

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-520536

(P2007-520536A)

(43) 公表日 平成19年7月26日(2007.7.26)

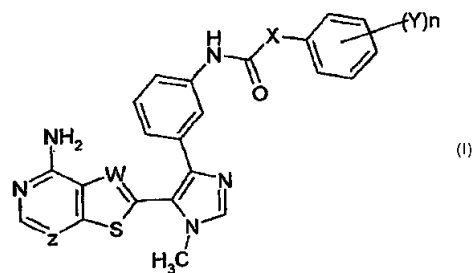
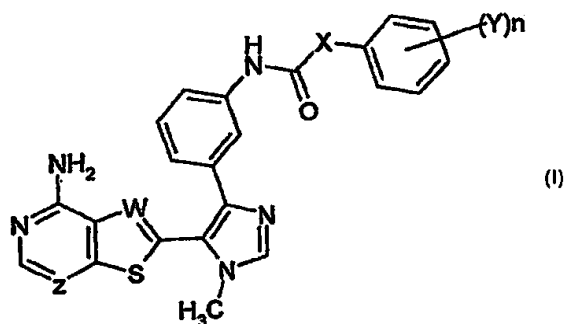
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 495/04 (2006.01)	C O 7 D 495/04 1 O 5 Z	4 C O 7 1
C O 7 D 513/04 (2006.01)	C O 7 D 495/04 C S P	4 C O 7 2
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	C O 7 D 513/04 3 5 1	4 C O 8 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2006-551903 (P2006-551903)	(71) 出願人	300022641
(86) (22) 出願日	平成17年2月1日 (2005.2.1)		アストラゼネカ アクチボラダ
(85) 翻訳文提出日	平成18年10月10日 (2006.10.10)		スウェーデン国 1 5 1 8 5 セーデル
(86) 国際出願番号	PCT/GB2005/000339		テルイエ (無番地)
(87) 国際公開番号	W02005/075483	(74) 代理人	100089705
(87) 国際公開日	平成17年8月18日 (2005.8.18)		弁理士 社本 一夫
(31) 優先権主張番号	0402518.5	(74) 代理人	100140109
(32) 優先日	平成16年2月5日 (2004.2.5)		弁理士 小野 新次郎
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 T i e 2 の阻害剤としての置換チエノ及びチアゾロー [2, 3-d] ピリミジン及び [2, 3-c] ピリジン

(57) 【要約】

ヒトのような温血動物における抗血管新生効果の産生に使用の式 I (式中、置換基は、本文に定義される通りである) の化合物。本化合物は、T i e 2 受容体チロシンキナーゼ (T E K) の阻害剤である。

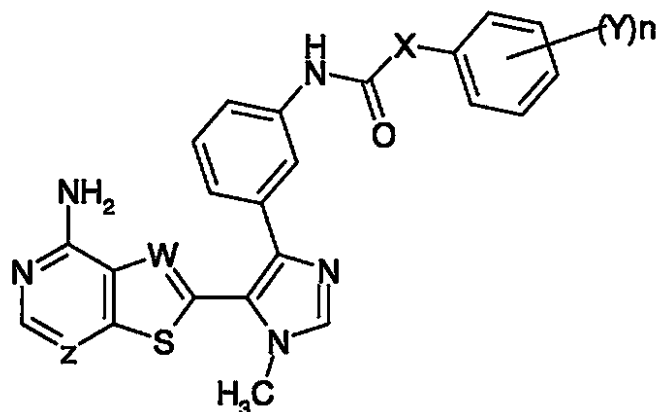


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



10

式 I

[式中 :

20

Z は、N 及び C H より選択され ;

W は、N 及び C H より選択され ;

X は、NH 及び C H₂ より選択され ;

Y は、F、Cl、Br、及び I より選択され ; そして

n は、1、2 又は 3 である] の化合物とその塩又は溶媒和物。

【請求項 2】

Z が N である、請求項 1 に記載の式 I の化合物とその塩又は溶媒和物。

【請求項 3】

Y が F 及び / 又は Cl より選択される、請求項 1 又は請求項 2 に記載の式 I の化合物とその塩又は溶媒和物。

30

【請求項 4】

以下 :

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - フルオロフェニル) 尿素 ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - フルオロフェニル) 尿素 ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - クロロフェニル) 尿素 ;

40

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - クロロフェニル) 尿素 ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - フルオロフェニル) アセトアミド ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (2 - フルオロフェニル) アセトアミド ;

50

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - クロロフェニル) アセトアミド ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 ' - (2 - クロロフェニル) アセトアミド ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - フルオロフェニル) 尿素 ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - フルオロフェニル) 尿素 ; 10

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - クロロフェニル) 尿素 ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - クロロフェニル) 尿素 ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - フルオロフェニル) アセトアミド ; 20

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (2 - フルオロフェニル) アセトアミド ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - クロロフェニル) アセトアミド ;

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (2 - クロロフェニル) アセトアミドの 1 以上より選択される、請求項 1 に記載の式 I の化合物とその塩又は溶媒和物 30

。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に定義される、式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩を医薬的に許容される希釈剤又は担体とともに含んでなる医薬組成物。

【請求項 6】

医薬品として使用の、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に定義される、式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に定義される、式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の、ヒトのような温血動物における T i e 2 受容体チロシンキナーゼ阻害剤として使用の医薬品の製造における使用。 40

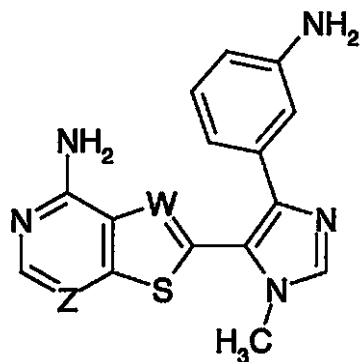
【請求項 8】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に定義される、式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の、ヒトのような温血動物における抗血管新生効果の産生に使用の医薬品の製造における使用。

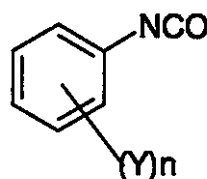
【請求項 9】

式 I の化合物又はその塩又は溶媒和物（ここで、X は NH であり、Z、W、Y、及び n は、式 I に定義される通りである）を製造するための方法であって、式 I I のアミンを式 I I I のイソシアネートと反応させること：

【化 2】



式 I I



式 I I I

10

そしてその後必要ならば：

- i) 式 (I) の化合物を式 (I) の別の化合物へ変換すること；
- ii) 塩又は溶媒和物を生成することを含む、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、抗血管新生活性を保有して、それ故に動物又はヒトの体内で血管新生と関連した疾患状態の治療の方法に有用である化合物、又はその医薬的に許容される塩に関する。本発明はまた、該化合物の製造の方法、該化合物を有効成分として含有する医薬組成物、及びヒトのような温血動物における抗血管新生効果の産生に使用の医薬品の製造における、該化合物の使用の方法に関する。

20

【0002】

Tie 2 受容体チロシンキナーゼ (TEK としても知られる) は、内皮細胞と造血細胞において専ら発現されて、血管の形成及び維持に不可欠である (Jones, N. et al. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001: 2, 257-67)。

【0003】

血管新生は、既存の脈環構造からの新たな血管の産生として定義される基本プロセスである。それは、ほとんどすべての臓器の形成及び生理学的機能に必要とされる、生命維持に不可欠であるが複雑な生物学的プロセスである。通常、それは天然において一過性であり、内皮細胞による血管出芽、分岐、及び細管形成が関与する多段階プロセス (内皮細胞 (EC) の活性化、血管の脱安定化、破壊酵素の合成及び放出、EC 遊走、EC 増殖、EC 組織化及び分化、及び血管成熟化のようなプロセスが関与する) において、血管新生因子と血管新生抑制因子の局所バランスにより制御されている。

30

【0004】

正常な血管新生は、多様なプロセスにおいて重要な役割を担い、厳密な制御下にある。成体では、生理学的な血管新生は、創傷治癒と、雌の生殖機能と胚の発生のいくつかの構成要因に主に限定される。望まれないか又は病理学的な血管新生では、血管新生因子と血管新生抑制因子の間の局所バランスが破綻して、不適切な、及び/又は構造的に異常な血管形成をもたらす。病理学的な血管新生は、糖尿病性網膜症、乾癬、癌、慢性関節リウマチ、アテローム、カボシ肉腫、及び血管腫が含まれる疾患状態と関連づけられてきた (Fan et al, 1995, Trends Pharmacology. Science 16: 57-66; Folkman, 1995, Nature Medicine 1: 27-31)。癌では、原発性及び続発性の腫瘍が $1 \sim 2 \text{ mm}^3$ を超えて増殖するのに血管新生が必要とされる (Folkman, J. New England Journal of Medicine 1995; 33, 1757-1763)。

40

【0005】

進行が異常な血管新生に依存する癌のような疾患では、このプロセスを遮断することが疾患進行の予防をもたらす場合がある (Folkman, J. 1995, Nature Medicine. 1: 27-31

50

)。血管新生の調節において重要な必須の役割を担うと考えられている多くの因子が科学文献に記載されている。血管新生因子の2つの主要なクラスは、血管内皮増殖因子 (VEGF) とアンジオポエチンである。これらのポリペプチド成分は、それらのそれぞれの受容体 (専ら内皮細胞特異的である膜貫通チロシンキナーゼ) と相互作用して、リガンド仲介性のシグナル伝達を介して細胞応答を引き起こす。VEGF とアンジオポエチンは、正常な血管新生と病理学的な血管新生の両方の間の血管新生プロセスの様々な側面を、それらのそれぞれの受容体を介したシグナル伝達により調節するように協同すると推察されてきた。

【0006】

受容体チロシンキナーゼ (RTK) は、細胞の形質膜を通した生化学シグナルの伝達に重要である。これらの膜貫通分子は、特徴的に、形質膜中のセグメントを介して細胞内チロシンキナーゼドメインへ連結する細胞外リガンド結合ドメインからなる。リガンドの受容体への結合は、受容体に関連したチロシンキナーゼ活性の刺激をもたらす、それが受容体と他の細胞内分子の両方のチロシン残基のリン酸化をもたらす。チロシンリン酸化におけるこれらの変化は、多様な細胞応答をもたらすシグナル伝達カスケードを始動させる。今日まで、アミノ酸配列相同性により定義される、少なくとも19種の別個のRTKサブファミリーが同定されている。これらのサブファミリーの1つは、現在、fms 様チロシンキナーゼ受容体、Flt 又は Flt 1、キナーゼ挿入ドメイン含有受容体、KDR (Flk-1 と呼ばれる)、及び別の fms 様チロシンキナーゼ受容体、Flt 4 からなる。これらの関連したRTKのうち2つ、Flt とKDRは、VEGF へ高いアフィニティで結合することが示された (De Vries et al, 1992, Science 255: 989-991; Terman et al, 1992, Biochem. Biophys. Res. Comm. 1992, 187: 1579-1586)。異種の細胞において発現されるこれらの受容体へのVEGFの結合は、細胞タンパク質のチロシンリン酸化状態とカルシウム流動における変化と関連づけられている。

