

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4891904号
(P4891904)

(45) 発行日 平成24年3月7日(2012.3.7)

(24) 登録日 平成23年12月22日(2011.12.22)

(51) Int. Cl.		F I	
C O 7 D 495/04	(2006.01)	C O 7 D 495/04	1 O 5 Z
A 6 1 K 31/519	(2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 31/12	(2006.01)	A 6 1 P 31/12	

請求項の数 9 (全 54 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2007-522013 (P2007-522013)
(86) (22) 出願日	平成17年7月18日 (2005.7.18)
(65) 公表番号	特表2008-506758 (P2008-506758A)
(43) 公表日	平成20年3月6日 (2008.3.6)
(86) 国際出願番号	PCT/GB2005/002816
(87) 国際公開番号	W02006/008503
(87) 国際公開日	平成18年1月26日 (2006.1.26)
審査請求日	平成20年7月14日 (2008.7.14)
(31) 優先権主張番号	0416168.3
(32) 優先日	平成16年7月20日 (2004.7.20)
(33) 優先権主張国	英国 (GB)

(73) 特許権者	504236215
	ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド
	VERNALIS (CAMBRIDGE)
	LIMITED
	イギリス、ケンブリッジ シービー1 6
	ジービー、アビントン、グランタ パーク
	(番地なし)
	Granta Park, Abington,
	Cambridge CB1 6GB
	, United Kingdom

最終頁に続く

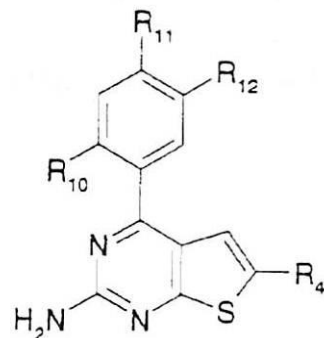
(54) 【発明の名称】 ピリミドチオフェン化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(II)：

【化1】



(II)

[式中、

R₁₀ は、H、Cl、Br又はCH₃であり；R₁₁ は、水素、Cl、Br、CN、メチル、エチル、n-若しくはイソ-プロピル、ビニル又はアリルであり；R₁₂ は、(i) 式-O(CH₂)_nZ¹ (式中、nは1、2又は3でありかつZ¹は第1級、第2級、第3級若しくは環状アミノ基、又はC₁~C₆アルコキシ基である)の基；或いは(ii) 式-(Alk³)_mZ¹ (式

中、 Alk^3 は二価の直鎖状又は分枝鎖状の($C_1 \sim C_3$)アルキレンであり、 m は0又は1であり、かつ Z^1 は第1級、第2級、第3級若しくは環状アミノ基、又は $C_1 \sim C_6$ アルコキシ基である)の基であり；かつ

R_4 は：

- (i) 水素、-CN基、ニトロ基- NO_2 、若しくは-C(=NOH)(NH_2)基、又は
- (ii) 任意に置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル、アリール、複素環式、アリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-、若しくは複素環($C_1 \sim C_6$ アルキル)-基、又は
- (iii) 式-C(=O) R_5 (式中、 R_5 は、ヒドロキシル、任意に置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキルオキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、アリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-、アリール($C_1 \sim C_6$ アルコキシ)-、ヘテロアリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-、若しくはヘテロアリール($C_1 \sim C_6$ アルコキシ)-である)の基、又は
- (iv) 式-C(=O)NHR₆ (式中、 R_6 は、第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ、又はヒドロキシル、任意に置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルキルオキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、アリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-、アリール($C_1 \sim C_6$ アルコキシ)-、ヘテロアリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-、若しくはヘテロアリール($C_1 \sim C_6$ アルコキシ)-である)の基

である]

の化合物、又はその塩、N-オキシド、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項2】

R_4 が-CN基、又は任意に置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル、アリール、ヘテロアリール、アリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-若しくはヘテロアリール($C_1 \sim C_6$ アルキル)-基である請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

R_4 が：

- (a) イミダゾリル若しくはオキサジアゾリル基、ヒドロキシル又は第1級、第2級、第3級若しくは環状アミノ基で任意に置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル基、又は
- (b) 式-C(=O) R_5 (式中、 R_5 は $C_1 \sim C_6$ アルキル又はフェニルである)の基、又は
- (c) 式-C(=O)NHR₆ (式中、 R_6 は、N-ピペリジニル、N-モルホリニル、N-ピペラジニル、 N^1 -メチル-N-ピペラジニル、N-トリアゾリル、 $C_1 \sim C_6$ アルキルオキシ、又はモノ-若しくはジ- $C_1 \sim C_6$ アルキルアミノである)の基

である請求項2に記載の化合物。

【請求項4】

R_4 が、任意に置換されていてもよいフェニル、フェニル($C_1 \sim C_6$ アルキル)-、複素環式又は複素環($C_1 \sim C_6$ アルキル)-基(ここで、複素環部分は5又は6の環原子を有する単環である)である請求項1に記載の化合物。

【請求項5】

R_4 が、任意にオキサジアゾリル、イミダゾリル、ジヒドロ-イミダゾリル、トリアゾリル、ピラゾリル、ピロリル、チアゾリル又はテトラゾリル基である請求項4に記載の化合物。

【請求項6】

R_4 が、オキサジアゾール-3-イル、4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール-2-イル、[1,2,4]トリアゾール-4-イル、5-アミノ-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル、4-若しくは5-メチル-2H-ピラゾール-3-イル、1H-ピロール-2-イル、2-アミノ-5-メチル-チアゾール-4-イル、3H-イミダゾール-4-イル又は2H-テトラゾール-5-イル基である請求項4に記載の化合物。

【請求項7】

R_4 が、任意に置換されていてもよいメチル、エチル又はn-プロピルである請求項1又は2に記載の化合物。

【請求項8】

R_4 における置換基が、アミノ、メチルアミノ、エチルアミノ、n-プロピルアミノ、アセ

10

20

30

40

50

トアミド、オキソ、ヒドロキシル、フェニル、メチル、エチル及びn-プロピルから選択される請求項7に記載の化合物。

【請求項9】

R₄が、アセトアミドメチル、ホルミル、2-ヒドロキシ-2-メチル-プロピル、2-ヒドロキシ-2-エチル-ブチ-1-イル、ヒドロキシメチル、エチルカルボニル、フェニルカルボニル、n-プロピルアミノメチル、アミノメチル又はジフェニル-ヒドロキシメチルである請求項7に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、HSP90阻害活性を有する置換二環性チエノ[2,3-d]ピリミジン(本明細書において「ピリミドチオフェン」という)化合物、HSP90活性の阻害に応答性の疾患、例えば癌との関係における医薬での該化合物の使用、及び該化合物を含有する医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

分子シャペロンは、タンパク質の適切な折り畳みとコンホメーションとを維持し、タンパク質合成と分解の間のバランスを調節するのに重要である。これらは、細胞増殖及びアポトーシスのような多くの重要な細胞の機能の調節に重要であることが示されている(Jolly及びMorimoto、2000; Smithら、1998; Smith、2001)。

【0003】

熱ショックタンパク質(HSP)

熱ショック、アルコール、重金属及び酸化ストレスを含むいくつかの環境ストレスへの細胞の曝露は、一般的には熱ショックタンパク質(HSP)として知られるいくつかのシャペロンの細胞性蓄積をもたらす。HSPの誘導は、細胞を初期ストレス傷害から保護し、回復を促進しかつストレス耐性状態の維持を導く。しかし、いくつかのHSPが、ますますその数が増加する重要な細胞性タンパク質の正確な折り畳み、分解、局在化及び機能を調節することにより、通常のスレスフリーの条件下で、主要な分子シャペロンの役割も演じ得ることも明らかになっている。

【0004】

HSPのいくつかの多重遺伝子族が存在し、個別の遺伝子産物の細胞性発現、機能及び局在性は多様である。これらは、分子量により例えばHSP70、HSP90及びHSP27のように分類される。

ヒトの疾患のいくつかは、タンパク質の間違った折り畳みの結果として獲得され得る(Tytellら、2001; Smithら、1998に論評される)。よって、分子シャペロン機構を妨害する療法の開発は、有益であると証明され得る。いくつかの状態(例えばアルツハイマー病、プリオン病及びハンチントン病)において、間違っって折り畳まれたタンパク質は、タンパク質凝集を引き起こし、神経変性疾患の原因となり得る。また、間違っって折り畳まれたタンパク質は、野生型のタンパク質機能の欠損をもたらし、細胞内での調節解除された分子的及び生理的機能を導き得る。

【0005】

HSPは、癌にも関係している。例えば、腫瘍進行の段階に関係し得るHSPの他とは異なる発現(differential expression)が証明されている(Martinら、2000; Conroyら、1996; Kawanishiら、1999; Jameelら、1992; Hoangら、2000; Lebeauら、1991)。種々の重要な腫瘍形成性経路においてHSP90が関わっていること、及び抗癌活性を有するある天然産物がこの分子シャペロンを標的すると発見されたことにより、HSP機能の阻害が癌の治療において有用であり得るとの魅力的な新しい概念が生まれた。最初の分子シャペロン阻害剤は、現在、臨床試験中である。

【0006】

10

20

30

40

50

HSP90

HSP90は、全細胞タンパク質の約1~2%を構成し、通常、いくつかのその他のタンパク質と関連したダイマーとして細胞内に存在する(例えばPratt, 1997を参照)。これは細胞生存性に必須であり、二重のシャペロン機能を示す(Youngら, 2001)。これは、種々の環境ストレス、例えば熱ショックによりそれらの天然のコンホメーションが変化された後に多くのタンパク質と相互作用し、適切なタンパク質折り畳みを確実にしかつ非特異的凝集を防ぐことにより、細胞性ストレス応答において鍵となる役割を演じる(Smithら, 1998)。さらに、最近の結果は、HSP90が、おそらく突然変異タンパク質の不適切な折り畳みを修正することにより、突然変異の影響に対して緩衝する役割も演じ得ることを示唆している(Rutherford及びLindquist, 1998)。しかし、HSP90は重要な調節の役割も有する。正常な生理的条件下で、その小胞体ホモログであるGRP94とともに、HSP90は細胞においてハウスキーピングの役割を演じ、コンホメーション安定性及びいくつかの鍵となるクライアントタンパク質の成熟を維持する。これらは、3つの群にさらに分けることができる：(a) ステロイドホルモン受容体、(b) Ser/Thr又はチロシンキナーゼ(例えばERBB2、RAF-1、CDK4及びLCK)、及び(c) 明らかに無関係のタンパク質の集合、例えば変異体p53及びテロメラーゼの触媒サブユニットであるhTERT。これらのタンパク質の全ては、細胞内の多くの生理的及び生化学的プロセスにおいて鍵となる調節の役割を演じる。新規なHSP90クライアントタンパク質は、同定され続けている。

10

【0007】

ヒトにおける高度に保存されたHSP90ファミリーは、4つの遺伝子、すなわちサイトソル性HSP90及びHSP90アイソフォーム(Hickeyら, 1989)、小胞体内のGRP94(Argonら, 1999)及びミトコンドリアマトリックス内のHSP75/TRAP1(Feltsら, 2000)からなる。全てのファミリーメンバーは、類似の作用形態を有するが、細胞内でのそれらの局在化によって異なるクライアントタンパク質と結合すると考えられている。例えば、ERBB2は、GRP94(Argonら, 1999)の特異的クライアントタンパク質であることが知られており、1型腫瘍壊死因子受容体(TNFR1)及びRBはともに、TRAP1(Songら, 1995; Chenら, 1996)のクライアントであることが示されている。

20

【0008】

HSP90は、一連のクライアントタンパク質及び調節タンパク質との一連の複雑な相互作用に参加する(Smith, 2001)。正確な分子の詳細は解明されないままであるが、過去数年間にわたる生化学的及びX線結晶解析の研究(Prodromouら, 1997; Stebbinsら, 1997)により、HSP90のシャペロン機能についてのより詳細な洞察が得られている。

30

【0009】

この問題についての初期の論争に続いて、HSP90がATP依存性分子シャペロンであり(Prodromouら, 1997)、ヌクレオチド結合ドメインの二量体化がATP加水分解に必須であり、よってシャペロン機能にも必須である(Prodromouら, 2000a)ことが現在では明らかになっている。ATPの結合は、N-末端ドメインが互いに接近して「クランプ機構」として知られるコンホメーションの切り替えをもたらすドーナツ型の二量体構造の形成をもたらす(Prodromou及びPearl, 2000b)。

【0010】

既知のHSP90阻害剤

発見されたHSP90阻害剤の最初のクラスは、ベンゾキノンアンサマイシンクラスであり、ハービマイシンA及びゲルダナマイシンの化合物を含む。これらは、v-Src腫瘍形成遺伝子により形質転換された繊維芽細胞の悪性表現型を逆にし(Ueharaら, 1985)、その後、インビトロ(Schulteら, 1998)及びインビボ(Supkoら, 1995)の両方の動物モデルにおいて有効な抗腫瘍活性を示すことが示された。

40

【0011】

免疫沈降及びアフィニティマトリックスの研究は、ゲルダナマイシンの作用の主要な機構がHSP90への結合を含むことを示している(Whitesellら, 1994; Schulte及びNeckers, 1998)。さらに、X線結晶解析の研究は、ゲルダナマイシンがATP結合部位で競合し、HSP90

50

の本来のATPアーゼ活性を阻害することを示している(Prodromouら, 1997; Panaretouら, 1998)。このことは、次いで、クライアントタンパク質に付き添う(chaperoning)ことができる成熟多量体HSP90複合体の形成を阻害する。結果として、クライアントタンパク質は、ユビキチンプロテアソーム経路を介して分解の標的とされる。17-アリルアミノ, 17-デメトキシゲルダナマイシン(17AAG)はHSP90阻害特性を保持し、細胞培養及び異種移植モデルにおいてクライアントタンパク質の枯渇及び抗腫瘍活性をもたらす(Schulterら, 1998; Kellandら, 1999)が、ゲルダナマイシンよりも著しく低い肝毒性を示す(Pageら, 1997)。17AAGは、現在、第I相の臨床試験で評価されている。

【 0 0 1 2 】

ラディシコール(Radicicol)は、v-Src及びv-Ha-Rasで形質転換された繊維芽細胞の悪性表現型を逆にすることが示されている(Kwonら, 1992; Zhaoら, 1995)。これは、HSP90阻害の結果としていくつかのシグナル伝達タンパク質を分解することが示された(Schulterら, 1998)。X線結晶データは、ラディシコールがHSP90のN-末端ドメインにも結合し、本来のATPアーゼ活性を阻害することを確かにした(Roeら, 1998)。ラディシコールは、化合物の化学的性質が不安定であるので、インビボで抗腫瘍活性を有さない。

【 0 0 1 3 】

クマリン抗生物質は、細菌のDNAジャイレースに、HSP90のものに相同なATP結合部位にて結合することが知られている。クマリンであるノボピオシンは、HSP90のカルボキシ末端に、すなわちN-末端で結合するベンゾキノアンサマイシン及びラディシコールにより占領された部位とは異なる部位で結合することが示された(Marcuら, 2000b)。しかし、これもまたHSP90機能の阻害及びいくつかのHSP90が付き添うシグナル伝達タンパク質の分解をもたらした(Marcuら, 2000a)。ゲルダナマイシンは、ノボピオシンの後にHSP90に結合できない。このことは、N及びC末端ドメイン間の何らかの相互作用が存在し、両方の部位がHSP90シャペロン特性に重要であるとの観点と矛盾しない。

【 0 0 1 4 】

プリンベースのHSP90阻害剤であるPU3は、ERBB2を含むシグナル伝達分子の分解をもたらし、かつ細胞周期の停止及び乳癌細胞における分化を引き起こすことが示されている(Chiosisら, 2001)。

【 0 0 1 5 】

治療標的としてのHSP90

腫瘍の表現型を駆動するのに非常に重要ないくつかのシグナル伝達経路の調節に参加しており、いくつかの生理活性天然産物がHSP90活性を介してそれらの効果を発揮することが見出されたことから、分子シャペロンHSP90は、抗癌剤の開発の新規な標的として、現在、評価されている(Neckersら, 1999)。

ゲルダナマイシン、17AAG及びラディシコールの作用の主な機構は、タンパク質のN-末端ドメインに位置するATP結合部位にてHSP90に結合することを含み、これがHSP90の本来のATPアーゼ活性の阻害を導く(例えばProdromouら, 1997; Stebbinsら, 1997; Panaretouら, 1998を参照)。

【 0 0 1 6 】

HSP90 ATPアーゼ活性の阻害は、コシャペロンの補充を妨げ、ある種のHSP90ヘテロ複合体の形成を促進し、このことから、これらのクライアントタンパク質が、ユビキチンプロテアソーム経路を介する分解の標的にされる(例えばNeckersら, 1999; Kellandら, 1999を参照)。

