】

本明細書に開示される式(I)の化合物の特定の実施形態では、
環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、
または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は結合、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、
 Y は、Oであり、
 R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、
 R^2 は、

【化20】



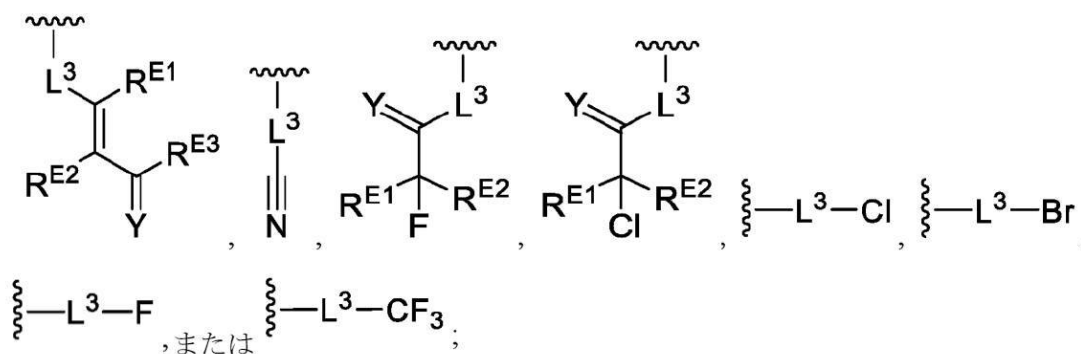
R^3 は、アルキルまたは $-NR^5R^6$ であり、
 R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは
 R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、
各 R^5 および R^6 は、独立して、Hまたはアルキルであり、
各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、各シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、
各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ またはヘテロシクリルであり、
各 R^9 は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、
各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、
各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、
各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、
 n は、0、1、または2であり、
 p は、0、1、または2である。

【0041】

本明細書に開示される式(I)の化合物の特定の実施形態では、環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は結合、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、
 Y は、Oであり、
 R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、
 R^2 は、

【化21】

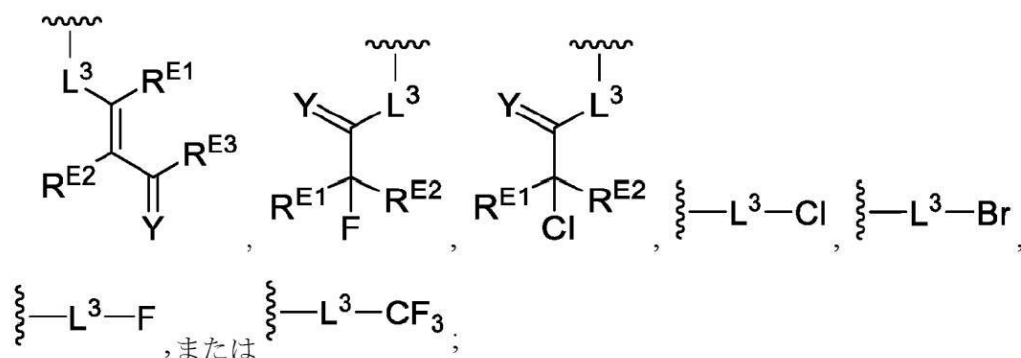


R^3 は、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキリル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）であり、
 R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは
 R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリル（例えば、メチルピペラジニルまたはモルホリニル）を共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、
各 R^5 および R^6 は、独立して、Hまたはアルキルであり、
各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラリルであり、各シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、
各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ またはヘテロシクリルであり、
各 R^9 は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、
各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、
各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、
あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、
各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、
 n は、0、1、または2であり、
 p は、0、1、または2である。

【0042】

本明細書に開示される式 (I) の化合物の特定の実施形態では、
 環 B は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールであり、
 L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は、結合であり、
 Y は、 O であり、
 R^1 は、 H または $-OR^5$ であり、
 R^2 は、

【化22】



R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、 H であり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、 H 、カルボシクロアルキル、アラリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、 H またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、 H またはアルキルであり、

あるいは R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルを共に形成し、

各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、 H 、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、 0 であり、

p は、 0 、 1 、または 2 である。

【0043】

本明細書に開示される式 (I) の化合物の特定の実施形態では、

環 B は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールであり、

L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

L^3 は、結合であり、

Y は、 O であり、

R^1 は、 H または $-OR^5$ であり、

R^2 は、

10

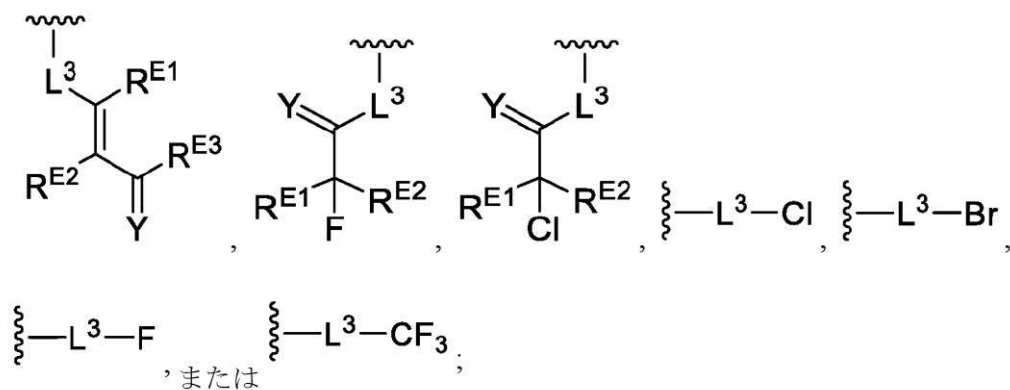
20

30

40

50

【化 2 3】



R^3 は、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）であり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、ヘテロシクリル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリル（例えば、メチルピペラジニルまたはモルホリニル）を共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、H であり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

あるいは R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルを共に形成し、

各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0 であり、

p は、0、1、または 2 である。

【0044】

特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、

10

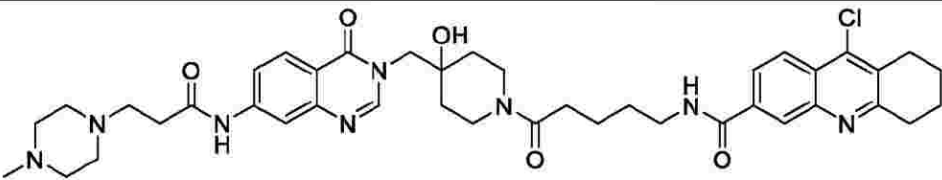
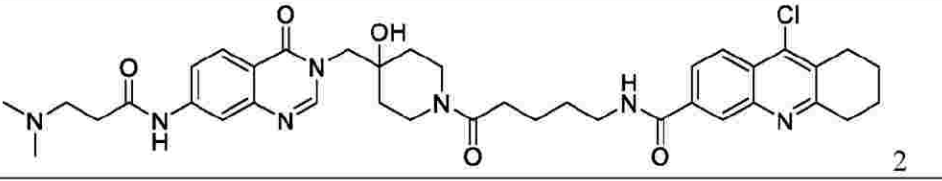
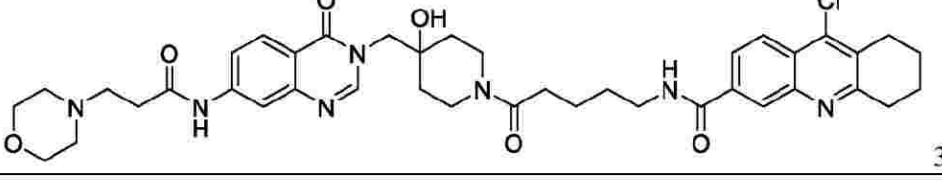
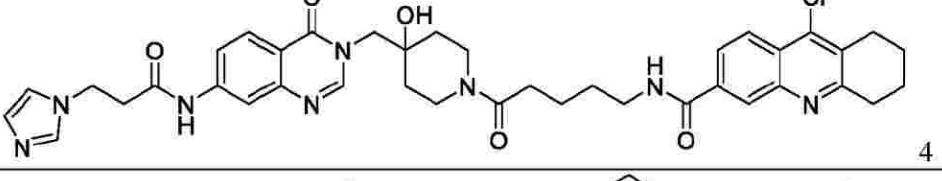
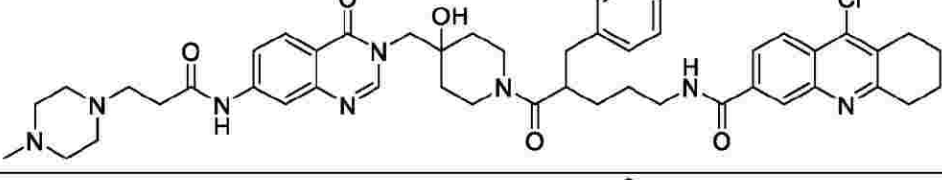
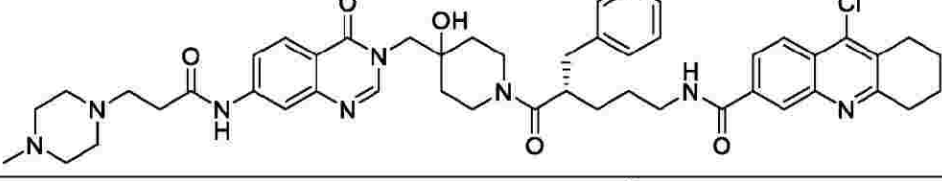
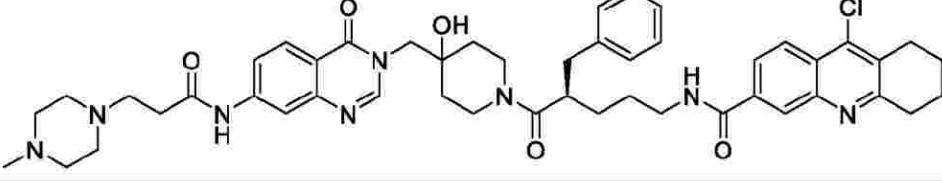
20

30

40

50

【表 A - 1】

化合物	
	1
	2
	3
	4
	5
	6
	7

10

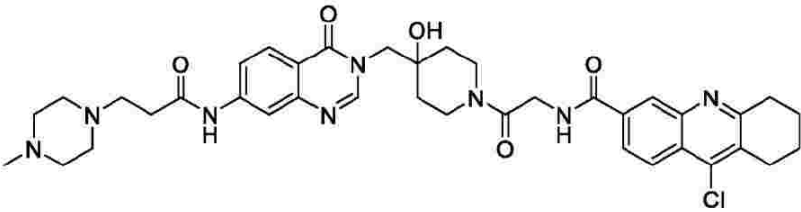
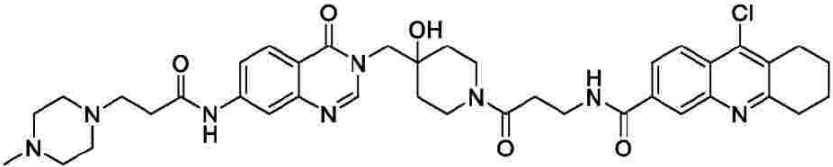
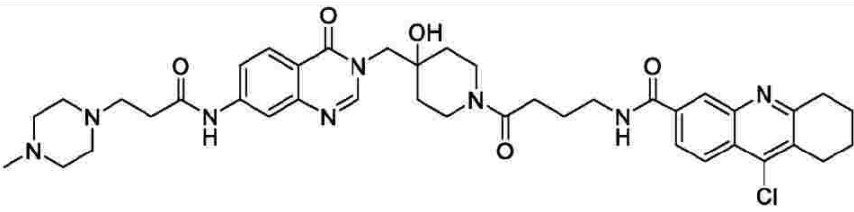
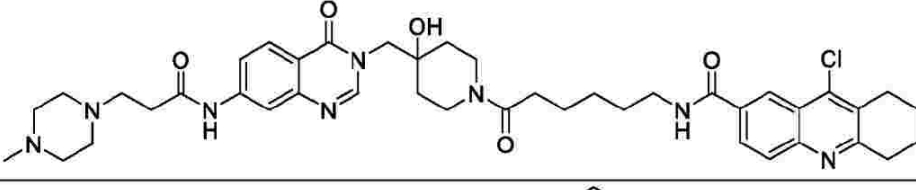
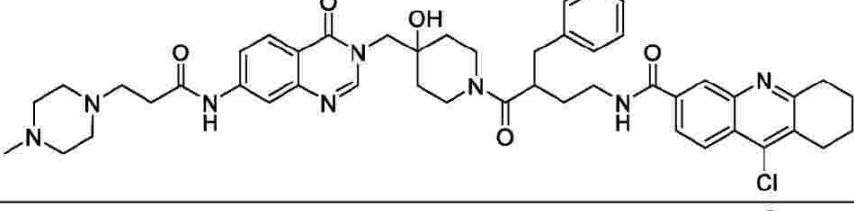
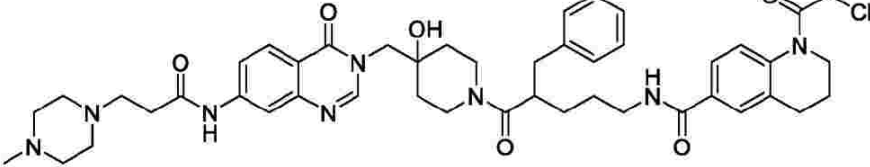
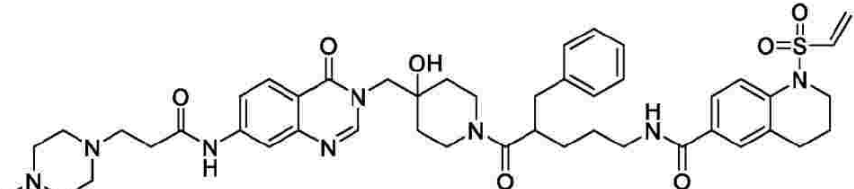
20

30

40

50

【表 A - 2】

化合物	
	8
	9
	10
	11
	12
	13
	14

10

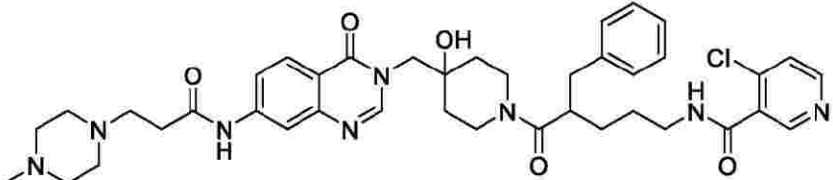
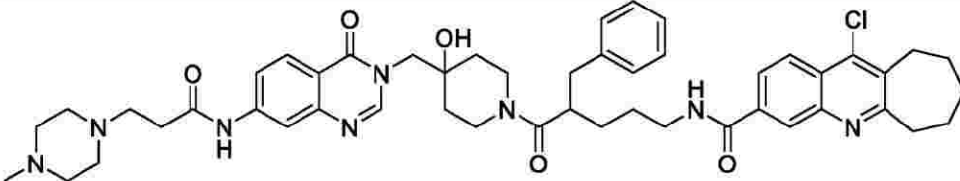
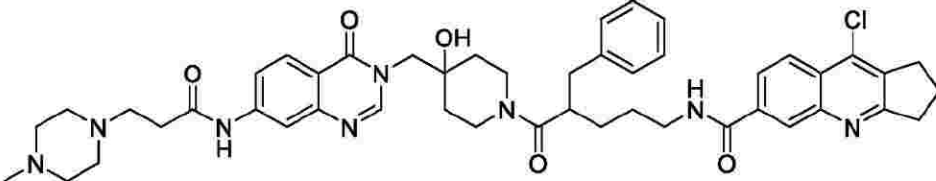
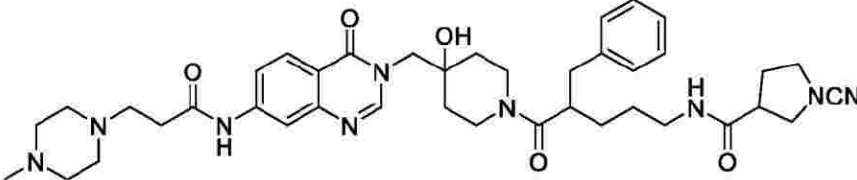
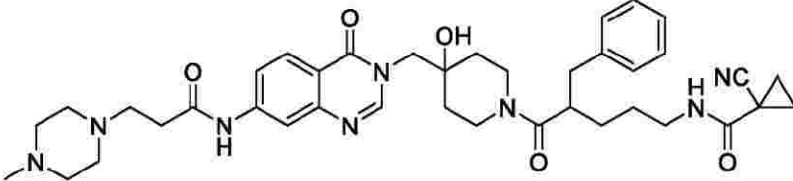
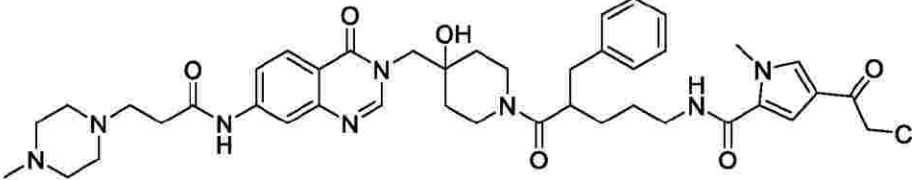
20

30

40

50

【表 A - 3】

化合物	
	15
	16
	17
	18
	19
	20
	21

10

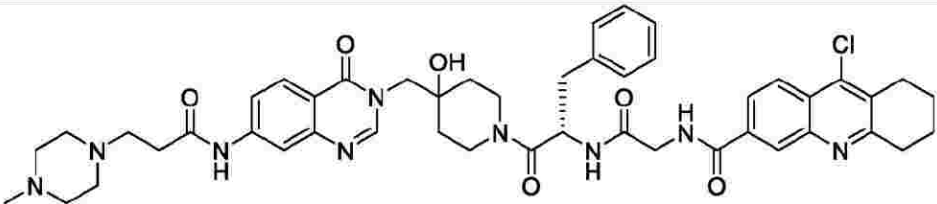
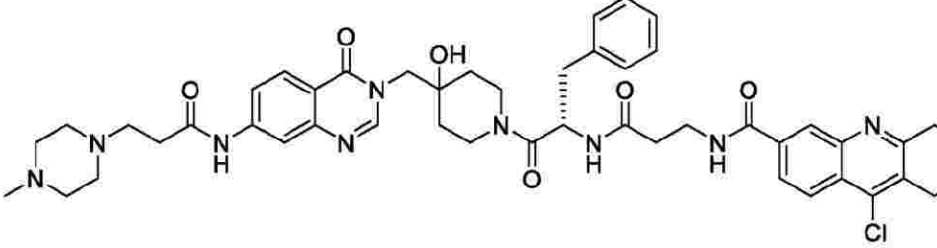
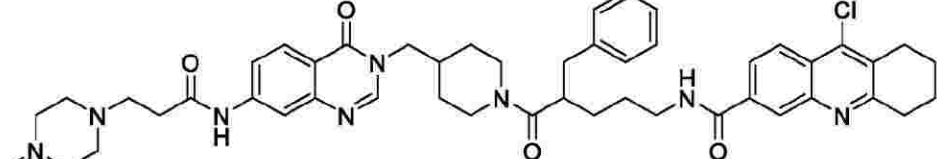
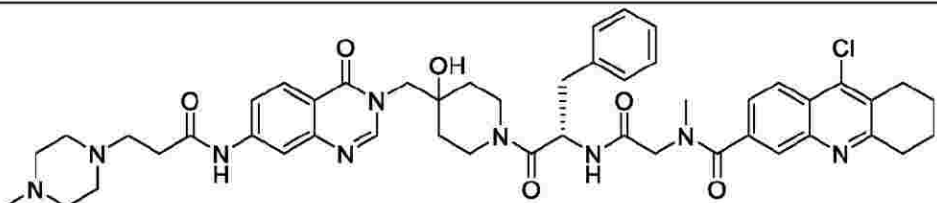
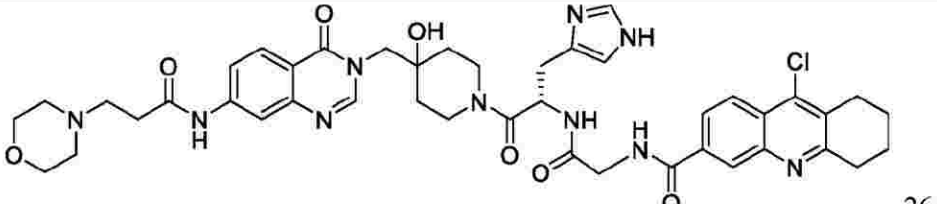
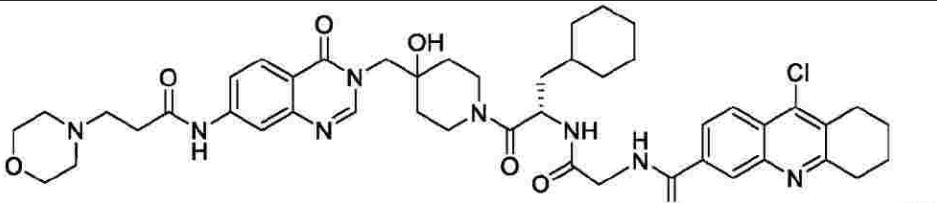
20

30

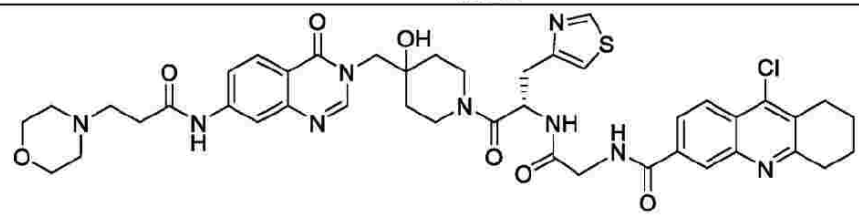
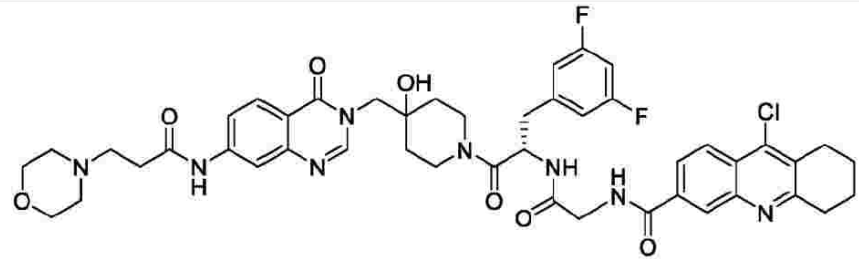
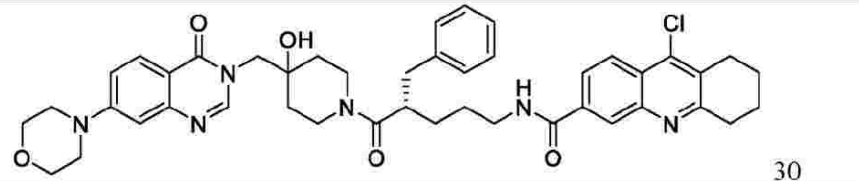
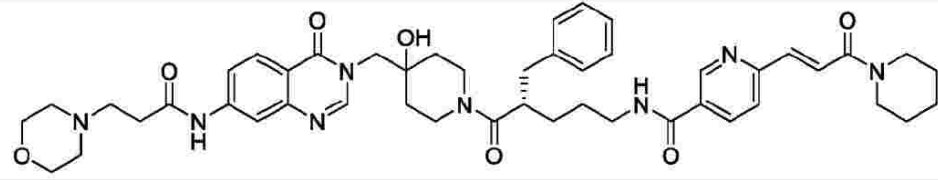
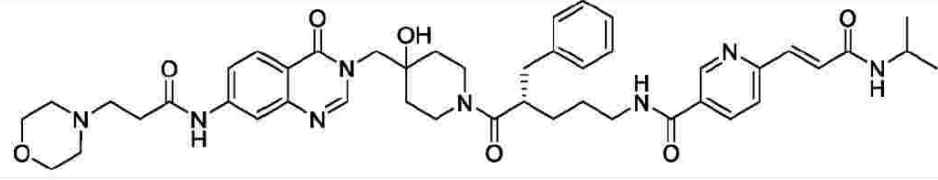
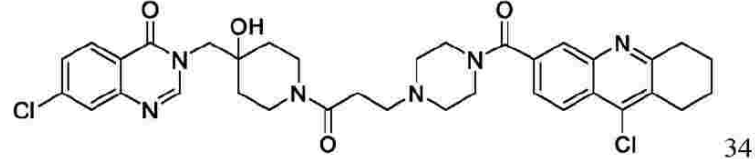
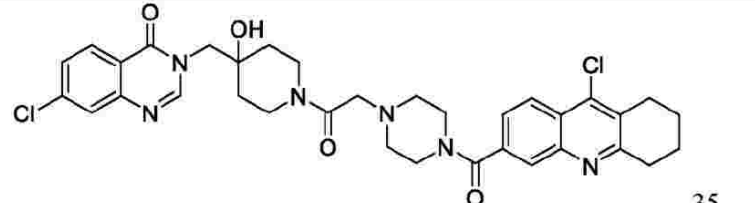
40

50

【表 A - 4】

化合物	
	22
	23
	24
	25
	26
	27

【表 A - 5】

化合物	
	28
	29
	30
	31
	32
	34
	35

10

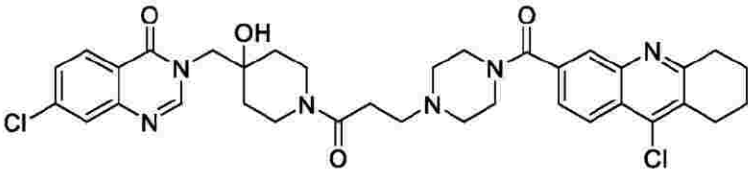
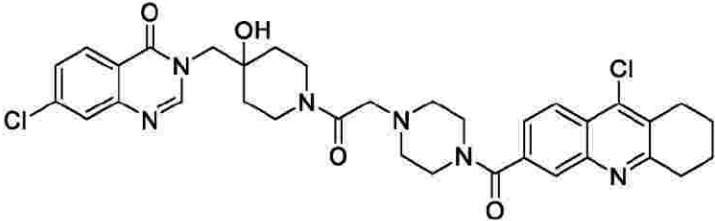
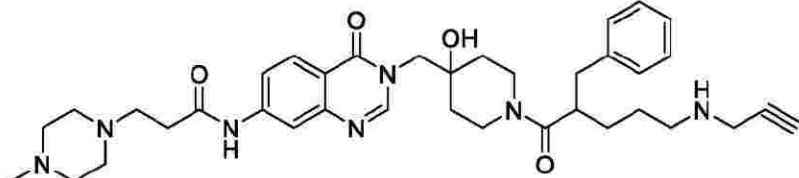
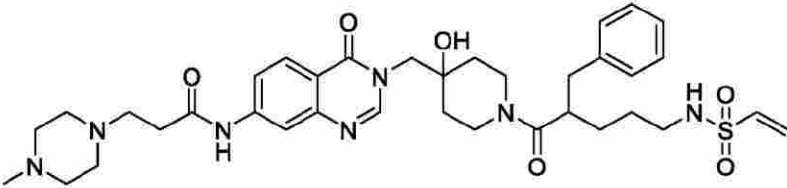
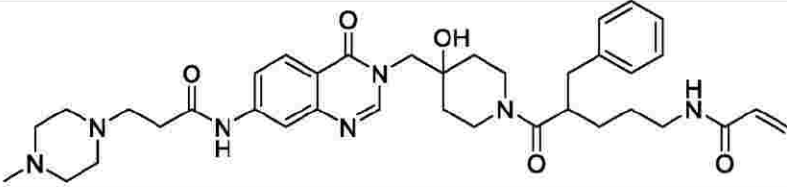
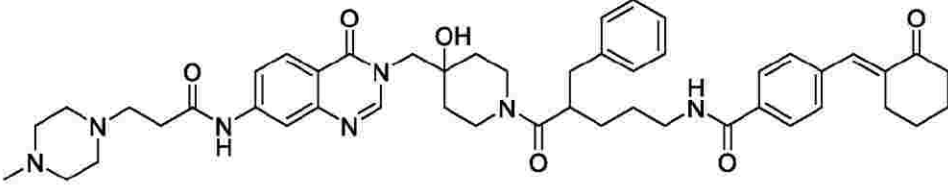
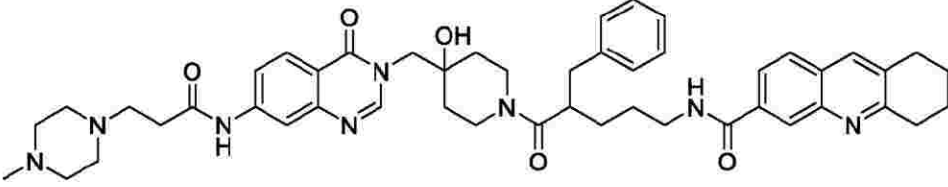
20

30

40

50

【表 A - 6】

化合物	
	34
	35
	36
	37
	38
	39
	40

10

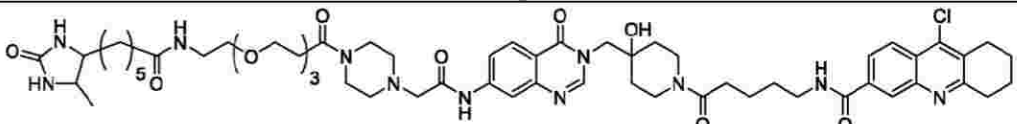
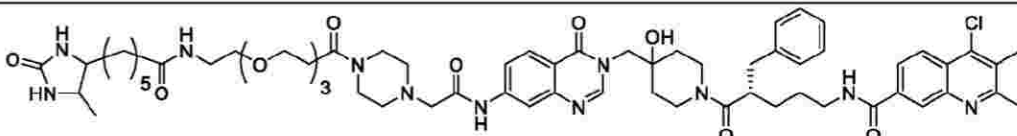
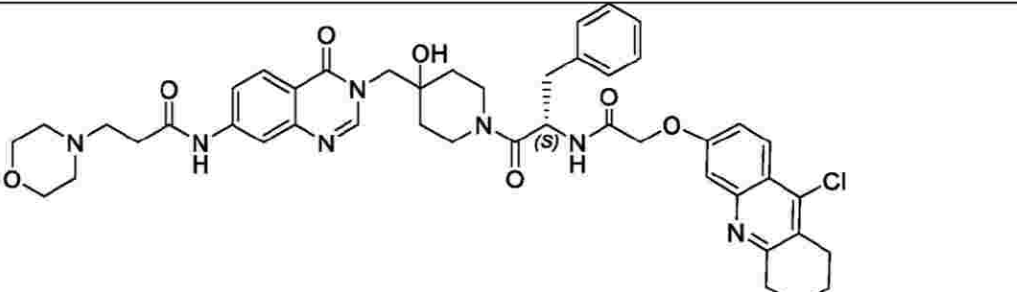
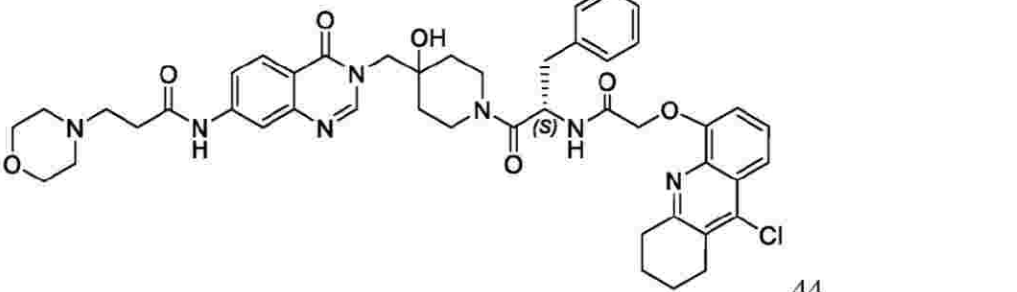
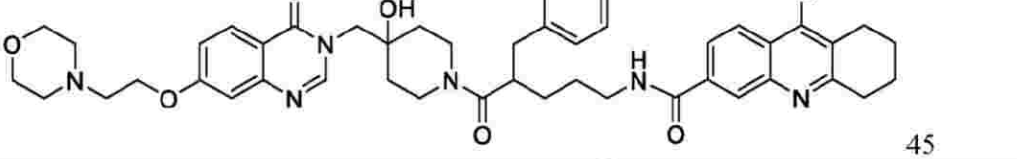
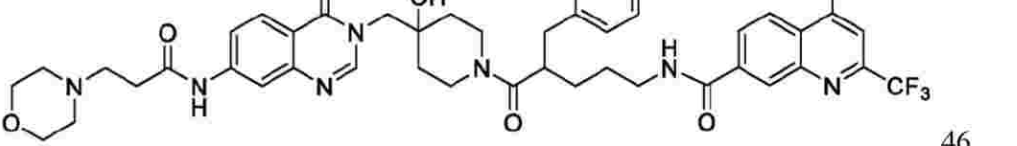
20

30

40

50

【表 A - 7】

化合物	
	41
	42
	43
	44
	45
	46

10

20

30

40

50

化合物



10



20



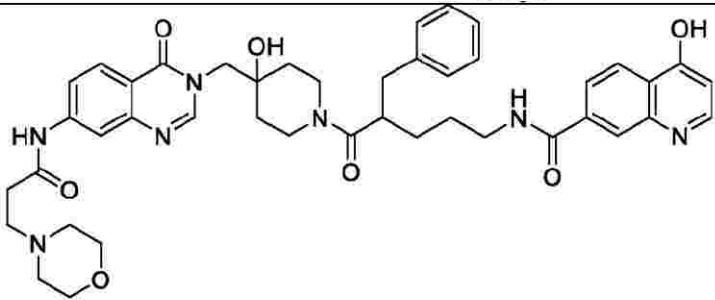
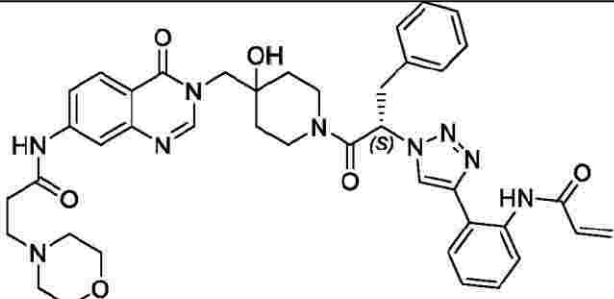
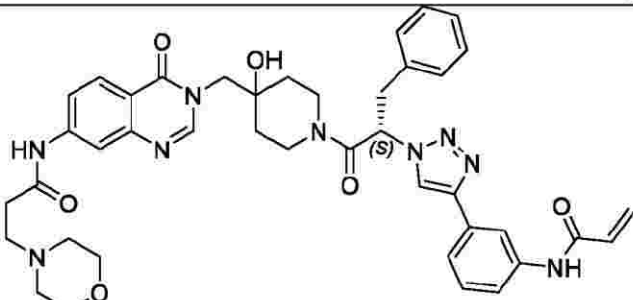
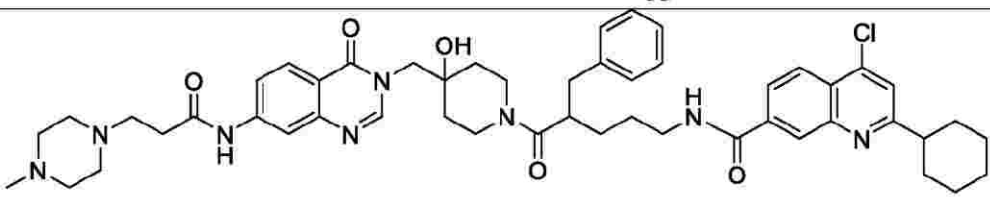
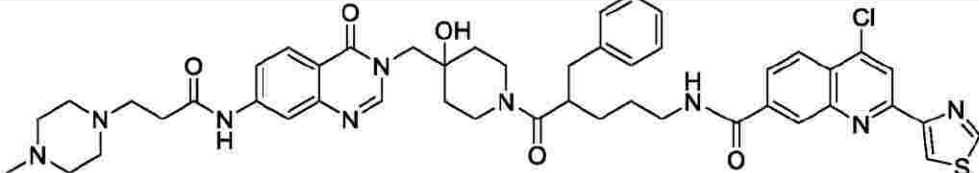
30



40

50

【表 A - 9】

化合物	
	51
	52
	53
	54
	55

10

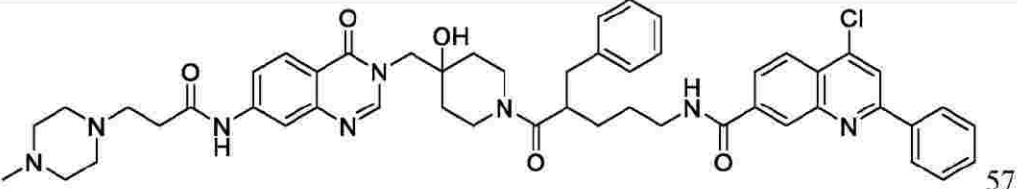
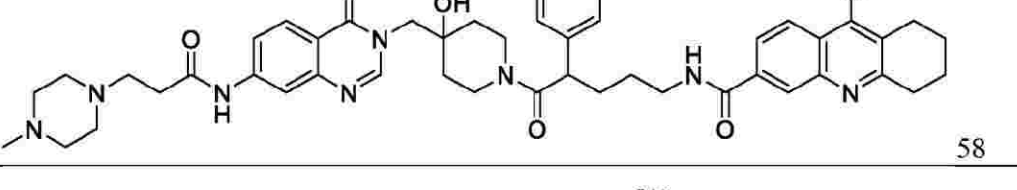
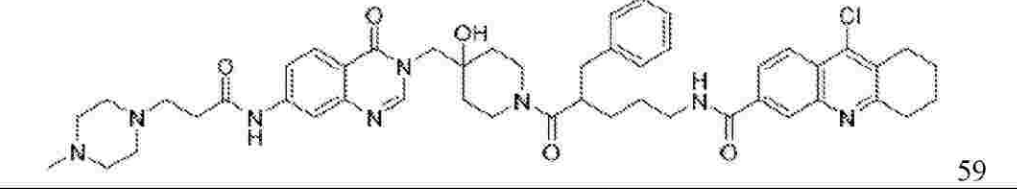
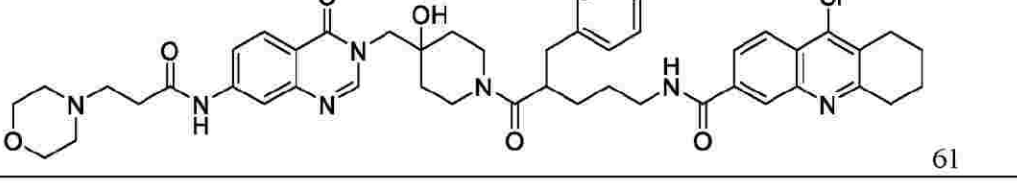
20

30

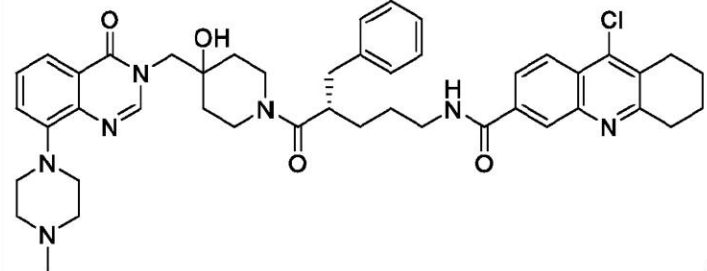
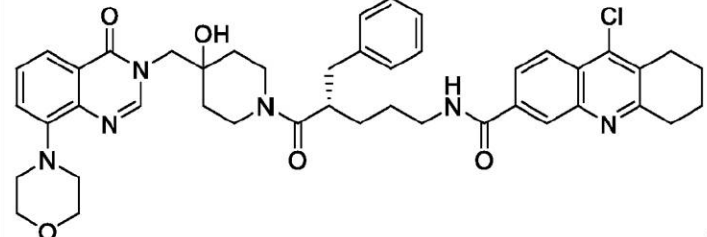
40

50

【表 A - 1 0】

化合物	
	56
	57
	58
	59
	60
	61

【表 A - 1 1】

化合物	
	62
	63

10

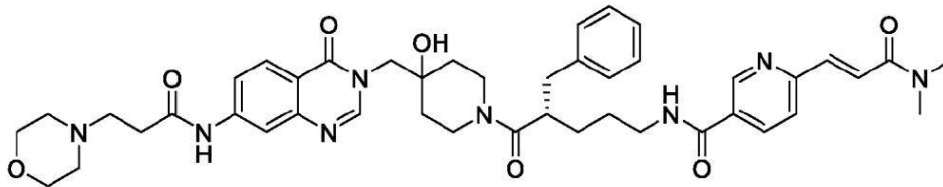
からなる群から選択されるか、またはその薬学的に許容される塩である。

【0045】

20

特定の実施形態では、式 I の化合物は、

【化 2 4】



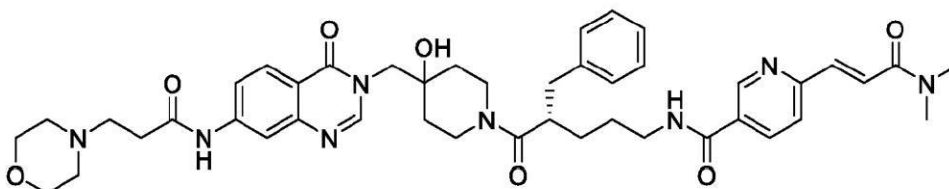
であるか、またはその薬学的に許容される塩である。

30

【0046】

特定の実施形態では、式 I の化合物は、

【化 2 5】



40

ではなく、またはその薬学的に許容される塩である。

【0047】

使用方法

ユビキチンは、76 残基のタンパク質であり、イソペプチド結合を介してタンパク質に動的にコンジュゲートされる。正準的には、ユビキチンの C 末端のグリシンは、基質であるリジンの側鎖に連結され、ユビキチンはまた、システイン、セリンおよびスレオニンの側鎖ならびに N 末端アミンを介して基質にコンジュゲートされ得る。McDowell, G. S. & Philpott, A. Non-canonical ubiquitylation: Mechanisms and consequences. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45, 1833–1842 (2013)。ユビキチン

50

自体は、7つのリジン側鎖を有し、これらのリジン側鎖またはN末端メチオニン残基を通してコンジュゲートされたユビキチンの天然の直鎖または混合鎖が存在する。ユビキチンのコンジュゲーションは、ユビキチン活性化酵素（E1）、結合酵素（E2）、連結酵素（E3）の協調作用によって達成され、脱ユビキチン酵素（DUB）によって元に戻すことができる。異なるトポロジーのモノユビキチンタグまたはユビキチン鎖は、タンパク質の立体構造の変化および多数の足場かけおよびアダプタータンパク質への結合を媒介し、ユビキチン化は、プロテアソーム分解（Nandi, D., et al., The Ubiquitin-Proteasome System. *J Biosci* 31, 137-155 (2016)）、膜輸送（Hurley, J. H. & Stenmark, H. *Molecular Mechanisms of Ubiquitin-Dependent Membrane Traffic*. *Annu. Rev. Biophys.* 40, 119-142 (2011)）、クロマチン動態（Shilatifard, A. *Chromatin Modifications by Methylation and Ubiquitination: Implications in the Regulation of Gene Expression*. *Annu. Rev. Biochem.* 75, 243-269 (2006)）、およびDNA修復（Jackson, S. P. & Durocher, D. *Review Regulation of DNA Damage Responses by Ubiquitin and SUMO*. *Mol. Cell* 49, 795-807 (2013)）を含む多くの細胞プロセスにおいて重要な役割を果たす。また、ユビキチンシグナル伝達は、癌（Senft, D., Qi, J. & Ronai, Z. A. *Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy*. *Nat. Rev. Cancer* 18, 69-88 (2018)）、Pinto-Fernandez, A. & Kessler, B. M. *DUBbing cancer: Deubiquitylating enzymes involved in epigenetics, DNA damage and the cell cycle as therapeutic targets*. *Front. Genet.* 7, 1-13 (2016)）、感染（Isaacson, M. K. & Ploegh, H. L. *Ubiquitination, Ubiquitin-like Modifiers, and Deubiquitination in Viral Infection*. *Cell Host Microbe* 5, 559-570 (2009)）、および神経変性（Ciechanover, A. & Brundin, P. *The ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases: sometimes the chicken, sometimes the egg*. *Neuron* 40, 427-446. *The ubiquitin proteasome system in neurodegeneration* (2003)）を含む多数の疾患環境においても関与する。特に、プロテアソーム阻害剤および二価基質-E3リガンドの両方が標的癌療法として承認されているように、ユビキチン・プロテアソーム系（UPS）は、腫瘍学における興味の対象となっている（Manasanch, E. E. & Orłowski, R. Z. *Proteasome inhibitors in cancer therapy*. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 14, 417-433 (2017)）、Bartlett, J. B., et al. *The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents*. *Nat. Rev. Cancer* 4, 314-322 (2004)）。現在、臨床においてDUB阻害剤は存在しない。これは、部分的には、前臨床疾患モデルにおける基本的なDUB生物学の探索および標的検証の両方に対処するための高品質なプローブ化合物の欠如によって導かれる現実である。

【0048】

7つの異なるファミリーに属する約100個のヒトDUBが存在し、そのうちの6つは、システインプロテアーゼ（ユビキチン特異的プロテアーゼ [USP]）、ユビキチンC末