【0007】

最近、血管の脱安定化及び成熟化を調節する、専ら内皮細胞特異的な受容体の第二のファミリーが同定された。このTie受容体とそのリガンド、アンジオポエチンは、正常な血管新生と病理学的な血管新生の両方の間、VEGF と緊密に共同する。膜貫通受容体のTie 1 及びTie 2 は、血管完全性の維持に関与して、血管新生の伸長と血管再構築に関与する内皮細胞特異的なチロシンキナーゼ受容体のファミリーを構成する。構造的に、Tie 1 とTie 2 は、いくつかの特徴を共有する (例えば、これら受容体の両方の細胞内ドメインは、キナーゼ挿入領域により中断されるチロシンキナーゼドメインをそれぞれ含有する) ので、別個のRTKサブファミリーを構成する。Tie 1 及びTie 2 受容体の間のアミノ酸レベルでの全体的な配列同一性は44%であるが、それらの細胞内ドメインは、76%の相同性を明示する。Tie 1 遺伝子の標的指向された破壊は、広汎な出血と微小血管完全性の不足を特徴とする致命的な表現型をもたらす (Puri, M. et al. 1995 EMBO Journal: 14: 5884-5891)。Tie 2 の欠乏したトランスジェニックマウスは、血管の出芽及び再構築における欠陥を表示し、胚の脈管構造における重篤な欠陥により引き起こされる妊娠中期 (E9.5 - 10.5) の致命的な表現型を表示する (Sato, T. et al. 1995 Nature 370: 70-74)。

【0008】

今日まで、Tie 1 のリガンドは同定されていないし、そのシグナル伝達能力に関してほとんど知られていない。しかしながら、Tie 1 は、Tie 2 受容体とのヘテロ二量体化 (従って、潜在的に、Tie 2 の自己リン酸化する能力を変調させること) によりTie 2 シグナル伝達に影響を及ぼすと考えられていて (Marron, M. et al. 2000 Journal of Biological Chemistry: 275, 39741-39746)、最近のキメラTie 1 受容体の研究は、Tie 1 がPI3キナーゼ/Aktシグナル伝達経路を介してアポトーシスを阻害する可能性があることを示した (Kontos, C.D., et al., 2002 Molecular and Cellular Biology: 22, 1704-1713)。対照的に、Tie 2 では、アンジオポエチンと明記されるいくつかのリガンドが同定されていて、その中ではアンジオポエチン1 (Ang 1) が最もよく特

性決定されている。A n g 1 の結合は、T i e 2 受容体の自己リン酸化によるチロシンリン酸化と、引き続き、そのシグナル伝達経路のシグナル伝達による活性化を誘導する。A n g 2 は、内皮細胞においてこれらの効果に拮抗すると報告されている (Maisonpierre, P. et al. 1997 Science: 277, 55-60)。T i e 2 とそのリガンドのロックアウト及びトランスジェニック操作は、新たな脈管構造の正確な発達には、T i e 2 シグナル伝達の厳密な空間的及び時間的な制御が必須であることを示唆する。また、上記受容体との会合に対するそれらの活性 (作動的 / 拮抗的) を修飾する潜在可能性を有する、アンジオポエチンリガンド間のヘテロ二量体化の可能性だけでなく、少なくとも 2 つの別のリガンド (A n g 3 及び A n g 4) についての報告もある。T i e 2 受容体の A n g 1 による活性化は、アポトーシスを阻害し (Papapetropoulos, A., et al., 2000 Journal of Biological Chemistry: 275 9102-9105)、血管内皮細胞において出芽を促進して (Witzenbicher, B., et al., 1998 Journal of Biological Chemistry: 273, 18514-18521)、in vivo では血管新生の間の血管成熟化を促進して、血管透過性と成体の微小血管からの必然的な漏出を抑制する (Thurston, G. et al., 2000 Nature Medicine: 6, 460-463)。このように、活性化された T i e 2 受容体は、新血管の分岐、出芽、及び生長と、血管完全性を維持するのに重要な辺縁内皮支持細胞の動員及び相互作用に関与すると報告されて、全体的には、微小血管安定性を促進することに一致しているようである。T i e 2 活性化の非存在、又は T i e 2 自己リン酸化の阻害は、血管構造及びマトリックス / 細胞接触の損失をもたらす可能性があり (Brindle, N., 印刷中, 2002)、次いで、特に生存又は増殖の刺激の非存在下では、内皮細胞死の引き金になり得る。T i e 2 キナーゼ活性による上記の報告された効果に基づいて、T i e 2 キナーゼを阻害することは、抗血管新生効果を提供するので、病理学的な血管新生と関連した疾患状態の治療に適用を有する可能性がある。T i e 2 発現は、多様な腫瘍の新血管新生においてアップレギュレートされていることが示され (例えば、Peters, K.G. et al, British Journal of Cancer 1998; 77,51-56)、T i e 2 キナーゼ活性を阻害することが抗血管新生活性をもたらすことを示唆する。この仮説を支持した、可溶性 T i e 2 受容体 (細胞外ドメイン) を用いた試験 (Pengnian, L. et al., 1997, Journal of Clinical Investigation 1997: 100, 2072-2078 及び Pengnian, L. et al., 1998, Proceedings of the National Academy of Sciences 1998: 95, 8829-8834) は、in vivo 腫瘍モデルにおいて抗腫瘍活性を示した。さらに、これらの実験はまた、T i e 2 シグナル伝達経路を正常な健常個体において破壊しても、上記の試験では有害な毒性が観察されなかったので、十分忍容できる可能性があることを示している。

【 0 0 0 9 】

ヒト原発性乳癌の試料とヒト及びマウスの乳癌細胞系についての試験 (Stratmann, A., et al., 2001, International Journal of Cancer: 91,273-282) は、腫瘍血管新生の T i e 2 依存性の経路が K D R 依存性の経路とともに存在する可能性があり、事実、独立的にも (Siemeister G., et al., 1999 Cancer Research: 59, 3185-3191)、並びに、互いと協奏的にも (例えば、V E G F A と A n g 1 は、共同して血管新生を誘導して、漏れない成熟した血管を産生すると報告されている ; Thurston, G, et al., 1999 Science: 286, 2511-2514) 機能し得ることを示している。このような混合した血管新生プロセスが単一の腫瘍の内部にも存在することは十分にあり得る。

【 0 0 1 0 】

T i e 2 はまた、静脈奇形 (V M) と呼ばれる血管異常においてある役割を担うことが示されている (Mulliken, J.B. & Young, A.E. 1998, Vascular Birthmarks: W. B. Saunders, Philadelphia)。そのような欠陥は、遺伝性であるか、又は散発的に起こり得る。V M は、通常、皮膚や粘膜に見出されるが、どの臓器にも影響を及ぼす可能性がある。典型的には、病巣は、内皮細胞により裏打ちされた無数の拡張血管チャネルより構成される、海綿状の青～紫の血管塊として現れる。この疾患の遺伝型の中で最も一般的な欠陥は、T i e 2 コード配列における T i e 2 キナーゼ突然変異の C 2 5 4 5 T であるらしく (Calvert, J.T., et al., 1999 Human Molecular genetics: 8, 1279-1289)、これは、キナ

ーゼドメインにおいて R 8 4 9 W アミノ酸置換をもたらす。この T i e 2 突然変異体の解析は、それがリガンドの非存在下でも構成的に活性化されていることを示す (Vikkula, M., et al., 1996 Cell: 87, 1181-1190)。

【 0 0 1 1 】

T i e 2 発現のアップレギュレーションは、ヒト関節炎の関節の血管滑液パンプス内でも見出され、このことは不適切な新血管新生の役割と一致している。

このような例は、T i e 2 リン酸化と後続のシグナル伝達の阻害が、不適切な新血管新生の障害や他の出現を治療するのに有用であるというさらなる示唆を提供する。今日まで、当該技術分野において、T i e 2 の阻害剤はごく少ししか知られていない。従って、T i e 2 シグナル伝達経路を阻害する / 変調させることの十分な治療ポテンシャルを利用し得る追加の T i e 2 阻害剤を同定するニーズがある。

10

【 0 0 1 2 】

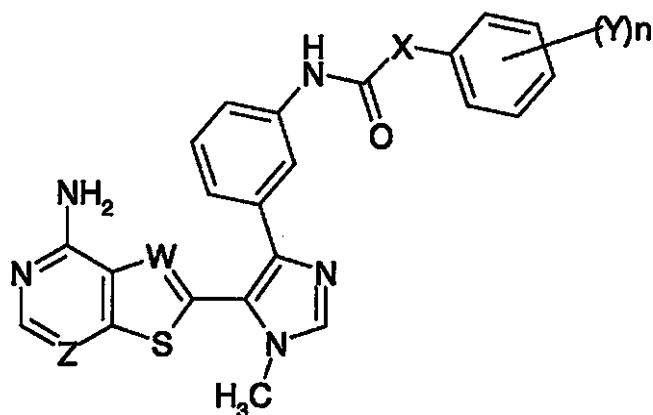
我々は、ある種の化合物が T i e 2 受容体チロシンキナーゼへの阻害活性を保有して、それ故に、病理学的な血管新生に関連した、癌、慢性関節リウマチのような疾患状態と、活発な血管新生が望まれない他の疾患の治療に有用であることを見出した。

【 0 0 1 3 】

本発明の第一の側面によれば、式 I :

【 0 0 1 4 】

【 化 1 】



20

式 I

30

【 0 0 1 5 】

[式中 :

Z は、N 及び C H より選択され ;

W は、N 及び C H より選択され ;

X は、N H 及び C H₂ より選択され ;

Y は、F、C l、B r、及び I より選択され ; そして

n は、1、2 又は 3 である] の化合物とその塩又は溶媒和物 (特に、その医薬的に許容される塩) が提供される。

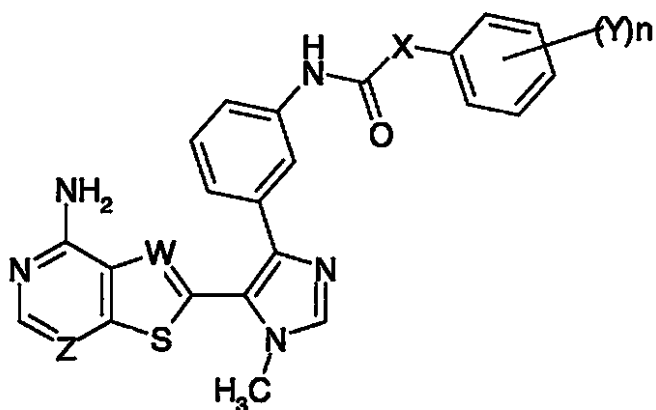
40

【 0 0 1 6 】

本発明の第二の側面によれば、式 I :

【 0 0 1 7 】

【化 2】



式 I

10

【 0 0 1 8 】

[式中：

Z は、N であり；

W は、N 及び C H より選択され；

X は、NH 及び C H₂ より選択され；

Y は、F、Cl、Br、及び I より選択され；そして

n は、1、2 又は 3 である] の化合物とその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が提供される。

20

【 0 0 1 9 】

本発明の特別な化合物には、例えば、Z が N であり、W が N であり、X、Y、及び n が上記に定義される通りである、式 I の化合物又はその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が含まれる。本発明のさらに特別な化合物には、例えば、Z が N であり、W が C H であり、X、Y、及び n が上記に定義される通りである、式 I の化合物又はその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が含まれる。