【 0 0 1 7 】

HSP90阻害剤を用いる治療は、細胞増殖、細胞周期調節及びアポトーシス、癌において基本的に重要なプロセスに参加する重要なタンパク質の選択的分解を導く。

HSP90機能の阻害は、細胞増殖、細胞周期調節及びアポトーシス、癌において基本的に重要でありかつ一般的に調節解除されているプロセスに参加する重要なシグナル伝達タンパク質の選択的分解を引き起こすことが示されている(例えばHosteinら, 2001を参照)。この標的に対する臨床用の薬剤の開発についての魅力的な原理は、形質転換された表現型

10

20

30

40

50

に関連するタンパク質を同時に枯渇させることにより、強力な抗腫瘍効果を得ることができ、かつ正常細胞に対して癌に対する治療的利点を達成できることである。HSP90阻害の下流のこれらの事象は、細胞培養及び動物モデルにおいてHSP90阻害剤の抗腫瘍活性の原因であると考えられている(例えばSchulteら, 1998; Kellandら, 1999を参照)。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0018】

発明の簡単な説明

本発明は、例えば癌細胞増殖の阻害のためのHSP90阻害剤としての置換チエノ[2,3-d]ピリミジン化合物(本明細書において、ピリミドチオフェンという)のクラスの使用に関する。1つの環炭素原子上での芳香族置換を有するコアのピリミドチオフェン環は、本発明に係る化合物の特性を特徴付ける本質である。

10

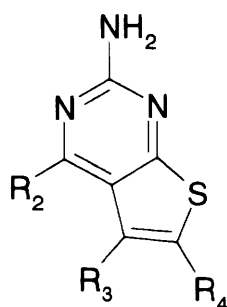
【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

発明の詳細な説明

本発明は、式(I)：

【化1】



(I)

20

[式中、

R₂は、式(IA)：

$-(Ar^1)_m-(Alk^1)_p-(Z)_r-(Alk^2)_s-Q$ (IA)

(式中、いずれの矛盾しない組み合わせにおいて、

30

Ar¹は、任意に置換されていてもよいアリール又はヘテロアリール基であり、

Alk¹及びAlk²は、任意に置換されていてもよい二価のC₁~C₃アルキレン又はC₂~C₃アルケニレン基であり、

m、p、r及びsは、独立して0又は1であり、

Zは、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=S)-、-SO₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^A-、

-C(=S)NR^A-、-SO₂NR^A-、-NR^AC(=O)-、-NR^ASO₂-又は-NR^A- (式中、R^Aは、水素又はC₁~C₆アルキルである)であり、

【0020】

Qは、水素又は任意に置換されていてもよい炭素環式若しくは複素環式基である)

の基であり；

40

R₃は、水素、任意置換基、又は任意に置換されていてもよい(C₁~C₆)アルキル、アリール若しくはヘテロアリール基であり；かつ

R₄は：

(i) 水素、-CN基、ニトロ基-NO₂、若しくは-C(=NOH)(NH₂)基、又は

(ii) 任意に置換されていてもよいC₁~C₆アルキル、アリール、複素環式、アリール(C₁~C₆アルキル)-、若しくは複素環(C₁~C₆アルキル)-基、又は

(iii) 式-C(=O)R₅ (式中、R₅は、ヒドロキシル、任意に置換されていてもよいC₁~C₆アルキル、C₁~C₆アルキルオキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、アリール(C₁~C₆アルキル)-、アリール(C₁~C₆アルコキシ)-、ヘテロアリール(C₁~C₆アルキル)-、若しくはヘテロアリール(C₁~C₆アルコキシ)-である)の基、又は

50

(iv) 式-C(=O)NHR₆ (式中、R₆は、第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ、又はヒドロキシル、任意に置換されていてもよいC₁~C₆アルキル、C₁~C₆アルキルオキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、ヘテロアリールオキシ、アリール(C₁~C₆アルキル)-、アリール(C₁~C₆アルコキシ)-、ヘテロアリール(C₁~C₆アルキル)-、若しくはヘテロアリール(C₁~C₆アルコキシ)-である)の基である]

の化合物、又はそれらの塩、N-オキシド、水和物若しくは溶媒和物を提供する。

【0021】

本発明の化合物のある部分集合において、R₄は、-CN基、又は任意に置換されていてもよいC₁~C₆アルキル、アリール、ヘテロアリール、アリール(C₁~C₆アルキル)-若しくはヘテロアリール(C₁~C₆アルキル)-基である。

10

【0022】

本明細書において、用語「(C₁~C₆)アルキル」とは、1~6個の炭素原子を有する直鎖又は分枝鎖状のアルキル基のことであり、例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル及びn-ヘキシルを含む。

本明細書において、用語「二価の(C₁~C₆)アルケレン基」は、1~6個の炭素原子及び2の未化合(unsatisfied)原子価を有する飽和炭化水素鎖のことである。

【0023】

本明細書において、用語「(C₁~C₆)アルケニル」は、2~6個の炭素原子を有しかつE又はZの配置の少なくとも1つの二重結合を含む直鎖又は分枝鎖状のアルケニル基のことであり、例えばエテニル及びアリルを含む。

20

本明細書において、用語「二価の(C₂~C₆)アルケニレン基」は、2~6個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合及び2の未化合原子価を有する炭化水素鎖のことをいう。

【0024】

本明細書において、用語「シクロアルキル」は、3~8個の炭素原子を有する飽和炭素環式基のことであり、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル及びシクロオクチルを含む。

本明細書において、用語「シクロアルケニル」は、少なくとも1つの二重結合を含む3~8個の炭素原子を有する炭素環式基のことをいい、例えばシクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニル及びシクロオクテニルを含む。

30

本明細書において、用語「アリール」とは、単環式、二環式又は三環式の炭素環式芳香族基のことをいう。このような基の例は、フェニル、ビフェニル及びナフチルである。

【0025】

本明細書において、用語「炭素環式」とは、環原子が全て炭素である環式基のことであり、単環式アリール、シクロアルキル及びシクロアルケニル基を含む。

本明細書において用いられるように、用語「ヘテロアリール」は、S、N及びOから選択される1つ又は複数のヘテロ原子を含む単環式、二環式若しくは三環式の芳香族基のことをいう。このような基の例は、チエニル、ベンズチエニル、フリル、ベンズフリル、ピロリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、チアゾリル、ベンズチアゾリル、イソチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、ベンズオキサゾリル、イソキサゾリル、ベンズイソキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、ベンズトリアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、インドリル及びインダゾリルである。

40

【0026】

本明細書において、制限のない用語「複素環式(heterocyclyl)」又は「複素環式(heterocyclic)」は、上記で規定する「ヘテロアリール」を含み、特に、S、N及びOから選択される1つ又は複数のヘテロ原子を含有する単環式、二環式又は三環式非芳香族基、並びに1つ又は複数のこのようなヘテロ原子を含有する単環式非芳香族基からなり、これが別のこのような基又は単環式炭素環式基に共有結合している基のことである。このような基の例は、ピロリル、フラニル、チエニル、ピペリジニル、イミダゾリル、オキサゾリル、

50

イソキサゾリル、チアゾリル、チアジアゾリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピロリジニル、ピリミジニル、モルホリニル、ピペラジニル、インドリル、モルホリニル、ベンズフランニル、ピラニル、イソキサゾリル、ベンズイミダゾリル、メチレンジオキシフェニル、エチレンジオキシフェニル、マレイミド及びスクシンイミド基である。

【 0 0 2 7 】

用語が使われる文脈において特定しない限りは、本明細書中のいずれの部分について適用される用語「置換」は、例えば(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ(C₁~C₆)アルキル、メルカプト、メルカプト(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキルチオ、ハロ(フルオロ及びクロロを含む)、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ニトロ、ニトリル (-CN)、オキソ、フェニル、フェノキシ、ベンジル、ベンジルオキシ、-COOH、-COOR^A、-COR^A、-SO₂R^A、-CONH₂、-SO₂NH₂、-CONHR^A、-SO₂NHR^A、-CONR^AR^B、-SO₂NR^AR^B、-NH₂、-NHR^A、-NR^AR^B、-OCONH₂、-OCONHR^A、-OCONR^AR^B、-NHCOR^A、-NHCOOR^A、-NR^BCOOR^A、-NHSO₂OR^A、-NR^BSO₂OR^A、-NHCONH₂、-NR^ACONH₂、-NHCONHR^B、-NR^ACONHR^B、-NHCONR^AR^B、若しくは-NR^ACONR^AR^B (式中、R^A及びR^Bは独立して、(C₁~C₆)アルキル基である)から選択される少なくとも1つの置換基で置換されることを意味する。「任意置換基」は、上記の置換基の1つであり得る。

【 0 0 2 8 】

本明細書において、用語「塩」は、塩基付加塩、酸付加塩及び四級塩を含む。酸性である本発明の化合物は、アルカリ金属水酸化物、例えば水酸化ナトリウム及び水酸化カリウム；アルカリ土類金属水酸化物、例えば水酸化カルシウム、水酸化バリウム及び水酸化マグネシウムのような塩基、又は有機塩基、例えばN-エチルピペリジン、ジベンジルアミンなどとの医薬的又は獣医学的に許容される塩を含む塩を形成できる。塩基性のこれらの化合物(1)は、無機酸、例えばハロゲン化水素酸、例えば塩化水素酸若しくは臭化水素酸、硫酸、硝酸又はリン酸など、並びに有機酸、例えば酢酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、サリチル酸、クエン酸、メタンスルホン酸及びp-トルエンスルホン酸などとの医薬的又は獣医学的に許容される塩を含む塩を形成できる。

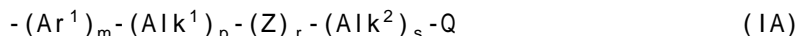
【 0 0 2 9 】

本発明のいくつかの化合物は、不斉炭素原子の存在により、1又は複数の実際の又は潜在的なキラル中心を含有する。いくつかの不斉炭素原子の存在は、各キラル中心においてR又はSの立体化学を有するジアステレオ異性体の数を増加させる。本発明は、全てのこのようなジアステレオ異性体及びそれらの混合物を含む。

【 0 0 3 0 】

R₂基

上記のように、R₂は、式(IA)：



(式中、いずれの矛盾のない組み合わせにおいて、Ar¹は、任意に置換されていてもよいアリール又はヘテロアリール基であり、Alk¹及びAlk²は、任意に置換されていてもよい二価のC₁~C₃アルキレン又はC₂~C₃アルケニレン基であり、m、p、r及びsは独立して0又は1であり、Zは-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=S)-、-SO₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^A-、-C(=S)NR^A-、-SO₂NR^A-、-NR^AC(=O)-、-NR^ASO₂-又は-NR^A- (式中、R^Aは水素又はC₁~C₆アルキルである)であり、Qは水素又は任意に置換されていてもよい炭素環式又は複素環式基である)の基である。

【 0 0 3 1 】

R₂基中に存在する場合、

Ar¹は、例えばフェニル、シクロヘキシル、ピリジル、モルホリノ、ピペリジニル又はピペラジニル環であり得る。現在、存在する場合に、Ar¹はフェニル環が好ましい；Alk¹及びAlk²は、例えば任意に置換されていてもよい-CH₂、CH₂CH₂-又は-CH=CH-から選択される二価の基であり得る。Alk¹及びAlk²中の任意置換基は、例えばモノ-又はジ-(C₁~C₃アルキル)アミノ及びC₁~C₃アルコキシを含む；

10

20

30

40

50

Zは、例えば-O-又は-NH-であり得る；Qは水素である。

【0032】

本発明に係る化合物の単純なサブクラスにおいて、mは1でありp、r及びsのそれぞれは0であり、かつQは水素であることによってR₂は任意に置換されていてもよいアリール又はヘテロアリールである。このような場合、R₂は、例えば任意に置換されていてもよいフェニル、2-若しくは3-チエニル、2-若しくは3-フラニル、2-、3-若しくは4-ピリジニル、モルホリニル又はピペリジニルであり得る。現在好ましいものは、R₂が例えば任意置換基がメチル、エチル、n-若しくはイソプロピル、ビニル、アリル、メトキシ、エトキシ、n-プロピルオキシ、ベンジルオキシ、アリルオキシ、シアノメトキシ クロロ、プロモ、シアノ、ホルミル、メチル-、エチル-若しくはn-プロピル-カルボニルオキシ、メチル-若しくはエチルアミノカルボニルから選択される、任意に置換されていてもよいフェニルである化合物である。R₂環中に存在できるより複雑な置換基は、(i) 式-O(CH₂)_nZ¹ (式中、nは1、2又は3であり、Z¹は第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ又はC₁~C₆アルコキシ基であるか；或いは(ii) 式-(Alk³)_mZ¹ (式中、Alk³は二価の直鎖又は分枝鎖状の(C₁~C₃)アルキレンであり、mは0又は1であり、Z¹は第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ基、又はC₁~C₆アルコキシ基である)のものを含む。フェニル環中の好ましい置換の位置は、2、4及び5位である。

10

【0033】

その他の単純な構造において、mは1であり、p、r及びsはそれぞれ0であり、Qは任意に置換されていてもよい炭素環式又は複素環式環、例えばフェニル、シクロヘキシル、ピリジル、モルホリノ、ピペリジニル又はピペラジニル環であり得る。このような場合、Qは任意に置換されていてもよいAr¹環中の直接の置換基である。

20

【0034】

本発明に係るより複雑な構造において、m、p、r及びsの1つ又は複数は1であり、Qは水素又は任意に置換されていてもよい炭素環式又は複素環式環であり得る。例えば、p及び/又はsは1であり得、rは0であり得るので、Qは、任意に置換されていてもよいアルキレン又はアルケニレン基、例えばC₁~C₃アルキレン基によりAr¹に連結する。別の場合において、p、r及びsは1であり得、この場合、Qは、ヘテロ原子含有Z基が介在するアルキレン又はアルケニレン基によりAr¹に連結する。さらに別の場合において、p及びsは0であり得、rは1であり得、この場合、Qはヘテロ原子含有Z基を介してAr¹に連結する。

30

本発明の化合物において用い得るR₂基の具体例は、本明細書の実施例の化合物に存在するものを含む。

【0035】

任意置換基R₃

R₃は、水素又は上記で規定する任意置換基である。現在、R₃が水素であるのが好ましい。

【0036】

R₄基

本発明の化合物のある特定のサブクラスにおいて、R₄は、水素、ニトリル又は-C(=NOH)(NH₂)である。

40

別のサブクラスにおいて、R₄は、イミダゾリル又はオキサジアゾリル基、ヒドロキシル又は第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ基で任意に置換されていてもよいC₁~C₆アルキル基、或いは式-C(=O)R₅ (式中、R₅はC₁~C₆アルキル又はフェニル基である)の基、或いは式-C(=O)NHR₆ (式中、R₆はN-ピペリジニル、N-モルホリニル、N-ピペラジニル、N¹-メチル-N-ピペラジニル、N-トリアゾリル、C₁~C₆アルキルオキシ又はモノ-若しくはジ-C₁~C₆アルキルアミノである)の基である。

【0037】

本発明の化合物のある好ましいサブクラスにおいて、R₄は任意に置換されていてもよいフェニル、フェニル(C₁~C₆アルキル)-、複素環式又は複素環(C₁~C₆アルキル)-基であり、ここで複素環部分は、5又は6個の環原子を有する単環である。このサブクラスは、R₄が

50

任意にオキサジアゾリル、イミダゾリル、ジヒドロ-イミダゾリル、トリアゾリル、ピラゾリル、ピロリル、チアゾリル又はテトラゾリル基である化合物を含む。具体的に、このサブクラスにおいて、 R_4 はオキサジアゾール-3-イル、4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール-2-イル、[1,2,4]トリアゾール-4-イル、5-アミノ-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル、4-若しくは5-メチル-2H-ピラゾール-3-イル、1H-ピロール-2-イル、2-アミノ-5-メチル-チアゾール-4-イル、3H-イミダゾール-4-イル又は2H-テトラゾール-5-イル基であり得る。

【0038】

本発明の化合物の別の好ましいサブクラスにおいて、 R_4 は、任意に置換されていてもよいメチル、エチル又はn-プロピルである。このサブクラスにおいて、 R_4 における置換基は、アミノ、メチルアミノ、エチルアミノ、n-プロピルアミノ、アセトアミド、オキソ、ヒドロキシル、フェニル、メチル、エチル及びn-プロピルから選択できる。具体的に、このサブクラスにおいて、 R_4 はアセトアミドメチル、ホルミル、2-ヒドロキシ-2-メチル-プロピル、2-ヒドロキシ-2-エチル-ブチ-1-イル、ヒドロキシメチル、エチルカルボニル、フェニルカルボニル、n-プロピルアミノメチル、アミノメチル、又はジフェニル-ヒドロキシメチルであり得る。

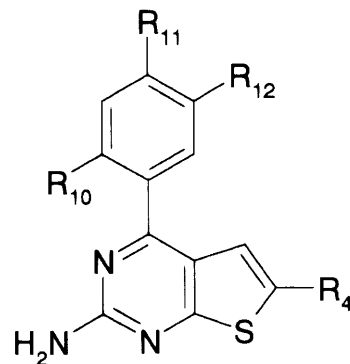
10

本発明の化合物において用い得る R_4 基の具体例は、本明細書中の実施例の化合物に存在するものを含む。

【0039】

本発明に係る化合物の好ましいサブクラスは、式(II)：

【化2】



(II)