10

20

30

40

50

端ヒドロラーゼ [UCH]、卵巣腫瘍プロテアーゼ [OTU]、Josephin、Mindy、およびZUFSP)であり、そのうちの1つは、亜鉛メタロプロテアーゼのファミリー (JAB/MPN/MOV34 [JAMM/MPN]) である。最近、USP7を標的とするいくつかの高品質プローブが開発されている。これらのプローブは、USP7に対する1桁または2桁のnMの効力、USP7触媒ドメイン結合の共構造確認、および40超のDUBに対する選択性を検証する活性プロファイリングの特性を共有する。Lamberto, I. et al. Structure-Guided Development of a Potent and Selective Non-covalent Active-Site Inhibitor of USP7. *Cell Chem. Biol.* 24, 1490–1500 (2017)、Kategaya, L. et al. USP7 small-molecule inhibitors interfere with ubiquitin binding. *Nature* 550, 534–538 (2017)、Turnbull, A. P. et al. Molecular basis of USP7 inhibition by selective small-molecule inhibitors. *Nature* 550, 481–486 (2017)、およびGavory, G. et al. Discovery and characterization of highly potent and selective allosteric USP7 inhibitors. 7, (2017)。まとめると、この研究は、USP7およびDUBの創薬可能性をより広く考える上で目覚ましい変化を表した：2017年以前、USPと小分子の共結晶構造が、タンパク質データバンク (PDB) に公開されておらず、研究によって報告されたDUBプロファイリングでは、以前に報告されたDUB阻害剤が典型的には弱い親和性 (1 μ M以上) を有し、DUB間で高い選択性を欠いていることが一貫して見出されていた。Ritorto, M. S. et al. Screening of DUB activity and specificity by MALDI-TOF mass spectrometry. *Nat. Commun.* 5, 4763 (2014)。

【0049】

USP7は、最も広く研究されたDUBの1つであり、複数の基質、細胞経路、および病態と関連付けられている。USP7は、ヘルペスウイルスE3リガーゼICP0の相互作用パートナーおよび安定剤として最初に発見された。Everett, R. D. et al. A novel ubiquitin-specific protease is dynamically associated with the PML nuclear domain and binds to a herpesvirus regulatory protein. 16, 1519–1530 (1997)。その後、USP7はまた、Mdm2 (Li, M., et al. A dynamic role of H A USP in the p53-Mdm2 pathway. *Mol. Cell* 13, 879–886 (2004))、UHRF1 (Ma, H. et al. M phase phosphorylation of the epigenetic regulator UHRF1 regulates its physical association with the deubiquitylase USP7 and stability. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 4828–4833 (2012))、TRIM27 (Zaman, M. M. –U. et al. Ubiquitination-Deubiquitination by the TRIM27-USP7 Complex Regulates Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Apoptosis. *Mol. Cell. Biol.* 33, 4971–4984 (2013))、RING1B (de Bie, P. et al. Regulation of the Polycomb protein RING1B ubiquitination by USP7. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 400, 389–395 (2010))、RAD18 (Zlatanou, A. et al. USP7 is essential for maintaining R

10

20

30

40

50

adl 8 stability and DNA damage tolerance. 35, 965–976 (2015))、RNF220 (Ma, P. et al. The Ubiquitin Ligase RNF220 Enhances Canonical Wnt Signaling through USP7-Mediated Deubiquitination of β -Catenin. *Mol. Cell. Biol.* 34, 4355–4366 (2014))、MARCH7 (Nathan, J. A. et al. The ubiquitin E3 ligase MARCH7 is differentially regulated by the deubiquitylating enzymes USP7 and USP9X. *Traffic* 9, 1130–1145 (2008))、RNF168 (Zhu, Q., Sharma, N., He, J., Wani, G. & Wani, A. A. USP7 deubiquitinase promotes ubiquitin-dependent DNA damage signaling by stabilizing RNF168. *Cell Cycle* 14, 1413–1425 (2015))、およびRNF169 (An, L. et al. Dual-utility NLS drives RNF169-dependent DNA damage responses. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, E2872–E2881 (2017))を含む多数の哺乳動物E3リガーゼと相互作用し、それらを調節することが報告されている。さらに、USP7は、GMPおよびUVSSAの両方とのバイナリー複合体において見出されており、USP7の結合は、これらのタンパク質の細胞機能に不可欠であると思われる。Van Der Knaap, J. A. et al. GMP synthetase stimulates histone H2B deubiquitylation by the epigenetic silencer USP7. *Mol. Cell* 17, 695–707 (2005)、Schwertman, P. et al. UV-sensitive syndrome protein UVSSA recruits USP7 to regulate transcription-coupled repair. *Nat. Genet.* 44, 598–602 (2012)。

【0050】

これらすべての可能性のある基質のうち、USP7のMDM2との相互作用は、機構的および治療的な観点から、最も関心を集めている。USP7は、そのTRAFドメインを介してMDM2およびp53の両方に結合し、これらのタンパク質の両方に対してDUB活性を有することが示されている。USP7が分子スイッチとして機能するという新たな仮説が浮上しており、USP7は、正常な細胞増殖中にMDM2を脱ユビキチン化して安定化させるが、細胞ストレスシグナルの存在下では、その好ましい基質がp53へと変化する。Brazhnik, P. & Kohn, K. W. HAUSP-regulated switch from auto- to p53 ubiquitination by Mdm2 (in silico discovery). *Math. Biosci.* 210, 60–77 (2007) ; Kim, R. Q. & Sixma, T. K. Regulation of USP7: A high incidence of E3 complexes. *J. Mol. Biol.* 429, 3395–3408 (2017)。腫瘍抑制におけるp53の重要な役割を考慮すると、USP7は、TP53-WT腫瘍における治療標的として提案されており、MDM2-p53相互作用阻害剤であるRG-7388およびMDM2/MDM4二重阻害剤であるATSP-7041(両方とも現在臨床試験中)の効果と同様に、p53タンパク質レベルの増加を伴う推定上の作用機序を有する。Ding, Q. et al. Discovery of RG7388, a potent and selective p53-MDM2 inhibitor in clinical development. *J. Med. Chem.* 56, 5979–5983 (2013)、Chang, Y. S. et al. Stapled α -helical peptide drug development: A potent dual inhibitor of MDM2 and MDMX for p53-dependent canc

10

20

30

40

50

er therapy. Proc. Natl. Acad. Sci. 110, E3445–E3454 (2013)。しかしながら、USP7が複数の基質を標的とすることを考慮すると、USP7阻害に対する応答を予測する際のp53変異状態の相対的重要性について、多くの議論がある。非選択的USP7阻害剤に関するいくつかの以前の研究では、USP7阻害剤がp53WTおよび変異型疾患の両方に対して有効であることが示されている。Chauhan, D. et al. Article A Small Molecule Inhibitor of Ubiquitin-Specific Protease-7 Induces Apoptosis in Multiple Myeloma Cells and Overcomes Bortezomib Resistance. Cancer Cell 22, 345–358 (2012)、Wang, M. et al. The USP7 Inhibitor P5091 Induces Cell Death in Ovarian Cancers with Different P53 Status. Cell. Physiol. Biochem. 43, 1755–1766 (2018)。これらの結果は、GenentechのDUB選択的USP7阻害剤であるGNE-6640を使用する研究で支持されており、GNE-6640は、181細胞のパネルでスクリーニングした場合、TP53-WTまたは変異体細胞株において有意に異なる応答は生じなかった。Kategaya, L. et al. USP7 small-molecule inhibitors interfere with ubiquitin binding. Nature 550, 534–538 (2017)。他方、選択的USP7阻害剤である化合物42の場合、TP53の状態は、ユーイング肉腫および他の癌細胞型における応答の重要な予測因子であることが見出されている。Roti, G. et al., J. Exp. Med., 215, 197–216 (2018)。

【0051】

選択的USP7阻害剤の以前の報告で欠けていた主要な部分の1つは、DUBファミリー外のオフターゲットのスペクトルであった。十分に注解されたオフターゲットプロファイルは、USP7阻害剤のp53非依存的な効果が、他のUSP7基質または他の化合物標的に起因するかどうかを明らかにするのに役立つであろう。USP7の触媒ドメインに結合した化合物42の構造に基づいて、USP7/p53生物学に関するプロテオームワイドのプロファイリング実験およびフォローアップ研究に十分であろう不可逆的でアフィニティタグ化可能な類似体の合理的な合成を設計した。

【0052】

USP7はまた、Bmi1/Mel18安定化を介してp16^{INK4a}腫瘍抑制因子のレベルを変化させる。Maertens et al., Embo J. 29, 2553–2565 (2010)。DNMT1 DNAメチラーゼおよびクラスピンアダプターなどのゲノム完全性／調節に関与する追加のタンパク質もまた、USP7によって安定化される。Du et al., Science Signaling, 3 (146):ra80 (2010)、Faustrop et al., J. Cell Biol., 184 (1):13–9 (2009)。重要なことに、発生および癌に関与する遺伝子の発現を抑制するために必要なエピジェネティックなメチル化の維持に関与するタンパク質であるUSP7およびDNMT1の豊富さは、ヒト結腸癌において相関する (Du et al., 2010)。また、USP7は、ヒト細胞において、よく知られた腫瘍抑制遺伝子であるPTENを脱ユビキチン化することも示されており、これは、その核外移行、したがってその不活性化を誘発する。Song et al., Nature, 455 (7214), 813–7 (2008)。より重要なことに、USP7の過剰発現は、前立腺癌において初めて報告され、この過剰発現は腫瘍侵襲性と直接的に関連した (Song et al., 2008)。

【0053】

最近、メチルトランスフェラーゼPHF8 (Wang et al., 2016a)、デメチラーゼDNMT1 (Du et al., 2010、Felle et al., Nucleic Acids Res, 39, 8355–65, 2011、Qin et al

., J Cell Biochem, 112, 439-44, 2011)、およびアセチル
トランスフェラーゼ Tip60 (Dar et al., Mol Cell Biol, 3
3, 3309-20, 2013)、ならびにH2B自体 (van der Knaap et
al., Mol Cell, 17, 695-707, 2005)は、USP7の直接的
な標的として同定されている。USP7の他の注目すべき標的としては、Treg細胞に
おいてこのDUB酵素を免疫応答に関連付ける転写因子であるFOXP3 (van Lo
osdregt et al., Immunity, 39, 259-71, 2013)、お
よび神経芽腫細胞で安定化されるN-Mycが挙げられる。Tavana et al.,
Nat Med, 22, 1180-1186, 2016。多様な基質および生物学的プロ
セスのその調節と一致して、USP7は、多発性骨髄腫 (Chauhan et al.,
Cancer Cell, 22, 345-58, 2012)、乳癌 (Wang et al.,
2016a)、神経芽腫 (Tavana et al., 2016)、神経膠腫 (Ch
eng et al., Oncol Rep, 29, 1730-6, 2013)、および卵
巣癌 (Zhang et al., Tohoku J Exp Med, 239, 165-
75, 2016)を含む幅広い悪性腫瘍における薬物標的として浮上してきた。また、U
SP7は、ヒト細胞においてFOXO4を脱ユビキチン化して、その核外移行、したがっ
てその不活性化を誘発し、発癌性PI3K/PKBのシグナル伝達経路を活性化する (v
an der Horst et al., Nat Cell Biol. 2006, 8, 1
064-1073)ことが示されている。最後に、USP7は、DNA損傷および酸化ス
トレスなどの様々な種類のストレスに対するp53媒介性細胞応答において重要な役割を
果たす (Marchenko et al., Embo J. 2007 26, 923-9
34、Meulmeester et al., Mol Cell 2005, 18, 56
5-576、van der Horst et al., Nat Cell Biol. 2
006, 8, 1064-1073)。

【0054】

多発性骨髄腫 (MM)は、正常な血液細胞の産生を妨害する、骨髄における異常な形質
細胞の蓄積を特徴とする不治の血液悪性腫瘍である。MM患者の平均生存率は、プロテア
ソーム阻害剤および免疫調節剤を治療レジメンに導入した結果、近年改善しているが、依
然としてかなり低く、わずか5年である。プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブは、MM薬
物開発の治療標的としてユビキチンプロテアソーム系の有効性を確証する。USP7は、
そのp53の分解における役割から、MMにおける治療標的である。USP7は、MM患
者の腫瘍細胞およびMM細胞株において、正常骨髄細胞と比較して高度に発現する。TP
53における変異または欠失は、MMにおける後期事象であり、USP7の薬理的阻害
を介してp53を増加させることが、この悪性腫瘍の有効な治療方針であり得ることを示
唆する。

【0055】

ユーイング肉腫は、骨または骨の周囲の軟組織に発生する稀な種類の癌である。ユーイ
ング肉腫は、青少年や若年成人に多く見られる。ユーイング肉腫のための現在の標準治療
は、化学療法、放射線療法、および手術である。

【0056】

USP7の調節から利益を受ける疾患および病態を治療および予防するための方法が本
明細書に開示され、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のう
ちのいずれか1つを、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0057】

USP7の阻害から利益を受ける疾患および病態を治療および予防するための方法が本
明細書に開示され、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のう
ちのいずれか1つを、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0058】

USP7を阻害するための方法が本明細書に開示され、本明細書に開示される化合物ま
たはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つを、それを必要とする対象に投与す

ることを含む。

【0059】

一部の実施形態では、USP7によって調節される疾患または障害を治療する方法が本明細書に開示され、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つを、それを必要とする対象に投与することを含む。一部の実施形態では、USP7によって調節される疾患または障害を予防する方法が本明細書に開示され、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つを、それを必要とする対象に投与することを含む。一部の実施形態では、USP7の調節は、USP7の阻害を伴う。

【0060】

一部の実施形態では、疾患または障害は、癌および転移、神経変性疾患、免疫学的障害、糖尿病、骨関節疾患、骨粗鬆症、関節炎炎症性障害、心血管疾患、虚血性疾患、ウイルス感染症およびウイルス性疾患、ウイルス感染性および／またはウイルス潜伏性、ならびに細菌感染および細菌性疾患から選択される。

【0061】

USP7によって調節される疾患または病態を治療または予防するための薬剤の調製のためのUSP7の阻害剤の使用が本明細書に開示され、薬剤は、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つを含む。

【0062】

USP7によって調節される疾患または病態の治療に使用するための、開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つが本明細書に開示される。

【0063】

癌を治療する方法が本明細書に開示され、それを必要とする対象に、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つを投与することを含む。

【0064】

USP7を阻害する方法が本明細書に開示され、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つが、USP7と共有結合を形成する。一部の実施形態では、USP7のシステイン残基と共有結合が形成される。一部の実施形態では、USP7のシステイン残基は、システイン223（C223）である。

【0065】

本明細書に開示される方法および使用の一部の実施形態では、USP7の調節は、USP7を阻害することを伴う。一部の実施形態では、USP7の阻害は、不可逆的である。一部の実施形態では、USP7を阻害することは、疾患または病態の新規治療である。

【0066】

一部の実施形態では、例示的な癌には、p53WT癌が含まれるが、これに限定されない。

【0067】

一部の実施形態では、例示的な癌には、固形腫瘍が含まれるが、これに限定されない。

【0068】

一部の実施形態では、例示的な癌としては、脂肪肉腫、神経芽腫、神経膠芽腫、乳癌、膀胱癌、神経膠腫、副腎皮質癌、多発性骨髄腫、大腸癌、結腸癌、前立腺癌、非小細胞肺癌、ヒトパピローマウイルス関連子宮頸癌、中咽頭癌、陰茎癌、卵巣癌、肛門癌、甲状腺癌、膣癌、エプスタインバーウイルス関連上咽頭癌、胃癌、直腸癌、甲状腺癌、ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、およびユーイング肉腫が挙げられるが、これらに限定されない。

【0069】

一部の実施形態では、癌は、神経芽腫、多発性骨髄腫、乳癌、神経膠腫、結腸癌、前立腺癌、および卵巣癌から選択される。一部の実施形態では、癌は、神経芽腫、乳癌、神経膠腫、多発性骨髄腫、または卵巣癌である。一部の実施形態では、癌は、多発性骨髄腫である。一部の実施形態では、癌は、ユーイング肉腫である。

10

20

30

40

50

【0070】

神経変性疾患を治療する方法が本明細書に開示され、それを必要とする対象に、本明細書に開示される化合物またはその薬学的に許容される塩のうちのいずれか1つを投与することを含む。

【0071】

一部の実施形態では、神経変性疾患としては、アルツハイマー病、多発性硬化症、ハンチントン病、感染性髄膜炎、脳脊髄炎、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、または脳炎が挙げられるが、これらに限定されない。

【0072】

特定の実施形態では、本発明の化合物は、単独で、または別の種類の治療剤と併用して投与され得る。本明細書で使用される場合、「併用投与 (conjoint administration)」という語句は、以前に投与された治療用化合物が依然として体内で有効であるなか、第2の化合物が投与されるように、2つ以上の異なる治療用化合物の任意の形態の投与を指す（例えば、2つの化合物が対象において同時に有効であり、2つの化合物の相乗効果を含み得る）。例えば、異なる治療用化合物は、同時または逐次のいずれかで、同じ製剤または別個の製剤のいずれかで、投与され得る。特定の実施形態では、異なる治療用化合物は、互いに1時間、12時間、24時間、36時間、48時間、72時間、または1週間以内に投与され得る。したがって、かかる治療を受ける対象は、異なる治療用化合物の併用効果から利益を得ることができる。

【0073】

特定の実施形態では、本発明の化合物と1つ以上の追加の治療剤（複数可）との併用投与は、本発明の化合物（例えば、式IまたはIaの化合物）または1つ以上の追加の治療剤（複数可）の各個別投与と比べて、改善された有効性を提供する。特定のそのような実施形態では、併用投与は、相加効果を提供し、相加効果は、本発明の化合物と1つ以上の追加の治療剤との個別投与の効果の和を指す。一部の実施形態では、併用投与は、相乗効果を提供する。一部の実施形態では、この併用指標 (combination index) は0.6未満である。

【0074】

一部の実施形態では、追加の治療剤は、DNA損傷剤である。一部の実施形態では、追加の治療剤は、p53安定化剤である。一部の実施形態では、追加の治療剤は、RG7388、エトポシド、GSK2830371、およびドキソルビシンから選択される。

【0075】

定義

別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本開示の技術分野の当業者によって一般的に理解される意味を有する。以下の参考文献は、当業者に、本開示で使用される用語の多くの一般的な定義を提供する：Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994)、The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)、The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991)、およびHale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)。本明細書で使用される場合、以下の用語は、別段の指定がない限り、以下でそれらに帰属する意味を有する。

【0076】

本開示において、「含む (comprises)」、「含む (comprising)」、「含有する (containing)」、および「有する (having)」などは、米国特許法においてそれらに帰属する意味を有することができ、「含む (includes)」、「含む (including)」などを意味することができる。「から本質的になる (consisting essentially of)」または「本質的になる

(consists essentially)」も同様に、米国特許法に帰属する意味を有し、この用語は、列挙されるものの基本的または新規な特徴が、列挙されるものよりも多い存在によって変化しないが、先行技術の実施形態を除外する限り、列挙されるものよりも多い存在を可能にする。

【0077】

「または」という用語は、本明細書で使用される場合、具体的に記載されていないか、または文脈から明らかでない限り、包含的であると理解される。「a」、「an」、および「the」という用語は、本明細書で使用される場合、具体的に記載されていないか、または文脈から明らかでない限り、単数または複数であると理解される。

【0078】

「および／または」という用語は、別段の指定がない限り、「および」あるいは「または」のいずれかを意味するように本開示で使用される。

【0079】

用語「アシル」は、当該技術分野で認識され、一般式ヒドロカルビルC(=O)－、好ましくはアルキルC(=O)－によって表される基を指す。

【0080】

用語「アシルアミノ」は、当該技術分野で認識され、アシル基で置換されたアミノ基を指し、例えば、式ヒドロカルビルC(=O)NH－によって表され得る。

【0081】

用語「アルコキシ」は、それに結合した酸素を有するアルキル基、好ましくは低級アルキル基を指す。代表的なアルコキシ基は、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、tert-ブトキシなどを含む。

【0082】

用語「アルコシアルキル」は、アルコキシ基で置換されたアルキル基を指し、一般式アルキル-O-アルキルによって表され得る。

【0083】

「アルケニル」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも1つの二重結合を含有する脂肪族基を指し、「非置換アルケニル」および「置換アルケニル」の両方を含むことが意図され、後者は、アルケニル基の1つ以上の炭素上に水素を置換する置換基を有するアルケニル部分を指す。そのような置換基は、1つ以上の二重結合に含まれるか、または含まれない1つ以上の炭素上で生じ得る。さらに、そのような置換基には、安定性が禁制的である場合を除いて、以下で考察されるように、アルキル基に対して企図されるすべての置換基が含まれる。例えば、1つ以上のアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリール基によるアルケニル基の置換が企図される。

【0084】

「アルキル」基または「アルカン」は、完全に飽和した直鎖状または分岐状の非芳香族炭化水素である。典型的には、直鎖状または分岐状のアルキル基は、別段の定義がない限り、1～約20個の炭素原子、好ましくは1～約10個の炭素原子を有する。直鎖状および分岐状のアルキル基の例としては、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル、ペンチル、およびオクチルが挙げられる。C1～C6の直鎖状または分岐状のアルキル基は、「低級アルキル」基とも称される。

【0085】

さらに、本明細書、実施例、および特許請求の範囲を通して使用される「アルキル」（または「低級アルキル」）という用語は、「非置換アルキル」および「置換アルキル」の両方を含むことが意図され、後者は、炭化水素骨格の1つ以上の炭素上に水素を置換する置換基を有するアルキル部分を指す。そのような置換基は、別段の指定がない場合、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル（カルボキシル、アルコシカルボニル、ホルミル、またはアシルなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アルコキシル、ホスホリル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフ

10

20

30

40

50

イネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、または芳香族もしくは複素芳香族部分を含むことができる。適切であれば、炭化水素鎖上で置換された部分自体が置換され得ることが当業者には理解されるであろう。例えば、置換アルキルの置換基は、アミノ、アジド、イミノ、アミド、ホスホリル（ホスホネートおよびホスフィネートを含む）、スルホニル（スルフェート、スルホンアミド、スルファモイルおよびスルホネートを含む）、ならびにシリル基、ならびにエーテル、アルキルチオ、カルボニル（ケトン、アルデヒド、カルボキシレート、およびエステルを含む）、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などの置換および非置換形態を含み得る。例示的な置換アルキルを以下に記載する。シクロアルキルは、アルキル、アルケニル、アルコキシ、アルキルチオ、アミノアルキル、カルボニル置換アルキル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などでさらに置換され得る。さらに、価が許す限り、「アルキル」はジラジカル（例えば、「アルキレン」）も指す。

【0086】

「 C_{x-y} 」という用語は、化学部分、例えば、アシル、アシルオキシ、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはアルコキシと併用する場合、鎖中に $x \sim y$ 個の炭素を含有する基を含むことを意味する。例えば、「 C_{x-y} アルキル」という用語は、トリフルオロメチルおよび 2, 2, 2-トリフルオロエチルなどのハロアルキル基を含む、鎖中に $x \sim y$ 個の炭素を含有する直鎖アルキルおよび分岐鎖アルキル基を含む、置換または非置換の飽和炭化水素基を指す。C0 アルキルは、基が末端位置にある水素、内部であれば結合を示す。用語「 C_{2-y} アルケニル」および「 C_{2-y} アルキニル」は、上記のアルキルの鎖長または可能な置換と類似しているが、それぞれ、少なくとも 1 つの二重結合または三重結合を含有する、置換または非置換の不飽和脂肪族基を指す。

【0087】

「ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、炭素原子および少なくとも 1 つのヘテロ原子の飽和または不飽和鎖を指し、2 つのヘテロ原子は隣接していない。

【0088】

さらに、本明細書、実施例、および特許請求の範囲を通して使用される「ヘテロアルキル」（または「低級ヘテロアルキル」）という用語は、「非置換ヘテロアルキル」および「置換ヘテロアルキル」の両方を含むことが意図され、後者は、骨格の 1 つ以上の炭素またはヘテロ原子上に水素を置換する置換基を有するヘテロアルキル部分を指す。そのような置換基は、別段の指定がない場合、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル（カルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミル、またはアシルなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アルコキシル、ホスホリル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、または芳香族もしくは複素芳香族部分を含むことができる。適切であれば、ヘテロアルキル鎖上で置換された部分自体が置換され得ることが当業者には理解されるであろう。例えば、置換ヘテロアルキルの置換基は、アミノ、アジド、イミノ、アミド、ホスホリル（ホスホネートおよびホスフィネートを含む）、スルホニル（スルフェート、スルホンアミド、スルファモイルおよびスルホネートを含む）、ならびにシリル基、ならびにエーテル、アルキルチオ、カルボニル（ケトン、アルデヒド、カルボキシレート、およびエステルを含む）、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などの置換および非置換形態を含み得る。

【0089】

「アルキルアミノ」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも 1 つのアルキル基で置換されたアミノ基を指す。

【0090】

「アルキルチオ」という用語は、本明細書で使用される場合、アルキル基で置換されたチオール基を指し、一般式アルキルS-によって表され得る。

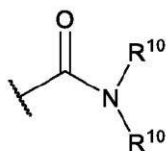
【0091】

「アルキニル」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも1つの三重結合を含有する脂肪族基を指し、「非置換アルキニル」および「置換アルキニル」の両方を含むことが意図され、後者は、アルキニル基の1つ以上の炭素上に水素を置換する置換基を有するアルキニル部分を指す。そのような置換基は、1つ以上の三重結合に含まれるか、または含まれない1つ以上の炭素上で生じ得る。さらに、そのような置換基には、安定性が禁制的である場合を除いて、上で考察されたように、アルキル基に対して企図されるすべての置換基が含まれる。例えば、1つ以上のアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリール基によるアルキニル基の置換が企図される。

【0092】

「アミド」という用語は、本明細書で使用される場合、基を指す。

【化26】

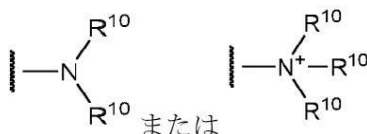


式中、各 R^{10} は、独立して、水素もしくはヒドロカルビル基を表すか、または2つの R^{10} は、それらが結合するN原子と共に、環構造中に4～8個の原子を有する複素環を完成させる。

【0093】

「アミン」および「アミノ」という用語は、当該技術分野で認識され、非置換および置換アミン、ならびにそれらの塩（例えば、次に表され得る部分）の両方を指す。

【化27】



式中、各 R^{10} は、独立して、水素もしくはヒドロカルビル基を表すか、または2つの R^{10} は、それらが結合するN原子と共に、環構造中に4～8個の原子を有する複素環を完成させる。「アミノアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、アミノ基で置換されたアルキル基を指す。

【0094】

「アラルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、アリール基で置換されたアルキル基を指す。

【0095】

本明細書で使用される「アリール」という用語は、環の各原子が炭素である置換または非置換の単環芳香族基を含む。好ましくは、環は5～7員環、より好ましくは6員環である。また、「アリール」という用語は、2つ以上の炭素が2つの隣接する環で共通している2つ以上の環式環を有する多環式環系を含み、環の少なくとも1つは芳香族であり、例えば、他の環式環は、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、および／またはヘテロシクリルであり得る。アリール基は、ベンゼン、ナフタレン、フェナントレン、フェノール、アニリンなどを含む。さらに、価が許す限り、「アリール」はジラジカル（例えば、「アリーレン」）も指す。

【0096】

用語「カルバメート」は、当該技術分野で認識され、基を指す。

10

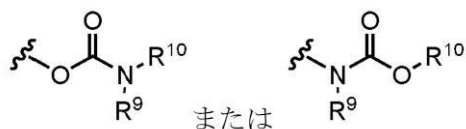
20

30

40

50

【化 28】



式中、 R^9 および R^{10} は、独立して、水素またはヒドロカルビル基、例えば、アルキル基を表すか、あるいは R^9 および R^{10} は、介在する原子（複数可）と共に、環構造中に 4 ～ 8 個の原子を有する複素環を完成する。

【0097】

「炭素環」および「炭素環式」という用語は、本明細書で使用される場合、環の各原子が炭素である飽和環または不飽和環を指す。炭素環という用語は、芳香族炭素環および非芳香族炭素環の両方を含む。非芳香族炭素環としては、すべての炭素原子が飽和しているシクロアルカン環、および少なくとも 1 つの二重結合を含有するシクロアルケン環の両方が挙げられる。

【0098】

用語「炭素環」は、5 ～ 7 員単環式および 8 ～ 12 員二環式環を含む。二環式炭素環の各環は、飽和環、不飽和環、および芳香族環から選択され得る。炭素環は、2 つの環の間に 1 つ、2 つまたは 3 つ以上の原子が共有される二環式分子を含む。「縮合炭素環」という用語は、環の各々が他方の環と 2 つの隣接する原子を共有する二環式炭素環を指す。縮合炭素環の各環は、飽和環、不飽和環、および芳香族環から選択され得る。例示的な実施形態では、芳香族環、例えば、フェニルは、飽和環または不飽和環、例えば、シクロヘキサン、シクロペンタン、またはシクロヘキセンに融合され得る。価が許す限り、飽和、不飽和および芳香族の二環式環の任意の組み合わせが炭素環式の定義に含まれる。例示的な「炭素環」としては、シクロペンタン、シクロヘキサン、ビスシクロ [2. 2. 1] ヘプタン、1, 5-シクロオクタジエン、1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフタレン、ビスシクロ [4. 2. 0] オクト-3-エン、ナフタレン、およびアダマンタンが挙げられる。例示的な縮合炭素環としては、デカリン、ナフタレン、1, 2, 3, 4-テトラヒドロアクリジン、1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフタレン、ビスシクロ [4. 2. 0] オクタン、4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-インデン、およびビスシクロ [4. 1. 0] ヘプター-3-エンが挙げられる。「炭素環」は、水素原子を有し得る任意の 1 つ以上の位置で置換され得る。

【0099】

「シクロアルキル」基は、完全に飽和した環式炭化水素である。「シクロアルキル」には、単環式および二環式の環が含まれる。典型的には、単環式シクロアルキル基は、別途定義されない限り、3 ～ 約 10 個の炭素原子、より典型的には 3 ～ 8 個の炭素原子を有する。二環式シクロアルキルの第 2 の環は、飽和環、不飽和環、および芳香族環から選択され得る。シクロアルキルは、2 つの環の間に 1 つ、2 つまたは 3 つ以上の原子が共有される二環式分子を含む。さらに、価が許す限り、「シクロアルキル」はジラジカル（例えば、「シクロアルキレン」）も指す。「縮合シクロアルキル」という用語は、環の各々が他方の環と 2 つの隣接する原子を共有する二環式シクロアルキルを指す。縮合二環式シクロアルキルの第 2 の環は、飽和環、不飽和環、および芳香族環から選択され得る。「シクロアルケニル」基は、1 つ以上の二重結合を含有する環式炭化水素である。

【0100】

「カルボシクリルアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、炭素環基で置換されたアルキル基を指す。

【0101】

用語「カーボネート」は、当該技術分野で認識され、基 $-OCO_2-R^{10}$ を指し、式中、 R^{10} は、ヒドロカルビル基を表す。

【0102】

「カルボキシ」という用語は、本明細書で使用される場合、式 $\text{—CO}_2\text{H}$ で表される基を指す。

【0103】

「エステル」という用語は、本明細書で使用される場合、 —C(O)OR_{10} 基を指し、式中、 R_{10} はヒドロカルビル基を表す。

【0104】

「エーテル」という用語は、本明細書で使用される場合、酸素を介して別のヒドロカルビル基に連結されたヒドロカルビル基を指す。したがって、ヒドロカルビル基のエーテル置換基は、ヒドロカルビル —O— であり得る。エーテルは、対称または非対称のいずれであってもよい。エーテルの例としては、複素環 —O— 複素環およびアリール —O— 複素環が挙げられるが、これらに限定されない。エーテルとしては、一般式アルキル —O— アルキルによって表され得る「アルコキシアルキル」基が挙げられる。

【0105】

本明細書で使用される「ハロ」および「ハロゲン」という用語は、ハロゲンを意味し、クロロ、フルオロ、ブロモ、およびヨードを含む。

【0106】

「ヘタラルキル」および「ヘテロアラルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、ヘタリール基で置換されたアルキル基を指す。

【0107】

用語「ヘテロアリール」および「ヘタリール」は、置換または非置換の芳香族単環構造、好ましくは5～7員環、より好ましくは5～6員環を含み、その環構造は、少なくとも1つのヘテロ原子、好ましくは1～4個のヘテロ原子、より好ましくは1つまたは2つのヘテロ原子を含む。また、「ヘテロアリール」および「ヘタリール」という用語は、2つ以上の炭素が2つの隣接する環で共通している2つ以上の環式環を有する多環式環系を含み、環の少なくとも1つは、複素芳香族であり、例えば、他の環式環は、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、および／またはヘテロシクリルであり得る。ヘテロアリール基は、例えば、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン、およびピリミジンなどを含む。さらに、価が許す限り、「ヘテロアリール」は、ジラジカル（例えば、「ヘテロアリーレン」）も指す。

【0108】

本明細書で使用される「ヘテロ原子」という用語は、炭素または水素以外の任意の元素の原子を意味する。好ましいヘテロ原子は、窒素、酸素、および硫黄である。

【0109】

用語「ヘテロシクリル」、「複素環」、および「複素環式」は、置換または非置換の非芳香族環構造、好ましくは3～10員環、より好ましくは3～7員環を指し、その環構造は、少なくとも1つのヘテロ原子、好ましくは1～4個のヘテロ原子、より好ましくは1つまたは2つのヘテロ原子を含む。また、「ヘテロシクリル」および「複素環式」という用語は、2つ以上の炭素が2つの隣接する環で共通している2つ以上の環式環を有する多環式環系を含み、環の少なくとも1つは複素環式であり、例えば、他の環式環は、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、および／またはヘテロシクリルであり得る。ヘテロシクリル基として、例えば、ピペリジン、ピペラジン、ピロリジン、モルホリン、ラクトン、ラクタムなどが挙げられる。さらに、価が許す限り、「ヘテロシクリル」は、ジラジカル（例えば、「ヘテロシクリレン」）も指す。

【0110】

「ヘテロシクロアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、複素環基で置換されたアルキル基を指す。

【0111】

「ヒドロカルビル」という用語は、本明細書で使用される場合、 =O または =S 置換基を有さず、典型的には少なくとも1つの炭素-水素結合および主に炭素骨格を有するが、

10

20

30

40

50

任意選択的にヘテロ原子を含み得る炭素原子を介して結合される基を指す。したがって、メチル、エトキシエチル、2-ピリジル、およびトリフルオロメチルなどの基は、本出願の目的ではヒドロカルビルと見なされるが、アセチル（連結している炭素上に=O置換基を有する）およびエトキシ（炭素ではなく酸素を介して連結される）などの置換基は、ヒドロカルビルではない。ヒドロカルビル基には、アリール、ヘテロアリール、カルボシクル、ヘテロシクル、アルキル、アルケニル、アルキニル、およびこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

【0112】

「ヒドロキシアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、ヒドロキシ基で置換されたアルキル基を指す。

【0113】

「低級」という用語は、化学部分、例えば、アシル、アシルオキシ、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはアルコキシと併用する場合、置換基中に10個以下、好ましくは6個以下の非水素原子が存在する基を含むことを意味する。「低級アルキル」は、例えば、10個以下、好ましくは6個以下の炭素原子を含有するアルキル基を指す。特定の実施形態では、本明細書で定義されるアシル、アシルオキシ、アルキル、アルケニル、アルキニル、またはアルコキシ置換基は、単独で現れるか、またはヒドロキシアルキルおよびアラルキルなどの他の置換基と組み合わせて現れるかにかかわらず、それぞれ、低級アシル、低級アシルオキシ、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、または低級アルコキシである（この場合、例えば、アリール基内の原子は、アルキル置換基中の炭素原子をカウントする際に、カウントされない）。

【0114】

「ポリシクリル」、「多環」、および「多環式」という用語は、2つ以上の原子が2つの隣接する環で共通しており、例えば、環が「縮合環」である、2つ以上の環（例えば、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール、ヘテロアリール、および／またはヘテロシクリル）を指す。多環の環の各々は、置換または非置換であり得る。特定の実施形態では、多環の各環は、環内に3～10原子、好ましくは5～7原子を含有する。

【0115】

用語「置換された」は、骨格の1つ以上の炭素上に水素を置換する置換基を有する部分を指す。「置換」または「で置換された」は、かかる置換が置換された原子および置換基の許容される価に従い、置換が、例えば、転位、環化、脱離などによって自発的に変換を受けない安定した化合物をもたらすという暗黙の条件を含むことが理解されるであろう。本明細書で使用される場合、「置換された」という用語は、有機化合物のすべての許容される置換基を含むことが企図される。広い観点では、許容される置換基としては、有機化合物の非環式および環式、分岐および非分岐、炭素環式および複素環式、芳香族および非芳香族置換基が挙げられる。許容される置換基は、1つ以上で、同じまたは異なる適切な有機化合物であり得る。本発明の目的のために、窒素などのヘテロ原子は、ヘテロ原子の価を満たす本明細書に記載の有機化合物の水素置換基および／または任意の許容される置換基を有し得る。置換基は、本明細書に記載の任意の置換基、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル（カルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミル、またはアシルなど）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートなど）、アルコキシル、ホスホリル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル、または芳香族もしくは複素芳香族部分を含むことができる。適切であれば、置換基自体が置換され得ることは、当業者には理解されるであろう。「非置換」と具体的に記載されない限り、本明細書における化学部分への言及は、置換バリエーションを含むと理解される。例えば、「アリール」基または部分への言及は、置換および非置換バリエーションの両方を暗黙的に含む。

10

20

30

40

50

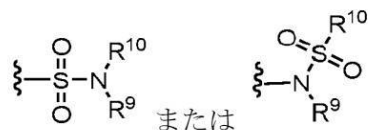
【0116】

「スルフェート」という用語は、当該技術分野で認識され、 $-\text{OSO}_3\text{H}$ 基、またはその薬学的に許容される塩を指す。

【0117】

用語「スルホンアミド」は、当該技術分野で認識され、一般式

【化29】



10

によって表される基を指し、式中、 R^9 および R^{10} は、独立して、アルキルなどの水素またはヒドロカルビルを表すか、あるいは R^9 および R^{10} は、介在する原子（複数可）と共に、環構造中に4～8個の原子を有する複素環を完成する。

【0118】

「スルホキンド」という用語は、当該技術分野で認識され、 $-\text{S}(\text{O})-\text{R}^{10}$ 基を指し、式中、 R^{10} はヒドロカルビルを表す。

【0119】

「スルホン酸塩」という用語は、当該技術分野で認識され、基 SO_3H 、またはその薬学的に許容される塩を指す。

20

【0120】

「スルホン」という用語は、当該技術分野で認識され、 $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^{10}$ 基を指し、式中、 R^{10} はヒドロカルビルを表す。

【0121】

「チオアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、チオール基で置換されたアルキル基を指す。

【0122】

「チオエステル」という用語は、本明細書で使用される場合、 $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^{10}$ または $-\text{SC}(\text{O})\text{R}^{10}$ 基を指し、式中、 R^{10} はヒドロカルビルを表す。

【0123】

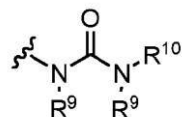
「チオエーテル」という用語は、本明細書で使用される場合、酸素が硫黄で置換されるエーテルと同等である。

30

【0124】

「尿素」という用語は、当該技術分野で認識され、一般式

【化30】



40

によって表すことができ、式中、 R^9 および R^{10} は、独立して、水素またはアルキルなどのヒドロカルビルを表すか、あるいは R^9 のいずれかの出現は、 R^{10} および介在する原子（複数可）と共に、環構造中に4～8個の原子を有する複素環を完成する。

【0125】

「保護基」という用語は、分子中の反応性官能基に結合すると、官能基の反応性を遮蔽、低減、または阻止する原子の基を指す。典型的には、保護基は、合成の過程中、所望に応じて選択的に除去され得る。保護基の例は、Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3rd Ed., 1999, John Wiley & Sons, NYおよびHarrison et al., *Compendium of Synthetic Organic Metho*

50

ds, Vols. 1-8, 1971-1996, John Wiley & Sons, NYに見出される。代表的な窒素保護基としては、ホルミル、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンジル、ベンジロキシカルボニル（「CBZ」）、tert-ブトキシカルボニル（「Boc」）、トリメチルシリル（「TMS」）、2-トリメチルシリルエタンスルホニル（「TES」）、トリチルおよび置換トリチル基、アリロキシカルボニル、9-フルオレニルメチロキシカルボニル（「FMOC」）、ニトロベラトリロキシカルボニル（「NVOC」）などが挙げられるが、これらに限定されない。代表的なヒドロキシル保護基としては、ヒドロキシル基がいずれかアシル化（エステル化）またはアルキル化されているもの、例えば、ベンジルおよびトリチルエーテル、ならびにアルキルエーテル、テトラヒドロピラニルエーテル、トリアルキルシリルエーテル（例えば、TMSまたはTIPS基）、グリコールエーテル、例えば、エチレングリコールおよびプロピレングリコール誘導体ならびにアリルエーテルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0126】

「プロドラッグ」という用語は、生理学的条件下で、本発明の治療活性剤（例えば、式Iの化合物）に変換される化合物を包含することが意図される。プロドラッグを作製するための一般的な方法は、生理学的条件下で加水分解されて所望の分子が現れるように1つ以上の選択された部分を含むことである。他の実施形態では、プロドラッグは、対象の酵素活性によって変換される。例えば、エステルまたはカーボネート（例えば、アルコールまたはカルボン酸のエステルまたはカーボネート）は、本発明の好ましいプロドラッグである。特定の実施形態では、上で表された製剤中の式Iの化合物のいくつかまたはすべては、対応する好適なプロドラッグで置換することができ、例えば、親化合物中のヒドロキシルがエステルとして提示されるか、または親化合物中に存在するカーボネートもしくはカルボン酸がエステルとして提示される。

【0127】

本発明は、本明細書に記載の薬学的に許容される同位体標識化合物をすべて含み、1つ以上の原子が同じ原子番号を有する原子で置換されるが、通常天然に見られる原子質量または質量数とは異なる原子質量または質量数である。特定の実施形態では、本発明の化合物は、そのような同位体標識物質で濃縮される（例えば、組成物中の化合物の同位体の分布が、同位体の天然の分布または典型的な分布と異なる化合物）。

【0128】

本発明の化合物に含まれるのに好適な同位体の例としては、水素の同位体、例えば ^2H および ^3H 、炭素の同位体、例えば ^{11}C 、 ^{13}C および ^{14}C 、塩素の同位体、例えば ^{36}Cl 、フッ素の同位体、例えば ^{18}F 、ヨウ素の同位体、例えば ^{123}I および ^{125}I 、窒素の同位体、例えば ^{13}N および ^{15}N 、酸素の同位体、例えば ^{15}O 、 ^{17}O および ^{18}O 、リンの同位体、例えば ^{32}P 、ならびに硫黄の同位体、例えば ^{35}S が挙げられる。

【0129】

本明細書に開示される特定の同位体標識化合物、例えば、放射性同位体を組み込んだ化合物は、薬物および／または基質の組織分布の研究において有用である。放射性同位体であるトリチウム、すなわち ^3H 、および炭素-14、すなわち ^{14}C は、それらの組み込み易さ、および検出手段の容易さを考慮すると、この目的に有用である。

【0130】

重水素、すなわち ^2H などのより重い同位体での置換は、より高い代謝安定性、例えば、インビボ半減期の増加または用量要件の減少から生じる特定の治療上の利点を提供することができ、したがって、いくつかの状況において好ましい場合がある。

【0131】

^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O および ^{13}N などの陽電子放射同位体による置換は、基質受容体占有率を検査するための陽電子放射断層撮影（PET）研究において有用であり得る。

【0132】

本発明の化合物は、1つ以上の不斉炭素原子を有し得、光学的に純粋な鏡像異性体、鏡像異性体の混合物、例えば、ラセミ体、光学的に純粋なジアステレオマー、ジアステレオ

マーの混合物、ジアステレオマーのラセミ体、またはジアステレオマーのラセミ体の混合物の形態で存在し得る。光学活性形態は、例えば、ラセミ体の分割によって、不斉合成または不斉クロマトグラフィー（キラル吸着剤または溶出液を用いるクロマトグラフィー）によって得ることができる。すなわち、開示される化合物の特定のものは、様々な立体異性の形態で存在し得る。

【0133】

立体異性体は、それらの空間配置においてのみ異なる化合物である。鏡像異性体は、鏡像が重ね合わせ不能な立体異性体の対であり、最も一般的には、それらがキラル中心として機能する非対称に置換された炭素原子を含有するためである。「鏡像異性体」とは、互いに鏡像であり、重ね合わせ不能な一對の分子のうちの1つを意味する。「ジアステレオマー」は、鏡像として関連しない立体異性体であり、最も一般的には、それらが2つ以上の非対称に置換された炭素原子を含有し、1つ以上のキラル炭素原子の周りの置換基の立体配置を表すためである。化合物の鏡像異性体は、例えば、1つ以上の周知の技術および方法、例えば、キラルクロマトグラフィーおよびそれに基づく分離方法などを使用して、ラセミ体から鏡像異性体を分離することによって調製することができる。本明細書に記載の化合物の鏡像異性体をラセミ混合物から分離するための適切な技術および／または方法は、当業者によって容易に決定することができる。