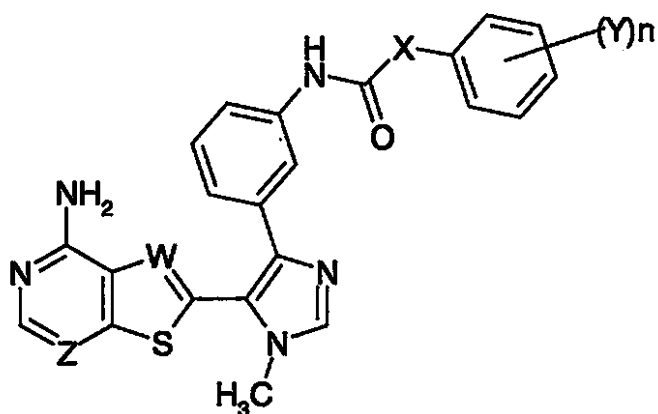
30

【 0 0 2 0 】

本発明の第三の側面によれば、式 I：

【 0 0 2 1 】

【化 3】



式 I

40

【 0 0 2 2 】

[式中：

Z は、N 及び C H より選択され；

50

W は、N であり；

X は、NH 及び CH₂ より選択され；

Y は、F、Cl、Br、及び I より選択され；そして

n は、1、2 又は 3 である] の化合物とその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が提供される。

【0023】

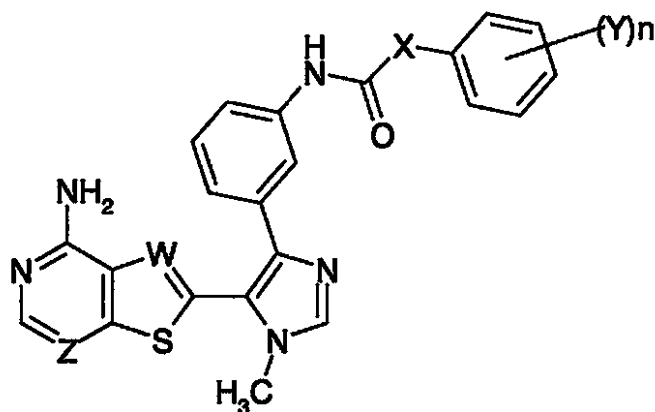
本発明の特別な化合物には、例えば、Z が CH であり、W が N であり、X、Y、及び n が上記に定義される通りである、式 I の化合物又はその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が含まれる。

【0024】

本発明の第四の側面によれば、式 I：

【0025】

【化 4】



式 I

【0026】

[式中：

Z は、N 及び CH より選択され；

W は、CH であり；

X は、NH 及び CH₂ より選択され；

Y は、F、Cl、Br、及び I より選択され；そして

n は、1、2 又は 3 である] の化合物とその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が提供される。

【0027】

本発明の特別な化合物には、例えば、Z が CH であり、W が CH であり、X、Y、及び n が上記に定義される通りである、式 I の化合物又はその塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）が含まれる。

【0028】

上記に述べるように、本発明の化合物において、Y は、フルオロ、クロロ、ブromo、及びヨードより選択され、特に、フルオロ及びクロロより選択される。

n が 2 又は 3 である場合、Y は、同じでも異なってもよいと理解されるべきである。

【0029】

本発明の具体的な化合物は、以下：

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N' - (3 - フルオロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N' - (2 - フルオロフェニル) 尿

10

20

30

40

50

素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - クロロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - クロロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - フルオロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (2 - フルオロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - クロロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 ' - (2 - クロロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - フルオロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - フルオロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - クロロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - クロロフェニル) 尿素；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - フルオロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (2 - フルオロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (3 - クロロフェニル) アセトアミド；

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチアゾロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - 2 - (2 - クロロフェニル) アセトアミドの 1 以上と、その塩又は溶媒和物（特に、その医薬的に許容される塩）である。

【 0 0 3 0 】

式 I の化合物の好適な医薬的に許容される塩は、例えば、式 I の化合物の酸付加塩、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸、又はマレイン酸のような無機酸又は有機酸との酸付加塩；又は、例えば、十分に酸性である式 I の化合物の塩、例えば、カルシウム又はマグネシウム塩のようなアルカリ又はアルカリ土類金属塩、又はアンモニウム塩、又はメチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ピペリジン、モルホリン、又は *tris* - (2 - ヒドロキシエチル) アミンのような有機塩基との塩であ

10

20

30

40

50

る。

【0031】

上記に定義される式Ⅰの化合物のあるものは、1以上の不斉炭素原子により光学活性型又はラセミ型で存在する場合がある限りにおいて、本発明には、その定義において、上記の活性を保有するあらゆるそのような光学活性型又はラセミ型が含まれると理解されたい。光学活性型の合成は、当該技術分野でよく知られた有機化学の標準技術により、例えば、光学的に活性な出発材料からの合成によるか又はラセミ型の分割により行うことができる。同様に、上記の活性は、以下に言及する標準実験技術を使用して、評価することができる。

【0032】

式Ⅰのある化合物は、非溶媒和型だけでなく、例えば、水和型のような溶媒和型で存在する場合があると理解されたい。本発明には、T i e 2 受容体チロシンキナーゼに対する阻害効果を明示するすべてのそのような溶媒和型が含まれると理解されたい。

【0033】

式Ⅰのある化合物が多形を明示する場合があること、そして本発明には、T i e 2 受容体チロシンキナーゼに対する阻害効果を明示するすべてのそのような型が含まれることも理解されたい。

【0034】

本発明がT i e 2 受容体チロシンキナーゼに対する阻害効果を明示する式Ⅰの化合物のすべての互変異性型に関することも理解されたい。

本発明の化合物の医薬的に許容される塩が好ましいが、本発明の化合物の他の医薬的に許容されない塩も、例えば、本発明の化合物の医薬的に許容される塩の製造に有用であり得る。

【0035】

本発明のさらなる側面としてまた提供されるのは、本明細書の上記又は下記に定義されるような本発明の化合物のプロドラッグである。本発明の化合物は、ヒト又は動物の体内で分解されて式(Ⅰ)の化合物をもたらしプロドラッグの形態で投与してよい。プロドラッグの例には、式(Ⅰ)の化合物の *in vivo* 加水分解可能アミドが含まれる。

【0036】

様々な形態のプロドラッグが当該技術分野で知られている。そのようなプロドラッグ誘導体の例については：

a) 「プロドラッグの設計 (Design of Prodrugs)」H. Bundgaard 監修 (エルセヴィエ、1985)、及び「酵素学の方法 (Methods in Enzymology)」42巻、309-396頁、K. Widder, et al. 監修 (アカデミック・プレス、1985)；

b) 「医薬品設計及び開発教程 (A Textbook of Drug Design and Development)」Krosgaard-Larsen and H. Bundgaard 監修、第5章「プロドラッグの設計及び応用 (Design and Application of Prodrugs)」H. Bundgaard 著、113-191頁 (1991)；

c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992)；

d) H. Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988)；及び

e) N. Kakeya, et al., Chem Pharm Bull, 32, 692 (1984) を参照のこと。

【0037】

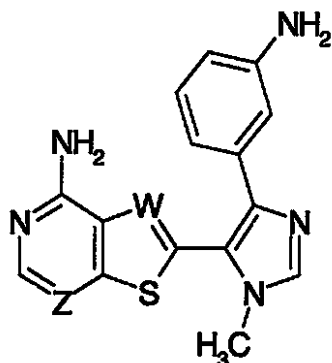
式Ⅰの化合物、又はその医薬的に許容される塩は、化学的に関連した化合物の製法へ適用可能であることが知られているどの方法によって製造してもよい。そのような方法は、式Ⅰの化合物を製造するために使用されるとき、本発明のさらなる特徴として提供されて、以下の代表的な方法の変形 (variants) により例示される。必要な出発材料は、有機化学の標準手順により入手することができる。そのような出発材料の製法は、以下の代表的な方法の変形とともに、そして付帯の実施例内で記載する。あるいは、必要な出発材料は、有機化学者の通常の技量内にある、例示するものに類似した手順により入手可能である。

【 0 0 3 8 】

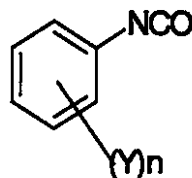
さらなる側面により、本発明は、式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩（ここで、X は NH であり、Z、W、Y、及び n は、式 I に定義される通りである）を製造するための方法を提供し、該方法は、式 I I のアミンを式 I I I のイソシアネートと反応させること：

【 0 0 3 9 】

【 化 5 】



式 I I



式 I I I

10

【 0 0 4 0 】

そしてその後必要ならば：

- i) 式 (I) の化合物を式 (I) の別の化合物へ変換すること；
- ii) 塩又は溶媒和物を生成することを含む。

20

【 0 0 4 1 】

上記の方法は、簡便には、エーテル、例えばテトラヒドロフラン、DMF、DCM、DMA、又はピリジンのような好適な不活性の溶媒又は希釈剤中で行う。この方法は、好ましくは、50 未満、例えば 0 ~ 30 の温度で、好ましくは周囲温度で行う。

【 0 0 4 2 】

式 I I のアミンは、以下の反応スキーム (i) によって製造することができる：

スキーム (i)

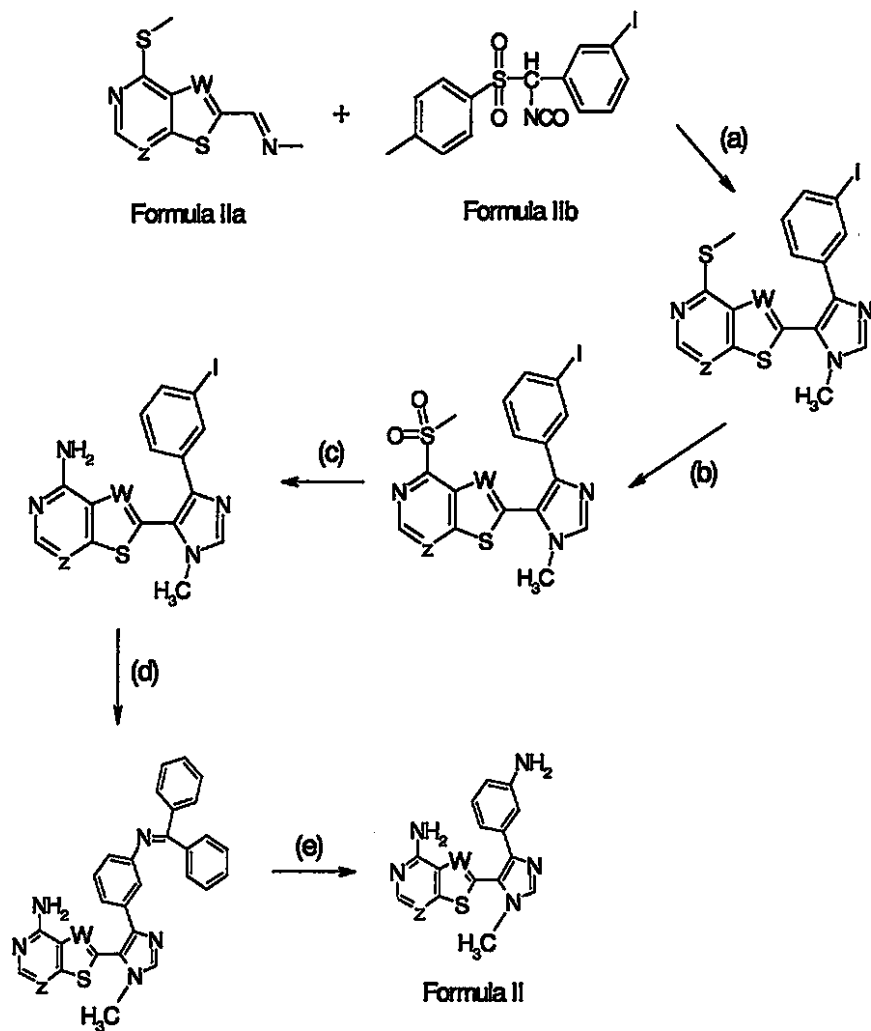
30

ここで：

- (a) THF 中のピペラジン
- (b) DCM 中の m - CPBA
- (c) 1 , 4 - ジオキサン中の濃アンモニア水
- (d) ジオキサン中のベンゾフェノンイミン、1 , 1 ' - ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン、ビス (ベンジリデンアセトン) パラジウム、及びナトリウム t e r t - ブトキシド
- (e) THF 中の HCl