20

30

[式中、

R_4 は上記で規定したとおりであり；

R_{10} はH、Cl、Br又は CH_3 であり；

R_{11} は水素、Cl、Br、CN、メチル、エチル、n-若しくはイソ-プロピル、ビニル又はアリルであり；

R_{12} は、(i) 式- $O(CH_2)_nZ^1$ (式中、nは1、2又は3であり、 Z^1 は第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ基、又は $C_1 \sim C_6$ アルコキシ基である)の基；或いは(ii) 式- $(Alk^3)_mZ^1$ (式中、 Alk^3 は、二価の直鎖又は分枝鎖状の($C_1 \sim C_3$)アルキレンであり、mは0又は1であり、 Z^1 は第1級、第2級、第3級若しくは環状のアミノ基又は $C_1 \sim C_6$ アルコキシ基である)の基である]

40

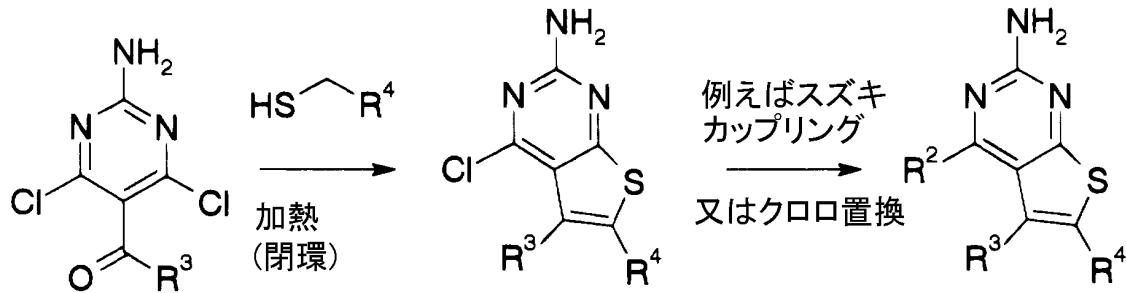
を有する。

本発明に係る具体的な化合物は、実施例に記載されたものを含む。

【0040】

本発明に係る化合物は、本明細書の製造実施例のもののような文献の方法、及びそれらと同様の方法により製造できる。例えば、次の一般的な反応スキームを用いることができる：

【化3】



10

原料は、市販で入手可能であるか、又は文献の方法に従って製造できるかのいずれかである。その後の反応は、 R_2 、 R_3 又は R_4 について、式(1)のさらなる化合物を製造するように行い得る。

【0041】

本発明の化合物は、HSP90の阻害剤であり、HSP90活性の阻害に応答性の疾患、例えば癌；ウイルス疾患、例えばC型肝炎(HCV) (Waxman, 2002)；免疫抑制、例えば移植において(Bijlmakers, 2000及びYorgin, 2000)；抗炎症性疾患(Bucci, 2000)、例えばリウマチ性関節炎、喘息、MS、I型糖尿病、狼瘡、乾癬及び炎症性腸疾患；嚢胞性繊維症 (Fuller, 2000)；血管形成関連疾患(Hur, 2002及びKurebayashi, 2001)；糖尿病性網膜症、血管腫、乾癬、子宮内膜症並びに腫瘍血管形成の治療において有用である。本発明のHsp90阻害剤は、化学療法により誘導された毒性に対して正常細胞を保護でき、アポトーシスを受けること(undergo)の失敗が根本的な因子である疾患において有用である。このようなHsp90阻害剤は、細胞ストレス又は熱ショックタンパク質応答の誘導が有益であり得る疾患、例えば心臓(Hutter, 1996 and Trost, 1998)及び脳(Plumier, 1997及びRajder, 2000)におけるHsp70の上昇による低酸素症-虚血性損傷からの保護においても有用であり得る。Hsp90阻害剤により誘導されるHsp70レベルの増加は、タンパク質の間違った折り畳み又は凝集が主要な原因因子である疾患、例えば神経変性疾患、例えばスクラピー/CJD、ハンチントン病又はアルツハイマー病(Sittler, 2001; Trazelt, 1995及びWinklhofer, 2001)でも有用であり得る。

20

【0042】

よって、本発明は：

- (i) 上記の式(1)の化合物を、医薬的又は獣医学的に許容される担体とともに含む医薬又は獣医学的組成物、
- (ii) インビトロ又はインビボにおけるHSP90活性の阻害のための組成物の製造における上記の式(1)の化合物の使用、
- (iii) HSP90活性の阻害に有効な量の上記の式(1)の化合物を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物においてHSP90活性の阻害に応答性の疾患又は状態を治療する方法も含む。

30

【0043】

いずれの特定の患者についての具体的な用量レベルは、用いる具体的な化合物の活性、年齢、体重、全身の健康、性別、食餌、投与時間、投与経路、排出経路、薬剤の併用及び原因の機構、並びに治療を受ける特定の疾患の重篤度を含む多様な因子に依存することが理解される。一般的に、経口投与可能な製剤の適切な用量は、通常、0.1~3000 mgの範囲で1日当たり1、2若しくは3回、又は点滴若しくはその他の経路により投与される等価な1日量である。しかし、最適用量レベル及び投与頻度は、当該技術における常識であるように、臨床試験により決定される。

40

【0044】

本発明に係る化合物は、その薬物動力学的特性に矛盾しないいずれの経路による投与用に製造できる。経口投与可能な組成物は、錠剤、カプセル剤、粉剤、顆粒剤、ロゼンジ、液剤又はゲル製剤、例えば経口、局所又は滅菌非経口の溶液若しくは懸濁剤の形であり得

50

る。経口投与用の錠剤及びカプセル剤は、単位用量製剤の形であり得、従来の賦形剤、例えば結合剤、例えばシロップ、アカシア、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント又はポリビニルピロリドン；充填剤、例えばラクトース、砂糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトール又はグリシン；打錠滑沢剤、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール又はシリカ；崩壊剤、例えばバレイショデンプン或いは許容される湿潤剤、例えばラウリル硫酸ナトリウムを含み得る。錠剤は、通常の製薬上の手法において公知の方法に従って被覆できる。経口液体製剤は、例えば水性若しくは油性の懸濁剤、溶液、乳剤、シロップ若しくはエリキシルの形であり得るか、又は水若しくはその他の適切な媒体で使用前に再構成するための乾燥製剤として提示され得る。このような液体製剤は、従来の添加剤、例えば懸濁化剤、例えばソルビトール、シロップ、メチルセルロース、グルコースシロップ、ゼラチン水素化食用脂質(gelatin hydrogenated edible fats)；乳化剤、例えばレシチン、ソルビタンモノオレエート又はアカシア；非水性媒体(食用油を含み得る)、例えばアーモンド油、ヤシ油、油状エステル、例えばグリセリン、プロピレングリコール若しくはエチルアルコール；防腐剤、例えばメチル若しくはプロピルp-ヒドロキシベンゾエート又はソルビン酸、及び所望により従来の香料又は着色剤を含み得る。

10

【0045】

皮膚への局所塗布のために、薬剤は、クリーム、ローション又は軟膏として製造できる。薬剤に用い得るクリーム又は軟膏製剤は、当該技術において公知の従来の製剤であり、例えば英国薬局方(British Pharmacopoeia)のような製薬の標準的な参考書に記載されるものである。

20

【0046】

活性成分は、滅菌媒体中に非経口で投与することもできる。用いる媒体及び濃度に応じて、薬剤は媒体中に懸濁できるか又は溶解できるかのいずれかである。有利には、局所麻酔剤のようなアジュバント、防腐剤及び緩衝剤を媒体に溶解できる。

【実施例】

【0047】

次の実施例は、本発明の具体的な化合物の製造及び活性を説明する。

一般的な手法

市販で入手した全ての試薬は、さらなる精製を行わずに用いた。無水溶媒は、市販で入手し、さらなる乾燥を行わずに用いた。フラッシュクロマトグラフィーは、プレバックシリカゲルカートリッジ(Strata SI-1; 61, Phenomenex, Cheshire UK又はIST Flash II, 54, Argonaut, Hengoed, UK)を用いて行った。薄層クロマトグラフィーは、Merck Type 60 F₂₅₄シリカゲルで被覆した5×10 cmプレートで行った。

30

【0048】

本発明の化合物は、四重極検出器(イオン化モード：エレクトロスプレーポジティブ、カラム：Phenomenex Luna 3u C18(2) 30×4.6 mm、2.5 LのHPLCグレードのH₂Oに1.93gの酢酸アンモニウムを溶解し、2 mLのギ酸を加えることにより調製したバッファーA。132 mLのバッファーAを、2.5 LのHPLCグレードのアセトニトリルに加え、2 mLのギ酸を加えることにより調製したバッファーB。溶出グラジエント：3.75分間で95：5～5：95のバッファーA：バッファーB。流速 = 2.0 mL/分)に連結したHewlett Packard 1100シリーズLC/MSDを用いるLC/MSにより特性決定した。同じグラジエント及び流速を、7分間で運転する場合もあった。運転時間は、各実施例に記載する。

40

【0049】

分取HPLC精製(標準的な方法)は、質量によりフラクションを回収するWaters分取HPLCを用いて行った。質量検出器は、マイクロマスZQシリーズ2000であり、イオン化モード：エレクトロスプレーポジティブ、カラム：Phenomenex Gemini C18 5 μm、100×21.2mm。バッファーA：0.08% (v/v)ギ酸、20 mM酢酸アンモニウム。バッファーB：0.08% (v/v)ギ酸、5% (v/v) A。流速20 ml/分。

【0050】

50

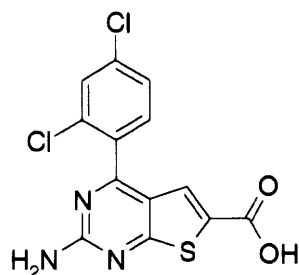
核磁気共鳴(NMR)分析は、Bruker DPX-400 MHz NMR分光計を用いて行った。参照スペクトルは、溶媒の既知の化学シフトであった。プロトンNMRデータは、次のようにして報告する：ppmでの化学シフト()、多重度(s = シングレット、d = ダブルレット、t = トリプレット、q = カルテット、p = ペンテット、m = マルチプレット、dd = ダブルレットのダブルレット、br = ブロード)、結合定数、積分値。

【0051】

実施例1

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸

【化4】



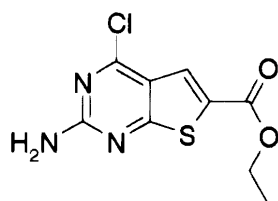
10

【0052】

工程1

2-アミノ-4-クロロ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル

【化5】



20

【0053】

アセトニトリル中の2-アミノ-4,6-ジクロロ-5-ホルミル-ピリミジン(1 eq.)及び炭酸カリウム(1 eq.)の攪拌した混合物中に、周囲温度にてエチル-2-メルカプトアセテート(0.9 5 eq.)を加え、混合物を周囲温度にて3時間攪拌し、その後、80 にて1時間加熱した。冷却後、混合物を真空で濃縮乾燥した。酢酸エチル及びヘキサンで溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、生成物を黄色粉末として得た。

30

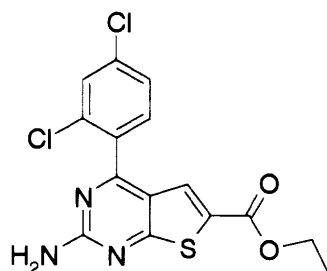
LC-MS保持時間：2.371分， [M+H]⁺ 258

【0054】

工程2 (スズキ反応)：

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル

【化6】



40

【0055】

ジメチルホルムアミド(50 ml)を、2-アミノ-4-クロロ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル(2.86 g; 0.0111モル)、2,4-ジクロロフェニルボロン酸(2.78

50

g; 0.0144モル)及び炭酸水素ナトリウム(2.79 g; 0.0333モル)の混合物に加えた。次いで、水(10 ml)を加え、得られた懸濁物を、排気-窒素パージにより脱気した。次いで、反応混合物に窒素ガスを5分間通気した。ジクロロ-ビス-トリフェニルホスフィンパラジウム(II) (388 mg; 5モル%)を加え、反応混合物を85℃にて5.5時間加熱した。反応混合物を冷却し、溶媒を真空除去した。残渣を酢酸エチル(350 ml)及び水(200 ml)で分割した。混合物を10分間激しく攪拌し、次いで、セライトパッドを通してろ過してPd残存固体を除去した。濾過相を分離し、有機相を水(200 ml)、次いで飽和塩化ナトリウム水溶液(200 ml)で洗浄した。有機相をNa₂SO₄で乾燥し、ろ過し、ろ液の溶媒を真空除去して茶色の固体を得た。生成物を酢酸エチル-ヘキサン混液で粉碎して、黄色固体の物質を得た(2.291 g; 56%)。

10

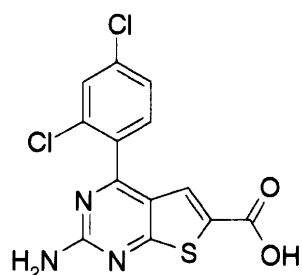
LC-MS保持時間: 2.741分, [M+H]⁺ 370, 368

【0056】

工程3 (エステル加水分解)

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸

【化7】



20

【0057】

水酸化ナトリウム(0.988 g; 0.0248モル)を、エタノール(100 ml)及び水(10 ml)の混液中の2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸エチルエステル(4.548 g; 0.0124モル)に加えた。反応混合物を、1時間15分間還流加熱し、次いで周囲温度に冷却した。溶媒を真空除去し、残渣を水(100 ml)に懸濁した。混合物を、塩酸溶液(2.0M)の滴下により中和し、凍結乾燥して、物質を淡茶色の固体として得た(2等量の塩化ナトリウムを含む)、5.626 g; 99%。少量のサンプルを、分取HPLCによりさらに精製した。

30

LC-MS保持時間: 2.185分, [M+H]⁺ 342, 340

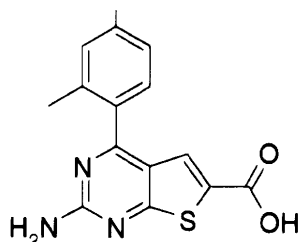
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0058】

実施例2

2-アミノ-4-(2,4-ジメチル-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸

【化8】



40

【0059】

2,4-ジメチルフェニルボロン酸をスズキカップリング反応(工程2)において用いて、実施例1と同様にして製造した。

LC-MS保持時間: 1.959分, [M+H]⁺ 300

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「B」の活性を有した。

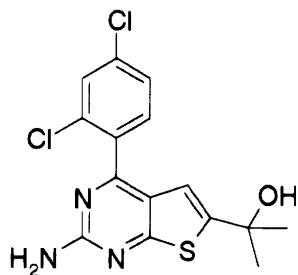
【0060】

50

実施例3

2-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-プロパン-2-オール

【化9】



10

【0061】

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル(200 mg, 0.543 mmol, 1 eq)を、無水テトラヒドロフラン(5 ml)に溶解し、窒素雰囲気下に-78 に冷却した。メチルマグネシウムブロミド(ジエチルエーテル中に3M, 0.543 ml, 3 eq)を加え、反応物を室温に暖めて、20時間攪拌した。混合物を水で急冷し、水で100 mlに希釈し、pHを塩酸水溶液(2.0M)の添加によりpH1に調整した。混合物を、ジクロロメタン(2×100 ml)を用いて抽出し、合わせた有機抽出物を飽和塩水(50 ml)で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥した。溶媒を蒸発させ、茶色の残渣をシリカゲルで精製した(1:50

20

メタノール:ジクロロメタンで溶出)。得られた黄色の残渣をジエチルエーテルで粉砕した。収率:38mg (20%)

LC-MS保持時間:2.369分, [M+H]⁺ 2個のClの分裂パターンを伴う354及び356

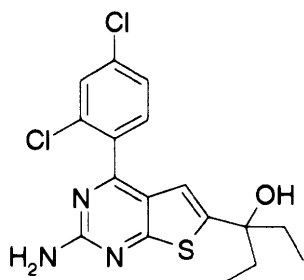
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「B」の活性を有した。

【0062】

実施例4

3-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-ペンタン-3-オール

【化10】



30

実施例3と同様にして調製。

LC-MS保持時間:2.614分, [M+H]⁺ 2個のClの分裂パターンを伴う382及び384

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

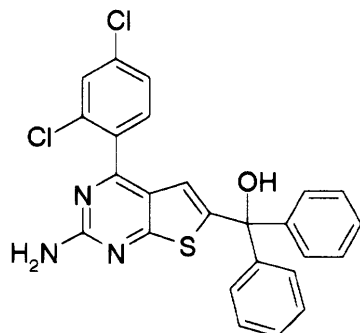
40

【0063】

実施例5

[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-ジフェニル-メタノール

【化 1 1】



10

実施例3と同様にして調製。

LC-MS保持時間：2.791分， $[M+H]^+$ 2個のClの分裂パターンを伴う478及び480

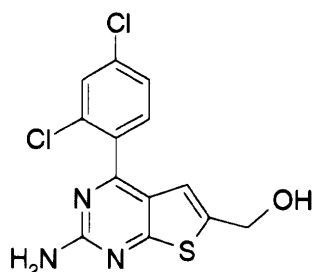
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「B」の活性を有した。