【0134】

「幾何異性体」とは、炭素-炭素二重結合、シクロアルキル環、または架橋二環系との関係で置換基原子の配向が異なる異性体を意味する。炭素-炭素二重結合の各側の原子（H以外）は、E（置換基は炭素-炭素二重結合の反対側にある）またはZ（置換基は同じ側上に配向される）の立体配置であり得る。「R」、「S」、「S*」、「R*」、「E」、「Z」、「シス」、および「トランス」は、コア分子に対する立体配置を示す。開示される化合物のうちのあるものは、アトロプ異性の形態で存在し得る。アトロプ異性体は、回転に対する立体ひずみの障壁が配座異性体の分離を可能にするのに十分に高く、単結合の周りの回転の障害から生じる立体異性体である。本発明の化合物は、異性体特異的合成によって個々の異性体として調製され得るか、または異性体混合物から分割され得るかのいずれかである。従来の分割技術は、光学活性の酸を使用して異性体対の各異性体の遊離塩基の塩を形成すること（続いて、遊離塩基の分別結晶化および再生）、光学活性のアミンを使用して異性体対の各異性体の酸形態の塩を形成すること（続いて、遊離酸の分別結晶化および再生）、光学的に純粋な酸、アミンまたはアルコールを使用して異性体対の各異性体のエステルまたはアミドを形成すること（続いて、キラル補助剤のクロマトグラフィー分離および除去）、または様々な周知のクロマトグラフィーの方法を使用して出発物質または最終生成物のいずれかの異性体混合物を分割することを含む。

【0135】

ジアステレオマー純度は、1つのジアステレオマーの重量の比率、またはすべてのジアステレオマーの重量に対する比率である。開示される化合物の立体化学が構造によって命名または描写される場合、命名または描写される立体異性体は、他の立体異性体と比較して、少なくとも約60重量%、約70重量%、約80重量%、約90重量%、約99重量%、または約99.9重量%である。単一の鏡像異性体が構造によって命名または描写される場合、描写または命名される鏡像異性体は、少なくとも約60重量%、約70重量%、約80重量%、約90重量%、約99重量%、または約99.9重量%光学的に純粋である。単一のジアステレオマーが構造によって命名または描写される場合、描写されるまたは命名されるジアステレオマーは、少なくとも約60重量%、約70重量%、約80重量%、約90重量%、約99重量%、または約99.9重量%純粋である。光学純度のパーセントは、鏡像異性体の重量の比率、または鏡像異性体の重量とその光学異性体の重量の和に対する比率である。

【0136】

モル分率による純度のパーセントは、鏡像異性体（またはジアステレオマー）のモルの比率、または鏡像異性体（またはジアステレオマー）とその光学異性体のモルの和に対す

10

20

30

40

50

る比率である。開示される化合物の立体化学が構造によって命名または描写される場合、命名または描写される立体異性体は、他の立体異性体と比較して、モル分率で少なくとも約60%、約70%、約80%、約90%、約99%、または約99.9%純粋である。単一の鏡像異性体が構造によって命名または描写される場合、描写または命名される鏡像異性体は、モル分率で少なくとも約60%、約70%、約80%、約90%、約99%、または約99.9%純粋である。単一のジアステレオマーが構造によって命名または描写される場合、描写または命名されるジアステレオマーは、モル分率で少なくとも約60%、約70%、約80%、約90%、約99%、または約99.9%純粋である。

【0137】

開示される化合物が立体化学を示すことなく構造によって命名または描写され、化合物が少なくとも1つのキラル中心を有する場合、その名称または構造は、対応する光学異性体を含まない化合物の鏡像異性体、化合物のラセミ混合物、または対応する光学異性体と比較して1つの鏡像異性体が濃縮された混合物のいずれかを包含することが理解されるべきである。開示される化合物が立体化学を示すことなく構造によって命名または描写され、2つ以上のキラル中心を有する場合、その名称または構造は、他のジアステレオマーを含まないジアステレオマー、他のジアステレオマー対を含まないいくつかのジアステレオマー、ジアステレオマーの混合物、ジアステレオマー対の混合物、1つのジアステレオマーが他のジアステレオマー（複数可）と比較して濃縮されているジアステレオマーの混合物、または1つ以上のジアステレオマーが他のジアステレオマーと比較して濃縮されているジアステレオマーの混合物を包含することが理解されるべきである。本発明は、これらの形態のすべてを包含する。

【0138】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、式(I)の化合物の薬学的に許容される任意の塩を意味する。例えば、本明細書に記載の化合物のいずれかの薬学的に許容される塩には、健全な医学的判断の範囲内であり、過度の毒性、刺激、アレルギー反応なしにヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに好適であり、妥当な利益／リスク比に見合うものが含まれる。薬学的に許容される塩は、当該技術分野で既知である。例えば、薬学的に許容される塩は、Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977およびPharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P. H. Stahl and C. G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008に記載されている。塩は、本明細書に記載の化合物の最終単離および精製中に、または遊離塩基を好適な有機酸と反応させることによって別個に、インサイツで調製することができる。

【0139】

本発明の化合物は、薬学的に許容される塩として調製することができるように、イオン化可能な基を有し得る。これらの塩は、無機もしくは有機酸を伴う酸付加塩であってもよく、またはその塩は、本発明の化合物が酸性形態の場合、無機または有機塩基から調製されてもよい。多くの場合、化合物は、薬学的に許容される酸または塩基の付加生成物として調製された薬学的に許容される塩として調製または使用される。適切な塩を調製するための好適な薬学的に許容される酸および塩基ならびに方法は、当該技術分野で既知である。塩は、無機および有機の酸および塩基を含む薬学的に許容される非毒性の酸および塩基から調製されてもよい。

【0140】

代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシーエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリ

ン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、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、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩が挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、およびマグネシウム、ならびに、限定されないが、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、およびエチルアミンを含む無毒アンモニウム、第四級アンモニウム、およびアミン陽イオンが挙げられる。

10

【0141】

投与が企図される「対象」という用語としては、ヒト（すなわち、任意の年齢群の男性または女性、例えば、小児対象（例えば、乳児、子供、青少年）または成人対象（例えば、若年成人、中年成人または高齢成人））および／または他の霊長類（例えば、カニクイザル、アカゲザル）、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、および／またはイヌなどの商業上関連する哺乳動物を含む哺乳動物、および／またはニワトリ、アヒル、ガチョウ、ウズラ、および／またはシチメンチョウなどの商業上関連する鳥が挙げられるが、これらに限定されない。好ましい対象はヒトである。

【0142】

本明細書で使用される場合、障害または病態を「予防する」治療薬は、統計的サンプル中で、未治療の対照サンプルと比較して、治療されたサンプル中の障害または病態の発生を減少させるか、あるいは未治療の対照サンプルと比較して、障害または病態の1つ以上の症状の発症を遅らせるか、または重症度を減少させる化合物を指す。

20

【0143】

治療において、目的は、望ましくない生理学的状態、障害、もしくは疾患を阻止もしくは遅延（軽減）するか、または有益もしくは所望の臨床結果を得ることである。有益または所望の臨床結果としては、症状の軽減（病態、障害、または疾患の程度の低下）、病態、障害、または疾患の安定化（すなわち、悪化しない）、発症の遅延もしくは病態、障害、または疾患の進行の遅延、検出可能であるか検出不能であるかにかかわらず、病態、障害、または疾患の状態の改善もしくは寛解（部分的または全体にかかわらず）、患者によって必ずしも識別可能ではない、少なくとも1つの測定可能な身体パラメータの改善、あるいは病態、障害、または疾患の増強もしくは改善が挙げられるが、これらに限定されない。治療は、過剰なレベルの副作用なく臨床的に有意な応答を誘発することを含む。治療は、治療を受けていない場合の予想生存期間と比較して、生存期間を延長することを含む。

30

【実施例】

【0144】

実施例1：本開示の例示的な化合物の調製

分析方法、材料、および計装

特に明記しない限り、試薬および溶媒は、商業サプライヤーから受領したまま使用された。市販の出発物質はすべて、Sigma Aldrich、Fisher Scientific、Oakwood Chemical、およびCombi Blockから購入された。すべての試薬は、さらに精製することなく、受領したまま使用された。公開された文献の手順に従って既知の化合物を合成し、変更については特記される。テトラヒドロフラン（THF）、ジクロロメタン（DCM）、ジメチルホルムアミド（DMF）、およびジメチルスルホキシドなどの無水溶媒は、Fisher Scientificから購入し、受領したまま使用した。必要に応じて、空気または水分に感受性の反応は、窒素の不活性雰囲気下で実行された。

40

【0145】

溶媒の除去は、Bichi R-300回転蒸発器で達成され、さらなる濃縮は、Welch 1400B-01真空ラインおよびLabconco FreeZone 6

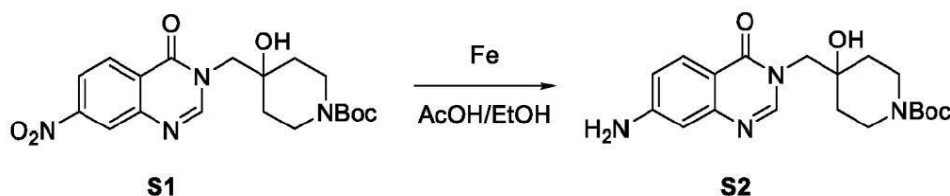
50

plusシステムのもとで行われた。化合物の精製は、Teledyne Combiflash（登録商標）クロマトグラフィーシステムを使用する順相カラムクロマトグラフィー、および／またはSUNFIRE（登録商標）Prep C18 OBDTM 5 μ mカラムを用いるWaters Micromass ZQ分取システムで逆相クロマトグラフィーによって行われた。純度は、Waters Acquity UPLCシステム上で分析された。分析薄層クロマトグラフィー（TLC）プレートは、Fisher Scientific（EMD Millipore TLC Silica Gel 60 F254）から購入した。UV光（254 nm）下での照射によって可視化を達成した。

【0146】

すべての ^1H -NMRスペクトルは、Bruker ARX500（500 MHz）分光計で、298 Kで記録した。 ^{13}C -NMRスペクトルは、Bruker ARX500（126 MHz）分光計で記録した。試料を、 CDCl_3 、 $\text{DMSO}-d_6$ 、または CD_3OD に溶解した。スペクトルは、残留溶媒ピーク（クロロホルム- d ： ^1H -NMRでは7.26 ppmおよび ^{13}C -NMRでは77.16 ppm、 $\text{DMSO}-d_6$ ： ^1H -NMRでは2.50 ppmおよび ^{13}C -NMRでは39.25 ppm、 CD_3OD ： ^1H -NMRでは3.31 ppmおよび ^{13}C -NMRでは49.00 ppmまたはテトラメチルシラン（TMS））を内部標準として参照した。化学シフト、多重度（s＝単一線、d＝二重線、dd＝二重線の二重線、t＝三重線、q＝四重線、m＝多重線、br＝広いピーク）、カップリング定数（Hz）、および陽子の数。質量分析（LCMS）データを、ポジティブESIモードでWaters Acquity UPLCシステム上で得た。

【化31】



【0147】

tert-ブチル 4-ヒドロキシ-4-（（7-ニトロ-4-オキソキナゾリン-3（4 H）-イル）メチル）ピペリジン-1-カルボキシレート（S1、2.4 g、6.0 mmol）を20 mLの溶媒（EtOH／AcOH＝1：1）に懸濁した。4当量の鉄（Fe）粉末を少量ずつ添加した。混合物を55℃で1時間攪拌した。次いで、反応物を室温まで冷却し、セライトのパッドを通して濾過した。濾液を減圧下で濃縮して粗生成物を得、次いでフラッシュクロマトグラフィー（EtOAc中の10% MeOH）によって精製して、tert-ブチル 4-（（7-アミノ-4-オキソキナゾリン-3（4 H）-イル）メチル）-4-ヒドロキシピペリジン-1-カルボキシレート 2.1 g（化合物S2、93%）を得た。 ^1H NMR（500 MHz、 DMSO ） δ 8.04（s、1 H）、7.79（d、J＝8.7 Hz、1 H）、6.72（dd、J＝8.7、1.9 Hz、1 H）、6.61（d、J＝2.0 Hz、1 H）、6.09（s、2 H）、4.87（s、1 H）、3.89（s、2 H）、3.64（d、J＝12.0 Hz、2 H）、3.05（s、2 H）、1.54－1.24（m、13 H）。LCMS（ESI） m/z 374.97 [（M+H） $^+$ C₁₉H₂₇N₄O₄ $^+$ 計算値375.20]。

10

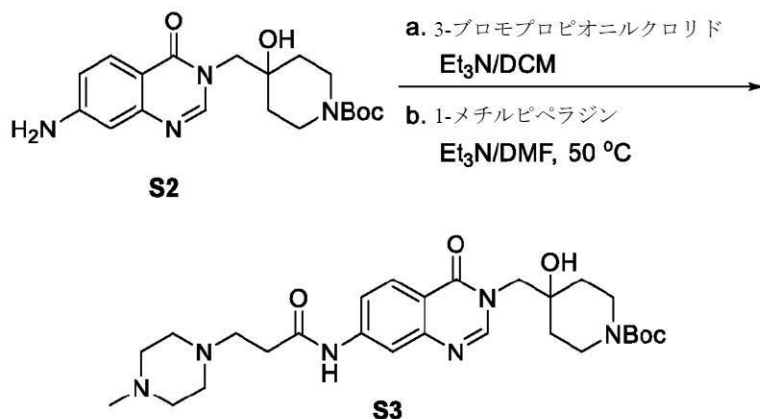
20

30

40

50

【化32】



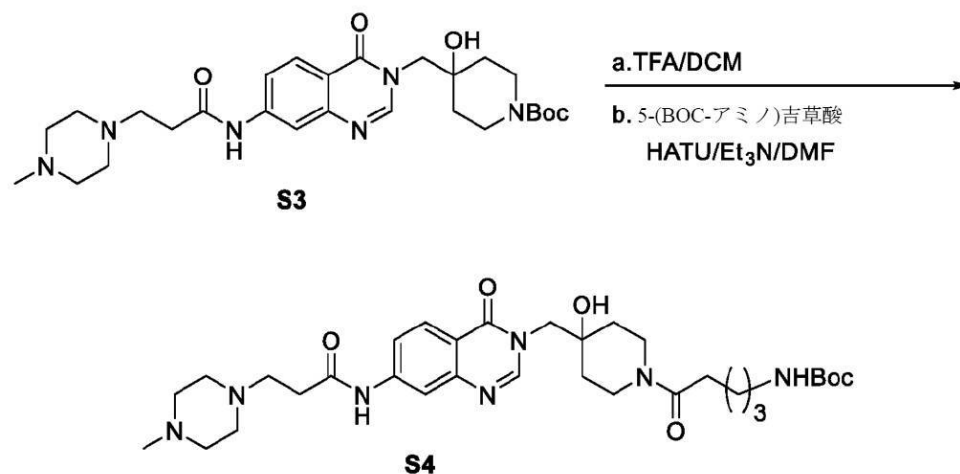
【0148】

化合物S2 (2.1 g、5.6 mmol) をN₂下、0℃で10 mLの無水ジクロロメタンに溶解させた。3.0当量のEt₃Nを添加した。次いで、3-ブロモプロピオンクロリド (1.15 g、6.7 mmol) を滴下した。混合物を0℃で1時間攪拌し、次いでMeOHでクエンチし、減圧下で濃縮した。固体残渣を、さらに精製することなく、次のステップに直接使用した。

【0149】

最後のステップの粗生成物を10 mLのDMF中に溶解し、次いで3.0当量のEt₃Nを添加した。攪拌混合物に1-メチルピペラジン (0.67 g、6.7 mmol) を滴下した。添加が完了した後、混合物を50℃で1時間攪拌した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、HPLC精製 (4% TFAを有するMeOH/H₂O) に直接供して、2.1 gの生成物S3 (2ステップで73%) を得た。¹H NMR (500 MHz、MeOD) δ 8.28 (s、1H)、8.20 (d、J=8.8 Hz、1H)、8.12 (d、J=1.9 Hz、1H)、7.69 (dd、J=8.7、2.0 Hz、1H)、4.11 (s、2H)、3.82 (d、J=13.4 Hz、2H)、3.23 (m、2H)、2.85 (t、J=7.0 Hz、2H)、2.79–2.50 (m、10H)、2.37 (s、3H)、1.72–1.62 (m、2H)、1.50 (d、J=17.4 Hz、1H)。LCMS (ESI) m/z 529.08 [(M+H)⁺ C₂₇H₄₁N₆O₅⁺ 計算値529.31]。

【化33】

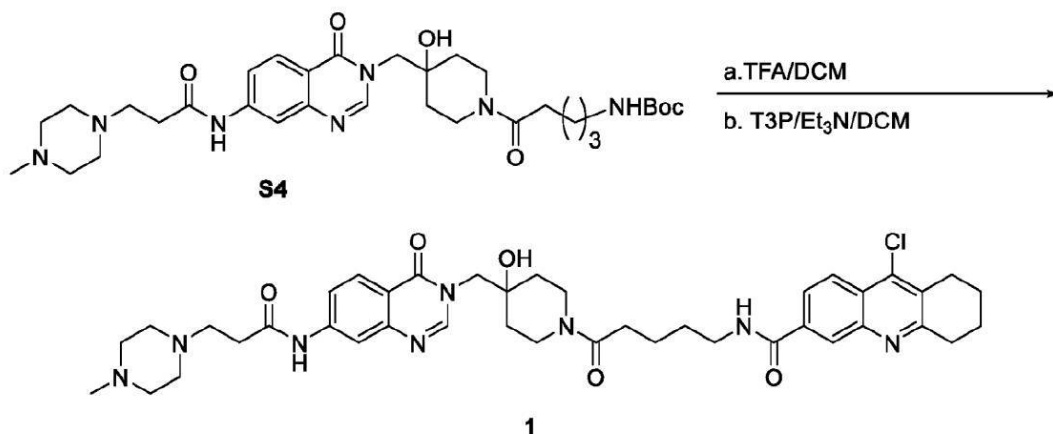


【0150】

化合物S3を3 mLのDCM中に溶解し、次いで5 mLのTFAを少量ずつ添加した。この溶液を室温で1時間攪拌した。次いで、混合物を減圧下で濃縮し、高真空下で一晩放

置して残留酸を除去した。次いで、生成物（0.46 g、1.0 mmol）を5 mLのDMFに溶解し、塩基（5当量のEt₃N）を添加した。次いで、この溶液を、2当量のEt₃Nを含む5-（Boc-アミノ）吉草酸（0.25 g、1.2 mmol）およびHATU（0.76 g、2.0 mmol）の予め混合した溶液に添加した。得られた溶液を一晩攪拌した。次いで、混合物をHPLC精製（4% TFAを含むMeOH/H₂O）に直接供して、514 mgの生成物S4（82%） LCMS（ESI） m/z 628.50 [(M+H)⁺ C₃₂H₅₀N₇O₆⁺ 計算値628.38]を得た。

【化34】



【0151】

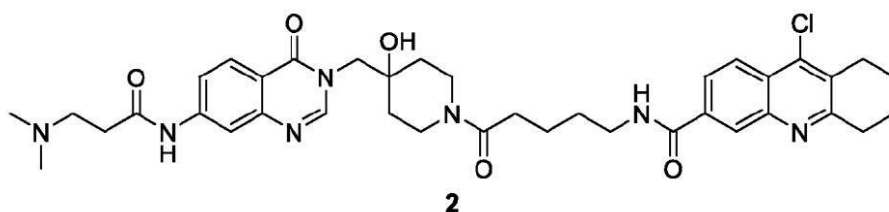
化合物S4（125 mg、0.2 mmol）をジオキサン/H₂O中の4 MのHClに溶解し、室温で1時間攪拌した。次いで、混合物を減圧下で濃縮し、高真空下で一晩放置して残留溶媒を除去した。次いで、生成物（0.10 g、0.2 mmol）を、10当量のEt₃Nを含む5 mLのDCM中に溶解した。この溶液に、9-クロロ-5, 6, 7, 8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボン酸（0.078 g、0.3 mmol）およびT3P（プロピルホスホン酸無水物、EtOAc中50%）（0.64 g、1.0 mmol）を添加した。この溶液を、窒素下で一晩攪拌した。次いで、混合物を減圧下で濃縮し、フラッシュクロマトグラフィーおよびHPLC（4% TFAを含むMeOH/H₂O）によって順次精製して、75 mgの生成物（1, 49%）を得た。

【0152】

9-クロロ-N-（5-（4-ヒドロキシ-4-（（7-（3-（4-メチルピペラジン-1-イル）プロパンアミド）-4-オキソキナゾリン-3（4H）-イル）メチル）ピペリジン-1-イル）-5-オキソペンチル）-5, 6, 7, 8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド（化合物1）。¹H NMR（500 MHz、DMSO） δ 10.60（s、1H）、8.79（t、J=5.0 Hz、1H）、8.46（s、1H）、8.22（s、1H）、8.15（d、J=8.7 Hz、1H）、8.06（dd、J=14.6、8.7 Hz、3H）、7.64（d、J=8.8 Hz、1H）、4.11-3.90（m、4H）、3.65（d、J=13.0 Hz、1H）、3.38-3.20（m、6H）、3.07（m、5H）、2.96（m、4H）、2.77（m、6H）、2.36（m、2H）、1.88（s、3H）、1.55（d、J=26.5 Hz、6H）、1.48-1.31（m、4H）。¹³C NMR（126 MHz、DMSO） δ 170.76、170.28、165.81、160.83、160.63、149.94、149.38、145.93、144.60、140.44、135.78、130.56、127.77、127.74、126.26、125.85、123.90、118.84、117.12、115.34、69.80、53.86、52.38、51.73、49.40、42.61、41.48、39.60、37.41、35.58、34.82、33.98、33.18、32.45、29.17、27.54、22.89、22.33。LCMS（ESI） m/z 771.47 [(M+H)⁺；C₄₁H₅₂

$C_{18}H_{20}O_5^+$ 計算値 771.37]。

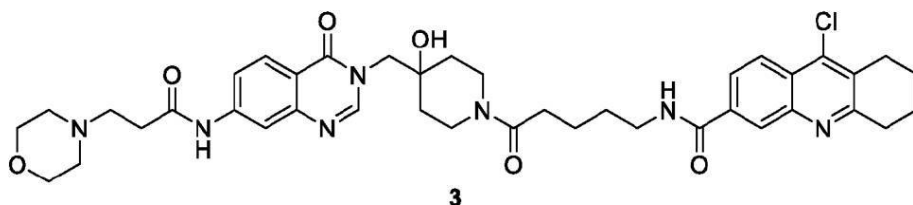
【化35】



【0153】

9-クロロ-N-(5-(4-(7-(3-(ジメチルアミノ)プロパンアミド)-4-オキソキノザリン-3(4H)-イル)メチル)-4-ヒドロキシピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物2)。LCMS(ESI) m/z 715.80 [(M+H)⁺; $C_{38}H_{47}ClN_7O_5^+$ 計算値 716.33]。

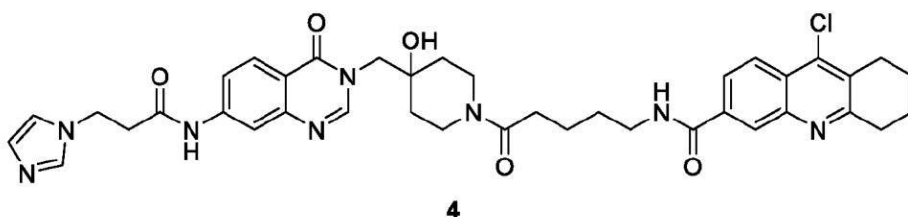
【化36】



【0154】

9-クロロ-N-(5-(4-ヒドロキシ-4-(7-(3-モルホリノプロパンアミド)-4-オキソキノザリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物3)。LCMS(ESI) m/z 757.71 [(M+H)⁺; $C_{40}H_{49}ClN_7O_6^+$ 計算値 758.34]。

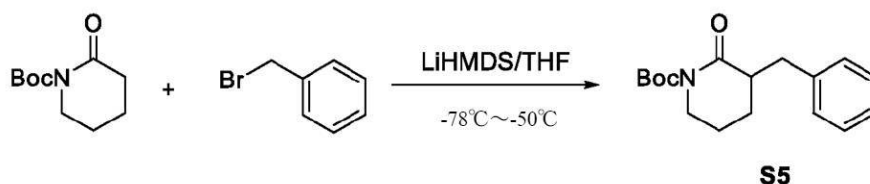
【化37】



【0155】

N-(5-(4-(7-(3-(1H-イミダゾール-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキノザリン-3(4H)-イル)メチル)-4-ヒドロキシピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物4)。LCMS(ESI) m/z 738.81 [(M+H)⁺; $C_{39}H_{44}ClN_8O_5^+$ 計算値 739.31]。

【化38】



10

20

30

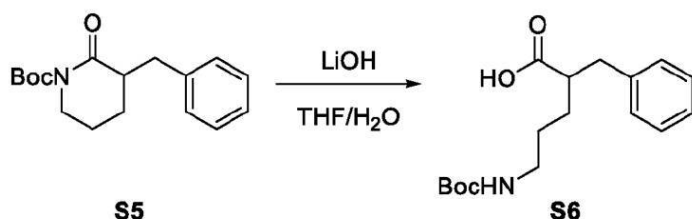
40

50

【0156】

1-Boc-2-ピペリドン (0.60 g、3.0 mmol) を、N₂下、10 mL の THF に溶解した。溶液を -78 °C で冷却した。1.1 当量の LiHMDS を滴下し、次いで、この温度で 0.5 時間攪拌した。1.0 当量のベンジルブロミドを少量ずつ添加した。添加完了後、溶液を -78 °C で 1 時間、次いで -50 °C で 4 時間攪拌した。次いで、飽和 NH₄Cl 溶液の添加によって反応をクエンチした。次いで、混合物を EtOAc で抽出した (2 回)。次いで、有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗物質をフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン中 5% ~ 10% の EtOAc) によって精製して、0.42 g の生成物 S5 (48%) を得た。化合物 S5 は、tert-ブチル 3-ベンジル-2-オキソピペリジン-1-カルボキシレートである。¹H NMR (500 MHz、CDCl₃) δ 7.30–7.23 (m、2H)、7.18 (dd、J = 14.1、7.1 Hz、3H)、3.69 (ddd、J = 12.8、7.8、4.7 Hz、1H)、3.60–3.49 (m、1H)、3.44–3.34 (m、1H)、2.67–2.55 (m、2H)、1.87–1.74 (m、2H)、1.74–1.62 (m、1H)、1.52 (s、9H)、1.48–1.35 (m、1H)。LCMS (ESI) m/z 289.97 [(M+H)⁺C₁₇H₂₄NO₃⁺ 計算値 290.18]。

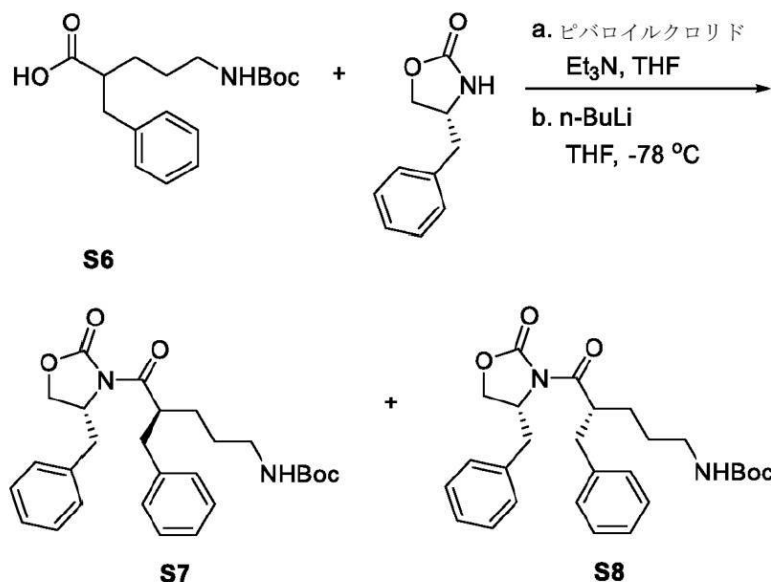
【化39】



【0157】

化合物 S5 (145 mg、0.5 mmol) を 3 mL の THF / H₂O 中に溶解した。2 当量の LiOH を添加した。混合物を室温で 2 時間攪拌した。次いで、溶液を 1 M の HCl によって酸性化し、EtOAc で抽出した (2 回)。有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させて、0.154 g の粗物質 S6 を得、これをさらに精製することなく使用した。LCMS (ESI) m/z 330.37 [(M+Na)⁺C₁₇H₂₅NNaO₄⁺ 計算値 330.17]。

【化40】



10

20

30

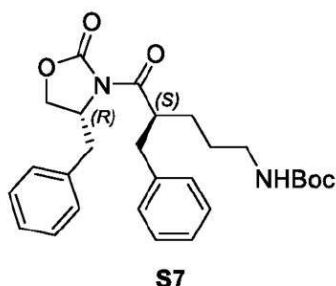
40

50

【0158】

2-ベンジル-5-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)ペンタン酸(化合物S6、0.18g、0.58mmol)を、5mLの無水THFに溶解し、N₂下、0℃で攪拌した。溶液にトリメチルアセチルクロリド(74μL、0.6mmol)を添加した。混合物を3時間攪拌して、0℃から室温まで加温するときに、無水物中間体が形成された。(R)-4-ベンジロキサゾリジン-2-オン(0.12g、0.7mmol)を、3mLのTHFに溶解し、別個のフラスコ中で-78℃まで冷却した。溶液を2.5Mのn-ブチルリチウム(n-BuLi)溶液(0.26mL、0.65mmol)で処理し、1時間攪拌させた。調製した無水物溶液を、リチウムオキサゾリジノンに添加し、混合物を室温まで一晩温めた。次いで、混合物を飽和塩化アンモニウム溶液でクエンチした後、EtOAcで抽出した(2回)。有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成物を精製して、フラッシュクロマトグラフィーによって2つのジアステレオマーを分離し、完全に分離されたジアステレオマーを得た。

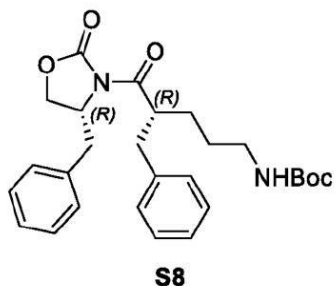
【化41】



【0159】

tert-ブチル((S)-4-ベンジル-5-((R)-4-ベンジル-2-オキソオキサゾリジン-3-イル)-5-オキソペンチル)カルバメート(化合物S7、98mg、73%)。¹H NMR(500MHz、CDCl₃) δ 7.30(t、J=7.3Hz、2H)、7.27-7.20(m、3H)、7.16(dd、J=12.0、5.7Hz、5H)、4.56(s、1H)、4.44-4.32(m、1H)、4.22-4.11(m、1H)、3.98(dd、J=8.9、2.1Hz、1H)、3.74(t、J=8.3Hz、1H)、3.22(dd、J=13.3、3.2Hz、1H)、3.11(s、2H)、2.89(dd、J=13.2、9.0Hz、1H)、2.80(dd、J=13.2、6.4Hz、1H)、2.72-2.61(m、1H)、1.89-1.76(m、1H)、1.61-1.49(m、3H)、1.42(s、9H)。LCMS(ESI) m/z 367.27[(M+H-Boc)⁺C₂₂H₂₇N₂O₃⁺ 計算値367.19]。

【化42】

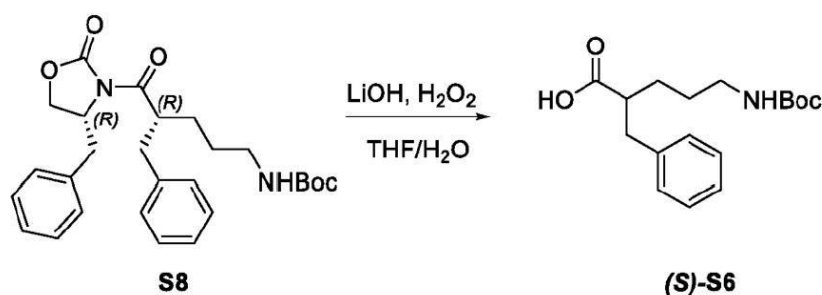


【0160】

tert-ブチル((R)-4-ベンジル-5-((R)-4-ベンジル-2-オキソオキサゾリジン-3-イル)-5-オキソペンチル)カルバメート(化合物S8、97mg、73%)。¹H NMR(500MHz、CDCl₃) δ 7.29-7.21(m

、7 H)、7.21–7.14 (m、1 H)、7.00 (d、 $J=6.5$ Hz、2 H)、4.66–4.58 (m、1 H)、4.54 (s、1 H)、4.26–4.17 (m、1 H)、4.14 (t、 $J=8.5$ Hz、1 H)、4.03 (dd、 $J=9.0$ 、2.7 Hz、1 H)、3.13–3.00 (m、3 H)、2.97 (dd、 $J=13.5$ 、3.1 Hz、1 H)、2.78 (dd、 $J=13.3$ 、6.7 Hz、1 H)、2.37 (dd、 $J=13.5$ 、9.4 Hz、1 H)、1.84–1.69 (m、1 H)、1.59–1.46 (m、3 H)、1.41 (s、9 H)。LCMS (ESI) m/z 367.27 [(M+H–Boc)⁺C₂₂H₂₇N₂O₃⁺ 計算値367.19]。

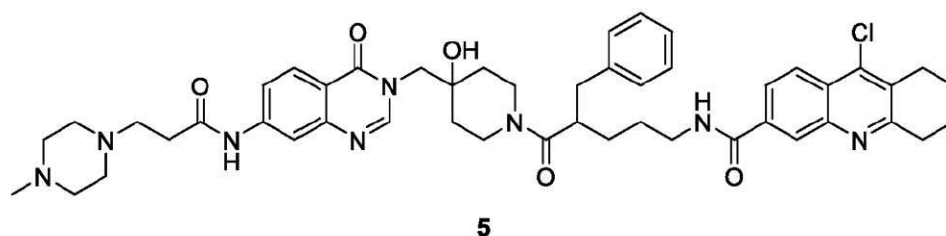
【化43】



【0161】

THF (3 mL) および H₂O (1 mL) の攪拌溶液に水酸化リチウム一水和物 (17 mg、0.42 mmol) を溶解するまで添加した。溶液に過酸化水素 (30%) (80 μ L、0.84 mmol) を添加し、室温で10分間攪拌させた。次いで、反応物を0℃まで冷却し、オキサゾリジノン付加物 S8 (98 mg、0.21 mmol) の THF 溶液を滴下した。混合物を、室温で一晩攪拌した。次いで、溶液を EtOAc で希釈し、氷冷 0.1 M の HCl 水溶液 (20 mL $\times$ 2) で洗浄した。次いで、水層をより多くの EtOAc で抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、MgSO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、鏡像異性体的に純粋な 2-ベンジル-5-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)ペンタン酸 (化合物 (S)-S6) を得て、さらに精製することなく使用した。LCMS (ESI) m/z 329.87 [(M+Na)⁺C₁₇H₂₅NNaO₄⁺ 計算値330.17]。

【化44】



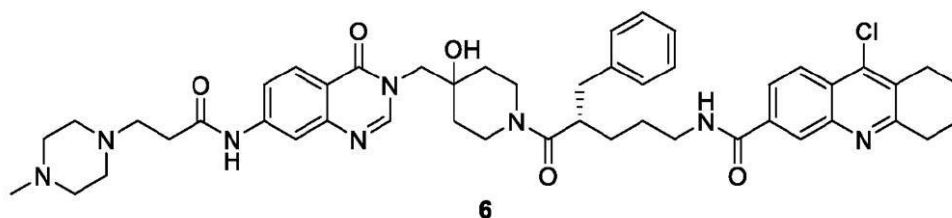
【0162】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド (化合物 5)。¹H NMR (500 MHz、DMSO) δ 10.50 (d、 $J=5.5$ Hz、1 H)、8.82–8.70 (m、1 H)、8.46 (d、 $J=13.8$ Hz、1 H)、8.22–7.93 (m、5 H)、7.60 (dd、 $J=16.4$ 、9.4 Hz、1 H)、7.29–7.03 (m、5 H)、4.82 (s、1 H)、4.06 (dd、 $J=62.6$ 、12.8 Hz、1 H)、3.94–3.73 (m、1 H)、3.62 (m、2 H)、3.28 (m、4 H、H、H₂O と重複)、3.13 (t、 $J=11.0$ Hz、2 H)、3.05 (m、2 H)、2.96 (

d、 $J=11.0\text{ Hz}$ 、 2 H ）、 2.85 (m, 1 H) 、 $2.79-2.71\text{ (m, 2 H)}$ 、 $2.70-2.60\text{ (m, 4 H)}$ 、 2.53 (m, 3 H) 、 2.14 (s, 4 H) 、 $1.88\text{ (d, }J=3.1\text{ Hz, 4 H)}$ 、 $1.71-1.34\text{ (m, 5 H)}$ 、 $1.33-1.03\text{ (m, 4 H)}$ 、 0.39 (m, 1 H) 。 $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz 、 DMSO) δ $172.74/172.69$ (配座異性体)、 171.51 、 $165.80/165.76$ (配座異性体)、 $160.89/160.84$ (配座異性体)、 $160.58/160.52$ (配座異性体)、 $149.82/149.78$ (配座異性体)、 149.46 、 $146.10/146.07$ (配座異性体)、 144.75 、 140.47 、 $140.32/140.25$ (配座異性体)、 135.68 、 $130.58/130.53$ (配座異性体)、 $129.43/129.29$ (配座異性体)、 $128.63/128.51$ (配座異性体)、 $127.93/127.87$ (配座異性体)、 $127.77/127.70$ (配座異性体)、 $126.50/126.44$ (配座異性体)、 126.29 、 $125.87/125.83$ (配座異性体)、 123.90 、 118.75 、 $117.07/116.95$ (配座異性体)、 115.17 、 $69.67/69.59$ (配座異性体)、 55.22 、 $54.04/53.84$ (配座異性体)、 53.99 、 52.82 、 46.19 、 $41.97/41.74$ (配座異性体)、 $41.41/41.19$ (配座異性体)、 39.15 、 $37.51/37.46$ (配座異性体)、 35.73 、 35.13 、 34.97 、 34.78 、 34.47 、 34.06 、 30.97 、 30.16 、 29.48 、 27.56 、 $27.26/27.23$ (配座異性体)、 22.36 。LCMS (ESI) m/z 860.72 [$(\text{M}+\text{H})^+$; $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{ClN}_8\text{O}_5^+$ 計算値 861.42]。
【化45】

10

20



【0163】

(S)-N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド (化合物6)。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz 、 DMSO) δ $10.50\text{ (d, }J=5.5\text{ Hz, 1 H)}$ 、 $8.85-8.69\text{ (m, 1 H)}$ 、 $8.46\text{ (d, }J=14.0\text{ Hz, 1 H)}$ 、 $8.22-7.93\text{ (m, 5 H)}$ 、 $7.61\text{ (dd, }J=16.4, 9.3\text{ Hz, 1 H)}$ 、 $7.17\text{ (ddt, }J=32.3, 19.2, 7.4\text{ Hz, 5 H)}$ 、 $4.82\text{ (d, }J=4.5\text{ Hz, 1 H)}$ 、 $4.20-3.93\text{ (m, 1 H)}$ 、 $3.93-3.74\text{ (m, 2 H)}$ 、 3.62 (m, 2 H) 、 $3.30\text{ (m, 4 H, H}_2\text{Oと重複)}$ 、 $3.20-3.09\text{ (m, 2 H)}$ 、 3.05 (m, 2 H) 、 2.96 (m, 2 H) 、 2.85 (m, 1 H) 、 $2.80-2.70\text{ (m, 2 H)}$ 、 2.66 (m, 4 H) 、 $2.58-2.51\text{ (m, 3 H)}$ 、 2.17 (s, 4 H) 、 $1.88\text{ (d, }J=3.2\text{ Hz, 4 H)}$ 、 $1.71-1.35\text{ (m, 5 H)}$ 、 $1.34-1.02\text{ (m, 4 H)}$ 、 $0.41\text{ (t, }J=10.5\text{ Hz, 1 H)}$ 。 $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz 、 DMSO) δ $172.24/172.19$ (配座異性体)、 170.98 、 $165.30/165.25$ (配座異性体)、 $160.38/160.33$ (配座異性体)、 $160.08/160.01$ (配座異性体)、 $149.32/149.27$ (配座異性体)、 148.95 、 $145.59/145.56$ (配座異性体)、 144.24 、 139.97 、 $139.81/139.75$ (配座異性体)、 $135.19/135.17$ (配座異性体)、 $130.07/130.02$ (配座異性体)、 $128.93/128.79$ (配座異性体)、 $128.12/128.00$ (配座異性体)、 $127.43/$

30

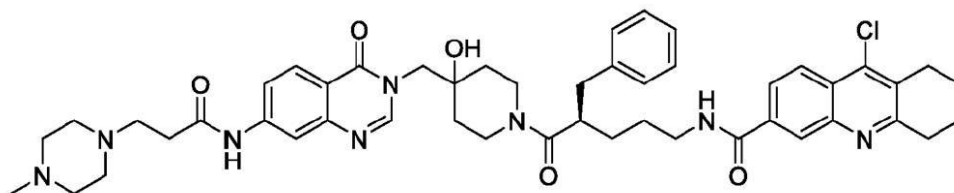
40

50

127.37 (配座異性体)、127.26/127.20 (配座異性体)、125.99/125.94 (配座異性体)、125.78、125.37/125.32 (配座異性体)、123.39、118.25/118.20 (配座異性体)、116.56/116.45 (配座異性体)、114.67、69.16/69.08 (配座異性体)、54.62、53.53/53.33 (配座異性体)、53.44、52.20、45.54、41.47/41.24 (配座異性体)、40.90/40.68 (配座異性体)、38.65、37.01/36.96 (配座異性体)、35.22、34.63、34.47、34.26、33.96、33.56、30.46、29.66、28.98、27.05、26.76、21.86。LCMS (ESI) m/z 860.82 [(M+H)⁺; C₄₈H₅₈ClN₈O₅⁺ 計算値861.42]。

10

【化46】



7

【0164】

20

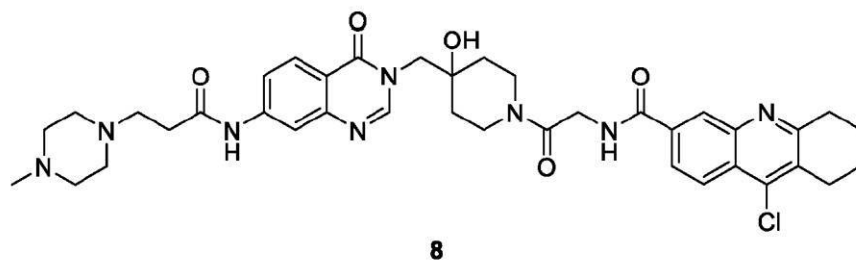
(R)-N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド (化合物7)。¹H NMR (500 MHz、DMSO) δ 10.49 (d、J=5.6 Hz、1H)、8.82-8.69 (m、1H)、8.46 (d、J=14.0 Hz、1H)、8.20-7.95 (m、5H)、7.66-7.55 (m、1H)、7.30-7.05 (m、5H)、4.82 (d、J=4.8 Hz、1H)、4.06 (dd、J=62.9、12.9 Hz、1H)、3.95-3.75 (m、1H)、3.61 (m、2H)、3.31-3.21 (m、4H、H₂Oと重複)、3.12 (m、2H)、3.04 (m、2H)、2.95 (m、2H)、2.83 (m、1H)、2.79-2.70 (m、2H)、2.70-2.60 (m、4H)、2.53 (m、3H)、2.20 (s、4H)、1.94-1.81 (m、4H)、1.70-1.34 (m、5H)、1.34-1.00 (m、4H)、0.40 (dt、J=12.0、9.1 Hz、1H)。¹³C NMR (126 MHz、DMSO) δ 172.75/172.70 (配座異性体)、171.45、165.81/165.77 (配座異性体)、160.89/160.84 (配座異性体)、160.58/160.52 (配座異性体)、149.82/149.78 (配座異性体)、149.45、146.09/146.06 (配座異性体)、144.74、140.47、140.32/140.25 (配座異性体)、135.69/135.67 (配座異性体)、130.58/130.53 (配座異性体)、129.43/129.29 (配座異性体)、128.63/128.51 (配座異性体)、127.93/127.87 (配座異性体)、127.77/127.70 (配座異性体)、126.50/126.44 (配座異性体)、126.28、125.87/125.82 (配座異性体)、123.90、118.76、117.07/116.96 (配座異性体)、115.18、69.67/69.59 (配座異性体)、54.98、54.04、53.88、52.52、45.83、41.97/41.75 (配座異性体)、41.41/41.19 (配座異性体)、39.15、37.52/37.46 (配座異性体)、35.73、35.13、34.97、34.74、34.46、34.06、30.97、30.16、29.48、27.56、27.26、22.36。LCMS (ESI) m/z 860.72 [(M+H)⁺; C₄₈H₅₈ClN₈O₅⁺ 計算値861.42]。

30

40

50

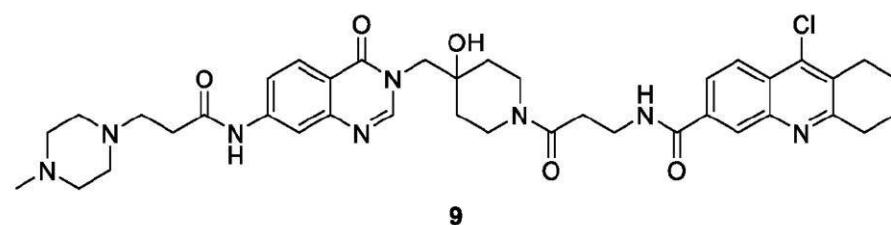
【化 4 7】



【0165】

9-クロロ-N-(2-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-2-オキソエチル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物8)。¹H NMR(500MHz、DMSO) δ 10.67(s、1H)、8.90(t、J=5.6Hz、1H)、8.49(s、1H)、8.25(s、1H)、8.20(d、J=8.8Hz、1H)、8.14-7.97(m、3H)、7.65(d、J=7.8Hz、1H)、4.18(p、J=10.8Hz、1.5H)、3.96-4.07(m、2.5H)、3.76-3.68(m、1H)、3.39-3.22(m、2H)、3.11-2.94(m、5H)、2.84(s、4H)、1.90(s、4H)、1.78-1.36(m、10H)、1.13-1.00(m、1H)、0.98-0.87(m、5H)。¹³C NMR(126MHz、DMSO) δ 169.83、167.04、166.06、160.98、160.64、150.01、149.31、145.59、144.54、140.72、135.48、130.84、127.82、126.44、125.85、124.10、118.90、117.18、115.51、115.35、69.78、54.02、51.85、50.59、49.01、46.78、42.43、41.52、37.99、35.38、34.73、33.90、32.34、30.72、29.62、27.56、22.28、16.77、16.44、15.77、15.64、15.51。LCMS(ESI) m/z 728.91[(M+H)⁺; C₃₈H₄₅ClN₈O₅⁺:計算値729.28]。

【化 4 8】

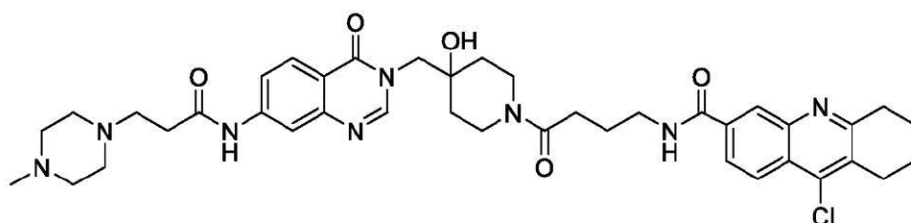


【0166】

9-クロロ-N-(3-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-3-オキソプロピル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物9)。¹H NMR(500MHz、DMSO) δ 10.68(s、1H)、8.81(t、J=5.3Hz、1H)、8.45(s、1H)、8.24(s、1H)、8.18(d、J=8.7Hz、1H)、8.10-8.04(m、3H)、7.64(d、J=7.4Hz、1H)、4.08(d、J=12.8Hz、1H)、3.98(q、J=13.8Hz、2H)、3.67(d、J=13.4Hz、1H)、3.56-3.48(m、2H)、3.38-3.22(m、3H)、3.13-3.03(m、2H)、2.97-2.94(m、3H)、2.85(s、3H)、2.65(t、J=7.2Hz、2H)、1.89(s、4H)、1.79-1.