【 0 0 4 3 】

【化6】



10

20

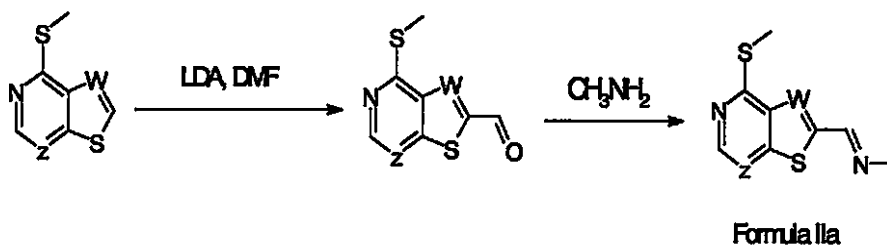
【0044】

式IIaの化合物は、以下の反応スキーム(i i)によって製造することができる：
スキーム(i i)

30

【0045】

【化7】



40

【0046】

式IIbのスルホンは、トリメチルシリルクロリド、3-ヨードベンズアルデヒド、ホルムアミド、及びトルエンスルホン酸の、{(3-ヨードフェニル)[(4-メチルフェニル)スルホニル]メチル}ホルムアミドを生成する反応と、次いで、{(3-ヨードフェニル)[(4-メチルフェニル)スルホニル]メチル}のオキシ塩化リンとの、式IIbのスルホン生成する反応によって製造することができる。

【0047】

別の側面によれば、本発明は、式Iの化合物又はその医薬的に許容される塩(ここで、

50

Xは CH_2 であり、Z、W、Y、及びnは、式Iに定義される通りである)を製造するための方法を提供し、該方法は、当業者に理解されるように、式IIのアミンを好適な塩化アシル又はアシルエステルと反応させることを含む。

【0048】

式Iの化合物の医薬的に許容される塩、例えば酸付加塩が求められる場合、それは、例えば、慣用の手順を使用する、塩酸のような好適な酸と式Iの化合物の反応によって入手することができる。式Iの化合物の遊離塩基型が求められる場合、式Iの化合物の酸付加塩を、好適な塩基、例えば、例えば、ピリジン、2,6-ルチジン、コリジン、4-ジメチルアミノピリジン、トリエチルアミン、モルホリン、N-メチルモルホリン、又はジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エンのような有機アミン塩基、又は、例えば、アルカリ又はアルカリ土類金属の炭酸塩又は水酸化物、例えば、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、水酸化ナトリウム、又は水酸化カリウムで処理してよい。

10

【0049】

式Iのある化合物は、立体異性型で存在することが可能である。本発明には、式Iの化合物のすべての幾何及び光学異性体とラセミ体が含まれるそれらの混合物が含まれると理解されよう。互変異性体とその混合物も本発明の側面を形成する。

【0050】

異性体は、慣用技術、例えば、クロマトグラフィー又は分画結晶化により分割又は分離することができる。エナンチオマーは、慣用技術(例、キラル高速液体クロマトグラフィー(HPLC))を使用して、本化合物のラセミ体や他の混合物の分離により単離することができる。あるいは、所望される光学異性体は、ラセミ化を引き起こさない条件下での、適切な光学活性の出発材料の反応によるか、又は、例えばホモキラル酸での誘導化により、それに続くジアステレオマー誘導体の慣用手手段(例、HPLC、シリカでのクロマトグラフィー)による分離によって作製しても、非キラル出発材料とキラル試薬で作製してもよい。すべての立体異性体が発明の範囲内に含まれる。

20

【0051】

本発明の化合物は、慣用技術を使用して、その反応混合物より単離することができる。

本明細書に言及される反応のいくつかでは、化合物中の鋭敏な基を保護することが必要である/望ましい場合があると理解されよう。保護化が必要であるか又は望ましい例と保護化に適した方法は、当業者に知られている。標準的な実践に従って、慣用の保護基を使用してよい(例示として、T. W. Green, 「有機合成の保護基(Protective groups in Organic Synthesis)」ジョン・ウィリー・アンド・サンズ(1991)を参照のこと)。このように、アミノ、カルボキシ又はヒドロキシのような基が反応体に含まれるならば、本明細書に言及される反応には該基を保護することが望ましい場合がある。保護基は、文献に記載されているか、又は問題の保護基の除去に適していると熟練化学者に知られたどの簡便な方法により除去してもよく、そのような方法は、分子中の他所の基をほとんど妨害せずに該保護基の除去をもたらすように選択される。

30

【0052】

保護基の具体例を以下に便宜上示すが、ここで、例えば、低級アルキルにあるような「低級」は、それが適用される基が、好ましくは1~4の炭素原子を有することを意味する。これらの例は、網羅的ではないと理解されよう。保護基の除去についての方法の具体例を以下に示す場合、これらも同様に網羅的でない。具体的には言及しない保護基の使用と脱保護の方法も、当然ながら、本発明の範囲内にある。

40

【0053】

カルボキシ保護基は、エステル形成脂肪族又はアリアル脂肪族アルコール又はエステル形成シアノールの残基であり得る(前記アルコール又はシアノールは、好ましくは、1~20の炭素原子を含有する)。カルボキシ保護基の例には、直鎖又は分岐鎖(1-12C)アルキル基(例えば、イソプロピル、及びtert-ブチル);低級アルコキシ-低級アルキル基(例えば、メトキシメチル、エトキシメチル、及びイソブトキシメチル);低級アシルオキシ-低級アルキル基(例えば、アセトキシメチル、プロピオニルオキシメチ

50

ル、ブチリルオキシメチル、及びピバロイルオキシメチル)；低級アルコキシカルボニルオキシ-低級アルキル基(例えば、メトキシカルボニルオキシエチル、及び1-エトキシカルボニルオキシエチル)；アリール-低級アルキル基(例えば、ベンジル、4-メトキシベンジル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、ベンズヒドリル、及びフタリジル)；トリ(低級アルキル)シリル基(例えば、トリメチルシリル及びtert-ブチルジメチルシリル)；トリ(低級アルキル)シリル-低級アルキル基(例えば、トリメチルシリルエチル)；及び(2-6C)アルケニル基(例えば、アリル)が含まれる。カルボキシル保護基の除去に特に適した方法には、例えば、酸、塩基、金属、又は酵素的に触媒される切断が含まれる。

【0054】

10

ヒドロキシ保護基の例には、低級アルキル基(例えば、tert-ブチル)、低級アルケニル基(例えば、アリル)；低級アルカノイル基(例えば、アセチル)；低級アルコキシカルボニル基(例えば、tert-ブトキシカルボニル)；低級アルケニルオキシカルボニル基(例えば、アリルオキシカルボニル)；アリール-低級アルコキシカルボニル基(例えば、ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、及び4-ニトロベンジルオキシカルボニル)；トリ(低級アルキル)シリル(例えば、トリメチルシリル及びtert-ブチルジメチルシリル)、及びアリール-低級アルキル(例えば、ベンジル)基が含まれる。

【0055】

アミノ保護基の例には、ホルミル、アリール-低級アルキル基(例えば、ベンジル及び置換ベンジル、4-メトキシベンジル、2-ニトロベンジル、及び2,4-ジメトキシベンジル、及びトリフェニルメチル)；ジ-4-アニシルメチル、及びフリルメチル基；低級アルコキシカルボニル(例えば、tert-ブトキシカルボニル)；低級アルケニルオキシカルボニル(例えば、アリルオキシカルボニル)；アリール-低級アルコキシカルボニル基(例えば、ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、及び4-ニトロベンジルオキシカルボニル)；トリアルキルシリル(例えば、トリメチルシリル及びtert-ブチルジメチルシリル)；アルキリデン(例えば、メチリデン)、及びベンジリデン及び置換ベンジリデン基が含まれる。

20

【0056】

30

ヒドロキシ及びアミノ保護基の除去に適した方法には、例えば、2-ニトロベンジルオキシカルボニルのような基についての酸、塩基、金属、又は酵素的に触媒される加水分解、ベンジルのような基についての水素化、そして2-ニトロベンジルオキシカルボニルのような基についての光分解が含まれる。

【0057】

本発明の化合物中の様々な環置換基のあるものは、上記の方法に先立つか、又はその直後に標準的な芳香族置換反応によって導入しても、慣用の官能基修飾によって生成してもよく、それ自体も本発明の方法の側面に含まれると理解されよう。こうした反応及び修飾には、例えば、芳香族置換反応の手段による置換基の導入、置換基の還元、置換基のアルキル化、及び置換基の酸化が含まれる。こうした手順の試薬及び反応条件は、化学の技術分野においてよく知られている。芳香族置換反応の特別な例には、ハロゲノ基の導入が含まれる。

40

【0058】

生物学的アッセイ

以下のアッセイを使用して、本発明の化合物のTie2阻害剤としてのin vitro 効果と、Tie2自己リン酸化の阻害剤としての細胞全体における効果を測定することができる。

【0059】

a. in vitro 受容体チロシンキナーゼ阻害アッセイ

Tie2受容体チロシンキナーゼの阻害について試験するために、非細胞ベースのプロ

50

テインキナーゼアッセイにおいて、チロシン含有ポリペプチド基質の E L I S A ベースのマイクロタイタープレートアッセイにおけるプロテインキナーゼ酵素リン酸化を阻害するその能力により化合物を評価する。この特別な事例において、アッセイは、3つの異なる組換えヒトチロシンキナーゼ、T i e 2、K D R、及び F l t について I C₅₀ を決定することであった。

【0060】

チロシンキナーゼの産生を促進するために、標準の分子生物学クローニング及び突然変異誘発技術を使用して、組換え受容体遺伝子を産生した。これらの遺伝子内にコードされたこれらの組換えタンパク断片は、それぞれの受容体の細胞内部分の C 末端部分だけからなり、その内部にキナーゼドメインが見出される。このキナーゼドメイン含有断片をコードする組換え遺伝子をクローニングして、標準のパキユロウイルス / S f 2 1 系（又は代わりの同等物）において発現させた。

10

【0061】

宿主昆虫細胞より、タンパク質の発現に続いて、氷冷溶解緩衝液（20 mM N - 2 - ヒドロキシエチルピペリジン - N' - 2 - エタンスルホン酸（H E P E S）pH 7.5, 150 mM NaCl, 10% グリセロール, 1% T r i t o n X - 100, 1.5 mM MgCl₂, 1 mM エチレングリコール - ビス（ - アミノエチルエーテル）N', N', N', N' - 四酢酸（E G T A））+ プロテアーゼ阻害剤での処理により溶解液を調製してから、遠心分離により澄清にした。T i e 2、K D R、及び F l t 1 の溶解液をアリコートにおいて - 80 で保存した。