【0064】

実施例6

[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル] メタノール

【化 1 2】



20

【0065】

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル(0.50g, 1.36mmol, 1eq)を、無水THF (8 ml)中に、-78 にて窒素雰囲気下に溶解した。水素化ジイソブチルアルミニウム(THF中に1M, 5.43 ml, 4eq)を加えた。反応物を室温まで温め、30分間攪拌した。黒色の反応混合物を砕いた氷に注ぎ、10 mlの2M HCl水溶液で酸性にし、500 mlのジクロロメタン中に抽出した。有機相を飽和塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、真空蒸発させた。淡茶色の残渣の固体を、酢酸エチル及びヘキサンの混液で溶出するシリカゲルで精製した。得られた淡茶色の固体をジエチルエーテルで粉碎して、オフホワイトの固体を得た(0.185 g, 42%)。

30

LC-MS保持時間：2.185分， $[M+H]^+$ 2個のClの分裂パターンを伴う326及び328

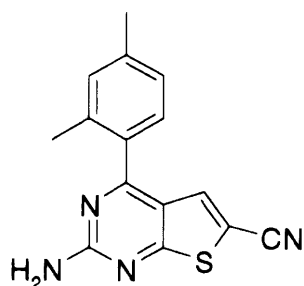
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0066】

実施例7

2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル

【化 1 3】



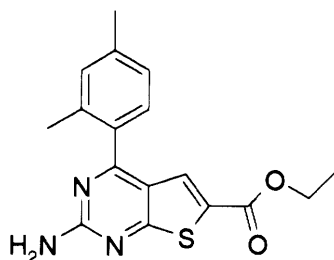
50

【 0 0 6 7 】

工程1

2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチル
エステル

【化14】

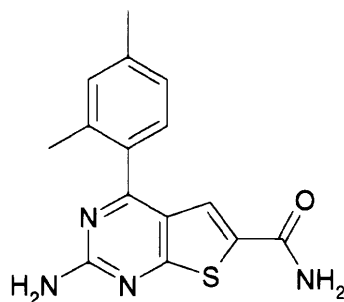


10

実施例1 (工程2)と同様にして調製。

【 0 0 6 8 】

工程2

2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 アミド
【化15】

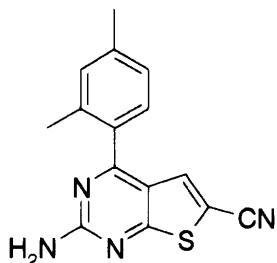
20

メタノール性アンモニア(7N)中の2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]
]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステルの懸濁物を、密閉した試験管中で85℃にて72
時間加熱した。得られた溶液を濃縮し、残渣をジエチルエーテルで粉砕して、淡黄色の粉
末を得た。

30

【 0 0 6 9 】

工程3

2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル
【化16】

40

無水トリフルオロ酢酸を、2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリ
ミジン-6-カルボン酸アミドのピリジン/ジクロロメタン溶液に約0℃にて(氷/水浴)加え
、溶液を約2時間攪拌した。水を加え、混合物をアンモニア水溶液(0.880)、水及び飽和塩
化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を濃縮し、残渣をジエチルエーテルで粉砕して、淡
黄色固体を得た。

LC保持時間 2.597分 [M+H]⁺ 281

(運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

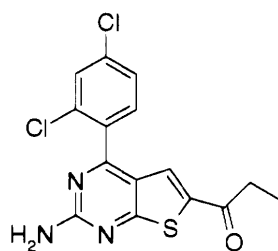
50

【 0 0 7 0 】

実施例8

1- [2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-6-イル] -プロパン-1-オン

【化17】



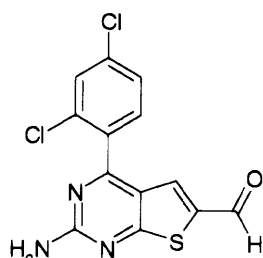
10

【 0 0 7 1 】

工程1

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-6-カルボアルデヒド

【化18】



20

[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-6-イル] メタノール (1.77 g, 5.427 mmol, 1eq)を、アセトン(150 ml)に溶解した。ジョーンズ(Jones)試薬(2.59M, 2.096 ml, 5.427 mmol, 1eq)を加え、その際、緑色の沈殿物が形成された。反応混合物を室温にて1時間攪拌し、メタノールで急冷し、セライトを通してろ過した。澄明な溶液を蒸発乾燥し、黄色の残渣を酢酸エチル (800 ml)及び飽和炭酸水素ナトリウム溶液(2×300 ml)に分配した。有機相を水(300 ml)及び飽和塩水(300 ml)で洗浄し、蒸発させて黄色固体を得た(1.22 g, 69%)。

30

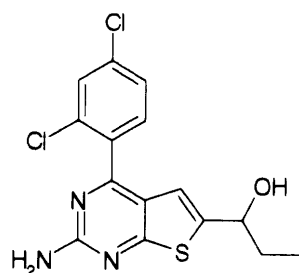
LC-MS保持時間: 2.489分, [M+H]⁺ 2個のClの分裂パターンを伴う324及び326

【 0 0 7 2 】

工程2

1- [2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-6-イル] -プロパン-1-オール

【化19】



40

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-6-カルボアルデヒド (150 mg, 0.463 mmol, 1eq)の無水THF (5 ml)溶液中に、窒素雰囲気下で、エチルマグネシウムブロミド(THF中に1M, 2.31 ml, 5 eq)を-78 にて加えた。反応物を室温まで温め、還流で4時間攪拌し、その後、さらに2.31 ml (5 eq)のエチルマグネシウムブロミド

50

を加え、還流にて4時間攪拌した。次いで、水で急冷し、希HClで酸性にして、酢酸エチル中に抽出した。有機相を乾燥蒸発させ、5 gのシリカゲルカートリッジ上で精製した。未反応のアルデヒドが1:5 酢酸エチル:ヘキサンを用いて溶出され、所望の物質は1:1 酢酸エチル:ヘキサンを用いて溶出された。収率:15 mg (9%)。

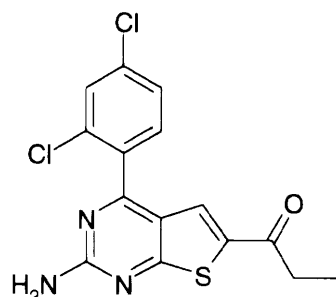
LC-MS保持時間: 2.418分, $[M+H]^+$ 2個のClの分裂パターンを伴う354及び356

【0073】

工程3

1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-プロパン-1-オン

【化20】



【0074】

1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-プロパン-1-オール(15 mg, 0.042 mmol, 1eq)をアセトン(4 ml)に溶解し、ジョーンズ試薬(2.59M, 16.35 μ L, 1eq)を加えた。30分間の攪拌の後、緑色の沈殿物をセライトパッドを通して留去し、ろ液を蒸発乾燥した。サンプルを分取HPLCで精製した。収率: 9.4 mg (64%)

LC-MS保持時間: 2.632分, $[M+H]^+$ 2個のClの分裂パターンを伴う352及び354

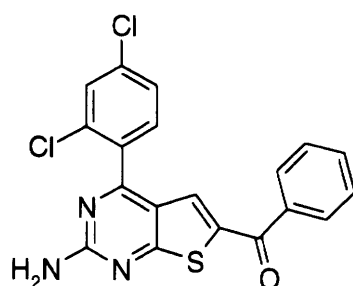
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0075】

実施例9

1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェニル-メタノン

【化21】



実施例8と同様にして調製。

LC-MS保持時間: 2.771分, $[M+H]^+$ 2個のClの分裂パターンを伴う400及び402

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0076】

実施例10

4-(2,4-ジメチル-フェニル)-6-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

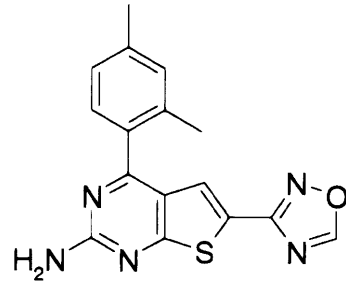
10

20

30

40

【化22】



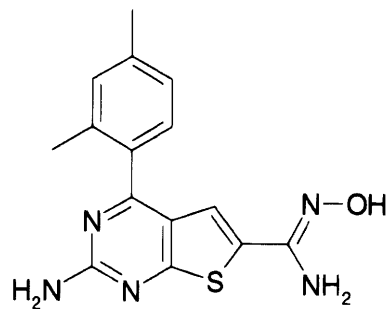
【0077】

10

工程1

2-アミノ-4-(2,4-ジメチル-フェニル)-N-ヒドロキシ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボキサミジン

【化23】



20

【0078】

ヒドロキシルアミン塩酸塩及び酢酸ナトリウムを、エタノール中の2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリルの懸濁物に加え、懸濁物を90分間還流加熱した。得られた懸濁物を冷却し、水を加えて淡黄色の沈殿物を得た。固体をろ過により回収し、水で洗浄して淡黄色の粉末を得て、これを真空乾燥した。

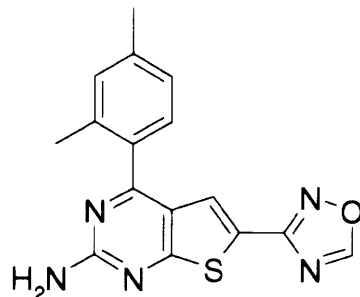
【0079】

30

工程2

4-(2,4-ジメチル-フェニル)-6-[1,2,4]オキサジアゾール-3-イル-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化24】



40

【0080】

オルトギ酸トリエチルを、2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボキサミジンの1,4-ジオキサン溶液に、窒素雰囲気下に加えた。三フッ化ホウ素エーテル化合物(cat.)を加え、溶液を100℃にて90分間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、ジクロロメタンを加え、溶液をアンモニア水溶液(0.880)、水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃赤色固体まで濃縮し、これを酢酸エチル及びヘキサンの混液で溶出するシリカゲルクロマトグラフィーで精製した。

LC保持時間 2.554分 [M+H]⁺ 324

(運転時間3.75分)

50

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

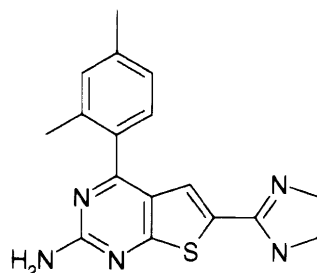
【0081】

実施例11

6-(4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール-2-イル)-4-(2,4-ジメチル-フェニル)-チエノ[2,3-d]

]ピリミジン-2-イルアミン

【化25】



10

【0082】

エチレンジアミンを、2-アミノ-4-(2,4-ジメチルフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボキサミジン(実施例10 工程1)の酢酸溶液に加え、溶液を125℃にて18時間加熱した。得られた溶液を冷却し、淡茶色の半固体まで濃縮した。残渣をジクロロメタン中に採取し、アンモニア水溶液(0.880)及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、淡黄色/緑色のガム質まで濃縮した。得られた残渣を分取HPLCにより精製した。

20

LC保持時間 1.672分 [M+H]⁺ 324.2 (運転時間3.75分)

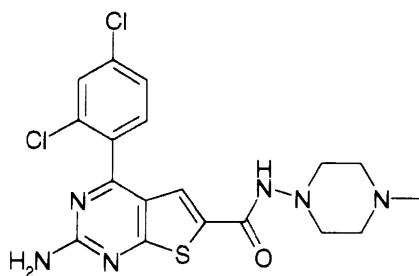
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0083】

実施例12

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 (4-メチル-ピペラジン-1-イル)アミド

【化26】



30

【0084】

0-(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 ヘキサフルオロホスフェート(0.108 g, 0.284 mmol)を、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸(0.100 g, 0.219 mmol) (実施例1の化合物)に加えた。この混合物をジメチルホルムアミド (DMF) (2.5 ml)中に懸濁し、ジイソプロピルエチルアミン (115 μL; 0.657 mmol)を加えて黄色の溶液を得た。1-アミノ-4-エチルピペラジン(35 μL; 0.284 mmol)を加え、反応混合物を、マイクロ波シンセサイザ内の密閉バイアル中で100℃にて10分間加熱した。DMFを真空除去し、残渣を酢酸エチル(20 ml)及び水(20 ml)で分配した。相を分離し、有機相を飽和塩化ナトリウム溶液で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。混合物をろ過し、ろ液の溶媒を真空除去すると黄色の固体が残り、これを分取HPLCにより精製した。

40

LC保持時間 1.716分 [M+H]⁺ 439, 437 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

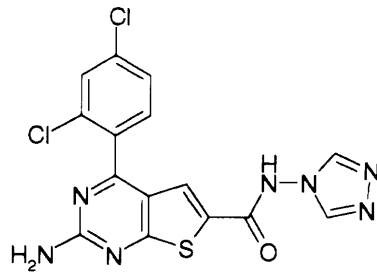
【0085】

50

実施例13

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 [1,2,4]トリアゾール-4-イルアミド

【化27】



10

実施例12と同様にして調製。

LC保持時間 1.977分 [M+H]⁺ 408, 406 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0086】

以下の化合物(表1)は、対応するカルボン酸(実施例1の方法により作製)及び適切なヒドロキシルアミン又はヒドラジン誘導体から、実施例12の方法により作製した。

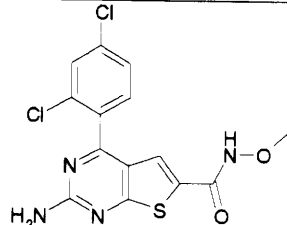
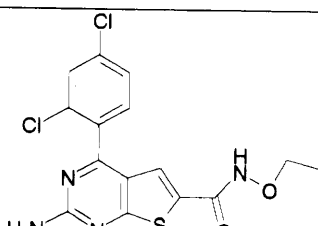
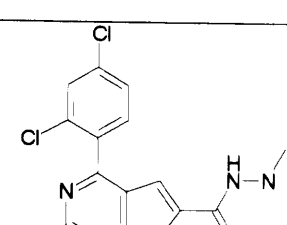
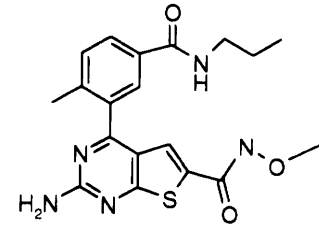
表1の最後の列は、以下に記載する蛍光偏向アッセイにおける化合物の活性を記載する。

。

【0087】

20

【表1】
表1

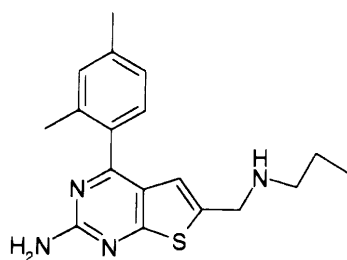
実施例	構造	MH+	Hsp90 FP IC50
14		370	A
15		384	A
16		369	A
17		400	A

【0088】

実施例18

4-(2,4-ジメチル-フェニル)-6-プロピルアミノメチル-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化28】



【0089】

工程1 (アミド合成)

2-アミノ-4-(2,4-ジメチル-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 プロピ

10

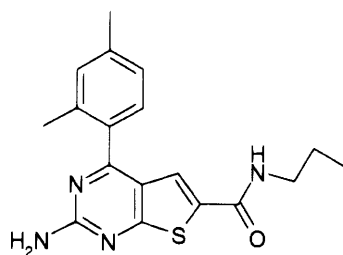
20

30

40

50

ルアミド
【化29】



10

実施例2の化合物及びn-プロピルアミンから、実施例12と同様にして調製。

【0090】

工程2 (アミド還元)

4-(2,4-ジメチル-フェニル)-6-プロピルアミノメチル-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化30】



20

【0091】

水素化アルミニウムリチウムの溶液(1.0M; 0.300 ml; 0.30 mmol)を、2-アミノ-4-(2,4-ジメチル-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 プロピルアミド (0.050 g; 0.15 mmol)の無水THF (4.0 ml)溶液に、窒素雰囲気下で滴下した。反応混合物を2時間還流加熱し、室温まで冷却した。水(0.15 ml)、続いて1.0M 水酸化ナトリウム溶液(0.15 ml)を加えた。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、セライトの小パッドを通してろ過した。ろ液の溶媒を真空除去し、茶色の油を得て、これを分取HPLCにより精製して、生成物をオフホワイトの固体として得た(9 mg; 19%)。

30

LC保持時間 1.719分 [M+H]⁺ 327 (運転時間3.75分)

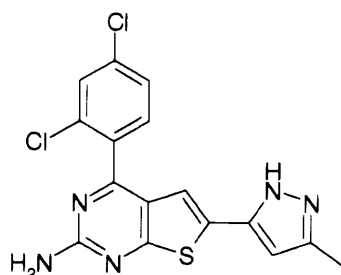
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0092】

実施例19

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-(5-メチル-2H-ピラゾール-3-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化31】