6.6 (m, 1H)、1.65–1.35 (m, 8H)、1.18 (t, $J=7.3$ Hz、1H)、1.13–0.99 (m, 1H)、0.99–0.89 (m, 4H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 169.65、169.17、165.82、160.88、160.60、150.03、149.22、145.54、144.50、140.78、135.72、130.77、127.81、127.55、126.34、125.85、124.04、118.89、117.71、117.19、115.30、69.78、54.07、51.80、50.38、48.85、46.16、42.42、41.34、37.38、36.73、35.46、34.70、33.83、32.76、32.11、30.69、29.61、27.53、22.26、16.77、16.43、15.76、15.63、15.50、9.03。LCMS (ESI) m/z 742.91 [(M+H) $^+$; $\text{C}_{39}\text{H}_{47}\text{ClN}_8\text{O}_5$ $^+$: 計算値 743.31]。

【化49】



10

【0167】

9-クロロ-N-(3-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-3-オキソプロピル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド (化合物10)。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.68 (s, 1H)、8.80 (t, $J=5.2$ Hz、1H)、8.47 (s, 1H)、8.24 (s, 1H)、8.17 (d, $J=8.7$ Hz、1H)、8.13–7.98 (m, 3H)、7.64 (d, $J=7.6$ Hz、1H)、4.07–3.94 (m, 3H)、3.64 (d, $J=13.2$ Hz、1H)、3.39–3.22 (m, 5H)、3.14–3.02 (m, 3H)、3.01–2.77 (m, 7H)、2.40 (t, $J=6.2$ Hz、2H)、1.89 (s, 4H)、1.85–1.76 (m, 2H)、1.75–1.69 (m, 1H)、1.62–1.33 (m, 7H)、1.18 (t, $J=7.3$ Hz、1H)、1.12–0.99 (m, 1H)、0.99–0.89 (m, 3H)。 ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 170.53、169.59、165.83、160.80、160.59、150.04、149.20、145.32、144.49、140.88、135.97、130.71、127.82、127.45、126.29、126.00、123.98、118.89、117.64、117.19、115.30、69.80、54.06、51.70、50.50、48.90、46.17、42.42、41.31、37.45、35.46、34.77、33.77、32.01、30.70、30.32、29.61、27.52、25.21、22.26、16.81、16.77、16.43、15.76、15.63。LCMS (ESI) m/z 756.91 [(M+H) $^+$; $\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{ClN}_8\text{O}_5$ $^+$: 計算値 757.33]。

10

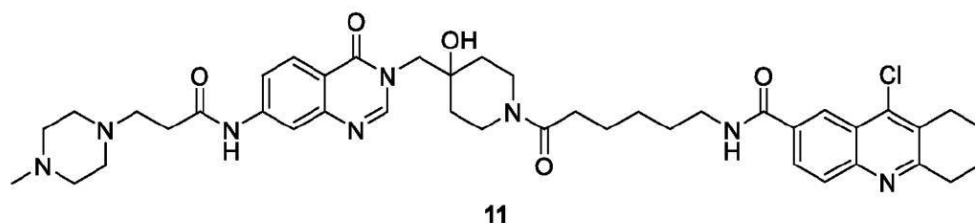
20

30

40

50

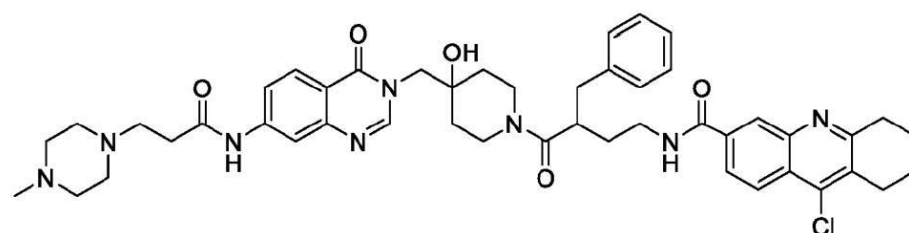
【化50】



【0168】

9-クロロ-N-(6-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-6-オキソヘキシル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-2-カルボキサミド(化合物11)。¹H NMR(500MHz、DMSO) δ 10.67(s、1H)、8.77(t、J=5.5Hz、1H)、8.47(s、1H)、8.23(s、1H)、8.16(d、J=8.7Hz、1H)、8.11-7.99(m、3H)、7.64(d、J=8.0Hz、1H)、4.04-3.91(m、3H)、3.63(d、J=13.5Hz、1H)、3.35-3.24(m、7H)、3.12-3.02(m、3H)、3.00-2.77(m、8H)、2.30(dd、J=7.3、4.9Hz、2H)、1.88(s、4H)、1.76-1.67(m、1H)、1.60-1.27(m、12H)、0.94(q、J=6.9Hz、2H)。¹³C NMR(126MHz、DMSO) δ 170.81、169.65、165.70、160.78、160.57、150.03、149.19、145.49、144.49、140.93、135.99、130.68、127.82、127.41、126.28、125.98、123.98、118.88、117.65、117.18、115.29、69.79、54.04、51.76、50.39、48.93、42.42、41.38、37.40、35.61、34.79、33.75、32.70、32.05、30.70、29.62、29.31、27.51、26.74、25.09、22.26、16.81、15.77、15.63。LCMS(ESI) m/z 784.91[(M+H)⁺; C₄₂H₅₃ClN₈O₅⁺: 計算値785.39]。

【化51】

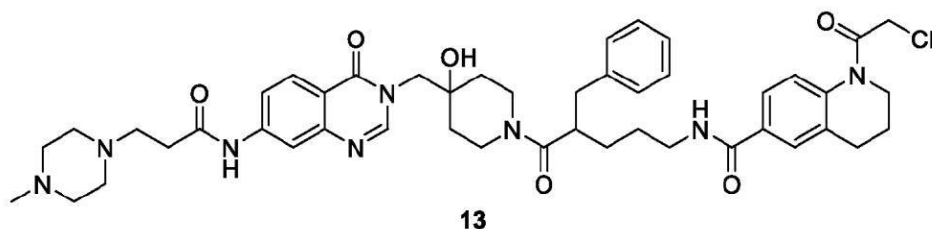


【0169】

N-(3-ベンジル-4-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-4-オキソブチル)-9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物12)。¹H NMR(500MHz、DMSO) δ 10.63(s、1H)、8.75(dt、J=32.4、5.3Hz、1H、配座異性体)、8.45(d、J=13.6Hz、1H、配座異性体)、8.21-7.97(m、5H)、7.64(t、J=9.4Hz、1H)、7.32-7.07(m、5H)、4.06(dd、J=50.9、12.8Hz、1H、配座異性体)、3.91(dd、J=33.3、13.8Hz、1H)、3.84-3.62(dd、J=92.0、13.5Hz、1H)、3.54(d、J=14.0Hz、2H)、3.39-3.15(m、8H)、3.06(m、6H)、2.90-2.61(m、9H)、1

. 99-1. 82 (m, 6 H)、1. 72 (m, 1 H)、1. 52-1. 32 (m, 1 H)、1. 30-1. 00 (m, 3 H)、0. 39 (t, J=10. 6 Hz、1 H)。¹³C NMR (126 MHz、DMSO) δ 172. 44、171. 51/171. 49 (配座異性体)、165. 87、160. 89/160. 85 (配座異性体)、160. 56/160. 51 (配座異性体)、149. 83/149. 77 (配座異性体)、149. 45、146. 09/146. 05 (配座異性体)、144. 75、140. 32、140. 12、135. 69/135. 66 (配座異性体)、130. 58/130. 55 (配座異性体)、129. 49/129. 36 (配座異性体)、128. 66/128. 55 (配座異性体)、127. 88、127. 76/127. 67 (配座異性体)、126. 58/126. 52 (配座異性体)、126. 32/126. 28 (配座異性体)、125. 91/125. 83 (配座異性体)、123. 92/123. 89 (配座異性体)、118. 73/118. 68 (配座異性体)、117. 05/116. 96 (配座異性体)、115. 15、69. 65、69. 56、55. 23、54. 00、53. 80、52. 84、46. 20、41. 41、41. 13、38. 88、37. 99、37. 48、35. 37、35. 04、34. 87、34. 79、34. 46、34. 05、33. 02、32. 48、27. 56、22. 37。LCMS (ESI) m/z 846. 92 [(M+H)⁺; C₄₇H₅₆ClN₈O₅⁺ 計算値847. 41]。

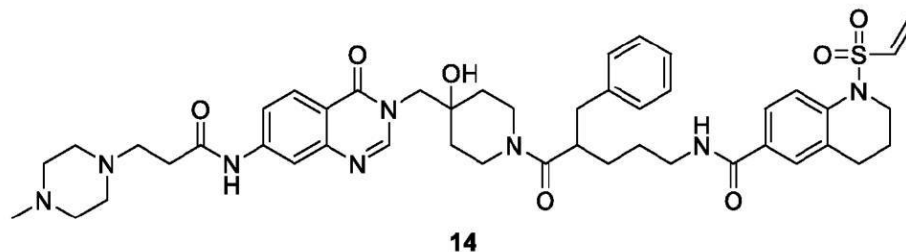
【化52】



【0170】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-1-(2-クロロアセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノリン-6-カルボキサミド (化合物13)。LCMS (ESI) m/z 852. 92 [(M+H)⁺ C₄₆H₅₈ClN₈O₆⁺ 計算値853. 42]。

【化53】



【0171】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-1-(ビニルスルホニル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノリン-6-カルボキサミド (化合物14)。LCMS (ESI) m/z 866. 72 [(M+H)⁺ C₄₆H₅₉N₈O₇S⁺ 計算値867. 42]。

10

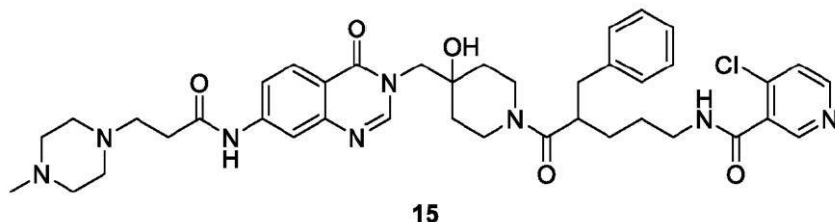
20

30

40

50

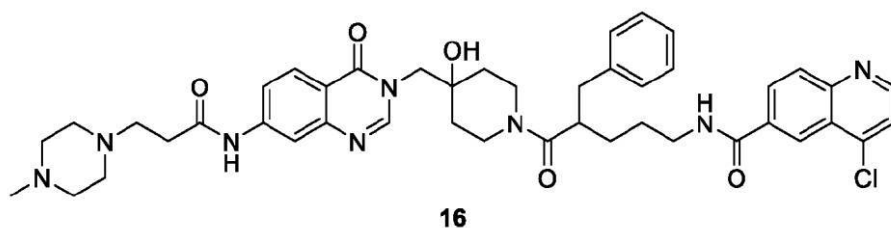
【化54】



【0172】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-4-クロロニコチンアミド(化合物15)。LCMS(ESI) m/z 756.91 [(M+H)⁺C₄₀H₅₀ClN₈O₅⁺ 計算値757.36]。

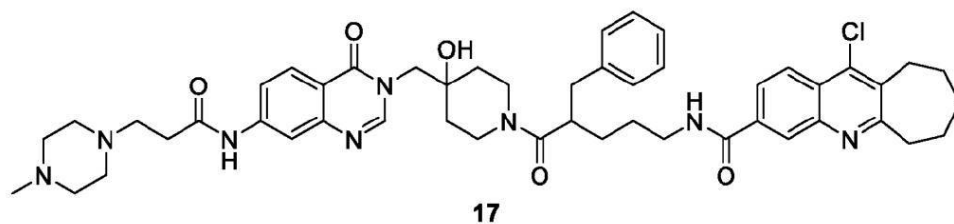
【化55】



【0173】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-4-クロロキノリン-6-カルボキサミド(化合物16)。¹H NMR(500MHz、DMSO-d₆) δ 10.68(s, 1H)、9.00-8.79(m, 2H)、8.60(d, J=13.6Hz, 1H)、8.32-8.22(m, 1H)、8.22-7.95(m, 4H)、7.85(d, J=4.6Hz, 1H)、7.66(br, 1H)、7.33-7.01(m, 5H)、4.07(dd, J=61.0, 12.8Hz, 1H)、3.96-3.75(m, 2H)、3.74-3.20(m, 10H)、3.11(dd, J=16.9, 9.7Hz, 3H)、3.00-2.57(m, 7H)、1.79-1.24(m, 7H)、1.11(m, 2H)、0.95(dd, J=13.7, 6.9Hz, 2H)。LCMS(ESI) m/z 806.91 [(M+H)⁺C₄₄H₅₂ClN₈O₅⁺ 計算値807.37]。

【化56】

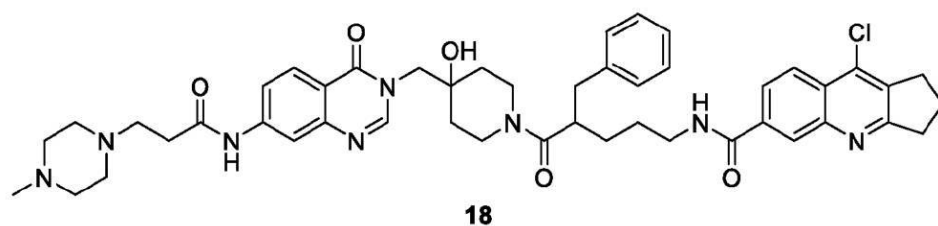


【0174】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-11-クロロ-7,8,9,10-テトラヒドロ-6H-シクロヘプタ[b]キノリン-3-カルボキサミド(化合物17)。LCMS(ESI) m/z 874.82 [(M+H)⁺C₄₉H₆₀ClN₈O₅⁺

計算値 875.44]。

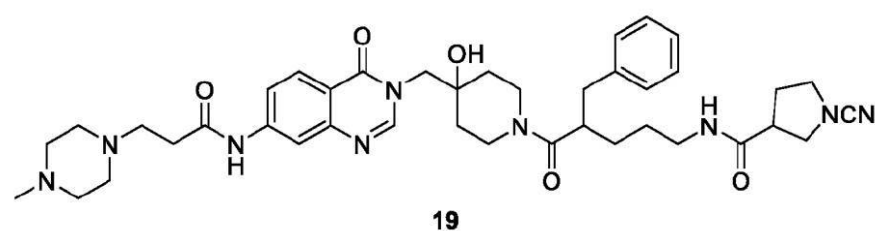
【化57】



【0175】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-9-クロロ-2,3-ジヒドロ-1H-シクロペンタ[b]キノリン-6-カルボキサミド (化合物18)。LCMS (ESI) m/z 846.82 [(M+H)⁺C₄₇H₅₆ClN₈O₅⁺ 計算値 847.41]。

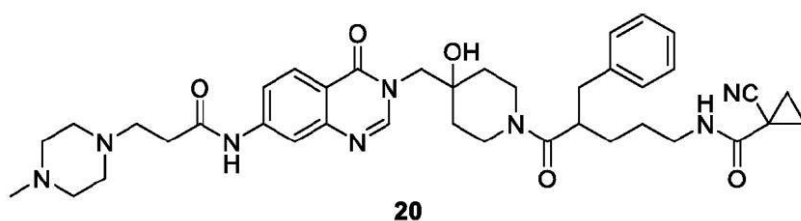
【化58】



【0176】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-1-シアノピロリジン-3-カルボキサミド (化合物19)。LCMS (ESI) m/z 739.91 [(M+H)⁺C₄₀H₅₄N₉O₅⁺ 計算値 740.42]。

【化59】



【0177】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-1-シノシクロプロパンカルボキサミド (化合物20)。LCMS (ESI) m/z 710.90 [(M+H)⁺C₃₉H₅₁N₈O₅⁺ 計算値 711.40]。

10

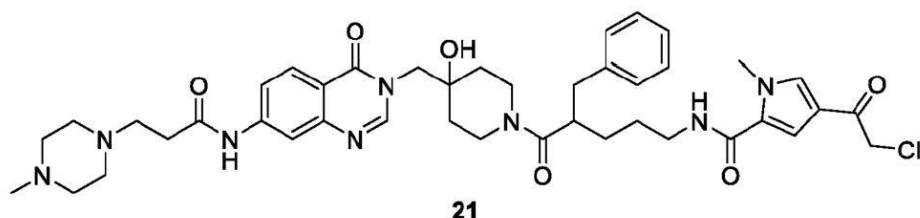
20

30

40

50

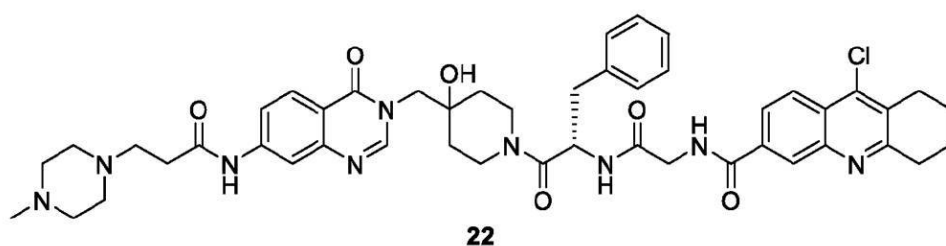
【化60】



【0178】

N-(4-ベンジル-5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-4-(2-クロロアセチル)-1-メチル-1H-ピロール-2-カルボキサミド(化合物21)。LCMS(ESI) m/z 800.81 [(M+H)⁺C₄₇H₅₄ClN₈O₆⁺ 計算値801.38]。

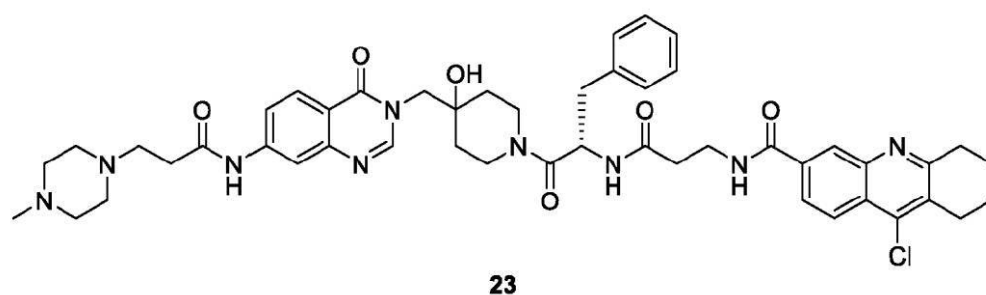
【化61】



【0179】

(S)-9-クロロ-N-(2-((1-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-1-オキソ-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-2-オキソエチル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物6)。LCMS(ESI) m/z 876.32 [(M+H)⁺C₄₇H₅₅ClN₉O₆⁺ 計算値876.40]。

【化62】



【0180】

(S)-9-クロロ-N-(3-((1-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-1-オキソ-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-3-オキソプロピル)-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物23)。LCMS(ESI) m/z 890.42 [(M+H)⁺C₄₈H₅₇ClN₉O₆⁺ 計算値890.41]。

10

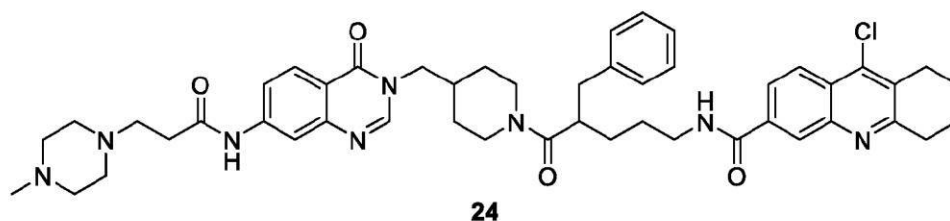
20

30

40

50

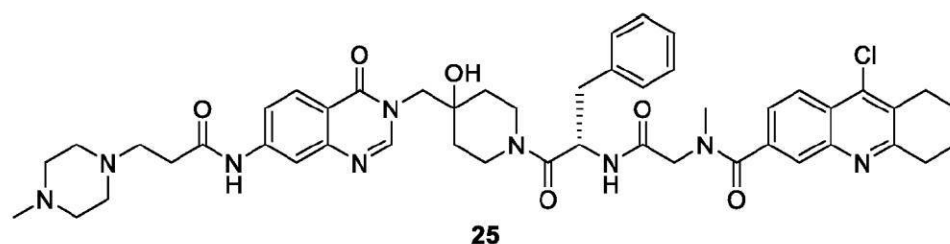
【化 6 3】



【0181】

N-（4-ベンジル-5-（4-（（7-（3-4-メチルピペラジン-1-イル）プロパンアミド）-4-オキソキナゾリン-3（4H）-イル）メチル）ピペリジン-1-イル）-5-オキソペンチル）-9-クロロ-5, 6, 7, 8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド（化合物24）。¹H NMR（500MHz、DMSO） δ 10.52（d、J=4.2Hz、1H、配座異性体）、8.78（dt、J=18.3、5.4Hz、1H、配座異性体）、8.48（d、J=18.1Hz、1H、配座異性体）、8.23-8.11（m、2H）、8.11-7.99（m、3H）、7.62（m、1H）、7.19（m、5H）、4.39（dd、J=39.4、12.8Hz、1H、配座異性体）、3.78（m、2H）、3.61（ddd、J=43.3、13.4、7.0Hz、1H）、3.29（m、2H）、3.13（s、1H）、3.06（m、2H）、2.99（m、2H）、2.88-2.71（m、2H）、2.71-2.59（m、4H）、2.58-2.52（m、3H）、2.39（m、4H）、2.15（s、3H）、2.00-1.83（m、5H）、1.74-1.35（m、6H）、1.23（m、1H）、1.05（td、J=23.0、11.6Hz、1H）、0.72（dt、J=12.3、8.8Hz、1H）。¹³C NMR（126MHz、DMSO） δ 172.78/172.70（配座異性体）、171.53、165.81/165.75（配座異性体）、160.91、160.17、149.45、148.92、146.06、144.77、140.50、140.33/140.28（配座異性体）、135.68、130.59、129.58/129.32（配座異性体）、128.69/128.51（配座異性体）、127.89/127.87（配座異性体）、127.54/127.49（配座異性体）、126.51/126.44（配座異性体）、126.32/126.29（配座異性体）、125.87/125.84（配座異性体）、123.96/123.91（配座異性体）、118.94、117.03/116.98（配座異性体）、115.25、55.23、54.00、52.84、50.97/50.80（配座異性体）、46.20、45.31、44.72、42.09/41.83（配座異性体）、41.54、41.16、39.01、35.56、35.39（配座異性体）、34.79、34.07、30.92、30.30、29.98、29.61、29.35、27.56、27.28/27.18（配座異性体）、22.36。LCMS（ESI）m/z 844.82 [(M+H)⁺C₄₈H₅₈ClN₈O₄⁺ 計算値845.43]。

【化 6 4】



【0182】

10

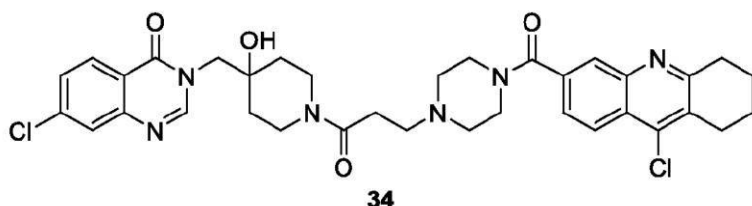
20

30

40

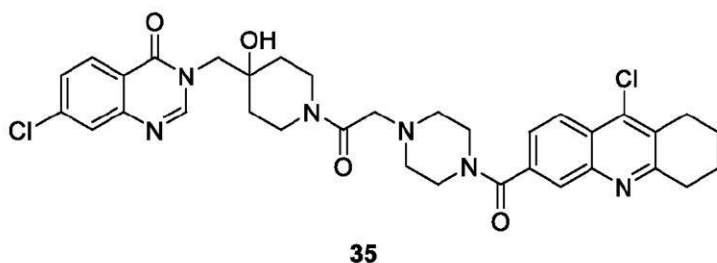
50

(S)-9-クロロ-N-(2-((1-(4-ヒドロキシ-4-((7-(3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロパンアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-1-オキソ-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-2-オキソエチル)-N-メチル-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド(化合物25)。LCMS(ESI) m/z 890.42 [(M+H)⁺C₄₈H₅₇ClN₉O₆⁺ 計算値890.41]。
【化65】



【0183】

7-クロロ-3-((1-(3-((4-(9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボニル)ピペラジン-1-イル)プロパノイル)-4-ヒドロキシピペリジン-4-イル)メチル)キナゾリン-4(3H)-オン(化合物34)。¹H NMR(500MHz、MeOD) δ 8.20(d、J=7.3Hz、2H)、8.08(d、J=8.6Hz、1H)、7.87(d、J=1.3Hz、1H)、7.59(d、J=2.0Hz、1H)、7.55(dd、J=8.6、1.5Hz、1H)、7.43(dd、J=8.6、2.0Hz、1H)、4.13(d、J=13.5Hz、1H)、4.08(d、J=14.0Hz、1H)、3.93(d、J=14.0Hz、1H)、3.81-3.64(m、3H)、3.06-2.92(m、5H)、2.72-2.36(m、8H)、1.88(dd、J=6.5、3.1Hz、4H)、1.73-1.62(m、1H)、1.61-1.50(m、1H)、1.45(d、J=13.2Hz、2H)。¹³C NMR(126MHz、MeOD) δ 170.90、169.71、161.05、161.03、150.08、148.76、145.37、141.56、140.29、136.64、130.53、128.15、127.46、126.03、125.94、125.71、124.98、124.35、120.25、69.71、54.31、53.77、52.94、52.38、41.81、41.52、37.43、34.99、34.23、33.38、29.97、27.16、21.98。LCMS(ESI) m/z 677.50 [(M+H)⁺C₃₅H₃₉Cl₂N₆O₄⁺ 計算値677.24]。
【化66】

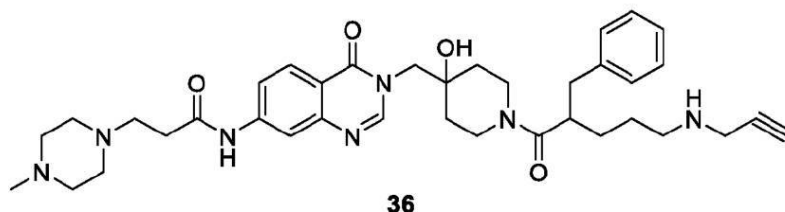


【0184】

7-クロロ-3-((1-(2-((4-(9-クロロ-5,6,7,8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボニル)ピペラジン-1-イル)アセチル)-4-ヒドロキシピペリジン-4-イル)メチル)キナゾリン-4(3H)-オン(化合物35)。¹H NMR(500MHz、MeOD) δ 8.31(t、J=4.3Hz、2H)、8.22(d、J=8.6Hz、1H)、7.98(s、1H)、7.69(d、J=1.8Hz、1H)、7.66(d、J=8.6Hz、1H)、7.55(dd、J=8.6、1.9

Hz、1H)、4.19 (m、2H)、4.05 (d、J=14.0 Hz、1H)、3.91 (m、3H)、3.54 (br、2H)、3.43 (m、2H)、3.24 (d、J=14.0 Hz、1H)、3.18-3.10 (m、3H)、3.08 (m、2H)、2.78-2.43 (m、4H)、2.04-1.94 (m、4H)、1.88-1.75 (m、1H)、1.71-1.53 (m、3H)。¹³C NMR (126 MHz、MeOD) δ 169.71、168.40、161.07、161.03、150.08、148.75、145.37、141.54、140.29、136.63、130.52、128.14、127.47、126.01、125.94、125.70、124.96、124.35、120.23、69.73、59.83、54.29、52.82、52.37、41.93、41.42、37.60、35.03、34.35、33.38、27.17、21.98。LCMS (ESI) m/z 663.30 [(M+H)⁺; C₃₄H₃₇Cl₂N₆O₄⁺ 計算値663.22]。

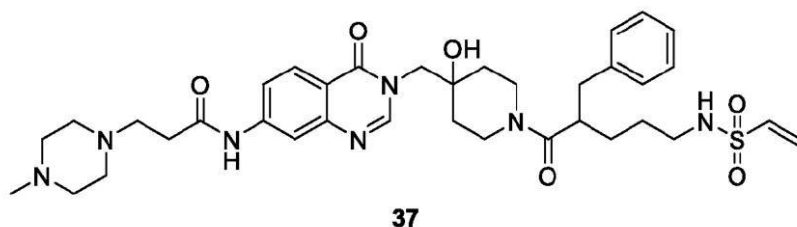
【化67】



【0185】

N-(3-((1-(2-ベンジル-5-(プロパー-2-イン-1-イルアミノ)ペンタノイル)-4-ヒドロキシピペリジン-4-イル)メチル)-4-オキソ-3,4-ジヒドロキナゾリン-7-イル)-3-(4-メチルピペラジン-1-イル)プロペンアミド(化合物36)。¹H NMR (500 MHz、DMSO) δ 10.70 (s、1H)、8.29-8.00 (m、3H)、7.81 (d、J=17.1 Hz、3H)、7.67 (t、J=8.4 Hz、1H)、7.32-7.20 (m、2H)、7.20-7.05 (m、3H)、4.59 (s、2H)、4.19-3.90 (m、3H)、3.84 (d、J=13.6 Hz、1H)、3.75-3.52 (m、6H)、3.47-3.26 (m、4H)、3.17-3.05 (m、2H)、2.93-2.57 (m、8H)、1.71-1.54 (m、1H)、1.56-1.26 (m、4H)、1.22 (d、J=12.6 Hz、1H)、1.18-1.00 (m、1H)、0.41 (t、J=10.6 Hz、1H)。¹³C NMR (126 MHz、DMSO) δ 177.67、172.45、170.08、160.62、160.48、149.99、149.91、149.16、144.61、140.19、139.88、129.46、129.32、128.66、128.55、127.80、127.73、127.63、126.59、118.92、117.18、117.05、116.97、115.25、84.30、71.99、69.62、69.54、57.49、54.08、53.78、51.96、45.70、41.80、41.66、41.37、41.16、37.47、35.69、35.06、34.90、34.36、32.84、30.23、29.52、25.41、25.29。LCMS (ESI) m/z 656.50 [(M+H)⁺; C₃₄H₄₉N₇O₄⁺: 計算値655.84]。

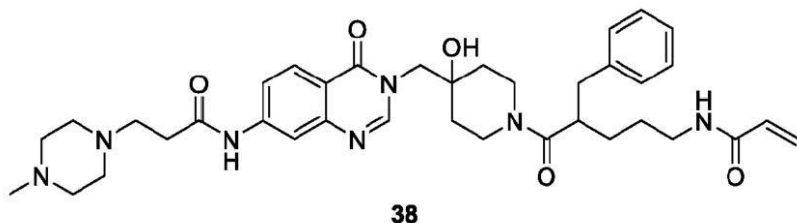
【化68】



【0186】

N- (3- ((1- (2-ベンジル-5- (ビニルスルホンアミド) ペンタノイル) -4-ヒドロキシピペリジン-4-イル) メチル) -4-オキソ-3, 4-ジヒドロキナゾリン-7-イル) -3- (4-メチルピペラジン-1-イル) プロペンアミド (化合物37)。¹H NMR (500MHz、DMSO) δ 10.51 (s、1H)、8.25-7.93 (m、3H)、7.64 (t、J=8.4Hz、1H)、7.34-7.18 (m、3H)、7.15-7.09 (m、3H)、6.67 (td、J=15.9、10.3Hz、1H)、6.13-5.85 (m、2H)、4.86 (s、1H)、4.16-3.88 (m、2H)、3.81 (d、J=13.6Hz、1H)、3.63 (d、J=13.7Hz、1H)、3.56 (d、J=12.3Hz、1H)、3.20-2.57 (m、21H)、1.63-1.51 (m、1H)、1.47-1.26 (m、4H)、1.19 (d、J=12.6Hz、1H)、1.15-0.98 (m、1H)、0.41 (d、J=9.9Hz、1H)。¹³C NMR (126MHz、DMSO) δ 172.64、160.66、160.52、149.92、149.83、149.43、144.66、140.42、140.13、137.42、129.44、129.30、128.63、128.53、127.77、126.51、125.77、125.69、118.83、117.16、117.06、115.31、69.67、69.57、54.02、53.85、52.77、52.51、49.77、42.86、42.78、41.81、41.59、41.38、41.15、39.34、37.46、35.71、35.12、34.96、34.42、30.64、29.97、27.61。LCMS (ESI) m/z 708.40 [(M+H)⁺; C₃₆H₄₉N₇O₆S⁺: 計算値707.89]。

【化69】

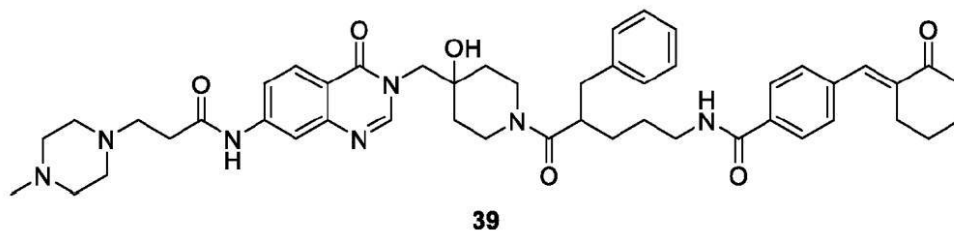


【0187】

N- (4-ベンジル-5- (4-ヒドロキシ-4- ((7- (3- (4-メチルピペラジン-1-イル) プロパンアミド) -4-オキソキナゾリン-3 (4H) -イル) メチル) ピペリジン-1-イル) -5-オキソペンチル) アクリルアミド (化合物38)。¹H NMR (500MHz、DMSO) δ 10.64 (s、1H)、8.29-7.98 (m、4H)、7.68 (td、J=8.6、1.9Hz、1H)、7.31-7.19 (m、2H)、7.18-7.06 (m、3H)、6.26-6.14 (m、1H)、6.12-6.00 (m、1H)、5.61-5.49 (m、1H)、4.90 (s、1H)、4.13-3.91 (m、2H)、3.82 (d、J=13.6Hz、1H)、3.64 (d、J=13.7Hz、1H)、3.58 (d、J=12.6Hz、1H)、3.16-3.01 (m、4H)、2.93-2.56 (m、15H)、2.53-2.49 (m、2H)、1.60-1.52 (m、1H)、1.49-1.27 (m、4H)、1.22 (d、J=12.6Hz、1H)、1.16-0.99 (m、1H)、0.38 (dd、J=12.1、9.0Hz、1H)。¹³C NMR (126MHz、DMSO) δ 172.70、172.65、171.19、164.94、164.89、160.67、160.53、149.88、149.79、149.44、144.79、140.45、140.19、132.38、132.35、129.43、129.28、128.64、128.51、127.69、126.50、125.27、118.81、117.08、116.98、115.24、69.68、69.58、53.95、53.76、53.62、53.37、50.89、45.93、43.95、41.9

5、41.67、41.40、41.15、40.90、39.24、38.92、37.47、35.69、35.12、34.94、34.44、31.01、30.22、27.34、9.00。LCMS (ESI) m/z 672.50 [(M+H)⁺; C₃₇H₄₉N₇O₅⁺: 計算値671.84]。

【化70】

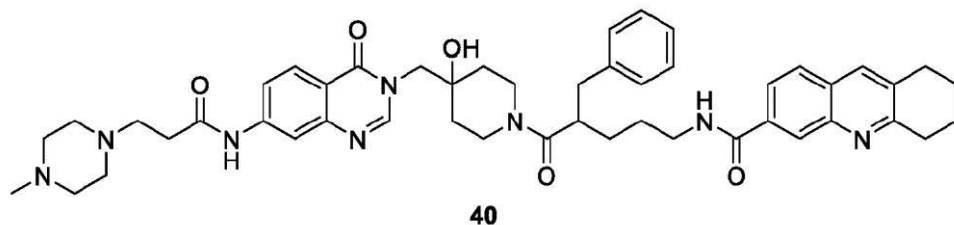


10

【0188】

(E)-N-(4-benzyl-5-(4-hydroxy-4-((7-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamido)-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)methyl)piperidin-1-yl)-5-oxopentyl)-4-((2-oxocyclohex-1-en-1-yl)methyl)benzamide (化合物39)。LCMS (ESI) m/z 830.71 [(M+H)⁺ C₄₈H₆₀N₇O₆⁺ 計算値830.46]。

【化71】



20

【0189】

N-(4-benzyl-5-(4-hydroxy-4-((7-(3-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamido)-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)methyl)piperidin-1-yl)-5-oxopentyl)-5,6,7,8-tetrahydroacridin-3-carboxamide (化合物40)。¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.50 (d, J=4.4 Hz, 1H, 配座異性体)、8.74-8.60 (m, 1H)、8.40 (d, J=14.3 Hz, 1H, 配座異性体)、8.11 (m, 2H)、8.07-7.96 (m, 2H)、7.92-7.81 (m, 2H)、7.69-7.52 (m, 1H)、7.16 (m, 5H)、4.82 (s, 1H, 配座異性体)、4.06 (dd, J=61.0, 12.9 Hz, 1H, 配座異性体)、3.88 (q, J=13.9 Hz, 1H)、3.71 (dd, J=88.4, 13.6 Hz, 3H)、3.27 (m, 2H)、3.13 (m, 2H)、3.03 (dd, J=7.9, 4.8 Hz, 2H)、2.96 (m, 2H)、2.83 (m, 1H)、2.80-2.69 (m, 2H)、2.69-2.59 (m, 4H)、2.59-2.52 (m, 3H)、2.16 (d, J=18.6 Hz, 3H)、1.98-1.87 (m, 2H)、1.87-1.77 (m, 2H)、1.60 (d, J=29.3 Hz, 1H)、1.43 (m, 4H)、1.35-1.00 (m, 4H)、0.40 (t, J=10.7 Hz, 1H)。¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 172.76/172.70 (配座異性体)、171.52、166.30、160.61/160.52 (配座異性体)、160.32/160.30 (配座異性体)、149.84/149.79 (配座異性体)、149.46、145.88/145.85 (配座異性体)、144.75、140.49、140.25、134.81、134.75、132.73/132.70 (配座異性体)、129.44/129.30 (配座異性体)、128.62/128.51 (配座異性体)、127.7

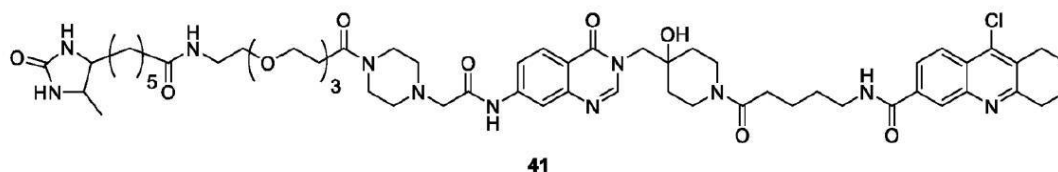
30

40

50

8 / 127.75 (配座異性体)、127.62、127.42 / 127.37 (配座異性体)、126.49 / 126.44 (配座異性体)、124.42 / 124.38 (配座異性体)、118.76、117.07 / 116.97 (配座異性体)、115.17、69.67 / 69.59 (配座異性体)、55.23、54.04 / 53.84 (配座異性体)、54.00、52.84、46.20、41.97 / 41.74 (配座異性体)、41.40 / 41.17 (配座異性体)、39.18、37.46、35.72、35.13、34.95、34.79、34.47、33.46、30.97、30.17、29.03、27.31、23.05、22.75。LCMS (ESI) m/z 827.61 [(M+H)⁺ C₄₈H₅₉N₈O₅⁺ 計算値827.46]。

【化72】



41

【0190】

9-クロロ-N-(5-(4-ヒドロキシ-4-((7-(2-(4-(19-(4R, 5S)-5-メチル-2-オキソイミダゾリジン-4-イル)-14-オキソ-4, 7, 10-トリオキサ-13-アザノナデカノイル)ピペラジン-1-イル)アセトアミド)-4-オキソキナゾリン-3(4H)-イル)メチル)ピペリジン-1-イル)-5-オキソペンチル)-5, 6, 7, 8-テトラヒドロアクリジン-3-カルボキサミド (化合物41)。¹H NMR (500MHz、DMSO) δ 8.78 (t、J=5.6 Hz、1H)、8.47 (d、J=1.5 Hz、1H)、8.22 (s、1H)、8.17 (d、J=8.8 Hz、1H)、8.10 (d、J=8.6 Hz、1H)、8.08-8.02 (m、2H)、7.81 (t、J=5.6 Hz、1H)、7.69 (s、1H)、6.29 (s、1H)、6.12 (s、1H)、4.96 (s、1H)、4.10-3.88 (m、4H)、3.70-3.55 (m、6H)、3.54-3.43 (m、11H)、3.39 (t、J=6.0 Hz、4H)、3.31-3.23 (m、3H)、3.22-3.14 (m、3H)、3.06-2.90 (m、6H)、2.64-2.56 (m、3H)、2.40-2.30 (m、2H)、2.05 (t、J=7.4 Hz、2H)、1.89 (t、J=2.9 Hz、4H)、1.64-1.52 (m、5H)、1.50-1.09 (m、11H)、0.95 (d、J=6.4 Hz、3H)。¹³C NMR (126MHz、DMSO) δ 172.97、170.98、169.54、166.02、163.40、160.99、160.68、150.01、149.33、145.97、143.83、140.42、135.73、130.67、127.82、126.31、125.77、123.99、119.19、117.51、115.84、70.19、70.15、70.11、70.00、69.81、69.53、67.13、55.46、54.02、52.98、52.60、50.74、41.42、38.92、37.44、35.70、35.52、34.78、34.00、33.13、32.46、29.91、29.10、27.55、25.99、25.61、22.85、22.32、22.31、15.89。LCMS (ESI) m/z 1142.60 [(M+H)⁺; C₅₈H₈₀ClN₁₁O₁₁⁺: 計算値1142.79]。

【0191】

実施例2：本開示の例示的な化合物を使用するインビトロアッセイ

例示的なUSP7不可逆的阻害剤を用いる酵素アッセイ

化合物42は、ユビキチンC末端を活性部位に導く親指と手掌状の間隙 (thumb-palm cleft) に結合するUSP7の非共有結合阻害剤である。具体的には、化合物42およびUSP7触媒ドメインの共結晶構造は、化合物が、触媒システインから約5 Å離れて、酵素のS4-S5ポケット内に結合していることを示す (図1A)。いかな

る理論にも束縛されるものではないが、化合物が触媒三残基に隣接していることを考慮すると、化合物を修飾して、触媒残基に結合する共有結合阻害剤を開発することができると仮定した。そのような化合物の合理的な設計に関して、1つの課題は、USP7 DUBドメインの動態である。結晶学的研究は、触媒三残基が非活性な立体構造にあることを示し、触媒システインが、アポおよび化合物42結合状態において、AspおよびHis三残基から12 Å離れているが、ユビキチン結合時は、触媒三残基残基を触媒に貢献する立体構造になるように再配列する。Hu, M. et al. Crystal structure of a UBP-family deubiquitinating enzyme in isolation and in complex with ubiquitin aldehyde. Cell 111, 1041–1054 (2002)。この再配列は、約9 Å移動する触媒システインを伴い、つまり、化合物中の固定点から求核性システインまでの距離は、立体構造に応じて著しく変化することを意味する。