20

【0062】

これらの組換えタンパク質の構成的なキナーゼ活性を、合成ペプチド（グルタミン酸、アラニン、及びチロシンの 6 : 3 : 1 の比率でのランダム共重合体から作製される）をリン酸化するその能力により定量した。具体的には、N u n c M a x i s o r b^{T M} 96 ウェル免疫プレートを 100 マイクロリットルの合成ペプチド、S i g m a P 3899 でコートして（P B S 中 1 mg / ml のストック溶液を P B S で 1 : 500 に希釈した後で、プレートコーティングする）、4 で一晩インキュベートした。プレートを 50 mM H E P E S（pH 7.4）において室温で洗浄して、過剰の未結合の合成ペプチドを除去した。

【0063】

T i e 2、K D R、又は F l t 1 の活性について、100 mM H E P E S（pH 7.4）、5 マイクロモル濃度（又は、各酵素の K_m 濃度）のアデノシン三リン酸（A T P）、10 mM M n C l₂、0.1 mM Na₃ V O₄、0.2 mM D L - ジチオスレイトール（D T T）、0.1% T r i t o n X - 100 において、D M S O（2.5% の最終濃度）に溶かした試験化合物と一緒に（最終化合物濃度は、0.05 マイクロモル濃度 ~ 100 マイクロモル濃度に及ぶ）、ペプチドでコートしたプレート中の適切な用時希釈溶解液（それぞれ、1 : 200、1 : 400、及び 1 : 1000）の室温で 60 分（T i e 2）又は 20 分（K D R, F l t）間のインキュベーションによって評価した。アッセイの液体成分の除去により反応を止めて、続いて、P B S - T（0.5% T w e e n 20 入りのリン酸緩衝化生理食塩水）又は代わりの同等の洗浄緩衝液でプレートを洗浄した。

30

40

【0064】

この反応の固定化ホスホ - ペプチド産物を免疫学的方法によって検出した。はじめに、プレートを、マウスモノクローナル抗ホスホチロシン - H R P（西洋ワサビペルオキシダーゼ）共役抗体（アップステート・バイオテクノロジー U B I 製の 4 G 10 16 - 105）とともに室温で 4 時間インキュベートした。P B S - T での徹底した洗浄に続き、プレートの各ウェル中の H R P 活性について、2,2' - アジノ - ジ [3 - エチルベンズチアゾリンスルホン酸（6）] ジアンモニウム塩結晶、A B T S（S i g m a P 4922 - 製造業者の使用説明書により調製した）を基質として使用して 30 ~ 45 分間インキュベートして発色を可能にした後で、100 μl の 1 M H₂ S O₄ を加えて反応を止め

50

て、比色法により測定した。

【0065】

発色、即ち酵素活性の定量は、M o l e c u l a r D e v i c e s T h e r m o M a x マイクロプレートリーダーで、405nmでの吸光度の測定により達成した。所与の化合物のキナーゼ阻害を IC_{50} 値として表した。これは、このアッセイにおいてリン酸化の50%阻害をもたらすのに必要とされる化合物の濃度の計算により決定した。リン酸化の範囲は、陽性（担体 + A T P）及び陰性（担体 - A T P）対照の数値より計算した。

【0066】

b. 細胞 T i e 2 自己リン酸化アッセイ

本アッセイは、通常、「活性化」受容体の産生をもたらす（次いで、これがその受容体機能に関連した特別なシグナル伝達経路を始動させる）、T i e 2 受容体の自己リン酸化を阻害する化合物の能力を測定することに基づく。

【0067】

自己リン酸化は、いくつかの手段によって達成することができる。組換えキナーゼドメインのバキュロウイルス系における発現がリン酸化及び活性化された受容体の産生をもたらし得ることが知られている。また、組換え細胞系における受容体の過剰発現がリガンドの非存在下にそれ自身で受容体の自己リン酸化をもたらし得ることが報告されている（H e l d i n C-H. 1995 Cell: 80, 213-223; Blume-J. P, Hunter T. 2001 Nature: 411, 355-65）。さらに、キメラ受容体が構築された、数多くの文献例がある。これらの事例では、受容体の天然の外部細胞表面ドメインが、適切なリガンド（例えば、T r k A - T i e 2 / N G F リガンド（Marron, M. B., et al., 2000 Journal of Biological Chemistry: 275 : 39741-39746）又は C - f m s - T i e - 1 / C S F - 1 リガンド（Kontos, C. D., et al., 2002 Molecular and Cellular Biology: 22, 1704-1713）の添加により容易に二量体化することが知られているドメインのそれで置き換えられた。このように、宿主細胞系において発現されるキメラ受容体とそれぞれのリガンドを加えるとき、これがキメラ受容体のキナーゼドメインの自己リン酸化を誘導する。このアプローチには、目的の各受容体の天然リガンドを同定して単離しなければならないことに代わって、既知の（そしてしばしば容易に得られる）リガンドを使用することをしばしば可能にする利点がある。

【0068】

当然ながら、リガンドが利用可能であれば、選択される受容体を発現することか知られている天然の細胞系又は一次細胞を使用して、リガンドで単に刺激して、リガンド誘導性のリン酸化を達成することができる。例えば、E A . h y 9 2 6 / B 3 細胞（J. McLean / B. Tuchi, ノースカロライナ大学、チャペル・ヒル、CB-4100, 300 Bynum Hall, Chapel Hill, N. C. 27599-41000, アメリカにより供給される）又は一次 H U V E C（ヒト臍静脈内皮細胞 - 様々な市販源より入手可能）において発現される T i e 2 受容体の自己リン酸化を阻害する化合物の能力を本アッセイによって測定することができる。

【0069】

標準精製技術を使用して、いずれかの腫瘍細胞上清より天然の A n g 1 リガンドを単離しても、あるいは、標準の分子生物学技術と発現系を使用して、A n g 1 遺伝子を組換え的にクローニングして、発現させてもよい。この場合、リガンドは、そのネイティブ状態でも、又は、例えば、この方法を容易にするための精製タグ（例、ポリヒスチジンペプチド、抗体 F c ドメイン）の追加を含有するように遺伝子工学的に処理された組換えタンパク質としても産生するように試みてよい。

【0070】

E A . h y 9 2 6 / B 3 又は H U V E C 細胞のいずれかの T i e 2 受容体のリガンド刺激を例として使用して、A n g 1 リガンド刺激細胞受容体リン酸化アッセイを構築することができて、これを使用して、このプロセスを阻害する化合物のポテンシャルを決定するために分析することができる。例えば、E A . h y 9 2 6 / B 3 細胞を、 5×10^5 細胞 / ウェルの初期播種密度より始めて、適切な組織培養基 + 10% 胎仔ウシ血清（F C S）

10

20

30

40

50

において6ウェルプレートで2日間増殖させた。3日目に、1% FCSだけを含有する培地で先の培地を置き換えることによって、この細胞を全部で2時間の間血清飢餓状態にした。1時間40分の血清飢餓の後で、この培地を除去し、1mlの試験化合物希釈液で置き換えた(化合物の希釈は血清飢餓培地で行ったが、DMSO濃度は0.8%未満に保った)。1.5時間の血清飢餓の後で、オルトバナジン酸塩を加えて、0.1mMの最終濃度として、最終10分間の血清飢餓を行った。

【0071】

全部で2時間の血清飢餓に続いて、リガンド+オルトバナジン酸塩を加えて、細胞Tie2受容体の自己リン酸化を刺激した(リガンドは、血清飢餓培地で希釈した精製材料として加えても、例えば、哺乳動物細胞において組換え的に発現される場合は、リガンドを含有する非精製細胞上清として加えてもよい)。

10

【0072】

リガンドとともに37℃で10分のインキュベーション後、細胞を氷上で冷やして、1mMオルトバナジン酸塩を含有するほぼ5mlの冷PBSで洗浄し、その後で1mlの冰冷溶解緩衝液((20mM Tris pH7.6, 150mM NaCl, 50mM NaF, 0.1% SDS, 1% NP40, 0.5% DOC, 1mM オルトバナジン酸塩, 1mM EDTA, 1mM PMSF, 30μl/ml アプロチニン, 10μg/ml ペプスタチン, 10μg/ml ロイペプチン)をこの細胞へ加えて、10~20分間氷上に放置した。溶解液を取り出して、1.5mlエッペンドルフ管へ移して、13000rpm、4℃で3分間遠心分離した。800μlの各溶解液を免疫沈降のために新鮮な2mlエッペンドルフ管へ移した。3mg=15μlの抗ホスホチロシン抗体(Santa Cruz PY99-sc-7020)を溶解液へ加えて、4℃で2時間インキュベートした。600μlの洗浄済みMagnaBindビーズ(ヤギ抗マウスIgG, Pierce 21354)を溶解液へ加えて、この管を4℃で一晩回転させた。

20

【0073】

試料を磁石中に1分間処理した後で、溶解上清を慎重に除去した。次いで、1mlの溶解緩衝液を先のビーズへ加えて、この工程を2回以上繰り返した。ビーズを25μlの94℃ホット(hot)2xLaemmliローディング緩衝液+β-メルカプトエタノールに懸濁させて、室温に15分間放置した。

【0074】

先の管を磁石中に1分間曝露することによってビーズを取り出し、ビーズよりそれぞれの免疫沈降物より分離した液体全体をポリアクリルアミド/SDSタンパク質ゲル(成形済み4~12% BisTris NuPAGE/MOPS 12ウェルゲル、Novex製)上へロードした。タンパクゲルを200Vで操作してから、50V/250mAで1時間30分の間、NC膜上へブロットした。すべてのブロットをPBS-Tween中5% Marvelで室温に1時間処理して、検出抗体の非特異結合を抑えた。ウサギ抗Tie2(Santa Cruz sc-324)を0.5% Marvel/PBS-Tween中1:500希釈で加えて、4℃で一晩インキュベートした。このブロットをPBS-Tweenでしっかり洗浄した後で、0.5% Marvel/PBS-Tween中1:5000希釈でヤギ抗ウサギ-PODコンジュゲート(Dako P0448)を加えた。この抗体を室温で1時間放置した後で、引き続き、ブロットをPBS-Tweenで洗浄した。様々な免疫沈降試料のウェスタンブロットについて、ブロットをLumiGLO(NEB 7003)で発色させて、X線カセットへ移し、フィルムを15秒/30秒及び60秒露出した。FluorS BioRadイメージ解析システムを使用して、リン酸化Tie2受容体に関連するタンパク質バンドの相対強度を評価した。各試験化合物の希釈系列のリン酸化百分率を決定して、それにより、適切な対照試料を参照として使用する標準法によって、IC₅₀値を計算した。

40

【0075】

式Iの化合物の薬理学的性質は、予測されるように、構造変化に伴って変動するが、一般に、式Iの化合物により保有される活性は、上記の試験(a)及び(b)の1以上にお

50

いて、以下の濃度又は用量で明示される場合がある：

試験 (a) ： - 例えば、 $< 100 \mu\text{M}$ の範囲の IC_{50} ；

試験 (b) ： - 例えば、 $< 50 \mu\text{M}$ の範囲の IC_{50} ；

例えば、実施例 1 は、試験 (a) において $16 \mu\text{M}$ の IC_{50} を有し、試験 (b) において $0.4 \mu\text{M}$ の IC_{50} データを有した。