40

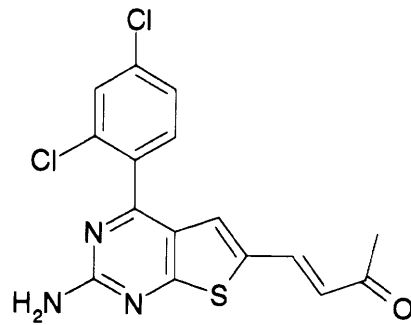
【0093】

工程1

4-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-ブテ-3

50

-エン-2-オン
【化32】



10

【0094】

1-(トリフェニルホスホラニリデン)-2-プロパノン、トルエン中の2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボアルデヒド(実施例8 工程1)の懸濁物に加え、混合物を約95℃にて120分間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、ヘキサンを加えた。固体をろ過により除去し、ヘキサンで洗浄し、真空乾燥して生成物を黄色固体として得た。

LC保持時間 2.550分 [M+H]⁺ 363.9/365.9 (運転時間3.75分)

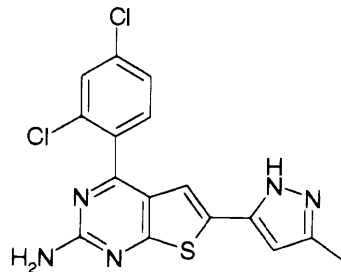
【0095】

工程2

20

4-(2,4-ジクロロフェニル)-6-(5-メチル-2H-ピラゾール-3-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化33】



30

【0096】

p-トルエンスルホニルヒドラジドを、エタノール中の4-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピラミジ-6-イル]-ブテ-3-エン-2-オンの懸濁液に加え、混合物を約80℃にて約90分間加熱した。得られた溶液を冷却し、ナトリウムエトキシドを加えた。混合物を約80℃にて4時間加熱し、次いで得られた溶液を周囲温度まで冷却し、酢酸エチルを加えた。混合物を飽和塩化アンモニウム溶液、水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、黄色固体まで濃縮した。粗生成物を分取HPLCにより精製して、生成物を黄色固体として得た。

LC保持時間 2.428分 [M+H]⁺ 376/377.9 (運転時間3.75分)

40

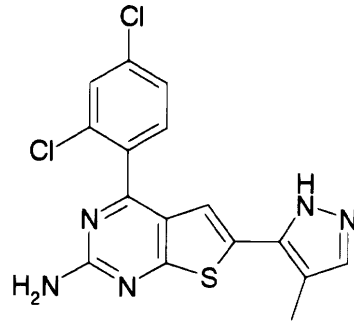
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0097】

実施例20

4-(2,4-ジクロロフェニル)-6-(4-メチル-2H-ピラゾール-3-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化34】



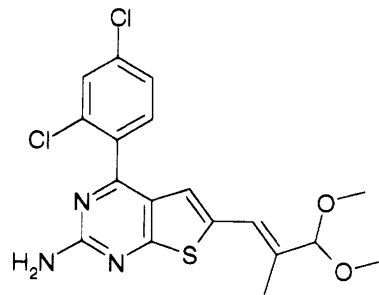
10

【0098】

工程1

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-(3,3-ジメトキシ-2-メチル-プロペニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-2-イルアミン

【化35】



20

【0099】

2-(トリフェニルホスホラニリデン)-プロピオンアルデヒドを、トルエン中の2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-6-カルボアルデヒド (工程1 実施例8) の懸濁物に加え、混合物を約95 にて約120分間加熱した。得られた溶液を冷却し、橙色の固体まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン/メタノール及びトリエチルアミンの混液で溶出するイオン交換クロマトグラフィーにより精製した(精製の際にジメチルアセタールが形成された)。粗生成物を、酢酸エチル及びヘキサンの混液で溶出するカラムクロマトグラフィーにより再び精製して、生成物を黄色のガム質として得た。

30

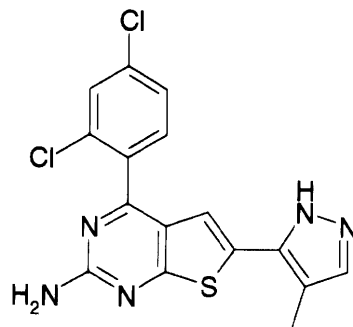
LC保持時間 2.760分 [M+H]⁺ 410/412 (運転時間3.75分)

【0100】

工程2

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-(4-メチル-2H-ピラゾール-3-イル)-チエノ [2,3-d] ピリミジン-2-イルアミン

【化36】



40

【0101】

p-トルエンスルホニルヒドラジドを、エタノール中の4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-(3,3-ジメトキシ-2-メチル-プロペニル)-チエノ [2,3-d] ピラミジ-2-イルアミンの懸濁物

50

に加え、混合物を約80℃にて約90分間加熱した。得られた溶液を冷却し、ナトリウムエトキシドを加えた。混合物を約80℃にて約2時間加熱し、得られた溶液を冷却して濃縮した。残渣を酢酸エチルに採取し、飽和塩化アンモニウム溶液、水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、黄色固体まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、生成物を黄色固体として得、固体をジエチルエーテルで洗浄して真空乾燥した。

LC保持時間 2.450分 [M+H]⁺ 376/377.9 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

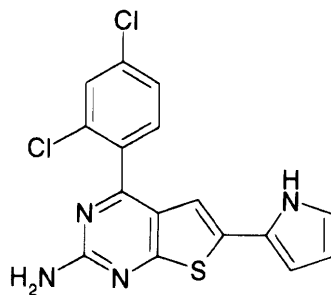
【0102】

10

実施例21

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-(1H-ピロール-2-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化37】



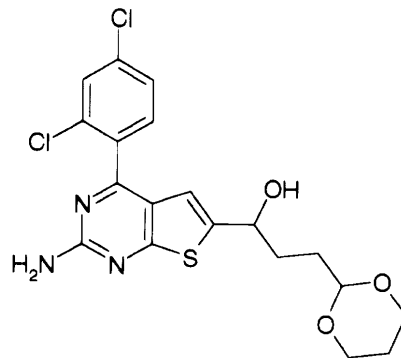
20

【0103】

工程1

1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-3-[1,3]ジオキサン-2-イル-プロパン-1-オール

【化38】



30

【0104】

(1,3-ジオキサン-2-イルエチル)マグネシウムプロミドを、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボアルデヒド(工程1; 実施例8)の1,4-ジオキサン溶液に、約-78℃にて窒素雰囲気下に加えた。得られた溶液を、約-78℃にて60分間及び室温にて約90分間攪拌した。得られた懸濁物を冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えた。混合物を酢酸エチルで抽出し、抽出物を水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、橙色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、酢酸エチル及びヘキサンの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物を黄色のガム質として得た。

40

LC保持時間 2.337分 [M+H]⁺ 440/442 (運転時間3.75分)

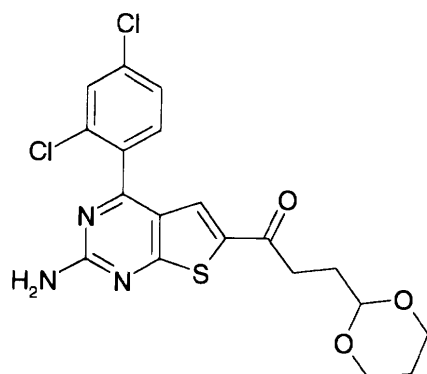
【0105】

工程2

50

1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-3-[1,3]ジオキシン-2-イル-プロパン-1-オン

【化39】



10

【0106】

酸化マンガン(IV) (15等量)を、1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-3-[1,3]ジオキシン-2-イル-プロパン-1-オールの1,4-ジオキサン溶液に加え、混合物を約100にて90分間加熱した。得られた懸濁物をろ過し、ろ液を黄緑色の固体まで濃縮した。固体をヘキサンで洗浄し、真空乾燥した。

LC保持時間 2.583分 [M+H]⁺ 438/440 (運転時間3.75分)

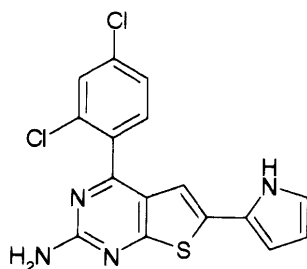
20

【0107】

工程3

4-(2,4-ジクロロフェニル)-6-(1H-ピロール-2-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化40】



30

【0108】

塩酸(aq) (約6M)を、1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-3-[1,3]ジオキシン-2-イル-プロパン-1-オンの1,4-ジオキサン溶液に加え、得られた溶液を約75にて約90分間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、赤色の固体まで濃縮した。これらの固体を、酢酸及び酢酸アンモニウム(20等量)を加えて懸濁した。得られた懸濁物を約125にて約24時間加熱し、周囲温度まで冷却し、水中に注いだ。混合物を酢酸エチルで抽出し、抽出物を水、次いで飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、緑-茶色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、酢酸エチル及びヘキサンの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物を黄緑色の固体として得て、真空乾燥した。

40

LC保持時間 2.641分 [M+H]⁺ 360.9/362.9 (運転時間3.75分)

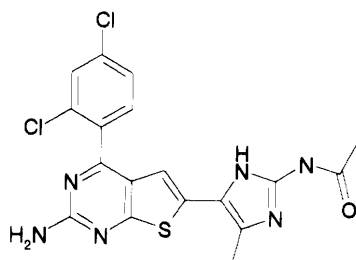
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0109】

実施例22

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

【化41】



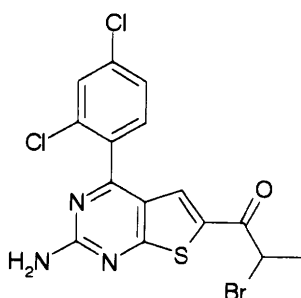
【0110】

10

工程1

1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-2-プロモ-プロパン-1-オン

【化42】



20

【0111】

臭化銅(II)を、酢酸エチル中の1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-プロパン-1-オン(実施例8)の懸濁物に窒素雰囲気下で加えた。得られた懸濁物を約75℃にて24時間加熱した。得られた懸濁物を水、次いで飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、橙-茶色の固体まで濃縮した。固体をヘキサンで洗浄し、真空乾燥した。

LC保持時間 2.579分 [M+H]⁺ 429.75/431.8/433.7 (運転時間3.75分)

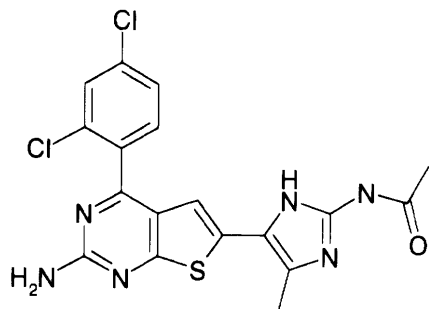
30

【0112】

工程2

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

【化43】



40

【0113】

1-アセチルグアニジンを、アセトニトリル中の1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-2-プロモ-プロパン-1-オンの懸濁物に、窒素雰囲気下で加えた。得られた懸濁物を約80℃にて約18時間加熱した。得られた溶液を冷却し、橙色の半固体まで濃縮した。粗生成物を、酢酸エチルで溶出するカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物を橙色の固体として得て、固体をジエチルエーテルで洗浄し、

50

真空乾燥した。

LC保持時間 2.225分 [M+H]⁺ 432.9/434.9 (運転時間3.75分)

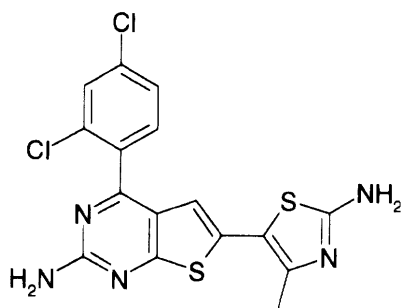
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0114】

実施例23

6-(2-アミノ-5-メチル-チアゾール-4-イル)-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化44】



10

【0115】

チオ尿素を、エタノール中の1-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロフェニル)チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-2-プロモ-プロパン-1-オン(実施例22;工程1)の懸濁物に加えた。得られた懸濁物を、約95にて約90分間加熱した。得られた溶液を冷却し、橙色のガム質まで濃縮した。水を加え、得られた懸濁物を、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で塩基性にして、淡い橙色の固体懸濁物を得た。固体をろ過により回収し、水及びヘキサンで洗浄し、真空乾燥した。

20

LC保持時間 2.505分 [M+H]⁺ 407.9/409.8 (運転時間3.75分)

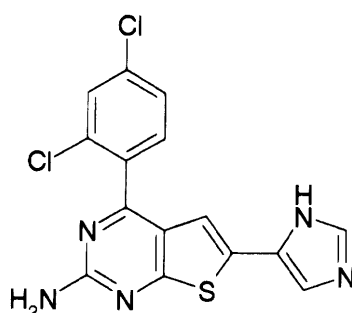
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0116】

実施例24

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-(3H-イミダゾール-4-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化45】



30

40

【0117】

トルエンスルホン酸を、トルエン中の2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボアルデヒド(実施例8;工程1)及びp-トルエンスルホンアミドの懸濁物に加え、混合物を約115にて90分間加熱した。得られた溶液を冷却し、茶色固体まで濃縮した。固体をメタノール/エチレングリコールジメチルエーテル(2:1)に採取し、炭酸カリウム、続いてp-トシルメチルイソシアニドを加え、混合物を約90分間還流加熱した。懸濁物を冷却し、濃縮し、残渣にジクロロメタンを加え、混合物を水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、茶色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。粗生成物を分取HPLCにより再び精製し、生成物

50

を黄色の固体として得た。

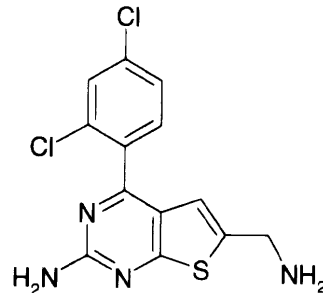
LC保持時間 1.996分 [M+H]⁺ 361.9/363.9 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0118】

実施例25

6-アミノメチル-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン
【化46】



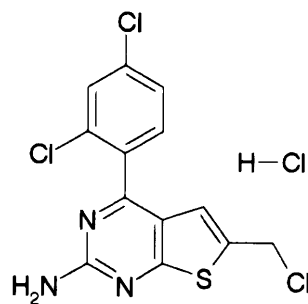
10

【0119】

工程1

6-クロロメチル-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン
塩酸塩
【化47】

20



30

【0120】

トルエン(1 mL)中の[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]メタノール(実施例6)(20 mg, 0.061 mmol)の攪拌した懸濁物に、塩化チオニル(200 μL, 2.74 mmol)を加えた。1.5時間後に、溶媒を真空除去して黄色の粉末を得て、これを次の工程に直接用いた。

¹H NMR (400 MHz; d⁶-DMSO) 5.01 (2H, s), 6.94 (1H, br s), 7.57 (1H, d, J = 8 Hz), 7.60 (1H, dd, J = 8 and 2 Hz), 7.84 (1H, d, J = 2 Hz)及び6.6-7.1ブロードにシフトした水のピーク

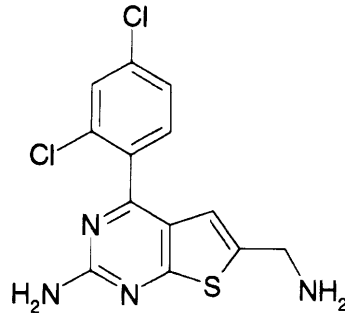
【0121】

工程2

6-アミノメチル-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

40

【化48】



10

【0122】

6-クロロメチル-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン塩酸塩(25 mg, 0.066 mmol)とアンモニアのメタノール溶液(7N; 3 mL)との混合物を1時間攪拌し、蒸発させてベージュ色の固体を得た。逆相分取HPLC(標準的な方法)による精製により、所望の生成物(5.5 mg)を白色の固体として得た。

LC-MS保持時間: 1.70分, [M+H]⁺ 325/327 (運転時間3.75分)

¹H NMR (400 MHz; d⁶-DMSO) 3.84 (2H, br d, J = 1 Hz), 6.62 (1H, br t, J = 1 Hz), 6.85 (2H, br s), 7.52 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.58 (1H, dd, J = 8.3, 2.0 Hz) 及び7.81 (1H, d, J = 2.0 Hz)。

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

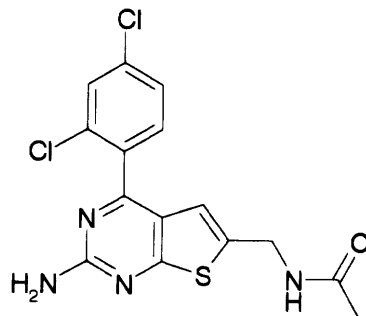
20

【0123】

実施例26

N-[2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イルメチル]-アセトアミド

【化49】



30

無水DMF(4 mL)中の6-アミノメチル-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン(実施例25)(102 mg, 0.31 mmol)及びトリエチルアミン(87 μL, 0.63 mmol)の濁った攪拌した溶液に、塩化アセチル(28 μL, 0.38 mmol)を加え、穏やかな発熱を導いた。2.25時間後に、反応混合物をろ過し、溶媒を真空除去して粗生成物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[10 g SiO₂; 90:10(酢酸エチル-ヘキサン)酢酸エチル]による精製により、黄色の固体(35 mg)を得て、これを逆相分取HPLC(標準的な方法)でさらに精製して、所望の生成物(12 mg)を白色固体として得た。