10

【0192】

アナログ合成を何回も繰り返すことによって、USP7の非常に強力で選択的な不可逆的阻害剤としての化合物6の開発に至った(図1B)。全長USP7および蛍光発生基質ユビキチン-7-アミノ-4-メチルクマリン(Ub-AMC)を使用する酵素アッセイにおいて、化合物6は、ナノモル以下の範囲内のIC₅₀でUSP7を阻害した(図1C)。化合物6の酵素不活性化速度(k_{inact})および阻害定数(K_i)の正確な測定は、化合物によるUSP7の迅速かつ完全な標識のため実現不可能であった。しかしながら、同じ求電子弾頭を含有する前駆体化合物である化合物1についてのこれらのパラメータの決定により、化合物系列について不可逆的な阻害様式を確認した。化合物1の場合、酵素速度(k_{inact})は、 $0.22 \pm 0.07 \text{分}^{-1}$ であり、阻害定数(K_i)は $2.8 \pm 1.8 \text{nM}$ であった。また、質量分析を使用して、化合物6について共有結合様式を確認した。精製されたUSP7触媒ドメインをビヒクル(DMSO)または化合物6で15分間インキュベートし、キャピラリー電気泳動質量分析(CE-MS)を使用して試料を分析した。阻害剤から塩素原子を差し引いた質量に対応する質量シフトを有する化合物6によるUSP7の定量的標識を観察した(データ未掲載)。MS/MS分析は、触媒残基C223への結合を確認した。塩化物脱離基を含まない化合物6の類似体である化合物40は、ナノモル範囲でUSP7に対する活性が低下し、MSにより、USP7の触媒ドメインを標識することができなかった。化合物6を、触媒システイン残基がアラニン残基に置換されたUSP7のC223Aと共にインキュベートすると、質量シフトは検出されなかった。

20

30

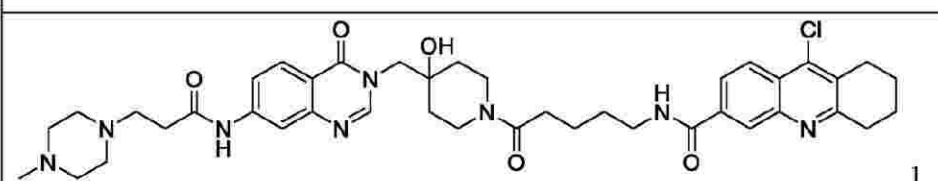
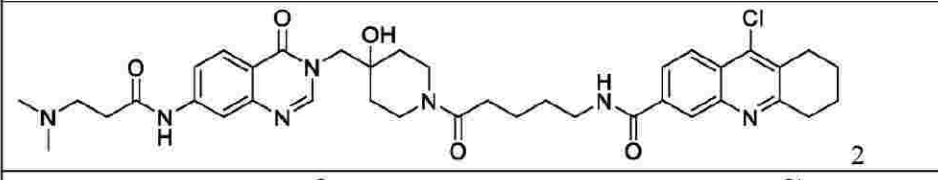
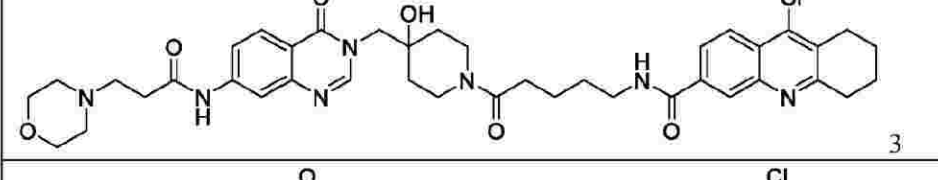
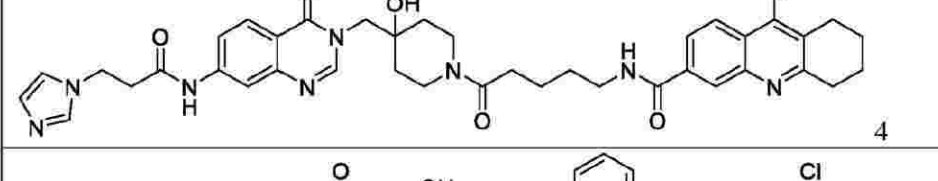
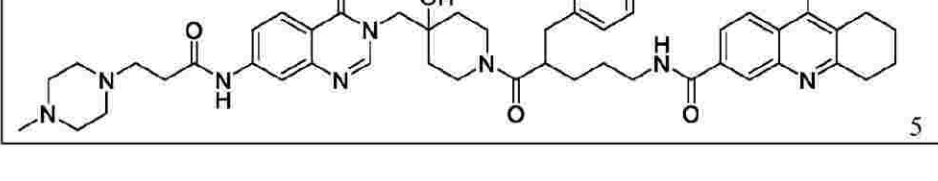
【0193】

表1: USP7アッセイにおける例示的な化合物のUSP7活性。++++は、約20 nM未満のIC₅₀を示し、+++は、約20 nM~約100 nMのIC₅₀を示し、++は、約100 nM~約1 μMのIC₅₀を示し、+は、1 μMを超えるIC₅₀を示す。NDは、開示されていないことを指す。

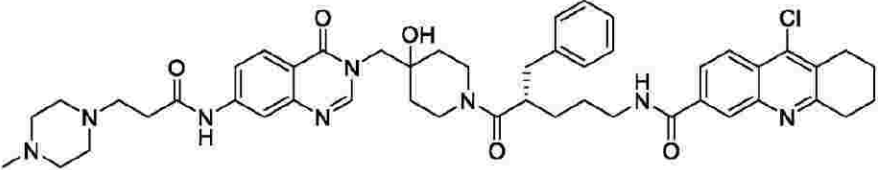
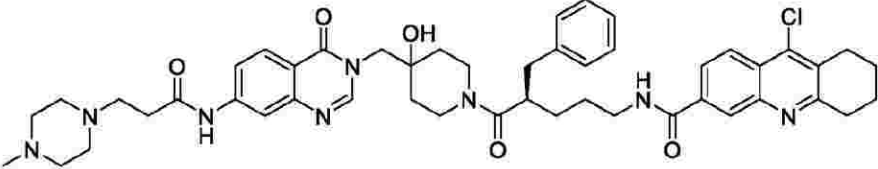
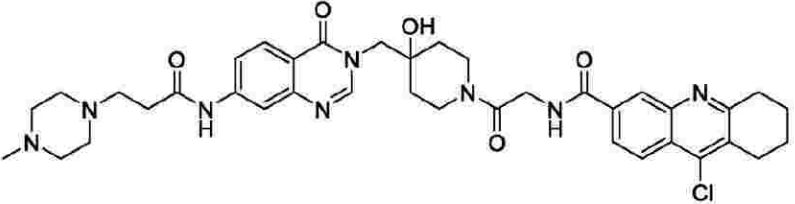
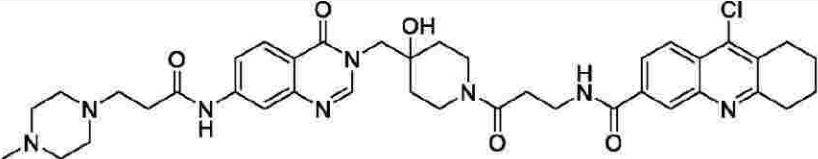
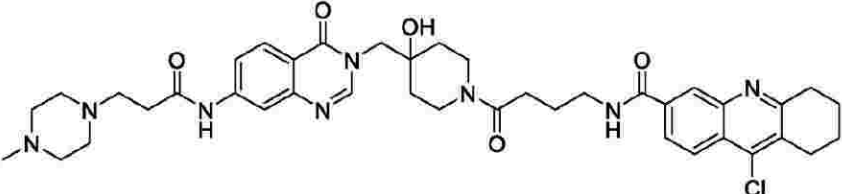
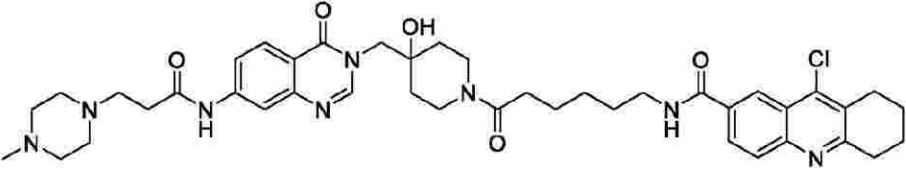
40

50

【表 1 - 1】

表 1	
化合物	IC ₅₀ (nM)
 1	+++
 2	+++
 3	++
 4	+++
 5	++++

【表 1 - 2】

化合物	IC ₅₀ (nM)
 6	++++
 7	++
 8	+
 9	++
 10	+++
 11	+++

10

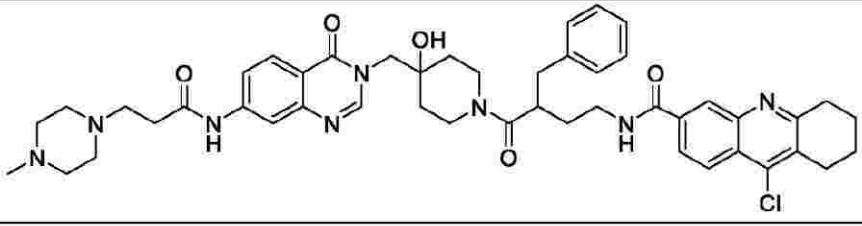
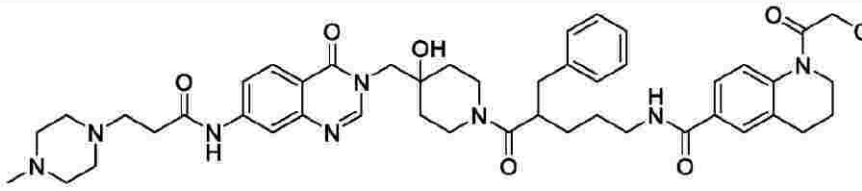
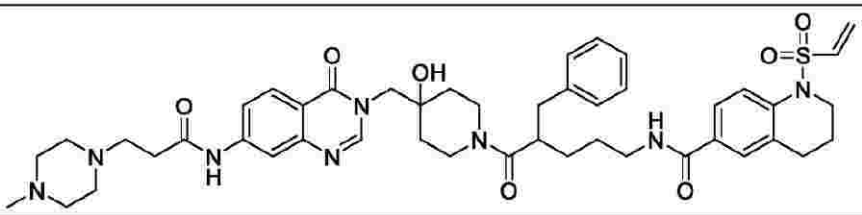
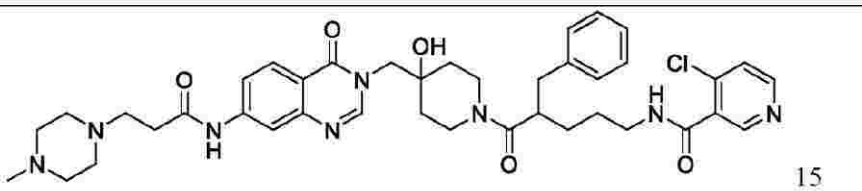
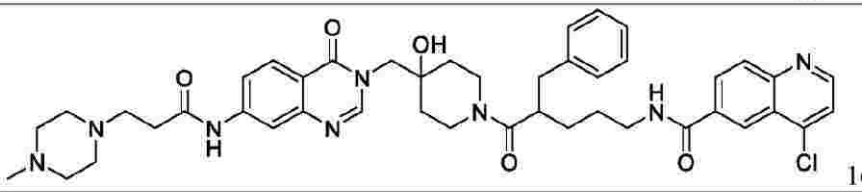
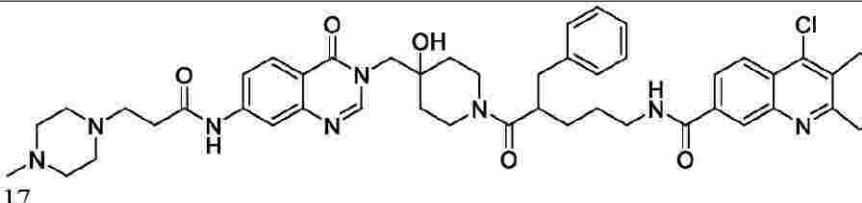
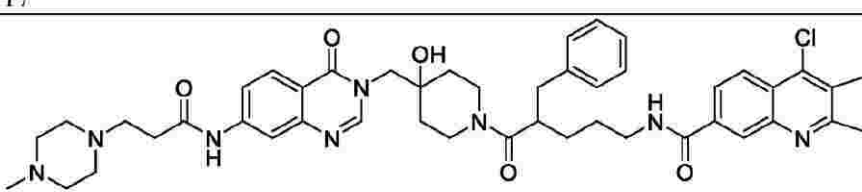
20

30

40

50

【表 1 - 3】

化合物	IC ₅₀ (nM)
 12	++++
 13	+++
 14	+++
 15	+
 16	ND
 17	++++
 18	++++

10

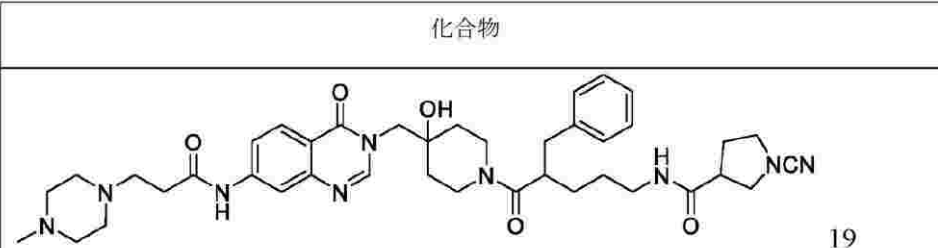
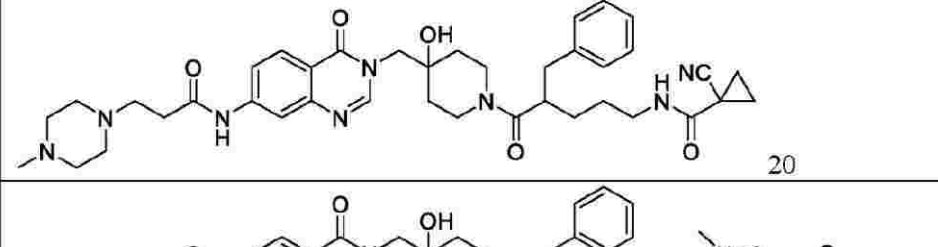
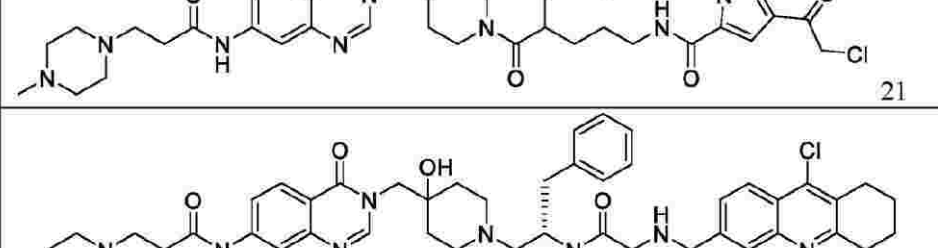
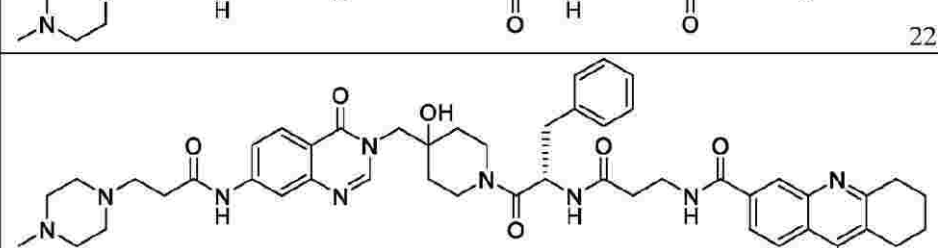
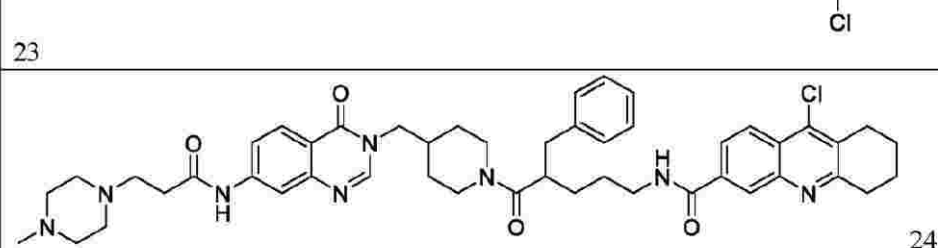
20

30

40

50

【表 1-4】

化合物	IC ₅₀ (nM)
 19	+
 20	++
 21	+
 22	++++
 23	++++
 24	+

10

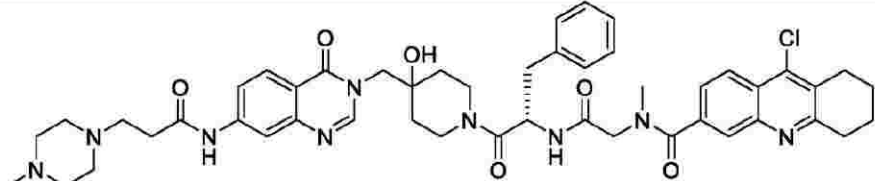
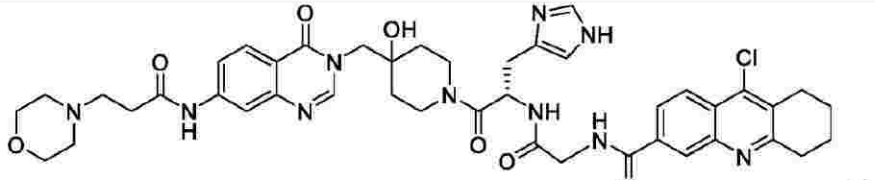
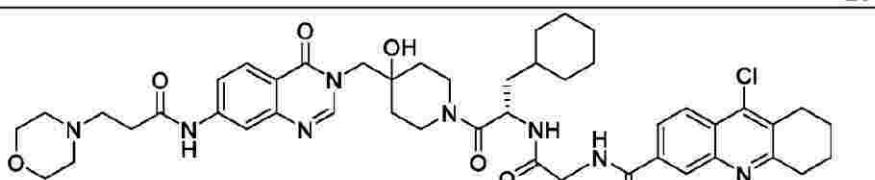
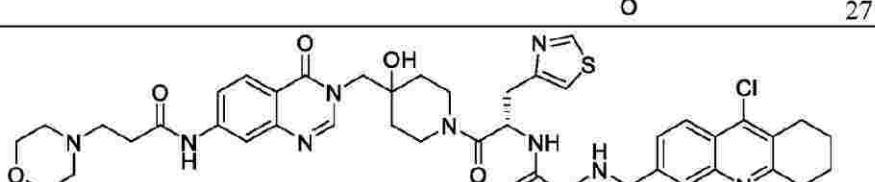
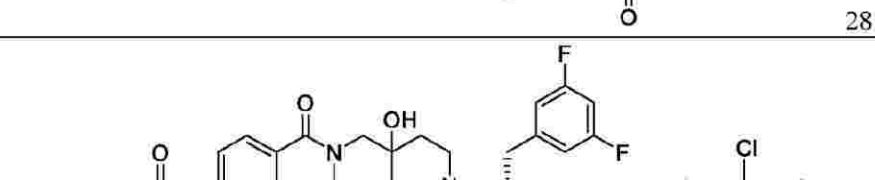
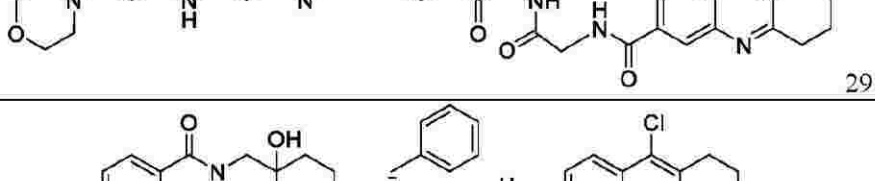
20

30

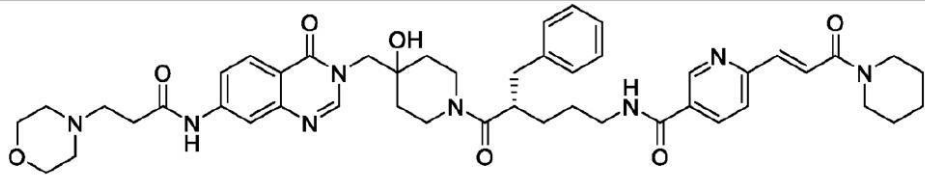
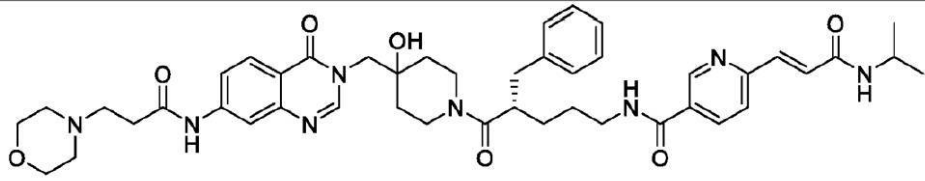
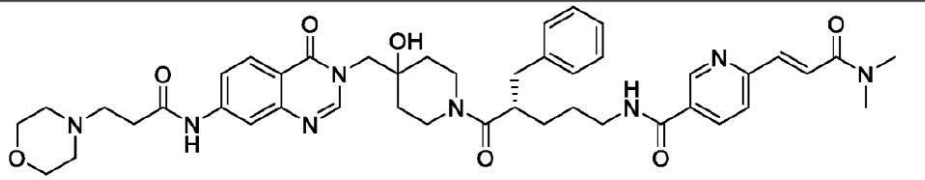
40

50

【表 1 - 5】

化合物	IC ₅₀ (nM)
 25	++++
 26	++++
 27	++++
 28	++++
 29	++++
 30	++

【表 1 - 6】

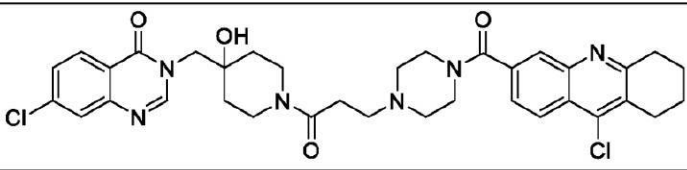
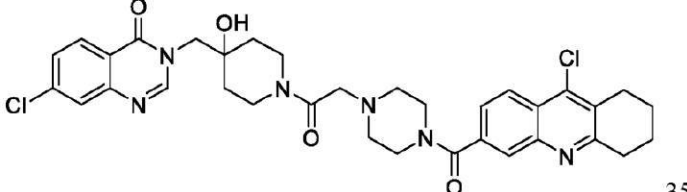
化合物	IC ₅₀ (nM)
 31	+
 32	+
 33	+

【 0 1 9 4】

表 2：USP 7 アッセイにおける例示的な化合物の USP 7 活性。++++は、約 20 nM 未満の IC₅₀を示し、+++は、約 20 nM～約 100 nMの IC₅₀を示し、++は、約 100 nM～約 1 μMの IC₅₀を示し、+は、1 μMを超える IC₅₀を示す。NDは、開示されていないことを指す。

【表 2 - 1】

表 2

化合物	IC ₅₀ (μM)
 34	++
 35	+++

10

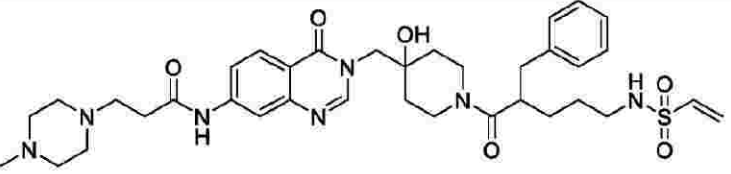
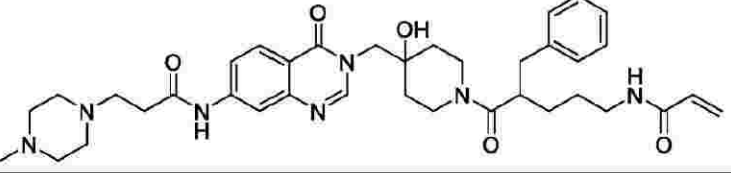
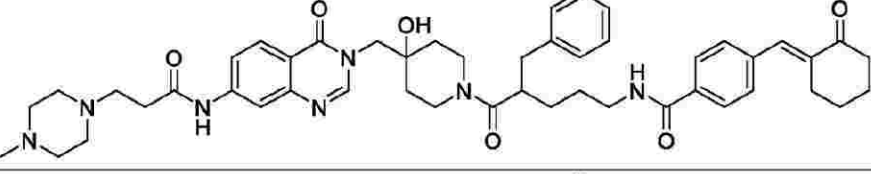
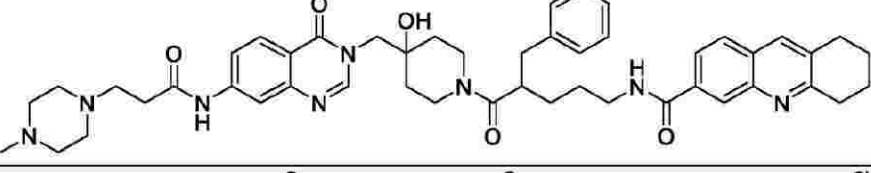
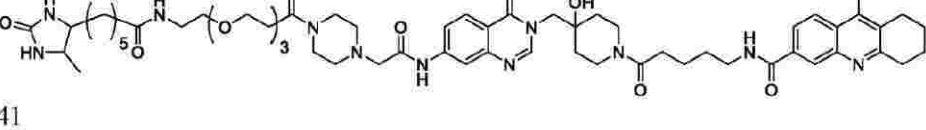
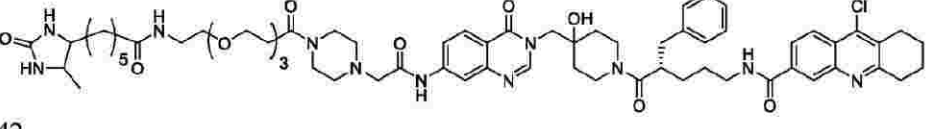
20

30

40

50

【表 2 - 2】

化合物	IC ₅₀ (μ M)
 36	+++
 37	+++
 38	++++
 39	+++
 40	++
 41	+++
 42	ND

【 0 1 9 5 】

表 3 : U S P 7 アッセイにおける例示的な化合物の U S P 7 活性。++++は、約 2 0 n M 未満の I C 5 0 を示し、+++は、約 2 0 n M ~ 約 1 0 0 n M の I C 5 0 を示し、++は、約 1 0 0 n M ~ 約 1 μ M の I C 5 0 を示し、+は、1 μ M を超える I C 5 0 を示す。N D は、開示されていないことを指す。

10

20

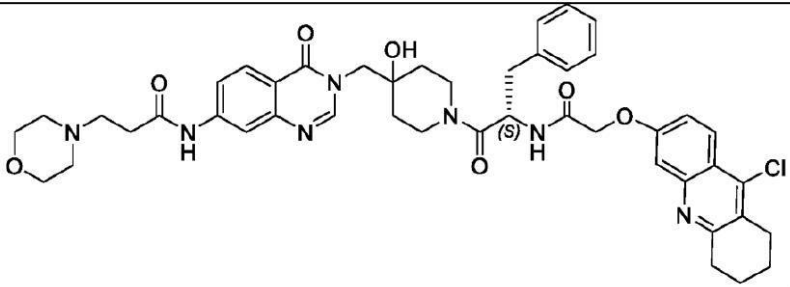
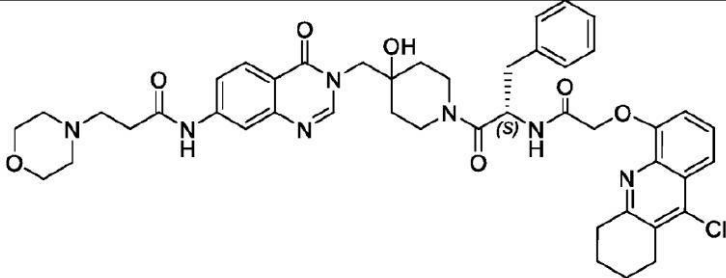
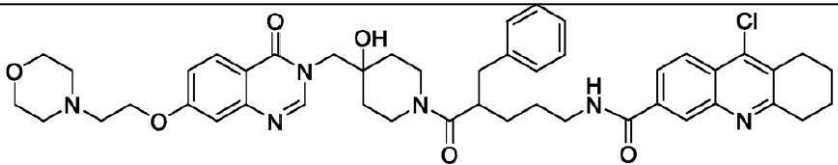
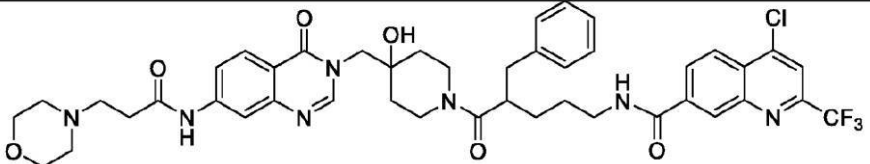
30

40

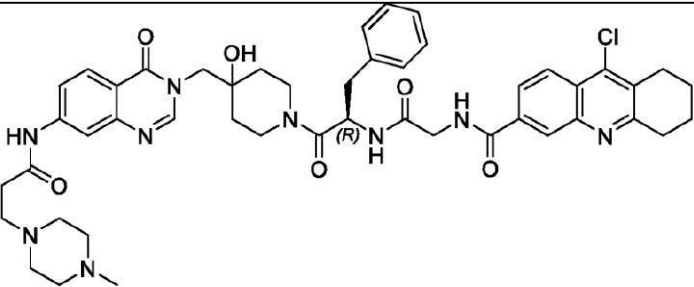
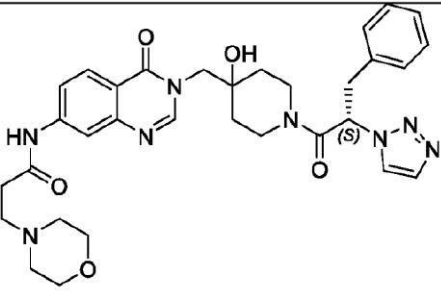
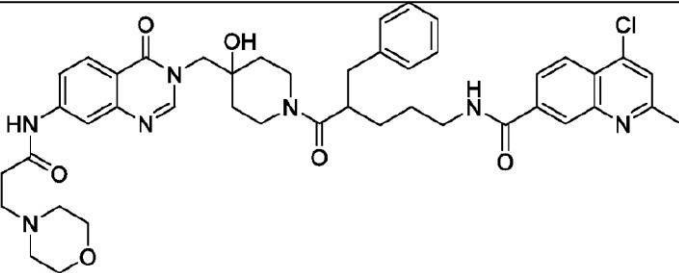
50

【表 3 - 1】

表 3

化合物	IC ₅₀ (μ M)
 43	++
 44	+++
 45	+++
 46	++

【表 3 - 2】

化合物	IC ₅₀ (μM)
 47	+++
 48	+++
 49	+
 50	+

10

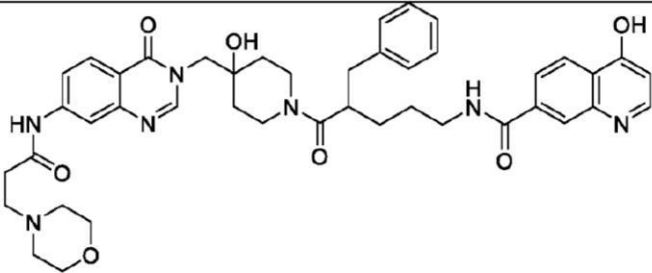
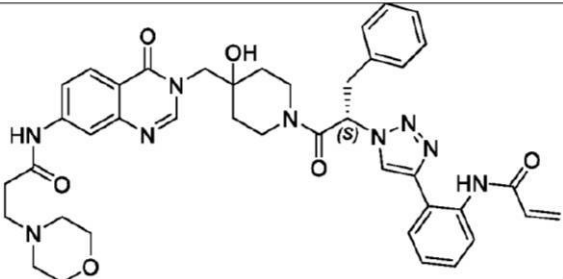
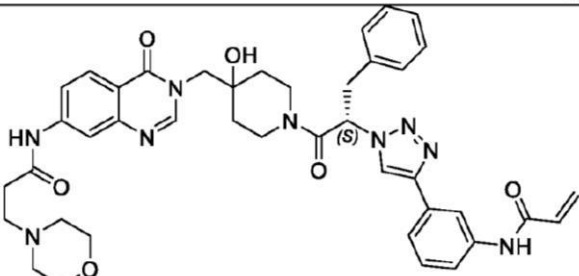
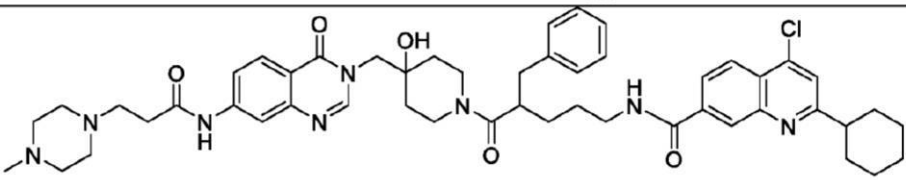
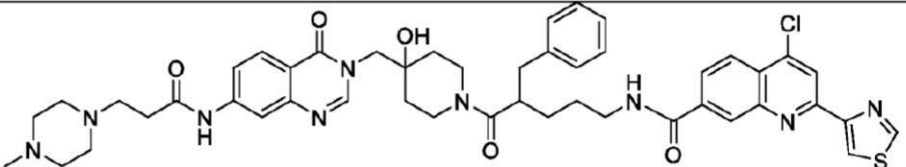
20

30

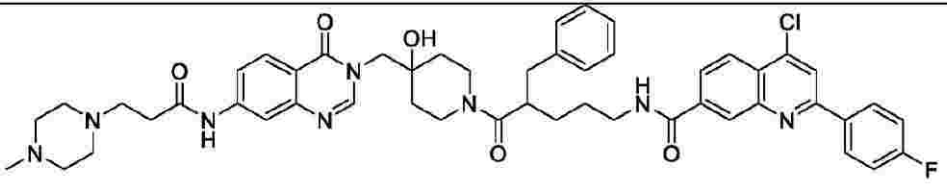
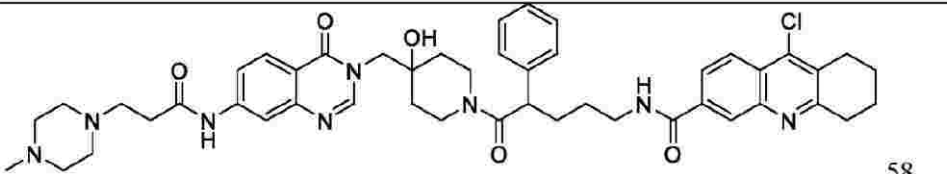
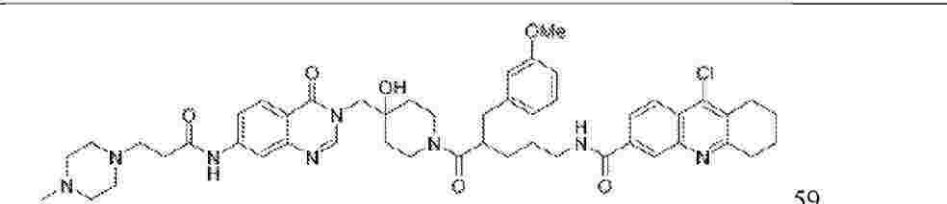
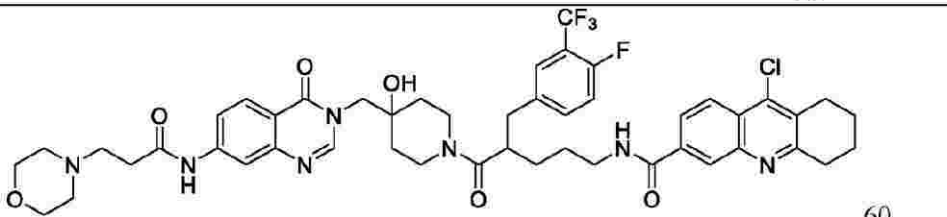
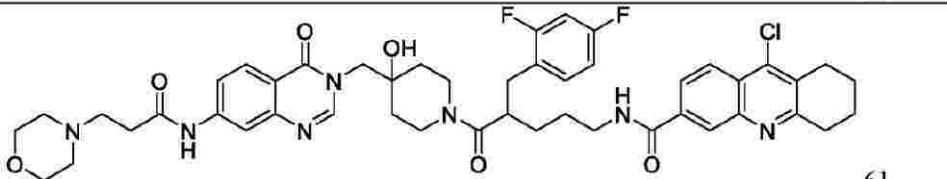
40

50

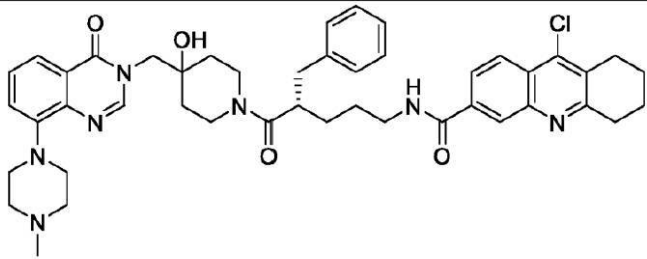
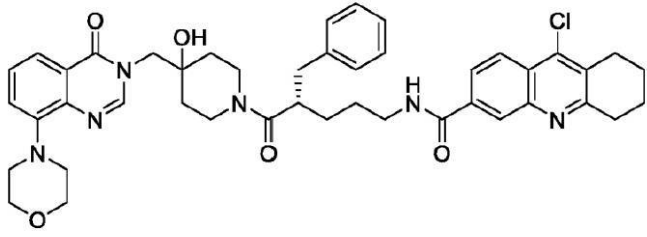
【表 3 - 3】

化合物	IC ₅₀ (μ M)
 51	+
 52	+
 53	+
 54	+++
 55	+++

【表 3 - 4】

化合物	IC ₅₀ (μ M)
 56	+++
 57	++
 58	+
 59	+
 60	+++
 61	+++

【表 3 - 5】

化合物	IC ₅₀ (μ M)
 62	+++
 63	+++

【0196】

USP7のクローニング。発現および精製

使用したUSP7全長（アミノ酸1～1102）および触媒ドメイン（208～560）をコードする構築物を、記載のようにクローニングした（Lamberto, I. et al. Structure-Guided Development of a Potent and Article Structure-Guided Development of a Potent and Selective Non-covalent Active-Site Inhibitor of USP7. Cell Chem. Biol. 24, 1490-1500 (2017)）。両方の構築物を、E. coli BL21 (DE3) 中で過剰発現させた。細胞を37℃でOD0.9まで増殖させ、16℃まで冷却し、500 μ Mのイソプロピル- β -D-ガラクトピラノシド（IPTG）で誘導し、16℃で一晩インキュベートし、遠心分離によって収集し、-80℃で保存した。細胞ペレットを、10 μ g/mlのフェニルメタンスルホニルフルオリド（PMSF）を補充した溶解緩衝液（25mMのTris pH8、1MのNaCl、および10mMのBME）中で超音波処理し、得られた溶解物を30,000 x gで40分間遠心分離した。Ni-NTAビーズ（Qiagen）を溶解物上清と2時間混合し、25mMのイミダゾールを補充した溶解緩衝液で洗浄した。結合したタンパク質を、300mMのイミダゾールを補充した溶解緩衝液で溶出した。次いで、試料を1ml（30kDa濃縮器、Amicon Ultra, Millipore）に濃縮し、25mMのHEPES pH7.5、200mMのNaCl、および1mMのDTTを含有する緩衝液中、Superdex 200（GEヘルスケア）上で実行した。画分をプールし、濃縮し、-80℃で冷凍した。

【0197】

Ub-AMC酵素および動態アッセイ

全長USP7を、阻害剤の存在下または不在下で、ユビキチン-AMCアッセイにおいてその活性について試験した。USP7（5nM）を、50mMのHEPES（pH7.5）、0.5mMのEDTA、11 μ Mの卵白アルブミン、および5mMのDTT中、異なる濃度の阻害剤または対照としてのDMSOと共に、室温で6時間ブレインキュベートした。次いで、ユビキチン-AMC（Boston Biochem）を、500nMの最終濃度で添加した。反応の初速度を、それぞれ345nmおよび445nmの励起および発光波長で、Clariostar蛍光プレートリーダーを使用して、30分間にわたって1分間隔で蛍光データを収集することによって測定した。計算された初速度値を、阻

害剤濃度に対してプロットして、 IC_{50} を決定した。すべての実験データを、Prism GraphPadを使用してプロットした。各化合物について、すべてのアッセイを各化合物について少なくとも2回行った。

【0198】

化合物1の k_i および k_{inact} 値を計算するために、上記の手順を使用した。ユビキチン-AMCを添加する前に、異なる濃度の阻害剤を、異なる時点（5分～3時間）でUSP7と共にインキュベートした。 K_{obs} を決定するために、時間経過曲線を、式 $y = y_{max} (1 - \exp(-k_{obs} \cdot x))$ に適合させた。次いで、 k_{obs} 値を阻害剤濃度に対してプロットし、式 $y = k_{inact} / (1 + (k_i / x))$ に適合させて、 k_i および k_{inact} の値を得た。

【0199】

MS標識

精製したUSP7触媒ドメインを、10 μ Lの標識緩衝液（20mMのHEPES pH 7.5、150mMのNaCl、1mMのTCEP）中で20 μ Mに希釈し、50 μ M（2.5倍）の化合物で示された時間インキュベートした。インキュベーション後、試料を液体窒素中で急速冷凍し、分析まで-80℃で保管した。

【0200】

インタクトMS分析

5 μ gのUSP7触媒ドメインを、自己充填の逆相カラム（1/32インチ外径×500 μ m内径、5cmのPOROS 10R2樹脂）に注入することによって、インタクト質量分析を行った。脱塩後、タンパク質を、HPLC勾配で（4分間で0～100%B、A=水中0.2M酢酸、B=アセトニトリル中0.2M酢酸、流速約30 μ L/分）、LTQイオントラップ質量分析器（ThermoFisher Scientific, San Jose, CA）に溶出した。MagTran 1.03b2ソフトウェアを使用して、質量スペクトルを逆重畳した。Zhang, Z. & Marshall, A. G. A universal algorithm for fast and automated charge state deconvolution of electrospray mass-to-charge ratio spectra. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 9, 225-233 (1998)。

【0201】

CE-MS分析

共有結合修飾の部位を同定するために、処理されたタンパク質を還元し（10mMのジチオスレイトール）、アルキル化し（22.5mMのヨードアセトアミド）、37℃で一晩トリプシンで消化した。

【0202】

SP3を使用して、ペプチドを脱塩した（Hughes, C. S. et al. Ultrasensitive proteome analysis using paramagnetic bead technology. Mol. Syst. Biol. 10, 757-757 (2014)）、真空遠心によって乾燥させ、100mM酢酸アンモニウムで1%ギ酸/50%アセトニトリル中で再構成した。次いで、ペプチドを、ZipChip CEシステムおよびQExactiVE HF質量分析器（ThermoFisher Scientific, San Jose, CA）にインターフェースされたオートサンプラー（908 Devices, Boston, MA）を使用して、CE-MSで分析した。ペプチド溶液を30秒間充填し、質量分析器をデータ依存モードで操作し、各MSスキャンで最も豊富な5種類のイオン（分解能60k、標的値3E6、ロックマス有効）をMS/MSに供した（分解能15k、標的値1E5、最大注入時間100ms）。動的排除を有効にし、リピートカウントを1、排除時間を6秒とした。MultiplierZスクリプトを使用して、MS/MSデータを.mgfに抽出し（Alexander, W. M. et al. multiplierz v2.0: A Python-based ecosystem for shared access and analysis o

10

20

30

40

50

native mass spectrometry data. *Proteomics* 17, 15–16 (2017). Askenazi, M., et al. *mzAPI: A new strategy for efficiently sharing mass spectrometry data. Nat. Methods* 6, 240–241 (2009). Mascotバージョン2.6を使用して、フォワードリバースヒットNCBI参照配列データベースに対して検索した。検索パラメータは、システインの固定カルバミドメチル化、ならびに可変酸化（メチオニン）および化合物6修飾（システイン）を指定した。前駆体の質量公差を10 ppmに設定し、生成物イオン公差を25 mDaにした。MzStudioを使用してスペクトル検証を行った。Ficarro, S., et al. *mzStudio: A Dynamic Digital Canvas for User-Driven Interrogation of Mass Spectrometry Data. Proteomes* 5, 20 (2017)。

【0203】

例示的なUSP7不可逆的阻害剤を用いる細胞アッセイ

細胞の文脈でのUSP7の標的会合を試験するために、競合活性ベースのタンパク質プロファイリング（ABPP）を、MCF7粗細胞抽出物およびDUB活性ベースのプローブ（ABP）ヘマグルチニン（HA）-ユビキチンビニルメチルスルホン（HA-Ub-VS）と共に使用した。化合物の30分および4時間のプレインキュベーション後、化合物6は、それぞれ85 nMおよび8 nMのIC₅₀値でHA-Ub-VSの標識を阻害した（図1D）。また、生細胞処理および競合ABPPを用いて、6時間処理後、化合物6が、細胞中のUSP7を、39 nMのIC₅₀で阻害することを実証した（図2A）。また、化合物6の鏡像異性体である化合物7（図1B）は、時間依存的にUSP7阻害を示したが、精製酵素、粗溶解物、および生細胞処理を使用した実験では、USP7に対して約500倍低い効力を示した（図1C、1D、および2A）。したがって、化合物7は、化合物6のUSP7特異的効果を評価するための有用な一致対照（matched control）である。化合物7も有用なUSP7阻害剤である。