【 0 0 7 6 】

本発明のさらなる側面によれば、上記に定義される、式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩を医薬的に許容される希釈剤又は担体と一緒に含む医薬組成物が提供される。

本発明の組成物は、経口使用に（例えば、錠剤、トローチ剤、硬又は軟カプセル剤、水性又は油性の懸濁液剤、乳剤、分散性の散剤又は顆粒剤、シロップ剤又はエリキシル剤として）、局所使用に（例えば、クリーム剤、軟膏剤、ゲル剤、又は水性又は油性の溶液剤又は懸濁液剤として）、吸入による投与に（例えば、微細化散剤又は液体エアゾール剤として）、通気による投与に（例えば、微細化散剤として）、又は非経口投与に（例えば、静脈内、皮下、筋肉内へ投薬する無菌の水性又は油性の溶液剤として、又は直腸投薬用の坐剤として）適した形態であってよい。

10

【 0 0 7 7 】

本発明の組成物は、当該技術分野でよく知られている慣用の医薬賦形剤を使用する慣用の手順により入手することができる。従って、経口使用に企図される組成物は、例えば、1 以上の着色剤、甘味剤、芳香剤及び / 又は保存剤を含有してよい。

【 0 0 7 8 】

1 以上の賦形剤と組み合わせて、単一の剤形を産生する有効成分の量は、必然的に、治療する宿主と特別な投与経路に依存して変動するものである。例えば、ヒトへの経口投与に企図される製剤は、例えば、 $0.5 \text{ mg} \sim 0.5 \text{ g}$ （より好適には、 $0.5 \sim 100 \text{ mg}$ 、例えば、 $1 \sim 30 \text{ mg}$ ）の有効成分を概して含有して、全組成物の約 5 ～ 約 98 重量パーセントまで変動し得る、適正で簡便な量の賦形剤と複合される。

20

【 0 0 7 9 】

式 I の化合物の治療又は予防の目的のための用量のサイズは、当然ながら、よく知られた医学の諸原理により、状態の本質及び重篤性、動物又は患者の年齢及び性別、及び投与経路に従って変動するものである。

【 0 0 8 0 】

式 I の化合物を治療又は予防の目的に使用する場合、一般に、分割用量で求められるならば、例えば、 $0.1 \text{ mg} / \text{kg} \sim 75 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重の範囲で 1 日用量が服用されるようにそれを投与する。一般に、非経口投与を利用するときは、より低い用量を投与する。従って、例えば、静脈内投与では、例えば $0.1 \text{ mg} / \text{kg} \sim 30 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重の範囲の用量を概して使用する。同様に、吸入による投与では、例えば、 $0.05 \text{ mg} / \text{kg} \sim 25 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重の範囲の用量を使用する。しかしながら、経口投与が、特に錠剤の形態で好ましい。典型的には、単位剤形は、約 $0.5 \text{ mg} \sim 0.5 \text{ g}$ の本発明の化合物を含有するものである。

30

【 0 0 8 1 】

本明細書において定義される、本発明による化合物は、とりわけ、その抗血管新生効果の故に興味深い。本発明の化合物は、望まれないか又は病理学的な血管新生に関連した、癌、糖尿病、乾癬、慢性関節リウマチ、カポシ肉腫、血管腫、リンパ浮腫、急性及び慢性の腎症、アテローム、動脈再狭窄、自己免疫疾患、急性炎症、過剰瘢痕形成及び癒着、子宮内膜炎、機能不全性子宮出血、及び網膜血管増殖を伴う眼疾患が含まれる、広範囲の疾患状態の治療又は予防に有用であると期待される。癌はどの組織にも影響を及ぼす可能性があり、白血病、多発性骨髄腫、及びリンパ腫が含まれる。特に、本発明のそのような化合物は、有利には、例えば、結腸、乳房、前立腺、肺、及び皮膚の原発性及び再発性の固形腫瘍の増殖を遅らせることが期待される。

40

【 0 0 8 2 】

我々は、本発明による化合物の抗血管新生特性がその $\text{Tie}2$ 受容体チロシンキナーゼ

50

阻害特性より生じると考えている。故に、本発明の化合物は、T i e 2 阻害効果をそのような治療に必要な温血動物において産生するのに有用であると期待される。従って、本発明の化合物は、T i e 2 受容体チロシンキナーゼの阻害により単独で、又は一部それにより仲介される抗血管新生効果を産生するために使用することができる。

【 0 0 8 3 】

より特別には、本発明の化合物は、T i e 2 に関連したあらゆる形態の癌を阻害すると期待される。例えば、T i e 2 に関連した原発性及び再発性の固形腫瘍、具体的には、その増殖及び拡散をT i e 2 受容体チロシンキナーゼに有意に依存している腫瘍の増殖である。

【 0 0 8 4 】

本発明のさらなる側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩が、医薬品としての使用に提供される。

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の、ヒトのような温血動物におけるT i e 2 受容体チロシンキナーゼ阻害剤としての使用の医薬品の製造における使用が提供される。

【 0 0 8 5 】

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の、ヒトのような温血動物における抗血管新生効果の産生に使用の医薬品の製造における使用が提供される。

【 0 0 8 6 】

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の、ヒトのような温血動物における癌の治療に使用の医薬品の製造における使用が提供される。

【 0 0 8 7 】

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の、白血病、乳癌、肺癌、結腸癌、直腸癌、胃癌、前立腺癌、膀胱癌、膵臓癌、卵巣癌、リンパ腫、精巣癌、神経芽細胞腫、肝臓癌、胆管癌、腎細胞癌、子宮癌、甲状腺癌、及び皮膚癌より選択される癌のヒトのような温血動物における治療に使用の医薬品の製造における使用が提供される。

【 0 0 8 8 】

本発明の別の側面によれば、そのような治療に必要なヒトのような温血動物においてT i e 2 受容体チロシンキナーゼを阻害する方法が提供され、該方法は、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の有効量を前記動物へ投与することを含む。

【 0 0 8 9 】

本発明の別の側面によれば、そのような治療に必要なヒトのような温血動物において抗血管新生効果を産生する方法が提供され、該方法は、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の有効量を前記動物へ投与することを含む。

【 0 0 9 0 】

本発明の別の側面によれば、そのような治療に必要なヒトのような温血動物において癌を治療する方法が提供され、該方法は、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の有効量を前記動物へ投与することを含む。

【 0 0 9 1 】

本発明の別の側面によれば、そのような治療に必要なヒトのような温血動物において白血病、乳癌、肺癌、結腸癌、直腸癌、胃癌、前立腺癌、膀胱癌、膵臓癌、卵巣癌、リンパ腫、精巣癌、神経芽細胞腫、肝臓癌、胆管癌、腎細胞癌、子宮癌、甲状腺癌、又は皮膚癌より選択される癌を治療する方法が提供され、該方法は、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩の有効量を前記動物へ投与することを含む。

【 0 0 9 2 】

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩が、ヒトのような温血動物においてT i e 2 受容体チロシンキナーゼを阻害すること

10

20

30

40

50

の使用に提供される。

【0093】

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩が、ヒトのような温血動物において抗血管新生効果を産生することの使用に提供される。

【0094】

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩が、癌の治療における使用に提供される。

本発明の別の側面によれば、上記に定義される式 I の化合物又はその医薬的に許容される塩が、白血病、乳癌、肺癌、結腸癌、直腸癌、胃癌、前立腺癌、膀胱癌、膵臓癌、卵巣癌、リンパ腫、精巣癌、神経芽細胞腫、肝臓癌、胆管癌、腎細胞癌、子宮癌、甲状腺癌、及び皮膚癌より選択される癌の治療における使用に提供される。

10

【0095】

上記に述べたように、本発明の化合物は、乾癬、慢性関節リウマチ、カボシ肉腫、血管腫、リンパ浮腫、急性及び慢性の腎症、アテローム、動脈再狭窄、自己免疫疾患、急性炎症、過剰瘢痕形成及び癒着、子宮内膜炎、機能不全性子宮出血、及び網膜血管増殖を伴う眼疾患が含まれる、望まれないか又は病理学的な血管新生により仲介される他の疾患に抗する活性を保有するものである。

【0096】

本明細書に定義される抗血管新生活性は、単独療法として適用しても、又は、本発明の化合物に加えて、1以上の他の物質、及び/又は治療法を伴ってもよい。そのような併用治療は、治療薬の個別成分の同時、連続又は分離投与により達成することができる。医科腫瘍学の分野では、それぞれの担癌患者を治療するのに、異なる形態の治療法の組合せを使用することが通常の実践である。医科腫瘍学において、そのような併用治療の他の成分は、上記に定義される細胞周期阻害治療薬に加えて、外科手術、放射線療法、又は化学療法であり得る。そのような化学療法には、以下の抗腫瘍剤カテゴリーの1以上を含めてよい：

20

(i) 抗浸潤剤 (例えば、マリマスタットのようなメタロプロテイナーゼ阻害剤とウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター受容体機能の阻害剤)；

(ii) アルキル化剤 (例えば、シスプラチン、カルボプラチン、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン及びニトロソ尿素)；代謝拮抗剤 (例えば、5-フルオロウラシル及びテガフルといったフルオロピリミジン類、ラルチトレキセド、メトトレキサート、シトシンアラビノシド、及びヒドロキシ尿素のような抗葉酸剤、又は、例えば、ヨーロッパ特許出願番号 5 6 2 7 3 4 に開示される、(2S)-2-{o-フルオロ-p-[N-{2,7-ジメチル-4-オキソ-3,4-ジヒドロキナゾリン-6-イルメチル}-N-(プロパ-2-イニル)アミノ]ベンズアミド}-4-(テトラゾール-5-イル)酪酸のような好ましい代謝拮抗剤の1つ)；抗腫瘍抗生物質 (例えば、アドリアマイシン、ブレオマイシン、ドキソルビシン、ダウノマイシン、エピルビシン、イダルビシン、マイトマイシン-C、ダクチノマイシン、及びミトラマイシンのようなアントラサイクリン類)；有糸分裂阻害剤 (例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン及びビノレルピンのようなビンカルカロイドと、タキソール及びタキソテレのようなタキソイド類)；及びトポイソメラーゼ阻害剤 (例えば、エトポシド及びテニポシドのようなエピポドフィロトキシニン類、アムサクリン、トポテカン、及びカンプトテシン)のような、医科腫瘍学において使用されるような抗増殖/抗新生物薬とその組合せ；

30

40

(iii) 抗エストロゲン (例えば、タモキシフェン、トレミフェン、ラロキシフェン、ドロキシフェン及びヨードキシフェン)、抗アンドロゲン (例えば、ピカルタミド、フルタミド、ニルタミド及び酢酸シプロテロン)、LHRHアンタゴニスト又はLHRHアゴニスト (例えば、ゴセレリン、リュープロレリン及びブセレリン)、プロゲステゲン (例えば、酢酸メゲストロール)、アロマターゼ阻害剤 (例えば、アナストロゾール、レ

50

トラゾール、ボラゾール及びエキセメスタン)、及びフィナステリドのような5-レダクターゼ阻害剤といった、細胞増殖抑制剤;