40

LC-MS保持時間: 2.12分, [M+H]⁺ 367/369 (運転時間3.75分)

¹H NMR (400 MHz; d⁶-DMSO) 1.83 (3H, s), 4.35 (2H, d, J = 6 Hz), 6.66 (1H, s), 6.96 (2H, br s), 7.53 (1H, d, J = 8.3 Hz), 7.59 (1H, dd, J = 8.3, 2.0 Hz), 7.83 (1H, d, J = 2.0 Hz) 及び8.47 (1H, t, J = 6 Hz)。

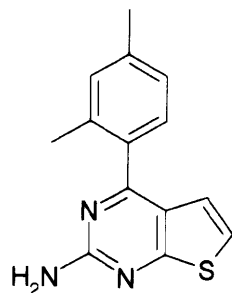
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0124】

実施例27

4-(2,4-ジメチル-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化50】



キノリン(3 ml)を、2-アミノ-4-(2,4-ジメチル-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸(実施例2)(282 mg, 0.68 mmol)に加え、続いて銅粉末(65 mg; 1.5等量)を加えた。反応混合物を、165~170 にて45分間加熱した(反応混合物は非常に濃い色になる)。反応混合物を周囲温度まで冷却し、氷浴で冷却した塩酸水溶液(1.2M, ;50 mL)に滴下した。酢酸エチルを加え(50 mL)、反応混合物を5分間激しく攪拌した。次いで、セライトパッドを通して混合物をろ過し、ろ過した相を分配した。有機相を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、茶色の油まで蒸発し、これをシリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン中の0~50%酢酸エチルで溶出)により精製し、次いで分取HPLCによりさらに精製して、生成物をオフホワイトの固体として得た(30 mg)。

LC-MS保持時間: 2.522分, [M+H]⁺ 256 (運転時間3.75分)

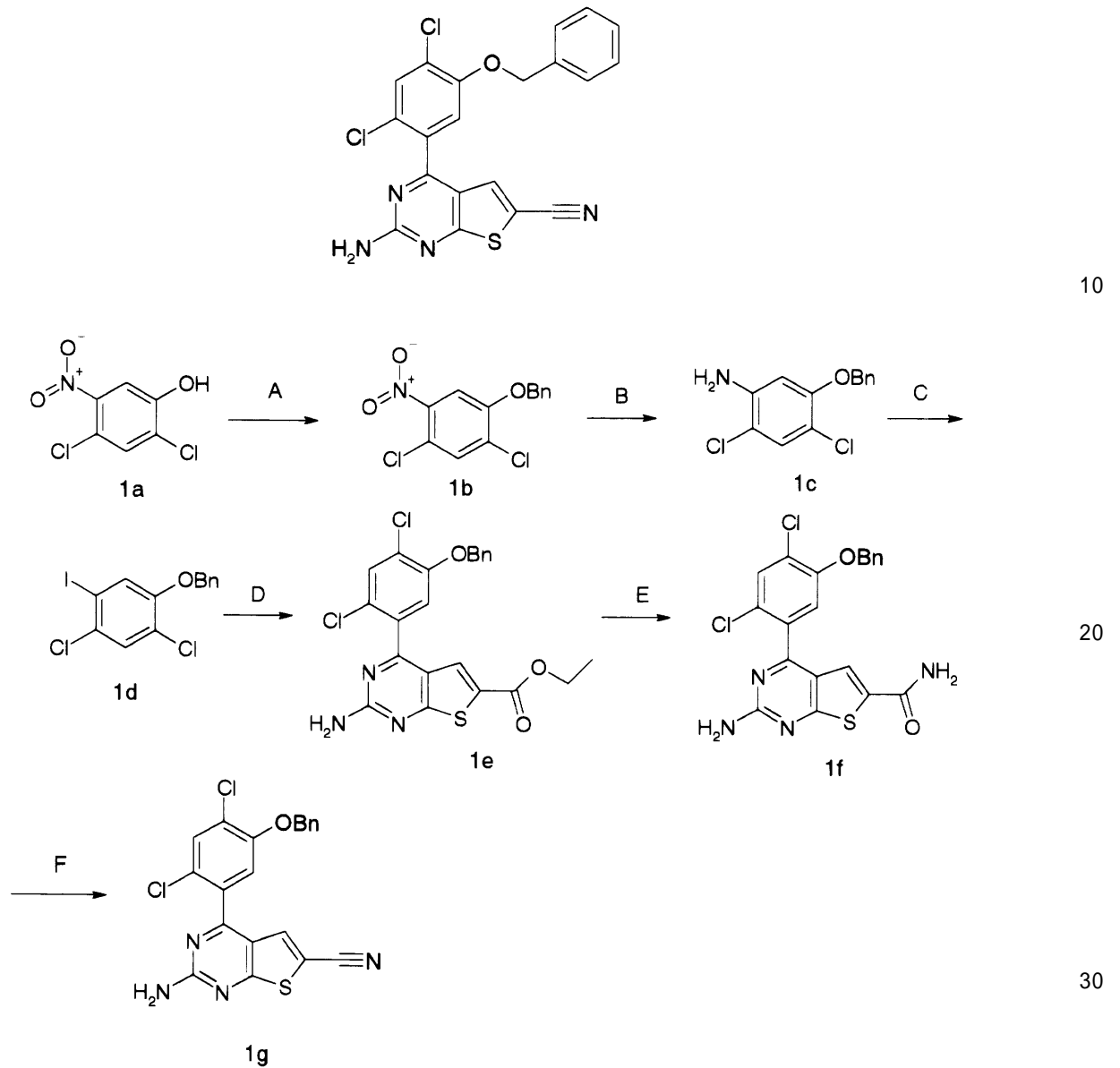
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。 20

【0125】

実施例28

2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル

【化51】



【0126】

工程1

1-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-5-ニトロ-ベンゼン

【化52】



【0127】

炭酸カリウム(12g, 87mmol)を、2,4-ジクロロ-5-ニトロフェノール(Lancaster Synthesis, Morecambe, Lancashire, UK) (15.6g, 75mmol)のアセトン溶液に加えた。臭化ベンジル(9ml, 76mmol)を加え、懸濁物を75 (油浴の温度)にて約3時間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、水(500ml)を加え、混合物をジクロロメタン(2×200ml)で抽出した。合わせた抽出物を水酸化ナトリウム水溶液(150ml, 2M)、水(2×200ml)及び飽和塩化ナトリウム水溶液(150ml)で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、淡黄色の固体まで濃縮した(21.5g, 96%)。

50

R_f 0.73 CH₂Cl₂ (SiO₂)

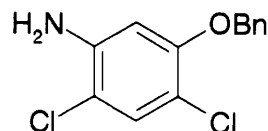
LC保持時間 2.915分 [M+H]⁺ イオン化なし (運転時間3.75分)

【0128】

工程2

5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニルアミン

【化53】



10

【0129】

鉄粉末(21g, 376mmol)を、酢酸(300ml) / 水(150ml)中の1-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-5-ニトロ-ベンゼン(21.5g, 72mmol)の懸濁物に加え、混合物を85 (油浴の温度)にて約90分間加熱した。得られた懸濁物をろ過した。ろ液を冷却し、水(750ml)を加え、混合物をジクロロメタン(3×150ml)で抽出した。合わせた抽出物を、水酸化ナトリウム水溶液(300ml, 2M)、水(2×500ml)及び飽和塩化ナトリウム水溶液(200ml)で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、ろ液の溶媒を真空除去して、生成物を淡茶色の固体として得た(18.6g, 96%)。

R_f 0.57 CH₂Cl₂ (SiO₂)

LC保持時間 2.792分 [M+H]⁺ 270 /268 (運転時間3.75分)

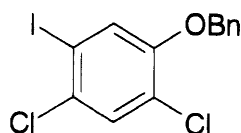
20

【0130】

工程3

1-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-5-ヨード-ベンゼン

【化54】



【0131】

塩酸(60ml, 6M)を、5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニルアミン(16.2g, 60mmol)の酢酸(240ml)溶液に加え、得られた懸濁物を冷却した(氷/水/塩)。亜硝酸ナトリウム水溶液(40ml中に4.8g, 69.5mmol)を徐々に加えた(温度を<5 に保持)。添加が完了してから、得られた溶液を約30分間攪拌した。

30

得られた溶液を、ヨウ化カリウム(20g, 120mmol)及びヨウ素(4g, 16mmol)の水溶液(200ml)に注ぎ、混合物を約90分間攪拌した。水(800ml)を加え、混合物をジクロロメタン(3×250ml)で抽出した。合わせた抽出物を、チオ硫酸ナトリウム水溶液(2×150ml, 10%)、水酸化ナトリウム水溶液(250ml, 2M)、水(2×250ml)及び飽和塩化ナトリウム水溶液(200ml)で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、淡茶色の油まで濃縮し、静置して固化させた(20.6g, 90%)。

R_f 0.82 CH₂Cl₂ (SiO₂)

LC保持時間 3.084分 [M+H]⁺ イオン化なし (運転時間3.75分)

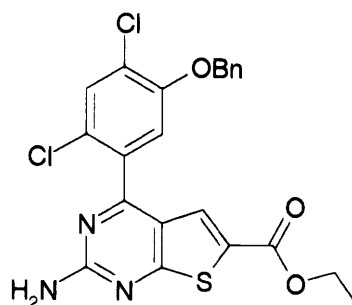
40

【0132】

工程4

2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル

【化55】



10

酢酸カリウム(16g, 163mmol)を、1-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-5-ヨード-ベンゼン(20.6g, 54mmol)及びビス(ピナコラート)ジボロン(14.5g, 57mmol)のDMF(50ml)溶液に、窒素雰囲気下に加えた。酢酸パラジウム(450mg, cat.)を加え、混合物を90の油浴にて約18時間加熱した。得られた溶液を濃縮し、残渣を酢酸エチル(200ml)中に採取し、溶液を水(3×200ml)及び飽和塩化ナトリウム水溶液(150ml)で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、淡茶色のガム質まで濃縮した。

残渣を1,4-ジオキサン(160ml)中に採取し、2-アミノ-4-クロロ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸エチルエステル(実施例1; 工程1)(12.85g, 50mmol)及びリン酸カリウム水溶液(40ml, 2M)を、窒素雰囲気下に加えた。ジクロロビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II)(cat.)を加え、混合物を100の油浴にて約3時間加熱した。混合物を冷却し、酢酸エチル(400ml)を加えた。混合物を、飽和塩化ナトリウム水溶液(100ml)で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、淡黄色の固体まで濃縮した。固体をジエチルエーテル/ヘキサン(1:1)で洗浄して、オフホワイトの固体を得た。真空乾燥した(40)。10.7g(45%)

20

R_f 0.13 EtOAc/Hex (1:3) (SiO₂)

LC保持時間 2.972分 [M+H]⁺ 476/474 (運転時間3.75分)

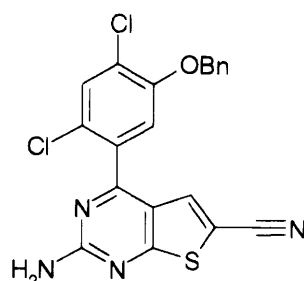
【0133】

工程5

2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル

30

【化56】



【0134】

40

メタノール性アンモニア(約7N)中の2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸エチルエステルの懸濁物を、密閉試験管中で約85にて約72時間加熱した。得られた溶液を濃縮し、残渣をジエチルエーテルで粉砕して、淡黄色の粉末を得た。

無水トリフルオロ酢酸を、2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸アミドのピリジン/ジクロロメタン溶液に、約0(氷/水)にて加え、溶液を約2時間攪拌した。水を加え、混合物をアンモニア水溶液(0.880)、水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗生成物を、酢酸エチル及びヘキサンの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、生成物を黄色固体として得た。

50

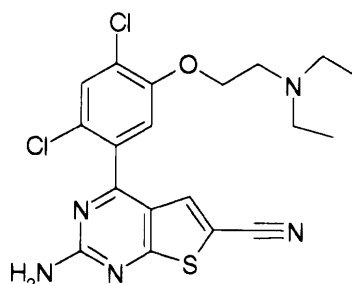
LC保持時間 2.836分 [M+H]⁺ 426.9/428.9 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0135】

実施例29

2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル
【化57】

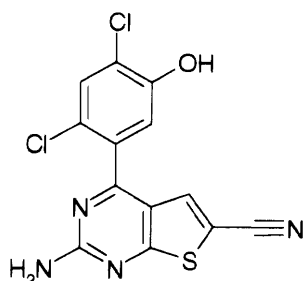


10

【0136】

工程1

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-ヒドロキシ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル
【化58】



20

三塩化ホウ素(ジクロロメタン中に1M)を、ジクロロメタン中の2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリルの懸濁物に、-78 (ドライアイス/アセトン)にて窒素雰囲気下に徐々に加えた。混合物を-78にて約1時間、及び室温にて約3時間攪拌した。混合物を冷却し(氷/水)、メタノールを徐々に加え、得られた溶液を室温にて約1時間攪拌した。溶液を、茶色のガム質まで濃縮し、残渣をメタノール中に採取し、濃縮して茶色のガム質を得た。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して、淡黄色の固体を得た。

30

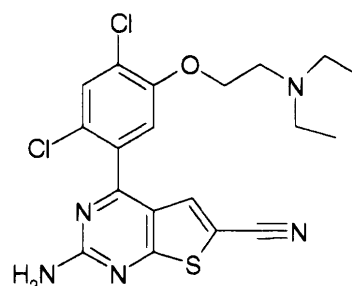
LC保持時間 2.411分 [M+H]⁺ 336.9/338.9 (運転時間3.75分)

【0137】

工程2

2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル
【化59】

40



50

【0138】

炭酸セシウムを、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-ヒドロキシフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリルのDMF溶液に加え、2-ブromo-N,N-ジエチルエチルアミン臭化水素塩を加え、懸濁物を約140にて約60分間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、ジクロロメタンを加えた。混合物を、水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃茶色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、酢酸エチルで溶出するクロマトグラフィーにより精製して淡茶色のガム質を得て、ヘキサンで粉碎して、淡黄色の固体を得た。

LC保持時間 1.994分 [M+H]⁺ 436/438 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

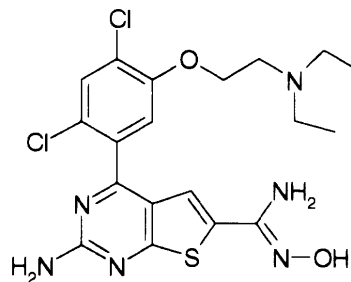
10

【0139】

実施例30

2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-N-ヒドロキシ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボキサミジン

【化60】



20

【0140】

塩酸ヒドロキシルアミン及び酢酸ナトリウムを、エタノール中の2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル(実施例29)の懸濁物に加え、懸濁物を80にて約90分間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、水を加えて淡黄色の沈殿物を得た。固体をろ過により回収し、水及びヘキサンで洗浄して、淡黄色の粉末を得た。

LC保持時間 1.730分 [M+H]⁺ 469/471 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

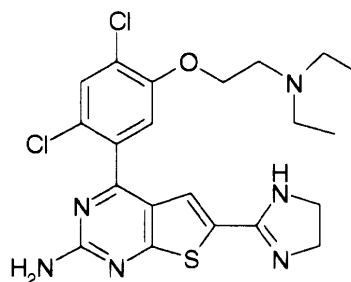
30

【0141】

実施例31

4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-6-(4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾール-2-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化61】



40

エチレンジアミン(10eq)及び酢酸(20eq)を、2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-N-ヒドロキシ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボキサミジン(実施例30)のエタノール溶液に加え、溶液を、密閉試験管中で約125にて約18時間加熱した。得られた溶液を冷却し、淡茶色の半固体まで濃縮した。残渣を分取HPLCにより精製した。

LC保持時間 2.283分 [M+H]⁺ 479/481 (運転時間7.00分)

50

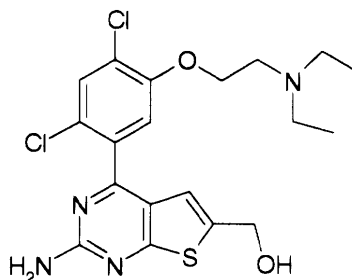
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0142】

実施例32

{2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル}-メタノール

【化62】



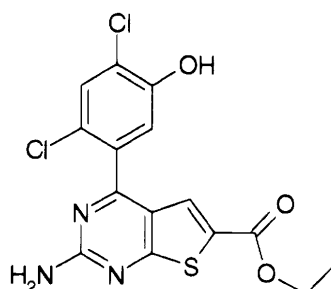
10

【0143】

工程1

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-ヒドロキシ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル

【化63】



20

【0144】

三塩化ホウ素(ジクロロメタン中の1M溶液)を、ジクロロメタン中の2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステルの懸濁物に-78 (ドライアイス/アセトン)にて、窒素雰囲気下に徐々に加えた。混合物を-78にて約1時間、及び室温にて約3時間攪拌した。混合物を冷却し(氷/水)、メタノールを徐々に加え、得られた溶液を室温にて約1時間攪拌した。溶液を茶色のガム質まで濃縮し、残渣をメタノール中に採取し、濃縮して茶色のガム質を得た。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するカラムクロマトグラフィーにより精製して、淡黄色の固体を得た。

30

LC保持時間 2.559分 [M+H]⁺ 383.9/385.9 (運転時間3.75分)

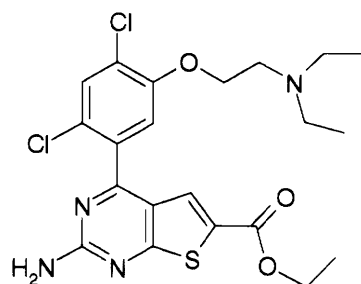
【0145】

工程2

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル

40

【化64】



【0146】

10

炭酸セシウムを、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-ヒドロキシフェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステルのDMF溶液に加え、2-ブロモ-N,N-ジエチルエチルアミン 臭化水素塩を加えて懸濁物を約140℃にて約90分間加熱した。得られた懸濁物を周囲温度まで冷却し、ジクロロメタンを加えた。混合物を水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃茶色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、淡茶色の固体を得た。

LC保持時間 2.026分 [M+H]⁺ 483/485 (運転時間3.75分)

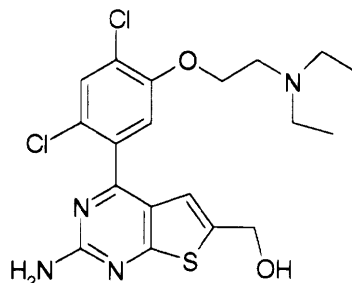
【0147】

工程3

20

{2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル}-メタノール

【化65】



30

【0148】

水素化ジイソブチルアルミニウム(THF中に1M)を、2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステルのTHF溶液に、-78℃(ドライアイス/アセトン)にて、窒素雰囲気下に徐々に加えた。混合物を-78℃にて約1時間、及び室温にて約90分間攪拌した。混合物を冷却し(氷/水)、メタノールを徐々に加え、得られた溶液を室温にて約1時間攪拌した。溶液を茶色のガム質まで濃縮した。残渣を飽和塩化ナトリウム水溶液に懸濁し、酢酸エチルで抽出し、合わせた抽出物を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、茶色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して、淡茶色のフォーム(foam)を得た。

40

LC保持時間 1.728分 [M+H]⁺ 440.95/442.9 (運転時間3.75分)

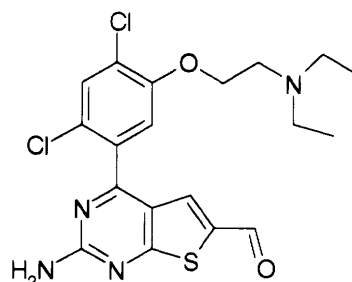
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0149】

実施例33

2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボアルデヒド

【化66】



【0150】

10

酸化マンガン(IV) (15等量)を、{2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル}-メタノール(実施例32)のエチレングリコールジメチルエーテル溶液に加え、混合物を約60時間攪拌した。得られた懸濁物をろ過し、固体をエチレングリコールジメチルエーテルで洗浄し、合わせたろ過物を黄色/茶色の固体まで濃縮した。固体をヘキサンで洗浄し、真空乾燥した。

LC保持時間 1.871分 [M+H]⁺ 438.9/440.9 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

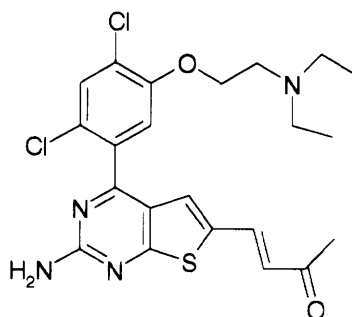
【0151】

実施例34

4-{2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル}-ブテ-3-エン-2-オン

20

【化67】



30

【0152】

1-(トリフェニルホスホラニリデン)-2-プロパノン、トルエン中の2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボアルデヒド(実施例33)の懸濁物に加え、混合物を約85℃にて約90分間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、黄色のガム質まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物を黄色のガム質として得て、ヘキサンで粉碎し、真空乾燥して、生成物を黄色の固体として得た。

LC保持時間 1.965分 [M+H]⁺ 479/481 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

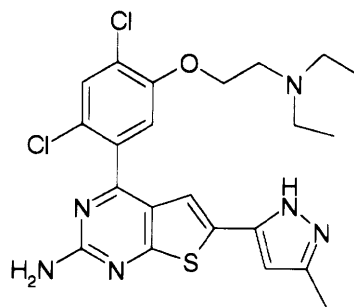
40

【0153】

実施例35

4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-6-(5-メチル-2H-ピラゾール-3-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化68】



10

パラ-トルエンスルホニルヒドラジド及びナトリウムエトキシドを、エタノール中の4-{2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-イル}-プテ-3-エン-2-オン(実施例34)の懸濁物に、窒素雰囲気下で加え、混合物を約80℃にて約18時間加熱した。得られた溶液を冷却し、橙色の固体まで濃縮した。粗生成物を分取HPLCにより精製して、生成物を黄色固体として得た。

LC保持時間 1.917分 [M+H]⁺ 491/493 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

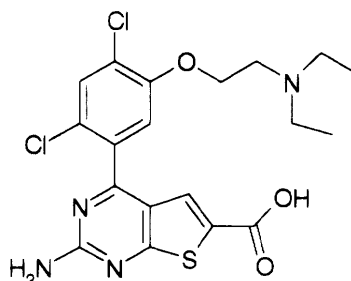
【0154】

実施例36

2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸

20

【化69】



30

この化合物は、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル(工程2; 実施例32)から、実施例1の工程3の方法により製造した。

LC保持時間 1.74分 [M+H]⁺ 455/457 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

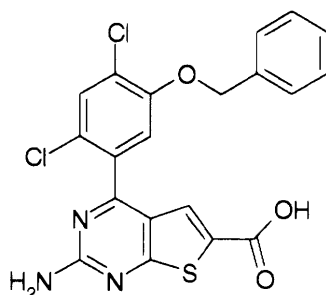
【0155】

実施例37

2-アミノ-4-[5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸

【化70】

40



この化合物は、2-アミノ-4-(5-ベンジルオキシ-2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル(実施例28; 工程4)から、実施例1の工程3の

50

方法により製造した。

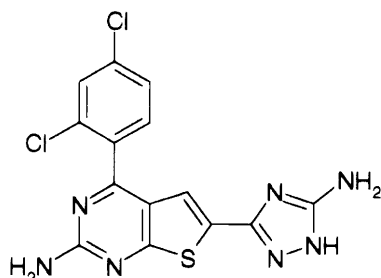
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0156】

実施例38

6-(5-アミノ-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル)-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化71】



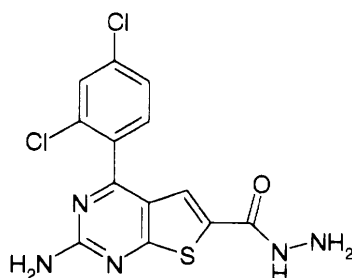
10

【0157】

工程1

2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 ヒドラジド

【化72】



20

【0158】

ヒドラジン水和物を、エタノール中の2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステル(実施例1; 工程2)の懸濁物に加え、混合物を還流にて約3時間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、茶色の固体まで濃縮した。固体を水及びヘキサンで洗浄し、淡茶色の粉末を得た。

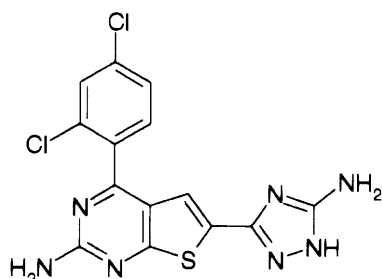
LC保持時間 1.954分 [M+H]⁺ 353.9/355.9 (運転時間3.75分)

【0159】

工程2

6-(5-アミノ-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル)-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化73】



40

【0160】

S-メチルイソチオウレア硫酸塩を、ピリジン中の2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸ヒドラジド及び酢酸ナトリウムの懸濁物に加

50

え、混合物を約110にて約18時間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、黄 - 橙色の固体まで濃縮した。固体を酢酸エチル中に採取し、水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮して淡茶色の粉末を得た。粗生成物を、酢酸エチルで溶出するシリカカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物を橙 - 茶色のフォームとして得た。ジエチルエーテルで粉砕して、橙 - 茶色の粉末を得た。真空乾燥した。

LC保持時間 1.978分 [M+H]⁺ 377.9/379.9 (運転時間3.75分)

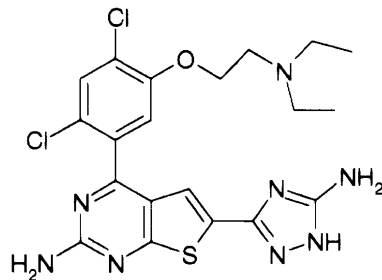
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0161】

実施例39

6-(5-アミノ-1H-[1,2,4]トリアゾール-3-イル)-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化74】



この化合物は、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボン酸 エチルエステルから、実施例38の方法により製造した。

LC保持時間 2.314分 [M+H]⁺ 493/495 (運転時間7.00分)

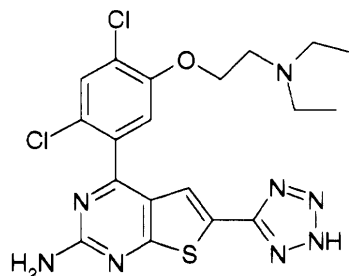
この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0162】

実施例40

4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-6-(2H-テトラゾール-5-イル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化75】



【0163】

アジ化ナトリウム及び塩化アンモニウムを、2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボニトリル(実施例29)のDMF溶液に加えた。混合物を約125にて約90分間加熱し、得られた懸濁物を冷却し、茶色のガム質まで濃縮した。粉砕して、茶色の沈殿物を得た。固体をろ過により回収し、分取HPLCにより精製した。

LC保持時間 2.432分 [M+H]⁺ 479/481 (運転時間7.0分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0164】

実施例41

3-{2-アミノ-4-[2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル]-チエノ[2

10

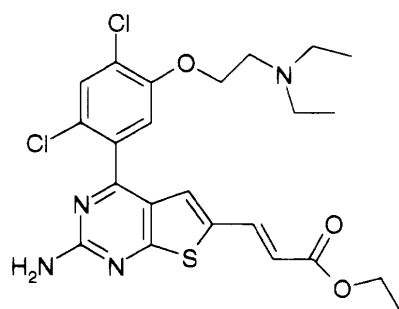
20

30

40

50

,3-d]ピリミジン-6-イル}-アクリル酸 エチルエステル
【化76】



10

【0165】

炭酸カリウムを、2-アミノ-4-(2,4-ジクロロ-5-(2-ジエチルアミノ-エトキシ)-フェニル)-チエノ[2,3-d]ピリミジン-6-カルボアルデヒド(実施例33)及びトリエチルホスホノアセテートのアセトニトリル溶液に加え、混合物を約85℃にて約18時間加熱した。得られた懸濁物を冷却し、黄色固体まで濃縮した。ジクロロメタンを加え、混合物を水及び飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、淡黄色の固体まで濃縮した。粗生成物を、ジクロロメタン及びメタノールの混液で溶出するシリカクロマトグラフィーにより精製して、生成物を黄色/茶色のフォームとして得た。ジエチルエーテルで粉砕して、淡黄色の粉末を得て、これを真空乾燥した。

20

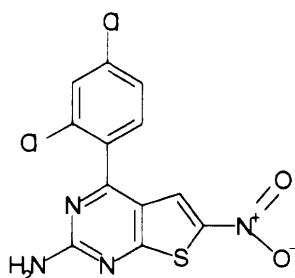
LC保持時間 2.047分 [M+H]⁺ 509/511 (運転時間3.75分)

この化合物は、以下に記載する蛍光偏光アッセイにおいて「A」の活性を有した。

【0166】

実施例42

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-ニトロ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン
【化77】



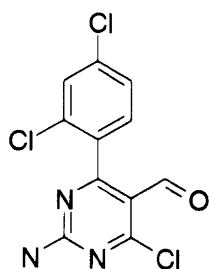
30

【0167】

工程1

2-アミノ-4,6-ジクロロ-6-(2,4-ジクロロ)-ピリミジン-5-カルボアルデヒド

【化78】



40

【0168】

2-アミノ-4,6-ジクロロ-ピリミジンカルボアルデヒド 1g (5.21mmol, 1eq)及び2,4-ジクロロフェニルボロン酸1.04g (5.47mmol, 1.05eq)を、15mLの1,4-ジオキサンに溶解した。溶液に窒素を通気し、リン酸カリウム水溶液(4mL H₂O中に0.85g)を加えた。溶液にさらに

50

4分間、窒素を通気した。ビス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(II) クロリド(20mg)を加え、さらに1分間、溶液に窒素を通気した。次いで、これを窒素下に12時間、還流加熱した。溶液を周囲温度まで冷却し、塩水で希釈し10mLの2M NaOHを加えて塩基性にした。酢酸エチルで3回抽出し、MgSO₄で乾燥した。溶媒を真空除去することにより、黄色が残った。これは、著しい量の二置換物質を含有していた。ジクロロメタンを加え、生成物は部分的に可溶性であり、メタノールをこれに徐々に加えると淡黄色の沈殿物が形成され、これをろ過して真空乾燥した。微量の二置換生成物を含む38%の収率を得た。

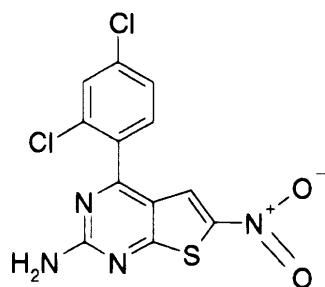
LC-MS保持時間分 2.385 [M+H]⁺ = 301.9 + 303.9 (運転時間3.75分)

【0169】

工程2

4-(2,4-ジクロロ-フェニル)-6-ニトロ-チエノ[2,3-d]ピリミジン-2-イルアミン

【化79】



硫化ナトリウム1.55g (19.8mmol, 1.2 eq)及び硫黄(19.8mmol, 1.2eq)を、窒素下にジメチルホルムアミド(50mL)に加えた。溶液は、直ちに濃青色になった。20分後に、2-アミノ-4-クロロ-6-(2,4-ジクロロフェニル)-ピリミジン-5-カルボアルデヒド5g (16.5mmol, 1eq)を、70℃にて加熱しながら分割して加え、これを窒素下に3.5時間攪拌し、黄色溶液となったものを周囲温度に冷却して、1.15mLのプロモニトロメタン(16.5mmol, 1eq)を加えると、いくらか発熱した。これを、65℃にて1.5時間加熱し、その後、ナトリウムメトキシド891mg (16.5mmol, 1eq)を同じ温度にて加えた。これをさらに30分間攪拌し、周囲温度に冷却し、水を加えると黄色の沈殿物が形成され、これをろ去し、ジクロロメタンから5%メタノール/ジクロロメタンで溶出するフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製して、生成物を21%の収率で黄色の粉末として得た。これを、pH 4の分取HPLCを用いてさらに精製した。

LC-MS保持時間 2.665分 [M+H]⁺ = 340.9 + 342.9 (運転時間3.75分)

【0170】

蛍光偏光アッセイ

蛍光偏光(蛍光異方性としても知られる)は、溶液中の蛍光種の回転を測定するものであり、分子が大きいほど放射蛍光がより偏光される。蛍光体が偏光により励起されるときに、放射光も偏光される。分子サイズは、放射蛍光の偏光に比例する。

【0171】

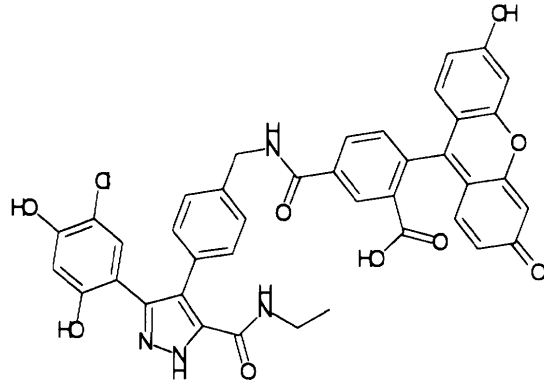
フルオレセイン標識プローブ - RBT0051001-FAM

10

20

30

【化80】



10

は、HSP90（全長ヒト、全長酵母又はN-末端ドメインHSP90）に結合し、異方性（プローブ：タンパク質複合体の回転）が測定される。

試験化合物をアッセイプレートに加え、平衡まで放置し、異方性を再び測定する。異方性におけるいずれの変化は、化合物のHSP90への競合的結合によるものであり、それによりプローブが放出される。