【0204】

細胞USP7の阻害をさらに確認するために、化合物6および化合物7のMDM2-p53シグナル伝達軸（USP7のDUB活性との関連において最もよく検証された経路）に対する影響を決定した。予想通り、化合物6で野生型TP53を発現するMCF7細胞を処理すると、2時間以内にMDM2の急速な分解が誘導され、続いて、p53および下流p21のタンパク質レベルの増加（図2Bおよび2C）、ならびに細胞周期停止（CDKN1AおよびGADD45A）およびアポトーシス（BAXおよびCASPASE2）の両方に関連するp53標的遺伝子の転写を刺激した（図2D）。実際、1 μMの化合物6は、24時間後にMCF7細胞で完全なG1停止を誘導した（図2E）。対照的に、陰性対照の化合物7は、同じ濃度範囲にわたって同じ効果を発揮しなかった（図2B、2C、および2E）。p53がMDM2を転写的に上方制御する負のフィードバックシグナル伝達のため、化合物6で24時間の処理した後、p53およびp21のタンパク質レベルは高いままであったが、MDM2タンパク質レベルはDMSO対照と一致していた（図2Bおよび2C）。

【0205】

実施例3：例示的な化合物の結合様式

強力で選択的なDUB阻害剤の検索は、DUB生物学に関心のある研究者にとって重大な関心事である。市販のDUBパネルおよびABPP法を含むDUB選択性スクリーニングのための技術の進歩にもかかわらず、プロテオーム全体の選択性プロファイリングは、DUB阻害剤に関して以前に報告されたことがない。プロテオームプロファイリングのための最もよく検証された方法の1つは、目的の小分子を溶媒に露出したリンカーを介して固体樹脂にコンジュゲートし、天然細胞溶解物に曝露させ、任意の結合タンパク質を濃縮する親和性クロマトグラフィーである。Terstappen, G. C., Schlupen, C., Raggiaschi, R. & Gaviraghi, G. *Target d*

10

20

30

40

50

e convolution strategies in drug discovery. Nat. Rev. Drug Discov. 6, 891–903 (2007)。この技術の欠点は、a) リンカーのコンジュゲーション後に活性を保持し、かつ b) 架橋または共有結合形成のいずれかを介して標的タンパク質に不可逆的に結合する、親和性プローブを必要とすることである。USP7 触媒ドメインに結合した選択的 USP7 阻害剤化合物 42 の共結晶構造は、a) そのピペラジニル部分が溶媒に露出し、活性を保持しつつリンカーのコンジュゲーションのための位置を提供し、かつ b) その β -メチル基が活性部位から 5 Å に位置し、USP7 への不可逆結合のための潜在的な部位を提供することを示した。さらに、Turnbullらは、以前に、化合物 42 と同じ部位に結合する不可逆的な USP7 阻害剤である FT827 を報告していた。Turnbull, A. P. et al. Molecular basis of USP7 inhibition by selective small-molecule inhibitors. Nature 550, 481–486 (2017)。これらの理由から、化合物 42 に基づいて親和性プローブを開発することで、化合物 42 の活性のプロテオームワイドのプロファイリングを行い、USP7 以外の標的が、その観察される p53 依存的な活性を媒介し得るかどうかを判断した。Stolte, B. et al. Genome-scale CRISPR-Cas9 screen identifies druggable dependencies in TP53 wild-type Ewing sarcoma. J. Exp. Med. 20171066 (2018)。

【0206】

合成リンカーを介して2つのタンパク質リガンドを組み合わせる二価阻害剤は、それらの結合エネルギーの相加性のおかげで、親リガンド単独と比較した場合、著しく増加した効力を有する可能性がある。Jencks, W. P. On the attribution and additivity of binding energies. Proc. Natl. Acad. Sci. 78, 4046–4050 (1981)。この戦略は、キナーゼに対して、いくつかの例でうまく適用されているが (Lamba, V. & Ghosh, I. New Directions in Targeting Protein Kinases: Focusing Upon True Allosteric and Bivalent Inhibitors. Curr. Pharm. Des. 18, 2936–2945 (2012))、不可逆的な二価プローブの設計は困難であり、FT827 は、その可逆的なアナログである FT671 と比較して、USP7 に対する親和性が低下している。化合物 42 のいくつかの不可逆的な類似体でも同様の結果が見出されたが、以前に報告された非選択的 USP7 阻害剤である HBX-19818 (Reverdy, C. et al. Discovery of specific inhibitors of human USP7/HAUSP deubiquitinating enzyme. Chem. Biol. 19, 467–477 (2012)) に存在する普通でない 4-C1-テトラヒドロアクリジン弾頭の使用は、化合物 42 と比較して、同様または増加した効力を有する阻害剤の開発を可能にした。化合物 6 の生化学的サブナノモル IC50 は、化合物 42 (ナノモル) または HBX-19818 (マイクロモル) 単独よりも劇的に低く、二価 DUB 阻害剤の一例であり、かつ活性部位の残基に不可逆的に結合する二価阻害剤の一例となる。

【0207】

化合物 6 の生化学活性および細胞活性ならびにその不活性鏡像異性体である化合物 7 を確認した後、化合物 42 および化合物 6 の足場に基づいて、活性な親和性プローブを得るために、いくつかのリンカーをピペラジニル部分にコンジュゲートした。化合物 6-DTB は、この系列由来の強力な類似体であり、この化合物を、化合物 6 のプロテオームワイドの選択性プロファイリングを探究するために選択した。天然化合物 6 で細胞溶解物を前処理して、化合物 6-DTB 標識を遮断することによって、この化合物系列の特定の標的に注釈付けした。Lanning, B. R. et al. A road map to evaluate the proteome-wide selectivity of

10

20

30

40

50

covalent kinase inhibitors. Nat. Chem. Biol. 10, 760–767 (2014)。注目すべきことに、化合物6は、高用量であってもHEK293プロテオームにわたってUSP7に対する絶妙な選択性を示し、共有結合キナーゼ阻害剤の多くの以前のプロテオームワイドの研究とは対照的な結果であった。Lanning, B. R. et al. A road map to evaluate the proteome-wide selectivity of covalent kinase inhibitors. Nat. Chem. Biol. 10, 760–767 (2014)。この予想外の選択性は、USP7による認識に必要とされる4-Cレーテトラヒドロアクリジン弾頭および拡張した小分子表面の固有の反応性が低いことに起因し得る。この化合物6のプロファイリングデータは、この化合物のUSP7依存的な効果において高い信頼性を提供し、p53シグナル伝達がUSP7阻害に対する細胞応答の重要な決定因子であるかどうかの決定を可能にした。

【0208】

化合物42は、USP7のS4～S5ポケットに結合する(図1A)。いかなる理論にも束縛されるものではないが、化合物6が依然としてこのポケットを結合していると仮定した。残念ながら、X線による構造決定のためにUSP7-化合物6複合体を結晶化する多大な努力は、成功しなかった。結合様式を、構造活性相関(SAR)の研究、USP7変異体酵素の研究、水素-重水素交換質量分析(HDX)、および分子動力学(MD)シミュレーションを使用して調査した。化合物42の4-ヒドロキシピペリジン基は、USP7 Q297の側鎖カルキシル基およびV296のペプチド骨格と水素結合相互作用を形成し、USP7の阻害のために必要であり、ヒドロキシル基を水素原子に置換すると、精製された酵素の生化学アッセイでは、効力が1,000倍超($IC_{50} = 8 \mu M$)低下する。加えて、化合物42耐性の2つのUSP7変異体であるF291NおよびQ351は、野生型酵素と比較して、化合物6によって阻害される効力が100倍減少する(図3A)。化合物6とUSP7との相互作用についてより直接的な構造情報を得るために、水素交換(HDX)を行って、タンパク質動態の変化を監視した。この技術を使用して、結晶中の化合物42で観察された結合様式が、溶液中で関連することを確認した。化合物42および化合物6の両方は、S4-S5ポケットを取り囲むBL1および α -4/5ループを交換から保護した。S4ポケットに埋没した化合物6のベンジル部分と一貫して、ベンジル基(化合物1)を欠く化合物6類似体は、化合物42上のベンジル基と会合する β シート残基410～423を保護しない。(図3Bおよび図3C)。化合物42および化合物6の保護領域は、USP7の α 2～ α 4の領域において観察された同様の強化された交換である一方、推定的に共有結合の形成に起因する動態の変化による。結果は、触媒ドメインのみの構築物に特有ではないことが確認され、強化された交換/保護の同じ領域が、全長酵素で観察された。データにより、化合物6は、化合物42と同様の結合部位および同様の結合様式を有することが示唆される。

【0209】

抗体、細胞株、および試薬

Mdm2(sc-965)抗体は、Santa Cruzから入手した。p53(9282s)、p21(2947s)、GAPDH(2118s)、およびUSP7(4833s)抗体は、Cell Signaling Technologyから入手した。Ub-AMC(U-550)およびHA-Ub-VS(U-212)は、Boston Biochemから入手した。Bio-Ub-PA(UbiQ-076)およびBio-Ub-VME(UbiQ-054)は、UbiQ Bioから入手した。TaqmanプローブであるBAX(Hs00180269_m1)、CDKN1A(Hs00355782_m1)、DDB2(Hs03044953_m1)、GADD45A(Hs00169255_m1)、GAPDH(402869)、MDM2(Hs00540450_s1)、およびTP53(Hs01034249_m1)は、Thermo-Fisherから入手した。MCF7細胞は、Jean Zhao研究室から寄贈された。HEK293AD、G401、G402、およびMESSAは、ATCCから購入した。

【0210】

細胞培養

MCF7およびMM1.S細胞は、10%のFBSを補充したRPMI-1640増殖培地中で培養した。HEK293AD細胞は、DMEM+10%のFBS+1%の抗生物質中で培養した。A673細胞は、DMEM+10%のFBS+1mMのピルビン酸ナトリウム+1%のPSQ中で培養した。TC32およびTC71細胞は、RPMI+10%のFBS+1%のPSQ中で培養した。TC138およびCHLA258細胞は、IMDM+20%のウシ胎仔血清+4mMのL-グルタミン+1XITS（5μg/mLのインスリン、5μg/mLのトランスフェリン、5ng/mLの亜セレン酸）中で培養した。すべての細胞株は、37℃の5%のCO₂インキュベーター内で10cm²の組織培養用処理皿に維持された。すべての細胞株は、MycobAlert試験キットによって、マイコプラズマが含まれていないことを検証された。

10

【0211】

HA-Ub-VS 標識

HA-Ub-VS実験は、Lamberto, I. et al. Structure-Guided Development of a Potent and Article Structure-Guided Development of a Potent and Selective Non-covalent Active-Site Inhibitor of USP7. Cell Chem. Biol. 24, 1490-1500 (2017) に、以前に記載されるように行った。簡潔に、標的会合溶解緩衝液（50mMのTris pH8.0、150mMのNaCl、5mMのMgCl₂、0.5mMのEDTA、0.5%のNP-40、10%のグリセロール、1mMのTCEP、プロテアーゼ、およびホスファターゼ阻害剤）を氷上の細胞ペレットに添加した。溶解物を、遠心分離によって澄ませ、1.67mg/mLに希釈した。次いで、示された時点で（示されている場合）、30μLの溶解物を、阻害剤またはDMSOと共にインキュベートした。次いで、1μMのHA-Ub-VSを溶解物に添加し、示された時点で、室温でインキュベートした。標識反応物を、10%のBMEを補充した4X LDS試料緩衝液（Thermo Fisher B0007）でクエンチし、激しくボルテックスし、95℃まで5分間加熱した。試料をSDS-PAGEによって分離し、示された抗体を用いてウエスタンブロットによって分析した。

20

30

【0212】

定量的リアルタイムPCR

示された条件下で細胞を処理した後、全細胞RNAを、Qiagen RNeasyキットを使用して精製した。次いで、1μgのRNAを、SuperScript III First-Strand Synthesis (Invitrogen) を使用してcDNAに変換した。次いで、各試料由来のcDNAを、示されたTaqManプローブおよび96ウェル高速RT-PCRプレート（Invitrogen）中の2倍のMaster Mixと合わせた。qPCRは、Invitrogen 7500高速qPCR機器で実行し、Graphpad Prismの2^{-ΔΔC_t}法を使用して遺伝子発現を計算した。

40

【0213】

細胞周期分析

ヨウ化プロピジウム（PI）染色の場合、処理された細胞（条件ごとに約100万個）を冷PBSで洗浄し、次いで-20℃で一晩80%のエタノール中で固定した。固定後、細胞をペレット化し、PBSで洗浄し、500μLのFxCycle PI/RNAアーゼA染色溶液（Thermo Fisher）で再構成した。細胞を4℃で一晩保管し、BD Fortessaフローサイトメーターを使用して分析した。

【0214】

水素重水素交換実験

以下のように水素交換実験を行った。20mMのHepes（pH7.5）、200m

50

MのNaCl、1mMのTCEP、5%のグリセロール水中の50 pmol/μLのUSP7触媒ドメインのストック溶液を調製した。USP7触媒ドメイン単独での重水素交換は、室温で15倍のD₂O緩衝液(pD7.5)で希釈することによって開始した。各重水素交換時点(10秒~4時間)で、交換反応からアリコートを取り出し、等量のクエンチ緩衝液(0.8%のギ酸および0.8Mの塩酸グアニジン、水)でpHを2.5に調整することによって、標識をクエンチした。クエンチした試料を、直ちにLC/MS系に注入した。

【0215】

共有結合化合物に結合したUSP7のHDX MS実験の場合、各化合物を、次のように、USP7と共に個別にインキュベートした。化合物1をUSP7と共に1:10のタンパク質:化合物比で室温で60分間インキュベートし、D₂Oで希釈した後、99.97%超の結合を確実にした。化合物6を、1:10のタンパク質:化合物比で、室温で30分間混合した後、D₂Oで希釈した。タンパク質単独と同様の時間経過が、化合物の作業に実施された(10秒~4時間)。

【0216】

質量分析

各試料を、Poroszyme固定化ペプシンカートリッジ(2.1mm×30mm、Applied Biosystems)を使用して、15℃で30秒間オンラインで消化し、次いでカスタムWaters nanoACQUITY UPLC HDX Manager(商標)に注入し、XEVO G2質量分析器(Waters Corp., USA)上で分析した。この実験セットアップを使用し逆交換の平均量は、高度に重水素化されたペプチド標準の分析に基づいて、20~30%であった。重水素レベルは逆交換のために修正されず、したがって相対的であると報告される。Wales, T. E. & Engen, J. R. Hydrogen exchange mass spectrometry for the analysis of protein dynamics. Mass Spectrom. Rev. 25, 158-170 (2006)。すべての実験は、二度行われた。各ペプチドの質量を測定する誤差は、この実験セットアップで平均±0.15 Daであった。HDX-MSデータを、PLGS3.0およびDynamX3.0(Waters Corp., USA)を使用して処理した。USP7の触媒ドメイン単独と化合物に結合された間で比較された共通のペプチドは、化合物1を有する81個のペプチドに対応する85.4%の配列カバレッジ、および水素重水素交換取り込みプロットに続いた化合物6を有する94%ならびに105個のペプチドをもたらした。

【0217】

実施例4: DUB間の例示的な化合物の選択性

活性部位の結合ポケットは、DUB間で高度に保存されているため、保存された触媒システインに結合することを含む阻害剤の機序は、幅広いDUB活性の可能性を有する。化合物6の選択性を、インビトロ活性アッセイを使用して、41個の組換えDUBのパネルにわたる阻害活性を決定することによって最初に評価した。1 μMの濃度(USP7のIC₅₀より約1000倍高い)で、化合物6はUSP7の酵素活性を完全に阻害したが、いずれの他のDUBに対しても有意な活性を示さなかった(図4A)。このパネルのDUB酵素は、主に、インビトロ活性に十分なドメインまたは結合パートナーのみからなり、多くのDUBは、大きなマルチドメインタンパク質であり、かつ/または巨大分子複合体中に存在する。さらに、このパネルの標準条件は、15分間の化合物のプレインキュベーションが含まれ、時間依存的な動態で阻害されるオフターゲットを評価する能力を制限する。競合ABPPを定量的MSと共に使用して、より自然な文脈で化合物6の選択性を探索した。簡潔に、DMSOまたは化合物6のいずれかを、HEK293の粗細胞抽出物と共に5時間プレインキュベートした。次いで、溶解物を、ビオチン-ユビキチン-プロパルギル酸(Bio-Ub-PA)およびビオチン-ユビキチン-ビニルメチルエステル(Bio-Ub-VME)の1:1混合物(我々の下で、DUBビオチン標識を最大化するABPの組み合わせ)とインキュベートした。標識された溶解物を、ストレプトアビジン

樹脂、タンデムマスタグ (TMT) 標識により濃縮し、組み合わせ、LC/MSによって解析した。化合物6は、他の58個のDUBに対して選択的であるまま、DUB ABPによるUSP7標識を用量依存的な様式で有意に遮断した (図4B)。

【0218】

インビトロDUBプロファイリング

化合物を、Ubiquigent Drug Profiler SPTシステムを使用してスクリーニングした。41個の精製されたDUBの各々を化合物と15分間インキュベートし、次いで、ユビキチンローダミン110 (Ub-Rho) を添加し、DMSO対照と比較して、蛍光に基づいて阻害パーセントを決定した。

【0219】

インサイツDUBプロファイリング

DUBプロファイリングを、Lawson, A. P. et al. Identification of deubiquitinase targets of isothiocyanates using SILAC-assisted quantitative mass spectrometry. Oncotarget 5, (2017) におけるものと同様の条件を使用して行った。HEK293AD細胞を標的会合溶解緩衝液 (50mMのTris pH8.0、150mMのNaCl、5mMのMgCl₂、0.5mMのEDTA、0.5%のNP-40、10%のグリセロール、1mMのTCEP、プロテアーゼ、およびホスファターゼ阻害剤) を使用して溶解し、溶解物を遠心分離によって澄ませた。試料を、2mg/mLに希釈し、1mLの溶解物を、示された濃度の化合物6と室温で5時間インキュベートした。過剰な阻害剤を30KのAmiconスピンフィルターを使用して除去し、次いで得られた溶解物を、1μMのBiotin-Ub-P AおよびBiotin-Ub-VMEの各々と室温で90分間インキュベートした。SDSを添加して1.2%の最終濃度にし、試料を80℃まで5分間加熱した。室温まで冷却した後、1XPBSを添加して、0.2%の最終SDS濃度に希釈した。100μLのストレプトアビジンアガロースのスラリーを各試料に添加し、続いて室温で3時間インキュベートした。ストレプトアビジン濃縮後、試料を激しく洗浄した (0.2%のSDSで2回、PBSで3回、ddH₂Oで3回)。最終洗浄後、すべての上清を平底チップを使用して除去し、樹脂を急速冷凍し、TMT標識のワークアップまで-80℃で保存した。

【0220】

実施例5：例示的な化合物のプロテオミックスプロファイリング

化合物6のプロテオームワイドの特異性を定義するために、結合パートナーを、偏りのない化学プロテオミクススクリーニングを使用して評価した。まず、化合物6-DTB、デスチオビオチン (DTB) 親和性タグを有する化合物6類似体 (化合物41) を合成し、精製酵素および天然USP7に対するUSP7阻害活性を保持することを実証した。HEK293細胞溶解物を、1μMまたは10μMの化合物6で5時間処理し、化合物6-DTB (化合物41) とインキュベートし、プロテオーム全体にわたって、化合物6-DTBの結合の濃度依存的な遮断を定量化した。合計で566種類のタンパク質がDTB化合物6によって共有結合的に修飾されたものとして検出されたが、1μMまたは10μMの化合物6で処理した場合、USP7のみが3倍超の標識の阻害を示した (図4C)。これらのデータは、化合物6が、他のDUB、さらにはプロテオームの残りと比較して、USP7に対して高度に特異的であることを裏付ける。化合物6のテトラヒドロアクリジン弾頭は、一般に、不可逆的阻害剤では観察されず、このデータが、他の標的クラスよりもDUBと特異的に反応し易い可能性を示唆する。

【0221】

まとめると、これらのデータは、化合物6が、良好な細胞透過性、天然USP7との非常に強力な標的会合、およびUSP7に対する絶妙なプロテオームワイドの選択性を有することを実証する。さらに、このデータは、DUBの触媒システインの共有結合標的化が創薬のために扱いやすいことを実証する。USP7プローブは、偏りのない様式でパートナーに結合することについて評価されている。この化合物は、化合物7と組み合わせて、

十分に特徴付けられた化学プローブを説明するために複数の組織によって定められた効力、選択性、および細胞活性の基準を満たす。Frye, S. V. The art of the chemical probe. Nat. Chem. Biol. 6, 159–161 (2010)、Workman, P. & Collins, I. Probing the Probes: Fitness Factors For Small Molecule Tools. Chem. Biol. 17, 561–577 (2010)。

【0222】

化合物6-DUTBのプロファイリング

HEK293AD細胞を上に記載のように溶解し、溶解物を遠心分離によって澄ませた。試料を、10mg/mLに希釈し、200μLの溶解物（総タンパク質2mg）を、示された濃度の化合物6と室温で4時間インキュベートし、次いで、2μMの化合物42とさらに4時間インキュベートした。SDSを、1.2%の最終濃度（10%ストックの27.2μL）に添加し、5分間80℃まで加熱することによって変性させた。室温まで冷却した後、1125μLの1XPBSを添加して、0.2%の最終SDS濃度に希釈した。50μLのストレプトアビジンアガロースのスラリーを各試料に添加し、続いて室温で3時間インキュベートした。ストレプトアビジン濃縮後、試料を激しく洗浄した（0.2%のSDSで2回、PBSで3回、ddH₂Oで3回）。最終洗浄後、すべての上清を平底チップを使用して除去し、樹脂を急速冷凍し、TMT標識のワークアップまで-80℃で保存した。

【0223】

質量分析のためのサンプル調製

ストレプトアビジンビーズを95μLの100mMのTris（pH8.0）に再懸濁した。各試料を0.1%のrapigestで変性させ、還元し（10mMのジチオスレイトール）、アルキル化し（22.5mMのヨードアセトアミド）、37℃で一晩トリプシンで消化した。rapigestを除去するために、回収した上清を10%のTFAで酸性化し、37℃で45分間インキュベートし、4℃で14,000rpmで15分間遠心分離した。次いで、ペプチドを、C18によって脱塩し、真空遠心によって乾燥させた。乾燥ペプチドを、40μLの50mMのTEAB pH8.0で再構成し、2/5単位のTMT試薬を添加し、反応物を1時間室温でインキュベートした。TMT反応物をプールし、製造元の指示に従って、ヒドロキシルアミンで処理した。次いで、ペプチド混合物を乾燥させ、50mMの重炭酸アンモニウムで再構成し、SP3によって脱塩した。次いで、溶出したペプチドを、記載のように（Ficarro, S. B. et al. Improved electrospray ionization efficiency compensates for diminished chromatographic resolution and enables proteomics analysis of tyrosine signaling in embryonic stem cells. Anal. Chem. 81, 3440–3447 (2009)）、QE xactive HF質量分析器（ThermoFisher Scientific, San Jose, CA）にインターフェースされたNanoAcquity UPLCシステム（Waters, Milford, MA）を用いて、nanoLC-MSで分析した。TMT標識ペプチドを、プレカラム（4cm POROS10R2, Applied Biosystems, Framingham, MA）に注入し、分析カラム（30μm内径×50cm、5μm Monitor C18で充填）で分離し、ESIによる質量分析器に導入した（スプレー電圧=3.5kV、流速約30nL/分）。質量分析器を、データ依存モードで操作することで、各MSスキャンにおいて最も豊富な15個のイオン（m/z 300~2000、分解能120K、標的=3E6、ロックマス445.120025有効）を、MS/MS（m/z 100~2000、分解能30K、標的=1E5、最大充填時間=100ms）に供した。動的排除を選択し、リピートカウントを1、排除時間を30秒とした。Multiplier zスクリプトを使用して、MS/MSデータを、mgfに抽出し（Alexander, W. M. et al. multiplier z v

10

20

30

40

50

2.0: A Python-based ecosystem for shared access and analysis of native mass spectrometry data. *Proteomics* 17, 15–16 (2017)、Askenazi, M., et al. *mzAPI: A new strategy for efficiently sharing mass spectrometry data. Nat. Methods* 6, 240–241 (2009)、Mascotバージョン2.6を使用して、フォワードリバースヒトNCBI参照配列データベースに対して検索した。検索パラメータは、システインの固定カルバミドメチル化、固定N末端およびリジンTMT標識、ならびに可変酸化（メチオニン）を指定した。追加のmultiply_rzスクリプトを使用して、結果を1%のFDRにフィルタリングし、ゲノムに一意的にマッピングするペプチドを使用して、タンパク質レベルの凝集体レポーターイオン強度を導出した。

【0224】

実施例6：例示的な化合物を有するp53状態の遺伝的研究

癌におけるUSP7阻害剤のいくつかの以前の研究では、TP53状態は、必ずしもUSP7の阻害に対する応答を予測するものではないことがわかっていった。具体的には、USP7阻害剤であるP5091およびGNE-6640は、それぞれ、多発性骨髄腫または癌細胞のパネルにおいて、TP53依存性の細胞死滅をもたらさない。最近報告された研究では、P5091は、WTおよびTP53-KOユーイング肉腫細胞に対して同じ効力の活性を示したが、化合物42は、TP53-KOユーイング肉腫細胞に対して事実上不活性であることがわかった。化合物6をプロファイリングした後、この化合物を、同じ細胞に対して試験し、化合物42の結果と一致して、高度にTP53依存的な細胞死滅が見出された。これらの発見は、USP7の選択的阻害が、TP53-WT腫瘍を標的とするための実行可能な戦略であり得るという強力な証拠を提供した。さらに、a) 化合物6が、ユーイング肉腫において複数のp53標的化合物と相乗作用し、b) 化合物6が、ヌトリン-3Aと強く相関する転写プロファイルを誘導することが見出された。これらの結果は、選択的USP7阻害剤に応答するMDM2-p53軸の重要性を明確に実証する。一方、ヌトリン-3Aとは異なるいくつかの高用量化合物6の転写標的が同定されたため、p53シグナル伝達は、USP7阻害剤のその後の研究において確かに考慮されるべきであるが、決して重要であり得る唯一の経路ではない。

【0225】

MDM2-p53はUSP7の最もよく検証された基質であるが、TP53状態（変異体対野生型）がUSP7阻害に対する応答の決定因子であるかどうかの問題は、未解決のままである。薬理学的なUSP7阻害に対する選択された癌型の脆弱性を調査するいくつかの研究では、機能的なp53を発現する細胞株に対して、ほとんどまたは全く特異性を示さなかった。Kategaya, L. et al. *USP7 small-molecule inhibitors interfere with ubiquitin binding. Nature* 550, 534–538 (2017)、Chauhan, D. et al. *A Small Molecule Inhibitor of Ubiquitin-Specific Protease-7 Induces Apoptosis in Multiple Myeloma Cells and Overcomes Bortezomib Resistance. Cancer Cell* 22, 345–358 (2013)。TP53-WT細胞株でのUSP7調節におけるp53の機能的な役割を評価するために、二重ルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて、USP7 KOに応答するTP53-WTおよびTP53-KO細胞の比較適合性を評価した。Giacomelli, A. O. et al. *Mutational processes shape the landscape of TP53 mutations in human cancer. Nat. Genet.* 50, 1381–87 (2018)。簡潔に、親A549細胞およびRKO細胞において、ホタル（FF）ルシフェラーゼを発現させ、安定TP53-KO A540細胞およびRKO細胞において、ウミシイタケルシフェラ

ーゼを発現させた。FFおよびウミシイタケ発現細胞を1:1の比率で混合し、次いで、MDM2、USP7、TP53、CDKN1A、LacZ、またはFFルシフェラーゼを標的とするCas9およびsgRNAに17日間曝露した。sgMDM2およびsgUSP7の両方は、A549およびRKOの両方の親細胞の持続的な減少をもたらした(図5A)、p53-KOが、USP7またはMDM2の調節に応答して、これらの細胞の適合性を改善することを示す。したがって、USP7 KOの細胞死滅効果は、MDM2 KOと同様に、TP53-WT細胞におけるp53によって少なくとも部分的に媒介される。

【0226】

二重レポータールシフェラーゼ競合アッセイ

ホタルルシフェラーゼまたはウミシイタケルシフェラーゼを構成的に発現するp53^{WT}およびp53^{NULL}のA549細胞は、Giacomelli, A. O. et al. *Mutational processes shape the landscape of TP53 mutations in human cancer*. *Nat. Genet.* 50, 1381-87 (2018)に記載されている。各細胞株を、ヒトEF1αプロモーター(pLX311)の制御下でS. pyrogenesのCas9をコードするレンチウイルスで感染させ、プラストサイジン(InvivoGen)(1mg/mL)(10μg/mL)中で選択した。競合アッセイを行うために、Cas9発現p53^{WT}細胞を相補的に標識されたCas9発現p53^{NULL}細胞と1:1の比率で混合し、200μLの通常培地中、96ウェル皿に2,500細胞/ウェルで播種した。翌日、細胞をsgRNAを発現するレンチウイルス(pXPR003)のアレイで感染させた。その24時間後、上清を除去し、ピューロマイシン(InvivoGen)(1μg/mL)を含有する新鮮な培地を添加して、感染細胞を選択した。2日後、細胞を2つの新しいレプリカプレートに分割し、さらに4日間インキュベートした。1つのレプリカプレートを二重ルシフェラーゼアッセイに供し(Dyer, B. W., Ferrer, F. A., Klin edinst, D. K. & Rodriguez, R. A noncommercial dual luciferase enzyme assay system for reporter gene analysis. *Anal. Biochem.* 282, 158-161 (2000))、Wallac EnVision(Perkin-Elmer)を使用して発光測定値を得た。実験用sgRNAで感染させたウェルからの読み取りを、対照sgRNAで感染させたウェルに対して正規化し、ホタル:ウミシイタケ発光比を計算して、ウェル内のp53^{WT}対p53^{NULL}細胞に対するsgRNAの相対効果を推定した。アッセイを継続するために、第2のレプリカプレートを1/16希釈で継代培養した。Giacomelli, A. O. et al. *Mutational processes shape the landscape of TP53 mutations in human cancer*. *Nat. Genet.* 50, 1381-87 (2018)。細胞の読み取り、再播種のプロセスを4日ごとに繰り返した。

【0227】

実施例7:癌細胞における例示的な化合物によるUSP7の阻害

化合物6の表現型模写(phenocopy)RNAiノックダウンおよびCRISPRノックアウトによるUSP7の薬理的阻害であるかどうかの初期評価として、化合物6および化合物7の抗増殖作用を、TP53^{WT}および変異株の両方の例を含むユーイング肉腫(図5B)癌細胞株のパネルにわたって調査し、比較のためにMDM2阻害剤であるヌトリン-3aと並べて試験した。変異体TP53を発現する細胞よりもTP53野生型の細胞株で優先的な増殖抑制が観察され、TP53野生型であるTC32およびTC138細胞の増殖は、化合物6によって強力に阻害されたが、TP53変異型であるA673およびTC71細胞は、実質的に阻害されなかった。一方、不活性の対照化合物7は、約100倍弱く、USP7依存的な効果と一致した。TC32細胞における化合物6の細胞傷害性効果は、TP53ノックアウトによって救出され、観察された抗増殖応答に対する機能的なp53の要件を支持した(図5C)。化合物6の結果を以前に報告されたUSP7阻害剤の効果と比較するために、P5091およびGNE6640を同じセットの細

10

20

30

40

50

細胞株にわたって試験したところ、TP53-WTを発現する細胞に対する特異性はほとんどまたは全く観察されなかった。

【0228】

ユーイング肉腫腫瘍は著しく静かなゲノムを有する。USP7の薬理的阻害の効果を、遺伝的により不均一で多様な発癌性駆動因子を有するTP53-WTおよび変異株のパネルにわたって研究した。p53依存性の発見は、急性骨髄性白血病およびB細胞リンパ腫を含む他の細胞株の小さなパネルでも観察された。試験した計26種類の細胞株にわたって、3種類の化合物6感受性TP53変異株、および2種類の化合物6耐性TP53-WT細胞があり、一部の場合、他の因子が化合物6への応答も制御し得ることを示す。

【0229】

細胞増殖

細胞を、384ウェル培養処理プレートに播種し、一晚沈着させた。薬物処理し、適切なインキュベーション時間後、CellTiter-Glo発光細胞生存率アッセイ (Promega) を使用して細胞生存率を評価した。発光をFluostar Omega Reader (BMG Labtech) で読み取った。

【0230】

TP53ノックアウト

レンチウイルスは、FuGENE6 (Roche) のプロトコルに従って、pLentiV2ベクター (Addgeneプラスミド#52961) ならびにパッケージングプラスミドpCMV8.9およびpCMV-VSVGでHEK-293T細胞をトランスフェクションすることによって産生した。レンチウイルス形質導入の場合、ユーイング肉腫細胞を、2mLのウイルスおよび8μg/mLのポリブレン (Sigma-Aldrich) とインキュベートした。単一ノックアウト実験の場合、細胞を、感染48時間後、ピューロマイシン (Sigma-Aldrich) 中で選択した。

sgRNAは、Broad InstituteのsgRNAデザイナーツールを使用して設計された。以下の配列を、対照として使用するか、またはそれぞれの遺伝子を標的化するために使用した：

sgTP53 #1 : GCTTGTAGATGGCCATGGCG (配列番号1)

sgTP53 #2 : TCCTCAGCATCTTATCCGAG (配列番号2)

sgTP53 #4 : GCAGTCACAGCACATGACGG (配列番号3)

sgTP53 #5 : GTAGTGGTAATCTACTGGGA (配列番号4)

【0231】

実施例8：癌細胞におけるDNA損傷剤および例示的な化合物の組み合わせ

USP7の阻害と他のp53依存的な抗増殖性小分子との相乗作用の可能性を調査するために、TC32細胞の組み合わせ処理を、化合物6と、RG7388 (Ding, Q. et al. Discovery of RG7388, a potent and selective p53-MDM2 inhibitor in clinical development.) J. Med. Chem. 56, 5979-5983 (2013)、GSK2830371 (Gilmartin, A. G. et al. Allosteric Wip1 phosphatase inhibition through flap-subdomain interaction. Nat. Chem. Biol. 10, 181-187 (2014)、PPM1D/Wip1阻害剤)、またはDNA損傷性トポイソメラーゼII阻害剤であるエトポシドおよびドキソルビシンのうちの1つと、を用いて行った。4種類のすべての薬物は、化合物6 (併用指標は0.6未満) と強力な相乗作用を示し、USP7の阻害が、特定のDNA損傷およびp53安定化の化学療法レジメンに有益性を加え得ることを示した。MCF7細胞は、TC32よりも化合物6に対する一貫して低い感受性を示し、化合物6と、GSK2830371、エトポシド、またはドキソルビシンの組み合わせは、MCF7細胞において混合的な相乗作用および拮抗作用をもたらしたことに留意すべきである。これは、p53-WT細胞株内で、化合物6感受性のスペクトルが存在し得ることを示し、USP7のp53依存性またはp53非依存

10

20

30

40

50

的な効果に関連し得る。

【0232】

薬物相乗効果分析、Loewe相加性のChou-Talalay併用指数

Loewe相加性は、同じ定量的効果を生み出す個々の薬物の濃度に基づいて、2つの薬物を組み合わせる効果を推定する用量効果のアプローチである (Goldoni and Johansson, 2007)。ChouとTalalay (Chou, 2006; Chou, 2010) は、Loewe方程式が、類似的作用機序を有する酵素阻害剤に対して有効であることを示した (基質に対して競合または非競合のいずれかである)。併用指標 (CI) スコアを導入して、2つの薬物間の相互作用を推定した。CI < 1 の場合、薬物は相乗効果を有し、CI > 1 の場合、薬物は拮抗効果を有する。CI = 1 は、薬物が相加効果を有することを意味する。

10

【0233】

実施例9：例示的な化合物を用いるトランスクリプトームのプロファイリング

P53転写標的およびTP53ノックアウト細胞株の指向的研究は、化合物6がp53依存性の活性を発揮することを実証したが、p53が化合物6に対する応答の主要な媒介物であるかどうかを決定するために、USP7阻害のより広範な効果を探求することに関心があった。この目的のために、MCF7細胞を低用量または高用量の化合物6、化合物7、またはMDM2阻害剤であるヌトリン-3Aで24時間処理した後、ハイスループットの3'デジタル遺伝子発現 (DGE) RNA-seqを使用して、これらの化合物のトランスクリプトームワイドの効果を分析した。全体として、7000~10,000個の遺伝子について転写産物を検出した (すべての条件にわたって7276個の遺伝子が検出された)。化合物6およびヌトリン-3Aは、低用量 (0.1 μMの化合物6および1 μMのヌトリン-3A) および高用量 (1 μMの化合物6および10 μMのヌトリン-3A) の両方で、強く関連した転写プロファイルを示したが、化合物7は、ビヒクル (DMSO) 処理対照細胞と強く関連した。

20

【0234】

異なる処理条件下で濃縮された特定の遺伝子セットを同定するために、本発明者らは、6つすべての細胞処理から著しく上方調節および下方調節された遺伝子をランク付けし、Broad Instituteの遺伝子セット濃縮分析 (gene-set enrichment analysis, GSEA) ツールを使用した。P53標的遺伝子の最近のメタ分析は、ヌトリン-3Aで処理されたMCF7細胞由来のRNA-seqデータ (Ritorto, M. S. et al. Screening of DUB activity and specificity by MALDI-TOF mass spectrometry. Nat. Commun. 5, 4763 (2014)) によって部分的に生成され、このメタ分析から、低用量と高用量のヌトリン-3Aの両方で、上方調節された遺伝子が、直接的なp53標的遺伝子について濃縮されていることが見出された。同じ報告ではまた、細胞周期発現およびDREAM成分結合とp53抑制データ (ヌトリン-3A処理MCF7細胞で部分的に生成された) を組み合わせることによって、二量体化パートナー、網膜芽細胞腫様、E2F、および多産卵口クラスB (DREAM) 複合体標的遺伝子のセットが同定された。再び、このDREAMの標的遺伝子セットは、両方のヌトリン-3A処置からの下方調節遺伝子で最も強く濃縮された。興味深いことに、低用量化合物6および高用量化合物6の両方について最も濃縮されたデータセットは、p53標的 (上方調節遺伝子) およびDREAM複合体標的 (下方制御遺伝子) であることが見出された (図6A)。これらの発見は、化合物6とヌトリン-3Aの広範な転写効果が非常に類似していることを示し、p53安定化がUSP7阻害の最も関連する表現型であり得ることを示す。しかしながら、ヌトリン-3Aによって影響を受けない高用量化合物6によって上方制御される遺伝子のセットも存在する。

30

40

【0235】

参照による援用

本明細書に言及されるすべての刊行物および特許は、各個々の刊行物または特許が参照

50

により援用されることが具体的かつ個別に示されるかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に援用される。相反する場合、本明細書における任意の定義を含む本出願が優先される。

【0236】

均等物

主題の発明の特定の実施形態が考察されているが、上記の明細書は例示的であり、限定的ではない。本発明の多くの変形形態は、本明細書および以下の特許請求の範囲を見直すと当業者には明白になるであろう。本発明の全範囲は、それらの均等物の全範囲および本明細書と共に、また、かかる変形形態と共に、特許請求の範囲を参照することによって判断されるべきである。

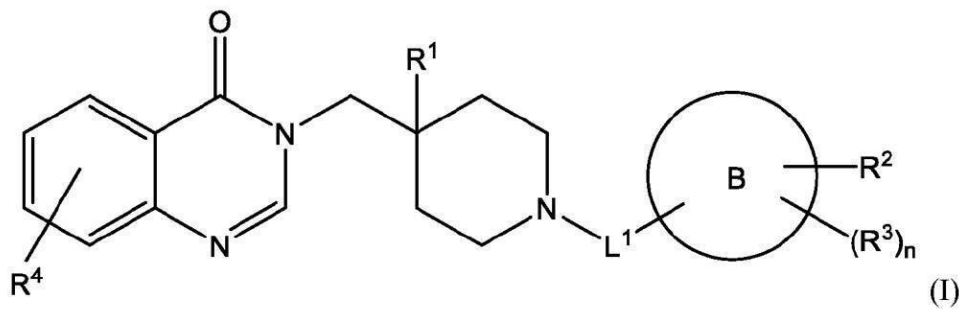
10

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

式(I)の化合物

【化73】



20

またはその薬学的に許容される塩であって、式中、

環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、

L¹は、結合、アルキル、-C(=O)アルキル、-C(=O)NR⁵アルキル、-NR⁵R⁶、または-C(=O)アルキル-[NR⁵C(=O)-アルキル]_p-NR⁵C(=O)

であり、各アルキルは、独立して、1つ以上のR⁷で任意選択的に置換され、

L³は、結合、-NR⁵R⁶、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各アルキルは、独立して、1つ以上のR⁸で任意選択的に置換され、

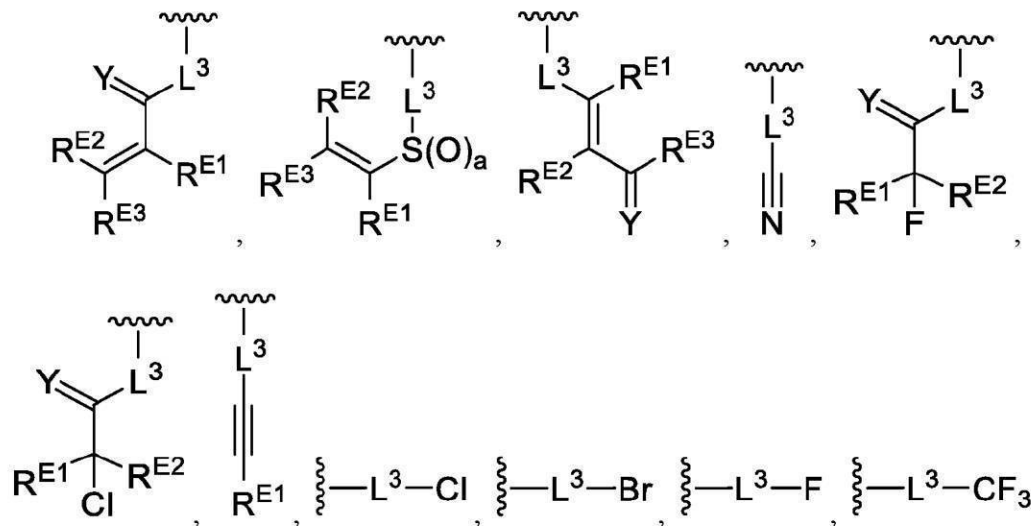
30

Yは、Oであり、

R¹は、H、-OR⁵、または-NR⁵R⁶であり、

R²は、

【化74】



40

または不在であり、

50

R^3 は、アルキル、ヒドロキシル、 CF_3 、ハロ- $NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、ヘテロアリール、またはアリールであり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

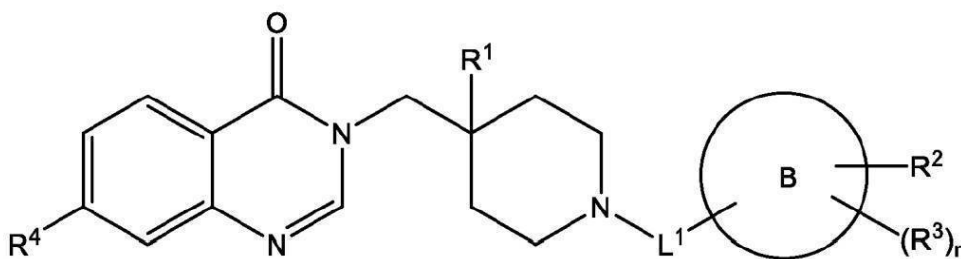
あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、 $-NR^{11}R^{12}$ 、シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、 n は、0、1、2、3、または4であり、

p は、0、1、2、3、または4である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

(項目2)

以下の構造式

【化75】



(1a)

を有する項目1に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

(項目3)

以下の構造式

10

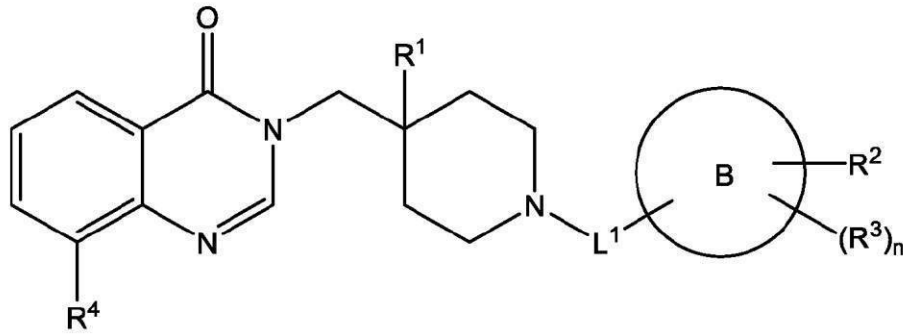
20

30

40

50

【化 7 6】



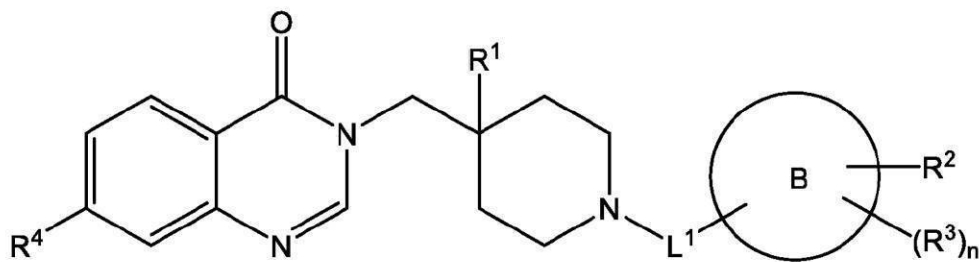
(1 b)