(iv) 増殖因子機能の阻害剤、例えば、そのような阻害剤には、増殖因子抗体、増殖因子受容体抗体、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、及びセリン/スレオニンキナーゼ阻害剤、例えば、表皮増殖因子ファミリーの阻害剤(例えば、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤: N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン-4-アミン(ZD1839)、N-(3-エチニルフェニル)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)キナゾリン-4-アミン(CP358774)、及び6-アクリルアミド-N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-7-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン-4-アミン(CI 1033))、例えば血小板由来増殖因子ファミリーの阻害剤、並びに、例えば、肝細胞増殖因子ファミリーの阻害剤が含まれる;

(v) 国際特許出願WO97/22596、WO97/30035、WO97/32856、及びWO98/13354号に開示される化合物のように血管内皮増殖因子を阻害するものと他の機序により作用する化合物(例えば、リノマイド、インテグリン $\alpha_v\beta_3$ 機能の阻害剤、及びアンジオスタチン)のように、上記に明確化した機序と異なる機序により作用する抗血管新生剤;

(vi) 生物療法的な治療アプローチ、例えば、受容体リガンドを隔離する、受容体へのリガンド結合を遮断する、又は受容体シグナル伝達を減少させる(例えば、受容体分解の亢進又は発現レベルの低下により)ペプチド又はタンパク質(抗体又は可溶性の外部受容体ドメイン構築体のような)を使用するもの;

(vii) アンチセンス療法、例えば、ISIS2503、抗rasアンチセンスのように、上記に列挙される標的へ指向されるもの;

(viii) 例えば、異常p53又は異常BRCA1又はBRCA2のような異常遺伝子を置換するアプローチ、シトシンデアミナーゼ、チミジンキナーゼ、又は細菌の窒素レダクターゼ酵素を使用するようなGDEPT(遺伝子指向型酵素プロドラッグ療法)アプローチ、及び多剤耐性遺伝子治療のような化学療法又は放射線療法への患者耐性を高めるアプローチが含まれる、遺伝子治療アプローチ;並びに

(ix) 例えば、インターロイキン2、インターロイキン4又は顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子のようなサイトカインでのトランスフェクションのような、患者腫瘍細胞の免疫原性を高めるためのex vivo及びin vivoアプローチ、T細胞アネルギーを減少させるアプローチ、サイトカインにトランスフェクトされた樹状細胞のようなトランスフェクトされた免疫細胞を使用するアプローチ、サイトカインにトランスフェクトされた腫瘍細胞系を使用するアプローチ、及び抗イディオタイプ抗体を使用するアプローチが含まれる、免疫療法アプローチ。

【0097】

そのような併用治療は、治療の個別成分の同時、連続、又は分離投薬により達成してよい。そのような組合せ品は、本発明の化合物を上記に記載した投与量範囲内で、そして他の医薬活性剤をその承認された投与量範囲内で利用する。

【0098】

本発明のこの側面によれば、上記に定義される式Iの化合物と上記に定義される追加の抗腫瘍物質を含んでなる医薬品が癌の併用治療に提供される。

治療用医薬品におけるその使用に加えて、式Iの化合物とその医薬的に許容される塩は、新たな治療薬剤の探索の一部として、ネコ、イヌ、ウサギ、サル、ラット、及びマウスのような実験動物における細胞周期活性の阻害剤の効果を評価するためのin vitro及びin vivo試験系の開発及び標準化における薬理学的ツールとしても有用である。

【0099】

以下に、本発明を以下の非限定的な実施例により例示するが、ここでは他に述べなければ;

(i) 温度は摂氏()で示し;各種操作は、室温又は周囲温度で、即ち18~25

10

20

30

40

50

の範囲の温度で行った；

(i i) 有機溶液は、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた；溶媒の蒸発は、ロータリーエバポレーターを減圧 (6 0 0 ~ 4 0 0 0 パスカ； 4 . 5 ~ 3 0 m m H g) 下に 6 0 までの浴温で使用して行った；

(i i i) クロマトグラフィーは、シリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーを意味し；薄層クロマトグラフィー (T L C) は、シリカゲルプレートで行った；

(i v) 一般に、反応の経過は T L C 及び / 又は分析用 L C - M S により追跡して、反応時間は例示用にのみ示す；

(v) 最終生成物は、満足できるプロトン核磁気共鳴 (N M R) スペクトル及び / 又は質量スペクトルデータを示した；

(v i) 収率は例示用にのみ示し、必ずしも、入念なプロセス開発により入手し得るものではない；より多くの材料が必要とされる場合、製造を繰り返した；

(v i i) 示す場合、NMRデータは、主要な診断プロトンのデルタ値の形式であり、内部標準としてのテトラメチルシラン (T M S) に対する百万分率 (p p m) で示し、他に示さなければ、過重水素ジメチルスルホキシド (D M S O - d ₆) を溶媒として使用して 3 0 0 M H z で決定した；以下の略語を使用した：s，一重項；d，二重項；t，三重項；q，四重項；m，多重項；b，ブロード；

(v i i i) 化学記号は、その通常の意味を有する；S I 単位及び記号を使用する；

(i x) 溶媒比は、容積 / 容積 (v / v) 用語で示す；そして

(x) 質量スペクトルは、直接曝露プローブを使用する化学イオン化 (C I) モードにおいて 7 0 電子ボルトの電子エネルギーで操作した；ここで所定のイオン化は、電子衝撃 (E I) 、高速原子衝突 (F A B) 、又はエレクトロスプレー (E S P) により実施した；m / z の数値を示す；一般に、元の質量を示すイオンだけを報告する；そして、他に述べなければ、引用する質量イオンは、M H ⁺ である；

(x i) 他に述べなければ、不斉に置換された炭素及び / 又はイオウ原子を含有する化合物は、分割しなかった；

(x i i) 合成について、先の実施例の記載に類似していると記載する場合、使用する量は、先の実施例で使用したものに対してミリモル濃度比の同等物である；

(x i) 以下の略語を使用した；

A c O H	酢酸	30
A I B N	2 , 2 ' - アゾビスイソブチロニトリル	
D C M	ジクロロメタン	
D I P E A	ジイソプロピルエチルアミン	
D M A	N , N - ジメチルアセトアミド	
D M F	N , N - ジメチルホルムアミド	
D M S O	ジメチルスルホキシド；	
D M T M M	4 - (4 , 6 - ジメトキシ - 1 , 3 , 5 - トリアジン - 2 - イル) - 4 - メチルモルホリン	
d p p f	1 , 1 ' - ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン	
E t O A c	酢酸エチル；	40
H A T U	O - (7 - アザベンゾトリアゾール - 1 - イル) - N , N , N ' , N ' - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩	
ⁱ P r M g C l	塩化マグネシウムイソプロピル	
L D A	リチウムジイソプロピルアミド	
L H M D S	リチウムビス (トリメチルシリル) アミド	
m - C P B A	メタ - クロロ過安息香酸	
M e O H	メタノール	
M e C N	アセトニトリル	
M C X	混合型陽イオン交換樹脂	
M T B E	メチル t e r t - ブチルエーテル	50

L C M S 液体クロマトグラフィー - 質量分析法
 N M P 1 - メチル - 2 - ピロリジノン
 P h T o s M I C イソシアン化 - トシルベンジル
 P O C l ₃ オキシ塩化リン
 R P H P L C 逆相高速液体クロマトグラフィー
 T F A トリフルオロ酢酸
 T H F テトラヒドロフラン

(x v i i) 合成について、酸付加塩 (例、H C l 塩) をもたらすものとして記載する場合、この塩の化学量論については註を付けない。他に述べなければ、すべての N M R データは遊離塩基材料に基づいて報告し、特性決定に先立って、単離塩を遊離塩基型へ変換する。 10

【 0 1 0 0 】

実施例 1

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (3 - フルオロフェニル) 尿素

無水テトラヒドロフラン (1 0 m L) 中の 6 - [4 - (3 - アミノフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン (6 4 m g) を 3 - フルオロフェニルイソシアネート (4 1 m g) へ加えて、不活性気体下に周囲温度で 1 時間撹拌した。この混合物を D C M (5 m L) で希釈してから、0 ~ 5 0 % E t O A c / D C M、次いで 0 ~ 2 0 % M e O H / D C M の勾配で溶出させるシリカのクロマトグラフィーにより精製して、表題化合物 (7 1 m g , 7 7 %) を固形物として得た； 20

¹H NMR (DMSO-d₆) 3.65 (s, 3H), 6.83 (m, 1H), 7.15 (m, 2H), 7.25 (m, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.48 (m, 1H), 7.68 (s, br 2H), 7.72 (s, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.89 (s, 1H); MS m/e MH⁺460.

【 0 1 0 1 】

実施例 2

N - { 3 - [5 - (4 - アミノチエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 4 - イル] フェニル } - N ' - (2 - フルオロフェニル) 尿素 30

無水テトラヒドロフラン (1 0 m L) 中の 6 - [4 - (3 - アミノフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン (6 4 m g) を 2 - フルオロフェニルイソシアネート (3 4 m g) へ加えて、不活性気体下に周囲温度で 1 時間撹拌した。この混合物を D C M (5 m L) で希釈してから、0 ~ 5 0 % E t O A c / D C M、次いで 0 ~ 5 0 % M e O H (1 % 濃アンモニア水を含む) / D C M の勾配で溶出させるシリカのクロマトグラフィーにより精製して、表題化合物 (7 6 m g , 8 2 %) を固形物として得た。

【 0 1 0 2 】

¹H NMR (DMSO-d₆) 3.58 (s, 3H), 7.00 (m, 1H), 7.20 (m, 5H), 7.58 (s, br 2H), 7.68 (s, 1H), 7.78 (m, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.04 (m, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 9.00 (s, 1H); MS m/e MH⁺460. 40

【 0 1 0 3 】

出発材料は、以下のように製造した：

中間体 1

{ (3 - ヨードフェニル) [(4 - メチルフェニル) スルホニル] メチル } ホルムアミド

3 - ヨードベンズアルデヒド (1 5 . 1 g) 及びホルムアミド (6 . 5 m L) の M e C N (3 4 m L) 及びトルエン (3 4 m L) 撹拌溶液へ不活性気体下に塩化トリメチルシリル (9 . 1 m L) を加えた。次いで、この反応物を 5 0 で 5 時間加熱した。トルエンス 50

ルホン酸 (15.3 g) を加えて、この反応混合物を 50 でさらに 5 時間加熱した。この反応混合物を周囲温度へ冷やし、メチル t - ブチルエーテル (55 mL) を加えて、5 分間撹拌した。水 (275 mL) を加え、この反応物を 0 へ冷やして、1 時間撹拌した。固形物を濾過し、反応フラスコを M T B E (2' 35 mL) で洗浄して、濾過ケーキ上へ注いだ。固形物を 60 の真空オーブンで 10 時間乾燥させて、不純な表題化合物 (14 g, 51%) を固形物として得て、これをさらに精製せずに使用した。少量の試料を E t O H より結晶させた;

主要 (6 : 1) 回転異性体の ^1H NMR (DMSO-d₆) 2.43 (s, 3H), 6.42 (d, 1H), 7.15-8.00 (m, 9H), 9.73 (d, 1H)。MS m/e MH⁺ 416。