【0172】

材料

化学薬品は、市販の最高純度のものであり、全ての水溶液はAR水で作製する。

20

- 1) コースター（Costar）96ウェルブラックアッセイプレート#3915
- 2) (a)100mM Tris pH7.4；(b) 20mM KCl；(c) 6mM MgCl₂のアッセイバッファー。室温で貯蔵。
- 3) BSA（ウシ血清アルブミン）10 mg/ml（New England Biolabs # B9001S）
- 4) 100% DMSOストック濃度で20 mMのプローブ。RTにて暗所に貯蔵。AR水で希釈した使用濃度は200 nMであり、4 に貯蔵する。アッセイにおける最終濃度は80 nMである。
- 5) 大腸菌（E. coli）で発現したヒト全長HSP90タンパク質、>95%で精製し（例えばPanaretouら、1998を参照）、50 μLの一定量で-80 にて貯蔵。

【0173】

プロトコル

30

- 1) 100 μlの1×バッファーを、ウェル11A及び12Aに加える(=FP BLNK)
- 2) アッセイミックスを調製する。プローブは光感受性であるので、全ての試薬を、蓋付きバケツ中の氷上に保持する。

i. 最終濃度ⁿ

・ 1×Hsp90 FPバッファー	10 ml	1×
・ BSA 10mg/ml (NEB)	5.0 μl	5 μg/ml
・ プローブ200 μM	4.0 μl	80 nM
・ ヒト全長Hsp90	6.25 μl	200 nM

- 3) 100 μlのアッセイミックスの一定量を全ての他のウェルに加える。

- 4) プレートを密閉し、室温にて20分間暗所に放置して平衡化する。

40

【0174】

化合物希釈プレート - 1×3希釈系列

- 1) 透明な(clear) 96ウェルv底プレート - {# VWR 007/008/257}のウェルB1~H11に、10 μlの100% DMSOを加える。
- 2) ウェルA1~A11に、17.5 μlの100% DMSOを加える。
- 3) 2.5 μlのcpdをA1に加える。これは、cpdが20 mMと仮定して、2.5 mM {50×}ストックcpdを与える。
- 4) ウェルA2~A10について繰り返す。列11及び12はコントロールである。
- 5) 5 μlを、列12以外で行Aから行Bに移す。よく混合する。
- 6) 5 μlを、行Bから行Cに移す。よく混合する。

50

- 7) 行Gまで繰り返す。
- 8) 行Hにはいずれの化合物も加えない。これは0の行である。
- 9) このことにより、50 μ Mから0.07 μ Mまでの1 \times 3希釈系列が得られる。
- 10) ウェルB12において、20 μ lの100 μ M標準化合物を調製する。
- 11) 最初のインキュベーションの後に、アッセイプレートにFusion (商標) -FPプレートリーダー(Packard BioScience, Pangbourne, Berkshire, UK)で読み取る。
- 12) 最初の読み取りの後に、2 μ lの希釈された化合物を、列1~10の各ウェルに加える。列11 { 標準曲線を与える } には、化合物B11~H11のみを加える。ウェルB12~H12には、2 μ lの100mM標準cpdを加える { ポジティブコントロールである }。
- 13) Z'因子を、ゼロコントロール及びポジティブウェルから算出する。これは通常、0.7~0.9の値である。 10

【 0 1 7 5 】

上記のアッセイにおいて試験した化合物は、2つの活性範囲、すなわちAは < 10 μ M ; Bは > 10 μ Mの1つに割り当て、これらの割り当てを上記で報告する。

【 0 1 7 6 】

増殖阻害アッセイも、候補HSP90阻害剤の評価のために行った。

スルホローダミンB (SRB)アッセイによる細胞毒性の評価：50%阻害濃度の算出(IC₅₀)。

第1日

- 1) 血球計数器により細胞の数を決定する。
- 2) 8チャンネルのマルチピペッターを用いて、160 μ lの細胞懸濁物(3600細胞/ウェル又は2 \times 10⁴細胞/ml)を96ウェルマイクロタイタープレートの各ウェルに加える。 20
- 3) CO₂インキュベータ中で37 にて一晩インキュベートする。

【 0 1 7 7 】

第2日

- 4) 薬剤のストック溶液を調製し、各薬剤の連続希釈を媒体中で行い、ウェル中で最終濃度を得る。
- 5) マルチピペッターを用いて40 μ lの薬剤(5 \times 最終濃度にて)を四重でウェルに加える。
- 6) コントロールウェルは、96ウェルプレートのいずれかの端であり、ここに40 μ lの媒体を加える。 30
- 7) プレートをCO₂インキュベータ中で4日間(48時間)インキュベートする。

【 0 1 7 8 】

第6日

- 8) プレートを、逆さまにして媒体を流しに捨て、10%氷冷トリクロロ酢酸(TCA)中に徐々に浸漬する。氷上に約30分間放置する。
- 9) プレートを水道水浴中に浸漬し、それを逆さまにすることにより、プレートを水道水で3回洗浄する。
- 10) インキュベータで乾燥させる。
- 11) 100 μ lの1%酢酸中の0.4% SRBを各ウェル(96ウェルプレートの最終行(右手)以外、ここは0%コントロール、すなわち薬剤なし、染色なしである。最初の行は、薬剤なし、染色ありの100%コントロールである)に加える。15分間放置する。 40
- 12) 未結合のSRB染色を、1%酢酸の4回の洗浄で洗い流す。
- 13) インキュベータ中でプレートを乾燥させる。
- 14) 100 μ lの10mM Trisベースを用いてSRBを可溶化し、プレートをプレートシェーカーに5分間置く。
- 15) プレートリーダーを用いて540nmの吸光度を測定する。四重のウェルの平均吸光度を計算し、コントロールである未処理のウェルの値のパーセンテージとして表す。
- 16) %吸光度の値をlog薬剤濃度に対してプロットし、IC₅₀を計算する。

実例として、実施例10の化合物は、SRB増殖阻害アッセイにおいてIC₅₀ < 50uMを示した。

。

【 0 1 7 9 】

参考文献

本発明及び本発明が関係する最新技術をより完全に説明しかつ開示するために、上記においていくつかの文献を引用する。これらの参考文献についての完全な引用は、以下のとおりである。これらの参考文献のそれぞれは、本開示中にその全体が参照として組み込まれる。

Argon Y及びSimen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", *Semin. Cell Dev. Biol.*, Vol. 10, pp. 495 ~ 505.

Bijlmakers M-JJE, Marsh M. 2000 "Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck", *Molecular Biology of the Cell*, Vol. 11(5), pp. 1585 ~ 1595. 10

Bucci M; Roviezzo F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 "Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo", *Brit. J. Pharmacol.*, Vol 131(1), pp. 13 ~ 16.

【 0 1 8 0 】

Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ及びLee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 16, pp. 4691 ~ 4699. 20

Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L及びRosen N. 2001 "A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cells", *Chem. Biol.*, Vol. 8, pp. 289 ~ 299.

Conroy SE及びLatchman DS. 1996 "Do heat shock proteins have a role in breast cancer?", *Brit. J. Cancer*, Vol. 74, pp. 717 ~ 721.

Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB及びToft DO. 2000 "The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties", *J. Biol. Chem.*, Vol. 5, pp. 3305 ~ 3312.

Fuller W, Cuthbert AW. 2000 "Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular Chaperone complex with geldanamycin stabilizes delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate", *J. Biol. Chem.*; Vol 275(48), pp. 37462 ~ 37468. 30

【 0 1 8 1 】

Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D及びWeber LA. 1999 "Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein", *Mol. Cell. Biol.*, Vol. 9, pp. 2615 ~ 2626.

Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C及びRoy-Burman P. 2000 "A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma", *Am. J. Pathol.*, Vol. 156, pp. 857 ~ 864. 40

Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P及びClarke PA. 2001 "Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis", *Cancer Res.*, Vol. 61, pp. 4003 ~ 4009.

Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-O, Park H. 2002 "Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol", *Mol. Pharmacol.*, Vol 62(5), pp. 975 ~ 982.

【 0 1 8 2 】

Hutter E, 1996, *Circulation*, Vol.94, pp.1408.

Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC及びLuqmani YA. 1992 "Clinical and biological significance of HSP89a in human breast cancer", *Int. J. Cancer*, Vol. 50, pp. 409 ~ 415.

Jolly C及びMorimoto RI. 2000 "Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 92, pp. 1564 ~ 1572.

Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A及びMonden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", *Cancer*, Vol. 85, pp. 1649 ~ 1657. 10

Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA及びHarrap KR. 1993 "Preclinical antitumour evaluation of bis-acetalo-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", *Cancer Research*, Vol. 53, pp. 2581 ~ 2586.

【 0 1 8 3 】

Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG及びWorkman P. 1999 "DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino, 17 demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 91, pp. 1940 ~ 1949. 20

Kurebayashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sonoo, H. 2001 "A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts", *Jap. J. Cancer Res.*, Vol 92(12), 1342 ~ 1351.

Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S及びBepple T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts, *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, Vol. 56, pp. 538 ~ 539.

Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT及びGoubin G. 1991 "Constitutive overexpression of 89 kDa heat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to a tumorigenic phenotype by the EJ/T24 Harvey-ras oncogene", *Oncogene*, Vol. 6, pp. 1125 ~ 1132. 30

【 0 1 8 4 】

Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M及びNeckers L. 2000a "The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone", *J. Biol. Chem.*, Vol. 275, pp. 37181 ~ 37186.

Marcu MG, Schulte TW及びNeckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins", *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 92, pp. 242 ~ 248.

Martin KJ, Kritzman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, MacKay A, O'Hare MJ, Kaelin CM, Mutter GL, Pardee AB及びSager R. 2000 "Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", *Cancer Res.*, Vol. 60, pp. 2232 ~ 2238. 40

Neckers L, Schulte TW及びMomnaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular target and biochemical activity", *Invest. New Drugs*, Vol. 17, pp. 361 ~ 373.

Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, Smith A及びRodman L. 1997 "Comparison of geldanamycin (NSC-122750) and 17-allylamino-geldanamycin (NSC-330507D) toxicity in rats", *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, Vol. 38, pp. 308. 50

【 0 1 8 5 】

Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW及Pearl LH. 1998 "ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo", *EMBO J.*, Vol. 17, pp. 4829 ~ 4836.

Plumier S, 1997, *Cell. Stress Chap.*, Vol.2, pp.162

Pratt WB. 1997 "The role of the HSP90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signalling via MAP kinase", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, Vol. 37, pp. 297 ~ 326.

Prodromou C及Pearl LH. 2000a "Structure and in vivo function of HSP90", *Curr. Opin. Struct. Biol.*, Vol. 10, pp. 46 ~ 51. 10

Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW及Pearl LH. 1997 "Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone", *Cell*, Vol. 90, pp. 65 ~ 75.

Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O'Brien R, Ladbury JE, Roe SM, Piper PW及Pearl LH. 2000b "The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular 'clamp' via transient dimerization of the N-terminal domains", *EMBO J.*, Vol. 19, pp. 4383 ~ 4392.

Rajder S, 2000, *Ann. Neurol.*, Vol.47, pp.782.

【 0 1 8 6 】

Roe SM, Prodromou C, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW及Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin", *J. Med. Chem.*, Vol. 42, pp. 260 ~ 266. 20

Rutherford SL及Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature*, Vol. 396, pp. 336 ~ 342.

Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S, Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM及Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", *Mol. Endocrinology*, Vol. 13, pp. 1435 ~ 1448.

Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D及Neckers LM. 1998 "Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cell Stress and Chaperones*, Vol. 3, pp. 100 ~ 108. 30

【 0 1 8 7 】

Schulte TW及Neckers LM. 1998 "The bonzoquinone ansamycin 17-allylamino-17-deoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, Vol. 42, pp. 273 ~ 279.

Sittler S, 2001, *Hum. Mol. Genet.*, Vol.10, pp.1307.

Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction": *Molecular chaperones in the cell* (P Lund編; Oxford University Press, Oxford and NY), pp. 165 ~ 178.

Smith DF, Whitesell L及Katsanis E. 1998 "Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention", *Pharmacological Reviews*, Vol. 50, pp. 493 ~ 513. 40

Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D及Donner DB. 1995 "Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type 1 tumour necrosis factor receptor", *J. Biol. Chem.*, Vol. 270, pp. 3574 ~ 3581.

Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU及Pavletich NP. 1997 "Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent", *Cell*, Vol. 89, pp. 239 ~ 250.

Supko JG, Hickman RL, Grever MR及Malspeis L. 1995 "Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumour agent", *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 50

Vol. 36, pp. 305 ~ 315.

Tratzelt S, 1995, Proc. Nat. Acad. Sci., Vol. 92, pp. 2944.

Trost S, 1998, J. Clin. Invest., Vol.101, pp.855.

Tytell M及UHooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", Emerging Therapeutic Targets, Vol. 5, pp. 267 ~ 287.

【 0 1 8 8 】

Uehara U, Hori M, Takeuchi T及Umezawa H. 1986 "Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60 src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus", Mol. Cell. Biol., Vol. 6, pp. 2198 ~ 2206.

10

Waxman, Lloyd H. Inhibiting hepatitis C virus processing and replication. (Merck & Co., Inc., USA). PCT Int. Appl. (2002), WO 0207761

Winklhofer S, 2001, J. Biol. Chem., Vol. 276, 45160.

Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, Myers CE及U Neckers LM. 1994 "Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation", Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., Vol. 91, pp. 8324 ~ 8328.

Yorgin S 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", J. Immunol., Vol 164(6), pp. 2915 ~ 2923.

20

Young JC, Moarefi I及UHartl FU. 2001 "HSP90: a specialized but essential protein-folding tool", J. Cell. Biol., Vol. 154, pp. 267 ~ 273.

Zhao JF, Nakano H and Sharma S. 1995 "Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol", Oncogene, Vol. 11, pp. 161 ~ 173.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 11/06	(2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/06	(2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 1/00	(2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 9/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 15/00	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 3/00	(2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 25/14	(2006.01)	A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/14	
		A 6 1 P 25/28	

(73)特許権者 505401654

キャンサー リサーチ テクノロジー リミテッド
 CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LTD.
 イギリス、ロンドン ダブリュシー2エー 3エヌエル、サーディニア ストリート、サーディニア
 ア ハウス(番地なし)
 Sardinia House, Sardinia Street, WC2A 3NL, United Kingdom

(73)特許権者 504236178

ジ インスティテュート オブ キャンサー リサーチ:ロイヤル キャンサー ホスピタル
 イギリス、ロンドン エスタブリュ7 3アールピー、オールド ブロンプトン ロード 123

(74)代理人 100065248

弁理士 野河 信太郎

(72)発明者 バリル・アロンソ, ザビエル

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アピントン、グランタ パーク(番地なし)
 、ヴァーナリス(ケンブリッジ)リミテッド

(72)発明者 プロウ, ポール, アンドリュー

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アピントン、グランタ パーク(番地なし)
 、ヴァーナリス(ケンブリッジ)リミテッド

(72)発明者 ドライスデール, マーチン, ジェームス

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アピントン、グランタ パーク(番地なし)
 、ヴァーナリス(ケンブリッジ)リミテッド

(72)発明者 ウェブ, ポール

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アピントン、グランタ パーク(番地なし)
 、ヴァーナリス(ケンブリッジ)リミテッド

(72)発明者 デイモック, ブライアン, ウィリアム

シンガポール 117528、シンガポール サイエンス パーク セカンド、05-09 ザ
 カプリコーン サイエンス パーク ロード 1、エスピーアイオー ピーティーイー リミテ
 ヲド

審査官 早川 裕之

- (56)参考文献 特表2007-533611(JP, A)
国際公開第2003/037860(WO, A1)
米国特許出願公開第2001/0027196(US, A1)
米国特許第00340183(US, A)
I.O.DONKOR, EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 2003年, V38, P605-611
V.H.BROPHY, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 2000年 4月, V44 N4, P1019-1028
A.ROSOWSKY, J.MED.CHEM., 1997年, V40 N22, P3694-3699
MINSHENG ZHANG, BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, 1997年, V7 N13, P1629-1634
V.A.ARTYOMOV, TETRAHEDRON, 1996年, V52 N3, P1101-1026
A.ROSOWSKY, J.MED.CHEM., 1993年, V36 N21, P3103-3112
CLARK J, JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY, 米国, HETEROCORPORATION., 1993年 7月, V30 N4, P1065-1072
C.J.SHISHOO, J.HETEROCYCLIC CHEM., 1992年 7月, V29, P883-893
M.A.PEREZ, SYNTHESIS, 1983年 5月, V5, P402-404
B.ROTH, J.ORG.CHEM., 1980年, V45 N18, P3651-3657
A.ROSOWSKY, J.MED.CHEM., 1973年, V16 N3, P191-194

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C07D 495/04
A61K 31/519
A61P 1/00
A61P 3/00~10
A61P 9/00
A61P 11/06
A61P 15/00
A61P 17/00~06
A61P 19/02
A61P 25/00~28
A61P 27/02
A61P 29/00
A61P 31/12
A61P 35/00
A61P 43/00
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)