を有する項目 1 に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

(項目 4)

以下の構造式

【化 7 7】



(Ic)

を有する項目 1 に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、式中、
 環 B は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、結合、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5$
 R^6 、または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$
) であり、各アルキルは、独立して、1 つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は、結合、 $-NR^5R^6$ 、アルキル、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、
 各アルキルは、独立して、1 つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、
 Y は、O であり、
 R^1 は、H、 $-OR^5$ 、または $-NR^5R^6$ であり、
 R^2 は、

10

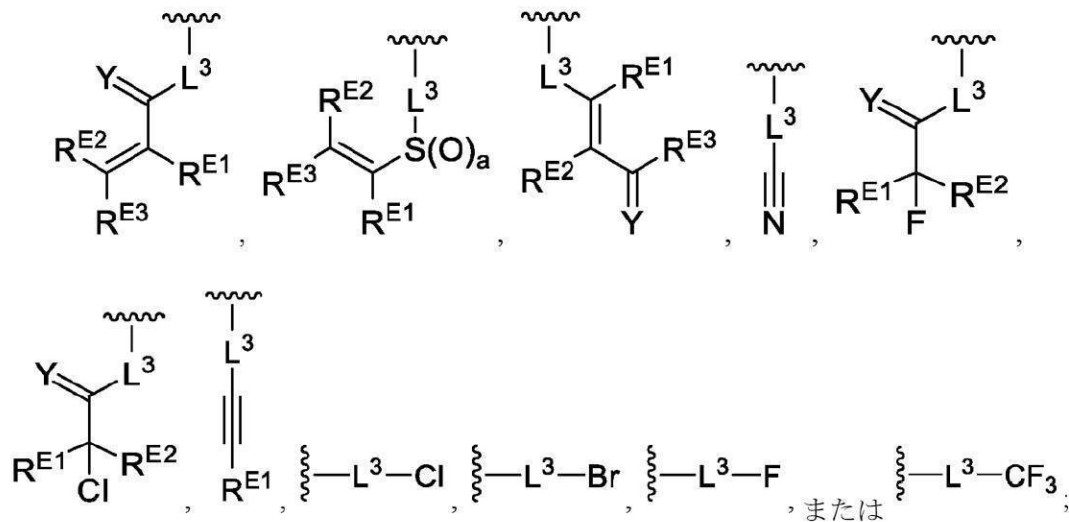
20

30

40

50

【化 7 8】



10

R^3 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

20

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、 $-NR^5R^6$ 、アルキルアミン、シクロアルキル、カルボシクロアルキル、アリール、アラルキリル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、各アミン、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、

30

各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ 、シクロアルキル、またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、アルケニル、またはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであるか、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ 、

40

シクロアルキル、 $-NR^5C(=O)$ ヘテロシクリル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $C(=O)NR^5$ シクロアルキル、または $-C(=O)$ ヘテロシクリルであり、

n は、0、1、2、3、または4であり、

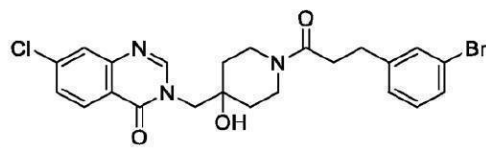
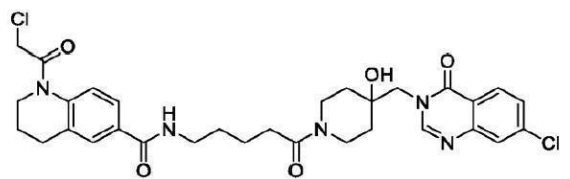
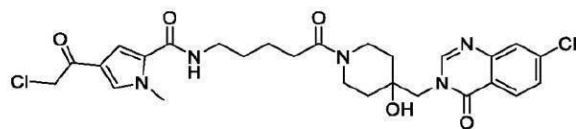
p は、0、1、2、3、または4である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

(項目 5)

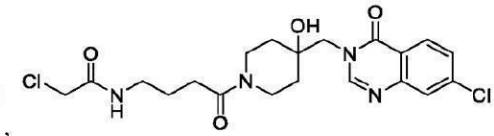
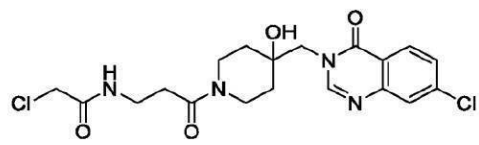
前記化合物が、

50

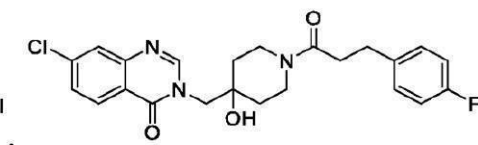
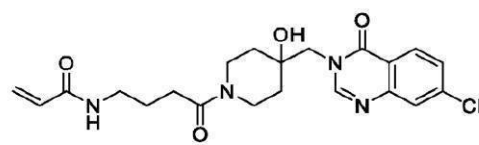
【化 7 9 - 1】



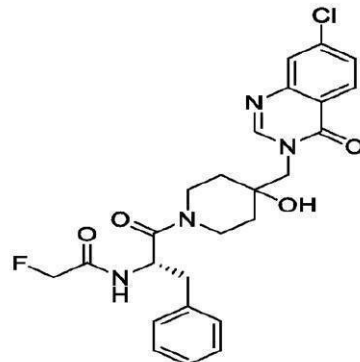
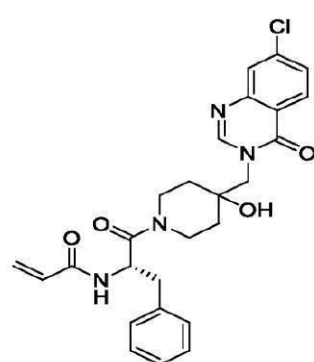
10



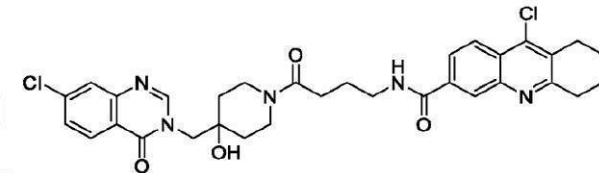
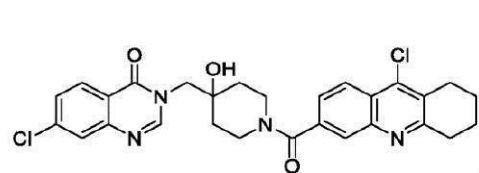
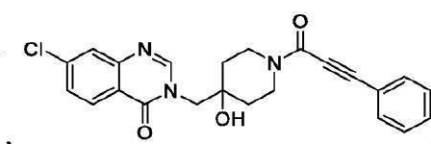
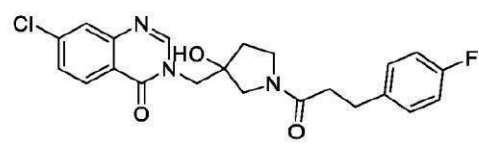
【化 7 9 - 2】



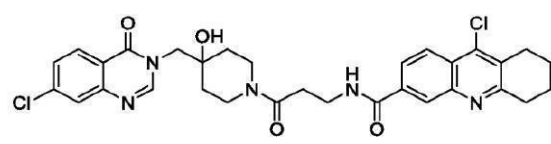
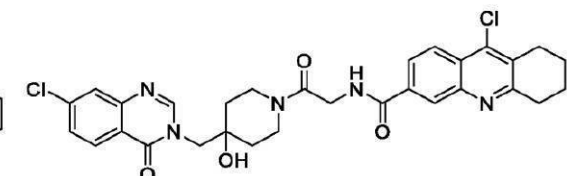
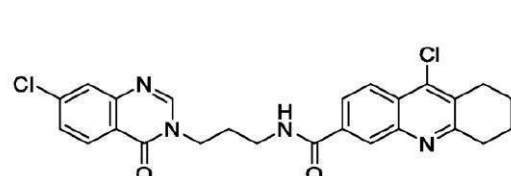
20



30



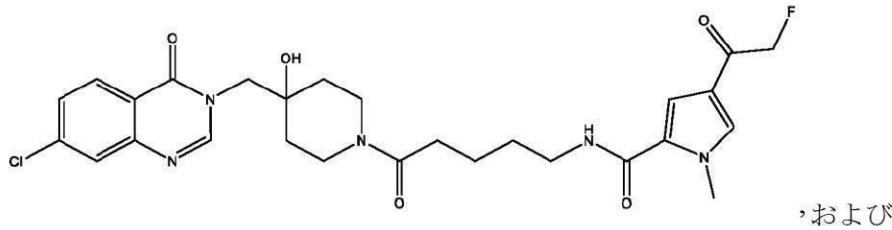
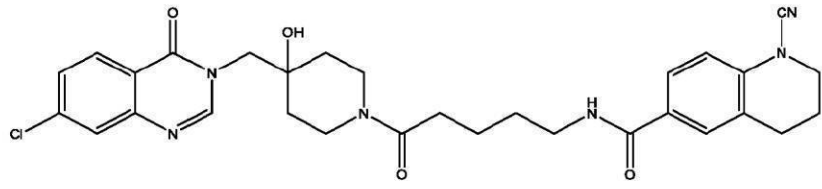
40



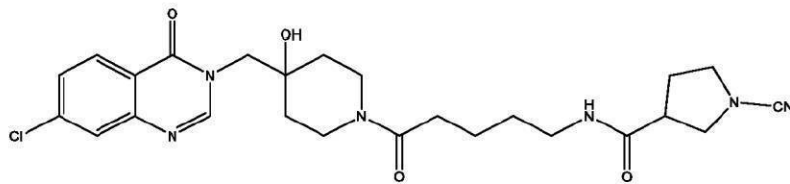
50

50

【化 7 9 - 4】



、および



から選択されない、項目 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 6)

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1 つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2 つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1 つ以上の R^9 で任意選択的に置換される、項目 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の化合物。

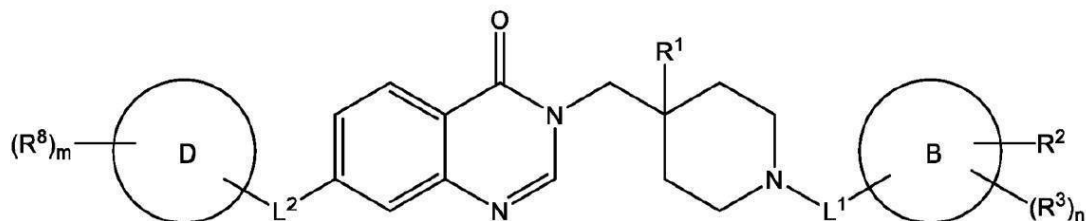
(項目 7)

前記ヘテロシクリルが、メチルピペリジニルまたはモルホリニルである、項目 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 8)

以下の構造式

【化 8 0】



(I I)

を有する項目 1、2、もしくは 4 のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、

式中、

環 D は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、

L^2 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1 つ以上の R^8 で任意選択的に置換され、

10

20

30

40

50

mは、0、1、2、3、または4である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

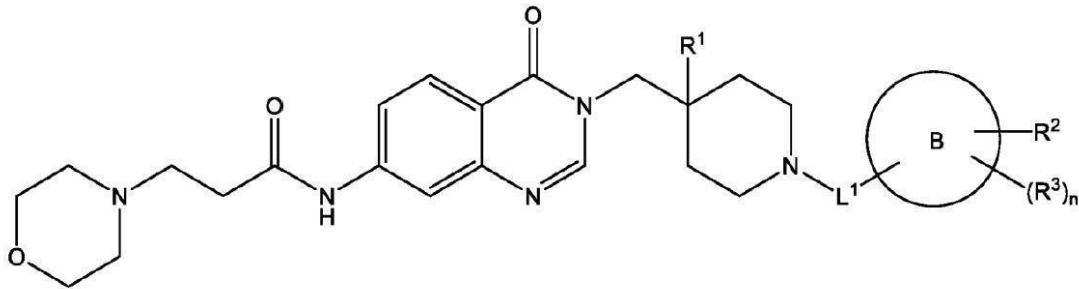
(項目9)

L²が、アルキルまたは-NR⁵-C(=O)アルキルである、項目8に記載の化合物。

(項目10)

以下の構造式

【化81】



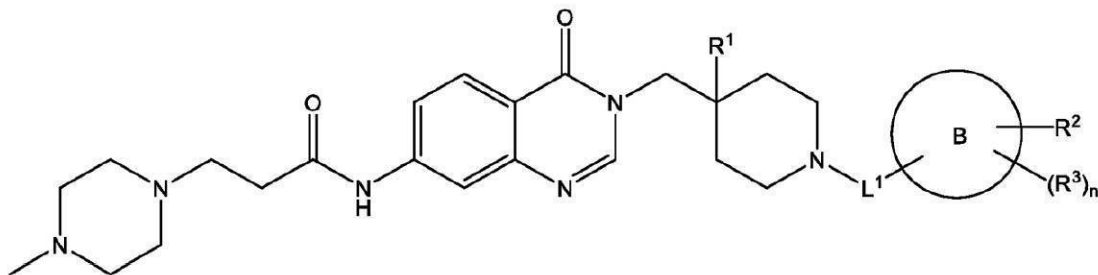
(III a)

を有する項目1、2または4のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

(項目11)

以下の構造式

【化82】



(III b)

を有する項目1、2または4のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

(項目12)

L¹が、アルキル、-C(=O)アルキル、または-C(=O)NR⁵アルキル、-NR⁵R⁶、-C(=O)アルキル-[NR⁵-C(=O)-アルキル]_p-NR⁵-C(=O)である、項目1~11のいずれか一項に記載の化合物。

(項目13)

L¹が、-C(=O)アルキル-[NR⁵-C(=O)-アルキル]_p-NR⁵-C(=O)である、項目1~12のいずれか一項に記載の化合物。

(項目14)

pが、0、1、または2である、項目1~13のいずれか一項に記載の化合物。

(項目15)

以下の構造式

10

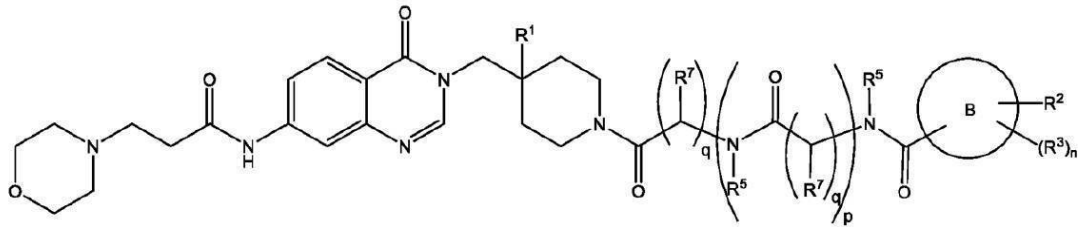
20

30

40

50

【化 8 3】



(IVa)

10

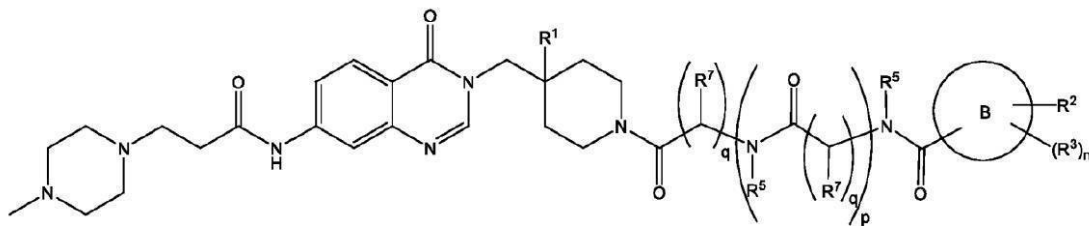
を有する項目 1、2、もしくは 4 のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、

式中、 q は、0、1、2、3、4、5、または 6 である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

(項目 1 6)

以下の構造式

【化 8 4】



(IVb)

20

を有する項目 1、2、もしくは 4 のいずれか一項に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩であって、

式中、 q は、0、1、2、3、4、5、または 6 である、化合物またはその薬学的に許容される塩。

30

(項目 1 7)

環 B が、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールである、項目 1～16 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 1 8)

各アルキルが、1つ以上の R^7 で置換され、各 R^7 が、各出現時に独立して、H、アラルキル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルである、項目 1～17 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 1 9)

R^7 の各アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールが、1つ以上の R^{10} で置換される、項目 18 に記載の化合物。

40

(項目 2 0)

各 R^{10} が、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルである、項目 19 に記載の化合物。

(項目 2 1)

q が、1、2、3、または 4 である、項目 15～20 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 2 2)

R^2 が、

50

(項目 28)

L^3 が、結合、 $-NR^5R^6$ 、またはヘテロシクリルである、項目1～27のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 29)

R^1 が、Hまたは $-OR^5$ である、項目1～28のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 30)

R^3 が、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）である、項目1～29のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 31)

n が、1である、項目1～30のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 32)

n が、0である、項目1～29のいずれか一項に記載の化合物。

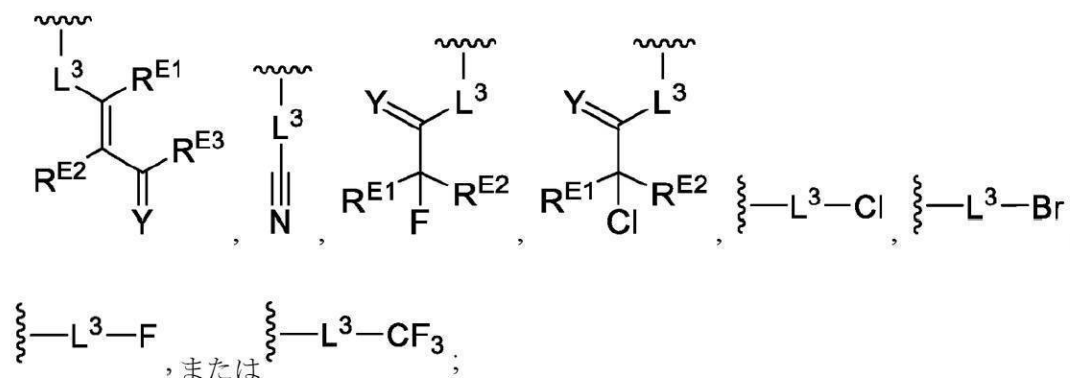
(項目 33)

環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、
 L^1 は、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、
 または $-C(=O)$ アルキル $-[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、
 L^3 は結合、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、
 Y は、Oであり、

R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、

R^2 は、

【化88】



であり、

R^3 は、アルキルまたは $-NR^5R^6$ であり、

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、Hまたはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、各シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルで

あり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0、1、または2であり、

p は、0、1、または2である、項目1～7のいずれか一項に記載の化合物。

(項目34)

環Bは、シクロアルキル、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールであり、

L^1 は、アルキル、 $-C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、 $-NR^5R^6$ 、または $-C(=O)$ アルキル- $[NR^5C(=O)-$ アルキル] $_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

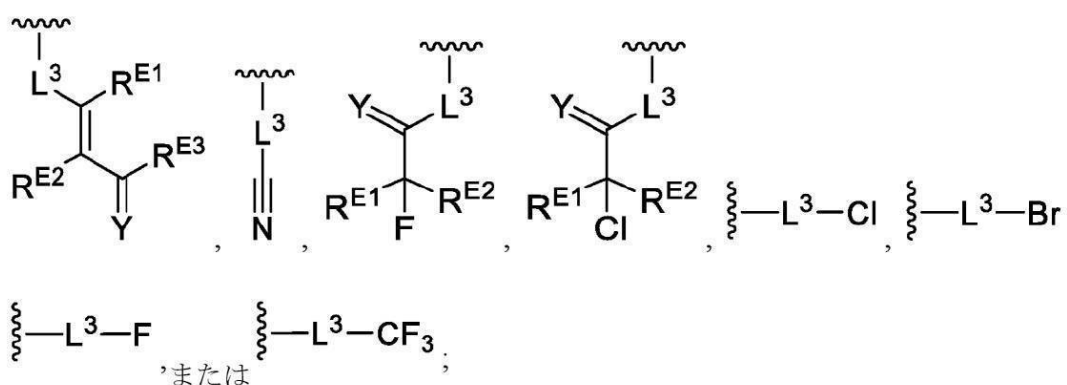
L^3 は結合、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、

Y は、O であり、

R^1 は、H または $-OR^5$ であり、

R^2 は、

【化89】



であり、

R^3 は、 CF_3 、アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシル、シクロアルキリル（例えば、シクロヘキシル）、ヘテロアリール（例えば、チアゾリル）、アリール（例えば、フェニルまたはフルオロフェニル）であり、

R^4 は、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリル（例えば、メチルピペラジニルまたはモルホリニル）を共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、独立して、H またはアルキルであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、各シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、またはヘテロアリールは、独立して、1つ以上の R^{10} で任意選択的に置換され、各 R^8 は、各出現時に独立して、 $-NR^5R^6$ またはヘテロシクリルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

各 R^{10} は、各出現時に独立して、ハロゲン、 $-OR^5$ 、 $-NR^5R^6$ 、またはアルキルであり、各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、H またはアルキルであり、

あるいは、 R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールを共に形成し、各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0、1、または2であり、

p は、0、1、または2である、項目1～7のいずれか一項に記載の化合物。

(項目35)

環Bは、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールであり、

L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル- $[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

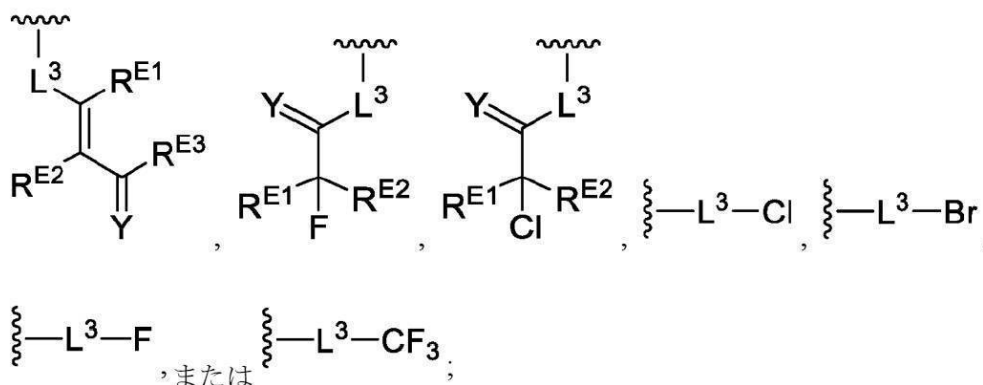
L^3 は、結合であり、

Y は、Oであり、

R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、

R^2 は、

【化90】



であり、

R^4 は、ハロゲン、アルキル、 $-NR^5C(=O)$ アルキル、 $-C(=O)NR^5$ アルキル、または $-NR^5R^6$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^8 で任意選択的に置換されるか、あるいは

R^4 は、アルキルであり、2つの R^8 は、シクロアルキルまたはヘテロシクリルを共に形成し、各シクロアルキルまたはヘテロシクリルは、独立して、1つ以上の R^9 で任意選択的に置換され、

各 R^5 および R^6 は、Hであり、

各 R^7 は、各出現時に独立して、H、カルボシクロアルキル、アラルキリル、ヘテロシクリルアルキル、またはヘテロアラルキルであり、

各 R^9 は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

各 R^{11} および R^{12} は、各出現時に独立して、Hまたはアルキルであり、

あるいは R^{11} および R^{12} は、ヘテロシクリルを共に形成し、

各 R^{E1} 、 R^{E2} 、および R^{E3} は、各出現時に独立して、H、アルキル、 $-OR^{11}$ 、または $-NR^{11}R^{12}$ であり、

n は、0であり、

p は、0、1、または2である、項目1～7のいずれか一項に記載の化合物。

(項目36)

環Bは、ヘテロシクリルまたはヘテロアリールであり、

L^1 は、 $-C(=O)$ アルキル- $[NR^5C(=O)-アルキル]_p-NR^5C(=O)$ であり、各アルキルは、独立して、1つ以上の R^7 で任意選択的に置換され、

L^3 は、結合であり、

Y は、Oであり、

R^1 は、Hまたは $-OR^5$ であり、

R^2 は、

10

20

30

40

50

$$\begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{R}^{\text{E}1} \text{C} = \text{C}(\text{R}^{\text{E}2}) \text{C}(\text{R}^{\text{E}3}) = \text{Y} \end{array}, \quad \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{Y} = \text{C}(\text{R}^{\text{E}1}) \text{C}(\text{R}^{\text{E}2}) \text{F} \end{array}, \quad \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 \\ | \\ \text{Y} = \text{C}(\text{R}^{\text{E}1}) \text{C}(\text{R}^{\text{E}2}) \text{Cl} \end{array}, \quad \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 - \text{Cl} \\ | \\ \text{---} \end{array}, \quad \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 - \text{Br} \\ | \\ \text{---} \end{array},$$

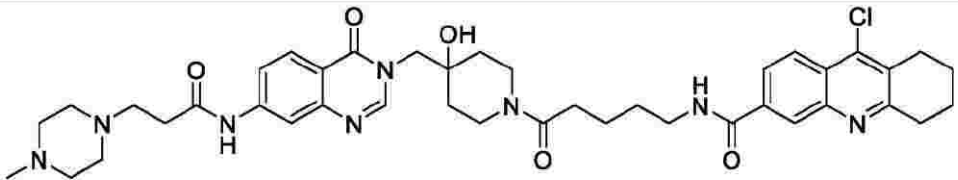
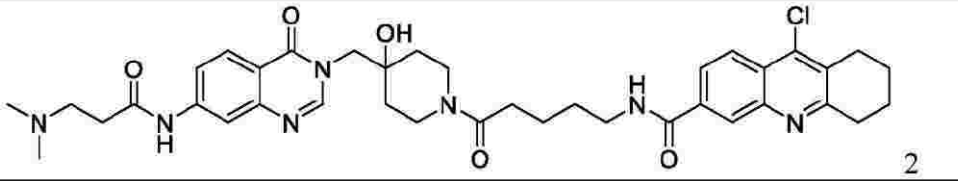
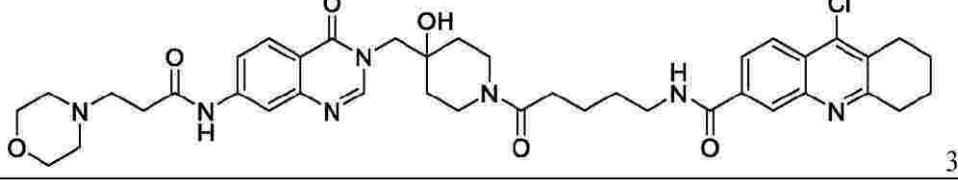
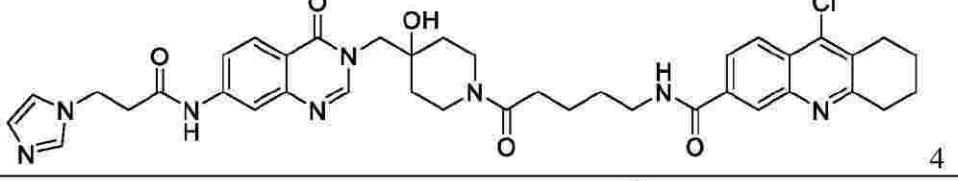
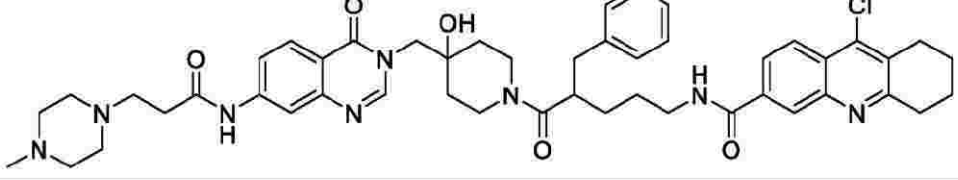
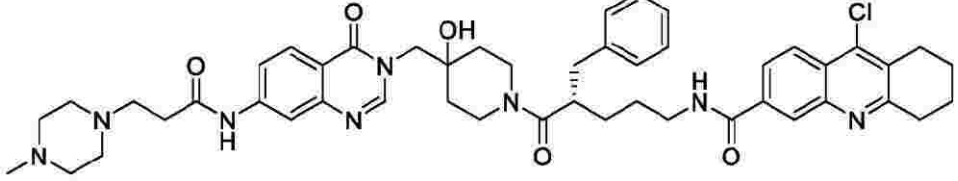
$$\begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 - \text{F} \\ | \\ \text{---} \end{array}, \quad \begin{array}{c} \text{---} \text{L}^3 - \text{CF}_3 \\ | \\ \text{---} \end{array},$$

、または

(項目 3 7)

50

【表 4 - 1】

化合物	
	1
	2
	3
	4
	5
	6

10

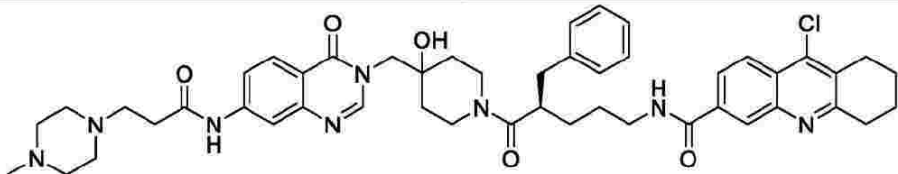
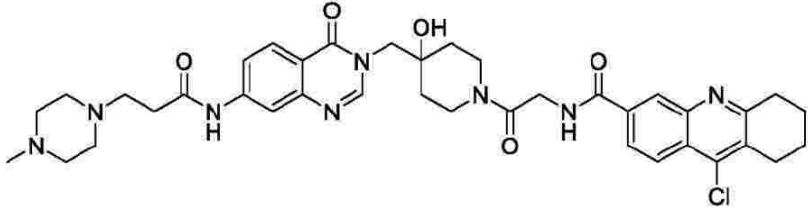
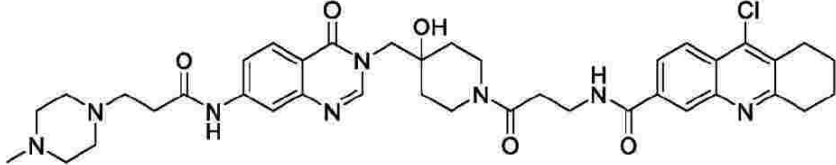
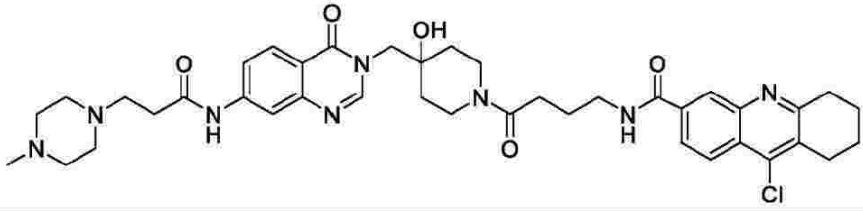
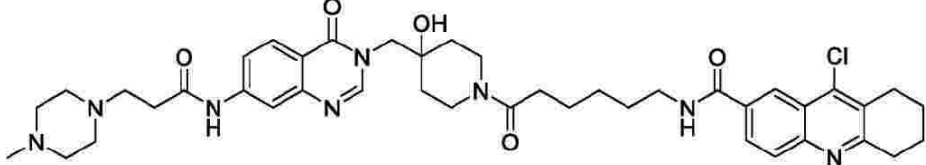
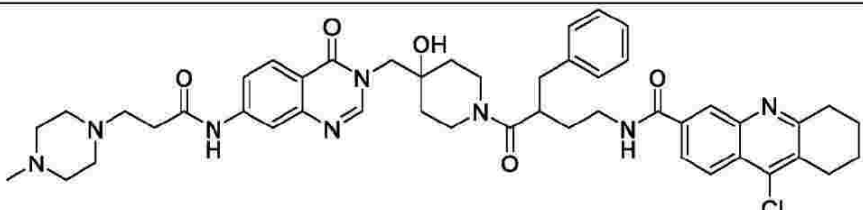
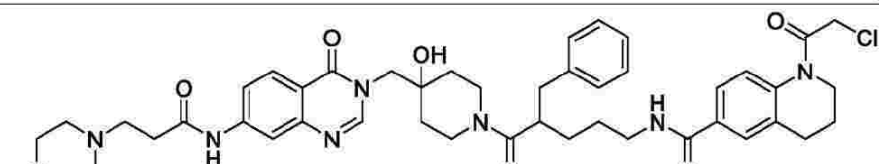
20

30

40

50

【表 4 - 2】

化合物	
	7
	8
	9
	10
	11
	12
	13

10

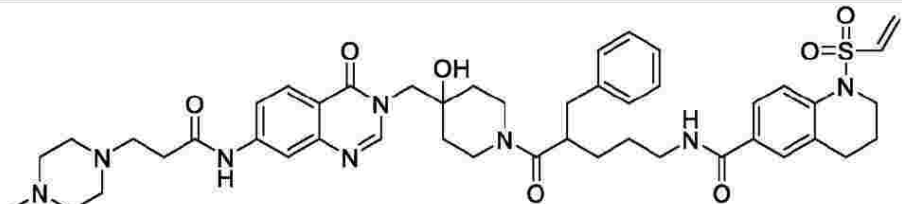
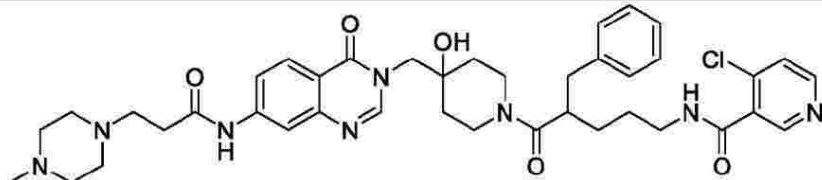
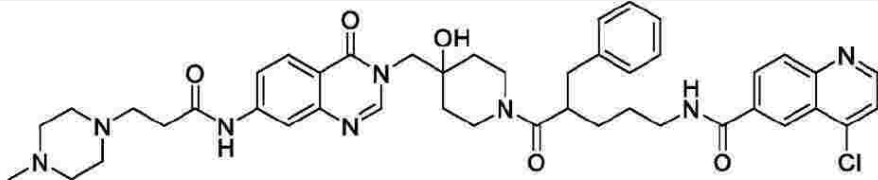
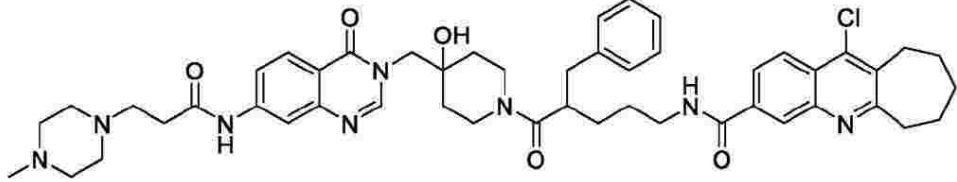
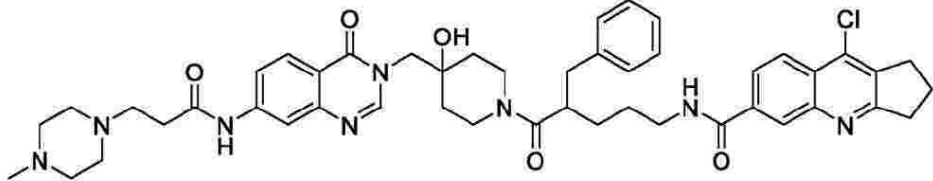
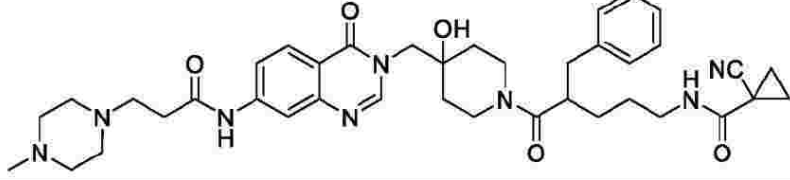
20

30

40

50

【表 4 - 3】

化合物	
	14
	15
	16
	17
	18
	19
	20

10

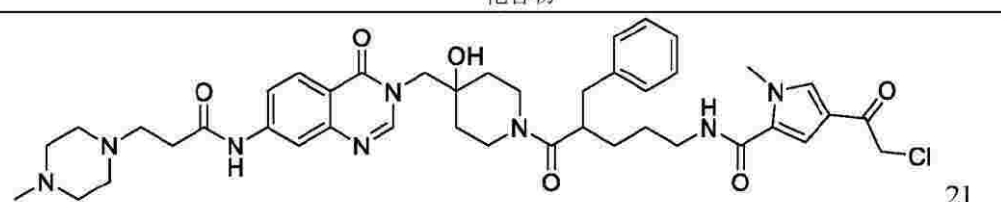
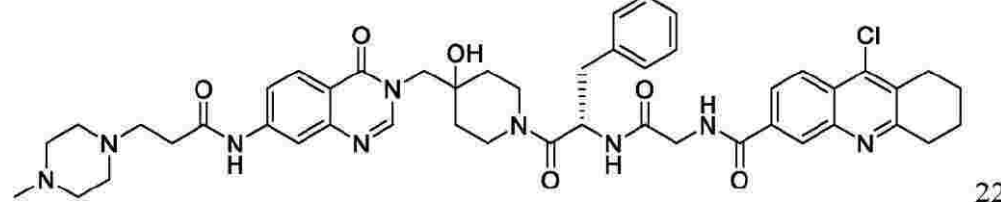
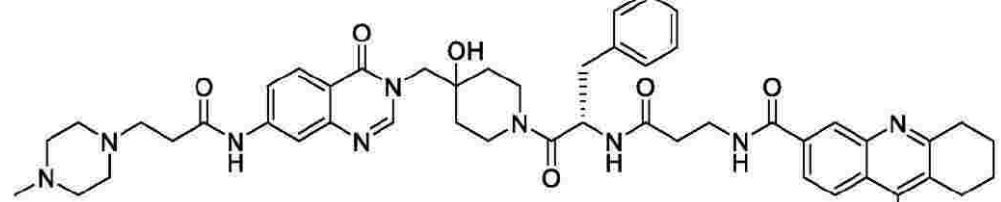
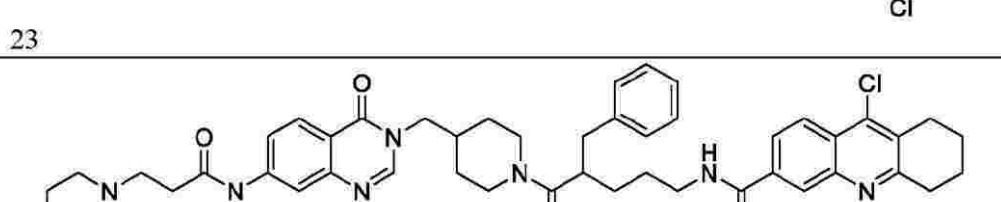
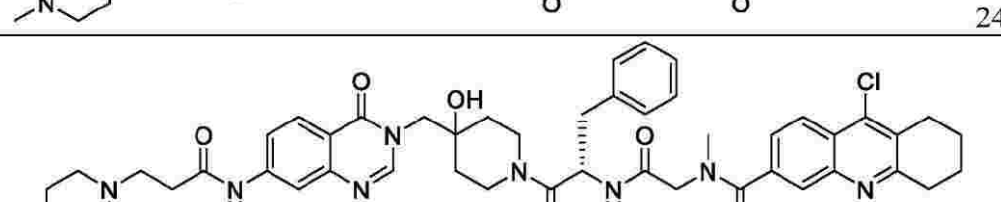
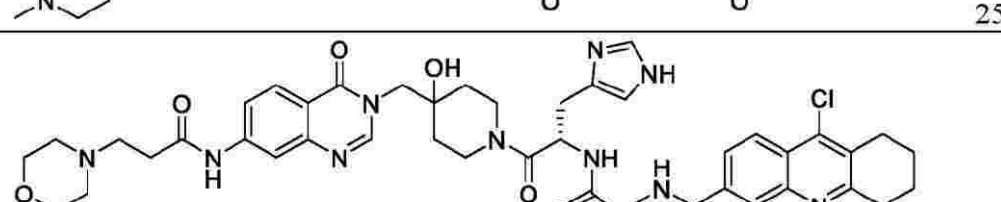
20

30

40

50

【表 4 - 4】

化合物	
	21
	22
	23
	24
	25
	26

10

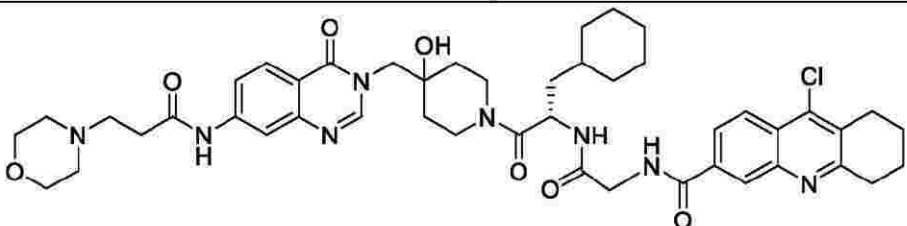
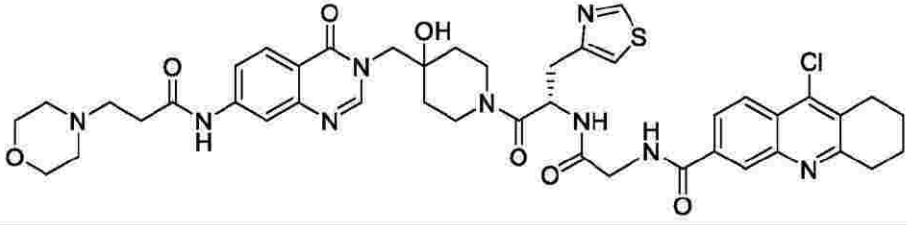
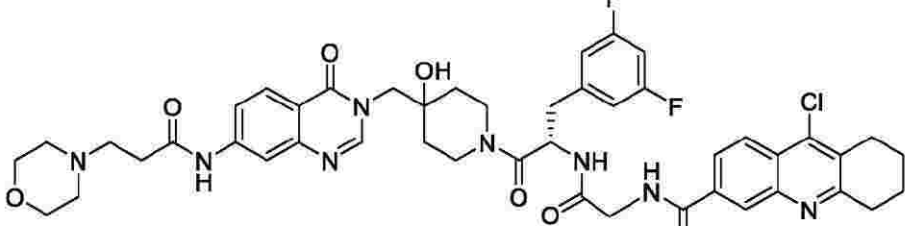
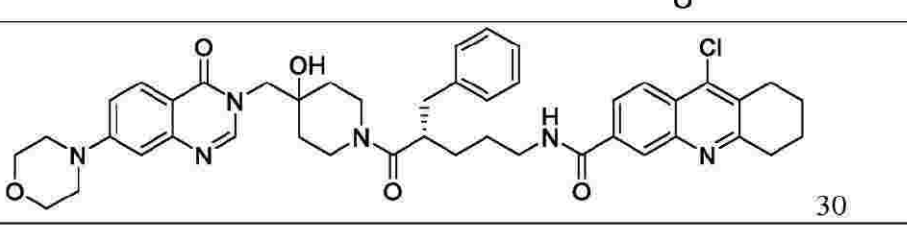
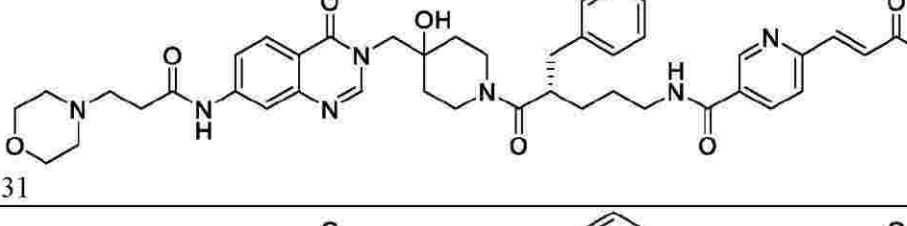
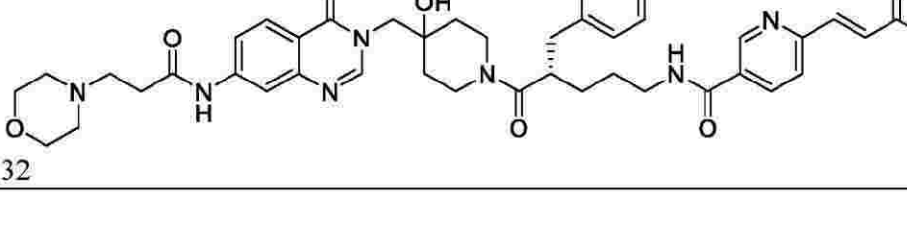
20

30

40

50

【表 4 - 5】

化合物	
	27
	28
	29
	30
	31
	32

からなる群から選択される化合物、またはその薬学的に許容される塩。
(項目 3 8)