【0104】

10

中間体 2

(3 - ヨードフェニル) (イソシアノ) メチル 4 - メチルフェニルスルホン

{ (3 - ヨードフェニル) [(4 - メチルフェニル) スルホニル] メチル } ホルムアミド (6.23 g) の乾燥 T H F (35 mL) 撹拌溶液へ P O C l₃ (3.05 mL) を 25 で加えて、5 分間撹拌した。この反応混合物を 0 へ冷やし、内部温度を 10 未満に維持しながら、E t₃ N (13.7 mL) を 45 分にわたり滴下した。この反応混合物を 5 ~ 10 でさらに 45 分間撹拌し続けた。E t O A c (140 mL) と水 (140 mL) を加えてから、5 分間撹拌した。有機相を水 (2' 140 mL)、N a H C O₃ (飽和水溶液、140 mL)、そして次いで塩水 (140 mL) で洗浄した。有機相を真空で濃縮して、濃褐色のゴムを得た。次いで、これをシリカのパッドに通して濾過し、D C M 20 で洗浄し、真空で濃縮して、濃褐色のゴム (約 70% の純度、3.5 g, 58%) を得た;

^1H NMR (CDCl₃) 2.42 (s, 3H), 5.45 (s, 1H), 7.00-7.75 (m, 8H); MS m/e (M-H)⁻ 396。

【0105】

中間体 3

4 - (メチルチオ) チエノ [2, 3 - d] ピリミジン - 6 - カルバルデヒド

T H F (5 mL) 中の 4 - (メチルチオ) チエノ [2, 3 - d] ピリミジン (J. Heterocycl. Chem. 1975, 12, 921-924) (1 g) を予め調製した L D A [B u L i (ヘキサン中 1.6 M, 3.8 mL) 及びジイソプロピルアミン (0.85 mL)] の T H F (20 30 mL) 溶液へ - 78 で加えた。この反応混合物を - 78 で 1 時間撹拌し続けてから、D M F (1.1 mL) を加えた。この反応混合物を - 78 で 30 分間撹拌してから、周囲温度へ温めて、さらに 3 時間撹拌した。この反応混合物を水で希釈して、生成物を E t O A c (4 x 30 mL) で抽出した。合わせた有機抽出物を塩水 (30 mL) で洗浄し、乾燥 (M g S O₄) させ、濾過して、真空で濃縮した。D C M で溶出させるシリカのフラッシュクロマトグラフィーによる精製によって、表題化合物 (1.17 g, 51%) を白い固形物として得た;

^1H NMR (CDCl₃) 2.76 (s, 3H), 8.03 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 10.10 (s, 1H); MS m/e MH⁺ 211。

【0106】

40

中間体 4

N - [4 - (メチルチオ) チエノ [2, 3 - d] ピリミジン - 6 - イルメチリデン] メタンアミン

4 - (メチルチオ) チエノ [2, 3 - d] ピリミジン - 6 - カルバルデヒド (13 g)、メチルアミン (E t O H 中 33%, 20.6 mL)、及び無水 M g S O₄ (20 g) を D C M (465 mL) 中で不活性気体下に周囲温度で 2 日間撹拌した。この反応混合物を濾過してから、真空で濃縮して、表題化合物 (13.8 g, 100%) を茶褐色の固形物として得た;

^1H NMR (DMSO-d₆) a 2.70 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 7.82 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.89 (s, 1H)。

50

【 0 1 0 7 】

中間体 5

6 - [4 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] - 4 - (メチルチオ) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン

THF (80 mL) 中の N - [4 - (メチルチオ) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 6 - イルメチリデン] メタンアミン (1 . 0 g)、(3 - ヨードフェニル) (イソシアノ) メチル 4 - メチルフェニルスルホン (3 . 4 g , 純度 70 %)、及びピペラジン (0 . 77 g) を不活性気体下に 4 日間撹拌した。この反応混合物を濃縮し、水で希釈して、EtOAc で抽出した。この抽出物を飽和 NaHCO₃ 水溶液で洗浄し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過して、真空で濃縮した。0 ~ 100 % EtOAc / DCM、次いで 0 ~ 5 % MeOH / DCM の勾配で溶出させるシリカのクロマトグラフィーによる溶出に続く、EtOH からの結晶化によって、表題生成物 (1 . 2 g , 57 %) を固形物として得た。¹H NMR (DMSO-d₆) δ 2.68 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 7.04 (t, 1H), 7.37 (d, 1H), 7.55 (d, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.94 (m, 2H), 8.89 (s, 1H); MS m/e MH⁺ 465。

10

【 0 1 0 8 】

中間体 6

6 - [4 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] - 4 - (メチルスルホニル) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン

6 - [4 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] - 4 - (メチルチオ) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン (300 mg) の DCM (20 mL) 溶液へ m - CPBA (70 ~ 75 % , 399 mg) を加えて、24 時間撹拌した。メタ酸性亜硫酸ナトリウム水溶液を加えて、この混合物を DCM で抽出した。有機相を飽和 NaHCO₃ 水溶液で洗浄し、乾燥 (MgSO₄) させ、濾過し、真空で濃縮して、表題化合物 (220 mg , 68 %) を黄色い固形物として得た；

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.50 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 7.04 (t, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.59 (d, 1H), 8.00 (m, 3H), 9.34 (s, 1H); MS m/e MH⁺ 497。

20

【 0 1 0 9 】

中間体 7

6 - [4 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン

6 - [4 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] - 4 - (メチルスルホニル) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン (200 mg) と濃アンモニア水 (5 mL) を 1 , 4 - ジオキサン (15 mL) 中で 17 時間撹拌した。溶媒を蒸発させ、0 ~ 50 % EtOAc / DCM、次いで 0 ~ 20 % MeOH / DCM の勾配で溶出させるシリカのカラムクロマトグラフィーにより残渣を精製して、表題化合物 (136 mg , 78 %) を無色の固形物として得た；

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 3.58 (s, 3H), 7.06 (t, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.65 (m, 3H), 7.95 (m, 2H), 8.32 (s, 1H)。MS m/e MH⁺ 434。

30

【 0 1 1 0 】

中間体 8

6 - (4 - { 3 - [(ジフェニルメチレン) アミノ] フェニル } - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン

ジオキサン (40 mL) 中の 6 - [4 - (3 - ヨードフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン (860 mg)、ベンゾフェノンイミン (540 mg)、1 , 1' - ビス (ジフェニルホスフィノ) フェロセン (120 mg)、ビス (ベンジリデンアセトン) パラジウム (100 mg)、及びナトリウム t e r t - ブトキシド (960 mg) を脱気してから、不活性気体下に 90 で加熱した。17 時間後、この反応混合物を冷やし、水 (50 mL) で希釈し、EtOAc (2 x 30 mL) で抽出し、有機抽出物を塩水で洗浄し、乾燥させ、濾過して、真空で濃縮した。DCM / MeOH (0 ~ 10 %) で溶出させるシリカのフラッシュクロマトグ

40

50

ラフィーによる精製によって、表題化合物 (0 . 4 8 g , 5 0 %) を得た ;

^1H NMR (CDCl_3) 3.32 (s, 3H), 5.75 (bs, 2H), 6.40-6.45 (m, 1H), 6.85-6.94 (m, 4H), 6.83-7.15 (m, 5H), 7.28-7.32 (m, 2H), 7.35-7.40 (m, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.57-7.62 (m, 2H), 8.40 (s, 1H); MS m/e MH^+ 487.

【 0 1 1 1 】

中間体 9

6 - [4 - (3 - アミノフェニル) - 1 - メチル - 1 H - イミダゾール - 5 - イル] チ
エノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン

6 - (4 - { 3 - [(ジフェニルメチレン) アミノ] フェニル } - 1 - メチル - 1 H -
イミダゾール - 5 - イル) チエノ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - アミン (0 . 4 5 g)
の THF (1 5 m L) 溶液へ 2 M HCl (0 . 7 5 m L) を加え、10 分間攪拌してか
ら、水と EtOAc の間に分画した。水層を分離し、濃アンモニア水で pH 9 へ塩基性に
し、DCM (3 x 3 0 m L) で抽出し、合わせた有機物を乾燥させ、濾過し、真空で濃縮
して、表題化合物 (0 . 3 3 g , 1 0 0 %) を無色の固形物として得た ;

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 3.54 (s, 3H), 4.96 (bs, 2H), 6.36-6.39 (m, 1H), 6.55-6.57
(m, 1H), 6.83-6.88 (m, 2H), 7.56 (bs, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 8.28 (s,
1H); MS m/e MH^+ 323.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/GB2005/000339

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D495/04 A61K31/519 A61P35/00

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07D A61K A61P

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

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

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 2004/013141 A (ASTRAZENECA AB; ASTRAZENECA UK LIMITED; LUKE, RICHARD, WILLIAM, ARTHUR) 12 February 2004 (2004-02-12) claims 3,7 page 161 - page 163; examples 186,188	1-9
A	US 2004/014756 A1 (MICHAELIDES MICHAEL R 'US' ET AL) 22 January 2004 (2004-01-22) claims 18-20,24	1-9
A	WO 03/022852 A (GLAXOSMITHKLINE K.K; SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION; ADAMS, JERRY, LER) 20 March 2003 (2003-03-20) claim 44 page 153; example 276	1-9
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 May 2005

Date of mailing of the international search report

31/05/2005

Name and mailing address of the ISA

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

Authorized officer

Kollmannsberger, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB2005/000339

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02/062804 A (PHARMACIA ITALIA S.P.A; BERTA, DANIELA; FELDER, EDUARD; VULPETTI, ANNA) 15 August 2002 (2002-08-15) claim 1	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB2005/000339

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004013141	A	12-02-2004	AU 2003246972 A1 CA 2494421 A1 WO 2004013141 A1	23-02-2004 12-02-2004 12-02-2004
US 2004014756	A1	22-01-2004	NONE	
WO 03022852	A	20-03-2003	EP 1425284 A2 JP 2005508904 T WO 03022852 A2 US 2005004142 A1	09-06-2004 07-04-2005 20-03-2003 06-01-2005
WO 02062804	A	15-08-2002	CA 2437260 A1 WO 02062804 A1 EP 1377589 A1 JP 2004520394 T MX PA03006863 A NZ 527123 A US 2004180881 A1	15-08-2002 15-08-2002 07-01-2004 08-07-2004 13-11-2003 29-04-2005 16-09-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 29/00 1 0 1	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 9/10 1 0 1	
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	
	A 6 1 P 15/00	
	A 6 1 P 27/02	
	A 6 1 P 35/02	

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

(72)発明者 ジョーンズ, クリフォード・デービッド
イギリス国チェシャー エスケイ 1 0 ・ 4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

(72)発明者 ルーク, リチャード・ウィリアム・アーサー
イギリス国チェシャー エスケイ 1 0 ・ 4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

(72)発明者 マッコウル, ウィリアム
イギリス国チェシャー エスケイ 1 0 ・ 4 ティージー, マックルズフィールド, オルダリー・パーク, アストラゼネカ・アール・アンド・ディー・オルダリー

F ターム(参考) 4C071 AA01 BB01 CC02 CC21 DD12 EE13 FF05 HH17 JJ01 JJ05
KK14 LL01
4C072 AA01 BB02 CC03 CC16 EE13 FF09 GG01 HH02 HH07 JJ03
UU01
4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 CB29 MA01 MA04 NA14 ZA33 ZA36
ZA45 ZA81 ZA89 ZA96 ZB08 ZB11 ZB15 ZB26 ZB27 ZC20
ZC35