10

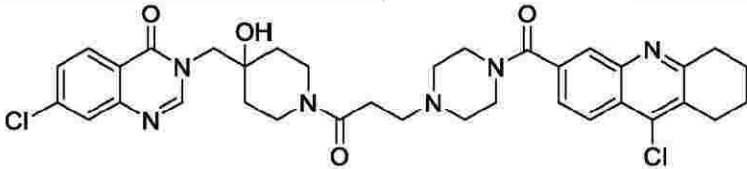
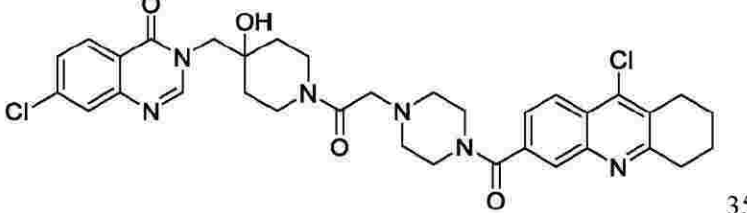
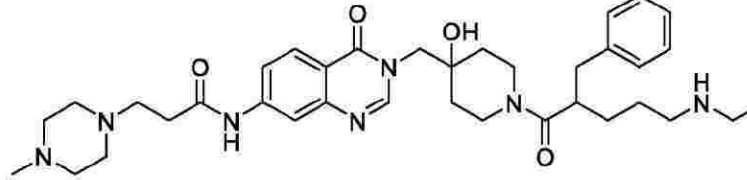
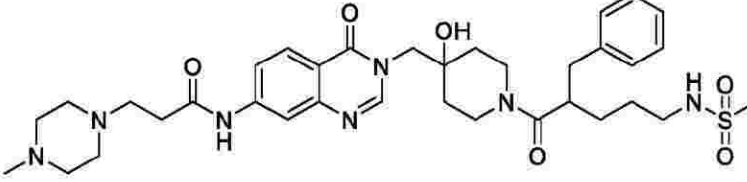
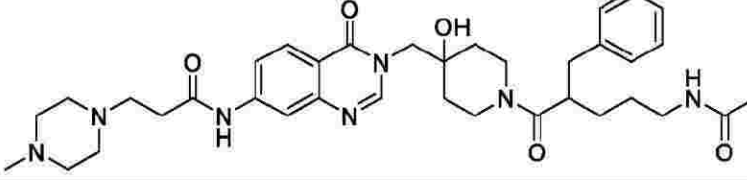
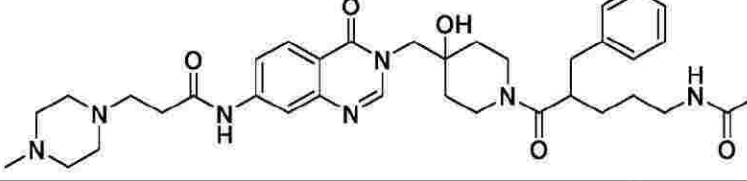
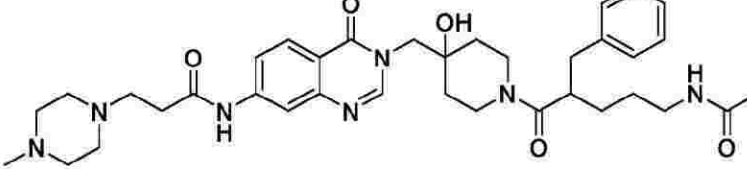
20

30

40

50

【表 5 - 1】

化合物	
	34
	35
	36
	37
	38
	39
	40

10

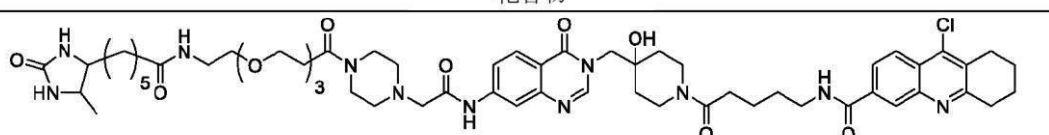
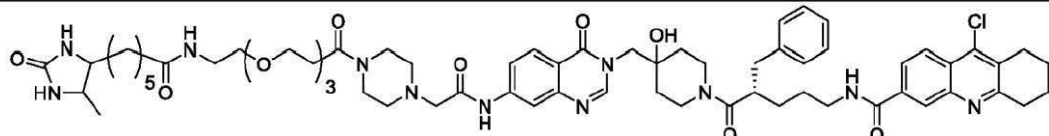
20

30

40

50

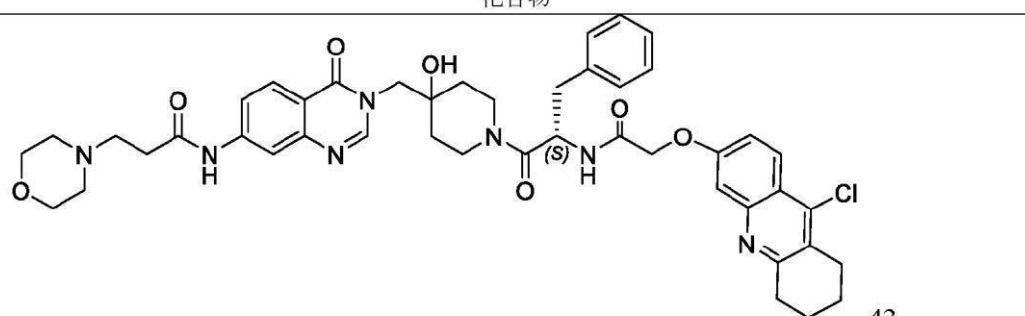
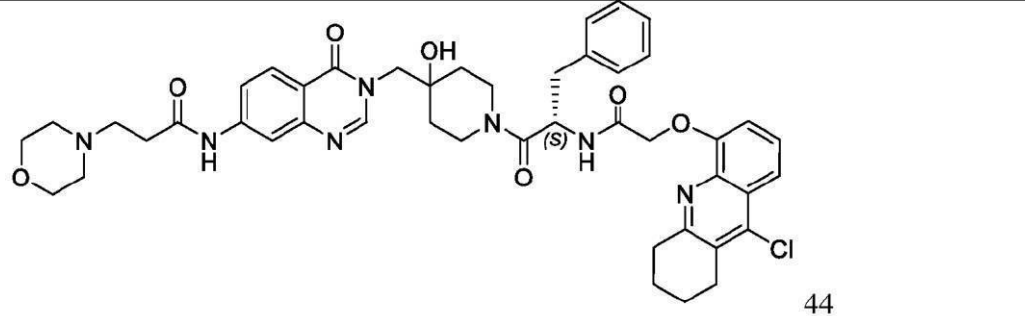
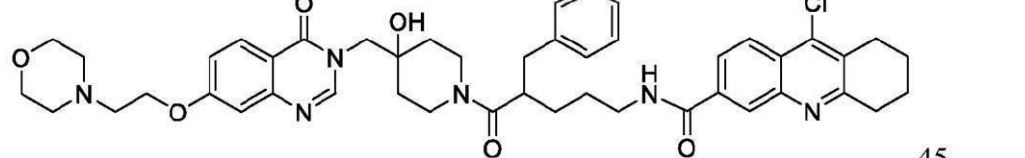
【表 5 - 2】

化合物	
	41
	42

からなる群から選択される化合物、またはその薬学的に許容される塩。

(項目 3 9)

【表 6 - 1】

化合物	
	43
	44
	45

10

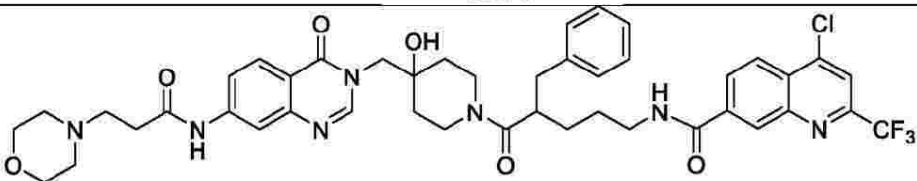
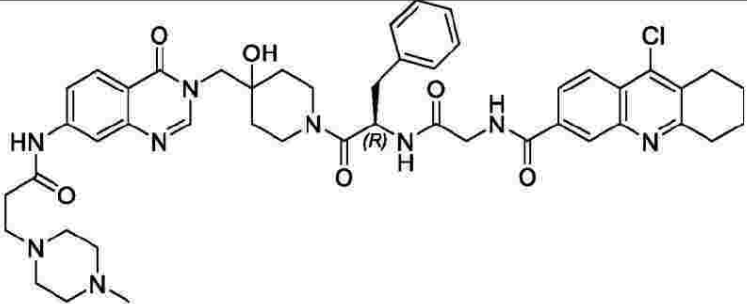
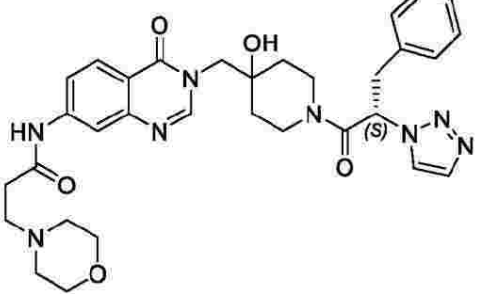
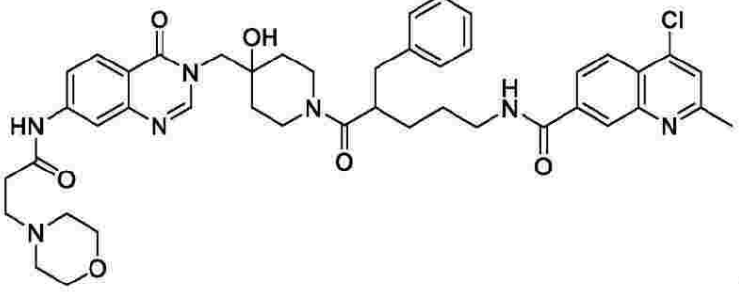
20

30

40

50

【表 6 - 2】

化合物	
	46
	47
	48
	49
	50

10

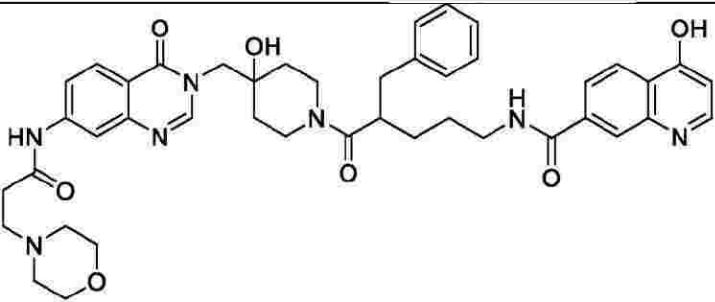
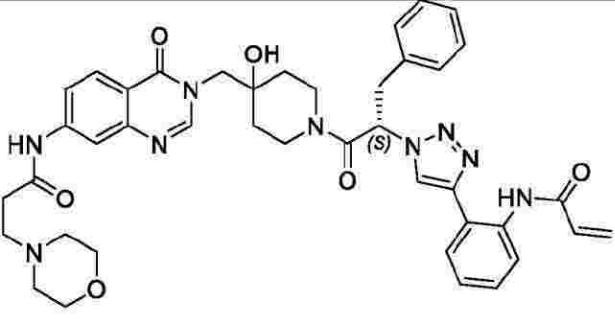
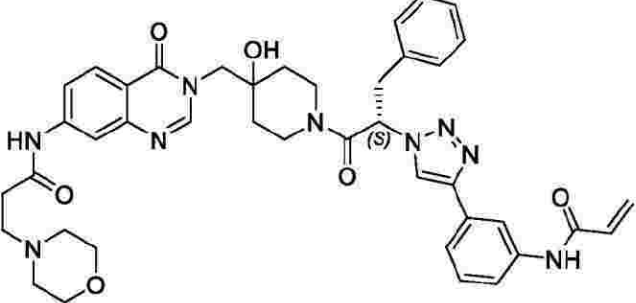
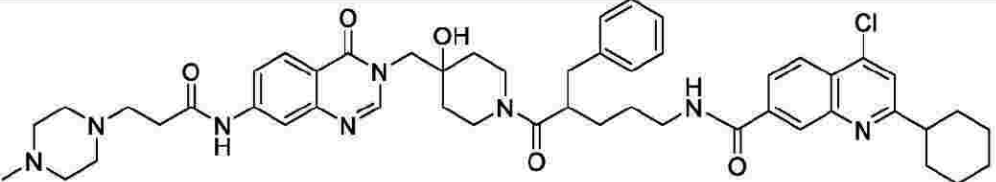
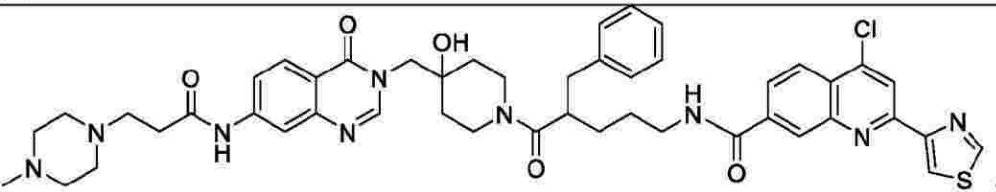
20

30

40

50

【表 6 - 3】

化合物	
	51
	52
	53
	54
	55

10

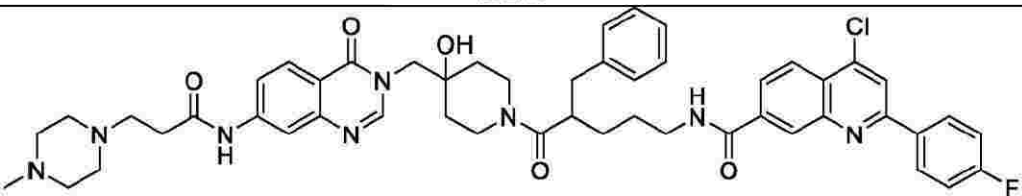
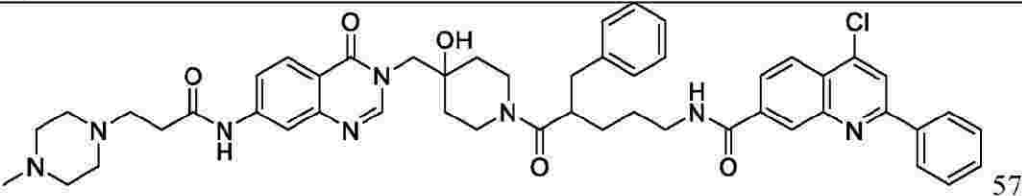
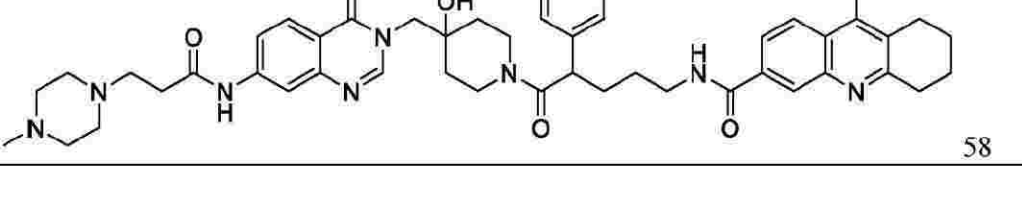
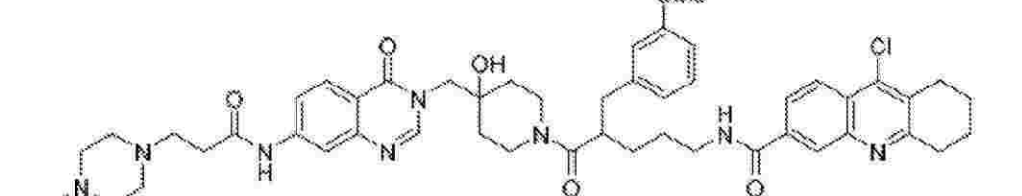
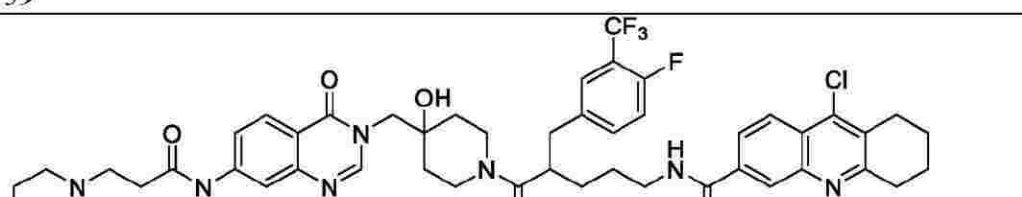
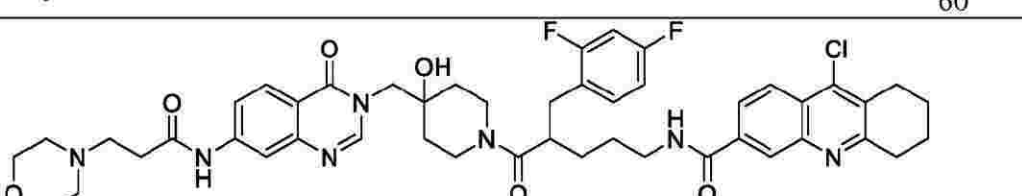
20

30

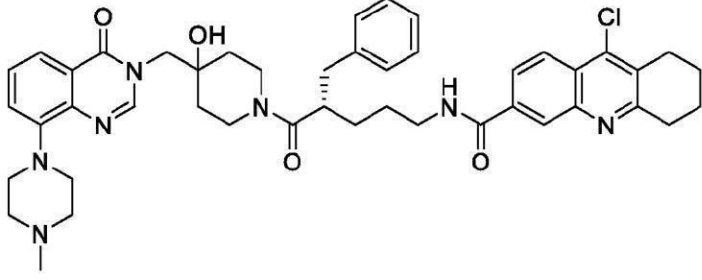
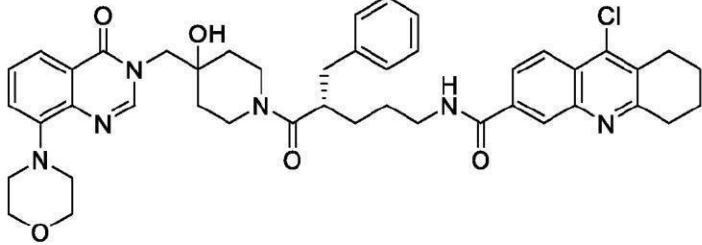
40

50

【表 6 - 4】

化合物	
	56
	57
	58
	59
	60
	61

【表 6 - 5】

化合物
 62
 63

からなる群から選択される化合物、またはその薬学的に許容される塩。

(項目 4 0)

USP 7 によって調節される疾患または障害を治療する方法であって、それを必要とする対象に、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の化合物を投与することを含む、方法。

(項目 4 1)

USP 7 を阻害する方法であって、それを必要とする対象に、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の化合物を投与することを含む、方法。

(項目 4 2)

USP 7 の阻害に関連する前記疾患または障害が、癌および転移、神経変性疾患、免疫学的障害、糖尿病、骨関節疾患、骨粗鬆症、関節炎炎症性障害、心血管疾患、虚血性疾患、ウイルス感染症およびウイルス性疾患、ウイルス感染性および／またはウイルス潜伏性、ならびに細菌感染症および細菌性疾患である、項目 4 1 に記載の方法。

(項目 4 3)

癌を治療する方法であって、それを必要とする対象に、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の化合物を投与することを含む、方法。

(項目 4 4)

前記癌が、脂肪肉腫、神経芽腫、神経膠芽腫、乳癌、膀胱癌、神経膠腫、副腎皮質癌、多発性骨髄腫、大腸癌、結腸癌、前立腺癌、非小細胞肺癌、ヒトパピローマウイルス関連子宮頸癌、中咽頭癌、陰茎癌、卵巣癌、肛門癌、甲状腺癌、腫瘍、エプスタインバーウイルス関連上咽頭癌、胃癌、直腸癌、甲状腺癌、ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、およびユーイング肉腫である、項目 4 3 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記癌が、神経芽腫、多発性骨髄腫、乳癌、神経膠腫、結腸癌、前立腺癌、または卵巣癌である、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記癌が、多発性骨髄腫である、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記癌が、ユーイング肉腫である、項目 4 4 に記載の方法。

(項目 4 8)

USP 7 を阻害する方法であって、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の化合物が、USP 7 と共有結合を形成する、方法。

(項目 4 9)

前記共有結合が、U S P 7 のシステイン残基と形成される、項目 4 8 に記載の方法。
(項目 5 0)

U S P 7 によって調節される疾患を治療するための薬剤の製造のための、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

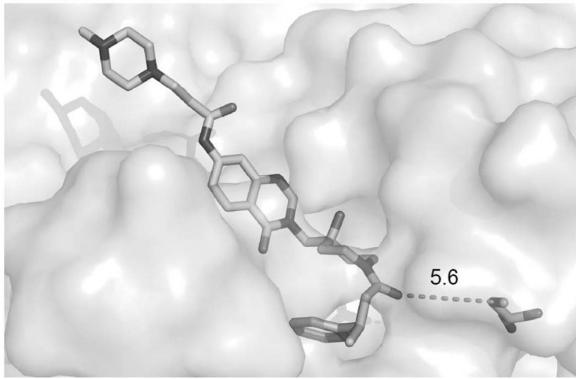
(項目 5 1)

U S P 7 によって調節される疾患の治療に使用するための、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【図面】

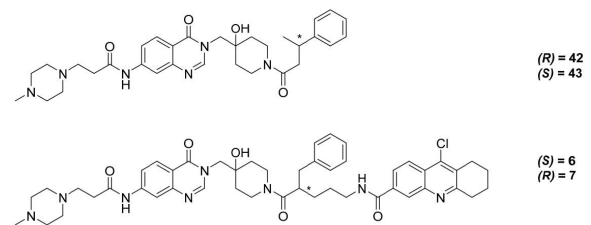
【図 1 A】

【図 1 A】



【図 1 B】

【図 1 B】

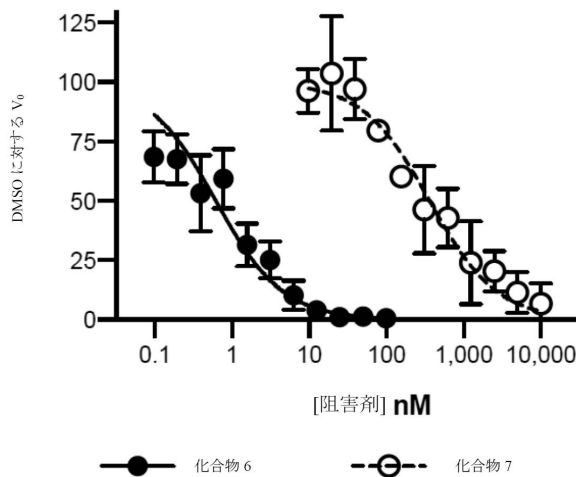


10

20

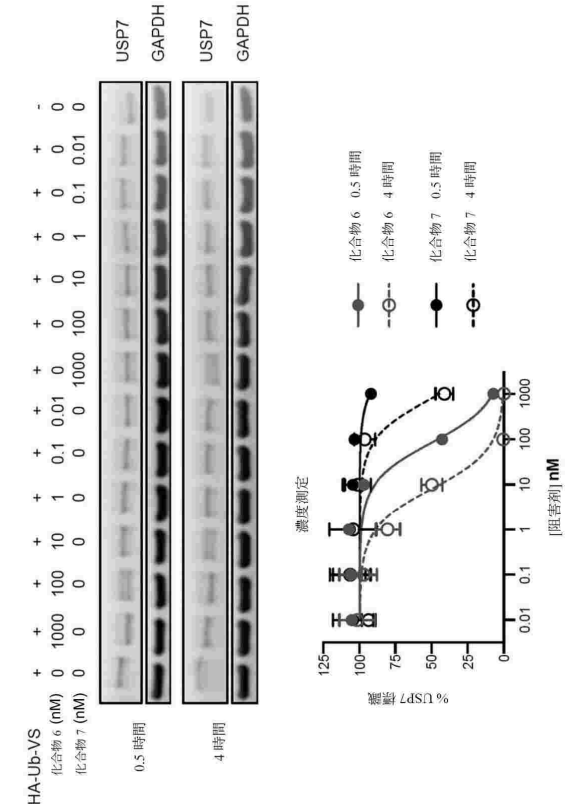
【図 1 C】

【図 1 C】



【図 1 D】

【図 1 D】



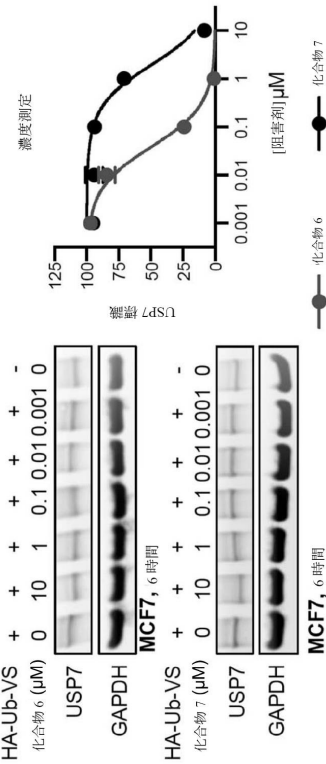
30

40

50

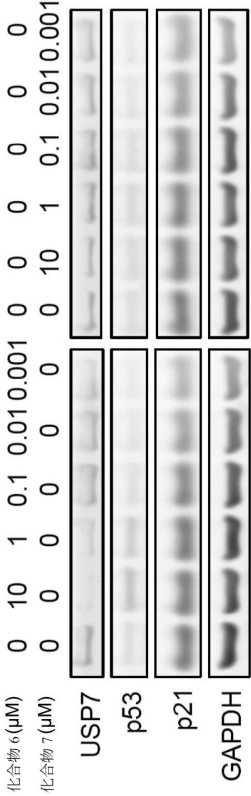
【図 2 A】

【図 2 A】



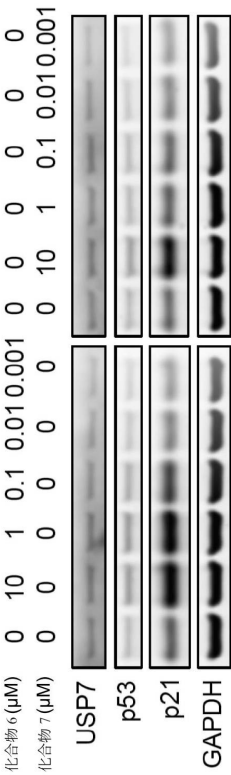
【図 2 B】

【図 2 B】



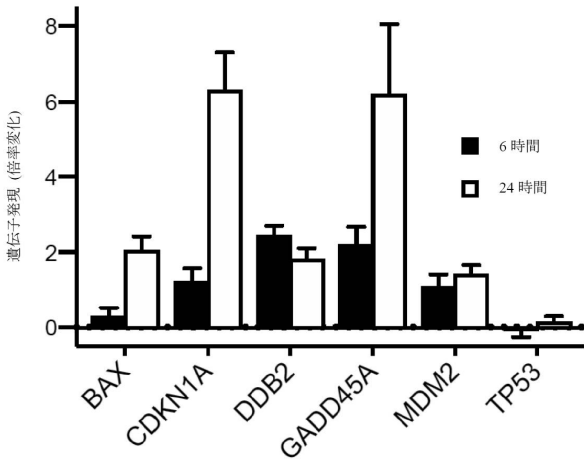
【図 2 C】

【図 2 C】



【図 2 D】

【図 2 D】



10

20

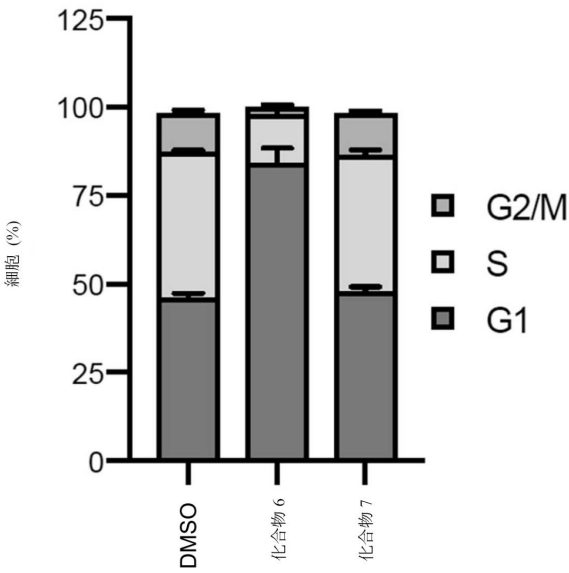
30

40

50

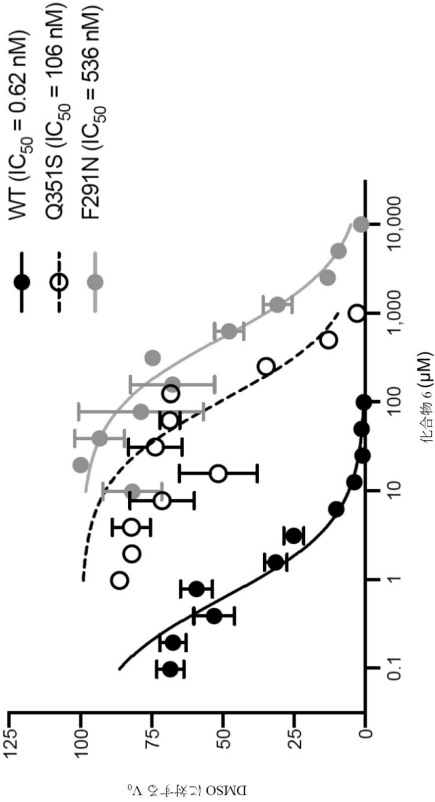
【図 2 E】

【図 2 E】



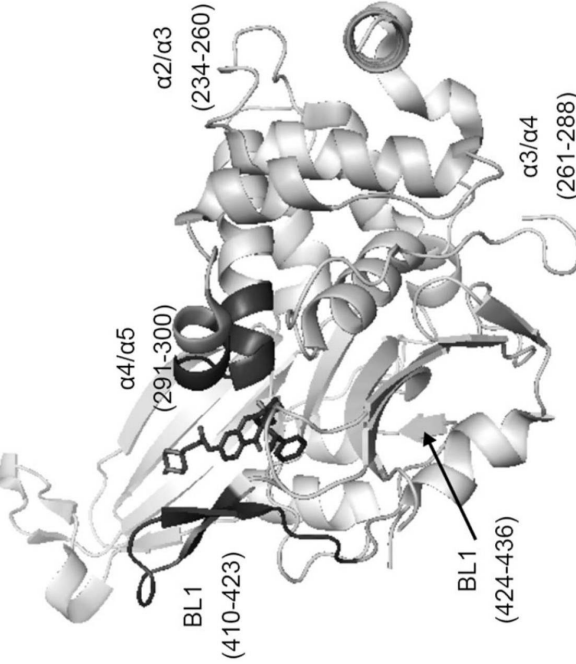
【図 3 A】

【図 3 A】



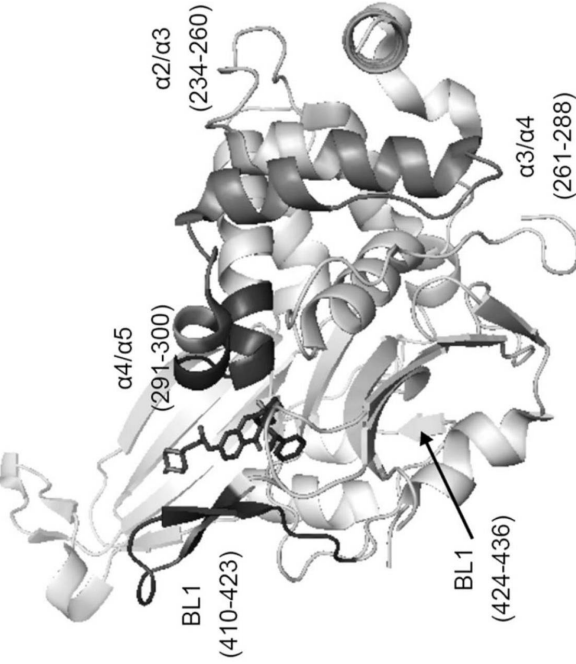
【図 3 B】

【図 3 B】



【図 3 C】

【図 3 C】



10

20

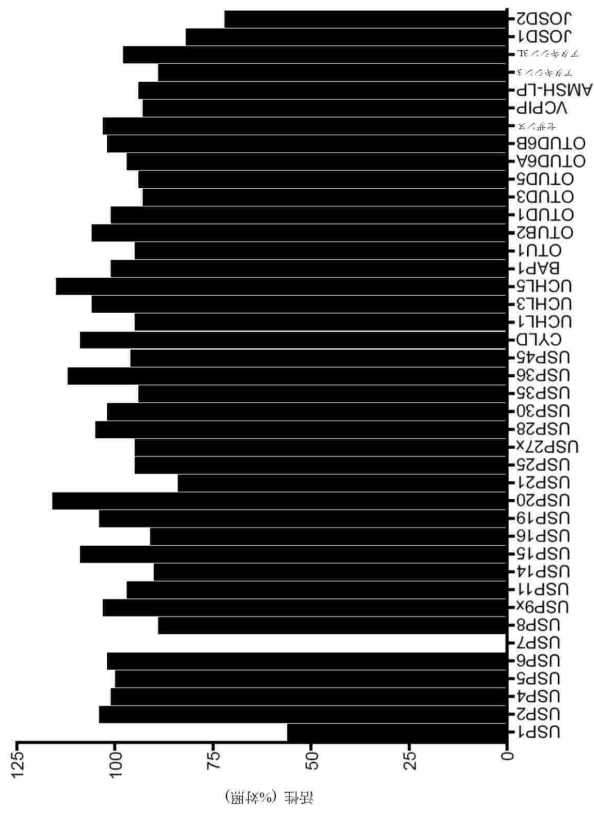
30

40

50

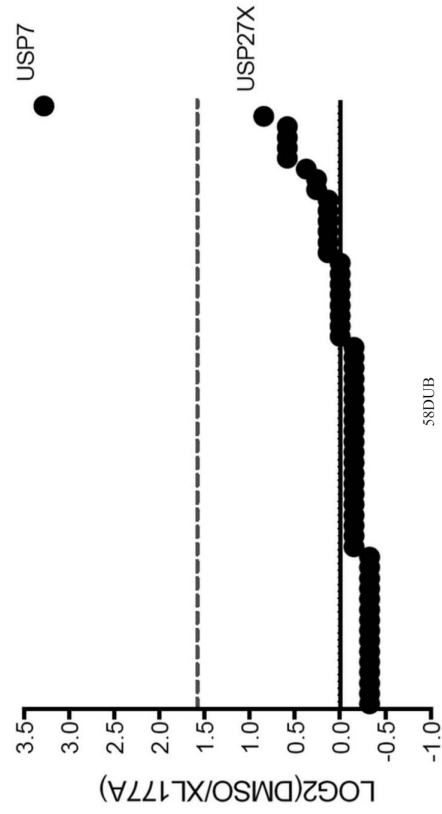
【図 4 A】

【図 4 A】



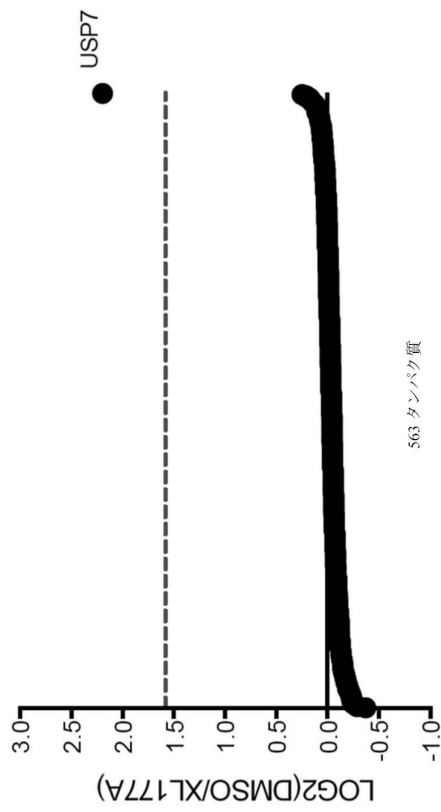
【図 4 B】

【図 4 B】



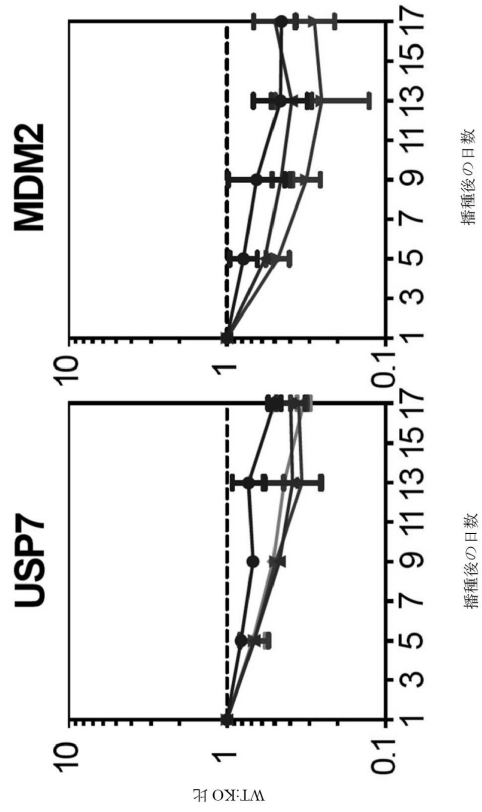
【図 4 C】

【図 4 C】



【図 5 A】

【図 5 A】



10

20

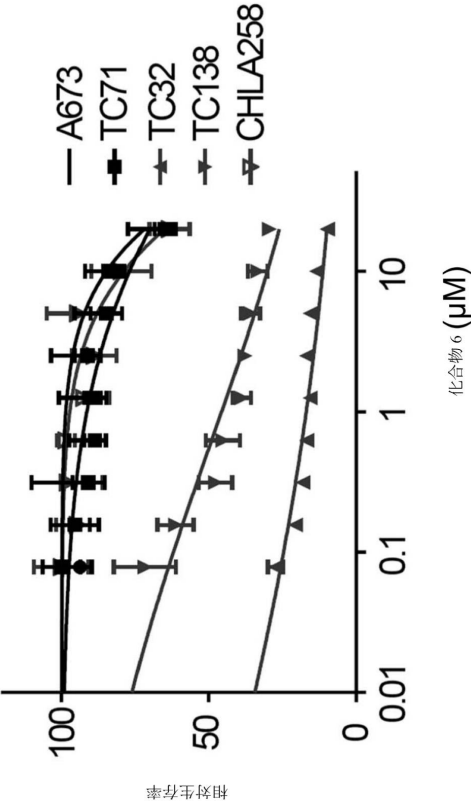
30

40

50

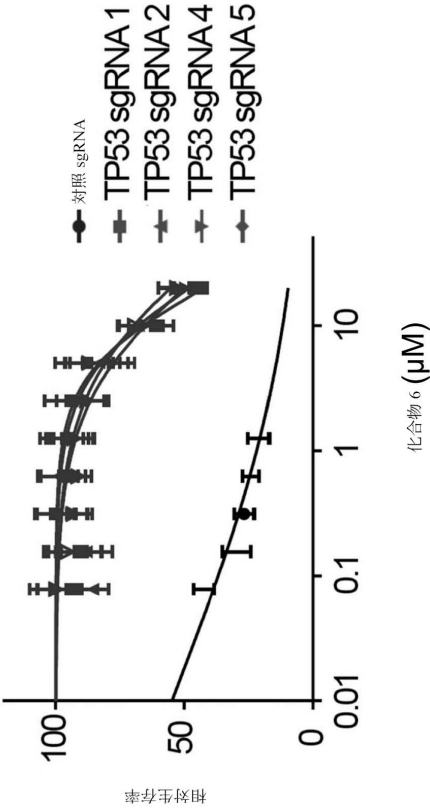
【図 5 B】

【図 5 B】



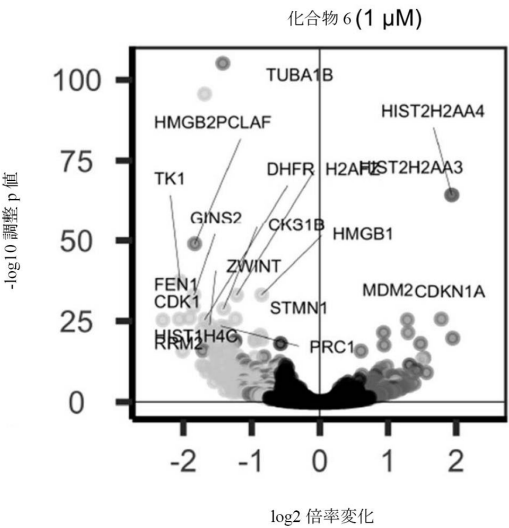
【図 5 C】

【図 5 C】



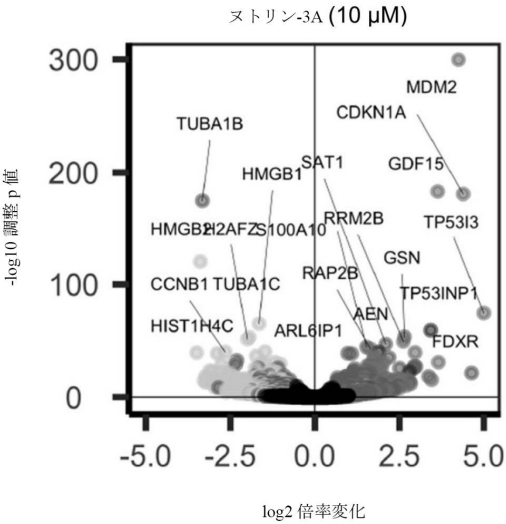
【図 6 A】

【図 6 A】



【図 6 B】

【図 6 B】



10

20

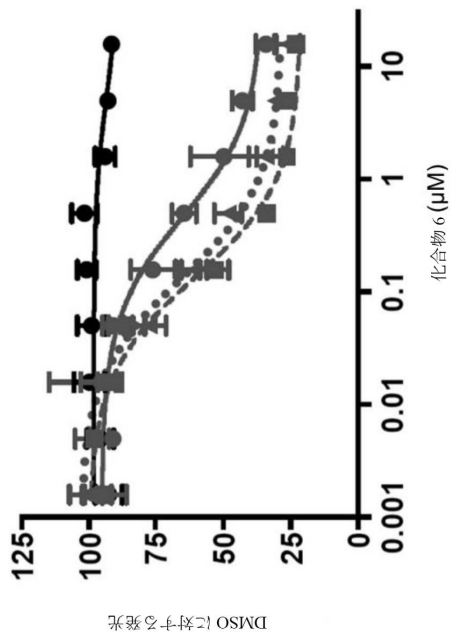
30

40

50

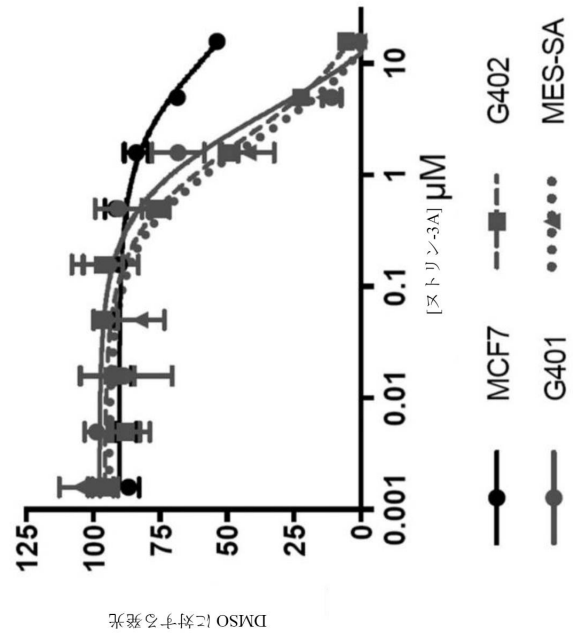
【図 6 C】

【図 6 C】



【図 6 D】

【図 6 D】



【配列表】

0007508449000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	19/10	(2006.01)	A 6 1 P	19/10	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/04	(2006.01)	A 6 1 P	35/04	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 D	413/14	(2006.01)	C 0 7 D	413/14	
C 0 7 D	417/14	(2006.01)	C 0 7 D	417/14	
C 0 7 K	5/06	(2006.01)	C 0 7 K	5/06	Z N A

弁護士 山本 健策

(72)発明者

バーレージ, サラ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 4, サマービル, ジョセフイー アベニュー 2 8

(72)発明者

リウ, シャオシー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 1 7 3 0, ベッドフォード, ネイリアン ウェイ 5 8

審査官

藤代 亮

(56)参考文献

特表 2 0 1 4 - 5 2 7 0 6 4 (J P, A)
 特表 2 0 1 8 - 5 0 4 4 3 0 (J P, A)
 特開平 1 1 - 1 7 1 7 7 4 (J P, A)
 国際公開第 9 9 / 0 5 3 9 2 4 (W O, A 1)
 国際公開第 9 8 / 0 3 3 7 9 2 (W O, A 1)
 特表 2 0 2 0 - 5 3 5 1 2 4 (J P, A)
 国際公開第 2 0 1 8 / 0 7 3 6 0 2 (W O, A 1)
 Cell Chemical Biology, 2017年, 24(12), Pages 1429-1431

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 0 7 D 4 0 1 / 1 4
 A 6 1 K 3 1 / 5 1 7
 A 6 1 K 3 1 / 5 3 5 5
 A 6 1 K 3 8 / 0 5
 A 6 1 P 3 / 1 0
 A 6 1 P 9 / 1 0
 A 6 1 P 1 9 / 0 2
 A 6 1 P 1 9 / 1 0
 A 6 1 P 2 5 / 0 0
 A 6 1 P 2 5 / 2 8
 A 6 1 P 2 9 / 0 0
 A 6 1 P 3 1 / 0 4
 A 6 1 P 3 1 / 1 2
 A 6 1 P 3 5 / 0 0
 A 6 1 P 3 5 / 0 4
 A 6 1 P 3 7 / 0 2
 A 6 1 P 4 3 / 0 0
 C 0 7 D 4 1 3 / 1 4
 C 0 7 D 4 1 7 / 1 4
 C 0 7 K 5 / 0 6

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